(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2012-511014
(P2012-511014A)
(43)公表日　平成24年5月17日(2012.5.17)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 39/395	***(2006.01)***	A61K	39/395	D	4C085
A61P 25/28	***(2006.01)***	A61K	39/395	N	
A61P 25/16	***(2006.01)***	A61P	25/28		
A61P 25/02	***(2006.01)***	A61P	25/16		
A61P 25/00	***(2006.01)***	A61P	25/02		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 23 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2011-539720 (P2011-539720)
(86)(22)出願日　平成21年12月4日 (2009.12.4)
(85)翻訳文提出日　平成23年8月5日 (2011.8.5)
(86)国際出願番号　PCT/US2009/066715
(87)国際公開番号　WO2010/065819
(87)国際公開日　平成22年6月10日 (2010.6.10)
(31)優先権主張番号　61/120,121
(32)優先日　平成20年12月5日 (2008.12.5)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　511137264
エイエルエス・セラピー・デベロップメント・インスティテュート
ＡＬＳ　Ｔｈｅｒａｐｙ　Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ
アメリカ合衆国０２１４２マサチューセッツ州ケンブリッジ、ファースト・ストリート２１５番
(74)代理人　100062144
弁理士　青山　葆
(74)代理人　100101454
弁理士　山田　卓二
(74)代理人　100106518
弁理士　松谷　道子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】神経変成疾患を治療する方法

(57)【要約】
筋萎縮性側索硬化症、アルツハイマー病、パーキンソン病、重症筋無力症、多巣性運動ニューロパチー、原発性側索硬化症、脊髄性筋萎縮症、ケネディ病や脊髄小脳失調症などの神経変性疾患を治療するための方法を開示している。

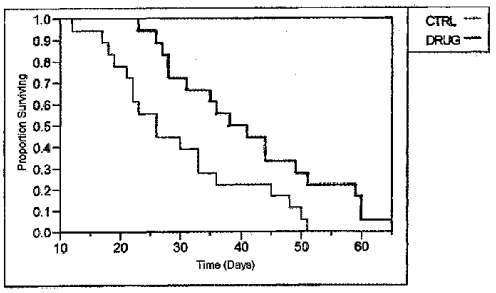


FIG. 5

【特許請求の範囲】
【請求項１】
神経変性障害または神経筋障害を有する患者を治療する方法であって、前記患者へ治療上有効量のＣＤ４０およびＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断する化合物を投与することを含む、方法。
【請求項２】
化合物が抗ＣＤ４０Ｌ抗体もしくは抗ＣＤ４０抗体もしくは小分子である、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
障害がアルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、重症筋無力症、多巣性運動ニューロパチー、原発性側索硬化症、脊髄性筋萎縮症、ケネディ病、または脊髄小脳失調症である、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
化合物が抗ＣＤ４０Ｌ抗体もしくは抗ＣＤ４０抗体または小分子である、請求項３に記載の方法。
【請求項５】
化合物が抗ＣＤ４０Ｌ抗体である、請求項４に記載の方法。
【請求項６】
化合物が小分子である、請求項４に記載の方法。
【請求項７】
抗ＣＤ４０Ｌ抗体が、ＭＲ１、５ｃ８、ＩＤＥＣ、１３１／Ｅ６０４０、クローン２４－３１、ＡＢＩ７９３、ＩｍｘＭ９０、ＩｍｘＭ９１、ＩｍｘＭ９２またはＳｇｎ－４０である、請求項５に記載の方法。
【請求項８】
抗ＣＤ４０Ｌ抗体がＭＲ１である、請求項５に記載の方法。
【請求項９】
抗ＣＤ４０Ｌ抗体が５ｃ８である、請求項５に記載の方法。
【請求項１０】
障害が筋萎縮性側索硬化症である、請求項５に記載の方法。
【請求項１１】
化合物が抗ＣＤ４０Ｌ抗体である、請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】
ＣＤ４０Ｌ抗体が、ＭＲ１、５ｃ８、ＩＤＥＣ、１３１／Ｅ６０４０、クローン２４－３１、ＡＢＩ７９３、ＩｍｘＭ９０、ＩｍｘＭ９１、ＩｍｘＭ９２またはＳｇｎ－４０である、請求項１０に記載の方法。
【請求項１３】
抗ＣＤ４０Ｌ抗体がＭＲ１である、請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
抗ＣＤ４０Ｌ抗体が５ｃ８である、請求項１２に記載の方法。
【請求項１５】
神経変性障害または神経筋障害を有する患者を治療する方法であって、前記患者へ治療上有効量のＣＤ４０およびＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断する化合物を、ＣＤ２８およびＣＤ６８の間またはＣＤ２８およびＣＤ８０の間の相互作用を遮断する化合物と組み合わせて投与することを含む、方法。
【請求項１６】
ＣＤ４０およびＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断する化合物が、抗ＣＤ４０Ｌ抗体もしくは抗ＣＤ４０抗体もしくは小分子である、請求項１５に記載の方法。
【請求項１７】
障害がアルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、重症筋無力症、多巣性運動ニューロパチー、原発性側索硬化症、脊髄性筋萎縮症、ケネディ病または脊髄小脳

失調症である、請求項１６に記載の方法。
【請求項１８】
ＣＤ４０およびＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断する化合物が、抗ＣＤ４０Ｌ抗体または抗ＣＤ４０抗体である、請求項１７に記載の方法。
【請求項１９】
ＣＤ４０およびＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断する化合物が、ＭＲ１または５ｃ８である、請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
障害が筋萎縮性側索硬化症である、請求項１９に記載の方法。
【請求項２１】
ＣＤ２８およびＣＤ８６の間またはＣＤ２８およびＣＤ８０の間の相互作用を遮断する化合物が、ＣＴＬＡ４－Ｉｇ融合タンパク質である、請求項１８に記載の方法。
【請求項２２】
ＣＤ２８およびＣＤ８６の間またはＣＤ２８およびＣＤ８０の間の相互作用を遮断する化合物が、アバタセプト、ベラタセプトまたはグリキシマブである、請求項１８に記載の方法。
【請求項２３】
ＣＤ４０およびＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断する化合物が、ＭＲ１もしくは５ｃ８である、請求項２２に記載の方法。
【請求項２４】
ＣＤ２８およびＣＤ８６の間またはＣＤ２８およびＣＤ８０の間の相互作用を遮断する化合物が、アバタセプトまたはベラタセプトである、請求項２３に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連する出願と相互参照
本出願は、２００８年１２月５日に提出した米国仮特許出願番号６１／１２０，１２１に対する優先権を主張する。米国仮特許出願整理番号６１／１２０，１２１の全内容は、参照することで本明細書に組み入れられる。
【０００２】
本発明は、筋萎縮性側索硬化症、アルツハイマー病、パーキンソン病、重症筋無力症、多巣性運動ニューロパチー、原発性側索硬化症、脊髄性筋萎縮症、ケネディ病、脊髄小脳失調などの神経変性疾患の治療に関する。
【背景技術】
【０００３】
時にルー・ゲーリック病と呼ばれる場合のある筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）は、脊柱と脳内の運動ニューロンの変性から生じる筋線維萎縮症に特徴づけられる進行性、致死的、神経的障害である。ＡＬＳは、約３０，０００人の米国市民に影響を及ぼしているが、そのうちわずか１０％のみが家族性型ＡＬＳとして分類されている。代謝酵素スーパーオキシドジスムターゼ１（ＳＯＤ１）に変異を持つ家族性型患者の一部において、病理学的進行は、酵素（ＳＯＤ１依存）変異体型に関連する未知の機能獲得に起因するかもしれない。（Ｒｏｓｅｎ，１９９３）しかしながら、大部分のＡＬＳ症例ではＳＯＤ１遺伝子は変異を含んでおらず、ＳＯＤ１酵素の活性は正常であり、疾患病状の機序は分かっていない（ＳＯＤ１非依存）。したがって、ＡＬＳ症例の残り９０％の場合は、特徴的な遺伝子成分または病原体をもたない孤発例として分類されている。
【０００４】
この疾病の孤発的に起こる型の原因は知られていないので、研究者は、該疾病の研究室モデルを作るために、遺伝子導入戦略に取りかかった。ＳＯＤ１遺伝子の役割を同定することによって、ＡＬＳのげっ歯類モデルの世代産出をすることができた。ヒトＳＯＤ１^{G93A}導入遺伝子（「Ｇ９３Ａマウス」）の２３コピーを受け継ぐトランスジェニックマ

ウス株は、もっとも広く使われているＡＬＳのマウスモデルであり、ＡＬＳ治療試験についての標準モデルとして一般的に認められている。（「Ｇ９３Ａマウス」）（ＴｕＰＨ ｅｔ．ａｌ．（１９９６）Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ９３：３１５５－３１６０ ａｎｄ Ｇｕｒｎｅｙ ＭＥ（１９９７）Ｊ Ｎｅｕｒｏ Ｓｃｉ １５２ Ｓｕｐｐｌ １：Ｓ６７－Ｓ７３を参照）

【０００５】

ＡＬＳは、脊髄の運動ニューロンが損失して筋萎縮が生じることで特徴づけられているが、この疾病はまたそれ自体が、軸索輸送、タンパク質凝集、興奮毒性、アストロサイト増加、ミトコンドリア機能不全、ミクログリアの活性化、およびシナプスの再構築において顕著な変化を現す。ミクログリアの活性化、アストロサイト増加および末梢からの炎症細胞の浸潤の存在は十分記述されてきた。ＡＬＳ患者の脊髄内にＩｇＧ免疫反応性沈着物の蓄積、ＡＬＳ患者の脊髄へリンパ球、樹状細胞、単球、およびマクロファージの浸潤がみられる。免疫細胞が浸潤する役割は十分に理解されていないが、最近の研究によって、Ｔ細胞集団の浸潤は、神経保護作用ではなく細胞傷害性であることが示唆されている。ＡＬＳは、ミクログリアとアストロサイトの活性化で仲介された免疫成分を有するが、自己免疫障害とは考えられていない。特異的な免疫調節経路の関与（例えば、共刺激経路）が記述されてきた関節リウマチまたは全身性エリテマトーデスなどの疾患とは異なり、かかる経路の関与は、ＡＬＳについては記述されていなかった。

【０００６】

現在、医師達はＡＬＳを治療する手立てを殆どもっていない。現時点で、リルゾールが、ＡＬＳを治療するために食品医薬品局（ＦＤＡ）から認められた唯一の薬剤である。臨床治験において、リルゾールは、生存期間が中程度に増加するごくわずかな利点のみを示したに過ぎない。したがって、ＡＬＳを効率的に治療する切実な必要性がある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００７】

神経変性または神経筋の障害を持つ患者をＣＤ４０とＣＤ４０Ｌとの相互作用を遮断する化合物を治療有効量投与することによって治療する方法は、本開示に従う。さらに、神経変性または神経筋の障害を持つ患者をＣＤ４０Ｌ抗体、抗－ＣＤ４０抗体、または小分子を投与することによって治療する方法も、本開示に従う。

【０００８】

本開示に従って治療できる障害は、以下に限定されるものではないが、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、筋萎縮性外側硬化症、重症筋無力症、多巣性運動ニューロパチー、原発性側索硬化症、ケネディ病、脊髄小脳失調を含む。

【課題を解決するための手段】

【０００９】

本開示のいくつかの方法において、神経変性または神経筋の障害を持つ患者は、ＣＤ４０とＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断する化合物を、ＣＤ２８とＣＤ８６との相互作用またはＣＤ２８とＣＤ８０との相互作用を遮断する化合物と組み合わせて治療される。

【図面の簡単な説明】

【００１０】

【図１Ａ】－

【図１Ｐ】Ｇ９３Ａマウスモデルの脊髄と腓腹筋内の共刺激経路の誘導に伴う遺伝子のＲＮＡ発現パターンの時間的変化を示すグラフである。

【図２】６０日目と１１０日目における非遺伝子導入マウスのＧ９３Ａマウスからの腓腹筋内の細胞浸潤のマクロファージの解析結果を示すグラフである。

【図３Ａ】線形濃度（Ｙ）軸についてのＭＲ１濃度の時間的変化を示すグラフである。

【図３Ｂ】対数濃度（Ｙ）軸についてのＭＲ１濃度の時間変化を示すグラフである。

【図４】対照群と治療群について、４０日目から計ってピーク体重に達するまでの毎日の平均体重を示すグラフである。

【図５】対照群と治療群について、ピーク体重から死亡までの毎日の平均体重を示すグラフである。
【図６】観察開始から計って神経学的スコア２に進行するまでの時間に基づく、疾患発症までの時間を示すグラフである。
【図７】各群が神経学的スコア０～４であった平均年齢（Ｘ軸）、および各群が所定のスコア（Ｙ軸）にて安定であった日数を表すグラフである。
【図８】Cox比例ハザードモデルを使って計算した対照群と治療群についてのカプラン・メイヤー生存プロットを示すグラフである。
【図９－１】図９Ａは、対照群とＭＲ１治療群について、４０日目から開始してピーク体重になるまでの、毎日の平均体重測定値のグラフである。　図９Ｂは、対照群とＭＲ１治療群について、ピーク体重から死亡に至るまでの毎日の平均体重測定値を描写するグラフである。
【図９－２】図９Ｃは、対照群とＭＲ１治療群について、神経学的スコア２に進行するまでの時間に基づく疾患発症までの時間を示すグラフである。　図９Ｄは、対照群とＭＲ１治療群について、ピーク体重から死亡に至るまでの毎日の平均体重測定値を示すグラフである。
【発明を実施するための形態】
【００１１】
Ｉ．序章
本開示は、ＣＤ４０およびＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断する化合物を治療有効量投与することによって神経変性または神経筋の障害を持つ患者を治療する方法を記述する。本開示は、ＣＤ４０およびＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断する化合物を、ＣＤ２８とＣＤ８６との相互作用またはＣＤ２８とＣＤ８０との相互作用を遮断する化合物と共に、患者に共投与（co-administering）することによって治療する方法を記述する。
【００１２】
ＩＩ．略号と定義
以下の略語がここで使われる：筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）；スーパーオキシドジスムターゼ１（ＳＯＤ１）、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）、主要組織適合抗原（ＭＨＣ）、抗原表示細胞（ＡＰＣ）、リン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）、相補性決定領域（ＣＤＲ）。「ＩＰ」は腹腔内を意味し、「ＩＶ」は静脈内を意味する。
【００１３】
ＭＲ１は、マウスＣＤ４０リガンドと結合するハムスターモノクローナル抗体である。ここで使われる「野生型」とは、非遺伝子組換えのマウスを意味する。ここで使われている、「小分子」とは、２０００ダルトン以下の分子量を有する化合物を意味する。ここで使われている「治療」または「処置」とは、予防的治療と治療処置を含む。「治療有効量」とは、特定の患者または対象集団において単独投与または他の医薬品または治療と併用投与して治療される障害または疾患が、十分に抑制または改善がみられる化合物またはその薬物学的に許容し得る塩の量を意味する。「ＡＬＳ－ＴＤＩ」とは、ＡＬＳ治療開発研究所についての略語である。「ｈＳＯＤ１Ｇ９３Ａ臨床前マウスモデル」、「ｈＳＯＤ１Ｇ９３Ａマウスモデル」、「Ｇ９３Ａ臨床前マウスモデル」、および「Ｇ９３Ａマウスモデル」は、いずれも本明細書において使用される場合には同じ意味である。「ｈＳＯＤ１Ｇ９３Ａマウス」および「Ｇ９３Ａマウス」は、本明細書において使用される場合には同じ意味である。
【００１４】
ＩＩＩ．化合物の生体内評価
本開示の方法で使われる化合物を、Ｇ９３Ａマウスモデルを用いてその有効性を評価することができる（Ｔｕ ＰＨ ｅｔａｌ．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ １９９６；９３：３１５５－６０ ａｎｄ Ｇｕｒｎｅｙ ＭＥ．ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｎｅｕｒｏｌ Ｓｃｉ １９９７；１５２（Ｓｕｐｐｌ１）：Ｓ６７－７３を参照）。このモデルは、グリシンからアラニンへの変異を位置９３に含むヒトＳＯＤ１遺伝子の２３コピーをマウ

スゲノムに挿入することによって作成された。これらのマウスは、このモデルを疾病の改変的介入をテストするための選択肢で現在利用出来る最良のものであり、ヒト孤発性型と家族性型の疾病の病理学的に最も主要な点を正確に要約している。

【００１５】

Ｇ９３Ａマウスの出生時における識別可能な奇形の表現型発現はない。疾病の可視的徴候は９０日目の年齢まで発現しない。その年齢になると、後肢機能の進行性損失を経験し、１３４日目の年齢に完全に麻痺し、死に至る。筋肉疲労は、運動ニューロンの死または機能障害によって引き起こされるが、これらの細胞死は、ミクログリアとアストロサイトを含む周囲の細胞との相互作用と関連しており、かかる相互作用により部分的に引き起こされる。明白なアストロサイト増加は約８０日目の齢に初め現れ、一方、主にミクログリアよって媒介される神経の炎症は、約１００日目の年齢に現れ、死に至るまで拡大する。

【００１６】

ヒトの疾患は運動領のどの場所にも起こりうるが、マウスの疾患は頚部と腰部に確実に最初の影響を及ぼす。Ｇ９３Ａマウスにおいて、約８５日目の最初の可視的兆候が発症した時点までに、運動ニューロンの数は有意に減退し、死亡時に損失は５０％以上に達する。疾病が継続している間のニューロン内で、細胞骨格、神経フィラメント、軸索輸送、ゴルジ、小胞体、ミトコンドリア、アポトーシス機構、プロテアソーム、および細胞質タンパク質の搬送の異常が観察されている。ヒト疾患は運動領のどの場所にも起こりうるが、マウス疾患は最初に腰部と仙骨部に確実に影響を及ぼす。Ｇ９３Ａマウスにおいて、約８５日目の最初の可視的兆候が発症した時点までに、運動ニューロン数は有意に減退し、死亡時に損失は５０％以上に達する。疾病が継続している間のニューロン内で、細胞骨格、神経フィラメント、軸索輸送、ゴルジ、小胞体、ミトコンドリア、アポトーシス機構、プロテアソーム、および細胞質タンパク質の搬送の異常が観察されている。

【００１７】

今までに、このマウスの寿命を引き延ばす治療薬を記述する少なくとも５０もの出版物があった。しかしながら、リルゾールを除くどのような治療薬も相当する臨床的有効性を示さなかった。ＡＬＳ治療開発研究所が、ノイズ変数の変化を制御するＧ９３Ａマウスモデルにおける最適化した治療薬スクリーニングについて記述している（Ｓｃｏｔｔ Ｓら，Ａｍｙｏｔｒｏｐｈｉｃ Ｌａｔｅｒａｌ Ｓｃｌｅｒｏｓｉｓ ２００８；９：４－１５、これを参照により取り込む）。Ｓｃｏｔｔらは、固有の交絡生物学的変数によって引き起こされるノイズに対処・対応するＧ９３Ａマウスモデルに対する最小研究デザインについて記述している。研究デザインを検証するために、前臨床モデルにおいて以前に効果的であると報告された後にヒトの臨床治験においては効果がなかった９つの化合物について大部分異なる用量で評価した。これらの分子のいくつかは、腫瘍壊死因子シグナル（ＴＮＦ）およびミクログリアの活性を抑制する抗炎症性分子であって、Ｃｅｌｅｂｒｅｘ（登録商標）、ミノサイクリン、サリドマイド、およびクレアチンが挙げられる。Ｃｅｌｅｂｒｅｘ（登録商標）は、Ｇ９３Ａモデルにおいて寿命を１９％（２４日間）改善することが報告されたが、精細な研究によると生存率に関するいずれの変化も検出できなかった（１．８日間、０．５２％）（Ｓｃｏｔｔら）。同様の結果が、ミノサイクリン（前回のレポート１５．８％改善；精細な研究、－０．６０％）、クレアチン（前回のレポート１７．８％；精細な研究０．６７％）、およびサリドマイド（前回のレポート生存率１６％改善；精細な研究１．９％）に対して得られた。

【００１８】

ＩＶ．候補化合物の同定

実施例１に詳細に記述するように、病状進行中の様々な時点における野生型マウスとＧ９３Ａマウスについてゲノム全域にわたる発現プロファイル解析を遂行した。２つの群間で異なった形で発現したと同定された遺伝子を解析し、また得られたデータを用いて、スクリーンされる薬剤を選択する事に焦点をあてた。異なった形で発現した遺伝子は、ＣＤ８６、ＣＤ４４、ＩＣＡＭ、ＩＴＧＡＭ、ＩＴＧＡＩＴＧＡＸ、ＩＴＧＢ２、Ｈ２－Ｋ１（ＭＨＣＩＩ）、Ｈ２ＡＢ１（ＭＨＣＩＩ）、Ｈ２－Ｄ１（ＭＨＣＩＩ）、およびＨ２－

Ｅｂ１（ＭＨＣＩＩ）などの免疫応答および細胞接着に関与する遺伝子を含む。これらのデータは、病状進行中に炎症性サインが増加し、共刺激経路の関与と一致していることを示す。共刺激経路は、ＣＤ２８／ＣＤ８０、ＣＤ２８／ＣＤ８６、もしくはＣＤ４０／ＣＤ４０Ｌの相互作用を経由した細胞型間での相互作用に関わり、そのうちのいくつかを遺伝子発現解析中に同定した。

【００１９】

共刺激経路は、その他の相互作用とともに、Ｂ細胞上のＣＤ４０をＴ細胞上のＣＤ４０Ｌ（ＣＤ１５４、ｇｐ３９、Ｔ－ＢＡＭ、５ｃ８抗原、ＣＤ４０ＣＲおよびＴＲＡＰとしても知られる）に結合することに関わる。ヒトＣＤ４０は、成熟Ｂ細胞上で発現し、同様にマクロファージ、樹状細胞、線維芽細胞、および活性化した血管内皮細胞上でも発現する。ＣＤ４０：ＣＤ４０Ｌ結合を遮断することは、Ｉ型ヘルパーＴ細胞の応答発生を促進すると考えられている。

【００２０】

これらの相互作用を遮断し、かつ共刺激シグナルを抑制する化合物を使用すると、移植と自己免疫の前臨床モデルにおいて、重要な一連の働きから、１以上のＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８０、もしくはＣＤ８６を遮断する免疫調節効果が実証された。阻止抗体またはアデノウイルスのＣＤ４０Ｌ－Ｉｇ発現によりＣＤ４０Ｌ機能を遮断することにより、同種移植が３０から９０日間改善された。ＣＴＬＡ４－ＩｇまたはＣＴＬＡ４－Ｉｇのアデノウイルス発現でもってＡＰＣ上のＣＤ８０／ＣＤ８６を遮断する同様の研究により、同種移植の生存率が一時的に改善される。これらのモデルにおける移植片拒絶反応は一時的であり、また移植片拒絶反応は後に続く。移植片拒絶反応の長期間抑制は、ＣＴＬＡ４－Ｉｇで共刺激経路を遮断することと、抗－ＣＤ４０Ｌ抗体でＡＰＣのＣＤ４０Ｌ活性化を遮断することの両方により達成することができる。

【００２１】

マウスにおいてＣＤ４０Ｌへの抗体を遮断することあるいはＣＤ４０Ｌを遺伝的欠失させることによって、ＣＤ４０Ｌが、実験的アレルギー性脳脊髄炎（ＥＡＥ）、多発性硬化症のモデル、コラーゲン誘発関節炎、および全身性エリテマトーデスの前臨床モデルにおいて、病状の進行、生存率、および疾病の代用マーカーを改善することを実証した。ＣＤ４０：ＣＤ４０Ｌ結合を遮断すると、マクロファージが、多くのマクロファージの炎症促進活性を媒介する、一酸化窒素を産生する能力を減少させるようである。

【００２２】

そのような研究から、ＣＤ４０：ＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断する、および／またはＣＤ２８：ＣＤ８０もしくはＣＤ２８：ＣＤ８６の相互作用を遮断すると、免疫応答を調節することができると思われる。

【００２３】

免疫組織化学的データ（実施例２）は、遺伝子発現データと十分に相関することが示され、またこれらのデータは、マクロファージをＧ９３Ａマウスにおいて疾病進行中に骨格筋に浸潤する抗原提示細胞として同定する。

【００２４】

遺伝的発現データによって共刺激分子の経路の関与が示されたので、ＭＲＩの有効性をＧ９３Ａモデルにおいて評価した。ＭＲ１はＣＤ４０Ｌと結合し、それによって免疫応答に関与する共刺激経路に参画するＣＤ４０の相互作用を遮断する。ＭＲ１は、共に強い免疫学的成分を持つ関節リウマチと移植片対宿主病の治療に対して効果的であることが文献に報告されている。関節リウマチは自己免疫疾患であり、移植片対宿主病は、宿主体が移植片組織に対して活発な免疫応答を示す時に起こる。

【００２５】

ＡＬＳは、ミクログリアとアストロサイトの活性化によって媒介される免疫成分を持つが、自己免疫障害とは見なされていない。いくつかの抗炎症薬は、ＴＮＦα－阻害剤、Ｃｅｌｅｂｒｅｘ（登録商標）、ミノサイクリン、およびサリドマイドを含む前臨床または臨床試験において効力を示さなかった。従って、Ｇ９３Ａ ＡＬＳモデルにおいて、ＭＲ

１が効力を示したことは予想外であった。

【００２６】

本開示による方法には、神経変性および／または神経筋の障害をもつ患者に、ＣＤ４０ＬとＣＤ４０との相互作用を遮断する化合物、および／またはＣＤ２８とＣＤ８０との相互作用を遮断する化合物、および／またはＣＤ２８とＣＤ８６との相互作用を遮断する化合物を投与することによって該患者を治療する方法が含まれる。１つの実施形態は、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、重症筋無力症、多巣性運動ニューロパチー、原発性側索硬化症、脊髄性筋萎縮症、ケネディ病、脊髄小脳失調を患う患者にＣＤ４０ＬとＣＤ４０との相互作用を遮断する化合物を投与することによって患者を治療する方法である。別の実施形態では、患者を治療する方法は、抗－ＣＤ４０Ｌ抗体を投与することによる。

【００２７】

本発明の方法に有用な治療上の化合物は、ＣＤ４０ＬとＣＤ４０との相互作用を遮断するどのような化合物をも含む。例えば、多くの動物試験は、ＣＤ４０：ＣＤ４０Ｌ結合を中断しうる薬剤を記述している（例えば米国特許第２００５１５８３１４号と米国特許ＵＳ７１７３０４６号を参照、これらを参照により取り込む）。また、例えば、多数の抗－ＣＤ４０Ｌ抗体が産生され特徴づけられてきた。（例えば、米国特許第５，８７６，９５０号(Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ社)を参照、これを参照により取り込む）。本開示の方法において有用な抗－ＣＤ４０Ｌ抗体は、以下に制限されるものでないが、ＭＲ１ Ｔａｃｏｎｉｃ（Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＹ）とＢＤバイオサイエンス（Ｓａｎ Ｊｏｓｅ，ＣＡ）から入手可能なハムスターモノクローナル抗体；５ｃ８、米国特許第５，４７４，７７１号（参照により取り込む）に技術されたヒト化抗体；ハムスター・ヒト・キメラ抗体、ＩＤＥＣ １３１／Ｅ６０４０は、マウスのモノクローナル抗体クローン２４－３１のＣＤＲを持つ、ヒトγ－１重鎖とヒトκ－軽鎖を含むヒト化モノクローナル抗体、Ａｎｃｅｌｌから商業的に入手可能（ｃａｔａｌｏｇ Ｘ３５３－０２０，Ｂａｙｐｏｒｔ，Ｍｉｎｎ．）；ＡＢＩ７９３；Ｓｇｎ－４０；ＩｍｘＭ９０（Ｉｍｍｕｎｅｘ）；ＩｍｘＭ９１（Ｉｍｍｕｎｅｘ）；ＩｍｘＭ９２（Ｉｍｍｕｎｅｘ）；および抗－ＣＤ４０ＬｍＡｂ、ジェンザイム社から商業的に入手可能（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，Ｍａｓｓ．，ｃａｔａｌｏｇＮｏ．８０－３７０３－０１）、を含む。さらに、抗－ＣＤ４０ＬｍＡｂは、ＰｈａｒＭｉｎｇｅｎ（ＳａｎＤｉｅｇｏ，Ｃａｔａｌｏｇ＃３３５８０Ｄ）から商業的に入手可能である。本開示による実施形態は、神経変性もしくは神経筋の障害を持つ患者を治療する方法であり、抗－ＣＤ４０Ｌ抗体の治療上有効な量を投与することを含む。１つの実施形態は、神経変性もしくは神経筋の障害を持つ患者を治療する方法であり、ＭＲ１、５ｃ８、ＩＤＥＣ１３１／Ｅ６０４０、クローン２４－３１、ＡＢＩ７９３、ＩｍｘＭ９０、ＩｍｘＭ９１、ＩｍｘＭ９２、もしくはＳｇｎ－４０から選択された治療上有効量の抗－ＣＤ４０Ｌ抗体を投与することを含む。１つの実施形態において、抗体が５ｃ８であり、もう１つの実施形態では、抗体がＭＲ１である。

【００２８】

いくつかの実施形態では、神経変性もしくは神経筋の障害は、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、重症筋無力症、多巣性運動ニューロパチー、原発性側索硬化症、脊髄性筋萎縮症、脊髄小脳失調である。１つの実施形態は、筋萎縮性外側硬化症患者を治療する方法であって、治療上有効量の抗－ＣＤ４０Ｌ抗体を投与することを含む。１つの実施形態では、抗－ＣＤ４０Ｌ抗体がＭＲ１であり、もう１つの実施形態は、抗－ＣＤ４０Ｌ抗体が５ｃ８である。

【００２９】

別の実施形態では、治療方法は、抗－ＣＤ４０抗体を治療上有効量投与することを含む。いくつかの実施形態では、抗－ＣＤ４０Ｌ化合物は、Ｆａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ'）$_2$、Ｆ（ａｂ’）、単鎖抗体、ポリペプチド、ポリペプチドの融合構造体とそれに類するものである。いくつかの実施形態では、化合物とは、ＣＤ４０：ＣＤ４０Ｌ相互作用を遮断する能力のある小分子化合物である。その他の実施形態では、これらの化合物は、Ｃ

Ｄ４０：ＣＤ４０Ｌ相互作用を遮断する能力を持つ、ＢＩＯ３４１７または、米国特許第７，１７３，０４６号に開示されているすべての化合物を含む。

【００３０】

ＣＤ４０：ＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断する化合物を、他の化合物を組み合わせて投与しても良い。従って、別の実施形態は、神経変性もしくは神経筋の障害を持つ患者を治療する方法であって、ＣＤ４０：ＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断する化合物をＣＤ８０：ＣＤ２８の相互作用を遮断する化合物と組み合わせて投与することを含む方法である。別の実施形態は、ＣＤ４０ＬとＣＤ４０との相互作用を遮断する化合物を、ＣＤ８６とＣＤ２８との相互作用を遮断する化合物と組み合わせて投与することによって患者を治療する方法である。１つの実施形態では、ＣＤ８０とＣＤ２８との相互作用を遮断する化合物は、ガリキシマブ（galiximab）、Ｈ１ｆ１＆ｈ３ｄ１、１６Ｃ１０、または７Ｃ１０である。１つの実施形態では、ＣＤ８６とＣＤ２８との相互作用を遮断する化合物は、アバタセプト（abetacept）もしくはベラタセプト（belatasept）などのＣＴＬＡ４－Ｉｇタンパク複合体である。本開示による実施形態はまた、神経変性もしくは神経筋の障害を持つ患者を治療する方法であって、ＣＤ４０とＣＤ４０Ｌとの相互作用を遮断する化合物を、ＣＤ８０とＣＤ２８との相互作用を遮断する化合物と組み合わせて投与するか、またはＣＤ４０ＬとＣＤ４０との相互作用を遮断する化合物を、ＣＤ８６とＣＤ２８との相互作用を遮断する化合物と組み合わせて治療上有効量の投与する方法であって、ここで該神経変性もしくは神経筋の障害は、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、重症筋無力症、多巣性運動ニューロパチー、原発性側索硬症、脊髄性筋萎縮症、ケネディ病、脊髄小脳失調である、方法を含む。特定の実施形態では、ＣＤ４０ＬとＣＤ４０との相互作用を遮断する化合物がＭＲ１であり、ＣＤ２８とＣＤ８６またはＣＤ２８とＣＤ８０との相互作用を遮断する化合物が、アバタセプト、ガリキシマブまたはベラタセプトである。その他の実施形態では、ＣＤ４０ＬとＣＤ４０との相互作用を遮断する化合物が５ｃ８である。その他の実施形態では、筋萎縮性側索硬化症を患う患者を治療する方法であって、治療上有効量のＭＲ１をアバタセプトもしくはベラタセプトと組み合わせて投与する方法である。その他の実施形態では、筋萎縮性側索硬化症を患う患者を治療する方法であって、治療上有効量の５ｃ８をアバタセプトもしくはベラタセプトと組み合わせて投与する方法である。

【００３１】

Ｖ．薬理学的組成と投与方法

前述の障害を治療するために、本開示の方法に従って使用する医薬組成物は、１以上の生理学的に許容できるキャリアを用いる通常の様式で処方して良い。薬学的に許容し得るキャリアは、投与される特定の組成物ならびに該組成物を投与するために用いた特定の方法によって部分的に決定される。従って、本開示の方法に有用な化合物の非常に様々な好適な処方がある。（例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ，２０ｔｈ ｅｄ．，Ｇｅｎｎａｒｏ ｅｔ ａｌ．Ｅｄｓ．，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ａｎｄ Ｗｉｌｋｉｎｓ，２０００を参照）

【００３２】

経口投与に適した処方は、例えば、錠剤などの固形錠、半固形錠および流体系；マルチまたはナノ微粒子液体粉末、液体または粉末を含有する柔または硬カプセル；トローチ剤（液体充填を含む）；咀嚼形（chews）；ゲル；急速分散剤形；フィルム類；卵(ovules)；噴霧；および、口腔／粘膜付着性パッチを含む。

【００３３】

非経口投与に適した処方は、水溶性と非水溶性、等張性無菌注射の溶液を含む。これらの溶液は、抗酸化剤、緩衝液、静菌薬、対象受容者の血液と等張の製剤を提供する溶質、ならびに懸濁剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤、および防腐剤を含む水溶性および非水溶性の無菌懸濁液を含んで良い。

【００３４】

本開示によると、化合物は、どのような好適な手段でも投与可能であって、治療される障害の型および化合物そのものの性質に拠り変更できる。例えば、化合物は、経口的に、非経口的に、または局所的に投与して良い。抗体などのタンパク質ついては、好ましい投与経路は、例えば、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、もしくは皮下などの非経口的経路を含む。好ましくは、非経口的投薬は注射により投与されるが、最も好ましくは、静脈内、筋肉内、もしくは皮下注射によって投与する。投与量は、種々の臨床症状、個体の体重、その他の薬剤が投与されたかどうかなどの様々な因子に依存する。適切な剤形、投与量、投与経路の決定は、薬理学および医学の当業者のレベルの範囲内にあり、以下に記述されることを理解されたい。

【００３５】

ＶＩ.実施例

実施例１

ＡＬＳのＧ９３Ａマウスモデルの神経変性の分子機構の特性評価

治療法の開発に適した分子経路を識別するために、Ｇ９３Ａマウスモデルでの疾患の進行中において、遺伝子発現パターンの変化を特徴づけた。全ゲノム転写プロファイリングを、アフィメトリックジーンチップ（登録商標）マウス発現セット４３０ｖｌｌ（Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ ＧｅｎｅＣｈｉｐ（登録商標）Ｍｏｕｓｅ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｓｅｔ ４３０ｖｌｌ）ＭＯＥ４３０ｖｌｌのジーンチップを使用して検討した。長期的な研究設計は、非トランスジェニックの同腹子のＧ９３Ａ骨格筋と脊髄を比較して採用した。Ｇ９３Ａマウスモデルにおいて、症状の発現は、開始して７５日目で最初に後肢、次に前肢、最後に横隔膜の進行性麻痺とともに尾の麻痺として確認する。Ｇ９３Ａ動物群体の平均生存期間は１３４日間である。継続的な研究設計は、生後３０、５０、６０、８０、９０、１００、１１０および１２０日（０日は生まれた日）のＧ９３Ａ動物および野生型の複数の同腹子からふくらはぎの筋肉（腓腹筋）や脊髄を収集した。それぞれの時点において、組織を５種の野生型および５種のＧ９３Ａ動物から収集し、合計１６０の組織について独立して処理した。

【００３６】

動物を、上記の適切な時点で、ＩＡＣＵＣ実験計画書に従って安楽死させた。組織をすぐに採取し、液体窒素中で急速凍結した。凍結した組織を、－８０℃で保存した。総ＲＮＡは、製造者により説明されている通りのキアゲン社製ＲＮＡ簡易キット（Ｑｉａｇｅｎ ＲＮａＥａｓｙ ｋｉｔ）を用いて該組織から同時に単離した。単離された総ＲＮＡを、アンビオンメッセージＡＭＰｌｌ Ｔ７生体内転写キット（Ａｍｂｉｏｎ Ｍｅｓｓａｇｅ ＡＭＰｌｌＴ７ ｉｎ ｖｉｔｒｏ ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ ｋｉｔ）を用いて、ビオチン化ヌクレオチドを組み込んだ標準的なＴ７の線形増幅を用いて増幅した。標識プローブを断片化し、製造者の実験計画書に従ってアフィメトリックジーンチップ（登録商標）マウス発現セット４３０ｖｌｌ（Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ ＧｅｎｅＣｈｉｐ（登録商標）Ｍｏｕｓｅ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｓｅｔ ４３０ｖｌｌ）のジーンチップとハイブリダイズした。ジーンチップを、ハイブリダイズしていないプローブを取り除くために、アフィメトリックジーンチップ液ステーション４５０（Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ ＧｅｎｅＣｈｉｐ（登録商標）Ｓｔａｔｉｏｎ ４５０）で洗浄した。ジーンチップを、アフィメトリックス ジーンチップ ３０００ ７Ｇスキャナーで走査した。

【００３７】

全ての計算処理とモデル化を、バイオコンダクタ（Ｂｉｏｃｏｎｄｕｃｔｏｒ）からのＲ開発言語のバージョン２．６を用いて行った。脊髄および腓腹筋のデータセットを、独立して分析した。アフィメトリックスＣＥＬ（Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ ＣＥＬ）のファイルを、すべてのデータの前処理のために使用した。各データセット内の全てのセルファイルを、バイオコンダクタヴィネットＳＩＭＰＬＥ ＡＦＦＹ、ＡＦＦＹおよびＡＦＦＹ ＰＬＭを用いて品質管理した。Ｇ９３Ａおよび野生型組織間の所定の時点における遺伝子発現の統計的変化を、ＬＩＭＭＡパッケージを用いて評価した。ベイズモデルを、群間の発現変化の有意性を決定するために使用した。

【００３８】
野生型およびＧ９３Ａの間において示差的に発現していることが発見された遺伝子は、免疫応答および細胞接着に関与する遺伝子、例えばＣＤ８６、ＣＤ４４、ＩＣＡＭ、ＩＴＧＡＭ、ＩＴＧＡＩＴＧＡＸ、ＩＴＧＢ２、Ｈ２－Ｋ１（ＭＨＣＩＩ）、Ｈ２－ＡＢ１（ＭＨＣＩＩ）、Ｈ２－Ｄ１（ＭＨＣＩＩ）およびＨ２－Ｅｂ１（ＭＨＣＩＩ）に関与する遺伝子を含む。生後３０、５０、６０、８０、９０、１００、１１０および１２０日における野生型およびＧ９３Ａマウス脊髄および腓腹筋からの、これらの遺伝子のｌｏｇ２正規化された発現プロファイルを図１に示す。図１Ａおよび図１Ｂは、脊髄および腓腹筋のＣＤ８９の示差発現をそれぞれ示している。図１Ｃおよび図１Ｄは、脊髄および腓腹筋のＣＤ４４の示差発現をそれぞれ示している。図１Ｅおよび図１Ｆは、脊髄および腓腹筋のＩＣＡＭの示差発現をそれぞれ示している。図１Ｇおよび図１Ｈは、脊髄および腓腹筋のＩＴＧＡＭ（ＣＤ１１ｂ）の示差発現をそれぞれ示している。図１Ｉおよび図１Ｊは、脊髄および腓腹筋のＩＴＧＡＸの示差発現をそれぞれ示している。図１Ｋおよび図１Ｌは、脊髄および腓腹筋のＩＴＧＢ２の示差発現をそれぞれ示している。図１Ｍは、脊髄のＨ２－Ｋ１（ＭＨＣＩＩ）の示差発現を示している。図１Ｎは、腓腹筋におけるＨ２－ＡＢ１（ＭＨＣＩＩ）の示差発現を示している。図１Ｏは、脊髄のＨ２－Ｄ１（ＭＨＣＩＩ）の示差発現を示している。図１Ｐは、腓腹筋におけるＨ２－Ｅｂ１（ＭＨＣＩＩ）の示差発現を示している。

【００３９】
これらのデータは疾患の進行中に、炎症性痕跡が増加することを示している。これらの遺伝子の発現の変化は、樹状細胞、マクロファージ、Ｂ細胞などの抗原提示細胞の活性化を反映している。相互作用の遮断は、ＡＬＳの疾患の進行を悪化させる免疫反応を改善することができる。共刺激経路を、ＣＤ－２８／ＣＤ８０、ＣＤ－２８／ＣＤ８６またはＣＤ４０／ＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断することによって抑制することができる。

【００４０】
実施例２
骨格筋および末梢神経系の抗原提示細胞の特性評価
Ｇ９３Ａおよび野生型動物の腓腹筋における抗原提示細胞の存在および局在性を判断するために、免疫組織化学的検査を、生後１１０日にてＧ９３Ａおよび野生型マウスから採取した腓腹筋の組織に実施した。採取後すぐに、組織をＯＣＴ内に埋め込んだ。凍結切片を、Ｈ＆Ｅ染色して、ミエリンに対する抗体（抗Ｓ１００ｂ抗体）、またはＴ細胞（抗ＣＤ３抗体）、Ｂ細胞（ＣＤ４５ＲパンＢ細胞抗体）およびマクロファージ（抗ＣＤ１１ｂ抗体）を含む造血細胞系統に対する抗体を用いてハイブリダイズした。生後１１０日において、骨格筋を支配する神経の軸索に局在するＣＤ１１ｂ陽性マクロファージおよびマクロファージ出現の浸潤があった。マクロファージの局在は、全体の筋肉に分散されておらず、炎症が筋萎縮や筋線維の再構築によるものではないことを示唆している。

【００４１】
生後１１０日での骨格筋における単球系細胞の特性を確認し、非トランスジェニック動物と比較してこれらの細胞の関連性を明確にするために、追加の免疫組織化学的検査を、マクロファージ系に特異的な抗体パネルを用いて実行した。抗Ｓ１００ｂ抗体を、骨格筋を支配する軸索を関連付けられるミエリンにラベルを付けるために利用した。すべてのマクロファージの特異的な抗体（抗－ＣＤ１１ｂ抗体、抗－ＣＤ８６抗体、および抗－ＭＡＣ１抗体）は、野生型の動物の軸索上にはマクロファージが全く存在しない状態で、マクロファージをＧ９３Ａマウスの骨格筋を支配する神経の軸索に局在化した。マクロファージの局在化は、マクロファージが筋繊維上に存在しない状態において、筋肉を支配する神経に特異的であった。

【００４２】
遺伝子発現データは、共刺激経路に関連する遺伝子が、疾患の進行中に脊髄と骨格筋の両方において一時的に増加しているということを示唆している（図１）。骨格筋へのマクロファージ浸潤の時期を特徴づけるために、免疫組織化学的検査を、生後６０日、８０日

および１００日のＧ９３Ａマウスの腓腹筋の部位にて実施した。生後６０日の時点では、マクロファージの浸潤と軸索への局在化の形跡は全くなかった。マクロファージは、生後８０日で表れ、生後１１０日の時点での骨格筋について前述したように筋肉を神経支配する軸索に局在化した。マクロファージの数は生後８０日と生後１００日の間に増加し、マクロファージの蓄積は、骨格筋を神経支配する軸索に対して特異的であった。

【００４３】

マクロファージの浸潤の増加を定量するために、５匹のＧ９３Ａおよび５匹の野生型動物から代表的な部位を、抗－ＣＤ８６抗体とハイブリダイズさせ、１０，０００平方ミクロン当たりのマクロファージの数を計測した。野生型動物のマクロファージの数は、生後６０日、８０日および１１０日の時点で同じであった。図２に見られるように、マクロファージは、生後８０日から１００日の間に骨格筋に一時的に蓄積されており、そして野生型の骨格筋の中には、マクロファージはほとんど存在していない。

【００４４】

要約すると、免疫組織化学的データは、遺伝子発現データと非常によく関連し、Ｇ９３Ａマウスモデルの疾患の進行中に骨格筋を浸潤させる抗原提示細胞としてマクロファージを識別する。マクロファージの浸潤が、ミエリンおよびマクロファージに対する抗体により標識化することにより局在された骨格筋を神経支配する軸索を特異的に標的とすることは、予想外の発見である。

【００４５】

実施例３

Ｇ９３Ａ組織におけるＭＲ１の薬物動態分析

ネズミ科のＣＤ４０Ｌに対するＭＲ１の組織レベルを、サンドイッチ法の非競合的な酵素結合免疫吸着法（ＥＬＩＳＡ）である、一致する行列（matrix matched）を用いて決定した。各プレート上に、７点標準曲線を含んでいた。標準液を、精製されたＭＲ１をＰＢＳ希釈溶液に添加したものを使用して調製した。ＰＢＳ希釈溶液を、未知の試料の等量希釈にて正常マウス組織とマトリクス整合させ、組織溶解物に起因する任意の特異的でない影響を補正した。

【００４６】

８４の血漿試料を、雌雄Ｇ９３Ａマウスの双方において投与後二週間以内の期間（１０ｍｇ／ｋｇ、ＩＰ）にわたって薬物動態学的分析のために採取した。

【００４７】

消失半減期は、雌（２３日）と雄（２２日）で類似しており、またマウスの典型的なマウスのＩｇＧ－２に基づく抗体の半減期に類似していた。抗ハムスター抗体反応の兆候は全く見られなかった。

【００４８】

雌は、雄よりもＭＲ１の分布はやや小さめの容量を示し、したがって同じ投与量１０ｍｇ／ｋｇを与えられた場合に高い血漿中濃度を示す。雄は、より早い排除と高い分布容量を示す。したがって、同様の血漿値を達成するためには、雄はより高い容量を必要とする。図３Ａは、直線的な濃度軸（Ｙ）を用いて、継時的なＭＲ１の濃度を示す。図３Ｂは、対数的な濃度軸（Ｙ）を用いて、継時的なＭＲ１の濃度を示す。

【００４９】

実施例４

ＭＲ１が疾患の発症を遅らせ、疾患の進行を遅くし、ＡＬＳのＧ９３Ａマウスモデルの生存期間を長くする。

３６匹の同腹子の雌のＧ９３Ａマウスを２群に無作為に分けた。１８匹のＧ９３ＡマウスをＭＲＩ－処理群に配置し、他の１８匹のＧ９３Ａマウスを対照群に配置した。研究日は、誕生からの日数に基づく。

【００５０】

生後５０日においてＭＲ１(５６ｕｇ)を一回腹腔内（ＩＰ）へ投与した。ボーラス投与に続いて、毎週の定期的な１８ｕｇのＭＲ１の注入を、ＩＰ注射によって投与した。投与

量は、全量が２００μｌになるように、ビヒクル[生理食塩水リン酸緩衝液（ＰＢＳ、ｐＨ７．３）]で調製した。対照動物は、２００μｌのＰＢＳを投与された。開始から５４日において、動物を研究の過程で毎日観察して、神経学的スコアだけではなく、毎日の体重を測定した。

【００５１】

両後肢の神経学的スコアを、それぞれのネズミについて生後５０日から毎日評価した。神経学的スコアは、０から４の尺度を採用した。（Ｓｃｏｔｔら、ＡＬＳ Ｊｏｕｒｎａｌ２００８年１月）。簡潔に言うと、マウスが尻尾で吊り下げられ、かつマウスが２秒にわたってこれを保持することができ、２～３回吊り下げられた場合、スコアが０の動物は側正中線から離れた後肢の完全な伸展機能を有していた。スコア１の動物は、側正中線に向かっての足の伸展の衰弱もしくは部分的な衰弱（弱り）を示すか、もしくは尾によって吊り下げられた場合の後肢の震えを示した。スコア２の動物は、１２インチの歩行中に少なくとも２回つま先が丸まるか、もしくは脚の任意の一部をケージ底部／テーブルにそって引きずった。スコア３の動物は、硬質麻痺もしくは最小限の関節の動きのみ有するか、もしくは脚を前進するのに使用できない。スコア４の動物は、どちらの側からでも自分自身では３０秒以内まっすぐ立てない。もし一方の後肢がスコア２であれば、餌は床の上に置いておく。もし両方の後肢がスコア２であれば、ニュートラ・ゲル（Ｎｕｔｒａ－Ｇｅｌ）（登録商標）（バイオサーブ＃Ｓ４７９８）を床上に食餌ペレットに加えて食物として供給し、長い給水管を水瓶上に設置する。

【００５２】

死亡した日と原因を、それぞれのネズミについて記録した。人道的な理由から、動物を接近して観察し、厳密な瀕死の基準を用いて実際の死より前に瀕死として屠殺した。確実かつ人道的に生存期間を決定するために、瀕死状態、すなわち片側に置かれた後に３０秒間マウスが自分でまっすぐ立つ事が出来ない（神経学的スコア４）として規定された瀕死状態を用いた。瀕死のマウスを「死亡」としてスコアし、二酸化炭素を用いて安楽死させた。

【００５３】

標準的な手順は、薬投与群と対照群の両方において統計分析の前に、ＡＬＳとは関係ない死を排除することである。この場合、薬投与群もしくは対照群の全ての動物の死は、ＡＬＳに起因していた。したがって、ＡＬＳに関係しない死が原因で排除された動物はいなかった。

【００５４】

変異型ＳＯＤ１遺伝子導入動物は、新生児としての正常体重（ＢＷ）の特徴を示し、そして大人になって非遺伝子導入動物と比較して、通常通り体重を増す。導入遺伝子の遺伝的変異の性質および変異遺伝子のコピー数に応じて、体重の減少は成体動物になって表れ、死ぬまで続く。薬投与群および対照群における体重の減少の分析は、疾患の発症や進行速度への推定される治療効果の洞察を提供することができる。ＭＲ１の治療による体重への影響を評価するために、二つの集約パラメータを考察した；（１）研究開始からピーク体重を迎えるまでの体重の変化。これは疾患発症への影響を反映し得る。（２）ピーク体重から死亡までの体重の変化。これは疾患の進行への影響を反映し得る。

【００５５】

生後４０日からピーク体重に達するまでの期間についての、ＭＲ１治療群および対照群の時間－事象曲線の比較を図４に示す。対照群についてのピーク体重に達するまでの時間の平均値は生後５０日であり、一方ＭＲ１治療群と比較するとＭＲ１治療群のそれは生後５１日であった。その差は、ログランクとＷｉｌｃｏｘｏｎ統計モデルを使用するカプラン・メイヤー法、Ｃｏｘ比例ハザード、またはパラメトリック統計的検定により分析したところ、有意ではなかった。

【００５６】

ピーク体重に達してから死亡するまでの期間についての、ＭＲ１治療群および対照群の時間－事象曲線の比較を図５に示す。ピーク体重から死亡するまでの時間は、ＭＲ１治療

動物において統計学的に有意に１５日遅い。対照動物は、ピーク体重に達してからＭＲ１治療動物よりも早く死ぬという、２．４から４．７倍の大きな危険性を有する。対照群のピーク体重から死亡するまでの平均時間は２６日であるが、一方でＭＲ１治療群においては４１日であった。この実施例においてそれぞれの分析の有意性は、より良く有意性を評価するために、幾つかの方法で計算された。遅延は、幾つかの方法を用いて分析を行ったところ、統計的に有意である（カプラン・メイヤー、ログランク ｐ＝０．０１１０およびＷｉｌｃｏｘｏｎ、ｐ＝０．００６９;Ｃｏｘ比例ハザードモデル、ｐ＝０．０５１５１;パラメトリック統計モデル、ｐ＝０．０１２２）。体重データに基づいて、ＭＲ１はＧ９３Ａマウスモデルにおいて疾患の発症への影響はそれ程ではないが、ピーク体重から死に至るまでの体重の減少率を遅くする劇的な効果を有するようである。

【００５７】

また、疾患の発症時期を、食塩水投与群およびＭＲ１治療群の毎日の神経学的スコアの分析によっても特徴付けた。調査開始時（５０日）では、全ての動物は、神経学的スコアは0であり、いかなる症状も麻痺も観察されなかった。疾患の発症は、動物が明らかに後肢をひきずっている場合、神経学的スコア０から神経学的スコア２への神経学的スコアの進行を試験することにより特徴付けられる。ＭＲ１投与および対照群の動物が神経学的スコア２に進行した際の年齢および神経学的スコアが２である日数の時間－事象グラフを、図６に示す。各群の神経学的スコアが２である平均時間を、図７にプロットした。対照群のスコア２に至る時間は１１５日であり、ＭＲ１治療群は１２２日であった。神経学的スコアデータに基づいて、ＭＲ１はＧ９３Ａマウスにおける疾患の発症を約７日間遅らせており、幾つかの方法（カプラン・メイヤー、ログランク（ｐ＝０．０３７８）およびＷｉｌｃｏｘｏｎ（ｐ＝０．０５９１）；Ｃｏｘ比例ハザードモデル（ｐ＝０．０５２１）およびパラメトリック分析（ｐ＝０．０５８２）を用いて分析したところ、この遅延は充分に有意である。各スコアレベルにおける経過日数を、図７において、そのスコアレベルでの平均年齢に対してプロットする。

【００５８】

治療された動物の生存時間は、対照動物よりも１３日長かった。ＭＲ１治療群および対照群を比較して、ピーク体重から死に至るまでの時間についての時間－事象曲線を図８に示した。対照群の平均生存時間は１２８日で、ＭＲ１治療群の平均生存時間は１４１日であった。対照動物は、ＭＲ１治療動物よりも２．８から３．２倍の早く死ぬ危険性を有していた。その遅延は、幾つかの方法で分析したところ、統計的に有意であった[カプラン・メイヤー、ログランク（ｐ＝０．００４０）およびＷｉｌｃｏｘｏｎテスト（ｐ＝０．０１０９）；Ｃｏｘ比例ハザードモデル（ｐ＝０．００６０）；パラメトリック分析（ｐ＝０．００４９）]。

【００５９】

実施例５

最適化された投与およびメタ分析は、ＭＲ１処置が疾患の発症を遅らせて、ＳＯＤ１Ｇ９３マウスの生存率を改善するということを証明する。

同腹子の６０匹の雌および３６匹の雄のＧ９３Ａマウスを無作為的に治療群および対照群に分けた。雌のうちの３０匹および雄のうちの１８匹のマウスを生後５０日からＭＲ１を用いて治療した。試験日は、出生した日に基づく。

【００６０】

生後５０日において、雌または雄のそれぞれに、５．２２ｍｇ／ｋｇもしくは６．７５ｍｇ／ｋｇのＭＲ１を、単回のボーラス投与を腹腔内で行った。ボーラス投与に引き続いて、雌には毎週１ｍｇ／ｋｇのＭＲ１の注射をＩＰ注射にて、雄には毎週１．３４ｍｇ／ｋｇの注射をＩＰ注射にて投与した。投与量は、全量が２００μｌとなるように、ビヒクル内[生理食塩水リン酸緩衝（ＰＢＳ、ｐＨ７．３）]で調製した。対照群には２００μｌのＰＢＳを投与した。体重、神経学的スコア、ＡＬＳに起因しない死、および前述のように安楽死についての基準について、動物を観察をした。

【００６１】

ＭＲ１治療群および対照群の生後４０日からピーク体重に至るまでの、時間－事象曲線の比較を、図９Ａに示した。対照群のピーク体重に至るまでの平均時間は４９日であり、それに対して、ＭＲ１治療群のピーク体重へ至るまでの時間は５３日であった。この差は、ログランク、Ｗｉｌｃｏｘｏｎ統計モデルを用いるカプラン・メイヤー法、Ｃｏｘ比例ハザード、またはパラメトリック統計テストにより分析したところ、有意ではなかった。

【００６２】

ＭＲ１治療群および対照群のピーク体重から死に至るまでの、時間－事象曲線の比較を、図９Ｂに示した。ピーク体重から死に至るまでの時間は、ＭＲ１投与の動物において統計的に有意に６日遅かった。対照群におけるピーク体重から死にいたるまでの平均時間は２９日であり、一方ＭＲ１治療群のそれは３５日であった。この実施例における各々の分析の有意性を、有意性をよりよく評価するために、幾つかの手法を用いて計算した。その遅延は、幾つかの統計学的モデルを用いて分析したところ、統計学的に有意であった；カプラン・メイヤー、ログランク（ｐ＝０．０４１３）およびＷｉｌｃｏｘｏｎ（ｐ＝０．０７３２）；およびＣｏｘ比例ハザードモデル（ｐ＝０．０４６０）。体重のデータに基づいて、ＭＲ１は、Ｇ９３Ａマウスモデルの疾患の発症への影響はほとんど無いように考えられるが、ピーク体重から死に至るまでの体重の減少の遅延率に劇的な影響があった。

【００６３】

ＭＲ１および対照群の動物の神経学的スコアが２に進行した時点の年齢および神経学スコアが２である日数の年齢についての時間－事象プロットを図９Ｃに示した。対照群において、スコアが２に達するまでの時間は１１３日であり、ＭＲ１治療群は１２１日であった。神経学的スコアデータに基づくと、ＭＲ１はＧ９３Ａマウスにおける疾患の発症を約８日間遅らせており、この遅延は、幾つかの統計学的モデルを用いて分析してみると統計学的に有意である：カプラン・メイヤー、ログランク（ｐ＝０．００３８）およびＷｉｌｃｏｘｏｎ（ｐ＝０．００１７）；およびＣｏｘ比例ハザードモデル（ｐ＝０．００１０）。

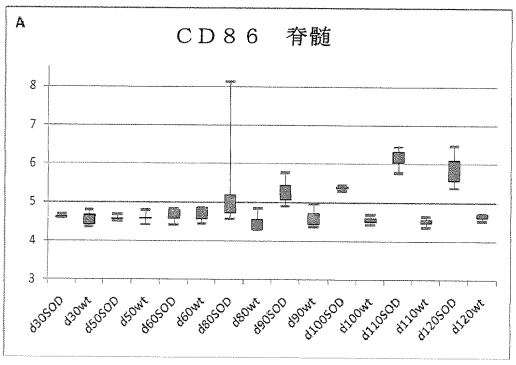
【００６４】

治療済動物の生存時間は、対照動物よりも９日間長かった。図９Ｄに示したとおり、対照群の平均生存時間は１２４日であり、ＭＲ１治療群の平均生存時間は１３３であった。この遅延は、幾つかの統計学的モデルを使用して分析したところ、統計学的に有意であった：カプラン・メイヤー、ログランク（ｐ＝０．００４３）およびＷｉｌｃｏｘｏｎテスト（ｐ＝０．００４０）；およびＣｏｘ比例ハザードモデル（ｐ＝０．００３０）。

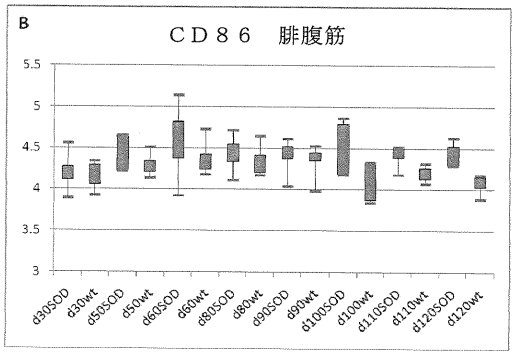
【００６５】

本出願に記載される実施例および実施形態は、単に例解の目的のためにのみ存在するものであって、それを考慮した範囲内の様々な改変もしくは変更が当業者に提案され、かつ本出願の趣旨と範囲および添付の請求項の範囲内に包含されるべきであることが理解されよう。

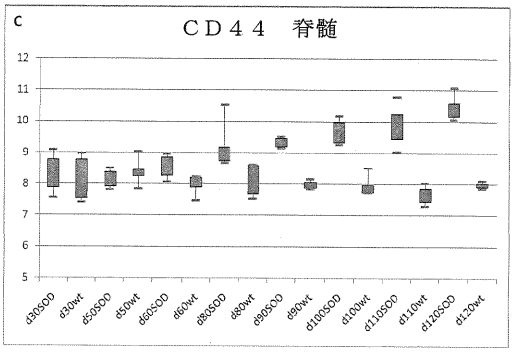
【図１Ａ】



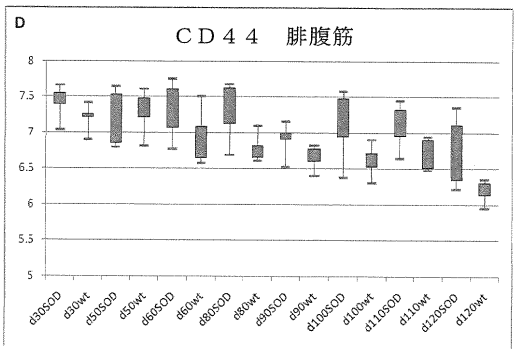
【図１Ｂ】



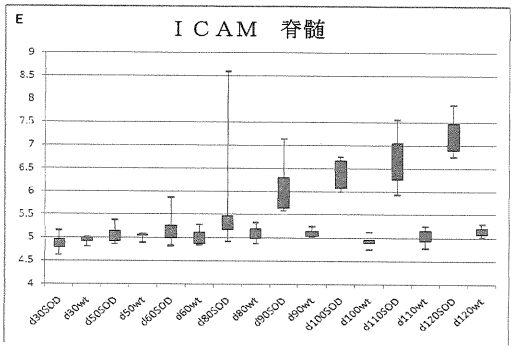
【図１Ｃ】



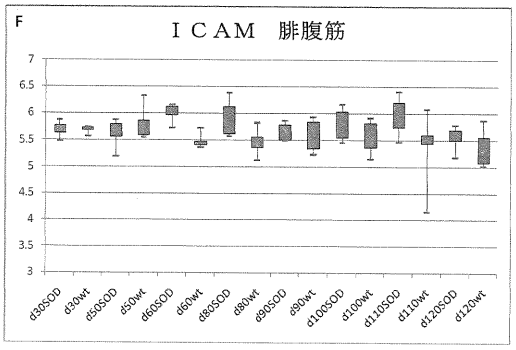
【図１Ｄ】



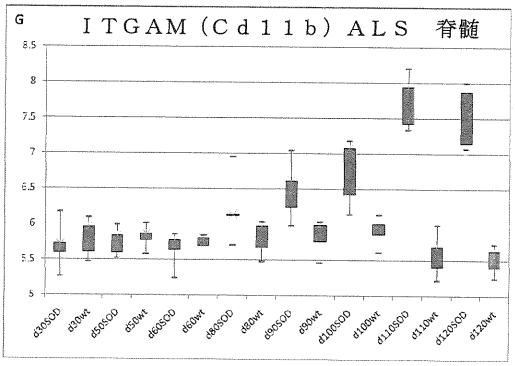
【図１Ｅ】



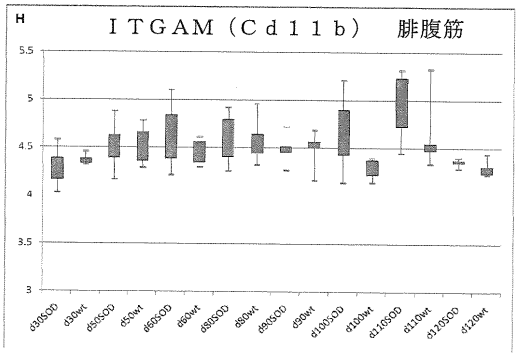
【図１Ｆ】



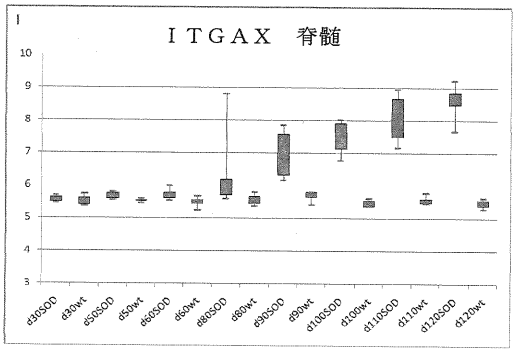
【図１Ｇ】



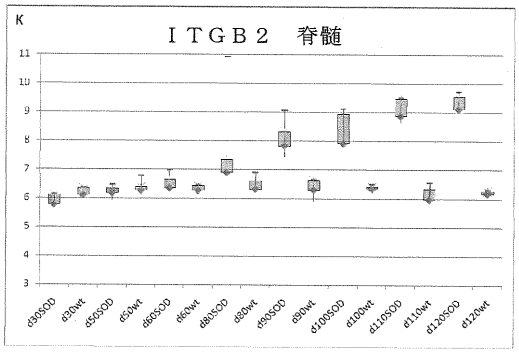
【図１Ｈ】



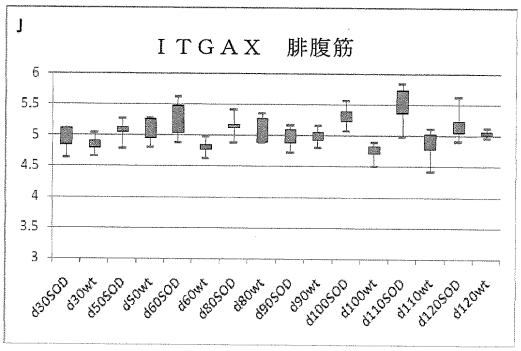
【図１Ｉ】



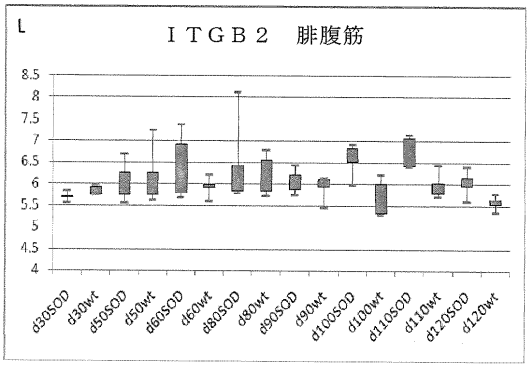
【図１Ｋ】



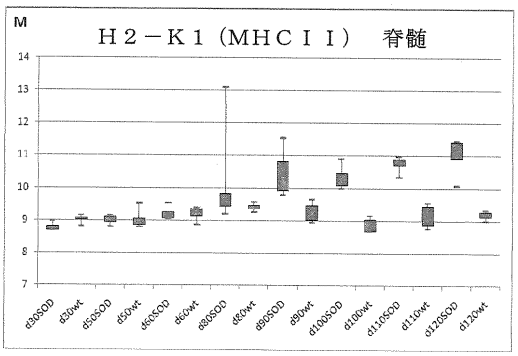
【図１Ｊ】



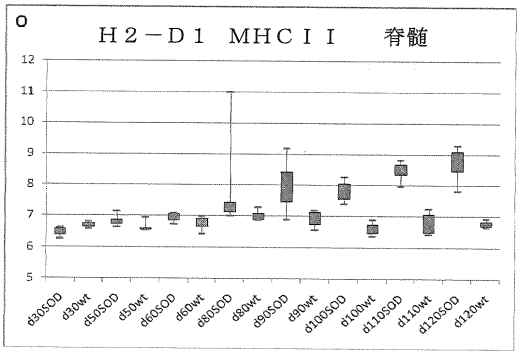
【図１Ｌ】



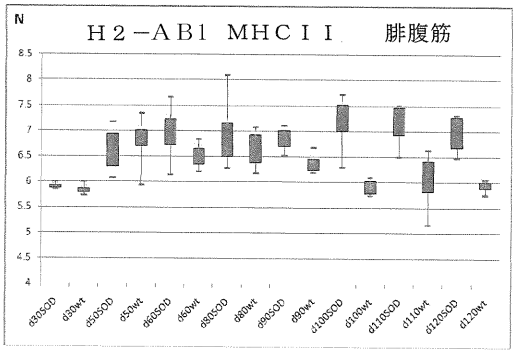
【図１Ｍ】



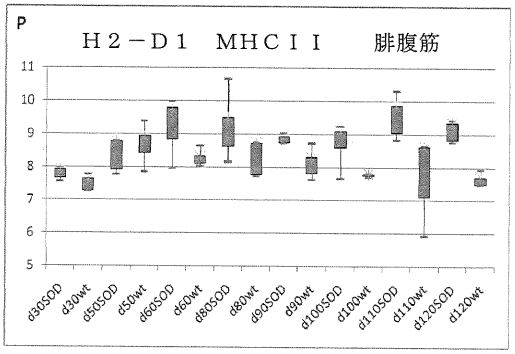
【図１Ｏ】



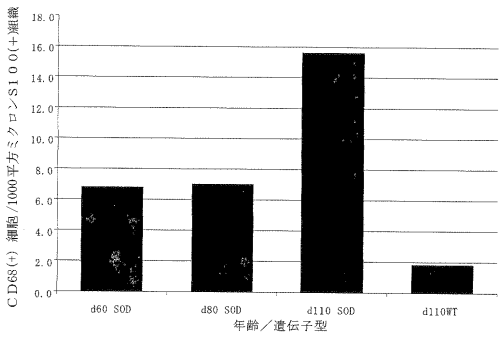
【図１Ｎ】



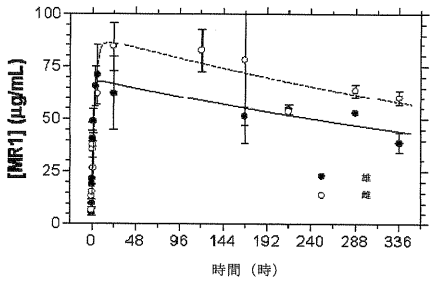
【図１Ｐ】



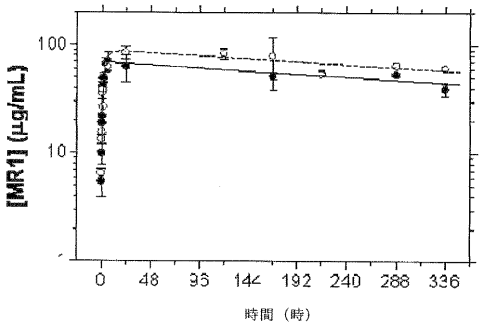
【図２】



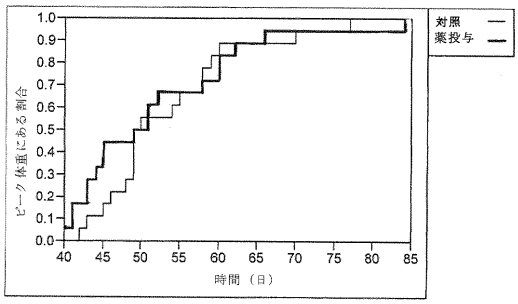
【図３Ａ】



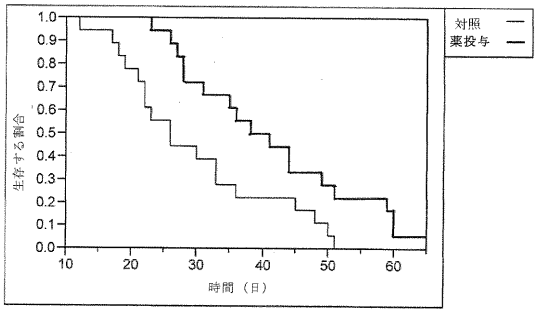
【図３Ｂ】



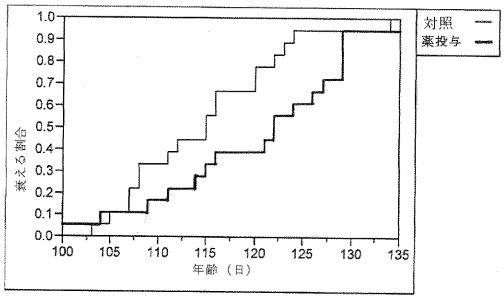
【図４】



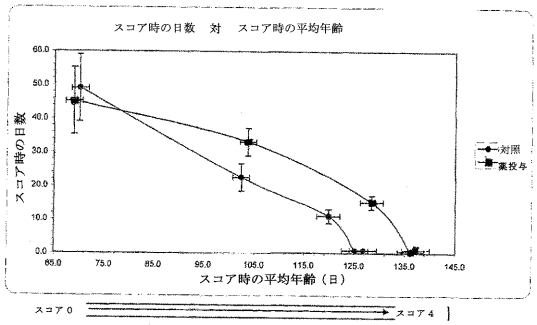
【図５】



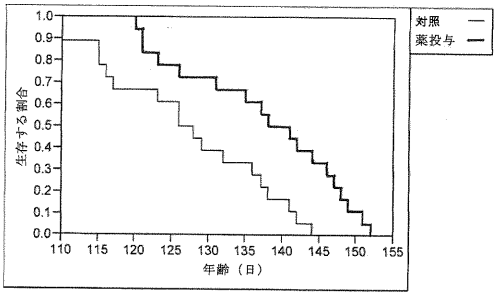
【図６】



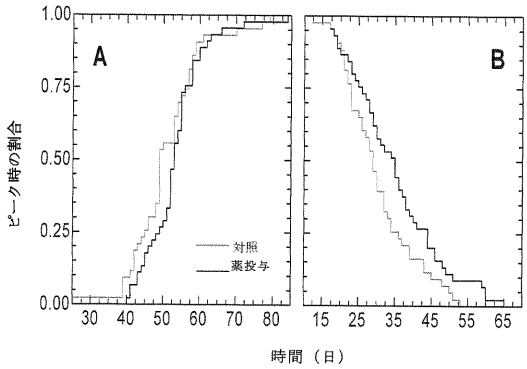
【図７】



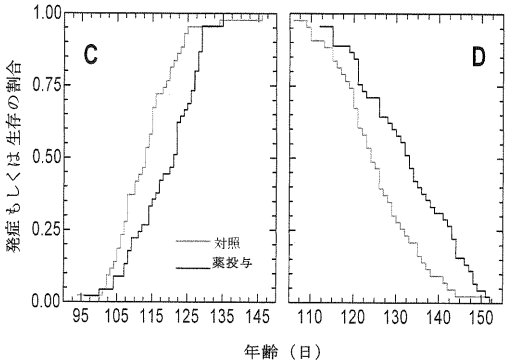
【図８】



【図９－１】


A
B
ピーク時の割合
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
対照
薬投与
30 40 50 60 70 80
15 25 35 45 55 65
時間（日）

【図９－２】


C
D
発症もしくは生存の割合
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
対照
薬投与
95 105 115 125 135 145
110 120 130 140 150
年齢（日）

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/066715

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/28 A61K39/395

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)
C07K

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2006/138316 A2 (BIOGEN IDEC INC [US]; LINCECUM JOHN M [US]; PERRIN STEVEN N [US]) 28 December 2006 (2006-12-28)	1-14
Y	page 1, line 19 - page 2, line 8	15-24
X	WO 2004/037204 A2 (UNIV SOUTH FLORIDA [US]; TAN JUN [US]; TOWN TERRENCE C [US]; MULLAN MI) 6 May 2004 (2004-05-06)	1-14
Y	claims 54, 55, 63	15-24

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
22 March 2010	09/04/2010

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Weikl, Martina

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/066715

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KE Z J ET AL: "CD40-CD40L interactions promote neuronal death in a model of neurodegeneration due to mild impairment of oxidative metabolism" NEUROCHEMISTRY INTERNATIONAL, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 47, no. 3, 1 August 2005 (2005-08-01), pages 204-215, XP004953076 ISSN: 0197-0186	1-14
Y	the whole document	15-24
X	KIAEI MAHMOUD ET AL: "Celastrol blocks neuronal cell death and extends life in transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis" NEURODEGENERATIVE DISEASES, KARGER AG, BASEL, CH, vol. 2, no. 5, 1 January 2005 (2005-01-01), pages 246-254, XP009131255 ISSN: 1660-2854	1-4,6
Y	the whole document	15-17
Y	VIGLIETTA ET AL: "CTLA4Ig treatment in patients with multiple sclerosis" NEUROLOGY, vol. 71, no. 12, September 2008 (2008-09), pages 917-924, XP002574319 ISSN: 0028-3878 the whole document	15-24
A	WO 01/83755 A2 (GEMINI SCIENCE INC [US]; MIKAYAMA TOSHIFUMI [US]; TAKAHASHI NOBUAKI [J]) 8 November 2001 (2001-11-08) claims 1,10	1-24

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2009/066715

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006138316 A2	28-12-2006	NONE	
WO 2004037204 A2	06-05-2004	AU 2003284968 A1	13-05-2004
		US 2004146949 A1	29-07-2004
WO 0183755 A2	08-11-2001	AU 5921501 A	12-11-2001
		TW 264467 B	21-10-2006

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ　21/04	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/00	
		Ａ６１Ｐ	21/04	

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

(74)代理人 100138911
弁理士 櫻井 陽子
(74)代理人 100146259
弁理士 橋本 諭志
(72)発明者 スティーブン・ペリン
アメリカ合衆国０１９５１マサチューセッツ州ニューベリー、ノーザン・ブールバード１００番
(72)発明者 フェルナンド・ビエイラ
アメリカ合衆国０２１０８マサチューセッツ州ボストン、ウエスト・シーダー・ストリート２９番
(72)発明者 アラン・ギル
アメリカ合衆国０１８６７マサチューセッツ州レディング、ヘザー・ドライブ６番
(72)発明者 ジョン・リンスカム
アメリカ合衆国０２１３０マサチューセッツ州ジャマイカ・プレイン、ケントン・ロード１９番

Ｆターム(参考) 4C085 AA13 AA14 BB17 EE01