202425995

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202425995 A

(43)公開日： 中華民國 113 (2024) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：112136326 (22)申請日： 中華民國 112 (2023) 年 09 月 22 日

(51)Int. Cl.： *A61K31/506 (2006.01)* *A61P25/28 (2006.01)*
G01N33/68 (2006.01)

(30)優先權：2022/09/23 美國 63/376,949
2022/11/03 美國 63/382,278

(71)申請人：日商衛材Ｒ&Ｄ企管股份有限公司 (日本) EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD. (JP)
日本

(72)發明人：莫琳　瑪格麗特　L MOLINE, MARGARET L. (US)；程　喬瑟琳　Y CHENG, JOCELYN Y. (US)；林漢　葛斯　E RINGHEIM, GARTH E. (US)；柏克曼　卡斯登　T BEUCKMANN, CARSTEN T. (DE)；霍茲曼　大衛　M HOLTZMAN, DAVID M. (US)；莫賽克　艾瑞克　S MUSIEK, ERIK S. (US)；路塞伊　布蘭丹　P LUCEY, BRENDAN P. (US)；帕西茲克　薩米拉 PARHIZKAR, SAMIRA (SE)；夏爾瑪　阿瑟希 SHARMA, ASHISH (IN)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無　申請專利範圍項數：186 項　圖式數：18　共 192 頁

(54)名稱

減少與神經退化疾病相關的神經退化的方法

(57)摘要

本揭露關於雙重醒食素受體拮抗劑萊博雷生，以及組成物和方法，用於在治療例如患有阿滋海默症（AD）或處於發展 AD 的風險中的受試者的 AD 中使用。

The disclosure relates to lemborexant, a dual orexin receptor antagonist, and compositions and methods for use in treatment of Alzheimer’s disease (AD), e.g., in a subject who has AD or who is at risk for developing AD.

202425995

【發明摘要】

【中文發明名稱】

減少與神經退化疾病相關的神經退化的方法

【英文發明名稱】

METHODS OF REDUCING NEURODEGENERATION ASSOCIATED WITH NEURODEGENERATIVE DISEASES

【中文】

本揭露關於雙重醒食素受體拮抗劑萊博雷生，以及組成物和方法，用於在治療例如患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的AD中使用。

【英文】

The disclosure relates to lemborexant, a dual orexin receptor antagonist, and compositions and methods for use in treatment of Alzheimer's disease (AD), e.g., in a subject who has AD or who is at risk for developing AD.

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

減少與神經退化疾病相關的神經退化的方法

【英文發明名稱】

METHODS OF REDUCING NEURODEGENERATION ASSOCIATED WITH NEURODEGENERATIVE DISEASES

【技術領域】

【0001】 本文描述了涉及雙重醒食素受體拮抗劑萊博雷生的組成物和方法，用於在治療神經疾病諸如阿滋海默症（AD）中使用。

【先前技術】

【0002】 阿滋海默症（AD）為病因不明的進行性、神經退化性疾病並且係老年人中最常見的失智形式。在2006年，全世界有2660萬例AD（範圍：1140-5940萬）（Brookmeyer, R.等人, Forecasting the global burden of Alzheimer's Disease. [預測阿滋海默症的全球負擔] *Alzheimer Dement.* [阿滋海默症與失智] 2007; 3:186-91），而據報導，美國有超過500萬人患有AD（Alzheimer's Association [阿滋海默症協會], Alzheimer's Association report, 2010 Alzheimer's disease facts and figures. [阿滋海默症協會報告，2010年阿滋海默症的事實和數據] *Alzheimer Dement.* [阿滋海默症與失智] 2010; 6:158-94）。到2050年，經預測，AD在世界範圍內的發病率將增長到1.068億（範圍：4720萬-2.212億），而僅在美國的發病率經估計為1100萬到1600萬。（Brookmeyer, 見上文, 和2010 Alzheimer's disease facts and figures [2010年阿滋海默症的事實和數據], 見上文）。

【0003】 該疾病通常涉及認知功能的整體衰退，其緩慢地進展並使末期受試者臥床不起。AD受試者在症狀發作之後典型地僅存活3至10年，儘管已知存活極端為2年與20年。（Hebert, L.E.,等人, Alzheimer disease in the U.S. population: prevalence estimates using the 2000 census. [美國人群中的阿滋海默症：使用2000年人口普查的患病率估計值] *Arch Neurol.* [神經病學文獻] 2003; 60:1119-1122。）儘管事實為由於死亡證明很少將死因歸咎於AD，由AD所致的死亡因此被大大低估，但AD在美國仍為所有死亡的第七主因，且在高於65歲的美國人中為死亡的第五主因。

【0004】 AD代表工業化國家的沉重經濟負擔，伴隨對醫療保健系統及國庫，以及對受試者及其家庭的顯著影響。僅在美國，2010年總費用估計為1720億美元，包括用於醫療保險及醫療補助的1230億美元。

【0005】 從組織學上講，該疾病的特徵係神經炎斑塊，其主要在聯合皮質、邊緣系統和基底神經節中發現。該等斑塊的主要成分係類澱粉蛋白β肽（Aβ）。Aβ以各種構形狀態存在：單體、低聚物、基原纖維和不溶性原纖維。阿滋海默症發作與Aβ產生之間的機制關係細節尚不清楚。然而，一些抗Aβ抗體目前正在作為阿滋海默症的潛在治療劑進行臨床研究。

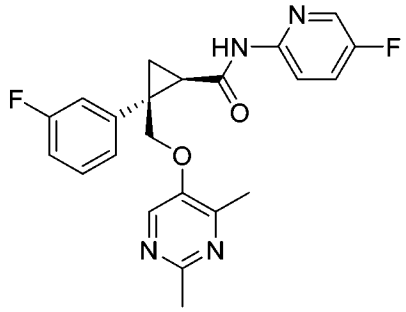
【0006】 除了神經炎斑塊之外，該疾病的特徵還在於tau聚集和過度磷酸化、免疫響應增加、神經元變性、突觸喪失和最終的認知功能障礙、失智及死亡。

【0007】 失眠已經被認為是AD的風險因素。歷史上，失眠已經用各種藥物治療，包括多慮平（doxepin）、三環抗憂鬱劑（TCA）和雙重

醒食素受體拮抗劑（也稱為DORA）諸如蘇沃雷生（suvorexant）或萊博雷生（lemborexant）。雖然文獻已經提出睡眠失調與AD風險之間的聯繫，但是尚未建立直接聯繫。為了說明需要進一步闡明失眠與AD之間的聯繫，本文揭露的數據表明至少兩種這樣的睡眠藥物即多慮平和萊博雷生對AD病理具有差異性作用，儘管兩者都介導睡眠。

【0008】 萊博雷生已被批准用於治療特徵在於入睡和/或睡眠維持困難的成年失眠患者。萊博雷生及其使用方法揭露於例如美國專利案號11,026,944和11,096,941中，其內容藉由援引併入本文。

【0009】 萊博雷生具有以下結構：



並且也稱為(1R,2S)-2-(((2,4-二甲基嘧啶-5-基)氧基)甲基)-2-(3-氟苯基)-N-(5-氟吡啶-2-基)環丙烷甲醯胺或(1R,2S)-2-(((2,4-二甲基嘧啶-5-基)氧基)甲基)-2-(3-氟苯基)-N-(5-氟吡啶-2-基)環丙烷-1-甲醯胺。

【0010】 因此，仍然需要改善的AD治療，包括在疾病的不可逆症狀發展之前的早期干預。本文的揭露內容令人驚訝地證明萊博雷生可用於此類治療。

【發明內容】

【0011】 本揭露之一個方面涉及一種用於治療患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的AD的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物，

從而治療AD。

【0012】 在一些實施方式中，治療AD包括減少和/或減緩認知下降。在一些實施方式中，治療AD包括影響AD病理的至少一種標誌物的變化（例如，減緩、延遲或減少）。

【0013】 在一些實施方式中，該標誌物係tau的磷酸化水平、神經退化、小神經膠質細胞響應的變化和/或Aβ斑塊的存在。在一些實施方式中，該標誌物存在於該受試者的腦區中。在一些實施方式中，該腦區係海馬體、體運動皮質、體感皮質、梨狀皮質和/或內嗅皮質。在一些實施方式中，在該受試者的體液中檢測該標誌物。在一些實施方式中，該體液係血液或腦脊液（CSF）。

【0014】 在一些實施方式中，該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。在一些實施方式中，該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。

【0015】 在一些實施方式中，該受試者呈類澱粉蛋白陽性。在一些實施方式中，該受試者處於進一步Aβ積聚的風險中。在一些實施方式中，受試者為ApoE4攜帶者。在一些實施方式中，該受試者具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，20-40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。

【0016】 在一些實施方式中，該受試者基於腦成像、認知功能和/或生物標誌物標準，已被診斷為患有AD。在一些實施方式中，該受試者患有早期AD。在一些實施方式中，該受試者患有前期AD。

【0017】 本揭露之一個方面涉及一種減少或維持患有AD或處於發展AD的風險中的受試者中的tau（例如，相對於治療開始之前的水平減少或維持tau水平，或延遲tau積聚、tau磷酸化和/或tau擴散，或減緩該等中

之任一項的速率）的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生，其中該治療有效量足以減少或維持該受試者中的tau。

【0018】 在一些實施方式中，該受試者呈類澱粉蛋白陰性。在一些實施方式中，該tau水平相對於參考降低或維持。在一些實施方式中，該方法包括與參考相比，減少和/或延遲tau積聚和/或tau擴散，和/或減緩其速率。在一些實施方式中，該參考係來自治療前的該受試者的基線測量值。在一些實施方式中，該參考係來自對照受試者的基線測量值。在一些實施方式中，該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【0019】 在一些實施方式中，該方法包括改變該受試者的腦區中的tau。在一些實施方式中，該方法包括改變該受試者的腦區中的tau PET訊息。在一些實施方式中，該腦區係海馬體、內嗅皮質和/或梨狀皮質。在一些實施方式中，該方法包括減少該受試者的體液中的tau。在一些實施方式中，該體液係血液或CSF。

【0020】 在一些實施方式中，該tau係總tau。在一些實施方式中，該tau係不溶性tau。在一些實施方式中，該tau係聚集的tau。在一些實施方式中，該tau係tau的磷酸化形式（磷酸化tau）。在一些實施方式中，該磷酸化tau在T181、T217、S202、S205或T231中之一者或多者上磷酸化。

【0021】 在一些實施方式中，該方法包括改變磷酸化tau與總tau的比率。在一些實施方式中，該磷酸化tau與總tau的比率與投與萊博雷生之前該受試者的CSF磷酸化tau與總tau的比率相比降低。在一些實施方式中，該磷酸化tau與總tau的比率維持在投與萊博雷生之前該受試者的磷酸化tau與總tau的比率的10%以內。在一些實施方式中，該方法包括增加磷

酸化tau的去磷酸化速率。在一些實施方式中，該方法包括降低tau的磷酸化速率。在一些實施方式中，該方法包括在投與第一劑量的萊博雷生48小時內減少或維持tau。在一些實施方式中，該方法包括減少海馬體、內嗅皮質和/或梨狀皮質中的磷酸化tau。

【0022】 本揭露之另一個方面涉及一種改變患有AD或處於發展AD的風險中的受試者的神經退化（例如，減少和/或延遲神經退化，和/或減緩其速率）的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物，其中該治療有效量足以改變該受試者的神經退化。

【0023】 在一些實施方式中，該受試者呈類澱粉蛋白陰性。在一些實施方式中，改變神經退化包括與參考相比減少和/或延遲神經退化，和/或減緩其速率。在一些實施方式中，該神經退化相對於參考改變。在一些實施方式中，該參考係來自治療前的該受試者的基線測量值。在一些實施方式中，該參考係來自對照受試者的基線測量值。在一些實施方式中，該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【0024】 在一些實施方式中，該神經退化的特徵在於皮質厚度和海馬體體積中之至少一者的損失。在一些實施方式中，改變神經退化包括維持皮質厚度和/或海馬體體積或減緩皮質厚度和/或海馬體體積的損失。在一些實施方式中，該神經退化的特徵在於皮質中的錐體神經元、海馬體中的錐體神經元或海馬體中的顆粒細胞中之至少一者的損失。在一些實施方式中，改變神經退化包括維持錐體神經元和/或顆粒細胞或減少錐體神經元和/或顆粒細胞的損失。在一些實施方式中，改變神經退化包括降低神經退化的速率。在一些實施方式中，改變神經退化包括改變神經絲輕鏈

（NfL）水平。在一些實施方式中，該方法包括改變該受試者的血液和/或CSF中的該NfL水平。

【0025】 本揭露之另一方面涉及一種改變患有AD或處於發展AD的風險中的受試者中的Aβ斑塊（例如，減少或延遲Aβ斑塊的形成，和/或減緩其生長速率）的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物，其中該治療有效量足以改變該受試者中的Aβ斑塊。

【0026】 在一些實施方式中，該等Aβ斑塊相對於參考改變。在一些實施方式中，改變Aβ斑塊包括與參考相比減少和/或延遲Aβ斑塊的形成，和/或減緩其速率。在一些實施方式中，該參考係來自治療前的該受試者的基線測量值。在一些實施方式中，該參考係來自對照受試者的基線測量值。在一些實施方式中，該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【0027】 在一些實施方式中，該等Aβ斑塊係原纖維狀斑塊。在一些實施方式中，該等Aβ斑塊為所有斑塊（例如，包括彌漫性斑塊）。在一些實施方式中，改變Aβ斑塊包括減少Aβ斑塊的生長。在一些實施方式中，該方法包括減少該受試者的海馬體、該受試者的體運動皮質、體感皮質和/或梨狀皮質中Aβ斑塊的生長。

【0028】 在一些實施方式中，改變Aβ斑塊包括改變從該受試者的腦區獲得的類澱粉蛋白PET訊息。在一些實施方式中，改變Aβ斑塊對應於該受試者的CSF中Aβ濃度的降低。

【0029】 在一些實施方式中，該Aβ係Aβ38、Aβ40和/或Aβ42。在一些實施方式中，在投與第一劑量的萊博雷生48小時內改變Aβ斑塊。

【0030】 在一些實施方式中，該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。在一些實施方式中，該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。

【0031】 在一些實施方式中，該受試者處於進一步Aβ積聚的風險中。在一些實施方式中，受試者為ApoE4攜帶者。在一些實施方式中，該受試者具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，20-40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。

【0032】 在一些實施方式中，該受試者患有早期AD。在一些實施方式中，該受試者患有前期AD。

【0033】 本揭露之一個方面涉及一種調節患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的小神經膠質細胞響應的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物，其中該治療有效量足以調節該受試者的該小神經膠質細胞響應。

【0034】 在一些實施方式中，調節該小神經膠質細胞響應包括調節至少一種小神經膠質細胞標誌物的表現。在一些實施方式中，該小神經膠質細胞標誌物係一般的小神經膠質細胞標誌物。在一些實施方式中，該一般的小神經膠質細胞標誌物係Iba1、Clec7a或CD68。在一些實施方式中，該小神經膠質細胞標誌物係穩態小神經膠質細胞標誌物。在一些實施方式中，該穩態小神經膠質細胞標誌物係TMEM119或P2RY12。在一些實施方式中，調節該小神經膠質細胞響應包括調節吞噬性小神經膠質細胞的活性。

【0035】 在一些實施方式中，該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。在一些實施方式中，該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體

征。

【0036】 在一些實施方式中，該受試者呈類澱粉蛋白陰性。在一些實施方式中，該受試者具有tau病理。在一些實施方式中，該受試者在腦區中具有神經退化。在一些實施方式中，該腦區係海馬體、內嗅皮質和/或梨狀皮質。在一些實施方式中，該腦區係海馬體中的CA1區、CA2區、CA3區或齒狀迴。

【0037】 在一些實施方式中，調節該小神經膠質細胞響應包括調節與退化性神經元相關的小神經膠質細胞中的響應。在一些實施方式中，調節該小神經膠質細胞響應包括減少至少一種一般的小神經膠質細胞標誌物的表現。在一些實施方式中，該一般的小神經膠質細胞標誌物係Iba1、CD68或Clec7a。在一些實施方式中，調節該小神經膠質細胞響應包括增加至少一種穩態小神經膠質細胞標誌物的表現。在一些實施方式中，該穩態小神經膠質細胞標誌物係TMEM119或P2RY12。

【0038】 在一些實施方式中，該受試者具有Aβ斑塊。在一些實施方式中，該等Aβ斑塊係原纖維狀Aβ斑塊。在一些實施方式中，該受試者處於進一步Aβ積聚的風險中。在一些實施方式中，受試者為ApoE4攜帶者。在一些實施方式中，該受試者具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，20-40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。

【0039】 在一些實施方式中，該受試者患有早期AD。在一些實施方式中，該受試者患有前期AD。

【0040】 在一些實施方式中，該等Aβ斑塊存在於海馬體、體運動皮質、體感皮質和/或梨狀皮質中。

【0041】 在一些實施方式中，調節該小神經膠質細胞響應包括調節與Aβ斑塊相關的小神經膠質細胞中的響應。在一些實施方式中，調節該小神經膠質細胞響應包括增加一般的小神經膠質細胞標誌物的表現。在一些實施方式中，該一般的小神經膠質細胞標誌物係Iba1、Clec7a或CD68。在一些實施方式中，調節小神經膠質細胞響應包括增加吞噬性小神經膠質細胞對Aβ斑塊的吞噬作用。在一些實施方式中，調節該小神經膠質細胞響應包括減少穩態小神經膠質細胞標誌物的表現。在一些實施方式中，該穩態小神經膠質細胞標誌物係TMEM119或P2RY12。

【0042】 在本文揭露的任何方法的一些實施方式中，向該受試者投與的萊博雷生的治療有效量在每天5 mg至50 mg的範圍內。在一些實施方式中，向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量在每天10 mg至30 mg的範圍內。

【0043】 在一些實施方式中，向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量選自每天5 mg、7.5 mg、10 mg、12.5 mg、15 mg、17.5 mg、20 mg、22.5 mg、25 mg、27.5 mg和30 mg。

【0044】 在一些實施方式中，向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量為每天20-25 mg。在一些實施方式中，每天一次向該受試者投與一個劑量的25 mg的萊博雷生。

【0045】 在一些實施方式中，萊博雷生以第一劑量投與第一週期，以第二劑量投與第二週期，並且視需要地以第三劑量投與第三週期。在一些實施方式中，該第一週期、該第二週期和該第三週期中之每一者均為1週。在一些實施方式中，該第一劑量低於該第二劑量，並且視需要地，該第二劑量低於該第三劑量。

【0046】 在一些實施方式中，該第一劑量係每天一次5 mg的萊博雷生，該第二劑量係每天一次10 mg的萊博雷生，並且視需要地，該第三劑量係每天一次20-25 mg的萊博雷生。在一些實施方式中，該第一劑量係每天一次5 mg或7.5 mg的萊博雷生，該第二劑量係每天一次10 mg、12.5 mg、15 mg或17.5 mg的萊博雷生，並且該第三劑量係每天一次20 mg、22.5 mg、25 mg、27.5 mg或30 mg的萊博雷生。

【0047】 在一些實施方式中，該第一劑量高於該第二劑量，並且視需要地，該第二劑量高於該第三劑量。在一些實施方式中，該第一劑量係每天一次20-25 mg的萊博雷生，該第二劑量係每天一次10 mg的萊博雷生，並且視需要地，該第三劑量係每天一次5 mg的萊博雷生。在一些實施方式中，該第一劑量係每天一次20 mg、22.5 mg、25 mg、27.5 mg或30 mg的萊博雷生，該第二劑量係每天一次10 mg、12.5 mg、15 mg或17.5 mg的萊博雷生，並且視需要地，該第三劑量係每天一次5 mg或7.5 mg的萊博雷生。

【0048】 在本文揭露的任何方法的一些實施方式中，包括向該受試者投與萊博雷生至少6個月。在一些實施方式中，該方法包括向該受試者投與萊博雷生至少9個月、至少12個月或至少15個月。在一些實施方式中，該方法包括向該受試者投與萊博雷生至少18個月。在一些實施方式中，該方法包括向該受試者投與萊博雷生至少24個月、30個月或36個月。

【0049】 本揭露之另一個方面涉及一種選擇患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者用萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物進行治療的方法，該方法包括：(a) 從該受試者獲得tau磷

酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞響應和生物標誌物表現中之至少一者的測量值；(b) 將來自該受試者的該測量值與來自參考的測量值進行比較；以及 (c) 如果來自該受試者的該測量值與來自該參考的該測量值不同，則選擇該受試者用萊博雷生進行治療。

【0050】 在一些實施方式中，該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。在一些實施方式中，該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。

【0051】 在一些實施方式中，該受試者處於Aβ積聚的風險中。在一些實施方式中，受試者為ApoE4攜帶者。在一些實施方式中，該受試者具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，20-40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。

【0052】 在一些實施方式中，該受試者患有早期AD。在一些實施方式中，該受試者患有前期AD。

【0053】 在一些實施方式中，該受試者基於腦成像、認知功能和/或生物標誌物標準，已被診斷為患有AD。在一些實施方式中，獲得至少一個測量值包括從該受試者的腦掃描獲得數據和/或從來自該受試者的生物樣本獲得數據。在一些實施方式中，來自該腦掃描的數據指示tau磷酸化、tau聚集、Aβ斑塊負荷和/或小神經膠質細胞響應的水平。在一些實施方式中，該生物樣本係體液。在一些實施方式中，該體液係腦脊液（CSF）、血液或唾液。

【0054】 在一些實施方式中，該參考係對照。在一些實施方式中，該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【0055】在一些實施方式中，該對照未患AD。在一些實施方式中，來自該受試者的該測量值高於來自未患AD的該對照的測量值。在一些實施方式中，來自該受試者的該測量值低於來自未患AD的該對照的測量值。

【0056】在一些實施方式中，該對照患有AD。在一些實施方式中，來自該受試者的該測量值類似於或高於來自患有AD的該對照的測量值。在一些實施方式中，來自該受試者的該測量值類似於或低於來自患有AD的該對照的測量值。

【0057】在一些實施方式中，tau磷酸化的測量值包括T181、T217、S202、S205或T231中之一者或多者上的磷酸化的測量值。在一些實施方式中，tau聚集的測量值包括不溶性tau聚集物（例如，神經原纖維纏結（NFT））的測量值。

【0058】在一些實施方式中，神經退化的測量值包括皮質厚度和/或海馬體體積的測量值或錐體神經元或顆粒神經元損失的測量值。

【0059】在一些實施方式中，Aβ斑塊負荷的測量值包括Aβ斑塊體積和/或Aβ斑塊體積生長的測量值。在一些實施方式中，Aβ斑塊負荷的測量值包括該受試者的腦區中的類澱粉蛋白PET訊息的測量值或該受試者的CSF中的Aβ的測量值。

【0060】在一些實施方式中，小神經膠質細胞響應的該測量值係至少一種小神經膠質細胞標誌物的表現的變化。在一些實施方式中，該小神經膠質細胞標誌物係Iba1、Clec7a、CD68、TMEM119或P2RY12。在一些實施方式中，小神經膠質細胞響應的該測量值係小神經膠質細胞的吞噬作用的測量值。

【0061】 本揭露之另一方面涉及一種監測患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的治療功效的方法，該方法包括：(a) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞功能和生物標誌物表現中之至少一者的第一測量值；(b) 向該受試者投與一定劑量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物；(c) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞功能和生物標誌物表現中之至少一者的第二測量值；以及 (d) 將來自該受試者的該第二測量值與來自該受試者的該第一測量值進行比較，其中該第一測量值和該第二測量值之間的差異指示用萊博雷生的有效治療。

【0062】 本揭露之另一方面涉及一種治療患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的方法，該方法包括：(a) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞響應和生物標誌物表現中之至少一者的第一測量值；(b) 向該受試者投與第一劑量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物；(c) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞功能和生物標誌物表現中之至少一者的第二測量值；(d) 將來自該受試者的該第二測量值與來自該受試者的該第一測量值進行比較，並且 (e) 如果該第一測量值與該第二測量值不同，則投與第二劑量的萊博雷生。

【0063】 在一些實施方式中，獲得至少一個測量值包括從該受試者的腦掃描獲得數據和/或從來自該受試者的生物樣本獲得數據。在一些實施方式中，來自該腦掃描的數據指示tau磷酸化、tau聚集、Aβ斑塊負荷和/或小神經膠質細胞響應的水平。在一些實施方式中，該生物樣本係體液。在一些實施方式中，該體液係腦脊液（CSF）、血液或唾液。

【0064】 在一些實施方式中，來自該受試者的該第一測量值高於來自該受試者的該第二測量值。在一些實施方式中，來自該受試者的該第一測量值低於來自該受試者的該第二測量值。

【0065】 在一些實施方式中，tau磷酸化的測量值包括T181、T217、S202、S205或T231中之一者或多者的磷酸化的測量值。在一些實施方式中，tau聚集的測量值包括不溶性tau聚集物（例如，神經原纖維纏結（NFT））的測量值。

【0066】 在一些實施方式中，神經退化的測量值包括皮質厚度和/或海馬體體積的測量值或錐體神經元或顆粒神經元損失的測量值。

【0067】 在一些實施方式中，Aβ斑塊負荷的測量值包括Aβ斑塊體積和/或Aβ斑塊體積生長的測量值。在一些實施方式中，Aβ斑塊負荷的測量值包括該受試者的腦區中的類澱粉蛋白PET訊息的測量值或該受試者的CSF中的Aβ的測量值。

【0068】 在一些實施方式中，小神經膠質細胞響應的該測量值係至少一種小神經膠質細胞標誌物的表現的測量值。在一些實施方式中，該小神經膠質細胞標誌物係Iba1、Clec71、P2RY12或TMEM 119。在一些實施方式中，小神經膠質細胞響應的該測量值係小神經膠質細胞的吞噬作用的測量值。在一些實施方式中，生物標誌物表現的該測量值係Ifnb1、MMP2和/或Bace1表現的測量值。

【0069】 在一些實施方式中，該受試者呈類澱粉蛋白陰性。在一些實施方式中，該受試者具有Aβ斑塊。

【0070】 在一些實施方式中，該受試者具有輕度認知損傷和/或輕度失智。在一些實施方式中，該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體

征。

【0071】 在一些實施方式中，該受試者處於進一步Aβ積聚的風險中。在一些實施方式中，其中該受試者為ApoE4攜帶者。在一些實施方式中，其中該受試者具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，20-40百分制單位）。在一些實施方式中，其中該受試者具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。

【0072】 在一些實施方式中，該受試者患有早期AD。在一些實施方式中，該受試者患有前期AD。

【圖式簡單說明】

【0073】 [**圖1**]示出了臨床試驗的研究方案。圖1描繪了習慣性就寢時間為22:00的研究設計的概況。

【0074】 [**圖2A-H**]描繪了來自實例2的研究的數據。圖2A示出了研究設計的示意圖。圖2B中花費的時間百分比的腦電流描記法（EEG）分析示出了NREM睡眠，圖2C示出了REM睡眠，並且圖2D示出了在媒介物（Veh）或萊博雷生（Lem）治療的E4（n = 10隻小鼠/治療組）和P301S/E4小鼠（n = 8隻小鼠/治療組）中的清醒。雙因子變異數分析、Tukey事後比較。圖2E示出了EEG和肌電描記法（EMG）分析的代表性光譜圖，說明了媒介物治療的P301S/E4中的NREM、REM和清醒模式，並且圖2F示出了萊博雷生治療的P301S/E4小鼠。圖2G示出了在E4小鼠（n = 10隻小鼠/治療組）中從媒介物或萊博雷生治療開始直到經口管飼後24小時隨時間推移觀察到的睡眠百分比的時程分析，而圖2H示處了P301S/E4小鼠（n = 8隻小鼠/治療組）。白色條和黑色條分別表示明亮期和黑暗期。數據表示平均值±SEM；*p < 0.05，**p < 0.001，***p <

0.0001。

【0075】 [**圖3**]描繪了來自實例2的研究的數據。圖3A示出了AT8染色的磷酸化tau在絲胺酸202和蘇胺酸205兩處的代表性圖像。上圖示出了海馬體，下圖示出了內嗅皮質和梨狀皮質。比例尺-500 μm。圖3B示出了MC1染色的tau的代表性圖像。比例尺-500 μm。圖3C示出了AT8覆蓋的海馬體百分比的定量（nE4和nP301S/E4 = 16-17隻小鼠/治療組），並且圖3D示出了內嗅皮質/梨狀皮質（nE4 = 16-18隻小鼠/治療組；nP301S/E4 = 15-19隻小鼠/治療組）。圖3E示出了MC1染色的海馬體的百分比（nE4 = 18隻小鼠/處理組；nP301S/E4 = 16-17隻小鼠/治療組），並且圖3F示出了內嗅皮質/梨狀皮質（nE4 = 16-17隻小鼠/治療組；nP301S/E4 = 15-17隻小鼠/治療組）。圖3G示出了用於體積分析的甲苯酚紫染色的腦的代表性圖像。比例尺-1 mm。圖3H示出了海馬體體積的定量，並且圖3I示出了梨狀皮質體積。圖3J示出了藉由SIMOA測量的血漿神經絲輕鏈（NfL）水平（nE4和nP301S/E4 = 16-20小鼠/治療組）。數據表示平均值±SEM；雙因子變異數分析、Tukey事後檢驗；*p < 0.05，**p < 0.001，***p < 0.0001。

【0076】 [**圖4A-R**]，來自實例2的研究，描繪了 (a) 海馬體中CA3區的IBA1（綠色）、CD68（紅色）和DAPI（藍色）共染色的小神經膠質細胞的代表性圖像。(b) 海馬體CA3區中TMEM119（黃色）和DAPI（藍色）染色的小神經膠質細胞的代表性圖像。(c) IBA1覆蓋的CA3的百分比的定量和 (d) CD68覆蓋的CA3的百分比的定量。(e) Clec7a（紅色）和DAPI（藍色）染色的小神經膠質細胞的代表性圖像。(f) TMEM119覆蓋和(g) Clec7a覆蓋的CA3的百分比的定量。(h) ApoE（綠色）和GFAP（紅

色）共染色的星狀細胞的代表性圖像。(i) CA3中與GFAP共定位的ApoE的百分比的定量或 (j) CA3中與IBA1共定位的ApoE的百分比的定量。(k) ApoE（綠色）與IBA1（品紅）共染色的陽性小神經膠質細胞的代表性圖像。圖4L示出了與媒介物治療的對照小鼠相比，在萊博雷生治療的小鼠中Iba1覆蓋的梨狀/內嗅皮質的百分比。圖4M示出了與媒介物治療的對照小鼠相比，在萊博雷生治療的小鼠中Iba1覆蓋的齒狀迴的百分比。圖4N示出了與媒介物治療的對照小鼠相比，在萊博雷生治療的小鼠中TMEM119覆蓋的梨狀/內嗅皮質的百分比。圖4O示出了與媒介物治療的對照小鼠相比，在萊博雷生治療的小鼠中TMEM119覆蓋的齒狀迴的百分比。圖4P示出了與媒介物治療的對照小鼠相比，在萊博雷生治療的小鼠中CD68覆蓋的齒狀迴的百分比。圖4Q示出了與媒介物治療的對照小鼠相比，在萊博雷生治療的小鼠中CD68覆蓋的梨狀/內嗅皮質的百分比。圖4R示出了GFAP染色的CA1/CA2區的代表性圖像，以及GFAP覆蓋的CA1/2、齒狀迴和梨狀/內嗅皮質的百分比圖。比例尺-50 μm。nE4 = 15-19隻小鼠/治療組；nP301S/E4 = 16-19隻小鼠/治療組。數據表示平均值±SEM；雙因子變異數分析、Tukey事後檢驗；*p < 0.05，**p < 0.001，***p < 0.0001。

【0077】 [**圖5**]描繪了來自實例2的研究的數據。圖5A示出了比較用媒介物與萊博雷生治療的P301S/E4小鼠中差異性調控的基因的火山圖。顯著性的截斷值設為Log倍數變化的兩倍。nE4和nP301S/E4 = 10隻小鼠/治療組。圖5B示出了在用媒介物與萊博雷生治療的P301S/E4小鼠中顯著變化的基因的GO術語分析（GO term analysis）。圖5C示出了說明P301S/E4媒介物與萊博雷生中所有差異性表現的基因達到Log10調整的p

值< 0.05的顯著性的熱圖。圖5D示出了CA3中VGLUT1（綠色）和PSD95染色（品紅）突觸的代表性圖像。比例尺-50 μm。圖5F示出了CA3和梨狀皮質中VGLUT1斑點百分比的定量（圖5G）。圖5H示出了CA3和梨狀皮質中PSD95斑點百分比的定量（圖5I）。nE4 = 16-19隻小鼠/治療組；nP301S/E4=16-19隻小鼠/治療組。數據表示平均值±SEM；雙尾非配對T檢驗；*p < 0.05，**p < 0.005，***p < 0.0001。

【0078】[**圖6**]描繪了來自實例2的研究的數據。圖6A示出了E4小鼠（n^{E4} = 7-9隻小鼠/治療組）中睡眠百分比的時程分析，並且圖6B示出了P301S/E4小鼠（$n^{P301S/E4}$ = 8-10隻小鼠/治療組）中的數據。白色條和黑色條分別表示明亮期和黑暗期。圖6C示出了E4和P301S/E4小鼠（n = 10隻小鼠/基因型和治療組）在明亮期或黑暗期入睡所花費的時間百分比。圖6D示出了E4和P301S/E4小鼠（n = 10隻小鼠/基因型和治療組）在明亮期或黑暗期的睡眠發作長度，圖6E示出了清醒發作長度。s-秒。數據表示平均值±SEM；雙因子變異數分析、Tukey事後檢驗；*p < 0.05，**p < 0.001，***p < 0.0001。

【0079】[**圖7**]描繪了來自實例2的研究的數據。藉由ELISA定量RAB（圖7A）、RIPA（圖7B）和甲酸（FA）（圖7C）級分中的磷酸化tau（pTau）（nE4和nP301S/E4 = 18-20隻小鼠/治療組）。藉由ELISA定量RAB（圖7D）、RIPA（圖7E）和FA（圖7F）級分中的總tau（tTau）（nE4 = 18-20和nP301S/E4 = 18-20隻小鼠/治療組）。在圖7G中，上圖示出了包括顆粒細胞層的海馬體的代表性圖像，下圖示出了包括錐體細胞層的梨狀皮質。圖7H示出了甲苯酚紫染色的海馬體的體積分析，圖7I示出了半腦減去腦室，圖7J示出了梨狀皮質的錐體細胞層，圖7K示出了海

馬體顆粒細胞層。（nE4和nP301S/E4 = 17-19隻小鼠/治療組）。比例尺-500 μm。數據表示平均值±SEM；雙因子變異數分析、Tukey事後檢驗；*p < 0.05，**p < 0.001，***p < 0.0001。

【0080】 [**圖8**]描繪了來自實例2的研究的數據。圖8A示出了CA3中DAPI、IBA1和P2RY12共染色的小神經膠質細胞的代表性圖像。圖8B示出了定量的P2RY12覆蓋的CA3的百分比。nE4和nP301S/E4 = 16-19隻小鼠/治療組。比例尺-50 μm。數據表示平均值±SEM；雙因子變異數分析、Tukey事後檢驗；*p < 0.05，**p < 0.001，***p < 0.0001。圖8C示出了P2RY12覆蓋的齒狀迴的百分比。圖8D示出了P2RY12覆蓋的梨狀/內嗅皮質的百分比。

【0081】 [**圖9**]，來自實例3的研究，示出了投與多慮平或萊博雷生的APP/PS1dE9小鼠的睡眠變化。圖9A係實驗設計的示意圖。圖9B、圖9C和圖9D示出了用多慮平，萊博雷生（10mg或30mg）或媒介物治療的小鼠中對總睡眠、明亮期睡眠和黑暗期睡眠的影響。圖9E示出了作為授時因子時間（Zeitgeber Time）的函數的睡眠百分比（ZT0 = 亮燈）。

【0082】 [**圖10**]，來自實例3的研究，示出了投與多慮平或萊博雷生的APP/PS1dE9小鼠中的原纖維狀類澱粉蛋白斑塊負荷。圖10A係小鼠治療時間的示意圖。圖10B示出了用X34染色的腦切片的代表性圖像，其標記原纖維狀類澱粉蛋白斑塊。圖10C示出了不同腦區中斑塊負荷（X34染色面積%）的定量。誤差線指示平均值±SEM，每個點係一隻小鼠。示出了來自單因子變異數分析的P值。

【0083】 [**圖11**]，來自實例3的研究，示出了如圖10A所示，用多慮平或萊博雷生治療的APP/PS1dE9小鼠中的總類澱粉蛋白斑塊負荷。圖

11A示出了使用抗Aβ抗體HJ3.4對總類澱粉蛋白斑塊負荷染色的代表性腦切片。圖11B係不同腦區中斑塊負荷（HJ3.4染色面積%）的定量。誤差線指示平均值±SEM，每個點係一隻小鼠。示出了來自單因子變異數分析的P值。

【0084】 [**圖12**]，來自實例3的研究，示出了用多慮平或萊博雷生治療的APP/PS1dE9小鼠中的APP加工/裂解。圖12A示出了全長APP和APP C端片段（CTF-α和-β）的代表性西方墨點法結果。β-微管蛋白示為裝載對照。圖12B示出了條帶強度的定量。誤差線指示平均值±SEM，每個點係一隻小鼠。示出了來自單因子變異數分析的P值。

【0085】 [**圖13**]，來自實例3的研究，示出了用多慮平或萊博雷生治療的APP/PS1dE9小鼠中的斑周小神經膠質細胞群集。圖13A示出了對斑塊（X34）和小神經膠質細胞（Iba1）染色的樣本的代表性圖像。使用Imaris軟體由共焦圖像的Z-堆疊計算每個斑塊周圍的小神經膠質細胞體積。圖13B示出了斑塊體積（以指示在不同條件下對相似大小的斑塊進行定量）和斑周Iba1體積的定量。誤差線指示平均值±SEM，每個點係一隻小鼠。示出了來自單因子變異數分析的P值。

【0086】 [**圖14**]，來自實例3的研究，示出了用多慮平或萊博雷生治療的APP/PS1dEP小鼠中的斑周小神經膠質細胞CD68表現。圖14A示出了對斑塊（X34）、小神經膠質細胞（Iba1）、吞噬體（CD68）染色的樣本的代表性圖像。圖14B示出了使用Imaris軟體在每個斑塊周圍定量的Iba1共定位的CD68。誤差線表示平均值±SEM，每個點係來自單隻小鼠的8-10個斑塊的平均值。示出了來自單因子變異數分析的P值。圖14C示出了Iba1體積（μm^3）。圖14D示出了以Iba1的百分比測量的Iba1和CD68的

共定位。圖14E示出共定位的Iba1和CD68的體積。

【0087】 [**圖15**]，來自實例3的研究，示出了萊博雷生治療對基因表現的影響。萊博雷生治療後，編碼*Ifnb1*、*Rab5a*和*Mmp2*的轉錄物的表現顯示出顯著差異。數據顯示為倍數變化（相對於媒介物（VEH）的平均值）。誤差線指示平均值±SEM，每個點係單隻小鼠。示出了來自單因子變異數分析的P值。

【0088】 [**圖16**]，來自實例3的研究，示出了用萊博雷生治療的APP/PS1dEP小鼠中的小神經膠質細胞類澱粉蛋白斑塊吞噬作用。圖16A示出了實驗設計的示意圖。圖16B示出了流動式細胞分析術門控策略。圖16C示出了作為可能的小神經膠質細胞分離的CD45-低、CD11b+群體中的甲氧基-X04（MX04）陽性。圖16D係藉由雙尾T檢驗對MX04+小神經膠質細胞的百分比的定量，p = 0.0207。

【0089】 [**圖17**]，來自實例3的研究，示出了具有預先存在的斑塊的小鼠中的類澱粉蛋白斑塊生長。圖17A係實驗設計的示意圖。圖17B示出了MX04、噻吩紅和重疊圖像的代表性圖像。P值由單因子變異數分析示出。圖17C示出了用X34標記的類澱粉蛋白斑塊、用IBA1標記的小神經膠質細胞和用CD68標記的小神經膠質細胞吞噬體的代表性圖像。圖17D示出了VEH和萊博雷生治療的小鼠中斑塊體積生長的百分比。由於數據的非高斯分佈，P值來自曼-惠特尼U檢驗。圖17E示出了共定位的IBA1-CD68的定量，顯示為總IBA1（總小神經膠質細胞）面積的百分比。P值來自單因子變異數分析。圖17F示出了用萊博雷生、多慮平或媒介物對照治療的小鼠中斑塊體積生長的百分比。圖17G示出了共定位的IBA1-CD68的定量，顯示為總IBA1（總小神經膠質細胞）面積的%。所有圖表都顯示平

均值±SEM，每個點係一隻小鼠。

【0090】 [**圖18**]，來自實例4的研究，示出了萊博雷生或多慮平對心律不整Bmal1 KO小鼠的節律性活動模式的影響。圖18A示出了代表性活動度圖。LD = 12小時:12小時明暗；DD = 持續黑暗。圖18B示出了在實驗不同部分期間的晝夜節律運動行為的定量（LD指示在黃色區域期間，DD+LEM係具有紅色條的區域，而DD係記錄的其餘部分）。藉由雙因子變異數分析和Tukey事後檢驗分析數據。

【實施方式】

相關申請的交叉引用

【0091】 本申請要求於2023年9月23日提交的美國臨時申請案號63/376,949和於2023年11月3日提交的美國臨時申請案號63/382,278的優先權，該等臨時申請的全部內容藉由援引以其全文併入本文。

I. 定義

【0092】 以下係本申請中使用的術語的定義。

【0093】 除非上下文另有明確指示，否則如本文所用的單數術語「一個/一種（a/an）」和「該（the）」包括複數指代。

【0094】 如本文所用的短語「和/或」意指如此結合在一起的元素中的「任何一或兩個」，即，元素在一些情況中結合地存在並且在其他情況中分離地存在。因此，作為非限制性實例，當結合開放式語言如「包含」使用時，「A和/或B」可以在一些實施方式中僅指A（視需要地包括除B之外的元素）；在其他實施方式中，僅指B（視需要地包括除A之外的元素）；在另外其他實施方式中，指A和B兩者（視需要地包括其他元素）；等等。

【0095】 如本文所用的，「至少一個」意指元素清單中一或多個元素，但不一定包括元素清單中具體列出的每個和每一個元素中之至少一個，並且不排除元素清單中的元素的任何組合。本定義還允許除短語「至少一個」所指的元素清單中具體標識的元素之外可以視需要地出現其他元素，無論與那些具體標識的元素有關還是無關。因此，作為非限制性實例，「A和B中之至少一個」（或等效地，「A或B中之至少一個」，或等效地「A和/或B中之至少一個」）在一個實施方式中可以係指至少一個、視需要地包括多於一個A，而不存在B（並且視需要地包括除B之外的元素）；在另一實施方式中，可以係指至少一個、視需要地包括多於一個B，而不存在A（並且視需要地包括除A之外的元素）；在又一實施方式中，可以係指至少一個、視需要地包括多於一個A，以及至少一個、視需要地包括多於一個B（並且視需要地包括其他元素）；等等。

【0096】 當單獨或作為數值範圍的一部分列舉數字時，應當理解，數值可以在規定值之上和之下變化，變化幅度為規定值的10%。

【0097】 當本文列出值範圍時，意欲該範圍內涵蓋各值及子範圍。例如，「15 mg至30 mg」旨在涵蓋例如15.0 mg、15.5 mg、16.0 mg、16.5 mg、17.0 mg、17.5 mg、18.0 mg、18.5 mg、19.0 mg、19.5 mg、20.0 mg、20.5 mg、21.0 mg、21.5 mg、22.0 mg、22.5 mg、23.0 mg、23.5 mg、24.0 mg、24.5 mg、25.0 mg、25.5 mg、26.0 mg、26.5 mg、27.0 mg、27.5 mg、28.0 mg、28.5 mg、29.0 mg、29.5 mg、30.0 mg、15 mg至15.5 mg、15 mg至16 mg、15 mg至17.5 mg、17.5 mg至21 mg、15 mg至28 mg等。

【0098】 「類澱粉蛋白」係指形成原纖維狀形態的蛋白質聚集物。

類澱粉蛋白常常由長的、無支鏈的纖維形成，其特徵在於延伸的β-折疊二級結構，其寬度為大約7-13 nm且長度為幾微米。類澱粉蛋白通常在細胞外，並在體內發現；另外，纖維結合染料剛果紅，並且然後在正交偏振器之間觀察時顯示出綠色雙折射。類澱粉蛋白形成蛋白已被鑒定並與嚴重疾病相關聯，包括與阿滋海默症（AD）相關聯的類澱粉蛋白β肽（Aβ）、與2型糖尿病相關聯的胰島類澱粉蛋白多肽（IAPP）、和與海綿狀腦病相關聯的傳染性蛋白顆粒蛋白（PrP）。如本文所用，「類澱粉蛋白」、「類澱粉蛋白β」、「腦類澱粉蛋白」和「類澱粉蛋白β肽（Aβ）」可互換使用。

【0099】 類澱粉蛋白β 1-42（Aβ42）係指來自全長蛋白的胺基酸1至42的類澱粉蛋白β單體（表5，SEQ ID NO: 13）。類澱粉蛋白β 1-40（Aβ1-40）係指來自全長蛋白的胺基酸1至40的類澱粉蛋白β單體（表5，SEQ ID NO: 14）。

【0100】 得自類澱粉蛋白PET的類澱粉蛋白水平可以使用百分制單位方法以「百分制單位」（CL）報告。（Klunk WE等人The Centiloid Project: standardizing quantitative amyloid plaque estimation by PET. [百分制單位項目：藉由PET使定量類澱粉蛋白斑塊估計標準化] Alzheimer's Dement. [阿滋海默症與失智] 2015; 11:1–15 e1–4）。百分制單位方法測量0 CL至100 CL範圍內的示蹤劑，其中0被認為是錨點並且代表年輕健康對照的平均值，並且100 CL代表患有因AD所致的輕度至中度嚴重程度失智的受試者中存在的平均類澱粉蛋白負荷。（同上。）如熟悉該項技術者所知，百分制單位閾值可以變化，例如可以基於新的或附加的科學資訊進行改進。（參見，例如http://www.gaain.org/centiloid-project。）可以相

對於根據熟悉該項技術者已知的方法確定的健康對照中的基線閾值來設定升高的類澱粉蛋白水平。

【0101】 如本文所用，受試者係「類澱粉蛋白陽性」還係「類澱粉蛋白陰性」可以基於受試者是否具有陽性類澱粉蛋白負荷來確定。在一些實施方式中，受試者被確定呈類澱粉蛋白陽性或類澱粉蛋白陰性，如藉由對攝取到腦中的類澱粉蛋白成像劑的縱向正電子發射斷層攝影術（PET）評估所指示。在一些實施方式中，如果氟比他匹類澱粉蛋白PET SUVr陰性低於1.17，則受試者為「類澱粉蛋白陰性」。在一些實施方式中，藉由使用標誌物諸如Aβ1-42的評估對類澱粉蛋白病理的存在進行CSF評估（例如，可溶性CSF生物標誌物分析），單獨或與另一種方法（諸如腦類澱粉蛋白的PET測量）組合，確定受試者呈類澱粉蛋白陽性或類澱粉蛋白陰性。用於測量Aβ38、Aβ40和Aβ42的方法係本領域已知的，諸如使用LC MS/MS的測定。方法可包括用於測量血液或血漿樣本或CSF樣本中的Aβ42和Aβ40的PrecivityAD™測定（參見例如Kirmess等人，*J. Clinica Chimica Acta* [臨床化學學報] 519: 267-275 (2021)）和Sysmex測定（https://www.eisai.com/news/2019/news201990.html）。在一些實施方式中，PET掃描的定性目視讀數可以用於藉由基於PET影像圖案將受試者歸類為具有「正常」或「異常」攝取量來確定類澱粉蛋白陽性和類澱粉蛋白陰性。讀取者將已經過訓練及檢定以識別具有異常或正常攝取量圖案的腦PET影像，或藉由半定量或定量方法進行類澱粉蛋白的檢測。在一些實施方式中，將設定閾值以用於從生物標誌物（例如，血清或CSF）和/或PET掃描定量確定Aβ腦負荷是否指示受試者呈類澱粉蛋白陽性或陰性。在一些實施方式中，藉由MRI確定受試者呈類澱粉蛋白陽性或類澱粉蛋白

陰性。在一些實施方式中，藉由MRI分析整個腦或腦的至少一個區域（例如，皮層灰質（即皮質）、側腦室、額葉、頂葉、顳葉、枕葉、扣帶皮質、杏仁核、梨狀皮質、內嗅皮質、海馬體、海馬體CA3（錐體神經元）和/或海馬體齒狀迴（顆粒細胞神經元））。

【0102】 在一些實施方式中，藉由視網膜類澱粉蛋白積聚確定受試者呈類澱粉蛋白陽性或類澱粉蛋白陰性。在一些實施方式中，藉由行為/認知表現型確定受試者呈類澱粉蛋白陽性或類澱粉蛋白陰性。

【0103】 術語「tau蛋白」或「tau」涵蓋所有tau同種型，無論是全長的、截短的還是翻譯後修飾的。在許多動物，包括但不限於人、非人靈長類、齧齒類、魚、牛、蛙、山羊和雞中，tau由基因MAPT編碼。在人中，存在藉由MAPT的外顯子2、3和10的選擇性剪接產生的六種tau同種型。該等同種型的長度範圍為352至441個胺基酸。外顯子2和3各自在N端編碼29個胺基酸的插入片段（稱為N），並且全長人tau同種型可以具有兩個插入片段（2N），具有一個插入片段（1N）或沒有插入片段（0N）。所有全長人tau同種型也具有微管結合結構域的三個重複（稱為R）。在C端包含外顯子10導致包含由外顯子10編碼的第四微管結合結構域。因此，全長人tau同種型可由微管結合結構域的四個重複（4R）（包括外顯子10）或微管結合結構域的三個重複（3R）（不包括外顯子10）組成。人tau可為或可以不是翻譯後修飾的。例如，本領域已知tau可以磷酸化、泛蛋白化、糖基化和糖化。因此，術語「人tau」涵蓋（2N，3R）、（2N，4R）、（1N，3R）、（1N，4R）、（0N，3R）和（0N，4R）同種型，作為其N端和/或C端截短種類的同種型以及所有翻譯後修飾的同種型。編碼tau的基因的選擇性剪接類似地在其他動物中發

生。在基因未被鑒定為MAPT的動物中，可以藉由本領域熟知的方法鑒定同源物。

【0104】 tau中特定胺基酸（即「位點」或「殘基」）的磷酸化產生磷酸化的tau（p-tau）同種型。磷酸化可以發生在不同的殘基，諸如T111、S113、T181、S199、S202、S208、T153、T175、T205、S214、T217和T231。

【0105】 術語「p-tau」涵蓋所有磷酸化的tau（p-tau）同種型，諸如但不限於p-tau181、p-tau217和p-tau231。

【0106】 與腦中tau沈積相關的疾病可稱為「tau蛋白病」或「tau病理」。tau蛋白病的臨床體征可為腦中tau的聚集物，包括但不限於神經原纖維纏結。其他方法可用於在受試者中檢測或測量一或多個胺基酸殘基處的tau磷酸化和視需要總tau。例如，可以從獲自受試者的血液或腦脊液（CSF）中純化tau。CSF可藉由腰椎穿刺獲得。

【0107】 測量tau磷酸化的方法包括高解析質譜法。合適類型的質譜儀在本領域中係已知的。該等包括但不限於四極桿質譜儀、飛行時間質譜儀、離子阱和軌道阱（Orbitrap）質譜儀，以及將不同類型的質量分析器組合成一個架構的混合質譜儀（例如，來自賽默飛世爾科技公司（ThermoFisher Scientific）的Orbitrap Fusion™ Tribrid™質譜儀）。測量p-tau（磷-tau）和t-tau（總tau）的其他方法係本領域已知的，諸如使用液相層析法與串聯質譜法（LC-MS-MS）的測定。p-tau和t-tau的測量值也可以藉由使用放射性示蹤劑的正電子發射斷層攝影術（PET）來確定。可以藉由PET分析整個腦或腦的至少一個區域（皮層灰質（即皮質）、額葉、頂葉、顳葉、枕葉、扣帶皮質、杏仁核、梨狀皮質、內嗅皮

質、海馬體）。

【0108】 如本文所用，「相對於安慰劑」係指投與萊博雷生的受試者與投與安慰劑（沒有治療效果的物質）的另一受試者的相同生物標誌物之間的生物標誌物（p-tau、Aβ等）的比較。

【0109】 如本文所用，「相對於基線」係指投與萊博雷生的受試者與用萊博雷生治療之前同一受試者的相同生物標誌物之間的生物標誌物（p-tau、Aβ等）的比較。

【0110】 如本文所用，「維持」係指在兩個時間點（一個時間點在投與萊博雷生之前，另一個時間點在投與萊博雷生之後）之間受試者在受試者樣本（CSF、血液等）中具有或保持相同水平或大約相同量的生物標誌物（p-tau、Aβ等）。

【0111】 如本文所用，「MMSE」係指簡易精神狀態檢查（Mini-Mental State Examination），一種常用於篩選目的，且還通常在AD臨床試驗中縱向量測的認知工具，其具有30點量表，其中較高評分指示較低程度的損傷，且較低評分指示較高程度的損傷。如本文所用，評定量測時間定向及位置定向、記錄、回憶、注意力、語言及繪畫的七個條項。（Folstein, M.F.等人，「Mini-mental state. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. [簡易精神狀態，一種臨床醫生用於對受試者的認知狀態進行評分的實用方法]」 *J. Psychiatr.* Res. [精神病學研究雜誌] 1975;12:189-98）。

【0112】 如本文所用，「PSQI」係指匹茲堡睡眠品質指數，即在1個月時間間隔內評估睡眠品質和紊亂的自評問卷。十九個單獨條項產生七個「分量」評分：主觀睡眠品質、睡眠潛伏期、睡眠持續時間、習慣性睡

眠效率、睡眠紊亂、睡眠藥物的使用和日間功能障礙。這七個分量的評分總和得到一個範圍從0到21的全域評分，其中較低的評分表示較健康的睡眠品質。在18個月的週期內對「良好」睡眠者（健康受試者，n = 52）和「較差」睡眠者（憂鬱患者，n = 54；睡眠障礙患者，n = 62）評估PSQI的臨床和臨床計量學特性。（Buysse D. J.等人，「The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research.」[匹茲堡睡眠品質指數：一種新的精神病學實踐和研究工具] *Psychiatry Res.*[精神病學研究] 1989; 28(2):193-213）。

【0113】 如本文所用，「STOP-Bang」係指打鼾、疲勞、觀察到呼吸中止、高BP、BMI、年齡、頸圍和男性性別（STOP-Bang）問卷。該問卷由與睡眠呼吸中止臨床特徵相關的八個二分（是/否）條項組成。總分範圍為0至8。可基於患者各自的評分針對其睡眠呼吸中止（OSA）風險對患者進行分類。STOP-Bang評分≥ 3檢測中度至重度OSA（呼吸中止-低通氣指數[AHI] > 15）和重度OSA（AHI > 30）的靈敏度分別為93%和100%。（Chung F.等人，「STOP-Bang Questionnaire: A Practical Approach to Screen for Obstructive Sleep Apnea」[STOP-Bang問卷：一種篩選睡眠呼吸中止的實用方法] *Chest.*[胸部] 2016, 149(3):631-638）。

【0114】 如本文所用，「PSG」係指多頻道睡眠記錄，一種OSA的標準診斷測試。PSG提供按照每小時睡眠中呼吸中止和呼吸不足的頻率（呼吸中止-呼吸不足指數或AHI）對OSA的評估。OSA的嚴重程度分類如下：(a)無/最低限度：每小時AHI < 5；(b)輕度：每小時AHI ≥ 5但< 15；(c) 中度：每小時AHI ≥ 15但< 30；和 (d) 重度：每小時AHI ≥ 30。（Alshaer H等人「Reproducibility and predictors of the apnea hypopnea

index across multiple nights [多個夜間呼吸中止低通氣指數的重現性和預測因子]」 *Sleep Sci.* [睡眠科學] 2018, 11(1):28-33）。

【0115】 本文所述之患有「臨床前AD」或「前期AD」的受試者係腦中具有中等或升高的類澱粉蛋白水平的認知正常（例如未受損）的個體。IWG標準定義了受試者認知未受損的至少兩種臨床前期AD狀態：症狀前AD和無症狀AD（或「無症狀，處於風險中」）。症狀前AD係指具有AD的體染色體顯性單基因突變的認知未受損的受試者。症狀前的受試者將最有可能由於體染色體顯性單基因突變而發展AD。無症狀係指沒有AD的臨床體征和症狀，但存在AD病理的一或多種生物標誌物的受試者。無症狀，處於風險中的階段可進一步分類。稍後可能出現情節記憶和執行功能缺陷。因此，患有前期AD的受試者可藉由認知未受損的無症狀階段來鑒定。認知正常可以包括CDR 0的個體，或在認知測試評分（MMSE、國際購物清單任務（International Shopping List Task）、邏輯記憶等）的正常範圍內的個體。臨床前AD發生在顯著的不可逆神經退化和認知損傷之前，並且典型地其特徵為出現AD的體內分子生物標誌物並且沒有臨床症狀。可以提示未來發展阿滋海默症的臨床前AD生物標誌物包括但不限於藉由類澱粉蛋白或tau正電子發射斷層攝影術（PET）測量的腦中中等或升高的類澱粉蛋白水平（例如約20-40的百分制單位測量值，例如約20-32的測量值）。可以單獨或聯合使用另外的生物標誌物，包括以下中之一或多種：腦脊液Aβ1-42水平和/或Aβ1-42/1-40比率、腦脊液總tau水平、腦脊液神經顆粒素水平、腦脊液神經絲輕鏈肽（NfL）的水平、和在血清或血漿中測量的生物標誌物（例如，Aβ1-42的水平、兩種形式的類澱粉蛋白b肽的比率（Aβ1-42/1-40比率，在約0.092-0.094之間或低於約

0.092的比率）、血漿總tau（T-tau）的血漿水平、磷酸化tau（P-tau）同種型（包括在181（P-tau181）、217（P-tau217）和231（P-tau231）處磷酸化的tau）的水平、膠質原纖維酸性蛋白（GFAP）、和神經絲輕鏈肽（NfL））。

【0116】如本文所用，「早期AD」或「早期阿滋海默症」（EAD）係因AD中度可能性所致的輕度認知損傷至輕度阿滋海默症失智的一連串AD嚴重程度。患有早期AD的受試者包括患有如本文中所定義的輕度阿滋海默症失智的受試者及患有如本文中所定義的因AD中度可能性所致的輕度認知損傷（MCI）的受試者。在一些實施方式中，患有早期AD的受試者具有22至30的MMSE評分和0.5至1.0的臨床失智評定量表（CDR）總範圍。

【0117】用於檢測早期AD疾病的其他方法可以採用以下指定的測試和測定，包括以下文獻中的針對可能的阿滋海默症失智的美國國立衰老研究院與阿滋海默症協會（NIA-AA）核心臨床準則：McKhann, G.M.等人，「The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging - Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. [因阿滋海默症所致的失智的診斷：來自美國國立衰老研究院與阿滋海默症協會針對阿滋海默症的診斷指南的建議]」 Alzheimer Dement. [阿滋海默症與失智] 2011; 7:263-9。其他方法包括CDR-SB、ADCOMS複合臨床評分（ADCOMS Composite Clinical Score）、簡易精神狀態檢查（Mini-Mental State Examination）、ADAS-Cog、ADAS MCI-ADL、改良iADRS、韋氏記憶量表-IV邏輯記憶（分量表）I（WMS-IV LMI）、和韋

氏記憶量表-IV邏輯記憶（分量表）II（WMS-IV LMII）。在一些實施方式中，患有早期AD的受試者具有腦中類澱粉蛋白升高或陽性類澱粉蛋白負荷的證據。在一些實施方式中，藉由PET評估指示和/或確認腦中類澱粉蛋白升高或陽性類澱粉蛋白負荷。在一些實施方式中，藉由標記物諸如Aβ1-42的CSF評估（例如，水溶性CSF生物標誌物分析）指示和/或確認腦中類澱粉蛋白升高或陽性類澱粉蛋白負荷。例如，可以根據WO 2023/283650中的方法選擇患有AD的受試者，其內容藉由援引併入本文。在一些實施方式中，診斷閾值可以由類澱粉蛋白PET藉由視覺讀數（根據批准的PET示蹤劑的標籤）或藉由建立百分制單位閾值來鑒定，高於該百分制單位閾值的受試者被認為具有升高的類澱粉蛋白（例如，在15-40百分制單位之間變化）。

【0118】在一些實施方式中，藉由測量Aβ42的濃度和Aβ40的濃度並計算Aβ42與Aβ40的比率（Aβ42/40比率）來指示和/或確認腦中類澱粉蛋白升高或陽性類澱粉蛋白負荷。在一些實施方式中，藉由MRI或PET指示和/或確認腦中類澱粉蛋白升高或陽性類澱粉蛋白負荷。在一些實施方式中，藉由視網膜類澱粉蛋白積聚指示腦中類澱粉蛋白升高或陽性類澱粉蛋白負荷。在一些實施方式中，使用一種以上的評估方法。如本文所用，患有「輕度阿滋海默症失智」的受試者為符合以下文獻中的針對可能的阿滋海默症失智的NIA-AA核心臨床準則的受試者：McKhann, G. M.等人，「The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging—Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. [因阿滋海默症所致的失智的診斷：來自美國國立衰老研究院與阿滋海默

症協會針對阿滋海默症的診斷指南的建議]」 Alzheimer Dement. [阿滋海默症與失智] 2011; 7:263-9。本文還包括在篩選時及基線處，CDR評分為0.5至1.0且記憶盒評分（Memory Box score）為0.5或更高的受試者。

【0119】 在一些實施方式中，受試者具有「升高類澱粉蛋白」或「中度類澱粉蛋白」。熟悉該項技術者將認識到，來自類澱粉蛋白PET的類澱粉蛋白水平可以使用百分制單位方法以「百分制單位」（CL）報告。（Klunk WE等人The Centiloid Project: standardizing quantitative amyloid plaque estimation by PET. [百分制單位項目：藉由PET使定量類澱粉蛋白斑塊估計標準化] Alzheimer's Dement. [阿滋海默症與失智] 2015; 11 : 1-15 el-4）。百分制單位方法測量0 CL至100 CL範圍內的示蹤劑，其中0被認為是錨點並且代表年輕健康對照的平均值，並且100 CL代表患有因AD所致的輕度至中度嚴重程度失智的受試者中存在的平均類澱粉蛋白負荷。（同上。）如熟悉該項技術者所知，百分制單位閾值可以變化，例如可以基於新的或附加的科學資訊進行改進。（參見，例如http://www.gaain.org/centiloid-project。）可以相對於根據POSA已知的方法確定的健康對照中的基線閾值來設定升高的類澱粉蛋白水平。例如，32.5的百分制單位值可以用作「升高的類澱粉蛋白」的閾值，並且「中度類澱粉蛋白」水平係指在20-32.5 CL範圍內（例如，30 CL）的Aβ類澱粉蛋白PET。在另一個實例中，40的百分制單位值可以用作「升高的類澱粉蛋白」的閾值，並且「中度類澱粉蛋白」水平係指在20-40 CL範圍內的Aβ類澱粉蛋白PET。

【0120】 如本文所用，患有「因AD中度可能性所致的MCI」的受試者為根據因阿滋海默症中度可能性所致的輕度認知損傷的NIA-AA核心

臨床準則而鑒定為此的受試者。例如，如藉由本文所定義的ADCOMS複合臨床評分（ADCOMS Composite Clinical Score）所測量，伴隨腦類澱粉蛋白病理的有症狀但並未失智的AD受試者使得其與輕度阿滋海默症失智受試者的異質性較低，且在認知及功能衰退方面較為相似。還包括在篩選和基線處，CDR評分為0.5並且記憶框區評分為0.5或更高的受試者。此外，由知情者證實的報導在篩選之前的最近1年內有主觀記憶衰退以及逐漸發作和緩慢進展的病史的受試者還包括在本文中。

【0121】 如本文所用，「ADAS-cog」係指阿滋海默症評估量表-認知（Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive）。ADAS-cog為阿滋海默症試驗中普遍使用的認知量表，其具有評估記憶（詞語回憶、經延遲的詞語回憶及詞語辨識）、推理（遵循命令）、語言（命名、理解）、定向、觀念實踐（將信件放於信封中）及構造實踐（拷貝幾何設計）的結構量表。（Rosen, W. G.等人, 「A new rating scale for Alzheimer's disease. [阿滋海默症的新評定量表]」 Am. J. Psychiatry [美國精神病學雜誌] 1984; 141:1356-64）。還獲得口語、語言理解、喚詞困難、記住測試指令的能力、迷宮及數字劃銷的等級。本文中所用的改良形式評分呈0至90點，其中0分指示無障礙，且90分指示最高程度的障礙。

【0122】 如本文所用，「CDR-SB」係指臨床失智評定總和量表（clinical dementia rating—sum of boxes）。CDR為描述包括記憶、定向、判斷及問題解決、群體事務、家庭及業餘愛好以及個人護理的6種功能類別的性能方面的5種程度的障礙的臨床量表。（Berg, L.等人, 「Mild senile dementia of the Alzheimer type: 2. Longitudinal assessment. [阿滋海默症型輕度老年失智：2.縱向評估]」 Ann. Neurol. [神經病學年鑒]

1988; 23:477-84）。針對6種功能類別中之每一者獲得的障礙程度的等級合成為失智CDR評分（範圍為0至3）的1個總等級。框區評分的總和提供變化的另外量度，其中每個類別具有3點的最大可能評分，並且總分為各類別評分的總和，得到0至18的總可能評分，其中較高評分指示較高程度的障礙。總評分可以用作失智的嚴重程度的臨床量度。

【0123】 如本文所用，「ADCOMS」係指阿滋海默症複合評分，一種基於四個ADAS-Cog條項（經延遲的詞語回憶、定向、詞語辨識及喚詞困難）、兩個MMSE條項（時間定向及繪畫）及所有六個CDR-SB條項（個人護理、群體事務、家庭及業餘愛好、記憶、定向以及判斷及問題解決）的複合臨床評分，如在實例中以及Wang, J.等人, 「ADCOMS: a composite clinical outcome for prodromal Alzheimer's disease trials [ADCOMS：前驅性阿滋海默症試驗的複合臨床結局]」 J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. [神經病學、神經外科學、精神病學雜誌] 2016; 87:993-999中討論。ADCOMS經研發而對AD的早期，即前驅性及輕度AD期間的疾病進展尤其敏感。

【0124】 如本文所用，「ApoE4陽性」受試者及「ApoE4攜帶者」係指具有脂蛋白元基因的ε4變異體的受試者。ε4變異體係脂蛋白元基因的幾種主要對偶基因中之一種。該基因一般負責脂肪代謝。已發現，當與非攜帶者相比時，脂蛋白元ε4的攜帶者顯示顯著較高的類澱粉蛋白保留率。（Drzezga, A.等人, 「Effect of APOE genotype on amyloid plaque load and gray matter volume in Alzheimer disease. [APOE基因型對阿滋海默症類澱粉蛋白斑塊負荷和灰質體積的影響]」 Neurology. [神經病學] 2009; 72:1487-94）。在一些實施方式中，受試者為脂蛋白元E ε4基因對

偶基因的雜合攜帶者。在一些實施方式中，受試者係脂蛋白元E ε4基因對偶基因的純合攜帶者。

【0125】 如本文所用，術語「臨床衰退」係指AD的一或多種臨床症狀惡化。用於測量臨床衰退的方法可以採用本文指定的測試和測定。在一些實施方式中，臨床衰退藉由ADCOMS的惡化確定。在一些實施方式中，臨床衰退藉由MMSE的惡化確定。在一些實施方式中，臨床衰退藉由ADAS-Cog的惡化確定。在一些實施方式中，臨床衰退藉由FAQ的惡化確定。在一些實施方式中，臨床衰退藉由CDR-SB的惡化確定。在一些實施方式中，臨床衰退藉由韋氏記憶量表-IV邏輯記憶（分量表）I和/或（分量表）II的惡化確定。在一些實施方式中，臨床衰退藉由CDR評分的惡化確定。在一些實施方式中，臨床衰退係指AD的一或多種生物標記物或例如腦萎縮和/或類澱粉蛋白積聚的腦測量（例如，藉由PET或MRI）的惡化。

【0126】 如本文所用，術語「治療（treat）」（還有「治療（treating）」或「治療（treatment）」）係指治療劑向患有疾病或障礙的受試者的任何投與或應用，並且包括抑制疾病、減緩疾病進展、延遲進展、阻止其發展、逆轉疾病進展（例如，逆轉Aβ原纖維的積聚）、預防疾病或疾病的至少一種症狀的發作、或預防疾病的進一步發展、緩解或改善疾病的一或多種症狀或一或多種潛在病狀、治癒疾病、改善一或多種臨床指標、或防止疾病的一或多種症狀再次發生。在一些實施方式中，治療可包括維持疾病的至少一種症狀的嚴重程度（即，防止惡化），例如，當在不向受試者投與或應用治療劑的情況下預期症狀會進展和/或惡化時。在一些實施方式中，維持症狀可以指與對照（例如，未接受治療或接受安

慰劑的受試者）相比，在向受試者投與或應用治療劑後症狀沒有變化（例如無顯著變化，諸如無統計學顯著變化），對於對照而言，症狀發生變化（例如顯著變化，諸如統計學顯著變化）。不需要完全治療。在一些實施方式中，受試者的AD的治療包括將雙重醒食素受體拮抗劑（例如，萊博雷生）投與（例如，靜脈輸注）至例如處於發展AD的風險中但尚未顯示出失智跡象的受試者。

【0127】 如本文所用，除非上下文另有指示，否則涵蓋在術語「治療」內的術語「預防」係指獲得有益或期望的預防益處。出於預防益處，可以向處於發展阿滋海默症風險中（例如基於生物標誌物和/或家族史）的受試者；向具有一或多種臨床前症狀但並非阿滋海默症的臨床症狀；和/或向報導有阿滋海默症的一或多種生理症狀的受試者投與組成物，儘管尚未進行患有阿滋海默症的臨床診斷。如本文所用，「預防」可以進一步包括治療益處，其意指根除或改善所治療的潛伏病狀或與其相關聯的一或多種生理症狀。預防還涵蓋阻止或減緩疾病的一或多種症狀的進一步進展。

【0128】 如本文所用，「對照」（還有「對照樣本」）係指從受試者獲得的生物樣本，其不同於所評價的那些樣本並且具有已知的AD狀態。在一些實施方式中，對照樣本獲自例如根據上述定義中之一或多種定義未診斷為阿滋海默症的受試者。例如，對照樣本可以從沒有AD臨床症狀（例如，認知損傷和/或失智）和/或沒有AD病理的任何標誌物（例如，生物標誌物諸如類澱粉蛋白或tau的PET掃描或CSF分析）的受試者獲得。在一些實施方式中，對照樣本可以從健康受試者獲得。在一些實施方式中，對照可以從患有與AD不相關的共病的受試者獲得。在一些實施方

式中，對照可以從沿著AD疾病譜進行診斷的受試者獲得，該AD疾病譜包括例如臨床前AD或輕度認知損傷。在一些實施方式中，對照樣本可為在開始任何治療之前從受試者收集的基線樣本。在一些實施方式中，對照樣本可為從投與安慰劑的對照受試者收集的樣本。

【0129】 如本文所用，術語「治療有效量」係指足以產生期望的治療效果，例如逆轉、阻止、延遲或減緩認知下降和/或逆轉、阻止、延遲或減緩AD的一或多種生物標誌物的變化速率的化合物或藥物組成物的量。熟悉該項技術者將理解，向受試者投與的萊博雷生的治療有效量可以視多種因素而定，包括藥效學特徵、給藥途徑、治療頻率以及有待治療的受試者的健康狀況、年齡及體重，且伴隨本文揭露的資訊，將能夠確定各受試者的適當量。

II. 方法

【0130】 本文揭露了減少受試者中的p-tau的量的方法，該方法包括向有需要的受試者投與治療有效量的萊博雷生。本文還揭露了減少受試者的神經退化的方法，該方法包括向有需要的受試者投與治療有效量的萊博雷生。本文還揭露了減少受試者中的類澱粉蛋白β的方法，該方法包括向有需要的受試者投與治療有效量的萊博雷生。

【0131】 在本揭露之一個方面，萊博雷生影響AD病理的至少一種標誌物。不受理論束縛，在一些實施方式中，除了對AD病理的其他潛在影響之外，萊博雷生對AD和AD病理的驚人影響可能與萊博雷生在調控睡眠和治療失眠中的作用有關。值得注意的是，萊博雷生提供了其他睡眠劑諸如多慮平（另一種批准用於治療失眠的藥物）所不具有的益處。例如，如實例中所討論的，當各自投與於AD動物模型時，萊博雷生和多慮平對

Aβ斑塊發展、吞噬性小神經膠質細胞的活化和參與膜受體運輸和炎性活性的生物標誌物的表現顯示出差異性影響。在一個動物模型中，萊博雷生降低了總類澱粉蛋白斑塊負荷（包括彌漫性和原纖維狀斑塊），而多慮平僅降低了總類澱粉蛋白負荷而不降低原纖維狀斑塊負荷（實例3，部分B）。萊博雷生還增加圍繞Aβ斑塊的吞噬性小神經膠質細胞的活化，而多慮平不增加（實例3，部分E）。最後，萊博雷生顯著上調*Ifnb1*、炎性介質IFN-β、溶酶體蛋白*Rab5a*和Aβ降解酶*Mmp2*的表現，而多慮平不上調（實例3，部分F）。不受理論束縛，該等數據可以指示萊博雷生和多慮平藉由不同的機制作用，並且表明藥物對睡眠的作用，在一些病狀中可以不同於其對AD病理的作用。

【0132】 在各種實施方式中，本文揭露了減少或維持受試者中的p-tau和/或t-tau的量的方法，該方法包括向有需要的受試者投與治療有效量的萊博雷生。還揭露了減少或維持受試者中的p-tau的量，增加受試者中tau的去磷酸化，降低p-tau與tau的比率和/或降低tau磷酸化的速率的方法，該等方法包括向有需要的受試者投與治療有效量的萊博雷生。在一些實施方式中，投與治療有效量的萊博雷生後受試者CSF中的p-tau和/或t-tau的量與此類投與前受試者CSF中的p-tau和/或t-tau的量相比降低或維持。在一些實施方式中，投與治療有效量的萊博雷生後受試者CSF中的p-tau和/或t-tau的量與投與安慰劑後受試者CSF中的p-tau和/或t-tau的量相比降低或維持。

【0133】 本文還揭露了減少受試者的神經退化的方法，該方法包括向有需要的受試者投與治療有效量的萊博雷生。本文還揭露了減少或維持受試者中的類澱粉蛋白β的方法，該方法包括向有需要的受試者投與治療

有效量的萊博雷生。

【0134】在一些實施方式中，需要本發明方法的受試者已展示出選自以下的至少一種疾病的跡象：阿滋海默症、前期阿滋海默症、早期阿滋海默症、輕度認知損傷、類澱粉腦血管病變、額顳葉失智、路易體失智（dementia with Lewy bodies）、路易體失智（Lewy body dementia）、帕金森病（Parkinson's disease）、血管型失智、邊緣顯性年齡相關性TDP-43腦病、額顳葉變性、皮質基底節變性、匹克症（Pick's disease）、多系統萎縮和進行性核上神經麻痺症。

III.需要治療的受試者

【0135】在一些實施方式中，需要所揭露的方法中之一或多種方法的受試者已展示出選自以下的至少一種疾病的跡象：阿滋海默症、前期阿滋海默症、早期阿滋海默症、輕度認知損傷、類澱粉腦血管病變、額顳葉失智、路易體失智、路易體失智、帕金森病、血管型失智、邊緣顯性年齡相關性TDP-43腦病、額顳葉變性、皮質基底節變性、匹克症、多系統萎縮和進行性核上神經麻痺症。在一些實施方式中，有需要的受試者已經展示出選自阿滋海默症、前期阿滋海默症和早期阿滋海默症的至少一種疾病的跡象。在一些實施方式中，有需要的受試者已經展示出輕度認知損傷的跡象。在一些實施方式中，有需要的受試者已經展示出類澱粉腦血管病變、額顳葉失智、路易體失智、路易體失智、血管型失智、邊緣顯性年齡相關性TDP-43腦病、額顳葉變性、皮質基底變性的跡象。在一些實施方式中，有需要的受試者已經展示出選自帕金森病、匹克症、多系統萎縮和進行性核上神經麻痺症的至少一種疾病的跡象。

【0136】本揭露之一個方面涉及一種用於治療患有阿滋海默症

（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的AD的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物，從而治療AD。在一些實施方式中，受試者需要治療（例如患有AD、前期AD或處於發展AD的風險中）。

【0137】 在一些實施方式中，治療AD係指抑制AD、AD病理、AD症狀和/或AD的潛在病狀，減緩其進展，減緩其進展速率、延遲其進展，阻止其發展和逆轉其進展中之一或多種。在一些實施方式中，治療係指預防AD、AD病理、AD症狀和/或AD的潛在病狀的發作或預防其發展。在一些實施方式中，治療係指緩解或改善AD的一或多種症狀或潛在病狀（例如，改善Aβ原纖維的堆積）和/或改進AD的一或多種臨床度量（例如，認知功能、腦類澱粉蛋白或tau水平和/或生物標誌物表現）。在一些實施方式中，治療係指預防AD的一或多種症狀的發生或再次發生。

【0138】 在一些實施方式中，治療AD包括減少、停止和/或減緩認知下降。

【0139】 在一些實施方式中，需要本文所述之治療的受試者係患有AD的受試者，例如已被診斷患有AD的受試者。診斷可以基於認知評價。診斷可以基於藉由腦成像（例如，類澱粉蛋白PET或tau PET）獲得的AD病理和/或受試者中生物標誌物的表現的測量值。在一些實施方式中，生物標誌物包括腦類澱粉蛋白水平、腦tau水平、Aβ1-42的腦脊液水平、總tau的腦脊液水平、神經顆粒素的腦脊液水平和神經絲輕鏈（NfL）的腦脊液水平。在一些實施方式中，具有AD的受試者顯示出認知損傷和AD病理。例如，患有AD的受試者可具有高於400 ng/L的t-tau水平，低於550 ng/L的Aβ1-42水平，和/或低於0.065的Aβ1-42/Aβ1-40比率。

【0140】在一些實施方式中，需要治療的受試者患有早期阿滋海默症（也稱為「早期AD」或「EAD」）。在一些實施方式中，患有早期AD的受試者具有因AD中度可能性所致的輕度認知損傷至輕度阿滋海默症失智的一連串AD嚴重程度的症狀。在一些實施方式中，患有早期AD的受試者具有如本文所定義的輕度阿滋海默症失智和/或如本文所定義的由於AD中度可能性所致的輕度認知損傷（MCI）。在一些實施方式中，受試者具有22至30的MMSE評分和0.5至1.0的臨床失智評定量表（CDR）總範圍。在一些實施方式中，患有早期AD的受試者具有腦中類澱粉蛋白升高或陽性類澱粉蛋白負荷的證據。在一些實施方式中，藉由PET評估指示和/或確認腦中類澱粉蛋白升高或陽性類澱粉蛋白負荷。在一些實施方式中，藉由標記物諸如Aβ1-42的CSF評估（例如，水溶性CSF生物標誌物分析）指示和/或確認腦中類澱粉蛋白升高或陽性類澱粉蛋白負荷。在一些實施方式中，藉由測量Aβ42與Aβ40的比率（Aβ42/40比率）指示和/或確認腦中類澱粉蛋白升高或陽性類澱粉蛋白負荷。在一些實施方式中，藉由MRI評估指示和/或確認腦中類澱粉蛋白升高或陽性類澱粉蛋白負荷。在一些實施方式中，藉由視網膜類澱粉蛋白積聚指示腦中類澱粉蛋白升高或陽性類澱粉蛋白負荷。在一些實施方式中，使用多於一種評估方法。

【0141】在一些實施方式中，受試者患有臨床前阿滋海默症（也稱為「前期AD」）。患有前期AD的受試者可為認知正常的，在腦中具有中等或升高水平的類澱粉蛋白。在一些實施方式中，患有前期AD的受試者可以藉由有或沒有記憶抱怨和出現的情景記憶和執行功能缺陷的無症狀階段來識別。在一些實施方式中，患有前期AD的受試者具有CDR 0和/或在認知測試評分（例如MMSE、國際購物清單任務、邏輯記憶等）的正常範

圍內的評分。在一些實施方式中，受試者具有提示未來發展AD的其他生物標誌物，諸如以下中之一或多種：藉由類澱粉蛋白或tau正電子發射斷層攝影術（PET）確定的中度或升高水平的腦類澱粉蛋白（例如，約20-40的百分制單位測量值，例如約20-32的測量值）、腦脊液Aβ1-42水平和/或Aβ 1-42/1-40比率、腦脊液總tau水平、腦脊液神經顆粒素水平、腦脊液神經絲輕鏈肽（NfL）的水平、和如在血清或血漿中測量的血液生物標誌物（例如，Aβ1-42的水平、兩種形式的類澱粉蛋白b肽的比率（Aβ1-42/1-40比率，例如在約0.092-0.094之間或低於約0.092的比率）、血漿總tau（T-tau）的血漿水平、磷酸化tau（P-tau）同種型（包括在181（P-tau181）、217（P-tau217）和231（P-tau231）處磷酸化的tau）的水平、膠質原纖維酸性蛋白（GFAP）、和神經絲輕鏈肽（NfL））。在一些實施方式中，患有前期AD的受試者可具有中等類澱粉蛋白（例如，約20-40百分制單位）。在一些實施方式中，患有前期AD的受試者可具有升高的類澱粉蛋白（例如，> 40百分制單位）。

【0142】 在一些實施方式中，受試者可能處於發展AD的風險中。受試者可具有一或多種發展AD的風險因素，諸如攜帶家族性AD基因（例如，脂蛋白元E ε4對偶基因，也稱為「APOE4」或「ApoE4」），具有患AD或失智的一級親屬的家族史，年齡為65歲或更大，為女性，具有創傷性腦損傷或從創傷性腦損傷恢復，患有其他病狀諸如肥胖症、糖尿病、心臟和/或血管疾病等。在一些實施方式中，患有前期AD的受試者處於發展AD的風險中。發展AD的風險可能比對照受試者發展AD的風險更大和/或比對照受試者估計的時間更快地發展AD的風險更大。例如，與對照受試者相比，患有前期AD且認知正常但具有中等類澱粉蛋白PET水平（大約

20-40百分制單位）的受試者可能在4年內處於進一步Aβ積聚和tau病理早期擴散的風險中。與對照受試者相比，患有前期AD且認知正常但具有升高的類澱粉蛋白PET水平（> 40百分制單位）的受試者可能在4年內處於認知下降的高風險中。

【0143】 在一些實施方式中，治療AD包括影響AD病理的至少一種標誌物的變化（例如，減緩、延遲或減少）。

【0144】 在一些實施方式中，AD病理的標誌物係tau的磷酸化水平、神經退化、小神經膠質細胞響應的變化和/或Aβ斑塊的存在。AD病理的標誌物可以存在於受試者的腦區，諸如海馬體、體運動皮質、體感皮質、梨狀皮質和/或內嗅皮質中。在一些實施方式中，在腦掃描中檢測AD病理的標誌物。例如，可藉由tau PET檢測tau磷酸化；可藉由類澱粉蛋白PET檢測Aβ。在一些實施方式中，在受試者的體液諸如血液（例如血漿）或CSF中檢測AD病理的標誌物。例如，可以在來自受試者的血漿或CSF中檢測各種磷酸化的tau和Aβ。

【0145】 在一些實施方式中，該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。在一些實施方式中，該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。

【0146】 在一些實施方式中，該受試者呈類澱粉蛋白陽性。受試者可能處於進一步Aβ積聚和/或tau病理擴散的風險中。受試者可能處於認知下降的風險中。在一些實施方式中，該受試者可具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，大約20-40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者可具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者可攜帶APOE4基因。在一些實施方式中，該受試者可具有一或多種發展AD的風險因素，諸如具有患AD或失智的一級親屬的

家族史，年齡為65歲或更大，為女性，具有創傷性腦損傷或從創傷性腦損傷恢復，以及患有其他病狀諸如肥胖症、糖尿病、心臟病和/或血管疾病。

【0147】 在一些實施方式中，基於腦成像、認知功能和/或生物標誌物標準，已診斷該受試者是否患有AD。在一些實施方式中，該受試者患有早期AD。在一些實施方式中，該受試者患有前期AD。

【0148】 在一些實施方式中，治療可以減緩認知下降和/或降低AD生物標誌物的變化速率。

IV. Tau和Aβ

【0149】 受試者CSF中的p-tau（本文中也稱為「磷酸化tau」或「磷酸化tau」）的濃度與t-tau（本文中也稱為「總tau」）的濃度的比率（本文中「CSF p-tau/t-tau的比率」）可用於評估tau的磷酸化量。使用液相層析-串聯質譜法（LC MS/MS）測量受試者CSF中的p-tau和t-tau濃度。

【0150】 在一些實施方式中，與投與安慰劑的受試者的CSF p-tau/t-tau的比率相比，投與治療有效量的萊博雷生的受試者的CSF p-tau/t-tau的比率降低。在一些實施方式中，投與治療有效量的萊博雷生的受試者的CSF p-tau/t-tau的比率維持在投與安慰劑的受試者的CSF p-tau/t-tau的比率的（即，+/-）10%以內。在一些實施方式中，投與治療有效量的萊博雷生的受試者的CSF p-tau/t-tau的比率在投與安慰劑的受試者的CSF p-tau/t-tau的比率的9%以內、8%以內、7%以內、6%以內、5%以內、4%以內、3%以內、2%以內或1%以內。

【0151】 在一些實施方式中，與投與萊博雷生之前受試者的CSF p-

tau/t-tau的比率相比，投與治療有效量的萊博雷生的該受試者的CSF p-tau/t-tau的比率降低。

【0152】在一些實施方式中，投與治療有效量的萊博雷生的受試者的CSF p-tau/t-tau的比率維持在投與萊博雷生之前該受試者的CSF p-tau/t-tau的比率的（即，+/-）10%以內。在一些實施方式中，投與治療有效量的萊博雷生的受試者的CSF p-tau/t-tau的比率在投與萊博雷生之前該受試者的CSF p-tau/t-tau的比率的9%以內、8%以內、7%以內、6%以內、5%以內、4%以內、3%以內、2%以內或1%以內。

【0153】在一些實施方式中，CSF中類澱粉蛋白β（Aβ）的濃度低於投與安慰劑的受試者的CSF中的Aβ濃度。在一些實施方式中，CSF中的Aβ濃度低於在投與萊博雷生之前受試者的CSF中的Aβ濃度。在一些實施方式中，CSF中Aβ38、Aβ40和/或Aβ42的濃度降低。在一些實施方式中，CSF中的Aβ濃度與投與萊博雷生之前受試者的CSF中的Aβ濃度相比得以維持。在一些實施方式中，CSF中Aβ38、Aβ40和/或Aβ42的濃度與投與萊博雷生之前受試者的CSF中的Aβ濃度相比得以維持。在一些實施方式中，投與治療有效量的萊博雷生的受試者的腦中的類澱粉蛋白PET訊息低於投與安慰劑的受試者的腦中的類澱粉蛋白PET訊息。在一些實施方式中，投與治療有效量的萊博雷生的受試者的腦中的類澱粉蛋白PET訊息與投與萊博雷生之前受試者的腦中的類澱粉蛋白PET訊息相比更低或得以維持。在一些實施方式中，投與萊博雷生的受試者的CSF中Aβ濃度的增加小於投與安慰劑的受試者的CSF中Aβ濃度的增加。

【0154】在一些實施方式中，與投與安慰劑的受試者相比，投與萊博雷生的受試者的CSF中的Aβ濃度低至少5%。在一些實施方式中，與投

與安慰劑的受試者相比，投與萊博雷生的受試者的CSF中的Aβ濃度低至少10%、至少15%、至少20%或至少25%。

【0155】在一些實施方式中，CSF中的Aβ濃度使用液相層析-串聯質譜法（LC MS/MS）測量。在一些實施方式中，使用LC MS/MS測量CSF中Aβ38、Aβ40和/或Aβ42的濃度。用於測量Aβ38、Aβ40和Aβ42的方法係本領域已知的，諸如使用LC MS/MS的測定。方法可包括用於測量血液或血漿樣本或CSF樣本中的Aβ42和Aβ40的PrecivityAD™測定（參見例如Kirmess等人, *J. Clinica Chimica Acta* [臨床化學學報] 519: 267-275 (2021)）和Sysmex測定（https://www.eisai.com/news/2019/news201990.html）。在一些實施方式中，使用ELISA測量CSF中的Aβ濃度。在一些實施方式中，使用ELISA測量CSF中Aβ38、Aβ40和/或Aβ42的濃度。測量Aβ的方法係本領域中已知的。參見Englund, H.等人, *J. Neurochem.* [神經化學雜誌] 103:334-45 (2007)。在一些實施方式中，將Aβ38、Aβ40和/或Aβ42的濃度的降低或維持係與投與萊博雷生之前的受試者相比。在一些實施方式中，向受試者投與包含治療有效量的萊博雷生的組成物使得，相對於Aβ38、Aβ40和/或Aβ42的腦脊液水平濃度的基線降低至少1%、至少2%、至少3%、至少4%、至少5%、至少6%、至少7%、至少8%、至少9%、至少10%、至少11%、至少12%或至少13%。

【0156】在一些實施方式中，p-tau和t-tau減少。在一些實施方式中，p-tau、t-tau和/或聚集的tau減少。在一些實施方式中，tau磷酸化的減少發生在整個腦或腦的區域中，例如額葉、頂葉、顳葉、枕葉、扣帶皮質、杏仁核、海馬體、內嗅皮質和/或梨狀皮質。在一些實施方式中，與

安慰劑相比，腦中的tau PET訊息降低。在一些實施方式中，與基線相比，腦中的tau PET訊息降低或維持。

【0157】 在一些實施方式中，與投與安慰劑的受試者的CSF中的p-tau濃度相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起受試者的CSF中的p-tau濃度降低。在一些實施方式中，與投與萊博雷生之前受試者的CSF中的p-tau濃度相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起受試者的CSF中的p-tau濃度降低。在一些實施方式中，與投與安慰劑的受試者的CSF中的p-tau濃度相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起受試者的CSF中的p-tau的量維持。在一些實施方式中，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起在投與萊博雷生之前受試者的CSF中的p-tau的量維持。

【0158】 在一些實施方式中，CSF中的p-tau濃度使用液相層析-串聯質譜法（LC MS/MS）測量。

【0159】 在一些實施方式中，與投與安慰劑的受試者的CSF中的p-tau濃度相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起受試者的CSF中的p-tau的量維持。在一些實施方式中，與投與安慰劑的受試者的CSF中的p-tau的量相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起受試者的CSF中的p-tau的量降低至少1%、至少2%、至少3%、至少4%、至少5%、至少6%、至少7%、至少8%、至少9%、至少10%、至少11%、至少12%或至少13%。在一些實施方式中，與投與萊博雷生之前受試者的CSF中的p-tau的量相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起受試者的CSF中的p-tau的量降低至少1%、至少2%、至少3%、至少4%、至少5%、至少6%、至少7%、至少8%、至少9%、至少10%、至少11%、至少12%或至少13%。

【0160】 在一些實施方式中，投與萊博雷生的受試者的CSF中p-tau的量的增加低於投與安慰劑的受試者的CSF中p-tau的量的增加。

【0161】 在一些實施方式中，與基線時受試者的CSF中的p-tau濃度相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起受試者的CSF中的p-tau濃度降低直到投與萊博雷生後18個月。在一些實施方式中，與基線時受試者的CSF中的p-tau濃度相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起受試者的CSF中的p-tau濃度降低至少1%、至少2%、至少3%、至少4%、至少5%、至少6%、至少7%、至少8%、至少9%、至少10%、至少11%、至少12%或至少13%。

【0162】 在一些實施方式中，受試者的CSF中p-tau或t-tau的量的減少係由於受試者中p-tau或t-tau的量的減少或維持，其包括向有需要的受試者投與治療有效量的萊博雷生。在一些實施方式中，受試者的CSF中p-tau的量的減少係由於p-tau去磷酸化的增加。在一些實施方式中，受試者的CSF中p-tau的量的減少係由於tau的量的減少。在一些實施方式中，受試者的CSF中的p-tau的量的減少係由於p-tau/t-tau的比率的減少。

【0163】 在一些實施方式中，與投與安慰劑的受試者的CSF中的p-tau濃度相比，向受試者投與所揭露的治療有效量的萊博雷生引起受試者的CSF中的p-tau濃度降低或維持。在一些實施方式中，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起p-tau的腦脊液量相對於安慰劑減少至少約5 pg/mL、至少約10 pg/mL、至少約15 pg/mL、至少約20 pg/mL、至少約25 pg/mL、至少約30 pg/mL、至少約35 pg/mL或至少約40 pg/mL。在一些實施方式中，向受試者投與本文揭露的包含治療有效量的萊博雷生的組成物引起p-tau的腦脊液量相對於安慰劑降低至少約40 pg/mL。

【0164】在一些實施方式中，與投與萊博雷生之前受試者的CSF中的p-tau濃度相比，向受試者投與所揭露的治療有效量的萊博雷生引起受試者的CSF中的p-tau濃度降低或維持。在一些實施方式中，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起p-tau的腦脊液量相對於基線降低至少約5 pg/mL、至少約10 pg/mL、至少約15 pg/mL、至少約20 pg/mL、至少約25 pg/mL、至少約30 pg/mL、至少約35 pg/mL或至少約40 pg/mL。在一些實施方式中，向受試者投與本文揭露的包含治療有效量的萊博雷生的組成物引起p-tau的腦脊液量相對於基線降低至少約40 pg/mL。

【0165】在一些實施方式中，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起p-tau的腦脊液量相對於基線降低至少約5 pg/mL、至少約10 pg/mL、至少約15 pg/mL、至少約20 pg/mL、至少約25 pg/mL、至少約30 pg/mL、至少約35 pg/mL或至少約40 pg/mL，直到投與包含治療有效量的萊博雷生的組成物後18個月。在一些實施方式中，向受試者投與包含治療有效量的萊博雷生的組成物引起p-tau的腦脊液量相對於基線降低至少40 pg/mL，直到投與包含治療有效量的至少萊博雷生的組成物後18個月。

【0166】在一些實施方式中，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起p-tau的腦脊液量相對於安慰劑降低至少約5 pg/mL、至少約10 pg/mL、至少約15 pg/mL、至少約20 pg/mL、至少約25 pg/mL、至少約30 pg/mL、至少約35 pg/mL或至少約40 pg/mL，直到投與包含治療有效量的萊博雷生的組成物後18個月。在一些實施方式中，向受試者投與包含治療有效量的萊博雷生的組成物引起p-tau的腦脊液量相對於安慰劑降低至少40 pg/mL，直到投與包含治療有效量的至少萊博雷生的組成物後18個月。

【0167】 在一些實施方式中，相對於受試者的基線，p-tau的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的48小時內降低。在一些實施方式中，相對於受試者的基線，p-tau的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的24小時內降低。在一些實施方式中，相對於受試者的基線，p-tau的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的12小時內降低。在一些實施方式中，相對於受試者的基線，p-tau的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的6小時內降低。

【0168】 在一些實施方式中，相對於受試者的基線，t-tau的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的48小時內降低。在一些實施方式中，相對於受試者的基線，t-tau的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的24小時內降低。在一些實施方式中，相對於受試者的基線，t-tau的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的12小時內降低。在一些實施方式中，相對於受試者的基線，t-tau的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的6小時內降低。

【0169】 在一些實施方式中，相對於受試者的基線，Aβ的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的48小時內降低。在一些實施方式中，相對於受試者的基線，Aβ的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的24小時內降低。在一些實施方式中，相對於受試者的基線，Aβ的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的12小時內降低。在一些實施方式中，相對於受試者的基線，Aβ的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的6小時內降低。

【0170】 在一些實施方式中，相對於投與安慰劑的受試者，受試者的CSF中p-tau的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的48小時內降

低。在一些實施方式中，相對於投與安慰劑的受試者，受試者的CSF中tau磷酸化的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的24小時內降低。在一些實施方式中，相對於投與安慰劑的受試者，受試者的CSF中tau磷酸化的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的12小時內降低。在一些實施方式中，相對於投與安慰劑的受試者，受試者的CSF中tau磷酸化的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的6小時內降低。

A. 改變tau

【0171】本揭露之另一方面涉及改變患有AD或處於發展AD的風險中的受試者中的tau（例如，減少或延遲tau積聚、tau磷酸化和/或tau擴散，和/或減緩其速率）的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生，其中治療有效量足以改變該受試者中的tau。在一些實施方式中，改變tau包括減少或延遲tau積聚、tau磷酸化或tau擴散，或減緩該等中之任一項的速率。

【0172】在一些實施方式中，改變tau係減緩例如腦區域中tau病理（例如，tau積聚、tau磷酸化和/或tau擴散）的進展，減緩其進展速率，延遲其進展，阻止其發展和逆轉其進展。腦區可為皮質或海馬體。腦區可為海馬體的CA1區、CA2區、CA3區和/或齒狀迴。腦區可為內嗅皮質和/或梨狀皮質。在一些實施方式中，改變tau係預防tau病理的發作或預防tau病理的發展。改變tau可減少、延遲或減緩tau病理的症狀的發作和/或進展的速率。在一些實施方式中，改變tau係緩解或改善tau病理的一或多種症狀和/或改進tau病理的一或多種臨床度量（例如認知功能、腦類澱粉蛋白或tau水平和/或生物標誌物表現）。在一些實施方式中，改變tau係預防tau病理的一或多種症狀的發生或再次發生。

【0173】 在一些實施方式中，該受試者呈類澱粉蛋白陰性。該受試者可具有輕度認知損傷或輕度失智。在一些實施方式中，該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。

【0174】 在一些實施方式中，tau相對於參考改變。因此，與參考相比，本文所述之方法可包括減少和/或延遲tau積聚、tau磷酸化和/或tau擴散，和/或減緩該等中之任一項的速率。在一些實施方式中，該參考係來自治療前的該受試者的基線測量值。在一些實施方式中，該參考係來自對照受試者的基線測量值。參考可為從多於一個對照受試者獲得的測量值，其用作標準或閾值測量值。在一些實施方式中，該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【0175】 在一些實施方式中，本文的方法包括改變受試者腦區中的tau（例如，減少、阻止或減緩tau的生長）。改變腦區中的tau可以包括改變腦區中的tau PET訊息。在一些實施方式中，該腦區係海馬體、內嗅皮質和/或梨狀皮質。

【0176】 在一些實施方式中，改變tau包括改變受試者體液中的tau。例如，可以在受試者的體液中檢測受試者腦中的tau水平。在一些實施方式中，體液係血液（例如，血漿）或CSF。

【0177】 在一些實施方式中，可以改變一或多種形式的tau。在一些實施方式中，tau係總tau。在一些實施方式中，tau係聚集的tau。在一些實施方式中，該tau係tau的磷酸化形式（磷酸化tau）。磷酸化tau可為在T181、T217、S202、S205或T231中之一者或多者上磷酸化的tau。

【0178】 在一些實施方式中，改變tau包括改變磷酸化tau與總tau的比率。在一些實施方式中，改變磷酸化tau與總tau的比率，使得該比率維

持在投與萊博雷生之前該受試者的磷酸化tau與總tau的比率的10%以內。在一些實施方式中，磷酸化tau的去磷酸化速率增加。在一些實施方式中，tau的磷酸化速率降低。在一些實施方式中，改變tau包括在投與第一劑量的萊博雷生的48小時內改變tau。例如，tau可以在投與第一劑量的萊博雷生的48小時內減少。在一些實施方式中，減少tau包括改變海馬體、內嗅皮質和/或梨狀皮質中的磷酸化tau。

B. 維持tau

【0179】 本揭露之另一方面涉及維持患有AD或處於發展AD的風險中的受試者中的tau（例如，tau積聚、tau磷酸化和/或tau擴散）的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生，其中治療有效量足以維持該受試者中的tau。

【0180】 在一些實施方式中，維持tau係指當在不向受試者投與或應用治療劑的情況下預期tau會進展和/或惡化時，維持tau積聚、tau磷酸化和/或tau擴散。在一些實施方式中，維持tau可以指與投與或應用治療劑會導致tau的變化（例如，顯著變化，諸如統計學顯著變化）的對照相比，在向受試者投與或應用治療劑後tau（例如，tau積聚、tau磷酸化和/或tau擴散）不存在變化（例如，無顯著變化，諸如無統計學顯著變化）。

【0181】 在一些實施方式中，維持tau包括維持例如腦區中的tau病理（例如，tau積聚、tau磷酸化和/或tau擴散）。腦區可為皮質或海馬體。腦區可為海馬體的CA1區、CA2區、CA3區和/或齒狀迴。腦區可為內嗅皮質和/或梨狀皮質。在一些實施方式中，維持tau係預防tau病理的發作或預防tau病理的發展，例如，因為tau病理維持不變。維持tau可降低、延遲或減緩tau病理的症狀的發作和/或進展速率，例如因為tau病理維持不

變。在一些實施方式中，維持tau可以引起緩解或改善tau病理的一或多種症狀和/或改進tau病理的一或多種臨床度量（例如認知功能、腦類澱粉蛋白或tau水平和/或生物標誌物表現）。在一些實施方式中，維持tau可引起預防tau病理的一或多種症狀的發生或再次發生。

【0182】 在一些實施方式中，該受試者呈類澱粉蛋白陰性。該受試者可具有輕度認知損傷或輕度失智。在一些實施方式中，該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。

【0183】 在一些實施方式中，該受試者顯示出認知損傷的體征。在一些實施方式中，該受試者呈類澱粉蛋白陽性。在一些實施方式中，受試者診斷為AD，例如早期AD。

【0184】 在一些實施方式中，tau相對於參考維持。因此，本文所述之方法可包括與參考相比維持tau積聚、tau磷酸化和/或tau擴散（或該等中之任一項的速率）。在一些實施方式中，該參考係來自治療前的該受試者的基線測量值。在一些實施方式中，該參考係來自對照受試者的基線測量值。參考可為從多於一個對照受試者獲得的測量值，並且可用作標準或閾值測量值。在一些實施方式中，該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【0185】 在一些實施方式中，維持tau包括維持受試者腦區中的tau。維持腦區中的tau可以包括改變、減少或維持腦區中的tau PET訊息。在一些實施方式中，該腦區係海馬體、內嗅皮質和/或梨狀皮質。

【0186】 在一些實施方式中，維持tau包括維持受試者體液中的tau。受試者腦中的tau水平可與受試者體液中的水平相關。在一些實施方式中，體液係血液（例如，血漿）或CSF。

【0187】 在一些實施方式中，可以維持一或多種形式的tau。在一些實施方式中，tau係總tau。在一些實施方式中，tau係聚集的tau。在一些實施方式中，該tau係tau的磷酸化形式（磷酸化tau）。磷酸化tau可為在T181、T217、S202、S205或T231中之一者或多者上磷酸化的tau。

【0188】 在一些實施方式中，維持tau包括維持磷酸化tau與總tau的比率。在一些實施方式中，該磷酸化tau與總tau的比率維持在投與萊博雷生之前該受試者的磷酸化tau與總tau的比率的10%以內。在一些實施方式中，維持tau包括在投與第一劑量的萊博雷生的48小時內維持tau。在一些實施方式中，在海馬體、內嗅皮質和/或梨狀皮質中磷酸化tau得以維持。

V. 小神經膠質細胞響應

【0189】 在一些實施方式中，與安慰劑相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起活化的小神經膠質細胞的數目增加。在一些實施方式中，藉由PET測量活化的小神經膠質細胞數目的增加。在一些實施方式中，活化的小神經膠質細胞係吞噬性小神經膠質細胞。

【0190】 在一些實施方式中，與基線相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起活化的小神經膠質細胞的數目增加。在一些實施方式中，藉由PET測量活化的小神經膠質細胞數目的增加。在一些實施方式中，活化的小神經膠質細胞係吞噬性小神經膠質細胞。

【0191】 測量小神經膠質細胞的方法係本領域中已知的，諸如PET。在一些實施方式中，藉由PET分析整個腦或腦的至少一個區域（例如，皮層灰質（即皮質）、側腦室、額葉、頂葉、顳葉、枕葉、扣帶皮質、杏仁核、梨狀皮質、內嗅皮質、海馬體、海馬體CA3（錐體神經元）和/或海馬體齒狀迴（顆粒細胞神經元））。

A. 調節小神經膠質細胞響應

【0192】 本揭露之一個方面涉及一種調節患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的小神經膠質細胞響應的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物，其中該治療有效量足以調節該受試者的該小神經膠質細胞響應。

【0193】 在一些實施方式中，調節係指增加或降低小神經膠質細胞響應，和/或指增加或降低小神經膠質細胞響應的速率。在一些實施方式中，小神經膠質細胞的數目不變，但調節小神經膠質細胞的響應（例如，活化、再活化、分化等）。調節可以根據腦區而不同（例如，小神經膠質細胞活化或其他響應可以在不同的腦區中不同地發生）。

【0194】 在一些實施方式中，在受試者中測量小神經膠質細胞響應的調節並與參考中的小神經膠質細胞響應進行比較。在一些實施方式中，該參考係來自治療前的該受試者的基線測量值。在一些實施方式中，該參考係來自對照受試者的基線測量值。參考可為從多於一個對照受試者獲得的測量值，其用作標準或閾值測量值。在一些實施方式中，該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【0195】 在一些實施方式中，調節該小神經膠質細胞響應包括調節至少一種小神經膠質細胞標誌物的表現。該小神經膠質細胞標誌物可為一般的小神經膠質細胞標誌物。例如，該一般的小神經膠質細胞標誌物可為Iba1、Clec7a或CD68。該小神經膠質細胞標誌物可為穩態小神經膠質細胞標誌物。例如，該穩態小神經膠質細胞標誌物係TMEM119或P2RY12。

【0196】 在一些實施方式中，調節該小神經膠質細胞響應包括調節

吞噬性小神經膠質細胞的活性。

【0197】 在一些實施方式中，該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。在一些實施方式中，該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。

【0198】 在一些實施方式中，該受試者呈類澱粉蛋白陰性。該受試者可能具有tau病理。該受試者可以在腦區例如海馬體、內嗅皮質和/或梨狀皮質中具有神經退化。在一些實施方式中，該腦區係海馬體中的CA1區、CA2區、CA3區或齒狀迴。

【0199】 在一些實施方式中，對於具有神經退化的那些受試者而言，調節該小神經膠質細胞響應包括調節與退化性神經元相關的小神經膠質細胞中的響應。例如，當在掃描或從受試者獲得的樣本中觀察時，與神經退化性神經元相關的小神經膠質細胞可以非常接近於神經元。在一些實施方式中，與退化性神經元相關的小神經膠質細胞可以吞噬退化性神經元和/或其碎片。因此，在一些實施方式中，向該等受試者投與治療有效量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物可包括減少至少一種一般的小神經膠質細胞標誌物的表現。該一般的小神經膠質細胞標誌物可為Iba1、CD68或Clec7a。在一些實施方式中，調節該小神經膠質細胞響應包括增加至少一種穩態小神經膠質細胞標誌物的表現。該穩態小神經膠質細胞標誌物可為TMEM119或P2RY12。

【0200】 在一些實施方式中，受試者呈類澱粉蛋白陽性，例如，受試者具有Aβ斑塊。該等Aβ斑塊可為原纖維狀Aβ斑塊。在一些實施方式中，該等Aβ斑塊存在於受試者的海馬體、體運動皮質、體感皮質和/或梨狀皮質中。

【0201】在一些實施方式中，該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。在一些實施方式中，該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。

【0202】在一些實施方式中，該受試者處於進一步Aβ積聚的風險中。受試者可能處於tau病理擴散的風險中。受試者可能處於認知下降的風險中。在一些實施方式中，該受試者可具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，大約20-40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者可具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者可為ApoE4攜帶者。在一些實施方式中，該受試者可具有一或多種發展AD的風險因素，諸如具有患AD或失智的一級親屬的家族史，年齡為65歲或更大，為女性，具有創傷性腦損傷或從創傷性腦損傷恢復，以及患有其他病狀諸如肥胖症、糖尿病、心臟病和/或血管疾病。

【0203】在一些實施方式中，該受試者患有早期AD。在一些實施方式中，該受試者患有前期AD。

【0204】在一些實施方式中，在類澱粉蛋白陽性的那些受試者中，調節該小神經膠質細胞響應包括調節與Aβ斑塊相關的小神經膠質細胞中的響應。例如，當在掃描或從受試者獲得的樣本中觀察時，與Aβ斑塊相關的小神經膠質細胞可以非常接近於Aβ斑塊。在一些實施方式中，與Aβ斑塊相關的小神經膠質細胞可吞噬Aβ斑塊。因此，在一些實施方式中，向該等受試者投與治療有效量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物可包括增加一般的小神經膠質細胞標誌物的表現。該一般的小神經膠質細胞標誌物可為Iba1、Clec7a或CD68。在一些實施方式中，調節小神經膠質細胞響應包括增加吞噬性小神經膠質細胞對Aβ斑塊的吞噬作用。在一些實施方式中，調節該小神經膠質細胞響應包括減少穩態小神經膠質

細胞標誌物的表現。該穩態小神經膠質細胞標誌物可為TMEM119或P2RY12。

VI. 類澱粉蛋白斑塊

【0205】 在一些實施方式中，與安慰劑相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起類澱粉蛋白斑塊的減少或維持。在一些實施方式中，與安慰劑相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起原纖維狀類澱粉蛋白斑塊的減少或維持。在一些實施方式中，與基線相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起類澱粉蛋白斑塊的減少或維持。在一些實施方式中，與基線相比，向受試者投與治療有效量的萊博雷生引起原纖維狀類澱粉蛋白斑塊的減少或維持。在一些實施方式中，類澱粉蛋白斑塊係原纖維狀類澱粉蛋白斑塊。

A. 改變Aβ斑塊

【0206】 本揭露之另一方面涉及一種改變患有AD或處於發展AD的風險中的受試者中的Aβ斑塊（例如，減少或延遲Aβ斑塊的形成，和/或減緩其生長速率）的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物，其中該治療有效量足以改變該受試者中的Aβ斑塊。

【0207】 在一些實施方式中，改變Aβ斑塊包括減緩Aβ斑塊形成和/或Aβ斑塊生長的進展，減緩Aβ斑塊形成和/或Aβ斑塊生長的進展速率，延遲Aβ斑塊形成和/或Aβ斑塊生長的進展，阻止Aβ斑塊形成和/或Aβ斑塊生長的發展以及逆轉Aβ斑塊形成和/或Aβ斑塊生長的進展。在一些實施方式中，改變Aβ斑塊包括預防Aβ斑塊病理（例如，由Aβ斑塊形成和/或Aβ斑塊生長引起或與Aβ斑塊形成和/或Aβ斑塊生長同時發生的任何病理）的

發作或預防Aβ斑塊病理的發展。改變Aβ斑塊可減少、延遲或減緩該病理的症狀的發作和/或進展的速率。在一些實施方式中，改變Aβ斑塊包括緩解或改善Aβ斑塊病理的一或多種症狀和/或改進Aβ斑塊病理的一或多種臨床度量（例如認知功能、腦類澱粉蛋白或tau水平和/或生物標誌物表現）。在一些實施方式中，改變Aβ斑塊包括預防Aβ斑塊形成和/或Aβ斑塊生長的一或多種症狀的發生或再次發生。

【0208】 在一些實施方式中，該等Aβ斑塊相對於參考改變。因此，與參考相比，改變Aβ斑塊可包括減少和/或延遲Aβ斑塊形成，和/或減緩其速率。在一些實施方式中，該參考係來自治療前的該受試者的基線測量值。在一些實施方式中，該參考係來自對照受試者的基線測量值。參考可為從多於一個對照受試者獲得的測量值，其用作標準或閾值測量值。在一些實施方式中，該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【0209】 在一些實施方式中，該等Aβ斑塊係原纖維狀斑塊。在一些實施方式中，Aβ斑塊為總斑塊，並且可包括非原纖維狀（例如，彌散性）斑塊。

【0210】 在一些實施方式中，改變Aβ斑塊包括降低Aβ斑塊的生長或生長速率。Aβ斑塊生長的降低可為在該受試者的海馬體、該受試者的體運動皮質、體感皮質和/或梨狀皮質中。在一些實施方式中，改變Aβ斑塊包括改變從該受試者的腦區獲得的類澱粉蛋白PET訊息。在一些實施方式中，改變Aβ斑塊對應於該受試者的CSF中Aβ濃度的降低。該Aβ可為Aβ38、Aβ40和/或Aβ42。

【0211】 在一些實施方式中，改變Aβ包括在投與第一劑量的萊博雷生的48小時內改變Aβ斑塊。

【0212】在一些實施方式中，該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。在一些實施方式中，該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。

【0213】在一些實施方式中，該受試者處於進一步Aβ積聚的風險中。受試者也可能處於tau病理擴散的風險中。受試者可能處於認知下降的風險中。在一些實施方式中，該受試者可具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，大約20-40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者可具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者可為ApoE4攜帶者。在一些實施方式中，該受試者可具有一或多種發展AD的風險因素，諸如具有患AD或失智的一級親屬的家族史，年齡為65歲或更大，為女性，具有創傷性腦損傷或從創傷性腦損傷恢復，以及患有其他病狀諸如肥胖症、糖尿病、心臟病和/或血管疾病。

【0214】在一些實施方式中，該受試者患有早期AD。在一些實施方式中，該受試者患有前期AD。

VII. 神經退化

【0215】本文還揭露了減少受試者的神經退化的方法，該方法包括向有需要的受試者投與治療有效量的萊博雷生。在一些實施方式中，有需要的受試者已展示出選自以下的至少一種疾病的跡象：阿滋海默症、前期阿滋海默症、早期阿滋海默症、輕度認知損傷、類澱粉腦血管病變、額顳葉失智、路易體失智、路易體失智、帕金森病、血管型失智、邊緣顯性年齡相關性TDP-43腦病、額顳葉變性、皮質基底節變性、匹克症、多系統萎縮和進行性核上神經麻痺症。在一些實施方式中，有需要的受試者已經展示出選自阿滋海默症、前期阿滋海默症和早期阿滋海默症的至少一種疾病的跡象。在一些實施方式中，有需要的受試者已經展示出輕度認知損傷

的跡象。在一些實施方式中，有需要的受試者已經展示出類澱粉腦血管病變、額顳葉失智、路易體失智、路易體失智、血管型失智、邊緣顯性年齡相關性TDP-43腦病、額顳葉變性、皮質基底變性的跡象。在一些實施方式中，有需要的受試者已經展示出選自帕金森病、匹克症、多系統萎縮和進行性核上神經麻痺症的至少一種疾病的跡象。

【0216】 在一些實施方式中，藉由相對於投與安慰劑的受試者維持皮質厚度或減緩皮質厚度的減少來觀察神經退化的減少。在一些實施方式中，藉由相對於受試者的基線維持皮質厚度或減緩皮質厚度的減少來觀察神經退化的減少。在一些實施方式中，藉由維持海馬體大小或減緩海馬體大小的減小來觀察神經退化的減少。在一些實施方式中，藉由相對於受試者的基線或相對於投與安慰劑的受試者保持或減少錐體神經元細胞的損失來觀察神經退化的減少。在一些實施方式中，藉由相對於受試者的基線或相對於投與安慰劑的受試者保持或減少顆粒神經元細胞的損失來觀察神經退化的減少。

【0217】 用於測量腦部分諸如皮質的厚度或測量海馬體的大小的方法可以使用磁振造影（MRI）來實現。高空間解析度sMRI現在允許海馬體亞區的容量測定。在AD中已經觀察到CA1的早期變化，體積測定研究指示CA1萎縮測量可以提高MCI階段的診斷準確性。新型MRI技術，諸如定量磁化率映射（QSM）或T2*橫向鬆弛時間，已經顯示鐵水平及其積聚速率在人腦中係異質的，並且與認知損傷和運動表現的減緩相關。神經元功能障礙和不同腦網路的連接改變被認為發生在神經退化疾病過程的早期，並且可以用功能性磁振造影（fMRI）間接測量。可以藉由MRI分析整個腦或腦的至少一個區域（例如，皮層灰質（即皮質）、側腦室、額

葉、頂葉、顳葉、枕葉、扣帶皮質、杏仁核、梨狀皮質、內嗅皮質、海馬體、海馬體CA3（錐體神經元）和/或海馬體齒狀迴（顆粒細胞神經元））。在一些實施方式中，相對於受試者的基線，神經退化在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的48小時內減少。在一些實施方式中，相對於受試者的基線，p-tau的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的24小時內降低。在一些實施方式中，相對於受試者的基線，神經退化在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的12小時內減少。在一些實施方式中，相對於受試者的基線，神經退化在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的6小時內減少。

【0218】 在一些實施方式中，神經退化在投與第一劑量的萊博雷生後減少或維持至少30天。在一些實施方式中，受試者CSF中的p-tau的量在投與第一劑量的萊博雷生後減少或維持至少30天。

【0219】 在一些實施方式中，神經退化在投與第一劑量的萊博雷生的1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50或55天內減少。在一些實施方式中，受試者CSF中的p-tau的量在投與第一劑量的萊博雷生後減少至少1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50或55天。

【0220】 在一些實施方式中，神經退化在投與第一劑量的萊博雷生的30天內減少或維持。在一些實施方式中，受試者CSF中的p-tau的量在投與第一劑量的萊博雷生後減少或維持至少30天。在一些實施方式中，神經退化在投與第一劑量的萊博雷生的60天內減少或維持。

【0221】 在一些實施方式中，神經退化在投與第一劑量的萊博雷生的45天內減少或維持。在一些實施方式中，受試者CSF中的p-tau的量在

投與第一劑量的萊博雷生後減少或維持至少45天。

【0222】 在一些實施方式中，神經退化在投與第一劑量的萊博雷生的60天內減少或維持。在一些實施方式中，受試者CSF中的p-tau的量在投與第一劑量的萊博雷生後減少或維持至少60天。

【0223】 在一些實施方式中，神經退化在投與第一劑量的萊博雷生後減少或維持至少120天。在一些實施方式中，受試者CSF中的p-tau的量在投與第一劑量的萊博雷生後減少或維持至少120天。

【0224】 在一些實施方式中，神經退化在投與第一劑量的萊博雷生後減少或維持至少180天。在一些實施方式中，受試者CSF中的p-tau的量在投與第一劑量的萊博雷生後減少或維持至少180天。

【0225】 在一些實施方式中，在治療一段時間後，例如3個月後，6個月後或9個月後，萊博雷生對神經退化或p-tau的影響明顯。在一些實施方式中，神經退化在治療至少6個月後開始減少。在一些實施方式中，神經退化在治療至少3個月後，例如在治療6個月或9個月後減少。在一些實施方式中，受試者CSF中p-tau的量在至少3個月的時間段後減少或維持。在一些實施方式中，受試者CSF中p-tau的量在治療後至少6個月的時間段後或在治療至少9個月的時間段後減少或維持。在一些實施方式中，神經退化在投與第一劑量的萊博雷生後減少或維持至少6個月。在一些實施方式中，受試者CSF中p-tau的量在投與第一劑量的萊博雷生後減少或維持至少6個月。

【0226】 在一些實施方式中，神經退化在投與第一劑量的萊博雷生後減少達至少1年。在一些實施方式中，受試者CSF中p-tau的量在投與第一劑量的萊博雷生後減少達至少1年。在一些實施方式中，受試者CSF中t-

tau的量在投與第一劑量的萊博雷生後減少達至少1年。在一些實施方式中，受試者CSF中Aβ的量在投與第一劑量的萊博雷生後減少達至少1年。在一些實施方式中，原纖維狀斑塊的量在投與第一劑量的萊博雷生後減少達至少1年。在一些實施方式中，活化的小神經膠質細胞的量在投與第一劑量的萊博雷生後增加達至少1年。

A. 改變神經退化

【0227】 因此，本揭露之一個方面涉及一種改變患有AD或處於發展AD的風險中的受試者的神經退化（例如，減少或延遲神經退化，或減緩其生長速率）的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物，其中該治療有效量足以改變該受試者的神經退化。

【0228】 在一些實施方式中，改變神經退化包括減緩神經退化的進展，減緩神經退化的進展速率，延遲神經退化的進展，阻止神經退化的發展和逆轉神經退化的進展。在一些實施方式中，改變神經退化包括預防由神經退化引起或與神經退化同時發生的病理的發作或預防其發展）。改變神經退化可減少、延遲或減緩該病理的症狀的發作和/或進展的速率。在一些實施方式中，改變神經退化包括緩解或改善神經退化的一或多種症狀和/或改進由神經退化引起或與神經退化同時發生的病理的一或多種臨床度量（例如認知功能、腦類澱粉蛋白或tau水平和/或生物標誌物表現）。在一些實施方式中，改變神經退化包括預防神經退化的一或多種症狀的發生或再次發生。

【0229】 在一些實施方式中，該受試者呈類澱粉蛋白陰性。該受試者可具有輕度認知損傷或輕度失智。在一些實施方式中，該受試者沒有顯

示出失智和/或認知損傷的體征。

【0230】 在一些實施方式中，該神經退化相對於參考改變。因此，與參考相比，改變神經退化可包括減少和/或延遲神經退化，和/或減緩其速率。在一些實施方式中，該參考係來自治療前的該受試者的基線測量值。在一些實施方式中，該參考係來自對照受試者的基線測量值。參考可為從多於一個對照受試者獲得的測量值，其用作標準或閾值測量值。在一些實施方式中，該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【0231】 在一些實施方式中，神經退化的特徵在於皮質厚度的損失或海馬體體積的減小中之至少一種。在一些實施方式中，改變神經退化包括維持受試者中的皮質厚度或減緩皮質厚度的減少。在一些實施方式中，神經退化的特徵在於皮質中錐體神經元的損失或海馬體中錐體或顆粒神經元的損失中之至少一種。在一些實施方式中，改變神經退化包括維持受試者中的海馬體體積或減緩海馬體體積的減小。在一些實施方式中，改變神經退化包括維持錐體神經元或顆粒神經元或減少錐體神經元或顆粒神經元的損失。在一些實施方式中，改變神經退化包括降低神經退化的速率。在一些實施方式中，改變神經退化包括改變神經絲輕鏈（NfL）水平。受試者的血液和/或CSF中的NfL水平可改變。

VIII. 選擇治療的受試者

【0232】 本揭露之另一個方面涉及一種選擇患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者用萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物進行治療的方法，該方法包括：(a) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞響應和生物標誌物表現中之至少一者的測量值；(b) 將來自該受試者的該測量值與來自

參考的測量值進行比較；以及 (c) 如果來自該受試者的該測量值與來自該參考的該測量值不同，則選擇該受試者用萊博雷生進行治療。

【0233】 在一些實施方式中，該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。在一些實施方式中，該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。

【0234】 在一些實施方式中，該受試者處於進一步Aβ積聚的風險中。受試者可能處於tau病理擴散的風險中。受試者可能處於認知下降的風險中。在一些實施方式中，該受試者可具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，大約20-40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者可具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者可為ApoE4攜帶者。在一些實施方式中，該受試者可具有一或多種發展AD的風險因素，諸如具有患AD或失智的一級親屬的家族史，年齡為65歲或更大，為女性，具有創傷性腦損傷或從創傷性腦損傷恢復，以及患有其他病狀諸如肥胖症、糖尿病、心臟病和/或血管疾病。

【0235】 在一些實施方式中，該受試者患有早期AD。在一些實施方式中，該受試者患有前期AD。在一些實施方式中，該受試者基於腦成像、認知功能和/或生物標誌物標準，已被診斷為患有AD。

【0236】 在一些實施方式中，獲得至少一個測量值包括從該受試者的腦掃描獲得數據和/或從來自該受試者的生物樣本獲得數據。在一些實施方式中，來自該腦掃描的數據可以指示tau磷酸化、tau聚集、Aβ斑塊負荷和/或小神經膠質細胞響應的水平。

【0237】 在一些實施方式中，該生物樣本係體液。在一些實施方式中，該體液係腦脊液（CSF）、血液或唾液。

【0238】在一些實施方式中，該參考係對照。在一些實施方式中，該參考係來自對照受試者的基線測量值。參考可為從多於一個對照受試者獲得的測量值，其用作標準或閾值測量值。在一些實施方式中，該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【0239】在一些實施方式中，該對照未患AD。來自該受試者的該測量值可高於來自未患AD的該對照的測量值。來自該受試者的該測量值可低於來自未患AD的該對照的測量值。

【0240】在一些實施方式中，該對照患有AD。來自該受試者的該測量值類似於或高於來自患有AD的該對照的測量值。來自該受試者的該測量值可類似於或低於來自患有AD的該對照的測量值。

【0241】在一些實施方式中，tau磷酸化的測量值包括T181、T217、S202或S205中之一者或多者上的磷酸化的測量值。

【0242】在一些實施方式中，tau聚集的測量值包括不溶性tau聚集物（例如，神經原纖維纏結（NFT））的測量值。

【0243】在一些實施方式中，神經退化的測量值包括皮質厚度和/或海馬體體積的測量值或錐體神經元或顆粒神經元損失的測量值。

【0244】在一些實施方式中，其中Aβ斑塊負荷的測量值包括Aβ斑塊體積和/或Aβ斑塊體積生長的測量值。

【0245】在一些實施方式中，Aβ斑塊負荷的測量值包括該受試者的腦區中的類澱粉蛋白PET訊息的測量值或該受試者的CSF中的Aβ的測量值。

【0246】在一些實施方式中，小神經膠質細胞響應的該測量值係至少一種小神經膠質細胞標誌物的表現的變化。該小神經膠質細胞標誌物可

為Iba1、Clec7a、CD68、TMEM119或P2RY12。在一些實施方式中，小神經膠質細胞響應的該測量值係小神經膠質細胞的吞噬作用的測量值。

IX. 治療功效

【0247】 本文揭露了用萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物治療受試者的方法，以及用於監測受試者的治療功效的方法。

【0248】 本揭露之一方面涉及一種監測患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的治療功效的方法，該方法包括：(a) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞功能和生物標誌物表現中之至少一者的第一測量值；(b) 向該受試者投與一定劑量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物；(c) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞功能和生物標誌物表現中之至少一者的第二測量值；以及 (d) 將來自該受試者的該第二測量值與來自該受試者的該第一測量值進行比較，其中該第一測量值和該第二測量值之間的差異指示用萊博雷生的有效治療。

【0249】 本揭露之另一方面涉及一種治療患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的方法，該方法包括：(a) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞響應和生物標誌物表現中之至少一者的第一測量值；(b) 向該受試者投與第一劑量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物；(c) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞功能和生物標誌物表現中之至少一者的第二測量值；(d) 將來自該受試者的該第二測量值與該第一測量值進行比較，並且 (d) 如果在比較測量值中該第一測量值與該第二測量值不同，則投與第二劑量的萊博雷生。第一測量值和第

二測量值可以不同，因為第二測量值高於第一測量值。替代性地，第二測量值可以低於第一測量值。例如，如果測量值係小神經膠質細胞響應，在一些實施方式中，小神經膠質細胞響應的第一測量值可以高於小神經膠質細胞響應的第二測量值。

【0250】 本揭露之再一方面涉及一種監測患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的治療功效的方法，該方法包括：(a) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞功能和生物標誌物表現中之至少一者的第一測量值；(b) 向該受試者投與一定劑量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物；(c) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞功能和生物標誌物表現中之至少一者的第二測量值；並且 (d) 將來自該受試者的第二測量值與來自該受試者的第一測量值進行比較以獲得比較測量值，其中比較測量值中第一測量值與第二測量值之間的差異或比較測量值與參考測量值之間的差異指示用萊博雷生的有效治療。

【0251】 本揭露之另一方面涉及一種治療患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的方法，該方法包括：(a) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞響應和生物標誌物表現中之至少一者的第一測量值；(b) 向該受試者投與第一劑量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物；(c) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞功能和生物標誌物表現中之至少一者的第二測量值；(d) 將來自該受試者的第二測量值與來自該受試者的第一測量值進行比較以獲得比較測量值，並且 (e) 如果該比較測量值中第一測量值與第二測量值不同，或者如果該比較測量

值與參考測量值不同，則投與第二劑量的萊博雷生。

【0252】 在一些實施方式中，獲得至少一個測量值包括從該受試者的腦掃描獲得數據和/或從來自該受試者的生物樣本獲得數據。在一些實施方式中，來自該腦掃描的數據指示tau磷酸化、tau聚集、Aβ斑塊負荷和/或小神經膠質細胞響應的水平。在一些實施方式中，該生物樣本係體液。在一些實施方式中，該體液係腦脊液（CSF）、血液或唾液。

【0253】 在一些實施方式中，來自該受試者的該第一測量值高於來自該受試者的該第二測量值。在一些實施方式中，來自該受試者的該第一測量值低於來自該受試者的該第二測量值。

【0254】 在一些實施方式中，例如，在包括比較測量值和參考測量值的那些方法中，參考測量值從至少一個對照獲得。在一些實施方式中，參考測量值係來自對照的第一測量值和來自對照的第二測量值的比較。在一些實施方式中，比較測量值高於參考測量值。在一些實施方式中，比較測量值低於參考測量值。例如，比較來自受試者的第一測量值和來自受試者的第二測量值的比較測量值可以指示沒有發生變化。同時，參考測量值可以指示在對照中發生變化。因此，比較測量值和參考測量值之間的差異可以指示治療是否有效和/或是否應該投與第二劑量的萊博雷生。

【0255】 在一些實施方式中，該參考測量值係來自對照的測量值。參考測量值可以從多於一個對照受試者獲得，其用作標準或閾值測量值。在一些實施方式中，該參考測量值係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【0256】 在一些實施方式中，該對照未患AD。在一些實施方式中，比較測量值高於參考測量值。在一些實施方式中，比較測量值低於參

考測量值。

【0257】 在一些實施方式中，對照患有AD，例如未治療的AD。在一些實施方式中，比較測量值高於參考測量值。在一些實施方式中，比較測量值低於參考測量值。

【0258】 在一些實施方式中，tau磷酸化的測量值包括T181、T217、S202、S205或T231中之一者或多者的磷酸化的測量值。

【0259】 在一些實施方式中，tau聚集的測量值包括不溶性tau聚集物（例如，神經原纖維纏結（NFT））的測量值。

【0260】 在一些實施方式中，神經退化的測量值包括皮質厚度和/或海馬體體積的測量值或錐體神經元或顆粒神經元損失的測量值。

【0261】 在一些實施方式中，Aβ斑塊負荷的測量值包括Aβ斑塊體積和/或Aβ斑塊體積生長的測量值。

【0262】 在一些實施方式中，Aβ斑塊負荷的測量值包括該受試者的腦區中的類澱粉蛋白PET訊息的測量值或該受試者的CSF中的Aβ的測量值。

【0263】 在一些實施方式中，小神經膠質細胞響應的該測量值係至少一種小神經膠質細胞標誌物的表現的測量值。該小神經膠質細胞標誌物可為Iba1、Clec71、P2RY12或TMEM 119。在一些實施方式中，小神經膠質細胞響應的該測量值係小神經膠質細胞的吞噬作用的測量值。

【0264】 在一些實施方式中，生物標誌物表現的該測量值係Ifnb1、MMP2和/或Bace1表現的測量值。

【0265】 在一些實施方式中，該受試者呈類澱粉蛋白陰性。

【0266】 在一些實施方式中，該受試者具有Aβ斑塊。

【0267】在一些實施方式中，該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。在一些實施方式中，該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。

【0268】在一些實施方式中，該受試者處於進一步Aβ積聚的風險中。受試者可能處於tau病理擴散的風險中。受試者可能處於認知下降的風險中。在一些實施方式中，該受試者可具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，大約20-40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者可具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。在一些實施方式中，該受試者可為ApoE4攜帶者。在一些實施方式中，該受試者可具有一或多種發展AD的風險因素，諸如具有患AD或失智的一級親屬的家族史，年齡為65歲或更大，為女性，具有創傷性腦損傷或從創傷性腦損傷恢復，以及患有其他病狀諸如肥胖症、糖尿病、心臟病和/或血管疾病。

【0269】在一些實施方式中，其中該受試者患有早期AD。在一些實施方式中，該受試者患有前期AD。在一些實施方式中，該受試者基於腦成像、認知功能和/或生物標誌物標準，已被診斷為患有AD。

X. 劑量

【0270】如本文揭露的，萊博雷生的劑量可以指萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物的治療有效量。在一些實施方式中，本文揭露的方法包括每天一次向受試者口服投與5 mg至20 mg的萊博雷生。在一些實施方式中，每天一次向該受試者投與一個劑量的20 mg的萊博雷生。在一些實施方式中，每天一次向該受試者投與一個劑量的25 mg的萊博雷生。在一些實施方式中，每天一次向該受試者投與一個劑量的25 mg的萊博雷生持續至少2天。在一些實施方式中，每天一次向該受試者投與一個

劑量的25 mg的萊博雷生。在一些實施方式中，每天一次向該受試者投與一個劑量的25 mg的萊博雷生持續至少5天。在一些實施方式中，每天一次向該受試者投與一個劑量的25 mg的萊博雷生。在一些實施方式中，每天一次向該受試者投與一個劑量的25 mg的萊博雷生持續至少一週。在一些實施方式中，每天一次向該受試者投與一個劑量的25 mg的萊博雷生。在一些實施方式中，每天一次向該受試者投與一個劑量的25 mg的萊博雷生持續至少一個月。

【0271】 在一些實施方式中，本文揭露的方法包括向受試者口服投與包含萊博雷生的劑型。在一些實施方式中，本文揭露的方法包括向受試者口服投與包含10 mg萊博雷生的劑型。在一些實施方式中，本文揭露的方法包括向受試者口服投與包含15 mg萊博雷生的劑型。在一些實施方式中，本文揭露的方法包括向受試者口服投與包含20 mg萊博雷生的劑型。在一些實施方式中，本文揭露的方法包括向受試者口服投與包含25 mg萊博雷生的劑型。在一些實施方式中，本文揭露的方法包括向受試者口服投與包含30 mg萊博雷生的劑型。在一些實施方式中，本文揭露的方法包括向受試者口服投與包含35 mg萊博雷生的劑型。在一些實施方式中，本文揭露的方法包括向受試者口服投與包含40 mg萊博雷生的劑型。在一些實施方式中，本文揭露的方法包括向受試者口服投與包含45 mg萊博雷生的劑型。在一些實施方式中，本文揭露的方法包括向受試者口服投與包含50 mg萊博雷生的劑型。

【0272】 本揭露之劑型包含當根據本揭露之傳授內容投與時用於治療的治療有效量的萊博雷生。劑型中有效量的單位劑量為0.5 mg至100 mg、2 mg至75 mg、2 mg至70 mg、2 mg至65 mg、2 mg至60 mg、2 mg

至55 mg、2 mg至50 mg、2 mg至45 mg、2 mg至40 mg、2 mg至35 mg、2 mg至30 mg、2 mg至25 mg、2 mg至20 mg、2 mg至15 mg、2 mg至15 mg、2 mg、2.5 mg、4 mg、5 mg、8 mg、10 mg、15 mg、20 mg、25 mg、30 mg、35 mg、40 mg、45 mg或50 mg。單位劑量不受劑型的類型或單劑量劑型數目的限制。在一些實施方式中，單位劑量可為2.5 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為5 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為10 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為7.5 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為12.5 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為15 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為18 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為20 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為22 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為25 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為30 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為32 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為35 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為40 mg。在一些實施方式中，單位劑量可為50 mg。

【0273】 因此，如本文所投與的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物的治療有效量可包括落在一定範圍，例如每天5 mg至50 mg的範圍內的劑量。

【0274】 在一些實施方式中，向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量在每天5 mg至50 mg的範圍內。例如，向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量可以在每天10 mg至30 mg的範圍內。在一些實施方式中，向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量選自每天5 mg、7.5 mg、10 mg、12.5 mg、15 mg、17.5 mg、20 mg、22.5 mg、25 mg、27.5 mg和30 mg。

【0275】 在一些實施方式中，向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量為每天20-25 mg。

【0276】 在一些實施方式中，每天一次向該受試者投與一個劑量的20 mg的萊博雷生。

【0277】 在一些實施方式中，萊博雷生以第一劑量投與第一週期，以第二劑量投與第二週期，並且視需要地以第三劑量投與第三週期。該第一週期、該第二週期和該第三週期中之每一者均可為1週。

【0278】 在一些實施方式中，該第一劑量低於該第二劑量，並且視需要地，該第二劑量低於該第三劑量。例如，在一些實施方式中，該第一劑量係每天一次5 mg的萊博雷生，該第二劑量係每天一次10 mg的萊博雷生，並且視需要地，該第三劑量係每天一次20-25 mg的萊博雷生。在一些實施方式中，該第一劑量係每天一次5 mg或7.5 mg的萊博雷生，該第二劑量係每天一次10 mg、12.5 mg、15 mg或17.5 mg的萊博雷生，並且該第三劑量係每天一次20 mg、22.5 mg、25 mg、27.5 mg或30 mg的萊博雷生。

【0279】 在一些實施方式中，該第一劑量高於該第二劑量，並且視需要地，該第二劑量高於該第三劑量。例如，在一些實施方式中，該第一劑量係每天一次20-25 mg的萊博雷生，該第二劑量係每天一次10 mg的萊博雷生，並且視需要地，該第三劑量係每天一次5 mg的萊博雷生。在一些實施方式中，該第一劑量係每天一次20 mg、22.5 mg、25 mg、27.5 mg或30 mg的萊博雷生，該第二劑量係每天一次10 mg、12.5 mg、15 mg或17.5 mg的萊博雷生，並且視需要地，該第三劑量係每天一次5 mg或7.5 mg的萊博雷生。

【0280】 在一些實施方式中，可以在一段時間內向受試者投與萊博雷生。在一些實施方式中，本文所述之方法包括向受試者投與萊博雷生持續至少6個月。在一些實施方式中，本文所述之方法包括向受試者投與萊博雷生持續至少9個月、至少12個月或至少15個月。在一些實施方式中，本文所述之方法包括向受試者投與萊博雷生持續至少18個月。在一些實施方式中，本文所述之方法包括向受試者投與萊博雷生持續至少24個月、30個月或36個月。在一些實施方式中，可以在受試者生命的剩餘部分投與萊博雷生。

XI. 藥物組成物

【0281】 在一些實施方式中，本揭露之劑型可以構成一或多種藥物組成物，該一或多種藥物組成物包含萊博雷生連同藥學上可接受的賦形劑。

【0282】 如本文所用，本文使用的術語「組成物」包括含有處於特定量的特定成分的產物以及由特定量的多種特定成分的組合所直接或間接引起的任何產物。與藥物組成物相關的這樣的術語旨在包括含有活性成分以及構成載體的惰性成分的產物，並且包括由任何兩種或多種成分的組合、錯合或聚集，或一或多種成分的解離、其他類型的反應或相互作用而直接或間接引起的每一種產物。因此，本揭露之藥物組成物包括藉由混合本揭露之化合物與藥學上可接受的載體而製備的每種組成物。

【0283】 如本文所用，術語「藥學上可接受的」意為載體、稀釋劑、賦形劑、或媒介物與製劑的其他組分相容，並且對受試者無毒。

【0284】 本揭露之固體劑型包括膠囊劑、顆粒劑、錠劑、微丸、丸劑、粉劑、懸浮劑和片劑。

【0285】 本揭露之藥物組成物可以使用本領域通常已知的標準技術和製造方法來製備。參見，例如，Japanese Pharmacopoeia [日本藥典]，第16版的專論；和U.S. Pharmacopoeia-NF [美國藥典-國家處方集]，第1151章的藥物劑型。

【0286】 在一些實施方式中，藥物組成物包含萊博雷生。在一些實施方式中，藥物組成物還包含至少一種另外的組分，其選自藥學上可接受的載體、藥學上可接受的媒介物和藥學上可接受的賦形劑。

【0287】 在一些實施方式中，藥物組成物中的該至少一種另外的組分根據藥物組成物預期的投與途徑來選擇。可以使用藥物組成物的合適投與途徑的非限制性實例包括腸胃外、口服、吸入噴霧、局部、直腸、鼻、經頰、陰道和植入貯庫投與。如本文所用的術語「腸胃外」包括皮下、靜脈內、肌內、關節內、滑膜內、胸骨內、腦池內、鞘內、肝內、病灶內和顱內注射或輸注技術。在一些實施方式中，投與模式選自靜脈內、口服、皮下和肌內投與。本揭露之組成物的無菌可注射形式可為例如水性或油性懸浮液。可以根據本領域已知的技術，使用本領域已知的合適的分散劑或濕潤劑和懸浮劑來配製該等懸浮液。無菌可注射製劑還可為在無毒腸胃外可接受的稀釋劑或溶劑中的無菌可注射溶液或懸浮液，例如，作為在1,3-丁二醇中的溶液。可以採用的媒介物和溶劑的非限制性實例包括水、林格氏液和等滲氯化鈉溶液。另外，無菌、不揮發性油可用作溶劑和/或懸浮介質。

【0288】 出於這個目的，可以使用任何溫和的不揮發性油，包括合成的單甘油酯或二甘油酯。脂肪酸如油酸及其甘油酯衍生物可用於製備可注射劑，天然的藥學上可接受的油如橄欖油或蓖麻油、尤其是它們的聚氧

乙烯化的形式亦為如此。該等油溶液或懸浮液還可以含有長鏈醇稀釋劑或分散劑，如羧甲基纖維素或通常用於配製藥學上可接受的劑型（包括乳劑和懸浮液）的類似分散劑。出於配製的目的，也可以使用其他常用的界面活性劑，如Tweens、Spans和其他乳化劑或生體可用率增強劑，它們通常用於製造藥學上可接受的固體、液體和/或其他劑型。

【0289】 對於口服投與，萊博雷生可以以可接受的口服劑型提供，包括但不限於懸浮劑、膠囊劑、片劑、口腔崩散片劑、噴劑和其他易於吞嚥的口服製劑。在一些實施方式中，萊博雷生以片劑或膠囊的形式提供。在一些實施方式中，萊博雷生以可壓碎片劑的形式提供。在用於口服使用的片劑的情況下，通常使用的載體包括乳糖和玉米澱粉。還可以添加潤滑劑，如硬脂酸鎂。對於膠囊劑形式的口服投與，有用的稀釋劑包括乳糖和乾燥的玉米澱粉。當需要口服使用水性懸浮液時，活性成分與乳化劑和/或懸浮劑組合。如果需要，也可以添加某些甜味劑、調味劑或著色劑。

【0290】 為了能夠更充分地理解本文所述之揭露內容，闡述了以下實例。應理解，該等實例僅出於說明性目的而不應解釋為以任何方式限制本揭露。

本揭露之非限制性實施方式：

1. 一種減少或維持受試者中的p-tau或t-tau的量的方法，該方法包括向有需要的受試者投與治療有效量的萊博雷生。

2. 如實施方式1所述之方法，其中受試者中p-tau或t-tau的量相對於該受試者的基線減少或維持。

3. 如實施方式1或實施方式2所述之方法，其中受試者中p-tau或t-tau的量相對於安慰劑減少或維持。

4. 如實施方式1-3中任一項所述之方法，其中相對於該受試者的基線或相對於安慰劑，在投與治療有效量的萊博雷生後，該受試者中p-tau與tau的比率更低。

5. 如實施方式1-4中任一項所述之方法，其中相對於該受試者的基線或相對於安慰劑，在投與治療有效量的萊博雷生後，該受試者中tau的去磷酸化速率更高。

6. 如實施方式1-5中任一項所述之方法，其中相對於該受試者的基線或相對於安慰劑，在投與治療有效量的萊博雷生後，該受試者中tau磷酸化的速率較低。

7. 如實施方式1-6中任一項所述之方法，其中該受試者CSF中p-tau/t-tau的比率與投與萊博雷生之前該受試者的CSF p-tau/t-tau比率相比降低。

8. 如實施方式7所述之方法，其中該受試者CSF中p-tau/t-tau的比率維持在投與萊博雷生之前該受試者的p-tau/t-tau比率的10%以內。

9. 如實施方式1-8中任一項所述之方法，其中該受試者CSF中的Aβ濃度低於或等於在投與萊博雷生之前該受試者CSF中的Aβ濃度。

10. 如實施方式9所述之方法，其中投與治療有效量的萊博雷生的受試者的腦中的類澱粉蛋白PET訊息與投與萊博雷生之前受試者的腦中的類澱粉蛋白PET訊息相比更低或相同。

11. 如實施方式1-10中任一項所述之方法，其中該受試者腦中的tau PET訊息相對於基線降低。

12. 如實施方式1-11中任一項所述之方法，其中該tau係p-tau、t-tau或聚集的tau。

13. 如實施方式1-12中任一項所述之方法，其中p-tau和t-tau減少。

14. 如實施方式1-13中任一項所述之方法，其中tau磷酸化的減少發生在海馬體、內嗅皮質和/或梨狀皮質中。

15. 如實施方式1-14中任一項所述之方法，其中該受試者CSF中的Aβ係Aβ38、Aβ40和/或Aβ42。

16. 如實施方式1-15中任一項所述之方法，其中相對於受試者的基線，p-tau的量在向受試者投與第一劑量的萊博雷生的48小時內降低。

17. 一種減少受試者的神經退化的方法，該方法包括向有需要的受試者投與治療有效量的萊博雷生。

18. 如實施方式17所述之方法，其中藉由相對於受試者的基線或相對於投與安慰劑的受試者維持皮質厚度或減緩皮質厚度的減少來觀察神經退化的減少。

19. 如實施方式17或實施方式18所述之方法，其中藉由相對於受試者的基線或相對於投與安慰劑的受試者維持海馬體大小或減緩海馬體大小的減小來觀察神經退化的減少。

20. 如實施方式17-19中任一項所述之方法，其中藉由相對於受試者的基線或相對於投與安慰劑的受試者保持或減少錐體神經元細胞的損失來觀察神經退化的減少。

21. 如實施方式17-20中任一項所述之方法，其中藉由相對於受試者的基線或相對於投與安慰劑的受試者保持或減少顆粒神經元細胞的損失來觀察神經退化的減少。

22. 如實施方式1-21中任一項所述之方法，其中向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量在每天10 mg至50 mg的範圍內。

23. 如實施方式22所述之方法，其中向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量在每天15 mg至30 mg的範圍內。

24. 如實施方式22所述之方法，其中向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量為每天25 mg。

25. 如實施方式1-24中任一項所述之方法，其中每天一次向該受試者投與一個劑量的25 mg的萊博雷生。

26. 如實施方式25所述之方法，其中每天一次向該受試者投與一個劑量的25 mg的萊博雷生持續至少兩天。

27. 如實施方式1-26中任一項所述之方法，其中在每天一次投與一個劑量的25 mg的萊博雷生至少兩天之後，每天一次向該受試者投與一個劑量的2.5 mg、5 mg、10 mg、15 mg或20 mg的萊博雷生。

28. 一種降低受試者中的Aβ濃度的方法，該方法包括向有需要的受試者投與治療有效量的萊博雷生。

29. 如實施方式1-28中任一項所述之方法，其中該受試者CSF中的Aβ濃度低於在投與萊博雷生之前該受試者CSF中的Aβ濃度。

30. 如實施方式1-29中任一項所述之方法，其中投與萊博雷生的受試者的受試者腦中的類澱粉蛋白PET訊息低於投與萊博雷生之前受試者腦中的類澱粉蛋白PET訊息。

31. 如實施方式30所述之方法，其中該受試者CSF中的Aβ係Aβ38、Aβ40和/或Aβ42。

32. 如實施方式1-29中任一項所述之方法，其中Aβ的濃度在投與萊博雷生的48小時以內降低。

33. 一種增加受試者中的活化小神經膠質細胞的數目的方法，該方

法包括向有需要的受試者投與治療有效量的萊博雷生。

34. 如實施方式33所述之方法，其中活化小神經膠質細胞的數目相對於基線增加。

35. 如實施方式33或實施方式34中任一項所述之方法，其中該等活化小神經膠質細胞係吞噬性小神經膠質細胞。

36. 如實施方式33-35中任一項所述之方法，其中藉由小神經膠質細胞活化的PET或CSF生物標誌物測量活化小神經膠質細胞的數目。

37. 如實施方式33-36中任一項所述之方法，其中藉由PET分析整個腦或腦的至少一個區域。

38. 如實施方式37所述之方法，其中藉由PET分析的腦的至少一個區域選自皮層灰質、側腦室、額葉、頂葉、顳葉、枕葉、扣帶皮質、杏仁核、梨狀皮質、內嗅皮質、海馬體、海馬體CA3（錐體神經元）和海馬體齒狀迴（顆粒細胞神經元）。

實例

實例1：臨床研究方案

a. 試驗1：萊博雷生對CSF β-類澱粉蛋白和Tau的急性效應

【0291】 將在認知正常的類澱粉蛋白陽性參與者中研究萊博雷生的急性效應。

【0292】 入選標準將是：

o 年齡60-80歲

o 任何性別

o 任何種族/民族

o 簡易精神狀態檢查評分（MMSE）≥ 27

o 血漿Aβ試驗陽性（即，類澱粉蛋白陽性）

o 匹茲堡睡眠品質指數> 5

【0293】 排除標準將是：

o 藉由MMSE < 27的病史確定的認知損傷

o 不能說英語或理解英語

o 除失眠以外的任何睡眠障礙

- 無中度至重度睡眠障礙性呼吸病史且STOP-Bang評分> 5
- 提示不寧腿症候群、發作性睡病或其他睡眠障礙的病史或報告的症狀
- PSG上不超過輕度的睡眠呼吸中止（AHI < 16）

o 睡眠時間表超出就寢時間範圍22:00-午夜

o 腰椎導管禁忌症（抗凝劑；出血障礙；對利多卡因或消毒劑過敏；既往中樞神經系統或下背部手術）

o 需要藥物治療的心血管疾病，得到控制的高血壓除外（PI判斷）

o 中風

o 肝或腎損傷

o 肺部疾病（PI判斷）

o 1型糖尿病

o HIV或AIDS

o 需要藥物治療的神經障礙或精神障礙（PI判斷）

o 自殺意念

o 飲酒或吸煙（PI判斷）

o 使用鎮靜藥物（PI判斷）

o 無法獨立起床

o 在研究者看來，參與者體檢異常應被排除。

o 當前妊娠

o 身體質量指數> 35

o 偏頭痛病史（PI判斷）

o 過去6個月有藥物濫用史

o 可能影響受試者的安全性或干擾研究評估或PI參與者判斷的任何臨床顯著醫學病狀、行為或精神障礙（包括自殺意念）的病史或存在，或基於病歷或患者報告的手術史不是良好候選者。

o 尿失禁或大便失禁

o 同時入組研究藥物或器械的另一項試驗

【0294】 12名（或更多）參與者將隨機分配接受安慰劑（N = 4或更多）或萊博雷生25 mg（N = 8或更多）。

【0295】 程序：隨機分配的受試者將於早午時分（夜間1）入院。所有參與者將用無人值守的全裝配PSG（TrackIt™；伊利諾州特洛伊的生命線公司（Lifelines, Troy, IL））監測其睡眠，該PSG將允許根據美國睡眠醫學學會標準的黃金標準進行睡眠分期，並且已經在類似研究中用於監測睡眠36-48小時。

【0296】 在大約20:00，將在每個參與者中放置一根腰椎導管和兩根IV導管，每2小時收集6 ml的CSF，持續48小時。腰椎導管埠將放置在袍袖的外側，以易於接近，以在流體收集期間將擾動減到最少。採樣開始時間將在由每個參與者的睡眠日誌定義的典型就寢時間之前約1小時開始，以便允許在就寢時間之前進行$^{13}C_6$-白胺酸輸注和血液頻繁採樣。將

在以下時間點收集六毫升血液：0（基線）、5分鐘、10分鐘、15分鐘、30分鐘、1小時、1.5小時、2小時、2.5小時、3小時、3.5小時、4小時、6小時、8小時、10小時、12小時、14小時、16小時、18小時、20小時、22小時、24小時、26小時、28小時、30小時、32小時、34小時、36小時、38小時、40小時、42小時、44小時、46小時和48小時（表1）。

[表1]. 導管放置和取出、就寢時間和採樣的時間線

小時	0	1	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
事件	**C**、X	**B**	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
小時	25	26	28	30	32	34	36	38	40	42	44	46	48	49
事件	**B**	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X、**R**	**B**

C：導管放置；**B**：就寢時間；**X**：CSF/血液採樣；**R**：導管取出

【0297】 在第1天習慣性就寢時間（t = 0）之前大約1小時，所有參與者將開始輸注800 mg標記的$^{13}C_6$-白胺酸以在細胞內翻譯期間體內標記蛋白質以監測Aβ動力學。

【0298】 將允許參與者睡覺，因為他們能夠在其習慣性就寢時間立即熄燈（就寢時間在第1小時，大約22:00-00:00）。當在黑暗中收集CSF和血液時，將使用昏暗的紅光（安全燈）。參與者將睡到最後在早晨醒來。

【0299】 在第2天期間，所有參與者都將在光線充足的房間中，定期監測保持清醒，將不容許打盹。在第2天約22:00（第25小時），除了沒有輸注經標記的$^{13}C_6$-白胺酸和「第26小時」的時間將取決於參與者的規

律就寢時間之外，所有參與者將遵循與前一夜所遵循的相同的睡眠常規。參與者將接受與前一夜相同的安慰劑或萊博雷生劑量。研究將在第3天約20:00（第48小時）結束，此時將取出IV導管和腰椎導管。然後所有參與者將睡過夜，並將在取出導管後監測至少8小時，然後出組。

【0300】 將藉由質譜法定量CSF tau、磷酸化tau和Aβ動力學。對於每個參與者的基線的測定，將AD生物標誌物（Aβ38、Aβ40、Aβ42、T181、S202、T217、pT181、pS202、pT217）針對在CSF中觀察到干預變化之前的前6小時（t = 0-6，20:00-02:00）的平均值歸一化。0小時濃度也將歸一化。將磷酸化tau比率（pT181/T181、pS202/S202、pT217/T217、p-tau/t-tau）針對第一時間點（0小時）歸一化。然後按治療臂組繪製隨時間推移相對於該等基線變化的軌跡，以檢查濃度或比率的變化是否係線性的。

【0301】 對於統計分析，如果線性假設有效，將使用具有隨機截距和斜率的（線性混合效應）LME模型進行分析，否則將使用重複測量的混合模型（MMRM）。模型中的固定效應將包括治療組、時間及其相互作用。基線將作為共變量包括在內。將使用殘差圖檢查常態性假設，並且將考慮適當的變換（例如，對數）。將使用非結構化共變異數矩陣，並且如果存在收斂問題，將比較各種其他共變異數矩陣結構（例如，複合對稱性、一階自身迴歸），並將基於艾凱克訊息準則（Akaike information criterion，AIC）選擇最佳擬合結構進行最終分析。

b. 試驗2：患有臨床前或早期阿滋海默症的受試者的治療

【0302】 該試驗將評價在一連串臨床前和早期AD中萊博雷生在預防或延遲Aβ積聚、下游tau病理擴散和認知下降中的功效。

【0303】類澱粉蛋白-ß（Aß）積聚常常始於阿滋海默症（AD）的臨床階段之前的十年以上，並且被認為在疾病的臨床前階段期間在加速tau蛋白病和神經退化的擴散中起關鍵作用。多重神經成像和生物標誌物觀察性研究證明，Aβ積聚與臨床上正常的老年個體中認知下降的風險增加相關。

【0304】該試驗將利用NAV4694（氟他呋喃醇（flutafuranol））類澱粉蛋白PET成像來評估原纖維狀類澱粉蛋白病理的合格性和縱向結局，並利用MK6240 tau PET示蹤劑來評估神經原纖維纏結和tau神經突病理的縱向擴散。臨床結局包括由自由和暗示選擇性提醒測試、段落回憶IIa、數位符號、MMSE和語義類別流暢性組成的臨床前阿滋海默症認知複合量表5（PACC-5），以及認知功能指數（CFI）、認知功能的參與者和研究夥伴報告。

【0305】另外，進行對患者的皮質和海馬體的掃描以評估神經退化的程度。將收集CSF和血液以測量AD生物標誌物諸如Aβ、tau、p-tau和NfL。

i. 組1：患有臨床前阿滋海默症的患者-中等水平的類澱粉蛋白

【0306】該試驗的目的係藉由預防或減緩腦中早期Aβ堆積來確定萊博雷生治療是否導致AD的初級預防或延遲。該試驗將招募在篩選PET成像上具有中等水平的類澱粉蛋白（大約20-40百分制單位）的認知正常個體，其被認為處於AD的最早臨床前階段，處於在四年內進一步Aβ積聚和tau病理早期擴散的風險中。

【0307】患者納入標準。將針對完整認知來選擇患者，藉由教育調整後簡易精神狀態檢查（MMSE）評分≥ 27來確定，總體臨床失智評定

（CDR）為0。患者在PET成像上將具有中等水平的類澱粉蛋白（20-40百分制單位）。

【0308】 萊博雷生投與。在將會評估治療依從性和不良事件的親自研究訪視期間，每月向參與者投與萊博雷生或匹配的安慰劑。萊博雷生經FDA批准以5-10 mg的劑量用於治療失眠。在對安全性和功效進行期間分析後，可以將萊博雷生劑量增加至20 mg。在研究開始時，參與者將在1週時間內每天一次服用萊博雷生5 mg，然後增加至每天一次萊博雷生10 mg；對於萊博雷生5 mg和萊博雷生10 mg，將存在匹配的安慰劑片劑。研究結束時，參與者在停藥前1週時間內每天一次服用萊博雷生5 mg。

【0309】 藥物滴定。由於參與者將是未使用過萊博雷生的，所以將提供1週時間的每天一次萊博雷生5 mg，隨後滴定至每天一次萊博雷生10 mg；對於萊博雷生5 mg和萊博雷生10 mg，將存在匹配的安慰劑片劑。研究結束時，參與者在停藥前1週時間內下滴定至每天一次萊博雷生5 mg。

【0310】 如果在期間分析後將萊博雷生劑量增加至20 mg，則將遵循相同的上滴定和下滴定方案，不同之處在於將存在服用萊博雷生10 mg的額外一週：

上滴定：萊博雷生5 mg-1週

- 萊博雷生10 mg-1週
- 萊博雷生20 mg-1週

下滴定：萊博雷生10 mg-1週

- 萊博雷生5 mg-1週
- 停止

【0311】 研究結局。預見主要結局、次要結局和探索性結局的測量

值。

【0312】 主要結局：試驗的主要結局量度係6個月時的類澱粉蛋白PET SUVr，測量並與安慰劑進行比較。生物標誌物結局將包括tau PET，CSF和血漿中Aβ、磷酸化tau和基原纖維的測量值。

【0313】 次要結局：將測量tau PET。

【0314】 探索性結局：在CSF中，將測量生物標誌物Aβ、tau、磷酸化tau、神經顆粒素（NG）、神經絲輕鏈（NfL）。在血漿中，將測量NfL、磷酸化tau 181和磷酸化tau 217。度量認知的臨床結局將包括獲得認知的臨床前阿滋海默症認知複合量表5（PACC5）量表和認知功能指數（CFI）的測試。

ii. 臨床前阿滋海默症-升高水平的類澱粉蛋白

【0315】 該試驗的目的係藉由預防腦中早期Aβ堆積來確定萊博雷生治療是否導致AD的初級預防或延遲。該試驗將招募在篩選PET成像上具有升高水平的類澱粉蛋白（大約> 40百分制單位）的認知正常的個體，其處於在四年內認知下降的高風險中。

【0316】 患者納入標準。將針對完整認知來選擇患者，藉由教育調整後簡易精神狀態檢查（MMSE）評分≥ 27來確定，總體臨床失智評定（CDR）為0。患者將具有升高的類澱粉蛋白PET水平> 40。

【0317】 萊博雷生投與。在將會評估治療依從性和不良事件的親自研究訪視期間，每月向參與者投與萊博雷生或匹配的安慰劑。萊博雷生經FDA批准以5-10 mg的劑量用於治療失眠。在對安全性和功效進行期間分析後，可以將萊博雷生劑量增加至20 mg。在研究開始時，參與者將在1週時間內每天一次服用萊博雷生5 mg，然後增加至每天一次萊博雷生10

mg；對於萊博雷生5 mg和萊博雷生10 mg，將存在匹配的安慰劑片劑。研究結束時，參與者在停藥前1週時間內每天一次服用萊博雷生5 mg。

【0318】 藥物滴定。由於參與者將是未使用過萊博雷生的，所以將提供1週時間的每天一次萊博雷生5 mg，隨後滴定至每天一次萊博雷生10 mg；對於萊博雷生5 mg和萊博雷生10 mg，將存在匹配的安慰劑片劑。研究結束時，參與者在停藥前1週時間內下滴定至每天一次萊博雷生5 mg。

【0319】 如果在期間分析後將萊博雷生劑量增加至20 mg，則將遵循相同的上滴定和下滴定方案，不同之處在於將存在服用萊博雷生10 mg的額外一週：

上滴定：萊博雷生5 mg-1週

o 萊博雷生10 mg-1週

o 萊博雷生20 mg-1週

下滴定：萊博雷生10 mg-1週

o 萊博雷生5 mg-1週

o 停止

【0320】 研究結局。預見主要結局、次要結局和探索性結局的測量值。

【0321】 主要結局。為了測試萊博雷生對類澱粉蛋白升高患者的認知下降的影響，試驗的主要結局量度係6個月時的臨床前AD認知複合量表5（PACC5）。生物標誌物結局將包括tau PET，CSF和血漿中Aβ、磷酸化tau和基原纖維的測量值。

【0322】 次要結局。將測量認知功能指數（CFI）。將測量類澱粉蛋白PET和tau PET。

【0323】 探索性結局。臨床測量值將是ADCS ADL-預防、電腦化認知複合量表、ISLT、跟蹤、CDR-SB和達到CDR 0.5的時間。將確定vMRI和rs-MRI。在CSF中，將測量生物標誌物Aβ、tau、磷酸化tau、神經顆粒素（NG）、神經絲輕鏈（NfL）。在血漿中，將測量NfL、磷酸化tau 181和磷酸化tau 217。

c. 試驗3：患有臨床前或早期阿滋海默症的受試者的治療

【0324】 該試驗將評價在一連串臨床前和早期AD中萊博雷生在預防或延遲Aβ積聚、下游tau病理擴散和認知下降中的功效。本試驗將遵循試驗2的方案，不同之處在於將使用不同的劑量。將使用7.5 mg的萊博雷生代替5 mg的萊博雷生。將使用15 mg的萊博雷生代替10 mg的萊博雷生。將使用25 mg的萊博雷生或將使用30 mg的萊博雷生代替20 mg的萊博雷生。

實例2：tau介導的神經退化的小鼠研究

【0325】 當觀察到tau介導的神經炎症而沒有明顯的神經元損失時，從7.5月齡開始每天用30 mg/kg萊博雷生或媒介物經口管飼P301S/E4和E4敲入非tau沈積小鼠，直到9.5月齡（圖2a）。

【0326】 睡眠-清醒行為的變化

【0327】 藉由腦電流描記法（EEG）分析確認睡眠-清醒行為的變化。經萊博雷生治療的E4和P301S/E4小鼠顯示出在NREM睡眠中花費的時間增加大約25%，以及清醒花費的時間減少大約20%（圖2b-f）。沒有觀察到REM睡眠時間的變化，與先前的發現一致。

【0328】 與E4小鼠相比，在P301S/E4小鼠中觀察到NREM睡眠的tau依賴性減少（圖2b），指示病理性tau與睡眠有聯繫。藉由EEG和

Piezosleep墊測量的萊博雷生對睡眠（圖2g和圖2h）和睡眠相關的運動活動（圖6）的影響，在治療後持續大約五小時，沒有另外的相位延遲或晝夜睡眠-清醒活動的變化。

【0329】 當投與藥物時，萊博雷生在黑暗期活動期誘導睡眠。圖2I顯示在E4和P301S/E4小鼠中投與萊博雷生後，在黑暗期中睡眠百分比增加。圖2J顯示在E4和P301S/E4小鼠中投與萊博雷生後，在黑暗期中睡眠發作長度（以秒計）增加。圖2K顯示在E4和P301S/E4小鼠中投與萊博雷生後，清醒發作長度（以秒計）減少。

【0330】 對tau病理和神經退化的影響

【0331】 為了確定萊博雷生是否能夠影響tau病理和神經退化，研究了海馬體及內嗅皮質和梨狀皮質，它們係顯示出顯著tau介導的變性的區域。在經萊博雷生治療的P301S/E4小鼠中與經媒介物治療的小鼠相比，觀察到AT8+和MC1+ tau染色對照顯著降低大約20%（圖3a-f）。另外，經萊博雷生治療的P301S/E4小鼠具有顯著降低的不溶性磷酸化和總tau水平（圖7a-f）。

【0332】 發現與對照相比，經萊博雷生治療的P301S/E4小鼠的腦萎縮程度強烈減弱（圖3g-I和圖7h、i）。更具體地，海馬體和梨狀/內嗅皮質的萎縮顯著改善大約50%，伴隨側腦室的增大減少。在經萊博雷生治療的P301S/E4小鼠中，顆粒細胞和錐體細胞神經元層明顯更厚（圖7g至圖7k），這藉由降低的血漿神經絲輕鏈水平來確認（圖3j），證明神經元損傷和退化的穩健改進。

【0333】 小神經膠質細胞反應性

【0334】 為了研究經萊博雷生治療的小鼠中tau介導的神經退化的顯

著降低是否與降低的小神經膠質細胞反應性有聯繫，對海馬體和梨狀皮質中疾病相關或穩態群體的譜中反應性小神經膠質細胞的不同標誌物進行定量。觀察到顯著的變化（圖4），主要是在海馬體中且最顯著的是在CA3區中（圖4）。

【0335】 觀察到離子鈣結合銜接分子1（IBA1）的顯著減少，指示與經媒介物治療的P301S/E4小鼠相比，經萊博雷生治療的P301S/E4小鼠中反應性小神經膠質細胞群體的總體減少（圖4A、C、L和M）。

【0336】 疾病相關的小神經膠質細胞標誌物，諸如Clec7a（圖3E、G）和CD68（圖4A、D、P、Q），一種吞噬溶酶體活性的標誌物，在P301S/E4小鼠中相對於E4小鼠顯著增加，但是與用媒介物治療的P301S/E4相比，萊博雷生強烈減少了該等標誌物。

【0337】 在用萊博雷生治療的P301S/E4小鼠中觀察到穩態小神經膠質細胞的TMEM119標誌物的顯著增加（圖4B、F、N和O），而在P2RY12中沒有觀察到變化（圖8）。

【0338】 該等結果表明，降低反應性小神經膠質細胞牽涉萊博雷生調節tau介導的神經退化的作用。而且，與對照相比，在經萊博雷生治療的P301S/E4小鼠中星狀細胞和小神經膠質細胞APOE共定位均顯著降低（圖4H-K），後者僅在炎性和損傷性病狀升高期間更常見。萊博雷生治療降低P301S/E4小鼠海馬體中的GFAP+星狀細胞反應性（圖4R）。在不存在tau病理的情況下，在E4敲入小鼠中沒有發現小神經膠質細胞反應性的變化。

【0339】 RNA定序

【0340】 為了深入瞭解所觀察到的由萊博雷生誘導的NREM睡眠引

起的小神經膠質細胞反應性和tau介導的神經退化的變化背後的機制，在大塊海馬體組織中進行RNA定序。發現了基因表現變化，並牽涉多種功能模組，包括激素和GPCR配體結合、膠細胞分化、突觸調節，特別是興奮性突觸以及對DNA損傷的響應（圖5）。除了正常老化外，缺陷性DNA修復還與年齡相關的神經退化疾病諸如AD有聯繫。過度磷酸化和聚集的tau可藉由與DNA修復蛋白相互作用而阻礙DNA修復。

【0341】 基於該等數據，其中存在總體降低的神經元代謝和可能的突觸活性的睡眠可能在神經元基因組維持和DNA修復功能中起關鍵作用。然而，需要進一步的研究來瞭解睡眠、DNA損傷與神經退化之間的聯繫。有趣的是，基因諸如Adra2b、Trh、Trhr2、Mpzl2、Slc22a6、Pla2g2f、Ptgdr、Foxp2係調節睡眠的基因。更具體地，促甲狀腺素釋放激素（Trh）及其受體（Trhr2）部分地藉由醒食素調節行為喚醒。TRH應用將GABA能神經元從通常與在NREM睡眠期間發生的同步皮質活動相關的叢訊觸發模式（burst-firing mode）轉換為與在清醒和REM睡眠期間發生的去同步皮質活動相關的動作電位產生的強直、單尖峰模式（tonic, single-spike mode）。Trh和Trhr2的下調表明DORA誘導的NREM睡眠進一步與睡眠-清醒行為的體液調控相互作用以促進睡眠，特別是在tau的存在下，因為該等作用在非tau E4小鼠中不存在。為了支持該等發現，我們觀察到Slc22a6、Pla2g2f、Ptgdr表現的變化，該等變化藉由有效的內源性催眠劑諸如前列腺素調節睡眠-清醒。除了催化前列腺素的生物合成之外，磷脂酶A2在細胞生長分化和炎症中起主要作用，並且與睡眠呼吸中止患者的代謝變化相關。類似地，牽涉膠細胞分化的基因（包括小神經膠質細胞表現的Tmem119、Tmem114、Cd68、Aif1、Cd300a、Pea15a和

H2-Q1）在經萊博雷生治療的P301S/E4小鼠中受差異性調控（圖5C），表明促進萊博雷生介導的NREM睡眠或抑制醒食素傳訊影響重要的免疫功能，諸如T細胞抗原表現、對損傷的響應和凋亡的調控，所有該等都可直接改變tau介導的神經退化。進一步支持該原理的是突觸前囊泡麩胺酸運輸蛋白（VGLUT1，Slc17a7）和突觸後密度標誌物（PSD95，Shank1、Shank2）在轉錄和免疫組織化學上降低（圖5C-5I）。突觸受體活性和組織諸如Otof、Nrxn3、Mrgprf、Mapk13和Fmod等的轉錄變化（圖5C）證實促進NREM睡眠或抑制醒食素受體傳訊減少tau介導的神經退化以及相關的突觸損失。

【0342】 方法和分析

【0343】 小鼠：所有動物程序和方案均得到華盛頓大學醫學院（Washington University School of Medicine）的動物研究委員會批准。使用攜帶1N4R tau並過表現人P301S tau突變的PS19 tau轉基因小鼠24。該等小鼠與C57BL/6回交十代以上。人apoE4敲入小鼠如*Mol. Neurodegener.* [分子神經退化疾病] **14**, (2019)中所述生成並與P301S小鼠雜交幾代以產生實驗P301S/E4小鼠。將同性別的同窩出生仔畜隨機分配到實驗組。僅使用雄性動物並在9.5月齡處死。所有小鼠均圈養在特定的無病原體條件下，並在相同的12小時光/暗循環、環境室溫下以及隨意獲取食物和水。

【0344】 治療：從7.5月齡開始每天在ZT13（在黑暗開始後一小時）用單個30 mg/kg劑量的萊博雷生或0.5%甲基纖維素媒介物管飼小鼠，直到9.5月齡實施安樂死。

【0345】 組織收集：所有小鼠在小鼠被剝奪睡眠的時間窗在ZT3和

ZT7之間灌注，以避免晝夜節律對小神經膠質細胞基因表現的轉錄波動的影響。在經心灌注之前，用戊巴比妥（pentobarbital）（50 mg/kg，腹膜內）麻醉小鼠。經心灌注前從心臟收集血液，在4°C下以5000xg離心5分鐘以獲得血漿。用含有0.3%肝素的冰冷磷酸鹽緩衝液對小鼠進行經心灌注。將一個半腦解剖，速凍並儲存在-80°C下用於生物化學分析。將另一個半腦浸泡固定在4%多聚甲醛中24小時，然後在30%蔗糖中冷凍保護48小時並在-80°C下冷凍，直到將組織樣本切片用於免疫組織化學分析。

【0346】 睡眠-清醒狀態的測量和分析：使用腦電流描記法（EEG）並獨立地使用PiezoSleep小鼠行為跟蹤系統（訊息解決方案公司（SignalSolutions））監測小鼠的睡眠-清醒行為。

【0347】 對於EEG實驗，用異氟烷（0.5%-3%）麻醉動物。在進行切口之前，藉由腳趾夾緊評估任何疼痛體征。然後在小鼠顱骨中手術植入螺旋電極進行EEG並在頸背肌肉中植入不銹鋼絲電極進行肌電描記法（EMG）。在中線垂直切口暴露顱骨後，使用鑷子和3%過氧化氫去除任何結締組織並乾燥顱骨以放置電極。使用具有0.9 mm尖端的微型鑽製作正面參考電極的鑽孔（前部+0.5 mm，外側±0.5 mm；前囟）和並將螺釘固定在顱骨中。使用與參考電極相同的技術，在頂葉皮質上放置兩個雙側有源記錄電極（後部-2.5 mm，外側±1.5；前囟）並將地腳螺釘固定在小腦上（後部-6.2 mm，外側±0.5；前囟）。暴露的顱骨、螺釘和所有金屬絲覆蓋在一層牙科黏固粉（SNAP，派克爾（Parkell））中，針頭固定在頭部上以便隨後記錄。在暴露的牙科黏固粉/針頭周圍縫合皮膚，使用組織膠（維特邦（Vetbond），3M）封閉切口的剩餘部分。該程序後，將小鼠置於溫熱腔室中以完全從麻醉中恢復，並單獨圈養在具有新鮮墊料、

水、食物和卡洛芬（Carprofen）（口服；5 g藥片的¼片；隨意）補充劑的監控籠中。在手術恢復三天後，使小鼠在記錄籠中習慣兩週，隨後在自由移動的小鼠中連續兩天進行未受擾動的EEG/EMG記錄。藉由P511K A.C.獲取雙側皮質EEG訊息。前置放大器（美國羅德島州沃威克的格拉斯-特利弗特儀器公司（Grass-Telefactor Instruments, Warwick, RI USA）），用BIOPAC MP150數位化，使用BIOPAC的AcqKnowlege 軟體以250 Hz的取樣速率數位記錄，並轉化為（.edf）格式用於分析。在MATLAB（邁斯沃克公司（MathWorks））中藉由1-30 Hz的帶通濾波器處理EEG以去除DC偏移和高頻雜訊。EEG/EMG記錄在10秒時段內對清醒、NREM和REM睡眠進行手動評分，以創建含有針對記錄受試者特定的混合-z評分變數的校準文件。將校準文件輸入MATLAB中基於機器學習的自動化睡眠評分程式AccuSleep中，以完成評分的剩餘部分。

【0348】使用PiezoSleep小鼠行為跟蹤系統（美國肯塔基州列克星敦市的訊息解決方案股份有限公司（Signal Solutions, LLC, Lexington, KY, USA））。非侵入式方法包括薄介電壓電感測器墊，其響應於其表面上壓力的即時波動的變化而生成電壓訊息。將小鼠單獨圈養，將壓電墊放在新鮮墊料的下面，可隨意獲得新鮮的水和食物，並在六天內無擾動地記錄。使用SleepStats軟體（美國肯塔基州列克星敦市的訊息解決方案股份有限公司）獲取數據。

【0349】體積分析：經由立體邏輯法藉由對從前囟-1.3 mm開始到前囟-3.1 mm間隔180 μm的切片（根據腦萎縮的嚴重程度，每隻小鼠16-18個切片）進行評估來進行海馬體、內嗅皮質/梨狀皮質和腦室的體積分析。將固定在載玻片上的30 μm切片機切割的切片短暫地浸入蒸餾水中，

然後在37°C下在預先溫熱的0.1%甲苯酚紫中溫育六分鐘。在這之後，將組織在蒸餾水中漂洗並依次轉移到70%、95%和100%乙醇中，每次兩分鐘。然後在二甲苯中清洗載玻片，最後用cytoseal60封片介質（賽默飛世爾科技公司）蓋上蓋玻片。使用濱松（Hamamatsu）的Nanozoomer顯微鏡以20X放大倍數掃描載玻片。使用NDP.view 2跟蹤海馬體、EC/PC和腦室。體積計算公式為體積=（面積之和）* 0.3 mm。

【0350】 神經元層厚度測量：藉由使用NDP.view 2繪製穿過細胞層的刻度線並計算每隻小鼠的平均值，在三個切片中測量齒狀顆粒和內嗅錐體細胞層。

【0351】 免疫組織化學分析：將自由漂浮的切片用含有1% TritonX100的TRIS緩衝鹽水（TBS-Tx）簡單洗滌，然後在室溫下用0.3%過氧化氫淬滅內源性過氧化酶20分鐘。短暫洗滌後，在室溫下用5%山羊血清封閉切片30分鐘，然後在生物素化AT8（磷酸化tau Ser202，Thr205；1：500，MN1020B，賽默飛世爾科技公司）或MC1（1：500，由Peter Davies博士惠贈）中，在4°C下進行一抗溫育過夜。第二天，短暫洗滌MC1染色的切片，並在室溫下在HRP綴合的二抗中溫育一小時。然後用3,3'-二胺基聯苯胺（DAB，西格瑪公司（Sigma））使AT8和MC1染色的組織分別顯影10分鐘和14分鐘。將組織切片固定在載玻片上並使用一系列濃度遞增的乙醇脫水，然後最終浸入二甲苯中並使用Cytoseal封片介質蓋上蓋玻片。使用濱松（Hamamatsu）的Nanozoomer顯微鏡以20X放大倍數掃描載玻片。

【0352】 免疫螢光染色：用PBS簡單洗滌自由漂浮的切片，並在室溫下在5%驢血清中封閉1小時。除非另有說明，否則將一抗稀釋於封閉緩

衝液中並在4°C下緩慢攪拌溫育過夜。如下使用一抗：IBA1（1：500；019-19741，富士膠片公司（Fujifilm）或NB100-1028，羅福斯生物製劑公司（Novus Biologicals））、CD68（1：00；FA-11，伯樂公司（BioRad））、P2RY12（在室溫下1：100，HPA013796，西格瑪奧德里奇公司（Sigma-Aldrich））、TMEM119（1：500；E3E1O，細胞傳訊技術公司（Cell Signaling Technology））、Clec7a（在室溫下1:50；mabg-mdect，英傑公司（InvivoGen））、GFAP（1:2000；2E1.E9 Alexa Flour 488綴合的，百進生物科技公司（BioLegend））、APOE（1：300；D7I9N，細胞傳訊技術公司）、PSD-95（1:200，51-6900，賽默飛世爾科技公司）、VGLUT1（1:200，AB5905，默克密理博公司（Merck Millipore））。第二天，洗滌切片並與在封閉緩衝液中稀釋的二抗一起溫育，接著與4′,6-二脒基-2-苯基吲哚（DAPI，5 μg/mL）一起溫育，然後將切片固定到載玻片上（Prolong™金抗褪色劑，賽默飛世爾科技公司）。

【0353】共焦成像和分析：使用Leica Stellaris 5共焦顯微鏡和Leica Application Suite X軟體（4.2.1.23810）獲取圖像。對於每種免疫染色的獲取，雷射和檢測器設置保持不變。對於所有分析，分別使用20x（Apo CS 10x/0.40乾）、40x（Apo CS 40.0x 1.25）和63x（Apo CS 63.0x 1.4油）微分干涉對比物鏡，以1024 × 1024像素解析度，15 μm z-步厚度拍攝每個腦區和載玻片的至少兩張圖像。對於對突觸成像，使用Leica Stellaris 8 Lightning，使用63x油浸物鏡產生基於自我調整解摺積的超分辨共焦圖像。使用Fiji（ImageJ）進行圖像分析。為了定量的可行性，將來自單個圖像堆疊的所有層投影到單個薄片上（堆疊\Z投影）。接

著，在Fiji中使用自動閾值方法分割小神經膠質細胞，並作為海馬體或內嗅皮質/梨狀皮質中被選擇的染劑覆蓋的%面積呈現。

【0354】蛋白質提取：將冷凍的小鼠海馬體組織稱重，並在子彈式攪拌均質機（下一進展公司（Next Advance））中，使用熔珠管，用補充有1x蛋白酶抑制劑（cOmplete™，羅氏公司（Roche））和1x磷酸酶抑制劑（PhosSTOP，羅氏公司）的200 µl RAB緩衝液pH 7.0（100mM MES、1 mM EGTA、0.5 mM MgSO4、750 mM NaCl、20 mM NaF、1 mM Na3VO4）勻化。將該勻漿在4°C下以5000×g離心五分鐘以沈澱RAB不溶性物質，並將上清液在Optima MAX-XP超速離心機（貝克曼庫爾特（Beckman Coulter））中用MLA-130轉子以50’000×g超速離心20分鐘以獲得RAB提取物。從剩餘的細胞沈澱中，用補充有蛋白酶和磷酸酶抑制劑的RIPA緩衝液pH 8.0（150 mM NaCl、50 mM TRIS、0.5%去氧膽酸、1% Triton-X 100、0.1%去氧膽酸鈉、5 mM EDTA、20 mM NaF、1 mM Na3VO4）提取蛋白質。在4°C下以5000×g清除RIPA不溶性物質五分鐘後，將上清液以50’000×g再次超速離心30分鐘以獲得RIPA可溶性蛋白質級分。將RIPA不溶性沈澱用冰冷的70%甲酸（FA）溶解並使用超音波振盪器（型號FB120，飛世爾科技公司（Fisher Scientific））在室溫下在短脈衝中以30%幅度超音波處理一分鐘，隨後在4°C下以50’000×g最終超速離心20分鐘。使用BCA測定（Pierce）測量RIPA級分的蛋白質濃度。將所有樣本等分並在-80°C下冷凍直至使用。

【0355】Tau ELISA：使用夾心ELISA測量RAB、RIPA和70% FA級分中的人tau和pTau，並如所述28將其相對於組織重量歸一化。總人tau和pTau的包被抗體分別為TAU-5（小鼠單株抗體，20 µg/ml）和HJ14.5

（小鼠單株抗體，20 μg/ml）。總人tau和pTau的捕獲抗體分別係HT7-生物素化抗體（MN1000B，賽默飛世爾科技公司）和AT8生物素化抗體（MN1020B，賽默飛世爾科技公司）。

【0356】 NFL濃度：用NF-Light Simoa測定優勢套組（kit），使用Quanterix測量血漿NFL濃度。按照製造商的說明進行測量。

【0357】 RNA提取：將冷凍的海馬體組織稱重，並在無RNA酶的熔珠管（REDE，下一進展公司）中在含有TRIzol™的氯仿中勻化。將樣本在4°C下以12'000xg離心15分鐘，並轉移水性上清液用RNeasy Mini套組（Qiagen）按照製造商的說明進行RNA分離。使用Bioanalyzer控制RNA品質，之後藉由Clontech SMARTer進行次世代定序。

【0358】 RNA定序和分析：根據文庫套組製造商的方案製備樣本，加索引，合併，並在依諾米那（Illumina）NovaSeq 6000上定序。用依諾米那的bcl2fastq軟體和定製python解複用程式進行基本調用和解複用，在索引讀段中最多有一個誤配。然後用STAR版本2.7.9a將RNA-seq讀段與Ensembl release 76主元件進行比對（Doblin等人）。藉由Subread:featureCount版本2.0.3從獨特比對的明確讀段的數目得到基因計數。用Salmon版本1.5.2定量已知Ensembl轉錄物的同種型表現。針對比對讀段的總數、獨特比對讀段的總數和檢測的特徵來評估定序性能。用RSeQC版本4.0定量核糖體評分、已知的接點飽和度和已知基因模型上的讀段分佈。然後將所有基因計數輸入R/Bioconductor包EdgeR中，並計算TMM歸一化大小因子以調整樣本的文庫大小差異。從進一步分析中排除核糖體基因和在最小組大小減去每百萬一個計數的樣本中未表現的基因。然後將TMM大小因子和計數矩陣輸入到R/Bioconductor包Limma中。然

後用voomWithQualityWeights函數對所有樣本計算基於每個基因和樣本的觀察到的均值-變異數關係的加權似然，並使用Limma廣義線性模型擬合，該模型具有藉由替代變數分析（SVA）確定的另外的未知潛在效應。所有基因的性能用每個基因的殘差標準差與它們的平均對數計數的圖來評估，其中殘差的趨勢線非常擬合。然後進行差異表現分析以分析條件之間的差異，並且僅對那些Benjamini-Hochberg偽發現率調整的p值小於或等於0.05的基因過濾結果。

【0359】對於用Limma提取的每個對照，使用R/Bioconductor包GAGE9檢測已知基因本體（GO）術語、MSigDb和KEGG途徑中的全域干擾，以測試Limma在每個術語中報告的所報告log2倍數變化相對於在相應術語外發現的所有基因的背景log2倍數變化的表現變化。R/Bioconductor包heatmap3用於顯示每個GO或MSigDb術語的樣本組之間的熱圖，其中Benjamini-Hochberg偽發現率調整的p值小於或等於0.05。用R/Bioconductor包Pathview將受干擾的KEGG途徑呈現為帶注釋的KEGG圖，其中觀察到的術語內基因的log2倍數變化在單一方向上相對於背景或在任何方向上與給定術語內的其他基因相比受到顯著干擾，p值小於或等於0.05。

【0360】為了找到最關鍵的基因，然後用R/Bioconductor包WGCNA藉由加權基因相關網路分析來分析Limma voomWithQualityWeights轉化的log2每百萬計數表現數據。易言之，所有基因藉由皮爾森相關性相互關聯，並使用從數據憑經驗確定的冪閾值按表現相似性聚類成無符號的模組。然後為每個從頭聚類創建特徵基因，然後將其表現譜與模型矩陣的所有係數相關。因為該等基因聚類係藉由表現

譜而不是已知的功能相似性創建的，所以給予該等聚類別模組隨機顏色的名稱，其中灰色係具有任何預先存在的包含與其他基因不能很好地聚類的基因的定義的唯一模組。然後用可在R/Bioconductor包clusterProfiler中獲得的超幾何測試來測試該等從頭聚類基因的已知GO術語的功能增濃。然後按相似性將Benjamini-Hochberg調整的p值小於0.05的有效術語壓縮成clusterProfiler類別網路圖，以顯示hub基因的每個模組的最有效的術語，從而內插每個有效模組的功能。然後將每個模組的所有聚類基因的資訊與它們各自的來自Limma的統計學顯著性結果組合，以確定是否也發現該等特徵顯著差異表現。

【0361】 統計分析：使用Graphpad Prism 8.0進行所有統計分析。除非另有說明，否則數據以平均值±SEM呈現。使用Shapiro-Wilk方法、D'Agostino和Pearson常態性檢定以及KS常態性檢定檢查數據的常態性。除非另有說明，否則具有常態分佈數據的組之間的統計學顯著性藉由非配對T-檢驗或雙因子變異數分析隨後藉由用於逐組比較的Tukey事後檢驗來計算。P小於0.05視為顯著：*p < 0.05，**p < 0.01，及***p < 0.001。

實例3：萊博雷生和多慮平在Aβ負荷模型中的作用

A. 睡眠-清醒行為

【0362】 在投與多慮平或萊博雷生後在APPswe/PS1deltaE9（也稱為「PSAPP」）小鼠中評估睡眠變化。易言之，將4-5月齡PSAPP小鼠（混合性別）單獨圈養，並將籠子置於訊息解決方案公司壓電睡眠監測底座（Adapt-A-Base）上。監測睡眠-清醒行為7天，同時每天在ZT 0（亮燈）時用媒介物、多慮平35 mg/kg或萊博雷生（10或30 mg/kg）經口管飼治療小鼠。

【0363】 圖9A示出了實驗設計的示意圖及多慮平和萊博雷生對總睡眠（圖9B）、明亮期睡眠（圖9C）和黑暗期睡眠（圖9D）的影響的圖表。示出了來自單因子變異數分析的P值。每個點代表一隻小鼠。圖9E示出了藥物注射後一天中的時間點的睡眠百分比。P值來自雙因子重複測量變異數分析。

【0364】 數據指示，萊博雷生和多慮平各自增加PSAPP小鼠的總睡眠時間，並且在用每種藥物治療後效果類似。值得注意的是，DOX誘導的睡眠遍佈整天，而LEM誘導的睡眠限於明亮期（小鼠的自然休息期）。

B. 類澱粉蛋白斑塊沈積

【0365】 向PSAPP小鼠長期投與萊博雷生或多慮平，以確定每種藥物對類澱粉蛋白斑塊沈積的長期作用。每週6天在ZT0（亮燈）時用藥物經口管飼治療PSAPP小鼠1.5個月。

【0366】 圖10A示出了PSAPP小鼠治療時間的示意圖。雌性更快/更年輕發展斑塊，因此雄性和雌性交錯排列以允許數據的組合。圖10B示出了用X34染色的腦切片的代表性圖像，其標記原纖維狀類澱粉蛋白斑塊。圖10C示出不同腦區（海馬體、體運動皮質、體感皮質和梨狀皮質）中斑塊負荷（X34染色面積%）的定量。誤差線指示平均值±SEM，每個點係一隻小鼠。示出了來自單因子變異數分析的P值。數據指示萊博雷生的長期投與降低了PSAPP小鼠中原纖維狀類澱粉蛋白斑塊負荷，而多慮平卻沒有。對於萊博雷生觀察到作用的劑量響應。

【0367】 圖11顯示長期萊博雷生比多慮平更有效地減少PSAPP小鼠中的總類澱粉蛋白斑塊負荷。圖11A示出了使用抗Aβ抗體HJ3.4對總類澱

粉蛋白斑塊負荷染色的腦切片。圖11B示出了不同腦區（海馬體、體運動皮質、體感皮質和梨狀皮質）中斑塊負荷的定量（作為顯示出HJ3.4染色的面積%測量）。誤差線指示平均值±SEM，每個點係一隻小鼠。示出了來自單因子變異數分析的P值。

【0368】 總的來說，數據顯示，萊博雷生減少PSAPP小鼠中的總類澱粉蛋白斑塊負荷（包括彌漫性和原纖維狀斑塊）。多慮平還顯著降低總類澱粉蛋白負荷，但不降低原纖維狀斑塊負荷，並且不會降低到與萊博雷生（30 mg/kg劑量）相同的程度，因為僅萊博雷生（30 mg/kg劑量）在梨狀皮質中顯示出顯著作用。

【0369】 與多慮平相比，萊博雷生的不同響應表明對斑塊發展的影響可與這兩種藥物誘導的類似睡眠影響分開。

C. 類澱粉蛋白加工

【0370】 為了確定萊博雷生和多慮平是否影響類澱粉蛋白加工，從用任一種藥物治療的PSAPP小鼠獲得皮質裂解物，並藉由西方墨點法測量全長APP和APP C端片段（CTF）的水平。圖12A示出了用β-微管蛋白作為上樣對照的代表性西方墨點法。圖12B示出了條帶強度的定量。誤差線指示平均值±SEM，每個點係一隻小鼠。示出了來自單因子變異數分析的P值。

【0371】 結果顯示，萊博雷生和多慮平都不改變PSAPP小鼠中的APP加工/裂解。

D. 類澱粉蛋白斑塊的大小和斑塊周圍小神經膠質細胞的數目

【0372】 在投與萊博雷生或多慮平之後，確定PSAPP小鼠中類澱粉蛋白斑塊周圍的小神經膠質細胞的數目。對來自PSAPP小鼠的腦切片進行

斑塊（使用X34）和小神經膠質細胞（使用Iba1）染色。選擇所有小鼠中大小大致相同的斑塊。使用Imaris軟體由共焦圖像的Z-堆疊計算每個斑塊周圍的小神經膠質細胞體積。圖13A示出了在投與萊博雷生或多慮平之後從PSAPP小鼠獲得的腦切片的代表性圖像。圖13B示出了斑塊體積（指示在不同條件下對相似大小的斑塊進行定量）和斑周Iba1體積的定量。誤差線指示平均值±SEM，每個點係一隻小鼠。示出了來自單因子變異數分析的P值。

【0373】 結果表明，在投與萊博雷生或多慮平之後，斑塊周圍小神經膠質細胞的數目不變。

E. 原纖維狀類澱粉蛋白斑塊周圍小神經膠質細胞的吞噬亞型

【0374】 為了確定原纖維狀類澱粉蛋白斑塊周圍的小神經膠質細胞的亞型，在投與萊博雷生或多慮平之後確定PSAPP小鼠的小神經膠質細胞中的CD68表現。來自PSAPP小鼠的腦切片用原纖維狀斑塊（X34）、小神經膠質細胞（Iba1）和吞噬體（CD68）的標誌物染色。圖14A示出了腦切片的代表性圖像。圖14B示出了使用Imaris軟體獲得的每個斑塊周圍Iba1共定位的CD68的定量。誤差線表示平均值±SEM，每個點係來自單隻小鼠的8-10個斑塊的平均值。示出了來自單因子變異數分析的P值。

【0375】 結果表明，投與萊博雷生而不是多慮平增加了原纖維狀類澱粉蛋白斑塊周圍的小神經膠質細胞的吞噬亞型。小神經膠質細胞總計數就面積密度而言不變，並且共定位至斑塊的小神經膠質細胞的總數不變。圖14C示出了Iba1+體積，圖14D示出了共定位的Iba1+和CD68+（作為Iba1+染色的百分比），圖14E示出了共定位的Iba1+和CD68+。斑塊周圍小神經膠質細胞中增加的CD68指示增加的吞噬活化。

F. 基因表現

【0376】 為了鑒定向PSAPP小鼠投與萊博雷生或多慮平後基因表現的變化，對來自小鼠的皮質組織進行qPCR陣列。圖15係顯示出表現的顯著差異的三種轉錄物的定量圖。*Ifnb1*編碼炎性介質IFN-β，其牽涉AD中的小神經膠質細胞調控。*Rab5a*編碼溶酶體蛋白，並且*Mmp-2*編碼已顯示會降解Aβ的金屬蛋白酶。數據顯示為倍數變化（相對於媒介物（VEH）的平均值）。誤差線指示平均值±SEM，每個點係單隻小鼠。示出了來自單因子變異數分析的P值。

【0377】 結果顯示，在投與萊博雷生後，PSAPP小鼠中與Aβ降解相關的基因上調。多慮平治療組中的基因表現變化不顯著。

G. 主動吞噬類澱粉蛋白斑塊的小神經膠質細胞的數目

【0378】 在PSAPP小鼠中評估萊博雷生對小神經膠質細胞類澱粉蛋白斑塊吞噬作用的影響。圖16A示出了實驗設計的示意圖（Lau等人，STAR Protoc. [STAR方案] 2021）。易言之，5月齡的PSAPP小鼠每天用媒介物（Veh）或萊博雷生（LEM）30 mg/kg藉由經口管飼治療7天。在治療後第7天，經由腹膜內（i.p.）注射甲氧基-X04（MX04）在體內標記類澱粉蛋白斑塊。三小時後，處死小鼠並從腦中分離小神經膠質細胞並進行流動式細胞分析術。圖16B示出了分離可能的小神經膠質細胞的流動式細胞分析術門控策略。在側面和正向散射門控以鑒定活的單細胞後，分離CD45-低、CD11b+群體作為可能的小神經膠質細胞。圖16C示出對該細胞群體的甲氧基-X04陽性的分析。圖16D示出MX04+小神經膠質細胞百分比的定量，指示吞噬了標記的類澱粉蛋白的小神經膠質細胞。藉由雙尾T檢驗，P = 0.0207。

【0379】結果顯示LEM治療在體內急性增加小神經膠質細胞類澱粉蛋白斑塊吞噬作用。在缺乏類澱粉蛋白斑塊的野生型小鼠中沒有觀察到MX04+細胞。相反，在媒介物治療的PSAPP小鼠中1.8%的小神經膠質細胞攝取MX04，而在LEM治療組中3.75%的小神經膠質細胞攝取MX04。

H. 老齡受試者中的類澱粉蛋白斑塊沈積

【0380】在老齡PSAPP小鼠中評估投與萊博雷生的作用。圖17A示出了實驗設計的示意圖。易言之，具有類澱粉蛋白斑塊的9月齡的PSAPP小鼠每天用媒介物（Veh）或萊博雷生（LEM，30 mg/kg）治療30天。在治療第1天，經由腹膜內（i.p.）注射甲氧基-X04（MX04）在體內標記現存的斑塊。治療30天後，處死小鼠並且所有斑塊用噻吩紅標記，噻吩紅類似於X34並結合原纖維狀類澱粉蛋白。藉由在逐斑塊的基礎上比較MX04體積與噻吩紅體積來計算30天治療期間的斑塊生長。圖17B示出了MX04、噻吩紅和重疊圖像的代表性圖像。圖17D示出了其中每隻小鼠分析至少10個斑塊的圖表，並且在圖表上用每個圓圈示出每隻小鼠的平均值。LEM治療組在30天治療期間顯示出減少斑塊生長量的趨勢。由於數據的非高斯分佈，P值來自曼-惠特尼U檢驗。圖17C示出了用X34標記的類澱粉蛋白斑塊、用IBA1標記的小神經膠質細胞和用CD68標記的小神經膠質細胞吞噬體的代表性圖像。計算每個類澱粉蛋白斑塊的20 μm球體內的IBA1-CD68共定位體積以確定斑周小神經膠質細胞CD68表現。圖17E示出了共定位的IBA1-CD68的定量，顯示為總IBA1（總小神經膠質細胞）面積的百分比。每個圓圈代表單隻小鼠的平均值，每隻小鼠定量10個斑塊。在圖17D和圖17E中，藉由雙尾t檢驗分析VEH和LEM治療組之間的比較。

【0381】 還在老齡PSAPP小鼠中評估投與多慮平的作用。萊博雷生或多慮平給藥都不導致老齡小鼠中總斑塊數目的顯著變化。在斑塊體積、IBA1+細胞、IBA1體積和IBA1-CD68的共定位中觀察到類似沒有顯著變化。

【0382】 最後，藉由測量突觸前末端的BACE1升高來定量類澱粉蛋白斑塊周圍的營養不良性神經突體積。萊博雷生或多慮平給藥都不會導致營養不良性神經突體積的顯著變化。

【0383】 圖17F和圖17G中示出了多慮平投與對斑塊生長和類澱粉蛋白斑塊周圍的吞噬性小神經膠質細胞的影響以及投與萊博雷生的數據。在圖17F和圖17G中，藉由單因子變異數分析對VEH、DOX和萊博雷生治療組的比較進行分析。

【0384】 總的來說，結果顯示萊博雷生和多慮平各自在具有預先存在的斑塊的老齡小鼠中顯示出減緩類澱粉蛋白斑塊生長的趨勢。每種藥物增加老齡小鼠中類澱粉蛋白斑塊周圍的吞噬性小神經膠質細胞。萊博雷生，而不是多慮平，也在幼齡小鼠中顯示出對吞噬性小神經膠質細胞的這種影響。萊博雷生和多慮平對清除老齡小鼠中已建立的斑塊的影響小於對預防幼齡小鼠中斑塊積聚的影響。

I. 方法

a. 動物

【0385】 將雄性和雌性APPswe/PS1deltaE9（PSAPP）小鼠用於所有實驗。

【0386】 APP/PS1係表現嵌合小鼠/人類澱粉蛋白先質蛋白（Mo/HuAPP695swe）和突變體人早老素1（PS1-dE9）的雙轉基因小

鼠，兩種蛋白均針對CNS神經元。

b. 用於測量睡眠-清醒行為的方法

【0387】 每天在ZT0向5月齡APPswe/PS1deltaE9（PSAPP）小鼠口服給藥VEH、LEM（10 mg/kg/天或30 mg/kg/天）或DOX（35 mg/kg/天），持續6天。使用非侵入性壓電系統Adapt-A-Base（訊息解決方案公司）確定睡眠狀態和清醒狀態。將小鼠單獨圈養在置於隔音避光櫃（Circadian櫃，時鐘實驗室（ClockLab））中的壓電感測器底座上的籠中，並在7天內無擾動地記錄。在記錄開始時，每個籠配有160 g玉米芯墊料、220 g食物球粒和380 mL水，使得除了小鼠體重之間的微小變異性之外，每個籠的重量相同。藉由SleepStats 軟體（訊息解決方案公司）分析睡眠-清醒狀態。按照當前版本的SleepStats軟體中製造商的預設設置，使用30秒時段對睡眠發作長度進行評分。

c. 評估長期投與萊博雷生或多慮平對類澱粉蛋白斑塊沈積的影響的方法

【0388】 每天在ZT0向幼齡PSAPP小鼠（3月齡的雌性和3.5月齡的雄性）口服（p.o.）給藥VEH、LEM（10 mg/kg/天或30 mg/kg/天）或DOX（35 mg/kg/天），持續6週。隨後，分別在4.5個月和5個月時對雌性和雄性小鼠進行灌注。提取腦並處理用於IHC/IF、總轉錄本學或蛋白質組學分析。

d. 評估萊博雷生和多慮平對小神經膠質細胞Aβ吞噬活性的影響的方法

【0389】 每天在ZT0向5月齡的PSAPP小鼠給藥VEH或LEM（30 mg/kg/天），持續7天。在第7天，小鼠腹膜內注射甲氧基X-04（MX-04，10 mg/kg）以對體內斑塊進行標記。MX04注射後3小時對小鼠進行灌注，並且處理腦用於流動式細胞分析術測定以估計MX-04陽性小神經膠

質細胞。

e. 評估LEM對老齡PSAPP小鼠中類澱粉蛋白斑塊沈積的影響的方法

【0390】向9月齡的PSAPP小鼠腹膜內（i.p.）注射甲氧基X-04（MX-04，10 mg/kg）以標記體內斑塊，並且每天在ZT0口服給藥VEH或LEM（30 mg/kg/天），持續4週。在10個月時對小鼠進行灌注，提取腦並處理用於IHC/IF分析。固定的腦切片用噻吩紅染色並與MX-04染色比較以估計斑塊生長。

f. 藥物

【0391】在ZT0（亮燈）向小鼠口服給藥媒介物（VEH）、多慮平（DOX，開曼化學（Cayman Chemical）#15888，溶解於PBS中）或萊博雷生（LEM，懸浮於0.5%甲基纖維素中）。每天給予VEH小鼠類似體積的媒介物。在管飼之前立即將22號經口管飼針的尖端浸入100%蔗糖溶液中。腹膜內注射甲氧基X-04（托克瑞思（Tocris）#4920，10 mg/kg）進行時間戳記實驗和分析小神經膠質細胞吞噬活性。

g. IHC/IF：

【0392】所有小鼠在ZT5和ZT7（1100和1300小時）之間進行灌注。將小鼠經腹膜內用戊巴比妥（150 mg/kg）深度麻醉，然後用含有3 g/l肝素的冰冷的杜爾貝科改良PBS（DPBS）經心臟灌注。小心提取腦並將左半球在4%多聚甲醛中後固定48小時（4°C），然後用30%蔗糖的PBS溶液冷凍保護（4°C）24小時。然後在冷凍滑動切片機（SM1020R；萊卡公司（Leica））將腦切片成40 μm連續冠狀切片並儲存在冷凍保護劑溶液（30%乙二醇、15%蔗糖、15%磷酸鹽緩衝液的ddH20溶液）中。對於生物化學分析，解剖右半球以分離皮質和海馬體，快速冷凍，並保持在-

80°C下直至分析。

【0393】 用X-34染料（SML-1954，1：5,000；密理博西格瑪公司（MilliporeSigma））或噻吩紅對原纖維狀Aβ染色。對於X-34染色，將自由漂浮的切片在PBS中洗滌3次，每次5分鐘，然後在0.25% Triton X-100 PBS（PBS-X）中透化30分鐘。然後將組織切片在X34-0.1M NaOH中溫育20分鐘，在X34緩衝液（40% EtOH的PBS溶液）中洗滌，然後在PBS中洗滌兩次。對於總Aβ的染色（HJ3.4生物素化、抗Aβ1-13、小鼠單株抗體，1：1,000，2.81 μg/mL；內部生成），將切片在TBS中洗滌3次，然後在0.3%過氧化氫中溫育10分鐘。將切片在TBS中再洗滌3次，然後在稀釋於TBS+0.25% Triton X-100中的3%乳中封閉30分鐘。將切片在4°C下在TBS + 0.25% Triton X-100 + 1%乳中的生物素化HJ3.4中溫育過夜。第二天，洗滌切片，然後使用ABC Elite（Vector PK-6100）顯影60分鐘。然後將切片在作為色素原的3,3-二胺基聯苯胺（DAB，西格瑪-奧德里奇（Sigma-Aldrich））和作為底物的0.05%過氧化氫中溫育，並在使用Cytoseal 60（8310；賽默飛世爾科技公司）蓋上蓋玻片之前脫水。

【0394】 對於用IBA1（山羊，Abcam ab5076，1：500）或CD68（大鼠，BioRad MCA1957，1：500）的免疫螢光（IF）染色，將切片在TBS中洗滌3次，在含有3%驢血清的TBSX（TBS+ 0.4% Triton X-100）中封閉60分鐘，並在4°C下在稀釋於含有1%驢血清的TBSX中之一抗中溫育過夜。然後將切片在室溫下在具有1：1000驢螢光二抗的PBSX（或TBSX）中溫育1小時。將切片封片，在Fluoromount-G（0100-01；南方生物技術公司（SouthernBiotech））中密封，並在4°C下在黑暗中儲存直至成像。

h. 成像

【0395】 落射螢光成像：所有螢光成像都在Keyence BZ-X810顯微鏡上進行。通常，在對組織進行檢查之後，為每個佇列的樣本選擇雷射強度和曝光時間，以便選擇適當的參數，然後該等參數對於所有載玻片而言可以在該成像階段中保持不變。該等值隨抗體而變化，但給定佇列中的所有切片在相同條件下以相同放大倍數成像。使用BZ-X800分析儀程式（基恩士公司（Keyence Corp.））處理圖像，並使用Fiji 2.1.0版（NIH）定量。在每隻小鼠的2-3個切片中定量所有面積。

【0396】 共焦成像和分析：選擇位於皮質灰質中並完全包含在切片厚度內的斑塊用於成像。使用Zeiss LSM-980 Airyscan 2共焦顯微鏡和ZEN軟體（v 3.7，藍色版）以0.26 μm z-步以順序模式獲取16位元圖像堆疊。在所有實驗中使用均勻針孔、雷射功率和PMT檢測器增益設置。對於所有分析，使用40×油浸物鏡以最小1,024 × 1,024解析度對每個腦區和載玻片拍攝至少2張圖像。使用MATLAB和Imaris 10.0.1軟體（比特普蘭公司（Bitplane））在半自動平臺上對X34+斑塊周圍的IBA1和CD68體積的共焦圖像進行定量。為了基於應用於所有圖像的閾值創建每種染色的表面，將X34+表面擴大20 μm並與各種免疫染色的表面共定位。然後將IBA1+和CD68+表面積共定位在斑塊周圍的20 μm延伸殼內。為了定量斑塊相關的IBA1+小神經膠質細胞的數目，在所有圖像上應用閾值以將斑塊分配給每個細胞體或點。X34表面擴大至20 μm，對X34+擴大表面內的斑點進行計數。分析中包括完全在延伸表面內或部分接觸延伸表面的任何斑點。

i. 西方墨點法

【0397】在冰上在含有完全蛋白酶抑制劑和PhosSTOP磷酸酶抑制劑（羅氏公司）的放射免疫沈澱（RIPA）緩衝液（Pierce，賽默科技公司（Thermo Scientific））中藉由超音波處理來勻化組織樣本。使用Invitrogen Novex凝膠和試劑進行PAGE和西方墨點法分析。使用Lumigen TMA-6化學發光試劑在iBright CL1500成像系統（賽默公司）上使條帶視覺化。使用Fiji軟體（NIH）定量條帶強度，並相對於β-微管蛋白上樣對照進行歸一化。

j. 統計數據

【0398】進行統計檢驗並使用GraphPad Prizm軟體9.0.1版繪製圖表。使用效力分析確定結局測量值的變異性，並估計檢驗零假設所需的觀察次數。所有圖示均顯示平均值（採用橫條圖）、條內的各個數據點和描繪SEM的誤差槓。對於實驗1和實驗2，進行單因子變異數分析。如果主要效應顯著，則進行以下事後多重比較檢驗：Tukey（對於相等的組大小）或Tukey-Kramer（對於不相等的組大小）。對於實驗3和實驗4，首先對具有單個因變數和2個組的數據集進行F檢驗，以確定變異數是否顯著不同。如果沒有顯著不同，則進行雙尾非配對t檢驗。如果變異數不同，則進行非參數曼-惠特尼U檢驗。使用Grubbs檢驗識別離群值並將其排除。所有P值均在圖中標出。

實例4：對節律性活動模式的影響

【0399】在無節律的Bmal1敲除（KO）小鼠中評價投與萊博雷生對節律性活動模式的影響，以便評估萊博雷生對缺乏功能時鐘的小鼠的恢復作用。Bmal1 KO小鼠缺乏功能時鐘並因此在持續黑暗（DD條件）中喪失其24小時節律。Bmal1 KO小鼠的無節律行為在正常的12小時明亮:12小時

黑暗週期（L:D條件）中被掩蓋。

【0400】對照（Cre-）或Bmal1 KO（CAG-CreERT2；Bmal1（f/f））小鼠用他莫昔芬處理以使Bmal1缺失。一個月後，在12h:12h L:D條件（黃色區域）或持續黑暗（DD條件）下記錄紅外線活動記錄。在上午6點（先前的ZT 0）藉由經口管飼向小鼠投與30 mg/kg劑量的萊博雷生（LEM），持續9天（由紅色條和紅色箭頭指示）。停止給藥後再收集2週的活動記錄。圖18A示出了對照和Bmal1敲除小鼠的代表性活動度圖。圖18B係在實驗不同部分期間的活動度圖端點的定量（在圖18A中，LD指示在黃色區域期間，DD+LEM係具有紅色條的區域，而DD係記錄的其餘部分）。藉由雙因子變異數分析和Tukey事後檢驗分析數據。

【0401】結果表明，在所有條件（LD、DD+LEM和DD）下，Bmal1敲除小鼠比野生型小鼠顯示出更大的日間活動。Bmal1 KO小鼠，當它們每天在CT0給予萊博雷生時，能夠在DD條件下維持類似於LD的運動活動（CT0類似於DD條件下的ZT0）。在所有條件下，相對幅度在Bmal1敲除小鼠中更低，相對幅度指示在最活躍的10小時中的平均活動與在最不活躍的5小時中的平均活動的比率。通常，較高的相對幅度與穩定的節律相關。在所有條件下，度量每日24小時節律之間的同步化的日間穩定性（IS）在Bmal1敲除小鼠中較低。高IS指示節律的良好同步。

等同形式和範圍

【0402】熟悉該項技術者將認識到，或僅僅使用常規實驗就能夠確定根據本文提供的實施方式的特定實施方式的許多等同形式。本揭露之範圍並非旨在限於以上實施方式，而是如所附申請專利範圍中所述。

【0403】當給出範圍時，包括端點。此外，應理解除非另有指示或

另外從上下文和熟悉該項技術者的理解中顯而易見，除非上下文另外清楚地指示，否則表示為範圍的值可以假定在本揭露之不同實施方式中規定範圍內的任何具體值或子範圍，至該範圍下限的單位的十分之一。

【0404】 另外，應理解落在先前技術之內的本揭露之任何特定實施方式可以從任何一項或多項請求項中明確排除。因為此類實施方式被視為對於熟悉該項技術者係已知的，因此它們可以被排除，即使該排除在本文沒有明確闡述。本揭露之組成物的任何特定實施方式（例如，任何組成物、治療或活性成分；任何生產方法；任何使用方法；等等）可以出於任何原因從任何一項或多項請求項中排除，無論是否涉及先前技術的存在。

【0405】 應當理解，已經使用的詞語係描述性的詞語而不是限制性的詞語，並且可以在所附申請專利範圍的範圍內進行變化，而不背離本揭露在其更寬方面的真實範圍和精神。

【0406】 雖然已經相對於描述的幾個實施方式相當詳細地以一定特殊性描述了本揭露，但是並不意圖應該將本揭露限於任何此類細節或實施方式或任何特定的實施方式，而是參考所附申請專利範圍來對其進行解釋，以便按照本領域的觀點來提供對此類請求項的最廣泛的可能解釋，以有效地涵蓋本揭露之預期範圍。

【0407】 將所有出版物、專利申請書、專利和本文提及的其他參考文獻藉由援引以其全文併入。在發生衝突的情況下，以本說明書（包括定義）為準。另外，章節標題、材料、方法和實例僅為說明性的，而無意為限制性的。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種用於治療患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的AD的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物，從而治療AD。

【請求項2】

如請求項1之方法，其中治療AD包括減少和/或減緩認知下降。

【請求項3】

如請求項1之方法，其中治療AD包括影響AD病理的至少一種標誌物的變化（例如，減緩、延遲或減少）。

【請求項4】

如請求項3之方法，其中該標誌物係tau的磷酸化水平、神經退化、小神經膠質細胞響應的變化和/或Aβ斑塊的存在。

【請求項5】

如請求項4之方法，其中該標誌物存在於該受試者的腦區中。

【請求項6】

如請求項5之方法，其中該腦區係海馬體、體運動皮質、體感皮質、梨狀皮質和/或內嗅皮質。

【請求項7】

如請求項4之方法，其中在該受試者的體液中檢測該標誌物。

【請求項8】

如請求項7之方法，其中該體液係血液或腦脊液（CSF）。

【請求項9】

如請求項1之方法，其中該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。

【請求項10】

如請求項1之方法，其中該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。

【請求項11】

如請求項1之方法，其中該受試者呈類澱粉蛋白陽性。

【請求項12】

如請求項11之方法，其中該受試者處於進一步Aβ積聚的風險中。

【請求項13】

如請求項12之方法，其中該受試者為ApoE4攜帶者。

【請求項14】

如請求項12之方法，其中該受試者具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，20-40百分制單位）。

【請求項15】

如請求項12之方法，其中該受試者具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。

【請求項16】

如請求項1之方法，其中該受試者基於腦成像、認知功能和/或生物標誌物標準，已被診斷為患有AD。

【請求項17】

如請求項16之方法，其中該受試者患有早期AD。

【請求項18】

如請求項16之方法，其中該受試者患有前期AD。

【請求項19】

一種減少或維持患有AD或處於發展AD的風險中的受試者中的tau（例如，減少或維持tau，或延遲tau積聚、tau磷酸化和/或tau擴散，或減緩該等中之任一項的速率）的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生，其中該治療有效量對該受試者中的tau而言足夠。

【請求項20】

如請求項19之方法，其中該受試者呈類澱粉蛋白陰性。

【請求項21】

如請求項19之方法，其中tau水平相對於參考降低或維持。

【請求項22】

如請求項19之方法，其中該方法包括與參考相比，減少和/或延遲tau積聚和/或tau擴散，和/或減緩其速率。

【請求項23】

如請求項22之方法，其中該參考係來自治療前的該受試者的基線測量值。

【請求項24】

如請求項22之方法，其中該參考係來自對照受試者的基線測量值。

【請求項25】

如請求項22之方法，其中該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【請求項26】

如請求項19之方法，其中該方法包括改變該受試者的腦區中的tau。

【請求項27】

如請求項19之方法，其中該方法包括改變該受試者的腦區中的tau PET訊息。

【請求項28】

如請求項27之方法，其中該腦區係海馬體、內嗅皮質和/或梨狀皮質。

【請求項29】

如請求項19之方法，其中該方法包括減少該受試者的體液中的tau。

【請求項30】

如請求項29之方法，其中該體液係血液或CSF。

【請求項31】

如請求項19之方法，其中該tau係總tau。

【請求項32】

如請求項19之方法，其中該tau係不溶性tau。

【請求項33】

如請求項19之方法，其中該tau係聚集的tau。

【請求項34】

如請求項19之方法，其中該tau係tau的磷酸化形式（磷酸化tau）。

【請求項35】

如請求項34之方法，其中該磷酸化tau在T181、T217、S202、S205或T231中之一者或多者上磷酸化。

【請求項36】

如請求項34之方法，其中該方法包括改變磷酸化tau與總tau的比率。

【請求項37】

如請求項36之方法，其中該磷酸化tau與總tau的比率與投與萊博雷生之前該受試者的CSF磷酸化tau與總tau的比率相比降低。

【請求項38】

如請求項36之方法，其中該磷酸化tau與總tau的比率維持在投與萊博雷生之前該受試者的磷酸化tau與總tau的比率的10%以內。

【請求項39】

如請求項34之方法，該方法包括增加磷酸化tau的去磷酸化速率。

【請求項40】

如請求項34之方法，該方法包括降低tau的磷酸化速率。

【請求項41】

如請求項19之方法，該方法包括在投與第一劑量的萊博雷生48小時內減少或維持tau。

【請求項42】

如請求項34之方法，其中該方法包括減少海馬體、內嗅皮質和/或梨狀皮質中的磷酸化tau。

【請求項43】

一種改變患有AD或處於發展AD的風險中的受試者的神經退化（例如，減少和/或延遲神經退化，和/或減緩其速率）的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物，其中該治療有效量足以改變該受試者的神經退化。

【請求項44】

如請求項43之方法，其中該受試者呈類澱粉蛋白陰性。

【請求項45】

如請求項43之方法，其中改變神經退化包括與參考相比減少和/或延遲神經退化，和/或減緩其速率。

【請求項46】

如請求項43之方法，其中該神經退化相對於參考改變。

【請求項47】

如請求項46之方法，其中該參考係來自治療前的該受試者的基線測量值。

【請求項48】

如請求項46之方法，其中該參考係來自對照受試者的基線測量值。

【請求項49】

如請求項46之方法，其中該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【請求項50】

如請求項43之方法，其中該神經退化的特徵在於皮質厚度和海馬體體積中之至少一者的損失。

【請求項51】

如請求項50之方法，其中改變神經退化包括維持皮質厚度和/或海馬體體積或減緩皮質厚度和/或海馬體體積的損失。

【請求項52】

如請求項43之方法，其中該神經退化的特徵在於皮質中的錐體神經元、海馬體中的錐體神經元或海馬體中的顆粒細胞中之至少一者的損失。

【請求項53】

如請求項52之方法，其中改變神經退化包括維持錐體神經元和/或顆

粒細胞或減少錐體神經元和/或顆粒細胞的損失。

【請求項54】

如請求項43之方法，其中改變神經退化包括降低神經退化的速率。

【請求項55】

如請求項43之方法，其中改變神經退化包括改變神經絲輕鏈（NfL）水平。

【請求項56】

如請求項55之方法，該方法包括改變該受試者的血液和/或CSF中的NfL水平。

【請求項57】

一種改變患有AD或處於發展AD的風險中的受試者中的Aβ斑塊（例如，減少或延遲Aβ斑塊的形成，和/或減緩其生長速率）的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物，其中該治療有效量足以改變該受試者中的Aβ斑塊。

【請求項58】

如請求項57之方法，其中該等Aβ斑塊相對於參考改變。

【請求項59】

如請求項58之方法，其中改變Aβ斑塊包括與參考相比減少和/或延遲Aβ斑塊的形成，和/或減緩其速率。

【請求項60】

如請求項58之方法，其中該參考係來自治療前的該受試者的基線測量值。

【請求項61】

如請求項58之方法，其中該參考係來自對照受試者的基線測量值。

【請求項62】

如請求項58之方法，其中該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【請求項63】

如請求項57之方法，其中該等Aβ斑塊係原纖維狀斑塊。

【請求項64】

如請求項57之方法，其中該等Aβ斑塊為所有斑塊。

【請求項65】

如請求項57之方法，其中改變Aβ斑塊包括減少Aβ斑塊的生長。

【請求項66】

如請求項65之方法，該方法包括減少該受試者的海馬體、該受試者的體運動皮質、體感皮質和/或梨狀皮質中Aβ斑塊的生長。

【請求項67】

如請求項57之方法，其中改變Aβ斑塊包括改變從該受試者的腦區獲得的類澱粉蛋白PET訊息。

【請求項68】

如請求項57之方法，其中改變Aβ斑塊對應於該受試者的CSF中Aβ濃度的降低。

【請求項69】

如請求項68之方法，其中該Aβ係Aβ38、Aβ40和/或Aβ42。

【請求項70】

如請求項57之方法，該方法包括在投與第一劑量的萊博雷生48小時

內改變Aβ斑塊。

【請求項71】

如請求項57之方法，其中該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。

【請求項72】

如請求項57之方法，其中該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。

【請求項73】

如請求項57之方法，其中該受試者處於進一步Aβ積聚的風險中。

【請求項74】

如請求項73之方法，其中該受試者為ApoE4攜帶者。

【請求項75】

如請求項73之方法，其中該受試者具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，20-40百分制單位）。

【請求項76】

如請求項73之方法，其中該受試者具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。

【請求項77】

如請求項57之方法，其中該受試者患有早期AD。

【請求項78】

如請求項57之方法，其中該受試者患有前期AD。

【請求項79】

一種調節患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的小神經膠質細胞響應的方法，該方法包括向該受試者投與治療有效量的

萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物，其中該治療有效量足以調節該受試者的該小神經膠質細胞響應。

【請求項80】

如請求項79之方法，其中調節該小神經膠質細胞響應包括調節至少一種小神經膠質細胞標誌物的表現。

【請求項81】

如請求項80之方法，其中該小神經膠質細胞標誌物係一般的小神經膠質細胞標誌物。

【請求項82】

如請求項81之方法，其中該一般的小神經膠質細胞標誌物係Iba1、Clec7a或CD68。

【請求項83】

如請求項80之方法，其中該小神經膠質細胞標誌物係穩態小神經膠質細胞標誌物。

【請求項84】

如請求項83之方法，其中該穩態小神經膠質細胞標誌物係TMEM119或P2RY12。

【請求項85】

如請求項79之方法，其中調節該小神經膠質細胞響應包括調節吞噬性小神經膠質細胞的活性。

【請求項86】

如請求項79之方法，其中該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。

【請求項87】

如請求項79之方法，其中該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。

【請求項88】

如請求項79之方法，其中該受試者呈類澱粉蛋白陰性。

【請求項89】

如請求項79之方法，其中該受試者具有tau病理。

【請求項90】

如請求項79之方法，其中該受試者在腦區中具有神經退化。

【請求項91】

如請求項90之方法，其中該腦區係海馬體、內嗅皮質和/或梨狀皮質。

【請求項92】

如請求項90之方法，其中該腦區係海馬體中的CA1區、CA2區、CA3區或齒狀迴。

【請求項93】

如請求項88之方法，其中調節該小神經膠質細胞響應包括調節與退化性神經元相關的小神經膠質細胞中的響應。

【請求項94】

如請求項93之方法，其中調節該小神經膠質細胞響應包括減少至少一種一般的小神經膠質細胞標誌物的表現。

【請求項95】

如請求項94之方法，其中該一般的小神經膠質細胞標誌物係Iba1、CD68或Clec7a。

【請求項96】

如請求項93之方法，其中調節該小神經膠質細胞響應包括增加至少一種穩態小神經膠質細胞標誌物的表現。

【請求項97】

如請求項96之方法，其中該穩態小神經膠質細胞標誌物係TMEM119或P2RY12。

【請求項98】

如請求項79之方法，其中該受試者具有Aβ斑塊。

【請求項99】

如請求項98之方法，其中該等Aβ斑塊係原纖維狀Aβ斑塊。

【請求項100】

如請求項98之方法，其中該受試者處於進一步Aβ積聚的風險中。

【請求項101】

如請求項100之方法，其中該受試者為ApoE4攜帶者。

【請求項102】

如請求項100之方法，其中該受試者具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，20-40百分制單位）。

【請求項103】

如請求項100之方法，其中該受試者具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。

【請求項104】

如請求項98之方法，其中該受試者患有早期AD。

【請求項105】

如請求項98之方法，其中該受試者患有前期AD。

【請求項106】

如請求項98之方法，其中該等Aβ斑塊存在於海馬體、體運動皮質、體感皮質和/或梨狀皮質中。

【請求項107】

如請求項98之方法，其中調節該小神經膠質細胞響應包括調節與Aβ斑塊相關的小神經膠質細胞中的響應。

【請求項108】

如請求項107之方法，其中調節該小神經膠質細胞響應包括增加一般的小神經膠質細胞標誌物的表現。

【請求項109】

如請求項108之方法，其中該一般的小神經膠質細胞標誌物係Iba1、Clec7a或CD68。

【請求項110】

如請求項107之方法，其中調節小神經膠質細胞響應包括增加吞噬性小神經膠質細胞對Aβ斑塊的吞噬作用。

【請求項111】

如請求項107之方法，其中調節該小神經膠質細胞響應包括減少穩態小神經膠質細胞標誌物的表現。

【請求項112】

如請求項111之方法，其中該穩態小神經膠質細胞標誌物係TMEM119或P2RY12。

【請求項113】

如請求項1至112中任一項之方法，其中向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量在每天5 mg至50 mg的範圍內。

【請求項114】

如請求項113之方法，其中向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量在每天10 mg至30 mg的範圍內。

【請求項115】

如請求項113之方法，其中向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量選自每天5 mg、7.5 mg、10 mg、12.5 mg、15 mg、17.5 mg、20 mg、22.5 mg、25 mg、27.5 mg和30 mg。

【請求項116】

如請求項113之方法，其中向該受試者投與的萊博雷生的該治療有效量為每天20-25 mg。

【請求項117】

如請求項1至112中任一項之方法，其中每天一次向該受試者投與一個劑量的25 mg的萊博雷生。

【請求項118】

如請求項113之方法，其中萊博雷生以第一劑量投與第一週期，以第二劑量投與第二週期，並且視需要地以第三劑量投與第三週期。

【請求項119】

如請求項118之方法，其中該第一週期、該第二週期和該第三週期中之每一者均為1週。

【請求項120】

如請求項118之方法，其中該第一劑量低於該第二劑量，並且視需要

地，該第二劑量低於該第三劑量。

【請求項121】

如請求項120之方法，其中該第一劑量係每天一次5 mg的萊博雷生，該第二劑量係每天一次10 mg的萊博雷生，並且視需要地，該第三劑量係每天一次20-25 mg的萊博雷生。

【請求項122】

如請求項120之方法，其中該第一劑量係每天一次5 mg或7.5 mg的萊博雷生，該第二劑量係每天一次10 mg、12.5 mg、15 mg或17.5 mg的萊博雷生，並且該第三劑量係每天一次20 mg、22.5 mg、25 mg、27.5 mg或30 mg的萊博雷生。

【請求項123】

如請求項118之方法，其中該第一劑量高於該第二劑量，並且視需要地，該第二劑量高於該第三劑量。

【請求項124】

如請求項123之方法，其中該第一劑量係每天一次20-25 mg的萊博雷生，該第二劑量係每天一次10 mg的萊博雷生，並且視需要地，該第三劑量係每天一次5 mg的萊博雷生。

【請求項125】

如請求項123之方法，其中該第一劑量係每天一次20 mg、22.5 mg、25 mg、27.5 mg或30 mg的萊博雷生，該第二劑量係每天一次10 mg、12.5 mg、15 mg或17.5 mg的萊博雷生，並且視需要地，該第三劑量係每天一次5 mg或7.5 mg的萊博雷生。

【請求項126】

如請求項1至125中任一項之方法，該方法包括向該受試者投與萊博雷生至少6個月。

【請求項127】

如請求項126之方法，該方法包括向該受試者投與萊博雷生至少9個月、至少12個月或至少15個月。

【請求項128】

如請求項126之方法，該方法包括向該受試者投與萊博雷生至少18個月。

【請求項129】

如請求項126至128中任一項之方法，該方法包括向該受試者投與萊博雷生至少24個月、30個月或36個月。

【請求項130】

一種選擇患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者用萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物進行治療的方法，該方法包括：

(a) 從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞響應和生物標誌物表現中之至少一者的測量值；

(b) 將來自該受試者的該測量值與來自參考的測量值進行比較；以及

(c) 如果來自該受試者的該測量值與來自該參考的該測量值不同，則選擇該受試者用萊博雷生進行治療。

【請求項131】

如請求項130之方法，其中該受試者具有輕度認知損傷或輕度失智。

【請求項132】

如請求項130之方法，其中該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。

【請求項133】

如請求項130之方法，其中該受試者處於Aβ積聚的風險中。

【請求項134】

如請求項133之方法，其中該受試者為ApoE4攜帶者。

【請求項135】

如請求項133之方法，其中該受試者具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，20-40百分制單位）。

【請求項136】

如請求項133之方法，其中該受試者具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。

【請求項137】

如請求項130之方法，其中該受試者患有早期AD。

【請求項138】

如請求項130之方法，其中該受試者患有前期AD。

【請求項139】

如請求項130之方法，其中該受試者基於腦成像、認知功能和/或生物標誌物標準，已被診斷為患有AD。

【請求項140】

如請求項130之方法，其中獲得至少一個測量值包括從該受試者的腦

掃描獲得數據和/或從來自該受試者的生物樣本獲得數據。

【請求項141】

如請求項140之方法，其中來自該腦掃描的該數據指示tau磷酸化、tau聚集、Aβ斑塊負荷和/或小神經膠質細胞響應的水平。

【請求項142】

如請求項140之方法，其中該生物樣本係體液。

【請求項143】

如請求項140之方法，其中該體液係腦脊液（CSF）、血液或唾液。

【請求項144】

如請求項130之方法，其中該參考係對照。

【請求項145】

如請求項130之方法，其中該參考係來自投與安慰劑的對照受試者的測量值。

【請求項146】

如請求項144之方法，其中該對照未患AD。

【請求項147】

如請求項146之方法，其中來自該受試者的該測量值高於來自未患AD的該對照的測量值。

【請求項148】

如請求項146之方法，其中來自該受試者的該測量值低於來自未患AD的該對照的測量值。

【請求項149】

如請求項144之方法，其中該對照患有AD。

【請求項150】

如請求項149之方法，其中來自該受試者的該測量值類似於或高於來自患有AD的該對照的測量值。

【請求項151】

如請求項149之方法，其中來自該受試者的該測量值類似於或低於來自患有AD的該對照的測量值。

【請求項152】

如請求項130之方法，其中tau磷酸化的該測量值包括T181、T217、S202、S205或T231中之一者或多者上的磷酸化的測量值。

【請求項153】

如請求項130之方法，其中tau聚集的該測量值包括不溶性tau聚集物（例如，神經原纖維纏結（NFT））的測量值。

【請求項154】

如請求項130之方法，其中神經退化的該測量值包括皮質厚度和/或海馬體體積的測量值或錐體神經元或顆粒神經元損失的測量值。

【請求項155】

如請求項130之方法，其中Aβ斑塊負荷的該測量值包括Aβ斑塊體積和/或Aβ斑塊體積生長的測量值。

【請求項156】

如請求項130之方法，其中Aβ斑塊負荷的該測量值包括該受試者的腦區中的類澱粉蛋白PET訊息的測量值或該受試者的CSF中的Aβ的測量值。

【請求項157】

如請求項130之方法，其中小神經膠質細胞響應的該測量值係至少一種小神經膠質細胞標誌物的表現的變化。

【請求項158】

如請求項157之方法，其中該小神經膠質細胞標誌物係Iba1、Clec7a、CD68、TMEM119或P2RY12。

【請求項159】

如請求項157之方法，其中小神經膠質細胞響應的該測量值係小神經膠質細胞的吞噬作用的測量值。

【請求項160】

一種監測患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的治療功效的方法，該方法包括：

(a)從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞功能和生物標誌物表現中之至少一者的第一測量值；

(b)向該受試者投與一定劑量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物；

(c)從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞功能和生物標誌物表現中之至少一者的第二測量值；以及

(d)將來自該受試者的該第二測量值與來自該受試者的該第一測量值進行比較；

其中該第一測量值和該第二測量值之間的差異指示用萊博雷生的有效治療。

【請求項161】

一種治療患有阿滋海默症（AD）或處於發展AD的風險中的受試者的方法，該方法包括：

(a)從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞響應和生物標誌物表現中之至少一者的第一測量值；

(b)向該受試者投與第一劑量的萊博雷生、其藥學上可接受的鹽或其溶劑合物；

(c)從該受試者獲得tau磷酸化、tau聚集、神經退化、Aβ斑塊負荷、小神經膠質細胞功能和生物標誌物表現中之至少一者的第二測量值；

(d)將來自該受試者的該第二測量值與來自該受試者的該第一測量值進行比較；以及

(e)如果該第一測量值與該第二測量值不同，則投與第二劑量的萊博雷生。

【請求項162】

如請求項160或請求項161之方法，其中獲得至少一個測量值包括從該受試者的腦掃描獲得數據和/或從來自該受試者的生物樣本獲得數據。

【請求項163】

如請求項162之方法，其中來自該腦掃描的該數據指示tau磷酸化、tau聚集、Aβ斑塊負荷和/或小神經膠質細胞響應的水平。

【請求項164】

如請求項162之方法，其中該生物樣本係體液。

【請求項165】

如請求項164之方法，其中該體液係腦脊液（CSF）、血液或唾液。

【請求項166】

如請求項160或請求項161之方法，其中來自該受試者的該第一測量值高於來自該受試者的該第二測量值。

【請求項167】

如請求項160或請求項161之方法，其中來自該受試者的該第一測量值低於來自該受試者的該第二測量值。

【請求項168】

如請求項160或請求項161之方法，其中tau磷酸化的該測量值包括T181、T217、S202、S205或T231中之一者或多者的磷酸化的測量值。

【請求項169】

如請求項160或請求項161之方法，其中tau聚集的該測量值包括不溶性tau聚集物（例如，神經原纖維纏結（NFT））的測量值。

【請求項170】

如請求項160或請求項161之方法，其中神經退化的該測量值包括皮質厚度和/或海馬體體積的測量值或錐體神經元或顆粒神經元損失的測量值。

【請求項171】

如請求項160或請求項161之方法，其中Aβ斑塊負荷的該測量值包括Aβ斑塊體積和/或Aβ斑塊體積生長的測量值。

【請求項172】

如請求項160或請求項161之方法，其中Aβ斑塊負荷的該測量值包括

該受試者的腦區中的類澱粉蛋白PET訊息的測量值或該受試者的CSF中的Aβ的測量值。

【請求項173】

如請求項160或請求項161之方法，其中小神經膠質細胞響應的該測量值係至少一種小神經膠質細胞標誌物的表現的測量值。

【請求項174】

如請求項173之方法，其中該小神經膠質細胞標誌物係Iba1、Clec71、P2RY12或TMEM 119。

【請求項175】

如請求項173之方法，其中小神經膠質細胞響應的該測量值係小神經膠質細胞的吞噬作用的測量值。

【請求項176】

如請求項160或請求項161之方法，其中生物標誌物表現的該測量值係Ifnb1、MMP2和/或Bace1表現的測量值。

【請求項177】

如請求項160或請求項161之方法，其中該受試者呈類澱粉蛋白陰性。

【請求項178】

如請求項160或請求項160之方法，其中該受試者具有Aβ斑塊。

【請求項179】

如請求項160或請求項161之方法，其中該受試者具有輕度認知損傷和/或輕度失智。

【請求項180】

如請求項160或請求項161之方法，其中該受試者沒有顯示出失智和/或認知損傷的體征。

【請求項181】

如請求項160或請求項161之方法，其中該受試者處於進一步Aβ積聚的風險中。

【請求項182】

如請求項181之方法，其中該受試者為ApoE4攜帶者。

【請求項183】

如請求項181之方法，其中該受試者具有中等水平的類澱粉蛋白PET（例如，20-40百分制單位）。

【請求項184】

如請求項181之方法，其中該受試者具有升高水平的類澱粉蛋白PET（例如，> 40百分制單位）。

【請求項185】

如請求項160或請求項161之方法，其中該受試者患有早期AD。

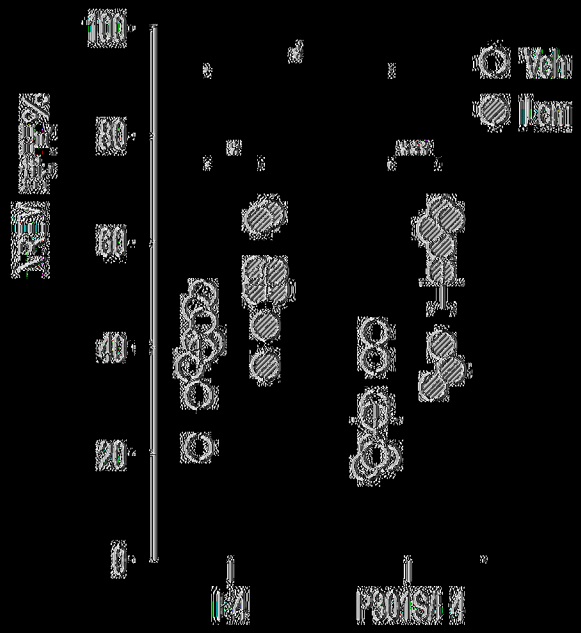
【請求項186】

如請求項160或請求項161之方法，其中該受試者患有前期AD。

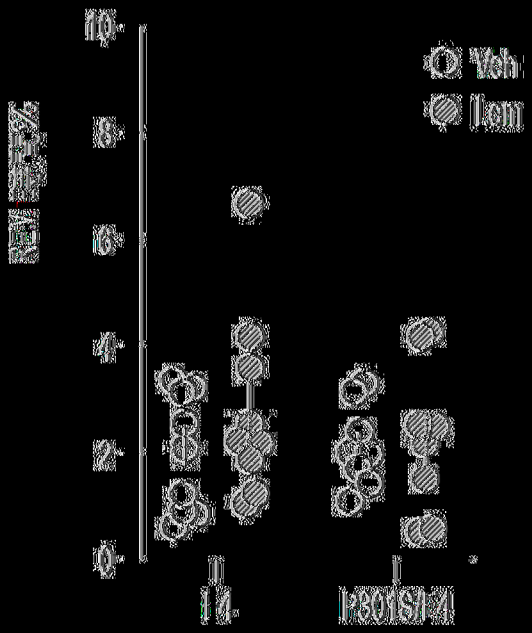
(發明圖式)



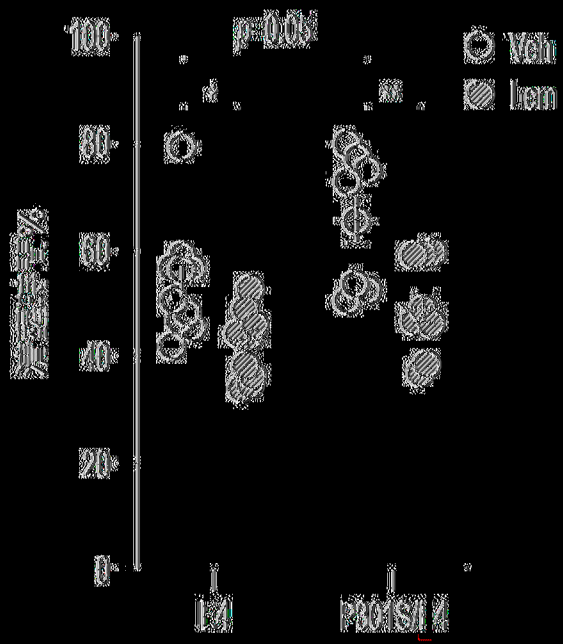
圖(圖 2A)



圖(圖2B)



圖(圖2C)



圖(圖2D)

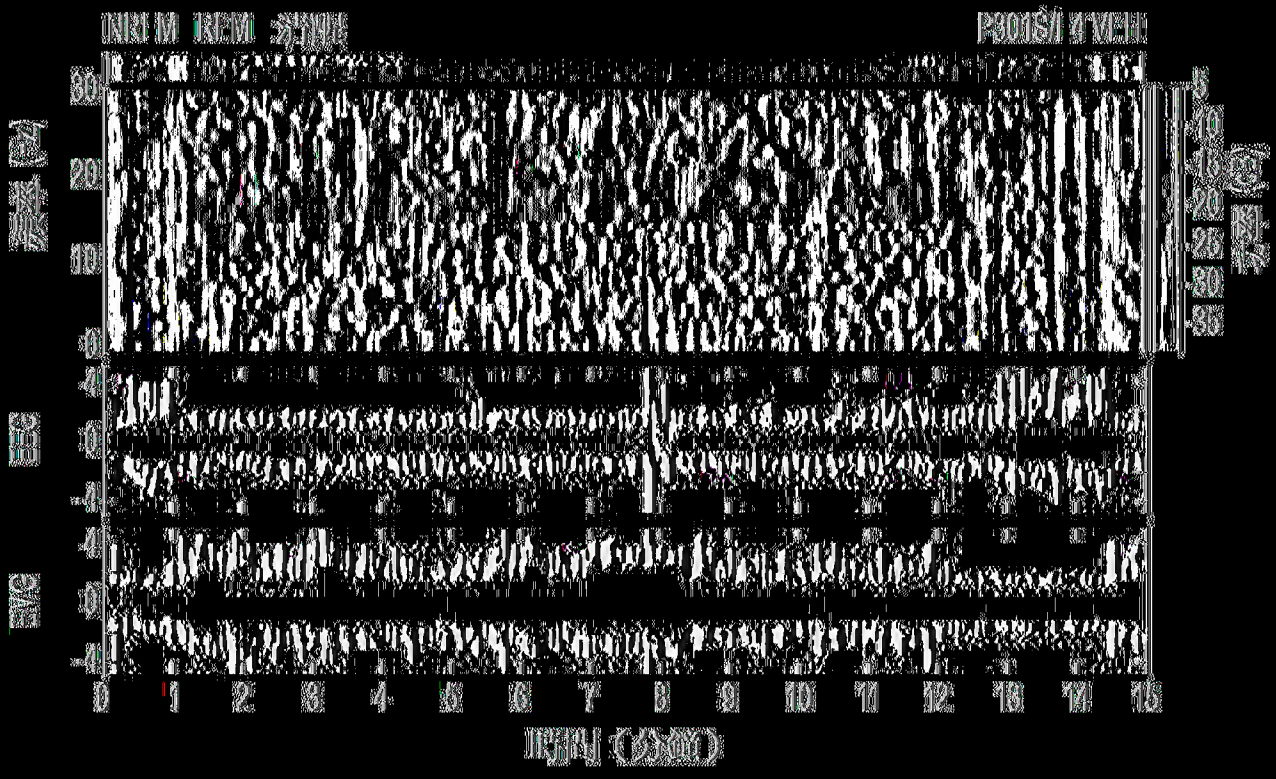


圖2E

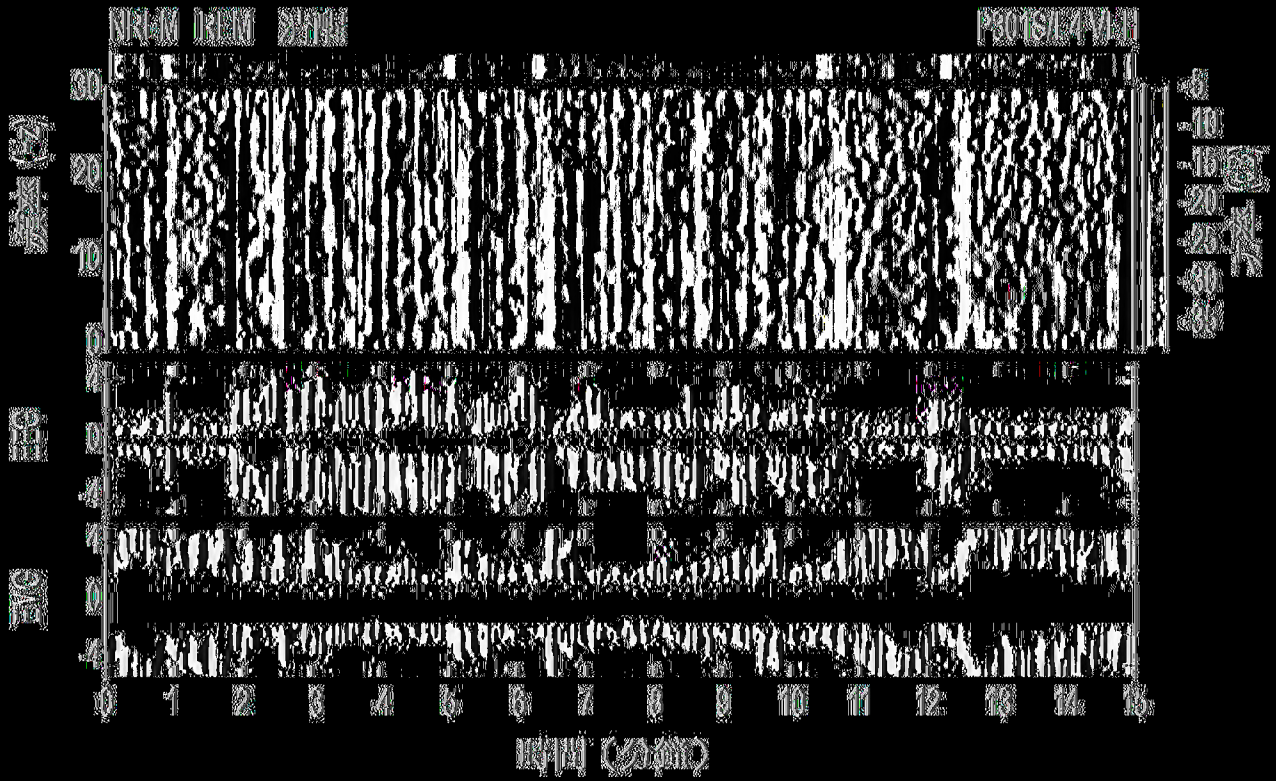
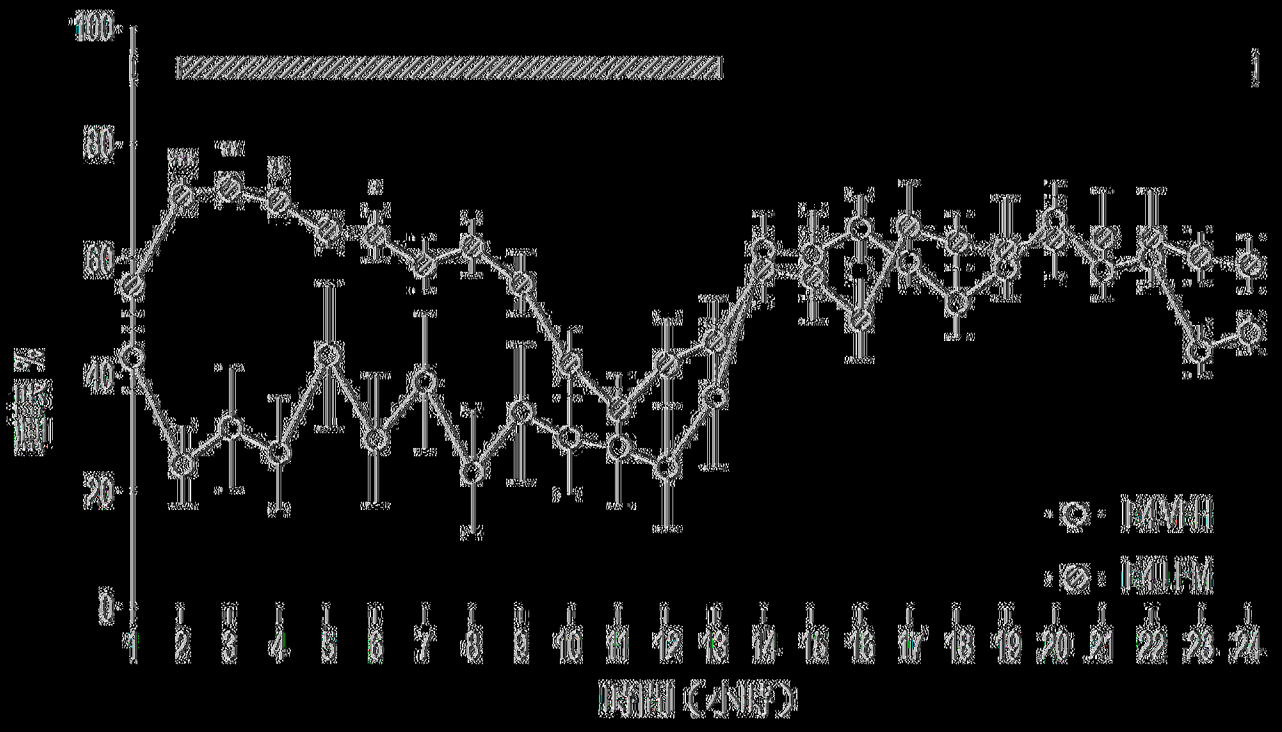
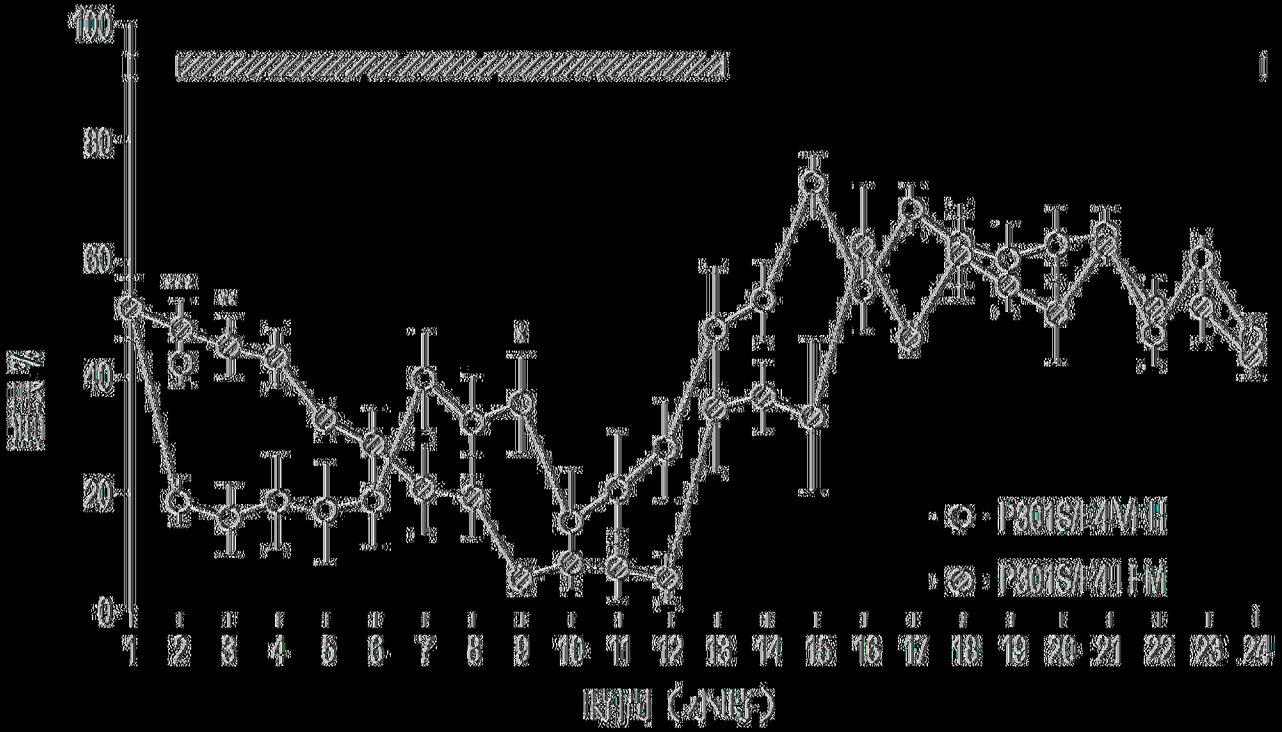


圖2F


100
80
60
40
20
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
時間（小時）
P361S/I24V-H
P361S/I24V-M

[圖2G]


100
80
60
40
20
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
時間（小時）
P361S/I24V-H
P361S/I24V-M

[圖2D]

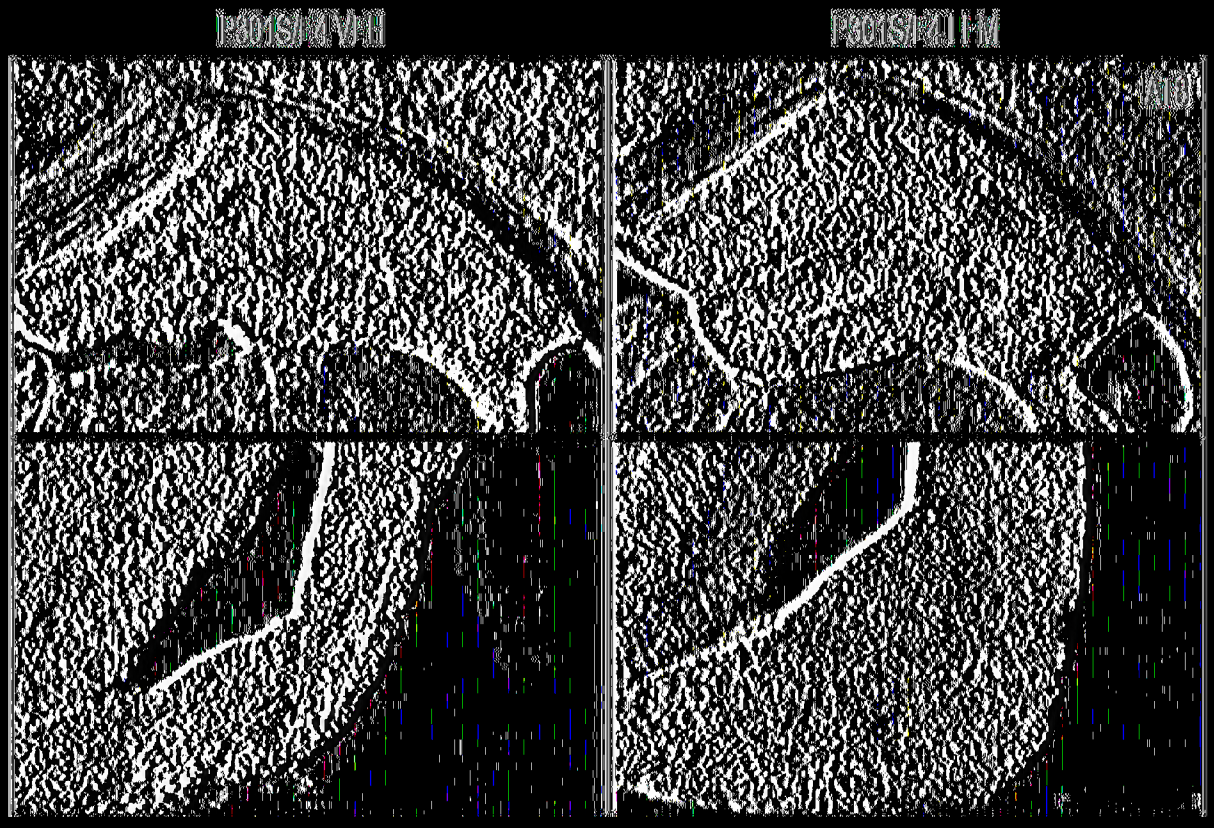


圖3A

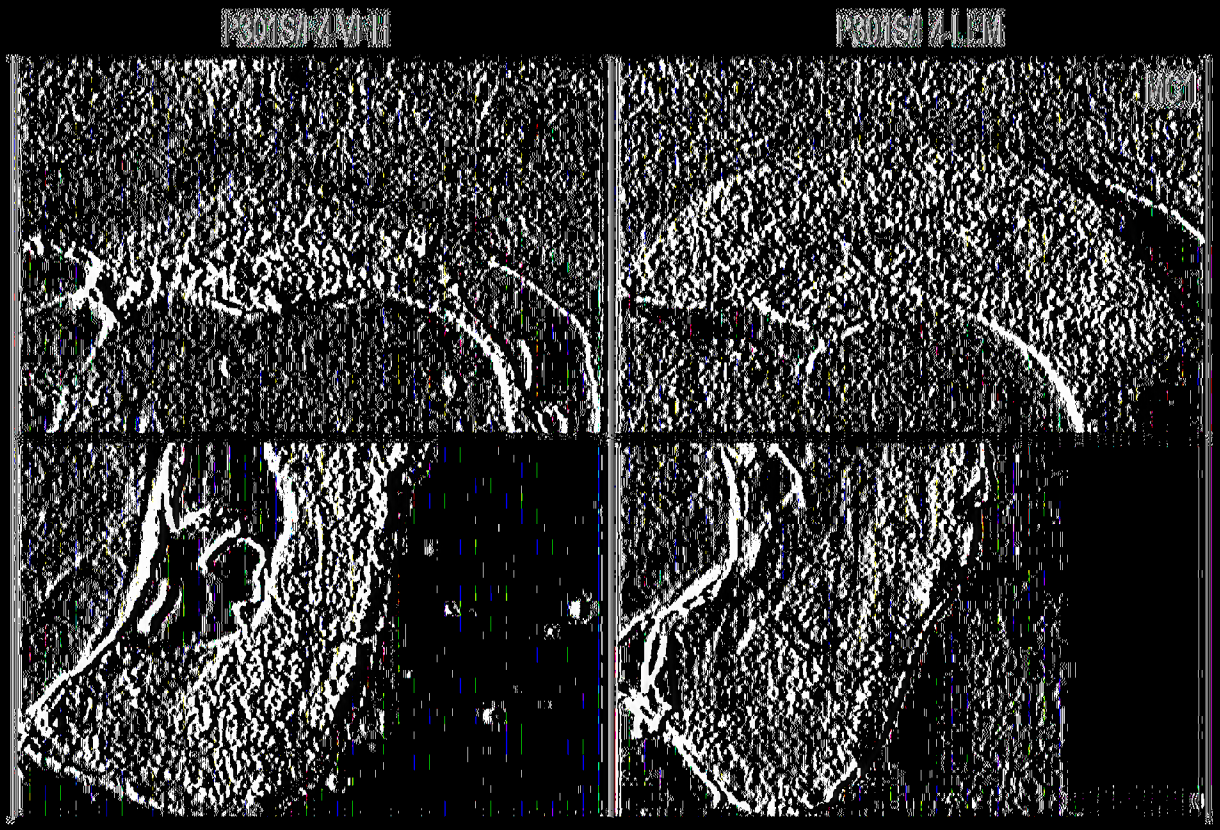


圖3B

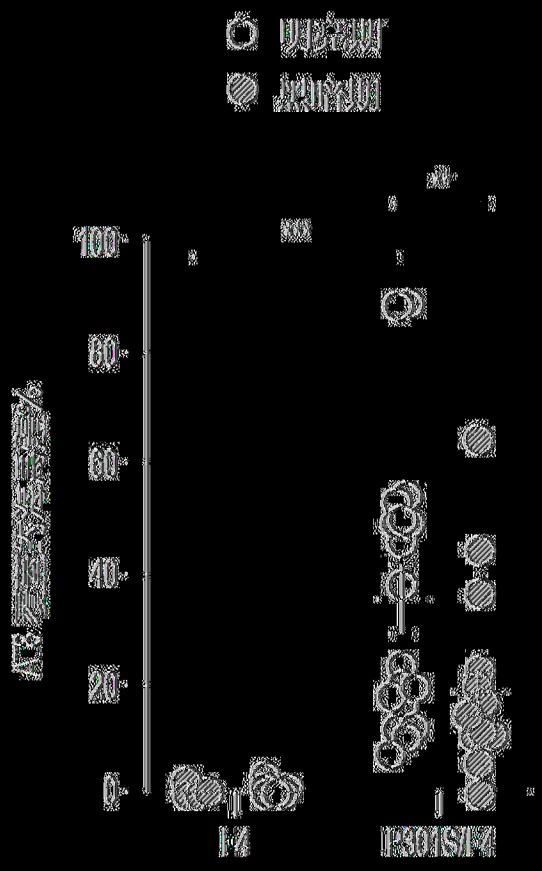


圖3C

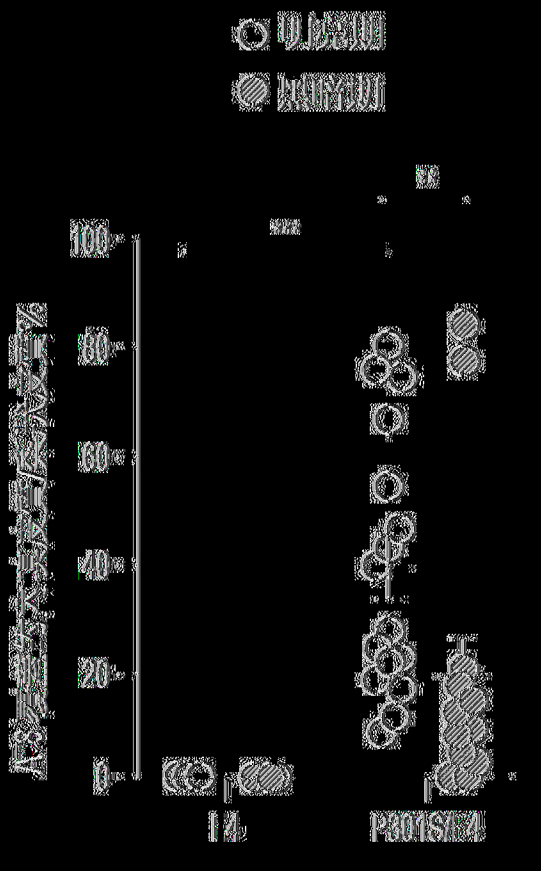


圖3D

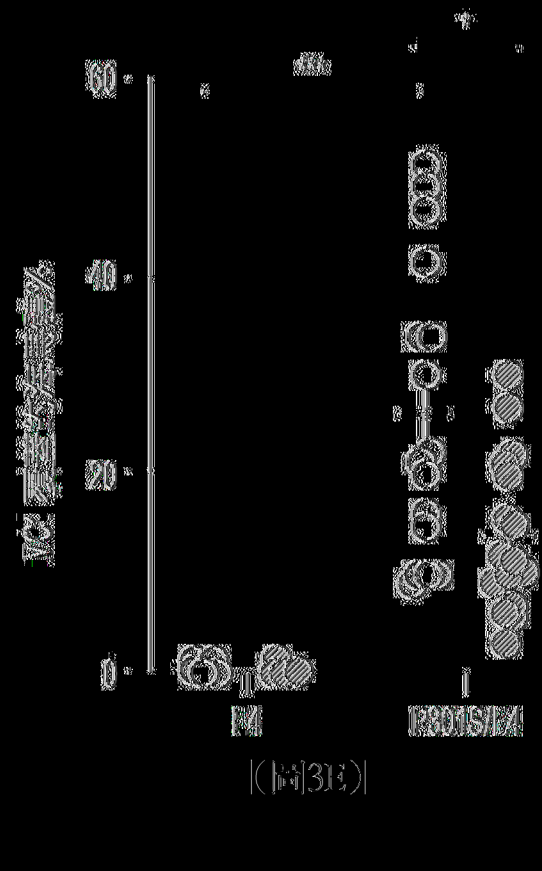


圖3E

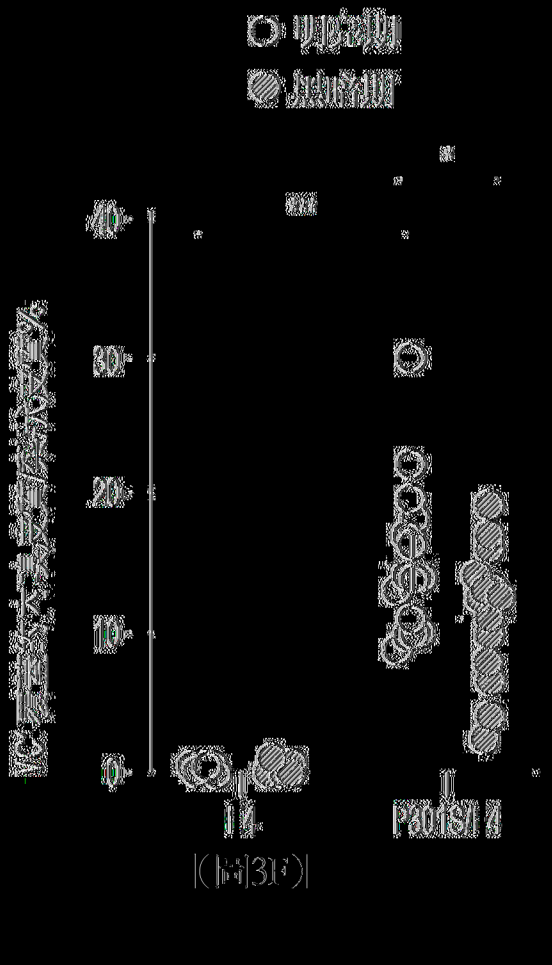
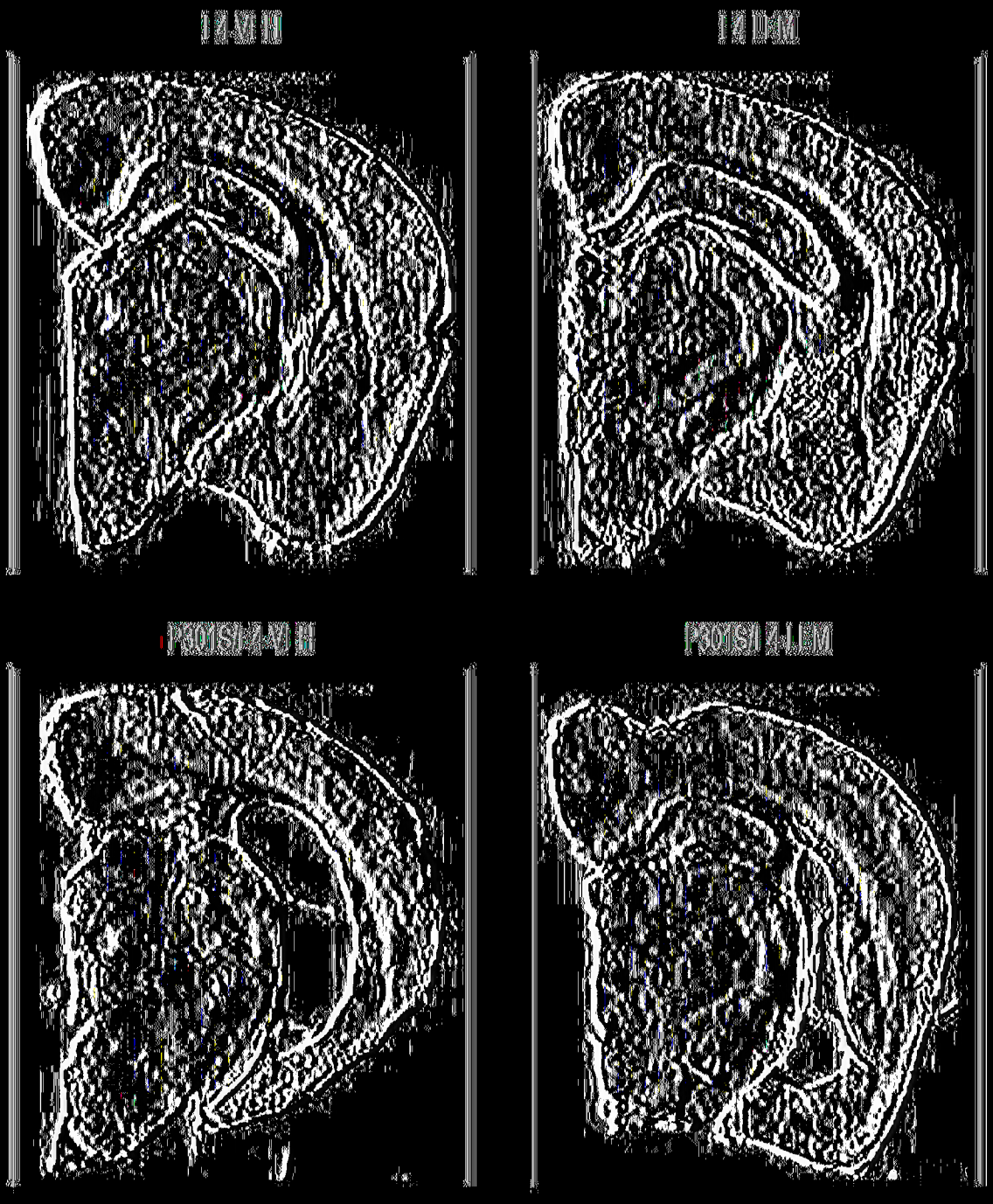


圖3F



[illegible]

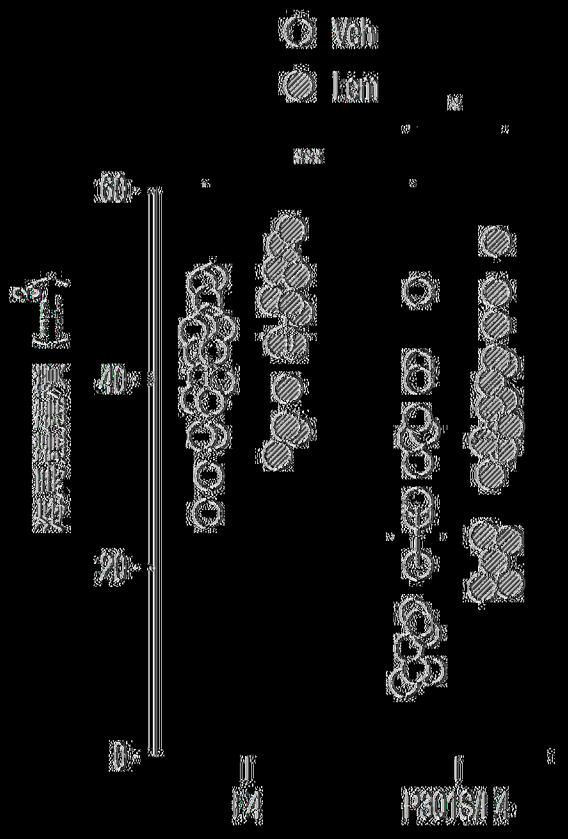

Veh
Item
160
40
20
0
T4
P30|SiN

圖3D

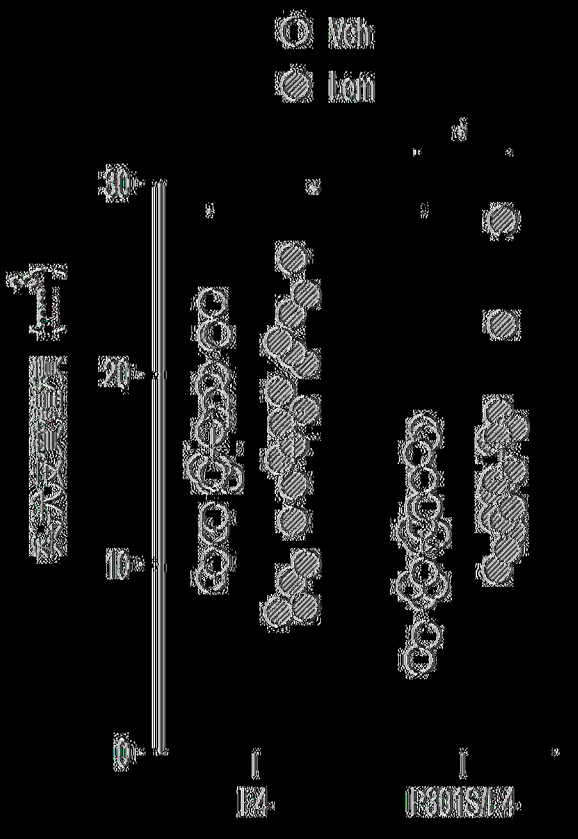

Veh
Item
30
20
10
0
T4
P30|SiN

圖3I

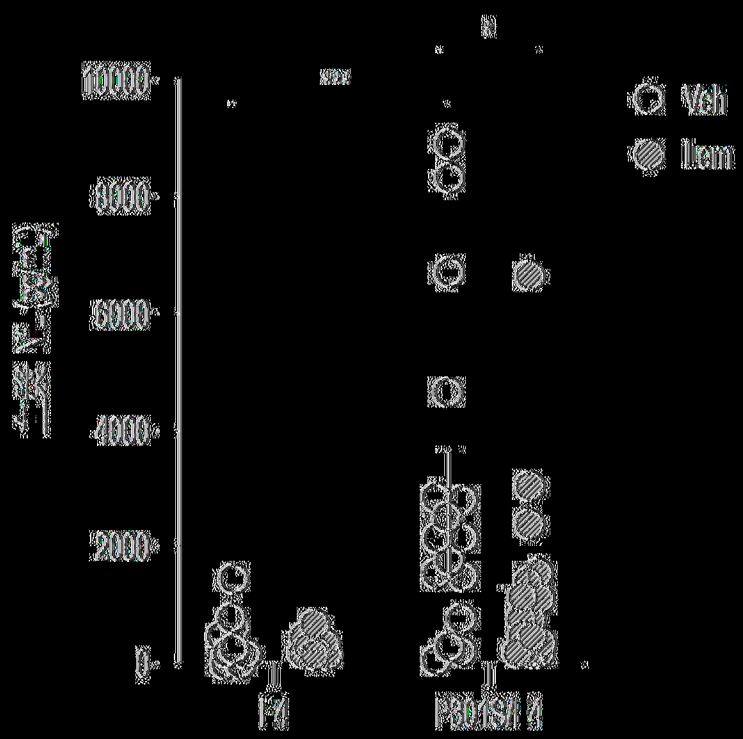

10000
8000
6000
4000
2000
0
Veh
Item
T4
P30|SiN

圖3J

[圖4A]

[圖4B]

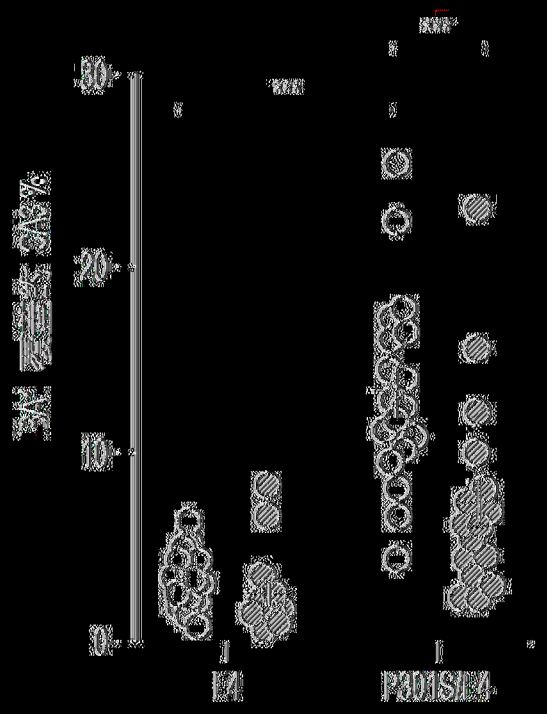


圖 4C

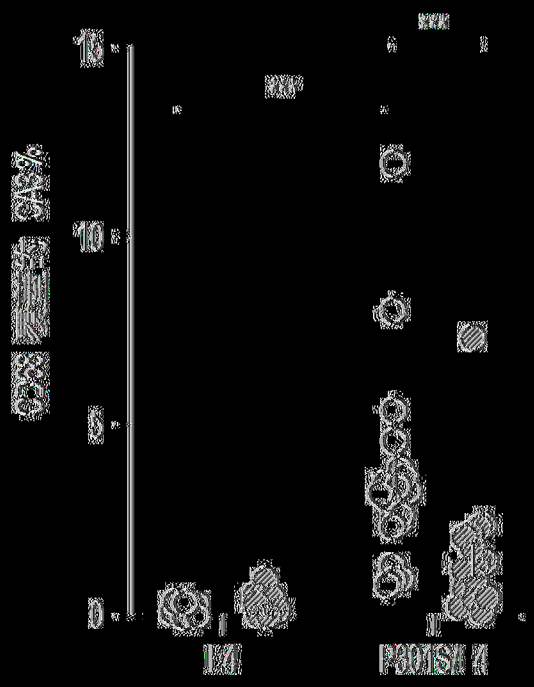


圖 4D

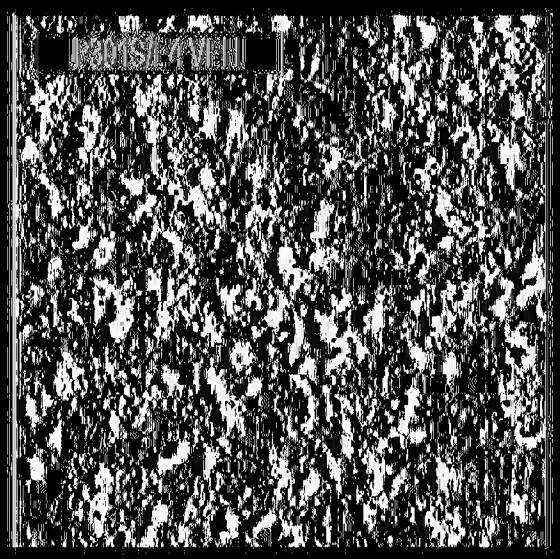
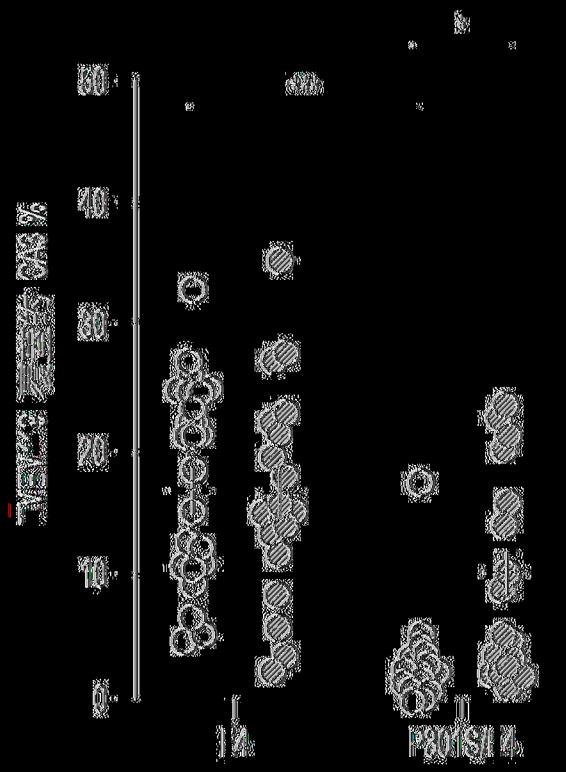
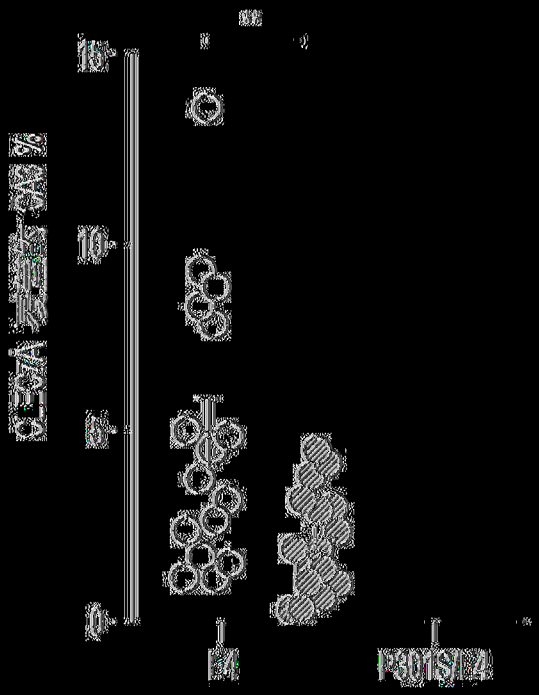




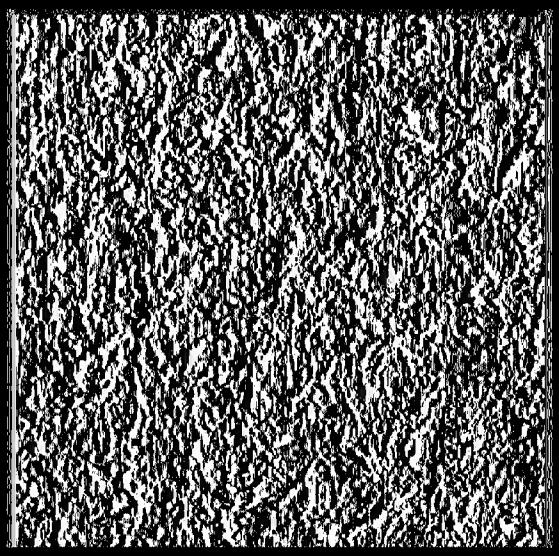
圖 4E

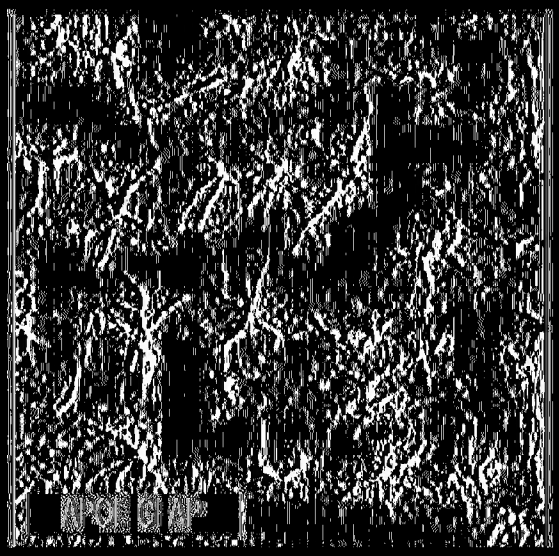


[圖 4F]



[圖 4G]





[圖 4H]

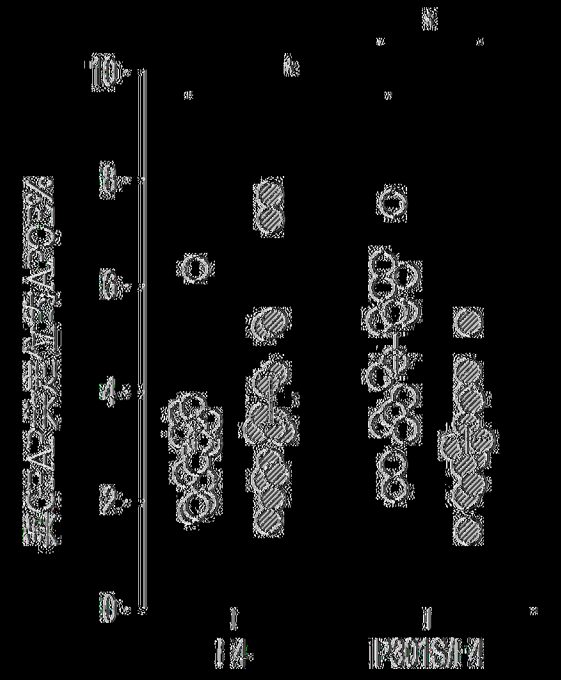


圖 4D

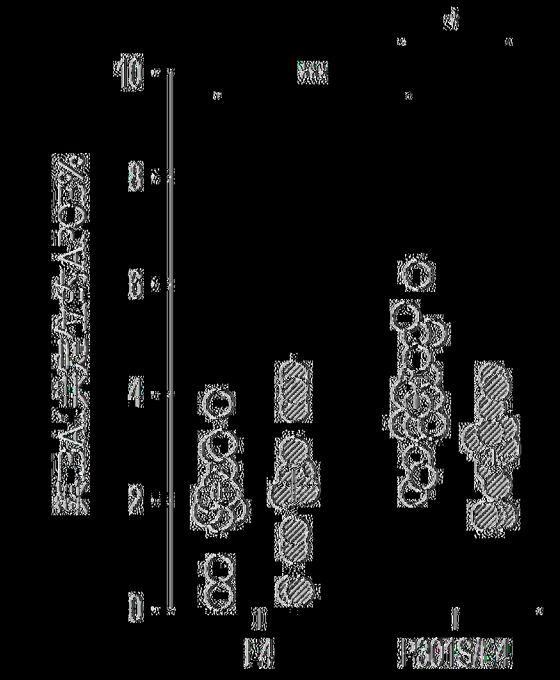
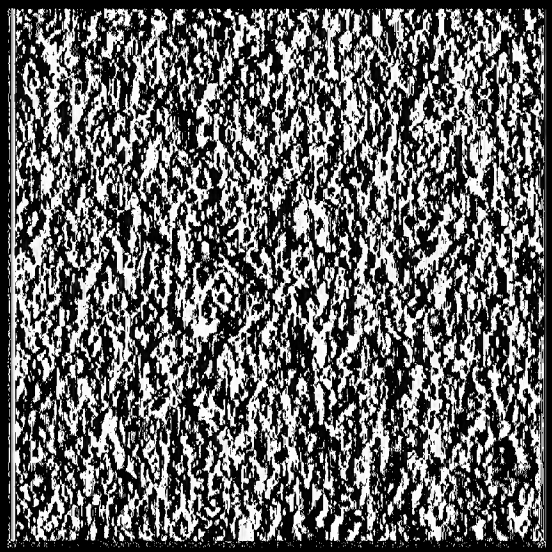


圖 4J



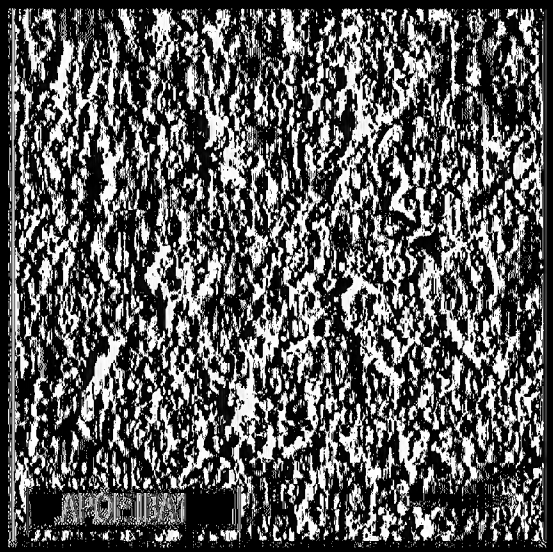
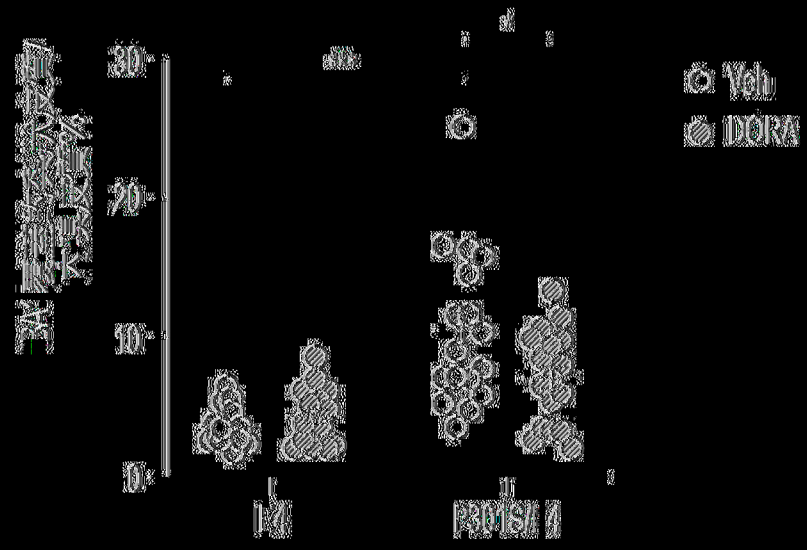
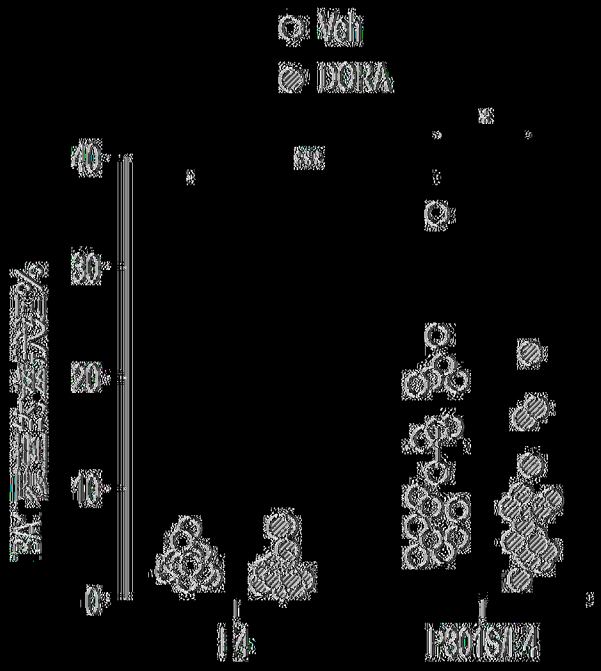


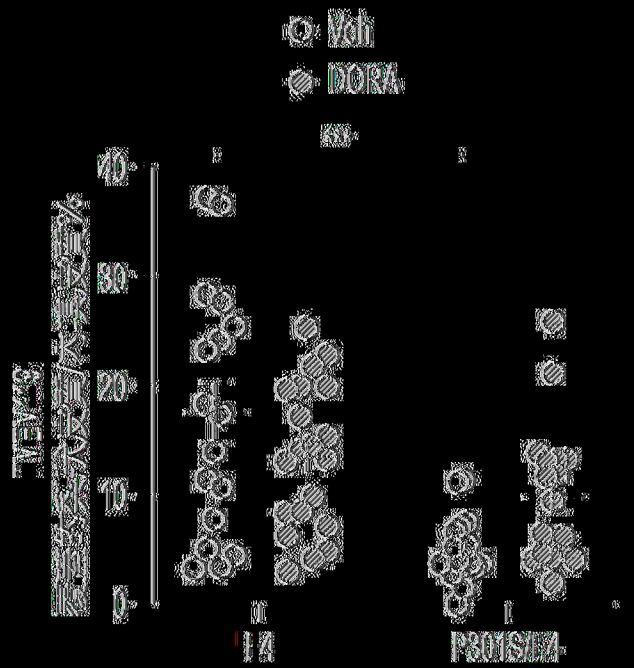
圖 4K


Veh
DORA
30
20
10
0
P301S

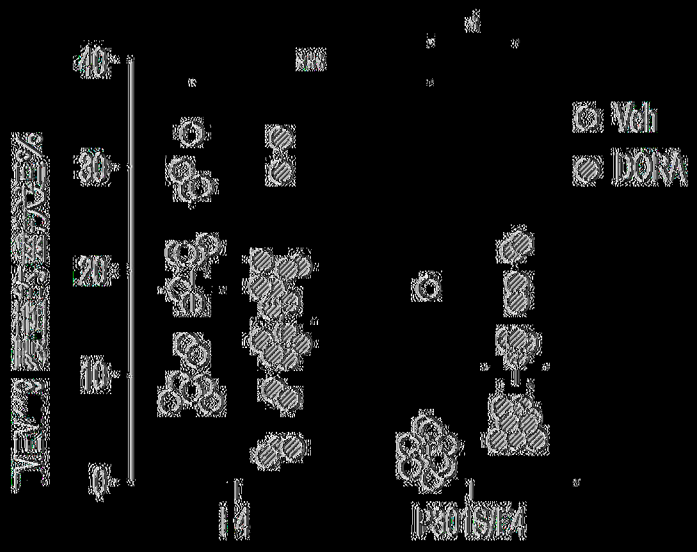
[圖 4L]


Veh
DORA
40
30
20
10
0
P301S

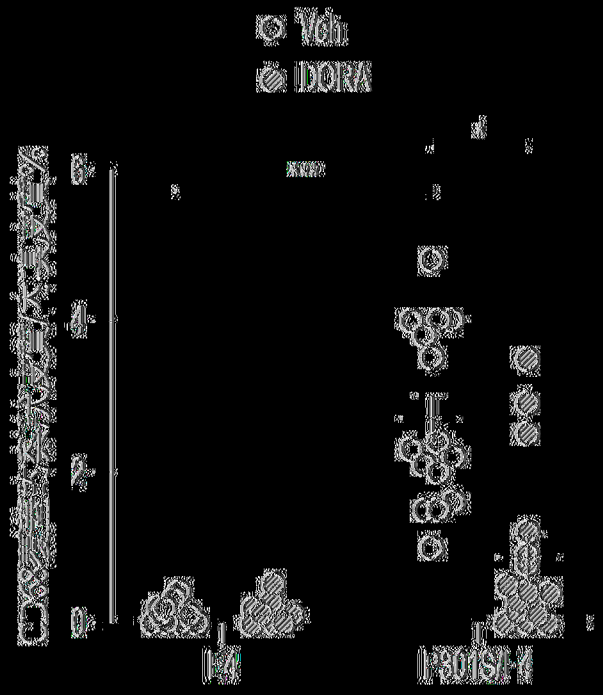
[圖 4M]


Veh
DORA
40
30
20
10
0
P301S

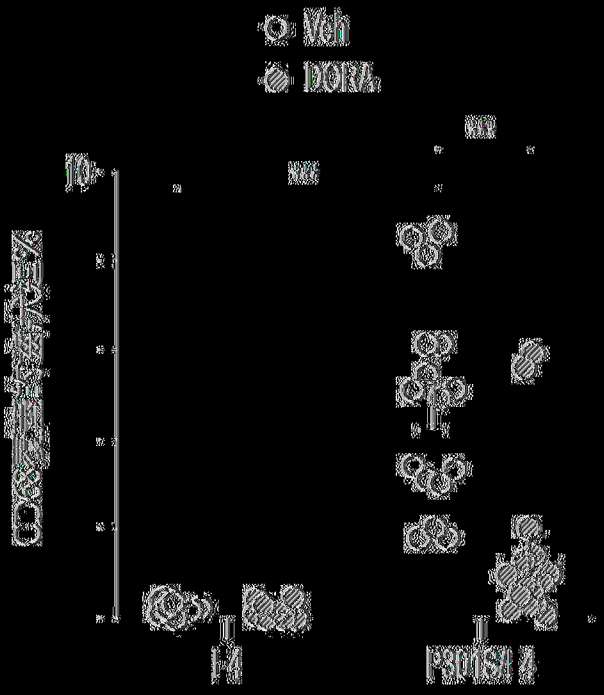
[圖 4N]


40
30
20
10
0
Veh
DORA
P301S/T4

[圖 4O]


Veh
DORA
6
4
2
0
P301S/T4

[圖 4P]


Veh
DORA
10
0
P301S/T4

[圖 4Q]

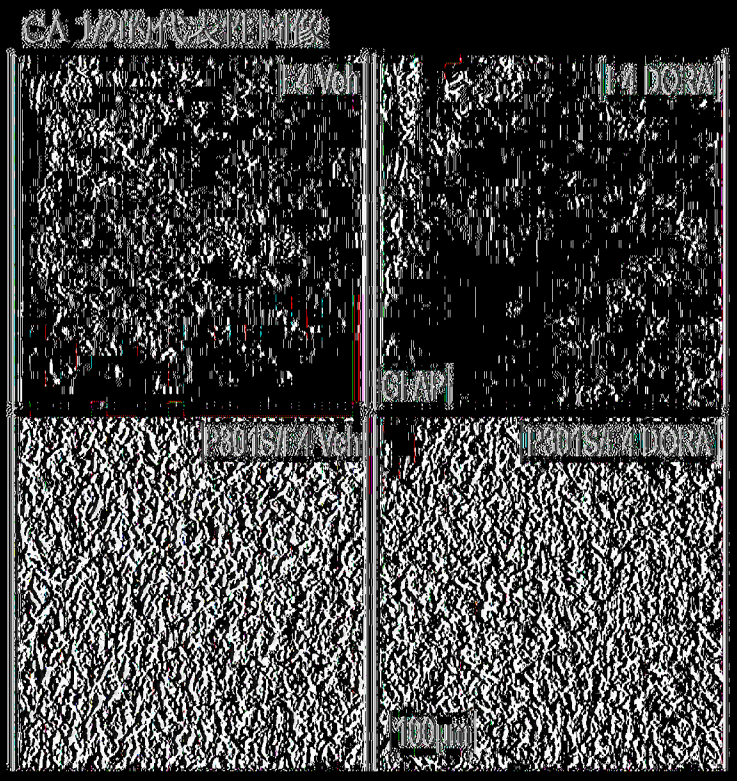


圖 4R

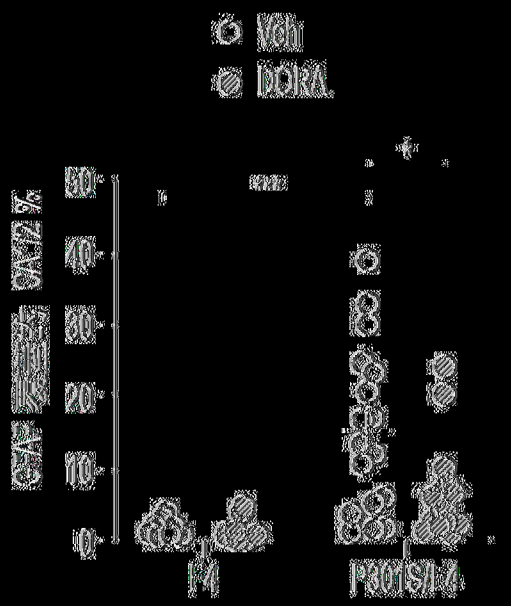


圖 4S

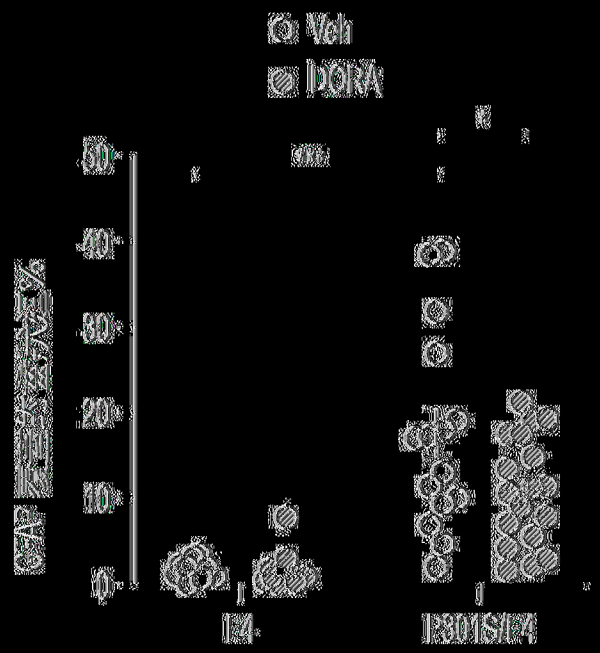


圖 4T

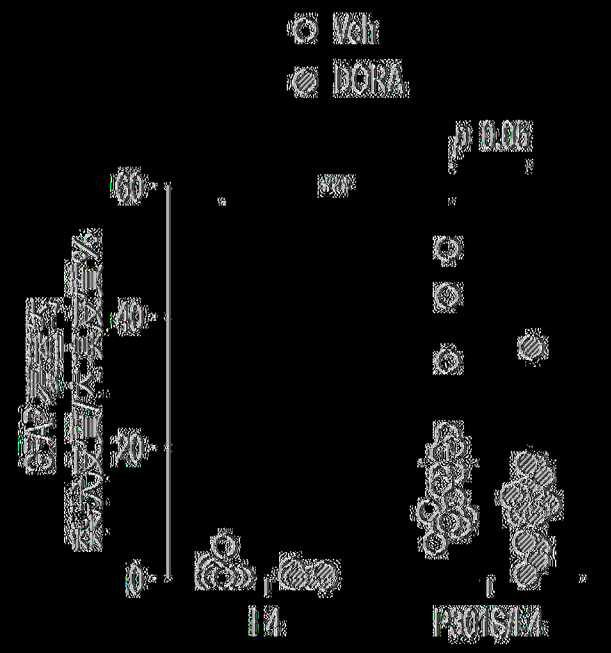
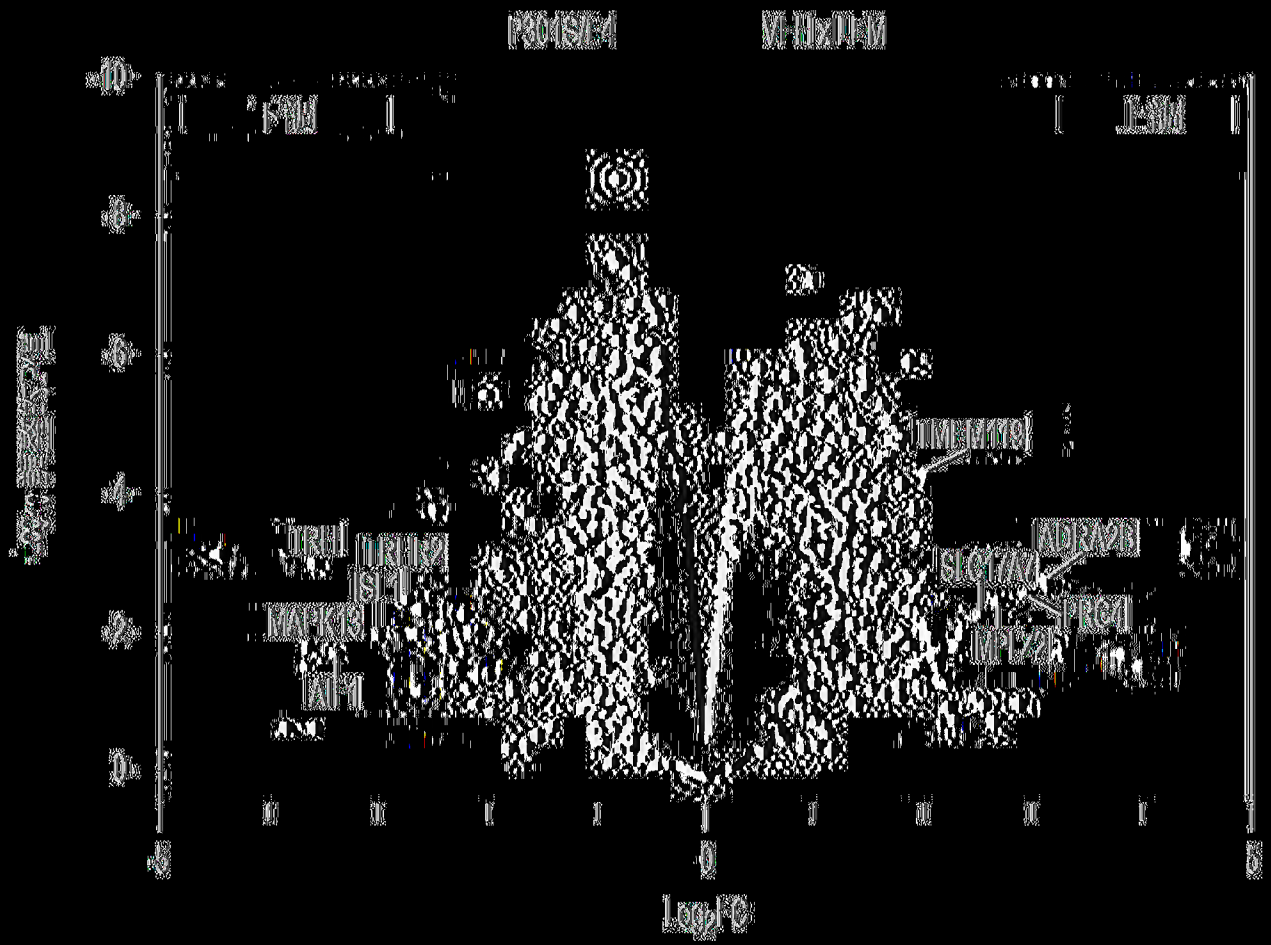
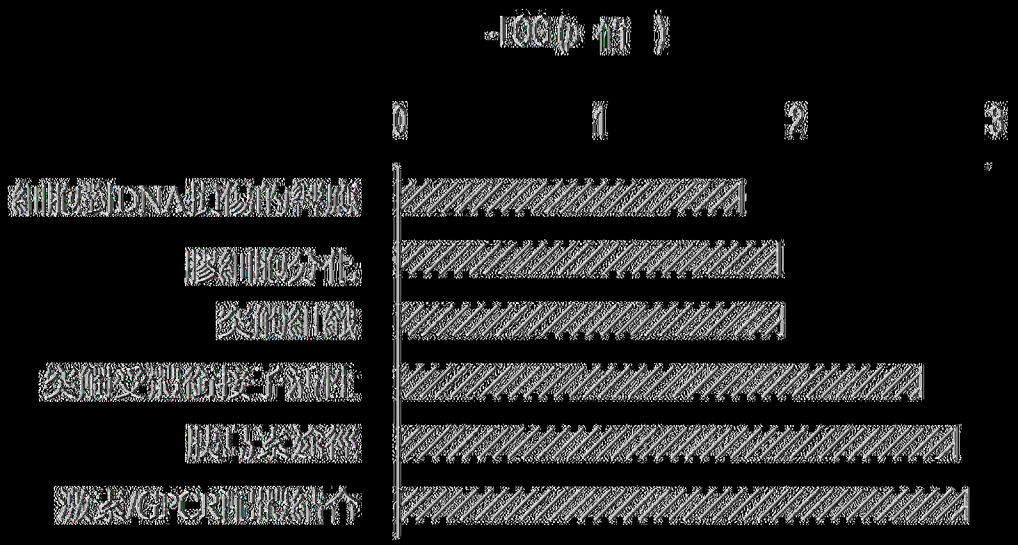


圖 4U


P301S/+
WT/+
下側
上側
10
8
6
4
2
0
-log10(P值)
-6
-4
-2
0
2
4
6
Log2FC
TIMELESS
ADRA2B
SLC7A5
PRG4
MPL22
TRH
TRHR2
IST1
MAPK13
AFF4

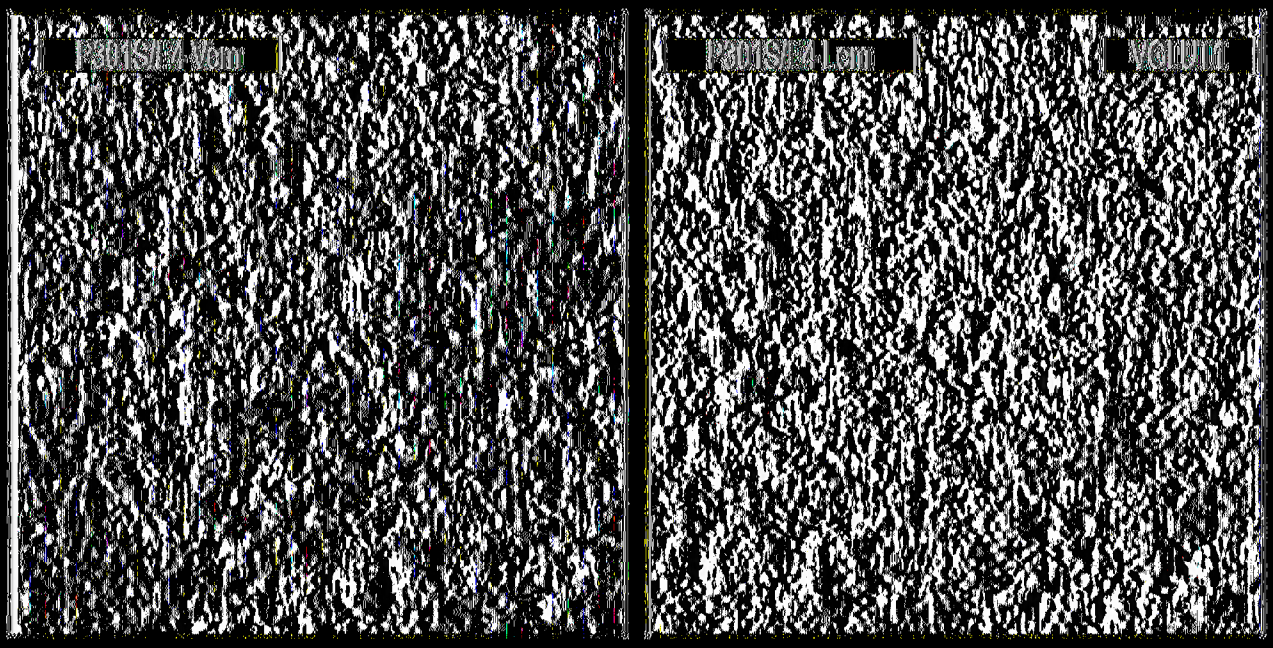
[圖 5A]


-log10(p值)
0
1
2
3
細胞週期DNA損傷檢查點
膠細胞分化
突觸組織
突觸受體結合配子活性
膜電位變動
激素/G-蛋白質結合

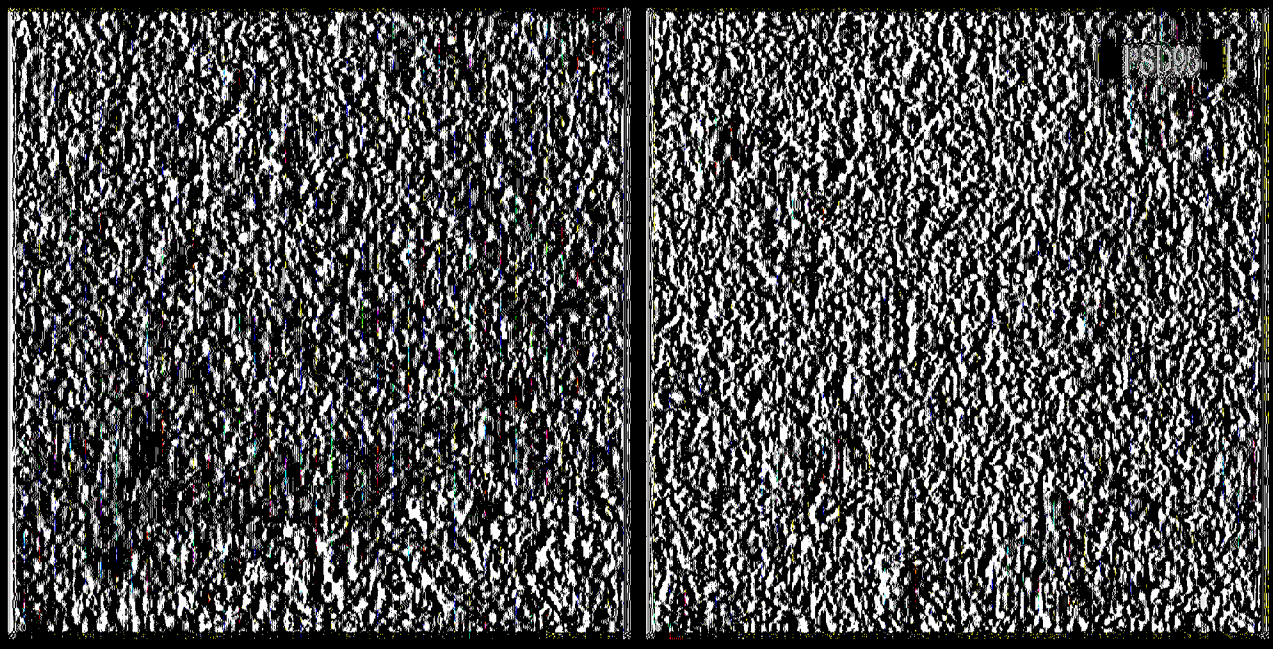
[圖 5B]


VH
IM
ADRA2B
C1QA2
CNGA2
CNGB1
NRXN3
OTOF
RAPGEF4
RPH3AL
SHANK1
SHANK2
SLC17A7
FOXP2
MPP2
PLA2G2F
PRG4
PTGDR
RSPO1
SLC22A5
TRH
TRHR2
VIP2
TMEM119
TMEM144
AIF1
GFAP
CD68
CD300A
PLA1A
CDK2
H2AC1
ISL1
KAT6
MACROD2
SIX3
TRIO2
TRIM28
MRGPRF
FMOD
CD34
MAPK13
4
2
0
-2
-4
突觸受體與離子通道
GPCR
膠質細胞
DNA修復與染色質
突觸組織

(圖5C)



圖(圖5D)



圖(圖5E)

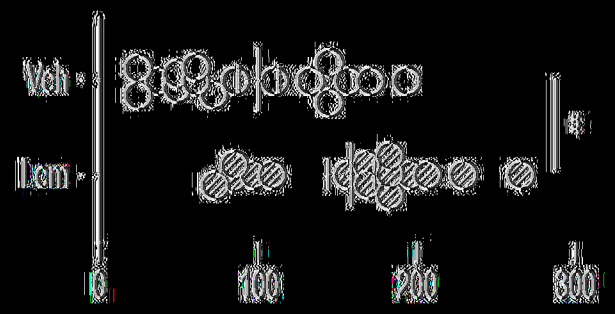


圖5F

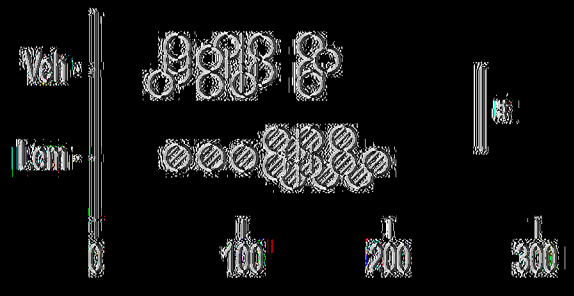


圖5G



圖5H

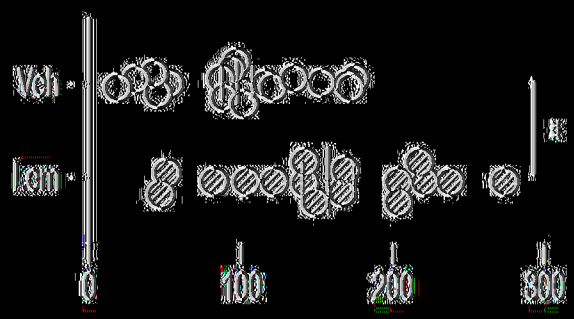


圖5I

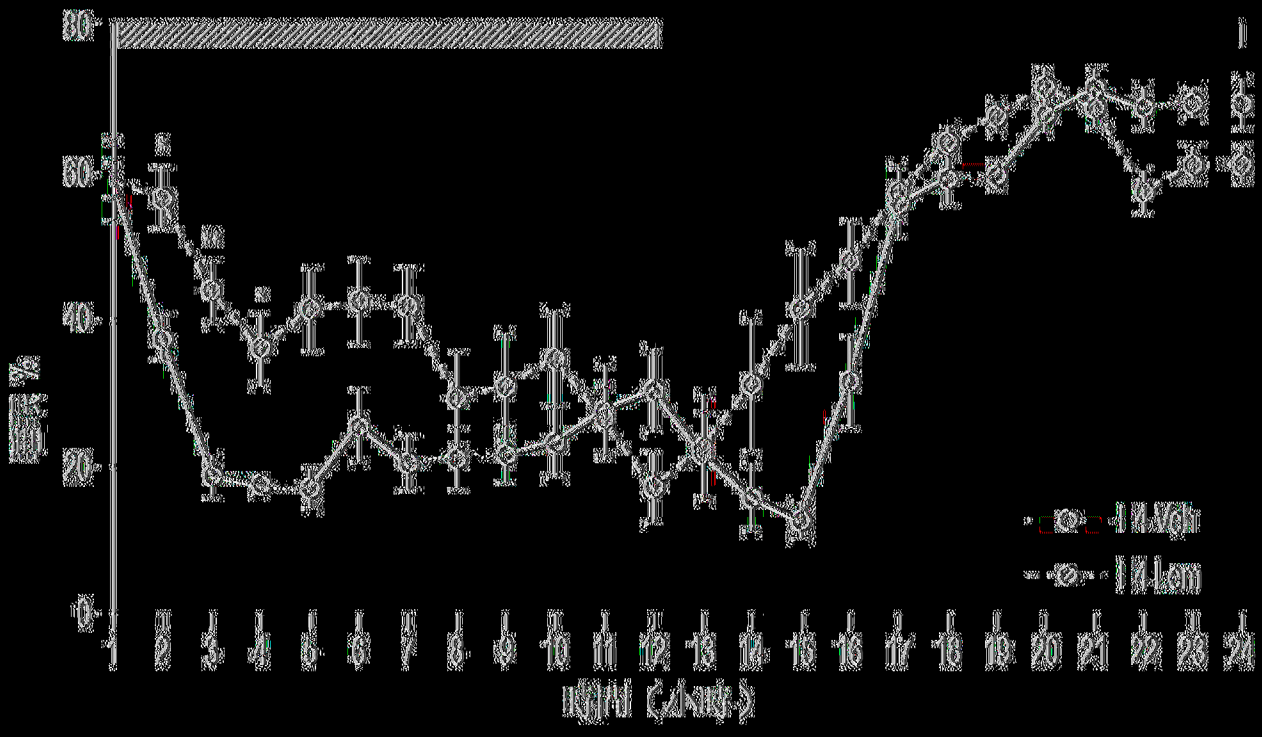

80
60
40
20
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
時間 (小時)
P301S/84 Veh
P301S/84 Dem

圖6A

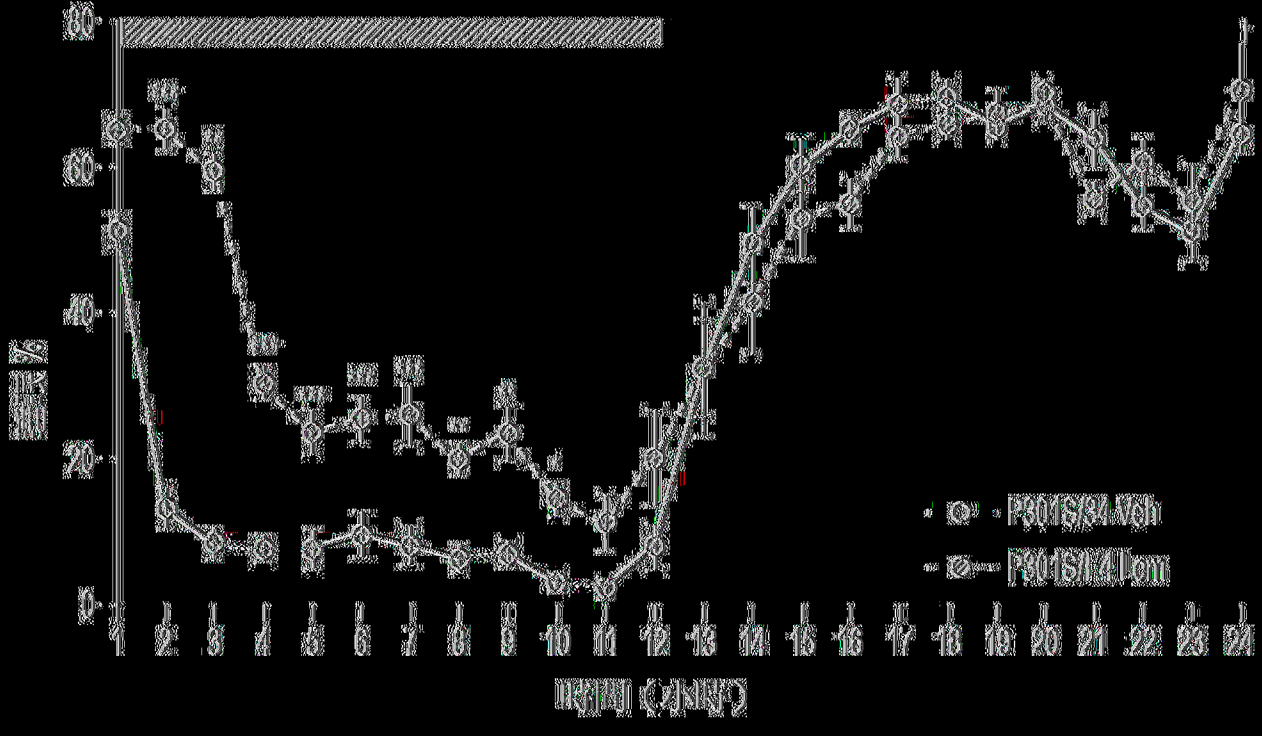

80
60
40
20
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
時間 (小時)
P301S/84 Veh
P301S/84 Dem

圖6B

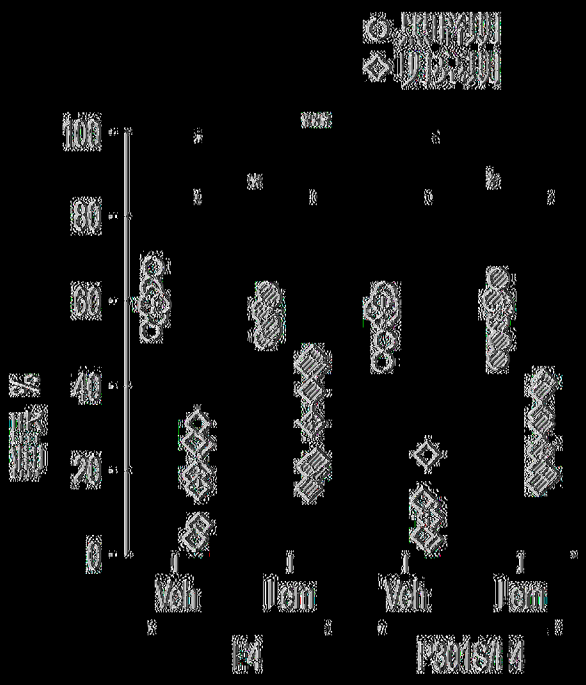

100
80
60
40
20
0
Veh
Tem
Veh
Tem
P4
P301S/A

圖6C


1000
800
600
400
200
0
Veh
Tem
Veh
Tem
P4
P301S/A

圖6D

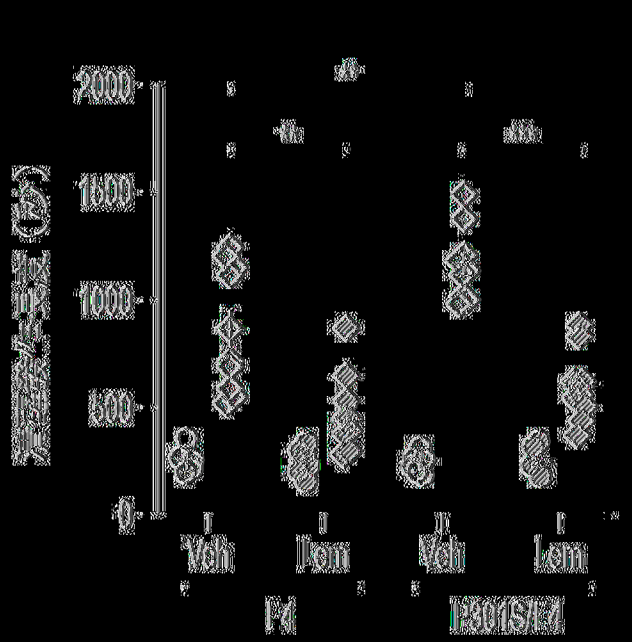

2000
1500
1000
500
0
Veh
Tem
Veh
Tem
P4
P301S/A

圖6E

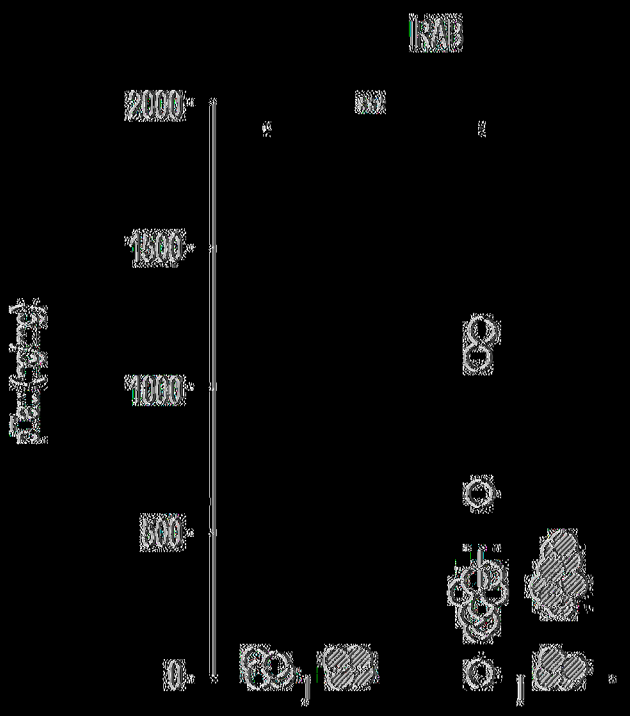


圖7A

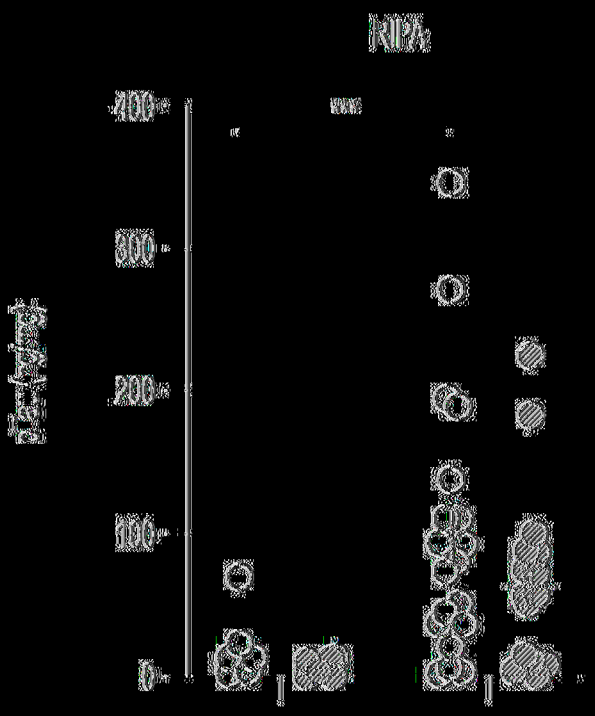


圖7B

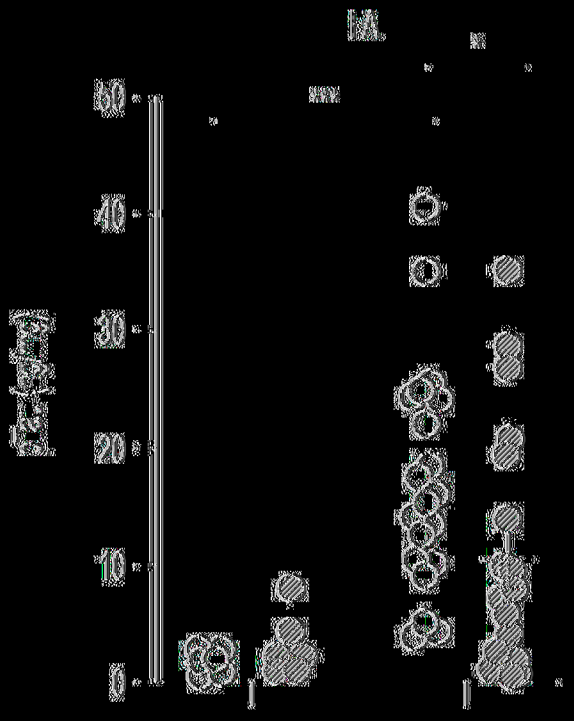


圖7C

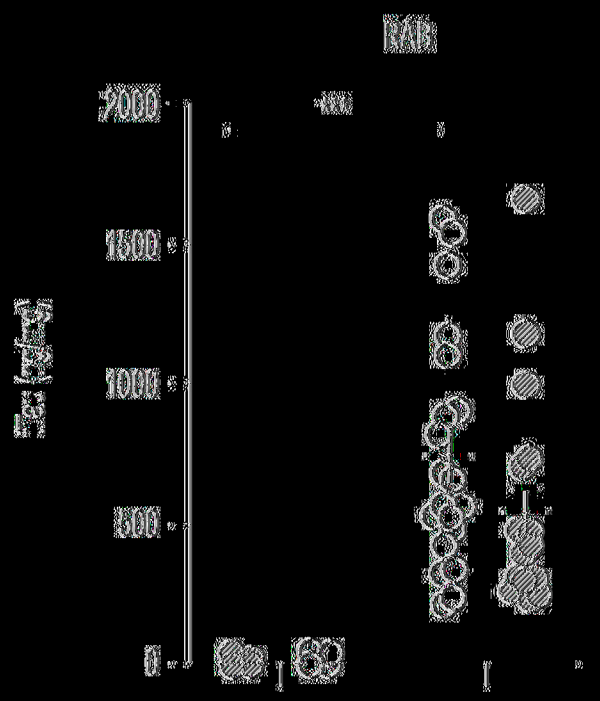

RAB
2000
1500
1000
500
0
60

圖7D

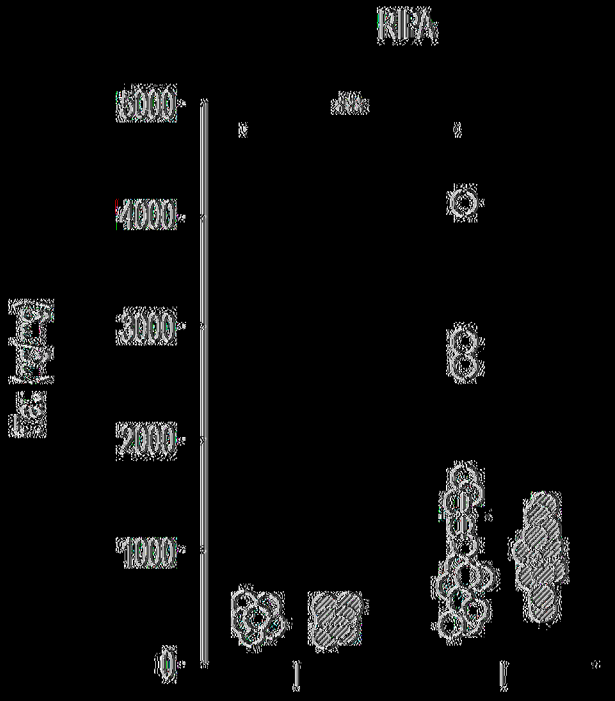

RPA
5000
4000
3000
2000
1000
0

圖7E

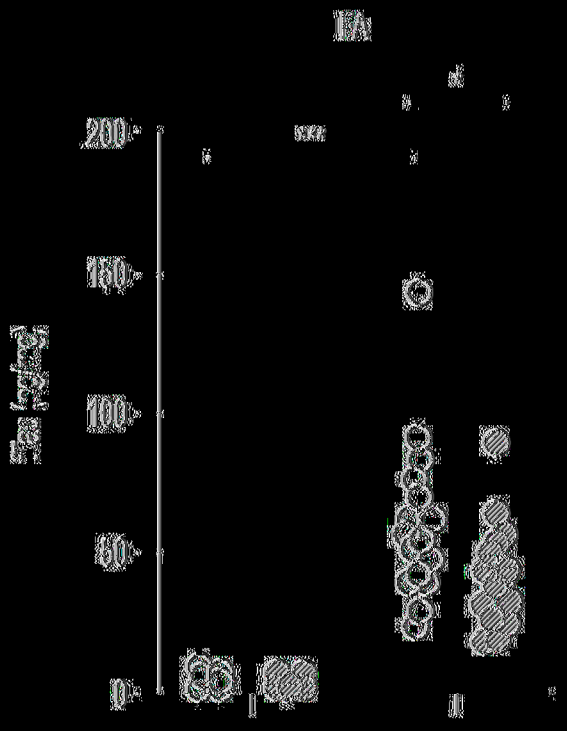
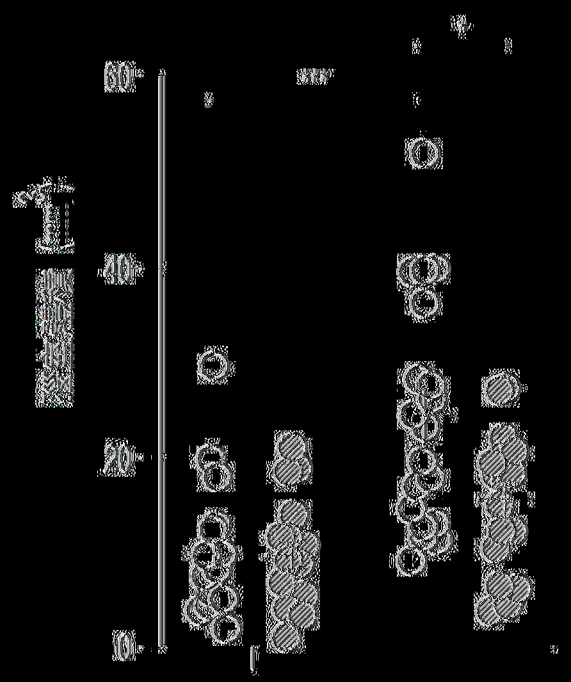
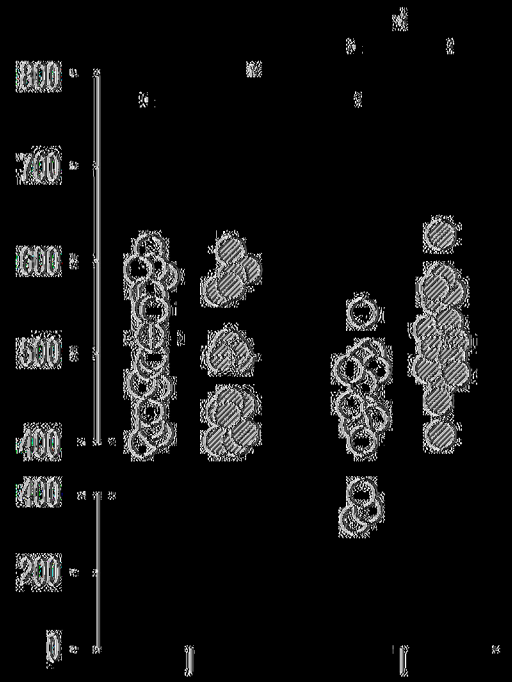

EA
200
150
100
50
0

圖7F

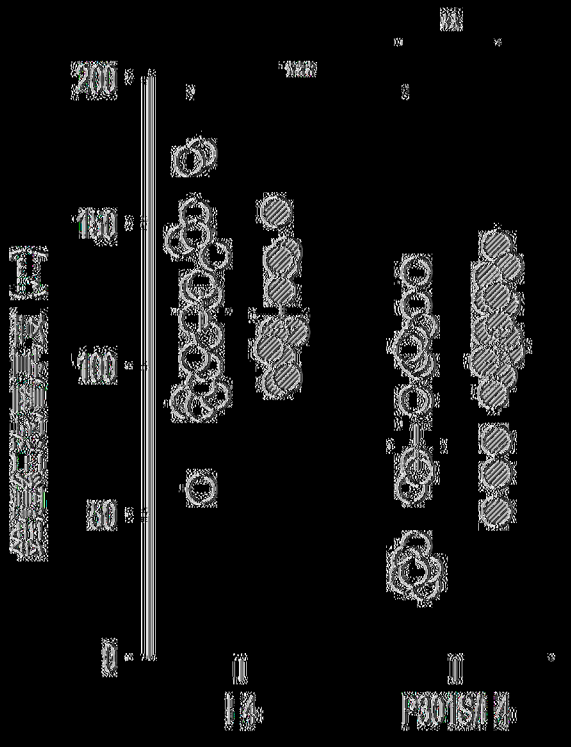
圖 2C



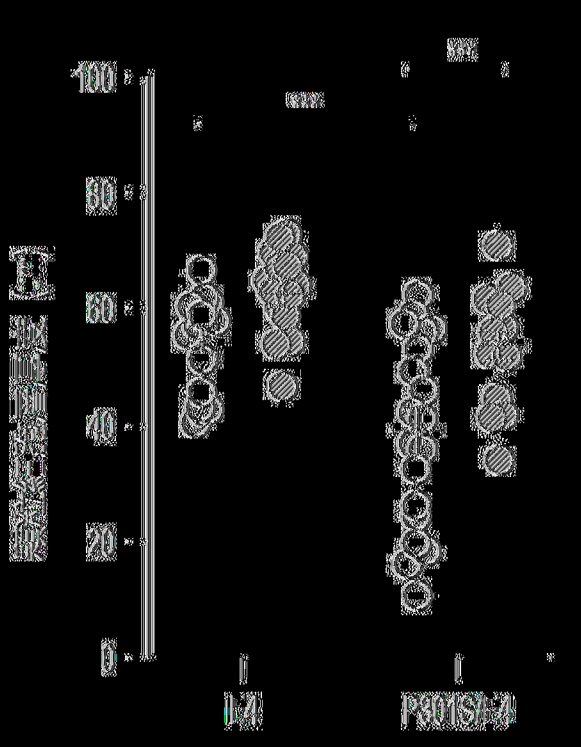
圖(圖7/00)



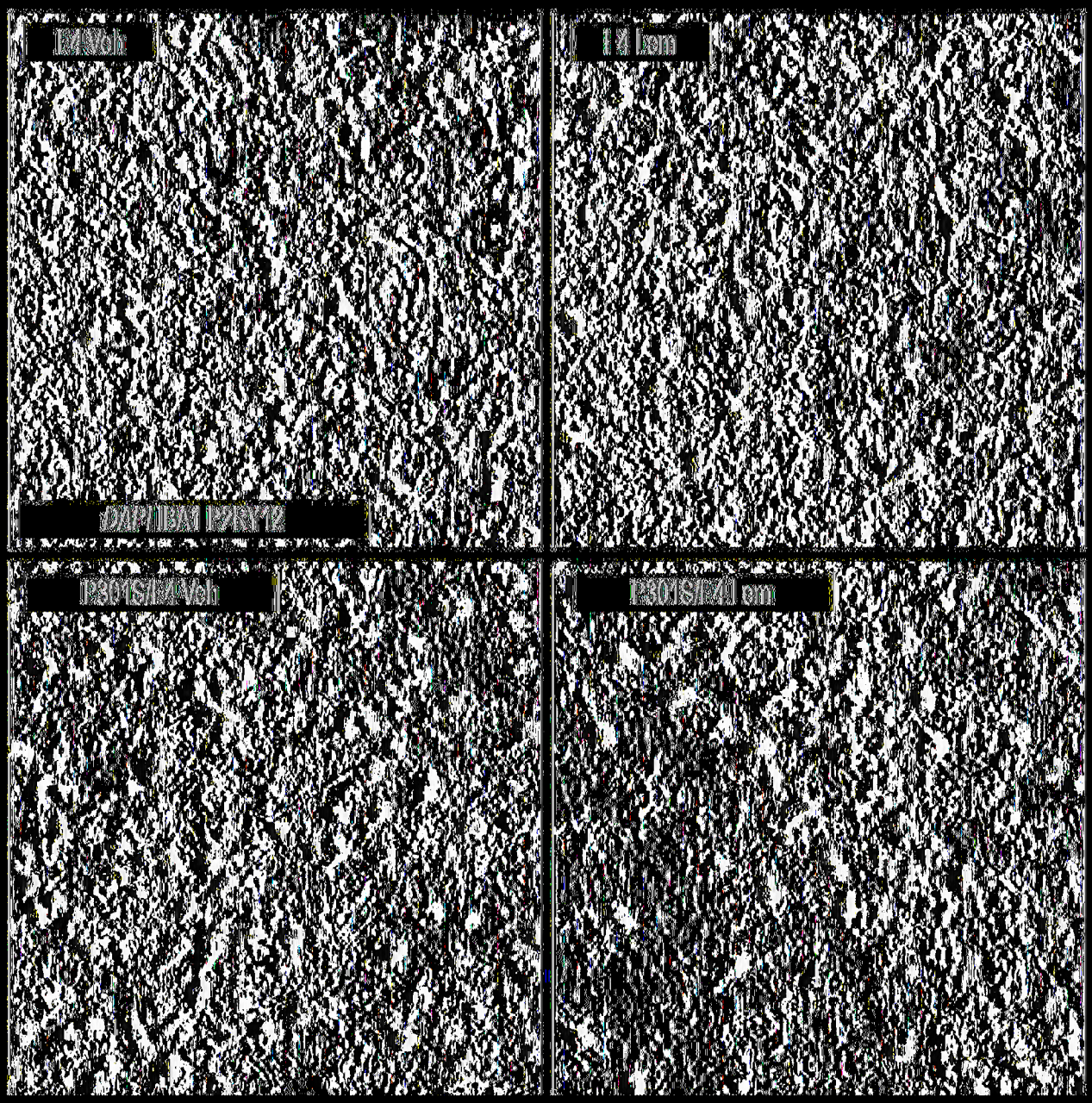
圖(圖7/0)



圖(圖7/J)



圖(圖7/K)



[圖8A]

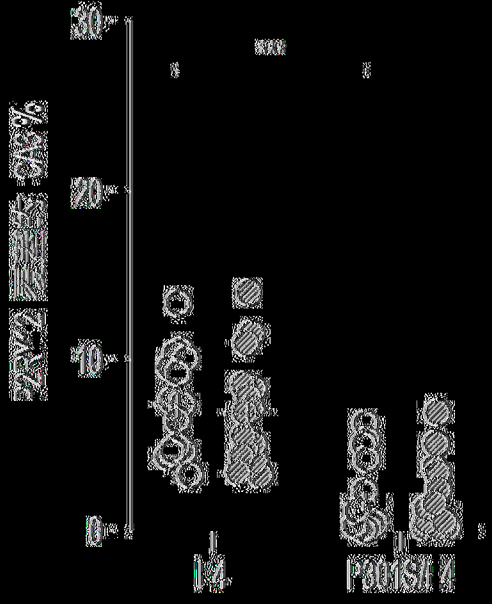


圖8B

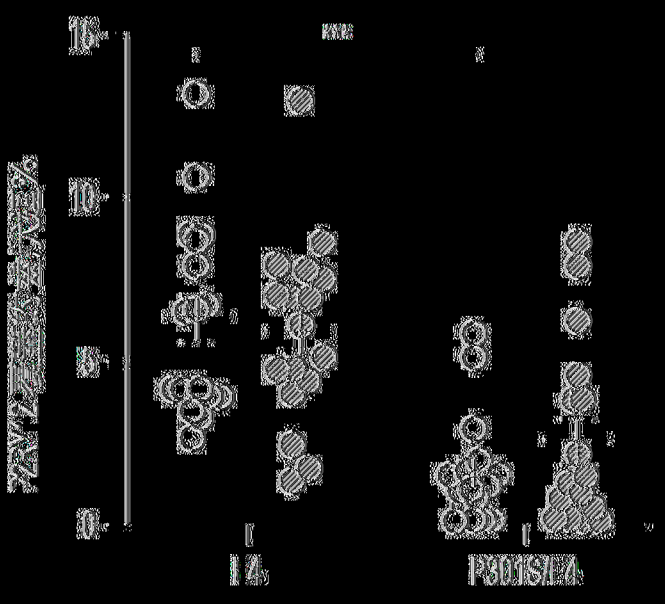


圖8C

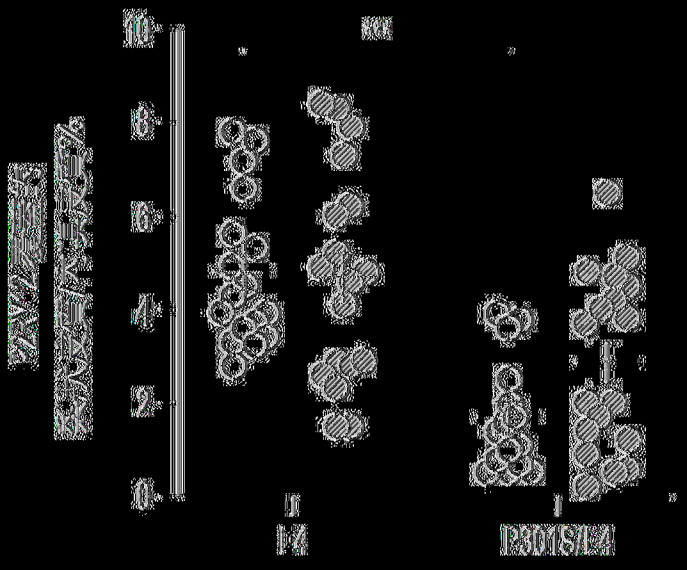


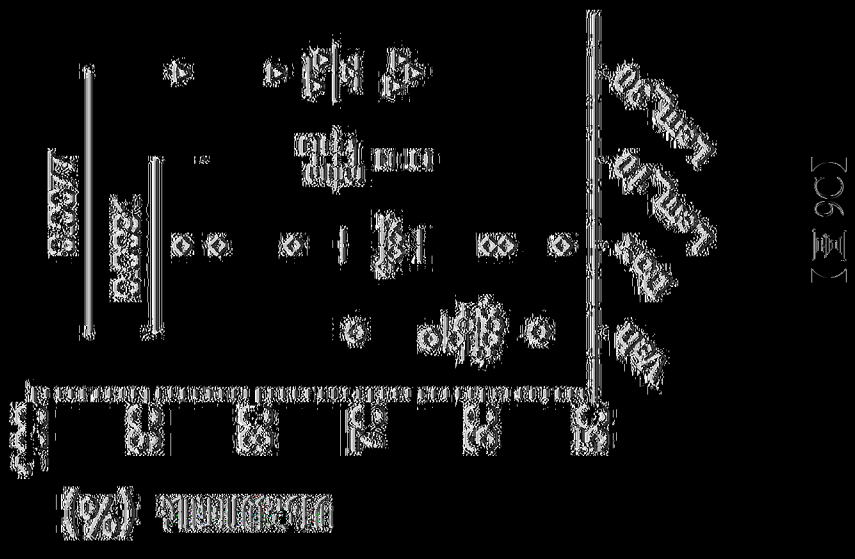
圖8D



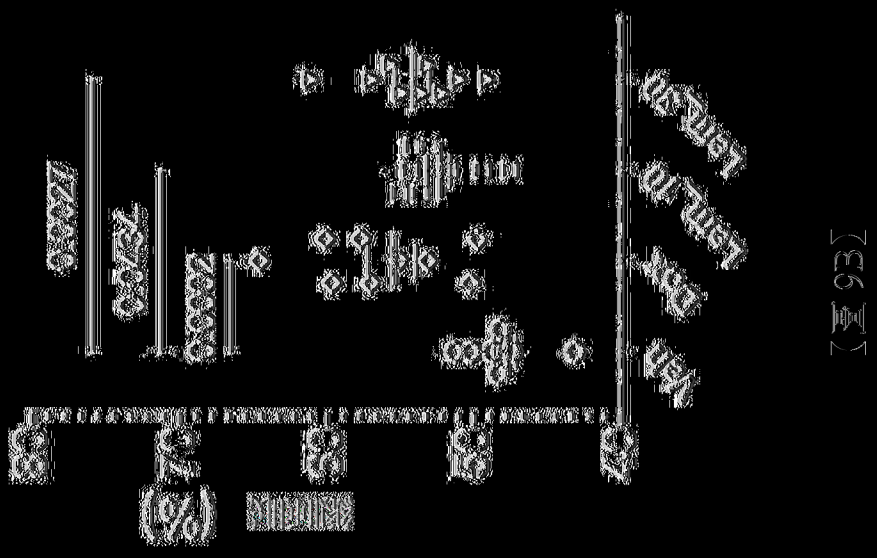
圖9A



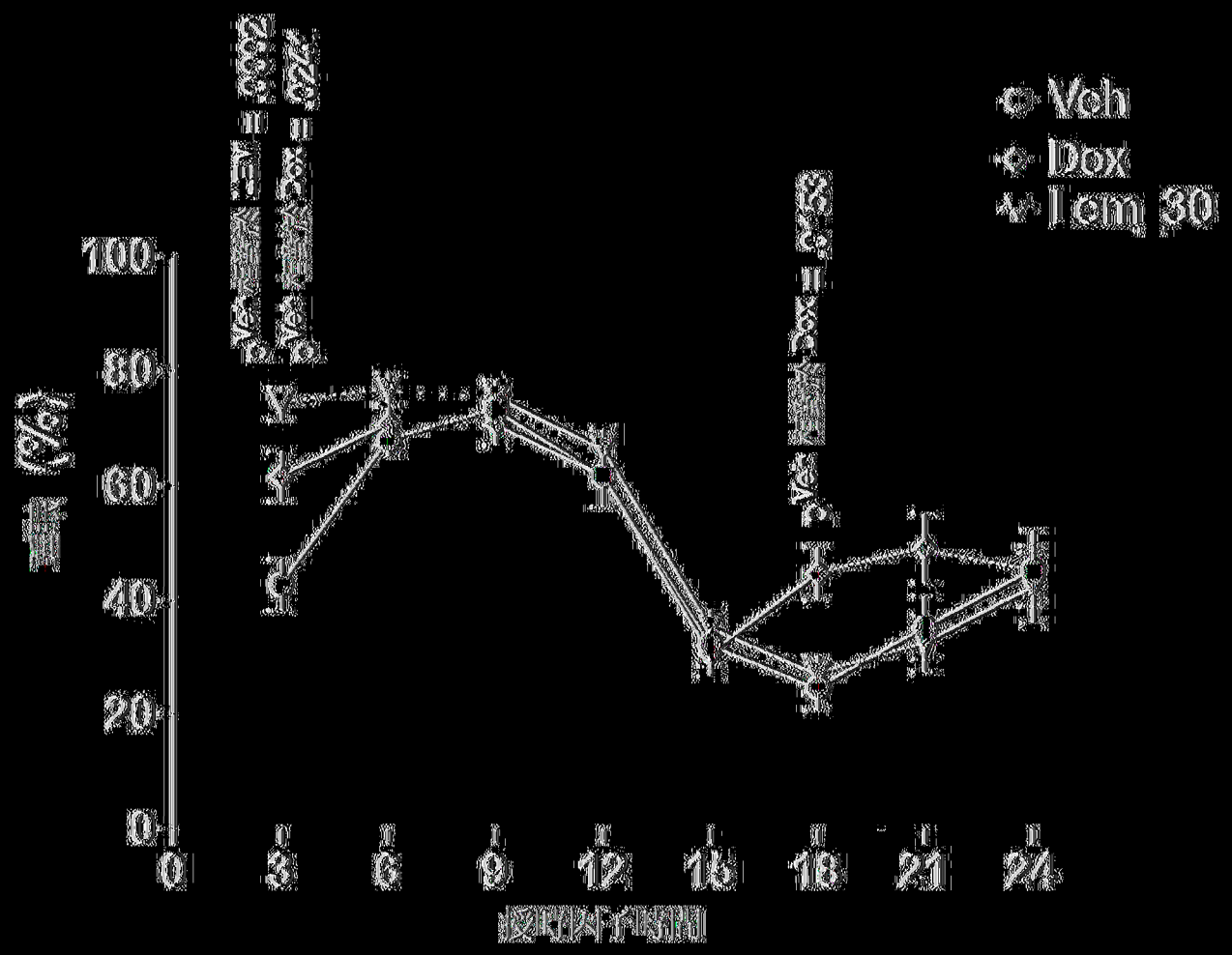
【圖 6C】



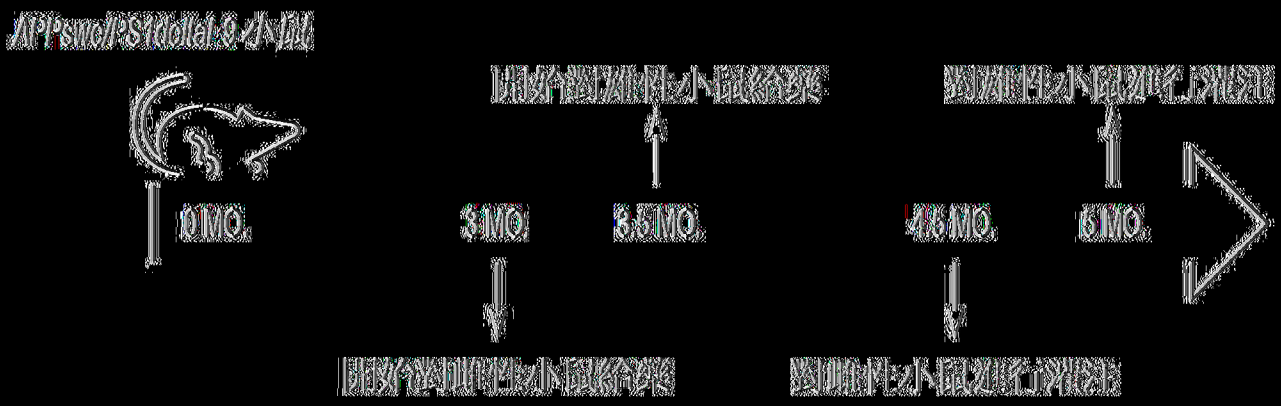
【圖 6C】



【圖 6C】


Veh
Dox
Tem 30
100
80
60
40
20
0
0
3
6
9
12
15
18
21
24

[圖 9E]


0MO.
3MO.
3.5MO.
4.5MO.
5MO.

[圖 10A]

圖式（3張）

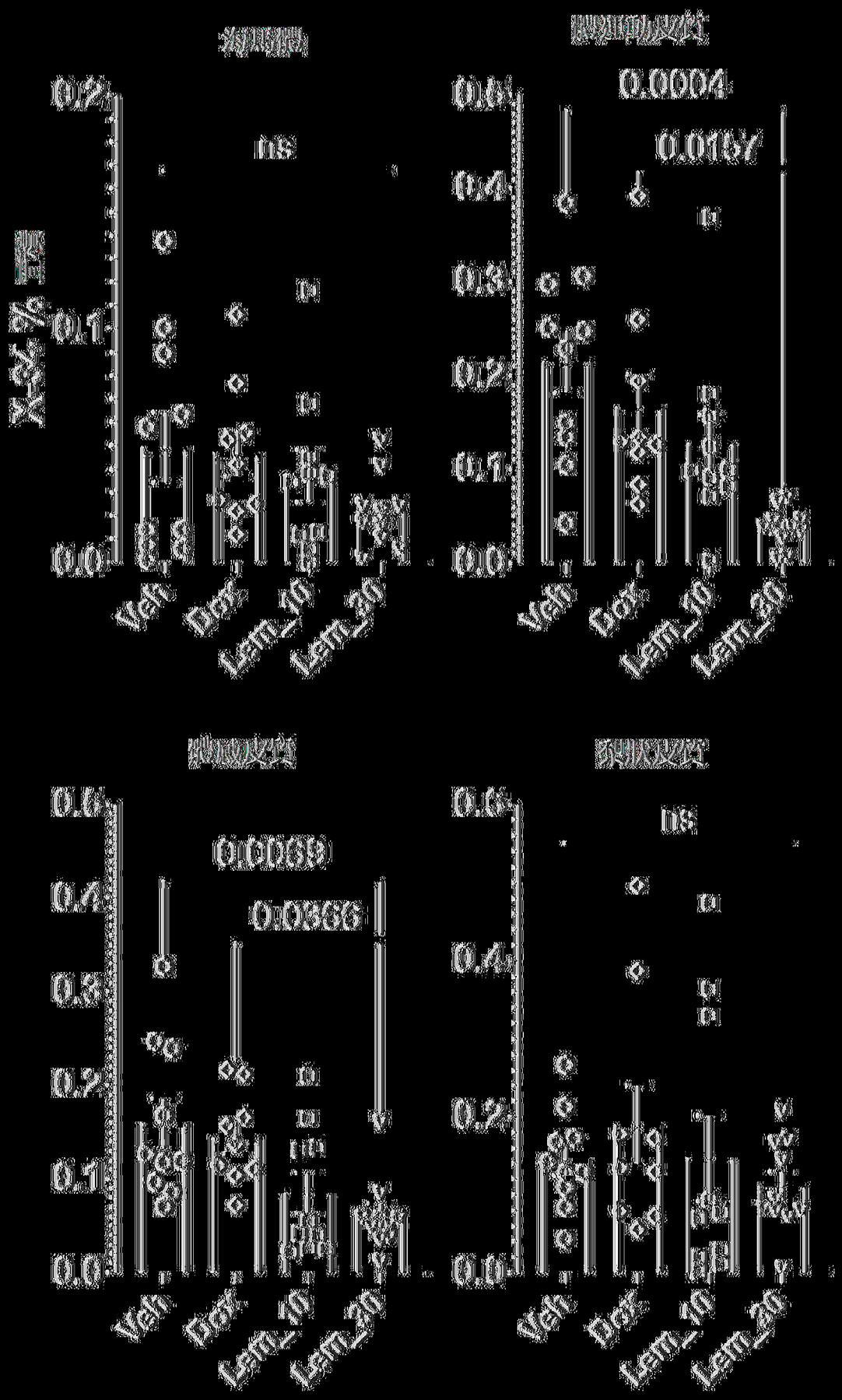

0.2
0.1
0.0
0.6
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
0.0004
0.0157
0.6
0.4
0.8
0.2
0.1
0.0
0.00063
0.0366
0.6
0.4
0.2
0.0
Veh.
Dog
Lem_10
Lem_30

圖 10C

圖 1A

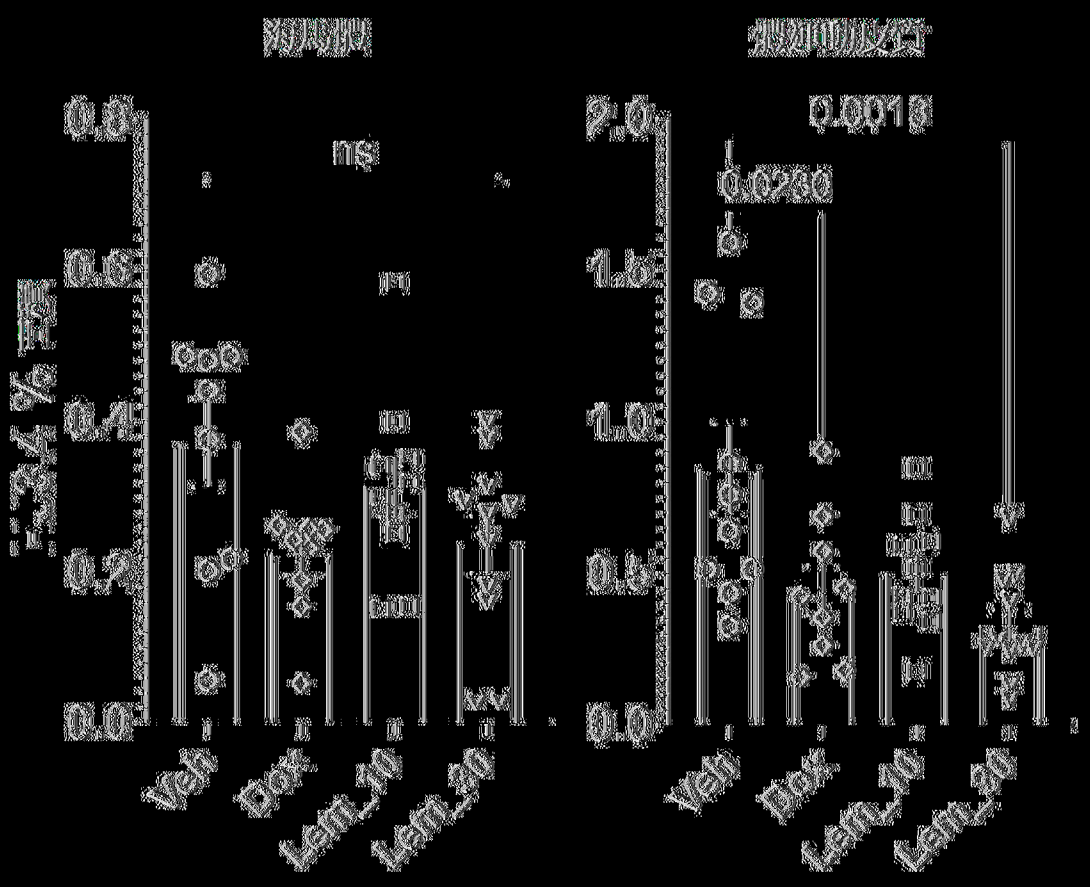
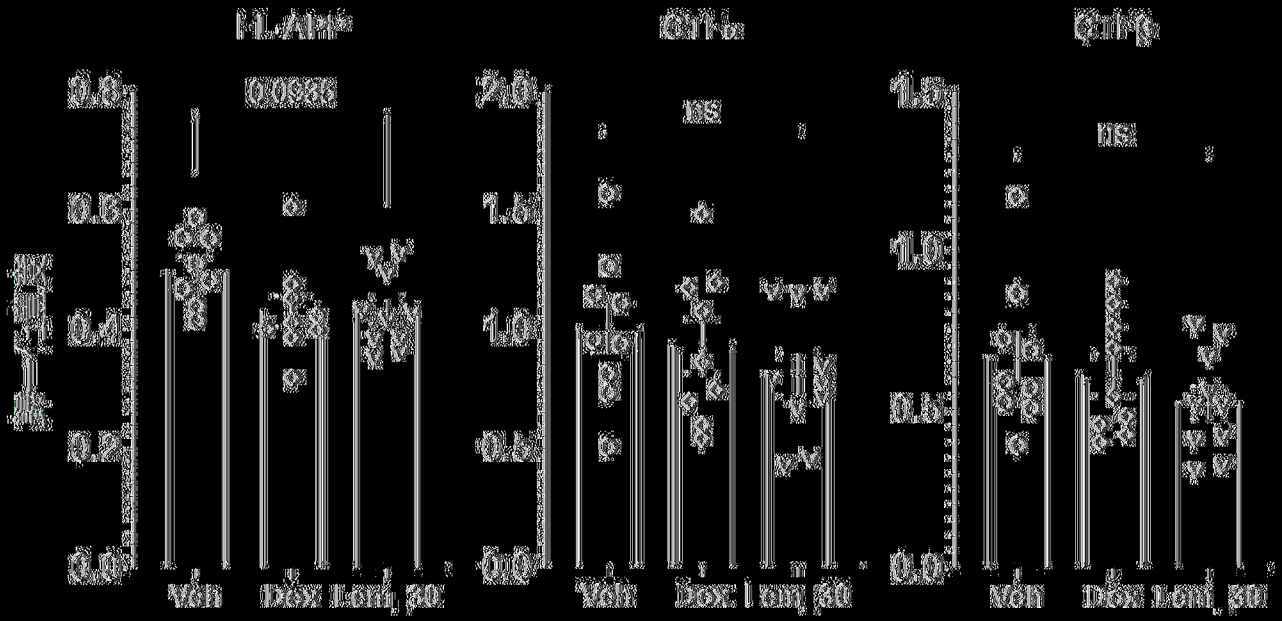

Vein
Duct
Lem_10
Lem_20
0.0
0.4
0.8
1.0
1.6
2.0
0.0013
0.0290
0.0007
0.0439
0.0294
0.0018

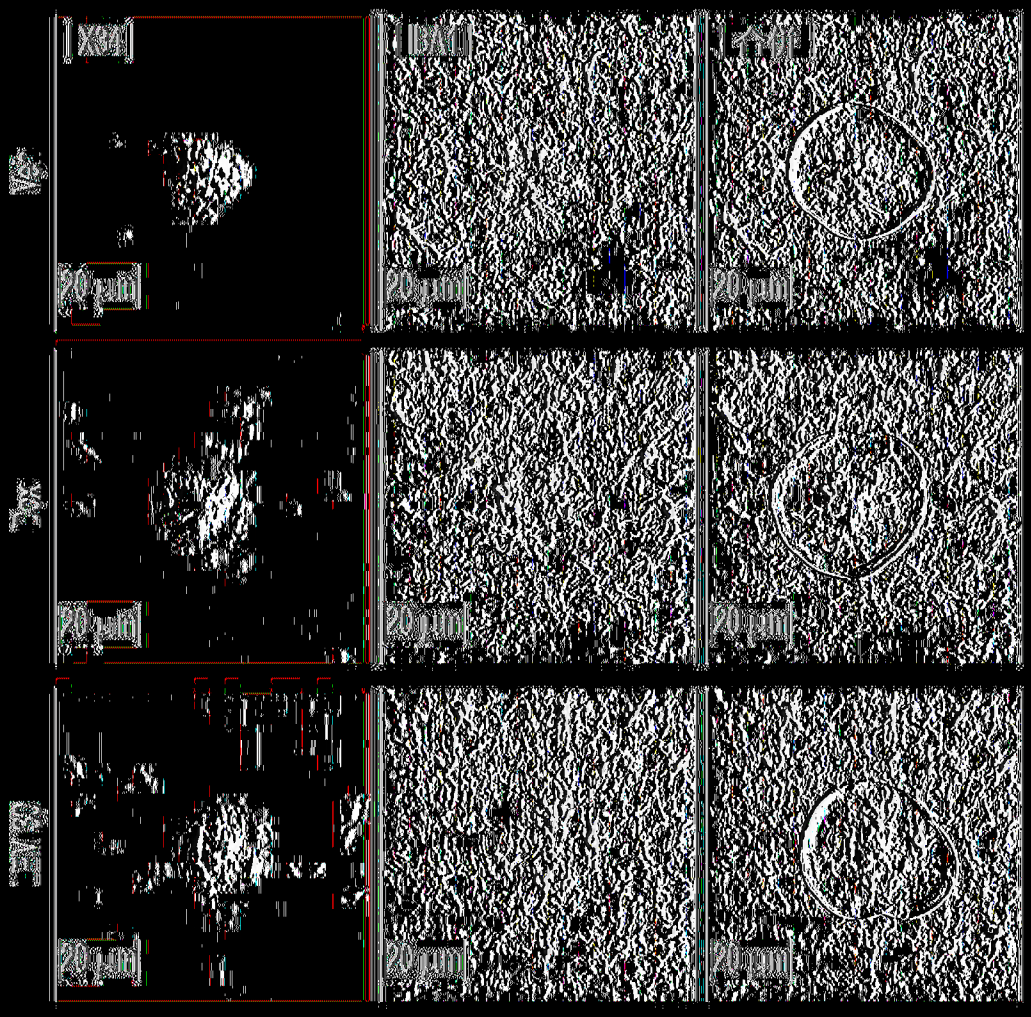
圖 11B



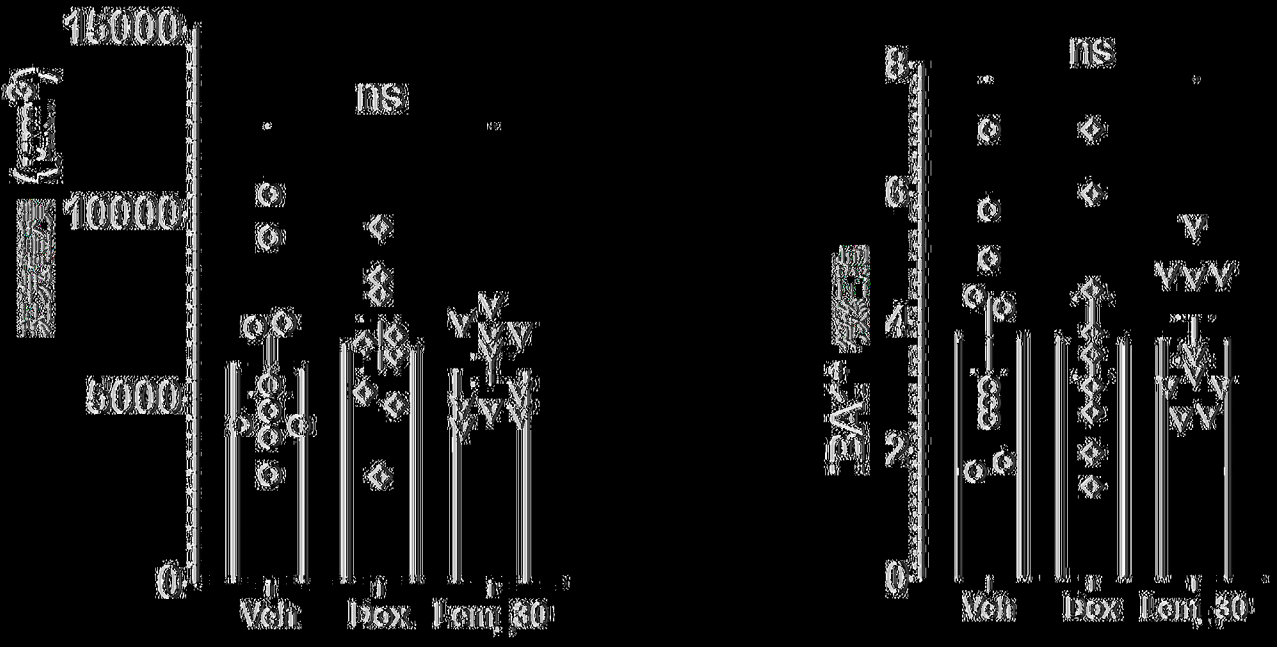
[圖 12A]



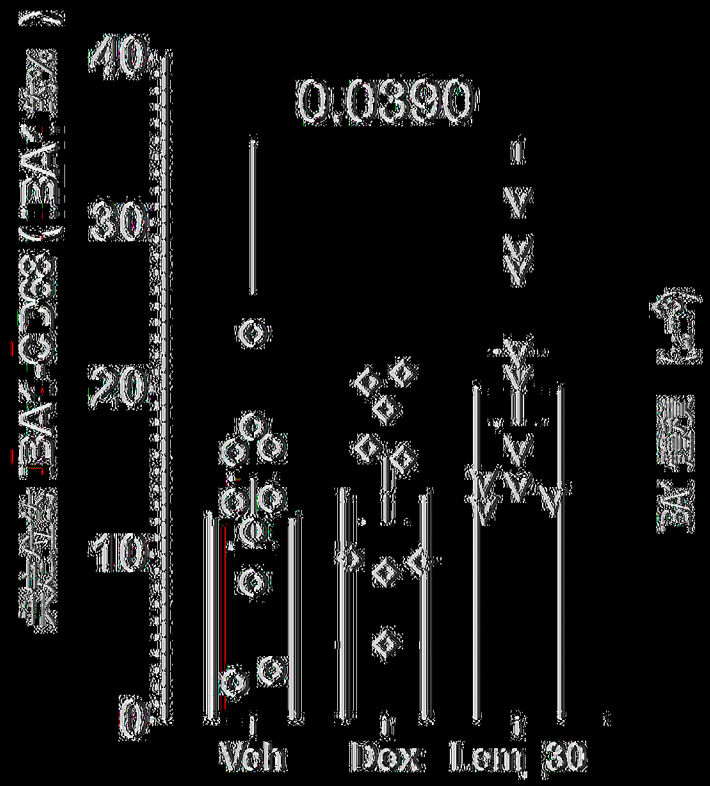
[圖12B]


20 μm
20 μm
20 μm
20 μm
20 μm
20 μm
20 μm
20 μm
20 μm

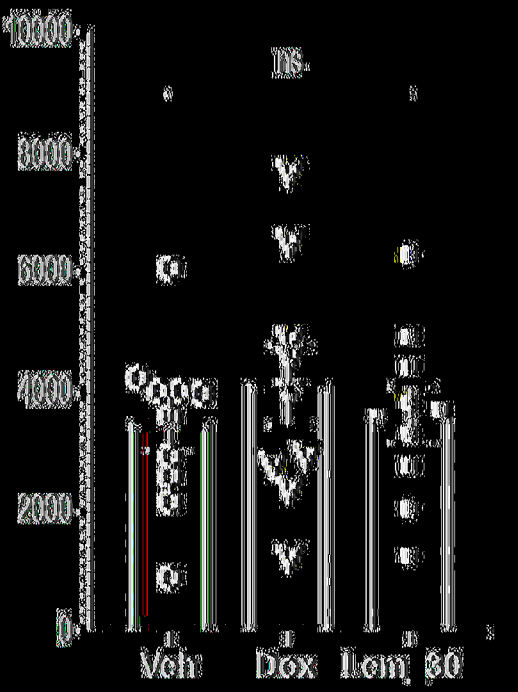
[圖13A]


15000
10000
5000
0
ns
Veh.
Ibox
Ibox 30
8
6
4
2
0
ns
Veh
Ibox
Ibox 30

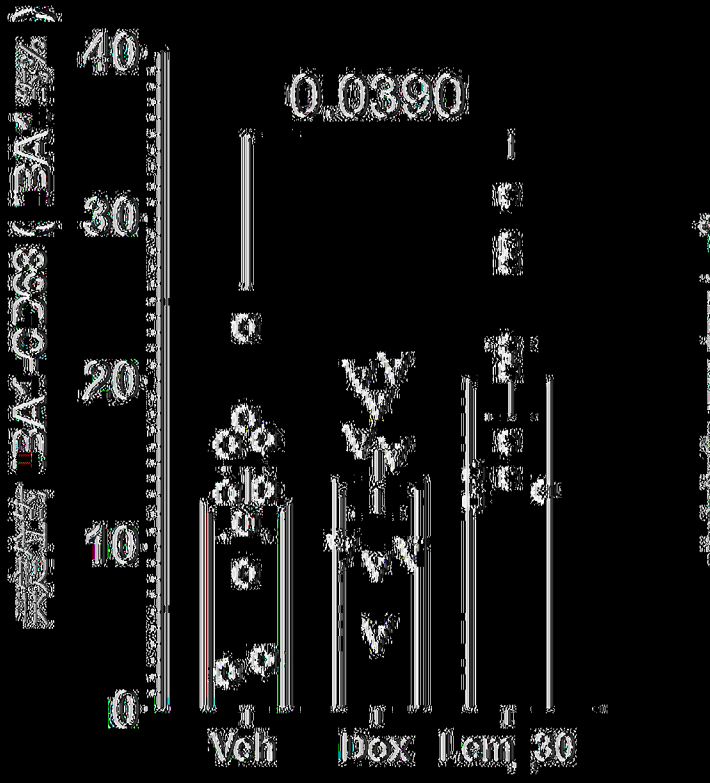
[圖13B]



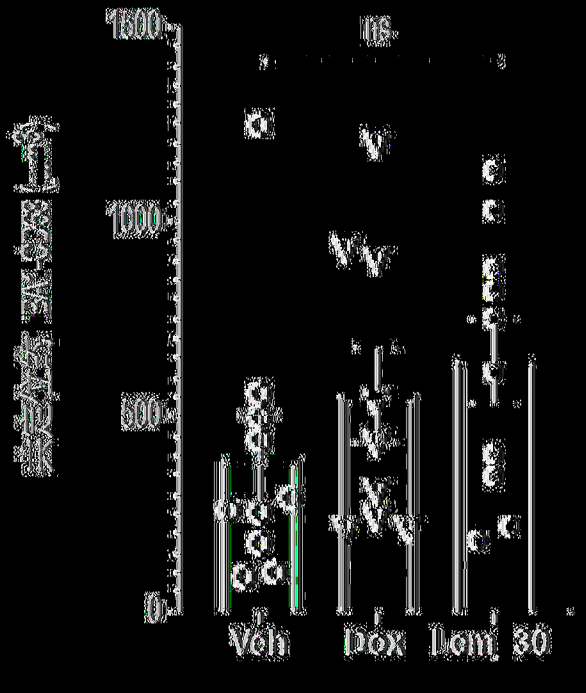
[圖 14B]



[圖 14C]



[圖 14D]



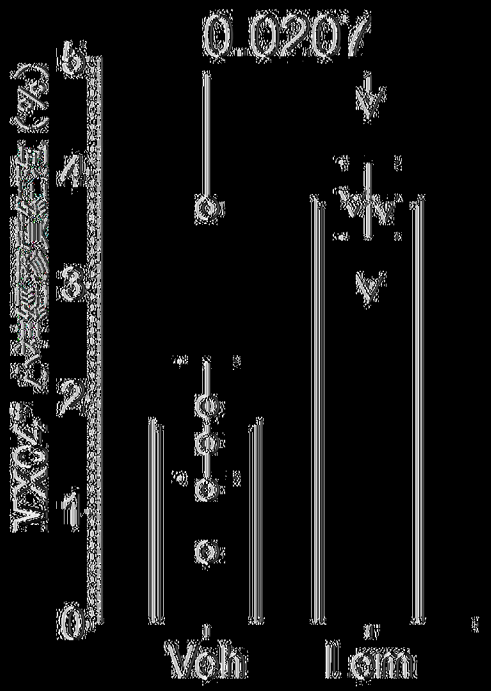
[圖 14E]

Rab52
Vps
Wmp2
Vps
Ifnb1
Vps

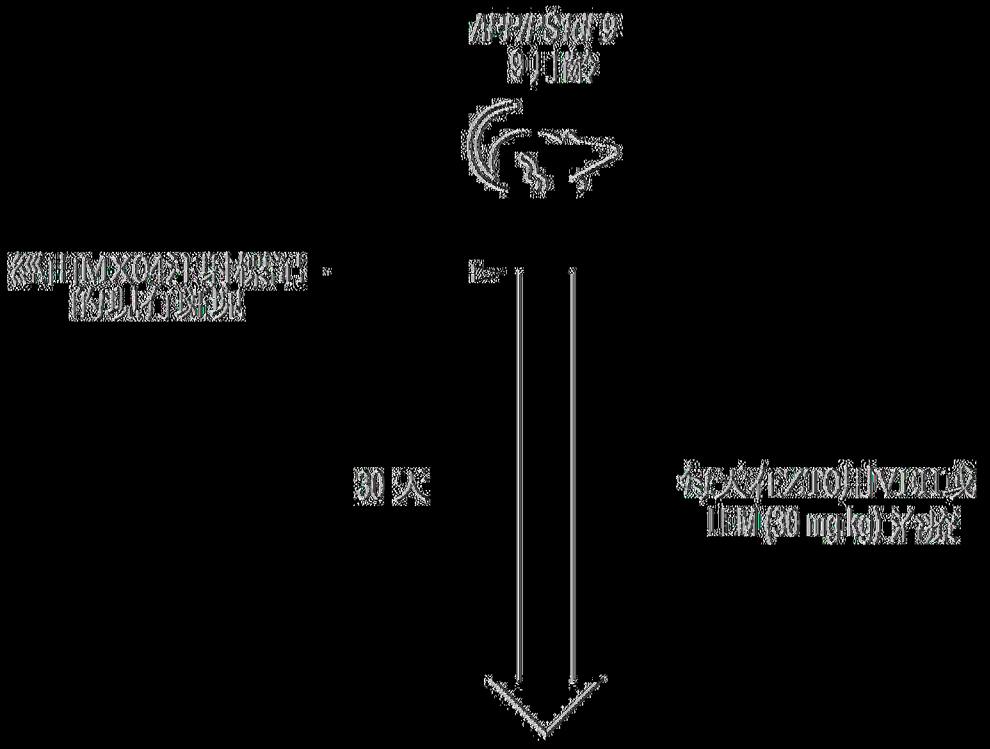
【圖16A】

圖 1C

圖 1(c)



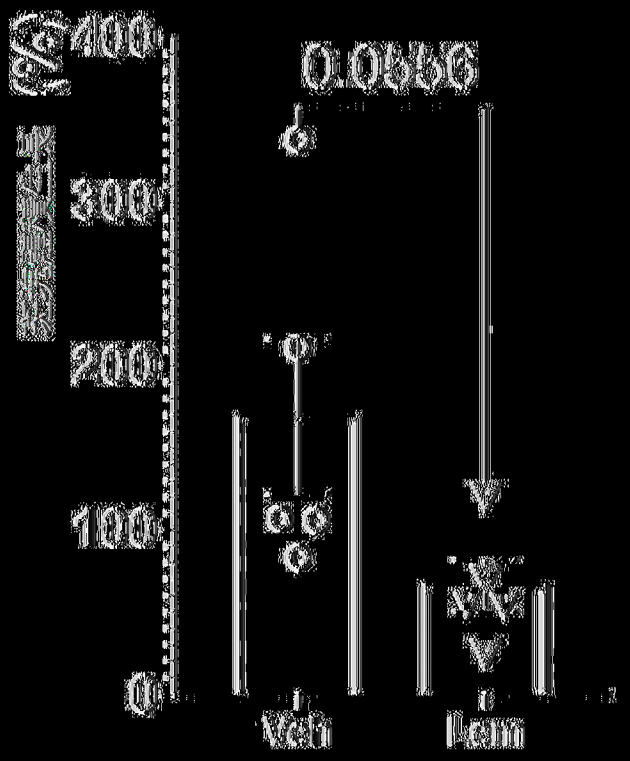
[圖 16D]



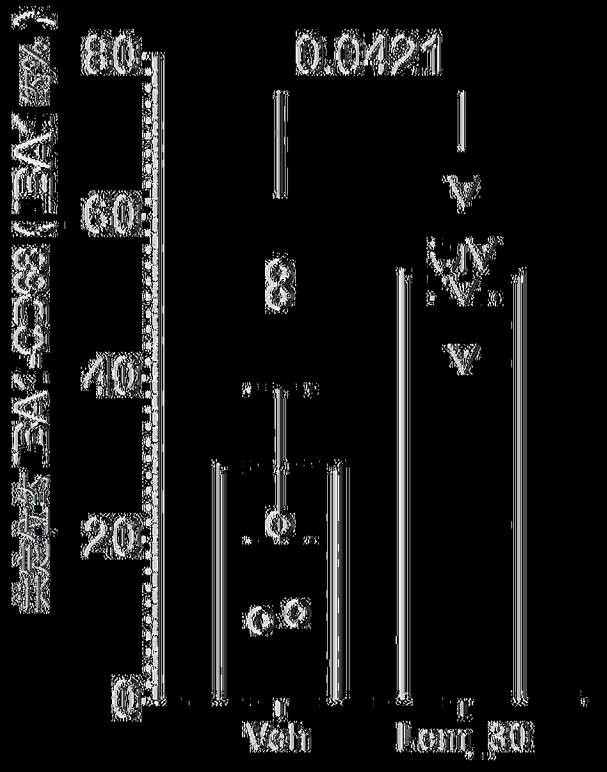
[圖 17A]

(a)
(b)
(c)
(d)

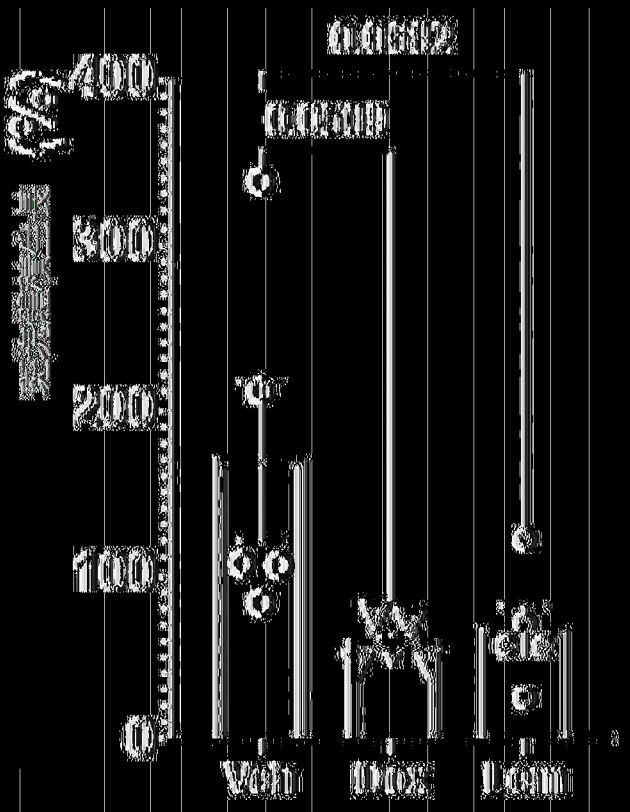
圖 6-10



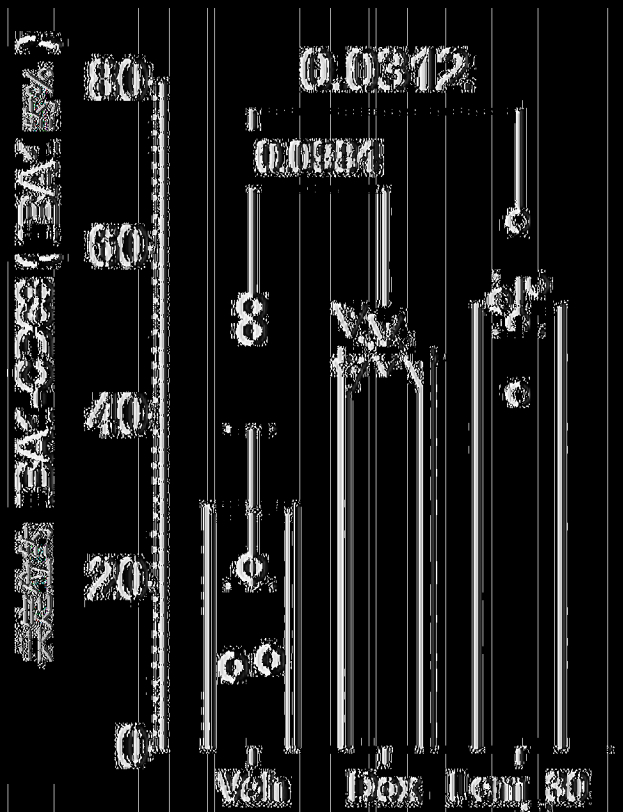
[圖 1/D]



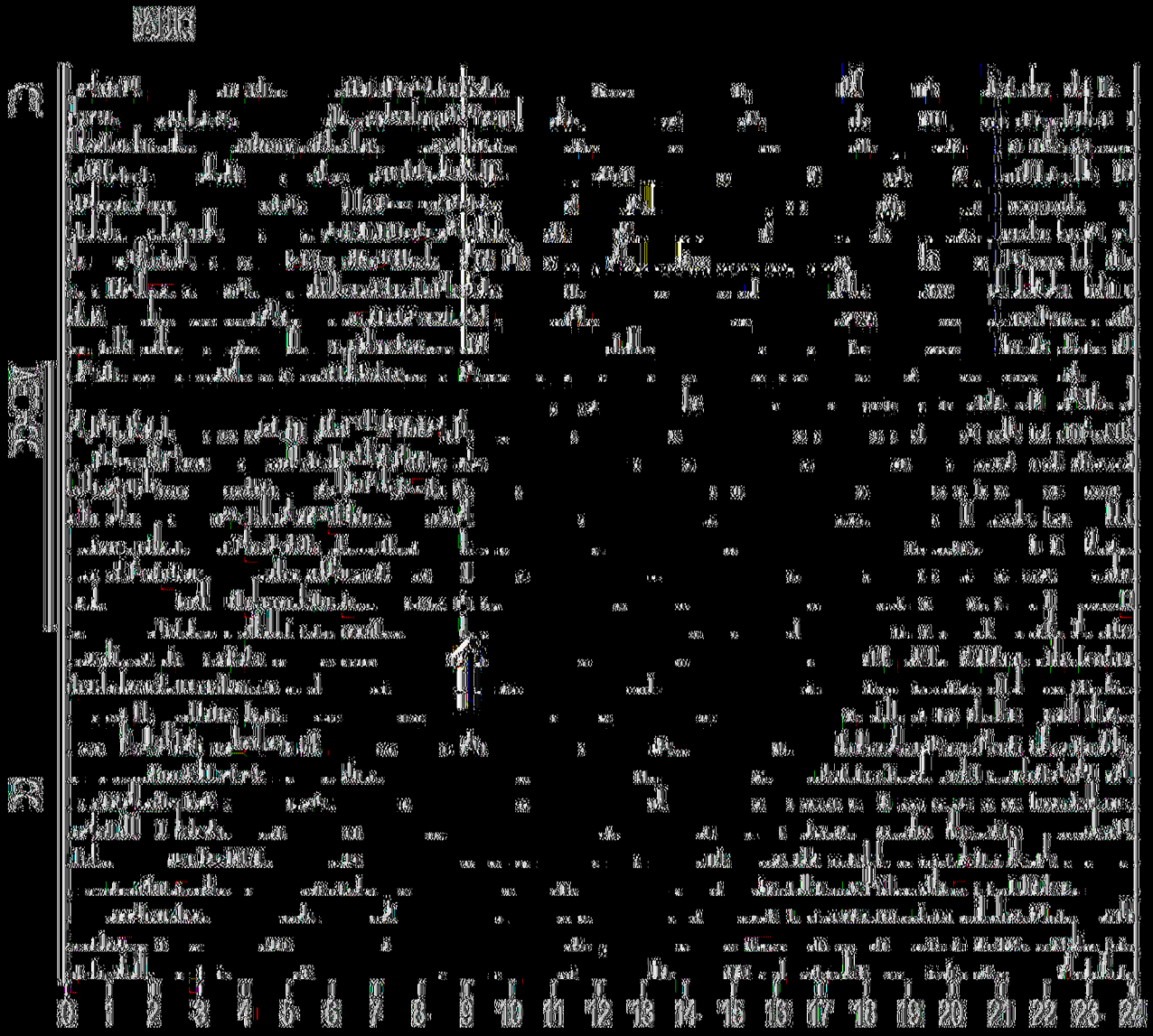
[圖 1/E]



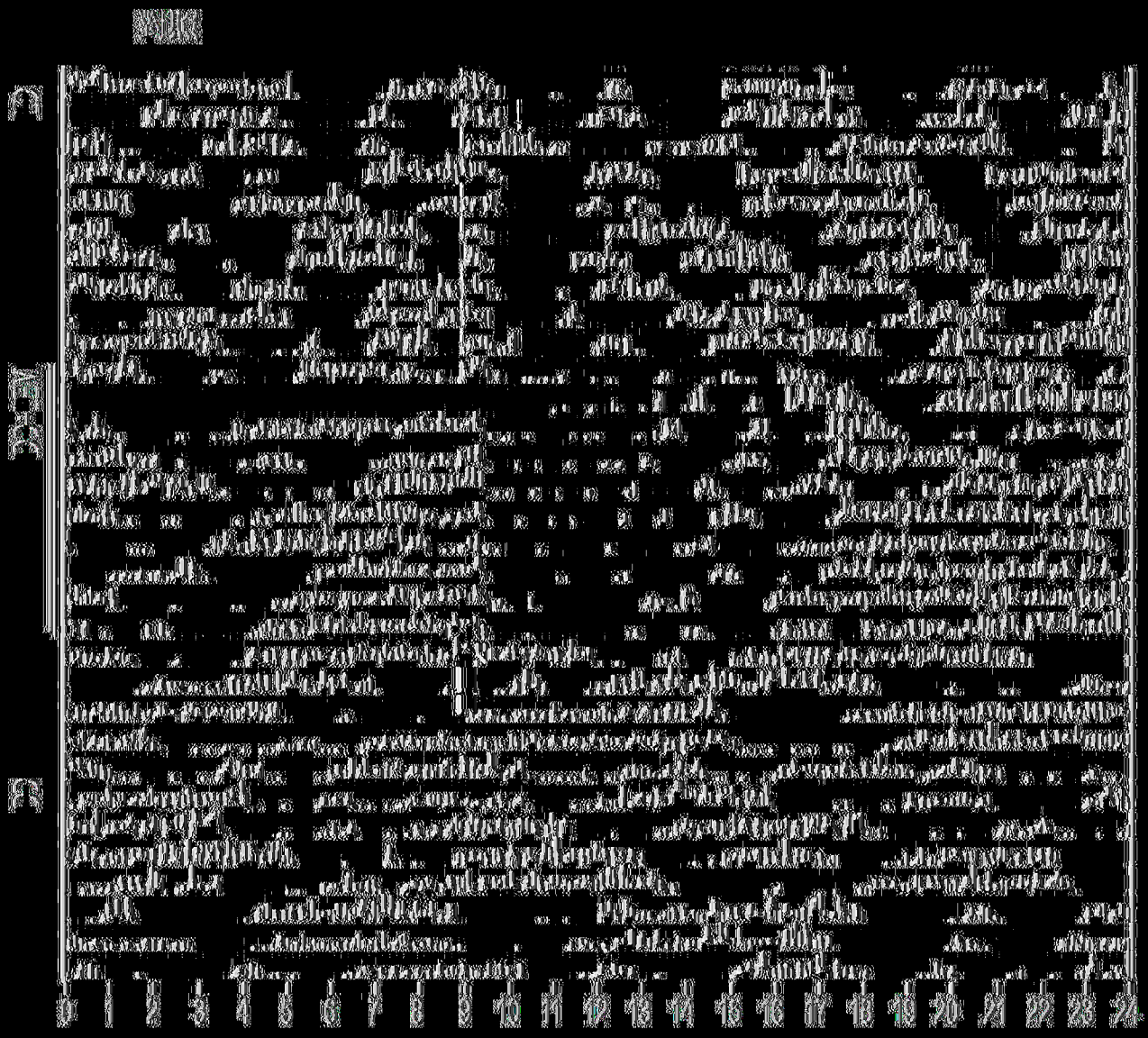
[圖 1/F]



[圖 1/G]



[圖 18A]



（同 18A）（續）

