

(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2017-501848  
(P2017-501848A)

(43) 公表日 平成29年1月19日(2017.1.19)

(51) Int.Cl.	F 1		テーマコード (参考)
A 6 1 B 10/00 (2006.01)	A 6 1 B 10/00	H	2 G 04 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 B 10/00	Z 1 O	4 C 08 5
A 6 1 P 1/10 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	Z N A N	4 H 04 5
A 6 1 K 49/00 (2006.01)	A 6 1 P 1/10		
G 0 1 N 33/68 (2006.01)	A 6 1 K 49/00	A	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 35 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-553757 (P2016-553757)	(71) 出願人	513250798 プロセナ バイオサイエンシーズ リミテッド
(86) (22) 出願日	平成26年11月19日 (2014.11.19)		アイルランド国, エー96 ティー927 , ダブリン州, ダン レアリー, アッパー ジョージズ ストリート, アデルフィ プラザ
(85) 翻訳文提出日	平成28年7月8日 (2016.7.8)	(74) 代理人	110001139 S K 特許業務法人
(86) 國際出願番号	PCT/IB2014/066141	(74) 代理人	100130328 弁理士 奥野 彰彦
(87) 國際公開番号	W02015/075635	(74) 代理人	100130672 弁理士 伊藤 寛之
(87) 國際公開日	平成27年5月28日 (2015.5.28)		
(31) 優先権主張番号	61/906,372		
(32) 優先日	平成25年11月19日 (2013.11.19)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】便祕症状からのレビー小体病の免疫療法のモニター

## (57) 【要約】

本発明は、治療の前ならびに治療の間及び / または後の 1 つまたは複数の時に、被験体の便祕症状を比較することによって、 - シヌクレインに対して向けられた免疫療法をモニターする方法を提供する。免疫療法レジームは治療の結果に応じてモニターすることができる。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

レビー小体病と診断され、1つまたは複数の便秘症状を有する被験体における - シヌクレインに対する免疫療法の有効性を査定する方法であって、

(a) 第1のレジームにおける免疫療法剤の投与の前に被験体の便秘症状を評価すること；

(b) 第1のレジームにおいて免疫療法剤を被験体へ投与すること；

(c) 第1のレジームにおける免疫療法剤の投与後に被験体の便秘症状を評価すること；

(d) 第1のレジームにおける免疫療法剤の投与の前後の被験体の便秘症状を比較すること；

(e) 第2のレジームをその症状が改善した被験体へ、及び第3のレジームをその症状が悪化した被験体へ投与し、第2のレジーム及び第3のレジームが異なることと、  
を含む、該方法。

**【請求項 2】**

前記第2のレジームが第1のレジームと同じである、請求項1に記載の方法。

**【請求項 3】**

前記第2のレジームが、低減した投薬量または頻度で前記第1のレジームと同じ免疫療法剤を投与する、請求項1または2のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 4】**

前記第3のレジームが、増加した投薬量または頻度で前記第1のレジームと同じ免疫療法剤を投与する、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記第3のレジームが、第1のレジームとは異なる免疫療法剤または非免疫療法剤を投与する、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記レビー小体病がパーキンソン病である、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記レビー小体病がレビー小体型認知症である、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記免疫療法剤が - シヌクレインへ特異的に結合する抗体である、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記免疫療法剤が - シヌクレインへ特異的に結合する抗体を誘導する、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記抗体が、 - シヌクレインの残基1～10、91～99、118～126または130～140内のエピトープへ結合する、請求項8または9のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記抗体が、 - シヌクレインの残基118～126内のエピトープへ結合する、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記免疫療法剤が、9E4、5C1、1H7、6H7または8A5の6つのKabatのCDRを含む抗体である、請求項1～9または11のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 13】**

前記抗体が、配列番号：37の重鎖可変領域及び配列番号：32の軽鎖可変領域を含むヒト化9E4である、請求項12に記載の方法。

10

20

30

40

50

**【請求項 1 4】**

前記被験体の便秘症状が、質問票への被験体の答えから評価される、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 1 5】**

前記質問票が P A C - S Y M 質問票である、請求項 1 4 に記載の方法。

**【請求項 1 6】**

前記第 1 のレジームにおける免疫療法剤の第 1 及び第 2 の投与後のそれぞれ少なくとも第 1 及び第 2 の機会に、前記被験体の便秘症状が評価される、請求項 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 1 7】**

前記用量または頻度が、第 1 のレジームと比較して前記第 2 のレジームにおいて少なくとも半分まで低減される、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 1 8】**

前記用量または頻度が、第 2 のレジームと比較して前記第 3 のレジームにおいて少なくとも 2 倍まで増加される、請求項 1 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 1 9】**

前記第 1 のレジームに応答する便秘以外のレビー小体病の 1 つまたは複数の徵候または症状における変化について、前記被験体をモニターすることを更に含む、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 2 0】**

前記徵候または症状には、運動機能、認知機能、及び脳または体液中の - シヌクレインのレベルが含まれる、請求項 1 9 に記載の方法。

**【請求項 2 1】**

前記免疫療法剤がヒト化 9 E 4 抗体であり、前記用量が 0 . 3 ~ 1 . 0 m g / k g 、 1 . 0 ~ 3 . 0 m g / k g 、 3 . 0 ~ 1 0 m g / k g または 1 0 ~ 3 0 m g / k g であり、 2 8 ~ 3 1 日ごとに 1 回（随意に毎月）の頻度で投与される、請求項 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 2 2】**

レビー小体病に罹患し、1 つまたは複数の便秘症状を有する被験体における便秘を治療する方法であって、

便秘症状を低減させるのに効果的なレジームで - シヌクレインに対する免疫療法を被験体へ施すことを含む、該方法。

**【請求項 2 3】**

前記便秘症状をモニターすることを更に含む、請求項 2 2 に記載の方法。

**【請求項 2 4】**

前記免疫療法剤がヒト化 9 E 4 抗体であり、前記用量が 0 . 3 ~ 1 . 0 m g / k g 、 1 . 0 ~ 3 . 0 m g / k g 、 3 . 0 ~ 1 0 m g / k g または 1 0 ~ 3 0 m g / k g であり、 2 8 ~ 3 1 日ごとに 1 回（随意に毎月）の頻度で投与される、請求項 2 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 2 5】**

免疫療法レジームを評価する方法であって、

- シヌクレインに対する免疫療法レジームを、 - シヌクレイン導入遺伝子を発現しレビー小体病の徵候及び症状を示すように配置された遺伝子導入動物モデルへ投与すること；

免疫療法レジームの投与の前後に 1 つまたは複数の便秘症状を決定し、症状の改善が、免疫療法レジームがレビー小体病を治療するのに有用であるという指標を提供することと、を含む、該方法。

**【請求項 2 6】**

前記免疫療法剤がヒト化 9 E 4 抗体であり、前記用量が 0 . 3 ~ 1 . 0 m g / k g 、 1 . 0 ~ 3 . 0 m g / k g 、 3 . 0 ~ 1 0 m g / k g または 1 0 ~ 3 0 m g / k g であり、

10

20

30

40

50

28～31日ごとに1回（随意に毎月）の頻度で投与される、請求項25に記載の方法。

【請求項27】

レビー小体病と診断され、1つまたは複数の便秘症状を有する被験体における - シヌクレインに対する免疫療法の有効性を査定する方法であって、

(a) 第1のレジームにおける免疫療法剤の投与の前に被験体の便秘症状を評価すること；

(b) 第1のレジームにおいて免疫療法剤を被験体へ投与すること；

(c) 第1のレジームにおける免疫療法剤の投与後に被験体の便秘症状を評価すること；

(d) 第1のレジームにおける免疫療法剤の投与の前後の被験体の便秘症状を比較し；そこで被験体の症状は改善すること；

(e) 第1のレジームと同じであるか、または低減された用量または頻度で第1のレジームと同じ免疫療法剤を投与することである、第2のレジームを投与することと、  
を含む、該方法。 10

【請求項28】

前記免疫療法剤がヒト化9E4抗体であり、前記用量が0.3～1.0mg/kg、1.0～3.0mg/kg、3.0～10mg/kgまたは10～30mg/kgであり、  
28～31日ごとに1回（随意に毎月）の頻度で投与される、請求項27に記載の方法。 20

【請求項29】

レビー小体病と診断され、1つまたは複数の便秘症状を有する被験体における - シヌクレインに対する免疫療法の有効性を査定する方法であって、

(a) 第1のレジームにおける免疫療法剤の投与の前に被験体の便秘症状を評価すること；

(b) 第1のレジームにおいて免疫療法剤を被験体へ投与すること；

(c) 第1のレジームにおける免疫療法剤の投与後に被験体の便秘症状を評価すること；

(d) 第1のレジームにおける免疫療法剤の投与の前後の被験体の便秘症状を比較し；そこで被験体の症状は同じままかまたは悪化すること；

(e) 増加した用量もしくは頻度で第1のレジームと同じ免疫療法剤を投与することであるか、または異なる免疫療法剤を投与することであるか、またはレビー小体病の治療のために効果的な非免疫療法剤を投与することである、第2のレジームを投与することと、  
を含む、該方法。 30

【請求項30】

前記免疫療法剤がヒト化9E4抗体であり、前記用量が0.3～1.0mg/kg、1.0～3.0mg/kg、3.0～10mg/kgまたは10～30mg/kgであり、  
28～31日ごとに1回（随意に毎月）の頻度で投与される、請求項29に記載の方法。 40

【請求項31】

レビー小体病に罹患する被験体を治療する方法であって、  
ヒト化9E4抗体を用量0.3mg/kg～30mg/kgで28～31日ごとに1回（  
随意に毎月）の頻度で被験体へ投与することを含む、該方法。

【請求項32】

前記用量が0.3～1.0mg/kgである、請求項31に記載の方法。

【請求項33】

前記用量が1.0～3.0mg/kgである、請求項31に記載の方法。

【請求項34】

前記用量が3.0～10mg/kgである、請求項31に記載の方法。

【請求項35】

前記用量が10～30mg/kgである、請求項31に記載の方法。

【請求項36】

前記用量が0.3mg/kgである、請求項31に記載の方法。 50

## 【請求項 37】

前記用量が 1 . 0 m g / k g である、請求項 31 に記載の方法。

## 【請求項 38】

前記用量が 3 m g / k g である、請求項 31 に記載の方法。

## 【請求項 39】

前記用量が 1 0 m g / k g である、請求項 31 に記載の方法。

## 【請求項 40】

前記用量が 3 0 m g / k g である、請求項 31 に記載の方法。

## 【請求項 41】

前記ヒト化 9 E 4 抗体が、配列番号：32 の軽鎖可変領域及び配列番号：37 の重鎖可変領域を有する、請求項 31 ~ 40 のいずれか一項に記載の方法。 10

## 【発明の詳細な説明】

## 【背景技術】

## 【0001】

## [配列リスト]

配列番号：1 ~ 1 2 9 を含む配列リストが添付され、その全体は参照により本明細書に援用される。4 5 2 1 4 3 S E Q L I S T . t x t と命名されたリストは 2 0 1 4 年 1 1 月 1 8 日に A S C I I フォーマットで生成され、1 1 6 キロバイトのサイズである。

## 【0002】

## [背景技術]

レビー小体病 (LBD) は、ドーパミン作動系の悪化、運動変化、認知機能不全、ならびにレビー小体 (LB) 及び / またはレビー神経突起の形成によって特徴づけられる (McKeith et al., Neurology (1996) 47 : 1113 - 24)。レビー小体病には、パーキンソン病 (特発性パーキンソン病が含まれる) 及びレビー小体型認知症 (LBD) が含まれる。レビー小体病は、老齢集団の運動障害及び認知機能衰退についての一般的な原因である (Galasko et al., Arch. Neurol. (1994) 51 : 888 - 95)。便秘はレビー小体病に罹患する被験体の別の一般的な症状である (Ondo et al., Neurology 2012 ; 78 : 1650 - 1654; Ashraf et al., Movement Disorders 12, 946 - 951 (1997))。 20

## 【0003】

- シヌクレインは通常シナプスと会合し、神経可塑性、学習及び記憶において役割を果たすと考えられる。 - シヌクレインはレビー小体病の病因において中心的な役割を持つことも暗示される。タンパク質は凝集して、理学的状態で不溶性線維を形成することができる。例えば、 - シヌクレインは LB 中に蓄積する (Spillantini et al., Nature (1997) 388 : 839 - 40; Takeeda et al., J. Pathol. (1998) 152 : 367 - 72; Wakabayashi et al., Neurosci. Lett. (1997) 239 : 45 - 8)。 - シヌクレイン遺伝子中の突然変異は、パーキンソン症候群の稀な家族型と共に分離する (Kruger et al., Nature Gen. (1998) 18 : 106 - 8; Polymeropoulos et al., Science (1997) 276 : 2045 - 7)。遺伝子導入マウス (Masliah et al., Science (2000) 287 : 1265 - 9) 及びショウジョウバエ (Feany et al., Nature (2000) 404 : 394 - 8) における - シヌクレインの過剰発現は、レビー小体病の複数の病理学的な態様を模倣する。シヌクレインの可溶性オリゴマーは神経毒性であり得る (Conway et al., Proc Natl Acad Sci USA (2000) 97 : 571 - 576)。ヒト、マウス及びハエのような多様な種及び動物モデルにおける類似の形態的及び神経学的な変更をともなう - シヌクレインの蓄積は、この分子がレビー小体病の発症に寄与することを示唆する。 40

## 【0004】

- シヌクレインに対して向けられた免疫療法は、レビー小体病のマウスモデルにおいて - シヌクレイン沈着及び行動の症状を低減させることが報告された (Masliyah et al., PLoS ONE 6 (4) : e19338. doi:10.1371/journal.pone.0019338)。しかしながら、- シヌクレイン沈着に対する免疫療法の効果はヒト被験体においてモニターすることは容易ではない。認知機能及び運動系に対する免疫療法の効果の発生は遅く、治療効果に非依存的に有意な日々のばらつきも起こり得る。

#### 【発明の概要】

#### 【0005】

本発明は、レビー小体病と診断され、1つまたは複数の便秘症状を有する被験体における - シヌクレインに対する免疫療法の有効性を査定する方法であって、(a) 第1のレジームにおける免疫療法剤の投与の前に被験体の便秘症状を評価することと；(b) 第1のレジームにおいて免疫療法剤を被験体へ投与することと；(c) 第1のレジームにおける免疫療法剤の投与後に被験体の便秘症状を評価することと；(d) 第1のレジームにおける免疫療法剤の投与の前後の被験体の便秘症状を比較することと；(e) 第2のレジームをその症状が改善した被験体へ、及び第3のレジームをその症状が悪化した被験体へ施し、第2のレジーム及び第3のレジームが異なることと、を含む該方法を提供する。随意に、第2のレジームは第1のレジームと同じである。随意に、第2のレジームは、低減させた投薬量または頻度で第1のレジームと同じ免疫療法剤を投与する。随意に、第3のレジームは、増加した投薬量または頻度で第1のレジームと同じ免疫療法剤を投与する。随意に、第3のレジームは、第1のレジームとは異なる免疫療法剤または非免疫療法剤を投与する。随意に、レビー小体病は、レビー小体をともなうパーキンソン病または認知症である。

10

20

30

40

#### 【0006】

上述の方法のうちの任意のものにおいて、免疫療法剤は - シヌクレインへ特異的に結合する抗体であり得る。随意に、免疫療法剤は - シヌクレインへ特異的に結合する抗体を誘導する。随意に、抗体は、 - シヌクレインの残基 1 ~ 10、91 ~ 99、118 ~ 126 または 130 ~ 140 内でエピトープへ結合する。随意に、抗体は - シヌクレインの残基 118 ~ 126 内でエピトープへ結合する。随意に、抗体は、9E4、5C1、1H7、6H7 または 8A5 の 6 つの Kabat の CDR を含む。随意に、抗体は、配列番号：37 の重鎖可変領域及び配列番号：32 の軽鎖可変領域を含むヒト化 9E4 である。

#### 【0007】

上述の方法のうちの任意のものにおいて、被験体の1つまたは複数の便秘症状は、質問票への被験体の答えから評価することができる。随意に、質問票は PAC-SYM 質問票である。随意に、被験体の便秘症状は、第1のレジームにおける免疫療法剤の第1及び第2の投与後のそれぞれ少なくとも第1及び第2の機会に評価される。随意に、用量または頻度は、第1のレジームと比較して、第2のレジームにおいて少なくとも半分まで低減される。随意に、用量または頻度は、第2のレジームと比較して第3のレジームにおいて少なくとも 2 倍まで増加させる。

#### 【0008】

上述の方法のうちの任意のものは、第1のレジームに応答する便秘以外のレビー小体病の1つまたは複数の徵候または症状における変化について、被験体をモニターすることを更に含むことができる。随意に、徵候または症状には、運動機能、認知機能、及び脳または体液中の - シヌクレインのレベルが含まれる。

#### 【0009】

本発明は、レビー小体病に罹患し、1つまたは複数の便秘症状を有する被験体における便秘を治療する方法を更に提供する。方法は、便秘症状を低減させるのに効果的なレジームで - シヌクレインに対する免疫療法を被験体へ施すことを含む。随意に、方法は便秘症状をモニターすることを含む。

50

**【 0 0 1 0 】**

本発明は、免疫療法レジームを評価する方法を更に提供する。かかる方法は、 - シヌクレインに対する免疫療法レジームを、 - シヌクレイン導入遺伝子を発現しレビー小体病の徵候及び症状を示すように配置された遺伝子導入動物モデルへ投与することと；免疫療法レジームの投与の前後に 1 つまたは複数の便秘症状を決定し、症状の改善が、免疫療法レジームがレビー小体病を治療するのに有用であるという指標を提供することと、を含む。

**【 0 0 1 1 】**

本発明は、レビー小体病と診断され、1つまたは複数の便秘症状を有する被験体における - シヌクレインに対する免疫療法の有効性を査定する方法であって、( a ) 第 1 のレジームにおける免疫療法剤の投与の前に被験体の便秘症状を評価することと；( b ) 第 1 のレジームにおいて免疫療法剤を被験体へ投与することと；( c ) 第 1 のレジームにおける免疫療法剤の投与後に被験体の便秘症状を評価することと；( d ) 第 1 のレジームにおける免疫療法剤の投与の前後の被験体の便秘症状を比較し；そこで被験体の症状は改善することと；( e ) 第 1 のレジームと同じであるか、または低減された用量または頻度で第 1 のレジームと同じ免疫療法剤を投与することである、第 2 のレジームを投与することと、を含む該方法を更に提供する。10

**【 0 0 1 2 】**

本発明は、レビー小体病と診断され、1つまたは複数の便秘症状を有する被験体における - シヌクレインに対する免疫療法の有効性を査定する方法であって、( a ) 第 1 のレジームにおける免疫療法剤の投与の前に被験体の便秘症状を評価することと；( b ) 第 1 のレジームにおいて免疫療法剤を被験体へ投与することと；( c ) 第 1 のレジームにおける免疫療法剤の投与後に被験体の便秘症状を評価することと；( d ) 第 1 のレジームにおける免疫療法剤の投与の前後の被験体の便秘症状を比較し；そこで被験体の症状は同じままかまたは悪化することと；( e ) 増加した用量もしくは頻度で第 1 のレジームと同じ免疫療法剤を投与することであるか、または異なる免疫療法剤を投与することであるか、またはレビー小体病の治療のために効果的な非免疫療法剤を投与することである、第 2 のレジームを投与することと、を含む該方法を更に提供する。20

**【 0 0 1 3 】**

上述の方法のうちの任意のものにおいて、免疫療法剤はヒト化 9 E 4 抗体であり、用量は、0 . 3 m g / k g 、 1 . 0 ~ 3 . 0 m g / k g 、 3 . 0 ~ 1 0 m g / k g または 1 0 ~ 3 0 m g / k g であり、 2 8 ~ 3 1 日ごとに 1 回（随意に毎月）の頻度により投与することができる。30

**【 0 0 1 4 】**

本発明は、レビー小体病に罹患する被験体を治療するかまたは予防を達成する方法であって、ヒト化 9 E 4 抗体を用量 0 . 3 m g / k g ~ 3 0 m g / k g で 2 8 ~ 3 1 日ごとに 1 回（随意に毎月）の頻度で被験体へ投与することを含む該方法を更に提供する。随意に、用量は 0 . 3 ~ 1 . 0 m g / k g である。随意に、用量は 1 . 0 ~ 3 . 0 m g / k g である。随意に、用量は 3 . 0 ~ 1 0 m g / k g である。随意に、用量は 1 0 ~ 3 0 m g / k g である。随意に、用量は 0 . 3 m g / k g である。随意に、用量は 1 . 0 m g / k g である。随意に、用量は 3 m g / k g である。随意に、用量は 1 0 m g / k g である。随意に、用量は 3 0 m g / k g である。これらの方法のうちの任意のものにおいてヒト化 9 E 4 抗体は、配列番号： 3 2 の軽鎖可変領域及び配列番号： 3 7 の重鎖可変領域を有することができる。40

**定義****【 0 0 1 5 】**

「抗体」という用語にはインタクトな抗体及びその結合断片が含まれる。典型的には、断片は、それらが由来するインタクトな抗体と標的への特異的結合について競合する。断片には、分離した重鎖、分離した軽鎖、 F a b 、 F a b ' 、 F ( a b ' ) 2 、 F ( a b ) c 、 F v 、单一鎖抗体及び单ードメイン抗体が含まれる。「抗体」という用語には、二重50

特異性抗体も含まれる。二重特異性抗体または二重機能性抗体は、2つの異なる重鎖／軽鎖ペア及び2つの異なる結合部位を有する人工的ハイブリッド抗体である（例えばS ongs i v i l a i a n d L a c h m a n n , C l i n . E x p . I m m u n o l . , 7 9 : 3 1 5 - 3 2 1 ( 1 9 9 0 ) ; K o s t e l n y e t a l . , J . I m m u n o l . , 1 4 8 : 1 5 4 7 - 5 3 ( 1 9 9 2 ) を参照）。

#### 【 0 0 1 6 】

基本的な抗体構造単位はサブユニットの四量体である。各々の四量体は、2つの同一のペアのポリペプチド鎖を含み、各々のペアは1つの「軽」鎖（約25 kDa）及び1つの「重」鎖（約50～70 kDa）を有する。各々の鎖のアミノ末端部分は、主として抗原認識に関する約100～110以上のアミノ酸の可変領域を含む。最初に発現された場合に、この可変領域は、典型的には切断可能なシグナルペプチドへ連結される。シグナルペプチドなしの可変領域は場合によっては成熟可変領域と称される。したがって、例えば、軽鎖成熟可変領域は、軽鎖シグナルペプチドなしの軽鎖可変領域を意味する。各々の鎖のカルボキシ末端部分は、主としてエフェクター機能に関する定常領域を定義する。定常領域には、C H 1 領域、ヒンジ領域、C H 2 領域及びC H 3 領域のうちの任意のものまたはすべてが含まれ得る。

10

#### 【 0 0 1 7 】

軽鎖は または のいずれかとして分類される。重鎖は 、  $\mu$  、  $\gamma$  、 または として分類され、それぞれI g G、I g M、I g A、I g D及びI g Eとして抗体のイソタイプを定義する。軽鎖及び重鎖内で、可変領域及び定常領域は、約12以上のアミノ酸の「J」領域（重鎖については約10以上のアミノ酸の「D」領域も含む）によってつながれる（一般的には、Fundamental Immunology (Paul, W. 編、第2版、Raven Press, N. Y., 1989年)、7章を参照）（その全体はすべての目的のために参考により援用される）。

20

#### 【 0 0 1 8 】

各々の軽鎖／重鎖ペアの成熟可変領域は、抗体結合部位を形成する。したがって、インタクトな抗体は2つの結合部位を有する。二重機能性抗体または二重特異性抗体以外は、2つの結合部位は同じである。鎖はすべて、3つの超可変領域（相補性決定領域またはCDRとも呼ばれる）によってつながれた、比較的保存されたフレームワーク領域（FR）の同じ一般的構造を示す。各々のペアの2つの鎖からのCDRはフレームワーク領域によって整列され、特異的エピトープへの結合を可能にする。N末端からC末端へ、軽鎖及び重鎖の両方は、領域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及びFR4を含む。各々の領域へのアミノ酸の割り当ては、Kabat、Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987年及び1991年) またはChothia & Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901 - 917 (1987); Chothia et al., Nature 342: 878 - 883 (1989) の定義に従う。Kabatは、異なる重鎖または異なる軽鎖の間の対応する残基に同じ番号を割り当てる、広く使用されるナンバリング慣例 (Kabatのナンバリング) も提供する。

30

#### 【 0 0 1 9 】

パーセンテージ配列同一性はKabatのナンバリング慣例によって最大に整列させた抗体配列で決定される。整列後に、被験体抗体領域（例えば重鎖または軽鎖の成熟可変領域全体）が、参照抗体の同じ領域と比較されるならば、被験体抗体と参照抗体領域との間のパーセンテージ配列同一性は、2つの領域の整列させた位置の総数（カウントされないギャップありで）で割って100を掛けてパーセンテージへ転換した、被験体抗体及び参照抗体領域の両方に於いて同じアミノ酸によって占められた位置の数である。

40

#### 【 0 0 2 0 】

保存的または非保存的であるとしてアミノ酸置換を分類する目的のために、アミノ酸は以下の通りグループ化される。グループI（疎水性側鎖）：ノルロイシン、M e t 、A l

50

a、V a l、L e u、I l e；グループII（中性親水性側鎖）：C y s、S e r、T h r；グループIII（酸性側鎖）：A s p、G l u；グループIV（塩基性側鎖）：A s n、G l n、H i s、L y s、A r g；グループV（鎖配向に影響を及ぼす残基）：G l y、P r o；及びグループVI（芳香族側鎖）：T r p、T y r、P h e。保存的置換は同じクラス中のアミノ酸間の置換を含む。非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーを別のメンバーと交換することである。

## 【0021】

本発明の抗体は、典型的には少なくとも $10^6$ 、 $10^7$ 、 $10^8$ 、 $10^9$ または $10^{10}$  M<sup>-1</sup>の親和定数で、それらの示された標的へ結合する。かかる結合は、それが検出可能に高い大きさであり、少なくとも1つの無関係な標的に対して生じる非特異的結合とは区別可能であるという点で特異的結合である。特異的結合は、特定の官能基との間の結合、または特定の空間的な適合（例えば錠前及び鍵タイプ）の形成の結果であり得るが、非特異的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、特異的結合は、モノクローナル抗体がただ一つの1つの標的を結合することを必ずしも暗示しない。

10

## 【0022】

「症状」という用語は、被験体によって認められるような疾患の主観的証拠（足取りの変化等）を指す。「徴候」は、医師によって観察されるような疾患の客観的証拠を指す。

## 【0023】

被験体が少なくとも1つの公知のリスクファクター（例えば、遺伝学的、生化学的、家族歴、状況性曝露）を有するならば、個体は疾患のリスクが増加し、そのリスクファクターを持つ個体の疾患を発症するリスクを、リスクファクターなしの個体よりも統計的に有意に高くする。統計的有意性はp = 0.05を意味する。

20

## 【0024】

特別に文脈から明白でない限り、「約」という用語は、表示値の平均の標準偏差または表示値の±5%（どちらかより大きいほう）内の値を包含する。

## 【0025】

「9E4抗体」という用語は、CDRの各々が実質的に9E4のものである任意の抗体を指し、したがって、マウス9E4、キメラ9E4、ベニヤ化（v e n e e r e d）9E4、及びヒト化9E4が含まれる。他の抗体（5C1、1H7、6H7及び8A5等）への参照は、対応する意味を有する。

30

## 【0026】

特別に文脈から明白でない限り、範囲への参照は、範囲内の任意の整数も含む。

## 【0027】

治療レジームは、任意またはすべての用量、投与の頻度、投与の経路及び投与の継続期間の合計が含まれる、免疫療法剤の投与を特徴づけるパラメーターの組み合わせを指す。

## [配列の簡潔な記述]

配列番号：1は、m9E4VL可変領域である。

配列番号：2は、63102889Hu9E4VLFr可変領域である。

配列番号：3は、Hu9E4VLv1可変領域である。

配列番号：4は、Hu9E4VLv2（復帰突然変異なし）可変領域である。

40

配列番号：5は、Hu9E4VLv3可変領域である。

配列番号：6は、m9E4VH可変領域である。

配列番号：7は、1791009Hu9E4VHFr可変領域である。

配列番号：8は、Hu9E4VHv1可変領域である。

配列番号：9は、Hu9E4VHv2可変領域である。

配列番号：10は、Hu9E4VHv3可変領域である。

配列番号：11は、Hu9E4VHv4（復帰突然変異なし）可変領域である。

配列番号：12は、天然ヒト野生型 - シヌクレインのアミノ酸配列である。

配列番号：13は、ヒト化9E4軽鎖定常領域（Rあり）（v1、v2、v3については共通）である。

50

配列番号：14は、ヒト化9E4軽鎖定常領域（Rあり）ヌクレオチド配列（v1、v2、v3については共通）である。

配列番号：15は、例示的なヒトIgG1定常領域のアミノ酸配列である。

配列番号：16は、例示的なヒトIgG1定常領域をコードする核酸配列である。

配列番号：17は、Hu9E4VLv1ヌクレオチド配列可変領域である。

配列番号：18は、Hu9E4VLv2ヌクレオチド配列（復帰突然変異なし）可変領域である。

配列番号：19は、Hu9E4VLv3ヌクレオチド配列可変領域である。

配列番号：20は、Hu9E4VHv1ヌクレオチド配列可変領域である。

配列番号：21は、Hu9E4VHv2ヌクレオチド配列可変領域である。

配列番号：22は、Hu9E4VHv3ヌクレオチド配列可変領域である。

配列番号：23は、Hu9E4VHv4ヌクレオチド配列（復帰突然変異なし）可変領域である。

配列番号：24は、Hu9E4VLシグナルペプチド（v1、v2、v3については共通）である。

配列番号：25は、Hu9E4VLシグナルペプチドヌクレオチド配列（v1、v2、v3については共通）である。

配列番号：26は、Hu9E4VHシグナルペプチド（v1、v2、v3については共通）である。

配列番号：27は、Hu9E4VHシグナルペプチドクレオチド配列（v1、v2、v3、v4については共通）である。

配列番号：28は、Hu9E4VLの代替である。

配列番号：29は、Hu9E4VHの代替である。

配列番号：30は、例示的なヒト 軽鎖定常領域のアミノ酸配列である。

配列番号：31は、ヒト化9E4軽鎖定常領域（Rなし）ヌクレオチド配列（v1、v2、v3については共通）である。

配列番号：32は、ヒト化9E4軽鎖バージョン3（可変領域+アルギニンありの定常領域）である。

配列番号：33は、ヒト化9E4軽鎖バージョン3（可変領域+アルギニンなしの定常領域）である。

配列番号：34は、ヒト化9E4重鎖バージョン3（可変領域+定常領域）である。

配列番号：35は、ヒト化9E4重鎖定常領域（G1m3アロタイプ；BIPバージョン）である。

配列番号：36は、ヒト化9E4重鎖バージョン3（可変領域+定常領域）である。

配列番号：37は、ヒト化9E4重鎖バージョン3（可変領域+代替の定常領域G1m3アロタイプ）である。

配列番号：38は、m5C1抗体の成熟重鎖可変領域ヌクレオチド配列である。

配列番号：39は、m5C1抗体の重鎖可変領域アミノ酸配列である。

配列番号：40は、m5C1抗体の重鎖シグナルペプチドヌクレオチド配列である。

配列番号：41は、m5C1抗体の重鎖シグナルペプチドアミノ酸配列である。

配列番号：42は、m5C1抗体の成熟軽鎖可変領域ヌクレオチド配列である。

配列番号：43は、m5C1抗体の軽鎖可変領域アミノ酸配列である。

配列番号：44は、m5C1抗体の軽鎖シグナルペプチドヌクレオチド配列である。

配列番号：45は、m5C1抗体の軽鎖シグナルペプチドアミノ酸配列である。

配列番号：46は、5C1免疫原である。

配列番号：47は、m5C1重鎖CDR1である。

配列番号：48は、m5C1重鎖CDR2である。

配列番号：49は、m5C1重鎖CDR3である。

配列番号：50は、m5C1軽鎖CDR1である。

配列番号：51は、m5C1軽鎖CDR2である。

10

20

30

40

50

配列番号：52は、m5C1軽鎖CDR3である。

配列番号：53は、シグナルペプチドをコードする配列ありのマウス5C1重鎖可変領域ヌクレオチド配列である。

配列番号：54は、シグナルペプチドありのマウス5C1重鎖可変領域配列である。

配列番号：55は、シグナルペプチドをコードする配列ありのマウス5C1軽鎖可変領域ヌクレオチド配列である。

配列番号：56は、シグナルペプチドありのマウス5C1軽鎖可変領域配列である。

配列番号：57は、ヒトVHアクセプターFR(ACC#AAZY42876.1)である。  
。

配列番号：58は、ヒト化5C1H1である。 10

配列番号：59は、ヒト化5C1H2である。

配列番号：60は、ヒト化5C1H3である。

配列番号：61は、ヒト化5C1H4である。

配列番号：62は、ヒト化5C1H5である。

配列番号：63は、ヒト化5C1 H1をコードする核酸配列である。

配列番号：64は、ヒト化5C1 H2をコードする核酸配列である。

配列番号：65は、ヒト化5C1 H3をコードする核酸配列である。

配列番号：66は、ヒト化5C1 H4をコードする核酸配列である。

配列番号：67は、ヒト化5C1 H5をコードする核酸配列である。

配列番号：68は、ヒトVLアクセプターFR(ACC#CAB51293.1)である  
。 20

配列番号：69は、ヒト化5C1L1である。

配列番号：70は、ヒト化5C1L2である。

配列番号：71は、ヒト化5C1L3である。

配列番号：72は、ヒト化5C1L4である。

配列番号：73は、ヒト化5C1 L1をコードする核酸配列である。

配列番号：74は、ヒト化5C1 L2をコードする核酸配列である。

配列番号：75は、ヒト化5C1 L3をコードする核酸配列である。

配列番号：76は、ヒト化5C1 L4をコードする核酸配列である。

配列番号：77は、例示的なヒト 軽鎖定常領域をコードする核酸配列である。 30

配列番号：78は、Jensen et al.によって報告されるような -シヌクレインの非アミロイド構成要素(NAC)ドメインである。

配列番号：79は、Ueda et al.によって報告されるような -シヌクレインの非アミロイド構成要素(NAC)ドメインである。

配列番号：80は、m1H7抗体の重鎖可変ヌクレオチド配列である。

配列番号：81は、m1H7抗体の重鎖可変アミノ酸配列である。

配列番号：82は、m1H7抗体の軽鎖可変ヌクレオチド配列である。

配列番号：83は、m1H7抗体の軽鎖可変アミノ酸配列である。

配列番号：84は、成熟m1H7抗体の重鎖可変ヌクレオチド配列である。 40

配列番号：85は、成熟m1H7抗体の重鎖可変アミノ酸配列である。

配列番号：86は、成熟m1H7抗体の軽鎖可変ヌクレオチド配列である。

配列番号：87は、成熟m1H7抗体の軽鎖可変アミノ酸配列である。

配列番号：88は、m1H7抗体の重鎖CDR1(Kabatの定義)である。

配列番号：89は、m1H7抗体の重鎖CDR2(Kabatの定義)である。

配列番号：90は、m1H7抗体の重鎖CDR3(Kabatの定義)である。

配列番号：91は、m1H7抗体の軽鎖CDR1(Kabatの定義)である。

配列番号：92は、m1H7抗体の軽鎖CDR2(Kabatの定義)である。

配列番号：93は、m1H7抗体の軽鎖CDR3(Kabatの定義)である。

配列番号：94は、Hu1H7VHV1ヌクレオチド配列である。

配列番号：95は、Hu1H7VHV1アミノ酸配列である。 50

配列番号：96は、Hu1H7VHv2ヌクレオチド配列である。

配列番号：97は、Hu1H7VHv2アミノ酸配列である。

配列番号：98は、Hu1H7VHv3ヌクレオチド配列である。

配列番号：99は、Hu1H7VHv3アミノ酸配列である。

配列番号：100は、Hu1H7VHv4ヌクレオチド配列である。

配列番号：101は、Hu1H7VHv4アミノ酸配列である。

配列番号：102は、Hu1H7VHv5ヌクレオチド配列である。

配列番号：103は、Hu1H7VHv5アミノ酸配列である。

配列番号：104は、Hu1H7VHシグナルペプチドヌクレオチド配列である。

配列番号：105は、Hu1H7VHシグナルペプチドアミノ酸配列である。

配列番号：106は、Hu1H7VHシグナルペプチドヌクレオチド配列である。

配列番号：107は、Hu1H7VHシグナルペプチドアミノ酸配列である。

配列番号：108は、Hu1H7VLv1ヌクレオチド配列である。

配列番号：109は、Hu1H7VLv1アミノ酸配列である。

配列番号：110は、Hu1H7VLv2ヌクレオチド配列である。

配列番号：111は、Hu1H7VLv2アミノ酸配列である。

配列番号：112は、Hu1H7VLv3ヌクレオチド配列である。

配列番号：113は、Hu1H7VLv3アミノ酸配列である。

配列番号：114は、Hu1H7VLv4ヌクレオチド配列である。

配列番号：115は、Hu1H7VLv4アミノ酸配列である。

配列番号：116は、Hu1H7VLシグナルペプチドヌクレオチド配列である。

配列番号：117は、重鎖フレームワークのために使用されるBAC02037(GI-21670055)ヒトアクセプターのアミノ酸配列である。

配列番号：118は、軽鎖フレームワークのために使用されるAY33358(GI-63102905)ヒトアクセプターのアミノ酸配列である。

配列番号：119は、復帰突然変異またはCDR突然変異のないHu1H7VHである。

配列番号：120は、復帰突然変異またはCDR突然変異のないHu1H7VLである。

配列番号：121は、Hu1H7VHの代替である。

配列番号：122は、Hu1H7VLの代替である。

配列番号：123は、Hu1H7VH CDR3代替である。

配列番号：124は、ヒト化1H7軽鎖バージョン3(可変領域+アルギニンあり定常領域)である。

配列番号：125は、ヒト化1H7軽鎖バージョン3(可変領域+アルギニンなし定常領域)である。

配列番号：126は、ヒト化1H7重鎖バージョン3(可変領域+定常領域)である。

配列番号：127は、ヒト化1H7重鎖バージョン3(可変領域+定常領域G1m3アロタイプ)である。

配列番号：128は、ヒト化1H7重鎖定常領域(IgG2)である。

配列番号：129は、ヒト化1H7重鎖定常領域(G1m1アロタイプ)である。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0028】

#### I. 一般

本発明は、治療の前ならびに治療の間及び/または後の1つまたは複数の時に、被験体の便秘症状を比較することによって、-シヌクレインに対して向けられた免疫療法をモニターする方法を提供する。治療の間または後の便秘症状の改善は、免疫療法レジームが陽性(すなわち、所望される)アウトカムを達成しているという指標を提供する。したがって、レジームを継続するか、またはいくつかの事例において、同じ免疫療法剤の投与の用量または頻度を低減するように調整することができる。反対に、便秘症状が改善しないかまたは悪化することは、治療レジームが陽性のアウトカムを達成していないという指標を提供する。したがって、免疫療法剤の投与の投薬量または頻度は増加させることができ

10

20

30

40

50

る。あるいは、異なる薬剤（別の免疫療法剤または他のもののいずれか）による治療レジームを試みることができる。

#### 【0029】

##### I I . 標的分子

天然のヒト野生型 - シヌクレインは 140 アミノ酸のペプチドであり、以下のアミノ酸配列を有する。

MDVFMKGLSK AKEGVVAAAE KTKQGVVAEAA GKTKEGVLYV GSKTKEGVVH

GVATVAEKTK EQVTNVGGAV VTGVTAVAQK TVEGAGSIAA ATGFVKKDQL

GKNEEGAPQE GILEDMMPVDP DNEAYEMPSE EGYQDYEPEA (配列番号：12) 10

(Ueda et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1993) 90: 11282-6); GenBank アクセッション番号: P37840。タンパク質は、3つの認識されるドメイン、アミノ酸 1~61 をカバーする N 末端の KTKE 反復ドメイン；およそアミノ酸 60~95 に及ぶ NAC（非アミロイド構成要素）ドメイン；及びおよそアミノ酸 98~140 に及ぶ C 末端の酸性ドメインを有する。

#### 【0030】

特別に文脈から明白でない限り、 - シヌクレインまたはその断片への参照には、上で示される天然のヒト野生型アミノ酸配列、及びそのヒト対立遺伝子バリアント、特にレビー小体病と関連したものが含まれる（例えばバリアント E46K、A30P 及び A53T では、第1の文字は配列番号：12 中のアミノ酸を示し、数字は配列番号：12 中のコドン位置を示し、第2の文字は対立遺伝子バリアント中のアミノ酸を示す）。かかるバリアントは、以下で記述される本発明の態様のいずれかにおいて、個別にまたは任意の組み合わせで、随意に存在することができる。 20

#### 【0031】

##### I II . レビー小体病

レビー小体疾患 (LBD) は、ドーパミン作動系の悪化、運動変化、認知機能障害、及びレビー小体 (LB) の形成によって特徴づけられる (McKeith et al., Neurology (1996) 47: 1113-24)。レビー小体は神経細胞中で見出される球状のタンパク質沈着である。脳におけるそれらの存在は、化学メッセンジャー（アセチルコリン及びドーパミンが含まれる）の作用を中断して脳の正常機能を妨害する。レビー小体病には、パーキンソン病（特発性パーキンソン病が含まれる）、レビー小体型認知症 (DLB)（びまん性レビー小体病 (DLBD) としても公知である）、アルツハイマー病のレビー小体バリアント (LBV)、アルツハイマー病及びパーキンソン病の組み合わせ、ならびに多系統萎縮症 (MSA；例えばオリーブ橋小脳萎縮症、線条体黒質変性症及びシャイ-ドレーガー症候群) が含まれる。LBD は、アルツハイマー病及びパーキンソン病の両方の症状を共有する。LBD は主にレビー小体の所在位置でパーキンソン病とは異なる。LBDにおいて、レビー小体は主に皮質中で形成される。パーキンソン病において、それらは主に黒質中で形成される。他のレビー小体病には、純粹自律神経不全症、レビー小体嚥下障害、偶発的 LBD 及び遺伝性 LBD（例えば - シヌクレイン遺伝子、PARK3 及び PARK4 の突然変異）が含まれる。 30 40

#### 【0032】

##### I V . 免疫療法剤

受動的免疫療法は、 - シヌクレインに対する抗体による治療を含む。能動的免疫療法は、かかる抗体を誘導する薬剤による治療を含む。

#### 【0033】

##### 1 . 抗体

###### A . 結合特異性及び機能的特性

免疫療法剤には、ヒト - シヌクレインの N 末端、NAC または C 末端のドメインに特異的に結合する抗体が含まれる。いくつかの抗体は、ヒト - シヌクレインの残基 1~1

10

20

30

40

50

0、91～99、118～126または130～140内のエピトープへ結合する。抗体はモノクローナルまたはポリクローナルであり得る。ポリクローナル血清は、それがエピトープまたは範囲の外部に結合する抗体を欠損するという点で - シヌクレイン内のアミノ酸のエピトープまたは範囲に特異的であり得る。抗体は、他の可能性の中でも特に、非ヒト、キメラ、ベニヤ化、ヒト化、またはヒトであり得る。

#### 【0034】

いくつかの抗体は二重特異性であり、1つのアームは - シヌクレインに対する抗体であり、他のアームは脳血液関門で発現される受容体（インスリン受容体、インスリン様増殖因子（IGF）受容体、レプチン受容体もしくはリポタンパク質受容体または好ましくはトランスフェリン受容体等）へ結合する抗体である（Friden et al. , PNAS 88 : 4771 - 4775 , 1991 ; Friden et al. , Science 259 : 373 - 377 , 1993）。かかる二重特異性抗体は受容体媒介性トランスサイトシスによって脳血液関門を横切って移行することができる。二重特異性抗体の脳への取り込みは、脳血液関門受容体への親和性を低減させるように二重特異性抗体を操作することによって、更に促進することができる。受容体への親和性の低減は、脳におけるより広域の分布をもたらした（例えば Atwal et al. Sci. Trans. Med. 3 , 84ra43 , 2011 ; Yu et al. Sci. Trans. Med. 3 , 84ra44 , 2011 を参照）。

10

#### 【0035】

例示的な二重特異性抗体は、(1)二重可変ドメイン抗体（DVD-Ig）（各々の軽鎖及び重鎖が短いペプチド連結を介してタンデムで2つの可変ドメインを含有する）（Antibody Engineering , Springer Berlin Heidelberg (2010) 中のWu et al.、Generation and Characterization of a Dual Variable Domain Immunoglobulin (DVD-Ig (商標) Molecule)；(2)タンダブ（Tandab）（標的抗原の各々について2つの結合部位を有する四価の二重特異性抗体をもたらす、2つの単一鎖ダイアボディの融合物）；(3)フレキシボディ（flexibody）（多価分子をもたらす、ダイアボディとscFvの組み合わせ）；(4)タンパク質キナーゼA中の「二量体化及びドッキングドメイン」に基づく、いわゆる「ドック・アンド・ロック（dock and lock）」分子（Fabに適用された場合に、異なるFab断片へ連結された2つの同一のFab断片からなる、三価の二重特異性結合タンパク質をもたらし得る）；(5)いわゆるスコーピオン分子（例えばヒトFc領域の両方の末端に融合させた2つのscFvを含む）でもあり得る。二重特異性抗体の調製に有用なプラットフォームの例には、BiTE (Micromet)、DART (MacroGenics)、Fcab及びMab2 (F-star)、Fc操作IgG1 (Xencor) またはDuoBody (Fabアーム交換に基づく、Genmab) が含まれる。

20

30

#### 【0036】

- シヌクレインの残基1～10のエピトープへ結合する例示的な1つの抗体は、モノクローナル抗体6H7である。抗体6H7を產生するJH17.6H7.1.54.28と表記される細胞株は、ATCCアクセッション番号PTA-6910を有し、American Type Culture Collection (ATCC, P.O. Box 1549, Manassas, Va. 20108) へブダペスト条約の条項下で2005年8月4日に寄託されている。

40

#### 【0037】

- シヌクレインの残基130～140内のエピトープへ結合する別の例示的な抗体は、モノクローナル抗体8A5である。抗体8A5を產生するJH4.8A5.25.7.36と表記される細胞株は、ATCCアクセッション番号PTA-6909を有し、2005年8月4日に寄託されている。

#### 【0038】

50

別の例示的な抗体は、ヒト - シヌクレインの残基 118 ~ 126 内のエピトープへ結合するモノクローナル抗体 9 E 4 である。抗体 9 E 4 を產生する J H 17 . 9 E 4 . 3 . 37 . 1 . 14 . 2 と表記される細胞株は、ATCC アクセッション番号 PTA - 8221 を有し、American Type Culture Collection (ATCC、P.O. Box 1549、Manassas、Va. 20108) ヘブダペスト条約の条項下で 2007 年 2 月 26 日に寄託されている。マウスの軽鎖可変配列及び重鎖可変配列は、それぞれ配列番号：1 及び配列番号：6 である。

#### 【0039】

別の例示的な抗体はモノクローナル抗体 5 C 1 である。マウスの軽鎖可変配列及び重鎖可変配列は、それぞれ配列番号：4 3 及び配列番号：3 9 である。10

#### 【0040】

別の例示的な抗体はモノクローナル抗体 1 H 7 である。抗体 1 H 7 を產生する J H 17 . 1 H 7 . 4 . 24 . 34 と表記される細胞株は、ATCC アクセッション番号 PTA - 8220 を有し、American Type Culture Collection (ATCC、P.O. Box 1549、Manassas、Va. 20108) ヘブダペスト条約の条項下で 2007 年 2 月 26 日に寄託されている。マウスの軽鎖可変配列及び重鎖可変配列は、それぞれ配列番号：8 7 及び配列番号：8 5 である。

#### 【0041】

かかる抗体は、WO 06 / 020581 ならびに米国出願第 61 / 591, 835 号、第 61 / 711, 207 号、第 13 / 750, 983 号、第 61 / 711, 204 号、第 61 / 719, 281 号、第 61 / 840, 432 号、第 61 / 872, 366 号、第 14 / 049, 169 号、第 61 / 553, 131 号、第 61 / 711, 204 号、第 61 / 843, 011 号及び第 13 / 662, 261 号中に記述され、そのすべてはすべての目的のために参照により本明細書に援用される。20

#### 【0042】

##### B. ヒト化抗体

ヒト化抗体は、非ヒト「ドナー」抗体からの CDR がヒト「アクセプター」抗体配列の中へグラフトされた、遺伝子操作抗体である（例えば Queen et al.、US 5, 530, 101 及び 5, 585, 089；Winter et al.、US 5, 225, 539、Carter、US 6, 407, 213、Adair、US 5, 859, 205、6, 881, 557、Foote、US 6, 881, 557 を参照）。アクセプター抗体配列は、例えば成熟ヒト抗体の可変領域配列、かかる配列の複合物、ヒト抗体配列のコンセンサス配列（例えば Kabat、1991 年、前出の軽鎖可変領域及び重鎖可変領域のコンセンサス配列）または生殖系列可変領域配列であり得る。したがって、本発明のヒト化抗体には、9 E 4、5 C 1、1 H 7、6 H 7 または 8 A 5 等の完全に、または実質的にマウス抗体（ドナー抗体）からの Kabat によって定義されるような 3 つの軽鎖 CDR 及び 3 つの重鎖 CDR ならびに完全にまたは実質的にヒト抗体配列からの成熟可変領域フレームワーク配列及び定常領域（存在するならば）を有する抗体が含まれる。同様に、ヒト化重鎖には、ドナー抗体の重鎖からの Kabat によって定義されるような 3 つの重鎖 CDR ならびに完全に、または実質的にヒト抗体の重鎖配列からの成熟重鎖可変配列及び重鎖定常領域配列（存在するならば）を有する重鎖が含まれる。同様にヒト化軽鎖には、ドナー抗体の軽鎖からの Kabat によって定義されるような 3 つの軽鎖 CDR ならびに完全に、または実質的にヒト抗体の軽鎖配列からの成熟軽鎖可変配列及び軽鎖定常領域配列（存在するならば）を有する軽鎖が含まれる。Kabat によって定義された対応する残基のうちの少なくとも 85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% が同一の場合、抗体鎖の成熟可変領域フレームワーク配列または抗体鎖の定常領域配列は、それぞれ実質的にヒト成熟可変領域フレームワーク配列またはヒト定常領域配列からである。少なくとも 65% の同一性が要求される CDRH2 の事例において以外は、少なくとも 85% のそれに対する同一性を示すならば、CDR は実質的に対応するドナー CDR からである。304050

## 【0043】

ヒト成熟可変領域フレームワーク残基からの特定のアミノ酸は、CDR立体配座及び/または抗原への結合に対する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。かかる影響の可能性の調査は、モデル化、特定の位置でのアミノ酸の特徴の検討、また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経験的観察による。

## 【0044】

例えば、マウス成熟可変領域フレームワーク残基と選択されたヒト成熟可変領域フレームワーク残基との間でアミノ酸が異なるときに、ヒトフレームワークアミノ酸は、マウス抗体からの等価なフレームワークアミノ酸によって置換することができ、それは、アミノ酸が、

10

- (1) 非共有結合で抗原を直接結合する、
- (2) CDR領域に隣接する、
- (3) そうでなければCDR領域と相互作用する（例えばCDR領域の約6内である）、
- (4) 重鎖と軽鎖との間の相互作用を媒介することが合理的に予想される場合である。

## 【0045】

マウス9E4抗体の例示的なヒト化形状は、3つの例示的なヒト化軽鎖成熟可変領域(Hu9E4VLv1~v3；配列番号：3~5)及び4つの例示的なヒト化重鎖成熟可変領域(Hu9E4VHv1~v4；配列番号：8~11)を含む。

20

## 【0046】

例示的な軽鎖及び重鎖の成熟可変領域を任意の組み合わせでペアにすることができる。好ましい組み合わせは、Hu9E4VLv3(配列番号：5)及びHu9E4VHv3(配列番号：10)である。例示的な重鎖定常領域は配列番号：35である。この定常領域は、重鎖可変領域の任意のものへ連結することができる。例示的な軽鎖定常領域は配列番号：30である。この定常領域は、軽鎖可変領域の任意のものへ連結することができる。好ましい全長重鎖は配列番号：37のアミノ酸配列を有する。好ましい全長軽鎖は配列番号：32のアミノ酸配列を有する。好ましい組み合わせは、配列番号：37及び配列番号：32を含む抗体である。直前に記述した様々な重鎖及び軽鎖をコードする核酸は、配列番号：17~23中で提供される。

30

## 【0047】

マウス1H7抗体の例示的なヒト化形状は、4つの例示的なヒト化軽鎖成熟可変領域(Hu1H7VLv1~v4；配列番号：108~113)及び5つの例示的なヒト化重鎖成熟可変領域(Hu1H7VHv1~v5；配列番号：94~103)を含む。例示的な軽鎖及び重鎖の成熟可変領域を任意の組み合わせでペアにすることができる。好ましい組み合わせは、Hu1H7VHv3(配列番号：99)及びHu1H7VLv3(配列番号：113)である。例示的な重鎖定常領域は配列番号：35である。この定常領域は、重鎖可変領域の任意のものへ連結することができる。例示的な軽鎖定常領域は配列番号：30である。この定常領域は、軽鎖可変領域の任意のものへ連結することができる。好ましい全長重鎖は配列番号：127のアミノ酸配列(G1m3で)を有する。好ましい全長軽鎖は配列番号：125(アルギニンなし)のアミノ酸配列を有する。好ましい組み合わせは、配列番号：127及び配列番号：125を含む抗体である。直前に記述した様々な重鎖及び軽鎖をコードする核酸は、配列番号中で提供される。かかるヒト化抗体は、WO06/020581ならびにUS13/750,983、14/049,169、13/662,261及び61/843,011中で記述される。

40

## 【0048】

本明細書に記述されるこれらまたは他の抗体において、1つまたは複数の末端残基は、特に重鎖定常領域の末端リジンについては、翻訳後プロセッシングの過程で切断することができる。

## 【0049】

50

### C . キメラ抗体及びベニヤ化抗体

本発明は、非ヒト抗体（特に9E4、5C1、1H7、6H7、8A5）のキメラ形状及びベニヤ化形状を更に提供する。

#### 【0050】

キメラ抗体は、非ヒト抗体（例えばマウス）の軽鎖及び重鎖の成熟可変領域を、異なる種の抗体からの軽鎖及び重鎖の定常領域と組み合わせた抗体である。典型的には、軽鎖及び重鎖の定常領域はヒト起源であるが、必要に応じて、定常領域は異なる非ヒト種（ラット等）を起源とすることができます（例えば適切な動物モデルにおける非ヒト抗体の試験を促進するために）。かかる抗体は、可変領域を供給する非ヒト（例えば、マウス）抗体の結合特異性を実質的または完全に保持し、約3分の2はヒト（または異なる非ヒト種）配列である。

10

#### 【0051】

ベニヤ化抗体は、CDRのうちのいくつか及び通常すべて、ならびに非ヒト抗体の非ヒト可変領域フレームワーク残基のうちのいくつかを保持するが、B細胞またはT細胞のエピトープに寄与し得る他の可変領域フレームワーク残基（例えば曝露される残基）（Padian, Mol. Immunol. 28: 489, 1991）を、ヒト抗体配列の対応する位置からの残基により置き換えた、ヒト化抗体のタイプである。結果は、CDRが完全または実質的に非ヒト抗体からであり、非ヒト抗体の可変領域フレームワークが置換によってよりヒト様に作製された抗体である。9E4のベニヤ化形状は本発明中に含まれる。

20

#### 【0052】

### D . 定常領域の選択

キメラ抗体、ベニヤ化抗体またはヒト化抗体の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域は、ヒト定常領域の少なくとも一部へ連結することができる。定常領域の選択は、部分的に、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害、抗体依存性細胞ファゴサイトーシス及び／または補体依存性細胞傷害が所望されるかどうかに依存する。例えば、ヒトイソタイプのIgG1及びIgG3は補体依存性細胞傷害を有し、ヒトイソタイプのIgG2及びIgG4は有していない。ヒトイgG1及びIgG3は、ヒトイgG2及びIgG4よりも高い細胞媒介性エフェクター機能も誘導する。軽鎖定常領域は または であり得る。例示的なヒト軽鎖 定常領域は配列番号：13のアミノ酸配列を有する。いくつかのかかる軽鎖 定常領域は核酸配列によってコードすることができる。配列番号：13のN末端アルギニンは省くことができ、その場合には、軽鎖 定常領域は配列番号：30のアミノ酸配列を有する。いくつかのかかる軽鎖 定常領域は核酸配列によってコードすることができる。例示的なヒトイgG1重鎖定常領域は、配列番号：15のアミノ酸配列（C末端のリジンありまたはなしで）または配列番号：37の重鎖定常領域構成要素を有する。いくつかのかかる重鎖定常領域は核酸配列によってコードすることができる。抗体は、2つの軽鎖及び2つの重鎖を含有する四量体として、分離した重鎖、軽鎖として、Fab、Fab'及びF(ab')2及びFvとして、または重鎖及び軽鎖の成熟ドメインがスペーサーを介して連結される一本鎖抗体として発現させることができる。

30

#### 【0053】

ヒト定常領域は、異なる個体の間でアロタイプ変異及びイソアロタイプ変異を示し、すなわち、定常領域は1つまたは複数の多型位置で異なる個体において異なり得る。イソアロタイプは、イソアロタイプを認識する血清が1つまたは複数の他のイソタイプの非多型領域へ結合するという点で、アロタイプとは異なる。したがって、例えば、別の重鎖定常領域は、IgG1 G1m3アロタイプであり、配列番号：37の定常領域をコードするアミノ酸配列を有する。さらに別の重鎖定常領域は、C末端のリジンを欠損する以外は配列番号：37の定常領域をコードするアミノ酸配列を有する。

40

#### 【0054】

軽鎖及び／または重鎖のアミノ末端またはカルボキシ末端の1つまたは複数のアミノ酸（重鎖のC末端のリジン等）は、分子の一部またはすべてにおいて欠損または誘導体化さ

50

れ得る。エフェクター機能（補体媒介性細胞傷害またはADC/C等）を低減もしくは増加させるか（例えばWinter et al.、USS 5, 624, 821；Tso et al.、USS 5, 834, 597；及びLazar et al.，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103: 4005, 2006を参照）、またはヒトにおける半減期を延長する（例えばHinton et al.，J. Biol. Chem. 279: 6213, 2004を参照）ように、定常領域中で置換を行なうことができる。例示的な置換には、抗体の半減期を増加させるために位置250でのGln及び/または位置428でのLeu（EUナンバリングを定常領域のためにこのパラグラフにおいて使用する）が含まれる。位置234、235、236及び/または237のうちの任意のものまたはすべてでの置換は、Fc受容体（特にFcRI受容体）への親和性を低減させる（例えばUSS 6, 624, 821を参照）。いくつかの抗体は、エフェクター機能を低減させるためにヒトIgG1の位置234、235及び237でのアラニン置換を有する。随意に、ヒトIgG2における位置234、236及び/または237はアラニンにより、ならびに位置235はグルタミンにより置換される（例えばUSS 5, 624, 821を参照）。

10

## 【0055】

## E. 組換え抗体の発現

抗体は組換え発現によって産生することができる。抗体をコードする核酸は、所望される細胞タイプ（例えばCHOまたはSp2/0）中の発現のためにコドンを至適化することができる。組換え核酸コンストラクトは、典型的には抗体鎖のコード配列へ作動可能に連結された発現制御配列（天然に会合するプロモーター領域または異種プロモーター領域が含まれる）を含む。発現制御配列は、真核生物宿主細胞を形質転換またはトランスフェクションできるベクター中の真核生物プロモーター系であり得る。一旦、ベクターが適切な宿主の中へ取り込まれたならば、宿主は、ヌクレオチド配列の高レベル発現ならびに交差反応抗体の収集及び精製のために好適な条件下で維持される。抗体鎖をコードするベクター（複数可）は、抗体鎖をコードする核酸のコピー数の増幅を可能にするように選択可能な遺伝子（ジヒドロ葉酸還元酵素等）も含有することができる。

20

## 【0056】

大腸菌（*E. coli*）は、抗体（特に抗体断片）を発現するために特に有用な原核生物宿主である。微生物（酵母等）も発現のために有用である。Saccharomyces属は、発現制御配列、複製起点、終止配列及び同種のものを所望に応じて有する適切なベクターと共に、好ましい酵母宿主である。典型的なプロモーターには3'-ホスホグリセレートキナーゼ及び他の解糖系酵素が含まれる。誘導可能酵母プロモーターには、とりわけ、アルコール脱水素酵素、イソシトクロムC、ならびにマルトース及びガラクトース利用に関与する酵素からのプロモーターが含まれる。

30

## 【0057】

哺乳類細胞は、免疫グロブリンまたはその断片をコードするヌクレオチドセグメントの発現のために使用することができる。Winnacker From Genes to Clones (VCH Publishers, NY, 1987) 参照。インタクトな異種タンパク質を分泌できる多数の適切な宿主細胞株が、当技術分野において開発されており、CHO細胞株、様々なCOS細胞株、HeLa細胞、HEK293細胞、L細胞、ならびにSp2/0及びNS0を含む非抗体産生ミエローマが含まれる。ヒト以外の細胞を使用することは有利であり得る。これらの細胞のための発現ベクターには、発現制御配列（複製起点、プロモーター、エンハンサー等）(Queen et al., Immunol. Rev. 89: 49 (1986)) 及び必要なプロセッシング情報部位（リボソーム結合部位、RNAスプライス部位、ポリアデニル化部位及び転写ターミネーター配列等）が含まれ得る。適切な発現制御配列は、内在性遺伝子、サイトメガロウイルス、SV40、アデノウイルス、ウシパピローマウイルス及び同種のものに由来するプロモーターである。Co et al., J. Immunol. 148: 1149 (1992) を参照されたい。

40

50

## 【0058】

細胞培養の中へ抗体重鎖及び軽鎖をコードするベクター（複数可）を導入して、無血清培地中での増殖生産性及び産物品質について細胞プールをスクリーニングすることができる。次いで、上位の產生細胞のプールに F A C S に基づく単一細胞クローニングを行って、モノクローナル株を生成することができる。1日あたり1細胞あたり50 pg または100 pg より上の特異的生産性（それは7.5 g / L 培養を超える産物力価に対応する）は有利であり得る。単細胞クローニングによって產生された抗体は、濁度、濾過特性、P A G E 、I E F 、U V スキャン、H P - S E C 、炭水化物 - オリゴ糖マッピング、質量分析及び結合アッセイ（E L I S A またはB i a c o r e ）についても試験することができる。次いで、選択されたクローニングは複数のバイアル中で保存することができ、後続する使用のために凍結して貯蔵できる。

10

## 【0059】

一旦発現されたならば、抗体は、プロテインA 捕捉、カラムクロマトグラフィー（例えば疎水性相互作用またはイオン交換）、ウイルス不活性化のための低pH 及び同種のもの（一般的には、S c o p e s , P r o t e i n P u r i f i c a t i o n ( S p r i n g e r - V e r l a g , N Y , 1 9 8 2 ) を参照）が含まれる当該技術分野の標準的な手順に従って精製することができる。

## 【0060】

抗体の商業的な產生のための方法論には、コドン至適化、プロモーターの選択、転写工レメント及びターミネーター、無血清单一細胞クローニング、細胞保存、コピー数の増幅のための選択マーカーの使用、C H O ターミネーター、無血清单一細胞クローニング、タンパク質力価の改善が含まれる（例えばU S 5 , 7 8 6 , 4 6 4 、U S 6 , 1 1 4 , 1 4 8 、U S 6 , 0 6 3 , 5 9 8 、U S 7 , 5 6 9 , 3 3 9 、W O 2 0 0 4 / 0 5 0 8 8 4 、W O 2 0 0 8 / 0 1 2 1 4 2 、W O 2 0 0 8 / 0 1 2 1 4 2 、W O 2 0 0 5 / 0 1 9 4 4 2 、W O 2 0 0 8 / 1 0 7 3 8 8 及びW O 2 0 0 9 / 0 2 7 4 7 1 及びU S 5 , 8 8 8 , 8 0 9 を参照）。

20

## 【0061】

## 2 . 能動的免疫療法

能動的免疫療法のための免疫療法剤は、 - シヌクレインに対する抗体を誘導する。好みしい薬剤は - S N ベプチドそのもの及びその断片である。活性薬剤をアジュバントまたは担体（例えば任意の長さのペプチド）と組み合わせて使用して、抗体の誘発を支援することができる。U S 2 0 0 6 0 2 5 9 9 8 6 A 1 及びW O の0 5 / 0 1 3 8 8 9 は、レビー小体病の治療の方法において免疫療法剤として有用な - シヌクレイン断片を開示する。随意に、これらの断片はアジュバントと組み合わせて使用することができる。随意に、免疫療法剤はヒト - シヌクレインの5 ~ 2 0 のアミノ酸を有し、残基1 ~ 1 0 、9 1 ~ 9 9 、1 1 8 ~ 1 2 6 または1 3 0 ~ 1 4 0 内のエピトープへ結合する抗体を誘導する。いくつかのかかる免疫療法剤は、5 ~ 5 、5 ~ 8 、5 ~ 9 または5 ~ 1 0 のアミノ酸を有する。

30

## 【0062】

適切な担体には、血清アルブミン、キーホールリンベットヘモシニアン、免疫グロブリン分子、チログロブリン、オバルブミン、破傷風トキソイドもしくは他の病原菌（ジフテリア、大腸菌、コレラまたはピロリ菌（H . p y l o r i ）等）からのトキソイドまたは弱毒化された毒素誘導体が含まれる。T 細胞エピトープも適切な担体分子である。いくつかのコンジュゲートは、免疫刺激ポリマー分子（例えばトリパルミトイール - 5 - グリセリンシスティン（P a m<sub>3</sub> C y s ）、マンナン（マンノースポリマー）またはグルカン（1 → 2 ポリマー））、サイトカイン（例えばI L - 1 、I L - 1 及び ペプチド、I L - 2 、 - I N F 、I L - 1 0 、G M - C S F ）及びケモカイン（例えばM I P 1 及び ならびにR A N T E S ）へ、本発明の薬剤を連結することによって形成することができる。免疫原性剤は、O ' M a h o n y 、W O 9 7 / 1 7 6 1 3 及びW O 9 7 / 1 7 6 1 4 中で記述されるように、組織を横切る輸送を促進するペプチドへ連結することができる。

40

50

免疫原を、スペーサーアミノ酸（例えば g l y - g l y ）ありまたはなしで、担体へ連結することができる。

#### 【 0 0 6 3 】

いくつかのコンジュゲートは少なくとも1つのT細胞エピトープへ本発明の薬剤を連結することによって形成できる。いくつかのT細胞エピトープは無差別的であるが、他のT細胞エピトープは普遍的である。無差別的なT細胞エピトープは、様々なHLAタイプを提示する様々な被験体においてT細胞免疫の誘導を促進することができる。無差別的なT細胞エピトープとは対照的に、普遍的なT細胞エピトープは、異なるHLA-DR対立遺伝子によってコードされた様々なHLA分子を提示する被験体のうちの大きなパーセンテージ（例えば少なくとも75%）でT細胞免疫の誘導を促進することができる。

10

#### 【 0 0 6 4 】

多数の天然に存在するT細胞エピトープが存在し、それらは、破傷風トキソイド（例えばP2及びP30エピトープ）、B型肝炎表面抗原、百日咳トキソイド、はしかウイルスFタンパク質、Chlamydia trachomatis主要外膜タンパク質、ジフテリアトキソイド、Plasmodium falciparumスロゾイト周囲T、Plasmodium falciparum CS抗原、Schistosoma mansoniトリオースリン酸イソメラーゼ、Escherichia coli TraT及びインフルエンザウイルス赤血球凝集素(HA)等である。本発明の免疫原性のペプチドは、Siniaglia et al., Nature, 336:778-780(1988); Chicz et al., J. Exp. Med., 178:27-47(1993); Hammer et al., Cell 74:197-203(1993); Falk et al., Immunogenetics, 39:230-242(1994); WO98/23635; 及びSouthwood et al. J. Immunology, 160:3363-3373(1998)（その各々はすべての目的のために参照により本明細書に援用される）中で記述されるT細胞エピトープへもコンジュゲートすることができる。

20

#### 【 0 0 6 5 】

あるいは、コンジュゲートは、MHCクラスII分子の大部分を結合できる少なくとも1つの人工的T細胞エピトープ（汎DRエピトープ（「PADRE」）等）へ本発明の薬剤を連結することによって形成できる。PADREは、米国特許第5,736,142号、WO95/07707及びAlexander J et al., Immunity, 1:751-761(1994)（その各々はすべての目的のために参照により本明細書に援用される）中で記述される。好ましいPADREペプチドはAKXVAAWTLK AAA（配列番号：12）（太字の共通残基）であり、配列中、Xは好ましくはシクロヘキシリアルアニン、チロシンまたはフェニルアラニン、最も好ましくはシクロヘキシリアルアニンである。

30

#### 【 0 0 6 6 】

免疫原性の薬剤は化学的架橋によって担体へ連結することができる。担体への免疫原の連結のための技法は、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジル-チオ)プロピオネート(SPD P)及びスクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(S MCC)を使用するジスルフィド結合の形成を含む(ペプチドがスルフィドリル基を欠損するならば、これはシステイン残基の添加によって提供することができる)。これらの試薬は、自身と1つのタンパク質上に存在するペプチドシステインとの間でジスルフィド結合及びリジン上の-N-アミノまたは他のアミノ酸中の他の遊離アミノ基を介するアミド結合を生成する。多様なかかるジスルフィド/アミド形成剤はImmun. Rev. 62, 185(1982)によって記述される。他の二官能性カップリング剤は、ジスルフィド結合ではなくチオエーテルを形成する。これらのチオエーテル形成剤の多くは商業的に入手可能であり、6-マレイミドカプロン酸、2-プロモ酢酸及び2-ヨード酢酸、4-(N-マレイミド-メチル)シクロヘキサン-1-カルボン酸の反応性エステルが含まれる。カルボキシル基は、それらをスクシンイミドまたは1-ヒドロ

40

50

キシリル-2-ニトロ-4-スルホン酸、ナトリウム塩と組み合わせることによって活性化することができる。

#### 【0067】

免疫原性は、 $T_h$ エピトープと本発明のペプチド免疫原との間のスペーサー残基（例えばGly-Gly）の添加を介して改善することができる。B細胞エピトープ（すなわちペプチド免疫原）から $T_h$ エピトープを物理的に分離することに加えて、グリシン残基は、ペプチド免疫原と $T_h$ エピトープの連結によって生成される任意の人工的二次構造を妨害し、それによって、T細胞及び/またはB細胞の応答の間の干渉を消失させることができる。ヘルパーエピトープと抗体の誘導ドメインとの間での立体配座的分離は、したがって提示された免疫原と適切な $T_h$ 細胞及びB細胞との間のより効率的な相互作用を可能にする。

10

#### 【0068】

本発明の薬剤へ様々なHLAタイプを提示する被験体の大きなパーセンテージにおいてT細胞免疫の誘導を促進するために、異なる $T_h$ 細胞エピトープとコンジュゲートの混合物を調製することができる。混合物は、異なる $T_h$ 細胞エピトープとの少なくとも2つのコンジュゲートの混合物、異なる $T_h$ 細胞エピトープとの少なくとも3つのコンジュゲートの混合物または異なる $T_h$ 細胞エピトープとの少なくとも4つのコンジュゲートの混合物を含有し得る。混合物はアジュバントと共に投与することができる。

20

#### 【0069】

免疫原性のペプチドは、担体（すなわち異種ペプチド）との融合タンパク質としても発現させることができる。免疫原性のペプチドは、そのアミノ末端、そのカルボキシル末端または両方で担体へ連結することができる。随意に、免疫原性のペプチドの複数の反復は融合タンパク質中で存在することができる。随意に、免疫原性のペプチドは、例えばペプチドのN末端及びC末端の両方で、複数のコピーの異種ペプチドへ連結することができる。いくつかの担体ペプチドは、担体ペプチドに対するヘルパーT細胞応答を誘導する役目を供する。誘導されたヘルパーT細胞は、今度は担体ペプチドへ連結された免疫原性のペプチドに対するB細胞応答を誘導する。

20

#### 【0070】

本発明のいくつかの薬剤は、-SNのN末端断片が担体ペプチドへそのC末端で連結される融合タンパク質を含む。かかる薬剤において、-SNの断片のN末端残基は、融合タンパク質のN末端残基を構成する。したがって、かかる融合タンパク質は、-SNのN末端残基が遊離形状であることを要求するエピトープへ結合する抗体の誘導において効果的である。本発明のいくつかの薬剤は、1つまたは複数のコピーの担体ペプチドへC末端で連結されるNACの複数の反復を含む。いくつかの融合タンパク質は、-SNの異なるセグメントをタンデムで含む。

30

#### 【0071】

多様なアジュバントをペプチド（-SN等）と組み合わせて使用して、免疫応答を誘発することができる。好ましいアジュバントは、応答の定性的な形に影響を与える免疫原の立体配座的变化を引き起こさずに、免疫原への内因的な応答を増大させる。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デオ-アシル化モノホスホリルリピドA（MPL（商標））が含まれる（GB2220211を参照（RIBI ImmunoChem Research Inc.、Hamilton、Mont.、Corixaの現在の一部））。Stimulon（商標）QS-21は、南アメリカで見出されたQuillaja Saponaria Molina木の樹皮から単離されたトリテルペングリコシドまたはサポニンである（Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach（Powell & Newman編、Plenum Press、NY、1995年）中のKensil et al.；米国特許第5,057,540号を参照）、（Aquila Biopharmaceuticals、Framingham、Mass.）。他のアジュバントは、随意に、免疫刺激剤（モノホスホリルリピドA等）（Stoute et al.，

40

50

N . E n g l . J . M e d . 3 3 6 , 8 6 - 9 1 ( 1 9 9 7 ) を参照) 、 プルロニックポリマー及び殺菌したマイコバクテリウムと組み合わせた水中油滴型エマルション(スクワレンまたは落花生油等)である。別のアジュvantはC p G ( W O 9 8 / 4 0 1 0 0 )である。あるいは、 - S N はアジュvantへカップリングすることができる。しかしながら、かかるカップリングは、それに対する免疫応答の性質に影響を与えるように、 - S N の立体配座を実質的に変化させるべきでない。アジュvantは、活性薬剤を備えた治療法用の組成物の構成要素として投与することができるか、または療法剤の投与の前、同時に、もしくは後に、分離して投与することができる。

#### 【 0 0 7 2 】

アジュvantの好ましいクラスは、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウム等のアルミニウム塩(アラム)である。かかるアジュvantは、他の特異的免疫刺激剤( M P L または 3 - D M P 、 Q S - 2 1 等)、ポリマーアミノ酸または単量体アミノ酸(ポリグルタミン酸またはポリリジン等)ありまたはなしで使用することができる。別のクラスのアジュvantは水中油滴型エマルション製剤である。かかるアジュvantは、他の特異的免疫刺激剤ありまたはなしで使用することができ、それらは、ムラミルペプチド(例えばN - アセチルムラミル - L - スレオニル - D - イソグルタミン( t h r - M D P )、N - アセチル - ノルムラミル - L - アラニル - D - イソグルタミン( n o r - M D P )、N - アセチルムラミル - L - アラニル - D - イソグルタミニル - L - アラニン - 2 - ( 1 ' - 2 ' ジパルミトイール - s n - グリセロ - 3 - ヒドロキシホスホリルオキシ) - エチルアミン( M T P - P E )、N - アセチルグルコサミニル - N - アセチルムラミル - L - A 1 - D - イソグル - L - A l a - ジパルミトキシプロピルアミド( D T P - D P P )、Theramide(商標))、または他の細菌細胞壁構成要素等である。水中油滴型エマルションには、( a ) 微流動化装置(モデル 1 1 0 Y 微流動化装置( M i c r o f l u i d i c s 、 Newton 、 Mass s . )等)を使用して、サブミクロン粒子へと製剤化され、5 %のスクワレン、0 . 5 %のT w e e n 8 0 、及び0 . 5 %のS p a n 8 5 (隨意に様々な量のM T P - P E を含有する)を含有する、M F 5 9 ( W O 9 0 / 1 4 8 3 7 ) ( b ) サブミクロンエマルションへの微流動化、またはボルテックスによるより大きな粒子サイズエマルションの生成のいずれかで、1 0 %のスクワレン、0 . 4 %のツイーン 8 0 、5 %のプルロニックプロックポリマーL 1 2 1 及びt h r - M D P を含有する、S A F ( c ) 2 %のスクワレン、0 . 2 %のT w e e n 8 0 、ならびにモノホスホリリピドA( M P L )、トレハロースジミコレート( T D M )及び細胞壁骨格( C W S )からなる群からの1つまたは複数の細菌細胞壁構成要素、好ましくはM P L + C W S ( D e t o x (商標))を含有する、R i b i (商標)アジュvant系( R A S )( R i b i I m m u n o C h e m 、 H a m i l t o n 、 M o n t . )が含まれる。

#### 【 0 0 7 3 】

別のクラスの好ましいアジュvantは、サポニンアジュvant( S t i m u l o n (商標)( Q S - 2 1 、 A q u i l a 、 F r a m i n g h a m 、 M a s s . )等)またはそれから生成される粒子( I S C O M (免疫刺激複合体)及びI S C O M A T R I X 等)である。他のアジュvantには、R C - 5 2 9 、 G M - C S F ならびにフロイント完全アジュvant( C F A )及びフロイント不完全アジュvant( I F A )が含まれる。他のアジュvantにはサイトカインが含まれ、それは、インターロイキン(例えばI L - 1 、 I L - 2 、 I L - 4 、 I L - 6 、 I L - 1 2 、 I L 1 3 及びI L - 1 5 )、マクロファージコロニー刺激因子( M - C S F )、顆粒球 - マクロファージコロニー刺激因子( G M - C S F )及び腫瘍壞死因子( T N F )等である。別のクラスのアジュvant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が含まれる糖脂質類似体であり、その各々は、免疫修飾物質またはアジュvantとして、糖残基でアミノ酸によって置換される(米国特許第4 , 8 5 5 , 2 8 3号を参照)。熱ショックタンパク質(例えばH S P 7 0 及びH S P 9 0 )もアジュvantとして使用することができる。

#### 【 0 0 7 4 】

アジュvantは、単一組成物として免疫原により投与することができるか、または免疫

10

20

30

40

50

原の投与の前、同時、もしくは後に投与することができる。

【0075】

V. レビー小体病のための診断基準

本方法は、一般に、適格な健康関連業務従業者によってレビー小体病と診断され、疾患に関連するかまたは少なくとも関連する疑いのある便秘を有する被験体に対して遂行される。かかる個体には、レビー小体病の治療または予防のための事前の処方を受理した任意のものが含まれる。レビー小体病の診断は、好ましくはレビー小体病の疑いまたはレビー小体病がほぼ確実であることについて、当技術分野で認められている基準（DSM-VまたはDSM-IV-TR、Lewy Body dementia association、Parkinson's disease society及び同種のものの基準等）に基づく。しかしながら、診断は、被験体の便秘がレビー小体病の結果である可能性が最も高いと治療医師に結論を下させる、レビー小体病の任意の徵候または症状の存在にも基づき得る。パーキンソン病の疑いまたはパーキンソン病がほぼ確実であることを診断する例示的な基準は以下に示される。

10

グループA：休止時振戦、動作緩慢、固縮及び非対称性の開始

グループBの特色：代替の診断の示唆

症状開始後の最初の3年で姿勢不安定性が顕著

最初の3年で事象が停止する

最初の3年で医薬物に無関係な幻覚

20

運動症状に先行または最初の年での認知症

核上性注視麻痺（上方注視の制限以外の）または垂直性サッケードの遅延

医薬物に無関係な重度の症状の自律神経異常症

20

【0076】

パーキンソン症候群を生ずることが公知であり、被験体の症状に妥当に結び付けられる病態の報告（適切に位置決めした局所性脳病変または過去6ヶ月間以内の神経弛緩薬の使用等）。

【0077】

パーキンソン病の「疑い」の診断についての基準：

30

グループA中の4つの特色的うちの少なくとも2つが存在し；少なくともこれらのうちの1つは震動または動作緩慢であり、グループB中の特色的どれも存在しないか、または症状は3年未満の間存在するかのいずれかであり、グループB中の特色的どれも現在まで存在せず；レボドーパもしくはドーパミンアゴニストへの実質的かつ持続的な応答が報告されているか、または被験体はレボドーパもしくはドーパミンアゴニストを適切に試していなかったかのいずれかである。

【0078】

パーキンソン病が「ほぼ確実であること」の診断についての基準：

40

グループA中の少なくとも3つまたは4つの特色が存在し、グループB中の特色的どれも存在せず、レボドーパまたはドーパミンアゴニストへの実質的かつ持続的な応答が報告されている。

【0079】

レビー小体認知症の診断についての例示的な基準は以下のとおりである。

認知症の存在

少なくとも以下の3つのコア特色的うちの2つ。

注意力及び集中力の変動、

定期的に繰り返すはっきりした幻視、

自発的なパーキンソン病性の運動徵候。

示唆的な臨床特色には以下のものが含まれる。

急速眼球運動（REM）睡眠行動障害

重度の神経弛緩薬感受性

SPECTまたはPET画像化によって実証される基底核における低ドーパミン輸送体取

50

り込み。

#### 【0080】

2つのコア特色が存在しない場合、認知症に加えて少なくとも1つの示唆的な特色が1つのコア特色と共に存在するならば、DLBがほぼ確実であるという診断を行うことができる。

#### 【0081】

DLBの疑いは、認知症に加えて1つのコア特色または示唆的な特色の存在により診断することができる。

#### 【0082】

レビー小体病の早期の前兆には、例えばEEGの遅延、神経精神病学的所見（うつ病、認知症、幻覚、不安、無感覚、無快感）、自律神経性変化（起立性低血圧、膀胱障害、便秘、便失禁、唾液分泌過多、嚥下障害、性機能障害、脳血流の変化）、感覚的变化、（嗅覚、疼痛、色識別、知覚異常）、睡眠障害（レム睡眠行動障害（RBD）、下肢静止不能症候群／周期的な四肢の動き、過眠症、不眠症）、ならびに様々な他の徵候及び症状（疲労、複視、霧視、脂漏、体重減少／増加）が含まれる。パーキンソン病に対するリスクの遺伝的マーカーには、-シヌクレインまたはパーキン、UCHL1及びCYP2D6遺伝子中の突然変異；特に-シヌクレイン遺伝子の位置30及び53での突然変異が含まれる。これらの遺伝学マーカーまたは早期の前兆のどれもそれ自体はレビー小体病の診断ではないが、それらは、個別でまたは組み合わせてレビー小体病の診断に寄与し得る。

10

#### 【0083】

### V I . 便秘症状の決定

単純な近似として、1週間あたり3回未満の排便が便秘、及び3回以上が正常であると判断することができるが、ヒトの便秘症状のより正確な評価は、被験体の質問票への応答によって決定することができ、その多くは出版済み文献及び医学的用途で利用可能である。かかる質問票の1つの例はPATIENT ASSESSMENT OF CONSTIPATION SYMPTOMS (PAC-SYM)である。PAC-SYMは、慢性的な便秘の症状頻度及び重症度を査定する(Scand J Gastroenterol 1999; 34: 870-7)。この12項目の自己報告尺度は3つの症状サブスケール（すなわち腹部、直腸及び便）へと分割される。項目を4点のLikertスケールでスコアリングし、4は最悪の症状の重症度を示す。PAC-SYMについてのスコアの合計は0~48の範囲であり得る。

20

#### 【0084】

Constipation Scoring System (CSS) (Dis Colon Rectum 1996; 39: 681-5)は、便秘の罹患率及び重症度を査定するようにデザインされた8項目の自己報告尺度である。スコアリングシステムは、8つの变数（排便の頻度；困難なまたは有痛性の排泄；排泄の完全性；腹痛；1回の試みあたりの時間；緩下剤を含む支援のタイプ；用指排便または浣腸；24時間の期間における排泄で不成功的試みの数及び便秘の継続期間）に基づく。CSSは、0（時間のうちで少しもない）~4（時間のすべて）の範囲の5点のLikertのスケールを使用してスコアリングされる7つの項目及び0~2のスケールで評価される1つの項目からなる。スコアの合計は0（正常）から30（重度の便秘）の範囲であり得る。15のカットオフスコアは便秘を示唆する。

30

#### 【0085】

Knowles Eccersley Scott Symptom (KESS) (Dis Colon Rectum 2000; 43: 1419-26)は、便秘の診断を支援し、病理生理学的サブグループの中での識別のために開発された、11項目の尺度である。KESは、重み付きでない線形整数スケールでスコアリングされる4~5点のLikertのスケールを使用する。スコアの合計は、0（症状はない）~39（高い症状の重症度）の範囲であり得る。11のカットオフスコアは便秘を示す。

40

#### 【0086】

50

Garrigues Questionnaire (GQ) (Am J Epidemiol 2004; 159: 520-6) は、慢性的な便秘の存在を定義するために開発された、21項目の自己報告尺度である。21項目のうちの13のみが便習慣に関連する。2つの異なる4点の Likert スケールを使用して、項目をスコアリングする。第1のものは、「なし」、「時々」(時間のうちの < 25%)、「頻繁に」(時間のうちの 25%) 及び「常に」からなっていた。第2のものは、「なし」、「週に1回未満」、「週に1回以上」及び「毎日」からなっていた。

#### 【0087】

動物モデルにおける便秘は、他の測定の中でも動物モデルにおける排便の頻度及び継続期間ならびに / または便稠度をモニターすることによって査定することができる。

10

#### 【0088】

被験体の便秘症状（複数可）を免疫療法の開始前に少なくとも1回査定して、ベースライン読み取りを決定することができる。被験体の便秘症状（複数可）は免疫療法剤の投与後に少なくとも1回査定することもできる。かかるレジームの間及び後に、症状（複数可）を複数回査定することができる。例えば、かかるレジームにおける免疫療法剤の各々の投与後に、症状（複数可）を固定した間隔で査定することができる。

#### 【0089】

質問票の考察から明らかなように、質問票への被験体答えは1つまたは複数の数値へとまとめることができ、被験体の病態の全体的な評価が提供され、異なる時間で投与された質問票の間で単純に比較して、便秘症状が改善されるか、同じにとどまるか、または悪化しているかどうかを示すことが可能になる。

20

#### 【0090】

#### VII. 動物モデル

本方法は、レビー小体病の動物モデル（特に齧歯目の動物、昆虫、ヒト以外の霊長動物）における、免疫療法剤及びレジームの評価のために有用である。動物モデルの好ましい形状は、レビー小体病の1つまたは複数の徵候または症状を発症するように配置した - シヌクレイン導入遺伝子 (Masliah, 2000, Science 287: 1265-69 を参照) を発現する遺伝子導入マウスである。APP 導入遺伝子も含む類似のマウスも使用することができる。E46K 及び Rep1 の突然変異を備えたゲノムの - シヌクレイン導入遺伝子を取り込む別のモデルは、US8, 502, 016 中で記述される。ヒト - シヌクレインを発現するトランスジェニックショウジョウバエは、Feaney et al., Nature. 2000 Mar 23; 404 (6776): 394-8 によって報告される。レビー小体病の他の遺伝子導入動物モデルは、Esbach et al., Neurodegener Dis. 2013 Sep 24 (電子印刷) によって概説される。

30

#### 【0091】

動物モデルは免疫療法剤及びレジームのスクリーニングのために使用することができる。免疫療法剤はレジームにおいて動物モデルへ投与され、便秘の1つまたは複数の症状は投与前後に査定することができる。レビー小体病の他の徵候及び症状は査定されるかまたは査定されなくてもよい。免疫療法剤の投与へ応答性である1つまたは複数の便秘症状における改善は、免疫療法剤及びそれが投与されるレジームがレビー小体病の治療のために有用であるという指標を提供する。改善は、試験されている免疫療法剤を受けない類似の動物モデルと比較して査定することもできる。好ましくは、免疫療法剤を受ける動物モデルの集団と受けない動物モデルの集団との間で比較を遂行して、免疫療法剤及びそれが投与されるレジームが、便秘の症状において統計的に有意な低減を達成するかどうかを決定する。

40

#### 【0092】

#### VIII. 便秘症状に基づいた免疫療法のモニター及び調整

方法は、便秘症状が含まれるレビー小体病と診断された被験体で実践される。被験体は免疫療法の開始前に便秘症状のためのベースラインを確立するために評価することができ

50

る。好ましくは、被験体は、ベースライン及び治療に非依存的なランダムなばらつきの尺度の両方を確立するために複数の機会で評価される。次いで免疫療法剤は第1のレジームで投与される。

#### 【0093】

レジームには、典型的には例えば1か月間～5年間、好ましくは1～24または6～18か月間の範囲の合計期間にわたる免疫療法剤の複数の投与が含まれる。1つまたは複数の便秘症状は、レジームの間または後に少なくとも1回評価される。好ましくは、ランダムなばらつきの尺度を確立すること及び免疫療法に応答する傾向性を示すことの両のために、症状を複数の機会で評価する。次いで便秘症状の様々な評価を比較する。2つの評価のみが行われるならば、直接的な比較を2つの評価の間で行って、便秘症状が、2つの評価の間で改善したか、悪化したか、または同じままであるかどうかを決定することができる。2つ以上の測定が行われるならば、測定は、免疫療法の前に開始し免疫療法を通して進むような時間経過として分析することができる。分析は、同様に、便秘症状（複数可）が免疫療法に応答して改善したか、悪化したか、または同じままであるかどうかを示す。比較は適切にプログラムされたコンピューターにおいて遂行することができ、それは以下で更に論じられるようなアウトプットを提供するようにもプログラムされ得る。追加で、またはあるいは、治療の開始後の1週間あたり3回以上の排便の頻度は、治療への陽性的応答の単純な指標として判断することができる。

10

#### 【0094】

1つまたは複数の便秘症状の比較のアウトカムに依存して、異なる被験体は異なる後続の治療レジームを受けることができる。1つまたは複数の症状が改善した被験体において、第1のレジームは成功したと結論付けることができる。その後のかかる被験体は第2のレジームを受け、それは第1のレジームと同じであり得るか（それが成功したので）または、第1のレジームにおけるものと同じ免疫療法剤であるが低減させた投薬量もしくは頻度での継続的な投与を含み得る（例えば誘導レジームから維持レジームへの移行）。例えば、第2のレジームにおいて、用量または頻度は、少なくとも1.5、少なくとも2または1.5～5分の1まで低減させることができる。投薬量を下げて調整する目的のために、投薬量は、0.3～1mg/kg、1～3mg/kg、3～10mg/kg及び10～30mg/kg等の4つの帯域（他の可能性の中でも特に）において分類することができ、より高い帯域からより低い帯域内で用量を変化させて下方へ調整される。より低い帯域は、初回用量よりも低い帯域の任意のものであり得る。例えば、用量は、より高い帯域から次のより低い帯域（3～10mg/kgから1～3mg/kgへ等）へ調整され得る。投薬量は、0.3、1、3、10及び30mg/kgの例示的な投薬量の中で調整することができる。例えば、30mg/kgの初回投薬量は、言及された他の投薬量のうちの任意のものへ下げて調整することができる。いくつかのかかる方法において、言及されたもののうちのより高い端部での投薬量（例えば3mg/kg、10mg/kgまたは30mg/kg）は誘導のために使用され、より低い端部での投薬量（例えば0.3mg/kg、1mg/kgまたは3mg/kg）は維持のために使用される。1つまたは複数の症状が悪化したか、または同じままであった被験体において、第1のレジームが失敗であったかまたは少なくとも最適未満で成功したことを、結論付けることができる。その後のかかる被験体は、第3のレジーム（第1のレジームとは異なる）及び第2のレジームを受けることができる。第3のレジームは、第1のレジームにおけるものと同じ免疫療法剤であるが増加させた用量及び頻度での投与を含み得る。例えば、用量または頻度は、少なくとも1.5、少なくとも2または1.5～5倍で増加させることができる。例として、用量は、上記のもののより低い帯域からより高い帯域内、またはより低い例示的な投薬量からより高い例示的な投薬量であるように調整され得る。第3のレジームには、第1のレジームとは異なる薬剤（異なる免疫療法剤（例えば - シヌクレインへの異なる抗体）またはレビー小体病の治療のために示される非免疫療法剤のいずれか）の投与も含まれ得る。

20

30

40

#### 【0095】

症状における改善または悪化への参照は、被験体の病態におけるランダムなばらつきで

50

はなく、医師の判定において治療に起因する可能性が高く、好ましくはかかる搖らぎの少なくとも 1 標準偏差及び好ましくは 2 標準偏差を超える改善によって実証される改善を意味する。

#### 【 0 0 9 6 】

便秘症状の評価は、レビー小体病の他の徵候及び症状の査定と併用して行うことができる。レビー小体病の徵候には、脳中の軸索性または神経炎性の - シヌクレイン凝集またはレビー小体の蓄積、脳脊髄液または体液中の - シヌクレインの蓄積、神経炎性ジストロフィー、及びシナプス密度の低減が含まれる。シナプス密度または樹状密度の変化のインデックスは、シナプス形成（シナプトフィジン）及び / または樹状突起（MAP2）のマーカーによって測定することができる。レビー小体病の症状には、診断下で上でリストされた任意のものが含まれる。評価のために好ましい症状には、運動機能及び認知機能が含まれる。いくつかの被験体において、便秘症状における改善は、被験体における他のかかる症状（例えば神経炎性及び / もしくは軸索性の - シヌクレイン凝集の低減、認知機能の改善、ならびに / または認知力低下の回復、治療もしくは防止）のうちの 1 つもしくは複数またはすべてにおける改善の前に生じる。

10

#### 【 0 0 9 7 】

方法は、認可された免疫療法剤のためのものまたは免疫療法剤の臨床試験もしくは前臨床試験の一部としてのものであり得る。方法は、単一個体または個体の集団に対して実践することができる。集団に対してであるならば、集団は、好ましくは、便秘症状が治療に応答して減少する少なくとも 1 つの個体、及び症状が治療後に同じままかまたはより悪くなる少なくとも 1 つの個体を含むほど十分に大きい。集団は、好ましくは、少なくとも 2 、 5 、 10 、 50 、 100 または 1000 名の被験体を含む。

20

#### 【 0 0 9 8 】

#### I X . 便秘の治療

本発明は、レビー小体病と診断され、レビー小体病に起因するという疑いのある便秘の症状を有する被験体において、便秘を治療する方法を更に提供する。かかる方法は、被験体における便秘の 1 つまたは複数の症状を改善するような、 - シヌクレインに対する免疫療法剤の効果的なレジームを被験体へ投与することを含む。好ましくは、便秘の 1 つまたは複数の症状を治療の前及び間にモニターして、治療が便秘の症状を低減させるのに効果的かどうかの評価を可能にする。

30

#### 【 0 0 9 9 】

#### X . 治療レジーム

治療用途において、抗体または抗体を誘導する薬剤は、疾患の少なくとも 1 つの徵候または症状の更なる悪化を寛解するかまたは少なくとも阻害するのに効果的であることが公知であるかまたはそのように考えられるレジーム（用量、頻度及び投与経路）で、レビー小体病と診断される被験体へ投与される。予防用途において、抗体または抗体を誘導する薬剤は、疾患の少なくとも 1 つの徵候または症状の開始を阻害または遅延させるのに効果的であることが公知であるかまたはそのように考えられるレジームで、レビー小体病のリスクが増加したがその疾患と診断される十分な症状をまだ有していない被験体へ投与される。

40

#### 【 0 1 0 0 】

より好ましいアウトカムが、対照動物モデルまたは臨床試験（例えばフェーズ II 、フェーズ II / III またはフェーズ III 試験）において、  $p < 0.05$  もしくは  $0.01$  または場合によっては  $0.001$  レベルで、治療被験体 vs 対照被験体で実証されるならば、レジームは治療法的または予防的に効果的であると考慮される。しかしながら、遺伝学、被験体特徴及び環境におけるばらつき、ならびに個別の被験体の間の疾患サブタイプに起因して、 1 つの被験体において効果的なレジームは、別の被験体において効果的でないかまたは異なる程度で効果的であり得る。

#### 【 0 1 0 1 】

効果的な用量は様々な要素に依存して変動し、それらには、投与の手段、標的部位、レ

50

ビー小体病のタイプが含まれる被験体の生理的状態、被験体がA p o E保因者であるか、被験体がヒトまたは動物であるか、他の医薬物が投与されるか、及び治療が予防的または治療法的なものであるかが含まれる。

#### 【0102】

抗体についての例示的な投薬量範囲は、約0.1～50mg/kg被験体体重である。抗体についての追加の例示的な投薬量範囲は、約0.1～60mg/kg被験体体重である。抗体は、かかる用量で、毎日、隔日、毎週、隔週、毎月、3ヶ月ごと、毎年、または経験的分析によって決定された任意の他のスケジュールに従って、投与することができる。例示的な治療は、例えば少なくとも6か月間及び場合によっては少なくとも12または18か月間の延長された期間にわたって複数の投薬量での投与を要する。追加の例示的な治療レジームは、2週間ごと1回または月に1回または3～6か月間ごとに1回の投与を要する。

10

#### 【0103】

本方法のうちの任意のものにおける - シヌクレインへの抗体についての例示的な投薬量範囲には、0.3mg/kg、1.0mg/kg、3.0mg/kg及び30mg/kg、または以下の範囲、0.3～1.0mg/kg、1.0～3.0mg/kg、3.0～10mg/kgまたは10～30mg/kgのいずれか内もしくはかかる範囲の任意の組み合わせ（例えば0.3～3mg/kgまたは0.3mg/kg）内の用量が含まれる。かかる投薬量は、およそ毎月の間隔（例えば28、29、30または31日ごとに）で、または暦月により投与することができる。暦月または28日の間隔が好ましい。28～31日ごとに1回の間隔は、28日ごとに1回、29日ごとに1回、30日ごとに1回、31日ごとに1回、1つの暦月あたり1回、またはこれらの間隔の任意の順列で、用量を投与できることを意味する（例えば用量の間の第1の間隔は28日、第2の間隔は29日、第3の間隔は31日、第4の間隔は38日）。実験誤差内の同じ曲線下面積を送達する他のレジームも使用することができる。このレジームによって使用可能な - シヌクレイン抗体の1つの例は、ヒト化9E4、または特に軽鎖可変領域が配列番号：5及び重鎖可変領域が配列番号：10と指定されるH3V3バージョン、またはより具体的には全長軽鎖が配列番号：32及び全長重鎖が配列番号：37と指定されるH3V3バージョンである。

20

#### 【0104】

30

抗体は末梢経路経由で投与することができる（すなわち投与された抗体が脳血液閂門を横切って脳中の意図された部位に到達するもの）。投与経路には、局所、静脈内、経口、皮下、動脈内、頭蓋内、髄腔内、腹腔内、鼻腔内、または筋肉内が含まれる。抗体の投与のためのいくつかの経路は静脈内及び皮下である。このタイプの注射は、最も典型的には腕または脚の筋肉において遂行される。いくつかの方法において、薬剤は沈着が蓄積する特定の組織の中へ直接注射される（例えば頭蓋内注射）。

#### 【0105】

40

本レジームは、治療されている疾患の治療または予防において効果的な他の薬剤と組み合わせて投与することができる。他の薬剤は、本明細書において記述される別の免疫療法剤またはパーキンソン病の治療のための他の薬剤であり得、それらには、レボドーパ、ベンザセリデ（benzaseride）、カルビドパ、ドーパミンアゴニスト、非麦角系ドーパミンアゴニスト、カテコール-O-メチル（「COMT」）阻害剤（例えばエンタコポン（entacopone）またはトルコポン（tolcapone）等）、モノアミンオキシダーゼ（「MAO」）阻害剤（例えばラサガリン（rasagiline）及びアマンタジン等）、またはレジームと組み合わせて使用することができる抗コリン作動剤が含まれる。

#### 【0106】

50

すべての出版物（GenBankアクセッション番号、UniProtKB/Swiss-Protアクセッション番号及び同種のものが含まれる）、特許及び引用された特許出願は、あたかも各々の個別の出版物、特許及び特許出願が、その全体ですべての目的の

ために参照により援用されることが具体的に個別に示されたかのように、それらの全体ですべての目的のために参照により本明細書に同じ程度まで援用される。G e n b a n k 及びU n i P r o t K B / S w i s s - P r o t のアクセッション番号と関連した配列及び同種のものもしくはウェブサイトまたは団体の疾患基準における任意の不一致の事象において、本出願はその有効出願日に施行されたものを参照する。

【配列表】

2017501848000001.app

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/IB2014/066141

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. G01N33/68 A61K39/00  
ADD.

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

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
G01N A61K

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

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

EPO-Internal, COMPENDEX, EMBASE, FSTA, INSPEC, WPI Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2006/020581 A2 (ELAN PHARM INC [US]; UNIV CALIFORNIA [US]; SCHENK DALE B [US]; MASLIAH) 23 February 2006 (2006-02-23) paragraph [0216]; claim 1 paragraph [0198] abstract ----- WO 2005/011389 A1 (FRA PRODUCTION S P A [IT]; MIGNONE ADRIANA HM [IT]) 10 February 2005 (2005-02-10) claim 57 paragraph [0094] ----- -/-	1-30
Y		1-30 -/-

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

"V" 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

Date of mailing of the international search report

9 June 2015

19/06/2015

Name and mailing address of the ISA/  
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Jacques, Patrice

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/IB2014/066141
---------------------------------------------------

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ELIEZER MASLIAH ET AL: "Passive Immunization Reduces Behavioral and Neuropathological Deficits in an Alpha-Synuclein Transgenic Model of Lewy Body Disease", PLOS ONE, vol. 6, no. 4, 1 January 2011 (2011-01-01), pages e19338-e19338, XP055023042, ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/journal.pone.0019338 abstract -----	1-41
Y	W. POEWE: "Non-motor symptoms in Parkinson's disease", EUROPEAN JOURNAL OF NEUROLOGY, vol. 15, no. s1, 29 November 2007 (2007-11-29), pages 14-20, XP055168748, ISSN: 1351-5101, DOI: 10.1111/j.1468-1331.2008.02056.x abstract page 16, paragraph "constipation", last three lines. -----	1-13
Y	ROBERT D. ABBOTT ET AL: "Bowel movement frequency in late-life and incidental Lewy bodies", MOVEMENT DISORDERS, vol. 22, no. 11, 1 January 2007 (2007-01-01), pages 1581-1586, XP055168811, ISSN: 0885-3185, DOI: 10.1002/mds.21560 abstract -----	1-30
X	US 2010/278814 A1 (SCHENK DALE B [US] ET AL) 4 November 2010 (2010-11-04) paragraph [0246]; claim 7 -----	31-41
X	WO 2013/063516 A1 (NEOTYPE BIOSCIENCES LTD [IE]; SALDANHA JOSE [US]; NIJJAR TARLOCHAN S [ ]) 2 May 2013 (2013-05-02) paragraph [0091] - paragraph [0092] paragraph [0115] -----	31-41
X	US 2012/142902 A1 (SCHENK DALE B [US] ET AL) 7 June 2012 (2012-06-07) the whole document -----	31-41
A	WO 2005/047860 A2 (ELAN PHARM INC [US]; CHILCOTE TAMIE [US]; BARBOUR ROBIN [US]) 26 May 2005 (2005-05-26) paragraph [0246]; claim 20 -----	31-41
6		

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2014/066141

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)			Publication date
WO 2006020581 A2	23-02-2006	AU	2005273969 A1		23-02-2006
		BR	PI0514199 A		03-06-2008
		CA	2576672 A1		23-02-2006
		EP	1793855 A2		13-06-2007
		IL	181061 A		31-12-2014
		JP	5211290 B2		12-06-2013
		JP	2008509223 A		27-03-2008
		KR	20070042566 A		23-04-2007
		KR	20130054426 A		24-05-2013
		NZ	553621 A		29-01-2010
		US	2006058233 A1		16-03-2006
		US	2010031377 A1		04-02-2010
		WO	2006020581 A2		23-02-2006
-----					
WO 2005011389 A1	10-02-2005	AU	2003253286 A1		15-02-2005
		WO	2005011389 A1		10-02-2005
-----					
US 2010278814 A1	04-11-2010	NONE			
-----					
WO 2013063516 A1	02-05-2013	AU	2012328530 A1		26-06-2014
		CA	2853531 A1		02-05-2013
		CN	104334184 A		04-02-2015
		CO	7020875 A2		11-08-2014
		EP	2771031 A1		03-09-2014
		JP	2015502341 A		22-01-2015
		KR	20140081898 A		01-07-2014
		PE	15682014 A1		21-11-2014
		US	2013108546 A1		02-05-2013
		US	2014275495 A1		18-09-2014
		WO	2013063516 A1		02-05-2013
-----					
US 2012142902 A1	07-06-2012	NONE			
-----					
WO 2005047860 A2	26-05-2005	US	2005196818 A1		08-09-2005
		US	2010203631 A1		12-08-2010
		US	2013317199 A1		28-11-2013
		WO	2005047860 A2		26-05-2005
-----					

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.  
PCT/IB2014/066141

**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 additional sheet

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 an 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.:

**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 Application No. PCT/ IB2014/066141

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-30

Methods of assessing the efficacy of immunotherapy against alpha-synuclein in subjects diagnosed with a Lewy Body disease and having one or more constipation symptoms.  
A method of treating constipation in a subject withn a Lewy Body disease and having one or more symptoms of constipation.  
A method of evaluating an immunotherapy regime wherein one or more symptoms of constipation are determined.

---

2. claims: 31-41

A method of treating a subject with a Lewy Body disease comprising administering a humanized 9E4 antibody at a particular regime.

---

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 07K 14/47	(2006.01) A 61K 39/395	D
C 07K 16/18	(2006.01) G 01N 33/68	
	C 07K 14/47	
	C 07K 16/18	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,C1,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,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(72)発明者 ニューマン , テレサ , アン

アメリカ合衆国 94025 カリフォルニア , メンロー パーク , カンボ ベロ レーン  
7

(72)発明者 ネス , ダニエル , キース

アメリカ合衆国 94403 カリフォルニア , サン マテオ , グリーンオーク コート 3  
100

F ターム(参考) 2G045 AA25 CA26 CB03 DA36

4C085	AA13	AA14	CC21	DD62	DD63	EE01	HH20	KA03	KB82	LL13
4H045	AA10	AA11	AA20	AA30	BA10	CA40	CA45	DA75	DA86	EA21
			EA50	FA71						