

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-528447

(P2020-528447A)

(43) 公表日 令和2年9月24日 (2020.9.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00 Z N A	4 B 0 6 3
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	4 C 0 8 4
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	4 H 0 4 5
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 81 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2020-504405 (P2020-504405)	(71) 出願人	520028438
(86) (22) 出願日	平成30年7月24日 (2018.7.24)		エンセファ
(85) 翻訳文提出日	令和2年3月17日 (2020.3.17)		フランス国, 9 4 1 0 0 サンーモールー
(86) 国際出願番号	PCT/EP2018/070064		デーフォセ, 1 6 アヴニユ デ アール
(87) 国際公開番号	W02019/020643	(74) 代理人	100114775
(87) 国際公開日	平成31年1月31日 (2019.1.31)		弁理士 高岡 亮一
(31) 優先権主張番号	17315006.1	(74) 代理人	100121511
(32) 優先日	平成29年7月24日 (2017.7.24)		弁理士 小田 直
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100202751
			弁理士 岩堀 明代
		(74) 代理人	100208580
			弁理士 三好 玲奈
		(74) 代理人	100191086
			弁理士 高橋 香元
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 神経変性および炎症性疾患の治療に使用するための C D 3 8 と特異的に結合する化合物

(57) 【要約】

本発明は、N A A D P 受容体 2 孔チャネル T P C 1 および / または T P C 2 の開口による神経変性疾患および / または炎症性疾患の予防および / または治療に薬物として使用する、C D 3 8 と特異的に結合する化合物であって、N A A D P 受容体 2 孔チャネル T P C 1 および / または T P C 2 の開口を活性化する、化合物に関する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

N A A D P 受容体 2 孔チャネル T P C 1 および / または T P C 2 の開口による神経変性疾患および / または炎症性疾患の予防および / または治療に薬物として使用する、C D 3 8 と特異的に結合する化合物であって、N A A D P 受容体 2 孔チャネル T P C 1 および / または T P C 2 の開口を活性化する、化合物。

【請求項 2】

抗体、その抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物および有機小分子を含む群より選択される、請求項 1 に記載の化合物。

10

【請求項 3】

前記化合物が、C D 3 8 の N A A D P 加水分解酵素活性を阻害することによって、または C D 3 8 の N A A D P シンターゼ活性を活性化することによって、ニューロンおよび / または免疫細胞の細胞内 N A A D P レベルを増大させる、請求項 1 または 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

前記化合物が、配列番号 1 のアミノ酸 2 2 0 ~ 2 8 5 を含むペプチドと特異的に結合する抗 C D 3 8 抗体、その抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 5】

前記化合物が、配列番号 1 のシステイン 2 5 4 および / またはシステイン 2 7 5 と特異的に結合する抗 C D 3 8 抗体、その抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の化合物。

20

【請求項 6】

前記化合物が、配列番号 1 のシステイン 2 5 4 およびシステイン 2 7 5 を含む 5 番目の C 末端ジスルフィドループに特異的に結合する抗 C D 3 8 抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 7】

C D 3 8 の内部移行を誘導する、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の化合物。

30

【請求項 8】

前記化合物が、好ましくはバイオセンサー解析によって求め得る 10^{-7} 以下の K_D でヒト C D 3 8 と特異的に結合する抗 C D 3 8 抗体、その抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物である、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 9】

ヒトモノクローナル抗体である、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 10】

前記化合物が、C D 3 8 の N A A D P 加水分解酵素活性を $5 \mu M$ 以下の IC_{50} で阻害する、または C D 3 8 の N A A D P シンターゼ活性を $5 \mu M$ 以下の EC_{50} で活性化する有機小分子である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の化合物。

40

【請求項 11】

前記化合物が、グルタミン酸 1 4 6、アスパラギン酸 1 5 5 およびグルタミン酸 2 2 6 を含む群より選択される配列番号 1 のヒト C D 3 8 の少なくとも 1 つのアミノ酸と特異的に結合する、有機小分子である、請求項 1 ~ 3 または 10 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 12】

前記神経変性疾患が、パーキンソン病、パーキンソン認知症、常染色体劣性遺伝性 P A R K 2 および P A R K 6 連鎖パーキンソニズム、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症候群、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、グアドループ島パーキンソニズムおよびリティコ・ボディグ病を含めた非定型パーキンソン症候群を含めたパーキンソン病ならびに

50

関連障害；筋萎縮性側索硬化症、前頭側頭型認知症、進行性球麻痺、仮性球麻痺、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、脊髄性筋萎縮症およびポリオ後症候群を含めた運動ニューロン疾患；神経炎症性疾患；初期段階のアルツハイマー障害、軽度段階のアルツハイマー障害、中等度段階のアルツハイマー障害、軽度から中等度段階のアルツハイマー障害、進行した段階のアルツハイマー障害、軽度認知障害、血管性認知症、混合型認知症、ピック病、嗜銀顆粒性疾患、後部皮質萎縮症、ウェルニッケ・コルサコフ症候群を含めたアルツハイマー病および関連障害；プリオン病；リソソーム蓄積症；白質ジストロフィー；ハンチントン病；多発性硬化症；ダウン症候群；球脊髄性筋萎縮症；HIV関連神経認知障害；トゥレット症候群；常染色体優性遺伝性脊髄小脳失調症；フリードライヒ運動失調症；歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症；筋強直性ジストロフィー；統合失調症；加齢による記憶障害；自閉症および自閉症スペクトラム障害；注意欠陥多動障害；慢性疼痛；アルコール性認知症；進行性非流暢性失語症；意味性認知症；痙性対麻痺；線維筋痛症；ライム病後；ニューロパチー；離脱症状；アルパース病；脳・眼・顔・骨格症候群；ウィルソン病；コケイン症候群；リー病；脳内鉄蓄積を伴う神経変性；オブソクロヌス・ミオクロヌス症候群；アルファ・メチルアシル-CoAラセマーゼ欠損症；アンダーマン症候群；アーツ症候群；マリネスコ・シェーグレン症候群；ミトコンドリア膜タンパク質関連神経変性；パントテン酸キナーゼ関連神経変性症；硬化性白質脳症を伴う多発嚢胞性脂肪膜性骨異形成症；リボフラビン輸送体欠損性神経細胞障害；ならびに毛細血管拡張性運動失調症を含む群より選択される、請求項1～11のいずれか1項に記載の化合物。

10

20

【請求項13】

前記神経変性疾患が、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、アルツハイマー病、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症候群、前頭側頭型認知症、筋萎縮性側索硬化症、球脊髄性筋萎縮症、脳卒中、外傷性脳損傷、ハンチントン病、多発性硬化症、フリードライヒ運動失調症、シャルコー・マリー・トゥース病、クロイツフェルト・ヤコブ病およびその他のプリオン病、ロイコジストロフィー、リソソーム蓄積症を含む群より選択される、請求項1～12のいずれか1項に記載の化合物。

【請求項14】

前記炎症性疾患が、神経炎症性疾患、ゴーシェ病、自己免疫疾患、アレルギー、喘息、肝炎、再灌流傷害、2型糖尿病および移植拒絶反応を含む群より選択される、請求項1～11のいずれか1項に記載の化合物。

30

【請求項15】

有効成分として、

請求項1～11のいずれか1項で定められる少なくとも1つの化合物と、

神経保護剤、対症剤、プロバイオティクスおよび凝集タンパク質または易凝集性タンパク質を中和するのに使用する抗体を含む群より選択される、少なくとも1つの第二の治療剤と

を含み、N A A D P受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口による神経変性疾患および/または炎症性疾患の予防および/または治療に薬物として使用され、前記有効成分が、個別投与、同時投与または連続投与用に製剤化されている、配合剤。

40

【請求項16】

請求項1～11のいずれか1項で定められる化合物を製造する方法であって、配列番号1と特異的に結合し、N A A D P受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化する化合物を選択する段階を含む、方法。

【請求項17】

C D 3 8のN A A D P加水分解酵素活性を阻害する、またはC D 3 8のN A A D Pシンターゼ活性を活性化する化合物を選択する段階をさらに含む、請求項16に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、神経変性疾患および/または炎症性疾患の予防および/または治療の分野に

50

関する。

【0002】

具体的には、本発明は、神経変性および/または炎症性疾患の予防および/または治療に有用な化合物であって、CD38と特異的に結合し、NAADP受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化する化合物に関する。

【背景技術】

【0003】

神経変性疾患は、主としてヒトの脳および脊髄のニューロンに影響を及ぼす様々な病態を表す包括的用語である。ニューロンは、脳および脊髄を含めた神経系の構成要素である。ニューロンは通常、自身を再生することも交換することもないため、損傷または死滅すると、身体がそれを交換することができない。神経変性疾患の例としては、パーキンソン病、アルツハイマー病または筋萎縮性側索硬化症が挙げられ、これらの疾患は神経細胞の進行性の変性および/または死をもたらす。このような疾患の症状は、運動の障害（運動失調と呼ばれる）または精神機能の障害（認知症と呼ばれる）と関係がある。

10

【0004】

神経変性の過程は十分に理解されていないため、それを原因とする疾患には未だに治療法がない。一部の患者には、症状を緩和するのに投薬、脳外科手術および集学的管理が治療方法として用いられる。パーキンソン病の場合にはこれまで、運動症状を軽減する薬物としてレボドパが最も広く用いられてきたが、その効果は一時的なものであり、時間とともに無効にする副作用が起こる。アルツハイマー病では、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤などの薬物も患者の症状に正の効果がみられるが、その効果は主として疾患の初期段階で認められるものである。

20

【0005】

現在、ニューロン変性の阻害を目的とする方法が検討されている。現時点で研究段階にある薬剤としては、特にカルシウムチャネル遮断剤（イスラジピン）またはNAADP受容体のアンタゴニスト、例えば国際公開第2016024246号に記載されているものなどが挙げられる。しかし、これらの薬剤のうち臨床的に確証されたものはない。

【0006】

さらに、既知の薬剤は、1つのタイプの神経変性機序（例えば、興奮毒性、酸化ストレスまたはミトコンドリアの異常によるエネルギー欠乏など）だけを標的とするものである。

30

【0007】

したがって、当該技術分野では、神経変性障害に罹患しているあらゆるタイプの患者に対し、様々なタイプの神経変性機序を標的とすることが可能な薬剤を用いる新たな改善された治療法が大いに必要とされている。

【0008】

CD38は、長いC末端細胞外ドメインと短いN末端細胞質ドメインを有する45 kDaのII型膜貫通糖タンパク質である。CD38には、受容体介在性機能および酵素媒介性機能の両方がある。CD38は受容体としては、そのリガンドであるCD31と相互作用することができる。CD38はエクト酵素としては、

40

(i) ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD^+)をアデノシン二リン酸-リボース(ADPR)に変換する NAD^+ ヌクレオシダーゼ(NAD アーゼ)活性；

(ii) NAD^+ を環状ADPR(cADPR)に変換するADP-リボシルシクラーゼ活性；

(iii) cADPRをADPRに加水分解する環状ADP-リボース加水分解酵素活性；

(iv) ニコチン酸の存在下で NADP^+ (NAD^+ のリン酸化同等物)をニコチン酸アデニンジヌクレオチドリリン酸(NAAP)に変換するNAAPシンターゼ活性；および

(v) NAAPをADPRリン酸(ADPRP)に変換するNAAP加水分解酵素

50

活性

を介して複数の反応を触媒する、多機能性タンパク質である (Malavasiet al., 2008. *Physiol Rev.* 88 (3): 841 - 886)。

【0009】

CD38は、多数の造血器悪性腫瘍でアップレギュレートされ、その発現が疾患進行と関連することから、癌研究で盛んに研究されてきた。抗体がいくつか開発され、最初は研究ツール(クローン90、AT1、AT13/5、AT2、HB-7、IB4、IB6、OKT-10、SUN-4B7、T16)として、次いで癌に対する治療薬(現時点で第III相臨床試験[NCT02990338]の段階にあるSAR650984、現時点で第II相[NCT01421186]の段階にあるMOR202および前臨床開発の段階にあるAb79を含む)として使用された。2015年11月および2016年5月、米国食品医薬品局および欧州医薬品庁がそれぞれ、以前に3種類以上の治療を受けた多発性骨髄腫患者の治療にダラツムマブを承認している。

10

【0010】

CD38は、主要な細胞内NADアーゼであり(Chini, 2009. *Curr Pharm Des.* 15 (1): 57 - 63)、そのNAD⁺またはその前駆体が多数の研究で神経保護作用があることが明らかにされている(Harlan et al., 2016. *J Biol Chem.* 291 (20): 10836 - 46; Lu et al., 2014. *Exp Ther Med.* 8 (3): 943 - 50; Gong et al., 2013. *Neurobiol Aging.* 34 (6): 1581 - 8; 米国特許出願公開第US20120328526号)ことから、急性または慢性の神経変性疾患の治療の新たな治療標的として提案された(Kristian et al., 2011. *J Neurosci Res.* 89 (12): 1946 - 55)。実際、CD38ノックアウト(KO)マウスを用いた複数の試験では、このマウスに虚血性脳損傷に対する有意な保護作用(Long et al., 2017. *Neurochem Res.* 42 (1): 283 - 93; 米国特許出願公開第US20120328526号)がみられたほか、アルツハイマー病実験マウスモデルAPPswePS1E9と交配すると、NAD⁺レベルの上昇によってA β 産生および神経炎症が減少すること(Blacher et al., 2015. *Ann Neurol.* 78 (1): 88 - 103)が明らかにされており、このことから、CD38酵素活性を阻害するとNAD⁺レベルの上昇による神経保護作用がみられる可能性が示唆される。

20

30

【0011】

発明者らは予想外にも、CD38と特異的に結合し、NAADP受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化する化合物が、細胞質カルシウムレベルを上昇させることによって効率的にニューロンの変性を防ぎ、ニューロンを変性から保護することができることをここで明らかにした。

【0012】

これらの結果は、最新技術で示唆されているのとは対照的に、CD38と特異的に結合する化合物が、文献で示唆されているようにNAD⁺レベルを上昇させることによってではなく、NAD⁺処理によってごくわずかしき活性を示さないNAADP受容体のTPCを活性化することによって神経保護を示すことが明らかにされたことから、驚くべきものである。このことは、これまでに引用されたCD38 KOマウスを用いた試験(Long et al., 2017. *Neurochem Res.* 42 (1): 283 - 93; Blacher et al., 2015. *Ann Neurol.* 78 (1): 88 - 103; 米国特許出願公開第20120328526号); パーキンソン病患者の線維芽細胞のリソソーム異常が、(i) NAADP受容体の阻害によって是正される、(ii) NAADPによって悪化することを示したHockeyらの刊行物(2015. *J Cell Sci.* 128 (2): 232 - 8); およびNAADP受容体の阻害を阻害すると様々な神経変性疾患で上昇する細胞質鉄レベルが低下することを示したFernandezらによって公開されている試験(2016. *Autophagy.* 12 (9): 1

40

50

487-506)と完全に矛盾している。

【0013】

このことは、カルシウムチャネルを遮断することによって(例えば、イスラジピン)、またはNAADP受容体と拮抗することによって(例えば、国際公開第2016024246号に記載されているものなど)、細胞質カルシウムレベルを低下させ、ニューロンの変性を阻害することができる薬剤の開発を目指して現在実施されている研究とも完全に矛盾している。

【0014】

CD38は、B細胞、T細胞、単球およびNK細胞(Krejci et al., 2016. Blood. 128(3):384-94)を含めた末梢血単核球(PBMC)(Malavasi et al., 2008. Physiological Review. 88:841-886)に強く発現し、その発現は、炎症性サイトカイン、エンドキシンおよびインターフェロンによって誘導されることが示されている(概説についてはChini et al., 2018. Trends Pharmacol Sci. 39(4):424-36を参照されたい)。さらに一般的には、CD38発現の増大は活性化の炎症誘発性M1状態のマーカーであると考えられている(Jablonski et al., 2015. PLOS One. 10(12):e0145342)。これらの証拠と一致するように、CD38発現の増大が実験的自己免疫性脳脊髄炎のラットモデル(Herrmann et al., 2016. Dis Model Mech. 9(10):1211-20)、全身性エリテマトーデス患者のヒトT細胞(Pavon et al., 2006. Mol Immunol. 43(7):1029-39)および関節リウマチ滑膜組織(Chang et al., 2014. Clin Exp Immunol. 176(2):222-31)で観察されている。

10

20

【0015】

抗CD38抗体のダラツムマブまたはイサツキシマブでCD38を標的化すると、抗炎症性インターロイキン10(IL-10)の血漿中レベルが低下することがわかっている(Krejci et al., 2016. Blood. 128(3):384-94; Feng et al., 2017. Clin Cancer Res. 23(15):4290-4300)。予想外であり、これらの結果と矛盾するように、本発明者らは、CD38と特異的に結合し、NAADP受容体の2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化する化合物が、in vivoで血漿中IL-10レベルを大幅に増大させることを明らかにした。

30

【発明の概要】

【0016】

本発明は、NAADP受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口による神経変性疾患および/または炎症性疾患の予防および/または治療に薬物として使用する、CD38と特異的に結合する化合物であって、NAADP受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化する化合物に関する。

【0017】

一実施形態では、本発明による使用のための化合物は、
- 抗体、その抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物；および
- 有機小分子
を含む群より選択される。

40

【0018】

一実施形態では、本発明による使用のための化合物は、CD38のNAADP加水分解酵素活性を阻害することによって、またはCD38のNAADPシンターゼ活性を活性化することによって、ニューロンおよび/または免疫細胞の細胞内NAADPレベルを増大させる。

【0019】

一実施形態では、本発明による使用のための化合物は、配列番号1のアミノ酸220～

50

285を含むペプチドと特異的に結合する抗CD38抗体、その抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物である。

【0020】

一実施形態では、本発明による使用のための化合物は、配列番号1のシステイン254および/またはシステイン275と特異的に結合する、抗CD38抗体、その抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物である。

【0021】

一実施形態では、本発明による使用のための化合物は、配列番号1のシステイン254およびシステイン275を含む5番目のC末端ジスルフィドループと特異的に結合する、抗CD38抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物である。

10

【0022】

一実施形態では、本発明による使用のための化合物は、CD38の内部移行を誘導する。

【0023】

一実施形態では、本発明による使用のための化合物は、好ましくはバイオセンサー解析によって求め得る 10^{-7} 以下の K_D でヒトCD38と特異的に結合する抗CD38抗体、その抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物である。

【0024】

一実施形態では、本発明による使用のための化合物は、ヒト化モノクローナル抗体である。

20

【0025】

一実施形態では、本発明による使用のための化合物は、CD38のNADP加水分解酵素活性を $5\mu M$ 以下の IC_{50} で阻害する、またはCD38のNADPシンターゼ活性を $5\mu M$ 以下の EC_{50} で活性化する有機小分子である。

【0026】

一実施形態では、本発明による使用のための化合物は、グルタミン酸146、アスパラギン酸155およびグルタミン酸226を含む群より選択される配列番号1のヒトCD38の少なくとも1つのアミノ酸と特異的に結合する、有機小分子である。

【0027】

一実施形態では、前記神経変性疾患は、パーキンソン病、パーキンソン認知症、常染色体劣性遺伝性PARK2およびPARK6連鎖パーキンソニズム、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症候群、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、グアドループ島パーキンソニズムおよびリティコ・ボディグ病を含めた非定型パーキンソン症候群を含めたパーキンソン病ならびに関連障害；筋萎縮性側索硬化症、前頭側頭型認知症、進行性球麻痺、仮性球麻痺、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、脊髄性筋萎縮症およびポリオ後症候群を含めた運動ニューロン疾患；神経炎症性疾患；初期段階のアルツハイマー障害、軽度段階のアルツハイマー障害、中等度段階のアルツハイマー障害、軽度から中等度段階のアルツハイマー障害、進行した段階のアルツハイマー障害、軽度認知障害、血管性認知症、混合型認知症、ピック病、嗜銀顆粒性疾患、後部皮質萎縮症、ウェルニッケ・コルサコフ症候群を含めたアルツハイマー病および関連障害；プリオン病；リソソーム蓄積症；白質ジストロフィー；ハンチントン病；多発性硬化症；ダウン症候群；球脊髄性筋萎縮症；HIV関連神経認知障害；トゥレット症候群；常染色体優性遺伝性脊髄小脳失調症；フリードライヒ運動失調症；歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症；筋強直性ジストロフィー；統合失調症；加齢による記憶障害；自閉症および自閉症スペクトラム障害；注意欠陥多動障害；慢性疼痛；アルコール性認知症；進行性非流暢性失語症；意味性認知症；痙性対麻痺；線維筋痛症；ライム病後；ニューロパチー；離脱症状；アルパース病；脳・眼・顔・骨格症候群；ウィルソン病；コケイン症候群；リー病；脳内鉄蓄積を伴う神経変性；オブソクローヌス・ミオクローヌス症候群；アルファ・メチルアシル-CoAラセマーゼ欠損症；アンダーマン症候群；アーツ症候群；マリネスコ・シェーグレン症候群；ミトコンドリア膜タンパク質関連神経変性；パントテン酸キナーゼ関連神経変性症；硬化性白質脳症を伴う多発

30

40

50

嚢胞性脂肪膜性骨異形成症；リボフラビン輸送体欠損性神経細胞障害；ならびに毛細血管拡張性運動失調症を含む群より選択される。

【0028】

一実施形態では、前記神経変性疾患は、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、アルツハイマー病、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症候群、前頭側頭型認知症、筋萎縮性側索硬化症、球脊髄性筋萎縮症、脳卒中、外傷性脳損傷、ハンチントン病、多発性硬化症、フリードライヒ運動失調症、シャルコー・マリー・トゥース病、クロイツフェルト・ヤコブ病およびその他のプリオン病、ロイコジストロフィー、リソソーム蓄積症を含む群より選択される。

【0029】

一実施形態では、前記炎症性疾患は、神経炎症性疾患、ゴーシェ病、自己免疫疾患、アレルギー、喘息、肝炎、再灌流傷害、2型糖尿病および移植拒絶反応を含む群より選択される。

【0030】

本発明は、有効成分として、

- 少なくとも1つの本発明による化合物；ならびに

- 神経保護剤、対症剤、プロバイオティクスおよび凝集タンパク質または易凝集性タンパク質を中和するのに使用する抗体を含む群より選択される少なくとも1つの第二の治療剤

を含み、N A A D P受容体2孔チャネルT P C 1および/またはT P C 2の開口による神経変性疾患および/または炎症性疾患の予防および/または治療に薬物として使用され、前記有効成分が、個別投与、同時投与または連続投与用に製剤化されている、配合剤にも関する。

【0031】

本発明は、本発明による化合物を製造する方法であって、配列番号1と特異的に結合し、N A A D P受容体2孔チャネルT P C 1および/またはT P C 2の開口を活性化する化合物を選択する段階を含む、方法にも関する。

【0032】

一実施形態では、本発明の方法は、C D 3 8のN A A D P加水分解酵素活性を阻害する、またはC D 3 8のN A A D Pシンターゼ活性を活性化する化合物を選択する段階をさらに含む。

【発明を実施するための形態】

【0033】

一態様では、本発明は、N A A D P受容体2孔チャネルT P C 1および/またはT P C 2の開口による神経変性疾患および/または炎症性疾患の予防および/または治療に薬物として使用する、C D 3 8、特にヒトC D 3 8と特異的に結合する化合物であって、N A A D P受容体2孔チャネルT P C 1および/またはT P C 2の開口を活性化する化合物に関する。

【0034】

C D 3 8と特異的に結合し、N A A D P受容体2孔チャネルT P C 1および/またはT P C 2の開口を活性化する化合物を薬物として使用することには、具体的には以下のような利点がある：

- 様々なタイプのニューロンの様々なタイプの変性を直接的および間接的に効率的に防ぐ；

○神経保護は特定のタイプのニューロンに特異的なものではない。それとは対照的に、グルタミン酸作動性細胞およびG A B A作動性細胞を含む皮質ニューロンならびに中脳培養物のドーパミン作動性ニューロンを含めた様々なタイプのニューロンを*i n v i t r o*で効率的に保護することが可能である；

○興奮毒性、酸化ストレス、ミトコンドリア複合体I阻害によるエネルギー欠乏、電気活動の欠乏および神経栄養因子欠乏を含めた様々なタイプの変性機序から直接的にニュー

10

20

30

40

50

ーロンを保護することが可能である；

○変性から間接的にニューロンを保護することが可能であり、小膠細胞および星状膠細胞の数を抑えることによる抗炎症効果がある。

- 神経変性障害には様々なタイプのニューロンおよび神経変性機序があることを考慮すると、神経変性障害に罹患しているあらゆるタイプの患者に有用である；

- 化合物の特異性による副作用が少ない；

- 神経変性疾患のあらゆる段階で効率的である；

- 効果が一時的なものではない；

- 他の被験薬剤と比較して低い用量を用いても極めて効率が高い（例えば、HB7抗体が7.5 nMの濃度でドーパミン作動性ニューロンの細胞死を完全に防いだのに対し、NAD⁺は3 mMの濃度でその神経保護効果を発揮した）；

- 血漿中インターロイキン10レベルを増大させることによる抗炎症特性を示す。

【0035】

別途定義されない限り、本明細書で使用される技術用語および科学用語はいずれも、当業者に一般に理解されるものと同じ意味を有する。

【0036】

便宜上、明細書、実施例および請求項で用いられる特定の用語および語句の意味を記載する。

【0037】

本明細書で使用される「CD38と特異的に結合する化合物」という用語は、CD38と特異的に結合し、製薬学的用途に適した任意の分子に関連するものである。これには、抗体、その抗原結合フラグメント、抗原結合抗体模倣物、有機小分子、オリゴヌクレオチドおよび組換えタンパク質が含まれる。

【0038】

一実施形態では、CD38と特異的に結合する本発明による化合物は、

- 抗体、その抗原結合フラグメント、抗原結合抗体模倣物；および

- 有機小分子

を含むか、これよりなる群より選択される。

【0039】

本明細書で使用される「抗体」という用語は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、組換え抗体、二重特異性抗体、多重特異性抗体または改変抗体を含む。

【0040】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」は、アミノ酸配列の異なる抗体の混合物を含有する「ポリクローナル抗体」調製物とは対照的に、共通の重鎖および共通の軽鎖のアミノ酸配列を有する抗体分子、抗体の調製物を指すものとする。モノクローナル抗体は、ファージディスプレイ、細菌ディスプレイ、酵母ディスプレイまたはリボソームディスプレイなどのいくつかの既知の技術によって、およびハイブリドーマ由来抗体により例示される古典的方法によって作製することができる。したがって、「モノクローナル」という用語は、1つの核酸クローンに由来するあらゆる抗体を指すのに用いられる。

【0041】

本発明の抗体は組換え抗体を含む。本明細書で使用される「組換え抗体」という用語は、組換え手段によって産生、発現、作製または単離した抗体、例えば、宿主細胞にトランスフェクトした組換え発現ベクターを用いて発現させた抗体；組換えコンビナトリアル抗体ライブラリーから単離した抗体；ヒト免疫グロブリン遺伝子によるトランスジェニックである動物（例えば、マウス）から単離した抗体；または特定の免疫グロブリン遺伝子配列（ヒト免疫グロブリン遺伝子配列など）を他のDNA配列とともに構築する任意の他の方法で産生、発現、作製もしくは単離した抗体などを指す。組換え抗体としては、例えば、キメラ抗体およびヒト化抗体が挙げられる。

【0042】

本明細書で使用される「キメラ抗体」は、マウスなどの哺乳動物種の生殖系列に由来す

10

20

30

40

50

る可変ドメインの配列を、ヒトなどの別の哺乳動物種の生殖系列に由来する定常ドメインの配列に移植した抗体を指す。

【0043】

本明細書で使用される「ヒト化抗体」は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖系列に由来するCDR配列をヒトフレームワーク配列に移植した抗体を指す。

【0044】

一実施形態では、本発明は、ヒト化モノクローナル抗体である、上で定義したような抗CD38抗体またはその抗原結合フラグメントに関する。

【0045】

本明細書で使用される「抗体の抗原結合フラグメント」は、抗体の一部分、すなわち、本発明の抗体の構造の一部に相当し、できる限りその天然の形態で、CD38に対して抗原結合能を示す分子を意味し、このようなフラグメントは特に、前記抗原に対して、対応する4本鎖抗体の抗原結合特異性と比較して同じまたは実質的に同じ抗原結合特異性を示す。抗原結合フラグメントは、対応する4本鎖抗体と同程度の結合親和性を有するのが有利である。ただし、対応する4本鎖抗体よりも抗原結合親和性が低い抗原結合フラグメントも本発明の範囲内に包含される。抗原結合能は、抗体と標的フラグメントとの間の親和性を測定することによって求めることができる。これらの抗原結合フラグメントは、抗体の「機能性フラグメント」と呼ばれることもある。

【0046】

抗体の抗原結合フラグメントとは、そのCDR（相補性決定領域）と呼ばれる超可変ドメインまたは同ドメインの一部分（1つまたは複数）を含むフラグメントであって、抗原、すなわちCD38に対する認識部位が含まれ、それにより抗原認識特異性が定められる、フラグメントのことである。

【0047】

4本鎖免疫グロブリンの各軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメイン（それぞれ、VLおよびVH）は、それぞれVL-CDR1（またはLCDR1）、VL-CDR2（またはLCDR2）、VL-CDR3（またはLCDR3）およびVH-CDR1（またはHCDR1）、VH-CDR2（またはHCDR2）、VH-CDR3（またはHCDR3）と呼ばれる3つのCDRを有する。

【0048】

当業者には、この点に関して記載されている参照番号付け法を含めた標準的定義を参照することにより、KABATの番号付け法を参照することにより、またはIMGT「collier de perle」アルゴリズムの適用により、抗体の様々な領域/ドメインの位置を決定することが可能である。この点に関して、本発明の配列を定めるにあたって、領域/ドメインの画定が参照法によって異なり得ることが留意される。したがって、本発明で定められる領域/ドメインは、抗体の可変ドメインの完全長配列内での該当する配列の長さまたは位置付けに±10%前後の差がみられる配列を包含する。

【0049】

したがって、4本鎖免疫グロブリンの構造に基づき、様々なクラスの抗体、特にIgG、具体的には哺乳動物IgGについてフレームワークおよび定常ドメインの位置が明確に定められていることに留意して、利用可能なデータベースおよび先行技術の抗体の配列と比較することにより、特にこれらの配列中での機能ドメインの位置を比較することにより、抗原結合フラグメントを定めることができる。このような比較には、抗体の三次元構造に関するデータも含まれる。

【0050】

本発明の特定の実施形態を説明する目的で、前記抗体のCDRを含む可変ドメインを含む、抗体の抗原結合フラグメントには、Fv、dsFv、scFv、Fab、Fab'、F(ab')₂および単ドメイン抗体が包含される。Fvフラグメントは、疎水性相互作用により結合した抗体のVLドメインとVHドメインとからなり；dsFvフラグメントでは、VH:VLヘテロ二量体がジスルフィド結合によって安定化されており；scF

10

20

30

40

50

vフラグメントでは、V_LドメインとV_Hドメインが柔軟なペプチドリinkerを介して互いに連結され、それにより一本鎖タンパク質を形成している。F_abフラグメントは、抗体のパパイン消化によって得られる単量体フラグメントであり、ジスルフィド結合により互いに結合したL鎖全体とH鎖のV_H-C_H1フラグメントとを含む。F_(a b')2フラグメントは、抗体のヒンジジスルフィドより下の部分をペプシンで消化することによって得られるものであり、2つのF_{a b'}フラグメントと、さらには免疫グロブリン分子のヒンジ領域の一部とを含む。F_{a b'}フラグメントは、ヒンジ領域内のジスルフィド結合を切断することによってF_(a b')2フラグメントから得られるものである。F_(a b')2フラグメントは二価である、すなわち、天然の免疫グロブリン分子のように2つの抗原結合部位を含み；それに対して、F_v(F_{a b}の可変部分を構成しているV_HV_L二量体)フラグメント、d_sF_vフラグメント、s_cF_vフラグメント、F_{a b}フラグメントおよびF_{a b'}フラグメントが一価である、すなわち、単一の抗原結合部位を含む。これらの本発明の基本的な抗原結合フラグメント同士を組み合わせ、ダイアボディ、トライアボディまたはテトラボディなどの多価抗原結合フラグメントを得ることができる。これらの多価抗原結合フラグメントも本発明の一部である。

10

20

30

【0051】

本明細書で使用される「二重特異性抗体」という用語は、第一の抗原に特異的な少なくとも1つの領域（例えば、第一の抗体の可変領域に由来するもの）と、第二の抗原に特異的な少なくとも1つの第二の領域（例えば、第二の抗体の可変領域に由来するもの）とを有することによって2種類の異なる抗原を認識する抗体を指す。二重特異性抗体は2種類の標的抗原と結合し、このため、多重特異性抗体の1種である。2種類以上の異なる抗原を認識する多重特異性抗体は、組換えDNA法によって作製することができるか、または、任意の好都合な方法によって化学的に作製した抗体を含むものであり得る。二重特異性抗体には、2種類の異なる抗原を認識することが可能なあらゆる抗体もしくは抗体のコンジュゲートまたは多量体型の抗体が含まれる。二重特異性抗体には、二価特性が保持されるように小型化し再構成した抗体および各抗原に対して複数の抗原認識部位を有し得るように2つの抗体を化学的にカップリングしたもの、例えばB_iM_E（二重特異性マクロファージ増強抗体）、B_iT_E（二重特異性T細胞結合体）、D_AR_T（二重親和性再標的化）；D_NL（ドック・アンド・ロック（d o c k - a n d - l o c k））、D_VD - I_g（二重可変ドメイン免疫グロブリン）、H_AS（ヒト血清アルブミン）、k_ih（ノブズ・イントゥー・ホールズ（k n o b s i n t o h o l e s））などが含まれる。

【0052】

したがって、本発明の二重特異性抗体は、C_D38および第二の抗原と特異的に結合し、N_AA_DP受容体2孔チャネルT_PC1および/またはT_PC2の開口を活性化する。

【0053】

一実施形態では、本発明は、二重特異性であり、特にN_AA_DP受容体2孔チャネルT_PC1および/またはT_PC2の開口による神経変性および/または炎症性疾患の予防および/または治療に薬物として使用する、本明細書で定義される抗C_D38抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物も包含する。

【0054】

治療用抗体を開発するためのいくつかの研究により、抗体特性を最適化するF_c領域が設計され、治療用抗体に必要とされる薬理学活性にさらに適した分子の作製が可能になった。抗体のF_c領域は、血清中半減期およびエフェクター機能、例えば補体依存性細胞傷害（C_DC）、抗体依存性細胞傷害（A_DC_C）および抗体依存性細胞食作用（A_DC_P）などを媒介する。C_H2ドメインとC_H3ドメインの境界に位置するいくつかの変異、例えばT₂50Q/M₄28LおよびM₂52Y/S₂54T/T₂56E+H₄33K/N₄34Fなどが、I_gG1のF_cR_nに対する結合親和性および半減期をi_n v i v oで増大させることが明らかにされている。しかし、F_cR_n結合の増大と半減期の改善との間に必ずしも直接的な関係があるわけではない。治療用抗体の効果を改善する方法の1つが、その血清中での持続性を増大させ、それにより循環血中レベルを高め、投与頻

40

50

度を減らし、用量を減じることである。抗体のエフェクター機能を低下または増大させるようFc領域を設計することが望まれ得る。細胞表面分子、特に免疫細胞またはニューロン上の細胞表面分子を標的とする抗体には、エフェクター機能を消失させることが必要である。これとは逆に、腫瘍に対する使用を目的とする抗体には、エフェクター機能を増大させることにより治療活性が改善され得る。4種類のヒトIgGアイソタイプは、異なる親和性で活性化Fc受容体(FcRI、FcRIIa、FcRIIIa)、阻害FcRIIb受容体および補体の第1成分(C1q)と結合し、エフェクター機能に大きな差がある。IgGとFcRまたはC1qとの結合は、ヒンジ領域およびCH2ドメインに位置する残基に依存する。IgG2およびIgG4では、CH2ドメインの2つの領域がFcRおよびC1qとの結合に極めて重要であり、特有の配列を有する。

10

【0055】

本明細書で使用される「改変抗体」は、機能的に異なる分子と結合した抗体またはその抗原結合フラグメントを含む、分子に対応する。本発明の改変抗体は、抗体または機能的フラグメントの安定性および/または半減期を改善する共有結合、移植、化学基もしくは生物学的基または分子、例えばPEGポリマーまたは*in vivo*でのプロテアーゼによる切断からの保護に適した別の保護基もしくは分子などとの化学結合を含めた任意の適切な形態の結合から得られる融合キメラタンパク質またはコンジュゲートであり得る。同様の技術を用いて、特に化学的カップリングまたは移植により、生物学的活性分子を用いて改変抗体を調製することができ、前記活性分子は、例えば、毒素、特にシュードモナスエキソトキシンA、植物毒素リシンのA鎖またはサボリン毒素、特に治療有効成分、抗体または機能性フラグメントをヒト身体の特定の細胞または組織に標的化するのに適したベクター(特にタンパク質ベクターを含む)のうちから選択されるものであるか、あるいは、特に抗体のフラグメントを使用する場合には、標識またはリンカーと結合したものであり得る。抗体またはその機能性フラグメントのPEG化は、特に治療用途には、宿主への活性物質の送達条件が改善されることから、関心がもたれる特定の実施形態である。PEG化は、抗体または機能性フラグメントの認識部位に干渉しないよう部位特異的なものであり得、高分子量のPEGで実施し得る。PEG化は、抗体もしくは機能性フラグメントの配列中に存在する遊離システイン残基を介して、または抗体もしくは機能性フラグメントのアミノ配列中に付加した遊離システイン残基を介して達成され得る。

20

【0056】

一実施形態では、本発明は、改変されており、特にNAADP受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口による神経変性および/または炎症性疾患の予防および/または治療に薬物として使用する、本明細書で定義される抗CD38抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物も包含する。

30

【0057】

本明細書で使用される「抗原結合抗体模倣物」という用語は、抗体のものを模倣する抗原結合能を有する、人工のタンパク質、ペプチドおよび任意の化合物を指す。

【0058】

このような模倣物はオリゴヌクレオチドアプタマーを含む。本明細書で使用される「オリゴヌクレオチド」という用語は、DNA、RNAのほかにも修飾ヌクレオチド(少なくとも1つの化学修飾を含むヌクレオチドなど)を含めた短いヌクレオチド分子に関連するものである。具体的には、前記オリゴヌクレオチドは200個未満のヌクレオチド、より具体的には50個未満のヌクレオチドからなる。本明細書で使用される「オリゴヌクレオチドアプタマー」という用語は、自身に特有の三次元構造に折り畳まれたとき、高い親和性および特異性で小分子のリガンドまたはタンパク質標的と選択的に結合することができる、短いオリゴヌクレオチドを指す。

40

【0059】

このような模倣物は、アフィチンおよびアンチカリンならびにペプチドアプタマーを含む。アフィチンは、抗原と選択的に結合することが可能な人工タンパク質である。アフィチンは構造的には、古細菌ドメインに属する微生物、スルホロブス・アシドカルダリウス

50

(Sulfolobus acidocaldarius) にみられる DNA 結合タンパク質 Sac7d に由来する。Sac7d の結合表面のアミノ酸をランダム化することにより、例えば、Sac7d の結合面の 11 残基のランダム置換に対応するバリエーションを作製することにより、アフィチンライブラリーを作製することができ、得られたタンパク質ライブラリーにリボソームディスプレイのラウンドを実施して、親和性をペプチド、タンパク質、ウイルスおよび細菌などの様々な標的に向けることができる。アフィチンは抗体模倣物であり、バイオテクノロジーのツールとして開発が進められている。アフィチンはこれまで、様々な酵素に特異的な阻害剤としても用いられている (Krehenbrink et al., 2008, J Mol Biol. 383 (5): 1058-68)。

当業者であれば、当該技術分野で公知の方法、特に国際公開第 2008068637 号および上記の刊行物に開示されている方法、特に、本明細書に開示されるファージディスプレイおよび/またはリボソームディスプレイライブラリーの作製ならびに抗原を用いるそのスクリーニングを用いて、必要な結合特性を有するアンチカリンを容易に開発し得る。アンチカリンは、抗原、タンパク質または小分子と結合することが可能な人工タンパク質である。アンチカリンは、自然な状態で結合するタンパク質のファミリーであるヒトリボカリンに由来する抗体模倣物である。アンチカリンは、約 8 分の 1 であり、大きさ約 180 アミノ酸、質量約 20 kDa である (Kolmar & Skerra, 2008, FEBS J. 275 (11): 2667)。

これまでに、特に特定の結合特性を有するアンチカリンのスクリーニングおよび選択が可能なアンチカリンファージディスプレイライブラリーが作製されている。当業者であれば、当該技術分野で公知の方法、特に欧州特許第 1270725 号、米国特許第 8,536,307 号、Schlehuber および Skerra (2002, Biophys Chem. 96 (2-3): 213-28) ならびに上記の刊行物に開示されている方法、特に、本明細書に開示されるファージディスプレイおよび/またはリボソームディスプレイライブラリーの作製ならびに抗原を用いるそのスクリーニングを用いて、必要な結合特性を有するアフィチンを容易に開発し得る。

本明細書で使用される「ペプチドアプタマー」という用語は、標的分子 (抗原) 上の特定の部位と結合するよう選択した小型のコンピナトリアルタンパク質を指す。細菌発現系を含む多数の発現系で、またはコンピナトリアル化学によって、アンチカリンおよびアフィチンおよびペプチドアプタマーを作製し得る。したがって、本発明は、特に、CD38 との特異的結合および NAADP 受容体 2 孔チャネル TPC1 および/または TPC2 の開口の活性化に関して、本明細書に記載される抗体の特徴を有する、アフィチン、アンチカリン、ペプチドアプタマーおよびその他の類似した抗体模倣物を提供する。

【0060】

抗体またはそのフラグメントに関して本明細書に開示される実施形態はいずれも、必要な変更を加えて本発明の抗原結合抗体模倣物に置き換えられる。

【0061】

本明細書で使用される「CD38」という用語は、Malavasira (2008, Physiological Review. 88: 841-886) に記載されている T10、環状 ADP-リボース加水分解酵素 1、ADPRC1 としても知られ、具体的には哺乳動物種に由来する 45 kDa の II 型膜貫通糖タンパク質、より具体的にはヒト CD38 を指す。

【0062】

好ましくは、「ヒト CD38」という用語は、NCBI アクセッション番号 NP_001766 により参照される、配列番号 1 のアミノ酸配列のタンパク質を指す。本明細書に記載されるヒト CD38 のアミノ酸の番号付けは、NCBI アクセッション番号 NP_001766 により参照され、配列番号 1 で示される、ヒト CD38 配列のアミノ酸の番号付けに対応する。

【0063】

配列番号 1

MANCEFS PVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVSIILVLIILVVVLA

V V V P R W R Q Q W S G P G T T K R F P E T V L A R C V K Y T E I H P E M R H V
D C Q S V W D A F K G A F I S K H P C N I T E E D Y Q P L M K L G T Q T V P C N
K I L L W S R I K D L A H Q F T Q V Q R D M F T L E D T L L G Y L A D D L T W C
G E F N T S K I N Y Q S C P D W R K D C S N N P V S V F W K T V S R R F A E A A
C D V V H V M L N G S R S K I F D K N S T F G S V E V H N L Q P E K V Q T L E A
W V I H G G R E D S R D L C Q D P T I K E L E S I I S K R N I Q F S C K N I Y R
P D K F L Q C V K N P E D S S C T S E I

【0064】

「抗CD38抗体」という用語は、CD38、特にヒトCD38と特異的に結合する抗体を指す。

【0065】

本発明による化合物（具体的には、本発明による抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物）とCD38（具体的には、CD38内のエピトープ）との間の特異的結合から、本発明による化合物（具体的には、本発明による抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物；本発明による有機小分子；あるいは本発明によるオリゴヌクレオチド）がCD38（具体的には、CD38内のエピトープ）に対して相当な親和性を示すことがわかる。

【0066】

化合物が抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物である場合、「相当な親和性」には、約 10^{-7} M、好ましくは約 10^{-8} M（ K_D -親和性定数）またはこれより強い親和性で結合することが含まれる。好ましくは、結合親和性が約 10^{-7} M～約 10^{-12} M、任意選択で約 10^{-8} ～約 10^{-12} 、任意選択で約 10^{-9} M～約 10^{-11} Mの範囲内にある、具体的には約 10^{-10} Mであるとき、結合が特異的なものであると考える。

【0067】

化合物が有機小分子である場合、「相当な親和性」には、約 10^{-6} M（ K_D -親和性定数）またはこれより強い親和性で結合することが含まれる。好ましくは、結合親和性が約 10^{-6} M～約 10^{-10} M、任意選択で約 10^{-7} M～約 10^{-9} Mの範囲内にある、具体的には約 10^{-8} Mであるとき、結合が特異的なものであると考える。

【0068】

化合物がオリゴヌクレオチドである場合、「相当な親和性」には、約200 nM（ K_D -親和性定数）またはこれより強い親和性で結合することが含まれる。好ましくは、結合親和性が約10 nM～約200 nM、任意選択で約50 nM～約150 nMの範囲内にある、具体的には約100 nMであるとき、結合が特異的なものであると考える。

【0069】

ある結合ドメインが標的と特異的に反応または結合するかどうかは、具体的には、前記結合ドメインと標的タンパク質または抗原との反応と、前記結合ドメインと標的タンパク質以外のタンパク質または抗原との反応を比較することによって容易に試験することができる。

【0070】

親和性は、当業者に周知の様々な方法によって求めることができる。このような方法としては、特に限定されないが、Biacore解析、Blitz解析およびスキャッチャードプロットが挙げられる。

【0071】

一実施形態では、本発明による抗CD38抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物は、好ましくはバイオセンサー解析によって、特にBiacore解析によって求め得るCD38に対する K_D 値（親和性定数）が約 10^{-7} M以下、好ましくは約 10^{-8} 以下、より好ましくは約 10^{-9} M以下、さらにより好ましくは約 10^{-10} M以下である。

【0072】

本明細書で使用される「N A A D P 受容体 2 孔チャネル T P C 1 および / または T P C 2」という用語は、P a t e l ら (2 0 1 5 . S c i S i g n a l . 8 (3 8 4) : r e 7) に記載されている T P C N 1 および T P C N 2 としても知られる受容体と関連するものである。

【 0 0 7 3 】

好ましくは、「N A A D P 受容体 2 孔チャネル T P C 1」は、N C B I アクセッション番号 N P _ 0 0 1 1 3 7 2 9 1 . 1 により参照される配列番号 2 のアミノ酸配列のヒト T P C 1 を指す。

【 0 0 7 4 】

配列番号 2

10

M E S C Y I A Q A G L E L L G S S S S P T L T S Q S A E I T E D A S N G G V S E
Q H P W P S G F E R E L K P E T I S S P G Y H I L R A T G E E N M A V S L D D D
V P L I L T L D E G G S A P L A P S N G L G Q E E L P S K N G G S Y A I H D S Q
A P S L S S G G E S S P S S P A H N W E M N Y Q E A A I Y L Q E G E N N D K F F
T H P K D A K A L A A Y L F A H N H L F Y L M E L A T A L L L L L L S L C E A P
A V P A L R L G I Y V H A T L E L F A L M V V V F E L C M K L R W L G L H T F I
R H K R T M V K T S V L V V Q F V E A I V V L V R Q M S H V R V T R A L R C I F
L V D C R Y C G G V R R N L R Q I F Q S L P P F M D I L L L L L F F M I I F A I
L G F Y L F S P N P S D P Y F S T L E N S I V S L F V L L T T A N F P D V M M P
S Y S R N P W S C V F F I V Y L S I E L Y F I M N L L L A V V F D T F N D I E K
R K F K S L L L H K R T A I Q H A Y R L L I S Q R R P A G I S Y R Q F E G L M R
F Y K P R M S A R E R Y L T F K A L N Q N N T P L L S L K D F Y D I Y E V A A L
K W K A K K N R E H W F D E L P R T A L L I F K G I N I L V K S K A F Q Y F M Y
L V V A V N G V W I L V E T F M L K G G N F F S K H V P W S Y L V F L T I Y G V
E L F L K V A G L G P V E Y L S S G W N L F D F S V T V F A F L G L L A L A L N
M E P F Y F I V V L R P L Q L L R L F K L K E R Y R N V L D T M F E L L P R M A
S L G L T L L I F Y Y S F A I V G M E F F C G I V F P N C C N T S T V A D A Y R
W R N H T V G N R T V V E E G Y Y Y L N N F D N I L N S F V T L F E L T V V N N
W Y I I M E G V T S Q T S H W S R L Y F M T F Y I V T M V V M T I I V A F I L E
A F V F R M N Y S R K N Q D S E V D G G I T L E K E I S K E E L V A V L E L Y R
E A R G A S S D V T R L L E T L S Q M E R Y Q Q H S M V F L G R R S R T K S D L
S L K M Y Q E E I Q E W Y E E H A R E Q E Q Q R Q L S S S A A P A A Q Q P P G S
R Q R S Q T V T

20

30

【 0 0 7 5 】

好ましくは、「N A A D P 受容体 2 孔チャネル T P C 2」という用語は、N C B I アクセッション番号 N P _ 6 2 0 7 1 4 . 2 により参照される配列番号 3 のアミノ酸配列のヒト T P C 2 を指す。

【 0 0 7 6 】

配列番号 3

40

M A E P Q A E S E P L L G G A R G G G G D W P A G L T T Y R S I Q V G P G A A A
R W D L C I D Q A V V F I E D A I Q Y R S I N H R V D A S S M W L Y R R Y Y S N
V C Q R T L S F T I F L I L F L A F I E T P S S L T S T A D V R Y R A A P W E P
P C G L T E S V E V L C L L V F A A D L S V K G Y L F G W A H F Q K N L W L L G
Y L V V L V V S L V D W T V S L S L V C H E P L R I R R L L R P F F L L Q N S S
M M K K T L K C I R W S L P E M A S V G L L L A I H L C L F T M F G M L L F A G
G K Q D D G Q D R E R L T Y F Q N L P E S L T S L L V L L T T A N N P D V M I P
A Y S K N R A Y A I F F I V F T V I G S L F L M N L L T A I I Y S Q F R G Y L M
K S L Q T S L F R R R L G T R A A F E V L S S M V G E G G A F P Q A V G V K P Q
N L L Q V L Q K V Q L D S S H K Q A M M E K V R S Y G S V L L S A E E F Q K L F
N E L D R S V V K E H P P R P E Y Q S P F L Q S A Q F L F G H Y Y F D Y L G N L

50

I A L A N L V S I C V F L V L D A D V L P A E R D D F I L G I L N C V F I V Y Y
 L L E M L L K V F A L G L R G Y L S Y P S N V F D G L L T V V L L V L E I S T L
 A V Y R L P H P G W R P E M V G L L S L W D M T R M L N M L I V F R F L R I I P
 S M K L M A V V A S T V L G L V Q N M R A F G G I L V V V Y Y V F A I I G I N L
 F R G V I V A L P G N S S L A P A N G S A P C G S F E Q L E Y W A N N F D D F A
 A A L V T L W N L M V V N N W Q V F L D A Y R R Y S G P W S K I Y F V L W W L V
 S S V I W V N L F L A L I L E N F L H K W D P R S H L Q P L A G T P E A T Y Q M
 T V E L L F R D I L E E P G E D E L T E R L S Q H P H L W L C R

【0077】

本明細書で使用される「N A A D P 受容体 2 孔チャネル T P C 1 および / または T P C 2 の開口を活性化する」という用語は、N A A D P 受容体 2 孔チャネル T P C 1 および / または T P C 2 を活性化することにより、その開口およびリソソームの $C a^{2+}$ 貯蔵から細胞質への $C a^{2+}$ の放出を引き起こす (Patel et al., 2015. Sci Signal. 8 (384) : re7 に記載されている) ことと関連するものである。

【0078】

ある化合物が N A A D P 受容体 2 孔チャネル T P C 1 および / または T P C 2 の開口を活性化する能力は、のちの実施例の節でさらに記載するように、T P C 1 および / または T P C 2 活性化阻害剤、例えば Ned K (Davidson et al., 2015. Cardiovasc Res. 108 (3) : 357 - 66) または Ned - 19 (Arndt et al., 2014. Mol Biol Cell. 25 (6) : 948 - 64 ; Calcraft et al., 2009. Nature. 459 (7246) : 596 - 600 ; Naylor et al., 2009. Nat Chem Biol. 5 (4) : 220 - 6 ; Lee et al., 2016. Sci Rep. 6 : 20282) などを用いて試験することができる。

【0079】

具体的には、C D 3 8 と特異的に結合する本発明による化合物の神経保護効果は、のちの実施例の節で記載する神経保護アッセイで、Ned K および / または Ned - 19 の存在下では、Ned K および / または Ned - 19 の不在下での陰性対照と比較して、少なくとも 20 %、30 %、40 %、50 %、具体的には少なくとも 60 %、より具体的には少なくとも 70 % 拮抗される。このような神経保護アッセイとしては、特に限定されないが、のちの実施例の節でさらに記載する、中脳培養物中での自発的で進行性のドーパミン作動性 (D A) ニューロン死の防止、ドーパミン作動性ニューロンのミトコンドリア神経毒 M P P⁺ からの保護、ドーパミン作動性ニューロンの神経栄養因子欠乏からの保護、皮質ニューロンの酸化ストレスからの保護および皮質ニューロンの興奮毒性からの保護に関して Ned - 19 の存在下または不在下で実施するアッセイが挙げられる。

【0080】

具体的には、C D 3 8 と特異的に結合する本発明による化合物の抗炎症効果は、のちの実施例の節でさらに記載する炎症アッセイで、Ned K および / または Ned - 19 の存在下では、Ned K および / または Ned - 19 の不在下の陰性対照と比較して、少なくとも 10 %、20 %、25 %、30 %、具体的には少なくとも 35 %、より具体的には少なくとも 40 % 拮抗される。このような炎症アッセイとしては、特に限定されないが、のちの実施例の節でさらに記載し、Ned - 19 の存在下または不在下で実施する、ミトコンドリア神経毒 M P P⁺ で処理したときの小膠細胞数の増加を *in vitro* で定量化するアッセイ、あるいはコンズリトール エポキシド (C B E) で処理したときの小膠細胞数および / または星状膠細胞数の増加を *in vivo* で定量化するアッセイが挙げられる。

【0081】

一実施形態では、本発明に従って C D 3 8 と特異的に結合し、N A A D P 受容体 2 孔チャネル T P C 1 および / または T P C 2 の開口を活性化する、本発明による化合物には、様々なタイプのニューロンを様々なタイプの神経変性機序から直接的および / または間接

10

20

30

40

50

的に保護するという利点がある。

【0082】

本発明に従ってCD38と特異的に結合し、NADP受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化し、本発明による化合物には、以下の特性のうち少なくとも1つ、具体的には全部の特性がある：

- ニューロン、具体的には中脳ドーパミン作動性ニューロンの自発的で進行性の細胞死を防止する；
- ドーパミン作動性ニューロンをミトコンドリア複合体I阻害によるエネルギー欠乏から、具体的にはミトコンドリア神経毒MPP⁺から保護する；
- ドーパミン作動性ニューロンを神経栄養因子欠乏から、特にGDNF欠乏から保護する；
- ニューロン、具体的には皮質ニューロンを興奮毒性から、具体的にはグルタミン酸傷害から保護する；
- 皮質ニューロンを酸化ストレスから、具体的にはH₂O₂傷害から保護する；および
- *in vivo*で注射したとき、小膠細胞と星状膠細胞の数を抑えること、および/または抗炎症性インターロイキン10(IL-10)レベルを増大させることによる、抗炎症効果を示す。

【0083】

一実施形態では、本発明による化合物は、NADPレベル測定アッセイで、具体的にはニューロンの細胞内NADPレベルを陰性対照分子と比較して少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、具体的には少なくとも60%、より具体的には少なくとも70%増大させる。

【0084】

HPLCおよび質量スペクトル解析などにより細胞内NADPレベルを求める方法は、当該技術分野で周知である(Berridge et al., 2002, Biochem J, 365(Pt 1): 295-301を参照されたい)。

【0085】

具体的には、本発明による化合物は、CD38(具体的にはヒトCD38)のNADP加水分解酵素活性を阻害することによって、またはCD38(具体的にはヒトCD38)のNADPシンターゼ活性を活性化することによって、具体的にはニューロンの細胞内NADPレベルを増大させる。

【0086】

具体的には、本発明による化合物は、CD38(具体的にはヒトCD38)がNADPを(具体的にはADPRP)に分解する能力を阻害することによって(すなわち、CD38のNADP加水分解酵素活性を阻害することによって)、またはCD38(具体的にはヒトCD38)が(具体的にはニコチン酸の存在下でNADP⁺から)NADPを合成する能力を活性化することによって(すなわち、CD38のNADPシンターゼ活性を活性化することによって)、具体的にはニューロンの細胞内NADPレベルを増大させる。

【0087】

ある化合物がCD38のNADP加水分解酵素活性を阻害する(すなわち、CD38がNADPを具体的にはADPRPに分解する能力を阻害する)能力は、当該技術分野で周知の方法を用いて、例えば、Schmidら(2011, FEBS Lett, 585(22): 3544-8)に記載されているように少なくともNADPとCD38(組換えCD38タンパク質、抽出した細胞タンパク質またはCD38を発現する細胞全体に由来するもの；生化学的アッセイまたは細胞ベースのアッセイ)とを含む溶液を用いて*in vitro*で、アッセイすることができる。

【0088】

ある化合物がCD38のNADPシンターゼ活性を活性化する(すなわち、CD38が具体的にはニコチン酸の存在下でNADP⁺からNADPを合成する能力を活性化す

10

20

30

40

50

る；N A A D Pシンターゼ活性）を活性化する能力は、当該技術分野で周知の方法を用いて、例えば、S c h m i dら（2011, F E B S L e t t . 585（22）：3544-8）に記載されているように少なくともN A D Pとニコチン酸とC D 3 8（組換えC D 3 8タンパク質、抽出した細胞タンパク質またはC D 3 8を発現する細胞全体に由来するもの；生化学的アッセイまたは細胞ベースのアッセイ）とを含む溶液を用いてi n v i t r oで、アッセイすることができる。

【0089】

一実施形態では、本発明による化合物は、細胞内カルシウムレベル測定アッセイで、具体的にはニューロンの細胞質カルシウムレベルを陰性対照分子と比較して少なくとも10%、20%、具体的には少なくとも30%、より具体的には少なくとも40%増大させる。

10

【0090】

のちの実施例の節でさらに記載する蛍光カルシウム指示薬を用いる顕微鏡法などにより細胞質カルシウムレベルを求める方法は、当該技術分野で周知である。

【0091】

いくつかの論文では、C D 3 8と特定の抗体との結合がC D 3 8の内部移行およびそれに続くリソソームへの再局在化を引き起こすことが明らかにされている（F u n a r o e t a l . , 1998, J I m m u n o l . 160（5）：2238-47）。さらに、C D 3 8によるN A A D P合成は酸性pHでのみ起こる（A a r h u s e t a l . , 1995, J B i o l C h e m . 270（51）：30327-33）。このようなpH条件がみられるのは、細胞内ではリソソーム区画に限られる。F a n gら（2018, J B i o l C h e m . 293（21）：8151-8160）は、抗体がC D 3 8と結合すると、このタンパク質がクラスリン依存性エンドサイトーシスによりリソソーム区画内に内部移行することを報告している。F a n gらは、C D 3 8のリソソーム内への再局在化が細胞内N A A D Pレベルを増大させることも明らかにしている。

20

【0092】

一実施形態では、本発明による化合物は、C D 3 8と結合すると、エンドサイトーシスによるC D 3 8の内部移行を引き起こす。一実施形態では、本発明による化合物は、C D 3 8と結合すると、エンドサイトーシスによるC D 3 8のクラスリン被覆小胞内への内部移行を引き起こす。一実施形態では、本発明による化合物は、C D 3 8と結合すると、エンドサイトーシスによるC D 3 8のリソソーム内への内部移行を引き起こす。

30

【0093】

一実施形態では、本発明による化合物はエンドサイトーシス区画に内部移行する。

【0094】

特定の細胞成分（例えば、C D 3 8など）または外因性に供給された化合物（例えば、本発明による化合物など）のエンドサイトーシスによる内部移行を明らかにする方法は当該技術分野で周知であり、例えば、前記成分または化合物の標識および顕微鏡観察、前記成分または化合物がプロテアーゼから保護される程度の定量化が挙げられる。初期エンドサイトーシスマーカー、例えばR a b 5もしくはクラスリンなど、またはリソソームマーカー、例えばl y s o t r a c k e rもしくはL A M P 1などとの共標識を用いて、内部移行したC D 3 8が局在化しているエンドサイトーシス区画を特定してもよい。

40

【0095】

一実施形態では、本発明による化合物の神経保護効果は、のちの実施例の節でさらに記載する神経保護アッセイで、エンドサイトーシスによる内部移行の阻害剤の存在下では、前記阻害剤の存在しない対照と比較して少なくとも20%、30%、40%、50%、具体的には少なくとも60%、より具体的には少なくとも70%拮抗される。このようなアッセイに使用し得るエンドサイトーシスによる内部移行の阻害剤の非限定的な例として、ジャスプラキノリドがある。

【0096】

一実施形態では、本発明による化合物による細胞内カルシウム濃度の増大は、のちの実

50

施例の節でさらに記載する細胞内カルシウムレベル測定アッセイで、エンドサイトーシスによる内部移行の阻害剤の存在下では、このような阻害剤が存在しない対照と比較して少なくとも5%、10%、15%、具体的には少なくとも20%、より具体的には少なくとも25%拮抗される。このようなアッセイに使用し得るエンドサイトーシスによる内部移行の阻害剤の非限定的な例として、ジャスブラキノリドがある。

【0097】

一実施形態では、本発明による化合物は、CD38と結合すると、エンドサイトーシスによるCD38のリソソーム内区画、好ましくはリソソーム区画への内部移行を引き起こす。

【0098】

一実施形態では、本発明による化合物はエンドサイトーシスによりリソソーム区画に取り込まれる。

【0099】

一実施形態では、本発明による化合物の神経保護効果は、のちの実施例の節でさらに記載する神経保護アッセイで、リソソーム酸性化阻害剤の存在下では、このような阻害剤が存在しない対照と比較して少なくとも20%、30%、40%、50%、具体的には少なくとも60%、より具体的には少なくとも70%拮抗される。このようなアッセイに使用し得るリソソーム酸性化阻害剤の非限定的な例として、パフィロマイシンA1がある。

【0100】

一実施形態では、本発明による化合物の神経保護効果は、のちの実施例の節でさらに記載する神経保護アッセイで、リソソーム成熟および/または Ca^{2+} 依存性エキソサイトーシスの阻害剤の存在下では、このような阻害剤が存在しない対照と比較して少なくとも20%、30%、40%、50%、具体的には少なくとも60%、より具体的には少なくとも70%拮抗される。このようなアッセイに使用し得るリソソーム成熟および/または Ca^{2+} 依存性エキソサイトーシスの阻害剤の非限定的な例として、バキュオリン1およびエンドシジン2がある。

【0101】

一実施形態では、本発明による化合物の神経保護効果は、のちの実施例の節でさらに記載する神経保護アッセイで、サーチイン1阻害剤の存在下では、このような阻害剤が存在しない対照と比較して50%以下、40%以下、30%以下、20%以下、15%以下、具体的には10%以下、より具体的には5%以下だけ拮抗される。このようなアッセイで使用し得るサーチイン1阻害剤の非限定的な例として、Ex-527がある。

【0102】

一実施形態では、本発明による化合物の神経保護効果は、のちの実施例の節でさらに記載する神経保護アッセイで、リアノジン受容体阻害剤の存在下では、このような阻害剤が存在しない対照と比較して50%以下、40%以下、30%以下、20%以下、15%以下、具体的には10%以下、より具体的には5%以下だけ拮抗される。このようなアッセイに使用し得るリアノジン受容体阻害剤の非限定的な例として、ダントロレンがある。

【0103】

一実施形態では、本発明による化合物は、のちの実施例の節でさらに記載するグルコース取込みアッセイで、具体的にはニューロンでのグルコース取込みを陰性対照分子と比較して少なくとも30%、40%、50%、具体的には少なくとも60%、より具体的には少なくとも65%増大させる。

【0104】

一実施形態では、本発明による化合物は、抗CD38抗体、その抗原結合フラグメントおよび抗原結合抗体模倣物を含むか、これよりなる群より選択される。

【0105】

具体的には、本発明による前記抗CD38抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物は、配列番号1のヒトCD38のアミノ酸70~300を含むか、これよりなるペプチド、より具体的にはアミノ酸220~285を含むか、これよりなる

10

20

30

40

50

ペプチドと特異的に結合する。

【0106】

本明細書に記載されるヒトCD38のアミノ酸の番号付けは、配列番号1で示され、NCBIアクセッション番号NP_001766により参照される、ヒトCD38配列のアミノ酸の番号付けに対応する。したがって、ヒトCD38のアミノ酸70～300を含むか、これよりなるペプチド、より具体的にはアミノ酸220～285を含むか、これよりなるペプチドと特異的に結合する、前記本発明による抗CD38抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物は、配列番号1で示され、NCBIアクセッション番号NP_001766により参照されるヒトCD38配列内の70～300位にあるアミノ酸を含むか、これよりなるペプチド、より具体的にはアミノ酸220～285を含むか、これよりなるペプチドと特異的に結合する。

10

【0107】

一実施形態では、前記本発明による抗CD38抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物は、配列番号1のヒトCD38のシステイン254および/またはシステイン275と特異的に結合する。

【0108】

一実施形態では、前記本発明による抗CD38抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物は、ヒトCD38のシステイン254およびシステイン275を含む5番目（最後から2番目）のC末端ジスルフィドループを含む領域、具体的には、配列番号1のヒトCD38のアミノ酸220～285を含むか、これよりなる前記領域と特異的に結合する。

20

【0109】

一実施形態では、前記本発明による抗CD38抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物は、配列番号1のヒトCD38のシステイン254およびシステイン275を含む5番目のC末端ジスルフィドループと特異的に結合する。

【0110】

一実施形態では、前記本発明による抗CD38抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物は、配列番号1のヒトCD38のシステイン287およびシステイン296を含む6番目のC末端ジスルフィドループを含む領域、より具体的には、配列番号1のヒトCD38のアミノ酸285～300を含むか、これよりなる前記領域と特異的に結合することはない。

30

【0111】

一実施形態では、前記本発明による抗CD38抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物は、配列番号1のヒトCD38のシステイン287およびシステイン296を含む6番目のC末端ジスルフィドループと特異的に結合することはない。

【0112】

一実施形態では、本発明による抗CD38抗体は、HB7、クローン90、AT1、（表1に記載されている）AT13/5ならびにCD38と特異的に結合し、NAADP受容体2孔チャンネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化することが可能なその変異抗体、（キメラおよびヒト化を含む）組換え抗体、二重特異性抗体および改変抗体を含むか、これよりなる群のなかで；具体的には、HB7、クローン90、AT1ならびにCD38と特異的に結合し、NAADP受容体2孔チャンネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化することが可能なその変異抗体、（キメラおよびヒト化を含む）組換え抗体、二重特異性抗体および改変抗体を含むか、これよりなる群のなかで；より具体的には、HB7、クローン90ならびにCD38と特異的に結合し、NAADP受容体2孔チャンネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化することが可能なその変異抗体、（キメラおよびヒト化を含む）組換え抗体、二重特異性抗

40

50

体および改変抗体を含むか、これよりなる群のなかで選択される。

【0113】

一実施形態では、本発明の抗ヒトCD38抗体は、モノクローナル抗体、具体的にはヒト化モノクローナル抗体、より具体的には、抗体の軽鎖定常ドメインがヒトカップ軽鎖定常メインに由来し、抗体の重鎖定常ドメインが、ヒトIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4（野生型または変異）重鎖定常ドメインに由来するヒト化モノクローナル抗体である。

【0114】

本発明によるヒト化抗体またはその抗原結合フラグメントには、それを投与するヒト対象に対して免疫原性がマウスより低い（または完全に非免疫原性である）という利点がある。

10

【0115】

当業者に周知のように、重鎖定常ドメインのIgGアイソタイプの選択では、特定の機能が必要とされるかどうかということ、および適切なin vivo半減期の必要性に重点を置く。例えば、癌細胞の選択的根絶のために設計する抗体は通常、補体活性化および抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性によるエフェクター媒介性細胞殺作用を可能にする活性なアイソタイプを必要とする。ヒトIgG1アイソタイプおよびIgG3アイソタイプ（半減期が短い方）の両方、特にヒトIgG1アイソタイプ（野生型およびバリエーション）がこれらの基準を満たす。具体的には、重鎖定常ドメインのIgGアイソタイプ（特に、ヒト野生型およびバリエーションIgG1アイソタイプ）に応じて、抗体は、CDC、ADCCおよび/またはADCP機序を介して、細胞に対し細胞傷害性となり得る（Salfeld, 2007. Nat Biotechnol. 25(12): 1369-72; Irani et al., 2015. Mol Immunol. 67(2 Pt A): 171-82）。実際、結晶化可能フラグメント（Fc）領域は、様々なアクセサリ分子と相互作用して、抗体依存性細胞傷害（ADCC）、抗体依存性細胞食作用（ADCP）および補体依存性細胞傷害（CDC）などの間接的なエフェクター機能を媒介する。

20

【0116】

一実施形態では、抗体、その抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物を改変して、血液脳関門（BBB）を通過する送達を促進する。例えば抗体を非経口投与する場合に、抗体を改変して、それがBBBを通過するのを促進する手段および方法は当該技術分野で周知であり、例えば、Yu et al., 2011. Sci Transl Med. 3(84): 84ra44; Atwal et al., 2011. Sci Transl Med. 3(84): 84ra43; ならびに国際公開第2015031673号および同第2016208695号に記載されている。

30

【0117】

本明細書で使用される「有機小分子」という用語は、低分子量有機化合物（最大5000 Da、より具体的には最大2000 Da、最も具体的には最大約1000 Da）を指す。

【0118】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、ara-2'-F-NAD⁺（ARA-F-NAD、-ara-2'-デオキシ-2'-フルオロ-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドとも呼ばれる）およびCD38と特異的に結合し、NAADP受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化することが可能なその変異有機小分子を含むか、これよりなる群のなかで選択される。（Kwongら）

40

【0119】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、参照により本明細書に組み込まれるKwongら（2012. Biochemistry. 51(1): 555-64）に記載されているものを含むか、これよりなる群のなかで選択される。

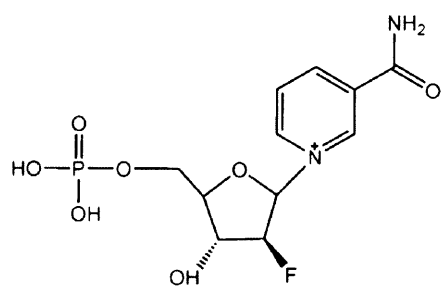
【0120】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、ara-2'-F-NMNおよびその誘導

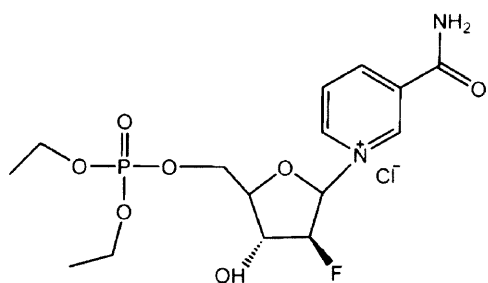
50

体、例えば、

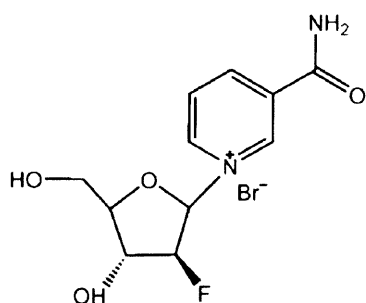
【化 1】



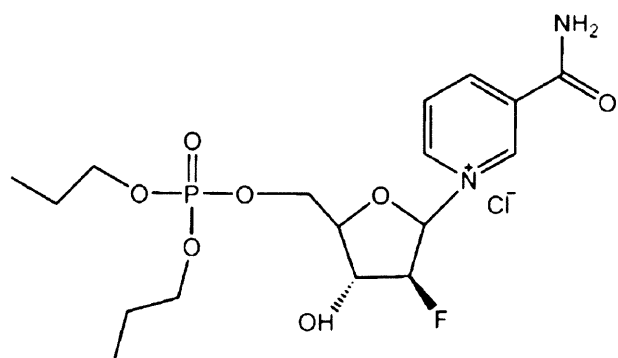
10



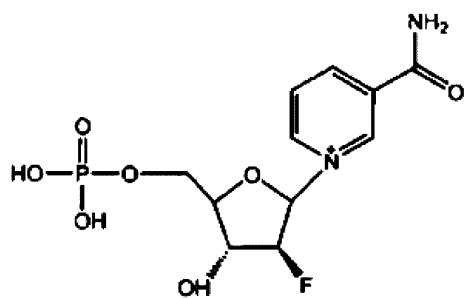
20



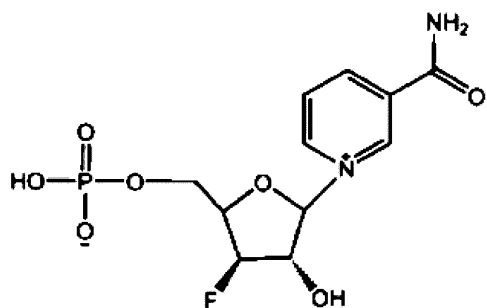
30



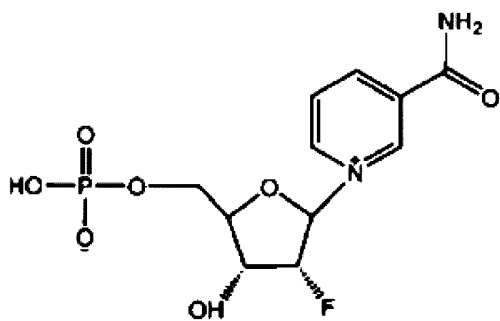
40



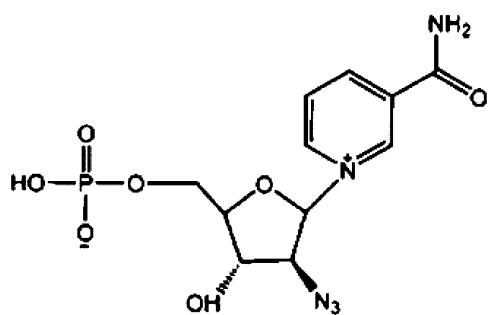
10



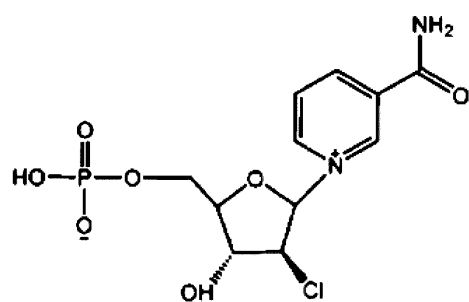
20

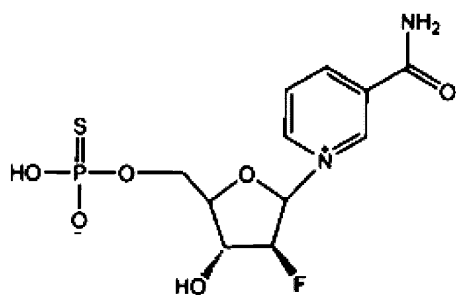


30

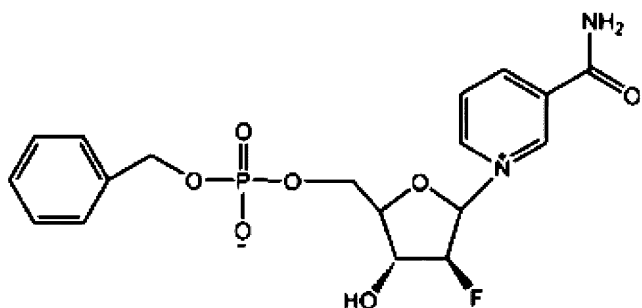


40

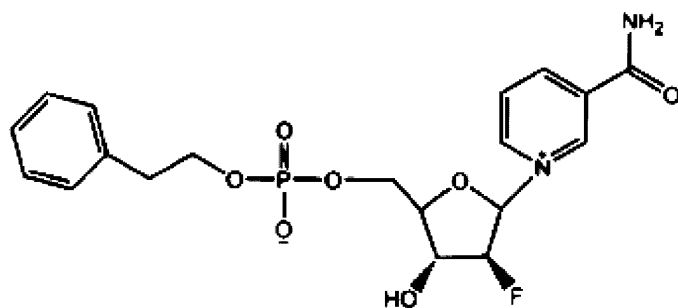




10

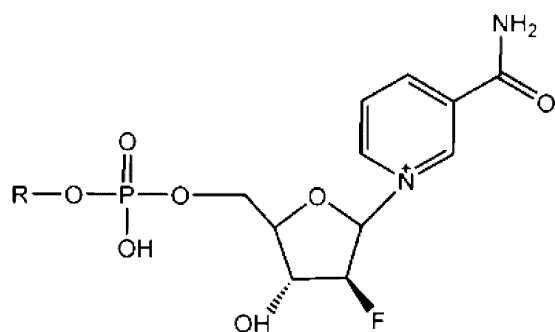


20



および

30



などから選択され、式中、Rは、 C_3H_7 、 C_4H_9 、 C_6H_{13} または $C_{12}H_{25}$ およびその誘導体から選択される。

40

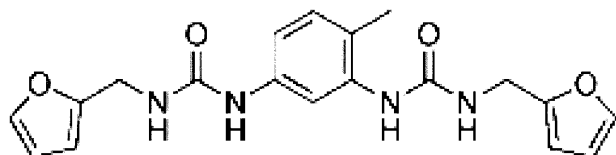
【0121】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、参照により本明細書に組み込まれるZhouら(2012, ChemMedChem, 7(2): 223-8)に記載されているものを含むか、これよりなる群のなかで選択される。

【0122】

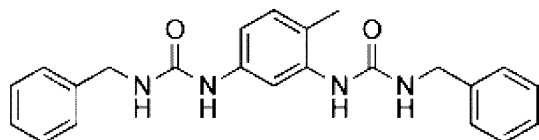
一実施形態では、本発明による有機小分子は、

【化 2】

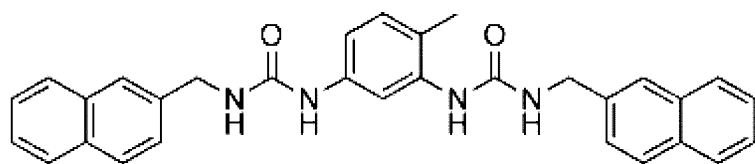


およびその誘導体、例えば、

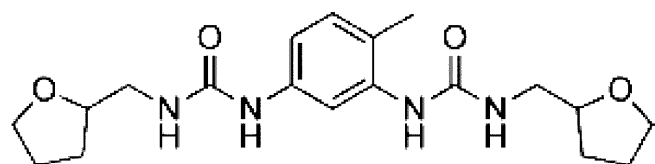
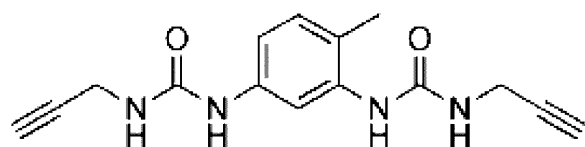
【化 3】



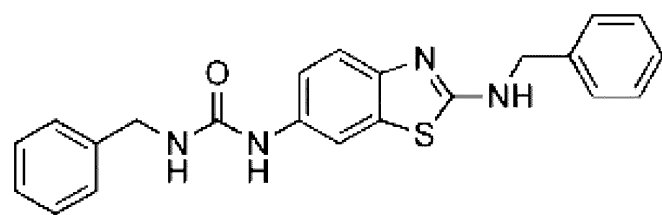
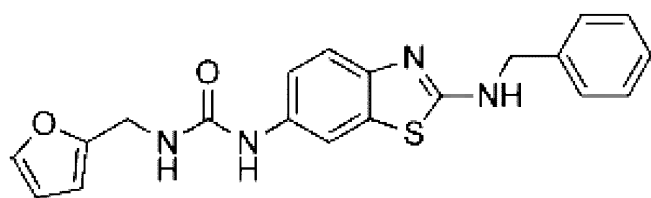
10



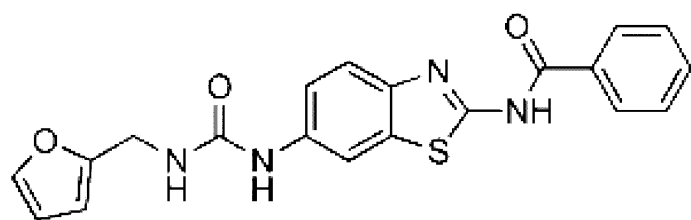
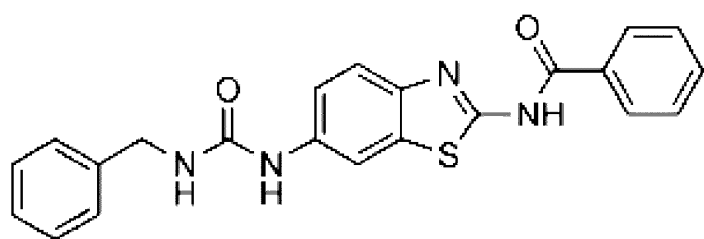
20



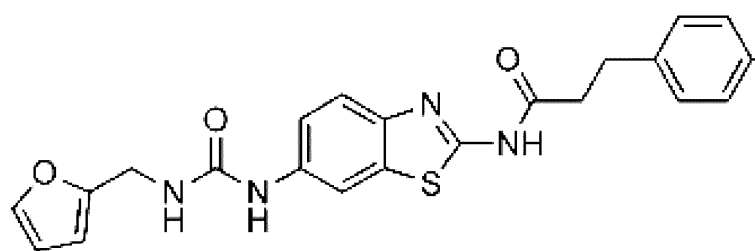
30



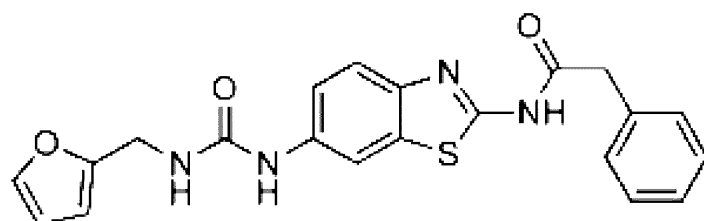
40



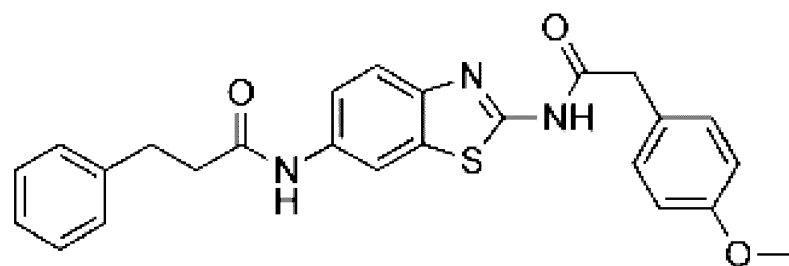
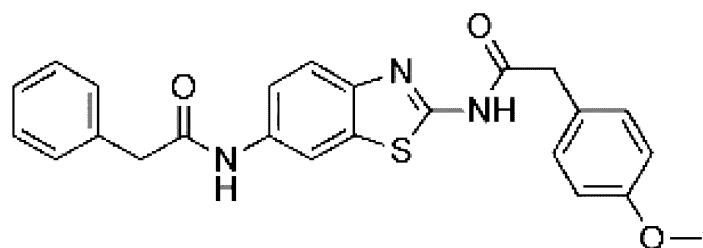
10



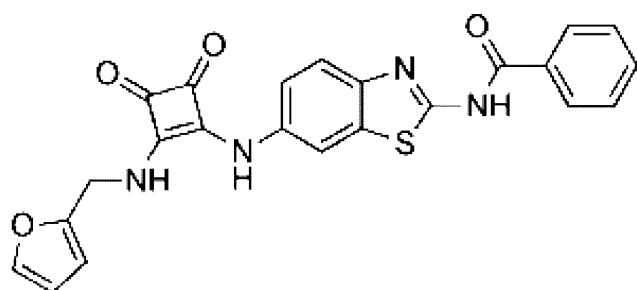
20



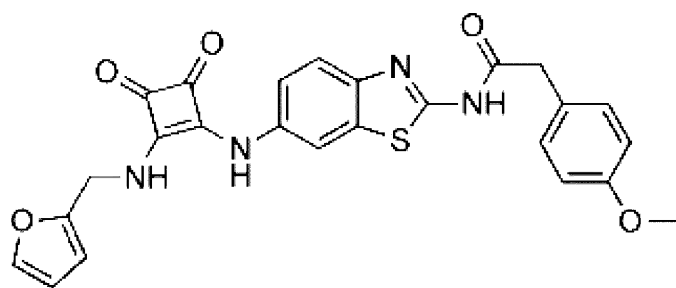
30



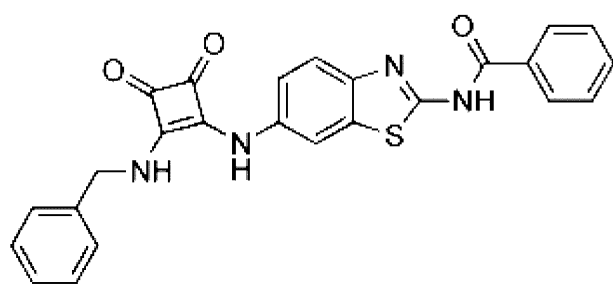
40



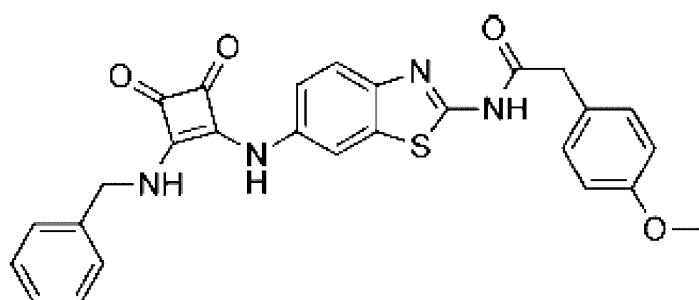
10



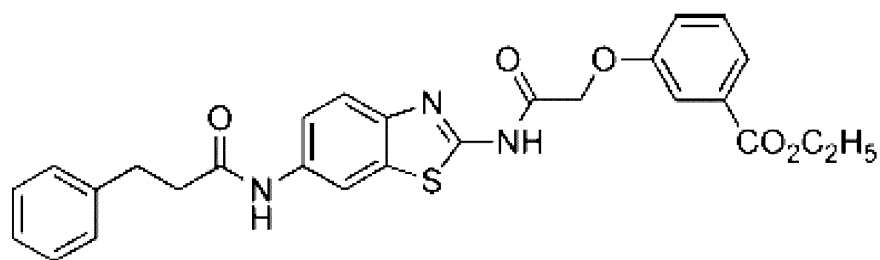
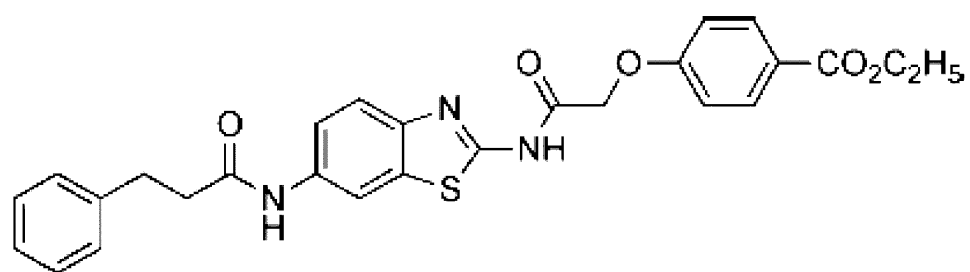
20

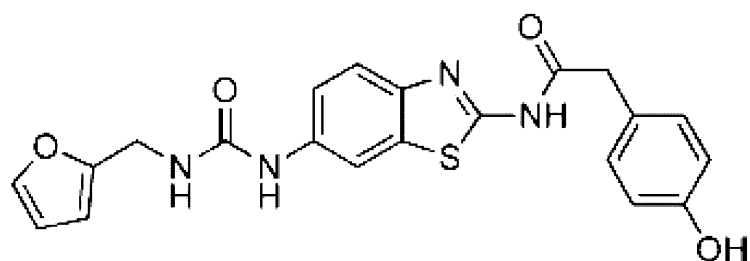
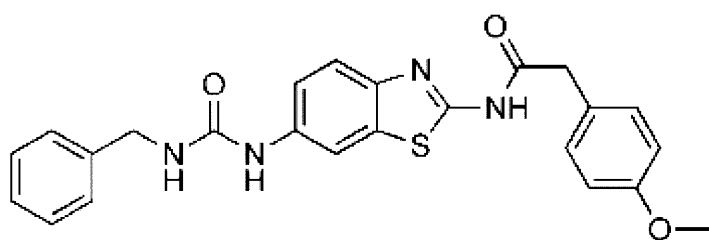
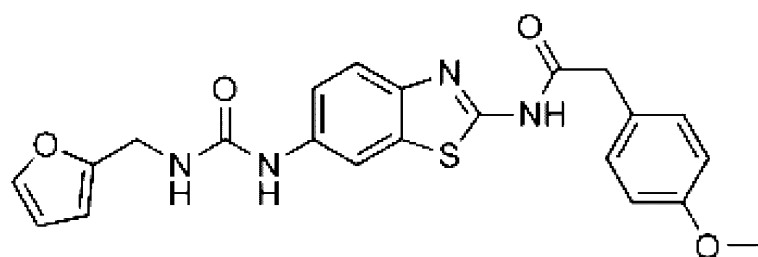
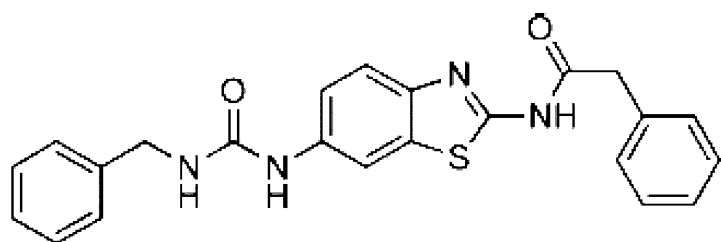
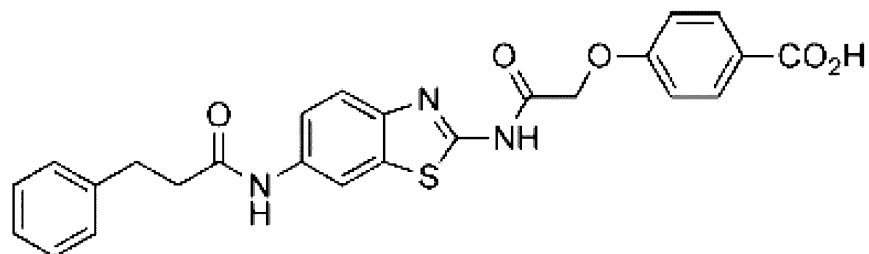
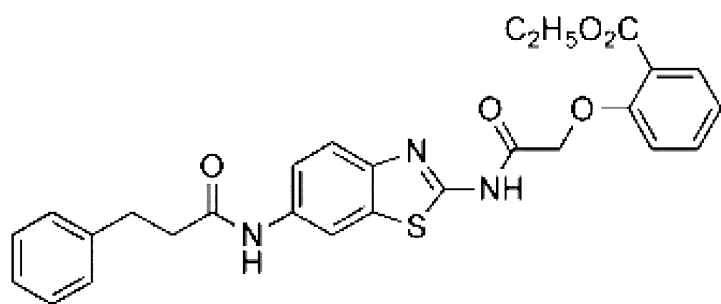


30



40



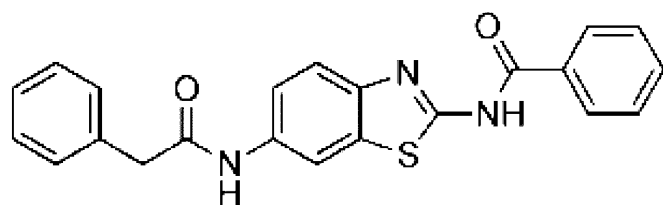
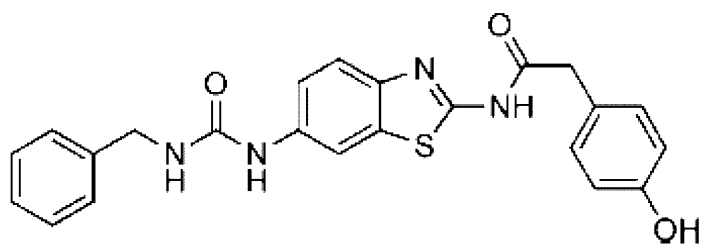


10

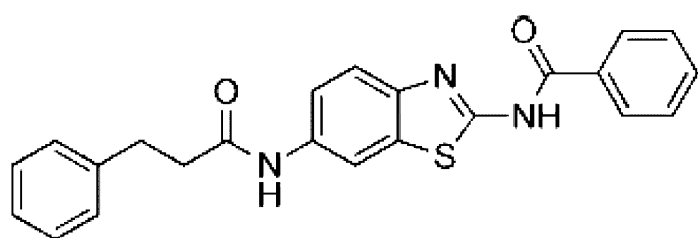
20

30

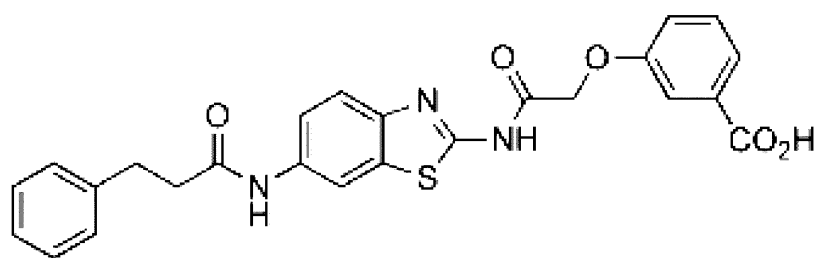
40



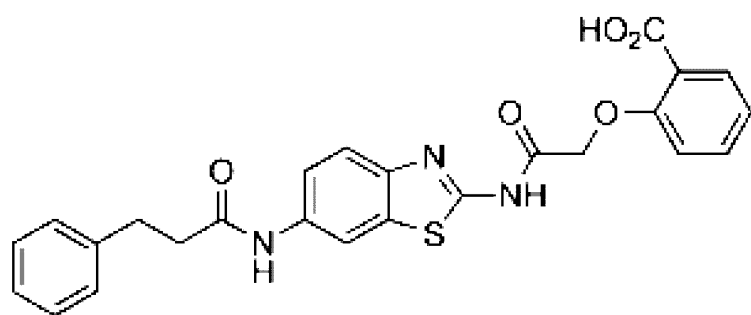
10



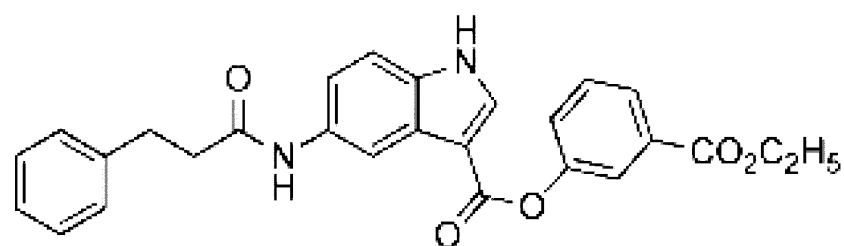
20

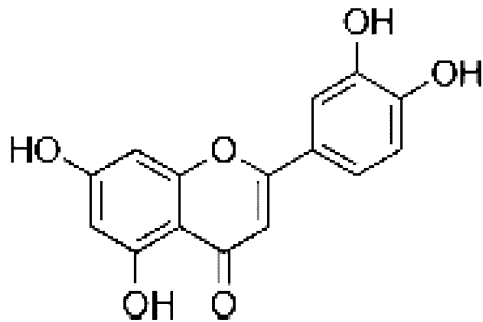
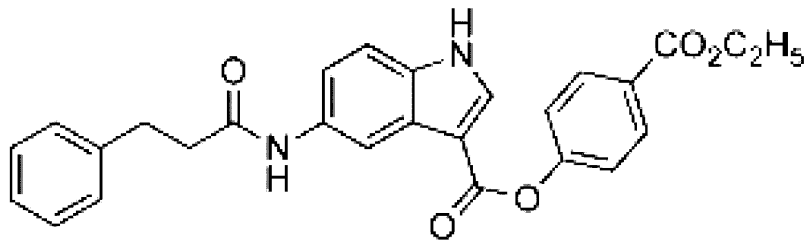


30

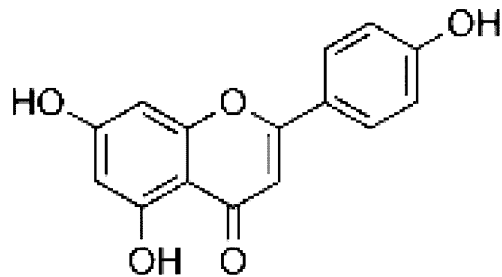


40





10



20

およびその誘導体などから選択される。

【0123】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、参照により本明細書に組み込まれるWuら(2013, Acta Pharm Sin B, 3(4): 245-53)に記載されているものを含むか、これよりなる群のなかで選択される。

【0124】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、インドール誘導体、例えば、(S)-4-(エトキシカルボニル)フェニル-5-[5-アミノ-2-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)-5-オキソペンタンアミド]-1H-インドール-3-カルボキシラート；4-(エトキシカルボニル)フェニル-5-プロピオンアミド-1H-インドール-3-カルボキシラート；4-(エトキシカルボニル)フェニル-5-(2-フェニルアセトアミド)-1H-インドール-3-カルボキシラート；4-(エトキシカルボニル)フェニル-5-[2-(4-メトキシフェニル)アセトアミド]-1H-インドール-3-カルボキシラート；4-(エトキシカルボニル)フェニル-5-(4-フェニルブタンアミド)-1H-インドール-3-カルボキシラート；4-(エトキシカルボニル)フェニル-5-[3-(ピリジン-3-イル)プロパンアミド]-1H-インドール-3-カルボキシラート；4-(エトキシカルボニル)フェニル-5-[3-(ピリジン-4-イル)プロパンアミド]-1H-インドール-3-カルボキシラート；4-(エトキシカルボニル)フェニル-5-[3-(フラン-2-イル)プロパンアミド]-1H-インドール-3-カルボキシラート；4-(エトキシカルボニル)フェニル-5-[5-オキソ-5-(チオフェン-2-イル)ペンタン-アミド]-1H-インドール-3-カルボキシラート；(S)-4-(エトキシカルボニル)フェニル-5-[2-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)-3-(1H-イミダゾール-4-イル)-プロパンアミド]-1H-インドール-3-カルボキシラート；(S)-4-(エトキシカルボニル)フェニル-5-[2-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)-3-(1H-インドール-3-イル)-プロパンアミド]-1H-インドール-3-カルボキシラート；4-(エトキシカル

30

40

50

ルボニル)フェニル - 5 - [3 - (4 - クロロフェニル)プロパンアミド] - 1 H - イン
 ドール - 3 - カルボキシラート ; 4 - (エトキシカルボニル)フェニル - 5 - [3 - (3
 - クロロフェニル)プロパンアミド] - 1 H - インドール - 3 - カルボキシラート ; 4 -
 (エトキシカルボニル)フェニル - 5 - [3 - (4 - フルオロフェニル)プロパンアミド
] - 1 H - インドール - 3 - カルボキシラート ; 4 - (エトキシカルボニル)フェニル -
 5 - [3 - (2 - フルオロフェニル)プロパンアミド] - 1 H - インドール - 3 - カルボ
 キシラート ; 4 - (エトキシカルボニル)フェニル - 5 - { 3 - [3 - (トリフルオロメ
 チル)フェニル]プロパンアミド } - 1 H - インドール - 3 - カルボキシラート ; 4 - (エ
 トキシカルボニル)フェニル - 5 - [3 - (4 - ニトロフェニル)プロパンアミド] -
 1 H - インドール - 3 - カルボキシラート ; 4 - (エトキシカルボニル)フェニル - 5 -
 [3 - (3 - ニトロフェニル)プロパンアミド] - 1 H - インドール - 3 - カルボキシラ
 ート ; 4 - (エトキシカルボニル)フェニル - 5 - [3 - (4 - メトキシフェニル)プロ
 パンアミド] - 1 H - インドール - 3 - カルボキシラート ; 4 - (エトキシカルボニル)
 フェニル - 5 - [3 - (3 , 4 , 5 - トリメトキシフェニル)プロパンアミド] - 1 H -
 インドール - 3 - カルボキシラート ; 1 - (3 - (3 - { [4 - (エトキシカルボニル)
 フェノキシ]カルボニル } - 1 H - インドール - 5 - イルアミノ) - 3 - オキソプロピル)
 ピリジニウムクロリド ; 3 - カルバモイル - 1 - (3 - (3 - { [4 - (エトキシカル
 ボニル)フェノキシ]カルボニル } - 1 H - インドール - 5 - イルアミノ) - 3 - オキソ
 プロピル) ピリジニウムクロリド ; 4 - カルバモイル - 1 - (3 - (3 - { [4 - (エト
 キシカルボニル)フェノキシ]カルボニル } - 1 H - インドール - 5 - イルアミノ) - 3
 - オキソプロピル) ピリジニウムクロリド ; (S) - 4 - (エトキシカルボニル)フェニ
 ル - 5 - (2 - アミノ - 3 - フェニルプロパンアミド) - 1 H - インドール - 3 - カルボ
 キシラート ; (R) - 4 - (エトキシカルボニル)フェニル - 5 - (2 - アミノ - 3 - フ
 ェニルプロパンアミド) - 1 H - インドール - 3 - カルボキシラート ; 4 - (エトキシカ
 ルボニル)フェニル - 5 - [3 - (4 - アミノフェニル)プロパンアミド] - 1 H - イン
 ドール - 3 - カルボキシラート ; 4 - (エトキシカルボニル)フェニル - 5 - [3 - (3
 - アミノフェニル)プロパンアミド] - 1 H - インドール - 3 - カルボキシラート ; 4 -
 (エトキシカルボニル)フェニル - 5 - { 3 - [3 - (4 - ヒドロキシブチルアミノ) フ
 ェニル] プロパンアミド } - 1 H - インドール - 3 - カルボキシラート ; 4 - (エトキシ
 カルボニル)フェニル - 5 - (4 - ヒドロキシブチルアミノ) - 1 H - インドール - 3 -
 カルボキシラート ; およびその誘導体などから選択される。

【 0 1 2 5 】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、参照により本明細書に組み込まれる W a
 n g ら (2 0 1 4 , M o l e c u l e s , 1 9 : 1 5 7 5 4 - 6 7) に記載されているも
 のを含むか、これよりなる群のなかで選択される。

【 0 1 2 6 】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、N A D の類似体および誘導体、例えば、
 3 , 5 - ジ - O - ベンゾイル - 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - 2 - メチル - 1 - プロミド
 - D - リボフラノース ; 2 ' - デオキシ - 2 ' - フルオロ - 2 ' - メチル - ニコチン
 アミドリボフラノシド ; 2 ' - デオキシ - 2 ' - フルオロ - 2 ' - メチル - ニコチン
 アミドモノヌクレオチド ; 2 ' - デオキシ - 2 ' - フルオロ - 2 ' - メチル - ニコチン
 アミドアデニンジヌクレオチド ; 2 ' - デオキシ - 2 ' - フルオロ - 5 ' - チオ - ホス
 ファート - アラビノフラノシド - ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド ; P 1 - (ア
 デノシン) - P 3 - (2 ' - デオキシ - 2 ' - フルオロ - ニコチンアミドアラビノ
 フラノシド) トリホスファート ; 2 ' - デオキシ - 2 ' - フルオロ - アラビノシル -
 ニコチンアミドヒボキサンチンジヌクレオチド ; 2 ' - デオキシ - 2 ' - フルオロ - アラ
 ビノシル - ニコチンアミドグアニンジヌクレオチド ; 2 ' - デオキシ - 2 ' - フルオ
 ロ - アラビノシル - ニコチンアミド 6 - O - メチル - ヒボキサンチンジヌクレオチド
 ; ビス (2 ' - デオキシ - 2 ' - フルオロ - ニコチンアミド - アラビノシル) ピロホ
 スファート ; ビス (2 ' - デオキシ - 2 ' - フルオロ - ニコチンアミド - アラビノシ

ル) - メチレンジホスホナート ; ビス (2 ' - デオキシ - 2 ' - フルオロ - 2 ' - メチル - ニコチンアミド) - メチレンジホスホナートおよびその誘導体などから選択される。

【 0 1 2 7 】

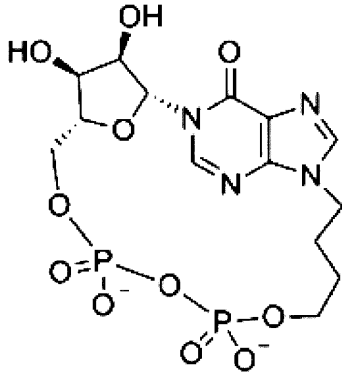
一実施形態では、本発明による有機小分子は、参照により本明細書に組み込まれる S w a r b r i c k ら (2 0 1 4 . J Med Chem . 5 7 (2 0) : 8 5 1 7 - 2 9) に記載されているものを含むか、これよりなる群のなかで選択される。

【 0 1 2 8 】

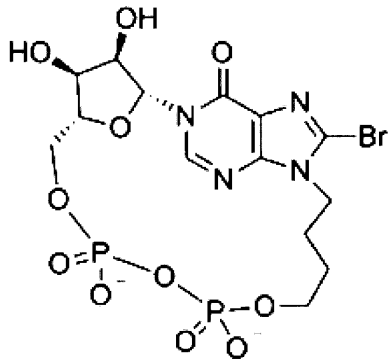
一実施形態では、本発明による有機小分子は、

【 化 4 】

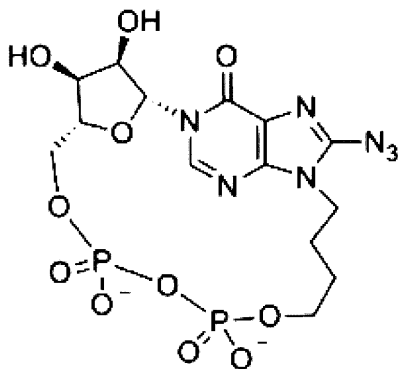
10



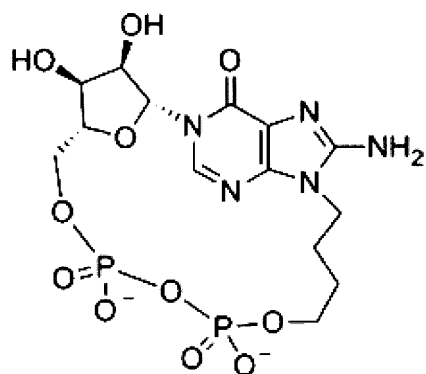
20



30



40



10

およびその誘導体を含むか、これよりなる群から選択される。

【0129】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、参照により本明細書に組み込まれる *B e c h e r e r* ら (2015, *J Med Chem*, 58(17): 7021-56) に記載されているものを含むか、これよりなる群のなかで選択される。

【0130】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、4-アミノ-8-キノリンカルボキサミド、例えば、8-プロモ-N-[(2,6-ジメチルフェニル)メチル]-2-メチル-4-キノリンアミン; 4-{[(2,6-ジメチルフェニル)メチル]アミノ}-2-メチル-8-キノリンカルボキサミド; 4-アミノ-2-メチル-8-キノリンカルボキサミド; N-ベンジル-8-プロモ-2-メチルキノリン-4-アミン; 4-(ベンジルアミノ)-2-メチルキノリン-8-カルボニトリル; 4-(ベンジルアミノ)-2-メチルキノリン-8-カルボキサミド; 4-ヒドロキシ-2-メチルキノリン-8-カルボニトリル; 8-シアノ-2-メチルキノリン-4-イルトリフルオロメタンスルホナート; 2-メチル-4-(2-メチルベンジルアミノ)キノリン-8-カルボニトリル; 2-メチル-4-(2-メチルベンジルアミノ)キノリン-8-カルボキサミド; 4-(2-クロロベンジルアミノ)-2-メチルキノリン-8-カルボニトリル; 2-メチル-4-(2-メチルベンジルアミノ)キノリン-8-カルボキサミド; 8-プロモ-N-(2-メトキシベンジル)-2-メチルキノリン-4-アミン; 4-((2-メトキシベンジル)アミノ)-2-メチルキノリン-8-カルボキサミド; 8-プロモ-2-メチル-N-(3-メチルベンジル)キノリン-4-アミン; 2-メチル-4-((3-メチルベンジル)アミノ)キノリン-8-カルボキサミド; 8-プロモ-N-[(3-クロロフェニル)メチル]-2-メチル-4-キノリンアミン; 4-{[(3-クロロフェニル)メチル]アミノ}-2-メチル-8-キノリンカルボキサミド; 8-プロモ-N-(3-メトキシベンジル)-2-メチルキノリン-4-アミン; 4-((3-メトキシベンジル)アミノ)-2-メチルキノリン-8-カルボキサミド; 8-プロモ-2-メチル-N-(4-メチルベンジル)キノリン-4-アミン; 2-メチル-4-((4-メチルベンジル)アミノ)キノリン-8-カルボキサミド; 4-(4-クロロベンジルアミノ)-2-メチルキノリン-8-カルボニトリル; 4-(4-クロロベンジルアミノ)-2-メチルキノリン-8-カルボキサミド; 8-プロモ-N-(4-メトキシベンジル)-2-メチルキノリン-4-アミン; 4-((4-メトキシベンジル)アミノ)-2-メチルキノリン-8-カルボキサミド; 2-メチル-4-(2-(トリフルオロメチル)ベンジルアミノ)キノリン-8-カルボニトリル; 2-メチル-4-(2-(トリフルオロメチル)ベンジルアミノ)キノリン-8-カルボキサミド; 4-(2-プロモベンジルアミノ)-2-メチルキノリン-8-カルボニトリル; 4-(2-プロモベンジルアミノ)-2-メチルキノリン-8-カルボキサミド; 4-({[2,4-ビス(メチルオキシ)フェニル]メチル}アミノ)-2-メチル-8-キノリンカルボニトリル; 4-アミノ-2-メチル-8-キノリンカルボニトリル; 4-(2-シアノベンジルアミノ)-2-メチルキノリン-8-カルボニトリル; 4-(2-カルバモイルベンジルアミノ)-2-メチルキノリン-8-カルボキサミド; 4-(2,3-ジメチルベンジルアミノ)-2-メチルキノリン-8-

20

30

40

50

カルボニトリル；(2, 3 - ジメチルベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミドトリフルオロアセタート；4 - { [(2, 3 - ジクロロフェニル)メチル]アミノ} - 2 - メチル - 8 - キノリンカルボキサミド；4 - (2, 4 - ジメチルベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (2, 4 - ジメチルベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミドトリフルオロアセタート；4 - (2, 4 - ジクロロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (2, 4 - ジクロロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；8 - プロモ - N - (2, 5 - ジメチルベンジル) - 2 - メチルキノリン - 4 - アミン；4 - (2, 5 - ジメチルベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (2, 5 - ジメチルベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；4 - (2, 5 - ジクロロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；2 - メチル - 4 - (2 - メチルベンジルアミノ)キノリン - 8 - カルボキサミド；4 - (2, 6 - ジクロロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (2, 6 - ジクロロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；4 - (3, 4 - ジメチルベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (3, 4 - ジメチルベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；4 - (3, 4 - ジクロロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (3, 4 - ジクロロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミドヒドロクロリド；8 - プロモ - N - (3, 5 - ジメチルベンジル) - 2 - メチルキノリン - 4 - アミン；4 - (3, 5 - ジメチルベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (3, 5 - ジメチルベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；4 - (3, 5 - ジクロロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (3, 5 - ジクロロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；4 - (3 - クロロ - 2 - フルオロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (3 - クロロ - 2 - フルオロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；4 - (3 - クロロ - 2 - メチルベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (3 - クロロ - 2 - メチルベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；4 - (2 - フルオロ - 3 - (トリフルオロメチル)ベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (2 - フルオロ - 3 - (トリフルオロメチル)ベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；2 - メチル - 4 - (ナフタレン - 1 - イルメチルアミノ)キノリン - 8 - カルボニトリル；2 - メチル - 4 - (ナフタレン - 1 - イルメチルアミノ)キノリン - 8 - カルボキサミド；4 - (2, 6 - ジフルオロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (2 - クロロ - 3, 6 - ジフルオロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；4 - (2 - クロロ - 6 - フルオロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；4 - (2 - クロロ - 6 - メチルベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (2 - クロロ - 6 - メチルベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；8 - プロモ - N - (2 - フルオロ - 6 - (トリフルオロメチル)ベンジル) - 2 - メチルキノリン - 4 - アミン；4 - ((2 - フルオロ - 6 - (トリフルオロメチル)ベンジル)アミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；8 - プロモ - 2 - メチル - N - [(2, 3, 6 - トリクロロフェニル)メチル] - 4 - キノリンアミン；2 - メチル - 4 - { [(2, 3, 6 - トリクロロフェニル)メチル]アミノ} - 8 - キノリンカルボキサミド；4 - { [(3 - クロロ - 2, 6 - ジフルオロフェニル)メチル]アミノ} - 2 - メチル - 8 - キノリンカルボニトリル；4 - { [(3 - クロロ - 2, 6 - ジフルオロフェニル)メチル]アミノ} - 2 - メチル - 8 - キノリンカルボキサミド；4 - (2 - クロロ - 3, 6 - ジフルオロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル；4 - (2 - クロロ - 3, 6 - ジフルオロベンジルアミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド；8 - プロモ - N - [(3, 6 - ジクロロ - 2 - フルオロフェニル)メチル] - 2 - メチル - 4 - キノリンアミン；4 - { [(3

10

20

30

40

50

, 6 - ジクロロ - 2 - フルオロフェニル)メチル]アミノ} - 2 - メチル - 8 - キノリン
 カルボキサミド; 8 - ブロモ - N - [(2, 3 - ジクロロ - 6 - フルオロフェニル)メチ
 ル] - 2 - メチル - 4 - キノリンアミン; 4 - {[(2, 3 - ジクロロ - 6 - フルオロフ
 ェニル)メチル]アミノ} - 2 - メチル - 8 - キノリンカルボキサミド; 8 - ブロモ - N
 - [(2 - クロロ - 6 - フルオロ - 3 - メチルフェニル)メチル] - 2 - メチル - 4 - キ
 ノリンアミン; 4 - {[(2 - クロロ - 6 - フルオロ - 3 - メチルフェニル)メチル]ア
 ミノ} - 2 - メチル - 8 - キノリンカルボキサミド; 8 - ブロモ - 2 - メチル - N - {[
 3 - (トリフルオロメチル) - 2 - ピリジニル]メチル} - 4 - キノリンアミン; 2 - メ
 チル - 4 - ({[3 - (トリフルオロメチル) - 2 - ピリジニル]メチル}アミノ) - 8
 - キノリンカルボキサミド; 8 - ブロモ - 2 - メチル - N - {[4 - (トリフルオロメチ
 ル) - 3 - ピリジニル]メチル} - 4 - キノリンアミン; 2 - メチル - 4 - ({[4 - (ト
 リフルオロメチル) - 3 - ピリジニル]メチル}アミノ) - 8 - キノリンカルボキサミ
 ド; 8 - ブロモ - N - [(3 - クロロ - 4 - ピリジニル)メチル] - 2 - メチル - 4 - キ
 ノリンアミン; 4 - {[(3 - クロロ - 4 - ピリジニル)メチル]アミノ} - 2 - メチル
 - 8 - キノリンカルボキサミド; 8 - ブロモ - 2 - メチル - N - {[2 - (トリフルオロ
 メチル) - 3 - ピリジニル]メチル} - 4 - キノリンアミン; 2 - メチル - 4 - ({[2
 - (トリフルオロメチル) - 3 - ピリジニル]メチル}アミノ) - 8 - キノリンカルボキ
 サミド; 8 - ブロモ - N - [(3 - クロロ - 2 - チエニル)メチル] - 2 - メチル - 4 -
 キノリンアミン; 4 - {[(3 - クロロ - 2 - チエニル)メチル]アミノ} - 2 - メチル
 - 8 - キノリンカルボキサミド; 8 - ブロモ - N - [(3, 5 - ジメチル - 4 - イソオキ
 サゾリル)メチル] - 2 - メチル - 4 - キノリンアミン; 4 - {[(3, 5 - ジメチル -
 4 - イソオキサゾリル)メチル]アミノ} - 2 - メチル - 8 - キノリンカルボキサミド;
 8 - ブロモ - N - (シクロヘキシルメチル) - 2 - メチル - 4 - キノリンアミン; 4 - [
 (シクロヘキシルメチル)アミノ] - 2 - メチル - 8 - キノリンカルボキサミド; N - [
 (1 - アセチル - 4 - ピペリジニル)メチル] - 8 - ブロモ - 2 - メチル - 4 - キノリン
 アミン; 4 - {[(1 - アセチル - 4 - ピペリジニル)メチル]アミノ} - 2 - メチル -
 8 - キノリンカルボキサミド; 8 - ブロモ - 2 - メチル - N - [(1 - メチル - 4 - ピペ
 リジニル)メチル] - 4 - キノリンアミン; 2 - メチル - 4 - {[(1 - メチル - 4 - ピ
 ペリジニル)メチル]アミノ} - 8 - キノリンカルボキサミド; 8 - ブロモ - 2 - メチル
 - N - [(1 R) - 1 - (2 - メチルフェニル)エチル] - 4 - キノリンアミン; 2 - メ
 チル - 4 - {[(1 R) - 1 - (2 - メチルフェニル)エチル]アミノ} - 8 - キノリン
 カルボキサミド; 8 - ブロモ - N - [(1 S) - 1 - (2, 6 - ジメチルフェニル)エチ
 ル] - 2 - メチル - 4 - キノリンアミン; 4 - {[(1 S) - 1 - (2, 6 - ジメチルフ
 ェニル)エチル]アミノ} - 2 - メチル - 8 - キノリンカルボキサミド; 8 - ブロモ - 2
 - メチル - N - [(1 R) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1 - ナフタレニル] - 4 -
 キノリンアミン; 2 - メチル - 4 - [(1 R) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1 - ナ
 フタレニルアミノ] - 8 - キノリンカルボキサミド; 8 - ブロモ - 2 - メチル - N - [(
 1 S) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1 - ナフタレニル] - 4 - キノリンアミン; 2
 - メチル - 4 - [(1 S) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1 - ナフタレニルアミノ]
 - 8 - キノリンカルボキサミド; 8 - ブロモ - N - (2, 6 - ジクロロベンジル) - N,
 2 - ジメチルキノリン - 4 - アミン; 4 - ((2, 6 - ジクロロベンジル)(メチル)ア
 ミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド; 2, 6 - ジクロロ - N - (8 - シア
 ノ - 2 - メチル - 4 - キノリニル)ベンズアミド; 4 - (2, 6 - ジクロロベンズアミド
) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド; 4 - (2, 6 - ジクロロベンジルオキシ
)
 - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボニトリル; 4 - ((2, 6 - ジクロロベンジル)オキ
 シ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド; 8 - ブロモ - 4 - ((2, 6 - ジクロ
 ロベンジル)チオ) - 2 - メチルキノリン; 4 - ((2, 6 - ジクロロベンジル)チオ)
 - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド; 8 - ブロモ - 6 - フルオロ - 2 - メチルキ
 ノリン - 4 - オール; 8 - ブロモ - 4 - クロロ - 6 - フルオロ - 2 - メチルキノリン; 8

10

20

30

40

50

- ブロモ - 6 - フルオロ - 2 - メチル - N - (2 , 3 , 6 - トリクロロベンジル) キノリン - 4 - アミン ; 6 - フルオロ - 2 - メチル - 4 - ((2 , 3 , 6 - トリクロロベンジル) アミノ) キノリン - 8 - カルボキサミド ; メチル 6 - ブロモ - 4 - ヒドロキシ - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキシラート ; メチル 6 - ブロモ - 4 - クロロ - 2 - メチル - 8 - キノリンカルボキシラート ; メチル 4 - クロロ - 2 , 6 - ジメチル - 8 - キノリンカルボキシラート ; 4 - クロロ - 2 , 6 - ジメチル - 8 - キノリンカルボキサミド ; 4 - { [(2 , 6 - ジメチルフェニル) メチル] アミノ } - 2 , 6 - ジメチル - 8 - キノリンカルボキサミド ; 6 - ブロモ - 4 - クロロ - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド ; 6 - ブロモ - 4 - ((2 , 6 - ジメチルベンジル) アミノ) - 2 - メチルキノリン - 8 - カルボキサミド ; 4 - クロロ - 2 - メチル - 6 - フェニル - 8 - キノリンカルボキサミド ; 4 - { [(2 , 6 - ジメチルフェニル) メチル] アミノ } - 2 - メチル - 6 - フェニル - 8 - キノリンカルボキサミド ; N - [(2 , 3 - ジクロロフェニル) メチル] - 2 - メチル - 4 - キノリンアミン ; 8 - ブロモ - N - [(2 , 3 - ジクロロフェニル) メチル] - 2 - メチル - 4 - キノリンアミン ; 4 - { [(2 , 3 - ジクロロフェニル) メチル] アミノ } - N , 2 - ジメチル - 8 - キノリンカルボキサミド ; 4 - { [(2 , 3 - ジクロロフェニル) メチル] アミノ } - N , N , 2 - トリメチル - 8 - キノリンカルボキサミド ; メチル 4 - { [(2 , 3 - ジクロロフェニル) メチル] アミノ } - 2 - メチル - 8 - キノリンカルボキシラート ; 4 - { [(2 , 3 - ジクロロフェニル) メチル] アミノ } - 2 - メチル - 8 - キノリンカルボン酸 ; (4 - { [(2 , 3 - ジクロロフェニル) メチル] アミノ } - 2 - メチル - 8 - キノリニル) メタノール ; 8 - (アミノメチル) - N - [(2 , 3 - ジクロロフェニル) メチル] - 2 - メチル - 4 - キノリンアミン ; 4 - { [(2 , 3 - ジクロロフェニル) メチル] アミノ } - 2 - メチル - 8 - キノリンカルボニトリル ; 4 - クロロ - 2 - メチル - 8 - キノリンスルホンアミド ; 4 - { [(2 , 3 - ジクロロフェニル) メチル] アミノ } - 2 - メチル - 8 - キノリンスルホンアミド ; およびその誘導体などから選択される。

10

20

30

40

50

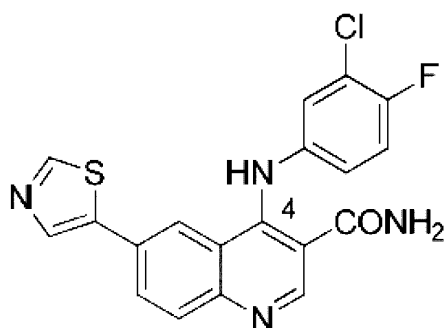
【 0 1 3 1 】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、参照により本明細書に組み込まれる H a f f n e r ら (2 0 1 5 , J Med Chem , 5 8 (8) : 3 5 4 8 - 7 1) に記載されているものを含むか、これよりなる群のなかで選択される。

【 0 1 3 2 】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、

【 化 5 】



およびその誘導体、例えば、6 - ブロモ - N - (3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) - 4 - キノリンアミン ; N - (3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) - 6 - (1 , 3 - チアゾール - 5 - イル) - 4 - キノリンアミン ; 6 - ブロモ - N - フェニルキナゾリン - 4 - アミン ; N - フェニル - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キナゾリン - 4 - アミン ; 2 - アミノ - 5 - ブロモ - 3 - メトキシ安息香酸 ; 2 - アミノ - 5 - ブロモ - 3 - (トリフルオロメチル) 安息香酸 ; 2 - アミノ - 5 - ヨード - 3 - (トリフルオロメチル) 安息香酸 ; 6 - ブロモ - 8 - メトキシキナゾリン - 4 (3 H) - オン ; 6 - ブロモ - 8 - (トリフルオロメチル) - 4 (1 H) - キナゾリノン ; 6 - ブロモ - 8 - (トリフルオロメチル) - 4 (1 H) - キナゾリノン ; 6 - ブロモ - 4 - クロロ - 8 - メトキシキナゾリン ; 6 - ブ

ロモ - 4 - クロロ - 8 - (トリフルオロメチル) キナゾリン; 6 - ブロモ - 4 - クロロ -
 8 - メチルキナゾリン; 6 - ブロモ - N - (3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) - 8 -
 メトキシキナゾリン - 4 - アミン; 4 - { [6 - ブロモ - 8 - (メチルオキシ) - 4 - キ
 ナゾリニル] アミノ } ベンズアミド; 4 - { [6 - ブロモ - 8 - (トリフルオロメチル)
 - 4 - キナゾリニル] アミノ } ベンズアミド; - ブロモ - N - (3 - クロロ - 4 - フルオ
 ロフェニル) - 8 - (トリフルオロメチル) - 4 - キナゾリンアミン; 6 - ブロモ - N -
 (3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) - 8 - メチル - 4 - キナゾリンアミン; N - (3
 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) - 8 - メトキシ - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キナ
 ザリン - 4 - アミン; 4 - { [8 - (メチルオキシ) - 6 - (1, 3 - チアゾール - 5 -
 イル) - 4 - キナゾリニル] アミノ } ベンズアミド; 4 - { [6 - (1, 3 - チアゾール
 - 5 - イル) - 8 - (トリフルオロメチル) - 4 - キナゾリニル] アミノ } ベンズアミド
 ; N - (3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) - 6 - (1, 3 - チアゾール - 5 - イル)
 - 8 - (トリフルオロメチル) - 4 - キナゾリンアミン; N - (3 - クロロ - 4 - フルオ
 ロフェニル) - 8 - メチル - 6 - (1, 3 - チアゾール - 5 - イル) - 4 - キナゾリンア
 ミン; 6 - ブロモ - 8 - メチル - 2, 4 (1 H, 3 H) - キナゾリンジオン; 4 - ヒドロ
 キシ - 6 - ヨードキナゾリン - 2 (1 H) - オン; 6 - ブロモ - 2, 4 - ジクロロ - 8 -
 メチルキナゾリン; 2, 4 - ジクロロ - 6 - ヨードキナゾリン; 6 - ブロモ - 2 - クロロ
 - N - (3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) - 8 - メチル - 4 - キナゾリンアミン; 6
 - ブロモ - 2 - クロロ - N - ((1 s, 4 s) - 4 - メトキシシクロヘキシル) - 8 - メ
 チルキナゾリン - 4 - アミン; 2 - クロロ - 6 - ヨード - N - ((1 s, 4 s) - 4 - (2
 - メトキシエトキシ)シクロヘキシル) キナゾリン - 4 - アミン; 2 - クロロ - 6 - ヨ
 ード - N - ((1 s, 4 s) - 4 - メトキシシクロヘキシル) キナゾリン - 4 - アミン;
 6 - ブロモ - 4 - ((3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) アミノ) - 8 - メチルキナゾ
 リン - 2 (1 H) - オン; 6 - ブロモ - 4 - ((1 s, 4 s) - 4 - メトキシシクロヘ
 キシル) アミノ) - 8 - メチルキナゾリン - 2 (1 H) - オン; 6 - ヨード - 4 - ((1
 s, 4 s) - 4 - (2 - メトキシエトキシ)シクロヘキシル) アミノ) キナゾリン - 2
 - オール; 6 - ヨード - 4 - ((1 s, 4 s) - 4 - メトキシシクロヘキシル) アミノ
) キナゾリン - 2 - オール; 4 - ((3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) アミノ) - 8
 - メチル - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キナゾリン - 2 (1 H) - オン; 4 - ((1
 s, 4 s) - 4 - メトキシシクロヘキシル) アミノ) - 8 - メチル - 6 - (チアゾール -
 5 - イル) キナゾリン - 2 (1 H) - オン; 6 - ヨード - 4 - ((1 s, 4 s) - 4 -
 (2 - メトキシエトキシ)シクロヘキシル) アミノ) - 1 - メチルキナゾリン - 2 (1 H
) - オン; 6 - ヨード - 4 - ((1 s, 4 s) - 4 - メトキシシクロヘキシル) アミノ
) - 1 - メチルキナゾリン - 2 (1 H) - オン; 4 - ((1 s, 4 s) - 4 - (2 - メ
 トキシエトキシ)シクロヘキシル) アミノ) - 1 - メチル - 6 - (チアゾール - 5 - イル
) キナゾリン - 2 (1 H) - オン; 4 - ((1 s, 4 s) - 4 - メトキシシクロヘキシル
) アミノ) - 1 - メチル - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キナゾリン - 2 (1 H) - オ
 ン; 6 - ヨード - 2 - メチル - 8 - (トリフルオロメチル) キナゾリン - 4 - オール; 6
 - ブロモ - 8 - メチル - 2 - (トリフルオロメチル) - 4 H - ベンゾ [d] [1, 3] オ
 キサジン - 4 - オン; 6 - ブロモ - 8 - メチル - 2 - (トリフルオロメチル) キナゾリン
 - 4 - (3 H) - オン; 4 - クロロ - 6 - ヨード - 2 - メチル - 8 - (トリフルオロメチ
 ル) キナゾリン; 6 - ブロモ - 4 - クロロ - 2, 8 - ジメチルキナゾリン; (1 s, 4 s)
) - N - メチル - 4 - ((2 - メチル - 6 - (チアゾール - 5 - イル) - 8 - (トリフル
 オロメチル) キナゾリン - 4 - イル) アミノ) シクロヘキサカルボキサミド; (1 s,
 4 s) - 4 - ((6 - ブロモ - 8 - メチル - 2 - (トリフルオロメチル) キナゾリン - 4
 - イル) アミノ) - N メチルシクロヘキサカルボキサミド; (1 s, 4 s) - N - メチ
 ル - 4 - ((8 - メチル - 6 - (チアゾール - 5 - イル) - 2 - (トリフルオロメチル)
 キナゾリン - 4 - イル) アミノ) シクロヘキサカルボキサミド; (1 s, 4 s) - 4 -
 ((2, 8 - ジメチル - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キナゾリン - 4 - イル) アミノ)
 - N メチルシクロヘキサカルボキサミド; 4 - ヨード - N - メチルアニリン; 4 - ヨー

ド - N , 2 - ジメチルアニリン ; メチル 3 - ((4 - ヨードフェニル) アミノ) - 3 - オ
 キソプロパノアート ; メチル 3 - ((4 - ヨード - 2 - メチルフェニル) アミノ) - 3 -
 オキソプロパノアート ; メチル 3 - ((4 - ヨードフェニル) (メチル) アミノ) - 3 -
 オキソプロパノアート ; 3 - ((4 - ヨードフェニル) アミノ) - 3 - オキソプロパン酸
 ; 3 - ((4 - ヨード - 2 - メチルフェニル) アミノ) - 3 - オキソプロパン酸 ; 3 - ((4 - ヨード
 フェニル) (メチル) アミノ) - 3 - オキソプロパン酸 ; 3 - ((4 - ヨード - 2 - メチルフェニル) (メチル) アミノ) - 3 - オキソプロパン酸 ; 6 - ヨードキノ
 リン - 2 , 4 (1 H , 3 H) - ジオン ; 6 - ヨード - 8 - メチルキノリン - 2 , 4 - ジオ
 ール ; 4 - ヒドロキシ - 6 - ヨード - 1 - メチルキノリン - 2 (1 H) - オン ; 4 - ヒド
 ロキシ - 6 - ヨード - 1 , 8 - ジメチルキノリン - 2 (1 H) - オン ; 2 , 4 - ジクロロ
 - 6 - ヨードキノリン ; 2 , 4 - ジクロロ - 6 - ヨード - 8 - メチルキノリン ; 4 - クロ
 ロ - 6 - ヨードキノリン - 2 (1 H) - オン ; 6 - ブロモ - 4 - クロロ - 8 - メチルキノ
 リン - 2 (1 H) - オン ; 4 - クロロ - 6 - ヨード - 8 - メチルキノリン - 2 (1 H) -
 オン ; (1 s , 4 s) - 4 - ((6 - ブロモ - 2 - オキソ - 1 , 2 - ジヒドロキノリン -
 4 - イル) アミノ) - N - メチルシクロヘキサカルボキサミド ; 6 - ブロモ - 4 - ((4 -
 テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - イル) アミノ) キノリン - 2 (1 H) - オン ; 6 - ブ
 ロモ - 4 - (((1 r , 4 r) - 4 - (2 - メトキシエトキシ) シクロヘキシル) アミノ)
 キノリン - 2 (1 H) - オン ; 6 - ブロモ - 4 - (((1 r , 4 r) - 4 - (2 - メト
 キシエトキシ) シクロヘキシル) アミノ) - 8 - メチルキノリン - 2 (1 H) - オン ; 4
 - クロロ - 6 - ヨード - 1 - メチルキノリン - 2 (1 H) - オン ; - クロロ - 6 - ヨード
 - 1 , 8 - ジメチルキノリン - 2 (1 H) - オン ; 4 - クロロ - 6 - (チアゾール - 5 -
 イル) キノリン - 2 (1 H) - オン ; 4 - クロロ - 8 - メチル - 6 - (チアゾール - 5 -
 イル) キノリン - 2 (1 H) - オン ; 4 - クロロ - 1 - メチル - 6 - (チアゾール - 5 -
 イル) キノリン - 2 (1 H) - オン ; 4 - クロロ - 1 , 8 - ジメチル - 6 - (チアゾール
 - 5 - イル) キノリン - 2 (1 H) - オン ; 4 - クロロ - 1 - エチル - 6 - (チアゾール
 - 5 - イル) キノリン - 2 (1 H) - オン ; (1 s , 4 s) - N - メチル - 4 - ((2 -
 オキソ - 6 - (チアゾール - 5 - イル) - 1 , 2 - ジヒドロキノリン - 4 - イル) アミノ)
 シクロヘキサカルボキサミド ; 4 - ((テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - イル) ア
 ミノ) - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キノリン - 2 (1 H) - オン ; 4 - (((1 s ,
 4 s) - 4 - (2 - メトキシエトキシ) シクロヘキシル) アミノ) - 6 - (チアゾール -
 5 - イル) キノリン - 2 (1 H) - オン ; (1 r , 4 r) - N - メチル - 4 - ((8 - メ
 チル - 2 - オキソ - 6 - (チアゾール - 5 - イル) - 1 , 2 - ジヒドロキノリン - 4 - イ
 ル) アミノ) シクロヘキサカルボキサミド ; 8 - メチル - 4 - ((テトラヒドロ - 2 H
 - ピラン - 4 - イル) アミノ) - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キノリン - 2 (1 H) -
 オン ; 4 - (((1 s , 4 s) - 4 - (2 - メトキシエトキシ) シクロヘキシル) アミノ)
 - 8 - メチル - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キノリン - 2 (1 H) - オン ; 4 - (((1 s ,
 4 s) - 4 - メトキシシクロヘキシル) アミノ) - 8 - メチル - 6 - (チアゾール
 - 5 - イル) キノリン - 2 (1 H) - オン ; (1 r , 4 r) - N - メチル - 4 - ((1
 - メチル - 2 - オキソ - 6 - (チアゾール - 5 - イル) - 1 , 2 - ジヒドロキノリン - 4
 - イル) アミノ) シクロヘキサカルボキサミド ; 1 - メチル - 4 - ((テトラヒドロ -
 2 H - ピラン - 4 - イル) アミノ) - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キノリン - 2 (1 H)
 - オン ; 4 - (((1 r , 4 r) - 4 - (2 - メトキシエトキシ) シクロヘキシル) ア
 ミノ) - 1 - メチル - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キノリン - 2 (1 H) - オン ; 4 -
 (((1 r , 4 r) - 4 - メトキシシクロヘキシル) アミノ) - 1 - メチル - 6 - (チア
 ザール - 5 - イル) キノリン - 2 (1 H) - オン ; 4 - (((1 s , 4 s) - 4 - ヒドロ
 キシシクロヘキシル) アミノ) - 1 - メチル - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キノリン -
 2 (1 H) - オン ; トリフルオロ酢酸塩 ; 4 - アミノ - 1 - メチル - 6 - (チアゾール - 5
 - イル) キノリン - 2 (1 H) - オン ; (1 r , 4 r) - 4 - ((1 , 8 - ジメチル - 2
 - オキソ - 6 - (チアゾール - 5 - イル) - 1 , 2 - ジヒドロキノリン - 4 - イル) アミ
 ノ) - N - メチルシクロヘキサカルボキサミド ; 1 , 8 - ジメチル - 4 - ((テトラヒド

10

20

30

40

50

ロ - 2 H - ピラン - 4 - イル) アミノ) - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キノリン - 2 (1 H) - オン; 4 - ((1 r, 4 r) - 4 - (2 - メトキシエトキシ) シクロヘキシル) アミノ) - 1, 8 - ジメチル - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キノリン - 2 (1 H) - オン; 4 - ((1 r, 4 r) - 4 - メトキシシクロヘキシル) アミノ) - 1, 8 - ジメチル - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キノリン - 2 (1 H) - オン; (1 r, 4 r) - 4 - ((1 - エチル - 2 - オキソ - 6 - (チアゾール - 5 - イル) - 1, 2 - ジヒドロキノリン - 4 - イル) アミノ) - Nメチルシクロヘキサンカルボキサミド; 1 - エチル - 4 - ((1 r, 4 r) - 4 - (2 - メトキシエトキシ) シクロヘキシル) アミノ) - 6 - (チアゾール - 5 - イル) キノリン - 2 (1 H) - オン; およびその誘導体などから選択される。

10

【0133】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、参照により本明細書に組み込まれる *Sepehri* および *Ghavami* (2017, *J Biomol Struct Dyn* . 35 (9) : 1890 - 8) に記載されているものを含むか、これよりなる群のなかで選択される。

【0134】

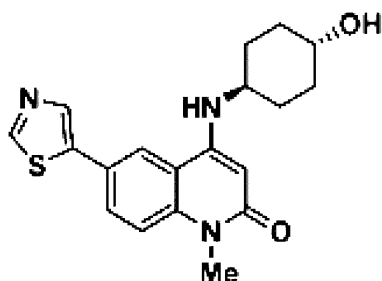
一実施形態では、本発明による有機小分子は、参照により本明細書に組み込まれる *Scully* ら (2017, *ACS Med Chem Lett* . 8 (2) : 196 - 200) に記載されているものを含むか、これよりなる群のなかで選択される。

20

【0135】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、

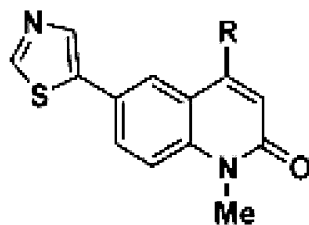
【化6】



30

およびその誘導体、例えば、

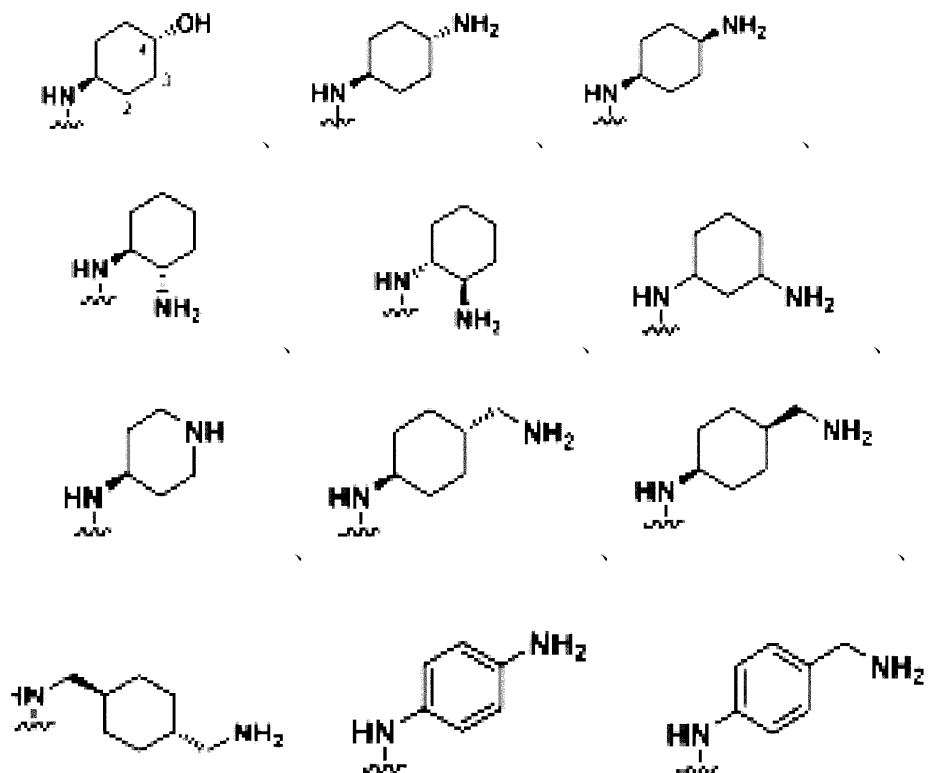
【化7】



40

(式中、Rは、

【化 8】

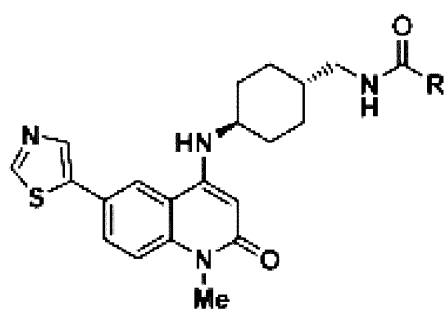


10

20

などから選択される) ;

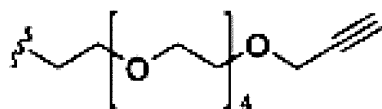
【化 9】



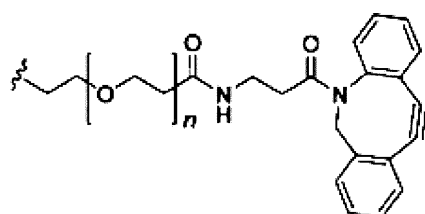
30

(式中、Rは、

【化 1 0】

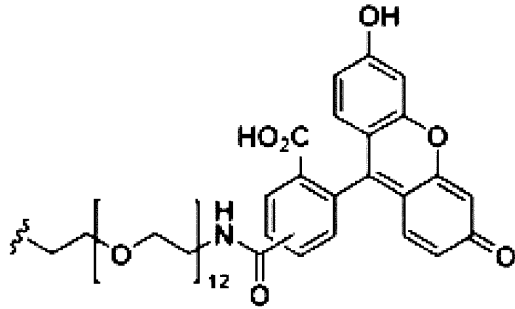


40



50

(n は 5 または 13 である)、



10

から選択される)

; およびその誘導体などから選択される。

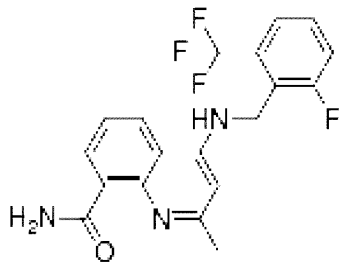
【 0 1 3 6 】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、参照により本明細書に組み込まれる Deatonら (2018, Bioorg Med Chem, 26(8): 2107-2150) に記載されているものを含むか、これよりなる群のなかで選択される。

【 0 1 3 7 】

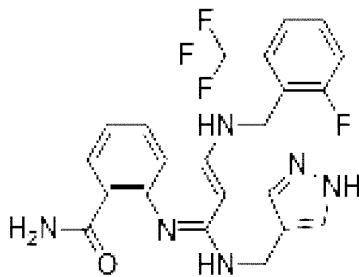
一実施形態では、本発明による有機小分子は、

【 化 1 1 】



20

および



30

誘導体、例えば、2 - (((1 H - ピラゾール - 4 - イル) メチル) アミノ) - 4 - ((2 - フルオロ - 6 - (トリフルオロメチル) ベンジル) アミノ) キナゾリン - 8 - カルボキサミド ; 2 - (((1 H - ピラゾール - 5 - イル) メチル) アミノ) - 4 - ((2 - フルオロ - 6 - (トリフルオロメチル) ベンジル) アミノ) キナゾリン - 8 - カルボキサミド ; 4 - ((2 - フルオロ - 6 - (トリフルオロメチル) ベンジル) アミノ) - 2 - (((3 - メチル - 1 H - ピラゾール - 4 - イル) メチル) アミノ) キナゾリン - 8 - カルボキサミド ; 2 - (4 , 6 - ジヒドロピロロ [3 , 4 - c] ピラゾール - 5 (1 H) - イル) - 4 - ({ [2 - フルオロ - 6 - (トリフルオロメチル) フェニル] メチル } アミノ) - 8 - キナゾリンカルボキサミド ; 2 - (6 , 7 - ジヒドロ - 1 H - ピラゾロ [4 , 3 - c] ピリジン - 5 (4 H) - イル) - 4 - ((2 - フルオロ - 6 - (トリフルオロメチル) ベンジル) アミノ) キナゾリン - 8 - カルボキサミド ; 2 - (4 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリジン - 6 (7 H) - イル) - 4 - ((2 - フルオロ - 6 - (トリフルオロメチル) ベンジル) アミノ) キナゾリン - 8 - カルボキサミド ; 2 - (5 , 6 - ジヒドロピラゾロ [3 , 4 - c] アゼピン - 7 (1 H , 4 H , 8 H) - イル) - 4

40

50

50

ピロロ[3, 4-c]ピラゾール-5(1H, 4H, 6H)-イル)-4-(2-フルオロ-6-(トリフルオロメチル)ベンジル)アミノ)キナゾリン-8-カルボキサミド; (S)-2-(3, 6-ジメチルピロロ[3, 4-c]ピラゾール-5(1H, 4H, 6H)-イル)-4-(2-フルオロ-6-(トリフルオロメチル)ベンジル)アミノ)キナゾリン-8-カルボキサミド; (R)-2-(3-アミノ-6-メチルピロロ[3, 4-c]ピラゾール-5(1H, 4H, 6H)-イル)-4-(2-フルオロ-6-(トリフルオロメチル)ベンジル)アミノ)キナゾリン-8-カルボキサミド; (S)-2-(3-アミノ-6-メチルピロロ[3, 4-c]ピラゾール-5(1H, 4H, 6H)-イル)-4-(2-フルオロ-6-(トリフルオロメチル)ベンジル)アミノ)キナゾリン-8-カルボキサミド; (R)-2-(3-アミノ-6-メチルピロロ[3, 4-c]ピラゾール-5(1H, 4H, 6H)-イル)-4-(2-フルオロ-6-(トリフルオロメチル)ベンジル)アミノ)キナゾリン-8-カルボキサミド; 2-(3-アミノ-6, 6-ジメチルピロロ[3, 4-c]ピラゾール-5(1H, 4H, 6H)-イル)-4-(2-フルオロ-6-(トリフルオロメチル)ベンジル)アミノ)キナゾリン-8-カルボキサミド; 2-(30-アミノ-10H-スピロ[シクロプロパン-1, 60-ピロロ[3, 4-c]ピラゾール]-50(40H)-イル)-4-(2-フルオロ-6-(トリフルオロメチル)ベンジル)アミノ)キナゾリン-8-カルボキサミド; 2-(30-アミノ-10H-スピロ[シクロブタン-1, 60-ピロロ[3, 4-c]ピラゾール]-50(40H)-イル)-4-(2-フルオロ-6-(トリフルオロメチル)ベンジル)アミノ)キナゾリン-8-カルボキサミド; 2-(30-アミノ-10H-スピロ[シクロペンタン-1, 60-ピロロ[3, 4-c]ピラゾール]-50(40H)-イル)-4-(2-フルオロ-6-(トリフルオロメチル)ベンジル)アミノ)キナゾリン-8-カルボキサミド; およびその誘導体などから選択される。

【0138】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、CD38の(具体的にはヒトCD38の)NAADP加水分解酵素活性を5 μ M以下、具体的には500nM以下、より具体的には50nM以下のIC₅₀で阻害する; またはCD38の(具体的にはヒトCD38の)NAADPシンターゼ活性を5 μ M以下、具体的には500nM以下、より具体的には50nM以下のEC₅₀で活性化する。

【0139】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、CD38、具体的にはヒトCD38がNAADPを分解する能力を5 μ M以下、具体的には500nM以下、より具体的には50nM以下のIC₅₀で阻害する; またはCD38、具体的にはヒトCD38がNAADPを合成する能力を5 μ M以下、具体的には500nM以下、より具体的には50nM以下のEC₅₀で活性化する。

【0140】

CD38、具体的にはヒトCD38がNAADPを分解する能力を阻害する本発明による有機小分子のIC₅₀を求める方法では、Schmidら(2011, FEBS Lett. 585(22): 3544-8)に記載されているように、目的の化合物の存在下または不在下で、少なくともNAADPとCD38(組換えCD38タンパク質、抽出した細胞タンパク質またはCD38を発現する細胞全体に由来するもの)とを含む溶液を用い、NAADP分解をHPLCにより、もしくはELISAなどの別の検出方法により追跡することによって、またはADPRP形成を追跡することによって、in vitroでアッセイすることができる。

【0141】

CD38、具体的にはヒトCD38がNAADPを合成する能力を活性化する本発明による有機小分子のEC₅₀を求める方法では、Schmidら(2011, FEBS Lett. 585(22): 3544-8)に記載されているように、目的の化合物の存在下または不在下で、少なくともNAADPとニコチン酸とCD38(組換えCD38タンパク質、抽出した細胞タンパク質またはCD38を発現する細胞全体に由来するもの)とを

含む溶液を用い、HPLCにより、もしくは別のELISAなどの検出方法によりNADP合成を追跡することによって、またはNADP分解を追跡することによって、*in vitro*でアッセイすることができる。

【0142】

一実施形態では、本発明による有機小分子は、配列番号1のヒトCD38のグルタミン酸146、アスパラギン酸155およびグルタミン酸226を含むか、これよりなる群より選択される少なくとも1つ、具体的には少なくとも2つ、より具体的には少なくとも3つのアミノ酸と特異的に結合する(Graeff et al., 2006. J Biol Chem. 281(39): 28951-7)。

【0143】

具体的には、本発明による有機小分子は、配列番号1のヒトCD38のグルタミン酸146、アスパラギン酸155およびグルタミン酸226と特異的に結合する。

【0144】

本明細書で使用される「神経変性疾患」という用語は、神経変性の保護および/または予防によって改善または予防することが可能な任意の病態を指す。

【0145】

具体的には、神経変性疾患は、パーキンソン病および関連障害(特に限定されないが、パーキンソン病、パーキンソン認知症、常染色体劣性遺伝性PARK2およびPARK6連鎖パーキンソニズム、非定型パーキンソン症候群[例えば、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症候群、レビー小体型認知症、多系統萎縮症など]、グアドループ島パーキンソニズムおよびリティコ・ボディグ病を含む);運動ニューロン疾患(特に限定されないが、筋萎縮性側索硬化症、前頭側頭型認知症、進行性球麻痺、仮性球麻痺、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、脊髄性筋萎縮症およびポリオ後症候群を含む);神経炎症性疾患;アルツハイマー病および関連障害(特に限定されないが、初期段階のアルツハイマー障害、軽度段階のアルツハイマー障害、中等度段階のアルツハイマー障害、軽度から中等度段階のアルツハイマー障害、進行した段階のアルツハイマー障害、軽度認知障害、血管性認知症、混合型認知症、ピック病、嗜銀顆粒性疾患、後部皮質萎縮症、ウェルニッケ・コルサコフ症候群を含む);プリオン病(特に限定されないが、クロイツフェルト・ヤコブ病を含む);リソソーム蓄積症;白質ジストロフィー;ハンチントン病;ダウン症候群;球脊髄性筋萎縮症;脳卒中;外傷性脳損傷;HIV関連神経認知障害;トゥレット症候群;常染色体優性遺伝性脊髄小脳失調症;多発性硬化症;フリードライヒ運動失調症;シャルコー・マリー・トゥース病;歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症;筋強直性ジストロフィー;統合失調症;加齢による記憶障害;自閉症および自閉症スペクトラム障害;注意欠陥多動障害;慢性疼痛;アルコール性認知症;進行性非流暢性失語症;意味性認知症;痙性対麻痺;線維筋痛症;ライム病後;ニューロパチー;離脱症状;アルパース病;脳・眼・顔・骨格症候群;ウィルソン病;コケイン症候群;リー病;脳内鉄蓄積を伴う神経変性;オプソクロノス・ミオクロノス症候群;アルファ・メチルアシル-CoAラセマーゼ欠損症;アンダーマン症候群;アーツ症候群;マリネスコ・シェーグレン症候群;ミトコンドリア膜タンパク質関連神経変性;パントテン酸キナーゼ関連神経変性症;硬化性白質脳症を伴う多発嚢胞性脂肪膜性骨異形成症;リボフラビン輸送体欠損性神経細胞障害;ならびに毛細血管拡張性運動失調症を含むか、これよりなる群のなかで選択される。

【0146】

より具体的には、神経変性疾患は、パーキンソン病;レビー小体型認知症;多系統萎縮症;アルツハイマー病;進行性核上性麻痺;大脳皮質基底核変性症;ピック病;前頭側頭型認知症;筋萎縮性側索硬化症;球脊髄性筋萎縮症;脳卒中;外傷性脳損傷;ハンチントン病;多発性硬化症;フリードライヒ運動失調症;シャルコー・マリー・トゥース病;クロイツフェルト・ヤコブ病およびその他のプリオン病;ロイコジストロフィー;ならびにリソソーム蓄積症を含むか、これよりなる群のなかで選択される。

【0147】

本明細書で使用される「炎症性疾患」という用語は、自己免疫疾患もしくはアレルギー

10

20

30

40

50

の場合などには異常な炎症、または慢性疼痛、発赤、腫脹、硬直につながる組織の過剰な炎症、および／または健常組織に対する損傷を特徴とする、疾患を指す。

【0148】

具体的には、炎症性疾患は、神経炎症性疾患（特に限定されないが、髄膜炎、脳炎および自己免疫性神経炎症性疾患〔多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、バロー病、慢性炎症性脱髄性多発性ニューロパチー、デビック病、多巣性運動ニューロパチー、ナルコレプシー、視神経脊髄炎、視神経炎、傍腫瘍性小脳変性症および横断性脊髄炎〕を含む）；ゴーシェ病；自己免疫疾患（特に限定されないが、アカラシア、アジソン病、成人スティル病、無ガンマグロブリン血症、円形脱毛症、アミロイドーシス、強直性脊椎炎、抗GBM／抗TBM腎炎、抗リン脂質症候群、自己免疫性血管性浮腫、自己免疫性自律神経障害、自己免疫性脳脊髄炎、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患、自己免疫性心筋炎、自己免疫性卵巣炎、自己免疫性精巣炎、自己免疫性膵炎、自己免疫性網膜症、バロー病、ベーチェット病、良性粘膜類天疱瘡、水疱性類天疱瘡、キャスルマン病、シャーガス病、慢性炎症性脱髄性多発性ニューロパチー、慢性再発性多発性骨髄炎、チャグ・ストラウス症候群、癬痕性類天疱瘡、セリアック病、コーガン症候群、寒冷凝集素症、先天性心ブロック、コクサッキー心筋炎、クレスト症候群、疱疹状皮膚炎、デビック病、円板状狼瘡、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性食道炎、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、本態性混合型クリオグロブリン血症、エバンス症候群、線維筋痛症、線維性肺炎、巨細胞性動脈炎、巨細胞性心筋炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、多発血管炎性肉芽腫症、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、溶血性貧血、橋本病、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病、妊娠性疱疹、化膿性汗腺炎、低ガンマグロブリン血症、特発性血小板減少性紫斑病、IgA腎症、IgG4関連硬化性疾患、免疫性血小板減少性紫斑病、封入体筋炎、炎症性腸疾患、炎症性ミオパチー、間質性膀胱炎、若年性関節炎、若年性筋炎、川崎病、ランバート・イートン症候群、白血球破壊性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質結膜炎、線状IgA病、狼瘡、慢性ライム病、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎、混合性結合組織病、モーレン潰瘍、ムッカ・ハーベルマン病、多巣性運動ニューロパチー、多発性硬化症、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、新生児ループス、視神経脊髄炎、好中球減少症、眼部癬痕性類天疱瘡、視神経炎、回帰性リウマチ、傍腫瘍性小脳変性症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、パリー・ロンベルグ症候群、毛様体扁平部炎、パーソネージ・ターナー症候群、溶連菌感染関連小児自己免疫性精神神経障害（PANDAS）、天疱瘡、末梢性ニューロパチー、静脈周囲性脳脊髄炎、悪性貧血、POEMS症候群、結節性多発動脈炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、プロゲステロン皮膚炎、乾癬、乾癬性関節炎、赤芽球ろう、壊疽性膿皮症、レイノー現象、反応性関節炎、反射性交感神経性ジストロフィー、再発性多発軟骨炎、下肢静止不能症候群、後腹膜線維症、リウマチ熱、関節リウマチ、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、精子および精巣自己免疫、全身硬直症候群、亜急性細菌性心内膜炎、スザック症候群（Succac's syndrome）交感性眼炎、全身性エリテマトーデス、高安動脈炎、側頭動脈炎、トロサ・ハント症候群、横断性脊髄炎、1型糖尿病、未分化結合組織疾患、ブドウ膜炎、血管炎フォクト・小柳・原田病、白斑およびウェゲナー肉芽腫症を含む）；アレルギー；喘息；肝炎（特に限定されないが、急性肝炎、劇症肝炎、慢性肝炎、ウイルス性肝炎、寄生虫性肝炎、細菌性肝炎、アルコール性肝炎、毒物性および薬物性肝炎、脂肪性肝炎、アルファ-1-アンチトリプシン欠損症、ヘモクロマトーシス、ウィルソン病虚血性肝炎、非アルコール性およびアルコール性脂肪性肝炎を含む）；再灌流傷害；2型糖尿病；ならびに移植拒絶反応を含むか、これよりなる群のなかで選択される。

【0149】

より具体的には、炎症性疾患は、特に限定されないが、髄膜炎、脳炎、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、バロー病、慢性炎症性脱髄性多発性ニューロパチー、デビック病、多巣性運動ニューロパチー、ナルコレプシー、視神経脊髄炎、視神経炎、傍腫瘍性小脳変性症および横断性脊髄炎を含めた神経炎症性疾患を含むか、これよりなる群のなかで選

10

20

30

40

50

択される。

【0150】

より具体的には、炎症性疾患は、特に限定されないが、アカラシア、アジソン病、成人ステイル病、無ガンマグロブリン血症、円形脱毛症、アミロイドーシス、強直性脊椎炎、抗GBM/抗TBM腎炎、抗リン脂質症候群、自己免疫性血管性浮腫、自己免疫性自律神経障害、自己免疫性脳脊髄炎、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患、自己免疫性心筋炎、自己免疫性卵巣炎、自己免疫性精巣炎、自己免疫性膵炎、自己免疫性網膜症、バロー病、ベーチェット病、良性粘膜類天疱瘡、水疱性類天疱瘡、キャスルマン病、シャーガス病、慢性炎症性脱髄性多発性ニューロパチー、慢性再発性多発性骨髄炎、チャージ・ストラウス症候群、瘢痕性類天疱瘡、セリアック病、コーガン症候群、寒冷凝集素症、先天性心ブロック、コクサッキー心筋炎、クレスト症候群、疱疹状皮膚炎、デビック病、円板状狼瘡、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性食道炎、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、本態性混合型クリオグロブリン血症、エバンス症候群、線維筋痛症、線維性肺炎、巨細胞性動脈炎、巨細胞性心筋炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、多発血管炎性肉芽腫症、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、溶血性貧血、橋本病、ヘノッホ・シェンライン紫斑病、妊娠性疱疹、化膿性汗腺炎、低ガンマグロブリン血症、特発性血小板減少性紫斑病、IgA腎症、IgG4関連硬化性疾患、免疫性血小板減少性紫斑病、封入体筋炎、炎症性腸疾患、炎症性ミオパチー、間質性膀胱炎、若年性関節炎、若年性筋炎、川崎病、ランバート・イートン症候群、白血球破壊性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質結膜炎、線状IgA病、狼瘡、慢性ライム病、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎、混合性結合組織病、モーレン潰瘍、ムッカ・ハーベルマン病、多巣性運動ニューロパチー、多発性硬化症、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、新生児ループス、視神経脊髄炎、好中球減少症、眼部瘢痕性類天疱瘡、視神経炎、回帰性リウマチ、傍腫瘍性小脳変性症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、パリー・ロンベルグ症候群、毛様体扁平部炎、パーソネージ・ターナー症候群、溶連菌感染関連小児自己免疫性精神神経障害(PANDAS)、天疱瘡、末梢性ニューロパチー、静脈周囲性脳脊髄炎、悪性貧血、POEMS症候群、結節性多発動脈炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、プロゲステロン皮膚炎、乾癬、乾癬性関節炎、赤芽球ろう、壊疽性膿皮症、レイノー現象、反応性関節炎、反射性交感神経性ジストロフィー、再発性多発軟骨炎、下肢静止不能症候群、後腹膜線維症、リウマチ熱、関節リウマチ、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、精子および精巣自己免疫、全身硬直症候群、亜急性細菌性心内膜炎、スザック症候群(Sucac's syndrome)交感性眼炎、全身性エリテマトーデス、高安動脈炎、側頭動脈炎、トロサ・ハント症候群、横断性脊髄炎、1型糖尿病、未分化結合組織疾患、ブドウ膜炎、血管炎フォークト・小柳・原田病、白斑ならびにウェゲナー肉芽腫症を含めた自己免疫疾患を含むか、これよりなる群のなかで選択される。

【0151】

本発明は、薬物として使用する、本発明による化合物であって、NAD⁺依存性経路および/またはcADPR依存性経路を標的とする治療に対して非奏効患者に投与する化合物にも関する。

【0152】

本明細書で使用される「薬物」は、対象または患者、例えば哺乳動物など、特にヒトに投与するのに適した組成物を包含するものとする。一般に、「薬物」は無菌であり、通常、対象内に望ましくない応答を引き起こすことが可能な汚染物を含まない(例えば、薬物中の化合物(1つまたは複数)は医薬品等級である)。薬物は、それを必要とする対象に経口、パッカル、経直腸、非経口、腹腔内、真皮内、皮下、鼻腔内、髄腔内、脊髄周囲(perispinal)などを含めた多数の様々な投与経路で投与するように設計することができる。好ましい形態は、意図する投与様式および治療用途によって決まる。典型的な好ましい形態として、経口液剤、注射用液剤または注入用液剤がある。

【0153】

本発明は、本発明による化合物を含むか、これよりなるか、実質的にこれよりなる組成物にも関する。

【0154】

本発明は、本発明による化合物と少なくとも1つの薬学的に許容される担体を含むか、これよりなるか、実質的にこれよりなる医薬組成物にも関する。

【0155】

本明細書で使用される「薬学的に許容される担体」は、医薬組成物の調製に有用であり、一般に安全で、無毒性であり、生物学的にもその他の点でも望ましくないものではなく、賦形剤、希釈剤、担体および補助剤を包含するものとし、獣医学用途およびヒトへの製薬学的用途に許容される補形剤、希釈剤、担体および補助剤がこれに含まれる。本明細書で使用される「薬学的に許容される担体」は、1つの、および2つ以上のこのような賦形剤、希釈剤、担体および補助剤をともに含む。

10

【0156】

本発明は、本発明による化合物を含むか、これよりなるか、実質的にこれよりなる薬物にも関する。

【0157】

組成物、医薬組成物または薬物に関して本明細書で使用される「実質的に～よりなる」という用語は、本発明による化合物が、前記組成物、医薬組成物または薬物内で生物活性のある唯一の薬剤であることを意味する。

【0158】

具体的には、本発明による組成物、医薬組成物または薬物は、有効成分として、薬学的に許容される担体を添加した本発明による化合物を含むか、これよりなるか、実質的にこれよりなるものである。

20

【0159】

本発明は、CD38と特異的に結合し、NAADP受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化する化合物の、神経変性および/または炎症性疾患の予防および/または治療のための薬物の調製への使用にも関する。このような化合物（本発明による抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物または有機小分子）は、本発明による薬物中に治療量（活性があり、毒性がない量）で存在し得る。

【0160】

本発明は、神経変性および/または炎症性疾患の治療方法であって、CD38と特異的に結合し、NAADP受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化する、本発明による化合物を、必要とする対象に治療量で投与することを含む、方法にも関する。

30

【0161】

「治療有効量」は、標的に有意な負の副作用も有害な副作用も引き起こさずに、（1）神経変性および/または炎症性疾患の発症を遅らせる、または予防すること；（2）神経変性および/または炎症性疾患の1つまたは複数の症状の進行、悪化または増悪の速度を低下させる、またはこれを停止させること；（3）神経変性および/または炎症性疾患の症状の改善をもたらすこと；（4）神経変性および/または炎症性疾患の重症度または発現率を抑えること；あるいは（5）神経変性および/または炎症性疾患を治癒することを目的とする薬剤のレベルまたは量を指す。

40

【0162】

このような治療量は、前記成分の投与が前記本発明による医薬組成物または薬物の投与によって予防および/または治療しようとする病態および/または障害に及ぼす効果を評価することを含めたルーチンの試験により、当業者が決定することができる。

【0163】

例えば、このような試験は、様々な量の上記の前記化合物（本発明による抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物または有機小分子）の投与が、具体的には対象の生体試料に由来する、前記病態および/または前記障害に特徴的なマーカー

50

(生物学的および/または臨床的)のセットに及ぼす定量的効果および定性的効果の両方を解析することによって実施することができる。

【0164】

予防処置には、神経変性および/または炎症性疾患の発症前に治療有効量を投与し得る。上記のものに代えて、またはこれに加えて、治療処置には、神経変性および/または炎症性疾患の発症後に治療有効量を投与し得る。一実施形態では、組成物の治療有効量は、神経変性および/または炎症性疾患の少なくとも1つの症状を軽減するのに効果的な量である。

【0165】

一実施形態では、本発明による組成物、医薬組成物または薬物を、髄腔内投与経路を用いて、すなわち髄腔内に投与することができる。

10

【0166】

本発明の化合物と同程度の大きさの化合物、例えばリツキシマブなどの、髄腔内投与経路を用いた効率的な送達臨床試験NCT01719159に既に例示されており、またニボルマブについては、臨床試験NCT03025256に既に例示されている。

【0167】

髄腔内投与用の無菌薬は、必要量の本発明の化合物を適切な溶媒に組み込んだ後、精密ろ過により滅菌することによって調製することができる。溶媒または媒体として、水、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなどおよびその組合せを使用し得る。多くの場合、組成物中に糖、ポリアルコールまたは塩化ナトリウムなどの等張剤を含ませるのが好ましい。これらの薬物には、補助剤、具体的には、湿潤剤、等張化剤、乳化剤、分散剤および安定剤が含まれていてもよい。

20

【0168】

一実施形態では、本発明による組成物、医薬組成物または薬物を、皮下投与経路を用いて、すなわち皮下に投与することができる。

【0169】

本発明の化合物と同程度の大きさの化合物、例えばダクリズマブなどの、皮下投与経路を用いた効率的な送達臨床試験NCT00109161に既に例示されている。

【0170】

好ましい実施形態では、本発明による組成物、医薬組成物または薬物を、静脈内投与経路を用いて、すなわち、静脈内に投与することができる。

30

【0171】

本発明の化合物と同程度の大きさの化合物、例えばアデュカヌマブなどの、静脈内投与経路を用いた効率的な送達が、臨床試験NCT01677572およびSevignyら(2016, Nature, 537(7618):50-6)に既に例示されている。

【0172】

使用時に滅菌水または任意の他の注射用無菌媒体に溶解させ得る無菌固体組成物の形態で非経口投与用の無菌薬を調製してもよい。

【0173】

一実施形態では、本発明による組成物、医薬組成物または薬物を経口的に投与することができる。経口投与用の固形薬として、錠剤、丸剤、粉末剤(ゼラチンカプセル剤、サシエ剤)または顆粒剤を使用し得る。これらの薬物では、本発明による有効成分をアルゴン流下で1つまたは複数の不活性希釈剤、例えばデンプン、セルロース、スクロース、ラクトースまたはシリカなどと混合する。これらの薬物には、希釈剤以外の物質、例えば、1つまたは複数のステアリン酸マグネシウムもしくはタルクなどの滑沢剤、着色剤、コーティング剤(糖衣錠)または光沢剤が含まれていてもよい。経口投与用の液体薬として、不活性希釈剤、例えば水、エタノール、グリセロール、植物油またはパラフィン油などを含む薬学的に許容される液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤およびエリキシル剤を使用し得る。これらの薬物には、希釈剤以外の物質、例えば、湿潤剤、甘味剤、増粘剤、香味剤または安定化剤が含まれていてもよい。

40

50

【0174】

一実施形態では、本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物を、当業者が決定し、各対象に個人別に適合させた用量で投与することができる。

【0175】

本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物の総1日使用量は、主治医によって受当な医学的判断の範囲内で決定されることが理解されよう。任意の特定の対象に対する具体的な治療有効量または栄養補助有効量は、治療する疾患および疾患の重症度；用いる具体的な組成物、対象の年齢、体重、全般的健康状態、性別および食事；投与時間、投与経路、治療期間；本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物と併用または同時使用する薬物；ならびに医術分野で周知のこれと同様の因子を含めた様々な因子によって決まる。例えば、所望の治療効果を得るのに必要なレベルより低いレベルで治療用化合物の投与を開始し、所望の効果が得られるまで用量を漸増させることは、当業者の技能範囲内に十分に含まれるものであるが、それとは逆に、より迅速に定常状態血漿中濃度に到達する方法である負荷投与で開始し、次いで、排泄過程による影響を正確に相殺するよう算出した維持量でこれに続くことが同じように有用であることがある。

10

【0176】

一実施形態では、治療有効量の本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物を少なくとも1日1回、少なくとも1日2回、少なくとも1日3回投与することができる。

【0177】

一実施形態では、治療有効量の本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物を2日毎、3日毎、4日毎、5日毎、6日毎に投与することができる。

20

【0178】

一実施形態では、治療有効量の本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物を週2回、毎週、2週間毎、月1回投与することができる。

【0179】

一実施形態では、治療有効量の本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物を月1回、2か月毎、3か月毎、4か月毎、5か月毎、6か月毎および年1回投与することができる。

【0180】

一実施形態では、治療有効量の本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物を約1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、2週間、3週間、1か月、2か月、3か月、6か月、1年の期間またはそれ以上の期間にわたって、例えば、数年または対象の生涯などにわたって投与することができる。一実施形態では、治療有効量の本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物を神経変性および/または炎症性疾患が治療または緩和されるまで投与することができる。

30

【0181】

一実施形態では、治療有効量の本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物を慢性治療で投与することができる。一実施形態では、治療有効量の本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物を急性治療で投与することができる。

【0182】

一実施形態では、治療有効量の本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物は、好ましくは髄腔内投与経路を用いて投与する場合、約0.1 mg/kg ~ 約10 mg/kgの範囲内にあり、好ましくは約0.1 mg/kg ~ 5 mg/kgの範囲内にあり、より好ましくは約1 mg/kgである。

40

【0183】

一実施形態では、治療有効量の本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物は、好ましくは静脈内投与経路を用いて投与する場合、約0.1 mg/kg ~ 約250 mg/kgの範囲内にあり、好ましくは約1 mg/kg ~ 約200 mg/kg、約2.5 mg/kg ~ 100 mg/kg、約5 mg/kg ~ 約100 mg/kgの範囲内にあり、より好ましくは約10 mg/kg ~ 約30 mg/kg、約15 mg/kg ~ 約20 mg/kgの範

50

囲内にあり、さらにより好ましくは約 15 mg / kg である。

【0184】

一実施形態では、治療有効量の本発明の化合物、組成物、医薬組成物または薬物は、好ましくは皮下投与経路を用いて投与する場合、約 1 mg ~ 1000 mg の範囲内にあり、好ましくは約 10 ~ 250 mg の範囲内にあり、より好ましくは約 100 mg である。

【0185】

一実施形態では、本発明の化合物は、好ましくは静脈内または皮下投与経路を用いる場合、血液脳関門 (BBB) を通過することができる。

【0186】

静脈内に注射した抗体に BBB を通過させて送達する方法は、当該技術分野で公知である。実際、いくつかの刊行物で、モノクローナル抗体の静脈内注射が血液脳関門 (BBB) を効率的に通過したことが明らかにされている。静脈内注射したモノクローナル抗体の脳内濃度の薬物動態モデル化により、脳内の血漿中 mAb 濃度が 0.4 % 程度であることが明らかにされている (Shah & Betts, 2013. MAb s. 5 (2) : 297 - 305)。ヒトでは、アデュカヌマブおよび ABBV - 8E12 の脳 / 血漿比がそれぞれ 1.3 % および 0.385 % に達することがわかっている (Sevigny et al., 2016. Nature. 537 (7618) : 50 - 6; West et al., 2017. J Prev Alz Dis. 4 (4) : 236 - 241)。さらに、インスリン受容体もしくはトランスフェリン受容体 (概説については Neves et al., 2016. Trends Biotech. 34 (1) : 36 - 48 を参照されたい) を標的とする二重特異性抗体の使用または Konofagou et al., 2012. Curr Pharm Biotechnol. 13 (7) : 1332 - 45 に記載されているように超音波による BBB 開口を用いることを含め、BBB 通過を改善する方法がいくつか開発されている。

【0187】

用量は、所望の効果、治療期間および用いる投与経路によって決まり、一般に、成人に対する経口投与には 1 日当たり 5 mg ~ 1000 mg であり、活性物質の単位用量は 0.01 mg ~ 250 mg の範囲内である。一般に、治療する対象の固有の年齢、体重および任意の他の因子に応じて、医師が適切な用量を決定する。

【0188】

本発明は、有効成分として、

- 少なくとも 1 つの本発明による化合物 ; ならびに

- 神経保護剤、対症剤、プロバイオティクスおよび凝集タンパク質または易凝集性タンパク質を中和するのに使用する抗体を含むか、これよりなる群より選択される少なくとも 1 つの第二の治療剤

を含み、NAADP 受容体 2 孔チャネル TPC 1 および / または TPC 2 の開口による神経変性および / または炎症性疾患の予防および / または治療に薬物として使用され、前記有効成分が、個別投与、同時投与または連続投与用に製剤化されている、配合剤にも関する。

【0189】

本発明は、有効成分として、

- 少なくとも 1 つの本発明による化合物 ; ならびに

- 神経保護剤、対症剤、プロバイオティクスおよび凝集タンパク質または易凝集性タンパク質を中和するのに使用する抗体を含むか、これよりなる群より選択される少なくとも 1 つの第二の治療剤

を含み、NAADP 受容体 2 孔チャネル TPC 1 および / または TPC 2 の開口による神経変性および / または炎症性疾患の予防および / または治療に薬物として個別使用、同時使用または連続使用する、配合剤にも関する。

【0190】

本明細書で使用される「神経保護剤」という用語は、神経保護効果を有する任意の薬剤

10

20

30

40

50

を包含する。

【0191】

本明細書で使用される「プロバイオティクス」という用語は、有益な特性を有する微生物、例えば腸内細菌叢の微生物などの増殖を促進し、かつ/またはそのような微生物を含有する、任意の物質を指す。例えば、前記プロバイオティクスは、*S.サーモフィルス* (*S. thermophilus*)、*B.アニマリス* (*B. animalis*)、*L.ブルガリクス* (*L. bulgaricus*)、*ラクトコッカス・ラクティス* (*Lactococcus lactis*)、*ラクトバチルス・アシドフィルス* (*Lactobacillus acidophilus*)、*ラクトバチルス・カゼイ* (*Lactobacillus casei*)、*ビフィドバクテリウム・ビフィドゥム* (*Bifidobacterium bifidum*) および *ラクトバチルス・ファーマンタム* (*Lactobacillus fermentum*) の菌株を含有し得る。これまでに、このようなプロバイオティクスの定期的摂取により認知能力が改善されることが記載されている。

10

【0192】

本明細書で使用される「凝集タンパク質または易凝集性タンパク質を中和するのに使用する抗体」という用語は、シヌクレイン、A β もしくはA β フラグメント (A $_{1-42}$ を含む)、タウ、プリオンまたはポリグルタミン伸長タンパク質を標的とする任意の抗体を指す。例えば、前記凝集タンパク質または易凝集性タンパク質を中和するのに使用する抗体は、A β ペプチドを中和するソラネズマブまたはアデュカヌマブ、タウを中和するアルマネズマブ、およびシヌクレインを中和するPRX002またはPD0805であり得る。

20

【0193】

本明細書で使用される「対症剤」という用語は、病態の進行を変化させずに、神経変性疾患に罹患している患者の生活の質を改善するのに使用される、任意の薬剤を指す。

【0194】

特に神経変性または炎症性疾患が筋萎縮性側索硬化症 (ALS) である場合、前記第二の治療剤は、リルゾール、エダラボン (フリーラジカルスカベンジャー) およびマシチニブを含むか、これよりなる群のなかで選択される神経保護剤であり得る。

【0195】

特に神経変性または炎症性疾患がアルツハイマー病である場合、前記第二の治療剤は、コリンエステラーゼ阻害剤 (例えば、ドネペジル、ガラントミン、メマンチン、リバスチグミン) およびNMDA受容体アンタゴニスト (例えば、メマンチン) を含むか、これよりなる群のなかで選択される対症剤であり得る。

30

【0196】

特に、神経変性または炎症性疾患がパーキンソン病である場合、前記第二の治療剤は、ドーパミン模倣物 (例えば、カルビドパ、レボドパ、両製品の組合せ)、ドーパミンアゴニスト (例えば、アポモルフィン、プロモクリプチン、ロチゴチン、プラミペキソール、ロピニロール)、抗コリン (例えば、ベンザトロピン、トリヘキシフェニジル)、MAO-B阻害剤 (例えば、セレギリン、ラサギリン)、COMT阻害剤 (例えば、エンタカポン、トルカポン) およびアマンタジン、ドロキシドパ、ピマバンセリン (*primavanserin*)、リバスチグミンを含むか、これよりなる群のなかで選択される対症剤であり得る。

40

【0197】

特に神経変性または炎症性疾患がハンチントン病である場合、前記第二の治療剤は、抗精神病 (例えば、ハロペリドール、クロルプロマジン、リスペリドン、クエチアピン、オランザピン)、抗うつ剤 (例えば、シタロプラム、フルオキセチン、オランザピン)、気分安定薬 (例えば、バルプロエート、カルバマゼピン、ラモトリギン) およびテトラペナジン、アマンタジン、レベチラセタム、クロナゼパムを含むか、これよりなる群のなかで選択される対症剤であり得る。

【0198】

50

特に神経変性または炎症性疾患が脊髄性筋萎縮症（SMA）である場合、前記第二の治療剤はヌシネルセンであり得る。

【0199】

特に神経変性または炎症性疾患がフリードライヒ運動失調症である場合、前記第二の治療剤は、5-ヒドロキシトリプトファン、補酵素Q、イデベノンを含むか、これよりなる群のなかで選択される神経保護剤であり得る。

【0200】

特に神経変性または炎症性疾患が多発性硬化症である場合、前記第二の治療剤は、インターフェロンベータ-1a、ペグインターフェロンベータ-1a、インターフェロンベータ-1b、酢酸グラチラマー、ダクリズマブ、テリフルノミド、フィンゴリモド、フマル酸ジメチル、アレムツズマブ、ミトキサントロン、オクレリズマブ、ナタリズマブ、プレドニゾン、メチルプレドニゾン、バクロフェン、チザニジンを含むか、これよりなる群のなかで選択される抗炎症剤または神経保護剤であり得る。

【0201】

特に神経変性または炎症性疾患が脳卒中である場合、前記第二の治療剤は、抗凝固剤（例えば、ワルファリン）、抗血小板剤（例えば、アスピリン、ジピリダモール、クロピドグレル）を含むか、これよりなる群のなかで選択される抗凝固剤または組織プラスミノゲン活性化因子、アルテプラゼ、スタチン、アンジオテンシンII受容体遮断剤、ACE阻害剤、ベータ遮断剤、カルシウムチャンネル遮断剤、利尿剤などの薬剤であり得る。

【0202】

特に神経変性または炎症性疾患がゴーシェ病である場合、前記第二の治療剤は、イミグルセラゼ、ベラグルセラゼ、エリグルスタット、ミグルスタットを含むか、これよりなる群のなかで選択される酵素補充療法剤または基質合成抑制療法剤であり得る。

【0203】

本発明は、対象の血中の少なくとも1つの抗炎症性サイトカインのレベルを増大させる方法であって、CD38と特異的に結合し、NAADP受容体2孔チャンネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化する本発明による化合物を、必要とする前記対象に治療有効量で投与することを含む、方法にも関する。

【0204】

抗炎症性サイトカインの例としては、特に限定されないが、インターロイキン10（IL-10）、トランスフォーミング増殖因子（TGF- β ）、インターロイキン1ra（IL-1ra）、インターロイキン4（IL-4）、インターロイキン6（IL-6）、インターロイキン11（IL-11）、インターロイキン13（IL-13）およびインターロイキン22（IL-22）が挙げられる。

【0205】

対象の血中サイトカインレベルを測定する方法は、当該技術分野で公知である。このような方法としては、例えば、ELISA試験、例えばのちの実施例の節に記載するものなどの使用が挙げられる。

【0206】

本発明は、対象の血中のインターロイキン10（IL-10）レベルを増大させる方法であって、CD38と特異的に結合し、NAADP受容体2孔チャンネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化する本発明による化合物を、必要とする前記対象に治療有効量で投与することを含む、方法にも関する。

【0207】

対象の血液試料中のIL-10レベルを測定する方法は当該技術分野で周知であり、例えば、ELISA試験の使用が挙げられる。

【0208】

一実施形態では、本発明による化合物の投与により、対象の血中のIL-10レベルが、陰性対照分子の投与と比較して少なくとも100%、200%、300%、具体的には少なくとも400%、より具体的には少なくとも500%増大する。

10

20

30

40

50

【0209】

本発明は、本発明による化合物を製造する方法であって、CD38と特異的に結合し、NADP受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化する化合物を選択する段階を含む、方法にも関する。

【0210】

具体的には、バイオセンサー解析、具体的にはBiacore解析によって求め得るCD38に対する K_D 値が 10^{-7} M以下、好ましくは 10^{-8} M以下、より好ましくは 10^{-9} M以下、さらにより好ましくは $1 \cdot 10^{-10}$ M以下である抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物を選択することを含むか、これよりなる、CD38と特異的に結合する本発明による抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物を選択する段階。

10

【0211】

具体的には、バイオセンサー解析、具体的にはBiacore解析によって求め得るCD38に対する K_D 値が 10^{-6} M、好ましくは 10^{-7} M、より好ましくは $1 \cdot 10^{-8}$ M以下である有機小分子を選択することを含むか、これよりなる、CD38と特異的に結合する本発明による有機小分子を選択する段階。

【0212】

具体的には、バイオセンサー解析、具体的にはBiacore解析によって求め得るCD38に対する K_D 値が200 nM以下、好ましくは150 nM以下、より好ましくは100 nM以下である有機小分子を選択することを含むか、これよりなる、CD38と特異的に結合する本発明によるオリゴヌクレオチドを選択する段階。

20

【0213】

上記の通り、ある化合物がNADP受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化する能力は、のちの実施例の節でさらに記載するように、NedKおよびNed-19などのTPC1および/またはTPC2活性化の阻害剤を用いることによって試験することができる。

【0214】

具体的には、のちの実施例の節でさらに記載する神経保護アッセイで、Ned-19の存在下では、Ned-19の不在下での陰性対照と比較して、神経保護効果が少なくとも20%、30%、40%、50%、具体的には少なくとも60%、より具体的には少なくとも70%拮抗される化合物を選択することを含むか、これよりなる、NADP受容体2孔チャネルTPC1および/またはTPC2の開口を活性化する化合物を選択する段階。このような神経保護アッセイとしては、特に限定されないが、のちの実施例の節でさらに記載する、中脳培養物中での自発的で進行性のドーパミン作動性(DA)ニューロン死の防止、ドーパミン作動性ニューロンのミトコンドリア神経毒MPP⁺からの保護および皮質ニューロンの興奮毒性からの保護に関してNed-19の存在下または不在下で実施するアッセイが挙げられる。

30

【0215】

本発明の方法は、CD38のNADP加水分解酵素活性を阻害する、またはCD38のNADPシンターゼ活性を活性化する化合物を選択する段階をさらに含み得る。

40

【0216】

本発明の方法は、CD38がNADPを分解する能力を阻害する、またはCD38がNADPを合成する能力を活性化する化合物を選択する段階をさらに含み得る。

【0217】

化合物がCD38のNADP加水分解酵素活性(すなわち、CD38がNADPを分解する能力)を阻害する、またはCD38のNADPシンターゼ活性(すなわち、CD38がNADPを合成する能力)を活性化する能力は、上記のように、Schmidら(2011, FEBS Lett. 585(22):3544-8)に記載されている方法を用いて試験することができる。

【0218】

50

本発明の方法は、N A A D P レベル測定アッセイで、C D 3 8 が N A A D P を分解する能力を阻害することによって（すなわち、C D 3 8 の N A A D P 加水分解酵素活性を阻害することによって）、または C D 3 8 が N A A D P を合成する能力を活性化することによって（すなわち、C D 3 8 の N A A D P シンターゼ活性を活性化することによって）、具体的にはニューロンの細胞内 N A A D P レベルを陰性対照分子と比較して、好ましくは少なくとも 1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、具体的には少なくとも 6 0 %、より具体的には少なくとも 7 0 % 増大させる化合物を選択する段階をさらに含み得る。

【 0 2 1 9 】

本発明の方法は、細胞内カルシウムレベル測定アッセイで、具体的にはニューロンの細胞質カルシウムレベルを陰性対照分子と比較して、好ましくは少なくとも 1 0 %、2 0 %、具体的には少なくとも 3 0 %、より具体的には少なくとも 4 0 % 増大させる化合物を選択する段階をさらに含み得る。

10

【 0 2 2 0 】

本発明の方法は、

- 配列番号 1 のヒト C D 3 8 のアミノ酸 2 2 0 ~ 2 8 5 を含む少なくとも 1 つのペプチド；および / または

- 配列番号 1 のヒト C D 3 8 のシステイン 2 5 4 および / または 2 7 5；および / または

- 配列番号 1 のヒト C D 3 8 のシステイン 2 5 4 およびシステイン 2 7 5 を含む 5 番目の C 末端ジスルフィドループ

20

と特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗原結合抗体模倣物を選択する段階も含み得る。

【 0 2 2 1 】

本発明の方法は、C D 3 8、特にヒト C D 3 8 が N A A D P を分解する能力を $5 \mu\text{M}$ 以下、具体的には 500 nM 以下、より具体的には 50 nM 以下の IC_{50} で阻害する、または C D 3 8、特にヒト C D 3 8 が N A A D P を合成する能力を $5 \mu\text{M}$ 以下、具体的には 500 nM 以下、より具体的には 50 nM 以下の EC_{50} で活性化する有機小分子を選択する段階も含み得る。

【 0 2 2 2 】

本発明の方法は、グルタミン酸 1 4 6、アスパラギン酸 1 5 5 およびグルタミン酸 2 2 6 を含むか、これよりなる群から選択される、配列番号 1 のヒト C D 3 8 の少なくとも 1 つ、具体的には少なくとも 2 つ、より具体的には 3 つのアミノ酸（1 つまたは複数）に特異的に結合する有機小分子を選択する段階も含み得る。

30

【 図面の簡単な説明 】

【 0 2 2 3 】

【 図 1 】ニューロンが成熟するにつれて自発的、選択的かつ進行性に変性する中脳培養物モデルでの N A D⁺ (1) および数種類の抗 C D 3 8 抗体 (H B 7 (2)、A T 1 (3)、クローン 9 0 (4)、A T 1 3 / 5 (5) または O K T - 1 0 (6)) の神経保護効果を示す棒グラフである。N A A D P 受容体活性化の阻害剤である N e d - 1 9 ($2 \mu\text{M}$) の存在下または不在下で N A D⁺ (3 mM) または数種類の抗 C D 3 8 抗体 (クローン 9 0、A T 1、A T 1 3 / 5、O K T - 1 0 または H B - 7 ; $1 \mu\text{g} / \text{mL}$) に慢性的に曝露した培養物の *i n v i t r o* 第 (D I V) 1 0 日の D A (T H⁺) ニューロンの数。結果は、D I V 1 0 の対照培養物の T H⁺ ニューロンに対する % で表されている。\$ 未処理培養物に対して $P < 0.05$ 。

40

【 図 2 】G D N F 断薬後にニューロンが変性する培養モデルでの N A D⁺ (1) および数種類の抗 C D 3 8 抗体 (H B 7 (2)、A T 1 (3)、クローン 9 0 (4)、A T 1 3 / 5 (5) または O K T - 1 0 (6)) の D A (T H⁺) ニューロンに対する神経保護効果を示す棒グラフである。最初に 1 0 D I V にわたって $20 \text{ ng} / \text{mL}$ の G D N F に曝露した後、1 1 ~ 1 5 D I V にこのペプチドを枯渇させ、N A A D P 受容体活性化の阻害剤である N e d - 1 9 ($2 \mu\text{M}$) の存在下または不在下で N A D⁺ (3 mM) または数種類の

50

抗CD38抗体（クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7； $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ）に曝露した、または暴露していない中脳培養物中でのDA細胞の生存率。陽性対照にはGDNFを $20\text{ng}/\text{mL}$ の濃度で用いた。結果は、未除去条件下のニューロンに対する%で表されている。 $\$$ 未処理培養物に対して $P < 0.05$ ； $\#$ GDNFで処理した培養物に対して $P < 0.05$ 。

【図3】 NAD^+ （1）および数種類の抗CD38抗体（HB7（2）、AT1（3）、クローン90（4）、AT13/5（5）またはOKT-10（6））のMPP⁺誘導性DA細胞死に対する神経保護効果を示す棒グラフである。5～7DIVにMPP⁺（ $3\mu\text{M}$ ）で処理し、NAADP受容体活性化の阻害剤であるNed-19（ $2\mu\text{M}$ ）の存在下または不在下で NAD^+ （ 3mM ）または数種類の抗CD38抗体（クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7； $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ）に曝露した、または曝露していない中脳培養物中でのDA（TH⁺）細胞の生存率。結果は、対応する対照培養物に対する%で表されている。 $\$$ 対照処理に対して $P < 0.05$ ； $\#$ MPP⁺処理に対して $P < 0.05$ 。

10

【図4】MPP⁺（ $3\mu\text{M}$ ）処理後の小膠細胞に対する NAD^+ （1）および数種類の抗CD38抗体（HB7（2）、AT1（3）、クローン90（4）、AT13/5（5）またはOKT-10（6））の効果を示す棒グラフである。5～7DIVにMPP⁺（ $3\mu\text{M}$ ）で処理し、NAADP受容体活性化の阻害剤であるNed-19（ $2\mu\text{M}$ ）の存在下または不在下で NAD^+ （ 3mM ）または数種類の抗CD38抗体（クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7； $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ）に曝露した、または曝露していない中脳培養物中の小膠細胞数。結果は、対応する対照培養物に対する%で表されている。 $\$$ 対照処理に対して $P < 0.05$ ； $\#$ MPP⁺処理に対して $P < 0.05$ 。

20

【図5】皮質培養物をグルタミン酸（ $75\mu\text{M}$ ）で長期間処理することにより誘発した興奮毒性に対する NAD^+ （1）および数種類の抗CD38抗体（HB7（2）、AT1（3）、クローン90（4）、AT13/5（5）またはOKT-10（6））の神経保護効果を示す棒グラフである。12～14DIVにグルタミン酸（ $75\mu\text{M}$ ）で処理し、NAADP受容体活性化の阻害剤であるNed-19（ $2\mu\text{M}$ ）の存在下または不在下で NAD^+ （ 3mM ）または数種類の抗CD38抗体（クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7； $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ）に曝露した皮質培養物中での神経細胞の生存率。結果は、対応する対照培養物に対する%で表されている。 $\$$ グルタミン酸処理に対して $P < 0.05$ ； $\#$ 対照処理に対して $P < 0.05$ 。

30

【図6】皮質培養物を H_2O_2 （ $75\mu\text{M}$ ）で処理することにより誘発した酸化ストレスに対する NAD^+ （1）および数種類の抗CD38抗体（HB7（2）、AT1（3）、クローン90（4）、AT13/5（5）またはOKT-10（6））の神経保護効果を示す棒グラフである。12～14DIVに H_2O_2 （ $75\mu\text{M}$ ）で処理し、NAADP受容体活性化の阻害剤であるNed-19（ $2\mu\text{M}$ ）の存在下または不在下で NAD^+ （ 3mM ）または数種類の抗CD38抗体（クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7； $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ）に曝露した皮質培養物中での神経細胞の生存率。結果は、対応する対照培養物に対する%で表されている。 $\$$ H_2O_2 処理に対して $P < 0.05$ ； $\#$ 対照処理に対して $P < 0.05$ 。

40

【図7】Ned-19（ $2\mu\text{M}$ ）の存在下または不在下でのHB7抗体の細胞質カルシウムレベルに対する効果を示す棒グラフである。NAADP受容体活性化の阻害剤であるNed-19（ $2\mu\text{M}$ ）の存在下または不在下でHB-7（ $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ）に曝露した、または曝露していない7～10DIVの皮質培養物中の細胞質カルシウムレベルの増大。結果は、対応する対照培養物に対する%で表されている。 $\$$ 対照処理に対して $P < 0.05$ 。

【図8】ara-2'-F- NAD^+ （ARA-F- NAD 、 $200\mu\text{M}$ ）のMPP⁺誘導性DA細胞死に対する神経保護効果を示す棒グラフである。5～7DIVにMPP⁺（ $3\mu\text{M}$ ）で処理し、NAADP受容体活性化の阻害剤であるNed-19（ $2\mu\text{M}$ ）の存在下または不在下でARA-F- NAD に曝露した、または曝露していない中脳培養物中

50

でのDA (TH⁺)細胞の生存率。結果は、対応する対照培養物に対する%で表されている。\$対照処理に対してP<0.05; #MPP⁺処理に対してP<0.05。

【図9】抗CD38クローンHB7抗体(1)、NAD⁺(2)およびcADPR(3)のMPP⁺誘導性DA細胞死に対する神経保護効果を示す棒グラフである。5~7DIVにMPP⁺(3μM)で処理し、NADP受容体活性化の阻害剤であるNed-19(2μM)、リソソーム成熟およびCa²⁺依存性リソソームエキソサイトーシスの阻害剤であるバキュオリン1(VAC、10μM)ならびにエンドシジン2(ENDO、40μM)、サーチイン1阻害剤のEx-527(EX527、100μM)またはリアノジン受容体アンタゴニストのダントロレン(DANT、30μM)の存在下または不在下で抗CD38クローンHB7抗体(1μg/mL)、NAD⁺(3mM)またはcADPR(200μM)に曝露した、または曝露していない中脳培養物中でのDA(TH⁺)細胞の生存率。結果は、対応する対照培養物に対する%で表されている。\$参照処理(HB7、NAD⁺またはcADPR)単独に対してP<0.05。

10

【図10】抗CD38クローンHB7抗体(1)、NAD⁺(2)およびcADPR(3)の神経保護作用機序を示す模式図である。ER:小胞体。RyR:リアノジン受容体。

【図11】エンドサイトーシス阻害剤ジャスプラキノリドまたはリソソーム酸性化阻害剤バフィロマイシンA1の存在下または不在下での抗CD38クローンHB7抗体(1)およびNAD⁺(2)の細胞質カルシウムレベルに対する効果を示す棒グラフである。エンドサイトーシスの阻害剤であるジャスプラキノリド(JAS、10μM)またはリソソーム酸性化の阻害剤であるバフィロマイシンA1(BAF、50nM)の存在下または不在下で抗CD38クローンHB7抗体(1μg/mL)またはNAD⁺(3mM)に曝露した、または曝露していない7~10DIVの皮質培養中の細胞質カルシウムレベルの増大。結果は、対応する対照培養物に対する%で表されている。\$参照処理(HB7またはNAD⁺)単独に対してP<0.05。

20

【図12】抗CD38クローンHB7抗体(1)およびNAD⁺(2)のMPP⁺誘導性DA細胞死に対する神経保護効果を示す棒グラフである。5~7DIVにMPP⁺(3μM)で処理し、エンドサイトーシスの阻害剤であるジャスプラキノリド(JAS、10μM)の存在下または不在下で抗CD38クローンHB7抗体(1μg/mL)またはNAD⁺(3mM)に曝露した、または曝露していない中脳培養物中でのDA(TH⁺)細胞の生存率。結果は、対応する対照培養物に対する%で表されている。\$参照処理(HB7またはNAD⁺)単独に対してP<0.05。

30

【図13】インスリン、抗CD38クローンHB7抗体およびNAD⁺による急性(30分)処理が皮質ニューロン内へのグルコース取込みに及ぼす効果を示す棒グラフである。インスリン(100nM)、抗CD38クローンHB7抗体(1μg/mL)またはNAD⁺(3mM)に曝露した、または曝露していない皮質培養物の7DIVのグルコース取込みの増大。結果は、対応する対照培養物に対する%で表されている。\$対照処理に対してP<0.05。

【図14】in vivo片側6-OHDAマウスモデルの脳内に注射した3種類の異なる濃度の抗CD38 HB7抗体(0.1mg/kg、0.4mg/kgおよび1mg/kg)が黒質緻密部(1)のDA(TH⁺)ニューロンの数、線条体ドーパミンレベル(2)、アポモルフィン誘発性反対側回転運動(3)および血漿中インターロイキン10(IL-10)レベル(4)に及ぼす効果を示す棒グラフである。結果は、非破壊側に対する%(1、2)、反対側回転の数(3)またはpg/mLで表した血漿中IL-10レベル(4)で表されている。対照群:n=3; 6-OHDA群:n=7; 6-OHDA+HB7 0.1mg/kg icv(脳室内注射)群:n=9; 6-OHDA+HB7 0.4mg/kg icv群:n=14; 6-OHDA+HB7 1mg/kg icv群:n=9。\$対照(非注射)群に対してP<0.05; #6-OHDA群に対してP<0.05。

40

【図15】in vivo片側6-OHDAマウスモデルの脳内(1mg/kg icv、6-OHDAと同時)または静脈内(4mg/kg iv、6-OHDAの定位固定注

50

射の1日前に注射)に注射した抗CD38 HB7抗体が黒質緻密部のDA (TH⁺) ニューロンの数に及ぼす神経保護効果を示す棒グラフである。結果は、非破壊側に対する%で表されている。PBS群: n = 9; 6-OHDA群: n = 10; 6-OHDA + HB7 1 mg / kg icv群: n = 7; 6-OHDA + HB7 4 mg / kg iv群: n = 9。\$ 対照 (PBS注射) 群に対して P < 0.05; # 6-OHDA群に対して P < 0.05。

【図16】in vivo片側6-OHDAマウスモデルに6-OHDAと同時に(D0)、6-OHDA破壊の1日後に(D1)、または6-OHDA破壊の2日後に脳内に注射した抗CD38 HB7抗体(1 mg / kg)が黒質緻密部のDA (TH⁺) ニューロンの数に及ぼす効果を示す棒グラフである。結果は、非破壊側に対する%で表されている。PBS群: n = 14; 6-OHDA群: n = 16; 6-OHDA D0 + HB7 1 mg / kg icv D0群: n = 18; 6-OHDA D0 + HB7 1 mg / kg icv D1群: n = 6; 6-OHDA D0 + HB7 1 mg / kg icv D2群: n = 18。\$ 対照 (PBS注射) 群に対して P < 0.05; # 6-OHDA群に対して P < 0.05。

【図17】in vivo片側6-OHDAマウスモデルの脳内に注射した(1 mg / kg icv、6-OHDAと同時)抗CD38 HB7抗体または抗CD38 OKT10抗体が黒質緻密部のDA (TH⁺) ニューロンの数に及ぼす効果を示す棒グラフである。結果は、非破壊側に対する%で表されている。PBS群: n = 9; 6-OHDA群: n = 10; 6-OHDA + HB7 1 mg / kg icv群: n = 10; 6-OHDA + OKT10 1 mg / kg群: n = 10。\$ 対照 (PBS注射) 群に対して P < 0.05。# 6-OHDA群に対して P < 0.05。

【図18】脳内(1 mg / kg icv、CBE処置開始の1日前に注射)または静脈内(4 mg / kg iv、CBE処置開始の1日前に注射)に注射した抗CD38 HB7抗体がin vivo CBEマウスモデルの線条体の小膠細胞が占める数(1、2)および面積(1、3)に及ぼす効果を示す写真(1)、棒グラフ(2)および点プロット(3)である。結果は、偽処置(生理食塩水注射)群に対する%で表されている。偽処置群: n = 8; CBE群: n = 9; CBE + HB7 1 mg / kg icv群: n = 8; CBE + HB7 4 mg / kg iv群: n = 7。\$ 偽処置(生理食塩水注射)群に対して P < 0.05; # CBE群に対して P < 0.05。

【図19】脳内(1 mg / kg icv、CBE処置開始の1日前に注射)または静脈内(4 mg / kg iv、CBE処置開始の1日前に注射)に注射した抗CD38 HB7抗体が、CBEマウスモデルの線条体の反応性星状膠細胞が占める面積に及ぼす効果を示す写真(1)および点プロット(2)である。結果は、偽処置(生理食塩水注射)群に対する%で表されている。偽処置群: n = 8; CBE群: n = 9; CBE + HB7 1 mg / kg icv群: n = 8; CBE + HB7 4 mg / kg iv群: n = 7。\$ 偽処置(生理食塩水注射)群に対して P < 0.05; # CBE群に対して P < 0.05。

【図20】in vivo MPTPマウスモデルに静脈内注射(15 mg / kg iv、MPTP注射の2日前)した抗CD38 HB7抗体が黒質緻密部のDA (TH⁺) ニューロンの数に及ぼす効果を示す棒グラフである。結果は、対照(PBS注射)マウスに対する%で表されている。PBS群: n = 5; MPTP群: n = 6; MPTP + HB7 15 mg / kg iv群: n = 8。\$ 対照 (PBS注射) 群に対して P < 0.05。# MPTP群に対して P < 0.05。

【0224】

(実施例)

以下の実施例で本発明についてさらに記載するが、本発明の技術範囲はこれらの実施例に限定されない。

【0225】

表1に、実施例で使用する抗体に関する情報、具体的には(配列番号1のアミノ酸配列の)CD38内のエピトープ結合配列をまとめる。

10

20

30

40

50

【 0 2 2 6 】

【 表 1 】

CD38抗体名	免疫原種	販売元参照番号	エピトープ配列結合(*)	参考文献	CD38 NADアーゼ(グリコヒドロラーゼ)活性に対する効果	CD38シクラーゼ活性に対する効果	参考文献
クローン90	マウス	BioLegend社 参照番号:102702	不明		細胞表面CD38に対する効果はみられない	阻害する	Hara-Yokoyama et al.(2008.Int Immunopharmacol. 8(1):59-70)
AT1	ヒト	Santa Cruz Biotechnology社 参照番号:sc-7325	システイン254および275とシステイン254および275を含む5番目のC末端ジスルフィドループ	Ferrero et al.(2004. BMC Immunol. 5:21)	不明	不明	
AT13/5	ヒト	Santa Cruz Biotechnology社 参照番号:sc-59028	273-300	Ellis et al.(1995.J Immunol. 155(2):925-37)	不明	無し	Ellis et al.(1995.J Immunol. 155(2):925-37); Deckert et al.(2014. Clin Cancer Res.20(17):4574-83)
HB7	ヒト	BioLegend社 参照番号:356602	220～285ならびにシステイン254および275とシステイン254および275を含む	Hoshino et al.(1997.J Immunol. 158(2):741-7); Zhao et al.(2011.J	無し	無し	Deckert et al.(2014. Clin Cancer Res.20(17):4574-83); Hoshino

10

20

30

40

			む5番目の C末端ジス ルフィド ループ	Biol Chem.286 (25):2217 0-7)			et al.(1997.J Immunol. 158(2):74 1-7)
OKT10	ヒト	Anticorps en ligne社 参 照 番 号 :ABIN2 704258	285～300 ならびに システイ ン287およ び296を含 む6番目の C末端ジス ルフィド ループ	Ferrero et al.(2004. BMC Immunol. 5:21)	不明	無し	Deckert(C linic Cancer Research, 2014,20(1 7):4574-8 3

10

(*) 前記「エピトープ配列結合」からなるヒトCD38のアミノ酸番号付けは、配列番号1で示され、NCBIアクセッション番号NP_001766により参照されるヒトCD38配列のアミノ酸番号付けに対応する。

【0227】

実施例1：抗CD38抗体による *in vitro* での中脳ドーパミン作動性ニューロンの神経保護

20

中脳培養物中での自発的で進行性のドーパミン作動性(DA)細胞死の予防

ここでは、中脳DA(TH⁺)ニューロンが成熟するにつれて自発的、選択的かつ進行的に死滅する培養条件下では、NAD⁺(3mM)および数種類の抗CD38抗体(クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7; 1μg/mL)が同ニューロンの数を増加させたことを報告する(図1)。注目すべき点は、NAADP受容体活性化の阻害剤であるNed-19(2μM)の存在下で、抗CD38抗体(クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7)の神経保護効果が拮抗され、NAD⁺の神経保護効果がわずかではあるが有意に拮抗されたことである。

【0228】

GDNF除去後に変性するDAニューロンの保護

30

さらに成熟したDAニューロンでもNAD⁺(3mM)および数種類の抗CD38抗体(クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7; 1μg/mL)の保護効果がみられるかどうかを明らかにするため(図2)、GDNF(20ng/mL)の慢性適用によって自発的死滅過程を10日間先延ばしにする中脳培養物を用いた。*in vitro*第11日(DIV)にこの培養物からGDNFを除去したところ、これまでのデータ(Guerreiro et al., 2008. Mol Pharmacol. 74(4):980-9)と同じように、翌日から5日間でTH⁺ニューロンが大量かつ選択的に死滅した。興味深い点は、NAD⁺(3mM)または抗CD38抗体(クローン90、AT1、AT13/5またはHB-7; 1μg/mL)によってこのニューロンが多数、死滅から免れたが、クローンOKT-10抗CD38抗体(1μg/mL)ではそのようなことはなかった。NAADP受容体活性化の阻害剤であるNed-19(2μM)の存在下では、抗CD38抗体のクローン90、AT1、AT13/5またはHB-7の神経保護効果が消失したが、NAD⁺の神経保護効果が消失することはなかった。

40

【0229】

ミトコンドリア神経毒MPP⁺からの保護

ミトコンドリアのMPP⁺中毒によってDA細胞死が引き起こされる状況下でもNAD⁺(3mM)および数種類の抗CD38抗体(クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7; 1μg/mL)が保護効果を示すかどうかを明らかにするため、DA神経毒MPTPの活性代謝物を試験した。この目的のため、脱分極濃度のK⁺(30mM)と、望ましくない興奮毒性傷害を防ぐのに使用されるグルタミン酸受容体アン

50

タゴニストMK801 (5 μ M) とを併用する処理によって、自発的に起こるDA細胞死を予防した。次いで、5～7DIVに培養物を3 μ MのMPP⁺に曝露して、DAニューロンの約50%を死滅させた。中毒期間に培養物をNAD⁺ (3 mM) または抗CD38抗体 (クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7; 1 μ g/mL) に曝露したところ、これらの化合物によってMPP⁺誘導性のDA細胞の死滅が部分的に、またはほぼ完全に予防された (図3)。NAADP受容体活性化の阻害剤であるNed-19 (2 μ M) の存在下では、抗CD38抗体のクローン90、AT1、AT13/5またはHB-7の神経保護効果が消失したが、NAD⁺ およびクローンOKT-10抗CD38抗体 (1 μ g/mL) の神経保護効果が消失することはなかった。

【0230】

この*in vitro*の細胞培養設定に抹消免疫細胞は存在しないことから、以上の効果は真の直接的な神経保護効果であって、(Hara-Yokoyama et al., 2008. *Int Immunopharmacol.* 8 (1): 59-70に示されているように) 免疫細胞上に局在するCD38に対して起こり得る干渉によるものではないことにも留意されたい。

【0231】

実施例2: *in vitro*での抗CD38抗体の抗炎症効果

小膠細胞数の抑制

神経炎症が神経変性に関与することがこれまでに何度も示されており、この過程には、脳に常在する自然免疫細胞である小膠細胞が重要な役割を果たすものと思われる。MPP⁺が小膠細胞数の増加を引き起こすことが*in vitro*で明らかにされている (Henze et al., 2005. *J Neurochem.* 95 (4): 1069-77)。本発明者らは、NAD⁺ (3 mM) および数種類の抗CD38抗体 (クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7; 1 μ g/mL) がMPP⁺適用後に観察される小膠細胞の数の増加を抑えることができるかどうかを*in vitro*で試験した。抗CD38抗体 (クローン90、AT1、AT13/5またはHB-7; 1 μ g/mL) が、NAD⁺ (3 mM) およびクローンOKT-10抗CD38抗体 (1 μ g/mL) とは異なり、7DIVの中脳培養物中の小膠細胞の数を抑え (図4)、培養物にNed-19 (2 μ M) を同時に添加すると、この効果が抑制されるのが観察された。

【0232】

実施例3: *in vitro*での抗CD38抗体による皮質ニューロンの神経保護

興奮毒性からの保護

グルタミン酸受容体の過活性化によって起こる興奮毒性が神経変性に重要な役割を果たすと考えられている (Lewerenz and Maher, *Front Neurosci*, 2015, 9: 469)。NAD⁺ (3 mM) および数種類の抗CD38抗体 (クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7; 1 μ g/mL) がニューロンを興奮毒性傷害から保護するかどうかを明らかにするため、グルタミン酸 (75 μ M) 曝露後に皮質培養物に神経変性が誘導されるモデルでこれらの化合物を試験した。NAD⁺ (3 mM) または抗CD38抗体 (クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7; 1 μ g/mL) に曝露した培養物が興奮毒性から保護されるのが観察された (図5)。NAADP受容体活性化の阻害剤であるNed-19 (2 μ M) の存在下では、抗CD38抗体クローン90、AT1およびHB7の神経保護効果が消失したが、NAD⁺ ならびに抗CD38抗体クローンAT13/5およびOKT-10 (1 μ g/mL) の効果が消失することはなかった。

【0233】

酸化ストレスからの保護

NAD⁺ (3 mM) および数種類の抗CD38抗体 (クローン90、AT1、AT13/5、OKT-10またはHB-7; 1 μ g/mL) がニューロンを酸化ストレス傷害から保護するかどうかを明らかにするため、H₂O₂ (75 μ M) 曝露後に皮質培養物に神経変性が誘導されるモデルでこれらの化合物を試験した。NAD⁺ (3 mM) または抗C

10

20

30

40

50

D38抗体(クローン90、AT1またはHB-7; 1 µg/mL)に曝露した培養物が、抗CD38抗体クローンAT13/5またはOKT-10(1 µg/mL)に曝露した培養物とは異なり、酸化ストレスから保護されるのが観察された(図6)。NADP受容体活性化の阻害剤であるNed-19(2 µM)の存在下では、抗CD38抗体クローン90、AT1およびHB7の神経保護効果が消失したが、NAD⁺の神経保護効果が消失することはなかった。

【0234】

神経保護は細胞内遊離カルシウムレベルの増大と相関する

NADP受容体TPC1およびTPC2は、リソソーム区画からカルシウムを放出して細胞質カルシウムを増大させることがわかっている(Pitt et al., 2016, J. Physiol. 594(15): 4171-9)。NADP受容体の動員により抗CD38クローンHB7抗体(1 µg/mL)処理後に細胞質カルシウムレベルが増大するかどうかを明らかにするため、HB7および/またはNADP受容体アンタゴニストNed-19(2 µM)の存在下または不在下で皮質ニューロンの細胞質カルシウムレベルを測定した(図7)。抗CD38クローンHB7抗体が細胞質カルシウムレベルを増大させ、NADP受容体アンタゴニストNed-19(2 µM)の存在下では、この効果が打ち消されるのが観察された。

10

【0235】

実施例4: in vitroでの有機小分子CD38阻害剤による中脳ドーパミン作動性ニューロンの神経保護

20

CD38酵素活性の有機小分子阻害剤が神経保護作用を示すかどうかを明らかにするため、結合速度が遅く選択的なCD38阻害剤であるara-2'-F-NAD⁺(ARA-F-NAD)(Muller-Steffner et al., 1992, J. Biol. Chem. 267(14): 9606-11; Bertheliet et al., 1998, Biochem. J. 330(Pt 3): 1383-90)の効果をMPP⁺ in vitroモデルで試験した。中毒期間に培養物をARA-F-NAD(200 µM)に曝露したところ、このCD38阻害剤によりMPP⁺誘発性のDA細胞の死滅がほぼ完全に予防された(図8)。TPC1および/またはTPC2活性化の阻害剤であるNed-19(2 µM)の存在下では、ARA-F-NADによる神経保護効果が消失した。この実験から、この有機小分子CD38阻害剤がNADP受容体TPC1および/またはTPC2の開口を活性化してニューロンの保護をもたらすことが可能であることがわかる。

30

【0236】

実施例5: 抗CD38クローンHB7、NAD⁺およびcADPRの神経保護効果の比較解析

CD38酵素活性は極めて複雑なものであり、NADP、NAD⁺および環状アデノシン二リン酸リボース(cADPR)の産生または分解を引き起こすことができる(Malavasiet al., 2008, Physiol. Rev. 88(3): 841-86)。本発明者らは既に、TPC1および/またはTPC2活性化の阻害剤であるNed-19(2 µM)の存在下では、抗CD38クローンHB7の効果は拮抗されるが、NAD⁺の効果は拮抗されないことを観察しており、このことから、抗CD38クローンHB7の神経保護効果はNAD⁺レベルの増大を伴わないことが示唆された。抗CD38クローンHB7の神経保護効果が実際にNAD⁺またはcADPRのレベルを伴うかどうかをさらに深く検討するため、これらの化合物それぞれの神経保護の作用機序を検討した。

40

【0237】

抗CD38クローンHB7による神経保護にはNAD⁺もcADPRも関与しない

最初に、MPP⁺ in vitroモデルを用いて、TPC1および/またはTPC2活性化の阻害剤であるNed-19、リソソーム成熟およびCa²⁺依存性リソソームエキソサイトーシスの阻害剤であるバキュオリン1およびエンドシジン2、サーチイン1

50

阻害剤の Ex - 527 またはリアノジン受容体アンタゴニストのダントロレンの存在下または不在下で、抗 CD38 クローン HB7 (1 μ g/mL)、NAD⁺ (3 mM) または cADPR (200 μ M) の神経保護の細胞内作用機序を検討した (図9)。抗 CD38 クローン HB7 抗体 (1 μ g/mL) の神経保護効果は Ned - 19 (2 μ M)、バキューオリン1 (10 μ M) またはエンドシジン2 (40 μ M) の存在下で完全に拮抗され、NAD⁺ (3 mM) の神経保護効果は Ex - 527 (100 μ M) またはダントロレンの存在下でのみ拮抗されるのが観察された。cADPR (200 μ M) の神経保護効果はダントロレンの存在下でのみ拮抗された。以上の結果から、cADPR の神経保護効果は、既に記載されているようにリアノジン受容体の開口に依存し (Ogunbayo et al., 2011, J Biol Chem, 286 (11): 9136 - 40)、NAD の神経保護効果には、既に記載されているようにサーチニン1およびリアノジン受容体の動員を伴う (Ng et al., 2015, Front Neurosci, 9: 64) ことが示唆される。これとは逆に、抗 CD38 クローン HB7 抗体の神経保護効果は、リソソームエキソサイトーシスを生じさせる TPC 開口およびそれに続くリソソームから細胞質ゾルへのカルシウム流出を伴う事象の複雑なカスケードを引き起こすことがわかった (図10)。以上の結果を合わせると、抗 CD38 クローン HB7 抗体による神経保護は、Ex - 527 の存在下でもダントロレンの存在下でも拮抗されないことから、NAD⁺ も cADPR も伴わないことが示された。

【0238】

抗 CD38 クローン HB7 後の神経保護および細胞質 Ca²⁺ の増大には CD38 の内部移行およびリソソームの酸性環境が必要である

いくつかの論文では、CD38 と特定の抗体との結合が CD38 の内部移行およびリソソームへの再局在化を引き起こすことが明らかにされている (Funaro et al., 1998, J Immunol, 160 (5): 2238 - 47)。さらに、CD38 による NAADP 合成は酸性 pH でのみ起こる (Aarhus et al., 1995, J Biol Chem, 270 (51): 30327 - 33)。このような pH 条件がみられるのは、細胞内ではリソソーム区画に限られる。抗 CD38 クローン HB7 または NAD⁺ の後に観察される細胞質 Ca²⁺ レベルの増大に CD38 の内部移行および/またはリソソームの酸性環境が必要であるかどうかを明らかにするため、エンドサイトーシス阻害剤ジャスプラキノリド (10 μ M) またはリソソーム酸性化阻害剤バフィロマイシン A1 (50 nM) の存在下で細胞質 Ca²⁺ レベルをモニターした (図11)。ジャスプラキノリドまたはバフィロマイシン A1 の存在下では、抗 CD38 クローン HB7 処理 (1 μ g/mL) 後に得られる細胞質 Ca²⁺ レベルの増大が完全に拮抗され、NAD⁺ (3 mM) の効果が拮抗されることはないことが観察された。さらに、ジャスプラキノリドの存在下では、MPP⁺ モデルでの抗 CD38 クローン HB7 の神経保護効果も拮抗され、NAD⁺ の神経保護効果は拮抗されることはなかった (図12)。以上の結果は、抗 CD38 クローン HB7 の神経保護および細胞質 Ca²⁺ レベルの増大が、

(i) NAD⁺ のものとは異なり、

(ii) CD38 の内部移行、リソソームへの向け直しおよび酸性 pH 条件下での NAADP の合成によって媒介されることを示唆するものである。

【0239】

この作用機序については最近、ほかの文献に記載されている (Fang et al., 2018, J Biol Chem, 293 (21): 8151 - 8160) が、神経保護に関連するものではない。

【0240】

抗 CD38 クローン HB7 抗体による急性処理により皮質培養物のグルコース取込みが大幅に増大した

NAADP - CD38 系が脂肪細胞のグルコース取込みを制御することが既に明らかにされている (Song et al., 2012, Cell Rep, 2 (6): 160

7 - 19)。この効果をニューロンでも観察することができるかどうかを明らかにするため、皮質ニューロン培養物に蛍光グルコース類似体 2 - NBDG を用いて、インスリン、抗 CD38 クローン HB7 抗体または NAD^+ による急性処理 (30 分) 後に誘導されるグルコース取込みの増大を評価した。抗 CD38 クローン HB7 抗体 ($1 \mu\text{g}/\text{mL}$) による急性処理ではインスリン (100 nM) と同程度にグルコース取込みが増大するのが観察された (図 13)。 NAD^+ (3 mM) 処理では皮質培養物のグルコース取込みがわずかに増大するにとどまった。

【0241】

注目すべき点は、これまでに、グルコース代謝低下が神経変性疾患の罹患者の脳にみられる顕著な特徴であることが明らかにされている (Li et al., 2012. *Biochem Biophys Res Commun.* 421 (4): 727 - 30; Hassan et al., 2014. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 13 (7): 1232 - 45; Niccoli et al., 2016. *Curr Biol.* 26 (17): 2291 - 300) ことである。

【0242】

したがって、ここに記載される結果は、神経変性疾患の治療における抗 CD38 抗体のグルコース代謝の調節による効果を強く裏付けるものである。

【0243】

実施例 6: 片側 6 - OHDA マウスモデルにおける *in vivo* での中脳ドーパミン作動性ニューロンの神経保護

片側 6 - OHDA マウスモデルを用いた抗 CD38 クローン HB7 処置に関する用量反応試験

抗 CD38 クローン HB7 抗体が *in vivo* で酸化ストレスによって誘発される神経変性からの神経保護作用を示すかどうかを明らかにするため、右側線条体に 6 - ヒドロキシドーパミン (6 - OHDA) を投与した後に右側黒質緻密部のドーパミン作動性ニューロンが変性するマウスモデルに異なる濃度のこの抗体 ($0.1 \text{ mg}/\text{kg}$ 、 $0.4 \text{ mg}/\text{kg}$ または $1 \text{ mg}/\text{kg}$) を脳内投与した。6 - OHDA は、ドーパミンの類似体であるため、ドーパミン輸送体によってドーパミン作動性ニューロン内に輸送され、それによりドーパミン作動性集団に特有の細胞死が起こる。6 - OHDA は、新規な対症剤ならびに神経保護および神経修復方法の評価のための試験システムとして広く用いられてきた (Galindo et al., 2014. In Kostrowa (Ed.), *Handbook of neurotoxicity* (1st Ed., pp. 639 - 651). New York: Springer - Verlag)。6 - OHDA を右側線条体に片側注射するため、各マウスは左側黒質のドーパミン作動性ニューロンが毒素による影響を受けることはなく、自身のコントロール下にある。

【0244】

抗 CD38 クローン HB7 抗体が用量依存性に黒質緻密部のドーパミン作動性ニューロンを保護するのが観察された (図 14)。さらに、この神経保護効果には線条体のドーパミンレベルのレスキューが伴い、このことは、抗 CD38 クローン HB7 抗体がドーパミン作動性ニューロンを保護するばかりでなく、その機能性も維持することを意味するものであった。アポモルフィン誘発性反対側回転に関する試験では、同じ用量依存性の効果が行動レベルで観察された。最後に、抗 CD38 クローン HB7 抗体による処置が、主要な抗炎症性サイトカインであるインターロイキン 10 (IL - 10) の血漿中レベルを用量依存性に増大させることも明らかになり、この抗体が、*in vivo* の強力な神経保護作用ばかりでなく、強力な抗炎症特性も有することが示唆された。

【0245】

抗 CD38 クローン HB7 の脳内注射または静脈内注射が片側 6 - OHDA マウスモデルに及ぼす効果の差

抗 CD38 クローン HB7 抗体が静脈内投与後に *in vivo* で神経保護作用を示すかどうかを明らかにするため、片側 6 - OHDA マウスモデルの脳内 ($1 \text{ mg}/\text{kg}$) ま

10

20

30

40

50

たは静脈内 (4 m g / k g) に注射した抗 C D 3 8 クローン H B 7 抗体の神経保護効果を比較した。抗 C D 3 8 クローン H B 7 抗体は、静脈内投与経路を用いて注射しても、脳内投与経路を用いて注射しても、同じレベルまで黒質緻密部のドーパミン作動性ニューロンを保護することがわかった (図 1 5) 。

【 0 2 4 6 】

抗 C D 3 8 クローン H B 7 による処置の遅延が片側 6 - O H D A マウスモデルに及ぼす効果

抗 C D 3 8 クローン H B 7 抗体を神経変性過程の進行中に投与しても *i n v i v o* の神経保護作用を示すかどうかを明らかにするため、片側 6 - O H D A マウスモデルに 6 - O H D A と同時に、または 6 - O H D A を投与してから 1 日後もしくは 2 日後に脳内に注射した (1 m g / k g) 抗 C D 3 8 クローン H B 7 抗体の神経保護効果を比較した。抗 C D 3 8 クローン H B 7 抗体は、6 - O H D A と同時に、または 6 - O H D A 投与の 1 日後に注射した場合、黒質緻密部のドーパミン作動性ニューロンを有意に保護することがわかり、抗 C D 3 8 抗体が、神経変性機序が既に進行中でも依然としてニューロンの保護に効果的であることが示唆された (図 1 6) 。

【 0 2 4 7 】

注目すべき点は、6 - O H D A 注射の 2 日後に抗 C D 3 8 クローン H B 7 抗体を注射した場合、その効果には 6 - O H D A 処置マウスと統計学的差がみられなかったが、一定の強い傾向が観察されたことである。

【 0 2 4 8 】

片側 6 - O H D A マウスモデルを用いた抗 C D 3 8 クローン H B 7 またはクローン O K T 1 0 抗体の脳内注射の効果の比較

抗 C D 3 8 クローン O K T 1 0 抗体が片側 6 - O H D A マウスモデルにおいて *i n v i v o* で神経保護作用を示すかどうかを明らかにするため、抗 C D 3 8 クローン H B 7 抗体の脳内注射 (1 m g / k g) の神経保護効果を抗 C D 3 8 クローン O K T 1 0 抗体のものと比較した。抗 C D 3 8 クローン O K T 1 0 抗体は片側 6 - O H D A マウスモデルの黒質緻密部のドーパミン作動性ニューロンを保護することができないことが観察され、特異的エピトープと結合する抗 C D 3 8 抗体のみが *i n v i v o* で神経保護作用を示すことが示唆された (図 1 7) 。

【 0 2 4 9 】

抗 C D 3 8 クローン H B 7 抗体で処置したとき、その神経保護効果以外にも、主要な抗炎症性サイトカインである I L - 1 0 の血漿中レベルの用量依存性の増大が観察されたことは、同抗体の強力な *i n v i v o* の抗炎症特性を示している。この観察結果は、炎症性疾患の治療における抗 C D 3 8 クローン H B 7 抗体の治療上の利益を示唆している。

【 0 2 5 0 】

実施例 7 : C B E マウスモデルでの *i n v i v o* の抗炎症効果

ゴーシェ病 (G D) は、酵素グルコセレブロシダーゼ (G C a s e) をコードする G B A 遺伝子の変異を原因とする常染色体劣性先天代謝異常である。G C a s e 機能の異常によってリソソームにグルコシルセラミドが蓄積し、臓器肥大、貧血、血小板減少症および骨疾患を含めた様々な全身症状を引き起こす。さらに、様々な一連の証拠から、G B A 変異とパーキンソン病およびその他のレビー小体障害の発症との間に予想外の相関があることがわかった。実際、G B A 遺伝子の変異が、数値的にパーキンソン病発症の最も重要な素因となる危険因子を構成している。G B A 変異体の保有者ではホモ接合型、ヘテロ接合型ともに、パーキンソン病の発症リスクが 2 0 ~ 3 0 倍になり、パーキンソン病患者の約 5 ~ 1 0 % に G B A 変異があると推定されている (S i d r a n s k y e t a l . , 2 0 0 9 . N E n g l J M e d . 3 6 1 (1 7) : 1 6 5 1 - 6 1 ; B u l t r o n e t a l . , 2 0 1 0 . J I n h e r i t M e t a b D i s . 3 3 (2) : 1 6 7 - 7 3) 。

【 0 2 5 1 】

これまでに、G C アーゼの触媒部位に結合する G C アーゼの不可逆的阻害剤であるコン

ズリトール エポキシド (CBE) の使用に基づき、GD 患者に観察される変異体 GC アーゼ酵素活性の喪失 (Lu et al., 2010. Proc Natl Acad Sci USA. 107 (50): 21665 - 70) を模倣する、化学的に誘発した GD の *in vivo* マウスモデルが開発されている (Grabowski et al., 1986. J Biol Chem. 261 (18): 8263 - 9)。きわめて興味深いのは、CBE を注射したマウスには、CG アーゼ阻害によって誘発したリソソーム機能不全による小膠細胞および星状膠細胞の強い活性化がみられた (Manning et al., 2009. Neurotoxicology. 30 (6): 1127 - 32; Rocha et al., 2015. Antioxid Redox Signal. 23 (6): 550 - 642015) ことである。

10

【0252】

抗 CD38 クローン HB7 の脳内注射または静脈内注射が CBE マウスモデルの線条体小膠細胞に及ぼす効果。

抗 CD38 クローン HB7 抗体が CBE (100 mg / kg) を 9 日間連続で注射した後に誘発される線条体小膠細胞の活性化を抑えるのに *in vivo* で効果的であるかどうかを明らかにするため、最初の CBE 注射の 1 日前、マウスの脳内 (1 mg / kg) または静脈内 (4 mg / kg) に抗 CD38 クローン HB7 抗体を注射した。脳内に注射した (1 mg / kg) 抗 CD38 クローン HB7 抗体では、CBE 注射単独の後に観察される、小膠細胞が占める数および面積の増大を完全が予防され、静脈内投与 (4 mg / kg) では、これらの効果がわずかではあるが統計学的に有意に予防されるのが観察された (図 18)。

20

【0253】

抗 CD38 クローン HB7 の脳内注射または静脈内注射が CBE マウスモデル線条体の反応性星状膠細胞に及ぼす効果。

抗 CD38 クローン HB7 抗体が CBE (100 mg / kg) を 9 日間連続して注射した後に誘発される線条体の反応性星状膠細胞の活性化を抑えるのに *in vivo* で効果的であるかどうかを明らかにするため、最初の CBE 注射の 1 日前、マウスの脳内 (1 mg / kg) または静脈内 (4 mg / kg) に抗 CD38 クローン HB7 抗体を注射した。脳内 (1 mg / kg) または静脈内に注射した抗 CD38 クローン HB7 抗体により、CBE 注射単独の後に観察される、反応性星状膠細胞が占める面積の増大が完全に予防されるのが観察された (図 19)。

30

【0254】

実施例 8：急性 MPTP マウスモデルにおける *in vivo* での中脳ドーパミン作動性ニューロンの神経保護

抗 CD38 クローン HB7 抗体がミトコンドリア阻害によって誘発される神経変性に対して *in vivo* で神経保護作用を示すかどうかを明らかにするため、MPTP を腹腔内に反復注射した後に黒質緻密部のドーパミン作動性ニューロンが変性するマウスモデルに用量 15 mg / kg のこの抗体を静脈内注射した。MPTP は血液脳関門を通過することが可能であり、星状膠細胞によって MPP⁺ に転換される。ミトコンドリア複合体 I の阻害剤である MPP⁺ は、ドーパミン輸送体によってドーパミン作動性ニューロン内に優先的に輸送され、それによりドーパミン作動性集団に特有の細胞死が起こる。MPTP は、神経保護および神経修復方法の評価のための試験システムとして広く用いられてきた (Dauer & Przedborski, 2003. ニューロン. 39 (6): 889 - 909)。

40

【0255】

用量 15 mg / kg の抗 CD38 クローン HB7 抗体を静脈内注射することにより、黒質緻密部のドーパミン作動性ニューロンが MPTP 誘発性神経変性から強力に保護されるのが観察された (図 20)。

【0256】

材料および方法

50

in vitro 実験

中脳細胞培養物

実験動物の管理と使用に関する指針 (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) (National Research Council, 1996)、欧州指針 (European Directive) 86/609 および地方の動物実験委員会 (Institutional Animal Care and Use Committee) に従って動物を取り扱った。妊娠齢 15.5 の Wistar ラット胚 (Janvier Breeding Center、ル・ジュネスト＝サン＝ティスル、フランス) の腹側中脳から培養物を調製した。記載されている通りに (Michel et al., 1997, J Neurochem. 69 (4): 1499 - 507)、中脳組織片の機械的粉碎によって得た分離細胞懸濁液を、pH 8.3 のホウ酸緩衝液で希釈した 1 mg/mL ポリエチレンイミンで予めコートした組織培養支持体上に $1.2 \sim 1.5 \times 10^5$ 細胞/cm² の密度で播いた。次いで、培養物の最初の成熟に有利になるようウシ胎児血清の濃度を 2.5 % にした最初の 3 DIV を除いて、5 mM グルコース、5 % ウマ血清および 0.5 % ウシ胎児血清を添加した N5 培地で培養物を維持した (Guerreiro et al., 2008, Mol Pharmacol. 74 (4): 980 - 9)。培地の 70 % を交換することにより、培養物に毎日栄養を補給した。日常的な方法で、Nunc 24 ウェル培養プレート (ThermoFischer Scientific 社、ロチェスター、ニューヨーク州) 上に中脳培養物を確立した。この培養物には、もっぱらドーパミン作動性を示したチロシンヒドロキシラーゼ (TH) + ニューロンが含まれていることに留意されたい (Traver et al., 2006, Mol Pharmacol. 70 (1): 30 - 40)。TH + ニューロンは、この培養物中に存在する総神経細胞数の約 1 ~ 2 % を占めていた。記載されている通りに (Toulorge et al., 2011, Faseb J. 25 (8): 2563 - 73)、TH に対して免疫陽性の細胞をカウントすることにより、DA ニューロンの生存率の評価を実施した。

10

20

30

40

50

【0257】

中脳ドーパミン作動性ニューロン細胞死のモデル化に用いた培養系

自発的ドーパミン作動性 (DA) 細胞死モデル

DA 細胞の死滅が自発的なものであるモデル系を用いた。播種後の DA ニューロン死滅は進行性であり、10 DIV 後に約 65 ~ 70 % に達するものであった (Guerreiro et al., 2008, Mol Pharmacol. 74 (4): 980 - 9)。

【0258】

GDNF 断薬モデル

さらに成熟した DA ニューロン集団に対する本発明者らの化合物の効果を評価するため、以前のモデル系の 1 つのバリエーションも用いた。さらに詳細に述べれば、健常 DA ニューロンの成熟に有利になるよう GDNF (20 ng/mL) で慢性処理することにより、10 DIV まで自発的 DA 細胞死が起こらないようにした。次いで、次の 5 日間にわたって、GDNF を完全に断薬することにより DA 細胞死を引き起こした。

【0259】

MPP⁺ 中毒モデル

既に記載されているように (Doughou et al., 2001, J Neurochem. 78 (1): 163 - 74)、望ましくない興奮毒性傷害を予防するグルタミン酸受容体アンタゴニスト MK801 (5 μ M) の存在下、脱分極濃度の K⁺ (30 mM) に長期間曝露することによって自発的死の過程を防いだ培養物に MPP⁺ による処理を実施した。5 ~ 7 DIV に、MPP⁺ および神経保護作用を示す可能性のある分子による処理を実施した。MPP⁺ が小膠細胞の増殖を誘導することがわかっている (Henze et al., 2005, J Neurochem. 95 (4): 1069 - 77) ため、この同じモデルで小膠細胞数を評価した。

【0260】

皮質細胞培養物

実験動物の管理と使用に関する指針 (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) (National Research Council, 1996)、欧州指針 (European Directive) 86/609 および地方の動物実験委員会 (Institutional Animal Care and Use Committee) のガイドラインに従って動物を取り扱った。妊娠齢 15.5 の Wistar ラット胚 (Janvier Breeding Center、ル・ジュネスト＝サン＝ティスル、フランス) の皮質から培養物を調製した。中脳培養物に関して既に記載したプロトコルに従い、皮質組織片の機械的粉碎によって得た分離細胞懸濁液を、pH 8.3 のホウ酸緩衝液で希釈した 1 mg/mL ポリエチレンイミンで予めコートした組織培養支持体上に播いた。次いで、培養物の最初の成熟に有利になるようウシ胎児血清の濃度を 2.5% にした最初の 3 DIV を除いて、5 mM グルコース、5% ウマ血清および 0.5% ウシ胎児血清を添加した N5 培地で培養物を維持した (Guerreiro et al., 2008, Mol Pharmacol, 74 (4): 980-9)。培地の 70% を交換することにより、培養物に毎日栄養を補給した。日常的な方法で、Nunc 24 ウェル培養プレート (ThermoFischer Scientific 社、ロチェスター、ニューヨーク州) 上に皮質培養物を確立した。

10

【0261】

皮質ニューロン細胞死のモデル化に用いた培養系

興奮毒性モデル

12 ~ 14 DIV に、神経保護作用を示す可能性のある治療剤の存在下または不在下で、グルタミン酸 (75 μ M) を皮質培養物に添加した。次いで、培養物をホルムアルデヒドで固定し、抗 MAP-2 抗体を用いて免疫染色した。ImageJ を用いて、MAP-2⁺ ニューロンが占める面積を評価した。

20

【0262】

酸化ストレスモデル

12 ~ 14 DIV に、神経保護作用を示す可能性のある分子の存在下または不在下で、H₂O₂ (75 μ M) を皮質培養物に添加した。次いで、培養物をホルムアルデヒドで固定し、抗 MAP-2 抗体を用いて免疫染色した。ImageJ を用いて、MAP-2⁺ ニューロンが占める面積を評価した。

30

【0263】

ニューロン生存率および小膠細胞数の定量化

ダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) に溶かした 4% ホルムアルデヒドを用いて培養物を 12 分間固定し、次いで PBS で 2 回洗浄した後、以下に挙げる抗体とのインキュベーション段階を 4 で 24 時間実施した。1/5000 希釈モノクローナル抗 TH 抗体 (ImmunoStar 社、ハドソン、ウィスコンシン州) または 1/1000 希釈ポリクローナル抗 TH 抗体 (US Biologicals 社、セーレム、マサチューセッツ州) を用いて DA ニューロンの生存率を評価した。1/250 に希釈したモノクローナル抗 MAP2 抗体 (クローン AP20、Sigma-Aldrich 社) を用いて皮質ニューロンの生存率を評価した。マウス抗 Iba1 抗体 (1/50; クローン MRC OX-42; Pharmingen、BD Biosciences 社、ル・ボン＝ド＝クレ、フランス) を用いて小膠細胞の特徴を明らかにした。抗体は、PBS のみで希釈したマウス抗 Iba1 を除きいずれも、0.2% Triton X-100 を含有する PBS で希釈した。抗マウス IgG 抗体の Alexa Fluor-488 コンジュゲートまたは抗ウサギ抗体 (1:500) の Alexa Fluor-555 コンジュゲートを用いて一次抗体の検出を実施した。

40

【0264】

細胞質 Ca²⁺ レベルの測定

50

Cal - 520 (AAT Bioquest 社) を用いて個々の皮質ニューロンの細胞質遊離カルシウムレベルを測定した。簡潔に述べれば、7 ~ 8 日間増殖させた培養物を 10 μ M の Cal - 520 と 37 °C で 30 分間インキュベートし、無血清グルコース添加 N5 培地で 2 回洗浄して過剰な指示薬を除去し、次いで、被験化合物の存在下で 30 分間回復させた後、評価した。C - Imaging Systems 社製の Simple - PCI ソフトウェアと、Hamamatsu 社 (ブリッジウォーター、ニュージャージー州) 製の ORCA - ER デジタルカメラを備えた Nikon 社 (東京、日本) 製 TE - 300 倒立顕微鏡とを用いて、蛍光シグナル (励起 480 nm ; 発光 510 nm) を定量化した。様々な実験条件下で各細胞体表面の平均ピクセル強度を求めた。生データからバックグラウンド蛍光を減じ、その結果を対照条件下での 1 細胞当たりの平均蛍光強度に対する割合として表した。各試験条件下で最低 180 個の細胞を解析した。

10

【0265】

グルコース取込みの測定

蛍光グルコース類似体 2 - NBDG (Abcam 社) を用いて個々の皮質ニューロンのグルコース取込みを測定した。簡潔に述べれば、7 日間増殖させた培養物を無グルコース N5 培地中、被験化合物の存在下で 2 - NBDG (300 μ M) と 37 °C で 30 分間インキュベートし、2 回洗浄して過剰な指示薬を除去し、次いで 30 分間回復させた後、評価した。Arrayscan (ThermoFisher Scientific 社) を用いて蛍光シグナル (励起 465 nm ; 発光 540 nm) を取得し、ImageJ を用いて定量化した。様々な実験条件下で各細胞体表面の平均ピクセル強度を求めた。生データからバックグラウンド蛍光を減じ、その結果を対照条件下での 1 細胞当たりの平均蛍光強度に対する割合として表した。各試験条件下で 100 個の細胞を解析した。

20

【0266】

統計解析

スチューデント t 検定を用いて 2 群間の単純比較を実施した。一元配置分散分析、可能であれば、次いでダネット検定により、単一の参照群に対する多重比較を実施した。全対比較が必要な場合には、スチューデント - ニューマン - クールズ検定を用いた。少なくとも 3 つの独立した実験から S . E . M . 値を求めた。

【0267】

in vivo 実験

30

動物

実験動物の管理と使用に関する指針 (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) (National Research Council, 1996)、欧州指針 (European Directive) 86 / 609 および地方の動物実験委員会 (Institutional Animal Care and Use Committee) のガイドラインに従って動物を取り扱った。いずれの試験にも、8 ~ 10 週齢の雄 C57Bl / 6 マウス (Janvier 社、フランス) を用いた。マウスは午前 8 時に点灯する 12 : 12 時間の明 / 暗周期下で維持した。室温を 20 °C に維持し、標準飼料および水道水を自由摂取させた。

40

【0268】

実験計画

3 種類の in vivo マウスモデル、すなわち、6 - OHDA マウスモデル、CBE マウスモデルおよび MPTP マウスモデルを用いた。6 - OHDA マウスモデルでは、中毒プロトコルを右側線条体への 6 - OHDA の片側定位固定線条体内注射に基づくものとした。外科的定位固定処置の前日に治療剤の静脈内注射を実施した。外科的定位固定処置の 8 日後にマウスを屠殺した。

【0269】

CBE マウスモデルでは、マウスに 9 日間連日で CBE (100 mg / kg、Toronto Chemical 社、カナダ) の i . p . 注射を実施した。最初の CBE 注射の前に脳内注射または静脈内注射を実施した。最後の CBE 注射の 1 日後にマウスを屠殺し

50

た。

【0270】

MPTPマウスモデルでは、MPTP (20 mg / kg) を4回注射した。MPTP注射の2日前に抗CD38クローンHB7抗体の静脈内注射を実施した。MPTP注射の7日後にマウスを屠殺した。

【0271】

外科的固定処置

片側6-OHDAマウスモデルおよびCBEマウスモデルのHB7抗体の脳内注射では、抱水クロラル (400 mg / kg、i.p.) を用いてマウスに麻酔をかけ、マウスに適合させた定位フレーム内に置いた。Hamiltonシリンジを用いて以下の座標、すなわち、AP: +0.85 cm、ML: ±2 cm、DV: -3.4 cm (Franklin and Paxinos, 1997の図譜に対応する) で注射を実施した。被験治療剤の存在下または不在下でPBSで希釈した6-OHDA 5 µgを含む、または含まない総体積2.5 µLを注射した。注射後、針を10分間留置した後、引き抜いた。

10

【0272】

アポモルフィン誘発性反対側回転運動

6-OHDAの片側線条体注射により黒質のドーパミン作動性ニューロンの同側破壊が起こる。損傷の程度は行動試験、すなわち、アポモルフィン誘発性回転運動試験により推定することができる。アポモルフィンは、ドーパミン作動性受容体D1およびD2のアゴニストであり、重度の破壊を受けたマウスに常同性の反対側回転活動を引き起こす。破壊が重大なものであるほど、回転運動の数は重大なものになる。

20

【0273】

マウスに1 mg / kgのアポモルフィンをi.p.注射し、透明なPlexiglas管に入れた。回転運動をカメラで30分間記録し、カウントした。この試験を6-OHDA注射の8日後、マウスを安楽死させる直前に実施した。

【0274】

組織標本

マウスを頸椎脱臼により屠殺し、断頭して、脳および血液試料を採取した。氷冷プラスチック皿の上で右側と左側の線条体を切り分け、重量を測定し、200 µlの0.2 N過塩素酸中に移した。脳の残りの部分をパラホルムアルデヒド溶液 (4%) で1日間固定した後、スクロース (30%) に2日間浸漬し、次いで、のちの解析に-80 で凍結させた。

30

【0275】

線条体ドーパミンレベルの定量化

過塩素酸 (0.2 N) に浸漬した脳組織片を10秒間超音波処理し、得られたホモジネートを4 で20分間、13,000 gで遠心分離した。上清を0.2 µmの膜でろ過し、ろ液をのちの解析まで-80 で保管した。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) に注入する前に、試料100 µLをリン酸緩衝液 (2 M、pH 7.5) 10 µLおよびアスコルビン酸 (0.3 mg / mL) 5 µLと混合した。電気化学検出の電位を+0.65 Vに設定し、カラム温度を19 に維持した。移動相 (15.9%メタノールと、1.25 mMオクタン-1スルホン酸ナトリウム塩と、0.7 M KH₂PO₄、1 mM EDTA、31 mMトリエチルアミンを含有するpH 3の76%の緩衝液とを含有する緩衝水溶液) を逆相C18カラム (250 × 4.6 mm、結合シリカ、Sunfire、Waters社、ギウヤンクール、フランス) に送った。

40

【0276】

IL-10 ELISAアッセイ

収集チューブ (Microvette (登録商標) 500 EDTA-K3、SARSTEDT社) に収集した血液試料を3000回転/分で15分間遠心分離した。上清 (血漿) を採取し、チューブ内に移し、のちの解析に-80 で凍結させた。ELISA IL-10キット (BioLegend社) を製造業者が指定した使用上の指示通りに用い

50

て、血漿試料中のIL-10レベルをアッセイした。

【0277】

脳スライス、免疫蛍光およびニューロン計数

-30の凍結ミクロトームを用いて各脳をスライスした。各スライスの厚さを20μmとした。線条体(Allen Mouse Brainによるスライス21~スライス30から50スライス)および黒質(Allen Mouse Brainによるスライス51~63から80スライス)周辺でスライスを実施した。

【0278】

次いで、スライスをPBSですすぎ、ドーパミン作動性ニューロン(Abcam社)を染色する抗チロシンヒドロキシラーゼ、小膠細胞を染色する抗Iba-1(Abcam社)または反応性星状膠細胞を染色する抗GFAP(Abcam社)と4で2日間、攪拌しながらインキュベートした。スライスを、細胞核を染色するDAPI(Sigma Aldrich社)の存在下で対応する二次抗体と室温で2時間インキュベートし、ゼラチンコートスライド上にマウントした。

【0279】

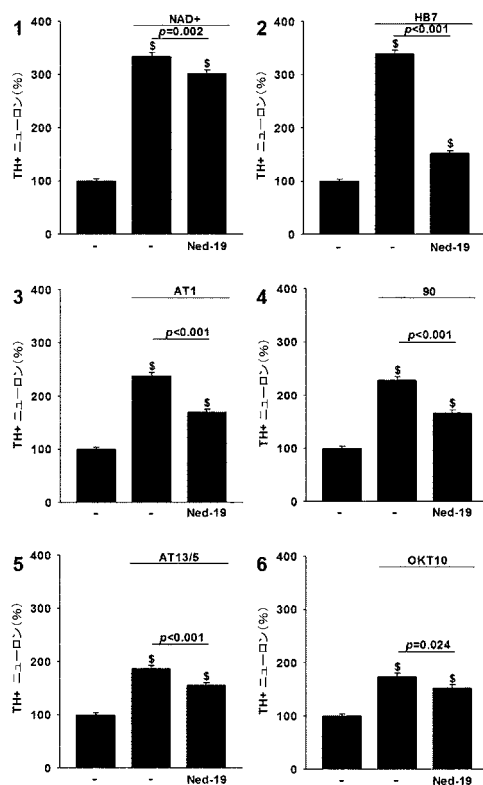
Hamamatsu社製ORCE-ERカメラを備えたNikon社製TE2000Uまたはaxiocam 503 monoカメラを備えたZeiss社製Axio Vert.A1を用いてスライスを撮像した。ImageJソフトウェアまたはZen(Zeiss社)を用いて画像解析を実施した。

【0280】

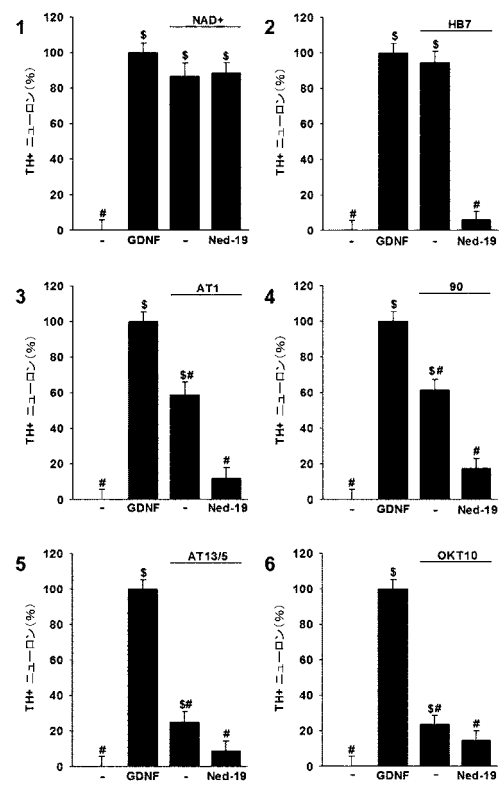
統計解析

ソフトウェアSigma Plotで統計解析を実施し、図を作製する。データに応じて異なる試験を実施してよく、適用条件を重視する場合には一元配置ANOVAおよび事後検定を実施する。そうでない場合にはクラスカル・ウォリス検定を実施する。

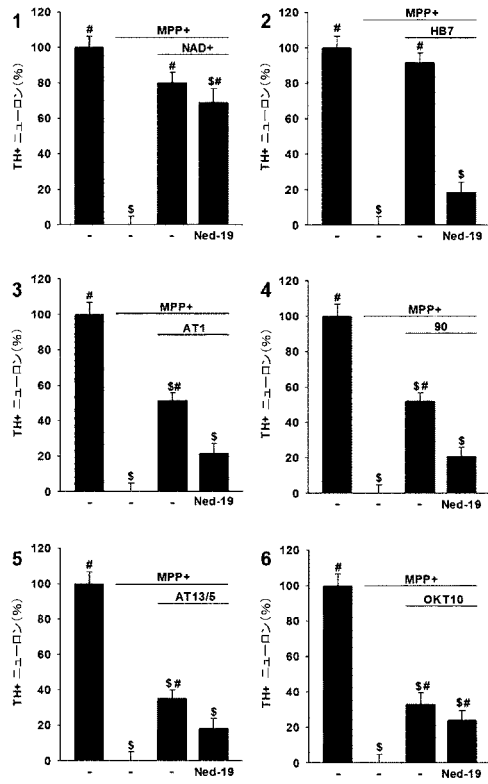
【図1】



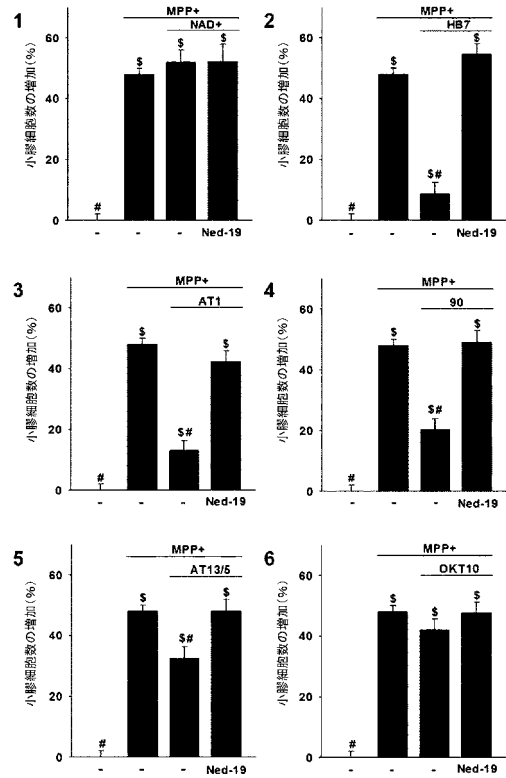
【図2】



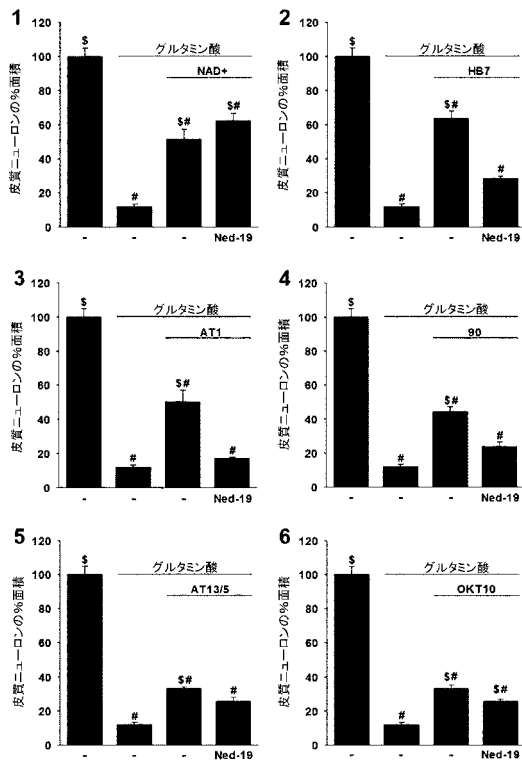
【図 3】



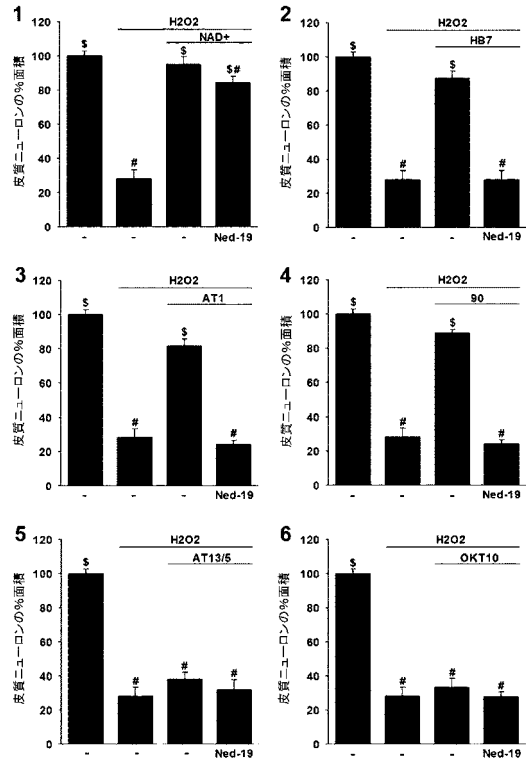
【図 4】



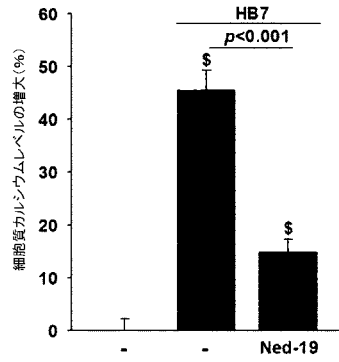
【図 5】



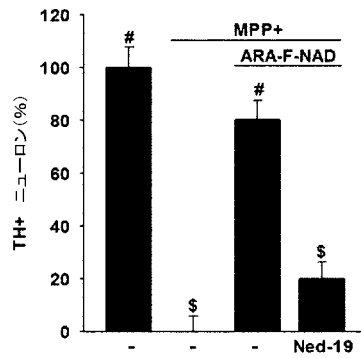
【図 6】



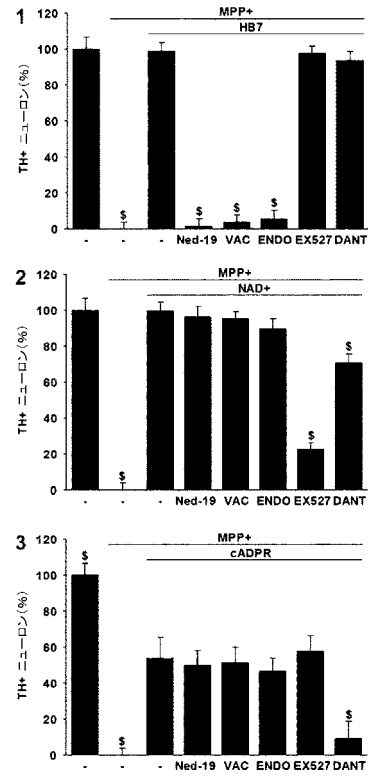
【図7】



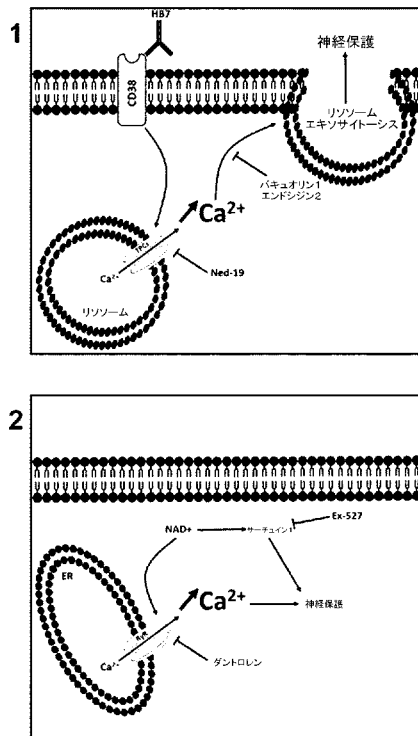
【図8】



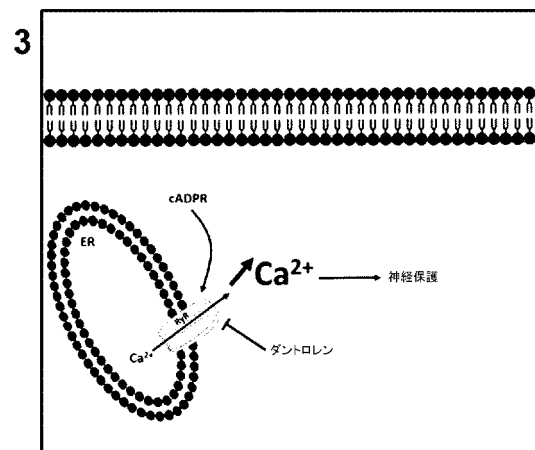
【図9】



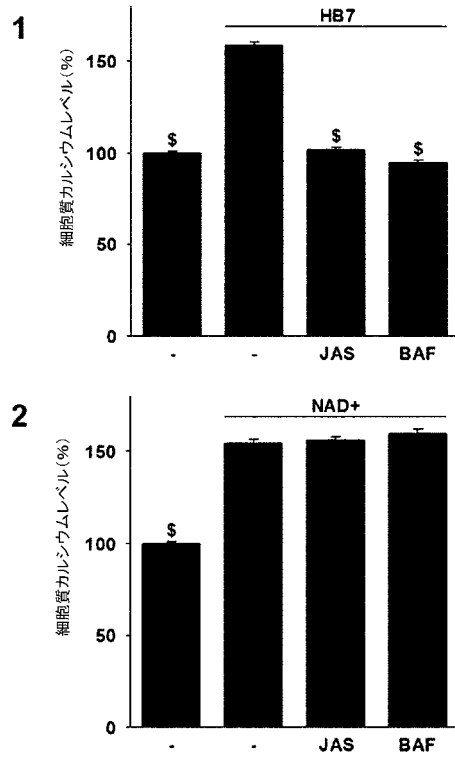
【図10-1】



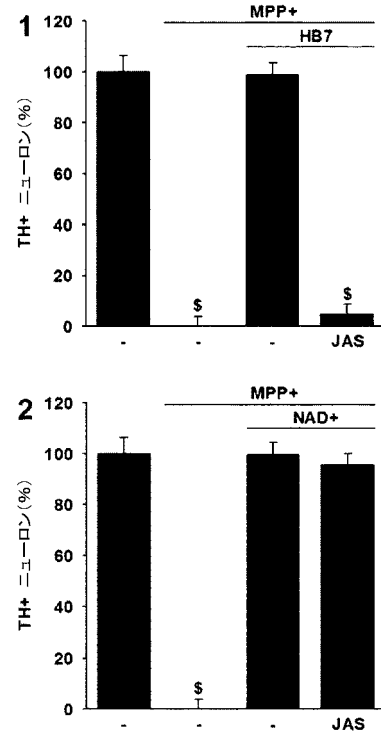
【図10-2】



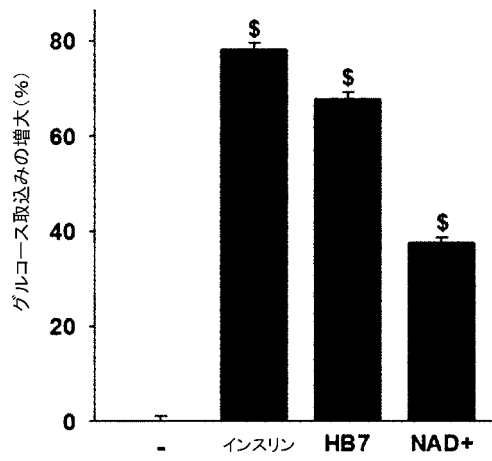
【図 1 1】



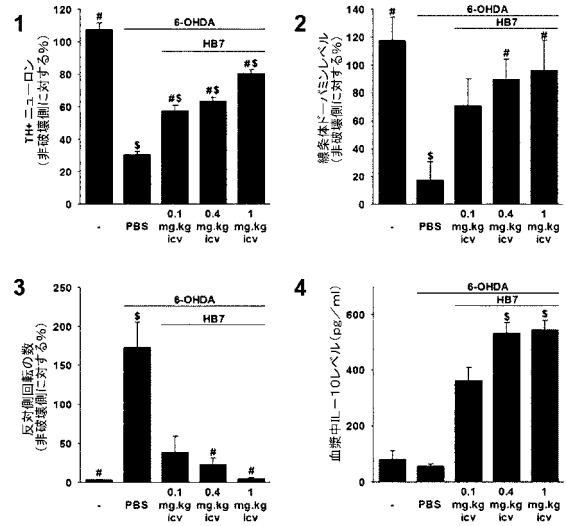
【図 1 2】



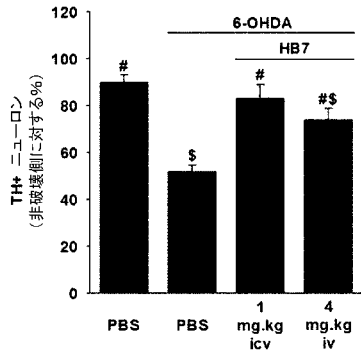
【図 1 3】



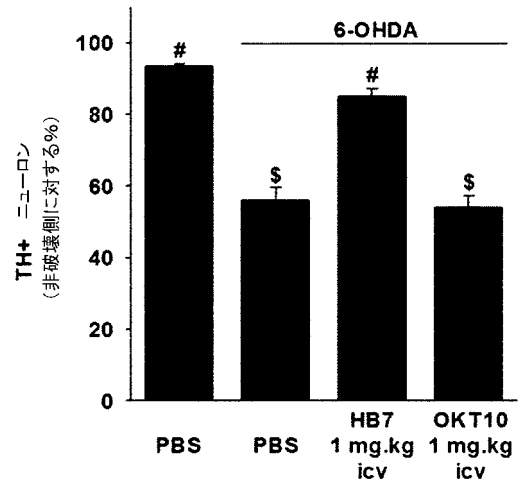
【図 1 4】



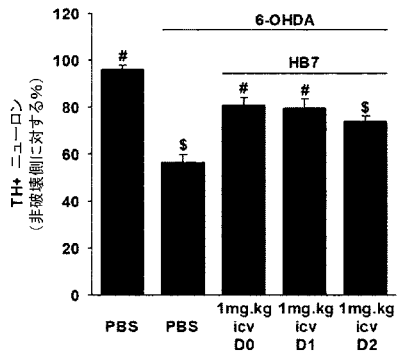
【図 15】



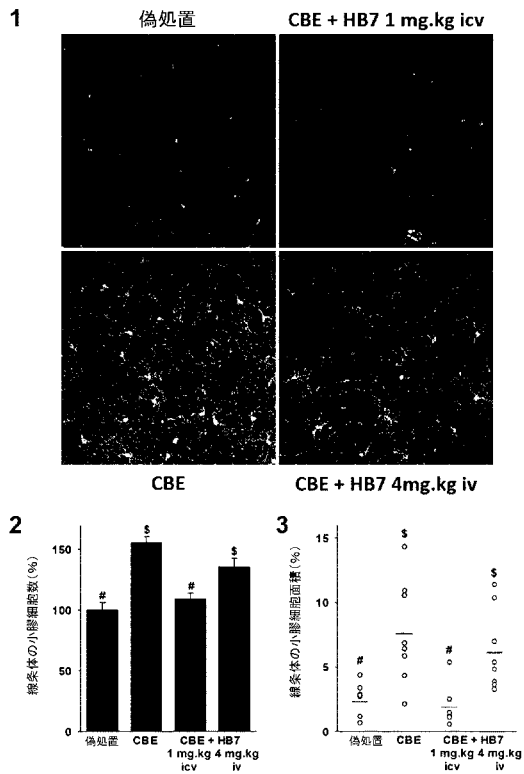
【図 17】



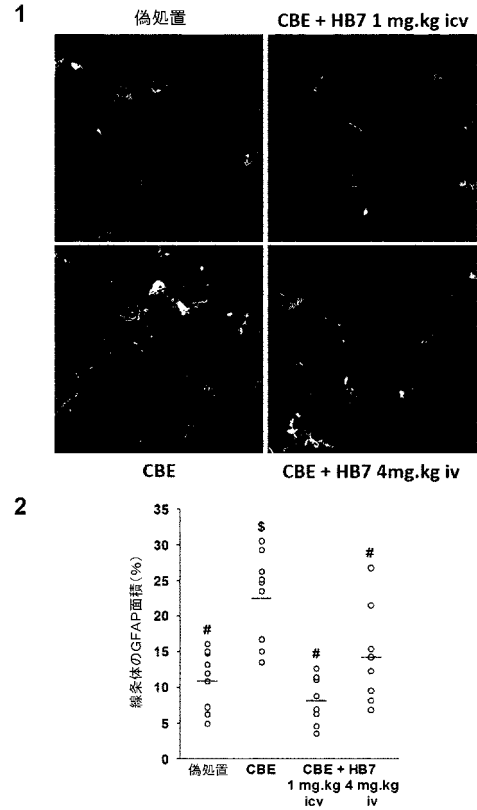
【図 16】



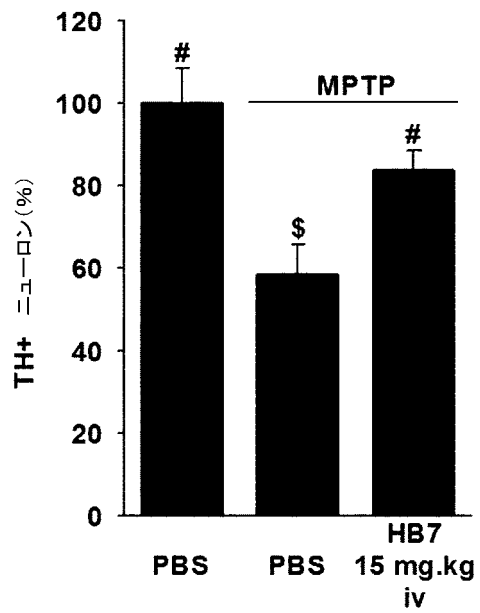
【図 18】



【図 19】



【図 20】



【手続補正書】

【提出日】令和2年3月26日(2020.3.26)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

[2020528447000001.app](#)

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2018/070064

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K16/28 C07D403/04 A61P39/00 A61P25/00
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K C07D A61P

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

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

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DESHPANDE DEEPAK A ET AL: "CD38 in the pathogenesis of allergic airway disease: Potential therapeutic targets", PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS, vol. 172, 7 December 2016 (2016-12-07), pages 116-126, XP029939868, ISSN: 0163-7258, DOI: 10.1016/J.PHARMTHERA.2016.12.002 page 116</p> <p style="text-align: center;">----- -/--</p>	1-17

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 November 2018

Date of mailing of the international search report

21/11/2018

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Wagner, René

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2018/070064

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SO-YOUNG RAH ET AL: "NAADP-mediated Ca ²⁺ signaling promotes autophagy and protects against LPS-induced liver injury", THE FASEB JOURNAL, vol. 31, no. 7, 1 July 2017 (2017-07-01), pages 3126-3137, XP055521361, US ISSN: 0892-6638, DOI: 10.1096/fj.201601290R -----	1-17
X	US 2012/328526 A1 (KRISTIAN TIBOR [US]) 27 December 2012 (2012-12-27) cited in the application example 6 paragraph [0031] paragraph [0033] -----	1-17
A	J. PARRINGTON ET AL: "Ca ²⁺ signals, NAADP and two-pore channels: role in cellular differentiation", ACTA PHYSIOLOGICA, vol. 211, no. 2, 16 May 2014 (2014-05-16), pages 285-296, XP055426284, GB ISSN: 1748-1708, DOI: 10.1111/apha.12298 page 288 -----	1-17
A	XIANWANG WANG ET AL: "Dual Roles of CD38 in Autophagy", YANGTZE MEDICINE, vol. 01, no. 01, 30 March 2017 (2017-03-30), pages 8-19, XP055426293, ISSN: 2475-7330, DOI: 10.4236/ym.2017.11002 figure 3 -----	1-17
A	ANJA GERTH ET AL: "Extracellular NAD ⁺ regulates intracellular free calcium concentration in human monocytes", BIOCHEMICAL JOURNAL, vol. 382, no. 3, 15 September 2004 (2004-09-15), pages 849-856, XP055426063, GB ISSN: 0264-6021, DOI: 10.1042/BJ20040979 page 849 ----- ----- -/--	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2018/070064

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	L. N. HOCKEY ET AL: "Dysregulation of lysosomal morphology by pathogenic LRRK2 is corrected by TPC2 inhibition", JOURNAL OF CELL SCIENCE, vol. 128, no. 2, 21 November 2014 (2014-11-21), pages 232-238, XP055357355, GB ISSN: 0021-9533, DOI: 10.1242/jcs.164152 cited in the application page 232	1-17
A	----- PATRICK P. MICHEL ET AL: "Understanding Dopaminergic Cell Death Pathways in Parkinson Disease", NEURON, vol. 90, no. 4, 1 May 2016 (2016-05-01), pages 675-691, XP055425720, US ISSN: 0896-6273, DOI: 10.1016/j.neuron.2016.03.038 page 683	1-17
A	----- HARA-YOKOYAMA MIKI ET AL: "Alteration of enzymatic properties of cell-surface antigen CD38 by agonistic anti-CD38 antibodies that prolong B cell survival and induce activation", INTERNATIONAL IMMUNOPHARMACOLOGY, vol. 8, no. 1, 2008, pages 59-70, XP029239701, ISSN: 1567-5769, DOI: 10.1016/J.INTIMP.2007.10.010 Title	1-17
A	----- P. P. MICHEL ET AL: "Specific needs of dopamine neurons for stimulation in order to survive: implication for Parkinson disease", THE FASEB JOURNAL, vol. 27, no. 9, 1 September 2013 (2013-09-01), pages 3414-3423, XP055425705, US ISSN: 0892-6638, DOI: 10.1096/fj.12-220418 the whole document ----- -/--	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2018/070064

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>PILAR RIVERO-RÍOS ET AL: "Two-Pore Channels and Parkinson's Disease: Where's the Link?", MESSENGER, vol. 5, no. 1, 1 June 2016 (2016-06-01), pages 67-75, XP055426017, ISSN: 2167-955X, DOI: 10.1166/msr.2016.1051 the whole document</p>	1-17
A	<p>-----</p> <p>CHIARA CORDIGLIERI ET AL: "Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate-mediated calcium signalling in effector T cells regulates autoimmunity of the central nervous system", BRAIN., vol. 133, no. 7, 2 June 2010 (2010-06-02), pages 1930-1943, XP055426025, GB ISSN: 0006-8950, DOI: 10.1093/brain/awq135 the whole document</p> <p>-----</p>	1-17

Information on patent family members

PCT/EP2018/070064

Patent document
cited in search report

Publication
date

Patent family member(s)

Publication date

US 2012328526	A1	27-12-2012	NONE
---------------	----	------------	------

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
A 6 1 P	37/08 (2006.01)	A 6 1 P	37/08	
A 6 1 P	11/06 (2006.01)	A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	3/10 (2006.01)	A 6 1 P	3/10	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	
C 0 7 K	16/40 (2006.01)	C 0 7 K	16/40	
C 1 2 N	9/99 (2006.01)	C 1 2 N	9/99	
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46	
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12	
C 1 2 Q	1/34 (2006.01)	C 1 2 Q	1/34	
C 1 2 Q	1/48 (2006.01)	C 1 2 Q	1/48	Z

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T R I T O N

(72)発明者 トゥロルジュ , ダミアン

フランス国 , 7 5 0 1 3 パリ , 6 2 ブールバール デ マセナ

(72)発明者 ゲレイロ ダ シルバ , セルヘ

フランス国 , 7 5 0 1 3 パリ , 4 7 / 8 3 ブールバール デ ロピタル , アイシーエム - オピタル ピティエ サルペトリエール

(72)発明者 ブルサック , ローレンス

フランス国 , 9 4 1 0 0 サン - モール - デ - フォセ , 1 6 アヴニユ デ アール

F ターム(参考) 4B063 QA05 QA18 QQ26 QQ30 QQ62 QQ63 QQ64 QQ79 QR06 QR10

QR42 QR48 QX01

4C084 AA17 NA14 ZA011 ZA012 ZA361 ZA362 ZA591 ZA592 ZB081 ZB082

ZB111 ZB112 ZB131 ZB132 ZC191 ZC192 ZC201 ZC202 ZC351 ZC352

4C085 AA14 BB11 EE01

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA55 DA76 EA21 EA22