



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101911081 A

(43) 申请公布日 2010.12.08

(21) 申请号 200880123936.6

艾莉森·D·默里

(22) 申请日 2008.11.05

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

(30) 优先权数据

60/996,177 2007.11.05 US

61/077,281 2008.07.01 US

代理人 封新琴

(51) Int. Cl.

G06F 19/00 (2006.01)

A61B 5/00 (2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010.07.05

(86) PCT申请的申请数据

PCT/GB2008/003736 2008.11.05

(87) PCT申请的公布数据

W02009/060191 EN 2009.05.14

(71) 申请人 维斯塔实验室有限公司

地址 新加坡新加坡

(72) 发明人 克劳德·M·维希克

戴蒙·J·维希克 罗杰·T·斯塔夫

权利要求书 2 页 说明书 49 页 附图 19 页

(54) 发明名称

用于临床试验的体系

(57) 摘要

本发明提供了用于评价推定对认知障碍具有疾病缓解作用的药物用于治疗或预防该认知障碍的效能的方法和体系,所述方法包括以下步骤:

(1) 根据有可能疾病进展的基线指标将受试者组分成至少 2 个亚组,(2) 用所述药物治疗每一受试者组的成员一段治疗时帧,(3) 对每一治疗患者组取得心理测验结果测量和任选的生理学结果测量,(4) 将 (3) 的结果与所述亚组的比较剂臂进行比较,所述亚组的比较剂臂任选地为安慰剂臂或最小效能比较剂臂,(5) 使用 (4) 中的比较来取得对所述药物的效能测量。本发明的方法和体系解决了诸如在基线时具有轻度疾病严重性的患者历经治疗时帧衰退速率低和偏倚退出的问题,特别是在安慰剂/比较剂治疗臂中。

1. 一种评价药物效能的方法,所述药物推定为对认知障碍具有疾病缓解作用,用于治疗或预防该认知障碍,所述方法包括以下步骤:

(1) 根据可能的疾病进展的基线指标将受试者组分成至少 2 个亚组,

(2) 用所述药物治疗每一受试者组的成员一段治疗时帧,

(3) 取得每一治疗患者组的心理测验结果测量和任选的生理学结果测量,

(4) 将所述 (3) 的结果与所述亚组的比较剂臂进行对比,所述亚组的比较剂臂任选地为安慰剂臂或最小效能比较剂臂,

(5) 使用 (4) 中的对比结果取得所述药物的效能测量。

2. 一种评价药物的体系,所述药物推定为对认知障碍具有疾病缓解作用,用于治疗或预防该认知障碍,所述体系包括以下步骤:

(1) 根据有可能的疾病进展的基线指标将受试者组分成至少 2 个亚组,

(2) 选择治疗时帧,应历经所述治疗时帧用所述药物治疗每一受试者组成员,

(3) 针对每一治疗患者组和所述亚组的比较剂臂,选择要得到的心理测验结果测量和任选的生理学结果测量,所述亚组的比较剂臂任选地为安慰剂臂或最小效能比较剂臂,

由此可以从所述治疗患者组和所述比较剂臂的对比得到所述药物的效能测量。

3. 如权利要求 1 或权利要求 2 中所述的方法或体系,其中所述认知障碍是神经变性障碍导致的痴呆。

4. 如权利要求 3 中所述的方法或体系,其中所述药物是推定的病理学蛋白质聚集抑制剂,其中所述聚集与所述神经变性相关。

5. 如权利要求 3 或权利要求 4 中所述的方法或体系,其中所述神经变性障碍是 Tau 病变。

6. 如权利要求 5 中所述的方法或体系,其中所述神经变性障碍选自:阿尔茨海默氏病、轻度认知缺损、运动神经元病、额-颞痴呆、路易体病、皮克病、进行性核上性麻痹。

7. 如权利要求 6 中所述的方法或体系,其中所述神经变性障碍是阿尔茨海默氏病或轻度认知缺损,以及所述心理测验测量选自:阿尔茨海默氏病评价标度-认知亚标度(ADAS-cog)、国立神经和交流障碍及中风研究所-阿尔茨海默氏病和相关障碍协会(NINCDS-ADRDA)、精神障碍的诊断和统计手册,第四版(DSMIV)。

8. 如权利要求 3 至 7 中的任意一项所述的方法或体系,其中将所述亚组分级的基线指标是使用所述临床痴呆评级(CDR)标度确定的疾病严重性。

9. 如权利要求 8 中所述的方法或体系,其中所述亚组是 CDR 等级为 1(轻度亚组)或 2(中度亚组)的受试者。

10. 如权利要求 3 至 9 中的任意一项所述的方法或体系,其中与所述具有较高疾病严重性的亚组相比,所述具有较低疾病严重性的亚组的测试时帧较长。

11. 如权利要求 10 中所述的方法或体系,其中测试所述具有较低疾病严重性的亚组超过 12 个月。

12. 如权利要求 3 至 9 中的任意一项所述的方法或体系,其中测试所述具有较低疾病严重性的亚组一段治疗时帧,历经该治疗时帧无明显的临床衰退。

13. 如权利要求 12 中所述的方法或体系,其中所述具有较低疾病严重性的亚组的测试时间少于 9 个月、6 个月、5 个月、4 个月或 3 个月。

14. 如权利要求 12 或权利要求 13 所述的方法或体系,其中对所述亚组进行平行测试,以及至少所述具有较低疾病严重性的亚组用另外的生理学结果测量进行测试。

15. 如权利要求 14 中所述的方法或体系,其中所述生理学结果测量是使用功能性脑扫描中的变化分析确定的神经生理学结果测量,从而甚至在使用心理测验测量时没有临床益处检测治疗效能。

16. 如权利要求 15 中所述的方法或体系,其中所述功能性脑扫描使用单光子发射断层扫描术 (SPECT) 或正电子发射断层扫描术 (PET) 实施,任选地使用兴趣区 (ROI) 分析或统计学参数 (SPM) 分析。

17. 如权利要求 15 或权利要求 16 所述的方法或体系,其中在随机化时或在即将随机化之前扫描所述受试者,然后在治疗之后或之间进行一次或多次后续扫描。

18. 如权利要求 1 至 17 中的任意一项所述的方法或体系,其中,对于至少所述具有较高疾病严重性的亚组,对每一中断治疗的个体使用线性插补法以校准对以下情况所造成影响的分析:随机化接受所述安慰剂或最小效能比较剂治疗臂的受试者非随机退出,由此妨碍或混淆所述治疗效能的证明。

19. 如权利要求 18 中所述的方法或体系,其中进行所述受试者的心理测验结果测量,以及基于中断治疗的各个受试者的可利用的心理测验得分通过使用拟合至所述得分的图表的直线每受试者外推进行所述线性插补分析。

20. 如权利要求 1 至 19 中的任意一项所述的方法或体系,其中所述方法或体系构成用于测试所述药物的临床试验或进行所述临床试验的体系。

21. 如权利要求 1 至 20 中的任意一项所述的方法或体系,其中所述方法或体系用于评价利用所述药物的治疗方案的效能。

22. 如权利要求 1 至 21 中的任意一项所述的方法或体系,其中所述药物是 3,7-二氨基吩噻嗪 (DAPTZ) 化合物。

用于临床试验的体系

技术领域

[0001] 本发明一般地涉及在评价用于认知障碍的药物治疗的效能中使用的方法,具体地涉及用于推定疾病缓解治疗 (putatively disease-modifying treatment) 的生理学和心理测验结果。

背景技术

[0002] 疾病缓解治疗的临床试验

[0003] 先前已经指出,3,7-二氨基吩噻嗪 (DAPTZ) 化合物 (包括亚甲蓝 (“MTC, methylthioninium chloride”)) 抑制 Tau 蛋白聚集和破坏 PHF 结构,以及逆转 PHF 核芯的蛋白质水解稳定性 (参见 W096/30766, F Hoffman-La Roche)。披露这种化合物可用于治疗和预防各种疾病 (包括阿尔茨海默氏病 (AD) 和路易体病 (Lewy body disease))。DAPTZ 化合物在治疗和预防障碍如 AD 中具有潜在效能的原理系基于它们作用于 Dr. Alois Alzheimer 发现的阿尔茨海默氏病的原发性神经原纤维病理学的能力。

[0004] 然而,疾病缓解效能的临床证据不直接。具体地,被实施以提供该证据的试验严重地依赖于随机化接受无活性或最小活性物治疗臂 (inactive or minimally active treatment arm) 的受试者在临床试验期间的行为。由于该治疗的潜在效果是防止在不治疗的情况下预期将发生的临床衰退,而不是产生立即的症状改善,所以明显的是,效果大小 (effect size) (其按照在安慰剂治疗臂和活性物治疗臂之间的差进行计算) 将关键取决于在随机化接受安慰剂臂的受试者中发生的衰退程度。

[0005] 疾病缓解治疗在没有经由随机化双盲平行设计临床试验得到的严格的效能证据的情况下不能广泛应用。该试验必须预先指定在随机化 (在预先指定的患者群体 / 组群中) 后的时间点,其中在随机化以指定剂量进行活性物治疗的受试者和接受安慰剂或最小活性比较剂 (comparator) 剂量的受试者之间必须有统计学上的显著差别。经过协议的结果测量必须是预先指定的。可选择的设计 (其中,制止已存在的治疗是不合伦理的) 包括随机化接受可选择的活性物治疗臂 (单一地或以某种预定组合的形式)。

[0006] 尽管这些事情是现有技术中公知的,并且已经有了使用对认知功能产生临时性症状改善的治疗方法 (例如乙酰胆碱酯酶抑制剂如安理申 (Aricept)、Reminyl、艾斯能 (Exelon)) 的认知障碍临床试验的大量实例,但是迄今为止还没有这样的实例,即,其中在临床试验中具有有力的和明确的疾病缓解效能证明,其不需要事后统计调节以支持效能病例。通常,尽管该事后分析提供充其量似乎合理的基础以在该基础上进行将来的验证性临床试验,但是它们本身不满足以下要求:提供符合一般可适用的管理标准并因此允许将该治疗广泛地开处方所需要的强制证据负荷有利性效能 (compelling evidential burden favouring efficacy)。

[0007] 在进行旨在证明疾病缓解效能的试验中遇到了大量的技术困难。借助于具体的实例也许最清楚地描述了这些困难。使用试验用医药产品 (IMP, investigational medicinal product) (其中 MTC 是活性药物成分 (API)) 进行了用于治疗轻度和中度的阿尔茨海默氏型

痴呆的 50 周的 2 期探索性剂量 - 范围 - 测定研究 (dose-range-finding study) (“remember™ 研究”)。该研究是随机, 双盲, 安慰剂对照研究, 其主要目的是调查研究与安慰剂相比 MTC 在三个剂量 (30、60 和 100mg, 均为每日三次) 时对认知能力 (通过阿尔茨海默氏病评价标度 - 认知亚标度 (Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale, ADAS-cog) 测量) 的影响。

[0008] 该试验基于该领域中的一般假设所设计, 所述一般假设是: 根据该领域中广泛接受的明确定义的标准 (例如, 国立神经和交流障碍及中风研究所 - 阿尔茨海默氏病和相关障碍协会 [National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association, NINCDS-ADRDA] 和精神障碍的诊断和统计手册, 第四版 [Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edn, DSMIV]) 确认为具有轻度或中度 AD 的受试者当随机化接受安慰剂治疗臂时预计历经 24 周的研究期限能够衰退。

[0009] 该假设本身是基于先前的文献 (例如, Stern, R. G., Mohs, R. C., Davidson, M., Schmeidler, J., Silverman, J., Kramer-Ginsberg, E., Searcey, T., Bierer, L., Davis, K. L. (1994) A longitudinal study of Alzheimer's disease: measurement, rate, and predictors of cognitive deterioration. *American Journal of Psychiatry*, 151:390-396.; Doraiswamy, P. M., Kaiser, L., Bieber, F., Garman, R. L. (2001) The Alzheimer's Disease Assessment Scale: evaluation of psychometric properties and patterns of cognitive decline in multicenter clinical trials of mild to moderate Alzheimer's disease. *Alzheimer Disease and Associated Disorders*, 15:174-183; Birks, J. (2006) Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Systematic Reviews*(1):CD005593)。

[0010] 该研究的一个重要特征是在随机化时通过由 CAMDEX (Roth, M., Tym, E., Mountjoy, C. Q., Huppert, F. A., Hendrie, H., Verma, S. & Goddard, R. (1986) CAMDEX. A standardised instrument for the diagnosis of mental disorder in the elderly with special reference to the early detection of dementia. *British Journal of Psychiatry*, 149:698-709) 的短版本 (short version) 报告的 CDR (Hughes, C. P., Berg, L., Danziger, W. L., Coben, L. A., Martin, R. L. (1982) A new clinical scale for the staging of dementia. *British Journal of Psychiatry*, 140:566-572; Morris, J. C. (1993) The Clinical Dementia Rating (CDR): Current version and scoring rules. *Neurology*, 43:2412-2414) 确定疾病严重性。因此, 在试验开始时可以将受试者分为“轻度”和“中度”AD 患者。

[0011] 较短持续期试验的问题

[0012] 然而, 如下面本发明的公开内容中所述, 所述假设在所述研究的背景中证实是错误的。具体地, 确认为具有轻度 AD 的受试者当随机化接受安慰剂治疗臂时历经 24 周研究期限不衰退。

[0013] 因此, 本发明人的该意料不到的发现突出了一个在证明轻度和中度 AD 及类似认知障碍中的疾病缓解效能中的新问题。

[0014] 实际上, 在旨在证明 MCI 中的治疗效能的研究中已经有大量的主要大规模临床

试验失败了 (Salloway, S., Ferris, S., Kluger, A., Goldman, R., Griesing, T., Kumar, D. & Richardson, S. (2004) Efficacy of donepezil in mild cognitive impairment—A randomized placebo-controlled trial. *Neurology*, 63 :651-657 ; Johnson and Johnson Pharmaceutical Research and Development. Study synopsis: a randomized double-blind, placebo-controlled trial to evaluate the efficacy and safety of galantamine in subjects with mild cognitive impairment (MCI) clinically at risk for development of clinically probable Alzheimer's Disease (Protocol No. GAL-INT-18), June 17, 2004. http://www.clinicalstudyresults.org/documents/company-study_96_2.pdf ; Petersen, R. C., Thomas, R. G., Grundman, M., Bennett, D., Doody, R., Ferris, S., Galasko, D., Jin, S., Kaye, J., Levey, A., Pfeiffer, E., Sano, M., van Dyck, C. H., Thal, L. J. for the Alzheimer's Disease Cooperative Study Group. (2005) Vitamin E and donepezil for the treatment of mild cognitive impairment. *New England Journal of Medicine* 352, 2379-2388 ; Feldman, H. H., Ferris, S., Winblad, B., Sfikas, N., Mancione, L., He, Y., Tekin, S., Burns, A., Cummings, J., del Ser, T., Inzitari, D., Orgogozo, J.-M., Sauer, H., Scheltens, P., Scarpini, E., Herrmann, N., Farlow, M., Potkin, S., Charles, H. C., Fox, N. C., Lane, R. (2007) Effect of rivastigmine on delay to diagnosis of Alzheimer's disease from mild cognitive impairment: the InDDEX study. *Lancet Neurology* 6 :501-512)。为了允许检测转化成完全临床 AD 的速率差, 这些试验需要运行 2 年以得到足够的统计能力 (statistical power)。不知道这些失败是由于所测试的物质治疗效能的固有缺乏, 还是由于受限于受试者未能衰退的试验设计中的结构性错误 (如针对轻度 AD 在 rember™ 研究中所发现的那样)。

[0015] 较长持续期试验的问题

[0016] 对于本发明人发现的“不衰退”问题, 一个可能的明显的解决方法可能是设计持续期超过 6 个月的研究, 不过这对于上述 MCI 试验没有帮助。根据先前的文献, 估计的从 AD 的 CDR 轻度阶段至 AD 的 CDR 中度阶段的转变时间 (transition time) 约为 1.8-2.8 年 (Galasko, D., Edland, S. D., Morris, J. C., Clark, C., Mohs, R., Koss, E. (1995) The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part XI. Clinical milestones in patients with Alzheimer's disease followed over 3 years. *Neurology*, 45 :1451-1455 ; Hughes, C. P., Berg, L., Danziger, W. L., Coben, L. A., Martin, R. L. (1982) A new clinical scale for the staging of dementia. *British Journal of Psychiatry*, 140 :566-572 ; Devanand, D. P., Jacobs, D. M., Tang, M. X., Del Castillo-Castaneda, C., Sano, M., Marder, K., Bell, K., Bylsma, F. W., Brandt, J., Albert, M., Stern, Y. (1997) The course of psychopathologic features in mild to moderate Alzheimer disease. *Archives of General Psychiatry*, 54 :257-263 ; Daly, E., Zaitchik, D., Copeland, M., Schmahmann, J., Gunther, J., Albert, M. (2000) Predicting conversion to Alzheimer disease using standardized clinical information. *Archives of Neurology*, 57 :675-680 ; Berg, L., Miller, J. P., Storandt, M., Duchek, J., Morris, J. C., Rubin, E. H., Burke, W. J., Coben, L. A. (1988) Mild senile dementia of the Alzheimer type : 2. Longitudinal assessment. *Annals of Neurology*, 23 :477-484)。

衰退速率的差别已经记录在先前的研究中,所述研究使用基线简短精神状态检查表(Mini-Mental State Examination, MMSE) 或 ADAS-cog 得分以及较新的 CDR(Adak, S., Illouz, K., Gorman, W., Tandon, R., Zimmerman, E. A., Guariglia, R., Moore, M. M., Kaye, J. A. (2004) Predicting the rate of cognitive decline in aging and early Alzheimer disease. *Neurology*, 63:108-114)。然而,1 至 3 年的时帧对于进行临床试验而言是不现实的。例如,长的试验持续期引起招募患者进行下述试验的伦理问题,在所述试验中受试者可能用安慰剂治疗一年或更长时间,然而可普遍地利用乙酰胆碱酯酶(AChE) 抑制剂治疗作为备选方案。实际上,在 rember™ 研究的计划中,关于拒绝使患者获取 AChE 抑制剂(例如, Aricept) 超过 6 个月的可接受性这一点,UK 的管理当局提出了伦理忧虑。这意味着,在 rember™ 研究中,在 6 个月后,不得不将安慰剂患者转变为接受活性物臂(active arm)。

[0017] 出于相同的原因,必须将预计在试验的随机化治疗期限的持续期针对开始使用 AD 标记药物(AD-labelled drugs) 具有明确适应症的受试者指定为排除标准。在实践中,该要求将限制对于临床医生认为在试验期限内不会快速衰退的受试者的招募。然而,这使选择偏倚(selection bias), 偏向于疾病缓解效能原则上不能得到证明的受试者。

[0018] 另外,较长的试验(其中患者/护理者察觉到连续的恶化和/或治疗引起的副作用)引起随时间推移非随机中途退出(non-random drop-out) 的问题。这已证明是在评价 AChE 抑制剂效能中的特定问题,甚至在 6 个月的研究中仍然如此。非随机中途退出能够使无效药物的表观效果大小膨胀(inflate), 特别是在使用最近可利用的观察来插补(impute) 漏缺数据的 ITT/LOCF(意向治疗/实施的最后观察(Intention to Treat/Last Observation Carried Forward)) 分析中。已经提出,该偏倚已经被系统地引入到 AChE 抑制剂评价中并且已经被知晓一些时间了(Gray R, Stowe RL, Hills RK, Bentham P. (2001) Non-random drop-out bias: intention to treat or intention to cheat? *Controlled Clinical Trials* 22(suppl 1):38S-39S; Hills R, Gray R, Stowe R, Bentham P. (2002) Drop-out bias undermines findings of improved functionality with cholinesterase inhibitors. *Neurobiology of Aging* 23(suppl 1):Abstract 338; Lavori PW (1992) Clinical trials in psychiatry: should protocol deviation censor patient data? *Neuropsychopharmacology*, 6:39-48; Little R Yau L (1996) Intent to treat analysis for longitudinal studies with drop outs. *Biometrics*, 52:1324-1333.)。相反地,使用 LOCF 数据插补的“适合存活者(fit-survivor)”偏倚的影响被认为对于诸如 AChE 抑制剂的药物而言使表观效果大小膨胀,但是对于旨在稳定疾病进展的药物如 rember™, 所述影响被发现是压缩了表观效果大小,特别是在 50 周的时间点。这是因为,对于 AChE 抑制剂,非随机中途退出在活性物臂中于早期发生,而它在 rember™ 试验的安慰剂臂中于晚期发生。因此,在最小暴露剂量臂(Least Exposed Dose arm) 中连续衰退的受试者在 24 周之后大部分从研究退出了。这能够在 ITT/LOCF 分析中,在 24 周之后,在最小效能治疗臂中的中度组的表观稳定化中最清楚地看出来,由于衰退受试者的退出,其几乎无疑地成为试验假象(trial artefact)。

[0019] 定义疾病缓解治疗

[0020] 除了这些方法学问题之外,在以证明疾病缓解所需要的证据负荷形式来定义什么构成了不同于症状治疗的疾病缓解治疗方面,存在较大的哲学疑问(philosophical

question) (Vellas, B., Andrieu, S., Sampaio, C. & Wilcock, G. (2007) Disease-modifying trials in Alzheimer's disease: a European task force consensus. *The Lancet Neurology*, 6: 56-62)。

[0021] 一种观点集中于当患者从活性物治疗退出时发生了什么。症状药剂 (Symptomatic agents) 延迟疾病症状而不影响基本疾病过程, 在开始一段时间的治疗之后不改变较长期衰退速率。如果在退出之后所述患者回复至他们在不治疗的情况下将会有的情况, 则将该治疗视为症状治疗 (Cummings, J.L. (2006) Challenges to demonstrating disease-modifying effects in Alzheimer's disease clinical trials. *Alzheimer's and Dementia*, 2: 263-271)。

[0022] 在紧密相关的帕金森病 (PD) 研究领域中, 另一种观点是, 所述问题与延迟开始设计 (delayed-start design) 同义 (Clarke, C.E. (2004) A "cure" for Parkinson's disease: Can neuroprotection be proven with current trial designs? *Movement Disorders*, 19: 491-498)。即, 如果较晚随机化接受活性物治疗的患者无论如何都不能赶上较早随机化接受活性物治疗的患者, 则将该治疗视为缓解疾病。

[0023] 第三种观点是, 疾病缓解的概念只不过是关于作用机理的陈述。然而, 在 PD 领域中, 所述讨论依然是理论上的, 因为迄今为止还没有已证实的疾病缓解治疗, 甚至在机理意义上仍然如此 (Parkinson Study Group. (2004) A controlled, randomized, delayed-start study of rasagiline in early Parkinson disease. *Archives of Neurology*, 61: 561-566)。无论选择了什么设计, 试验的结果关键取决于安慰剂治疗臂中的预期衰退速率。MEM-1003 (钙通道调节剂) 的临床试验近来未能证实效能, 其中所述试验与在安慰剂臂中基线 ADAS-cog 得分相比具有 3.2 个单位的改善 (Memory Pharmaceuticals (2007) [http://phx.corporate-ir.net/phoenix.zhtml?c=175500 & p=irol-newsArticle & t=Regular & id=1062734](http://phx.corporate-ir.net/phoenix.zhtml?c=175500&p=irol-newsArticle&t=Regular&id=1062734))。

[0024] 一种方式 (该方式可能似乎是对伦理困难的明显的解决方法) 是使用活性比较剂设计。这是这样的研究设计, 即, 其中使用已存在的 AD 标记治疗 (AD-labelled treatment) (例如, 用 AchE 抑制剂如 Aricept) 稳定的受试者随机化接受另外的使用推定疾病缓解治疗如 rember™ 进行的治疗或随机化接受追加安慰剂的治疗。如下面进一步解释那样, 这种设计的问题是, 已经从 rember™ 研究显露出证据表明, AchE 抑制剂治疗的长期存活者代表排除了衰退者的偏倚选择, 将所述衰退者错误地描述为“响应者 (responders)”。由于在随机化时仍进行活性物治疗的人群是残留衰退率降低的偏倚子集, 不考虑在基线的疾病严重性, 在随机化接受安慰剂 / 比较剂臂的受试者中不衰退的问题再次出现, 并再次妨碍或降低所述试验证明疾病缓解效能的能力。这已经成为显著的问题, 解释了旨在通过 AD 的 β -淀粉样蛋白病理学作用机理证明疾病缓解效能的近来大量研究的失败原因。与 MCI 研究的失败一样, 现在不可能知道这些试验的失败是由于基本原理中的固有错误 (即, β -淀粉样蛋白实际上与 AD 的疾病进展无关), 还是在追加设计中存在妨碍效能证明的结构性错误。

[0025] 明显的是, 这种事件是相当令人不满意的, 它充当了对举出治疗效能证据显著的障碍, 所述治疗在认知障碍如 AD 中, 特别是在早期阶段, 具有缓解疾病进展的可能性。应牢记在心的是, 类似的考虑也适用于旨在证明帕金森病的疾病缓解效能的研究设计。尽管在

该研究中使用了不同的终点（通常使用 UPDRS 标度来测量 PD 相关症状的严重性），但是基本问题是相同的，因为它们来源于神经变性疾病的固有缓慢进行性动力学。

发明内容

[0026] 如上所述，对于认知障碍和其它进行性神经变性障碍而言，在随机化接受安慰剂治疗臂的受试者中衰退的证明对于证明疾病缓解治疗的治疗效能是关键性的。

[0027] 然而，关于为何在进行性神经变性障碍研究中随机化接受安慰剂治疗臂的受试者可能不衰退，基本上存在 3 个主要原因：

[0028] 1. 如上所述，本发明的一个意料不到的发现是，在 rember™ 研究中基本试验设计假设是错误的，即，在基线为 CDR 轻度的患者不显著地衰退，然而 CDR 中度的患者以比预期稍快的速率衰退。这使得不可能证明 rember™ 在基线为 CDR 轻度受试者中的治疗效能。

[0029] 本发明人提出，在疾病的早期阶段，内源性补偿机理（下面在认知障碍情况中称为“认知储备 (cognitive reserve)”），可以起作用以掩盖进行中的疾病进展，使得受试者可以在临床上似乎不衰退。更具体地，使用标准认知评价手段记录患者行为表现 (performance) 的行为提供了受试者关于所使用的测试的学习经验，所述学习经验使受试者在行为上补偿进行中的神经变性。

[0030] 这具有清楚的暗示，例如，在旨在检查在 AD 早期如轻度 AD 或轻度认知缺损 (MCI) 的疾病进展缓解的研究中，因为基本不能历经 24 周研究期限证明效能。然而，显然理想的是能够在疾病早期证明治疗效能，特别是对于主要作用方式是防止神经元破坏（否则所述神经元破坏会由于神经原纤维变性而发生，特别是发生在内侧颞叶 (medial temporal lobe) 脑区域中）的治疗如 rember™ 而言。

[0031] 2. 在疾病晚期，察觉到连续衰退的受试者和他们的护理者从安慰剂治疗臂以偏倚方式退出，在安慰剂 / 比较剂治疗臂中留下富集未衰退者的人群，使得更难以证明在活性物治疗和安慰剂 / 比较剂治疗之间的差别。

[0032] 3. 已经用活性物症状治疗稳定的受试者代表未衰退者人群的偏倚选择。

[0033] 这些偏倚选择和存留假象在证明这些神经变性疾病的疾病进展缓解中同样产生问题。

[0034] 发明人已经分析了在临床试验设定 (clinical trial setting) 中安慰剂组未衰退 (placebo-non-decline) 的这些原因，并且尽管有这些障碍，在本申请中仍提供了新方法以避免这一点，该方法着眼于证明在神经变性疾病情况中治疗是疾病缓解的。

[0035] 本发明一般地涉及证明用于治疗或预防疾病如认知障碍的物质的疾病缓解效能的方法。具体地，本发明涉及在历经对于进行临床试验可行的治疗时没有明显的临床衰退证据，并因此可能妨碍治疗效能检测的情况中，例如认知障碍早期，用于证明疾病缓解治疗效能的改进方法。本发明也涉及可能需要较长试验，但是存在接受安慰剂或最小活性物治疗的受试者的偏倚退出（其同样也可以妨碍治疗效能检测）的情况，例如认知障碍晚期。

[0036] 因此，本发明提供了用于评价在治疗神经变性疾病（例如，认知障碍）中使用的 IMP（试验用医药产品）或具有推定疾病缓解效果的药物的效能的多种方法，所述方法包括以下步骤：

[0037] (1) 根据将来疾病进展的预测指标如临床疾病严重性将受试者组分至少 2 个亚

组,

[0038] (2) 用所述药物治疗每一亚组的一些受试者一段治疗时段,

[0039] (3) 取得每一亚组的生理学和 \ 或心理测验结果测量,

[0040] (4) 将 (3) 的结果与所述亚组的比较剂臂 (comparator arm) 进行比较,

[0041] (5) 对于每一患者组,取得所述药物的效能测量。

[0042] 在下述的本发明方法中进行了测量,设计所述测量以减轻或解决上面强调的可能属于所述受试者组的三个问题中的一个或多个 - 这些测量包括:

[0043] (a) 其适合于疾病严重性和下面考虑的其它因素的试验持续期,

[0044] (b) 可以使用优选的结果测量,例如,脑中病理负荷 (pathological burden) 的评价,

[0045] (c) 对导致适合存活者偏倚的非随机退出进行适当的统计校准,例如,通过使用本申请所述的线性插补法 (linear imputation method)。

附图说明

[0046] 在下面更详细的发明描述和实践中,参照了以下的非限制性附图:

[0047] 图 1. CDR 严重性为轻度和中度的受试者历经 24 周的疾病进展。阴影线 (Shaded lines) 表示得自线性混合作用模型 (linear, mixed-effects model) 的拟合。

[0048] 图 2. 通过 ADAS-cog (A) 或 MMSE (B) 测量的历经 50 周的疾病进展,通过 CDR 严重性分为轻度和中度。阴影线表示得自线性混合作用模型的拟合。

[0049] 图 3. 教育充当脑储备代替物 (proxy of brain reserve),如瑞文推理测验 (RPM, Raven's progressive matrices) (一种认知智力的量度) 所示。测量了历经一年认知功能的改变,在具有超过 9 年学校教育的人中观察到了改善。针对发病前智力、脑负荷和性别调整了方法 (数据来自 Staff et al. 2004)。

[0050] 图 4. 表示脑活性的扫描。将区域表示为具有增加的血流量的活性区域 (白色区域) 或具有减少的血流量的非活性区域 (黑色区域)。将顺利地衰老 (即,未损失脑物质) 的受试者的典型的扫描 (A) 与“认知衰退者”的扫描 (B) 进行比较。

[0051] 图 5. 在轻度和中度受试者中在 24 周时对 rember™ 的治疗响应。对每日给药三次,用安慰剂、低剂量、30mg 或 60mg 治疗的受试者以一定间隔测量 ADAS-cog。

[0052] 图 6. 在阿尔茨海默氏病中 Tau 聚集病理学 (Tau aggregation pathology) 的区域。用点画 (stippling) 的量表示在不同的脑区域中 AD 中的 Tau 聚集程度;较大程度的点画表示较高水平的病理学。

[0053] 图 7. 不同诊断组的典型的 SPECT 扫描表现 (scan appearances)。每组图像显示冠状 (coronal) (左上)、矢状 (sagittal) (右上) 和经轴 (transaxial) (左下) 视图。图像的上部板块显示 SPECT 灌注扫描;最高活性区域显示为白色。通常通过使用色标 (colour scale) 鉴别灌注区域,在没有色标的情况下难以将这些区域与非活性区域区别开。因此,在下部板块中鉴别出具有 rCBF 活性的区域。在下部板块中示出“负 (negative)”血流量图像 (即,具有活性的灰色区域提高至最高灌注的白色区域)。正常受试者 (A) 的图像在 SPECT 灌注图像上显示两侧对称的活性,在额叶、颞叶、顶叶和枕叶的皮质灰质 (cortical grey matter) 中具有最高活性。不存在缺陷 (deficits) 或吸收减少区域 (regions of

reduced uptake)。“可能的”AD 图像 (B) 仅显示更细微的后部颞 - 顶缺陷 (posterior temporo-parietal defects), 在皮质的剩余部分中没有其它缺陷或吸收减少区域。“很可能的”AD 图像 (C) 显示在颞 - 顶皮质联合区 (temporo-parietal association cortex) 中的后部缺陷, 其有时可以是单侧的, 以及在皮质的剩余部分中未显示其它缺陷或吸收减少区域。血管性痴呆图像 (D) 显示对应于一个或多个已知血管分布区的杂凑 (patchy) 的灌注缺陷, 不包含特征为 AD 的后部颞 - 顶缺陷。混合的图像 (E) 显示血管性痴呆和 AD 特征的组合。

[0054] 图 8. 兴趣区分析, 以轴向、矢状和冠状视图的形式表示。区域显示为: 额叶皮质 (frontal cortex) (1); 顶叶皮质 (parietal cortex) (2); 颞叶皮质 (temporal cortex) (3); 枕叶皮质 (occipital cortex) (4) 和小脑 (cerebellum) (5)。

[0055] 图 9. 在基线 ADAS-cog 严重性和基线脑血流量之间具有显著相关性的 ITT/OC 区域。这些相关区域显示为变白的区域; 相关性越大, 则所述区域越白。阈值 (Threshold) 设为 $p < 0.001$, 针对多重比较以 $p < 0.05$ 校准, 簇 (cluster) 和体元 (voxel) 均显著。

[0056] 图 10. 在用安慰剂治疗的在基线为 CDR 轻度的受试者的基线和访问 4 之间显著衰退的 ITT/OC 部位。这些衰退区域显示为变白的区域; 衰退的越多, 则所述区域越白。SPM 分析显示出访问 4 的 rCBF 比访问 1 的 rCBF 明显较少的区域。差别阈值设定为 $p < 0.005$, 针对多重比较以 $p < 0.05$ 校准, 簇和体元均显著。

[0057] 图 11. 在基线 CDR 轻度受试者中 rCBF 的 ITT/OC 变化。在标有“*”的区域中 30/60mg 组相对于安慰剂的治疗效果是显著的。在标有“#”的区域中低剂量 (100mg) 组相对于安慰剂的治疗效果是显著的。如下表示脑区域: RTL (右颞叶)、RPL (右顶叶)、ROL (右枕叶)、RFL (右额叶)、LTL (左颞叶)、LPL (左顶叶)、LOL (左枕叶)、LFL (左额叶)。

[0058] 图 12. 用安慰剂治疗的 CDR 轻度受试者和用 rember™ (30/60mg, 一日三次) 治疗的 CDR 轻度受试者相比较的在基线和访问 4 之间具有治疗依赖性衰退差别 (treatment-dependent difference in decline) 的 ITT/OC 部位。这些具有差别的区域显示为变白的区域; 差别越大, 则所述区域越白。差别阈值设定为 $p < 0.005$, 针对多重比较以 $p < 0.05$ 校准, 体元和簇均显著。

[0059] 图 13. 用安慰剂治疗的 CDR 轻度受试者和用 rember™ (低剂量, 100mg) 治疗的 CDR 轻度受试者相比较的在基线和访问 4 之间具有治疗依赖性衰退差别的 ITT/OC 部位。这些具有差别的区域显示为变白的区域; 差别越大, 则所述区域越白。差别阈值设定为 $p < 0.005$, 针对多重比较以 $p < 0.05$ 校准, 体元和簇均显著。

[0060] 图 14. 在 rCBF 变化和 ADAS-cog 变化之间具有显著相关性的区域的 ITT/OC 部位。这些具有相关性的区域显示为变白的区域; 相关性越大, 则所述区域越白。SPM 分析显示了这样的区域, 即, 其中从基线至访问 4 在活性物治疗受试者中的变化与从基线至访问 5 在 ADAS-cog 得分中的变化显著相关。差别阈值设定为 $p < 0.005$, 针对多重比较以 $p < 0.05$ 校准, 簇和体元均显著。

[0061] 图 15. 示出用 rember™ (60mg, 一日三次) 治疗 4 个月之后颞叶中的葡萄糖摄取有所改善的冠状切面 (coronal section) 的 PET 图像。左边的图像是受试者在基线的图像 (A), 右边的图像是相同受试者在治疗 4 个月之后的图像 (B)。箭头指向治疗后在海马结构 / 内嗅皮层中增加的葡萄糖摄取。

[0062] 图 16. 在基线处为 CDR 轻度和 CDR 中度的受试者中 ITT/LOCFADAS-cog 从基线的变化和拟合曲线。以一定间隔测量的用一日给药三次的安慰剂、低剂量、30mg 或 60mg 治疗的受试者的 ADAS-cog。

[0063] 图 17. 在安慰剂-低剂量臂中先前已经进行了 AD 标记治疗 (AD-labelled treatment) 的受试者或在试验前未治疗过的受试者的通过 ADAS-cog (A) 和 MMSE (B) 得到的衰退速率。

[0064] 图 18. 先前用 AD 标记药物治疗过的受试者和首次治疗 (treatment-naive) 的受试者相比较的具有显著血流量差别的区域的 IIT/OC 部位。这些具有差别的区域显示为变白的区域;差别越大,则所述区域越白。差别阈值设定为 $p < 0.005$, 针对多重比较以 $p < 0.05$ 校准,体元和簇均显著。

[0065] 图 19. ITT/OC ADAS-cog 从基线的变化和拟合曲线。将在基础研究期间接受安慰剂的受试者在扩展期 E1 (extension phase E1) 期间转为低剂量 (100mg) 并指定为“placlo”。宽阴影线是推断的安慰剂衰退。placlo 和推断安慰剂的拟合近似性表明 100mg 剂量历经 24 周的效果较小。

[0066] 图 20. 在 Braak 期和平均 MMSE 得分之间的关系,根据 Mukaetova-Ladinska et al 2000 进行了改变。在这种研究中,根据四个临床严重性阶段将数据分组,所述四个临床严重性阶段通过 Cambridge Mental Disorders of the Elderly Examination (CAMDEX) 评级体系确定。更常用的基于 MMSE 割点的相应的临床严重性等级与 MMSE 得分一起显示在相同的轴上。

[0067] 图 21. 得自 Ohm et al. (1995) 和本发明人分析的按年龄计的 Braak 期概率分布。

[0068] 图 22. 在美国按年龄计在每一 Braak 期的预计人数。得自 Ohm et al. (1995) 和 U. N. World Population Prospects Population Database, 2004, 连同本发明人的分析。

[0069] 图 23. 按 Braak 期在美国的累积个体数。得自 Ohm et al. (1995) 和 U. N. World Population Prospects Population Database, 2004, 连同本发明人的分析。

[0070] 图 24. 随时间推移在 Braak 期和认知缺损之间的关系。从 Braak 1 期进行至 Braak 6 期估计花费约 50 年。在转变至 Braak 1 期后 MMSE 得分从 30 转变至小于 20 花费约 30 年,在约 Braak 4 期发生。

[0071] 图 25. 随时间推移在认知缺损、聚集 Tau 的累积和 Tau 介导的神经元破坏之间的关系。对内嗅皮层 (e. r. c.) 和海马 (hippo.) (疾病过程的两个早期损害部位) 以及新皮质 (皮质) (其中 PHF 累积发生得晚的多且更缓慢) 示出了上述关系。

[0072] 图 26. 在用 rember™ (60mg, 一日三次, 或 100mg, 一日三次) 治疗了 18 周的受试者中葡萄糖摄取相对于基线显著增加的区域。在标度上示出的 t- 值阈值为 $p < 0.005$ 。在校准 (针对横越整个头部 (体元水平) 多重比较) 之后,在左内侧颞叶中的簇是显著的 ($p < 0.05$)。当仅针对内侧颞叶中的部位将数据小体积校准时,两个内侧颞叶簇均显著。示出的 t- 值图 (t-value map) 重叠在 PET 模板上以显示具有差别的近似部位。

[0073] 图 27. 相对于安慰剂,在用 rember™ (60mg, 一日三次, 或 100mg, 一日三次) 治疗了 18 周的受试者中葡萄糖摄取有差别的区域。在标度上示出的 t- 值阈值为 $p < 0.005$ 。在校准 (针对横越整个头部 (体元水平) 多重比较) 之后,在左内侧颞叶中的簇是显著的 ($p < 0.05$)。当仅针对内侧颞叶中的部位将数据小体积校准时,两个内侧颞叶簇均显著。示出

的 t- 值图重叠在单一 MRI 扫描上以显示具有差别的近似部位。

具体实施方式

[0074] 现在将更详细地讨论与本发明实践有关的一些因素：

[0075] 因此，在本发明的一个方面，提供了用于评价在治疗认知障碍中使用的药物的效能的方法，所述方法包括以下步骤：

[0076] (1) 根据可能的疾病进展 (likely disease progression) 的基线指标 (baseline indicator) 如疾病严重性将受试者组分成至少 2 个亚组，

[0077] (2) 用所述药物治疗每一受试者组的成员一段治疗时帧，

[0078] (3) 取得每一治疗患者组的心理测验结果测量和任选的生理学结果测量，

[0079] (4) 将 (3) 的结果与所述亚组的比较剂臂进行对比，

[0080] (5) 使用 (4) 中的比较取得所述药物的效能测量。

[0081] 本发明方法一般地涉及用于测试药物 (或推定的药物，例如，试验用医药产品 (IMP)) 的临床试验，不过本发明方法也可以用于管理治疗，由此同时也测试或比较使用所述药物的新治疗方案的效能。

[0082] 因此，本申请的方法可以用于实施临床试验，或用于提供实施所述试验的体系。

[0083] 所述方法特别适于提供临床效能证据，所述临床效能证据适于满足适当的上市管理标准，例如，美国食品和药品管理局 (US Food and Drug Administration, FDA) 或欧洲医药产品评价机构 (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, EMEA) 所要求的标准。

[0084] 现在将更详细地考虑本发明方法的一些要素。

[0085] 疾病缓解药物

[0086] 在本发明方法中，所述药物通常为所起作用与症状缓解不同的推定“疾病缓解”的药物。这种推定性质可以起初例如在所述障碍的病因学上基于已知或预料的效果推知。如本申请中在别处所述，疾病缓解也可以从临床证据推知，例如，如果退出治疗后，患者回复至他们在不治疗的情况下将会有的情况，则可以将该治疗视为症状性治疗，而非疾病缓解。可选择地，如果较晚随机化接受活性物治疗的患者无论如何不能赶上较早随机化接受活性物治疗的患者，则将该治疗视为缓解疾病。

[0087] 本发明方法特别适用于推定的病理学蛋白质聚集抑制剂，其中所述聚集与神经变性有关。在这种情况下，与疾病有关的蛋白质经历诱发的构象聚合相互作用 (induced conformational polymerisation interaction)，即，其中所述蛋白质的构象变促使 (seed) 其它蛋白质分子以自增长的方式进行的结合和聚集。一旦开始成核，可以接着发生包括其它蛋白质分子的诱发构象聚合的聚集级联，所述构象变化可以使得聚集物更耐受进一步蛋白质水解。这样形成的蛋白质聚集物被认为是这类疾病的神经变性、临床痴呆和其它病理学症状的最接近的原因。

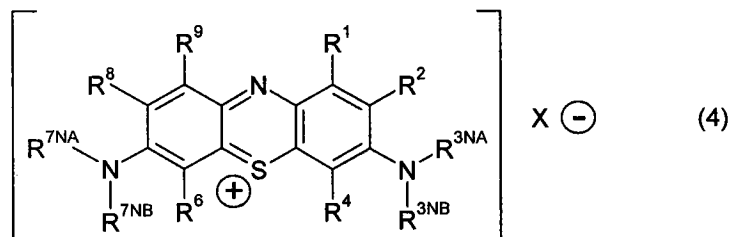
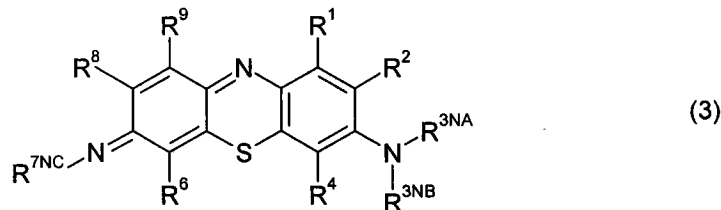
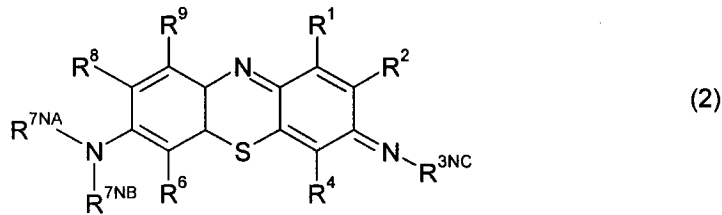
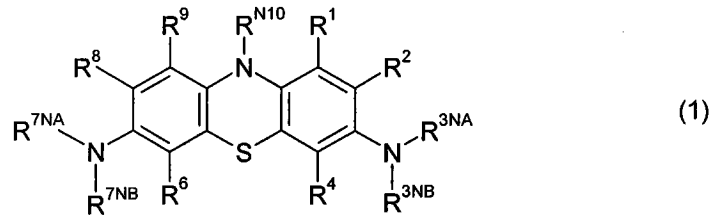
[0088] 这种蛋白质的实例包括 tau 蛋白，突触核蛋白。本领域很多人认为 β -淀粉样蛋白也落入了该类。

[0089] 这种蛋白质的聚集抑制剂 (即，推定药物治疗) 例如描述于 W096/030766；W002/055720；W02007/110627；W003/007933；W02006/032879；W02007/110629；在先提交的

(未公开的)US 60/945006 ;在先提交的(未公开的)PCT/GB2007/002570 中。然而,本发明方法可一般地适用于在治疗神经变性障碍中使用的任何药物。

[0090] 因此,本发明适用的一种示例性抑制剂是 DAPTZ 化合物如 MTC,如上面交叉引用的公开内容中所述。实例包括具有下式中的任意结构的 DAPTZ 化合物及其类似物和它们所有的可药用盐、水合物和溶剂化物:

[0091]



[0092] 其中 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^6 、 R^8 和 R^9 各自独立地选自:

[0093] -H;

[0094] - 卤素 (包括 -F; -Cl; -Br; -I)

[0095] -OH; -OR;

[0096] -SH; -SR;

[0097] -NO₂;

[0098] - 羧基 (包括: -C(=O)R)

[0099] -C(=O)OH; -C(=O)OR; -C(=O)NH₂; -C(=O)NHR; -C(=O)NR₂; -C(=O)NR^{N1}R^{N2};

[0100] -NH₂; -NHR; -NR₂; -NR^{N1}R^{N2};

[0101] 其中在独立的每个基团 -NR^{N1}R^{N2} 中, R^{N1} 和 R^{N2} 与它们连接的氮原子一起形成具有 3 至 7 个环原子的环;

[0102] -NHC(=O)H; -NRC(=O)H; -NHC(=O)R; -NRC(=O)R;

[0103] -R;

[0104] 其中 R 各自独立地选自:

[0105] 取代或未取代的烷基或卤代烷基（包括未取代的脂族 C₁₋₆ 烷基；取代的脂族 C₁₋₆ 烷基（包括卤化烷基））；

[0106] 未取代的脂族 C₂₋₆ 烯基；取代的脂族 C₂₋₆ 烯基；

[0107] 未取代的 C₃₋₆ 环烷基；取代的 C₃₋₆ 环烷基；

[0108] 未取代的 C₆₋₁₀ 碳芳基 (carbaryl)；取代的 C₆₋₁₀ 碳芳基；

[0109] 未取代的 C₅₋₁₀ 杂芳基；取代的 C₅₋₁₀ 杂芳基；

[0110] 未取代的 C₆₋₁₀ 碳芳基 -C₁₋₄ 烷基；取代的 C₆₋₁₀ 碳芳基 -C₁₋₄ 烷基；

[0111] 其中，

[0112] 在每个基团 -NR^{3NA}R^{3NB} 中，如果存在，则 R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立地为 H；-OH；羧基；烷氧基；或如上面对于 R 所定义；或者 R^{3NA} 和 R^{3NB} 与它们连接的氮原子一起形成具有 3 至 7 个环原子的环；

[0113] 在每个基团 -NR^{7NA}R^{7NB} 中，如果存在，则 R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地为 H；-OH；羧基；烷氧基；或如上面对于 R 所定义；或者 R^{7NA} 和 R^{7NB} 与它们连接的氮原子一起形成具有 3 至 7 个环原子的环；

[0114] 在每个基团 =NR^{3NC} 中，如果存在，R^{3NC} 独立地为 H；-OH；羧基；烷氧基或如上面对于 R 所定义；

[0115] 在每个基团 =NR^{7NC} 中，如果存在，R^{7NC} 独立地为 H；-OH；羧基；烷氧基或如上面对于 R 所定义；

[0116] R^{N10}，如果存在，独立地为 H；-OH；羧基；烷氧基或如上面对于 R 所定义；

[0117] X⁻，如果存在，为一个或多个阴离子抗衡离子以实现电中性。

[0118] 如上所示，该化合物可以为氧化或还原形式，以及可以为高纯度的和改良的剂型。因此，这包括（非限制性地）：

[0119] ● 甲基硫堇鎓 [MT, Methylthionium] 及其所有盐（包括无色形式或‘游离碱’的单盐酸盐或二元酸衍生物 (mono-chloride salts and di-protic acidderivatives of leucoform or ‘free base’))。

[0120] ● 乙基硫堇鎓 [ET] 及其所有盐（包括氯化物、溴化物和硝酸盐）

[0121] ● 二乙基甲基硫堇鎓及其所有盐（包括氯化物 [DEMTTC]）

[0122] ● 二甲基乙基硫堇鎓及其所有盐（包括氯化物 [DMETC]）

[0123] ● 二乙基乙基硫堇鎓及其所有盐（包括氯化物 [DEETC]）

[0124] ● 二甲基甲基硫堇鎓及其所有盐（包括氯化物 [DMMTC]）

[0125] 然而，应明白的是，本申请的公开内容适用于其它疾病缓解治疗。

[0126] 神经变性障碍

[0127] 本发明方法可应用的示例性疾病（例如，其特征在于病理性蛋白质聚集）包括阿尔茨海默氏病、MCI、运动神经元病、额 - 颞痴呆 (fronto-temporal dementia) 以及相关的所谓 tau 病变 (tauopathies) 和路易体病 (Lewy body disease)。而且，神经变性障碍如皮克病 (Pick's disease) 和进行性核上性麻痹的发病似乎分别与病理性截短的 tau 聚集物 (pathological truncated tau aggregates) 在新皮质的齿状回和星形锥体细胞中的累积有关。

[0128] 典型的神经变性疾病是认知障碍，最典型的是进行动力学相对缓慢的认知障碍。

[0129] 认知障碍的实例包括轻度和中度 AD, 以及 MCI。

[0130] 尽管在文献中仍有关于 MCI 概念的本质的讨论 (参见 Gauthier et al., Lancet. 2006 ;367 :1262-1270 ;Petersen RC et al. Neuropathological features of amnesic mild cognitive impairment. Arch Neurol 2006 ;63 :665-672), 但 MCI 被 FDA 认为是有效的疾病靶标。MCI 如下定义: 具有较小程度的认知缺损但尚未满足痴呆诊断的临床标准。

[0131] 综合征性 MCI (syndromal MCI) 的代表性标准包括下列特征:

[0132] A. 患者既不正常也不痴呆。

[0133] B. 存在有关认知恶化的证据, 所述认知恶化通过客观测量的随时间推移而发生的衰退和 / 或自己和 / 或答问人 (informant) 主观报告的衰退以及客观认知测试 (例如若是记忆则是二级测试) 来显示。

[0134] C. 保持日常生活活动并且复杂的工具操作能力 (complex instrumental function) 是未受损或最低程度受损的。

[0135] (也参见 Winblad, B. et al. (2004) Mild cognitive impairment-beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. J. Intern. Med. 256 :240-246)。

[0136] 如上所用的术语“痴呆 (dementia)”是指最广义上的精神病症, 其如在美国精神病学协会: 精神障碍的诊断和统计手册, 第四版, Washington, D. C., 1994 (American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Washington, D. C., 1994) (“DSM-IV”) 中所定义。DSM-IV 将其特征在于包括记忆缺损在内的多种认知缺陷, 并且按照所假定的病因学而列出了各种痴呆。DSM-IV 描述了普遍接受的用于对痴呆和相关精神障碍进行诊断、分类和治疗的标准。

[0137] MCI 可以是“遗忘性”的。

[0138] 一种优选的定义是, 患有遗忘性 MCI 的个体具有在对照受试者的 0.5 标准偏差内的一般认知测量结果 (general cognitive measures), 并且还具有一比对照受试者低 1.5 标准偏差的记忆行为表现。客观的有记录的记忆衰退可用于确定哪个个体患有 MCI。

[0139] “非遗忘性 MCI”或“其它 MCI”可被定义为在两个或更多个认知领域中比平均值低 1.5 标准偏差以上 (针对年龄和教育进行了校准) 的缺陷。

[0140] 对其可优选使用本发明的 MCI 受试者可以是 MMSE 小于或等于 24、25、26、27、28 或 29 的 MCI 受试者, 更优选为 MMSE 小于或等于 24、25、26 的 MCI 受试者, 最优选为 MMSE 小于或等于 24 或 25 的 MCI 受试者。

[0141] 在一个方面, 所述障碍是帕金森病。尽管在该研究与 AD 相比使用了不同的终点 (通常使用 UPDRS 标度来测量 PD 相关症状的严重性), 但是基本问题是相同的, 因为它们来源于所述疾病的本质上的缓慢进行。

[0142] 可能的疾病进展的受试者组和预测指标

[0143] 所述受试者组通常为使用常规标准 (例如, 国立神经和交流障碍及中风研究所 - 阿尔茨海默氏病和相关障碍协会 [NINCDS-ADRDA]; 美国精神病学协会: 精神障碍的诊断和统计手册, 第四版, Washington, D. C., 1994 [“DSM-IV”]) 诊断患有所述障碍的患者。

[0144] DSM-IV 描述了普遍接受的用于对痴呆和相关精神障碍进行诊断、分类和治疗的标准。

[0145] 在本发明方法中,将受试者组本身根据可能的疾病进展的基线指标分组。所述基线指标本身可以依据疾病严重性进行评价。

[0146] 优选的是,在 AD 中,使用所谓的临床痴呆评级 (CDR) 标度评价疾病严重性 (Hughes, C. P., Berg, L., Danziger, W. L., Coben, L. A., Martin, R. L. (1982) A new clinical scale for the staging of dementia. *British Journal of Psychiatry*, 140 :566-572; Morris, J. C. (1993) The Clinical Dementia Rating (CDR) :Current version and scoring rules. *Neurology*, 43 :2412-2414)。

[0147] 所述 CDR 可以任选地通过有客观标准的临床检查 (structured clinical examination) 进行报告,例如, CAMDEX (Roth, M., Tym, E., Mountjoy, C. Q., Huppert, F. A., Hendrie, H., Verma, S. & Goddard, R. (1986) CAMDEX. A standardised instrument for the diagnosis of mental disorder in the elderly with special reference to the early detection of dementia. *British Journal of Psychiatry*, 149 : 698-709) 的短版本。可选择地,CDR 可以通过如 Hughes et al. (1982) 或 Morris (1993) 定义的有客观标准的精神检查 (structured psychiatric interview) 进行报告。

[0148] 例如,亚组可以由 CDR 评级为 1 (轻度亚组) 或 2 (中度亚组) 的受试者组成。

[0149] 疾病严重性也可以例如使用 WO 02/075318 中所述的“Braak 分期”方法进行评价。然后亚组可以由 Braak 期最高为 1 期、2 期、3 期和 4 期等的受试者组成。

[0150] 所述亚组通常将进行平行测试。

[0151] 应了解的是,本申请使用的术语“治疗”在治疗病症的背景中通常涉及处置和治疗人类 (其中实现一些希望的治疗效果,例如,抑制所述病症的进行),以及包括降低进行速率、停止进行、病症的消退、病症的改善和病症的治愈。也包括作为预防措施的治疗 (即,预防、防止),其在该专利申请的上下文中可以包括治疗 MCI 或轻度至中度 AD,以抑制在 AD 晚期中在对记忆功能关键的脑结构中发生的不可逆的损害。

[0152] 受试者可以选自先前没有用活性物症状治疗进行稳定的人。如果试验中包括这种受试者,首先应通过在随机化接受疾病缓解治疗之前使用磨合观察期 (run-in observation period) 来确定他们在活性物症状治疗中的衰退速率,以确定在症状治疗中的实际衰退速率,然后将他们在治疗臂和比较剂臂之间随机化。

[0153] 治疗时帧

[0154] 如上所述,本发明特别适用于进行相对缓慢的神经变性疾病。

[0155] 如下所述,治疗时帧可以基于亚组的疾病严重性进行选择。对于根据本发明的临床试验,典型的时帧可以为超过或等于 12 周、16 周、24 周、25 周、36 周、50 周、100 周 (或超过或等于 3 个月、4 个月、6 个月、9 个月、12 个月、24 个月等)。取决于所选择的时帧,本发明提供了新的测量或分析的使用以取得更准确的药物效能测量。

[0156] 优选的试验可以少于上面的时期,例如,少于 9 个月、6 个月、5 个月、4 个月或 3 个月。

[0157] 例如对于较短的时标 (time scale),以及例如在基线处具有相对低的疾病严重性的患者中 (其中通过心理测验结果测量所测得的认知衰退可以被认知储备所掩盖),使用

另外的生理学结果测量和 \ 或更敏感的心理测验结果测量可能是优选的。

[0158] 其它试验可以为超过 6 个月或 12 个月。

[0159] 例如,对于较长的时标(以及例如,在基线具有相对高的疾病严重性的患者中,其中“适合存活者 (fit survivor)”假象更可能发生),对每一中断治疗的个体使用线性插补法以校准对中断影响的分析可能是优选的。

[0160] 对于所述亚组,时帧可以相同或不同。

[0161] 心理测验结果测量

[0162] 在所述方法中使用的心理测验结果测量可以是被适当的管理主体接受的常规的心理测验结果测量。

[0163] 对于 AD,优选的是阿尔茨海默氏病评价标度 - 认知亚标度 [ADAS-cog] (Rosen WG, Mohs RC, Davis KL. A new rating scale for Alzheimer ' s disease. Am J Psychiatry. 1984 Nov ;141(11) :1356-64)。

[0164] 另一种标准化测试是简短精神状态检查表 [MMSE],其被作为用于对认知功能进行分级的简单且快速的执行方法而提出 (Folstein MF, Folstein SE &McHugh PR. 'Mini-mental state'. A practical method for grading the cognitivestate of patients for the clinician. Journal of Psychiatric Research 1975 12189-198)。MMSE 是最广泛使用的用于在年老患者和精神病患者中检测痴呆所致认知功能障碍的认知筛选手段 (Tombaugh TN & McIntyre NJ. The mini-mental state examination : a comprehensive review. Journal of the AmericanGeriatric Society 1992 40 922-935)。MMSE 对定位功能、记忆功能、注意力功能和语言功能进行评价。

[0165] 如下所述,心理测验结果测量的评价或分析可以包括在中断治疗的各个受试者的可利用的心理测验得分上实施线性插补分析的步骤。这可以包括拟合至所述得分(例如, ADAS-cog 变化得分)的图表的直线每受试者外推 (straight line per-subject extrapolation)。

[0166] 如下所述,也可以使用更敏感的心理测验测量,这些更敏感的心理测验测量可以容许较短的测试间隔。

[0167] 生理学结果测量

[0168] 如本申请所述,除了心理测验测试之外,本发明人提供了神经生理学结果测量的使用,例如,通过分析在功能性脑扫描 (functional brain scans) 中的变化的使用。当甚至测试相对短的时限(例如,3 个月或 4 个月)时,这提高了疾病缓解治疗的分析敏感性。

[0169] 扫描可以使用 SPECT(单光子发射断层扫描术)(用配体 ^{99m}Tc-HMPAO),或者通过 PET(正电子发射断层扫描术)使用 18 氟代 - 脱氧葡萄糖 (FDG) 测量的在 AD 的颞 - 顶相关新皮质中脑葡萄糖摄取的减少。

[0170] 使用该扫描用于诊断(参见例如 Talbot, P. R., Lloyd, J. J., Snowden, J. S., Neary, D., Testa, H. J. (1998) A clinical role for 99mTc-HMPAO SPECT in the investigation of dementia? Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 64 :306-313. ;Masdeu, J. C., Zubietta, J. L., Arbizu, J. (2005) Neuroimaging as a marker of the onset and progression of Alzheimer' s disease. Journal of the Neurological Sciences, 236 :55-64) 和用于检查对治疗的反应 (Venneri, A., Shanks,

M. F., Staff, R. T., Pestell, S. J., Forbes, K. E., Gemmell, H. G., Murray, A. D. (2002) Cerebral blood flow and cognitive responses to rivastigminetreatment in Alzheimer' s disease. *NeuroReport* ;13 :83-87) 一般是本领域公知的。

[0171] 应理解的是,除了这些技术之外,可以使用允许直接测量脑中的病理负荷的任何其它可适用的方法。

[0172] 然而,高度意外的事实是,该方法(迄今为止通常在患者中用于诊断或其它用途,证明响应于治疗或疾病进展的认知变化)也可应用于检测治疗效能,甚至在疾病缓解治疗没有明显临床益处的情況中。

[0173] 因此,在本发明中,将在随机化时或在即将随机化之前(优选为少于3个月),即,在用所测试的药物,或比较治疗(安慰剂,或者其它剂量或药物)治疗之前,扫描受试者。

[0174] 然后,在治疗后或在治疗期间,但优选的是在6个月内,进行一次或多次后续扫描。

[0175] 因此,在这种实施方式中,所述方法包括使用诸如 SPECT 或 PET 的方法测量在用安慰剂或其它比较剂治疗的受试者中功能性脑扫描的变化,并与接受活性物治疗的这些受试者进行比较。治疗效果可以通过兴趣区(ROI)分析或统计学参数(SPM)分析证明。可以对每一脑叶建立标准化 ROI 并分成半球(针对额叶、顶叶、颞叶和枕叶(8个 ROI)以及小脑(参见例如,图8))。可以将得自最初的八个区域中的每个区域的计数相对于小脑中的计数归一化,以对个体间差异和药物的非特异性药理学效果进行修正。可以将8个 ROI 的这些归一化计数进一步简化成从主成份分析计算的单一每受试者参数(single per-subject parameter),所述主成份分析提供一般每受试者因子(general per-subject factor)并分别地解释了叶特异性差异(lobe-specificvariance),将所述单一每受试者参数归一化成值1,标准偏差为0.15。

[0176] 如下面在实施例中所示,在功能性脑扫描上观察的衰退是六个月以后在 CDR 轻度组中出现的未来的临床衰退的前兆。这有力地支持以下结论:疾病进展的心理测验测量被认知储备能力所混淆,特别是在属于 CDR 轻度类别中的疾病阶段。

[0177] 因此,(3)的生理学结果测量可以是上述的任何生理学结果测量。

[0178] 比较剂臂

[0179] 在对亚组进行随机化后,将在每一亚组中选择一些受试者用于比较剂治疗。优选地,这将是试验的安慰剂(非治疗)或最小效能比较剂臂。然而,在停止已经存在的治疗是不合伦理的情况下,可选择的设计包括随机化接受可选择的活性物治疗臂(单一地或以预定组合的形式)。

[0180] 最终效能测量

[0181] 通常,这终究将基于心理测验结果,基于适当的统计方法以比较相关的治疗和安慰剂臂。这可以任选地为 ANCOVA 或线性混合作用法(linear-mixed effects approach)(如果需要达到更多能力(power))(Petkova, E. and Teresi, J. (2002) Some statistical issues in the analysis of data from longitudinal studies of elderly chronic care populations. *Psychosomatic Medicine*, 64 :531-547),如下面在实施例中所示。也可以在最终分析中使用生理学结果测量。证明在这方面的效能的适合的临床终点可以由本领域技术人员依据本发明公开内容进行选择。

[0182] 明确地,效能可以在随机化接受以指定剂量进行活性物治疗的受试者和接受比较剂治疗、剂量或安慰剂的受试者之间具有统计学上的显著差别的情况下得到证明。

[0183] 示例性实施方式

[0184] 因此,在一种实施方式中,将受试者组分成轻度 AD(CDR = 1) 和中度 AD(CDR = 2)。另一亚组可以为轻度认知缺损(由达成一致的临床标准(agreed clinical criteria)定义的或 CDR = 0.5 的 MCI)。

[0185] 在 MCI 和轻度 AD 亚组中,依据本申请所述的结果,所述时帧可能不足以预料在心理测验结果测量中的衰退(例如,少于 6 个月)。

[0186] 因此,除了心理测验结果测量之外,还使用了生理学结果测量。对于轻度 AD,这些可以在最长 6 个月的时帧(例如,3 至 4 个月)中使用,甚至更长(6-12 个月,对于 MCI)。如本申请所示,通过该测量证明的效能能够预测未来使用临床心理测验终点的效能。

[0187] 在轻度或中度 AD 中,可以预计,历经 6 个月可以产生有限或不明显的治疗效能,但是产生了生理学效能证据的推定疾病缓解治疗的剂量强度历经 12 个月具有临床心理测验治疗效能。

[0188] 在另一种实施方式中,所述亚组(MCI、轻度 AD,最优选为中度 AD)和时帧达到了依据本申请所述的结果预计在心理测验结果测量中衰退的那样。在通过 CDR 定义的轻度 AD 中,所述试验最佳地应进行 12 个月的时限,以证明临床终点,例如基于认知手段如 ADAS-cog 与安慰剂的显著差异。

[0189] 对于现有技术领域中的技术人员明显的是,如果使用更敏感的早期认知衰退指标,则所述心理测验测试间隔可以较短,例如延迟配对样本程序(delayed match to sample procedure)或对偶联合学习(paired-associates learning)(Fowler, K. S., Saling, M. M., Conway, E. L., Semple, J. S. & Louis, W. J. (1995) Computerised delayed matching-to-sample and paired associate performance in the early detection of dementia. *Applied Neuropsychology* 2:72-78; Fowler, K. S., Saling, M. M., Conway, E. L., Semple, J. S. & Louis, W. J. (1997) Computerised neuropsychological tests in the early detection of dementia: prospective findings. *Journal of the International Neuropsychological Society* 3:139-146; Swainson, R., Hodges, J. R., Galton, C. J., Semple, J., Michael, A., Dunn, B. D., Iddon, J. L., Robbins, T. W. & Sahakian, B. J. (2001) Early detection and differential diagnosis of Alzheimer's disease and depression with neuropsychological tasks. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 12:265-280) 或双任务范例(dual-task paradigm)(Blackwell, A. D., Sahakian, B. J., Vesey, R., Semple, J. M., Robbins, T. W. & Hodges, J. R. (2003) Detecting dementia: novel neuropsychological markers of preclinical Alzheimer's disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 17, 42-48) 或其它含这些作为要素的更复杂的心理测验组合(例如 CANTAB[剑桥计算机化神经心理测试自动化组合(Cambridge Computerised Neuropsychological Test Automated Battery)], CANTAB PALT[CANTAB 对偶联合学习(CANTAB Paired Associates Learning)], CNTB[计算机化神经心理测试组合(Computerised Neuropsychological Test Battery)]和认知药物研究计算机化评价体系(Cognitive Drug Research Computerised Assessment System))。

[0190] 在通过 CDR 定义的中度 AD 中,所述试验最佳地应进行 6 个月,因为具有较长持续期的试验面临随机化接受安慰剂或最小效能对比治疗臂的中度受试者非随机退出的危险,从而妨碍或混淆治疗效能证明。

[0191] 在中度 AD 中,在历经长于 6 个月的期限进行所述试验,以基于临床心理测验结果测量证明维持疾病缓解效能的情况下,可以通过本申请所述的线性插补法校准导致适合存活者偏倚的非随机退出,而不会引入偏倚和不会使估计的效果大小膨胀。

[0192] 因此,在本申请所述的方法中(其中所述时帧足以预计在心理测验结果测量中的衰退,但是不足够短以减轻非随机退出的影响),则通过本申请所述的线性插补法(而不是更常规的 LOCF 法)对该退出进行校准。这有助于所谓的“适合存活者偏倚”的校准。

[0193] 因此,在任何受试者中断治疗的情况中,所述方法利用拟合至该受试者可利用的心理测验得分(例如,ADAS-cog 变化得分)相对于所述可利用数据的访问日期的图表的直线外推(straight line extrapolation)。优选地,不强行使所述线通过零点。

[0194] 应注意的是,在轻度 AD 中如果在期限内未记录到衰退-得自试验早期的插补得分将描绘水平线,所述线性插补法可能不适用。因此,在轻度 AD 中,必须使用物理主要结果测量(physical primary outcome measure)(例如上述的 SPECT 或 PET)或历经较长时限进行试验或使用对早期衰退更敏感的心理测验手段。

[0195] 如上所述,由于经历连续衰退的受试者(其经常被错误地标记为“非响应者”)的在先退出,用活性物症状治疗进行稳定的患者有可能代表具有较低衰退速率的偏倚选择组。关于这些受试者,本申请所述方法的组合是优选的。

[0196] 首先,基于重复的如上所述的 SPECT 或 PET 扫描的物理主要结果测量也许能揭示基于安慰剂处理的进行中的衰退和用疾病缓解药物进行活性物治疗阻止了衰退。

[0197] 第二,在随机化接受疾病缓解药物或安慰剂之前,在仅接受活性物症状治疗的受试者中引入磨合观察期,从而允许客观地确定预期的衰退速率,以及可以使用本申请所述的线性插补法来记录在安慰剂治疗臂中的衰退受试者的进行中的非随机退出所导致的与预期衰退速率的偏差。

[0198] 最后,对于本领域技术人员显而易见的是,将延迟开始(delayed-start)或随机退出(randomised-withdrawal)(例如 Clarke, C.E. (2004)A "cure" for Parkinson's disease; Can neuroprotection be proven with current trial designs? Movement Disorders 19,491-498; Thal, L. J., Kantarci, K., Reiman, E. M., Klunk, W. E., Weiner, M. W., Zetterberg, H., Galasko, D., Pratico, D., Griffin, S., Schenk, D. & Siemers, E. (2006)The role of biomarkers in clinical trials for Alzheimer disease. Alzheimer Disease and Associated Disorders 20,6-15) 组分引入至研究设计将允许被管理机构所接受的对疾病缓解主张的支持。

[0199] 本申请包含的任何副标题仅是处于便利的目的,不应视为以任何方式限制公开内容。

[0200] 鉴于本领域技术人员可以使用本申请引用的所有参考文献的公开内容来实施本发明,所以在此将这些公开内容通过交叉引用明确地并入本发明。

[0201] 实施例 1- 在基线的疾病严重性和疾病进展速率

[0202] 在文献中已经普遍承认,疾病的严重性或阶段是疾病进展的重要预示指标(近来

评论于 Schaufele, M., Bickel, H., Weyerer, S. (2002) Which factors influence cognitive decline in older adults suffering from dementing disorders? *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 17:1055-1063)。

[0203] 然而,所述 rember™ 研究是第一个将在基线的 CDR 严重性预先指定为主要结果分析 (primary outcome analysis) 中的分组协变量 (stratification covariate) 的。将受试者分成两组:基线为 CDR 轻度的受试者 (包括 3 个 [随机化总数的 1%] 基线为 CDR 可疑 (CDR-questionable) 的受试者) 和在基线为 CDR 中度的受试者。尽管先前已经提倡 CDR 作为分级手段 (Berg, L., Danziger, W. L., Storandt, M., Coben, L. A., Gado, M., Hughes, C. P., Knesevich, J. W., Botwinick, J. (1984) Predictive features in mild senile dementia of the Alzheimer type. *Neurology*, 34:563-569), 但是迄今为止更常规的方法是使用基线 MMSE (例如 MMSE ≤ 19 vs. MMSE > 19) 或基线 ADAS-cog 分类 (例如, ADAS-cog > 25 vs. ADAS-cog ≤ 25) 作为严重性指标 (Ritchie, C. W., Bush, A. I., Mackinnon, A., Macfarlane, S., Mastwyk, M., MacGregor, L., Kiers, L., Cherny, R., Li, Q.-X., Tammer, A., Carrington, D., Mavros, C., Volitakis, I., Xilinas, M., Ames, D., Davis, S., Beyreuther, K., Tanzi, R. E. & Masters, C. L. (2003) Metal-protein attenuation with iodochlorhydroxyquin (Clioquinol) targeting Aβ amyloid deposition and toxicity in Alzheimer disease: a pilot phase 2 clinical trial. *Archives of Neurology*, 60:1685-1691; Aisen, P. S., Salmier, D., Briand, R., Laurin, J., Gervais, F., Tremblay, P. & Garceau, D. (2006) A Phase II study targeting amyloid-β with 3APS in mild-to-moderate Alzheimer disease. *Neurology*, 67:1757-1763)。在 rember™ 研究中,已经发现,MMSE ≤ 19 受试者组实际上包含 40% CDR 中度受试者与 60% CDR 轻度受试者的混合受试者。同样,ADAS-cog > 25 组包含 41% CDR 中度受试者和 59% CDR 轻度受试者的混合受试者 (见表 1 和 2)。这意味着,在临床试验设定中使用 MMSE ≤ 19 或 ADAS-cog > 25 作为严重性指标 (如在认知活性药物的临床试验中按照惯例所使用的) 具有均化轻度受试者和中度受试者之间的潜在差别的作用。与其它基线得分相比,CDR 严重性在 24 周时是有力得多的衰退指标,一旦在分析中包含了 CDR,则其它基线得分变得不相干。

[0204] 表 1 和 2 示出通过 CDR 严重性随机化的人群与 (a) MMSE 严重性分组和 (b) ADAS-cog 严重性分组相比较的统计分析。

[0205] 表 1- 通过在基线的 MMSE 严重性分组

[0206]

MMSE 严重性	CDR 轻度	CDR 中度	总数
(-Inf, 19]	89 (60%)	60 (40%)	149 (100%)
(19, Inf]	163 (94%)	10 (6%)	173 (100%)

[0207] 表 2- 通过在基线的 ADAS-Cog 严重性分组

[0208]

ADAS-Cog 严重性	CDR 轻度	CDR 中度	总数

(-Inf, 25]	175 (91%)	17 (9%)	192 (100%)
(25, Inf]	77 (59%)	53 (41%)	130 (100%)

[0209] 在 rember™ 研究中使用 CDR 作为预先指定的分组变量导致以下发现：基于在基线的 CDR 严重性历经 24 周在疾病进展中存在清楚的二歧 (dichotomy)。归为 CDR 轻度的基于安慰剂的受试者历经 24 周在 ADAS-cog 或 MMSE 标度 (或者实际上任何的非认知标度) 上不衰退, 而归为 CDR 中度的基于安慰剂的受试者显示出很大的衰退。这示于图 1 和表 3 中。

[0210] 表 3-CDR 严重性和在 24 周的安慰剂 / 比较剂衰退⁽¹⁾

[0211]

ADAS-cog				MMSE			
基线	衰退	95% CI	p 值 ⁽²⁾	基线	衰退	95% CI	p 值 ⁽²⁾
CDR 轻度安慰剂衰退							
21.72	-0.56	-1.89, 0.77	0.409	20.73	-0.06	-0.95, 0.83	0.890
CDR 中度安慰剂衰退							
35.19	+5.83	3.23, 8.44	<0.0001	14.46	-1.97	-3.79, -0.15	0.0363

[0212] (1) 基于允许在 24 周后变化的双斜率线性混合作用模型 (two-slope linearmixed-effects model)。

[0213] (2) p 值来自于估计的衰退是否不同于零的测试。

[0214] 然而, 这种未衰退是暂时的。当观察历经 50 周后, 发现 CDR 轻度受试者在 ADAS-cog 和 MMSE 标度上均衰退, 如图 2 和表 4 中所示。

[0215] 表 4-CDR 严重性和在 50 周的安慰剂 / 比较剂衰退⁽¹⁾

[0216]

ADAS-cog				MMSE			
基线	衰退	95% CI	p 值 ⁽²⁾	基线	衰退	95% CI	p 值 ⁽²⁾
CDR 轻度推断的安慰剂衰退							
21.72	4.00	2.40, 5.56	<0.0001	20.73	-1.70	-2.68, -0.72	0.0010
CDR 中度安慰剂衰退							
35.19	13.81	11.20, 16.42	<0.0001	14.46	-4.88	-6.50, -3.33	<0.0001

[0217] (1) 基于允许在 24 周后变化的双斜率线性混合作用模型。

[0218] (2) p 值来自于估计的衰退是否不同于零的测试。

[0219] CDR 中度受试者在安慰剂 - 低剂量治疗臂中历经 24 至 50 周以与历经 0 至 24 周的速率难以区分的速率 (每周 0.31 ADAS-cog 单位) 继续衰退。与之相反, 在基线处为 CDR 轻度的安慰剂受试者的未衰退是暂时的。历经 24 至 50 周衰退变得明显。在 24 周时斜率

的变化非常显著 ($p < 0.0001$)。历经 24 至 50 周的恶化速率为每周 +0.17 ADAS-cog 单位, 即, 刚刚超过在 CDR 中度受试者中观察到的速率的一半。历经 24 至 50 周在轻度受试者和中度受试者之间的恶化速率差别也是显著的 ($p = 0.0217$)。

[0220] 因此, 检测在基线为 CDR 轻度的受试者中的衰退是可能的, 但是必须延长研究至少 50 周。而且, 必须将轻度受试者和中度受试者的分析分开。如果应呈现集合效能 (aggregate efficacy) 结果, 则必须视为随机人群中的轻度和中度受试者的混合, 因为估计的疾病缓解治疗的平均效果大小将由安慰剂治疗臂中的集合的安慰剂衰退速率确定。

[0221] 最后, 假定需要较长试验期限来检测在 CDR 轻度 AD 中的治疗效果, 则必须设计插补法以补偿历经较长试验持续期的偏倚脱离。下面进一步讨论了最后的这个问题。

[0222] 发明人首先较好地理解在通过 CDR 定义的轻度 AD 中的未衰退偏倚。

[0223] 实施例 2- 认知储备

[0224] 尽管在增加的脑病理学负荷和认知功能衰退之间存在普遍的联系, 但是这种联系没有解释所有的数据差异。已经依据“脑储备”或“认知储备”的概念陈述了解释所述变异性的尝试, 其涉及两种不同的理论构想 (Stern, Y. (2002) What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 8:448-460)。第一种是被动脑储备模型, 其中储备由脑尺寸或神经元计数限定。将它描述为被动是因为它是依据在临床症状显现之前个体能够经受住的损害或负荷的量来限定的。第二种, 或活性认知储备模型, 说明脑能够通过征募其它过程来完成受疾病危害的任务而补偿病理负荷 (Stern, Y., Richards, M., Sano, M., Mayeux, R. (1993) Comparison of cognitive changes in patients with Alzheimer's and Parkinson's disease. *Archives of Neurology*, 50:1040-1045)。因此, 根据认知储备假设, 具有较大量的储备增强经历如教育的个体能够较好地应付由衰老和疾病引起的脑损害或功能障碍。难以直接地测量认知储备, 但是已经提出, 教育和职业是这种主动适应能力的代替物。这些模型相互之间是不排斥的。

[0225] 在 Aberdeen (Scotland) 进行的一项研究已经帮助解决了认知储备是如何工作的。Aberdeen 组使用了得自 1921 年和 1936 年的 Aberdeen 同届出生人口 (birth cohorts) 的独特的数据库 (Whalley L. J., Deary, I. J. (2001) Longitudinal cohort study of childhood IQ and survival up to age 76. *British Medical Journal*, 322:819)。全部的这些同届出生人口在 11 岁时进行正式的 IQ 测试。当这些个体达到了面临痴呆危险的年龄时, 使用重复的认知测试和脑成像对他们进行研究。也记录了人口统计和生活方式测量, 例如教育和职业经历, 目的在于评价储备代替物对老年认知的影响。使用脑病理学估值如损害计数 (lesion count) (Leaper, S. A., Murray, A. D., Lemmon, H. A., Staff, R. T., Deary, I. J., Crawford, J. R., Whalley, L. J. (2001) Neuropsychologic correlates of brain whitematter lesions depicted on MR images: 1921 Aberdeen Birth Cohort. *Radiology*, 221:51-55) 和脑容积 (Staff, R. T., Murray, A. D., Deary, I. J., Whalley, L. J. (2006) Generality and specificity in cognitive aging: A volumetric brain analysis. *NeuroImage*, 30:1433-1440) 的横向研究显示, 在生存期间, 面对与衰老相关的病理变化, 教育和职业保护个体免于认知衰退 (Staff, R. T., Murray, A. D., Deary, I. J., Whalley, L. J. (2004) What provides cerebral reserve? *Brain*, 127:1191-1199)。

[0226] Aberdeen 组使用容量分析 (volumetric analyses) (用 MRI) 进行了老年病理负荷的纵向研究。这项研究显示, 历经一年, 在同龄组 (cohorts) 中平均损失 6.8ml 的灰质和 1.8ml 的白质。他们假定, 这个变化与认知行为表现衰退有关, 所述认知行为表现通过特定的推理和记忆功能测量。然而, 他们发现, 对于相同的脑物质损失 (负荷), 教育防止预期的认知缺陷。他们还发现, 教育是保护性的 (protective) ($p < 0.003$), 但是在 11 岁时的 IQ、职业和总的颅内容量却不是 (Staff et al., manuscript in preparation)。这示于图 3。测量历经一年认知功能的变化。在调节了病前智力 (即, 在 11 岁时)、脑物质损失 (负荷) 和性别之后, 仅在具有少于 9 年学校教育的受试者中发现衰退。历经一年在具有超过 9 年学校教育的受试者中存在改善, 这表明, 尽管具有一定程度的病理负荷 (该病理负荷历经一年在受教育较少的受试者中导致行为表现衰退), 但是他们已经学习了一年前提供的测试。

[0227] 进行了进一步的研究, 以检查脑的哪一区域是活化的 (增加的血流量红色) 或钝化的 (减少的血流量蓝色), 从而解决在认知衰退者中与在“顺利地”衰老 (即, 未正常损失脑物质) 的受试者中相对比的工作记忆任务 (working memory task), 如图 4 中所示。

[0228] 他们发现, 在衰退组中执行所述任务的脑部分是不同的, 表明了在执行相同的任务中在所述两个组中使用的脑活动功能模式 (functional pattern of brain activity) 中的差别。当考虑储备代替物时, 所述结果表明, 在认知任务中的行为表现取决于储备程度 (Waiter, G., Fox, H., Murray, A., Starr, J., Staff, R., Bourne, V., Whalley, L., Deary, I. J. (2007) Is retaining the youthful functional anatomy underlying speed of information processing a signature of successful cognitive ageing? :an event related fMRI study of inspection time performance. NeuroImage, in press)。这种认知灵活性似乎是使得认知测试相对于测量脑病理学影响不准确的主要因素。

[0229] 通常, 从这些研究能够想像在认知任务中失败的两个阶段: (1) 任务仍能够进行, 但是需要通过另外的努力或功能性重置 (functional relocation) 进行补偿; (2) 彻底的任务失败, 尽管尝试了补偿。最近的研究已经识别出在额叶中促进认知储备的脑区 (Stern, Y., Zahra, E., Habeck, C., Holtzer, R., Rakitin, B. C., Kumar, A., Flynn, J., Steffener, J., Brown, T. (2007) A common neural network for cognitive reserve in verbal and object working memory in young but not old. Cerebral Cortex, in press)。这些结果强调需要及早治疗疾病, 以预防与 Braak 早期相关的脑损害和保存认知储备, 以及不要拖延治疗直到认知衰退症状已经能够通过标准临床评级标度检测出来。假定早在出现明显临床衰退 (即, 在 Braak 2 期) 以前不可逆脑损害在就发生在内侧颞叶中, 这些结果强调需要具有改善的 Braak 早期诊断检测 (参见例如, W002/075318), 和旨在防止神经原纤维变性进行的预防性治疗的重要性 (参见例如, W096/030766), 甚至在缺乏认知衰退的临床证据的情况下。

[0230] 尽管还没有在本领域中得到承认, 如下面进一步讨论的那样, 认知储备被发现是导致未能检测出在基线为 CDR 轻度且随机化接受安慰剂治疗的受试者中的临床衰退的主要因素。这被以下的意料不到的发现所证明: 接受安慰剂的相同受试者历经 24 周在所使用的任何宽范围的心理测验测试中未显示认知衰退证据, 然而历经 6 个月显示出明显的生理学衰退, 总计损失了 8% 的功能性神经元容量, 如脑血流量的衰退所示。

[0231] 实施例 3- 历经 24 周研究通过心理测验测试在 CDR 轻度 AD 中未能证明治疗效能

[0232] 分析方法

[0233] 对于每一 OC 和 LOCF 分析提供了两种分析方法：历经 24 周 ADAS-cog 得分从基线变化的线性最小二乘法 and 线性混合作用模型。在发现基线严重性项 (term) 在所有初始分析中均高度显著后,进行了进一步的分析,所述分析包括治疗:严重性:相互作用项。使用严重性(通过 CDR 定义)作为基线分组变量。仅使用在 24 周评价点的 ADAS-cog 得分变化分析(使用非相互作用模型和相互作用模型)进行 24 周 LOCF 数据的进一步的 ANCOVA 分析。

[0234] ITT/OC 分析

[0235] 非相互作用模型

[0236] 应用至整个 ITT/OC 人群的线性最小二乘法 and 线性混合作用非相互作用模型中的治疗效果证明了以 60mg 剂量在线性最小二乘模型中统计学上显著的效果和在更有力的线性混合作用模型中的边界显著效果 (borderline significant effect)。基线严重性的影响是非常显著的。

[0237] 所述模型的输出结果在表 5 中给出。

[0238] 表 5- 无相互作用项的 ITT/OC 分析

[0239]

(以 ADAS-cog 单位计)	线性最小二乘法			线性混合作用		
	估 值 (Estimate)	95%CI	p 值	估值	95%CI	p 值
截 距 (intercept) ⁽¹⁾	0.45	-0.57, 1.47	0.387	0.10	-1.46, 1.66	0.897
低 剂 量 (100mg) ⁽²⁾	0.08	-0.68, 0.83	0.845	-0.04	-1.20, 1.13	0.949
30mg ⁽²⁾	0.00	-0.84, 0.83	0.997	-0.07	-1.38, 1.23	0.914
60mg ⁽²⁾	-0.95	-1.75, -0.15	0.0201	-1.13	-2.36, 0.11	0.0736
中度严重性 ⁽²⁾	3.69	2.36, 5.03	<0.0001	3.61	2.06, 5.17	<0.0001

[0240] ⁽¹⁾ 针对以下因素定义截距项:轻度,女性,1组中心 (group 1 centres) (Aberdeen & Birmingham), 年龄 > 75 岁, 先前用 AchE 抑制剂或美金刚 (memantine) 治疗过, 安慰剂, 24 周;p 值来自于估计的值是否显著地不同于零的测试。

[0241] ⁽²⁾ p 值来自于估计的值是否显著地不同于截距项的测试。

[0242] 相互作用模型

[0243] 当严重性被包括为相互作用项时,发现 60mg 剂量的治疗效果仅在基线为 CDR 中度的组中显著。在先治疗历史、基线 ADAS-cog 和较小中心 (smaller centres) 仍为潜在显著

辅助因素 (potentially significant cofactors)。

[0244] 所述模型的输出结果在表 6 中给出。

[0245] 表 6- 具有相互作用项的 ITT/OC 分析

[0246]

(以 ADAS-cog 单位计)	线性最小二乘法			线性混合作用		
	估值	95%CI	p 值	估值	95%CI	p 值
截距 ⁽¹⁾	0.54	-0.50, 1.58	0.310	0.23	-1.37, 1.82	0.7779
轻度: 低剂量 (100mg) ⁽²⁾	-0.05	-0.88, 0.77	0.903	-0.21	-1.49, 1.06	0.741
轻度: 30mg ⁽²⁾	0.43	-0.54, 1.41	0.385	0.33	-1.18, 1.85	0.667
轻度: 60mg ⁽²⁾	-0.66	-1.53, 0.21	0.139	-0.77	-2.12, 0.57	0.259
中度: 低剂量 (100mg) ⁽²⁾	0.99	-0.84, 2.82	0.288	1.13	-1.67, 3.92	0.427
中度: 30mg ⁽²⁾	1.11	-2.71, 0.48	0.171	-1.09	-3.56, 1.38	0.386
中度: 60mg ⁽²⁾	-2.74	-4.66, -0.83	0.0049	-3.23	-6.14, -0.32	0.0299
中度严重性 ⁽²⁾	4.32	2.67, 5.97	<0.0001	4.23	2.04, 6.42	0.0002

[0247] ⁽¹⁾ 针对以下因素定义截距项:轻度,女性,1组中心(Aberdeen & Birmingham),年龄 > 75岁,先前用AchE抑制剂或美金刚治疗过,安慰剂,24周;p值来自于估计的值是否显著地不同于零的测试。

[0248] ⁽²⁾p值来自于估计的值是否显著地不同于截距项的测试。

[0249] ITT/LOCF 分析

[0250] 非相互作用模型

[0251] 应用于全体 ITT/LOCF 人群的非相互作用模型中的治疗效果证明了在 60mg 剂量的统计学上显著的效果。基线严重性的影响是非常显著的。在先治疗历史和较小中心也是显著的辅助因素。

[0252] 所述模型的输出结果在表 7a 中给出。

[0253] 表 7a- 无相互作用项的 ITT/LOCF 分析

[0254]

(以 ADAS-cog 单位计)	线性最小二乘法			线性混合作用		
	估值	95%CI	p 值	估值	95%CI	p 值
截距 ⁽¹⁾	0.75	-0.22, 1.72	0.128	0.29	-1.25, 1.82	0.713
低剂量 (100mg) ⁽²⁾	-0.03	-0.74, 0.68	0.934	-0.03	-1.21, 1.15	0.960
30mg ⁽²⁾	0.04	-0.76, 0.84	0.919	0.04	-1.29, 1.37	0.951
60mg ⁽²⁾	-1.18	-1.93, -0.43	0.0021	-1.18	-2.43, 0.06	0.0684
中度严重性 ⁽²⁾	2.86	1.65, 4.07	<0.0001	3.05	1.56, 4.54	<0.0001

[0255] ⁽¹⁾ 针对以下因素定义截距项：轻度，女性，1 组中心 (Aberdeen & Birmingham)，年龄 > 75 岁，先前用 AchE 抑制剂或美金刚治疗过，安慰剂，24 周；p 值来自于估计的值是否显著地不同于零的测试。

[0256] ⁽²⁾ p 值来自于估计的值是否显著地不同于截距项的测试。

[0257] 当将普通线性模型方法 (LM 或 ANCOVA) 仅应用至 24 周评价数据时，应用于全体 ITT/LOCF 人群的非相互作用模型中的治疗效果未能证明在 60mg 剂量的统计学上显著的效果，不过基线严重性的影响又是非常显著的。在该分析中无其它显著的辅助因素。所述模型的输出结果在表 7b 中给出。

[0258] 表 7b- 无相互作用项的 ITT/LOCF LM 分析

[0259]

(以 ADAS-cog 单位计)	估值	95% CI	p 值 ⁽¹⁾
低剂量 (100mg)	-0.78	-2.42, 0.84	0.343
30mg	-0.04	-1.87, 1.79	0.966
60mg	-1.04	-2.76, 0.68	0.235

[0260] ⁽¹⁾ p 值来自于所述值是否显著地不同于安慰剂的测试。

[0261] 相互作用模型

[0262] 当严重性被包括为相互作用项时，发现 60mg 剂量的治疗效果仅在基线为 CDR 中度的组中显著。

[0263] 所述模型的输出结果在表 8a 中给出。

[0264] 表 8a- 具有相互作用项的 ITT/LOCF 分析

[0265]

(以 ADAS-cog 单位计)	最小二乘法			混合作用		
	估值	95%CI	p 值	估值	95%CI	p 值
截距 ⁽¹⁾	0.88	-0.11, 1.87	0.0808	0.42	-1.15, 1.99	0.600
轻度: 低剂量 (100mg) ⁽²⁾	-0.18	-0.97, 0.60	0.642	-0.18	-1.48, 1.11	0.778
轻度: 30mg ⁽²⁾	0.46	-0.47, 1.39	0.334	0.46	-1.08, 2.00	0.558
轻度: 60mg ⁽²⁾	-0.73	-1.55, 0.09	0.0815	-0.73	-2.09, 0.63	0.291
中度: 低剂量 (100mg) ⁽²⁾	1.06	-0.64, 2.77	0.222	1.06	-1.76, 3.88	0.459
中度: 30mg ⁽²⁾	-1.05	-2.57, 0.47	0.175	-1.05	-3.56, 1.46	0.411
中度: 60mg ⁽²⁾	-3.70	-5.46, -1.94	<0.0001	-3.70	-6.61, -0.79	0.0130
中度严重性 ⁽²⁾	3.63	2.08, 5.17	<0.0001	3.81	1.63, 5.99	0.0007

[0266] ⁽¹⁾ 针对以下因素定义截距项:轻度,女性,1组中心(Aberdeen & Birmingham),年龄 > 75岁,先前用AChE抑制剂或美金刚治疗过,安慰剂,24周;p值来自于估计的值是否显著地不同于零的测试。

[0267] ⁽²⁾ p值来自于估计的值是否显著地不同于截距项的测试。

[0268] 当在ITT/LOCF数据的LM/ANCOVA分析中包括严重性作为相互作用项时,同样发现60mg剂量的治疗效果仅在基线为CDR中度的组中显著。所述模型的输出结果在表8b中给出。

[0269] 表8b- 具有相互作用项的ITT/LOCF LM分析

[0270]

(以 ADAS-cog 单位计)	估值	95% CI	p 值 ⁽¹⁾
轻度:低剂量 (100mg) ⁽²⁾	-0.79	-2.51, 1.05	0.421
轻度:30mg ⁽²⁾	1.04	-1.08, 3.17	0.335

轻度 :60mg ⁽²⁾	-0.20	-2.07, 1.68	0.838
中度 :低剂量 (100mg) ⁽²⁾	-0.40	-4.29, 3.49	0.838
中度 :30mg ⁽²⁾	-3.00	-6.47, 0.47	0.090
中度 :60mg ⁽²⁾	-5.42	-9.44, -1.40	0.0084

[0271] ⁽¹⁾p 值来自于所述值是否显著地不同于安慰剂的测试。

[0272] 亚组分析 – 在 CDR 中度受试者中的 ADAS-cog

[0273] 所述主要结果分析为尤其专注于历经 24 周的 CDR 中度亚组的亚组分析提供了坚实的基础。这部分提供历经最初 24 周的治疗在基线为 CDR 中度的受试者中的 ADAS-cog 的 ITT/OC 分析。

[0274] 在 24 周时在 CDR 中度受试者中的 ITT/OC 分析

[0275] 该分析使用具有随机每患者系数 (random per-patient coefficient) 和拟合直线响应曲线 (fitted straight line response curve) 的混合作用模型。在图 5 中示出 24 周之后在 CDR 中度受试者中 rember™ 对 ADAS-cog 得分的影响。

[0276] 在该图表中,对于标记约定,“plac”是指安慰剂,“low”是指低 (100mg) 剂量一日三次,“30mg”是指 30mg 剂量一日三次以及“60mg”是指 60mg 剂量一日三次。阴影线是使用线性混合作用随机系数模型 (linear mixed effects random coefficients model) 计算的最佳拟合。表 9 示出从 0 周至 24 周的总体变化,表 10 示出在 24 周时的效果大小。

[0277] 表 9- 在 24 周时在 CDR 中度受试者中从基线的 ADAS-cog 变化

[0278]

(以 ADAS-cog 单位计)	估值	95% CI	p 值 ⁽¹⁾
安慰剂	5.05	2.83, 7.27	< 0.0001
低剂量 (100mg)	4.63	1.52, 7.74	0.0042
30mg	1.03	-1.39, 3.45	0.398
60mg	-0.36	-3.57, 2.84	0.821

[0279] ⁽¹⁾p 值来自于所述值是否显著地不同于零的测试。

[0280] 表 10- 在 24 周时在 CDR 中度受试者中的 ADAS-cog 效果大小

[0281]

(以 ADAS-cog 单位计)	估值	95% CI	p 值 ⁽¹⁾
低剂量 (100mg)	-0.42	-4.24, 3.40	0.826
30mg	-4.02	-7.30, -0.74	0.0172
60mg	-5.41	-9.31, -1.52	0.0073

[0282] ⁽¹⁾p 值来自于所述值是否显著地不同于安慰剂的测试。

[0283] 从 ITT 人群的 24 周分析得出的结论

[0284] 结论是, rember™ (60mg, 一日三次) 在具有轻度和中度 AD 的全部 ITT 人群中在 OC 和 LOCF 分析中均具有效能, 不过在这些人中的效果大小被大量低估 (在 -1.0 至 -1.2 ADAS-cog 单位范围内), 因为合并了 CDR 轻度和 CDR 中度受试者。在非相互作用分析中, 60mg 剂量的效果通过最小二乘法达到了统计显著性和通过更保守的混合作用法达到了边界统计显著性 (borderline statistical significance)。在基线的 CDR 严重性在所有分析中均是非常显著的辅助因素。当在 ITT/OC 和 ITT/LOCF 分析中包含该辅助因素时, 发现 rember™ 的效果在 24 周时仅在基线为 CDR 中度的受试者中显著。这对于历经 24 周所有数据的混合作用模型和仅来自于 24 周时间点的数据的线性模型化均成立。历经 24 周, 在用全部 ITT/OC 人群进行的分析中, 在包括严重性作为分析中的相互作用项之后, 在中度受试者中的平均效果大小在 -2.7 至 -3.7 ADAS-cog 单位范围内。在线性模型中, 在 24 周时间点处, 效果大小为 -5.4 ADAS-cog 单位。在混合作用分析中的 OC 和 LOCF 分析之间没有显著差别。结论是, 在整个 ITT 人群中的预定主要结果分析证实了 rember™ 在 24 周时的效能, 适当的是, 在进一步的分析中作为分开的亚组分析 CDR 轻度受试者和 CDR 中度受试者。

[0285] 在 ITT 人群的 CDR 中度亚组中, 历经 24 周在用安慰剂治疗的患者中存在 5.1 ADAS-cog 单位的衰退。在用低 (100mg) 剂量治疗的患者中存在 4.6 ADAS-cog 单位的类似的衰退, 证实了这些胶囊由于胶囊配制问题历经 24 周微小的治疗效能。当出于分析心理测验变化的目的历经 6 个月给药时, 这提供了对于将低剂量 (100mg) 治疗臂视为等效于安慰剂的基础。因此, 可以将起初历经最初的 24 周接受安慰剂, 然后历经 24 周至 50 周转换为低 (100mg) 剂量的受试者视为代表适合的最低暴露剂量比较剂臂, 出于 ADAS-cog 分析的目的所述最低暴露剂量比较剂臂近似相当于历经 50 周的安慰剂, 如上面的表 4 和图 5 中所示。

[0286] 与之相反, 在 24 周时, 在用 rember™ 以 30mg 或 60mg 剂量治疗的 CDR 中度患者中未发现明显衰退。这转化为在 24 周时, 在一日三次分别用 30mg 和 60mg 治疗的 CDR 中度患者中的 -4.0 和 -5.4 ADAS-cog 单位的效果大小。结论是, 通过用 rember™ 以 30mg (每日三次) 或 60mg (每日三次) 进行治疗, 在 24 周时在 CDR 中度患者中阻止了疾病进展。

[0287] 似乎本质上难以置信的是, 用 rember™ 的治疗在 CDR 中度 AD (所述疾病的更晚期的 (advanced) 和快速进行阶段) 中应具有治疗效能, 然而在 CDR 轻度 AD 中没有明显效能。依据 CDR 轻度受试者历经 24 周在心理测验测量上的明显未衰退, 得出结论, 这种现象严重地干扰疾病缓解治疗的治疗效能的检测。这提出了以下问题: 如何在诸如临

床 AD 早期（例如 CDR 轻度 AD 或 MCI）或甚至临床衰退不明显时的更早期的情况中证明疾病缓解效能。例如, Park et al. (2007) (Park, K. W., Pavlik, V. N., Rountree, S. D., Darby, E. J., Doody, R. S. (2007) Is functional decline necessary for a diagnosis of Alzheimer' s disease? *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 24 :375-379) 近来历经 1 年比较了两组:在日常生活活动 (ADL) 中具有功能衰退证据的组和不具有功能衰退证据的组。他们发现了基本上相同的过程,与存在或不存在功能衰退无关。他们推断,应用目前的诊断标准（例如 DSM-IV 标准,其需要功能衰退证据以诊断 AD）在近似 15% 的 AD 病例中具有延误诊断的影响,在超过一半的这些病例中,诊断延误将超过 1 年。随着治疗如 rember™（其能够防止神经原纤维变性过程的破坏作用（见下面）,特别是在内侧颞叶结构中）的出现,这种诊断延误似乎是不应有的和不希望的。

[0288] 实施例 4- 对导致 CDR 轻度 AD 中的明显未衰退的机理的功能性脑扫描解释

[0289] 为了测定在 CDR 轻度 AD 受试者中未衰退的基础,进行了功能性脑扫描变化分析。

[0290] 所述 rember™ 研究在基线使用 SPECT (用配体 ^{99m}Tc-HMPAO) 或 FDGPET 以证实在某些研究中心（其中该能力是可利用的）中的诊断。在可能的情况中,也使用 SPECT 功能脑成像作为次要结果测量 (secondary outcomemeasure),从而比较作为对 rember™ 治疗响应的在基线和访问 4 (18 周) 之间的变化。

[0291] 研究设计

[0292] 在所述试验中包含功能性脑扫描,其既作为基线分组变量 (baseline stratification variable),又作为代用效能标记 (surrogate efficacy marker)。在 SPECT 同龄组中有 138 名受试者,其既有在基线时的图像,也有在访问 4 (18 周) 时的图像。ITT/OC 分析在具有成对 SPECT 扫描 (paired SPECT scans) 的在第二次扫描时在进行药物治疗的所有受试者 (125) 中进行。特别有关的亚组是在基线处为 CDR 轻度的受试者 (100)。

[0293] 受试者在即将随机化时进行他们的第一次扫描。在新诊断的受试者的情况中进行修正,这些新诊断的受试者可能在随机化之前至多 3 个月已经进行过新近的扫描,他们不需要进行第二次基线扫描。在一些中心中,允许在开始治疗后进行基线扫描。平均扫描间的间隔为 6 个月 (±1.2, 标准偏差 (sd))。扫描间的间隔的范围为 4-11 个月。

[0294] 扫描全部发送至 Aberdeen,由 Aberdeen Royal Infirmary 的两位独立的核医学专家进行评价,对于治疗组和临床信息,这两位专家是不知晓的 (blinded)。

[0295] 患者处置和特征

[0296] 在 rember™ 试验中获得的功能性脑扫描数据如表 11 中所示。

[0297] 表 11-HMPAO-SPECT 扫描数据

[0298]

成像场所	成像受试者数目	二次成像受试者数目	二次成像且由于质量差而被淘汰的受试者的数目
Aberdeen (AS, AN, CS, BF ⁽¹⁾)	132	84	0

Bradford (BF)	9	6	0
Birmingham QEII (BH)	8	8	0
Blackpool (BP)	6	4	0
Glasgow (CM, CP)	41	17	1
Guildford (GF)	16	10	0
Ipswich (IS)	3	1	0
Plymouth (PM)	8	7	1
Birmingham City (SW)	4	1	1

[0299] 表 11-HMPAO-SPECT 扫描数据

[0300]

成像场所	成像受试者数目	二次成像受试者数目	二次成像且由于质量差而被淘汰的受试者的数目
总计	227	138	3

[0301] (1) 因为在 Bradford 扫描设备不足, 所以将一些受试者带至 Aberdeen 进行扫描。

[0302] 具有两次扫描的 ITT/OC 受试者的人群特征 (Population characteristics) 示于表 12。

[0303] 表 12- 具有两次可分析扫描的 ITT/OC 人群

[0304]

	总计	AD 病理学 (AD PATH)		VASC 病理学 (VASC PATH)		年龄 (SD)	天数 V1-V4(SD)	性别		先前的治疗		基线严重性	
		AD	无 AD	VASC	无 VASC			女性	男性	无	有	轻度	中度
低剂量 (100mg)	33	29	4	10	23	69.6 (9.6)	184.0 (36.4)	15	18	24	9	26	7
60mg	30	26	4	11	19	69.2 (10.9)	197.1 (56.3)	20	10	21	9	24	6
30mg	12	12	0	5	7	70.7 (8.4)	175.7 (30.2)	3	9	10	2	8	4
安慰剂	50	43	7	14	36	74.6 (7.6)	189.3 (30.2)	22	28	39	11	42	8
	125	110	15	40	85			60	65	94	31	100	25

[0305] 方法学

[0306] 图 7 图解说明了除了 NINCDS-ADRDA 和 DSM IV 临床标准之外在一些中心中用于测定基线功能性扫描诊断的典型的 SPECT 扫描表现。

[0307] 在所述研究中使用两种分析方法作为输出结果方法 (outcome methods): 兴趣区 (ROI) 分析和统计学参数 (SPM) 分析。

[0308] 这些技术中的每种均具有各自的优点和缺点。ROI 法相对易于仿效以及对特定部位处的血流量给出估值,其能够通过标准统计方法进行测试。然而,ROI 法要求研究者对具有差别的部位和容量范围 (volumetric extent) 作出假设。相反,SPM 法允许研究者测试所有的部位和尺寸或容量范围组合,从而使它成为更有力的分析工具。缺点是,SPM 更难以执行和完成,是限于专门中心 (expert centres) 的技术。

[0309] ROI 分析

[0310] 第一分析使用基于 West Forest University (NC, U. S. A.) 图像分析工具 (“WFU-Pickatlas”) 的标准化脑区域 (Maldjian, J. A., Laurienti, P. J., Burdette, J. B., Kraft, R. A. (2003) An automated method for neuroanatomic and cytoarchitectonic atlas-based interrogation of fMRI data sets. *NeuroImage*, 19:1233-1239; Maldjian, J. A., Laurienti, P. J., Burdette, J. H. (2004) Precentral gyrus discrepancy in electronic versions of the Talairach Atlas. *NeuroImage*, 21:450-455)。对每一脑叶建立标准化 ROI 并分成半球,针对额叶、顶叶、颞叶和枕叶 (8 个 ROI),以及小脑。这些区域示于下面的图 8 中。将得自最初八个区域中的每个区域的计数相对于小脑中的计数归一化,以对个体间差异和 rember™ 的非特异性药物效果进行修正。小脑受 AD- 病理学图像最小。

[0311] 对于 ROI 分析,根据每个受试者的 8 个区域测量结果来定义单一每受试者参数。这通过主成份分析进行计算,所述主成份分析由两个因子组成:所有叶所共有的一般因子和解释另外的叶特异性差异的特异性因子 (specific factor)。将用于进一步分析的每受试者一般因子值 (GFV) (general factor value (GFV) per-subject) 归一化成值 1,标准偏差为 0.15。

[0312] SPM 分析

[0313] 对于 SPM 分析,使用了在 University College London (UCL), Queens Square London 开发的软件。将图像立体地记录至标准成像模板 (standard imaging template) 并使之平滑 (smoothed)。在每一体元采用参数统计模型,从而使用一般线性模型依据实验和混杂 (confounding) (即,辅助因素) 影响以及残余变异性 (residual variability) 来定义数据。进一步的细节可以参见网址 (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>)。

[0314] 基线 ADAS-cog 严重性和基线脑血流量之间的关系

[0315] 在 rember™ 研究中,在基线临床严重性 (如通过 ADAS-cog 得分测量) 和病理负荷 (如通过基线局部脑血流量 (rCBF, Regional Cerebral Blood Flow) 测量) 之间存在有力的关联。特别是在左额叶、顶叶和枕叶中发现了这一点,如图 9 中所示。这与先前的报告一致 (Nebu, A., Ikeda, M., Fukuhara, R., et al. (2001) Relationship between blood flow kinetics and severity of Alzheimer's disease: Assessment of severity using a questionnaire-type examination, Alzheimer's disease assessment scale, cognitive sub-scale (ADAS(cog)). *Dementia, Geriatric and Cognitive Disorders*,

12:318-325), 这一点是左侧变化的不对称优势 (Kovalev, V. A., Thurfjell, L., Lundqvist, R., Pagani, M. (2006) Asymmetry of SPECT perfusion image patterns as a diagnostic feature for Alzheimer's disease. Medical image computing and computer-assisted intervention: MICCAI International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention, 9:421-428)。

[0316] 在年龄和顶叶和颞叶中的基线 rCBF 之间也存在显著的相关, 从而证实了 Kemp 等人先前的发现 (Kemp, P. M., Holmes, C., Hoffmann, S. M., Bolt, L., Holmes, R., Rowden, J., Fleming, J. S. (2003) Alzheimer's disease: differences in technetium-99m HMPAO SPECT scan findings between early onset and late onset dementia. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 74:715-719)。扫描之间的间隔也对扫描之间的脑血流量变化具有显著影响。其它辅助因素 (性别和基线临床严重性) 是可变的 (variable)。先前用 AD- 标记药物治疗的历史也是显著的辅助因素, 表明选择从用 AD- 标记药物 (主要为 AChE 抑制剂) 进行的在先治疗退出的受试者具有更晚期的疾病。

[0317] 历经最初 6 个月的 rember™ 研究在 CDR 轻度受试者中的功能性脑扫描变化分析

[0318] 分析在基线为 CDR 轻度的 ITT/OC 亚组中进行。考虑到 CDR 轻度组在 ADAS-cog 上历经最初 24 周的试验未能衰退, 这是特别令人感兴趣的。图 10 示出在基线处为 CDR 轻度的受试者中在基线和访问 4 之间具有显著衰退的区域的部位。

[0319] 尽管缺乏在 ADAS-cog、MMSE 标度或任何其它心理测验标度上的衰退证据, 但是在基线处为 CDR 轻度的受试者中存在由脑血流量所示的功能性神经元容量的显著衰退。

[0320] 这种衰退程度和用 rember™ 的治疗效果可以在图 11 中看出。重要的是, 注意 rember™ 在 CDR 轻度受试者中以 30/60mg 剂量在 4 个月的治疗后产生了显著改善。这种改善 (即, 与零的差异) 能够在图 11 中的平均一般因子值 (mean general factor values) 中看出来。

[0321] 在基线处为 CDR 轻度的受试者中, 在用安慰剂治疗的受试者中历经 6 个月一般灌注因子 (general perfusion factor) 的平均衰退为 -8.23% (95% 置信区间, [-11.89, -4.57]; p 值 < 0.001)。在接受安慰剂的受试者中, 发现所有叶均显著地衰退, 最大的衰退发生在右和左颞叶中。这种衰退在以 30/60mg 剂量接受 rember™ 的受试者中未发生, 事实上总体上存在改善迹象, 所述改善迹象未达到统计显著性, 尽管该组相对于安慰剂组的差别在多数脑区域中非常明显。

[0322] 用 rember™ 的治疗 (低 (100)mg, 一日三次) 相对于安慰剂在右颞叶、右顶叶、右枕叶和左颞叶中产生了显著益处。用 rember™ 以 30/60mg 的治疗相对于安慰剂在相同区域 (右颞叶、右顶叶、右枕叶和左颞叶) 产生更显著的益处, 以及更广布的改善 (影响右额叶、左顶叶、左枕叶)。

[0323] rember™ 在 CDR 轻度组中的治疗效果能够在比较安慰剂与 30/60mg 一日三次的治疗 (图 12) 和比较安慰剂与低 (100mg) 剂量治疗 (图 13) 的 SPM 分析中看出来。能够看出, 与 30/60mg 剂量相比, 在低 (100mg) 剂量时的功能变化程度较低。

[0324] ITT/OC rCBF 变化与 ADAS-cog 得分变化的相关性

[0325] 最终的分析检查 SPECT 扫描是否能够用作临床响应的代用标记。在图 14 中, 历经 24 周在用 rember™ 治疗的 ITT/OC 人群中的在 SPECT 扫描上的变化和如通过 ADAS-cog 测

量的变化之间存在有力的关联。

[0326] 除了右顶叶之外的所有区域在 ADAS-cog 改善和 rCBF 改善之间显示出正相关。相关性最高的区域是右颞叶 ($r = 0.44, p < 0.001$)。在相应的 ROI 分析中,一般因子值 (GFV) 也显示出非常显著的相关性 ($r = 0.46, p < 0.001$)。

[0327] 通过用 rember™ 治疗逆转了内侧颞叶病理学

[0328] 作为 rember™ 研究的一部分,存在 20 个可利用的病例,其中用 rember™ 治疗 18 周之前和之后,使用 FDG PET 对受试者成像。PET (可用于 rember™ 研究) 具有比 SPECT 高的分辨率,所以允许较好地定义内侧颞叶结构中的解剖变化。已经有可能证明 rember 具有逆转内侧颞叶的特征性病理学的能力。这在下面用 rember™ (60mg, 一日三次) 治疗 18 周的病例中进行了阐述。

[0329] 图 15 显示,在治疗后,具有清楚的 AD 特征 (在海马 (HC) 和内嗅皮层 (ERC) 区域中减少的灌注) 的受试者转变为具有正常的扫描特征。该图像是特别惊人的,因为这些区域是在 AD 中受 Tau 病理学影响最早和最严重的区域 (Braak & Braak, 1991 ;Gertz et al., 1998 ;García-Sierra, F., Wischik, C. M., Harrington, C. R., Luna- **Muñoz**, J. & Mena, R. (2001) Accumulation of C-terminally truncated tau protein associated with vulnerability of the perforant pathway in early stages of neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. Journal of Chemical Neuroanatomy, 22 :65-77), 这种逆转在临床人群中的顺序扫描 (sequential scans) 中通常是不会见到的。

[0330] 参照下面的实施例 7 能够更好地理解该结果对于理解 rember 型治疗的潜在预防益处的重要性。

[0331] 对 PET 功能性脑成像另外的评论

[0332] FDG-PET (氟代-脱氧葡萄糖正电子发射断层扫描术 (Fluoro-DeoxyGlucose Positron Emission Tomography)) 和 HMPAO-SPECT (六甲基-丙二基-胺-肟单光子发射断层扫描术 (Hexamethyl-Propylene-Amine-Oxime Single Photon Emission Tomography)) 提供了互补的方法以测量脑中的功能性变化。在所述研究中,在 SPECT 或 PET 功能性脑成像能力可利用的那些中心中,在基线进行 SPECT 或 PET 功能性脑成像以确认诊断。在可能的情况下,也使用 SPECT 和 PET 功能性脑成像作为次要结果测量,从而比较作为对 rember™ 治疗的响应的在基线和访问 4 (18 周) 之间的变化。

[0333] 当在诊断上使用时, SPECT 和 PET 均揭示特征性两侧颞-顶缺陷。然而这些成像模式的基础生物学作用机理是不同的。SPECT 所记录的是在静脉内注射后“首过 (first pass)”得到的脑血流图像。PET 所记录的是在注射后历经 3 小时葡萄糖摄取的图像。这两者以不同方式记录了神经元功能。SPECT 基于历经短时程的局部血流量,因此提供了对神经元功能的间接测量,这是因为神经元需氧量 (neuronal oxygen demand) 与脑血流量紧密相关。PET 更直接地对代谢功能进行测量,但对历经较长时程的葡萄糖摄取进行集合。

[0334] 对来自于 19 个受试者的数据进行了分析,所述受试者通过 PET 成像两次。这些受试者由以下组组成:安慰剂 ($n = 7$); 100mg 剂量 ($n = 4$); 和 60mg 剂量 ($n = 8$)。在用 rember™ (60mg, 每日三次) 治疗后的病例中,在海马和内嗅皮层中观察到实质性的葡萄糖摄取增加 (图 15)。PET 数据的 SPM 分析现在允许对该观察结果进行一般化。因为病例数目少,对于合并的 rember™- 治疗病例 (即,合并 100mg 和 60mg 一日三次剂量组),提供了

总结果 (mainresults)。

[0335] 与 SPECT 发现相比,在安慰剂治疗受试者中,葡萄糖摄取的衰退在任何脑区中均未达到统计显著性。

[0336] 然而,在 rember™ 治疗受试者中,从基线图像至在访问 4(18 周)时的第二次 PET 扫描,存在葡萄糖摄取显著增加的区域(针对横跨整个头部多重比较进行校准)。这位于左内侧颞叶(MTL;海马和内嗅皮层)中,如图 26 中所示。这是 t-得分图(t-score map),相应的 t-得分(t-scores)示于标度上。当对数据进行再分析时,假定预期变化仅在内侧颞叶中发生(即,针对多重比较进行小体积校准(small volume correction)),FDG 摄取的增加在两侧 MTL 结构中是显著的。当单独地检查 60mg(每日三次)组时,发现了类似的结果。

[0337] 最后,在用安慰剂治疗的受试者和用 rember™(60mg 或 100mg,一日三次)治疗的受试者之间,在葡萄糖摄取方面存在显著差别。这示于图 27。在这种情况下,显示了具有差别的区域重叠在所述受试者之一的 MRI-扫描图像上,以显示具有显著差别的区域的近似位置。

[0338] PET 结果的最惊人的特征是,在用 rember™(60mg 或 100mg,一日三次)治疗的受试者中,在 AD 进行中受影响最早和最严重的脑区中存在葡萄糖摄取从基线增加的迹象。MTL 结构(海马和内嗅皮层)是 Tau 聚集病理学密度最高的区域。rember™ 治疗选择性地在这些区域产生葡萄糖摄取增加的发现提供了支持 rember™ 作为 Tau 聚集抑制剂的作用机理的强有力证据。即,其它可能的非特异性作用机理(例如线粒体代谢的广泛增强)似乎不可能得到所述作用形成的区域选择性。

[0339] 在临床试验的设计中担忧的是,在 AD 的更晚期阶段,对 MTL 结构的损害将变得不可逆转。细胞外缠结计数(Extracellular tangle counts)在内嗅皮层和海马中增加得早,而直到疾病的极后期,在新皮质中几乎没有缠结介导的神经元破坏(tangle-mediated neuronal destruction)(Mukaetova-Ladinska et al.,2000;Garcia-Sierra et al.,2000)。正是因为这个原因,在统计分析计划中将通过基线严重性分组预先指定为重要的协变量。基于较早的尸体解剖(post-mortem)研究,担忧的是,更晚期的疾病将对 Tau 聚集抑制剂治疗较少地产生响应。结果,所述研究显示,与在 CDR 轻度 AD 中相比,rember™ 治疗的效果大小在 CDR 中度 AD 中较大,这很可能是因为安慰剂-衰退速率在 CDR 中度 AD 中较大。

[0340] PET 数据显示,rember™ 治疗在内侧颞叶结构中产生最强的代谢影响。在 Tau 病理学最严重的区域中,Tau 聚集物的分解产生显著的功能活性增加(如通过葡萄糖摄取的增强测量)。具有统计学显著性的效果可用如此小量的病例来证明,这一事实表明效果大小相对于数据的内在差异性是大,因此预期所述效果是稳健的并且在较大的病例系列中是易于证明的。

[0341] 本发明数据的第二惊人特征是通过 PET 观察到的由 rember™ 产生的变化模式相对于通过 SPECT 观察到的由 rember™ 产生的变化模式的显著差别。尽管 SPECT 扫描具有较低的分辨率,但它可能通过改变其中进行图像重建(reconstruction)和记录(registration)的平面来确定是否存在相应的 MTL 血流变化。如以下进一步讨论的那样,两种成像模式可能不会提供相同的结果,这是因为它们基于潜在显像剂(underlying imaging agent)的不同作用机理。

[0342] 神经病理学研究已经确立了 Tau 聚集病理学进行中的固定区域性层次

(stereotyped regional hierarchy) 在 AD 中的重要性,而 β -淀粉样蛋白病理学未显示出这种神经解剖学特异性 (Braak and Braak, 1991)。在纵向 MRI 研究中已经证实了内侧颞叶结构的早期角色。在轻度认知缺损 (MCI) 的情况下,在海马中的萎缩 (Visser, PJ, Scheltens, P, Verhey, FRJ, Schmand, B, Launer, LJ et al. (1999) Medial temporal lobe atrophy and memory dysfunction as predictors for dementia in subjects with mild cognitive impairment. *J. Neurol.* 246 :477-485 ;Jack, CR, Jr., Petersen, RC, Xu, YC, O' Brien, PC, Smith, GE et al. (1999) Prediction of AD with MRI-based hippocampal volume in mild cognitive impairment. *Neurology* 52 :1397-1403 ;Mungas, D, Reed, BR, Jagust, WJ, DeCarli, C, Mack, WJ et al. (2002) Volumetric MRI predicts rate of cognitive decline related to AD and cerebrovascular disease. *Neurology* 59 :867-873), 并且更具体是在内嗅皮层中的萎缩 (Stoub, TR, Bulgakova, M, Leurgans, S, Bennett, DA, Fleischman, D et al. (2005) MRI predictors of risk of incident Alzheimer disease :A longitudinal study. *Neurology* 64 :1520-1524), 是进行至 AD 的前兆。

[0343] 在特定区域中在区域性灰质损失 (如通过 MRI 测量)、灌注损失 (如通过 SPECT 测量) 和认知功能损失之间的关系是复杂的。在认知衰退和脑血流量衰退之间存在强的相关性,对于额叶尤其如此而对于颞叶这种相关性较弱 (Brown, DRP, Hunter, R, Wyper, DJ, Patterson, J, Kelly, RC et al. (1996) Longitudinal changes in cognitive function and regional cerebral function in Alzheimer' s disease :A SPECT blood flow study. *J. Psychiatr. Res.* 30 :109-126) 并且在临床试验中得到了证实。而且,一般认为,随着疾病进展,灌注缺陷由后向前蔓延 (Matsuda, H, Kitayama, N, Ohnishi, T, Asada, T, Nakano, S et al. (2002) Longitudinal evaluation of both morphologic and functional changes in the same individuals with Alzheimer' s disease. *J. Nuc. Med.* 43 :304-311)。

[0344] 然而在灌注减少区域和特定认知功能 (其通常位于上述脑区域中) 损失区域之间不存在过分简单的关系。这是因为 AD 中的病理学进行的层次性 :蔓延到额叶意味着在受影响较早的脑区中病理学严重性增加。因此,额叶灌注的衰退也是更全面衰退的标志。此外在萎缩区域 (其通过 MRI 来测量) 和 SPECT 灌注缺陷之间不存在过分简单的关系。因此,在受影响的区域中,体积的减小通常大于脑血流量的降低,并且事实上在 MCI/ 轻度 AD 中可存在体积的减小而没有脑血流量的任何相应缺失 (例如在海马中) (Ibanez, V, Pietrini, P, Alexander, GE, et al. (1998) Regional glucose metabolic abnormalities are not the result of atrophy in Alzheimer' s disease. *Neurology* 50 :1585-1593)。Matsuda 等人 (2002) 发现,在纵向研究中,在区域性萎缩区域和血流量降低区域之间存在不一致性。所提出的解释是,在新皮质中观察到的血流降低可通过远距离损害 (例如在内嗅皮质中) 来部分解释,其二在主要损伤区域例如内嗅皮质中,轴突的损失引起剩余神经纤维的生长 (sprouting), 这代替了所损失的连接并保持了突触活性,因此保持了血流。

[0345] 进一步的临床研究 (即,在 3 期中) 将允许在分别通过 SPECT 和 PET 显现的由 rember™ 治疗产生的变化模式之间进行更详细的比较。很可能的是, PET 报告较接近于主要病理学 (primary pathology) 的变化,而 SPECT 报告在功能上依赖于主要病理学区域的区域中的较远的功能性变化。由于随着疾病进展,远距离的功能依赖性皮质区域本身变成了

具有进行性主要病理学的区域,所以图像进一步复杂化。因此,随时间推移的变化和对 Tau 聚集抑制剂治疗的响应的模式很可能是复杂的。

[0346] 不考虑这些潜在的复杂性,本申请的以下发现是一项重要的发现:MTL 结构在代谢上高度响应于 Tau 聚集抑制剂疗法。如上所示,这提供了强有力的证据,支持 rember™ 疗法作为特异性 Tau 聚集抑制剂治疗的主要作用机理。该发现的重要的实际含义是在用于证实 rember™ 作为 AD 的疾病缓解疗法的 3 期试验的设计中。这里提供的证据类型正是向 Tau 聚集抑制剂效能的替代标记要求的证据类型,以及据信这是可被管理当局接受作为疾病缓解效能的客观生物学标记的。

[0347] 又一个实用的实际含义是,与使用认知终点如 ADAS-cog 变化的研究所需要的时帧相比,支持疾病缓解效能的初步数据现在能够在短得多的时帧内提供。如本报告中所述,MTL 代谢的 PET 变化能够在仅 18 周的治疗之后得到证明,可以设想的是,该时帧能够被缩短至 12 周。在临床前研究中显示,在转基因小鼠中的神经病理学变化可在仅 3 周治疗之后得到证明。因此,设计结合有早期功能性脑扫描读出信息 (read-out) 的 3 期计划是可能的。

[0348] 这些发现的第三个实用的实际含义是,它们强有力地支持使用 rember™ 作为 AD 早期预防性治疗的可能性。如上所述,不可逆损害早期发生在 MTL 结构中。在 Braak 2 期和 3 期,在 MTL 脑结构中已经存在可测量的缠结介导的神经元破坏,所述 MTL 脑结构通过功能性投射至新皮质的颞-顶和眶-额 (orbito-frontal) 区域从而对于记忆和较高级整合功能是关键。如图 24 中所示,Braak 2 期和 3 期近似地对应于 MMSE 范围 23-27,并与轻度认知缺损 (MCI) 的概念所包含的认知缺损初期重叠。

[0349] 本发明的有可能证明在 MTL 结构中的选择性代谢增强的证据增加了进行试验以证明在 MCI 中的效能的可能性,其中使用 PET 作为代用终点起了主要作用。已经有了数个鲜明姿态 (high profile) 的临床试验失败,所述临床试验旨在证明在 MCI 中的 AD 治疗效能。这些是非常大型的,持久的和昂贵的研究,已经被非随机中途退出影响所破坏。主要原因是,转变成 AD 已成为主要结果测量。然而,由于 AD 的潜在病理学的进行是逐渐的过程,所以准确地定义明确转变是非常困难的。而且,难以设计对治疗效果敏感的可靠的认知测试。本发明的结果首次提供了使用 PET 作为机理上合理的代用结果测量用于早期预防性干预的可行性。

[0350] 得自功能性脑扫描研究的结论

[0351] 所述功能性脑扫描研究是嵌套在 rember™ 临床研究中的独立研究。功能性脑扫描对研究起到了两种作用:最初的诊断分类,和作为独立的生理学结果测量。使用了两种扫描模式:SPECT (测量区域性脑灌注) 和 PET (测量葡萄糖摄取)。二者已经显示出与神经元功能联系紧密,并且二者给出可比较的诊断发现。

[0352] 作为扫描研究基础的基本假设系基于以下预期:在功能性脑扫描中发现的不足的神经病理学基础特异性地为 Tau 聚集病理学。Tau 聚集病理学的典型分布是非常特征性的和高度固定的 (Braak and Braak,1991;Gertz et al.,1998),在早期缠结前阶段和较后的阶段均如此 (Lai, R. Y. K., Gertz, H. -J., Wischik, D. J., Xuereb, J. H., Mukaetova-Ladinska, E. B., Harrington, C. R., Edwards, P. C., Mena, R., Paykel, E. S., Brayne, C., Huppert, F. A., Roth, M. & Wischik, C. M. (1995) Examination of phosphorylated tau protein as a PHF-precursor at early stage Alzheimer's

disease. *Neurobiology of Aging*, 16 :433-445 ;Mukaetova-Ladinska, E. B. , Garcia-Siera, F. , Hurt, J. , Gertz, H. J. , Xuereb, J. H. , Hills, R. , Brayne, C. , Huppert, F. A. , Paykel, E. S. , McGee, M. , Jakes, R. , Honer, W. G. , Harrington, C. R. & Wischik, C. M. (2000) Staging of cytoskeletal and b-amyloid changes in human isocortex reveals biphasic synaptic protein response during progression of Alzheimer's disease. *American Journal of Pathology*, 157 :623-636)。由于直到疾病极后期为止在新皮质中几乎不存在缠结介导的神经元破坏 (Garcia-Sierra et al. , 2001), 所以推测, 功能性脑扫描模式如 SPECT 和 PET 检测的功能性不足主要是由于缠结前的低聚 Tau 聚集物所导致的在神经元中的功能性损害。因此, 关键的预测是, 提高 Tau 聚集物清除率的治疗如 rember™ 应该预防由 SPECT 和 PET 扫描模式测量的功能性衰退。该预测为本发明研究所证实。

[0353] 在该研究中注意几个重要的结果。第一个是在基线 SPECT 缺陷和基线 ADAS-cog 得分之间充分确立的关系 (Nebu et al. , 2001)。这通过本研究得到证实, 并且显示出被左颞-顶脑区以及在额叶相关皮质 (frontal association cortex) 中的小区域所支配。因此, 这些是决定认知功能 (如通过 ADAS-cog 得分测量) 的脑区。因此, 该标度特别适用于检测在 AD 中受影响的颞-顶区域中的功能障碍, 这可以解释为何 ADAS-cog 标度事实上已经变成在 AD 中的临床试验中的金标准, 尽管它不是适用于常规临床实践的标度。

[0354] 所述研究最重要的结论是, 作为在颞-顶和额叶脑区中的脑功能的逐渐损失所显示的正常衰退轨迹被 rember™ 治疗完全阻止。意料不到的是, 似乎 Tau 聚集物的逐渐累积的功能性结果能够历经短达 6 个月的时间间隔测量出来。这强调了以下事实: 依据脑功能缺失, AD 事实上是快速进行的疾病, 尽管疾病过程的潜在进攻性 (underlying aggressiveness) 不显示在常用的临床计量学如 MMSE 标度上。在 MMSE 标度上的缓慢恶化速率 (每年 1-2 单位) 给予临床医生错误的印象, 即, 疾病进展地不快。然而, 显示在心理测验标度上的测量不是疾病本身的测量, 其被存在于脑中的广泛的认知储备能力所混淆, 这减轻了进行性病理学 (advancing pathology) 的可见临床结果。

[0355] 这通过在客观物理证据 (历经最初 6 个月的研究在 CDR 轻度受试者中使用血流量测得的神经元功能降低了 8%) 和历经相同期限这未能记录在敏感的心理测验手段如 ADAS-cog 上之间的无关性得到证实。然而, 在功能性脑扫描上观察到的衰退是六个月后在 CDR 轻度组中出现的未来临床衰退的征兆。这强有力地支持以下结论: 疾病进展的心理测验测量被认知储备能力所混淆, 特别是在 CDR 轻度类别内的疾病阶段。

[0356] 与这相反的说法是, 与通过心理测验测试相比, rember™ 的益处能够通过功能性脑扫描更敏感地得到证明。尽管 rember™ 治疗的益处不能在 CDR 轻度受试者中历经最初 6 个月的试验期限在任何心理测验标度上得到证明, 但是该益处通过脑功能的物理测量清楚地得到证明。实际上, 在 CDR 轻度受试者中, 在 30/60mg 剂量 rember™ 的情况中, 存在功能改善的证据。

[0357] 这通过低 (100mg) 剂量的数据得到进一步证明。尽管小于对 30/60mg 剂量所观察到的功能性脑扫描益处, 但是在 4 个月治疗之后, 低 (100mg) 剂量相对于安慰剂具有显著的益处。然而, 低 (100mg) 剂量对通过任何心理测验标度所测量的结果均没有明显的有益影响。此外, 当历经较长时程测量时, 低 (100mg) 剂量的益处仅历经 50 周时才变得明显 (数

据提供在病例 9 中)。因此,正如在 SPECT 扫描上的衰退是未来心理测验衰退的预兆一样,在 SPECT 扫描上的益处是未来心理测验益处的预兆。

[0358] 尽管当在特定治疗和严重性组内测量时在扫描数据和 ADAS-cog 数据之间无关,但是在功能性脑扫描改善和 ADAS-cog 上的改善之间存在总体上有力的相关性,达到 -0.44 至 -0.46 范围内的相关系数值,其在临床成像相关性研究领域中是高的。实际上,在变化得分之间的相关性高于在 ADAS-cog 和扫描不足之间的基线相关性 ($r = 0.21$)。

[0359] 当比较通过心理测验标度观察到的药效和通过脑功能的物理测量观察到的药效时,应牢记在心的是,诸如 ADAS-cog 的标度本身仅为痴呆治疗益处的代替物或代用结果测量。痴呆是全脑障碍,其导致整个人的整体功能的严重损害。它仅部分地为认知障碍。出于管理目的 (regulatory purposes) 引入整体临床结果标度如 CGIC 标度 (例如, European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (1997) Note for Guidance on Medicinal Products in the Treatment of Alzheimer's Disease) 代表着超出认知标度来获取这种整体维数 (global dimension) 的尝试。同样可论证的是,全脑功能的物理测量如 SPECT 扫描也是比认知标度更优秀的和更客观的潜在疾病过程测量。

[0360] 在所有活性物治疗剂量的情况中,在基线为 CDR 轻度的受试者中,历经最初 6 个月的治疗,本发明的结果提供了 rember™ 效能的强有力的证实,尽管未能使用标准心理测验终点测量在相同的组中证明效能。历经该期限在 CDR 轻度受试者中通过所使用的任何临床心理测验测量均未能检测到安慰剂衰退或治疗益处表明了较早疾病阶段的心理测验结果测量在面对认知储备时的严重局限性,和掩盖了客观地可证明的脑功能衰退的认知储备的强大影响。

[0361] 因此,结论是,疾病缓解治疗 (其中 rember™ 是第一个可利用的实例) 的效能甚至能够在安慰剂治疗的受试者当通过常规心理测验手段测量时不存在认知衰退的情况下得到证明。所述方法由以下步骤组成:使用诸如 SPECT 或 PET 的方法测量在用安慰剂治疗的受试者的功能性脑扫描中的衰退,并与接受活性物治疗的受试者进行比较。治疗益处能够通过 ROI 或 SPM 方法证明。这种方法的优点是,效能能够历经相对短的时限如 4 个月的治疗得到证明。在轻度或早期 AD 中,效能的证明将要求受试者保持安慰剂治疗长得多的时限,例如通常为 1 年。然而,如接下来的部分中所述,在进行较长期的 AD 研究中存在严重局限性。对于技术人员而言明显的是,也能够使用发展中的疾病进展的其它客观测定方法如 W002/075318 中所述的方法。然而,目前,该方法还不是常规地临床上可利用的,而在本说明书中所述的方法已经可用于在常规临床实践中。以下事实是非常出人意外的:该方法 (迄今为止通常用于诊断用途) 在治疗效能的检测中,甚至在不存在疾病缓解治疗的明显临床益处情况中,具有适用性。

[0362] 实施例 5- 适合存活者偏倚限制历经较长间隔进行 AD 临床试验

[0363] 在进行旨在证明历经较长时程的疾病进展缓解的试验中的主要困难是适合存活者偏倚。在随机设计背景中,较长试验 (其中患者 / 护理者察觉到连续的恶化) 造成了随时间推移非随机中途退出的问题。非随机中途退出能够使具有突出副作用的相对无效药物 (例如 AChE 抑制剂) 的表观效果大小膨胀,特别是在使用最后可利用的观察来插补漏缺数据的 ITT/LOCF 分析中 (Gray, R., Stowe, R. L., Hills, R. K., Bentham, P. (2001) Non-random drop-out bias: intention to treat or intention

to cheat? Controlled Clinical Trials, 22:38S-39S; Hills R, Gray R, Stowe R, Bentham P. (2002) Drop-out bias undermines findings of improved functionality with cholinesterase inhibitors. Neurobiology of Aging, 23:89; Lavori PW (1992) Clinical trials in psychiatry: should protocol deviation censor patient data? Neuropsychopharmacology, 6, 39-48; Little, R., Yau, L. (1996). Intent to treat analysis for longitudinal studies with drop outs. Biometrics, 52:1324-1333)。

[0364] 因为随时间推移而衰退的受试者（所谓的“非响应者”）的逐渐脱离，存活的治疗人群总的来说似乎具有较低的衰退速率。

[0365] 当满足以下条件时发生适合存活者偏倚：(i) 受试者觉得他们必须关于继续药物治疗作出决定（在 rember™ 研究中，明确地给予受试者在 24 周的治疗之后中断的选项）；(ii) 疾病是进行性的和受试者经历持续衰退；(iii) 药物治疗具有副作用。这种问题的标准解决方法是进行 ITT/LOCF 分析，其中使用最后可利用的观察来推导在最终分析时间点的得分，假设最初的随机化足以应付这种偏倚来源。

[0366] 使用 LOCF 数据插补的适合存活者偏倚的影响被认为对于诸如 AChE 抑制剂的药物而言使表观效果大小膨胀，而对于稳定疾病进展的药物如 rember™，所述影响是压缩表观效果大小，特别是在 50 周的时间点。这是因为非随机中途退出对于 AChE 抑制剂在活性物臂中于早期发生，而它在 rember™ 试验的安慰剂臂中于晚期发生。因此，继续衰退的在最小暴露剂量臂中的受试者（即，在 6 个月后转换到低（100mg）剂量的受试者）在 24 周之后从所述研究大部分退出。可以设想的是，该结果可能已经被以下事实所混淆：所述剂量（在第二个 6 个月研究期间安慰剂受试者转到该剂量，即，低剂量（100mg），一日两次）也产生不利影响，最值得注意的是腹泻，其是从所述试验退出的主要原因。然而，偏倚退出不是在相同的低剂量（100mg）比较剂治疗臂中的 CDR 轻度受试者中的因素。因此，在 rember™ 试验中非随机退出的主要驱动者是连续快速衰退的经历，所述连续快速衰退在 CDR 轻度组中最明显。

[0367] 适合存活者偏倚的影响

[0368] 进行了线性混合作用分析以在所有组中测定中断时间是如何影响表观疾病进展速率（如通过 ADAS-cog 变化得分测量）的。关键指标变量（critical index variable）是在 50 周时观察到的变化得分和 24 周或 24 周之后的中断时间时观察到的变化得分之间的相互作用的显著性（significance）。相互作用项的显著性值示于表 13 中。

[0369] 表 13- 描述早期退出对相对于基线的 ADAS-cog 得分变化影响的相互作用项的显著性（p 值）

[0370]

类别	CDR 轻度	CDR 中度
安慰剂 - 低剂量	0.291	0.0025
低剂量 (100mg)	0.644	0.0077
30mg	0.625	0.0611

60mg	0.738	0.148
------	-------	-------

[0371] 从表 13 能够看出,中断时间不影响基线为 CDR 轻度的患者中的疾病进展速率,但是在基线为 CDR 中度和在安慰剂-低剂量臂或低剂量 (100mg) 臂中的患者中非常显著。所述影响在 30mg 臂中在轻度受试者中具有边界显著性。因此,感觉在试验中进展情况良好的患者更可能留在试验中,而已经恶化的患者更可能中断药物治疗。因此,适当的是,对适合存活者偏倚应用校准方法。这在下面进一步讨论。

[0372] LOCF 方法未能校准适合存活者偏倚

[0373] 对受试者 (历经 50 周用 rember™ 治疗所述受试者,并且通过基线的 CDR 严重性将受试者分开) 进行了混合作用分析。图 16 示出 LOCF 数据插补法的结果。在安慰剂-低剂量臂和低剂量 (100mg) 臂中的 CDR 中度受试者在 24 周之后显示出变平 (flattening)。从表面上看,这些结果似乎暗示,基线为 CDR 中度的受试者在 24 周之后停止衰退以及疾病稳定化,但是条件是:他们未使用在其它分析 (特别是历经最初的 24 周的治疗效果的分析) 中似乎无效的 rember™ 剂量进行治疗。这似乎是非常难以置信的,也与已出版的文献相反,因为没有报告暗示具有更深入疾病的受试者作为整体停止衰退,假如他们未接受活性物治疗或接受了最低程度的活性物治疗。因此,结论是,所述明显变平是衰退受试者非随机中途退出的假象,即,适合存活者偏倚。

[0374] 在从活性物治疗退出中的适合存活者偏倚

[0375] 通过得自以下受试者的数据提供了支持适合存活者偏倚影响的一系列不同的证据,所述受试者是从使用 AD- 标记药物 (主要为 AChE 抑制剂) 的在先治疗退出,然后在 rember™ 研究中随机化接受安慰剂治疗臂的受试者。

[0376] 从活性物治疗退出的受试者与首次治疗的受试者相比较的心理测验差异

[0377] rember™ 研究的规程规定,受试者不应该采取任何伴随的 AD- 标记药物治疗 (AChE 抑制剂或美金刚)。因此,将两种类型的受试者随机化:先前从来没有用 AD- 标记药物 (治疗过的受试者通常为新近诊断的) 和在随机化之前从在先的 AD- 标记治疗退出至少 6 周的受试者 (因为不耐受或缺乏响应)。根据在先治疗状况的受试者分布示于表 14 中。可以看出的是,68% 的募集至 rember™ 试验的受试者是进行首次治疗的。

[0378] 表 14- 治疗组的在先治疗状况

[0379]

状况	治疗臂				
	安慰剂-低剂量	低剂量 (100mg)	30mg	60mg	总计
治疗过	27	28	20	26	101
未治疗过	65	62	39	55	221
总计	92	90	59	81	322

[0380] 将在安慰剂-低剂量臂中的受试者中的基于 ADAS-cog 和 MMSE 标度的衰退速率根据在先治疗分组。这示于图 17 和表 15 中。

[0381] 表 15- 在先 AD- 标记治疗导致的安慰剂 - 低剂量衰退

[0382]

ADAS-cog 单位 (50 周)	估值	95% CI	p 值
先前未治疗过 ⁽¹⁾	4.78	3.03, 6.53	< 0.0001
先前治疗过 ⁽²⁾	10.53	8.05, 13.00	< 0.0001
MMSE 单位 (12 周)	估值	95% CI	p 值
先前未治疗过 ⁽¹⁾	0.55	-0.36, 1.47	0.232
先前治疗过 ⁽²⁾	-1.59	-2.95, -0.23	0.0234

[0383] 如表 15 中所示, 在安慰剂 - 低剂量臂中, 在先前未用 AD- 标记药物治疗过的受试者中的估计的总体 50 周衰退为 +4.8 ADAS-cog 单位。先前已经治疗过的受试者历经 50 周衰退多达两倍 (10.5 单位)。对于 MMSE 得分发现了相似的结果, 尽管在这种情况下中所述差异仅在 12 周中显著 (0.6 对 -1.6 MMSE 单位; p 值, 0.0234)。

[0384] 从活性物治疗退出的受试者与首次治疗的受试者相比较的功能性脑扫描差异

[0385] 在 rember™ 研究中通过功能性脑扫描证明了相同的现象。与首次治疗的受试者相比, 在中断使用 AD- 标记药物的在先治疗之后进入 rember™ 研究的受试者被发现在颞叶和顶叶中具有较大的 rCBF 缺陷。具有显著差异的区域示于图 18 中。他们显示较大缺陷的后部蔓延 (posterior spread of deficits), 其是更深入 AD 的特征。

[0386] 心理测验和功能性脑扫描数据均表明, 当随机化接受 rember™ 试验的安慰剂臂时, 具有用 AD- 标记药物治疗的在先历史的受试者显示更快的衰退。这也与在 24 周数据的主要 ITT/OC 分析中发现的证据一致, 即, 使用 AD- 标记药物的在先治疗是标志较低总体认知行为表现的重要辅助因素 (见上面)。

[0387] 结论是, 对于新药临床试验, 许可的 AD- 标记药物 (approved AD-labelled drugs) 的可利用性对患者选择具有显著影响。因为自从诊断以来有可能经历了较长时间, 先前治疗过的受试者有可能处于疾病的更晚期阶段。他们也更可能是从在先治疗作为“不适合非存活者 (unfit non-survivors)” (即, 当服用 AD- 标记药物时继续经历连续衰退和副作用的组的受试者) 退出的。这证实了长期标签公开研究 (long-term open-label studies) 的无效性, 所述长期标签公开研究旨在确立目前可利用的症状治疗的疾病稳定效果 (Rogers, S. L., Doody, R. S., Pratt, R. D., Ieni, J. R. (2000). Long-term efficacy and safety of donepezil in the treatment of Alzheimer's disease: final analysis of a US multicentre open-label study. *European Neuropsychopharmacology*, 10: 195-203.; Wallin, A. K., Andreasen, N., Eriksson, S., Batsman, S., Nasman, B., Ekdahl, A., Kilander, L., Grut, M., Ryden, M., Wallin, A., Jonsson, M., Olofsson, H., Londos, E.,

Wattmo, C., Eriksdotter Jonhagen, M., Minthon, L., Swedish Alzheimer Treatment Study Group (2007). Donepezil in Alzheimer's disease: what to expect after 3 years of treatment in a routine clinical setting. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 23: 150-160。仍然在治疗的受试者代表患者的非随机选择, 所述患者偏向于固有地具有较低衰退速率的受试者, 与用 AChE 抑制剂治疗无关。

[0388] 实施例 6- 在进行旨在证明药物作为疾病缓解剂的效能的较长期 (50 周) 研究中作为提供不偏倚校准的方法的线性插补法

[0389] 本发明人开发了一种先前从未描述过的方法, 该方法允许对适合存活者现象进行不偏倚校准。已经证明了应用插补法来校准适合存活者偏倚是适当的和必须的, 采用以下方法来对历经 50 周的认知功能变化进行不偏倚分析。如果基线为 CDR 中度的患者在 24 周之后的某一时间中断药物治疗, 则将直线拟合至针对每一受试者的可利用的 ADAS-cog 变化得分相对于所述可利用数据的访问日期的图表。考虑到安慰剂影响 (placebo effect) 和因为首次访问受随机波动 (random fluctuations) 影响, 不强行使所述线通过零点。使用每受试者直线拟合 (straight-line fit per-subject) 为大量研究所支持: Stern et al., (1994), Doraiswamy et al., (2001) 和 Winblad, B., Wimo, A., Engedal, K., Soinenen, H., Verhey, F., Waldemar, G., Wetterholm, A. L., Haglund, A., Zhang, R., Schindler, R. (2006) 3-year study of donepezil therapy in Alzheimer's disease: effects of early and continuous therapy. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 21: 353-363, 这暗示, 一般衰退速率 (general rate of decline) 在 15 至 45 ADAS-cog 单位的得分范围内近似为线性。可以将相同的方法应用至其它结果测量 (在 24 周之后安排对所述其它结果测量的评价)。

[0390] 历经 50 周的疾病缓解治疗效能分析

[0391] 50 周研究扩展和证实了上述 24 周研究的发现, 并且证明了在 CDR 轻度和 CDR 中度受试者中在总的 ITT/OC 和 ITT/LOCF 人群中的显著益处 (图 19; 表 18 和 19)。起初随机化接受安慰剂的受试者在 24 周之后转为低 (100mg) 剂量, 一日两次 (bd)。这被称为“安慰剂-低剂量”治疗臂。因为历经最初 24 周的治疗低 (100mg) 剂量对任何心理测验标度的微小效能, 所以将所述安慰剂-低剂量治疗臂便利地用作 50 周研究的最小暴露剂量比较剂臂。

[0392] 图 19 示出历经 50 周 ADAS-cog 得分从基线的变化。在该图表中, 对于标记约定, “placlo”是指随机化接受安慰剂并且在 24 周后转换至低剂量 (100mg) 一日两次的受试者, “low”是指低 (100mg) 剂量一日三次, “30mg”是指 30mg 剂量一日三次以及“60mg”是指 60mg 剂量一日三次。除非另作说明, 阴影线是使用线性混合作用随机系数模型计算的最佳拟合, 粗灰线 (bold grey line) 代表推断的安慰剂。能够看出的是, 对 rember™ 的响应发生在两个阶段中。对于 60mg 一日三次剂量, 在最初的 18 周中具有起始改善, 在 24 周后显示疾病进展的稳定化。对于其它剂量, 在 0-24 周和 24-50 周的响应之间也具有差异。

[0393] 历经 50 周的研究在安慰剂治疗受试者中观察到的平均衰退为 7.8 ADAS-cog 单位 (图 19)。对于用 rember™ (剂量为 60mg, 一日三次) 治疗的受试者, 无论是基于 ADAS-cog 标度还是基于 MMSE 标度, 历经 50 周对受试者所观察到的衰退均未显著地不同于零 (数据未示出)。基于 ADAS-cog 标度, 约 60% 的受试者在 50 周时改善了或停留在原样。基于 MMSE

标度,62%的受试者在 50 周时改善了或停留在原样。与安慰剂 - 低剂量相比,在 60mg 剂量时患者基于任一标度均不衰退的机率要高约 3.4 倍。历经 50 周的试验,相应的效果大小为 -6.8ADAS-cog 单位和 3.2MMSE 单位。除了对疾病进展的作用之外,在 60mg 剂量的情况中,在 15 周时具有 1.6ADAS-cog 单位和 0.8MMSE 单位的初始症状改善,与用 AChE 抑制剂所观察到的情况相当。

[0394] 表 18. 在 50 周时从混合作用分析推断的效果大小 (以 ADAS-cog 单位计)

[0395]

剂量	估值	95% CI	p 值 ⁽¹⁾
低剂量 (100mg)	-4.04	-7.21, -0.87	0.0124
30mg	-3.87	-6.90, -0.84	0.0126
60mg	-6.78	-9.74, -3.82	< 0.0001

[0396] (1)p 值来自于所述值是否显著地不同于安慰剂的测试。

[0397] 表 19. 在 50 周时从最小二乘分析推断的效果大小 (以 ADAS-cog 单位计)

[0398]

剂量	估值	95% CI	p 值 ⁽¹⁾
低剂量 (100mg)	-3.59	-5.81, -1.37	0.0015
30mg	-4.37	-6.83, -1.92	0.0005
60mg	-6.50	-8.89, -4.14	< 0.0001

[0399] (1)p 值来自于所述值是否显著地不同于安慰剂的测试。

[0400] 历经 50 周在安慰剂 - 低剂量臂中的 CDR 轻度受试者中在非认知标度上不存在退化。在 50 周时在 CDR 中度受试者中的非认知结果证实了 24 周分析的发现。NPI (神经精神性存量 (Neuropsychiatric Inventory)) 证明了历经 50 周 rember™ 治疗的益处。在安慰剂 - 低剂量臂中的受试者在患者 - 扰乱标度 (patient-disturbance scale) 上衰退了 9.6 单位,在护理者 - 苦恼标度 (carer-distress scale) 上衰退了 4.9 单位,然而在历经 50 周连续用 rember™ 治疗的受试者中未发现这种衰退,相应的最佳效果大小为 -9.2 单位和 -4.6 单位。

[0401] 被比作低剂量 (100mg) 臂的安慰剂 - 低剂量臂非常近似于延迟开始设计,以证实 rember™ 是正式管理意义 (formal regulatory sense) 上的疾病缓解。历经最初 24 周以具有最小明显治疗效能 (如通过 ADAS-cog 判断) 的剂量开始给药较晚的受试者相对于连续地接受低 (100mg) 剂量的受试者在 50 周时仍具有显著差异。而且,连续地以低 (100mg)

剂量治疗的受试者显示出疾病进展速率的延迟。这示于表 20 和 21。如所预料的一样,所述效果大小稍小于当使用推断安慰剂法 (inferred placebo method) (如表 18 和 19 中) 对延迟开始治疗 (用低 (100mg) 剂量,在研究期限的后半段中) 的小影响进行校准时获得的效果大小。

[0402] 表 20- 估计的从基线的变化,最小暴露剂量比较剂法

[0403]

(以 ADAS-cog 单位计)	估值	95% CI	p 值 ⁽¹⁾
安慰剂 - 低剂量	6.75	5.47, 8.03	< 0.0001
低剂量 (100mg)	4.00	2.61, 5.38	< 0.0001
30mg	3.95	2.30, 5.61	< 0.0001
60mg	1.04	-0.48, 2.56	0.179

[0404] (1)p 值来自于所述值是否显著地不同于零的测试。

[0405] 表 21- 估计的效果大小,最小暴露剂量比较剂法

[0406]

(以 ADAS-cog 单位计)	估值	95% CI	p 值 ⁽¹⁾
低剂量 (100mg)	-2.76	-4.64, -0.87	0.0043
30mg	-2.80	-4.89, -0.71	0.0089
60mg	-5.71	-7.70, -3.72	< 0.0001

[0407] (1)p 值来自于所述值是否显著地不同于安慰剂的测试。

[0408] 尽管在所述两个臂之间在胶囊给药方案中存在差异 (每日三次相对每日两次),但是这两种给药方案的血液学副作用 (其显示清楚的剂量 - 响应分布 (dose-response profile)) 是不可区别的,从而支持了生物暴露 (biological exposure) 的近似等价 (如先提交的未公开的 Wischik 的美国临时申请中所述,注明日期为 10 月 3 日 (dated 3 October),代理人案号 :088736-0116),并因此支持了 rember™ 为疾病缓解性的推论。这也由以下事实所证实 : rember™ 能够历经 50 周以 60mg 剂量阻止疾病进展,以及能够历经 50 周以 30mg 和低 (100mg) 剂量降低疾病进展速率。

[0409] 校准适合存活者偏倚的方法不使效果大小膨胀的证明

[0410] 这些分析的目的是证明用于校准适合存活者偏倚的方法不使效果大小膨胀。为了达到目的,首先必须避开 CDR 轻度受试者在安慰剂臂中历经最初 24 周的研究不衰退的问题。这如下完成。由于发现起初随机化接受安慰剂臂的 CDR 轻度受试者在转换至每日两次

低 (100mg) 剂量之后历经 24 周至 50 周衰退 (见图 2), 这为以下方法提供了基础: 历经与在最初 24 周的研究期间观察的期限所类似期限, 但是在 CDR 轻度受试者中存在衰退迹象的背景中检查 rember™ 效能。出于此目的, 低剂量 (100mg) 臂提供了适合的比较剂组作为 rember™ 剂量的最小暴露剂量。实际上, 历经最初 24 周在 CDR 中度受试者中的分析显示, 历经最初 24 周的治疗期限低 (100mg) 剂量对 ADAS-cog 没有影响, 以及在历经该间隔以此剂量治疗的受试者中观察到的衰退没有不同于真正安慰剂, 从而证明, 历经 6 个月的治疗期限能够使用低 (100mg) 剂量作为比较剂剂量臂。

[0411] 出于此目的, 使用了一种我们称之为“轻度提前证实分析 (mild-brought-forward confirmatory analysis)”的方法。在该分析中, 将在 CDR 轻度组中对 24 周至 50 周的观察结果提前至 0 周至 24 周。对于 CDR 中度受试者, 使用历经 0 周至 24 周的初始数据。在该分析中, 在中度组中的安慰剂是真正安慰剂, 而在轻度受试者中的比较剂剂量是延迟开始的每日两次低 (100mg) 剂量。对于该分析, 均看作安慰剂。提出两种分析: 1) 含初始的中度受试者和提前的轻度受试者 (milds-brought-forward) 的总人群的分析; 2) 通过基线的 CDR 严重性分开的受试者分析。两种分析均使用混合作用模型。

[0412] i) 轻度提前证实分析: 总的分析 (Main Analysis)

[0413] 该分析使用具有随机每患者系数和拟合直线响应曲线的混合作用模型。由于该分析结合了来自于中度受试者的 24 周数据和来自于轻度受试者的 26 周数据, 所以在 25 周计算在表 22 和 23 中示出的推断估值。

[0414] 表 22- 轻度提前证实分析, 历经 25 周从基线的总的变化

[0415]

(以 ADAS-cog 单位计)	估值	95% CI	p 值 ⁽¹⁾
安慰剂 / 安慰剂 - 低剂量	4.65	3.49, 5.81	< 0.0001
低剂量 (100mg)	3.81	2.58, 5.04	< 0.0001
30mg	2.26	0.80, 3.73	0.0026
60mg	0.78	-0.58, 2.18	0.256

[0416] (1)p 值来自于所述值是否显著地不同于零的测试。

[0417] 表 23- 轻度提前证实分析, 历经 25 周总的效果大小

[0418]

(以 ADAS-cog 单位计)	估值	95% CI	p 值 ⁽¹⁾
低剂量 (100mg)	-0.84	-2.54, 0.86	0.330

30mg	-2.39	-4.25, -0.52	0.0126
60mg	-3.85	-5.66, -2.04	< 0.0001

[0419] (1)p 值来自于所述值是否显著地不同于安慰剂 / 安慰剂 - 低剂量的测试。

[0420] ii) 轻度提前证实分析 : 历经 25 周在 CDR 轻度受试者和 CDR 中度受试者中的变化和效果大小

[0421] 在该分析中, 根据在基线的 CDR 将在 50 周时的治疗响应与效果大小严重性分离。该分析使用具有随机每患者系数和拟合直线响应曲线的混合作用模型。表 24 示出了从第 24 周至第 50 周的变化, 以及表 25 示出了在第 50 周的效果大小。

[0422] 表 24- 历经 25 周在轻度受试者和中度受试者中从基线的轻度提前变化

[0423]

(以 ADAS-cog 单位计)	历经 25 周的 CDR 轻度变化			历经 25 周的 CDR 中度变化		
	估值	95%CI	p 值 ⁽¹⁾	估值	95%CI	p 值 ⁽¹⁾
安慰剂 / 安慰剂 - 低剂量	4.26	2.91, 5.61	<0.0001	5.37	3.09, 7.65	<0.0001
低剂量 (100mg)	3.60	2.30, 4.91	<0.0001	4.82	1.60, 8.04	0.0040
30mg	3.07	1.26, 4.88	0.0010	1.04	-1.46, 3.54	0.410
60mg	1.07	-0.41, 2.56	0.156	0.30	-3.62, 3.01	0.855

[0424] (1)p 值来自于所述值是否显著地不同于零的测试。

[0425] 表 25- 历经 25 周在轻度受试者和中度受试者中的轻度提前效果大小

[0426]

(以 ADAS-cog 单位计)	CDR 轻度效果大小			CDR 中度效果大小		
	估值	95%CI	p 值 ⁽¹⁾	估值	95%CI	p 值 ⁽¹⁾
低剂量 (100mg)	-0.66	-2.53, 1.22	0.490	-0.54	-4.49, 3.40	0.783
30mg	-1.19	-3.44, 1.06	0.299	4.33	-7.71, 0.95	0.0131
60mg	-3.19	-5.19, -1.19	0.0020	-5.67	-9.69, -1.65	0.0065

[0427] (1)p 值来自于所述值是否显著地不同于安慰剂 / 安慰剂 - 低剂量的测试。

[0428] iii) 结论

[0429] 所述轻度提前证实分析不依赖于用于校准适合存活者偏倚的线性数据插补。历经

25 周以此方式对 ADAS-cog 和 MMSE (数据未示出) 计算的效果大小均大于直接从 50 周分析测定的效果大小的一半。由于已经指出疾病进展历经 12 个月是线性的 (Stern et al., 1994), 所以可以预期的是, 从在 50 周时进行的分析估计的在 25 周时发生的安慰剂 - 衰退和治疗效果大小将约为在 50 周时观察到的安慰剂 - 衰退和治疗效果大小的一半。然而, 使用轻度提前方法 (mild-brought-forward approach) 对 25 周安慰剂 - 衰退和治疗效果进行的直接分析显示出超过在 50 周时估计的相应结果的一半的安慰剂 - 衰退和治疗效果。但是所述轻度提前分析不需要用于校准适合存活者偏倚的线性插补法, 而所述 50 周结果确实使用了线性插补。因此, 使用线性插补校准适合存活者偏倚不使估计的效果大小膨胀。实际上, 即使膨胀的话, 也是保守的。

[0430] 实施例 7- 在 AD 中在神经变性的 Braak 早期证明疾病缓解效能的重要性

[0431] Braak 分期

[0432] Braak 分期是用于使 Tau 聚集的分子基础与临床上观察到的疾病进展联系起来的关键组织概念。与广泛使用的临床标度 (其主要测量综合征性 AD) 相反, Braak 分期是基于 Tau 病理学进行的病理性表征。定义 Braak 的研究 (Braak, H. & Braak, E. (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathologica* 82 :239-259) 观察到, 神经原纤维缠结在 AD 患者和非痴呆患者的整个脑中的分布模式和填充密度 (packing density) 仅具有较小的个体间差异。Braak 发现, 神经原纤维缠结首先在脑的内嗅区域中形成, 接着在边缘和新皮质区域中形成, 因此确定了这种进行的六个不同阶段 (“Braak 期”)。AD 的临床进行与 Braak 分期 (其本身为解剖学进行的量度) 联系紧密, 由此进一步证实了 Tau 聚集物在临床痴呆中的角色。

[0433] 相反, Braak 研究发现, 对于神经病理学阶段的区分, A β 沉积物的分布模式和填充密度具有有限的显著性。而且, A β 斑块的累积也经常在非痴呆个体的皮质中发现。

[0434] 在 Braak 期和认知衰退之间的联系在较晚的研究中得到进一步证实 (Gertz, H. -J., Xuereb, J., Huppert, F., Brayne, C., McGee, M. A., Paykel, E., Harrington, C., Mukaetova-Ladinska, E., Arendt, T. & Wischik, C. M. (1998) Examination of the validity of the hierarchical model of neuropathological staging in normal aging and Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica* 95 :154-158; Mukaetova-Ladinska, 2000)。在这些研究中, 工作者检查了 48 个受试者 (在他们仍然活着的时候对其进行随访) 的脑中的神经原纤维病理学 (通过 Braak 期量度)、痴呆严重性和最后记录的 MMSE 得分。图 20 示出了在 MMSE 得分和 Braak 期之间的近似关系。

[0435] Braak 分期和衰老

[0436] 在来自于 Braak 组的进一步研究中 (Ohm, T. G., Müller, H., Braak, H. & Bohl, J. (1995) Close-meshed prevalence rates of different stages as a tool to uncover the rate of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neuroscience* 64 :209-217), 检查了年龄为 40-90 岁的 887 名受试者死后的脑组织。本发明人使用该数据进行了 Braak 期转变的年龄特异性概率 (age-specific probabilities) 的存活率分析允许的推导 (survival analysis permitted derivation)。如下面在图 21 中所示, 年龄与 Braak 分期高度相关。随年龄增加, 逐渐向较高 Braak 期迁移。

[0437] 将 Braak 期转变的年龄特异性概率应用于美国人口数据 (United Nations World

Population Prospects: The 2004 Revision, Volume III: Analytical Report; <http://www.un.org/esa/population/publications/WPP2004/wpp2004.htm>) 以计算按年龄计在每一 Braak 期的预计人数。这示于下面的图 22 中。能够看出的是, 历经 30-40 年的时间间隔, 随年龄增长, 存在逐渐的转变, 从 Braak 1 期 (其峰值在约 50 岁) 至 Braak 4 期或更高 (其峰值在约 85 岁)。

[0438] 使用相同的分析来计算在美国在给定 Braak 期阈值 (threshold) 或在给定 Braak 期阈值之上的累积个体数 (图 22)。根据下面在图 23 中所示的年龄分布, 在美国, 存在超过 2500 万名年龄在 45 岁以上处于 Braak 2 期或更高的个体。

[0439] 此外, 使用他们自己对以下研究的分析: Ohm et al. (1995) 研究, 医学研究委员会研究 (the Medical Research Council Study) (The Medical Research Council Cognitive Function and Ageing Study (MRC CFAS)). (1998) Cognitive function and dementia in six areas of England and Wales: The distribution of MMSE and prevalence of GMS organicity level in the MRC CFA study. *Psychological Medicine* 28:319-335), 来自以下的数据: Mukaetova-Ladinska, E. B., Garcia-Sierra, F., Hurt, J., Gertz, H. J., Xuereb, J. H., Hills, R., Brayne, C., Huppert, F. A., Paykel, E. S., McGee, M., Jakes, R., Honer, W. G., Harrington, C. R. & Wischik, C. M. (2000) Staging of cytoskeletal and β -amyloid changes in human isocortex reveals biphasic synaptic protein response during progression of Alzheimer's disease. *American Journal of Pathology* 157:623-636; Lai, R. Y. K., Gertz, H. -J., Wischik, D. J., Xuereb, J. H., Mukaetova-Ladinska, E. B., Harrington, C. R., Edwards, P. C., Mena, R., Paykel, E. S., Brayne, C., Huppert, F. A., Roth, M. & Wischik, C. M. (1995) Examination of phosphorylated tau protein as a PHF-precursor at early stage Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 16, 433-445; 和 Garcia-Sierra, F., Hauw, J. J., Duyckaerts, C., Wischik, C. M., Luna- **Muñoz**, J. & Mena, R. (2000) The extent of neurofibrillary pathology in perforant pathway neurons is the key determinant of dementia in the very old. *Acta Neuropathologica* 100:29-35, 本发明人创建了 Tau 聚集、Braak 分期和 MMSE 衰退的总图 (overall map), 在图 24 和 25 中示出。

[0440] 从图 24 能够看出, 可以估计从 Braak 1 期进行至 Braak 6 期耗时约 50 年。类似地, 在转变至 Braak 1 期后, MMSE 得分从 30 (满标度) 转变至小于 20 在约 Braak 4 期发生并且耗时约 30 年。

[0441] 图 25 示出了在三个代表性脑区: "erc"- 内嗅皮层; "hipp"- 海马; "cortex"- 额叶和颞叶新皮质 (frontal and temporal neocortex) 中测量的脑部聚集 Tau 水平 (以每克脑组织聚集 Tau 的纳克数计) 的绘图。根据图 25 中的对数标度, 能够看出的是, 在脑中的聚集 Tau 水平随时间推移以指数方式增长。而且, 在脑中的聚集 Tau 累积与 MMSE 得分具有非线性关系。从 30 至 25 的 5MMSE 单位的降低对应于 PHF 水平的 7- 倍增加。进一步 5 单位的降低 (降至 20) 对应于 16 倍增加。进一步 5 单位的降低 (降至 15) 对应于 PHF 水平的 56 倍增加。这些水平继续增加, 达到较高的阈值。这近似地对应于这样的水平, 即, 在该水平 "幻影缠结 (ghost tangle)" 首次出现在相应的脑区中, 代表缠结形成导致的神经元死亡。缠结介导的神经元死亡是该过程的相对晚期, 其在上述功能性损害开始很久以后

才发生。在新皮质中,例如,从 Braak 2 期起存在 Tau 聚集和损失神经元功能的迹象(参见较早部分的 Tau 聚集和损失突触功能),而缠结介导的细胞死亡直到 Braak 6 期才观察到。通过 Tau 聚集抑制剂治疗,这些早期功能性变化有可能是可逆的。

[0442] 已经显示,内嗅皮层和海马是所述疾病过程的早期损害部位,以及神经元破坏在这些区域中发生地早(Gertz et al.,1998 ;García-Sierra, F., Wischik, C.M., Harrington, C.R., Luna- **Muñoz**, J. & Mena, R. (2001) Accumulation of C-terminally truncated tau protein associated with vulnerability of the perforant pathway in early stages of neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 22 :65-77)。这些脑区对记忆是关键,解释了为什么记忆缺损是早期疾病的如此突出的特征。因为这些区域的早期易损性,在具有高认知储备的个体(即,教育程度高的个体)中,这些区域可以在检测到任何临床症状之前到达缠结介导的细胞死亡的阶段,尽可能早的开始能够使不可逆损害最小化的治疗是显然重要的。

[0443] 如图 25 中所示,能够看出的是,在一般人群中,当幻影缠结的出现指示缠结介导的神经元死亡阶段的开始时,对内嗅皮层的损害早在 MMSE 得分为 23 单位时变得不可逆。对海马的损害在 MMSE 得分为 18 单位时变得不可逆。在新皮质中的 PHF 累积发生的晚得多和缓慢得多。在该模型中,缠结介导的神经元破坏的程度在新皮质中很低,甚至在疾病的较晚阶段仍然如此。这些区域性差异强调了依赖于目前广泛使用的临床手段来测定何时开始 rember™ 治疗的危险。如实施例 4 中所述,该手段给出使人误解的印象,即,临床损害程度较小或甚至不存在。这在 rember™ 2 期研究中得到强力支持,其中显示,基于 CDR 标度归为轻度的个体历经 6 个月在任何心理测验标度上均未显示衰退迹象,但是历经相同的时间却损失了 8% 的神经元功能(通过功能性脑扫描显示)(见实施例 4)。在内嗅皮层和海马中,作为临床上较小缺陷基础的损害实际上是末期的。

[0444] 得自该实施例的最重要的一般性结论是,在对于记忆功能关键的脑结构中发生不可逆损害之前存在相当的能够临床上检测为精神损害(MMSE 得分为约 25 以上)的时限,其中具有良好的治疗前景。这些阶段在临床上对应于所谓的 MCI 和轻度 AD。这为尽可能早地将预防性治疗引入到疾病中提供了坚实的基本原理。具体地,这为开发用于证明药物(例如 rember™)效能(甚至在常规方法可能未能提供治疗效能证据的情况中如 AD 早期和相关障碍)的方法提供了坚实的基本原理。

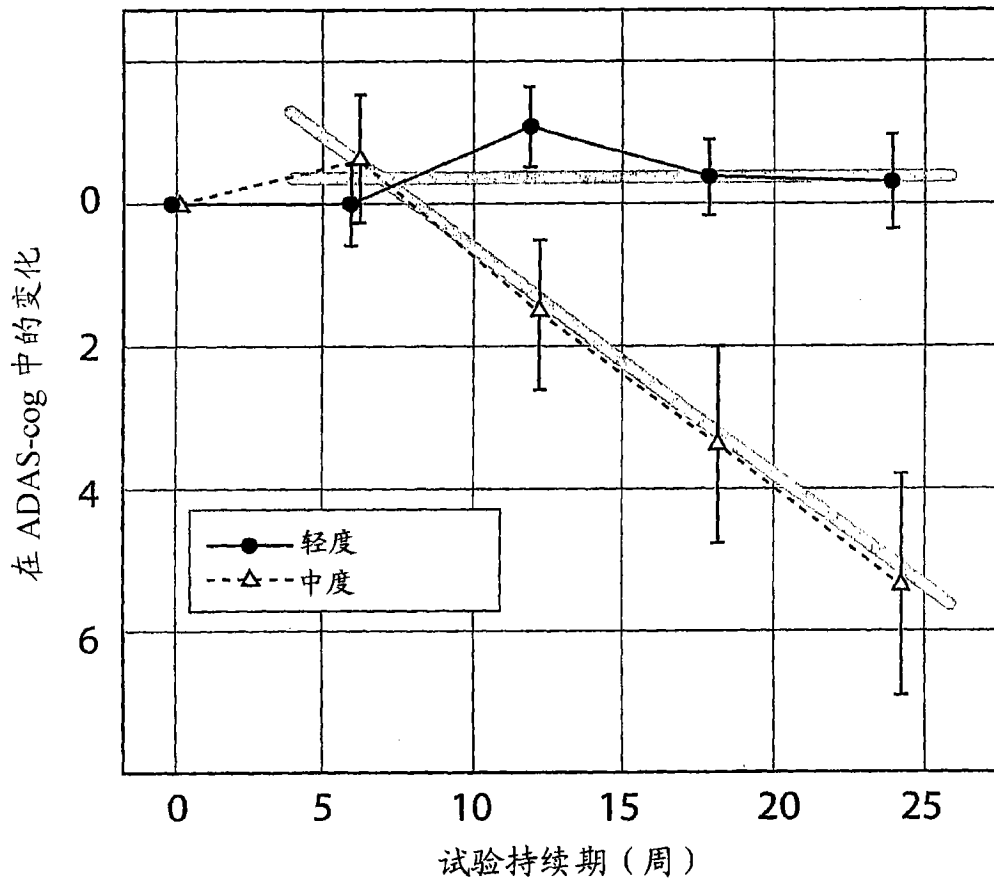


图 1

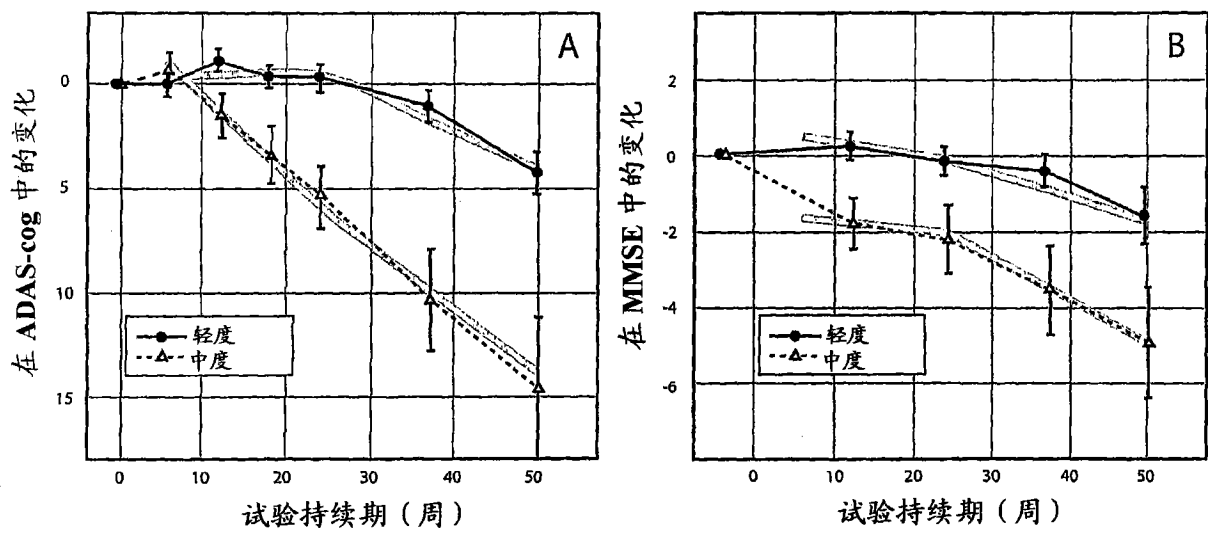


图 2

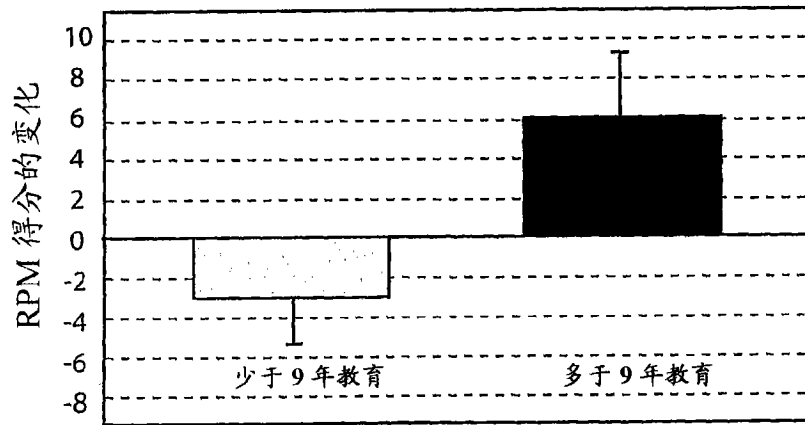


图3

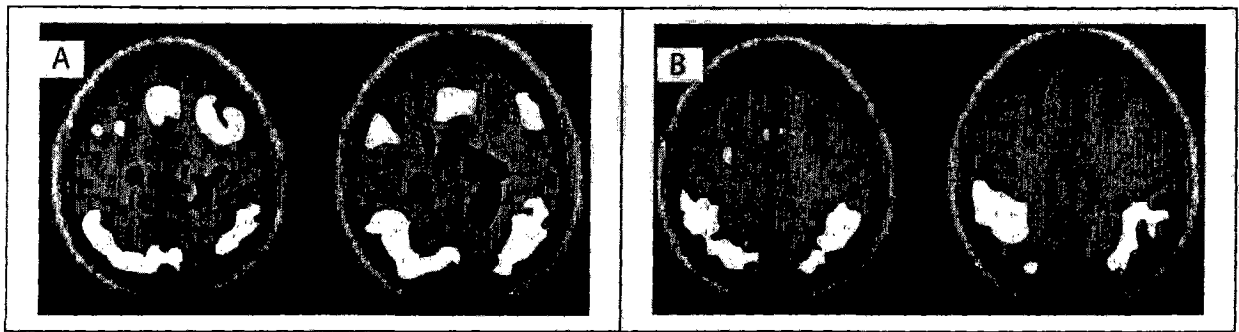


图4

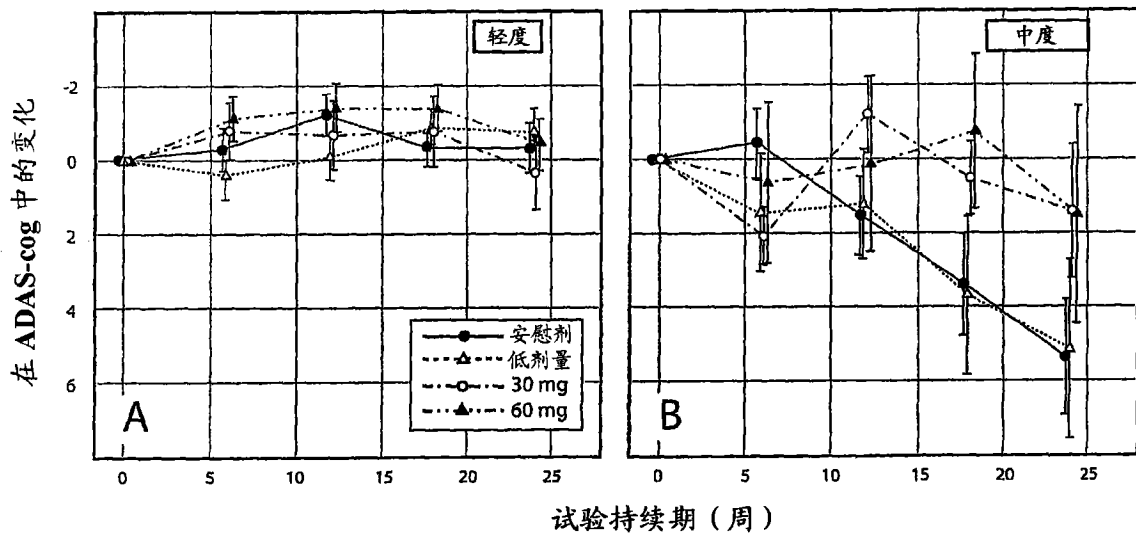


图5

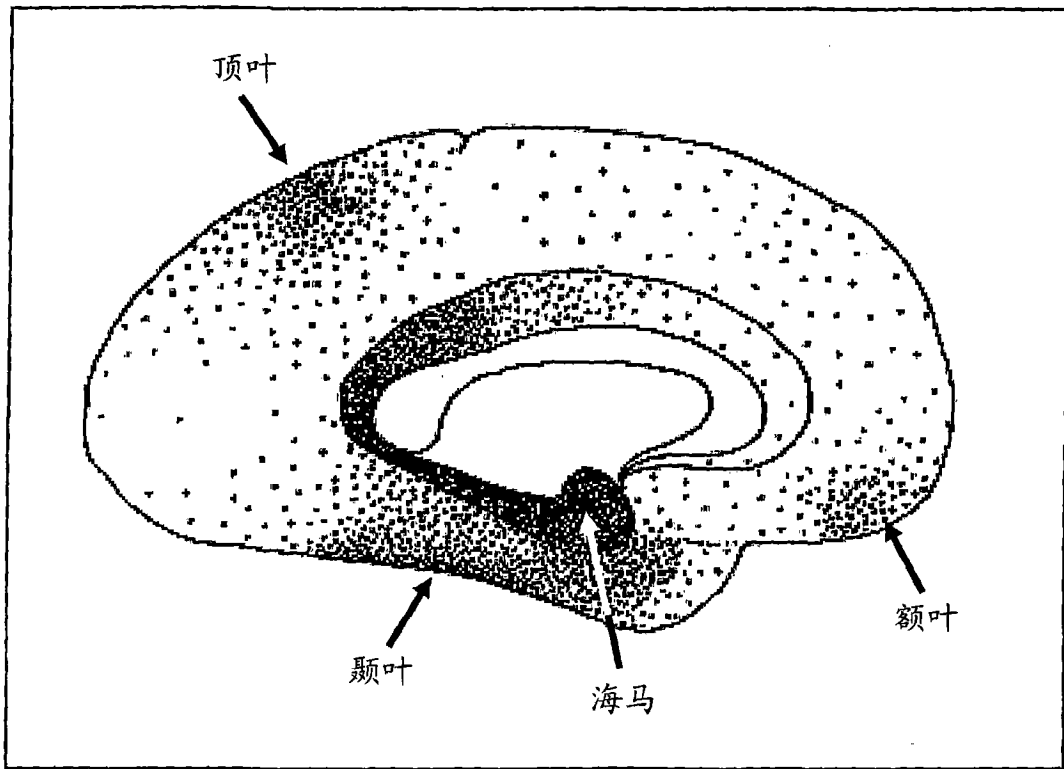


图 6

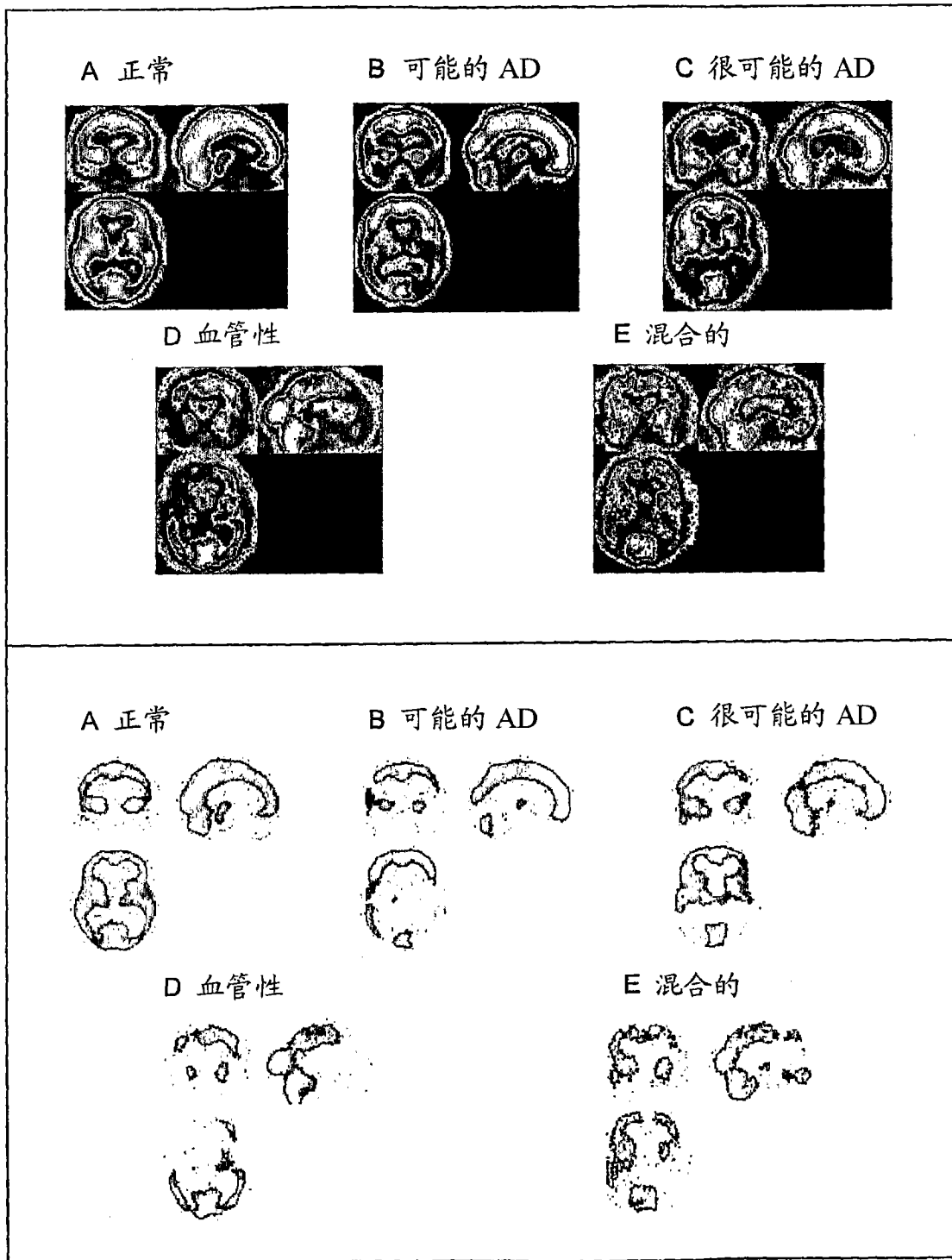


图7

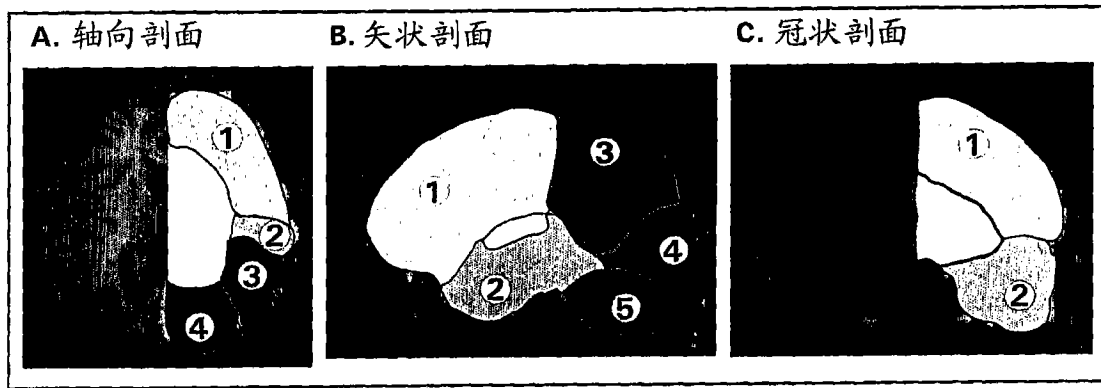


图 8

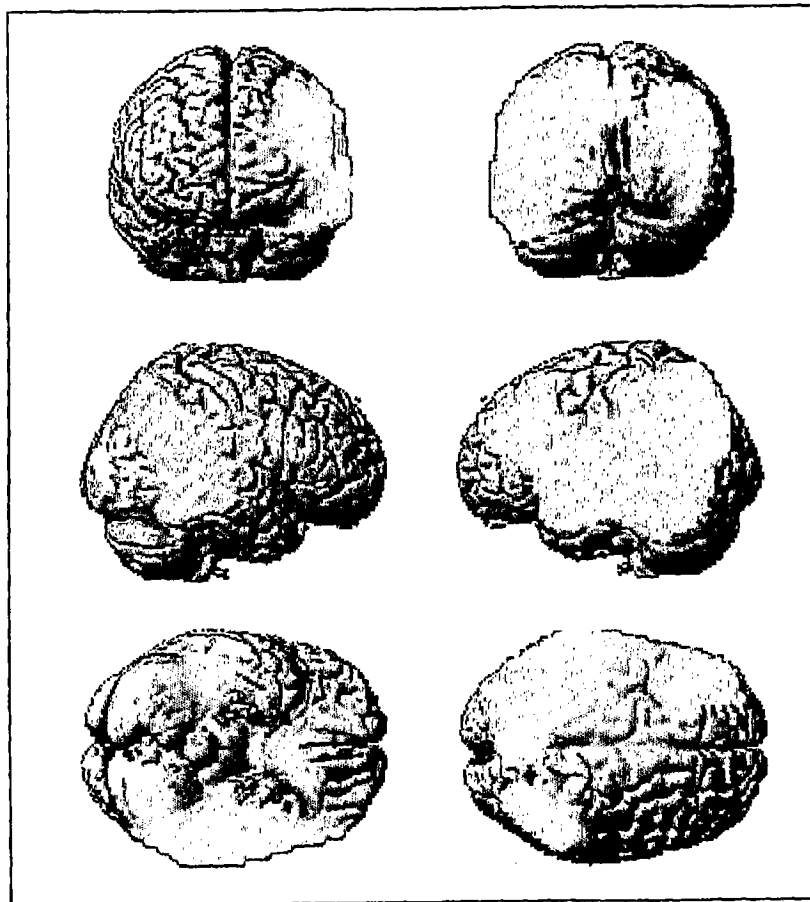


图 9

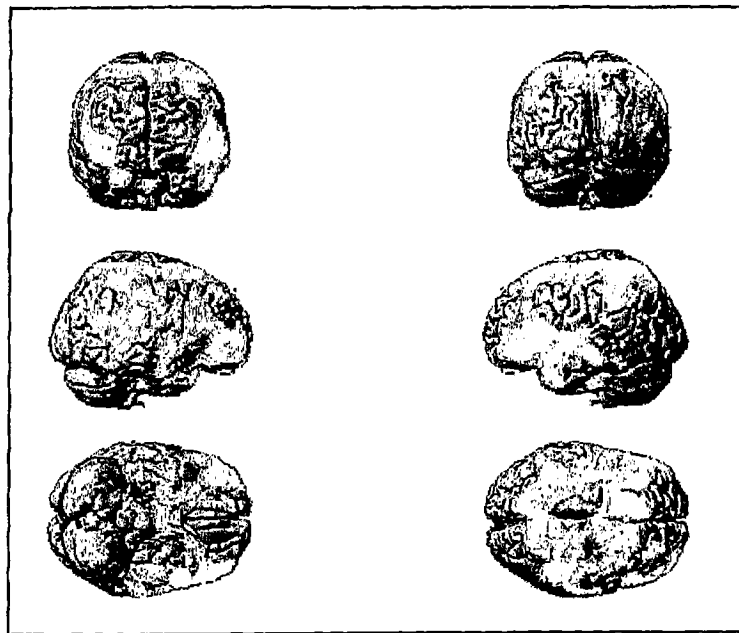


图 10

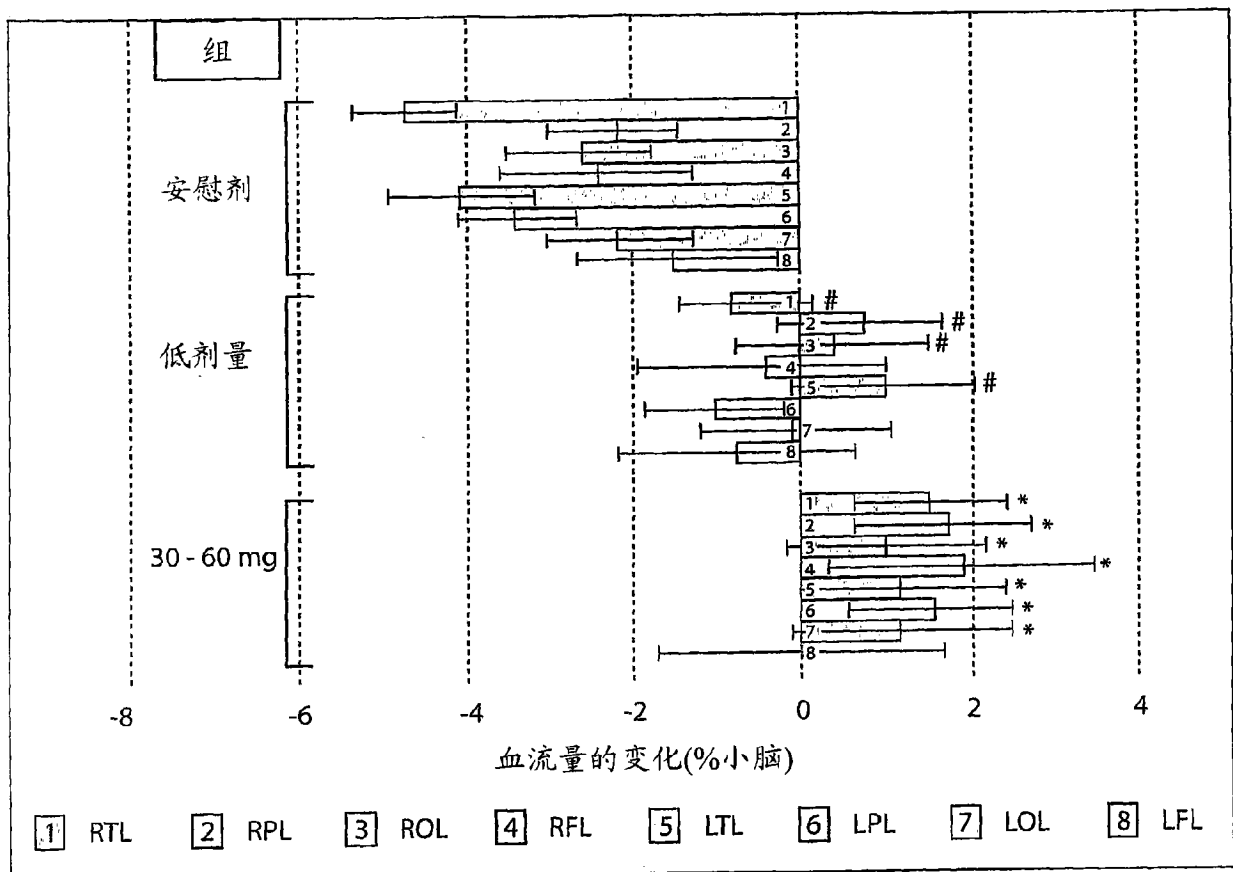


图 11

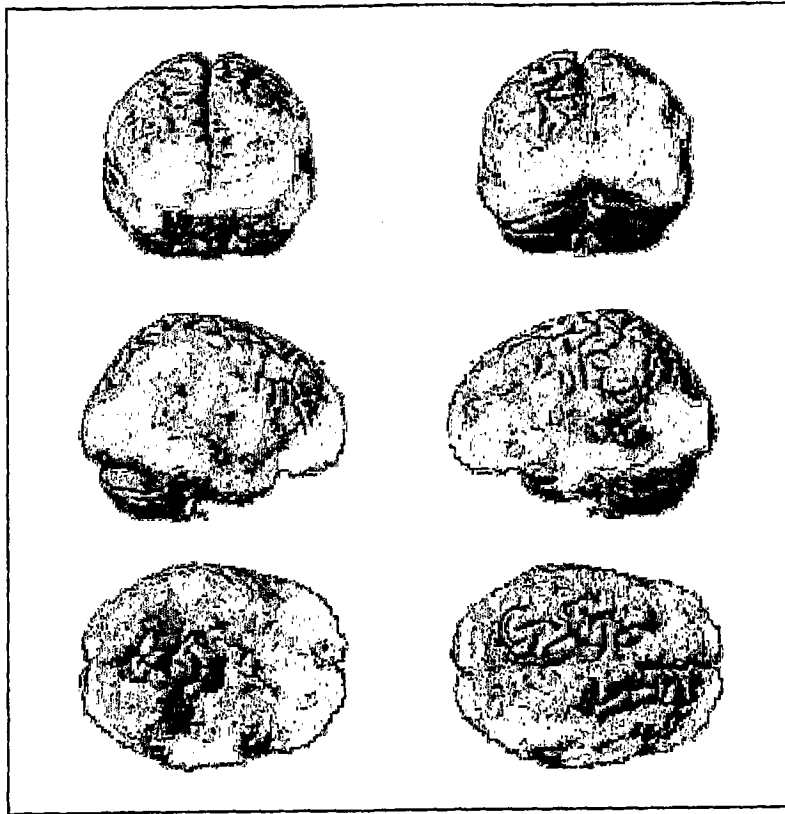


图 12

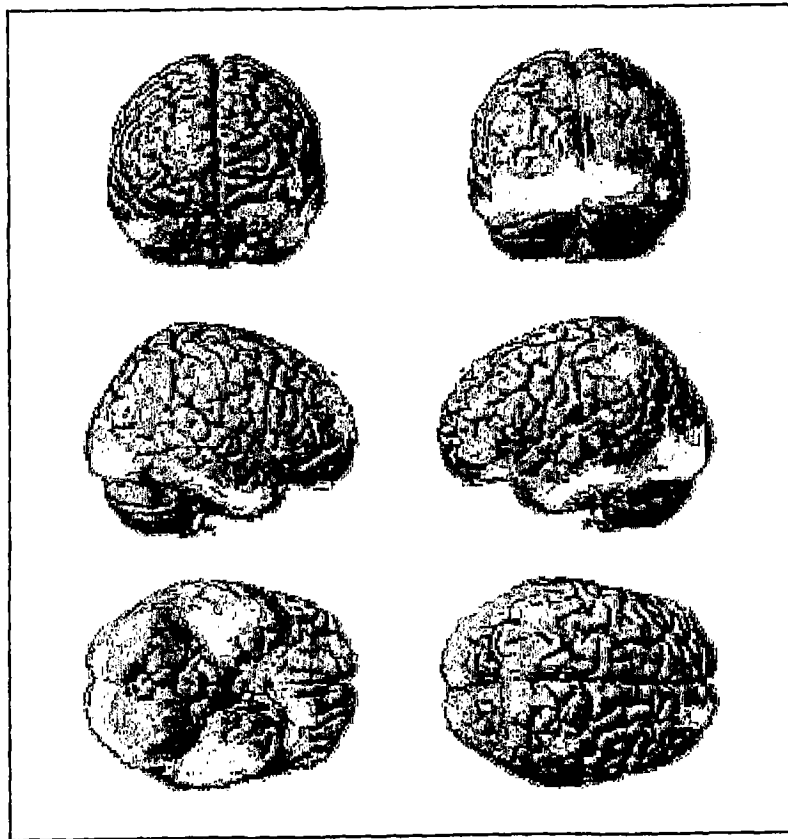


图 13

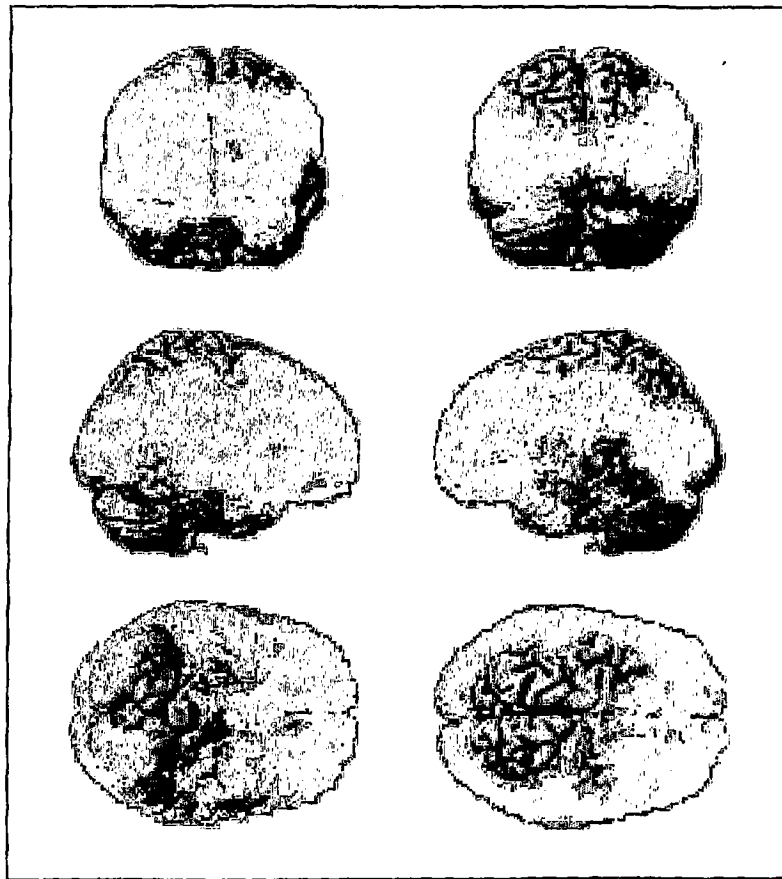


图 14

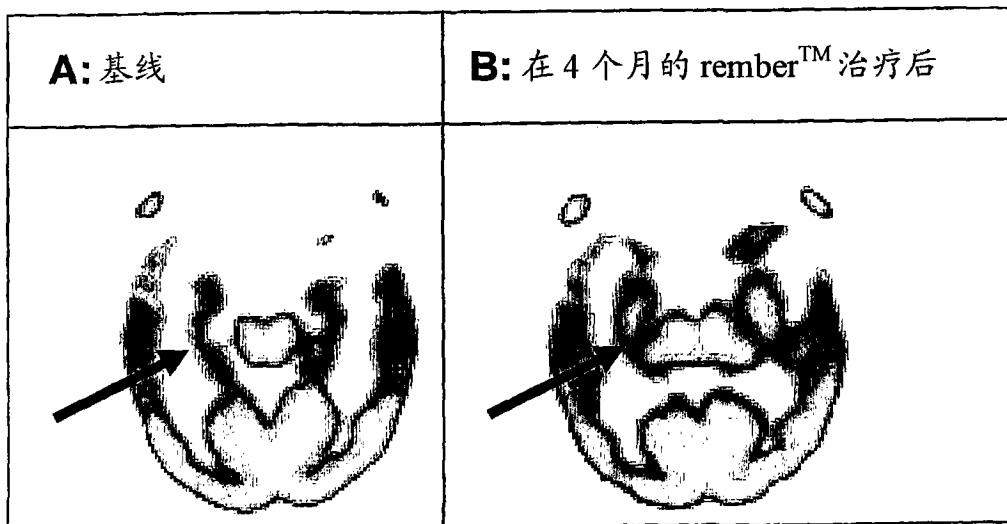


图 15

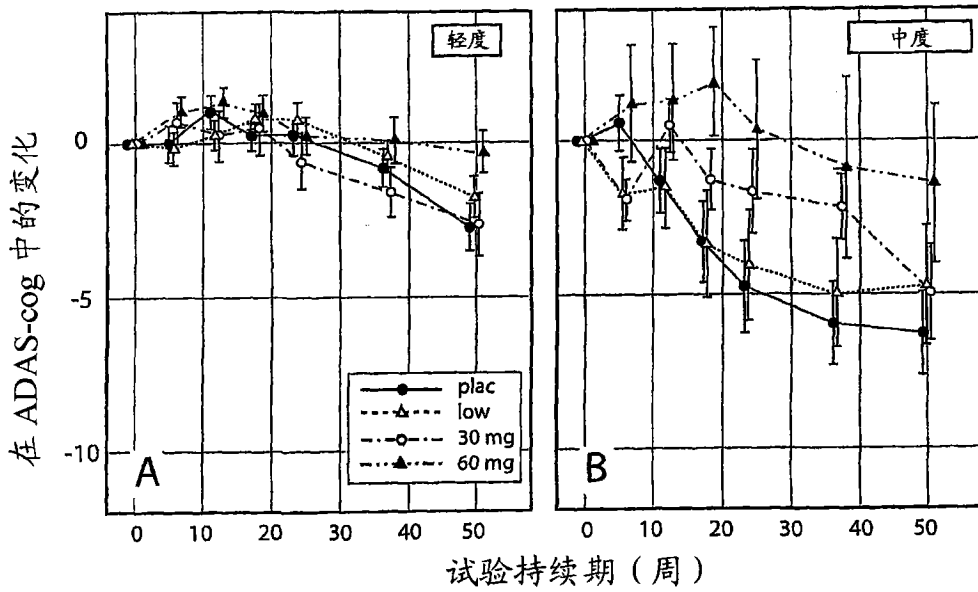


图 16

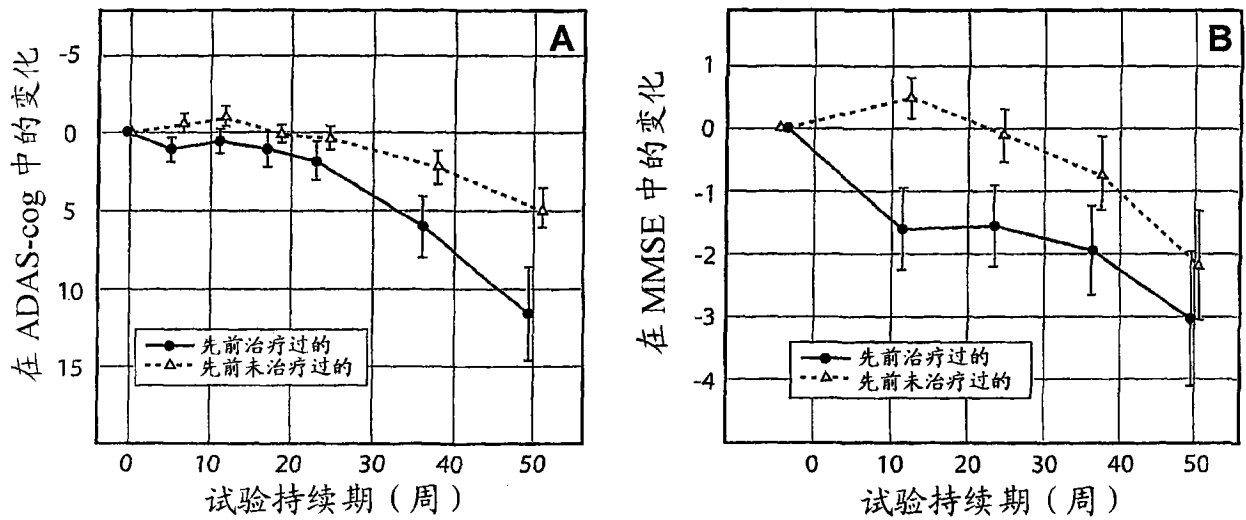


图 17

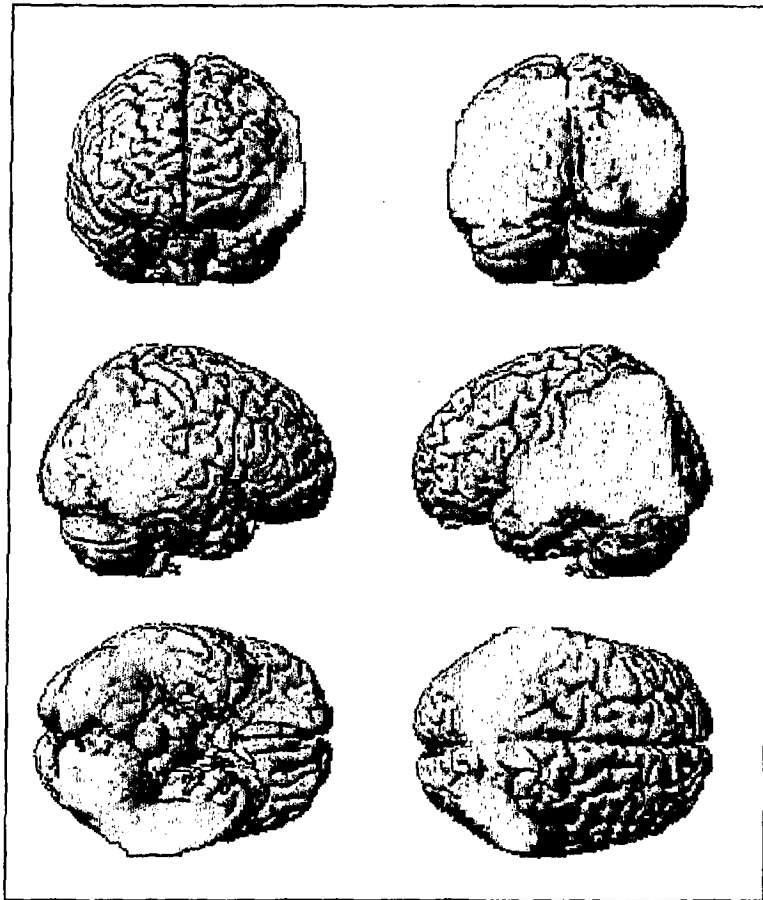


图 18

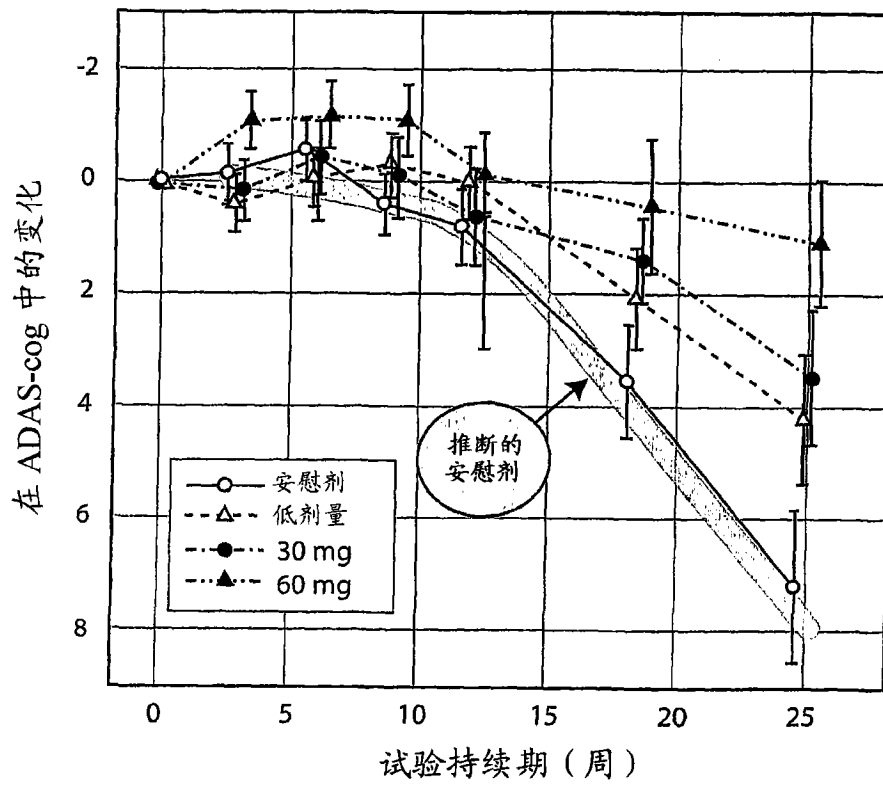


图 19

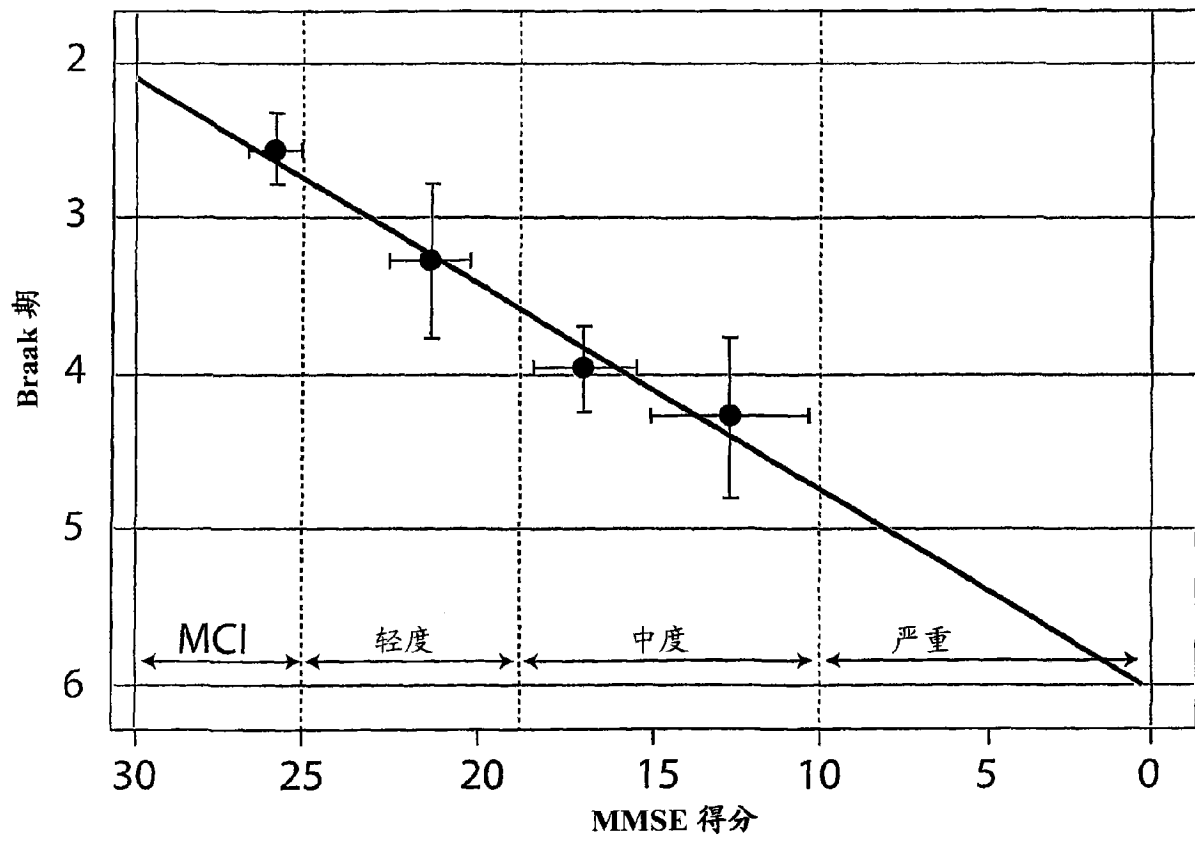


图 20

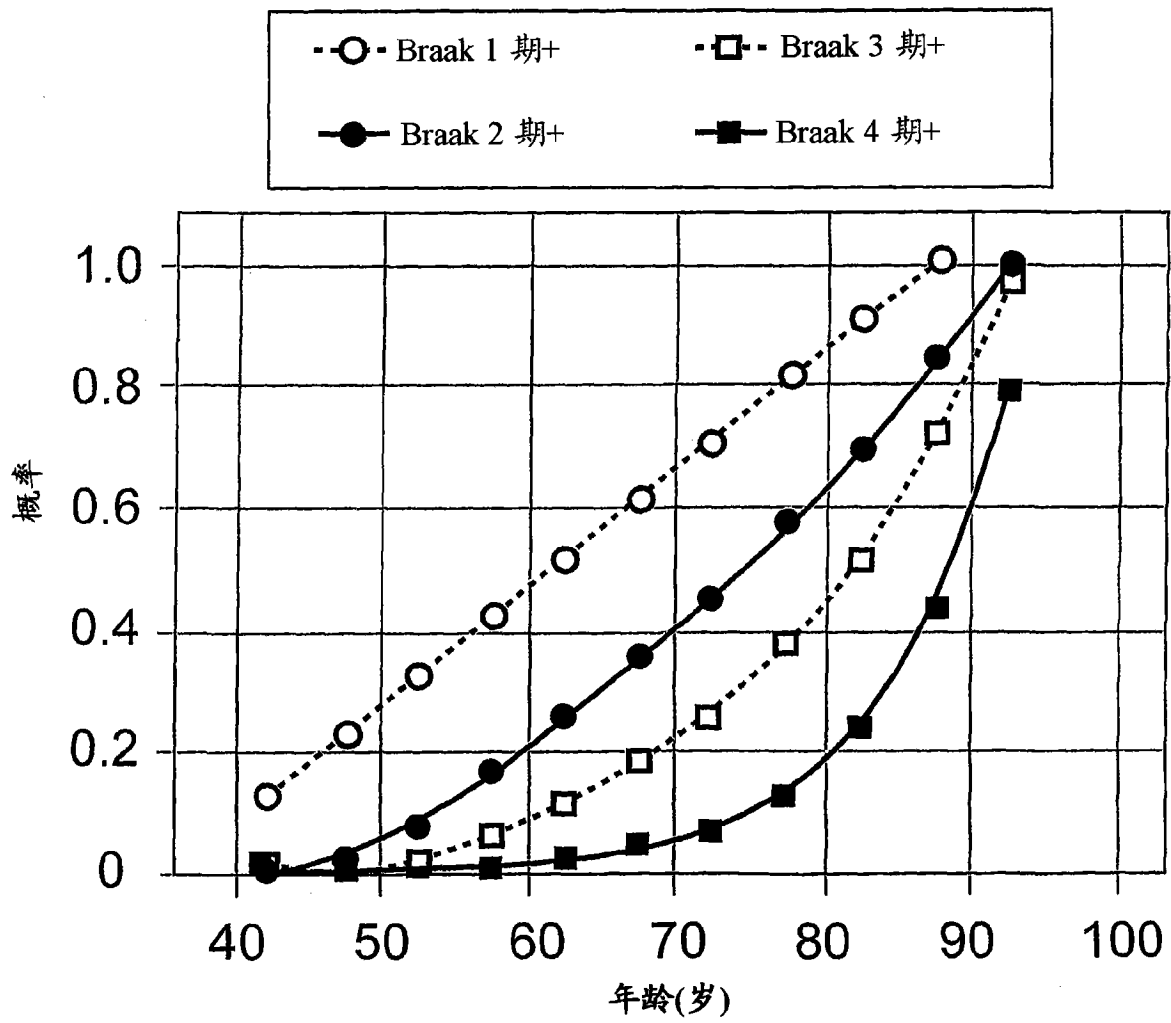


图 21

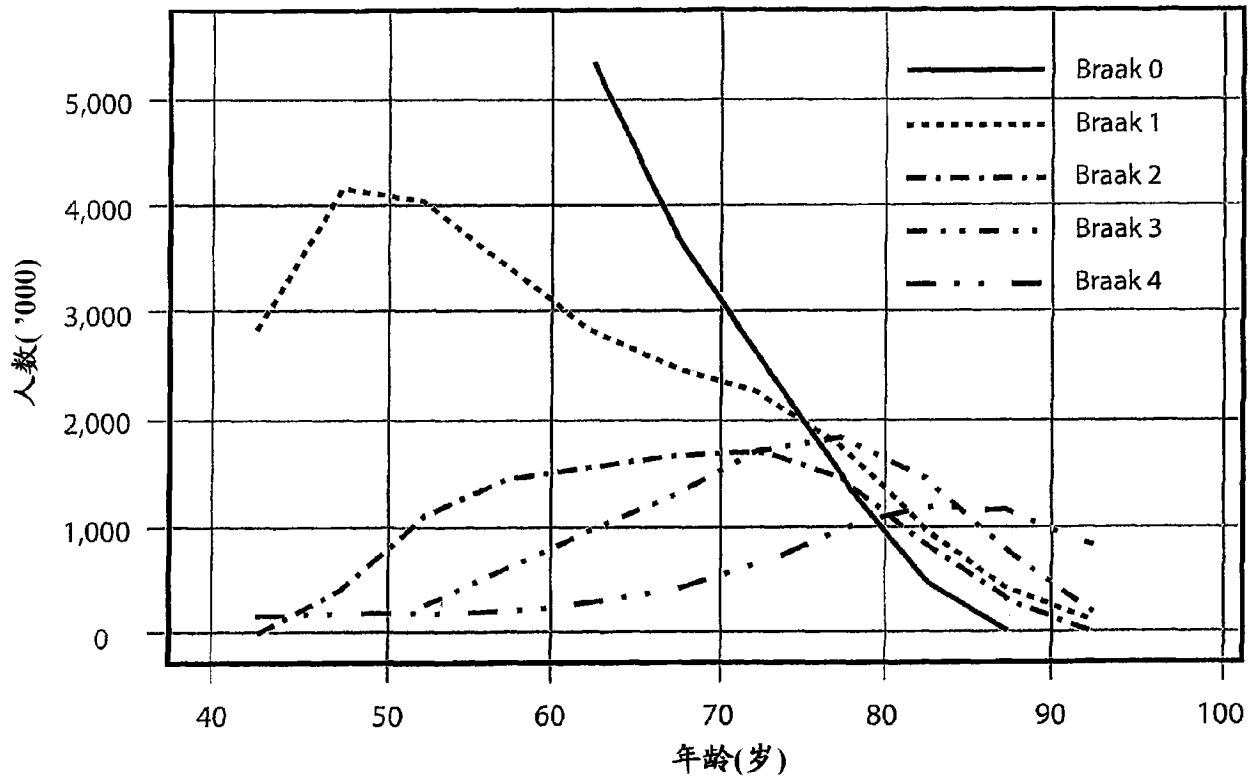


图 22

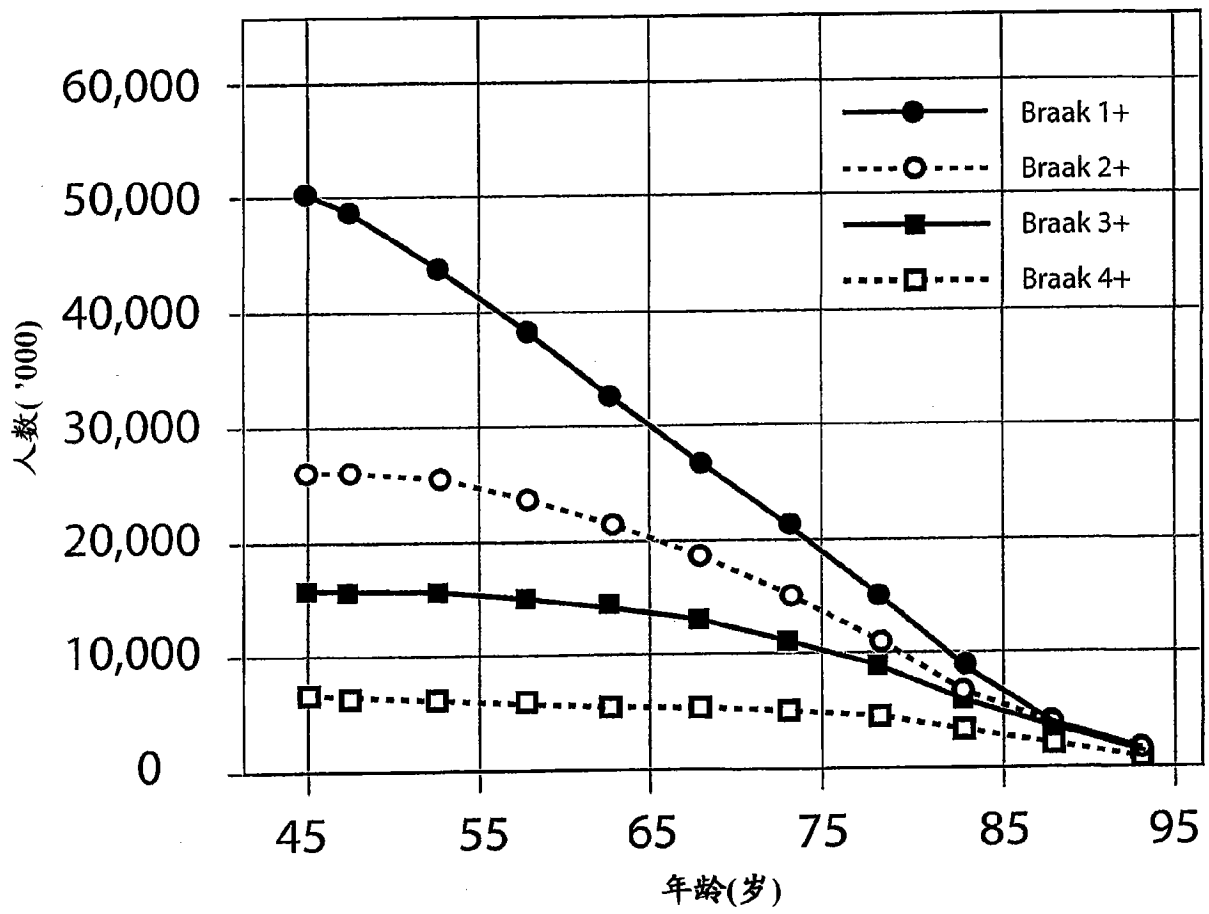


图 23

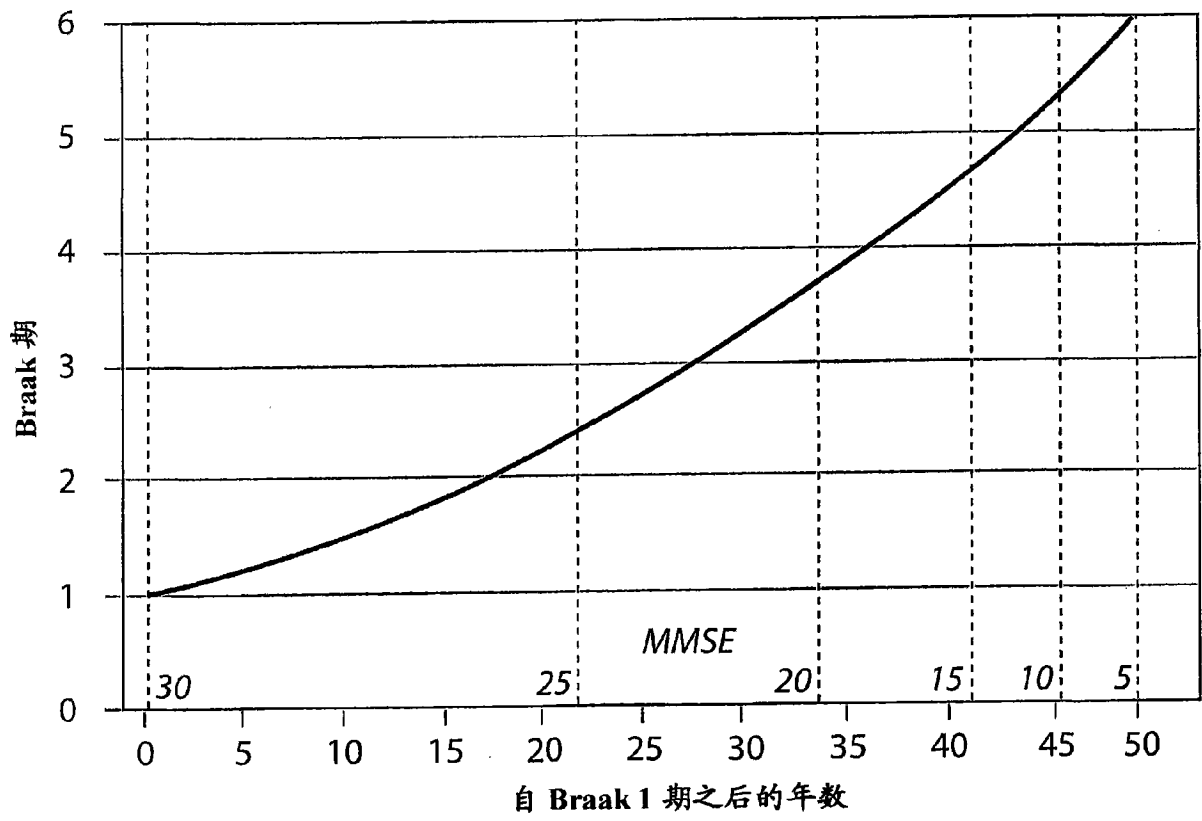


图 24

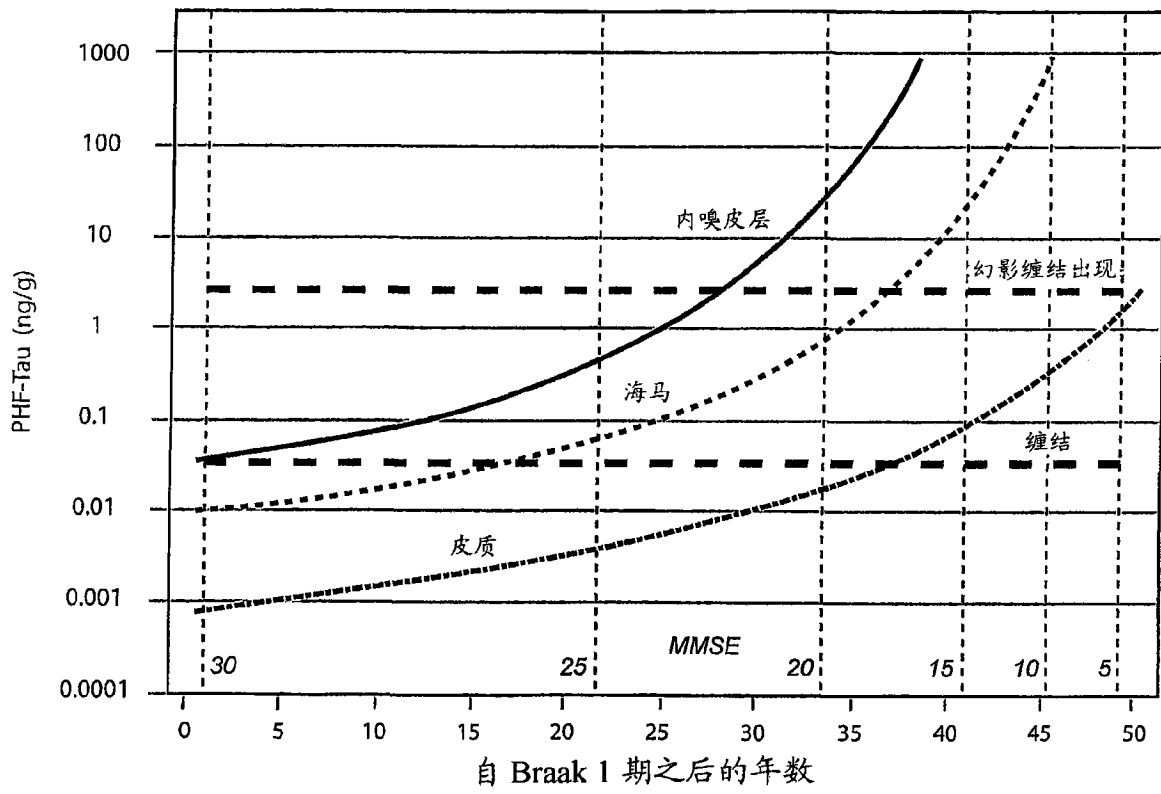


图 25

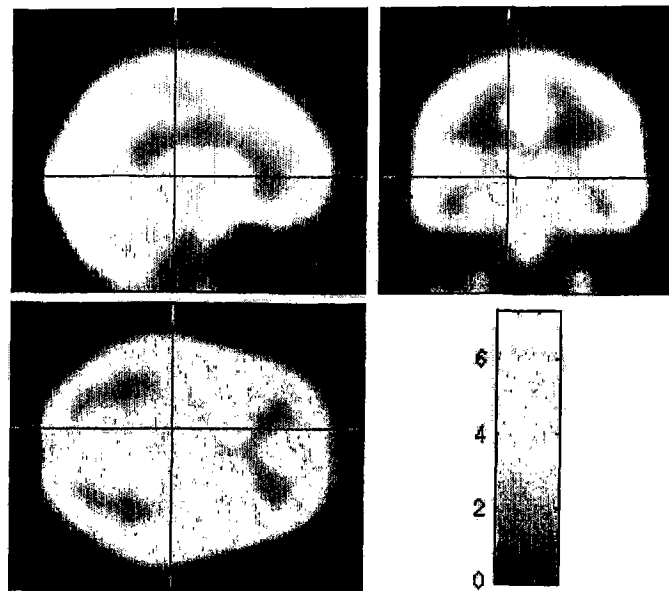


图 26

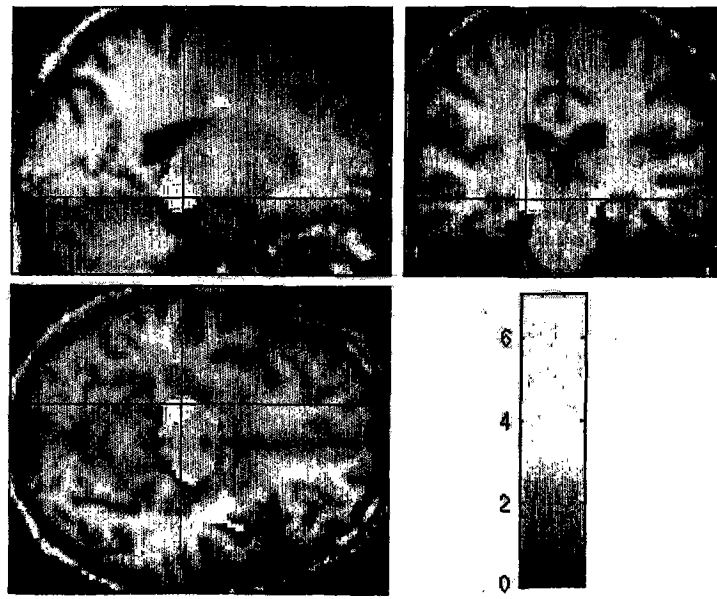


图 27