

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2023-541670
(P2023-541670A)

(43)公表日 令和5年10月3日(2023.10.3)

(51)国際特許分類		F I			テーマコード(参考)
C 0 7 K	7/00 (2006.01)	C 0 7 K	7/00	Z N A	4 C 0 7 6
C 0 7 K	14/00 (2006.01)	C 0 7 K	14/00		4 C 0 8 5
A 6 1 K	39/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/00	G	4 H 0 4 5
A 6 1 K	39/39 (2006.01)	A 6 1 K	39/39		
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全60頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2023-517698(P2023-517698)	(71)出願人	522452503
(86)(22)出願日	令和3年8月6日(2021.8.6)		オター プロシーナ リミテッド
(85)翻訳文提出日	令和5年5月12日(2023.5.12)		アイルランド国 ディー 0 2 ブイケ-6
(86)国際出願番号	PCT/US2021/045058		0 ダブリン 2 , グランド カナル ド
(87)国際公開番号	WO2022/060488		ックランズ , サー ジョン ロジャーソ
(87)国際公開日	令和4年3月24日(2022.3.24)		ンズ キー 7 7 , ブロック シ-
(31)優先権主張番号	63/080,619	(74)代理人	100078282
(32)優先日	令和2年9月18日(2020.9.18)		弁理士 山本 秀策
(33)優先権主張国・地域又は機関			100113413
米国(US)			弁理士 森下 夏樹
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA, ,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く	(74)代理人	100181674
			弁理士 飯田 貴敏
		(74)代理人	100181641
			弁理士 石川 大輔
		(74)代理人	230113332

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 アルツハイマー病の処置のためのマルチエピトープワクチン

(57)【要約】

本開示は、アミロイド - ベータ (A) ペプチドおよびアルファ - シヌクレインペプチドを含むペプチド組成物および免疫療法組成物を提供する。本開示は、対象におけるアルツハイマー病またはベータ - アミロイド沈着を伴う他の疾患を処置するまたはその予防をもたらす方法も提供し、アルツハイマー病またはアルファ - シヌクレインおよび / もしくはアミロイド - ベータ蓄積を含む他の疾患有するか、またはそれを発生するリスクがある対象において、沈着物を取り除く、 A および / またはアルファ - シヌクレインの凝集を阻害または低減する、ニューロンによる取り込みを遮断する、アミロイドを取り除く、ならびにアルファ - シヌクレインシードの伝播を阻害する方法を含む。本方法は、アミロイド - ベータ (A) ペプチドおよびアルファ - シヌクレインペプチドを含む組成物をそのような患者に投与することを含む。

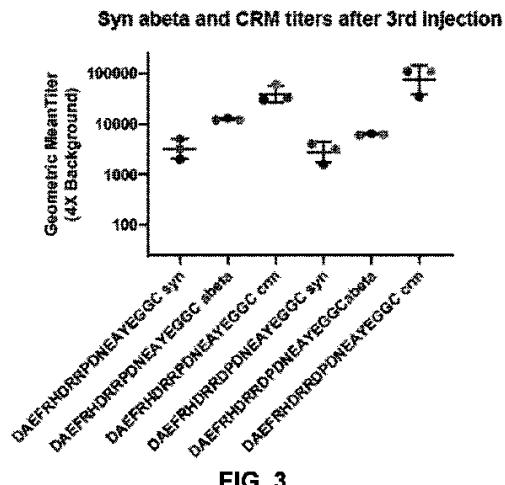


FIG. 3

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

配列番号 0 2 の残基 8 1 ~ 1 4 0 由来の 3 ~ 1 0 アミノ酸を含む第 2 のペプチドに連結された配列番号 0 1 の残基 1 ~ 1 0 または 1 2 ~ 2 5 由来の 3 ~ 1 0 アミノ酸を含む第 1 のペプチドを含むポリペプチド。

【請求項 2】

前記第 2 のペプチドが、アルファ - シヌクレインの C 末端領域（配列番号 0 2 の残基 1 1 1 ~ 1 3 1 ）由来である、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 3】

前記第 1 のペプチドが、前記第 2 のペプチドに対して N 末端にある、請求項 1 に記載の 10
ポリペプチド。

【請求項 4】

前記第 1 のペプチドが、前記第 2 のペプチドに対して C 末端にある、請求項 1 に記載の
ポリペプチド。

【請求項 5】

(a) 前記第 1 のペプチドが、

【化 3 - 1】

DAEFRHDSGY (配列番号 03),

DAEFRHDSG (配列番号 04),

DAEFRHDS (配列番号 05),

DAEFRHD (配列番号 06),

DAEFRH (配列番号 07),

DAEFR (配列番号 08),

DAEF (配列番号 09),

DAE (配列番号 10),

AEFRHDSGY (配列番号 11),

AEFRHDSG (配列番号 12),

AEFRHDS (配列番号 13),

AEFRHD (配列番号 14),

AEFRH (配列番号 15),

AEFR (配列番号 16),

AEF (配列番号 17),

20

30

40

50

【化 3 - 2】

EFRHDSGY (配列番号 18),	
EFRHDSG (配列番号 19),	
EFRHDS (配列番号 20),	
EFRHD (配列番号 21),	
EFRH (配列番号 22),	
EFR (配列番号 23),	
FRHDSGY (配列番号 24),	10
FRHDSG (配列番号 25),	
FRHDS (配列番号 26),	
FRHD (配列番号 27),	
FRH (配列番号 28),	
RHDSGY (配列番号 29),	
RHDSG (配列番号 30),	
RHDS (配列番号 31),	
RHD (配列番号 32),	
HDSGY (配列番号 33),	20
HDSG (配列番号 34),	
HDS (配列番号 35),	
DSGY (配列番号 36),	
DSG (配列番号 37),	
SGY (配列番号 38),	
VHHQKLVFFA (配列番号 121),	
VHHQKLVFF (配列番号 122),	
VHHQKLVF (配列番号 123),	
VHHQKLV (配列番号 124),	30
VHHQKL (配列番号 125),	
HHQKLVFFAE (配列番号 126),	
HHQKLVFFA (配列番号 127),	
HHQKLVFF (配列番号 128),	
HHQKLVF (配列番号 129),	
HHQKLV (配列番号 130),	
HHQKL (配列番号 131),	
HQKLVFFAED (配列番号 132),	
HQKLVFFAE (配列番号 133),	40

【化3-3】

HQKLVFFA (配列番号 134),	
HQKLVFF (配列番号 135),	
HQKLVF (配列番号 136),	
HQKLV (配列番号 137),	
HQKL (配列番号 138),	
QKLVFFAEDV (配列番号 139),	
QKLVFFAED (配列番号 140),	10
QKLVFFAE (配列番号 141),	
QKLVFFA (配列番号 142),	
QKLVFF (配列番号 143),	
QKLVF (配列番号 144),	
QKLV (配列番号 145),	
QKL (配列番号 146),	
KLVFFAEDVG (配列番号 147),	
KLVFFAEDV (配列番号 148),	
KLVFFAED (配列番号 149),	20
KLVFFAE (配列番号 150),	
KLVFFA (配列番号 151),	
KLVFF (配列番号 152),	
KLVF (配列番号 153),	
KLV (配列番号 154),	
LVFFAEDVG (配列番号 155),	
LVFFAEDV (配列番号 156),	
LVFFAED (配列番号 157),	
LVFFAE (配列番号 158),	30
LVFFA (配列番号 159),	
LVFF (配列番号 160),	
LVF (配列番号 161),	
VFFAEDVG (配列番号 162),	
VFFAEDV (配列番号 163),	
VFFAED (配列番号 164),	
VFFAE (配列番号 165),	
VFFA (配列番号 166),	
VFF (配列番号 167),	40

【化 3 - 4】

FFAEDVG (配列番号 168),
 FFAEDV (配列番号 169),
 FFAED (配列番号 170),
 FFAE (配列番号 171),
 FFA (配列番号 172),
 FAEDVG (配列番号 173),
 FAEDV (配列番号 174),
 FAED (配列番号 175),
 FAE (配列番号 176);

10

20

30

40

50

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、
 (b) 前記第2のペプチドが、

【化 4 - 1】

VDPDNEAYEM (配列番号 39),
 VDPDNEAYE (配列番号 40),
 VDPDNEAY (配列番号 41),
 VDPDNEA (配列番号 42),
 VDPDNE (配列番号 43),
 VDPDN (配列番号 44),
 VDPD (配列番号 45),
 VDP (配列番号 46),
 DPDNEAYEM (配列番号 47),
 DPDNEAYE (配列番号 48),
 DPDNEAY (配列番号 49),
 DPDNEA (配列番号 50),
 DPDNE (配列番号 51),
 DPDN (配列番号 52),
 DPD (配列番号 53),
 PDNEAYEM (配列番号 54),
 PDNEAYE (配列番号 55),
 PDNEAY (配列番号 56),
 PDNEA (配列番号 57),
 PDNE (配列番号 58),
 PDN (配列番号 59),
 DNEAYEM (配列番号 60),
 DNEAYE (配列番号 61),

【化4 - 2】

DNEAY(配列番号 62),	10
DNEA(配列番号 63),	
DNE(配列番号 64),	
NEAYEM(配列番号 65),	
NEAYE(配列番号 66),	
NEAY(配列番号 67),	
NEA(配列番号 68),	
EAYEM(配列番号 69),	
EAYE(配列番号 70),	
EAY(配列番号 71),	
AYEM(配列番号 72),	
AYE(配列番号 73),	
YEM(配列番号 74),	
ATGFVKKDQL(配列番号 75),	20
ATGFVKKDQ(配列番号 76),	
ATGFVKKD(配列番号 77),	
ATGFVKK(配列番号 78),	
ATGFVK(配列番号 79),	
ATGFV(配列番号 80),	
ATGF(配列番号 81),	
ATG(配列番号 82),	
TGFVKKDQL(配列番号 83),	30
TGFVKKDQ(配列番号 84),	
TGFVKKD(配列番号 85),	
TGFVKK(配列番号 86),	
TGFVK(配列番号 87),	
TGFV(配列番号 88),	
TGF(配列番号 89),	
GFVKKDQL(配列番号 90),	
GFVKKDQ(配列番号 91),	
GFVKKD(配列番号 92),	
GFVKK(配列番号 93),	
GFVK(配列番号 94),	
GFV(配列番号 95),	40

【化4-3】

FVKKDQL(配列番号 96),

FVKKDQ(配列番号 97),

FVKKD(配列番号 98)

FVKK(配列番号 99),

FVK(配列番号 100),

VKKDQL(配列番号 101),

VKKDQ(配列番号 102),

VKKD(配列番号 103),

VKK(配列番号 104),

KKDQL(配列番号 105),

KKDQ(配列番号 106),

KKD(配列番号 107),

KDQL(配列番号 108), および

KDQ(配列番号 109)

10

20

30

40

50

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、
請求項1～4のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項6】

前記第1のペプチドおよび第2のペプチドが、切断可能リンカーによって連結されている、請求項1～5のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項7】

前記切断可能リンカーが、アミノ酸配列を含む、請求項6に記載のポリペプチド。

【請求項8】

前記アミノ酸配列が、アルギニン-アルギニン(Arg-Arg)、アルギニン-バリン-アルギニン-アルギニン(Arg-Val-Alg-Arg)(配列番号113)、バリン-シトルリン(Val-Cit)、バリン-アルギニン(Val-Arg)、バリン-リシン(Val-Lys)、バリン-アラニン(Val-Ala)、フェニルアラニン-リシン(Phe-Lys)、グリシン-アラニン-グリシン-アラニン(Gly-Ala-Gly-Ala；配列番号114)、アラニン-グリシン-アラニン-グリシン(Ala-Gly-Ala-Gly；配列番号115)またはリシン-グリシン-リシン-グリシン(Lys-Gly-Lys-Gly；配列番号116)を含む、請求項7に記載のポリペプチド。

【請求項9】

前記ポリペプチドのC末端部分または前記ポリペプチドのN末端部分のいずれかに担体へのリンカーをさらに含む、請求項1～8のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項10】

前記リンカーが、GG、GGG、AA、AAA、KK、KKK、SS、SSS、GAGA(配列番号114)、AGAG(配列番号115)およびKGKG(配列番号116)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項9に記載のポリペプチド。

【請求項11】

前記ポリペプチド、または存在する場合前記担体へのリンカーが、C末端システイン(C)をさらに含む、請求項1～10のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項12】

前記第1のペプチドが、DAEFRH(DAEFRH)(配列番号06)である、請求項1～11のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 1 3】

前記第 1 のペプチドが、 D A E F R (配列番号 0 8) である、請求項 1 ~ 1 1 のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 1 4】

前記第 1 のペプチドが、 E F R H D (配列番号 2 1) である、請求項 1 ~ 1 1 のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 1 5】

前記第 2 のペプチドが、 5 ~ 1 0 アミノ酸を含む、請求項 1 ~ 1 1 のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 1 6】

前記第 2 のペプチドが、アミノ酸配列 P D N E A Y E (配列番号 5 5) を含む、請求項 1 ~ 1 1 のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 1 7】

前記第 2 のペプチドが、アミノ酸配列 D P D N E A Y E (配列番号 4 8) を含む、請求項 1 ~ 1 1 のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 1 8】

前記第 2 のペプチドが、アミノ酸配列 A T G F V K K (配列番号 7 8) 、 T G F V K K D (配列番号 8 5) または G F V K K D Q (配列番号 9 1) を含む、請求項 1 ~ 1 1 のいずれかに記載のポリペプチド。

【請求項 1 9】

D A E F R H D R R P D N E A Y E G G C (配列番号 1 1 0) のアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 2 0】

D A E F R H D R R D P D N E A Y E G G C (配列番号 1 1 1) のアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 2 1】

D A E F R H D R R X₁ P D N E A Y E X X C (配列番号 1 1 2) のアミノ酸配列を含み、ここで、 X₁ は、必要に応じて存在し、存在する場合、 D であり、 X X および C は、独立して必要に応じて存在し、存在する場合、 X X は、 G G 、 A A 、 K K 、 S S 、 G A G A (配列番号 1 1 4) 、 A G A G (配列番号 1 1 5) または K G K G (配列番号 1 1 6) であり得る、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 2 2】

請求項 1 ~ 2 1 のいずれかに記載のポリペプチドを含む免疫療法組成物であって、前記ポリペプチドが、担体に連結されている、免疫療法組成物。

【請求項 2 3】

前記担体が、血清アルブミン、免疫グロブリン分子、サイログロブリン、オボアルブミン、破傷風トキソイド (T T) 、ジフテリアトキソイド (D T) 、ジフテリア毒素の遺伝子改変された交差反応物質 (C R M) 、 C R M 1 9 7 、髓膜炎菌外膜タンパク質複合体 (O M P C) および H . i n f l u e n z a e タンパク質 D (H i D) 、 r E P A (P s e u d o m o n a s a e r u g i n o s a 外毒素 A) 、 K L H (キーホールリンペットヘモシアニン) 、ならびにフラジエリンを含む、請求項 2 2 に記載の免疫療法組成物。

【請求項 2 4】

前記担体が、 C R M 1 9 7 である、請求項 2 3 に記載の免疫療法組成物。

【請求項 2 5】

前記担体が、ジフテリアトキソイドである、請求項 2 3 に記載の免疫療法組成物。

【請求項 2 6】

(a) 請求項 1 ~ 2 1 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたは請求項 2 2 ~ 2 5 のいずれかに記載の免疫療法組成物、および (b) 少なくとも 1 種のアジュバントを含む医薬製剤。

【請求項 2 7】

10

20

30

40

50

前記アジュバントが、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウム、3脱-O-アシル化モノホスホリルリピドA(MPL)、QS-21、TQL1055、QS-18、QS-17、QS-7、フロイント完全アジュバント(CFA)、フロイント不完全アジュバント(IFA)、水中油型エマルジョン(スクアレンまたはピーナッツ油など)、CpG、ポリグルタミン酸、ポリリシン、Addavax(商標)、MF59(登録商標)、およびそれらの組合せからなる群から選択される、請求項26に記載の医薬製剤。

【請求項28】

前記アジュバントが、QS-21またはTQL1055である、請求項27に記載の医薬製剤。 10

【請求項29】

前記アジュバントが、MPLである、請求項27に記載の医薬製剤。

【請求項30】

前記アジュバントが、MPLおよびQS-21の組合せまたはMPLおよびTQL1055の組合せである、請求項27に記載の医薬製剤。

【請求項31】

前記アジュバントが、リボソーム製剤を含む、請求項26~30のいずれかに記載の医薬製剤。

【請求項32】

前記組成物が、少なくとも1種の薬学的に許容される希釈剤を含む、請求項26~31のいずれかに記載の医薬製剤。 20

【請求項33】

多重抗原提示システム(MAP)を含む、請求項26~32のいずれかに記載の医薬製剤。

【請求項34】

前記MAPが、Lys系樹状足場、ヘルパーT細胞エピトープ、免疫刺激性親油性部分、細胞透過性ペプチド、ラジカル誘導重合、抗原提示プラットフォームとしての自己組織化ナノ粒子、および金ナノ粒子のうちの1つまたは複数を含む、請求項33に記載の医薬製剤。

【請求項35】

配列番号01の最初の10個のN末端残基または残基12~25由来の3~10アミノ酸残基を含む第1のペプチド配列、および配列番号02の残基81~140由来の3~8アミノ酸を含む第2のペプチド配列を含む免疫療法組成物。 30

【請求項36】

(a) 前記第1のペプチド配列が、

【化5-1】

DAEFRHDSGY(配列番号03),

DAEFRHDSG(配列番号04),

DAEFRHDS(配列番号05), 40

DAEFRHD(配列番号06),

30

40

50

【化 5 - 2】

DAEFRH (配列番号 07),
 DAEFR (配列番号 08),
 DAEF (配列番号 09),
 DAE (配列番号 10),
 AEFRHDSGY (配列番号 11),
 AEFRHDSG (配列番号 12),
 AEFRHDS (配列番号 13),
 AEFRHD (配列番号 14),
 AEFRH (配列番号 15),
 AEFR (配列番号 16),
 AEF (配列番号 17),
 EFRHDSGY (配列番号 18),
 EFRHDSG (配列番号 19),
 EFRHDS (配列番号 20),
 EFRHD (配列番号 21),
 EFRH (配列番号 22),
 EFR (配列番号 23),
 FRHDSGY (配列番号 24),
 FRHDSG (配列番号 25),
 FRHDS (配列番号 26),
 FRHD (配列番号 27),
 FRH (配列番号 28),
 RHDSGY (配列番号 29),
 RHDSG (配列番号 30),
 RHDS (配列番号 31),
 RHD (配列番号 32),
 HDSGY (配列番号 33),
 HDSG (配列番号 34),
 HDS (配列番号 35),
 DSGY (配列番号 36),
 DSG (配列番号 37),
 SGY (配列番号 38),
 VHHQKLVFFA (配列番号 121),
 VHHQKLVFF (配列番号 122),

10

20

30

40

【化 5 - 4】

LVFFAED (配列番号 157),
 LVFFAE (配列番号 158),
 LVFFA (配列番号 159),
 LVFF (配列番号 160),
 LVF (配列番号 161),
 VFFAEDVG (配列番号 162),
 VFFAEDV (配列番号 163),
 VFFAED (配列番号 164),
 VFFAE (配列番号 165),
 VFFA (配列番号 166),
 VFF (配列番号 167),
 FFAEDVG (配列番号 168),
 FFAEDV (配列番号 169),
 FFAED (配列番号 170),
 FFAE (配列番号 171),
 FFA (配列番号 172),
 FAEDVG (配列番号 173),
 FAEDV (配列番号 174),
 FAED (配列番号 175),
 FAE (配列番号 176);

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、

(b) 前記第 2 のペプチド配列が、

【化 6 - 1】

VDPDNEAYEM (配列番号 39),
 VDPDNEAYE (配列番号 40),
 VDPDNEAY (配列番号 41),
 VDPDNEA (配列番号 42),
 VDPDNE (配列番号 43),
 VDPDN (配列番号 44),
 VDPD (配列番号 45),
 VDP (配列番号 46),
 DPDNEAYEM (配列番号 47),
 DPDNEAYE (配列番号 48),
 DPDNEAY (配列番号 49),
 DPDNEA (配列番号 50),

10

20

30

40

50

【化 6 - 2】

DPDNE(配列番号 51),
 DPDN(配列番号 52),
 DPD(配列番号 53),
 PDNEAYEM(配列番号 54),
 PDNEAYE(配列番号 55),
 PDNEAY(配列番号 56),
 PDNEA(配列番号 57),
 PDNE(配列番号 58),
 PDN(配列番号 59),
 DNEAYEM(配列番号 60),
 DNEAYE(配列番号 61),
 DNEAY(配列番号 62),
 DNEA(配列番号 63),
 DNE(配列番号 64),
 NEAYEM(配列番号 65),
 NEAYE(配列番号 66),
 NEAY(配列番号 67),
 NEA(配列番号 68),
 EAYEM(配列番号 69),
 EAYE(配列番号 70),
 EAY(配列番号 71),
 AYEM(配列番号 72),
 AYE(配列番号 73),
 YEM(配列番号 74),
 ATGFVKKDQL(配列番号 75),
 ATGFVKKDQ(配列番号 76),
 ATGFVKKD(配列番号 77),
 ATGFVKK(配列番号 78),
 ATGFVK(配列番号 79),
 ATGFV(配列番号 80),
 ATGF(配列番号 81),
 ATG(配列番号 82),
 TGFVKKDQL(配列番号 83),
 TGFVKKDQ(配列番号 84),

10

20

30

40

50

【化 6 - 3】

TGFVKKD (配列番号 85),
 TGFVKK (配列番号 86),
 TGFVK (配列番号 87),
 TGFV (配列番号 88),
 TGF (配列番号 89),
 GFVKKDQL (配列番号 90),
 GFVKKDQ (配列番号 91),
 GFVKKD (配列番号 92),
 GFVKK (配列番号 93),
 GFVK (配列番号 94),
 GFV(配列番号 95),
 FVKKDQL (配列番号 96),
 FVKKDQ(配列番号 97),
 FVKKD (配列番号 98)
 FVKK (配列番号 99),
 FVK (配列番号 100),
 VKKDQL (配列番号 101),
 VKKDQ (配列番号 102),
 VKKD (配列番号 103),
 VKK (配列番号 104),
 KKDQL (配列番号 105),
 KKDQ (配列番号 106),
 KKD (配列番号 107),
 KDQL (配列番号 108), および
 KDQ (配列番号 109);

10

20

30

40

50

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、

前記第1のペプチド配列および前記第2のペプチド配列のそれぞれが、必要に応じて、C末端システインを含み得る、

請求項35に記載の免疫療法組成物。

【請求項37】

前記第1のペプチドおよび前記第2のペプチドのうちの少なくとも1つが、前記ポリペプチドのC末端部分または前記ポリペプチドのN末端部分のいずれかに担体へのリンカーをさらに含む、請求項35～36のいずれか一項に記載の免疫療法組成物。

【請求項38】

前記リンカーが、GG、GGG、AA、AAA、KK、KKK、SS、SSS、GAGA (配列番号114)、AGAG (配列番号115)およびKGKG (配列番号116)からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項37に記載の免疫療法組成物。

【請求項39】

前記担体への前記リンカーが、必要に応じて、C末端システイン(C)を含み得る、請求項38に記載の免疫療法組成物。

【請求項 4 0】

前記担体が、血清アルブミン、免疫グロブリン分子、サイログロブリン、オボアルブミン、破傷風トキソイド（T T）、ジフテリアトキソイド（D T）、ジフテリア毒素の遺伝子改変された交差反応物質（C R M）、C R M 1 9 7、髄膜炎菌外膜タンパク質複合体（O M P C）およびH . i n f l u e n z a eタンパク質D（H i D）、r E P A（P s e u d o m o n a s a e r u g i n o s a外毒素A）、K L H（キーホールリンペットヘモシアニン）、ならびにフラジエリンを含む、請求項 3 8 ~ 3 9 のいずれか一項に記載の免疫療法組成物。

【請求項 4 1】

前記担体が、C R M 1 9 7 である、請求項 4 0 に記載の免疫療法組成物。 10

【請求項 4 2】

前記担体が、ジフテリアトキソイドである、請求項 4 0 に記載の免疫療法組成物。

【請求項 4 3】

少なくとも 1 種の薬学的に許容される希釈剤をさらに含む、請求項 3 5 ~ 4 2 のいずれか一項に記載の免疫療法組成物。

【請求項 4 4】

多重抗原提示システム（M A P）をさらに含む、請求項 3 5 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の免疫療法組成物。

【請求項 4 5】

前記M A P が、L y s 系樹状足場、ヘルパーT細胞エピトープ、免疫刺激性親油性部分、細胞透過性ペプチド、ラジカル誘導重合、抗原提示プラットフォームとしての自己組織化ナノ粒子、および金ナノ粒子のうちの 1 つまたは複数を含む、請求項 4 4 に記載の免疫療法組成物。 20

【請求項 4 6】

請求項 3 5 ~ 4 5 のいずれかに記載の免疫療法組成物、および少なくとも 1 種のアジュバントを含む医薬組成物。

【請求項 4 7】

前記アジュバントが、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウム、3 脱 - O - アシル化モノホスホリルリピド A（M P L）、Q S - 2 1、T Q L 1 0 5 5、Q S - 1 8、Q S - 1 7、Q S - 7、フロイント完全アジュバント（C F A）、フロイント不完全アジュバント（I F A）、水中油型エマルジョン（スクアレンまたはピーナッツ油など）、C p G、ポリグルタミン酸、ポリリシン、A d d a V a x（商標）、M F 5 9（登録商標）、およびそれらの組合せからなる群から選択される、請求項 4 6 に記載の医薬組成物。 30

【請求項 4 8】

前記アジュバントが、Q S - 2 1 または T Q L 1 0 5 5 である、請求項 4 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 9】

前記アジュバントが、M P L である、請求項 4 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 5 0】

前記アジュバントが、M P L および Q S - 2 1 の組合せまたは M P L および T Q L 1 0 5 5 の組合せである、請求項 4 7 に記載の医薬組成物。 40

【請求項 5 1】

請求項 3 5 ~ 3 9 に記載の免疫療法組成物の請求項 1 ~ 2 1 のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする核酸配列を含む核酸。

【請求項 5 2】

請求項 5 1 に記載の核酸、および少なくとも 1 種のアジュバントを含む核酸免疫療法組成物。

【請求項 5 3】

対象におけるアルツハイマー病を処置するまたはその予防をもたらす方法であって、請 50

求項 22～25 および 35～45 のいずれかに記載の免疫療法組成物または請求項 26～34 および 46～50 のいずれかに記載の医薬製剤を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 54】

アルツハイマー病を有するか、またはそれを発生するリスクがある対象における A およびアルファ - シヌクレインのうちの少なくとも 1 つの凝集を阻害または低減する方法であって、請求項 22～25 および 35～45 のいずれかに記載の免疫療法組成物または請求項 26～34 および 46～50 のいずれかに記載の医薬製剤を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 55】

対象におけるアルツハイマー病を処置するまたはその予防をもたらす方法であって、請求項 52 に記載の核酸免疫療法組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 56】

アルツハイマー病を有するか、またはそれを発生するリスクがある対象における A およびアルファ - シヌクレインのうちの少なくとも 1 つの凝集を阻害または低減する方法であって、請求項 52 に記載の核酸免疫療法組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 57】

前記投与することを、少なくとも 2 回、少なくとも 3 回、少なくとも 4 回、少なくとも 5 回または少なくとも 6 回繰り返すことをさらに含む、請求項 53～56 のいずれかに記載の方法。

【請求項 58】

約 21 日～約 28 日の間隔で前記投与することを繰り返すことをさらに含む、請求項 57 に記載の方法。

【請求項 59】

動物における免疫応答を誘導する方法であって、A 、アルファ - シヌクレイン、または A およびアルファ - シヌクレインの両方に特異的に結合する抗体を含む免疫応答を生成するのに有効なレジメンで、請求項 1～21 に記載のポリペプチド、請求項 22～25 および 35～45 に記載の免疫療法組成物、請求項 26～34 および 46～50 に記載の医薬製剤、または請求項 52 に記載の核酸免疫療法組成物のうちのいずれか 1 つを前記動物に投与することを含む、方法。

【請求項 60】

前記免疫応答が、A に特異的に結合する抗体およびアルファ - シヌクレインに特異的に結合する抗体を含む、請求項 59 に記載の方法。

【請求項 61】

前記免疫応答を前記誘導することが、A の N 末端領域および / またはアルファ - シヌクレインの C 末端領域に特異的に結合する抗体を含む、請求項 59～60 のいずれかに記載の方法。

【請求項 62】

請求項 22～25 および 35～45 のいずれかに記載の免疫療法組成物を含む免疫キット。

【請求項 63】

アジュバントをさらに含む、請求項 62 に記載のキット。

【請求項 64】

前記免疫療法組成物が、第 1 の容器中にあり、前記アジュバントが、第 2 の容器中にある、請求項 63 に記載のキット。

【請求項 65】

請求項 52 に記載の核酸免疫療法組成物を含むキット。

【請求項 66】

アジュバントをさらに含む、請求項 65 に記載のキット。

10

20

30

40

50

【請求項 6 7】

前記核酸が、第1の容器中にあり、前記アジュvantが、第2の容器中にある、請求項6 6に記載のキット。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0 0 0 1】****関連出願**

本出願は、2020年9月18日に出願された米国仮特許出願番号第63/080,619号の利益を主張し、これは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0 0 0 2】**配列表の陳述**

コンピューター可読形態の配列表を、電子提出により本出願とともにに出願し、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。配列表は、2021年8月3日に作成され、「20-1084-WO_Sequence-Listing_ST25.txt」というファイル名を有し、31kbのサイズであるASCIIテキストファイルに含まれる。

【0 0 0 3】**分野**

本開示は、免疫学および薬の技術分野、特に、アルツハイマー病およびタンパク質ミスフォールディングの他の疾患の処置に関する。

【背景技術】**【0 0 0 4】****背景**

アルツハイマー病(AD)は、老人性認知症をもたらす進行性疾患である。大まかに言えば、この疾患は、老齢(65歳以上)で起こる遅発性、および老齢期よりかなり前、すなわち、35~60歳に発生する早発性の2つカテゴリーに分類される。両方の種類の疾患では、病理は同じであるが、異常性は、より早い年齢で開始する症例において、より深刻かつ広がる傾向がある。この疾患は、神経原線維変化および老人斑の脳における少なくとも2つの種類の病変によって特徴付けられる。老人斑(すなわち、アミロイド斑)は、脳組織の切片の顕微鏡解析によって可視化される中央での細胞外アミロイド沈着全体にわたる最大で150μmの不規則な神経網の領域である。中枢神経系内のアミロイド斑の蓄積は、ダウン症候群および他の認知障害の脳アミロイド血管症(CAA)、ならびに眼疾患の加齢黄斑変性にも関連する。

【0 0 0 5】

斑の主な構成成分は、Aまたは-Aミロイドペプチドと称されるペプチドである。Aペプチドは、アミロイド前駆体タンパク質(APP)という名称のより長い膜貫通糖タンパク質の38~43アミノ酸の4kDaの内部断片である。異なる分泌酵素によるAPPのタンパク質分解プロセシングの結果として、Aは、40アミノ酸長の短形態および42~43アミノ酸長の範囲の長形態の両方で主に見出される。APPの疎水性膜貫通ドメインの部分は、Aのカルボキシ末端で見られ、特に長形態の場合において、斑に凝集するAの能力の主な原因であり得る。脳におけるアミロイド斑の蓄積は、最終的に、ニューロン細胞死をもたらす。この種類の神経劣化に関連する認知症状および身体症状は、アルツハイマー病を特徴付ける。

【0 0 0 6】

ニューロンおよび他の細胞において見出されるタンパク質であるアルファ-シヌクレインは、シヌクレインオバチーと総称されるパーキンソン病、レビー小体型認知症および多系統萎縮症を含むいくつかの神経変性障害を特徴付ける病理の主要な構成要素である。アルファ-シヌクレインの正常な生理学的機能の理解は限定的であるが、証拠は、タンパク質の可溶性形態が他のタンパク質およびある特定の細胞内膜と相互作用し得ることを示す。シヌクレインオバチーにおいて、アルファ-シヌクレインタンパク質は、細胞内で異常に凝集しているように見え、これが疾患病理に寄与する。アルファ-シヌクレインのある特定

10

20

30

40

50

の凝集形態が、ニューロン間で伝達され得、ニューロン機能不全およびニューロン喪失を引き起こす病理の伝播をもたらす証拠が増加している。アルファ - シヌクレイン (SNC A) のミスフォールディングおよび凝集は、多くの場合、一部の神経変性疾患における - アミロイド沈着に付随して起こり得、アルファ - シヌクレイン凝集物およびA 凝集物は、アルツハイマー病およびパーキンソン病を含むいくつかの神経変性障害において共存している。

【0007】

したがって、アルツハイマー病の防止または処置のための新たな治療および試薬、特に、患者に存在するA およびアルファ - シヌクレインに対する免疫応答を引き起こすことができる治療および試薬についての必要性が存在する。

10

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

要旨

一部の実施形態では、開示は、配列番号02の残基81～140由来の3～10アミノ酸を含む第2のペプチドに連結された配列番号01の残基1～10由来の3～10アミノ酸を含む第1のペプチドを含むポリペプチドを対象とする。例えば、第2のペプチドは、アルファ - シヌクレインのC末端（配列番号02の残基111～140）由来であってもよい。第1のペプチドは、第2のペプチドに対してN末端にあってもよく、または第1のペプチドは、第2のペプチドに対してC末端にあってもよい。加えて、第1のペプチドは、配列番号3～38または121～176のうちの1つのアミノ酸配列を含んでいてもよく、第2のペプチドは、配列番号39～109のうちの1つのアミノ酸配列を含んでいてもよい。例えば、第1のポリペプチドは、DAEF RHD（配列番号06）、DAEFR（配列番号08）またはEFRHD（配列番号21）であってもよく、第2のポリペプチドは、5～10アミノ酸、例えば、PDNEAYE（配列番号55）またはDPDNEAYE（配列番号48）であってもよい。

20

【0009】

他の実施形態では、第1のペプチドおよび第2のペプチドは、切断可能リンカーによって連結されていてもよく、切断可能リンカーは、アミノ酸配列であってもよい。切断可能ペプチドリンカーは、存在する場合、1～10アミノ酸長であり得る。一部の実施形態では、リンカーは、約1～10アミノ酸、約1～9アミノ酸、約1～8アミノ酸、約1～7アミノ酸、約1～6アミノ酸、約1～5アミノ酸、約1～4アミノ酸、約1～3アミノ酸、約2アミノ酸または1アミノ酸を含む。一部の実施形態では、切断可能ペプチドリンカーは、1アミノ酸、2アミノ酸、3アミノ酸、4アミノ酸、5アミノ酸、6アミノ酸、7アミノ酸、8アミノ酸、9アミノ酸または10アミノ酸である。例えば、リンカーは、アルギニン - アルギニン (Arg - Arg)、アルギニン - バリン - アルギニン - アルギニン (Arg - Val - Arg - Arg (配列番号113))、バリン - シトルリン (Val - Cyt)、バリン - アルギニン (Val - Arg)、バリン - リシン (Val - Lys)、バリン - アラニン (Val - Ala)、フェニルアラニン - リシン (Phe - Lys)、グリシン - アラニン - グリシン - アラニン (Gly - Ala - Gly - Ala；配列番号114)、Ala - Gly - Ala - Gly (配列番号115) またはLys - Gly - Lys - Gly (配列番号116) であってもよい。特定の実施形態では、ポリペプチドは、DAEF RHD RRP DNEAY EGG C (配列番号110) またはDAEFR HD RRDPDNEAY EGG C (配列番号111) であってもよい。

30

【0010】

さらなる実施形態では、ポリペプチドは、ポリペプチドのC末端部分またはポリペプチドのN末端部分に担体へのリンカーを含んでいてもよい。リンカーは、存在する場合、1～10アミノ酸長であり得る。一部の実施形態では、リンカーは、約1～10アミノ酸、約1～9アミノ酸、約1～8アミノ酸、約1～7アミノ酸、約1～6アミノ酸、約1～5アミノ酸、約1～4アミノ酸、約1～3アミノ酸、約2アミノ酸または1アミノ酸を含む

40

50

。一部の実施形態では、リンカーは、1アミノ酸、2アミノ酸、3アミノ酸、4アミノ酸、5アミノ酸、6アミノ酸、7アミノ酸、8アミノ酸、9アミノ酸または10アミノ酸である。例えば、リンカーは、GG、GGG、AA、AAA、KK、KKK、SSおよびSSのアミノ酸配列を含んでいてもよい。加えて、担体へのリンカーは、C末端に存在する場合、C末端システイン(C)を含んでいてもよい。あるいは、担体へのリンカーは、N末端に存在する場合、N末端システイン(C)を含んでいてもよい。例えば、ポリペプチドは、DAEFRHDRRX₁PDNEAYEXXC(配列番号112)のアミノ酸配列を含んでいてもよく、ここで、X₁は、必要に応じて存在し、存在する場合、Dであり、XXおよびCは、独立して必要に応じて存在し、存在する場合、XXは、GG、AA、KK、SS、GAGA(配列番号114)、AGAG(配列番号115)またはKGKG(配列番号116)であり得る。
10

【0011】

他の実施形態では、本開示は、本開示のポリペプチドを含む免疫療法組成物であって、ポリペプチドが担体に連結されていてもよい、免疫療法組成物を対象とする。担体は、血清アルブミン、免疫グロブリン分子、サイログロブリン、オボアルブミン、破傷風トキソイド(TT)、ジフテリアトキソイド(DT)、ジフテリア毒素の遺伝子改変された交差反応物質(CRM)、CRM197、髄膜炎菌外膜タンパク質複合体(OMP C)およびH. influenzaeタンパク質D(HiD)、rEPA(Pseudomonas aeruginosa外毒素A)、KLH(キーホールリンペットヘモシアニン)、ならびにフラジェリンを含んでいてもよい。
20

【0012】

またさらに、本開示の実施形態は、本開示のポリペプチドまたは免疫療法組成物を含み、少なくとも1種のアジュバントを含む医薬製剤を対象とする。アジュバントは、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウム、3脱-O-アシル化モノホスホリルリピドA(MPL)、QS-21、QS-18、QS-17、QS-7、TQL1055、フロイント完全アジュバント(CFA)、フロイント不完全アジュバント(IFIA)、水中油型エマルジョン(スクアレンまたはピーナッツ油など)、CpG、ポリグルタミン酸、ポリリシン、Addavax(商標)、MF59(登録商標)、およびそれらの組合せであってもよい。加えて、製剤は、リポソーム製剤、希釈剤、または多重抗原提示システム(MAP)を含んでいてもよい。MAPは、Lys系樹状足場(Lys-based dendritic scaffold)、ヘルパーT細胞エピトープ、免疫刺激性親油性部分、細胞透過性ペプチド、ラジカル誘導重合、抗原提示プラットフォームとしての自己組織化ナノ粒子、および金ナノ粒子のうちの1つまたは複数を含んでいてもよい。
30

【0013】

またさらに、本開示の実施形態は、配列番号01の最初の10個のN末端残基由来の3~10アミノ酸残基を含む第1のペプチド配列、および配列番号02の残基81~140由来の3~8アミノ酸を含む第2のペプチド配列を含む免疫療法組成物を対象とする。第1のペプチドは、配列番号3~38または121~176のうちの1つのアミノ酸配列を含んでいてもよく、第2のペプチドは、配列番号39~109のうちの1つのアミノ酸配列を含んでいてもよい。第1のペプチドおよび第2のペプチドのそれぞれは、ポリペプチドのC末端部分に担体へのリンカーを含んでいてもよい。存在する場合、リンカーは、GG、AA、KK、SS、GAGA(配列番号114)、AGAG(配列番号115)およびKGKG(配列番号116)から選択されるアミノ酸配列を含んでいてもよく、C末端システイン(C)を含んでいてもよい。担体は、血清アルブミン、免疫グロブリン分子、サイログロブリン、オボアルブミン、破傷風トキソイド(TT)、ジフテリアトキソイド(DT)、ジフテリア毒素の遺伝子改変された交差反応物質(CRM)、CRM197、髄膜炎菌外膜タンパク質複合体(OMP C)およびH. influenzaeタンパク質D(HiD)、rEPA(Pseudomonas aeruginosa外毒素A)、KLH(キーホールリンペットヘモシアニン)、ならびにフラジェリンを含んでいてもよい。
40
50

【0014】

加えて、免疫療法組成物は、少なくとも1種の薬学的に許容される希釈剤、および/または多重抗原提示システム(MAP)を含んでいてもよい。MAPは、Lys系樹状足場、ヘルパーT細胞エピトープ、免疫刺激性親油性部分、細胞透過性ペプチド、ラジカル誘導重合、抗原提示プラットフォームとしての自己組織化ナノ粒子、および金ナノ粒子のうちの1つまたは複数を含んでいてもよい。

【0015】

免疫療法組成物は、免疫療法組成物、ならびに少なくとも1種のアジュバント、例えば、アジュバントは、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウム、3脱-O-アシル化モノホスホリルリピドA(MPL)、QS-21、QS-18、QS-17、QS-7、TQL1055、フロイント完全アジュバント(CFA)、フロイント不完全アジュバント(IFA)、水中油型エマルジョン(スクアレンまたはピーナッツ油など)、CpG、ポリグルタミン酸、ポリリシン、Addavax(商標)、MF59(登録商標)、およびそれらの組合せを含む医薬組成物に含まれていてもよい。

【0016】

本開示の実施形態は、本開示のポリペプチドおよび免疫療法組成物をコードする核酸配列も対象とする。核酸は、核酸および少なくとも1種のアジュバントを含む核酸免疫療法組成物に含まれていてもよい。

【0017】

またさらに、本開示の実施形態は、対象におけるアルツハイマー病を処置するまたはその予防をもたらすための方法、ならびにアルツハイマー病を有するか、またはそれを発生するリスクがある対象におけるAおよびアルファ-シヌクレインのうちの少なくとも1つの凝集を阻害または低減するための方法を対象とする。方法は、本開示の免疫療法組成物、核酸免疫療法組成物または医薬製剤を対象に投与することを含む。

【0018】

本開示の方法は、前記投与することを、少なくとも2回、少なくとも3回、少なくとも4回、少なくとも5回または少なくとも6回繰り返すことを含んでいてもよく、約21日～約28日の間隔で前記投与することを繰り返すことを含んでいてもよい。

【0019】

またさらに、本開示の方法は、動物における免疫応答を誘導することを対象とする。方法は、A、アルファ-シヌクレイン、またはAおよびアルファ-シヌクレインの両方に特異的に結合する抗体を含む免疫応答を生成するのに有効なレジメンで、本開示のポリペプチド、免疫療法組成物、医薬製剤または核酸免疫療法組成物を動物に投与することを含む。免疫応答は、AのN末端領域および/またはアルファ-シヌクレインのC末端領域に特異的に結合する抗体を含んでいてもよい。

【0020】

他の実施形態では、本開示は、本開示の免疫療法組成物を含み、アジュバントを含んでいてもよい免疫キットを対象とし、ここで、免疫療法組成物は、第1の容器中にあってもよく、アジュバントは、第2の容器であってもよい。

【0021】

またさらに、本開示は、本開示の核酸免疫療法組成物を含み、アジュバントを含んでいてもよいキットを対象とする。核酸は、第1の容器中にあってもよく、アジュバントは、第2の容器中にあってもよい。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】図1は、免疫原のDAEFRHDRRPDNEAYEGGC(配列番号110)およびDAEFRHDRRDPDNEAYEGGC(配列番号111)に対するモルモット血清の力価を比較する実験の結果を示す。全ての免疫原は、マレイミド活性化CRM197担体へのカップリングのためにGGのC末端リンカーおよびシステインを含んでいた。QS21は、Addavaxスクアレン系水中油型ナノエマルジョンにおいて、アジュ

10

20

30

40

50

バントとして利用された。

【0023】

【図2】図2は、免疫原のDAEFRHDRRPDNEAYEGGC（配列番号110）およびDAEFRHDRRDPDNEAYEGGC（配列番号111）に対するマウス血清の力値を測定する実験の結果を示す。ペプチドは、N末端システインを介してマレイミド活性化CRM197担体にカップリングされていた。PBS中のQS21は、アジュバントとして使用された。

【0024】

【図3】図3は、免疫原のDAEFRHDRRPDNEAYEGGC（配列番号110）およびDAEFRHDRRDPDNEAYEGGC（配列番号111）に対するモルモット血清の力値を測定する実験の結果を示す。ペプチドは、N末端システインを介してマレイミド活性化CRM197担体にカップリングされていた。PBS中のQS21は、アジュバントとして使用された。

10

【発明を実施するための形態】

【0025】

説明

本開示は、アミロイド-ベータ（A）ペプチドおよびアルファ-シヌクレインペプチドを含むペプチド組成物および免疫療法組成物を提供する。本開示は、対象におけるアルツハイマー病またはベータ-アミロイド沈着を伴う他の疾患を処置するまたはその予防をもたらす方法も提供し、アルツハイマー病またはアルファ-シヌクレインおよび／もしくはアミロイド-ベータ蓄積を含む他の疾患有するか、またはそれを発生するリスクがある対象において、沈着物を取り除くおよびその形成を防止する、Aおよび／またはアルファ-シヌクレインの凝集を阻害または低減する、ニューロンによるAおよび／またはアルファ-シヌクレインの結合および／または取り込みを遮断する、細胞間のアルファ-シヌクレイン種の伝達を阻害する、ならびに脳領域間の病理の伝播を阻害する方法を含む。本方法は、アミロイド-ベータ（A）ペプチドおよびアルファ-シヌクレインペプチドを含む組成物をそのような患者に投与することを含む。

20

【0026】

いくつかの用語を下記に定義する。本明細書で使用される場合、単数形の「a」、「a n」および「t h e」は、文脈が明確に他を指示しない限り、複数の指示対象を含む。例えば、「化合物（a compound）」または「少なくとも1つの化合物」という用語は、その混合物を含めて、複数の化合物を含み得る。

30

【0027】

文脈から別段明らかでない限り、「約」という用語は、ごくわずかな変動、例えば、述べられた値の測定の誤差の標準的な限度（例えば、SEM）内の値を包含する。例えば、本明細書で使用される「約」という用語は、測定可能な値、例えば、パラメーター、量、時間的な期間に言及する場合、規定の値および規定の値から+/-10%もしくはそれ未満、+/-5%もしくはそれ未満、または+/-1%もしくはそれ未満（or less or less）の変動を包含し得る。値の範囲の指定は、範囲内または範囲を定義するすべての整数、および範囲内の整数によって定義されるすべての下位範囲を含む。本明細書で使用される場合、統計学的有意性は、p 0.05を意味する。

40

【0028】

1つまたは複数の列挙された要素を「含む（comprising）」または「含む（inc luding）」組成物または方法は、具体的に列挙されていない他の要素を含んでいてもよい。例えば、ポリペプチド配列を「含む（comprises）」または「含む（inc ludes）」組成物は、配列を単独でまたは他の配列もしくは成分と組み合わせて含有していてもよい。

【0029】

対象が、少なくとも1つの公知のリスク因子（例えば、年齢、遺伝的、生化学的、家族歴および状況曝露）を有し、リスク因子がない個体よりも疾患を発生する統計的に有意に

50

高いリスクでそのリスク因子を有する個体が置かれている場合、個体は、疾患の増加したリスクがある。

【 0 0 3 0 】

「患者」という用語は、予防的処置または治療的処置のいずれかを受けるヒトおよび他の哺乳動物対象を含み、処置ナイーブ対象を含む。本明細書で使用される場合、「対象」または「患者」という用語は、処置が所望される任意の単一の対象を指し、他の哺乳動物対象、例えば、ヒト、ウシ、イヌ、モルモット、ウサギなどを含む。疾患の任意の臨床徴候を示していない臨床研究試験に関与する任意の対象、または疫学的研究に関与する対象、または対照として使用される対象も、対象として含まれることが意図される。

【 0 0 3 1 】

「疾患」という用語は、生理学的機能を損なう任意の異常な状態を指す。この用語は、病因の性質に関わりなく、生理学的機能が損なわれる任意の障害、疾病、異常性、病理、病気、状態または症候群を包含して広く使用される。

【 0 0 3 2 】

「症状」という用語は、対象によって知覚される歩行の変化などの疾患の主観的証拠を指す。「徴候」は、医師によって観察される疾患の客観的証拠を指す。

【 0 0 3 3 】

本明細書で使用される場合、「処置する」という用語は、疾患に関連する1つもしくは複数の症状もしくは作用の軽減または寛解、疾患の1つもしくは複数の症状もしくは作用の開始の防止、阻害または遅延、疾患の1つもしくは複数の症状もしくは作用の重症度または頻度を低下させること、および／あるいは、本明細書に記載される所望の転帰の増加またはその方向に向かわせることを指す。

【 0 0 3 4 】

「防止」、「防止する」または「防止すること」という用語は、本明細書で使用される場合、既に存在するA および／またはアルファ - シヌクレイン病理を伴うまたは伴わない疾患の開始前に本開示のペプチドまたは免疫療法組成物を対象と接触させ（例えば、投与し）（一次および二次予防）、それによって、対象がペプチドまたは免疫療法組成物と接触していない場合と比較して、臨床症状の開始を遅延させることおよび／または疾患の開始後の疾患の症状を軽減することを指し、疾患の開始を完全に抑制することは指さない。一部の場合では、防止は、本開示のペプチドまたは免疫療法組成物の投与後の限られた時間の間に起こり得る。他の場合では、防止は、本開示のペプチドまたは免疫療法組成物を投与することを含む処置レジメンの期間の間に起こり得る。

【 0 0 3 5 】

「低減」、「低減する」または「低減すること」という用語は、本明細書で使用される場合、対象または対象の組織に存在するA および／またはアルファ - シヌクレインの量を減少させることまたはその量の増加を抑制することを指し、これは、対象または対象の組織に存在する、蓄積した、凝集した、または沈着したA および／またはアルファ - シヌクレインの量を減少させること、あるいはその増加を抑制すること（例えば、増加の速度を減少させること）を包含する。ある特定の実施形態では、対象に存在する、蓄積した、凝集した、または沈着したA および／またはアルファ - シヌクレインの量の減少、あるいはその増加の抑制（例えば、増加の速度を減少させること）は、対象の中樞神経系（C N S）に存在する、蓄積した、凝集した、または沈着したA および／またはアルファ - シヌクレインの量を指す。ある特定の実施形態では、対象に存在する、蓄積した、凝集した、または沈着したA および／またはアルファ - シヌクレインの量の減少、あるいはその増加の抑制（例えば、増加の速度を減少させること）は、対象の末梢（例えば、末梢循環系）に存在する、蓄積した、凝集した、または沈着したA および／またはアルファ - シヌクレインの量を指す。ある特定の実施形態では、対象に存在する、蓄積した、凝集した、または沈着したA および／またはアルファ - シヌクレインの量の減少、あるいはその増加の抑制（例えば、増加の速度を減少させること）は、対象の脳に存在する、蓄積した、凝集した、または沈着したA および／またはアルファ - シヌクレインの量を指す。

10

20

30

40

50

。一部の実施形態では、低減されるAおよび/またはアルファ-シヌクレインは、A(例えば、-アミロイドペプチド(A)の細胞外の斑の沈着、神経突起性アミロイド斑)および/またはアルファ-シヌクレイン(例えば、原線維(fibular)アルファ-シヌクレイン包含、オリゴマー性または線維状アルファ-シヌクレイン集合体、およびアルファ-シヌクレインオリゴマーのプロトフィブリル中間体)の病理学的形態である。さらに他の実施形態では、神経変性疾患および/またはシヌクレイノパチーの病理学的指標が減少される。

【0036】

「エピトープ」または「抗原決定基」という用語は、B細胞および/もしくはT細胞が応答する抗原上の部位、または抗体が結合する抗原上の部位を指す。エピトープは、連続アミノ酸から、またはタンパク質の三次フォールディングによって並置された非連続アミノ酸からの両方で形成され得る。連続アミノ酸から形成されるエピトープは、典型的には、変性溶媒への曝露において保持されるが、三次フォールディングによって形成されるエピトープは、典型的には、変性溶媒による処理において失われる。エピトープは、典型的には、固有の空間コンフォメーションで少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12または少なくとも13アミノ酸を含む。エピトープの空間コンフォメーションを決定する方法としては、例えば、X線結晶学および2次元核磁気共鳴が挙げられる。例えば、Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed. (1996)を参照されたい。

10

20

30

【0037】

「免疫原性剤」または「免疫原」または「抗原」は、必要に応じてアジュバントと併せて、動物への投与の際に、それ自身またはそれ自身の改変/処理バージョンに対する免疫応答を誘導することができる。「免疫原性剤」または「免疫原」または「抗原」という用語は、適切な量(「免疫学的有効量」)で投与された場合に「抗原性」または「免疫原性」である、すなわち、細胞性免疫応答および/もしくは体液性免疫応答を誘導する、誘発する、増大させるまたはブーストすることができ、その応答の産物(T細胞、抗体)によって認識されることができる、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質を含む化合物または組成物を指す。免疫原は、ペプチド、または2つもしくはそれよりも多くの同じもしくは異なるペプチドの組合せであり得、これは、直鎖状または空間コンフォメーションで少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12または少なくとも13アミノ酸を含む。

【0038】

免疫原は、単独で、または別の物質(1回またはいくつかの間にわたって投与される)と組み合わせて、もしくはそれに連結されて、もしくはそれと融合されて与えられる場合に有効であり得る。免疫原性剤または免疫原は、本明細書に記載される担体に連結されている抗原ペプチドまたはポリペプチドを含み得る。

【0039】

抗原ペプチドまたはポリペプチドをコードするDNAまたはRNAなどの核酸は、コードされたペプチドまたはポリペプチドが、DNAまたはRNAの投与後にin vivoで発現されるので、「DNA[またはRNA]免疫原」と称される。ペプチドまたはポリペプチドは、ワクチンベクターから組換え的に発現され得、このワクチンベクターは、プロモーターに作動可能に連結されたペプチドまたはポリペプチドコード配列を含むネイキッドDNAまたはRNA、例えば、本明細書に記載される発現ベクターまたはカセットであり得る。

40

【0040】

「アジュバント」という用語は、抗原と合わせて投与された場合に、抗原に対する免疫応答を増大させるが、単独で投与された場合に、抗原に対する免疫応答を生じさせない、化合物を指す。アジュバントは、リンパ球動員、B細胞および/またはT細胞の刺激、な

50

らびにマクロファージの刺激を含むいくつかの製造業者ニズムによって免疫応答を増大させることができる。アジュバントは、天然化合物、天然化合物の改変バージョンもしくは誘導体、または合成化合物であってもよい。

【0041】

「ペプチド」および「ポリペプチド」という用語は、本明細書で互換的に使用され、2個またはそれよりも多くの連続アミノ酸の鎖を指す。もし区別が行われる場合、区別が行われるときに、文脈は、意味を明確にする。例えば、本明細書に記載される2つまたはそれよりも多くのペプチドが接続されて、二量体または多量体ペプチドになる場合、ポリペプチドは、「ポリ」または「2つ以上」のペプチドを示すために使用され得る。

【0042】

「薬学的に許容される」という用語は、担体、希釈剤、賦形剤、アジュバントまたは補助剤が、医薬製剤の他の成分と適合し、そのレシピエントに実質的に有害ではないことを意味する。

【0043】

「免疫療法」または「免疫応答」という用語は、レシピエントにおけるA および/またはアルファ-シヌクレインペプチドに対する有益な体液性応答（抗体が媒介する）および/または細胞性応答（抗原特異的T細胞またはそれらの分泌産物によって媒介される）の発生を指す。そのような応答は、免疫原（例えば、A および/またはアルファ-シヌクレインペプチド）の投与によって誘導される能動的応答であり得る。細胞性免疫応答は、クラスIまたはクラスII MHC分子に関連するポリペプチドエピトープの提示によって誘発されて、抗原特異的CD4⁺ヘルパーT細胞および/またはCD8⁺細胞傷害性T細胞を活性化する。応答は、単球、マクロファージ、NK細胞、好塩基球、樹状細胞、星状膠細胞、ミクログリア細胞、好酸球、または自然免疫の他の構成要素の活性化も含み得る。細胞媒介免疫応答の存在は、増殖アッセイ（CD4⁺T細胞）またはCTL（細胞傷害性Tリンパ球）アッセイによって決定することができる。免疫原の保護効果または治療効果に対する体液性応答および細胞性応答の相対的な寄与は、免疫された同系動物から抗体およびT細胞を別々に単離すること、および第2の対象において保護効果または治療効果を測定することによって区別することができる。

【0044】

アミロイドベータ（A またはAベータ）

【0045】

A（本明細書でベータアミロイドペプチドまたはAベータとも称される）ペプチドは、APPの38～43アミノ酸の約4kDaの内部断片（A 39、A 40、A 41、A 42およびA 43）である。A 40は、例えば、APPの残基672～711からなり、A 42は、APPの残基673～713からなる。in vivoまたはin situでの異なる分泌酵素によるAPPのタンパク質分解プロセシングの結果として、A は、40アミノ酸長の「短形態」および42～43アミノ酸長の範囲の「長形態」の両方で見出される。エピトープまたは抗原決定基は、本明細書に記載される場合、A ペプチドのN末端内に位置し、A のアミノ酸1～10および12～25内の残基、例えば、A の残基1～3、1～4、1～5、1～6、1～7もしくは3～7、またはA の2～4、2～5、2～6、2～7もしくは2～8、A の残基3～5、3～6、3～7、3～8もしくは3～9、またはA の残基4～7、4～8、4～9もしくは4～10、A の残基12～24、12～23、12～22、13～25、13～24、13～23、13～22、14～25、14～24、14～23、14～22、15～25、15～24、15～23もしくは15～22由来の残基を含む。例えば、A 42の残基12～17、12～18、12～19、12～20、12～21、13～17、13～18、13～19、13～20、13～21、13～22、14～17、14～18、14～19、14～20、14～21、14～22、14～23、15～17、15～18、15～19、15～20、15～21、15～22、15～23または15～24由来である。エピトープまたは抗原決定基の追加の例としては、A 42の残基16～18、16～1

10

20

30

40

50

9、16~20、16~21、16~22、16~23、16~24、16~25、17~19、17~20、17~21、17~22、17~23、17~24または17~25が挙げられる。エピトープまたは抗原決定基の他の例としては、A 42 の残基 18~20、18~21、18~22、18~23、18~24、18~25、19~21、19~22、19~23、19~24、19~25、20~22、20~23、20~24、20~25、21~23、21~24または21~25が挙げられる。

【0046】

A (Aベータ)は、アルツハイマー病の特徴的な斑の主な構成要素である。A は、ベータセクレターゼおよびガンマセクレターゼと称される2つの酵素によるより大きなタンパク質のAPPのプロセシングによって生じる。アルツハイマー病に関連するAPPにおける公知の変異は、ベータセクレターゼもしくはガンマセクレターゼの部位に近接して、またはA 内で起こる。APPの疎水性膜貫通ドメインの部分は、A のカルボキシ末端で見られ、特に長形態の場合において、斑に凝集するA の能力の主な原因であり得る。脳におけるアミロイド斑の蓄積は、最終的に、ニューロン細胞死をもたらす。この種類の神経劣化に関連する身体症状は、アルツハイマー病を特徴付ける。

10

【0047】

アルファ - シヌクレイン

【0048】

アルファ - シヌクレインは、ニューロン、特にシナプス前終末に豊富な非常に保存されたタンパク質である。凝集したアルファ - シヌクレインタンパク質は、神経変性シヌクレインノバチーの特質である脳病変を形成する。さらに、ミスフォールディングおよび凝集は、多くの場合、一部の神経変性疾患における - アミロイド沈着に付随して起こり得、アルファ - シヌクレインは、アルツハイマー病およびパーキンソン病を含むいくつかの神経変性障害において共存している。

20

【0049】

免疫原のA / アルファ - シヌクレインペプチド

【0050】

能動免疫のために使用される薬剤は、患者において免疫応答を誘導することができ、免疫療法としての機能を果たすことができる。能動免疫のために使用される薬剤は、例えば、実験動物においてモノクローナル抗体を生じさせるために使用される同じ種類の免疫原であり得、A および / またはアルファ - シヌクレインペプチドの領域由来の3、4、5、6、7、8、9、10、11もしくは12個、またはそれよりも多くの連続アミノ酸を含んでいてもよい。

30

【0051】

本開示の一部の実施形態では、A / アルファ - シヌクレイン免疫原は、アルファ - シヌクレイン(配列番号02)の残基81~140由来の3~10アミノ酸を含むアルファ - シヌクレインペプチドに連結されたA (配列番号01)のN末端配列の残基1~10由来の3~10アミノ酸を含むA ペプチドを含み得る。例えば、アルファ - シヌクレインペプチドは、アルファ - シヌクレインのC末端領域(配列番号02の残基111~140)由来の3~10アミノ酸を含んでいてもよい。一部の実施形態では、ペプチドは、リン酸化されていない。一部の実施形態では、ペプチドは、セリン(S)、トレオニン(T)および / またはチロシン(Y)リン酸化部位でリン酸化されている。

40

【0052】

本開示の一部の実施形態では、A ペプチドは、D A E F R H D S G Y E V H H Q K L V F F A E D V G S N K G A I I G L M V G G V V I A (配列番号01)の残基1~10または12~25由来の3~10アミノ酸を含み得る。例えば、A ペプチドは、以下：

50

【化 1 - 1】

DAEFRHDSGY (配列番号 03),
 DAEFRHDSG (配列番号 04),
 DAEFRHDS (配列番号 05),

【化 1 - 2】

DAEFRHD (配列番号 06),
 DAEFRH (配列番号 07),
 DAEFR (配列番号 08),
 DAEF (配列番号 09),
 DAE (配列番号 10),
 AEFRHDSGY (配列番号 11),
 AEFRHDSG (配列番号 12),
 AEFRHDS (配列番号 13),
 AEFRHD (配列番号 14),
 AEFRH (配列番号 15),
 AEFR (配列番号 16),
 AEF (配列番号 17),
 EFRHDSGY (配列番号 18),
 EFRHDSG (配列番号 19),
 EFRHDS (配列番号 20),
 EFRHD (配列番号 21),
 EFRH (配列番号 22),
 EFR (配列番号 23),
 FRHDSGY (配列番号 24),
 FRHDSG (配列番号 25),
 FRHDS (配列番号 26),
 FRHD (配列番号 27),
 FRH (配列番号 28),
 RHDSGY (配列番号 29),
 RHDSG (配列番号 30),
 RHDS (配列番号 31),
 RHD (配列番号 32),
 HDSGY (配列番号 33),
 HDSG (配列番号 34),
 HDS (配列番号 35),
 DSGY (配列番号 36),
 DSG (配列番号 37),
 SGY (配列番号 38),
 VHHQKLVFFA (配列番号 121),

10

20

30

40

50

【化 1 - 3】

VHHQKLVFF	(配列番号 122),	
VHHQKLVF	(配列番号 123),	
VHHQKLV	(配列番号 124),	
VHHQKL	(配列番号 125),	
HHQKLVFFAE	(配列番号 126),	10
HHQKLVFFA	(配列番号 127),	
HHQKLVFF	(配列番号 128),	
HHQKLVF	(配列番号 129),	
HHQKLV	(配列番号 130),	
HHQKL	(配列番号 131),	
HQKLVFFAED	(配列番号 132),	
HQKLVFFAE	(配列番号 133),	
HQKLVFFA	(配列番号 134),	
HQKLVFF	(配列番号 135),	
HQKLVF	(配列番号 136),	
HQKLV	(配列番号 137),	20
HQKL	(配列番号 138),	
QKLVFFAEDV	(配列番号 139),	
QKLVFFAED	(配列番号 140),	
QKLVFFAE	(配列番号 141),	
QKLVFFA	(配列番号 142),	
QKLVFF	(配列番号 143),	
QKLVF	(配列番号 144),	
QKLV	(配列番号 145),	
QKL	(配列番号 146),	30
KLVFFAEDVG	(配列番号 147),	
KLVFFAEDV	(配列番号 148),	
KLVFFAED	(配列番号 149),	
KLVFFAE	(配列番号 150),	
KLVFFA	(配列番号 151),	
KLVFF	(配列番号 152),	
KLVF	(配列番号 153),	
KLV	(配列番号 154),	
LVFFAEDVG	(配列番号 155),	40

【化 1 - 4】

LVFFAEDV	(配列番号 156),	
LVFFAED	(配列番号 157),	
LVFFAE	(配列番号 158),	
LVFFA	(配列番号 159),	
LVFF	(配列番号 160),	
LVF	(配列番号 161),	
VFFAEDVG	(配列番号 162),	10
VFFAEDV	(配列番号 163),	
VFFAED	(配列番号 164),	
VFFAE	(配列番号 165),	
VFFA	(配列番号 166),	
VFF	(配列番号 167),	
FFAEDVG	(配列番号 168),	
FFAEDV	(配列番号 169),	
FFAED	(配列番号 170),	20
FFAE	(配列番号 171),	
FFA	(配列番号 172),	
FAEDVVG	(配列番号 173),	
FAEDV	(配列番号 174),	
FAED	(配列番号 175), および	
FAE	(配列番号 176)	

30

から選択される。

【0053】

ある特定の実施形態では、A ペプチドは、D A E F R H D (配列番号 0 6)、D A E F R (配列番号 0 8) または E F R H D (配列番号 2 1) である。

【0054】

アルファ - シヌクレインペプチドは、配列番号 0 2 の残基 8 1 ~ 1 4 0 由来の 3 ~ 1 0 アミノ酸を含むペプチドに対応し得る。一部の実施形態では、アルファ - シヌクレインは、リン酸化されていない。一部の実施形態では、アルファ - シヌクレインは、リン酸化されている。一部の組成物では、アルファ - シヌクレインペプチドは、以下：

【化 2 - 1】

VDPDNEAYEM	(配列番号 39),	
VDPDNEAYE	(配列番号 40),	
VDPDNEAY	(配列番号 41),	
VDPDNEA	(配列番号 42),	
VDPDNE	(配列番号 43),	

40

50

【化 2 - 2】

VDPDN	(配列番号 44),	
VDPD	(配列番号 45),	
VDP	(配列番号 46),	
DPDNEAYEM	(配列番号 47),	
DPDNEAYE	(配列番号 48),	
DPDNEAY	(配列番号 49),	
DPDNEA	(配列番号 50),	10
DPDNE	(配列番号 51),	
DPDN	(配列番号 52),	
DPD	(配列番号 53),	
PDNEAYEM	(配列番号 54),	
PDNEAYE	(配列番号 55),	
PDNEAY	(配列番号 56),	
PDNEA	(配列番号 57),	
PDNE	(配列番号 58),	
PDN	(配列番号 59),	20
DNEAYEM	(配列番号 60),	
DNEAYE	(配列番号 61),	
DNEAY	(配列番号 62),	
DNEA	(配列番号 63),	
DNE	(配列番号 64),	
NEAYEM	(配列番号 65),	
NEAYE	(配列番号 66),	
NEAY	(配列番号 67),	
NEA	(配列番号 68),	30
EAYEM	(配列番号 69),	
EAYE	(配列番号 70),	
EAY	(配列番号 71),	
AYEM	(配列番号 72),	
AYE	(配列番号 73),	
YEM	(配列番号 74),	
ATGFVKKDQL	(配列番号 75),	
ATGFVKKDQ	(配列番号 76),	
ATGFVKKD	(配列番号 77),	40

【化2-3】

ATGFVKK	(配列番号 78),	
ATGFVK	(配列番号 79),	
ATGFV	(配列番号 80),	
ATGF	(配列番号 81),	
ATG	(配列番号 82),	
TGFVKKDQL	(配列番号 83),	10
TGFVKKDQ	(配列番号 84),	
TGFVKKD	(配列番号 85),	
TGFVKK	(配列番号 86),	
TGFVK	(配列番号 87),	
TGFV	(配列番号 88),	
TGF	(配列番号 89),	
GFVKKDQL	(配列番号 90),	
GFVKKDQ	(配列番号 91),	
GFVKKD	(配列番号 92),	20
GFVKK	(配列番号 93),	
GFVK	(配列番号 94),	
GFV	(配列番号 95),	
FVKKDQL	(配列番号 96),	
FVKKDQ	(配列番号 97),	
FVKKD	(配列番号 98)	
FVKK	(配列番号 99),	
FVK	(配列番号 100),	
VKKDQL	(配列番号 101),	30
VKKDQ	(配列番号 102),	
VKKD	(配列番号 103),	
VKK	(配列番号 104),	
KKDQL	(配列番号 105),	
KKDQ	(配列番号 106),	
KKD	(配列番号 107),	
KDQL	(配列番号 108), および	
KDQ	(配列番号 109)	40

から選択される。

【0055】

一部の実施形態では、A およびアルファ - シヌクレインペプチドは、連結されて、デュアル A / アルファ - シヌクレインポリペプチドを形成する。A およびアルファ - シヌクレインペプチドは、ペプチド内リンカーによって連結され得る。例えば、ポリペプチドリンカーは、第1のペプチドのC末端と第2のペプチドのN末端との間に位置している。ペプチド内リンカーありまたはなしで、A ペプチドおよびアルファ - シヌクレインペプチドは、任意の順序で、デュアル A / アルファ - シヌクレインポリペプチドに配置され得る。例えば、A ペプチドは、デュアルポリペプチドのN末端部分に配置されてもよ

く、アルファ - シヌクレインペプチドは、デュアルポリペプチドの C 末端部分に配置されてもよい。または、アルファ - シヌクレインペプチドは、デュアルポリペプチドの N 末端部分に配置されてもよく、A ペプチドは、アルファ - シヌクレインペプチドのデュアルポリペプチド側の C 末端部分に配置されてもよい。本明細書での第 1 のペプチドまたは第 2 のペプチドへの言及は、免疫原のポリペプチド中の A またはアルファ - シヌクレインペプチドの順序を示唆することを意図するものではない。

【 0 0 5 6 】

加えて、A ペプチド、アルファ - シヌクレインペプチドまたはデュアル A / アルファ - シヌクレインポリペプチドの C 末端部分は、ペプチドまたはポリペプチドを担体にコンジュゲートするためのリンカーを含むことができる。ペプチドまたはデュアルポリペプチドを担体にカップリングするリンカーとしては、例えば、ペプチドまたはデュアルポリペプチドと担体との間に G G 、 G G G 、 K K 、 K K K 、 A A 、 A A A 、 S S 、 S S S 、 G A G A (配列番号 114) 、 A G A G (配列番号 115) 、 K G K G (配列番号 116) などを含んでいてもよく、短ペプチドリンカー (例えば、 G - G - C - 、 K - K - C - 、 A - A - C - または S - S - C -) を提供するために C 末端または N 末端システインをさらに含んでいてもよい。一部の実施形態では、リンカーは、 A A 、 A A A 、 K K 、 K K K 、 S S 、 S S S 、 A G A G (配列番号 115) 、 G G 、 G G G 、 G A G A (配列番号 114) および K G K G (配列番号 116) のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、 A ペプチド、アルファ - シヌクレインペプチドおよびデュアル A / アルファ - シヌクレインポリペプチドのいずれかは、スペーサーなしで C 末端システイン、例えば、 A E F R H D S G C (配列番号 117) および D A E F R H D C (配列番号 118) を含んでいてもよい。一部の実施形態では、 A ペプチド、アルファ - シヌクレインペプチドおよびデュアル A / アルファ - シヌクレインポリペプチドのいずれかは、スペーサーなしで N 末端システインを含んでいてもよい。

【 0 0 5 7 】

A およびアルファ - シヌクレインポリペプチドが連結されて、デュアル A / アルファ - シヌクレインポリペプチドを形成する場合、リンカーは、切断可能リンカーであってもよい。本明細書で使用される場合、「切断可能リンカー」という用語は、切断によって (例えば、エンドペプチダーゼ、プロテアーゼ、低 pH 、または抗原提示細胞内もしくはその周囲で起こり得る任意の他の手段によって) 、 A ペプチドおよびアルファ - シヌクレインペプチドを、互いから分離するのを促進するか、またはそうでなければ互いからの分離に対して感受性をより強くし、それによって、そのような切断可能リンカーを欠く同等のペプチドよりも抗原提示細胞によってプロセシングされる、抗原ペプチド間の任意のリンカーを指す。一部の組成物では、切断可能リンカーは、プロテアーゼ感受性のジペプチドまたはオリゴペプチド切断可能リンカーである。ある特定の実施形態では、切断可能リンカーは、プロテアーゼのトリプシンファミリーのプロテアーゼによる切断に対して感受性がある。一部の組成物では、切断可能リンカーは、アルギニン - アルギニン (Arg - Arg) 、アルギニン - バリン - アルギニン - アルギニン (Arg - Val - Arg - Arg ; 配列番号 113) 、バリン - シトルリン (Val - C i t) 、バリン - アルギニン (Val - Arg) 、バリン - リシン (Val - Lys) 、バリン - アラニン (Val - Ala) 、フェニルアラニン - リシン (Phe - Lys) 、グリシン - アラニン - グリシン - アラニン (Gly - Ala - Gly - Ala ; GAGA (配列番号 114)) 、アラニン - グリシン - アラニン - グリシン (Ala - Gly - Ala - Gly ; AGAG (配列番号 115)) およびリシン - グリシン - リシン - グリシン (Lys - Gly - Lys - Gly ; KGKG (配列番号 116)) からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。一部の組成物では、切断可能リンカーは、アルギニン - アルギニン (Arg - Arg) である。

【 0 0 5 8 】

本開示の一部の実施形態では、デュアル A / アルファ - シヌクレインポリペプチドは、 D A E F R H D R R P D N E A Y E G G C (配列番号 110) または D A E F R H D R

10

20

30

40

50

R D P D N E A Y E G G C (配列番号 1 1 1) または D A E F R H D R R X₁ P D N E A Y E X X C (配列番号 1 1 2) から選択されるアミノ酸配列を含み、ここで、X₁は、必要に応じて存在し、存在する場合、Dであり、XXおよびCは、独立して必要に応じて存在し、存在する場合、XXは、GG、AA、KK、SS、GAGA (配列番号 1 1 4)、AGAG (配列番号 1 1 5) または KGKG (配列番号 1 1 6) であり得る。

【0059】

一部の実施形態では、デュアルA / アルファ - シヌクレインポリペプチドは、以下の通りである：

[第1のペプチド] - [リンカー1] - [第2のペプチド] - [リンカー2] - [Cys]

(ここで、[第1のペプチド]がAペプチドである場合、[第2のペプチド]はアルファ - シヌクレインペプチドであり、[第1のペプチド]がアルファ - シヌクレインペプチドである場合、[第2のペプチド]はAペプチドであり、[リンカー1]、[リンカー2]および[Cys]のそれぞれは、必要に応じて存在し、[リンカー1]および[リンカー2]は、同じまたは異なるリンカーである)。

【0060】

ある特定の実施形態では、デュアルA / アルファ - シヌクレインポリペプチドは、以下の通りである：

[Cys] - [リンカー2] - [第1のペプチド] - [リンカー1] - [第2のペプチド]

(ここで、[第1のペプチド]がAペプチドである場合、[第2のペプチド]はアルファ - シヌクレインペプチドであり、[第1のペプチド]がアルファ - シヌクレインペプチドである場合、[第2のペプチド]はAペプチドであり、[リンカー1]、[リンカー2]および[Cys]のそれぞれは、必要に応じて存在し、[リンカー1]および[リンカー2]は、同じまたは異なるリンカーである)。

【0061】

Aペプチドの例としては、配列番号 3 ~ 38 または 121 ~ 176 のいずれか 1 つが挙げられる。

【0062】

アルファ - シヌクレインペプチドの例としては、配列番号 39 ~ 109 のいずれか 1 つが挙げられる。

【0063】

[リンカー1]は、必要に応じて存在し、存在する場合、切断可能リンカーであってもよい。切断可能リンカーは、存在する場合、1 ~ 10 アミノ酸長であり得る。一部の実施形態では、リンカーは、約 1 ~ 10 アミノ酸、約 1 ~ 9 アミノ酸、約 1 ~ 8 アミノ酸、約 1 ~ 7 アミノ酸、約 1 ~ 6 アミノ酸、約 1 ~ 5 アミノ酸、約 1 ~ 4 アミノ酸、約 1 ~ 3 アミノ酸、約 2 アミノ酸または 1 アミノ酸を含む。一部の実施形態では、切断可能リンカーは、1 アミノ酸、2 アミノ酸、3 アミノ酸、4 アミノ酸、5 アミノ酸、6 アミノ酸、7 アミノ酸、8 アミノ酸、9 アミノ酸または 10 アミノ酸である。一部の実施形態では、リンカーは、アルギニン - アルギニン (Arg - Arg)、アルギニン - バリン - アルギニン - アルギニン (Arg - Val - Arg - Arg; 配列番号 1 1 3)、バリン - シトルリン (Val - Cit)、バリン - アルギニン (Val - Arg)、バリン - リシン (Val - Lys)、バリン - アラニン (Val - Ala)、フェニルアラニン - リシン (Phe - Lys)、グリシン - アラニン - グリシン - アラニン (Gly - Ala - Gly - Ala; 配列番号 1 1 4)、アラニン - グリシン - アラニン - グリシン (Ala - Gly - Ala - Gly; 配列番号 1 1 5) または リシン - グリシン - リシン - グリシン (Lys - Gly - Lys - Gly; 配列番号 1 1 6) からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する切断可能リンカーであってもよい。

【0064】

[リンカー2]は、必要に応じて存在し、存在する場合、ポリペプチドを担体にカップ

10

20

30

40

50

リングするリンカーである。リンカーは、存在する場合、1～10アミノ酸長であり得る。一部の実施形態では、リンカーは、約1～10アミノ酸、約1～9アミノ酸、約1～8アミノ酸、約1～7アミノ酸、約1～6アミノ酸、約1～5アミノ酸、約1～4アミノ酸、約1～3アミノ酸、約2アミノ酸または1アミノ酸を含む。一部の実施形態では、リンカーハ、1アミノ酸、2アミノ酸、3アミノ酸、4アミノ酸、5アミノ酸、6アミノ酸、7アミノ酸、8アミノ酸、9アミノ酸または10アミノ酸である。一部の実施形態では、リンカーハのアミノ酸組成は、天然のマルチドメインタンパク質において見出されるリンカーハの組成を模倣することができ、ここで、ある特定のアミノ酸は、全タンパク質におけるそれらの存在量と比較して、天然リンカーハにおいて大きな比率を占めるか、低い比率を占めるか、または同等である。例えば、トレオニン(Thr)、セリン(Ser)、プロリン(Pro)、グリシン(Gly)、アスパラギン酸(Asp)、リシン(Lys)、グルタミン(Gln)、アスパラギン(Asn)、アルギニン(Arg)、フェニルアラニン(Phe)、グルタミン酸(Glu)およびアラニン(Ala)は、天然リンカーハにおいて大きな比率を占める。対照的に、イソロイシン(Ile)、チロシン(Tyr)、トリプトファン(Trp)およびシステイン(Cys)は、低い比率を占める。一般に、大きな比率を占めるアミノ酸は、極性の非荷電または荷電残基であり、これは、天然にコードされるアミノ酸のおよそ50%を占め、Pro、ThrおよびGlnは、天然リンカーハのために最も好ましいアミノ酸であった。一部の実施形態では、リンカーハのアミノ酸組成は、組換えタンパク質において一般に見出されるリンカーハの組成を模倣することができ、これは、一般に、可撓性リンカーハまたは剛性リンカーハとして分類され得る。例えば、組換えタンパク質において見出される可撓性リンカーハは、一般に、小型の非極性(例えば、Gly)または極性(例えば、SerまたはThr)アミノ酸から構成され、その小さなサイズが、可撓性を提供し、機能性ドメインを接続する可動性を可能にする。例えば、SerまたはThrの組み込みは、水分子と水素結合を形成することによって、水溶液中でリンカーハの安定性を維持することができ、したがって、リンカーハと免疫原との間の相互作用を低減することができる。一部の実施形態では、リンカーハは、GlyおよびSer残基のストレッチを含む('GS'リンカーハ)。広く使用される可撓性リンカーハの例は、(Gly-Gly-Ser)n、(Gly-Gly-Gly-Ser)n(配列番号177)または(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)n(配列番号178)であり、ここで、n=1～3である。コピー数'n'を調整することで、機能性免疫原ドメインの十分な分離を達成するようにリンカーハを最適化して、例えば、免疫原性応答を最大化することができる。多くの他の可撓性リンカーハが、本明細書で使用され得る組換え融合タンパク質のために設計されている。一部の実施形態では、リンカーハは、GlyおよびSerなどの小型または極性アミノ酸がリッチであり得るが、ThrおよびAlaなどのさらなるアミノ酸も含有して、可撓性を維持するだけでなく、LysおよびGluなどの極性アミノ酸は、溶解性を改善する。例えば、Chen, X. et al., "Fusion Protein Linkers: Property, Design and Functionality" Adv Drug Deliv Rev., 15; 65(10): 1357-1369 (203)を参照されたい。ある特定の実施形態では、存在する場合、リンカーハは、GG、GGG、KK、KKK、AA、AAA、SS、SSS、G-A-G-A(配列番号114)、A-G-A-G(配列番号115)およびK-G-K-G(配列番号116)からなる群から選択されるアミノ酸配列であり得る。

【0065】

[Cys]は、必要に応じて存在し、ポリペプチドを担体にコンジュゲートするのに役立ち得る。存在する場合、Cysは、ポリペプチドのC末端部分、またはポリペプチドのN末端部分にあり得る。

【0066】

本開示の[第1のペプチド]-[リンカーハ1]-[第2のペプチド]-[リンカーハ2]-[Cys]デュアルA/アルファ-シヌクレインポリペプチドの例は、以下を含む。

10

20

30

40

50

【表1-1】

表1

免疫原 ラボ ID	A ベータ 配列	A ベータ 配列 番号	エンド ペプチダーゼ リンカー	アルファ- シヌクレイン 配列	アルファ- シヌクレイン 配列番号	C 末端 リンカー	Cys	免疫原 配列番号
11	DAEFRHD	06	RR	PDNEAYE	55	GG	C	110
12	DAEFRHD	06	RR	DPDNEAYE	48	GG	C	111

10

【0067】

ポリペプチド免疫原

【0068】

A ペプチド、アルファ - シヌクレインペプチドおよびデュアル A / アルファ - シヌクレインポリペプチドは、本開示に従って、免疫原である。一部の実施形態では、ペプチドおよびデュアル A / アルファ - シヌクレインポリペプチドは、好適な担体に連結されて、免疫応答の誘発を助けることができる。したがって、本開示の1つまたは複数のペプチドおよびデュアル A / アルファ - シヌクレインポリペプチドは、担体に連結することができる。例えば、A ペプチド、アルファ - シヌクレインペプチドおよび A / アルファ - シヌクレインポリペプチドのそれぞれは、スペーサーアミノ酸（例えば、Gly-Gly-Ala-Ala-Lys-Lys-Ser-Ser、Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala（配列番号114）、Ala-Gly-Ala-Gly（配列番号115）またはLys-Gly-Lys-Gly（配列番号116））ありまたはなしで、担体に連結されてもよく、必要に応じて、ある特定の実施形態では、デュアル A - アルファ - シヌクレインポリペプチドは、C末端システインを使用して好適な担体に連結されて、ペプチドと担体との間またはデュアル A / アルファ - シヌクレインポリペプチドと担体との間にリンカーを提供することができる。ある特定の実施形態では、デュアル A - アルファ - シヌクレインポリペプチドは、N末端システインを使用して好適な担体に連結されて、ペプチドと担体との間にリンカーを提供することができる。

20

【0069】

30

好適な担体としては、限定されるものではないが、血清アルブミン、キーホールリンペットヘモシアニン、免疫グロブリン分子、サイログロブリン、オボアルブミン、破傷風トキソイド、または他の病原性細菌、例えば、ジフテリア（例えば、CRM197）、E.coli、コレラもしくはH.pylori由来のトキソイド、あるいは弱毒化毒素誘導体が挙げられる。T細胞エピトープも好適な担体分子である。一部のコンジュゲートは、本発明のペプチド免疫原を免疫刺激ポリマー分子（例えば、トリバルミトイド-S-グリセリンシスティン（Pam3Cys）、マンナン（マンノースポリマー）またはグルカン（1-2ポリマー））、サイトカイン（例えば、IL-1、IL-1アルファおよびペプチド、IL-2、-INF、IL-10、GM-CSF）およびケモカイン（例えば、MIP1- および、ならびにRANTES）に連結することによって、形成することができる。さらなる担体としては、ウイルス様粒子が挙げられる。一部の組成物では、免疫原性ペプチドも、化学架橋によって担体に連結することができる。免疫原を担体に連結するための技法としては、N-スクシンイミジル3-（2-ビリジルチオ）プロピオネート（SPDP）およびスクシンイミジル4-（N-マレイミドメチル）シクロヘキサン-1-カルボキシレート（SMCC）を使用するジスルフィド連結の形成が挙げられる（ペプチドがスルフヒドリル基を欠く場合、これは、システィン残基の付加によって提供され得る）。これらの試薬は、それら自身とあるタンパク質上のペプチドシスティン残基との間にジスルフィド連結、およびリシン上のイブシロン-アミノまたは他のアミノ酸中の他の遊離アミノ基を通したアミド連結を作り出す。一部の実施形態では、化学架橋は、N-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）エステルおよびプロモアセチル反応性基を介し

40

50

たアミンからスルフヒドリルへのコンジュゲーションのための短い(6.2オングストローム)の架橋剤であるSBAP(スクシンイミジル3-(プロモアセトアミド)プロピオネート)の使用を含むことができる。各種のそのようなジスルフィド/アミド形成剤は、Jansen et al., "Immunotoxins: Hybrid Molecules Combining High Specificity and Potent Cytotoxicity" Immunological Reviews 62:185-216 (February 1982)によって記載されている。他の二官能性カップリング剤は、ジスルフィド連結よりもむしろチオエーテルを形成する。多くのこれらのチオ-エーテル形成剤は、市販されており、6-マレイミドカプロン酸、2-プロモ酢酸および2-ヨード酢酸、4-(N-マレイミド-メチル)シクロヘキサン-1-カルボン酸の反応性エステルが挙げられる。カルボキシル基は、それらをスクシンイミドまたは1-ヒドロキシル-2-ニトロ-4-スルホン酸、ナトリウム塩と混合することによって活性化することができる。シュードビリオンまたはウイルス由来粒子とも呼ばれるウイルス様粒子(VLP)は、in vivoで定義された球対称のVLPに自己組織化できるウイルスのカプシドおよび/またはエンベロープタンパク質の複数のコピーから構成されるサブユニット構造を表す(Powilleit, et al., (2007) PLoS ONE 2(5):e415)。あるいは、ペプチド免疫原は、MHCクラスII分子の大部分に結合することができる少なくとも1つの人工T細胞エピトープ、例えば、汎DRエピトープ('PADRE')に連結することができる。汎DR結合ペプチド(PADRE)は、USS5, 736, 142号、WO95/07707号およびAlexander, et al, Immunity, 1:751-761 (1994)に記載されている。

10

20

30

40

50

【0070】

能動免疫原は、免疫原(ポリペプチドのペプチド)の複数のコピーが单一の共有結合性分子として担体上に存在する多量体形態で存在し得る。一部の実施形態では、担体は、さまざまな形態のデュアルA/アルファ-シヌクレインペプチドを含む。例えば、免疫原のデュアルA/アルファ-シヌクレインペプチドは、A抗原およびアルファ-シヌクレインを異なる順序で有するポリペプチドを含むことができ、またはペプチド内リンカーおよび/または担体へのリンカーありまたはなしで存在していてもよい。

【0071】

一部の組成物では、免疫原性ペプチドはまた、担体との融合タンパク質として発現され得る。ある特定の組成物では、免疫原性ペプチドは、担体と、アミノ末端、カルボキシル末端または内部で連結することができる。一部の組成物では、担体は、CRM197である。一部の組成物では、担体は、ジフテリアトキソイドである。

【0072】

核酸

【0073】

本開示は、本明細書に開示されるアミロイド-ベータ(A_n)ペプチドおよびアルファ-シヌクレインペプチドのいずれかをコードする核酸をさらに提供する。本明細書に開示される核酸免疫療法組成物は、本明細書に開示されるアミロイド-ベータ(A_n)ペプチドをコードする第1の核酸配列およびアルファ-シヌクレインペプチドをコードする第2の核酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる。例えば、A_nペプチドは、3~10アミノ酸残基長であって、配列番号01の最初の10個のN末端残基由来である配列であり、アルファ-シヌクレインペプチドは、3~8アミノ酸長であって、配列番号02の残基81~140由来である配列である。したがって、配列番号3~38のいずれかをコードする核酸は、配列番号39~109のいずれかをコードする核酸と組み合わされて、本開示の免疫原および医薬組成物の構成要素を提供してもよい。同じく、Aベータおよびアルファ-シヌクレイン配列のいずれかをコードする1つまたは複数の核酸は、RR-N末端または-RRC末端のジペプチドに対するコドンを含んでいてもよい。ある特定の実施形態では、A_nおよびアルファ-シヌクレインペプチド配列は、同じ核酸配列によってまたは別々の核酸配列によってコードされてもよい。一部の実施形態では、核酸配列はまた、本明細書に記載される担体へのリンカーおよび/またはC末端シス

テインをコードしてもよい。加えて、単一の核酸配列が両方のペプチドをコードする場合、配列は、本明細書に記載されるペプチド内リンカーもコードしてもよい。本明細書に記載される核酸組成物（医薬組成物）は、アルツハイマー病を処置するまたはその予防および／もしくは防止をもたらすための方法において使用することができる。別の実施形態では、本明細書に開示される核酸免疫療法組成物は、対象におけるおよび／または対象の組織におけるA およびアルファ - シヌクレインの病原性形態を低減するための組成物を提供する。一部の実施形態では、免疫療法組成物によって低減されるA および／またはアルファ - シヌクレインは、A （例えば、 - アミロイドペプチド（A ）の細胞外の斑の沈着、神経突起アミロイド斑）および／またはアルファ - シヌクレイン（例えば、アルファ - シヌクレインオリゴマーのフレーム形状の神経原線維変化）の病理学的形態である。さらに他の実施形態では、神経変性疾患および／またはシヌクレイノパチーの病理学的指標は、核酸免疫療法組成物によって減少される。別の実施形態では、本明細書に開示される核酸免疫療法組成物は、脳のA および脳のアルファ - シヌクレインを低減するための組成物を提供する。

【 0 0 7 4 】

免疫原をコードし、ワクチンとして使用されるDNAなどの核酸は、コードされたポリペプチドがDNAの投与後にin vivoで発現されるので、「DNA免疫原」または「DNAワクチン」と称され得る。DNAワクチンは、目的のタンパク質をコードするDNAをベクター（プラスミドまたはウイルス）に組み込むこと、ベクターを対象に投与すること、およびベクターが投与されて、対象の免疫系が刺激される対象において目的のタンパク質を発現させることによって、それらが対象においてコードする目的のタンパク質に対する抗体を誘導することが意図される。DNAワクチンは、投与後長期間にわたり対象の身体中に残り、コードされたタンパク質をゆっくりと産生し続ける。このようにして、過剰の免疫応答を回避することができる。DNAワクチンは、遺伝子操作技法を使用して改変することもできる。必要に応じて、そのような核酸は、シグナルペプチドをさらにコードし、ペプチドに連結されたシグナルペプチドとともに発現され得る。核酸のコード配列は、調節配列と作動可能に連結されて、コード配列、例えば、プロモーター、エンハンサー、リボソーム結合部位、転写終結シグナルなどの発現を確実にすることができる。A およびアルファ - シヌクレインをコードする核酸は、単離された形態で生じ得るか、または1つもしくは複数のベクターにクローニングされ得る。核酸は、例えば、固体状態の合成または重複するオリゴヌクレオチドのPCRによって合成することができる。リンカーまたは切断可能リンカーありおよびなし、ならびにタンパク質系担体ありまたはなしのA およびアルファ - シヌクレインペプチドならびにポリペプチドをコードする核酸は、例えば発現ベクター内で、1つの連続核酸として接続され得る。

【 0 0 7 5 】

DNAは、RNAよりも安定であるが、いくつかの潜在的な安全性のリスク、例えば、抗DNA抗体の誘導を含み、したがって、一部の実施形態では、核酸は、RNAであり得る。免疫原をコードし、ワクチンとして使用されるRNA核酸は、コードされたポリペプチドがRNAの投与後にin vivoで発現されるので、「RNA免疫原」または「RNAワクチン」または「mRNAワクチン」と称され得る。リボ核酸（RNA）ワクチンは、対象の細胞機構を安全に誘導して、目的の1つまたは複数のポリペプチドを产生することができる。一部の実施形態では、RNAワクチンは、非複製性mRNA（メッセンジャーRNA）またはウイルス由来の自己増幅性RNAであり得る。mRNA系ワクチンは、目的の抗原をコードし、5' および3' 非翻訳領域（UTR）を含有するが、自己増幅性RNAは、抗原だけでなく、細胞内RNA增幅および豊富なタンパク質発現を可能にするウイルス複製機構もコードする。in vitro転写されたmRNAは、T7、T3またはSP6ファージRNAポリメラーゼを使用して、線状DNA鑄型から產生され得る。得られる産物は、5' - および3' - UTR配列、5' キャップならびにポリ(A)テールに隣接する本明細書に開示される目的のペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含有し得る。一部の実施形態では、RNAワクチンは、トランス増幅性RNA（例

10

20

30

40

50

えば、Beissert et al., Molecular Therapy January 2020 28(1):119-128を参照されたい)を含むことができる。ある特定の実施形態では、RNAワクチンは、本明細書に開示されるAペプチドおよびアルファ-シヌクレインペプチドをコードし、特に未成熟抗原提示細胞などの細胞に移入される場合、Aおよびアルファ-シヌクレインペプチドを発現することができる。RNAはまた、免疫刺激エレメントなどの他のポリペプチド配列をコードする配列を含有していてもよい。一部の実施形態では、RNAワクチンのRNAは、改変されたRNAであり得る。RNAの文脈における「改変された」という用語は、RNA中に天然に存在しないRNAの任意の改変を含むことができる。例えば、改変されたRNAは、5'-キャップを有するRNAを指し得るが、しかしながら、RNAは、さらなる改変を含んでいてもよい。5'-キャップは、それらに結合した場合にRNAを安定化する能力を持つように改変することができる。ある特定の実施形態では、さらなる改変は、天然に存在するポリ(A)テールの伸長もしくは切断、または5'-または3'-非翻訳領域(UTR)の変更であってもよい。一部の実施形態では、RNA、例えばまたはmRNAワクチンは、対象において抗原特異的免疫応答を生じるように、有効量で製剤化される。例えば、RNAワクチン製剤は、Aおよびアルファ-シヌクレイン抗原に対する対象の体液性免疫系および/または細胞性免疫系を刺激するために、対象に投与され、したがって、1種または複数のアジュバント、希釈剤、担体および/または賦形剤をさらに含んでいてもよく、Aおよびアルファ-シヌクレイン抗原に対する保護的なおよび/または治療的な免疫反応を誘発するために、任意の好適な経路で対象に適用される。

10

20

30

40

50

【0076】

そのすべてが参照により本明細書に組み込まれる分子生物学の一般方法を開示する基本テキストとしては、Sambrook, J et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989; Ausubel, F M et al. Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 2, Wiley-Interscience, New York(現行版); Kriegler, Gene Transfer and Expression: A Laboratory Manual (1990); Glover, D M, ed, DNA Cloning: A Practical Approach, vol. I & II, IRL Press, 1985; Albers, B. et al., Molecular Biology of the Cell, 2nd Ed., Garland Publishing, Inc., New York, N.Y. (1989); Watson, J D et al., Recombinant DNA, 2nd Ed., Scientific American Books, New York, 1992; および Old, R W et al., Principles of Gene Manipulation: An Introduction to Genetic Engineering, 2nd Ed., University of California Press, Berkeley, Calif. (1981)が挙げられる。

【0077】

例えば、配列における変異の発生、サブクローニング、プローブの標識、シークエンシング、ハイブリダイゼーションなどのような核酸の操作のための技法は、科学文献および特許文献に十分に記載されている。例えば、Sambrook, ed., MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL (2ND ED.), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory, (1989); CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, Ausubel, ed. John Wiley & Sons, Inc., New York (1997); LABORATORY TECHNIQUES IN BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY: HYBRIDIZATION WITH NUCLEIC ACID PROBES, Part I. Tijsen, ed. Elsevier, N.Y. (1993)を参照されたい。

【0078】

核酸、ベクター、カプシド、ポリペプチドなどは、当業者に周知のいくつかの一般手段のいずれかによって分析および定量することができる。これらとしては、例えば、NMR、分光光度法、X線撮影、電気泳動、キャピラリー電気泳動、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、薄層クロマトグラフィー(TLC)および超拡散クロマトグラフィー、さまざまな免疫学的方法、例えば、流体またはゲル沈降素反応、免疫拡散、免疫電気泳動

、ラジオイムノアッセイ（RIA）、酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）、免疫蛍光アッセイ、サザン解析、ノーザン解析、ドットプロット解析、ゲル電気泳動（例えば、SDS-PAGE）、RT-PCR、定量的PCR、他の核酸または標的またはシグナル増幅法、放射性標識、シンチレーション計数、ならびにアフィニティークロマトグラフィーなどの分析生化学法が挙げられる。

【0079】

医薬組成物

【0080】

本明細書に記載されるペプチドおよび免疫原のそれぞれは、薬学的に許容されるアジュバントおよび薬学的に許容される賦形剤とともに投与される医薬組成物中に存在し得る。
アジュバントは、ペプチドが単独で使用された場合の状況と比べて、誘導される抗体の力価および/または誘導される抗体の結合親和性を増加させる。各種のアジュバントを、本開示の免疫原と組み合わせて使用して、免疫応答を誘発することができる。いくつかのアジュバントは、応答の質的形態に影響を及ぼす免疫原のコンフォメーション変化を引き起こすことなく、免疫原に対する内因性応答を増大させる。アジュバントは、天然化合物、天然化合物の改変バージョンもしくは誘導体、または合成化合物であってもよい。

【0081】

いくつかのアジュバントとしては、アルミニウム塩、例えば、水酸化アルミニウムおよびリン酸アルミニウム、3脱-O-アシル化モノホスホリルリピドA（MPL（商標））（GB2220211号（RIBI ImmunoChem Research Inc.、Hamilton, Montana、現在はCorixaの一部）を参照されたい）が挙げられる。本明細書で使用される場合、MPLは、MPLの天然バージョンおよび合成バージョンを指す。合成バージョンの例としては、PHAD（登録商標）、3D-PHAD（登録商標）および3D(6A)-PHAD（登録商標）（Avanti Polar Lipids、Alabaster、Alabama）が挙げられる。

【0082】

QS-21は、南米で見出されたQuillaja saponaria Molina樹の樹皮から単離されたトリテルペングリコシドまたはサポニンである（Kensil et al., in Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (eds. Powell & Newman, Plenum Press, NY, 1995)を参照されたい）。QS-21製品としては、Stimulon（登録商標）（Antigenics, Inc.、New York, NY；現在はAgenus, Inc. Lexington, MA）およびQS-21ワクチンアジュバント（Desert King, San Diego, CA）が挙げられる。QS-21は、US5,057,540号およびUS8,034,348号において、開示され、特徴付けられ、評価されており、それらの開示は、参照により本明細書に組み込まれる。加えて、QS-21は、さまざまな投薬量で多数の臨床研究において評価されている。NCT00960531（clinicaltrials.gov / ct2 / show / study / NCT00960531）、Huell et al., Curr Alzheimer Res. 2017 Jul; 14(7): 696-708（ワクチンACC-001のさまざまな用量とともに50mcgのQS-21を評価）；Gilman et al., "Clinical effects of Abeta immunization (AN1792) in patients with AD in an interrupted trial" Neurology. 2005 May 10; 64(9):1553-62；Wald et al., "Safety and immunogenicity of long HSV-2 peptides complexed with rhHsc70 in HSV-2 seropositive persons" Vaccine 2011; 29(47):8520-8529；およびCunningham et al., "Efficacy of the Herpes Zoster Subunit Vaccine in Adults 70 Years of Age or Older." NEJM. 2016 Sep 15; 375(11):1019-32を参照されたい。QS-21は、SHINGRIXを含むFDAで承認されたワクチンにおいて使用されている。SHINGRIXは、50mcgのQS-21を含有する。ある特定の実施形態では、QS-21の量は、約10μg～約500μgである。

10

20

30

40

50

【0083】

TQL1055は、QS-21のアナログ(Adjuvance Technologies、Lincoln、NE)である。半合成TQL1055は、QS-21との比較において、高純度、増加した安定性、減少した局所耐容性、減少した全身耐容性を有するとして特徴付けられている。TQL1055は、US20180327436A1号、WO2018191598A1号、WO2018200656A1号およびWO2019079160A1号において、開示され、特徴付けられ、評価されており、それらの開示は、参照により本明細書に組み込まれる。US20180327436A1号は、20μgのQS-21よりも2.5倍超TQ1055が優れていたが、50μgのTQ1055に対する改善はなかったことを教示している。しかしながら、QS-21とは異なって、TQL1055用量の増加につれて、体重減少またはRBCの溶血のいずれかの増加はなかった。WO2018200656A1号は、TQ1055の最適量で、抗原の量を低下させ、優れた力価を達成することができる教示している。ある特定の実施形態では、TQL1055の量は、約10μg～約500μgである。

【0084】

他のアジュバントは、必要に応じてモノホスホリルリピドA(Stoute et al., N Engl. J. Med. 336, 86-91 (1997)を参照されたい)、ブルロニック(登録商標)ポリマーおよび殺滅マイコバクテリアなどの免疫刺激剤と組み合わされた、水中油型エマルジョン(スクアレンまたはピーナッツ油など)である。Ribidiアジュバントは、水中油型エマルジョンである。Ribidiは、Tween(登録商標)80を含有する食塩水と乳化された代謝可能油(スクアレン)を含有する。Ribidiは、免疫刺激剤として作用する精製マイコバクテリア産物および細菌モノホスホリルリピドAも含有する。他のアジュバントは、CpGオリゴヌクレオチド(WO98/40100号を参照されたい)、サイトカイン(例えば、IL-1、IL-1アルファおよびペプチド、IL-2、INF、IL-10、GM-CSF)、ケモカイン(例えば、MIP1- および、ならびにRANTES)、サボニン、RNA、ならびに/またはTLRアゴニスト(例えば、MPLおよび合成MPL分子などのTLR4アゴニスト)、アミノアルキルグルコサミニドホスフェート、および他のTLRアゴニストであり得る。アジュバントは、活性薬剤との治療用組成物の構成要素として投与することができ、または治療剤の投与の前に、それとともに、もしくはその後に、別々に投与することができる。

【0085】

本開示のさまざまな実施形態では、アジュバントは、QS-21(Stimulon(商標))である。一部の組成物では、アジュバントは、MPLである。ある特定の実施形態では、MPLの量は、約10μg～約500μgである。一部の組成物では、アジュバントは、TQL1055である。ある特定の実施形態では、TQL1055の量は、約10μg～約500μgである。一部の組成物では、アジュバントは、QS21である。ある特定の実施形態では、QS21の量は、約10μg～約500μgである。一部の組成物では、アジュバントは、MPLおよびQS-21の組合せである。一部の組成物では、アジュバントは、MPLおよびTQL1055の組合せである。一部の組成物では、アジュバントは、リポソーム製剤にすることができる。

【0086】

加えて、本開示の一部の実施形態は、多重抗原提示システム(MAP)を含むことができる。多重抗原提示ペプチドワクチンシステムは、従来のワクチン(すなわち、生・弱毒化病原体、殺滅病原体、または不活性化病原体)、担体タンパク質および細胞傷害性アジュバントに関連する有害効果を回避するために開発された。2つの主要なアプローチを使用して、多重抗原提示ペプチドワクチンシステムが開発された：(1)機能性構成要素、例えば、T細胞エピトープ、細胞透過性ペプチドおよび親油性部分の付加；ならびに(2)サイズ規定ナノ材料、例えば、自己組織化ペプチド、非ペプチド性デンドリマーおよび金ナノ粒子を、抗原提示プラットフォームとして使用する合成アプローチ。多重抗原ペプチド(MAP)システムの使用は、サブユニットペプチドワクチンの、ときには不十分な

10

20

30

40

50

免疫原性を改善することができる。M A Pシステムでは、抗原ペプチドの複数のコピーは、非免疫原性L y s系樹状足場のa - および - アミノ基に同時に結合し、分解からの安定性を付与するのを助け、このようにして、小型抗原ペプチド単独と比較して、免疫細胞による分子認識およびより強い免疫応答の誘導を増強する。一部の組成物では、M A Pは、L y s系樹状足場、ヘルパーT細胞エピトープ、免疫刺激性親油性部分、細胞透過性ペプチド、ラジカル誘導重合、抗原提示プラットフォームとしての自己組織化ナノ粒子、および金ナノ粒子のうちの1つまたは複数を含む。

【0087】

非経口投与のための医薬組成物は、好ましくは無菌で、実質的に等張であり、G M P条件下で製造される。医薬組成物は、単位剤形（すなわち、単回投与のための投薬量）で提供することができる。医薬組成物は、1種または複数の生理学的に許容される担体、希釈剤、賦形剤または補助剤を使用して製剤化することができる。製剤は、選択された投与の経路に依存する。注射のために、本開示のペプチドは、水溶液で、好ましくは、（注射の部位での不快感を低減するために）ハンクス液、リングル液、または生理食塩水もしくは酢酸緩衝液などの生理的に適合性の緩衝液中で製剤化することができる。溶液は、懸濁化剤、安定化剤および/または分散剤などの製剤化剤を含有することができる。あるいは、ペプチド組成物は、使用前に、好適なビヒクリル、例えば、無菌のバイロジエンフリーの水で構成するための凍結乾燥形態であり得る。

【0088】

ペプチド（および必要に応じて、ペプチド（複数可）に融合された担体）は、ペプチド（複数可）をコードする核酸の形態で投与し、対象においてin situで発現させることもできる。免疫原をコードする核酸セグメントは、典型的には、調節エレメント、例えば、対象の意図される標的細胞においてD N Aセグメントの発現を可能にするプロモーターおよびエンハンサーに連結される。血液細胞における発現のために、免疫応答の誘導のために所望されるように、例えば、軽鎖または重鎖免疫グロブリン遺伝子由来のプロモーターおよびエンハンサーエレメント、またはC M V主要中間初期プロモーターおよびエンハンサーが、発現を方向付けるために好適である。連結された調節エレメントおよびコード配列は、多くの場合、ベクターにクローニングされる。

【0089】

D N AおよびR N Aは、ネイキッド形態（すなわち、コロイド状材料または封入材料なしで）送達することができる。あるいは、レトロウイルス系（例えば、Boris-Lawrie and Teumin, Cur. Opin. Genet. Develop. 3(1):102-109 (1993)を参照されたい）；アデノウイルスベクター（例えば、Bett et al., J. Virol. 67(10);5 911-21 (1993)を参照されたい）；アデノ随伴ウイルスベクター（例えば、Zhou et al., J. Exp. Med. 179(6):1867-75 (1994)を参照されたい）；ワクシニアウイルスおよびトリポックスウイルスを含むポックスファミリー由来のウイルスベクター、シンドビスウイルスおよびセムリキ森林ウイルスに由来するものなどのアルファウイルス属由来のウイルスベクター（例えば、Dubensky et al., J. Virol. 70(1):508-519 (1996)を参照されたい）、ベネズエラウマ脳炎ウイルス（U S S , 6 4 3 , 5 7 6号を参照されたい）、および水疱性口内炎ウイルス（W O 9 6 / 3 4 6 2 5号を参照されたい）などのラブドウイルス、ならびにパピローマウイルス（W O 9 4 / 1 2 6 2 9号；Ohe et al., Human Gene Therapy 6(3):325-333 (1995)；およびXiao & Brandsma, Nucleic Acids. Res. 24(13):2620-2622 (1996)）を含むいくつかのウイルスベクター系を使用することができる。

【0090】

免疫原をコードするD N AおよびR N A、またはそれを含有するベクターは、リポソーム、ナノ粒子またはリポタンパク質複合体にパッケージングすることができる。好適な他のポリマーとしては、例えば、プロタミンリポソーム、多糖粒子、カチオン性ナノエマルジョン、カチオン性ポリマー、カチオン性ポリマーリポソーム、カチオン性脂質ナノ粒子、カチオン性脂質、コレステロールナノ粒子、カチオン性脂質-コレステロール、P E G

10

20

30

40

50

ナノ粒子またはデンドリマーナノ粒子が挙げられる。さらなる好適な脂質および関連アナログは、U.S. 5,208,036号、U.S. 5,264,618号、U.S. 5,279,833号およびU.S. 5,283,185号によって記載されており、これらのそれぞれは、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。免疫原をコードするベクターおよびDNAは、微粒子担体に吸着または会合させることもでき、その例としては、ポリメチルメタクリレートポリマー、ならびにポリラクチドおよびポリ(ラクチド-co-グリコリド)(例えば、McGee et al., J. Micro Encap. Mar-Apr 1997; 14(2):197-210を参照されたい)が挙げられる。

【0091】

薬学的に許容される担体組成物としては、限定されるものではないが、水、薬学的に許容される有機溶媒、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、アルギン酸ナトリウム、水溶性デキストラン、カルボキシメチルデンプンナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、エチルセルロース、キサンタンガム、アラビアガム、カゼイン、寒天、ポリエチレングリコール、ジグリセリン、グリセリン、プロピレングリコール、ペトロラタム、パラフィン、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、および医薬添加剤として許容される界面活性剤を含む添加剤を含むことができる。

10

【0092】

処置に適する対象

20

【0093】

A 斑および/または神経原線維変化の存在は、アルツハイマー病、ダウン症候群、軽度認知機能障害、脳アミロイド血管症、脳炎後パーキンソンズム、外傷後認知症またはボクサー認知症、ピック病、C型ニーマン-ピック病、核上性麻痺、前頭側頭型認知症、前頭側頭葉変性症、嗜銀顆粒病、グアムの筋萎縮性側索硬化症/パーキンソンズム認知症複合体、大脳皮質基底核変性症(CBD)、レビー小体型認知症、アルツハイマー病のレビー小体バリアント(LBVA)、慢性外傷性脳症(CTE)、パーキンソン病、進行性核上麻痺(PSP)、萎縮型加齢黄斑変性(AMD)、および封入体筋炎を含むいくつかの疾患において見出されている。

30

【0094】

本開示の組成物および方法は、これらの疾患のいずれかの処置または予防において使用することができる。神経疾患とA および/またはアルファ-シヌクレインとの間の広範囲の関連のために、本開示の組成物および方法は、神経疾患なしの個体における平均値と比較して、(例えば、CSFにおける) A および/またはアルファ-シヌクレインの上昇したレベルを示す任意の対象の処置または予防において使用することができる。本開示の組成物および方法は、神経疾患に関連するA および/またはアルファ-シヌクレインに変異を有する個体における神経疾患の処置または予防において使用することもできる。方法は、アルツハイマー病の処置または予防に特に好適である。

30

【0095】

処置に適する対象としては、疾患のリスクがあるが、症状を示していない個体、および現在症状を示している患者が挙げられ、疾患に対して以前に処置されていない処置ナイーブ対象を含む。疾患のリスクがある対象としては、高齢集団における対象、A および/またはアルファ-シヌクレイン病理を有し、疾患の公知の遺伝的リスクを有する無症候性対象が挙げられる。そのような個体としては、この疾患を経験している親族を有する個体、およびそのリスクが遺伝子マーカーまたは生化学的マーカーの解析によって決定されている個体が挙げられる。リスクの遺伝子マーカーとしては、A および/またはアルファ-シヌクレインにおける変異、ならびに神経疾患に関連する他の遺伝子における変異が挙げられる。例えば、ヘテロ接合型のApoE 4 対立遺伝子、ましてやホモ接合型のApoE 4 対立遺伝子は、アルツハイマー病(AD)のリスクに関連する。アルツハイマー病のリスクの他のマーカーとしては、APP遺伝子における変異、特に、717位における変

50

異、ならびにハーディ変異およびスウェーデン変異とそれぞれ称される 670 位および 671 位での変異、プレセニリン遺伝子 PS1 および PS2 における変異、AD、高コレステロール血症またはアテローム性動脈硬化症の家族歴が挙げられる。現在アルツハイマー病を患っている個体は、特徴的な認知症、および上記のリスク因子の存在から、PETイメージングによって認識することができる。加えて、いくつかの診断検査が、AD を有する個体を特定するために利用可能である。これらとしては、CSF もしくは血液のアルファ - シヌクレインおよび 42 レベルの測定が挙げられる。上昇したアルファ - シヌクレインおよび減少した 42 レベルは、AD の存在を示す。いくつかの変異、例えば、A1a30Pro もしくは A1a53Thr、またはロイシンリッチリピートキナーゼなどのパーキンソン病に関連する他の遺伝子 (LRRK2 または PARK8) における変異は、パーキンソン病に関連する。対象はまた、DSM IV TR の基準によって、上記に言及された神経疾患のいずれかと診断され得る。

10

【0096】

無症候性対象では、処置は、任意の年齢（例えば、10、20、30、またはそれよりも上）で開始することができる。しかしながら、通常、対象が 20、30、40、50、60、70、80 または 90 歳に達するまで、処置を開始する必要はない。処置は、典型的には、一定の期間にわたって、複数回投薬を必要とする。処置は、経時的に抗体レベルをアッセイすることによってモニターすることができる。応答が低下すると、ブースターブイタゲルが指示される。潜在的なダウント症候群患者の場合では、処置は、母親に治療剤を投与することによって出生前に、または出生直後に開始することができる。

20

【0097】

処置および使用の方法

【0098】

本開示は、神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病）を有するか、またはそれを発生するリスクがある対象における A またはアルファ - シヌクレインの凝集を阻害または低減する方法を提供する。方法は、本明細書に開示される組成物を対象に投与することを含む。治療有効量は、有効な期間に与えられる場合に、所望の免疫学的效果または臨床効果を達成する投薬量である。投薬量レジメンは、最適な治療応答を提供するために調整されてもよい。例えば、いくつかの分割用量が、設定された間隔で（例えば、毎週、毎月）投与されてもよく、または用量は、治療状況の緊急性によって示される通りに比例的に低減されてもよい。

30

【0099】

予防的適用では、本明細書に記載される組成物は、疾患（例えば、アルツハイマー病）に罹患しやすいか、またはそうでなければそのリスクがある対象に、疾患のリスクを低減する、疾患の重症度を下げる、または疾患の少なくとも 1 つの徴候もしくは症状の開始を遅延させるのに有効なレジメン（投与の用量、頻度および経路）で投与することができる。特に、レジメンは、A 斑形成を阻害もしくは遅延させる、ならびに / またはシヌクレインノバチーを阻害もしくは遅延させる、ならびに / またはその毒性作用を阻害もしくは遅延させる、ならびに / または行動の欠陥の発生を阻害もしくは遅延させるのに有効である。治療的適用では、本明細書に記載される組成物は、疾患（例えば、アルツハイマー病）の疑いがある対象、または疾患を既に患っている患者に、疾患の少なくとも 1 つの徴候または症状を改善する、またはそのさらなる悪化を少なくとも阻害するのに有効なレジメン（投与の用量、頻度および経路）で投与される。特に、レジメンは、好ましくは、毒性および / または行動の欠陥に関連する A 斑および / またはシヌクレインノバチーのレベルのさらなる増加を低減または少なくとも阻害するのに有効である。

40

【0100】

処置された個体が、本発明の方法によって処置されていない同等の対象の対照集団における平均転帰よりも好ましい転帰を達成する場合に、あるいはより良好な転帰が、比較臨床試験（例えば、フェーズ II、フェーズ II / III またはフェーズ III 試験）において、対照対象に対する処置された対象において $p < 0.05$ もしくは 0.01 、または

50

さらに 0 . 0 0 1 のレベルで実証される場合に、レジメンは、治療的または予防的に有効と考えられる。

【 0 1 0 1 】

多くの異なる要因、例えば、投与の手段、標的部位、患者の生理学的状態、患者が A p o E キャリアであるかどうか、患者がヒトまたは動物であるかどうか、投与される他の薬、および処置が予防的または治療的であるかどうかに応じて、有効用量は変わる。

【 0 1 0 2 】

一部の実施形態では、有効量は、 $25 \mu\text{g} \sim 1000 \mu\text{g}$ 、または $50 \mu\text{g} \sim 1000 \mu\text{g}$ の総用量である。一部の実施形態では、有効量は、 $100 \mu\text{g}$ の総用量である。一部の実施形態では、有効量は、合計で 2 回対象に投与される $25 \mu\text{g}$ の用量である。一部の実施形態では、有効量は、合計で 2 回対象に投与される $100 \mu\text{g}$ の用量である。一部の実施形態では、有効量は、合計で 2 回対象に投与される $400 \mu\text{g}$ の用量である。一部の実施形態では、有効量は、合計で 2 回対象に投与される $500 \mu\text{g}$ の用量である。一部の実施形態では、R N A (例えは、m R N A) ワクチンは、皮内注射、筋肉内注射によって、または鼻腔内投与によって、対象に投与される。

10

【 0 1 0 3 】

一部の実施形態では、能動免疫療法のための薬剤の量は、患者あたり、 $1 \sim 1,000$ マイクログラム (μg) 、または $0.1 \sim 500 \mu\text{g}$ 、または $10 \sim 500 \mu\text{g}$ 、または $50 \sim 250 \mu\text{g}$ まで変わり、ヒト投与のための注射あたり $1 \sim 100 \mu\text{g}$ または $1 \sim 10 \mu\text{g}$ であり得る。注射のタイミングは、1 日に 1 回から、1 週間に 1 回、1 か月に 1 回、1 年に 1 回、10 年に 1 回まで非常に大きく変わり得る。典型的なレジメンは、免疫と、それに続く 6 週間間隔または 2 か月などの時間間隔でのブースター注射からなる。別のレジメンは、免疫と、それに続く 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 または 12 か月後の 1 回または複数回のブースター注射からなる。別のレジメンは、生涯にわたり、2 か月ごとの注射を必然的に伴う。あるいは、ブースター注射は、免疫応答のモニタリングによって示されるように、不定期であり得る。投与の頻度は、副作用が臨床的に許容される範囲内である限り、1 回または複数回であってもよい。

20

【 0 1 0 4 】

一部の実施形態では、本明細書に開示される組成物または方法は、第 1 のペプチドおよび第 2 のペプチドをコードするオーブンリーディングフレームを有する 1 つまたは複数の D N A または R N A ポリヌクレオチドを含む核酸ワクチンを対象に投与することを含み、 $10 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 400 \mu\text{g} / \text{kg}$ の核酸ワクチンの投薬量が対象に投与される。一部の実施形態では、R N A ポリヌクレオチドの投薬量は、用量あたり、 $1 \sim 5 \mu\text{g}$ 、 $5 \sim 10 \mu\text{g}$ 、 $10 \sim 15 \mu\text{g}$ 、 $15 \sim 20 \mu\text{g}$ 、 $10 \sim 25 \mu\text{g}$ 、 $20 \sim 25 \mu\text{g}$ 、 $20 \sim 50 \mu\text{g}$ 、 $30 \sim 50 \mu\text{g}$ 、 $40 \sim 50 \mu\text{g}$ 、 $40 \sim 60 \mu\text{g}$ 、 $60 \sim 80 \mu\text{g}$ 、 $60 \sim 100 \mu\text{g}$ 、 $50 \sim 100 \mu\text{g}$ 、 $80 \sim 120 \mu\text{g}$ 、 $40 \sim 120 \mu\text{g}$ 、 $40 \sim 150 \mu\text{g}$ 、 $50 \sim 150 \mu\text{g}$ 、 $50 \sim 200 \mu\text{g}$ 、 $80 \sim 200 \mu\text{g}$ 、 $100 \sim 200 \mu\text{g}$ 、 $120 \sim 250 \mu\text{g}$ 、 $150 \sim 250 \mu\text{g}$ 、 $180 \sim 280 \mu\text{g}$ 、 $200 \sim 300 \mu\text{g}$ 、 $50 \sim 300 \mu\text{g}$ 、 $80 \sim 300 \mu\text{g}$ 、 $100 \sim 300 \mu\text{g}$ 、 $40 \sim 300 \mu\text{g}$ 、 $50 \sim 350 \mu\text{g}$ 、 $100 \sim 350 \mu\text{g}$ 、 $200 \sim 350 \mu\text{g}$ 、 $300 \sim 350 \mu\text{g}$ 、 $320 \sim 400 \mu\text{g}$ 、 $40 \sim 380 \mu\text{g}$ 、 $40 \sim 100 \mu\text{g}$ 、 $100 \sim 400 \mu\text{g}$ 、 $200 \sim 400 \mu\text{g}$ または $300 \sim 400 \mu\text{g}$ である。一部の実施形態では、核酸は、皮内注射または筋肉内注射によって対象に投与される。一部の実施形態では、核酸は、0 日目に対象に投与される。一部の実施形態では、核酸の 2 回目の用量は、7 日目、または 14 日目、または 21 日目に対象に投与される。

30

40

【 0 1 0 5 】

本明細書に記載される組成物は、好ましくは、末梢経路 (すなわち、投与される組成物が血液脳関門を通過し、脳、脊髄または眼における意図される部位に達して、頑強な免疫応答および / または誘導される抗体集団をもたらす経路) を介して投与される。末梢疾患のためには、誘導される抗体は、意図される末梢器官に達するように血管系から離れる。

50

投与の経路としては、経口、皮下、鼻腔内、皮内または筋肉内が挙げられる。能動免疫のためのいくつかの経路は、皮下および筋肉内である。筋肉内投与および皮下投与は、単一の部位または複数の部位で行うことができる。筋肉内注射は、最も典型的には、腕または脚の筋肉に行われる。一部の方法では、薬剤は、沈着物が蓄積している特定の組織に直接注射される。

【0106】

投与される投薬の数は、より頑強な免疫応答（例えば、より高い力価）をもたらすように、調整することができる。急性障害または慢性障害の急性悪化のためには、多くの場合、1～10回用量で十分である。時には、急性障害または慢性障害の急性悪化に対して、必要に応じて、分割形態の単一ボーラス用量で十分である。慢性障害のために、本明細書に開示されるワクチン／免疫療法は、規則的な間隔、例えば、毎週、隔週、毎月、3か月ごと、6か月ごとに、少なくとも1、5または10年間、または患者の生涯にわたり投与することができる。10

【0107】

免疫原をコードするDNAまたはRNAの有効量は、レシピエントの体重1キログラムあたり約1ナノグラム～約1グラム、または約0.1μg/kg～約10mg/kg、または約1μg/kg～約1mg/kgであり得る。内部投与のために好適な剤形は、好ましくは、単位あたり約0.1μg～100μgの活性成分を含有する（後者の用量範囲について）。活性成分は、組成物の総重量に基づいて、重量基準で0.5～95%まで変わり得る。あるいは、抗原がロードされた樹状細胞の有効用量は、約10⁴～10⁸個細胞である。免疫療法の当業者であれば、過度の実験なく、これらの用量を調整することが可能である。20

【0108】

核酸組成物は、簡便な様式、例えば、簡便かつ有効な経路による注射で投与されてもよい。経路としては、限定されるものではないが、皮内「遺伝子銃」送達または筋肉内注射が挙げられ得る。改変された樹状細胞は、皮下、静脈内または筋肉内経路によって投与される。他の可能な経路としては、経口投与、髄腔内、吸入、経皮適用、または直腸投与が挙げられる。

【0109】

投与の経路に応じて、組成物は、酵素、酸、および化合物が不活性になり得る他の天然状態の作用から化合物を保護する材料でコーティングされていてもよい。したがって、その不活性化を防止する材料で組成物をコーティングすること、またはその材料とともに組成物を共投与することが必要であってもよい。例えば、ヌクレアーゼまたはプロテアーゼの酵素阻害剤（例えば、胰トリプシン阻害剤、ジイソプロピルフルオロホスフェートおよびトラジロール）、またはリポソーム（水中油中水型エマルジョンを含む）および従来のリポソーム（Strejan et al., J. Neuroimmunol 7(1):27-41, 1984）などの適切な担体中。30

【0110】

本明細書に開示される免疫療法用組成物はまた、Aまたはアルファ-シヌクレインの蓄積に関連する疾患のための他の処置、例えば、本明細書に開示されるAエピトープのいずれかに特異的に結合する抗体などの抗A抗体と組み合わせて使用されてもよい。例えば、アデュカヌマブ、または例えば、米国特許公開第2010/0202968号および米国特許第8,906,367号に開示される抗体のいずれか、ならびに/または抗アルファ-シヌクレイン抗体、例えば、本明細書に開示されるアルファ-シヌクレインエピトープのいずれかに特異的に結合する抗体、ABBV-8E12、ゴスラネマブ、ザゴテネマブ、RG-6100、BIIIB076、またはWO2014/165271号、US10,501,531号、WO2017/191560号、US2019/0330314号、WO2017/191559号およびWO2018/204546号に開示される抗体のいずれか；ならびに/あるいは抗アルファ-シヌクレイン抗体、例えば、本明細書に開示されるアルフ40

ア - シヌクレインエピトープのいずれかに特異的に結合する抗体、または抗体および／もしくは他のアルファ - シヌクレイン結合性化合物、例えば、P R X 0 0 2 / R O 7 0 4 6 0 1 5 、 P R X 0 0 2 / R G 7 9 3 5 (プラシネズマブ) 、 N P T 2 0 0 - 1 1 / U C B 0 5 9 9 、 N P T 0 8 8 、 B I I B 0 5 4 (シンパネマブ) 、 A B B V - 0 8 0 5 、 M E D I - 1 3 4 1 、 N P T 0 8 8 、 L u A F 8 2 4 2 2 である。一部の併用療法の方法では、患者は、本明細書に開示される能動免疫療法の方法の前に、受動免疫療法を受ける。他の方法では、患者は、処置の同じ期間の間に、受動免疫療法および能動免疫療法を受ける。あるいは、患者は、受動免疫療法の前に、能動免疫療法を受けてもよい。組合せはまた、小分子治療および非免疫原性療法、例えば、R A Z A D Y N E (登録商標) (ガランタミン) 、 E X E L O N (登録商標) (リバスチグミン) および A R I C E P T (登録商標) (ドネペジル) 、ならびに脳における神経細胞の機能を改善する他の組成物を含んでいてもよい。

10

【 0 1 1 1 】

本開示の組成物は、本明細書に記載される処置レジメンのための医薬の製造において使用されてもよい。

【 0 1 1 2 】

処置レジメン

【 0 1 1 3 】

本明細書に開示される処置の方法の所望の転帰は、疾患および患者のプロファイルに従って変わり、当業者に決定可能である。所望の転帰としては、患者の健康状態の改善が挙げられる。一般に、所望の転帰としては、測定可能な指標、例えば、病原性アミロイド原線維の低減または排除、減少または阻害されたアミロイド凝集および／またはアミロイド原線維の沈着、ならびに病原性のおよび／または凝集したアミロイド原線維に対する増加した免疫応答が挙げられる。所望の転帰としては、アミロイド疾患の特異的な症状の寛解も挙げられる。本明細書で使用される場合、「改善する」、「増加する」または「低減する」などの相対的な用語は、対照、例えば、本明細書に記載される処置の開始前の同じ個体における測定値、または対照個体もしくは対照群における測定値と比べた値を示す。対照個体は、開示される免疫療法／ワクチン製剤を使用して処置を受けていないが、処置されている個体とおよそ同じ年齢である(処置された個体および対照個体における疾患のステージが同等であることを確実にするため) 、処置されている個体と同じアミロイド疾患に苦しむ個体である。あるいは、対照個体は、処置されている個体とおよそ同じ年齢である健康な個体である。治療に対する応答の変化または改善は、一般に、統計学的有意であり、有意であると見なされ得る 0 . 1 未満または 0 . 1 に等しい、 0 . 0 5 未満、 0 . 0 1 未満、 0 . 0 0 5 未満または 0 . 0 0 1 未満の p 値によって記載される。

20

【 0 1 1 4 】

対象の処置のための本明細書に開示される組成物の有効用量は、投与の手段、標的部位、患者の生理学的状態、患者がヒトまたは動物であるかどうか、あれば投与される他の薬、および処置が予防的または治療的であるかどうかを含む多くの異なる要因に応じて変わる。処置投薬量は、安全性および有効性を最適化するために用量設定することができる。免疫原の量は、アジュvantも投与されるかどうかにも依存し得、アジュvantの非存在下ではより高い投薬量が必要である。投与のための免疫原の量は、時には、患者あたり 1 ~ 5 0 0 μ g 、より一般的には、ヒト投与のための注射あたり 5 ~ 5 0 0 μ g まで変わる。時折、投薬あたり 1 ~ 2 m g のより高い用量が使用される。典型的には、約 1 0 、 2 0 、 5 0 または 1 0 0 μ g が、各ヒト投薬のために使用される。投薬のタイミングは、1 日に 1 回から、1 年に 1 回、10 年に 1 回まで非常に大きく変わり得る。免疫原の投薬が与えられる任意の所与の日に、投薬量は、 1 μ g / 患者より高く、通常、アジュvantも投与される場合は 1 0 μ g / 患者より高く、アジュvantの非存在下では 1 0 μ g / 患者より高く、通常は、 1 0 0 μ g / 患者より高い。典型的なレジメンは、免疫と、それに続く 6 週間の間隔のブースター投薬からなる。別のレジメンは、免疫と、それに続く 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 1 0 、 1 1 または 1 2 か月後のブースター投薬からなる。

30

40

50

別のレジメンは、生涯にわたり、2か月ごとの投薬を伴う。あるいは、ブースター投薬は、免疫応答のモニタリングによって示されるように、不定期であり得る。

【0115】

アルツハイマー病のための第2の処置、例えば、Razadyn (登録商標) (ガランタミン)、Exelon (登録商標) (リバスチグミン) およびAricept (登録商標) (ドネペジル) と組み合わせて投与される場合、第2の処置は、製品ラベルに従つて、または本開示の組成物による処置を考慮して必要により、投与することができる。

【0116】

キット

【0117】

本開示は、本明細書に開示される組成物、および関連する材料、例えば、使用のための指示（例えば、添付文書）を含むキット（例えば、容器）をさらに提供する。使用のための指示は、例えば、組成物、および必要に応じて1つまたは複数の追加の薬剤の投与のための指示を含んでいてもよい。ペプチドおよび/または核酸組成物の容器は、単位用量、バルクパッケージ（例えば、複数回用量パッケージ）またはサブ単位用量であってもよい。

10

【0118】

添付文書は、適応症、用法、投薬量、投与、禁忌、および/またはそのような治療用製品の使用に関する警告についての情報を含む治療用製品の市販パッケージに習慣的に含まれる指示を指す。キットは、薬学的に許容される緩衝液、例えば、注射用静菌水（BWF I）、リン酸緩衝食塩水、リングル液およびデキストロース溶液などを含む第2の容器を含むこともできる。これは、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針および注射器を含む、商業的および使用者の観点から望まれる他の材料を含むこともできる。

20

【0119】

使用

【0120】

本明細書に記載されるペプチド、ポリペプチド、免疫原および医薬組成物のそれぞれは、本明細書に記載される疾患のうちの1つまたは複数の処置における使用のためのものであってもよい。加えて、本明細書に記載されるペプチド、ポリペプチド、免疫原および医薬組成物のそれぞれは、本明細書に記載される疾患のうちの1つまたは複数を処置するための方法における使用のためのものであってもよい。本明細書に記載されるペプチド、ポリペプチド、免疫原および医薬組成物のそれぞれは、本明細書に記載される疾患のうちの1つまたは複数を処置するためまたはその処置における使用のための医薬を製造するための方法において使用されてもよい。

30

【0121】

以下は、例証目的だけのために提供され、上記の広範な用語で記載された本発明の範囲を限定することを意図するものではない。

【0122】

本明細書において特定された全ての米国特許出願および国際特許出願は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

40

【実施例】

【0123】

（実施例1）

動物免疫

【0124】

雌スイスウェーブスター マウスに、0日目、14日目、42日目および70日目に、100 μ lの試験免疫原を2つの部位に（合計で200 μ l）皮下注射した。試験免疫原を、25 μ gの試験免疫原、および200 μ lのリン酸緩衝食塩水（PBS）中の25 μ gのQS21アジュバントを混合することによって調製した。尾を傷つけ、50 μ lの血液を採取することによって、21日目、49日目および77日目にマウスから採血し、続いて

50

血清に処理した。試験した免疫原には、D A E F R H D R R P D N E A Y E G G C (配列番号 110) および D A E F R H D R R D P D N E A Y E G G C (配列番号 111) が含まれていた。免疫原は、A ペプチド、アルファ - シヌクレインペプチド、C 末端リンカーおよび C 末端システイン(すなわち、-Gly-Gly-Cys-)を含有し、C 末端システインを介してマレイミド結合によって CRM-197 とカップリングされていた。

【0125】

モルモットに、200 μl の Addavax 中、50 μg の試験免疫原、25 μg の QS-21 を、0 日目、21 日目、49 日目、および 77 日目に筋肉内注射した。免疫の 7 日後に採血した。試験した免疫原には、D A E F R H D R R P D N E A Y E G G C (配列番号 110) および D A E F R H D R R D P D N E A Y E G G C (配列番号 111) が含まれていた。免疫原は、A ペプチド、アルファ - シヌクレインペプチド、C 末端リンカーおよび C 末端システイン(すなわち、-Gly-Gly-Cys-)を含有し、C 末端システインを介してマレイミド結合によって CRM-197 とカップリングされていた。

10

【0126】

雌モルモットは研究開始時に少なくとも 5 週齢であり、体重はほぼ 350 ~ 500 g であった。適切な動物舎ならびに動物の飼育および世話のための研究手順は、米国農務省 (USDA) および国際実験動物管理評価・認定協会 (Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care (AAALAC) International) のガイドラインに従って、認証を受けた施設で行なった。

20

【0127】

免疫原の濃度は 0.5 mg / ml であった。試験免疫原のそれぞれの投与の前に、注射部位を可視化するために、それぞれの後肢の約 3 cm² の区域を剃毛し、エタノールで拭った。それぞれの動物は、1 注射あたりそれぞれ 100 μl で、2 つの別々の部位に分割された 200 μl (0.25 μg / μl) の試験免疫原用量を受けた(すなわち、動物は 100 μl の PBS 中、50 μg の免疫原 + 100 μl の Addavax 中、25 μg の QS-21 を受けた)。25G ~ 27G の針を後肢の筋肉内、約 0.25 ~ 0.5 cm の深さに挿入し、1 部位あたり 100 μl で注射した。注射部位は 1 後肢あたり 4 つの別々の部位の間でそれぞれの投与を回転し、少なくとも 2 cm 離した。

30

【0128】

(実施例 2)

抗体力価の測定

【0129】

モルモットについて、1 週目、4 週目、8 週目および 12 週目に 1 回の採取あたり 250 ~ 350 μl で頸静脈を介して、およびマウスについて、尾を傷つけることによって、1 週目、3 週目、7 週目および 11 週目に 1 回の採血あたり 50 μl で、凝固活性剤チューブに全血試料を採取した。最終採血の週の終わりに心穿刺を介して最大体積の全血を凝固活性剤チューブに採取した。全ての血液試料は室温で 30 分を超えて凝血させ、周囲温度(約 20 ~ 25)で、3,000 RPM で 10 ~ 15 分、遠心分離し、血清上清を清潔な凍結バイアルに個別に移した。血清上清は -80 (± 12) で凍結保存した。

40

【0130】

A 力価(マウス)

【0131】

2 μg / ml の A 1 ~ 28 モノマーを PBS 中 100 μl / ウェルでプレートにコーティングし、室温で一夜インキュベートした。プレートを PBS 中 1% BSA で 1 時間ブロッキングした。プレートを吸引し、A 行に 200 μl の PBS Tween 中 0.1% BSA を加えた。カラム 1 に陰性マウス血清を 100 倍希釈で加え、一方で行の残りは 100 倍希釈の試験血清を含んでいた。行をプレートの下で 1 : 2 段階希釈して 100 倍 ~ 12800 倍の希釈とした。ウェルを室温で 2 時間インキュベートし、次いで洗浄し、0.1% BSA 含有 PBS Tween 中、抗マウス IgG HRP の 5000 倍希釈を調

50

製し、次いで洗浄したウェルに $100\text{ }\mu\text{l}$ を加えた。これを 1 時間インキュベートして洗浄した。Thermo - Fisher OPD 錠剤を用い、 10 mL あたり 1 錠剤で OPD 基質を調製した。Thermo - Fisher 基質緩衝液を 10 倍希釈で加え、各ウェルに $100\text{ }\mu\text{l}$ を加え、15 分インキュベートした。 $50\text{ }\mu\text{l}$ の 2N H_2SO_4 を加えて反応を停止させ、Molecular Devices Spectromax により 490 nM でプレートを読み取った。力価は最大 OD の 50 % を与える希釈倍率として定義し、希釈倍率の間にに入る場合には外挿した。

【0132】

アルファ - シヌクレイン力価（マウス）

【0133】

$2\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ の組換えヒトアルファ - シヌクレインを PBS 中 $100\text{ }\mu\text{l}$ / ウェルでプレートにコーティングし、室温で一夜インキュベートした。プレートを PBS 中 1% BSA で 1 時間ブロッキングした。プレートを吸引し、A 行に $200\text{ }\mu\text{l}$ の PBS Tween 中 0.1% BSA を加えた。カラム 1 に陰性マウス血清を 100 倍希釈で加え、一方で行の残りは 100 倍希釈の試験血清を含んでいた。行をプレートの下で 1 : 2 段階希釈して 100 倍 ~ 12800 倍の希釈とした。ウェルを室温で 2 時間インキュベートし、次いで洗浄し、0.1% BSA 含有 PBS Tween 中、抗マウス IgG HRP の 5000 倍希釈を調製し、次いで洗浄したウェルに $100\text{ }\mu\text{l}$ を加えた。これを 1 時間インキュベートして洗浄した。Thermo - Fisher OPD 錠剤を用い、 10 mL あたり 1 錠剤で OPD 基質を調製した。Thermo - Fisher 基質緩衝液を 10 倍希釈で加え、各ウェルに $100\text{ }\mu\text{l}$ を加え、15 分インキュベートした。 $50\text{ }\mu\text{l}$ の 2N H_2SO_4 を加えて反応を停止させ、Molecular Devices Spectromax により 490 nM でプレートを読み取った。力価は最大 OD の 50 % を与える希釈倍率として定義し、希釈倍率の間にに入る場合には外挿した。

【0134】

A 力価（モルモット）

【0135】

$2\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ の A 1 ~ 28 モノマーを PBS 中 $100\text{ }\mu\text{l}$ / ウェルでプレートにコーティングし、室温で一夜インキュベートした。プレートを PBS 中 1% BSA で 1 時間ブロッキングした。プレートを吸引し、A 行に $200\text{ }\mu\text{l}$ の PBS Tween 中 0.1% BSA を加えた。カラム 1 に陰性モルモット血清を 100 倍希釈で加え、一方で行の残りは 100 倍希釈の試験血清を含んでいた。行をプレートの下で 1 : 2 段階希釈して 100 倍 ~ 12800 倍の希釈とした。ウェルを室温で 2 時間インキュベートし、次いで洗浄し、0.1% BSA 含有 PBS Tween 中、抗モルモット IgG HRP の 5000 倍希釈を調製し、洗浄したウェルに $100\text{ }\mu\text{l}$ を加えた。これを 1 時間インキュベートし、洗浄した。Thermo - Fisher OPD 錠剤を用い、 10 mL あたり 1 錠剤で OPD 基質を調製した。Thermo - Fisher 基質緩衝液を 10 倍希釈で加え、各ウェルに $100\text{ }\mu\text{l}$ を加え、15 分インキュベートした。 $50\text{ }\mu\text{l}$ の 2N H_2SO_4 を加えて反応を停止させ、Molecular Devices Spectromax により 490 nM でプレートを読み取った。力価は最大 OD の 50 % を与える希釈倍率として定義し、希釈倍率の間にに入る場合には外挿した。

【0136】

アルファ - シヌクレイン力価（モルモット）

【0137】

$2\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ の組換えヒトアルファ - シヌクレインを PBS 中 $100\text{ }\mu\text{l}$ / ウェルでプレートにコーティングし、室温で一夜インキュベートした。プレートを PBS 中 1% BSA で 1 時間ブロッキングした。プレートを吸引し、A 行に $200\text{ }\mu\text{l}$ の PBS Tween 中 0.1% BSA を加えた。カラム 1 に陰性モルモット血清を 100 倍希釈で加え、一方で行の残りは 100 倍希釈の試験血清を含んでいた。行をプレートの下で 1 : 2 段階希釈して 100 倍 ~ 12800 倍の希釈とした。ウェルを室温で 2 時間インキュベートし、

10

20

30

40

50

次いで洗浄し、0.1% BSA含有PBS Tween中、抗モルモットIgG HRPの5000倍希釈を調製し、次いで洗浄したウェルに100μlを加えた。これを1時間インキュベートし、洗浄した。Thermo-Fisher OPD錠剤を用い、10mLあたり1錠剤でOPD基質を調製した。Thermo-Fisher基質緩衝液を10倍希釈で加え、各ウェルに100μlを加え、15分インキュベートした。50μlの2N H₂SO₄を加えて反応を停止させ、Molecular Devices Spectromaxにより490nMでプレートを読み取った。力価は最大ODの50%を与える希釈倍率として定義し、希釈倍率の間にに入る場合には外挿する。

【0138】

上記のように免疫したモルモットにおいて観察された抗体力価を表1に示す。免疫は、Addavax中のQS21を用いて行った。報告された力価は、2回目の注射後の採血についてである。これらの結果を図1に表す。

【0139】

【表1-2】

表1. Aβおよびアルファ-シヌクレイン免疫原で免疫したモルモット(GP)における抗体力価

免疫原	GP1 Aβ 力価	GP2 Aβ 力価	GP3 Aβ 力価
DAEFRHDDRRPDNEAYEGGC (配列番号 110)	700	300	500
DAEFRHDDRRDPDNEAYEGGC (配列番号 111)	400	600	500
免疫原	GP1 アルファ-シヌクレイン力価	GP2 アルファ-シヌクレイン力価	GP3 アルファ-シヌクレイン力価
DAEFRHDDRRPDNEAYEGGC (配列番号 110)	100	300	300
DAEFRHDDRRDPDNEAYEGGC (配列番号 111)	400	300	350

【0140】

上記のように免疫したマウスにおいて観察された抗体力価を表2に示す。免疫は、QS21を用いて行った。報告された力価は、3回目の注射後の採血についてである。これらの結果を図2に表す。

【0141】

【表2】

表2. Aβおよびアルファ-シヌクレイン免疫原で免疫したマウスにおける抗体力価

免疫原	マウス1 Aβ 力価	マウス2 Aβ 力価	マウス3 Aβ 力価	マウス4 Aβ 力価
DAEFRHDDRRPDNEAYEGGC (配列番号 110)	3000	10000	-	-
DAEFRHDDRRDPDNEAYEGGC (配列番号 111)	2000	700	10000	2400
免疫原	マウス1 アルファ-シヌクレイン力価	マウス2 アルファ-シヌクレイン力価	マウス3 アルファ-シヌクレイン力価	マウス4 アルファ-シヌクレイン力価
DAEFRHDDRRPDNEAYEGGC (配列番号 110)	700	1000	-	-
DAEFRHDDRRDPDNEAYEGGC (配列番号 111)	12500	9000	6000	15000

10

20

30

40

50

【 0 1 4 2 】

(実施例 3)

本明細書で開示したワクチンで免疫した動物由来の血清によるアルツハイマー脳組織の染色

【 0 1 4 3 】

アジ化ナトリウムの存在下、グルコースオキシダーゼおよびベータD - グルコースの溶液に入れ、内因性ペルオキシダーゼをブロックする。組織切片が調製できれば、本明細書で開示したワクチンによって免疫した動物由来の特定した血清による染色を、2種の希釈（1：300および1：1500）で、動物種の適切な二次抗体およびDAKO DA B Detection Kitを用いて製造業者の指示に従って行う。染色は自動化されたLeica Bond Stainerを用いて処理する。結果は、本明細書で開示したワクチンで免疫した動物由来の血清が、アルツハイマー患者のヒト脳組織中のAベータおよび/またはアルファ - シヌクレインに特異的な抗体を含んでいるかを示している。

10

【 0 1 4 4 】

結論

【 0 1 4 5 】

二重免疫原A - アルファ - シヌクレインワクチン構築物を開発し、これらの構築物がマウス、モルモット、およびカニクイザルにおいてA およびアルファ - シヌクレインに対するバランスの取れた力価を生じることを示した。抗体はヒトAD脳切片中のA斑と神経原線維アルファ - シヌクレインの両方と免疫反応性であり、A またはアルファ - シヌクレインに対するT細胞の応答を誘発することなく、可溶性A凝集物（オリゴマー）のニューロンへの結合を遮断した。これらの結果は、病原性の形態のA およびアルファ - シヌクレインを標的とする能力を有する単一薬剤である、二重免疫原ワクチン（dual-immunogen vaccine）の開発を支持している。これらの結果は、ADの防止および/または処置のための病原性のA およびアルファ - シヌクレインを標的とする能力を有する二重A - アルファ - シヌクレインワクチンの開発を支持している。

20

【 0 1 4 6 】

本発明の種々の特定の実施形態を本明細書に記載したが、本発明はこれらの正確な実施形態に限定されず、当業者によって本発明の範囲および精神から逸脱することなく種々の変更または改変を本明細書に適用できることを理解されたい。

30

【 0 1 4 7 】

本明細書に記載したペプチドの実施形態のそれぞれにおいて、ペプチドは列挙された配列を含み、それからなり、または本質的にそれからなってよい。したがって、本明細書で開示したアミロイド - ベータ（A）ペプチドおよびアルファ - シヌクレインペプチドを含む組成物の一部であってよい以下の配列は、本開示に組み込まれる（表3参照）。

40

50

【表3 - 1】

表3. 配列

配列番号 01 - A β 1~42

DAEFRHDSGYEVHHQKVLFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA

配列番号 02 -

アルファ-シクロペプチド NACP140 [*Homo sapiens*]

NCBI 参照配列 : NP_000336.1

1 MDVFMKGLSK AKEGVVAAAE KTKQGVAAEA GKTKEGVLYV GSKTKEGVVH GVATVAEKT
 61 EQVTNVGGAV VTGVTAVAQK TVEGAGSIAA ATGFVKKDQL GKNEEGAPQE GILEDMPPVDP
 121 DNEAYEMPSE EGYQDYEPEA

10

A-ベータ免疫原 :

DAEFRHDSGY	(配列番号 03)	
DAEFRHDSG	(配列番号 04)	
DAEFRHDS	(配列番号 05)	
DAEFRHD	(配列番号 06)	
DAEFRH	(配列番号 07)	
DAEFR	(配列番号 08)	
DAEF	(配列番号 09)	
DAE	(配列番号 10)	
AEFRHDSGY	(配列番号 11)	
AEFRHDSG	(配列番号 12)	
AEFRHDS	(配列番号 13)	
AEFRHD	(配列番号 14)	20
AEFRH	(配列番号 15)	
AEFR	(配列番号 16)	
AEF	(配列番号 17)	
EFRHDSGY	(配列番号 18)	
EFRHDSG	(配列番号 19)	
EFRHDS	(配列番号 20)	
EFRHD	(配列番号 21)	
EFRH	(配列番号 22)	
EFR	(配列番号 23)	
FRHDSGY	(配列番号 24)	
FRHDSG	(配列番号 25)	
FRHDS	(配列番号 26)	30
FRHD	(配列番号 27)	
FRH	(配列番号 28)	
RHDSGY	(配列番号 29)	
RHDSG	(配列番号 30)	
RHDS	(配列番号 31)	
RHD	(配列番号 32)	
HDSGY	(配列番号 33)	
HDSG	(配列番号 34)	
HDS	(配列番号 35)	
DSGY	(配列番号 36)	
DSG	(配列番号 37)	
SGY	(配列番号 38)	40

50

【表 3 - 2】

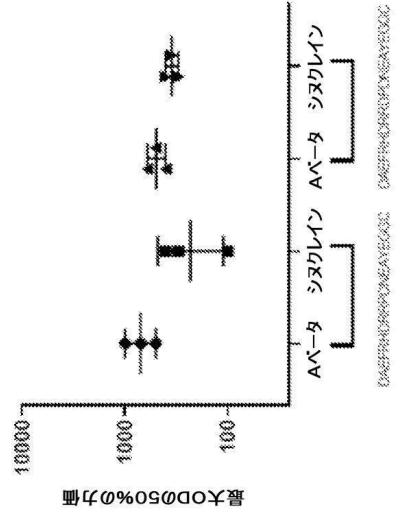
VHHQKLVFFA	(配列番号 121)	
VHHQKLVFF	(配列番号 122)	
VHHQKLVF	(配列番号 123)	
VHHQKLV	(配列番号 124)	
VHHQKL	(配列番号 125)	
HHQKLVFFAE	(配列番号 126)	
HHQKLVFFA	(配列番号 127)	
HHQKLVFF	(配列番号 128)	
HHQKLVF	(配列番号 129)	
HHQKLV	(配列番号 130)	
HHQKL	(配列番号 131)	
HQKLVFFAED	(配列番号 132)	10
HQKLVFFAE	(配列番号 133)	
HQKLVFFA	(配列番号 134)	
HQKLVFF	(配列番号 135)	
HQKLVF	(配列番号 136)	
HQKLV	(配列番号 137)	
HQKL	(配列番号 138)	
QKLVFFAEDV	(配列番号 139)	
QKLVFFAED	(配列番号 140)	
QKLVFFAE	(配列番号 141)	
QKLVFFA	(配列番号 142)	
QKLVFF	(配列番号 143)	
QKLVF	(配列番号 144)	
QKLV	(配列番号 145)	
QKL	(配列番号 146)	
KLVFFAEDVG	(配列番号 147)	
KLVFFAEDV	(配列番号 148)	
KLVFFAED	(配列番号 149)	
KLVFFAE	(配列番号 150)	
KLVFFA	(配列番号 151)	
KLVFF	(配列番号 152)	
KLVF	(配列番号 153)	
KLV	(配列番号 154)	
LVFFAEDVG	(配列番号 155)	
LVFFAEDV	(配列番号 156)	
LVFFAED	(配列番号 157)	30
LVFFAE	(配列番号 158)	
LVFFA	(配列番号 159)	
LVFF	(配列番号 160)	
LVF	(配列番号 161)	
VFFAEDVG	(配列番号 162)	
VFFAEDV	(配列番号 163)	
VFFAED	(配列番号 164)	
VFFAE	(配列番号 165)	
VFFA	(配列番号 166)	
VFF	(配列番号 167)	
FFAEDVG	(配列番号 168)	
FFAEDV	(配列番号 169)	
FFAED	(配列番号 170)	
FFAE	(配列番号 171)	40

【表3 - 3】

FFA	(配列番号 172)	
FAEDVG	(配列番号 173)	
FAEDV	(配列番号 174)	
FAED	(配列番号 175)	
FAE	(配列番号 176)	
 アルファー・シヌクレイン免疫原		
VDPDNEAYEM	(配列番号 39)	
VDPDNEAYE	(配列番号 40)	
VDPDNEAY	(配列番号 41)	10
VDPDNEA	(配列番号 42)	
VDPDNE	(配列番号 43)	
VDPDN	(配列番号 44)	
VDPD	(配列番号 45)	
VDP	(配列番号 46)	
DPDNEAYEM	(配列番号 47)	
DPDNEAYE	(配列番号 48)	
DPDNEAY	(配列番号 49)	
DPDNEA	(配列番号 50)	
DPDNE	(配列番号 51)	
DPDN	(配列番号 52)	
DPD	(配列番号 53)	
PDNEAYEM	(配列番号 54)	20
PDNEAYE	(配列番号 55)	
PDNEAY	(配列番号 56)	
PDNEA	(配列番号 57)	
PDNE	(配列番号 58)	
PDN	(配列番号 59)	
DNEAYEM	(配列番号 60)	
DNEAYE	(配列番号 61)	
DNEAY	(配列番号 62)	
DNEA	(配列番号 63)	
DNE	(配列番号 64)	
NEAYEM	(配列番号 65)	
NEAYE	(配列番号 66)	
NEAY	(配列番号 67)	30
NEA	(配列番号 68)	
EAYEM	(配列番号 69)	
EAYE	(配列番号 70)	
EAY	(配列番号 71)	
AYEM	(配列番号 72)	
AYE	(配列番号 73)	
YEM	(配列番号 74)	
ATGFVKKDQL	(配列番号 75)	
ATGFVKKDQ	(配列番号 76)	
ATGFVKKD	(配列番号 77)	
ATGFVKK	(配列番号 78)	
ATGFVK	(配列番号 79)	
ATGFV	(配列番号 80)	
ATGF	(配列番号 81)	40

【表3 - 4】

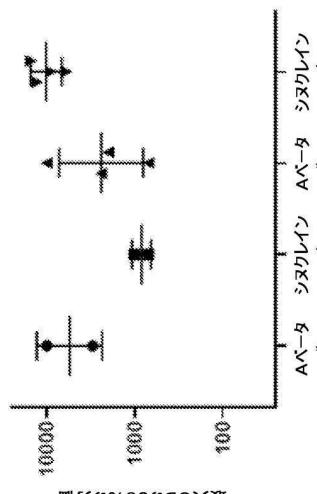
ATG	(配列番号 82)	
TGFVKKDQL	(配列番号 83)	
TGFVKKDQ	(配列番号 84)	
TGFVKKD	(配列番号 85)	
TGFVKK	(配列番号 86)	
TGFVK	(配列番号 87)	
TGFV	(配列番号 88)	
TGF	(配列番号 89)	
GFVKKDQL	(配列番号 90)	10
GFVKKDQ	(配列番号 91)	
GFVKKD	(配列番号 92)	
GFVKK	(配列番号 93)	
GFVK	(配列番号 94)	
GFV	(配列番号 95)	
FVKKDQL	(配列番号 96)	
FVKKDQ	(配列番号 97)	
FVKKD	(配列番号 98)	
FVKK	(配列番号 99)	
FVK	(配列番号 100)	
VKKDQL	(配列番号 101)	
VKKDQ	(配列番号 102)	
VKKD	(配列番号 103)	20
VKK	(配列番号 104)	
KKDQL	(配列番号 105)	
KKDQ	(配列番号 106)	
KKD	(配列番号 107)	
KDQL	(配列番号 108)	
KDQ	(配列番号 109)	
DAEFRHDRRPDNEAYEGGC	(配列番号 110)	
DAEFRHDRRDPDNEAYEGGC	(配列番号 111)	
DAEFRHDRRX ₁ PDNEAYEXXC	(配列番号 112)	30
、ここで、X ₁ は必要に応じて存在し、存在する場合、Dであり、XXおよびCは、独立して必要に応じて存在し、存在する場合、XXは、GG、AA、KK、SS、GAGA、AGAGまたはKGKGであり得る。		
Arg-Val-Arg-Arg	(RVRR ; 配列番号 113)	
Gly-Ala-Gly-Ala	(GAGA ; 配列番号 114)	
Ala-Gly-Ala-Gly	(AGAG ; 配列番号 115)	
Lys-Gly-Lys-Gly	(KGKG ; 配列番号 116)	
AEFRHDSGC	(配列番号 117)	
DAEFRHDC	(配列番号 118)	
CPDNEAYE	(配列番号 119)	
DPDNEAYC	(配列番号 120)	40



構築物は、マレイミドCRMにカッパリソグされたGGスパートナーおよびCysを有していた
アベータシヌクレイン構築物の力価
QS21アジュvantのみ

Fig.

4 注射後のAベータ1～28および全長の2つのAベータ/Syn構築物に対する力価



構築物は、マイミドCRMにかぎりながらされたGGサービスおよびCsysを有していた
Aベータ／シミュレーション構築物の力値
QS21アジュバントのみ

FIG. 2

10

20

30

40

【図3】
3回目の注射後のSyn aベータおよびCRM力価

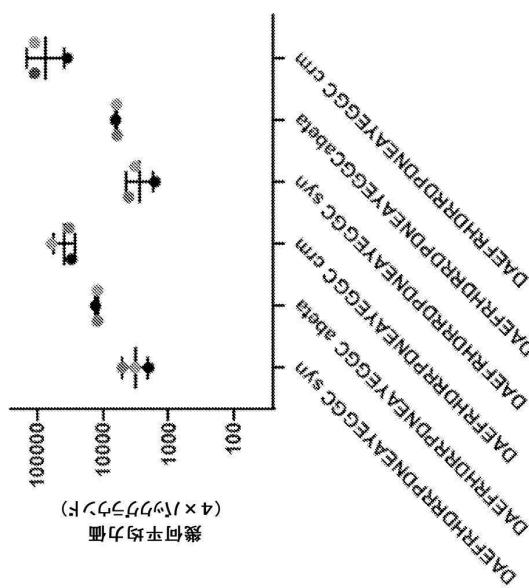


FIG. 3

【配列表】

2023541670000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2021/045058
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61P 25/00; A61P 25/28; C07K 14/01; C12N 1585 (2021.01) CPC - A61P 25/00; A61P 25/28; C07K 14/01 (2021.08)		
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) see Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched see Search History document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) see Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2019/0016774 A1 (THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE) 17 January 2019 (17.01.2019) entire document	1-5, 19, 21, 35-39
A	WO 2014/058924 A2 (NEOTOPE BIOSCIENCES LIMITED) 17 April 2014 (17.04.2014) entire document	1-5, 19, 21, 35-39
A	US 10,562,973 B2 (BARBOUR et al) 18 February 2020 (18.02.2020) entire document	1-5, 19, 21, 35-39
E, X	WO 2021/236809 A2 (OTHAIR PROTHENA LIMITED et al) 25 November 2021 (25.11.2021) entire document	1-5, 19, 21, 35-39
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 07 December 2021	Date of mailing of the international search report DEC 30 2021	
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Harry Kim Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2021/045058

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

- a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
- b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

SEQ ID NOs: 3-10, 39-46, 110, and 111 were searched.

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2021/045058

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.: 8-18, 22-34, 40-67 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 extra sheet(s)

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 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.:

1-5, 19, 21, 35-39

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/045058

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+: claims 1-5, 19-21, and 35-39 are drawn to immunotherapy peptides and compositions comprising the same.

The first invention of Group I+ is restricted to a polypeptide selected to be SEQ ID NO:110, and compositions comprising the same. It is believed that claims 1-5, 19, 21, and 35-39 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on SEQ ID NO:110.

Applicant is invited to elect additional polypeptides and their respective, corresponding, SEQ ID NOs to be searched in a specific combination by paying additional fee for each set of election. An exemplary election would be a polypeptide selected to be SEQ ID NO:111, and compositions comprising the same. Additional polypeptides and their respective, corresponding, SEQ ID NOs will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups I+ formulas do not share a significant structural element responsible for treating Alzheimer's Disease requiring the selection of alternative polypeptides where "A polypeptide comprising a first peptide comprising 3-10 amino acids from residues 1-10 or 12-25 of SEQ ID NO:01 linked to a second peptide comprising 3-10 amino acids from residues 81-140 of SEQ ID NO:02."

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features of a polypeptide comprising a first peptide comprising 3-10 amino acids; linked to a second peptide comprising 3-10 amino acids; an immunotherapy composition, comprising a first peptide sequence comprising 3-10 amino acid residues and a second peptide sequence comprising 3-8 amino acids. However, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, US 2019/0016774 A1 to The Scripps Research Institute discloses a polypeptide (polypeptides, Para. [0005]) comprising a first peptide comprising 3-10 amino acids; linked to a second peptide comprising 3-10 amino acids (polypeptides that contain a first randomized peptide fused at its C-terminus to a second peptide, Para. [0005]; peptide contains an amino acid sequence of XXXXXX (SEQ ID NO:1) ...the second peptide contains a sequence that is substantially identical to Ex4 (9-39) (SEQ ID NO:17), Para. [0010]; exendin-4 fragments can alternatively or additionally contain C-terminal truncations (e.g., truncations of up to 5, 10, 20 or more C-terminal residues), Para. [0058]); an immunotherapy composition (a pharmaceutical composition, Para. [0013]; immunogenic properties of the peptide, Para. [0107]), comprising a first peptide sequence comprising 3-10 amino acid residues and a second peptide sequence comprising 3-8 amino acids (polypeptides that contain a first randomized peptide fused at its C-terminus to a second peptide, Para. [0005]; peptide contains an amino acid sequence of XXXXXX (SEQ ID NO:1) ...the second peptide contains a sequence that is substantially identical to Ex4 (9-39) (SEQ ID NO:17), Para. [0010]; exendin-4 fragments can alternatively or additionally contain C-terminal truncations (e.g., truncations of up to 5, 10, 20 or more C-terminal residues), Para. [0058]).

The inventions listed in Groups I+ therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical features.

10

20

30

40

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	47/65 (2017.01)	A 6 1 K	47/65
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68
A 6 1 K	47/69 (2017.01)	A 6 1 K	47/69
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/04

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,
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K
E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LUL,Y,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N
G,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,TH,TJ,TM,
TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁護士 山本 健策

(72)発明者 バーバー , ロビン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94598 , ウォルナット クリーク , ノルマンディー レーン
250

(72)発明者 キニー , ジーン
アメリカ合衆国 フロリダ 33432 , ボカラトン , エス . オーシャン ブールバード 28
00 , ユニット 14エル / エム

(72)発明者 ザーゴ , ワーグナー
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94070 , サンカルロス , クレストビュー ドライブ 1291
F ターム(参考) 4C076 AA95 CC01 CC41 EE41 EE59
4C085 AA03 BB11 CC21 EE01 EE06 FF01 FF02 FF03 FF14 FF17
FF18 FF20
4H045 AA11 AA30 BA42 CA40 DA86 EA22