

(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2015-526409

(P2015-526409A)

(43) 公表日 平成27年9月10日 (2015.9.10)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	Z N A N 4 C O 8 5
C O 7 K 16/46 (2006.01)	C O 7 K 16/46	4 H O 4 5
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 25/08 (2006.01)	A 6 1 P 25/08	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 65 頁)

(21) 出願番号	特願2015-520289 (P2015-520289)	(71) 出願人	510020022 ヤンセン・サイエンシズ・アイルランド・ユーシー アイルランド国コーク州リトル・アイランド、イーストゲート、イーストゲート・ビレッジ
(86) (22) 出願日	平成25年6月18日 (2013.6.18)	(71) 出願人	309040701 ワイス・エルエルシー アメリカ合衆国10017ニューヨーク州ニューヨーク市 イースト・フォーティセカンド・ストリート235
(85) 翻訳文提出日	平成27年2月10日 (2015.2.10)	(74) 代理人	110000741 特許業務法人小田島特許事務所
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/046399		
(87) 国際公開番号	W02014/007982		
(87) 国際公開日	平成26年1月9日 (2014.1.9)		
(31) 優先権主張番号	61/667, 891		
(32) 優先日	平成24年7月3日 (2012.7.3)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

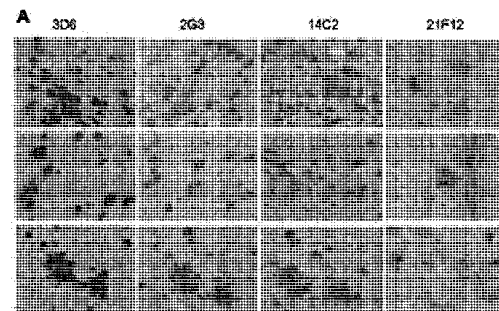
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 C-末端及び中心エピトープ A-ペプタ抗体

(57) 【要約】

本発明は、拡散斑に比較して優先的に密集斑に結合する、AβのC-末端及び中心エピトープに向けられた抗体を提供する。本発明は、Aβの密集斑の存在及び関連する症状の軽減又は除去のための患者の処置方法も提供する。1つの側面において、本発明は中期又は後期アルツハイマー病と診断された患者の処置方法を提供し、それはAβの残基12-43内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して密集斑に優先的に結合する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる。いくつかの場合に、患者は中期アルツハイマー病と診断されている。いくつかの場合に、患者は後期アルツハイマー病と診断されている。

【選択図】図1A



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

中期又は後期アルツハイマー病と診断された患者の処置方法であって、 $A\beta$ の残基 12 - 43 内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して密集斑に優先的に結合する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる方法。

【請求項 2】

患者が中期アルツハイマー病と診断されている請求項 1 の方法。

【請求項 3】

患者が後期アルツハイマー病と診断されている請求項 1 の方法。

【請求項 4】

抗体が $A\beta$ の中心エピトープに関する特異性を有する請求項 1 の方法。

【請求項 5】

抗体が 266 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、15C11 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは 22D12 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項 4 の方法。

【請求項 6】

抗体が：3つの軽鎖可変領域相補性決定領域 (CDRs) 及び3つの重鎖可変領域 CDRs を含み、ここで CDR L1 は配列番号：4 のアミノ酸配列を含み、CDR L2 は配列番号：5 のアミノ酸配列を含み、CDR L3 は配列番号：6 のアミノ酸配列を含み、CDR H1 は配列番号：7 のアミノ酸配列を含み、CDR H2 は配列番号：8 のアミノ酸配列を含み、CDR H3 は配列番号：9 のアミノ酸配列を含む請求項 5 の方法。

【請求項 7】

抗体が：3つの軽鎖可変領域 CDRs 及び3つの重鎖可変領域 CDRs を含み、ここで CDR L1 は配列番号：14 の残基 24 - 39 のアミノ酸配列を含み、CDR L2 は配列番号：14 の残基 55 - 61 のアミノ酸配列を含み、CDR L3 は配列番号：14 の残基 94 - 101 のアミノ酸配列を含み、CDR H1 は配列番号：15 の残基 26 - 35 のアミノ酸配列を含み、CDR H2 は配列番号：15 の残基 50 - 66 のアミノ酸配列を含み、CDR H3 は配列番号：15 の残基 99 - 101 のアミノ酸配列を含む請求項 5 の方法。

【請求項 8】

抗体が：22D12 の3つの軽鎖可変領域 CDRs 及び22D12 の3つの重鎖可変領域 CDRs を含む請求項 5 の方法。

【請求項 9】

抗体が $A\beta$ の C - 末端エピトープに関する特異性を有する請求項 1 の方法。

【請求項 10】

抗体が 2G3 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、14C2 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは 21F12 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項 9 の方法。

【請求項 11】

抗体が：2G3 の3つの軽鎖可変領域相補性決定領域 (CDRs) 及び2G3 の3つの重鎖可変領域 CDRs を含む請求項 10 の方法。

【請求項 12】

抗体が：14C2 の3つの軽鎖可変領域 CDRs 及び14C2 の3つの重鎖可変領域 CDRs を含む請求項 10 の方法。

【請求項 13】

抗体が：3つの軽鎖可変領域 CDRs 及び3つの重鎖可変領域 CDRs を含み、ここで CDR L1 は配列番号：3 の残基 24 - 39 のアミノ酸配列を含み、CDR L2 は配列番号：3 の残基 55 - 61 のアミノ酸配列を含み、CDR L3 は配列番号：3 の残基 94 - 102 のアミノ酸配列を含み、CDR H1 は配列番号：2 の残基 26 - 35 のアミノ酸配列を含み、CDR H2 は配列番号：2 の残基 50 - 66 のアミノ酸配列を含み

10

20

30

40

50

、C D R H 3 は配列番号：2 の残基 9 9 - 1 0 6 のアミノ酸配列を含む請求項 1 0 の方法。

【請求項 1 4】

抗体がキメラ抗体又はヒト化抗体である請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 つの方法。

【請求項 1 5】

抗体がヒト化抗体である請求項 1 4 の方法。

【請求項 1 6】

抗体が I g G 1 サブタイプのものである請求項 1 4 の方法。

【請求項 1 7】

アルツハイマー病と診断され、且つ斑全体に対して拡散斑より高い密集斑の割合を有する患者の処置方法であって、A β の残基 1 2 - 4 3 内のエピトープに結合し、且つ拡散斑と比較して密集斑に優先的に結合する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる方法。

10

【請求項 1 8】

密集斑の割合が斑全体の少なくとも 4 0 % である請求項 1 7 の方法。

【請求項 1 9】

斑全体に対する密集斑及び拡散斑の割合を、陽電子放出断層撮影 (P E T) 走査により決定する請求項 1 7 の方法。

【請求項 2 0】

P E T 走査が [^{18}F] A V - 1 4 、 [^{18}F] A V - 1 4 4 、 [^{11}C] A Z D 2 9 9 5 、 [^{18}F] A Z D 4 6 9 4 及び [^{18}F] - S M I B R - W 3 7 2 より成る群から選ばれる P E T リガンドの検出を含む請求項 1 9 の方法。

20

【請求項 2 1】

抗体が A β の中心エピトープに関する特異性を有する請求項 1 7 の方法。

【請求項 2 2】

抗体が 2 6 6 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、1 5 C 1 1 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは 2 2 D 1 2 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項 2 1 の方法。

【請求項 2 3】

抗体が：3つの軽鎖可変領域相補性決定領域 (C D R s) 及び3つの重鎖可変領域 C D R s を含み、ここで C D R L 1 は配列番号：4 のアミノ酸配列を含み、C D R L 2 は配列番号：5 のアミノ酸配列を含み、C D R L 3 は配列番号：6 のアミノ酸配列を含み、C D R H 1 は配列番号：7 のアミノ酸配列を含み、C D R H 2 は配列番号：8 のアミノ酸配列を含み、C D R H 3 は配列番号：9 のアミノ酸配列を含む請求項 2 2 の方法。

30

【請求項 2 4】

抗体が：3つの軽鎖可変領域 C D R s 及び3つの重鎖可変領域 C D R s を含み、ここで C D R L 1 は配列番号：1 4 の残基 2 4 - 3 9 のアミノ酸配列を含み、C D R L 2 は配列番号：1 4 の残基 5 5 - 6 1 のアミノ酸配列を含み、C D R L 3 は配列番号：1 4 の残基 9 4 - 1 0 1 のアミノ酸配列を含み、C D R H 1 は配列番号：1 5 の残基 2 6 - 3 5 のアミノ酸配列を含み、C D R H 2 は配列番号：1 5 の残基 5 0 - 6 6 のアミノ酸配列を含み、C D R H 3 は配列番号：1 5 の残基 9 9 - 1 0 1 のアミノ酸配列を含む請求項 2 2 の方法。

40

【請求項 2 5】

抗体が：2 2 D 1 2 の3つの軽鎖可変領域 C D R s 及び2 2 D 1 2 の3つの重鎖可変領域 C D R s を含む請求項 2 2 の方法。

【請求項 2 6】

抗体が A β の C - 末端エピトープに関する特異性を有する請求項 1 7 の方法。

【請求項 2 7】

抗体が 2 G 3 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、1 4 C 2 抗体

50

又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは 2 1 F 1 2 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項 2 6 の方法。

【請求項 2 8】

抗体が：2 G 3 の 3 つの軽鎖可変領域相補性決定領域 (C D R s) 及び 2 G 3 の 3 つの重鎖可変領域 C D R s を含む請求項 2 7 の方法。

【請求項 2 9】

抗体が：1 4 C 2 の 3 つの軽鎖可変領域 C D R s 及び 1 4 C 2 の 3 つの重鎖可変領域 C D R s を含む請求項 2 7 の方法。

【請求項 3 0】

抗体が：3 つの軽鎖可変領域 C D R s 及び 3 つの重鎖可変領域 C D R s を含み、ここで C D R L 1 は配列番号：3 の残基 2 4 - 3 9 のアミノ酸配列を含み、C D R L 2 は配列番号：3 の残基 5 5 - 6 1 のアミノ酸配列を含み、C D R L 3 は配列番号：3 の残基 9 4 - 1 0 2 のアミノ酸配列を含み、C D R H 1 は配列番号：2 の残基 2 6 - 3 5 のアミノ酸配列を含み、C D R H 2 は配列番号：2 の残基 5 0 - 6 6 のアミノ酸配列を含み、C D R H 3 は配列番号：2 の残基 9 9 - 1 0 6 のアミノ酸配列を含む請求項 2 7 の方法。

10

【請求項 3 1】

抗体がキメラ抗体又はヒト化抗体である請求項 1 7 ~ 3 0 のいずれか 1 つの方法。

【請求項 3 2】

抗体がヒト化抗体である請求項 3 1 の方法。

20

【請求項 3 3】

抗体が I g G 1 サブタイプのものである請求項 3 1 の方法。

【請求項 3 4】

アルツハイマー病と診断され、且つてんかん発作の症状を有する患者の処置方法であって、A β の残基 1 2 - 4 3 内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して優先的に密集斑に結合する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる方法。

【請求項 3 5】

全体的なアミロイド斑負荷量及びてんかん発作の症状が減少する請求項 3 4 の方法。

【請求項 3 6】

抗体が β - アミロイドの中心エピトープに関する特異性を有する請求項 3 4 の方法。

30

【請求項 3 7】

抗体が 2 6 6 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、1 5 C 1 1 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは 2 2 D 1 2 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項 3 6 の方法。

【請求項 3 8】

抗体が：3 つの軽鎖可変領域相補性決定領域 (C D R s) 及び 3 つの重鎖可変領域 C D R s を含み、ここで C D R L 1 は配列番号：4 のアミノ酸配列を含み、C D R L 2 は配列番号：5 のアミノ酸配列を含み、C D R L 3 は配列番号：6 のアミノ酸配列を含み、C D R H 1 は配列番号：7 のアミノ酸配列を含み、C D R H 2 は配列番号：8 のアミノ酸配列を含み、C D R H 3 は配列番号：9 のアミノ酸配列を含む請求項 3 7 の方法。

40

【請求項 3 9】

抗体が：3 つの軽鎖可変領域 C D R s 及び 3 つの重鎖可変領域 C D R s を含み、ここで C D R L 1 は配列番号：1 4 の残基 2 4 - 3 9 のアミノ酸配列を含み、C D R L 2 は配列番号：1 4 の残基 5 5 - 6 1 のアミノ酸配列を含み、C D R L 3 は配列番号：1 4 の残基 9 4 - 1 0 1 のアミノ酸配列を含み、C D R H 1 は配列番号：1 5 の残基 2 6 - 3 5 のアミノ酸配列を含み、C D R H 2 は配列番号：1 5 の残基 5 0 - 6 6 のアミノ酸配列を含み、C D R H 3 は配列番号：1 5 の残基 9 9 - 1 0 1 のアミノ酸配列を含む請求項 3 7 の方法。

【請求項 4 0】

50

抗体が：２２Ｄ１２の３つの軽鎖可変領域ＣＤＲｓ及び２２Ｄ１２の３つの重鎖可変領域ＣＤＲｓを含む請求項３７の方法。

【請求項４１】

抗体がＡβのＣ－末端エピトープに関する特異性を有する請求項３４の方法。

【請求項４２】

抗体が２Ｇ３抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、１４Ｃ２抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは２１Ｆ１２抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項４１の方法。

【請求項４３】

抗体が：２Ｇ３の３つの軽鎖可変領域相補性決定領域（ＣＤＲｓ）及び２Ｇ３の３つの重鎖可変領域ＣＤＲｓを含む請求項４２の方法。

10

【請求項４４】

抗体が：１４Ｃ２の３つの軽鎖可変領域ＣＤＲｓ及び１４Ｃ２の３つの重鎖可変領域ＣＤＲｓを含む請求項４２の方法。

【請求項４５】

抗体が：３つの軽鎖可変領域ＣＤＲｓ及び３つの重鎖可変領域ＣＤＲｓを含み、ここでＣＤＲ　Ｌ１は配列番号：３の残基２４－３９のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｌ２は配列番号：３の残基５５－６１のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｌ３は配列番号：３の残基９４－１０２のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｈ１は配列番号：２の残基２６－３５のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｈ２は配列番号：２の残基５０－６６のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｈ３は配列番号：２の残基９９－１０６のアミノ酸配列を含む請求項４２の方法。

20

【請求項４６】

抗体がキメラ抗体又はヒト化抗体である請求項３４～４５のいずれか１つの方法。

【請求項４７】

抗体がヒト化抗体である請求項４６の方法。

【請求項４８】

抗体がＩｇＧ１サブタイプのものである請求項４６の方法。

【請求項４９】

アルツハイマー病と診断された患者の処置方法であって：

30

（ａ）拡散斑に比較して優先的に密集斑に結合する抗体の有効な療法を患者に施し、ここで抗体はＡβの中心又はＣ－末端エピトープに関する特異性を有し；そして

（ｂ）ＰＥＴ走査を用いて患者の脳内の密集斑の１つもしくはそれより多くの特質を監視する

ことを含んでなる方法。

【請求項５０】

密集斑の１つもしくはそれより多くの特質を、放射性トレーサーＰｉＢを用いて同定する請求項４９の方法。

【請求項５１】

１つもしくはそれより多くの特質が、１つもしくはそれより多くの密集斑の寸法における前回のＰＥＴ走査に対する減少を含む請求項４９の方法。

40

【請求項５２】

抗体がＡβの中心エピトープに関する特異性を有する請求項４９の方法。

【請求項５３】

抗体が２６６抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、１５Ｃ１１抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは２２Ｄ１２抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項５２の方法。

【請求項５４】

抗体が：３つの軽鎖可変領域相補性決定領域（ＣＤＲｓ）及び３つの重鎖可変領域ＣＤＲｓを含み、ここでＣＤＲ　Ｌ１は配列番号：４のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｌ２は

50

配列番号：５のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｌ３は配列番号：６のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｈ１は配列番号：７のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｈ２は配列番号：８のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｈ３は配列番号：９のアミノ酸配列を含む請求項５３の方法。

【請求項５５】

抗体が：３つの軽鎖可変領域ＣＤＲｓ及び３つの重鎖可変領域ＣＤＲｓを含み、ここでＣＤＲ　Ｌ１は配列番号：１４の残基２４－３９のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｌ２は配列番号：１４の残基５５－６１のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｌ３は配列番号：１４の残基９４－１０１のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｈ１は配列番号：１５の残基２６－３５のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｈ２は配列番号：１５の残基５０－６６のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｈ３は配列番号：１５の残基９９－１０１のアミノ酸配列を含む請求項５３の方法。

10

【請求項５６】

抗体が：２２Ｄ１２の３つの軽鎖可変領域ＣＤＲｓ及び２２Ｄ１２の３つの重鎖可変領域ＣＤＲｓを含む請求項５３の方法。

【請求項５７】

抗体がＡβのＣ－末端エピトープに関する特異性を有する請求項４９の方法。

【請求項５８】

抗体が２Ｇ３抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、１４Ｃ２抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは２１Ｆ１２抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項５７の方法。

20

【請求項５９】

抗体が：２Ｇ３の３つの軽鎖可変領域相補性決定領域（ＣＤＲｓ）及び２Ｇ３の３つの重鎖可変領域ＣＤＲｓを含む請求項５８の方法。

【請求項６０】

抗体が：１４Ｃ２の３つの軽鎖可変領域ＣＤＲｓ及び１４Ｃ２の３つの重鎖可変領域ＣＤＲｓを含む請求項５８の方法。

【請求項６１】

抗体が：３つの軽鎖可変領域ＣＤＲｓ及び３つの重鎖可変領域ＣＤＲｓを含み、ここでＣＤＲ　Ｌ１は配列番号：３の残基２４－３９のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｌ２は配列番号：３の残基５５－６１のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｌ３は配列番号：３の残基９４－１０２のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｈ１は配列番号：２の残基２６－３５のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｈ２は配列番号：２の残基５０－６６のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ　Ｈ３は配列番号：２の残基９９－１０６のアミノ酸配列を含む請求項５８の方法。

30

【請求項６２】

抗体がキメラ抗体又はヒト化抗体である請求項４９～６１のいずれか１つの方法。

【請求項６３】

抗体がヒト化抗体である請求項６２の方法。

【請求項６４】

抗体がＩｇＧ１サブタイプのものである請求項６２の方法。

40

【請求項６５】

ＡβのＮ－末端エピトープに関する特異性を有する抗体を用いて以前に処置されたことがある、アルツハイマー病と診断された患者の処置方法であって、Ａβの残基１２－４３内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して優先的に密集斑に結合する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる方法。

【請求項６６】

患者の斑全体に対する密集斑の割合が、ＡβのＮ－末端エピトープに関して特異的な抗体を用いる以前の処置の間に増加した請求項６５の方法。

【請求項６７】

50

抗体が A β の中心エピトープに関する特異性を有する請求項 6 5 の方法。

【請求項 6 8】

抗体が 2 6 6 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、1 5 C 1 1 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは 2 2 D 1 2 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項 6 7 の方法。

【請求項 6 9】

抗体が：3つの軽鎖可変領域相補性決定領域 (C D R s) 及び3つの重鎖可変領域 C D R s を含み、ここで C D R L 1 は配列番号：4のアミノ酸配列を含み、C D R L 2 は配列番号：5のアミノ酸配列を含み、C D R L 3 は配列番号：6のアミノ酸配列を含み、C D R H 1 は配列番号：7のアミノ酸配列を含み、C D R H 2 は配列番号：8のアミノ酸配列を含み、C D R H 3 は配列番号：9のアミノ酸配列を含む請求項 6 8 の方法。

10

【請求項 7 0】

抗体が：3つの軽鎖可変領域 C D R s 及び3つの重鎖可変領域 C D R s を含み、ここで C D R L 1 は配列番号：14の残基 2 4 - 3 9 のアミノ酸配列を含み、C D R L 2 は配列番号：14の残基 5 5 - 6 1 のアミノ酸配列を含み、C D R L 3 は配列番号：14の残基 9 4 - 1 0 1 のアミノ酸配列を含み、C D R H 1 は配列番号：15の残基 2 6 - 3 5 のアミノ酸配列を含み、C D R H 2 は配列番号：15の残基 5 0 - 6 6 のアミノ酸配列を含み、C D R H 3 は配列番号：15の残基 9 9 - 1 0 1 のアミノ酸配列を含む請求項 6 8 の方法。

20

【請求項 7 1】

抗体が：2 2 D 1 2 の3つの軽鎖可変領域 C D R s 及び2 2 D 1 2 の3つの重鎖可変領域 C D R s を含む請求項 6 8 の方法。

【請求項 7 2】

抗体が A β の C - 末端エピトープに関する特異性を有する請求項 6 5 の方法。

【請求項 7 3】

抗体が 2 G 3 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、1 4 C 2 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは 2 1 F 1 2 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項 7 2 の方法。

【請求項 7 4】

抗体が：2 G 3 の3つの軽鎖可変領域相補性決定領域 (C D R s) 及び2 G 3 の3つの重鎖可変領域 C D R s を含む請求項 7 3 の方法。

30

【請求項 7 5】

抗体が：1 4 C 2 の3つの軽鎖可変領域 C D R s 及び1 4 C 2 の3つの重鎖可変領域 C D R s を含む請求項 7 3 の方法。

【請求項 7 6】

抗体が：3つの軽鎖可変領域 C D R s 及び3つの重鎖可変領域 C D R s を含み、ここで C D R L 1 は配列番号：3の残基 2 4 - 3 9 のアミノ酸配列を含み、C D R L 2 は配列番号：3の残基 5 5 - 6 1 のアミノ酸配列を含み、C D R L 3 は配列番号：3の残基 9 4 - 1 0 2 のアミノ酸配列を含み、C D R H 1 は配列番号：2の残基 2 6 - 3 5 のアミノ酸配列を含み、C D R H 2 は配列番号：2の残基 5 0 - 6 6 のアミノ酸配列を含み、C D R H 3 は配列番号：2の残基 9 9 - 1 0 6 のアミノ酸配列を含む請求項 7 3 の方法。

40

【請求項 7 7】

抗体がキメラ抗体又はヒト化抗体である請求項 6 5 ~ 7 6 のいずれか1つの方法。

【請求項 7 8】

抗体がヒト化抗体である請求項 7 7 の方法。

【請求項 7 9】

抗体が I g G 1 サブタイプのものである請求項 7 7 の方法。

【請求項 8 0】

50

A β の残基12-43内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して優先的に密集斑に結合する抗体を用いて以前に処置されたことがある、アルツハイマー病と診断された患者の処置方法であって、A β のN-末端エピトープに関する特異性を有する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる方法。

【請求項81】

患者の斑全体に対する拡散斑の割合が、A β の中心又はC-末端エピトープに関して特異的な抗体を用いる以前の処置の間に増加した請求項80の方法。

【請求項82】

抗体がA β の中心エピトープに関する特異性を有する請求項80の方法。

【請求項83】

抗体が266抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、15C11抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは22D12抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項82の方法。

【請求項84】

抗体が：3つの軽鎖可変領域相補性決定領域(CDRs)及び3つの重鎖可変領域CDRsを含み、ここでCDRL1は配列番号：4のアミノ酸配列を含み、CDRL2は配列番号：5のアミノ酸配列を含み、CDRL3は配列番号：6のアミノ酸配列を含み、CDRH1は配列番号：7のアミノ酸配列を含み、CDRH2は配列番号：8のアミノ酸配列を含み、CDRH3は配列番号：9のアミノ酸配列を含む請求項83の方法。

【請求項85】

抗体が：3つの軽鎖可変領域CDRs及び3つの重鎖可変領域CDRsを含み、ここでCDRL1は配列番号：14の残基24-39のアミノ酸配列を含み、CDRL2は配列番号：14の残基55-61のアミノ酸配列を含み、CDRL3は配列番号：14の残基94-101のアミノ酸配列を含み、CDRH1は配列番号：15の残基26-35のアミノ酸配列を含み、CDRH2は配列番号：15の残基50-66のアミノ酸配列を含み、CDRH3は配列番号：15の残基99-101のアミノ酸配列を含む請求項83の方法。

【請求項86】

抗体が：22D12の3つの軽鎖可変領域CDRs及び22D12の3つの重鎖可変領域CDRsを含む請求項83の方法。

【請求項87】

抗体がA β のC-末端エピトープに関する特異性を有する請求項80の方法。

【請求項88】

抗体が2G3抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、14C2抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは21F12抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項87の方法。

【請求項89】

抗体が：2G3の3つの軽鎖可変領域相補性決定領域(CDRs)及び2G3の3つの重鎖可変領域CDRsを含む請求項88の方法。

【請求項90】

抗体が：14C2の3つの軽鎖可変領域CDRs及び14C2の3つの重鎖可変領域CDRsを含む請求項88の方法。

【請求項91】

抗体が：3つの軽鎖可変領域CDRs及び3つの重鎖可変領域CDRsを含み、ここでCDRL1は配列番号：3の残基24-39のアミノ酸配列を含み、CDRL2は配列番号：3の残基55-61のアミノ酸配列を含み、CDRL3は配列番号：3の残基94-102のアミノ酸配列を含み、CDRH1は配列番号：2の残基26-35のアミノ酸配列を含み、CDRH2は配列番号：2の残基50-66のアミノ酸配列を含み、CDRH3は配列番号：2の残基99-106のアミノ酸配列を含む請求項88の方

10

20

30

40

50

法。

【請求項 9 2】

抗体がキメラ抗体又はヒト化抗体である請求項 8 0 ~ 9 1 のいずれか 1 つの方法。

【請求項 9 3】

抗体がヒト化抗体である請求項 9 2 の方法。

【請求項 9 4】

抗体が I g G 1 サブタイプのものである請求項 9 2 の方法。

【請求項 9 5】

アルツハイマー病と診断された患者の処置方法であって：

(a) A β の残基 1 2 - 4 3 内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して優先的に 10
密集斑に結合する第 1 の抗体の有効な療法を患者に施し；そして

(b) A β の N - 末端エピトープに関する特異性を有する第 2 の抗体の有効な療法を患
者に施す

ことを含んでなる方法。

【請求項 9 6】

第 1 及び第 2 の抗体を同時に投与する請求項 9 5 の方法。

【請求項 9 7】

第 2 の抗体が 3 D 6 抗体、1 2 A 1 1 抗体、1 0 D 5 抗体、1 2 B 4 抗体、6 C 6 抗体
、2 H 3 抗体又は 3 A 3 抗体、あるいはこれらの抗体のいずれか 1 つのキメラ、ヒト化又は 20
張り合わされた形態から選ばれる請求項 9 5 の方法。

【請求項 9 8】

抗体が A β の中心エピトープに関する特異性を有する請求項 9 5 の方法。

【請求項 9 9】

抗体が 2 6 6 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、1 5 C 1 1 抗
体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは 2 2 D 1 2 抗体又はその
キメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項 9 8 の方法。

【請求項 1 0 0】

抗体が：3つの軽鎖可変領域相補性決定領域 (C D R s) 及び3つの重鎖可変領域 C D
R s を含み、ここで C D R L 1 は配列番号：4のアミノ酸配列を含み、C D R L 2 は
配列番号：5のアミノ酸配列を含み、C D R L 3 は配列番号：6のアミノ酸配列を含み 30
、C D R H 1 は配列番号：7のアミノ酸配列を含み、C D R H 2 は配列番号：8のア
ミノ酸配列を含み、C D R H 3 は配列番号：9のアミノ酸配列を含む請求項 9 9 の方法
。

【請求項 1 0 1】

抗体が：3つの軽鎖可変領域 C D R s 及び3つの重鎖可変領域 C D R s を含み、ここで
C D R L 1 は配列番号：14の残基 2 4 - 3 9 のアミノ酸配列を含み、C D R L 2 は
配列番号：14の残基 5 5 - 6 1 のアミノ酸配列を含み、C D R L 3 は配列番号：14
の残基 9 4 - 1 0 1 のアミノ酸配列を含み、C D R H 1 は配列番号：15の残基 2 6 -
3 5 のアミノ酸配列を含み、C D R H 2 は配列番号：15の残基 5 0 - 6 6 のアミノ酸
配列を含み、C D R H 3 は配列番号：15の残基 9 9 - 1 0 1 のアミノ酸配列を含む請 40
求項 9 9 の方法。

【請求項 1 0 2】

抗体が：2 2 D 1 2 の3つの軽鎖可変領域 C D R s 及び2 2 D 1 2 の3つの重鎖可変領
域 C D R s を含む請求項 9 9 の方法。

【請求項 1 0 3】

抗体が A β の C - 末端エピトープに関する特異性を有する請求項 9 5 の方法。

【請求項 1 0 4】

抗体が 2 G 3 抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、1 4 C 2 抗
体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは 2 1 F 1 2 抗体又はそのキ
メラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である請求項 1 0 3 の方法。 50

【請求項 105】

抗体が：2 G 3 の3つの軽鎖可変領域相補性決定領域（C D R s）及び2 G 3 の3つの重鎖可変領域 C D R s を含む請求項 104 の方法。

【請求項 106】

抗体が：1 4 C 2 の3つの軽鎖可変領域 C D R s 及び1 4 C 2 の3つの重鎖可変領域 C D R s を含む請求項 104 の方法。

【請求項 107】

抗体が：3つの軽鎖可変領域 C D R s 及び3つの重鎖可変領域 C D R s を含み、ここで C D R L 1 は配列番号：3の残基 2 4 - 3 9 のアミノ酸配列を含み、C D R L 2 は配列番号：3の残基 5 5 - 6 1 のアミノ酸配列を含み、C D R L 3 は配列番号：3の残基 9 4 - 1 0 2 のアミノ酸配列を含み、C D R H 1 は配列番号：2の残基 2 6 - 3 5 のアミノ酸配列を含み、C D R H 2 は配列番号：2の残基 5 0 - 6 6 のアミノ酸配列を含み、C D R H 3 は配列番号：2の残基 9 9 - 1 0 6 のアミノ酸配列を含む請求項 104 の方法。

10

【請求項 108】

抗体がキメラ抗体又はヒト化抗体である請求項 95 ~ 107 のいずれか1つの方法。

【請求項 109】

抗体がヒト化抗体である請求項 108 の方法。

【請求項 110】

抗体が I g G 1 サブタイプのものである請求項 108 の方法。

20

【請求項 111】

2 G 3、1 4 C 2、2 1 F 1 2 又は 2 2 D 1 2 抗体と称される抗体のヒト化、キメラもしくはは張り合わされた形態。

【請求項 112】

2 G 3、1 4 C 2、2 1 F 1 2 又は 2 2 D 1 2 抗体の6つの K a b a t C D R s を含んでなる請求項 111 の抗体。

【請求項 113】

アルツハイマー病と診断され、且つ斑全体に対して拡散斑より高い密集斑の割合を有する患者の処置方法であって、A β の残基 1 - 1 1 内のエピトープに結合する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる方法。

30

【請求項 114】

密集斑の割合が斑全体の少なくとも 40 % である請求項 113 の方法。

【請求項 115】

斑全体に対する密集斑及び拡散斑の割合を陽電子放出断層撮影（P E T）走査により決定する請求項 113 の方法。

【請求項 116】

アルツハイマー病と診断され、且つ 1 ~ 9 の M M S E 又は 6 ~ 7 の B r a a k を有する患者の処置方法であって、A β の残基 1 2 - 4 3 内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して優先的に密集斑に結合する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願へのクロスリファレンス

本出願は、3 5 U S C 1 1 9 (e) の下に、2 0 1 2 年 7 月 3 日に申請された米国暫定特許出願第 6 1 / 6 6 7 , 8 9 1 号明細書の利益を主張し、その出願の全体は引用することにより本明細書の内容となる。

【背景技術】

【0002】

アルツハイマー病 (A D) は、老年痴呆を生ずる進行性の疾患である。一般的に非特許文献 1 ; 特許文献 1 ; 非特許文献 2 ; 非特許文献 3 ; 非特許文献 4 を参照されたい。おおまかに、疾患は 2 つの種類 : 老年 (6 5 + 才) に起こる遅発性及び老年期より十分に前に、すなわち 3 5 ~ 6 0 才に発症する若年性に分けられる。両方の型の疾患において、病理学は同じであるが、より若年に始まる場合に異常はより重症且つ広範囲である傾向がある。疾患は脳内の少なくとも 2 つの型の病変、神経原線維タングル及び老人斑により特徴付けられる。神経原線維タングルは、対になって互いに擦れ合う 2 つのフィラメントから成る微小管随伴タウタンパク質の細胞内沈着物である。老人斑 (すなわちアミロイド斑) は、幅が最高で 1 5 0 μ m の (u p t o 1 5 0 μ m a c r o s s) 無秩序な神経網の領域であり、中心に細胞外アミロイド沈着物を有し、脳組織の切片の顕微鏡分析により見られ得る。脳内におけるアミロイド斑の蓄積は、ダウン症候群及び他の認知障害とも関連する。

10

【 0 0 0 3 】

斑の主な成分は A β 又は β - アミロイドペプチドと呼ばれるペプチドである。A β は、アミロイド前駆体タンパク質 (A P P) と命名されるより大きな貫膜糖タンパク質の 3 9 ~ 4 3 個のアミノ酸の 4 - k D a 内部フラグメントである。種々のセクレターゼ酵素による A P P のタンパク質分解的プロセシングの結果として、A β は最初に長さが 4 0 個のアミノ酸の短い形態及び長さが 4 2 ~ 4 3 個のアミノ酸の範囲の長い形態の両方において見出される。A P P の疎水性貫膜ドメインの部分は A β のカルボキシ末端に見出され、特に長い形態の場合に A β が斑に凝集し得ることを説明することができる。脳内におけるアミロイド斑の蓄積は、結果として神経細胞死に導く。この型の神経劣化と関連する身体的症状がアルツハイマー病を特徴付ける。

20

【 0 0 0 4 】

A D 脳における斑の存在は、A β 特異的抗体を用いる免疫染色法を用いて最も確実に明らかになる (非特許文献 5) 。 2 つの最も普通に用いられる抗体 (3 D 6 及び 1 0 D 5) は N - 末端 A β エピトープ (それぞれ残基 1 - 5 及び 3 - 7 内) を認識する (非特許文献 5 ; 非特許文献 6) 。

【 0 0 0 5 】

A β の C - 末端部分に対するいくつかの抗体がアミロイド沈着物に結合することが報告されている。しかしながらそのような抗体は、典型的にはホルマリン - もしくはパラホルムアルデヒド - 固定され、パラフィンに埋め込まれた組織を使用しており、それらは多くの場合に A β の C - 末端エピトープを現すためにギ酸及び他の攻撃的な試薬を用いる攻撃的な予備 - 処理に供される (非特許文献 7 ; 非特許文献 8 ; 非特許文献 9 ; 非特許文献 1 0 ; 非特許文献 1 1 ; 非特許文献 1 2 ; 非特許文献 1 3 ; 非特許文献 1 4) 。かくしてこれらの研究は生理学的に斑に適切であり得ない。非特許文献 1 5 及び非特許文献 1 6 は、それぞれ 2 H 6 抗体 (抗 - A β_{33-40} ; 末端 - 特異的 , マウス I g G 2 b イソタイプ) 又は 2 2 8 6 抗体 (抗 - A β_{28-40} ; 末端 - 特異的 , マウス I g G 1 イソタイプ) の注入を受けた T g 2 5 7 6 マウスにおける斑の減少を報告した。1 6 C 1 1、2 G 3 及び 2 1 F 1 2 を含むいくつかの他の C - 末端抗体は、アルツハイマー病の P D A P P 動物モデルにおいて斑に結合するか又は斑を除去する (c l e a r) ことができないと報告されている (特許文献 2) 。

30

40

【 0 0 0 6 】

2 6 6 抗体 (抗 - A β_{16-23}) は主に A β の可溶性形態に結合し、斑への結合をほとんど示さないことが報告されている。そのような研究は、処理されたマウスの脳から斑を除去するこの抗体の能力に関する矛盾する結果も報告している。非特許文献 1 7 は、P D A P P マウスに末梢血管から投与される 2 6 6 抗体が斑に結合せずに、又は脳内に入らずに、むしろ末梢血管中の可溶性 A β を捕獲し、濃度勾配を生ぜしめ、それにより A β を脳から去らせて血漿中に移動させることにより、脳の斑負荷量を減少させることによって斑を除去することを報告している (末梢沈没仮説 (p e r i p h e r a l s i n k h y p o t h e s i s)) 。しかしながら、2 6 6 抗体を用いて免疫化された P D A P P マウス

50

における最近の研究は、斑の減少がないことを報告した（非特許文献18）。第3の研究は、266抗体を用いるPDAPPマウスの短期間処置が、斑に影響を与えずに彼らの認知欠損（cognitive deficits）を逆転させることを報告し、266抗体が脳からの可溶性神経毒性Aβ種に結合し、中和すると提案した（非特許文献19）。特許文献2は、266抗体及びAβ中の中-領域エピトープに結合する2つの他の抗体（18G11及び22D12）がPDAPPトランスジェニック動物モデルにおいて斑に結合もせず、それを除去もしないことを報告している。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

10

【特許文献1】国際公開第92/13069号パンフレット（Hardy et al.）

【特許文献2】米国特許第20060257396号明細書

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】Selkoe著，TINS 16：403，1993年

【非特許文献2】Selkoe著，J. Neuropathol. Exp. Neurol. 53：438，1994年

【非特許文献3】Duff et al. 著，Nature 373：476，1995年

20

【非特許文献4】Games et al. 著，Nature 373：523，1995年

【非特許文献5】Hyman et al. 著，Proc Natl Acad Sci USA 92：3586 - 3590，1995年

【非特許文献6】Bard et al. 著，Proc Natl Acad Sci USA 100：2023 - 2028，2003年

【非特許文献7】Murphy et al. 著，Am J Pathol 144：1082 - 1088，1994年

【非特許文献8】Kida et al. 著，Neurosci Lett 193：105 - 108，1995年

30

【非特許文献9】Fukumoto et al. 著，Am J Pathol 148：259 - 265，1996年

【非特許文献10】Mann et al. 著，Am J Pathol 148：1257 - 1266，1996年

【非特許文献11】Tekirian et al. 著，Neurobiol Aging 17：249 - 257，1996年

【非特許文献12】Lippa et al. 著，Arch Neurol 56：1111 - 1118，1999年

【非特許文献13】Schwab et al. 著，Exp Neurol 161：527 - 534，2000年

40

【非特許文献14】Axelsen et al. 著，Mol Immunol 46：2267 - 2273，2009年

【非特許文献15】Wilcock et al. 著，J. Neurosci 26：5340 - 5346，2006年

【非特許文献16】Wilcock et al. 著，J. Neurosci 24：6144 - 6151，2004年

【非特許文献17】DeMattos et al. 著，Proc Natl Acad Sci USA 98：8850 - 8855，2001年

【非特許文献18】Seubert et al. 著，Neurodegener Dis 5：65 - 71，2008年

50

【非特許文献 19】Dodart et al. 著, Nat Neurosci 5: 452 - 457, 2002 年

【発明の概要】

【0009】

発明の概略

本発明は、拡散斑に比較して優先的に密集斑 (compact plaques) に結合する、A β の C - 末端及び中心エピトープに向けられた抗体を提供する。本発明は、A β の密集斑の存在及び関連する症状の軽減又は除去のための患者の処置方法も提供する。

【0010】

1 つの側面において、本発明は中期又は後期アルツハイマー病と診断された患者の処置方法を提供し、それは A β の残基 12 - 43 内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して密集斑に優先的に結合する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる。いくつかの場合に、患者は中期アルツハイマー病と診断されている。いくつかの場合に、患者は後期アルツハイマー病と診断されている。

10

【0011】

別の側面において本発明は、アルツハイマー病と診断され、且つ拡散斑に比較してより大きい割合の密集斑を有する患者の処置方法を提供し、それは A β の残基 12 - 43 内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して密集斑に優先的に結合する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる。いくつかの場合、密集斑の割合は斑全体の少なくとも 40 % である。いくつかの場合、拡散斑に対する密集斑の割合は陽電子放出断層撮影 (PET) 走査により決定される。いくつかの場合に PET 走査は、[¹⁸F] AV - 14、[¹⁸F] AV - 144、[¹¹C] AZD 2995、[¹⁸F] AZD 4694 及び [¹⁸F] - SMIBR - W372 より成る群から選ばれる PET リガンドを検出することを含んでなる。

20

【0012】

別の側面において本発明は、アルツハイマー病と診断され、且つてんかん発作の症状を有する患者の処置方法を提供し、それは A β の残基 12 - 43 内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して優先的に密集斑に結合する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる。いくつかの場合に、全体的なアミロイド斑負荷量及びてんかん発作の症状は減少する。

30

【0013】

別の側面において本発明は、アルツハイマー病と診断された患者の処置方法を提供し、それは：(a) 拡散斑に比較して優先的に密集斑に結合する抗体の有効な療法を患者に施し、ここで抗体は A β の中心又は C - 末端エピトープに関する特異性を有し；そして (b) PET 走査を用いて患者の脳内の密集斑の 1 つもしくはそれより多くの特質を監視することを含んでなる。いくつかの場合、密集斑の 1 つもしくはそれより多くの特質は、放射性トレーサー PiB を用いて同定される。いくつかの場合、1 つもしくはそれより多くの特質は、1 つもしくはそれより多くの密集斑の寸法における、前回の PET 走査に対する減少を含む。

40

【0014】

別の側面において本発明は、A β の N - 末端エピトープに関する特異性を有する抗体を用いて以前に処置されたことがある、アルツハイマー病と診断された患者の処置方法を提供し、それは A β の残基 12 - 43 内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して優先的に密集斑に結合する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる。いくつかの場合、患者の斑全体に対する密集斑の割合は、A β の N - 末端エピトープに関して特異的な抗体を用いる以前の処置の間に増加した。

【0015】

別の側面において本発明は、A β の残基 12 - 43 内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して優先的に密集斑に結合する抗体を用いて以前に処置されたことがある、アルツハイマー病と診断された患者の処置方法を提供し、それは A β の N - 末端エピトープに

50

関する特異性を有する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる。いくつかの場合、患者の斑全体に対する拡散斑の割合は、A β の中心又はC - 末端エピトープに関して特異的な抗体を用いる以前の処置の間に増加した。

【0016】

別の側面において本発明は、アルツハイマー病と診断された患者の処置方法を提供し、それは：(a) A β の残基12 - 43内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して優先的に密集斑に結合する抗体の有効な療法を患者に施し；そして(b) A β のN - 末端エピトープに関する特異性を有する第2の抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる。いくつかの場合、第1及び第2の抗体を同時に投与する。いくつかの場合、第2の抗体は3D6抗体、12A11抗体、10D5抗体、12B4抗体、6C6抗体、2H3抗体又は3A3抗体あるいはこれらの抗体のいずれか1つのキメラ、ヒト化又は張り合わされた(veneered)形態から選ばれる。

10

【0017】

前節で議論した方法のいずれか1つの種々の態様において、抗体はA β の中心エピトープに関する特異性を有するか、あるいは抗体はA β のC - 末端エピトープに関する特異性を有する。

【0018】

いくつかの場合に、抗体はA β の中心エピトープに関する特異性を有し、抗体は266抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、15C11抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは22D12抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である。いくつかの場合に、抗体は：3つの軽鎖可変領域相補性決定領域(CDRs)及び3つの重鎖可変領域CDRsを含み、ここでCDRL1は配列番号：4のアミノ酸配列を含み、CDRL2は配列番号：5のアミノ酸配列を含み、CDRL3は配列番号：6のアミノ酸配列を含み、CDRH1は配列番号：7のアミノ酸配列を含み、CDRH2は配列番号：8のアミノ酸配列を含み、CDRH3は配列番号：9のアミノ酸配列を含む。いくつかの場合に、抗体は：3つの軽鎖可変領域CDRs及び3つの重鎖可変領域CDRsを含み、ここでCDRL1は配列番号：14の残基24 - 39のアミノ酸配列を含み、CDRL2は配列番号：14の残基55 - 61のアミノ酸配列を含み、CDRL3は配列番号：14の残基94 - 101のアミノ酸配列を含み、CDRH1は配列番号：15の残基26 - 35のアミノ酸配列を含み、CDRH2は配列番号：15の残基50 - 66のアミノ酸配列を含み、CDRH3は配列番号：15の残基99 - 101のアミノ酸配列を含む。いくつかの場合、抗体は：22D12の3つの軽鎖可変領域CDRs及び22D12の3つの重鎖可変領域CDRsを含む。

20

30

【0019】

いくつかの場合、抗体はA β のC - 末端エピトープに関する特異性を有し、抗体は2G3抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態、14C2抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態あるいは21F12抗体又はそのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である。いくつかの場合、抗体は：2G3の3つの軽鎖可変領域相補性決定領域(CDRs)及び2G3の3つの重鎖可変領域CDRsを含む。いくつかの場合、抗体は：14C2の3つの軽鎖可変領域CDRs及び14C2の3つの重鎖可変領域CDRsを含む。いくつかの場合、抗体は：3つの軽鎖可変領域CDRs及び3つの重鎖可変領域CDRsを含み、ここでCDRL1は配列番号：3の残基24 - 39のアミノ酸配列を含み、CDRL2は配列番号：3の残基55 - 61のアミノ酸配列を含み、CDRL3は配列番号：3の残基94 - 102のアミノ酸配列を含み、CDRH1は配列番号：2の残基26 - 35のアミノ酸配列を含み、CDRH2は配列番号：2の残基50 - 66のアミノ酸配列を含み、CDRH3は配列番号：2の残基99 - 106のアミノ酸配列を含む。

40

【0020】

いくつかの場合、上記で議論した抗体のいずれの1つもキメラ抗体又はヒト化抗体であ

50

る。好ましい態様において、抗体はヒト化抗体である。いくつかの場合、抗体は I g G 1 サブタイプのものである。

【 0 0 2 1 】

別の側面において、本発明は 2 G 3、1 4 C 2、2 1 F 1 2 又は 2 2 D 1 2 と称される抗体のヒト化、キメラ又は張り合わされた形態を提供する。いくつかの場合、抗体は 2 G 3、1 4 C 2、2 1 F 1 2 又は 2 2 D 1 2 抗体の 6 つの K a b a t C D R s を含む。

【 0 0 2 2 】

本発明はさらに、アルツハイマー病と診断され、且つ斑全体に対して拡散斑より高い密集斑の割合を有する患者の処置方法を提供し、それは A β の残基 1 - 1 1 内のエピトープに結合する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる。いくつかのそのような方法において、密集斑の割合は斑全体の少なくとも 4 0 % である。いくつかのそのような方法において、斑全体に対する密集斑及び拡散斑の割合は、陽電子放出断層撮影 (P E T) 走査により決定される。

【 0 0 2 3 】

本発明はさらに、アルツハイマー病と診断され、且つ 1 ~ 9 の M M S E 又は 6 ~ 7 の B r a a k を有する患者の処置方法を提供し、その方法は、A β の残基 1 2 - 4 3 内のエピトープに結合し、且つ拡散斑に比較して優先的に密集斑に結合する抗体の有効な療法を患者に施すことを含んでなる。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 2 4 】

図面の簡単な記述

【図 1 A】A p o E 遺伝子型と無関係な固定されない A D 脳切片 (後頭皮質) 中の斑への C - 末端エピトープ特異的抗体 2 G 3、1 4 C 2 及び 2 1 F 1 2 の結合を示す図。各列は a p o E 3 / E 3 遺伝子型を有する異なる患者からの切片を示す。3 D 6 抗体は正の標準である。負の標準として用いられた I g G は染色を示さなかった (示されていない) 。

【図 1 B】A p o E 遺伝子型と無関係な固定されない A D 脳切片 (後頭皮質) 中の斑への C - 末端エピトープ特異的抗体 2 G 3、1 4 C 2 及び 2 1 F 1 2 の結合を示す図。各列は a p o E 3 / E 4 遺伝子型を有する異なる患者からの切片を示す。3 D 6 抗体は正の標準である。負の標準として用いられた I g G は染色を示さなかった (示されていない) 。

【図 2 A】P D A P P、P S A P P 及び L i n e 4 1 マウスの固定されない及び固定された脳切片中の斑への 3 D 6 抗体 (正の標準) の相対的な結合を示す図。負の標準として用いられた I g G は染色を示さなかった (示されていない) 。

【図 2 B】P D A P P、P S A P P 及び L i n e 4 1 マウスの固定されない及び固定された脳切片中の斑への C - 末端エピトープ特異的抗体 2 G 3 の相対的な結合を示す図。負の標準として用いられた I g G は染色を示さなかった (示されていない) 。

【図 2 C】P D A P P、P S A P P 及び L i n e 4 1 マウスの固定されない及び固定された脳切片中の斑への C - 末端エピトープ特異的抗体 1 4 C 2 の相対的な結合を示す図。負の標準として用いられた I g G は染色を示さなかった (示されていない) 。

【図 2 D】P D A P P、P S A P P 及び L i n e 4 1 マウスの固定されない及び固定された脳切片中の斑への C - 末端エピトープ特異的抗体 2 1 F 1 2 の相対的な結合を示す図。負の標準として用いられた I g G は染色を示さなかった (示されていない) 。

【図 3 A】3 D 6、2 1 F 1 2 及び 2 G 3 抗体ならびに 3 D 6 と 2 1 F 1 2 又は 2 G 3 の組み合わせに関する固定されない A D 脳切片の免疫染色を示す図であり、2 G 3 及び 2 1 F 1 2 抗体が主に斑の高密度の芯に結合することを示す。

【図 3 B】3 D 6、2 1 F 1 2 及び 2 G 3 抗体ならびに 3 D 6 と 2 1 F 1 2 又は 2 G 3 の組み合わせに関する固定されない P S A P P マウス脳切片の免疫染色を示す図であり、2 G 3 及び 2 1 F 1 2 抗体が主に斑の高密度の芯に結合することを示す。

【図 4 A】I g G (負の標準)、3 D 6 抗体 (正の標準) 及び C - 末端エピトープ特異的抗体 2 G 3、1 4 C 2 及び 2 1 F 1 2 による P S A P P 及び L i n e 4 1 マウス脳切片からの斑クリアランスの誘導を評価する生体外実験の結果を示す図。パネル中の白い点は

10

20

30

40

50

3 D 6 - 染色斑からのシグナルを示す。

【図 4 B】I g G（負の標準）、3 D 6 抗体（正の標準）及び C - 末端エピトープ特異的抗体 2 G 3、1 4 C 2 及び 2 1 F 1 2 による P S A P P 及び L i n e 4 1 マウス脳切片からの斑クリアランスの誘導を評価する図 4 A と別の生体外実験の結果を示す図。パネル中の白い点は 3 D 6 - 染色された斑からのシグナルを示す。

【図 5】生体外アッセイにおける P S A P P（左のパネル）及び L i n e 4 1（右のパネル）マウス脳切片からの斑の小グリア細胞食作用の誘導を示す図。下の 6 つのパネルのそれぞれにおいて、小グリア細胞内部における A β の存在が見える。

【図 6 A】A p o E 遺伝子型と無関係な固定されない A D 脳切片（後頭皮質）中の斑への中心エピトープ特異的抗体 2 6 6、1 5 C 1 1 及び 2 2 D 1 2 の結合を示す図。各列は a p o E 3 / E 3 遺伝子型を有する異なる患者からの切片を示す。3 D 6 抗体は正の標準である。負の標準として用いられた I g G は染色を示さなかった（示されていない）。

10

【図 6 B】A p o E 遺伝子型と無関係な固定されない A D 脳切片（後頭皮質）中の斑への中心エピトープ特異的抗体 2 6 6、1 5 C 1 1 及び 2 2 D 1 2 の結合を示す図。各列は a p o E 3 / E 4 遺伝子型を有する異なる患者からの切片を示す。3 D 6 抗体は正の標準である。負の標準として用いられた I g G は染色を示さなかった（示されていない）。

【図 7】固定されない P D A P P 及び P S A P P マウス脳切片中の斑への 3 D 6 抗体（正の標準）ならびに中心エピトープ特異的抗体 2 6 6、1 5 C 1 1 及び 2 2 D 1 2 の相対的な結合を示す図。負の標準として用いられた I g G は染色を示さなかった（示されていない）。非 - トランスジェニック標準マウスの背景画像も示す（N o n - T g）。

20

【図 8 A】3 D 6 及び 2 2 D 1 2 抗体ならびに 2 つの抗体の組み合わせに関する固定されない A D 脳切片の免疫染色を示す図であり、2 2 D 1 2 抗体が主に斑の高密度の芯に結合することを示す。

【図 8 B】3 D 6 及び 2 2 D 1 2 抗体ならびに 2 つの抗体の組み合わせに関する固定されない P S A P P マウス脳切片の免疫染色を示す図であり、2 2 D 1 2 抗体が主に斑の高密度の芯に結合することを示す。

【図 9】I g G（負の標準）、3 D 6 抗体（正の標準）ならびに中心エピトープ特異的抗体 2 6 6、1 5 C 1 1 及び 2 2 D 1 2 による P D A P P 及び P S A P P マウス脳切片からの斑クリアランスの誘導を評価する生体外実験の結果を示す図。各パネル中の白い点は 3 D 6 - 染色された斑からのシグナルを示す。中心エピトープ特異的抗体は、P D A P P 切片において有意に斑を除去しないが、L i n e 4 1 マウスの切片において斑を除去した。

30

【図 1 0】生体外アッセイにおける P D A P P（左のパネル）及び P S A P P（右のパネル）マウス脳切片からの斑の小グリア細胞食作用の誘導を示す図。3 D 6 抗体（正の標準）の両パネル及び P S A P P マウス切片中の 2 6 6 抗体に対応する右下のパネルにおいて、小グリア細胞内部における A β の存在が見える。

【0 0 2 5】

配列の簡単な記述

【0 0 2 6】

【表 1】

表 1. 配列の記述

配列番号	アミノ酸配列の記述
1	A β 1-42
2	シグナル配列を有する m21F12 V _H
3	シグナル配列を有する m21F12 V _L
4	m266 CDR L1
5	m266 CDR L2
6	m266 CDR L3
7	m266 CDR H1
8	m266 CDR H2
9	m266 CDR H3
10	h266 V _L
11	h266 V _H
12	h266 V _L
13	h266 V _H
14	m15C11 V _L
15	m15C11 V _H
16	バピネウズマブ(bapineuzumab) V _L
17	バピネウズマブ V _H
18	h10D5 V _L
19	h10D5 V _H
20	h12A11 V _L
21	h12A11 V _H

10

20

30

40

【 0 0 2 7 】

定義

基本的な抗体構造単位は、サブユニットの四量体を含む。各四量体は2つの同じポリペプチド鎖の対から成り、各対は1つの「軽」鎖（約 25 kDa）及び1つの「重」鎖（約 50 ~ 70 kDa）を有する。各鎖のアミノ - 末端部分は、主に抗原認識を担う約 100 ~ 110 個かもしくはそれより多くのアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシ - 末端部分は、主にエフェクター機能を担う不変領域を区画する。重鎖不変領域は C H 1、ヒンジ、C H 2 及び C H 3 ドメインを含む。

【 0 0 2 8 】

50

軽鎖はカップパ又はラムダとして分類される。重鎖はガンマ、ミュー、アルファ、デルタ又はイプシロンとして分類され、抗体のイソタイプをそれぞれIgG、IgM、IgA、IgD及びIgEとして定義する。軽鎖及び重鎖内で、可変及び不変領域は約12個かもしくはそれより多いアミノ酸の「J」領域により連結され、重鎖は約10個のアミノ酸の「D」領域も含む。(一般的にFundamental Immunology (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y., 1989), 7章を参照されたい(引用することによりその全体がすべての目的のために本明細書の内容となる)。ヒトにおいては、4つのIgGイソタイプ、IgG1、2、3及び4がある。重鎖不変領域内のアミノ酸はEUNANPARING会議(EU numbering convention)による番号である。

10

【0029】

各軽/重鎖対の可変領域は抗体結合部位を形成する。かくして完全な(intact)抗体は2つの結合部位を有する。二重機能性又は二重特異性抗体における場合を除いて、2つの結合部位は同じである。鎖はすべて、相補性決定領域又はCDRsとも呼ばれる3つの高頻度可変領域により連結した比較的保存されたフレームワーク領域(FR)の同じ一般的な構造を示す。各対の2つの鎖からのCDRsはフレームワーク領域により整列し、特異的なエピトープへの結合を可能にする。N-末端からC-末端までに、軽鎖及び重鎖の両方はドメインFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及びFR4を含む。各ドメインへのアミノ酸の指定は、好ましくはKabata著, Sequence of Proteins of Immunological Interest (National Institute of Health, Bethesda, MD, 1987 and 1991)又はChothia & Lesk著, J. Mol. Biol. 196:901-917, 1987年の定義に従う。しかしながら、CDRsを代わりにChothia et al. 著, Nature 342:878-883, 1989年に従って、あるいはKabataとChothiaの定義の複合定義により定義することができ、その定義ではKabata又はChothiaにより定義されるCDR内に存在するいずれのアミノ酸もCDRの一部と考えられ、他の残基はフレームワーク残基と考えられる。

20

【0030】

抗体又は免疫グロブリンへの言及は、完全な抗体及びその結合フラグメントを含む。典型的には、フラグメントは、抗原への特異的な結合に関し、それらが由来する完全な抗体と競合する。フラグメントには分離された重鎖及び軽鎖、Fab、Fab'F(ab')₂、Fabc及びFvが含まれる。分離された鎖にはNANOBODIES™(すなわちラクダ又はラマからの抗体の重鎖の単離されたVHフラグメントであり、場合によりヒト化されていることができる)が含まれる。単離されたVHフラグメントを、ヒト抗体のような他の供給源から得ることもできる。フラグメントは組換えDNA法により、あるいは完全な免疫グロブリンの酵素的もしくは化学的分離により作製される。「抗体」という用語は、他のタンパク質との融合タンパク質に化学的に共役した、あるいはそれらとして発現された1種もしくはそれより多い免疫グロブリン鎖も含む。「抗体」という用語は、二重特異性抗体も含む。二重特異性又は二重機能性抗体は、2つの異なる重/軽鎖対及び2つの異なる結合部位を有する人工のハイブリッド抗体である。ハイブリドーマの融合又はFab'フラグメントの連結を含む多様な方法により、二重特異性抗体を作製することができる(例えばSongssivilai & Lachmann著, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321, 1990年; Kostelny et al. 著, J. Immunol. 148, 1547-1553, 1992年を参照されたい。)

30

40

【0031】

モノクローナル抗体のその標的抗原への特異的な結合は、少なくとも 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 又は 10^{10} M^{-1} の親和性を意味する。特異的な結合は、少なくとも1種の無関係な標的に起こる非-特異的結合より、量において検出可能な程高く、それらと区別され

50

得る。特異的な結合は、特定の官能基又は特定の空間的はまり (fit) (例えば錠と鍵型) の間の結合の形成の結果であり得るが、非特異的な結合は通常、ファンデルワールス力の結果である。しかしながら特異的な結合は、モノクローナル抗体がたった1つのみの標的に結合することを必ずしも意味しない。

【0032】

拡散斑に比較して密集斑に「優先的に結合する」抗体は、免疫染色アッセイにおいてより強力なシグナルを発生する抗体である (例えば Hyman et al. 著, 1995 年, 同上)。同じ組織切片 (例えばヒトからの) において密集斑と拡散斑の間でそのような比較を行うことができる。あるいはまた、密集斑の異なる呈示量 (representations) を含有する組織切片の間で比較を行うことができ、PSAPPマウス (Holcomb et al. 著, Nat Med 4: 97 - 100, 1998 年; Gordon et al. 著, Exp. Neurol 173: 183 - 195, 2002 年) からの組織切片と、より低い密集斑の呈示量を有するPDAPPマウス (Games et al. 著, Nature 373: 523 - 527, 1995 年) からの組織切片の比較が例である。密集斑でも拡散斑でも、個々の斑の染色の間でいくらかの変動があり得るので、比較は好ましくはいくつかの密集斑及びいくつかの拡散斑の平均 (average) もしくは平均 (mean) 染色に基づき、差は、拡散斑に対する密集斑の染色の増加が拡散斑の染色の変動の合理的な尺度 (すなわち平均プラス標準偏差) を超える程十分でなければならない。免疫染色は目により、あるいはもっと定量的に染色強度を表わす数値に染色をデジタル化することにより、比較され得る。

【0033】

「エピトープ」という用語は、免疫グロブリン又は抗体 (あるいはその抗原結合フラグメント) が特異的に結合する抗原上の部位を指す。エピトープは、連続アミノ酸及びタンパク質の三次おりたたみ (tertiary folding) により並置される不連続アミノ酸の両方から形成され得る。連続アミノ酸から形成されるエピトープは、典型的には変性性溶媒に暴露されても保存されるが、三次おりたたみにより形成されるエピトープは、典型的に変性性溶媒を用いて処理されると失われる。エピトープは、典型的には少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14又は15個のアミノ酸を独特の空間的コンホーメーションで含む。エピトープの空間的コンホーメーションの決定方法は、例えばx-線結晶学及び2-次元核磁気共鳴を含む。例えば Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed., 1996 年を参照されたい。

【0034】

同じ又は重複するエピトープを認識する抗体を、1つの抗体が標的抗原への他の抗体の結合と競合する能力を示す簡単なイムノアッセイにおいて同定することができる。抗体のエピトープを、接触残基の同定のための、その抗原に結合した抗体のx-線結晶学により、定義することもできる。あるいはまた、1つの抗体の結合を減少させるか又は排除する抗原中のすべてのアミノ酸突然変異が他の抗体の結合を減少させるか又は排除する場合、2つの抗体は同じエピトープを有する。1つの抗体の結合を減少させるか又は排除するいくつかのアミノ酸突然変異が他の抗体の結合を減少させるか又は排除する場合、2つの抗体は重複するエピトープを有する。

【0035】

抗体の間の競合は、試験下の抗体が共通の抗原への参照抗体の特異的な結合を妨げるアッセイにより決定される (例えば Junghans et al. 著, Cancer Res. 50: 1495, 1990 年を参照されたい)。過剰の試験抗体 (例えば少なくとも2x、5x、10x、20x又は100x) が、競合的結合アッセイにおいて測定される場合に、参照抗体の結合を少なくとも50%、しかし好ましくは75%、90%又は99%妨げる場合に、試験抗体は参照抗体と競合する。競合アッセイにおいて同定される抗体 (競合抗体) には、参照抗体と同じエピトープに結合する抗体及び参照抗体が結合する

エピトープに立体障害が起こるのに十分に近接する隣接エピトープに結合する抗体が含まれる。

【0036】

A P P の複数のイソタイプ、例えば A P P⁶⁹⁵、A P P⁷⁵¹及び A P P⁷⁷⁰が存在する。文脈から他であると明らかでなければ、A P P 内のアミノ酸は A P P⁷⁷⁰イソタイプの配列に従って番号を指定される（例えば GenBank Accession No. P05067 を参照されたい）。A β ペプチドの配列及び A P P 前駆体へのそれらの関連性は Hardy et al. 著, TINS 20, 155 - 158, 1997 年の図 1 により示されている。例えば A β 42 は、配列：

【0037】

【化 1】

H₂N-Asp-Ala-Glu-Phe-Arg-His-Asp-Ser-Gly-Tyr-Glu-Val-His-His-Gln-Lys-Leu-Val-Phe-Phe-Ala-Glu-Asp-Val-Gly-Ser-Asn-Lys-Gly-Ala-Ile-Ile-Gly-Leu-Met-Val-Gly-Gly-Val-Val-Ile-Ala-OH (配列番号:1)

【0038】

を有する。

【0039】

文脈から他であると明らかでなければ、A β への言及は上記の配列の天然の対立遺伝子変異、特に遺伝性疾患と関連するもの、例えば Arc tic 変異、E693G、A P P⁷⁷⁰ナンバリング (numbering) も含む。A β 41、A β 40 及び A β 39 は、C - 末端からのそれぞれ Ala、Ala - Ile 及び Ala - Ile - Val の脱落により A β 42 と異なる。A β 43 は、C - 末端におけるトレオニン残基の存在により A β 42 と異なる。

【0040】

A β の N - 末端エピトープは、残基 1 - 11 内のエピトープを意味する。C - 末端領域内のエピトープは、残基 29 - 43 内のエピトープを意味し、中心又は中 - 領域内のエピトープは、残基 12 - 28 内のエピトープを意味する。エピトープがある範囲を以て存在する場合、それはその範囲を区画するアミノ酸ならびに間のアミノ酸を含むことができる。中心及び C - 末端領域への抗体を集合的に指す場合、そのような抗体は中心又は C - 末端領域内に、あるいは中心と C - 末端領域の間の境界に及ぶエピトープを有することができる。すなわちエピトープは A β の残基 12 - 43 内にある。

【0041】

モノマー A β 及び A D D L s として既知のこともある (Lambert et al. 著, PNAS May 26, 1998 vol. 95 no. 11 6448 - 6453) 約 4 ~ 10 個のモノマーの小さいオリゴマー集合体は、CSF のような体液を含む水溶液中に可溶性である。試験管内凝集により、又は斑の形態で生体内において形成される A β のより高次の集合体は、実質的に水溶液中に不溶性である。凝集した A β は、ペプチドの C - 末端における疎水性残基 (A P P の貫膜ドメインの一部) により、少なくとも部分的にまとまっている (held together) と思われる。高次の不溶性の沈着物は、アミロイド原線維と呼ばれることもある。原線維はクロス - ベータ構造を特徴とし、洗剤及び変性性溶媒中でさえ実質的に不溶性である (Schmidt et al. 著, PNAS 106, 19813 - 19818, 2009 年; Cai et al. 著, Current Medicinal Chemistry 24, 19 - 52, 2007 年を参照されたい)。

【0042】

斑は、Dickson & Vickers 著, Neuroscience. 2001; 105 (1): 99 - 107 の三部分案 (tripartite scheme) により分類される。「密集」又は「原線維状」斑という用語は、合流した外側の縁に導く密集

10

20

30

40

50

したスポーク - 様延長部分を有する A β の中心塊の形態学的表現型を有する斑を指す (Dickson 著, Neuroscience, 2001; 105 (1): 99 - 107)。

【 0 0 4 3 】

「拡散斑」という用語は、形態学的に同定可能な下部構造がない斑を指し、A β の実質的に均一な球として現れる。

【 0 0 4 4 】

「有芯斑 (dense - cored plaque) 」という用語は、実質的に均一な A β の外部球により囲まれた A β の密集した中心塊の形態学的表現型を有する斑を指す。有芯斑は拡散斑及び密集斑の両方の特徴を有するので、有芯斑内の密集領域及び拡散領域の相対的な表面積又は体積に基づき、それらを密集斑及び拡散斑と異なるカテゴリーとして処理するか、あるいはこれらの斑の種類の間配置することができる。

【 0 0 4 5 】

「Fc 領域」という用語は、IgG 重鎖の C - 末端領域を指す。IgG 重鎖の Fc 領域の境界はわずかに変わり得るので、Fc 領域は、典型的には IgG 重鎖の大体アミノ酸残基 Cys 226 からカルボキシル - 末端に及ぶとして定義される。

【 0 0 4 6 】

「エフェクター機能」という用語は、抗体 (例えば IgG 抗体) の Fc 領域内にある活性を指し、例えば補体及び / 又は Fc レセプターのようなエフェクター分子に結合する抗体の能力を含み、それは抗体のいくつかの免疫機能、例えばエフェクター細胞活性、ライシス、補体 - 媒介活性、抗体クリアランス及び抗体半減期を制御することができる。ヒンジ領域内の突然変異によってエフェクター機能に影響を及ぼすこともできる。

【 0 0 4 7 】

「Kabat ナンバリング」という用語は、引用することにより記載事項が本明細書の内容となる Kabat et al. 著 (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991 年) におけるような残基のナンバリングとして定義される。

【 0 0 4 8 】

「アジュバント」という用語は、抗原と一緒に投与されると抗原への免疫反応を引き出す及び / 又は増大させるが、単独で投与されると抗原への免疫反応を発生させない化合物を指す。アジュバントは、リンパ球補充、B 及び / 又は T 細胞の刺激ならびにマクロファージの刺激を含むいくつかの機構により、免疫反応を増大させることができる。

【 0 0 4 9 】

「ApoE4 キャリヤ」という用語は、1 つ又は 2 つの ApoE4 対立遺伝子を有する患者を指し、「ApoE4 非キャリヤ」、「ApoE4 非 - キャリヤ」又は「非 - ApoE4 キャリヤ」という用語は、ApoE4 対立遺伝子を有していない患者を指す。

【 0 0 5 0 】

アルツハイマー病又は脳内の A β のアミロイド沈着を特徴とする他の疾患の危険の高い個体とは、5 年のような限定された期間内に発病する患者の危険を一般的な集団より有意に高くする 1 つもしくはそれより多くの既知の危険因子 (例えば 70 才より高い年令、遺伝的、生化学的、家族歴、前駆症状) を有する個体である。

【 0 0 5 1 】

中期アルツハイマー病は、例えば DMS IV TR に従い、10 ~ 20 のミニ - メンタル試験得点あるいは他のスケール上の同等の得点 (例えば Braak スケール上の 3 ~ 4) に従うアルツハイマー病の診断を意味する。

【 0 0 5 2 】

後期アルツハイマー病は、例えば DMS IV TR に従い、9 かもしくはそれより低いミニ - メンタル試験得点あるいは他のスケール上の同等の得点 (例えば Braak スケ

10

20

30

40

50

ール上の 5 ~ 6) に従うアルツハイマー病の診断を意味する。

【 0 0 5 3 】

あるいはまた、中期及び後期アルツハイマー病を、Global Deterioration Scale for Assessment of Primary Degenerative Dementia (GDS) (Reisberg Scaleとしても既知) 上の段階 5 ~ 7 のいずれか又は全体として定義することができる。

【 0 0 5 4 】

統計的有意性は $p \leq 0.05$ を指す。マーカーのベースライン測定値に対するマーカーにおける変化は、変化が繰り返し測定における典型的な誤差の限界の外にある場合に、有意と考えられる。PET 走査によるアミロイド沈着の測定に関し、典型的な誤差の限界 (例えば同じ患者についての測定の再現性) は約 5 % である。

10

【 0 0 5 5 】

発明の詳細な記述

I . 一般

本発明は、 $A\beta$ の中 - もしくは C - 末端領域への抗体を用いる、 $A\beta$ のアミロイド沈着により特徴付けられる疾患の処置方法を提供する。機構の理解は本発明の実施に必要なではないが、抗体は少なくとも部分的に密集もしくは原線維状アミロイド斑の減少又は除去を含む機構により機能すると思われる。方法は、 $A\beta$ の中心及び / 又は C - 末端エピトープを認識する抗体が拡散斑に比較して優先的に密集斑に結合でき、それにより患者の脳からのそのような斑の除去を助長するという結果を部分的に前提とする。中 - 及び - 末端抗体が斑に結合して除去する能力を欠いており、少なくともいくつかのそのような抗体が主に可溶性 $A\beta$ に結合するという以前の報告を見ると、この結果は驚くべきである。先行データの多くはアルツハイマー病の PDAPP マウスモデルからの斑を用いて作成され、それはアルツハイマー病患者又はある種の他のトランスジェニックモデルと比較して密集斑の割合を過少に示す点で、本データを先行データと融和させる (reconciled) ことができる。PDAPP マウス中の斑への中 - 及び C - 末端抗体の全体的な結合を低い、又は有意でないとさえみなすことができるが、中及び C - 末端抗体はアルツハイマー病患者及びある種の他のトランスジェニック動物モデル、例えば PSAPP マウス中に存在する斑の小さい組、すなわち密集斑に強力に結合する。結局、中 - 及び C - 末端抗体は斑の除去に用いられ得、中期から後期アルツハイマー病において多くの場合にそうであるように比較的高い高密度斑の割合を有する患者において特に有用である。中及び C - 末端抗体は、それらの密集斑への優先的な結合の故に、異なる型の斑のより均一な認識を示す N - 末端抗体との組み合わせにおいても有用である。

20

30

【 0 0 5 6 】

II . A ベータ抗体

本発明は、場合により N - 末端抗体と組み合わせられていることができる中 - 又は C - 末端抗体を用いる。

【 0 0 5 7 】

A . C - 末端抗体

本発明の C - 末端抗体は、 $A\beta$ の残基 29 - 43 内のエピトープに結合する。抗体は末端 - 特異的であることができるか、あるいはそうでなくても良い。末端 - 特異的抗体は、そのエピトープが遊離のカルボキシル基を有する C - 末端アミノ酸 (すなわち別のアミノ酸に結合したペプチドではない) を含む抗体である。末端 - 特異的アミノ酸は、APP 又は $A\beta$ の C - 末端に及ぶ APP の他のペプチドに比較して優先的に $A\beta$ に結合する。抗体は $A\beta$ のいずれの型 (例えば $A\beta_{38}$ 、 $A\beta_{29}$ 、 $A\beta_{40}$ 、 $A\beta_{41}$ 、 $A\beta_{42}$ 、 $A\beta_{43}$) に関して末端 - 特異的であることもできる。本発明の C - 末端抗体は、拡散斑に比較して密集斑に結合する。いくつかの代表的な C - 末端抗体は 2G3 抗体 (Johnson - Wood et al . 著, PNAS 94, 1550 - 1555, 1997 年, 残基 $A\beta_{33-40}$ 内にエピトープ)、14C2 抗体 (Eli Lilly Pharmaceuticals, Inc., Solomon et al . 著, Proc Natl Acad Sci USA, 19

40

50

97 April 15; 94(8): 4109-4112), 残基 A β_{33-40} 内にエピトープ)、21F12抗体(残基 A β_{33-42} 内にエピトープ)である。21F12はA β_{42} に関して末端-特異的であり、2G3はA β_{40} に関して末端-特異的であり、A β のより長い形態ともっとずっと低い反応性を有する。14C2の正確なエピトープ特異性は決定されていない。前記の抗体のいずれかのキメラ、ヒト化又は張り合わされた形態も含まれ、2G3、14C2又は21F12のいずれかと同じ6つのKabat CDRsを共有するいずれの抗体も含まれる。

【0058】

21F12モノクローナル抗体の重鎖及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列(Bard et al. 著, Proc Natl Acad Sci USA, 2003 February 18; 100(4): 2023-2028)を下記に示す(シグナル配列をイタリック体で示し、且つ下線を引き、CDRsを、下線を有するボールド体で示す:

10

重鎖可変領域:

【0059】

【化2】

MGWNWIFLFLLSGTAGVLSEVQLQQSGPELLKPGASVKISCKASGFTFTDYTMHWM
KQSHGKSLEWIGGINPNSGGTIYNEKFKDKATLTVDKSSRTAYMELRSLTSEDSAV
YFCTRGVYDGYFYWGQGTTLVTVSA(配列番号:2)

【0060】

20

軽鎖可変領域:

【0061】

【化3】

MKLPLVRLVLMFWIPASSSDVVMVTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQSLVYSNGNTFLH
WYLQKPGQSPKLLIYKVSTRFSGVPDRFSGSGSGSDFTLKISRVEAEDLGIYFC
SOTT
HAPFTFGSGTKLAIR(配列番号:3)

【0062】

軽鎖可変領域のCDRsは、CDRL1、CDRL2及びCDRL3に関して配列番号:3のそれぞれ残基24から39、残基55から61及び残基94から102に対応する(シグナル配列は-19から-1とナンバリングされる)。

30

【0063】

重鎖可変領域のCDRsは、CDRH1、CDRH2及びCDRH3に関して配列番号:2のそれぞれ残基26から35、残基50から66及び残基99から106に対応する(シグナル配列は-19から-1とナンバリングされる)。

【0064】

他のC-末端抗体には2H6又は9TL抗体(Wilcock et al. 著, 2006年, 同上; 米国特許第7,807,165号明細書及び米国特許第20060057701号明細書)及び2286抗体(Wilcock et al. 著, 2004年, 同上; 国際公開第2004032868号パンフレット)が含まれる。9TL抗体の重鎖及び軽鎖をコードするDNA配列は、ATCC PTA 6124及び6125として寄託されている。9TL抗体のヒト化形態は、ポネズマブ(ponezumab)として既知である。2286抗体は、ATCC PTA 5199として寄託されている。場合により、C-末端抗体は2H6、9TL、ポネズマブ又は2286以外の抗体であることができる。場合により、C-末端抗体は、2H6、9TL又は2286抗体の対応するCDRsと同一のKabat又はChothia CDRsのいずれか又はすべてを有していない抗体であることができる。場合により、C-末端抗体は2H6、9TL又は2286抗体のCDRsへの少なくとも90%の配列同一性を有するKabat又はChothia CDRsを有していない抗体であることができる。本発明のいくつかのC-末端抗体は、2H6、9TL抗体及び/又は2286抗体より高い程度で、拡散斑と比較して優先的

40

50

に密集斑に結合する。

【0065】

実施例に示す通り、斑、特に密集斑の除去のような免疫療法が必要な個体（例えばアルツハイマー病患者）の脳から斑、特に密集斑を除去するためにC-末端抗体を用いることができる。

【0066】

本発明のいくつかの抗体は、2G3、14C2又は21F12と称される抗体と同じか又は重複するエピトープに結合する。A β 又は所望のエピトープを含むその一部を用いてマウスを免疫化し、得られる抗体を場合により2G3、14C2又は21F12との競合においてCD122への結合に関してスクリーニングすることにより、そのような結合特異性を有する他の抗体を作製することができる。抗体をA β の突然変異形態に対してスクリーニングし、突然変異的变化の集合への（to collection of mutational changes）2G3、14C2又は21F12と同じかもしくは類似の結合分布を示す抗体を同定することができる。突然変異は、一時に1個の残基の、あるいはより広い間隔で、A β 又はエピトープが存在することが知られているその切片全体を通じての、アラニン（又はすでにアラニンが存在する場合はセリン）を用いる系統的な置き換え置換であることができる。

【0067】

選ばれるネズミ抗体（例えば2G3、14C2又は21F12）の結合特異性を有する抗体を、ファージディスプレイ法の変形を用いて作製することもできる。Winter、国際公開第92/20791号パフレットを参照されたい。この方法は、ヒト抗体の作製に特に適している。この方法においては、選ばれるネズミ抗体の重鎖又は軽鎖可変領域を出発材料として用いる。例えば出発材料として軽鎖可変領域が選ばれる場合、メンバーが同じ軽鎖可変領域（すなわちネズミ出発材料）及び異なる重鎖可変領域を示すファージライブラリを構築する。重鎖可変領域は、例えば転位ヒト重鎖可変領域のライブラリから得られ得る。A β に関する強い特異的結合（例えば少なくとも 10^8 そして好ましくは少なくとも $10^9 M^{-1}$ ）を示すファージを選択する。このファージからの重鎖可変領域は、次いでさらなるファージライブラリの構築のための出発材料として役立つ。このライブラリにおいて、各ファージは同じ重鎖可変領域（すなわち第1のディスプレイライブラリから同定される領域）及び異なる軽鎖可変領域を示す。軽鎖可変領域は、例えば転位ヒト軽鎖可変領域（variable light chain regions）のライブラリから得られ得る。この場合も、A β に関する強い特異的結合を示すファージを選択する。得られる抗体は、通常、ネズミ出発材料と同じか又は類似のエピトープ特異性を有する。

【0068】

2G3、14C2又は21F12のような代表的な抗体の重鎖及び軽鎖をコードするcDNAの突然変異誘発により、他の抗体を得ることができる。成熟重鎖及び/又は軽鎖可変領域のアミノ酸配列において、2G3、14C2又は21F12に少なくとも90%、95%又は99%同一であり、且つその機能的性質を保持している、ならびに/あるいは少数の機能的に不合理なアミノ酸置換（例えば同類置換）、欠失又は挿入によりそれぞれの抗体と異なるモノクローナル抗体も、本発明に含まれる。2G3、14C2又は21F12の対応するCDRsに90%、95%、99%又は100%同一であるKabattにより定義されるCDR(s)の少なくとも1つそして好ましくは6つすべてを有するモノクローナル抗体も含まれる。

【0069】

B. 中心エピトープ抗体

本発明の中心-もしくは中-エピトープ抗体は、A β の残基12-29内のエピトープを認識し、拡散斑と比較して密集斑に優先的に結合する。いくつかの代表的な中心-エピトープ抗体は、266抗体（A β_{16-23} 内のエピトープに特異的）、15C11抗体（A β_{18-22} 内のエピトープに特異的）及び22D12抗体（Bard et al. 著, Proc Natl Acad Sci USA, 2003 February 18; 1

10

20

30

40

50

00(4): 2023 - 2028, A β ₁₈₋₂₂内のエピトープに特異的)ならびに前記の抗体のいずれか1つのキメラ、ヒト化もしくは張り合わされた形態である。

【0070】

266モノクローナル抗体を生産する細胞系は、ブタペスト条約(Budapest Treaty)の約定の下に、2004年7月20日に寄託番号PTA-6123としてAmerican Type Culture Collection(ATCC)に寄託された。場合により、266抗体のイソタイプはヒトIgG1、IgG2又はIgG4、好ましくはIgG1であることができる。

【0071】

266モノクローナル抗体CDRsのアミノ酸配列は以下の通りである(米国特許第7,892,545号明細書):

【0072】

【化4】

CDR L1: Arg Ser Ser Gln Ser Leu Ile Tyr Ser Asp Gly Asn Ala Tyr Leu His (配列番号:4);

CDR L2: Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser (配列番号:5);

CDR L3: Ser Gln Ser Thr His Val Pro Trp Thr (配列番号:6);

CDR H1: Arg Tyr Ser Met Ser (配列番号:7);

CDR H2: Gln Ile Asn Ser Val Gly Asn Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys (配列番号:8);

及び

CDR H3: Gly Asp Tyr (配列番号:9)。

【0073】

266抗体のヒト化形態は、米国特許第20040265308号明細書、米国特許第20040241164号明細書、国際公開第03/016467号パンフレット及び米国特許第7,195,761号明細書に記載されている。

【0074】

代表的なヒト化266抗体の軽鎖及び重鎖可変領域配列を下記に示す(シグナル配列を含まない):

軽鎖

【0075】

【化5】

Asp Xaa Val Met Thr Gln Xaa Pro Leu Ser Leu Pro Val Xaa Xaa Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser

Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Xaa Tyr Ser Asp Gly Asn Ala Tyr Leu His Trp Phe Leu Gln

Lys Pro Gly Gln Ser Pro Xaa Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp

Xaa Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Xaa Gly Thr Xaa

Xaa Glu Ile Lys Arg (配列番号:10):

【0076】

ここで位置2におけるXaaはVal又はIleであり;位置7におけるXaaはSer又はThrであり;位置14におけるXaaはThr又はSerであり;位置15におけるXaaはLeu又はProであり;位置30におけるXaaはIle又はValであり;位置50におけるXaaはArg、Gln又はLysであり;位置88におけるXaaはVal又はLeuであり;位置105におけるXaaはGln又はGlyであり;位置108におけるXaaはLys又はArgであり;そして位置109におけるXaaはVal又はLeuである;ならびに

重鎖

【 0 0 7 7 】

【 化 6 】

Xaa Val Gln Leu Val Glu Xaa Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
 Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 Gly Leu Xaa Leu Val Ala Gln Ile Asn Ser Val Gly Asn Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Xaa Val
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Xaa Xaa Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
 Leu Arg Ala Xaa Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 Xaa Val Thr Val Ser Ser (配列番号:11)

10

【 0 0 7 8 】

ここで位置 1 における X a a は G l u 又は G l n であり；位置 7 における X a a は S e r
 又は L e u であり；位置 4 6 における X a a は G l u、V a l、A s p 又は S e r であり
 ；位置 6 3 における X a a は T h r 又は S e r であり；位置 7 5 における X a a は A l a
 、S e r、V a l 又は T h r であり；位置 7 6 における X a a は L y s 又は A r g であり
 ；位置 8 9 における X a a は G l u 又は A s p であり；そして位置 1 0 7 における X a a
 は L e u 又は T h r である。

【 0 0 7 9 】

代表的なヒト化 2 6 6 抗体は、以下の軽鎖及び重鎖配列を含む（シグナル配列を含まな
 い）：

20

軽鎖

【 0 0 8 0 】

【 化 7 】

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser
 Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Ile Tyr Ser Asp Gly Asn Ala Tyr Leu His Trp Phe Leu Gln Lys
 Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg
 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val
 Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
 Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
 Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
 Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
 Cys (配列番号:12)

30

【 0 0 8 1 】

40

重鎖

【 0 0 8 2 】

【化 8】

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
 Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 Gly Leu Glu Leu Val Ala Gln Ile Asn Ser Val Gly Asn Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
 Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys (配列番号: 13)

10

20

30

【0083】

15C11モノクローナル抗体を生産する細胞系は、ブタペスト条約の約定の下に、2005年12月12日に寄託番号PTA-7270としてAmerican Type Culture Collection (ATCC) に寄託された。場合により、15C11抗体のイソタイプはヒトIgG1、IgG2又はIgG4、好ましくはIgG1であることができる。

【0084】

15C11モノクローナル抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列を下記に示す(シグナル配列を含まない)：

【0085】

40

【化 9】

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser
 Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys
 Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg
 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu
 Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser Thr His Val Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 Lys (配列番号: 14)

【0086】

50

C D R s は、C D R L 1、C D R L 2 及び C D R L 3 に関して配列番号：14 のそれぞれ残基 24 から 39、残基 55 から 61 及び残基 94 から 101 に対応する。

【0087】

15C11 モノクローナル抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列を下記に示す：

【0088】

【化10】

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Ser
Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys
Arg Leu Glu Leu Val Ala Lys Ile Ser Asn Ser Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Leu
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Gln Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser
Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
Thr Leu Thr Val Ser Ser (配列番号:15)

10

【0089】

C D R s は、C D R H 1、C D R H 2 及び C D R H 3 に関して配列番号：15 のそれぞれ残基 26 から 35、残基 50 から 66 及び残基 99 から 101 に対応する。

【0090】

15C11 のヒト化形態の作製は、米国特許第 7,625,560 号明細書に記載されている。

20

【0091】

本発明のいくつかの抗体は、266、15C11 又は 22D12 と称される抗体と同じか又は重複するエピトープに結合する。Aβ 又は所望のエピトープを含むその一部を用いてマウスを免疫化し、得られる抗体を場合により 266、15C11 又は 22D12 との競合において Aβ への結合に関してスクリーニングすることにより、そのような結合特異性を有する他の抗体を作製することができる。抗体を Aβ の突然変異形態に対してスクリーニングし、突然変異的变化の集合への 266、15C11 又は 22D12 と同じかもしくは類似の結合分布を示す抗体を同定することができる。突然変異は、一時に 1 個の残基の、あるいはより広い間隔で、Aβ 又はエピトープが存在することが知られているその切片全体を通じての、アラニン（又はすでにアラニンが存在する場合はセリン）を用いる系統的な置き換え置換であることができる。

30

【0092】

選ばれるネズミ抗体（例えば 266、15C11 又は 22D12）の結合特異性を有する抗体を、ファージディスプレイ法の変形を用いて作製することもできる。Winter、国際公開第 92/20791 号パフレットを参照されたい。この方法は、ヒト抗体の作製に特に適している。この方法においては、選ばれるネズミ抗体の重鎖又は軽鎖可変領域を出発材料として用いる。例えば出発材料として軽鎖可変領域が選ばれる場合、メンバーが同じ軽鎖可変領域（すなわちネズミ出発材料）及び異なる重鎖可変領域を示すファージライブラリを構築する。重鎖可変領域は、例えば転位ヒト重鎖可変領域のライブラリから得られ得る。Aβ に関する強い特異的結合（例えば少なくとも 10^{-8} として好ましくは少なくとも 10^{-9}M^{-1} ）を示すファージを選択する。このファージからの重鎖可変領域は、次いでさらなるファージライブラリの構築のための出発材料として役立つ。このライブラリにおいて、各ファージは同じ重鎖可変領域（すなわち第 1 のディスプレイライブラリから同定される領域）及び異なる軽鎖可変領域を示す。軽鎖可変領域は、例えば転位ヒト軽鎖可変領域のライブラリから得られ得る。この場合も、Aβ に関する強い特異的結合を示すファージを選択する。得られる抗体は、通常、ネズミ出発材料と同じか又は類似のエピトープ特異性を有する。

40

【0093】

266、15C11 又は 22D12 のような代表的な抗体の重鎖及び軽鎖をコードする cDNA の突然変異誘発により、他の抗体を得ることができる。成熟重鎖及び / 又は軽鎖

50

可変領域のアミノ酸配列において、266、15C11又は22D12に少なくとも90%、95%又は99%同一であり、且つその機能的性質を保持している、ならびに/あるいは少数の機能的に不合理なアミノ酸置換(例えば同類置換)、欠失又は挿入によりそれぞれの抗体と異なるモノクローナル抗体も、本発明に含まれる。266、15C11又は22D12の対応するCDRsに90%、95%、99%又は100%同一であるKabattにより定義されるCDR(s)の少なくとも1つそして好ましくは6つすべてを有するモノクローナル抗体も含まれる。

【0094】

実施例に示す通り、斑、特に密集斑の除去のような免疫療法が必要な個体(例えばアルツハイマー病患者)の脳から斑、特に密集斑を除去するために中心-エピトープ抗体を用いることができる。

10

【0095】

C. N-末端抗体

いくつかの方法において、中-もしくはC-末端抗体はN-末端抗体(すなわちAβの残基1-11内、好ましくはAβの残基1-5又は3-7内のエピトープに結合する抗体)と組み合わせて用いられる。

【0096】

3D6抗体、10D5抗体及びその変形(例えばキメラ、ヒト化又は張り合わされた形態)は、用いられ得る抗体の例である。両者は、米国特許第20030165496号明細書、米国特許第20040087777号明細書、国際公開第02/46237号パンフレット及び国際公開第04/080419号パンフレット、国際公開第02/088306号パンフレット及び国際公開第02/08830号パンフレット及び米国特許第7,318,923号明細書に記載されている。10D5抗体は、米国特許第20050142131号明細書にも記載されている。追加の3D6抗体は、米国特許第20060198851号明細書及びPCT/US05/45614号パンフレットに記載されている。3D6は、ヒトAβ中に、特定のには残基1-5中に位置するN-末端エピトープに特異的に結合するモノクローナル抗体(mAb)である。10D5は、ヒトAβ中に、特定のには残基3-6内に位置するN-末端エピトープに特異的に結合するmAbである。3D6モノクローナル抗体を生産する細胞系(RB96 3D6.32.2.4)は、ブタベスト条約の約定の下に、2003年4月8日に寄託番号PTA-5130としてAmerican Type Culture Collection(ATCC)に寄託された。10D5モノクローナル抗体を生産する細胞系(RB44 10D5.19.21)は、ブタベスト条約の約定の下に、2003年4月8日に寄託番号PTA-5129としてATCCに寄託された。

20

30

【0097】

バピネウズマブ(bapineuzumab)(世界保健機関により命名された国際一般名)は、配列番号:16と称されるアミノ酸配列を有する成熟可変領域を有する軽鎖及び配列番号:17と称されるアミノ酸配列を有する成熟可変領域を有する重鎖を含んでなるヒト化3D6抗体を意味する(WHOによりバピネウズマブと命名された抗体の重鎖及び軽鎖不変領域は、それぞれヒトIgG1及びヒトカッパである。)。

40

【0098】

ヒト化3D6軽鎖可変領域

【0099】

【化 1 1】

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser
Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln
Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro Asp
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
Val Glu Ile Lys (配列番号:16)

10

【0 1 0 0】

ヒト化 3 D 6 重鎖可変領域

【0 1 0 1】

【化 1 2】

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Arg Ser Gly Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ser Asp Asn Val Lys
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg Tyr Asp His Tyr Ser Gly Ser Ser Asp Tyr
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser (配列番号:17)

20

【0 1 0 2】

配列番号: 18 と称されるアミノ酸配列を有する成熟可変領域を有する軽鎖及び配列番号: 19 と称されるアミノ酸配列を有する成熟可変領域を有する重鎖を含んで成るヒト化 10 D 5 抗体の変形 (version) を下記に示す。

【0 1 0 3】

ヒト化 10 D 5 軽鎖可変領域

【0 1 0 4】

30

【化 1 3】

Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser
Cys Arg Ser Ser Gln Asn Ile Ile His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys
Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg
Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Lys Lys Val Glu Ala Glu Asp Leu
Gly Ile Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
Leu Glu (配列番号:18)

【0 1 0 5】

40

ヒト化 10 D 5 重鎖可変領域

【0 1 0 6】

【化 1 4】

Gln Ala Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Ser Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys
 Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly
 Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser Leu
 Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Lys Gln Val Phe Leu Lys Ile Thr Ser Val
 Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Val Arg Arg Pro Ile Thr Pro Val Leu Val Asp Ala
 Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser (配列番号:19)

10

【0 1 0 7】

別の代表的な N - 末端特異的抗体は、1 2 A 1 1 又はそのキメラ、ヒト化、張り合わされた又はナノボディー (nanobody) 形態である。1 2 A 1 1 抗体又はその変形は、米国特許第 2 0 0 5 0 1 1 8 6 5 1 号明細書、米国特許第 2 0 0 6 0 1 9 8 8 5 1 号明細書、国際公開第 0 4 / 1 0 8 8 9 5 号パンフレット及び国際公開第 0 6 / 0 6 6 0 8 9 号明細書に記載されており、それらのすべてはその記載事項全体が引用することによりすべての目的のために本明細書の内容となる。1 2 A 1 1 は、ヒト A β 中、特定的に残基 3 - 7 内に位置する N - 末端エプトープに特異的に結合する mAb である。1 2 A 1 1 モノクローナル抗体を生産する細胞系は、ブタペスト条約の約定の下に、2 0 0 5 年 1 2 月 1 2 日に寄託番号 P T A - 7 2 7 1 として American Type Culture

20

【0 1 0 8】

代表的なヒト化 1 2 A 1 1 抗体の軽鎖及び重鎖可変領域に関する配列 (シグナル配列を含まない) を下記に示す。

【0 1 0 9】

ヒト化 1 2 A 1 1 軽鎖可変領域

【0 1 1 0】

【化 1 5】

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser
 Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys
 Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg
 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val
 Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ser Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
 Ile Lys (配列番号:20)

30

【0 1 1 1】

ヒト化 1 2 A 1 1 重鎖可変領域 (変形 1)

【0 1 1 2】

【化 1 6】

40

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
 Cys Ala Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser
 Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Thr Thr Thr Ala Asp Tyr Phe
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser (配列番号:21)

【0 1 1 3】

50

他の代表的な N - 末端抗体には、米国特許第 2 0 0 4 0 0 8 2 7 6 2 A 1 号明細書及び国際公開第 0 3 / 0 7 7 8 5 8 号パンフレットに記載されているような 1 2 B 4 抗体又はその変形（例えばキメラ及びヒト化）が含まれる。1 2 B 4 は、ヒト A β 中、特定の残基 3 - 7 内に位置する N - 末端エピトープに特異的に結合する m A b である。

【0114】

他の代表的な N - 末端抗体は、米国特許第 2 0 0 6 0 1 6 5 6 8 2 号明細書及び国際公開第 0 6 / 0 6 6 0 4 号パンフレットに記載されているような、6 C 6 抗体又はその変形（例えばキメラ及びヒト化）である。6 C 6 は、ヒト A β 中、特定の残基 3 - 7 内に位置する N - 末端エピトープに特異的に結合する m A b である。抗体 6 C 6 を生産する細胞系は、ブタベスト条約の約定の下に、2 0 0 5 年 1 1 月 1 日に寄託番号 P T A - 7 2 0 0 として American Type Culture Collection (ATCC) に寄託された。

10

【0115】

他の代表的な N - 末端抗体は、米国特許第 2 0 0 6 0 2 5 7 3 9 6 号明細書に記載されているような、2 H 3 抗体又はその変形（例えばキメラ又はヒト化）である。2 H 3 は、ヒト A β 中、特定の残基 2 - 7 内に位置する N - 末端エピトープに特異的に結合する m A b である。抗体 2 H 3 を生産する細胞系は、ブタベスト条約の約定の下に、2 0 0 5 年 1 2 月 1 3 日に寄託番号 P T A - 7 2 6 7 として American Type Culture Collection に寄託された。

20

【0116】

他の代表的な N - 末端抗体には、米国特許第 2 0 0 6 0 2 5 7 3 9 6 号明細書に記載されているような、3 A 3 抗体又はその変形（例えばキメラ又はヒト化）が含まれる。3 A 3 は、ヒト A β 中、特定の残基 3 - 7 内に位置する N - 末端エピトープに特異的に結合する m A b である。抗体 3 A 3 を生産する細胞系は、ブタベスト条約の約定の下に、2 0 0 5 年 1 2 月 1 3 日に寄託番号 P T A - 7 2 6 9 として American Type Culture Collection (ATCC) に寄託された。

【0117】

D . 一般的特性

以下の特性は、記載したばかりの C - 末端、中又は N - 末端抗体のいずれにも当てはまる。抗体はポリクローナル又はモノクローナルであることができる。ポリクローナル血清は、典型的には A P P の長さに沿ったいくつかのエピトープに特異的に結合する抗体の混合集団を含有する。しかしながら、ポリクローナル血清は、A β の他のセグメントに特異的に結合せずに、A β 1 - 1 1) のような A β の特定のセグメントに特異的であることができる。好ましい抗体は、キメラ、ヒト化又は張り合わせ (Queen et al . 著 , Proc . Natl . Acad . Sci . USA 8 6 : 1 0 0 2 9 - 1 0 0 3 3 , 1 9 8 9 年ならびに国際公開第 9 0 / 0 7 8 6 1 号パンフレット、米国特許第 5 , 6 9 3 , 7 6 2 号明細書、米国特許第 5 , 6 9 3 , 7 6 1 号明細書、米国特許第 5 , 5 8 5 , 0 8 9 号明細書、米国特許第 5 , 5 3 0 , 1 0 1 号明細書及び Winter , 米国特許第 5 , 2 2 5 , 5 3 9 号明細書を参照されたい) あるいはヒト (Lonberg et al . , 国際公開第 9 3 / 1 2 2 2 7 号パンフレット (1 9 9 3) ; 米国特許第 5 , 8 7 7 , 3 9 7 号明細書、米国特許第 5 , 8 7 4 , 2 9 9 号明細書、米国特許第 5 , 8 1 4 , 3 1 8 号明細書、米国特許第 5 , 7 8 9 , 6 5 0 号明細書、米国特許第 5 , 7 7 0 , 4 2 9 号明細書、米国特許第 5 , 6 6 1 , 0 1 6 号明細書、米国特許第 5 , 6 3 3 , 4 2 5 号明細書、米国特許第 5 , 6 2 5 , 1 2 6 号明細書、米国特許第 5 , 5 6 9 , 8 2 5 号明細書、米国特許第 5 , 5 4 5 , 8 0 6 号明細書、Nature 1 4 8 , 1 5 4 7 - 1 5 5 3 , 1 9 9 4 年、Nature Biotechnology 1 4 , 8 2 6 , 1 9 9 6 年、Kucherlapati , 国際公開第 9 1 / 1 0 7 4 1 号パンフレット (1 9 9 1)) 欧州特許第 1 4 8 1 0 0 8 号明細書、Black 著 , Bioprocessing Journal 1 (Sept / Oct . 2 0 0 5) 、米国特許第 2 0 0 4 1 3 2 0 6 6 号明細書、米国特許第 2 0 0 5 0 0 8 6 2 5 号明細書、国際公開第 0 4 / 0 7 2 2 6 6 号パン

30

40

50

フレット、国際公開第05/065348号パンフレット、国際公開第05/069970号パンフレット及び国際公開第06/055778号パンフレット)抗体である。

【0118】

A β に対する他のヒト以下の、例えばネズミ、モルモット、霊長類、ウサギ又はラットモノクローナル抗体の作製は、例えば動物をA β 又はそのフラグメントで免疫化することにより行われ得る。Harlow & Lane 著, Antibodies, A Laboratory Manual (CSHP NY 1988) (引用することにより記載事項がすべての目的のために本明細書の内容となる)を参照されたい。場合により、免疫原をアジュバントと一緒に投与することができる。下記の通り、いくつかの型のアジュバントを用いることができる。完全フロイントアジュバント及び続く不完全アジュバントは、実験動物の免疫化に好ましい。ウサギ及びモルモットは、典型的にはポリクローナル抗体の作製のために用いられる。マウスは、典型的にはモノクローナル抗体の作製のために用いられる。抗体は、A β 内の所望のエピトープへの特異的結合に関してスクリーニングされる。

10

【0119】

ヒト化抗体は一般的に、ヒト以下の「ドナー」の抗体からのCDRsがヒト「アクセプター」抗体配列中にグラフトされている遺伝子操作された抗体である(例えばQueen, 米国特許第5,530,101号明細書及び第5,585,089号明細書; Winter, 米国特許第5,225,539号明細書、Carter, 米国特許第6,407,213号明細書、Adair, 米国特許第5,859,205号明細書、Foot, 米国特許第6,881,557号明細書を参照されたい)。アクセプター抗体配列は、例えば成熟ヒト抗体配列、ヒト抗体配列の共通配列又は生殖系列領域配列であることができる。かくしてヒト化抗体は、全体的又は実質的にドナー抗体からのいくつか又はすべてのCDRsならびに全体的又は実質的にヒト抗体配列からの可変領域フレームワーク配列及び不変領域を有する抗体である。類似して、ヒト化重鎖は、全体的又は実質的にドナー抗体重鎖からの少なくとも1つ、2つ及び通常は3つすべてのCDRsならびに、もし存在するなら実質的にヒト重鎖可変領域フレームワーク及び不変領域配列からの重鎖可変領域フレームワーク配列及び重鎖不変領域を有する。類似して、ヒト化軽鎖は、全体的又は実質的にドナー抗体軽鎖からの少なくとも1つ、2つ及び通常は3つすべてのCDRsならびに、もし存在するなら実質的にヒト軽鎖可変領域フレームワーク及び不変領域配列からの軽鎖可変領域フレームワーク配列及び軽鎖不変領域を有する。ヒト化抗体は、ナノボディ及びdAbsの他にヒト化重鎖及びヒト化軽鎖を含む。ヒト化抗体中のCDRは、対応する残基(Kabatにより定義される)の少なくとも85%、90%、95%又は100%がそれぞれのCDRsの間で同一である場合に、実質的にヒト以下の抗体中の対応するCDRからのものである。抗体鎖の可変領域フレームワーク配列又は抗体鎖の不変領域は、Kabatにより定義される対応する残基の少なくとも85%、90%、95%又は100%が同一である場合に、実質的にそれぞれヒト可変領域フレームワーク配列又はヒト不変領域からのものである。

20

30

【0120】

ヒト化抗体には、多くの場合にマウス抗体からの6つ全部のCDRs(好ましくはKabatにより定義される)が導入されるが、全部より少ないマウス抗体からのCDRs(例えば少なくとも3、4、5つ)を用いてヒト化抗体を作製することもできる(例えばPascalis et al. 著, J. Immunol. 169:3076, 2002年; Vajdos et al. 著, Journal of Molecular Biology, 320:415-428, 2002年; Iwahashi et al. 著, Mol. Immunol. 36:1079-1091, 1999年; Tamura et al. 著, Journal of Immunology, 164:1432-1441, 2000年)。

40

【0121】

いくつかの抗体においては、ヒト化抗体における結合を保持するために、CDRsの一

50

部、すなわち S D R s と呼ばれる結合のために必要な C D R 残基のサブセットのみが必要である。抗原と接触せず、S D R s 中にない C D R 残基を以前の研究に基づいて C h o t h i a 高頻度ループの外にある K a b a t C D R s の領域から（例えば C D R H 2 中の残基 H 6 0 - H 6 5 は多くの場合に必要でない）（C h o t h i a 著, J . M o l . B i o l . 1 9 6 : 9 0 1 , 1 9 8 7 年）、分子モデリングにより、及び / 又は実験的に、あるいは G o n z a l e s e t a l . 著, M o l . I m m u n o l . 4 1 : 8 6 3 , 2 0 0 4 年に記載されている通りに同定することができる。そのようなヒト化抗体の場合、1 つもしくはそれより多いドナー C D R 残基が不在であるか、又は全部のドナー C D R が脱落している位置において、その位置を占有するアミノ酸はアクセプター抗体配列中の対応する位置（K a b a t ナンバリングにより）を占有するアミノ酸であることができる。含まれる（t o i n c l u d e ）C D R s 中でアクセプターアミノ酸がドナーアミノ酸に取って替わるそのような置換の数は、競合する重要性のバランスを反映する。そのような置換は、おそらくヒト化抗体中のマウスのアミノ酸の数を減少させ、結局免疫原性の可能性を低下させるのに有利である。しかしながら、置換は親和性の変化も引き起こし得、親和性における有意な低下は、好ましくは避けられる。C D R s 内の置換のための位置及び置換するべきアミノ酸を実験的に選択することもできる。

10

20

30

40

50

【0122】

ヒトアクセプター抗体配列を、場合により多くの既知のヒト抗体配列の中から選び、ヒトアクセプター配列可変領域フレームワークとドナー抗体鎖の対応する可変領域フレームワークの間に高度の配列同一性（例えば 6 5 ~ 8 5 % の同一性）を与えることができる。

【0123】

ヒト可変領域フレームワーク残基からのある種のアミノ酸を、C D R コンホーメーション及び / 又は抗原への結合へのそれらの影響の可能性に基づいて、置換のために選択することができる。そのような影響の可能性の研究は、モデリング、特定の位置におけるアミノ酸の特性の試験あるいは特定のアミノ酸の置換もしくは突然変異誘発の効果の実験的な観察による。

【0124】

例えばネズミ可変領域フレームワーク残基と選ばれるヒト可変領域フレームワーク残基の間でアミノ酸が異なる時、ヒトフレームワークアミノ酸をマウス抗体からの同等のフレームワークアミノ酸により、アミノ酸が：

- (1) 直接抗原に非共有結合的に結合する、
 - (2) C D R 領域に隣接する、
 - (3) 他に C D R 領域と相互作用する（例えば C D R 領域の約 6 Å 以内にある）
- ことが合理的に予測される場合に、置換することができる。

【0125】

置換に関する他の候補は、その位置においてヒト免疫グロブリンとして異常であるアクセプターヒトフレームワークアミノ酸である。これらのアミノ酸をマウスドナー抗体の同等の位置から、あるいはより典型的なヒト免疫グロブリンの同等の位置からのアミノ酸で置換することができる。置換に関する他の候補は、その位置においてヒト免疫グロブリンとして異常であるアクセプターヒトフレームワークアミノ酸である。

【0126】

キメラ抗体は、ヒト以下の抗体（例えばマウス）の軽鎖及び重鎖の成熟可変領域がヒト軽鎖及び重鎖不変領域と組み合わされた抗体である。そのような抗体は実質的に、又は全体的にマウス抗体の結合特異性を保持しており、ヒト配列の約 3 分の 2 である。

【0127】

張り合わされた抗体は少なくとも 1 つの張り合わされた抗体鎖（すなわち少なくとも 1 つの張り合わされた軽鎖又は重鎖、そして通常は両方）を含む。張り合わされた抗体鎖は、(i) 実質的にヒト以下の抗体（例えばネズミ及び場合によりマウス）からの相補性決定領域（C D R s ）（例えば少なくとも 1 つの C D R 、好ましくは 2 つの C D R s 、より好ましくは 3 つの C D R s ）及び、可変領域フレームワークの表面露出残基（好ましくは

すべてのそのような残基)が実質的にヒト抗体配列(例えば共通配列)からであることを除いて、実質的にヒト以下の抗体(例えばマウス)からの可変領域フレームワークを含む可変領域ならびに(i i)全体的に又は実質的にヒト抗体不変領域からの不変領域を有するn抗体鎖(n antibody chain)(すなわちそれぞれ軽鎖又は重鎖)である。CDRsは典型的にはKabattにより定義される通りであるが、代わりにChothiaにより定義される通りであるか又はKabatt及びChothiaにより定義されるCDR領域の複合領域であることができる。Aβに対するヒト抗体は、下記の方法により与えられる。いくつかのヒト抗体は競合的結合実験により、上記のWinterのファージディスプレイ法により、あるいは他により、実施例中に記載されるマウスモノクローナルの1つのような特定のマウス抗体と同じエпитープ特異性を有するように選択される。免疫原としてAβの1つのフラグメントのみを用いることにより、及び/又はAβの欠失突然変異体の集合に対して抗体をスクリーニングすることにより、特定のエпитープ特異性に関してヒト抗体をスクリーニングすることもできる。

10

20

30

40

50

【0128】

ヒト抗体の作製方法には、Oestberg et al. 著, Hybridoma 2: 361-367, 1983年; Oestberg, 米国特許第4,634,664号明細書; 及びEngleman et al., 米国特許第4,634,666号明細書のトリオーマ法、ヒト免疫グロブリン遺伝子を含むトランスジェニックマウスの使用(例えばLongberg et al., 国際公開第93/12227号パンフレット(1993); 米国特許第5,877,397号明細書、米国特許第5,874,299号明細書、米国特許第5,814,318号明細書、米国特許第5,789,650号明細書、米国特許第5,770,429号明細書、米国特許第5,661,016号明細書、米国特許第5,633,425号明細書、米国特許第5,625,126号明細書、米国特許第5,569,825号明細書、米国特許第5,545,806号明細書、Nature 148, 1547-1553, 1994年、Nature Biotechnology 14, 826, 1996年、Kucherlapati, 国際公開第91/10741号パンフレット(1991)を参照されたい)ならびにファージディスプレイ法(例えばDower et al., 国際公開第91/17271号パンフレット及びMcCafferty et al., 国際公開第92/01047号パンフレット、米国特許第5,877,218号明細書、米国特許第5,871,907号明細書、米国特許第5,858,657号明細書、米国特許第5,837,242号明細書、米国特許第5,733,743号明細書及び米国特許第5,565,332号明細書を参照されたい)が含まれる。

【0129】

本明細書に記載される抗体又は抗体フラグメントのいずれも、例えば米国特許第20040038304号明細書、米国特許第20070020685号明細書、米国特許第200601660184号明細書、米国特許第20060134098号明細書、米国特許第20050255552号明細書、米国特許第20050130266号明細書、米国特許第2004025363号明細書、米国特許第20040038317号明細書、米国特許第20030157579号明細書及び米国特許第7,335,478号明細書に開示されている標準的な方法を用いて設計又は作製することができる。

【0130】

抗体又は抗体フラグメントのいずれも、リン酸化、カルボキシル化又はグリコシル化のような翻訳後修飾を加えるか又は取り除く処理に供することができる。例えばN-グリコシダーゼFのようなグリコシダーゼを用いる処理により、あるいはグリコシル化に供される残基の突然変異誘発により、グリコシル化を取り除くことができる。

【0131】

上記の抗体のいずれも、種々のFcγレセプターへの結合の程度を制御するために種々のイソタイプ又は突然変異イソタイプを以て作製することができる。Fc領域がない抗体(例えばFabフラグメント)は、Fcγレセプターへの結合を欠く。イソタイプの選択

はFcγレセプターへの結合に影響する。ヒト、キメラ又はヒト化抗体には、実質的に又は全体的にヒトである不変領域が導入される。最も普通のイソタイプはヒトIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4である。かくして2G3、14C2、21F12、266、15C11及び22D12のいずれかのヒト化、キメラ又は張り合わされた形態は、ヒトIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4イソタイプのいずれかを有することができる。3つのFcγレセプター、FcγRI、FcγRII及びFcγRIIIに関し、種々のヒトIgGイソタイプのそれぞれの親和性が決定されている。(Ravetch & Kinet 著, Annu. Rev. Immunol. 9, 457, 1991年を参照されたい。)FcγRIはモノマー形態においてIgGsに結合する高親和性レセプターであり、後者の2つは多量体形態においてのみIgGsに結合する低親和性レセプターである。一般にIgG1及びIgG3の両方はすべての3つのレセプターに対する有意な結合活性を有し、IgG4はFcγRIに対する結合活性を有し、IgG2はIIa_{LR}と呼ばれるFcγRIIの1つの型のみに結合活性を有する(Parron et al. 著, J. Immunol. 148, 695, 1992年を参照されたい)。ヒトIgG1及びIgG3は補体機能を支持するが、ヒトIgG2及びIgG4は支持しない。ヒトイソタイプIgG1は通常、エフェクター機能が望まれる場合に選択され、ヒトIgG2又はIgG4はそれらが望まれていない場合に選択される。ヒトIgG1は本方法において好ましい。

10

【0132】

すべてのイソタイプにおけるヒンジリンク領域(hinge link region)内の部位上の、それに隣接する、又はそれに近い突然変異(例えば残基234、235、236及び/又は237の別の残基を用いる置き換え)は、Fcγレセプター、特にFcγRIレセプターに関する親和性を低下させる(米国特許第6,624,821号明細書を参照されたい)。場合により、位置234、236及び/又は237をアラニンで置換することができ、位置235をグルタミンで置換することができる(例えば米国特許第5,624,821号明細書を参照されたい)。位置236は、ヒトIgG2イソタイプにおいて失われている。ヒトIgG2に関する位置234、235及び237のためのアミノ酸の代表的なセグメントはAla Ala Gly、Val Ala Ala、Ala Ala Ala、Val Glu Ala及びAla Glu Alaである。ヒトイソタイプIgG1のための好ましい突然変異体の組み合わせはL234A、L235A及びG237Aである。特に好ましいN-末端抗体は、ヒトイソタイプIgGならびにヒトIgG1のFc領域のこれらの3つの突然変異を有するバビネウズマブである。Fcγレセプターへの結合を低下させる他の置換はE233P突然変異(特にマウスIgG1における)及びD265A(特にマウスIgG2aにおける)である。Fc及び/又はC1q結合を低下させる突然変異及び突然変異の組み合わせの他の例には、E318A/K320A/R322A(特にマウスIgG1における)ならびにL235A/E318A/K320A/K322A(特にマウスIgG2aにおける)が含まれる。類似して、ヒトIgG4中の残基241(Ser)を、例えばプロリンで置き換え、Fc結合を崩壊させることができる。

20

30

【0133】

エフェクター活性を改変するために追加の突然変異を不変領域に起こさせることができる。例えばA330S、P331S又は両方において、IgG2a不変領域に突然変異を起こさせることができる。IgG4に関し、E233P、F234V及びL235Aにおいて突然変異を起こさせるか、G236を欠失させるか、あるいはそれらの組み合わせを行うことができる。IgG4は以下の突然変異S228P及びL235Eの1つ又は両方を有することもできる。エフェクター機能の改変のための破壊された不変領域配列の使用はさらに、例えば国際公開第06/118,959号パンフレット及び国際公開第06/036291号パンフレットに記載されている。

40

【0134】

エフェクター活性の改変のために、ヒトIgGの不変領域にさらなる突然変異を起こさ

50

せることができる（例えば国際公開第06/03291号パンフレットを参照されたい）。これらには以下の置換が含まれる：ヒトIgG1への(i)A327G, A330S, P331S; (ii)E233P, L234V, L235A, G236欠失; (iii)E233P, L234V, L235A; (iv)E233P, L234V, L235A, G236欠失, A327G, A330S, P331S; 及び(v)E233P, L234V, L235A, A327G, A330S, P331S。

【0135】

重鎖不変領域のある残基を突然変異させることにより、FcRに関する抗体の親和性を変えることができる。例えばヒトIgG1のグリコシル化部位の崩壊は、抗体のFcR結合及びかくしてエフェクター機能を低下させる（例えば国際公開第06/036291号パンフレットを参照されたい）。Xがプロリン以外のいずれかのアミノ酸であるトリペプチド配列NXS、NXT及びNXCは、N残基のグリコシル化のための酵素認識部位である。特にIgGのCH2領域中のトリペプチドアミノ酸の崩壊は、その部位におけるグリコシル化を妨げるであろう。例えばヒトIgG1のN297の突然変異はグリコシル化を妨げ、抗体へのFcR結合を低下させる。

【0136】

ヒト不変領域は、種々の個体間でアロタイプの変動及びイソアロタイプの変動を示し、すなわち不変領域は1つもしくはそれより多い多形位置において種々の個体で異なり得る。イソアロタイプは、イソアロタイプを認識する血清が1つもしくはそれより多い他のイソタイプの非-多形領域に結合する点で、アロタイプと異なる。IgG1不変領域の好ましいアロタイプはG1mzであり、それは位置356にGlu及び位置358にMetを有する。カッパ不変領域の好ましいアロタイプはKm3であり、それは位置153にAla及び位置191にValを有する。異なるアロタイプKm(1)は位置153及び191にそれぞれVal及びLeuを有する。アロタイプの変形はJ. Immunogen 3:357-362, 1976年及びLoghem著, Monogr Allergy 19:40-51, 1986年により概述されている。不変領域の他のアロタイプの及びイソアロタイプの変形は包含される。天然のアロタイプにおける多形位置を占有する残基の過突然変異(permutation)を有する不変領域も包含される。他の重鎖IgG1アロタイプの例には: G1m(f)、G1m(a)及びG1m(x)が含まれる。G1m(f)は、それが位置214にLysの代わりにArgを有する点でG1m(z)と異なる。G1m(a)は位置355-358にアミノ酸Arg、Asp、Glu、Leuを有する。

【0137】

III. 活性免疫化

C-末端、中又はN-末端エピトープへの抗体を、Aβの免疫原性フラグメント又はそのような抗体を誘導するその類似物を用いる活性免疫化により、患者においてその場で作製することもできる。好ましいフラグメントは、Aβの約5-12個、5-10個そしてより好ましくは6-9個の連続残基を有する。中心エピトープへの抗体の作製のために、5-12個、5-10個又はより好ましくは6-9個の連続残基は、Aβの残基12-28内にある。C-末端エピトープへの抗体の作製のために、5-12個、5-10個又はより好ましくは6-9個の連続残基は、Aβの残基29-43内にある。N-末端エピトープへの抗体の作製のために、5-12個又は6-9個の連続残基は、Aβの残基1-11内にある。

【0138】

Aβの中心エピトープへの抗体の誘導のために好ましいフラグメントには、Aβ15-21、Aβ16-22、Aβ17-23、Aβ18-24、Aβ19-25、Aβ15-22、Aβ16-23、Aβ17-24、Aβ18-25、Aβ15-23、Aβ16-24、Aβ17-25、Aβ18-26、Aβ15-24、Aβ16-25及びAβ15-25が含まれる。Aβ16-23は、Aβの残基16-23を含み、Aβの他の残基がないフラグメントを意味し、特に好ましい。そのようなフラグメントにより誘導される抗

10

20

30

40

50

体の少なくともいくつかは、266のような代表的な中心領域モノクローナル抗体の場合にそうであるように、拡散斑より密集斑に優先的に結合する。

【0139】

C-末端エピトープへの抗体の誘導のために好ましいフラグメントは、Aβの残基29と43の間の5～12個そして好ましくは6～9個の連続アミノ酸のAβ39、40、41、42又は43のC-末端フラグメントを含む。そのようなフラグメントにより誘導される抗体の少なくともいくつかは、代表的なC-末端抗体の場合にそうであるように、拡散斑より密集斑に優先的に結合する。

【0140】

N-末端抗体の誘導のために好ましいフラグメントには、Aβの1-3の間の残基において始まり、Aβの7-11の間の残基において終わるフラグメントが含まれる。代表的なN-末端フラグメントにはAβ1-5、1-6、1-7、1-10及び3-7が含まれ、1-7が特に好ましい。

10

【0141】

フラグメントは、好ましくはAβに対するT-細胞を誘導するT-細胞エピトープを欠いている。一般にT-細胞エピトープは10個の連続アミノ酸より大きい。従ってAβの好ましいフラグメントは5～10個又は好ましくは6～9個の連続アミノ酸の寸法；すなわちT-細胞反応を起こさずに抗体反応を起こすのに十分な長さのものである。T-細胞エピトープの不在は、これらのエピトープがフラグメントの免疫原活性に必要でなく、且つ患者の小さい組において望ましくない炎症反応を引き起こし得る故に、好ましい。

20

【0142】

フラグメントは、通常は天然のAβのフラグメント（例えば配列番号：1中に示されるAβ1-42）であるが、1、2、5、10個の位置又はすべての位置においてさえ、非天然のアミノ酸あるいはNもしくはC末端アミノ酸の改変を含むことができる。例えばAβの位置1及び/又は7における天然のアスパラギン酸残基をイソ-アスパラギン酸で置き換えることができる。非天然のアミノ酸の例はD、アルファ、アルファ-二置換アミノ酸、N-アルキルアミノ酸、乳酸、4-ヒドロキシプロリン、γ-カルボキシグルタメート、イブシロン-N、N、N-トリメチルリシン、イブシロン-N-アセチルリシン、O-ホスホセリン、N-アセチルセリン、N-ホルミルメチオニン、3-メチルヒスチジン、5-ヒドロキシリシン、オメガ-N-メチルアルギニン、β-アラニン、オルニチン、ノロイシ、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、チロキシン、γ-アミノ酪酸、ホモセリン、シトルリン及びイソアスパラギン酸である。いくつかのフラグメントは全-Dペプチド、例えば全-D Aβ又は全-D Aβフラグメント及び全-Dペプチド類似物である。フラグメントを、未処置又はブラシーボ標準と比較されるトランスジェニック動物モデルにおける予防又は治療的有効性に関してスクリーニングすることができる。

30

【0143】

フラグメントは、典型的には担体分子、典型的にはT-細胞エピトープを与え、且つかくして担体に複合体化されたフラグメントに対する免疫反応を引き出すのを助ける担体ポリペプチドに複合体化される。1つの薬剤を1つの担体に連結させることができるか、1つの薬剤の多数のコピーを1つの担体の多数のコピーに連結させ、それを今度は互いに連結させることができるか、1つの薬剤の多数のコピーを1つの担体の1つのコピーに連結させることができるか、あるいは1つの薬剤の1つのコピーを1つの担体又は種々の担体の多数のコピーに連結させることができる。適した担体には血清アルブミン、キーホールリンペットヘモシアニン、免疫グロブリン分子、チログロブリン、オボアルブミン、破傷風トキソイド又は他の病原性バクテリア、例えばジフテリア（例えばCRM₁₉₇）、E. コリ（E. coli）、コレラ又はH. ピロリ（H. pylori）、からのトキソイドあるいは減衰毒素誘導体が含まれる。T細胞エピトープも適した担体分子である。本発明の薬剤を免疫刺激性ポリマー分子（例えばトリパルミトイル-S-グリセリンシステイン（Pam₃Cys）、マンナン（マンノースポリマー）又はグルカン（β1→2ポリマー）、サイトカイン（例えばIL-1、IL-1アルファ及びβペプチド、IL-2、γ-

40

50

INF、IL-10、GM-CSF)及びケモカイン(例えばMIP1- α 及び β ならびにRANTES)に連結することにより、いくつかの複合体を形成することができる。O'Mahony, 国際公開第97/17613号パンフレット及び国際公開第97/17614号パンフレットに記載されているように、組織を横切る輸送を強化するペプチドに免疫原性薬剤を連結することもできる。スパーサーアミノ酸(例えばgly-gly)を用いて、又は用いずに免疫原を担体に連結することができる。

【0144】

追加の担体にはウイルス-様粒子が含まれる。擬ビリオン又はウイルス-由来粒子とも呼ばれるウイルス-様粒子(VLPs)は、生体内で規定された球対称のVLPsに自己集合できるウイルスキャプシド及び/又はエンベロープタンパク質の多数のコピーから成るサブユニット構造を呈する。(Powilleit, et al. 著, (2007) PLoS ONE 2(5): e415)。これらの粒子は抗原送達系として有用であることが見出されている。VLPsは、それらの粒子状の性質及び高い分子量の故に、大量に生産され、且つ容易に精製され得る。VLPsは、追加のアジュバントの適用なしで免疫反応を誘導する。(Ulrich et al. 著, (1996) Intervirology 39: 126-132)。VLP抗原送達系として有用な代表的なキメラ粒子には、B型肝炎ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、酵母レトロトランスポゾンTy、酵母トティウイルスL-A、パルボウイルス、インフルエンザウイルス、ノーウォークウイルス、ロタウイルス、アデノ-関連ウイルス、ブルータングウイルス、A型肝炎ウイルス、ヒト乳頭腫ウイルス、麻疹ウイルス、ポリオーマウイルス及びRNAファージウイルスに基づくものならびに種々のレトロウイルス及びレンチウイルスに基づくものが含まれる。総説に関し、Lechner, et al. 著, (2002) Intervirology 45: 212-217を参照されたい。

【0145】

B型肝炎ウイルスのコアタンパク質(HBcAg)は、異種抗原を運ぶために用いられる共通のVLPである(Koletzki et al. 著, (1997) J Gen Vir 78: 2049-2053を参照されたい)。要するに、長い異種タンパク質セグメントを与えるVLPsの構築のための芯としてHBcAgを用いることができる。その方法は、C-末端が切断された(C-terminally truncated)HBcAgと停止コドンを含む異種タンパク質配列の間にリンカー配列を有する構築物を用いる。E. コリサプレッサー株中における発現のためのオパールTGA-Trp突然変異に基づくリードスルー機構を用いて、切断(truncated)HBcAg/異種タンパク質キメラを発現させる。Koletzki et al. により記載されている方法は、VLPs中への長い異種タンパク質配列の導入を可能にし、より多様な抗原をVLPにより運ぶことを可能にする。

【0146】

HIVウイルスGagタンパク質を抗原担体系として用いることができる(Griffiths et al. 著, (1993) J Virol. 67(6): 3191-3198を参照されたい)。Griffithsは、HIVエンベロープの主な(principle)中和決定因子であるHIVのV3ループを用いた。Gag:V3融合タンパク質は、ウイルス-由来粒子(VDPs)と称されるハイブリッドGag粒子に生体内で集合した。VDPsは体液性及び細胞性反応の両方を誘導する。V3ループはCTLエピトープを含むので、Gag:V3を用いる免疫化はVLPのV3タンパク質部分へのCTL反応を誘導する。

【0147】

ハイブリッドHIV:Ty VLPを用いることもできる(Adams et al. 著, (1987) Nature 329(3): 68-70を参照されたい)。HIV:Ty VLPは、酵母トランスポゾンTyのp1タンパク質を用いる。p1の最初の381個のアミノ酸は、VLP形成に十分である。HIV:Ty融合タンパク質は生体内でVLPsに集合することができ、ならびにVLPにより運ばれるHIV抗原への免疫反応

を誘導することができる。Ty p 1 タンパク質を用いるVLPsは、アルファ2 - インターフェロンの全体、ウシ乳頭腫ウイルスE 1 及びE 2 遺伝子の産物ならびにインフルエンザ血球凝集素の一部に融合したp 1 も含有することができる。これらのTy 融合物のそれぞれはVLPsを形成し、且つ非 - Ty VLP成分への抗血清の生産を誘導することができた。

【0148】

酵母トティウイルスL - Aの変異体からVLPsを設計することもできる(Powell et al. 著, (2007) PLOS One 2(5): e415を参照されたい)。L - AウイルスのPol遺伝子を、特異的な免疫反応を誘導するために適した抗原で置き換え、酵母VLPsが有効な抗原担体であることを示すことができる。

10

【0149】

組換え、非複製性パルボウイルス - 様粒子を抗原担体として用いることもできる。(Sedlik, et al. 著(1997) PNAS 94: 7503 - 7508.) これらの粒子は運ばれる抗原を細胞質ゾル中に与えるので、それらはクラスI - 制限免疫経路(class I - restricted immunological pathway)に入り、かくして細胞障害性T - リンパ球(CTL)媒介反応を刺激する。Sedlikは特定のPPV:VLPを使用し、それはパルボウイルスのVP2キャプシドタンパク質を含有し、リンパ球性脈絡膜炎ウイルス(LCMV)からの残基118 - 132がVP2キャプシドタンパク質中に挿入された。LCMVを含有するPPV:VLPはLCMVへの免疫反応を誘導することができ、予備 - 免疫化されたマウスにおいて致死のウイルス投与量に対して免疫学的防御を引き出した。

20

【0150】

VLPsは、ウイルス複製のために必須の遺伝子であるインフルエンザNS2遺伝子を欠いている複製不全インフルエンザを含むこともできる。(Watanabe, et al 著(1996) J. Virol. 76(2): 767 - 773.) これらのVLPsは哺乳動物細胞に感染し、異種タンパク質の発現を可能にする。

【0151】

ノーウォークウイルス(NV)に基づくVLPsを免疫原送達のためのビヒクルとして用いることもできる。(Ball, et al. 著(1999) Gastroenterology 117: 40 - 48.) NVゲノムは3つのオープンリーディングフレーム(ORFs 1 - 3)を有する。ORFs 2 及び3の組換えバクテリオウイルス発現は、高収率の組換えノーウォークウイルス(rNV)VLPsの自然の集合を可能にする。

30

【0152】

フラグメントは多くの場合に製薬学的に許容され得るアジュバントと一緒に投与される。アジュバントは、ペプチドが単独で用いられる場合の状況と比較して、誘導される抗体の力価及び/又は誘導される抗体の結合親和性を向上させる。免疫反応を引き出すために、多様なアジュバントをAβの免疫原性フラグメントと組み合わせて用いることができる。好ましいアジュバントは、反応の質的な形態に影響する免疫原におけるコンホーメーション的变化を引き起こすことなく、免疫原への固有の反応を増大させる。好ましいアジュバントには水酸化アルミニウム及びリン酸アルミニウム、3 - De - O - アセチル化モノホスホリルリピドA(MPLTM) (英国特許第2220211号明細書(RIBI Immunochem Research Inc., Hamilton, Montana, 現在はCorixaの一部)を参照されたい)が含まれる。StimulonTM QS - 21は、南アメリカで見出されるシャボンノキ(Quillaja Saponaria Molina tree)の樹皮から単離されるトリテルペングリコシド又はサポニンである(Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (eds. Powell & Newman, Plenum Press, NY, 1995)におけるKensil et al.; 米国特許第5, 057, 540号明細書)、(Aquila BioPharmaceuticals, Framingham, MA: 現在はAntigenics, Inc., New Yor

40

50

k, NY)を参照されたい)。他のアジュバントは、場合により免疫刺激剤、例えばモノホスホリルリピドA (Stoute et al., 著, N. Engl. J. Med., 336, 86-91, 1997年を参照されたい)、ブルロニックポリマー及び殺害されたマイコバクテリア (mycobacteria) と組み合わせられていることができる水中油型エマルジョン (例えばスクアレン又はピーナツ油) である。別のアジュバントはCpG (国際公開第98/40100号パンフレット) である。アジュバントを、活性薬剤を含む治療用組成物の成分として投与することができるか、あるいは治療薬の投与の前に、それと同時に、又はその後別々に投与することができる。

【0153】

好ましい種類のアジュバントはアルミニウム塩 (alum)、例えば水酸化alum、リン酸alum、硫酸alumである。そのようなアジュバントを、MPL又は3-DM P、QS-21、ポリマー性もしくはモノマー性アミノ酸、例えばポリグルタミン酸又はポリリシンのような他の特定の免疫刺激剤と一緒に、又はそれらなしで用いることができる。別の種類のアジュバントは水中油型エマルジョン調剤である。そのようなアジュバントを他の特定の免疫刺激剤、例えばムラミルペプチド (例えばN-アセチルムラミル-L-トレオニル-D-イソグルタミン (thr-MDP)、N-アセチル-ノルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン (nor-MDP)、N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン-L-アラニン-2-(1'-2'-ジバルミトイル-sn-グリセロ-3-ヒドロキシホスホリルオキシ)-エチルアミン (MTP-PE)、N-アセチルグルクサミニル-N-アセチルムラミル-L-Al-D-イソglu-L-Ala-ジバルミトキシプロピルアミド (DTP-DPP) テラミドTM) あるいは他のバクテリア細胞壁成分と一緒に、又はそれらなしで用いることができる。水中油型エマルジョンには (a) Model 110Y微細流動装置 (Microfluidics, Newton MA) のような微細流動装置を用いてミクロン以下の粒子に調製される、5%スクアレン、0.5% Tween 80及び0.5% Span 85を含有する (場合により種々の量のMTP-PEを含有することができる) MF59 (国際公開第90/14837号パンフレット)、(b) ミクロン以下のエマルジョンに微細流動化されるか、又は渦動されてより大きな粒度のエマルジョンを生成する、10%スクアレン、0.4% Tween 80、5%ブルロニック-ブロックポリマーL121及びthr-MDPを含有するSAF及び(c) 2%スクアレン、0.2% Tween 80ならびにモノホスホリルリピドA (MPL)、トレハロースジミコーレート (TDM) 及び細胞壁骨格 (CWS) より成る群から選ばれる1つもしくはそれより多くのバクテリア細胞壁成分、好ましくはMPL+CWS (DetoxTM) を含有するRibiTMアジュバント系 (RAS) (Ribi ImmunoChem, Hamilton, MT) が含まれる。

【0154】

別の種類の好ましいアジュバントはサポニンアジュバント、例えばStimulonTM (QS-21, Aquila, Framingham, MA) あるいはそれから生成する粒子、例えばISCOMs (免疫刺激性複合体) 及びISCOMATRIXである。他のアジュバントにはRC-529、GM-CSF及び完全フロイントアジュバント (CFA) 及び不完全フロイントアジュバント (IFA) が含まれる。他のアジュバントにはサイトカイン、例えばインターロイキン (例えばIL-1 α 及び β ペプチド、IL-2、IL-4、IL-6、IL-12、IL-13及びIL-15)、マクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF)、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、腫瘍壊死因子 (TNF)、ケモカイン、例えばMIP1 α 及び β ならびにRANTESが含まれる。別の種類のアジュバントは、N-グリコシルアミド、N-グリコシルウレア及びN-グリコシルカルバメートを含む糖脂質類似物であり、それらのそれぞれはイムノモジュレーター (immuno-modulators) 又はアジュバントとして糖残基においてアミノ酸により置換されている (米国特許第4,855,283号明細書を参照されたい)。熱ショックタンパク質、例えばHSP70及びHSP90をアジュバントとして用いることもできる。

10

20

30

40

50

【0155】

アジュバントを1つの組成物として免疫原と一緒に投与することができるか、あるいは免疫原の投与の前に、それと同時に、又はその後投与することができる。免疫原及びアジュバントを同じバイアル中に包装し、供給することができるか、あるいは別々のバイアル中に包装して使用前に混合することができる。免疫原及びアジュバントは、典型的には意図される治療的用途を示すラベルと一緒に包装される。免疫原及びアジュバントを別々に包装する場合、包装は、典型的には使用前の混合に関する指示書を含む。アジュバント及び/又は担体の選択は、アジュバントを含有する免疫原性調製物の安定性、投与経路、投薬スケジュール、ワクチン接種されている種に関するアジュバントの有効性に依存し、ヒトにおいて、製薬学的に許容され得るアジュバントは、関連する規制機関によりヒトへの投与に関して承認されているかあるいは承認され得るものである。例えば完全フロイントアジュバントはヒトへの投与に適していない。alum、MPL及びQS-21は好ましい。場合により、2種もしくはそれより多種のアジュバントを同時に用いることができる。好ましい組み合わせにはalumとMPL、alumとQS-21、MPLとQS-21、MPL又はRC-529とGM-CSFならびに一緒にalum、QS-21及びMPLが含まれる。また、不完全フロイントアジュバント(Chang et al., 著, Advanced Drug Delivery Reviews 32, 173-186, 1998年)を、場合によりalum、QS-21及びMPLのいずれか及びそれらのすべての組み合わせと組み合わせて用いることができる。

10

【0156】

20

IV. 処置を受け得る(amenable)患者

C-末端及び中心-エピトープ抗体又はそのような抗体を誘導するAβのフラグメントを、Aβの密集斑と関連する疾患及び/又は状態(例えばアルツハイマー病、ダウン症候群及びパーキンソン病のいくつかの形態)の処置のために有効な療法において用いることができる。症状発現前のADにおいて、斑全体に対する「原線維状斑」とも呼ばれる密集斑の割合は22%であるが、末期ADにおいては49%に上昇する。Dickson and Vickers 著, Neuroscience 105:99-107, 2001年。これらの密集斑の大部分(82%)はジストロフィー性神経炎(dystrrophic neuritis)と関連する。同上。かくしてAD痴呆の進行は、密集斑のより高い割合への移行と関連し、それは局所的神経炎性ジストロフィーを誘起する。

30

【0157】

密集斑の呈示量は疾患の進行と共に増加するので、中から後期アルツハイマー病に苦しむ患者は比較的高い密集斑の呈示量を有する傾向がある。かくして例えば認知尺度から診断される中から後期アルツハイマー病を有する患者を、密集斑の呈示量の個別的な評価を用いて、又はそれらなしで、中心もしくはC-末端抗体あるいはそのような抗体を誘導するAβのフラグメントを用いて処置することができる。

【0158】

あるいはまた、必ずしも認知尺度に基づくような他の方法で患者の疾患の進行の段階を評価せずに、彼らの密集斑の呈示量から、中心もしくはC-末端抗体又はそのような抗体を誘導するAβのフラグメントを用いる処置に関して患者を評価することができる。下記にさらに詳細に議論するようなPET走査により、密集斑の呈示量を決定することができる。比の算出のために、密集斑の数を斑の合計数(すなわち密集斑、拡散斑及び高密度コアブランク(dense core plaques))と比較する。高密度芯斑は斑全体に含まれるが、密集斑として計算されない。(すべての型の)斑は、脳の区画された断面又は体積又は領域内で測定される。処置の開始を知らせる密集斑の割合は、斑全体の少なくとも25%であることができる。いくつかの方法において、斑全体に対する密集斑の割合は、中心もしくはC-末端抗体を用いる処置の開始の前に、斑全体の少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%又は少なくとも50%である。何人かの患者において、斑全体に対する密集斑の割合は、中心もしくはC-末端抗体を用いる処置の開始の前に、斑全体の少なくとも25%、26%、27%、28%、29

40

50

%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%又は50%である。

【0159】

C - 末端及び中心 - エピトープ抗体は、N - 末端抗体と異なる密集斑及び拡散斑への結合分布を有する（すなわちC - 末端及び中心エピトープ抗体は密集斑に優先的に結合する）。また、AD脳内の多くのアミロイド斑は、位置3におけるピログルタメートで始まってN - 末端が切断されて改変されている。Harigaya et al. 著, Biochem Biophys Res Commun 276: 422 - 427, 2000年; Guntert et al. 著, Neuroscience 143: 461 - 475, 2006年。かくしてC - 末端又は中心エピトープを認識する抗体は、N - 末端エピトープ抗体により認識されないA β の切断された分子を認識する。異なる結合特異性の故に、C - 末端もしくは中心エピトープ抗体又はそのような抗体を誘導するA β のフラグメントを用いる処置を、いくつかの方法において、N - 末端抗体又はそのような抗体を誘導するA β のフラグメントを用いる処置と組み合わせることができる。抗体の組み合わせは、個別の抗体の使用より多くのアミロイド沈着物の除去を生ずることができる。種々の抗体を逐次的又は同時に投与することができる。

【0160】

いくつかの方法において、最初にN - 末端エピトープ抗体又はそのような抗体を誘導するフラグメントを用いて患者を処置する。N - 末端エピトープ抗体を用いる処置が密集斑のクリアランスの欠除、最適より低いもしくは不完全なクリアランスを生じたら、そのような患者を次いでC - 末端もしくは中心エピトープ抗体を用いて処置することができる。クリアランスの欠除、最適より低いもしくは不完全なクリアランスは、下記で議論するPETイメージングにより決定され得るか、あるいは他のバイオマーカー又は認知低下の不十分な抑制から推定的に決定され得る。認知尺度にはADAS - CO11、ADAS - CO12、DAASD、CDR - SB、NTB、NPI、MMSEが含まれ、バイオマーカーには[18F]FDG、MRIマーカー（BBSI及びVBSI）ならびにCSFマーカーA β $\geq$ 42、タウ及びホスホ - タウが含まれる。しかしながら、PETイメージングにより検出される変化は、多くの場合にバイオマーカー又は認知試験における変化に先行する。

【0161】

いくつかの方法において、最初にC - 末端もしくは中心 - エピトープ抗体又はそのような抗体を誘導するA β のフラグメントを用いて患者を処置する。処置が拡散斑のクリアランスの欠除、不完全なもしくは最適より低いクリアランスを生じたら、次いでN - 末端エピトープ抗体を投与することができる。拡散斑のクリアランスの欠除、不完全なもしくは最適より低いクリアランスは、PETイメージングにより決定され得るか、あるいはバイオマーカーから、又は認知低下の不十分な抑制から推定され得る。

【0162】

他の方法において、N - 末端抗体又はそのような抗体を誘導するA β のフラグメント及びC - 末端もしくは中心 - エピトープ抗体又はそのような抗体を誘導するA β のフラグメントを同時に投与する。同時投与は、抗体を同じ時点に（例えば混合調製物として）投与すること、あるいは別々であるが重なる療法において投与し、治療的濃度の両抗体が長時間（例えば少なくとも1、3、6又は12カ月）血清中に存在するようにすることを含む。そのような方法においては、抗体の種々の特異性を組み合わせ、密集斑及び拡散斑の両方を減少させるか、又は少なくともそれらのさらなる増加を抑制することができる。

【0163】

本発明のC - 末端及び中心 - エピトープ抗体又はそのような抗体を誘導するA β のフラグメントを、アルツハイマー病及び併発性のてんかんを有する患者の処置に用いることもできる。動物モデルにおいて、密集斑は、AD - 特異的てんかん性発作に寄与し得る異常なニューロン性多動（neuronal hyperactivity）（Busche

et al. 著, Science 321:1686-1689, 2008年)、軸索消失、変性神経突起ならびにニューロン損傷及び死を誘起する。Shah et al. 著, Am J Pathol 177:325-333, 2010年; Sheng et al. 著, J Neuropath Exp Neurol 57:714-717, 1998年。従って密集斑に優先的に結合する抗体は、併発性のてんかんを有するアルツハイマー病患者のために特に有用である。本発明の中心及びC-末端抗体を用いる密集斑の除去は、そのような患者においててんかん性発作の症状を軽減することができ、ならびにアルツハイマー病自身の症状のさらなる発現を軽減するかもしくは抑制することができる。

【0164】

本発明のC-末端及び中心-エピトープ抗体を、いずれのApoE遺伝子型における患者でも有効に用いることができる。特に、本発明の抗体をE3/E3、E3/E4又はE4/E4 ApoE遺伝子型を有する患者において用いることができる。

【0165】

V. 処置及び投薬量

「有効な療法」は、患者において望ましい結果を生む投薬量ならびに投与の頻度及び経路である。予防的用途においては、薬剤又はそれを含有する製薬学的組成物もしくは医薬品(medicaments)を、疾患(例えばアルツハイマー病)にかかり易いか又はそうでなくてもその危険にある患者に、危険を低下させるか、重度を低下させるか、あるいは疾患の少なくとも1つの徴候もしくは症状の開始を遅らせるのに有効な療法(投薬量、投与の頻度及び経路)において投与する。特に療法は、好ましくは患者の脳中のアミロイド沈着物(特に密集斑)の量を減少させるか、少なくともアミロイド沈着物(特に密集斑)の量の増加を抑制するのに有効である。アルツハイマー病の危険にある患者は、アルツハイマー病と診断されたことがない脳中に正常なレベルより多いアミロイド沈着物を有する患者ならびにアルツハイマー病と診断されたことがない穏やかな認知損傷を有する患者を含む。治療的用途においては、アルツハイマー病と思われるか、又はすでにアルツハイマー病に苦しむ患者に薬剤組成物又は医薬品を、疾患の少なくとも1つの徴候又は症状を改善するか、又は少なくともさらなる悪化を抑制するのに有効な療法(投薬量、投与の頻度及び経路)において投与する。特に療法は、好ましくは患者におけるアミロイド沈着物(特に密集斑)を減少させるか、又は少なくともそのさらなる増加を抑制するのに有効である。

【0166】

上記の状態の処置のために有効な本発明の組成物の投薬量は、投与の手段、標的部位、患者の生理学的状態、患者がヒトであるか又は動物であるか、投与されている他の医薬品ならびに処置が予防的であるか又は治療的であるかを含む多種の因子に依存して変わる。

【0167】

場合により、抗体を投与して、投与される抗体の0.1~60、0.4~20又は1~15 µg/mlの平均血清濃度を患者において達成する。血清濃度は実際の測定により決定され得るか、あるいは投与された抗体の量、投与の頻度、投与の経路及び抗体の半減期に基づいて標準的な薬物動態学(例えばWinNonline Version 4.0.1(Pharsight Corporation, Cary, USA))から予測され得る。

【0168】

血清中の平均抗体濃度は、場合により1~10、1~5又は2~4 µg/mlの範囲内であることができる。起こり得る副作用、特に血管性水腫の発生に対して治療的利益を最大にするために、患者における抗体の最大血清濃度を血清のml当たり約28 µgの抗体より低く保持するのも任意である。好ましい最大血清濃度は、血清のml当たり約4~28 µgの抗体の範囲内である。血清のml当たり約28 µgの抗体より低い最大血清と患者における抗体の平均血清濃度が血清のml当たり約7 µgの抗体より低いことの組み合わせが特に有益である。場合により、平均濃度は血清のml当たり約2~7 µgの抗体の

10

20

30

40

50

範囲内であることができる。

【0169】

抗体の投与後の血漿中のA β の濃度は、おおまかに抗体血清濃度の変化と平行して変化する。言い換えると、A β の血漿濃度は抗体の投薬後に最高であり、次いで投薬間で抗体の濃度が下降すると共に下降する。投薬量及び抗体投与の療法を変えて、血漿中のA β の所望のレベルを得ることができる。そのような方法において、抗体の平均血漿濃度は少なくとも450 pg/ml又は例えば600~3000 pg/ml又は700~2000 pg/ml又は800~1000 pg/mlの範囲内であることができる。

【0170】

抗体に関する代表的な投薬量範囲は宿主の体重のkg当たり約0.01~10 mg、kg当たり0.01~5 mg、そしていくつかの場合にはkg当たり0.1~3 mg又はkg当たり0.15~2 mg又はkg当たり0.15~1.5 mgである。いくつかの場合、投薬量は0.01、0.05、0.1、0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、6、7、8、9又は10 mg/kgである。そのような投薬量を患者に毎日、隔日に、毎週、隔週に、毎月、毎季あるいは実験的分析により決定される他のスケジュールに従って投与することができる。代表的な処置は、例えば少なくとも3カ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9カ月又は少なくとも1年の長期間に及ぶ多数回の投薬における投与を要する。追加の代表的な処置療法は、2週間毎に1回又は1ヶ月毎に1回又は3~6ヶ月毎に1回の投与を要する。投薬量を例えば静脈内に又は皮下に投与することができる。

10

20

【0171】

静脈内投与のために、静脈内に毎季投与される0.1 mg/kg~2 mg/kg、そして好ましくは0.5 mg/kg、1.0 mg/kg又は1.5 mg/kgの投薬量が適している。毎月の静脈内投与のための好ましい抗体の投薬量は、0.1~1.0 mg/kgの抗体又は好ましくは0.5~1.0 mg/kgの抗体の範囲内にある。

【0172】

より頻繁な投薬、例えば毎週から毎月の投薬のためには皮下投与が好ましい。皮下投薬は投与がより容易であり、静脈内投薬と比較して最大血清濃度を下げることができる。皮下投薬のための代表的な投薬量は、通常0.01~0.6 mg/kg又は0.01~0.35 mg/kg、好ましくは0.05~0.25 mg/kgの範囲内である。毎週又は隔週投薬のために、投薬量は好ましくは0.015~0.2 mg/kg又は0.05~0.15 mg/kgの範囲内である。毎週の投薬のために、投薬量は好ましくは0.05~0.07 mg/kg、例えば約0.06 mg/kgである。隔週の投薬のために、投薬量は好ましくは0.1~0.15 mg/kgである。毎月の投薬のために、投薬量は好ましくは0.1~0.3 mg/kg又は約0.2 mg/kgである。毎月の投薬は、暦月又は太陰月（すなわち4週間毎）による投薬を含む。出願中の他の場合と同様にこの場合も、mg/kgにおいて表わされる投薬量を、典型的に整数にまらめて典型的な患者の体重(mass)（例えば70又は75 kg）倍することにより、絶対投薬質量(absolute mass doses)に転換することができる。他の療法は例えばPCT/US 2007/009499に記載されている。上記で議論した通り、患者のAPOE事情に基づいて投薬量及び頻度をこれらの指針内で変えることができる。

30

40

【0173】

活性投与のための薬剤の量は、患者当たり1~500 μ gで変わり、より普通にはヒトへの投与のための注入当たりに5~100 μ gで変わる。注入当たりの代表的な投薬量は、ヒトへの注入毎に3、10、30又は90 μ gである。免疫原の質量は、免疫原内の免疫原性エピトープ対全体としての免疫原の質量の質量比にも依存する。典型的に、免疫原の免疫化毎に 10^{-3} ~ 10^{-5} マイクロモルの免疫原性エピトープが用いられる。注入のタイミングは、1日1回から1年に1回まで、10年に1回までで有意に変わり得る。ある投薬量の免疫原が与えられるいずれの与えられた日にも、アジュバントも投与される場合、投薬量は患者当たり1 μ gより多く、通常は患者当たりに10 μ gより多く、そしてア

50

ジュバントの不在下で患者あたりに $10 \mu\text{g}$ より多く、通常は患者あたりに $100 \mu\text{g}$ より多い。典型的な療法は、免疫化及びそれに続く6週間間隔のような時間間隔をおいたブースター注入から成る。別の療法は、免疫化及びそれに続く1、2及び12カ月後のブースター注入から成る。別の療法は、2ヶ月毎の終生の注入を要する。あるいはまた、ブースター注入は免疫反応の監視により示される通りの不規則を基本とすることができる。活性薬剤により誘導される抗体が、受動的投与 (passive administration) におけるように $0.1 \sim 60$ 、 $0.4 \sim 20$ 又は $1 \sim 15$ 又は $2 \sim 7 \mu\text{g/ml}$ の範囲内の平均血清濃度を有するように、投薬量及び頻度を変えることができる。

【0174】

VI. 製薬学的組成物

本発明の薬剤 (例えば抗体) は、多くの場合に活性治療薬及び多様な他の製薬学的に許容され得る成分を含んでなる製薬学的組成物として投与される。Remington's Pharmaceutical Science (15th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania (1980)) を参照されたい。好ましい形態は、意図される投与様式及び治療的用途に依存する。組成物は、望まれる調製物に依存して、製薬学的に許容され得る無毒性の担体又は希釈剤も含むことができ、それは動物又はヒトへの投与のための製薬学的組成物を調製するために通常用いられるビヒクルとして定義される。希釈剤は、組み合わせの生物学的活性に影響を与えないように選択される。そのような希釈剤の例は蒸留水、生理学的ホスフェート緩衝食塩水、リンゲル液、デキストロス溶液及びハंकス溶液である。さらに製薬学的組成物又は調製物は他の担体、添加剤又は無毒性、非治療性、非免疫原性安定剤などを含むこともできる。

【0175】

製薬学的組成物は大きくて代謝の遅い巨大分子、例えばタンパク質、キトサンのような多糖類、ポリ乳酸、ポリグリコール酸及びコポリマー (例えばラテックス官能基化 Sepharose (TM)、アガロース、セルロースなど)、高分子アミノ酸、アミノ酸コポリマー及び脂質凝集物 (例えば油滴又はリボソーム) を含むこともできる。さらに、これらの担体は免疫刺激剤 (すなわちアジュバント) としても機能することができる。

【0176】

薬剤は、典型的には非経口的に投与される。抗体は通常静脈内に、又は皮下に投与される。活性免疫反応を誘導するための薬剤は、通常は皮下に又は筋肉内に投与される。非経口的投与のために、本発明の薬剤を、水、油、食塩水、グリセロール又はエタノールのような無菌の液体であることができる製薬学的担体を含む生理学的に許容され得る希釈剤中の物質の溶液又は懸濁液の注入可能な投薬物 (dosages) として投与することができる。さらに、湿潤剤又は乳化剤、界面活性剤、pH緩衝物質などのような補助的物質が組成物中に存在することができる。製薬学的組成物の他の成分は、石油、動物、植物又は合成起源のもの、例えばピーナツ油、大豆油及び鉱油である。一般に、プロピレングリコール又はポリエチレングリコールのようなグリコールは、特に注入可能な溶液のために好ましい液体担体である。抗体を、活性成分の持続的な放出を可能にするようなやり方で調製され得る蓄積注射又は体内埋植調製物の形態で投与することができる。

【0177】

典型的に組成物は注入剤 (injectables) として、液体ビヒクル中の液体溶液又は懸濁剤のいずれかとして調製され、注入の前に調製することもできる。抗体を、使用前の再構築用の凍結された形態で与えることもできる。抗体調製物を乳化するか、あるいはリボソーム又は微小カプセル、例えばポリラクチド、ポリグリコリド又は上記で議論したようなアジュバント効果の増強のためのコポリマー中にカプセル封入することもできる (Langer 著, Science 249: 1527, 1990年及び Hanes 著, Advanced Drug Delivery Reviews 28: 97, 1997年を参照されたい)。本発明の薬剤を、活性成分の持続的な又はパルスの放出を可能にするやり方で調製され得る蓄積注射又は体内埋植調製物の形態で投与することもでき

る。

【0178】

投与の他の様式のために適した追加の調製物には、経口用、鼻内用及び肺用調製物、座薬及び経皮的適用が含まれる。座薬のために、結合剤及び担体には、例えばポリアルキレングリコール又はトリグリセリドが含まれ；そのような座薬を0.5%～10%、好ましくは1%～2%の範囲内で活性成分を含有する混合物から調製することができる。経口用調製物は賦形剤、例えば製薬等級のマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース及び炭酸マグネシウムを含む。これらの組成物は溶液、懸濁剤、錠剤、丸薬、カプセル、除放性調製物又は散剤の形態をとることができる。10%～95%、好ましくは25%～70%の活性成分を含有する。

10

【0179】

VII. 監視

患者におけるアミロイド沈着物の生体内イメージングの方法を用い、アルツハイマー病を診断するか又は診断を確認するか、斑全体に対する密集斑又は拡散斑の割合を同定するか、あるいは本明細書で議論される免疫療法 (immunotherapy regime) を受けている患者における疾患の進行及び/又は処置への反応 (例えば密集斑のクリアランス) を監視することができる。いくつかの場合、監視は、患者の脳中の密集斑の寸法あるいは、同じ患者の以前の走査と比較されるか、又は既存対照と比較される相対的な割合の評価を含む。

20

【0180】

ラジオイメージングにおける最近の進歩は、AD患者における生体内でのAβ斑のイメージングを可能にした。Klunk and Mathis 著, Curr Opin Neurol 21:683-687, 2008年。この方法のための代表的な化合物は、陽電子放出断層撮影 (PET) の放射性トレーサー “Pittsburg Compound-B” (PiB) であり、それは凝集したAβに高い親和性を以て結合する (同上) が、下記でもっと詳細に議論する通り、他のPETリガンドも利用可能である。ADを有する人々の脳内のPiBの生体内保持は、死後に組織学的に染色されたAD脳組織上で観察される斑の分布と非常に類似した局所的分布を示す。Ikonomovic et al. 著, Brain 131:1630-1645, 2008年。PiBの蛍光性誘導体を用い、PiBがAD死後の組織上の密集斑に優先的に結合するが、拡散斑はあまり顕著に標識されないことが示された。同上。かくしてPET走査を用いて、拡散斑と比較して高い割合の密集斑を有するAD患者を同定することができる。

30

【0181】

例えば通常のPETイメージャー及び補助的装置を用いてPET走査を行うことができる。走査は、典型的には一般にアルツハイマー病における沈着物と関連することが知られている脳の1つもしくはそれより多い領域ならびにもしあるとしても一般にほとんど沈着物が存在しておらず、標準として働く1つもしくはそれより多い領域を含む。アルツハイマー病におけるアミロイド沈着物の存在と関連する脳の領域には、例えば脳の前帯状、後帯状、前頭、側頭、頭頂又は後頭皮質が含まれる。沈着物の欠除と関連する脳の領域には、例えば皮質下白質、脳橋及び小脳が含まれる。

40

【0182】

典型的には、免疫療法を開始する前にベースライン測定を行う。次いで処置の開始後に1回もしくはそれより多い連続する走査を行う。処置の開始後の1回目のそのような走査を、処置の開始から約3～24ヶ月後に行うことができる。通常、処置の開始から6～18又は9～18ヶ月以内に、例えば約6、9、12、15又は18ヶ月にそのような走査を行う。いくつかの方法において、走査は処置から78週間後に行われる。連続する走査 (すなわち3回目及び続く走査) を例えば毎季、6ヶ月毎、毎年又は2年毎の間隔で行うことができる。

【0183】

免疫療法の開始後、アミロイド沈着物への免疫療法の効果を約3～24ヶ月、そしてよ

50

り典型的には6～18ヶ月の期間内に最初に見出すことができる。アミロイド沈着物の全体的な減少として、ある型のアミロイド沈着物（例えば密集斑）の減少としてあるいは拡散斑に対する密集斑の呈示量又は斑全体に対する密集斑もしくは拡散斑の比における変化として効果を評価することができる。そのような変化は、免疫療法の開始前のベースライン測定に対して評価される。そのような効果を、沈着物が生成することが知られている脳の1つもしくはそれより多い領域において測定することができるか、あるいはそのような領域の平均から測定することができる。アミロイド沈着物ならびに密集斑対拡散斑の比又は斑全体に対する密集斑の割合は、通常処置の不在下で減少しないので、アミロイド全体又は密集斑又は密集斑対拡散斑の比又は斑全体に対する密集斑の割合における減少はほとんど常に処置の効果として帰せられ得る。

10

【0184】

全体的なアミロイド沈着物又は密集斑又は密集斑対拡散斑の比又は密集斑対斑全体の比の大体一定のレベルにおける保持あるいはアミロイド沈着物のわずかな増加さえ、最適より低い反応とは言え、処置への反応の指標であることができる。そのような反応を、処置を受けていないアルツハイマー病を有する患者におけるアミロイド沈着物のレベルの時間経過と比較し、アミロイド沈着物全体、密集斑又は密集斑対拡散斑の比のさらなる増加の抑制において免疫療法が効果を有しているかどうかを決定することができる。

【0185】

検出されるシグナルを、多次元イメージとして表わすことができる。多次元イメージは、脳を通る断面を表わす二次元、三次元的脳を表わす三次元又は三次元的脳における時間を経た変化を表わす四次元にあることができる。検出される標識の、及び推定的にアミロイド沈着物の種々の量を示す種々の色を有するカラースケールを用いることができる。走査の結果を、検出される標識の量及び結局アミロイド沈着物の量に関連する数字を用いて数値的に与えることもできる。アルツハイマー病における沈着物と関連することが知られている脳の領域内に存在する標識を、沈着物と関連しないことが知られている領域内に存在する標識と比較し、前者の領域内の沈着物の程度を示す比を与えることができる。同じ放射性標識リガンドに関し、そのような比はアミロイド沈着物又は密集斑又は密集斑対拡散斑の比ならびに異なる患者間のそれらの変化の比較可能な尺度を与える。

20

【0186】

いくつかの方法において、PET走査はMRI又はCAT走査と同時に、又は患者の同じ来院時に行われる。MRI又はCAT走査は、PET走査より多くの脳の解剖学的詳細を与える。しかしながらPET走査からのイメージをMRI又はCAT走査イメージ上に重ね、脳における解剖学的構造に対するPETリガンド及び推定的にアミロイド沈着物の位置をより正確に示すことができる。

30

【0187】

PETリガンドは通常患者に、末梢経路により体循環に投与され、静脈内投与が好ましい。かくして体循環により血液脳関門を横切ってPETリガンドを送達し、アミロイド斑と接触させることができる。脳内におけるアミロイド沈着物へのPETリガンド結合は固定され、その後のPET走査においてそれを検出することができる。非結合PETリガンド又は可溶性Aβに結合したPETリガンドは、結合PET走査より速く脳から除去され、検出されないか又は同じ量の結合PETリガンドと比較してより低い程度に検出される。

40

【0188】

Pittsburgh Compound - B ([¹¹C]PiB) (Klunk et al. 著, Ann Neurol 55 (3): 306 - 319, 2004年; Ikonomic et al. 著, Brain; 131: 1630 - 1645, 2008年) は代表的なPETリガンドである。PiBは、Aβの凝集した原線維状沈着物に低いナノモル親和性で結合し、PETを用いるイメージングに十分な量で脳に入り、正常な脳組織から迅速に除去されるチオフラビン - 類似物である。(Price et al. 著, J. Cereb. Blood Flow Metab. 25: 1528 - 1547, 2

50

005年)。PET研究において典型的に用いられる低いナノモル濃度において、死後のヒトの脳へのPiBの結合は原線維状沈着物に関して選択的であることが示されている。(Ikonomovic et al. 著, 同上; Foderro - Tavoletti et al. 著, J Neurosci; 27:10365-10371, 2007年)。AD患者は、標準と比較して、病理学的にAβが標的とすることが知られている脳関連皮質の領域における[¹¹C]PiBの約2倍の保持を示す。[¹¹C]PiBの保持は、AD患者及び標準において、Aβ沈着により比較的影響を受けないことが知られている領域(例えば皮質下白質、脳橋及び小脳)内で同等である。投与されるPETリガンドの投薬量は、放射性により測定され得る。特に[¹¹C]PiBに関する代表的な投薬量は、12~18 µCiである。

10

【0189】

用いられ得る他のPETリガンドにはTh-T PETリガンド、¹⁸F-AH110690(フルテメタモル(flutemetamol)としても知られるGE HealthcareからのPIBの3'-フルオロ類似物);及び2つのCR PETリガンド: スチルベン誘導体,¹⁸F-BAY94-9172(Bayer Schering Pharma)(AD及び標準における予備研究で¹¹C-PIBと同等に働いた[Rowe 著, Lancet Neurol. 2008; 7(2):129-3535])及び(E)-4-(2-(6-(2-(2-(2-(2-18F-フルオロエトキシ)エトキシ)エトキシ)ピリジン-3-イル)ビニル)-N-メチルベンゼンアミン(Avid Radiopharmaceuticalsからの¹⁸F-AV-45)[Klunk 著, Curr Opin Neurol. 2008; 21(6):683-732, Rowe 著, 同上, Nordberg 著, Neuropsychologia. 2008; 46(6):1636-41]が含まれる。

20

【0190】

PETリガンドの投与と走査の実行の間隔は、PETリガンド及び特にその脳中への吸収及び除去の速度ならびにその放射性標識の半減期に依存し得る。間隔は、例えば10~120分又は30~90分であることができる。

【発明を実施するための形態】

【0191】

VIII. 実施例

30

実施例1-4:材料及び方法

抗体:すべての抗体は、IgG1イソタイプのものであった。正の標準は、3D6(Aβ₁₋₅)及び12A11(Aβ₃₋₇)であった。IgG1は負の標準であった。C-末端Aβ抗体は、2G3及び14C2(Aβ₄₀に関して)ならびに21F12(Aβ₄₂に関して)であった。

【0192】

組織:PDAPPマウス(Games et al. 著, Nature 373:523-527, 1995年)をインハウスコロニー(in-house colony)から得た。PSAPPマウス(二重に突然変異したhAPP及びPresenilin 1に関してビゲニック(bigenic), Holcomb et al. 著, Nat Med 4:97-100, 1998年; Gordon et al. 著, Exp Neurol 173:183-195, 2002年)をDr. Seteve Jacobson(Wyeth)から得、Line 41マウス(Thy1-プロモーターを有するSwedish and London 突然変異hAPP, (Rockenstein et al. 著, J. Neurosci Res 66:573-582, 2001年)はDr. Eliezer Masliah(University of CA, San Diego)からの寛大な贈り物であった。マウスを安楽死させ、迅速に脳を取り出し、ドライアイス上で凍結した。AD患者からの新鮮凍結組織は、Dr. Elizabeth Head(Brain Bank at University of CA, Irvine)からの寛大な贈り物であった。

40

50

【0193】

切断 (sectioning) : Microm HM 550 クリオ - カッター (cryo-cutter) を用いて 10 ミクロンのクリオ - カット切片 (cryo-cut section) を新鮮凍結組織から作製し、免疫染色のために Superfrost-Plus スライド上に、あるいは生体外アッセイのために小さい Vectabond - コーティングされ且つ高圧滅菌されたカバーガラス (class coverslips) 上に乗せた。いずれの処理の前にも、すべての切片を室温で終夜乾燥した。

【0194】

免疫染色のための切片は固定せずに、あるいはアセトン 75 % / エタノール 25 % ミックス中で、又はホスフェート - 緩衝 4 % パラホルムアルデヒド中で 5 分間固定して処理された。

10

【0195】

免疫染色 : イムノペルオキシダーゼ染色のために、一次抗体を改変しないで (unmodified) 又はビオチンにカップリングさせて、それぞれ 2 及び 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で用いた。二次抗体は、用いられる場合、Vector からのものであり、ビオチンにカップリングし、1 : 200 希釈において用いられた。Vector からの ABC "Elite" ペルオキシダーゼキットを最後の段階として用い、ペルオキシダーゼ基質としてジアミノベンジジン及び H_2O_2 を用いて抗原 - 結合抗体を可視化した。ヘマトキシリン (Hematoxylin) を用いてすべての切片を対比染色した。

20

【0196】

Superfrost スライド上又はカバーガラス上に乗せられた切片への免疫蛍光染色のために、一次抗体を 1 ~ 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で用い、二次抗体を 1 : 200 希釈で用いた。Molecular Probes からのキットを用いて抗 - A β 抗体を Alexa - 594 (赤色蛍光) にカップリングさせた。上記の抗体の他に、市販の抗体、抗 - CD11b (ラット抗体、Serotec) を、生体外アッセイ後に小グリア細胞の検出のために用い、それは Alexa - 488 (緑色蛍光) の使用により現れた。Hoechst 核染色 (青色蛍光) も細胞核を現すために用いられた。

【0197】

生体外アッセイ (A β 食作用アッセイ) : このアッセイは、Bard et al. 著, Nat Med 6 : 916 - 919, 2000 年において以前に記載された通り行われた。要するに、カバーガラス上の新鮮なクリオ - 切片を、24 - ウェル培養プレートのウェル中にそれぞれに置き、3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度における標準抗体 (3D6、IgG) 又は 1 つの C - 末端 A β 抗体 (2G3、14C2 又は 21F12) のいずれかと一緒にインキュベーションした。マウス P1 pups から 1 週間前に調製され、ウェル当たり 5×10^5 個の細胞の密度で加えられるネズミ小グリア細胞を加える 30 分前に、抗体を切片に加えた。小グリア細胞を加えた後、切片を 5 % CO_2 雰囲気中で 37 °C において 8 時間 ~ 14 時間インキュベーションした。その期間の後、抗体 / 小グリア細胞溶液を切片から吸引し、ホスフェート - 緩衝 4 % - パラホルムアルデヒドを用いて切片を固定してから上記の免疫染色に用いた。

30

【実施例 1】

40

【0198】

C - 末端抗体 2G3、14C2 及び 21F12 は、固定されない AD 脳切片上の斑を認識する

固定されない AD 組織 (後頭皮質) についての染色実験の結果を図 1 (パネル A 及び B) に、ならびにそれらの半 - 定量的視覚評価 (2 人の研究者により独立して行われ; 結果を平均化した) の結果を下記の表 2 (A 及び B) に示す。固定されない切片を用いて、治療を受けている患者における A β 抗体への暴露を模し、すなわち典型的に組織切片中のタンパク質の架橋 (ホルマリン又はパラホルムアルデヒド) 又は脱水及び沈殿 (エタノール、アセトン、メタノール) を誘導する固定法により、抗体は改変されない抗原と相互作用し得る。3D6 及び 12A11 抗体は正の標準として役立った。染色法において無関係の

50

I g G (負 の 標 準) を 用 い る と 、 全 く 染 色 さ れ な い こ と を 検 出 す る こ と が で き た 。 評 価 さ れ た C - 末 端 抗 体 の そ れ ぞ れ は 、 3 D 6 又 は 1 2 A 1 1 の よ う に 強 く で は な か っ た が 、 A D 斑 に 結 合 し た 。 A D 斑 へ の C - 末 端 抗 体 の 結 合 は 、 ア ポ リ ボ タ ン パ ク 質 E 3 / E 3 及 び ア ポ リ ボ タ ン パ ク 質 E 3 / E 4 遺 伝 子 型 の 両 方 の A D 患 者 か ら の 切 片 に お い て 観 察 さ れ た 。 こ れ ら の 結 果 は 、 C - 末 端 抗 体 2 G 3 、 1 4 C 2 及 び 2 1 F 1 2 が A β 斑 に 結 合 す る こ と を 示 す 。

【 0 1 9 9 】

【 表 2 】

表 2 . C - 末 端 エ ピ ト ー プ A β 抗 体 を 用 い る A D 組 織 染 色 の 半 - 定 量 的 視 覚 評 価

A (E3/E3 遺伝子型)

患者番号 Braak 段階	3D6	12A11	2G3	14C2	21F12
05-02' V	++++	+++(+)	+++	++(+)	++
8-00' V	++++	++++	+++	++(+)	++
11-03 V	++++	+++(+)	+++	++(+)	++
14-02 V	++++	+++(+)	++	++	-
24-01 VI	++++	++++	+++(+)	+++(+)	+(+)
メジアン	++++	+++(+)	+++	++(+)	+(+)

B (E3/E4 遺伝子型)

患者番号 Braak 段階	3D6	12A11	2G3	14C2	21F12
05-02' V	++++	+++(+)	+++	++(+)	++
8-00' V	++++	++++	+++	++(+)	++
11-03 V	++++	+++(+)	+++	++(+)	++
14-02 V	++++	+++(+)	++	++	-
24-01 VI	++++	++++	+++(+)	+++(+)	+(+)
メジアン	++++	+++(+)	+++	++(+)	+(+)

【 実 施 例 2 】

【 0 2 0 0 】

C - 末端抗体 2 G 3、1 4 C 2 及び 2 1 F 1 2 は、P S A P P 及び L i n e 4 1 の固定されない及び固定された切片上の斑を認識するが、P D A P P マウスの切片上の斑を認識しない

h A P P トランスジェニックマウスの切片上の C - 末端 A β 抗体 2 G 3、1 4 C 2 及び 2 1 F 1 2 の結合を研究するために、以下のモデルのクリオ - 切片を作製した（各抗体及び染色条件に関し、遺伝子型当たり 3 個のマウス、マウス当たり 1 ~ 2 個の切片）：P D A P P（ホモ接合マウス、2 4 月令）；P S A P P（ヘテロ接合、1 3 月令）；及び L i n e 4 1（ヘテロ接合、1 8 月令）。

【0 2 0 1】

2 種の固定条件（アセトン 7 5 % / エタノール 2 5 % ミックス、4 % ホスフェート - 緩衝パラホルムアルデヒド）を固定されない切片と比較した。すべての A β 抗体をビオチニル化した。抗体 3 D 6 は標準として役立ち、I g G は負の標準として役立った。I g G を用いてシグナルは見られなかった（示されていない）。

【0 2 0 2】

3 個のマウスモデルの前頭皮質に関し、結果を表 2 に示す（A : 3 D F 6 , B : 2 G 3 , C : 1 4 C 2 , D : 2 1 F 1 2 ）。3 D 6 は、すべてのモデルにおいて、且つすべての条件下で斑を重度に標識した。3 D 6 と比較すると、C - 末端抗体は斑の小さいサブセットを標識したのみであった。A β （4 0）抗体 2 G 3 及び 1 4 C 2 は、P S A P P 及び L i n e 4 1 中の斑のみを標識し、2 G 3 は 3 つのすべての条件において類似の程度まで斑を標識したが、1 4 C 2 はアセトン / エタノール固定後のみに標識した。A β （4 2）抗体 2 1 F 1 2 は P D A P P マウス中の少数の斑ならびに P S A P P 及び L i n e 4 1 マウス中の多数の斑を標識した。この抗体を用いる染色は、アセトン / エタノール固定の後にいくらかより強かった。

【0 2 0 3】

これらの結果は、A β （4 0）及び A β （4 2）抗体が P S A P P 及び L i n e 4 1 マウスのようないくつかのマウスモデルにおいて斑を認識することを示す。

【実施例 3】

【0 2 0 4】

C - 末端抗体は、A D 及び P S A P P マウスにおける密集外観（compact appearance）を有する斑に主に結合する

3 D 6 の斑結合と C - 末端 A β 抗体の斑結合の間の重複を決定するために、固定されない A D 及び P S A P P 切片について蛍光二重 - 標識染色を行った。結果を図 3 に示す。二重染色は、A D における 3 D 6 + 2 1 F 1 2 の二重標識ならびに P S A P P 切片における 3 D 6 と 2 G 3 又は 3 D 6 と 2 1 F 1 2 に関してのみ、説明可能な結果を与えた。

【0 2 0 5】

結果は、2 1 F 1 2 が A D 切片中の斑の高密度の芯に強く結合し（図 3 A , 上及び中の列）、より拡散された外観を有する斑により低い程度で結合する（図 3 A , 下の列）ことを示す。P S A P P マウス切片において、2 G 3 及び 2 1 F 1 2 は主に斑の高密度の芯に結合する（図 3 B）。

【実施例 4】

【0 2 0 6】

C - 末端抗体は、生体外アッセイにおいて P S A P P 及び L i n e 4 1 マウス切片からの A β 斑の小グリア細胞食作用を助長する

C - 末端 A β 抗体が斑を除去できるかどうかを決定するために、我々は P S A P P 及び L i n e 4 1 マウスからのクリオ - 切片についての生体外アッセイにおいてそれらを用いた。

【0 2 0 7】

脳半球からの切片を 1 つの A β 抗体（3 D 6、2 G 3、1 4 C 2、2 1 F 1 2、すべての I g G 1 イソタイプ）と一緒に、又はイソタイプを調和させた（matched）I g G 負の標準ならびに材料及び方法において上記に記載した一次ネズミ小グリア細胞（pr

10

20

30

40

50

imary murine microglia)と一緒にインキュベーションした。次いで3D6(レッドチャンネル(red channel))、小グリア細胞マーカーCD11b(グリーンチャンネル(green channel))及び核染色Hoechst(ブルーチャンネル(blue channel))を用いて切片を三重染色した。その後、A β 抗体が斑のクリアランスを引き出すかどうかを決定するために、全切片からのレッドチャンネルシグナル(3D6, 斑に関する)を、10倍の対物レンズを用いるOlympus BX61顕微鏡に結合されたRetigaカメラ(QImaging)を用いてデジタル的に走査した。Metamorph(登録商標)ソフトウェアを用いて全切片のイメージを白黒でデジタル的に再構築し、3D6染色により現れた斑シグナルを示した。2つのそのような実験の結果を図4A及び4Bに示す。結果は、すべてのA β 抗体が斑シグナルの減少に導くことを示し、それらすべてが生体外アッセイにおいて斑を除去

10

【0208】

C-末端A β 抗体を用いるこれらの生体外実験に小グリア細胞食作用が含まれることを示すために、次いで切片を高性能(40倍の対物レンズ)で見、3つのすべてのチャンネル(レッド、グリーン及びブルー)を同時にイメージングした。3D6、2G3、14C2及び21F12抗体に関する小グリア細胞内のA β の存在を示す結果を、図5に示す。

【0209】

実施例5-8: 材料及び方法

抗体: すべての抗体は、IgG1イソタイプのものであった。3D6(A β_{1-5})は正の標準であった。IgG1は負の標準であった。中心-エピトープA β 抗体は266(A β_{16-23})、15C11(A β_{18-22})及び22D12(A β_{18-22})であった。

20

【0210】

組織: PDAPPマウス(Games et al. 著, 1995年, 同上)をインハウスコロニーから得た。PSAPPマウス(二重に突然変異したhAPP及びPresenilin 1に関してビゲニック, Holcomb et al. 著, 1998年, 同上; Gordon et al. 著, 2002年, 同上)をDr. Seteve Jacobson(Wyeth)から得た。CO₂暴露によりマウスを安楽死させ、迅速に脳を抽出し、ドライアイス上で凍結した。AD患者からの新鮮凍結組織は、Dr. Elizabeth Head(Brain Bank at University of CA, Irvine)からの寛大な贈り物であった。

30

【0211】

切断: Microm HM 550クリオ-カッターを用いて10ミクロンのクリオ-カット切片を新鮮凍結組織から作製し、免疫染色のためにSuperfrost-Plus(登録商標)スライド上に、あるいは生体外アッセイのために小さいVectabond(登録商標)-コーティングされ且つ高圧滅菌されたカバーガラス上に乗せた。いずれの処理の前にも、すべての切片を室温で終夜乾燥した。

【0212】

免疫染色: イムノペルオキシダーゼ染色のために、一次抗体を3 μ g/mlの濃度で用いた。二次抗体はVectorからのものであり、ビオチンにカップリングし、1:200希釈において用いられた。VectorからのABC“Elite”ペルオキシダーゼキットを最後の段階として用い、ペルオキシダーゼ基質としてジアミノベンジジン及びH₂O₂を用いて抗原-結合抗体を可視化した。ヘマトキシリンを用いてAD切片を対比染色した。

40

【0213】

Superfrostスライド上又はカバーガラス上に乗せられた切片への免疫蛍光染色のために、一次抗体を1~2 μ g/mlで用い、二次抗体を1:200希釈で用いた。Molecular Probesからのキットを用いて抗-A β 抗体をAlexa-594(赤色蛍光)にカップリングさせた。上記の抗体の他に、市販の抗体、抗-CD11b(ラット抗体、Sero tec)を、生体外アッセイ後に小グリア細胞の検出のために

50

用い、それはA l e x a - 4 8 8 (緑色蛍光) の使用により現れた。H o e c h s t 核染色 (青色蛍光) も細胞核を現すために用いられた。

【 0 2 1 4 】

生体外アッセイ (A β 食作用アッセイ) : このアッセイは、B a r d e t a l . 著 , 2 0 0 0 年 , 同上において以前に記載された通り行われた。要するに、カバーガラス上の新鮮なクリオ - 切片を、2 4 - ウェル培養プレートのウェル中にそれぞれに置き、3 μ g / m l の濃度における標準抗体 (3 D 6、I g G) 又は1つの中心 A β 抗体 (2 6 6、1 5 C 1 1 又は 2 2 D 1 2) のいずれかと一緒にインキュベーションした。マウス P 1 p u p s から1週間前に調製され、ウェル当たり 5×10^5 個の細胞の密度で加えられるネズミ小グリア細胞を加える30分前に、抗体を切片に加えた。小グリア細胞を加えた後、切片を5 % C O₂ 雰囲気中で37 °Cにおいて8時間 ~ 14時間インキュベーションした。その期間の後、抗体 / 小グリア細胞溶液を切片から吸引し、ホスフェート - 緩衝4 % - パラホルムアルデヒドを用いて切片を固定してから上記の免疫染色に用いた。

10

【 実施例 5 】

【 0 2 1 5 】

中心 - エピトープ抗体 2 6 6、1 5 C 1 1 及び 2 2 D 1 2 は、固定されない A D 切片上の斑を認識する

固定されない A D 組織 (後頭皮質) についての染色実験の結果を図 6 A、B に、ならびにそれらの半 - 定量的視覚評価 (2 人の研究者により独立して行われ ; 結果を平均化した) の結果を下記の表 3 (A 及び B) に示す。固定されない切片を用いて、治療を受けている患者における A β 抗体への暴露を模し、すなわち典型的に組織切片中のタンパク質の架橋 (ホルマリン又はパラホルムアルデヒド) 又は脱水及び沈殿 (エタノール、アセトン、メタノール) を誘導する固定法により、抗体は改変されない抗原と相互作用し得る。3 D 6 抗体は正の標準として役立った。染色法において無関係の I g G (負の標準) を用いると、全く染色されないことを検出することができた。評価された中心 - エピトープ A β 抗体のそれぞれは、3 D 6 のように強くではなかったが、A D 斑に結合した。A D 斑への中心 - エピトープ抗体の結合は、アポリポタンパク質 E 3 / E 3 及びアポリポタンパク質 E 3 / E 4 遺伝子型の両方の A D 患者からの切片において観察された。これらの結果は、中心 - エピトープ A β 抗体 2 6 6、1 5 C 1 1 及び 2 2 D 1 2 が A β 斑に結合することを示す。

20

30

【 0 2 1 6 】

【表 3】

表 3. 中心-エピトープ A β 抗体を用いる AD 組織染色の半一定量的視覚評価
A (E3/E3 遺伝子型)

患者番号 Braak 段階	3D6	266	15C11	22D12
01-02 VI	++++	+	+	++
04-02 VI	++++	+/-	+	+(+)
10-02 VI	++++	+	++	++
16-02 V	++++	+	++	++
26-00 VI	++++	+/-	+/-	+/-
メジアン	++++	+	++	++

10

B (E3/E4 遺伝子型)

20

患者番号 Braak 段階	3D6	266	15C11	22D12
05-02' V	++++	+	++	+(+)
8-00' V	++++	++	++(+)	++(+)
11-03 V	++++	+	++	++
14-02 V	++++	+	++	++
24-01 VI	++++	+	++(+)	+++
メジアン	++++	+	++	++

30

【実施例 6】

【0217】

中心 - エピトープ A β 抗体 266、15C11 及び 22D12 は、PSAPP の固定されない切片上の斑を認識するが、PDAPP マウスの切片上の斑を認識しない

40

hAPP トランスジェニックマウスの切片上の中心 - エピトープ A β 抗体 266、15C11 及び 22D12 の結合を研究するために、以下の 2 つのモデルのクリオ - 切片を製作した（各抗体及び染色条件に関し、遺伝子型当たり 3 個のマウス、マウス当たり 1 ~ 2 個の切片）：PDAPP（ヘミ接合マウス、20 月令）；及び PSAPP（ヘテロ接合、13 月令）。

【0218】

材料及び方法において上記に記載した通りに、切片を固定せずに処理した。IgG を用いてシグナルは見られなかった（示されていない）。非 - トランスジェニック標準マウスの切片において非 - 特異的なバックグラウンドが観察された。

【0219】

50

2 個のマウスモデルの前頭皮質に関し、結果を表 7 に示す。3 D 6 は、すべてのモデルにおいて斑を重度に標識した。中心 - エピトープ A β 抗体は 3 D 6 により標識された斑のサブセットを標識した。これらの結果は、中心 - エピトープ A β 抗体が P S A P P のようないくつかのマウスモデルにおいて斑を認識することを示す。

【実施例 7】

【0 2 2 0】

中心 - エピトープ抗体は、A D 及び P S A P P マウスにおいて主に密集斑に結合する

3 D 6 の斑結合と中心 - エピトープ A β 抗体の斑結合の間の重複を決定するために、2 2 D 1 2 と組み合わせて 3 D 6 を用い、固定されない A D 及び P S A P P 切片について蛍光二重 - 標識染色を行った。結果を図 8 A 及び 8 B に示す。

10

【0 2 2 1】

結果は、2 2 D 1 2 が A D 及び P S A P P 切片において斑の高密度の芯に強力に結合することを示す。

【実施例 8】

【0 2 2 2】

中心 - エピトープ A β 抗体は、生体外アッセイにおいて P S A P P マウス切片からの A β 斑の小グリア細胞食作用を助長するが、P D A P P マウス切片からの斑の食作用を助長しない

中心 - エピトープ A β 抗体が斑を除去できるかどうかを決定するために、我々は P D A P P 及び P S A P P マウスからのクリオ - 切片についての生体外アッセイにおいて 2 6 6 、1 5 C 1 1 及び 2 2 D 1 2 抗体を用いた。

20

【0 2 2 3】

脳半球からの切片を A β 抗体 (3 D 6 (正の標準) あるいは 2 6 6 (A β_{16-23}) 、1 5 C 1 1 (A β_{18-22}) 、2 2 D 1 2 (A β_{18-22}) 、すべての I g G 1 イソタイプ) 抗体と一緒に、又はイソタイプを調和させた I g G 負の標準ならびに材料及び方法において上記に記載した一次ネズミ小グリア細胞と一緒にインキュベーションした。次いで 3 D 6 (レッドチャンネル) 、小グリア細胞マーカー C D 1 1 b (グリーンチャンネル) 及び核染色 H o e c h s t (ブルーチャンネル) を用いて切片を三重染色した。その後、A β 抗体が斑のクリアランスを引き出すかどうかを決定するために、全切片からのレッドチャンネルシグナル (3 D 6 , 斑に関する) を、1 0 倍の対物レンズを用いる O l y m p u s B X 6 1 顕微鏡に結合された R e t i g a カメラ (Q I m a g i n g) を用いてデジタル的に走査した。M e t a m o r p h (登録商標) ソフトウェアを用いて全切片のイメージを白黒でデジタル的に再構築し、3 D 6 染色により現れた斑シグナルを示した。そのような実験の結果を図 9 に示す。結果は、正の標準 3 D 6 のみが P D A P P マウス切片における斑シグナルを減少させるが、すべての A β 抗体は P S A P P 切片における斑シグナルの減少に導くことを示し、中心 - エピトープ A β 抗体は P S A P P マウス中の斑を除去できるが、P D A P P マウス中の斑を除去できないことを示している。

30

【0 2 2 4】

中心 - エピトープ A β 抗体を用いるこれらの生体外実験において、小グリア細胞食作用が斑の除去に関係することを示すために、次いで切片 (負の標準 I g G 、正の標準 3 D 6 又は 2 6 6 抗体を含む) を高性能 (4 0 倍の対物レンズ) で見、3 つのすべてのチャンネル (レッド、グリーン及びブルー) を同時にイメージングした。結果を図 1 0 に示す。A β の小グリア細胞食作用は、3 D 6 を用いる生体外実験の後に両方のマウスモデル (P D A P P 及び P S A P P) からの切片において観察されたが、中心 - エピトープ抗体 2 6 6 を用いる生体外実験の後に P S A P P マウスの切片においてのみ観察された。

40

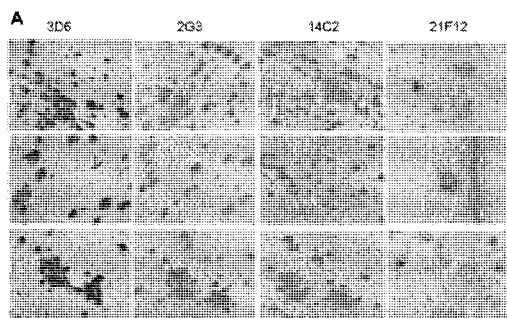
【0 2 2 5】

特許、特許出願、雑誌論文、ウェブサイト、寄託番号などを含む、本明細書で引用されたすべての参考文献は、引用することによりそれらの記載事項全体が、個別にそのように注記されている場合と同じ程度まで、すべての目的のために本明細書の内容となる。文脈から他であると明らかにならなければ、本発明のいずれの段階、要素、特徴、態様又は側

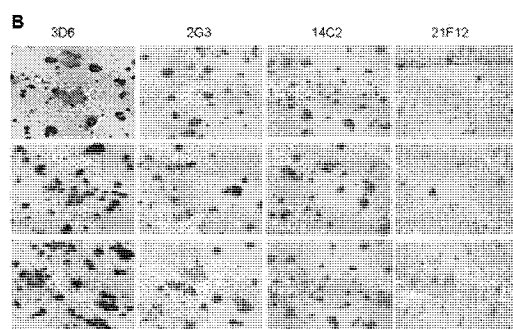
50

面も、互いと組み合わせて用いることができる。本発明をその特定の態様と結び付けて記載してきたが、さらなる修正が可能である。本出願は、一般的に本発明の原理に従っており、本発明が関連する技術分野内の既知のもしくは通常の実施内に含まれる、ならびに本明細書で前に示した必須の特徴に適用され得る本開示からの逸脱を含む本発明のいずれの変形、使用又は応用も包含することが意図されている。

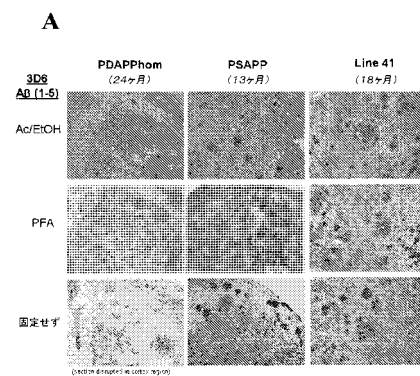
【図 1 A】



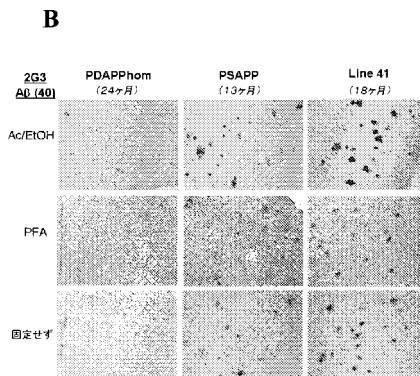
【図 1 B】



【図 2 A】

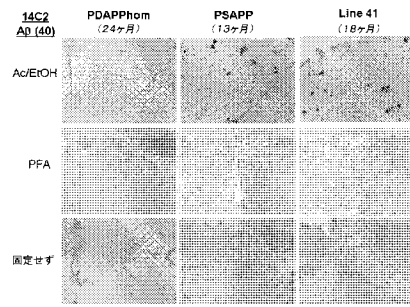


【図 2 B】



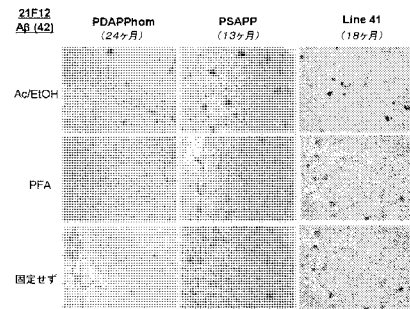
【図 2 C】

C



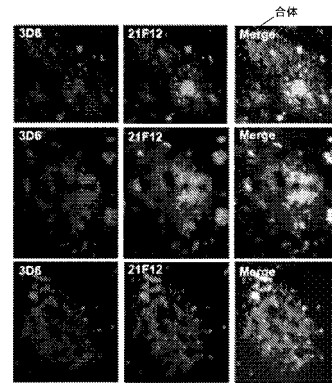
【図 2 D】

D



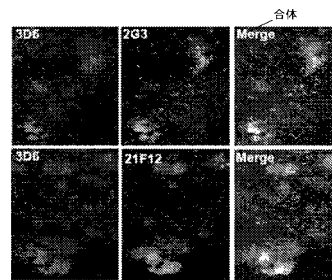
【図 3 A】

A



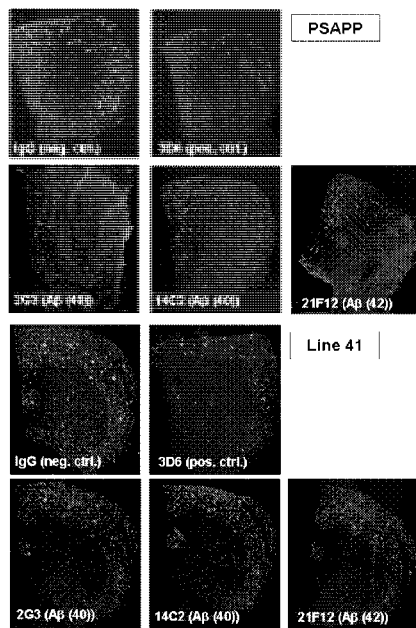
【図 3 B】

B



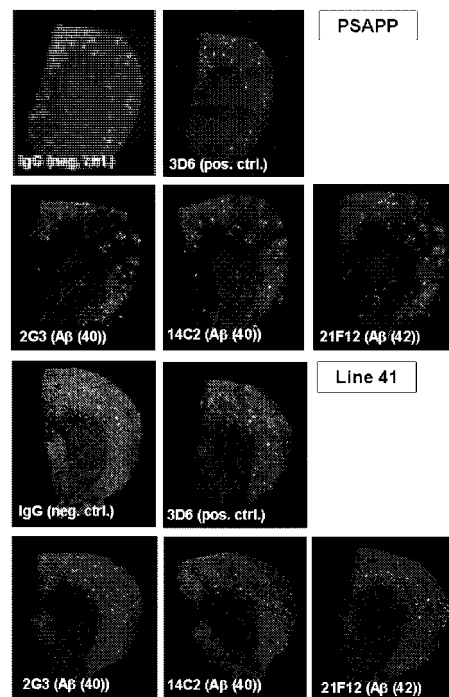
【図 4 A】

A

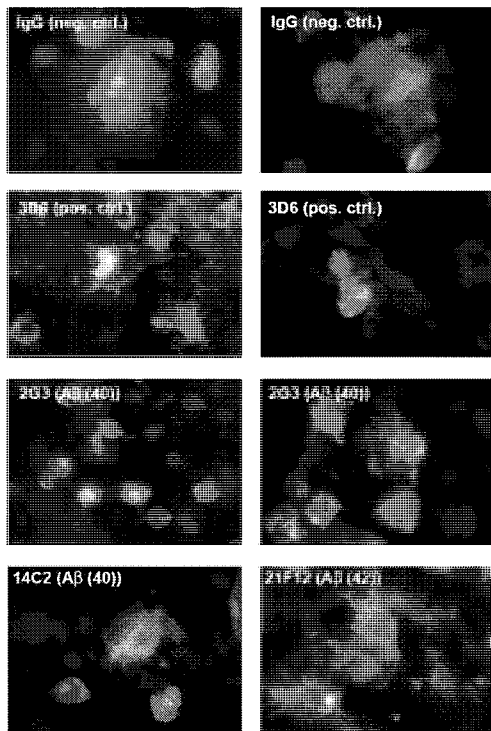


【図 4 B】

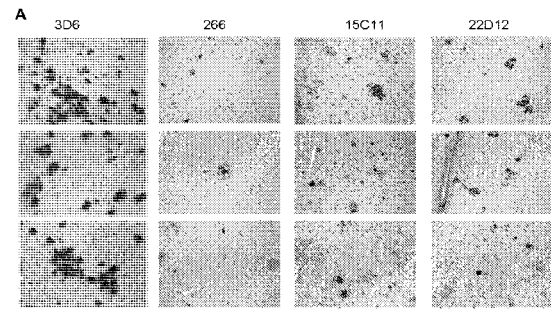
B



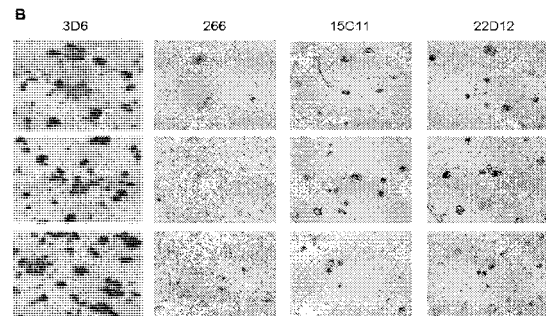
【 図 5 】



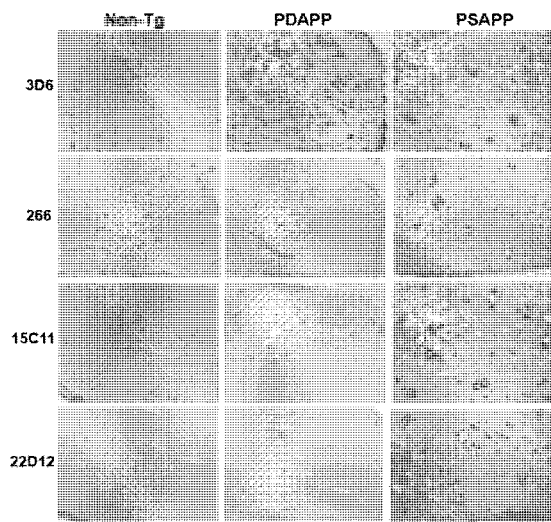
【 図 6 A 】



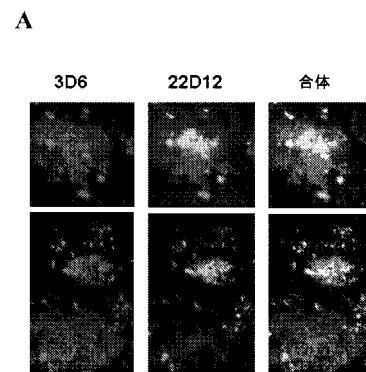
【 図 6 B 】



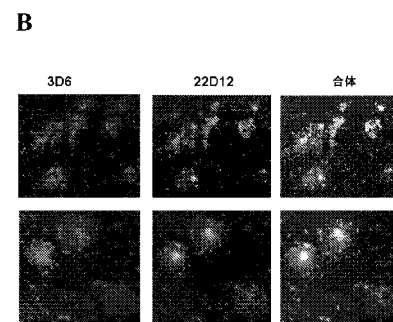
【 図 7 】



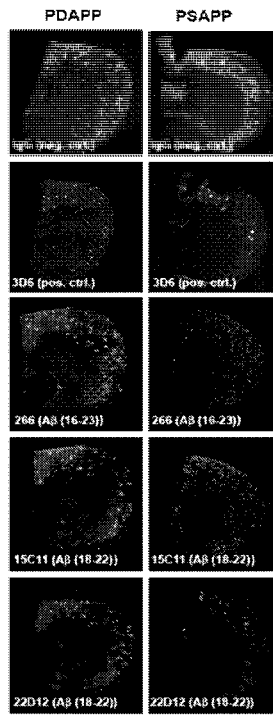
【 図 8 A 】



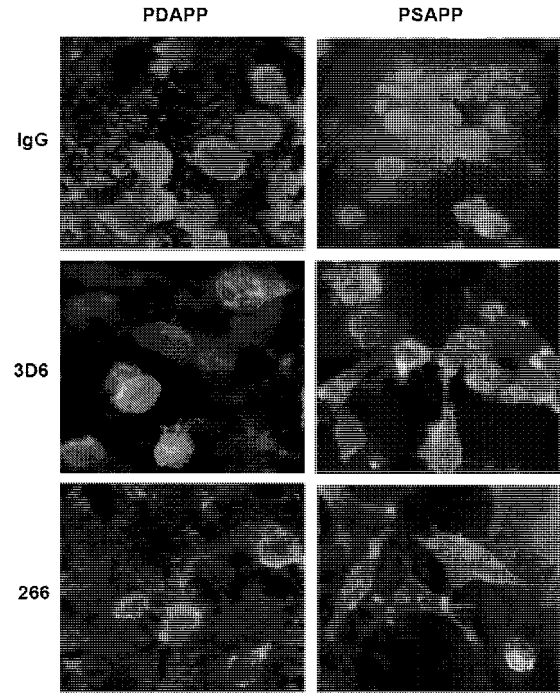
【 図 8 B 】



【 図 9 】



【 図 10 】



【 配 列 表 】

2015526409000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2013/046399

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 39/395 (2014.01) USPC - 424/130.1 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) IPC(8) - A61K 39/395, 51/00, 51/04; A61P 25/28, 43/00 (2014.01) USPC - 424/1.81, 1.89, 130.1, 133.1, 139.1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched CPC - A61K 51/04, 51/041, 51/0431, 51/0453, 51/0455 (2013.01) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatBase, Google Patents, PubMed		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages.	Relevant to claim No.
X	WO 2005/018424 A2 (MILLER et al) 03 March 2005 (03.03.2005) entire document	1-4, 14, 15, 17, 18, 21, 31, 32
Y		5, 8, 16, 19, 20, 22, 23, 33, 65-69, 77-79
X	US 2010/0239570 A1 (NITSCH) 23 September 2010 (23.10.2010) entire document	34, 35, 46, 47, 49, 62, 63
Y		36-38, 48, 50-54, 64
Y	WO 2011/106732 A1 (BLACK et al) 01 September 2011 (01.09.2011) entire document	5, 8, 16, 19, 20, 22, 23, 33, 38-38, 48, 50-54, 64-69, 77-79
A	WO 1999/09999 A1 (CASTILLO et al) 04 March 1999 (04.03.1999) entire document	1-6, 14-23, 31-38, 46-54, 62-69, 77-79
A	US 2010/0172907 A1 (BARDROFF et al) 08 July 2010 (08.07.2010) entire document	1-6, 14-23, 31-38, 46-54, 62-69, 77-79
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐		
* 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 31 January 2014		Date of mailing of the international search report 10 FEB 2014
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

~~US 2013/046399~~ 10.07.2014

International application No.

PCT/US2013/046399

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see extra sheets

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

claims 1-8, 14-23, 31-38, 46-54, 62-69, and 77-79 and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on SEQ ID NOs:4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, and 11.

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

1013/046399-10-0
International application No.

PCT/US2013/046399

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Groups I+: claims 1-79, 116, and (in part) 95-112 are drawn to a method of treating a patient diagnosed with Alzheimer's disease, comprising administering to the patient an effective regime of an antibody that binds to a central or C-terminal epitope of A β (residues 12-43).

Group II: claims 80-94, 113-115, and (in part) 95-112 are drawn to a method of treating a patient diagnosed with Alzheimer's disease comprising administering to the patient an effective regime of an antibody with specificity for an N-terminal epitope of A β (residues 1-11).

The first invention of Group I+ is restricted to a method of treating a patient diagnosed with mid- or late-stage Alzheimer's disease, comprising administering to the patient an effective regime of an antibody that binds to an epitope within residues 12-43 of A β and preferentially binds compact plaques relative to diffuse plaques, wherein the antibody is selected to be a 266 antibody, wherein the 266 has specificity for a central epitope of A β , wherein the 266 antibody binds to an epitope selected to be A β residues 16-23, further wherein the 266 antibody comprises a heavy chain variable region wherein the heavy chain variable region is selected to be SEQ ID NO:11; the heavy chain further comprising heavy chain complementary determining regions CDR1, CDR2, and CDR3, where CDR1 is selected to be SEQ ID NO:7, CDR2 is selected to be SEQ ID NO:8, and CDR3 is selected to be SEQ ID NO:9; and a light chain variable region, wherein the light chain variable region is selected to be SEQ ID NO:10, the light chain further comprising light chain complementary determining regions CDR1, CDR2, and CDR3, where CDR1 is selected to be SEQ ID NO:4, CDR2 is selected to be SEQ ID NO:5, and CDR3 is selected to be SEQ ID NO:6. It is believed that claims 1-6, 14-23, 31-38, 46-54, 62-69, and 77-79 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on SEQ ID NOs:4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, and 11.

Applicant is invited to elect additional antibodies with specified SEQ ID NO for each method to be searched in a specific combination by paying additional fee for each set of election. An exemplary election would be a method of treating a patient diagnosed with mid- or late-stage Alzheimer's disease, comprising administering to the patient an effective regime of an antibody that binds to an epitope within residues 12-43 of A β and preferentially binds compact plaques relative to diffuse plaques, wherein the antibody is selected to be a 15C11 antibody, wherein the 15C11 has specificity for a central epitope of A β , wherein the 15C11 antibody binds to an epitope selected to be A β residues 18-22, further wherein the 15C11 antibody comprises a heavy chain variable region wherein the heavy chain variable region is selected to be SEQ ID NO:15, the heavy chain further comprising heavy chain complementary determining regions CDR1, CDR2, and CDR3, corresponding to residues 26 to 35, residues 50 to 66, and residues 99 to 101 of SEQ ID NO: 15, respectively; and a light chain variable region, wherein the light chain variable region is selected to be SEQ ID NO:14, the light chain further comprising light chain complementary determining regions CDR1, CDR2, and CDR3, corresponding to residues 24 to 39, residues 55 to 61, and residues 94 to 101 of SEQ ID NO:14, respectively. Additional antibodies will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The special technical features of Groups I+, a method of treating a patient diagnosed with Alzheimer's disease, comprising administering to the patient an effective regime of an antibody that binds to a central or C-terminal epitope of A β (residues 12-43), are not found in Group II; the special technical features of Group II, a method of treating a patient diagnosed with Alzheimer's disease comprising administering to the patient an effective regime of an antibody with specificity for an N-terminal epitope of A β (residues 1-11), are not found in Groups I+.

Groups I+ and II share the technical features of a method of treating a patient diagnosed with Alzheimer's disease, comprising administering to the patient an effective regime of an antibody with specificity for an epitope of A β . However, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art. Specifically, US 2010/0239570 A1 to Nitsch discloses a method of treating a patient diagnosed with Alzheimer's disease (monoclonal antibody against beta-amyloid (A β) peptide ... such antibody and mimics thereof in the treatment of neurological disorders such as Alzheimer's disease are described, Abstract; tients with pathologically confirmed Alzheimer's disease, Para. [0022]), comprising administering to the patient an effective regime of an antibody with specificity for an epitope of A β (compositions including the antibody or active fragments thereof ... an effective amount of the composition is administered to a patient in need of such treatment, Para. [0013]; antibody and equivalent binding molecules which are specific for A β , Para. [0017]).

The Groups I+ formulas do not share a significant structural element responsible for binding to an epitope within residues 12-43 of A β , requiring the selection of alternatives for the cell adhesion protein "wherein the antibody is a 266 antibody or a chimeric, humanized or veneered form thereof, a 15C11 antibody or a chimeric, humanized or veneered form thereof, or a 22D12 antibody or a chimeric, humanized or veneered form thereof".

The Groups I+ share the technical features of a method of treating a patient diagnosed with Alzheimer's disease, a patient diagnosed with Alzheimer's disease and having a greater proportion of compact plaques than diffuse plaques relative to total plaques, a patient diagnosed with Alzheimer's disease and having symptoms of epileptic seizures, comprising administering to the patient an effective regime of an antibody that binds to an epitope within residues 12-43 of A β and preferentially binds compact plaques relative to diffuse plaques, and monitoring one or more attributes of compact plaques in the patient's brain using PET scanning. However, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2013/046399

Specifically, WO 2005/018424 A2 to Miller et al. discloses a method of treating a patient diagnosed with Alzheimer's disease (detecting fibrillar β -amyloid comprising one or more of the antibodies, or antibody fragments, of the invention, for the diagnosis, study or treatment of Alzheimer's disease, Para. [0013]), a patient diagnosed with Alzheimer's disease and having a greater proportion of compact plaques than diffuse plaques relative to total plaques (antibodies, and antibody fragments, that bind with a high degree of affinity and specificity to fibrillar amyloid (compact plaques), but not to the non-fibrillar peptide (diffuse plaques), Para. [0005]), comprising administering to the patient an effective regime of an antibody that binds to an epitope within residues 12-43 of A β (antibodies ...R321 and R165 specific for the carboxyl terminus of A β 1-42, residues 35-42; and R287 to A β residues 27-37, Para. [0059]) and preferentially binds compact plaques relative to diffuse plaques (antibodies, and antibody fragments, that bind with a high degree of affinity and specificity to fibrillar amyloid (compact plaques), but not to the non-fibrillar peptide (diffuse plaques), Para. [0005]).

Further US 2010/0239570 A1 to Nitsch discloses a method of treating a patient diagnosed with Alzheimer's disease and having symptoms of epileptic seizures (pharmaceutical compositions in accordance with the present invention can preferably be used for the treatment of neurological disorders including but not limited to Alzheimer's disease ... epilepsy, Para. [0097]; the binding molecule of the present invention, in particular an antibody ... is capable of ... decreasing Abeta toxicity and associated vulnerability of neurons to excitotoxic events produced by seizures, Para. [0050]) and monitoring one or more attributes of compact plaques in the patient's brain using PET scanning (the present invention relates to in vivo imaging techniques employing any one of the binding molecules of the present invention. For example, the medical imaging technique Positron emission tomography (PET) ... an antibody is administered to a subject and detection of the binding molecule and thus Abeta peptide is performed by placing the subject in an imaging scanner and detecting the emission of positrons, Para. [0088]; antibody ... which has unique immunological binding characteristics such as binding monomeric and fibrillar Abeta42 peptide as well as binding to a C-terminal epitope present in Abeta40 and Abeta42, Para. [0113]).

It would have been obvious to one of ordinary skill in the art at the time of the invention to modify the method of Miller et al. to include treating a patient diagnosed with Alzheimer's disease and having symptoms of epileptic seizures and monitoring a patient's brain using PET scanning as taught by Nitsch as seizures are caused by Abeta toxicity (Nitsch, Para. [0050]) and PET scanning is well known in the art as a non-invasive means for monitoring peptide formation in the brain.

The inventions listed in Groups I+ and II therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical features.

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(72)発明者 ブティーニ, マヌエル

アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 9 3 3 ニューブランズウィック・ワンジヨンソンアンドジョンソンプラザ

(72)発明者 チエン, ミン

アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 9 3 3 ニューブランズウィック・ワンジヨンソンアンドジョンソンプラザ

(72)発明者 ガーダイ, シラ

アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 9 3 3 ニューブランズウィック・ワンジヨンソンアンドジョンソンプラザ

F ターム(参考) 4C085 AA14 AA16 BB36 EE01

4H045 AA11 AA30 DA76 EA20