

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6088422号
(P6088422)

(45) 発行日 平成29年3月1日 (2017.3.1)

(24) 登録日 平成29年2月10日 (2017.2.10)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00 H
A 6 1 K 39/39 (2006.01)	A 6 1 K 39/39
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28

請求項の数 19 (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2013-501791 (P2013-501791)	(73) 特許権者	504389991
(86) (22) 出願日	平成23年3月28日 (2011.3.28)		ノバルティス アーゲー
(65) 公表番号	特表2013-523682 (P2013-523682A)		スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ
(43) 公表日	平成25年6月17日 (2013.6.17)		35
(86) 国際出願番号	PCT/EP2011/054735	(74) 代理人	100092783
(87) 国際公開番号	W02011/120924		弁理士 小林 浩
(87) 国際公開日	平成23年10月6日 (2011.10.6)	(74) 代理人	100095360
審査請求日	平成26年3月14日 (2014.3.14)		弁理士 片山 英二
(31) 優先権主張番号	61/361,697	(74) 代理人	100120134
(32) 優先日	平成22年7月6日 (2010.7.6)		弁理士 大森 規雄
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100141195
(31) 優先権主張番号	10158273.2		弁理士 西澤 恵美子
(32) 優先日	平成22年3月29日 (2010.3.29)	(74) 代理人	100104282
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		弁理士 鈴木 康仁
前置審査			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ウイルス様粒子に結合しているアミロイドベータ1-6ペプチドおよびアジュバントを含む組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

i) ウイルス様粒子に結合している A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクト及び i i) 薬学的に許容され得るアジュバントを含むワクチン組成物であり、
(a) 1 用量あたり $125 \mu\text{l}$ 、 $250 \mu\text{l}$ 、または $500 \mu\text{l}$ の MF 59 又は
(b) 1 用量あたり $50 \mu\text{g}$ 、 $150 \mu\text{g}$ 、または $450 \mu\text{g}$ のアルミニウム塩を含む、
ワクチン組成物。

【請求項2】

5 から $600 \mu\text{g}$ の間の、A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクトを含む、請求項1に記載のワクチン組成物。

【請求項3】

$150 \mu\text{g}$ または $450 \mu\text{g}$ の、A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクトを含む、請求項1または請求項2に記載のワクチン組成物。

【請求項4】

A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクトが水溶液中にある、請求項1～3のいずれかに記載のワクチン組成物。

【請求項5】

A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクトが、A 1 - 6 ペプチドに化学的に結合しているウイルス様粒子 (VLP) 構造から成る、請求項1～4のいずれかに記載のワクチン組成物。

【請求項 6】

VLP が、RNA バクテリオファージ Q 由来であり、A 1 - 6 ペプチドがその C 末端でスパーサー GGC に融合しており、VLP が前記 A 1 - 6 ペプチドに 2 価のリンカーで化学的に結合している、請求項 5 に記載のワクチン組成物。

【請求項 7】

アルミニウム塩が、 $Al(OH)_3$ である、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載のワクチン組成物。

【請求項 8】

1 用量あたり、

(i) A 1 - 6 ペプチドを含む $150 \mu g$ のコンストラクトおよび $150 \mu g$ のアルミニウム塩； 10

(ii) A 1 - 6 ペプチドを含む $450 \mu g$ のコンストラクトおよび $150 \mu g$ のアルミニウム塩；

(iii) A 1 - 6 ペプチドを含む $450 \mu g$ のコンストラクトおよび $450 \mu g$ のアルミニウム塩；

(iv) A 1 - 6 ペプチドを含む $150 \mu g$ のコンストラクトおよび $250 \mu l$ の MF 59；

(v) A 1 - 6 ペプチドを含む $450 \mu g$ のコンストラクトおよび $125 \mu l$ の MF 59；または

(vi) A 1 - 6 ペプチドを含む $450 \mu g$ のコンストラクトおよび $250 \mu l$ の MF 59 20

を含む、請求項 1、2 または 4 ~ 6 のいずれかに記載のワクチン組成物。

【請求項 9】

請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物、ならびに向知性薬、メマンチン、抗うつ薬、抗精神病薬、抗糖尿病薬、抗酸化薬、抗炎症薬、脂質低下剤、ホルモン置換剤、アミロイド低下薬、凝集阻害剤、キレート剤、および免疫調節薬のリストから選択される少なくとも 1 つの薬剤を含む組合せ物。

【請求項 10】

療法における使用のための、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物。

【請求項 11】

認知症、アルツハイマー病、アルツハイマー病に関連する認知症またはそれに関連する障害の治療および / または予防における使用のための、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物。 30

【請求項 12】

療法における使用のための、請求項 9 に記載の組合せ物。

【請求項 13】

認知症、アルツハイマー病、アルツハイマー病に関連する認知症またはそれに関連する障害の治療および / または予防における使用のための、請求項 9 に記載の組合せ物。

【請求項 14】

認知症、アルツハイマー病、アルツハイマー病に関連する認知症またはそれに関連する障害の治療および / または予防のための医薬の製造のための、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物または請求項 9 に記載の組合せ物の使用。 40

【請求項 15】

認知症、アルツハイマー病、アルツハイマー病に関連する認知症またはそれに関連する障害を発症するリスクがある対象の治療のための医薬の製造のための、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のワクチン組成物または請求項 9 に記載の組合せ物の使用。

【請求項 16】

ワクチン組成物または組合せ物が、6 から 12 週間の間隔で投与される、請求項 14 または 15 に記載の使用。

【請求項 17】

ワクチン組成物または組合せ物が、6週間の間隔で2回以上、次いで12週間の間隔で2回以上投与される、請求項14または15に記載の使用。

【請求項18】

(a) 請求項1～8のいずれかに記載のワクチン組成物、および(b)使用に関する説明書を含む、コマーシャルパッケージ。

【請求項19】

請求項1～8のいずれか1項に記載のワクチン組成物または請求項9に記載の組合せ物を含むビン、バイアル、シリンジまたは試験管。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

本発明は、i) A 1-6ペプチドを含むコンストラクトおよびii) 薬学的に許容され得るアジュバントを含む新規な組成物(以下、本発明の組成物)およびワクチン、ならびにアルツハイマー病(AD)に罹っている患者の、特にその疾患の初期での治療のためのかかる組成物の使用に関する。

【背景技術】

【0002】

世界中で少なくとも1500万人の人々が、アルツハイマー病に冒されている。この疾患は、日常生活において機能する患者の能力における進行性の機能障害によって特徴付けられる。大部分の患者は、診断の5から10年以内に死亡する。

20

【0003】

ADにおいて老人アミロイド斑(senile amyloid plaque)の主要構成要素である - アミロイドペプチドが因果的役割を果たすことを示唆する、考慮すべき証拠が蓄積されている。ADの成功な疾患修飾性治療薬は、脳における - アミロイドの沈着に影響を及ぼす生成物を含む可能性が高い。免疫系によって能動的に産生されるまたは受動的に投与される、A 特異的抗体が、A - アミロイドーシスに関する異なるトランスジェニックマウスモデルにおいて、一貫して斑負荷を低減する。しかしながら、AD患者の免疫系を刺激してA 抗体を産生する最初の臨床的な試みは、容認できない副作用のために、保留しなければならなかった(治療患者の6%が髄膜脳炎。Orgogozo JM, Gilman S, Dartigues JF, Laurent B, Puel M, Kirby LC, Jouanny P, Dubois B, Eisner L, Flitman S, Michel BF, Boada M, Frank F, Hock C (2003) Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after A 42 immunization. Neurology; 61: 46-54.)。この試験において、おそらくT_H1リンパ球が活性化されたため、A 反応性の自己免疫性T細胞が促進されたことが後に結論づけられた。T_H1応答は、AN1792においてT細胞エピトープと組み合わせて使用したアジュバント(QS-21)の結果であった可能性が高い(Lemere & Masliah, 2010, Nat. Rev. Neurol. 6(2):108-120)。したがって、有用な免疫応答を引き出すと同時にかかる危険な反応を避けるために、免疫原およびアジュバントの注意深い選択が必要である。

30

【発明の概要】

【0004】

40

驚いたことに、A 1-6ペプチドを含むコンストラクトは、有害な免疫反応も微小出血の発生もそれほど認められない。特に、A 1-6ペプチドに化学的に結合しているVLPから成るコンストラクトは、有害な免疫反応も微小出血の発生率の増加も認められない。

【0005】

驚いたことに、認知症、アルツハイマー病、アルツハイマー病に関連する認知症、またはそれに関連する状態に罹っているヒトに投与する場合、A 1-6ペプチドを含むコンストラクトは、アジュバントと有利に組み合わせることができることを発見した。

【0006】

予想外に、A 1-6ペプチドを含むコンストラクトと一緒にアジュバントを投与

50

することは、そのコンストラクトに対する抗体応答は増加するが炎症促進性の応答を誘発することなく実施可能であることを発見した。これは、老齢患者において特に重要である。

【0007】

本明細書で定義するように、「本発明の組成物」は、i) A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクトおよび ii) 薬学的に許容され得るアジュバントを含む組成物を指す。本発明の組成物は、許容され得る医薬担体 (carrier) をさらに含むことができる。

【0008】

本発明によれば、A 1 - 6 ペプチドは、固有の反復組織を有する構造を有するコア粒子、例えば自己組織化したウイルス様粒子 (VLP) に結合している。かかる VLP は、RNA バクテリオファージのカプシドタンパク質、例えば RNA バクテリオファージ Q のカプシドタンパク質から成ることができる。

10

【0009】

断片 A 1 - 6 および本発明において用いられるような断片を含有するコンストラクトは、それ自体既知である。Cytos および Novartis への WO 04 / 016282 は、Q などのバクテリオファージの組換えタンパク質を含む VLP、リンカーおよび A 1 - 6 を含み、これらは一緒になって規則的で反復した抗原アレイを形成するコンストラクトを記載している。

【0010】

本発明において用いられるようなコンストラクトは、WO 04 / 016282 において、特に実施例 13 において開示されているように調製し、精製することができ、その内容は、参照によって本特許出願に組み込まれている。

20

【0011】

本発明によれば、VLP 構造は、2 価のリンカー (bivalent linker) で A 1 - 6 ペプチドに化学的に結合していてもよい。かかる 2 価のリンカーは、WO 04 / 016282、53 ページ、第 1 段落において記載されているものでもよく、その内容は、参照によって組み込まれている。

【0012】

一実施形態において、2 価のリンカーは、ウイルス様粒子または少なくとも 1 つのウイルス様粒子サブユニット、例えばそのリジン残基の側鎖アミノ基と反応することができる官能基を含有するヘテロ二官能性クロスリンカーである。2 価のリンカーは、A 1 - 6 ペプチドまたは該 A 1 - 6 ペプチドに融合したシステイン残基と反応することができる別の官能基を含有することができる。

30

【0013】

本発明によれば、ヘテロ二官能性クロスリンカーは、SMPH、スルホ - MBS、スルホ - EMCS、スルホ - GMB S、スルホ - SIAB、スルホ - SMPB、スルホ - SMCC、SVSB、SIA、例えば SPDP またはスルホ - LC - SPDP から選択することができる。

【0014】

本発明の好ましい実施形態において、本発明の組成物を作製するのに適した A 1 - 6 ペプチドは、VLP に結合するためのアミノ酸リンカー、例えばアミノ酸スペーサーで修飾されている。それらの A 1 - 6 ペプチドは、スペーサー GGC に C 末端で融合した A 1 - 6 を含むがこれに限定されない。A 1 - 6 断片の N 末端への融合に適したアミノ酸リンカー、例えばアミノ酸スペーサーは、配列 CGG および CGHGNKS を含むがこれらに限定されない。A 1 - 6 の C 末端への融合に適したリンカーは、配列 GGC を含むがこれに限定されない。一実施形態において、リンカーが、A 1 - 6 断片の C 末端に融合している場合、C 末端のシステインはアミド化され、これは、C 末端「-CONH₂」によって示され、かつペプチドの N 末端が遊離であり、これは「NH₂-」によって示される。特定の実施形態において、第 2 の付着部位としてシステイン残基を含有するアミノ酸リンカー、例えばアミノ酸スペーサーは、A 1 - 6 ペプチドの C 末端に融合してい

40

50

る。

【0015】

一実施形態において、A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクトは、該 A 1 - 6 ペプチドに 2 価のリンカーで化学的に結合している RNA バクテリオファージ Q のウイルス様粒子 (VLP) から成り、ここで、A 1 - 6 ペプチドは、アミノ酸スペーサーで修飾されている。

【0016】

別の特定の実施形態において、A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクトは、RNA バクテリオファージ Q のウイルス様粒子 (VLP)、その C 末端でスペーサー GGC に融合した A 1 - 6 ペプチドから成り、ここで、VLP は、該 A 1 - 6 ペプチドに 2 価のリンカーで化学的に結合している；上文で「本発明のコンストラクト」として定義した。

【0017】

一態様において、本発明は、i) A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクトおよび ii) 薬学的に許容され得るアジュバントを含む、例えば本発明のコンストラクトおよび薬学的に許容され得るアジュバントを含むワクチン組成物を提供する。

【0018】

本発明は、治療方法も提供する。したがって、本発明は、療法における使用のための、本発明の組成物または本発明のワクチンを提供する。別の態様において、本発明は、本発明の組成物、または本発明のワクチンを動物、例えばヒトに投与することを含む免疫化の方法を提供する。

【0019】

アジュバント

本明細書で定義するように、「アジュバント」という用語は、本発明の A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクトと共に（例えば組み合わせて）投与した場合、そのコンストラクトへの免疫応答を増強する薬剤を指す。アジュバントは、リンパ球動員、B および / もしくは T 細胞の刺激、ならびに / またはマクロファージの刺激などのいくつかの機構のいずれかによって、免疫応答を増加させることができる。

【0020】

本発明によれば、アジュバントは、有機の、無機の、油ベースのアジュバントまたはピロソームとすることができるが、これらに限定されない。

【0021】

無機のアジュバントは、鉱物アジュバント、例えばリン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム（本明細書で $Al(OH)_3$ と呼ばれる）、硫酸カリウムアルミニウム（ミョウバンとも呼ばれる）およびリン酸カルシウムなどのアルミニウム塩またはカルシウム塩を含むがこれらに限定されない。かかるアジュバントは、例えば以下に記載するような他のアジュバントと共にまたは他のアジュバントなしで 사용할 ことができる。

【0022】

有機アジュバントは、スクアレンを含むがこれに限定されない。

【0023】

本発明によるアジュバントの別の例は、MPL（モノホスホリルリピド A）、AS03（GSK によって開発された、Prepandrix）、AS04（GSK によって開発された；MPL および水酸化アルミニウムの組合せ；Fendrix；Cervarix）、QS21（トリテルペングルコシドを含有する、シャボンノキ（Quillaia saponaria）由来のサポニン精製植物抽出物）、AS01（GSK によって開発された；リポソーム；QS21 および MPL）、AS02（GSK によって開発された；QS21 および MPL）、LT（大腸菌（E.coli）由来の熱不安定性のエンテロトキシン）、CpG（メチル化されていない CpG 配列を含有するオリゴヌクレオチド）、および MF59（登録商標）（Novartis 製）を含むがこれらに限定されない。MF59 は、スクアレン、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレアートおよびソルビタントリオレアート化合物のサブミクロンの水中油型エマルジョンである。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 4 】

本発明に特に適したアジュバントは、例えば鉱物アジュバントまたはスクアレンを含有するアジュバント、例えばスクアレンのエマルション、例えばMF59である。一実施形態において、本発明の組成物は、本発明のコンストラクトおよび(i)MF59または(ii)アルミニウム塩(水酸化アルミニウムなど)のいずれかを含む。

【 0 0 2 5 】

アジュバントの選択は、免疫応答の促進におけるアジュバントの効率、アジュバントを含有する組成物、例えばアジュバントを含有するワクチンの安定性、投与経路、投与計画、ワクチン接種をする種によって決まる。

【 0 0 2 6 】

2つ以上のアジュバントを組み合わせることができる。例えばアルミニウム塩は、MPL、QS21、および/またはMF59と組み合わせることができる。

【 0 0 2 7 】

本発明によれば、約5から600 μ g、例えば約5から550 μ g、約50から500 μ g、約100から500 μ g、例えば約75から300 μ g、例えば約50から150 μ g、例えば約15から125 μ g、例えば約25から100 μ g、例えば約50 μ g、75 μ g、100 μ g、150 μ g、200 μ g、300 μ g、400 μ gまたは450 μ gのA1-6ペプチドを含むコンストラクト、例えば本発明のコンストラクトは、ヒト患者に投与することができる。したがって、本発明の組成物は、1用量あたり、本発明のコンストラクトのこれらの量の1つを含有することができる。一実施形態において、本発明の組成物は、1用量あたり、約150 μ gまたは約450 μ gの本発明のコンストラクトを含む。

【 0 0 2 8 】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、約10から600 μ l/用量のアジュバント、例えば、約50から500 μ l/用量のアジュバント、例えば約100から500 μ l/用量のアジュバント、例えば約100から300 μ l/用量のアジュバント、例えば約150から300 μ l/用量のアジュバント、例えば約125から250 μ l/用量のアジュバント、例えば約125 μ l/用量、または例えば約250 μ l/用量または例えば約500 μ l/用量のアジュバントを含む。かかる量は、MF59に特に適している。

【 0 0 2 9 】

一実施形態において、本発明の組成物は、i)約100から300 μ l/用量のMF59、例えば約125 μ l/用量、約250 μ l/用量または約500 μ l/用量のMF59、およびii)約150 μ gのA1-6ペプチドを含むコンストラクト、例えば150 μ gの本発明のコンストラクトを含む。一実施形態において、組成物は、1用量あたり、(i)約125 μ lまたは約250 μ lのMF59および(ii)約150 μ gの本発明のコンストラクトを含む。

【 0 0 3 0 】

別の実施形態において、本発明の組成物は、i)約100から500 μ l/用量のMF59、例えば約125 μ l/用量、250 μ l/用量、450 μ l/用量または500 μ l/用量のMF59、およびii)約450 μ gのA1-6ペプチドを含むコンストラクト、例えば450 μ gの本発明のコンストラクトを含む。一実施形態において、組成物は、1用量あたり、(i)約125 μ lまたは約250 μ lのMF59および(ii)約450 μ gの本発明のコンストラクトを含む。

【 0 0 3 1 】

さらに別の実施形態において、本発明の組成物は、i)約125または250 μ l/用量のMF59、およびii)約50から500 μ g、約100から500 μ g、約150 μ g、例えば約200 μ gのA1-6ペプチドを含むコンストラクト、例えば1用量あたり150 μ gの本発明のコンストラクトを含む。

【 0 0 3 2 】

10

20

30

40

50

別の実施形態において、アジュバントを、約 0.5 : 1 (v/v) から約 4 : 1 (v/v)、例えば約 0.8 : 1 (v/v) から約 3.5 : 1 (v/v)、例えば約 1 : 1 (v/v) から約 2 : 1 (v/v) ; 例えば約 1 : 1 (v/v) の比で、A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクト、例えば本発明のコンストラクトと混合する。

【0033】

別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、約 10 から 900 μ g / 用量のアジュバント、例えば約 50 から 850 μ g / 用量のアジュバント、例えば約 100 から 800 μ g / 用量のアジュバント、例えば約 120 から 600 μ g / 用量のアジュバント、例えば約 100 から 550 μ g / 用量のアジュバント、例えば約 150 から 450 μ g / 用量のアジュバント、例えば約 50 μ g / 用量、約 100 μ g / 用量、約 150 μ g / 用量、または約 450 μ g / 用量のアジュバントを含む。かかる量は、アルミニウム塩、例えばミョウバンまたは水酸化アルミニウムに特に適している。量は、水酸化アルミニウムの場合、元素アルミニウムの重量に基づく。

10

【0034】

一実施形態において、組成物は、1 用量あたり、(i) 約 50 μ g または約 150 μ g の水酸化アルミニウムおよび (ii) 150 μ g の本発明のコンストラクトを含む。一実施形態において、組成物は、1 用量あたり、(i) 約 150 μ g または約 450 μ g の水酸化アルミニウムおよび (ii) 450 μ g の本発明のコンストラクトを含む。

【0035】

別の実施形態において、組成物は、1 用量あたり、(i) 約 600 μ g または約 850 μ g の水酸化アルミニウムおよび (ii) 約 450 μ g の本発明のコンストラクトを含む。

20

【0036】

患者の応答が低い場合、より高い用量形態でも使用することができる。したがって、別の実施形態において、組成物は、1 用量あたり、(i) 約 600 μ g または約 850 μ g の水酸化アルミニウムおよび (ii) 約 600 μ g の本発明のコンストラクトを含む。

【0037】

アルミニウム塩をアジュバントとして使用する場合、アジュバント対 A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクトの適した比率は、元素アルミニウムに基づく重量比で 1/3、1/2、1/1、2/1、3/1、5/1 または 6/1 を含むがこれらに限定されない。

30

【0038】

アジュバントは、単一の組成物として A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクトと共に投与することができるか、または A 1 - 6 ペプチドを含むコンストラクトの投与前、投与と同時に、もしくは投与後に投与することができる。

【0039】

製剤および投与

本発明の組成物は、当技術分野において知られている様々な方法によって、例えば注射、注入、吸入、経口投与、または他の適した物理的方法によって投与することができる。組成物は、代わりに、筋肉内に、静脈内にまたは皮下に投与することができる。特定の実施形態において、本発明の組成物を、非経口的に、例えば筋肉内にまたは皮下に、例えば筋肉内に投与する。

40

【0040】

本発明の組成物を含有する製剤は、滅菌水 (aqueous)、例えば生理食塩水 ; または非水溶液および懸濁液を含む。非水溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油などの植物油、およびオレイン酸エチルなどの注射可能な有機エステルである。担体または密封包帯を使用して、皮膚透過性を増加させ、抗原吸収を増強することができる。

【0041】

非経口投与に関して、本発明による A 1 - 6 ペプチドを含有するコンストラクトは、水、油、生理食塩水、グリセロールまたはエタノールなどの液体とすることができる、薬

50

学的に許容され得る担体と合わせた生理学的に許容され得る希釈剤中の該コンストラクトの溶液または懸濁液の注射可能な剤形として投与することができる。湿潤剤または乳化剤、界面活性剤、pH緩衝剤などの追加の成分を含むことができる。他の成分は、石油、または動物油、植物油もしくは合成起源の油、例えばピーナッツ油、ダイズ油および鉱物油を含むことができる。プロピレングリコールおよびポリエチレングリコールなどのグリコールは、例えば注射可能な溶液に特に適した担体である。

【0042】

本発明の組成物を投与するための、例えば皮下投与に適した製剤は、リン酸緩衝食塩水(PBS)または別の緩衝剤を含有する水溶液である。例えば、本発明の組成物は、約0.1から1mg/mLの間の本発明のコンストラクト、例えば約0.25から0.75mg/mLの間の本発明のコンストラクト、例えば0.4から0.6mg/mLの間、例えば0.5mg/mLの本発明のコンストラクトを含有し、別の添加剤(excipient)を含有しない。一実施形態において、本発明は、リン酸緩衝食塩水(PBS)または別の緩衝剤および1mg/mLの本発明のコンストラクトを含む水溶液を提供する。

10

【0043】

緩衝剤は、L-ヒスチジンも含有することができる。

【0044】

本発明の組成物は、充填剤(bulking agent)、例えばショ糖をさらに含有することができる。塩酸を加えて、pHを適合させることができる。

【0045】

20

剤形は、凍結してまたは凍結乾燥物として使用直前まで保持することができる。好ましくは、凍結乾燥物の形の場合、本発明の組成物は、緩衝剤(L-ヒスチジンなど)および充填剤、例えばショ糖を含有する。投与前、凍結乾燥物を、A 1-6ペプチドを含むコンストラクトの望ましい濃度を得るために、適切な希釈剤(例えば水、またはブドウ糖溶液)の適切な体積で元に戻す(reconstituted)。希釈剤の添加に続き、溶液を穏やかに混合し、泡が現れ、溶液が澄み、透明になるまで静止した状態にしておく。次いで元に戻した凍結乾燥物を、適切なアジュバントと混合する。好ましくは、アジュバントと混合した元に戻した凍結乾燥物は、投与前に室温で4時間を超えて保持しない。

【0046】

適切な希釈剤は、水、例えば蒸留水、リン酸緩衝生理食塩水、リンゲル液、ブドウ糖溶液、ハンクス液を含むが、これらに限定されない。一実施形態において、希釈剤は、アジュバントそれ自体とすることができる。一実施形態において、希釈剤は、水酸化アルミニウム溶液である。

30

【0047】

剤形は、好ましくは、シリンジを用いた温血動物への、特に腹部中への皮下注射によって投与することができる。一実施形態において、組成物(剤形)は、筋肉内に投与する(すなわち筋肉内投与のために製剤化する)。一実施形態において、組成物(剤形)は、上腕中に注射する。

【0048】

剤形の解凍のために、剤形は、周囲温度で約15分から45分の間、例えば30分間保持することができる。好ましくは、原体を回収する前に、潜在的な肉眼不可視の粒子の分散のために、バイアルを数回穏やかに反転する。

40

【0049】

本発明によるA 1-6ペプチドを含むコンストラクト、例えば本発明のコンストラクトの適した剤形は、1.0mg/mLの本発明のコンストラクトの濃度を得るために注射用の水中で元に戻した凍結乾燥物である。この形は、本発明のコンストラクトを、鉱物アジュバントと、例えば水酸化アルミニウムと組み合わせて投与するのに特に適している。かかる剤形は、本発明のコンストラクトの筋肉投与に特に適している。

【0050】

本発明によるA 1-6ペプチドを含むコンストラクト、例えば本発明のコンストラク

50

トを、アジュバントMF59と組み合わせて投与するために、剤形は、ブドウ糖溶液の適合した体積を使用して元に戻した凍結乾燥物である。

【0051】

本発明の組成物は、注射剤、例えば液剤もしくは懸濁剤；または注射する前に液体ピヒクルに溶解もしくは懸濁するのに適した固形剤として調製することができる。

【0052】

治療方法

本発明に従って、特にその疾患の初期のアルツハイマー病（AD）、もしくは軽度から中等度の、もしくは重度のアルツハイマー病（AD）、またはそれに関連する状態の治療および／または予防のための本発明の組成物の使用を提供する。例えば、認知症、例えばアルツハイマー病に関連する認知症およびアミロイド血管症を有する血管性認知症の治療または予防のためのかかる組成物の使用を提供する。

【0053】

本発明は、パーキンソン病に関連する認知症またはレビー小体型認知症を有する患者を含むがこれらに限定されない、A レベルが増加した患者の治療のための本発明の組成物の使用も提供する。

【0054】

本発明は、さらに、軽度の認知機能障害を有する対象、ApoE4などの、ADと関連することが知られている遺伝子型を有する対象、21番染色体トリソミーを有する対象およびADのリスクを示す代替マーカーを有する対象を含むがこれらに限定されない、ADを発症するリスクがある対象の予防的治療のための本発明の組成物に関する。

【0055】

「治療」という用語は、本明細書では、特に、疾患進行をもたらしかつ／もしくは兆候となる効果を有する発症プロセスを停止することを目的とする治療、または疾患もしくはそれに関連する兆候を減弱することに関する。

【0056】

「アルツハイマー型の認知症」（および「アルツハイマー病に関連する認知症」という用語は、本明細書では、特に、Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders、第4版（DSM-IV）基準に従って定義されたような疾患に関する。

【0057】

本発明は、ヒト患者における認知症、アルツハイマー病、アルツハイマー病に関連する認知症またはそれに関連する状態の治療の方法であって、本発明の組成物をそれを必要とする患者に投与することを含む方法にも関する。本発明は、さらに、それぞれ、ヒトにおける認知症、アルツハイマー病、アルツハイマー病に関連する認知症またはそれに関連する状態を予防し、治療しかつ／または減弱するための、免疫化およびワクチン接種方法を提供する。

【0058】

注射の頻度は、患者の応答次第で変わり得る。例えば投与の頻度は、患者の応答および対応する抗体力価次第で、担当医によって変わり得る。例えば、同じ抗体力価を引き出しかつ／または維持するために、低応答者である患者は、頻度がより多い投与を要求することができ、一方で高応答者である患者は、頻度がより少ない投与を要求することができる。

【0059】

注射の頻度は、1年あたり1から10回の投与、例えば1年あたり2から8回、例えば1年あたり6回の投与を含むことができるがこれらに限定されない。

【0060】

一実施形態において、本発明の組成物は、約4から8週間ごとに、好ましくは約5から7週間ごとに、特に約6週間ごとに、それを必要とするヒト患者に投与する。かかる投与計画は、約12から16週間、例えば約12週間まで継続することができる。例えば、本

発明の組成物は、0、6、12週間で投与する。さらに、本発明の組成物の次の投与間の間隔は、延ばすことができる。

【0061】

したがって、一実施形態において、本発明は、(a)約6週間の間隔で2回以上の投与、続いて(b)約12週間の間隔で2回以上の投与の投与計画を提供する。一実施形態において、本発明は、(a)約6週間の間隔で3回の投与(例えば0、6および12週目で)、続いて(b)約12週間の間隔で2回以上(例えば3、4、5回以上)の投与(例えば24、36、48および60週目で)の投与計画を提供する。

【0062】

かかる投与計画は、認知症、アルツハイマー病またはアルツハイマー病に関連する認知症に罹っている患者を治療するのに特に適している。

10

【0063】

上述の疾患の治療における本発明の組成物の有用性は、適した臨床試験、例えば実施例において記載した試験において確認することができる。

【0064】

適した臨床試験は、特に、アルツハイマー患者における無作為化二重盲検プラセボ対照並行試験または非盲検試験である。

【0065】

組合せ物(combination)およびキット

A 1-6ペプチドを含むコンストラクトおよびアジュバントは、同じ容器(例えばバイアルまたはプレフィルドシリンジ)中に詰め、供給することができるか、または別々の容器(例えばバイアル)中に詰め、使用前に混合することができる。パッケージ、例えば包装は、使用するための説明書を含むことができ、特にA 1-6ペプチドを含むコンストラクトおよびアジュバントを別々に詰める場合、パッケージ、例えば包装は、使用前に混合することに関する説明書を典型的に含む。

20

【0066】

したがって、本発明は、(a)本発明の組成物またはワクチン、および(b)投与に関する説明書を含むコマーシャルパッケージを提供する。本発明は、(a)本発明のコンストラクト、(b)アジュバント、および(c)使用に関する説明書を含むコマーシャルパッケージも提供する。かかるパッケージにおいて、コンストラクトは、凍結乾燥されていてよく、アジュバントは、希釈剤として使用することができる。キットは、任意選択で、薬学的に許容され得る希釈剤および/または投与デバイス(シリンジなど)も含むことができる。

30

【0067】

本発明は、a)A 1-6ペプチドを含むコンストラクト、例えば本発明のコンストラクト、およびb)アジュバント、これらと一緒に(c)アルツハイマー病またはそれに関連する障害、特にアルツハイマー病の治療または予防におけるその同時の、別々のまたは連続的な使用に関する説明書を含むコマーシャルパッケージも提供する。

【0068】

さらなる態様において、本発明は、本発明の組成物および少なくとも1つの向知性薬、好ましくはメマンチンなどの1つのコリンエステラーゼ阻害剤を含む組合せに関する。

40

【0069】

「向知性薬」という用語は、本明細書では、向知性植物抽出物、カルシウムアンタゴニスト、コリンエステラーゼ阻害剤、ジヒドロエルゴトキシン、ニセルゴリン、ピラセタム、プリン誘導体、ピリチノール、ピンカミンおよびピンボセチンを含むがこれらに限定されない。

【0070】

「向知性植物抽出物」という用語は、本明細書では、イチョウ(Ginkgo)の葉由来の抽出物を含むがこれに限定されない。「カルシウムアンタゴニスト」という用語は、本明細書では、シンナリジンおよびニモジピンを含むがこれらに限定されない。「コリンエステ

50

ラーゼ阻害剤」という用語は、本明細書では、ドネペジル塩酸塩、リバスチグミン、メマンチンおよびガランタミン臭化水素酸塩を含むがこれらに限定されない。「プリン誘導体」という用語は、本明細書では、ペンチフィリンを含むがこれに限定されない。

【0071】

イチョウ (Ginkgo) の葉由来の抽出物は、例えば商標 Ginkodilat (商標) の下で添付文書によって提供される情報に従って、例えば、販売されているような形で投与することができる。シンナリジンは、例えば商標 Cinnarizine forte-ratiopharm (商標) の下で、例えば、販売されているような形で投与することができる。ニモジピンは、例えば商標 Nimotop (商標) の下で、例えば、販売されているような形で投与することができる。ドネペジル塩酸塩は、例えば商標 Aricept (商標) の下で、例えば、販売されているような形で投与することができる。リバスチグミンは、US 5,602,176 において開示されているように調製することができる。それは、例えば商標 Exelon (商標) の下で、例えば、販売されているような形で投与することができる。ガランタミン臭化水素酸塩は、例えば商標 Reminyl (商標) の下で、例えば、販売されているような形で投与することができる。ジヒドロエルゴトキシンは、例えば商標 Hydergin (商標) の下で、例えば、販売されているような形で投与することができる。ニセルゴリンは、例えば商標 Sermion (商標) の下で、例えば、販売されているような形で投与することができる。ピラセタムは、例えば商標 Cerebroforte (商標) の下で、例えば、販売されているような形で投与することができる。ペンチフィリンは、例えば商標 Cosaldon (商標) の下で、例えば、販売されているような形で投与することができる。ピリチノールは、例えば商標 Encephabol (商標) の下で、例えば、販売されているような形で投与することができる。ピンボセチンは、例えば商標 Cavinton (商標) の下で、例えば、販売されているような形で投与することができる。メマンチンは、例えば商標 Axura (商標) または Namenda (商標) の下で、例えば、販売されているような形で投与することができる。

【0072】

コード番号、一般名または商標名によって同定される活性薬剤の構造は、標準概要「The Merck Index」の現行の版からまたはデータベース、例えば Patents International (例えば IMS World Publications) から得ることができる。その対応する内容は、参照によって本明細書に組み込まれる。

【0073】

したがって、本発明は、同時の、別々のまたは連続的な使用のための、特に認知症、アルツハイマー病またはそれに関連する障害を治療する方法における使用のための、本発明の組成物ならびに、活性成分が各場合において、遊離型または薬学的に許容され得る塩の形で存在する、向知性植物抽出物、カルシウムアンタゴニスト、コリンエステラーゼ阻害剤、ジヒドロエルゴトキシン、ニセルゴリン、ピラセタム、プリン誘導体、ピリチノール、ピンカミンおよびピンボセチンまたはメマンチンから成る群から選択される少なくとも1つの向知性薬、ならびに任意選択で少なくとも1つの薬学的に許容され得る担体を含む組合せ物にも関する。

【0074】

かかる組合せ物は、組合せ調製物とすることができる。

【0075】

本発明の組成物と組み合わせて、他の薬剤、例えば：SSRI、SNRI、NRIなどの抗うつ薬、リスペリドンなどの抗精神病薬、インスリンまたはメトホルミンなどの抗糖尿病治療薬、セレギリン、ビタミンEなどの抗酸化治療薬、NSAIDなどの抗炎症治療薬、スタチンなどの脂質低下剤、エストロゲンなどのホルモン置換剤、Aベータセクレターゼ阻害剤などのアミロイド低下薬 (amyloid lowering agent)、ベータ-シートブロッカー (beta-sheet blocker) などの凝集阻害剤、キレート剤、グラチラマー酢酸塩などの

免疫調節薬を使用することができる。

【0076】

「組合せ調製物」という用語は、本明細書では、上述で定義したような活性成分は、独立してまたは成分の識別された量を有する異なる固定された組合せの使用によって、すなわち、同時にまたは異なる時点で投薬することができるという意味で、特に「部分のキット」(kit of parts)を定義する。その場合、キットの部分は、例えば、部分のキットの任意の部分に関して、同時にまたは経時的にずらして、すなわち異なる時点でかつ同じまたは異なる時間間隔で投与することができる。好ましくは、時間間隔は、部分の組み合わせた使用において治療される疾患に及ぼす効果が、活性成分の任意の1つのみの使用によって得られるであろう効果より大きいように選択する。

10

【0077】

したがって、本発明は、

- ・療法における使用のための、本明細書で開示するような組合せ物、
 - ・アルツハイマー病または認知症などのアルツハイマー病に関連する障害、特にアルツハイマー病の、例えばその疾患の初期での予防および/または治療のための医薬の調製のための、本明細書で開示するような組合せ物の使用、
 - ・本明細書で開示するような組合せを、アルツハイマー病または認知症などのアルツハイマー病に関連する障害、特にアルツハイマー病の、例えばその疾患の初期での予防および/または治療における、その同時の、別々のまたは連続的な使用に関する説明書と一緒に含むコマーシャルパッケージ
- も提供する。

20

【0078】

一実施形態において、本発明は、(b)組合せパートナーと組み合わせた、(a)本発明の組成物を提供する。本発明の一実施形態において、組合せパートナー(b)は、コリンエステラーゼ阻害剤、特にリバステグミン、またはメマンチンである。

【0079】

組合せパートナーを、別々の剤形として投与する場合、投与用量および投与形態は、添付文書において提供するように適用することができる。特に、組合せパートナー(b)の以下の用量を、患者に投与することができる。シンナリジンは、1日の総用量が約75から約150mgの間で、患者に投与することができる。

30

【0080】

ニモジピンは、1日の総用量が約60から約120mgの間で、患者に投与することができる。

【0081】

ドネベジル塩酸塩は、1日の総用量が約5mgから10mgの間で、患者に投与することができる。

【0082】

リバステグミンは、1日の総用量が約2から約20mg、例えば約4から約18mg、例えば約6から約12mgの間で、患者に投与することができる。

【0083】

ガラントミンは、1日の総用量が約12から24mgの間で、例えば12mgを1日2回、患者に投与することができる。

40

【0084】

ジヒドロエルゴトキシンは、そのメタンスルホン酸塩の形で、1日の総用量が約4mgから10mgの間で、例えば約8mg、患者に投与することができる。

【0085】

ニセルゴリンは、その酒石酸塩の形で、筋肉内注射によって、1日の総用量が約4mgから8mgの間で、患者に投与することができる。

【0086】

ピラセタムは、1日の総用量が約1200から5000mgの間で、例えば4800mg

50

g / 日、患者に投与することができる。

【 0 0 8 7 】

ベンチフィリンは、1日の総用量が約400から800mgの間で、患者に投与することができる。

【 0 0 8 8 】

ピリチノールは、その塩酸塩の形で、1日の総用量が約600mgで、患者に投与することができる。

【 0 0 8 9 】

ピンボセチンは、1日の総用量が約10から15mgの間で、患者に投与することができる。

【 0 0 9 0 】

メマンチンは、メマンチン塩酸塩の形で、1日の総用量が約20mgで、患者に投与することができる。

【 0 0 9 1 】

本発明は、本発明の組成物、ワクチンまたは組合せ物を含有する容器も提供する。容器は、ガラスまたはプラスチック製とすることができる。容器は、滅菌アクセスポート (sterile access port) を有することができる。本発明の範囲内に含まれる、適した容器は、ピン、バイアル、シリンジおよび試験管を含む。

【 0 0 9 2 】

一般

「含む (含有する) (comprising)」という用語は、「含む (including)」および「から成る (consisting)」を意味し、例えばXを「含む (含有する) (comprising)」組成物は、Xのみから成ることもあれば、追加の何か、例えばX + Yを含むこともある。

【 0 0 9 3 】

数値xに関する「約 (about)」という用語は、例えば、 $x + 10\%$ を意味する。

【 0 0 9 4 】

本発明を完全に記載してきたが、本発明を、以下の実施例および特許請求の範囲によってさらに例示するが、これらは例示的であり、さらに限定的であることを意味しない。当業者は、通常の実験のみを使用して、本明細書で記載した特定の手順の多数の均等物を認識するかまたは確かめることができるであろう。かかる均等物は、本発明および特許請求の範囲内である。

実施例

【 実施例 1 】

【 0 0 9 5 】

本発明のコンストラクトおよび水酸化アルミニウム ($Al(OH)_3$) またはMF59を含有する組成物のウサギへの筋肉内注射。

各群9匹の雌性ウサギから成る6群を、1日目 (大腿筋の上部、右後肢)、14日目 (大腿筋の上部、左後肢) および28日目 (大腿筋の下部、右後肢) に、後肢における筋肉内注射によって処置する。群1、2および3を、0.050mgの $Al(OH)_3$ (群1)、0.150mgの $Al(OH)_3$ (群2) または0.450mgの $Al(OH)_3$ (群3) と混合した150 μ gの本発明のコンストラクトで処置する。群4、5および6を、0.125mLのMF59 (群4)、0.25mLのMF59 (群5) または0.5mLのMF59 (群6) と混合した150 μ gの本発明のコンストラクトで処置する。MF59の量には、それぞれ、MF59における活性成分である、5、10.0または20.0mgのスクアレンを含めた。動物を、最後の投与から14日後に剖検する (42日目)。

【 0 0 9 6 】

以下のパラメーターを評価する：死亡率 / 生存率 (1日2回)、注射の筋肉内部位での皮膚反応 (投薬から約24および48時間後) を含めた臨床徴候 (毎日)、体重 (毎週)

10

20

30

40

50

、摂食量（週2回）、血液学的検査および臨床生化学検査（処置前の間に1回および42日目）、終結時での肉眼検査、器官重量、ならびに注射部位の病理組織診断。血清学的分析のための血液試料を採取する（処置前の間に1回ならびに20、26、34、39および42日目）。加えて、血漿の試料（処置前の間に1回および42日目）および脳脊髄液（42日目の剖検で）を採取する。

【0097】

死亡率も、臨床徴候、皮膚観察、体重（増加）、（相対的な）摂食量、血液学的および臨床生化学パラメーター、ならびに剖検所見における毒物学的に関連性のある変化も認められなかった。

【0098】

免疫原性応答は、すべての処置動物において認められる。すべての群について、試験34日目、すなわち3回目の注射から6日後に、抗Aベータおよび抗Q-ベータ（担体への応答）IgGの最大平均濃度に到達し、39日目および42日目に減少した。群6を除いて、群1から5における抗AベータIgG産生は、顕著な動物間差異を示す。抗Qベータ免疫応答は、抗Aベータ免疫応答よりも少ない動物間差異を示す。Aベータに応答しないかまたは弱く応答する動物は、逆にQベータによく応答する。試験した両方のアジュバント（すなわちAl(OH)₃またはMF59）について、抗AベータIgGの最大平均濃度は、初回と2回目の投薬の間に増加する。

【0099】

本発明のコンストラクトおよび水酸化アルミニウムで処置したウサギについて、応答は、いくつかのリンパ球性炎症を有するマクロファージ応答の発生率および重症度の用量依存的な増加から主に成る。応答は、経時的に消散し、最も早い注射（注射1日目）に続いてバックグラウンドレベルに戻る。

【0100】

本発明のコンストラクトおよびMF59で処置したウサギ（群4、5および6）について、炎症反応における発生率の用量（時間ではない）依存的な増加があるが、知見の重症度の増加は認められない。

【0101】

この試験は、アルピノのニュージーランドホワイト種雌性ウサギにおいて、水酸化アルミニウムまたはMF59と組み合わせた本発明のコンストラクトの3回の筋肉内注射は、耐容性良好であったことを示している。すべての群において、処置段階の34日目、すなわち3回目の注射から6日後に、抗Aベータおよび抗Q-ベータIgG濃度の最大平均濃度に到達し、39日目および42日目に減少する。本発明のコンストラクトおよびAl(OH)₃で処置した本発明のコンストラクト/Al(OH)₃処置群と比較して、本発明のコンストラクトおよびMF59の同時投与は、抗Aベータおよび抗QベータIgGの両方についてのわずかに高い免疫原性応答をもたらす。どちらのアジュバントの高用量も、それぞれの中間用量に勝る利点を示さない。

【実施例2】

【0102】

本発明のコンストラクトおよび水酸化アルミニウム（Al(OH)₃）またはMF59を含有する組成物のサルへの筋肉内注射。

試験の目的は、本発明のコンストラクト単独でのまたは水酸化アルミニウムもしくはMF59と組み合わせたの、少なくとも26週間にわたる老齢の雌性カニクイザル（*Cynomolgus monkey*）（*Macaca fascicularis*）への免疫化である。動物は、試験日：1日目、15日目、43日目、および140日目に投薬される。

【0103】

以下の調査を、それぞれの標本について行う：死亡率、臨床的観察（注射部位の投薬後観察を含めて）、体重、神経学的評価、神経行動学的観察、血清学的検査（抗体AベータおよびQベータ力価決定）、T細胞刺激についてのPBMC採取、プロテオミクスおよびメタボロミクス（結果 - プロテオニクスおよびメタボロニクス - 別々に報告する）、血液

10

20

30

40

50

学的検査、臨床化学的検査および尿検査、選択した器官／組織の秤量および組織学的プロセッシング（histological processing）、顕微鏡観察（アミロイド斑決定およびCSF分析のための、脳領域のIHCおよび銀染色を含めて）。

【0104】

以下の用量レベルを選択する。

【0105】

【表1】

表1 選択した用量レベル

群番号	アジュバント	群説明	用量 (mL/動物)	用量レベル (μ g/注射)	動物数/群 雄 雌	28週間後 の剖検
1	s. c	低1	0.150	150	なし 5	5
2	s. c	高1	0.400	400	なし 5	5
3	水酸化アルミニウム、 s. c	高1	0.550*	400	なし 5	5
4	MF59 i. m.	高1	0.800	400	なし 5	5

*は0.548mL/動物からの概数、s. c. :皮下、i. m. :筋肉内

【0106】

試験の実施中、評価したパラメーターのいずれにおいても、試験項目関連死または試験項目関連知見は観察されない。試験物質投与による、標的器官毒性の肉眼的または病理組織学的証拠はない。

【0107】

剖検での所見は、カニクイザル（cynomolgus monkey）における背景病理の予期される範囲と一致する。標的器官毒性を示唆する、異常な肉眼的知見はない。

【0108】

病理組織学的知見は、一般に、老齢の雌性カニクイザル（cynomolgus monkey）における予期される背景病理と一致する。水酸化アルミニウムおよびMF59アジュバントとのならびにアジュバントなしでの本発明のコンストラクトの皮下または筋肉内投与は、老齢期の雌性カニクイザル（cynomolgus monkey）への試験の1、15、43、および140日目における150または400 μ g/日の用量レベルで、耐容性良好であり、全身性の試験項目毒性の兆候を示さない。試験の実施中、処置または用量レベル関連効果は、観察されない。

【実施例3】

【0109】

カニクイザル（cynomolgus monkey）における26週間の皮下および筋肉内注射

アジュバントと組み合わせた本発明のコンストラクトを用い、かつA1(OH)₃を使用するための皮下（s. c.）および筋肉内（i. m.）経路ならびにMF59のためのi. m.経路による、7つの臨床的免疫化を適用して、試験を行う。

【0110】

以下の調査を行う：濃度検査、臨床的観察、体重、神経学的検査、神経行動学的観察、眼の検査、心電図検査、血圧、血清学的検査（抗Aベータ/Qベータ特異的IgGの分析）、T細胞刺激についてのPBMC採取およびELISPOT分析、Aベータ分析、血液学的検査、臨床化学的検査、尿検査、免疫グロブリン決定、CSF試料採取、器官重量、剖検での肉眼検査、ならびに病理組織診断。以下の用量レベルを選択する：

【0111】

【表 2】

表 2 選択した用量レベル

群番号	アジュバント	群説明	注射体積 (mL/動物)	用量レベル (μ g/注射)	動物数/群 雄 雌	
1	s. c	Al (OH) ₃	0.77	0	3	3
2	i. m.	Al (OH) ₃	0.77	0	3	3
3	i. m.	MF59	1.2	0	3	3
4	s. c.	コンストラクト/Al (OH) ₃	0.77	600	4	4
5	i. m.	コンストラクト/Al (OH) ₃	0.77	600	4	4
6	i. m.	コンストラクト/MF59	1.2	600	4	4

10

【0112】

本試験の結果は、以下のように要約することができる。群5の動物24965Fは、下痢および重度の体重減少のために、試験の91日目に瀕死状態となり屠殺する。91日目における血液学的評価は、ヘマトクリット値のわずかな低減および単球のわずかな増加を示す。臨床化学的検査は、血中尿素および不均衡な電解質の中程度の増加ならびに総タンパク質、アルブミン、およびグロブリンの低減を示す。この著しく衰弱した動物の剖検での重要な知見は、盲腸および結腸における赤い粘膜変色と関連する大腸の異常な半流動体の内容物である。

20

【0113】

病理組織学的に、大腸の半流動体の内容物と関連するように、わずか（結腸）および中程度の（盲腸）陰窩微小膿瘍が同定される。これは、回腸の中程度の絨毛萎縮を伴う。いくつかの他の知見は、長期間にわたり食物摂取量が低減した動物の障害された状態を示している。これらの知見は、1匹の動物においてのみ観察されるため、それらは、偶発的であるとみなされ、試験項目/水酸化アルミニウムの組合せでの処置に関連していない。

【0114】

皮下注射後、膨張および紅斑を含めた重度の変化が、Al (OH)₃と組み合わせた本発明のコンストラクト（600 μ g / 注射）を投与した動物（群4）における注射部位で見られる。同様であるが、重度が低い知見が、Al (OH)₃のみを与える対照群（群1）において見られる。膨張および紅斑は、Al (OH)₃と組み合わせた本発明のコンストラクト（600 μ g / 注射）の筋肉投与後にも見られるが（群5）、これも重度は低い。

30

【0115】

本発明のコンストラクトまたはアジュバントMF59もしくはAl (OH)₃または任意の組合せに関連するであろう他の知見は、生きている段階中、観察されない。

【0116】

すべての動物は、本発明のコンストラクトで処置後、AベータおよびQベータIgG抗体応答を実証する。Aベータ抗体力価は、1つの例外（群3、動物24886、152日目：9.3ユニット）を除いて、対照群において観察されない。対照群におけるQベータ抗体力価は、大部分の場合において、定量化の限界未満である。しかしながら、252のうち12の試料において、LLOQを超える値が測定される（群1において6；群2において1；群3において5）。群4および5において、Qベータ力価が、16の投薬前試料のうち4つ（群4において2；群5において2）において測定される。これらのQベータ値（対照群1から3からまたは投薬前試料（群4から6）からの）の範囲は、群4、5、および6において本発明のコンストラクトで処置後に観察される値（すべての動物は、少なくとも1つの841.7ユニット以上の投薬後Qベータ力価値を有した）と比較して、非常に低い（範囲：1.0から3.4ユニット）。一般に、抗体力価の大きな増加は、3回目の注射およびその次の注射後に観察される：AベータおよびQベータIgG特性は、

40

50

本発明のコンストラクトで処置したすべての群において非常に似ている。水酸化アルミニウムの添加は、MF59の添加よりも、わずかに高いAベータ力価を誘発する。効果は、Qベータ力価を考慮した場合、より明白である。本発明のコンストラクト+水酸化アルミニウムの投与の形態(s.c.またはi.m.)は、AベータおよびQベータ免疫応答への影響がほとんどない。ELISPOTアッセイは、Qベータ特異的T細胞の誘発された増殖を検出する一方で、データは、Aベータ特異的T細胞の増殖がないことを示している。

【0117】

群1、2、4、および5(A1(OH)₃または本発明のコンストラクト/A1(OH)₃の組合せを施した)の注射部位で病理組織学的に見られる変化は、重度が異なる組織球増殖症および亜急性炎症を含んだ。液化壊死は、群4および5(それぞれ、s.c.およびi.m.での本発明のコンストラクト/A1(OH)₃の組合せ)におけるより大きい組織球蓄積の中心において見られる。似た外見の組織球のクラスターが、群4および5の単一の動物において、流入領域リンパ節(群4において腋、群5において鼠径部)において生じる。群6(本発明のコンストラクト/MF59)の注射部位で、3匹の雄において最小から中程度の亜急性炎症ならびに3匹の雌において最小およびわずかな亜急性炎症が観察される。

【0118】

結論として、A1(OH)₃と組み合わせた試験項目(本発明のコンストラクト)の皮下および筋肉内投与は、局所的な膨張および紅斑をもたらす。病理組織学的に、組織球増殖症および亜急性炎症ならびに流入領域リンパ節における液化壊死および組織球のクラスターが観察される。

【0119】

アジュバントA1(OH)₃の投与も、注射部位での膨張、紅斑、組織球増殖症および亜急性炎症をもたらすが、重度は低い。したがって、試験項目は、A1(OH)₃と組み合わせて投与する場合、これらの知見に寄与すると結論づけることができる。

【0120】

MF59と組み合わせた試験項目の投与は、亜急性炎症のみと関連しており、これは、対応する対照群(群3)において見られなかった。

【実施例4】

【0121】

本発明のコンストラクトの頻回の筋肉内注射を用いた、アルツハイマー病を有する患者における、90週間無作為化二重盲検プラセボ対照試験

患者は、85歳以下であり、20から26(両端を含む)のミニメンタルステート検査(MMSE)得点によって確認されるような軽度のADを有する。患者は、処置しないか、または臨床評価に先立って、直近4週間にわたり、コリンエステラーゼ阻害剤またはメマンチンを安定的に投薬する。患者を無作為抽出し、アジュバント化した本発明のコンストラクトまたはプラセボの頻回の筋肉内注射を施す。第1の患者のプールは、150μgの本発明のコンストラクトおよび、150μgの水酸化アルミニウム、50μgの水酸化アルミニウム、250μlのMF59、または125μlのMF59のいずれかの頻回の筋肉内注射を受ける。第2の患者のプールは、450μgの本発明のコンストラクトおよび、150μgの水酸化アルミニウム、450μgの水酸化アルミニウム、125μlのMF59、または250μlのMF59のいずれかの頻回の筋肉内注射を受ける。第3の患者のプールは、150μgの水酸化アルミニウム、450μgの水酸化アルミニウム、125μlのMF59、または250μlのMF59のいずれかを含有するプラセボの頻回の筋肉内注射を受ける。

【0122】

投薬は、0、6、12週間目、次いで24、36、48および60週間目に行う。

【0123】

水酸化アルミニウムは、バルク懸濁液(15g/LのA1(OH)₃)をNaCl溶液

10

20

30

40

50

で希釈することによって製造する。懸濁液の最終組成は、 2.7 mg/ml の $\text{Al}(\text{OH})_3$ 、 9 mg/ml の NaCl pH 5.9 (pH 5.5 ~ 7.5)である。均質な懸濁液を、 2 ml のバイアル中に充填し、ゴム栓で密封し、無菌性のためにオートクレープし、 $2 \sim 8$ で保管する。

【0124】

MF59の場合、バルク物質を、無菌的に 3 ml のバイアル中に充填し、栓で密封し、光から保護して $2 \sim 8$ で保管する。

【0125】

本発明のコンストラクトを、投与に先立って、アジュバントと混合する。

【0126】

安全性評価は、一般的な理学的検査、神経学的検査、12誘導心電図(ECG)、生命徴候、標準臨床実験室評価(standard clinical laboratory evaluation)(血液学的検査、血液化学的検査、尿検査)、血液および脳脊髄液(CSF)における特殊免疫学的実験室評価(special immunological laboratory evaluation)、脳の磁気共鳴画像法(MRI)、ならびに有害事象および重篤有害事象モニタリングを含む。

【0127】

A抗体応答は、ELISA法を使用した、血清およびCSFにおけるA抗体力価(IgGおよびIgM)の決定によって測定する。血清およびCSFにおけるエキソピボでのA抗体結合特性は、ヒトおよび - アミロイド前駆体タンパク質(APP)トランスジェニックマウス脳組織における免疫学的方法によって探索する。Aに対する免疫応答に関して、血清におけるVLP抗体力価応答を測定し、担体化合物に対する免疫応答を調査する。

【0128】

探索的な薬力学的評価は、以下の評価を含む：1)CSF(Aペプチドおよびそのアイソフォーム、タウタンパク質およびそのアイソフォーム、リン酸化タウ)および血漿(Aペプチドおよびアイソフォーム)における疾患関連マーカーの決定；2)容積測定MRI、ならびに3)アルツハイマー病評価スケール(Alzheimers disease Assessment Scale)(ADAS)-認知サブスケール、ミニメンタルステート検査(MMSE)、臨床的認知症尺度(CDR)およびアルツハイマー病共同研究-日常生活動作(Alzheimer's disease Cooperative Study-Activities of Daily Living)(ADCS-ADL)。

【0129】

応答者は、ベースラインを超えたA特異的抗体力価の著しい増加を示す患者として定義する。A特異的抗体力価は、標準物質としての標準血清と比較して特異的な抗体を検出する、検証された酵素結合免疫吸着検定法(ELISA)アッセイにおける、定量化の下限値(LLoQ)を超えた力価として定義する。

10

20

30

フロントページの続き

- (72)発明者 ウルリッチ ペーター
スイス国 シーエイチ 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッチ, ノバルティス ファーマ アーゲー
- (72)発明者 ベアー, カチャ
スイス国 シーエイチ 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッチ, ノバルティス ファーマ アーゲー
- (72)発明者 イムベルト, ジョージ
スイス国 シーエイチ 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッチ, ノバルティス ファーマ アーゲー
- (72)発明者 ホエリンガー, マリー ホセ
スイス国 シーエイチ 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッチ, ノバルティス ファーマ アーゲー
- (72)発明者 リビエール, マリー エマニュエル
スイス国 シーエイチ 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッチ, ノバルティス ファーマ アーゲー
- (72)発明者 グラフ, アナ
スイス国 シーエイチ 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッチ, ノバルティス ファーマ アーゲー

審査官 上條 のぶよ

- (56)参考文献 特表2005-539025(JP, A)
中国特許出願公開第1456353(CN, A)
中国特許出願公開第101318015(CN, A)
特表2008-513035(JP, A)
特表2002-516291(JP, A)
特表平11-505824(JP, A)
特表2002-509545(JP, A)
特表2008-515954(JP, A)
Chinese Journal of Clinical Rehabilitation, 2005年, Vol.9, No.13, p.184-186
The Journal of Gene Medicine, 2007年, Vol.9, p.88-98

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 39/00-44
A61K 45/00-08
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)