



(10) 申请公布号 CN 116724046 A

(43) 申请公布日 2023.09.08

(21) 申请号 202180063988.4

(22) 申请日 2021.05.19

(30) 优先权数据

63/079,806 2020.09.17 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.03.17

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/033180 2021.05.19

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/060424 EN 2022.03.24

(71) 申请人 欧萨尔普罗席纳有限公司

地址 爱尔兰都柏林

(72) 发明人 R·巴伯 G·金尼 W·扎戈

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

专利代理师 张文辉

(51) Int.Cl.

C07K 7/06 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61K 38/08 (2019.01)

A61P 37/04 (2006.01)

C07K 19/00 (2006.01)

权利要求书4页 说明书24页

序列表24页 附图1页

(54) 发明名称

用于治疗阿尔茨海默病之 β 淀粉样蛋白疫苗

(57) 摘要

本公开提供包含淀粉样蛋白 β (A β) 肽的肽组合物及免疫疗法组合物。本公开亦提供治疗或实现防治受试者的阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)或其他具有 β 淀粉样蛋白沉积之疾病的方法,包括在患有阿尔茨海默病或其他含有 β 淀粉样蛋白积累之疾病或具有发展此类疾病之风险之受试者中清除沉积物、抑制或减少A β 之聚集、阻断由神经元摄取及清除淀粉样蛋白之方法。该等方法包括向此类患者施用包含淀粉样蛋白 β (A β) 肽之组合物。

1. 一种肽,其包含来自SEQ ID NO:01之残基1至10或来自SEQ ID NO:01之残基12至25的3至10个氨基酸。

2. 如权利要求1的肽,其中所述肽包含选自由SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:41至SEQ ID NO:96中之任一者组成的组的氨基酸序列。

3. 如权利要求1的肽,其中所述肽来自SEQ ID NO:01之残基1至7。

4. 如权利要求1的肽,其中所述肽来自SEQ ID NO:01之残基12至24,或残基12至23,或残基12至22,或残基13至25,或残基13至24,或残基13至23,或残基13至22,或残基14至25,或残基14至24,或残基14至23,或残基14至22,或残基15至25,或残基15至24,或残基15至23,或残基15至22。

5. 如权利要求1的肽,其中所述肽包含选自由SEQ ID NO:05至SEQ ID NO:09、SEQ ID NO:13至SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:20至SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27或SEQ ID NO:31中之任一者组成的组的氨基酸序列。

6. 如权利要求1的肽,其中所述肽来自SEQ ID NO:01之残基2至8。

7. 如权利要求1的肽,其中所述肽包含选自由SEQ ID NO:12至SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:19至SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:25至SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31或SEQ ID NO:34中之任一者组成的组的氨基酸序列。

8. 如权利要求1的肽,其中所述肽包含选自由SEQ ID NO:2至96组成的组的氨基酸序列。

9. 如权利要求8的肽,其进一步包含在C端末端的-RR。

10. 如权利要求9的肽,其包含DAEFRHDDR(SEQ ID NO:101)之氨基酸序列。

11. 如权利要求1至10中任一项的肽,其进一步包含C端半胱氨酸。

12. 如权利要求1的肽,其包含AEFRHDSGC(SEQ ID NO:38)之氨基酸序列。

13. 如权利要求1的肽,其包含DAEFRHDC(SEQ ID NO:39)之氨基酸序列。

14. 如权利要求1的肽,其包含QKLVFFAEC(SEQ ID NO:40)之氨基酸序列。

15. 如权利要求1的肽,其包含DAEFRHD(SEQ ID NO:05)之氨基酸序列。

16. 如权利要求1的肽,其包含EFRHDSG(SEQ ID NO:18)之氨基酸序列。

17. 如权利要求1的肽,其包含AEFRHDS(SEQ ID NO:12)之氨基酸序列。

18. 一种肽,其包含以下结构:

[第一肽]-[接头1]-[第二肽]-[接头2]-[Cys],

其中所述第一肽是如权利要求1的肽,所述第二肽是相同或不同的如权利要求1的肽,接头1、接头2及[Cys]中之每一者是任选的,且接头1及接头2可以为相同或不同的。

19. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽或所述第二肽包含来自SEQ ID NO:01之残基1至10的3至10个氨基酸。

20. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽和所述第二肽均包含来自SEQ ID NO:01之残基1至10的3至10个氨基酸。

21. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽或所述第二肽包含来自SEQ ID NO:01之残基12至25的3至10个氨基酸。

22. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽和所述第二肽均包含来自SEQ ID NO:01之残基12至25的3至10个氨基酸。

23. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽或所述第二肽选自由SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:39组成的组。

24. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽和所述第二肽均选自由SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:39组成的组。

25. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽或所述第二肽选自由SEQ ID NO:40至SEQ ID NO:96组成的组。

26. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽和所述第二肽均选自由SEQ ID NO:40至SEQ ID NO:96组成的组。

27. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽或所述第二肽包含来自SEQ ID NO:01之残基1至10的3至10个氨基酸,且另一肽包含来自SEQ ID NO:01之残基12至25的3至10个氨基酸。

28. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽或所述第二肽选自由SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:39组成的组,且另一肽选自由SEQ ID NO:40至SEQ ID NO:96组成的组。

29. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽或所述第二肽选自由SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:96组成的组的氨基酸序列。

30. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽和所述第二肽均为选自由SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:96组成的组的氨基酸序列。

31. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽或所述第二肽中之至少一者选自由如权利要求8的肽组成的组。

32. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽和所述第二肽均选自由如权利要求8的肽组成的组。

33. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽或所述第二肽为SEQ ID NO:101。

34. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽和所述第二肽均为SEQ ID NO:101。

35. 如权利要求18的肽,其中所述第一肽和所述第二肽各自选自由SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:96及SEQ ID NO:101组成的组。

36. 如权利要求1至8中任一项的肽,其进一步包含在所述肽之C端部分的接头。

37. 如权利要求36的肽,其中所述接头包含氨基酸序列。

38. 如权利要求37的肽,其中所述接头包含选自由以下组成的组的氨基酸序列:AA、AAA、KK、KKK、SS、SSS、AGAG (SEQ ID NO:99)、GG、GGG、GAGA (SEQ ID NO:98) 及KGKG (SEQ ID NO:100)。

39. 如权利要求38的肽,其中所述接头进一步包含C端半胱氨酸(C)。

40. 如权利要求38的肽,其中所述肽进一步包含在N端的封端胺。

41. 如权利要求18的肽,其中所述第一接头为可裂解接头。

42. 一种免疫疗法组合物,其包含如权利要求1至41中任一项的肽中的一者或多者。

43. 如权利要求42的免疫疗法组合物,其中所述一种或多种肽进一步包含于所述肽之C端部分连接至载剂的接头。

44. 如权利要求43的免疫疗法组合物,其中所述接头包含选自由以下组成的组的氨基酸序列:AA、AAA、KK、KKK、SS、SSS、AGAG (SEQ ID NO:99)、GG、GGG、GAGA (SEQ ID NO:98) 及KGKG (SEQ ID NO:100)。

45. 如权利要求43或44中任一项的免疫疗法组合物,其中所述载剂包含血清白蛋白、免

疫球蛋白分子、甲状腺球蛋白、卵白蛋白、破伤风类毒素(TT)、白喉类毒素(DT)、白喉类毒素的经遗传修饰的交叉反应物质(CRM)、CRM197、脑膜炎球菌外膜蛋白复合物(OMPC)及流感嗜血杆菌(*H. influenzae*)蛋白D(HiD)、rEPA(铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)外毒素A), KLH(钥孔血蓝蛋白), 及鞭毛蛋白。

46. 如权利要求45的免疫疗法组合物, 其中所述载剂为CRM197。

47. 如权利要求45的免疫疗法组合物, 其中所述载剂为白喉类毒素。

48. 如权利要求42至47中任一项的免疫疗法组合物, 其进一步包含至少一种药学上可接受的稀释剂。

49. 如权利要求42至47中任一项的免疫疗法组合物, 其进一步包含多重抗原呈递系统(MAP)。

50. 如权利要求49的免疫疗法组合物, 其中所述MAP包含基于Lys之树突状架构、辅助型T细胞表位、免疫刺激亲脂性部分、细胞穿透肽、自由基诱导之聚合、作为抗原呈递平台之自组装纳米粒子及金纳米粒子中之一者或多者。

51. 一种药物组合物, 其包含: (a) 如权利要求1至41中任一项的多肽中的一者或多者, 或(b) 如权利要求42至50中任一项的免疫疗法组合物, 及至少一种佐剂。

52. 如权利要求51的药物组合物, 其中所述佐剂选自自由以下组成的组: 氢氧化铝、磷酸铝、硫酸铝、3-脱-0-酰化单磷酰基脂质A (MPL)、QS-21、TQL1055、QS-18、QS17、QS-7、完全弗氏佐剂(CFA)、不完全弗氏佐剂(IFA)、水包油乳液(诸如角鲨烯或花生油)、CpG、聚谷氨酸、聚赖氨酸、AddaVax™、MF59®及其组合。

53. 如权利要求52的药物组合物, 其中所述佐剂为QS-21或TQL1055。

54. 如权利要求52的药物组合物, 其中所述佐剂为MPL。

55. 如权利要求52的药物组合物, 其中所述佐剂为MPL与QS-21之组合, 或MPL与TQL1055之组合。

56. 如权利要求51至55中任一项的药物组合物, 其中所述佐剂包含脂质体制剂。

57. 如权利要求51至56中任一项的药物组合物, 其中所述组合物包含至少一种药学上可接受的稀释剂。

58. 如权利要求51至56中任一项的药物组合物, 其包含多重抗原呈递系统(MAP)。

59. 如权利要求58的药物组合物, 其中所述MAP包含基于Lys之树突状架构、辅助型T细胞表位、免疫刺激亲脂性部分、细胞穿透肽、自由基诱导之聚合、作为抗原呈递平台之自组装纳米粒子及金纳米粒子中之一者或多者。

60. 一种核酸, 其包含编码如权利要求1至41中任一项的肽或如权利要求42至50的免疫疗法组合物的核酸序列。

61. 一种核酸免疫疗法组合物, 其包含如权利要求60的核酸及至少一种佐剂。

62. 一种治疗或实现防治受试者的阿尔茨海默病的方法, 其包括向所述受试者施用如权利要求42至50中任一项的免疫疗法组合物或如权利要求51至59中任一项的药物组合物。

63. 一种在患有阿尔茨海默病或具有发展阿尔茨海默病的风险的受试者中抑制或减少Aβ的聚集的方法, 其包括向所述受试者施用如权利要求42至50中任一项的免疫疗法组合物或如权利要求51至59中任一项的药物组合物。

64. 一种治疗或实现防治受试者的阿尔茨海默病的方法, 其包括向所述受试者施用如

权利要求60或权利要求61的核酸免疫疗法组合物。

65. 一种在患有阿尔茨海默病或具有发展阿尔茨海默病的风险的受试者中抑制或减少Aβ的聚集的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求60或权利要求61的核酸免疫疗法组合物。

66. 如权利要求62至65中任一项的方法,其进一步包括至少两次、至少三次、至少四次、至少五次或至少六次重复所述施用。

67. 如权利要求66的方法,其进一步包括以约14天,或约21至约28天,或约一季,或约半年,或约一年之间隔重复所述施用。

68. 一种在动物中诱导免疫应答的方法,其包括以有效生成包含特异性结合至Aβ的抗体的免疫应答的方案,向所述动物施用如权利要求1至41中任一项的多肽、如权利要求42至50的免疫疗法组合物、如权利要求51至59的药物组合物或如权利要求60或权利要求61的核酸免疫疗法组合物。

69. 如权利要求68的方法,其中所述免疫应答包含特异性结合至Aβ的抗体。

70. 如权利要求68或69中任一项的方法,其中所述诱导免疫应答包括特异性结合至Aβ的N端区的抗体。

71. 一种免疫接种试剂盒,其包含如权利要求42至50中任一项的免疫疗法组合物。

72. 如权利要求71的试剂盒,其进一步包含佐剂。

73. 如权利要求72的试剂盒,其中所述免疫疗法组合物在第一容器中且所述佐剂在第二容器中。

74. 一种试剂盒,其包含如权利要求60或权利要求61的核酸免疫疗法组合物。

75. 如权利要求74的试剂盒,其进一步包含佐剂。

76. 如权利要求75的试剂盒,其中所述核酸在第一容器中且所述佐剂在第二容器中。

用于治疗阿尔茨海默病之 β 淀粉样蛋白疫苗

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2020年9月17日申请之美国临时申请第63/079,806号之权益,其以全文引用之方式并入本文中。

[0003] 序列表声明

[0004] 序列表的计算机可读形式通过电子提交方式与本申请一起提交,并通过引用其整体并入本申请。序列表包含在2021年5月18日创建的文件中,具有文件名“20-1083-WO_Sequence-Listing_ST25.txt”,并且大小为18kb。

技术领域

[0005] 本发明涉及免疫学及医学之技术领域,且尤其涉及阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)及蛋白质错误折叠之其他疾病之治疗。

背景技术

[0006] 阿尔茨海默病(AD)为引起老年痴呆之进行性疾病。一般而言,该疾病分为两种类型:晚发型疾病,其在老年期(65岁以上)发生;及早发型疾病,其在老年期之前,即在35岁与60岁之间已发展至某种程度。在两种类型之疾病中,病理是相同的,但在较年轻时开始之情况下倾向于产生更严重及更广泛之异常。该疾病之特征在于脑部中之至少两种类型的病变,即神经原纤维缠结及老化斑块。老化斑块(即,淀粉样蛋白斑块)为在中心交叉有细胞外淀粉样蛋白沉积物之长达150 μ m的混乱神经纤维网之区域,其可由脑部组织切片之显微镜分析发现。中枢神经系统内之淀粉样蛋白斑块之积累亦与唐氏综合征(Down's syndrome)及其他认知病症(大脑淀粉样血管病(CAA))及眼部疾病(年龄相关之黄斑部变性)相关。

[0007] 斑块之主要成分是称为A β 或 β 淀粉样蛋白肽的肽。A β 肽为称作淀粉样前体蛋白质(APP)之大型跨膜糖蛋白之38至43个氨基酸的4kDa内部片段。作为由不同分泌酶进行之APP之蛋白水解处理之结果,A β 主要以短形式(长度为40个氨基酸)及长形式(长度范围为42至43个氨基酸)存在。APP之疏水性跨膜域之一部分可存在于A β 之羧基端,且可解释A β 聚集成斑块之能力(尤其在长形式之情况下)。脑部中淀粉样蛋白斑块之积累最终引起神经元细胞死亡。与此类型之神经退化相关之认知及身体症状可表征阿尔茨海默病。

[0008] 因此,需要用于预防或治疗阿尔茨海默病之新颖疗法及试剂,尤其能够引起针对患者中所存在之A β 之免疫应答的疗法及试剂。

发明内容

[0009] 在一些实施例中,本公开涉及一种或多种包含来自SEQ ID NO:01之残基1至10或残基12至25之3至10个氨基酸的肽。举例而言,肽可包含选自由SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:96中之任一者组成的组的氨基酸序列。在一些实施例中,肽来自SEQ ID NO:01之残基1至7及任选地C端半胱氨酸,且举例而言,其包括SEQ ID NO:05至SEQ ID NO:09、SEQ ID NO:13至SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:20至SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27或SEQ ID

NO:31中之任一者。在一些实施例中,本公开涉及一种来自SEQ ID NO:01之残基2至8及任选地C端半胱氨酸的肽,举例而言,其包括SEQ ID NO:12至SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:19至SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:25至SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31或SEQ ID NO:34中之任一者。在一些实施例中,本公开涉及来自SEQ ID NO:01之残基12至24,或残基12至23,或残基12至22,或残基13至25,或残基13至24,或残基13至23,或残基13至22,或残基14至25,或残基14至24,或残基14至23,或残基14至22,或残基15至25,或残基15至24,或残基15至23,或残基15至22的肽。

[0010] 在一些实施例中,本公开涉及具有以下结构的肽:[第一肽]-[接头1]-[第二肽]-[接头2]-[Cys],其中第一肽和第二肽为相同或不同的且包括例如来自SEQ ID NO:01之残基1至10的3至10个氨基酸、来自SEQ ID NO:01之残基12至25的3至10个氨基酸、SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:96及末端附接有-RR二肽序列之类似序列(例如,SEQ ID NO:101)。另外,接头1及接头2可为相同或不同的。

[0011] 在一些实施例中,肽可在肽之C端部分包括例如连接至载体之接头,该接头可包括AA、AAA、KK、KKK、SS、SSS、AGAG (SEQ ID NO:99)、GG、GGG、GAGA (SEQ ID NO:98) 及KGKG (SEQ ID NO:100)之氨基酸序列。在一些实施例中,连接至载体之接头(若存在)可包括C端半胱氨酸(C)。举例而言,多肽可包括DAEFRHD-XXC (SEQ ID NO:05) 或DAEFRHDDR-XXC (SEQ ID NO:101)之氨基酸序列,其中XX及C为独立地任选的且若存在,则XX可为AA、AAA、KK、KKK、SS、SSS、AGAG (SEQ ID NO:99)、GG、GGG、GAGA (SEQ ID NO:98) 及KGKG (SEQ ID NO:100)。在一些实施例中,肽在N端进一步包含封端胺。

[0012] 在其他实施例中,本公开涉及一种包括本发明之多肽的免疫疗法组合物,其中多肽可连接至载体。载体可包括血清白蛋白、免疫球蛋白分子、甲状腺球蛋白、卵白蛋白、破伤风类毒素(TT)、白喉类毒素(DT)、白喉类毒素的经遗传修饰的交叉反应物质(CRM)、CRM197、脑膜炎球菌外膜蛋白复合物(OMPC)及流感嗜血杆菌(*H. influenzae*)蛋白D(HiD)、rEPA(铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)外毒素A)、KLH(钥孔血蓝蛋白)及鞭毛蛋白。

[0013] 在其他实施例中,本公开涉及一种药物组合物,其包括本发明之多肽和/或免疫疗法组合物且包括至少一种佐剂。佐剂可为氢氧化铝、磷酸铝、硫酸铝、3-脱-O-酰化单磷酸基脂质A(MPL)及其合成类似物、QS-21、QS-18、QS17、QS-7、TQL1055、完全弗氏佐剂(Complete Freund's Adjuvant;CFA)、不完全弗氏佐剂(Incomplete Freund's Adjuvant;IFA)、水包油乳液(诸如角鲨烯或花生油)、CpG、聚谷氨酸、聚赖氨酸、AddaVax™、MF59®及其组合。另外,配制剂可包括脂质体制剂、稀释剂或多种抗原呈递系统(MAP)中之一者或多者。MAP可包括基于Lys之树突状架构、辅助型T细胞表位、免疫刺激亲脂性部分、细胞穿透肽、自由基诱导之聚合、自组装纳米粒子(作为抗原呈递平台)及金纳米粒子中之一者或多者。

[0014] 本发明之实施例亦涉及编码本发明之多肽和免疫疗法组合物之核酸序列。核酸可包括于包括核酸及至少一种佐剂之核酸免疫疗法组合物中。

[0015] 在一些实施例中,本发明涉及一种用于在受试者中治疗或实现防治阿尔茨海默病之方法,及用于在患有阿尔茨海默病或具有发展此疾病之风险之受试者中抑制或减少A β 之聚集的方法。该方法包括向受试者施用本发明的免疫疗法组合物、核酸免疫疗法组合物或药物配制剂。

[0016] 本发明之方法可包括重复施用至少第二次、至少第三次、至少第四次、至少第五次

或至少第六次,且可包括以约半个月、约21至约28天、约一季、约半年或约一年的间隔重复施用。

[0017] 此外,本发明之方法涉及在动物中诱导免疫应答。该等方法包括以有效产生免疫应答之方案向动物施用本发明之多肽、免疫疗法组合物、药物配制剂或核酸免疫疗法组合物,该免疫应答包括特异性结合于A β 之抗体。免疫应答可包括特异性结合于A β 之N端区的抗体。

[0018] 在其他实施例中,本发明涉及一种免疫接种试剂盒,其包括本发明的免疫疗法组合物且可包括佐剂,其中免疫疗法组合物可在第一容器中且佐剂可在第二容器中。

[0019] 此外,本发明涉及一种试剂盒,其包括本发明之核酸免疫疗法组合物且可包括佐剂。核酸可在第一容器中且佐剂可在第二容器中。

附图说明

[0020] 图1显示比较天竺鼠血清针对 β 淀粉样蛋白单肽免疫原QKLVFFAEC (SEQ ID NO:40) 及DAEFRHDC (SEQ ID NO:39) 之效价的实验结果。所有免疫原均包含用于与经顺丁烯二酰亚胺活化之CRM197载剂偶联的C端半胱氨酸。使用含QS21之AddaVax基于角鲨烯之水包油纳米乳液作为佐剂。

[0021] 图2显示测量鼠类血清针对淀粉样蛋白 β 单肽免疫原AEFRHDSGC (SEQ ID NO:38) 及DAEFRHDC (SEQ ID NO:39) 之效价的实验结果。该等肽经由N端半胱氨酸与经顺丁烯二酰亚胺活化之CRM197载剂偶联。使用QS21作为佐剂。

[0022] 发明详述

[0023] 本发明提供包含 β 淀粉样蛋白 (A β) 肽的肽组合物及免疫疗法组合物。本发明亦提供在受试者中治疗或实现防治阿尔茨海默病或其他具有 β 淀粉样蛋白沉积之疾病的方法,包括用于在患有阿尔茨海默病或其他含有淀粉样蛋白 β 积累之疾病或具有发展此类疾病之风险之受试者中清除及阻止沉积物之形成、抑制或减少A β 之聚集、阻断由神经元进行之A β 之结合和/或摄取、抑制细胞间之A β 物质之传输及抑制脑部区域之间的病理扩散。该等方法包括向此类患者施用包含 β 淀粉样蛋白 (A β) 肽之组合物。

[0024] 以下为多个术语之定义。除非上下文另外明确规定,否则如本文所用之单数形式“一(a/an)”及“该(the)”包括复数个参照物。举例而言,术语“化合物”或“至少一种化合物”可包括复数种化合物,包括其混合物。

[0025] 除非另外自上下文显而易见,否则术语“约”涵盖非实质性变化,诸如在所陈述之值之标准测量误差边际(例如SEM)内的值。举例而言,在提及诸如参数、量、持续时间之可测量值时,如本文中所使用之术语“约”可涵盖与指定值相差 $\pm 10\%$ 或更少、 $\pm 5\%$ 或更少,或 $\pm 1\%$ 或更少或更小之变化。对值之范围的指定包括该范围内或界定该范围之所有整数,及由该范围内之整数界定的所有子范围。如本文所用,统计显著性意谓 $p \leq 0.05$ 。

[0026] “包含”或“包括”一个或多个所叙述之要素之组合物或方法可包括未具体叙述之其他要素。举例而言,“包含”或“包括”多肽序列之组合物可含有单独的或与其他序列或成分组合之序列。

[0027] 若受试者具有至少一种已知的风险因子(例如,年龄、遗传、生化、家族史及环境暴露),则个体罹患疾病之风险增加,该至少一种已知的风险因子使具有该风险因子之个体与

不具有风险因子之个体相比具有统计显著更高的发展疾病之风险。

[0028] 术语“患者”包括接受防治性或治疗性治疗之人类及其他哺乳动物受试者,包括未经治疗之受试者。如本文所用,术语“受试者”或“患者”是指需要治疗之任何单一受试者,包括其他哺乳动物受试者,诸如人类、牛、狗、天竺鼠、兔等。受试者亦意欲包括任何参与临床研究试验之未显示疾病之任何临床病征之受试者,或参与流行病学研究之受试者,或用作对照之受试者。

[0029] 术语“疾病”是指损害生理功能之任何异常病状。该术语广泛地用于涵盖任何使生理功能受损之病症、疾患、异常、病变、病、病状或综合征,与病因之性质无关。

[0030] 术语“症状”是指如受试者所感知之疾病的主观证据,诸如步态改变。“病征”是指如医师所观测之疾病的客观证据。

[0031] 如本文所用,术语“治疗(treat/treatment)”是指缓解或缓和与疾病相关之一种或多种症状或影响;预防、抑制或推迟疾病之一种或多种症状或影响的发作;降低疾病之一种或多种症状或影响之严重性或发生率;和/或增加或引起如本文所描述之所需结果。

[0032] 如本文所用,术语“预防(prevention/prevent/preventing)”是指在疾病发作之前,在已存在或不存在AB病理学之情况下(初级预防及次级预防),使本发明的肽或免疫疗法组合物与受试者接触(例如施用),藉此推迟临床症状之发作和/或在疾病发作之后缓解疾病之症状(与受试者未与肽或免疫疗法组合物接触时相比),且并非指完全抑止疾病之发作。在一些情况下,可在施用本发明的肽或免疫疗法组合物之后的有限时间保持预防作用。在其他情况下,可在包含施用本发明的肽或免疫疗法组合物的治疗方案之持续时间内保持预防作用。

[0033] 如本文所用,术语“减少(reduction/reduce/reducing)”是指降低在受试者或受试者之组织中存在的AB和/或tau之量,或抑止在受试者或受试者之组织中存在的AB之量的增加,其涵盖降低或抑止在受试者或受试者之组织中存在、积累、聚集或沉积的AB之量的增加(例如使增加速率降低)。在某些实施例中,降低或抑止在受试者中存在、积累、聚集或沉积的AB之量的增加(例如使增加速率降低)是指在受试者之中枢神经系统(CNS)中存在、积累、聚集或沉积的AB之量。在某些实施例中,降低或抑止在受试者中存在、积累、聚集或沉积的AB之量的增加(例如使增加速率降低)是指在受试者之外周(例如外周循环系统)中存在、积累、聚集或沉积的AB之量。在某些实施例中,降低或抑止在受试者中存在、积累、聚集或沉积的AB之量的增加(例如使增加速率降低)是指在受试者之脑部中存在、积累、聚集或沉积的AB之量。在一些实施例中,减少之AB为AB之病理学形式(例如 β 淀粉样蛋白肽(AB)之细胞外斑块沉积物;神经炎性淀粉样蛋白斑块)。在其他实施例中,神经变性疾病和/或 β 淀粉样蛋白病(β -amyloidopathies)之病理性指示物减少。

[0034] 术语“表位”或“抗原决定簇”是指抗原上之可使B细胞和/或T细胞对其起反应之位点,或抗原上之与抗体结合之位点。表位可由相邻的氨基酸或非相邻的氨基酸形成,该等氨基酸通过蛋白质之三级折叠而并列。由相邻的氨基酸形成之表位通常在暴露于变性溶剂后保留,而通过三级折叠形成之表位通常在变性溶剂处理后消失。表位通常以独特的空间构形包括至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个或至少10个氨基酸。测定表位之空间构形之方法包括例如x射线晶体学及2维核磁共振。参见例如Epitope Mapping Protocols, Methods in Molecular Biology, 第66卷, Glenn E. Morris编(1996)。

[0035] “免疫原性剂”或“免疫原”或“抗原”能够在向动物施用后诱导针对自身或针对自身之经修饰/加工之版本之免疫应答,该施用任选地与佐剂结合。术语“免疫原性剂”或“免疫原”或“抗原”是指包含肽、多肽或蛋白质之化合物或组合物,当以适当量(“免疫原性有效量”)施用时,该肽、多肽或蛋白质为“抗原性”或“免疫原性”,即能够诱导、引发、增加或增强细胞和/或体液免疫应答且由该应答之产物(T细胞、抗体)识别。免疫原可为肽或两个或更多个肽之组合,其包括至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个或至少10个氨基酸呈线性或空间构形。免疫原在单独或以组合形式提供,或与另一物质(其可一次性或以若干间隔施用)连接或融合时可为有效的。免疫原性剂或免疫原可包括连接至如本文所描述之载剂的抗原肽或多肽。

[0036] 编码抗原肽或多肽之核酸(诸如DNA或RNA)称为“DNA[或RNA]免疫原”,因为经编码之多肽在施用该DNA或RNA之后在体内表达。肽或多肽可由疫苗载体以重组方式表达,该疫苗载体可为裸DNA或RNA,其包含可操作地连接于启动子(例如,如本文所描述之表达载体或盒)的肽或多肽编码序列。

[0037] 术语“佐剂”是指当与抗原结合施用时增强对抗原之免疫应答,但当单独施用时不产生针对抗原之免疫应答的化合物。佐剂可通过若干机制来增强免疫应答,该等机制包括淋巴细胞募集、B细胞和/或T细胞之刺激及巨噬细胞之刺激。佐剂可为天然化合物、天然化合物之修饰版本或衍生物,或合成化合物。

[0038] 术语“肽”及“多肽”在本文中可互换使用且是指两个或更多个连续氨基酸之链。若进行区分及当进行区分时,上下文应使其含义为清楚明晰的。举例而言,若使本文所描述之两个或更多个肽接合以制备二聚肽或多聚肽,则可使用多肽指示“多”或“超过一个”肽。

[0039] 术语“药学上可接受”意谓载剂、稀释剂、赋形剂、佐剂或助剂与药物配制剂之其他成分兼容且对其受体基本上无害。

[0040] 术语“免疫疗法”或“免疫应答”是指产生针对受体中之AB肽的有益的体液(抗体介导)和/或细胞(由抗原特异性T细胞或其分泌产物介导)应答。此类应答可为通过施用免疫原(例如AB肽)诱导之活性应答。细胞免疫应答由多肽表位结合I类或II类MHC分子之呈现以活化抗原特异性CD4⁺T辅助细胞和/或CD8⁺细胞毒性T细胞来引发。应答亦可涉及单核细胞、巨噬细胞、NK细胞、嗜碱性粒细胞、树突状细胞、星形胶质细胞、小胶质细胞、嗜酸性粒细胞或先天性免疫之其他组分的活化。细胞介导之免疫应答的存在可通过增殖分析法(CD4⁺T细胞)或CTL(细胞毒性T淋巴细胞)分析法来测定。体液及细胞应答对免疫原之保护或治疗作用的相关贡献可通过自经免疫之同基因型动物单独地分离抗体及T细胞且在第二受试者中测量保护或治疗作用来区分。

[0041] 淀粉样蛋白β (Aβ)

[0042] Aβ(在本文中亦称为β淀粉样蛋白肽或Abeta)肽为APP之38至43个氨基酸的约4kDa内部片段(Aβ39、Aβ40、Aβ41、Aβ42及Aβ43)。举例而言,Aβ40由APP之残基672至711组成且Aβ42由APP之残基673至713组成。作为在体内或在原位由不同分泌酶进行之APP之蛋白水解处理之结果,Aβ主要以“短形式”(长度为40个氨基酸)及“长形式”(长度范围为42至43个氨基酸)存在。如本文所描述,表位或抗原决定簇位于Aβ肽之N端内,且包括Aβ之氨基酸1至10内,例如来自Aβ42之残基1至3、1至4、1至5、1至6、1至7或3至7之残基。表位或抗原决定簇之其他实例包括Aβ之残基2至4、2至5、2至6、2至7或2至8,Aβ之残基3至5、3至6、3至7、3至8或3至9,

或A β 42之残基4至7、4至8、4至9或4至10。如本文所描述,表位或抗原决定簇亦位于A β 肽之中心区域且包括A β 之氨基酸残基12至25、残基12至24、残基12至23、残基12至22、残基13至25、残基13至24、残基13至23、残基13至22、残基14至25、残基14至24、残基14至23、残基14至22、残基15至25、残基15至24、残基15至23、残基15至22内之残基。举例而言,来自A β 42之残基12至17、12至18、12至19、12至20、12至21、13至17、13至18、13至19、13至20、13至21、13至22、14至17、14至18、14至19、14至20、14至21、14至22、14至23、15至17、15至18、15至19、15至20、15至21、15至22、15至23或15至24。表位或抗原决定簇之其他实例包括A β 42之残基16至18、16至19、16至20、16至21、16至22、16至23、16至24、16至25、17至19、17至20、17至21、17至22、17至23、17至24或17至25。表位或抗原决定簇之其他实例包括A β 42之残基18至20、18至21、18至22、18至23、18至24、18至25、19至21、19至22、19至23、19至24、19至25、20至22、20至23、20至24、20至25、21至23、21至24或21至25。A β 为阿尔茨海默病之特征斑块之主要组分。A β 由两种酶(称为 β 及 γ 分泌酶)进行之大型蛋白质APP之处理而产生。APP中之已知与阿尔茨海默病相关之突变在靠近 β 分泌酶或 γ 分泌酶之位点处或在A β 内发生。APP之疏水性跨膜域之一部分存在于A β 之羧基端,及可解释A β 聚集成斑块之能力(尤其在长形式之情况下)。脑部中淀粉样蛋白斑块之积累最终引起神经元细胞死亡。阿尔茨海默病之特征在于与此类型之神经退化相关之身体症状。

[0043] 肽免疫原

[0044] 用于主动免疫接种之药剂可在患者中诱导免疫应答且可充当免疫疗法。用于主动免疫接种之药剂可为例如用于在实验动物中产生单克隆抗体之相同类型之免疫原,且可包括来自A β 肽之一区域之3、4、5、6、7、8、9、10、11或12或更多个相邻的氨基酸。

[0045] 在本发明之一些实施例中,免疫原可包括A β 肽,该A β 肽包含来自A β (SEQ ID NO: 01)之N端序列之残基1至10的3至10个氨基酸。在本发明之一些实施例中,免疫原可包括A β 肽,该A β 肽包含来自A β (SEQ ID NO:01)之残基12至25的3至10个氨基酸。在一些实施例中,肽为未磷酸化的。在一些实施例中,肽在丝氨酸(S)、苏氨酸(T)和/或酪氨酸(Y)磷酸化位点处磷酸化。在本文所述肽之一些实施例中,肽可包含所列举的序列、由或基本上由所列举的序列组成。

[0046] 在本发明之一些实施例中,A β 肽免疫原可包括来自DAEFRHYEVHHQFFVWEAEDVGSNK GAIIGLMVGGVVIA (SEQ ID NO:01)之残基1至10或残基12至25之3至10个氨基酸。举例而言,A β 肽包括以下:

[0047] DAEFRHDSGY (SEQ ID NO:02)

[0048] DAEFRHDSG (SEQ ID NO:03)

[0049] DAEFRHDS (SEQ ID NO:04)

[0050] DAEFRHD (SEQ ID NO:05)

[0051] DAEFRH (SEQ ID NO:06)

[0052] DAEFR (SEQ ID NO:07)

[0053] DAEF (SEQ ID NO:08)

[0054] DAE (SEQ ID NO:09)

[0055] AEFRHDSGY (SEQ ID NO:10)

[0056] AEFRHDSG (SEQ ID NO:11)

[0057] AEFRHDS (SEQ ID NO:12)
[0058] AEFRHD (SEQ ID NO:13)
[0059] AEFRH (SEQ ID NO:14)
[0060] AEFR (SEQ ID NO:15)
[0061] AEF (SEQ ID NO:16)
[0062] EFRHDSGY (SEQ ID NO:17)
[0063] EFRHDSG (SEQ ID NO:18)
[0064] EFRHDS (SEQ ID NO:19)
[0065] EFRHD (SEQ ID NO:20)
[0066] EFRH (SEQ ID NO:21)
[0067] EFR (SEQ ID NO:22)
[0068] FRHDSGY (SEQ ID NO:23)
[0069] FRHDSG (SEQ ID NO:24)
[0070] FRHDS (SEQ ID NO:25)
[0071] FRHD (SEQ ID NO:26)
[0072] FRH (SEQ ID NO:27)
[0073] RHDSGY (SEQ ID NO:28)
[0074] RHDSG (SEQ ID NO:29)
[0075] RHDS (SEQ ID NO:30)
[0076] RHD (SEQ ID NO:31)
[0077] HDSGY (SEQ ID NO:32)
[0078] HDSG (SEQ ID NO:33)
[0079] HDS (SEQ ID NO:34)
[0080] DSGY (SEQ ID NO:35)
[0081] DSG (SEQ ID NO:36)
[0082] SGY (SEQ ID NO:37)
[0083] AEFRHDSGC (SEQ ID NO:38)
[0084] DAEFRHDC (SEQ ID NO:39)
[0085] QKLVFFAEC (SEQ ID NO:40)
[0086] VHHQKLVFFA (SEQ ID NO:41)
[0087] VHHQKLVFF (SEQ ID NO:42)
[0088] VHHQKLVF (SEQ ID NO:43)
[0089] VHHQKLV (SEQ ID NO:44)
[0090] VHHQKL (SEQ ID NO:45)
[0091] HHQKLVFFAE (SEQ ID NO:46)
[0092] HHQKLVFFA (SEQ ID NO:47)
[0093] HHQKLVFF (SEQ ID NO:48)
[0094] HHQKLVF (SEQ ID NO:49)
[0095] HHQKLV (SEQ ID NO:50)

[0096] HHQKL (SEQ ID NO:51)
[0097] HQKLVFFAED (SEQ ID NO:52)
[0098] HQKLVFFAE (SEQ ID NO:53)
[0099] HQKLVFFA (SEQ ID NO:54)
[0100] HQKLVFF (SEQ ID NO:55)
[0101] HQKLVF (SEQ ID NO:56)
[0102] HQKLV (SEQ ID NO:57)
[0103] HQKL (SEQ ID NO:58)
[0104] QKLVFFAEDV (SEQ ID NO:59)
[0105] QKLVFFAED (SEQ ID NO:60)
[0106] QKLVFFAE (SEQ ID NO:61)
[0107] QKLVFFA (SEQ ID NO:62)
[0108] QKLVFF (SEQ ID NO:63)
[0109] QKLVF (SEQ ID NO:64)
[0110] QKLV (SEQ ID NO:65)
[0111] QKL (SEQ ID NO:66)
[0112] KLVFFAEDVG (SEQ ID NO:67)
[0113] KLVFFAEDV (SEQ ID NO:68)
[0114] KLVFFAED (SEQ ID NO:69)
[0115] KLVFFAE (SEQ ID NO:70)
[0116] KLVFFA (SEQ ID NO:71)
[0117] KLVFF (SEQ ID NO:72)
[0118] KLVF (SEQ ID NO:73)
[0119] KLV (SEQ ID NO:74)
[0120] LVFFAEDVG (SEQ ID NO:75)
[0121] LVFFAEDV (SEQ ID NO:76)
[0122] LVFFAED (SEQ ID NO:77)
[0123] LVFFAE (SEQ ID NO:78)
[0124] LVFFA (SEQ ID NO:79)
[0125] LVFF (SEQ ID NO:80)
[0126] LVF (SEQ ID NO:81)
[0127] VFFAEDVG (SEQ ID NO:82)
[0128] VFFAEDV (SEQ ID NO:83)
[0129] VFFAED (SEQ ID NO:84)
[0130] VFFAE (SEQ ID NO:85)
[0131] VFFA (SEQ ID NO:86)
[0132] VFF (SEQ ID NO:87)
[0133] FFAEDVG (SEQ ID NO:88)
[0134] FFAEDV (SEQ ID NO:89)

[0135] FFAED (SEQ ID NO:90)

[0136] FFAE (SEQ ID NO:91)

[0137] FFA (SEQ ID NO:92)

[0138] FAEDVG (SEQ ID NO:93)

[0139] FAEDV (SEQ ID NO:94)

[0140] FAED (SEQ ID NO:95)

[0141] FAE (SEQ ID NO:96)

[0142] DAEFRHRR (SEQ ID NO:101)。

[0143] 在一些实施例中,AB肽为DAEFRHD (SEQ ID NO:05)、AEFRHDS (SEQ ID NO:12) 或 EFRHDSG (SEQ ID NO:18)。各AB序列任选地进一步包含C端半胱氨酸类似物,例如AEFRHDSGC (SEQ ID NO:38)、DAEFRHDC (SEQ ID NO:39) 及QVKLFFAEC (SEQ ID NO:40)。在这些实施例中的每一者中,肽可包含所列举的序列、由或基本上由所列举的序列组成。

[0144] 在一些实施例中,根据SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:96之AB肽在N端、C端或两端进一步包括精氨酸-精氨酸二肽 (RR)。举例而言,SEQ ID NO:101 (DAEFRHRR) 包含DAEFRHD (SEQ ID NO:05) 及C端之-RR二肽。

[0145] 在一些实施例中,如本文所描述之免疫原在多肽之C端部分或N端部分进一步包含接头(例如连接至载剂之接头)。在一些实施例中,接头包含氨基酸序列,该序列包括AA、AAA、KK、KKK、SS、SSS、AGAG (SEQ ID NO:99)、GG、GGG、GAGA (SEQ ID NO:98) 及KGKG (SEQ ID NO:100)。在一些实施例中,肽进一步包含C端半胱氨酸,且在包含接头之一些实施例中在接头之C端进一步包含C端半胱氨酸。在一些实施例中,肽进一步包含N端半胱氨酸,且在包含接头之一些实施例中在接头之N端进一步包含N端半胱氨酸。在一些实施例中,免疫原肽在N端进一步包含封端胺。

[0146] 在一些实施例中,两个或更多个AB肽连接形成AB多肽。一个或多个AB肽可通过肽内接头连接,该接头如上文及本文中所描述。举例而言,多肽接头位于第一肽之C端与第二肽之N端之间。在存在或不存在肽内接头的情况下,AB多肽可以任何次序排列。举例而言,特定的AB肽(“AB1”)可位于双AB多肽之N端部分,且相同或不同之AB肽(对于此实例,不同之A β , “AB2”)可位于该双多肽之C端部分。或者,在此实例中,该等AB肽可以相反之定向排列(AB2位于AB1之N端)。本文中提及之第一肽或第二肽不意欲表示在包含免疫原的超过一个AB肽的实施例中该等AB肽之次序。

[0147] 此外,AB肽或AB多肽之N端或C端部分可包括用于将肽或多肽缀合至载剂的接头,该接头如上文及本文中所描述。在一些实施例中,包含接头之AB肽或多肽进一步包含在接头之C端或N端的C端半胱氨酸。在一些实施例中,免疫原肽进一步包含在N端的封端胺。在一些实施例中,AB肽或多肽中之任一者可包括C端半胱氨酸而无接头。

[0148] 当AB肽连接形成AB多肽时,接头可为可裂解接头。如本文所用,术语“可裂解接头”是指在抗原性肽之间的任何接头,其促进或以其他方式使得AB多肽比不具有此类可裂解接头之等效肽更易于通过裂解(例如通过肽链内切酶、蛋白酶、低pH值或任何其他可在抗原呈递细胞内或周围进行的方法)彼此分离且藉此更易于由抗原呈递细胞处理。在一些实施例中,可裂解接头为蛋白酶敏感性二肽或寡肽可裂解接头。在某些实施例中,可裂解接头对由蛋白酶之胰蛋白酶家族中之蛋白酶之裂解敏感。在一些实施例中,可裂解接头包含氨基酸

序列,该序列包括精氨酸-精氨酸(Arg-Arg)、精氨酸-精氨酸-缬氨酸-精氨酸(Arg-Val-Arg-Arg;SEQ ID NO:97)、Gly-Ala-Gly-Ala(SEQ ID NO:98)、Ala-Gly-Ala-Gly(SEQ ID NO:99)、Lys-Gly-Lys-Gly(SEQ ID NO:100)、缬氨酸-瓜氨酸(Val-Cit)、缬氨酸-精氨酸(Val-Arg)、缬氨酸-赖氨酸(Val-Lys)、缬氨酸-丙氨酸(Val-Ala)及苯丙氨酸-赖氨酸(Phe-Lys)。在一些实施例中,可裂解接头为精氨酸-精氨酸(Arg-Arg)。

[0149] 在一些实施例中,接头包含约1至10个氨基酸、约1至9个氨基酸、约1至8个氨基酸、约1至7个氨基酸、约1至6个氨基酸、约1至5个氨基酸、约1至4个氨基酸、约1至3个氨基酸、约2个氨基酸或一个(1个)氨基酸。在一些实施例中,接头为一个氨基酸、两个氨基酸、三个氨基酸、四个氨基酸、五个氨基酸、六个氨基酸、七个氨基酸、八个氨基酸、九个氨基酸或十个氨基酸。

[0150] 在一些实施例中,接头之氨基酸组成可模拟在天然多域蛋白质中发现之接头的组成,其中某些氨基酸与其在全蛋白质中之丰度相比,在天然接头中过度呈现、呈现不足或相同地呈现。举例而言,苏氨酸(Thr)、丝氨酸(Ser)、脯氨酸(Pro)、甘氨酸(Gly)、天冬氨酸(Asp)、赖氨酸(Lys)、谷氨酰胺(Gln)、天冬酰胺(Asn)、精氨酸(Arg)、苯丙氨酸(Phe)、谷氨酸(Glu)及丙氨酸(Ala)在天然接头中过度呈现。相比之下,异亮氨酸(Ile)、酪氨酸(Tyr)、色氨酸(Trp)及半胱氨酸(Cys)呈现不足。通常,过度呈现之氨基酸为极性不带电或带电残基,其构成约50%之天然编码之氨基酸,且Pro、Thr及Gln为用于天然接头之最优选氨基酸。参见例如Chen,X.等人,“Fusion Protein Linkers:Property,Design and Functionality”*Adv Drug Deliv Rev.*,15;65(10):1357-1369(2013)。

[0151] 在一些实施例中,接头之氨基酸组成可模拟通常在重组蛋白中发现之接头(其通常可归类为柔性或刚性接头)之组成。举例而言,在重组蛋白质中发现的柔性接头通常由小型、非极性(例如Gly)或极性(例如Ser或Thr)氨基酸构成,其小型尺寸提供柔性且允许连接功能域之移动。例如Ser或Thr之并入可通过与水分子形成氢键来维持接头在水性溶液中之稳定性,且因此可减少接头与免疫原之间的相互作用。在一些实施例中,接头包含Gly及Ser残基之延伸子(“GS”接头)。广泛使用之柔性接头之实例为(Gly-Gly-Ser)_n、(Gly-Gly-Gly-Ser)_n或(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)_n,其中n等于1至3。调整拷贝数“n”可使接头优化以实现功能性免疫原域之充分分离,以便例如使免疫原性应答最大化。已设计许多其他柔性接头以用于可在本文中使用的重组融合蛋白。在一些实施例中,接头可富含诸如Gly及Ser之小型或极性氨基酸,但亦含有诸如Thr及Ala之其他氨基酸以维持柔性,以及诸如Lys及Glu之极性氨基酸以改良溶解性。参见例如Chen,X.等人,*Adv Drug Deliv Rev.*,15;65(10):1357-1369(2013)。

[0152] 在本发明之一些实施例中,AB多肽包含、基本上由或由选自以下之氨基酸序列组成:DAEFRHD(SEQ ID NO:05)、DAEFRHRR(SEQ ID NO:101)、EFRHDSG(SEQ ID NO:18)、AEFRHDS(SEQ ID NO:12)或QKLVFFAE(SEQ ID NO:61),其中XX任选地附接至SEQ NO ID NO:05、SEQ NO ID NO:101、SEQ NO ID NO:12或SEQ NO ID NO:18之C端,且半胱氨酸任选地附接至SEQ ID NOS:05、SEQ NO ID NO:101、SEQ NO ID NO:12或SEQ NO ID NO:18之C端,或若存在XX,则附接至XX之C端。XX可为相同或不同之氨基酸且在一些实施例中为AA、AAA、KK、KK、SS、SSS、GG及GGG。另外,XX可表示AGAG(SEQ ID NO:99)、GAGA(SEQ ID NO:98)及KGKG(SEQ ID NO:100)。

[0153] 在一些实施例中,双AB多肽自N端至C端为如下:

[0154] [第一肽]-[接头1]-[第二肽]-[接头2]-[Cys],或

[0155] [Cys]-[接头1]-[第一肽]-[接头2]-[第二肽],

[0156] 其中,第一肽为AB肽且第二肽为相同或不同之AB肽,且接头1、接头2及[Cys]中之每一者是任选的。在一些实施例中,第一肽和第二肽均来自SEQ ID NO:01之残基1至10,且可为相同或不同的。在一些实施例中,第一肽或第二肽均来自SEQ ID NO:01之残基12至25,且可为相同或不同的。在一些实施例中,第一或第二肽是来自SEQ ID NO:01之残基1至10且另一肽来自SEQ ID NO:01之残基12至25。在一些实施例中,接头1及接头2可为相同或不同的。

[0157] 在一些实施例中,第一肽或第二肽中之至少一者选自SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:39,且在一些实施例中,第一肽和第二肽两者均选自SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:39。在一些实施例中,第一肽或第二肽中之至少一者选自SEQ ID NO:40至SEQ ID NO:96,且在一些实施例中,第一肽和第二肽两者均选自SEQ ID NO:40至SEQ ID NO:96。在一些实施例中,第一或第二肽选自SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:39及SEQ ID NO:101,且另一肽选自SEQ ID NO:40至SEQ ID NO:96及SEQ ID NO:101。在一些实施例中,第一或第二肽包括分别在N端或C端进一步包含RR-或-RR之根据SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:96的肽。在一些实施例中,第一肽和第二肽两者均包括分别在N端或C端进一步包含RR-或-RR二肽之根据SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:96的肽。在一些实施例中,-RR二肽在C端上。

[0158] 在一些实施例中,第一肽和第二肽中之每一者包括SEQ ID NO:01之残基1至10,或SEQ ID NO:01之残基12至25,或SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:96或SEQ ID NO:101中之一者,或分别在N端或C端进一步包含RR-或-RR之根据SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:96的肽。

[0159] AB肽之非限制性实例包括SEQ ID NO:02至SEQ ID NO:96,及进一步包括C端半胱氨酸或C端-RR二肽之类似序列,例如SEQ ID NO:101。

[0160] 肽-载体免疫原

[0161] AB肽(及其多肽)为根据本发明之免疫原。在一些实施例中,本文所描述的肽可连接至适合的载体以帮助引发免疫应答。因此,本发明之一种或多种肽和多肽可连接至载体。举例而言,AB肽可在存在或不存在以下之情况下连接至载体:如上文及本文中所描述之接头以及任选地,接头之C端处且若接头不存在,则肽之C端处之C端半胱氨酸。举例而言,各AB肽或多肽可在存在或不存在以下之情况下连接至载体:用于提供肽与载体之间的接头之间隔氨基酸(例如Gly-Gly、Gly-Gly-Gly、Ala-Ala、Ala-Ala-Ala、Lys-Lys、Lys-Lys-Lys、Ser-Ser、Ser-Ser-Ser、Gly-Ala-Gly-Ala (SEQ ID NO:98)、Ala-Gly-Ala-Gly (SEQ ID NO:99)或Lys-Gly-Lys-Gly (SEQ ID NO:100))以及任选地,C端半胱氨酸或N端半胱氨酸。

[0162] 适合的载体包括(但不限于)血清白蛋白、钥孔血蓝蛋白、免疫球蛋白分子、甲状腺球蛋白、卵白蛋白、破伤风类毒素或来自其他病原性细菌之类毒素,诸如白喉类毒素(例如CRM197)、大肠杆菌(E.coli)、霍乱或幽门螺旋杆菌(H.pylori),或经灭毒之毒素衍生物。T细胞表位亦为适合的载体分子。一些缀合物可通过使本发明的肽免疫原连接至免疫刺激性聚合物分子(例如三棕榈酰基-S-甘油半胱氨酸(Pam3Cys)、甘露聚糖(甘露糖聚合物)或葡萄糖(β -1-2聚合物))、细胞因子(例如IL-1、IL-1 α 肽和 β 肽、IL-2、 γ -INF、IL-10、GM-CSF)及趋化因子(例如MIPF1- α 、MIPF1- β 及RANTES)来形成。其他载体包括类病毒颗粒。在一些组

合物中,免疫原性肽亦可通过化学交联来连接至载体。用于将免疫原连接至载体之技术包括使用N-丁二酰亚胺基-3-(2-吡啶基-硫基)丙酸酯(SPDP)及4-(N-顺丁烯二酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸丁二酰亚胺酯(SMCC)形成二硫键(若肽不具有巯基,则此可通过添加半胱氨酸残基来提供)。此等试剂产生其自身与一个蛋白质上的肽半胱氨酸残基之间的二硫键,且经由赖氨酸上之 ϵ -氨基或其他氨基酸中之其他游离氨基产生酰胺键。在一些实施例中,化学交联可包含使用SBAP(3-(溴乙酰氨基)丙酸丁二酰亚胺酯),其为用于经由N-羟基丁二酰亚胺(NHS)酯及溴乙酰基反应性基团进行之胺-巯基结合的短(6.2埃)交联剂。各种此类二硫化物/酰胺形成剂描述于Jansen等人,“Immunotoxins:Hybrid Molecules Combining High Specificity and Potent Cytotoxicity”*Immunological Reviews* 62:185-216(1982年2月)中。其他双功能偶联剂形成硫醚而非二硫键。许多此等硫醚形成剂是可商购的,且包括6-顺丁烯二酰亚胺基己酸、2-溴乙酸及2-碘乙酸、4-(N-顺丁烯二酰亚胺基-甲基)环己烷-1-甲酸之反应性酯。羧基可通过将其与丁二酰亚胺或1-羟基-2-硝基-4-磺酸、钠盐组合来活化。类病毒颗粒(VLP),亦称为假病毒颗粒或病毒衍生之颗粒,表示由能够在体内自行组装成具有所定义之球面对称性之VLP的病毒衣壳和/或包膜蛋白之多个拷贝构成的亚基结构(Powilleit等人,(2007)PLoS ONE 2(5):e415)。或者,肽免疫原可连接至至少一个能够结合MHC II类分子之大部分的人工T细胞表位,诸如泛DR表位(“PADRE”)。泛DR结合肽(PADRE)描述于US 5,736,142、WO 95/07707及Alexander等人,Immunity,1:751-761(1994)中。

[0163] 活性免疫原可以多聚形式呈现,其中免疫原之多个拷贝以单一共价分子形式在载体上呈现。在一些实施例中,载体包括各种形式之AB肽。举例而言,免疫原之AB肽可包括具有不同次序之不同AB抗原的肽,或可在存在或不存在肽内接头和/或连接至载体之接头的情况下呈现。

[0164] 在一些组合物中,免疫原性肽亦可表达为与载体之融合蛋白。在某些组合物中,免疫原性肽可在氨基端、羧基端或在内部连接至载体。在一些组合物中,载体为CRM197。在一些组合物中,载体为白喉类毒素。

[0165] 核酸

[0166] 本发明进一步提供编码如本文中所揭示之 β 淀粉样蛋白(A β)肽中之任一者的核酸。如本文中所揭示之核酸免疫疗法组合物包含如本文中所揭示之编码一种或多种 β 淀粉样蛋白(A β)肽的核酸序列。举例而言,A β 肽包括长度为3至10个氨基酸残基且来自SEQ ID NO:01之前十个N端残基或来自SEQ ID NO:01之残基12至25的序列。因此,且作为非限制性实例,编码SEQ ID NO:2至96及101中之任一者的一种或多种核酸提供本发明的药物组合物的免疫原及组分。同样,一种或多种核酸可编码具有RR-N端或-RR C端二肽之SEQ ID NO:2至96中之任一者。在某些实施例中,肽序列可由相同或单独的核酸序列编码,该等核酸序列亦可编码接头至载体及如本文所描述之N端或C端半胱氨酸。另外,当单一核酸序列编码超过一个A β 肽时,序列亦可编码如本文中所描述之接头或可裂解接头。

[0167] 诸如编码免疫原且用作疫苗之DNA之核酸可称为“DNA免疫原”或“DNA疫苗”,因为经编码之多肽在施用该DNA之后在体内表达。DNA疫苗意欲通过以下方式在受试者中诱导针对其编码之感兴趣的蛋白质的抗体:将编码感兴趣的蛋白质之DNA整合至载体(质体或病毒)中;向受试者施用载体;及在已施用载体之受试者中表达感兴趣的蛋白质以刺激受试者

之免疫系统。DNA疫苗在施用之后长时间留存于受试者体内,且继续缓慢产生经编码之蛋白质。因此,可避免过度免疫应答。DNA疫苗亦可使用基因工程改造技术来修饰。任选地,此类核酸进一步编码信号肽且可与连接至肽之信号肽一起表达。核酸之编码序列可与调节序列可操作地连接以确保编码序列之表达,诸如启动子、增强子、核糖体结合位点、转录终止信号及其类似物。编码AB之核酸可以经分离之形式存在或可克隆至一个或多个载体中。核酸可通过例如固态合成或重叠寡核苷酸之PCR来合成。在存在及不存在接头和/或可裂解接头以及存在或不存在基于蛋白质之载体的情况下,编码AB肽或AB多肽之核酸可接合为一个相邻的核酸,例如在表达载体内。

[0168] DNA比RNA更稳定,但涉及一些诸如诱导抗DNA抗体之潜在安全风险,因此在一些实施例中,核酸可为RNA。编码免疫原且用作疫苗之RNA核酸可称为“RNA免疫原”或“RNA疫苗”或“mRNA疫苗”,因为经编码之多肽在施用RNA之后在体内表达。核糖核酸(RNA)疫苗可安全地引导受试者之细胞机制产生一种或多种感兴趣的多肽。在一些实施例中,RNA疫苗可为非复制mRNA(信使RNA)或病毒衍生之自扩增RNA。基于mRNA之疫苗编码感兴趣的抗原且含有5'非翻译区及3'非翻译区(UTR),而自扩增RNA不仅编码抗原,且亦编码实现细胞内RNA扩增及大量蛋白质表达之病毒复制机制。经体外转录之mRNA可使用T7、T3或Sp6噬菌体RNA聚合酶自线性DNA模板产生。所得产物可含有编码如本文所揭示之感兴趣的肽的开放阅读框架、侧接的5'-UTR及3'-UTR序列、5'帽及poly(A)尾部。在一些实施例中,RNA疫苗可包含反式扩增RNA(例如,参见Beissert等人,Molecular Therapy 2020年1月28(1):119-128)。在某些实施例中,RNA疫苗编码如本文所揭示之AB肽和tau肽,且能够表达AB及tau肽,尤其在转移至诸如不成熟的抗原呈递细胞之细胞中的情况下。RNA亦可含有编码诸如免疫刺激元件之其他多肽序列的序列。在一些实施例中,RNA疫苗之RNA可为经修饰之RNA。在RNA之情况下,术语“经修饰”可包括RNA之任何非天然存在于RNA中之修饰。举例而言,经修饰之RNA可指具有5'帽之RNA;然而,RNA可包含其他修饰。5'帽可经修饰以具有在附接至RNA时使其稳定的能力。在某些实施例中,另一修饰可为天然存在之poly(A)尾部之延伸或截短或5'非翻译区(UTR)或3'非翻译区之变化。在一些实施例中,RNA疫苗或例如mRNA疫苗以有效量配制以在受试者中产生抗原特异性免疫应答。举例而言,向受试者施用RNA疫苗配制剂以刺激针对抗AB及tau抗原的受试者之体液和/或细胞免疫系统,且因此可进一步包含一种或多种佐剂、稀释剂、载剂和/或赋形剂,且以任何适合的途径施用于受试者以引发针对AB及tau抗原之保护性和/或治疗性免疫应答。

[0169] 揭示分子生物学之通用方法的基础文献,其中所有通过引用并入,包括:Sambrook,J等人,Molecular Cloning:ALaboratory Manual,第2版,Cold Spring Harbor Press,Cold Spring Harbor,N.Y.,1989;Ausubel,F M等人Current Protocols in Molecular Biology,第2卷,Wiley-Interscience,New York,(当前版本);Kriegler,Gene Transfer and Expression:A Laboratory Manual(1990);Glover,D M编,DNA Cloning:APractical Approach,第I卷及第II卷,IRL Press,1985;Albers,B.等人,Molecular Biology of the Cell,第2版,Garland Publishing,Inc.,New York,N.Y.(1989);Watson,J D等人,Recombinant DNA,第2版,Scientific American Books,New York,1992;及Old,R W等人,Principles of Gene Manipulation:An Introduction to Genetic Engineering,第2版,University of California Press,Berkeley,Calif.(1981)。

[0170] 用于操作核酸之技术(诸如在序列中产生突变、亚克隆、标记探针、测序、杂交及其类似技术)充分描述于科学及专利文献中。参见例如Sambrook编,MOLECULAR CLONING: ALABORATORY MANUAL(第2版),第1卷至第3卷,Cold Spring Harbor Laboratory,(1989); CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY,Ausubel编John Wiley&Sons,Inc.,New York (1997);LABORATORY TECHNIQUES IN BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY: HYBRIDIZATION WITH NUCLEIC ACID PROBES,第I部分Tijssen编Elsevier,N.Y.(1993)。

[0171] 核酸、载体、衣壳、多肽和其类似物可通过本领域技术人员所熟知之多种通用方法中之任一者来分析及定量。此等方法包括例如分析性生化方法,诸如NMR、分光光度法、放射照像术、电泳法、毛细管电泳法、高效液相层析法(HPLC)、薄层层析法(TLC)及超扩散层析法;各种免疫方法,例如液体或凝胶沉淀素反应、免疫扩散法、免疫电泳法、放射免疫分析法(RIA)、酶联免疫吸附分析法(ELISA)、免疫荧光分析法、南方分析法(Southern analysis)、北方分析法(Northern analysis)、斑点印迹分析法、凝胶电泳法(例如SDS-PAGE)、RT-PCR、定量PCR;其他核酸或目标或信号放大方法、放射性标记、闪烁计数及亲和层析法。

[0172] 药物组合物

[0173] 本文所描述的肽和免疫原可以呈现在通常与药学上可接受的佐剂及药学上可接受的赋形剂一起施用的药物组合物中。与单独使用肽之情况相比,佐剂使所诱导之抗体之效价和/或所诱导之抗体之结合亲和力增加。多种佐剂可与本发明之免疫原组合使用以引发免疫应答。一些佐剂增强针对免疫原之固有应答,而不会引起影响反应之定性形式的免疫原之构形变化。佐剂可为天然化合物、天然化合物之修饰版本或衍生物,或合成化合物。

[0174] 一些佐剂包括铝盐(诸如氢氧化铝及磷酸铝)、3-脱-0-酰化单磷酰基脂质A(MPL™)(参见GB 2220211(RIBI ImmunoChem Research Inc.,Hamilton,Montana,现属于Corixa)。如本文所用,MPL是指MPL之天然及合成版本。合成版本之实例包括PHAD®、3D-PHAD®及3D(6A)-PHAD®(Avanti Polar Lipids(Croda),Alabaster,Alabama)。

[0175] QS-21为自在南美洲发现之莫利纳皂皮树(Quillaja Saponaria Molina tree)之树皮中分离的三萜糖苷或皂素(参见Kensil等人,Vaccine Design:The Subunit and Adjuvant Approach(Powell及Newman编,Plenum Press,NY,1995))。QS-21产品包括Stimulon®(Antigenics,Inc.,New York,NY;现为Agenus,Inc.Lexington,MA)及QS-21疫苗佐剂(Desert King,San Diego,CA)。已于US 5,057,540及US 8,034,348中揭示、表征及评估QS-21,其揭示内容以引用之方式并入本文中。另外,已在多种临床试验中以多种剂量评估QS-21。参见NCT00960531(clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00960531),Hull等人,Curr Alzheimer Res.2017年7月;14(7):696-708(评估50mcg QS-21与不同剂量之疫苗ACC-001);Gilman S等人,“Clinical effects of Abeta immunization(AN1792) in patients with AD in an interrupted trial”Neurology.2005年5月10日;64(9):1553-62;Wald A等人,Safety and immunogenicity of long HSV-2 peptides complexed with rhHsc70 in HSV-2 seropositive persons Vaccine 2011 3;29(47):8520-8529;及Cunningham等人,Efficacy of the Herpes Zoster Subunit Vaccine in Adults 70 Years of Age or Older.NEJM.2016年9月15日;375(11):1019-32。QS-21用于FDA批准之疫苗,包括SHINGRIX。SHINGRIX含有50mcg QS-21。在某些实施例中,QS-21之量为约10μg至

约500 μ g。

[0176] TQL1055为QS-21之类似物(Adjuvance Technologies, Lincoln, NE)。与QS-21相比,半合成TQL1055之特征在于具有高纯度、提高之稳定性、降低之局部耐受性、降低之全身耐受性。已于US20180327436A1、W02018191598A1、W02018200656A1及W02019079160A1中揭示、表征及评估TQL1055,其揭示内容以引用之方式并入本文中。US20180327436A1教导,于20 μ g QS-21相比,多2.5倍之TQ1055是更优良的,但超过50 μ g之TQ1055未显示改良。然而,与QS-21不同,不存在随着TQL1055剂量增加而发生之体重减轻或RBC之溶血之增加。W02018200656A1教导,在最佳量之TQ1055下,可降低抗原量且达成优良的效价。在某些实施例中,TQL1055之量为约10 μ g至约500 μ g。

[0177] 其他佐剂为水包油乳液(诸如角鲨烯或花生油),任选地与免疫刺激剂组合,该等免疫刺激剂诸如单磷酸基脂质A(参见Stoute等人, N. Engl. J. Med. 336, 86-91 (1997))、普洛尼克聚合物(pluronic polymer)及死毒分枝杆菌(killed mycobacteria)。Ribi佐剂为水包油乳液。Ribi含有用含Tween 80之盐水乳化之可代谢油(角鲨烯)。Ribi亦含有经改进之分支杆菌产物,其发挥免疫刺激剂及细菌性单磷酸基脂质A之作用。其他佐剂可为CpG寡核苷酸(参见W098/40100)、细胞因子(例如IL-1、IL-1 α 肽和 β 肽、IL-2、 γ -INF、IL-10、GM-CSF)、趋化因子(例如MIF1- α 及MIF1- β 及RANTES)、皂素、RNA和/或TLR激动剂(例如TLR4激动剂,诸如MPL及合成MPL分子)、氨基烷基葡萄糖苷磷酸盐及其他TLR激动剂。佐剂可作为治疗组合物之组分与活性剂一起施用或可在施用治疗剂之前、同时或之后单独施用。

[0178] 在本发明之各种实施例中,佐剂为QS-21 (StimulonTM)。在一些组合物中,佐剂为MPL。在某些实施例中,MPL之量为约10 μ g至约500 μ g。在一些组合物中,佐剂为TQL1055。在某些实施例中,TQL1055之量为约10 μ g至约500 μ g。在一些组合物中,佐剂为QS21。在某些实施例中,QS21之量为约10 μ g至约500 μ g。在一些组合物中,佐剂为MPL与QS-21之组合。在一些组合物中,佐剂为MPL与TQL1055之组合。在一些组合物中,佐剂可在脂质体制剂中。

[0179] 另外,本发明之一些实施例可包含多重抗原呈递系统(MAP)。已研发出多重抗原呈递肽疫苗系统,以避免与常规疫苗(即,活灭毒、死毒或灭活病原体)、载体蛋白质及细胞毒性佐剂相关之不良作用。已使用两种主要方法来研发多重抗原呈递肽疫苗系统:(1)添加功能组分,例如T细胞表位、细胞穿透肽和亲脂性部分;及(2)使用具有既定尺寸之纳米材料,例如自组装肽、非肽树突状聚合物及金纳米粒子作为抗原呈递平台之合成方法。使用多重抗原肽(MAP)系统可改良亚单位肽疫苗之有时存在之不良免疫原性。在MAP系统中,抗原肽之多个拷贝同时结合于非免疫原性基于Lys之树突状架构的 α -氨基及 ϵ -氨基,帮助赋予稳定性以避免降解,由此增强免疫细胞之分子识别,且与单独的小型抗原肽相比诱导更强的免疫应答。在一些组合物中,MAP包含基于Lys之树突状架构、辅助型T细胞表位、免疫刺激性亲脂性部分、细胞穿透肽、自由基诱导之聚合、自组装纳米粒子(作为抗原呈递平台)及金纳米粒子中之一者或多者。

[0180] 用于胃肠外施用的药物组合物优选为无菌且实质上等张的,且在GMP条件下制造。药物组合物可以单位剂型(即,用于单次施用之剂量)提供。药物组合物可使用一种或多种生理学上可接受之载体、稀释剂、赋形剂或助剂来配制。配制剂视所选择之施用途径而定。对于注射,本发明的肽可在水性溶液中,优选在生理学上相容之缓冲液中配制,诸如汉克氏溶液(Hank's solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理盐水或乙酸盐缓冲液

(以减少注射部位之不适)。溶液可含有配制剂,诸如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。或者,肽组合可呈冷冻干燥形式,以用于在使用之前用适合的媒介物(例如无菌无热原水)复原。

[0181] 肽(及任选地与肽融合之载剂)亦可以编码肽且在受试者中原位表达之核酸形式施用。编码免疫原之核酸区段通常连接至调节元件,诸如实现DNA区段在受试者中之预期靶细胞中之表达的启动子及增强子。对于血细胞中之表达,如诱导免疫应答所需,来自例如轻链或重链免疫球蛋白基因之启动子及增强子元件或CMV主要中间物早期启动子及增强子适用于引导表达。通常将所连接之调节元件及编码序列克隆至载体中。

[0182] DNA及RNA可以裸形式(即,不存在胶体或囊封材料)递送。或者,可使用多种病毒载体系统,包括反转录病毒系统(参见例如Boris-Lawrie及Teumin, Cur. Opin. Genet. Develop. 3, 102-109 (1993));腺病毒载体(参见例如Bett等人, J. Virol. 67 (10), 591-1 (1993));腺相关病毒载体(参见例如Zhou等人, J. Exp. Med. 179, 1867 (1994));来自痘科之病毒载体,包括牛痘病毒及禽痘病毒;来自 α 病毒属之病毒载体,诸如来源于辛得比斯(Sindbis)及塞姆利基森林病毒(Semliki Forest Virus)之病毒载体(参见例如Dubensky等人, J. Virol. 70, 508-519 (1996));委内瑞拉马脑炎病毒(Venezuelan equine encephalitis virus)(参见US 5,643,576)及棒状病毒,诸如水泡性口炎病毒(参见WO 96/34625)及乳突状瘤病毒(Ohe等人, Human Gene Therapy 6, 325-333 (1995); Woo等人, WO 94/12629及Xiao及Brandsma, Nucleic Acids. Res. 24, 2620-2622 (1996))。

[0183] 编码免疫原之DNA及RNA或含有其之载体可封装于脂质体、纳米粒子或脂蛋白复合物中。其他适合的聚合物包括例如鱼精蛋白脂质体、多糖粒子、阳离子纳米乳液、阳离子聚合物、阳离子聚合物脂质体、阳离子脂质纳米粒子、阳离子脂质、胆固醇纳米粒子、阳离子脂质-胆固醇、PEG纳米粒子或树突状聚合物纳米粒子。其他适合之脂质及相关类似物由US 5,208,036、US 5,264,618、US 5,279,833及US 5,283,185描述,其各自以全文引用之方式并入本文中。编码免疫原之载体及DNA亦可吸附至微粒载剂或与微粒载剂结合,微粒载剂之实例包括聚甲基丙烯酸甲酯聚合物及聚乳酸及聚(乳酸交酯-共-乙交酯)(参见例如McGee等人, J. Micro Encap. 1997; 14(2): 197-210)。

[0184] 药学上可接受的载剂组合物亦可包括添加剂,包括(但不限于)水、药学上可接受的有机溶剂、胶原蛋白、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啉酮、羧基乙烯基聚合物、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸钠、藻酸钠、水溶性聚葡萄糖、羧甲基淀粉钠、果胶、甲基纤维素、乙基纤维素、黄原胶、阿拉伯胶、酪蛋白、琼脂、聚乙二醇、二甘油、丙三醇、丙二醇、矿脂、石蜡、硬酯醇、硬脂酸、人类血清白蛋白、山梨糖醇、甘露醇、乳糖及可接受作为药物添加剂之界面活性剂。

[0185] 可接受治疗之受试者

[0186] 已在若干疾病中发现 $A\beta$ 斑块之存在,该等疾病包括阿尔茨海默病、唐氏综合征、轻度认知障碍、大脑淀粉样血管病、脑炎后帕金森症(postencephalitic parkinsonism)、创伤后痴呆症或拳击手型痴呆症、匹克症(Pick's disease)、C型尼曼匹克症(Niemann-Pick disease)、核上神经麻痹症、额颞叶痴呆症、额颞叶变性、嗜银颗粒性认知症、肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症/关岛型复合型帕金森痴呆症(parkinsonism dementia complex of Guam)、皮质基底变性(CBD)、路易氏体痴呆症(dementia with Lewy bodies)、阿尔茨海默病之路易氏体变化形式(LBVAD)、慢性创伤性脑病(CTE)、帕金森病、进行性核上麻痹(PSP)、干性年龄相关之黄斑部变性(AMD)及包涵体肌炎。

[0187] 本发明之组合物及方法可用于治疗或防治此等疾病中之任一者。由于神经性疾病与A β 之间的广泛相关性,因此本发明之组合物及方法可用于治疗或防治与未患有神经性疾病之受试者之平均值相比,显示升高之A β 水平(例如在CSF中)的任何受试者。本发明之组合物及方法亦可用于治疗或防治个体中之神经性疾病,该等个体具有A β 中之与神经性疾病相关之突变。该等方法尤其适用于治疗或防治阿尔茨海默病。

[0188] 可接受治疗之受试者包括具有罹患疾病之风险但未显示症状之个体,以及当前显示症状之患者,包括先前尚未接受针对疾病之治疗之未经治疗的受试者。具有罹患疾病之风险之受试者包括年老群体中之受试者,患有A β 病变之无症状受试者及具有已知之遗传疾病风险之受试者。此类个体包括具有已经历此疾病之亲属之个体,及通过基因或生化标志物之分析确定具有此风险之受试者。风险之基因标志物包括A β 中之突变,以及与神经性疾病相关之其他基因中的突变。举例而言,呈杂合且甚至呈纯合形式之ApoE4等位基因与阿尔茨海默病(AD)之风险相关。阿尔茨海默病之风险之其他标志物包括APP基因中之突变,尤其分别称为哈迪型(Hardy)及瑞典型突变之位置717以及位置670及671处之突变;早老素基因,即PS1及PS2中之突变;AD之家族病史;高胆固醇症或动脉粥样硬化。当前患有阿尔茨海默病之个体可通过PET成像、由特征性痴呆以及存在上文所描述之风险因子来识别。另外,存在许多可用于鉴别患有AD之个体之诊断测试。此等测试包括CSF或血液A β 42水平之测量。降低之A β 42水平以及增加之A β 40及降低之A β 42/A β 40比可表示AD之存在。一些突变与帕金森病相关,例如Ala30Pro或Ala53Thr,或其他基因之突变与帕金森病相关,诸如富含亮氨酸之重复激酶(LRRK2或PARK8)。亦可通过DSM IV TR之标准来诊断受试者是否患有上文所提及之任何神经性疾病。

[0189] 在无症状受试者中,可在任何年龄(例如10岁、20岁、30岁或更大)开始治疗。然而,通常直至受试者达到20、30、40、50、60、70、80或90岁才需要开始治疗。治疗通常在一段时间内需要多个剂量。可随时通过分析抗体水平来监测治疗。若反应下降,则指示加强剂量。对于潜在的唐氏综合征患者,可通过向母亲施用治疗剂而在产前开始治疗或在出生后不久开始治疗。

[0190] 治疗方法及用途

[0191] 本发明提供在患有阿尔茨海默病或具有发展阿尔茨海默病风险之受试者中抑制或减少A β 之聚集的方法。该等方法包括向受试者施用如本文所揭示之组合物。治疗有效量为在有效时段内提供时可实现所需免疫学或临床效果的剂量。可调节剂量方案以提供最佳治疗反应。举例而言,若干分次剂量可以所设定之间隔(例如一周、一个月)施用,或可如治疗情况危急所示而按比例减少剂量。

[0192] 本文所描述之组合物(药物组合物)可用于治疗或实现防治和/或预防阿尔茨海默病之方法中。在某些实施例中,如本文中所揭示之组合物提供用于减少受试者中和/或受试者之组织中之A β 的组合物。在另一实施例中,如本文中所揭示之组合物提供用于减少受试者之脑中之A β 的组合物。在一些实施例中,由组合物减少之A β 为A β 之病理学形式(例如 β 淀粉样蛋白肽(A β)之细胞外斑块沉积物;神经炎性淀粉样蛋白斑块)。在其他实施例中,由免疫疗法组合物减少神经变性疾病和/或 β 淀粉样蛋白病之病理学指示物。

[0193] 在防治性应用中,可以有效降低疾病之至少一种病征或症状之风险、减轻其严重性或推迟其发作的方案(施用之剂量、频率及途径)向易患疾病(例如阿尔茨海默病)或具有

罹患疾病之风险的受试者施用本文所描述之组合物。特别地,该方案可有效抑制或推迟AB斑块之形成,和/或抑制或推迟其毒性作用,和/或抑制或推迟行为缺陷之发展。在治疗性应用中,以可有效改善疾病之至少一种病征或症状或至少抑制其进一步恶化的方案(施用之剂量、频率及途径)向疑似患有疾病(例如阿尔茨海默病)之受试者或已患有疾病之患者施用本文所描述之组合物。特别地,该方案优选地有效减少AB斑块相关毒性和/或行为缺陷之水平或至少抑制其进一步增加。

[0194] 若经治疗之个体所达成的结果比未通过本发明之方法治疗之可比较的受试者之对照群体中的平均结果更有利,或若在对照性临床试验(例如,II期、II/III期或III期试验)中,在 $p < 0.05$ 或 0.01 或甚至 0.001 水平下在经治疗之受试者中显示比对照性受试者更有利的结果,则方案可视为防治性或预防性有效。

[0195] 有效剂量视许多不同因素而变化,诸如施用方式、目标部位、患者之生理学状态、患者是否为ApoE携带者、患者是否为人类或动物、所施用之其他药物及治疗是否为防治性或治疗性。

[0196] 在一些实施例中,有效量为 $25\mu\text{g}$ 至 $1000\mu\text{g}$ 或 $50\mu\text{g}$ 至 $1000\mu\text{g}$ 之总剂量。在一些实施例中,有效量为 $100\mu\text{g}$ 之总剂量。在一些实施例中,有效量为总计两次向受试者施用 $25\mu\text{g}$ 之剂量。在一些实施例中,有效量为总计两次向受试者施用 $100\mu\text{g}$ 之剂量。在一些实施例中,有效量为总计两次向受试者施用 $400\mu\text{g}$ 之剂量。在一些实施例中,有效量为总计两次向受试者施用 $500\mu\text{g}$ 之剂量。在一些实施例中,RNA(例如mRNA)疫苗通过皮内、肌肉内注射或通过鼻内施用来施用受试者。

[0197] 在一些实施例中,用于活性免疫疗法之药剂的量在每名患者 1 至 $1,000$ 微克(μg),或 0.1 至 $500\mu\text{g}$,或 10 至 $500\mu\text{g}$,或 50 至 $250\mu\text{g}$ 之范围内且对于人类施用,可为每次注射 1 至 100 或 1 至 $10\mu\text{g}$ 。注射时机可在一天一次至一周一次、一个月一次、一年一次、十年一次之间显著变化。典型方案由免疫接种及随后按时间间隔(诸如6周间隔或两个月)进行之加强注射组成。另一方案由免疫接种及在 $1, 2, 3, 4, 5, 6$ 或 12 个月后进行一次或多次加强注射组成。另一方案需要每两个月注射一次保持终身。或者,可如免疫应答之监测所指示进行不定期的加强注射。施用频率可为一次或多次,只要副作用在临床上可接受之范围内即可。

[0198] 在一些实施例中,如本文所揭示之组合物或方法包含向受试者施用核酸疫苗,该核酸疫苗包含一个或多个具有编码第一肽和第二肽之开放阅读框的DNA或RNA多核苷酸,其中向受试者施用介于 $10\mu\text{g}/\text{kg}$ 与 $400\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间的剂量之核酸疫苗。在一些实施例中,RNA多核苷酸之剂量为每剂量 1 至 $5\mu\text{g}$ 、 5 至 $10\mu\text{g}$ 、 10 至 $15\mu\text{g}$ 、 15 至 $20\mu\text{g}$ 、 10 至 $25\mu\text{g}$ 、 20 至 $25\mu\text{g}$ 、 20 至 $50\mu\text{g}$ 、 30 至 $50\mu\text{g}$ 、 40 至 $50\mu\text{g}$ 、 40 至 $60\mu\text{g}$ 、 60 至 $80\mu\text{g}$ 、 60 至 $100\mu\text{g}$ 、 50 至 $100\mu\text{g}$ 、 80 至 $120\mu\text{g}$ 、 40 至 $120\mu\text{g}$ 、 40 至 $150\mu\text{g}$ 、 50 至 $150\mu\text{g}$ 、 50 至 $200\mu\text{g}$ 、 80 至 $200\mu\text{g}$ 、 100 至 $200\mu\text{g}$ 、 120 至 $250\mu\text{g}$ 、 150 至 $250\mu\text{g}$ 、 180 至 $280\mu\text{g}$ 、 200 至 $300\mu\text{g}$ 、 50 至 $300\mu\text{g}$ 、 80 至 $300\mu\text{g}$ 、 100 至 $300\mu\text{g}$ 、 40 至 $300\mu\text{g}$ 、 50 至 $350\mu\text{g}$ 、 100 至 $350\mu\text{g}$ 、 200 至 $350\mu\text{g}$ 、 300 至 $350\mu\text{g}$ 、 320 至 $400\mu\text{g}$ 、 40 至 $380\mu\text{g}$ 、 40 至 $100\mu\text{g}$ 、 100 至 $400\mu\text{g}$ 、 200 至 $400\mu\text{g}$ 或 300 至 $400\mu\text{g}$ 。在一些实施例中,通过皮内或肌肉内注射向受试者施用核酸。在一些实施例中,在第零天向受试者施用核酸。在一些实施例中,在第七天,或第十四天,或第二十天向受试者施用第二剂量之核酸。

[0199] 本文中所述之组合物优选经由外周途径施用(即,使所施用之组合物引起稳定免疫应答和/或所诱导之抗体群穿过血脑屏障以到达脑部、脊髓或眼睛中之预期部位的途

径)。对于外周疾病,所诱导之抗体离开血管系统以到达预期外周器官。施用途径包括经口、皮下、鼻内、皮内或肌肉内。主动免疫接种之一些途径为皮下及肌肉内。肌肉内施用及皮下施用可在单一部位或多个部位进行。肌肉内注射最通常在手臂或腿部肌肉中进行。在一些方法中,将药剂直接注射至其中已积累有沉积物之特定组织中。

[0200] 可调节所施用之剂量之数量以产生更稳健的免疫应答(例如,更高效价)。

[0201] 经DNA或RNA编码之免疫原的有效量可在每公斤受体体重约1纳克与约1公克之间,或约0.1 μ g/kg与约10mg/kg之间,或约1 μ g/kg与约1mg/kg之间。适合于内部施用之剂型优选含有(对于后一剂量范围)每单元约0.1 μ g至100 μ g之活性成分。以组合物之总重量计,活性成分可在0.5至95重量%之范围内。或者,负载有抗原之树突状细胞的有效剂量在约 10^4 个与 10^8 个细胞之间。熟习免疫疗法技术者应能够在不进行不当实验的情况下调节此等剂量。

[0202] 核酸组合物可以便利的方式施用,例如通过便利且有效之途径注射。途径可包括(但不限于)皮内“基因枪”递送或肌肉内注射。通过皮下、静脉内或肌肉内途径施用经修饰之树突状细胞。其他可能的途径包括经口施用、鞘内腔、吸入、经皮施用或直肠施用。

[0203] 视施用途径而定,可组合物包覆于材料中以保护化合物免受酶、酸及其他可能使化合物失活之天然条件的作用。因此,可能需要用材料包覆组合物或将组合物与材料共同施用以防止组合物失活。举例而言,核酸酶或蛋白酶(例如,胰蛋白酶抑制剂、二异丙基氟磷酸酯及抑肽酶)之酶抑制剂或在诸如脂质体(包括水包油包水乳液以及常规脂质体(Strejan等人,J.Neuroimmunol 7:27,1984))之适当载剂中。

[0204] 本文所揭示之免疫治疗性组合物亦可与其他针对与AB之积累相关之疾病的治疗组合使用,该等治疗例如抗AB抗体,诸如特异性结合于本文所揭示之AB表位中之任一者的抗体、阿杜卡努单抗(aducanumab)或例如美国专利公开2010/202968及美国专利第8,906,367号中所揭示之任何抗体、ABBV-8E12、高苏拉内单抗(gosuranemab)、泽格特奈单抗(zagotenemab)、RG-6100、BIIB076,或W02014/165271、US10,501,531、W02017/191560、US2019/0330314、W02017/191561、US2019/0330316、W02017/191559及W02018/204546中所揭示之任何抗体。在一些组合疗法方法中,患者在本文所揭示之主动免疫疗法方法之前接受被动免疫疗法。在其他方法中,患者在相同的治疗时段期间接受被动及主动免疫疗法。或者,患者可在被动免疫疗法之前接受主动免疫疗法。组合亦可包括小型分子疗法及非免疫原性疗法,诸如**RAZADYNE**[®](加兰他敏(galantamine))、**EXELON**[®](雷司替明(rivastigmine))及**ARICEPT**[®](多奈派齐(donepezil))以及改良脑部中之神经细胞功能之其他组合物。

[0205] 本发明之组合物可用于制造供本文所描述之治疗方案用之药剂。

[0206] 治疗方案

[0207] 如本文所揭示之治疗方法的所需结果根据疾病及患者概况而变化且可由本领域技术人员测定。所需结果包括患者健康状况之改良。通常,所需结果包括可测量之指数,诸如病理性淀粉样蛋白纤维之减少或清除、减少或抑制淀粉样蛋白聚集和/或淀粉样蛋白纤维之沉积,及对病理性和/或聚集之淀粉样蛋白纤维之免疫应答增加。所需结果亦包括改善淀粉样蛋白疾病特异性症状。如本文所用,诸如“改良”、“增加”或“减少”之相对术语指示相对于对照物(诸如在开始本文所描述之治疗之前在同一受试者中之测量值,或在对照性个体或组中之测量值)之值。对照性个体为罹患与经治疗之个体相同的淀粉样蛋白疾病之个

体,其年龄与经治疗之个体大致相同(以保证经治疗之个体及对照性个体之疾病阶段类似),但尚未接受使用所揭示之配制剂进行之治疗。或者,对照性个体为健康个体,其年龄与经治疗之个体大致相同。治疗反应之变化或改良通常为统计显著的且在由小于或等于0.1、小于0.05、小于0.01、小于0.005或小于0.001之p值描述时可视为显著的。

[0208] 用于治疗受试者之如本文所揭示之组合物的有效剂量视许多不同因素而变化,包括施用方式、目标部位、患者之生理状态、患者是否为人类或动物、所施用之其他药物(若存在)及治疗是否为防治性或治疗性。可以滴定治疗剂量以使安全性及功效优化。免疫原之量亦可视为是否亦施用佐剂而定,其中在不存在佐剂之情况下需要较高剂量。用于施用之免疫原之量有时在每名患者1至500 μ g之范围内且对于人类施用,更通常在每次注射5至500 μ g范围内。偶尔,使用每剂量1至2mg之较高剂量。通常,每个人类剂量使用约10、20、50或100 μ g。剂量之时机可在一日一次至一年一次、十年一次之间显著变化。在任何提供免疫原之剂量的既定,若亦施用佐剂,则剂量大于1微克/患者且通常大于10微克/患者,且在不存在佐剂之情况下大于10微克/患者且通常大于100微克/患者。典型方案由免疫接种及随后以6周间隔施用之加强剂量组成。另一方案由免疫接种及在1、2、3、4、5、6或12个月后施用加强剂量组成。另一方案需要每两个月施用剂量,保持终身。或者,可如由免疫应答监测所指示不定期地施用加强剂量。

[0209] 当与用于阿尔茨海默病之第二治疗(诸如Razadyne[®](加兰他敏)、Exelon[®](雷司替明)及Aricept[®](多奈派齐))组合施用时,可根据产品说明书或根据用本发明之组合物进行之治疗视需要施用第二治疗。

[0210] 试剂盒

[0211] 本发明亦提供试剂盒(例如容器),其包含本文所揭示之组合物及相关材料,诸如使用说明书(例如药品说明书)。使用说明书可含有例如组合物及任选的一种或多种其他药剂之施用之说明书。肽和/或核酸组合物之容器可为单位剂量、散装封装(例如多剂量封装)或亚单位剂量。

[0212] 药品说明书是指市售治疗产品封装中通常所包括之说明,其含有关于适应症、用法、剂量、施用、与此类治疗产品之使用有关之禁忌和/或警告之信息。试剂盒亦可包括第二容器,其包含药学上可接受的缓冲液,诸如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液(Ringer's solution)及右旋糖溶液。其亦可包括就商业及使用者观点而言所需之其他材料,包括其他缓冲剂、稀释剂、过滤器、针及注射器。

[0213] 以下仅出于例示目的而提供,且不意欲限制上文以广义含义描述之本发明之范畴。本发明中所引用之所有参考文献均以引用的方式并入本文中。

[0214] 用途

[0215] 本文中所描述的肽、多肽、免疫原及药物组合物中之每一者可用于治疗一种或多种如本文中所描述之疾病。另外,本文中所描述的肽、多肽、免疫原及药物组合物中之每一者可用于用以治疗一种或多种如本文中所描述之疾病的方法中。本文中所描述的肽、多肽、免疫原及药物组合物中之每一者可用于用以制造药剂的方法中,该药剂治疗或用于治疗一种或多种如本文中所描述之疾病。

[0216] 本文中识别之所有美国及国际专利申请均以全文引用之方式并入本文中。

[0217] 实例

[0218] 实例1:动物免疫接种

[0219] 在第0天、第14天、第42天及第70天,用100 μ l测试品对雌性瑞士韦伯斯小鼠 (Swiss Webster mice) 之两个部位进行皮下注射。通过在200 μ l磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中组合25 μ g测试免疫原及25 μ g QS21佐剂来制备测试品。在第21天、第49天及第77天,通过切尾对小鼠进行放血且收集50 μ l血液,随后处理成血清。所测试的肽包括AEFRHDSGC (SEQ ID NO:38) 及DAEFRHDC (SEQ ID NO:39)。免疫原含有一个AB肽、C端接头及C端半胱氨酸且经由C端半胱氨酸与具有顺丁烯二酰亚胺键之CRM-197偶联。

[0220] 在第0天、第21天、第49天及第77天,向天竺鼠肌肉内注射50 μ g测试免疫原、含25 μ g QS21之200 μ l Addavax。在免疫接种后7天进行放血。所测试的肽包括DAEFRHDC (SEQ ID NO:39) 及QLLVFAEC (SEQ ID NO:40)。免疫原亦含有一个AB肽、C端接头及C端半胱氨酸且经由C端半胱氨酸与具有顺丁烯二酰亚胺键之CRM-197偶联。

[0221] 在研究开始时,雌性天竺鼠为至少5周龄,其体重为约350至500g。根据美国农业部 (U.S. Department of Agriculture's) (USDA) 及国际实验室动物护理评估及认证 (Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care) (AAALAC) 的指南,在经认可之设施中进行适用于动物饲养及护理之动物圈养及研究程序。

[0222] 免疫原浓度为0.5mg/ml。在每次施用测试免疫原之前,对各后肢上之约3cm²区域进行刮毛且用乙醇清洗以观测注射部位。各动物接受之测试免疫原剂量为200微升 (0.25微克/微升),分为两个单独的部位,每个部位每次注射100微升 (即,动物接受含50 μ g免疫原之100 μ l PBS+含25 μ g QS-21之100 μ l Addavax)。将25G-27G针肌肉内插入后肢中达到约0.25至0.5cm之深度,且以100微升/部位进行注射。对于每次施用,注射部位在每条后肢上之四个独立部位之间轮换且相隔至少2cm。

[0223] 实例2:抗体效价之测量

[0224] 在第1周、第4周、第8周及第12周经由颈静脉每次收集250-350微升的天竺鼠全血样品且在第1周、第3周、第7周及第11周通过对小鼠进行切尾每次收集50微升全血样品至血块活化剂试管中。在最终收集周结束时经由心脏穿刺将最大体积之全血收集至血块活化剂试管中。使所有血液样品在室温下凝结超过30分钟,在周围环境 (约20至25 $^{\circ}$ C) 下,在3,000RPM下离心10至15分钟,且将血清上清液单独转移至干净的冷冻小瓶中。将血清上清液在80 $^{\circ}$ C (\pm 12 $^{\circ}$ C) 下冷冻储存。

[0225] 对天竺鼠中AB β 之效价

[0226] 在研究之不同部分使用AB β 1至AB β 15及AB β 1至AB β 28两者。此两者均不形成聚集物。将2 μ g/ml之AB β 单体在PBS中以每孔100 μ l包被于板上,且在室温下温育过夜。用含1% BSA之PBS封闭板1小时。对板进行抽吸且向A列中添加200 μ l含0.1% BSA之PBS Tween。在第1行中,以1/100稀释度添加阴性天竺鼠血清,而该列之其余部分含有1/100之测试血清。每一步骤均将板中之各列连续稀释50%,得到1/100至1/12800之稀释度范围。在室温下温育各孔2小时,接着洗涤。制备抗天竺鼠IgG HRP于含0.1% BSA之PBS Tween中之1/5000稀释物,且随后向经洗涤之孔中添加100 μ l。将样品温育1小时且随后洗涤。使用Thermo-Fisher OPD试剂以每10毫升1个试剂来制备OPD底物。以1/10添加Thermofisher底物缓冲液且向各孔中添加100 μ l且温育15分钟。添加50 μ l 2N H₂SO₄以停止反应且用Molecular Devices Spectromax

在490nm下读取板。效价定义为提供50%最大OD之稀释度,且若其介于各稀释度之间,则进行外推。

[0227] 对小鼠中A β 之效价

[0228] 将2 μ g/ml之重组A β 在PBS中以每孔100 μ l包被在板上,且在室温下温育过夜。用含1% BSA之PBS封闭板1小时。对板进行抽吸且向A列中添加200 μ l含0.1% BSA之PBS Tween。在第1行中,以1/100添加阴性小鼠血清,而该列之其余部分含有1/100之测试血清。每一步骤均将板中之各列连续稀释50%,得到1/100至1/12800之稀释度。在室温下温育各孔2小时,接着洗涤。制备抗小鼠IgG HRP于含0.1% BSA之PBS Tween中之1/5000稀释物,且随后向经洗涤之孔中添加100 μ l。将反应混合物温育1小时且洗涤。使用ThermoFisher OPD试剂以每10毫升1个试剂来制备OPD底物。以1/10稀释度添加ThermoFisher底物缓冲液且各孔中接受100 μ l且温育15分钟。添加50 μ l 2N H₂SO₄以停止反应且用Molecular Devices Spectromax在490nm下读取板。效价定义为提供50%最大OD测量值之稀释度,且若其介于各稀释度之间,则进行外推。

[0229] 在如上文所描述之经免疫接种之天竺鼠中观测到的抗体效价展示于表1中。用含QS21之Addavax进行免疫接种。所报导之效价涉及第三次注射后之放血。此等结果呈现于图1中。

[0230] 表1

[0231] 经A β 表位免疫接种之天竺鼠(GP)中之抗体效价。

免疫原中之 A β 表位	SEQ ID	GP1 效价	GP 2 效价	GP 3 效价
QKLVFFAEC A β 15-22	40	7000	20000	18000
DAERFHDC A β 1-7	39	200	200	200

[0233] 在如上文所描述经免疫接种之小鼠中观测到的抗体效价展示于表2中。用QS21进行免疫接种。所报导之效价涉及第三次注射后之放血。此等结果呈现于图2中。

[0234] 表2

[0235] 经A β 表位免疫接种之小鼠中之抗体效价。

免疫原中之 A β 表位	SEQ ID	小鼠 1 效价	小鼠 2 效价	小鼠 3 效价	小鼠 4 效价
AEFRHDSGC A β 2-8	38	8000	15000	400	
DAEFRHDC Abeta 1-7	39	9000			10000

[0237] 实例3:用来自经如本文所揭示之疫苗免疫接种之天竺鼠的血清对阿尔茨海默病脑部组织进行染色。

[0238] 将新鲜冷冻人类脑部组织之解剖块(约0.5g)嵌入于最佳切割温度化合物(OCT化合物)中且使用低温恒温器切割以产生10 μ m切片。在存在叠氮化钠之情况下,将该等切片置于葡萄糖氧化酶及 β D-葡萄糖之溶液中以阻断内源过氧化酶。在制备组织切片后,根据制造商说明,使用兔抗天竺鼠二级抗体及DAKO DAB侦测试剂盒,在两种稀释度(1:300及1:1500)

下用来自经如本文所揭示之疫苗免疫接种之天竺鼠之指定天竺鼠血清进行染色。使用自动 Leica Bond Stainer 进行染色。结果指示来自经如本文中所示之疫苗免疫接种的天竺鼠之血清是否包含对阿尔茨海默病患者之人类脑部组织中之 A β 具有特异性的抗体。

[0239] 尽管已在本文中描述本发明之各种特定实施例,但应理解,本发明不限于彼等明确实施例且在不偏离本发明之范畴及精神的情况下,本领域技术人员可实现各种改变或修改。

[0240] 在本文所述肽的实施例中之每一者中,该肽可以包括、由或基本上由所列举序列组成。因此,在本公开中包含的是下列序列(参见表13),其可以是包含、由或基本上由淀粉样蛋白 β (A β) 肽组成的组合物的一部分。

[0241] 表3

SEQ ID NO:01 - A β 1-42

DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA

DAEFRHDSGY	(SEQ ID NO:02)	DSGY	(SEQ ID NO:35)
DAEFRHDSG	(SEQ ID NO:03)	DSG	(SEQ ID NO:36)
DAEFRHDS	(SEQ ID NO:04)	SGY	(SEQ ID NO:37)
DAEFRHD	(SEQ ID NO:05)	AEFRHDSGC	(SEQ ID NO:38)
DAEFRH	(SEQ ID NO:06)	DAEFRHDC	(SEQ ID NO:39)
DAEFR	(SEQ ID NO:07)		
DAEF	(SEQ ID NO:08)	QKLVFFAEC	(SEQ ID NO:40)
DAE	(SEQ ID NO:09)	VHHQKLVFFA	(SEQ ID NO:41)
AEFRHDSGY	(SEQ ID NO:10)	VHHQKLVFF	(SEQ ID NO:42)
AEFRHDSG	(SEQ ID NO:11)	VHHQKLVF	(SEQ ID NO:43)
AEFRHDS	(SEQ ID NO:12)	VHHQKLV	(SEQ ID NO:44)
AEFRHD	(SEQ ID NO:13)	VHHQKL	(SEQ ID NO:45)
AEFRH	(SEQ ID NO:14)	HHQKLVFFAE	(SEQ ID NO:46)
AEFR	(SEQ ID NO:15)	HHQKLVFFA	(SEQ ID NO:47)
AEF	(SEQ ID NO:16)	HHQKLVFF	(SEQ ID NO:48)
[0242] EFRHDSGY	(SEQ ID NO:17)	HHQKLVF	(SEQ ID NO:49)
EFRHDSG	(SEQ ID NO:18)	HHQKLV	(SEQ ID NO:50)
EFRHDS	(SEQ ID NO:19)	HHQKL	(SEQ ID NO:51)
EFRHD	(SEQ ID NO:20)	HQKLVFFAED	(SEQ ID NO:52)
EFRH	(SEQ ID NO:21)	HQKLVFFAE	(SEQ ID NO:53)
EFR	(SEQ ID NO:22)	HQKLVFFA	(SEQ ID NO:54)
FRHDSGY	(SEQ ID NO:23)	HQKLVFF	(SEQ ID NO:55)
FRHDSG	(SEQ ID NO:24)	HQKLVF	(SEQ ID NO:56)
FRHDS	(SEQ ID NO:25)	HQKLV	(SEQ ID NO:57)
FRHD	(SEQ ID NO:26)	HQKL	(SEQ ID NO:58)
FRH	(SEQ ID NO:27)	QKLVFFAEDV	(SEQ ID NO:59)
RHDSGY	(SEQ ID NO:28)	QKLVFFAED	(SEQ ID NO:60)
RHDSG	(SEQ ID NO:29)	QKLVFFAE	(SEQ ID NO:61)
RHDS	(SEQ ID NO:30)	QKLVFFA	(SEQ ID NO:62)
RHD	(SEQ ID NO:31)	QKLVFF	(SEQ ID NO:63)
HDSGY	(SEQ ID NO:32)	QKLVF	(SEQ ID NO:64)
HDSG	(SEQ ID NO:33)	QKLV	(SEQ ID NO:65)
HDS	(SEQ ID NO:34)	QKL	(SEQ ID NO:66)

	KLVFFAEDVG	(SEQ ID NO:67)	VFFAE	(SEQ ID NO:85)
	KLVFFAEDV	(SEQ ID NO:68)	VFFA	(SEQ ID NO:86)
	KLVFFAED	(SEQ ID NO:69)	VFF	(SEQ ID NO:87)
	KLVFFAE	(SEQ ID NO:70)	FFAEDVG	(SEQ ID NO:88)
	KLVFFA	(SEQ ID NO:71)	FFAEDV	(SEQ ID NO:89)
	KLVFF	(SEQ ID NO:72)	FFAED	(SEQ ID NO:90)
	KLVF	(SEQ ID NO:73)	FFAE	(SEQ ID NO:91)
	KLV	(SEQ ID NO:74)	FFA	(SEQ ID NO:92)
[0243]	LVFFAEDVG	(SEQ ID NO:75)	FAEDVG	(SEQ ID NO:93)
	LVFFAEDV	(SEQ ID NO:76)	FAEDV	(SEQ ID NO:94)
	LVFFAED	(SEQ ID NO:77)	FAED	(SEQ ID NO:95)
	LVFFAE	(SEQ ID NO:78)	FAE	(SEQ ID NO:96)
	LVFFA	(SEQ ID NO:79)	Arg-Val-Arg-Arg	(RVRR; SEQ ID NO:97)
	LVFF	(SEQ ID NO:80)	Gly-Ala-Gly-Ala	(GAGA; SEQ ID NO:98)
	LVF	(SEQ ID NO:81)	Ala-Gly-Ala-Gly	(AGAG; SEQ ID NO:99)
	VFFAEDVG	(SEQ ID NO:82)	Lys-Gly-Lys-Gly	(KGKG; SEQ ID NO:100)
	VFFAEDV	(SEQ ID NO:83)	DAEFRHDDR	(SEQ ID NO:101).
	VFFAED	(SEQ ID NO:84)		

1 5
<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 4
Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser
1 5
<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 5
Asp Ala Glu Phe Arg His Asp
1 5
<210> 6
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 6
Asp Ala Glu Phe Arg His
1 5
<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 7
Asp Ala Glu Phe Arg
1 5
<210> 8
<211> 4

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 8
Asp Ala Glu Phe
1
<210> 9
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 9
Asp Ala Glu
1
<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 10
Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr
1 5
<210> 11
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 11
Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly
1 5
<210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

1
<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 17
Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr
1 5
<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 18
Glu Phe Arg His Asp Ser Gly
1 5
<210> 19
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 19
Glu Phe Arg His Asp Ser
1 5
<210> 20
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 20
Glu Phe Arg His Asp
1 5
<210> 21
<211> 4

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 21
Glu Phe Arg His
1
<210> 22
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 22
Glu Phe Arg
1
<210> 23
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 23
Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr
1 5
<210> 24
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 24
Phe Arg His Asp Ser Gly
1 5
<210> 25
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成肽
<400> 25
Phe Arg His Asp Ser
1 5
<210> 26
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 26
Phe Arg His Asp
1
<210> 27
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 27
Phe Arg His
1
<210> 28
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 28
Arg His Asp Ser Gly Tyr
1 5
<210> 29
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 29
Arg His Asp Ser Gly

1 5
<210> 30
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 30
Arg His Asp Ser
1
<210> 31
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 31
Arg His Asp
1
<210> 32
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 32
His Asp Ser Gly Tyr
1 5
<210> 33
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 33
His Asp Ser Gly
1
<210> 34
<211> 3

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 34
His Asp Ser
1
<210> 35
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 35
Asp Ser Gly Tyr
1
<210> 36
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 36
Asp Ser Gly
1
<210> 37
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 37
Ser Gly Tyr
1
<210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 47
His His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala
1 5
<210> 48
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 48
His His Gln Lys Leu Val Phe Phe
1 5
<210> 49
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 49
His His Gln Lys Leu Val Phe
1 5
<210> 50
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 50
His His Gln Lys Leu Val
1 5
<210> 51
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成肽

<400> 51

His His Gln Lys Leu

1 5

<210> 52

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 52

His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp

1 5 10

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 53

His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu

1 5

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 54

His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala

1 5

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 55

His Gln Lys Leu Val Phe Phe

1 5

<210> 56

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 56

His Gln Lys Leu Val Phe

1 5

<210> 57

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 57

His Gln Lys Leu Val

1 5

<210> 58

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 58

His Gln Lys Leu

1

<210> 59

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 59

Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val

1 5 10

<210> 60

<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 60
Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp
1 5
<210> 61
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 61
Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu
1 5
<210> 62
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 62
Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala
1 5
<210> 63
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 63
Gln Lys Leu Val Phe Phe
1 5
<210> 64
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

1 5
<210> 69
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 69
Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp

1 5
<210> 70
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 70
Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu

1 5
<210> 71
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 71
Lys Leu Val Phe Phe Ala

1 5
<210> 72
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 72
Lys Leu Val Phe Phe

1 5
<210> 73
<211> 4

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 73
Lys Leu Val Phe
1
<210> 74
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 74
Lys Leu Val
1
<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 75
Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly
1 5
<210> 76
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 76
Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val
1 5
<210> 77
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 86
Val Phe Phe Ala
1
<210> 87
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 87
Val Phe Phe
1
<210> 88
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 88
Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly
1 5
<210> 89
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 89
Phe Phe Ala Glu Asp Val
1 5
<210> 90
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成肽
<400> 90
Phe Phe Ala Glu Asp
1 5
<210> 91
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 91
Phe Phe Ala Glu
1
<210> 92
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 92
Phe Phe Ala
1
<210> 93
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 93
Phe Ala Glu Asp Val Gly
1 5
<210> 94
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 94
Phe Ala Glu Asp Val

1 5
<210> 95
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 95
Phe Ala Glu Asp
1
<210> 96
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 96
Phe Ala Glu
1
<210> 97
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 97
Arg Val Arg Arg
1
<210> 98
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 98
Gly Ala Gly Ala
1
<210> 99
<211> 4

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 99
Ala Gly Ala Gly
1
<210> 100
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 100
Lys Gly Lys Gly
1
<210> 101
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成肽
<400> 101
Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Arg Arg
1 5

在三次注射后，天竺鼠中的β淀粉样蛋白(Aβ)表位效价

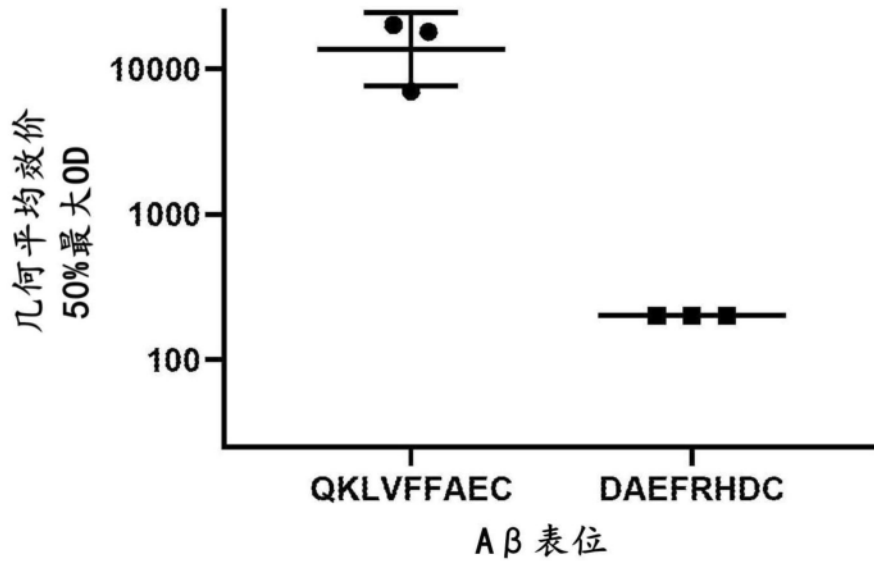


图1

在四次注射后，小鼠中的针对Aβ 1-28表位的效价

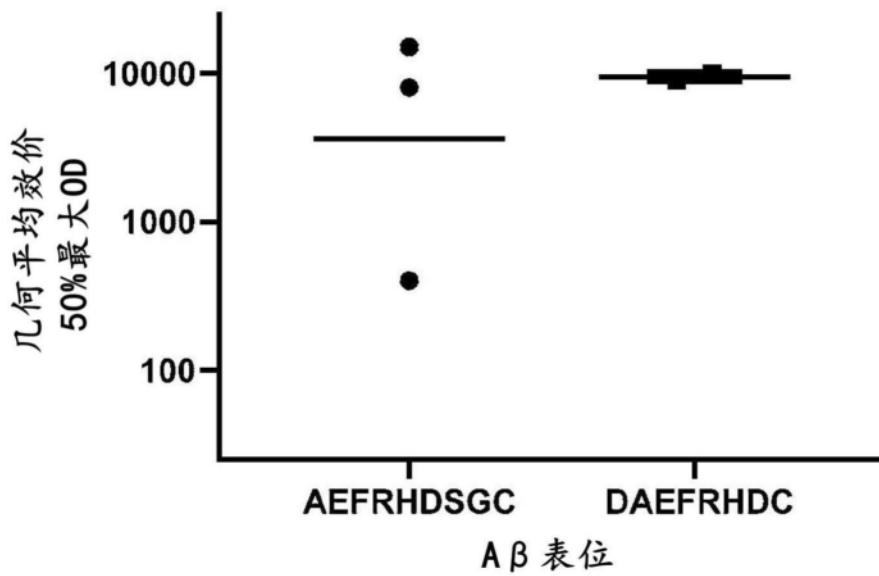


图2