

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7470041号
(P7470041)

(45)発行日 令和6年4月17日(2024.4.17)

(24)登録日 令和6年4月9日(2024.4.9)

(51)国際特許分類		F I		
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12	Z N A
C 0 7 K	16/18 (2006.01)	C 0 7 K	16/18	
C 0 7 K	14/47 (2006.01)	C 0 7 K	14/47	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28	
請求項の数 16 (全47頁) 最終頁に続く				
(21)出願番号	特願2020-535789(P2020-535789)	(73)特許権者	000002912	
(86)(22)出願日	令和1年8月6日(2019.8.6)		住友ファーマ株式会社	
(86)国際出願番号	PCT/JP2019/030904		大阪府大阪市中央区道修町二丁目6番8号	
(87)国際公開番号	WO2020/032027	(74)代理人	100136629	
(87)国際公開日	令和2年2月13日(2020.2.13)		弁理士 鎌田 光宣	
審査請求日	令和4年7月22日(2022.7.22)	(74)代理人	100080791	
(31)優先権主張番号	特願2018-148924(P2018-148924)		弁理士 高島 一	
(32)優先日	平成30年8月7日(2018.8.7)	(74)代理人	100201558	
(33)優先権主張国・地域又は機関	日本国(JP)		弁理士 亀井 恵二郎	
前置審査		(72)発明者	大野 篤志	
			大阪府大阪市此花区春日出中3丁目1番9号 大日本住友製薬株式会社内	
		(72)発明者	寺西 康博	
			大阪府大阪市此花区春日出中三丁目1番	最終頁に続く

(54)【発明の名称】 アルツハイマー病の判定薬および判定方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の（i）～（iii）の工程：

（i）被検動物より採取した試料中の以下のいずれかのアミノ酸配列からなるポリペプチド：

- （1）配列番号1で表されるアミノ酸配列、または
- （2）配列番号1で表されるアミノ酸配列において、1～3個のアミノ酸が置換、欠失、付加もしくは挿入されたアミノ酸配列
- を定量する工程、

（ii）（i）で定量した前記ポリペプチドの量を、健常動物より採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、および

（iii）（ii）の結果に基づき、（i）で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性があるかと判定する工程、を含む、被験動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性を判定する方法。

【請求項2】

前記（i）で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値の1.1倍以上の量であることを特徴とする、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

以下の (i) ~ (iii) の工程：

(i) 被検動物より採取した試料中の以下のいずれかのアミノ酸配列からなるポリペプチド：

(1) 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列、または

(2) 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列において、1 ~ 3 個のアミノ酸が置換、欠失、付加もしくは挿入されたアミノ酸配列を定量する工程、

(ii) (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、カットオフ値よりも大きい場合に、前記被検動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性があるとして判定する工程、

を含む、被検動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性を判定する方法。

【請求項 4】

前記カットオフ値が、45 ~ 75 ユニットであることを特徴とする、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記カットオフ値が、45 ~ 75 ng/mL であることを特徴とする、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 6】

前記被検動物がヒトである、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記試料が、血液、脳脊髄液、唾液、涙液または尿である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

他の 1 以上のアルツハイマー病診断マーカーを検出することを更に含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

以下の (i) ~ (iii) の工程：

(i) アルツハイマー病に罹患または罹患している可能性がある被検動物より採取した試料中の以下のいずれかのアミノ酸配列からなるポリペプチド：

(1) 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列、または

(2) 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列において、1 ~ 3 個のアミノ酸が置換、欠失、付加もしくは挿入されたアミノ酸配列を定量する工程、

(ii) (i) で定量した前記ポリペプチドの量を、健常動物より採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、および

(iii) (ii) の結果に基づき、(i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物のアルツハイマー病が進行していると判定し、対照値よりも小さい場合に前記被検動物のアルツハイマー病が改善していると判定する工程を含む、アルツハイマー病の進行度を判定する方法。

【請求項 10】

前記 (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値の 1.1 倍以上の量であることを特徴とする、請求項 9 に記載のアルツハイマー病の進行度を判定する方法。

【請求項 11】

以下の (i) ~ (ii) の工程：

(i) アルツハイマー病に罹患または罹患している可能性がある被検動物より採取した試料中の以下のいずれかのアミノ酸配列からなるポリペプチド：

(1) 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列、または

(2) 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列において、1 ~ 3 個のアミノ酸が置換、欠失、付加もしくは挿入されたアミノ酸配列

10

20

30

40

50

を定量する工程、

(i i) (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、カットオフ値よりも大きい場合に、前記被検動物のアルツハイマー病が進行していると判定し、カットオフ値よりも小さい場合に前記被検動物のアルツハイマー病が改善していると判定する工程を含む、アルツハイマー病の進行度を判定する方法。

【請求項 1 2】

前記カットオフ値が、45～75 ユニットであることを特徴とする、請求項 1 1 に記載のアルツハイマー病の進行度を判定する方法。

【請求項 1 3】

前記カットオフ値が、45～75 ng/mLであることを特徴とする、請求項 1 1 に記載のアルツハイマー病の進行度を判定する方法。

【請求項 1 4】

前記被検動物がヒトである、請求項 9～13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記試料が、血液、脳脊髄液、唾液、涙液または尿である、請求項 9～14 のいずれか一項に記載のアルツハイマー病の進行度を判定する方法。

【請求項 1 6】

他の 1 以上のアルツハイマー病診断マーカーを検出することを更に含む、請求項 9～15 のいずれか一項に記載のアルツハイマー病の進行度を判定する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、アルツハイマー病の判定薬、アルツハイマー病の判定方法、アルツハイマー病の治療方法、アルツハイマー病の治療薬の候補物質の選別方法、および新規な抗 S38AA 抗体等に関する。

【背景技術】

【0002】

アルツハイマー病は、短期記憶力の低下、軽度学習障害より始まり、高次脳機能障害、とりわけ視空間失認、観念失行、構成失行等を伴い、最終的に運動障害やいわゆる人格的破壊に至る進行性認知症であって、現在根治的治療法は見出されていない。2040年にはアルツハイマー病患者は世界で240万人になると予測されており、その根治療法あるいは早期診断の重要性が高まっている。その進行は、本邦でしばしば認められる血管障害性認知症とは異なり、数年から十年以上にわたると考えられている。アルツハイマー病の一つである、遺伝子変異の異常による家族性アルツハイマー病患者の場合、その多くが数年で急速にその病状が悪化し、発症年齢も30歳～40歳代と早期発症であることが特徴である。遺伝子変異以外のアルツハイマー病のリスクファクターとして、年齢・家族歴・遺伝子型・高血圧・糖尿病・喫煙等が知られている。

【0003】

アルツハイマー病に特徴的な病理変化として、細胞外にアミロイドベータを主たる構成成分とするアミロイドプラークが蓄積すること、および神経細胞内に高度にリン酸化されたタウ蛋白の蓄積が起こることが広く知られている。空間的・時間的な脳内の病理変化については、早期アルツハイマー病患者の海馬、特にCA1と呼ばれる領域の錐体細胞内リン酸化タウの蓄積がすでにみとめられることから、本領域の錐体細胞が空間的にも時間的にもアルツハイマー病の影響を強くかつ早期に受ける、すなわち脆弱性を示すと考えられる（非特許文献2）。一方、上述したように運動障害はアルツハイマー病のほぼ最終段階で現れることから、小脳のプルキンエ細胞は最もアルツハイマー病に抵抗性を示すと考えられている。

【0004】

アルツハイマー病の発症率に関しては75歳を境に急速に増加すると考えられ、対症的薬物療法による病態の進行抑制のため、早期発見、早期治療の開始が重要である。現状で

10

20

30

40

50

はアルツハイマー病の根治療法がないため、アルツハイマー病の早期発見のための診断マーカーの探索が精力的に行われ、血中あるいは脳脊髄液中のアミロイドベータ（ $A\beta 40$ 、 $A\beta 42$ ）、リン酸化タウ蛋白の測定が、最も有力と考えられている。しかしながら、これらのマーカー単独あるいは、これらのマーカーの組み合わせ（例えば、 $A\beta 40$ と $A\beta 42$ 比）を用いても、将来におけるアルツハイマー病の罹患、すなわちアルツハイマー病予備群を明確に見出すことは困難である。

【0005】

一方、アルツハイマー病の診断マーカーとしてS38AA、特にその細胞外ドメインが報告されている（特許文献1）。

しかしながら、アルツハイマー病は、早期発見、早期治療の開始が重要であるがゆえに、更に高感度でアルツハイマー病の発症やアルツハイマー病予備群を判定できる方法が求められていた。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【文献】国際公開第2012/091138号パンフレット

【非特許文献】

【0007】

【文献】Exp Gerontol. (2000) 35:851-64

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明の課題は、アルツハイマー病の判定薬、アルツハイマー病の判定方法、アルツハイマー病の治療方法、アルツハイマー病の治療薬の候補物質の選別方法等を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0009】

S38AA断片は、アルツハイマー病患者（以下、「AD患者」という場合がある）の脳脊髄液および血漿で増加することが知られているところ、本発明者らは、アルツハイマー病と特に相関性の高い2種のS38AA断片（S38AA short fragment（以下、「short fragment」と略記する場合がある）、およびS38AA long fragment（以下、「long fragment」と略記する場合がある）を見出した。更に、鋭意検討を重ねた結果、本発明者らは、S38AA short fragmentが、高精度のアルツハイマー病の発症や予備群の判定および該疾患の進行の程度の判定の指標として極めて高い信頼性を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

【0010】

すなわち、本発明は以下に関する。

〔1〕以下のいずれかのアミノ酸配列からなるポリペプチド：

（1）配列番号：1で表されるアミノ酸配列；または

（2）配列番号：1で表されるアミノ酸配列において、1～数個のアミノ酸が置換、欠失、付加もしくは挿入されたアミノ酸配列。

〔2〕〔1〕に記載のポリペプチドを特異的に認識する抗体。

〔3〕〔1〕に記載のポリペプチドをコードする核酸。

〔4〕〔2〕に記載の抗体を含むキット。

〔5〕更に〔1〕に記載のポリペプチドを含む、〔4〕に記載のキット。

〔6〕被検試料と〔2〕に記載の抗体を接触させる工程を含む、〔1〕に記載のポリペプチドを検出する方法。

〔7〕アルツハイマー病を判定するために用いられる、〔4〕または〔5〕に記載のキット。

10

20

30

40

50

〔 8 〕 〔 1 〕 に記載のポリペプチドの量を測定可能な単一、または複数種類の抗 S 3 8 A A 抗体を含有する、アルツハイマー病の判定薬。

〔 9 〕 前記抗 S 3 8 A A 抗体が〔 2 〕 に記載の抗体である、〔 8 〕 に記載の判定薬。

〔 1 0 〕 〔 2 〕 に記載の抗体の、アルツハイマー病の判定薬の製造のための使用。

〔 1 1 〕 被検動物より採取した試料中の〔 1 〕 に記載のポリペプチドを検出することの特徴とする、該動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性を判定する方法。

〔 1 2 〕 以下の (i) ~ (i i i) の工程：

(i) 被検動物より採取した試料中の〔 1 〕 に記載のポリペプチドを定量する工程、

(i i) (i) で定量した前記ポリペプチドの量を、健常動物より採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、および

(i i i) (i i) の結果に基づき、(i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性がある」と判定する工程、を含む、〔 1 1 〕 に記載の方法。

〔 1 3 〕 以下の (i) ~ (i i i) の工程：

(i) アルツハイマー病に罹患しているまたは罹患している可能性がある被検動物より採取した試料中の〔 1 〕 に記載のポリペプチドを定量する工程、

(i i) (i) で定量した前記ポリペプチドの量を、該被検動物より過去に採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、および

(i i i) (i i) の結果に基づき、(i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物のアルツハイマー病が進行していると判定し、対照値よりも小さい場合に前記被検動物のアルツハイマー病が改善していると判定する工程を含む、アルツハイマー病の進行度の判定を補助する方法。

〔 1 4 〕 被検動物がヒトである、〔 1 1 〕 ~〔 1 3 〕 のいずれか一つに記載の方法。

〔 1 5 〕 試料が、血液、脳脊髄液、唾液、涙液または尿である、〔 1 1 〕 ~〔 1 4 〕 のいずれか一つに記載の方法。

〔 1 6 〕 他の 1 以上のアルツハイマー病診断マーカーを検出することを更に含む、〔 1 1 〕 ~〔 1 5 〕 のいずれか一つに記載の方法。

〔 1 7 〕 以下の (i) ~ (i v) の工程：

(i) 被検動物より採取した試料中の〔 1 〕 に記載のポリペプチドを定量する工程、

(i i) (i) で定量した前記ポリペプチドの量を、健常動物より採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、

(i i i) (i i) の結果に基づき、(i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物が現在アルツハイマー病に罹患しているもしくは罹患している可能性がある、または将来アルツハイマー病に罹患する可能性がある」と判定する工程、および

(i v) (i i i) の結果に基づき、現在アルツハイマー病に罹患しているもしくは罹患している可能性がある、または将来アルツハイマー病に罹患する可能性がある」と判定された被検動物に、アルツハイマー病治療薬または予防薬を投与する工程を含む、アルツハイマー病の治療または予防方法。

〔 1 8 〕 以下の (i) ~ (v) の工程：

(i) 現在アルツハイマー病に罹患しているまたは罹患している可能性がある被検動物より採取した試料中の〔 1 〕 に記載のポリペプチドを定量する工程、

(i i) (i) で定量した前記ポリペプチドの量を、該被検動物より過去に採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、および

(i i i) (i i) の結果に基づき、(i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物のアルツハイマー病が進行していると判定し、対照値よりも小さい場合に前記被検動物のアルツハイマー病が改善していると判定する工程、

(i v) (i i i) の判定結果に基づき、アルツハイマー病治療薬または予防薬を選定す

10

20

30

40

50

る工程、および

(v) (iv) により選定されたアルツハイマー病治療薬を被検動物に投与する工程を含む、アルツハイマー病の治療または予防のための投薬方法。

[19] アルツハイマー病治療薬が、コリンエステラーゼ阻害薬、NMDA受容体拮抗薬、アミロイドβ除去薬および蓄積抑制薬、ならびにタウタンパク質除去薬および蓄積抑制薬からなる群から選択される、[17] または [18] に記載の方法。

[20] コリンエステラーゼ阻害薬が、ドネベジル、ガランタミン、リバスチグミン、フペルジンA、またはタクリンであり、NMDA受容体拮抗薬がメマンチンである、[19] に記載の方法。

[21] 以下の(i) ~ (iv) の工程で、アルツハイマー病の進行度が判定された患者に用いられる、アルツハイマー病治療薬：

(i) 現在アルツハイマー病に罹患しているまたは罹患している可能性がある被検動物より採取した試料中の[1]に記載のポリペプチドを定量する工程、

(ii) (i) で定量した前記ポリペプチドの量を、該被検動物より過去に採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、

(iii) (ii) の結果に基づき、(i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物のアルツハイマー病が進行していると判定し、対照値よりも小さい場合に前記被検動物のアルツハイマー病が改善していると判定する工程、および

(iv) (iii) の判定結果に基づき、アルツハイマー病治療薬を投与することを決定する工程。

[22] アルツハイマー病患者あるいはアルツハイマー病への罹患可能性のある者の生体内の[1]に記載のポリペプチドの量を減少させる薬剤、またはアルツハイマー病患者またはアルツハイマー病への罹患可能性のある者の生体内における該ポリペプチドの産生を阻害する薬剤を、有効成分として含有するアルツハイマー病の治療薬または予防薬。

[23] 被検物質が、アルツハイマー病患者あるいはアルツハイマー病への罹患可能性のある者の生体内の[1]に記載のポリペプチドの量を減少させること、またはアルツハイマー病患者またはアルツハイマー病への罹患可能性のある者の生体内における該ポリペプチドの産生を阻害することを指標とする、アルツハイマー病の治療薬または予防薬の候補物質を選別する方法。

[24] 配列番号1または2のポリペプチドを認識する抗体であって、

前記抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列が、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、または配列番号22と少なくとも95%の相同性を有し、

前記抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列が、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、または配列番号23と少なくとも95%の相同性を有する、抗体。

[25] 配列番号1または2のポリペプチドを認識する抗体であって、

(1) 配列番号4の重鎖可変領域、および配列番号5の軽鎖可変領域、

(2) 配列番号6の重鎖可変領域、および配列番号7の軽鎖可変領域、

(3) 配列番号8の重鎖可変領域、および配列番号9の軽鎖可変領域、

(4) 配列番号10の重鎖可変領域、および配列番号11の軽鎖可変領域、

(5) 配列番号12の重鎖可変領域、および配列番号13の軽鎖可変領域、

(6) 配列番号14の重鎖可変領域、および配列番号15の軽鎖可変領域、

(7) 配列番号16の重鎖可変領域、および配列番号17の軽鎖可変領域、

(8) 配列番号18の重鎖可変領域、および配列番号19の軽鎖可変領域、

(9) 配列番号20の重鎖可変領域、および配列番号21の軽鎖可変領域、または

(10) 配列番号22の重鎖可変領域、および配列番号23の軽鎖可変領域を含む抗体。

[26] [24] または [25] に記載の抗体を含むキット。

〔27〕更に配列番号1のポリペプチドを含む、〔26〕に記載のキット。

〔28〕被検試料と〔24〕または〔25〕に記載の抗体を接触させる工程を含む、配列番号1のポリペプチドを検出する方法。

〔29〕アルツハイマー病を判定するために用いられる、〔26〕または〔27〕に記載のキット。

〔30〕配列番号1のポリペプチドの量を測定可能な、〔24〕または〔25〕に記載の抗体を含有する、アルツハイマー病の判定薬。

〔31〕被検動物より採取した試料中の配列番号1のポリペプチドを、〔24〕または〔25〕に記載の抗体を用いて検出することを特徴とする、該動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性を判定する方法。

〔32〕以下の(i)～(iii)の工程：

(i) 被検動物より採取した試料中の配列番号1のポリペプチドを、〔24〕または〔25〕に記載の抗体を用いて、定量する工程、

(ii) (i)で定量した前記ポリペプチドの量を、健常動物より採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、および

(iii) (ii)の結果に基づき、(i)で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性がある」と判定する工程、を含む、〔31〕に記載の方法。

〔33〕以下の(i)～(iii)の工程：

(i) アルツハイマー病に罹患または罹患している可能性がある被検動物より採取した試料中の請求項1に記載のポリペプチドを、〔24〕または〔25〕に記載の抗体を用いて、定量する工程、

(ii) (i)で定量した前記ポリペプチドの量を、該被検動物より過去に採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、および

(iii) (ii)の結果に基づき、(i)で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物のアルツハイマー病が進行していると判定し、対照値よりも小さい場合に前記被検動物のアルツハイマー病が改善していると判定する工程を含む、アルツハイマー病の進行度の判定をする方法。

〔34〕被検動物がヒトである、〔31〕～〔33〕のいずれか一つに記載の方法。

〔35〕試料が、血液、脳脊髄液、唾液、涙液または尿である、〔31〕～〔34〕のいずれか一つに記載の方法。

〔36〕他の1以上のアルツハイマー病診断マーカーを検出することを更に含む、〔31〕～〔35〕のいずれか一つに記載の方法。

〔37〕以下の(i)～(iv)の工程：(i) 現在アルツハイマー病に罹患または罹患している可能性がある被検動物より採取した試料中の配列番号1に記載のポリペプチドを、〔24〕または〔25〕のいずれか一項に記載の抗体を用いて、定量する工程、

(ii) (i)で定量した前記ポリペプチドの量を、該被検動物より過去に採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、

(iii) (ii)の結果に基づき、(i)で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物のアルツハイマー病が進行していると判定し、対照値よりも小さい場合に前記被検動物のアルツハイマー病が改善していると判定する工程、および

(iv) (iii)の判定結果に基づき、それを必要とする被検動物にアルツハイマー病治療薬を投与する工程

を含む、アルツハイマー病の進行度が判定された患者に、アルツハイマー病治療薬を投与することを特徴とする、アルツハイマー病の治療方法。

〔38〕〔24〕または〔25〕に記載の抗体を用いて診断したアルツハイマー病患者あるいはアルツハイマー病への罹患可能性のある者の生体内の配列番号1のポリペプチドの量を減少させる薬剤、または前記アルツハイマー病患者あるいは前記アルツハイマー病への罹患可能性のある者の生体内における該ポリペプチドの産生を阻害する薬剤を、有効成

10

20

30

40

50

分として含有するアルツハイマー病の治療方法または予防方法。

〔39〕被検物質が、アルツハイマー病患者あるいはアルツハイマー病への罹患可能性のある者の生体内の配列番号1に記載のポリペプチドの量を減少させること、またはアルツハイマー病患者あるいはアルツハイマー病への罹患可能性のある者の生体内における該ポリペプチドの産生を阻害することを指標とする、〔24〕または〔25〕に記載の抗体を用いたアルツハイマー病の治療薬または予防薬の候補物質を選別する方法。

〔0011〕

〔項1〕以下のいずれかのアミノ酸配列からなるポリペプチド：

（1）配列番号1で表されるアミノ酸配列、または

（2）配列番号1で表されるアミノ酸配列において、1～数個のアミノ酸が置換、欠失、付加もしくは挿入されたアミノ酸配列。

10

〔項2〕配列番号1で表されるアミノ酸配列からなる、項1に記載のポリペプチド。

〔項3〕項1または2に記載のポリペプチドをコードする核酸。

〔項4〕項1または2に記載のポリペプチドを認識する抗体。

〔項5〕さらに配列番号2のポリペプチドを認識する、項4に記載の抗体。

〔項6〕前記抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列が、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、または配列番号22と少なくとも95%の相同性を有し、かつ

前記抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列が、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、または配列番号23と少なくとも95%の相同性を有する、項4または5に記載の抗体。

20

〔項7〕前記抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列が、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、または配列番号22と少なくとも99%の相同性を有し、かつ

前記抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列が、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、または配列番号23と少なくとも99%の相同性を有する、項4～6のいずれか一項に記載の抗体。

〔項8〕前記抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列が、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、または配列番号22であり、かつ

30

前記抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列が、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、または配列番号23である、項4～6のいずれか一項に記載の抗体。

〔項9〕（1）配列番号4の重鎖可変領域、および配列番号5の軽鎖可変領域を含む抗体、

（2）配列番号6の重鎖可変領域、および配列番号7の軽鎖可変領域を含む抗体、

（3）配列番号8の重鎖可変領域、および配列番号9の軽鎖可変領域を含む抗体、

（4）配列番号10の重鎖可変領域、および配列番号11の軽鎖可変領域を含む抗体、

（5）配列番号12の重鎖可変領域、および配列番号13の軽鎖可変領域を含む抗体、

（6）配列番号14の重鎖可変領域、および配列番号15の軽鎖可変領域を含む抗体、

（7）配列番号16の重鎖可変領域、および配列番号17の軽鎖可変領域を含む抗体、

（8）配列番号18の重鎖可変領域、および配列番号19の軽鎖可変領域を含む抗体、

（9）配列番号20の重鎖可変領域、および配列番号21の軽鎖可変領域を含む抗体、または

40

（10）配列番号22の重鎖可変領域、および配列番号23の軽鎖可変領域を含む抗体である、項4～8のいずれか一項に記載の抗体。

〔項10〕被検試料と項4～9のいずれか一項に記載の抗体を接触させる工程を含む、項1または2に記載のポリペプチドを検出する方法。

〔項11〕項4～9のいずれか一項に記載の抗体を含むキット。

〔項12〕更に項1または2に記載のポリペプチドを含む、項11に記載のキット。

50

〔項 1 3〕アルツハイマー病を判定するために用いられる、項 1 1 または 1 2 に記載のキット。

〔項 1 4〕項 1 または 2 に記載のポリペプチドの量を測定可能な単一、または複数種類の抗 S 3 8 A A 抗体を含有する、アルツハイマー病の判定薬。

〔項 1 5〕前記抗 S 3 8 A A 抗体が項 4 ～ 9 のいずれか一項に記載の抗体である、項 1 4 に記載の判定薬。

〔項 1 6〕項 4 ～ 9 のいずれか一項に記載の抗体の、アルツハイマー病の判定薬の製造のための使用。

〔項 1 7〕被検動物より採取した試料中の項 1 または 2 に記載のポリペプチドを検出することを特徴とする、該動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性を判定する方法。

10

〔項 1 8〕前記項 1 または 2 に記載のポリペプチドを、項 4 ～ 9 のいずれか一項に記載の抗体を用いて検出することを特徴とする、項 1 7 に記載の方法。

〔項 1 9〕以下の (i) ～ (i i i) の工程：

(i) 被検動物より採取した試料中の項 1 または 2 に記載のポリペプチドを定量する工程、

(i i) (i) で定量した前記ポリペプチドの量を、健常動物より採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、および

(i i i) (i i) の結果に基づき、(i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性がある」と判定する工程、

20

を含む、項 1 7 または 1 8 に記載の方法。

〔項 2 0〕前記 (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値の 1 . 1 倍以上の量であることを特徴とする、項 1 9 に記載の方法。

〔項 2 1〕以下の (i) ～ (i i i) の工程：

(i) 被検動物より採取した試料中の項 1 または 2 に記載のポリペプチドを定量する工程、

(i i) (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、カットオフ値よりも大きい場合に、前記被検動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性がある」と判定する工程、

を含む、項 1 7 または 1 8 に記載の方法。

〔項 2 2〕前記カットオフ値が、4 5 ～ 7 5 ユニットであることを特徴とする、項 2 1 に記載の方法。

30

〔項 2 3〕前記カットオフ値が、4 5 ～ 7 5 n g / m L であることを特徴とする、項 2 1 に記載の方法。

〔項 2 4〕前記被検動物がヒトである、項 1 7 ～ 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

〔項 2 5〕前記試料が、血液、脳脊髄液、唾液、涙液または尿である、項 1 7 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

〔項 2 6〕他の 1 以上のアルツハイマー病診断マーカーを検出することを更に含む、項 1 7 ～ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

〔項 2 7〕被検動物より採取した試料中の項 1 または 2 に記載のポリペプチドを検出することを特徴とする、アルツハイマー病の進行度を判定する方法。

40

〔項 2 8〕前記項 1 または 2 に記載のポリペプチドを、項 4 ～ 9 のいずれか一項に記載の抗体を用いて検出することを特徴とする、項 2 7 に記載のアルツハイマー病の進行度を判定する方法。

〔項 2 9〕以下の (i) ～ (i i i) の工程：

(i) 被検動物より採取した試料中の項 1 または 2 に記載のポリペプチドを定量する工程、

(i i) (i) で定量した前記ポリペプチドの量を、健常動物より採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、および

(i i i) (i i) の結果に基づき、(i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性がある」と判定する工程、

50

を含む、項 27 または 28 に記載のアルツハイマー病の進行度を判定する方法。

[項 30] 前記 (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値の 1.1 倍以上の量であることを特徴とする、項 29 に記載のアルツハイマー病の進行度を判定する方法。

[項 31] 以下の (i) ~ (ii) の工程：

(i) 被検動物より採取した試料中の項 1 または 2 に記載のポリペプチドを定量する工程、
(ii) (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、カットオフ値よりも大きい場合に、前記被検動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性があるとして判定する工程、

を含む、項 27 または 28 に記載のアルツハイマー病の進行度を判定する方法。

[項 32] 前記カットオフ値が、45 ~ 75 ユニットであることを特徴とする、項 31 に記載のアルツハイマー病の進行度を判定する方法。

[項 33] 前記カットオフ値が、45 ~ 75 ng/mLであることを特徴とする、項 31 に記載のアルツハイマー病の進行度を判定する方法。

[項 34] 前記被検動物がヒトである、項 27 ~ 33 のいずれか一項に記載の方法。

[項 35] 前記試料が、血液、脳脊髄液、唾液、涙液または尿である、項 27 ~ 34 のいずれか一項に記載のアルツハイマー病の進行度を判定する方法。

[項 36] 他の 1 以上のアルツハイマー病診断マーカーを検出することを更に含む、項 27 ~ 35 のいずれか一項に記載のアルツハイマー病の進行度を判定する方法。

[項 37] 被検動物より採取した試料中の項 1 または 2 に記載のポリペプチドを検出し、被検動物にアルツハイマー病治療薬を投与することを特徴とする、アルツハイマー病の治療または予防方法。

[項 38] 前記項 1 または 2 に記載のポリペプチドを、項 4 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗体を用いて検出することを特徴とする、項 37 に記載の治療または予防方法。

[項 39] 以下の (i) ~ (iv) の工程：

(i) 被検動物より採取した試料中の項 1 または 2 に記載のポリペプチドを定量する工程、
(ii) (i) で定量した前記ポリペプチドの量を、健常動物より採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、

(iii) (ii) の結果に基づき、(i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物が現在アルツハイマー病に罹患しているもしくは罹患している可能性がある、または将来アルツハイマー病に罹患する可能性があるとして判定する工程、および

(iv) (iii) の結果に基づき、現在アルツハイマー病に罹患しているもしくは罹患している可能性がある、または将来アルツハイマー病に罹患する可能性があるとして判定された被検動物に、アルツハイマー病治療薬または予防薬を投与する工程を含む、項 37 または 38 に記載の治療または予防方法。

[項 40] 前記 (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値の 1.1 倍以上の量であることを特徴とする、項 39 に記載の治療または予防方法。

[項 41] 以下の (i) ~ (ii) の工程：

(i) 被検動物より採取した試料中の項 1 または 2 に記載のポリペプチドを定量する工程、
(ii) (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、カットオフ値よりも大きい場合に、前記被検動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性があるとして判定する工程、

を含む、項 37 または 38 に記載の治療または予防方法。

[項 42] 前記カットオフ値が、45 ~ 75 ユニットであることを特徴とする、項 41 に記載の治療または予防方法。

[項 43] 前記カットオフ値が、45 ~ 75 ng/mLであることを特徴とする、項 41 に記載の治療または予防方法。

[項 44] 前記被検動物がヒトである、項 37 ~ 43 のいずれか一項に記載の治療または予防方法。

[項 45] 前記試料が、血液、脳脊髄液、唾液、涙液または尿である、項 37 ~ 44 のい

10

20

30

40

50

いずれか一項に記載の治療または予防方法。

〔項 4 6〕他の 1 以上のアルツハイマー病診断マーカーを検出することを更に含む、項 3 7～4 5 のいずれか一項に記載の治療または予防方法。

〔項 4 7〕アルツハイマー病治療薬が、コリンエステラーゼ阻害薬、NMDA 受容体拮抗薬、アミロイドβ除去薬および産生抑制薬、ならびにタウタンパク質除去薬および産生抑制薬からなる群から選択される、項 3 7～4 6 のいずれか一項に記載の治療または予防方法。

〔項 4 8〕前記コリンエステラーゼ阻害薬が、ドネペジル、ガランタミン、リバスチグミン、フペルジンA、およびタクリンからなる群から選択される少なくとも一つである、項 4 7 に記載の治療または予防方法。

〔項 4 9〕前記NMDA受容体拮抗薬が、メマンチンである、項 4 7 に記載の治療または予防方法。

〔項 5 0〕前記アミロイドβ除去薬および産生抑制薬が、アミロイドβワクチン、アミロイドβ除去抗体、アミロイドβ産生酵素阻害剤、アミロイドβ凝集抑制剤およびアミロイドβ分解促進剤からなる群から選択される少なくとも一つである、項 4 7 に記載の治療または予防方法。

〔項 5 1〕前記アミロイドβ除去薬および産生抑制薬が、CNP-520、E-2609、aducanumab、solanezumab、gantenerumab、crenezumab、amilomotide、ASD-005、HSH-971、ELND-005、ALZT-OP1、nilvadipine、ACI-24、UB-311、AFFITOPE AD-02、LY-3002813、BAN-2401、Neurostem-AD、CT-1812、ID-1201、NIC5-15、BI-425809、Posiphen、PQ-912、bryostatine-1、Apabetalone、PBT-2、RIV-1061-IR、MEDI-1814、PF-05236812、SAR-228810、Lu-AF20513、PRI-002、IRX-4204、GC-021109、AAD-2004、CTS-21166、LY-3323795、benfotiamine、bisnorcymserine、MDR-1339、KHK-6640、およびNPT-088からなる群から選択される少なくとも一つである、項 4 7 に記載の治療または予防方法。

〔項 5 2〕前記タウタンパク質除去薬および産生抑制薬が、タウタンパク質ワクチン、タウタンパク質除去抗体、タウタンパク質修飾抑制剤、タウタンパク質凝集抑制剤、およびタウタンパク質分解促進剤からなる群から選択される少なくとも一つである、項 4 7 に記載の治療または予防方法。

〔項 5 3〕前記タウタンパク質除去薬および産生抑制薬が、TRx-237、TPI-287、ABBV-8E12、RG-6100、AADvac1、RO7105705、PTI-80、JNJ-63733657、UCB-0107、BIB-076、MC-1、ACI-35、およびAZP-2006からなる群から選択される少なくとも一つである、項 4 7 に記載の治療または予防方法。

〔項 5 4〕被検動物より採取した試料中の項 1 または 2 に記載のポリペプチドを定量し、アルツハイマー病治療薬または予防薬を選定し、被検動物にアルツハイマー病治療薬を投与することを特徴とする、アルツハイマー病の治療または予防のための投薬方法。

〔項 5 5〕前記項 1 または 2 に記載のポリペプチドを、項 4～9 のいずれか一項に記載の抗体を用いて定量することを特徴とする、項 5 4 に記載の投薬方法。

〔項 5 6〕(i) 現在アルツハイマー病に罹患しているまたは罹患している可能性がある被検動物より採取した試料中の〔1〕に記載のポリペプチドを定量する工程、

(ii) (i) で定量した前記ポリペプチドの量を、該被検動物より過去に採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、および

(iii) (ii) の結果に基づき、(i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物のアルツハイマー病が進行していると判定し、対照値よりも小さい場合に前記被検動物のアルツハイマー病が改善していると判定する工程、

10

20

30

40

50

(i v) (i i i) の判定結果に基づき、アルツハイマー病治療薬または予防薬を選定する工程、および

(v) (i v) により選定されたアルツハイマー病治療薬を被検動物に投与する工程を含む、項 5 4 または 5 5 に記載の投薬方法。

[項 5 7] 前記 (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値の 1.1 倍以上の量である場合、前記被検動物のアルツハイマー病が進行していると判定することを特徴とする、項 5 6 に記載の投薬方法。

[項 5 8] 前記 (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値の 0.9 倍以下の量である場合、前記被検動物のアルツハイマー病が改善していると判定することを特徴とする、項 5 6 に記載の投薬方法。

[項 5 9] 前記被検動物がヒトである、項 5 4 ~ 5 8 のいずれか一項に記載の投薬方法。

[項 6 0] 前記試料が、血液、脳脊髄液、唾液、涙液または尿である、項 5 4 ~ 5 9 のいずれか一項に記載の投薬方法。

[項 6 1] 他の 1 以上のアルツハイマー病診断マーカーを検出することを更に含む、項 5 4 ~ 6 0 のいずれか一項に記載の投薬方法。

[項 6 2] アルツハイマー病治療薬が、コリンエステラーゼ阻害薬、NMDA 受容体拮抗薬、アミロイドβ除去薬および産生抑制薬、ならびにタウタンパク質除去薬および産生抑制薬からなる群から選択される、項 5 4 ~ 6 1 のいずれか一項に記載の投薬方法。

[項 6 3] 前記コリンエステラーゼ阻害薬が、ドネペジル、ガランタミン、リバスチグミン、フベルジンA、およびタクリンからなる群から選択される少なくとも一つである、項 6 2 に記載の投薬方法。

[項 6 4] 前記NMDA受容体拮抗薬が、メマンチンである、項 6 2 に記載の投薬方法。

[項 6 5] 前記アミロイドβ除去薬および産生抑制薬が、アミロイドβワクチン、アミロイドβ除去抗体、アミロイドβ産生酵素阻害剤、アミロイドβ凝集抑制剤およびアミロイドβ分解促進剤からなる群から選択される少なくとも一つである、項 6 2 に記載の投薬方法。

[項 6 6] 前記アミロイドβ除去薬および産生抑制薬が、CNP-520、E-2609、aducanumab、solanezumab、gantenerumab、crenezumab、amilomotide、ASD-005、HSH-971、ELND-005、ALZT-OP1、nilvadipine、ACI-24、UB-311、AFFITOPE AD-02、LY-3002813、BAN-2401、Neurostem-AD、CT-1812、ID-1201、NIC5-15、BI-425809、Posiphen、PQ-912、bryostatine-1、Apabetalone、PBT-2、RIV-1061-IR、MEDI-1814、PF-05236812、SAR-228810、Lu-AF20513、PRI-002、IRX-4204、GC-021109、AAD-2004、CTS-21166、LY-3323795、benfotiamine、bisnorcymserine、MDR-1339、KHK-6640、およびNPT-088からなる群から選択される少なくとも一つである、項 6 2 に記載の投薬方法。

[項 6 7] 前記タウタンパク質除去薬および産生抑制薬が、タウタンパク質ワクチン、タウタンパク質除去抗体、タウタンパク質修飾抑制剤、タウタンパク質凝集抑制剤、およびタウタンパク質分解促進剤からなる群から選択される少なくとも一つである、項 6 2 に記載の投薬方法。

[項 6 8] 前記タウタンパク質除去薬および産生抑制薬が、TRx-237、TPI-287、ABBV-8E12、RG-6100、AADvac1、RO7105705、PTI-80、JNJ-63733657、UCB-0107、BIIB-076、MC-1、ACI-35、およびAZP-2006からなる群から選択される少なくとも一つである、項 6 2 に記載の投薬方法。

[項 6 9] 被検動物より採取した試料中の項 1 または 2 に記載のポリペプチドを定量し、アルツハイマー病の進行度が判定された患者に用いられる、アルツハイマー病治療薬。

10

20

30

40

50

〔項 7 0〕前記項 1 または 2 に記載のポリペプチドを、項 4 ～ 9 のいずれか一項に記載の抗体を用いて定量することを特徴とする、項 6 9 に記載のアルツハイマー病治療薬。

〔項 7 1〕以下の (i) ～ (iv) の工程で、アルツハイマー病の進行度が判定された患者に用いられる、項 6 9 または項 7 0 に記載のアルツハイマー病治療薬：

(i) 現在アルツハイマー病に罹患しているまたは罹患している可能性がある被検動物より採取した試料中の項 1 または 2 に記載のポリペプチドを定量する工程、

(ii) (i) で定量した前記ポリペプチドの量を、該被検動物より過去に採取した試料中の前記ポリペプチドの量（以下、対照値という）と比較する工程、

(iii) (ii) の結果に基づき、(i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物のアルツハイマー病が進行していると判定し、対照値よりも小さい場合に前記被検動物のアルツハイマー病が改善していると判定する工程、および

(iv) (iii) の判定結果に基づき、アルツハイマー病治療薬を投与することを決定する工程。

〔項 7 2〕前記 (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値の 1.1 倍以上の量である場合、前記被検動物のアルツハイマー病が進行していると判定することを特徴とする、項 7 1 に記載のアルツハイマー病治療薬。

〔項 7 3〕前記 (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、対照値の 0.9 倍以下の量である場合、前記被検動物のアルツハイマー病が改善していると判定することを特徴とする、項 7 1 に記載のアルツハイマー病治療薬。

〔項 7 4〕以下の (i) ～ (iv) の工程で、現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性がある者と判定された患者に用いられる、項 6 9 または項 7 0 に記載のアルツハイマー病治療薬：

(i) 現在アルツハイマー病に罹患しているまたは罹患している可能性がある被検動物より採取した試料中の項 1 または 2 に記載のポリペプチドを定量する工程、

(ii) (i) で定量した前記ポリペプチドの量が、カットオフ値よりも大きい場合に、前記被検動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性がある者と判定する工程、

(iii) (ii) の判定結果に基づき、アルツハイマー病治療薬を投与することを決定する工程。

〔項 7 5〕前記カットオフ値が、45 ～ 75 ユニットであることを特徴とする、項 7 4 に記載のアルツハイマー病治療薬。

〔項 7 6〕前記カットオフ値が、45 ～ 75 ng/mL であることを特徴とする、項 7 4 に記載のアルツハイマー病治療薬。

〔項 7 7〕前記被検動物がヒトである、項 6 9 ～ 7 6 のいずれか一項に記載のアルツハイマー病治療薬。

〔項 7 8〕前記試料が、血液、脳脊髄液、唾液、涙液または尿である、項 6 9 ～ 7 7 のいずれか一項に記載のアルツハイマー病治療薬。

〔項 7 9〕他の 1 以上のアルツハイマー病診断マーカーを検出することを更に含む、項 6 9 ～ 7 8 のいずれか一項に記載のアルツハイマー病治療薬。

〔項 8 0〕アルツハイマー病治療薬が、コリンエステラーゼ阻害薬、NMDA 受容体拮抗薬、アミロイド β 除去薬および産生抑制薬、ならびにタウタンパク質除去薬および産生抑制薬からなる群から選択される、項 6 9 ～ 7 9 のいずれか一項に記載のアルツハイマー病治療薬。

〔項 8 1〕前記コリンエステラーゼ阻害薬が、ドネペジル、ガランタミン、リバスチグミン、フベルジン A、およびタクリンからなる群から選択される少なくとも一つである、項 8 0 に記載のアルツハイマー病治療薬。

〔項 8 2〕前記 NMDA 受容体拮抗薬が、メマンチンである、項 8 0 に記載のアルツハイマー病治療薬。

〔項 8 3〕前記アミロイド β 除去薬および産生抑制薬が、アミロイド β ワクチン、アミロ

10

20

30

40

50

イドβ除去抗体、アミロイドβ産生酵素阻害剤、アミロイドβ凝集抑制剤およびアミロイドβ分解促進剤からなる群から選択される少なくとも一つである、項80に記載のアルツハイマー病治療薬。

【項84】前記アミロイドβ除去薬および産生抑制薬が、CNP-520、E-2609、aducanumab、solanezumab、gantenerumab、crenezumab、amilomotide、ASD-005、HSH-971、ELND-005、ALZT-OP1、nilvadipine、ACI-24、UB-311、AFFITOPE AD-02、LY-3002813、BAN-2401、Neurostem-AD、CT-1812、ID-1201、NIC5-15、BI-425809、Posiphen、PQ-912、bryostatine-1、Apabetalone、PBT-2、RIV-1061-IR、MEDI-1814、PF-05236812、SAR-228810、Lu-AF20513、PRI-002、IRX-4204、GC-021109、AAD-2004、CTS-21166、LY-3323795、benfotiamine、bisnorcymserine、MDR-1339、KHK-6640、およびNPT-088からなる群から選択される少なくとも一つである、項80に記載のアルツハイマー病治療薬。

10

【項85】前記タウタンパク質除去薬および産生抑制薬が、タウタンパク質ワクチン、タウタンパク質除去抗体、タウタンパク質修飾抑制剤、タウタンパク質凝集抑制剤、およびタウタンパク質分解促進剤からなる群から選択される少なくとも一つである、項80に記載のアルツハイマー病治療薬。

20

【項86】前記タウタンパク質除去薬および産生抑制薬が、TRx-237、TPI-287、ABBV-8E12、RG-6100、AADvac1、RO7105705、PTI-80、JNJ-63733657、UCB-0107、BIIb-076、MC-1、ACI-35、およびAZP-2006からなる群から選択される少なくとも一つである、項80に記載のアルツハイマー病治療薬。

【項87】アルツハイマー病患者あるいはアルツハイマー病への罹患可能性のある者の生体内の項1または項2に記載のポリペプチドの量を減少させる薬剤、またはアルツハイマー病患者またはアルツハイマー病への罹患可能性のある者の生体内における該ポリペプチドの産生を阻害する薬剤を、有効成分として含有するアルツハイマー病の治療薬または予防薬。

30

【項88】前記項1または2に記載のポリペプチドを、項4～9のいずれか一項に記載の抗体を用いて検出することを特徴とする、項87に記載のアルツハイマー病の治療薬または予防薬。

【項89】被検物質が、アルツハイマー病患者あるいはアルツハイマー病への罹患可能性のある者の生体内の項1または2に記載のポリペプチドの量を減少させること、またはアルツハイマー病患者またはアルツハイマー病への罹患可能性のある者の生体内における該ポリペプチドの産生を阻害することを指標とする、アルツハイマー病の治療薬または予防薬の候補物質を選別する方法。

【項90】前記項1または2に記載のポリペプチドの量の減少を、項4～9のいずれか一項に記載の抗体を用いて検出することを特徴とする、項89に記載のアルツハイマー病の治療薬または予防薬の候補物質を選別する方法。

40

【発明の効果】

【0012】

本発明によれば、アルツハイマー病の判定薬、アルツハイマー病の判定方法、アルツハイマー病の治療方法、アルツハイマー病の治療薬の候補化合物を選別する方法、および新規な抗S38AA抗体等を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】図1は、S38AAのアミノ酸配列を示している。このうち、S38AA long fragmentのN末端の同定において、LC-MS/MS法により検出したペ

50

プチドの配列を太字にて示す。

【図2】図2は、S38AA long fragmentのN末端の同定において、LC-MS/MS法により検出した³⁹⁹EEVPEDLAE⁴¹³APGGR⁴¹³ペプチドのMS/MSピークスペクトルを示す。縦軸は各イオンのピーク強度を、横軸はm/zを示している。

【図3】図3は、S38AAのアミノ酸配列を示している。このうち、S38AA short fragmentのN末端の同定において、LC-MS/MS法により検出したペプチドの配列を太字にて示す。

【図4】図4は、S38AA short fragmentのN末端の同定において、LC-MS/MS法により検出した⁶¹⁷GLAVGGGEKAK⁶²⁷ペプチドのMS/M

10

Sピークスペクトルを示す。縦軸は各イオンのピーク強度を、横軸はm/zを示している。

【図5】図5は、S38AAのアミノ酸配列を示している。このうち、S38AA long fragmentのC末端の同定において、LC-MS/MS法により検出したペ

プチドの配列を太字にて示す。

【図6】図6は、S38AA long fragmentのC末端の同定において、LC-MS/MS法により検出した¹⁰⁴⁰DLKLQAGSDL¹⁰⁴⁹ペプチドのMS/M

Sピークスペクトルを示す。縦軸は各イオンのピーク強度を、横軸はm/zを示している。

【図7】図7は、Long ELISAおよびTotal ELISA測定系にて大腸菌組換えS38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの発現量をそれぞれ測定した際の定量性（検量線）を示す。各グラフの縦軸は45

20

0nmにおける吸光度を、横軸は各タンパク質の濃度を示している。

【図8】図8は、減算法によるヒト血漿中S38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの定量を行った際の各サンプルにおける定量値を示す。縦軸はS38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの定量値を、横軸は各サンプルを示している。Dから始まる番号は健常者、AGから始まる番号は中等度および重度AD患者を表している。

【図9】図9は、減算法によるヒト血漿中S38AA long fragment（左図）およびS38AA short fragment（右図）の定量を行った際の各群における定量値を示す。縦軸はS38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの定量値を、横軸は各群を示している。個別のサンプルを各

30

プロットにて表記している。グラフバーは（各群の平均値±標準偏差）を表している。

【図10】図10は、免疫沈降除去法によるヒト血漿中S38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの定量を行った際の各群における定量値を示す。縦軸はS38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの定量値を、横軸は各群を示している。

【図11】図11は、減算法によるヒト血漿中S38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの定量を行った際の各サンプルにおける定量値を示す。縦軸はS38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの定量値を、横軸は各サンプルを示している。TSUMから始まる番号は健常者、ASUMから始まる番号は軽度AD患者を表している。

40

【図12】図12は、減算法によるヒト血漿中S38AA long fragmentおよびS38AA short fragment（左図）、S38AA short fragment（中図）ならびにS38AA long fragment（右図）の定量を行った際の各群における定量値を示す。縦軸はS38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの定量値を、横軸は各群を示している。個別のサンプルを各プロットにて表記している。グラフバーは（各群の平均値±標準偏差）を表している。

【図13】図13は、Long fragment用抗体、抗体A、抗体Bおよび抗体Cの認識部位を示した図である。

【図14】図14は、各種抗S38AA fragment抗体を組み合わせたヒト血漿

50

中 S 3 8 A A f r a g m e n t の定量を行った際の各サンプルにおける定量値を示す。抗体の組み合わせは、抗体 A と抗体 B、抗体 A と抗体 C、および抗体 B と抗体 C の 3 パターンであり、該組み合わせにより E L I S A を行った。縦軸は S 3 8 A A f r a g m e n t 総量の定量値を、横軸は各サンプルを示している。T S U M から始まる番号は健常者、A S U M から始まる番号は A D 患者を表している。

【図 1 5】図 1 5 は、各種抗 S 3 8 A A f r a g m e n t 抗体を組み合わせたヒト血漿中 S 3 8 A A f r a g m e n t の定量を行った際の各サンプルにおける定量値を示す。抗体の組み合わせは、L o n g f r a g m e n t 用抗体と抗体 A、L o n g f r a g m e n t 用抗体と抗体 B、および L o n g f r a g m e n t 用抗体と抗体 C の 3 パターンであり、該組み合わせにより E L I S A を行った。縦軸は S 3 8 A A l o n g f r a g m e n t の定量値を、横軸は各サンプルを示している。T S U M から始まる番号は健常者、A S U M から始まる番号は A D 患者を表している。

10

【図 1 6】図 1 6 は、図 1 4 および 1 5 の結果から、減算法によりヒト血漿中 S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t の定量を行った際の、各サンプルにおける定量値を示す。縦軸は S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t の定量値を、横軸は各サンプルを示している。T S U M から始まる番号は健常者、A S U M から始まる番号は A D 患者を表している。

【発明を実施するための形態】

【0014】

本明細書において「アルツハイマー病」には、前記の「家族性アルツハイマー病」と「孤発性アルツハイマー病」のいずれもが含まれる。

20

本発明において、「アルツハイマー病に罹患している」すなわち「アルツハイマー病患者である」とは、記憶や認知機能の障害に基づく臨床診断または脳の萎縮などに基づく画像診断によってアルツハイマー病を発症していると診断され得る状態をいう。

【0015】

本明細書において「アルツハイマー病を発症している」とは、アルツハイマー病の臨床診断基準、例えば、米国立神経疾患・脳卒中研究所とアルツハイマー病・関連障害協会（N I N C D S - A D R D A）の診断基準、または、米国立老化研究所とアルツハイマー病協会（N I A - A A）によるアルツハイマー病改訂診断基準（以下、「アルツハイマー病改訂診断基準（2011）」と略記する。）等に基づきアルツハイマー病と診断された状態を示す。

30

いずれの診断基準も、記憶障害を中心とする認知機能障害の存在、緩徐な発症と進行性の経過、認知機能の障害に伴う社会生活や日常生活動作の障害、非 A D 型認知症の鑑別・除外、等が、診断の指標となっている。

【0016】

また、アルツハイマー病を発症している状態は、その症状の重篤度に応じて 3 段階（軽度、中等度（または中度）、高度（または重度）、または、第一期（または健忘期）、第二期（または混乱期）、第三期（または臥床期））に大別される。重篤度の評価は、認知機能障害の程度を測定するミニメンタルステイト検査（M M S E）、日常生活動作を主体に重症度を判定する認知症機能評価別病期分類（F A S T）、臨床的に重症度を判定する臨床認知症尺度（C D R）等の他、臨床試験で用いられるアルツハイマー病認知機能評価尺度（A D A S - c o g）や高度認知機能障害検査（S I B）等を用いて行うことができる。

40

【0017】

アルツハイマー病における認知機能の障害の程度を評価する方法としては、例えば、ミニメンタルステイト検査（M M S E）のスコアを判断基準の一つとして使用することができ、0～30 点のスケールのうち、目安として、9 点以下は重度アルツハイマー病、10～19 点が中等度アルツハイマー病、20～23 点が軽度アルツハイマー病、24 点以上は軽度認知障害ないし正常と判定されている。

【0018】

50

本明細書において「アルツハイマー病予備群」(Pre-Alzheimer's disease)、すなわち「アルツハイマー病への罹患可能性のある者(ヒト)」、「アルツハイマー病ハイリスク群の者(ヒト)」としては、上述の診断ではまだアルツハイマー病を発症していると診断され得ないが、脳組織でのA β やタウ蛋白の蓄積が始まっており近い将来アルツハイマー病を発症する可能性が高いアルツハイマー病発症前段階の状態、すなわち脳組織でのA β やタウ蛋白が蓄積している状態(Preclinical ADともいう)のヒトが挙げられる。ここで、脳組織でのA β あるいはタウ蛋白の蓄積は、アミロイドPETあるいはタウPETや脳髄液中のA β あるいはリン酸化タウ等をバイオマーカーとして確認することができる。

【0019】

本明細書において「発症前段階のアルツハイマー病(Preclinical AD)」とは、前記のアルツハイマー病改訂診断基準(2011)におけるPreclinical ADの研究基準で定義されているとおり、アルツハイマー病の病態を示唆するバイオマーカー陽性であるが、認知機能は正常または軽度認知障害(MCI)の診断基準を満たさないごく軽微な認知機能障害のみを認める状態である。

また、アルツハイマー病に罹患していると診断されないが、軽度認知障害と診断される状態のヒトは、当該症状がアルツハイマー病の前兆の症状であり、将来アルツハイマー病に罹患する可能性があることから、「アルツハイマー病への罹患可能性のある者(ヒト)」に含まれる。

【0020】

本明細書において「軽度認知障害(または軽度認知機能障害)」(MCI)とは、正常と認知症の中間の状態、認知機能が正常域を越えて悪いが、日常生活は保たれており、認知症とは診断されない状態、すなわち認知症の前駆状態を示す。

軽度認知障害の診断は、例えば、2003年のMCI Key Symposiumで提唱された診断基準(Winblad B等、(2004) J. Intern. Med. 256: 240-246)、または前記のNIA-AAによるアルツハイマー病改訂診断基準(2011)に記載された軽度認知障害の診断基準等に基づき行うことができる。

認知症の重症度の評価尺度を指標とした場合、目安として、CDR(Clinical Dementia Rating)スコアが0.5(認知症の疑い)、または、FAST(Functinal Assessment Staging)ステージが3(認知症の疑い)の状態が、軽度認知障害に相当する。また、前述のMMSEスコアを指標とした場合は、目安として、スコアが24以上でありアルツハイマー病と診断されない状態が軽度認知障害に相当し、同スコアが24~28であれば、軽度認知障害である可能性が高いと言える。

【0021】

1. 本発明のポリペプチド

本発明者らは、まず、AD患者の血液では、S38AAの膜外部分で切断を受けて生じるS38AA long fragment量が上昇していることを見出し、さらにAD患者の血液では、該long fragmentのC末端側を特異的に切断する酵素が存在するか、または該酵素の活性が高く、S38AA short fragment量が大きく上昇しており、かつ血中のS38AA short fragment量は、アルツハイマー病の重篤度(認知機能障害の進行度)が軽度、中程度および重症のいずれであっても健常人に比べて高いこと、さらに中等度および重度では軽度に比べて高いことを見出し、該S38AA short fragment量が高精度のアルツハイマー病の発症や予備群の判定の指標として極めて高い信頼性を有することを見出した。

従って、本発明は、まず、S38AA short fragmentである配列番号1で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド(配列番号3で表されるS38AAのアミノ酸配列(1~1119)のうち、617番目~1049番目のアミノ酸配列部分に相当)、およびS38AA long fragmentである配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド(配列番号3で表されるS38AAのアミノ酸配列(1~111

10

20

30

40

50

9)のうち、399番目～1049番目のアミノ酸配列部分に相当)を提供するものである。

【0022】

また、S38AA short fragmentは、後述する配列番号1で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドに特異的に結合する抗体により認識される限り、該アミノ酸配列において、1～数個のアミノ酸が置換、欠失、付加または挿入されていてもよい。同様に、S38AA long fragmentは、後述する配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドに特異的に結合する抗体により認識される限り、該アミノ酸配列において、1～数個のアミノ酸が置換、欠失、付加または挿入されていてもよい。ここで、数個とは、特に限定されず、例えば、2～10個であってもよいし、2～8個であってもよいし、2～6個であってもよいし、2～4個であってもよいし、2～3個であってもよいし、2個であってもよい。

10

【0023】

S38AA short fragmentは、適宜そのN末端、C末端、または側鎖において当業者に周知の方法、例えば、N末端のアセチル基修飾、C末端のアミド基修飾、N末端および／またはC末端へのタンパク質タグ(Hisタグ等)の付加、および側鎖への糖鎖の付加等で修飾されていてもよい。

【0024】

本発明のポリペプチドは、公知のペプチド合成法、例えば、固相合成法、液相合成法等に従って製造することができる。得られたポリペプチドは、公知の精製法、例えば、溶媒抽出、蒸留、カラムクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィー、再結晶、これらの組み合わせ等により精製単離することができる。

20

【0025】

また、本発明のポリペプチドは、それをコードする核酸を含有する形質転換体を培養し、得られる培養物からポリペプチドを分離精製することによって製造することもできる。本発明のポリペプチドをコードする核酸はDNAであってもRNAであってもよく、あるいはDNA/RNAキメラであってもよいが、好ましくはDNAである。該核酸は二本鎖であっても、一本鎖であってもよい。二本鎖の場合は、二本鎖DNA、二本鎖RNAまたはDNA:RNAのハイブリッドでもよい。一本鎖の場合は、センス鎖(すなわち、コード鎖)であっても、アンチセンス鎖(すなわち、非コード鎖)であってもよい。

30

【0026】

本明細書において、「配列番号」と「配列番号:」は同義である。例えば、「配列番号1」と「配列番号:1」は同義である。

【0027】

本発明のポリペプチドをコードするDNAとしては、合成DNAなどが挙げられ、自体公知の方法、例えば、Reverse Transcriptase-PCR法とODALA-PCR法、Gapped duplex法、Kunkel法等を用いて、あるいはコロニーもしくはプラークハイブリダイゼーション法またはPCR法を用いて取得することができる。

【0028】

40

2. 抗S38AA抗体

本明細書において用いられる「抗S38AA抗体」としては、S38AAを特異的に認識する抗体、あるいはS38AA long fragmentおよび／またはS38AA short fragmentを特異的に認識する抗体であれば特に限定されず、例えば、S38AA long fragmentのN末端側領域を認識する抗体、S38AA long fragmentのC末端側領域を認識する抗体、S38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentに共通するC末端側領域を認識する抗体等が挙げられる。

【0029】

抗S38AA抗体は、市販の抗S38AA抗体、公知の手法を用いて製造されるポリク

50

ローナルまたはモノクローナル抗体、あるいはこれらのフラグメント（例えば、F a b、F (a b ')₂、S c F v、m i n i b o d y等）であってもよい。

【0030】

本発明で使用される抗S38AA抗体としては、哺乳動物由来のモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体が好ましい。

哺乳動物由来のモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体としては、動物の血中に産生されるもの、ハイブリドーマに産生されるもの、および遺伝子工学的手法により抗体遺伝子を含む発現ベクターで形質転換した宿主に産生されるもの、ファージディスプレイにより1兆個の分子からなる莫大なクローンライブラリーから最適抗体がスクリーニングされ、その遺伝子からCHO細胞により大量生産されるもの、もしくは、ヒトの抗体を生産するトランスジェニックマウスから直接得られるヒト抗体などが挙げられる。

モノクローナル抗体およびポリクローナル抗体は当業者に公知の方法によって作製することができる。

【0031】

(1) モノクローナル抗体の作製

本発明のポリペプチドが、哺乳動物に対して投与により抗体産生が可能な部位にそれ自体あるいは担体、希釈剤とともに投与される。投与に際して抗体産生能を高めるため、完全フロイントアジュバントや不完全フロイントアジュバントを投与してもよい。投与は通常2～6週毎に1回ずつ、計2～10回程度行なわれる。用いられる哺乳動物としては、例えば、サル、ウサギ、イヌ、モルモット、マウス、ラット、ヒツジ、ヤギが挙げられるが、マウスおよびラットが好ましく用いられる。

【0032】

モノクローナル抗体産生細胞の作製に際しては、抗原を免疫された哺乳動物、例えば、マウスから抗体価の認められた個体を選択し最終免疫の2～5日後に脾臓またはリンパ節を採取し、それらに含まれる抗体産生細胞を骨髓腫細胞と融合させることにより、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマを調製することができる。抗血清中の抗体価の測定は、例えば、後記の標識化S38AAと抗血清とを反応させた後、抗体に結合した標識剤の活性を測定することにより行なうことができる。融合操作は既知の方法、例えば、ケーラーとミルスタインの方法[Nature, 256, 495 (1975年)]に従い実施することができる。融合促進剤としては、例えば、ポリエチレングリコール(PEG)やセンダイウィルスなどが挙げられるが、好ましくはPEGが用いられる。さらに、融合効率を高めるためにジメチルスルホキシド等の補助剤を適宜使用することもできる。

【0033】

骨髓腫細胞としては、例えば、NS-1、P3U1、SP2/0などが挙げられるが、P3U1が好ましく用いられる。用いられる抗体産生細胞(脾臓細胞)数と骨髓腫細胞数との好ましい比率は1:1～20:1程度であり、PEG(好ましくは、PEG1000～PEG6000)が10～80%程度の濃度で添加され、約20～40℃、好ましくは約30～37℃で約1～10分間インキュベートすることにより効率よく細胞融合を実施できる。

【0034】

モノクローナル抗体産生ハイブリドーマのスクリーニングには種々の方法が使用できるが、例えば、蛋白質等の抗原を直接あるいは担体とともに吸着させた固相(例、マイクロプレート)にハイブリドーマ培養上清を添加し、次に放射性物質や酵素などで標識した抗免疫グロブリン抗体(細胞融合に用いられる細胞がマウスの場合、抗マウス免疫グロブリン抗体が用いられる)またはプロテインAを加え、固相に結合したモノクローナル抗体を検出する方法、抗免疫グロブリン抗体またはプロテインAを吸着させた固相にハイブリドーマ培養上清を添加し、放射性物質や酵素などで標識した蛋白質等を加え、固相に結合したモノクローナル抗体を検出する方法などが挙げられる。

【0035】

モノクローナル抗体の選別は、自体公知あるいはそれに準じる方法に従って行なうこと

ができるが、通常はHAT（ヒポキサンチン、アミノプテリン、チミジン）を添加した動物細胞用培地などで行なうことができる。選別および育種用培地としては、ハイブリドーマが生育できるものならばどのような培地を用いても良い。例えば、1～20%、好ましくは10～20%のウシ胎児血清を含むRPMI 1640培地、1～10%のウシ胎児血清を含むGIT培地（和光純薬工業（株））またはハイブリドーマ培養用無血清培地（SFM-101、日水製薬（株））などを用いることができる。培養温度は、通常20～40℃、好ましくは約37℃である。培養時間は、通常5日～3週間、好ましくは1週間～2週間である。培養は、通常5%炭酸ガス下で行なうことができる。ハイブリドーマ培養上清の抗体価は、上記の抗血清中の抗体価の測定と同様にして測定できる。

【0036】

モノクローナル抗体の分離精製は、通常のポリクローナル抗体の分離精製と同様に免疫グロブリンの分離精製法〔例、塩析法、アルコール沈殿法、等電点沈殿法、電気泳動法、イオン交換体（例、DEAE）による吸脱着法、超遠心法、ゲルろ過法、抗原結合固相またはプロテインAあるいはプロテインGなどの活性吸着剤により抗体のみを採取し、結合を解離させて抗体を得る特異的精製法〕に従って行なうことができる。

【0037】

（2）ポリクローナル抗体の作製

本発明のポリペプチドに対するポリクローナル抗体は、それ自体公知あるいはそれに準じる方法にしたがって製造することができる。例えば、免疫抗原（蛋白質等の抗原）とキャリアー蛋白質との複合体を作り、上記のモノクローナル抗体の製造法と同様に哺乳動物に免疫を行なうかニワトリに免疫を行ない、該免疫動物からS38AAに対する抗体含有物を採取して、抗体の分離精製を行なうことにより製造できる。

【0038】

哺乳動物およびニワトリを免疫するために用いられる免疫抗原とキャリアー蛋白質との複合体に関し、キャリアー蛋白質の種類およびキャリアーとハプテンとの混合比は、キャリアーに架橋させて免疫したハプテンに対して抗体が効率良くできれば、どのようなものをどのような比率で架橋させてもよいが、例えば、ウシ血清アルブミン、ウシサイログロブリン、キーホール・リンペット・ヘモシアニン等を重量比でハプテン1に対し、約0.1～20、好ましくは約1～5の割合でカプルさせる方法が用いられる。

また、ハプテンとキャリアーのカップリングには、種々の縮合剤を用いることができるが、グルタルアルデヒドやカルボジイミド、マレイミド活性エステル、チオール基、ジチオピリジル基を含有する活性エステル試薬等が用いられる。

【0039】

縮合生成物は、哺乳動物またはニワトリに対して、抗体産生が可能な部位にそれ自体あるいは担体、希釈剤とともに投与される。投与に際して抗体産生能を高めるため、完全フロイントアジュバントや不完全フロイントアジュバントを投与してもよい。投与は、通常約2～6週毎に1回ずつ、計約3～10回程度行なうことができる。

【0040】

ポリクローナル抗体は、上記の方法で免疫された哺乳動物の血液、腹水、母乳など、好ましくは血液から採取することができ、ニワトリの場合は血液および卵黄から採取できる。

抗血清中のポリクローナル抗体価の測定は、上記の血清中の抗体価の測定と同様にして測定できる。ポリクローナル抗体の分離精製は、上記のモノクローナル抗体の分離精製と同様の免疫グロブリンの分離精製法に従って行なうことができる。

【0041】

本発明におけるポリクローナル抗体として、例えばウサギ由来抗S38AAポリクローナル抗体（以下、「MBL」、または「long fragment用抗体」とも称する。）が挙げられる。long fragment用抗体は、S38AA long fragmentを特異的に認識し、S38AA short fragmentを認識しない特徴を有する。long fragment用抗体は、抗体A、B、またはCとともに用いることで、後述のLong ELISAに使用することができる。

【0042】

(3) S38AA short fragmentを特異的に認識する抗体

本発明の一態様として、配列番号1で表されるS38AA short fragmentを特異的に認識する抗体が挙げられる。S38AA short fragmentを特異的に認識する抗体として、例えばS38AA short fragmentのC末端配列またはN末端配列を認識する抗体を挙げることができる。S38AA short fragmentを特異的に認識する抗体は、当業者に周知の方法で作成することができる。例えば、S38AA short fragmentのN末端（配列番号3で表されるアミノ酸配列における617番目のグリシン）から数アミノ酸のペプチドを免疫抗原とし、それよりもさらにN末端側に数アミノ酸が付加されたペプチド、あるいはS38AA long fragmentに対しては陰性となる抗体を選択することで取得できる。具体的には、モノクローナル抗体あるいはポリクローナル抗体をそれぞれ上記（1）あるいは（2）の方法に準拠して取得できる。

10

S38AA short fragmentを特異的に認識する抗体としては、例えば、後述の抗体A、抗体Bまたは抗体Cが挙げられる。

【0043】

抗体A（以下、「マウス由来の抗S38AAモノクローナル抗体A」とも称する。）は、S38AAのC末端側領域を認識する抗体であり、S38AA断片のC末端アミノ酸配列の一部のペプチドを免疫源として抗体産生ハイブリドーマを樹立し、分離精製した抗体を意味する。抗体AはS38AA short fragmentおよびS38AA long fragmentを特異的に認識する特徴を有する。抗体Aは、「long fragment用抗体」とともに、Long ELISAに用いることができる。抗体Aは、抗体BまたはCとともに使用することで、後述のTotal ELISAに使用することができる。

20

【0044】

抗体Aとしては、好ましくは、以下：

- (1) 配列番号4の重鎖可変領域を含む抗体、
- (2) 配列番号6の重鎖可変領域を含む抗体、
- (3) 配列番号8の重鎖可変領域を含む抗体、および
- (4) 配列番号10の重鎖可変領域を含む抗体、

からなる群から選択される抗体が挙げられる。

30

【0045】

抗体Aとしては、別の好ましい態様としては、以下：

- (1) 配列番号5の軽鎖可変領域を含む抗体、
- (2) 配列番号7の軽鎖可変領域を含む抗体、
- (3) 配列番号9の軽鎖可変領域を含む抗体、および
- (4) 配列番号11の軽鎖可変領域を含む抗体、

からなる群から選択される抗体が挙げられる。

【0046】

抗体Aとしては、より好ましくは、以下：

- (1) 配列番号4の重鎖可変領域、および配列番号5の軽鎖可変領域を含む抗体、
- (2) 配列番号6の重鎖可変領域、および配列番号7の軽鎖可変領域を含む抗体、
- (3) 配列番号8の重鎖可変領域、および配列番号9の軽鎖可変領域を含む抗体、および
- (4) 配列番号10の重鎖可変領域、および配列番号11の軽鎖可変領域を含む抗体、

からなる群から選択される抗体が挙げられる。

40

【0047】

抗体Bは、S38AAのC末端側領域を認識する抗体であり、S38AA断片のC末端アミノ酸配列の一部のペプチドを免疫源として抗体産生ハイブリドーマを樹立し、分離精製した抗体を意味する。抗体Bは、S38AA short fragmentおよびS38AA long fragmentを特異的に認識する特徴を有する。抗体Bは、「lo

50

ng fragment用抗体」とともに、Long ELISAに用いることができる。抗体Bは、抗体AまたはCとともに使用することで、Total ELISAに使用することができる。

【0048】

抗体Bとしては、好ましくは、以下：

- (5) 配列番号12の重鎖可変領域を含む抗体、
 - (6) 配列番号14の重鎖可変領域を含む抗体、
 - (7) 配列番号16の重鎖可変領域を含む抗体、および
 - (8) 配列番号18の重鎖可変領域を含む抗体、
- からなる群から選択される抗体が挙げられる。

10

【0049】

抗体Bとしては、別の好ましい態様としては、以下：

- (5) 配列番号13の軽鎖可変領域を含む抗体、
 - (6) 配列番号15の軽鎖可変領域を含む抗体、
 - (7) 配列番号17の軽鎖可変領域を含む抗体、および
 - (8) 配列番号19の軽鎖可変領域を含む抗体、
- からなる群から選択される抗体が挙げられる。

【0050】

抗体Bとして、より好ましくは、以下：

- (5) 配列番号12の重鎖可変領域、および配列番号13の軽鎖可変領域を含む抗体、
 - (6) 配列番号14の重鎖可変領域、および配列番号15の軽鎖可変領域を含む抗体、
 - (7) 配列番号16の重鎖可変領域、および配列番号17の軽鎖可変領域を含む抗体、および
 - (8) 配列番号18の重鎖可変領域、および配列番号19の軽鎖可変領域を含む抗体、
- からなる群から選択される抗体が挙げられる。

20

【0051】

抗体Cは、S38AAのC末端側領域を認識する抗体であり、S38AA long fragmentの大腸菌組換えタンパク質を免疫源として抗体産生ハイブリドーマを樹立し、分離精製した抗体を意味する。抗体Cは、S38AA short fragmentおよびS38AA long fragmentを特異的に認識する特徴を有する。抗体Cは、「long fragment用抗体」とともに、Long ELISAに用いることができる。抗体Cは、抗体AまたはBとともに使用することで、Total ELISAに使用することができる。

30

【0052】

抗体Cとして、好ましくは、以下：

- (9) 配列番号20の重鎖可変領域を含む抗体、および
 - (10) 配列番号22の重鎖可変領域を含む抗体
- からなる群から選択される抗体が挙げられる。

【0053】

抗体Cとしては、別の好ましい態様としては、以下：

- (9) 配列番号21の軽鎖可変領域を含む抗体、および
 - (10) 配列番号23の軽鎖可変領域を含む抗体
- からなる群から選択される抗体が挙げられる。

40

【0054】

抗体Cとして、より好ましくは、以下：

- (9) 配列番号20の重鎖可変領域、および配列番号21の軽鎖可変領域を含む抗体、および
 - (10) 配列番号22の重鎖可変領域、および配列番号23の軽鎖可変領域を含む抗体
- からなる群から選択される抗体が挙げられる。

50

【0055】

本発明の抗体A、BおよびCが、S38AA short fragmentおよびS38AA long fragmentを特異的に認識し得る限り、該各抗体は、それに含まれる上記可変領域のアミノ酸配列と90%以上、好ましくは95%以上、より好ましくは96%以上、より一層好ましくは97%以上、さらに好ましくは98%、さらに一層好ましくは99%以上、最も好ましくは99.5%以上の相同性を有する可変領域を含むものであってもよい。

【0056】

本明細書において「相同性」とは、当該技術分野において公知の数学的アルゴリズムを用いて2つのアミノ酸配列をアラインさせた場合の、最適なアラインメント（好ましくは、該アルゴリズムは最適なアラインメントのために配列の一方もしくは両方へのギャップの導入を考慮し得るものである）における、オーバーラップする全アミノ酸残基に対する同一アミノ酸および類似アミノ酸残基の割合（%）を意味する。

本明細書におけるアミノ酸配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool) を用い、以下の条件（期待値=10；ギャップを許す；マトリクス=BLOSUM62；フィルタリング=OFF）にて計算することができる。アミノ酸配列の相同性を決定するための他のアルゴリズムとしては、例えば、Karlinら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 5873-5877 (1993) に記載のアルゴリズム [該アルゴリズムはNBLASTおよびXBLASTプログラム(version 2.0)に組み込まれている(Altschulら、Nucleic Acids Res., 25: 3389-3402 (1997))、Needlemanら、J. Mol. Biol., 48: 444-453 (1970) に記載のアルゴリズム [該アルゴリズムはGCGソフトウェアパッケージ中のGAPプログラムに組み込まれている]、MyersおよびMiller, CABIOS, 4: 11-17 (1988) に記載のアルゴリズム [該アルゴリズムはGCG配列アラインメントソフトウェアパッケージの一部であるALIGNプログラム(version 2.0)に組み込まれている]、Pearsonら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 2444-2448 (1988) に記載のアルゴリズム [該アルゴリズムはGCGソフトウェアパッケージ中のFASTAプログラムに組み込まれている] 等が挙げられ、それらも同様に好ましく用いられ得る。

【0057】

また、本発明の抗体A、BおよびCに含まれるCDRについて、該抗体が、S38AA short fragmentおよびS38AA long fragmentを特異的に認識し得る限り、1つのCDRのアミノ酸配列につき、1～数個（2、3、4、5等）、好ましくは2個以内、より好ましくは1つのアミノ酸が置換、欠失、挿入、および／または付加されていてもよい。また、上記各抗体が有するアミノ酸が置換、欠失、挿入、および／または付加されたCDRの数は、該各抗体が、S38AA short fragmentおよびS38AA long fragmentを特異的に認識し得る限り、特に限定されないが、1つの軽鎖可変領域につき、好ましくは2つ以内、より好ましくは1つであり、1つの重鎖可変領域につき、好ましくは2つ以内、より好ましくは1つである。アミノ酸の置換、欠失、挿入、および／または付加は、軽鎖可変領域と重鎖可変領域の両方において行われてもよく、いずれか一方のみにおいて行われてもよい。

【0058】

例えば、「類似アミノ酸」とは物理化学的性質において類似したアミノ酸を意味し、例えば、芳香族アミノ酸（Phe、Trp、Tyr）、脂肪族アミノ酸（Ala、Leu、Ile、Val）、極性アミノ酸（Gln、Asn）、塩基性アミノ酸（Lys、Arg、His）、酸性アミノ酸（Glu、Asp）、水酸基を有するアミノ酸（Ser、Thr）、側鎖の小さいアミノ酸（Gly、Ala、Ser、Thr、Met）などの同じグループに分類されるアミノ酸が挙げられる。このような類似アミノ酸による置換はタンパク

質の表現型に変化をもたらさない（即ち、保存的アミノ酸置換である）ことが予測される。保存的アミノ酸置換の具体例は当該技術分野で周知であり、種々の文献に記載されている（例えば、Bowieら, Science, 247:1306-1310 (1990) を参照）。

【0059】

1または複数のアミノ酸残基を目的の他のアミノ酸に置換する方法としては、例えば、部位特異的変異誘発法（Hashimoto-Gotoh, T, Mizuno, T, Ogasahara, Y, and Nakagawa, M. (1995) An oligodeoxyribonucleotide-directed dual amber method for site-directed mutagenesis. Gene 152, 271-275、Zoller, MJ, and Smith, M. (1983) Oligonucleotide-directed mutagenesis of DNA fragments cloned into M13 vectors. Methods Enzymol. 100, 468-500、Kramer, W, Drutsa, V, Jansen, HW, Kramer, B, Pflugfelder, M, and Fritz, HJ (1984) The gapped duplex DNA approach to oligonucleotide-directed mutation construction. Nucleic Acids Res. 12, 9441-9456、Kramer W, and Fritz HJ (1987) Oligonucleotide-directed construction of mutations via gapped duplex DNA Methods. Enzymol. 154, 350-367、Kunkel, TA (1985) Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection. Proc Natl Acad Sci USA. 82, 488-492) が挙げられる。該方法を用いて、抗体の所望のアミノ酸を目的の他のアミノ酸に置換することができる。また、フレームワークシャッフリング（Mol Immunol. 2007 Apr; 44 (11): 3049-60) およびCDR修復（US 2006/0122377）等のライブラリー技術を用いることにより、フレームワークおよびCDRにおけるアミノ酸を適切な他のアミノ酸に置換することも可能である。

【0060】

3. アルツハイマー病の判定薬

本発明の判定薬はS38AA short fragment量を検出することが可能な1または複数種類の抗S38AA抗体を含み、アルツハイマー病に罹患しているか否かの判定、現在該疾患に罹患している可能性が高いか否かの判定だけでなく、アルツハイマー病予備群の判定、すなわち、まだ該疾患に罹患していないが、近い将来罹患する可能性が高いか否かの判定をすることができる。言い換えると、本発明の判定薬は、アルツハイマー病の重篤度が軽度、または中等度・重度のいずれであっても識別することができる。そのため、本発明においてアルツハイマー病の「判定」とは、既にアルツハイマー病に罹患しているか否かの判定、現在アルツハイマー病に罹患している可能性が高いか否かの判定だけでなく、まだアルツハイマー病に罹患していないが、近い将来罹患する可能性が高いか否かを判定することを包含する意味で使用される。

【0061】

4. アルツハイマー病を判定するためのキット

本発明は、アルツハイマー病を判定するためのキットを提供するものである。本発明のキットには、S38AA short fragment量を測定するための試薬が含まれる。本発明のキットを用いてS38AA short fragment量を測定することにより、アルツハイマー病を判定することができる。

本発明のキットは、S38AA short fragmentを定量可能な単一若しくは複数の抗体の組み合わせである抗S38AA抗体を含むものであり、具体的には、S38AA short fragmentを特異的に認識する抗体であるか、またはS38AA

long fragmentを認識しS38AA short fragmentを認識しない抗体、ならびにS38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentを共に認識する抗体の組み合わせが挙げられる。S38AA long fragmentを認識しS38AA short fragmentを認識しない抗体として、例えば、上述のS38AA long fragmentのN末端側領域を認識する抗体が挙げられる。また、S38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentを共に認識する抗体としては、S38AA long fragmentとS38AA short fragment共通のC末端側領域を認識する抗体が挙げられる。

本発明のキットに使用される抗体として好ましくは、long fragment用抗体、抗体A、抗体B、および／または抗体Cが挙げられる。

【0062】

また、抗体は、蛍光標識抗体、酵素標識抗体、ストレプトアビジン標識抗体、ビオチン標識抗体あるいは放射性標識抗体であってもよい。

抗S38AA抗体は、通常、水もしくは適当な緩衝液（例：TEバッファー、PBSなど）中に適当な濃度となるように溶解された水溶液の態様、あるいは凍結乾燥品の態様で、本発明のキットに含まれる。

また、S38AA short fragmentおよび／またはS38AA long fragment量を測定する際には、1種類の抗体で測定してもよいし、複数種類、好ましくは2種類の抗体を使用して測定（例えばサンドイッチELISA法など）してもよい。

【0063】

本発明のキットは、S38AA short fragmentの測定方法に応じて、当該方法の実施に必要な他の成分を構成としてさらに含んでもよい。例えば、ウエスタンブロッティングで測定する場合には、本発明のキットは、ブロッティング緩衝液、標識化試薬、ブロッティング膜等、検出試薬、標準液などをさらに含むことができる。ここで「標準液」としては、S38AA short fragmentおよび／またはS38AA long fragmentの精製標品、例えば、本発明のペプチドを水または適当な緩衝液（例：TEバッファー、ウシ胎児血清含有PBSなど）中に特定の濃度となるように溶解した水溶液が挙げられる。

【0064】

また、サンドイッチELISAで測定する場合には、本発明のキットは、上記に加え固着化抗体測定プレート、洗浄液等をさらに含むことができる。ラテックス凝集法を含む凝集法で測定する場合には、抗体コーティングしたラテックス、ゼラチン等を含むことができる。化学蛍光法、化学蛍光電子法で測定する場合には、抗体結合磁性粒子、適当な緩衝液を含むことができる。LC/MS、LC-MS/MSあるいはイムノクロマトグラフィー法を用いたS38AAの検出には、抗体コーティングしたカラムあるいはマイクロカラム、マイクロチップを検出機器の一部として、含むことができる。さらに時間分解蛍光測定法あるいはそれに類似した蛍光測定法であれば、複数のラベル化した抗S38AA抗体と必要な他の成分を構成として含んでもよい。

【0065】

本発明のキットとして、例えば、以下のものが挙げられる。なお、下記のキットに含まれる抗体に関しては、標識化されたもの（例えばペルオキシダーゼやビオチンによる標識等）であってもよく、標識化されていない場合は、別途抗体に結合して当該抗体を標識するための標識化抗体が含まれていてもよい。

1) 1または2種類の「S38AA short fragmentを特異的に認識する抗体」、洗浄液、発色試薬、反応停止液、希釈用緩衝液および標準液；

2) 1または2種類の「S38AA long fragmentのN末端側領域を認識する抗体」、1または2種類の「S38AA long fragmentのC末端側領域を認識する抗体（すなわち、S38AA long fragmentおよびS38AA s

10

20

30

40

50

hort fragmentに共通するC末端側領域を認識する抗体)」、洗浄液、発色試薬、反応停止液、希釈用緩衝液および標準液；

3)「S38AA short fragmentを特異的に認識する第一の抗体」、「S38AA short fragmentを認識する第二の抗体」、洗浄液、発色試薬、反応停止液、希釈用緩衝液および標準液；

4)「S38AA long fragmentのN末端側領域を認識する第1の抗体」および「S38AA long fragmentを認識する第2の抗体」、1または2種類の「S38AA long fragmentのC末端側領域を認識する抗体(すなわち、S38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentに共通するC末端側領域を認識する抗体)」、洗浄液、発色試薬、反応停止液、希釈用緩衝液および標準液。

10

【0066】

ここにおいて、「S38AA short fragmentを特異的に認識する抗体」、「S38AA short fragmentを特異的に認識する第一の抗体」、および「S38AA short fragmentを認識する第二の抗体」として好ましくは、抗体A、抗体Bおよび抗体Cが挙げられる。

ここにおいて、「S38AA long fragmentのN末端側領域を認識する抗体」および「S38AA long fragmentのN末端側領域を認識する第1の抗体」として好ましくは、「long fragment用抗体」が挙げられる。

ここにおいて、「S38AA long fragmentのC末端側領域を認識する抗体(すなわち、S38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentに共通するC末端側領域を認識する抗体)」として好ましくは、抗体A、抗体Bおよび抗体Cが挙げられる。S38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentを特異的に検出し得る抗S38AA long fragment抗体および抗S38AA short fragment抗体としては、例えば、「2. 本発明の抗体」に詳述されている抗体を挙げることができる。

20

【0067】

5. 本発明の方法

(1) アルツハイマー病の判定および試験方法

上述したように、本発明者らは、まず、AD患者の血液では、S38AAの膜外部分で切断を受けて生じるS38AA long fragment量が上昇していることを見出し、さらにAD患者の血液では、該long fragmentを特異的に切断する酵素が存在するか、または該酵素の活性が高く、あるいはS38AAの膜外部分で直接切断されることで生じるS38AA short fragment量が大きく上昇しており、かつ血中のS38AA short fragment量は、アルツハイマー病の重篤度(認知機能障害の進行度)が軽度、中等度・重度であるかどうかに関わらず上昇すること、さらに中等度および重度では軽度に比べて高いことを見出し、該S38AA short fragment量が高精度のアルツハイマー病の発症や予備群の判定、およびアルツハイマー病の進行の程度の判定の指標として極めて高い信頼性を有することを見出した。

30

従って、本発明は被検動物より採取した試料中のS38AA short fragmentを検出することにより、アルツハイマー病、例えば、軽度または中等度・重度のアルツハイマー病を判定する方法を提供するものである。

40

【0068】

本発明の判定方法は、アルツハイマー病に罹患しているか否かの判定、現在該疾患に罹患している可能性が高いか否かの判定だけでなく、まだ該疾患に罹患していないが、近い将来罹患する可能性が高いか否かの判定をすることもできる。

また本発明は、被検動物より採取した試料中のS38AA short fragmentを検出することにより、現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性を試験する方法も提供する。

上記可能性の判定および試験(結果)は、少なくとも医師によるアルツハイマー病の確

50

定診断を補助するために有用である。

【0069】

本発明の判定および試験方法は、被検動物より採取した試料中のS38AA short fragmentを検出することを特徴とする。また本発明の判定および試験方法は、具体的な工程として、例えば、(i)被検動物より採取した試料中のS38AA short fragmentを定量する工程、および(ii)(i)で定量したS38AA short fragmentの量を、健常動物より採取した試料中のS38AA short fragmentの量(以下、「対照値」という)と比較する工程を含んでもよい。

(ii)の比較の結果として、(i)で定量したS38AA short fragmentの量が、対照値よりも大きい場合、前記被検動物がアルツハイマー病に罹患している、または現在アルツハイマー病に罹患している可能性もしくは将来アルツハイマー病に罹患する可能性があることを示している。

10

さらに本発明の判定および試験方法は、上記工程に加えて、(iii)(ii)の結果に基づき、(i)で定量したS38AA short fragmentの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物がアルツハイマー病に罹患している、または現在アルツハイマー病に罹患している可能性もしくは将来アルツハイマー病に罹患する可能性がある」と判定する工程を含んでもよい。

【0070】

さらに本発明は、上述した通り血中のS38AA short fragmentの値がアルツハイマー病の重篤度(認知機能障害の進行度)が軽度、中等度、重度であるかどうかに関わらず上昇する、さらには中等度および重症では軽度に比べて高いため、アルツハイマー病の進行度の判定を補助する方法を提供するものである。

20

本発明の判定を補助する方法も、被検動物より採取した試料中のS38AA short fragmentを検出することを特徴とする。また本発明の判定を補助する方法は、具体的な工程として、例えば、(i)アルツハイマー病に罹患または罹患している可能性がある被検動物より採取した試料中のS38AA short fragmentを定量する工程、および(ii)(i)で定量したS38AA short fragmentの量を、該被検動物より過去に採取した試料中のS38AA short fragmentの量(以下、「対照値」という)と比較する工程を含んでもよい。

(ii)の比較の結果として、(i)で定量したS38AA short fragmentの量が、対照値よりも大きい場合、前記被検動物のアルツハイマー病が進行しているもしくはアルツハイマー病に罹患している可能性が高いことを示し、対照値よりも小さい場合に前記被検動物のアルツハイマー病が改善しているまたはアルツハイマー病に罹患していない可能性が高いことを示している。

30

本発明の判定を補助する方法は、上記工程に加えて、(iii)(ii)の結果に基づき、

(i)で定量したS38AA short fragmentの量が、対照値よりも大きい場合に、前記被検動物のアルツハイマー病が進行していると判定し、対照値よりも小さい場合に前記被検動物のアルツハイマー病が改善していると判定する工程を含んでもよい。

【0071】

40

そのうえ本発明は、上述した通り血中のS38AA short fragment量がアルツハイマー病の重篤度(認知機能障害の進行度)が軽度、中等度、重度であるかどうかに関わらず上昇し、さらには中等度および重症では軽度に比べて高いため、アルツハイマー病の治療中の患者あるいはアルツハイマーの発症を予防するための治療中のアルツハイマー病予備群について、その治療効果を評価する方法も提供する。

本発明の治療効果を評価する方法も、被検動物より採取した試料中のS38AA short fragmentを検出することを特徴とする。また本発明の治療効果を評価する方法は、具体的な工程として、例えば、(i)アルツハイマー病の投薬治療またはアルツハイマー病の発症を予防するための投薬治療を開始している被検動物より採取した試料中のS38AA short fragmentを定量する工程、および(ii)(i)で

50

定量した S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t の量を、該被検動物より過去に採取した試料（例：投薬治療開始前に採取した試料、投薬治療開始後であって（i）の採取時点より前に採取した試料）中の S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t の量（以下、「対照値」という）と比較する工程を含んでもよい。

（i i）の比較の結果として、（i）で定量した S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t の量が、対照値よりも大きい場合、現在の投薬治療（あるいは選定した治療薬）が有効でないことを示し、対照値よりも小さい場合、現在の投薬治療（あるいは選定した治療薬）が有効であることを示している。

本発明の治療効果を評価する方法は、上記工程に加えて、（i i i）（i i）の結果に基づき、（i）で定量した S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t の量が、対照値よりも大きい場合に、現在の投薬治療（あるいは選定した治療薬）が有効でないと評価し、対照値よりも小さい場合に、現在の投薬治療（あるいは選定した治療薬）が有効であると評価する工程を含んでもよい。

本明細書において、投薬治療に用いられる治療薬は、既に承認され上市されている治療薬のみでなく、臨床試験中の治験薬も含む概念である。すなわち本発明の治療効果を評価する方法は、臨床試験における薬効のモニター等にも利用することができる。

【0072】

本発明の方法の被検対象となり得る動物は、S 3 8 A A を発現するものであれば特に制限はなく、例えば、哺乳動物（例：ヒト、サル、ウシ、ブタ、ウマ、イヌ、ネコ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、ハムスター、モルモット、マウス、ラット等）、鳥類（例：ニワトリ等）などが挙げられる。好ましくは、哺乳動物、より好ましくはヒトである。

試料となる被検動物由来の生体試料は特に限定されないが、例えば、血液、血清、血漿、唾液、涙液、尿、脳脊髄液などが挙げられる。より好ましくは、血漿または脳脊髄液である。

血清や血漿は、常法に従って被検動物から採血し、液性成分を分離することにより調製することができる。脳脊髄液は、脊椎穿刺等の公知の手段により採取することができる。

【0073】

試料中の S 3 8 A A l o n g f r a g m e n t および S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t の検出（定量）は、公知の方法により実施することができる。例えば、ウエスタンブロッティング、ゲル電気泳動（例：S D S - P A G E、二次元ゲル電気泳動など）や、各種の分離精製法（例：イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、等電点クロマトグラフィー、キャピラリー電気泳動など）、イオン化法（例：電子衝撃イオン化法、フィールドディソープション法、二次イオン化法、高速原子衝突法、マトリックス支援レーザー脱離イオン化（M A L D I）法、エレクトロスプレーイオン化法など）、質量分析計（例：二重収束質量分析計、四重極型分析計、飛行時間型質量分析計、フーリエ変換質量分析計、イオンサイクロトロン質量分析計など）等により行うことができる。また、これら測定原理を応用した測定デバイスでの検出（定量）も本発明の方法に含まれる。

【0074】

また、S 3 8 A A l o n g f r a g m e n t および S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t の検出（定量）は、公知の免疫化学的方法（ネフロメトリー、競合法、イムノメトリック法、化学蛍光法、化学蛍光電子法およびサンドイッチ法等）で実施することもできる。これらの免疫化学的方法は、例えば、入江 寛編「ラジオイムノアッセイ」（講談社、昭和49年発行）、入江 寛編「続ラジオイムノアッセイ」（講談社、昭和54年発行）、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」（第3版）（医学書院、昭和62年発行）、「Methods in ENZYMOLOGY」Vol. 121 (Immunochemical Techniques (Part I: Hybridoma Technology and Monoclonal Antibodies))（アカデミックプレス社発行）などを参照することができる。

【0075】

具体的なS38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの検出（定量）方法としては、「S38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentに共通するC末端側領域を認識する抗体」を用いて得られる試料中のS38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの測定値から、「S38AA long fragmentのN末端側領域を認識する抗体」のみを用いて、または「S38AA long fragmentのN末端側領域を認識する抗体」と「S38AA long fragmentのC末端側領域を認識する抗体」とを組み合わせ用いて得られる試料中のS38AA long fragmentの測定値を減じることで、S38AA short fragment量

10

【0076】

ここにおいて、「S38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentに共通するC末端側領域を認識する抗体」として好ましくは、抗体A、B、およびCが挙げられる。

20

「S38AA long fragmentのN末端側領域を認識する抗体」として好ましくは、「long fragment用抗体」が挙げられる。

「S38AA long fragmentのC末端側領域を認識する抗体」として好ましくは、抗体A、B、およびCが挙げられる。

「S38AA short fragmentを特異的に認識する抗体」として好ましくは、抗体A、B、およびCが挙げられる。

【0077】

本発明における測定方法として、例えば、「Long ELISA」が挙げられる。「Long ELISA」は、S38AA long fragmentの量を検出（定量）する方法であり、「long fragment用抗体」、および「抗体A、BおよびCからなる群から選択される少なくとも一つの抗体」を用いたサンドイッチELISA法である特徴を有する。

30

【0078】

本発明における測定方法として、例えば、「Total ELISA」が挙げられる。「Total ELISA」は、「S38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの総量」を検出（定量）する方法であり、「抗体A、BおよびCからなる群から選択される少なくとも二つの抗体」を用いたサンドイッチELISA法である特徴を有する。

40

【0079】

本発明における「S38AA short fragmentの量を検出（定量）する方法」として、上記「Total ELISAでの測定結果（定量値）」から「Long ELISAでの測定結果（定量値）」を減算する方法が挙げられる。

【0080】

本発明の方法において用いられる「対照値」としては、対照試料中のS38AA short fragment量、または予め対照等について測定された、または設定されたS38AA short fragment量を用いてもよく、本発明の方法と同時に測定する必要はない。

ここで対照値を設定するために、複数個体を対照群として、複数個体の測定値の平均値

50

を対照値として用いることもできる。すなわち、対照値として、既に取得された対照群（健常動物、特定の進行度にあるアルツハイマー病に罹患した動物等）由来の対照試料中の S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t 量を使用して、上記判定等を行うことも、本発明の方法の範疇に包含される。

【0081】

例えば、健常動物由来の試料を対照試料として用いる場合、被検試料中の S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t 量が、対照試料中の該量よりも多い場合には、アルツハイマー病に罹患している、または現在アルツハイマーに罹患している可能性があるもしくは将来アルツハイマー病に罹患する可能性があるとは判定あるいは決定することができる。

また、特定の進行度にあるアルツハイマー病に罹患した動物由来の試料を対照試料として用いることにより、被検試料中の S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t 量が、対照試料中の該量よりも多い場合には、アルツハイマー病の進行度が対照とした該疾患に罹患した動物の進行度よりも高いと判定あるいは決定することができる。

【0082】

さらに、被検試料を採取した被検動物より過去に採取した試料を対照試料として用いることにより、被検試料中の S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t 量が、対照試料中の該量よりも多い場合には、アルツハイマー病が進行していると判定し、対照試料中の該量よりも少ない場合には、該疾患が改善していると判定することができる。

そのうえ、アルツハイマー病を発症している動物由来の対照試料および健常動物由来の対照試料等の複数の対照試料を用いることにより、被検試料における S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t 量が健常動物由来の対照試料よりも大きく、かつアルツハイマー病を発症している動物由来の対照試料よりも小さいことを指標として、アルツハイマー病予備群、すなわち、まだ該疾患を発症していると確定診断され得ないが、A β やタウ蛋白の蓄積が始まっており近い将来アルツハイマー病を発症する可能性が高いと判定することもできる。

【0083】

また、被検試料を採取したアルツハイマー病の投薬治療を開始している被検動物より過去に採取した試料を対照試料として用いることにより、被検試料中の S 3 8 A A s h o r t f r a g m e n t 量が、対照試料中の該量よりも多い場合には、現在の投薬治療が有効でないと評価し、対照試料中の該量よりも少ない場合には、該投薬治療が有効であると評価することもできる。

【0084】

「被検動物より採取した試料中の配列番号1のポリペプチド」が、「健常動物より採取した試料中の配列番号1のポリペプチドの量（対照値）」より大きい場合に、被検動物が現在アルツハイマー病に罹患している可能性または将来アルツハイマー病に罹患する可能性があるとは判定することができる。

「被検動物より採取した試料中の配列番号1のポリペプチド」の量として好ましくは、対照値の1.1倍～10倍が挙げられる。より好ましくは1.1倍～8倍が挙げられる。更に好ましくは、1.2～5倍が挙げられる。最も好ましくは、1.2倍～3倍が挙げられる。

【0085】

「被検動物より採取した試料中の配列番号1のポリペプチド」が、「被検動物より過去に採取した試料中の前記ポリペプチドの量（対照値）」より大きい場合に、被検動物のアルツハイマー病が進行していると判定することができる。

「被検動物より採取した試料中の配列番号1のポリペプチド」の量として好ましくは、対照値の1.1倍～10倍が挙げられる。より好ましくは1.1倍～8倍が挙げられる。更に好ましくは、1.2～5倍が挙げられる。最も好ましくは、1.2倍～3倍が挙げられる。

【0086】

「被検動物より採取した試料中の配列番号1のポリペプチド」が、「被検動物より過去

10

20

30

40

50

に採取した試料中の前記ポリペプチドの量（対照値）」より小さい場合に、被検動物のアルツハイマー病が改善していると判定することができる。

「被検動物より採取した試料中の配列番号1のポリペプチド」の量として好ましくは、対照値の0.1倍～0.9倍が挙げられる。より好ましくは0.2倍～0.9倍が挙げられる。更に好ましくは、0.3～0.9倍が挙げられる。最も好ましくは、0.4倍～0.9倍が挙げられる。

【0087】

S38AA short fragmentの定量的解析は、試料中のS38AA short fragment量を標準タンパク質（内部標準タンパク質）の量で標準化することにより実施してもよい。すなわち、上記の方法を用いて、試料中のS38AA short fragment量と標準タンパク質の量を定量した後、両者のシグナルの比（S38AA short fragment／標準タンパク質）を算出し、試料中のS38AA short fragment量を、標準タンパク質の存在量との比で表せばよい。

標準タンパク質は、恒常的に一定量発現しているタンパク質であればよく、多くの組織や細胞中に共通して発現しているタンパク質が好ましい。例えば、細胞の生存に必須のタンパク質、例えば、RNA合成酵素、エネルギー生成系酵素、リボソームのタンパク質、細胞骨格タンパク質等の遺伝子（ハウスキーピング遺伝子）によりコードされるタンパク質が挙げられる。具体的には、特に限定されないが、例えば、βアクチン、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ（GAPDH）、βチューブリン等のタンパク質が挙げられる。特に好ましくは、βアクチンが挙げられる。

【0088】

また上述の対照値に替えて、血中のS38AA short fragment量のアルツハイマー病あるいは軽度認知障害に関するカットオフ値をあらかじめ設定しておき、被検動物の血中のS38AA short fragment量と該カットオフ値とを比較してもよい。

例えば、被検動物の血中のS38AA short fragment量がカットオフ値以上である場合には、被検動物がアルツハイマー病に罹患しているか、または現在アルツハイマー病に罹患している可能性もしくは将来アルツハイマー病に罹患する可能性を有すると判定することができる。

【0089】

「カットオフ値」は、その値を基準として疾患の判定をした場合に、高い診断感度（有病正診率）および高い診断特異度（無病正診率）の両方を満足できる値である。例えば、アルツハイマー病を発症した個体で高い陽性率を示し、かつ、アルツハイマー病を発症していない個体で高い陰性率を示す値をカットオフ値として設定することができる。

【0090】

カットオフ値の算出方法は、この分野において周知である。例えば、アルツハイマー病を発症した個体およびアルツハイマー病を発症していない個体における血中のS38AA short fragment量を算出し、算出された値における診断感度および診断特異度を求め、これらの値に基づき、市販の解析ソフトを使用してROC（Receiver Operating Characteristic）曲線を作成する。そして、診断感度と診断特異度が可能な限り100%に近いときの値を求めて、その値をカットオフ値とすることができる。また、例えば、多数の健常動物における血中のS38AA short fragment量の「平均値+2標準偏差」をカットオフ値とすることも好ましく、この値を用いれば良好な感度および特異性でアルツハイマー病を発症していると判定することが可能となる。また、例えば、ROC曲線から診断感度と診断特異度の尤度比が最大となるような値を求めて、その値をカットオフ値とすることで高感度にアルツハイマー病を判定することが可能となる。あるいは、ROC曲線において最も診断能が低い点、すなわちROC曲線下面積が0.5となる線から最も離れた点をカットオフ値にする、すなわち、「感度+特異度-1」を計算して、その値が最大値となる点をカットオフ値にすることも好ましい。

【0091】

本願明細書のリコンビナントタンパク質で換算した、S38AA short fragment量のカットオフ値として、例えば、45～75ユニットが挙げられる。カットオフ値として好ましくは、49～69ユニットが挙げられる。カットオフ値としてより好ましくは、54～64ユニットが挙げられる。カットオフ値としてより好ましくは、56～62ユニットが挙げられる。カットオフ値として更に好ましくは、58～61ユニットが挙げられる。カットオフ値として最も好ましくは、59ユニットが挙げられる。

カットオフ値として別の好ましい値として、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、および75ユニットが挙げられる。

10

【0092】

生体内に含まれるS38AA short fragment量のカットオフ値として、例えば、45～75 ng/mLが挙げられる。カットオフ値として好ましくは、49～69 ng/mLが挙げられる。カットオフ値としてより好ましくは、54～64 ng/mLが挙げられる。カットオフ値としてより好ましくは、56～62 ng/mLが挙げられる。カットオフ値として更に好ましくは、58～61 ng/mLが挙げられる。カットオフ値として最も好ましくは、59 ng/mLが挙げられる。

カットオフ値として別の好ましい値として、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、および75 ng/mLが挙げられる。

20

【0093】

本発明の方法は、アルツハイマー病の判定等に際して、S38AA short fragmentに加えて、他のアルツハイマー病の診断マーカーの変動を調べてもよい。他のアルツハイマー病の診断マーカーとしては、例えば、血漿バイオマーカーとしての可能性が研究されているA β 、ホモシステイン、ニューロフィラメント、種々の炎症関連タンパク質（C反応性蛋白、IL-1 β 、TNF、IL-6およびTGF β ）、コレステロール、タウ、リン酸化タウ等の公知のマーカーが挙げられ、これらは周知慣用の検出法に従って検出することができる。

30

【0094】

(2) アルツハイマー病の治療および予防方法

上記本発明のアルツハイマー病の判定方法等において、被検動物がアルツハイマー病に罹患している、現在アルツハイマーに罹患している可能性、または将来アルツハイマー病に罹患する可能性を有すると判定された場合、該判定結果に基づき該被検動物に投与すべきアルツハイマー病治療薬または予防薬を決定し、該被検動物に治療的有效量の該治療薬または予防薬を投与することにより、アルツハイマー病を治療または予防することができる。

本明細書において、「アルツハイマー病治療薬」には、アルツハイマー病の根治治療を目的とする医薬だけでなく、例えば、アルツハイマー病の進行抑制を目的とする医薬も含まれ、該進行抑制を目的とする医薬は、「アルツハイマー病予防薬」として用いられてもよい。

40

【0095】

アルツハイマー病治療薬としては、例えば、コリンエステラーゼ阻害薬、NMDA受容体拮抗薬、アミロイド β 除去薬および産生抑制薬、ならびにタウタンパク質除去薬および産生抑制薬が挙げられる。

コリンエステラーゼ阻害薬としては、例えば、ドネペジル、ガランタミン、リバスチグミン、フベルジンA、およびタクリンが挙げられる。

NMDA受容体拮抗薬としては、例えば、メマンチンが挙げられる。

アミロイド β 除去薬および産生抑制薬としては、例えば、アミロイド β ワクチン、アミ

50

ロイドβ除去抗体、アミロイドβ産生酵素阻害剤、アミロイドβ凝集抑制剤およびアミロイドβ分解促進剤が挙げられる。具体的には、CNP-520、E-2609、aducanumab、solanezumab、gantenerumab、crenezumab、amilomotide、ASD-005、HSH-971、ELND-005、ALZT-OP1、nilvadipine、ACI-24、UB-311、AFFITOPE AD-02、LY-3002813、BAN-2401、Neurostem-AD、CT-1812、ID-1201、NIC5-15、BI-425809、Posiphen、PQ-912、bryostatine-1、Apabetalone、PB T-2、RIV-1061-IR、MEDI-1814、PF-05236812、SAR-228810、Lu-AF20513、PRI-002、IRX-4204、GC-021109、AAD-2004、CTS-21166、LY-3323795、benfotiamine、bisnorcymserine、MDR-1339、KHK-6640、およびNPT-088が挙げられる。

10

タウタンパク質除去薬および産生抑制薬としては、例えば、タウタンパク質ワクチン、タウタンパク質除去抗体、タウタンパク質修飾抑制剤、タウタンパク質凝集抑制剤、およびタウタンパク質分解促進剤が挙げられる。具体的には、TRx-237、TPI-287、ABBV-8E12、RG-6100、AADvac1、RO7105705、PTI-80、JNJ-63733657、UCB-0107、BIIB-076、MC-1、ACI-35、およびAZP-2006が挙げられる。

20

上記治療薬は、患者の症状に合わせて、適宜組み合わせ使用してもよい。

【0096】

6. 本発明の治療薬

上記アルツハイマー治療薬は、その症状の重篤度（軽度、中等度、重度等）に応じて使用できるものが異なるため、上述の本発明のアルツハイマー病の進行度の判定を補助する方法の判定結果を用いて、被検動物に投与すべき治療薬を決定してもよい。

従って、本発明は、アルツハイマー病の進行度が判定された被検動物（患者）に用いられる、アルツハイマー病治療薬を提供するものである。

また、上述したようにAD患者の血液ではS38AA short fragment量が大きく上昇しており、かつ血中のS38AA long fragment量とアルツハイマー病の重篤度（認知機能障害の進行度）との間に正の相関があるため、本発明は、アルツハイマー病患者あるいはアルツハイマー病への罹患可能性のある者（ヒト）の生体内のS38AA short fragmentの量を減少させる薬剤、またはアルツハイマー病患者あるいはアルツハイマー病への罹患可能性のある者（ヒト）の生体内におけるS38AA short fragmentの産生を阻害する薬剤を有効成分として含有するアルツハイマー病の治療薬または予防薬を提供するものである。ここで患者あるいは罹患可能性のある者の生体内のS38AA short fragmentの量としては、患者あるいは罹患可能性のある者の生体内組織もしくは体液に含まれるS38AA short fragmentの量が挙げられ、具体的には、血液、脳脊髄液、尿、唾液または涙液等を挙げることができる。

30

S38AA short fragmentの量を減少させる薬剤としては、例えば、中和抗体が挙げられ、患者あるいは罹患可能性のある者の生体内のS38AA short fragmentと結合することにより、生体中の遊離のS38AA short fragmentを減少させることができる。S38AA short fragmentの産生を阻害する薬剤としては、例えば、S38AA long fragmentを切断しS38AA short fragmentを産生する酵素の阻害剤が挙げられ、それぞれ自体当業者に周知の方法により取得することができる。

40

【0097】

7. アルツハイマー病の治療薬または予防薬の候補物質の選別方法

本発明は、被検物質がS38AA short fragmentを除去するか否か、またはS38AA short fragmentの生成を阻害するか否かを指標とする、ア

50

ルツハイマー病の治療薬または予防薬の候補物質を選別する方法、および該方法により取得され得る物質を提供するものである。本発明の選別方法においては、血中のS38AA short fragmentの量を低減する物質、あるいはS38AA short fragmentの生成を下方制御する物質が、アルツハイマー病の治療薬または予防薬の候補物質として選別される。

【0098】

本発明の選別方法に供される被検物質は、いかなる公知化合物および新規化合物であってもよく、例えば、核酸、糖質、脂質、蛋白質、ペプチド、有機低分子化合物、コンビナトリアルケミストリー技術を用いて作製された化合物ライブラリー、ランダムペプチドライブラリー、あるいは微生物、動植物、海洋生物等由来の天然成分等が挙げられる。

10

【0099】

本発明の選別方法は、例えば(i)被検物質とS38AA short fragmentの生成を測定可能な細胞とを接触させる工程と、(ii)被検物質を接触させた細胞におけるS38AA short fragmentの生成量を測定し、該生成量と被検物質を接触させない対照細胞におけるS38AA short fragmentの生成量とを比較する工程、および(iii)(ii)の比較結果に基づいて、S38AA short fragmentの生成量を下方制御する被検物質を、アルツハイマー病の治療薬または予防薬の候補物質として選別する工程を含んでもよい。

また本発明の選別方法は、例えば、(i)被検物質とS38AA short fragmentを生成する酵素とを接触させる工程と、(ii)被検物質を接触させた酵素におけるS38AA short fragmentの生成量を測定し、該生成量と被検物質を接触させない対照酵素におけるS38AA short fragmentの生成量とを比較する工程、および(iii)(ii)の比較結果に基づいて、S38AA short fragmentの生成量を下方制御する被検物質を、アルツハイマー病の治療薬または予防薬の候補物質として選別する工程を含んでもよい。上記酵素の基質としては、S38AA short fragmentを生成する限り特に限定されないが、例えば、S38AA、S38AA long fragment、S38AA断片等が挙げられる。

20

【0100】

さらに、例えば、(i)被検物質とS38AA short fragmentとを接触させる工程と、(ii)被検物質を接触させた後に残存する遊離のS38AA short fragmentの存在量を測定し、該遊離のS38AA short fragment量と被検物質を接触させない場合の遊離のS38AA short fragment量とを比較する工程、および(iii)(ii)の比較結果に基づいて、S38AA short fragmentと結合し、遊離のS38AA short fragment量を下方制御する被検物質を、アルツハイマー病の治療薬または予防薬の候補物質として選別する工程を含んでもよい。該方法は、上述のS38AA short fragmentを生成する酵素とその基質を含む系に被検物質を添加することで行ってもよく、予め用意したS38AA short fragmentを含む系に被検物質を添加することで行ってもよい。また(i)の被検物質とS38AA short fragmentとを接触させる工程において、該接触によりS38AA short fragmentが沈降(例えば、免疫沈降等)してもよい。

30

40

【0101】

本発明の選別方法に用いる「細胞」とは、測定対象のS38AA short fragmentの生成レベルが評価可能な細胞をいう。該細胞としては、測定対象のS38AA short fragmentを天然で生成可能な細胞、刺激を加えることによりS38AA short fragmentを生成することができるS38AA発現細胞、あるいはS38AA short fragmentを生成できるように遺伝子組換えした細胞等が挙げられる。

【0102】

S38AA short fragmentを天然で生成可能な細胞は、特に限定されな

50

いが、当該細胞として、哺乳動物（例えば、ヒト、マウス等）の初代培養細胞、当該初代培養細胞から誘導された細胞株などを用いることができる。S38AAはU251細胞やSHSY-5Y細胞に発現していることが公知であり、BE(2)-C細胞、SK-N-MC細胞にもS38AAは発現している。公知技術を用いてS38AA、あるいはFLAGタグ等のラベル化S38AAなどを過剰発現させた遺伝子組換え細胞を作製することも可能である。S38AA発現細胞は、培養によりS38AAの切断等を経て、S38AA short fragmentが遊離する。生成されるS38AA short fragmentの量が少ない場合には、適宜、S38AAが切断等され易い条件で培養することにより、S38AA short fragmentの生成を測定することができる。S38AAが切断等され易い条件としては、例えば、グルコースを枯渇させた培地、あるいは脳に生理的に刺激を与えることが知られている物質を含む培地で培養することが挙げられる。当該物質としては、具体的には、TNF α 、インターフェロン γ 、インターロイキン1、インターロイキン6などのサイトカイン、アミロイドベータあるいはその凝集体などを例示することができる。

【0103】

被検物質とS38AA short fragmentの生成を測定可能な細胞との接触は、培養培地中で行われる。培養培地は、S38AA short fragmentの生成を測定可能な細胞に応じて適宜選択されるが、例えば、約5～20%のウシ胎仔血清を含む最少必須培地(MEM)、ダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)などである。培養条件も同様に適宜決定されるが、例えば、培地のpHは約6～約8であり、培養温度は通常約30～約40℃であり、培養時間は約0.1～約72時間である。

また、被検物質とS38AA short fragmentを生成する酵素との接触は、該酵素とその基質を含む反応系中で行われる。反応系の酵素濃度、基質濃度、pH、温度等、酵素基質、反応時間などは、適宜設定し得る。

ここで、S38AA short fragmentを生成する酵素として、当該酵素を含む溶液を用いることができる。当該溶液としては、S38AA short fragmentを生成可能な体液(血漿等)、臓器・組織抽出物、および細胞抽出物等が挙げられる。

【0104】

S38AA short fragmentの生成量の測定は、細胞の培養上清中または反応系中に遊離したS38AA short fragment量を、(5.本発明の方法)の項で述べた方法に従って測定することにより行うことができる。

【0105】

生成量の比較は、好ましくは、有意差の有無に基づいて行なわれ得る。なお、被検物質を接触させない対照細胞または酵素におけるS38AA short fragmentの生成量は、被検物質を接触させた細胞または酵素におけるS38AA short fragmentの生成量の測定に対し、事前に測定した生成量であっても、同時に測定した生成量であってもよい。

本発明の選別方法で得られる物質は、新たなアルツハイマー病の治療薬または予防薬の開発のための候補物質として有用である。

【実施例】

【0106】

以下に実施例を挙げて本発明を詳細に説明するが、本発明は何らこれらに限定されるものではない。

【0107】

実施例1：ヒト血漿中S38AA long fragmentのN末端切断部位の同定

AD患者由来の血漿中タンパク質をポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)により分離後、S38AA断片を含むゲル片を切り出し、トリプシンによるインゲル消化後に液体クロマトグラフィー質量分析法(LC-MS/MS)により分析し、測定データに対しMASCOT database searchを行い、S38AA断片の

N末端の配列を決定した。

【0108】

具体的な操作としては、複数人のAD患者の血漿を混合したサンプルを、4-12% Bis-Tris Gel (Invitrogen) にアプライし、SDS-PAGE (25 mA、110分、MOPSバッファー) によりタンパク質の分離を実施した。クマシーブリリアントブルー染色にてゲルを染色後、80-100 kDaに見られるバンドを切り出し、消化工程へと進めた。

【0109】

切り出したゲル片を96穴マイクロプレートに入れ、アセトニトリルを添加し、減圧遠心乾燥させ、10 mM DTT/100 mM NH_4HCO_3 を加え、インキュベーションを行った。溶媒除去後、55 mM $\text{ICH}_2\text{CONH}_2$ /100 mM NH_4HCO_3 を加え、インキュベーションした。溶媒除去後、100 mM NH_4HCO_3 を加え、ゲルを減圧遠心乾燥させ、0.1% RapiGest/25 mM NH_4HCO_3 を加え、インキュベーションを行った。その後、減圧遠心乾燥させ、酵素溶液 (50 mM NH_4HCO_3 、12.5 ng/ μL トリプシン) を添加し、酵素消化を行った。反応後、ペプチド溶液を別の96穴マイクロプレートに移し、アセトニトリル:miliQ:トリフルオロ酢酸 (TFA) = 500:500:1の混合溶媒をゲルに加え、得られたペプチド抽出液を減圧濃縮した。そこにTFAを加え、減圧濃縮をかけ、MS解析用サンプルとした。

【0110】

得られたサンプルをLC-MS/MSにより分析した。オービトラップ質量分析計により得られたデータを、S38AAタンパク質のアミノ酸配列に対してMASCOT database searchを実施したところ、S38AAタンパク質のアミノ酸配列のうち、複数のペプチドフラグメントが同定された (図1)。これらの配列のうち、最もN末端側にあるペプチドは399番目から413番目のアミノ酸配列であり、当該の配列を示すMS/MSスペクトルが観察された (図2)。また、この切断箇所は398番目のセリン (S) のC末端側にあった。消化酵素トリプシンの切断はリジン (K) かアルギニン (R) のC末端を特異的に切断する酵素であり、本フラグメントのセリン (S) のC末端側では切断反応が起こらないため、すでにこの部位で切断されていたことが示唆された。本ペプチドフラグメントが検出されたことにより、精製したS38AA断片のN末端側は、398番目から399番目のS/Eで切断されていることがわかった。ここで同定されたS38AA断片を、S38AA long fragmentという。

【0111】

実施例2：ヒト血漿中S38AA short fragmentのN末端切断部位の同定

S38AA Long fragmentのN末端を認識するウサギ由来抗S38AAポリクローナル抗体 (「MBL」、「S38AA long fragment用抗体」、または「long fragment用抗体」とも称する。) による免疫沈降法でS38AA long fragmentを取り除いたのち、マウス由来抗S38AAモノクローナル抗体A (S38AA断片のC末端アミノ酸配列の一部のペプチドを免疫源として抗体産生ハイブリドーマを樹立し、分離精製したもの; 抗体A)、マウス由来抗S38AAモノクローナル抗体B (S38AA断片のC末端アミノ酸配列の一部のペプチドを免疫源として抗体産生ハイブリドーマを樹立し、分離精製したもの; 抗体B) またはマウス由来抗S38AAモノクローナル抗体C (S38AA long fragmentの大腸菌組換えタンパク質を免疫源として抗体産生ハイブリドーマを樹立し、分離精製したもの; 抗体C) を用いて残存するS38AA断片を免疫沈降し、その画分を逆相カラムで精製し、トリプシンにより消化後、LC-MS/MSにより分析し、当該S38AA断片のN末端の配列を決定した。

【0112】

具体的な操作としては、AD患者の血漿の混合物にプロテアーゼ阻害剤 (cOmplete Tablets Mini、Roche) を含むPBSを加え、さらにProtei

10

20

30

40

50

n G Mag Sepharose Xtra (ビーズ、GEヘルスケア)を加え、混和させることにより内在性イムノグロブリンを除去した。ビーズを取り除いた上清に、long fragment用抗体を添加し、抗原抗体反応を実施した。混和後、新たにビーズを加え、long fragment用抗体および抗体に吸着したS38AA long fragmentを含んだ回収タンパク質を取り除いた。ビーズを取り除いた上清に、前述の抗体A、BまたはCを添加し、抗原抗体反応を実施した。混和後、新たにビーズを加え、その後ビーズを回収することにより当該抗体とこの抗体に吸着したS38AA断片を得た。免疫沈降で回収したビーズに、8M 尿素／1%TFA溶液を添加し、S38AA断片を溶出した。得られたS38AA断片を含む溶液を濃縮し、全量を逆相カラム(ZORBAX 300SB-C3、4.6x150 mm with guard column、Agilent)で分離した。分離条件は下表1の通りである。得られた各画分を、S38AA断片のC末端側領域を認識する2つの抗体によるサンドイッチELISAにて測定し、S38AA断片を含む画分を酵素溶液(1M NH₄HCO₃、10mM CaCl₂、1ng/μLトリプシン)にて消化し、得られたペプチドをGL-tip SDBおよびGL-tip GC(ジエルサイエンス)で濃縮した。

【0113】

得られたペプチドをLC-MS/MSにより分析した。Q-Exactive HF質量分析計により得られたデータを、SwissProt データベースに対してMASCOT database searchを実施したところ、S38AAが最も高いスコアで同定され、複数のペプチドフラグメントが同定された(図3)。これらの配列のうち、最もN末端側にあるペプチドは617番目から627番目の配列であり、当該の配列を示すMS/MSスペクトルが観察された(図4)。また、この切断個所は616番目のアスパラギン(N)のC末端側にあった。消化酵素トリプシンの切断はリジン(K)かアルギニン(R)のC末端を特異的に切断する酵素であり、本フラグメントのアスパラギン(N)のC末端側では切断反応が起こらないため、すでにこの部位で切断されていたことが示された。本ペプチドフラグメントが検出されたことより、精製したS38AA断片は、617番目から618番目のN/Gで切断されていることがわかった。ここで同定されたS38AA断片を、S38AA short fragmentという。

【0114】

【表 1】

表 1 逆相カラム精製分離条件

Flow 1ml/min		Temp 70
A: 0.1%TFA/H ₂ O		
B: 0.1%TFA/アセトニトリル		
グラジエント条件	min	%B
	0	20
	40	80
	41	95
	46	95
	47	20
	57	20

10

20

【0115】

実施例 3：ヒト血漿中 S38AA long fragment 断片の C 末端切断部位の同定

実施例 2 で使用した「ウサギ由来 S38AA long fragment 用ポリクローナル抗体 (long fragment 用抗体)」による抗体カラム精製法で S38AA long fragment を分取し、その画分を SDS-PAGE により分離後、S38AA long fragment を含むゲル片を切り出し、トリプシンによるインゲル消化後に LC-MS/MS により分析し、測定データに対し MASCOT database search を行い、S38AA long fragment の C 末端のフラグメントの配列を決定した。

30

【0116】

具体的な操作としては、複数人の AD 患者の血漿を混合したサンプルに 50 mM Tris-HCl/0.05% Tween-20 (pH 7.4) を添加し、陰イオン交換カラム精製 (Hitrap Q FF、GEヘルスケア) にアプライした。続いて、50 mM リン酸/0.05% Tween-20/500 mM NaCl (pH 7.4) にて溶出した。溶出画分を long fragment 用抗体を結合させたカラム (Hitrap NHS-activated HP column、GEヘルスケア) にアプライした。カラムを PBS-T にて洗浄後、0.1 M Glycine-HCl/0.05% Tween-20 (pH 2.7) にて溶出した。溶出液は 1M Tris-HCl (pH 9.0) にて直ちに中性に戻した。得られたサンプルをあらかじめ 50 mM Tris-HCl (pH 7.4) にて平衡化させた Hitrap Q FF column (GEヘルスケア) にアプライし、界面活性剤を除去した。サンプルを減圧遠心にて濃縮し、そこに 50 mM DTT/LDS バッファーを添加し、加熱した。本サンプルを、4-12% Bis-Tris Gel (Invitrogen) に全量アプライし、SDS-PAGE (50 mA、90 分、MOPS バッファー) によりタンパク質の分離を実施した。ゲルを Sypro Ruby (Pierce) にて染色後、80-100 kDa に見られるバンドを切り出し、消化工程へと進めた。

40

【0117】

50

切り出したゲル片を96穴マイクロプレートに入れ、アセトニトリルを添加し、ソニケーションを行った。その後、減圧遠心乾燥させ、10 mM DTT / 25 mM NH_4HCO_3 を加え、インキュベーションを行った。溶媒除去後、55 mM $\text{ICH}_2\text{CONH}_2$ / 25 mM NH_4HCO_3 を加え、遮光下にてインキュベーションした。溶媒除去後、50 mM NH_4HCO_3 を加え静置した後、アセトニトリルを添加し、ソニケーションを行った。溶媒除去後、ゲルを減圧遠心乾燥させ、0.1% RapiGest / 25 mM NH_4HCO_3 を加え、インキュベーションを行った。その後、減圧遠心乾燥させ、インキュベーションを行った後、酵素溶液 (50 mM NH_4HCO_3 、5 ng / μL トリプシン) を添加し、インキュベーションした。溶媒除去後、50 mM NH_4HCO_3 を加え、インキュベーションし、酵素消化を行った。反応後、ペプチド溶液を別の96穴マイクロプレートに移し、アセトニトリル: milliQ: TFA = 500: 500: 1の混合溶媒をゲルに加え、ソニケーションを行った。この操作をもう一度繰り返し、得られたペプチド抽出液を減圧濃縮し、MS解析用サンプルとした。

【0118】

得られたペプチドをLC-MS / MSにより分析した。オービトラップ質量分析計により得られたデータを、S38AAタンパク質のアミノ酸配列に対してMASCOT database searchを実施したところ、S38AAタンパク質のアミノ酸配列のうち、複数のペプチドフラグメントが同定された (図5)。これらの配列のうち、最もC末端側にあるペプチドは1040番目から1049番目の配列であり、当該の配列を示すMS / MSスペクトルが観察された (図6)。また、この切断個所は1049番目のロイシン (L) のC末端側にあった。消化酵素トリプシンの切断はリジン (K) かアルギニン (R) のC末端を特異的に切断する酵素であり、本フラグメントのロイシン (L) のC末端側では切断反応が起こらないため、すでにこの部位で切断されていたことが示唆された。本ペプチドフラグメントが検出されたことより、精製したS38AA long fragmentのC末端側は、1049番目から1050番目のL / Rで切断されていることがわかった。なお、S38AA short fragmentは、実施例2で用いた「S38AA long fragmentのC末端を認識する抗体 (抗体A、抗体B、または抗体C)」への反応性が同じであったことから、S38AA short fragmentのC末端も同一の部位で切断されていると考えられた。

【0119】

実施例4: S38AA long fragmentおよびS38AA short fragment大腸菌組換えタンパク質の作製およびELISAによる測定

S38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの大腸菌組換えタンパク質を作製し、それらを標品としS38AA long fragmentのみを定量するLong ELISAおよび両方のfragmentを定量するTotal ELISAを構築した。

【0120】

具体的な操作としては、S38AA long fragment配列 (399-1049アミノ酸配列) およびS38AA short fragment配列 (617-1049アミノ酸配列) のプラスミドDNAを導入した大腸菌BL21 (DE3) の形質転換体を作製した。振とう培養を継続した後に、遠心して集菌した。少量の菌体にタンパク質抽出試薬B-PER (Thermo Fisher Scientific) を加えて懸濁し、その遠心上清をSDS-PAGEにて泳動し、目的タンパク質の発現を確認した。本菌体にバッファA (20 mM Tris HCl pH 8.0, 200 mM NaCl, 10% glycerol, 20 mM imidazole) とプロテアーゼ阻害剤complete EDTA-free (Roche) および核酸分解酵素Benzonaseを加え、懸濁して菌体を破碎し、遠心した。0.22 μm フィルターを用いて遠心上清から残存菌体を取り除いた後に、HisTrap HPを用いてNiアフィニティ精製を行った。目的タンパク質の溶出フラクションをまとめ、標品とした。標品のタンパク質濃度を測定した結果、それぞれ1.4 mg / mL (long fragment)

、1.6 mg/mL (short fragment) であった。

【0121】

「S38AA long fragment に対するN末端側領域を認識する抗体（実施例2で用いた long fragment 用抗体）」と「C末端側領域を認識する抗体A」、「抗体B」、または「抗体C」によるサンドイッチELISA (Long ELISA) と、S38AA long fragment とS38AA short fragment 両方に共通するC末端側領域を認識する「抗体A」、「抗体B」および「抗体C」から選択される2つの抗体によるサンドイッチELISA (Total ELISA) を作製した。定量に用いる標品として、上記の大腸菌組換えタンパク質（スタンダードタンパク質）を準備し、両ELISAにて測定した。各抗体を固相したプレートにサンプルをアプライし、インキュベーションした。3回洗浄後、各HRP標識抗体を添加し、インキュベーションした。3回洗浄後、3% 3, 3', 5, 5'-Tetramethylbenzidine (TMB) 溶液を添加し、遮光下でインキュベーションした。最後に8%硫酸を添加して反応を停止し、450nmの吸光度 (O.D.) を測定した。その結果、スタンダードタンパク質濃度依存的な反応が認められ、良好な検量線が得られた (図7)。Long ELISAでは、S38AA short fragment スタンダードタンパク質への反応は認められなかった。

10

【0122】

実施例5：ヒト血漿中S38AA long fragment およびS38AA short fragment の定量 (Total ELISA-Long ELISA減算法)

20

ヒト血漿中に含まれるS38AA long fragment およびS38AA short fragment を定量するため、減算法を用いたELISAによる定量を実施した。

【0123】

具体的な操作としては、4名の健常者および8名の中等度および重度AD患者由来の血漿それぞれに含まれるS38AA short fragment 量を、上述のTotal ELISAおよびLong ELISAを用いて定量した。定量は実施例4に記載の方法に準じて実施した。各ELISAの検量線は、S38AA long fragment スタンダードタンパク質の測定により作成した。S38AA short fragment 量に関しては、Total ELISAの定量値からLong ELISAの定量値を減算することにより算出した。その結果、各サンプルにおけるS38AA long fragment およびS38AA short fragment の定量値が得られた (図8)。

30

得られた結果に基づき、健常者およびAD患者由来の血漿に含まれるS38AA short fragment およびS38AA long fragment 量を解析した結果、S38AA long fragment 量に比して、S38AA short fragment 量が、健常者とAD患者の識別性が高く、高感度に中等度および重度AD患者を判定できることがわかった (図9)。

【0124】

実施例6：ヒト血漿中S38AA long fragment およびS38AA short fragment の定量 (Long fragment 免疫沈降除去法)

40

ヒト血漿中に含まれるS38AA long fragment およびS38AA short fragment を定量するため、免疫沈降法を用いたS38AA long fragment の除去およびELISA定量を実施した。

【0125】

具体的な操作としては、複数人の健常者およびAD患者の血漿を混合したサンプルそれぞれにPBSを添加し、Protein G Mag Sepharose Xtra (ビーズ、GEヘルスケア) を加えて混和させることにより、内在性イムノグロブリンを除去した。反応後、上清にウサギ由来S38AA long fragment 用ポリクローナル抗体 (long fragment 用抗体) を添加し、抗原抗体反応を行った。反応後、新たなビーズに本反応液を混合し、抗原抗体複合体をビーズに回収した。回収したビー

50

ズに0.1M Gly-HCl (pH2.8)を添加することによりS38AA long fragmentを含んだ回収タンパク質を溶出した。溶出液は、1M Tris-HCl (pH9.0)にて直ちに中性とした。得られた溶出液 (S38AA long fragment画分) および上清 (S38AA short fragment画分) に含まれるS38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの量を、それぞれTotal ELISAを用いて定量した。定量は実施例4に記載の方法に準じて実施した。各ELISAの検量線は、S38AA long fragmentスタンダードタンパク質の測定により作成した。その結果、各サンプルにおけるS38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの定量値が得られた (図10)。本結果から、AD患者ではS38AA long fragmentに比べてS38AA short fragment量が大きく上昇していることが示唆された。

10

【0126】

実施例7：各S38AA fragmentの定量によるAD診断能比較 (Total ELISA-Long ELISA減算法)

各S38AA fragmentの定量によるAD診断能の比較のため、減算法を用いたELISA定量を実施した。

【0127】

具体的には、10名の健常者および10名の軽度AD患者由来の血漿それぞれに含まれるS38AA short fragment量およびS38AA long fragment量を、Total ELISAおよびLong ELISAを用いて定量した。定量は実施例4に記載の方法に準じて実施した。各ELISAの検量線は、S38AA long fragmentスタンダードタンパク質の測定により作成した。S38AA short fragment量に関しては、Total ELISAの定量値からLong ELISAの定量値を減算することにより算出した。その結果、各サンプルにおけるS38AA long fragmentおよびS38AA short fragmentの定量値が得られた (図11)。また、総量やS38AA long fragment量に比しS38AA short fragment量のみを定量することにより高感度に軽度ADを診断できることが示唆された (図12)。

20

【0128】

実施例8：各種抗S38AA fragment抗体を組み合わせたヒト血漿中S38AA fragmentの定量1

ヒト血漿中に含まれる『「S38AA short fragmentの量」と「S38AA long fragmentの量」との総量』を定量するため、各種抗S38AA fragment抗体を組み合わせて使用したELISA定量を実施した。

【0129】

具体的には、4名の健常者および8名のAD患者由来の血漿それぞれを、「抗体A、抗体B、抗体Cのうちの2つの組み合わせからなる抗体を用いたELISA (パターン1、2、または3)」を用いて定量した。定量は実施例4に記載の方法に準じて実施した。各ELISAの検量線は、S38AA long fragmentスタンダードタンパク質の測定により作成し、各サンプルにおける定量値を取得した (図14)。

40

パターン1：抗体A、および抗体Bを用いたELISA

パターン2：抗体A、および抗体Cを用いたELISA

パターン3：抗体B、および抗体Cを用いたELISA

【0130】

測定の結果、『「S38AA short fragmentの量」と「S38AA long fragmentの量」との総量』に係る測定値は、各サンプルにおいて同等であり、使用した抗体の組み合わせに関わらず、一貫した定量性が得られた。

【0131】

実施例9：各種抗S38AA fragment抗体を組み合わせたヒト血漿中S38AA

50

fragmentの定量2

ヒト血漿中に含まれる「S38AA long fragmentの量」を定量するため、各種抗S38AA fragment抗体を組み合わせ使用したELISA定量を実施した。

【0132】

具体的には、4名の健常者および8名のAD患者由来の血漿それぞれを、「一方がLong fragment用抗体および他方が抗体A、抗体B、抗体Cのうちの1つの組み合わせELISA（パターン4、5、または6）」を用いて定量した。定量は実施例4に記載の方法に準じて実施した。各ELISAの検量線は、S38AA long fragmentスタンダードタンパク質の測定により作成し、各サンプルにおける定量値を取得した（図15）。 10

パターン4：Long fragment用抗体、および抗体Aを用いたELISA

パターン5：Long fragment用抗体、および抗体Bを用いたELISA

パターン6：Long fragment用抗体、および抗体Cを用いたELISA

【0133】

測定の結果、「S38AA long fragmentの量」に係る測定値は、各サンプルにおいて同等であり、使用した抗体の組み合わせに関わらず、一貫した定量性が得られた。

【0134】

実施例10：実施例8および9の結果を用いたヒト血漿中S38AA short fragmentの定量 20

実施例8で取得した『「S38AA short fragmentの量」と「S38AA short fragmentの量」との総量』から、実施例9で取得した「S38AA long fragmentの量」を減算することで、「S38AA short fragmentの量」を求めた（図16）。

具体的には、以下の組み合わせで減算を行った。

パターン1-4：「パターン1での測定結果」から「パターン4での測定結果」を減算した結果

パターン1-5：「パターン1での測定結果」から「パターン5での測定結果」を減算した結果 30

パターン1-6：「パターン1での測定結果」から「パターン6での測定結果」を減算した結果

パターン2-4：「パターン2での測定結果」から「パターン4での測定結果」を減算した結果

パターン2-5：「パターン2での測定結果」から「パターン5での測定結果」を減算した結果

パターン2-6：「パターン2での測定結果」から「パターン6での測定結果」を減算した結果

パターン3-4：「パターン3での測定結果」から「パターン4での測定結果」を減算した結果 40

パターン3-5：「パターン3での測定結果」から「パターン5での測定結果」を減算した結果

パターン3-6：「パターン3での測定結果」から「パターン6での測定結果」を減算した結果

【0135】

減算して求めた「S38AA short fragmentの量」は、いずれの抗体の組み合わせを用いても一貫した定量性が得られた。

【0136】

本発明は、日本国で出願された特願2018-148924（出願日：2018年8月7日）を基礎としており、その内容はすべて本明細書に包含されるものとする。 50

【産業上の利用可能性】

【0137】

本発明は、アルツハイマー病の診断および治療等に有用である。

10

20

30

40

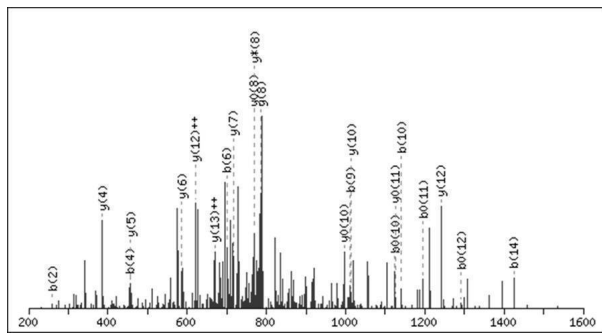
50

【図面】

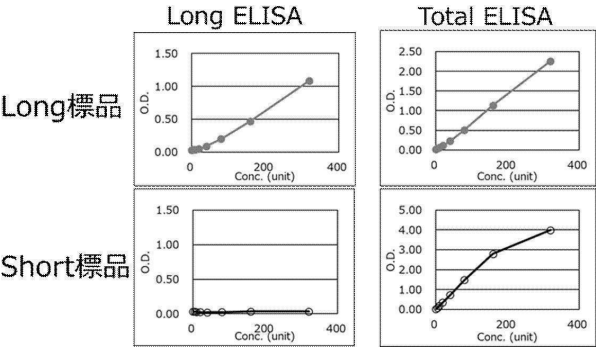
【図 1】

1 MTAASNSNWG LITNIVNSIV GVSULTMPFC FKQCGIVLGA LLLVFCSWMT
51 HQSCMFLVKS ASLSKRRTYA GLAFHAYGKA GKMLVETSMI GLMLGTICIAF
101 YVIGDLGNS FFARLFGFQV GGTFRMFLLF AVSLCIVLPL SLQRNMMAI
151 QSFAMALLF YTVFMFVIVL SSLKHGLFSG QWLRRVSYVR WEGVFRICIPI
201 FGMSFACQSQ VLPTYDSLDE PSVKTMSIF ASSLNVTTF YVMVGFFGYV
251 SFTTEAGNV LMHFPSNLVT EMLRVGFMM S VAVGFPMML PCRQALSTLL
301 CEQQQKDGTF AAGGYMPPLR FKALTSVVF GTMVGILIP NVETILGLTG
351 ATMGSLICFI CPALYKKIH KNALSSQVVL WVGLGVLVVS TVTTLVSSEE
401 VPEDLAEAP GGRLEAEGL MKVEAARLSA QDPVVAEAD GREKPKLPKE
451 REELEQAQIK GPVDVPGRED GKEAPEEAQL DRPGQGIAPV VGEAHRHEPP
501 VPHDKVVUDE GQDREVPEEN KPPSRHAGGK APGVQGGMAP PLPDSEREKQ
551 EPEQGEVGKR PGQAQALEEA GDLPEDPKV PEADGQPAVQ PAKEDLGPDG
601 RGLHPRPQAV LSEQQNGLAV GGGEKAKGGP PPGNAAGDTG QPAEDSDHGG
651 KPPLPAEKPA PGPGLPPEPR EQRDVERAGG NQAASQLEEA GRAEMLDHAV
701 LLQVIKEQV QQKRLLDQOE KLLAVIEEQH KEIHQQRQED EEDKPRQVEV
751 HQEPGAAVPR GQEAPEGKAR ETVENLPPLP LDPVLRAPGG RPAPSQDLNQ
801 RSLEHSEGPV GRDPAGPPDG GPDTEPRAAQ AKLRDQKDA APRAAGTVKE
851 LKPGPEQVPV PDPAREAGGP EERLAEFFPG QSDVTGGSQ DRKPKGKEVA
901 ATGTSILKEA NWLVAGPGAE TGDPRMKPKQ VSRDLGLAAD LPGGAEGAAA
951 QPQAVLRQPE LRVISDGEQG GQQGHRLDHG GHLEMRKARG GDHVPVSHEQ
1001 PRGGEDAIVQ EPRQRPEPEL GLKRAVPGGQ RPDNAKPNRD LKLQAGSDLR
1051 RRRRDLGPHA EGQLAPRDGV IIGLNPLPDV QVNDLRGALD AQLRQAAGGA
1101 LQVVHSRQLR QAPGPPEES

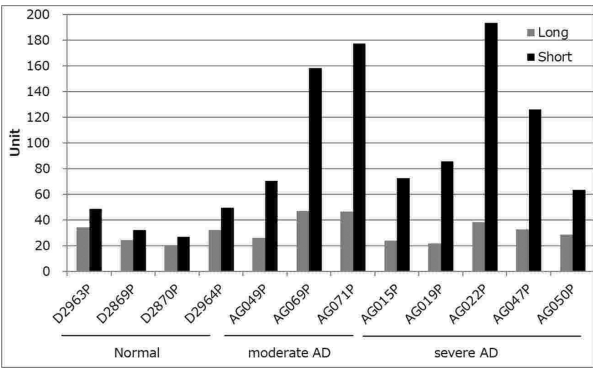
【図 2】



【図 7】

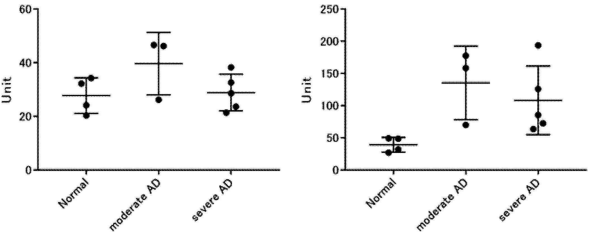


【図 8】

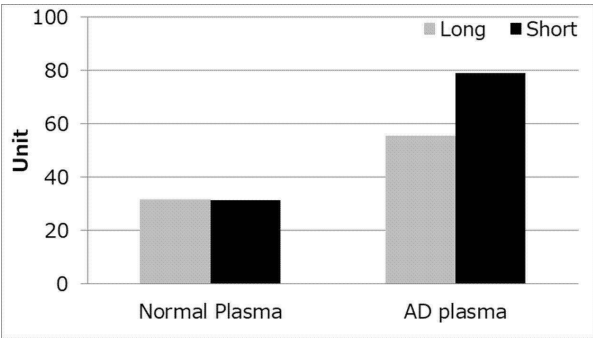


10

【図 9】

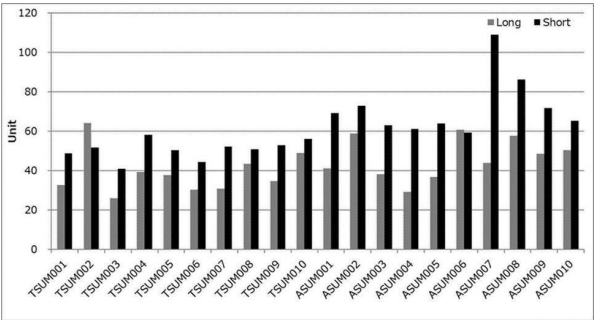


【図 10】

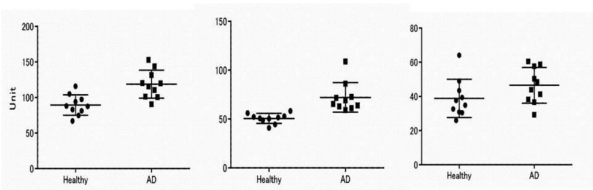


20

【図 11】



【図 12】

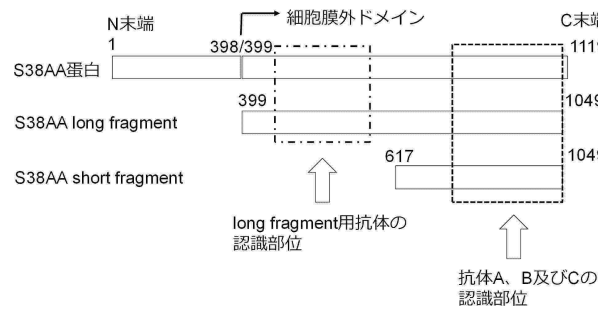


30

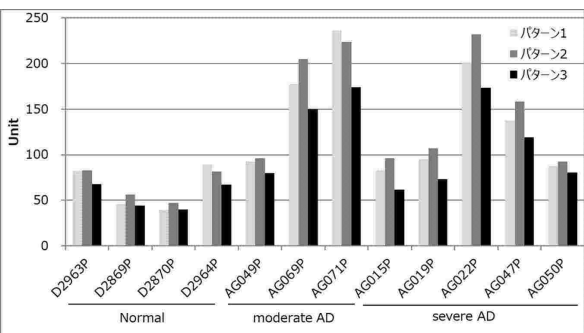
40

50

【図 1 3】

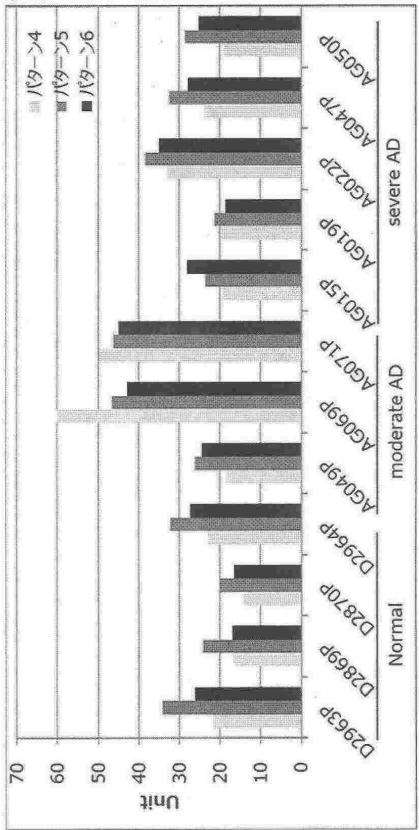


【図 1 4】

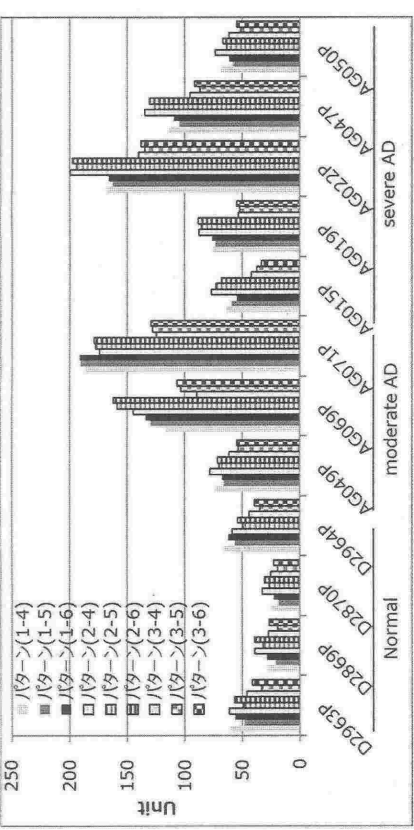


10

【図 1 5】



【図 1 6】



20

30

【配列表】

0007470041000001.app

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類 F I
G O 1 N 33/53 (2006.01) G O 1 N 33/53 D

- 9 8 号 D S P ビジネスパートナーズ株式会社内
- (72)発明者 楠本 雅典
大阪府大阪市此花区春日出中三丁目 1 番 9 8 号 住友化学株式会社内
- (72)発明者 橋本 雅一
大阪府大阪市此花区春日出中 3 丁目 1 番 9 8 号 大日本住友製薬株式会社内
- (72)発明者 柏原 昌次
大阪府吹田市江の木町 3 3 番 9 4 号 S B バイオサイエンス株式会社内
- (72)発明者 橋本 まき
大阪府吹田市江の木町 3 3 番 9 4 号 S B バイオサイエンス株式会社内

審査官 林 康子

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 2 / 0 9 1 1 3 8 (WO, A 1)
国際公開第 2 0 1 0 / 0 0 4 8 4 9 (WO, A 1)
J Alzheimers Dis, 2019年10月15日, Vol.71, No.4, pp.1163-1174

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 1 2 N 1 5 / 1 2
C 0 7 K 1 6 / 1 8
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C a p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)
G e n B a n k / E M B L / D D B J / G e n e S e q
U n i P r o t / G e n e S e q