



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I868106 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：109104093

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 02 月 10 日

(51)Int. Cl. : A61K39/00 (2006.01)

A61K9/127 (2006.01)

A61P25/28 (2006.01)

(30)優先權：2019/02/08 美國

62/802,870

(71)申請人：瑞士商 A C 免疫學製藥股份有限公司 (瑞士) AC IMMUNE SA (CH)

瑞士

美商健生醫藥公司 (美國) JANSSEN PHARMACEUTICALS, INC. (US)

美國

(72)發明人：菲弗 安德亞 PFEIFER, ANDREA (DE)；穆斯 安德瑞斯 MUHS, ANDREAS (DE)；菲爾格瑞 包區 瑪麗亞 PIHLGREN BOSCH, MARIA (SE)；弗基塞維克 默希 馬里加 VUKICEVIC VERHILLE, MARIJA (RS)；皮歐特 尼可拉斯 PIOT, NICOLAS (FR)；吉米瑞 沙羅 GHIMIRE, SAROJ RAJ (NP)；雷姆斯伯格 伊莉莎白 RAMSBURG, ELIZABETH ANNE (US)；迪馬可 多娜塔 DE MARCO, DONATA (IT)；沙達卡 夏洛特 SADAKA, CHARLOTTE (FR)

(74)代理人：陳彥希；何愛文

(56)參考文獻：

US 2003/0232758A1

US 2012/0183599A1

期刊 Brandon Kwong et al. Induction of potent anti-tumor responses while eliminating systemic side effects via liposome-anchored combinatorial immunotherapy. Biomaterials. 32(22) Epub 2011 Apr 22. 5134-5147.

審查人員：張茜毓

申請專利範圍項數：12 項 圖式數：4 共 103 頁

(54)名稱

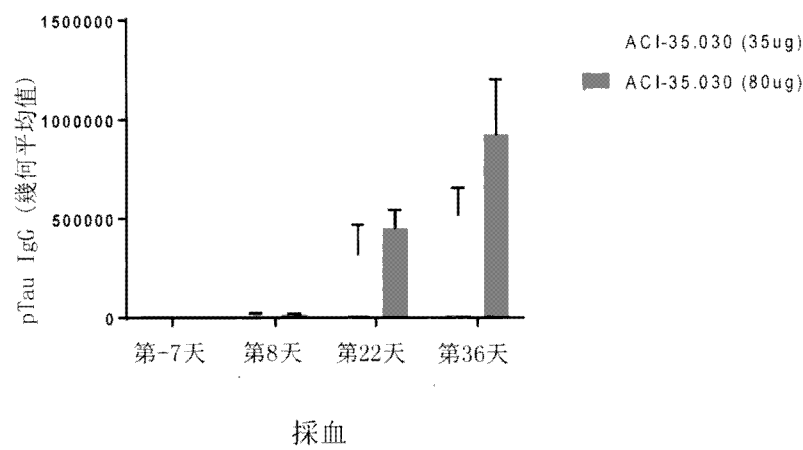
安全投予磷酸化 Tau 胜肽疫苗的方法

(57)摘要

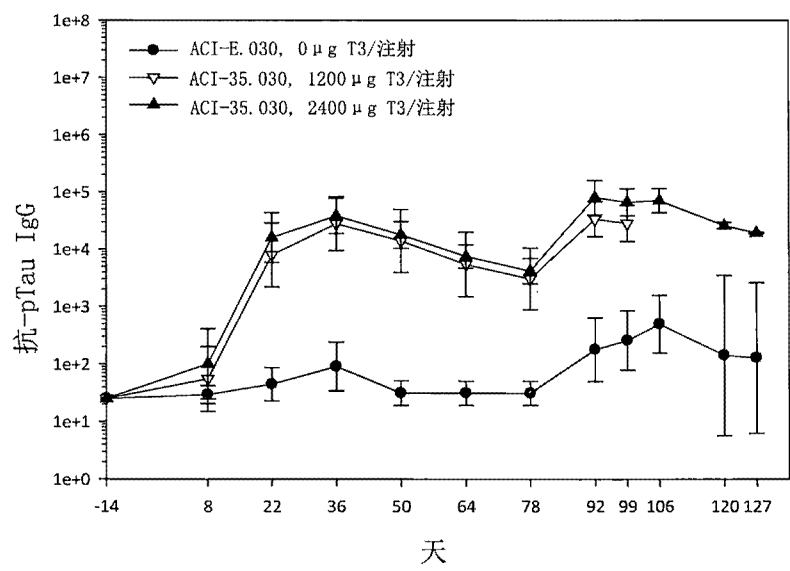
本發明描述用於在人類體內誘發抗磷酸化 Tau 抗體而不會引起嚴重不良事件的方法。該等方法包括向該個體投予有效量之微脂體，該等微脂體包括類鐸受體 4 促效劑以及呈現在該微脂體表面的 Tau 磷酸胜肽。

Methods for inducing anti-phosphorylated Tau antibodies without inducing a severe adverse event in humans are described. The methods include administering to the subject an effective amount of liposomes including a toll-like receptor 4 agonist and a Tau phosphopeptide presented on the surface of the liposome.

指定代表圖：



【圖1】



【圖2】

A

B

100 μm

100 μm

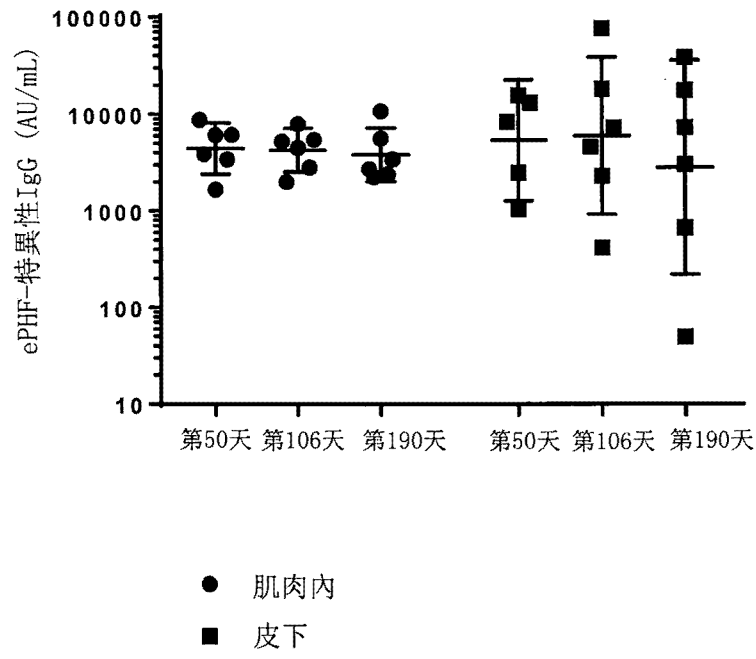
C

D

200 μm

200 μm

【圖3】



【圖4】

I868106

【發明摘要】

【中文發明名稱】 安全投予磷酸化Tau胜肽疫苗的方法
【英文發明名稱】 METHOD OF SAFE ADMINISTRATION OF
PHOSPHORYLATED TAU PEPTIDE VACCINE

【中文】

本發明描述用於在人類體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起嚴重不良事件的方法。該等方法包括向該個體投予有效量之微脂體，該等微脂體包括類鐸受體4促效劑以及呈現在該微脂體表面的Tau磷酸胜肽。

【英文】

Methods for inducing anti-phosphorylated Tau antibodies without inducing a severe adverse event in humans are described. The methods include administering to the subject an effective amount of liposomes including a toll-like receptor 4 agonist and a Tau phosphopeptide presented on the surface of the liposome.

【指定代表圖】第1至4圖

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 安全投予磷酸化Tau胜肽疫苗的方法
【英文發明名稱】 METHOD OF SAFE ADMINISTRATION OF
PHOSPHORYLATED TAU PEPTIDE VACCINE

以電子方式提交之序列表的引用

【0001】 本申請案含有序列表，其經由EFS-Web以電子方式提交ASCII格式的序列表，檔案名稱為「Sequence Listing 689001_66U1」，創建日期為2020年2月7日，且具有22 KB的大小。經由EFS-Web提交的序列表為本說明書的一部份且以其整體併入本文。

【技術領域】

【0002】 本發明是有關於醫學的領域。本發明尤其是有關磷酸化Tau (pTau) 胜肽的微脂體，及其用於預防或治療Tau蛋白病變(Tauopathy，諸如阿茲海默症)的用途。

【先前技術】

【0003】 阿茲海默症(AD)是一種進行性衰弱性神經退化性疾病，估計在全球有4400萬人受到影響(Alzheimers.net)。目前商業化的AD療法旨在作用於臨床症狀，而不是針對導致疾病的病理學過程(改變疾病的效用)。不幸的是，現有療法僅具有最小的功效，因此迫切需要開發和測試其他的預防性和治療性措施。

【0004】 阿茲海默症的標誌性病理是細胞外斑塊的堆積，細胞外斑塊包含明顯的類澱粉 β 蛋白(amyloid beta protein)聚集和細胞內「纏結(tangles)」或超磷酸化Tau蛋白之聚集。導致這些蛋白質聚集的分子事件尚不明確。就類

澱粉來說，假說為類澱粉前驅蛋白的異常切割會導致含有胺基酸1至42的易聚集片段堆積。就Tau而言，假設是激酶、磷酸酶或兩者的失調係導致Tau異常磷酸化。一旦Tau超磷酸化，它就失去了有效結合並穩定微管的能力，反而會堆積在受影響神經元的細胞質中。未結合且超磷酸化的Tau似乎會先形成寡聚體，然後形成更高階的聚集體，據推測，它們的存在對它們形成於其中的神經元之功能有負面影響，其可能係藉由正常軸突運輸的中斷。

【0005】在已開發國家中，經診斷患有阿茲海默症或其他癡呆性Tau蛋白病變的個體，通常會使用膽鹼酯酶抑制劑(例如 Aricept®)或美金剛(memantine，例如Namenda™)來治療。儘管這些藥物的耐受性相當好，但功效卻非常有限。舉例來說，在大約50%的受治療個體中，Aricept®將症狀惡化延遲了6至12個月。其餘的治療是非藥物性的，並著重在使患者在其認知能力下降的同時更有能力處理日常任務。

【0006】目前正在開發用於預防和治療AD的免疫療法。以AD相關的抗原進行的主動免疫能夠刺激出針對AD的抗體免疫性和細胞免疫性的反應。但是，在2002年中止了對第一個經過廣泛測試的人類抗類澱粉 β 疫苗的評估。在使用靶向A β 之主動免疫治療劑AN-1792的AD患者臨床研究中，係觀察到腦膜腦炎(Meningoencephalitis)，這是一種可能致命的中樞神經系統發炎(Orgogozo et al., 2003)。在暴露於AN-1792之患者中，有6%發生的腦炎反應，被認為是由於不需要的A β 特異性T細胞活化所引起。

【0007】迄今為止，很少有使用特異性靶向Tau病理學的藥劑來進行的研究。目前Tau免疫療法正進入臨床試驗，但該領域仍處於起步階段，對各種方法的功效和安全性的機轉之理解尚未獲得證實(Sigurdsson, *Neurodegener Dis.* 2016; 16(0): 34–38)。在以全長Tau蛋白免疫的小鼠體內也報導過腦炎，即腦部發炎。然而，在CNS促發炎性環境下，利用單次注射磷酸化-Tau胜肽來免疫動物，據報導沒有不良效應(Rosenmann H., 2013. *Curr. Alzheimer Res.* 10, 217-228)。

【0008】最近已公開了一種非磷酸化Tau胜肽疫苗(AADvac1)在患有輕度至中度阿茲海默症之人類患者中的長期安全性概況(Novak et al., *Alzheimer's Research & Therapy* (2018) 10:108)。該疫苗含有衍生自Tau序列之胺基酸294至305的合成胜肽，該胜肽經由N端半胱胺酸與匙孔血藍蛋白(KLH)偶聯。其以與KLH偶聯的胜肽(CKDNIKHVPGGGS)為40 µg之劑量，連同氫氧化鋁佐劑(含0.5 mg Al^{3+})，在體積為0.3 ml之磷酸鹽緩衝液中加以投予。在與AADvac1治療有關的第1期研究(FUNDAMANT研究)中，加入研究之26名患者中所觀察到的不良事件(AE)為注射部位反應(紅斑、腫脹、溫熱、瘙癢、疼痛、結節)。在接受AADvac1治療的患者中有50%觀察到一或多個這些AE。注射部位反應是可逆的，主要為輕度表現。觀察到六個嚴重的不良事件(SAE)(腹部絞窄性疝氣、脫水、急性精神病、癡呆型行為和精神症狀，二級房室傳導阻滯及竇性心搏過緩)。研究人員判定沒有一種SAE與AADvac1治療有關。未觀察到過敏性(allergic)或重度過敏反應(anaphylactic reactions)。在實驗室評估(凝血、血液生化學，血液學和尿分析)、生命徵象評估或神經學和身體檢查中，沒有出現安全性信號。MRI評估未偵測到安全性信號。沒有發生水腫變化。沒有觀察到腦膜變化，也沒有觀察到腦膜腦炎。在一個ApoE4同型合子中觀察到新的微出血，並在一個ApoE4異型合子中檢測到表皮血鐵質，這兩個事件在臨床上均為無症狀(silent)。其被認為在AD患者群體中係與此類病變的背景發生率一致。

【0009】然而，磷酸化Tau胜肽疫苗在人類患者中的安全性概況尚未被報導過。對於神經元退化性疾病(諸如阿茲海默症)來說，需要一種安全且有效的治療。

【發明內容】

【0010】本發明是依據來自微脂體疫苗的臨床研究結果，該微脂體疫苗包含呈現在微脂體表面的磷酸化Tau胜肽。該疫苗在人類中似乎耐受良好。其

顯示在比Tau偶聯疫苗AADvac1試驗中所用劑量高得多的劑量下，pTau胜肽微脂體疫苗在人類個體體內係誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起嚴重的不良事件。

【0011】 因此，在一個一般性態樣中，本發明提供一種在有需要的人類個體體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起嚴重不良事件(諸如腦炎)的方法，該方法包含向該個體投予有效量之微脂體，該等微脂體包含類鐸受體4促效劑和Tau磷酸胜肽，該磷酸胜肽包含選自由以下組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：1至SEQ ID NO：3和SEQ ID NO：5至SEQ ID NO：12，其中該Tau磷酸胜肽以每劑量約25 nmole至約750 nmole之量投予(諸如每劑量約29.7 nmole至約742.5 nmole)，較佳約90 nmole至約715 nmole (諸如每劑量約89.1 nmole至約712.8 nmole)，或每劑量約90 nmole至約535 nmole (諸如每劑量約89.1 nmole至約534.6 nmole)，或每劑量約90 nmole至約275 nmole (諸如每劑量約89.1 nmole至約267.3 nmole)，且其中該Tau磷酸胜肽呈現於微脂體表面上。在某些具體例中，該Tau磷酸胜肽係由選自由SEQ ID NO：27至SEQ ID NO：29和SEQ ID NO：31至SEQ ID NO：38組成之群組的胺基酸序列所組成，較佳係由SEQ ID NO：28的胺基酸序列所組成。在一個具體例中，有效量的微脂體包含類鐸受體4促效劑以及由SEQ ID NO：28之胺基酸序列所組成的四棕櫚醯化(tetrapalmitoylated) Tau磷酸胜肽，其中該四棕櫚醯化Tau磷酸胜肽呈現於微脂體表面上且以每劑量100 µg至2500 µg (相當於每劑量29.7 nmole至742.5 nmole)，較佳每劑量300 µg至2400 µg (相當於每劑量89.1 nmole至712.8 nmol)，諸如每劑量300 µg、900 µg、1800 µg或2400 µg (分別相當於每劑量89.1 nmole，267.3 nmole，534.6 nmole或712.8 nmole)之量投予。

【0012】 在一些具體例中，本發明提供一種在有需要的人類個體體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起嚴重不良事件(諸如腦炎)的方法，該方法包含向該個體投予有效量的微脂體，該等微脂體包含類鐸受體4促效劑以及呈現

於微脂體表面上的Tau磷酸胜肽，其中該Tau磷酸胜肽包含選自由SEQ ID NO：1至SEQ ID NO：3和SEQ ID NO：5至SEQ ID NO：12組成之群組的胺基酸序列，且該Tau磷酸胜肽以每劑量約25 nmol至約750 nmol之量投予，較佳地，該Tau磷酸胜肽是由SEQ ID NO：28之胺基酸序列所組成的四棕櫚醯化Tau磷酸胜肽，並以每劑量約300 µg、約900 µg，約1800 µg或約2400 µg之量或其間之任何量投予。

【0013】 在某些具體例中，在有需要的人類個體體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不引起嚴重不良事件(諸如腦炎)的方法包含向該個體投予有效量之微脂體，該等微脂體包含類鐸受體4促效劑以及呈現在微脂體表面上的Tau磷酸胜肽，其中該Tau磷酸胜肽包含選自由SEQ ID NO：27至SEQ ID NO：29和SEQ ID NO：31至SEQ ID NO：38組成之群組的胺基酸序列，且該Tau磷酸胜肽以每劑量約90 nmole至約715 nmole (諸如每劑量約29.7 nmole、約267.3 nmole、約534.6 nmole或約712.8 nmole)之量或其間任何量投予。在一個具體例中，有效量的微脂體包含每劑量265至275 nmol之量的Tau磷酸胜肽，諸如每劑量265、266、267、268、269、270、271、272、273、274或275 nmol或其間任何值(諸如每劑量約267.3 nmole)。在另一個具體例中，有效量的微脂體包含每劑量530至540 nmole之量的Tau磷酸胜肽，諸如每劑量530、531、532、533、534、535、536、537、538、539或540 nmol或其間的任何值(諸如每劑量534.6 nmole)。在另一個具體例中，有效量的微脂體包含每劑量710至720 nmol之量的Tau磷酸胜肽，諸如710、711、712、713、714、715、716、717、718、719或720 nmole或其間任何值(諸如每劑量712.8 nmole)。

【0014】 在某些具體例中，微脂體係皮下投予。

【0015】 在某些具體例中，微脂體係肌肉內投予。

【0016】 在某些具體例中，該方法進一步包含在初始投予之後1至24週向該個體投予第二劑之有效量的微脂體。

【0017】在某些具體例中，該微脂體進一步包含輔助T細胞表位和脂化CpG寡核苷酸中的至少一者。在某些具體例中，脂化CpG寡核苷酸具有選自由SEQ ID NO：18至SEQ ID NO：22組成之群組的核苷酸序列，較佳地具有SEQ ID NO：18的核苷酸序列，其中該CpG寡核苷酸具有一或多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結，且該CpG寡核苷酸經由連接子(較佳地經由PEG連接子)共價連接到至少一個親脂性基團。

【0018】在某些具體例中，該微脂體進一步包含一或多種選自由以下組成之群組的脂質：1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, DMPC)，1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸醯基-3'-rac-甘油(1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoryl-3'-rac-glycerol, DMPG)及膽固醇。

【0019】在某些具體例中，輔助T細胞表位包含選自由SEQ ID NO：23至SEQ ID NO：26組成之群組的至少一個胺基酸序列，較佳地包含SEQ ID NO：23至25的胺基酸序列。

【0020】在某些具體例中，類鐸受體4促效劑為單磷醯基脂質A(monophosphoryl lipid A, MPLA)。

【0021】在某些具體例中，有效量的微脂體包含類鐸受體4促效劑，其量為每劑量30 µg至900 µg，較佳地100 µg至585 µg。在某些具體例中，有效量的微脂體包含類鐸受體促效劑單磷醯基六醯基脂質A，3-去醯基(monophosphoryl hexa-acyl Lipid A, 3-deacyl)，其量為每劑量30 µg至900 µg，較佳地100 µg至585 µg。

【0022】在某些具體例中，有效量的微脂體包含輔助T細胞表位，其量為每劑量25 µg至625 µg，較佳地75 µg至450 µg。在某些具體例中，有效量的微脂體包含由SEQ ID NO：13的胺基酸序列所組成的T50輔助T細胞表位，其量為每劑量25 µg至625 µg，較佳地75 µg至450 µg。

【0023】在某些具體例中，有效量的微脂體包含輔助T細胞表位，其量為每劑量約2 nmole至約110 nmole (諸如每劑量約4.02 nmole至約100.44 nmole)，或每劑量約4 nmole至約75 nmole (諸如每劑量約4.02 nmole至約72.32 nmole)，或每劑量約10 nmole至約105 nmole (諸如每劑量約12.06 nmole至約100.44 nmole)，或每劑量約70至約105 nmole (諸如每劑量約72.32 nmol至約100.44 nmol)。在某些具體例，有效量的微脂體包含由SEQ ID NO：13的胺基酸序列所組成的T50輔助T細胞表位，其量為每劑量約3 nmole至約105 nmole，較佳地每劑量約10 nmole至約105 nmole (諸例如每劑量約12.06 nmole至約100.44 nmole)。在一個具體例中，有效量的微脂體包含輔助T細胞表位，其量為每劑量2至5 nmole，諸如每劑量2、3、4或5 nmole或其間任何值，諸如每劑量約3.82、3.92，4.02或4.12 nmole。在另一個具體例中，有效量的微脂體包含輔助T細胞表位，其量為每劑量10至15 nmole，諸如每劑量10、11、12、13，14或15 nmole或其間任何值，諸如每劑量11.86、11.96、12.06、12.16 nmole。在另一個具體例中，有效量的微脂體包含輔助T細胞表位，其量為每劑量70至75 nmole，諸如每劑量70、71、72、73，74或75 nmole或其間任何值，諸如72.02、72.12、72.22、72.32、72.42。在又另一個具體例中，有效量的微脂體包含輔助T細胞表位，其量為每劑量98至103 nmole，諸如每劑量98、99、100、101，102或103 nmole或其間任何值，諸如每劑量100.24、100.34、100.44，100.54或100.64 nmole。

【0024】在某些具體例中，有效量的微脂體包含脂化CpG寡核苷酸，其量為每劑量50 µg至1250 µg，較佳地150 µg至800 µg。在某些具體例中，有效量的微脂體包含由SEQ ID NO：18的核苷酸序列所組成的CpG寡核苷酸，其量為每劑量50 µg至1250 µg，較佳地150 µg至800 µg。

【0025】在某些具體例中，該等微脂體包含：

- (1) 具有SEQ ID NO：28之胺基酸序列的Tau磷酸胜肽；
- (2) 包含單磷醯基六醯基脂質A，3-去醯基的類鐸受體4促效劑；

- (3) 包含SEQ ID NO：39之胺基酸序列的輔助T細胞表位；
- (4) 包含SEQ ID NO：18之核苷酸序列的脂化CpG寡核苷酸；以及
- (5) 至少一個選自由以下組成之群組的脂質：1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DMPC)，1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷醯基-3'-rac-甘油(DMPG)及膽固醇。

【0026】 在某些具體例中，該個體需要治療阿茲海默症，諸如早期阿茲海默症、由阿茲海默症所引起的輕度認知障礙(MCI)、輕度阿茲海默症或輕度至中度阿茲海默症。在其他具體例中，該個體的腦部呈類澱粉陽性，但尚未顯示出明顯的認知障礙。

【0027】 本發明亦有關一種疫苗組合，其用於在有需要的人類個體體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起嚴重不良事件(例如腦炎)，其中該疫苗組合包含依據本發明具體例的初始疫苗(primer vaccine)及補強疫苗(booster vaccine)。本發明亦提供疫苗組合於製備在有需要的人類個體體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起嚴重不良事件(例如腦炎)之藥物的用途，其中該疫苗組合包含依據本發明具體例的初始疫苗及補強疫苗。關於在人類個體體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起嚴重不良事件(諸如腦炎)的方法，如本文所述的本發明的所有態樣和具體例均可適用於疫苗組合，以供將疫苗組合於製備在有需要的人類個體體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起嚴重不良事件(諸如腦炎)的藥劑之一或多種用途。

【0028】 在閱讀過下列本發明以及申請專利範圍的詳細說明之後，將更充分理解本發明的更多態樣，特徵及優點。

【圖式簡單說明】

【0029】 當結合所附圖式來閱讀時，更能充分理解前述本申請案的發明說明以及下列對本申請案的較佳具體例之詳細說明。然而，應當理解的是，本申請案不限於圖式中所示的明確具體例。

【0030】圖1顯示在每兩週一次向雌性C57BL/6小鼠肌肉內投予35和80 µg/劑量的ACI-35.030三次之後其pTau IgG效價(titer)；所呈現者為每組10隻小鼠的幾何平均值±95% CI。

【0031】圖2顯示1200 µg/劑量和2400 µg/劑量的ACI-35.030在恆河猴中誘發抗磷酸化tau抗體的持續性效價；所呈現者為每組抗體效價的幾何平均值，表示為AU/mL，如ELISA所測量者。

【0032】圖3顯示在AD腦部切片注射三次2400 µg/劑量的ACI-35.030誘發的抗體係結合至Tau纏結(B區)，而結腸切片沒有顯示交叉反應性(D區)。預處理樣品未結合至AD腦部切片(A區)或結腸切片(C區)。

【0033】圖4顯示，與皮下注射相同劑量的同種疫苗相比，肌肉內注射1800 µg/劑量的ACI-35.030在組內變異度較低的情況下，誘發抗-ePHF IgG抗體效價。

【實施方式】

【0034】先前技術和通篇說明書中引用或描述了各種出版物、文章和專利案；這些參考文獻中的每一者均以引用的方式將其全文併入本文。已納入本說明書中關於文件、法令、材料、裝置，物品或類似者的討論是為了提供本發明的背景。對於所揭示或請求保護的任何發明來說，這種討論並非承認任何這些內容或所有這些內容構成先前技術的一部分。

【0035】除非另有定義，否則本文使用的所有技術和科學術語具有與本發明所屬領域中具有通常技術者一般所理解的相同含義。除此之外，本文中使用的某些術語具有說明書中闡述的含義。

【0036】必須注意的是，如本文和所附申請專利範圍中所使用者，除非上下文另有明確指出，否則單數形式「一個(a、an)」和「該(the)」包括複數形式。

【0037】除非另有說明，否則任何數值(諸如本文所述的濃度或濃度範圍)在任何情況下均應理解為受到術語「約」所修飾。因此，數值通常包括所列值的 $\pm 10\%$ 。例如，1 mg/mL的濃度包括0.9 mg/mL至1.1 mg/mL。同樣，1%至10% (w/v)的濃度範圍包括0.9% (w/v)至11% (w/v)。如本文所用，除非上下文另有明確指出，否則使用數字範圍明確包括所有可能的子範圍，該範圍內的所有個別數值，包括該範圍內的整數和值的分數。

【0038】除非另有指明，否則一組要素之前的術語「至少」應理解為是指該組中的每一個元件。那些習於技藝者將使用不超出常規實驗而認知到或能夠確定本文所述發明的特定具體的許多等效者。這樣的等效者意欲受本發明所含括。

【0039】如本文所使用的，術語「包括(comprises、comprising)」、「包括(includes、including)」、「具有(has、having)」或「含有(contains、containing)」，任何其他變化形式將被理解為暗示包括所述整數或整數群組，但不排除任何其他整數或整數群組，且旨在為非排他性的或開放式的。例如，包含一系列要素的組合物、混合物、製程、方法，物品或設備不一定僅限於那些要素，而是可以包括未明確列出者或可以包括為此類組合物，混合物、製程、方法，物品或設備所固有的其他要素。此外，除非明確指出相反的意思，否則「或」是指包含性的或，而不是排他性的或。例如，條件A或B由以下任一條件滿足：A為真(或存在)且B為假(或不存在)，A為假(或不存在)且B為真(或存在)，並且A和B都為真(或存在)。

【0040】還應當理解，當提及本發明較佳要素的尺寸或特性時，本文所用的術語「約(about)」、「大概(approximately)」、「通常(generally)」、「基本上(substantially)」以及類似術語表示所述尺寸/特性如本技藝中具有通常技術者所理解，不是嚴格的邊界或參數，也不排除在功能上相同或相似的微小差異。在最低程度上，包括數字參數的此類引用將包括使用本技藝中

公認的數學和工業原理(例如，四捨五入，測量或其他系統誤差，製造公差等)的差異，其不會改變最小有效數字。

【0041】 本發明提供一種在有需要的人類個體體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起嚴重不良事件(諸如腦炎)的方法。在特定具體例中，該方法包含向該個體投予有效量的微脂體，該等微脂體包含呈現在微脂體表面上的Tau磷酸胜肽及類鐸受體4促效劑。

【0042】 如本文所用，術語「抗磷酸化Tau抗體」是指一種抗體，其結合至在Tau的胺基酸序列的一或多個位置處的胺基酸殘基上已被磷酸化的Tau。磷酸化胺基酸殘基可以例如是絲胺酸(Ser)，蘇胺酸(Thr)或酪胺酸(Tyr)。抗磷酸化Tau抗體所結合的磷酸化Tau上之位點，較佳是在神經退化性疾病(諸如阿茲海默症)中特異性磷酸化的位點。抗磷酸化Tau抗體所結合的磷酸化Tau之位點，其實例包括，諸如Tyr18、Ser199、Ser202、Thr205、Thr212、Ser214、Ser396、Ser404、Ser409、Ser422、Thr427。如本申請案通篇所使用的，胺基酸位置是參考人類微管相關蛋白tau同功型2的序列，該人類微管相關蛋白tau同功型2具有GenBank登錄號NP_005901.2中所示的胺基酸序列。

【0043】 在投予後誘發抗磷酸化Tau抗體的能力，可以針對在醫藥組合物中投予之免疫原性Tau胜肽產生的抗體(例如IgG或IgM抗體)，透過測試個體的生物樣品(例如血液、血漿、血清、PBMC、尿液、唾液、糞便、CSF或淋巴液)來測定(參見例如Harlow, 1989, Antibodies, Cold Spring Harbor Press)。例如，可以透過酶聯免疫吸附分析(ELISA)、其他基於ELISA的分析(例如MSD-Meso Scale Discovery)、墨點法、SDS-PAGE凝膠、ELISPOT或抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)分析來測量對投予提供免疫原的組合物做出反應而產生的抗體效價。

【0044】 如本文所用，術語「不良事件」(AE)是指在被投予醫藥產品的患者體內所發生的任何不利醫學事件，並且不一定與治療有因果關係。依據

本發明的具體例，使用以下定義依據嚴重性遞增的三點量表上對AE進行評比：輕度(1級)，是指個體容易耐受的AE，其引起最低程度的不適且不會干擾日常活動的進行；中度(2級)，指的是使人不舒服到足以干擾正常日常活動的AE，且可能需要進行干預措施；嚴重(3級)，是指妨礙日常正常活動的AE，且通常需要治療或其他干預措施。嚴重AE (SAE)可以是在任何劑量下發生的任何AE，其都會導致以下任何結果：死亡，死亡是結果，而不是事件；危及生命，指事件發生時患者有死亡危險的事件；它不是指假設更為嚴重的可能導致死亡的事件；患者住院，即計劃外，住院過夜或現行延長住院；進行正常生活功能的能力持續喪失或嚴重喪失或嚴重破壞；先天性異常/出生缺陷；可能危及患者或可能需要醫學或外科手術干預以防止上述其他之一者的重要醫學事件(由研究者認為)(例如，在急診室或在家中因過敏性支氣管痙攣或血液惡病質或抽搐而進行的強力治療)。住院是正式進入醫院。住院或延長住院是嚴重AE的要件；但是，它本身不被認為是SAE。在沒有AE的情況下，參與的研究人員不應將住院或延長住院報導為SAE。可能像以下情況如此：方案所需的程序需要住院或延長住院；或住院或延長住院是受到中心追蹤之常規程序的一部分(例如手術後取出支架)。這應該記錄在研究文件中。在研究期間，並未惡化的原有病況的非急需治療住院不被認為是AE。

【0045】 住院期間發生的併發症是AE。如果併發症延長住院或滿足其他任何SAE標準，則該事件為SAE。

【0046】 如本文所用，術語「腦炎」是指可由感染性和非感染性原因引起的腦部發炎。如本文所用，術語「腦膜腦炎」是指特徵在於腦膜和腦部的感染或發炎的病況。基於本揭示內容，可以透過習於技藝者已知的技術來確認腦炎或腦膜腦炎的診斷，例如透過臨床，神經學和精神病學檢查，包括血液和CSF採樣的生物採樣，MRI掃描和腦電波圖(EEG)。

【0047】如本文所用，術語「微脂體」通常是指由具有高脂質含量之材料製成的脂質囊泡，高脂質含量之材料為例如磷脂、膽固醇。這些囊泡的脂質通常以雙層脂質的形式組織。雙層脂質通常囊封出一定體積，該體積散佈在雙層脂質的多層類洋蔥狀殼之間，形成多層脂質囊泡(MLV)；或者包含在無定形中心腔內。具有無定形中心腔的脂質囊泡是單層脂質囊泡，即具有圍繞腔室的單一外圍雙層。大型單層囊泡(LUV)的直徑通常為100 nm到幾微米，諸如100至200 nm或更大，而小型單層脂質囊泡(SUV)的直徑通常小於100 nm，例如20至100 nm，通常為15至30 nm。

【0048】如本文所用，術語「Tau」或「Tau蛋白」(也稱為微管相關蛋白Tau、MAPT、神經纖維纏結蛋白、成對螺旋纖維-Tau、PHF-Tau、MAPTL、MTBT1)是指一種具有多種同功型的豐富的中樞與週邊神經系統蛋白。在人類中樞神經系統(CNS)中，因為選擇性剪接而存在六種主要的Tau同功型，大小從352個胺基酸到441個胺基酸不等(Hanger et al., *Trends Mol Med.* 15:112-9, 2009)。Tau的實例包括但不限於CNS中的Tau同功型，諸如441個胺基酸的最長Tau同功型(4R2N)，也被稱為微管相關蛋白tau同功型2，其具有四個重複序列和兩個插入序列，諸如具有在GenBank登錄號NP_005901.2中所示胺基酸序列的人類Tau同功型2。Tau的其他實例包括352個胺基酸長的最短(胎兒)同功型(3R0N)，也被稱為微管相關蛋白tau同功型4，其具有三個重複序列且沒有插入序列，諸如具有在GenBank登錄號NP_058525.1中所示胺基酸序列的人類Tau同功型4。Tau的實例還包括在週邊神經中表現的「大型Tau」同功型，其含有300個額外殘基(外顯子4a)。Friedhoff et al., *Biochimica et Biophysica Acta* 1502 (2000) 122-132。Tau的實例包括人類大型Tau，其是由6762個核苷酸長的mRNA轉錄本所編碼、758個胺基酸長的蛋白質(NM_016835.4)，或其同功型。例示性人類大型Tau的胺基酸序列以GenBank登錄號NP_058519.3所代表。如本文所用，術語「Tau」包括來自人類以外物種的Tau同源物，人類以外的物種為例如獼猴(食蟹獼猴)，恆河猴或黑猩

猩(Pan troglodytes, chimpanzee)。如本文所用，術語「Tau」包括具有全長野生型Tau的突變（例如點突變）、片段、插入，缺失和剪接變體之蛋白質。術語「Tau」還含括Tau胺基酸序列的轉譯後修飾。轉譯後修飾包括但不限於磷酸化。

【0049】如本文所用，術語「胜肽」或「多肽」是指由胺基酸殘基、其相關的天然存在的結構變異體和非天然存在的合成類似物經由胜肽鍵連接所組成的聚合物。該術語是指任何大小，結構或功能的胜肽。通常，胜肽長度為至少三個胺基酸。胜肽可以是天然存在的，重組的或合成的或其任何組合。合成胜肽可以例如使用自動化多肽合成儀合成。Tau胜肽的實例包括長度約5個至約30個胺基酸之Tau蛋白的任何胜肽，較佳地長度約10個至約25個胺基酸，更佳地長度約16個至約21個胺基酸。在本揭示內容中，使用標準三字母或單字母的胺基酸縮寫從N端到C端列出胜肽，其中磷酸殘基用「p」指示。可用於本發明的Tau胜肽的實例包括但不限於包含SEQ ID NO：1至12中任一者之胺基酸序列的Tau胜肽，或與SEQ ID NO：1至12中任一者的胺基酸序列為至少75%、80%、85%、90%或95%一致的胺基酸序列的Tau胜肽。

【0050】如本文所用，術語「磷酸胜肽」或「磷酸表位」是指在一或多個胺基酸殘基處被磷酸化的胜肽。Tau磷酸胜肽的實例包括任何含有一或多個磷酸化胺基酸殘基的Tau胜肽。

【0051】本發明的Tau胜肽可以透過固相胜肽合成或透過重組表現系統合成。自動胜肽合成儀可由許多供應商處購得，例如Applied Biosystems (Foster City, Calif.)。重組表現系統可包括細菌(諸如大腸桿菌)、酵母，昆蟲細胞或哺乳動物細胞。重組表現的程序由Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (C.S.H.P. Press, NY 2d ed., 1989)描述。

【0052】依據特定具體例，該微脂體包含一或多種Tau胜肽。依據特定具體例，微脂體中的Tau胜肽可以相同或不同。基於本揭示內容，習於技藝者已

知的任何合適Tau胜肽都可以用於本發明中。依據特定具體例，一或多種Tau胜肽包含SEQ ID NO：1-12中之一者的胺基酸序列。在其他具體例中，一或多種Tau胜肽包含與SEQ ID NO：1-12中之一者的胺基酸序列至少75%、80%、85%，90%或95%一致的胺基酸序列，其中沒有一個胺基酸殘基被磷酸化，或一或多個胺基酸殘基被磷酸化。

【0053】 依據特定具體例，一或多種Tau胜肽是Tau磷酸胜肽。依據特定具體例，一或多種Tau磷酸胜肽包含SEQ ID NO：1-3或5-12中之一者的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1-3或5-12中之一者的胺基酸序列至少75%、80%、85%，90%或95%一致的胺基酸序列，其中一或多個所示胺基酸殘基被磷酸化。較佳地，Tau磷酸胜肽包含SEQ ID No：1-3中之一者的胺基酸序列。Tau胜肽可以具有醯胺化的C端。

【0054】 依據本申請案的具體例，Tau胜肽呈現在微脂體表面上。鑑於本揭示內容，可以使用技藝中已知的方法將Tau胜肽(較佳地Tau磷酸胜肽)呈現在微脂體表面上。參見，例如美國專利第8,647,631號和美國專利第9,687,447號以及國際專利申請案第PCT/US18/57286號中的相關揭示內容，其內容以引用的方式併入本文。依據特定具體例，一或多個Tau胜肽(包括磷酸胜肽)進一步包含一或多種修飾，例如棕櫚醯化或十二烷基修飾，以允許Tau胜肽呈現在微脂體表面上。可以將額外胺基酸殘基(例如Lys，Cys，或有時是Ser或Thr)添加到Tau胜肽以促進修飾。據報導，脂質錨定的位置導致胜肽序列有不同構型(Hickman et al., J. Biol. Chem. vol. 286, NO. 16, pp. 13966–13976, April 22, 2011)。儘管不希望受到理論囿限，威信在兩個末端處添加疏水性部分可增加Tau胜肽的病理性 β -摺板構型。因此，一或多個Tau胜肽在兩個末端處進一步包含疏水性部分。經修飾的Tau胜肽可以具有醯胺化的C端。較佳地，呈現在微脂體表面上的Tau胜肽由SEQ ID NO：27至SEQ ID NO：38中之一者的胺基酸序列組成。

【0055】可用於本發明的tau微脂體的實例包括，但不限於美國專利第8,647,631號和第9,687,447號以及國際專利申請案第PCT/US18/57286號中所述的tau微脂體，其各自以全文引用的方式併入本文。

【0056】如本文所用，術語「有效量」是指在個體體內引起期望生物學或醫學反應的活性成分或組分之量。習於技藝者可以基於考量多種因素來決定特定有效劑量的選擇(例如，經由臨床試驗)，這些因素包括待治療或預防的疾病、所涉及的症狀、患者的體重，患者的免疫狀態和習於技藝者熟知的其他因素。調配時所採用的確切劑量也將取決於投予模式、投予路徑、目標部位、患者的生理學狀態，所投予的其他藥物和疾病的嚴重程度，並且應依據醫師的判斷以及每位患者的情況來決定。例如，tau磷酸胜肽的有效量還取決於是否也投予佐劑，在佐劑不存在的情況下需要更高的劑量。有效劑量可以從活體外或動物模型測試系統得出的劑量反應曲線中推得。

【0057】依據本申請案的具體例，有效量的微脂體包含一定量的Tau磷酸胜肽，其足以增加抗磷酸化Tau抗體的水平，而不會引起嚴重不良事件(諸如腦炎)。在特定具體例中，有效量的微脂體包含Tau磷酸胜肽，其量為每劑量約25 nmole至約750 nmole (諸如每劑量約29.7 nmole至約742.5 nmole)，較佳地每劑量約90 nmole至約715 nmole (諸如每劑量約89.1 nmole至約712.8 nmole)，或每劑量約90 nmole至約535 nmole (諸如每劑量約89.1 nmole至約534.6 nmole)，或每劑量約90 nmole至約275 nmole (諸如每劑量約89.1 nmole至約267.3 nmole)。Tau磷酸胜肽的投予量也可以按重量表示。例如，每劑量29.7 nmole相當於每劑量100 µg的由SEQ ID NO：28之胺基酸序列組成的四棕櫚醯化Tau磷酸胜肽，每劑量742.5 nmole相當於每劑量2500 µg的由SEQ ID NO：28之胺基酸序列組成的四棕櫚醯化Tau磷酸胜肽，每劑量89.1 nmole相當於每劑量300 µg的由SEQ ID NO：28之胺基酸序列組成的四棕櫚醯化Tau磷酸胜肽，每劑量712.8 nmole相當於每劑量2400 µg的由SEQ ID NO：28之胺基酸序列組成的四棕櫚醯化Tau磷酸胜肽，而每劑量534.6 nmole相當於每

劑量1800 μg 的由SEQ ID NO：28之胺基酸序列組成的四棕櫚醯化Tau磷酸胜肽。四棕櫚醯化Tau磷酸胜肽具有四個脂質鏈，容許Tau磷酸胜肽呈現於微脂體表面上。劑量為300、900、1800 μg 之由SEQ ID NO：28的胺基酸序列組成的四棕櫚醯化Tau磷酸胜肽，分別相當於169、508、1016 μg 之沒有任何脂質鏈的對應「裸」胜肽。

【0058】依據本申請案的具體例，有效量的微脂體包含Tau磷酸胜肽，其量為每劑量約25 nmole至約750nmole，諸如約25 nmole、約30 nmole、約35 nmole、約40 nmole、約45 nmole、約50 nmole、約55 nmole、約60 nmole、約65 nmole、約70 nmole、約75 nmole、約80 nmole、約85 nmole、約90 nmole、約95 nmole、約100 nmole、約125 nmole、約150 nmole、約175 nmole、約200 nmole、約225 nmole、約250 nmole、約275 nmole、約300 nmole、約325 nmole、約350 nmole、約375 nmole、約400 nmole、約425 nmole、約450 nmole、約475 nmole、約500 nmole、約525 nmole、約550 nmole、約575 nmole、約600 nmole、約625 nmole、約650 nmole、約675 nmole、約700 nmole、約725 nmole、約750 nmole之包含SEQ ID NO：1-3或5-12中之一者的胺基酸序列的Tau磷酸胜肽。較佳地，Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：27至SEQ ID NO：38中之一者的胺基酸序列組成。更佳地，Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：28的胺基酸序列組成。

【0059】依據本申請案的具體例，有效量的微脂體包含每劑量100 μg 至2500 μg 、300 μg 至2400 μg ，300 μg 至1800 μg 或300 μg 至900 μg 之量的四棕櫚醯化Tau磷酸胜肽，諸如每劑量100 μg 、150 μg 、200 μg 、250 μg 、300 μg 、400 μg 、500 μg 、600 μg 、700 μg 、800 μg 、900 μg 、1000 μg 、1100 μg 、1200 μg 、1300 μg 、1400 μg 、1500 μg 、1600 μg 、1700 μg 、1800 μg 、1900 μg 、2000 μg 、2100 μg 、2200 μg 、2300 μg ，2400 μg 或2500 μg 。

【0060】依據本申請案的具體例，Tau磷酸胜肽勝呈現於微脂體表面上。依據本申請案的具體例，Tau磷酸胜肽包含SEQ ID NO：1-3或5-12中之一者的

胺基酸序列。較佳地，Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：27至SEQ ID NO：38中之一者的胺基酸序列組成。更佳地，Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：28的胺基酸序列組成。

【0061】依據本申請案的其他具體例，有效量的微脂體還包含類鐸受體4促效劑，其量為每劑量30 μg 至900 μg ，較佳地100 μg 至585 μg 。例如，有效量的微脂體可包含類鐸受體4促效劑，其量為每劑量30 μg 、50 μg 、100 μg 、150 μg 、200 μg 、250 μg 、300 μg 、330 μg 、360 μg 、390 μg 、420 μg 、450 μg 、480 μg 、500 μg 、520 μg 、540 μg 、560 μg 、580 μg 、600 μg 、700 μg ，800 μg 或900 μg 。

【0062】依據本申請案的具體例，類鐸受體4包含3D-(6-醯基) PHAD®。

【0063】依據本申請案的其他具體例，有效量的微脂體進一步包含輔助T細胞表位，其量為每劑量25 μg 至625 μg ，較佳地75 μg 至450 μg 。例如，有效量的微脂體可包含輔助T細胞表位，其量為每劑量25 μg 、50 μg 、75 μg 、100 μg 、125 μg 、150 μg 、175 μg 、200 μg 、225 μg 、250 μg 、275 μg 、300 μg 、325 μg 、350 μg 、375 μg 、400 μg 、425 μg 、450 μg 、475 μg 、500 μg 、525 μg 、550 μg 、575 μg ，600 μg 或625 μg 。

【0064】依據本申請案的其他具體例，有效量的微脂體進一步包含輔助T細胞表位，其量為每劑量約3 nmole至約105 nmole，諸如每劑量約4 nmole、約5 nmole、約6 nmole、約7 nmole、約8 nmole、約9 nmole、約10 nmole、約15 nmole、約20 nmole、約25 nmole、約30 nmole、約35 nmole、約40 nmole、約45 nmole、約50 nmole、約55 nmole、約60 nmole、約65 nmole、約70 nmole、約75 nmole、約80 nmole、約85 nmole、約90 nmole、約95 nmole，約100 nmole或約105 nmole。

【0065】依據本申請案的具體例，輔助T細胞表位是由SEQ ID NO：13之胺基酸序列組成的T50輔助T細胞表位、由SEQ ID NO：14之胺基酸序列組成的T46輔助T細胞表位、由SEQ ID NO：15之胺基酸序列組成的T48輔助T細胞表位。

胞表位、由SEQ ID NO：16之胺基酸序列組成的T51輔助T細胞表位，或由SEQ ID NO：17之胺基酸序列組成的T52輔助T細胞表位，較佳地，輔助T細胞表位是由SEQ ID NO：13之胺基酸序列組成的T50輔助T細胞表位。

【0066】在某些具體例中，有效量的微脂體進一步包含脂化CpG寡核苷酸，其量為每劑量50 µg至1250 µg，較佳地150 µg至800 µg。例如，有效量的微脂體可包含脂化CpG寡核苷酸，其量為每劑量50 µg、100 µg、150 µg、200 µg、250 µg、300 µg、350 µg、400 µg、450 µg、500 µg、550 µg、600 µg、650 µg、700 µg、750 µg、800 µg、850 µg、900 µg、950 µg、1000 µg、1050 µg、1100 µg，1200 µg或1250 µg。

【0067】依據本申請案的具體例，脂化CpG寡核苷酸是包含SEQ ID NO：18-22中之一者的核苷酸序列的CpG寡核苷酸，較佳地，脂化CpG寡核苷酸是包含SEQ ID NO：18之核苷酸序列的CpG寡核苷酸。依據本申請案的具體例，脂化CpG寡核苷酸是包含SEQ ID NO：18之核苷酸序列的CpG寡核苷酸，該核苷酸序列具有一或多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結，並且藉由包含聚乙二醇(PEG)的連接子共價連接至膽固醇。

【0068】依據具體例，有效量的微脂體包含每劑量50 µg、100 µg、150 µg、200 µg、250 µg、300 µg、350 µg、400 µg、450 µg、500 µg、550 µg、600 µg、650 µg、700 µg、750 µg、800 µg、850 µg、900 µg、950 µg、1000 µg、1050 µg、1100 µg，1200 µg或1250 µg之藉由PEG連接子共價連接至膽固醇的CpG寡核苷酸。

【0069】依據特定具體例，所述人類個體需要治療神經退化性疾病、病症或病況。

【0070】如本文所用，鑑於本揭示內容，「神經退化性疾病、病症或病況」包括習於技藝者熟知的任何神經退化性疾病，病症或病況。神經退化性疾病，病症或病況的實例包括神經纖維病變所致或與之相關的神經退化性疾病或病症，諸如Tau相關疾病、病症或病況，稱為Tau蛋白病變。依據特定

具體例，神經退化性疾病、病症或病況包括顯示Tau和類澱粉病理學並存的任何疾病或病症，包括但不限於阿茲海默症、帕金森氏症、庫賈氏病、拳擊手癡呆(Dementia pugilistica)、唐氏症、吉斯曼-史特斯科-先克病(Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease)、包涵體肌炎、普里昂蛋白大腦類澱粉血管病、外傷性腦損傷、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、關島帕金森氏症-癡呆複合症(parkinsonism-dementia complex of Guam)、非關島運動神經元疾病伴有神經纖維纏結、嗜銀顆粒性癡呆(argyrophilic grain dementia)、大腦皮質基底退化(corticobasal degeneration)、路易體癡呆肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(Dementia Lewy Amyotrophic Lateral sclerosis)、瀰漫性神經纖維纏結伴隨鈣化、額顳葉癡呆(frontotemporal dementia)(較佳為額顳葉癡呆伴隨與17號染色體有關的帕金森氏症(FTDP-17))、額顳葉退化症(frontotemporal lobar dementia)、哈勒沃登-施帕茨病(Hallewvorden-Spatz disease)、多系統萎縮症(multiple system atrophy)、C型尼曼-匹克病、匹克氏病、進行性皮質下膠質增生(progressive subcortical gliosis)、進行性核上麻痺(progressive supranuclear palsy)、亞急性硬化性全腦炎(Subacute sclerosing panencephalitis)、僅纏結型癡呆(Tangle only dementia)、腦炎後帕金森氏症(Postencephalitic Parkinsonism)、肌強直性營養不良(Myotonic dystrophy)、慢性創傷性腦病變(CTE)、原發性年齡相關型Tau蛋白病變(PART)、腦血管病或路易體癡呆(LBD)。依據特定具體例，神經退化性疾病、病症或病況是阿茲海默症或另一種Tau蛋白病變。依據較佳具體例，神經退化性疾病、病症或病況是阿茲海默症。

【0071】阿茲海默症的臨床病程可分為多個階段，伴有認知和功能障礙的進行性模式。可以使用本技藝中已知的分級標度來定義階段，包括例如NIA-AA研究框架。參見，例如Dubois et al., *Alzheimer's & Dementia* 12 (2016) 292-323, Dubois et al., *Lancet Neurol* 2014; 13: 614-29, Jack et al., *Alzheimer's & Dementia* 14 (2018) 535-562，其內容各自以全文引用的方式併入本文。

【0072】依據較佳具體例，神經退化性疾病、病症或病況是早期阿茲海默症，由阿茲海默症引起的輕度認知障礙(MCI)，輕度阿茲海默症或輕度至中度阿茲海默症。

【0073】在一些具體例中，需要治療的個體的腦部呈類澱粉陽性，但尚未顯示出明顯的認知障礙。可以使用本技藝中已知的方法來檢測腦部中的類澱粉沉積，諸如PET掃描，免疫沉澱質譜法或其他方法。

【0074】如本文所用，術語「類鐸受體」或「TLR」是指在先天性免疫反應中發揮關鍵作用的模式識別受體(PRR)蛋白類別。TLR識別微生物病原體(諸如細菌、真菌，寄生蟲和病毒)中與病原體相關的分子模式(PAMP)，可以將其與宿主分子加以區隔。TLR是跨膜蛋白，通常充當二聚體，並由參與先天性免疫反應的細胞(包括抗原呈獻樹突狀細胞和吞噬性巨噬細胞)表現。人類TLR家族至少有十個成員，TLR1至TLR10，而鼠類TLR家族至少有十二個成員，TLR1至TLR9和TLR11至TLR13，它們識別的抗原類型不同。例如，TLR4識別脂多醣(LPS)(許多革蘭氏陰性細菌中存在的一種組分)以及病毒蛋白、多醣和內源性蛋白(諸如低密度脂蛋白、 β -防禦素和熱休克蛋白)；而TLR9是一種核苷酸敏感性TLR，它受到未甲基化胞嘧啶-磷酸-鳥嘌呤(CpG)單股或雙股二核苷酸活化，常見於原核基因組中，但在脊椎動物基因組中罕見。TLR的活化導致一系列信號傳導事件，使得第I型干擾素(IFN)，發炎性細胞因子和趨化因子產生以及免疫反應誘發。最終，這種發炎也會活化後天性免疫系統，從而清除入侵的病原體和受感染的細胞。

【0075】如本文所用，術語「促效劑」是指結合至一或多個TLR並誘發受體媒介反應的分子。例如，促效劑可以誘發、刺激、增加、活化、促進，增強或上調受體的活性。此類活性稱為「促效性活性」。例如，TLR4或TLR9促效劑可以透過結合受體而活化或增加細胞信號傳導。促效劑包括但不限於核酸、小分子、蛋白質、碳水化合物，脂質或與受體結合或交互作用的任何其他分子。促效劑可以模擬天然受體配體的活性。促效劑在序列、構

型，電荷或其他特徵方面可能與這些天然受體配體一致，使得它們可以被受體識別。識別可導致細胞內的生理學及/或生化學變化，從而使細胞以與天然受體配體存在時相同的方式對促效劑的存在做出反應。依據特定具體例，類鐸受體促效劑是類鐸受體4促效劑和類鐸受體9促效劑中的至少一種。

【0076】 如本文所用，術語「誘發」和「刺激」及其變化形式是指細胞活性的任何可測量到的增加。免疫反應的誘發可包括例如免疫細胞群的活化、增生或成熟，細胞因子的產生增加及/或免疫功能增加的另一指標。在某些具體例中，免疫反應的誘發可包括B細胞的增生增加、抗原特異性抗體產生、抗原特異性T細胞的增生增加，樹突狀細胞抗原的呈獻改善及/或某些細胞因子、趨化因子和共刺激標記的表現增加。

【0077】 如本文所用，術語「類鐸受體4促效劑」是指充當TLR4促效劑的任何化合物。鑑於本揭示內容，習於技藝者已知的任何合適的類鐸受體4促效劑均可用於本發明。可用於本發明的類鐸受體4配體的實例包括TLR4促效劑，其包括但不限於單磷醯基脂質A (monophosphoryl lipid A, MPLA)。如本文所用，術語「單磷醯基脂質A」或「MPLA」是指脂質A的修飾形式，其為革蘭氏陰性細菌脂多醣(LPS)內毒素的生物活性部分。MPLA的毒性低於LPS，同時能維持免疫刺激活性。作為疫苗佐劑，MPLA刺激細胞和體液對疫苗抗原的反應。MPLA的實例包括但不限於3-O-去醯基-4'-單磷醯基脂質A、單磷醯基六-醯基脂質A，3-去醯基(合成型，也稱為3D-(6-醯基)PHAD®)、單磷醯基3-去醯基脂質A及其結構相關的變體。可用於本發明的MPLA可使用本技藝已知的方法或從商業來源獲得，諸如來自Avanti Polar Lipids (Alabaster, Alabama, USA) 的3D-(6-醯基)PHAD®、PHAD®、PHAD®-504、3D-PHAD®或來自各種商業來源的MPL™。依據特定具體例，該類鐸受體4促效劑是MPLA。依據特定具體例，包含Tau磷酸胜肽和類鐸受體4促效劑的微脂體進一步包含能夠結合大多數或全部HLA DR (人類白血球抗原-抗原D相關)分子的輔助T細胞表位。然後輔助T細胞表位能夠活化

CD4⁺ T細胞，並向Tau特異性B細胞提供不可或缺的成熟和存活信號。Tau微脂體可用於在同源性或異源性免疫方案中產生針對pTau抗原的高品質抗體，其中微脂體可用於初始免疫及/或補強免疫。

【0078】如本文所用，術語「輔助T細胞表位」是指包含能夠被輔助T細胞識別之表位的多肽。輔助T細胞表位的實例包括但不限於破傷風類毒素(例如，P2和P30表位，也分別稱為T2和T30)、B型肝炎表面抗原、霍亂毒素B、類毒素、白喉類毒素、麻疹病毒F蛋白、沙眼衣原體主要外膜蛋白、惡性瘧原蟲環子孢子T、惡性瘧原蟲CS抗原、曼森氏住血吸蟲三碳糖磷酸異構酶、百日咳博德氏桿菌、破傷風梭菌、*Pertusaria trachythallina*，大腸桿菌TraT以及流感病毒血球凝集素(HA)。

【0079】鑑於本揭示內容，習於技藝者已知的任何合適的輔助T細胞表位均可用於本發明。依據特定具體例，輔助T細胞表位包含選自由SEQ ID NO：23至SEQ ID NO：26組成之群組的至少一個胺基酸序列。較佳地，輔助T細胞表位包含經由連接子(諸如包含一個或多個胺基酸，例如Val(V)、Ala(A)、Arg(R)、Gly(G)、Ser(S)、Lys(K)的胜肽連接子)融合在一起的SEQ ID NO：23至SEQ ID NO：26的兩個或更多個胺基酸序列。連接子的長度可改變，較佳地1-5個胺基酸。較佳地，輔助T細胞表位包含經由選自由VVR、GS、RR、RK組成之群組的一或多個連接子而融合在一起的SEQ ID NO：23至SEQ ID NO：26的三個或更多個胺基酸序列。輔助T細胞表位其C端可為醯胺化。

【0080】依據本申請案的具體例，輔助T細胞表位可以被併入微脂體表面上，例如藉由共價連接的疏水性部分錨定，其中該疏水性部分是烷基、脂肪酸、甘油三酸酯、甘油二酸酯、類固醇、神經鞘脂，醣脂或磷脂，特別是烷基或脂肪酸，特別是具有至少3個碳原子的碳鏈，特別是至少4個碳原子、特別是至少6個碳原子、特別是至少8個碳原子、特別是至少12個碳原子、特別是至少16個碳原子。在本發明的一個具體例中，疏水性部分是棕

稠酸。或者，可以將輔助T細胞表位囊封在微脂體中。依據特定具體例，輔助T細胞表位被囊封在微脂體中。

【0081】鑑於本揭示內容，可以使用本技藝中已知的方法將輔助T細胞表位針對其在微脂體中所預期的位置進行修飾。依據特定具體例，可用於本發明的輔助T細胞表位包含SEQ ID NO：39至SEQ ID NO：44中之一者的胺基酸序列。較佳地，輔助T細胞表位由選自由SEQ ID NO：13至SEQ ID NO：17組成之群組的胺基酸序列組成。

【0082】依據特定具體例，包含Tau磷酸胜肽和類鐸受體4促效劑的微脂體也包含類鐸受體9促效劑。如本文所用，術語「類鐸受體9促效劑」是指充當TLR9之促效劑的任何化合物。鑑於本揭示內容，習於技藝者已知的任何合適的類鐸受體9促效劑均可用於本發明。可用於本發明的類鐸受體9配體的實例包括TLR9促效劑，包括但不限於CpG寡核苷酸。

【0083】如本文所用，術語「CpG寡核苷酸」，「CpG寡去氧核苷酸」或「CpG ODN」是指包含至少一個CpG模體的寡核苷酸。如本文所用，「寡核苷酸」，「寡去氧核苷酸」或「ODN」是指由多個連接的核苷酸單元所形成的多核苷酸。這樣的寡核苷酸可以從現有的核酸來源獲得或可以透過合成方法製造。如本文所用，術語「CpG模體」是指核苷酸序列，其包含未甲基化胞嘧啶-磷酸-鳥嘌呤(CpG)二核苷酸(即胞嘧啶(C)，隨後是鳥嘌呤(G))，其透過磷酸酯鍵或磷酸二酯骨架或其他核苷酸間鍵結而連結。

【0084】依據特定具體例，CpG寡核苷酸經脂化，即接合(共價連結)至脂質部分。

【0085】如本文所用，「脂質部分」是指含有親脂性結構的部分。當與高親水性分子(諸如核酸)附接時，脂質部分(諸如烷基、脂肪酸、甘油三酸酯、甘油二酸酯、類固醇、神經鞘脂，醯脂或磷脂，尤其是固醇(諸如膽固醇)或脂肪酸)，可以顯著升高血漿蛋白結合，從而提高親水性分子的循環半衰期。另外，已顯示結合至某些血漿蛋白(諸如脂蛋白)會增加攝取至表現對應

脂蛋白受體(例如，LDL-受體HDL-受體或清除受體SR-B1)的特定組織中。特別地，接合至磷酸胜肽及/或CpG寡核苷酸的脂質部分允許經由疏水性部分將該胜肽及/或寡核苷酸錨定到微脂體的膜中。

【0086】依據特定具體例，鑑於本揭示內容，CpG寡核苷酸可包含任何合適的核苷酸間鍵結。

【0087】如本文所用，術語「核苷酸間鍵結」是指透過兩個核苷酸的糖連接兩個核苷酸的化學鍵，其由磷原子和相鄰核苷之間的帶電或中性基團組成。核苷酸間鍵結的實例包括磷酸二酯(po)、硫代磷酸酯(ps)、二硫代磷酸酯(ps2)、甲基磷酸酯(mp)和甲基硫代磷酸酯(rp)。硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯，甲基磷酸酯和甲基硫代磷酸酯是穩定型核苷酸間鍵結，而磷酸二酯是天然存在的核苷酸間鍵結。寡核苷酸硫代磷酸酯通常是合成為Rp和Sp硫代磷酸酯鍵結的隨機外消旋混合物。

【0088】鑑於本揭示內容，習於技藝者已知的任何合適的CpG寡核苷酸均可用於本發明。此類CpG寡核苷酸的實例包括但不限於CpG2006 (也稱為CpG 7909)(SEQ ID NO : 18)、CpG 1018 (SEQ ID NO : 19)、CpG2395 (SEQ ID NO : 20)、CpG2216 (SEQ ID NO : 21)或CpG2336 (SEQ ID NO : 22)。

【0089】鑑於本揭示內容，可以使用本技藝中已知的方法將CpG寡核苷酸脂化。在一些具體例中，CpG寡核苷酸直接共價連接至膽固醇分子。在一些具體例中，CpG寡核苷酸的3'端透過磷酸酯鍵(視情況經由PEG連接子)共價連接至膽固醇分子。在一些具體例中，CpG寡核苷酸的5'端透過磷酸酯鍵(視情況經由PEG連接子)共價連接至膽固醇分子。其他親脂性部分也可以共價連接至CpG寡核苷酸的5'端或3'端。例如，CpG寡核苷酸可以共價連接至與微脂體的磷脂長度相同的脂質錨：一個棕櫚酸鏈(使用Pal-OH或類似物，經活化以供偶聯)或兩個棕櫚酸(例如，使用1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-(琥珀醯基)) (1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-(succinyl)) 或類似

物，經活化以供偶聯)，視情況經由PEG連接子。參見，例如，美國專利第7,741,297號中的相關揭示內容，其內容以引用的方式併入本文。PEG的長度可改變，例如從1至5個PEG單元

【0090】也可以使用其他連接子將CpG寡核苷酸共價連接至親脂性部分(諸如膽固醇分子)，其實例包括但不限於具有3至12個碳的烷基間隔子。需要與寡核苷酸化學相容的短連接子作為胺基二醇。在一些具體例中，沒有連接子用於共價鍵合。參見例如Ries et al., "Convenient synthesis and application of versatile nucleic acid lipid membrane anchors in the assembly and fusion of liposomes, *Org. Biomol. Chem.*, 2015, 13, 9673，其相關揭示內容以引用的方式併入本文。

【0091】依據特定具體例，可用於本發明的脂化CpG寡核苷酸包含選自由SEQ ID NO：18至SEQ ID NO：22組成之群組的核苷酸序列，其中該核苷酸序列包含一或多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結，且該核苷酸序列經由連接子共價連接至至少一個膽固醇。依據較佳具體例，該脂化CpG寡核苷酸包含SEQ ID NO：18的核苷酸序列，具有一或多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結，並且共價連接至膽固醇。可以使用任何合適的連接子將CpG寡核苷酸共價連接至膽固醇分子。較佳地，連接子包括聚乙二醇(PEG)。

【0092】依據特定具體例，微脂體進一步包含一或多種選自以下組成之群組的脂質：1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DMPC)，1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸鹽基-3'-rac-甘油(DMPG)及膽固醇。

【0093】依據特定具體例，微脂體進一步包含緩衝劑。鑑於本揭示內容，習於技藝者已知的任何合適的緩衝劑均可用於本發明。在一個具體例中，微脂體包含磷酸鹽緩衝食鹽水。依據特定具體例，緩衝劑包含組胺酸和蔗糖。

【0094】用於本發明的例示性微脂體包含Tau四棕櫚醯化磷酸胜肽(pTau胜肽T3，SEQ ID NO：28)，其在Tau胜肽的每個末端處經由兩個棕櫚酸呈現於

微脂體表面上；TLR-9配體，其包含經由膽固醇分子併入微脂體膜的脂化CpG (佐劑CpG7909-Chol；SEQ ID NO：18)，該膽固醇分子藉由PEG連接子共價連接至該CpG；併入膜中的TLR-4配體(單磷醯基脂質A (例如3D-(6-醯基) PHAD®))；囊封的輔助T細胞表位(泛-DR連接子T50；SEQ ID NO：13)；及1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸-膽鹼(DMPC)，1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-[磷酸-rac-(1-甘油)]鈉鹽(DMPG)和膽固醇作為微脂體的脂質組分。

【0095】鑑於本揭示內容，可以使用本技藝中已知的方法製備本發明的微脂體。鑑於本揭示內容，可以透過過習於技藝者已知的技術來決定微脂體的每種組分的最佳比例。

【0096】微脂體可透過合適方式來投予以供預防性及/或治療性治療之用。依據較佳具體例，透過皮下或肌肉內注射投予微脂體。肌肉內注射最常在手臂或腿部肌肉中施行。

【0097】在一個一般性態樣中，本發明有關於醫藥組合物，其包含治療有效量的微脂體以及醫藥上可接受的賦形劑及/或載劑。醫藥上可接受的賦形劑及/或載劑是本技藝中熟知的(參見Remington's Pharmaceutical Science (15th ed.), Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1980)。醫藥組合物的較佳調配物取決於預期的投予模式和治療應用。該組合物可以包括醫藥上可接受的無毒載劑或稀釋劑，其被定義為調配用於動物或人類投藥之醫藥組合物常用的媒劑。選擇稀釋劑俾便不影響組合物的生物活性。此等稀釋劑的實例為蒸餾水、生理磷酸鹽緩衝食鹽水、林格氏溶液、右旋糖溶液和漢克氏溶液。此外，醫藥組合物或調配物亦可包括其他載劑、佐劑或無毒、非治療性，無免疫原性穩定劑及類似物。應當理解，載劑、賦形劑或稀釋劑的特性將取決於特定應用的投予路徑。

【0098】疫苗的目標抗原位於腦部內，而腦部是透過被稱為血腦障壁(BBB)的特化細胞結構與循環系統分隔開。BBB限制了物質從循環系統進入大腦的通道。這樣可以防止毒素，微生物等進入中樞神經系統。BBB還具

有防止免疫介質(諸如抗體)有效進入大腦周圍的間質和腦脊髓液中的較不樂見的潛在效果。

【0099】 全身性循環中存在的抗體中約有0.1%穿過血腦屏障進入腦部。這暗示由靶向CNS抗原的疫苗所誘發的全身性效價必須比在腦部中有效的最小有效效價大上至少1000倍。觸發功效所需的血清中最低抗體效價尚不明確。另外，對於靶向CNS病症(諸如神經退化性疾病、病症或病況)的安全和有效的免疫療法，不僅要考慮免疫反應的程度而且要考慮免疫反應的品質(例如結合性(avidity))。

【0100】 因此，依據特定具體例，本發明的醫藥組合物進一步包含一或多種合適的佐劑，以在個體體內實現所需的免疫反應。合適的佐劑可以在微脂體投予之前，之後或與其同時投予。較佳的佐劑增強對免疫原的固有反應，不會引起免疫原的構型改變而影響到反應的定性形式。佐劑的實例為鋁鹽(鋁)，諸如氫氧化鋁，磷酸鋁和硫酸鋁。此類佐劑可與或可不與其他特定免疫刺激劑一起使用，免疫刺激劑為諸如MPLA類(3去-O-醯化單磷醯基脂質A (MPL™)、單磷醯基六醯基脂質A3-去醯基合成(3D-(6-醯基) PHAD®、PHAD™、PHAD®-504、3D-PHAD®)脂質A)、聚合或單體胺基酸(諸如聚麩胺酸或聚離胺酸)。此類佐劑可與或可不與其他特定免疫刺激劑一起使用，諸如胞壁醯肽(例如，N-乙醯基胞壁醯基-L-蘇胺醯基-D-異麩胺酸(N-acetylmuramyl-L-threonyl-D-isoglutamine，thr-MDP)、N-乙醯基-正胞壁醯基-L-丙胺醯基-D-異麩醯胺酸(N-acetylnormuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine，nor-MDP)、N-乙醯基胞壁醯基-L-丙胺醯基-D-異麩醯胺基-L-丙胺酸-2-(1'-2'二棕櫚醯基-sn-甘油-3-羥基磷醯氧基)-乙胺(N-acetylmuramyl-L-alanyl-Disoglutaminyl-L-alanine-2-(1'-2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3-hydroxyphosphoryloxy)-ethylamine，MTP-PE)、N-乙醯基葡糖胺基-N-乙醯基胞壁醯基-L-Al-D-異glu-L-Ala-二棕櫚氧基丙醯胺(N-acetylglucosaminyl-N-acetylmuramyl-L-Al-D-isoglu-L-Ala-dipalmitoxy

propylamide, DTP-DPP) Theramide™), 或其他細菌細胞壁組分。水包油乳液包括使用微流體均質機調配成次微米顆粒的MF59 (參見WO 90/14837), 其含有5%角鯊烯、0.5% Tween 80和0.5% Span 85 (視情況包含不等量的MTP-PE); SAF, 含有10%角鯊烯、0.4% Tween, 5% puronic嵌段聚合物L121和thr-MDP, 不論是經微流化為次微米乳液或經渦旋以生成更大粒徑的乳液; 和Ribi™佐劑系統(RAS)(Ribi ImmunoChem, Hamilton, Mont.)、0.2% Tween 80, 以及一或多種選自由以下組成之群組的細菌細胞壁組分: 單磷醯基脂質A (MPL™)、海藻糖二黴菌酸酯(TDM), 和細胞壁骨架(CWS), 較佳為MPL™ + CWS (Detox™)。其他佐劑包括完全佛氏佐劑(CFA)和細胞因子, 諸如介白素(IL-1, IL-2和IL-12)、巨噬細胞群落刺激因子(M-CSF)和腫瘤壞死因子(TNF)。

【0101】如本文所用, 在對個體投予兩種或更多種療法的情況下, 術語「組合」是指使用超過一種療法。使用術語「組合」不限制對個體投予療法的順序。例如, 可以在對個體投予第二療法之前(例如5分鐘、15分鐘、30分鐘、45分鐘、1小時、2小時、4小時、6小時、12小時、16小時、24小時、48小時、72小時、96小時、1週、2週、3週、4週、5週、6週、8週或12週之前)投予第一療法(例如本文所述的組合物), 或與第二療法同時投予第一療法, 或投予第二療法之後(例如5分鐘、15分鐘、30分鐘、45分鐘、1小時、2小時、4小時、6小時、12小時、16小時、24小時、48小時、72小時、96小時、1週、2週、3週、4週、5週、6週、8週或12週之後)投予第一療法。

【0102】投藥的時機可能有顯著不同, 從一天一次到一年一次到十年一次。典型方案包括免疫接種, 然後以一定時間間隔(諸如1至24週間隔)進行追加注射。另一種方案包括免疫接種, 然後在1、2、4、6、8、10和12個月後追加注射。另一種方案是終身每兩個月注射一次。或者, 如監測免疫反應所示, 可以不定期進行追加注射。

【0103】習於技藝者容易理解到，可以基於在投藥後測得的免疫反應來調整初始投藥和補強投藥的方案。例如，通常在投予初始組合物(priming composition)之後數週或數月投予補強組合物，例如投予初始組合物之後約1週、或2週、或3週、或4週、或8週、或16週、或20週、或24週、或28週，或32週、或36週、或40週、或44週、或48週、或52週、或56週、或60週、或64週、或68週、或72週，或76週或一年至兩年。

【0104】依據特定態樣，可以投予一或多次補強免疫。在各別初始組合物和補強組合物中的抗原不必然相同，儘管採用許多補強組合物，但應有共通的抗原決定簇(antigenic determinants)或基本上彼此相似。

【0105】鑑於本揭示內容，可以依據技藝中已知的方法來調配本發明的醫藥組合物。組合物中每種組分的最佳比例可以透過習於技藝者熟知的技術依據本揭示內容來決定。

【0106】在本發明的一個較佳具體例中，經由投予依據本發明具體例的醫藥組合物，投予Tau胜肽在個體體內係誘發針對Tau胜肽和Tau的病理形式的主動免疫反應，從而促進相關Tau聚集體的清除，減緩Tau病理學相關行為的進展及/或治療潛在的Tau蛋白病變。

【0107】Tau是一種人類「自身」蛋白質。這意味著，原則上所有帶有tau特異性受體的淋巴細胞都應該在發育期間被刪除(中樞耐受性)，或者藉由週邊耐受機制對其無反應。事實證明，這個問題是開發針對自身或「經改變自身」蛋白質(例如腫瘤抗原)的疫苗的重要障礙。產生針對抗原(自身或傳染性)的高品質抗體不僅需要產生抗體的B淋巴細胞作用，還需要CD4⁺T「輔助」淋巴細胞作用。CD4⁺T細胞可為B淋巴細胞提供關鍵性的存活和成熟信號，而CD4⁺T細胞缺陷型的動物則是在免疫上極為受到抑制。CD4⁺T細胞也受到耐受機制的影響，而產生強烈抗自身(例如抗tau)抗體反應的另一個障礙在於，於人類/動物庫中tau反應性CD4⁺T細胞也很可能相當罕見甚至不存在。

【0108】依據本發明的這個態樣，免疫反應涉及開發一種針對Tau胜肽的有益體液性(抗體介導)反應和一種針對T細胞表位或免疫原性載劑的細胞性(由抗原特異性T細胞或其分泌產物所介導)反應。

【0109】如本文所用，與Tau-病理學有關的行為表型包括但不限於認知障礙、早期人格改變和抑制困難(disinhibition)、冷漠、意志缺失(abulia)、緘默症(mutism)、失用症(apraxia)、言行重覆症狀(perseveration)、刻板動作/行為、過度口部活動(hyperorality)、無組織、無法計劃或組織順序任務、自私/冷淡、反社會特質、缺乏同理心、猶豫、語法錯亂的言論伴隨經常出現亂語錯誤但相對保有理解力、理解力和單詞查找障礙、緩慢的步態不穩、後退、僵硬、頻繁跌倒、非左旋多巴反應性軸向僵硬、核上凝視麻痺、方波抽搐、緩慢的垂直掃視、假性球麻痺、四肢失能、肌肉張力不足，皮質感覺喪失和震顫。

【0110】在實施本發明的方法時，依據本發明的特定具體例，偏好選擇帶有阿茲海默症或其他Tau蛋白病變或處於阿茲海默症或其他Tau蛋白病變風險下的個體、腦部中有Tau聚集體的個體，或在投予本發明免疫原性胜肽或抗體之前展現出纏結相關的行為表型的個體。適於治療的個體包括處於疾病風險下但未出現症狀的個體，以及目前出現症狀的個體。就阿茲海默症來說，幾乎任何人都有罹患阿茲海默症的風險。因此，本方法可以預防性地投予給於一般群體，而無需對對象患者的風險進行任何評估。本方法對於已知有阿茲海默症遺傳風險的個體特別有用。這些個體包括那些有親戚經歷過這種疾病者，以及那些透過遺傳或生化學標記分析確定其風險者。在較佳具體例中，個體需要治療阿茲海默症，較佳為早期阿茲海默症、因阿茲海默症所致的輕度認知障礙(MCI)、輕度阿茲海默症，或輕度至中度阿茲海默症。

【0111】在無症狀患者中，治療可以在任何年齡(例如10、20、30歲)開始。但是，通常不需要患者達40、50、60或70歲時才開始治療。治療通常需要

在一段時間內多次用藥。可以透過分析抗體或隨時間推移對治療劑的活化T細胞或B細胞反應來監測治療。如果反應降低，表示要補強加用藥。

【0112】在預防性應用中，將含有Tau胜肽的醫藥組合物以足以消除或降低風險、減輕嚴重程度或延緩疾病發作之量投予給易罹患阿茲海默症或其他Tau蛋白病變或處於其風險下的患者、疾病包括疾病的生化學、組織學及/或行為症狀、其併發症以及在疾病生成期間出現的過渡病理學表型。在治療性應用中，將含有Tau胜肽的醫藥組合物以足以治癒或至少部分緩解疾病症狀(生化學、組織學及/或行為，包括其併發症以及在疾病生成期間出現的過渡病理學表型)之量投予給懷疑罹患或已罹患此一疾病的患者。

【0113】若有需要的話，該組合物可存在於套組、包裝或分配器中，其可含有一或多個含有活性成分的單位劑型。舉例來說，套組可包含金屬或塑膠箔，諸如泡鼓包裝。套組、包裝或分配器可隨附投藥說明書。

具體例

【0114】本發明亦提供下列非限制性具體例。

【0115】具體例1是一種在有需要的個體體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起嚴重不良事件的方法，其包含向該個體投予有效量之包含Tau磷酸胜肽的微脂體以及類鐸受體4促效劑，該Tau磷酸胜肽包含選自由 SEQ ID NO：1 至SEQ ID NO：3和SEQ ID NO：5至SEQ ID NO：12組成之群組的胺基酸序列，其量為每劑量約25 nmole至約750 nmole，較佳地每劑量約90 nmole至約715 nmole，每劑量約90 nmole至約535 nmole或每劑量約90 nmole至約275 nmole，諸如每劑量約25 nmole、約30 nmole、約35 nmole、約40 nmole、約45 nmole、約50 nmole、約55 nmole、約60 nmole、約65 nmole、約70 nmole、約75 nmole、約80 nmole、約85 nmole、約90 nmole、約95 nmole、約100 nmole、約125 nmole、約150 nmole、約175 nmole、約200 nmole、約225 nmole、約250 nmole、約275 nmole、約300 nmole、約325 nmole、約350 nmole、約375

nmole、約400 nmole、約425 nmole、約450 nmole、約475 nmole、約500 nmole、約525 nmole、約550 nmole、約575 nmole、約600 nmole、約625 nmole、約650 nmole、約675 nmole、約700 nmole、約725 nmole，約750 nmole或其間任何值，其中Tau磷酸胜肽呈現在微脂體表面上。

【0116】 具體例1a是一種在有需要的個體體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起腦炎的方法，其包含向該個體投予有效量的微脂體，該微脂體包含每劑量100 μg 至2500 μg ，較佳地300 μg 至2400 μg 、300 μg 至1800 μg ，或300 μg 至900 μg ，諸如每劑量100 μg 、150 μg 、200 μg 、250 μg 、300 μg 、400 μg 、500 μg 、600 μg 、700 μg 、800 μg 、900 μg 、1000 μg 、1100 μg 、1200 μg 、1300 μg 、1400 μg 、1500 μg 、1600 μg 、1700 μg 、1800 μg 、1900 μg 、2000 μg 、2100 μg 、2200 μg 、2300 μg 、2400 μg 、2500 μg ，或其間任何值且呈現於微脂體表面上的四棕櫚醯化Tau磷酸胜肽及類鐸受體4促效劑，其中該Tau磷酸胜肽包含選自由SEQ ID NO：1至SEQ ID NO：3和SEQ ID NO：5至SEQ ID NO：12組成之群組的胺基酸序列。

【0117】 具體例2是具體例1或1a之方法，其中該Tau磷酸胜肽由選自由SEQ ID NO：27至SEQ ID NO：29和SEQ ID NO：31至SEQ ID NO：38組成之群組的胺基酸序列組成。

【0118】 具體例3a是具體例1至2中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：27的胺基酸序列組成。

【0119】 具體例3b是具體例1至2中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：28的胺基酸序列組成。

【0120】 具體例3c是具體例1至2中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：29的胺基酸序列組成。

【0121】 具體例3d是具體例1至2中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：31的胺基酸序列組成。

【0122】 具體例3e是具體例1至2中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：32的胺基酸序列組成。

【0123】 具體例3f是具體例1至2中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：33的胺基酸序列組成。

【0124】 具體例3g是具體例1至2中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：34的胺基酸序列組成。

【0125】 具體例3h是具體例1至2中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：35的胺基酸序列組成。

【0126】 具體例3i是具體例1至2中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：36的胺基酸序列組成。

【0127】 具體例3j是具體例1至2中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：37的胺基酸序列組成。

【0128】 具體例3k是具體例1至2中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：38的胺基酸序列組成。

【0129】 具體例4是具體例1至3k中任一項之方法，其中微脂體係皮下投予。

【0130】 具體例5是具體例1至3k中任一項之方法，其中微脂體係肌肉內投予。

【0131】 具體例6是具體例1至5中任一項之方法，進一步包含在初始投予後1至24週向該個體投予第二劑之有效量的微脂體。

【0132】 具體例7是具體例1至6中任一項之方法，其中該微脂體進一步包含輔助T細胞表位及脂化CpG寡核苷酸中的至少一者，較佳地輔助T細胞表位及脂化CpG寡核苷酸。

【0133】 具體例7a是具體例7之方法，其中有效量的微脂體包含類鐸受體4促效劑，其量為每劑量30 µg至900 µg，較佳地100 µg至585 µg，諸如30 µg、50 µg、100 µg、150 µg、200 µg、250 µg、300 µg、330 µg、360 µg、390 µg、

420 µg、450 µg、480 µg、500 µg、520 µg、540 µg、560 µg、580 µg、600 µg、700 µg、800 µg或900 µg，或其間任何值。

【0134】 具體例7b是具體例7或7a之方法，其中該類鐸受體4促效劑為單磷酸基六-磷酸脂質A，3-去磷酸基。

【0135】 具體例7c是具體例7至7b中任一項之方法，其中有效量之微脂體包含輔助T細胞表位，其量為每劑量25 µg至625 µg，較佳地75 µg至450 µg，諸如25 µg、50 µg、75 µg、100 µg、125 µg、150 µg、175 µg、200 µg、225 µg、250 µg、275 µg、300 µg、325 µg、350 µg、375 µg、400 µg、425 µg、450 µg、475 µg、500 µg、525 µg、550 µg、575 µg、600 µg，或625 µg，或其間任何值。

【0136】 具體例7d為具體例7至7c中任一項之方法，其中輔助T細胞表位為由SEQ ID NO：13之胺基酸序列組成之T50輔助T細胞表位、由SEQ ID NO：14之胺基酸序列組成之T46輔助T細胞表位、由SEQ ID NO：15之胺基酸序列組成之T48輔助T細胞表位，由SEQ ID NO：16之胺基酸序列組成之T51輔助T細胞表位，或由SEQ ID NO：17之胺基酸序列組成之T52輔助T細胞表位。

【0137】 具體例7e為具體例7d之方法，其中輔助T細胞表位為由SEQ ID NO：13之胺基酸序列組成的T50輔助T細胞表位。

【0138】 具體例7f為具體例7至7e中任一項之方法，其中有效量之微脂體包含脂化CpG寡核苷酸，其量為每劑量50 µg至1250 µg，較佳地150 µg至800 µg，諸如50 µg、100 µg、150 µg、200 µg、250 µg、300 µg、350 µg、400 µg、450 µg、500 µg、550 µg、600 µg、650 µg、700 µg、750 µg、800 µg、850 µg、900 µg、950 µg、1000 µg、1050 µg、1100 µg、1200 µg，或1250 µg，或其間任何值。

【0139】 具體例8為具體例7至7f中任一項之方法，其中該脂化CpG寡核苷酸具有選自由SEQ ID NO：18至SEQ ID NO：22組成之群組的核苷酸序列。

【0140】 具體例9a為具體例8之方法，其中該CpG寡核苷酸具有SEQ ID NO：18的核苷酸序列。

【0141】 具體例9b為具體例8之方法，其中該CpG寡核苷酸具有SEQ ID NO：19的核苷酸序列。

【0142】 具體例9c為具體例8之方法，其中該CpG寡核苷酸具有SEQ ID NO：20的核苷酸序列。

【0143】 具體例9d為具體例8之方法，其中該CpG寡核苷酸具有SEQ ID NO：21的核苷酸序列。

【0144】 具體例9e為具體例8之方法，其中該CpG寡核苷酸具有SEQ ID NO：22的核苷酸序列。

【0145】 具體例10為具體例8至9e中任一項之方法，其中該CpG寡核苷酸具有一或多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結。

【0146】 具體例11為具體例8至10中任一項之方法，其中該CpG寡核苷酸共價連接到至少一個親脂性基團。

【0147】 具體例11a為具體例8至10中任一項之方法，其中該CpG寡核苷酸經由PEG連接子共價連接到至少一個親脂性基團。

【0148】 具體例12為具體例11或11a之方法，其中該CpG寡核苷酸共價連接至膽固醇基團。

【0149】 具體例12a為具體例12之方法，其中該CpG寡核苷酸經由PEG連接子共價連接至膽固醇基團。

【0150】 具體例13為具體例1至12a中任一項之方法，其中該微脂體進一步包含一或多個選自由以下組成之群組的脂質：1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DMPC)，1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷醯基-3'-rac-甘油(DMPG)及膽固醇。

【0151】 具體例14為具體例1至13中任一項之方法，其中該輔助T細胞表位進一步包含選自由SEQ ID NO：23至SEQ ID NO：26組成之群組的至少一個胺基酸序列。

【0152】 具體例15為具體例14之方法，其中該輔助T細胞表位包含SEQ ID NO：23、SEQ ID NO：24及SEQ ID NO：25的胺基酸序列。

【0153】 具體例16為具體例14或15之方法，其中該輔助T細胞表位包含選自由SEQ ID NO：13至17以及SEQ ID NO：39至44組成之群組的胺基酸序列。

【0154】 具體例17為具體例1至16中任一項之方法，其中該類鐸受體4促效劑為單磷醯基脂質A(MPLA)。

【0155】 具體例18是一種在有需要的個體體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起嚴重不良事件的方法，其包含向該個體投予有效量之微脂體，該等微脂體包含每劑量約25 nmole至約750 nmole，較佳地每劑量約90 nmole至約715 nmole或每劑量約90 nmole至約535 nmole或每劑量約90 nmole至約275 nmole，諸如約25 nmole、約30 nmole、約35 nmole、約40 nmole、約45 nmole、約50 nmole、約55 nmole、約60 nmole、約65 nmole、約70 nmole、約75 nmole、約80 nmole、約85 nmole、約90 nmole、約95 nmole、約100 nmole、約125 nmole、約150 nmole、約175 nmole、約200 nmole、約225 nmole、約250 nmole、約275 nmole、約300 nmole、約325 nmole、約350 nmole、約375 nmole、約400 nmole、約425 nmole、約450 nmole、約475 nmole、約500 nmole、約525 nmole、約550 nmole、約575 nmole、約600 nmole、約625 nmole、約650 nmole、約675 nmole、約700 nmole、約725 nmole，約750 nmole或其間任何值，或每劑量300 µg至2400 µg，諸如300 µg至1800 µg，或300 µg至900 µg，諸如100 µg、150 µg、200 µg、250 µg、300 µg、400 µg、500 µg、600 µg、700 µg、800 µg、900 µg、1000 µg、1100 µg、1200 µg、1300 µg、1400 µg、1500 µg、1600 µg、1700 µg、1800 µg、1900 µg、2000 µg、2100 µg、2200 µg、2300 µg、2400 µg、2500 µg或其間任何值之呈現於微脂體表面上的四棕櫚

醯化Tau磷酸胜肽，其中該Tau磷酸胜肽包含選自由SEQ ID NO：1至SEQ ID NO：3以及SEQ ID NO：5至SEQ ID NO：12組成之群組的胺基酸序列，且該等微脂體進一步包含單磷醯基脂質A (MPLA)、1,2-二肉荳蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DMPC)，1,2-二肉荳蔻醯基-sn-甘油-3-磷醯基-3'-rac-甘油(DMPG)及膽固醇。

【0156】 具體例18a是一種在有需要的個體體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起腦炎的方法，其包含向該個體投予有效量之微脂體，該等微脂體包含每劑量約25 nmole至約750 nmole，較佳地每劑量約90 nmole至約715 nmole或每劑量約90 nmole至約535 nmole或每劑量約90 nmole至約275 nmole，諸如諸如約25 nmole、約30 nmole、約35 nmole、約40 nmole、約45 nmole、約50 nmole、約55 nmole、約60 nmole、約65 nmole、約70 nmole、約75 nmole、約80 nmole、約85 nmole、約90 nmole、約95 nmole、約100 nmole、約125 nmole、約150 nmole、約175 nmole、約200 nmole、約225 nmole、約250 nmole、約275 nmole、約300 nmole、約325 nmole、約350 nmole、約375 nmole、約400 nmole、約425 nmole、約450 nmole、約475 nmole、約500 nmole、約525 nmole、約550 nmole、約575 nmole、約600 nmole、約625 nmole、約650 nmole、約675 nmole、約700 nmole、約725 nmole，約750 nmole或其間任何值，或每劑量100 μ g至2500 μ g或300 μ g至2400 μ g，諸如300 μ g至1800 μ g，或300 μ g至900 μ g，例如100 μ g、150 μ g、200 μ g、250 μ g、300 μ g、400 μ g、500 μ g、600 μ g、700 μ g、800 μ g、900 μ g、1000 μ g、1100 μ g、1200 μ g、1300 μ g、1400 μ g、1500 μ g、1600 μ g、1700 μ g、1800 μ g、1900 μ g、2000 μ g、2100 μ g、2200 μ g、2300 μ g、2400 μ g，2500 μ g或其間任何值之呈現於微脂體表面上的四棕櫚醯化Tau磷酸胜肽，其中該Tau磷酸胜肽包含選自由SEQ ID NO：1至SEQ ID NO：3以及SEQ ID NO：5至SEQ ID NO：12組成之群組的胺基酸序列，且該等微脂體進一步包含單磷醯基脂質A (MPLA)、1,2-二肉荳蔻醯

基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DMPC)，1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷醯基-3'-rac-甘油(DMPG)，膽固醇以及緩衝劑。

【0157】 具體例19為具體例18或18a之方法，其中該等微脂體進一步包含輔助T細胞表位以及共價連接至膽固醇基團的CpG寡核苷酸。

【0158】 具體例19a為具體例19之方法，其中該CpG寡核苷酸經由PEG連接子共價連接至膽固醇基團。

【0159】 具體例19b為具體例19或19a之方法，其中該輔助T細胞表位包含SEQ ID NO：23，SEQ ID NO：24及SEQ ID NO：25的胺基酸序列。

【0160】 具體例19c為具體例19或19a之方法，其中該輔助T細胞表位包含選自由SEQ ID NO：13至17及SEQ ID NO：39至44組成之群組的胺基酸序列。

【0161】 具體例19d為具體例19或19a之方法，其中該輔助T細胞表位包含SEQ ID NO：39的胺基酸序列。

【0162】 具體例19e為具體例19或19a之方法，其中該輔助T細胞表位包含SEQ ID NO：13的胺基酸序列。

【0163】 具體例19f為具體例19至19e之方法，其中該CpG寡核苷酸具有SEQ ID NO：18的核苷酸序列。

【0164】 具體例19g為具體例19至19e之方法，其中該CpG寡核苷酸具有SEQ ID NO：19的核苷酸序列。

【0165】 具體例20a為具體例18至19g中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：27的胺基酸序列組成。

【0166】 具體例20b為具體例18至19g中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：28的胺基酸序列組成。

【0167】 具體例20c為具體例18至19g中任一項之方法，其中該Tau磷酸胜肽由SEQ ID NO：29的胺基酸序列組成。

【0168】 具體例21a為具體例18至20c中任一項之方法，其中該緩衝劑包含磷酸鹽緩衝劑。

【0169】 具體例21b為具體例18至20c中任一項之方法，其中該緩衝劑包含組胺酸與蔗糖中的至少一者。

【0170】 具體例22a為具體例18至21b中任一項之方法，其中該MPLA包含單磷醯基脂質A (例如3D-(6-醯基) PHAD®)。

【0171】 具體例23為具體例1至22a中任一項之方法，其中該個體需要治療阿茲海默症。

【0172】 具體例24為具體例1至22a中任一項之方法，其中該個體需要預防阿茲海默症。

【0173】 具體例25為具體例23之方法，其中該個體需要治療早期阿茲海默症，由阿茲海默症引起的輕度認知障礙(MCI)，輕度阿茲海默症或輕度至中度阿茲海默症。

【0174】 具體例26為具體例1至25中任一項之方法，其中該個體為人類個體。

【0175】 實例

【0176】 本發明的以下實例是為了進一步說明本發明的性質。應理解，以下實例不限制本發明，且本發明的範疇由所附之申請專利範圍決定。

【0177】 除非另有指明，否則以下實例中所使用的實驗方法均為常規方法。除非另有指明，否則以下具體例中所使用的試劑均購自常規試劑供應商。

【0178】 在所有以下實例中，ACI-35.030是依據本發明具體例的微脂體調配物，其包含磷酸化Tau胜肽，該磷酸化Tau胜肽具有SEQ ID NO：28的胺基酸序列，為1200 µg/mL；MPLA (3D-(6-醯基)PHAD®)、DMPC、DMPG、膽固醇，為300 µg/mL之SEQ ID NO：13的輔助T細胞表位；經由PEG連接子共價連接至膽固醇基團的CpG寡核苷酸以及緩衝劑，而ACI-35是依據本發

明具體例的微脂體調配物，其含有具有SEQ ID NO：28之胺基酸序列的磷酸化Tau胜肽、MPLA、DMPC、DMPG，膽固醇以及緩衝劑。

【0179】 實例1：ACI-35.030在C57BL/6J小鼠體內的劑量反應

【0180】 目的：評估以肌肉內(i.m.)注射至C57BL/6雌性小鼠之ACI-35.030疫苗其免疫原性。

【0181】 方法：研究設計於表1中說明。

【0182】 表1：實例1的研究設計

組別	基因型	小鼠	治療	投予路徑	每個小鼠的理論胜肽濃度劑量
1	C57BL/6	10	ACI-35.030	肌肉內	80 µg
2	C57BL/6	10	ACI-35.030	肌肉內	35 µg

以下列間隔投予藥劑3次：第1、15天與29天。

以下列間隔採得血液樣品以供抗體測定：第-7、8，22與36天。

【0183】 測量針對磷酸化Tau胜肽的特異性IgG抗體反應(藉由ELISA測定)。

【0184】 結果/結論：

【0185】 在ACI-35.030 (1200：300)疫苗中使用35 µg以及80 µg之T3的目標劑量進行免疫接種，會誘發針對具有胺基酸序列SEQ ID NO：2的T3.5胜肽的抗體(參見圖1)。

【0186】 實例2：在恆河猴體內評估由ACI-35.030 (微脂體表面上有四棕櫚醯化 T3 磷酸 -Tau 胜肽、MPLA (3D-(6- 醯基)PHAD)®)，以及 CpG7909-Chol，其帶有經囊封T50)疫苗所誘發的IgG反應

【0187】 目的：評估以皮下或肌肉內注射至雄性與雌性恆河猴之ACI-35.030 (微脂體表面上有四棕櫚醯化T3磷酸-Tau胜肽、MPLA (3D-(6-醯

基)PHAD)®)，以及CpG7909-Chol，帶有經囊封T50)疫苗其免疫原性，並由此決定最佳投予路徑以及疫苗濃度。

【0188】 方法：研究設計於表2中說明。

【0189】 表2：實例2的研究設計

組別	動物數目	投予路徑	疫苗說明 胜肽(T3:T50)的理論比例(以 µg/mL 表示)
1	3♂ + 3♀ 恆河猴	s.c.	ACI-35.030 非濃縮 (T3:T50 = 400:400)
2	3♂ + 3♀ 恆河猴	s.c.	ACI-35.030 經濃縮 (T3:T50 = 1200:1200)
3	3♂ + 3♀ 恆河猴	i.m.	ACI-35.030 經濃縮 (T3:T50 = 1200:1200)

【0190】 用於微脂體疫苗的理論劑量為每隻動物1800 µg的四棕櫚醯化磷酸胜肽(T3)以及1800 µg的T50胜肽。

【0191】 以下列間隔投予藥劑4次：第1、29、85與169天。以下列間隔採得血液樣品以供抗體測定：第-14、8、22、36、50、64、78、92、106、120、134、148、162、176與190天。

【0192】 測量針對磷酸化與未磷酸化Tau胜肽(分別為T3.5與T3.6；藉由ELISA測定)、全長磷酸-Tau (pTau)蛋白(藉由ELISA測定)，以及從阿茲海默症患者的腦部萃取出之Tau病理形式(人類PHF；藉由MSD測定)的特異性IgG抗體反應。從轉送當天開始，在整個研究過程中，每天兩次對動物紀錄臨床徵象(健康、行為變化等)。所有動物在開始治療之前還有之後每週記錄體重至少一次。

【0193】 結果/結論：

【0194】 整體上，在以疫苗方案中的任一者免疫接種之後，既沒有觀察到全身性不良效應，在注射部位也沒有觀察到持續性皮膚敏感。

【0195】 經濃縮(1200:1200)與非濃縮(400:400)的ACI-35.030疫苗，係誘發類似的T3.5-特異性IgG效價與人類PHF-特異性IgG效價。以s.c.與i.m.投予相

同疫苗調配物相比，其T3.5-特異性IgG效價和人類PHF特異性IgG效價並無差異。

【0196】 實例3：重複劑量毒性研究，於C57BL/6小鼠體內每兩週皮下注射ACI-35八次，接著兩週無治療期的 (GLP)

【0197】 目的：評估在每兩週皮下注射，持續14週之後，ACI-35於C57BL/6小鼠體內的潛在毒性。在治療期結束時，指定的小鼠維持兩週無治療期，以便評估任何研究結果的可逆性。此外，在研究期間評估ACI-35的免疫原性。

【0198】 方法：研究設計於表3中說明。

【0199】 表3：實例3的研究設計

組別	動物數目	投予路徑	劑量體積 (μ L/注射)	劑量位準 (μ g 胜肽/注射)
1	18♂ + 18♀ C57BL/6 小鼠	s.c.	800	0 (PBS)
2	12♂ + 12♀ C57BL/6 小鼠		800	0 (ACI-35-Empty*)
3	12♂ + 12♀ C57BL/6 小鼠		50	24
4	12♂ + 12♀ C57BL/6 小鼠		200	98
5	18♂ + 18♀ C57BL/6 小鼠		800	390

*= ACI-35-Empty詳述所投予的疫苗不含活性胜肽T3。

以下列間隔投予藥劑八次：第1、15、29、43、57、71、85與99天。

以下列間隔採得血液樣品以供抗體測定：第-2、4、6、8、19、12、14、16與17週。

組別1與5中最後6♂+6♀的小鼠，於研究結束時留下進行兩週無治療期。

【0200】 結果/結論：

【0201】 在八次注射後，以最高劑量含量390 µg/注射來重複注射ACI-35-Empty或ACI-35，會導致白蛋白/球蛋白(A/G)比例降低。這個改變通常會顯示在經免疫接種的動物體內，可能與球蛋白(抗體)血漿部分的增量相吻合，並解釋為因為所有接受ACI-35治療的動物都產生了抗體(IgM和IgG類別)。在重複注射後，IgG效價通常高於IgM效價，而雌性傾向於比雄性產生更多抗體。

【0202】 於注射部位處，在經98 µg或390 µg胜肽的ACI-35治療的組別中觀察到局部和暫時性反應(增厚)。在這些劑量下，僅記錄到兩種性別的脾臟和肝臟重量增加以及胸腺重量減少，還有雌性的腎臟重量增加。於注射部位處，肉眼觀察到的主要是以98 µg和390 µg/注射的ACI-35。在顯微鏡下，投予PBS對照，ACI-35-Empty或24 µg/注射之ACI-35的局部耐受性良好。在所有劑量含量下，與空微脂體相關的泡沫狀巨噬細胞和單核球發炎性浸潤均看到有劑量相關嚴重程度，但在PBS對照組中未看到。ACI-35為390 µg/注射時，亞急性發炎性反應伴隨纖維化和皮下組織的偶發性變性/壞死略為增加。

【0203】 以390 µg/注射投予ACI-35-Empty或ACI-35會引起脾臟和肝臟的髓外造血作用，並增加骨髓中的骨髓細胞數目，這與投予空白微脂體有關。另外，在雌性中使用呈390 µg/注射的ACI-35主要看到多重全身性器官中的單核發炎性細胞浸潤，而ACI-35 empty則程度較低。這個研究結果被認為是在這些動物中可預期到的反應類型，因為眾所周知這是一種具有易於誘發免疫系統的小鼠品系，因此不具有臨床重要性。以98 µg/注射投予ACI-35後，唯一的全身性結果是脾臟和肝臟中的髓外造血作用。以24 µg/注射投予ACI-35後，沒有全身性研究結果。

【0204】 鑑於其輕度至中度嚴重程度，兩週後完全或部分恢復以及不存在明顯的臨床或臨床病理學關聯性，依據研究定義，這些發現中沒有一者被

視為是不良。因此，在此研究的實驗條件下，在三個月內每兩週對C57BL/6J雄性和雌性小鼠投予390 µg胜肽的ACI-35劑量含量被認為是NOAEL (沒有全身性毒性的徵象，在局部含量下沒有不良徵象)。

【0205】 實例4：於食蟹獼猴體內以ACI-35進行的六個月皮下毒性研究隨後有四週恢復期(GLP)

【0206】 目的：評估當每四週一次皮下投予給食蟹獼猴七次時，ACI-35的累積性毒性。在四週恢復期期間，針對一些在治療期之後的動物來評估治療相關變化的可逆性或進展或任何延遲毒性。

【0207】 方法：研究設計詳述於表4中。

【0208】 表4：實例4的研究設計

組別	動物數目	投予路徑	劑量體積 (mL/注射)	劑量位準 (µg 胜肽/注射)
1	5♂ + 5♀食蟹獼猴	s.c.	3	0 (PBS)
2	3♂ + 3♀食蟹獼猴		0.75	358
3	3♂ + 3♀食蟹獼猴		1.5	716
4	5♂ + 5♀食蟹獼猴		3	1431

以下列間隔投予藥劑七次：第1、29、57、85、113、141與169天。

以下列間隔採得血液樣品：第15、43、71、99、127、155、183與208天。

組別1與4的最後2♂+2♀的獼猴，於研究結束時留下進行四週無治療期。

【0209】 結果/結論：

【0210】 每28天一次，以358、716與1431 µg/注射向食蟹獼猴皮下投予ACI-35持續六個月期間，在所有動物中均耐受良好。

【0211】 儘管不排除與治療的關聯性，但在嗜中性球計數方面略微增加以及葡萄糖含量略微降低，被認為並非不良的，因為所有值都在背景歷史數據內，且未記錄到與測試前數值的相關變異。

【0212】 所有經測試物(test item)治療的組別都產生抗體。第一次投予後兩週的免疫反應，在所有經測試物治療的組別中均相似。之後，在整個治療期內，平均抗pTau抗體效價係遵循著劑量-效應相關性的趨勢而增加。歷經四週恢復的動物顯示，在第七次投予後兩週所記錄到的抗體含量明確降低。

【0213】 基於所得結果以及在這些研究條件下的結果，每28天一次投予1431 µg/注射的劑量持續六個月，被認為對這個研究來說是NOAEL (無觀察到不良效應水平)。

【0214】 實例5：於恆河猴體內使用ACI-35.030的三個月肌肉內毒性研究 (隨後有四週恢復期(GLP))

【0215】 目的：此研究目的係評估當以每月肌肉內投予給未經試驗的雄性和雌性恆河猴三次時，ACI-35.030的潛在毒性。在四週恢復期期間，針對對照組與高劑量組的每種性別兩隻猴子來評估治療相關可能變化的可逆性。

【0216】 設計：所應用的研究程序如下(表5)

【0217】 表5：實例5的研究設計

組別	治療	動物數目#	投予路徑	劑量體積 (mL/注射)	劑量位準 (µg 胜肽/注射)
1	ACI-E.030*	5♂ + 5♀ 恆河猴	i.m.	2	0
2	ACI-35.030	3♂ + 3♀ 恆河猴		1	1200
3	ACI-35.030	5♂ + 5♀ 恆河猴		2	2400

#組別1與3的2♂+2♀小鼠留下進行四週無治療期。

*ACI-E.030 一種微脂體調配物，除了其不含有任何Tau胜肽以外，包含與ACI-35.030相同的組分。

【0218】 在第1、29和85天，藉由單次肌肉內注射在大腿的3個不同部位中投予測試物和參考物。在整個研究過程中，每天至少兩次觀察所有動物的生存/死亡率和臨床徵象。於投予的每一天，在投予前和投予後6、24和48小時在給藥部位處，對動物進行局部反應的評估(崔氏評分(Draize scoring))。

【0219】 在整個研究期間，定性估算每個籠子的食物消耗。從適應期開始直至研究結束，每週評估體重。在預測試期間進行檢眼鏡檢驗一次，以及最後一次投予後三/四天進行檢眼底鏡檢驗。在預測試期間和最後一次投予後約24小時記錄一次每隻動物的心電圖(肢導程I、II和III和加強導程aVR (加強右)、aVL (加強左)和aVF (加強足))。

【0220】 在預測試期期間一次、然後最後一次注射後2天(第87天)，以及對所有存活動物在恢復期結束時(第125天)一次，對所有動物進行臨床病理學評估(血液學、臨床化學，凝血與尿分析)。

【0221】 關於藉由ELISA測定抗-p-Tau與抗T50用的血清，在第-14、8、22、36、50、64、78、92、99、106、120及127天(第106、120及127天僅針對恢復動物)收集血液樣品。

【0222】 在第-14天，最後一次免疫接種後兩週，於所有組別中收取PBMC，並在屍檢之前於恢復組中收取PBMC。進行IL-4和IFN- γ ELISPOT分析以測定tau-特異性T細胞反應。

【0223】 在所有動物中針對測試前還有在屍檢時取樣的血液，進行免疫基因表型分析。

【0224】 在第-14與99天(主要與恢復)以及第127天(恢復)針對PBMC收集血液(用於針對對抗T3.5之T細胞反應的ELISpot)。

【0225】在鎮靜下從所有動物的預測試和每次犧牲後檢驗之前收集腦脊髓液(CSF)樣品，以進行細胞學評估。

【0226】在預定的治療或恢復期完成後，對所有動物進行屍檢並秤量好各器官。對所有研究動物的大腦、注射部位和淋巴結進行了組織病理學檢驗。

【0227】透過免疫組織化學(IHC)技術，在專門研究階段中評估ACI-35.030誘發的抗體對不同人類組織的潛在結合活性，其中在一組42種冷凍人類組織與三個無關個體之血液抹片中使用投予2400 µg T3，在第99天取樣的動物血清來評估ACI-35.030誘發的猴抗體對人類組織的交叉反應性。

【0228】結果：

【0229】未出現死亡，也沒有關於體重、身體變化、食慾、眼科、心電圖、臨床病理學(血液學、凝血，臨床化學和尿分析)或免疫表型分析的ACI-35.030相關影響。

【0230】在免疫接種後，在所有組別的少數幾隻動物中，於注射部位中觀察到短暫的輕微至中度皮膚刺激徵象(紅斑和水腫)。在第29天和第87天，給予2400 µg T3/注射的48小時之時，5隻雌鼠中有1隻在接受治療的後肢中觀察到短暫的嚴重局部水腫。但是，水腫在一天後(第30天和第88天)消退。

【0231】在對照組和測試物給藥組之間注意到一些差異，即與劑量無關的平均器官重量。在宏觀上，腹股溝、腸骨和骨盆淋巴結被隨機描述為包括對照組在內的全部組別有增大，通常在顯微鏡下與淋巴樣細胞增生有關聯，大部分在4週恢復期後復原，並被解釋為可能是由於疫苗/疫苗佐劑所引起的刺激。在微觀上，在包括對照組在內的全部組別中，於注射部位處的骨骼肌和真皮及/或皮下組織中均注意到最小至輕度的發炎，伴隨著最小程度的骨骼肌退化及/或再生。發炎被認為可能是由於與針刺相關的注射程序和對注射材料的局部免疫反應的組合。這些變化並未被認定是不利的，且將在4週恢復期後復原。

【0232】腦部中沒有任何與投予ACI-35.030有關的微觀變化。

【0233】 ACI-35.030在1200 µg/劑量以及2400 µg/劑量下，係誘發持續性抗-pTau IgG效價(圖2)。

【0234】 在治療結束時未觀察到tau特異性T細胞反應，表示T細胞活化相關毒性(諸如腦膜腦炎)的風險較低。

【0235】 對42種冷凍人類組織和來自三個無關個體的血液抹片進行的免疫組織化學研究突顯出，以1/300和1/100檢驗之ACI-35.030所誘發的猴抗體於AD腦部切片中對tau纏結特異性地染色(圖3，A區，在用ACI-35.030治療之前，B區：以2400 µg/劑量注射3次ACI-35.030後，血清經稀釋1/100)，但在任何測試的對照組織中並未產生中靶或脫靶染色。例如，圖3中顯示用治療前和治療後血清(分別為C區和D區)染色的結腸切片。

【0236】 結論：

【0237】 總體而言，由於在第1、29和85天，免疫接種後沒有ACI-35相關變化，因此將最高劑量含量2400 µg T3視為未觀察到影響的含量(NOEL)。

【0238】 實例6：胜肽的EpiScreen™免疫原性分析

【0239】 目的：

【0240】 在51名人類提供者中，針對誘發CD4⁺ T細胞反應的能力，於EpiScreen™ 時序 T-細胞分析中測試兩個16員胜肽，Tau 393-408[pS396/pS404] (T3.5，具有SEQ ID NO:2的胺基酸序列)以及Tau393-408 (T3.6，具有SEQ ID NO:4的胺基酸序列)。

【0241】 設計：

【0242】 *EpiScreen™時序T-細胞增生分析以及IL-2 ELISPOT分析*

【0243】 用最終濃度為5 µM的胜肽刺激51名人類提供者的PBMC。針對每名提供者，也納入再現性對照(與100 µg/mL KLH一起培育的細胞)，基準臨床對照(與0.3 µM人類化A33一起培育的細胞)和僅含培養基的孔。在不同時間點後評估增生和IL-2生成。

【0244】 EpiScreen™數據分析

【0245】 對於增生分析和IL-2 ELISPOT分析，先前已經建立了等於或大於二($SI \geq 2.00$)的刺激指數(Stimulation Index, SI)的經驗閾值，藉此將誘發反應高出此閾值的樣品視為陽性，而 $SI \geq 1.90$ 被認為是臨界反應者。

【0246】 具有一連串生物製劑的先前EpiScreen™時序T-細胞分析已顯示，在EpiScreen™分析中的提供者T細胞反應百分比與臨床上觀察到的免疫原性水平之間存在明確關聯性。大體上，在EpiScreen™分析中誘發 $>10\%$ 陽性反應的蛋白質治療劑與臨床上顯著的免疫原性風險相關。

【0247】 結果：

【0248】 增生和IL-2 ELISPOT分析之間的整體關聯性為高(KLH為98%)，因此將反應提供者定義為那些在IL-2 ELISPOT和增生分析中對每個樣品均發生陽性反應的提供者。這兩種分析的組合數據集的分析揭示，在51名提供者中有1名(2%)對Tau 393-408 [pS396/ pS404]有反應，而在51名提供者中有兩名(4%)對Tau 393-408有反應。考慮到臨界反應和僅在兩種分析中的一者反應的提供者，51名提供者中有四名(8%)對Tau 393-408 [pS396/pS404]有反應，而51名提供者中有四名(8%)對Tau 393-408有反應。因此，兩個胜肽的反應總次數和幅度均低，最多8%提供者有反應。

【0249】 結論：

【0250】 針對一組51名HLA型提供者，測試了測試胜肽(Tau 393-408 [pS396/pS404]和Tau 393-408)誘發藉由增生與IL-2分泌所測量之 $CD4^+$ T細胞反應的能力。研究數據指明，兩種胜肽誘發 $CD4^+$ T細胞反應的整體相對風險均為低(2至8%)。

【0251】 與在EpiScreen™分析中測試的蛋白質治療劑相比，這項研究的數據顯示，兩種胜肽均被認為在人類體內誘發 $CD4^+$ T細胞反應的潛在風險低。

【0252】 實例7：ACI-35在人類體內的安全性及效力

【0253】 在英國和芬蘭針對輕度至中度AD患者進行的第Ib期臨床研究中，評估ACI-35疫苗(ACI-35)的安全性，耐受性和免疫原性(ACI-35-1201：ACI-35在輕度至中度阿茲海默症患者體內之安全性，耐受性和免疫原性的第Ib期多中心、雙盲、隨機，安慰劑對照研究)。

【0254】 目的：以3種劑量和3種給藥方案初步評估ACI-35在輕度至中度AD患者體內的安全性和耐受性，以及誘發血清中抗磷酸-Tau (pTau)免疫球蛋白G (IgG)效價。

【0255】 方法：5群中的每一群均由不同劑量(300 µg、900 µg或1800 µg四棕櫚醯化磷酸胜肽 (pTau胜肽T3，SEQ ID NO：28))及/或分散在6個月內(2、3或5劑投予)的給藥方案組成，之後在最後一次注射後12至16個月(第1群)或6個月(第2至5群)進行追加注射，如表5中所述。

【0256】 表5：實例5的研究設計

群	N	劑量µg	W0	W4	W8	W12	W24	+W48(劑量µg)	+W48-W76(劑量µg)
1	4	300	X	X	X	X	X		X(900)
2	8	900	X	X	X	X	X	X(900)	
3	4	900	X	X			X	X(900)	
4	4	1800	X	X			X	X(1800)	
5	4	1800	X				X	X(1800)	

縮寫：N=患者數目，W=週

【0257】 二十四名患者被隨機分配並接受至少1劑的研究藥物疫苗。平均患者年齡為73.6±5.88歲，且在篩選時的平均MMSE評分為23.3±2.71。隨機分配15名女性及9名男性。二十二名患者完成研究。由於與ACI-35無關的嚴重醫學病況嚴重阻礙研究或無法完成研究，第2群中的兩名患者(一名接受900 µg，一名接受安慰劑)中止研究。

【0258】 納入條件如下：

1. 依據國家神經病學和傳染病及中風研究所-阿茲海默症和相關病症協會標準，可能是阿茲海默症(AD)
2. 年齡等於或超過60歲且等於或小於85歲

3. 篩選時的簡易精神狀態測驗(Mini Mental State Examination, MMSE)為18至28分
4. 篩選前，患者必須接受穩定劑量的乙醯膽鹼酯酶抑制劑持續至少3個月
5. 受到可信賴的配偶或其他住家照護者照料的患者，該配偶或照護者提供書面同意書以協助進行臨床評估並回報安全性問題
6. 研究人員認為能夠理解並簽署書面知情同意書並遵守所有研究程序的患者(注意，必須在進行任何與試驗有關的程序之前取得同意書)
7. 婦女必須是停經後歷時至少1年及/或經手術絕育
8. 男性患者之尚未停經或經手術絕育的女性伴侶，必須使用可靠的避孕措施，例如：雙屏障避孕或激素避孕

【0259】 結果/結論：

【0260】 總體而言，在人類個體體內測試的所有劑量和治療方案下，ACI-35都是安全且耐受良好，而在所有研究群中，首次注射後不久，注射即可迅速誘發抗pTau抗體。注射部位紅斑，注射部位反應和疲勞是最常見的研究藥物相關治療性不良事件(TEAE)。在臨床上或實驗室或放射學研究結果方面沒有證據暗示產生CNS發炎。除了注射部位反應外，與安慰劑相比，無AE型態暗示與研究藥物有相關性。注射部位反應通常是輕度的和自限性的，在高劑量下更常發生，且在第4群和第5群中所有接受活性藥物治療的患者均有回報。接受活性藥物比接受安慰劑更常觀察到無症狀性低血糖，但假若這個現象是已知的自發性事件，與研究藥物的相關性並不明確。據回報有5件SAE，全部來自第2群的患者，其中1名患者接受安慰劑治療，並經歷了2件SAE (尿毒症和腎盂腎炎)。這2件SAE與研究藥物無關。2名經ACI-35治療的患者回報三件可能與藥物相關的SAE (急性腎盂腎炎，竇房結功能障礙和暈眩)，這是唯一觀察到的不良反應。這項研究中沒有死亡回報。

【0261】 實例7：ACI-35.030在人類體內的安全性及效力

【0262】 在歐洲針對早期AD (因為AD所引起的輕度認知障礙(MCI)以及輕度AD)患者進行的第Ib/IIa期多中心、雙盲、隨機、安慰劑對照臨床研究中，評估 ACI-35.030 疫苗 (ACI-35.030) 的安全性，耐受性和免疫原性 (ACI-35-1802研究)。

【0263】 目的：於74週的時間框架內，要以至多3種劑量初步評估 ACI-35.030在帶有早期AD (例如因為AD所引起的輕度認知障礙(MCI)以及輕度AD)之參與者體內的安全性和耐受性，以及誘發對抗Tau蛋白異常形式的免疫反應(包括誘發血清中的抗磷酸Tau (抗-pTau))。

【0264】 次要目的：為了於74週的時間框架內，透過評估例如誘發血清中對抗Tau的IgG效價和對抗pTau和Tau的IgM效價來進一步評估研究疫苗的免疫原性；並評估免疫接種引發的抗體的結合性(avidity)。

【0265】 探究性目標：各自於74週的時間框架內探究研究疫苗對AD進展的假定生物標記(即總Tau和pTau蛋白的血液及/或CSF濃度)的影響；探究研究疫苗對血液中T細胞活化的影響；探究研究疫苗對血液發炎性細胞因子(例如IL-1 β 、IL-2、IL-6、IL-8、IL-10，IFN- γ 和TNF- α)的影響；探究研究疫苗對行為，認知和功能表現的影響。

【0266】 方法：3群中的每一群均由接受不同劑量ACI-35.030的患者組成，指的是pTau胜肽T3在組合物中的數量(300 μ g、900 μ g或1800 μ g四棕櫚醯化磷酸胜肽pTau胜肽T3，SEQ ID NO：28)分散在48週內(在第0、8、24和48週時給藥)，然後進行24週(6個月)的安全性追蹤期。

【0267】 24名患者被隨機分為3個亞群，每個亞群中有2名患者接受安慰劑而6名患者接受ACI-35.030。肌肉內投予劑量。

【0268】 每次給藥後立即進行安全性評估，並在其後48至72小時打電話給所有研究患者進行安全性評估。每個亞群中，在已對先前患者進行48至72小時的安全性評估以依據現場主要研究人員確認沒有與研究疫苗有關的臨床相關安全性問題之後，進行前4名患者的首次給藥。

【0269】 在治療期結束後，所有受治療患者有24週(6個月)的安全性追蹤期。在此期間，要求患者在最後一次給藥後19週出席第一次追蹤訪視，並在追蹤期結束(最後一次給藥後26週)時進行最後一次訪視。在整個研究中透過數據和安全性監控委員會(Data and Safety Monitoring Board，DSMB)定期審查安全性數據來監控參與者的安全性。

【0270】 期中分析係以下述方式進行：

【0271】 一旦所有第1群患者都完成了訪視4 (第10週)，即在第二次注射後2至4週，便進行第一次期中分析。目的是要審查直到這個時間點的安全性，耐受性和免疫原性數據，以確定是否開始第2群。

【0272】 一旦所有第2群患者都完成了訪視4 (第10週)，即在第二次注射後2至4週，便進行第二次期中分析。目的是要收集直到這個時間點的安全性，耐受性和免疫原性數據，以確定是否開始第3群。

【0273】 一旦所有第3群患者都完成了訪視6 (第26週)，即在第三次注射後2至4週，便進行第三次期中分析。目的是要決定擴大第1、2或3群，以便針對免疫原性，安全性和耐受性呈現出最有利概況的劑量收集額外安全性/耐受性數據。

【0274】 在治療期結束時(即第4次注射後2至4週)，進行第四次期中分析。目的是要審查直到這個時間點的安全性/耐受性和免疫原性數據，包括亞群擴展患者的數據(若有的話)。可納入生物標記結果作為支持性探究性數據。將結果與隨後從其他群獲得的結果進行比較，以便在所有研究群中選出最佳策略供進一步臨床開發之用。

【0275】 在安全性追蹤期結束時進行第五次期中分析，即，一旦所有第1群患者都完成訪視11 (第74週)。目標與第四次期中分析的目標相同，並且隨後將所有群的結果進行比較。

【0276】 研究群體為50至75歲(男性和女性)，依據NIA-AA標準確診為輕度AD或由AD引起的MCI。

【0277】 納入條件如下：

1. 50歲到至多75歲(包含75歲在內)的男性或女性。
2. 依據NIA-AA標準，由AD引起的輕度認知障礙(MCI)或輕度AD，且臨床癡呆評定量表(CDR)總體評分爲0.5或1。
3. 簡易精神狀態測驗(MMSE)評分爲22或以上。
4. 篩選時的CSF類澱粉 β 42 ($A\beta$ 42)和磷酸化Tau含量符合AD病理學的NIA-AA 2018標準。在CSF $A\beta$ 42含量處於臨界狀態的情況下，可以考慮其他結果來輔助判定類澱粉陽性，例如 $A\beta$ 42/ $A\beta$ 40比例，以及視情況而異的類澱粉PET掃描陽性或CSF $A\beta$ 42含量陽性的病史。在篩選前3個月內進行的CSF採樣結果視情況是可以接受的，只要它們與類澱粉病理學的存在相符，且對應CSF樣品可以用於研究中進行測試即可。
5. 在基線之前至少三個月，未接受任何市售AD治療或未接受穩定劑量的乙醯膽鹼酯酶抑制劑及/或美金剛(memantine)的患者。
6. 受到可信賴的通知者或其他照護者照料的患者以保證順應性，協助進行臨床評估並回報安全性問題。
7. 婦女必須是停經後歷時至少一年及/或經手術絕育。有生育能力或未絕經的婦女在篩選時妊娠測試必須爲陰性，並願意從篩選訪視到參加結束使用高效的避孕方法。在整個治療期將進行尿液妊娠再測試，以確定受試者是否可以繼續接受研究疫苗。有具備生育能力之伴侶的男性患者必須願意在研究期間使用適當的避孕措施。
8. 研究人員認爲能夠理解並提供書面知情同意書的患者。
9. 患者及通知者或照護者必須精通研究語言中的一種，並且能夠遵從所有研究程序，包括腰椎穿刺。

【0278】 排除條件如下：

1. 先前參加過使用主動免疫接種的AD及/或神經學病症臨床試驗，除非有證據證明患者僅用安慰劑治療，且安慰劑調配物不預期誘發任何特異性免疫反應。
2. 在篩選之前的過去12個月內，先前參加過使用任何被動免疫接種的AD及/或神經學病症臨床試驗，除非有證據證明受試者僅用安慰劑治療，且安慰劑不預期誘發任何特異性免疫反應。
3. 在篩選前的三個月內，先前參加過使用任何小分子藥物(包括BACE-1抑制劑在內)的AD及/或神經學病症臨床試驗。
4. 同時參加使用實驗或已批准藥物或療法的任何其他臨床試驗。
5. 在無自體免疫疾病臨床症狀的患者中，存在稀釋度為至少1/160之陽性抗核抗體(ANA)效價。
6. 目前或過去的自體免疫疾病病史，或與自體免疫疾病存在相符的臨床症狀。
7. 免疫抑制，包括但不限於使用免疫抑制藥物或全身性類固醇，除非是在篩選前超過三個月暫時開立者。
8. 嚴重過敏反應(例如重度過敏)的病史，包括但不限於對先前疫苗及/或藥物的嚴重過敏反應。
9. 具有臨床意義的低血糖事件的過往病史。
10. 依據精神疾病診斷和統計手冊第五版 (DSM-V)標準，目前或過去五年內經歷毒品或酒精濫用或依賴性。
11. 任何可能干擾評估研究治療的安全性和耐受性及/或遵守整個研究訪視時間表的臨床上顯著醫學病況。
12. 任何可能在患者體內影響免疫系統及/或預期潛在損害研究疫苗的免疫潛力的臨床上顯著的醫學病況(例如，任何後天性或先天性免疫抑制性病症的病史)。

13. 在篩選前的最後12個月內使用聯胺肼(hydralazine)、普魯卡因胺(procainamide)、奎尼丁(quinidine)、異煙肼(isoniazide)、TNF抑制劑、米諾環素(minocycline)。
14. 使用地爾硫卓(diltiazem)，除非在篩選前以穩定劑量服用持續至少3個月。
15. 使用哥倫比亞-自殺嚴重程度等級量表(Columbia-Suicide Severity Rating Scale)，將對自殺念頭問題4或5回答「是」的受試者，或者對在過去12個月內自殺行為回答「是」的受試者界定為有自殺的嚴重風險。
16. 被認為與AD有關以外的伴隨精神病或神經學病症(例如頭部受傷伴隨意識喪失、症狀性中風、帕金森氏症、嚴重的頸動脈阻塞性疾病、TIA)。
17. 不受控癲癇的病史或存在。如果是癲癇病史，則必須對其進行良好控管，在基線之前的2年內沒有癲癇發作。如果在篩選前服用穩定劑量持續至少3個月，則允許使用抗癲癇藥。
18. 篩選前過去10年內的腦膜腦炎病史。
19. 有出血及/或非出血性中風病史的患者。
20. 周邊神經病變的存在或病史。
21. 潛在性涉及CNS的發炎性神經學病症的病史。
22. MRI掃描篩選顯示，替代性病理學的結構證據與可能引起患者的症狀的AD不符。除了直徑小於1 cm的良性腦膜瘤，超過兩個腔隙性梗塞或一個直徑大於1 cm的單個梗塞或任何單一淺表性鐵質沉著區域以外的佔位性病變的證據，或先前有大出血 ≥ 10 mm的證據。不論位置在哪裡，T2* MRI上的微出血最多允許10個。
23. 因為任何理由不能進行MRI檢查，包括但不限於MRI研究禁忌的金屬植入物及/或嚴重的幽閉恐懼症。
24. 嚴重的聽覺或視覺障礙，或經研究人員判定無法遵循規章與無法進行結果測量的相關其他問題。

25. 篩選前3個月內具有臨床重大感染或重大外科手術。參與研究期間預期要進行的計劃手術必須在篩選時經醫療監測員審查和批准。
26. 在基線前的過去兩個月內接受任何疫苗，包括流感疫苗。
27. 在篩選時，ECG具有臨床意義的心律不整或其他具有臨床意義的異常。
28. 在基線前的一年內的心肌梗塞，不穩定心絞痛或嚴重的冠狀動脈疾病。
29. 在過去5年內有癌症病史的患者，除了經治療鱗狀細胞癌，基底細胞癌和原位黑色素瘤，或已完全切除並認為已治癒的原位前列腺癌或原位乳癌以外。
30. 現場研究人員認為，與血液學參數，肝功能檢查和其他生化學測量的正常值在臨床上有顯著的偏差，這些偏差被認為具有臨床意義。
31. 如在篩選時或計劃懷孕或哺乳時依據血清測試證實懷孕的女性受試者。
32. 接受任何抗凝血藥物或抗血小板藥物的患者，除了劑量低於每天100 mg 的阿斯匹林以外(為了要避免在計劃性或非計劃性腰椎穿刺期間的出血風險)。
33. 接受抗精神病藥物的患者，除非服用穩定的低劑量供治療失眠用。
34. 在篩選之前的30天期間捐血或血液製品的患者，或計劃在參與研究時捐血的患者。
35. 在篩選時，與活動性梅毒相符的陽性VDRL (性病研究實驗室)。
36. 在篩選時，HIV檢測陽性的患者。
37. 在篩選時，如透過測試測定，帶有活動性B型肝炎及/或C型肝炎的患者。
38. 肌酐高於正常上限1.5x，異常甲狀腺功能檢查或血清B12或葉酸含量在臨床上顯著降低的患者(注意：在篩選前，所有口服劑量的甲狀腺替代藥物，B12或葉酸必須穩定持續至少3個月)。

【0279】 結果/結論：

【0280】 將評估以下主要評估指標：

【0281】 安全性和耐受性-不良事件，立即和延遲性反應原性(例如重度過敏，局部和全身反應原性，包括疼痛、發紅、免疫複合疾病、腫脹、發燒)；全面耐受性評估；自殺念頭(C-SSRS)；行為(NPI)；認知和功能評估(RBANS，CDR-SB)以評估安全性；生命徵象；MRI成像；心電圖；血液和尿液的常規血液學和生化學評估；評估血液中的自體免疫抗體，包括抗DNA抗體；血液和CSF中的發炎性標記。

【0282】 免疫反應-血清中的抗pTau IgG效價(幾何平均值、相對於基線的變化、反應率，峰和曲線下面積)。

【0283】 將評估以下次要評估指標：

【0284】 免疫反應-血清中的抗Tau IgG，抗pTau和抗Tau IgM效價(幾何平均值、相對於基線的變化、反應率，峰和曲線下面積)，透過結合性測試確定IgG反應概況。

【0285】 將評估以下探究性評估指標：

【0286】 相對於血液及/或CSF中的生物標記效價(例如總Tau和pTau蛋白)的基線的變化、相對於血液中T細胞活化位準的基線的變化、相對於血液中發炎性細胞因子(例如IL-1B、IL-2、IL-6、IL-8、IL-10，IFN- γ 和TNF- α)效價的基線的變化、相對於自殺念頭(C-SSRS)、行為(NPI)，認知和功能表現(RBANS，CDR- SB)評分的基線的變化。

【0287】 實例8：肌肉內注射比皮下注射誘發更為均一的免疫反應

【0288】 在第1天、第29天、第85天和第169天，分別藉由1800 μ g/劑量的ACI-35.030免疫接種來對數組恆河猴(每組n=3隻雄性與3隻雌性)進行肌肉內或皮下免疫。

【0289】 使用經改良的Greenberg和Davies方法(1991, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87(15):5827-31)，從由組織學確認為AD個體之犧牲後腦部組織，透過月桂醯肌胺酸萃取不可溶性tau，以獲得經富集之成對螺旋纖維(ePHF)的製

品。使用MesoScale Discovery (MSD)平台評估經富集之成對螺旋纖維(ePHF)的特異性抗體效價。MSD鏈親和素盤塗覆有生物素化的抗tau捕獲抗體(HT7-生物素, ThermoScientific), 然後與從AD患者所分離而來的ePHF一起孵育, 同時使用經SulfoTag標記的抗人類IgG抗體(與猴IgG抗體交叉反應)進一步偵測對ePHF具有特異性的IgG抗體。更具體地說, ePHF係添加到MSD Gold小點鏈親和素96孔盤(MSD)中, 該盤事先用1% BSA飽和並用生物素化HT-7 (Thermo Scientific)塗覆。孵育1小時後, 將該盤用PBST洗滌, 並添加連續稀釋的血清且孵育兩小時。使用經SulfoTag標記的抗人類IgG抗體偵測結合的抗體, 然後在添加Read Buffer T之前於1% PFA中進行固定步驟。使用Sector Imager (MSD)分析該盤。結果以每隻個別猴子的每毫升任意單位(AU/mL)以及每組的幾何平均值表示(圖4)。其顯示在第一次免疫接種後第50天, 第106天和第190天對ePHF具有特異性的抗體效價。

【0290】 圖4顯示微脂體疫苗誘發高的ePHF特異性IgG效價, 且肌肉內注射比皮下注射誘發更為均質的抗體反應。

序列表

SEQ ID NO: 1-磷酸-Tau胜肽(7.1)

GDRSGYS[pS]PG[pS]PG[pT]PGSRRT

SEQ ID NO: 2-磷酸-Tau胜肽(T3.5)

VYK[pS]PVVSGDT[pS]PRHL

SEQ ID NO: 3-磷酸-Tau胜肽(22.1)

SSTGSIDMVD[pS]PQLA[pT]LA

SEQ ID NO: 4-Tau胜肽(T3.6)

VYKSPVVSGDTSPRHL

SEQ ID NO: 5-磷酸-Tau胜肽

RENAKAKTDHGAEIVYK[pS]PVVSGDT[pS]PRHL

SEQ ID NO: 6-磷酸-Tau胜肽

RQEFEVMEDHAGT[pY]GL

SEQ ID NO: 7-磷酸-Tau胜肽

PGSRSR[pT]P[pS]LPTPPTR

SEQ ID NO: 8-磷酸-Tau胜肽

GYSSPG[pS]PG[pT]PGSRSR

SEQ ID NO: 9-磷酸-Tau胜肽

GDT[pS]PRHL[pS]NVSSTGSID

SEQ ID NO: 10-磷酸-Tau胜肽

PG[pS]PG[pT]PGSRSR[pT]P[pS]LP

SEQ ID NO: 11-磷酸-Tau胜肽

HL[pS]NVSSTGSID

SEQ ID NO: 12-磷酸-Tau胜肽

VSGDT[pS]PRHL

SEQ ID NO: 13-T50 T細胞表位

AKFVAAWTLKAAAVVRQYIKANSKFIGITELVVRFNFTVSWLRVPKV
SASHLE-NH₂

SEQ ID NO: 14-T46 T細胞表位

AKFVAAWTLKAAAGSQYIKANSKFIGITELGSFNFTVSWLRVPKVSA
SHLEK(Pal)K(Pal)-NH₂

SEQ ID NO: 15-T48輔助T細胞表位

AKFVAAWTLKAAAGSQYIKANSKFIGITELGSFNFTVSWLRVPKVSA
SHLEGLIN STKIYSYFPSVISKVNQ-NH₂

SEQ ID NO: 16-T51輔助T細胞表位

AKFVAAWTLKAAARRQYIKANSKFIGITELRRFNFTVSWLRVPKVSA
SHLE-NH₂

SEQ ID NO: 17-T52輔助T細胞表位

AKFVAAWTLKAAARKQYIKANSKFIGITELRKFNFTVSWLRVPKVSA
SHLE-NH₂

SEQ ID NO: 18 - CpG 2006 (也稱為CpG 7909)

5'-tcgtcgtttgcgttttgcgtt-3'

其中小寫表示硫代磷酸酯(ps)核苷酸間鍵結

SEQ ID NO: 19 - CpG 1018

5'-tgactgtgaacgttcgagatga-3'

其中小寫表示硫代磷酸酯核苷酸間鍵結

SEQ ID NO: 20 – CpG2395

5'-tcgtcgttttcggcgcgccg-3'

其中小寫表示硫代磷酸酯核苷酸間鍵結

SEQ ID NO: 21 – CpG2216

5'-ggGGGACGATCGTCgggggg-3'

其中小寫表示硫代磷酸酯核苷酸間鍵結而大寫表示磷酸二酯(po)鍵結

SEQ ID NO:22 – CpG2336

5'- gggGACGACGTCGTGgggggg -3',

其中小寫表示硫代磷酸酯核苷酸間鍵結而大寫表示磷酸二酯鍵結

SEQ ID NO:23 – 泛DR表位(PADRE)胜肽

AKFVAAWTLKAAA

SEQ ID NO:24 – P2

QYIKANSKFIGITEL

SEQ ID NO:25 – P30

FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE

SEQ ID NO: 26 - TT₅₈₆₋₆₀₅

LINSTKIYSYFPSVISKVNQ

SEQ ID NO: 27 – 棕櫚醯化磷酸-Tau胜肽(棕櫚醯化7.1)

K(pal)K(pal)GDRSGYS[pS]PG[pS]PG[pT]PGSRSTRK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 28 - 棕櫚醯化磷酸-Tau胜肽(T3，棕櫚醯化T3.5)

K(pal)K(pal)VYK[pS]PVVSGDT[pS]PRHLK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 29 - 棕櫚醯化磷酸-Tau胜肽(棕櫚醯化22.1)

K(pal)K(pal)SSTGSIDMVD[pS]PQLA[pT]LAK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 30 - 棕櫚醯化Tau胜肽

K(pal)K(pal)VYKSPVVSGDTSPRHLK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 31 - 棕櫚醯化磷酸-Tau胜肽

K(pal)K(pal)RENAKAKTDHGAEIVYK[pS]PVVSGDT[pS]PRHLK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 32 - 棕櫚醯化磷酸-Tau胜肽

K(pal)K(pal)RQEFVMEHDHAGT[pY]GLK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 33 - 棕櫚醯化磷酸-Tau胜肽

K(pal)K(pal)PGSRSR[pT]P[pS]LTPPTRK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 34 - 棕櫚醯化磷酸-Tau胜肽

K(pal)K(pal)GYSSPG[pS]PG[pT]PGSRSRK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 35 - 棕櫚醯化磷酸-Tau胜肽

K(pal)K(pal)GDT[pS]PRHL[pS]NVSSTGSIDK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 36 - 棕櫚醯化磷酸-Tau胜肽

K(pal)K(pal)PG[pS]PG[pT]PGSRSR[pT]P[pS]LPK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 37 - 棕櫚醯化磷酸-Tau胜肽

K(pal)K(pal)HL[pS]NVSSTGSIDK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 38 - 棕櫚醯化磷酸-Tau胜肽

K(pal)K(pal)VSGDT[pS]PRHLK(pal)K(pal)

SEQ ID NO:39 – 不具C-端醯胺的T50

AKFVAAWTLKAAAVVRQYIKANSKFIGITELVVRFNFTVSFWLRVPKV
SASHLE

SEQ ID NO: 40 – 在C-端不具-Lys(Pal)-Lys(Pal)-NH₂的T46

AKFVAAWTLKAAAGSQYIKANSKFIGITELGSFNNFTVSFWLRVPKVSA
SHLE

SEQ ID NO: 41 - 不具C-端醯胺的T48

AKFVAAWTLKAAAGSQYIKANSKFIGITELGSFNNFTVSFWLRVPKVSA
SHLEGLINSTKIYSYFPSVISKVNQ

SEQ ID NO: 42 - 不具C-端醯胺的T51

AKFVAAWTLKAAARRQYIKANSKFIGITELRRFNFTVSFWLRVPKVSA
SHLE

SEQ ID NO: 43 - 不具C-端醯胺的T52

AKFVAAWTLKAAARKQYIKANSKFIGITELRKFNFTVSVWLRVPKVSA
SHLE

SEQ ID NO: 44 - T57

AKFVAAWTLKAAAVVRQYIKANSKFIGITELVVRFNFTVSVWLRVPKV
SASHLE- K(Pal)K(Pal)-NH₂

【符號說明】

【0291】

無

序列表

<110> 美商健生醫藥公司 (Janssen Pharmaceuticals, Inc.)
瑞士商 AC 免疫學製藥股份有限公司 (AC Immune S.A.)

<120> 安全投予磷酸化 Tau 胜肽疫苗的方法

<130> 689001-66U1

<150> 62/802,870

<151> 2019-02-08

<160> 44

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 磷酸-tau 胜肽 7.1

<220>

<221> 磷酸化絲胺酸

<222> (8)..(8)

<220>

<221> 磷酸化絲胺酸

<222> (11)..(11)

<220>

<221> 磷酸化蘇胺酸

<222> (14)..(14)

<400> 1

Gly Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly
1 5 10 15

Ser Arg Ser Arg Thr
20

<210> 2
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 磷酸-tau 胜肽 T3.5

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (4)..(4)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (12)..(12)

<400> 2

Val	Tyr	Lys	Ser	Pro	Val	Val	Ser	Gly	Asp	Thr	Ser	Pro	Arg	His	Leu
1				5					10					15	

<210> 3
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 磷酸-tau 胜肽 22.1

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (11)..(11)

<220>
<221> 磷酸化蘇胺酸
<222> (16)..(16)

<400> 3

Ser	Ser	Thr	Gly	Ser	Ile	Asp	Met	Val	Asp	Ser	Pro	Gln	Leu	Ala	Thr
1				5					10					15	

Leu Ala

<210> 4
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> tau 胜肽

<400> 4

Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu
1 5 10 15

<210> 5
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 磷酸-tau 胜肽

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (18)..(18)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (26)..(26)

<400> 5

Arg Glu Asn Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr
1 5 10 15

Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu
20 25 30

<210> 6
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 磷酸-tau 胜肽

<220>
<221> 磷酸化酪胺酸
<222> (14)..(14)

<400> 6

Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly Thr Tyr Gly Leu
1 5 10 15

<210> 7
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 磷酸-tau 胜肽

<220>
<221> 磷酸化蘇胺酸
<222> (7)..(7)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (9)..(9)

<400> 7

Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg
1 5 10 15

<210> 8
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 磷酸-tau 胜肽

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (7)..(7)

<220>
<221> 磷酸化蘇胺酸
<222> (10)..(10)

<400> 8

Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg Ser Arg
1 5 10 15

<210> 9
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 磷酸-tau 胜肽

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (4)..(4)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (9)..(9)

<400> 9

Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser
1 5 10 15

Ile Asp

<222> (3)..(3)

<400> 11

His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser Ile Asp
1 5 10

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 磷酸-tau 胜肽

<220>

<221> 磷酸化絲胺酸

<222> (6)..(6)

<400> 12

Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu
1 5 10

<210> 13

<211> 55

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> T50 T細胞表位

<220>

<221> C-端醯胺

<222> (55)..(55)

<400> 13

Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala Val Val Arg
1 5 10 15

Gln Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Val
20 25 30

Val Arg Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys
35 40 45

Val Ser Ala Ser His Leu Glu
50 55

<210> 14
<211> 55
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> T46 T細胞表位

<220>
<221> 棕櫚鹽化離胺酸
<222> (54)..(54)

<220>
<221> 棕櫚鹽化離胺酸
<222> (55)..(55)

<220>
<221> C-端鹽胺
<222> (55)..(55)

<400> 14

Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala Gly Ser Gln
1 5 10 15

Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Gly Ser
20 25 30

Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val Ser
35 40 45

Ala Ser His Leu Glu Lys Lys
50 55

<210> 15
<211> 75
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> T48 輔助 T 細胞表位

<220>
<221> C-端醯胺
<222> (75)..(75)

<400> 15

Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala Gly Ser Gln
1 5 10 15

Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Gly Ser
20 25 30

Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val Ser
35 40 45

Ala Ser His Leu Glu Gly Ser Leu Ile Asn Ser Thr Lys Ile Tyr Ser
50 55 60

Tyr Phe Pro Ser Val Ile Ser Lys Val Asn Gln
65 70 75

<210> 16
<211> 53
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> T51 輔助 T 細胞表位

<220>
<221> C-端醯胺
<222> (53)..(53)

<400> 16

Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala Arg Arg Gln
1 5 10 15

Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Arg Arg
20 25 30

Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val Ser
35 40 45

Ala Ser His Leu Glu
50

<210> 17
<211> 53
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> T52 輔助 T 細胞表位

<220>
<221> C-端醯胺
<222> (53)..(53)

<400> 17

Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala Arg Lys Gln
1 5 10 15

Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Arg Lys
20 25 30

Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val Ser
35 40 45

Ala Ser His Leu Glu
50

<210> 18
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CpG 2006

<220>
<221> 硫代磷酸酯(ps)核苷酸間鍵結
<222> (1)..(24)

<400> 18
tcgtcgtttt gtcgttttgt cgtt 24

<210> 19
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CpG 1018

<220>
<221> 硫代磷酸酯(ps)核苷酸間鍵結
<222> (1)..(22)

<400> 19
tgactgtgaa cgttcgagat ga 22

<210> 20
<211> 22

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CpG 2395

<220>
<221> 硫代磷酸酯(ps)核苷酸間鍵結
<222> (1)..(22)

<400> 20
tcgtcgtttt cggcgcgcgc cg 22

<210> 21
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CpG 2216

<220>
<221> 硫代磷酸酯(ps)核苷酸間鍵結
<222> (1)..(3)

<220>
<221> 磷酸二酯(po)核苷酸間鍵結
<222> (3)..(14)

<220>
<221> 硫代磷酸酯(ps)核苷酸間鍵結
<222> (14)..(20)

<400> 21
gggggacgat cgtcgggggg 20

<210> 22
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> CpG 2336

<220>
<221> 硫代磷酸酯(ps)核苷酸間鍵結
<222> (1)..(4)

<220>
<221> 磷酸二酯(po)核苷酸間鍵結
<222> (4)..(15)

<220>
<221> 硫代磷酸酯(ps)核苷酸間鍵結
<222> (15)..(21)

<400> 22
ggggacgacg tcgtgggggg g 21

<210> 23
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 泛 DR 表位(PADRE)胜肽

<400> 23

Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala
1 5 10

<210> 24
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P2

<400> 24

Gln Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu
1 5 10 15

<210> 25
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P30

<400> 25

Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val Ser
1 5 10 15

Ala Ser His Leu Glu
 20

<210> 26
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TT586-605

<400> 26

Leu Ile Asn Ser Thr Lys Ile Tyr Ser Tyr Phe Pro Ser Val Ile Ser
1 5 10 15

Lys Val Asn Gln
 20

<210> 27
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 棕榈酰化磷酸-tau 胜肽(棕榈酰化 7.1)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (1)..(1)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (2)..(2)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (10)..(10)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (13)..(13)

<220>
<221> 磷酸化蘇胺酸
<222> (16)..(16)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (24)..(24)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (25)..(25)

<400> 27

Lys Lys Gly Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr
1 5 10 15

Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Lys Lys
20 25

<210> 28
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 棕櫚醯化磷酸-tau 胜肽(T3, 棕櫚醯化 T3.5)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (1)..(1)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (2)..(2)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (6)..(6)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (14)..(14)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (19)..(19)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (20)..(20)

<400> 28

Lys Lys Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg
1 5 10 15

His Leu Lys Lys
20

<210> 29
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 棕櫚醯化磷酸-tau 胜肽(棕櫚醯化 22.1)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸

<222> (1)..(1)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (2)..(2)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (13)..(13)

<220>
<221> 磷酸化蘇胺酸
<222> (18)..(18)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (21)..(21)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (22)..(22)

<400> 29

Lys Lys Ser Ser Thr Gly Ser Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu
1 5 10 15

Ala Thr Leu Ala Lys Lys
20

<210> 30
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 棕櫚醯化 tau 胜肽

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (1)..(1)

<220>

<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (2)..(2)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (19)..(19)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (20)..(20)

<400> 30

Lys Lys Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg
1 5 10 15

His Leu Lys Lys
 20

<210> 31
<211> 34
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 棕櫚醯化磷酸-tau 胜肽

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (1)..(1)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (2)..(2)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (20)..(20)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (28)..(28)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (33)..(33)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (34)..(34)

<400> 31

Lys Lys Arg Glu Asn Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile
1 5 10 15

Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu
20 25 30

Lys Lys

<210> 32
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 棕櫚醯化磷酸-tau 胜肽

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (1)..(1)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (2)..(2)

<220>
<221> 磷酸化酪胺酸
<222> (16)..(16)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (19)..(19)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (20)..(20)

<400> 32

Lys Lys Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly Thr Tyr
1 5 10 15

Gly Leu Lys Lys
20

<210> 33
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 棕櫚醯化磷酸-tau 胜肽

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (1)..(1)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (2)..(2)

<220>
<221> 磷酸化蘇胺酸
<222> (9)..(9)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (11)..(11)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (19)..(19)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸

<222> (20)..(20)

<400> 33

Lys Lys Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro
1 5 10 15

Thr Arg Lys Lys
20

<210> 34

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 棕櫚醯化磷酸-tau 胜肽

<220>

<221> 棕櫚醯化離胺酸

<222> (1)..(1)

<220>

<221> 棕櫚醯化離胺酸

<222> (2)..(2)

<220>

<221> 磷酸化絲胺酸

<222> (9)..(9)

<220>

<221> 磷酸化蘇胺酸

<222> (12)..(12)

<220>

<221> 棕櫚醯化離胺酸

<222> (19)..(19)

<220>

<221> 棕櫚醯化離胺酸

<222> (20)..(20)

<400> 34

Lys Lys Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg
1 5 10 15

Ser Arg Lys Lys
20

<210> 35
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 棕櫚醯化磷酸-tau 胜肽

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (1)..(1)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (2)..(2)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (6)..(6)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (11)..(11)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (21)..(21)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (22)..(22)

<400> 35

Lys Lys Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr
1 5 10 15

Gly Ser Ile Asp Lys Lys
20

- <210> 36
- <211> 21
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 棕櫚醯化磷酸-tau 胜肽

- <220>
- <221> 棕櫚醯化離胺酸
- <222> (1)..(1)

- <220>
- <221> 棕櫚醯化離胺酸
- <222> (2)..(2)

- <220>
- <221> 磷酸化絲胺酸
- <222> (5)..(5)

- <220>
- <221> 磷酸化蘇胺酸
- <222> (8)..(8)

- <220>
- <221> 磷酸化蘇胺酸
- <222> (15)..(15)

- <220>
- <221> 磷酸化絲胺酸
- <222> (17)..(17)

- <220>
- <221> 棕櫚醯化離胺酸
- <222> (20)..(20)

- <220>
- <221> 棕櫚醯化離胺酸
- <222> (21)..(21)

<400> 36

Lys Lys Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro
1 5 10 15

Ser Leu Pro Lys Lys
20

<210> 37
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 棕櫚醯化磷酸-tau 胜肽

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (1)..(1)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (2)..(2)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (5)..(5)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (15)..(15)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (16)..(16)

<400> 37

Lys Lys His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser Ile Asp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 38
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 棕櫚醯化磷酸-tau 胜肽

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (1)..(1)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (2)..(2)

<220>
<221> 磷酸化絲胺酸
<222> (8)..(8)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (13)..(13)

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸
<222> (14)..(14)

<400> 38

Lys Lys Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Lys Lys
1 5 10

<210> 39
<211> 55
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 不具 C-端醯胺的 T50

<400> 39

Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala Val Val Arg

1 5 10 15
Gln Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Val
 20 25 30

Val Arg Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys
 35 40 45

Val Ser Ala Ser His Leu Glu
 50 55

<210>	40
<211>	53
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>
<223> 不具棕櫚醯化離胺酸及 C-端醯胺的 T46

<400> 40

Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala Gly Ser Gln
1 5 10 15

Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Gly Ser
20 25 30

Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val Ser
35 40 45

Ala Ser His Leu Glu
50

<210>	41
<211>	75
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>

<223> 不具 C-端醯胺的 T48

<400> 41

Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala Gly Ser Gln
1 5 10 15

Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Gly Ser
20 25 30

Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val Ser
35 40 45

Ala Ser His Leu Glu Gly Ser Leu Ile Asn Ser Thr Lys Ile Tyr Ser
50 55 60

Tyr Phe Pro Ser Val Ile Ser Lys Val Asn Gln
65 70 75

<210> 42

<211> 53

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 不具 C-端醯胺的 T51

<400> 42

Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala Arg Arg Gln
1 5 10 15

Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Arg Arg
20 25 30

Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys Val Ser
35 40 45

<220>
<221> 棕櫚醯化離胺酸

<222> (57)..(57)

<220>

<221> C-端醯胺

<222> (57)..(57)

<400> 44

Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala Val Val Arg
1 5 10 15

Gln Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu Val
20 25 30

Val Arg Phe Asn Asn Phe Thr Val Ser Phe Trp Leu Arg Val Pro Lys
35 40 45

Val Ser Ala Ser His Leu Glu Lys Lys
50 55

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種有效量之微脂體用於製備在有需要的人類個體體內誘發抗磷酸化Tau抗體而不會引起嚴重不良事件的藥物之用途，該等微脂體包含類鐸受體4促效劑和Tau磷酸胜肽，該Tau磷酸胜肽包含選自由以下組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：2、5、9和12，其中該有效量之微脂體包含每劑量約25 nmole至約750 nmole或每劑量100 µg至2500 µg、每劑量300 µg至2400 µg、每劑量300 µg至1800 µg，或每劑量300 µg至900 µg之Tau磷酸胜肽，且該Tau磷酸胜肽呈現於微脂體表面上。

【請求項2】如請求項1之用途，其中該Tau磷酸胜肽由選自由SEQ ID NO：28、31、35和38組成之群組的胺基酸序列所組成。

【請求項3】如請求項1之用途，其中有效量之微脂體包含每劑量300 µg、每劑量900 µg、每劑量1800 µg或每劑量2400 µg的Tau磷酸胜肽。

【請求項4】如請求項1之用途，其中該等微脂體係皮下投予或肌肉內投予。

【請求項5】如請求項1之方法，其進一步包含在初始投予之後1至24週向該個體投予第二劑之有效量的微脂體。

【請求項6】如請求項1之用途，其中該微脂體進一步包含輔助T細胞表位和脂化CpG寡核苷酸，其中：

- a) 該脂化CpG寡核苷酸具有選自由SEQ ID NO：18至SEQ ID NO：22組成之群組的核苷酸序列，其中該CpG寡核苷酸具有一或多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結，且該CpG寡核苷酸係共價連接到至少一個親脂性基團，視情況係經由PEG連接子，其中該有效量的微脂體包含每劑量50 µg至1250 µg的量的該脂化CpG寡核苷酸，或每劑量150 µg至800 µg；且
- b) 該輔助T細胞表位包含選自由SEQ ID NO：13至SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：23至SEQ ID NO：26，以及SEQ ID NO：39至SEQ ID NO：44組成之群組的至少一胺基酸序列，其中該有效量的微脂體包含每

第 1 頁，共 2 頁(發明申請專利範圍)

劑量約2 nmole至約110 nmole的量、每劑量25 µg至625 µg、或每劑量75 µg至450 µg的該輔助T細胞表位。

【請求項7】 如請求項6之用途，其中該脂化CpG寡核苷酸由SEQ ID NO：18的核苷酸序列所組成。

【請求項8】 如請求項6之用途，其中該輔助T細胞表位是由SEQ ID NO：13的胺基酸序列所組成。

【請求項9】 如請求項1之用途，其中該微脂體進一步包含一或多種選自由以下組成之群組的脂質：1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, DMPC)，1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸醯基-3'-rac-甘油(1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoryl-3'-rac-glycerol, DMPG)及膽固醇。

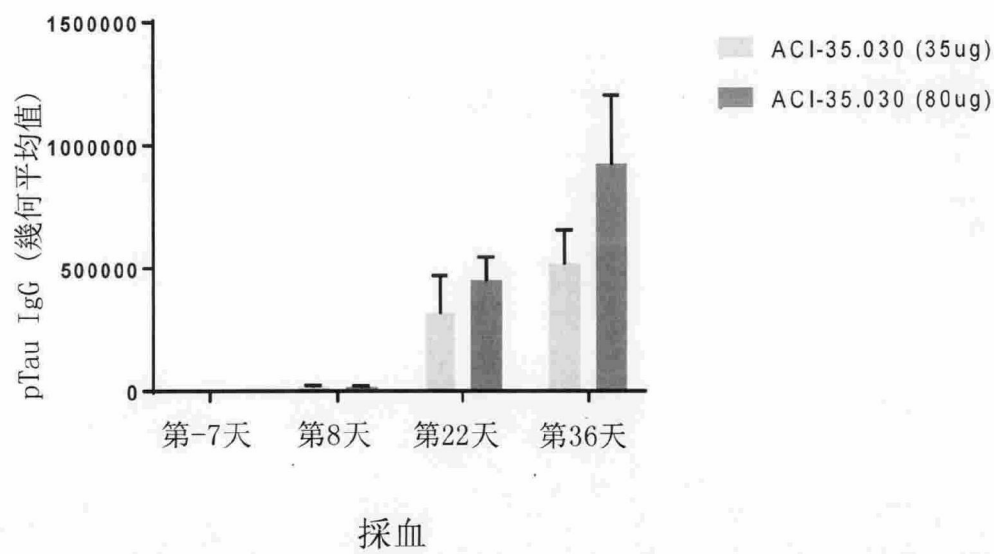
【請求項10】 如請求項6之用途，其中有效量的微脂體包含類鐸受體4促效劑，其量為每劑量30 µg至900 µg，或每劑量100 µg至585 µg，且該類鐸受體4促效劑為單磷酸醯基六-醯基脂質A，3-去醯基(monophosphoryl hexa-acyl Lipid A, 3-deacyl)。

【請求項11】 如請求項1之用途，其中該微脂體包含：

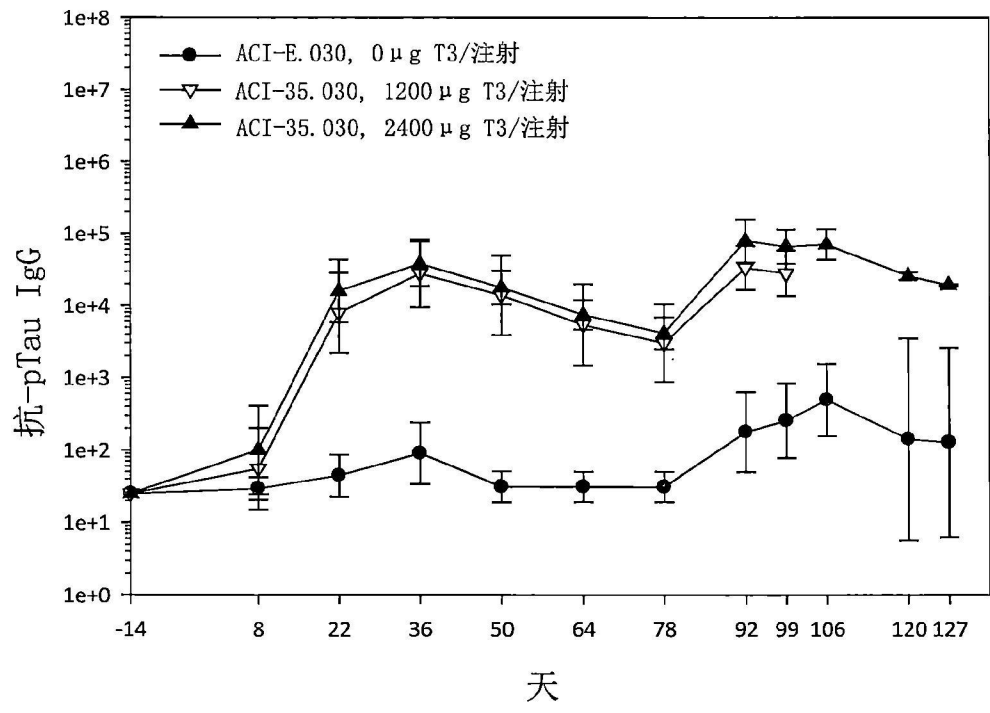
- (1) 具有SEQ ID NO：28之胺基酸序列的Tau磷酸胜肽；
- (2) 包含單磷酸醯基六-醯基脂質A，3-去醯基的類鐸受體4促效劑；
- (3) 包含SEQ ID NO：39之胺基酸序列的輔助T細胞表位；
- (4) 包含SEQ ID NO：18之核苷酸序列的脂化CpG寡核苷酸；以及
- (5) 至少一個選自由以下組成之群組的脂質：1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DMPC)，1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-磷酸醯基-3'-rac-甘油(DMPG)及膽固醇。

【請求項12】 如請求項1至11中任一項之用途，其中該個體需要治療阿茲海默症，其包含早期阿茲海默症、由阿茲海默症所引起的輕度認知障礙(MCI)，或輕度至中度阿茲海默症。

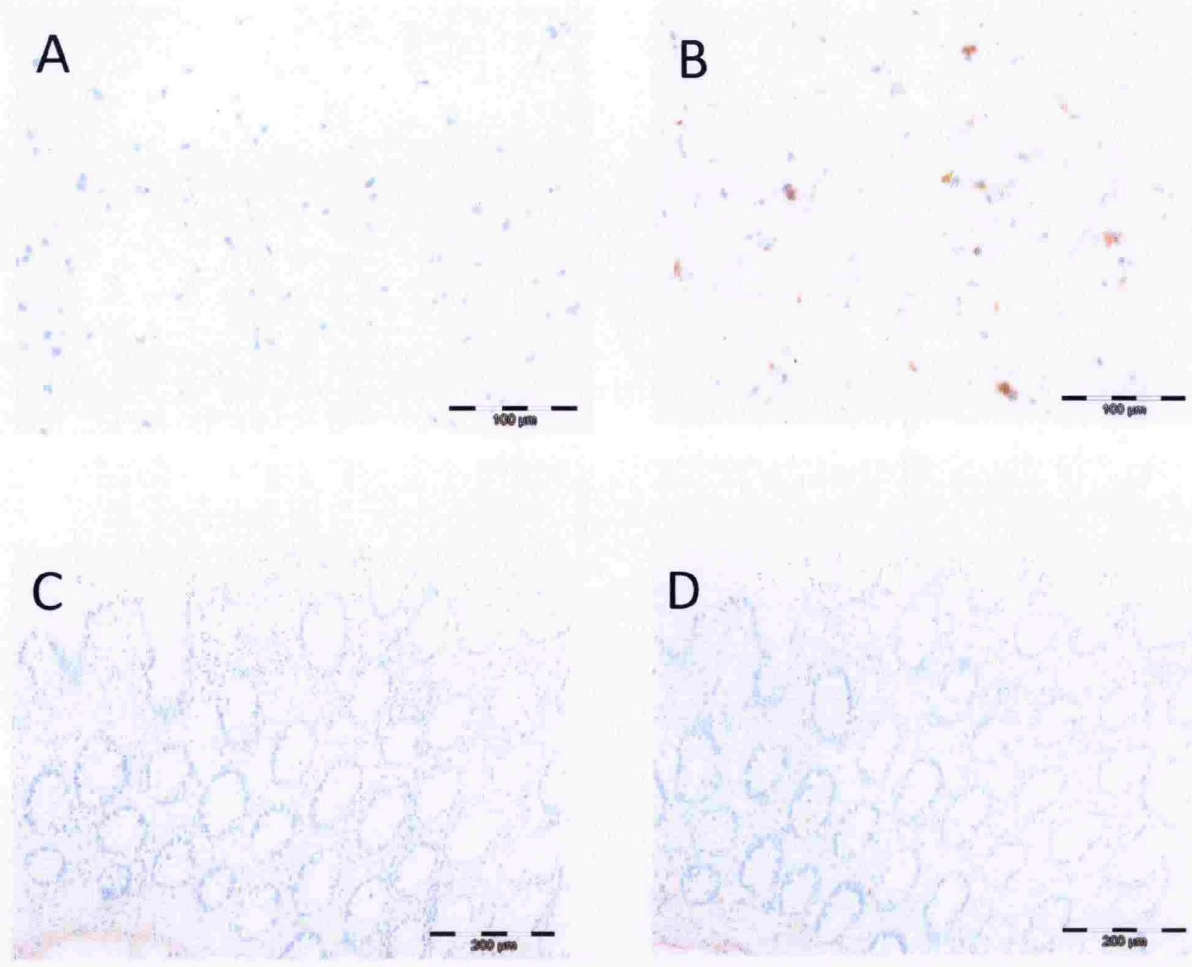
【發明圖式】



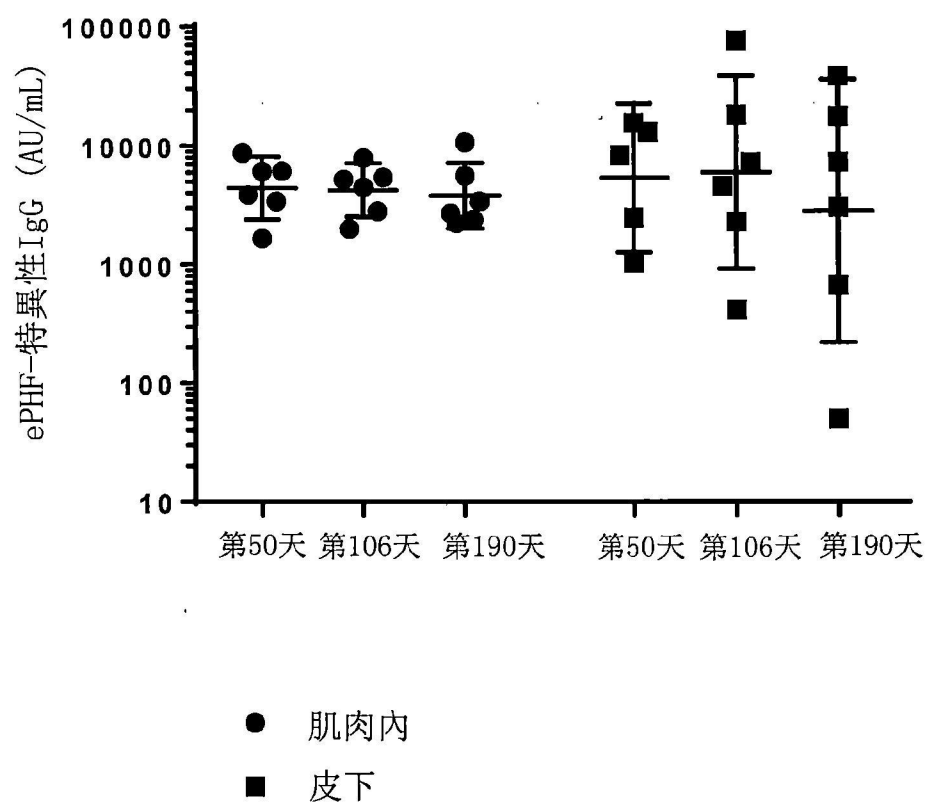
【圖1】



【圖2】



【圖3】



【圖4】