

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-534947
(P2024-534947A)

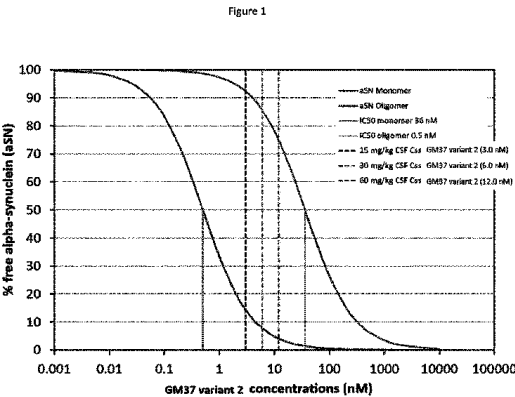
(43)公表日 令和6年9月26日(2024.9.26)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/18 (2006.01)	C 0 7 K	16/18	4 C 0 7 6	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N Z N A	4 C 0 8 5
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28		4 H 0 4 5
A 6 1 K	9/08 (2006.01)	A 6 1 K	9/08		
A 6 1 K	47/22 (2006.01)	A 6 1 K	47/22		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全134頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-515041(P2024-515041)	(71)出願人	591143065		
(86)(22)出願日	令和4年9月13日(2022.9.13)		ハー・ルドベック・アクチエゼルスカ		
(85)翻訳文提出日	令和6年4月11日(2024.4.11)		ベツト		
(86)国際出願番号	PCT/EP2022/075402		デンマーク国, 2 5 0 0 バルビー, オ		
(87)国際公開番号	WO2023/041524		ッテイリアベエイ, 9		
(87)国際公開日	令和5年3月23日(2023.3.23)	(74)代理人	100092783		
(31)優先権主張番号	21197120.5		弁理士 小林 浩		
(32)優先日	令和3年9月16日(2021.9.16)	(74)代理人	100120134		
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		弁理士 大森 規雄		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	100141195		
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(		弁理士 西澤 恵美子		
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A	(72)発明者	ニールセン ソダーバーグ, ジョセフィン		
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR		デンマーク国 2 5 0 0 バルビー, オッ		
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		テイリアベエイ 9 ハー・ルドベック		
	最終頁に続く		・アクチエゼルスカベツト内		
			最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 シヌクレイノパチーを治療するための組成物及び方法

(57)【要約】

本発明は、ヒトアルファシヌクレインに結合する抗体を含む安定且つ低粘度の液体医薬組成物、並びに好適な用量及び／又は投与レジメンを含む、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーを治療するためのヒトアルファシヌクレインに結合する抗体の使用のための方法に関する。シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの治療で使用するためのこれらの抗体は、本発明の安定且つ低粘度の液体医薬組成物で製剤化され得る。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

シヌクレイノパチー又は前駆症性シヌクレイノパチーの治療で使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体であって、前記使用が、前記モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体を、シヌクレイノパチーに罹患している、又はシヌクレイノパチーを発症するリスクがあるヒト対象に、1000mg～4500mgの用量で静脈内投与することを含み、前記モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体が、ヒトアルファシヌクレイン（配列番号10）のアミノ酸112～117（配列番号9（I L E D M P））の範囲内のエピトープに結合することができる完全長抗体である、使用のためのモノクローナル抗体。

10

【請求項 2】

治療がシヌクレイノパチーの治療であり、ヒト対象がシヌクレイノパチーに罹患している、請求項1に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 3】

治療が前駆症性シヌクレイノパチーの治療であり、ヒト対象がシヌクレイノパチーを発症するリスクがある、請求項1に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 4】

前記抗体が、約0.1～1.0nM、例えば、約0.5nMの、オリゴマー形態のアルファシヌクレインへの結合の推定KD値を有する、請求項1～3のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

20

【請求項 5】

前記抗体が、約30～40nMの、単量体形態のアルファシヌクレインへの結合のKD値及び約0.1～1.0nMの、オリゴマー形態のアルファシヌクレインへの結合の推定KD値を有し、それにより、単量体結合とオリゴマー結合との間の比が、約60～70倍の増強である、請求項1～4のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 6】

前記抗体が、約36nMの、単量体形態のアルファシヌクレインへの結合のKD値及び約0.5nMの、オリゴマー形態へのアルファシヌクレインへの結合の推定値を有し、それにより、単量体結合とオリゴマー結合との間の比が、約65倍の増強である、請求項1～5のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

30

【請求項 7】

前記抗体が、約28～30日のヒトT1／2を有する、請求項1～6のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 8】

前記抗体が、約36nMの、単量体形態のアルファシヌクレインへの結合のKD値及び0.5nMの、オリゴマー形態のアルファシヌクレインへの結合の推定KD値を有し、それにより、単量体結合とオリゴマー結合との間の比が約65倍の増強であり、抗体が約28～30日、例えば、29日のT1／2を有する、請求項1～7のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 9】

前記抗体が、
a. 配列番号1のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1と、
b. 配列番号34のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2と、
c. 配列番号3のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3と、
d. 配列番号4のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1と、
e. 配列番号5のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2と、
f. 配列番号6のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3と、
を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

40

【請求項 10】

前記抗体が、配列番号31の可変ドメインからなる重鎖及び配列番号8の可変ドメイン

50

からなる軽鎖を含む、請求項 1～9 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 1 1】

前記抗体が、ヒト抗体である、請求項 1～10 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 1 2】

前記抗体が、ヒト Ig G 1 抗体である、請求項 1～11 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 1 3】

前記抗体が、GM37 バリエント 2 である、請求項 1～12 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 1 4】

前記抗体が、配列番号 18 で定義される重鎖定常ドメイン及び配列番号 17 で定義されるカップ軽鎖定常ドメインを含む、請求項 1～13 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 1 5】

前記抗体が、4 週間毎に投与される、請求項 1～14 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 1 6】

前記抗体が、28～30 日毎に投与される、請求項 1～15 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 1 7】

前記抗体が、1 ヶ月に 1 回投与される、請求項 1～16 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 1 8】

前記抗体が、1050mg、2100mg 又は 4200mg の用量で投与される、請求項 1～17 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 1 9】

前記抗体が、4200mg の用量で投与される、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 2 0】

前記抗体が、静脈内注入によって 30 分±10 分にわたって投与される、請求項 1～19 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 2 1】

前記抗体が、少なくとも 3 nM、少なくとも 6 nM など、又は少なくとも 12 nM などの前記抗体の推定 CSF 平均定常状態濃度を達成するのに十分な量及び頻度で投与される、請求項 1～20 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 2 2】

前記抗体が、少なくとも 85%、少なくとも 90% など又は少なくとも 95% などの CSF 中のアルファシヌクレインのオリゴマー形態に対する推定ターゲットエンゲージメントを達成するのに十分な量及び頻度で投与される、請求項 1～21 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 2 3】

前記シヌクレイノパチーが、パーキンソン病 (PD)、レビー小体型認知症 (DLB)、又は多系統萎縮症 (MSA) である、請求項 1～2 又は 4～22 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 2 4】

前記シヌクレイノパチーが、多系統萎縮症 (MSA)、例えば、確実な (possible) MSA、ほぼ確実な (probable) MSA、MSA タイプ C、MSA タイプ P、臨床的に確実な (clinically established) MSA 又は臨床的にほぼ確実な (clinically pro

10

20

30

40

50

bable) M S A から選択される M S A サブタイプである、請求項 1 ～ 2 又は 4 ～ 2 3 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 2 5】

シヌクレイノパチーの治療が、疾患進行を遅延させることからなる、請求項 1 ～ 2 又は 4 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 2 6】

前駆症性シヌクレイノパチーの治療が、疾患発症を遅延させることからなる、請求項 1 又は 3 ～ 2 2 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナル抗体。

【請求項 2 7】

完全長 I g G 1 モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体を 2 5 ～ 2 2 5 m g / m L の濃度で含む液体医薬組成物であって、前記抗体が、

- a . 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 1 と、
- b . 配列番号 3 4 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 2 と、
- c . 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 3 と、
- d . 配列番号 4 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 1 と、
- e . 配列番号 5 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 2 と、
- f . 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 3 と、を含み、

組成物が、ヒスチジン緩衝液、薬学的に許容される等張化剤、薬学的に許容される界面活性剤を更に含み、組成物の p H が 5 . 5 ～ 6 . 5 である、液体医薬組成物。

【請求項 2 8】

等張化剤が、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、デキストロース、トレハロース、塩化ナトリウム (N a C l) 、塩化カリウム (K C l) 、グリセロール又はグリセリンから選択される、請求項 2 7 に記載の液体医薬組成物。

【請求項 2 9】

等量化剤が、塩化ナトリウム (N a C l) である、請求項 2 7 又は 2 8 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 3 0】

等張化剤が、約 1 0 0 m M の濃度の塩化ナトリウム (N a C l) である、請求項 2 7 ～ 2 9 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 3 1】

界面活性剤が、ポリソルベート 2 0 、ポリソルベート 8 0 、ポロキサマー 1 8 8 又は T r i t o n X - 1 0 0 から選択される、請求項 2 7 ～ 3 0 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 3 2】

界面活性剤が、約 0 . 0 2 % の量のポリソルベート 8 0 である、請求項 2 7 ～ 3 1 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 3 3】

ヒスチジン緩衝液の濃度が、約 2 5 m M である、請求項 2 7 ～ 3 2 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 3 4】

p H が 6 . 0 である、請求項 2 7 ～ 3 3 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 3 5】

モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体濃度が、約 3 0 ～ 2 2 0 m g / m L である、請求項 2 7 ～ 3 4 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 3 6】

モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体濃度が、約 4 5 ～ 5 5 m g / m L である、請求項 2 7 ～ 3 5 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 3 7】

モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体濃度が、約 5 0 ～ 5 5 m g / m L である、請求項 2 7 ～ 3 6 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 38】

モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体濃度が、約 53 mg/mL である、請求項 27～37 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 39】

組成物が、スクロース、トレハロース、グルコース、ラクトース、ソルビトール、マンニトール、グリセロール、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、グルタメート、リジン、グリシン、ヒスチジン、メチオニン、アラニン、ゼラチン、PVP、PLGA、PEG、デキストラン、シクロデキストリン及び誘導体、デンプン誘導体、HSA 又は BSA から選択される少なくとも 1 つの増量剤を更に含む、請求項 27～38 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

10

【請求項 40】

増量剤が、 $100 \sim 200 \text{ mM}$ の濃度のアルギニン、グルタメート、スクロース、グリシン又はソルビトールである、請求項 39 に記載の液体医薬組成物。

【請求項 41】

増量剤が、 100 mM の濃度のスクロースである、請求項 39 又は 40 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 42】

$53 \pm 5 \text{ mg/mL}$ のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、 1.40 mg/mL の L-ヒスチジン、 3.34 mg/mL の L-ヒスチジン塩酸塩、 34.16 mg/mL のスクロース、 5.83 mg/mL の塩化ナトリウム (NaCl)、 0.20 mg/mL のポリソルベート 80 を $\text{pH } 6.0$ で含む、請求項 27～41 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

20

【請求項 43】

53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、 25 mM のヒスチジン緩衝液、 100 mM のスクロース、 100 mM の塩化ナトリウム (NaCl) 及び 0.02% のポリソルベート 80 を含むか、又は前記値の $+/-10\%$ 以内の各成分の量を有し、且つ 6.0 若しくは前記値の $+/-10\%$ 以内の pH を有する、請求項 27～41 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 44】

53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、 25 mM のヒスチジン緩衝液、 100 mM のスクロース、 100 mM の塩化ナトリウム (NaCl) を含むか、又は前記値の $+/-20\%$ 以内の各成分の量を有し、及び 0.02% のポリソルベート 80 を含むか、又は前記濃度の $+/-30\%$ 以内の濃度を有し、且つ 6.0 若しくは前記値の $+/-20\%$ 以内の pH を有する、請求項 27～41 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

30

【請求項 45】

53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、 25 mM のヒスチジン緩衝液、 100 mM のスクロース、 100 mM の塩化ナトリウム (NaCl) を含むか、又は前記値の $+/-10\%$ 以内の各成分の量を有し、及び 0.02% のポリソルベート 80 を含むか、又は前記濃度の $+/-20\%$ 以内の濃度を有し、且つ 6.0 若しくは前記値の $+/-10\%$ 以内の pH を有する、請求項 27～41 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

40

【請求項 46】

前記液体医薬組成物が、安定な液体医薬組成物である、請求項 27～45 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 47】

前記液体医薬組成物が、 $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ で保存される場合、少なくとも 12 ヶ月間安定である、請求項 27～46 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 48】

前記液体医薬組成物が、 $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ で保存される場合、少なくとも 24 ヶ月間安定であ

50

る、請求項 27～47 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 49】

前記液体医薬組成物が、 $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ で保存される場合、少なくとも 36 ヶ月間安定である、請求項 27～48 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 50】

前記液体医薬組成物が、低粘度の液体医薬組成物である、請求項 27～49 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 51】

前記液体医薬組成物が、20 cP 未満の粘度を有する低粘度の液体医薬組成物である、請求項 27～50 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

10

【請求項 52】

前記液体医薬組成物が、10 cP 未満の粘度を有する低粘度の液体医薬組成物である、請求項 27～51 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物。

【請求項 53】

前記抗体が、請求項 27～52 のいずれか一項に記載の液体医薬組成物のいずれか 1 つで製剤化される、請求項 1～26 のいずれか一項に記載の使用のためのモノクローナルアルファシヌクレイン抗体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

20

本発明は、ヒトアルファシヌクレインに結合する抗体を含む安定且つ低粘度の液体医薬組成物並びに好適な用量及び／又は投与レジメンを含む、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性 (prodromal) シヌクレイノパチーを治療するためのヒトアルファシヌクレインに結合する抗体を使用するための方法に関する。シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの治療で使用するためのこれらの抗体は、本発明の安定且つ低粘度の液体医薬組成物に製剤化され得る。

【0002】

配列表の参照

本出願は、コンピュータ可読媒体に開示されている 1 つ以上の配列表 (2022 年 8 月 3 日に作成され、18 KB のサイズを有するファイル名: 「1264-WO-PC T Seq list ST26. xml」) を含み、このファイルは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

30

【背景技術】

【0003】

抗体などの生物学的製剤は、疾患の診断及び治療に対して益々利用されるようになっていく。モノクローナル抗体は、医薬品有効成分 (API) として魅力的であり、それらが高い均質性及び抗原特異性を有しながら、一般に好ましい副作用プロファイルを有するためである。

【0004】

モノクローナル抗体は従来の小分子薬剤よりも大きく、より複雑である。これらの特性により、そのようなモノクローナル抗体を含む医薬製剤の開発には、いくつかの課題が存在する。モノクローナル抗体が臨床用途において、生物学的に活性であり続けるために、そのような抗体を含む医薬製剤は、抗体のアミノ酸のコア配列の立体構造の完全性を保存し、そのままの状態に保ち、それと同時に抗体の多数の官能基が分解することを防がなければならない。抗体についての分解経路は、化学的不安定性 (例えば、新しい化学実体をもたらす結合の形成又は切断による抗体の改変を伴う任意のプロセス) 又は物理的不安定性 (例えば、抗体のより高次の構造における変化) を伴い得る。化学的不安定性は、例えば、脱アミド、ラセミ化、加水分解、酸化、ベータ脱離又はジスルフィド交換から生じ得る。物理的不安定性は、例えば、変性、凝集、沈殿又は吸着から生じ得る。

40

【0005】

50

シヌクレイノパチーは、レビー小体と呼ばれる病理学的アルファシヌクレイン凝集体の神経封入体によって特徴付けられる障害を指す。シヌクレイノパチーには、パーキンソン病（PD）（パーキンソン病の突発性形態及び遺伝形態を含む）及びびまん性レビー小体（DLB）病（レビー小体型認知症（DLB）、アルツハイマー病のレビー小体変異（LBV）、混合型アルツハイマー病及びパーキンソン病（CAPD）、純粋自律神経機能不全（PAF）並びに多系統萎縮症（MSA；例えば、オリブ橋小脳萎縮症、線条体黒質変性及びシャイ・ドレーガー症候群）としても知られる）が挙げられる。

【0006】

アルファシヌクレインは、通常はシナプスと関連し、シナプス小胞の放出の制御において役割を果たし、それによって神経コミュニケーション、可塑性、学習、記憶に影響を与えると考えられている。シヌクレイノパチーの状態は、アルファシヌクレインの凝集体と関連していることが広く示されているが、アルファシヌクレインの正確な病理学的種は不明なままである。オリゴマーからフィブリルに至るまで、様々な異常に折り畳まれた／凝集された／分泌された種、及び様々な翻訳後修飾が毒性に関連しているが、もし実際に毒性のある種が単一であるとしたら、どれが最も重要であるかについては意見の一致はない。

10

【0007】

国際公開第2017／009312号パンフレットに開示されている抗体は、選択的スプライシング、又は短縮化などの翻訳後修飾によって形成される全ての既知の主要な種、並びにオリゴマー形態及びフィブリル状形態を含むアルファシヌクレインの多数の種に結合する。そのような抗体は、シヌクレイノパチーなどのアルファシヌクレインに関与する疾患、並びに／又は中枢神経系におけるアルファシヌクレインの異常な蓄積若しくは沈着に関与する状態の治療及び／又は診断に有用であると考えられている。国際公開第2017／009312号パンフレットに開示されている抗体を生成する方法もまた、これらの抗体の様々な機能的及び構造的特徴と同様に、同じ用途において開示されている。

20

【0008】

これらのモノクローナル抗体を臨床現場において利用するために、そのような抗体に好適且つ適切な投薬レジメン、並びにそのような抗体を含む好適且つ適切な医薬製剤が必要とされている。

【0009】

シヌクレイノパチーにおける病理学的標的が、アルファシヌクレインの異常に折り畳まれ、凝集された種であるので、有効な投与レジメンは治療中にそのような種の十分な標的化を提供せねばならない。好ましいシナリオでは、このようなアルファシヌクレインの凝集形態との直接的なターゲットエンゲージメントの実験による確認は、治療中に確認されるべきである。しかしながら、シヌクレイノパチーを有する患者のCSF及び血漿中の病理学的アルファシヌクレイン種の存在量が非常に少ないために、いかなるそのような信頼性のある実験による確認も現在不可能である。このアルファシヌクレインの病理学的種（凝集形態及びオリゴマー形態）の低い存在量、したがって、ターゲットエンゲージメントの信頼できる定量化の欠如のために、血漿及びCSFなどの患者からの生体試料におけるターゲットエンゲージメントに基づく実験的に誘導された用量設定が妨げられている。したがって、そのような抗体に対する好適且つ適切な投薬レジメンを特定するために、アルファシヌクレインの凝集形態とのそのようなターゲットエンゲージメントを決定又は予測するための方法が必要とされている。

30

40

【発明の概要】

【0010】

本発明の発明者らは、アルファシヌクレインの凝集種に対するCSF中のターゲットエンゲージメントを予測し、したがって、特異的抗アルファシヌクレイン抗体に対する関連する投与レジメンを確立するための方法を見出した。したがって、本発明の目的は、特異的抗アルファシヌクレイン抗体の投与レジメンを提供することである。投与レジメンは、CSF中の病理学的アルファシヌクレイン種とのターゲットエンゲージメントを提供する

50

投薬レジメンを確立することを可能にする関連するモデルに基づいている。更に、アルファシヌクレインに対するそのようなモノクローナル抗体を含む薬学的に許容され、且つ臨床的に有用な液体製剤を提供することも本発明の目的である。

【0011】

本発明は、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーを治療するために、本明細書に記載されるモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体を利用する方法を提供する。この方法は、当該抗体の臨床的有用性のための必須要素、すなわち、臨床的に関連する投与レジメン及びシヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーに罹患している患者に投与することができる当該抗体を含む好適な液体医薬組成物を提供する。

【0012】

本発明は、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの治療で使用するためのヒトアルファシヌクレインに対するモノクローナル抗体の好適な投薬レジメンに関する。更に、本発明は、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体を含む液体医薬組成物に関し、その液体製剤は、保存時に安定であり、低い粘度を有することによって特徴付けられる。

【0013】

治療用モノクローナル抗体のための適切な用量設定は、患者の安全性を維持しながら治療的に活性な用量を提供するために重要であり、好ましくは、投薬レジメンはまた、患者が治療されるためにも便利である。

【0014】

本発明の発明者らは、血液又はCSF試料中の抗アルファシヌクレイン抗体とオリゴマーアルファシヌクレインとの間のターゲットエンゲージメントの測定のための信頼性の高い方法が現在欠如しているにも関わらず、そのような投薬レジメンを提供するための方法を見出すことができた。アルファシヌクレインの凝集／オリゴマー／フィブリル種（本明細書では、互換的に使用される）は、CSF又は血漿試料中に非常に少量存在するだけであり、したがって、ターゲットエンゲージメントは、例えば、治療又は臨床試験中に実験的に確実に確認することができない。したがって、CSF中のアルファシヌクレインのオリゴマー形態に対する関連するターゲットエンゲージメントを確実にし、したがって、臨床的有効性を確実にする特異的抗アルファシヌクレイン抗体の関連する投与レジメンの確立は、異なるアルファシヌクレイン種に対する当該抗体の精巧な結合プロフィール及びヒト薬物動態などの各抗体の特異性に関する深い知識に基づいて、複雑なモデリングを利用する必要がある。したがって、本発明の目的は、CSF中の病理学的アルファシヌクレイン種とのターゲットエンゲージメントを確実にする投薬レジメンを確立することを可能にする関連するモデリングに基づいて、特異的抗アルファシヌクレイン抗体の投与レジメンを提供することである。その結果、本明細書に提供される投与レジメンは、ヒトアルファシヌクレインの病理学的（凝集型及びオリゴマー型）の形態に対する特異的モノクローナル抗体の臨床的使用を可能なものにする。

【0015】

本発明の投与レジメンについての理論的根拠は実験セクションに記載され、実施例1に概説されている。

【0016】

一態様では、本発明は、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの治療で使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体を提供し、当該使用は、当該抗アルファシヌクレイン抗体をシヌクレイノパチーに罹患しているか、又はシヌクレイノパチーを発症するリスクがあるヒト対象に、700mg超且つ7000mg未満の用量、900mg～5000mgなど、又は1000mg～4500mgなどの用量で静脈内投与することを含み、当該モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、ヒトアルファシヌクレイン（配列番号10）のアミノ酸112～117（配列番号9（ILEDM P））の範囲内のエピトープに結合する完全長抗体である。

【0017】

別の態様では、本発明は、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーを治療する方法を提供し、当該方法は、治療を必要とするヒト対象に、700mg超且つ7000mg未満の用量、900mg～5000mgなど、又は1000mg～4500mgなどの用量で静脈内投与することを含み、当該ヒト対象は、シヌクレイノパチーに罹患しているか、又はシヌクレイノパチーを発症するリスクがあり、当該モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、ヒトアルファシヌクレイン（配列番号10）のアミノ酸112～117（配列番号9（ILEDMP））の範囲内のエピトープに結合する完全長抗体である。

【0018】

更に別の態様では、本発明は、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体の、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの治療用の医薬品の製造のための使用を提供し、当該使用は、当該抗アルファシヌクレイン抗体をシヌクレイノパチーに罹患しているか、又はシヌクレイノパチーを発症するリスクがあるヒト対象に、700mg超且つ7000mg未満の用量、900mg～5000mgなど、又は1000mg～4500mgなどの用量で静脈内投与することを含み、当該モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体が、ヒトアルファシヌクレイン（配列番号10）のアミノ酸112～117（配列番号9（ILEDMP））の範囲内のエピトープに結合する完全長抗体である。

【0019】

これらの態様の一実施形態では、本発明は、パーキンソン病（PD）（パーキンソン病の突発性形態及び遺伝形態を含む）、ゴーシェ病（GD）、びまん性レビー小体病（DLBD）、レビー小体型認知症（DLB）、アルツハイマー病のレビー小体変異（LBV）、混合型アルツハイマー病及びパーキンソン病、純粋自律神経機能不全又は多系統萎縮症（MSA）、例えば、確実なMSA（possible MSA）、ほぼ確実なMSA（probable MSA）、MSAタイプC、MSAタイプP、臨床的に確実なMSA（固縮MSA）若しくは臨床的にほぼ確実なMSA（clinically probable MSA）などのシヌクレイノパチーを治療するための好適な投薬レジメンを提供する。

【0020】

これらの態様の別の実施形態では、本発明は、シヌクレイノパチーを発症するリスクがあるヒト対象において、前駆症性シヌクレイノパチーを治療するための好適な投薬レジメンを提供し、当該ヒト対象は、レム睡眠行動障害（RBD）、例えば、孤立性RBD（iRBD）、嗅覚障害、例えば、嗅覚鈍麻、神経心理検査における異常な認知能力、客観的な検査によって評価される微妙な運動機能障害若しくは異常な運動能力、異常色覚、自律神経機能障害（例えば、便秘、排尿症状、勃起不全、起立性低血圧など）、被殻及び線条体における黒質線条体ドーパミン作動性結合の減少（異常DAT-SPECT）、脂漏性皮膚炎、又は増加する表現型変換リスクに関連する遺伝子型、例えば、グルコセレブロシダーゼにおける突然変異（GBA遺伝子によってコードされる）などの前駆症性シヌクレイノパチーの1つ以上の臨床マーカーを示すことによって特定可能である。

【0021】

特定の実施形態では、本発明は、モノクローナル抗体GM37、及びそのバリエーション；GM37バリエーション1、GM37バリエーション2、及びGM37バリエーション3に好適な投薬レジメンを提供し、そのような抗体、それらの製造のための方法、及びそれらの特性は、全て国際公開第2017/009312号パンフレットに開示されている。

【0022】

これらの態様の特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、3～5週間毎に、例えば、約4週間毎に又は1ヶ月に1回、例えば、28日～30日毎に投与される。

【0023】

これらの態様の特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、約750mg、約1050mg、約1400mg、約17

10

20

30

40

50

50 mg、約 2100 mg、約 2450 mg、約 2800 mg、約 3150 mg、約 3500 mg、約 3850 mg、約 4200 mg、約 4550 mg、約 4900 mg、約 5250 mg、約 5600 mg、約 5950 mg、約 6300 mg、又は約 6650 mg の用量で投与される。更に特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、1050 mg、2100 mg 又は 4200 mg の用量で投与される。

【0024】

一態様では、本発明は、完全長 IgG1 モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体を 20 ~ 230 mg / mL、例えば、25 ~ 225 mg / mL の濃度で含む液体医薬組成物に関し、当該抗体は、

10

- a. 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR1 と、
- b. 配列番号 34 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR2 と、
- c. 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR3 と、
- d. 配列番号 4 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR1 と、
- e. 配列番号 5 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR2 と、
- f. 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR3 と、を含み、

組成物は、緩衝剤、薬学的に許容される等張化剤、薬学的に許容される界面活性剤を更に含み、組成物の pH は、4.5 ~ 7.5、5.0 ~ 7.0 など、5.5 ~ 6.5 など、6.0 などである。

【0025】

20

これらの態様及び実施形態に適用する本発明の他の特徴及び利点は、以下の本発明の詳細な説明、実験セクションから、及び特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図 1】本発明の用量及び CSF 曝露及び遊離アルファシヌクレイン % の間の予測された関係を示す。

【図 2】競合 ELISA アッセイの原理を示す。増加する濃度のアルファシヌクレイン (aSN) 単量体又はフィブリルとのプレインキュベーション後に、遊離 IgG が被覆 aSN 単量体によって結合され、抗ヒト IgG (H+L) HRP 標識抗体で検出される (左側)。aSN 単量体又はフィブリル濃度と反比例する捕捉された IgG レベルが相対発光単位としてプロットされ、4 パラメーター非線形フィットを使用して計算される (右側)。

30

【図 3】単量体 ($R^2 = 0.9895$) 及びフィブリル状 aSN ($R^2 = 0.994$) に対する代表的 GM37 バリエント 2 結合曲線を示す。

【図 4-a】各用量レベルでの GM37 v2 の単回投与後の健康な対象 (a) 及び患者 (b) についての GM37 バリエント 2 の血漿濃度の中央値 (四分位数を含む) (ng / mL) 対時間を示す。

【図 4-b】上記と同じ。

【図 5】核用量レベルでの用量補正した GM37 バリエント 2 の血漿濃度対時間 (ログスケール) を示す。

【図 6-a】各用量レベルでの GM37 v2 の単回投与後の健康な対象 (a) 及び患者 (b) についての遊離アルファシヌクレインの血漿濃度対時間を示す。

40

【図 6-b】上記と同じ。

【図 7-a】各用量レベルでの GM37 v2 の単回投与後の健康な対象 (a) 及び患者 (b) についての遊離 / 総アルファシヌクレインの血漿濃度対時間を示す。

【図 7-b】上記と同じ。

【図 8】遊離 / 総アルファシヌクレインの血漿濃度対個々の GM37 バリエント 2 血漿濃度を示す。

【図 9】4 つの抗体 GM37 wt、GM37 var1、GM37 var2 及び GM37 var3 のヒトアルファシヌクレインへの結合を測定する競合 ELISA を示す。アルファシヌクレインで被覆されたプレートを使用して、核抗体 (0.3 µg / mL) の増加する

50

濃度のアルファシヌクレイン（0～1000nM）との溶液中のブレインキュベーション後に残っている抗体の量を検出する。全ての4つの抗体は、アルファシヌクレインに対して同様な結合を示す。

【図10】病理学的アルファシヌクレインフィブリル状シードで処置したネズミ一次ニューロンにおけるリン酸化アルファシヌクレインレベルに対する抗アルファシヌクレイン抗体の効果を比較する。一次ニューロンを、本発明に従って使用するための4つの抗体GM37、GM37var1、GM37var2及びGM37var3（2μg）の存在下又は非存在下で、シード（10ng）で処置した。3週間後にニューロンを固定し、染色して、Cellomics ARRAYSCAN（商標）によってアルファシヌクレインホスホセリン129陽性スポットについて分析した。シード単独又はシード+アイソタイプコントロール抗体（B12）で処置した細胞は、リン酸化レベルの大幅な増加を示す。GM37wt及び3つのバリエーションで処置した細胞は、アルファシヌクレインのリン酸化を阻害することができ、それらは全て、シードを受容しなかった細胞と同じレベルのリン酸化を示す。データは、5つのウェルにおけるウェル当たり7つ画像から決定された平均値±SDとして示されている。N=2である。

【図11】実施例3に記載される試験の3日目及び21日目でのGM37v2投与による、パーキンソン病（PD）の患者における遊離／総アルファシヌクレインの%のCSF濃度を示す（N=15）。

【発明を実施するための形態】

【0027】

定義

用語「完全長抗体」は、完全長（全）抗体又は実質的に全長の抗体フォーマットを指すように意味する。この用語は、特に、Fc領域を含有する重鎖を有する抗体を指す。天然由来の抗体は、典型的には、通常、少なくとも2つの重（H）鎖と少なくとも2つの軽（L）鎖から構成される四量体を含む。各重鎖は、重鎖可変ドメイン（本明細書ではVHと略記される）と、通常3つのドメイン（CH1、CH2及びCH3）から構成される重鎖定常ドメインとから構成される。重鎖は、例えば、IgGアイソタイプ（IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4サブタイプ）から選択され得る。各軽鎖は、軽鎖可変ドメイン（本明細書ではVLと略記される）と、軽鎖定常ドメイン（CL）とから構成される。軽鎖は、カッパ鎖及びラムダ鎖を含む。VH及びVL領域は、「フレームワーク領域」（FR）と呼ばれるより保存された配列の領域と散在する、「補完性決定領域」と呼ばれる、超可変性の領域に更に細分化され得る。各VH及びVLは、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって、次の順序：FR1－CDR1－FR2－CDR2－FR3－CDR3－FR4（又はJ－領域）で配置された3つのCDRドメイン及び4つのFRドメインから構成される。重鎖及び軽鎖の可変ドメインは、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。いくつかの実施形態では、本発明の実施形態の完全長抗体は、日米EU医薬品規制調和国際会議（International Conference on Harmonization（ICH））Q6Bに従う「目的物質関連物質（Product-related substances）」として分類することができる抗体バリエーションを含み、目的物質関連物質は、「製造中及び／又は保存中に形成される目的の製品の分子バリエーションで、活性があり、製品の安全性及び有効性に悪影響を及ぼさないもの、且つ生物活性、有効性及び安全性の点で目的物質に匹敵する特性を持たないものである」と定義されている。本発明に従って使用するためのそのような抗体の分子バリエーションは、例えば、例えば、N末端ピログルタミン酸（pyroGlu）など、短縮化など、又は軽鎖若しくは重鎖のシグナルペプチドの不完全な除去などのN末端修飾、アスパラギン（Asn）脱アミド化、アスパラギン酸（Asp）異性化、スクシンイミド、酸化などの酸化、遊離システイン（Cys）残基など、交互ジスルフィド結合（スクランプリング）など、トリスルフィド結合など、チオエーテルの形成など、又はシステインラセミ化などのシステイン関連修飾、グリコシル化、糖化、C末端Lysの除去など、C末端Lys及びGlyの両方の除去など、又はC末端アミド化などのC末端修飾を含むことを意味する。

【0028】

用語「エピトープ」は、抗体に対して特異的に結合することが可能な抗原決定基を意味する。エピトープは、通常、アミノ酸又は糖側鎖などの分子の表面グルーブ化からなり、通常、特定の三次元構造特性並びに特定の電荷特性を有する。立体構造エピトープ及び線状エピトープは、前者に対する結合が、変性溶媒の存在下で常に失われ、後者がそうでないという点で区別される。エピトープは、結合に直接関与するアミノ酸残基と、具体的には抗原結合ペプチドによって効果的にブロックされるアミノ酸残基などの結合に直接関与しない（言い換えると、アミノ酸残基は、具体的には抗原結合ペプチドのフットプリント内にある）他のアミノ酸残基とを含む。用語「112～117エピトープ」又は「アミノ酸112～117内のエピトープ」は、ヒトアルファシヌクレインの112～117の6個のアミノ酸残基のうち少なくとも4個を含有する、例えば、ヒトアルファシヌクレインの112～117の6個全てのアミノ酸残基を含有するヒトアルファシヌクレインの領域を指し、そのエピトープは、ヒトアルファシヌクレインの1～111（106～111の任意の残基を含める）のいかなる残基も含まず、ヒトアルファシヌクレインの118～140（残基118～120を含める）のいかなる残基も含まない。本明細書で使用する場合、「アミノ酸112～117内のエピトープ」に結合すると言われる本発明に従って使用するための抗体は、ヒトアルファシヌクレインの1～111（106～111の任意の残基を含める）のいかなる残基にも結合せず、ヒトアルファシヌクレインの118～140（残基118～120を含める）のいかなる残基にも結合せずに、112～117エピトープの6個のアミノ酸残基のうちの少なくとも4つに結合することによって、例えば、112～117エピトープの6個のアミノ酸残基に結合することによって、ヒトアルファシヌクレインに特異的に結合することができる。

10

20

【0029】

用語「ヒト抗体」（これは、「humAb」又は「HuMab」に略記されてもよい）は、本明細書で使用される場合、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変及び定常ドメインを有する抗体を含むように意図される。本発明のヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってはコードされないアミノ酸残基を含み得る（例えば、インビトロでのランダム若しくは部位特異的突然変異誘発によって、又は遺伝子再構成中に、又はインビボでの体細胞突然変異によって導入される突然変異）。

【0030】

用語「ヒト化」は、非ヒト種からの免疫グロブリンに由来する抗原結合部位を有し、ヒト免疫グロブリンの構造及び／又は配列に基づく免疫グロブリン構造を維持する組換え技術を使用して、一般的に調製された分子を指す。抗原結合部位は、ヒト定常ドメインに融合された完全な非ヒト抗体可変ドメインを含むか、又はヒト可変ドメインの適切なヒトフレームワーク領域にグラフトされたそのような可変ドメインの相補性決定領域（CDR）のみのいずれかを含み得る。そのようなヒト化分子のフレームワーク残基は、野生型（例えば、完全にヒト）であってもよく、又はそれらはヒト化の基礎となった配列を有するヒト抗体には見られない1つ以上のアミノ酸置換を含有するように修飾されてもよい。別のアプローチは、ヒト由来の定常ドメインを提供するだけでなく、可変ドメインを改変してヒト形態にできるだけ近づけることに焦点を当てている。重鎖と軽鎖の両方の可変ドメインは、議論されている抗原に応じて変化し、結合能力を決定する3つの相補性決定領域（CDR）を含有することが知られており、3つの相補性決定領域（CDR）には、特定の種で比較的保存されており、推定上CDRの足場を提供する4つのフレームワーク領域（FR）が隣接している。非ヒト抗体が、特定の抗原に対して調整される場合、可変ドメインは、非ヒト抗体に由来するCDRを改変されるヒト抗体中に存在するFR上にブラフトすることによって、「再形成される」又は「ヒト化される」ことができる。

30

40

【0031】

本文脈において、「治療」又は「治療すること」は、疾患の臨床徴候のうちの1つ以上を軽減し、阻止し、部分的に阻止し、除去し、進行を遅延若しくは減速させる目的のための患者の臨床的に関連する管理及びケアを指すことを意図する。本発明の目的のために、

50

「治療」又は「治療すること」は、有益若しくは所望の臨床結果を得るためのアプローチを更に意味し、ここでは、「有益若しくは所望の臨床結果」としては、限定されないが、部分的であっても又は全体的であっても、症状の軽減、障害若しくは疾患の程度の減少、安定化された（すなわち、悪化しない）疾患若しくは障害の状態、疾患若しくは障害の状態の進行の遅延若しくは減速化、疾患若しくは障害の状態の軽減若しくは緩和、又は疾患若しくは障害の寛解が挙げられる。特定の実施形態では、「治療」又は「治療効果」は、シヌクレイノパチーに罹患している患者における疾患進行の遅延又は減速化からなり、特定の実施形態では、このシヌクレイノパチーはMSAであり、そのようなMSAは、MSAサブタイプ、例えば、臨床的に確実なMSA、臨床的にほぼ確実なMSA、確実なMSA、ほぼ確実なMSA、MSAタイプC又はMSAタイプPのうちの1つ以上から選択され得る。別の実施形態では、「治療」は、前駆症性シヌクレイノパチーを有する患者において疾患発症を遅延させることを意味する。治療は、統合多系統萎縮症における症状評価スケール（UMSARS）パートI及びパートII合計スコア（UMSARS TS）における、又は修正UMSARSパートI（mUMSARS）における、又は治療終了時（EoT）までの、すなわち、24週間、48週間、72週間、96週間、又はそれ以上の治療期間の終了時までの簡易UMSARS（aUMSARS）においてベースラインからの対数変化によって評価される、疾患進行の減速若しくは遅延を測定することによる臨床有効性又は治療効果を定量化することによって測定され得る。治療はまた、UMSARSパートI、修正UMSARSパートI（mUMSARS）、及び／又はEoTまでのUMSARSパートIIスコアにおけるベースラインからの対数変化によって評価される、疾患進行の減速若しくは遅延を測定することにより、臨床有効性又は治療効果を定量化することによって測定され得る。そのような疾患進行はまた、UMSARS TS、UMSARSパートI、mUMSARS及び／又はUMSARSパートIIスコアにおけるベースラインからEoTまでの変化として評価され得る。疾患進行はまた、簡易UMSARS（aUMSARS）におけるベースラインからEoTまでの対数変化によって、又は容積測定MRI（vMRI）によって測定される脳容積におけるベースラインからの変化として、又はニューロフィラメント軽鎖（NfL）血中濃度におけるベースラインからの変化として評価され得る。治療はまた、下記から選択される1つ以上のパラメーターにおけるベースラインからの対数変化によって評価される、疾患進行の減速又は遅延を測定することにより、臨床有効性又は治療効果を定量化することによって測定され得る：シュワブ・イングランド日常生活活動（Schwab and England Activities of Daily Living）（SE-ADL）スコア；臨床全般印象・重症度（Clinical Global Impression-Severity of Illness）（CGI-S）スコアにおけるベースラインからの変化として；患者による全般印象・重症度（Patient Global Impression-Severity of Illness）（PGI-S）スコアにおけるベースラインからの変化として；観察者による報告の全般印象・重症度（Observer-Reported Global Impression-Severity of Illness）（OGI-S）スコアにおけるベースラインからの変化として；複合自律神経症状スコア選択変化（Composite Autonomic Symptom Score Select Change）（COMPASS Select Change）スコアにおけるベースラインからの変化として；UMSARSパートIVスコアにおけるベースラインからの変化として；UMSARSパートI項目スコアによって評価される会話、嚥下、転倒、及び歩行におけるベースラインからの変化として；Fall Diary Periodsによって評価される転倒の頻度、原因、及び影響におけるベースラインからの変化として；EQ-5D-5Lスコアリング法（EuroQol 5-Dimension, 5-Level（EQ-5D-5L））スコアにおけるベースラインからの変化として；容積測定MRI（vMRI）によって測定される脳容積におけるベースラインからの変化として；拡散テンソル画像（DTI）MRIによって測定される組織の完全性におけるベースラインからの変化として；ニューロフィラメント軽鎖（NfL）血中濃度にお

10

20

30

40

50

るベースラインからの変化として；UMSARSパートIIIで評価される心拍数、血圧及び起立時症状におけるベースラインからの変化として；関連する歩行パラメーター及び／又は登録された転倒を追跡することができるデジタルウェアラブルセンサーベースのデバイスによって評価される、歩行パラメーター又は転倒の頻度におけるベースラインからの変化として；動脈スピラベリング（ASL）MRIによって測定される脳血流におけるベースラインからの変化として； $t-tau$ 及びNfLのCSF濃度におけるベースラインからの変化として；又はCSF中の α -シヌクレインの病理学的種におけるベースラインからの変化として。治療を受ける患者は、関連する分野において認められた方法若しくは基準を介して、特定又は診断することができる。

【0032】

用語「 k_d 」（ 秒^{-1} 又は $1/s$ ）は、本明細書で使用される場合、特定の抗体－抗原相互作用の解離速度定数を指す。当該値は、 k_{off} 値とも称される。

【0033】

用語「 k_a 」（ $M^{-1} \times \text{秒}^{-1}$ 又は $1/M \text{秒}$ ）は、本明細書で使用される場合、特定の抗体－抗原相互作用の会合速度定数を指す。

【0034】

用語「 KD 」（ M ）は、本明細書で使用される場合、特定の抗体－抗原相互作用の解離平衡定数を指し、 k_d を k_a で割ることによって得られる。 KD は、実施例6Aに記載されるような方法、又は当該技術分野において既知の他の方法によって決定され得る。

【0035】

用語「 KA 」（ M^{-1} 又は $1/M$ ）は、本明細書で使用される場合、特定の抗体－抗原相互作用の会合平衡定数を指し、 k_a を k_d で割ることによって得られる。

【0036】

用語「 $IC50$ 」は、本明細書で使用される場合、最大阻害効果の50%に達する抗体濃度を指す。通常、 nM 単位の正確な $IC50$ 値は、特異的アッセイに依存し、したがって、異なるアッセイの間で直接比較できない。

【0037】

用語「 E_{max} 」は、本明細書で使用される場合、抗体濃度での、すなわち全てのアルファシヌクレインが抗体により結合されている場合の抗体の最大効果を指す。

【0038】

用語「アビディティ（ $avidity$ ）」は、本明細書で使用される場合、抗体－抗原複合体の蓄積された強度を指す。本明細書では、これはIgG分子とその抗原との間の個々の非共有結合相互作用の2つの親和性を網羅する。

【0039】

用語「 C_{max} 」は、本明細書で使用される場合、当該抗体の注入後の対象の血漿中で測定される抗体の最大濃度を指す。

【0040】

用語「 t_{max} 」は、本明細書で使用される場合、抗体の注入後に C_{max} に達するのに要する時間を指す。

【0041】

本開示の全体を通して使用される語句「本明細書に従う使用」は、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの治療における使用、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーを治療する方法、及びシヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの治療用の医薬品の製造のための本発明のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体の使用を含む、本発明の全ての使用及び方法に適用することを意味する。そのような使用は、本発明のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体を、好適な用量、投与レジメン、及び／又は好適な医薬製剤を使用して治療を必要とする患者に投与することを含み得る。そのような製剤又は組成物も本発明によって提供されている。

【0042】

用語「製剤」及び「組成物」は、本出願の全体を通して互換的に使用される。

10

20

30

40

50

【0043】

用語「安定な組成物」は、特定の条件で、本明細書では抗体製剤のための通常の保存条件で、例えば、約5℃で、特定の期間にわたって、本明細書では少なくとも6ヶ月以上保存され得る組成物を指し、組成物中のタンパク質は、その物理的安定性、及び／又は化学的安定性、及び／又は生物学的安定性を本質的に保持する。タンパク質安定性を測定するための様々な分析技術が、当該技術分野において利用可能且つ周知であり、これらのいくつかは、本明細書の実験セクションにも記載されている。安定性は、選択された温度において選択された期間にわたって測定することができる。ある特定の実施形態では、製剤は、約40℃において、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、14、21、28日間、又はそれ以上の日数にわたって安定である。ある特定の実施形態では、製剤は、約40℃±3℃において、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8週間、又はそれ以上の週数にわたって安定である。ある特定の実施形態では、製剤は、約25℃において、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24ヶ月間、又はそれ以上の月数にわたって安定である。ある特定の実施形態では、製剤は、約5℃±3℃において、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24ヶ月間、又はそれ以上の月数にわたって安定である。ある特定の実施形態では、製剤は、約-20℃±3℃において、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48ヶ月間、又はそれ以上の月数にわたって安定である。更に、製剤は、好ましくは、製剤の凍結（例えば、-20℃、-40℃、又は-70℃への）及び融解後に、例えば、凍結及び融解の1、2、3、4、又は5サイクル後に安定である。安定性は、凝集体形成の評価（例えば、サイズ排除クロマトグラフィーを使用して濁度を測定することによって、及び／又は外観検査によって）；カチオン交換クロマトグラフィー、画像キャピラリー等電力焦点（icIEF）、又はキャピラリーゾーン電気泳動を使用して電荷不均一性を評価することによって；アミノ末端若しくはカルボキシ末端配列の分析；質量分析、還元型抗体とインタクトな抗体とを比較するためのSDS-PAGE分析；ペプチドマップ（例えば、トリプシン又はLYS-C）分析；抗体の生物学的活性又は抗原結合機能を評価することなどを含む、様々な異なる方法で定性的に、及び／又は定量的に評価され得る。不安定性は、凝集、脱アミド化（例えば、Asn脱アミド化）、酸化（例えば、Met酸化）、異性化（例えば、Asp異性化）、クリッピング／加水分解／断片化（例えば、ヒンジ領域断片化）、スクシンイミド形成、不對システイン、N末端伸長、C末端プロセッシング、グリコシル化の相違などのうちのいずれか1つ以上を伴い得る。

10

20

30

【0044】

「低粘度組成物」は、少なくとも約20cP未満、15cP未満など、14cP未満など、13cP未満など、12cP未満など、11cP未満など、10cP未満など、9cP未満など、8cP未満など、7cP未満など、6cP未満など、5cP未満などの粘度を有する液体医薬組成物を記述することを意味する。

40

【0045】

本出願では、「緩衝剤」は、酸塩基共役成分の作用によってpHの変更に抵抗する緩衝溶液を指す。本発明の緩衝液又は緩衝剤（互換的に使用される）は、好ましくは、組成物のpHを、約4.5～約7.5の範囲に、約5.5～約6.5など、例えば、5.7～6.4、5.8～6.3、又は5.9～6.2の範囲に維持する。一実施形態では、緩衝液は、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5又は7.0のpHを有する。ヒスチジン緩衝液（L-ヒスチジンなど）は、pHをこの範囲に制御する緩衝液の例である。緩衝剤の例は、酢酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、ヒスチジン（L-ヒスチジンなど）、グルタメート（Glutamate）、リン酸塩、T

50

ris、グリシン、重炭酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、及び硝酸塩緩衝液又はそれらの混合物である。いくつかの実施形態では、緩衝剤は、リン酸ナトリウム、ヒスチジン（Ｌ－ヒスチジンなど）、クエン酸、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム又はそれらの混合物から選択される。１つの具体的な実施形態では、緩衝剤は、ヒスチジン緩衝液（Ｌ－ヒスチジンなど）又はヒスチジン緩衝液の混合物である。

【００４６】

本出願において、「界面活性剤」は、表面活性剤、好ましくは非イオン性界面活性剤を指す。本明細書における界面活性剤の例としては、ポリソルベート（例えば、ポリソルベート２０、及びポリソルベート８０）；ポロキサマー（例えば、ポロキサマー１８８）；Triton；Triton X－１００；ドデシル硫酸ナトリウム（ＳＤＳ）；ラウリル硫酸ナトリウム；オクチルグルコシドナトリウム；ラウリル、ミリスチル、リノレイル、若しくはステアシルスルホベタイン；ラウリル、ミリスチル、リノレイル、若しくはステアシルサルコシン；リノレイル、ミリスチル、若しくはセチルベタイン；ラウロアミドプロピル、ココアミドプロピル、リノレアミドプロピル、ミリスタミドプロピル、パルミドプロピル、若しくはイソステアラミドプロピルベタイン（例えば、ラウロアミドプロピル）；ミリスタミドプロピル、パルミドプロピル、若しくはイソステアラミドプロピルジメチルアミン；メチルココイルタウリンナトリウム、若しくはメチルオレイルタウリンナトリウム；ポリエチルグリコール、ポリプロピルグリコール、及びエチレンとプロピレングリコールとのコポリマーが挙げられる。１つの具体的な実施形態では、薬学的に許容される界面活性剤は、Tween 80としても知られるポリソルベート８０である。

【００４７】

本出願では、「等張化剤（tonicity agent）」は、等張性の液体医薬組成物を可能にする賦形剤を指す。等張性とは、目的の製剤がヒト血液と本質的に同じ浸透圧を有することを意味する。等張性製剤は、一般に、約２５０～３５０mOsmの浸透圧を有するであろう。等張化剤の例としては、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、デキストロース、トレハロース、塩化ナトリウム、塩化カリウム、グリセロール及びグリセリンが挙げられる。１つの具体的な実施形態では、等張化剤は、NaClなどの好適な塩である。

【００４８】

本発明の文脈において、「増量剤（bulking agent）」は、液体医薬組成物に追加の安定性を提供する賦形剤を指すことを意味する。増量剤の例としては、賦形剤のこれらの主なクラス：糖及びポリオール（スクロース、トレハロース、グルコース、ラクトース、ソルビトール、マンニトール及びグリセロールなど）；アミノ酸（アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、グリシン、グルタメート、ヒスチジン、メチオニン又はアラニン）；並びにポリマー及びタンパク質（ゼラチン、PVP、PLGA、PEG、デキストラン、シクロデキストリン及び誘導体、デンプン誘導体、HSA又はBSA）が挙げられる。１つの具体的な実施形態では、増量剤はスクロースである。

【００４９】

用語「ヒスチジン緩衝液」又は「ヒスチジン」は、ヒスチジン、Ｌ－ヒスチジン、Ｌ－ヒスチジン塩酸塩、Ｌ－ヒスチジン塩酸塩、Ｌ－ヒスチジン水和物及びＬ－ヒスチジン塩酸塩一水和物又はそれらの混合物などのヒスチジン緩衝液及びそれらの混合物を網羅することを意味する。１つの具体的な実施形態では、ヒスチジン緩衝液は、Ｌ－ヒスチジンとＬ－ヒスチジン塩酸塩との混合物である。

【００５０】

本発明の詳細な説明

本発明は、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの治療で使用するために好適な投薬レジメンに関し、またシヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの治療で使用するためのヒトアルファシヌクレインに対するモノクローナル抗体の好適な液体医薬組成物を提供する。

【００５１】

一態様では、本発明は、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの治療で使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体を提供し、当該使用は、当該抗アルファシヌクレイン抗体をシヌクレイノパチーに罹患しているか、又はシヌクレイノパチーを発症するリスクがあるヒト対象に700mg超且つ7000mg未満の用量で、900mg～5000mgなど、又は1000mg～4500mgなどの用量で静脈内投与することを含み、当該モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、ヒトアルファシヌクレイン（配列番号10）のアミノ酸112～117（配列番号9（ILEDM P））内のエピトープに結合する完全長抗体である。

【0052】

別の態様では、本発明は、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーを治療する方法を提供し、当該方法は、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体を、治療を必要とするヒト対象に700mg超且つ7000mg未満の用量で、900mg～5000mgなど、又は1000mg～4500mgなどの用量で静脈内投与することを含み、当該ヒト対象は、シヌクレイノパチーに罹患しているか、又はシヌクレイノパチーを発症するリスクがあり、当該モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、ヒトアルファシヌクレイン（配列番号10）のアミノ酸112～117（配列番号9（ILEDM P））内のエピトープに結合する完全長抗体である。

【0053】

更に別の態様では、本発明は、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの治療用の医薬品の製造のためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体の使用を提供し、当該使用は、当該抗アルファシヌクレイン抗体をシヌクレイノパチーに罹患しているか、又はシヌクレイノパチーを発症するリスクがあるヒト対象に700mg超且つ7000mg未満の用量で、900mg～5000mgなど、又は1000mg～4500mgなどの用量で静脈内投与することを含み、当該モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、ヒトアルファシヌクレイン（配列番号10）のアミノ酸112～117（配列番号9（ILEDM P））内のエピトープに結合する完全長抗体である。

【0054】

ある特定の実施形態では、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、約0.1～1.0nM、0.2～0.8nMなど、0.4～0.6nMなど、約0.5nMなどのアルファシヌクレインのオリゴマー形態に結合する推定KD値を有する。

【0055】

ある特定の実施形態では、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、約30～40nM、32～38nMなど、34～37nMなど、約36nMなどのアルファシヌクレインの単量体形態に結合するKD値、及び約0.1～1.0nM、0.2～0.8nMなど、0.4～0.6nMなど、約0.5nMなどのアルファシヌクレインのオリゴマー形態に結合する推定値を有する。一実施形態では、単量体結合値とオリゴマー結合値との間の比は、単量体形態と比較して、オリゴマー形態に対しておよそ60～70倍増強され、62～68倍の増強など、64～66倍の増強など、65倍の増強などであり、2つの形態間の結合におけるそのような増強は、実験セクションにおいて更に説明され、「アビディティの増加」と表示される。2つの形態間の結合のそのような増強は、本開示では、アビディティ増加と表示される。ある特定の実施形態では、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、約25～35日間、約4週間など、約27～33日間など、約28日間など、約28～32日間など、30日間など、28～30日間などのヒトT1/2を有する。

【0056】

実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、

- a. 配列番号1のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1と、
- b. 配列番号2のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2と、
- c. 配列番号3のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3と、

- d. 配列番号4のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1と、
- e. 配列番号5のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2と、
- f. 配列番号6のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3と、を含む。

【0057】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、配列番号7の変域ドメインからなる重鎖及び配列番号8の変域ドメインからなる軽鎖を含む。

【0058】

実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、

- a. 配列番号1のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1と、
- b. 配列番号33のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2と、
- c. 配列番号3のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3と、
- d. 配列番号4のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1と、
- e. 配列番号5のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2と、
- f. 配列番号6のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3と、を含む。

【0059】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、配列番号30の変域ドメインからなる重鎖及び配列番号8の変域ドメインからなる軽鎖を含む。

【0060】

実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、

- a. 配列番号1のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1と、
- b. 配列番号34のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2と、
- c. 配列番号3のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3と、
- d. 配列番号4のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1と、
- e. 配列番号5のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2と、
- f. 配列番号6のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3と、を含む。

【0061】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、配列番号31の変域ドメインからなる重鎖及び配列番号8の変域ドメインからなる軽鎖を含む。

【0062】

実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、

- a. 配列番号1のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1と、
- b. 配列番号35のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2と、
- c. 配列番号3のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3と、
- d. 配列番号4のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1と、
- e. 配列番号5のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2と、
- f. 配列番号6のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3と、を含む。

【0063】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、配列番号32の変域ドメインからなる重鎖及び配列番号8の変域ドメインからなる軽鎖を含む。

【0064】

特定の実施形態では、本発明抗体に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、完全長ヒト抗体である。そのような実施形態では、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、例えば、ヒトIgG1抗体であり得る。

10

20

30

40

50

【0065】

特定の実施形態では、本発明抗体に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、ヒトIgG1重鎖定常領域及び／又はヒトカッパ軽鎖定常領域を含む。

【0066】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、配列番号18で定義されるような定常重鎖ドメイン及び／又は配列番号17で定義されるようなカッパ軽鎖定常ドメインを含む。

【0067】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、抗体GM37、又はそのバリエーション；GM37バリエーション1、GM37バリエーション2若しくはGM37バリエーション3である。好ましい実施形態では、抗体は、GM37v2である。

【0068】

一実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、700mg超且つ7000mg未満の用量、900mg～5000mgなど、又は1000mg～4500mgなどの用量で投与される。具体的な実施形態では、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、3～5週間の間隔で投与され、或いは当該抗体の曝露について実質的に同じ曲線下面積（AUC）を提供するか、又は患者のCSF中のオリゴマーアルファシヌクレインの実質的に同じ推定ターゲットエンゲージメントを提供する別のレジメンでヒト対象に投与される。

【0069】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、6週間毎、5週間毎、4週間毎、3週間毎、2週間毎、又は毎週投与される。いくつかの実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、20日間毎、21日間毎、22日間毎、23日間毎、24日間毎、25日間毎、26日間毎、27日間毎、28日間毎、29日間毎、30日間毎、31日間毎、32日間毎、33日間毎、34日間毎、35日間毎、36日間毎、37日間毎、38日間毎、39日間毎、又は40日間毎に投与される。

【0070】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、3～5週間毎、4週間毎若しくは月に1回など、25～31日間毎など、28～30日間毎などに投与される。

【0071】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、約75mg、約225mg、約750mg、約2250mg、約4500mg又は約9000mgの用量で投与される。

【0072】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、1000mg～4500mgの用量、2000mg～4500mgなど、又は3500mg～4500mg、4200mgなどの用量で投与される。

【0073】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、約750mg、約1050mg、約1400mg、約1750mg、約2100mg、約2450mg、約2800mg、約3150mg、約3500mg、約3850mg、約4200mg、約4550mg、約4900mg、約5250mg、約5600mg、約5950mg、約6300mg、又は約6650mgの用量で投与される。更に特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、1050mg、2100mg又は4200mgの用量で投与される。

【0074】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、30分±10分間にわたる、20分間にわたる、25分間、30分間、35分間又は40分間にわたるなどの静脈内注入によって、上記で指定された用量で投与される。

【0075】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、15分±5分間にわたる、10分間にわたる、15分間又は20分間にわたるなどの静脈内注入によって、上記で指定された用量で投与される。

【0076】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、約30mg/分～約150mg/分の速度、約35mg/分、約70mg/分又は約140mg/分などの速度の静脈内注入によって、上記で指定された用量で投与される。

【0077】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、約25mg/分～約300mg/分の速度、60mg/分～約300mg/分など、約70mg/分、約140mg/分又は約280mg/分などの速度の静脈内注入によって、上記で指定された用量で投与される。

【0078】

実施形態では、本発明に従って使用するためにモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、少なくとも0.5nM、少なくとも1nMなど、少なくとも2nMなど、少なくとも3nMなど、少なくとも4nMなど、少なくとも5nMなど、少なくとも6nMなど、少なくとも7nMなど、少なくとも8nMなど、少なくとも9nMなど、少なくとも10nMなど、少なくとも11nMなど、少なくとも12nMなど、少なくとも13nMなど、少なくとも14nMなど、又は少なくとも15nMなどの当該抗体の推定CSF平均定常状態濃度を達成するのに十分な量及び頻度で投与される。

【0079】

別の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、少なくとも50%、少なくとも55%など、少なくとも60%など、少なくとも75%など、少なくとも77%など、少なくとも80%など、少なくとも82%など、少なくとも85%など、少なくとも87%など、少なくとも90%など、少なくとも92%、少なくとも95%など、少なくとも97%など、又は少なくとも99%などのCSF中のアルファシヌクレインのオリゴマー形態に対する推定ターゲットエンゲージメントを達成するのに十分な量及び頻度で投与される。

【0080】

別の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、シヌクレイノパチーの治療で使用するものである。そのようなシヌクレイノパチーは、パーキンソン病（PD）（パーキンソン病の突発性形態及び遺伝形態を含む）、ゴーシェ病（GD）、びまん性レビー小体病（DLBD）、レビー小体型認知症（DLB）、アルツハイマー病のレビー小体変異（LBV）、混合型アルツハイマー病及びパーキンソン病、純粋自律神経機能不全及び多系統萎縮症（MSA）を含む群から選択され得る。そのような治療は、シヌクレイノパチーの疾患の進行（MSAの進行など）を減速若しくは遅延させること、又は患者が前駆症性シヌクレイノパチーを有する場合、疾患の発症を遅延させることからなり得る。

【0081】

特定の実施形態では、治療されるシヌクレイノパチーは、パーキンソン病（PD）である。

【0082】

更に別の特定の実施形態では、治療されるシヌクレイノパチーは、レビー小体型認知症（DLB）である。

10

20

30

40

50

【0083】

更に別の特定の実施形態では、治療されるシヌクレイノパチーは、多系統萎縮症（MSA）である。そのような実施形態では、MSAに罹患しているヒト対象は、多系統萎縮症－パーキンソン症状優位型（MSA-P）若しくは多系統萎縮症－小脳症状優位型（MSA-C）サブタイプのMSAと診断されるか、又は確実若しくはほぼ確実なMSAと診断されることによって特定可能であり、そのような確実若しくはほぼ確実なMSAはまた、多系統萎縮症－パーキンソン症状優位型（MSA-P）若しくは多系統萎縮症－小脳症状優位型（MSA-C）サブタイプのものであり得るか、臨床的に確実なMSA若しくは臨床的にほぼ確実なMSAと診断されており、これらはまた、多系統萎縮症－パーキンソン症状優位型（MSA-P）若しくは多系統萎縮症－小脳症状優位型（MSA-C）サブタイプのものであり得る。更に別の実施形態では、MSAの診断は、当該ヒト対象において同定されるMSAについての1つ以上の好適なバイオマーカーの存在に基づいている。そのようなバイオマーカーは、生理学的バイオマーカー、生物学的バイオマーカー、遺伝子バイオマーカー、分子バイオマーカー、組織学的バイオマーカー、放射線バイオマーカー、イメージングバイオマーカー、行動バイオマーカー又はデジタルバイオマーカーを含む群から選択され得る。更なるそのような実施形態では、MSAに罹患しているか又は確実若しくはほぼ確実な多系統萎縮症（MSA）、又は他のMSAサブタイプを有するヒト対象は、検証された臨床評価及び／又は当該技術分野において既知である診断方法によって特定可能であり得る。別のそのような実施形態では、MSAに罹患しているか又は確実若しくはほぼ確実な多系統萎縮症（MSA）、又は他のMSAサブタイプを有するヒト対象は、過去5年以内、過去4年以内など、又は過去3年以内など、又は過去2年以内など、過去1年以内など、又は過去6ヶ月以内などに運動及び／又は自律神経（起立性若しくは排尿性）MSA症状を発症していたことによって特定可能であり得る。更に別のそのような実施形態では、MSAに罹患しているか又は確実若しくはほぼ確実な多系統萎縮症（MSA）、又は他のMSAサブタイプを有するヒト対象は、 ≤ 16 のUMSARSパートIスコア（性機能に関する項目11を省略する場合）を有することによって特定可能であり得る。更に別のそのような実施形態では、MSAに罹患しているか又は確実若しくはほぼ確実な多系統萎縮症（MSA）、又は他のMSAサブタイプを有するヒト対象は、 ≥ 22 のスコアのモントリオール認知アセスメント（MoCA）によって評価される認知能力を有することによって特定可能であり得る。

【0084】

別の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、シヌクレイノパチーを発症するリスクがあるヒト対象において、前駆症性シヌクレイノパチーの治療で使用するためのものであり、当該ヒト対象は、下記を含む群から選択される前駆症性シヌクレイノパチーの1つ以上の臨床マーカーを示すことによって特定可能である：レム睡眠行動障害（RBD）、例えば、孤立性RBD（iRBD）、嗅覚障害、例えば、嗅覚鈍麻、神経心理検査における異常な認知能力、客観的な検査によって評価される微妙な運動機能障害若しくは異常な運動能力、異常色覚、自律神経機能障害（例えば、便秘、排尿症状、勃起不全、起立性低血圧）、被殻及び線条体における黒質線条体ドーパミン作動性結合の減少（異常DAT-SPECT）、及び増加する表現型変換リスクに関連する遺伝子型、例えば、グルコセレブロシダーゼにおける突然変異（GBA遺伝子によってコードされる）。そのような実施形態では、シヌクレイノパチーを発症するリスクがあるヒト対象は、RBD、例えば、孤立性RBD（iRBD）、及び前駆症性シヌクレイノパチーの少なくとも1つの追加の臨床マーカー、例えば、鈍麻並びに／又は異常DAT-SPECTを示すことによって特定可能であり得る。更に別のそのような実施形態では、シヌクレイノパチーを発症するリスクがあるヒト対象は、RBD、例えば、孤立性RBD（iRBD）、及び鈍麻並びに異常DAT-SPECTを示すことによって特定可能であり得る。

【0085】

本発明の態様では、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、例えば、GM37v

2 は、本出願及び特許請求の範囲に提供されるような特定の液体医薬組成物のうちの 1 つに製剤化される。

【0086】

本発明の別の態様では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体を含むキットが提供される。

【0087】

更に別の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、CHO 細胞中で発現されるか、又は CHO 細胞中の発現によって得られる。

【0088】

態様では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、ヒト対象におけるアルファシヌクレインの異常な凝集の治療で使用するものである。当該ヒト対象は、CNS 中にアルファシヌクレインの異常な凝集を有すると特定されている。

【0089】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体による治療は、数週間、数ヶ月間、1 年間、又は更には数年間継続し得る。更なる実施形態では、治療は併用療法の一部であることができ、ここでは、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗体が 1 つ以上の追加の医薬品と組み合わせて、又は付随して与えられる。そのような追加の医薬品は、特定のシヌクレイノパチーで利用される標準的治療の一部であり得る。MSA では、そのような標準的治療は、以下の薬剤のうちの 1 つ以上を含む：パーキンソン病様徴候及び症状を低減するための薬剤、例えば、レボドパ及び／若しくはカルビドパ、又は自律神経症状（例えば、排尿症状又は神経原性起立性低血圧）の治療で有用であることが知られている薬剤（そのような薬剤は、ピリドスチグミン、ミドドリン、又はドロキシドパ）。

【0090】

特定の用量及び投薬レジメン

本発明の用量及び投薬レジメンは、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗体の mg の特定量などの固定用量で表され得る（すなわち、治療されるヒト対象の体重とは独立して）。そのような用量は、以下の表 1 を含む本発明の実施形態及び態様に記載されている。いくつかの実施形態では、本発明の用量又は投薬レジメンは、mg / kg（すなわち、治療されるヒト対象の体重に基づいて変化する用量）で表されてもよい。固定用量と体重に従って投与される用量（mg / kg など）との間を転換することは、訓練を受けた医師の技術の範囲内であろう。転換の結果は、本発明の用量又は投薬レジメンで治療されるヒト対象の体重に依存するであろう。

【0091】

一実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、3 ～ 5 週間の間隔で 1000 mg ～ 4500 mg の用量で投与されるか、又は当該抗体は患者の CSF 中のオリゴマーアルファシヌクレインの実質的に同じ推定ターゲットエンゲージメントを提供する別のレジメンでヒト対象に投与される。特定の実施形態では、当該抗体は、およそ 4 週間毎に投与される 4200 mg の GM37v2 と実質的に同じ患者の CSF 中のオリゴマーアルファシヌクレインの推定ターゲットエンゲージメントを提供するレジメンでヒト対象に投与される。

【0092】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、4 週間毎に投与される。いくつかの実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、毎月投与される。いくつかの実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、27 日間毎、28 日間毎、29 日間毎、30 日間毎、又は 31 日間毎に投与される。

10

20

30

40

50

【0093】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、3～5週間毎、4週間毎若しくは1ヶ月に1回など、28～30日間毎などで投与される。

【0094】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、1000mg～4500mgの用量、2000mg～4500mgなど、又は3500mg～4500mg、4200mgなどの用量で投与される。

【0095】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、約1050mg、約1400mg、約1750mg、約2100mg、約2450mg、約2800mg、約3150mg、約3500mg、約3850mg、約4200mgの用量で投与される。更なる特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、1050mg、2100mg、又は4200mgの用量で投与される。

10

【0096】

一実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、13mg/kg～71mg/kgの用量で、又は14mg/kg～64mg/kgなど、又は15mg/kg～60mg/kgなど、又は15mg/kgなど、又は30mg/kgなど、又は60mg/kgなどの用量で3～5週間の間隔で投与されるか、或いは当該抗体は、患者のCSF中のオリゴマーアルファシヌクレインの実質的に同じ推定ターゲットエンゲージメントを提供する別のレジメンでヒト対象に投与される。特定の実施形態では、当該抗体は、およそ4週間毎に投与される60mg/kgのGM37v2と実質的に同じ患者のCSF中のオリゴマーアルファシヌクレインの推定ターゲットエンゲージメントを提供するレジメンでヒト対象に投与される。

20

【0097】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、約1mg/kg、約3mg/kg、約11mg/kg、約32mg/kg、約64mg/kg、又は約129mg/kgの用量で投与される。

【0098】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、14mg/kg～64mg/kg、15mg/kg～60など、30mg/kg～60mg/kgなど、60mg/kgなどの用量で投与される。

30

【0099】

特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、約11mg、約15mg、約20mg、約25mg、約30mg、約35mg、約40mg、約45mg、約50mg、約55mg、約60mg、約65mg、約70mg、約75mg、約80mg、約85mg、約90mg/kg、又は約95mg/kgの用量で投与される。更なる特定の実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、15mg/kg、30mg/kg又は60mg/kgの用量で投与される。

40

【0100】

特定の実施形態では、治療される患者は、50～110kg、例えば、50kg、55kg、60kg、65kg、70kg、75kg、80kg、85kg、90kg、95kg、100kg、105kg又は110kgの体重を有する。実施例3に開示される臨床試験では、含まれるヒト対象の平均体重は約70kgであった。

【0101】

いくつかの実施形態では、本発明の用量及び投薬レジメンはまた、本発明のモノクローナル抗体の量及び投与頻度として表されてもよく、これは臨床的有効性を得るために、十分な推定CSF平均定常状態濃度、十分なAUC曝露、又はCSF中のアルファシヌクレ

50

インのオリゴマー形態に対する十分な推定ターゲットエンゲージメントを提供する。

【 0 1 0 2 】

以下の表は、例示的な 7 0 k g の体重のヒト対象についての関連する投薬形式間の転換を明記する。

【 0 1 0 3 】

【 表 1 】

表 1: 約 28 日間の IV 投与間隔での本発明の用量及び投薬形式と CSF 中のターゲットエンゲージメント及び CSF 中の平均定常状態濃度の推定値との間の転換。

体重 1kg 当たりの用量 (mg/kg)	体重 70kg の患者に 対する固定用量(mg)	推定 CSF 平均 定常状態濃度 (nM)	CSF 中のアルファシヌクレインの オリゴマー形態に対する推定 ターゲットエンゲージメント(%)
10	700	*	*
15	1050	3	85
20	1400	*	*
25	1750	*	*
30	2100	6	90
35	2450	*	*

【 0 1 0 4 】

【表 2】

40	2800	*	*
45	3150	*	*
50	3500	*	*
55	3850	*	*
60	4200	12	95
65	4550	*	*
70	4900	*	*
75	5250	*	*
80	5600	*	*
85	5950	*	*
90	6300	*	*
95	6650	*	*
100	7000	*	*
110	7700	*	*
120	8400	*	*
130	9100	*	*

*各用量について推定 CSF 平均 C_{ss} 及び凝集された/オリゴマーアルファシヌクレインに対する CSF 中のターゲットエンゲージメントは、実施例 1 に記載されるように計算することができる。

【0105】
例示的な投与レジメンを、以下の表に提供する。
【0106】

10

20

30

40

50

【表 3】

経路及び頻度	用量
IV 注入、約 4 週間毎(又は毎月)	1050 mg 又は 15 mg/kg
IV 注入、約 4 週間毎(又は毎月)	2100 mg 又は 30 mg/kg
IV 注入、約 4 週間毎(又は毎月)	4200 mg 又は 60 mg/kg

10

【0107】

本開示の目的のために、本発明に従って使用するための抗体の C S F 濃度及び当該抗体の脳間質液 (I S F) 濃度は等しいと仮定される。

【0108】

一実施形態では、本発明に従って使用するためのモノクローナル抗体 (例えば、G M 3 7 又はそのバリエーション、G M 3 7 v 2 など) は静脈内投与され、抗体の所望の治療濃度がヒト対象の C S F 及び／又は I S F 中で達成されるように投与される。一実施形態では、抗体は脳に入り、例えば、凝集されたアルファシヌクレインに結合し、ミクログリア依存性及び／若しくは非依存性クリアランス／不活性化を引き起こすことによって、及び／又は a -シヌクレイン凝集を低減することによって、及び／又はプリオン様細胞内伝播を防止することによって媒介される治療効果を生み出すのに十分な濃度を達成する。

20

【0109】

別の実施形態では、C S F 及び／又は I S F 中の本発明に従って使用するためのモノクローナル抗体 (例えば、G M 3 7 又はそのバリエーション、G M 3 7 v 2 など) の所望の治療濃度は、対象の I S F 及び／又は C S F 中の凝集されたアルファシヌクレインの少なくとも 10 ~ 100 %、20 ~ 90 % など、30 ~ 80 % など、40 ~ 70 % など、50 ~ 60 % など、少なくとも 10 % など、少なくとも 20 % など、少なくとも 30 % など、少なくとも 40 % など、少なくとも 50 % など、少なくとも 60 % など、少なくとも 70 % など、少なくとも 80 % など、少なくとも 85 % など、少なくとも 90 % など、少なくとも 95 % などの低減を提供し、維持することができる (1 回以上の投与後に) 抗体の濃度に匹敵することができる。

30

【0110】

一実施形態では、本発明の投薬レジメンは、対象の I S F 及び／又は C S F 中の推定 I C 50 を上回る抗体 (例えば、G M 3 7 又はそのバリエーション、G M 3 7 v 2 など) の濃度を達成する。

【0111】

一実施形態では、本発明の投薬レジメンは、対象の I S F 及び／又は C S F 中のオリゴマーアルファシヌクレインについての推定 I C 50 を上回り、且つ推定 I C 95 未満である抗体 (例えば、G M 3 7 又はそのバリエーション、G M 3 7 v 2 など) の濃度を達成する。

40

【0112】

一実施形態では、本発明の投薬レジメンは、対象の I S F 及び／又は C S F 中のオリゴマーアルファシヌクレインについての推定 I C 85 を上回り、且つ推定 I C 95 未満である抗体 (例えば、G M 3 7 又はそのバリエーション、G M 3 7 v 2 など) の濃度を達成する。

【0113】

一実施形態では、本発明の投薬レジメンは、対象の I S F 及び／又は C S F 中のオリゴマーアルファシヌクレインについての推定 I C 85 を上回る抗体 (例えば、G M 3 7 又はそのバリエーション、G M 3 7 v 2 など) の濃度を達成する。

【0114】

一実施形態では、本発明の投薬レジメンは、対象の I S F 及び／又は C S F 中のオリゴ

50

マーアルファシヌクレインについての推定 I C 9 0 を上回る抗体（例えば、G M 3 7 又はそのバリエーション、G M 3 7 v 2 など）の濃度を達成する。

【0115】

一実施形態では、本発明の投薬レジメンは、対象の I S F 及び／又は C S F 中のオリゴマーアルファシヌクレインについての推定 I C 9 5 を上回る抗体（例えば、G M 3 7 又はそのバリエーション、G M 3 7 v 2 など）の濃度を達成する。

【0116】

別の実施形態では、本発明の投薬レジメンは、対象の I S F 及び／又は C S F 中の凝集された a - シヌクレインの推定 5 0 % を超える低減を提供し、維持することができる（1 回以上の投与後に）抗体の濃度（例えば、G M 3 7 又はそのバリエーション、G M 3 7 v 2 など）を達成する。

10

【0117】

別の実施形態では、本発明の投薬レジメンは、対象の I S F 及び／又は C S F 中の凝集された a - シヌクレインの推定 8 0 % を超える低減を提供し、維持することができる（1 回以上の投与後に）抗体の濃度（例えば、G M 3 7 又はそのバリエーション、G M 3 7 v 2 など）を達成する。

【0118】

別の実施形態では、本発明の投薬レジメンは、対象の I S F 及び／又は C S F 中の凝集された a - シヌクレインの推定 9 0 % を超える低減を提供し、維持することができる（1 回以上の投与後に）抗体の濃度（例えば、G M 3 7 又はそのバリエーション、G M 3 7 v 2 など）を達成する。

20

【0119】

別の実施形態では、本発明の投薬レジメンは、対象の I S F 及び／又は C S F 中の凝集された a - シヌクレインの推定 9 5 % を超える低減を提供し、維持することができる（1 回以上の投与後に）抗体の濃度（例えば、G M 3 7 又はそのバリエーション、G M 3 7 v 2 など）を達成する。

【0120】

本発明の投薬レジメンは、全てのタイプのシヌクレイノパチー及び前駆症性シヌクレイノパチーに関連し、適用する。投薬レジメンは、最終的に C S F / 脳中のオリゴマーアルファシヌクレインの所望のターゲットエンゲージメントを得るために必要とされる要求される推定 C S F 平均定常状態濃度に基づいて決定される。疾患進行を変更及び／又は減速させるために、どれほどの凝集されたアルファシヌクレインが C S F / I S F から除去される必要があるかは正確には不明であるが、C S F アルファシヌクレイン負荷が、異なるタイプのシヌクレイノパチー間で大幅に異なることは判明していない。T a t e n o らは、例えば、C S F 中のアルファシヌクレインの量が、レビー小体型認知症（D L B）、パーキンソン病（P D）、及び多系統萎縮症（M S A）に罹患している患者間で同等であることを示しており（T a t e n o e t a l, A l z h e i m e r D i s A s s o c D i s o r d 2 0 1 2 ; 2 6 : 2 1 3 - 2 1 6）、これは本発明の投薬レジメンがシヌクレイノパチーに全般的に適していると予測することができ、したがって P D、D L B 又は M S A などの特定の適応症に限定されるものではない。

30

40

【0121】

加えて、本発明の投薬レジメンはまた、前駆症性シヌクレイノパチーを有する患者に関連しており、これはこれらの患者が、変更されたアルファシヌクレインプロセシングの徴候を表すことを示しているためであり、例えば、M o l l e n h a u e r らは前駆症性シヌクレイノパチー群の間で、嗅覚鈍麻の参加者が最低の平均 C S F アルファシヌクレインレベルを示したが、一方 i R B D の参加者が健康な対象とパーキンソン病の患者との間の中間レベルを有していたことを実証している（M o l l e n h a u e r e t a l. M o v D i s o r d. 2 0 1 9 S e p t e m b e r ; 3 4 (9) : 1 3 5 4 - 1 3 6 4）。これらの所見は、前駆症性シヌクレイノパチーの臨床的特徴を有する患者が、C S F アルファシヌクレインレベルを既に減少させており、これがこれらの前駆症状的段階中に

50

既に存在する重大な病理と一致していることを示している。

【0122】

本発明の抗体

本発明に従って使用するための抗体は、112～117エピトープ内のエピトープに結合する。一実施形態では、本発明は、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの治療で使用するための、モノクローナル抗体GM37、そのバリエーション（例えば、GM37バリエーション1、GM37バリエーション2、及びGM37バリエーション3）、又はGM285に関する。

【0123】

GM37、GM37バリエーション1、GM37バリエーション2、及びGM37バリエーション3抗体は、ヒトアルファシヌクレイン（配列番号10）のアミノ酸配列112～117（配列番号9（ILEDMP））内のエピトープに結合する。具体的には、GM37、GM37バリエーション1、GM37バリエーション2、及びGM37バリエーション3抗体は、このエピトープ内の全ての6個のアミノ酸に結合する。

【0124】

GM285抗体は、ヒトアルファシヌクレイン（配列番号10）のアミノ酸112～115（ILED；配列番号19）のエピトープに結合する。

【0125】

「抗アルファシヌクレイン抗体」又は「アルファシヌクレイン抗体」（互換的に使用される）は、アルファシヌクレイン又はアルファシヌクレイン断片に結合する抗体である。本発明の抗体は、配列番号9及び／又は19に対応するアルファシヌクレインのアミノ酸配列内に特異的に結合する。

【0126】

用語抗体「GM37」は、重鎖CDR1～3 配列番号1、2及び3と、配列番号4、5及び6に提供される軽鎖CDR1～3と、を含む抗体を含むように意図される。一実施形態では、抗体GM37は、配列番号7の重鎖可変ドメイン及び／又は配列番号8の軽鎖可変ドメインを含み得る。例えば、抗体GM37は、配列番号7の可変ドメイン及び配列番号18の定常ドメインからなる重鎖と共に、配列番号8の可変ドメイン及び配列番号17のカッパ定常ドメインからなる軽鎖を含むIgG抗体であってもよい。

【0127】

用語抗体「GM37バリエーション1」は、重鎖CDR1～3 配列番号1、33及び3と、配列番号4、5及び6に提供される軽鎖CDR1～3と、を含む抗体を含むように意図される。一実施形態では、抗体GM37は、配列番号30の重鎖可変ドメイン及び／又は配列番号8の軽鎖可変ドメインを含み得る。例えば、抗体GM37は、配列番号30の可変ドメイン及び配列番号18の定常ドメインからなる重鎖と共に、配列番号8の可変ドメイン及び配列番号17のカッパ定常ドメインからなる軽鎖を含むIgG1抗体であってもよい。

【0128】

用語抗体「GM37バリエーション2」又は「GM37v2」（互換的に使用される）は、重鎖CDR1～3 配列番号1、34及び3と、配列番号4、5及び6に提供される軽鎖CDR1～3と、を含む抗体を含むように意図される。一実施形態では、抗体GM37は、配列番号31の重鎖可変ドメイン及び／又は配列番号8の軽鎖可変ドメインを含み得る。例えば、抗体GM37は、配列番号31の可変ドメイン及び配列番号18の定常ドメインからなる重鎖と共に、配列番号8の可変ドメイン及び配列番号17のカッパ定常ドメインからなる軽鎖を含むIgG1抗体であってもよい。

【0129】

用語抗体「GM37バリエーション3」は、重鎖CDR1～3 配列番号1、35及び3と、配列番号4、5及び6に提供される軽鎖CDR1～3と、を含む抗体を含むように意図される。一実施形態では、抗体GM37は、配列番号32の重鎖可変ドメイン及び／又は配列番号8の軽鎖可変ドメインを含み得る。例えば、抗体GM37は、配列番号32の可

10

20

30

40

50

変ドメイン及び配列番号 18 の定常ドメインからなる重鎖と共に、配列番号 8 の可変ドメイン及び配列番号 17 のカッパ定常ドメインからなる軽鎖を含む I g G 1 抗体であってもよい。

【0130】

用語抗体「GM285」は、重鎖 C D R 1 ~ 3 配列番号 20、21 及び 22 と、配列番号 23、24 及び 25 に提供される軽鎖 C D R 1 ~ 3 と、を含む抗体を含むように意図される。一実施形態では、抗体 GM37 は、配列番号 26 の重鎖可変ドメイン及び／又は配列番号 27 の軽鎖可変ドメインを含み得る。例えば、抗体 GM37 は、配列番号 26 の可変ドメイン及び配列番号 28 の定常ドメインからなる重鎖と共に、配列番号 27 の可変ドメイン及び配列番号 29 のカッパ定常ドメインからなる軽鎖を含む I g G 1 抗体であってもよい。

10

【0131】

本発明の好ましい実施形態では、完全長 GM37、GM37 バリエント 1、GM37 バリエント 2、GM37 バリエント 3、又は GM285 抗体は、I g G アイソタイプフォーマットであり、最も好ましくは、I g G 1 フォーマットであり、更により好ましくは、ヒト若しくはヒト化 I g G 1 フォーマットである。

【0132】

20

30

40

50

【表 4】

本明細書で使用する本発明の特定のアミノ酸配列に関する表:

配列番号 1	GM37 CDR 1 重鎖
配列番号 2	GM37 CDR 2 重鎖
配列番号 3	GM37 CDR 3 重鎖
配列番号 4	GM37 CDR 1 軽鎖
配列番号 5	GM37 CDR 2 軽鎖
配列番号 6	GM37 CDR 3 軽鎖
配列番号 7	GM37 重鎖可変ドメイン
配列番号 8	GM37 軽鎖可変ドメイン
配列番号 9	ヒトアルファシヌクレインのエピトープ 112-117
配列番号 10	ヒトアルファシヌクレイン
配列番号 11	A-Syn-AAKK-BAP
配列番号 12	A-Syn-BAAK-BAP
配列番号 13	A-Syn-BBAA-BAP
配列番号 14	A-Syn-BBKK-BAP
配列番号 15	A-Syn-120-140 Del-BAP
配列番号 16	ヒトアルファシヌクレインの残基 1-119
配列番号 17	カッパ軽鎖定常ドメイン
配列番号 18	IgG1 重鎖定常ドメイン
配列番号 19	GM285 エピトープ 112-115
配列番号 20	GM285 CDR 1 重鎖
配列番号 21	GM285 CDR 2 重鎖
配列番号 22	GM285 CDR 3 重鎖
配列番号 23	GM285 CDR 1 軽鎖
配列番号 24	GM285 CDR 2 軽鎖
配列番号 25	GM285 CDR 3 軽鎖
配列番号 26	GM285 重鎖可変ドメイン
配列番号 27	GM285 軽鎖可変ドメイン
配列番号 28	GM285 IgG1 重鎖定常ドメイン
配列番号 29	GM285 Kappa 軽鎖定常ドメイン
配列番号 30	GM37 バリエント 1 重鎖可変ドメイン
配列番号 31	GM37 バリエント 2 重鎖可変ドメイン
配列番号 32	GM37 バリエント 3 重鎖可変ドメイン
配列番号 33	GM37 バリエント 1 重鎖 CDR 2
配列番号 34	GM37 バリエント 2 重鎖 CDR 2
配列番号 35	GM37 バリエント 3 重鎖 CDR 2
配列番号 36	9E4 結合エピトープ
配列番号 37	ヒトベータ-シヌクレイン
配列番号 38	ヒトガンマ-シヌクレイン
配列番号 39	カニクイザルについてのアルファシヌクレインオルソログ
配列番号 40	ラットについてのアルファシヌクレインオルソログ
配列番号 41	マウスについてのアルファシヌクレインオルソログ
配列番号 42	9E4 HC
配列番号 43	9E4 LC

【0133】

本明細書で使用する特定のアミノ酸配列：

- GFTFS SYAMT（配列番号1）
- AIRSN GDRTD YADSVKG（配列番号2）
- AIRSS GDRTD YADSVKG（配列番号33）
- AIRSQ GDRTD YADSVKG（配列番号34）
- AIRSH GDRTD YADSVKG（配列番号35）
- AKNWAPFDS（配列番号3）
- ASQSVSSSYLA（配列番号4）

G A S S R A T (配列番号 5)

Q Q Y G S S P W T (配列番号 6)

【化 1】

EVQLLES GGG LVQTGGSLRL SCAASGFTFS SYAMTWVRQA PGKGLEWVSA
IRSN GDR TDY ADSVKGRFTI SRDNSQNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKNW
APFDSWGQGT LVTVSS (配列番号7)

EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SSYLAWYQQK PGQAPRLLIY
GASSRATGIP DRFSGSGSGT DFTLTISRLE PEDFAVYYCQ QYGSSPWTFG QGTKVEIK
(配列番号8)

10

EVQLLES GGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS RFTMTWVRQA PGKGLEWVSA
ISGSGGGTSY ADSVKGR LTV SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKNW
APFDYWQGT LVTVSS (配列番号26)

EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSVS RSYLAWYQQK PGQAPRLLIY
GASSRATGIP DRFSGSGSGT DFTLTVSRLE PEDFAVYYCQ QYGSSPWTFG QGTKVEIK
(配列番号27)

EVQLLES GGG LVQTGGSLRL SCAASGFTFS SYAMTWVRQA PGKGLEWVSA
IRSS GDR TDY ADSVKGRFTI SRDNSQNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKNW
APFDSWGQGT LVTVSS (配列番号30)

20

EVQLLES GGG LVQTGGSLRL SCAASGFTFS SYAMTWVRQA PGKGLEWVSA
IRSQ GDR TDY ADSVKGRFTI SRDNSQNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKNW
APFDSWGQGT LVTVSS (配列番号31)

EVQLLES GGG LVQTGGSLRL SCAASGFTFS SYAMTWVRQA PGKGLEWVSA
IRSH GDR TDY ADSVKGRFTI SRDNSQNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKNW
APFDSWGQGT LVTVSS (配列番号32)

RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD
SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSPVTK SFNRGEC (配列番号17)

30

ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS
GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG
PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN
STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE
MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW
QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG (配列番号18)

A A S G F T F S R F T M T (配列番号 20)

A I S G S G G G T S Y A D S V K G (配列番号 21)

A K N W A P F D Y (配列番号 22)

R A S Q S V S R S Y L A (配列番号 23)

G A S S R A T (配列番号 24)

Q Q Y G S S P W T (配列番号 25)

【0 1 3 4】

本発明の完全な配列リストが以下に提供される。

40

【化 2】

配列表情報:

DTDバージョン: V1.3
ファイル名: 1264-WO-PCT Seq list ST26.xml
ソフトウェア名: WIPO Sequence
ソフトウェアバージョン: 2.1.1
作成日時: 2022-08-03

一般情報:

出願国及び番号/出願人整理番号: 1264-WO-PCT
最先の優先出願/管轄機関: EP
最先の優先出願/出願番号: EP21197120.5
最先の優先出願/出願日: 2021-09-16
出願人名: H. Lundbeck A/S
出願人名/言語: da
発明の名称: COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING SYNUCLEINOPATHIES (en)
配列総数: 43

10

配列:

配列番号(ID): 1
配列の長さ: 10
分子型: AA
配列の特徴存在位置/属性:
- 領域、1..10
 > 注記、GM37 CDR1 重鎖
- ソース、1..10
 > mol_タイプ、タンパク質
 > 生物名、合成構築物

残基:

GFTFSSYAMT

10

配列番号(ID): 2
配列の長さ: 17
分子型: AA
配列の特徴存在位置/属性:
- 領域、1..17
 > 注記、GM37 CDR2 重鎖
- ソース、1..17
 > mol_タイプ、タンパク質
 > 生物名、合成構築物

残基:

AIRSNGDRTD YADSVKG

17

配列番号(ID): 3
配列の長さ: 9
分子型: AA
配列の特徴存在位置/属性:
- 領域、1..9
 > 注記、GM37 CDR3 重鎖
- ソース、1..9
 > mol_タイプ、タンパク質
 > 生物名、合成構築物

残基:

AKNWAPFDS

9

30

配列番号(ID): 4
配列の長さ: 11
分子型: AA
配列の特徴存在位置/属性:
- 領域、1..11
 > 注記、GM37 CDR1 軽鎖
- ソース、1..11
 > mol_タイプ、タンパク質
 > 生物名、合成構築物

残基:

ASQSVSSSYL A

11

配列番号(ID): 5
配列の長さ: 7
分子型: AA
配列の特徴存在位置/属性:
- 領域、1..7

40

【化 3】

							> 注記、GM37 CDR 2 軽鎖
- ソース、1..7							> mol タイプ、タンパク質
							> 生物名、合成構築物
残基:							
GASSRAT							7
配列番号(ID): 6							
配列の長さ: 9							
分子型: AA							
配列の特徴存在位置/属性:							
- 領域、1..9							> 注記、GM37 CDR 3 軽鎖
- ソース、1..9							> mol タイプ、タンパク質
							> 生物名、合成構築物
残基:							
QQYGSSPWT							9
配列番号(ID): 7							
配列の長さ: 116							
分子型: AA							
配列の特徴存在位置/属性:							
- 領域、1..116							> 注記、GM37 CDR 重鎖
- ソース、1..116							> mol タイプ、タンパク質
							> 生物名、合成構築物
残基:							
EVQLLESGGG	LVQTGGSLRL	SCAASGFTFS	SYAMTWVRQA	PGKGLEWVSA	IRSNGDRTDY	60	
ADSVKGRFTI	SRDNSQNTLY	LQMNSLRAED	TAVYYCAKNW	APFDSWGQGT	LVTVSS	116	
配列番号(ID): 8							
配列の長さ: 108							
分子型: AA							
配列の特徴存在位置/属性:							
- 領域、1..108							> 注記、GM 37 軽鎖
- ソース、1..108							> mol タイプ、タンパク質
							> 生物名、合成構築物
残基:							
EIVLTQSPGT	LSLSPGERAT	LSCRASQSVS	SSYLAWYQVK	PGQAPRLLIY	GASSRATGIP	60	
DRFSGSGSGT	DFTLTISRLE	PEDFAVYYCQ	QYGSSPWTFG	QGTKVEIK		108	
配列番号(ID): 9							
配列の長さ: 6							
分子型: AA							
配列の特徴存在位置/属性:							
- 領域、1..6							> 注記、エピトープ 112-117
- ソース、1..6							> mol タイプ、タンパク質
							> 生物名、合成構築物
残基:							
ILEDMP							6
配列番号(ID): 10							
配列の長さ: 140							
分子型: AA							
配列の特徴存在位置/属性:							
- 領域、1..140							> 注記、アルファシヌクレイン
- ソース、1..140							> mol タイプ、タンパク質
							> 生物名、合成構築物
残基:							
MDVFMKGLSK	AKEGVVAAAE	KTKQGVAAEA	GKTKEGVLYV	GSKTKEGVVH	GVATVAEKTG	60	
EQVTNVGGAV	VTGVTAVAQK	TVEGAGSIAA	ATGFVKKDQL	GKNEEGAPQE	GILEDMPVDP	120	
DNEAYEMPSE	EGYQDYEPEA					140	
配列番号(ID): 11							
配列の長さ: 165							
分子型: AA							

【化 4】

配列の特徴存在位置/属性:

- 残基、1..165
 - > 注記、A-Syn-AAKK-BAP
- ソース、1..165
 - > mol_タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

MDVFMKGLSK	AKEGVVAAAE	KTKQGVAAEA	GKTKEGVLYV	GSKTKEGVVH	GVATVAEKT	60
EQVTNVGGAV	VTGVTAVAQK	TVEGAGNIAA	ATGLVKKDQL	AKQNEEGFLQ	EGMVNNTDIP	120
VDPENEAYEM	PPEEEYQDYE	PEAGSAGGSG	GLNDIFEAQK	IEWHE		165

配列番号(ID): 12

配列の長さ: 165

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..165
 - > 注記、A-Syn-BAAK-BAP
- ソース、1..165
 - > mol_タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

MDVFMKGLSM	AKEGVVAAAE	KTKQGVTEAA	EKTKEGVLYV	GSKTKEGVVH	GVATVAEKT	60
EQVTNVGGAV	VTGVTAVAQK	TVEGAGSIAA	ATGFVKKDQL	AKQNEEGFLQ	EGMVNNTDIP	120
VDPENEAYEM	PPEEEYQDYE	PEAGSAGGSG	GLNDIFEAQK	IEWHE		165

配列番号(ID): 13

配列の長さ: 162

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..162
 - > 注記、A-Syn-BBAA-BAP
- ソース、1..162
 - > mol_タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

MDVFMKGLSM	AKEGVVAAAE	KTKQGVTEAA	EKTKEGVLYV	GSKTREGVVQ	GVASVAEKT	60
EQASHLGGAV	VTGVTAVAQK	TVEGAGSIAA	ATGFVKKDQL	GKNEEGAPQE	GILEDMPVDP	120
DNEAYEMPSE	EGYQDYEPEA	GSAGSGGGLN	DIFEAQKIEW	HE		162

配列番号(ID): 14

配列の長さ: 165

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..165
 - > 注記、A-Syn-BBKK-BAP
- ソース、1..165
 - > mol_タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

MDVFMKGLSM	AKEGVVAAAE	KTKQGVTEAA	EKTKEGVLYV	GSKTREGVVQ	GVASVAEKT	60
EQASHLGGAV	VTGVTAVAQK	TVEGAGNIAA	ATGLVKKDQL	AKQNEEGFLQ	EGMVNNTDIP	120
VDPENEAYEM	PPEEEYQDYE	PEAGSAGGSG	GLNDIFEAQK	IEWHE		165

配列番号(ID): 15

配列の長さ: 141

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..141
 - > 注記、A-Syn-120-140_Del-BAP
- ソース、1..141
 - > mol_タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

MDVFMKGLSK	AKEGVVAAAE	KTKQGVAAEA	GKTKEGVLYV	GSKTKEGVVH	GVATVAEKT	60
EQVTNVGGAV	VTGVTAVAQK	TVEGAGSIAA	ATGFVKKDQL	GKNEEGAPQE	GILEDMPVDG	120
SAGSGGGLND	IFEAQKIEWH	E				141

配列番号(ID): 16

配列の長さ: 131

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..131
 - > 注記、アルファシヌクレインアミノ酸1-119
- ソース、1..131

10

20

30

40

50

【化 5】

> mol タイプ、タンパク質 > 生物名、合成構築物						
残基:						
MAHHHHHHIE	GRMDVFMKGL	SKAKEGVVAA	AEKTKQGVAE	AAGKTKEGVL	YVGSKTKEGV	60
VHG VATVAEK	TKEQVTNVGG	AVVTGVTAVA	QKTVEGAGSI	AAATGFVKKD	QLGKNEEGAP	120
QEGILEDMPV	D					131
配列番号(ID): 17						
配列の長さ: 107						
分子型: AA						
配列の特徴存在位置/属性:						
- 領域、1..107						
> 注記、カッパ(LC定常領域)						
- ソース、1..107						
> mol タイプ、タンパク質						
> 生物名、合成構築物						
残基:						
RTVAAPSVFI	FPPSDEQLKS	GTASVVCLLN	NFYPREAKVQ	WKVDNALQSG	NSQESVTEQD	60
SKDSTYSLSS	TLTLSKADYE	KHKVYACEVT	HQGLSSPVTK	SFNRGEC		107
配列番号(ID): 18						
配列の長さ: 329						
分子型: AA						
配列の特徴存在位置/属性:						
- 領域、1..329						
> 注記、IgG1(HC定常領域)						
- ソース、1..329						
> mol タイプ、タンパク質						
> 生物名、合成構築物						
残基:						
ASTKGPSVFP	LAPSSKSTSG	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV	HTFPAVLQSS	60
GLYSLSSVVT	VPSSSLGTQT	YICNVNHKPS	NTKVDKRVEP	KSCDKTHTCP	PCPAPELLGG	120
PSVFLFPPKP	KDTLMISRTP	EVTCVVVDVS	HEDPEVKFNW	YVDGVEVHNA	KTKPREEQYN	180
STYRVVSVLT	VLHQDWLNGK	EYKCKVSNKA	LPAPIEKTIS	KAKGQPREPQ	VYTLPPSREE	240
MTKNQVSLTC	LVKGFYPSDI	AVEWESNGQP	ENNYKTTPPV	LDSDGSFFLY	SKLTVDKSRW	300
QQGNVFSCSV	MHEALHNHYT	QKSLSLSPG				329
配列番号(ID): 19						
配列の長さ: 4						
分子型: AA						
配列の特徴存在位置/属性:						
- 領域、1..4						
> 注記、GM285 エピトープ112-115						
- ソース、1..4						
> mol タイプ、タンパク質、						
> 生物名、合成構築物						
残基:						
ILED						4
配列番号(ID): 20						
配列の長さ: 13						
分子型: AA						
配列の特徴存在位置/属性:						
- 領域、1..13						
>注記、GM285 CDR1 重鎖						
- ソース、1..13						
>mol タイプ、タンパク質						
>生物名、合成構築物						
残基:						
AASGFTFSRF	TMT					13
配列番号(ID): 21						
配列の長さ: 17						
分子型: AA						
配列の特徴存在位置/属性:						
- 領域、1..17						
> 注記、GM285 CDR2 重鎖						
- ソース、1..17						
> mol タイプ、タンパク質						
> 生物名、合成構築物						
残基:						
AISGSGGGTS	YADSVKG					17
配列番号(ID): 22						

10

20

30

40

50

【化 6】

配列の長さ: 9 分子型: AA 配列の特徴存在位置/属性: - 領域、1..9 > 注記、GM285 CDR3 重鎖 - ソース、1..9 > mol タイプ、タンパク質 > 生物名、合成構築物						
残基: AKNWAPFDY						9
配列番号(ID): 23 配列の長さ: 12 分子型: AA 配列の特徴存在位置/属性: - 領域、1..12 > 注記、GM285 CDR1 軽鎖 - ソース、1..12 > mol タイプ、タンパク質 > 生物名、合成構築物						
残基: RASQSVRSY LA						10
配列番号(ID): 24 配列の長さ: 7 分子型: AA 配列の特徴存在位置/属性: - 領域、1..7 > 注記、GM285 CDR2 軽鎖 - ソース、1..7 > mol タイプ、タンパク質 > 生物名、合成構築物						
残基: GASSRAT						12
配列番号(ID): 25 配列の長さ: 9 分子型: AA 配列の特徴存在位置/属性: - 領域、1..9 > 注記、GM285 CDR3 軽鎖 - ソース、1..9 > mol タイプ、タンパク質 > 生物名、合成構築物						
残基: QQYGSSPWT						7
配列番号(ID): 26 配列の長さ: 116 分子型: AA 配列の特徴存在位置/属性: - 領域、1..116 > 注記、GM285 VH - ソース、1..116 > mol タイプ、タンパク質 > 生物名、合成構築物						
残基: EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS RFTMTWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGGTTSY 60 ADSVKGRLTV SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKNW APFDYWGGGT LVTVSS 116						20
配列番号(ID): 27 配列の長さ: 108 分子型: AA 配列の特徴存在位置/属性: - 領域、1..108 > 注記、GM285 VL - ソース、1..108 > mol タイプ、タンパク質 > 生物名、合成構築物						
残基: EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSVS RSYLAWYQQK PGQAPRLLIY GASSRATGIP 60 DRFSGSGSGT DFTLTVSRLE PEDFAVYYCQ QYGSSPWTFG QGTKVEIK 108						30
配列番号(ID): 28						
						40

【化 7】

配列の長さ: 329

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..329
 - > 注記、GM285 IgG1 定常領域
- ソース、1..329
 - > mol タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

ASTKGPSVFP	LAPSSKSTSG	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV	HTFPAVLQSS	60
GLYSLSSVVT	VPSSSLGTQT	YICNVNHKPS	NTKVDKRVEP	KSCDKTHTCP	PCPAPELLGG	120
PSVFLFPPKP	KDTLMISRTF	EVTCSVVDVS	HEDPEVKFNW	YVDGVEVHNA	KTKPREEQYN	180
STYRVVSVLT	VLHQDWLNGK	EYKCKVSNKA	LPAPIEKTIS	KAKGQPREPQ	VYTLPPSREE	240
MTKNQVSLTC	LVKGFYPSDI	AVEWESNGQP	ENNYKTTPPV	LDSGGSFFLY	SKLTVDKSRW	300
QQGNVFSCSV	MHEALHNHYT	QKSLSLSPG				329

配列番号(ID): 29

配列の長さ: 106

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..106
 - > 注記、GM285 カッパ鎖
- ソース、1..106
 - > mol タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

TVAAPSVFIF	PPSDEQLKSG	TASVVCLLNN	FYPREAKVQW	KVDNALQSGN	SQESVTEQDS	60
KDSTYLSLST	LTLSKADYEK	HKVYACEVTH	QGLSSPVTKS	FNRGEC		106

配列番号(ID): 30

配列の長さ: 116

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..116
 - > 注記、GM37 バリアント1 重鎖
- ソース、1..116
 - > mol タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

EVQLLESGGG	LVQTGGSLRL	SCAASGFTFS	SYAMTWVRQA	PGKGLEWWSA	IRSSGDRTDY	60
ADSVKGRFTI	SRDNSQNTLY	LQMNSLRAED	TAVYYCAKNW	APFDSWGQGT	LTVVSS	116

配列番号(ID): 31

配列の長さ: 116

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..116
 - > 注記、GM 37 バリアント2 重鎖
- ソース、1..116
 - > mol タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

EVQLLESGGG	LVQTGGSLRL	SCAASGFTFS	SYAMTWVRQA	PGKGLEWWSA	IRSQGDRTDY	60
ADSVKGRFTI	SRDNSQNTLY	LQMNSLRAED	TAVYYCAKNW	APFDSWGQGT	LTVVSS	116

配列番号(ID): 32

配列の長さ: 116

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..116
 - > 注記、GM 37 バリアント3 重鎖
- ソース、1..116
 - > mol タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

EVQLLESGGG	LVQTGGSLRL	SCAASGFTFS	SYAMTWVRQA	PGKGLEWWSA	IRSHGDRTDY	60
ADSVKGRFTI	SRDNSQNTLY	LQMNSLRAED	TAVYYCAKNW	APFDSWGQGT	LTVVSS	116

配列番号(ID): 33

配列の長さ: 17

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..17
 - > 注記、GM37 バリアント1 重鎖CDR2

10

20

30

40

50

【化 8】

- ソース、1..17 > mol タイプ、タンパク質 > 生物名、合成構築物					
残基:					
AIRSSGDRTD YADSVKG					17
配列番号(ID): 34 配列の長さ: 17 分子型: AA 配列の特徴存在位置/属性: - 領域、1..17 > 注記、GM37 バリアント2 CDR2 重鎖					
- ソース、1..17 > mol タイプ、タンパク質 > 生物名、合成構築物					
残基:					
AIRSQGDRTD YADSVKG					17
配列番号(ID): 35 配列の長さ: 17 分子型: AA 配列の特徴存在位置/属性: - 領域、1..17 > 注記、GM37 バリアント3 CDR2 重鎖					
- ソース、1..17 > mol タイプ、タンパク質 > 生物名、合成構築物					
残基:					
AIRSHGDRTD YADSVKG					17
配列番号(ID): 36 配列の長さ: 5 分子型: AA 配列の特徴存在位置/属性: - 領域、1..5 > 注記、9E4 結合エピートープ					
- ソース、1..5 > mol タイプ、タンパク質 > 生物名、合成構築物					
残基:					
NEAYE					5
配列番号(ID): 37 配列の長さ: 134 分子型: AA 配列の特徴存在位置/属性: - 領域、1..134 > 注記、ヒト ベータ-シヌクレイン					
- ソース、1..134 > mol タイプ、タンパク質 > 生物名、合成構築物					
残基:					
MDVFMKGLSM AKEGVVAAAE KTKQGVTEAA EKTKEGVLYV GSKTREGVVQ GVASVAEKTG 60					
EQASHLGGAV FSGAGNIAAA TGLVKREEFP TDLPKEEVAQ EAAEEPLIEP LMEPEGESYE 120					
DPPQEEYQEY EPEA					134
配列番号(ID): 38 配列の長さ: 127 分子型: AA 配列の特徴存在位置/属性: - 領域、1..127 > 注記、ヒト ガンマ-シヌクレイン					
- ソース、1..127 > mol タイプ、タンパク質 > 生物名、合成構築物					
残基:					
MDVFKKGFESI AKEGVVGAVE KTKQGVTEAA EKTKEGVMYV GAKTKENVVQ SVTSVAEKTG 60					
EQANAVSEAV VSSNVTATK TVEEAENIAV TSGVVRKEDL RPSAPQQEGE ASKEKEEVAE 120					
EAQSGGD					127
配列番号(ID): 39 配列の長さ: 140 分子型: AA 配列の特徴存在位置/属性:					
					40

【化 9】

- 領域、1..140
 - > 注記、カニクイザルについてのアルファシヌクレインオルソログ
- ソース、1..140
 - > mol タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

MDVFMKGLSK	AKEGVVAAAE	KTKQGVAAEA	GKTKEGVLVY	GSKTKEGVVH	GVATVAEKT	60
EQVTNVGGAV	VTGVTAVAQK	TVEGAGSIAA	ATGFIKKDQL	GKNEEGAPQE	GILQDMPVDP	120
DNEAYEMPSE	EGYQDYEPEA					140

配列番号(ID): 40

配列の長さ: 140

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..140
 - > 注記、ラットについてのアルファシヌクレインオルソログ
- ソース、1..140
 - > mol タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

MDVFMKGLSK	AKEGVVAAAE	KTKQGVAAEA	GKTKEGVLVY	GSKTKEGVVH	GVTTVAEKT	60
EQVTNVGGAV	VTGVTAVAQK	TVEGAGNIAA	ATGFVKKDQM	GKGEEGYPQE	GILEDMPVDP	120
SSEAYEMPSE	EGYQDYEPEA					140

配列番号(ID): 41

配列の長さ: 140

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..140
 - > 注記、マウスについてのアルファシヌクレインオルソログ
- ソース、1..140
 - > mol タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

MDVFMKGLSK	AKEGVVAAAE	KTKQGVAAEA	GKTKEGVLVY	GSKTKEGVVH	GVTTVAEKT	60
EQVTNVGGAV	VTGVTAVAQK	TVEGAGNIAA	ATGFVKKDQM	GKGEEGYPQE	GILEDMPVDP	120
GSEAYEMPSE	EGYQDYEPEA					140

配列番号(ID): 42

配列の長さ: 446

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..446
 - > 注記、9E4 HC
- ソース、1..446
 - > mol タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGFTFS	NYGMSWVRQA	PGKGLEWVAS	ISSGGGSTYY	60
PDNVKGRFTI	SRDPAKNSLY	LQMNSLRAED	TAVYYCARGG	AGIDYWGQGT	LVTVSSASTK	120
GPSVFPLAP	SKSTSGGTAA	LGCLVKDYFP	EPVTVSWNSG	ALTSKVHTFP	AVLQSSGLYS	180
LSSVTVTPSS	SLGTQTYICN	VNHKPSNTKV	DKRVEPKSCD	KTHTCPPCPA	PELLGGPSVF	240
LFPKPKDKTL	MISRTPEVTC	VVDVSHEDP	EVKFNWYVDG	VEVHNAKTKP	REEQYNSTYR	300
VVSVLTVLHQ	DWLNKEYKIC	KVSNKALPAP	IEKTISKAKG	QPREPQVYTL	PPSREEMTKN	360
QVSLTCLVKG	FYPSPDIAVEW	ESNGQPENNY	KTTTPVLDS	GSFFLYSKLT	VDKSRWQQGN	420
VFSCSVMHEA	LHNHYTQKSL	SLSPGK				446

配列番号(ID): 43

配列の長さ: 220

分子型: AA

配列の特徴存在位置/属性:

- 領域、1..220
 - > 注記、9E4 LC
- ソース、1..220
 - > mol タイプ、タンパク質
 - > 生物名、合成構築物

残基:

DIQMTQSPSS	LSASVGDRVT	ITCKSIQTLL	YSSNQKNYLA	WFQKPGKAP	KLLIYWASIR	60
KSGVPSRFSG	SGSGTDFTLT	ISSLPQEDLA	TYCQQYYSY	PLTFTGGGTL	EIKRTVAAPS	120
VFIFPPSDEQ	LKSGTASVVC	LLNNFYPREA	KVQWKVDNAL	QSGNSQESVT	EQDSKDYSTY	180
LSSTLTLSKA	DYKHKVYAC	EVTHQGLSSP	VTKSFNRGEC			220

終了

【0135】

本発明に従って使用するための抗体は、任意の好適な供給源から得ることができ、いくつかの実施形態では、異なる細胞株で産生することができ、例えば、ヒト細胞株、哺乳動物非ヒト細胞株、又は昆虫細胞株で産生することができ、例えば、CHO細胞株、HEK細胞株、BHK-21細胞株、ネズミ細胞株（骨髄腫細胞株など）、線維肉腫細胞株、PER.C6細胞株、HKB-11細胞株、CAP細胞株又はHuH-7ヒト細胞株で産生することができる。

【0136】

一実施形態では、本発明に従って使用するための抗体は、ヒト抗体である。アルファシ

10

20

30

40

50

ヌクレインに対して向けられるヒトモノクローナル抗体は、マウスの免疫系よりはむしろヒト免疫系の一部を担持するトランスジェニックマウス又は染色体導入マウスを使用して生成され得る。そのようなトランスジェニックマウス及び染色体導入マウスには、それぞれHuMAbマウス及びKMマウスと称され得るマウスが含まれる。

【0137】

一実施形態では、GM37及びそのバリエーションGM37var1～3並びにGM285によって例示される本発明に従って使用するための抗体は、アルファシヌクレインの残基1～119／122からなる毒性のアルファシヌクレイン断片に結合して、その毒性を中和することができる（例えば、アルファシヌクレイン断片に細胞外結合し、それによってアルファシヌクレイン断片が細胞によって取り込まれることを防止することによって）。更なる実施形態では、本発明に従って使用するための抗体は、アルファシヌクレインのアミノ酸112～117内のエピトープに結合することができ、ヒト脳内の毒性のアルファシヌクレイン種に結合する。更なる実施形態では、本発明に従って使用するための抗体は、細胞外アルファシヌクレインを除去し、インビボでアルファシヌクレインによって誘発されたシナプス伝達障害を正常化することに対して効果を有する。更に別の実施形態では、本発明に従って使用するための抗体はまた、パーキンソン病のラットモデルにおいて、関連する運動表現型の出現を改善することができる。全てのこれらの特性は、国際公開第2017／009312号パンフレットに詳細に記載されている。

【0138】

医薬製剤及び投与経路

本発明はまた、本発明に従って使用するための抗体を含む医薬組成物を製造するためのプロセスも提供する。そのような医薬組成物は、従来の技術に従って薬学的に許容される緩衝液、担体又は希釈剤並びに任意の他の既知のアジュバント若しくは賦形剤を用いて製剤化され得る。

【0139】

本発明の医薬組成物は、希釈剤、充填剤、塩、緩衝液、界面活性剤（例えば、Tween-20又はTween-80などの非イオン性界面活性）、安定剤（例えば、糖又はタンパク質を含まないアミノ酸）、防腐剤、組織固定剤、可溶化剤、及び／又は医薬組成物中に含めるために好適な他の材料を含み得る。

【0140】

加えて、医薬組成物又は製剤は、他の担体、又は非毒性の非治療用、非免疫原性安定剤などを含んでもよい。組成物はまた、タンパク質、キトサンのような多糖類、ポリ乳酸、ポリグリコール酸及びコポリマー（例えば、ラテックス官能価セファロース、アガロース、セルロースなど）、ポリマーアミノ酸、アミノ酸コポリマー、及び脂質凝集体（例えば、油滴又はリポソーム）などの大型のゆっくりと代謝される高分子を含んでもよい。

【0141】

薬学的に許容される担体としては、ありとあらゆる好適な溶媒、分散媒体、コーティング、抗菌及び抗真菌剤、等張化剤、酸化防止剤、及び吸収遅延剤などが挙げられ、これらは本発明に従って使用するための抗体と生理学的に適合する。本発明の医薬組成物中で利用され得る好適な水性及び非水性担体の例としては、水、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、エタノール、デキストロース、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、及びそれらの好適な混合物、植物油、例えば、オリーブ油、コーンオイル、ピーナッツ油、綿実油、及びゴマ油、カルボキシメチルセルロースコロイド状溶液、トラガカントガム、及びオレイン酸エチルなどの有機エステル、並びに／又は様々な緩衝液が挙げられる他の担体は、医薬分野において周知であり、本発明において利用されてもよい。

【0142】

薬学的に許容される担体には、滅菌溶液の即時調製のための滅菌水溶液又は分散液及び滅菌粉末が含まれる。

【0143】

本発明の医薬組成物はまた、例えば、（１）水溶性酸化防止剤、例えば、アスコルビン酸、システイン塩酸塩、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウムなど、（２）油溶性酸化防止剤、例えば、パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール（ＢＨＡ）、ブチル化ヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、レシチン、没食子酸プロピル、アルファートコフェロールなど、並びに（３）金属キレート剤、例えば、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）、ソルビトール、酒石酸、リン酸などの薬学的に許容される抗酸化剤を含んでもよい。

【０１４４】

本発明の医薬組成物はまた、組成物中に糖、多価アルコールなどの等張化剤を含んでもよく、例えば、マンニトール、ソルビトール、グリセロール又は塩化ナトリウムである。

【０１４５】

本発明の医薬組成物はまた、投与の選択された経路に適切な１つ以上のアジュバントを含有してもよく、例えば、防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、保存剤若しくは緩衝液であり、これらは医薬組成物の保存寿命又は効果を増強し得る。

【０１４６】

本発明の抗体は、抗体を急速な放出から保護する担体と共に調製されてもよく、例えば、インプラント、経皮パッチ、及びマイクロカプセル化送達システムを含む制御放出製剤である。そのような担体は、ゼラチン、モノステアリン酸グリセリル、ジステアリン酸グリセリル、生態分解性、生態適合性ポリマー、例えば、エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸の単独又はワックスを伴うもの、又は当該技術分野において周知の他の材料を含んでもよい。そのような製剤の調製のための方法は、当業者に一般的に知られている。

【０１４７】

注入用の医薬組成物は、典型的に製造及び保存の条件下で、無菌で安定していなければならない。組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、リポソーム、又は高い薬物濃度に好適な他の秩序構造として製剤化され得る。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、及びそれらの好適な混合物、オリーブ油などの植物油、及びオレイン酸エチルなどの有機エステルを含有する水性若しくは非水性溶媒又は分散媒体であり得る。

【０１４８】

注入用滅菌溶液は、活性抗体を適切な溶媒中に必要とされる量で、必要に応じて、例えば、上で列挙したような成分のうちの１つ又は組み合わせと共に組込み、その後、滅菌精密濾過を行うことによって調製され得る。一般に、分散液は、活性抗体を基本的分散媒体、及び例えば、上で列挙されたものからの必要とされる他の成分を含有する無菌ベヒクル中に組み込むことによって調製される。滅菌溶液の調製のための滅菌粉末の場合には、調製の方法の例は、真空乾燥及びフリーズドライ（凍結乾燥）であり、これらは有効成分の粉末に加えて、以前に滅菌濾過されたその溶液からの追加の所望の成分をもたらす。

【０１４９】

組成物は、投与の容易さ及び投薬量の均一性のために、投薬単位形態で製剤化され得る。本明細書で使用される投薬単位形態は、治療される対象のために単一投薬量として適した単位を指し、各単位は必要な医薬賦形剤と関連して所望の治療効果を生み出す活性抗体の所定の量を含有する。

【０１５０】

特定の実施形態では、医薬組成物は、静脈内注入によって投与される。

【０１５１】

本発明の特定の液体医薬組成物

本発明の態様では、本発明に従って使用するための抗体は、液体医薬組成物として製剤化され、静脈内注入によって投与される。

【０１５２】

一態様では、本発明は、完全長 IgG1 モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体を

10

20

30

40

50

約 20～230 mg/mL、例えば、25～225 mg/mL の濃度で含む液体医薬組成物を提供し、当該抗体は、

- a. 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR1 と、
- b. 配列番号 34 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR2 と、
- c. 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR3 と、
- d. 配列番号 4 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR1 と、
- e. 配列番号 5 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR2 と、
- f. 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR3 と、を含み、

組成物は、緩衝剤、薬学的に許容される等張化剤、薬学的に許容される界面活性剤を更に含み、組成物の pH は、4.5～7.5、5.0～7.0 など、5.5～6.5 など、6.0 などである。

10

【0153】

好ましい実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、安定な液体医薬組成物である。好ましい実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、低粘度液体医薬組成物である。好ましい実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、安定且つ低粘度の液体医薬組成物である。好ましい実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、液体医薬組成物の投与／投薬を必要とする患者のために臨床用途に好適であり、且つ安全である。

【0154】

ある特定の実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、配列番号 31 の可変ドメインからなる重鎖及び配列番号 8 の可変ドメインからなる軽鎖を更に含む。より具体的な実施形態では、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、配列番号 18 に定義される定常重鎖ドメイン及び配列番号 17 で定義されるカップ軽鎖定常ドメインを更に含む。

20

【0155】

ある特定の実施形態では、本発明の液体医薬組成物のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、GM37v2 である。

【0156】

いくつかの実施形態では、液体医薬組成物は、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体を 20 mg/mL を超える濃度で含み、いくつかの実施形態では、230 mg/mL 未満の濃度で含む。更なる実施形態では、医薬組成物中のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体の濃度は、20～225 mg/mL、20～220 mg/mL、20～215 mg/mL、20～210 mg/mL、20～205 mg/mL、20～200 mg/mL、20～195 mg/mL、20～190 mg/mL、20～185 mg/mL、20～180 mg/mL、20～175 mg/mL、20～170 mg/mL、20～165 mg/mL、20～160 mg/mL、20～155 mg/mL、20～150 mg/mL、20～145 mg/mL、20～140 mg/mL、20～135 mg/mL、20～130 mg/mL、20～125 mg/mL、20～120 mg/mL、20～115 mg/mL、20～110 mg/mL、20～105 mg/mL、20～100 mg/mL、20～95 mg/mL、20～90 mg/mL、20～85 mg/mL、20～80 mg/mL、20～75 mg/mL、20～70 mg/mL、20～65 mg/mL、20～60 mg/mL、20～55 mg/mL、20～50 mg/mL、20～45 mg/mL、20～40 mg/mL、20～35 mg/mL、20～30 mg/mL、20～25 mg/mL、25～230 mg/mL、30～230 mg/mL、35～230 mg/mL、40～230 mg/mL、45～230 mg/mL、50～230 mg/mL、55～230 mg/mL、60～230 mg/mL、65～230 mg/mL、70～230 mg/mL、75～230 mg/mL、80～230 mg/mL、85～230 mg/mL、90～230 mg/mL、95～230 mg/mL、100～230 mg/mL、105～230 mg/mL、110～230 mg/mL、115～230 mg/mL、120～230 mg/mL、125～230 mg/mL、130～230 mg/mL、135～230 mg/mL、140～230 mg/mL、145～230 mg/mL、15

30

40

50

0 ~ 230 mg / mL、155 ~ 230 mg / mL、160 ~ 230 mg / mL、165 ~ 230 mg / mL、170 ~ 230 mg / mL、175 ~ 230 mg / mL、180 ~ 230 mg / mL、185 ~ 230 mg / mL、190 ~ 230 mg / mL、195 ~ 230 mg / mL、200 ~ 230 mg / mL、205 ~ 230 mg / mL、210 ~ 230 mg / mL、215 ~ 230 mg / mL、220 ~ 230 mg / mL、225 ~ 230 mg / mL、25 ~ 225 mg / mL、30 ~ 220 mg / mL、35 ~ 215 mg / mL、40 ~ 210 mg / mL、45 ~ 205 mg / mL、50 ~ 200 mg / mL、55 ~ 195 mg / mL、60 ~ 190 mg / mL、65 ~ 185 mg / mL、70 ~ 180 mg / mL、75 ~ 175 mg / mL、80 ~ 170 mg / mL、85 ~ 165 mg / mL、90 ~ 160 mg / mL、95 ~ 155 mg / mL、100 ~ 150 mg / mL、105 ~ 145 mg / mL、110 ~ 140 mg / mL、115 ~ 135 mg / mL又は120 ~ 130 mg / mLである（これらの数字の間のあらゆる値を含む）。

10

【0157】

特定の実施形態では、液体医薬組成物は、モノクローナル抗アルファシヌクレインを約50 mg / mLの濃度で含む。別の特定の実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、約53 mg / mLの濃度を有する。いくつかの実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、当該値の+/-30%以内の濃度、+/-25%など、+/-20%など、+/-15%など、当該値の+/-10%など、+/-8%など、+/-6%など、+/-5%など、+/-4%など、+/-3%など、+/-2.5%など、+/-2%など、+/-1.5%など、+/-1%など、+/-0.75%など、+/-0.5%など、+/-0.25%など、+/-0.1%など、+/-0.05%など、+/-0.025%など、+/-0.01%など、+/-0.0075%など、+/-0.005%など、+/-0.0025%など、+/-0.001%など又は+/-0.0005%以内などの範囲内の濃度を有する。

20

【0158】

本発明のいくつかの実施形態では、緩衝剤は、単一の緩衝剤又は緩衝剤の混合物である。本発明の更なる実施形態では、緩衝剤は、酢酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、ヒスチジングルタメート、リン酸塩、Tris、グリシン、重炭酸塩、コハク酸塩、硫酸塩又は硝酸塩緩衝液若しくはそれらの混合物から選択される。更なる実施形態では、緩衝剤は、リン酸ナトリウム、ヒスチジン（L-ヒスチジンなど）、クエン酸、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム又はそれらの混合物から選択される。特定の実施形態では、緩衝剤は、ヒスチジン緩衝液（L-ヒスチジンなど）又はヒスチジン緩衝液の混合物である。ヒスチジン緩衝液は、ヒスチジン緩衝液及びそれらの混合物、例えば、ヒスチジン、L-ヒスチジン、L-ヒスチジン塩酸塩、L-ヒスチジン-塩酸塩、L-ヒスチジン-水和物及びL-ヒスチジン塩酸塩-水和物又はそれらの混合物から選択され得る。1つの好ましい実施形態では、ヒスチジン緩衝液は、L-ヒスチジンとL-ヒスチジン-塩酸塩との混合物である。本発明の液体医薬組成物のいくつかの好ましい実施形態では、緩衝剤は、10 ~ 60 mMの濃度で、15 ~ 55 mMなど、20 ~ 50 mMなど、20 ~ 45 mMなど、20 ~ 40 mMなど、25 ~ 40 mMなど、10 ~ 40 mMなど、15 ~ 35 mMなど、20 ~ 30 mM又は25 mMなどの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、液体医薬組成物の緩衝剤は、当該値の+/-30%以内の濃度、+/-25%など、+/-20%など、+/-15%など、当該値の+/-10%など、+/-8%など、+/-6%など、+/-5%など、+/-4%など、+/-3%など、+/-2.5%など、+/-2%など、+/-1.5%など、+/-1%など、+/-0.75%など、+/-0.5%など、+/-0.25%など、+/-0.1%など、+/-0.05%など、+/-0.025%など、+/-0.01%など、+/-0.0075%など、+/-0.005%など、+/-0.0025%など、+/-0.001%など又は+/-0.0005%以内などの濃度を有する。

30

40

【0159】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物のpHは、約4.5 ~ 約7.5の範囲、約4.

50

5～約6.5など、約5.0～約6.5など、約5.5～約6.5、例えば、5.7～6.4、5.8～6.3又は5.9～6.2の範囲である。一実施形態では、液体医薬組成物は、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5又は7.0のpHを有する。ヒスチジン緩衝液（L-ヒスチジンなど）は、この範囲にpHを制御する本発明の液体医薬組成物中に含まれ得る緩衝液の例である。好ましい実施形態では、本発明の液体医薬組成物のpHは6.0である。いくつかの実施形態では、液体医薬組成物は、当該値の+/-30%以内のpH、+/-25%など、+/-20%など、+/-15%など、当該値の+/-10%など、+/-8%など、+/-6%など、+/-5%など、+/-4%など、+/-3%など、+/-2.5%など、+/-2%など、+/-1.5%など、+/-1%など、+/-0.75%など、+/-0.5%など、+/-0.25%など、+/-0.1%など、+/-0.05%など、+/-0.025%など、+/-0.01%など、+/-0.0075%など、+/-0.005%など、+/-0.0025%など、+/-0.001%など又は+/-0.0005%以内などのpHを有する。

10

【0160】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物の界面活性剤は、非イオン性界面活性剤である。更なる実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート（例えば、ポリソルベート20及びポリソルベート80）；ポロキサマー（例えば、ポロキサマー188）；Triton；Triton X-100；ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）；ラウリル硫酸ナトリウム；オクチルグルコシドナトリウム；ラウリル、ミリスチル、リノレイル、若しくはステアリルスルホベタイン；ラウリル、ミリスチル、リノレイル、若しくはステアリルサルコシン；リノレイル、ミリスチル、若しくはセチルベタイン；ラウロアミドプロピル、ココアミドプロピル、リノレアミドプロピル、ミリスタミドプロピル、パルミドプロピル、若しくはイソステアラミドプロピルベタイン（例えば、ラウロアミドプロピル）；ミリスタミドプロピル、パルミドプロピル、若しくはイソステアラミドプロピルジメチルアミン；メチルココイルタウリンナトリウム、若しくはメチルオレイルタウリンナトリウム；ポリエチルグリコール、ポリプロピルグリコール、及びエチレンとプロピレングリコールとのコポリマーからなる群から選択される。1つの具体的な実施形態では、本発明の液体医薬組成物の薬学的に許容される界面活性剤は、Tween 80としても知られるポリソルベート80である。本発明の液体医薬組成物のいくつかの好ましい実施形態では、界面活性剤は、0.001%～0.10%（w/v）の量で、0.005%～0.08%（w/v）など、0.008%～0.06%（w/v）など、0.01%～0.05%（w/v）など、0.015%～0.05%（w/v）など、0.01%～0.05%（w/v）など、0.01%～0.03%（w/v）など又は0.02%（w/v）などの量で存在する。いくつかの実施形態では、液体医薬組成物の界面活性剤は、当該値の+/-30%以内の濃度、+/-25%など、+/-20%など、+/-15%など、当該値の+/-10%など、+/-8%など、+/-6%など、+/-5%など、+/-4%など、+/-3%など、+/-2.5%など、+/-2%など、+/-1.5%など、+/-1%など、+/-0.75%など、+/-0.5%など、+/-0.25%など、+/-0.1%など、+/-0.05%など、+/-0.025%など、+/-0.01%など、+/-0.0075%など、+/-0.005%など、+/-0.0025%など、+/-0.001%など又は+/-0.0005%以内などの濃度を有する。

20

30

40

【0161】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物の等張化剤は、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、デキストロース、トレハロース、塩化ナトリウム、塩化カリウム、グリセロール及びグリセリンから選択される。1つの具体的な実施形態では、等張化剤はNaClなどの好適な塩である。1つの具体的な実施形態では、本発明の液体医薬組成物の等張化剤は、塩化ナトリウム（NaCl）である。本発明の液体医薬組成物のいくつかの好ましい実施形態では、等張化剤は、10～150mMの濃度で、10～150mMなど、10

50

～150mMなど、10～150mMなど、10～150mMなど、20～140mMなど、30～130mMなど、40～120mMなど、50～110mMなど、60～110mMなど、70～110mMなど、80～110mMなど、90～110mMなど又は約100mMなどの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、液体医薬組成物の等張化剤は、当該値の+/-30%以内の濃度、+/-25%など、+/-20%など、+/-15%など、当該値の+/-10%など、+/-8%など、+/-6%など、+/-5%など、+/-4%など、+/-3%など、+/-2.5%など、+/-2%など、+/-1.5%など、+/-1%など、+/-0.75%など、+/-0.5%など、+/-0.25%など、+/-0.1%など、+/-0.0075%など、+/-0.005%など、+/-0.0025%など、+/-0.001%など又は+/-0.0005%以内などの濃度を有する。

10

【0162】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は増量剤を更に含み、これは糖及びポリオール（スクロース、トレハロース、グルコース、ラクトース、ソルビトール、マンニトール及びグリセロールなど）；アミノ酸（アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、グリシン、グルタメート、ヒスチジン、メチオニン又はアラニン）；又はポリマー及びタンパク質（ゼラチン、PVP、PLGA、PEG、デキストラン、シクロデキストリン及び誘導体、デンプン誘導体、HSA又はBSA）から選択される。1つの具体的な実施形態では、増量剤は、アルギニン、グルタメート、スクロース、グリシン又はソルビトールから選択される。1つの具体的な実施形態では、増量剤はスクロースである。本発明の液体医薬組成物のいくつかの好ましい実施形態では、増量剤は、20～200mMの濃度で、25～180mMなど、30～170mMなど、35～160mMなど、40～150mMなど、45～140mMなど、50～130mMなど、60～130mMなど、65～120mMなど、70～120mMなど、75～120mMなど、80～110mMなど、85～110mMなど、90～110mMなど、95～110mMなど、95～105mM又は100mMなどの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、液体医薬組成物の増量剤は、当該値の+/-30%以内の濃度、+/-25%など、+/-20%など、+/-15%など、当該値の+/-10%など、+/-8%など、+/-6%など、+/-5%など、+/-4%など、+/-3%など、+/-2.5%など、+/-2%など、+/-1.5%など、+/-1%など、+/-0.75%など、+/-0.5%など、+/-0.25%など、+/-0.1%など、+/-0.0075%など、+/-0.005%など、+/-0.0025%など、+/-0.001%など又は+/-0.0005%以内などの濃度を有する。

20

30

【0163】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、ヒスチジン緩衝液及び塩化ナトリウム（NaCl）を、pH4.5～7.5で含む。

【0164】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、20～230mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、10～60mMのヒスチジン緩衝液及び10～150mMの塩化ナトリウム（NaCl）を、pH4.5～7.5で含む。

40

【0165】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、40～60mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、20～30mMのヒスチジン緩衝液及び90～110mMの塩化ナトリウム（NaCl）を、pH5.5～6.5で含む。

【0166】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、53mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、25mMのヒスチジン緩衝液及び100mMの塩化

50

ナトリウム (NaCl) を、pH 6.0 で含む。

【0167】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、25 mM のヒスチジン緩衝液及び100 mM の塩化ナトリウム (NaCl) を、pH 6.0 又は当該値の+/-30% 以内で、+/-25% など、+/-20% など、+/-15% など、+/-10% など、+/-5% など、+/-1% など、+/-0.5% など、+/-0.25% 若しくは+/-0.1% 以内などで含む。

【0168】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、ヒスチジン緩衝液及びポリソルベート80 (Tween 80) を、pH 4.5~7.5 で含む。

10

【0169】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、20~230 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、10~60 mM のヒスチジン緩衝液及び0.001%~0.10% (w/v) の量のポリソルベート80 (Tween 80) を、pH 4.5~7.5 で含む。

【0170】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、40~60 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、20~30 mM のヒスチジン緩衝液及び0.01%~0.03% (w/v) の量のポリソルベート80 (Tween 80) を、pH 5.5~6.5 で含む。

20

【0171】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、25 mM のヒスチジン緩衝液及び0.02% (w/v) の量のポリソルベート80 (Tween 80) を、pH 6.0 で含む。

【0172】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、25 mM のヒスチジン緩衝液及び0.02% (w/v) の量のポリソルベート80 (Tween 80) を、pH 6.0 又は当該値の+/-30% 以内で、+/-25% など、+/-20% など、+/-15% など、+/-10% など、+/-5% など、+/-1% など、+/-0.5% など、+/-0.25% 若しくは+/-0.1% 以内などで含む。

30

【0173】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、ヒスチジン緩衝液、塩化ナトリウム (NaCl) 及びポリソルベート80 (Tween 80) を、pH 4.5~7.5 で含む。

【0174】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、20~230 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、10~60 mM のヒスチジン緩衝液、10~150 mM の塩化ナトリウム (NaCl) 及び0.001%~0.10% (w/v) の量のポリソルベート80 (Tween 80) を、pH 4.5~7.5 で含む。

40

【0175】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、40~60 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、20~30 mM のヒスチジン緩衝液、90~110 mM の塩化ナトリウム (NaCl) 及び0.01%~0.03% (w/v) の量のポリソルベート80 (Tween 80) を、pH 5.5~6.5 で含む。

【0176】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、25 mM のヒスチジン緩衝液、100 mM の塩化ナ

50

トリウム (NaCl) 及び 0.02% (w/v) の量のポリソルベート 80 (Tween 80) を、pH 6.0 で含む。

【0177】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、25 mM のヒスチジン緩衝液、100 mM の塩化ナトリウム (NaCl) 及び 0.02% (w/v) の量のポリソルベート 80 (Tween 80) を、pH 6.0 又は当該値の +/−30% 以内で、+/−25% など、+/−20% など、+/−15% など、+/−10% など、+/−5% など、+/−1% など、+/−0.5% など、+/−0.25% 若しくは +/−0.1% 以内などで含む。

【0178】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、ヒスチジン緩衝液、塩化ナトリウム (NaCl) 及びスクロースを、pH 4.5~7.5 で含む。

【0179】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、20~230 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、10~60 mM のヒスチジン緩衝液、10~150 mM の塩化ナトリウム (NaCl) 及び 20~200 mM のスクロースを、pH 4.5~7.5 で含む。

【0180】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、40~60 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、20~30 mM のヒスチジン緩衝液、90~110 mM の塩化ナトリウム (NaCl) 及び 90~110 mM のスクロースを、pH 5.5~6.5 で含む。

【0181】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、25 mM のヒスチジン緩衝液、100 mM の塩化ナトリウム (NaCl) 及び 100 mM のスクロースを、pH 6.0 で含む。

【0182】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、25 mM のヒスチジン緩衝液、100 mM の塩化ナトリウム (NaCl) 及び 100 mM のスクロースを、pH 6.0 又は当該値の +/−30% 以内で、+/−25% など、+/−20% など、+/−15% など、+/−10% など、+/−5% など、+/−1% など、+/−0.5% など、+/−0.25% 若しくは +/−0.1% 以内などで含む。

【0183】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、ヒスチジン緩衝液、スクロース及びポリソルベート 80 (Tween 80) を、pH 4.5~7.5 で含む。

【0184】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、20~230 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、10~60 mM のヒスチジン緩衝液、20~200 mM のスクロース及び 0.001%~0.10% (w/v) の量のポリソルベート 80 (Tween 80) を、pH 4.5~7.5 で含む。

【0185】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、40~60 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、20~30 mM のヒスチジン緩衝液、90~110 mM のスクロース及び 0.01%~0.03% (w/v) の量のポリソルベート 80 (Tween 80) を、pH 5.5~6.5 で含む。

【0186】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、53 mg/mL のモノクローナル抗アルフ

10

20

30

40

50

アシヌクレイン抗体、GM37v2、25mMのヒスチジン緩衝液、100mMのスクロース及び0.02% (w/v)の量のポリソルベート80 (tween 80)を、pH 6.0で含む。

【0187】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、53mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、25mMのヒスチジン緩衝液、100mMのスクロース及び0.02% (w/v)の量のポリソルベート (tween 80)を、pH 6.0又は当該値の+/-30%以内で、+/-25%など、+/-20%など、+/-15%など、+/-10%など、+/-5%など、+/-1%など、+/-0.5%など、+/-0.25%若しくは+/-0.1%以内などで含む。

10

【0188】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、ヒスチジン緩衝液、塩化ナトリウム (NaCl)、スクロース及びポリソルベート80 (tween 80)を、pH 4.5~7.5で含む。

【0189】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、20~230mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、10~60mMのヒスチジン緩衝液、10~150mMの塩化ナトリウム (NaCl)、20~200mMのスクロース及び0.001%~0.10% (w/v)の量のポリソルベート80 (tween 80)を、pH 4.5~7.5で含む。

20

【0190】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、40~60mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、20~30mMのヒスチジン緩衝液、90~110mMの塩化ナトリウム (NaCl)、90~110mMのスクロース及び0.01%~0.03% (w/v)の量のポリソルベート80 (tween 80)を、pH 5.5~6.5で含む。

【0191】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、53mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、25mMのヒスチジン緩衝液、100mMの塩化ナトリウム (NaCl)、100mMのスクロース及び0.02% (w/v)の量のポリソル

30

【0192】

実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、53mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、GM37v2、25mMのヒスチジン緩衝液、100mMの塩化ナトリウム (NaCl)、100mMのスクロース及び0.02% (w/v)の量のポリソルベート80 (tween 80)を、pH 6.0又は当該値の+/-30%以内で、+/-25%など、+/-20%など、+/-15%など、+/-10%など、+/-5%など、+/-1%など、+/-0.5%など、+/-0.25%若しくは+/-0.1%以内などで含む。

【0193】

ある特定の実施形態では、本発明の液体医薬組成物は、20mLの容量でバイアル中に存在し、各バイアルは約1000~1060mgのGM37v2、例えば、約1060mgのGM37v2を含有する。

【0194】

シヌクレイノパチー及び前駆症性シヌクレイノパチー

シヌクレイノパチーは、レビー小体と呼ばれる病理学的アルファシヌクレイン凝集体の神経封入体によって特徴付けられる障害を指す。シヌクレイノパチーには、パーキンソン病 (PD) (パーキンソン病の突発性形態及び遺伝形態を含む) 及びびまん性レビー小体 (DLB) 病 (レビー小体型認知症 (DLB)、アルツハイマー病のレビー小体変異 (LBV)、混合型アルツハイマー病及びパーキンソン病 (CAPD)、純粋自律神経機能不

40

50

全（P A F）並びに多系統萎縮症（M S A；例えば、オリブ橋小脳萎縮症、線条体黒質変性及びシャイ・ドレーガー症候群）としても知られる）が挙げられる。

【0195】

一態様では、本発明は、パーキンソン病（P D）（パーキンソン病の突発性形態及び遺伝形態を含む）、ゴーシェ病（G D）、びまん性レビー小体病（D L B D）、レビー小体型認知症（D L B）、アルツハイマー病のレビー小体変異（L B V）、混合型アルツハイマー病及びパーキンソン病、純粋自律神経機能不全又は多系統萎縮症（M S A）などのシヌクレイノパチーを治療するための好適な投与レジメンを提供する。好ましい実施形態では、シヌクレイノパチーはP Dである。別の好ましい実施形態では、シヌクレイノパチーはD L Bである。更に別の好ましい実施形態では、シヌクレイノパチーはM S Aである。

10

【0196】

別の態様では、本発明は、前駆症性シヌクレイノパチーの1つ以上の臨床マーカースを示すことによって特定可能であるシヌクレイノパチーを発症するリスクがあるヒト対象において、前駆症性シヌクレイノパチーを治療するために好適な投薬レジメンを提供する。前駆症性シヌクレイノパチーのそのような臨床マーカースは、レム睡眠行動障害（R B D）、例えば、孤立性R B D（i R B D）、嗅覚障害、例えば、嗅覚鈍麻、神経心理検査における異常な認知能力、客観的な検査によって評価される微妙な運動機能障害若しくは異常な運動能力、異常色覚、自律神経機能障害（例えば、便秘、排尿症状、勃起不全、起立性低血圧など）、被殻及び線条体における黒質線条体ドーパミン作動性結合の減少（異常D A T－S P E C T）、脂漏性皮膚炎、又は増加する表現型変換リスクに関連する遺伝子型、例えば、グルコセレブロシダーゼにおける突然変異（G B A遺伝子によってコードされる）から選択され得る。

20

【0197】

これらの態様のいくつかの実施形態では、ヒト対象は、中枢神経系におけるアルファシヌクレインの異常な蓄積又は沈着の形態のシヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの徴候を有するものとして特定される。ある特定の実施形態では、ヒト対象は、陽電子放出断層撮影（P E T）、単一光子放射断層撮影（S P E C T）、近赤外（N I R）光イメージング、磁気共鳴画像診断（M R I）、ドーパミントランスポーター（D A T）イメージング、又は経頭蓋超音波検査を含む方法によってアルファシヌクレイン（例えば、脳内）のインビボイメージングによって特定される。

30

【0198】

いくつかの実施形態では、ヒト対象は、対象から得られた血液、血漿又は脳脊髄液（C S F）の試料中のアルファシヌクレインのレベルをアッセイし、対象におけるアッセイされたアルファシヌクレインのレベルを参照基準と比較することによってシヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの徴候を有するものとして特定され、血液、血漿、又はC S F試料中のアルファシヌクレインのレベルと参照基準との間の相違又は類似性が、対象の脳内のアルファシヌクレインのレベルと相関する。アルファシヌクレインのレベルは、例えば、ウエスタンブロット、免疫沈降、酵素結合免疫吸着測定法（E L I S A）、免疫放射測定法（R I A）、蛍光活性化セルソーティング（F A C S）、二次元ゲル電気泳動、質量分析法（M S）、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法（M A L D I－T O F）、表面増強レーザー脱離／イオン化－飛行時間質量分析法（S E L D I－T O F）、高速液体クロマトグラフィー（H P L C）、高速タンパク質液体クロマトグラフィー（F P L C）、多次元液体クロマトグラフィー（L C）、それに続くタンデム質量分析法（M S／M S）、及びレーザーデンシトメトリーから選択される1つ以上の技術によってアルファシヌクレインを分析することを含む当該技術分野において既知の方法によって評価され得る。

40

【0199】

いくつかの実施形態では、ヒト対象は、当該分野において認められた方法及び基準を介して、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの症状を有することによって特定されている。

50

【0200】

最近MSAに関する新しい診断基準「The Movement Disorder Society Criteria for the Diagnosis of Multiple System Atrophy」が、Wennigらによって公開されており、これは参照により本明細書に組み込まれる（Wennig et al., Movement Disorders, 2022, Volume 37, Issue 6, Pages 1131–1148）。これらの新しい基準は、「確実な前駆症性MSAについての研究規準（Research criteria for possible prodromal MSA）」を説明しており、これは前駆症性シヌクレイノパチーを有する患者を特定するために使用され得る。

10

【0201】

20

30

40

50

【表 5】

表2 確実な前駆症性多系統萎縮症についての研究規準

本質的特徴	散発性、進行性の成人 (>30歳)で発症する疾患
臨床的非運動性特徴 (参加基準)	以下のうちの少なくとも1つ: • RBD(睡眠ポリグラフィー検査の確定診断) • 起立又は頭位傾斜の10分以内の神経原性OH (≧20/10mmHgの血圧低下) • 泌尿生殖器不全(>100mLの排尿後の残尿量を伴う原因不明の排尿困難及び原因不明の切迫性失禁のうちの少なくとも1つと組み合わせられた60歳未満の男性における勃起不全)
臨床的運動特徴	以下のうちの少なくとも1つ: • かすかなパーキンソン症状 • かすかな小脳兆候
除外基準	不在
除外基準	
嗅覚検査における原因不明の嗅覚不全又は異常な心臓交換神経イメージング(¹²³ I-MIBG-シンチグラフィー)のうちの少なくとも1つ	
注意力及び警戒心における顕著な変化、並びに視覚知覚能力の早期低下を伴う認知機能変動	
疾患発症後3年以内に薬物によって誘発されない再発性幻視	
疾患発症後3年以内のDSM-Vによる認知症	
核上性下方注視麻痺又は衝動性眼運動低速化	
代替診断(例えば、PSP、多発性硬化症、脳血管障害性パーキンソニズム、症候性小脳疾患など)を示唆する脳MRIの所見	
自律神経不全、運動失調、又はパーキンソニズムを引き起こし、患者の症状に最も関連していることが知られている代替状態(遺伝的若しくは症候性の運動失調及びパーキンソニズムを含むMSAに似たもの)の文書化	

略語: MSA、多系統萎縮症; RBD、レム睡眠行動異常症、OH、起立性低血圧症; DSM-V、精神疾患の診断・統計マニュアル第5版(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition); MRI、磁気共鳴画像診断; PSP、進行性核上麻痺。

【0202】

パーキンソン病（PD）

パーキンソン病（PD）は、シヌクレイノパチー障害である。PDについての明確に定義された診断基準はないが、PD診断を裏付けるために、組み合わせて使用され得る様々な症状及び診断がある。パーキンソン病の正確な診断を、特にその初期段階で行うことは難しいが、熟練した施術者は、臨床的評価ツールを使用することによってヒト対象がPDに罹患しているという合理的な結論に達することができる。いくつかの実施形態では、PD診断は、PDの4つの主要な症状のうちの少なくとも2つの存在に基づくことができる：

- a) 振え又は振戦
- b) 動作緩徐と呼ばれる動作の緩慢
- c) 腕、脚、又は体幹の固縮又は硬さ
- d) 姿勢不安定とも呼ばれるバランス不全及び転倒の可能性。

【0203】

例えば、ドーパミン輸送を分析するためのMRI、脳の超音波検査、PETスキャン、及び／又は単一光子放射断層撮影（SPECT）スキャンなどのイメージング技術（DAT scan）もまた、PDの診断を裏付けるために有用であり得る。

【0204】

レビー小体型認知症（DLB）

レビー小体型認知症は、思考、推論、独立機能の低下につながる進行性認知症を伴うシヌクレイノパチーの一種である。レビー小体型認知症は、その初期症状がアルツハイマー病又は精神病的症状と似ているため、多くの場合診断するのが難しい。確定診断基準はないが、DLBのいくつかの中核となる臨床症状は、認知症、動作障害／パーキンソンズム、認知機能変動、幻視及びレム睡眠行動障害である。いくつかの支持的な臨床症状は、抗精神病薬に対する極度の過敏症、転倒又は失神、不随意機能に関する深刻な問題（血圧の維持、失禁、便秘、嗅覚消失）、人格の変化及び気分障害（うつ、意欲障害、不安症）である。

【0205】

レビー小体型認知症の診断には、思考能力の進行性の低下、並びに以下のうちの少なくとも2つを必要とする：

- a) 警戒心及び思考機能の変動
- b) 繰り返される幻視
- c) パーキンソン病の症状
- d) レム睡眠行動障害

【0206】

自律神経失調症は、血圧及び心拍数における不安定性、体温の調節不良、発汗、並びに関連する徴候及び症状を伴い、レビー小体型認知症の診断を更に裏付け、また抗精神病薬に対する過敏症も同様である。

【0207】

身体検査及び神経学的検査並びに様々な試験は、DLBを他の疾病から区別することを助け、DLBの診断を裏付けることができる。そのような特定の試験は、大脳基底核（脳領域）におけるドーパミントランスポーター（DAT）の取り込みの減少を示す陽電子放出断層撮影（PET）又は単一光子放射断層撮影（SPECT）スキャン、心臓神経の伝達の低下を示す^{1 2 3}ヨウ素-MIBG心筋シンチグラフィー、又は筋肉緊張を失うことなくレム睡眠行動障害を確認する睡眠試験であり得る。

【0208】

多系統萎縮症（MSA）

多系統萎縮症（MSA）は、シヌクレイノパチーの最も急速に進行する一群の障害であり、中枢神経系及び末梢自律神経系におけるタンパク質アルファシヌクレインの異常な沈着によって特徴付けられる。本文脈において、用語MSAは、多系統萎縮症-パーキンソン症状優位型（MSA-P）又は多系統萎縮症-小脳症状優位型（MSA-C）などの全てのタイプのMSAを指すように意味する。MSAは、時にはオリブ橋小脳萎縮症、多系統萎縮症を伴う進行性自律神経不全、線条体黒質変性又はシャイ・ドレーガー症候群と表示されることもある。本発明は、前駆症期、初期、中等度期及び進行期並びにこれらの間の全ての期におけるMSAの治療のための投薬レジメンを提供する。

【0209】

MSAの特定の徴候及び症状、例えば、筋固縮及び不安定歩行が、パーキンソン病などの他の障害と共に発症するために、多系統萎縮症（MSA）を診断することは困難な場合があり得る。様々な自律神経系検査及び画像診断検査を用いた適切な臨床検査は、診断が

10

20

30

40

50

ほぼ確実なM S Aであるか、又は確実なM S Aであるかを判定する上で補助することができる。M S Aが疑われる患者のM S A診断をサポートする上で有用であり得る臨床的方法の例は、構造的及び機能的脳画像診断、心臓交換神経画像検査、心血管自律神経系検査、嗅覚検査、睡眠試験、泌尿器科的評価、及び嚥下障害、認知機能評価、皮膚生検、網膜バイオマーカー、血液及び／又は脳脊髄液バイオマーカー、並びに遺伝子検査である。確実なM S A若しくはほぼ確実なM S Aの診断は、例えば、いわゆるG i l m a n分類（G i l m a n e t a l. , N e u r o l o g y . 2 0 0 8 A u g 2 6 ; 7 1 (9) : 6 7 0 - 6 7 6）によって容易にすることができる。

【0210】

いくつかの実施形態では、治療されるヒト対象は、下記によって特定され得るほぼ確実なM S Aを有する：

- a) 尿失禁又は少なくとも30mmHgの収縮期血圧若しくは15mmHgの拡張期血圧までの、起立して3分以内の血圧の起立性低下を伴う自律神経系不全、及び
- b) レボドパ反応性の低いパーキンソニズム（固縮、振戦又は姿勢の不安定を伴う動作緩慢）、又は
- c) 小脳症候群（小脳性構音障害、四肢の運動失調又は小脳性眼球運動障害を伴う歩行運動失調）。

【0211】

いくつかの実施形態では、治療されるヒト対象は、下記によって特定され得る確実なM S Aを有する：

- a) パーキンソニズム（固縮、振戦又は姿勢の不安定を伴う動作緩慢）又は
- b) 小脳症候群（小脳性構音障害、四肢の運動失調又は小脳性眼球運動障害を伴う歩行運動失調）、及び
- c) 自律神経機能障害を示唆する少なくとも1つの特徴（男性におけるそれ以外の原因不明な頻繁な尿意切迫又は残尿感を伴う勃起不全若しくはほぼ確実なM S Aにおいて必要なレベルを満たさない著しい起立性血圧低下）、及び
- d) 以下の特徴のうちの少なくとも1つ：

確実なM S A - P又はM S A - Cの場合は：

- i . 反射亢進を伴うバンビスキー徴候
- i i . 喘鳴

確実なM S A - Pの場合は：

- i i i . 急速に進行するパーキンソニズム
- i v . レボドパに対する反応不良
- v . 運動起始の3年以内の姿勢不安定性
- v i . 歩行失調、小脳性構音障害、四肢の運動失調又は小脳性眼球運動障害
- v i i . 運動起始の5年以内の嚥下障害
- v i i i . 被殻中小脳脚、脳橋又は小脳のMRIでの萎縮症
- i x . 被殻、脳幹又は小脳におけるフルオロデオキシグルコース陽電子放出断層撮影（F D G - P E T）における代謝低下

確実なM S A - Cの場合は：

- x . パーキンソニズム（動作緩慢及び固縮）
- x i . 被殻、中小脳脚、又は脳橋のMRIでの萎縮症
- x i i . 被殻におけるF D G - P E Tでの代謝低下
- x i i i . 単一光子放射断層撮影（S P E C T）又はP E Tにおけるシナプス前黒質線条体ドーパミン作動性除神経。

現在、確実なM S A診断は、下記の検査によって死後にだけ確認され得る：

- a) 広範囲に大量に存在する脳アルファシヌクレイン陽性のグリア細胞質内封入体、及び／又は
- b) 線条体黒質又はオリブ橋小脳領域における神経変性変化。

【0212】

10

20

30

40

50

最近、MSAについての新しい診断基準「The Movement Disorder Society Criteria for the Diagnosis of Multiple System Atrophy」が、Wenningらによって公開された(Wenning et al., Movement Disorders, 2022, Volume 37, Issue 6, Pages 1131-1148)。

【0213】

これらの基準は、臨床的に確実なMSA及び臨床的にほぼ確実なMSAの診断を含む。

【0214】

【表6】

表1 臨床的に確立され、臨床的にほぼ確実な多系統萎縮症についての診断基準

有意型運動症候群に従って臨床的に確実なMSA-P又はMSA-Cへの分類

本質的特徴	散発性、進行性の成人(>30歳)で発症する疾患	
	臨床的に確実なMSA	臨床的にほぼ確実なMSA
中核的臨床的特徴	1. 下記のように定義される自立神経系機能障害(少なくとも1つが必要とされる) ○ $\geq 100\text{mL}$の排尿後の残尿量を伴う原因不明の排尿困難 ○ 原因不明の切迫性失禁 ○ 起立又は頭位傾斜試験の3分以内の神経原性OH($\geq 20/10\text{mmHg}$の血圧低下) 並びに下記のうちの少なくとも1つ 1. L-dopa反応性不良のパーキンソニズム 2. 小脳症候群(歩行失調、四肢の運動失調、小脳性構音障害、又は眼球運動機能障害のうちの少なくとも2つ)	下記のうちの少なくとも1つ: 1. 下記のように定義される自立神経系機能障害(少なくとも2つが必要とされる) ○ 排尿後の残尿を伴う原因不明の排尿困難 ○ 原因不明の切迫性失禁 ○ 起立又は頭位傾斜試験の10分以内の神経原性OH($\geq 20/10\text{mmHg}$の血圧低下) 2. パーキンソニズム 3. 小脳症候群(歩行失調、四肢の運動失調、小脳性構音障害、又は眼球運動機能障害のうちの少なくとも1つ)
支持的臨床的(運動性又は非運動性)特徴	少なくとも2つ	少なくとも1つ
MRIマーカー	少なくとも1つ	不要
除外基準	不在	不在
支持的臨床的特徴		
支持的運動性特徴	運動起始の3年以内の急激な進行 運動起始の3年以内の中等度から重度の姿勢不安定性 四肢ジスキネジアの不在化でのL-dopaによって誘発若しくは悪化した頭蓋頸部ジストニア 運動起始の3年以内の重度の言語障害 運動起始の3年以内の重度嚥下障害 原因不明のバビンスキー徴候 反射性ミオクローヌス姿勢時振戦又は運動時振戦 体位変形	支持的非運動性特徴 喘鳴 ため息様の吸気 冷たい手足 勃起不全(臨床的にほぼ確実なMSAについては60歳未満) 病的泣き笑い

【0215】

10

20

30

40

50

【表 7】

臨床的に確実なMSAのMRIマーカー	
1つのMRIマーカーとしての萎縮症又は増加した拡散カウントのいずれかによって証明される各冒された脳領域	
MSA-Pの場合	MSA-Cの場合
- 以下のうちの萎縮症 - 被殻(及び鉄感受性配列に対するシグナル減少) - 中小脳脚 - 脳橋 - 小脳 「十字(Hot cross bun)」サイン	- 以下のうちの萎縮症 - 被殻(及び鉄感受性配列に対するシグナル減少) - テント下構造(脳橋及び中小脳脚) 「十字」サイン
- 下記の拡散性の増加 - 被殻 - 中小脳脚	- 下記の拡散性の増加 - 被殻
除外基準	
ドーパミン作動薬に対する実質的かつ持続的な有益な反応	
嗅覚検査における原因不明の嗅覚障害	
注意力と警戒心の顕著な変化と視覚知覚能力の早期低下を伴う認知機能の変動	
疾患発症後3年以内に薬物によって誘発されない再発性幻視	
疾患発症後3年以内のDSM-Vによる認知症	
核上性下方注視麻痺又は衝動性眼運動低速度	
代替診断(例えば、PSP、多発性硬化症、脳血管障害性パーキンソニズム、症候性小脳疾患など)を示唆する脳MRIの所見	
自律神経不全、運動失調、又はパーキンソニズムを引き起こし、患者の症状に最も関連していることが知られている代替状態(遺伝的若しくは症候性の運動失調及びパーキンソニズムを含むMSAに似たもの)の文書化	
*孤立性特徴としての勃起不全を除外する。	
略語: MSA、多系統萎縮症; MSA-P、多系統萎縮症-パーキンソン症状優位型; MSA-C、多系統萎縮症-小脳症状優位型; OH、起立性低血圧症; MRI、磁気共鳴画像診断; DSM-V、精神疾患の診断・統計マニュアル第5版(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition); PSP、進行性核上麻痺。	

10

20

【0216】

レム睡眠行動障害(RBD)

素早い眼球運動(レム(REM))睡眠行動障害(RBD)は、シヌクレイノパチーの初期症状発現であると考えられる。レム睡眠行動障害(RBD)は、夢の内容が「行動化」してしまうことで特徴付けられ、レム睡眠に通常伴う筋緊張消失の喪失を示すビデオ終夜睡眠ポリグラフィー(vPSG)によって診断される。臨床的孤立性RBD(iRBD)(以前は、特発性RBDと称されたこともあった)などのレム睡眠行動障害(RBD)は、前駆症性シヌクレイノパチー、パーキンソン病(PD)、レビー小体型認知症(DLB)及び多系統萎縮症(MSA)を含む一群の神経変性障害の最も信頼できる臨床マーカーである。iRBDなどのレム睡眠行動障害を有する個人の圧倒的大多数が、iRBDの発症から20年以内、3年以内など、5年以内など、8年以内など又は16年以内などにシヌクレイノパチーと診断されている。したがって、レム睡眠行動障害(RBD)集団は、シヌクレイン特異的神経変性疾患の進行を修飾するために、すなわち、明白なシヌクレイノパチーへの表現型変換を遅延又は防止する疾患修飾治療を得るために、本発明に従って使用するための抗体を投与するために理想的な群として機能し得る。

30

40

【0217】

RBDの診断は、睡眠障害国際分類(International Classification of Sleep Disorders)によって確立されたもの(ICSD-3)、精神疾患の診断・統計マニュアル第5版(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5th edition)(DSM-V)、又は睡眠と睡眠関連イベントのスコアのための米国睡眠医学会マニュアル(American Academy of Sleep Medicine(AASM) Manual for the Scoring of

50

Sleep and Associated Events) などの特定のコンセンサス基準に基づき得る。確証的RBD診断は、vPSG分析による確認が必要であり得る。RBDの診断は、陽電子放出断層撮影 (PET)、単一光子放射断層撮影 (SPECT)、近赤外 (NIR) 光イメージング、磁気共鳴画像診断 (MRI)、ドーパミントランスポート (DAT) イメージング、又は経頭蓋超音波検査などのシヌクレイノパチーを特定するためにも有用である様々なイメージング技術を使用した評価によって更に裏付けることができる。

【0218】

統合多系統萎縮症評価尺度 (UMSARS)

UMSARSは、MSAを有する患者における疾患進行を評価するための、周知の複合臨床医及び患者介護者報告のスケールである。UMSARSスケールは、疾患進行のモニタリング及び／又は治療に対する応答の定量化の両方に関してMSA患者を評価するために、臨床現場で使用する事ができる。

10

【0219】

UMSARSは、4つのパートからなる：

パートI 0 = 障害なしから4 = 動作不能までの範囲の評点に基づいて評価付けされる、患者及び介護者によって報告される (12項目) 過去2週間にわたる症状及び日常生活動作に基づく病歴情報を評価する (注記：各項目は、扱われている質問に相当するような異なるアンカー記述子を用いる)。

【0220】

パートII 0 = 正常から4 = 顕著な／重度の障害までの範囲の評点に基づいて評価付けされる、重要な運動徴候及び症状 (14項目) の臨床検査からなる (注記：各項目は、扱われている質問に相当するような異なるアンカー記述子を用いる)。

20

【0221】

パートIII 自律神経系検査 (4項目)、収縮期血圧及び拡張期血圧、心拍数並びに起立性症状 (あり／なし) の個々の測定を含む。

【0222】

パートIV 1 = 完全に自立から5 = 全面介助で無力／寝たきり状態までの範囲の評点に基づいて評価付けされる、全体的な障害度を評価する (1項目)。

【0223】

合計UMSARSスコア (UMSARS TS) は、パートI及びパートIIからの項目の合計によって得られる。パートIのスコアは、0～48の範囲であり、パートIIのスコアは、0～56の範囲である。より高いスコアは、より大きな障害を示す。経験豊富な神経科医は、短いトレーニングセッションの後に UMSARSを使用することができる。

30

【0224】

本文脈における修正UMSARS (mUMSARS) スコアは、UMSARSパートI 1からなり、ここでは、0及び1の応答選択スコアが分析における1つの分類に求められるようになる。

【0225】

簡易UMSARS (aUMSARS) スコアは、患者中心でMSAにおける進行に敏感であるように示されたUMSARSパートI及びパートIIからの項目のサブセットから導出され得る。簡易UMSARSは、患者中心である (患者に関連する) ように、且つ確実なMSA、ほぼ確実なMSA、臨床的に確実なMSA又は臨床的にほぼ確実なMSAと診断された患者において変化の検出に対して敏感であるように開発され得る。簡易UMSARSスコアは、元々のUMSARSスコアにおけるパートI及びパートIIからの項目のサブセットに基づいている。aUMSARSスコア中に含まれる項目は、例えば、1) QoLスケールとの相関関係に基づいて、勾配及び／又は患者中心／焦点を当てた変化に敏感である項目を見つけ出し、2) それらをUMSARSの簡易バージョンに組み合わせ、すなわち、患者中心／重視の程度が低く、経時的な変化を検出する能力が低い項目を除外することによって、特定することができる。aUMSARSを開発するために使用され

40

50

るデータは、例えば、欧州MSA研究グループ自然史研究及びMSA-Ras試験から取得することができる。統合MSA評価尺度の部分項目の変化の敏感性は、その経時的な進行を線形混合モデルでモデル化する場合、勾配の標準偏差で割ったその進行の平均勾配を使用して、変化に対する敏感性の比率を計算することによって評価することができる。患者中心の程度は、統合MSA評価尺度項目と生活の質尺度の相関に基づいて評価することができる。

【0226】

そのようなaUMSARSの例を以下に提示し、この特定のaUMSARSは、以下の19のパートI及びパートIIのUMSARS項目を含む。

【0227】

【表8】

パート1	
嚥下	P1 Q2
書字	P1 Q3
更衣	P1 Q5
衛生	P1 Q6
歩行	P1 Q7
起立性症状	P1 Q9
排尿症候	P1 Q10
腸機能	P1 Q12
パート2	
表情	P2 Q1
眼球運動障害	P2 Q3
動作時振戦	P2 Q5
緊張増加	P2 Q6
手の反復拮抗運動	P2 Q7
手指のタッピング	P2 Q8
下肢の俊敏性	P2 Q9
踵膝脛試験	P2 Q10
椅子からの立ち上がり	P2 Q11
姿勢	P2 Q12
歩行	P2 Q14

【0228】

具体的な実施形態

以下の実施形態は、本発明を更に詳細に説明する。

【0229】

一実施形態では、本発明は、シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーの治療で使用するためのモノクローナルアルファシヌクレイン抗体を提供し、その使用は

、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体をシヌクレイノパチーに罹患しているか、又はシヌクレイノパチーを発症するリスクがあるヒト対象に、700mg超且つ7000mg未満の用量、900mg～5000mgなど、又は1000mg～4500mgなどの用量で静脈内投与することを含み、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、ヒトアルファシヌクレイン（配列番号10）のアミノ酸112～117（配列番号9（ILEDMP））の範囲内のエピトープに結合する完全長抗体である。

【0230】

一実施形態では、本発明は、シヌクレイノパチーの治療で使用するためのモノクローナルアルファシヌクレイン抗体を提供し、その使用は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体をシヌクレイノパチーに罹患しているか、又はシヌクレイノパチーを発症するリスクがあるヒト対象に、700mg超且つ7000mg未満の用量、900mg～5000mgなど、又は1000mg～4500mgなどの用量で静脈内投与することを含み、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、ヒトアルファシヌクレイン（配列番号10）のアミノ酸112～117（配列番号9（ILEDMP））の範囲内のエピトープに結合する完全長抗体である。

10

【0231】

一実施形態では、本発明は、前駆症性シヌクレイノパチーの治療で使用するためのモノクローナルアルファシヌクレイン抗体を提供し、その使用は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体をシヌクレイノパチーに罹患しているか、又はシヌクレイノパチーを発症するリスクがあるヒト対象に、700mg超且つ7000mg未満の用量、900mg～5000mgなど、又は1000mg～4500mgなどの用量で静脈内投与することを含み、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、ヒトアルファシヌクレイン（配列番号10）のアミノ酸112～117（配列番号9（ILEDMP））の範囲内のエピトープに結合する完全長抗体である。

20

【0232】

特定の実施形態では、モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体は、約0.5nMのアルファシヌクレインのオリゴマー形態に結合する推定KD値を有する。

【0233】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、約36nMのアルファシヌクレインの単量体形態に結合するKD値を有する。

30

【0234】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、約36nMのアルファシヌクレインの単量体形態に結合するKD値を有し、約0.5nMのアルファシヌクレインのオリゴマー形態に結合する推定値を有する。

【0235】

一実施形態では、単量体結合値とオリゴマー結合値との間の比は、単量体形態と比較して、オリゴマー形態に対しておよそ65倍増強される。

【0236】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、約25～35日間、約4週間など、約27～33日間など、28～32日間など、28～30日間など、28日間など、29日間など、30日間などのヒトT1/2を有する。

40

【0237】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、約36nMのアルファシヌクレインの単量体形態への結合のKD値を有し、0.5nMのアルファシヌクレインのオリゴマー形態に結合する推定値を有し、それにより単量体結合とオリゴマー結合との間の比は、およそ65倍増強される。

【0238】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、約36nMのアルファシヌクレインの単量体形態への結合のKD値を有し、0.5nMのアルファシヌクレインのオリゴマー形態への結合の推定KD値を有し、それにより単量体結合とオリゴマー

50

結合との間の比は、およそ 65 倍増強され、抗体は約 28 ～ 30 日間、例えば、29 日間の T1 / 2 を有する。

【0239】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、

- a. 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR1 と、
- b. 配列番号 2 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR2 と、
- c. 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR3 と、
- d. 配列番号 4 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR1 と、
- e. 配列番号 5 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR2 と、
- f. 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR3 と、を含む。

10

【0240】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、配列番号 7 の可変ドメインからなる重鎖及び配列番号 8 の可変ドメインからなる軽鎖を含む。

【0241】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、

- a. 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR1 と、
- b. 配列番号 33 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR2 と、
- c. 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR3 と、
- d. 配列番号 4 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR1 と、
- e. 配列番号 5 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR2 と、
- f. 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR3 と、を含む。

20

【0242】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、配列番号 30 の可変ドメインからなる重鎖及び配列番号 8 の可変ドメインからなる軽鎖を含む。

【0243】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、

- a. 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR1 と、
- b. 配列番号 34 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR2 と、
- c. 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR3 と、
- d. 配列番号 4 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR1 と、
- e. 配列番号 5 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR2 と、
- f. 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR3 と、を含む。

30

【0244】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、配列番号 31 の可変ドメインからなる重鎖及び配列番号 8 の可変ドメインからなる軽鎖を含む。

【0245】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、

- a. 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR1 と、
- b. 配列番号 35 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR2 と、
- c. 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する重鎖 CDR3 と、
- d. 配列番号 4 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR1 と、
- e. 配列番号 5 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR2 と、
- f. 配列番号 6 のアミノ酸配列を有する軽鎖 CDR3 と、を含む。

40

【0246】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、配列番号 32 の可変ドメインからなる重鎖及び配列番号 8 の可変ドメインからなる軽鎖を含む。

【0247】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、完全長ヒト抗体である。

【0248】

50

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、ヒト I g G 1 抗体である。

【0249】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、GM37である。

【0250】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、GM37バリエーション1である。

【0251】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、GM37バリエーション2である。

【0252】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、GM37バリエーション3である。

【0253】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、配列番号18で定義される定常重鎖ドメイン及び配列番号17で定義されるカッパ軽鎖定常ドメインを更に含む。

【0254】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、4週間毎又は28日間毎に投与される。

【0255】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、1ヶ月に1回投与される。

【0256】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、3～5週間の間隔で、700mg超且つ7000mg未満の用量、900mg～5000mgなど、又は1000mg～4500mgなどの用量で投与される。

【0257】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、750mg、2250mg、又は4500mgの用量で投与される。

【0258】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、1000mg～4500mgの用量、2000mg～4500mgなど、又は3500mg～4500mgの用量で投与される。

【0259】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、750mg、1050mg、1400mg、1750mg、2100mg、2450mg、2800mg、3150mg、3500mg、3850mg、4200mg、4550mg、4900mg、5250mg、5600mg、5950mg、6300mg、又は6650mgの用量で投与される。

【0260】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、1050mg、2100mg又は4200mgの用量で投与される。

【0261】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、4200mgの用量で投与される。

【0262】

一実施形態では、用量は固定用量である。

【0263】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、1050mg、2

10

20

30

40

50

1 0 0 m g 又は 4 2 0 0 m g の用量で、2 8 ～ 3 0 日間毎に投与される。

【0 2 6 4】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、4 2 0 0 m g の用量で、4 週間毎又は 2 8 ～ 3 0 日間毎、例えば、2 8 日間毎、2 9 日間毎又は 3 0 日間毎に投与される。

【0 2 6 5】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、3 0 分 ± 1 0 分間にわたって静脈内注入によって投与される。

【0 2 6 6】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、1 5 分 ± 5 分間にわたって静脈内注入によって投与される。

【0 2 6 7】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、2 5 m g / 分 ～ 3 0 0 m g / 分の速度で静脈内注入によって投与される。

【0 2 6 8】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、3 0 m g / 分 ～ 1 5 0 m g / 分の速度で、例えば、3 5 m g / 分、7 0 m g / 分又は 1 4 0 m g / 分の速度で静脈内注入によって投与される。

【0 2 6 9】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、6 0 m g / 分 ～ 3 0 0 m g / 分の速度で、例えば、7 0 m g / 分、1 4 0 m g / 分又は 2 8 0 m g / 分の速度で静脈内注入によって投与される。

【0 2 7 0】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、少なくとも 0 . 5 n M、少なくとも 1 n M など、少なくとも 2 n M など、少なくとも 3 n M など、少なくとも 6 n M など、又は少なくとも 1 2 n M などの抗体の推定 C S F 平均定常状態濃度を達成するのに十分な量及び頻度で投与される。

【0 2 7 1】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、少なくとも 3 n M の抗体の推定 C S F 平均定常状態濃度を達成するのに十分な量及び頻度で投与される。

【0 2 7 2】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、少なくとも 6 n M の抗体の推定 C S F 平均定常状態濃度を達成するのに十分な量及び頻度で投与される。

【0 2 7 3】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、少なくとも 1 2 n M の抗体の推定 C S F 平均定常状態濃度を達成するのに十分な量及び頻度で投与される。

【0 2 7 4】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、少なくとも 5 0 %、少なくとも 6 0 % など、少なくとも 7 5 % など、少なくとも 8 0 % など、少なくとも 8 5 % など、少なくとも 9 0 % など、少なくとも 9 5 % など、又は少なくとも 9 9 % などの C S F 中のアルファシヌクレインのオリゴマー形態に対する推定ターゲットエンゲージメントを達成するのに十分な量及び頻度で投与される。

【0 2 7 5】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、少なくとも 8 5 % の C S F 中のアルファシヌクレインのオリゴマー形態に対する推定ターゲットエンゲージメントを達成するのに十分な量及び頻度で投与される。

【0 2 7 6】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、少なくとも 9 0 % の C S F 中のアルファシヌクレインのオリゴマー形態に対する推定ターゲットエンゲージメントを達成するのに十分な量及び頻度で投与される。

10

20

30

40

50

【0277】

更なる実施形態では、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、少なくとも95%のCSF中のアルファシヌクレインのオリゴマー形態に対する推定ターゲットエンゲージメントを達成するのに十分な量及び頻度で投与される。

【0278】

更なる実施形態では、治療されるシヌクレイノパチーは、パーキンソン病（PD）（パーキンソン病の突発性形態及び遺伝形態を含む）、ゴーシェ病（GD）、びまん性レビー小体病（DLBD）、レビー小体型認知症（DLB）、アルツハイマー病のレビー小体変異（LBV）、混合型アルツハイマー病及びパーキンソン病、純粋自律神経機能不全及び多系統萎縮症（MSA）からなるリストから選択される。

10

【0279】

更なる実施形態では、治療されるシヌクレイノパチーは、パーキンソン病（PD）、レビー小体型認知症（DLB）、又は多系統萎縮症（MSA）から選択される。

【0280】

更なる実施形態では、治療されるシヌクレイノパチーは、多系統萎縮症（MSA）又は確実なMSA、ほぼ確実なMSA、MSAタイプC、MSAタイプP、臨床的に確実なMSA若しくは臨床的にほぼ確実なMSAから選択されるMSAサブタイプである。

【0281】

更なる実施形態では、治療されるシヌクレイノパチーは、パーキンソン病（PD）（パーキンソン病の突発性形態及び遺伝形態を含む）、ゴーシェ病（GD）、びまん性レビー小体病（DLBD）、レビー小体型認知症（DLB）、アルツハイマー病のレビー小体変異（LBV）、混合型アルツハイマー病及びパーキンソン病、純粋自律神経機能不全及び多系統萎縮症（MSA）から選択され、治療は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体を、少なくとも0.5 nM、少なくとも1 nMなど、少なくとも2 nMなど、少なくとも3 nMなど、少なくとも6 nMなど、又は少なくとも12 nMなどの抗体のCSF定常状態濃度を達成するのに十分な量及び頻度で患者に投与することを含む。

20

【0282】

更なる実施形態では、治療されるシヌクレイノパチーは、パーキンソン病（PD）（パーキンソン病の突発性形態及び遺伝形態を含む）、ゴーシェ病（GD）、びまん性レビー小体病（DLBD）、レビー小体型認知症（DLB）、アルツハイマー病のレビー小体変異（LBV）、混合型アルツハイマー病及びパーキンソン病、純粋自律神経機能不全及び多系統萎縮症（MSA）から選択され、治療は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体を、少なくとも3 nM、少なくとも6 nMなど、又は少なくとも12 nMなどの抗体のCSF定常状態濃度を達成するのに十分な量及び頻度で患者に投与することを含む。

30

【0283】

更なる実施形態では、治療されるシヌクレイノパチーは、パーキンソン病（PD）（パーキンソン病の突発性形態及び遺伝形態を含む）、ゴーシェ病（GD）、びまん性レビー小体病（DLBD）、レビー小体型認知症（DLB）、アルツハイマー病のレビー小体変異（LBV）、混合型アルツハイマー病及びパーキンソン病、純粋自律神経機能不全及び多系統萎縮症（MSA）から選択され、治療は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体を、少なくとも50%、少なくとも60%など、少なくとも75%など、少なくとも80%など、少なくとも85%など、少なくとも90%など、少なくとも95%など、又は少なくとも99%などのCSF中のアルファシヌクレインのオリゴマー形態に対する推定ターゲットエンゲージメントを達成するのに十分な量及び頻度で患者に投与することを含む。

40

【0284】

更なる実施形態では、治療されるシヌクレイノパチーは、パーキンソン病（PD）（パーキンソン病の突発性形態及び遺伝形態を含む）、ゴーシェ病（GD）、びまん性レビー小体病（DLBD）、レビー小体型認知症（DLB）、アルツハイマー病のレビー小体変異（LBV）、混合型アルツハイマー病及びパーキンソン病、純粋自律神経機能不全及び

50

多系統萎縮症（MSA）から選択され、治療は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体を、少なくとも85%、少なくとも90%など、少なくとも95%などのCSF中のアルファシヌクレインのオリゴマー形態に対する推定ターゲットエンゲージメントを達成するのに十分な量及び頻度で患者に投与することを含む。

【0285】

更なる実施形態では、本発明は、パーキンソン病（PD）（パーキンソン病の突発性形態及び遺伝形態を含む）、ゴーシェ病（GD）、びまん性レビー小体病（DLBD）、レビー小体型認知症（DLB）、アルツハイマー病のレビー小体変異（LBV）、混合型アルツハイマー病及びパーキンソン病、純粋自律神経機能不全又は多系統萎縮症（MSA）から選択されるシヌクレイノパチーを治療する方法を提供する。

10

【0286】

更なる実施形態では、本発明は、パーキンソン病（PD）、レビー小体型認知症（DLB）、又は多系統萎縮症（MSA）から選択されるシヌクレイノパチーを治療する方法を提供する。

【0287】

更なる実施形態では、本発明は、多系統萎縮症（MSA）、例えば、確実なMSA、ほぼ確実なMSA、MSAタイプC、MSAタイプP、臨床的に確実なMSA若しくは臨床的にほぼ確実なMSAから選択されるMSAサブタイプであるシヌクレイノパチーを治療する方法を提供する。

【0288】

更なる実施形態では、本発明は、多系統萎縮症－パーキンソン症状優位型（MSA-P）又は多系統萎縮症－小脳症状優位型（MSA-C）サブタイプのMSAと診断されたことによって特定可能である多系統萎縮症（MSA）に罹患しているヒト対象を治療するための、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体を提供する。

20

【0289】

更なる実施形態では、本発明は、過去5年以内、過去4年以内など、又は過去3年以内など、又は過去2年以内など、又は過去1年以内などに運動及び／又は自律神経（起立性若しくは排尿性）MSA症状を発症したことによって特定可能である、多系統萎縮症（MSA）に罹患しているヒト対象を治療するモノクローナルアルファシヌクレイン抗体を提供する。

30

【0290】

更なる実施形態では、本発明は、 ≤ 16 のUMSARSパートIスコア（性機能に関する質問11を省略）を有することによって特定可能である、多系統萎縮症（MSA）に罹患しているヒト対象を治療するためのモノクローナルアルファシヌクレイン抗体を提供する。

【0291】

更なる実施形態では、本発明は、 ≥ 22 のスコアのモントリオール認知アセスメント（MoCA）によって評価される認知能力を有することによって特定可能である、多系統萎縮症（MSA）に罹患しているヒト対象を治療するための、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体を提供する。

40

【0292】

実施形態では、シヌクレイノパチーの治療は、疾患進行を遅延させることからなる。

【0293】

更なる実施形態では、シヌクレイノパチーの治療は、少なくとも5%だけ、少なくとも10%など、少なくとも15%など、少なくとも20%など、少なくとも25%など、少なくとも30%など、少なくとも35%など、少なくとも40%など、少なくとも45%など、少なくとも50%など、少なくとも55%など、少なくとも60%など、少なくとも65%など、少なくとも70%など、少なくとも75%など、少なくとも80%など、少なくとも85%など又は少なくとも90%などだけ疾患の進行を遅延させることからなる。

50

【0294】

更なる実施形態では、シヌクレイノパチーの治療は、少なくとも25%だけ、少なくとも30%など、少なくとも35%など又は少なくとも40%などだけ疾患の進行を遅延させることからなる。

【0295】

更なる実施形態では、シヌクレイノパチーに対する治療効果は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体の少なくとも10回投与量、少なくとも11回投与量など、少なくとも12回投与量など、少なくとも13回投与量など、少なくとも14回投与量など、少なくとも15回投与量など、少なくとも16回投与量など、少なくとも17回投与量など、少なくとも18回投与量など、少なくとも19回投与量など又は少なくとも20回投与量などの投与後に観察される。

10

【0296】

更なる実施形態では、シヌクレイノパチーに対する治療効果は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体による、少なくとも24週間、少なくとも48週間など、少なくとも72週間など又は少なくとも96週間などの治療後に観察される。

【0297】

更なる実施形態では、シヌクレイノパチーに対する治療効果は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体による、少なくとも44週間又は少なくとも48週間の治療後に観察される。

【0298】

更なる実施形態では、シヌクレイノパチーの治療効果は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体の少なくとも10回投与量、少なくとも11回投与量など又は少なくとも12回投与量などの投与後に観察される。

20

【0299】

実施形態では、疾患の進行における遅延は、本明細書に記載の関連する統合多系統萎縮症評価尺度（UMSARS）スコアのいずれか又はこれらの評価尺度のいずれかの関連するパート、例えば、パートI、パートII、パートIII若しくはパートIVにおけるベースラインからの対数変化、又はUMSARSのこれらのパートの任意の組み合わせにおけるベースラインからの変化によって定量化される。

【0300】

更なる実施形態では、疾患の進行における遅延は、統合多系統萎縮症評価尺度（UMSARS）のパートI及び／若しくはパートIIにおける、又は修正UMSARSパートI（mUMSARS）における、又は簡易UMSARS（aUMSARS）スコアにおけるベースラインからの対数変化によって定量化される。

30

【0301】

更なる実施形態では、疾患の進行における遅延は、統合多系統萎縮症評価尺度（UMSARS）パートI又はパートIIスコアにおけるベースラインからの対数変化によって定量化される。

【0302】

更なる実施形態では、疾患の進行における遅延は、統合多系統萎縮症評価尺度（UMSARS）パートI及びパートIIスコアにおけるベースラインからの対数変化によって定量化される。

40

【0303】

更なる実施形態では、疾患の進行における遅延は、統合多系統萎縮症評価尺度（UMSARS）パートI、修正UMSARSパートI（mUMSARS）及び／又はUMSARSパートIIスコアにおけるベースラインからの対数変化によって定量化される。

【0304】

更なる実施形態では、疾患の進行における遅延は、UMSARS TS、UMSARSパートI、mUMSARS及び／又はUMSARSパートIIスコアにおけるベースラインからの対数変化によって定量化される。

50

【0305】

更なる実施形態では、疾患の進行における遅延は、簡易UMSARS (aUMSARS) スコアにおけるベースラインからの対数変化によって定量化される。

【0306】

更なる実施形態では、疾患の進行における遅延は、修正UMSARS (mUMSARS) スコアにおけるベースラインからの対数変化によって定量化される。

【0307】

更なる実施形態では、疾患の進行における遅延は、合計統合多系統萎縮症評価尺度 (UMSARS TS) スコアにおけるベースラインからの対数変化によって定量化される。

【0308】

更なる実施形態では、疾患の進行における遅延は、容積測定MRI (vMRI) によって特定される場合の脳容積におけるベースラインからの対数変化によって定量化される。

【0309】

更なる実施形態では、疾患の進行における遅延は、ニューロフィラメント軽鎖 (NfL) 血中濃度におけるベースラインからの対数変化によって定量化される。

【0310】

更なる実施形態では、疾患の進行における遅延は、下記から選択される1つ以上のパラメーターにおけるベースラインからの対数変化によって定量化される：シュワブ・イングランド日常生活活動 (SE-ADL) スコア；臨床全般印象・重症度 (CGI-S) スコアにおけるベースラインからの変化として；患者による全般印象・重症度 (PGI-S) スコアにおけるベースラインからの変化として；観察者による報告の全般印象・重症度スコアにおけるベースラインからの変化として；複合自律神経症状スコア選択変化 (COMPASS Select Change) スコアにおけるベースラインからの変化として；UMSARSパートIVスコアにおけるベースラインからの変化として；UMSARSパートI項目スコアによって評価される会話、嚥下、転倒、及び歩行におけるベースラインからの変化として；Fall Diary Periodsによって評価される転倒の頻度、原因、及び影響におけるベースラインからの変化として；EQ-5D-5Lスコアリング法 (EuroQol 5-Dimension, 5-Level (EQ-5D-5L)) スコアにおけるベースラインからの変化として；容積測定MRI (vMRI) によって測定される脳容積におけるベースラインからの変化として；拡散テンソル画像 (DTI) MRIによって測定される組織の完全性におけるベースラインからの変化として；ニューロフィラメント軽鎖 (NfL) 血中濃度におけるベースラインからの変化として；UMSARSパートIIIで評価される心拍数、血圧及び起立時症状におけるベースラインからの変化として；関連する歩行パラメーター及び／又は登録された転倒を追跡することができるデジタルウェアラブルセンサーベースのデバイスによって評価される、歩行パラメーター又は転倒の頻度におけるベースラインからの変化として；動脈スピラベリング (ASL) MRIによって測定される脳血流におけるベースラインからの変化として；t-tau及びNfLのCSF濃度におけるベースラインからの変化として；又はCSF中の α -シヌクレインの病理学的種の濃度におけるベースラインからの変化として。

【0311】

更なる実施形態では、シヌクレイノパチーを発症するリスクがあるか、又は前駆症性シヌクレイノパチーに罹患しているヒト対象は、レム睡眠行動障害 (RBD)、例えば、孤立性RBD (iRBD)、嗅覚障害、例えば、嗅覚鈍麻、神経心理検査における異常な認知能力、客観的な検査によって評価される微妙な運動機能障害若しくは異常な運動能力、異常色覚、自律神経機能障害 (例えば、便秘、排尿症状、勃起不全、起立性低血圧など)、被殻及び線条体における黒質線条体ドーパミン作動性結合の減少 (異常DAT-SPECT)、脂漏性皮膚炎、及び増加する表現型変換リスクに関連する遺伝子型、例えば、グルコセレブロシダーゼにおける突然変異 (GBA遺伝子によってコードされる) を含む群から選択される前駆症性シヌクレイノパチーの1つ以上の臨床マーカーを示すことによって特定可能である。

10

20

30

40

50

【0312】

更なる実施形態では、シヌクレイノパチーを発症するリスクがあるか、又は前駆症性シヌクレイノパチーに罹患しているヒト対象は、RBD、例えば、孤立性RBD（iRBD）、及び前駆症性シヌクレイノパチーの少なくとも1つの追加の臨床マーカー、例えば、嗅覚鈍麻及び／又は異常DAT-SPECTを示すことによって特定可能である。

【0313】

更なる実施形態では、前駆症性シヌクレイノパチーの治療は、疾患発症を遅延させることからなる。

【0314】

更なる実施形態では、前駆症性シヌクレイノパチーの治療は、疾患発症又は疾患診断までの時間を、少なくとも5%だけ、少なくとも10%など、少なくとも15%など、少なくとも20%など、少なくとも25%など、少なくとも30%など、少なくとも35%など、少なくとも40%など、少なくとも45%など、少なくとも50%など、少なくとも55%など、少なくとも60%など、少なくとも65%など、少なくとも70%など、少なくとも75%など、少なくとも80%など、少なくとも85%など又は少なくとも90%などだけ遅延させることからなる。

【0315】

更なる実施形態では、前駆症性シヌクレイノパチーの治療は、疾患発症又は疾患診断までの時間を、少なくとも6ヶ月間だけ、少なくとも8ヶ月間など、少なくとも10ヶ月間など、少なくとも12ヶ月間など、少なくとも14ヶ月間など、少なくとも16ヶ月間など、少なくとも18ヶ月間など、少なくとも20ヶ月間など、少なくとも22ヶ月間など、少なくとも24ヶ月間など、少なくとも2年間など、少なくとも3年間など、少なくとも4年間など、少なくとも5年間などだけ遅延させることからなる。

【0316】

更なる実施形態では、本発明は、前駆症性シヌクレイノパチーの治療の方法を提供し、ここで治療は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体を、少なくとも0.5 nM、少なくとも1 nMなど、少なくとも2 nMなど、少なくとも3 nMなど、少なくとも6 nMなど、又は少なくとも12 nMなどの抗体のCSF定常状態濃度を達成するのに十分な量及び頻度で投与することを含む。

【0317】

更なる実施形態では、本発明は、前駆症性シヌクレイノパチーの治療の方法を提供し、ここで治療は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体を、少なくとも3 nM、少なくとも6 nMなど、又は少なくとも12 nMなどの抗体のCSF定常状態濃度を達成するのに十分な量及び頻度で投与することを含む。

【0318】

更なる実施形態では、本発明は、前駆症性シヌクレイノパチーの治療の方法を提供し、ここで治療は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体を、少なくとも50%、少なくとも60%など、少なくとも75%など、少なくとも80%など、少なくとも85%など、少なくとも90%など、少なくとも95%など、又は少なくとも99%などのCSF中のアルファシヌクレインのオリゴマー形態に対する推定ターゲットエンゲージメントを達成するのに十分な量及び頻度で投与することを含む。

【0319】

更なる実施形態では、本発明は、前駆症性シヌクレイノパチーの治療の方法を提供し、ここで治療は、モノクローナルアルファシヌクレイン抗体を、少なくとも85%、少なくとも90%など、又は少なくとも95%などのCSF中のアルファシヌクレインのオリゴマー形態に対する推定ターゲットエンゲージメントを達成するのに十分な量及び頻度で投与することを含む。

【0320】

態様では、本発明はまた、完全長IgG1モノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体を25~225 mg/mLの濃度で含む液体医薬組成物を提供し、当該抗体は、

10

20

30

40

50

- a. 配列番号1のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1と、
- b. 配列番号34のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2と、
- c. 配列番号3のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3と、
- d. 配列番号4のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1と、
- e. 配列番号5のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2と、
- f. 配列番号6のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3と、を含み、

本組成物は、ヒスチジン緩衝液、薬学的に許容される等張化剤、薬学的に許容される界面活性剤を更に含み、組成物のpHは5.5～6.5であり、この液体医薬組成物は、本出願の態様、実施形態又は特許請求の範囲において記載される治療、治療の方法及び使用のいずれかでモノクローナルアルファシヌクレイン抗体を投与するために使用するのに好適である。

【0321】

本発明の実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗体は、配列番号31の可変ドメインからなる重鎖及び配列番号8の可変ドメインからなる軽鎖を含む。

【0322】

本発明の実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗体は、ヒト抗体である。

【0323】

本発明の実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗体は、ヒトIgG1抗体である。

【0324】

本発明の実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗体は、GM37バリエーション2である。

【0325】

本発明の更なる実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗体は、配列番号18に定義される定常重鎖ドメイン及び配列番号17に定義されるカップ軽鎖定常ドメインを含む。

【0326】

実施形態では、液体医薬組成物の等張化剤は、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、デキストロース、トレハロース、塩化ナトリウム(NaCl)、塩化カリウム(KCl)、グリセロール又はグリセリンから選択される。

【0327】

実施形態では、液体医薬組成物の等張化剤は、塩化ナトリウム(NaCl)である。

【0328】

実施形態では、液体医薬組成物の等張化剤は、約70～140mMの濃度の塩化ナトリウム(NaCl)である。

【0329】

実施形態では、液体医薬組成物の等張化剤は、約50～150mMの濃度の塩化ナトリウム(NaCl)である。

【0330】

実施形態では、液体医薬組成物の等張化剤は、約100mMの濃度の塩化ナトリウム(NaCl)である。

【0331】

実施形態では、液体医薬組成物の界面活性剤は、ポリソルベート20(Tween20)、ポリソルベート80(Tween80)、ポロキサマー188又はTritonX-100から選択される。

【0332】

実施形態では、液体医薬組成物の界面活性剤は、0.02%～0.05%(w/v)の量のポリソルベート80(Tween80)である。

【0333】

実施形態では、液体医薬組成物の界面活性剤は、約0.02%(w/v)の量のポリソ

10

20

30

40

50

ルベート 80 (Tween 80) である。

【0334】

実施形態では、液体医薬組成物の等張化剤は、塩化ナトリウム (NaCl) であり、界面活性剤は、ポリソルベート 80 (Tween 80) である。

【0335】

実施形態では、液体医薬組成物のヒスチジン緩衝液の濃度は、25～40 mM である。

【0336】

実施形態では、液体医薬組成物のヒスチジン緩衝液の濃度は、約 25 mM である。

【0337】

実施形態では、液体医薬組成物の pH は 6.0 である。

10

【0338】

実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体の濃度は、約 30～225 mg/mL である。

【0339】

実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体の濃度は、約 30～200 mg/mL である。

【0340】

実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体の濃度は、約 30～150 mg/mL である。

【0341】

実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体の濃度は、約 30～100 mg/mL である。

20

【0342】

実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体の濃度は、約 45～55 mg/mL である。

【0343】

実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体の濃度は、約 50 mg/mL である。

【0344】

実施形態では、液体医薬組成物のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体の濃度は、約 53 mg/mL である。

30

【0345】

実施形態では、先行する実施形態のいずれかの液体医薬組成物は、スクロース、トレハロース、グルコース、ラクトース、ソルビトール、マンニトール、グリセロール、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、グルタメート、リジン、グリシン、ヒスチジン、メチオニン、アラニン、ゼラチン、PVP、PLGA、PEG、デキストラン、シクロデキストリン及び誘導体、デンプン誘導体、HSA 又は BSA から選択される少なくとも 1 つの増量剤を更に含む。

【0346】

実施形態では、液体医薬組成物の増量剤は、100～200 mM の濃度のアルギニン、グルタメート、スクロール、グリシン又はソルビトールである。

40

【0347】

実施形態では、液体医薬組成物剤の増量剤は、100 mM の濃度のスクロースである。

【0348】

実施形態では、液体医薬組成物は、53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、25 mM のヒスチジン緩衝液、100 mM のスクロース、100 mM の塩化ナトリウム (NaCl) 及び 0.02% のポリソルベート 80 (Tween 80) (w/v) を pH 6.0 で含む。

【0349】

実施形態では、液体医薬組成物は、53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌク

50

レイン抗体、25 mMのヒスチジン緩衝液、100 mMのスクロース、100 mMの塩化ナトリウム (NaCl)、0.02%のポリソルベート80 (Tween 80) (w/v) 及び水から、pH 6.0において本質的になる。

【0350】

実施形態では、液体医薬組成物は、 $53 \pm 5 \text{ mg/mL}$ のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、 1.40 mg/mL のL-ヒスチジン、 3.34 mg/mL のL-ヒスチジン-塩酸塩、 34.16 mg/mL のスクロース、 5.83 mg/mL の塩化ナトリウム (NaCl)、 0.20 mg/mL のポリソルベート80 (Tween 80) をpH 6.0で含む。

【0351】

実施形態では、液体医薬組成物は、 $53 \pm 5 \text{ mg/mL}$ のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、 1.40 mg/mL のL-ヒスチジン、 3.34 mg/mL のL-ヒスチジン-塩酸塩、 34.16 mg/mL のスクロース、 5.83 mg/mL の塩化ナトリウム (NaCl)、 0.20 mg/mL のポリソルベート80 (Tween 80) 及び水から、pH 6.0において本質的になる。

【0352】

実施形態では、液体医薬組成物は、 53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、25 mMのヒスチジン緩衝液、100 mMのスクロース、100 mMの塩化ナトリウム (NaCl) 及び0.02%のポリソルベート80 (Tween 80) (w/v) を含むか、当該値の $+/-10\%$ 以内の各成分の量を有し、且つ6.0若しくは当該値の $+/-10\%$ 以内のpHを有する。

【0353】

実施形態では、液体医薬組成物は、 53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、25 mMのヒスチジン緩衝液、100 mMのスクロース、100 mMの塩化ナトリウム (NaCl)、0.02%のポリソルベート80 (Tween 80) (w/v) 及び水から本質的になるか、又は当該値の $+/-10\%$ 以内の各成分の量を有し、且つ6.0若しくは当該値の $+/-10\%$ 以内のpHを有する。

【0354】

実施形態では、液体医薬組成物は、 53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、 1.40 mg/mL のL-ヒスチジン、 3.34 mg/mL のL-ヒスチジン-塩酸塩、 34.16 mg/mL のスクロース、 5.83 mg/mL の塩化ナトリウム (NaCl)、 0.20 mg/mL のポリソルベート80 (Tween 80) を含むか、又は当該値の $+/-10\%$ 以内の各成分の量を有し、且つ6.0若しくは当該値の $+/-10\%$ 以内のpHを有する。

【0355】

実施形態では、液体医薬組成物は、 53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、 1.40 mg/mL のL-ヒスチジン、 3.34 mg/mL のL-ヒスチジン-塩酸塩、 34.16 mg/mL のスクロース、 5.83 mg/mL の塩化ナトリウム (NaCl)、 0.20 mg/mL のポリソルベート80 (Tween 80) 及び水から本質的になるか、又は当該値の $+/-10\%$ 以内の各成分の量を有し、且つ6.0若しくは当該値の $+/-10\%$ 以内のpHを有する。

【0356】

実施形態では、液体医薬組成物は、 53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、25 mMのヒスチジン緩衝液、100 mMのスクロース、100 mMの塩化ナトリウム (NaCl) 及び0.02%のポリソルベート80 (Tween 80) (w/v) を含むか、又は当該値の $+/-5\%$ 以内の各成分の量を有し、且つ6.0若しくは当該値の $+/-5\%$ 以内のpHを有する。

【0357】

実施形態では、液体医薬組成物は、 53 mg/mL のモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、25 mMのヒスチジン緩衝液、100 mMのスクロース、100 mMの塩化

10

20

30

40

50

ナトリウム (NaCl)、0.02%のポリソルベート80 (Tween 80) (w/v) 及び水から本質的になるか、又は当該値の+/-5%以内の各成分の量を有し、且つ6.0若しくは当該値の+/-5%以内のpHを有する。

【0358】

実施形態では、液体医薬組成物は、53mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、1.40mg/mLのL-ヒスチジン、3.34mg/mLのL-ヒスチジン塩酸塩、34.16mg/mLのスクロース、5.83mg/mLの塩化ナトリウム (NaCl)、0.20mg/mLのポリソルベート80 (Tween 80) を含むか、又は当該値の+/-5%以内の各成分の量を有し、且つ6.0若しくは当該値の+/-5%以内のpHを有する。

10

【0359】

実施形態では、液体医薬組成物は、53mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、1.40mg/mLのL-ヒスチジン、3.34mg/mLのL-ヒスチジン塩酸塩、34.16mg/mLのスクロース、5.83mg/mLの塩化ナトリウム (NaCl)、0.20mg/mLのポリソルベート80 (Tween 80) 及び水から本質的になるか、又は当該値の+/-5%以内の各成分の量を有し、且つ6.0若しくは当該値の+/-5%以内のpHを有する。

【0360】

実施形態では、液体医薬組成物は、53mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、25mMのヒスチジン緩衝液、100mMのスクロース、100mMの塩化ナトリウム (NaCl) 及び0.02%のポリソルベート80 (Tween 80) (w/v) を含むか、又は当該値の+/-1%以内の各成分の量を有し、且つ6.0若しくは当該値の+/-1%以内のpHを有する。

20

【0361】

実施形態では、液体医薬組成物は、53mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、25mMのヒスチジン緩衝液、100mMのスクロース、100mMの塩化ナトリウム (NaCl)、0.02%のポリソルベート80 (Tween 80) (w/v) 及び水から本質的になるか、又は当該値の+/-1%以内の各成分の量を有し、且つ6.0若しくは当該値の+/-1%以内のpHを有する。

【0362】

実施形態では、液体医薬組成物は、53mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、1.40mg/mLのL-ヒスチジン、3.34mg/mLのL-ヒスチジン塩酸塩、34.16mg/mLのスクロース、5.83mg/mLの塩化ナトリウム (NaCl)、0.20mg/mLのポリソルベート80 (Tween 80) を含むか、又は当該値の+/-1%以内の各成分の量を有し、且つ6.0若しくは当該値の+/-1%以内のpHを有する。

30

【0363】

実施形態では、液体医薬組成物は、53mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、1.40mg/mLのL-ヒスチジン、3.34mg/mLのL-ヒスチジン塩酸塩、34.16mg/mLのスクロース、5.83mg/mLの塩化ナトリウム (NaCl)、0.20mg/mLのポリソルベート80 (Tween 80) 及び水から本質的になるか、又は当該値の+/-1%以内の各成分の量を有し、且つ6.0若しくは当該値の+/-1%以内のpHを有する。

40

【0364】

実施形態では、液体医薬組成物は、53mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、25mMのヒスチジン緩衝液、100mMのスクロース、100mMの塩化ナトリウム (NaCl) (又は当該値の+/-20%以内の各成分の量を有する)、及び0.02%のポリソルベート80 (Tween 80) (w/v) (又は当該値の+/-30%以内の濃度を有する) を含み、且つ6.0若しくは当該値の+/-20%以内のpHを有する。

50

【0365】

実施形態では、液体医薬組成物は、53mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、25mMのヒスチジン緩衝液、100mMのスクロース、100mMの塩化ナトリウム（NaCl）（又は当該値の+/-15%以内の各成分の量を有する）、及び0.02%のポリソルベート80（Tween80）（w/v）（又は当該値の+/-25%以内の濃度を有する）を含み、且つ6.0若しくは当該値の+/-15%以内のpHを有する。

【0366】

実施形態では、液体医薬組成物は、53mg/mLのモノクローナル抗アルファシヌクレイン抗体、25mMのヒスチジン緩衝液、100mMのスクロース、100mMの塩化ナトリウム（NaCl）（又は当該値の+/-10%以内の各成分の量を有する）、及び0.02%のポリソルベート80（Tween80）（w/v）（又は当該値の+/-20%以内の濃度を有する）を含み、且つ6.0若しくは当該値の+/-10%以内のpHを有する。

10

【0367】

実施形態では、液体医薬組成物は、安定な液体医薬組成物である。

【0368】

実施形態では、液体医薬組成物は、低粘度の液体医薬組成物である。

【0369】

本明細書に開示されるいずれかの実施形態の1つ以上の特徴は、本発明の範囲内で組み合わせられ、及び/又は再配置され、また本発明の範囲内にある更なる実施形態を生み出し、てもよいことが認識されるであろう。全ての実施形態は、本発明の全ての態様に適用されることを意図している。

20

【0370】

本発明の具体的な実施形態では、先行する実施形態のいずれかのモノクローナルアルファシヌクレイン抗体は、先行する実施形態のいずれかの液体医薬組成物のうちのいずれか1つで患者に投与される。

【0371】

当業者であれば、本明細書に記載される本発明の具体的な実施形態に対する多くの等価物を日常的な実験のみを使用して認識するか、又は確認することができるであろう。このような等価物は、本発明の範囲内であることが意図される。

30

【実施例】

【0372】

実験セクションー投与レジメン

以下に提供される実施例は、本発明のより完全な理解を容易にするための役割を果たす。しかしながら、本発明の範囲は、これらの実施例で開示される具体的な実施形態に限定されるものではなく、同様な結果を得るために、代替的方法を利用することができるため、これらは例示を目的とするものに過ぎない。

【0373】

実施例1ーGM37バリエーション2によって例示される本発明に従って使用するための抗体についての投薬レジメンを確立するためのモデル

40

この実施例は、シヌクレイノパチーを有する患者のCSF中のアルファシヌクレインのオリゴマー／凝集した病理学的種の中和を得るために必要とされる臨床的に関連するヒト投与レジメンの確立を可能にするために、本発明者らによって実施された本発明の取り組みの概要を示している。投与レジメンは、以下の実験によって例示される（実施例2、6、6A、7及び7A）GM37v2及び異なるアルファシヌクレイン種に対するその結合特性、並びにCSF中の曝露及びGM37v2とアルファシヌクレインとの間のターゲットエンゲージメントを含むGM37v2のPK特性（実施例3）の広範囲且つ深い知識を必要とするモデルに基づいている。

【0374】

50

本発明の発明者らは、単量体アルファシヌクレインに対する結合とアルファシヌクレインのオリゴマー形態に対する結合との間のGM37v2についての特異的な関係を確立することによって、特許請求される投与レジメンに到達することができた。この特異的な関係は、各アルファシヌクレイン抗体にとって特有であり、患者のCSF中のアルファシヌクレインの病理学的形態に対する所望のターゲットエンゲージメントを提供する臨床的に関連する投与レジメンを確立するために必須である。インビトロでは、GM37v2についてのアルファシヌクレインの単量体形態への結合のKD値を36nM(5,400ng/mL)であると測定し(実施例6Aを参照されたい)、GM37v2についてのオリゴマー形態へのアビディティに媒介されたKDの増強をおよそ65倍(64.1+/-5.2)低い(すなわち、0.5nM;83ng/mL)と推定した(実施例2を参照されたい)。

10

【0375】

単量体結合とオリゴマー結合との間のこの倍率変化に加えて、GM37v2の詳細なPKの知識がまた、本発明の投与レジメンを得るために必要とされた。PK特性は、実施例3に開示される実験を介して得られた。GM37バリエーション2は、およそ0.25L/日、例えば、0.24L/日のクリアランス、及びおよそ30日間、例えば、29日間のT1/2を有することが判明した。

【0376】

GM37バリエーション2のアルファシヌクレインに対するターゲットエンゲージメントは、血漿又はCSF中の遊離アルファシヌクレイン(GM37バリエーション2に結合していない)のパーセンテージから計算することができる。

20

【0377】

図6は、健康な対象及び患者についての時間に対する遊離アルファシヌクレイン血漿濃度の中央値を示す。明白な用量関連阻害が観察された。同じことが、遊離/総アルファシヌクレインの%について観察された(図7)。遊離/総アルファシヌクレインの%の血漿濃度とGM37バリエーション2との間の良好な相関がまた図8においても見られ、ここではEmaxモデル(以下を参照)は、データにフィットした。

【0378】

とりわけ、観察されたIC50値はインビトロで測定されたKD値と類似しており、以下に記載する最大阻害Emaxモデルの実験的検証を提供した。

30

【0379】

簡単な最大阻害Emaxモデルによれば、単量体アルファシヌクレインのターゲットエンゲージメントに関連する遊離/総の%は、下記によって与えられる：

遊離/総アルファシヌクレイン_{mono}の% = $E_{max} \cdot (C_{ss} / (K_D + C_{ss}))$

式中、Emaxは100%にセットされ、C_{ss}はGM37v2の推定平均定常状態濃度であり、KDは単量体アルファシヌクレインに対するインビトロで測定された結合である(GM37v2について36nM)。

【0380】

凝集したアルファシヌクレインが治療のための主要な標的であり、単量体形態がそうではない場合のシヌクレイノパチーを治療するためのGM37v2の関連する臨床用量を確立するために、単量体のGM37v2に対する結合とオリゴマーのGM37v2に対する結合との間の65倍のアビディティの増加を考慮に入れるようにこのモデルを適応させる必要がある(このアビディティの増加は実施例2に記載され、図1に表示されるように、単量体と対比して凝集体を標的にする場合に得られる)。GM37v2については、アビディティの増加は65倍であり、したがって主要なターゲットとしてのアルファシヌクレインの凝集した種についてのモデルは、36nMの単量体KDよりも65倍低いKDプロキシ値を採用するべきである($36\text{ nM} / 65 = 0.5\text{ nM}$)。以下のモデルにおいて、この推定されたKD増強は、「(KD-アビディティ-増加)」と表示される。

40

【0381】

したがって、Emaxモデルのアルファシヌクレインの凝集形態のターゲットエンゲ

50

ジメントに関連する遊離／総の％は、下記によって与えられる：

遊離／総アルファシヌクレイン $a g g$ の％＝ $E_{max} \cdot (C_{ss} / (K_D - \text{アビディティ増加} + C_{ss}))$

C_{ss} 値は、実施例 3 で得られる結果に基づいて計算され得る：

例えば、これらのパラメーター：用量＝4200 mg；投与間隔＝28 日間；クリアランス＝0.25 L／日は、 $(4200 \text{ mg} / 28 \text{ 日}) / 0.25 \text{ L} / \text{日} = 600 \text{ mg} / \text{L} = 600 \mu\text{g} / \text{mL}$ の推定平均血漿 C_{ss} を与える。

それに応じて、平均 CSF C_{ss} は、 $600 \mu\text{g} / \text{mL}$ の 0.3％＝ $1.8 \mu\text{g} / \text{mL}$ であり、これは 12 nM に等しい ($1 \mu\text{g} / \text{mL} = 6.67 \text{ nM}$ であるため、以下を参照)。

【0382】

E_{max} を 100％に設定し、 $K_D - \text{アビディティ増加}$ が 0.5 nM である場合、GM37v2 CSF $C_{ss} = 12 \text{ nM}$ であるこの具体的な例に従い、オリゴマー／凝集したアルファシヌクレインに対する推定 CSF ターゲットエンゲージメントは、以下の計算に従って 96％である：

遊離／総アルファシヌクレイン $a g g$ の％＝ $E_{max} (C_{ss} / (K_D - \text{アビディティ増加} + C_{ss})) = 100\% (12 \text{ nM} / (0.5 \text{ nM} + 12 \text{ nM})) = 96\%$ 。

【0383】

上で要約したデータ及び標的；実施例 2 で見出されるアルファシヌクレイン単量体対オリゴマー形態に対する親和性／アビディティにおける倍率の違いについての値に基づいて、以下の固定用量（体重 70 kg）：4 週間毎に 1050 mg（15 mg／kg）、2100 mg（30 mg／kg）、及び 4200 mg（60 mg／kg）でのアルファシヌクレインオリゴマー形態への定常状態において、CSF 中で予測された 85％～95％のターゲットエンゲージメントをもたらす GM37 バリエーション 2 の用量をモデル化し、図 1 に提示する。図 1 では、プロットは GM37 バリエーション 2 の予測された平均 CSF C_{ss} （上で例示されたように、用量／投与間隔／クリアランスとして計算された）及び CSF C_{ss} の 0.3％の CSF 中の割合に基づいている。結合は、 E_{max} 型の単純なシグモイドモデルに従うと仮定され、 $1 \text{ nM} \text{ GM37v2} = 0.15 \mu\text{g} / \text{mL}$ ($1 \mu\text{g} / \text{mL} = 6.67 \text{ nM}$) である。

【0384】

これらの計算に基づく予測：

4 週間毎に 1 回の 1050 mg の IV 注入は、CSF 及び脳間質液（ISF）中の GM37 バリエーション 2 の濃度を、オリゴマーアルファシヌクレインの 85％が結合される平均濃度である IC85 付近で維持すると予測される。

【0385】

4 週間毎に 1 回の 2100 mg の IV 注入は、CSF 及び脳間質液（ISF）中の GM37 バリエーション 2 の濃度を、オリゴマーアルファシヌクレインの 90％が結合される平均濃度である IC90 付近で維持すると予測される。

【0386】

4 週間毎に 1 回の 4200 mg の IV 注入は、CSF 及び脳間質液（ISF）中の GM37 バリエーション 2 の濃度を、オリゴマーアルファシヌクレインの 95％が結合される平均濃度である IC95 付近で維持すると予測される。

【0387】

実施例 2－競合 ELISA－GM37 バリエーション 2 によって例示される単量体対オリゴマーのターゲットエンゲージメント

アルファシヌクレインの単量体形態及びフィブリル形態に対する GM37 バリエーション 2 の結合プロファイルが、競合 ELISA とも称されるこのアッセイにおいて特徴付けられ、単量体アルファシヌクレインとフィブリル状アルファシヌクレインに対する結合の間の倍率の違いを決定した。

【0388】

10

20

30

40

50

アッセイの原理は、増加する濃度の単量体アルファシヌクレイン又はアルファシヌクレインフィブリルのいずれかとのプレインキュベーション後に、未結合抗アルファシヌクレインmAbを捕捉するための単量体アルファシヌクレインの高密度コーティングに基づいている。したがって、アルファシヌクレイン単量体又はアルファシヌクレインフィブリルのいずれかについての観察されたIC50値は、アルファシヌクレインの2つの代表的な生物学的に活性な種に対する異なる結合強度の相対的測定値である。アッセイ原理を図2に例示する。

【0389】

プレフォームドフィブリルの産生

プレフォームドフィブリル(PFF)のアルファシヌクレイン単量体を、真核細胞供給源から産生し、Polinski et al. J Parkinsons Dis. 2018; 8(2): 303-322に公開されたプロトコルに従ってフィブリル化した。

【0390】

簡単に言うと、400 µLの単量体アルファシヌクレインをPBS中4 mg/mLで、2 mLの丸底チューブにおいてサーモミキサーにより1000 rpmで37℃にて5日間の期間攪拌した。タンパク質のフィブリル化を、チオフラビンTに应答する蛍光の増加及び動的光散乱(DLS)によって測定された流体力学的直径の増加によって検証した。Q Sonica R800(振幅50、20秒オン、10秒オフ、10分)によって超音波処理し、DLSによって測定される100 nm未満の単分散粒径分布(Z-平均)を得た。次いで、PFFを10 µLの容量にアリコートし、使用まで-80℃で保存した。

【0391】

初日に、384ウェルプレートを用いて、アルファシヌクレイン単量体、1.4 µg/mLで、1ウェル当たり50 µLにてコーティングする。プレートは、4℃でインキュベートした。全ての溶液及びプレートを氷上で保持し、冷蔵庫に直接移した。アッセイを翌日まで続けた。

【0392】

60 µM~7.15 pMの範囲のアルファシヌクレイン単量体及びフィブリルの連続的倍数希釈を、低付着性ポリプロピレンプレート内、ブロッキング緩衝液中で調製した。アルファシヌクレインフィブリル調製物をRTで解凍させ、一方、アルファシヌクレイン単量体調製物を氷上で解凍させた。使用直前に、単量体及びフィブリルのストック溶液を、総容量の半分を3回にわたってピペット操作することによって穏やかに混合した。等容量のmAb(40 ng/mL)を、アルファシヌクレインの連続希釈物を含有する全てのウェルに添加し、低付着性プレートを垂直プレートシェーカー上で穏やかに攪拌しながら(300 rpm)RTにて2時間インキュベートし、抗体-抗原複合体を形成させた。ブロッキング緩衝液を含む2つのウェルがブランクとして含まれ、mAb+ブロッキング緩衝液を有する2つのウェルが陽性対照として含まれた。上記のプレインキュベーションが完了する1時間前に、アルファシヌクレインをコーティングしたアッセイプレートを、384ウェル自動プレートウォッシャーを使用してPBS-Tで3回洗浄し、100 µLのブロッキング緩衝液を各ウェルに添加し、プレートをRTで1時間インキュベートした。

【0393】

使用の前に、アッセイプレートをシンクの上で空にして、ペーパータオル上で十分にタッピングして、ウェルが完全に空になることを確実にした。プレインキュベートした試料を、ウェル当たり50 µLにて二連でアッセイプレートに添加し、プレートをRTで10分間インキュベートした。

【0394】

384ウェル自動プレートウォッシャーを使用して、プレートをPBS-Tで3回洗浄した。ブロッキング緩衝液中1:15.000で希釈した50 µLの二次ヤギ抗ヒト-HRP抗体を、ウェル毎に添加し、その後、RTで1時間インキュベートした。

【0395】

384ウェル自動プレートウォッシャーを使用して、プレートをPBS-Tで3回洗浄

10

20

30

40

50

した。2つのELISA基質成分を、適切な容量中で1:1に混合し、50μlを全てのウェルに添加した。添加直後に、発光シグナルをEvisiionマイクロタイタープレートリーダーにおいて定量化した。

【0396】

IgG結合曲線をフィッティングさせ、等式： $Sigmoidal, 4PL, X \text{ is } \log(concentration) Y = Bottom + (Top - Bottom) / (1 + ((X^{HillSlope}) / (IC50^{HillSlope})))$ を使用してIC50値を計算した。

【0397】

結果

単量体アルファシヌクレイン及びフィブリル状アルファシヌクレインに対するGM37バリエーション2の結合は、競合ELISAで特徴付けられた。分析は、1つの単量体アルファシヌクレイン調製物及び3つの異なるアルファシヌクレインフィブリルバッチを使用して、1日当たり2つの独立した複製物で実施され、これを別の3日間繰り返した。使用された抗体濃度（最終20ng/ml又は133pM）は、この分析前に、1.4μg/mlの単量体溶液をウェルのコーティングに使用する場合に、抗体が測定曲線のダイナミックレンジにあることが示された。これにより、遊離抗体レベルの差異化を可能にする。

【0398】

6回の独立した競合ELISAアッセイに基づくと、GM37バリエーション2は、 183.9 ± 20.5 nMの単量体アルファシヌクレインに対する平均IC50値及び 2.9 ± 4 nMのフィブリル状アルファシヌクレインに対する平均IC50を有する（以下の表を参照されたい）。これらの数値に基づくと、GM37バリエーション2は、フィブリル状アルファシヌクレインへの結合に対して 64.1 ± 5.2 倍、約65倍の平均的優先性を有する。

【0399】

表は、単量体及びフィブリルアルファシヌクレインへのGM37バリエーション2の結合特性についての6回の具体的実験を示す。

【0400】

10

20

30

40

50

【表 9】

試験したmAb	IC50単量体 アルファシヌクレイン (nM)	IC50 フィブリル状 アルファシヌクレイン (nM)	フィブリル結合に対する 倍率優先性
GM37バリエーション2	162.2	2.65	61.3
GM37バリエーション2	169.6	2.30	73.7
GM37バリエーション2	211.8	3.28	64.5
GM37バリエーション2	193.0	2.91	66.4
GM37バリエーション2	161.2	2.84	56.8
GM37バリエーション2	205.7	3.32	61.9
平均	183.9	2.9	64.1
SD	20.5	0.4	5.2

10

20

30

【0401】

図3に示すように、GM37バリエーション2のIC50値は、正確な曲線フィッティング並びに単量体及びアルファシヌクレインフィブリルの両方の完全な滴定曲線から計算される。加えて、測定全体にわたるアッセイの再現性は、11.2%（単量体アルファシヌクレイン）及び12.3%（フィブリル状アルファシヌクレイン）のIC50 CV（%）値で良好であった。同様に、計算されたGM37バリエーション2のaSNフィブリルに対する結合についての倍率優先性は、8.1%の低CV値を提示した。注目すべきは、数値が3つの異なるバッチの分析に基づいていることであり、アッセイの安定性を実証している。

40

【0402】

GM37v2に由来するFab断片を使用して同様な分析を実施し、IgGフォーマットによるアビディティの寄与であるのか、又はフィブリル誘導性立体構造エピトープの存在によるアビディティの寄与であるのかを識別した。Fab断片は、フィブリル状アルファシヌクレインへの結合に対して優先性を有さない。まとめると、これらのデータは、フィブリル状アルファシヌクレインへの結合についてのGM37v2の優先性は、アビディティのみによって駆動され、フィブリル状の選択性又は特異的な立体構造フィブリルエピトープの兆候はない。

【0403】

50

要約すると、競合 E L I S A 実験は、G M 3 7 バリエーション 2 が、単量体アルファシヌクレインと比較してフィブリルに対するおよそ 6 5 倍の優先的結合を有することを示しており、この数値が結合におけるアビディティ増加と称されることができ、実施例 1 に記載された投薬レジメンモデルを開発するために使用された。

【0404】

更に、本発明者らは、E L I S A によって、G M 3 7 v a r 2 の凝集した不溶性アルファシヌクレインが富化された M S A 及び P D の脳ホモジネートに対する結合親和性／アビディティも評価した（データ示さず）。これらの試料における脳由来のアルファシヌクレインオリゴマー及びフィブリルに対する G M 3 7 v a r 2 の E C 5 0 は、およそ 0 . 0 9 ~ 0 . 1 6 n M であることが示され、上記の実験セットアップにおいて、組換え物質で見られるフィブリルへのサブナノモル結合の臨床的関連性を裏付けている。

10

【0405】

実施例 3 - G 3 7 バリエーション 2 によって例示される本発明に従って使用するための抗体についての単回投与用量漸増（S A D）試験

これは、介入、無作為化、二重盲検、群逐次、プラセボ対照の単回投与用量漸増試験であった。この試験は、健康な日本人以外及び日本人の被験者（パート A）並びに P D を有する患者（パート B）において G M 3 7 バリエーション 2 の安全性、忍容性、P K、及び薬力学的特性を決定するために行った。

【0406】

パート A は、6 つの逐次群（コホート A 1 ~ A 6）からなった：

20

－コホート A 1 ~ A 3：コホート当たり 8 人の健康な被験者：6 人が G M 3 7 v 2 に無作為化され、2 人がプラセボに無作為化された。

－コホート A 4 ~ A 6：等しい人数の日本人以外及び日本人であることを目指して民族によって階層化されたコホート当たり 1 1 ~ 1 2 人の健康な被験者；民族群毎に：4 人の被験者が G M 3 7 v 2 に無作為化され、1 ~ 2 人の被験者がプラセボに無作為化された。

【0407】

パート B は、2 つのコホート（コホート B 1 及び B 2）からなった：

－コホート B 1 及び B 2：パーキンソン病（P D）を有する 7 ~ 8 人の患者：6 人の患者が G M 3 7 v 2 に無作為化され、1 ~ 2 人の患者がプラセボに無作為化された。

30

・用量範囲は 7 5 ~ 9 0 0 0 m g であって；正確な用量増分は、投与カンフェランスで決定された。パート A：健康な被験者において試験された 6 つの用量；7 5 m g - 2 2 5 m g - 7 5 0 m g - 2 2 5 0 m g - 4 5 0 0 m g - 9 0 0 0 m g。パート B：P D 患者において試験された 2 つの用量；2 2 5 0 m g 及び 9 0 0 0 m g。

・G M 3 7 v 2 及びプラセボの用量は、静脈内（I V）注入によって 6 0 分の期間（± 1 0 分）にわたって投与された。

・各コホート内において、最初の 2 人の被験者／患者が、G M 3 7 v 2 又はプラセボのいずれかを受け（1：1）、したがって残りの被験者／患者に投与される前に安全性及び忍容性を評価するために、センチネル被験者／患者としての役割を果たした。

・コホート A 1、A 2、A 3、B 1、及び B 2 において、センチネル被験者の後に、センチネル被験者に投与され、彼らの安全性データが見直された後、少なくとも 1 4 日間で最大 6 人の被験者が G M 3 7 v 2 又はプラセボを受けた（5：1）。6 人の被験者は、互い違いの間隔で投与され、最大で 3 人の被験者が同じ日に開始され（各注入間で最大で 3 0 分が重複した）、次の互い違いのグループの開始前に最低 1 日の間隔があった。

40

・コホート A 4、A 5、及び A 6 において、センチネル被験者の後に、センチネル被験者に投与され、彼らの安全性データが見直された後、少なくとも 1 4 日間で 9 ~ 1 0 人の被験者が G M 3 7 v 2 又はプラセボを受けた（コホート A 4 では 7：2、コホート A 5 では 7：3、コホート A 6 では 6：3）。1 0 人の被験者は、互い違いの間隔で投与され、最大で 3 人の被験者が同じ日に開始され（各注入間で最大で 3 0 分が重複した）、次の互い違いのグループの開始前に最低 1 日の間隔があった。

・パート A 及び B は並行して実行された。しかしながら、コホート B 1 において、P D を

50

有する患者に投与された用量は、パート A における健康な被験者で試験された用量を超えなかった。コホート B 1 の開始は、コホート A 4 における最初の 6 人の被験者の安全性及び忍容性の評価（すなわち、同じ用量での）に基づいていた。

- ・全ての被験者／患者は、GM37v2 の投与前に、それぞれ 3 週間以内及び 7 週間以内にスクリーニングされた。的確な被験者／患者は、投与前 2 日（-2 日目）から投与後 3 日（4 日目の午後）まで診療所に留められた。被験者／患者は、その後、IMP の投与後 12 週の最終評価まで定期的に外来訪問した。

- ・安全性及び忍容性は、試験全体を通して評価された。

- ・パート A についての盲検での安全性及び忍容性データ、予備的薬物動態データ、並びに予備的末梢血及び CSF の薬力学（ターゲットエンゲージメント）データを、パート A における各コホートの用量漸増及び開始前に、投与カンファレンスにおいて評価及び論議した。パート A における第 2 のコホート（コホート A 2）についての用量漸増は、第 1 のコホート（コホート A 1）からの安全性データの 4 週間の評価に基づき、パート A におけるその後の各コホートについては、用量漸増はパート A における前のコホートからの安全性データの少なくとも 2 週間の評価に基づいた。

【0408】

薬物動態の結果：

GM37v2 の IV 注入後に、日本人以外の対象において、注入の終了後 8～90 分以内に t_{max} 中央値が生じ（注入の開始後 1.00～5.00 時間の個々の範囲）、日本人被験者において、注入の終了後 15～150 分以内に t_{max} 中央値が生じ（注入の開始後 1.00～5.00 時間の個々の範囲）、PD を有する患者において、注入の終了後 38～45 分以内に t_{max} 中央値が生じた（注入の開始後 1.00～5.00 時間の個々の範囲）。注入の終了までに（投与後 1 時間）、 C_{max} は、被験者／患者の大部分において（すなわち、パート A において GM37v2 を受けた 41 人の被験者のうち 35 人及びパート B で GM37v2 を受けた 12 人の患者のうち 10 人）到達しなかった。健康な被験者（日本人若しくは日本人以外）又は PD を有する患者について、 t_{max} に対する GM37v2 の投与量の明白な効果はなく、投与群間で同様な中央値及び重複範囲であった。

- ・ C_{max} に続いて、血漿中の GM37v2 の「遊離」濃度は多段階的に減少し、パート A 及び B の両方において、全ての被験者／患者について最後に採取された薬物動態試料まで（63 日目にその最後の試料が採取されたコホート A 5 における 1 人の被験者を除いて、全てに対して 84 日目）定量可能であった。

- ・クリアランスは、試験の全ての投与群及びパートに対して、0.01 L/時（0.24 L/日）の近似全体平均 CL（0.00883～0.0121 L/時の範囲）であり、およそ 700 時間の近似全体平均 $t_{1/2}$ （29 日間；565～843 時間の範囲）を伴うことが判明し；比較のために、内因性免疫グロブリン G1 は、0.21 L/日の CL 及び 21 日の $t_{1/2}$ を有する。

- ・GM37v2 の曝露（ C_{max} 及び AUC）は、日本人と日本人以外の被験者との間で、及び健康な被験者と PD を有する患者との間で同等であった。半減期、クリアランス、及び分布容積は、全ての用量並びに日本人及び日本人以外の被験者で、また健康な被験者と PD を有する患者との間で同等であった。

- ・「遊離」GM37v2 の薬物動態は線形であって、パート A における 75～9000 mg の用量範囲を超える用量の増加及びパート B における 2250～9000 mg の用量範囲の増加を伴い、曝露においてほぼ用量に比例する増加をもたらした。

- ・「遊離」GM37v2 は、脳血液関門を通過し、パート A 及び B における被験者／患者から 3 日目及び 21 日目に採取された全ての CSF 試料中で検出可能であったが、例外として 1 人の被験者（75 mg の GM37v2）が、3 日目及び 21 日目の両日で、「遊離」GM37v2 が CSF 中の定量限界未満であった。CSF：血漿比は、3 日目に 0.0955%～0.137% であり、21 日目に 0.164%～0.512% であった。CSF：血漿比は、全ての用量で、且つ健康な被験者と PD を有する患者との間で同等であっ

10

20

30

40

50

た。

・各用量レベル対時間における健康な被験者（コホート A 1～A 6）及び患者（コホート B 1～B 2）についての G M 3 7 バリエーション 2 の血漿濃度の中央値（四分位数を含む）（ ng/mL ）を、図 4 a 及び b に表示する。

【0409】

薬力学的結果

パート A 及び B において、G M 3 7 v 結合の結果としての、血漿中の「遊離」アルファシヌクレインにおける用量依存的減少が、G M 3 7 v 2 の注入直後に開始することが観察された。同様なパターンは、遊離：総アルファシヌクレインについて明白であったが、ばらつきは明らかに少なかった（図 6 及び 7）。おそらくは、G M 3 7 v 2 への結合のために、G M 3 7 v 2 の全ての投与に続いて、「総」アルファシヌクレイン濃度が一時的に増加し、84 日目までにベースラインに戻った。

・2250、4500、及び9000mgの用量群において、日本人と日本人以外の被験者との間で、「遊離」又は「総」血漿アルファシヌクレインレベルにおける明らかな差異はなかった。

・血漿中の平均「遊離」アルファシヌクレインレベルは、パート A における健康な被験者又はパート B における PD を有する患者について、84 日目の最後のサンプリング時までベースラインまで戻らなかった。

・G M 3 7 v 2 の最高用量（4500 及び 9000 mg）でのパート A における健康な被験者、及びパート B における PD を有する患者の両方において、3 日目に平均遊離：総アルファシヌクレイン C S F 比におけるわずかな用量依存的減少があった。

・パート A において、3 日目での遊離：総アルファシヌクレイン C S F 比におけるベースラインからの平均変化は、 $-27.9\% \sim -8.06\%$ の範囲であって、最高の 4500 及び 9000 mg の用量において、最も大きな減少（ -6.56% 及び -27.9% ）が生じた。21 日目には、アルファシヌクレインの平均遊離：総比は、プラセボにおいてベースラインから減少し（ -2.15% ）、225～4500 mg の G M 3 7 v 2 投与群で $-1.7\% \sim -15.1\%$ だけ減少した。パート B では、この比は、G M 3 7 v 2 の 2250 mg の用量については 3 日目に -8.08% だけベースラインから変化し、G M 3 7 v 2 の 9000 mg の用量については 3 日目に -38.8% 及び 21 日目に -36.6% だけ変化した。

・「遊離」血漿アルファシヌクレイン及び血漿遊離：総アルファシヌクレインは、最大阻害（ $E_{\max}$ ）モデルにフィッティングさせることができ、ここでは、G M 3 7 v 2 の増加濃度は、より低い血漿「遊離」シヌクレインレベル及び遊離：総血漿アルファシヌクレイン比に関連した。50% の最大阻害値を生み出すことが必要とされる推定薬物濃度は、「遊離」血漿アルファシヌクレインについては 11049 ng/mL であり、遊離：総血漿アルファシヌクレイン比については 6917 ng/mL であった（図 8）。

【0410】

ターゲットエンゲージメントの結果：

血漿中の単量体アルファシヌクレインのターゲットエンゲージメント（図 8）に加えて、本発明の発明者らはまた、驚くべきことに、G M 3 7 v 2 による単回投与後に、パーキンソン病の患者の C S F 中の単量体アルファシヌクレインに対するターゲットエンゲージメントを示すことができた（図 11）。我々の知る限り、同様な若しくはそれよりも強力な単量体の結合を有する他のそのような抗体が臨床現場で試験されているが、そのようなターゲットエンゲージメントが、アルファシヌクレインに対する抗体を用いた臨床試験で実証されたのは、これが初めてである。例えば、プラシネズマブ（*Prasinezumab*）（P R X 0 0 2 又は 9 E 4）単量体アルファシヌクレインに対して 20 nM の結合を有することが報告されているが、パーキンソン病患者を含むこの抗体の臨床試験及び $0.3 \text{ mg/kg} \sim 60 \text{ mg/kg}$ の用量において、C S F 中の遊離アルファシヌクレインに対する効果は認められていない（*Jankovic et al., JAMA Neurol. 2018 Oct; 75 (10) : 1206–1214*）。

【0411】

上記のSAD試験(9000mg)における高用量は、抗体の蓄積後の4500mg用量での複数回投与後に予想される濃度に匹敵するCSF中の濃度に達するように選択された。図11は、パーキンソン病を有する患者から3日目及び21日目に得られたCSF試料中で測定された遊離/総アルファシヌクレインのベースラインからの変化を%で示しており、9000mgの用量において、遊離/総単量体アルファシヌクレインにおけるベースラインからのおよそ36%の減少を伴う。GM37v2のオリゴマー形態に対する結合はおよそ65倍高いので、これはCNS中の凝集したオリゴマーアルファシヌクレインの更に非常に高いターゲットエンゲージメントが、モデルによって推定されるように最大95%まで達成され得るという本発明者による推定を裏付けるものである(図1及び実施例1を参照されたい)。これらのデータは、本発明の投与レジメンが細胞外マトリックス中の抗体によって結合されたオリゴマーアルファシヌクレインの中和及びクリアランスによって、シヌクレイノパチーの疾患進行を減速させることができることを裏付ける。

10

【0412】

実施例4－実施例3において収集されたデータからの母集団PK(PopPK)解析

PopPK解析の目的は、シヌクレイノパチーを有する患者における治験について選択された用量を裏付けるためのPKデータを得ることであった。PopPKモデルは、健康な被験者の単回投与後のGM37バリエーション2のPKの時間経過を説明し、関連するPKパラメーターに対する共変量の影響を調査するために開発された。

20

【0413】

全体で、パートA(コホートA1～A6)からの41人の被験者に由来する694のPK測定値が、PopPK解析に含まれた。GM37バリエーション2の血漿濃度を、非線形混合効果法を使用して分析した。まず、簡単な1コンパートメントモデルから始まり、複雑さを増しながら構造モデルが開発された。異なる個人間変動(IIV)モデル及び異なる残差変動モデルを検討して、安定な構造モデルに到達した。その後、共変量関係をステップワイズ法で検討し($p < 0.01$ の有意性基準を使用する前進的組み入れ段階及び $p < 0.005$ の有意性基準を使用する後退的除外段階)、個々の被験者の特性(体重[WT]、身長[HT]、年齢、性別、人種、及びベースライン時のアルファシヌクレイン)のモデルパラメータに及ぼす影響を調べた。モデル選択は、数値チェック(パラメーター推定値及びそれぞれの精度など)、グラフィカルな適合度チェック、並びに科学的及び生理学的妥当性の評価によって、客観関数値を使用して通知された。

30

【0414】

PopPKの結果

用量で標準化したGM37バリエーション2の血漿濃度対時間(対数スケール)を図5に提示しており(全ての被験者)、実線は、平均値であり、灰色の線及び丸は、個々のデータである。用量の線形性からの明らかな逸脱は見られなかった。

【0415】

GMバリエーション2の全体的なPKプロファイルは、中心コンパートメントからの一次消失を含む3コンパートメントモデルによって説明される。CL(クリアランス)及びVs(分布容積)を、それぞれ、 0.254 L/日 及び 8.64 L と推定した。GM37バリエーション2の幾何平均終末消失半減期 $t_{1/2}$ を、 30.5 日 (17.5% のCV)と推定した。IIVを、CLについて 16.1% のCV及びV1(中心コンパートメントの分布容積)について 10.1% のCVと推定した。残差変動は低かった(6.91%)。予測された個々のCLと用量との間に有意な関係性はなく、GM37バリエーション2の用量比例性のPKを確認した。GM37バリエーション2を受けた41人の被験者の内3人でADAが検出され、これらの被験者においてGM37バリエーション2のPKにおいて明らかな差異は見られなかった。主要な共変量(WT、HT、年齢、性別、人種(日本人を含む)、アルブミン、及びベースライン時のアルファシヌクレイン)の中でも、WT及びHTのみが、PKパラメーターに対して統計的に有意な影響を有していた。

40

【0416】

50

WTは、PKパラメーターに最も大きな影響を与え、ベースライン共変量値の5パーセントを有する基準被験者でCLが25%低下し、ベースライン共変量値の95パーセントを有する基準被験者でCLが24%高い。定常状態における曝露(AUCss及びCmax;ss)に対するWTの影響は、基準被験者(74.6kg及び171cm)と比較して、ベースラインの共変量分布の5パーセント及び95パーセントで適度と考えられ(AUCssでは、およそ0.8~1.3倍)、フラットな固定投与量を裏付けた。

【0417】

最終的なモデルは、予測データと観測データの値の間に適切な一致があることを示した。

【0418】

実施例6—本発明に従って使用するための抗体及びそれらのヒトアルファシヌクレインに対する結合

競合ELISA実験を使用して、本発明者らは、残基54における変化が溶液中のアルファシヌクレインに結合するGM37wtの能力に与える影響を評価した。本発明者らは、抗体のシヌクレイン被覆ELISAプレートへの結合を阻害することができるシヌクレインの濃度を評価することによって、GM37バリエーションが同じ結合特性を維持し、この特異的アッセイデザインにおいて、アルファシヌクレインに結合し、1~2nMのIC50であることを示した(図9)。固定濃度(0.3µg/ml)の以下の抗体:GM37(GM37wtと名付けられた)、GMバリエーション1、GMバリエーション2及びGM37バリエーション3の各々の、0~1000nMの範囲のヒトアルファシヌクレインとの室温で60分間のプレインキュベーションを使用して、競合アッセイを実施した。残存する非結合抗体を捕捉し、電気化学発光法(MSD, Gatherersburg, MD)により、抗ヒト検出抗体を使用して、100ng/mlの組換えヒトアルファシヌクレインで被覆したELISAプレート上で測定した。相互作用のIC50は、この特異的アッセイ(Prism Graphpad(登録商標)を使用して決定される)において、GM37、GMバリエーション1、GMバリエーション2及びGM37バリエーション3のそれぞれについて、1.9nM、1.6nM、2.1nM及び1.4nMであった。

【0419】

実施例6A—GM37v2の単量体アルファシヌクレインへの結合についての正確なKDの決定

GM37バリエーション2の単量体α-シヌクレインへの結合の正確なKD値を、標準化されたセットアップで繰り返しSPR分析を使用して測定した。

【0420】

SPRのセットアップは以下の通りであった:約3000RUに相当する抗ヒトIgG抗体を、CM4チップ(GE HealthcareからCat#BR1008-39)上で、GEからのプロトコルに従ってアルファシヌクレイン抗体にアミン結合させた。アルファシヌクレイン抗体を1µg/mlに希釈し、添加剤:1mg/mlのBSA(A7979-Sigma Aldrich)及び追加の0.05%のP20(合計0.1%)を含むPBS-P又は添加剤:5mg/mlのBSA、及び追加の0.05%のP20(合計0.1%)を含むHBS-Pのいずれかをランニング緩衝液として使用して、30秒の接触時間で注入して、約50~200RUのレベルの捕捉物を得た。

【0421】

単量体α-シヌクレインを、最大600nMからの3倍希釈系列で使用した。捕捉された抗体の除去(再生)は、捕捉Abキット(GE Healthcare)で提供される3MのMgCl2再生緩衝液の注入によって達成した。アッセイランニングは、添加剤:1mg/mlのBSA(A7979-Sigma Aldrich)及び追加の0.05%のP20(合計0.1%)を含むPBS-P又は添加剤:5mg/mlのBSA及び追加の0.05%のP20(合計0.1%)を含むHBS-Pのいずれかであった。

【0422】

10

20

30

40

50

Biacore S200 Evaluationソフトウェア1.1を使用して、データを分析した。KD及び動態パラメーターは、1：1動態モデルに対するセンサーグラムのグローバルフィッティングによって決定した。繰り返し分析の結果を以下の表に示す。

【0423】

【表10】

実験 番号	抗体	単量体アルファ シヌクレイン	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (nM)	Chi (RU)	化学量 論
1	GM37 バリエント2	Ab51189	7.40E+05	0.03	45	0.27	1.5
2	GM37 バリエント2	Ab51189	4.60E+05	0.02	49	0.06	1.4
3	GM37 バリエント2	Ab51189	6.70E+05	0.03	44	0.09	1.4
4	GM37 バリエント2	Ab51189	5.80E+05	0.02	30	0.46	1.7
5	GM37 バリエント2	Ab51189	1.00E+06	0.03	29	0.06	1.6
6	GM37 バリエント2	Ab51189	1.43E+06	0.02	31	0.05	1.9
7	GM37 バリエント2	Ab51189	7.20E+05	0.05	32	0.06	1.1
8	GM37 バリエント2	Ab51189	6.90E+05	0.02	35	0.10	1.9
9	GM37 バリエント2	Ab51189	7.00E+05	0.02	28	0.08	1.8
10	GM37 バリエント2	Ab51189	6.70E+05	0.02	33	0.16	1.7
11	GM37 バリエント2	Ab51189	6.00E+05	0.02	35	0.08	1.5

【0424】

標準化されたセットアップを使用する繰り返しSPR分析に基づくと、GM37バリエント2の単量体 α -シヌクレインへの結合は、36 nM (S.D. 7 nM) の平均の測定KDを有する。

【0425】

同様なKDは、GM37バリエーション2の、ヒト、ウサギ及び齧歯類の単量体アルファシヌクレインへの結合について見出され（データは示さず）、したがって、このパラメータは、異なる種からの測定値に対して安定且つ再現性があった。これらのデータは、本発明の投与レジメンに達するために実施される根本となるモデル化が、GM37v2の十分に確立された結合特性に基づいていることを裏付けており、したがって、例えば、凝集した α シヌクレインのCSF/ISFターゲットエンゲージメントの推定の妥当性を支持する。

【0426】

実施例7—本発明に従って使用するための抗体の一次ニューロンの培養物中のシヌクレインシーディング活性をブロックするための能力

シーディングのレベルを、ホスホシヌクレインに特異的な抗体を使用して測定した。GM37（GM37wtと名付けた）、GM37バリエーション1、GM37バリエーション2及びGM37バリエーション3の全ては、ホスホシヌクレインシグナルによって測定されるシーディングをブロックすることができた（図10）。更に、阻害のレベルは、全ての4つの抗体について同じであった。この細胞ベースのデータは、VHドメイン中のアミノ酸54がヒトアルファシヌクレインに対する結合親和性、又は一次細胞ベースのアッセイにおけるシーディングの阻害に必要とされないことを更に確認している。更に、本発明者らは、これらの抗体のうち3つ全てが、標準的な発現及び精製方法を使用して産生可能であることを見出した。興味深いことに、バリエーションのうちの1つのN54Qは、他のバリエーションを超える産生における改善を示し、これは、抗体が大規模に商業的に製造される場合に非常に重要である。これらのデータは、アスパラギン（N）を別のアミノ酸で効力の損失を考慮せずに置き換えることによる脱アミド化の潜在的なリスクを低減する可能性を裏付けている。

【0427】

いくつかの研究は、組換えアルファシヌクレインフィブリル状凝集体の外部からの添加により細胞中に入り、内因性アルファシヌクレインを動員し、インビトロ及びインビボでアルファシヌクレインの凝集及びリン酸化を誘発し、これはLBに似ている（Volpicelli-Daleyら2011、Lukら2012a、Lukら2012b、Recasensら2013、Peelaertsら2015）。組換えアルファシヌクレインシードによる内因性マウスアルファシヌクレインのシーディングを研究するために、上記のように調製されたマウス一次皮質ニューロンを96ウェルプレートに播種する（ウェル当たり15,000細胞）。インビトロ培養（DIV）5日目に培地の50%を交換し、シトシンアラビノシド（1 μ Mの最終濃度）で補充する。DIV6日目に、培地の半分を、グリア細胞調整培地と共に粗フィブリルシード若しくは純粋なシードのいずれかのアルファシヌクレインフィブリル状物質で交換した。粗フィブリルシードは、細菌から単離された組換え単量体ヒトアルファシヌクレインから作製され、単量体はアミコンウルトラ100,000カットオフフィルター（Millipore カタログ番号UFC510096）を通して濾過され、PBS、pH7.4中1mg/mLの濃度に調節された。フィブリル粗シードを作製するために、単量体溶液を、定常に達するまで（チオフラビンSによる毎日の測定によって評価される）連続的に混合しながら（800rpm）37°Cにてサーモミキサー中でインキュベートした。蒸発を最小限に抑えるために、ミネラルオイルの一滴を添加して溶液を覆った。インキュベーションの合計時間は、5～7日間であった。純粋なシードは総フィブリルシードから作製され、これは、それらを遠心分離して精製し、凝集ペレットを新鮮なPBS中に再懸濁させて超音波処理することで作製される。抗体を、アルファシヌクレイン粗シードと共に、DIV6日目に1回添加する。一次ニューロンにおける培地の半分を、毎週グリア細胞調整培地で交換して、それらをDIV21日目まで維持する。ニューロンを固定し、アミノ酸S129におけるアルファシヌクレインのリン酸化に特異的なウサギ抗体（アブカム51253）、その後、蛍光標識抗ウサギ抗体を使用して、ホスホシヌクレインに対して染色し、自動蛍光顕微鏡、Cellom i

10

20

30

40

50

c s A r r a y s c a nを使用して蛍光を定量化する。1つのチャンネルにおいて、核を検出し、有効な細胞の数を画定した。リン酸化アルファシヌクレインスポットを、核の周りの事前に定義されたリング状の領域（細胞の細胞質を表す）において別のチャンネルで検出した。細胞当たりのスポットの平均数を計算した。

【0428】

分画研究については、細胞をリン酸緩衝生理食塩水（PBS）中に採取し、遠心分離した。ペレットを、プロテアーゼ阻害剤を含む1%トリトン緩衝液中に再懸濁させた。試料を氷上で15分間保持し、続いて超音波処理した。試料を、4℃で100,000×gで30分間遠心分離した。上清を集め、可溶性画分としてラベル付けする。ペレットをトリトン緩衝液で1回洗浄し、1%SDS緩衝液中に再懸濁させ、その後、超音波処理した。試料を100,000×gで30分間再び遠心分離した。上清を、不溶性画分として収集した。タンパク質濃度を測定し、試料を4~12%のSDS-PAGEゲル上を移動させ、膜にブロットし、アルファシヌクレイン及びリン酸化アルファシヌクレイン（S129P）を、それぞれ4B12/1904抗体（Thermo scientific:MA1-90346-ヒトシヌクレイン）、S129P-*asyn*抗体（アブカム51253）、及びマウスシヌクレイン抗体（細胞シグナリング-D37A6）によって検出する。

【0429】

抗体がシーディングを阻害することができるかどうかを試験するために、アルファシヌクレインシードを、6.6nM（10ng/ウェル）の濃度で使用した。異なる濃度の抗体及びアルファシヌクレインシードを、DIV6日目に一緒に添加し、用量反応を行った（133nMの最高抗体濃度から開始して133pMまで低下させた）。ニューロンを再び固定化し、ホスホシヌクレインについて染色し（アブカム51253）、細胞からの蛍光を自動蛍光顕微鏡、Cellomics arrayscanを使用して定量化した。細胞当たりのスポット/斑点を、Cellomics arrayscanにおいて計数した。抗体GM37、GM37v2の両方及び抗体GM285は、ニューロン中のアルファシヌクレインのリン酸化を用量依存的な方法で低減させ、GM37、GM37v2及び285についての同様な最大阻害（およそ70~75%）及びおよそ5nMのIC50を伴った。最高濃度（133nM）での抗体による処置後の細胞タンパク質の可溶性画分及び不溶性画分への分画は、GM37、GM37v2及びGM285の両方の抗体が、組換え粗シードの切断及びC末端切断断片（CTA-*syn*）の蓄積を阻害し、リン酸化内因性マウスアルファシヌクレインの蓄積及び不溶性画分中のマウスアルファシヌクレインの凝集形態を低減させたことを示している。

【0430】

実施例7A-ヒトCSF及び血漿中の遊離及び総アルファシヌクレインの定量化

遊離（非結合）及び総アルファシヌクレインレベルを、ECLIA（MSD）定量化アッセイを使用して、CSF及び血漿中で測定した。MSD Goldストレプトアビジンプレートを洗浄緩衝液で3回洗浄し（300μl/ウェル）、続いてウェルを空にした。遊離アルファシヌクレインのアッセイでは、全てのウェルをその後、150μlのSuperblock T20で室温、500RPMで1時間ブロックし、続いてPBS中の1ng/mlのコーティング抗体（GM37v2）の50μlを添加した。総アルファシヌクレインのアッセイでは、プレートを同時にブロックし、希釈液49中の1ng/mlのコーティング抗体（GM37v2）の25μlでコーティングした。室温、500RPMでの1時間のインキュベーション後に、プレートを洗浄緩衝液（300μl/ウェル）で再度3回洗浄し、続いてウェルを空にした。次に、25μlの検出抗体を、25μlの希釈試料と共に全てのウェルに添加し、アルファシヌクレイン検量線（4ng/ml~0.030ng/ml）を作製し、QC試料を二通りで行った。遊離アルファシヌクレインアッセイでは、試料を希釈剤49中で5倍に予備希釈したが、一方、総アルファシヌクレインアッセイでは、試料は希釈剤49中で500倍に予備希釈し、続いて、95℃、500RPMで熱処理し、試料を室温で13,000RPMで10分間遠心分離し、その後アッセイプレートに移した。試料、検量用試料、QC試料及び検出mAbを室温、500RPM

Mで2時間インキュベートした。その後、プレートを洗浄緩衝液（300 μL／ウェル）で3回洗浄し、続いてウェルを空にし、150 μLのリード緩衝液T（1×）をプレートの全てのウェルに添加した。ELC応答を、リード緩衝液をMSDストレプトアビジンプレートに添加した後に、5分以内にQuickPlex SQ 120を使用して測定した。アルファシヌクレイン試料レベルを、検量線の4PL曲線フィットを使用して補間した。

【0431】

実施例8—シヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーを治療するために本発明によって提供される投薬レジメンの臨床的有効性を確認する方法

本発明によって提供される投薬レジメンの臨床有効性又は治療効果は、例えば、無作為化、二重盲検、プラセボ対照臨床試験を実行することによって確認することができる。そのような試験は、静脈内注入によって700 mg以上且つ7000 mg未満の用量で、3～5週間毎に投与される本発明の抗体の有効性又は治療効果を調査することができる。当該注入は、15分±5分、30分±10分又は別の好適な時間枠の期間にわたって行われ得る。試験される投薬レジメンは、本発明の液体医薬組成物などの好適な製剤中で、約4週間毎に24週間、48週間、72週間、96週間以上静脈内投与される1050 mg、2100 mg及び／又は4200 mgなどの本発明の固定用量であり得る。そのような有効性は、投与される抗体（GM37v2）のシヌクレイノパチー（MSA）の疾患進行を遅延若しくは減速させる能力として、又は患者が前駆症性シヌクレイノパチーに罹患している場合には、疾患発症を遅延させるための能力として測定され得る。そのような臨床試験では、対照群、すなわち試験の非アクティブアームは、患者の群が好適なプラセボ処置を施される試験に含まれる古典的なプラセボアームであり得る。しかしながら、そのような試験のアクティブアームからのデータもまた、試験で処置されるシヌクレイノパチーの種類に罹患している関連する、患者から得られた疾患進行に関する病歴データに対して比較されてもよい。最終的に、そのような試験のアクティブアームにおける治療効果は、処置された患者における疾患進行をプラセボ対照患者の群と比較することによって定量化することができ、この対照群は、シヌクレイノパチーを有する患者から得られた疾患進行に関する病歴データによって更に強化される。そのような臨床試験の例は、NCT05104476（国内臨床試験番号）であり、そのプロトコルは、参照により本明細書に組み込まれる。

【0432】

そのような試験に含まれるべき患者は、現行のコンセンサス診断基準によって定義されるようなシヌクレイノパチー若しくは前駆症性シヌクレイノパチーに罹患している患者である。そのような患者は、MSA、例えば、既知の診断法及び基準に従うか、又はRBDなどの前駆症性シヌクレイノパチーに対する臨床マーカー若しくは本明細書に記載の他の前駆症性マーカーを示す確実なMSA、ほぼ確実なMSA、臨床的に確実なMSA、臨床的にほぼ確実なMSA、MSAタイプC若しくはMSAタイプP；PD；又はDLBと診断され得る。

【0433】

臨床的有効性又は治療効果を定量化するためのアウトカム尺度は、例えば、統合多系統萎縮症における症状評価スケール（UMSARS）パートI及びパートII合計スコア（UMSARS TS）における、又は修正UMSARS（mUMSARS）における、又は簡易UMSARS（aUMSARS）におけるベースラインから治療終了時（EoT）までの、すなわち24週間、48週間、72週間、96週間以上の治療期間の終了時までの対数変化によって評価される疾患進行における減速又は遅延を測定する任意の好適な方法であり得る。

【0434】

臨床的有効性又は治療効果を定量化するためのアウトカム尺度はまた、例えば、UMSARSパートI、修正UMSARS（mUMSARS）及び／又はUMSARSパートIIスコアにおけるベースラインからEoTまでの対数変化によって評価される疾患進行に

おける減速又は遅延を測定することであり得る。そのような疾患進行はまた、例えば、UMSARS TS、UMSARS パート I、mUMSARS 及び／又は UMSARS パート II スコアにおけるベースラインから E o T までの変化として評価され得る。疾患進行はまた、簡易 UMSARS (aUMSARS) におけるベースラインから E o T までの対数変化によって、又は容積測定 MRI (vMRI) によって測定される脳容積におけるベースラインからの変化として、又はニューロフィラメント軽鎖 (NfL) 血中濃度におけるベースラインからの変化として評価され得る。

【0435】

臨床的有効性又は治療効果は、例えば、下記から選択される 1 つ以上のパラメーターにおけるベースラインから変化として E o T で評価され得る：シュワブ・イングランド日常生活活動 (Schwab and England Activities of Daily Living) (SE-ADL) スコア；臨床全般印象・重症度 (Clinical Global Impression-Severity of Illness) (CGI-S) スコアにおけるベースラインからの変化として；患者による全般印象・重症度 (Patient Global Impression-Severity of Illness) (PGI-S) スコアにおけるベースラインからの変化として；観察者による報告の全般印象・重症度 (Observer-Reported Global Impression-Severity of Illness) (OGI-S) スコアにおけるベースラインからの変化として；複合自律神経症状スコア選択変化 (Composite Autonomic Symptom Score Select Change) (COMPASS Select Change) スコアにおけるベースラインからの変化として；UMSARS パート IV スコアにおけるベースラインからの変化として；UMSARS パート I 項目スコアによって評価される会話、嚥下、転倒、及び歩行におけるベースラインからの変化として；Fall Diary Periods によって評価される転倒の頻度、原因、及び影響におけるベースラインからの変化として；EQ-5D-5L スコアリング法 (EuroQol 5-Dimension, 5-Level (EQ-5D-5L)) スコアにおけるベースラインからの変化として；容積測定 MRI (vMRI) によって測定される脳容積におけるベースラインからの変化として；拡散テンソル画像 (DTI) MRI によって測定される組織の完全性におけるベースラインからの変化として；ニューロフィラメント軽鎖 (NfL) 血中濃度におけるベースラインからの変化として；UMSARS パート III で評価される心拍数、血圧及び起立時症状におけるベースラインからの変化として；関連する歩行パラメーター及び／又は登録された転倒を追跡することができるデジタルウェアラブルセンサーベースのデバイスによって評価される、歩行パラメーター又は転倒の頻度におけるベースラインからの変化として；動脈スピラベリング (ASL) MRI によって測定される脳血流におけるベースラインからの変化として；t-tau 及び NfL の CSF 濃度におけるベースラインからの変化として；又は CSF 中の α -シヌクレインの病理学的種におけるベースラインからの変化として。

【0436】

試験中に、血漿及び CSF 試料は、様々な時点で、例えば、ベースライン時並びに 4、6、8、12、24、36、48、60、72、88 及び 96 週のうちの 1 つ以上の時点で採取され、生物学的マーカー及び投与された抗体の曝露レベルを調査する。

【0437】

実験セクション－製剤開発

本発明の医薬製剤は、以下に記載される分析法などの方法によって、調製及び／又は分析及び／又は特性化され得る。これらの方法は、薬学の分野において周知である。

【0438】

以下に記載される実施例及び試験は、抗体 GM37 バリエント 2 (GM37 v2) を含む臨床的な安定な医薬製剤を特定するために、本発明の本発明者らによって実施された研究を提示する。

【0439】

以下に提示される試験1A、1B及び1Cで使用された分析法の一般的な説明

G P - H P L C

ゲル浸透HPLC法を、標準化TSK SWXL G3000カラムを使用して、Agilent 1200 HPLCシステムで行った。使用された移動相は、1.0 mL / 分の流速での0.2 Mのリン酸ナトリウム (pH 7.0) であった。試料注入容量は、500 µL であった。およそ250 µgのタンパク質充填量を、単回の測定を使用して分析された。結果は、各試料中の単量体%、凝集体%及び断片%として小数点第2位まで表記した。

【0440】

示差走査熱量測定 (DSC)

DSCを、機器の操作手順に従って実施した。試料を120℃に加熱し、熔融温度を測定して、製剤安定性を判定した。

【0441】

動的光散乱法 (DLS)

DLSを、機器の操作手順に従って実施した。DLSは、ストークス・アインシュタイン関係式を適用して試料の流体力学的半径を決定するために使用された。試料中に存在する粒子は、ブラウン運動により時間に依存する光の散乱を生み出し、DLSは高感度検出器を使用して光散乱を監視する。

【0442】

分析は、関連するOminisize 2.0ソフトウェアを用いて、Viscotek 802 DLSで実施した。試料を10個の複製物で分析した。

【0443】

微粒子

各試料の340 nm及び620 nmにおける吸光度を、微粒子レベル及び濁度の指標として記録した。測定は、1 mLの非希釈の製品を単独で使用して行われた。製品製剤緩衝液がブランクとして使用され、1人のみの操作者によって340 nm及び620 nmにおいて製品の吸光度の読み取り値が測定された。結果を小数点第3位まで表記した。

【0444】

サブミクロン粒子分析

粒子数を光遮蔽によって試験紙、結果を必要に応じて、USP <788>の原理に従って報告した。1 mLの試料をウォッシュスルーとして使用して、廃棄した。3つの読み取り値を各々1 mLの試料を使用して測定し、累積結果を報告した。

【0445】

SDS-PAGE (還元及び非還元)

Novex Pre-cast Minigels、Simply Blue Safe Stain及びBio-Rad GS-800イメージングデンシトメトリーを使用する分析

試料を、加熱及びドデシル硫酸ナトリウムによる処理によって変性させた。還元条件分析については、ジスルフィド結合を2-メルカプトエタノールで破壊した。

【0446】

ポリペプチドを、4%~20%の勾配のSDS PAGEゲルによる電気泳動によって、分子サイズに基づいて分離させた。分離後に、Simply Blue (商標) Safe Stain (クマシーブルーG-250) によってタンパク質結合を可視化した。ポリペプチド結合を、Bio-Rad GS-800デンシトメトリーを使用する白色光デンシトメトリーによって定量化した。標準充填質量は、3 µg (非還元条件) 又は5 µg (還元条件) であった。

【0447】

実施例A-製剤のpH及び緩衝液タイプ

実施例Aは、GM37v2製剤にとって最も好ましいpH範囲及び緩衝液タイプを特定することに焦点を当てる。実施例Aは、以降、8つの製剤候補をテストする試験1A及び

10

20

30

40

50

16個の製剤候補をテストする試験2Aと表示する2つの別個の試験からなる。
【0448】
試験1A：製剤のpH及び緩衝液タイプ
8つの製剤候補、製剤1～製剤8を検討し、F1～F8と表示した（表1）
【0449】
【表11】

表1: GM37v2 製剤に対するpH/緩衝液タイプの影響に関して試験1A で検討された製剤

pH 製剤 ID	製剤緩衝液	製剤の pH
F1	25 mM 酢酸ナトリウム	4.5
F2	25 mM 酢酸ナトリウム	5.0
F3	25 mM 酢酸ナトリウム	5.5
F4	25 mM クエン酸ナトリウム	6.0
F5	25 mM ヒスチジン	6.0
F6	25 mM クエン酸ナトリウム	6.5
F7	25 mM リン酸ナトリウム	7.0
F8	25 mM リン酸ナトリウム	7.5
対照(SC)	PBS	7.4

【0450】
GM37v2の安定性を、目標の保存温度5℃±3で、及び30%以下のRHでの高温40℃±2で、8つの製剤候補において評価した。各製剤緩衝液中のGM37v2の濃度は、30mg／mlであった。
【0451】
各製剤の安定性を、ベースライン時（時間ゼロ、0週目；T＝0）及び1週間後（T＝1、1週目）に、様々な周知の方法によって測定した。更に、各製剤についての安定性試験は、以下の分析法の適用を含んだ（表2）。
【0452】

【表 1 2】

表2: 安定性を評価するための分析法:

分析法	時点		
	時間ゼロ	5℃で1週間	40℃で1週間
GP-HPLC	X	X	X
DSC	X	X	X
DLS	X	X	X

GP-HPLC = ゲル浸透高速液体クロマトグラフィー

10

DSC = 示差走査熱量測定

DLS = 動的光拡散法

【 0 4 5 3 】

この安定性試験の結果を以下に要約する。

【 0 4 5 4 】

【表 1 3】

表3: 凝集体の量(%A)、断片の量(%F)及び単量体の量(%M)で測定されたGP-HPLCによるパーセンテージ純度、試験1Aの結果概要:

20

製剤	時点(週)								
	T=0			T=1					
				+5 ℃			+40 ℃		
	%M	%A	%F	%M	%A	%F	%M	%A	%F
F1	99.44	0.54	0.02	99.39	0.59	0.02	99.13	0.42	0.45
F2	99.40	0.58	0.02	99.45	0.53	0.02	99.31	0.52	0.17
F3	99.25	0.74	0.02	99.25	0.74	0.02	98.89	0.98	0.13
F4	99.25	0.74	0.01	99.25	0.74	0.02	99.00	0.89	0.12
F5	99.33	0.65	0.02	99.32	0.66	0.02	99.26	0.61	0.13
F6	99.21	0.77	0.02	99.22	0.76	0.02	98.81	1.07	0.12
F7	99.10	0.88	0.02	99.09	0.89	0.02	98.33	1.50	0.18
F8	99.06	0.92	0.02	99.02	0.96	0.02	98.15	1.64	0.21
対照	99.05	0.94	0.02	99.09	0.90	0.01	N/A	N/A	N/A
M = 単量体 A = 凝集体 F = 断片 N/A = 該当なし									

30

40

【 0 4 5 5 】

・初期凝集体レベルは、pH依存性であった。出発凝集体レベルは、T = 0 週において他の製剤と比較して、25 mMのリン酸ナトリウム緩衝液中、pH 7.5 及び pH 7.0 でより高かった（それぞれ、F 8（試験 1 A）及び F 7（試験 1 A））。凝集体レベルもまた、T = 0 週において他の製剤と比較して、25 mMのクエン酸ナトリウム緩衝液中、pH 6.0 及び pH 6.5 でより高かった（それぞれ、F 4（試験 1 A）及び F 6（試験 1 A））。

【 0 4 5 6 】

50

25 mMの酢酸ナトリウム緩衝液をpH 5.5で含有する製剤（F 3、試験1 A）もまた、他の25 mMの酢酸ナトリウム緩衝液の製剤（F 1（試験1 A）及びF 2（試験1 A））と比較して、T = 0週目においてより高い凝集体レベルを実証した。T = 0週目において断片レベルにおける目立った違いは、製剤間で観察されなかった。

・全ての製剤は、それらのT = 0週目でのそれぞれの結果と比較して、+ 5℃で1週間の保存に対して、単量体%、凝集体%及び断片%における目立った変化がないことを実証した。

・+ 40℃での凝集は、pH及び緩衝液依存性であった。

・製剤F 7（試験1 A）及びF 8（試験1 A）（それぞれ、pH 7.0及び7.5での25 mMのリン酸ナトリウム）は、それらのT = 0週目での結果と比較して、+ 40℃で1週間の保存時に凝集体の最も高い増加を実証した。製剤F 6（試験1 A）（pH 6.5での25 mMのクエン酸ナトリウム）、製剤F 3（試験1 A）（pH 5.5での25 mMの酢酸ナトリウム）及び製剤F 4（試験1 A）（pH 6.0での25 mMのクエン酸ナトリウム）もまた、+ 40℃で1週間後に凝集体の増加を実証したが、それは、製剤F 7（試験1 A）及びF 8（試験1 A）よりも少ない程度であった。

・製剤F 1（試験1 A）、F 2（試験1 A）及びF 5（試験1 A）は、それらのそれぞれのT = 0週目の結果と比較して、+ 40℃で1週間の保存後に、凝集体レベルの著しい変化がないことを実証した。

・製剤F 1（試験1 A）（25 mMの酢酸ナトリウム（pH 4.5））は、T = 0週目の結果と比較して、0.02%から0.45%までの、+ 40℃で1週間の保存後の断片レベルの著しい変化を実証した。

・その他の製剤は全て、それらのT = 0週目の結果と比較して、+ 40℃での保存の1週間後に、断片レベルのわずかな増加（約0.1%）を実証した。

【0457】

GPC HPLCによって、製剤F 2（試験1 A）（pH 5.0での25 mMの酢酸ナトリウム緩衝液）及び製剤F 5（試験1 A）（pH 6.0での25 mMのヒスチジン緩衝液）は、更なる開発のために最も好適な製剤候補として提示された。

【0458】

試験1 Aの熱安定性結果概要

【0459】

10

20

30

40

50

【表 1 4】

表4: DSC示差走査熱量測定

製剤	アンフォールディング事象	溶融温度(°C)
		1d.p T=0
製剤1	Tm1	63.9
	Tm2	69.9
	Tm3	75.3
	Tm4	81.5
製剤2	Tm1	68.4
	Tm2	71.0
	Tm3	77.5
	Tm4	84.4
製剤3	Tm1	69.2
	Tm2	71.4
	Tm3	77.9
	Tm4	85.4
製剤4	Tm1	67.6
	Tm2	70.4
	Tm3	77.5
	Tm4	85.0
製剤5	Tm1	69.7
	Tm2	71.5
	Tm3	77.9
	Tm4	84.8
製剤6	Tm1	70.3
	Tm2	76.5
	Tm3	84.9
製剤7	Tm1	70.3
	Tm2	76.3
	Tm3	85.0
製剤8	Tm1	69.8
	Tm2	74.9
	Tm3	84.9
試験対照	Tm1	69.1
	Tm2	73.5
	Tm3	84.5

Tm1 = アンフォールディング事象1の溶融温度
Tm2 = アンフォールディング事象2の溶融温度
Tm3 = アンフォールディング事象3の溶融温度
Tm4 = アンフォールディング事象4の溶融温度

【0 4 6 0】

- ・ 4つのアンフォールディング事象が、T = 0週目において、製剤 F 1（試験 1 A）、F 2（試験 1 A）、F 3（試験 1 A）、F 4（試験 1 A）及び F 5（試験 1 A）について観察された。3つのアンフォールディング事象が、製剤 F 6（試験 1 A）、F 7（試験 1 A）及び F 8（試験 1 A）について観察された。
- ・ I g G 1抗体についてのDSCプロファイルが、典型的には、3つのアンフォールディング事象を提示することが予想される。この場合には、pH 4.5～6.0の低pHにおいて、4つのアンフォールディング事象をもたらすわずかにより複雑なパターンが観察され、これらは、pH 6.5～7.5のより高いpHの製剤では観察されなかった。これは

- 、異なる pH で安定化される生成物の異なる立体構造によるものであり得る。
- ・製剤 F 1（試験 1 A）（p H 4 . 5 での 2 5 m M のクエン酸ナトリウム）は、T = 0 週目で、第 1、第 2 及び第 3 のアンフォールディング事象について最低の溶融温度を有していた。
 - ・p H 6 . 0 での製剤（F 5、試験 1 A）、p H 6 . 5 での製剤（F 6、試験 1 A）及び p H 7 . 0 での製剤（F 7、試験 1 A）、p H 7 . 5 での製剤（F 8、試験 1 A）は、測定において検出された第 1 及び第 2 の溶融事象において、最高の溶融温度を有していた。
 - ・全てのアンフォールディング事象についての溶融温度は p H 依存性であった。溶融温度は、p H 4 . 5 から p H 7 . 5 まで p H と共に上昇した。
 - ・D S C によって、p H 6 . 0、6 . 5、7 . 0 及び 7 . 5 は、最も高い予測的熱安定性を実証すると結論付けられた。

【 0 4 6 1 】
試験 1 A の高分子量種の結果概要
【 0 4 6 2 】
【表 1 5 】

表5: 動的光散乱法(DLS)

製剤	時点(週)					
	T=0		T=1			
			+5℃		+40℃	
	強度による Rh(nm)	強度による %RSD	強度による Rh(nm)	強度による %RSD	強度による Rh(nm)	強度による %RSD
F1	5.55	15.9	5.57	20.3	5.70	30.3
F2	5.47	17.0	5.65	22.0	5.82	23.3
F3	5.64	23.4	5.58	19.3	5.80	24.0
F4	5.94	24.0	5.81	23.2	5.86	24.4
F5	5.55	19.4	5.55	20.2	5.75	27.8
F6	5.87	22.6	5.78	19.9	5.76	20.0
F7	5.78	21.1	5.65	19.4	5.74	18.7
F8	5.88	25.6	5.81	21.5	5.98	24.9
SC	6.00	26.7	5.98	25.1	NA	NA

Rh = 流体力学的半径

%RSD = 粒子径分布%

- 【 0 4 6 3 】
- ・T = 0 週目で、又は + 5℃ 及び + 4 0℃ で 1 週間の保存後に、製剤のいずれにおいても高分子量種は検出されなかった。
 - ・製剤のいずれかの間で著しい差はなかった。
- 【 0 4 6 4 】

試験 2 A：製剤の p H 及び緩衝液タイプ
実施例 A の第 2 の部分の試験 2 A では、1 6 個の異なる製剤候補を調製し、4 ~ 7 の p

H 範囲を網羅する、製剤番号 1 ～ 16 と表示された（表 6）、16 個の異なる製剤候補を調製した。この試験は、所与の製剤候補に異なる緩衝液が使用された場合の、pH 及び緩衝液の影響を調査した。加えて、GM37v2 の濃度を 25 mg / ml から 150 mg / ml まで変化させた。最終的に、高タンパク質濃度で粘度を調製することが示されているアルギニン／グルタメートの組み合わせを含む異なる張度調整剤／安定剤を評価した。実際の pH 値、GM37v2 濃度、粘度及びオスモル濃度を表 7 に列挙する。

【0465】

【表 16】

表6: 試験2Aで検討された製剤(GM37V2ではmg/mLの値、賦形剤ではmMの値)

製剤番号	pH	酢酸塩	クエン酸塩	His	リン酸塩	NaCl	ソルビトール	Arg	Glu	GM37v2
1	4.0	20	0	0	0	140	0	0	0	25
2	4.0	20	0	0	0	0	270	0	0	50
3	5.0	20	0	0	0	0	270	0	0	50
4	5.0	0	0	20	0	0	0	100	100	25
5	5.5	0	20	0	0	0	270	0	0	50
6	5.5	0	0	20	0	70	130	0	0	100
7	6.0	0	20	0	0	0	0	50	50	100
8	6.0	0	0	0	20	0	0	100	100	150
9	6.0	0	0	20	0	140	0	0	0	50
10	6.5	0	20	0	0	0	130	50	50	50
11	6.5	0	0	0	20	140	0	0	0	100
12	6.5	0	0	20	0	0	0	100	100	150
13	7.0	0	0	0	20	0	270	0	0	100
14	7.0	0	0	20	0	70	0	50	50	150
15	5.5	0	0	10	0	70	0	50	50	150
16	5.5	0	0	40	0	70	130	0	0	50

10

20

【0466】

【表 17】

表7: 試験2Aでテストされた製剤候補の粘度及びオスモル濃度

製剤番号	実際のpH	実際のGM37v2 mg/ml	オスモル濃度 mOmol/kg溶媒	粘度 cP
1	4.00	24	293	1.07
2	4.44	47	301	1.60
3	5.12	53	314	1.56
4	5.02	22	231	1.29
5	5.59	53	340	1.51
6	5.58	103	311	2.22
7	6.00	102	288	2.34
8	6.05	154	280	3.97
9	6.03	54	307	1.44
10	6.57	53	158	1.42
11	6.49	107	305	2.21
12	6.56	155	274	4.26
13	6.99	109	358	2.52
14	6.98	145	305	3.85
15	5.54	149	296	3.78
16	5.52	49	331	1.37

40

50

【0467】

オスモル濃度の測定

溶液のオスモル濃度を、凝固点降下機器を使用して測定した。浸透圧計の校正は、C l i n i t r o l 290 (3MA029) を使用してチェックする。

【0468】

粘度測定

粘度を、A L Oチップを備えたR h e o s e n s eによるm-V R O C (商標) 粘度計を使用して測定した。採用される剪断速度は、結果により特定される。粘度計は、T h e r m o C u b e 熱電冷却器を使用して温度制御され、試料はH a m i l t o n 100u L シリンジ (81060) を使用して供給された。ニートなイソプロピルアルコールを使用して確認し、25℃で測定した。

10

【0469】

試験2Aの粘度結果の概要

粘度値を、G M 37 v 2 濃度によって大まかにグループ分けした。約25mg/mLでは、粘度値は1.2cPに平均化された。50mg/mLくらいでは、値は約1.5cPまで増加した。100mg/mL付近のG M 37 v 2 濃度では、平均値は約2.3まで増加した。最終的に、約150mg/mLでは、粘度値は3.8~4.3の範囲であった。これらの粘度レベルは、モノクローナル抗体、特に高い抗体濃度で含む製剤にとってはかなり低い。したがって、コロイド安定性及び自己会合する傾向性は、テストされた製剤候補中のG M 37 v 2 にとってかなり低いと思われる。これらのデータはまた、臨床的に好適な高濃度の製剤 (>200mg/mL) が、G M 37 v 2 に対して可能であり得ることを本発明者らに示しており、これらは更に調査された。

20

【0470】

サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) 測定

クォータナリポンプシステム及び可変波長検出器を装備したD i o n e x U l t i m a t e 3000 H P L C システムで、SEC 分析を行った。簡単に言うと、SEC-H P L C 法は、T o s o h T S K ゲルG3000SWxL (#08541) H P L C カラム及び50mMのリン酸ナトリウム、0.3Mの塩化ナトリウム、及び7.0のpHの移動相と共に、1mL/分でのイソクラティック流量、20℃のカラム温度及び220nmの検出波長を採用する。システム適合性を、これらの試験の過程にわたって各配列に対するSEC-H P L C 法についてのシステムの適合性が評価された。主ピーク (MP) のクロマトグラフィー属性 (保持時間、ピーク面積、及び相対面積) についての%CVは全て2%CV未満であり、相対面積の合計は100%になる。

30

【0471】

陽イオン交換クロマトグラフィー (CEX) 測定

クォータナリポンプシステム及び可変波長検出器を装備したD i o n e x U l t i m a t e 3000 H P L C システムで、CEX H P L C 分析を行った。簡単に言うと、CEX H P L C 法は、D i o n e x M a b P a c S C X-10、4×250mm (#074625) H P L C カラムと共に、1.5mL/分の流量、35℃のカラム温度及び220nmの検出波長を採用する。分析用の試料は、0.2MのNaH₂PO₄中およそ7mg/mLに前もって希釈された。CEX H P L C 法のための勾配プログラムは、移動相A、B、及びCを使用する。勾配プログラムを以下に概説する。

40

移動相A：20mMのリン酸ナトリウム、2mMの塩化ナトリウム、pH5.8、2.1ミリジーメンズ。

移動相B：20mMのリン酸ナトリウム、2mMの塩化ナトリウム、pH8.0、3.75ミリジーメンズ。

移動相C：10mMのリン酸ナトリウム、1Mの塩化ナトリウム、pH6.0

CEX H P L C についての勾配条件。

【0472】

50

【表 1 8】

時間(分)	移動相A	移動相B	移動相C
0	100		
5	100		
6	60	40	
35		100	
45		100	
46			100
53			100
54	100		
65	100		

10

【 0 4 7 3 】

システム適合性を、これらの試験の過程にわたって各配列に対する C E X H P L C 法についてのシステムの適合性が評価された。主ピーク（M P）のクロマトグラフィー属性（保持時間、ピーク面積、及び相対面積）についての % C V は全て 2 % C V 未満である

20

【 0 4 7 4 】

試験 2 A の安定性結果の概要

1 6 個の製剤候補の安定性を、周知の S E C 及び C E X クロマトグラフィー技術を使用して監視した。T 0 はベースライン時であり、T 2 は 2 週間目であり、T 4 は 4 週間目である（表 8 及び 9）。

【 0 4 7 5 】

30

40

50

【表 1 9】

表8: テストされた製剤候補の安定性が、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)によって測定された

製剤 番号	実際の pH	実際の GM37v2 mg/ml	SEC t0	t2/5 C	t2/25 C	t2/40 C	t4/25 C	t4/40 C
1	4	24	99.47	99.44	99.24	90.60	96.84	85.18
2	4.44	47	99.46	99.53	99.50	97.75	99.44	96.27
3	5.12	53	99.45	99.47	99.44	98.04	99.40	97.09
4	5.2	22	99.49	99.50	99.48	97.79	99.40	96.48
5	5.59	53	99.39	99.38	99.31	97.85	99.20	96.85
6	5.58	103	99.38	99.35	99.28	97.76	99.17	96.63
7	6	102	99.28	99.33	99.24	97.81	99.16	96.86
8	6.05	154	99.35	99.30	99.19	97.69	99.07	96.60
9	6.03	54	99.38	99.35	99.31	97.90	99.22	96.88
10	6.57	53	99.33	99.30	99.23	97.80	99.13	96.86
11	6.49	107	99.17	99.08	98.84	97.05	98.64	95.89
12	6.56	155	99.33	99.25	99.15	97.05	99.02	96.46
13	6.99	109	99.10	98.94	98.66	96.42	98.40	94.88
14	6.98	145	99.28	99.17	99.02	97.35	98.86	96.07
15	5.54	149	99.38	99.33	99.24	97.68	99.13	96.55
16	5.52	49	99.45	99.43	99.40	97.93	99.35	96.85

【 0 4 7 6 】

【表 2 0】

表9: テストされた製剤候補の安定性が陽イオン交換クロマトグラフィー(CEX)によって測定された

製剤 番号	実際の pH	実際の GM37v2 mg/ml	CEX t0	t2/5 C	t2/25 C	t2/40 C	t4/25 C	t4/40 C
1	4.00	24	73.8	73.3	68.5	51.8	64.0	42.0
2	4.44	47	73.9	73.7	71.2	58.2	69.0	46.7
3	5.12	53	74.0	73.9	72.2	61.3	7.1	50.6
4	5.20	22	73.9	73.5	71.3	60.1	69.8	49.8
5	5.59	53	73.9	73.7	72.0	60.2	70.5	49.1
6	5.58	103	74.2	73.9	72.7	63.9	71.8	55.5
7	6.00	102	74.2	74.1	73.0	65.1	72.0	56.7
8	6.05	154	74.2	74.0	73.1	64.6	72.0	56.2
9	6.03	54	74.3	74.2	73.5	66.6	72.4	60.0
10	6.57	53	74.4	74.3	73.6	66.2	72.4	57.9
11	6.49	107	74.2	73.9	73.1	65.9	72.0	58.1
12	6.56	155	74.5	74.3	73.0	65.3	71.4	56.8
13	6.99	109	73.7	73.9	72.0	57.8	69.8	43.7
14	6.98	145	74.3	74.0	72.4	63.7	70.3	52.9
15	5.54	149	74.1	73.9	72.7	63.8	71.4	55.1
16	5.52	49	74.2	73.8	72.7	63.5	71.6	55.0

【0477】

製剤 F 1 ((試験 2 A) 、p H 4、酢酸塩) は、特に 4 週間後に高温で著しい分解を示した。加えて、製剤 F 1 3 ((試験 2 A) 、p H 7、リン酸塩) も、他の組成物と比較して、低減された安定性を呈した。CEX テスト製剤 2 ((試験 2 A) 、p H 4、酢酸塩) も、40℃で加速された分解の兆候を実証した。最適な p H は、この SEC 及び CEX データに基づくと、6 付近であると思われる。

【0478】

p H 及び緩衝液タイプの試験の結論／概要

試験 1 A :

実施例 A の試験 1 A において、上述された方法を示す十分に確立された物理的及び化学的安定性の範囲に基づいて、2 つの緩衝液と p H のペアが、更なる製剤開発及び最適化に進めるために好適であることが判明した。

2 つの緩衝液と p H のペアは :

F 5 (試験 1 A) - 約 25 mM のヒスチジン及びおよそ 6.0 の p H、並びに F 2 (試験 1 A) - 約 25 mM の酢酸塩及びおよそ p H 5.0。

【0479】

ヒスチジン (製剤 5、試験 1 A) は、p H 6.0 でのクエン酸ナトリウム (製剤 4、試験 1 A) で凝集体の増加が G P - H P L C によって観察されたので、p H 6.0 でのクエン酸よりも良好な安定性を実証した。

【0480】

p H 6.5 (製剤 6、試験 1 A) は、視覚分析結果から好適であると見なされたが、G P - H P L C は p H 5.0 (製剤 2、試験 1 A) 及び p H 6.0 (製剤 5、試験 1 A) においては見られなかった凝集体の増加を示した。

【0481】

10

20

30

40

50

上記のように、更なる開発用に選択される緩衝液イオンは、 $\text{pH } 6.0$ でのヒスチジン及び $\text{pH } 5.0$ での酢酸ナトリウムであった。これらの最も好ましい製剤候補に加えて、 $\text{pH } 5.0$ でクエン酸ナトリウムを含有する単一の製剤も更なる開発に含まれた。

【0482】

試験2A：

まとめると、実施例A試験2Aにおいて上述された方法を示す十分に確立された物理的及び化学的安定性は、最適な pH が $5.5 \sim 6.0$ 付近の可能性が高いことを示している。粘度は、 150 mg/ml のGM37v2濃度においても非常に低いままである。最良の緩衝液は、この pH 範囲を与えるとという条件で、ヒスチジンであると思われる。テストされた賦形剤の中で、NaClは、化学的分解に対していくらかの保護効果を有し得るが、アルギニン／グルタメートもまた、物理的安定性を改善するために有用であり得る。

10

【0483】

実施例B－製剤の賦形剤

実施例Bは、GM37v2の臨床的に許容される製剤に最も好ましい賦形剤を特定することに焦点を当てている。実施例Bは、以降、11個の製剤候補をテストする試験1B及び20個の製剤候補をテストする試験2Bと表示された2つの別個の試験からなる。

【0484】

試験1B：製剤の賦形剤

GM37v2の安定性を、目標の保存温度 $5 \pm 3^\circ\text{C}$ 及び $40 \pm 2^\circ\text{C}$ の高温で様々な賦形剤を含み、並びに以下の攪拌及び凍結／融解処理を行った11個の製剤で評価した。各製剤中のGM37v2濃度は、約 50 mg/mL であった。

20

【0485】

各製剤の安定性を、ベースライン時（時間ゼロ、0ヶ月目； $T = 0$ ）及び1ヶ月後（ $T = 1$ 、1ヶ月目）に各製剤候補について測定した。

【0486】

30

40

50

【表 2 1】

表10: 試験1B で検討された製剤

賦形剤製剤 ID	製剤組成
F1	25 mM ヒスチジン、50 mM 塩化ナトリウム pH 6.0 + 200 mM グリシン + 0.02 % ポリソルベート 80
F2	25 mM ヒスチジン、100 mM 塩化ナトリウム pH 6.0 + 100 mM スクロース
F3	25 mM 酢酸ナトリウム、50 mM 塩化ナトリウム pH 5.0 + 200 mM グリシン
F4	25 mM 酢酸ナトリウム、50 mM 塩化ナトリウム pH 5.0 + 200 mM グリシン + 0.02 % ポリソルベート 80
F5	25 mM 酢酸ナトリウム、50 mM 塩化ナトリウム pH 5.0 + 100 mM アルギニン
F6	25 mM 酢酸ナトリウム、50 mM 塩化ナトリウム pH 5.0 + 100 mM アルギニン + 0.02 % ポリソルベート 80
F7	25 mM 酢酸ナトリウム、50 mM 塩化ナトリウム pH 5.0 + 200 mM スクロース
F8	25 mM 酢酸ナトリウム、50 mM 塩化ナトリウム pH 5.0 + 200 mM スクロース + 0.02 % ポリソルベート 80
F9	25 mM 酢酸ナトリウム、pH 5.0 + 180 mM アルギニン + 0.02 % ポリソルベート 80
F10	25 mM 酢酸ナトリウム、pH 5.0 + 250 mM グリシン + 0.02 % ポリソルベート 80
F11	25 mM クエン酸ナトリウム 50 mM 塩化ナトリウム pH 5.0 + 200 mM グリシン + 0.02 % ポリソルベート 80
SC	試験対照、PBS 7.4 pH

【0487】

各製剤についての安定性試験は、以下の分析法の適用を含んだ。

【0488】

10

20

30

40

50

【表 2 2】

表11: 試験1Bで採用された分析法:

分析法	時点				
	時間 ゼロ	5℃で 1ヶ月間	40℃で 1ヶ月間	攪拌	凍結/ 融解-70℃
GP-HPLC	X	X	X	X	X
微粒子 A ₃₄₀	X	X	X	X	X
サブビジブル粒子	X	X	X	X	X
SDS-PAGE (非還元)	X	X	X	X	X
SDS-PAGE(還元)	X	X	X	X	X
DSC	X	X	X	X	X
DLS	X	X	X	X	X

10

【0 4 8 9】

攪拌測定：

攪拌プロトコルを、T = 0 ヶ月で開始した。試料を 3 0 r p m に設定した回転攪拌器を使用して、+ 5 °C で 4 8 時間攪拌した。攪拌後、試料をテストするまで + 5 °C で保存した。

20

【0 4 9 0】

凍結／融解測定：

凍結／融解プロトコルを、T = 0 ヶ月で開始した。試料を、- 7 0 °C でおよそ 1 8 時間、続いて室温でおよそ 4 ～ 6 時間からなる 3 回の凍結／融解サイクルに供した。3 回目の凍結後に、試料をテストするまで冷凍庫内で維持した。

【0 4 9 1】

試験 1 B の安定性結果の概要：

【0 4 9 2】

30

40

50

【表 2 3】

表12: GPHPLCによるパーセンテージ純度

時点	データ	製剤												
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	SC	
T=0	+5℃ 撹拌	凝集体%	0.85	0.72	0.70	0.82	0.70	0.82	0.69	0.83	0.82	0.76	0.81	1.03
		単量体%	99.13	99.26	99.28	99.16	99.27	99.16	99.28	99.15	99.16	99.22	99.17	98.96
		断片%	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
		凝集体%	0.83	0.72	0.71	0.80	0.69	0.81	0.71	0.82	0.82	0.76	0.80	<LOQ
		単量体%	99.15	99.26	99.27	99.18	99.28	99.17	99.27	99.16	99.16	99.22	99.18	<LOQ
	-70℃ 凍結/融解	断片%	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
		凝集体%	0.86	0.74	0.73	0.88	0.70	0.81	0.72	0.84	0.82	3.05	0.81	<LOQ
		単量体%	99.12	99.24	99.25	99.10	99.28	99.17	99.26	99.14	99.16	96.83	99.17	<LOQ
		断片%	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
		凝集体%	0.85	0.77	0.74	0.84	0.74	0.81	0.75	0.84	0.82	0.77	0.83	0.99
T=1M	+5℃	凝集体%	99.13	99.21	99.24	99.13	99.24	99.16	99.22	99.13	99.15	99.20	99.14	98.99
		断片%	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
		凝集体%	1.48	0.94	1.01	1.48	0.88	1.24	0.89	1.12	1.86	1.13	0.78	<LOQ
		単量体%	97.54	98.19	97.74	97.15	97.05	96.49	97.69	97.52	95.85	97.83	97.09	<LOQ
		断片%	0.98	0.87	1.24	1.37	2.08	2.27	1.42	1.36	2.29	1.04	2.12	<LOQ
	T=1M +40℃	T=0に対する凝集体%の変化	0.63	0.22	0.31	0.66	0.18	0.42	0.20	0.29	1.04	0.37	-0.03	<LOQ
		T=0に対する単量体%の変化	-1.59	-1.07	-1.54	-2.01	-2.22	-2.67	-1.59	-1.63	-3.31	-1.39	-2.08	<LOQ
		T=0に対する断片%の変化	0.98	0.87	1.24	1.37	2.08	2.27	1.42	1.36	2.29	1.04	2.12	<LOQ
		SC = -70℃で保存された試験対照	LOQ = 定量限界(0.1%)	0.87	1.24	1.37	2.08	2.27	1.42	1.36	2.29	1.04	2.12	<LOQ
														<LOQ

【0493】

- ・低レベルの凝集体が、全ての製剤について、T = 0 ヶ月及び + 5℃で1 ヶ月後に観察された。
- ・断片レベル < LOQ (0.01%) が、全ての製剤について、T = 0 ヶ月及び + 5℃で1 ヶ月後に観察された。
- ・+ 5℃での撈拌後の単量体純度、ピーク面積又は高さについて、製剤のいずれにおいても変化はなかった。
- ・F10 (試験1B) を除いて、- 70℃での凍結／融解後の単量体純度、ピーク面積又は高さについて、製剤のいずれにおいても変化はなかった。凝集体レベルは、3.05%

まで増加した。断片レベルには変化はなかった。

・T＝1ヶ月において、製剤F1（試験1B）、F4（試験1B）、F6（試験1B）及びF9（試験1B）は、+40℃において、凝集体%における著しい変化を実証した。

・T＝1ヶ月において、全ての製剤は、+40℃での断片%における著しい変化を実証し、製剤F5（試験1B）、F6（試験1B）、F9（試験1B）及びF11（試験1B）において、断片の最も高い割合を伴った。

・PS80を含む製剤（F4（試験1B）、F6（試験1B）、及びF8（試験1B））では、PS80を含まない製剤（F3（試験1B）、F5（試験1B）及びF7（試験1B））と対比して、T＝0ヶ月及びT＝1ヶ月の両方で、より高い凝集体の割合を有することが観察された。しかしながら、PS80も有していたF11（試験1B）は、+40℃でT＝1ヶ月間の保存で、最低量の凝集体を示した。

・塩化ナトリウムは、凝集体のレベルに対して、プラスの効果をも有する（F3～F8（試験1B）対F9（試験1B））。

・アルギニンは、断片のレベルに対して、マイナスの効果をも有し（F5（試験1B）、F6（試験1B）及びF9（試験1B））、しかしながら、アルギニンを有さないF11（試験1B）も高レベルの断片を提示した。

・クエン酸塩緩衝液は、pH5.0での酢酸塩緩衝液と比較して、凝集体レベルに対するプラスの効果をも有する（F11（試験1B）対F4（試験1B））。

・最低量の凝集体及び断片は、+40℃でT＝1ヶ月間の保存後に、製剤F2（試験1B）で見られた。

【0494】

【表24】

表13: 微粒子

時点	データ	製剤											SC
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	
T=0	A340	0.108	0.111	0.115	0.107	0.114	0.102	0.116	0.097	0.096	0.092	0.112	0.223
	A620	0.008	0.012	0.014	0.010	0.011	0.007	0.016	0.006	0.007	0.029	0.010	0.028
T=0 +5℃攪拌	A340	0.107	0.129	0.128	0.102	0.115	0.097	0.111	0.095	0.096	0.632	0.102	
	A620	0.008	0.017	0.017	0.008	0.012	0.006	0.013	0.005	0.006	0.026	0.007	
T=0 F/T	A340	0.256	0.117	0.112	0.098	0.108	0.102	0.111	0.093	0.097	0.636	0.100	
	A620	0.103	0.013	0.012	0.007	0.009	0.008	0.013	0.006	0.007	0.028	0.006	
T=1M (+5℃)	A340	0.131	0.145	0.171	0.120	0.146	0.114	0.122	0.108	0.096	0.091	0.120	0.235
	A620	0.013	0.024	0.035	0.014	0.024	0.011	0.018	0.010	0.006	0.009	0.013	0.042
T=1M (+40℃)	A340	0.369	0.218	0.185	0.267	0.176	0.193	0.159	0.209	0.261	0.241	0.302	
	A620	0.026	0.026	0.029	0.034	0.027	0.019	0.021	0.027	0.030	0.032	0.089	

SC = 試験対照 F/T = 凍結/融解

【0495】

・T＝0ヶ月において、A340は、他の製剤よりも試験対照において高かった。

・F10（試験1B）は、攪拌後及び凍結／融解後にA340における著しい増加を実証した。

・F1（試験1B）は、攪拌後及び凍結／融解後にA340及びA620における著しい増加を実証した。

・F1（試験1B）、F2（試験1B）、F3（試験1B）及びF5（試験1B）は、+5℃でT＝1ヶ月間の保存後にA340におけるわずかな増加を実証した。

・F1（試験1B）及びF11（試験1B）は、+40℃でT＝1ヶ月間の保存後にA340における著しい増加を実証した。

・F7（試験1B）は、+40℃でT＝1ヶ月間の保存後にA340における最も小さい変化を実証した。

【0496】

10

20

30

40

50

【表 2 5】

表14: サブビジブル粒子、T=0(0ヶ月目)

製剤	粒子濃度[容器当たりの粒子]			
	≥ 2 μm	≥ 5 μm	≥ 10 μm	≥ 25 μm
F1	1565	320	75	0
F2	3325	560	130	0
F3	6108	1228	265	10
F4	1758	365	145	10
F5	3805	840	193	3
F6	760	218	63	3
F7	5355	1100	280	5
F8	1228	238	75	3
F9	660	205	70	0
F10	525	155	43	3
F11	910	265	75	0

【 0 4 9 7 】

【表 2 6】

表15: サブミジブル粒子、T=1(1ヶ月目)

製剤	粒子濃度[容器当たりの粒子]			
	≥ 2 μm	≥ 5 μm	≥ 10 μm	≥ 25 μm
F1	610	123	45	5
F2	975	173	50	3
F3	1835	385	85	10
F4	1103	195	45	0
F5	2940	538	143	18
F6	465	95	20	0
F7	1518	330	100	10
F8	793	193	90	13
F9	453	118	30	5
F10	430	118	8	0
F11	385	78	20	0

【0498】

・ T = 0 ヶ月において、容器当たり最も多くの数の粒子を示した製剤は、F 2（試験 1 B）、F 3（試験 1 B）、F 5（試験 1 B）及び F 7（試験 1 B）であった。

・ T = 1 ヶ月において、容器当たり最も多くの数の粒子を示した + 5 °C で保存された製剤は、F 3（試験 1 B）、F 5（試験 1 B）、F 7（試験 1 B）及び F 8（試験 1 B）であった。

・ T = 1 ヶ月において、容器当たり最も少ない数の粒子を示した + 5 °C で保存された製剤は、F 6（試験 1 B）、F 1 0（試験 1 B）及び F 1 1（試験 1 B）であった。

・ P S 8 0 を含有する製剤は、それを含まない製剤よりも一貫して低い S V P レベルを実証した。

・ 製剤 F 2（試験 1 B）は、P S 8 0 を含まない試験における唯一のその他の製剤であり、これは、T = 0 ヶ月及び T = 1 ヶ月において、F 3（試験 1 B）、F 5（試験 1 B）及び F 7（試験 1 B）と比較して、より少ない目に見える粒子を示し、これは、p H 6 . 0 が p H 5 . 0 よりも好適であり得ることを示唆している。

【0499】

10

20

30

40

50

【表 2 7】

表16: SDSPAGE(非還元)-目視検出されたバンドの数

時点	温度	製剤											
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	SC
T=0	+5℃	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	+5℃攪拌	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
	-70℃凍結/融解	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
T=1M	+5℃	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	+40℃	8	8	8	9	11	11	9	9	10	8	8	
SC = -70℃で保存された試験対照													

10

【0500】

- ・T = 0 ヶ月において製剤間でバンド数の差は観察されなかった。
- ・+ 5℃で1ヶ月間の保存後に、製剤のいずれについてもバンド数の変化は、留意されなかった。
- ・+ 40℃で1ヶ月間の保存後に、全ての製剤において追加の断片のバンドが観察された。
- ・最大数の追加のバンドは、+ 40℃で1ヶ月間の保存後に、製剤5（試験1B）、F6（試験1B）及びF9（試験1B）で観察された。F5（試験1B）、F6（試験1B）及びF9（試験1B）は、全てアルギニンを用いて製剤化されている。
- ・全ての製剤で、攪拌後又は凍結／融解後に、バンド数の変化は観察されなかった。

20

【0501】

【表 2 8】

表17: SDSPAGE(還元)-パーセンテージ純度-重鎖及び軽鎖バンドとしてのIgGバンド面積の相対パーセンテージ

時点	温度	製剤											
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	SC
T=0	+5℃	99.0	98.9	99.0	98.9	99.0	99.1	99.0	98.9	99.0	99.0	98.9	98.8
	+5℃攪拌	98.9	99.1	99.0	99.1	99.1	99.1	99.0	99.1	99.1	99.0	98.9	
	-70℃凍結/融解	99.0	98.8	98.9	98.9	99.0	99.0	99.0	99.0	99.0	98.9	99.0	
T=1M	+5℃	98.8	98.5	98.9	98.9	98.6	98.8	98.7	98.7	98.8	98.7	98.3	98.0
	+40℃	97.2	98.0	96.4	94.2	93.3	92.1	96.7	95.2	90.8	96.1	95.7	
SC = -70℃で保存された試験対照													

30

【0502】

- ・T = 0 ヶ月において、製剤間で著しい差は観察されなかった。
- ・+ 5℃で1ヶ月間保存後、パーセンテージ純度における著しい変化は、製剤のいずれにおいても留意されなかった。
- ・+ 40℃で1ヶ月間の保存後に、追加の断片及び高分子量バンドが、パーセンテージIgG純度における対応するわずかな減少を伴って、全ての製剤において観察された。
- ・純度における最大の減少は、+ 40℃で1ヶ月間保存後に、製剤F4（試験1B）、F5（試験1B）、F6（試験1B）及びF9（試験1B）で観察された。F5（試験1B）、F6（試験1B）及びF9（試験1B）は、全てアルギニンを含む製剤である。
- ・製剤F2（試験1B）は+ 40℃で1ヶ月保存時に、試験開始時と比較して純度における最小の変化を実証した。
- ・還元SDSPAGEの結果における著しい変化は、攪拌後又は凍結／融解後の全ての製剤において観察されなかった。

40

【0503】

50

【表 2 9】

表18: DSC-熱安定性

時点	溶融温度	製剤											
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	SC
T=0	Tm ₁ (°C)	70.10	69.34	69.71	69.58	67.39	67.37	69.90	69.82	66.97	71.42	68.95	68.83
	Tm ₂ (°C)	76.71	76.51	76.51	76.75	74.83	74.66	76.95	77.13	74.50	77.90	75.35	72.48
	Tm ₃ (°C)	83.54	83.52	83.12	83.34	81.32	81.41	83.38	83.81	80.93	83.90	81.83	83.95

Tm₁ = アンフォールディング事象1の溶融温度
 Tm₂ = アンフォールディング事象2の溶融温度
 Tm₃ = アンフォールディング事象3の溶融温度

10

【0504】

- ・3つの溶融温度を、全ての製剤について、T = 0ヶ月で観察し、これはI g G分子と一致する。
- ・製剤F5（試験1B）、F6（試験1B）及びF9（試験1B）は、T = 0ヶ月での最低温度のアンフォールディング事象を有しており、全ては、アルギニンで製剤化されている。
- ・製剤F1（試験1B）及びF10（試験1B）は、T = 0ヶ月で最高の溶融温度を有していた（それぞれ、70.10°C及び71.42°C）。

【0505】

【表 3 0】

20

表19: DLA-高分子量種

時点	データ	製剤											
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	SC
T=0M	強度によるRh(nm)	5.91	6.33	6.14	6.07	6.22	6.54	7.58	7.04	6.80	5.99	6.42	5.97
	強度による%RSD	27.3	26.0	28.4	27.7	29.7	31.3	37.3	28.7	29.0	30.3	32.8	30.9
T=0 攪拌	強度によるRh(nm)	5.51	6.48	6.17	5.71	6.38	7.74	401.83	7.32	6.16	666.96	6.98	6.13
	強度による%RSD	20.3	28.2	31.1	22.8	28.4	40.7	48.4	34.4	30.5	42.4	29.9	31.6
T=0 F/T	強度によるRh(nm)	5.68	310.37	6.66	6.40	6.20	6.52	6.24	7.60	6.80	359.07	6.66	6.08
	強度による%RSD	24.1	25.7	33.1	36.9	33.1	33.5	26.4	36.6	27.8	27.1	28.1	29.1
T=1M (+5 °C)	強度によるRh(nm)	5.97	6.27	6.20	6.28	6.29	6.23	7.26	7.02	6.93	5.74	5.88	6.18
	強度による%RSD	27.0	22.9	35.0	34.3	32.1	28.9	30.3	30.1	34.4	27.2	27.9	37.8
T=1M (+40 °C)	強度によるRh(nm)	7.53	100.52	6.48	6.25	6.23	6.47	6.60	7.66	7.75	6.50	6.40	
	強度による%RSD	56.0	61.6	30.8	35.1	34.8	35.9	37.2	39.1	406.96	118.08	390.93	

Rh = 流体力学的半径 RSD = 相対標準偏差

30

【0506】

- ・高分子量種は、T = 0ヶ月及び+5°CでT = 1ヶ月保存したいかなる製剤でも観察されなかった。
- ・より高い分子量種は、+40°Cで1ヶ月後に、製剤F1（試験1B）、F4（試験1B）、F8（試験1B）、F10（試験1B）及びF11（試験1B）で検出された。F1（試験1B）、F4（試験1B）、F10（試験1B）及びF11（試験1B）は、全て、グリシンで製剤化されている。
- ・より高い分子量種は、凍結／融解後に、製剤F1（試験1B）及びF8（試験1B）で観察された。
- ・より高い分子量種は、攪拌後に、製剤F6（試験1B）及びF8（試験1B）で観察された。

40

【0507】

試験 2 B：製剤の賦形剤

試験 2 Bでは、全て、GM37v2濃度が225mg/mLであるように目的とされた、20の異なる組成を評価した。この濃度は、試験 2 Aでテストされた製剤について観察された低粘度に基づいて選択された。実際のGM37v2濃度は、約216mg/mL～233mg/mLの範囲であった。pH範囲は5.1～6.4を網羅した。測定された粘

50

度は一貫して非常に低く、10.1～16.2 cP の範囲であった。

【0508】

【表31】

表20: 試験2Bで検討された製剤

製剤	緩衝液 タイプ	緩衝液 濃度	pH	賦形剤	GM37v2 (mg/mL)
1	酢酸塩	20	5.0	100mMアルギニン/100mMグルタミン酸塩	225
2	酢酸塩	20	5.5	100mMアルギニン/100mMグルタミン酸塩	225
3	酢酸塩	20	5.8	100mMアルギニン/100mMグルタミン酸塩	225
4	ヒスチジン	40	5.0	100mMアルギニン/100mMグルタミン酸塩	225
5	ヒスチジン	20	5.5	100mMアルギニン/100mMグルタミン酸塩	225
6	ヒスチジン	20	5.8	100mMアルギニン/100mMグルタミン酸塩	225
7	酢酸塩	10	5.5	100mMアルギニン/100mMグルタミン酸塩	225
8	酢酸塩	40	5.5	100mMアルギニン/100mMグルタミン酸塩	225
9	酢酸塩	20	5.0	140 mM NaCl	225
10	酢酸塩	20	5.5	140 mM NaCl	225
11	酢酸塩	20	5.8	140 mM NaCl	225
12	ヒスチジン	20	5.0	140 mM NaCl	225
13	ヒスチジン	40	5.5	140 mM NaCl	225
14	ヒスチジン	20	5.8	140 mM NaCl	225
15	酢酸塩	20	5.0	70mM NaCl, 50mM アルギニン/50mM グルタミン酸塩	225
16	酢酸塩	20	5.5	70mM NaCl, 50mM アルギニン/50mM グルタミン酸塩	225
17	酢酸塩	20	5.8	70mM NaCl, 50mM アルギニン/50mM グルタミン酸塩	225
18	ヒスチジン	20	5.0	70mM NaCl, 50mM アルギニン/50mM グルタミン酸塩	225
19	ヒスチジン	20	5.5	70mM NaCl, 50mM アルギニン/50mM グルタミン酸塩	225
20	ヒスチジン	40	5.8	70mM NaCl, 50mM アルギニン/50mM グルタミン酸塩	225

【0509】

【表 3 2】

表21:試験2Bでテストされた製剤候補の粘度及びオスモル濃度

製剤	酢酸塩 (mM)	ヒスチジン (mM)	アルギニン/ グルタミン酸塩	NaCl	pH 試料	オスモル濃度試料 (mOsm/kg*H2O)	GM37v2 (mg/mL)	粘度 (cP)
F01	20		100		5.2	348	223.9	11.49
F02	20		100		5.6	359	225.7	13.51
F03	20		100		6.1	334	216.5	12.02
F04		40	100		5.1	403	218.2	12.11
F05		20	100		5.7	351	235.1	13.46
F06		20	100		6.3	335	225.6	14.02
F07	10		100		5.6	402	229.7	11.68
F08	40		100		5.7	364	234.3	13.52
F09	20			140	5.4	432	234.9	14.56
F10	20			140	5.8	404	219.5	10.79
F11	20			140	6.2	405	229.0	12.58
F12		20		140	5.5	410	219.5	10.77
F13		40		140	5.8	472	221.7	14.50
F14		20		140	6.4	402	224.5	11.61
F15	20		50	70	5.3	372	215.4	10.09
F16	20		50	70	5.7	383	219.9	11.61
F17	20		50	70	6.2	379	217.7	15.20
F18		20	50	70	5.3	386	233.4	16.21
F19		20	50	70	5.8	335	218.8	12.11
F20		40	50	70	6.2	408	222.2	13.07

【0510】

試験2Bの安定性結果の概要

T0週及び様々な時点並びに温度での単量体含有量（又は主ピーク、MPの%）を、表22に作表した。初期試料は、少量の二量体及び断片が存在する状態で、単量体含有量を99.0～99.3%で表示した。5℃に保存すると、4週間にわたって変化はほとんどなく、25℃に同じ期間保存するとわずかに減少した。40℃では、4週間後に、単量体含有量は約96%まで降下する。これらの損失は、主に、断片化の少量の変化だけを伴う、二量体及びHMW凝集体における増加に起因するものであった。

【0511】

【表 3 3】

表22: テストされた製剤候補の安定性が、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)によって測定された

製剤 番号	pH 試料	開始 GM37v2 (mg/mL)	SEC T0 MP	SEC T2wk 5C MP	SEC T2wk 25C MP	SEC T2wk 40C MP	SEC T4wk 5C MP	SEC T4wk 25C MP	SEC T4wk 40C MP
F01	5.2	223.9	99.3	99.2	99.1	97.0	99.2	99.0	95.9
F02	5.6	225.7	99.2	99.2	99.1	97.1	99.2	99.0	96.2
F03	6.1	216.5	99.2	99.2	99.0	97.0	99.1	98.9	96.2
F04	5.1	218.2	99.3	99.3	99.2	96.9	99.3	99.1	95.7
F05	5.7	235.1	99.3	99.2	99.1	97.2	99.2	99.0	96.2
F06	6.3	225.6	99.2	99.1	99.0	97.0	99.1	98.9	96.1
F07	5.6	229.7	99.2	99.2	99.1	97.1	99.2	99.0	96.2
F08	5.7	234.3	99.2	99.2	99.0	97.1	99.1	98.9	96.2
F09	5.4	234.9	99.1	99.0	98.8	96.5	99.0	98.7	95.2
F10	5.8	219.5	99.0	99.0	98.7	96.5	98.9	98.6	95.5
F11	6.2	229.0	99.0	98.9	98.6	96.5	98.8	98.5	95.4
F12	5.5	219.5	99.2	99.2	99.0	96.9	99.2	98.9	95.8
F13	5.8	221.7	99.2	99.2	99.0	96.9	99.2	98.9	95.8
F14	6.4	224.5	99.1	99.0	98.8	96.7	99.0	98.6	95.6
F15	5.3	215.4	99.2	99.1	99.1	96.8	99.2	99.0	95.6
F16	5.7	219.9	99.2	99.1	99.0	96.9	99.1	98.9	95.9
F17	6.2	217.7	99.1	99.1	98.9	96.9	99.0	98.8	95.9
F18	5.3	233.4	99.3	99.2	99.1	97.0	99.2	99.0	95.8
F19	5.8	218.8	99.2	99.2	99.1	97.1	99.2	99.0	96.1
F20	6.2	222.2	99.2	99.1	99.0	97.0	99.1	98.9	96.0

【0 5 1 2】

T 0 週及び様々な時点並びに温度における主ピーク (MP) の相対面積を、表 2 3 に作表する。主ピークは、最初は、7 4 %又はクロマトグラム の相対面積であった。5 °Cでの保存中に、変化はあったとしてもわずかである。しかしながら、2 5 °Cでは、4 週間後に約 7 1 %までのかなりの減少、4 0 °Cでのその時間のながさの保存時に 5 0 ~ 6 0 %のかなりの減少がある。そのため、これらの非常に高い G M 3 7 v 2 の濃度においても、5 °C及び更に高温で保存する場合に、製剤は化学的及び物理的に安定であるように見え、損失は非常にわずかである。

【0 5 1 3】

10

20

30

40

50

【表 3 4】

表23: テストされた製剤候補の安定性が、陽イオン交換クロマトグラフィー(CEX)によって測定された

「m」は、このデータポイントには利用可能なデータがないことを意味する

製剤 番号	pH 試料	開始 GM37v2 (mg/mL)	CEX T0 MP	CEX T2wk 5C MP	CEX T2wk 25C MP	CEX T2wk 40C MP	CEX T4wk 5C MP	CEX T4wk 25C MP	CEX T4wk 40C MP
F01	5.2	223.9	73.9	73.5	71.6	60.5	73.6	70.6	51.8
F02	5.6	225.7	73.9	74.0	72.4	62.9	73.9	71.6	55.3
F03	6.1	216.5	74.1	73.8	73.0	65.2	74.1	72.4	58.9
F04	5.1	218.2	73.8	73.4	71.4	60.2	73.4	70.3	51.9
F05	5.7	235.1	74.0	73.8	72.4	63.3	73.9	71.8	m
F06	6.3	225.6	74.2	74.1	72.8	65.5	74.0	m	59.2
F07	5.6	229.7	73.9	73.6	72.4	62.7	73.7	71.5	55.5
F08	5.7	234.3	74.1	73.7	72.6	63.6	73.8	72.1	56.2
F09	5.4	234.9	73.9	73.5	72.0	62.1	73.6	71.2	54.5
F10	5.8	219.5	73.9	73.9	72.6	64.5	73.9	71.9	58.1
F11	6.2	229.0	74.0	73.8	72.7	66.4	74.0	72.7	60.9
F12	5.5	219.5	73.8	73.6	72.2	64.1	73.6	71.6	57.7
F13	5.8	221.7	73.9	73.8	72.4	64.8	73.8	72.4	59.0
F14	6.4	224.5	74.1	73.9	72.6	66.9	74.0	72.4	61.8
F15	5.3	215.4	73.7	73.5	72.0	61.6	m	71.8	53.4
F16	5.7	219.9	73.9	73.8	72.6	64.1	74.1	71.7	59.2
F17	6.2	217.7	74.0	73.8	72.9	66.0	73.9	m	59.9
F18	5.3	233.4	73.9	73.5	71.9	62.6	73.6	71.0	55.0
F19	5.8	218.8	73.9	73.7	72.7	64.9	m	72.0	60.3
F20	6.2	222.2	74.2	73.8	72.7	66.0	74.1	72.0	59.5

【0514】

賦形剤試験の結論／概要

試験 1 B：

試験 1 B に記載される全ての分析法に基づくと、最も好適な製剤候補は、製剤 F 2（試験 1 B）及び F 3（試験 1 B）である。

【0515】

各製剤についてデータが評価されたが、具体的な賦形剤に対する一貫した効果を特定することによって、傾向もまた評価された。

【0516】

製剤 F 3（試験 1 B）は、製剤 F 2（試験 1 B）と比較して、試験開始時及び + 5 °C で保存したとき T = 1 ヶ月の両方で、より多くのサブビジブル粒子を提示した。

【0517】

全ての製剤の比較の際に、P S 8 0 の存在は、サブビジブル粒子の全体数を低減させて、目に見える粒子の数もいっそう少なくなった。0 . 0 2 % の P S 8 0 の存在によって F 3（試験 1 B）とは組成が異なる製剤 F 4（試験 1 B）は、それが F 3（試験 1 B）よりも少ないサブビジブル粒子を有していたが、S D S P A G E 及び G P H P L C による低い純度並びに D L S による凝集体及び A 3 4 0 で決定された微粒子の存在も実証したの

で、製剤候補として好ましくない。

【0518】

したがって、最も有望な製剤候補は製剤F2（試験1B）（25mMのヒスチジン、100mMの塩化ナトリウム、pH6.0及び100mMのスクロース）である。この候補を更なる開発に最適であると選択する理論的根拠は、それが、全てのアッセイにわたって最小量の変化を実証したために、F2（試験1B）についてのデータが最も好適であったことである。

【0519】

試験2B：

SECデータは、安定性が、保存温度に依存して、pH4.5及び6.5で最適であることを示している。ヒスチジン緩衝液は、特に>20mMの濃度で安定化させることができる。NaClは、安定性にわずかな影響しか与えない。より高いGM37v2濃度は、おそらくは凝集によるものと思われる単量体のより急激な損失をもたらすが、損失は、試験された時間経過にわたって少量である。CEXデータは、主ピークの相対量を維持することがpH5.5～7.0で最適であることを示している。これもまた、ヒスチジンが、安定性を維持するために好適である。NaClもまた、およそ100mMまでで有益であり得る。

【0520】

これらの総合的な所見を考慮すると、最適なpHは、20～40mMのヒスチジン緩衝液濃度を使用する、6.0付近である可能性が高い。張度調整剤の性質は、好適な臨床製剤を得るためには重要ではないと思われるが、NaClは、試験2Bでテストされたもので最適のように見える。

【0521】

実施例C－製剤の界面活性剤

最後に、本発明の本発明者らは、実施例A及び実施例Bから得られた最も有望な製剤候補にポリソルベート80を添加する効果を検討した。

【0522】

試験1C：非イオン性界面活性剤（ポリソルベート80）

GM37v2の安定性を、1つの製剤がポリソルベート80を含み（F2（試験1C））、1つがそれを含まず（F1（試験1C））、その他の賦形剤は同一であることを除いては等しい2つの製剤で評価した。製剤を、25%以下のRHにて目的の保存温度 $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 及び高温 $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、並びに攪拌後にテストした。各製剤におけるGM37v2濃度は、 $50.0\text{mg/mL} + / - 5.0$ のものであった。

【0523】

【表35】

表24: 試験1Cで検討された製剤

ポリソルベート80 製剤ID	製剤組成
F1	25mM L-ヒスチジン、100mM NaCl、100mM スクロース、pH 6.0
F2	25mM L-ヒスチジン、100mM NaCl、100mM スクロース、pH 6.0+0.02% ポリソルベート 80

【0524】

両方の製剤を、T=0ヶ月で開始された攪拌プロトコルに供した。試料を、30RPMに設定した回転攪拌器を使用して、+5℃で48時間攪拌した。攪拌後に、試料を、検査するまで+5℃で保存した。

【 0 5 2 5 】

次いで、表 2 5 に記載されるように、2つの製剤の各々の安定性を、ベースライン時（時間ゼロ、0ヶ月；T＝0）、3ヶ月後（T＝3、3ヶ月）及び6か月後（T＝6、6ヶ月）に測定した。

【 0 5 2 6 】

【表 3 6】

表25: 試験1Cで使用された分析法

分析法	5℃及び40℃での時点(ヶ月)			
	0	3	6	攪拌*
外観 (粒子)	x	x	x	x
非還元 CE-SDS	X	X	X	X
還元CE- SDS	x	x	x	x
GP-HPLC	X	x	x	X
サブビジブル 粒子**	x	x	x	x

*時間ゼロのみでロータリーシェーカーで5℃にて48時間にわたって実施された攪拌試験。

**分析は5℃でのみ実施された

【 0 5 2 7 】

試験 1 C のまとめられた結果

【 0 5 2 8 】

10

20

30

40

50

【表 3 7】

表26: tweenを含まずに+5°Cで保存

アッセイ	詳 述	時点(ヶ月)テストウインドウ(アッセイの開始から終了までの日付)		
		0	3	6
		2017年1月16日 2017年1月23日 FVP	2017年4月17日 2017年4月20日 FVP	2017年7月17日 2017年7月26日 FVP
目に見える粒子	報告結果			
還元CE SDS	≧95.0%の重鎖及び軽鎖としてのIgG	98.8	98.7	98.8
非還元CE SDS	インタクトなIgGの%及び参照基準 に対する比較としての報告結果	97.9 CR	97.2 CR	97.4 CR
GP HPLC	≧95.0%のIgG単量体	99.5	99.4	99.4
	≦5.0%の凝集体	0.5	0.6	0.6
	報告%の断片	<LOQ	<LOQ	<LOQ
サブミジブル粒子数	USP<788>に準じて合格			
	≧25µm:バイアル当たり≦600個の粒子	285	53	767
	≧10µm:バイアル当たり≦6000個の粒子	20892	4884	13736
	≧5µm:バイアル当たり報告粒子	84719	30690	73010
	≧2µm:バイアル当たり報告粒子	266894	117471	233688
FVP = 目に見える粒子を含まない CR = 参照と同等 <LOQ = 方法についての定量限界未満(<0.1%)				

【 0 5 2 9 】

10

20

30

40

50

【表 3 8】

表27: tweenを含み+5℃で保存

アッセイ	詳述	時点(ヶ月)/デストウインドウ(アッセイの開始から終了までの日付)		
		0	3	6
目に見える粒子	報告結果	2017年1月16日	2017年4月17日	2017年7月17日
		2017年1月23日	2017年4月20日	2017年7月26日
還元CE SDS	報告結果	FFP	FFP	FFP
非還元CE SDS	報告結果	98.9	98.7	98.8
GP HPLC	報告結果	97.9	97.2	97.3
	報告結果	CR	CR	CR
サブミジブル粒子数	報告結果	99.5	99.4	99.3
	報告結果	0.5	0.6	0.6
サブミジブル粒子数	報告結果	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	報告結果	19	12	16
サブミジブル粒子数	報告結果	401	273	233
	報告結果	1909	1523	1306
サブミジブル粒子数	報告結果	12534	10388	8764
	報告結果	12534	10388	8764
FFP = 少数の線維状粒子 FVP = 目に見える粒子を含まない CR = 参照と同等 <LOQ = 方法についての定量限界未満(<0.1%)				

【 0 5 3 0 】

10

20

30

40

50

【表 3 9】

表28: tweenを含まず+5°Cで攪拌して保存

アッセイ	詳 述	時点(ヶ月)テストウインドウ(アッセイの開始から終了までの日付)
		T=0で攪拌
		2017年1月16日 - 2017年1月23日
目に見える粒子	報告結果	NR
還元CE SDS	≥95.0%の重鎖及び軽鎖としてのIgG	98.8
非還元CE SDS	インタクトなIgGの%及び参照基準 に対する比較としての報告結果	97.8 CR
GP HPLC	≥95.0%のIgG単量体	99.4
	≤5.0%の凝集体	0.6
	報告%の断片	<LOQ
サブミジブル粒子数	USP<788>に準じて合格	
	≥25µm: パイアル当たり≤600個の粒子	13
	≥10µm: パイアル当たり≤6000個の粒子	1000
	≥5µm: パイアル当たり報告粒子	28190
	≥2µm: パイアル当たり報告粒子	123465
NR = 結果なし(試料が不透明であるために、目に見える粒子にアクセスすることが不可能であった) <LOQ =方法についての定量限界未満(<0.1%)		CR = 参照と同等

【 0 5 3 1 】

10

20

30

40

50

【表 4 0】

表29: tweenを含み+5℃で攪拌して保存

アッセイ	詳 述	時点(ヶ月)/テストウィンドウ(アッセイの開始から終了までの日付)	
		T=0で攪拌	
		2017年1月16日 - 2017年1月23日	
		報告結果	FVP
目に見える粒子	報告結果	≥95.0%の重鎖及び軽鎖としてのIgG	98.9
還元CE SDS	インタクトなIgGの%及び参照基準 に対する比較としての報告結果		97.9
非還元CE SDS			CR
GP HPLC		≥95.0%のIgG単量体	99.5
		≤5.0%の凝集体	0.5
		報告%の断片	<LOQ
サブミジブル粒子数		USP<788>に準じて合格	
		≥25µm:バイアル当たり≤600個の粒子	3
		≥10µm:バイアル当たり≤6000個の粒子	253
		≥5µm:バイアル当たり報告粒子	978
		≥2µm:バイアル当たり報告粒子	3893
FVP = 目に見える粒子を含まない		CR = 参照と同等	<LOQ = 方法についての定量限界未満(<0.1%)

【 0 5 3 2 】

10

20

30

40

50

【表 4 1】

表30: tweenを含まず+40℃で保存

アッセイ	詳述	時点(ヶ月)/デストウインドウ(アッセイの開始から終了までの日付)			
		0	3	6	
		2017年1月16日	2017年4月17日	2017年7月17日	
		2017年1月23日	2017年4月20日	2017年7月26日	
目に見える粒子	報告結果	FVP	FFP	FFP	
還元CE SDS	≧95.0%の重鎖及び軽鎖としてのIgG	98.8	94.2	90.4	
非還元CE SDS	インタクトなIgGの%及び参照基準 に対する比較としての報告結果	97.9 CR	90.3 CR	84.0 NCR	
GP HPLC	≧95.0%のIgG単量体	99.5	96.5	92.1	
	≦5.0%の凝集体	0.5	1.4	3.2	
	報告%の断片	<LOQ	2.1	4.7	
サブミジブル粒子数	USP<788>に準じて合格				
	≧25μm:バイアル当たり≦600個の粒子	285			
	≧10μm:バイアル当たり≦6000個の粒子	20892	NT	NT	
	≧5μm:バイアル当たり報告粒子	84719			
	≧2μm:バイアル当たり報告粒子	266894			
FVP = 目に見える粒子を含まない		CR = 参照と同等		NCR = 参照と同等ではない	
NT = テストされなかった		<LOQ = 方法についての定量限界未満(<0.1%)			

【 0 5 3 3 】

10

20

30

40

50

【表 4 2】

表31: tweenを含み+40℃で保存

アッセイ	詳述	時点(ヶ月)/テストウインドウ(アッセイの開始から終了までの日付)		
		0	3	6
目に見える粒子	報告結果	2017年1月16日	2017年4月17日	2017年7月17日
		2017年1月23日	2017年4月20日	2017年7月26日
還元CE SDS	報告結果	FFP	FVP	FFP
非還元CE SDS	報告結果	98.9	94.1	90.3
GP HPLC	報告結果	97.9	90.5	84.0
	報告結果	CR	CR	CR
サブビジブル粒子数	報告結果	98.5	96.4	91.9
	報告結果	0.5	1.5	3.4
サブビジブル粒子数	報告結果	<LOQ	2.1	4.7
	報告結果	19	401	1909
サブビジブル粒子数	報告結果	12534	NT	NT
	報告結果	NT	NT	NT
FFP = 少数の線維状粒子 FVP = 目に見える粒子を含まない		CR = 参照と同等 NT = テストされなかった		
<LOQ = 方法についての定量限界未満(<0.1%)				

【0534】

ポリソルベート80を含まない製剤は、ポリソルベート80を含む製剤と比較して、+5℃で保存した場合、試験開始時及びT=6ヶ月の両方で、全てのサイズのより多くのサブビジブル粒子を提示したが、両方の製剤は、それらの対応するT=0ヶ月の結果と比較して、T=6において著しい変化を示さなかった。

【0535】

+5℃で保存されたポリソルベート80を含む製剤及びポリソルベート80を含まない製剤は、両方ともT=6ヶ月で目に見える粒子を含まず、T=0ヶ月の測定と比較して、T=6ヶ月において、GP HPLC、還元及び非還元CE SDSによって著しい変化

を示さなかった。

【0536】

6ヶ月時に、製剤（ポリソルベート80の有無）は、+40℃の条件で、それらの間で著しい差を有さないことが決定された。しかしながら、6ヶ月の時点で、これらの製剤の両方は、試験開始時と比較して、IgG単量体の割合の減少と同時にGPHPLCによる凝集体及び断片の割合の増加、及び還元並びに非還元CE SDSによる純度の減少の同等な傾向を実証した。

【0537】

攪拌プロトコルに供される製剤については、ポリソルベート80を含まない製剤がポリソルベート80を含む製剤と比較して、より多くの全てのサイズのサブビジブル粒子を提示することが見出された。

【0538】

試験2C：非イオン性界面活性剤（ポリソルベート80／ポロキサマー188）

本発明者らは、試験2A及び2Bから得られた最も有望な製剤候補に界面活性剤を添加する効果を検討することに着手した。

【0539】

製剤がテストされ、それらの組成を表32に記載する。

【0540】

【表43】

表32: 試験2Cで検討された製剤

製剤	基本組成	界面活性剤
*F01	20mM ヒスチジン、140mM NaCl、pH6.0、225mg/mL GM37v2	なし
F02	20mM ヒスチジン、140mM NaCl、pH6.0、225mg/mL GM37v2	0.02% (w/v) PS80
F03	20mM ヒスチジン、140mM NaCl、pH6.0、225mg/mL GM37v2	0.05% (w/v) PS80
F04	20mM ヒスチジン、140mM NaCl、pH6.0、225mg/mL GM37v2	0.02% (w/v) ポロキサマー188
*F05	20mM ヒスチジン、140mM NaCl、pH6.0、225mg/mL GM37v2	0.05% (w/v) ポロキサマー188
*F06	20mM 酢酸塩、70mM NaCl、50mM アルギニン/グルタミン酸塩、pH6.0、225mg/mL GM37v2	なし
F07	20mM 酢酸塩、70mM NaCl、50mM アルギニン/グルタミン酸塩、pH6.0、225mg/mL GM37v2	0.02% (w/v) PS80
F08	20mM 酢酸塩、70mM NaCl、50mM アルギニン/グルタミン酸塩、pH6.0、225mg/mL GM37v2	0.05% (w/v) PS80
F09	20mM 酢酸塩、70mM NaCl、50mM アルギニン/グルタミン酸塩、pH6.0、225mg/mL GM37v2	0.02% (w/v) ポロキサマー188
*F10	20mM 酢酸塩、70mM NaCl、50mM アルギニン/グルタミン酸塩、pH6.0、225mg/mL GM37v2	0.05% (w/v) ポロキサマー188
*CTL	25mM ヒスチジン、100mM NaCl、100mM スクロース、50mg/mL、pH6.0	0.02% (w/v) PS80

*サブビジブル粒子数は、これらの製剤のみで測定された

【0541】

これらの製剤を、別々に複数の凍結－融解サイクル及び攪拌ストレスに曝露させた。これらの製剤は、A280、SE-HPLC、及びサブビジブル粒子分析（選択試料）によってテストされた。

【0542】

試験2Cにおける攪拌ストレス測定

製剤を、Fluorotecセラムストッパーで栓をしたSchott、Fiolax、

クリアブローバックⅠ型ガラスに詰め（2 mLバイアル中1 mLの目標量）、クランプキャップで封止した。これらのバイアルを、水平位置に向けてオービタルシェーカー（3 mmの軌道）を使用して、590 rpm（回転／分）の速度で室温にて攪拌した。試料を5時間及び24時間で採取し、テストした。攪拌していない対照試料を、試料ボックス中、室温で保持した。

【0543】

試験2Cにおける5回（5×）の凍結－融解ストレス測定

製剤を、ポリプロピレンチューブ中に詰め（0.65 mL）、5回の凍結－融解サイクルに曝した。試料を、−80℃で少なくとも12時間凍結させた。融解中に、チューブを室温に配置し、3時間未満融解させた。融解させた製剤の全てを数回にわたって反転させて混合し、その後再凍結させた。5回の凍結－融解サイクル後に、試料を分析した。

10

【0544】

試験2Cのまとめた結果：

攪拌ストレス実験は、テストされた時点のいずれにおいても、あらゆる製剤候補間で測定されたGM37v2濃度において顕著なばらつきがないことを示した。攪拌試料の物理的安定性を、SE-HPLCによって評価した。結果は、観察された変化は小さいものの、ポロキサマー188を含有する製剤が攪拌時に不安定になる可能性があるように見える。

【0545】

サブジブル粒子数を、選択攪拌試料について評価した。粒子数及びサイズ範囲は全て、USP788の必要とされる仕様よりも低かった。

20

【0546】

同様な測定が、凍結／融解試料について実施された。これらの結果は、複数回の凍結－融解サイクル後に、GM37v2濃度における顕著な変化が観察されないことを示した。

【0547】

SE-HPLCデータの評価時に、変化は小さいとは言えるものの、F04（試験2C）及びF05（試験2C）（ポロキサマー188を含有するヒスチジン緩衝液製剤）が、複数回の凍結－融解サイクル後に、最大の増加を示すように思われる。

【0548】

また、凍結－融解試料については、粒子数及びサイズ範囲は全て、USP788の必要とされる仕様よりも低かった。

30

【0549】

界面活性剤試験の結論／概要

試験1C：

全体として、この試験で利用された全ての分析法（目に見える粒子、還元及び非還元CE SDS、GP-HPLC並びにサブジブル粒子）の結果に基づいて、本発明者らは、製剤中に0.02%（w/v）のポリソルベート80を含めることがサブジブル粒子の全体数を低減させ、したがって、ポリソルベート80の候補製剤への添加が最適な臨床的に好適な製剤を作り出すと結論付けた。

【0550】

40

試験2C：

テストされた製剤候補は、これらの製剤において、GM37v2が攪拌又は凍結－融解ストレスに対する曝露時に、物理的安定性における顕著な変化を示すようには見えないことを示している。しかしながら、一般に、界面活性剤は、物理的安定性に関して製剤の性能に有益であるように見える。更に、ポリソルベート80（ポリソルベート80）は、ポロキサマー188を超えてわずかに好ましいように見え、ポロキサマー188はポリソルベート80と比較して、わずかに不安定であるように思える。したがって、ポリソルベート80を製剤候補に添加することは、0.02%（w/v）付近である可能性が高い目標濃度で界面安定性を維持するために恐らく有益であろう。

【0551】

50

実施例 D－長期保存安定性

2つの製剤を、長期保存安定性に関して、それらの性能を評価した。この試験は、5℃及び25℃において、6ヶ月の時間経過にわたって安定性データを収集した。

【0552】

【表44】

表33: 実施例Dで検討された製剤

検証製剤	組成
リード	25mM ヒスチジン、100mM スクロース、100mM 塩化ナトリウム、0.02% ポリソルベート80、pH6.0、200mg/mL GM37v2
バックアップ	40mM ヒスチジン、100mM 塩化ナトリウム、0.02% ポリソルベート80、pH6.0、200mg/mL GM37v2

10

【0553】

実施例 Dのまとめられた結果

リード及びバックアップ製剤の両方は、5℃で最大6ヶ月の保存及び25℃で最大3ヶ月の保存時に、良好な安定性を表示した。しかしながら、サブミクロン粒子形成及びCEX-HPLCによる化学的安定性に関して、リード製剤（25mMのヒスチジン、100mMのスクロース、100mMの塩化ナトリウム、0.02%のポリソルベート80、pH6.0、200mg/mLのGM37v2）は、25℃の加速条件下で観察された傾向によって主に区別されるように、バックアップ製剤（40mMのヒスチジン、100mMの塩化ナトリウム、0.02%のポリソルベート80、pH6.0、200mg/mLのGM37v2）よりも優れた性能を発揮した。両方とも、SE-HPLCによって測定された安定性に関しては同等であって、両方とも、2年の時間経過にわたって、<2%と推定される損失を呈した。いずれの製剤も、試験の過程にわたって、タンパク質のいかなる相当の損失も示さず、保存された試料の全てに関して、pHは一定のままであった。

20

【0554】

25mMのヒスチジン／ヒスチジン塩酸塩、100mMのスクロース、100mMの塩化ナトリウム、0.02%のポリソルベート80、pH6.0を含有し、53.0±5mg/mLのGM37v2の濃度及び20mLの公称容量を伴う本発明の特定の液体医薬組成物もまた、安定性についてテストした。これらのテストは、この組成物が5℃±3℃などの好適な条件で長期保存に好適であり、抗体GM37v2の物理的及び化学的完全性を少なくとも36ヶ月間維持することを示した。

30

【0555】

更に、25mMのヒスチジン／ヒスチジン塩酸塩、100mMのスクロース、100mMの塩化ナトリウム、0.02%のポリソルベート80、pH6.0を含有し、53.0±5mg/mLのGM37v2の濃度を伴う本発明の特定の液体医薬組成物を、25℃での加速ストレス条件によって検討し、この製剤が、そのような条件下で、少なくとも6ヶ月間安定であることを示した。

40

【0556】

実施例 A～C及びDからの総合的な結論：

試験1A、1B及び1Cから、GM37v2、25mMのL-ヒスチジン、100mMのNaCl、100mMのスクロース及び0.02%のポリソルベート80をpH6.0で含む製剤が、臨床開発に進むために最も好適な製剤であることが判明した。

【0557】

試験2A、2B及び2Cは、最適なpHが20～40mMのヒスチジン緩衝液濃度を使用する、6.0付近である可能性が高いことを明らかにした。張度調整剤の性質は重要ではないと思われるが、NaClは粘度低減効果が観察されたために好ましい。ポリソルベ

50

ート80は、0.02% (w/v) 付近の目標濃度で、界面安定性を維持するために有益である。したがって、30~225 mg/mLのGM37v2、20~40 mMのヒスチジン、100 mMのNaCl、100 mMのスクロース及び0.02%のポリソルベート80をpH 6.0で含む製剤が、最適な製剤候補である。

【0558】

実施例Dは、25℃で3ヶ月から6ヶ月間の加速ストレス条件を使用することによって、25 mMのヒスチジン、100 mMのスクロース、100 mMの塩化ナトリウム、0.02%のポリソルベート80 (pH 6.0で)、及び53若しくは200 mg/mLのGM37v2を含む製剤が、長期保存時に安定であることを明らかにした。これはまた、200 mg/mLの比較的高いGM37v2濃度に対しても適用され、更にこの上昇した濃度においても、上記製剤は、<10 cPの低粘度を呈する。

10

【0559】

したがって、本発明者らは、臨床使用に適してる製剤候補を特定し、それらが広範囲のGM37v2濃度 (30~225 mg/mL) にわたって、高い安定性及び低い粘度などの医薬組成物の分野における所望の特性を示すので、特に、約pH 6.0でヒスチジン緩衝液を含むものに適用され、更により具体的には、NaCl、スクロース及びポリソルベート80を更に含む組成物にも適用される。したがって、本発明者らは、GM37v2の様々な投与レジメンを患者に投与するために、臨床現場において非常に柔軟且つ有用である製剤候補を特定した。

20

【図面】

【図1】

【図2】

図1

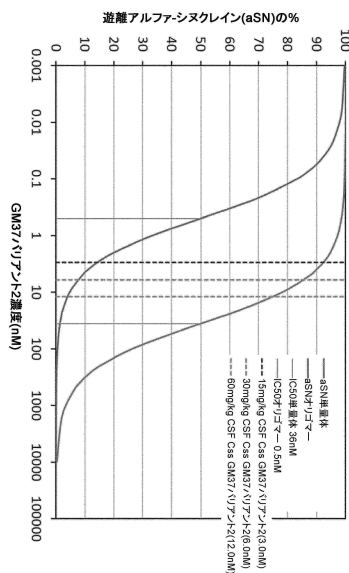
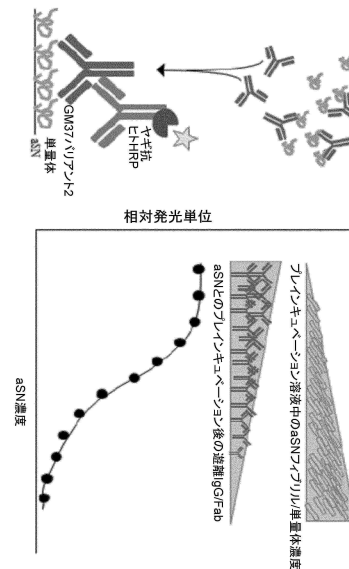


図2

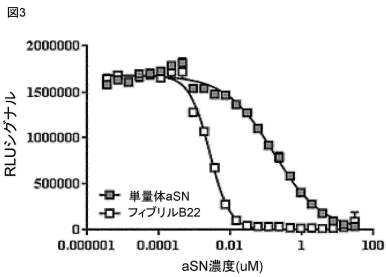


30

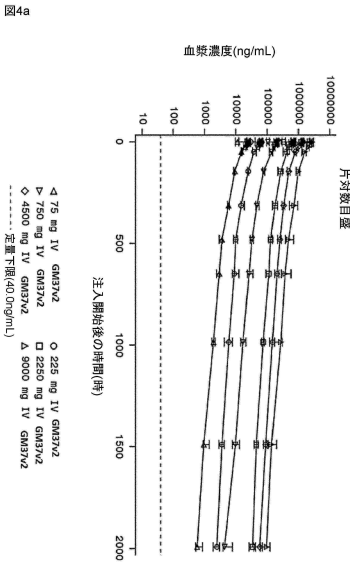
40

50

【図 3】



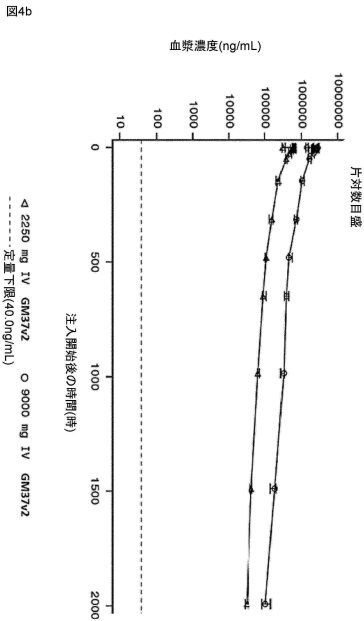
【図 4 - a】



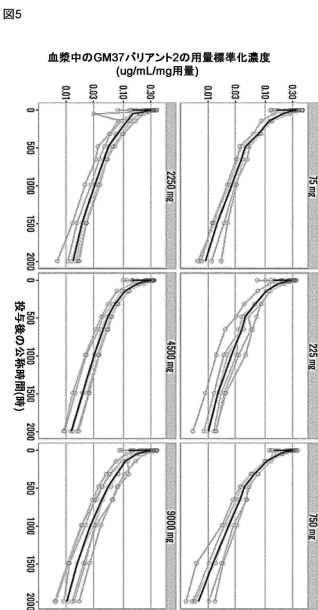
10

20

【図 4 - b】



【図 5】



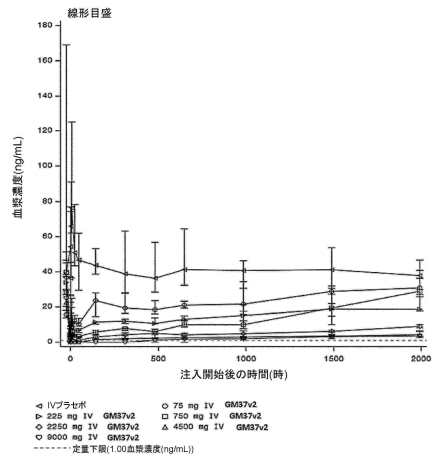
30

40

50

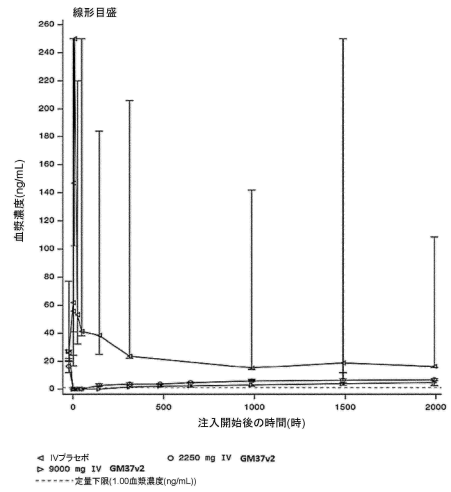
【図 6 - a】

図6a



【図 6 - b】

図6b

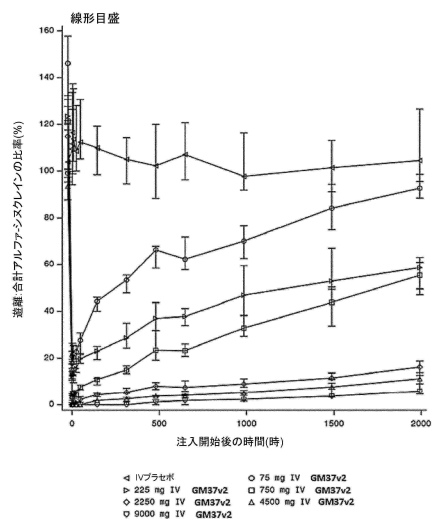


10

20

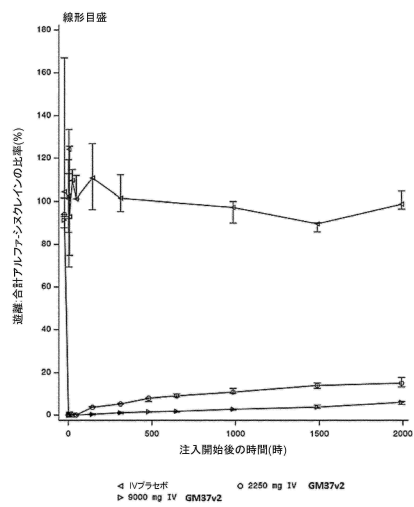
【図 7 - a】

図7a



【図 7 - b】

図7b



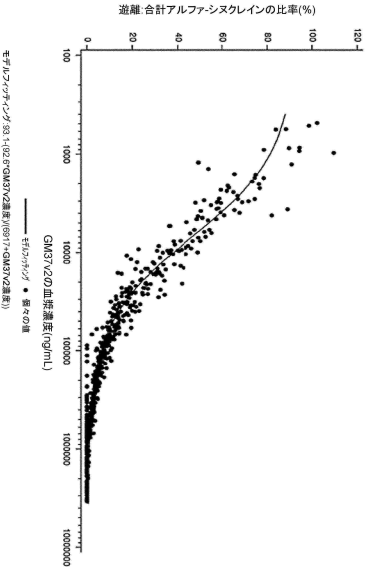
30

40

50

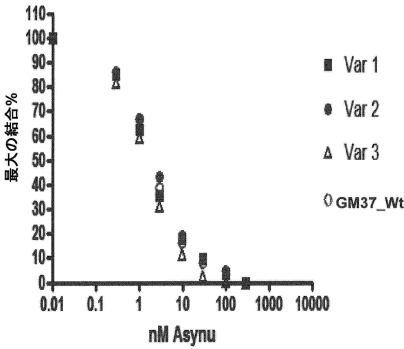
【 図 8 】

図8



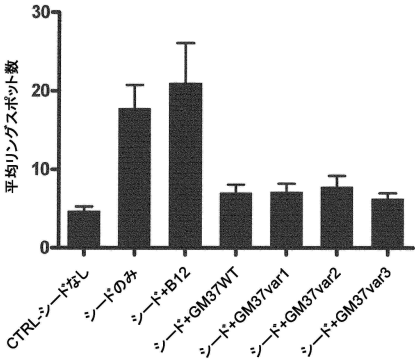
【 図 9 】

図9



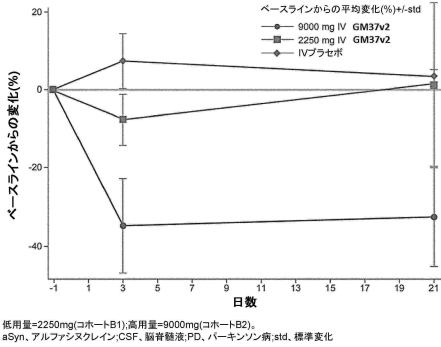
【 図 1 0 】

図10



【 図 1 1 】

図11



10

20

30

40

50

【配列表】

2024534947000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/075402

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	A61K39/395	A61K51/00
	A61P25/00	A61P25/02
	A61P25/28	A61P25/16
	C07K16/18	
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 A61P C07K		
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, BIOSIS, Sequence Search, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/009312 A1 (H LUNDBECK AS [DK]) 19 January 2017 (2017-01-19) cited in the application	1-26, 53
Y	paragraphs [0046], [0150] - [0155]; sequences 1-6, 8, 17, 18, 31 -----	27-52
X	WO 2018/091444 A1 (H LUNDBECK AS [DK]) 24 May 2018 (2018-05-24) paragraph [0049]; sequences 17, 18 -----	1-26, 53
X	WO 2015/001504 A2 (NEOTOPE BIOSCIENCES LTD [IE]) 8 January 2015 (2015-01-08) paragraphs [0172] - [0177] -----	53
Y		27-52
A	WO 2017/176835 A2 (IMAGO PHARMACEUTICALS INC [US]) 12 October 2017 (2017-10-12) paragraph [0092] -----	27-52
	----- -/--	
☒ 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		"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date		"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
"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)		"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
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
4 April 2023		14/04/2023
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 Scheffzyk, Irmgard

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/075402

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2005/013889 A2 (ELAN PHARM INC [US]; CHILCOTE TAMIE J [US] ET AL.) 17 February 2005 (2005-02-17) paragraph [0107] -----	27-52

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2022/075402

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.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2022/075402**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

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

Remark on Protest

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

International Application No. PCT/EP2022 /075402

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-26, 53

A monoclonal anti-alpha synuclein antibody for use in the treatment of a synucleinopathy or prodromal synucleinopathy, wherein said use comprises administering said monoclonal antibody intravenously to a human subject suffering from synucleinopathy or in risk of developing synucleinopathy, at a dose of between 1000 mg to 4500 mg, and wherein said monoclonal antibody is a full-length antibody capable of binding an epitope within amino acids 112-117 (SEQ.ID.NO.9 (ILEDMP) of human alpha synuclein (SEQ.ID.NO.10)

2. claims: 27-52

Liquid pharmaceutical composition comprising a full-length IgG1 monoclonal anti-alpha synuclein antibody in a concentration of 25-225mg/mL, wherein said antibody comprises a HCDR1 having the amino acid sequence of SEQ.ID.NO.1, a HCDR2 having the amino acid sequence of SEQ.ID.NO. 34, a HCDR3 having the amino acid sequence of SEQ.ID.NO.3 a LCDR1 having the amino acid sequence of SEQ.ID.NO. 4, a LCDR2 having the amino acid sequence of SEQ.ID.NO.5 and a LCDR3 having the amino acid sequence of SEQ.ID.NO.6 and wherein the composition further comprises a histidine buffer, a pharmaceutically acceptable tonicity agent, a pharmaceutically acceptable surfactant and wherein the pH of the composition is between 5.5 and 6.5

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2022/075402

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017009312 A1	19-01-2017	AR 105336 A1	27-09-2017
		AU 2016292896 A1	18-01-2018
		BR 112017027506 A2	11-09-2018
		CA 2989735 A1	19-01-2017
		CL 2018000075 A1	11-05-2018
		CN 107709361 A	16-02-2018
		CO 2017012941 A2	09-03-2018
		CR 20180021 A	13-03-2018
		DO P2018000013 A	15-04-2018
		EA 201792616 A1	29-06-2018
		EC SP18002645 A	31-03-2018
		EP 3322722 A1	23-05-2018
		GE P20207151 B	25-09-2020
		HK 1254358 A1	19-07-2019
		IL 256501 A	28-02-2018
		JO 3692 B1	27-08-2020
		JP 7012004 B2	10-02-2022
		JP 7138322 B2	16-09-2022
		JP 2018529634 A	11-10-2018
		JP 2021191763 A	16-12-2021
		JP 2022174131 A	22-11-2022
		KR 20180029205 A	20-03-2018
		MA 42439 A	23-05-2018
		NI 2018000006 A	18-10-2018
		PE 20181049 A1	03-07-2018
		PH 12018500016 A1	09-07-2018
		RU 2017145653 A	13-08-2019
		SV 2018005612 A	20-07-2018
		TN 2018000005 A1	08-07-2019
		TW 201716440 A	16-05-2017
		UA 125501 C2	13-04-2022
		US 2017015739 A1	19-01-2017
		US 2018127491 A1	10-05-2018
		US 2018127492 A1	10-05-2018
		US 2018179270 A1	28-06-2018
		US 2018179271 A1	28-06-2018
		US 2019367594 A1	05-12-2019
		US 2019367595 A1	05-12-2019
		US 2019382473 A1	19-12-2019
		US 2021054057 A1	25-02-2021
		US 2021061892 A1	04-03-2021
		US 2021147522 A1	20-05-2021
		WO 2017009312 A1	19-01-2017
		ZA 201708607 B	29-05-2019
WO 2018091444 A1	24-05-2018	AR 110074 A1	20-02-2019
		AU 2017359944 A1	23-05-2019
		BR 112018014281 A2	18-12-2018
		CA 3043651 A1	24-05-2018
		CL 2019001293 A1	19-07-2019
		CL 2021003306 A1	22-07-2022
		CN 109937210 A	25-06-2019
		CO 2019004755 A2	21-05-2019
		EP 3541836 A1	25-09-2019
		IL 266596 A	31-07-2019
		JP 7217229 B2	02-02-2023
		JP 2020500849 A	16-01-2020
		KR 20190083356 A	11-07-2019

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2022/075402

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		MA 46836 A	25-09-2019
		RU 2019114679 A	17-12-2020
		US 2018194833 A1	12-07-2018
		US 2021236634 A1	05-08-2021
		WO 2018091444 A1	24-05-2018
WO 2015001504 A2	08-01-2015	AU 2014285719 A1	21-01-2016
		CA 2917097 A1	08-01-2015
		CL 2015003801 A1	15-07-2016
		CN 105492019 A	13-04-2016
		CU 20160001 A7	31-08-2016
		CU 20170039 A7	05-06-2017
		EP 3016677 A2	11-05-2016
		EP 3524264 A1	14-08-2019
		ES 2704440 T3	18-03-2019
		HK 1223544 A1	04-08-2017
		JP 6404338 B2	10-10-2018
		JP 6854266 B2	07-04-2021
		JP 2016534052 A	04-11-2016
		JP 2019011339 A	24-01-2019
		JP 2021020941 A	18-02-2021
		KR 20160030247 A	16-03-2016
		PE 20160868 A1	24-09-2016
		PH 12015502788 A1	21-03-2016
		RU 2016103079 A	07-08-2017
		SG 11201510601T A	28-01-2016
		US 2015079074 A1	19-03-2015
		US 2020140534 A1	07-05-2020
		WO 2015001504 A2	08-01-2015
WO 2017176835 A2	12-10-2017	EP 3440225 A2	13-02-2019
		US 2019330315 A1	31-10-2019
		US 2020385450 A1	10-12-2020
		WO 2017176835 A2	12-10-2017
WO 2005013889 A2	17-02-2005	CA 2526900 A1	17-02-2005
		CY 1119133 T1	14-02-2018
		CY 1119556 T1	07-03-2018
		DK 1633189 T3	21-08-2017
		DK 2361928 T3	03-07-2017
		EP 1633189 A2	15-03-2006
		EP 2361928 A1	31-08-2011
		ES 2632216 T3	11-09-2017
		ES 2640669 T3	03-11-2017
		HU E034320 T2	28-02-2018
		HU E035044 T2	02-05-2018
		JP 4820291 B2	24-11-2011
		JP 5766923 B2	19-08-2015
		JP 2007525464 A	06-09-2007
		JP 2011033633 A	17-02-2011
		PL 1633189 T3	29-12-2017
		PL 2361928 T3	29-09-2017
		PT 1633189 T	04-10-2017
		PT 2361928 T	21-07-2017
		SI 1633189 T1	29-12-2017
		US 2005198694 A1	08-09-2005
		WO 2005013889 A2	17-02-2005

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類 F I テーマコード (参考)

A 6 1 K	47/02	(2006.01)	A 6 1 K	47/02
A 6 1 K	47/26	(2006.01)	A 6 1 K	47/26
A 6 1 K	47/18	(2017.01)	A 6 1 K	47/18
A 6 1 K	47/32	(2006.01)	A 6 1 K	47/32
A 6 1 K	47/34	(2017.01)	A 6 1 K	47/34
A 6 1 K	47/36	(2006.01)	A 6 1 K	47/36
A 6 1 K	47/40	(2006.01)	A 6 1 K	47/40
A 6 1 K	47/42	(2017.01)	A 6 1 K	47/42
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/13

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,N
E,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,
CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,J
M,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,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,ST,SV,SY,T
H,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

2. T R I T O N

(72)発明者 カルンキ, ペッカ

デンマーク国 2 5 0 0 バルビー, オッティリアベエイ 9 ハー・ルンドベック・アクチエゼル
スカベット内

(72)発明者 バー, ルイーズ

デンマーク国 2 5 0 0 バルビー, オッティリアベエイ 9 ハー・ルンドベック・アクチエゼル
スカベット内

(72)発明者 ラーセン, フランク

デンマーク国 2 5 0 0 バルビー, オッティリアベエイ 9 ハー・ルンドベック・アクチエゼル
スカベット内

(72)発明者 パーシャド, ヘンリック ラジェシュ クマー

デンマーク国 2 5 0 0 バルビー, オッティリアベエイ 9 ハー・ルンドベック・アクチエゼル
スカベット内

(72)発明者 マークッセン, アン ソフィー

デンマーク国 2 5 0 0 バルビー, オッティリアベエイ 9 ハー・ルンドベック・アクチエゼル
スカベット内

(72)発明者 マンニン, マーク コーネル

アメリカ合衆国 コロラド州 8 0 5 3 4, ジョNSTAUN, ソレル レーン 4 6 3 0

(72)発明者 カタヤマ, デリック スペンサー

アメリカ合衆国 コロラド州 8 0 5 4 7, ティムナス, フリントロック ロード 6 7 7 3

(72)発明者 ガウデン, マグダレナ

イギリス国 バークシャイア エスエル1 4ディーエックス, スロウ, バス ロード 2 2 8, ロン
ザ バイオロジクス ピーエルシー内

(72)発明者 スミス, ジョン

イギリス国 バークシャイア エスエル1 4ディーエックス, スロウ, バス ロード 2 2 8, ロン
ザ バイオロジクス ピーエルシー内

F ターム (参考) 4C076 AA13 BB13 CC01 DD09F DD23D DD46 DD46D DD51 DD60 DD60Z

DD67D EE16 EE23F EE24 EE38 EE39 EE42 FF63

4C085 AA14 BB11 BB36 CC23 EE01 GG02

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 DA76 EA20 FA74