

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-512822

(P2017-512822A)

(43) 公表日 平成29年5月25日 (2017.5.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 C 0 8 6
A 6 1 P 25/16 (2006.01)	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 82 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-560949 (P2016-560949)	(71) 出願人	514162852
(86) (22) 出願日	平成27年4月8日 (2015.4.8)		ガレクト・バイオテック・エイビー
(85) 翻訳文提出日	平成28年10月3日 (2016.10.3)		デンマーク国・ディケイ-2200 コペ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/057565		ンハーゲン エヌ・オレ モーレース ヴ
(87) 国際公開番号	W02015/155207		エイ 3・シイオービーアイエス
(87) 国際公開日	平成27年10月15日 (2015.10.15)	(71) 出願人	516296614
(31) 優先権主張番号	14163872.6		ディエルボリ, トーマス
(32) 優先日	平成26年4月8日 (2014.4.8)		スウェーデン国・エス-24650・レー
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		デッケピング・スヴァレルトヴェーゲン・
			11 ビイ
		(71) 出願人	516296625
			セラノ, アントニオ
			スウェーデン国・エス-22354・ルン
			ド・ストラ トメガタン・4 シイ
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規用途のためのガラクトシド阻害物質

(57) 【要約】

本発明は α -シヌクレイン病の治療又予防方法で使用するための医薬組成物に関し、この組成物は、哺乳動物の脳におけるガラクトシン活性を薬理学的に調節するための分子を含む。本発明は、哺乳動物である被験体における α -シヌクレイン病の治療又は予防方法にも関し、この方法は治療有効量の少なくとも1種の組成物を被験体に投与することを含み、組成物は哺乳動物の脳におけるガラクトシン活性を薬理学的に調節する分子を含む。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

哺乳動物の脳におけるガレクチン-3 活性を阻害するための分子を含む、 α -シヌクレイン病の治療又は予防方法で使用するための組成物。

【請求項 2】

前記分子は、薬剤、ポリマー、タンパク質、ペプチド、炭水化物、低分子量化合物、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド及び DNA 又は RNA 等の遺伝物質の少なくとも 1 種から選択される、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

炎症を特徴とした α -シヌクレイン病に関連づけられる疾患又は状態の治療又は予防方法において効果的である、請求項 1～2 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 4】

前記分子は、グリコピラノース、チオージガラクトシド、C3-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル-D-ガラクトース及び C3-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル-1-チオ-D-ガラクトースから選択される炭水化物を含む低分子量化合物から選択される、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5】

前記分子は、1000 Da 未満の分子量を有する低分子量化合物である、請求項 2 又は 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

前記哺乳動物の脳はヒトの脳である、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

前記疾患又は状態は神経変性疾患又は状態から選択され、例えばパーキンソン病、レヴィ小体型認知症、純粋型自律神経不全症 (PAF)、アルツハイマー病、タイプ I の脳内での鉄の蓄積を伴う神経変性 (成人神経軸索ジストロフィ又はハレルフォルデン・スパッツ症候群とも称される)、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、ピック病、多系統萎縮症 (シャイ・ドレーガー症候群、線条体黒質変性症及びオリブ橋小脳萎縮症を含む)、脳卒中、多発性硬化症、てんかん及び乳児神経軸索ジストロフィから選択される、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記疾患又は状態はパーキンソン病及びアルツハイマー病から選択される、請求項 7 に記載の組成物。

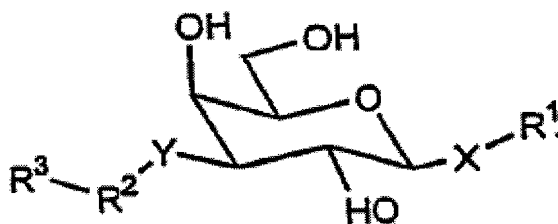
【請求項 9】

前記分子はベーターガラクトシドであり、誘導体化又は官能化される、請求項 1～8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 10】

前記分子は以下の一般式：

【化 1】



を有し、式中、ピラノース環の構成は D-ガラクトであり、

X は O、S、NH、CH₂ 及び NR⁴ から成る群から選択される又は結合であり、

Y は NH、CH₂ 及び NR⁴ から成る群から選択される又は結合であり、

R¹ はサッカリド、水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基及び複素環から成る群から選択され、

10

20

30

40

50

R^2 はCO、 SO_2 、SO、PO及び PO_2 から成る群から選択され、

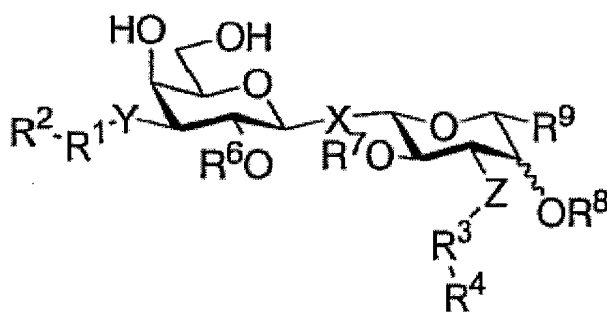
R^3 は、少なくとも4個の炭素原子のアルキル基、少なくとも4個の炭素原子のアルケニル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4個の炭素原子のアルキル又はアルケニル基、カルボキシ基及びアミノ基の両方で置換された少なくとも4個の炭素原子のアルキル基、ハロゲンで置換された少なくとも4個の炭素原子のアルキル基、フェニル基、カルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、アルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲン及び少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲン及び少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、ニトロ基で置換されたフェニル基、スルホ基で置換されたフェニル基、アミン基で置換されたフェニル基、ヒドロキシ基で置換されたフェニル基、カルボニル基で置換されたフェニル基、置換カルボニル基で置換されたフェニル基並びにフェニルアミノ基から成る群から選択され、

R^4 は、水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基及び複素環から成る群から選択される、請求項1～9のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項11】

前記分子は、一般式：

【化2】



を有し、式中、ピラノース環の一方の構成は β -D-ガラクトであり、

XはO、S、SO、 SO_2 、NH、 CH_2 及び NR^5 から成る群から選択され、

YはO、S、NH、 CH_2 及び NR^5 から成る群から選択される又は結合であり、

ZはO、S、NH、 CH_2 及び NR^5 から成る群から選択される又は結合であり、

R^1 及び R^3 は独立してCO、 SO_2 、SO、 PO_2 、PO及び CH_2 から成る群から選択される又は結合であり、

R^2 及び R^4 は独立して、少なくとも4個の炭素のアルキル基、少なくとも4個の炭素のアルケニル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4個の炭素のアルキル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4個の炭素のアルケニル基、アミノ基で置換された少なくとも4個の炭素のアルキル基、アミノ基で置換された少なくとも4個の炭素のアルケニル基、アミノ基及びカルボキシ基の両方で置換された少なくとも4個の炭素のアルキル基、アミノ基及びカルボキシ基の両方で置換された少なくとも4個の炭素のアルケニル基、1つ以上のハロゲンで置換されたアルキル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたフェニル基、ナフチル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つ

のアリールアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたナフチル基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたナフチル基、ヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたヘテロアリール基並びに少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたヘテロアリール基から成る群から選択され、 R^6 及び R^8 は独立して、水素、アシル基、アルキル基、ベンジル基及びサッカリドから成る群から選択され、 R^7 は、水素、アシル基、アルキル基及びベンジル基から成る群から選択され、 R^9 は、水素、メチル基、ヒドロキシメチル基、アシルオキシメチル基、アルコキシメチル基及びベンジルオキシメチル基から成る群から選択される、請求項1～9のいずれか一項に記載の組成物。

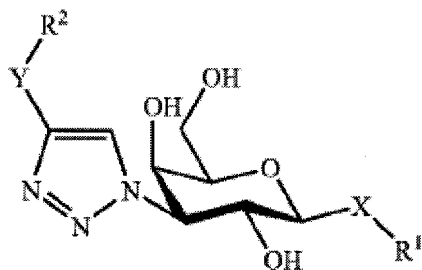
10

【請求項12】

前記分子は、一般式：

【化3】

20



を有し、式中、ピラノース環の構成はD-ガラクトであり、

XはO、S、NH、 CH_2 及び NR^4 から成る群から選択される又は結合であり、

Yは CH_2 、CO、 SO_2 、SO、 PO_2 、PO及びフェニルから成る群から選択される又は結合であり、

R^1 は、サッカリド、置換サッカリド、D-ガラクトース、置換D-ガラクトース、C3-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル-置換D-ガラクトース、水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基、複素環及びその誘導体並びにアミノ基、置換アミノ基、イミノ基又は置換イミノ基から成る群から選択され、

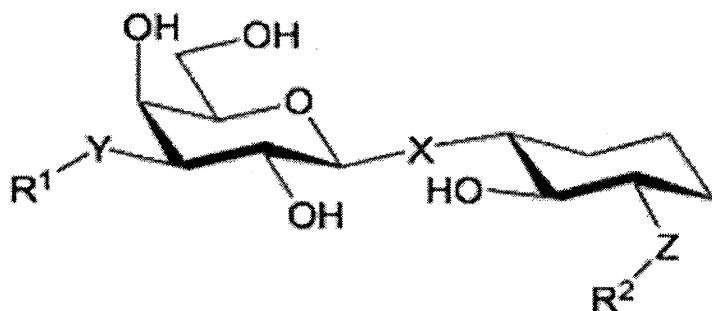
R^2 は、水素、アミノ基、置換アミノ基、アルキル基、置換アルキル基、アルケニル基、置換アルケニル基、アルキニル基、置換アルキニル基、アルコキシ基、置換アルコキシ基、アルキルアミノ基、置換アルキルアミノ基、アリールアミノ基、置換アリールアミノ基、アリールオキシ基、置換アリールオキシ基、アリール基、置換アリール基、ヘテロアリール基、置換ヘテロアリール基、複素環及び置換複素環から成る群から選択される、請求項1～9のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項13】

前記分子は、以下に示す一般式：

【化 4】



10

を有し、式中、ピラノース環の構成はD-ガラクトであり、
XはO、S及びSOから成る群から選択され、

Y及びZは独立して、CONH又は1H-1, 2, 3-トリアゾール環から選択され、R¹及びR²は独立して、少なくとも4個の炭素のアルキル基、少なくとも4個の炭素のアルケニル基、少なくとも4個の炭素のアルキニル基、カルバモイル基、アルキル基で置換されたカルバモイル基、アルケニル基で置換されたカルバモイル基、アルキニル基で置換されたカルバモイル基、アリール基で置換されたカルバモイル基、置換アルキル基で置換されたカルバモイル基、置換アリール基で置換されたカルバモイル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルキル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのトリフルオロメチル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのトリフルオロメトキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたフェニル基、ナフチル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルキル基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたナフチル基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたナフチル基、ヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたヘテロアリール基、チエニル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたチエニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたチエニルチエニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたチエニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたチエニル基及び少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたチエニル基から成る群から選択される、請求項1～9のいずれか一項に記載の組成物。

20

30

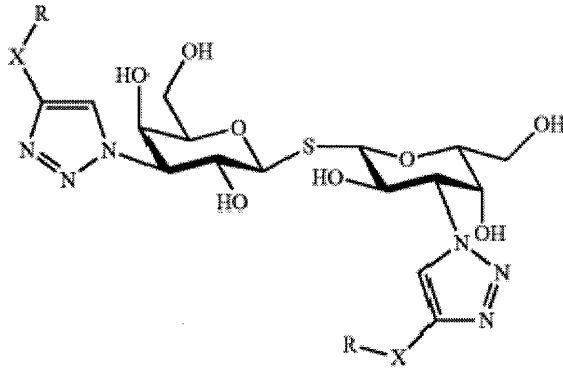
40

【請求項14】

前記分子は、一般式(13)：

【化 5】

(13)



10

を有し、式中、ピラノース環の少なくとも一方の構成はD-ガラクトであり、Xは結合であり、Rはフェニル基であり、前記フェニル基は任意の位置でメチル、エチル、イソプロピル、tert-ブチル、フルオロ、クロロ、ブロモ及びトリフルオロメチルから成る群から選択される1つ以上の置換基で置換され、あるいはRはチエニル基である、請求項1～9のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項15】

前記分子はビス- {3-デオキシ-3-[4-(3-フルオロフェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル} スルファン (TD139) であり、任意で遊離の形態、例えば結晶形態である、請求項1～9のいずれか一項に記載の組成物。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明はα-シヌクレイン病の治療又予防方法で使用するための組成物に関し、この組成物は、哺乳動物の脳におけるガレクチン活性を薬理的に調節するための分子を含む。本発明は、この分子を含む医薬組成物にも関する。さらに、本発明は、哺乳動物である被験体におけるα-シヌクレイン病の治療又は予防方法に関する。

【背景技術】

30

【0002】

中枢神経系 (CNS) の一部の急性及び慢性の疾患には神経炎症及びミクログリア細胞が関与している。ミクログリアの活性化の制御が、CNSの急性損傷に関して緩徐進行性神経変性疾患の両方にとっての適切な治療ターゲットである (Lyman et al., 2014)。α-シヌクレインは、典型的なα-シヌクレイン病 (パーキンソン病 (PD)、レヴィ小体型認知症及び多系統萎縮症を含めた幾つかの神経変性障害に関わると考えられているシナプスタンパク質である。全ての神経変性状態に共通する特徴は、ミクログリア細胞の活性化である。

【0003】

パーキンソン病 (PD) は運動緩慢、固縮及び振戦を特徴とする進行性の運動神経変性障害であり、60歳を超える人口の約1%が罹患する (Samii et al., 2004; Casey, 2013)。病理学的には、PDは、グリア細胞の活性化、脳炎、進行性のドーパミン作動性細胞の変性 (Qiao et al., 2012) 並びにレヴィ小体及びレヴィ神経突起と称される目印のタンパク質封入体へのα-シヌクレインの蓄積を特徴とする (Spillantini, et al., 1997)。炎症応答中のミクログリアの活性化がPDにおける神経変性に関わっていると考えられている (Thomas-Camardiel et al., 2004; Villar-Cheda et al., 2012)。しかしながら、ミクログリアの応答及び神経変性の調節プロセスはいまだに解明されていない。PDとα-シヌクレインとの明確な関連は、PDの病理発生に関係している可能性があるα-シヌクレイン遺伝子 (SNCA) における変異により示さ

40

50

れている (Kruger et al., 1998)。α-シヌクレインタンパク質は主にシナプス前終末に見られ、ヒトの脳には極めて豊富に存在し、他の特徴の中でもシナプスの再編成、神経発達及び神経可塑性と関連がある (George et al., 1995; Kholidilov et al., 1999; Stefanis, 2012)。主にニューロンで発現するが、免疫細胞 (T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞) を含めた様々な細胞型及び単球でも発現する。さらに、分泌されたα-シヌクレインは、凝集のシーディングを含めた有害な作用を周囲の細胞に及ぼすことで疾患の伝播に寄与している可能性がある (Stefanis, 2012; Lee et al., 2014)。

【0004】

炎症性のミクログリア応答におけるα-シヌクレインの役割は、インビトロ及びインビボの両方で実証されている。例えば、α-シヌクレインでの処理は、単球 (Codollo et al., 2013) におけるIL-1βの放出を引き起こすことができ、またToll様受容体2 (TLR2) (Kim et al., 2013) 及びToll様受容体4 (TLR4) (Fellner et al., 2013) の活性化は、ミクログリアのα-シヌクレイン誘発性活性化に関与している受容体であると特定されている。今日まで、様々な研究施設が、細胞外α-シヌクレインがミクログリアの活性化及び炎症応答に及ぼす作用について報告している。例えば、Codolloらは、線維性α-シヌクレインが炎症応答を引き起こし得ると報告している。Kimらは、具体的にはニューロンから放出されたオリゴマー状のα-シヌクレインもミクログリアの活性化を引き起こし得ると報告している。これらの発見は、ミクログリア応答への作用がタンパク質の起源 (細胞由来対組み換え)、使用したタンパク質のタイプ (野生型又は変異体) (Rojanathamane et al., 2011) に左右されること、あるいはタンパク質が生成される分子の状態 (モノマー状、オリゴマー状又は線維状) がミクログリアに様々な作用を及ぼし得ることを実証している。

【0005】

活性化したミクログリアは主に2種の特徴がはっきりしたプロファイル、すなわち代替プロファイル (抗炎症性) 及び古典的プロファイル (炎症促進性) を示し得て、表面タンパク質の違いがミクログリア細胞による環境の知覚を可能にする。刺激に応じて、ミクログリア細胞は静止状態から炎症又は抗炎症プロファイルへとシフトし得る。炎症促進性プロファイルにおいて、ミクログリア細胞は、神経細胞の生存を弱体化させると判明している様々な炎症促進分子 (TNF-α、IL-1β、IL-12、IFN-γ 又は一酸化窒素) を放出する (De Pablos et al., 2005; Zindler and Zipp, 2010)。代替プロファイルは、ミクログリアの活性化を低下させることができる抗炎症因子 (IL-4、IL-13、TGF-β) の放出を特徴とする (Stirling et al., 2013)。ERK 1/2、p38 MAPK、インフラマソーム経路及びNF-κβを含め、α-シヌクレインミクログリア活性化には様々な経路が関わっていると言われているが、炎症モジュレータ、例えばガレクチン-3の役割は研究されていない。ガレクチン-3は活性化時のミクログリアを含めた免疫細胞を含め幅広い細胞で発現し、また脳脊髄炎、外傷性脳損傷、EAE及び虚血性脳障害等の障害に関わっている分子である (Jiang et al., 2009; Lalancette-Hebert et al., 2012; Pajoohesh-Ganji et al., 2012)。しかしながら、PDに関わる病理学的プロセスにおけるガレクチン-3の役割はいまだに研究されていない。

【0006】

ガレクチン-3はβ-ガラクトシド結合レクチンファミリーに属するメンバーであり、非CRD N末端に結合した糖鎖認識ドメイン (CRD) から構成される。これまでの研究から、細胞接着、増殖、クリアランス (Lee et al., 2008)、アポトーシス、細胞活性化、細胞遊走 (Shin, 2013) 及び炎症制御 (Liu and Rabbinovich, 2010) を含めた様々な生物学的活性においてガレクチン-3が役割を果たすことが判明している。ガレクチン-3は、様々な組織、また細胞質又は核の

細胞内外で見られる (Yang et al., 1996)。最新のエビデンスは、ガレクチン-3が細胞型及び侵襲の種類に応じて炎症促進性及び抗炎症性の両方のプロファイルにおいて役割を果たすことを示唆している (Shin, 2013)。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Lyman M, Lloyd DG, Ji X, Vizcaychipi MP, Ma D (2014) Neuroinflammation: The role and consequences. *Neuroscience research* 79C:1-12

10

【非特許文献2】Samii A, Nutt JG, Ransom BR (2004) Parkinson's disease. *The Lancet* 363:1783-1793

【非特許文献3】Casey G (2013) Parkinson's disease: a long and difficult journey. *Nursing New Zealand* 19:20-24

【非特許文献4】Qiao S, Luo JH, Jin JH (2012) [Role of microglial activation induced by alpha-synuclein in pathogenesis of Parkinson's disease]. *Zhejiang da xue xue bao Yi xue ban=Journal of Zhejiang University Medical sciences* 41:210-214

20

【非特許文献5】Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M (1997) Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature* 388:839-840

【非特許文献6】Tomas-Camardiel M, Rite I, Herrera AJ, de Pablos RM, Cano J, Machado A, Venero JL (2004) Minocycline reduces the lipopolysaccharide-induced inflammatory reaction, peroxynitrite-mediated nitration of proteins, disruption of the blood-brain barrier, and damage in the nigral dopaminergic system. *Neurobiology of disease* 16:190-201

30

【非特許文献7】Villar-Cheda B, Dominguez-Mejide A, Joglar B, Rodriguez-Perez AI, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL (2012) Involvement of microglial RhoA/Rho-kinase pathway activation in the dopaminergic neuron death. Role of angiotensin via angiotensin type 1 receptors. *Neurobiology of disease* 47:268-279

40

【非特許文献8】Kruger R, Kuhn W, Muller T, Woitalla D, Graeber M, Kosel S, Przuntek H, Epplen JT, Schols L, Riess O (1998) Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Nat Genet* 18:106-108

【非特許文献9】George JM, Jin H, Woods WS, Clayton

50

DF (1995) Characterization of a novel protein regulated during the critical period for song learning in the zebra finch. *Neuron* 15:361-372

【非特許文献10】Kholodilov NG, Neystat M, Oo TF, Lo SE, Larsen KE, Sulzer D, Burke RE (1999) Increased expression of rat synuclein in the substantia nigra pars compacta identified by mRNA differential display in a model of developmental target injury. *Journal of neurochemistry* 73:2586-2599

10

【非特許文献11】Stefanis L (2012) alpha-Synuclein in Parkinson's disease. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* 2:a009399

【非特許文献12】Lee HJ, Bae EJ, Lee SJ (2014) Extracellular alpha-synuclein-a novel and crucial factor in Lewy body diseases. *Nature reviews Neurology*

【非特許文献13】Codolo G, Plotegher N, Pozzobon T, Brucale M, Tessari I, Bubacco L, de Bernard M (2013) Triggering of inflammasome by aggregated alpha-synuclein, an inflammatory response in synucleinopathies. *PloS one* 8:e55375

20

【非特許文献14】Kim C, Ho DH, Suk JE, You S, Michael S, Kang J, Joong Lee S, Masliah E, Hwang D, Lee HJ, Lee SJ (2013) Neuron-released oligomeric alpha-synuclein is an endogenous agonist of TLR2 for paracrine activation of microglia. *Nature communications* 4:1562

30

【非特許文献15】Fellner L, Irschick R, Schanda K, Reindl M, Klimaschewski L, Poewe W, Wenning GK, Stefanova N (2013) Toll-like receptor 4 is required for alpha-synuclein dependent activation of microglia and astroglia. *Glia* 61:349-360

【非特許文献16】Rojanathammanee L, Murphy EJ, Combs CK (2011) Expression of mutant alpha-synuclein modulates microglial phenotype in vitro. *Journal of neuroinflammation* 8:44

40

【非特許文献17】De Pablos RM, Herrera AJ, Villaran RF, Cano J, Machado A (2005) Dopamine-dependent neurotoxicity of lipopolysaccharide in substantia nigra. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 19:407-409

【非特許文献18】Zindler E, Zipp F (2010) Neuronal

50

injury in chronic CNS inflammation. Best practice & research Clinical anaesthesiology 24:551-562

【非特許文献19】Stirling DP, Cummins K, Mishra M, Teo W, Yong VW, Stys P (2013) Toll-like receptor 2-mediated alternative activation of microglia is protective after spinal cord injury. Brain: a journal of neurology

【非特許文献20】Jiang HR, Al Rasebi Z, Mensah-Brown E, Shahin A, Xu D, Goodyear CS, Fukada SY, Liu FT, Liew FY, Lukic ML (2009) Galectin-3 deficiency reduces the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis. Journal of immunology 182:1167-1173

【非特許文献21】Lalancette-Hebert M, Swarup V, Beaulieu JM, Bohacek I, Abdelhamid E, Weng YC, Sato S, Kriz J (2012) Galectin-3 Is Required for Resident Microglia Activation and Proliferation in Response to Ischemic Injury. Journal of Neuroscience 32:10383-10395

【非特許文献22】Pajoohesh-Ganji A, Knoblach SM, Faden AI, Byrnes KR (2012) Characterization of inflammatory gene expression and galectin-3 function after spinal cord injury in mice. Brain research 1475:96-105

【非特許文献23】Lee HJ, Suk JE, Bae EJ, Lee SJ (2008) Clearance and deposition of extracellular alpha-synuclein aggregates in microglia. Biochemical and biophysical research communications 372:423-428

【非特許文献24】Shin T (2013) The pleiotropic effects of galectin-3 in neuroinflammation: a review. Acta Histochem 115:407-411

【非特許文献25】Liu FT, Rabinovich GA (2010) Galectins: regulators of acute and chronic inflammation. Ann N Y Acad Sci 1183:158-182

【非特許文献26】Yang RY, Hsu DK, Liu FT (1996) Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. Proc Natl Acad Sci U S A 93:6737-6742

【発明の概要】

【0008】

発明者は、 α -シヌクレイン、特に凝集形態にある α -シヌクレインがミクログリアの活性化を誘発することを実証した。発明者は、ガレクチン-3が、 α -シヌクレインが誘発するミクログリアの炎症促進応答において重要な役割を果たすことを示す。特に、ガレクチン-3がミクログリアにおいてアルファ-シヌクレインが引き起こす炎症応答を律速すると判明している。 α -シヌクレインで処理すると、マウスミクログリア細胞株BV2において、誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS)、貪食及び炎症促進性サイトカイン (IL-1 β 及び IL-12) 等の幾つかの炎症促進マーカーの増加として測定される炎

10

20

30

40

50

症活性化の顕著な増大が見られた。低分子干渉RNA (siRNA) を使用したガレクチン-3 レベルの低下、ガレクチン-3 KOマウス由来のミクログリアの使用又はビス- {3-デオキシ-3-[4-(3-フルオロフェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル]- β -D-ガラクトピラノシル} スルファン (公知のガレクチン-3 阻害物質) を使用したガレクチン-3 活性の薬理的介入は α -シヌクレインが誘発する炎症応答を著しく低下させることが判明した。

【0009】

すなわち、最新のデータは、 α -シヌクレイン誘発性の炎症応答を低下させてニューロン喪失の防止に役立ち得ることから、ガレクチン活性、特にガレクチン-3 活性を薬理的に調節することが α -シヌクレイン病 (例えば、パーキンソン病 (PD)、レヴィ小体型認知症、多系統萎縮症) を含めた神経変性疾患の新しい治療アプローチになり得ることを示唆している。

【0010】

アルツハイマー病における α -シヌクレインの関与が示唆されており、アルツハイマー病患者においては可溶性 α -シヌクレインが2倍に増加し、典型的なアルツハイマー病関連タンパク質A β 及びタウのレベルより認知機能障害と強く相関している (Larson et al., 2012)。

【0011】

多発性硬化症は強い炎症性要素を伴う神経変性疾患であり、 α -シヌクレインは病変部のミクログリアで発現し、また疾患の進行に寄与し得る (Luet al., 2009)。 α -シヌクレインは虚血発作にも関わっており、虚血脳における α -シヌクレインの線維化は正常なマウスにおける α -シヌクレイン凝集体の形成につながり、また α -シヌクレインを過剰発現しているマウスにおける虚血 (及びその結果としての α -シヌクレイン原線維形成増加) はより大きな梗塞巣を有する。

【0012】

てんかんは、梗塞巣の活性化と関連づけられている (Unal-Cevik et al., 2011)。脳のてんかん原性部位では活性化したミクログリア細胞が見られ、 α -シヌクレインタンパク質レベルが高いため (Li et al., 2010)、 α -シヌクレインがミクログリアの活性化を誘発し、疾患の進行に寄与する。

【0013】

中枢神経系の外傷により脳脊髄液中の α -シヌクレインレベルは上昇するが、これは潜在的にはミクログリア細胞の活性化を含めた神経病理学上の二次的な事象を反映していると示唆されている (Mondello et al., 2013)。

【0014】

乳児神経軸索ジストロフィ (INAD) は、 α -シヌクレインタンパク質の凝集 (Riku et al., 2013) 及びミクログリアの活性化 (Zhao et al., 2011) とそれゆえの α -シヌクレイン誘発性ミクログリア活性化の潜在的な関与を特徴とする神経変性障害である。

【0015】

アルツハイマー病 (AD) は最も一般的な神経変性疾患であり、脳血管性認知症を併発することが多い。疫学的研究及び臨床研究から、疾患プロセスにおいては神経炎症が重要な役割を果たすことが判明している (Heneka et al., 2015)。アルツハイマー病の病態形成の中心となるのは脳におけるプラークの形成である。これらのプラークは凝集したアミロイド β (A β) から成り、神経炎症を引き起こすのはこれらの凝集体の蓄積である。脳の一次免疫細胞であるミクログリアはA β プラークを取り囲み、貪食及び分解により除去しようとする。これらの細胞は進化的に特定の分子に反応するように進化してきており、細菌等の外部からの物質に迅速に応答する。脳内のA β は細菌上に存在する分子構造体とほぼ同じである (Wang et al., 2008)。脳において、制御不能又は慢性的な炎症応答は神経細胞を損傷する場合がある。

【0016】

急性炎症事象への反応においては、末梢性炎症に応答して脳において炎症を鎮める調節機構が幾つかある（Heneka et al., 2015）。しかしながら、アルツハイマー病における神経炎症は慢性的な炎症であり、これはミクログリアが既に予備刺激されていてさらなる活性化に応答性があり、有害なM1ミクログリア表現型への迅速な切り換えを引き起こすからである（Heneka et al., 2015）。

【0017】

炭水化物結合タンパク質gal3は、中枢神経系疾患及び慢性炎症を含めた幾つかの炎症状態において重要であると示唆されている（Henderson and Sethi, 2009）。本発明の発明者は最近、自然免疫における新しい分子経路を特定した。ミクログリアにより産生されたgal3は炎症における重要な受容体であるTLR4に結合することができる（Burguillos et al., 2015）。この研究において、本発明の発明者は、gal3の欠損は脳卒中／脳虚血の動物モデル及びパーキンソン病のモデルにおいて神経保護的であることを示した（Burguillos et al., 2015）。

10

【0018】

第1の態様において、本発明は、 α -シヌクレイン病の治療又は予防方法で使用するための組成物、例えば医薬組成物に関し、この組成物はガレクチン活性を薬理的に調節する分子、典型的には哺乳動物の脳、例えばヒトの脳におけるガレクチン活性を薬理的に調節するための分子を含む。

【0019】

組成物の一実施形態において、ガレクチン活性はガレクチン-3活性である。

20

【0020】

さらなる実施形態において、ガレクチン活性の薬理的な調節は、ガレクチン活性、例えばガレクチン-3活性の阻害である。

【0021】

さらに別の実施形態において、分子は、薬剤、ポリマー、タンパク質、ペプチド、炭水化物、低分子量化合物、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド及び遺伝物質、例えばDNA又はRNAの少なくとも1種から選択される。典型的には、分子は β -ガラクトシドであり、誘導体化又は官能化される。特定の実施形態において、分子は、グリコピラノースから選択される炭水化物を含む低分子量化合物から選択される。別の特定の実施形態において、分子は、チオージガラクトシドから選択される炭水化物を含む低分子量化合物から選択される。別の特定の実施形態において、分子はC3-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル-D-ガラクトースから選択される炭水化物を含む低分子量化合物から選択される。別の特定の実施形態において、分子は、C3-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル-1-チオ-D-ガラクトースから選択される炭水化物を含む低分子量化合物から選択される。好ましくは、低分子量化合物は1000Da未満、例えば500Da未満である。

30

【0022】

さらなる実施形態において、組成物は、炎症を特徴とした α -シヌクレイン病に関連づけられる疾患又は状態の治療又は予防方法において効果的である。

40

【0023】

さらに別の実施形態において、疾患又は状態は、神経変性疾患又は状態から選択される。神経変性疾患又は状態のさらなる実施形態は、パーキンソン病、レヴィ小体型認知症、純粋型自律神経不全症（PAF）、アルツハイマー病、タイプIの脳内での鉄の蓄積を伴う神経変性（成人神経軸索ジストロフィ又はハレルフォルデン・スパッツ症候群とも称される）、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、ピック病、多系統萎縮症（シャイ・ドレーガー症候群、線条体黒質変性症及びオリブ橋小脳萎縮症を含む）、脳卒中、多発性硬化症、てんかん及び乳児神経軸索ジストロフィから選択される。特定の実施形態において、 α -シヌクレイン病はパーキンソン病から選択される。別の実施形態において、 α -シヌクレ

50

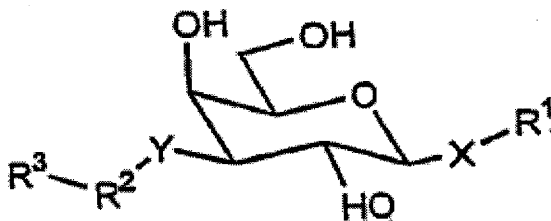
イン病は純粋型自律神経不全症（PAF）から選択される。別の実施形態において、 α -シヌクレイン病はアルツハイマー病から選択される。別の実施形態において、 α -シヌクレイン病は脳内での鉄の蓄積を伴う神経変性から選択される。別の実施形態において、 α -シヌクレイン病は成人神経軸索ジストロフィ又はハレルフォルデン・スパッツ症候群から選択される。別の実施形態において、 α -シヌクレイン病は外傷性脳損傷から選択される。別の実施形態において、 α -シヌクレイン病は筋萎縮性側索硬化症から選択される。別の実施形態において、 α -シヌクレイン病はピック病から選択される。別の実施形態において、 α -シヌクレイン病は多系統萎縮症（シャイ・ドレーガー症候群、線条体黒質変性症及びオリブ橋小脳萎縮症を含む）から選択される。別の実施形態において、 α -シヌクレイン病は脳卒中から選択される。別の実施形態において、 α -シヌクレイン病は多発性硬化症から選択される。別の実施形態において、 α -シヌクレイン病はてんかんから選択される。別の実施形態において、 α -シヌクレイン病は乳児神経軸索ジストロフィから選択される。

【0024】

さらなる実施形態において、分子は以下の一般式：

【0025】

【化1】



【0026】

を有し、式中、ピラノース環の構成はD-ガラクトであり、

XはO、S、NH、CH₂及びNR⁴から成る群から選択される又は結合であり、

YはNH、CH₂及びNR⁴から成る群から選択される又は結合であり、

R¹はサッカリド、水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基及び複素環から成る群から選択され、

R²はCO、SO₂、SO、PO及びPO₂から成る群から選択され、

R³は、少なくとも4個の炭素原子のアルキル基、少なくとも4個の炭素原子のアルケニル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4個の炭素原子のアルキル又はアルケニル基、カルボキシ基及びアミノ基の両方で置換された少なくとも4個の炭素原子のアルキル基、ハロゲンで置換された少なくとも4個の炭素原子のアルキル基、フェニル基、カルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、アルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲン及び少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲン及び少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、ニトロ基で置換されたフェニル基、スルホ基で置換されたフェニル基、アミン基で置換されたフェニル基、ヒドロキシ基で置換されたフェニル基、カルボニル基で置換されたフェニル基、置換カルボニル基で置換されたフェニル基並びにフェニルアミノ基から成る群から選択され、

R⁴は、水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基及び複素環から成る群から選択される。一実施形態において、R¹は、グルコース、マンノース、ガラクトース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、フコース、フルクトース、キシロース、シアル酸、グルクロン酸、イズロン酸、上記のサッカリドの少なくとも2種を含む二糖又はオリゴ糖及びこれらの誘導体から成る群から選択されるサッカリドである。

【0027】

さらなる実施形態において、YはNHである。

【0028】

さらに別の実施形態において、XはOである。

【0029】

さらなる実施形態において、ハロゲンは個別にF、Cl、Br及びIから成る群から選択される。

【0030】

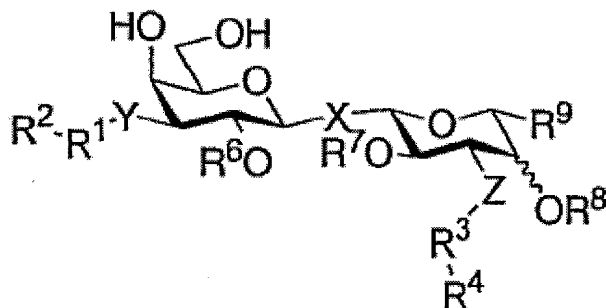
さらに別の実施形態において、分子は、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[3-カルボキシプロパンアミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[{Z} -3-カルボキシプロパンアミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-ベンズアミド-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[2-カルボキシ-ベンズアミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[4-メトキシ-2, 3, 5, 6-テトラフルオロベンズ(tetrafluorobenz)-アミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[2-カルボキシ-3, 4, 5, 6-テトラフルオロベンズアミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-メタンスルホンアミド-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[4-ニトロベンゼンスルホンアミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-フェニルアミノカルボニルアミノ-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-アミノアセトアミド-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド及びメチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[{2S} -2-アミノ-3-カルボキシプロパンアミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシドから選択される。

【0031】

別の実施形態において、分子は、一般式：

【0032】

【化2】



【0033】

を有し、式中、ピラノース環の一方の構成はβ-D-ガラクトであり、XはO、S、SO、SO₂、NH、CH₂及びNR⁵から成る群から選択され、YはO、S、NH、CH₂及びNR⁵から成る群から選択される又は結合であり、ZはO、S、NH、CH₂及びNR⁵から成る群から選択される又は結合であり、R¹及びR³は独立してCO、SO₂、SO、PO₂、PO及びCH₂から成る群から選択される又は結合であり、

R^2 及び R^4 は独立して、少なくとも4個の炭素のアルキル基、少なくとも4個の炭素のアルケニル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4個の炭素のアルキル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4個の炭素のアルケニル基、アミノ基で置換された少なくとも4個の炭素のアルキル基、アミノ基で置換された少なくとも4個の炭素のアルケニル基、アミノ基及びカルボキシ基の両方で置換された少なくとも4個の炭素のアルキル基、アミノ基及びカルボキシ基の両方で置換された少なくとも4個の炭素のアルケニル基、1つ以上のハロゲンで置換されたアルキル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたフェニル基、ナフチル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたナフチル基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたナフチル基、ヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたヘテロアリール基並びに少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたヘテロアリール基から成る群から選択され、 R^6 及び R^8 は独立して、水素、アシル基、アルキル基、ベンジル基及びサッカリドから成る群から選択され、 R^7 は、水素、アシル基、アルキル基及びベンジル基から成る群から選択され、 R^9 は、水素、メチル基、ヒドロキシメチル基、アシルオキシメチル基、アルコキシメチル基及びベンジルオキシメチル基から成る群から選択される。

10

20

30

40

50

【0034】

一実施形態において、YはNHである。さらなる実施形態において、ZはNHである。さらに別の実施形態において、XはSである。さらなる実施形態において、 R^1 はCOである。さらに別の実施形態において、 R^3 はCOである。さらなる実施形態において、 R^2 又は R^4 は芳香族、例えば芳香環であり、 R^6 、 R^7 及び R^8 のいずれかは水素であり、あるいは R^9 はヒドロキシメチル基である。

【0035】

さらに別の実施形態において、分子は、ビスー(3-デオキシ-3-ベンズアミド- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(3-メトキシベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-(3,5-ジメトキシベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(4-ニトロベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビス(3-デオキシ-3-(2-ナフトアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(4-メトキシベンズアミド)- β -D-ガラ

クトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(3-ニトロベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-[4-(ジメチルアミノ)-ベンズアミド]- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(4-メチルベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(4-クロロベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(4-tert-ブチルベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(4-アセチルベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-[2-(3-カルボキシ)-ナフトアミド]- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー[3-デオキシ-3-(3,4-メチレンジオキシ)ベンズアミド]- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(4-メトキシカルボニルベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(3-カルボキシベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(3-ベンジルオキシ-5-ヒドロキシ-ベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(3,5-ジベンジルオキシベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(3-ベンジルオキシ-5-メトキシ-ベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(3-ベンジルオキシ-5-ノニルオキシ-ベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(3-ヒドロキシ-5-メトキシ-ベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-(3-ヒドロキシ-5-ノニルオキシ-ベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-[3-ベンジルオキシ-5-(4-フルオロ-ベンジルオキシ)-ベンズアミド]- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン、ビスー(3-デオキシ-3-[3-メトキシ-5-(4-メチル-ベンジルオキシ)-ベンズアミド]- β -D-ガラクトピラノシル)スルファン及びビスー(3-デオキシ-3-(3-アリルオキシ-5-ベンジルオキシ-ベンズアミド)- β -D-ガラクトピラノシル)スルファンから選択される。

10

20

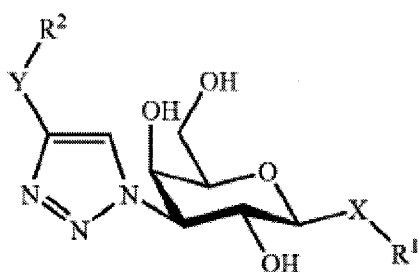
【0036】

別の実施形態において、分子は、一般式：

【0037】

30

【化3】



【0038】

40

を有し、式中、ピラノース環の構成はD-ガラクトであり、

XはO、S、NH、CH₂及びNR⁴から成る群から選択される又は結合であり、

YはCH₂、CO、SO₂、SO、PO₂、PO及びフェニルから成る群から選択される又は結合であり、

R¹は、サッカリド、置換サッカリド、D-ガラクトース、置換D-ガラクトース、C3-[1,2,3]-トリアゾール-1-イル-置換D-ガラクトース、水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基、複素環及びその誘導体並びにアミノ基、置換アミノ基、イミノ基又は置換イミノ基から成る群から選択され、

R²は、水素、アミノ基、置換アミノ基、アルキル基、置換アルキル基、アルケニル基、置換アルケニル基、アルキニル基、置換アルキニル基、アルコキシ基、置換アルコキシ基

50

、アルキルアミノ基、置換アルキルアミノ基、アリールアミノ基、置換アリールアミノ基、アリールオキシ基、置換アリールオキシ基、アリール基、置換アリール基、ヘテロアリール基、置換ヘテロアリール基、複素環及び置換複素環から成る群から選択される。

【0039】

一実施形態において、 R^1 は、グルコース、マンノース、ガラクトース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、フコース、フルクトース、キシロース、シアル酸、グルクロン酸、イズロン酸、ガラクトツロン酸、上記のサッカリドの少なくとも2種を含む二糖又はオリゴ糖及びこれらの誘導体から成る群から選択されるサッカリドである。典型的には、 R^1 はガラクトース、グルコース又はN-アセチルグルコサミンである。別の実施形態において、 R^1 は置換ガラクトースである。さらなる実施形態において、 R^1 は置換グルコース又は置換N-アセチルグルコサミンのいずれかである。別の実施形態において、 R^1 はC3-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル-置換ガラクトースである。

10

【0040】

さらなる実施形態において、YはCO、SO₂又は結合である。

【0041】

さらに別の実施形態において、 R^2 はアミン又はアリール基であり、あるいは R^2 は置換フェニル基であり、置換基は、ハロゲン、アルコキシ、アルキル、ニトロ、スルホ、アミノ、ヒドロキシ又はカルボニル基から成る群から選択される1種以上である。

20

【0042】

さらなる実施形態において、XはO又はSである。

【0043】

さらに別の実施形態において、分子は、メチル3-デオキシ-3-(1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-デオキシ-3-(4-プロピル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-(4-メトキシカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-デオキシ-3-(4-(1-ヒドロキシ-1-シクロヘキシル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-デオキシ-3-(4-フェニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-デオキシ-3-(4-p-トリルスルホニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-(4-メチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-(4-ブチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-(4-ベンジルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-{4-(3-ヒドロキシプロパ-1-イルアミノカルボニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-{4-[2-(N-モルホリノ)-エチルアミノカルボニル]-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-(4-メチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル-(1→4)-2-アセトアミド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド、ビス-{3-デオキシ-3-[4-(3-フルオロフェニル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}スルファン、メチル3-デオキシ-3-{4-(2-フルオロフェニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-デオキシ-3-{4-(2-メトキシフェニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-デオキシ-3-

30

40

50

30

【化 4】



50

ケニル基、少なくとも4個の炭素のアルキニル基、カルバモイル基、アルキル基で置換されたカルバモイル基、アルケニル基で置換されたカルバモイル基、アルキニル基で置換されたカルバモイル基、アリール基で置換されたカルバモイル基、置換アルキル基で置換されたカルバモイル基、置換アリール基で置換されたカルバモイル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルキル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのトリフルオロメチル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのトリフルオロメトキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたフェニル基、ナフチル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルキル基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたナフチル基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたナフチル基、ヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたヘテロアリール基、チエニル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたチエニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたチエニルチエニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたチエニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたチエニル基及び少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたチエニル基から成る群から選択される。

10

20

30

【0047】

一実施形態において、YはCONHである。

【0048】

別の実施形態において、YはCONHであり、CONH基はN原子を介してピラノース環に結合する。

【0049】

さらなる実施形態において、Yは1H-1, 2, 3-トリアゾール環である。

【0050】

さらに別の実施形態において、Yは1H-1, 2, 3-トリアゾール環であり、1H-1, 2, 3-トリアゾール環はN1原子を介してピラノース環に結合する。

【0051】

40

さらなる実施形態において、ZはCONHである。

【0052】

さらに別の実施形態において、ZはCONHであり、CONH基はN原子を介してシクロヘキサンに結合する。

【0053】

さらなる実施形態において、Zは1H-1, 2, 3-トリアゾール環である。

【0054】

さらに別の実施形態において、Zは1H-1, 2, 3-トリアゾール環であり、1H-1, 2, 3-トリアゾール環はN1原子を介してシクロヘキサンに結合する。

【0055】

50

さらなる実施形態において、 R^1 は、1H-1, 2, 3-トリアゾール環のC4原子に結合する。

【0056】

さらに別の実施形態において、 R^1 はアルキル化カルバモイル基、フッ素化フェニル基又はチエニル基である。

【0057】

さらなる実施形態において、 R^2 は、1H-1, 2, 3-トリアゾール環のC4原子に結合する。

【0058】

さらに別の実施形態において、 R^2 はアルキル化カルバモイル基、フッ素化フェニル基又はチエニル基である。

10

【0059】

別の実施形態において、 R^1 及び R^2 は独立して、カルバモイル基、アルキル化カルバモイル基、アルケニル化カルバモイル基、アリール化カルバモイル基、フェニル基、置換フェニル基、ハロゲン化フェニル基、フッ素化フェニル基、塩素化フェニル基、臭素化フェニル基、アルキル化フェニル基、アルケニル化フェニル基、トリフルオロメチル化フェニル基、メトキシ化フェニル基、トリフルオロメトキシ化フェニル基、ナフチル基、置換ナフチル基、ヘテロアリール基、置換ヘテロアリール基、チエニル基及び置換チエニル基から成る群から選択される。

【0060】

20

さらなる実施形態において、XはO又はSである。

【0061】

さらに別の実施形態において、分子は、((1R, 2R, 3S)-2-ヒドロキシ-3-(4-(N-(1-プロピル)-カルバモイル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル)シクロヘキシル)3-デオキシ-3-(4-(N-(1-プロピル)-カルバモイル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル))-β-D-ガラクトピラノシド、((1R, 2R, 3S)-2-ヒドロキシ-3-(4-(2-フルオロフェニル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル)-シクロヘキシル)3-デオキシ-3-(4-(2-フルオロフェニル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、((1R, 2R, 3S)-2-ヒドロキシ-3-(4-(3-フルオロフェニル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル)-シクロヘキシル)3-デオキシ-3-(4-(3-フルオロフェニル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、((1R, 2R, 3S)-2-ヒドロキシ-3-(4-(4-フルオロフェニル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル)-シクロヘキシル)3-デオキシ-3-(4-(4-フルオロフェニル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、(1R, 2R, 3S)-2-ヒドロキシ-3-(4-(3-チエニル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル)-シクロヘキシル)3-デオキシ-3-(4-(3-チエニル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、(1R, 2R, 3S)-2-ヒドロキシ-3-(4-(N-(1-プロピル)-カルバモイル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル)-シクロヘキシル)3-デオキシ-3-(4-(N-(1-プロピル)-カルバモイル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド及び(1R, 2R, 3S)-2-ヒドロキシ-3-(4-クロロベンズアミド)-シクロヘキシル)3-デオキシ-3-(4-クロロベンズアミド)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシドから選択される。

30

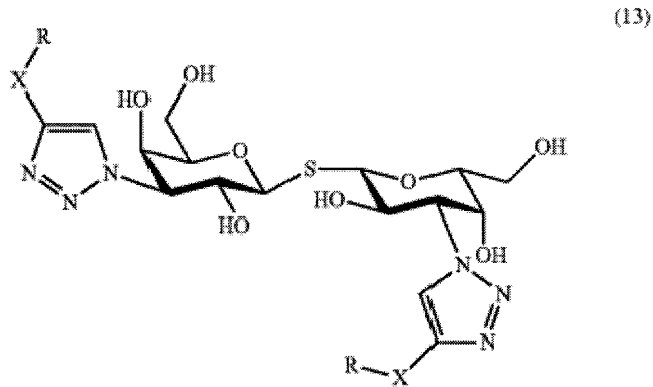
40

【0062】

さらに具体的な実施形態において、分子は一般式(13)：

【0063】

【化 5】



10

【0064】

を有し、式中、ピラノース環の少なくとも一方の構成はD-ガラクトであり、Xは結合であり、Rはフェニル基であり、フェニル基は任意の位置でメチル、エチル、イソプロピル、tert-ブチル、フルオロ、クロロ、ブロモ及びトリフルオロメチルから成る群から選択される1つ以上の置換基で置換され、あるいはRはチエニル基である。好ましくは、Rは1H-1, 2, 3-トリアゾール環に結合したフェニル基であり、このフェニルは任意の位置でフルオロ、クロロ及びブロモから成る群から選択される1つ以上の置換基で置換される。さらなる実施形態において、Rは1H-1, 2, 3-トリアゾール環に結合したフェニル基であり、このフェニルは任意の位置でフルオロから選択される1つ以上の置換基で置換される。

20

【0065】

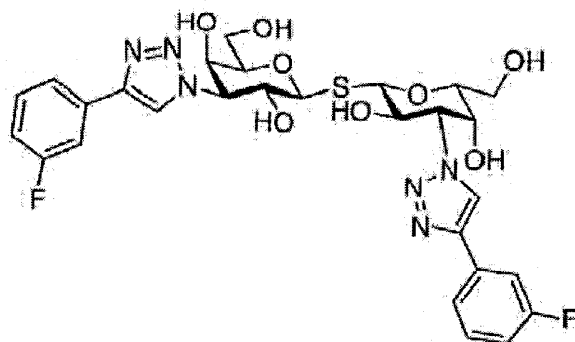
さらなる実施形態において、式(13)中の両方のピラノース環の構成はD-ガラクトである。

【0066】

さらに別の実施形態において、分子は、

【0067】

【化 6】



30

【0068】

(本明細書においてはTD139とも称する)であり、任意で遊離の形態、例えば結晶形態である。

40

【0069】

別の態様において、本発明は、哺乳動物である被験体における α -シヌクレイン病の治療又は予防方法に関し、本方法は、治療有効量の少なくとも1種の組成物を被験体に投与することを含み、組成物は、哺乳動物の脳におけるガレクチン活性を薬理的に調節する分子を含む。

【0070】

一実施形態において、ガレクチン活性はガレクチン-3活性である。

【0071】

50

さらなる実施形態において、ガレクチン活性の薬理的調節は、ガレクチン活性又はガレクチン-3活性の阻害である。

【0072】

さらに別の実施形態において、本方法は、炎症を特徴とする α -シヌクレイン病に関連づけられる疾患又は状態を治療又は予防することである。

【0073】

さらなる実施形態において、この疾患又は状態は神経変性疾患又は状態から選択され、例えばパーキンソン病、レヴィ小体型認知症、純粋型自律神経不全症(PAF)、アルツハイマー病、タイプIの脳内での鉄の蓄積を伴う神経変性(成人神経軸索ジストロフィ又はハレルフォルデン・スパッツ症候群とも称される)、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、ピック病、多系統萎縮症(シャイ・ドレーガー症候群、線条体黒質変性症及びオリブ橋小脳萎縮症を含む)、脳卒中、多発性硬化症、てんかん及び乳児神経軸索ジストロフィから選択される。

【0074】

さらに別の実施形態において、投与は、被験体又は被験体の組織に、少なくとも約1ナノグラム(ng)~約100 ng 、約100~約1000 ng 、約1000~約2000 ng 、約2000~約3000 ng 、約3000~約4000 ng 、約4000~約5000 ng 、約5000~約10000 ng 、10000~約20000 ng 、20000~約30000 ng 、約30000~約40000 ng 、約40000~約60000 ng 、約60000~約80000 ng 、約100マイクログラム(μg)~約500 μg 、約500~約2000 μg 、約2000~約4000 μg 、約4000~約6000 μg 、約6000~約8000 μg 、約8000~約10000 μg 、約10000~約20000 μg 、約20000~約30000 μg 及び約30000~約40000 μg の用量の分子を接触させることを含む。

【0075】

さらなる実施形態において、組成物は、上記の第1の態様及び実施形態に記載の組成物のいずれかから選択される。

【0076】

さらに別の実施形態において、投与は、経口、静脈内、局所、腹腔内、経鼻、頬側、舌下、脳への注入又は皮下投与である。

【0077】

さらなる実施形態において、組成物は、錠剤、カプセル、粉末、ナノ粒子、結晶、非晶質物質、溶液、経皮パッチ又は座剤の形態である。

【0078】

本発明を説明するための、特には実施に関する追加の詳細を提供するための、本明細書で用いる特許を含めた出版物及び他の資料は参照により全て援用される。

【図面の簡単な説明】

【0079】

【図1】 α -シヌクレインによるミクログリアの活性化及びガレクチン-3阻害物質による阻害。異なる濃度: 5 μM 、10 μM 及び20 μM の α -シヌクレインモノマー(A)及び α -シヌクレイン凝集体(B)との12時間にわたるインキュベーション後に、ウェスタンブロットによりミクログリア細胞におけるiNOSの発現を測定した。iNOSは、両方の α -シヌクレインタンパク質調製物において有意にアップレギュレートされた。 α -シヌクレイン凝集体(B)は、モノマー(A)より3倍高い活性化を誘発した。ガレクチン-3の役割を明らかにするために、前処理を行い、ガレクチン-3阻害物質(TD139)を30分間にわたってインキュベートし、次に12時間にわたって細胞を、最高濃度20 μM で α -シヌクレインモノマー又は凝集体とインキュベートした。 α -シヌクレインモノマーが誘発したより低いiNOS発現は、ガレクチン-3阻害物質(TD139)(C)により有意に阻害されなかった。ガレクチン-3阻害物質(TD139)は、 α -シヌクレイン凝集体(D)が誘発したiNOS発現を有意に阻害し、100 μM の(

T D 1 3 9) 阻害物質は i N O S 発現を 5 0 % を超えてダウンレギュレートした。発明者は、最も高い応答を、各実験において、残りの濃度に対する応答を評価するための内部コントロールとして用いる。(A N O V A) (* P < 0 . 0 5 ; ** P < 0 . 0 0 5) エラーバー、平均 ± S . E . M (n = 3) 。

【図 2】α-シヌクレイン活性化後の B V 2 ミクログリア培地における上昇したサイトカインレベル。濃度 5、1 0 及び 2 0 μ M の α-シヌクレイン凝集体との 1 2 時間にわたるインキュベーション後の B V 2 ミクログリア培地におけるサイトカインレベル。α-シヌクレイン凝集体は炎症促進性サイトカイン：T N F-α (A)、I L-1 2 (B) 及び I L-2 (C) のサイトカインレベルにおける有意な上昇を誘発した。サイトカインレベルは、p g / μ l として表される (A N O V A) (* P < 0 . 0 5 ; ** P < 0 . 0 0 5 ; *** P < 0 . 0 0 0 1)、エラーバー、平均 ± S . E . M (n = 3) 。

【図 3】ガレクチン-3 s i R N A は α-シヌクレイン凝集体が誘発したミクログリア活性化を低下させる。1 2 時間にわたって 2 0 μ M の α-シヌクレイン凝集体で活性化させた B V 2 ミクログリアは、ガレクチン-3 を s i R N A でノックダウンした場合、8 0 % の i N O S の強力なダウンレギュレーションを示す (左)。(A N O V A) (* P < 0 . 0 5) (n = 3)、エラーバー、平均 ± S . E . M .

【図 4】1 2 時間にわたってガレクチン-3 阻害物質 T D 1 3 9 で処理した B V 2 ミクログリア細胞は低下した貪食能を示す。ミクログリア細胞の貪食能を試験するために、発明者は、ミクログリアによる蛍光ビーズの取り込み能を研究した。ガレクチン-3 阻害物質 (T D 1 3 9) (1 0 0 μ M) を前処理 (3 0 分) として使用し、次に細胞を 1 2 時間にわたって α-シヌクレイン及び / 又は α-シヌクレイン (2 0 μ M) とインキュベートした。T D 1 3 9 は貪食を強力に阻害した。ガレクチン-3 の添加により、同時に阻害物質を使用する場合であっても、貪食能を回復することができた。(n = 3) (A N O V A) (* P < 0 . 0 5、** P < 0 . 0 0 5)、エラーバー、平均 ± S . E . M .

【図 5】α-シヌクレイン活性化に続くガレクチン-3 K O 一次ミクログリア細胞における炎症促進応答の向上。α-シヌクレイン凝集体との 1 2 時間にわたるインキュベーション後、一次ミクログリア細胞の培地中のサイトカインレベルを測定した。1 2 時間にわたる 5 μ M 及び 2 0 μ M の α-シヌクレイン凝集体での野生型ミクログリアの処理は、I L-1 β (A)、I L-1 2 (B)、I F N-γ (C) 及び I L-4 (D) のレベル上昇を誘発した。ガレクチン-3 ノックアウトミクログリアでの同じ処理では、2 0 μ M の α-シヌクレイン凝集体 (B) を使用して I L-1 β (A)、I L-1 2 のレベルが低下した。I F N-γ (C) 及び I L-4 (D) のサイトカインレベルは、野生型ミクログリアと比較して、ガレクチン-3 ノックアウトにおいて変化しなかった。電気化学発光 E L I S A を使用してサイトカインレベルを測定した。(A N O V A) (* P < 0 . 0 5、** P < 0 . 0 0 5) (n = 5) エラーバー、平均 ± S . E . M .

【図 6】ガレクチン-3 ノックアウトマウスからの一次ミクログリア細胞による I L-8 サイトカイン放出の減少。細胞をアミロイド-β 原線維 (ヒト組み換えタンパク質、A β 4 2) で処理した後、一次ミクログリア細胞におけるサイトカインレベルを分析した。ガレクチン-3 ノックアウトマウスからのミクログリアは、1 0 μ M のアミロイド-β 原線維 A β 4 2 又は L P S (1 μ g / μ l) への曝露後に、野生型のミクログリアと比較して、I L-8 のサイトカイン放出において有意な減少を示した (6 5 % の減少、P < 0 . 0 5、n = 5) 。

【図 7】ガレクチン-3 を欠損しているアルツハイマー病マウスの血液における I F N-γ レベルの低下。ガレクチン-3 を欠損していない正常なアルツハイマー病マウス (5 x F A D、n = 5) と比較して、ガレクチン-3 を欠損している (G a l 3 K O) アルツハイマー病マウス (5 x F A D)、すなわち G a l 3 K O / 5 X F A D (n = 6) の血液では、I F N-γ の 7 0 % の大幅なダウンレギュレーションが見られた。ナイーブ野生型マウス (W T) において、I F N-γ はかろうじて検出可能であった。

【発明を実施するための形態】

【0 0 8 0】

10

20

30

40

50

ガレクチンは糖鎖認識ドメインCRDを有する（Nilssonら、米国特許公報番号第2011/0130553号、2011年6月2日公開。参照により本明細書に全て援用される）。CRDは、約130のアミノ酸（約15kDa）から成る強く畳まれたβ-サンドイッチ構造体であり、β-ガラクトース結合部位及び約7のアミノ酸の配列モチーフにおける十分な類似性という2つの大きな特徴があり、アミノ酸の殆ど（約6個の残基）がβ-ガラクトース結合部位を構成している。さらに、隣接部位は天然のサッカリドの堅い結合に必要とされ、これらの選好の違いが、天然のサッカリドに対するガレクチンの特異性の微妙な違いを付与する。

【0081】

ヒト、マウス及びラットのゲノム配列の解析が完了し、1つの哺乳動物のゲノムにおける約15種のガレクチン及びガレクチン様タンパク質は種間で若干異なることが明らかとなった（Leffler et al. 2004 Glycoconj. J. 19: 433-440; Houzelstein et al. 2004 Mol Biol Evol. 21(7): 1177-1187）。

【0082】

ガレクチンサブユニットは1本のペプチド鎖内に1又は2個のCRDを有する。最初のカテゴリーであるモノ-CRDガレクチンは、脊椎動物においてモノマー又はダイマー（2つのタイプ）として生じる。ガレクチン-1はダイマーであり、ガレクチン-3は溶液中でモノマーであり、凝集し、リガンドと出会うと多量体になる（Leffler et al. 2004 Glycoconj. J. 19: 433-440; Ahmad et al. 2004 J. Biol. Chem. 279: 10841-10847）。

【0083】

ガレクチンを、遊離リボソーム上の細胞質タンパク質として、シグナルペプチドなしで合成する。ガレクチンタンパク質のN末端はアセチル化され（細胞質タンパク質の典型的な修飾）、ガレクチンはサイトゾル内に長時間にわたって留まる（分泌タンパク質としては異例）。サイトゾルからガレクチンは核、特定の細胞質部位に向かう、あるいは未だ不明ではあるがおそらくはインターロイキン-1（IL-1）の排出と同様に、非古典的（非ER-ゴルジ）経路により分泌される（誘発される又は構造的に）（Leffler et al. 2004 Glycoconj. J. 19: 433-440）。

【0084】

ガレクチンタンパク質に関するアミノ酸配列及び相同性データはPanjwaniの米国特許出願番号第2010/0004163 A1号（2010年1月7日に公開）に示され、この文献は参照により本明細書に全て援用される。

【0085】

ガレクチン阻害物質

ガレクチンタンパク質の発現及び／又は活性のガラクトシド阻害物質を投与することにより例えばパーキンソン病、レヴィ小体型認知症、純粋型自律神経不全症（PAF）、アルツハイマー病、タイプIの脳内での鉄の蓄積を伴う神経変性（成人神経軸索ジストロフィ又はハレルフォルデン・スパッツ症候群とも称される）、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、ピック病、多系統萎縮症（シャイ・ドレーガー症候群、線条体黒質変性症及びオリブ橋小脳萎縮症を含む）、脳卒中、多発性硬化症、てんかん及び乳児神経軸索ジストロフィから選択される神経変性疾患又は状態を治療又は予防するための組成物、方法及びキットを本発明において提供する。特定の実施形態においては、ガラクトシド阻害物質TD139を使用してガレクチン-3タンパク質の活性を調節し、また例えばパーキンソン病から選択される神経変性疾患又は状態を治療又は予防する。神経変性疾患又は状態を治療又は予防するための本発明の様々な組成物、方法及びキットで使用するガレクチン阻害物質は、例えばNilssonらの米国特許公報番号第2004/0147730 A1号（シリアル番号10/466933）（2004年7月29日公開）、Nilssonらの米国特許公報番号第2007/0185039号（シリアル番号11/561124）（2007年8月7日公開）、Lefflerらの米国特許公報番号第2007/01

10

20

30

40

50

85041号（シリアル番号11／561465）（2007年8月9日に公開）、Nilssonらの米国特許公報番号第2011／0130553号（シリアル番号12／992328）（2004年7月29日に公開）及びLefflerらの米国特許公報番号第2012／0165277号（シリアル番号13／266960）（2012年6月28日に公開）に記載されており、各文献は参照により本明細書に全て援用される。

【0086】

本明細書に記載の組成物、方法及びキットでは、例えばパーキンソン病から選択される神経変性疾患又は状態を身体における他の望ましいプロセスに悪影響を及ぼすことなく選択的に治療又は予防するためにガレクチンタンパク質の阻害物質を使用する。

【0087】

ガレクチン-3は細胞表面滞留時間を長引かせることで、別のマクロファージのM2マクロファージへの分化を制御するTGF- β 受容体の応答性を強化すると判明している（Partridge et al. 2004 Science 306:120-124）（MacKinnon et al. 2008. J. Immun. 180:2650-2658）。ガレクチン-3は、線維芽細胞の動員及び活性化、したがって腎臓、肝臓及び肺を含めた様々な臓器における癒痕組織の形成において中心的な役割を果たすことも判明している（MacKinnon et al Am J Respir Crit Care Med 2012;185(5):537-46;Henderson et al Am J Pathol 2008:172;288;Henderson et al Proc Natl Acad Sci 2006:103(13);5060）。

【0088】

固相結合アッセイ及び阻害アッセイにより、ガレクチン結合能を有するサッカリド及びグリココンジュゲートは特定されている（Leffler et al. 2001 Galactins structure and function-a synopsisにおいて概説（Mammalian Carbohydrate Recognition Systems Crocker, P., ed., pp. 57-83;Leffler et al. 2004 Glycoconj. J. 19:433-440）。ガレクチンはラクトースと解離定数（ K_D ）0.5~1mMで結合する。 K_D は結合定数の逆数であり、低い K_D は分子間の結合親和性の上昇を示す。D-ガラクトースのガレクチンへの結合親和性は概して、ラクトースのガレクチンへの結合親和性より約50~100倍低い。N-アセチルラクトサミン及び関連する二糖の結合親和性は様々であるが、これはこれらの分子がラクトース（ K_D 約0.5~1mM）及び他のガレクチンと同様にガレクチンの一部とラクトースより約10倍低い又は高い親和性で結合するからである。小さいサッカリドリガンドは、ラクトース又はlacNAc残基に結合した血液型A決定基を保持するガレクチン-3タンパク質の結合に効果的であり、またラクトースの場合の結合親和性の約50倍の高さで結合することが観察されている。ガレクチン-1はこれらのサッカリドへの選好を示さない。

【0089】

ポリラクトサミンタイプより大きいサッカリドが、ガレクチン-3タンパク質（ただしガレクチン-1を除く）等のガレクチンにとっての好ましいリガンドとして提案されている（Leffler et al. 1986 J. Biol. Chem. 261:10119-10126）。修飾植物性ペクチン多糖はガレクチン-3に結合すると確認されている（Pienta et al. 1995 J Natl Cancer Inst. 1995 Mar 1;87(5):348-53）。

【0090】

ガレクチン-3リガンドとして特定されている上記の天然のサッカリドは医薬組成物における有効成分としての使用には適していない。胃内での酸加水分解及び酵素分解に弱いからである。加えて、天然のサッカリドは本質的に親水性であり、経口投与しても消化管からすぐには吸収されない。

【0091】

阻害物質の合成

抗がん活性を有するアミノ酸に結合したサッカリドは血清中の天然化合物であり、合成の類似体が生成されている (G l i n s k y e t a l . 1 9 9 6 C a n c e r R e s 5 6 : 5 3 1 9 - 5 3 2 4) 。ラクトース又はガラクトースがアミノ酸に結合しているサッカリドはガレクチンを、対応する非誘導体化糖とほぼ同じ作用強度で阻害する。化学修飾した形態のシトラスペクチン (P l a t t e t a l . 1 9 9 2 J . N a t l . C a n c e r . I n s t . 8 4 : 4 3 8 - 4 4 2) はガレクチン-3 の阻害物質及びインビボでの抗腫瘍薬として記載されている (P i e n t a e t a l . , 1 9 9 5 J . N a t l . C a n c e r I n s t . 9 4 : 1 8 5 4 - 1 8 6 2) 。

10

【0092】

天然のオリゴ糖、グリコクラスター、グリコデンドリマー及びグリコポリマーは極性が高すぎ且つ大きすぎるため身体に効果的に吸収されず、場合によっては患者 (患者) において免疫応答を引き起こしてしまう。さらに、胃内での酸加水分解及び酵素分解に弱い。

【0093】

チオジガラクトシド分子は合成及び加水分解安定性であり、N-アセチルラクトサミンとほぼ同程度に効率的である (L e f f l e r e t a l . 1 9 8 6 J . B i o l . C h e m . 2 6 1 : 1 0 1 1 9 - 1 0 1 2 6) 。ペンタペプチドのライブラリを用いて、ガラクトースと同様の K_D 値を有するガレクチン-1 及びガレクチン-3 タンパク質の低親和性阻害物質を得た (A r n u s c h e t a l . 2 0 0 4 B i o o r g . M e d . C h e m . L e t t . 1 4 : 1 4 3 7 - 1 4 4 0) 。さらに、ペプチドはインビボでガレクチンをターゲットとする物質としてはそれほど理想的ではない。ペプチドは加水分解されやすく、典型的には極性だからである。芳香族アミド又は置換ベンジルエーテルを C-3' に有する N-アセチルラクトサミン誘導体はガレクチン-3 の極めて効率的な阻害物質であり、 IC_{50} 値は $4.8 \mu M$ と低く、これは天然の N-アセチルラクトサミン二糖と比較して阻害において 20 倍の改善である (S o r m e P e t a l . 2 0 0 2 C h e m b i o c h e m . 3 (2 - 3) : 1 8 3 - 1 8 9 ; S o r m e P e t a l . 2 0 0 3 M e t h o d s E n z y m o l . 3 6 3 : 1 5 7 - 1 6 9) 。芳香族アミド部分の存在により N-アセチルラクトサミン誘導体は全体としての極性が低く、インビボでガレクチンを阻害するための物質としてより適格となる。さらに、C3-トリアゾリルガラクトシドは、一部のガレクチンの対応する C3-アミドと同程度に強力な阻害物質であることが実証されている。したがって、いずれの正しい構造のガラクトース C3-置換基もより高いガレクチン親和性を付与し得る。

20

30

【0094】

C3-アミド及び C3-トリアゾリル誘導体化合物は、ガラクトース及び N-アセチルラクトサミンサッカリド部分中のグリコシド結合の存在によりインビボでは加水分解し易く、またガレクチン-3 の強力な小分子阻害物質ではあるものの、より改善された親和性及び安定性が望ましい、したがって、O-グリコシド易加水分解性及び易酵素分解性結合を欠いた、チオジガラクトシドの 3, 3'-ジアミド-又は 3, 3'-ジトリアゾリル誘導体化をベースとした阻害物質が開発されている (C u m p s t e y e t a l . 2 0 0 5 A n g e w . C h e m . I n t . E d . 4 4 : 5 1 1 0 - 5 1 1 2 ; C u m p s t e y e t a l . 2 0 0 8 C h e m . E u r . J . 1 4 : 4 2 3 3 - 4 2 4 5 ; D a m e t a l . 2 0 0 8 B i o c h e m i s t r y 4 7 : 8 4 7 0 - 8 4 7 6 ; 国際出願番号 WO 2 0 0 5 1 1 3 5 6 9 及び WO 2 0 0 5 1 1 3 5 6 8 、米国特許公報番号第 2 0 0 7 / 1 8 5 0 4 1 号及び米国特許番号第 7 6 3 8 6 2 3 B 2 号。各文献は参照により全て本明細書に援用される)。

40

【0095】

しかしながら、3, 3'-誘導体化チオジガラクトシドには、3-N-誘導体化ガラクトース構成ブロックを得るための二重転化反応を伴う多段階合成を含めた複数の欠点がある。さらに、チオジガラクトシド分子中の 1 つのガラクトース環をシクロヘキサンで置換

50

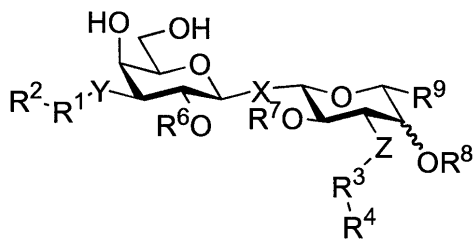
するとガラクトース環を模倣したものとなり、これらのガレクチン-1 及び-3 阻害物質にジアミド-及びジトリアゾリル-チオジガラクトシド誘導体のものに近い効率がもたらされる（国際公報番号WO 2010/126435。参照により全て援用される）。D-ガラクトピラノース単位を置換シクロヘキサンで置き換えると極性、易代謝性が低下するため薬剤様特性が改善される。

【0096】

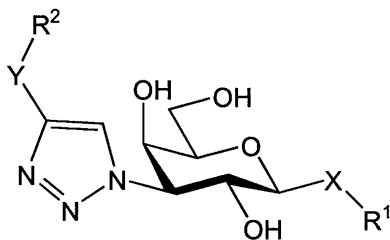
公知の化合物は以下に示す一般式：

【0097】

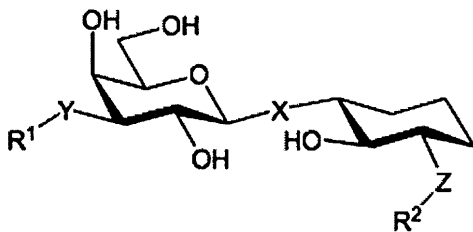
【化7】



10

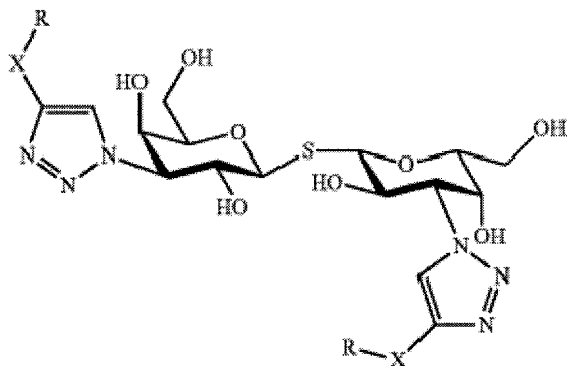


20



30

(13)



40

【0098】

を有し、式中、第2構造R¹はD-ガラクトースになり得る。

【0099】

例えばガラクトシド及び中間体のためのガレクチンタンパク質阻害物質を合成により調製する方法は、Nilssonらの米国特許公報番号第2004/0147730 A1号（シリアル番号10/466933）（2004年7月29日公開）、Nilssonらの米国特許公報番号第2007/0185039号（シリアル番号11/561124

50

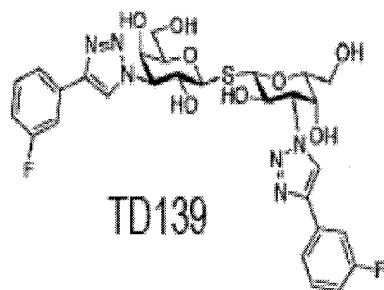
)(2007年8月7日公開)、Lefflerらの米国特許公報番号第2007/0185041号(シリアル番号11/561465)(2007年8月9日公開)、Nilssonらの米国特許公報番号第2011/0130553号(シリアル番号12/992328号)(2004年7月29日公開)及びLefflerらの米国特許公報番号第2012/0165277号(シリアル番号13/266960)(2012年6月28日公開)に記載され、各文献は参照により全て本明細書に援用される。ガラクトシドを合成するための方法は、3-アジド-ガラクトシルチオウロニウム塩誘導体(対応するチオールにインシチュで活性化される)を3-アジド-ガラクトシルプロミドと反応させることで3,3'-ジ-アジド-チオ-ジ-ガラクトシドにすることを含む。

【0100】

特定の実施形態において、パーキンソン病、レヴィ小体型認知症、純粋型自律神経不全症(PAF)、アルツハイマー病、タイプIの脳内での鉄の蓄積を伴う神経変性(成人神経軸索ジストロフィ又はハレルフォルデン・スパッツ症候群とも称される)、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、ピック病、多系統萎縮症(シャイ・ドレーガー症候群、線条体黒質変性症及びオリブ橋小脳萎縮症を含む)、脳卒中、多発性硬化症、てんかん及び乳児神経軸索ジストロフィの治療方法で使用するための医薬組成物は、ビス-〔3-デオキシ-3-[4-(3-フルオロフェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル〕スルファンを含み、これは以下の構造:

【0101】

【化8】



【0102】

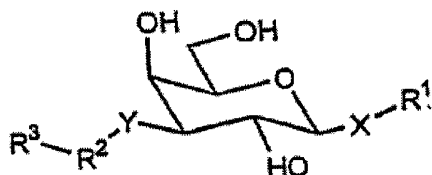
を有する。Mackinnon et al. Am. J. Respir. Crit. Care Med. March 1, 2012 vol. 185 no. 5 537-546を参照のこと。この文献は参照により全て本明細書に援用される。

【0103】

様々な実施形態において、分子はベーターガラクトシドであり、誘導体化又は官能化され、例えば分子は以下の一般式:

【0104】

【化9】



【0105】

を有し、ピラノース環の構成はD-ガラクトであり、XはO、S、NH、CH₂及びNR⁴から成る群から選択される又は結合であり、YはNH、CH₂及びNR⁴から成る群から選択される又は結合であり、R¹は、サッカリド、水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基及び複素環から成る群から選択され、R²は、CO、SO₂、SO、PO及びPO₂から成る群から選択され、R³は、少なくとも4個の炭素原子のアルキル基、少なくとも4個の炭素原子のアルケニル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4個の炭素原子のアルキル又はアルケニル基、カルボキシ基及びアミノ基の両方で置換さ

10

20

30

40

50

れた少なくとも4個の炭素原子のアルキル基、ハロゲンで置換された少なくとも4個の炭素原子のアルキル基、フェニル基、カルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、アルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲン及び少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲン及び少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、ニトロ基で置換されたフェニル基、スルホ基で置換されたフェニル基、アミン基で置換されたフェニル基、ヒドロキシ基で置換されたフェニル基、カルボニル基で置換されたフェニル基、置換カルボニル基で置換されたフェニル基又はフェニルアミノ基から成る群から選択され、 R^4 は、水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基及び複素環から成る群から選択される。様々な実施形態において、組成物は非代謝性であり、あるいは様々な実施形態において、組成物は代謝性である。

10

【0106】

特定の実施形態において、サッカリド (R^1) は、グルコース、マンノース、ガラクトース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、フコース、フルクトース、キシロース、シアル酸、グルクロン酸、イズロン酸、上記のサッカリドの少なくとも2種を含む二糖又はオリゴ糖及びこれらの誘導体から成る群から選択される。特定の実施形態において、YはNHであり、XはOであり、ハロゲンはF、Cl、Br及びIから成る群から選択される。

【0107】

特定の実施形態における分子は、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[3-カルボキシプロパンアミド]-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[Z]-3-カルボキシプロパンアミド)-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-ベンズアミド-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[2-カルボキシベンズアミド]-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[4-メトキシ-2, 3, 5, 6-テトラフルオロベンズアミド]-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[2-カルボキシ-3, 4, 5, 6-テトラフルオロベンズアミド]-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-メタンスルホンアミド-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[4-ニトロベンゼンスルホンアミド]-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-フェニルアミノカルボニルアミノ-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-アミノアセトアミド-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド及びメチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[2S]-2-アミノ-3-カルボキシプロパンアミド)-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシドから成る群から選択される。

20

30

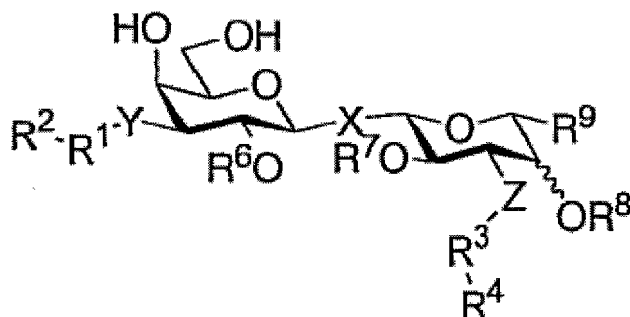
40

【0108】

様々な実施形態において、分子は一般式：

【0109】

【化 10】



10

【0110】

を有し、式中のピラノース環の一方の構成はβ-D-ガラクトであり、XはO、S、SO、SO₂、NH、CH₂及びNR⁵から成る群から選択され、YはO、S、NH、CH₂及びNR⁵から成る群から選択される又は結合であり、Zは、O、S、NH、CH₂及びNR⁵から成る群から選択される又は結合であり、R¹及びR³は独立して、CO、SO₂、SO、PO₂、PO及びCH₂から成る群から選択される又は結合であり、R²及びR⁴は独立して、少なくとも4個の炭素のアルキル基、少なくとも4個の炭素のアルケニル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4個の炭素のアルキル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4個の炭素のアルケニル基、アミノ基で置換された少なくとも4個の炭素のアルキル基、アミノ基で置換された少なくとも4個の炭素のアルケニル基、アミノ基及びカルボキシ基の両方で置換された少なくとも4個の炭素のアルキル基、アミノ基及びカルボキシ基の両方で置換された少なくとも4個の炭素のアルケニル基、1つ以上のハロゲンで置換されたアルキル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたフェニル基、ナフチル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたナフチル基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたナフチル基、ヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたヘテロアルキル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたヘテロアリール基及び少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたヘテロアリール基から成る群から選択される。R⁶及びR⁸は独立して、水素、アシル基、アルキル基、ベンジル基及びサッカリドから成る群から選択される。R⁷は、水素、アシル基、アルキル基及びベンジル基から成る群から選択される。R⁹は、水素、メチル基、ヒドロキシメチル基、ア

20

30

40

50

シルオキシメチル基、アルコキシメチル基及びベンジルオキシメチル基から成る群から選択される。

【0111】

特定の実施形態において、YはNHであり、ZはNHであり、XはSであり、R¹はCOであり、R³はCOであり、R²又はR⁴は芳香族、例えば芳香環であり、R⁶、R⁷及びR⁸は水素であり、あるいはR⁹はヒドロキシメチル基である。特定の実施形態において、組成物は、ビスー {3-デオキシ-3-[4-(3-フルオロフェニル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル} スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(3-メトキシベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-(3, 5-ジメトキシベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(4-ニトロベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビス (3-デオキシ-3-(2-ナフトアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(4-メトキシベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(3-ニトロベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-[4-(ジメチルアミノ)-ベンズアミド]-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(4-メチルベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(4-クロロベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(4-tert-ブチルベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(4-アセチルベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-[2-(3-カルボキシ)-ナフトアミド]-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー [3-デオキシ-3-(3, 4-メチレンジオキシ)ベンズアミド]-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(4-メトキシカルボニルベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(3-カルボキシベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(3-ベンジルオキシ-5-ヒドロキシ-ベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(3, 5-ジベンジルオキシベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(3-ベンジルオキシ-5-メトキシ-ベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(3-ベンジルオキシ-5-ノニルオキシ-ベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(3-ヒドロキシ-5-メトキシ-ベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-(3-ヒドロキシ-5-ノニルオキシ-ベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-[3-ベンジルオキシ-5-(4-フルオロ-ベンジルオキシ)-ベンズアミド]-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、ビスー (3-デオキシ-3-[3-メトキシ-5-(4-メチル-ベンジルオキシ)-ベンズアミド]-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン又はビスー (3-デオキシ-3-(3-アリルオキシ-5-ベンジルオキシ-ベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファンである。

【0112】

様々な実施形態において、分子は3-トリアキソリル-ガラクトシドを含み、例えば、組成物は以下の一般式：

【0113】

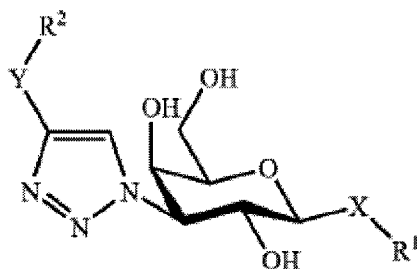
10

20

30

40

【化 1 1】



【0 1 1 4】

10

を有し、式中のピラノース環の構成はD-ガラクトであり、XはO、S、NH、CH₂及びNR⁴から成る群から選択される又は結合であり、YはCH₂、CO、SO₂、SO、PO₂、PO及びフェニルから成る群から選択される又は結合であり、R¹は、サッカリド、置換サッカリド、D-ガラクトース、置換D-ガラクトース、C3-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル-置換D-ガラクトース、水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基、複素環及びその誘導体、アミノ基、置換アミノ基、イミノ基並びに置換イミノ基から成る群から選択され、R²は、水素、アミノ基、置換アミノ基、アルキル基、置換アルキル基、アルケニル基、置換アルケニル基、アルキニル基、置換アルキニル基、アルコキシ基、置換アルコキシ基、アルキルアミノ基、置換アルキルアミノ基、アリールアミノ基、置換アリールアミノ基、アリールオキシ基、置換アリールオキシ基、アリール基、置換アリール基、ヘテロアリール基、置換ヘテロアリール基、複素環及び置換複素環から成る群から選択される。

20

【0 1 1 5】

様々な実施形態において、サッカリドは、グルコース、マンノース、ガラクトース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、フコース、フルクトース、キシロース、シアル酸、グルクロン酸、イズロン酸、ガラクトン酸、上記のサッカリドの少なくとも2種を含む二糖又はオリゴ糖及びこれらの誘導体から成る群から選択される。

【0 1 1 6】

分子の様々な実施形態において、YはCO、SO₂又は結合であり、R²はアミン又はアリール基であり、R¹はガラクトース、グルコース又はN-アセチルグルコサミンであり、R¹は置換ガラクトース、グルコース又はN-アセチルグルコサミンであり、R¹はC3-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル-置換ガラクトースであり、あるいはXはO又はSである。

30

【0 1 1 7】

分子の様々な実施形態において、R²は置換フェニル基であり、置換基は、ハロゲン、アルコキシ、アルキル、ニトロ、スルホ、アミノ、ヒドロキシ又はカルボニル基から成る群から選択される1つ以上である。

【0 1 1 8】

様々な実施形態において、分子は、メチル3-デオキシ-3-(1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-デオキシ-3-(4-プロピル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-(4-メトキシカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-デオキシ-3-(4-(1-ヒドロキシ-1-シクロヘキシル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-デオキシ-3-(4-フェニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-デオキシ-3-(4-p-トリルスルホニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル3-(4-メチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピ

40

50

ラノシド、メチル 3- (4-ブチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル 3- (4-ベンジルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル 3- {4- (3-ヒドロキシプロパ-1-イルアミノカルボニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル 3- {4- [2- (N-モルホリノ)-エチルアミノカアルボニル]-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル 3- (4-メチルアミノカアルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル)-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル- (1→4)-2-アセトアミド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド、ビス- {3-デオキシ-3- [4- (3-フルオロフェニル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル} スルファン、メチル 3-デオキシ-3- {4- (2-フルオロフェニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル 3-デオキシ-3- {4- (2-メトキシフェニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル 3-デオキシ-3- {4- (3-メトキシフェニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル 3-デオキシ-3- {4- (4-メトキシフェニル)-H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル 3-デオキシ-3- {4- (3, 5-ジメトキシフェニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル 3-デオキシ-3- {4- (1-ナフチル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル 3-デオキシ-3- {4- (2-ナフチル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル 3-デオキシ-3- {4- (2-ピリジル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル 3-デオキシ-3- {4- (3-ピリジル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、メチル 3-デオキシ-3- {4- (4-ピリジル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、O- {3-デオキシ-3- [4-フェニル- [1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}-3-インドール-カルバルドキシム、O- {3-デオキシ-3- [4- (メチルアミノカルボニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}-3-インドール-カルバルドキシム、O- {3-デオキシ-3- [4-フェニル- [1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}- (2-ヒドロキシ-5-ニトロフェニル)-カルバルドキシム、O- {3-デオキシ-3- [4- (メチルアミノカルボニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}- (2-ヒドロキシ-5-ニトロフェニル)-カルバルドキシム、O- {3-デオキシ-3- [4-フェニル- [1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}- (2, 5-ジヒドロキシフェニル)-カルバルドキシム、O- {3-デオキシ-3- [4- (メチルアミノカルボニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}- (2, 5-ジヒドロキシフェニル)-カルバルドキシム、O- {3-デオキシ-3- [4-フェニル- [1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}-1-ナフチル-カルバルドキシム又はO- {3-デオキシ-3- [4- (メチルアミノカルボニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}-1-ナフチル-カルバルドキシムである。

【0119】

様々な実施形態において、分子はチオジガラクトシドを有し、例えば、分子は以下の一般式：

10

20

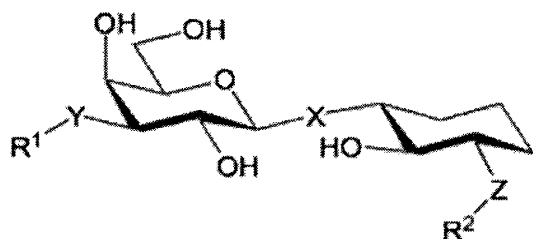
30

40

50

【0120】

【化12】



【0121】

10

を有し、式中のピラノース環の構成はD-ガラクトであり、XはO、S及びSOから成る群から選択され、Y及びZは独立して、CONH又は1H-1, 2, 3-トリアゾール環から選択され、R¹及びR²は独立して、少なくとも4個の炭素のアルキル基、少なくとも4個の炭素のアルケニル基、少なくとも4個の炭素のアルキニル基、カルバモイル基、アルキル基で置換されたカルバモイル基、アルケニル基で置換されたカルバモイル基、アルキニル基で置換されたカルバモイル基、アリール基で置換されたカルバモイル基、置換アルキル基で置換されたカルバモイル基、置換アリール基で置換されたカルバモイル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルキル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのトリフルオロメチル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのトリフルオロメトキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたフェニル基、ナフチル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルキル基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたナフチル基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたナフチル基、ヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたヘテロアリール基、チエニル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたチエニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたチエニルチエニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたチエニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたチエニル基及び少なくとも1つの置換カルボニル基で置換されたチエニル基から成る群から選択される。

20

30

40

【0122】

様々な実施形態において、分子は、YがCONHであり、このCONH基がN原子を介してピラノース環に結合し、ZがCONHであり、例えばこのCONH基がN原子を介してシクロヘキサンに結合する、あるいはYが1H-1, 2, 3-トリアゾール環であり、例えばこの1H-1, 2, 3-トリアゾール環がN1原子を介してピラノース環に結合する式を有する。組成物の様々な実施形態において、R¹は1H-1, 2, 3-トリアゾール環のC4原子に結合し、Zは1H-1, 2, 3-トリアゾール環であり、例えばこの1H-1, 2, 3-トリアゾール環はN1原子を介してシクロヘキサンに結合し、あるいは

50

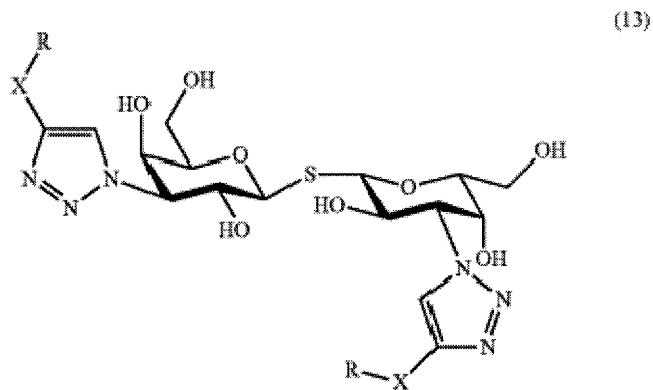
R^2 は1H-1, 2, 3-トリアゾール環のC4原子に結合する。

【0123】

様々な実施形態において、分子はジガラクトシドを含み、例えば、分子は、一般式(13)：

【0124】

【化13】



10

【0125】

を有し、式中、ピラノース環の少なくとも一方の構成はD-ガラクトであり、Xは結合であり、Rはフェニル基であり、このフェニル基は任意の位置でメチル、エチル、イソプロピル、tert-ブチル、フルオロ、クロロ、ブロモ及びトリフルオロメチルから成る群から選択される1つ以上の置換基で置換され、あるいはRはチエニル基である。

20

【0126】

分子の様々な実施形態において、Rは、任意の位置でフルオロ、クロロ及びブロモから成る群から選択される1つ以上の置換基で置換されるフェニル基である。例えば、Rは、任意の位置でフルオロから選択される1つ以上の置換基で置換されるフェニル基である。典型的には、両方のピラノース環の構成はD-ガラクトである。

【0127】

本明細書において、用語「アルキル基」には、一重結合で結合された水素及び炭素のみから成る化合物が含まれる。例えば、アルキル基は約1～約7個の炭素原子を含み、様々な実施形態において、約1～約4個の炭素原子を含む。アルキル基は直鎖又は分岐鎖になり得て、また3～7個の炭素原子、例えば3、4、5、6又は7個の炭素原子を含む環も形成し得る。したがって、アルキルとは、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、3-メチルブチル、2, 2-ジメチルプロピル、n-ヘキシル、2-メチルペンチル、2, 2-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、n-ヘプチル、2-メチルヘキシル、2, 2-ジメチルペンチル、2, 3-ジメチルペンチル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル及び1-メチルシクロプロピルのいずれかのことである。

30

【0128】

本明細書において、用語「アルケニル基」とは、少なくとも1つの二重結合を含む官能基又は置換基である。アルケニル基は約2～約7個の炭素原子を含む。アルケニル基は、ビニル、アリル、ブター-1-エニル、ブター-2-エニル、2, 2-ジメチルエテニル、2, 2-ジメチルプロパー-1-エニル、ペンター-1-エニル、ペンター-2-エニル、2, 3-ジメチルブター-1-エニル、ヘキサ-1-エニル、ヘキサ-2-エニル、ヘキサ-3-エニル、プロパー-1, 2-ジエニル、4-メチルヘキサ-1-エニル、シクロプロパー-1-エニル基、及び他のいずれかを含む。

40

【0129】

本明細書において、用語「アルキル化」はアルキル基での置換を意味する。本明細書において、用語「アルケニル化」とは、アルケニル基で置換されることを指す。

【0130】

50

本明細書において、用語「アリール基」とは、芳香環由来であり且つ約4～約12個の炭素原子を有する官能基又は置換基のことである。アリール基は例えばフェニル基又はナフチル基になり得る。上記の基は、有機化学分野で公知のいずれの他の置換基でも置換し得る。これらの基は2個以上の置換基でも置換し得る。置換基の例は、ハロゲン、アルキル、アルケニル、アルコキシ、ニトロ、スルホ、アミノ、ヒドロキシ及びカルボニル基である。ハロゲン置換基はブロモ、フルオロ、ヨード及びクロロである。アルキル基は例えば、約1～約7個の炭素原子を含む。アルケニル基は例えば2～7個の炭素原子、例えば2個の炭素原子又は4個の炭素原子を含む。アルコキシ基は1～7個の炭素原子を含み、不飽和炭素原子を含み得る。トリフルオロメチル等の置換基の組み合わせが存在し得る。

【0131】

本明細書において、用語「アルコキシ基」は酸素に結合した炭素原子、例えば約1～約7個の炭素原子を含む官能基又は置換基である。アルコキシ基は、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、イソプロポキシ基、*n*-ブトキシ基、*sec*-ブトキシ基、*tert*-ブトキシ基、ペントキシ基、イソペントキシ基、3-メチルブトキシ基、2,2-ジメチルプロポキシ基、*n*-ヘキソキシ基、2-メチルペントキシ基、2,2-ジメチルブトキシ基、2,3-ジメチルブトキシ基、*n*-ヘプトキシ基、2-メチルヘキソキシ基、2,2-ジメチルペントキシ基、2,3-ジメチルペントキシ基、シクロプロポキシ基、シクロブトキシ基、シクロペンチルオキシ基、シクロヘキシルオキシ基、シクロヘプチルオキシ基及び1-メチルシクロプロピルオキシ基になり得る。

【0132】

本明細書において、用語「アルキルアミノ基」は、孤立電子対を伴う窒素原子に結合しているアルキル基（約1～約7個の炭素原子）を含む官能基又は置換基である。例えば、アルキル基は、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、ペンチル、イソペンチル、3-メチルブチル、2,2-ジメチルプロピル、*n*-ヘキシル、2-メチルペンチル、2,2-ジメチルブチル、2,3-ジメチルブチル、*n*-ヘプチル、2-メチルヘキシル、2,2-ジメチルペンチル、2,3-ジメチルペンチル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル及び1-メチルシクロプロピルのいずれかである。

【0133】

本明細書において、用語「アリールアミノ基」はアンモニアの誘導体に結合しているアリール基であり、アンモニアの誘導体は孤立電子対を伴う塩基性窒素原子を有する。アリールアミノ基は例えば、約4～約7個の炭素原子を有するアリール基を有する。アリールアミノ基は例えば、アニリン、カルボキシル化アニリン又はハロゲン化アニリンであり、ハロゲンは上で定義した通りである。

【0134】

本明細書において、用語「アリールオキシ基」は、酸素に結合したアリール官能基である。例えば、アリールオキシ基は約4～約12個の炭素原子を含む。アリールオキシ基は、フェノール、カルボキシル化フェノール又はハロゲン化フェノールになり得て、ハロゲンは上で定義した通りである。

【0135】

本明細書において、用語「ヘテロアリール基」は、約4～約18個の炭素原子を含むアリール基であり、環の少なくとも1つの原子はヘテロ原子であり、すなわち炭素ではない。様々な実施形態において、ヘテロ原子はN、O又はSである。特定の実施形態において、ヘテロアリール基はピリジン又はインドール基である。

【0136】

上記の基は、有機化学分野で公知での他の置換基で置換し得る。基は2個以上の置換基でも置換し得る。置換基の例は、ハロゲン、アルコキシ、ニトロ、スルホ、アミノ、ヒドロキシ及びカルボニル基である。ハロゲン置換基は、ブロモ、フルオロ、ヨード及びクロロである。様々な実施形態において、アルキル基は、約1～約7個の炭素原子を有する。様々な実施形態において、アルケニル基は約2～約7個の炭素原子を有する。様々な実施

10

20

30

40

50

形態において、アルコキシは約 1 ～ 約 7 個、好ましくは 1 ～ 4 個の炭素原子を有し、また不飽和炭素原子を有し得る。

【0137】

本明細書において、用語「被験体 (subject)」とは、様々な実施形態において、哺乳動物のことであり、ヒト、霊長類、家畜 (例えば、ヒツジ、ブタ、ウシ、ウマ、ロバ)、実験室試験用動物 (例えば、マウス、ウサギ、ラット、モルモット)、ペット (例えば、イヌ、ネコ) 並びに重要な動物園及び捕獲野生動物 (例えば、キツネ、カンガルー、ゾウ、シカ) を含む。

【0138】

ポリヌクレオチド阻害物質

本明細書において、本発明の実施形態は、哺乳動物である被験体において α -シヌクレイン病を治療又は予防するための方法を提供し、本方法は、治療有効量の少なくとも 1 種の組成物を被験体に投与することを含み、組成物は、哺乳動物の脳におけるガレクチン活性を薬理的に調節するための分子を含む。例えば、阻害物質は、インシチュ又はエクスピボで投与される遺伝子組み換えにより生み出されたタンパク質である。用語「組み換え体」とは、遺伝子改変生物、例えば培養微生物又は真核細胞の操作により生み出されたタンパク質を指す。

【0139】

本発明の実施形態において、組成物及び方法は阻害物質であるモジュレータのソース、例えば阻害タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列を含み、例えばポリヌクレオチド配列を遺伝子操作することで、阻害タンパク質又はその一部の適切な宿主細胞における発現を指示する組み換え DNA 分子にする。生物学的に活性な阻害物質を発現させるために、この阻害物質をコードしているヌクレオチド配列又は機能的な均等物を適切な発現ベクター、すなわち阻害タンパク質のアミノ酸配列をコードしているヌクレオチド配列に操作により連結される、挿入するコード配列の転写及び翻訳を調節する要素をコードしている必要な核酸を含有するベクターに挿入する。

【0140】

当業者に周知の方法を用いることで、例えば適切な転写及び翻訳制御要素に操作により連結されるタンパク質又はペプチドをコードしている核酸配列を含有する発現ベクターを構築する。これらの方法はインビトロでの組み換え DNA 技法、合成技法及びインビボでの組み換え又は遺伝子組み換えを含む。技法は Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Plainview, NY, 1989 に記載されている。

【0141】

多種多様な市販の発現ベクター／宿主系が、タンパク質又はペプチドをコードする配列の収容及び発現に有用である。これらには、以下に限定するものではないが、微生物、例えば組み換えバクテリオファージ、プラスミド又はコスミド DNA 発現ベクターで形質転換した細菌、酵母発現ベクターで形質転換した酵母、ウイルス発現ベクター (例えば、バキュロウイルス) と接触させた昆虫細胞系、ウイルス発現ベクター (例えば、カリフラワーモザイクウイルス、CaMV、タバコモザイクウイルス、TMV) をトランスフェクトした若しくは細菌発現ベクター (例えば、Ti、pBR322、pET25b プラスミド) で形質転換した植物細胞系又は動物細胞系が含まれる。Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, NY, 1989 を参照のこと。

【0142】

ウイルスベクターには、以下に限定するものではないが、アデノウイルスベクター、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクター及びヘルパー依存型アデノウイルスベクターが含まれる。例えば、これらのベクターは、本明細書で示すように筋サテライト細胞の分化転換を調節する転写因子又は転写因子に

10

20

30

40

50

結合する物質をコードする核酸配列を送達する。アデノウイルスパッケージングベクターはAmerican Type Tissue Culture Collection (マナサス、ヴァージニア) から市販されている。アデノウイルスベクターを構築、使用方法はKlein et al., Ophthalmology, 114:253-262, 2007及びvan Leeuwen et al., Eur. J. Epidemiol., 18:845-854, 2003に記載されている。

【0143】

アデノウイルスベクターは、真核生物の遺伝子発現 (Levrero et al., Gene, 101:195-202, 1991) 及びワクチン開発 (Graham et al., Methods in Molecular Biology: Gene Transfer and Expression Protocols 7, (Murray, Ed.), Humana Press, Clifton, NJ, 109-128, 1991) に使用されてきた。さらに、組み換えアデノウイルスベクターは遺伝子治療に使用されている (Wuら、米国特許番号第7235391号、2007年6月26日に発行)。

【0144】

組み換えアデノウイルスベクターは、例えばシャトルベクターとプロウイルスベクターとの相同組み換えから作製する (Wuら、米国特許番号第7235391号)。これらの組み換えアデノウイルスベクターに使用するためのヘルパー細胞株はヒトの細胞、例えば293ヒト胚性腎細胞、筋細胞、造血細胞又は他のヒト胚性間葉若しくは上皮細胞由来になり得る。あるいは、ヘルパー細胞は、ヒトアデノウイルスを許容する他の哺乳動物種の細胞に由来し得て、例えばペロ細胞又は他のサル胚性間葉若しくは上皮細胞である。ヘルパー細胞株を使用したこれらの複製欠損アデノウイルスベクターの作製及び増殖はGraham et al., 1997 J. Gen. Virol., 36:59-72, 1977に記載されている。

【0145】

レンチウイルスベクターパッケージングベクターはInvitrogen Corporation (カールスバッド、カリフォルニア) から市販されている。レンチウイルスベクターを作製するためのHIVベースパッケージング系は、Naldini et al., Science 272:263-267, 1996; Zufferey et al., Nature Biotechnol., 15:871-875, 1997及びDull et al., J. Virol. 72:8463-8471, 1998に記載のコンストラクトを使用して用意する。

【0146】

多数のベクターコンストラクトを、系を使用して、第3世代レンチウイルスSINベクターバックボーンをベースにしてパッケージング可能である (Dull et al., J. Virol. 72:8463-8471, 1998)。例えば、ベクターコンストラクトpRRls in CMV GFP preは、HIVプロモーター配列がラウス肉腫ウイルス (RSV) の配列で置き換えられた5'LTR、U3プロモーター領域に欠失がある自己不活性化3'LTR、HIVパッケージングシグナル、CMVプロモーターにより駆動されるAequoraクラゲ緑色蛍光タンパク質 (GFP) から成るマーカー遺伝子カセットに連結されたRRE配列及び核外輸送を強化すると考えられるウッドチャック肝炎ウイルスPRE要素を含有する。GFPマーカー遺伝子は、UV蛍光顕微鏡法又はフローサイトメトリでの直接の観察による、トランスフェクション又は形質導入効率の定量化を可能にする (Kafri et al., Nature Genet., 17:314-317, 1997及びSakoda et al., J. Mol. Cell. Cardiol., 31:2037-2047, 1999)。

【0147】

タンパク質をコードする遺伝子を含むレトロウイルスベクターを構築するためのレトロウイルス核酸の操作及び細胞におけるパッケージング方法は、当該分野で公知の

技法を用いて成し遂げられる。Ausubel, et al., 1992, Volume 1, Section III (units 9.10.1-9.14.3); Sambrook, et al., 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Second Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.; Miller, et al., Biotechniques. 7: 981-990, 1989; Eglitis, et al., Biotechniques. 6: 608-614, 1988; 米国特許番号第4650764号、第4861719号、第4980289号、第5122767号及び第5124263並びにPCT特許公報番号WO85/05629、WO89/07150、WO90/02797、WO90/02806、WO90/13641、WO92/05266、WO92/07943、WO92/14829及びWO93/14188を参照のこと。

【0148】

レトロウイルスベクターは、アンホトロピックパッケージング系を用いて非感染性形質導入ウイルス粒子（ビリオン）に構築、パッケージングされる。そのようなパッケージング系の例は、例えばMiller, et al., Mol. Cell Biol. 6: 2895-2902, 1986; Markowitz, et al., J. Virol. 62: 1120-1124, 1988; Cosset, et al., J. Virol. 64: 1070-1078, 1990; 米国特許番号第4650764号、第4861719号、第4980289号、第5122767号及び第5124263号並びにPCT特許公報番号WO85/05629、WO89/07150、WO90/02797、WO90/02806、WO90/13641、WO92/05266、WO92/07943、WO92/14829及びWO93/14188に記載されている。

【0149】

「プロデューサー細胞」の作製は、レトロウイルスベクターのパッケージング細胞への導入により成し遂げる。そのようなレトロウイルスベクターの例は、例えばKorman, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 84: 2150-2154, 1987; Morgenstern, et al., Nucleic Acids Res. 18: 3587-3596, 1990; 米国特許番号第4405712号、第4980289号及び第5112767号並びにPCT特許公報番号WO85/05629、WO90/02797及びWO92/07943に記載されている。

【0150】

ヘルペスウイルスパッケージングベクターはInvitrogen Corporation（カルスバッド、カリフォルニア）から市販されている。例示的なヘルペスウイルスはα-ヘルペスウイルス、例えば水痘帯状疱疹ウイルス若しくは仮性狂犬病ウイルス、単純ヘルペスウイルス、例えばHSV-1若しくはHSV-2又はヘルペスウイルス、例えばエプスタインバーウイルスである。所望のヌクレオチドセグメントをパッケージングできる空のヘルペスウイルス粒子を用意する方法はFraefelらの米国特許番号第5998208号（1999年12月7日に発行）に記載されている。

【0151】

ヘルペスウイルスDNAベクターは、当業者になじみ深い技法を用いて構築することができる。例えば、ヘルペスウイルスの全ゲノムをコードしているDNAセグメントを、大きなDNAセグメントを保持可能な多数のベクター、例えばコスミド（Evans, et al., Gene 79, 9-20, 1989）、酵母人工染色体（YACS）（Sambrook, J. et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N. Y., 1989）又は大腸菌F因子プラスミド（O'Conner, et al., Science 244: 1307-1313, 1989）間で分割する。

【0152】

10

20

30

40

50

例えば、エプスタインバーウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、仮性狂犬病ウイルス及びHSV-1を含めた多種多様なヘルペスウイルスの全ゲノムを表す重複クローンを含有するコスミド群が単離されている。M. van Zijl et al., J. Virol. 62, 2191, 1988; Cohen, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. U. S. A. 90, 7376, 1993; Tomkinson, et al., J. Virol. 67, 7298, 1993及びCunningham et al., Virology 197, 116, 1993を参照のこと。

【0153】

AAVは依存性パルボウイルスであり、別のウイルス（アデノウイルス又はヘルペスウイルスファミリーのメンバー）との同時感染に依存することで培養細胞において増殖性感染する（Muzyczka, Curr Top Microbiol Immunol, 158:97-129, 1992）。例えば、組み換えAAV（rAAV）ウイルスを、目的の遺伝子、例えばNkx3.2遺伝子を含有しているプラスミドをコトランスフェクトすることで作製する。また、細胞をアデノウイルス又はAAVヘルパー機能に必要なアデノウイルス遺伝子を保持しているプラスミドと接触させる又は細胞にアデノウイルス又はAAVヘルパー機能に必要なアデノウイルス遺伝子を保持しているプラスミドをトランスフェクトする。そのようにして調製した組み換えAAVウイルスストックは、組み換えAAV粒子から物理的に分離しなくてはならないアデノウイルスを含む（例えば、塩化セシウム密度遠心分離による）。

【0154】

アデノ随伴ウイルス（AAV）パッケージングベクターは、GeneDetc（オクラホマ、ニュージーランド）から市販されている。AAVは高い組み込み効率を有し且つ非分裂細胞に感染すると判明しているため、組織培養下の哺乳動物細胞への遺伝子送達に有用である（Muzyczka, Curr Top Microbiol Immunol, 158:97-129, 1992）。AAVは、感染性に関して広い宿主範囲を有する（Tratschin et al., Mol. Cell. Biol., 4:2072-2081, 1984; Laughlin et al., J. Virol., 60(2):515-524, 1986; Lebkowski et al., Mol. Cell. Biol., 8(10):3988-3996, 1988; McLaughlin et al., J. Virol., 62(6):1963-1973, 1988)。

【0155】

AAVベクターの構築及び使用方法は、例えば米国特許番号第5139941号及び第4797368号に記載されている。遺伝子送達におけるAAVの使用はさらに、Lafayette et al., Virology, 162(2):483-486, 1988; Zhou et al., Exp. Hematol, 21:928-933, 1993; Flotte et al., Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 7(3):349-356, 1992及びWalsh et al., J. Clin. Invest, 94:1440-1448, 1994に記載されている。

【0156】

組み換えAAVベクターは、マーカー遺伝子のインビトロ及びインビボでの形質導入（Kaplit et al., Nat Genet., 8(2):148-54, 1994; Lebkowski et al., Mol. Cell. Biol., 8(10):3988-3996, 1988; Samulski et al., EMBO J., 10:3941-3950, 1991; Shelling and Smith, Gene Therapy, 1:165-169, 1994; Yoder et al., Blood, 82(Supp.):1:347A, 1994; Zhou et al., Exp. Hematol, 21:928-933, 1993; Tratschin et al., Mol. Cell. Biol., 5:3258-3260, 1985; McLaughlin et al., J. Virol., 62(6):1963-1973, 1988)並びにヒトの疾患に関わる遺伝子の形質導入に使用されている（Flotte et

t al., Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 7 (3) : 349-356, 1992; Ohi et al., Gene, 89 (2) : 279-282, 1990; Walsh et al., J. Clin. Invest., 94 : 1440-1448, 1994 及び Wei et al., Gene Therapy, 1 : 261-268, 1994)。

【0157】

抗体阻害物質

本発明は、様々な実施形態において、ガレクチン活性を薬理的に調節するためのガレクチンタンパク質の阻害物質を含む。タンパク質であるガレクチン阻害物質のある実施形態は、ガレクチンタンパク質又はガレクチンタンパク質の発現若しくは活性に影響する分子に結合する抗体を含む。本明細書において、用語「抗体」には、全抗体及び抗原結合フラグメント（すなわち、「抗原結合部」）又はこれらの単鎖が含まれる。天然の「抗体」は、ジスルフィド結合で相互につながれた少なくとも2本の重鎖（H）及び2本の軽鎖（L）を含む糖タンパク質である。

【0158】

様々な実施形態において、「ガレクチンタンパク質に特異的に結合する」抗体とは、ガレクチンタンパク質に、血管新生を阻害又は調節するのに十分な K_D で結合する抗体のことであり、例えば K_D は $5 \times 10^{-9}M$ 以下、 $2 \times 10^{-9}M$ 以下又は $1 \times 10^{-10}M$ 以下である。例えば、抗体はモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である。本明細書において、用語「モノクローナル抗体」又は「モノクローナル抗体組成物」とは、単一の分子組成の抗体分子調製物のことである。モノクローナル抗体組成物は、転写因子又は転写因子の特定のエピトープに対する単一の結合特異性及び親和性を示す。抗体は例えばIgM、IgE、IgG、例えばIgG1又はIgG4を含む。

【0159】

用語「ポリクローナル抗体」又は「ポリクローナル抗体組成物」とは、それぞれが免疫原に見られる多数の異なるエピトープの1つに特異的であり且つそのエピトープに対する特異的な親和性を特徴とする抗体の大きな集まりのことである。エピトープは最小の抗原性決定因子であり、タンパク質の場合、長さ6～8個の残基のペプチドを含む（Berzofsky, J. and I. Berkower, (1993), in Paul, W., Ed., Fundamental Immunology, Raven Press, N. Y., p. 246）。親和性は低いもの、例えば $10^{-6}M$ から高いもの、例えば $10^{-11}M$ に及ぶ。哺乳動物の血清から収集したポリクローナル抗体画分を周知の技法（例えば、タンパク質A等の免疫グロブリン分子に選択的に結合するアフィニティマトリックスを用いたクロマトグラフィ）により単離することでIgG画分を得る。抗体の純度及び特異性を強化するために、特異的抗体をさらに、固相固定免疫原を用いた免疫親和性クロマトグラフィで精製し得る。抗体を固相固定免疫原に、免疫原が抗体分子と免疫反応して固相固定免疫複合体を形成するのに十分な時間にわたって接触させる。結合した抗体を標準的な技法、例えばpHを低下させる又はイオン強度を上昇させるバッファを使用して固相から溶出させ、溶出した画分をアッセイし、特異的抗体を含有する画分を合わせる。

【0160】

本発明の方法では、組み換え抗体である抗体も有用である。本明細書において、用語「組み換えヒト抗体」には、組み換え技法により調製、発現、作製又は単離した抗体が含まれる。本発明の方法で使用する組み換え抗体を発現させるための哺乳動物宿主細胞には、例えばR. J. Kaufman and P. A. Sharp, 1982 Mol. Biol. 159 : 601-621に記載されるようなDHFR選択可能マーカーと共に使用される、Urlaub and Chasin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77 : 4216-4220, 1980に記載のdhfr-CHO細胞を含めたチャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO細胞）、NSO骨髓腫細胞、COS細胞及びSP2細胞が含まれる。特に、NSO骨髓腫細胞と使用する場合の別の発現系は、WO87/04462、WO89/01036及びEP338841に記載のGS遺伝子発現系

である。抗体を産生させるために、抗体遺伝子をコードしている発現ベクターを哺乳動物宿主細胞に導入し、宿主細胞を、宿主細胞において抗体が発現する又は宿主細胞を培養している培地に抗体が分泌されるのに十分な時間にわたって培養する。抗体を、標準的なタンパク質精製方法を用いて培地から回収する。

【0161】

様々な種のターゲットに対する抗体の結合能を評価するための標準的なアッセイが当該分野で公知であり、例えばELISA、ウェスタンブロット及びラジオイムノアッセイ（RIA）が含まれる。抗体の結合動態（例えば、結合親和性）も、当該分野で公知の標準的なアッセイ、例えばBiacore分析により評価することができる。

【0162】

抗血清を産生させるための動物を選択する際に考慮すべき基準を含めた抗体産生のための一般手法は、Harlow et al. (Antibodies, Cold Spring Harbor Laboratory, pp. 93-117, 1988)に記載されている。例えば、適切なサイズの動物、例えばヤギ、イヌ、ヒツジ、マウス又はラクダをある量の免疫原、例えば免疫応答を引き出すのに効果的な、ヒト転写因子由来のエピトープを有するインタクトタンパク質又はその一部の投与により免疫化する。例示的なプロトコルでは、動物のサイズに応じて100マイクログラム〜100ミリグラムの抗原を皮下注射し、続いて3週間後に、動物のサイズに応じて100マイクログラム〜100ミリグラムの免疫原をアジュバント、例えばフロイント完全アジュバントと共に腹腔内注入する。追加の腹腔内注入をアジュバント、例えばフロイント不完全アジュバントと共に2週間毎に、動物の血中において適切な抗体力価が達成されるまで行う。例示的な力価には、少なくとも約1:5000の力価又は1:100000以上の力価、すなわち検出可能な抗体活性を有することを示す最大希釈が含まれる。抗体を例えば、ヒトMACを有するカラムへの結合を用いたアフィニティ精製により精製する。

【0163】

モノクローナル抗体は、ヒトリンパ球のインビトロ免疫化により産生される。ヒトリンパ球のインビトロ免疫化技法は、Inai, et al., Histochemistry, 99(5):335-362, May 1993; Mulder, et al., Hum. Immunol., 36(3):186-192, 1993; Harada, et al., J. Oral Pathol. Med., 22(4):145-152, 1993; Stauber, et al., J. Immunol. Methods, 161(2):157-168, 1993及びVenkateswaran, et al., Hybridoma, 11(6):729-739, 1992に記載されている。これらの技法を用いて、抗原特異性IgG及びIgMモノクローナル抗体を含めた抗原反応性モノクローナル抗体を産生させることができる。転写因子に対して親和性を有し且つ特異的な抗体又はそのフラグメントは、本発明で提供するモジュレータ分子の範囲内にある。

【0164】

本明細書において、用語「抗体」には、全抗体及び抗原結合フラグメント（すなわち、「抗体結合部」）又はその単鎖、例えばFvフラグメントが含まれる。天然の「抗体」は、ジスルフィド結合で相互につながれた少なくとも2本の重鎖（H）及び2本の軽鎖（L）を含む糖タンパク質である。各重鎖は重鎖可変部（本明細書においてはV_Hと省略）及び重鎖定常部から構成される。重鎖定常部は3つのドメイン：CH1、CH2及びCH3から構成される。各軽鎖は軽鎖可変部（本明細書においてはV_Lと省略）及び軽鎖定常部から構成される。軽鎖定常部は、1つのドメイン：C_Lから構成される。V_H及びV_Lはさらに、相補性決定領域（CDR）と称される、フレームワーク領域（FR）と称されるより高度に保存された領域が分散した超可変領域に分割することができる。各V_H及びV_Lは、アミノ末端からカルボキシ末端まで以下の順序：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4で配置された3つのCDR及び4つのFRから構成される。重鎖及び軽鎖の可変部は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常部は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）及び古典的補体系の第1成分（C1q）

を含めた宿主組織又は因子への免疫グロブリンの結合を媒介し得る。

【0165】

本明細書において、抗体の「抗原結合部」（又は単に「抗原部」）という用語は、ターゲット（例えば、ガレクチン又はガレクチンのフラグメント又はガレクチン阻害物質又は組織中のガレクチンのリガンド）に特異的に結合する能力を保持する完全長の抗体又は1つ以上の抗体フラグメントを指す。抗体の抗原結合機能は完全長の抗体のフラグメントにより果たされることが判明している。抗体の「抗原結合部」という用語に含まれる結合フラグメントの例には、 V_L 、 V_H 、 C_L 及び $CH1$ ドメインから成る一価フラグメントであるFabフラグメント、ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結された2個のFabフラグメントを含む二価フラグメントである $F(a b)_2$ フラグメント、 V_H 及び $CH1$ ドメインから成るFdフラグメント、抗体の1本のアームの V_L 及び V_H ドメインから成るFvフラグメント、 V_H ドメインから成るdAbフラグメント（Ward et al. 1989 Nature 341:544）並びに単離された相補性決定領域（CDR）が含まれる。

10

【0166】

さらに、Fvフラグメントの2個のドメイン（ V_L 及び V_H ）は別々の遺伝子によりコードされるものの、組み換え法を用いて、 V_L 及び V_H 領域が対となって一価分子を形成する1本のタンパク質鎖（単鎖Fv（scFv））として知られる。例えば、Bird R. E. et al. 1988 Science 242:423及びHuston, J. S. et al. 1988 Proc Natl Acad Sci USA 85:5879を参照のこと）としての形成を可能にする合成リンカーにより接合することができる。そのような単鎖抗体も、抗体の「抗原結合部」という用語に含めるものとする。これらの抗体フラグメントは当業者に公知の慣用の技法を用いて得られ、フラグメントは、インタクト抗体と同じやり方で有用性についてスクリーニングされる。

20

【0167】

本明細書において、「単離された抗体」とは、異なる抗原特異性を持つ他の抗体を実質的に有さない抗体のことである（例えば、ガレクチン又はガレクチンのフラグメント又はガレクチン阻害物質又は組織中のガレクチンのリガンド等のターゲットに特異的に結合する単離された抗体は、このターゲット以外の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に有さない）。しかしながら、DEC205に特異的に結合する単離された抗体は、他の抗原、例えば他の種由来の対応するターゲット分子に対する交差反応性を有し得る。さらに、単離された抗体は、他の細胞材料及び／又は化学物質を実質的に有さないものになり得る。

30

【0168】

本明細書において、用語「モノクローナル抗体」又は「モノクローナル抗体組成物」は、単一の分子組成の抗体分子調製物を指す。モノクローナル抗体組成物は、特定のエピトープに対する単一の結合特異性及び親和性を示す。

【0169】

本明細書において、用語「ヒト抗体」には、フレームワーク及びCDR領域の両方がヒト起源の配列に由来する可変部を有する抗体が含まれるものとする。さらに、抗体が定常部を有する場合、この定常部もそのようなヒト配列（例えば、ヒト生殖系列配列又はヒト生殖系列配列の突然変異バージョン）に由来する。本発明のヒト抗体は、ヒト配列によりコードされないアミノ酸残基を含み得る（例えば、インビトロのランダム若しくは部位特異的変異誘発又はインビボでの体細胞突然変異により導入された突然変異）。しかしながら、本明細書において、用語「ヒト抗体」には、別の哺乳動物種（例えば、マウス）の生殖系列に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列にグラフトされた抗体が含まれないものとする。

40

【0170】

用語「ヒトモノクローナル抗体」は、フレームワーク及びCDR領域の両方がヒト配列に由来する可変部を有する、単一結合特異性を示す抗体を指す。一実施形態において、ヒトモノクローナル抗体は、永久増殖細胞に融合させたヒト重鎖導入遺伝子及び軽鎖導入遺

50

伝子を含むゲノムを有するヒトではないトランスジェニック動物、例えばトランスジェニックマウスから得たB細胞を含むハイブリドーマにより産生される。

【0171】

本明細書において、用語「組み換えヒト抗体」には組み換え手段により調製、発現、作製又は単離される全てのヒト抗体が含まれ、例えばヒト免疫グロブリン遺伝子に関してトランスジェニック若しくはトランスクロモソームな動物（例えば、マウス）又はそこから調製するハイブリドーマから単離した抗体、ヒト抗体を発現するように形質転換した宿主細胞、例えばトランスフェクトーマから単離した抗体、組み換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリから単離した抗体及びヒト免疫グロブリン遺伝子、配列の全て又は一部を他のDNA配列にスプライシングすることを含む他の手段により調製、発現、作製又は単離する抗体である。そのような組み換えヒト抗体は、フレームワーク及びCDR領域がヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変部を有する。しかしながら、特定の実施形態において、そのような組み換えヒト抗体は、インビトロでの変異誘発（又は、ヒトIg配列に関してトランスジェニックな動物を用いる場合はインビボでの体細胞変異誘発）に供することができるため、組み換え抗体の V_H 及び V_L 領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列 V_H 及び V_L 配列に由来及び関連する一方でインビボのヒト抗体生殖系列レパートリー内に天然で存在し得ない配列である。

【0172】

本明細書において、「アイソタイプ」とは、重鎖定常部遺伝子により決定される抗体クラス（例えば、IgM、IgE、IgG、例えばIgG1又はIgG4）のことである。

【0173】

「抗原を認識する抗体」及び「抗原に特異的な抗体」という句は、本明細書において、用語「抗原に特異的に結合する抗体」と互換的に使用される。

【0174】

本明細書において、樹状細胞受容体（例えば、具体的にはヒト組織中のガレクチンのリガンド等のヒトターゲットであるターゲット）に特異的に結合する抗体又は抗体融合タンパク質は、約 $5 \times 10^{-9}M$ 以下、約 $2 \times 10^{-9}M$ 以下又は約 $1 \times 10^{-1}M$ 以下の K_D でヒトターゲットに結合する抗体であるとする。「ヒトターゲット以外の抗原と交差反応する」抗体とは、約 $0.5 \times 10^{-8}M$ 以下、約 $5 \times 10^{-9}M$ 以下又は約 $2 \times 10^{-9}M$ 以下の K_D で抗原に結合する抗体であるとする。「特定の抗原と交差反応しない」抗体とは、約 $1.5 \times 10^{-8}M$ 以上の K_D 、約 $5 \sim 10 \times 10^{-8}M$ 又は約 $1 \times 10^{-7}M$ 以上の K_D でその抗原に結合する抗体であるとする。特定の実施形態において、抗原と交差反応しないそのような抗体は、標準的な結合アッセイにおいてこれらのタンパク質に対して本質的に検出可能な結合を示す。

【0175】

本明細書において、ガレクチンへのターゲットの結合を阻害する抗体とは、約 $1nM$ 以下、約 $0.75nM$ 以下、約 $0.5nM$ 以下又は約 $0.25nM$ 以下の K で受容体に結合するターゲットを阻害する抗体のことである。GL117は、細菌抗 β -ガラクトシダーゼ非特異的アイソタイプマッチラットモノクローナル抗体ネガティブコントロールである（Hawiger, D. et al. 2001 J Exp Med 194: 769-779）。

【0176】

本明細書において、「 K_{assoc} 」又は「 K_a 」は、特定の抗体-抗原相互作用の会合速度のことであるとし、本明細書において、「 K_{dis} 」又は「 K_D 」という用語は、特定の抗体-抗原相互作用の解離速度を指すものとする。本明細書において、用語「 K_D 」は解離定数を指すものとし、 K_a に対する K_d の比（すなわち、 K_d/K_a ）から得られ且つモル濃度（M）として表される。抗体に関する K_D 値は、当該分野において十分に確立された方法を用いて求めることができる。抗体の K_D を求める方法は表面プラズモン共鳴の使用又はバイオセンサシステム、例えばBiacore（登録商標）システムの使用である。

【0177】

本明細書において、用語「親和性」は、単一の抗原部位での抗体と抗原との相互作用の強度を指す。各抗原部位内で、抗体の「アーム」の可変部は、弱い非共有結合力を介して抗原と多数の部位で相互作用し、相互作用が多くなればなるほど、親和性は強くなる。

【0178】

本明細書において、用語「アヴィディティ」は、抗体-抗原複合体の全体的な安定性又は強度の有益な尺度を指す。アヴィディティは3つの主要な要素：抗体エピトープ親和性、抗原及び抗体の両方の原子価並びに相互作用部の構造的な配置により制御される。最終的には、これらの要素が抗体の特異性、すなわち特定の抗体が精確な抗原エピトープに結合する尤度を決定する。

【0179】

本明細書において、用語「交差反応性」は、抗体又は抗体の集合体が他の抗原上のエピトープに結合することを指す。これは抗体の低いアヴィディティ若しくは特異性又は同一若しくは極めて似たエピトープを有する多数の別個の抗原により引き起こされ得る。関連抗原群への全般的な結合を望む場合又は抗原エピトープ配列が進化において高度に保存されないケースで異種間標識化を試みる場合、交差反応性が望ましいこともある。

【0180】

本明細書において、IgG抗体に関する用語「高親和性」は、ターゲット抗原に対して抗体が 10^{-8} M以下、 10^{-9} M以下又は 10^{-10} M以下の K_D を有することを指す。しかしながら、「高親和性」結合は他の抗体アイソタイプでは異なり得る。例えば、IgMアイソタイプの場合、「高親和性」結合とは、抗体が 10^{-7} M以下又は 10^{-8} M以下の K_D を有することである。

【0181】

様々な種のターゲットに対する抗体の結合能を評価するための標準的なアッセイは当該分野で公知であり、例えばELISA、ウェスタンブロット及びRIAが含まれる。適切なアッセイについては実施例で詳述する。抗体の結合動態（例えば、結合親和性）も当該分野で公知の標準的なアッセイ、例えばBiacore分析で評価することができる。抗体の機能特性に対する抗体の効果（例えば、受容体結合、自己免疫疾患の予防又は改善）を評価するためのアッセイについては実施例で詳述する。

【0182】

したがって、当該分野で公知であり且つ本明細書に記載の方法にしたがって求められるこれらのガレクチン関連機能特性（例えば、生化学的、免疫化学的、細胞性、生理的又は他の生物学的活性など）の1つ以上を「阻害する」抗体は、抗体不在下（例えば、又は無関係の特異性のコントロール抗体が存在する場合に）で見られるものとは相対的に、特定の活性において統計的に有意な低下に関連していると理解される。ガレクチン関連活性を阻害する抗体は、測定したパラメータの少なくとも10%、少なくとも50%、80%又は90%のそのような統計的に有意な低下をもたらし、特定の実施形態において、本発明の抗体は、ガレクチン機能活性を95%、98%又は99%を超えて阻害し得る。

【0183】

RNA干渉

阻害性物質には、ガレクチンタンパク質をコードする又はガレクチンタンパク質の活性を調節する分子をコードし、それによって血管新生を調節する核酸に結合するRNA干渉物質が含まれる。核酸結合のための方法及び組成物には、RNA干渉（RNAi）の利用が含まれる。RNAiは、細胞内に存在する短い（例えば、30ヌクレオチド）二本鎖RNA（dsRNA）分子により誘発される。これらの短いdsRNA分子は低分子干渉RNA（siRNA）と称され、siRNAと配列相同性を共有するメッセンジャーRNA（mRNA）の破壊を引き起こす。Beachらの国際公報番号WO/2003/062394（2003年7月31日公開）、McSwigganらの米国特許公報番号第2005/0032733号（2005年2月10日公開）、Ciccicarelliらの米国特許番号第8236771号（2012年8月7日発行）。様々な実施形態において、ターゲット核酸配列はガレクチンタンパク質又はその一部をコードする。例えば、RNA

10

20

30

40

50

干渉物質は、ガレクチン1～11又はその一部（例えば、糖鎖結合ドメイン）の発現を負に調節する。

【0184】

合成 siRNA 又はアンチセンス発現カセットを構築してベクターの組み換え操作した核酸に挿入する方法は当該分野で周知であり、例えば Reichらの米国特許番号第7847090号（2010年12月7日に発行）、Reichらの米国特許番号第7674895号（2010年3月9日に発行）、Khvorovaらの米国特許番号第7642349号（2010年1月5日に発行）に記載される。例えば、本明細書に記載の発明は、センスRNA鎖及びアンチセンスRNA鎖を含む合成 siRNA を含み、センスRNA鎖は、細胞中にターゲット核酸配列と実質的に同一のヌクレオチド配列を含む。したがって、細胞が siRNA をコードするウイルスベクターと接触している状況下、細胞は、次にターゲット核酸配列の発現を負に調節する siRNA を発現する。

10

【0185】

ガレクチン

レクチンタンパク質は特異的に炭水化物及び凝集細胞に結合する（国際公報番号WO/2006/113311を参照のこと。参照により全て本明細書に援用される）。レクチンは、細胞-細胞及び細胞-マトリックス相互作用を含めた多種多様な細胞機能に関与していると判明している。レクチンは、植物、無脊椎動物及び哺乳動物間に広く見られる。動物レクチンは、C型レクチン、P型レクチン、ガレクチン（以前はS型レクチンと称された）及びペントラキシンのファミリーに分類される（例えば、Barondes et al., J. Biol. Chem. 269:20807, 1994を参照のこと）。

20

【0186】

哺乳動物ガレクチンは、ラクトース及び関連ガラクトシドを認識する。全ての哺乳動物ガレクチンが小さなβ-ガラクトシドに対する同様の親和性を共有する一方で、より複雑なグリココンジュゲートに対する結合特異性においては著しい違いを示す（Henrick et al., Glycobiology 8:45, 1998; Sato et al., J. Biol. Chem. 267:6983, 1992及びSeetharaman et al., J. Biol. Chem. 273:13047, 1998）。β-ガラクトシド糖への結合に加え、ガレクチンは血球凝集活性を有する。多数のポリラクトサミン鎖を有する天然の糖タンパク質であるラミニンは、特定のガレクチンにとっての天然のリガンドであることが判明している。ラミニンは、全ての上皮の下にあり個々の筋肉、脂肪及びシュワン細胞を取り囲む細胞外マトリックスである基底膜の構成要素である。細胞と基底膜との相互作用は、哺乳動物の成長中に様々な細胞型の遊走及び／又は分化に影響を及ぼすことが知られている。ガレクチンは膜輸送を指定する従来型の配列を有さないが、細胞内で分泌され、また細胞内に位置する。β-ガラクトシド糖に対する親和性に加えて、ガレクチンファミリーのメンバーは糖鎖認識ドメイン（CRD。糖鎖結合ドメインとも称する）において高い配列類似性を共有し、その関連アミノ酸残基はX線結晶解析により特定されている（Lobsanov et al., J. Biol. Chem. 267:27034, 1993及び上記のSeetharamanらの文献）。ガレクチンは、細胞接着（Cooper et al., J. Cell Biol. 115:1437, 1991）、増殖制御（Wells et al., Cell 64:91, 1991）、細胞遊走（Hughes, Curr. Opin. Struct. Biol. 2:687, 1992）、腫瘍性転化（Raz et al., Int. J. Cancer 46:871, 1990）及び免疫応答（Offner et al., J. Neuroimmunol. 28:177, 1990）を含めた多種多様な生物学的機能に関わる。

30

40

【0187】

ガレクチン-1

ガレクチン-1は14キロダルトンのサブユニットのホモダイマーであり、各サブユニットは1つの結合部位を有する。ガレクチン-1は、レクチンがモノマーの形態で蓄積する哺乳動物細胞のサイトゾルで合成される（Cummingsらの米国特許番号第594

50

8628号（1999年9月7日発行）、Cummingらの米国特許番号第6225071号（2001年5月1日発行）、Horieらの米国特許番号第6890531号（2005年5月10日発行）及びCambyらの米国特許番号第7964575号（2011年6月21日発行）。

【0188】

ガレクチン-3

タンパク質のガレクチン-3ファミリーのメンバー（以前は、CBP-35、Mac-2、L-34、εBP及びRL-29として知られていた）は、典型的には約240～270のアミノ酸の配列を有し、また約25～約29kDaの分子量を有する。ガレクチン-3タンパク質は概して、短いN末端ドメイン、ガラクトシド結合領域を含むC末端ドメイン並びに7～10の保存されたアミノ酸の繰り返しを含む介在プロリン、グリシン及びチロシンリッチなドメインから構成される（Liu et al., Biochemistry 35:6073, 1996及びCherayil et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:7324, 1990）。タンデム反復は、コラーゲン遺伝子スーパーファミリーに見られるものに類似している。繰り返しの数はガレクチン-3タンパク質同士で異なり、異なる種由来のガレクチン-3タンパク質間でのサイズ差の原因である。ガレクチン-3のN末端ドメインは、グリココンジュゲートリガンドを有する表面への結合時のタンパク質による多量体化を可能にする。

【0189】

ガレクチン-3は、様々な炎症細胞（例えば、活性化マクロファージ、好塩基球及びマスト細胞）並びに様々な組織の上皮及び繊維芽細胞で発現する（Perillo et al., J. Mol. Med. 76:402, 1998）。ガレクチン-3は、細胞表面上、細胞外マトリックス（ECM）内、細胞質内及び細胞の核に見られる。細胞表面上又はECMにおいて、ガレクチン-3は、数多くのECM及び細胞表面分子に見られるポリラクトサミン鎖を有する相補的グリココンジュゲートに結合することで細胞-細胞及び細胞-マトリックス相互作用を媒介すると考えられる。ガレクチン-3は、ラミニンに結合することで細胞-マトリックス接着を阻害すると考えられる。細胞の核において、ガレクチン-3は、周知の細胞接着分子（例えば、α6β1及びα4β7インテグリン。Warlfield et al., Invasion Metastasis 17:101, 1997及びMatarrese et al., Int. J. Cancer 85:545, 2000）及びサイトカイン（例えば、IL-1。Jeng et al., Immunol. Lett. 42:113, 1994）の発現に作用することで細胞-マトリックス相互作用に間接的に影響を及ぼし得る。ガレクチン-3の発現は、腎臓等の選択した臓器において発達の制御され、肺胞上皮細胞及び肝細胞におけるその発現レベルは損傷後にアップレギュレートされる。ガレクチン-3は、増殖中に特定の細胞型の核に集中すると判明している。ガレクチン-3の発現は特定の腫瘍において増加し、ガレクチン-3が転移において役割を果たすことを示唆している。実際、転移性が弱い細胞株におけるガレクチン-3の過剰発現は、転移能の著しい上昇を引き起こした（上記のRazらの文献）。

【0190】

ヒトガレクチン-3は長さが250のアミノ酸であり、およそ26.1kDaの分子量を有する。

【0191】

本明細書で定義されるように、「ガレクチン-3タンパク質」は、ガレクチン-3「N末端ドメイン」、ガレクチン-3「プロリン、グリシン及びチロシンリッチなドメイン」及び／又はガレクチン-3「ガラクトシド結合ドメイン」を含む。これらドメインはさらに、以下のように定義される。

【0192】

本明細書において、ガレクチン-3「N末端ドメイン」は、ヒトガレクチン-3のアミノ酸1～14と少なくとも約60%、70%、80%、90%、95%、99%又は10

0%の同一性を共有する約10～20のアミノ酸、好ましくは約14のアミノ酸のアミノ酸配列を含む。N末端ドメインは、N-糖鎖付加部位 (PROSITE No. PS00001) 及び/又はカゼインキナーゼIIリン酸化部位 (PROSITE No. PS00006) を含む得る。PROSITE N-糖鎖付加部位はコンセンサス配列: N- {P} - [ST] - {P} を有し、PROSITEカゼインキナーゼIIリン酸化部位はコンセンサス配列: [ST] - X(2) - [DE] を有する。上記のコンセンサス配列及び本明細書に記載の他のモチーフ又はシグネチャー配列においては、アミノ酸に関する標準IUPACの1文字コードが使用される。パターンの各要素はダッシュ(-)で隔てられ、角括弧([])はその位置で受容される特定の残基を示し、Xは任意の残基がその位置で受容されることを示し、丸括弧(())の中の数字は、付随するアミノ酸によって表わされる残基の数を示す。特定の実施形態において、N末端ドメインは、ヒトガレクチン-3のアミノ酸L7及びL11を含む。

10

【0193】

本明細書において、ガレクチン-3「プロリン、グリシン及びチロシンリッチなドメイン」は、ヒトガレクチン-3のアミノ酸15～116と少なくとも約60%、70%、80%、90%、95%、99%又は100%の同一性を共有する約60～約140のアミノ酸、より好ましくは約80～120のアミノ酸又は約90～110のアミノ酸のアミノ酸配列を含む。プロリン、グリシン及びチロシンリッチなドメインは、コンセンサス配列: G- {EDRKHPFYW} - X(2) - [STAGCN] - {P} を有する1、2、3、4、5、6、7又は8個のN-ミリスチル化部位 (PROSITE No. PS00008) も含む得る。特定の実施形態において、プロリン、グリシン及びチロシンリッチなドメインは、SEQ ID NO: 1の以下のアミノ酸及び領域を含む: G21、P23、G27、N28、P30、G32、G34、P37、Y41-P46、G53、Y55-G57、P61、G62、G66、P72、G73、G77、Y79-G81、P83、G87、Y89、P90、G99、Y101、P102、P106、Y107、A109、L114及びV116。これらのアミノ酸及び領域は幾つかの哺乳動物種ガレクチン-3で保存され、また触媒及び/又は構造的な役割を果たし得る。

20

【0194】

本明細書において、ガレクチン-3「ガラクトシド結合ドメイン」は、PFAMからのコンセンサス配列PF00337 (ID NO: 3) に対する配列のアラインメントに関して少なくとも150のビットスコアを有する約80～約180のアミノ酸のアミノ酸配列を含む。好ましくは、ガレクチン-3ガラクトシド結合ドメインは少なくとも約100～160のアミノ酸、より好ましくは約110～150のアミノ酸又は約120～約140のアミノ酸を含み且つPFAMからのコンセンサス配列PF00337に対する配列のアラインメントに関して少なくとも150、少なくとも175又は200以上のビットスコアを有する。

30

【0195】

PFAMからのコンセンサス配列PF00337に対する特定の配列のアラインメントに関するビットスコアを計算するために、目的の配列を、www.sanger.ac.uk/Software/Pfamで利用可能なデフォルトパラメータを使用してHMMsのPFAMデータベース (例えば、PFAMデータベース、リリース2.1) で検索することができる。PFAMデータベースについては上記のSonhammerらの文献に記載があり、HMMsについては、例えばGrubskov et al., Meth. Enzymol. 183:146, 1990及びStultz et al., Protein Sci. 2:305, 1993で詳述されている。

40

【0196】

ガレクチン-3ガラクトシド結合ドメインはさらに、1つ、好ましくは2つのプロテインキナーゼCリン酸化部位 (PROSITE No. PS00005)、カゼインキナーゼIIリン酸化部位 (PROSITE No. PS00006) 及び/又はガラプチンシグネチャー配列 (PROSITE No. PS00309) を含む得る。プロテインキナ

50

ーゼCリン酸化部位は以下のコンセンサス配列：[S T]－X－[R K]を有する。ガラプチンシグネチャー配列は以下のコンセンサス配列：W－[G E K]－X－[E Q]－X－[K R E]－X(3, 6)－[P C T F]－[L I V M F]－[N Q E G S K V]－X－[G H]－X(3)－[D E N K H S]－[L I V M F C]を有する。特定の実施形態において、ガレクチン－3ガラクトシド結合ドメインは、I D N O：1の以下のアミノ酸及び領域：P 1 1 7、Y 1 1 8、L 1 2 0－L 1 2 2、G 1 2 5、P 1 2 8、R 1 2 9、L 1 3 1－I 1 3 4、G 1 3 6－V 1 3 8、N 1 4 1、N 1 4 3、R 1 4 4、L 1 4 7、F 1 4 9、R 1 5 1、G 1 5 2、D 1 5 4、A 1 5 6－F 1 6 3、E 1 6 5、R 1 6 9－N 1 7 4、N 1 7 9－G 1 8 2、E 1 8 4－R 1 8 6、F 1 9 0－E 1 9 3、G 1 9 5、P 1 9 7－K 1 9 9、Q 2 0 1－L 2 0 3、E 2 0 5、D 2 0 7－Q 2 2 0、N 2 2 2、R 2 2 4、L 2 2 8、I 2 3 1、I 2 3 6、G 2 3 8－I 2 4 0及びL 2 4 2－S 2 4 4を含む。これらのアミノ酸及び領域は幾つかの哺乳動物種ガレクチン－3で保存され、また触媒及び／又は構造的な役割を果たし得る。

【0197】

特定のガレクチン－3タンパク質は、ヒトガレクチン－3のアミノ酸配列を含む。他のガレクチン－3タンパク質は、ヒトガレクチン－3のアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含む。用語「実質的に同一の」は、本明細書において、第1アミノ酸が、第2アミノ酸配列のアラインされたアミノ酸残基と同一である十分な又は最小限の数のアミノ酸残基を含み、第1及び第2アミノ酸配列が共通する構造ドメイン及び／又は共通する機能活性を有し得ることを指す。例えば、ヒトガレクチン－3に対して少なくとも約60%又は65%の同一性、好ましくは少なくとも75%の同一性、より好ましくは少なくとも85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%の同一性を有する共通の構造ドメインを含むアミノ酸配列は、ヒトガレクチン－3のアミノ酸配列と実質的に同一であると称される。特に、偶然又は故意に誘発された変更、例えばヒトガレクチン－3の特定のアミノ酸残基の欠失、付加、置換又は修飾を含むタンパク質は、本明細書におけるガレクチン－3タンパク質の定義内にある。また、当然のことながら、本明細書で定義されるように、ガレクチン－3タンパク質は、ウシ、イヌ、ネコ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、マウス及びウマの種を含むがこれらに限定されない他の哺乳動物種から得たガレクチン－3のアミノ酸配列で表わされる領域を含み得る。

【0198】

配列間の配列同一性の計算は以下のように行われる。2個のアミノ酸配列のパーセント同一性(percent identity)を求めるにあたっては、最適な比較を行うために配列をアラインする(例えば、最適なアラインメントのために、第1及び第2アミノ酸配列の一方又は両方にギャップを導入することができる)。次に、対応するアミノ酸位置又はヌクレオチド位置にあるアミノ酸残基を比較する。第1配列におけるある位置が第2配列の対応する位置と同じアミノ酸残基又はヌクレオチドで占められているならば、それらのタンパク質はその位置で同一である。2個の配列間でのパーセント同一性はこれらの配列が共有する同一位置の数の関数であり、2個の配列を最適にアラインするために導入する必要があるギャップの数及び各ギャップの長さを考慮に入れる。

【0199】

配列の比較及び2個の配列間のパーセント同一性の決定は、数学アルゴリズムを使用して成し遂げることができる。好ましい実施形態において、2個のアミノ酸配列間のパーセント同一性は、デフォルトパラメータを用いるアラインメントソフトウェアプログラムを使用して求められる。適切なプログラムには、例えば、CLUSTAL W(Thompson et al., Nuc. Acids Research 22:4673, 1994(www.ebi.ac.uk/clustalw))、BL2SEQ(Tatusova and Madden, FEMS Microbiol. Lett. 174:247, 1999(www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/bl2seq/bl2.html))、SAGA(Notredame and Higgins, Nuc. Acids Research 24:1515, 1996(igs-serv

10

20

30

40

50

er. cnrs-mrs. fr/~cnotred)) 及び DIALIGN (Morgenstern et al., Bioinformatics 14:290, 1998 (bibiserv. techfak.uni-bielefeld.de/dialign)) が含まれる。

【0200】

ガレクチン-7

タンパク質のガレクチン-7ファミリーのメンバーは、典型的には、約130～約140のアミノ酸を含み且つ約15～約16kDaの分子量を有するモノマーとして存在する（例えばMagnaldo et al., Develop. Biol. 168:259, 1995及びMadsen et al., J. Biol. Chem. 270:5823, 1995を参照のこと）。ガレクチン-7の発現は、上皮の層形成に関係づけられている（Timmons et al., Int. J. Dev. Biol. 43:229, 1999）。ガレクチン-7は、細胞-マトリックス及び細胞-細胞相互作用において役割を果たすと考えられている。ガレクチン-7は、細胞間の接触領域に見られる（例えば、ヒト表皮の上層）。その発現は足場非依存性角化細胞において鋭敏にダウンレギュレートされ、悪性角化細胞株には存在しない。ガレクチン-7は、正常な角化細胞の維持に必要とされ得る（上記のMadsenらの文献を参照のこと）。

【0201】

ヒトガレクチン-7は136のアミノ酸を含み、またおよそ15.1kDaの分子量を有する。

【0202】

本明細書で定義されるように、「ガレクチン-7タンパク質」は、ガレクチン-7「ガラクトシド結合ドメイン」を含む。このドメインはさらに以下のように定義される。

【0203】

本明細書において、ガレクチン-7「ガラクトシド結合ドメイン」は、PFAMからのコンセンサス配列PF00337に対する配列のアラインメントに関して少なくとも80のビットスコアを有する約80～約180のアミノ酸のアミノ酸配列を含む。好ましくは、ガレクチン-7ガラクトシド結合ドメインは、少なくとも約100～160のアミノ酸又は約110～150のアミノ酸又は約120～140のアミノ酸を含み且つPFAMからのコンセンサス配列PF00337に対する配列のアラインメントに関して少なくとも80、より好ましくは少なくとも100、最も好ましくは120以上のビットスコアを有する。ガレクチン-7ガラクトシド結合ドメインは、1つのN-糖鎖付加部位（PROSITE No. PS00001）、1つのプロテインキナーゼCリン酸化部位（PROSITE No. PS00005）、1つのカゼインキナーゼIIリン酸化部位（PROSITE No. PS00006）、1つ若しくは2つのミリストイル化部位（PROSITE No. PS00008）及び／又はガラプチンシグネチャー配列（PROSITE No. PS00309）を含み得る。特定の実施形態において、ガレクチン-7ガラクトシド結合ドメインは、ヒトガレクチン-7の以下のアミノ酸及び領域：M1、S2、H6、K7、L10、P11、G13、R15、G17-V19、R21-G24、V26、P27、A30、R32-Q43、D46-N63、K65、Q67、G68、W70-G76、G78、P80-L90、I92、G97-K99、V101、G103、D104、Y107、H109、F110、H112、R113、P115、V119、R120、V122-L130、S132、I135及びF136を含む。これらのアミノ酸及び領域は幾つかの哺乳動物種ガレクチン-7で保存され、また触媒及び／又は構造的な役割を果たし得る。

【0204】

特定のガレクチン-7タンパク質は、ヒトガレクチン-7のアミノ酸配列を含む。他のガレクチン-7タンパク質は、ヒトガレクチン-7のアミノ酸配列と実質的に同一であるアミノ酸配列を含む。特に、偶然又は故意に誘発された変更、例えばヒトガレクチン-7の特定のアミノ酸残基の欠失、付加、置換又は修飾を含むタンパク質は、本明細書におけ

るガレクチン-7の定義に含まれ得る。また、当然のことながら、本明細書で定義されるように、ガレクチン-7タンパク質は、ウシ、イヌ、ネコ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、マウス及びウマの種を含むがこれらに限定されない他の哺乳動物種から得たガレクチン-7のアミノ酸配列で表わされる領域を含み得る。

【0205】

ガレクチン-8

ガレクチン-8は広く発現するンパク質であり、例えば肝臓、心臓、筋肉、腎臓、脾臓、後肢及び脳内に存在し、ヒト及びラットガレクチン-8遺伝子及びタンパク質の配列が利用可能である（例えばHadar i, et al., Trends in Glycosci and Glycotechnol. 9:103-112, 1997を参照のこと）。 10

【0206】

ヒトガレクチン-8のための代替アミノ酸配列形態が知られており、例えば、316アミノ酸形態（アクセッション番号O00214、1997年11月1日に作成）及び359アミノ酸形態（アクセッション番号Q8TEV1、2002年6月1日に作成）である。これらの配列は、かなりの長さにおいて類似している又は同一であるものの、全体として長さが異なるだけの変化形ではなく、異なる部位を有する。

【0207】

本明細書で定義されるように、「ガレクチン-8タンパク質」は、ガレクチン-8「N末端ドメイン」、ガレクチン-8「プロリン、グリシン及びチロシンリッチなドメイン」並びに／又はガレクチン-8「ガラクトシド結合ドメイン」を含み得る。これらのドメインはさらに、以下のように定義される。 20

【0208】

本明細書において、ガレクチン-8「N末端ドメイン」は、ヒトガレクチン-8のアミノ酸1～14と少なくとも約60%、70%、80%、90%、95%、99%又は100%の同一性を共有する約10～20のアミノ酸、好ましくは約14のアミノ酸のアミノ酸配列を含む。N末端ドメインは、N-糖鎖付加部位（PROSITE No. PS00001）及び／又はカゼインキナーゼIIリン酸化部位（PROSITE No. PS00006）を含み得る。PROSITE N-糖鎖付加部位は、コンセンサス配列：N- {P} - [ST] - {P} を有し、PROSITEカゼインキナーゼIIリン酸化部位は、コンセンサス配列：[ST] - X(2) - [DE] を有する。上記のコンセンサス配列、他のモチーフ又はシグネチャー配列において。 30

【0209】

本明細書において、ガレクチン-8「プロリン、グリシン及びチロシンリッチなドメイン」は、各ヒトガレクチン-8のアミノ酸15～116と少なくとも約60%、70%、80%、90%、95%、99%又は100%の同一性を共有する約60～140のアミノ酸、より好ましくは約80～120のアミノ酸又は約90～110のアミノ酸のアミノ酸配列を含む。プロリン、グリシン及びチロシンリッチなドメインは、コンセンサス配列：G - {EDRKHPFYW} - X(2) - [STAGCN] - {P} を有する1、2、3、4、5、6、7又は8個のN-ミリスチル化部位（PROSITE No. PS00008）も含み得る。特定の実施形態において、プロリン、グリシン及びチロシンリッチなドメインは、ヒトガレクチン-8の以下のアミノ酸並びに領域：G20、P23、P28、G29、G36、P39及び当業者に明白な他の同様の残基を含む。これらのアミノ酸及び領域は幾つかの哺乳動物種ガレクチン-8で保存され、また触媒及び／又は構造的な役割を果たし得る。特定の実施形態において、プロリン、グリシン及びチロシンリッチなドメインは、SEQ ID NO: 5の以下のアミノ酸並びに領域：G21、P24、P29、G30、G37、P40及び当業者に明白な他の同様の残基を含む。 40

【0210】

本明細書において、ガレクチン-4「ガラクトシド結合ドメイン」は、PFAMからのコンセンサス配列PF00337に対する配列のアラインメントに関して少なくとも15 50

0 のビットスコアを有する約 80 ～ 180 のアミノ酸のアミノ酸配列を含む。好ましくは、ガレクチン-3 ガラクトシド結合ドメインは、少なくとも約 100 ～ 160 のアミノ酸、より好ましくは約 110 ～ 150 のアミノ酸又は約 120 ～ 140 のアミノ酸を含み且つ P F A M からのコンセンサス配列 P F 0 0 3 3 7 に対する配列のアラインメントに関して少なくとも 150、より好ましくは少なくとも 175、最も好ましくは 200 以上のビットスコアを有する。

【0211】

P F A M からのコンセンサス配列 P F 0 0 3 3 7 に対する特定の配列のアラインメントに関するビットスコアを計算するために、目的の配列を、www.sanger.ac.uk/Software/Pfam で利用可能なデフォルトパラメータを使用して H M M s の P F A M データベース（例えば、P F A M データベース、リリース 2.1）で検索することができる。P F A M データベースについては上記の S o n n h a m m e r らの文献に記載があり、H M M s については、例えば G r i b s k o v e t a l. , M e t h . E n z y m o l . 183:146, 1990 及び S t u l t z e t a l. , P r o t e i n S c i . 2:305, 1993 で詳述されている。

【0212】

ガレクチン-8 ガラクトシド結合ドメインはさらに、1 又は 2 つのプロテインキナーゼ C リン酸化部位（P R O S I T E N o . P S 0 0 0 0 5）、カゼインキナーゼ I リン酸化部位（P R O S I T E N o . P S 0 0 0 0 6）及び／又はガラブチンシグネチャー配列（P R O S I T E N o . P S 0 0 3 0 9）を含み得る。プロテインキナーゼ C リン酸化部位はコンセンサス配列：[S T] - X - [R K] を有する。ガラブチンシグネチャー配列は以下のコンセンサス配列：W - [G E K] - X - [E Q] - X - [K R E] - X (3, 6) - [P C T F] - [L I V M F] - [N Q E G S K V] - X - [G H] - X (3) - [D E N K H S] - [L I V M F C] を有する。特定の実施形態において、ガレクチン-8 ガラクトシド結合ドメインは、ヒトガレクチン-8 の以下のアミノ酸及び領域：L 1 2 3 - L 1 2 4、G 1 2 6、P 1 3 1、R 1 2 8、L 1 4 0 - I 1 4 6 及び上述のものと同様の他の部位を含む。これらのアミノ酸及び領域は幾つかの哺乳動物種ガレクチン-8 で保存され、また触媒及び／又は構造的な役割を果たし得る。

【0213】

特定のガレクチン-8 タンパク質はヒトガレクチン-8 のアミノ酸配列を含む。他のガレクチン-8 タンパク質は、ヒトガレクチン-8 のアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含む。用語「実質的に同一の」という表現は、本明細書において、第 1 アミノ酸が、第 2 アミノ酸配列のアラインされたアミノ酸残基と同一である十分な又は最小限の数のアミノ酸残基を含み、第 1 及び第 2 アミノ酸配列が共通する構造ドメイン及び／又は共通する機能活性を有し得ることを指す。例えば、ヒトガレクチン-8 に対して少なくとも約 60 % 又は 65 % の同一性、好ましくは少なくとも 75 % の同一性、より好ましくは少なくとも 85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 % 又は 99 % の同一性を有する共通の構造ドメインを含むアミノ酸配列は、ヒトガレクチン-8 のアミノ酸配列と実質的に同一であると称される。特に、偶然又は故意に誘発された変更、例えばヒトガレクチン-8 の特定のアミノ酸残基の欠失、付加、置換又は修飾を含むタンパク質は、本明細書におけるガレクチン-8 の定義に含まれ得る。また、当然のことながら、本明細書で定義されるように、ガレクチン-8 タンパク質は、ウシ、イヌ、ネコ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、マウス及びウマの種を含むがこれらに限定されない他の哺乳動物種から得たガレクチン-8 のアミノ酸配列で表わされる領域を含み得る。

【0214】

ガレクチンタンパク質の調製

当業者ならば、本発明のガレクチンはいずれの利用可能なソースからも得られることがわかる。利用可能なソースには、以下に限定するものではないが、天然の供給源から単離されたタンパク質、組み換えにより作製されたタンパク質又は例えば固相手順で合成されたタンパク質が含まれる。本発明において、ガレクチン-3、ガレクチン-7 又はガレク

チン-8をコードするポリヌクレオチド配列は、適切な宿主細胞において本発明のガレクチンの発現を指示する組み換えDNA分子で使用し得る。上記のCherayilらの文献、上記のMadsenらの文献及び上記のHadriらの文献には、ヒトガレクチン-1、ヒトガレクチン-3、ヒトガレクチン-7及びヒトガレクチン-8のクローニングがそれぞれ詳述されている。生物学的に活性なガレクチン-1、ガレクチン-3、ガレクチン-7又はガレクチン-8を発現させるために、ガレクチン-1、ガレクチン-3、ガレクチン-7、ガレクチン-8又はそれらの機能的な均等物をコードするヌクレオチド配列を適切な発現ベクター、すなわち挿入するコード配列の転写及び翻訳に必要な要素を含むベクターに挿入する。当業者に周知の方法を用いて、ガレクチン-1コード配列、ガレクチン-3コード配列、ガレクチン-7コード配列又はガレクチン-8コード配列及び適切な転写又は翻訳制御因子を含む発現ベクターを構築する。これらの方法には、インビトロの組み換えDNA技法、合成技法及びインビボの組み換え又は遺伝子組み換えが含まれる。欠失、付加又は置換の導入は当該分野で公知の任意の技法を用いて達成され、例えばPCRベースの変異誘発を用いる。そのような技法は、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Plainview, NY, 1989及びAusubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, NY, 1989に記載されている。様々な発現ベクター/宿主系を利用してガレクチン-1コード配列、ガレクチン-3コード配列、ガレクチン-7コード配列又はガレクチン-8コード配列を収容し得る及び発現させ得る。これらには、以下に限定するものではないが、微生物、例えば組み換えバクテリオファージ、プラスミド又はコスミドDNA発現ベクターで形質転換した細菌、酵母発現ベクターで形質転換した酵母、ウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染させた昆虫細胞系、ウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、CaMV、タバコモザイクウイルス、TMV）をトランスフェクトした若しくは細菌発現ベクター（例えば、Ti、pBR322、pET25bプラスミド）で形質転換した植物細胞系又は動物細胞系が含まれる。あるいは、ガレクチンを、ガレクチン-1アミノ酸配列、ガレクチン-3アミノ酸配列、ガレクチン-7アミノ酸配列又はガレクチン-8アミノ酸配列を全体的又は部分的に合成する化学的方法を用いて生成する。例えば、ペプチド合成は様々な固相技法（Roberge et al., Science 269:202, 1995）を用いて行うことができ、自動合成は、例えば、製造業者が提供する説明書にしたがって431Aペプチドシンセサイザ（Applied Biosystems、フォスターシティ、カリフォルニアから入手可能）を使用して達成し得る。

10

20

30

【0215】

医薬組成物

本発明の1つ態様においては医薬組成物を提供し、これらの組成物はガレクチンタンパク質（例えば、ガレクチン-1タンパク質、ガレクチン-3タンパク質、ガレクチン-7タンパク質、ガレクチン-8タンパク質）の活性の少なくとも1種の阻害物質を含み、また任意で薬学的に許容可能な担体を含む。特定の実施形態において、これらの組成物は任意で、1種以上の治療薬をさらに含む。

40

【0216】

「薬学的に許容可能な担体」及び「薬学的に適切な担体」という句は本明細書において互換的に使用され、また所望の特定の剤形に適した溶媒、希釈剤、他の液状ビヒクル、分散又は懸濁補助剤、界面活性剤、等張剤、増粘剤、乳化剤、防腐剤、固形バインダ、滑沢剤等のいずれか及び全てを含む。Remington's Pharmaceutical Sciences Ed. (Gennaro, Mack Publishing, Easton, PA, 1995)には、医薬組成物を処方する際に用いられる様々な担体及びその調製のための公知の技法が開示されている。薬学的に許容可能な担体になり得る材料の一部の例には、以下に限定するものではないが、糖、例えばグルコース及びスクロー

50

ス、デンプン、例えばトウモロコシデンプン及びジャガイモデンプン、セルロース及びその誘導体、例えばカルボキシルメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース及び酢酸セルロース、粉末トラガカント、麦芽、ゼラチン、タルク、賦形剤、例えばカカオバター及び座剤用ワックス、油、例えばピーナツ油、綿実油、サフラワー油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油及び大豆油、グリコール、例えばプロピレングリコール、エステル、例えばオレイン酸エチル、ラウリン酸エチル、寒天、緩衝剤、例えば水酸化マグネシウム及び水酸化アルミニウム、アルギン酸、発熱物質非含有水、等張食塩水、リンゲル液、エチルアルコール並びにリン酸緩衝液が含まれ、処方者の判断により他の非毒性且つ適合性の滑沢剤、例えばラウリル硫酸ナトリウム及びステアリン酸マグネシウム、着色剤、離型剤、コーティング剤、甘味料、香味料、芳香剤、防腐剤及び酸化防止剤も組成物中に存在し得る。

10

【0217】

治療有効用量

さらに別の態様において、本発明の治療組成物又は方法において、本方法は、哺乳動物である被験体における α -シヌクレイン病の治療又は予防に関し、本方法は、治療有効量の少なくとも1種の組成物を被験体に投与することを含み、組成物は、哺乳動物の脳におけるガレクチン活性を薬理的に調節するための分子を含む。したがって、本発明は α -シヌクレイン病を治療するための方法を提供し、本方法は、ガレクチン-3、ガレクチン-7及び／又はガレクチン-8を阻害する活性薬剤を含む治療有効量の医薬組成物を、それを必要としている被験体に、所望の結果を得るのに必要な量及び時間で投与することを含む。当然のことながら、これには本発明の医薬品を、例えばパーキンソン病、レヴィ小体型認知症、純粋型自律神経不全症（PAF）、アルツハイマー病、タイプIの脳内での鉄の蓄積を伴う神経変性（成人神経軸索ジストロフィ又はハレルフォルデン・スパッツ症候群とも称される）、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、ピック病、多系統萎縮症（シャイ・ドレーガー症候群、線条体黒質変性症及びオリブ橋小脳萎縮症を含む）、脳卒中、多発性硬化症、てんかん及び乳児神経軸索ジストロフィから選択される神経変性疾患又は状態等の α -シヌクレイン病を予防又は治療するための治療手段として投与することが含まれる。特定の実施形態において、医薬組成物の「治療有効量」とは、哺乳動物の脳におけるガレクチン活性を調節するのに有効な量である。本発明の方法において、組成物は、神経変性疾患又は状態の治療に効果的な投与量及び経路で投与し得る。精確な用量は、各医師が治療対象である患者（患者）を見て選択する。用量及び投与を調節することで、活性薬剤を十分なレベルにする又は所望の効果を維持する。考慮し得る追加の要素には、疾患状態の重症度、例えば神経変性障害の程度、状態の経緯、患者（患者）の年齢、体重及び性別、食事、投与の時間及び頻度、併用薬、反応感受性並びに治療に対する耐容能／応答が含まれる。長時間作用型の医薬組成物は、特定の組成物の半減期及びクリアランス速度に応じて1日数回、毎日、3～4日、毎週又は2週間に1回投与し得る。

20

30

【0218】

本発明の活性薬剤を、好ましくは、投与し易く且つ均一に投薬するために、単位剤形として製剤する。本明細書において、「単位剤形」という表現は、治療対象である患者（患者）にとって適切な、活性薬剤の物理的に別個の単位を指す。しかしながら、当然のことながら、組成物の1日の合計使用量は、妥当な医学的判断の範囲内で担当医が決定する。活性薬剤に関し、治療有効用量はまず、細胞培養アッセイ又は動物モデル（通常、マウス、ウサギ、イヌ又はブタ）において推定することができる。また、動物モデルを、望ましい濃度範囲及び投与経路の達成に使用する。治療有効用量とは、症状又は状態を改善する活性薬剤量のことである。活性薬剤の治療有効性及び毒性は細胞培養又は実験動物における標準的な製薬手順にしたがって求めることができ、例えばED₅₀（その用量は個体群の50%に治療的に有効である）及びLD₅₀（その用量は個体群の50%に致死性である）。毒性と治療効果との用量比が治療指数であり、比LD₅₀/ED₅₀と表すことができる。大きい治療指数を示す医薬組成物が好ましい。細胞培養アッセイ及び動物研究から得たデータを、ヒトに使用するための用量範囲の選定に使用する。

40

50

【0219】

医薬組成物の投与

適切な薬学的に許容可能な担体と共に所望の用量で調製した後、本発明の医薬組成物をヒト及び他の哺乳動物に、治療対象である状態の重症度に応じて、局所、経口、直腸内、非経口、大槽内、腔内、腹腔内、皮下、筋肉内、頬側又は経鼻投与することができる。合成小分子阻害物質の場合は経口投与が効果的であると考えられる。

【0220】

経口投与用の液状剤形には、以下に限定するものではないが、薬学的に許容可能なエマルション、マイクロエマルション、溶液、懸濁液、シロップ及びエリキシル剤が含まれる。活性薬剤に加えて、液状剤形は当該分野で一般的に使用される不活性な希釈剤、例えば水又は他の溶媒、可溶化剤及び乳化剤、例えばエチルアルコール、イソプロピルアルコール、

エチルカーボネート、エチルアセテート、ベンジルアルコール、ベンジルベンゾエート、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、油（特に、綿実油、落花生油、トウモロコシ油、胚芽油、オリーブ油、ひまし油及びごま油）、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコール、ソルビタンの脂肪酸エステル及びこれらの混合物を含有し得る。不活性な希釈剤に加えて、経口組成物はアジュバント、例えば湿潤剤、乳化剤、懸濁化剤、甘味料、香味料及び芳香剤も含み得る。

【0221】

本発明の医薬組成物を局所投与又は経皮投与するための剤形には、軟膏、ペースト、クリーム、ローション、ゲル、散剤、溶液、スプレー剤、吸入剤又はパッチが含まれる。活性薬剤を無菌条件下で薬学的に許容可能な担体及び必要な防腐剤又はバッファと必要なだけ混合する。投与は治療又は予防を目的とし得る。

【0222】

散剤及びスプレー剤は、本発明の薬剤に加えて、賦形剤、例えばタルク、ケイ酸、水酸化アルミニウム、ケイ酸カルシウム、ポリアミド粉末又はこれら物質の混合物を含有し得る。スプレー剤は、慣用の噴射剤、例えばHFAを追加で含有し得る。

【0223】

経皮パッチには、有効成分を身体に制御しながら送達できるというさらなる利点がある。そのような剤形は、化合物を適切な媒体に溶解させる又は分注することで形成することができる。吸収促進剤を使用して皮膚への化合物の浸透量を増加させることもできる。浸透速度は、速度制御膜を用いる又はポリマーマトリックス若しくはゲルに分子を分散させることで制御することができる。

【0224】

注射用製剤、例えば、無菌の注射用水性又は油性懸濁液を、公知の技法にしたがって、適切な分散剤又は湿潤剤及び懸濁剤を使用して調製し得る。無菌注射用製剤は、毒性がなく非経口で許容可能な希釈剤又は溶媒中の無菌注射用溶液、懸濁液又はエマルションにもなり得て、例えば1, 3-ブタンジオール中の溶液である。利用し得る許容可能なビヒクル及び溶媒には、水、リンゲル液、U. S. P. 及び等張食塩水がある。加えて、慣用的には無菌の固定油を溶媒又は懸濁媒体として利用する。これを目的として、合成モノグリセリド又はジグリセリドを含めたいずれの刺激のない固定油も用いることができる。加えて、オレイン酸等の脂肪酸を注射剤の調製に使用する。注射用製剤は、例えば細菌保持フィルタでの濾過又は使用前に滅菌水若しくは他の無菌注射用媒体に溶解若しくは分散させることができる滅菌固形組成物の形態の滅菌剤の投入により滅菌することができる。活性薬剤の効果を長引かせるために、多くの場合、皮下注射又は筋肉内注射からの薬剤の吸収を遅くすることが望ましい。非経口投与した活性薬剤の遅延吸収は、薬剤を油型ビヒクルに溶解又は懸濁させることで成し遂げ得る。注射用デポ剤は、生分解性ポリマー、例えばポリラクチド-ポリグリコリド中の薬剤のマイクロカプセル化マトリックスを形成することでつくられる。活性薬剤のポリマーに対する比及び用いる特定のポリマーの性質に応じ

て、活性薬剤の放出速度を制御することができる。他の生分解性ポリマーの例にはポリ（オルトエステル）及びポリ（無水物）が含まれる。注射用デポ製剤も、身体組織と適合性があるリポソーム又はマイクロエマルジョンに薬剤を封入することで調製する。

【0225】

経口投与用の固形剤形には、カプセル、錠剤、丸剤、散剤及び顆粒剤が含まれる。そのような固形剤形においては、活性薬剤を、少なくとも1種の不活性で薬学的に許容可能な賦形剤若しくは担体、例えばクエン酸ナトリウム、二リン酸カルシウム並びに／又は（a）フィラー若しくは増量剤、例えばデンプン、スクロース、グルコース、マンニトール、ケイ酸、（b）バインダ、例えばカルボキシメチルセルロース、アルギネート、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロース、アラビアゴム、（c）保水剤、例えばグリセロール、（d）崩壊剤、例えば寒天－寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモ若しくはタピオカデンプン、アルギン酸、特定のシリケート、炭酸ナトリウム、（e）溶液遅延剤（solution retarding agent）、例えばパラフィン（f）吸収促進剤、例えば四級アンモニウム化合物、（g）湿潤剤、例えばセチルアルコール、グリセロールモノステアレート、（h）吸収剤、例えばカオリン、ベントナイト粘土、（i）滑沢剤、例えばタルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固形ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム及びこれらの混合物と混合する。

【0226】

同様のタイプの固形組成物も、高分子量ポリエチレングリコール等だけでなく乳糖等の賦形剤を使用して、ソフト及びハードゼラチンカプセルにおけるフィラーとして用い得る。錠剤、糖衣錠、カプセル、丸剤及び顆粒剤の固形剤形は、コーティング及びシェル、例えば腸溶コーティング、放出制御コーティング及び製薬分野で周知の他のコーティングを施して調製することができる。そのような固形剤形においては、活性薬剤を少なくとも1種の不活性な希釈剤、例えばスクロース又はデンプンと混合し得る。そのような剤形は、通常のプラクティスとして、不活性な希釈剤以外の追加の物質、例えば打錠滑沢剤及び他の打錠補助剤、例えばステアリン酸マグネシウム及び結晶セルロースも含み得る。カプセル、錠剤及び丸剤の場合、剤形は緩衝剤も含み得る。これらは任意で乳白剤を含有し得て、また腸管の特定の部位においてのみ又は優先的に活性薬剤を（任意には遅延型で）放出する組成物にもなり得る。使用し得る埋め込み組成物の例にはポリマー物質及びワックスが含まれる。

【0227】

医薬組成物の用途

上述したように、また実施例において詳述するように、ガレクチン－3、ガレクチン－7及びガレクチン－8の少なくとも1種の阻害は、他の受容体若しくは調節タンパク質への結合又は分泌ムチン～膜貫通ムチン（又は他の糖タンパク質）のオリゴ糖鎖への結合により、特定の理論又は作用機序に制限されることなく、例えばパーキンソン病、レヴィ小体型認知症、純粋型自律神経不全症（PAF）、アルツハイマー病、タイプIの脳内での鉄の蓄積を伴う神経変性（成人神経軸索ジストロフィ又はハレルフォルデン・スパッツ症候群とも称される）、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、ピック病、多系統萎縮症（シャイ・ドレーガー症候群、線条体黒質変性症及びオリブ橋小脳萎縮症を含む）、脳卒中、多発性硬化症、てんかん及び乳児神経軸索ジストロフィから選択される神経変性疾患又は状態の治療に有用である。概して、これらのガレクチン阻害物質は、例えばパーキンソン病、レヴィ小体型認知症、純粋型自律神経不全症（PAF）、アルツハイマー病、タイプIの脳内での鉄の蓄積を伴う神経変性（成人神経軸索ジストロフィ又はハレルフォルデン・スパッツ症候群とも称される）、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、ピック病、多系統萎縮症（シャイ・ドレーガー症候群、線条体黒質変性症及びオリブ橋小脳萎縮症を含む）、脳卒中、多発性硬化症、てんかん及び乳児神経軸索ジストロフィから選択される神経変性疾患又は状態の発症の抑制に臨床的に有用であると考えられている。

【0228】

概して、これらのガレクチン阻害物質が、例えばパーキンソン病、レヴィ小体型認知症

、純粋型自律神経不全症（PAF）、アルツハイマー病、タイプⅠの脳内での鉄の蓄積を伴う神経変性（成人神経軸索ジストロフィ又はハレルフォルデン・スパッツ症候群とも称される）、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、ピック病、多系統萎縮症（シャイ・ドレーガー症候群、線条体黒質変性症及びオリブ橋小脳萎縮症を含む）、脳卒中、多発性硬化症、てんかん及び乳児神経軸索ジストロフィから選択される神経変性疾患又は状態の抑制に臨床的に有用であることが本明細書で示される。

【0229】

ガレクチン1～11（例えば、ガレクチン－1、ガレクチン－3、ガレクチン－7及びガレクチン－8）のいずれか少なくとも1種の阻害物質を含有する医薬組成物は、例えば本明細書において、 α -シヌクレイン病の治療に有用である。

10

【0230】

実施例に記載の動物に対する処置は全て、Association for Research in Vision and Ophthalmology Resolution on the Use of Animals in Vision Research及びNIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animalsの勧告に準拠している。

【0231】

本発明の様々な実施形態は以下の請求項により例示され、実施例及び図面は例にすぎず、さらに限定するとは解釈されない。

【0232】

本願で引用する非特許参考文献、発行済み特許及び公開特許出願を含めた全ての参考文献の内容は、参照により全て本明細書に援用される。

20

【0233】

本明細書で開示の化合物及び医薬組成物を上記の治療に使用する場合は、治療有効量の少なくとも1種化合物を、その治療を必要とする哺乳動物に投与する。

【0234】

本明細書において、用語「治療（treatment）」及び「治療する（treating）」は、ある状態、例えば疾患又は障害に対抗することを目的とした患者（患者）の管理及びケアを意味する。この用語は、患者（患者）が患っているある状態に対するあらゆる方面の治療を含むものとし、例えば症状若しくは合併症を緩和するため、疾患、障害若しくは状態の進行を遅延させるため、症状及び合併症を緩和若しくは軽減するため並びに／又は疾患、障害若しくは状態を治癒若しくは排除するため、またその状態を予防するための活性化合物の投与であり、予防とは、疾患、状態又は障害に対抗することを目的とした患者（患者）の管理及びケアであると理解され、また症状又は合併症の発生を予防するための活性化合物の投与を含む。治療は急性期又は慢性期に施し得る。治療対象である患者（患者）は好ましくは哺乳動物、特にヒトであるが、イヌ、ネコ、ウシ、ヒツジ及びブタ等の動物も含み得る。

30

【0235】

本明細書において、本発明の式（Ⅰ）の化合物の「治療有効量」という用語は、ある疾患及びその合併症の臨床的な徴候を治癒、緩和又は部分的に阻止するのに十分な量を意味する。これを達成するための十分な量を「治療有効量」と定義する。各目的に有効な量は、疾患又は損傷の重症度、また被験体の体重及び全身状態に左右される。当然のことながら、適切な用量は、値のマトリックスを作成し、このマトリックス内の様々な点を試験するルーチンの実験法により求め得て、全て熟練の医師又は獣医師の通常の技術の範囲内である。

40

【0236】

さらに別の態様において、本発明は、式（Ⅰ）の化合物及び任意の薬学的に許容可能な添加剤、例えば担体又は賦形剤を含む医薬組成物に関する。

【0237】

本明細書において、「薬学的に許容可能な添加剤」は、制限なく、医薬組成物を創るに

50

あたって本発明の化合物を調合する際に当業者が使用を考える担体、賦形剤、希釈剤、アジュバント、着色料、香料、防腐剤等を含むものとする。

【0238】

本発明の組成物に使用し得るアジュバント、希釈剤、賦形剤及び／又は担体は、式（I）の化合物及び医薬組成物のその他の成分に対して適合性があるという意味で薬学的に許容可能なものでなくてはならず、また投与を受けるものに有害であってはならない。アレルギー反応等の有害な反応を引き起こし得る物質を本発明の組成物が含有しないことが好ましい。本発明の医薬組成物で使用し得るアジュバント、希釈剤、賦形剤及び担体は当業者に周知である。

【0239】

上述したように、本明細書で開示の組成物、特に医薬組成物は、本明細書で開示の化合物に加え、少なくとも1種の薬学的に許容可能なアジュバント、希釈剤、賦形剤及び／又は担体をさらに含み得る。幾つかの実施形態において、医薬組成物は、1～99重量%の上記少なくとも1種の薬学的に許容可能なアジュバント、希釈剤、賦形剤及び／又は担体並びに1～99重量%の本明細書で開示の化合物を含む。有効成分並びに薬学的に許容可能なアジュバント、希釈剤、賦形剤及び／又は担体の総量は、組成物、特に医薬組成物の100重量%を超え得ない。

【0240】

一部の実施形態においては、上述の目的のために、本明細書で開示の化合物を1種のみ使用する。

【0241】

幾つかの実施形態においては、上述の目的のために、本明細書で開示の化合物を2種以上組み合わせて使用する。

【0242】

本明細書に記載の化合物を含む組成物、特に医薬組成物は、経口、静脈内、局所、腹腔内、経鼻、頬側、舌下若しくは皮下投与用又は例えばエアロゾル若しくは空気浮遊微粉体の形態での気道を介した投与用に構成し得る。したがって、医薬組成物は、例えば錠剤、カプセル、粉末、ナノ粒子、結晶、非晶質物質、溶液、経皮パッチ又は座剤の形態になり得る。

【0243】

組成物、特に医薬組成物は任意で本発明の2種以上の化合物を含み得る。また、組成物は、関連障害を治療するための、当該分野における他の薬物と共に使用し得る。

【0244】

本明細書に記載の化合物の典型的な用量は広い範囲に及び、数多くの要素、例えば投与経路、治療を必要としている個体の要件、個体の体重、年齢及び全身状態に左右される。

【0245】

式（I）の化合物は、以下の実験セクションに記載の通りに調製し得る。

【0246】

プロセスのさらなる実施形態は本明細書の実験セクションに記載されており、各プロセス及び各出発物質は実施形態を構成し、これらの実施形態は実施形態の一部を構成し得る。

【0247】

上記の実施形態は、ある実施形態が本発明の特定の態様に関すると明記されていない限り、本明細書に記載の態様（「治療法」、「医薬組成物」、「薬物として使用するための化合物」又は「方法で使用するための化合物」）のいずれか、また本明細書に記載の実施形態のいずれかのことであるとみなされたい。

【0248】

本明細書で引用する、出版物、特許出願及び特許を含めた全ての参考文献は、あたかも各参考文献が参照により本明細書に個別且つ具体的に援用され、なおかつ本明細書に全てが記載されたかのごとく、参照により本明細書に援用される。

10

20

30

40

50

【0249】

本明細書において、全ての見出し及び副題は便宜上のものにすぎず、本発明をいかなる形でも限定しないと解釈されるべきである。

【0250】

上記の要素の、その考えられる全ての変化形の組み合わせは、本明細書に別段の定めがない限り、あるいは文脈に明らかに反していない限り、本発明に含まれる。

【0251】

本発明の文脈において、「ある」、「その」及び同様の語は、本明細書に別段の定めがない限り、あるいは文脈に明らかに反していない限り、単数及び複数の両方をその範囲に含むと解釈されたい。

10

【0252】

本明細書において、値の範囲の列举は、本明細書において別段の定めがない限り、その範囲内にある別個の各値に個々に言及するのを省略する方法にすぎず、別個の各値は、あたかも本明細書中に個別に列举されているかのごとく本明細書に援用される。本明細書で提供される全ての正確な値は、別段の定めがない限り、対応する近似値を代表するものである（例えば、特定の因子又は測定に関して与えられた全ての正確な例示的な値は、必要に応じて、「約」で修飾された対応する近似値も提供するとみなすことができる）。

【0253】

本明細書に記載の方法は全て、本明細書において別段の定めがない限り又は文脈に明らかに反していない限り、いずれの適切な順序でも実施することができる。

20

【0254】

本明細書で挙げる全ての例又は例示を意味する語句（例えば、「～等」）は本発明をより明確にしようとして使用しているにすぎず、別段の定めがない限り、本発明の範囲を限定するものではない。明細書中のいずれの語句も、明示的に別段の定めがない限り、本発明の実践にとってどの要素も必要不可欠であることを示すと解釈されるべきではない。

【0255】

本明細書における特許文献の引用及び援用は便宜上のものにすぎず、これらの特許文献の有効性、特許性及び／又は執行力に関するいずれの観点も反映していない。

【0256】

1つ又は複数の要素について「備える、含む（comprising）」、「有する（having）」、「含む（including）」又は「含有する（containing）」等の用語を使用する本発明の態様又は実施形態についての本明細書における記載は、別段の定めがない限り又は文脈に明らかに反していない限り、上記特定の1つ又は複数の要素「からなる（consists of）」、「から本質的に成る（consists essentially of）」又は「を実質的に含む（substantially comprises）」本発明の同様の態様又は実施形態をサポートするものとする（例えば、特定の要素を含むと本明細書に記載の組成物は、別段の定めがない限り又は文脈に明らかに反していない限り、その要素から成る組成物についても説明していると理解されるべきである）。

30

【0257】

本発明は、本明細書で提示した態様又は請求項に記載の主題の全ての改変物及び均等物を、適用される法が許す最大範囲で含む。

40

【0258】

以下の実施例を用いて本発明についてさらに説明するが、これらの実施例は保護範囲を限定すると解釈されない。これまでの説明及び以下の実施例で開示した特徴は、個別及び組み合わせの両方で、本発明をその多様な形態で実現するための素材となり得る。

【実施例】

【0259】

実験

実施例1：ビスー { 3-デオキシ-3- [4- (3-フルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2

50

， 3-トリアゾール-1-イル] - β -D-ガラクトピラノシル} スルファンを合成するための材料及び機器

ビス- { 3-デオキシ-3- [4- (3-フルオロフェニル) -1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル] - β -D-ガラクトピラノシル} スルファン (TD139) は、Hakon Leffler 教授及び Ulf Nilsson 教授 (Lund University) から入手し、本明細書に記載の材料及び方法を用いて調製した。

【0260】

融点をコフラー装置 (Kofler apparatus) (Reichert) で記録し、補正しなかった。プロトン核磁気共鳴 (^1H) スペクトルを、Bruker DRX 400 (400 MHz) 又は Bruker ARX 300 (300 MHz) 分光計を使用して記録した。多重度を、シングレット (s)、ダブレット (d)、ダブレットのダブレット (dd)、トリプレット (t)、見かけのトリプレット (at) 又はダブレットの見かけのトリプレット (atd) で示した。炭素核磁気共鳴 (^{13}C) スペクトルを Bruker DRX 400 (100.6 MHz) 分光計を使用して記録した。スペクトルを COSY、HMQC 及び DEPT 実験を用いて割り当てた。すべての化学シフトを、百万分の一 (ppm) の d-スケールで示した。

10

【0261】

低分解能及び高分解能 (FAB-HRMS) 高速原子衝撃質量スペクトルを機器 JEOL SX-120 を使用して記録し、低分解能及び高分解能 (ES-HRMS) を機器 Micromass Q-TOF で記録した。旋光度を Perkin-Elmer 341 施光計により 1 dm の路長で測定した。濃度は 100 mL あたりの g 数で表す。薄層クロマトグラフィ (TLC) を Merck Kieselgel シートを使用して行い、60 F254 シリカでプレコーティングした。プレートを 10% 硫酸で展開した。フラッシュカラムクロマトグラフィをシリカ (Matrex, 60 Å, 35~70 μm , Grace Amicon) で行った。アセトニトリルを水素化カルシウムから蒸留し、4 Å モレキュラーシーブ上に保存した。DMF を 4 Å モレキュラーシーブから蒸留し、4 Å モレキュラーシーブ上で保存した。

20

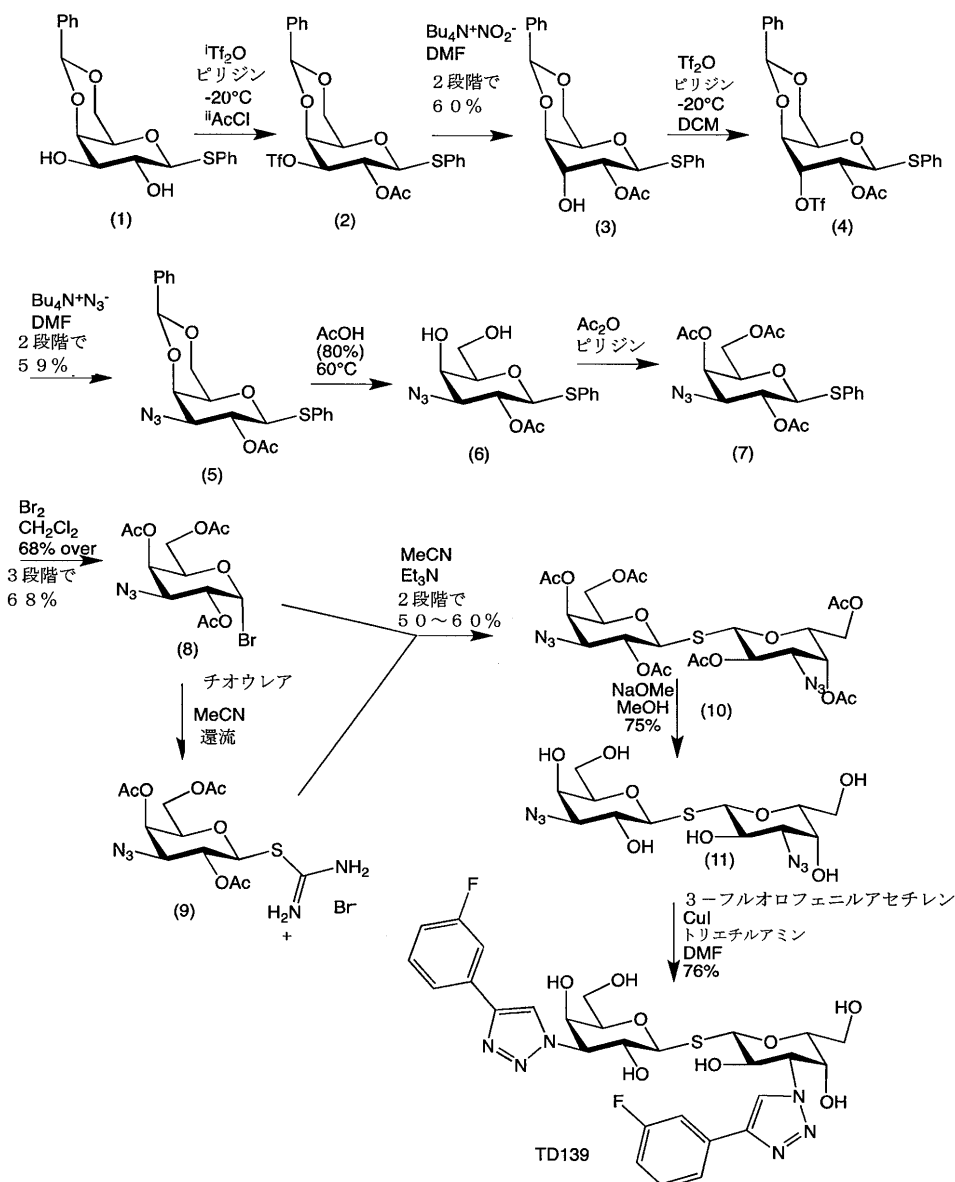
【0262】

ビス- { 3-デオキシ-3- [4- (3-フルオロフェニル) -1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル] - β -D-ガラクトピラノシル} スルファン (TD139) を、以下の反応スキーム 1 にしたがって調製した。

30

【0263】

【化 1 4】



10

20

30

【0264】

化合物 1 (上の反応 1) を Carbosynth Limited 8&9 Old Station Business Park-Compton-Berkshire-UK RG20 6NE (英国) から入手した。あるいは D-ガラクトースから 3 つの近似定量的ステップで合成した (Li, Z. and Gildersleeve, J. J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 11612-11619 を参照のこと)。

【0265】

実施例 2. フェニル 2-O-アセチル-4, 6-O-ベンジリデン-1-チオ-3-O-トリフルオロメタンスルホンイル-β-D-ガラクトピラノシド (スキーム 1 中の構造 2) の合成

40

化合物 1 (10.5 g, 29.2 mmol) を乾燥ピリジン (4.73 mL, 58.4 mmol) 及び乾燥 CH_2Cl_2 (132 mL) に溶解させた。反応混合物を攪拌しながら -20°C まで冷却した (氷及び NaCl 浴 3:1)。ゆっくりと、 N_2 雰囲気下、 TiF_2O (5.68 mL, 33.6 mmol) を添加した。反応混合物を TLC によりモニタした (ヘプタン: EtOAc , 1:1 及び トルエン: アセトン, 10:1)。反応完了後、 AcCl (2.29 mL, 32.1 mmol) を添加し、攪拌を維持し、温度を室温まで上昇させた。この混合物を TLC (ヘプタン: EtOAc , 1:1 及び トルエン: アセトン, 10:1) でモニタした。反応完了後、反応を CH_2Cl_2 でクエンチし、5% H

50

C l、NaHCO₃（飽和）及びNaCl（飽和）で洗浄した。有機層をMgSO₄上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。

【0266】

実施例3．フェニル2-*O*-アセチル-4, 6-*O*-ベンジリデン-1-チオ-β-D-グルピラノシド（スキーム1の構造3）の合成

テトラブチルアンモニウムニトライト（25.3g、87.7mmol）を、DMF（110mL）中の化合物2（15.6g、29.2mmol）の溶液に添加し、N₂雰囲気下、50℃で攪拌を継続した。まず紫色になり、次にガーネット色になる反応を観察した。反応をTLCによりモニタし（ヘプタン：EtOAc、1：1及びトルエン：アセトン、10：1）、CH₂Cl₂でクエンチした。混合物を5%HCl、NaHCO₃（飽和）及びNaCl（飽和）で洗浄した。有機層をMgSO₄上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮し、続いてフラッシュクロマトグラフィで精製し（溶出剤ヘプタン：EtOAc、1：1及びヘプタン：EtOAc、1：2）、EtOAc及びヘプタン（1：3）の混合物から再結晶化させた。CDCl₃中における¹H NMR、δ 7.60-7.57（m、2H、Ar）、7.43-7.40（m、2H、Ar）、7.37-7.34（m、3H、Ar）、7.29-7.25（m、3H、Ar）、5.50（s、1H、PhCH）、5.15（d、1H、J=10.29Hz、H-1）、5.10（dd、1H、J=10.27Hz、2.85Hz、H-2）、4.36（dd、1H、J=12.49Hz、1.4Hz、H-6）、4.18（br s、1H、H-3）、4.08（dd、1H、J=3.59Hz、1.04Hz、H-6）、4.03（dd、1H、J=12.53Hz、1.75Hz、H-4）、3.88（s、2H、H-5+OH）、2.12（s、3H、OAc）。

10

20

【0267】

実施例4．フェニル2-*O*-アセチル-4, 6-*O*-ベンジリデン-1-チオ-3-*O*-トリフルオロメタンスルホニル-β-D-グルピラノシド（スキーム1の構造4）の合成

化合物3（1.00g、2.48mmol）を乾燥CH₂Cl₂（12.5mL）及び乾燥ピリジン（0.40mL、4.96mmol）に溶解させた。反応混合物を攪拌しながら-20℃まで冷却した（氷及びNaCl浴3：1）。ゆっくりと、N₂雰囲気下、Tf₂O（0.48mL、2.85mmol）を添加した。反応混合物をTLCによりモニタした（ヘプタン：EtOAc、1：1及びトルエン：アセトン、10：1）。反応完了後、CH₂Cl₂でクエンチし、5%HCl、NaHCO₃（飽和）及びNaCl（飽和）で洗浄した。有機層をMgSO₄上で乾燥させ、濾過し、減圧下で乾燥するまで濃縮した。

30

【0268】

実施例5．フェニル2-*O*-アセチル-3-アジド-4, 6-*O*-ベンジリデン-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド（スキーム1の構造5）の合成

テトラブチルアンモニウムアジド（2.12g、7.44mmol）を慎重に、DMF（10mL）中の化合物4（1.3256g、2.48mmol）の溶液に攪拌しながらN₂雰囲気下、50℃で添加した。反応をTLC（E：H、1：1）でモニタし、減圧下で濃縮し、続いてフラッシュクロマトグラフィで精製した（溶出剤ヘプタン：EtOAc、2：1及びヘプタン：EtOAc、1：1）。CDCl₃中における¹H NMR、δ 7.61-7.58（m、2H、Ar）、7.44-7.41（m、2H、Ar）、7.39-7.36（m、3H、Ar）、7.30-7.24（m、3H、Ar）、5.59（s、1H、PhCH）、5.35（t、1H、J=9.95Hz、H-2）、4.73（d、1H、J=9.63Hz、H-1）、4.44（dd、1H、J=6.24Hz、1.60Hz、H-6）、4.35-4.34（dd、1H、J=3.33Hz、0.88Hz、H-4）、4.11（dd、1H、J=12.48Hz、1.67Hz、H-6）、3.57（d、1H、J=1.15Hz、H-5）、3.44（dd、1H、J=10.21Hz、3.29Hz、H-3）、2.17（s、3H、OAc）。

40

【0269】

50

実施例 6. フェニル 2- α -アセチル-3-アジド-3-デオキシ-1-チオ- β -D-ガラクトピラノシド (スキーム 1 の構造 6) の合成

化合物 5 (470 mg、1.1 mmol) を 80% 酢酸 (75 mL) に溶解させ、混合物を加熱し、60°C で維持した。反応を TLC (ヘプタン: EtOAc、1:1) でモニタした。反応完了後、混合物を減圧下で加熱しながら濃縮した。

【0270】

実施例 7. フェニル 2, 4, 6-トリ- α -アセチル-3-アジド-3-デオキシ-1-チオ- β -D-ガラクトピラノシド (スキーム 1 の構造 7) の合成

無水酢酸 (30 mL) を、乾燥ピリジン (30 mL) 中の化合物 6 (373 mg、1.1 mmol) の溶液に添加した。反応を TLC (ヘプタン: EtOAc、1:1) でモニタし、反応完了後、減圧下で濃縮した。CDCl₃ 中における ¹H NMR、 δ 7.54-7.51 (m、2H、Ar)、7.35-7.30 (m、3H、Ar)、5.46 (dd、1H、H-4)、5.23 (t、1H、H-2)、4.73 (d、1H、H-1)、4.15 (d、2H、H-6、H-6)、3.94 (dt、1H、H-5)、3.68 (dd、1H、H-3)、2.18 (s、3H、OAc)、2.15 (s、3H、OAc)、2.06 (s、3H、OAc)。

10

【0271】

実施例 8. 2, 4, 6-トリ- α -アセチル-3-アジド-3-デオキシ- α -D-ガラクトピラノシルブロミド (スキーム 1 の構造 8) の合成

化合物 7 (237.4 mg、560 μ mol) を乾燥 CH₂Cl₂ (2 mL) に溶解させ、臭素 (32 μ l、620 μ mol) を添加した。反応を TLC (ヘプタン: EtOAc、1:1) でモニタした。反応完了後、少量のシクロペンテンを反応混合物に添加することで残っている未反応の Br₂ を除去した。混合物を減圧下で濃縮し、高速フラッシュクロマトグラフィにより精製した (溶出剤: 500 mL ヘプタン: EtOAc、2:1)。

20

【0272】

実施例 9. 2, 4, 6-トリ- α -アセチル-3-アジド-3-デオキシ- α -D-ガラクトピラノース-1-イソチオウロニウムブロミド (スキーム 1 の構造 9) の合成

反応性が高い臭化化合物 8 (70.6 mg、180 μ mol) を速やかに乾燥アセトニトリル (1.7 mL) に溶解させ、チオウレア (13.7 mg、180 μ mol) と N₂ 下で 4 時間にわたって還流させた。反応を TLC (ヘプタン: EtOAc、1:1) でモニタし、反応完了後、混合物を冷却した。

30

【0273】

実施例 10. ビス- (2, 4, 6-トリ- α -アセチル-3-アジド-3-デオキシ-b-D-ガラクトピラノシル) -スルファン (スキーム 1 の構造 10) の合成

反応性が高い臭化化合物 8 (77.0 mg、196 μ mol) 及び Et₃N (60 μ l、430 μ mol) を最後の混合物 (化合物 9) に添加した。反応を TLC (ヘプタン: EtOAc、1:1) でモニタした。反応完了後、混合物を減圧下で、加熱することなく濃縮した。残留物をフラッシュクロマトグラフィで精製した (溶出剤: ヘプタン: EtOAc、1:1)。CDCl₃ 中における ¹H NMR、 δ 5.50 (dd、2H、H-4)、5.23 (t、2H、H-2、H-2')、4.83 (d、2H、H-1、H-1')、4.15 (dd、4H、H-6、H-6、H-6'、H-6')、3.89 (dt、2H、H-5、H-5')、3.70 (dd、2H、H-3、H-3')、2.19 (s、6H、2OAc)、2.15 (s、6H、2OAc)、2.18 (s、6H、2OAc)。

40

【0274】

実施例 11. ビス- (3-アジド-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル) -スルファン (スキーム 1 の構造 11) の合成

化合物 10 (160 mg、0.00024 mol) を乾燥 MeOH (2.6 mL) 及び乾燥 CH₂Cl₂ (1.6 mL) に溶解させ、NaOMe (1M、24 μ l、24 μ mol) を添加した。反応を TLC (ヘプタン: EtOAc 1:1 及び D:M 5:1) でモニタ

50

した。反応完了後、混合物をDuolite C436で、pH7になるまで中和し、濾過し、MeOHで洗浄した。濾過した溶液を減圧下で濃縮した。残留物をフラッシュクロマトグラフィで精製すると（溶出剤：CH₂Cl₂：MeOH、5：1）、純粋な化合物11（74.1mg、75%）が得られた。CDCl₃中における¹H NMR、δ 4.72（d、2H、J=9.7Hz、H-1、H-1'）、3.95（br s、2H、H-4、H-4'）、3.84（t、2H、J=9.8Hz、H-2、H-2'）、3.74（dd、2H、J=11.47Hz、7.23Hz、H-6、H-6'）、3.64（dd、2H、J=11.48Hz、4.72Hz、H-6、H-6'）、3.60-3.55（ddd、2H、7.15Hz、4.67Hz、0.93Hz、H-5、H-5'）、3.36（dd、2H、J=10Hz、3.05Hz、H-3、H-3'）。

10

【0275】

実施例12. ビスー{3-デオキシ-3-[4-(3-フルオロフェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}スルファン(TD139)の合成

TD139を周囲温度で、ビスー(3-アジド-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)スルファン(化合物11)と3-フルオロフェニルアセチレン(3eq.)との間でのN,N-ジメチルホルムアミドDMF、100mL/mmolスルファン)中のCu(I)(0.2eq.)、トリエチルアミン(2eq.)でのCu(I)触媒環状付加により合成した。完了するまで反応をTLCでモニタし、濃縮し、まずフラッシュクロマトグラフィ(溶出剤：CH₂Cl₂：MeOH、8：1)、次に分取HPLCで精製するとTD139が収率76%で白色で非晶質の固体として得られた。¹H-NMR(CD₃OD、400MHz) δ 8.59(s、2H、トリアゾール-H)、7.63(br d、2H、7.6Hz、Ar-H)、7.57(br d、2H、8.4Hz、Ar-H)、7.41(dt、2H、6.0及び8.0Hz、Ar-H)、7.05(br dt、2H、2.4及び6.4Hz、Ar-H)、4.93(dd、2H、2.4及び10.4Hz、H3)、4.92(d、2H、10.4Hz、H1)、4.84(2H、10.4Hz、H2)、4.18(d、2H、2.4Hz、H4)、3.92(dd、2H、4.2及び7.6Hz、H5)、3.84(dd、2H、7.6及び11.4Hz、H6)、3.73(dd、2H、4.2及び11.4Hz、H6)；FAB-HRMSm/z、C₂₈H₃₀F₂N₆NaO₈Sについて計算(M+Na⁺)、671.1712；測定値、671.1705。

20

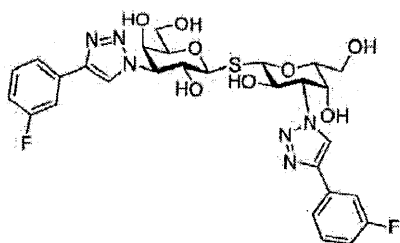
30

【0276】

化合物TD139の構造を以下に示す。

【0277】

【化15】



40

【0278】

実施例13

材料及び方法

動物

一次ミクログリア培養物のために、純粋(C57BL/6遺伝的背景)を有するガレクチン-3ヌル変異マウス(Colnot et al., 1998a)をGothenburg UniversityのドクターK. Savmanから入手した。脳内注入用に、発明者はCharles River LaboratoriesからC57Bl/6

50

Jの生後3ヶ月の雌のマウスを購入し、ルンドにあるBMC動物施設で12時間明/12時間暗サイクル下、餌及び水を不断給餌して飼育した。全ての手順を国際的なガイドラインに準拠して行い、Malmö-Lund Ethical Committee for Animal Research (M250-11) から承認を得た。

【0279】

遺伝子型判定

gal3-/-及びgal3+/+マウスの遺伝子型を統合抽出増幅キット (Extraction-N-Amp (商標)、Sigma-Aldrich) により判定した。PCRは、94℃での5分間、次の40サイクルの94℃での45秒間にわたる変性、55℃での30秒間にわたるアニーリング及び72℃での1.5分間にわたる伸長から成る。使用したプライマー (CyberGene) は以下の通りである：ガレクチン-3コモン5-CAC GAA CGT CTT TTG CTC TCT GG-3')、gal3-/-5-GCT TTT CTG GAT TCA TCG ACT GTG G-3' (384塩基対のシングルバンド) 及びgal3+/+5-TGA AAT ACT TAC CGA AAA GCT GTC TGC-3 (300塩基対のシングルバンド) (Doverhaget al., 2008; Svedin et al., 2007)。発明者は、ゲル電気泳動 (アガロース、臭化エチジウムで標識) でPCR産物を分離し、CCDカメラで可視化した (SONY、東京、日本)。

【0280】

細胞培養及び処理

マウス (ミクログリア細胞株 (BV2細胞)) を、10%ウシ胎仔血清 (Invitrogen) を100U/mlのペニシリン及び100U/mlのストレプトマイシン (Invitrogen) と共に含有するダルベッコ変法イーグル培地 (DMEM) で5%のCO₂雰囲気中、37℃で培養した。1日前に、BV2を24ウェルプレート (Nunc) に濃度2x10⁵細胞/ウェルで播種した。BV2細胞を、異なる濃度：5µM、10µM及び20µMのα-シヌクレインモノマー及び凝集体で処理した。細胞を1µg/mlのLPS (Sigma-Aldrich) でも処理した。全ての処理を12時間にわたって行った。

【0281】

一次培養物

野生型マウス (C57 b16) 及びガレクチン-3 KO子マウスからの一次ミクログリア培養物を出生から1~3日後に用意し、上述したように培養した (Deierborg, 2013)。簡単に説明すると、30匹のマウスからの大脳皮質を、二価イオン不含トリプシン (0.1%) (Invitrogen) 及びDNase (0.05%) (Sigma-Aldrich) 含有氷冷ハンクス平衡塩類溶液 (HBSS) (Invitrogen) 中で取り出した。細胞を、10%ウシ胎仔血清 (Invitrogen) を100U/mlのペニシリン及び100U/mlのストレプトマイシン (Invitrogen) と共に含有する10ml/フラスコのダルベッコ変法イーグル培地 (DMEM) (Invitrogen) が入った75cm²フラスコに5%のCO₂雰囲気中、37℃でプレーティングした。10日後、フラスコを10~20回叩いて細胞を培地で採取し、96ウェルプレートに密度2x10⁵細胞/ウェルでプレーティングした。一次培養物を、異なる濃度：50nM、200nM、1µM、5µM及び20µMのα-シヌクレイン凝集体で処理した。

【0282】

α-シヌクレイン凝集体調製物

α-シヌクレインモノマー及びα-シヌクレイン凝集体 (α-シヌクレインモノマー及びα-シヌクレイン凝集体のタンパク質調製物。発明者はα-シヌクレイン調製物を透過型電子顕微鏡写真 (TEM) 及びウェスタンブロットにより分析した。TEM画像は、モノマー調製物中の小分子及び凝集調製物中のより大きな分子群であると考えられるシグナルを示し、これはそれぞれモノマー及びオリゴマー/原線維タンパク質構造体を示唆して

いる。ウェスタンブロット分析により、モノマータンパク質調製物中のモノマータンパク質が約15 kDaであることが確認された。凝集タンパク質調製物において、発明者は、ミクログリア細胞の活性化に使用した約30～75 kDaのオリゴマー、モノマー及び少量の原線維(>250 kDa)を発見した。モノマーを濃度70 μ Mで使用し、凝集体を40 μ Mで使用した。凝集体を調製するために、発明者はオービタルシェーカーを250 rpmで使用し、モノマーを5日間にわたって37℃、PBS中で振盪した。5日間のインキュベーション後、タンパク質凝集体をBranson Sonifier 250を以下の条件: 3/9出力及び30/100デューティサイクルで使用して超音波処理した。発明者は、ウェスタンブロット及び透過型電子顕微鏡(TEM)を使用して凝集体及びモノマーの組成物を試験した。発明者はモノマー及び凝集体に同じ濃度40 μ Mを用い、またField Emission instrument (FEI、アイントホーフェン、オランダ)のbiotwinレンズを備えたTechnai Spirit透過型電子顕微鏡に100 kVの加速電圧を印加した。発明者は、水中の2%酢酸ウラニルを使用することでモノマー及び超音波処理済み凝集形態の α -シヌクレインのネガティブ染色を行った。

10

【0283】

ガレクチン-3 阻害物質

ガレクチン-3 活性に小阻害分子ビス- {3-デオキシ-3- [4- (3-フルオロフェニル)-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル]- β -D-ガラクトピラノシル} スルファンを使用した(Mackinnon et al., 2012, Volarevic et al., 2012; Saksida et al., 2013)。研究中、この阻害物質を30分間にわたる前処理として使用した。ただしインキュベーション時間が12時間の貪食アッセイを除く。阻害物質の α -シヌクレイン誘発性の炎症を変化させる能力を試験するために、5～100 μ Mの様々な濃度で試験を行った。阻害物質での30分間の前処理後、発明者は、様々な濃度の α -シヌクレインモノマー又は凝集体での12時間にわたる処理を追加した。阻害物質は、ストック濃度4 mMのDMSO (40%) 及び蒸留水 (60%) 中、希薄である。

20

【0284】

トランスフェクション条件

BV2細胞のトランスフェクションを、製造業者の推奨にしたがってLipofectamine 2000 (Invitrogen) を使用して行った。ノンターゲットイングコントロール及びガレクチン-3 siRNAをDharmaconから得た。(SMARTプール) siRNA配列を使用した: siLGal3S3 (1) J-041097-09 GAGAGAUAACCCAU CGCUUU、siLGal3S3 (2) J-041097-10 ACU-UCAAGGUUGCGGUCAA、siLGal3S3 (3) J-041097-11 ACAGUGAAACCCAAACGCAA、siL-Gal3S3 (4) J-041097-12 GGAUGAAGAAACCUCCGGGA。

30

【0285】

ウェスタンブロット

ウェスタンブロットを、BV2ミクログリア細胞又は一次ミクログリア細胞についてiNOS及びガレクチン-3タンパク質レベルについて行った。簡単に説明すると、5又は10 μ gのタンパク質試料を4～20%Mini-ProteanTGX Precast Gel (Bio-Rad) にのせ、Trans-Blot Turbo System (Bio-Rad) を使用してニトロセルロース膜 (Bio-Rad) に移した。室温で、1時間の間に膜をPBSで希釈した10%カゼイン (Sigma-Aldrich) でブロックした (錠剤、Sigma-Aldrich)。ブロック後、適切な一次抗体と4℃で一晩インキュベートした。膜をPBS-Tween 20 (0.1%) で清浄化し、次に2時間の間、室温で、適切な二次ペルオキシダーゼ抗体 (Vector Labs) とインキュベートした。各ブロットをClarity Western ECL基質 (Bio-rad) を用いて展開した。Bradfordアッセイ (Thermo Scie

40

50

nt i f i c) で測定したタンパク質レベルを正規化し、タンパク質レベルを β -アクチンで補正した。結果を各実験で用いた最高濃度 ($20 \mu\text{M}$) にあわせて正規化することで炎症応答を正規化した。発明者はウェスタンブロットも用いて、モノマー α -シヌクレインから作り出した α -シヌクレイン凝集体の組成を推定した。

【0286】

抗体

発明者は以下の一次抗体を使用した：抗ウサギ iNOS 一次抗体 ($1:5000$ 、Santa Cruz)、抗ラットガレクチン-3 抗体 ($1:3000$ 、Hakon Leffler 氏の研究室から入手した M38 クローン)、抗マウスアクチン $1:8000$ (Sigma-Aldrich)、抗ヒトシヌクレイン抗体 (Life Technology) 及び抗ウサギ IBA-1 ($1:500$ 、WAKO)。

10

【0287】

サイトカイン分析

発明者は、12 時間にわたる処理後、MSD Th1/Th2 超高感度サイトカインプレート (Meso Scale Discovery、米国) で BV2 及び一次ミクログリア細胞からの馴化培地におけるサイトカインレベルを測定し、以下のサイトカイン：IFN- γ 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、KC/GRO/CINC、IL-10、IL-12 (トータル) 及び TNF- α を分析した。この電気化学発光結合免疫吸着法は、SECTOR Imager 6000 (Meso Scale Discovery) を使用し、製造業者の推奨にしたが行われた。馴化培地をドライアイス上で急速凍結し、分析に先立って -80°C の冷凍庫で保存した。各ケースにおいて $25 \mu\text{l}$ の試料を用いることで様々なサイトカインのレベルを測定した。分析したサイトカインは IFN- γ 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-8、IL-10、IL-12 及び TNF- α であった。

20

【0288】

生存能アッセイ

α -シヌクレイン、ガレクチン-3 阻害物質又はその両方が異なる条件下で BV2 細胞にとって毒性であるか否かを試験するために、XTT (Sigma-Aldrich) 還元分光光度法をベースとした In vitro 生存能アッセイキットを使用して生細胞におけるミトコンドリア活性を推定した。アッセイは、キットに同封された製造業者のプロトコルにしたが行われた。吸光度を、プレートリーダーを使用して分光光度的に測定した。

30

【0289】

貪食アッセイ

貪食アッセイキット (Cayman Chem、米国) を製造業者が提供するプロトコルにしたが行って使用してミクログリアの貪食を測定した。96 ウェルプレートに12 時間にわたって 5×10^4 細胞/ウェルをプレーティングしてから、細胞をさらに12 時間にわたって $20 \mu\text{M}$ の α -シヌクレインで処理した。その後、IgG-FITC ビーズを、ガレクチン-3 阻害物質と共に又は伴うことなく、12 時間にわたって添加した。貪食能を、蛍光プレートリーダー (FluoStar Optima、BMG、LabTech、スウェーデン) で分析した。

40

【0290】

統計的解析

実験グループ間の差を、図のレジェンドで示すように、一元 ANOVA + 事後チューキー法、二元 ANOVA + 事後ダネット検定又は t -検定で評価した (別段の定めがない限り)。 $P < 0.05$ は統計的に有意であるとみなされた。グラフに関しては、PRISM 6 を使用した。グループ内変動が大きいため、BV2 細胞からのサイトカインの分析には対数化データを使用した。正規分布したデータを、平均 $\pm$ S.E.M として表現し、表した。

【0291】

50

結果

α -シヌクレインはミクログリア活性化を促進させる

様々な形態の α -シヌクレインがミクログリア細胞を活性化させると知られている (Codollo et al., 2013; Kim et al., 2013)。モノマー及び凝集形態で用いた α -シヌクレインタンパク質の量及び質をウェスタンブロット及び電子顕微鏡法により確認したところ、発明者の α -シヌクレイン凝集体は主にオリゴマーを含有していることが判明した。発明者はまず、異なる濃度 (5 μ M、10 μ M及び20 μ M) のモノマー及び凝集形態の α -シヌクレインの炎症応答の研究に着手した。LPS処理 (4、8、12及び24時間) に続く一時的なiNOS応答に基づいて12時間のインキュベーション時間を採用し、発明者は12時間後にiNOS発現におけるピークを発見し (データは示さず)、これは他の研究者の報告と同様であった (Henn et al., 2009)。異なる濃度を用いて (5 μ M、10 μ M及び20 μ M)、発明者は、モノマー α -シヌクレイン及び α -シヌクレイン凝集体の両方に続く顕著なiNOS発現の濃度依存性のアップレギュレーションを発見した (それぞれ図1A及び図1B)。しかしながら、最高濃度20 μ Mでは、 α -シヌクレイン凝集体でモノマーより3倍高いiNOSタンパク質発現が生じた ($P < 0.05$, $n = 3$)。ウェスタンブロット分析はiNOS及び β -アクチンタンパク質レベルを示す。すなわち、データは、発明者の α -シヌクレイン調製物がミクログリア活性化を成功裡に誘発できることを実証している。

【0292】

実施例14

ガレクチン-3の阻害はミクログリア細胞におけるiNOS発現を防止する

次に、発明者は、ミクログリア細胞の α -シヌクレイン誘発性活性化におけるガレクチン-3阻害の役割を評価しようとした。これを目的として、ミクログリア細胞を異なる濃度 (5、25、50及び100 μ M) のガレクチン-3阻害物質で30分間にわたって前処理し、次に細胞を洗浄して阻害物質を除去し、さらに細胞を α -シヌクレインモノマー又は凝集体 (20 μ M) で12時間にわたって処理し、その後iNOSタンパク質発現レベルを分析した。際立って、ガレクチン-3の化学的阻害後に、 α -シヌクレイン凝集体に応答して (図1D) 濃度依存的に α -シヌクレイン誘発性ミクログリア活性化はiNOS発現の観点で有意に阻害されたが、モノマーには応答しなかった (図1C)。実際、50及び100 μ Mの阻害物質での処理によりiNOS発現は50%を超えてダウンレギュレートされた。

【0293】

ガレクチン-3阻害は細胞生存能を損なわない

ガレクチン-3及び/又は α -シヌクレイン凝集体の阻害物質が細胞生存に影響するかどうかを試験するために、発明者はその効果をXTT生存能アッセイを用いて評価し、ガレクチン-3及び/又は α -シヌクレイン凝集体が単独でも α -シヌクレイン凝集体と組み合わせでも細胞生存能に負に影響しないことを実証した (データは示さず)。

【0294】

炎症性サイトカインレベルは α -シヌクレイン処理後に上昇する

α -シヌクレイン処理後のBV2ミクログリア細胞のサイトカイン産生レベルを求めるために、発明者は、電気化学発光ELISAを用いて、 α -シヌクレイン凝集体で処理した細胞の培地におけるサイトカインを測定した。図2に示すように、 α -シヌクレイン凝集体との12時間にわたるインキュベーション後、TNF- α 、IL-12及びIL-2分泌は有意にアップレギュレートされた。注目すべきは、サイトカインのアップレギュレーションが濃度依存的に起きることであり、20 μ Mのタンパク質凝集体は最大のサイトカイン分泌を誘発した。すなわち、 α -シヌクレイン凝集体が誘発するミクログリア活性化は、PDで観察されるものと同様の炎症促進性カスケードを増進させる (Zindler and Zipp, 2010; Blandini, 2013)。

【0295】

BV2ミクログリア細胞におけるガレクチン-3ノックダウンはiNOS発現のダウンレ

ギュレーションを誘発する

ミクログリア活性化におけるガレクチン-3の役割をさらに試験するために、発明者は、低分子干渉RNA (siRNA) を使用し、BV2細胞におけるガレクチン-3発現をノックダウンすることにした。ガレクチン-3及びsiRNAネガティブコントロールノックダウン細胞を α -シヌクレイン凝集体 ($20\text{ }\mu\text{M}$) で12時間にわたって処理し、iNOS発現レベルをウェスタンブロット分析で比較した。驚くべきことに、iNOS発現レベルにおいて80%の低下が観察された ($P<0.05$ 、 $n=3$) (図3)。ウェスタンブロット分析は、iNOS及び β -アクチンタンパク質レベルを示す。すなわち、結果は、siRNAを使用したガレクチン-3の阻害が α -シヌクレイン誘発性ミクログリア活性化を低下させ、またiNOSTタンパク質発現を有意に低下させることを示した。

10

【0296】

ガレクチン-3の薬理的介入はミクログリア貪食能を低下させる

ガレクチン-3がオプソニンとして作用可能であり且つ貪食を促進することは知られている (Sano et al., 2003; Karlsson et al., 2009)。

【0297】

α -シヌクレイン誘発性活性化モデルにおけるミクログリア細胞の貪食能へのガレクチン-3の関連を試験するために、発明者は細胞を $100\text{ }\mu\text{M}$ のガレクチン-3阻害物質で30分間にわたって前処理し、続いて細胞を α -シヌクレイン凝集体で処理した又は両者を12時間にわたって組み合わせた。 α -シヌクレインで活性化させたミクログリア細胞は高い貪食活性を示す (図4)。前処理として阻害物質を使用した貪食能に違いは見られなかった (データは示さず)。しかしながら、図4に示すように、阻害物質と α -シヌクレインとを12時間にわたって組み合わせることで、貪食能は、ガレクチン-3阻害時にコントロールレベルまで ($**P<0.005$) で強力に低下した。興味深いことに、ガレクチン-3タンパク質の添加は貪食能を α -シヌクレイン凝集体と同程度まで上昇させる。ガレクチン-3及び α -シヌクレイン凝集体を併用する相乗効果は認められなかった。これらの結果は、貪食の誘発が α -シヌクレイン凝集体によるミクログリア活性化の重要な側面であること、またガレクチン-3が貪食におけるこの α -シヌクレイン誘発性の上昇の重要な成分であることを示唆している。

20

【0298】

α -シヌクレイン誘発性活性化後、ガレクチン-3 KOミクログリアはiNOS発現をダウンレギュレートする

マウスミクログリア細胞株 (BV2細胞) で得られた結果をさらに検証するために、炎症応答に対するガレクチン-3の役割を、野生型及びガレクチン-3 KOマウスから単離した一次ミクログリア細胞で試験した。野生型においては、12時間の α -シヌクレイン処理 (凝集体、 $20\text{ }\mu\text{M}$) に続く明瞭なiNOSアップレギュレーションが認められたが、ガレクチン-3 KOミクログリアでは完全に阻害された。野生型マウスからの一次ミクログリア培養物は、 $20\text{ }\mu\text{M}$ の α -シヌクレイン凝集体又はLPS (100 ng/ml) への12時間わたる曝露後に強力なiNOS発現を示した。 $5\text{ }\mu\text{M}$ 以下のより低い α -シヌクレイン凝集体濃度では野生型ミクログリアにおけるiNOS発現誘発に失敗した。ガレクチン-3ノックアウトマウスからの一次ミクログリアは、12時間にわたる $20\text{ }\mu\text{M}$ の α -シヌクレイン凝集体への曝露後、iNOSアップレギュレーションを完全に欠く。ウェスタンブロット分析は全ての条件での β -アクチンタンパク質レベルを示し、それにより適切なタンパク質試料 ($n=5$) を検証した。これらのデータは、iNOSアップレギュレーションがガレクチン-3依存性であることを明確に示唆している ($n=5$)。

40

【0299】

一次ミクログリア細胞におけるサイトカインレベルは α -シヌクレイン活性化後にアップレギュレートされる

一次ミクログリア細胞におけるサイトカインレベルを調べるために、細胞を α -シヌク

50

レイン凝集体で処理した後、馴化培地を分析した。BV2サイトカインデータに沿って、発明者は炎症促進性サイトカイン、すなわちIL-1 β （図5A）、IL-12（図5B）及びIFN- γ （図5C）、また抗炎症性サイトカインIL-4（図5D）に関して、野生型ミクログリアにおける α -シヌクレイン凝集体での12時間にわたるインキュベーション後に強力なアップレギュレーションを発見した。重要なことに、ノックアウトマウスからのミクログリアは、 α -シヌクレイン凝集体への曝露（20 μ M、図5）に続き、野生型ミクログリアと比較して、IL-1 β （55%低下、 $P < 0.05$ 、 $n = 5$ ）及びIL-12（75%低下、 $P < 0.01$ 、 $n = 5$ ）のサイトカイン放出における有意な低下を示した。炎症促進性サイトカインIFN- γ 又は抗炎症性サイトカインIL-4の濃度レベルに違いは認められなかったが、これはガレクチン-3の機能のブロックが特定の炎症経路を阻害することを示唆している。すなわち、結果は、サイトカインIL-1 β 及びIL-12が関わる特定の炎症経路の炎症促進的な活性化にガレクチン-3が関与していることを示している。

10

【0300】

実施例15

アルツハイマー関連タンパク質であるアミロイド β （A β ）の潜在的な炎症作用を調べるために、発明者はミクログリア細胞を原線維組み換え形態のアミロイド β A β 42（最も毒性が強いA β 形態）に曝露した。ガレクチン-3 KOからの一次ミクログリア細胞におけるサイトカインレベルを、アミロイド β 原線維（ヒト組み換えタンパク質、A β 42）で処理した細胞からの馴化培地を用いて分析した。サイトカインを、上述したような電気化学発光ELISAをベースとした高感度システムを使用して測定した（Mesoscale、MSD、米国）。発明者は、A β 42に曝露したミクログリア細胞からの培地における分泌サイトカインレベルを12時間のインキュベーション後に測定した。重要なことに、ガレクチン-3 ノックアウトマウスからのミクログリアは、10 μ MのA β 42原線維又はLPS（1 μ g/ μ l）に曝露した野生型ミクログリア（ $n = 5$ ）と比較して、IL-8のサイトカイン放出において有意な減少を示した（図6を参照のこと。65%の減少、 $P < 0.05$ 、 $n = 5$ ）。このデータは、ガレクチン-3がミクログリアの炎症促進的な活性化に関与していること、またガレクチン-3の欠損が、アルツハイマータンパク質であるアミロイド β （A β 42）への曝露後の炎症性サイトカインIL-8の活性化及び分泌を強力に減少させることを示している。ガレクチン-3はミクログリア表現型の主要制御因子となり、抗炎症性表現型への移行にとって重要である。

20

30

【0301】

実施例16

一般に用いられるADのマウスモデルは5xFADである。このマウスモデルは、アルツハイマー病に関わる5種の異なる変異を有する（PMID: 25213090）。このモデルを用いる主な理由は、アミロイド β の蓄積、炎症、グリア細胞の活性化、神経原線維タンゲル形成及びタウリン酸化を含めたアルツハイマー病に関わる幅広い神経病理学的特徴がマウスの寿命中に明確に表れるからである。このマウスモデルにより、他とは対照的に、アルツハイマー病を罹患しているヒトの脳に存在し得るほぼ全ての主な特徴におけるガレクチン-3調節の影響を評価することができる。生後3~4ヶ月で既に神経病理学的表現型が存在し、罹患したマウスの寿命中に安定した進行を示す。したがって、ガレクチン-3の影響を調べるために、発明者は5xFADマウスをガレクチン-3 ノックアウトマウス（Gal3 KO）と交雑させた。生後6ヶ月の時点で、ガレクチン-3を欠損した（Gal3 KO）アルツハイマーマウス（5xFAD）、すなわち5xFAD/Gal3 KO（ $n = 6$ ）の血中における、ガレクチン-3が存在する正常なアルツハイマーマウス5xFAD（ $n = 5$ ）と比較して70%の大幅なIFN- γ のダウンレギュレーションを発見した（図7を参照のこと）。サイトカインを、上述したような電気化学発光ELISA（Mesoscale、MSD、米国）で測定した。このデータは、ガレクチン-3に対する薬理的又は遺伝的介入が炎症応答を強力にダウンレギュレートする

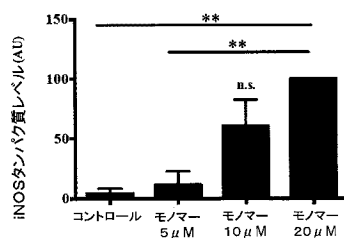
40

50

ことを示唆している。アルツハイマー病患者（患者）の脳における進行中の炎症／ミクログリア活性を考慮すると、発明者は、I F N-ガンマ（ミクログリアにとっての重要な炎症促進性メディエータ）は有益となり得ると考えている。したがって、ガレクチン-3のブロックは脳に直接影響を及ぼすことができ、これは発明者の発見で最も重要なことであるが、全身レベルで炎症応答を変化させることもでき、これは脳におけるミクログリアの炎症促進的な活性の低下によって有益である。

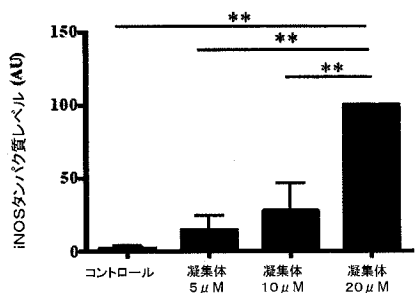
【図 1 A】

Figure 1A



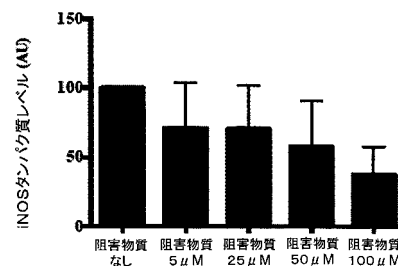
【図 1 B】

Figure 1B



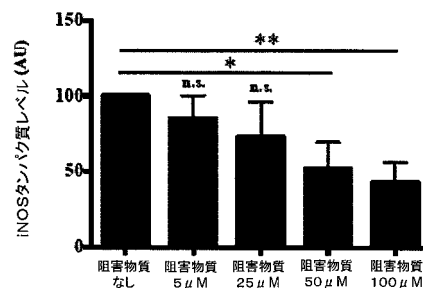
【図 1 C】

Figure 1C



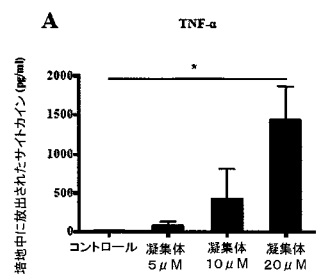
【図 1 D】

Figure 1D



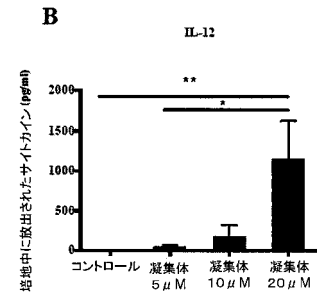
【図 2 A】

Figure 2



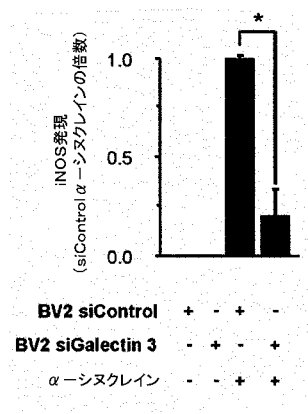
【図 2 B】

Figure 2



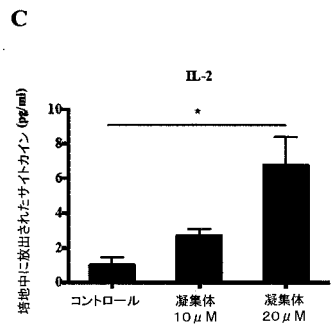
【図 3】

Figure 3



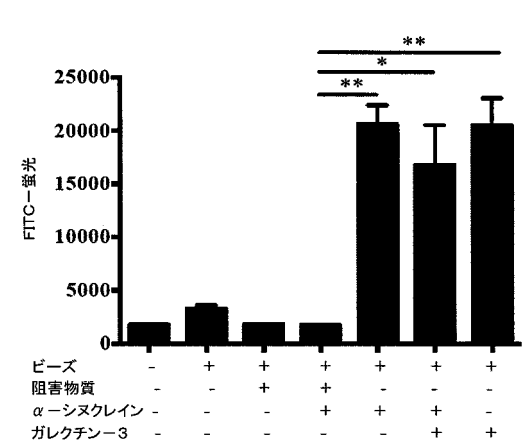
【図 2 C】

Figure 2



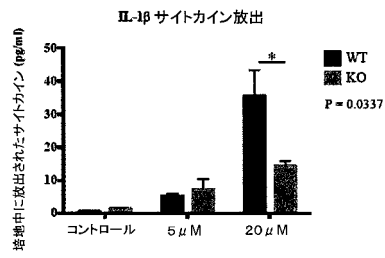
【図 4】

Figure 4



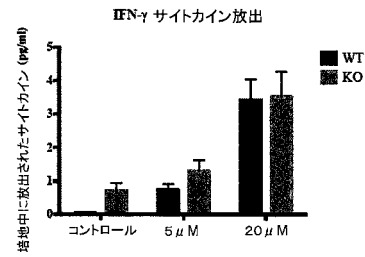
【図 5 A】

Figure 5A



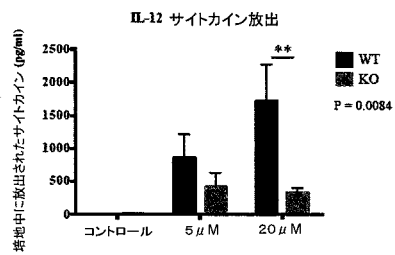
【図 5 C】

Figure 5C



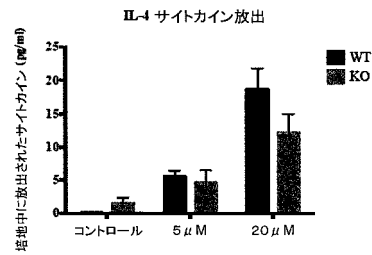
【図 5 B】

Figure 5B



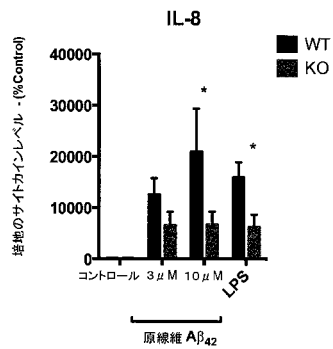
【図 5 D】

Figure 5D



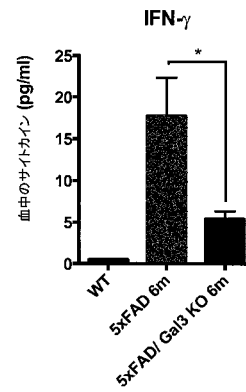
【図 6】

Figure 6



【図 7】

Figure 7



【配列表】

2017512822000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2015/057565

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☐ forming part of the international application as filed:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☒ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2015/057565**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

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

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

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

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

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

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
10(completely); 1-9(partially)

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/057565

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/7056 A61P25/16 A61P25/26
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K

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

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

EPO-Internal, WPI Data, BEILSTEIN Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2004/147730 A1 (NILSSON ULF [SE] ET AL) 29 July 2004 (2004-07-29)	1-7,9,10
Y	pages 13, 14; claims 1-10 page 2, paragraph 23 - paragraph 36 page 3, paragraph 46 page 11, paragraphs 93, 94 page 12, paragraph 104 - paragraph 106 -----	1-10
Y	US 2008/213786 A1 (HUREZ VINCENT JACQUES [US] ET AL) 4 September 2008 (2008-09-04) page 2, paragraph 14 page 4, paragraph 49 ----- -/-	1-10

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

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 July 2015

Date of mailing of the international search report

18/09/2015

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Opravz, Petra

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/057565

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MACKINNON ALISON C ET AL: "Inhibition of galectin-3 reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice.", GLYCOBIOLOGY JUN 2013, vol. 23, no. 6, June 2013 (2013-06), pages 654-663, XP002730191, ISSN: 1460-2423 abstract	1-7,9,10
Y	----- SÖRME PERNILLA ET AL: "Low micromolar inhibitors of galectin-3 based on 3'-derivatization of N-acetyllactosamine.", CHEMBIOCHEM : A EUROPEAN JOURNAL OF CHEMICAL BIOLOGY 1 MAR 2002, vol. 3, no. 2-3, 1 March 2002 (2002-03-01), pages 183-189, XP009161685, ISSN: 1439-4227 page 186; table 1	1-10
A	----- DOVERHAG CHRISTINA ET AL: "Galectin-3 contributes to neonatal hypoxic-ischemic brain injury", NEUROBIOLOGY OF DISEASE, vol. 38, no. 1, April 2010 (2010-04), pages 36-46, XP002730192, ISSN: 0969-9961 abstract	1-7,9,10
A	----- MOK SIMON W F ET AL: "Role of galectin-3 in prion infections of the CNS", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 359, no. 3, August 2007 (2007-08), pages 672-678, XP002730193, ISSN: 0006-291X abstract page 677, last paragraph	1-7,9,10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/057565

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2004147730	A1	29-07-2004	CA 2435363 A1 25-07-2002
			EP 1353934 A1 22-10-2003
			US 2004147730 A1 29-07-2004
			WO 02057284 A1 25-07-2002

US 2008213786	A1	04-09-2008	US 2005158321 A1 21-07-2005
			US 2008213786 A1 04-09-2008
			WO 2005058352 A2 30-06-2005

International Application No. PCT/ EP2015/ 057565

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 10(completely); 1-9(partially)

A composition for use in a method for treatment or prevention of alpha-synucleinopathies wherein the composition comprises a drug/a low molecular weight compound of claim 10 for inhibition of galectin-3 activity in a mammalian brain.

2. claims: 11(completely); 1-9(partially)

A composition for use in a method for treatment or prevention of alpha-synucleinopathies wherein the composition comprises a drug/a low molecular weight compound of claim 11 for inhibition of galectin-3 activity in a mammalian brain.

3. claims: 12, 14, 15(completely); 1-9(partially)

A composition for use in a method for treatment or prevention of alpha-synucleinopathies wherein the composition comprises a drug/a low molecular weight compound of claim 12, 14 or 15 for inhibition of galectin-3 activity in a mammalian brain.

4. claims: 13(completely); 1-9(partially)

A composition for use in a method for treatment or prevention of alpha-synucleinopathies wherein the composition comprises a drug/a low molecular weight compound of claim 13 for inhibition of galectin-3 activity in a mammalian brain.

5. claims: 1-9(partially)

A composition for use in a method for treatment or prevention of alpha-synucleinopathies wherein the composition comprises a polymer for inhibition of galectin-3 activity in a mammalian brain

6. claims: 1-9(partially)

A composition for use in a method for treatment or prevention of alpha-synucleinopathies wherein the composition comprises a protein for inhibition of galectin-3 activity in a mammalian brain.

International Application No. PCT/ EP2015/ 057565

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

7. claims: 1-9(partially)

A composition for use in a method for treatment or prevention of alpha-synucleinopathies wherein the composition comprises a peptide for inhibition of galectin-3 activity in a mammalian brain.

8. claims: 1-9(partially)

A composition for use in a method for treatment or prevention of alpha-synucleinopathies wherein the composition comprises a carbohydrate for inhibition of galectin-3 activity in a mammalian brain.

9. claims: 1-9(partially)

A composition for use in a method for treatment or prevention of alpha-synucleinopathies wherein the composition comprises an oligonucleotide for inhibition of galectin-3 activity in a mammalian brain.

10. claims: 1-9(partially)

A composition for use in a method for treatment or prevention of alpha-synucleinopathies wherein the composition comprises a polynucleotide for inhibition of galectin-3 activity in a mammalian brain.

11. claims: 1-9(partially)

A composition for use in a method for treatment or prevention of alpha-synucleinopathies wherein the composition comprises a generic material such as DNA or RNA for inhibition of galectin-3 activity in a mammalian brain.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I		テーマコード (参考)
A 6 1 P 25/08 (2006.01)	A 6 1 P	25/08	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K	37/02	
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 K 31/7056 (2006.01)	A 6 1 K	31/7056	
A 6 1 K 31/7004 (2006.01)	A 6 1 K	31/7004	
A 6 1 K 31/7016 (2006.01)	A 6 1 K	31/7016	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N	15/00	G

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

(74)代理人 100098394

弁理士 山川 茂樹

(74)代理人 100064621

弁理士 山川 政樹

(72)発明者 ディエルボリ, トーマス

スウェーデン国・エスー 2 4 6 5 0 ・レーデッケピング・スヴァレルトヴェーゲン・ 1 1 ビイ

(72)発明者 セラノ, アントニオ

スウェーデン国・エスー 2 2 3 5 4 ・ルンド・ストラ トメガタン・ 4 シイ

(72)発明者 レフェレル, ハーコン

スウェーデン国・エスー 2 2 2 2 4 ・ルンド・スヴァネガタン・ 7 ビイ

(72)発明者 ニルソン, ウルフ

スウェーデン国・エスー 2 2 5 9 4 ・ルンド・スメドスボヴェーゲン・ 1 0

F ターム(参考) 4C084 AA02 AA17 NA14 ZA012 ZA022 ZA062 ZA152 ZA162 ZA402 ZB112

ZC412

4C086 EA01 EA02 EA11 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA01 ZA02 ZA06

ZA15 ZA16 ZA40 ZB11 ZC41