

(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2014-507649

(P2014-507649A)

(43) 公表日 平成26年3月27日(2014.3.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/53 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 N	2GO45
<b>GO 1 N 33/48 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/48 S	4CO84
<b>A6 1 K 39/395 (2006.01)</b>	A6 1 K 39/395 D	4CO85
<b>A6 1 K 45/00 (2006.01)</b>	A6 1 K 39/395 N	
<b>A6 1 P 25/28 (2006.01)</b>	A6 1 K 45/00	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 74 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-549397 (P2013-549397)  
 (86) (22) 出願日 平成23年1月18日 (2011.1.18)  
 (85) 翻訳文提出日 平成25年1月29日 (2013.1.29)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2011/021570  
 (87) 国際公開番号 WO2012/099576  
 (87) 国際公開日 平成24年7月26日 (2012.7.26)

(71) 出願人 591013229  
 バクスター・インターナショナル・インコーポレイテッド  
 BAXTER INTERNATIONAL  
 L INCORPORATED  
 アメリカ合衆国 60015 イリノイ州  
 、ディアフィールド、ワン・バクスター・  
 パークウェイ (番地なし)  
 (71) 出願人 512107787  
 バクスター ヘルスケア エス. エー.  
 スイス国 グラットパーク (オブフィコン)  
 ) サーガワーシュトラーセ130

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒト血液中の抗βアミロイド抗体の測定

## (57) 【要約】

本発明は、生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための改善された免疫親和性法を提供する。他の態様において、本発明は、アミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法を提供する。また、本発明は、免疫グロブリン製剤の投与を含む治療に反応する可能性が高い候補者を特定するための方法も提供する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法であって、

(a) 前記生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、

(i) アミロイド抗原および非特異的抗体を含む複合体、ならびに

(ii) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、

を形成するステップと、

(b) ステップ(a)で形成された前記アミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、

(c) 残留複合体の存在またはレベルを検出するステップと、を含む、前記方法。

10

## 【請求項 2】

前記生物学的試料がチオフィリック(thiophilic)クロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組成物である、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記非特異的抗体が低アビディティ抗アミロイド抗体である、請求項1または請求項2に記載の方法。

## 【請求項 4】

生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法であって、

(a) 前記生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、前記抗アミロイド抗体に結合させるステップと、

(b) 前記抗体を非変性pHで前記チオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、

(c) 前記溶出物をアミロイド抗原と接触させて、前記アミロイド抗原および前記抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、

(d) 前記複合体の存在またはレベルを検出するステップと、を含む、前記方法。

20

30

## 【請求項 5】

前記ステップ(c)で形成された前記複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄するステップをさらに含む、請求項4に記載の方法。

## 【請求項 6】

アミロイド関連疾患または状態の治療の候補者である対象を特定するための方法であって、

(a) 前記対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、

(i) アミロイド抗原および非特異的抗体を含む複合体、ならびに

(ii) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、

を形成するステップと、

(b) ステップ(a)で形成された前記アミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低アビディティ抗アミロイド抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、

(c) 残留複合体のレベルを検出するステップと、

(d) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記対象が免疫グロブリン製剤の投与を含む治療から利益を得るかどうかを決定するステップと、を含む、前記方法。

40

## 【請求項 7】

前記治療が免疫グロブリン製剤の投与を含む、請求項6に記載の方法。

50

## 【請求項 8】

前記治療が身体的活動または社会的活動を含む、請求項 6 または請求項 7 に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記治療がコリンエステラーゼ阻害剤、グルタミン酸部分拮抗薬、または精神医学的薬物を含む、請求項 6 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記生物学的試料がチオフィリッククロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組成物である、請求項 6 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 11】

前記非特異的抗体が低アピディティ抗アミロイド抗体である、請求項 6 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 12】

前記高アピディティ抗アミロイド抗体が、アミロイド (A $\beta$ ; A ベータ)、豚島アミロイドポリペプチド (IAPP; アミリン)、 $\alpha$ -シヌクレイン (SNCA)、主要プリオンタンパク質 (PrP)、ハンチンチン (HD)、カルシトニン (CCP)、心房性ナトリウム利尿因子 (ANF)、アポリポタンパク質 AI (アポ-AI)、血清アミロイド A タンパク質 (SAA)、メディンアミロイド (乳脂肪球-EGF 因子 8 タンパク質; MFG-E8 の断片)、プロラクチン (PRL)、トランスサイレチン (ATTR)、リゾチーム C (1, 4 -  $\beta$ -N-アセチルムラミダーゼ C)、 $\alpha$ 2 ミクログロブリン ( $\alpha$ 2 M)、ゲルゾリン (AGEL)、形質転換成長因子誘導タンパク質  $\alpha$ 1 -  $\beta$  2 (  $\alpha$ 1 -  $\beta$  2 ; ケラトエピセリン)、シスタチン C (CST3)、免疫グロブリン軽鎖 (AL)、およびポリグルタミン反復を有するアミロイドタンパク質からなる群から選択されるアミロイドタンパク質に特異的である、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 13】

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質モノマーを特異的に認識する、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 14】

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質オリゴマーを特異的に認識する、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 15】

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質原線維を特異的に認識する、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 16】

前記抗アミロイド抗体が抗アミロイド抗体である、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 17】

免疫グロブリン製剤の投与を含む治療の候補者である対象を特定するための方法であって、

(a) 前記生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、該試料中に存在する抗アミロイド抗体に結合させるステップと、

(b) 前記抗体を非変性 pH で前記チオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、

(c) 前記溶出物をアミロイド抗原と接触させて、前記アミロイド抗原および前記抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、

(d) 前記複合体の存在またはレベルを検出するステップと、

(e) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記対象が免疫グロブリン製剤の投与を含む治療から利益を得るかどうかを決定するステップと、を含む、前記方法。

## 【請求項 18】

10

20

30

40

50

前記治療が免疫グロブリン製剤の投与を含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記治療が身体的活動または社会的活動を含む、請求項 17 または請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記治療がコリンエステラーゼ阻害剤、グルタミン酸部分拮抗薬、または精神医学的薬物を含む、請求項 17 ~ 19 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 21】

前記ステップ (c) で形成された前記複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄するステップをさらに含む、請求項 17 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 22】

前記対象がアミロイドタンパク質に関連する疾患を有すると診断されている、請求項 6 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 23】

前記疾患が、アルツハイマー病、2 型糖尿病、パーキンソン病、伝染性海綿状脳症、ハンチントン病、甲状腺髄様癌、心不整脈、アテローム性動脈硬化症、関節リウマチ、大動脈中膜アミロイド、プロラクチノーマ、家族性アミロイド多発ニューロパチー、遺伝性非ニューロパチー性全身性アミロイドーシス、透析関連アミロイドーシス、フィンランド型アミロイドーシス、格子状角膜ジストロフィー、脳アミロイド血管症、脳アミロイド血管症 (アイスランド型)、および全身性 AL アミロイドーシスからなる群から選択される、請求項 22 に記載の方法。

20

【請求項 24】

前記疾患がアルツハイマー病である、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法であって、(a) 前記対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、

(i) アミロイド抗原および非特異的抗体を含む複合体、ならびに

(ii) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、

を形成するステップと、

(b) ステップ (a) で形成された前記アミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および非特異的抗体を含む少なくとも 1 つの複合体を解離するステップと、

(c) 残留複合体のレベルを検出するステップと、

(d) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記対象を診断するステップと、

を含む、前記方法。

30

【請求項 26】

前記生物学的試料がチオフィリッククロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組成物である、請求項 25 に記載の方法。

40

【請求項 27】

前記非特異的抗体が低アビディティ抗アミロイド抗体である、請求項 25 または請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法であって、

(a) 前記生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、

(b) 前記抗体を非変性 pH で前記チオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、

(c) 前記溶出物をアミロイド抗原と接触させて、前記アミロイド抗原および前記抗アミ

50

ロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、  
 (d) 前記複合体の存在またはレベルを検出するステップと、  
 (e) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記対象を診断するステップと、  
 を含む、前記方法。

【請求項 29】

前記ステップ(c)で形成された前記複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄するステップをさらに含む、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記疾患がアルツハイマー病、2型糖尿病、パーキンソン病、伝染性海綿状脳症、ハンチントン病、甲状腺髄様癌、心不整脈、アテローム性動脈硬化症、関節リウマチ、大動脈中膜アミロイド、プロラクチノーマ、家族性アミロイド多発ニューロパチー、遺伝性非ニューロパチー性全身性アミロイドーシス、透析関連アミロイドーシス、フィンランド型アミロイドーシス、格子状角膜ジストロフィー、脳アミロイド血管症、脳アミロイド血管症(アイスランド型)、および全身性ALアミロイドーシスからなる群から選択される、請求項 25 ~ 32 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 31】

前記疾患がアルツハイマー病である、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

治療有効量の免疫グロブリン製剤を前記対象に投与することをさらに含む、請求項 6 ~ 31 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 33】

前記治療が身体的活動または社会的活動を含む、請求項 6 ~ 32 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 34】

前記治療がコリンエステラーゼ阻害剤、グルタミン酸部分拮抗薬、または精神医学的薬物を含む、請求項 6 ~ 33 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 35】

対象におけるアミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するための方法であって、

30

(a) 前記対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、

(i) アミロイド抗原および非特異的抗体を含む複合体、ならびに

(ii) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、

を形成するステップと、

(b) ステップ(a)で形成された前記アミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および非特異的抗体を含む少なくとも 1 つの複合体を解離するステップと、

(c) 残留複合体のレベルを検出するステップと、

(d) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記疾患の進行の予後を提供するステップと、  
 を含む、前記方法。

40

【請求項 36】

前記生物学的試料がチオフィリッククロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組成物である、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

前記非特異的抗体が低アビディティ抗アミロイド抗体である、請求項 35 または請求項 36 に記載の方法。

【請求項 38】

対象におけるアミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するための方法

50

であって、

(a) 前記生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、

(b) 前記抗体を非変性 pH で前記チオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、

(c) 前記溶出物をアミロイド抗原と接触させて、前記アミロイド抗原および前記抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、

(d) 前記複合体の存在またはレベルを検出するステップと、

(e) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記疾患の進行の予後を提供するステップと、

を含む、前記方法。

【請求項 39】

前記ステップ (c) で形成された前記複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄するステップをさらに含む、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 40】

アミロイドタンパク質に関連する疾患の治療の予後を提供するための方法であって、

(a) 前記対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、

(i) アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに

(ii) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、

を形成するステップと、

(b) ステップ (a) で形成された前記アミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも 1 つの複合体を解離するステップと、

(c) 残留複合体のレベルを検出するステップと、

(d) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記疾患の治療の予後を提供するステップと、

を含む、前記方法。

【請求項 41】

前記生物学的試料が全血漿またはその画分である、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記生物学的試料がチオフィリッククロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組成物である、請求項 40 または請求項 41 に記載の方法。

【請求項 43】

前記非特異的抗体が低アビディティ抗アミロイド抗体である、請求項 40 ~ 42 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 44】

アミロイドタンパク質に関連する疾患の治療の予後を提供するための方法であって、

(a) 前記生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、

(b) 前記抗体を非変性 pH で前記チオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、

(c) 前記溶出物をアミロイド抗原と接触させて、前記アミロイド抗原および前記抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、

(d) 前記複合体の存在またはレベルを検出するステップと、

(e) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記疾患の治療の予後を提供するステップと、

を含む、前記方法。

【請求項 45】

前記ステップ (c) で形成された前記複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗

10

20

30

40

50

浄するステップをさらに含む、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記生物学的試料が全血漿またはその画分である、請求項 4 4 または請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための生物学的試料を調製するための方法であって、

( a ) 前記対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、

( i ) アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに

( i i ) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、

を形成するステップと、

( b ) ステップ ( a ) で形成された前記アミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも 1 つの複合体を解離するステップと、

を含む、前記方法。

【請求項 4 8】

前記生物学的試料がチオフィリッククロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組成物である、請求項 4 7 に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記非特異的抗体が低アビディティ抗アミロイド抗体である、請求項 4 7 または請求項 4 8 に記載の方法。

【請求項 5 0】

高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための生物学的試料を調製するための方法であって、

( a ) 前記生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、前記抗アミロイド抗体に結合させるステップと、

( b ) 前記抗体を非変性 pH で前記チオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、

( c ) 前記溶出物をアミロイド抗原と接触させて、前記アミロイド抗原および前記抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、

を含む、前記方法。

【請求項 5 1】

前記ステップ ( c ) で形成された前記複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄するステップをさらに含む、請求項 5 0 に記載の方法。

【請求項 5 2】

カオトロピック剤およびチオフィリッククロマトグラフィー吸着剤からなる群から選択される少なくとも 1 つを含む、生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するためのキット。

【請求項 5 3】

カオトロピック剤およびチオフィリッククロマトグラフィー吸着剤の双方を含む、請求項 5 2 に記載のキット。

【請求項 5 4】

生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するためのキットを製造するための、カオトロピック剤および / またはチオフィリッククロマトグラフィー吸着剤の使用。

【請求項 5 5】

生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するためのキットを製造するための、カオトロピック剤およびチオフィリッククロマトグラフィー吸着剤の組み合わせの使用。

10

20

30

40

50

## 【請求項56】

前記抗アミロイド抗体が、アミロイド(A $\beta$ ; A $\beta$ ペータ)、豚島アミロイドポリペプチド(IAPP; アミリン)、 $\alpha$ -シヌクレイン(SNCA)、主要プリオンタンパク質(PrP)、ハンチンチン(HD)、カルシトニン(CCP)、心房性ナトリウム利尿因子(ANF)、アポリポタンパク質A I(アポ-A I)、血清アミロイドAタンパク質(SAA)、メディンアミロイド(乳脂肪球-EGF因子8タンパク質; MFG-E8の断片)、プロラクチン(PRL)、トランスサイレチン(ATTR)、リゾチームC(1,4- $\beta$ -N-アセチルムラミダーゼC)、 $\alpha$ 2ミクログロブリン( $\alpha$ 2M)、ゲルゾリン(AGEL)、形質転換成長因子誘導タンパク質ig-h3(ig-h3; ケラトエピセリン)、シスタチンC(CST3)、免疫グロブリン軽鎖(AL)、およびポリグルタミン反復を有するアミロイドタンパク質からなる群から選択されるアミロイドタンパク質に特異的である、請求項17~55のいずれか1項に記載の方法。

10

## 【請求項57】

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質モノマーを特異的に認識する、請求項1~56のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項58】

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質オリゴマーを特異的に認識する、請求項1~56のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項59】

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質原線維を特異的に認識する、請求項1~56のいずれか1項に記載の方法。

20

## 【請求項60】

前記抗アミロイド抗体が抗アミロイド抗体である、請求項1~59のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項61】

前記生物学的試料がヒト由来である、請求項1~60のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項62】

前記カオトロピック剤がチオシアネート塩である、請求項1~61のいずれか1項に記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

30

## 【背景技術】

## 【0001】

## 序文

アミロイドペプチド(A $\beta$ )のミスフォールディングおよび凝集は、アルツハイマー病(AD)の中心的な病因である。ヒト免疫グロブリンG(IgG)レパートリーは、ワクチン接種または受動免疫化の不在下で発生するA $\beta$ ペプチドに対する内因性抗体を含む。内因性抗A $\beta$ 抗体活性は、様々な年齢の正常成人およびADを有する患者の血液中で検出されている(Weksler et al., Exp Gerontol., 37: 943-948 (2002) (非特許文献1)、Hyman et al., Ann Neurol., 49: 808-810.5 (2001) (非特許文献2)、Mruthinti et al., Neurobiol Aging., 25: 1023-1032 (2004) (非特許文献3)、Nath et al., Neuromolecular Med., 3: 29-39 (2003) (非特許文献4)、Sohn et al., Frontiers in Bioscience., 14: 3879-3883 (2009) (非特許文献5))。静注用免疫グロブリン(IVIg)として公知のヒト血漿由来抗体製剤は、高レベルの内因性抗アミロイド抗体を含有することが報告されており、ADの有望な治療法として研究されている(Dodel et al., J Neurol Neurosurg Psychiatry., 75: 1472-1474 (2004) (非特許文献6)、Hyman et al., Ann Neurol., 49: 808-810.5 (2001) (非特許文献2)、Mruthinti et al., N

40

50

*eurobiol Aging*, 25:1023-1032 (2004) (非特許文献3))。

#### 【0002】

公開されている研究は、AD患者と高齢正常対照との対比において、抗A抗体の相対力価の広く分散した推定値を提示している。標準ELISA法による無処理血漿標本の初期研究は、Aモノマーに対する内因性抗体のより低い力価が高齢対応非認知症対照よりもAD患者に認められるとしている(Weksler et al., *Exp Gerontol*, 37:943-948 (2002) (非特許文献1))。その後の研究は、低pHでGタンパク質カラムから溶出した血漿免疫グロブリンに対して実施したELISA(Akerstrom et al., *J Biol Chem*, 261:10240-10247 (1986) (非特許文献7))に基づき、AD患者における循環抗Aモノマー抗体の同等または増加した力価を報告している(Mruthinti et al., *Neurobiol Aging*, 25:1023-1032 (2004) (非特許文献3))。この方法で得られるより高い力価は、全血漿のアッセイでは検出されず、かつGタンパク質精製過程で酸性化により抗原から解放されたときに測定可能な、結合した抗アミロイド抗体のプールの存在を反映すると仮定された。しかしマウスモデルでは、ポリクローナルIgGの低pHへの暴露は、抗体の部分変性をもたらし、見掛け上の抗A抗体力価を人為的に大きく増加させる(Liet al., *BMC Neurosci*, 8:22 (2007) (非特許文献8))。したがって、Gタンパク質クロマトグラフィーおよび酸溶出によりヒト血漿から単離されたIgGを用いたアッセイは、人為的に上昇した抗アミロイド活性の測定値をもたらす。

10

20

#### 【0003】

内因性抗A抗体活性の測定は、Aの凝集形態で線状ネオエピトープならびに立体配座ネオエピトープを認識する、複数のクラスのヒト抗体が存在することによりさらに複雑になる。これまでの報告は、A原線維(O'Nuallain et al., *J Immunol*, 176:7071-7078 (2006) (非特許文献9))、Aオリゴマー(Moir et al., *J Biol Chem*, 280:17458-17463 (2005) (非特許文献10))、Relkin et al., *Alzheimer's and Dementia*, 3:S196, X (2008) (非特許文献11))、O'Nuallain et al., *Biochemistry*, 47:12254-12256 (2008) (非特許文献12))、およびAモノマーの立体配座エピトープ(Baumketner et al., *Prot Sci*, 15:420-428 (2006) (非特許文献13))に対する内因性ヒト抗体を同定している。他のタイプのアミロイド結合性抗体、さらにはAに対する触媒抗体が報告されている(Taguchi H et al., *J Biol Chem*, 284:4714-4722 (2008) (非特許文献14))。従来のELISAは、存在する抗体タイプの多様性、ならびに交差反応性および多価性などの現象を無視した場合に、総抗アミロイド活性を過小または過大に推定する可能性がある。

30

#### 【0004】

外来抗原および自己抗原の双方に対する多価抗体は、ヒトの天然抗体レパートリーの一部である(Djoumerska et al., *Scand J of Immunol*, 61:357-363 (2005) (非特許文献15))。ほとんどの多価抗体は、生殖系列超可変領域を有し、一価親和性成熟抗体と比較して、その抗原に対してより低い親和性を示し、かつより柔軟な抗原結合部位を有する。これらは病原体に対する防御機構としての機能を果たすと考えられている。一部の多価抗体の興味深い特長は、穏やかな破壊的処置、例えば約4未満のpHまたは破壊的物質への暴露などによって、一価抗体から作成することができることである(Bouvet et al., *J Autoimmun*, 16:163-172 (2001) (非特許文献16))、Dimitrov et al., *Molec Immunol*, 44:1854-1863 (2007) (非特許文献17))。

40

50

## 【0005】

抗A抗体アッセイの感度および信号対雑音比を改善する方法が記載されており、これには放射性免疫沈降アッセイ(Brettschneider et al., Biol Psychiatry, 57:813-816(2005)(非特許文献18))、ならびに年齢およびADに応じて血漿中の内因性ヒト抗A抗体を特徴付けるために最近使用された新規のペプチドマイクロアレイ法(Britshgi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 106:12145-12150(2009)(非特許文献19))などがある。後者の手法は、ELISAと比較して改善された信号対雑音比をもたらしたが、これに全血漿を使用することは、抗A抗体測定への他の血漿タンパク質および巨大分子の作用により、問題がある可能性がある。

10

## 【0006】

内因性抗A抗体レベルの測定の交絡のこれらおよび他の要因は、IVIIG(静注用免疫グロブリン製剤)によるADの治療の研究に対して重大な影響を有する。IVIIGは、最初、比較的低いレベルで抗Aモノマー抗体を含有すると報告された(Dodel et al., J Neurol Neurosurg Psychiatry, 75:1472-1474(2004)(非特許文献6))。この報告された抗A抗体量の少なさは、IVIIGがAD患者に抗アミロイド作用を及ぼす可能性に疑問を投げ掛けた。それにもかかわらず、AD患者を対象とするIVIIGのヒト臨床試験は、好ましい臨床成績、ならびに血漿中および脳脊髄液中のAレベルの変化をもたらした(Dodel et al., J Neurol Neurosurg Psychiatry, 75:1472-1474(2004)(非特許文献6)、Relkin et al., Neurobiol. of Aging, 30:1728-1736(2009)(非特許文献20))。内因性抗アミロイド抗体活性は、ADを対象にIVIIGをテストするための最初の論理的根拠を提供はしたが、これがこの疾患に対するIVIIGの作用の主要なまたは独自の作用機序であるかどうかは確実には知られていない。真の内因性抗アミロイド抗体が生物学的に有意義な作用を与えるのに十分なレベルでヒト血漿中に存在するかどうかという疑問は、まだ解明されていない。

20

## 【0007】

このように、ADおよび他のアミロイド関連障害の病因および治療において内因性抗体が果たしうる役割をいっそうよく理解するために、ヒト血漿における抗アミロイド活性をアッセイするための改善された方法が必要とされる。本発明は、アミロイド特異的抗体の検出および定量化、ひいてはアミロイドの検出に関連する問題に対処する改善された検出方法を提供する。したがって、本発明は、アミロイドタンパク質に関連する疾患のより正確な診断、アミロイド関連治療の患者選定、および他のアミロイド関連適用例を提供する。

30

## 【先行技術文献】

## 【非特許文献】

## 【0008】

【非特許文献1】Weksler et al., Exp Gerontol., 37:943-948(2002)

40

【非特許文献2】Hyman et al., Ann Neurol., 49:808-810.5(2001)

【非特許文献3】Mruthinti et al., Neurobiol Aging., 25:1023-1032(2004)

【非特許文献4】Nath et al., Neuromolecular Med., 3:29-39(2003)

【非特許文献5】Sohn et al., Frontiers in Bioscience., 14:3879-3883(2009)

【非特許文献6】Dodel et al., J Neurol Neurosurg Psychiatry., 75:1472-1474(2004)

50

【非特許文献7】Akerstrom et al., J Biol Chem., 261: 10240 - 10247 (1986)

【非特許文献8】Li et al., BMC Neurosci., 8: 22 (2007)

【非特許文献9】O'Nuallain et al., J Immunol., 176: 7071 - 7078 (2006)

【非特許文献10】Moir et al., J Biol Chem., 280: 17458 - 17463 (2005)

【非特許文献11】Relkin et al., Alzheimer's and Dementia, 3: S196, X (2008)

【非特許文献12】O'Nuallain et al., Biochemistry, 47: 12254 - 12256 (2008)

【非特許文献13】Baumketner A et al., Prot Sci., 15: 420 - 428 (2006)

【非特許文献14】Taguchi H et al., J Biol Chem., 284: 4714 - 4722 (2008)

【非特許文献15】Djoumerska et al., Scand J of Immunol., 61: 357-363 (2005)

【非特許文献16】Bouvet et al., J Autoimmun., 16: 163 - 172 (2001)

【非特許文献17】Dimitrov et al., Molec Immunol, 44: 1854 - 1863 (2007)

【非特許文献18】Brettschneider et al., Biol Psychiatry., 57: 813 - 816 (2005)

【非特許文献19】Britshgi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 106: 12145 - 12150 (2009)

【非特許文献20】Relkin et al., Neurobiol. of Aging, 30: 1728 - 1736 (2009)

【発明の概要】

【0009】

発明の簡単な概要

本発明は、ヒト血漿および静注用免疫グロブリン製剤中の内因性抗アミロイド抗体を調製およびアッセイするための改善された方法を提供する。これらの新規の方法は、ヒト血漿が、より低いアビディティでA に結合する多価抗体ならびにA およびその凝集体に対して中程度ないし高アビディティを有する内因性抗アミロイド抗体を含有することを示す。

【0010】

一態様において、本発明は、試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法を提供する。一部の実施形態において、この方法は、(a) 生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、(i) アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに(ii) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、を形成するステップと、(b) ステップ(a) で形成されたアミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含む溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、(c) 残留複合体の存在またはレベルを検出するステップと、を含む。

【0011】

一部の実施形態において、生物学的試料は、血液またはその画分(例えば、血漿または血清)である。一部の実施形態において、生物学的試料は、ステップ(a)の前に、チオフィリック(thiophilic)クロマトグラフィーを用いて分離される。一部の実施形態において、生物学的試料は、ステップ(b)のあとに、チオフィリッククロマトグ

10

20

30

40

50

ラフィーを用いて分離される。一部の実施形態において、チオフィリッククロマトグラフィーを用いて、生物学的試料から非免疫グロブリン物質を除去して、濃縮された免疫グロブリン調製物を得る。

【0012】

第2の態様において、本発明は、生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法であって、(a)生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、(b)抗体を非変性pHでチオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、(c)溶出物をアミロイド抗原と接触させて、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、(d)複合体の存在またはレベルを検出するステップと、を含む方法を提供する。

10

【0013】

一部の実施形態において、生物学的試料は、血液またはその画分(例えば、血漿または血清)である。一部の実施形態において、アミロイド抗原と抗アミロイド抗体との間で形成される複合体は、複合体の存在またはレベルを検出する前に、カオトロピック塩を含有する溶液で洗浄される。

【0014】

第3の態様において、本発明は、アミロイド関連疾患または状態の治療の候補である対象を特定するための方法を提供する。一部の実施形態において、この方法は、(a)対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、(i)アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに(ii)アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、を形成するステップと、(b)ステップ(a)で形成されたアミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、(c)残留複合体のレベルを検出するステップと、(d)抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、対象が免疫グロブリン製剤の投与を含む治療から利益を得るかどうかを決定するステップと、を含む。一実施形態において、治療は、免疫グロブリン製剤の投与を含む。

20

【0015】

本明細書に記載の態様の一部の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を有さない個人または個人の群に由来し、対照に対して増加したレベルの残留複合体は治療の候補者であることを示す。一部の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を有する個人または個人の群に由来し、対照に対して類似するレベルの残留複合体は治療の候補者であることを示す。当業者は、少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

30

【0016】

第4の態様において、本発明は、アミロイド関連疾患または状態の治療の候補者である対象を特定するための方法を提供する。一部の実施形態において、この方法は、(a)生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、試料中に存在する抗アミロイド抗体に結合させるステップと、(b)抗体を非変性pHでチオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、(c)溶出物をアミロイド抗原と接触させて、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、(d)複合体の存在またはレベルを検出するステップと、(e)抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、対象が免疫グロブリン製剤の投与を含む治療から利益を得るかどうかを決定するステップと、を含む。一実施形態において、治療は、免疫グロブリン製剤の投与を含む。上記に説明したように、当業者は、アミロイド関連障害を診断するための少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

40

【0017】

第5の態様において、本発明は対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法を提供する。一部の実施形態において、この方法は、(a)対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、(i)アミロイ

50

ド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに(i i)アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、を形成するステップと、(b)ステップ(a)で形成されたアミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、(c)残留複合体のレベルを検出するステップと、(d)抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、対象を診断するステップと、を含む。一部の実施形態において、本発明は、対象においてアルツハイマー病、またはアルツハイマー病を発症する可能性を診断するための方法を提供する。上記に説明したように、当業者は、アミロイド関連障害を診断するための少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

10

**【0018】**

第6の態様において、本発明は、対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法を提供する。一部の実施形態においてこの方法は、(a)生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、(b)抗体を非変性pHでチオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、(c)溶出物をアミロイド抗原と接触させて、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、(d)複合体の存在またはレベルを検出するステップと、(e)抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、対象を診断するステップと、を含む。上記に説明したように、当業者は、アミロイド関連障害を診断するための少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

20

**【0019】**

第7の態様において、本発明は、対象におけるアミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するための方法を提供する。一部の実施形態において、この方法は、(a)対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、(i)アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに(i i)アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、を形成するステップと、(b)ステップ(a)で形成されたアミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、(c)残留複合体のレベルを検出するステップと、(d)抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、疾患の進行の予後を提供するステップと、を含む。一部の実施形態において、本発明は、対象におけるアルツハイマー病の進行の予後を提供するための方法を提供する。上記に説明したように、当業者は、アミロイド関連障害の予後を提供するための少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

30

**【0020】**

第8の態様において、本発明は、対象におけるアミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するための方法を提供する。一部の実施形態においてこの方は、(a)生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、(b)抗体を非変性pHでチオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、(c)溶出物をアミロイド抗原と接触させて、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、(d)複合体の存在またはレベルを検出するステップと、(e)抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、疾患の進行の予後を提供するステップと、を含む。一部の実施形態において、本発明は、対象におけるアルツハイマー病の進行の予後を提供するための方法を提供する。上記に説明したように、当業者は、アミロイド関連障害の予後を提供するための少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

40

**【0021】**

第9の態様において、本発明は、アミロイドタンパク質に関連する疾患の治療、例えば公知のADに対する療法または予防的戦略の予後を提供するための方法を提供する。一部

50

の実施形態において、治療は、対象における免疫グロブリン製剤、例えばIVIgの投与を含んでもよい。一部の実施形態において、この方法は、(a)対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、(i)アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに(ii)アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、を形成するステップと、(b)ステップ(a)で形成されたアミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、(c)残留複合体のレベルを検出するステップと、(d)抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、疾患の治療の予後を提供するステップと、を含む。一部の実施形態において、本発明は、対象におけるアルツハイマー病の治療の予後を提供するための方法を提供する。上記に説明したように、当業者は、アミロイド関連障害を診断するための少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

10

#### 【0022】

第10の態様において、本発明は、アミロイドタンパク質に関連する疾患の治療、例えば公知のADに対する療法または予防的戦略の予後を提供するための方法を提供する。一部の実施形態において、治療は、対象における免疫グロブリン製剤、例えばIVIgの投与を含んでもよい。一部の実施形態において、この方法は、(a)生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、(b)抗体を非変性pHでチオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、(c)溶出物をアミロイド抗原と接触させて、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、(d)複合体の存在またはレベルを検出するステップと、(e)抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、疾患の治療の予後を提供するステップと、を含む。一部の実施形態において、本発明は、対象におけるアルツハイマー病の治療の予後を提供するための方法を提供する。上記に説明したように、当業者は、アミロイド関連障害を診断するための少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

20

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0023】

【図1】ヒト血漿中のIgGは、空のELISAウェルならびにA<sub>1</sub>に有意に結合する。A<sub>1</sub>およびブランクプレートへの相対的結合は、個別に異なる。ブランクウェルを含むプレートおよびA<sub>1</sub>モノマーペプチド含有プレートを用いたELISAにより、ヒト血漿試料(n=23)をアッセイした。各個人について、得られる吸光度値(A<sub>450nm</sub>)をヒストグラムにプロットする(ブランクウェル=黒; A<sub>1</sub>ウェル=グレー)。

30

【図2】空のウェルとの結合は、IgG分子の抗原結合領域(F<sub>ab</sub>)を介して生じる。5個人のプールされたIgGから単離された市販のF<sub>ab</sub>断片、F<sub>ab</sub>2'断片、およびF<sub>c</sub>断片を、標準ELISA法により、ブランクプレートおよびアミロイド含有プレートに結合させた。結合したF<sub>ab</sub>断片およびF<sub>ab</sub>2'断片は、抗ヒト二次抗体を用いて検出し、F<sub>c</sub>断片は、分子のF<sub>c</sub>部分に特異的な抗ヒトIgG二次抗体を用いて検出した。ブランクプレートへの結合は、F<sub>c</sub>領域ではなく、明らかにIgG分子のF<sub>ab</sub>領域およびF<sub>ab</sub>2'領域に媒介される。

40

【図3】IVIgにおける抗A<sub>1</sub>抗体の交差反応性が、抗A<sub>1</sub>抗体の結合特性に対するサイログロブリンの作用によって例示される(a=A<sub>1</sub>プレート、b=サイログロブリンの競合を含むA<sub>1</sub>プレート、c=サイログロブリンプレート、d=サイログロブリンの競合を含むサイログロブリンプレート)。ELISA測定は、場合によって40μg/mLのサイログロブリンを含む、1mg/mLから出発するIVIgの3倍連続希釈物を用いて、サイログロブリン(三角印)またはA<sub>1</sub>モノマーペプチド(丸印)を含有するプレートに対して実施した。この濃度のサイログロブリンは、IVIgにおける抗サイログロブリン抗体のサイログロブリンプレートへの結合を完全に排除し、A<sub>1</sub>プレートへの結合をおよそ50%減少させる。

50

【図4】 A 42オリゴマー含有ELISAプレートに結合したIVI G抗体のアビディティは、空のELISAウェルに結合したものを上回る。アビディティを測定するために、IVI GをA 42オリゴマー含有ELISAプレート、または抗原を有さないブランクプレートに結合させた。次に、表示するとおりに濃度を次第に上げたカオトロピック塩のチオシアン酸アンモニウムとともに4つ組のウェルをインキュベートし、標準ELISA法により結合ヒト抗体の量を測定した。示される結果は、2つの独立した測定の平均および標準偏差である。A オリゴマーに結合する抗体は、空のウェルに結合する抗体よりも、そのリガンドに対してより高いアビディティを有する。

【図5】 4Mチオシアネート処理は、A 42オリゴマーを含むウェルの空のウェルに対する結合比を向上させる。標準ELISA実験が示されているが、この中で黒三角印はA 42オリゴマープレートへの結合を示し、黒丸印はブランクプレートへの結合を示す。白印は、4Mチオシアネートとのインキュベーションが後続する同じ結合実験を示す。対照である対象に由来する精製ヒトIgG (1mg/mL)を用いたA 42オリゴマーのブランクプレートに対する結合比は、4Mチオシアネート処理を伴わない場合のおよそ3からこの処理後に7~10まで実質的に増加した。したがって、カオトロピック剤による処理は、空のELISAウェルに結合する低アビディティ抗体と無関係に、精製ヒトIgGの混合物中の高アビディティ抗A オリゴマー抗体の測定を可能にする。

【図6】 メルカプトエタノールで還元し、等しい質量で装填したタンパク質試料のクーマシー染色した10%SDS: NuPAGEゲルは、チオフィリック吸着剤上のクロマトグラフィーにより精製されたIgGが、混入血漿タンパク質をほぼ完全に含まないことを示す。レーンは、(a)IVI G、(b)Gタンパク質上のクロマトグラフィーにより精製されたIgG、(c)チオフィリック吸着剤上のクロマトグラフィーにより精製されたIgG、および(d)元の血漿試料である。また、分子量マーカー(M)、およびそれらのサイズ(kD)も示される。

【図7】 全血漿およびチオフィリッククロマトグラフィーまたはGタンパク質クロマトグラフィーにより血漿から単離された抗体のA オリゴマーSPRセンサーへの結合である。SPRセンサグラムは、A 42オリゴマーセンサーを用いて、任意反応単位(y軸)を時間の関数として示す。試料注入は、0から開始し125秒で終了した。SPR緩衝液の通液は250秒まで継続し、その後センサーを除去し再構成した。血漿の結合反応を示す赤のラインは、他の血漿タンパク質および巨大分子からの干渉の結果、ほぼゼロである。下部(ピンク)のラインは、Gタンパク質および酸溶出を用いて単離されたIgGに対する反応を示す。この結果は、多価性が誘導され、その結果対照センサーへの結合が増加したため、マイナスとなっている。上部(青)のラインは、チオフィリック吸着剤を用いて調製されたIgGの反応である。最初の125秒は、総抗オリゴマー抗体結合活性(高親和性および低親和性)を反映し、一方緩衝液洗浄後のセンサグラムの部分(125秒以降)は、高親和性結合活性を有する抗体に主として起因する。

【発明を実施するための形態】

【0024】

発明の詳細な説明

序文

アルツハイマー病の診断は、この疾患が、特に早期には、他の様々な精神的状態と共通する症状を示すことから困難である。確定診断は、脳に形成されたA のもつれやプラークの可視化によって達成することができる。同様に、他のアミロイド関連疾患および状態は、コンゴレッド法を用いてアミロイド沈着を染色することができる組織生検を用いて一般に診断される(Linke, R. P. (2006) "Protein misfolding, aggregation and conformational diseases" (V. N. Uversky and A. L. Fink, eds.), Protein Reviews, Volume 4, (M. Z. Atassi, ed.) 第239頁~第276頁第11.1章; Springer)。しかしながら、脳や心臓などの器官の生検実施に伴うリスクおよび合併症により、これはアルツハイマー病、クロ

10

20

30

40

50

イツフェルト・ヤコブ病、および心アミロイドーシスを含む様々なアミロイド関連疾患の診断に対する現実的な解決策ではない。

【0025】

有利にも、本発明は、血液および血漿試料中のアミロイドタンパク質の特異的検出および/または定量化により、アミロイド関連疾患を診断するための、またはその診断を支援するための、非侵襲的方法を提供する。特定の実施形態において、本明細書において提供される方法は、アミロイド関連障害の診断を支援するために有用であり、この方法は第2の診断方法を用いることをさらに含む。例えば、本明細書において提供される方法は、他の診断ツールと組み合わせて使用して、アミロイドタンパク質関連障害に対する診断または予後を提供することができる。一実施形態において、本明細書において提供される方法は、認識力テスト、精神病歴、精神状態試験、神経心理テスト、家族歴、CTスキャン、脳波記録法(EEG)、陽電子放射型断層撮影法(PET)スキャン、単一光子放射型コンピュータ断層撮影法(SPECT)スキャン、磁気共鳴分光画像法(MRSI)、他の障害を除外するためのテスト(例えば、理学的検査、胸部X線、磁気共鳴画像法、心電図(ECG))などを含むがこれらに限定されない、アルツハイマー病の診断に使用されるテストまたは評価と組み合わせて使用することができる。これらの方法は、低アビディティおよび/または多価抗体のアミロイドタンパク質への非特異的結合など、これらのタンパク質の検出に関連する大きな障害を克服する

10

【0026】

同様に、本発明は、治療法の決定を支援する方法も提供する。本明細書において提供される高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための非侵襲的方法は、アミロイド関連障害のための療法の指定および/または投与を可能にする。例えば、本発明は、アミロイド関連障害のための治療の利益を得る可能性が高い患者を特定するための方法、アミロイド関連障害を診断するための方法、アミロイド関連障害の予後を提供するための方法を提供する。したがって、特定の実施形態において、この方法は、アミロイド関連障害のための治療(例えば、IVIg投与または他の公知の療法)を対象に指定および/または投与するステップをさらに含む。

20

【0027】

ヒト免疫グロブリンG(IgG)レパトリは、免疫化の不在下で発生するアミロイド(A)に対する内因性抗体を含む。これらの抗体は、アルツハイマー病(AD)などのアミロイド関連疾患の診断および治療のために使用することができる。本発明は、血漿中またはプール免疫グロブリン製剤中、例えばIVIg(プールされた血漿に由来する免疫グロブリン製剤)中のこれらの抗体の測定を複雑にする問題に対処する。これらの問題には、空のELISAウェルへの比較的高いバックグラウンド結合、他の血漿タンパク質に起因するアッセイの干渉、および多価性による交絡作用が含まれる。また、抗体特異性に疑問を差し挟むこの交絡を招く問題に対処することは、アミロイド特異的抗体を用いたアミロイド検出の信頼性も改善する。

30

【0028】

本発明は、他にもある態様のなかでも特に、血漿中の抗A抗体の測定を改善する方法を提供する。抗A抗体測定の正確性を混乱させる可能性がある1つの因子は、ヒト血漿中にブランクELISAプレート(ならびにAプレートの未充填部分)に結合する多価IgGが存在することである。ブランクプレート結合は個別に異なり、標準ELISAブロッキング剤またはバックグラウンド除去法によって効果的に排除されない。

40

【0029】

ヒトの血漿または血清中の抗A抗体の定量化は、ほとんどの場合、モノマーまたは凝集(オリゴマーまたは原線維)Aペプチドを含有するELISAプレート上で実施されている。この方法でアッセイされる正常ヒトドナー由来の血漿試料は、ブランクELISAウェル(いかなる添加された抗原も有さないウェル)に有意に結合する。従来のブロッキング剤、例えば脱脂乳、ウシ胎仔血清、アルブミン、および市販のブロッキング調製物の使用にもかかわらず、多大な非特異的ブランクプレート結合が生じる(Klaver

50

et al., J. Neurosci. Meth. 187, 第263頁~第269頁)。

【0030】

ブランクELISAウェルに結合する能力を有する抗体の存在は、空のウェルに対して得られる観測吸光度値が、アミロイド含有プレートに対して得られる値と同程度またはそれ以上となりうることから、個別の抗Aオリゴマー抗体の測定を複雑にする(図1)。

【0031】

ブランクプレート結合は、抗原-抗体複合体を適切なモル濃度のカオトロピック塩溶液に暴露して、特異的抗A抗体の結合を著しく減少させずに、弱く結合した多価抗体を除去することによって著しく減少されることが、本明細書において明らかにされる。

【0032】

抗A抗体測定における不正確性の別の原因である可能性があるものは、全血漿中に存在する他のタンパク質および巨大分子による結合干渉である。IgGを血漿から単離することで、この干渉を排除することができるが、Gタンパク質クロマトグラフィーによる単離時の低pHへの暴露は多価性を発生させ、これは抗A抗体の測定値を人為的に上昇させる。

【0033】

本明細書において提供される改善された方法を使用した表面プラズモン共鳴(SPR)測定は、Aに対して比較的低アビディティの多価抗体、ならびにAモノマーおよび凝集体(例えば、オリゴマー、線維)上の立体配座エピトープに対して中程度ないし高アビディティの抗体をヒト血液(およびIVI G)が含有することを裏付ける。

【0034】

単離時にIgGを変性条件に暴露することを回避することで、より正確な結合測定値を得ることができることが本明細書において明らかにされる。チオフィリッククロマトグラフィーを受けたIgGのアッセイは、出発物質から本質的に変化していない抗アミロイド抗体の力価をもたらす、これは人為的な多価性が生成されていないことを示す。対照的に、Gタンパク質カラムからの酸溶出を受けたIgGは、人為的に抗アミロイド活性が10倍以上にも増加する。チオフィリック吸着剤カラムを通して生成されたIgGは、抗原に結合した抗体を含みうる。したがって、測定力価は遊離抗体のものである。チオフィリッククロマトグラフィーは、そのうちの一部が全血漿中の抗アミロイド抗体の測定に干渉する血漿タンパク質の大部分を除去する。全血漿を用いたマイクロアレイ法などの測定は、様々な年齢および病状により個別に異なりうる他のタンパク質の存在によって混乱する可能性がある(Britishgi Met al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 106:12145-12150(2009))。

【0035】

上記に説明したように、ヒト抗アミロイド抗体の測定に伴う複雑性は、内因性アミロイド特異的IgGが実際に存在するかどうか、あるいはかかる抗体が天然多価抗体であるのか、または人為的に誘導された多価抗体であるのかについて、不確実性を生み出してきた。本明細書において提示される結果は、親和性クロマトグラフィーによって、内因性ヒト抗アミロイド抗体がIVI Gから実際に単離できることを示す。これらの抗体は、百ナノモル単位の範囲の結合定数で、アミロイドの線状エピトープまたは立体配座エピトープのいずれかに対する特異性を示す。これは、同じSPRセンサーを用いてマウスモノクローナル抗アミロイド抗体について測定されたKdと同じ桁内であり、この活性が非特異的多価抗体-抗原相互作用により生じたものである場合に予想されるよりも相当に高い結合アビディティを表す。

【0036】

さらに、アミロイド親和性カラムおよびIAPP原線維親和性カラムに連続的に通して単離された抗原線維抗体は、モノマーおよびオリゴマーのアミロイド抗原、ならびにブランクプレートとのより低い交差反応性を示す。これらの結果は、アミロイドの集合段階によって異なる立体配座ネオエピトープが、ヒトIgGレパートリーによって認識されることを示唆する。

10

20

30

40

50



域遺伝子が含まれる。軽鎖は、 $\kappa$  または  $\lambda$  のいずれかに分類される。重鎖は、 $\gamma$ 、 $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、または  $\alpha$  に分類され、これはそれぞれ免疫グロブリンクラス I g G、I g M、I g A、I g D、および I g E を定義する。

【0043】

例となる免疫グロブリン（抗体）構造単位は、2対のポリペプチド鎖から構成され、各対は1つの「軽」鎖（約25 kD）および1つの「重」鎖（約50～70 kD）を有する。各鎖のN末端は、抗原認識に主に関与するアミノ酸約100～110以上の可変領域を画定する。可変軽鎖（ $V_L$ ）および可変重鎖（ $V_H$ ）という用語は、それぞれこれらの軽鎖および重鎖を指す。各重鎖のC末端はジスルフィド結合し、抗体の定常領域を形成する。

10

【0044】

用語「特異的結合」とは、非標的組成物よりも少なくとも2倍高い親和性、例えば少なくとも4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、25倍、50倍、または100倍高い親和性で標的（抗原、エピトープなど）に結合する分子（例えば、標的化剤、抗体）を指す。

【0045】

用語「抗原」、「検体」、「抗体標的」などは、本明細書において互換的に使用される。一部の例では、抗体とその標的とが相互作用する部位は、例えば、標的部位、結合相互作用部位、または「エピトープ」と定義される。一部の例では、エピトープは三次元部分である。したがって、例えば標的がタンパク質である場合、エピトープは、連続するアミノ酸から構成されていても、またはタンパク質フォールディングにより近付けられたタンパク質の異なる部分に由来するアミノ酸から構成されていてもよい（例えば、不連続エピトープ）。三次元構造を形成する他のタイプの標的分子にも同じことが当てはまる。

20

【0046】

したがって、用語「アミロイド抗原」は、アミロイドのモノマー、オリゴマー、または原線維を指してもよく、あるいはその代わりにアミロイド断片または単一エピトープを指してもよい。当業者は、所定のアミロイドタンパク質または凝集体が、典型的には複数のアミロイド抗原またはエピトープを含むであろうことを理解するであろう。

【0047】

抗体親和性は、単一の抗原決定基および抗体の単一の結合部位との間の反応の強度である。これは抗原決定基と抗体の結合部位との間に働く引力と斥力との合計である。親和性は、典型的には解離定数（ $K_D$ 、 $K_d$ など）に関して表される。抗原に対する抗体の親和性が高いほど、 $K_d$ は低くなる。

30

【0048】

本明細書で使用する用語「低親和性」および「非特異的」は、相対的な用語である。高親和性、中程度の親和性、低親和性、および親和性なしの間の区切りは、所望のストリンジエンシー、および個別に得られる親和性測定値の範囲に応じて使用者が設定してよい。典型的には、高親和性抗体の $K_d$ は約10 nM未満であろう。特定の実施形態では、高親和性抗体の $K_d$ は約10 nM未満、あるいは約9 nM未満、8 nM未満、7 nM未満、6 nM未満、5 nM未満、4 nM未満、3 nM未満、2 nM未満、1 nM未満、900 pM未満、800 pM未満、700 pM未満、600 pM未満、500 pM未満、400 pM未満、300 pM未満、200 pM未満、100 pM未満、50 pM未満、25 pM未満、10 pM未満、5 pM未満、1 pM未満、またはそれ以下であろう。典型的には、低親和性抗体の $K_d$ は、約100 nMを上回るであろう。特定の実施形態において、低親和性抗体の $K_d$ は、約100 nMを上回る、あるいは約200 nMを上回る、300 nMを上回る、400 nMを上回る、500 nMを上回る、600 nMを上回る、700 nMを上回る、800 nMを上回る、900 nMを上回る、1  $\mu$ Mを上回る、2  $\mu$ Mを上回る、3  $\mu$ Mを上回る、4  $\mu$ Mを上回る、5  $\mu$ Mを上回る、6  $\mu$ Mを上回る、7  $\mu$ Mを上回る、8  $\mu$ Mを上回る、9  $\mu$ Mを上回る、10  $\mu$ Mを上回る、またはそれ以上であろう。

40

【0049】

50

アビディティは、多数の抗原決定基を有する抗原と多価抗体との全体的な結合強度の尺度である。アビディティは、抗体の結合価および抗原の結合価の双方に影響される。しかしながらアビディティは、個々の親和性の合計以上のものである。すなわち、親和性は単一の抗原決定基と個々の抗体結合部位との間の結合強度であり、一方アビディティは、多価抗原と抗体との間の全体的結合強度を指す。本明細書において提供される方法の実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、標的アミロイドタンパク質に対して高アビディティを有する。特定の実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、標的アミロイドエピトープに対して高アビディティおよび高親和性の双方を有する。他の実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、標的アミロイドタンパク質に対して高アビディティを有するが、個々のアミロイドエピトープに対して低親和性を有する。

10

#### 【0050】

本明細書で使用する「アミロイドタンパク質」は、インビボまたはインビトロで重合してクロス構造を形成することができるポリペプチドを指す。これらのタンパク質は、アミロイドーシスの特徴とする状態（例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、クロイツフェルト・ヤコブ病など）に罹患している個人の器官および/または組織に異常に沈着する。したがって、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質を特異的に認識する抗体である。抗アミロイド抗体は、1つまたは複数のオリゴマー状態の特定のアミロイドタンパク質、例えばモノマー、ダイマー、またはオリゴマーのアミロイドタンパク質を特異的に認識する。アミロイドタンパク質の非限定的な例には、アミロイド（A<sub>β</sub>；Aベータ）、膝島アミロイドポリペプチド（IAPP；アミリン）、 $\alpha$ -シヌクレイン（SNCA）、主要プリオンタンパク質（PrP）、ハンチンチン（HD）、カルシトニン（CCP）、心房性ナトリウム利尿因子（ANF）、アポリポタンパク質A I（アポ-A I）、血清アミロイドAタンパク質（SAA）、メディンアミロイド（乳脂肪球-EGF因子8タンパク質；MFG-E8の断片）、プロラクチン（PRL）、トランスサイレチン（ATTR）、リゾチームC（1,4- $\beta$ -N-アセチルムラミダーゼC）、 $\alpha$ 2ミクログロブリン（ $\alpha$ 2M）、ゲルゾリン（AGEL）、形質転換成長因子誘導タンパク質ig-h3（ig-h3；ケラトエピセリン）、シスタチンC（CST3）、および免疫グロブリン軽鎖（AL）がある。これらのいずれかまたは他のアミロイドタンパク質は、本明細書において提供される方法を用いることによって検出することができる。

20

#### 【0051】

本明細書で使用する「生物学的試料」とは、対象に由来する細胞または細胞集団あるいはある量の組織または流体を指す。最も多くの場合、試料は動物、例えばヒトから採取される。「生物学的試料」には、血液および血液画分（例えば、血漿、血清など）、他の生体液（例えば、尿、唾液、リンパ液、脳脊髄液（CSF）など）、組織の切片、例えば生検試料および剖検試料、組織学的目的で採取した凍結切片、リンパ組織、培養細胞などがある。

30

#### 【0052】

本明細書で使用する用語「約」は、特定の値からプラスまたはマイナス10%のおおよその範囲を示す。例えば、「約20%」という表現は、18~22%の範囲を包含する。本明細書で使用する時、約は正確な量も含む。したがって、「約20%」は、「約20%」および「20%」を意味する。本明細書で使用する「約」は、特定された値またはその周囲の一連の値を指す。

40

#### 【0053】

用語「用量」および「投与量」は、本明細書において互換的に使用される。用量は、投与ごとに個人に与えられる有効成分の量を指す。用量は、投与頻度、個人の体格および耐性、状態の重症度、副作用のリスク、および投与経路を含む多数の要素によって異なるであろう。当業者は、上記の要素に応じて、または治療の進展に基づいて、用量を変更してもよいことを認識するであろう。用語「剤形」は、医薬品の特定の形態を指し、投与経路により異なる。例えば、剤形は、液体、例えば注射用の生理食塩水であってもよい。

#### 【0054】

50

「治療有効」量または用量、あるいは「十分な/有効な」量または用量は、それが投与される目的の効果を生じる用量である。正確な用量は、治療の目的によって異なり、公知の技法を用いて当業者が確定することができるであろう(例えば、Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (vols. 1-3, 1992)、Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999)、PicKar, Dosage Calculations (1999)、および Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, 2003, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkins を参照)。

10

**【0055】**

本明細書で使用する用語「予防する」は、患者における認知的症状またはアミロイドプラークの可能性の低下または頻度の減少を指す。予防は、完全であっても、または不完全であってもよく、本発明を用いずに生じるであろうよりも少ない症状が患者に観察されてもよい。

**【0056】**

用語「療法」、「治療」、および「改善」は、症状の重症度またはアミロイド凝集の量の低下、あるいは認知機能の向上を指す。本明細書で使用する用語「治療する」および「予防する」は、絶対的な用語として使用していない。治療は、いかなる発病の遅延、症状の改善、患者生存の向上、生存期間または生存率の増加なども指しうる。治療の効果は、治療を受けていない個人または個人の集合と比較することができる。

20

**【0057】**

基準となる「対照」試料または値は、通常は試験試料と比較するための公知の基準である。例えば、試験試料を未知のアミロイド状態の患者から採取して、アミロイドーシス(例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、クロイツフェルト・ヤコブ病など)を診断された患者、および/またはアミロイドーシスに罹患していない、または低い抗アミロイド抗体力価を有することがわかっている個人から採取した対照試料と比較してもよい。また、対照は、類似する病歴を有する類似する個人、例えば、アルツハイマー病患者、パーキンソン病患者、クロイツフェルト・ヤコブ病患者などの集団、または同じ年齢、体重などの集団から収集した平均値であってもよい。また、対照値は、同一の個人から、例えば、症状の発症前、様々な治療時点またはそれらの時点の前に、事前に得た試料から取得することもできる。一部の例では、対照は、1個人内または個人間での比較、例えば、抗アミロイド抗体力価と1つまたは複数の公知の抗体の力価との比較を含みうる。

30

**【0058】**

当業者は、所定の状況でどの対照が有益であるかを理解し、対照値との比較に基づいてデータを分析することができるであろう。また、対照は、データの有意性を判断するためにも有益である。例えば、所定のパラメータに関する値が対照において大きく異なる場合、試験試料における差異は有意であるとみなされない。

**【0059】**

アルツハイマー病および他のアミロイド関連障害

40

アミロイドタンパク質および異常タンパク質凝集体は、多数の異なる疾患および状態の一因となる。本発明は、診断および治療過程の決定に使用することができる、様々な形態のアミロイドタンパク質または一部のタンパク質凝集体に対する特異的高アビディティ自己抗体を検出するための方法を提供する。

**【0060】**

アミロイド関連障害には、アルツハイマー病(AD)だけではなく、パーキンソン病、家族性アミロイド多発ニューロパチー(FAP)、様々な形態のアミロイドーシス(例えば、老人性全身性のもの、フィンランド型のもの、アイスランド型のもの、軟髄膜のもの、家族性の内臓のもの、皮膚性のもの、透析関連のものなど)、および大動脈中膜アミロイドも含まれる。異常タンパク質凝集に関連するさらなる障害には、2型糖尿病、伝染性

50

海綿状脳症、クロイツフェルト・ヤコブ病、ハンチントン病、甲状腺髄様癌、アテローム性動脈硬化症、関節リウマチ、プロラクチノーマ、前頭側頭認知症、ダウン症候群、レビー小体病、および類似の疾患が含まれる。

【0061】

したがって、本発明は、アミロイド関連障害に見られる特定の形態のアミロイドおよびアミロイド凝集体に対する自己抗体を検出および/または単離するために使用することができる。さらに、本明細書において開示される方法は、アミロイド(A $\beta$ ; A $\beta$ ペータ)、 $\alpha$ -シヌクレイン(SNCA)、 $\alpha$ -ミューシヌクレイン(IAPP; アミリン)、 $\alpha$ -セクレタン(A $\beta$ PP)、主要プリオンタンパク質(PrP)、ハンチンチン(HD)、カルシトニン(CCP)、心房性ナトリウム利尿因子(ANF)、アポリポタンパク質A I(アポ-A I)、血清アミロイドAタンパク質(SAA)、メディンアミロイド(乳脂肪球-EGF因子8タンパク質; MFG-E8の断片)、プロラクチン(PRL)、トランスサイレチン(ATTR)、リゾチームC(1,4-N-アセチルムラミダーゼC)、 $\alpha$ 2ミクログロブリン( $\alpha$ 2M)、ゲルゾリン(AGEL)、形質転換成長因子誘導タンパク質ig-h3(ig-h3; ケラトエピセリン)、シスタチンC(CST3)、免疫グロブリン軽鎖(AL)、ポリグルタミン反復を有するタンパク質、Tauタンパク質(Tau)、および他のアミロイドタンパク質から形成される異常タンパク質凝集体に対する抗体の検出に適用することもできる。

10

【0062】

例えば、ADおよびパーキンソン病の場合にはA $\beta$ 原線維に対する特異的自己抗体の検出は、診断または危険因子の評価において使用することができる。本発明の診断方法は、医療の当業者により決定することが可能な、例えば年齢、家族歴、認知的症状などに基づきアミロイド関連障害を発症するリスクがあるとみなされる個人に適用することができる。

20

【0063】

アミロイド関連障害の危険因子および症状は、熟練した医師によって最適に決定することができるであろう。これらの障害を発症するリスクは、年齢とともに上昇し、家族歴と相関する。多くの場合、絶対に確実な診断は実現不可能と考えられる。ADの観察可能な症状には、破壊的記憶喪失、問題を解決する能力の差、時間や場所についての混乱、日常的な作業完了の困難、引きこもり、および気分の変化がある。これらは疾患の理学的発現、例えばアミロイドプラーク形成の増加および脳容積の全体的減少と相関する。

30

【0064】

抗アミロイド免疫グロブリンの検出および単離

低レベルの自己抗体が、所定の抗原を接種していない個人の血液中に認められる。例えば、複数の個人からプールした血漿調製物は、A $\beta$ などのアミロイドタンパク質に結合するIgG抗体の小画分を含む。本明細書において説明するように、抗体特異性を決定する不正確な方法および抗体単離の過酷な方法は、アミロイド特異的抗体が実際に存在するか、あるいは人為的なものまたは非特異的相互作用を示すのかについて、不確実性を生み出してきた。

40

【0065】

本発明は、様々な形態のアミロイド、例えばモノマー、オリゴマー、および原線維のアミロイドタンパク質(すなわちA $\beta$ )に対して特異的な抗体を検出および/または単離する方法を提供する。例えば、A $\beta$ -特異的IgGの小集団は、穏やかなカオトロピック洗浄を用いて低親和性抗体および非特異的抗体を除去することによって、生物学的試料から単離することができる。一部の実施形態において、この方法は、まずチオフィリック親和性に基づく方法を用いて、試料中の他のタンパク質からIgGを分離することと、穏やかなカオトロピック洗浄を用いて、低親和性抗体および非特異的抗体を除去することを含む。これらのステップは、いかなる順序で実施してもよい。典型的には、生物学的試料は血漿または血清である。

【0066】

50

当業者は、カオトロピック剤が、高親和性抗体の結合特異性を著しく妨害せずに、低親和性抗体または非特異的抗体の弱い結合相互作用を妨害するのに十分な量で存在すべきであることを理解するであろう。例えば、尿素はカオトロピック剤であるが、高濃度の尿素は多価性を発生させる可能性がある。これは、カオトロピック剤によって生じるあらゆるアミロイド特異的親和性は典型的には低いことから、本発明の検出方法にとって致命的ではない。

【0067】

抗体は、標準的方法を用いて、例えば検出可能に標識された抗体結合剤、例えば抗ヒト二次抗体、抗原（例えば、A）、Aタンパク質、Gタンパク質などを用いて、検出することができる。かかる方法には、ELISA、ウエスタンブロット、免疫蛍光法、および当技術分野で公知の他のタンパク質検出方法（例えば、米国特許第4,366,241号、第4,376,110号、第4,517,288号、および第4,837,168号を参照）が含まれる。一般的なイムノアッセイの概説については、METHODS IN CELL BIOLOGY, VOL. 37, Asai, ed. Academic Press, Inc. New York (1993)、BASIC AND CLINICAL IMMUNOLOGY 7TH EDITION, Stites & Terr, eds. (1991)も参照されたい。免疫結合アッセイ（またはイムノアッセイ）は、典型的には、抗体に特異的に結合し、しばしばそれを固定化するリガンド（例えば、アミロイド、A、または特定の形態のA）を使用する。

10

【0068】

イムノアッセイは多くの場合、リガンドおよび抗体によって形成された結合複合体に特異的に結合し、それを標識する標識剤も使用する。標識剤は、それ自体が抗体/検体複合体を成す部分のひとつ、例えば検出可能に標識された検体であってもよい。あるいは、標識剤は、抗体/検体複合体に特異的に結合する第3の部分、例えば別の抗体であってもよい。

20

【0069】

標識剤が標識を含有する第2の抗アミロイド抗体である、競合アッセイを用いることもできる。そのとき2種類の抗体は固定化アミロイド抗原との結合で競合する。あるいは、非競合形式では、抗アミロイド抗体は標識を有さないが、この抗アミロイド抗体が由来する種、例えばヒトの抗体に特異的でありかつこの抗アミロイド抗体に結合する第2の抗体が標識される。

30

【0070】

免疫グロブリン定常領域を特異的に結合することができる他のタンパク質、例えばAタンパク質またはGタンパク質も標識剤として使用することができる（概して、Kronval, et al., J. Immunol. 111: 1401-1406 (1973)、およびAkerstrom, et al., J. Immunol. 135: 2589-2542 (1985)を参照）。

【0071】

アッセイ全体を通じて、毎回の試薬の配合後に、インキュベーションステップおよび/または洗浄ステップが必要となりうる。インキュベーションステップは、約5秒から数時間、例えば約5分～約24時間と異なってよい。しかしながら、インキュベーション時間は、アッセイ形式、抗体、溶液の量、濃度などによって異なるであろう。通常は、アッセイは、周囲温度で実施することになるが、10～40など、ある温度範囲にわたって実施してもよい。

40

【0072】

所望であれば、使用者は、高、中、低親和性/アビディティの区切り範囲を設定して、これらの範囲内の抗体を検出してもよい。親和性アッセイを用いて、抗体の解離定数(K<sub>d</sub>)を測定することができる。「解離定数」という表現は、抗体の抗原に対する親和性を指す。抗体と抗原との間の結合の特異性は、抗体の解離定数(K<sub>D</sub> = 1/K、式中Kは親和性定数)が1 μM未満の場合に存在し、特異性および親和性が向上すると、抗体はしば

50

しば  $K_D < 100 \text{ nM}$  または  $< 10 \text{ nM}$  を有する。  $K_D = [Ab - Ag] / [Ab][Ag]$  であり、式中、  $[Ab]$  は抗体の平衡濃度であり、  $[Ag]$  は抗原の平衡濃度であり、  $[Ab - Ag]$  は抗体 - 抗原複合体の平衡濃度である。典型的には、抗原と抗体との間の結合相互作用には、可逆的非共有結合的会合、例えば静電引力、ファン・デル・ワールス力、および水素結合が含まれる。この結合特異性を測定する方法は、単一重鎖および/または軽鎖、CDR、融合タンパク質、または重鎖および/または軽鎖の断片に適合する。

#### 【0073】

得られる A 特異的抗体の集団は異種であるが、高親和性、例えば A に対して特異的に産生したモノクローナル抗体の範囲の  $K_d$  で A に結合する。

10

#### 【0074】

アミロイド関連障害およびアルツハイマー病に対する療法

アミロイド関連疾患および状態、例えば AD の治療は、典型的には、この疾患の認知的症状および気分症状に重点を置く。早期治療および予防方法には、身体的および社会的活動、記憶ゲーム、ならびにパズルおよび問題の解決が含まれる。症状を示す個人に対する薬物療法には、コリンエステラーゼ阻害剤（アセチルコリンの減少に対処するため）、グルタミン酸部分拮抗薬（例えば、メマンチン）、および精神医学的薬物（例えば、抗精神病薬、睡眠補助薬、抗不安薬、および遮断薬）が含まれる。コリンエステラーゼ阻害剤には、Aricеп（登録商標）t（塩酸ドネベジル）、Exelon（登録商標）（リバステイグミン）、Razadyne（登録商標）（ガラントミン）、および Cognex（登録商標）（タクリン）が含まれる。

20

#### 【0075】

また、プールされた免疫グロブリン製剤が AD 症状の改善効果を有しうることも観察されている。IVI G（静注用免疫グロブリン）と称されるかかる製剤は、例えば米国特許出願第 12 / 789 , 345 号（2010年5月27日出願）および米国特許出願第 12 / 789 , 365 号（2010年5月27日出願）に記載されているように調製される。IVI G を用いて AD、パーキンソン病、および他のタンパク質凝集障害を治療する方法は、米国特許公開第 2009 / 0148463 号および第 2009 / 0221017 号に開示されている。

30

#### 【0076】

簡潔に述べると、IVI G は、複数の個人に由来する静脈血をプールし、血漿画分を分離し、クロマトグラフィー、限外濾過、および透析濾過の組み合わせを用いて、Ig G 免疫グロブリンを濃縮することによって作製される。IVI G は、典型的には、静脈内注入によって投与される。

40

#### 【0077】

抗アミロイド抗体の検出のための方法

一態様において、本発明は、生物学的試料中の抗アミロイド抗体を検出するための改善された方法を提供する。例えば、本明細書において、哺乳動物の血液中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体の測定のための方法が提供される。一実施形態において、本発明は、生体液中に存在する凝集または非凝集アミロイドタンパク質に対する抗体の正確な定量化のための方法を提供する。これらの抗体は、アルツハイマー病（AD）を含むヒトアミロイドーシス疾患および他の神経変性障害の予測、診断、および治療のための有意な手段として浮上してきた。また、抗体は、他の哺乳動物種、特にこれらの疾患のモデルとして使用されるものにおいても産生しうる。このように、本発明は、凝集アミロイドタンパク質、ならびに検査される流体中のモノマーレベルが低い場合には未凝集アミロイドモノマーに対する抗体の定量化および特徴付けを改善する。

40

#### 【0078】

したがって、本発明は、例えば個人に由来する生物学的試料から、抗アミロイド抗体を検出する方法を提供する。典型的には、抗アミロイド抗体は、生物学的試料、例えば血清、血漿、脳脊髄液、リンパ液、尿、または他の生体液もしくは画分に対して可溶性である

50

だろう。しかしながら、抗アミロイド抗体は、組織生検でも検出可能である。

【0079】

好適な方法において、生物学的試料（例えば、血液、血清、または血漿試料）が採取され、または生検が実施され、採取された生物学的試料がインビトロでテストされる。特定の実施形態において、試料中に存在する免疫グロブリンは、検出前に濃縮される。他の実施形態において、免疫グロブリンは、検出前にさらに濃縮されない。次に組織または流体は、アミロイド抗原と接触させられ、得られるいかなる免疫複合体も試料中に抗アミロイド抗体が存在することを示す。かかる検出を容易にする目的で、アミロイド抗原を放射性標識してもよく、または検出可能な標識であるエフェクタ分子、例えば蛍光標識と結合させてもよい。

10

【0080】

抗アミロイド抗体ならびにアミロイドタンパク質および/または凝集体は、標準的イムノアッセイ法を用いて検出することができる。標準的方法には、例えば、ラジオイムノアッセイ、サンドイッチイムノアッセイ（ELISAを含む）、免疫蛍光アッセイ、ウエスタンブロット、親和性クロマトグラフィー（固相に結合した親和性リガンド）、および標識抗体によるインサイチュー検出が含まれる。かかる使用に適した検出可能な標識には、分光学的、光化学的、生化学的、免疫化学的、電気的、光学的、または化学的手段により検出可能なあらゆる組成物が含まれる。本発明において有用な標識には、磁気ビーズ（例えば、DYNABEADS）、蛍光染料（例えば、フルオレセインイソチオシアネート、テキサスレッド、ローダミン、緑色蛍光タンパク質、など）、放射性標識（例えば、 $^3\text{H}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、または $^{32}\text{P}$ ）、酵素（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、およびELISAで一般に使用される他のもの）、および比色標識、例えばコロイド金または着色ガラスもしくはプラスチック（例えば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックス）ビーズが含まれる。一部の実施形態において、抗アミロイド抗体結合を検出するために二次検出剤（例えば、ヤギ抗ヒトFITC）が採用される。適用可能な技術の概要は、Harlow & Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (1988)に記載されている。

20

【0081】

生体標本から抽出した抗アミロイド抗体を測定するために現在採用されている方法は、変性条件への暴露の結果としての抗アミロイド活性の人為的な増加および損失を受ける。例えば、一部の方法は、Aタンパク質またはGタンパク質親和性クロマトグラフィーを用いた抗体（Ig）の濃縮時に、あるいは結合した抗原から抗体を遊離させるために、酸性化を採用する。低pHへの暴露は、一部の哺乳動物免疫グロブリンを完全または部分的に変性させる。これは、機能の損失または多価性の増加につながり、これら両現象は、特異的抗アミロイド抗体のレベルの測定に有害影響を与える。有利にも、本明細書において提供される方法は、酸または他の変性条件への暴露を用いずに、Igを血漿から分離し、弱く結合した抗原分子を抗アミロイド抗体から解離する。

30

【0082】

一実施形態において、本発明は、哺乳動物の血漿および他の生体液中のアミロイド形成性タンパク質に対する抗体のレベルを定量化するための方法を提供する。既存の方法とは異なり、本発明は、非特異的抗体結合、血漿巨大分子からの干渉、および精製時の免疫グロブリンの変性による結合活性の人為的発生の交絡作用を回避する。

40

【0083】

例えば、内因性抗アミロイド活性を測定するために全血漿を使用する以前のアッセイは、他の未だに同定されていない血漿巨大分子からの干渉によって、人為的に変更される。有利にも、本明細書において提供される方法は、当該抗アミロイド抗体を保存する様式で、これらの未同定血漿巨大分子の干渉活性を排除する。

【0084】

従来ガラス、金属、またはプラスチック基体上で行う測定は、抗体のアミロイドタンパク質およびアッセイプレートへの非特異的結合による影響を受ける。ヒト血漿は、アミ

50

ロイド凝集体に対して低アビディティを有する比較的少量の多価抗体を含有する。かかる抗体、ならびにアッセイ基体に非特異的に結合する抗体の存在は、様々なアッセイ方法で測定された抗アミロイド活性を人為的に変更する。有利にも、本明細書において提供される方法は、結合のアビディティの差に基づいて、特異的抗体と非特異的抗体とを区別することができる。

【0085】

カオトロピック洗浄ステップを採用する方法

一実施形態において、本発明は、哺乳動物の血漿および他の生体液中のアミロイド形成性タンパク質に対する抗体のレベルを定量化するための方法を提供する。既存の方法とは異なり、本発明は、非特異的抗体結合、血漿巨大分子からの干渉、および精製時の免疫グロブリンの変性による結合活性の人為的発生の交絡作用を回避する。

10

【0086】

例えば、従来ガラス、金属、またはプラスチック基体上で行う測定は、抗体のアミロイドタンパク質およびアッセイプレートへの非特異的結合による影響を受ける。ヒト血漿は、アミロイド凝集体に対して低アビディティを有する比較的少量の多価抗体を含有する。かかる抗体、ならびにアッセイ基体に非特異的に結合する抗体の存在は、様々なアッセイ方法で測定された抗アミロイド活性を人為的に変更する。有利にも、本明細書において提供される方法は、結合のアビディティの差に基づいて、特異的抗体と非特異的抗体とを区別することができる。

20

【0087】

したがって、一態様において、本発明は、試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法を提供する。一部の実施形態において、この方法は、(a) 生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、(i) アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに(ii) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、を形成するステップと、(b) ステップ(a)で形成されたアミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含む溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、(c) 残留複合体の存在またはレベルを検出するステップと、を含む。

30

【0088】

一実施形態において、生物学的試料は、生体液、例えば、血液、血漿、尿、リンパ液、滑液などである。他の実施形態において、生物学的試料は、組織試料または生検であってよい。好適な実施形態において、生物学的試料は、血液試料またはその画分(例えば、血漿または血漿画分)である。別の好適な実施形態において、生物学的試料は、免疫グロブリン調製物または濃縮物である。具体的な実施形態において、免疫グロブリン濃縮は、チオフィリッククロマトグラフィーによって実施される。別の特定の実施形態において、免疫グロブリン濃縮は、混合モードリガンドクロマトグラフィーによって実施される。

【0089】

一実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、アミロイド(A ; Aベータ)、隣島アミロイドポリペプチド(IAPP ; アミリン)、 $\alpha$ -シヌクレイン(SNCA)、主要プリオンタンパク質(PrP)、ハンチンチン(HD)、カルシトニン(CCP)、心房性ナトリウム利尿因子(ANF)、アポリポタンパク質AI(アポ-AI)、血清アミロイドAタンパク質(SAA)、メディンアミロイド(乳脂肪球-EGF因子8タンパク質 ; MFG-E8の断片)、プロラクチン(PRL)、トランスサイレチン(ATTR)、リゾチームC(1,4-N-アセチルムラミダーゼC)、 $\alpha$ 2ミクログロブリン( $\alpha$ 2M)、ゲルゾリン(AGEL)、形質転換成長因子誘導タンパク質ig-h3(i g-h3 ; ケラトエピセリン)、シスタチンC(CST3)、免疫グロブリン軽鎖(AL)、およびポリグルタミン反復を有するアミロイドタンパク質から選択されるアミロイドタンパク質に対して特異的な抗体である。一実施形態において、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質モノマーに対して特異的である。別の実施形態において、抗

40

50

アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質オリゴマー（すなわち、ダイマー、トリマーなど）に対して特異的である。さらに別の実施形態において、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質原線維に対して特異的である。

【0090】

好適な実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、アミロイド（A<sub>β</sub>；A<sub>β</sub>ペータ）に対して特異的な抗体である。一実施形態において、抗A<sub>β</sub>抗体はA<sub>β</sub>モノマーに対して特異的である。別の実施形態において、抗A<sub>β</sub>抗体はA<sub>β</sub>オリゴマー（すなわち、ダイマー、トリマーなど）に対して特異的である。さらに別の実施形態において、抗A<sub>β</sub>抗体はA<sub>β</sub>原線維に対して特異的である。

【0091】

本明細書において提供される方法の一実施形態において、低親和性抗体または非特異的抗体は、低アビディティ抗アミロイド抗体である。具体的な実施形態において、低アビディティ抗アミロイド抗体は、低アビディティ抗A<sub>β</sub>抗体である。

【0092】

本明細書において提供される方法において採用されるカオトロピック洗浄ステップは、いかなる公知のカオトロピック剤を用いて実施してもよい。カオトロピック塩を使用する場合、この塩は、塩素酸イオン（ClO<sub>3</sub><sup>-</sup>）以上のカオトロピック効果を有するアニオン、またはカルシウムイオン以上のカオトロピック効果を有するカチオンのいずれかを一般に含むであろう。

【0093】

一実施形態において、カオトロピック塩はグアニジン塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができるグアニジン塩の非限定的な例には、塩化グアニジン、硝酸グアニジン、およびチオシアン酸グアニジンがある。

【0094】

別の実施形態において、カオトロピック塩はチオシアネート塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができるチオシアネート塩の非限定的な例には、チオシアン酸アンモニウム、チオシアン酸カリウム、チオシアン酸ナトリウム、チオシアン酸リチウム、チオシアン酸カルシウム、およびチオシアン酸グアニジンがある。具体的な実施形態において、カオトロピック塩はチオシアン酸アンモニウムである。一実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約0.5 M～約4.0 Mで使用する。別の実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約1.0 M～約3.0 Mで使用する。さらに別の実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約1.5 M～約2.5 Mで使用する。

【0095】

さらに別の実施形態において、カオトロピック塩は過塩素酸塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができる過塩素酸塩の非限定的な例には、過塩素酸アンモニウム、過塩素酸ナトリウム、過塩素酸リチウム、過塩素酸マグネシウム、および過塩素酸カルシウムがある。

【0096】

さらに別の実施形態において、カオトロピック塩はヨウ化物塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができるヨウ化物塩の非限定的な例には、ヨウ化アンモニウム、ヨウ化カリウム、ヨウ化ナトリウム、ヨウ化リチウム、ヨウ化マグネシウム、およびヨウ化カルシウムがある。

【0097】

さらに別の実施形態において、カオトロピック塩は塩素酸塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができる塩素酸塩の非限定的な例には、塩素酸ナトリウム、塩素酸リチウム、塩素酸マグネシウム、および塩素酸カルシウムがある。

【0098】

本明細書において提供される方法の洗浄ステップで使用されるカオトロピック剤の濃度は、非特異的（すなわち、低アビディティ）抗アミロイド抗体とアミロイド抗原との間の

10

20

30

40

50

相互作用を妨害するのに十分であるが、特異的（すなわち、高アビディティ）抗アミロイド抗体とアミロイド抗原との間の相互作用を妨害しないように選択されるべきである。使用されるカオトロピック剤の絶対濃度は、特定のカオトロピック剤の強度および使用する特定のシステム（例えば、抗 A 抗体 E L I S A アッセイ）において形成される抗体 - アミロイド抗原相互作用の強度を含む多数の要因に左右されるであろう。当業者は、その特定のシステムに使用するカオトロピック剤の最適な濃度を容易に決定する方法を認識するであろう。一実施形態において、カオトロピック剤は、洗浄剤濃度約 0.5 M ~ 約 4.0 M で使用する。別の実施形態においてカオトロピック剤は、洗浄剤濃度約 1.0 M ~ 約 3.0 M で使用する。さらに別の実施形態において、カオトロピック剤は、洗浄剤濃度約 1.5 M ~ 約 2.5 M で使用する。

10

#### 【0099】

本明細書において提供される方法の特定の実施形態において、生物学的試料（すなわち、血液、血漿、尿、リンパ液など）中に認められる免疫グロブリンは、生物学的試料を 1 種または複数種のアミロイド抗原と接触させるステップの前に濃縮される。好ましくは、免疫グロブリンは、抗体を部分的または完全に変性させない方法によって濃縮される。一実施形態において、本明細書において提供される高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法は、抗体の変性をもたらさないクロマトグラフ法により免疫グロブリンを濃縮するステップを含む。一実施形態において、このクロマトグラフ法は、チオフィリック樹脂を用いて実施される。別の実施形態において、このクロマトグラフ法は、混合モードリガンド化学物質を用いて実施される（Upfront Chromatography A/S 社）。他の実施形態において、本明細書において提供される高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法は、抗体の変性をもたらさない非クロマトグラフ法により免疫グロブリンを濃縮するステップを含む。

20

#### 【0100】

チオフィリック濃縮ステップを採用する方法

一実施形態において、本発明は、哺乳動物の血漿および他の生体液中のアミロイド形成性タンパク質に対する抗体のレベルを定量化するための方法を提供する。既存の方法とは異なり、本発明は、非特異的抗体結合、血漿巨大分子からの干渉、および精製時の免疫グロブリンの変性による結合活性の人為的発生の交絡作用を回避する。

30

#### 【0101】

例えば、内因性抗アミロイド活性を測定するために全血漿を使用した以前のアッセイは、他の未だに同定されていない血漿巨大分子からの干渉によって、人為的に変更される。有利にも、本明細書において提供される方法は、当該抗アミロイド抗体を保存する様式で、これらの未同定血漿巨大分子の干渉活性を排除する。

#### 【0102】

生体標本から抽出した抗アミロイド抗体を測定するために現在採用されている方法は、変性条件への暴露の結果としての抗アミロイド活性の人為的な増加または損失を受ける。例えば、一部の方法は、A タンパク質または G タンパク質親和性クロマトグラフィーを用いた抗体（Ig）の濃縮時に、あるいは結合した抗原から抗体を遊離させるために、酸性化を採用する。低 pH への暴露は、一部の哺乳動物免疫グロブリンを完全または部分的に変性させる。これは、機能の損失または多価性の増加につながり、これら両現象は、特異的抗アミロイド抗体のレベルの測定に有害影響を与える。有利にも、本明細書において提供される方法は、酸または他の変性条件への暴露を用いずに、Ig を血漿から分離し、弱く結合した抗原分子を抗アミロイド抗体から解離する。

40

#### 【0103】

したがって、一態様において、本発明は、生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法であって、（a）生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、（b）抗体を非変性 pH でチオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、（c）溶出物をアミロイド抗原と接触させて、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体を形成する

50

ステップと、(d)複合体の存在またはレベルを検出するステップと、を含む方法を提供する。

【0104】

一実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、アミロイド(A; Aベータ)、膵島アミロイドポリペプチド(IAPP; アミリン)、 $\alpha$ -シヌクレイン(SNCA)、主要プリオンタンパク質(PrP)、ハンチンチン(HD)、カルシトニン(CCP)、心房性ナトリウム利尿因子(ANF)、アポリポタンパク質AI(アポ-AI)、血清アミロイドAタンパク質(SAA)、メディンアミロイド(乳脂肪球-EGF因子8タンパク質; MFG-E8の断片)、プロラクチン(PRL)、トランスサイレチン(ATTR)、リゾチームC(1,4-N-アセチルムラミダーゼC)、 $\alpha$ 2ミクログロブリン( $\alpha$ 2M)、ゲルゾリン(AGEL)、形質転換成長因子誘導タンパク質ig-h3(ig-h3; ケラトエピセリン)、シスタチンC(CST3)、免疫グロブリン軽鎖(AL)、およびポリグルタミン反復を有するアミロイドタンパク質から選択されるアミロイドタンパク質に対して特異的な抗体である。一実施形態において、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質モノマーに対して特異的である。別の実施形態において、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質オリゴマー(すなわち、ダイマー、トリマーなど)に対して特異的である。さらに別の実施形態において、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質原線維に対して特異的である。

10

【0105】

好適な実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、アミロイド(A; Aベータ)に対して特異的な抗体である。一実施形態において、抗A抗体はAモノマーに対して特異的である。別の実施形態において、抗A抗体はAオリゴマー(すなわち、ダイマー、トリマーなど)に対して特異的である。さらに別の実施形態において、抗A抗体はA原線維に対して特異的である。

20

【0106】

本明細書において提供される方法の一実施形態において、低親和性抗体または非特異的抗体は低アビディティ抗アミロイド抗体である。具体的な実施形態において、低アビディティ抗アミロイド抗体は低アビディティ抗A抗体である。

【0107】

本明細書において提供される方法の特定の実施形態において、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体は、前記複合体の存在またはレベルを検出する前に、非特異的抗体(すなわち、低アビディティ抗体)とアミロイド抗原との間の相互作用を解離するために、カオトロピック塩を含有する溶液で洗浄される。本明細書において提供される方法で採用されるカオトロピック洗浄ステップは、いかなる公知のカオトロピック剤を用いて実施してもよい。カオトロピック塩を使用する場合、この塩は、塩素酸イオン( $\text{ClO}_3^-$ )以上のカオトロピック効果を有するアニオン、またはカルシウムイオンに優るカオトロピック効果を有するカチオンのいずれかを一般に含むであろう。一実施形態において、カオトロピック剤は、尿素、チオ尿素、グアニジン塩、チオシアネート塩、過塩素酸塩、ヨウ化物塩、および塩素酸塩から選択される。具体的な実施形態において、カオトロピック塩はチオシアン酸アンモニウムである。一実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約0.5M~約4.0Mで使用する。別の実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約1.0M~約3.0Mで使用する。さらに別の実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約1.5M~約2.5Mで使用する。

30

40

【0108】

本明細書において提供される方法の洗浄ステップで使用されるカオトロピック剤の濃度は、非特異的(すなわち、低アビディティ)抗アミロイド抗体とアミロイド抗原との間の相互作用を妨害するのに十分であるが、特異的(すなわち、高アビディティ)抗アミロイド抗体とアミロイド抗原との間の相互作用を妨害しないように選択されるべきである。使用されるカオトロピック剤の絶対濃度は、特定のカオトロピック剤の強度、および使用す

50

る特定のシステム（例えば、抗 A 抗体 E L I S A アッセイ）において形成される抗体 - アミロイド抗原相互作用の強度を含む多数の要因に左右されるであろう。当業者は、その特定のシステムに使用するカオトロピック剤の最適な濃度を容易に決定する方法を認識するであろう。一実施形態において、カオトロピック剤は、洗浄剤濃度約 0.5 M ~ 約 4.0 M で使用する。別の実施形態においてカオトロピック剤は、洗浄剤濃度約 1.0 M ~ 約 3.0 M で使用する。さらに別の実施形態において、カオトロピック剤は、洗浄剤濃度約 1.5 M ~ 約 2.5 M で使用する。

#### 【0109】

##### 診断方法および予後判定方法

特定の態様において、本明細書において提供される抗アミロイド抗体を検出するための方法は、上述のようなアミロイド関連疾患のリスクがあるかまたは罹患している個人の診断および予後のために使用することができる。例えば、血清および一部の組織中の高レベルのアミロイド、とりわけ A は、アルツハイマー病に関連するアミロイドブラークの発生可能性の増加を示しうる。また、高レベルのアミロイド特異的自己抗体も、個人に A D リスクがあるかまたは A D 関連症状の悪化リスクがあることを示す。

#### 【0110】

##### 診断および/または適切な治療の選定のための方法

したがって、一部の実施形態において、本発明は、アミロイド関連障害を有する対象またはアミロイド関連障害を有することが疑われる対象の診断および/または治療過程の選定のための方法を提供する。一部の実施形態において、この方法は、アミロイドタンパク質に特異的な自己抗体の検出および/または測定を含む。アミロイドタンパク質に対して高アビディティを有する内因性抗体を検出するための方法は、本明細書において概説される。

#### 【0111】

一実施形態において、抗アミロイド抗体を検出するための方法は、対象から、抗体含有試料、便利には血液または血漿試料を得ることを含んでもよい。試料は、例えば、血漿および細胞物質にさらに分離して、抗体含有画分を単離することもできるが、このステップは必ずしも必要ではない。また、試料にサイズ濾過および/またはクロマトグラフィー方法を実施してもよい。一部の実施形態において、試料にチオフィリッククロマトグラフィーを実施して、試料から非免疫グロブリンタンパク質を除去する。試料または溶離液は、次に、抗体と抗原との間の相互作用を検出するために設計されたシステムにおけるアミロイド抗原、例えば、例として E L I S A プレートまたはクロマトグラフィーマトリックスである便利なマトリックスに結合した抗原と接触させてもよい。アミロイド抗原は、異種アミロイドまたは主に同種のアミロイドのモノマー、オリゴマー、または原線維など、いかなる形態であってもよい。アミロイド - 抗体複合体を形成させるのに十分なインキュベーション後、アミロイド - 抗体複合体を、カオトロピック剤を含む洗浄剤に暴露して、低親和性抗体および非特異的抗体を除去する。このカオトロピック洗浄後、アミロイド抗原と複合体化した抗体の存在またはレベルを検出する。抗体は、所望であれば検出前に抗原から溶出してもよく、あるいは標識したアミロイド抗原と競合させて除去し、検出を簡略にしてもよい。抗体は、上述のようにして検出することができる。

#### 【0112】

一部の実施形態において、少なくとも 1 つの対照を試料と同時に試験して、抗体の量および/または結合のレベルを比較する。他の実施形態において、アッセイの結果は、当該システムに対してあらかじめ確定された対照レベルと比較してもよい。例えば、陽性対照は、アミロイド関連疾患を有することがわかっている個人または個人の群から得た同一の生物学的試料を含みうる。適切な陽性対照の別の例は、例えば高親和性および/またはアビディティ対照としての公知の抗アミロイドモノクローナル抗体である。例となる陰性対照には、アミロイド関連疾患を発症するリスクが低い個人または個人の群から得た同一の生物学的試料を含みうる。適切な陰性対照の別の例は、非アミロイド抗原に対して特異的であるか、またはアミロイド抗原に対して低アビディティを有する公知の抗体である。

## 【0113】

かかる方法を用い、比較的高レベルの抗アミロイド抗体を、対象がアミロイド関連障害を有する可能性、またはアミロイド関連障害の発症リスクが高い可能性の増大と関連させれば、当業者は、対象におけるアミロイド関連疾患を診断することができる。

## 【0114】

上記の方法は、アミロイド関連疾患療法の対象となる患者群を選定するために適用することができる。例えば、抗アミロイド抗体のレベルは複数の個人において測定することができる。上記に説明したように、比較的高レベルの抗アミロイド抗体を有すると測定された個人を治療対象に選定することができる。一部の実施形態において、抗アミロイド抗体のレベルは、治療過程全体にわたり定期的に検出される。一部の実施形態において、治療はIVIgの投与を含む。

10

## 【0115】

カオトロピック洗浄ステップを採用する方法

一態様において、本発明は、哺乳動物の血漿および他の生体液中のアミロイド形成性タンパク質に対する抗体のレベルを定量化することを含む、アミロイド関連疾患または状態の治療の候補者である対象を特定する方法であって、非特異的および低アビディティ抗アミロイド抗原結合に関連するシグナルを減少させるためにカオトロピック洗浄ステップが採用される方法を提供する。好適な実施形態において、治療は、免疫グロブリン製剤の投与を含む。具体的な実施形態において、アミロイド関連疾患はアルツハイマー病である。

## 【0116】

関連する態様において、本発明は、哺乳動物の血漿および他の生体液中のアミロイド形成性タンパク質に対する抗体のレベルを定量化することを含む、アミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法であって、非特異的および低アビディティ抗アミロイド抗原結合に関連するシグナルを減少させるためにカオトロピック洗浄ステップが採用される方法を提供する。好適な実施形態において方法はアルツハイマー病を診断するための方法である。

20

## 【0117】

既存の方法とは異なり、本発明は、非特異的抗体結合、血漿巨大分子からの干渉、および精製時の免疫グロブリンの変性による結合活性の人為的発生の交絡作用を回避する。

## 【0118】

例えば、従来ガラス、金属、またはプラスチック基体上で行う測定は、抗体のアミロイドタンパク質およびアッセイプレートへの非特異的結合による影響を受ける。ヒト血漿は、アミロイド凝集体に対して低アビディティを有する比較的多量の多価抗体を含有する。かかる抗体、ならびにアッセイ基体に非特異的に結合する抗体の存在は、様々なアッセイ方法で測定された抗アミロイド活性を人為的に変更する。有利にも、本明細書において提供される方法は、結合のアビディティの差に基づいて、特異的抗体と非特異的抗体とを区別することができる。

30

## 【0119】

したがって、具体的な実施形態において、本発明は、アミロイド関連疾患または状態の治療の候補者である対象を特定するための方法を提供する。一部の実施形態において、この方法は、(a) 対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、(i) アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに(ii) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、を形成するステップと、(b) ステップ(a)で形成されたアミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、(c) 残留複合体のレベルを検出するステップと、(d) 抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、対象がアミロイド関連疾患または状態の治療から利益を得るかどうかを決定するステップと、を含む。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。

40

50

## 【0120】

治療の候補者である対象を特定するための方法の一部の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を有さない個人または個人の群に由来し、対照に対して増加したレベルの残留複合体は治療の候補者であることを示す。一部の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を有する個人または個人の群に由来し、対照に対して類似するレベルの残留複合体は治療に適していることを示す。さらに別の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を診断され、特定の治療過程に有利に反応した個人または個人の群に由来する。別の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を診断され、特定の治療過程に有利に反応しなかった個人または個人の群に由来する。当業者は、少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

10

## 【0121】

特定の実施形態において、治療の候補者である対象を特定するための方法は、対象に治療過程を指定する、または治療を施すステップをさらに含む。一般に、この治療過程は、生物学的試料中の抗アミロイド抗体のレベルが対照閾値（例えば、アミロイド関連状態を有する可能性が高い、または特定の治療に反応する可能性が高い対象を示す閾値）を上回るか、あるいは、陰性対照（例えば、アミロイド関連状態を有さない群または個人に由来する対照レベル、あるいは特定の治療に有利に反応しなかった群または個人に由来する対照レベル）より、陽性対照（例えば、アミロイド関連状態を有する群または個人に由来する対照レベル、あるいは特定の治療に有利に反応した群または個人に由来する対照レベル）により近似している場合に指定されることになる。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。

20

## 【0122】

特定の実施形態において、治療は、認知治療、例えば身体的および/または社会的活動、記憶ゲーム、ならびにパズルおよび/または問題の解決、薬物療法、例えばコリンエステラーゼ阻害剤（アセチルコリンの減少に対処するため）、グルタミン酸部分拮抗薬（例えば、メマンチン）、および精神医学的薬物（例えば、抗精神病薬、睡眠補助薬、抗不安薬、および遮断薬）から選択される。コリンエステラーゼ阻害剤には、Aricept（登録商標）（塩酸ドネペジル）、Exelon（登録商標）（リバステイグミン）、Razadyne（登録商標）（ガランタミン）、およびCognex（登録商標）（タクリン）、ならびにこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。具体的な実施形態において、方法はアルツハイマー病の治療の候補者である対象を特定することを含む。

30

## 【0123】

関連する実施形態において、本発明は、対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法を提供する。一部の実施形態において、この方法は、（a）対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、（i）アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに（ii）アミロイド抗原および高アピディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、を形成するステップと、（b）ステップ（a）で形成されたアミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、（c）残留複合体のレベルを検出するステップと、（d）抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、対象を診断するステップと、を含む。

40

## 【0124】

対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法の一部の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を有さない個人または個人の群に由来し、対照に対して増加したレベルの残留複合体は、その対象がアミロイド関連状態を有する高い可能性を示す。一部の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を有する個人または個人の群に由来し、対照に対して類似するレベルの残留複合体は、その対象がアミロイド関連状態を有する高い可能性を示す。当業者は、少なくとも1つの適当な対照を選定し

50

、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

【0125】

特定の実施形態において、対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法は、対象に治療過程を指定する、または治療を施すステップをさらに含む。一般に、この治療過程は、生物学的試料中の抗アミロイド抗体のレベルが対照閾値（例えば、アミロイド関連状態を有する可能性が高い、または特定の治療に反応する可能性が高い対象を示す閾値）を上回るか、あるいは、陰性対照（例えば、アミロイド関連状態を有さない群または個人に由来する対照レベル、あるいは特定の治療に有利に反応しなかった群または個人に由来する対照レベル）より、陽性対照（例えば、アミロイド関連状態を有する群または個人に由来する対照レベル、あるいは特定の治療に有利に反応した群または個人に由来する対照レベル）により近似している場合に指定されることになる。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。

10

【0126】

特定の実施形態において、治療は、認知治療、例えば身体的および社会的活動、記憶ゲーム、ならびにパズルおよび/または問題の解決、薬物療法、例えばコリンエステラーゼ阻害剤（アセチルコリンの減少に対処するため）、グルタミン酸部分拮抗薬（例えば、メマンチン）、および精神医学的薬物（例えば、抗精神病薬、睡眠補助薬、抗不安薬、および遮断薬）から選択される。コリンエステラーゼ阻害剤には、A r i c e p t（登録商標）（塩酸ドネペジル）、E x e l o n（登録商標）（リバステイグミン）、R a z a d y n e（登録商標）（ガランタミン）、およびC o g n e x（登録商標）（タクリン）、

20

【0127】

治療の候補者である対象を特定するための方法または対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法の一実施形態において、生物学的試料は、生体液、例えば血液、血漿、尿、リンパ液、滑液などである。他の実施形態において、生物学的試料は、組織試料または生検であってよい。好適な実施形態において、生物学的試料は、血液試料またはその画分（例えば、血漿または血漿画分）である。別の好適な実施形態において、生物学的試料は、免疫グロブリン調製物または濃縮物である。具体的な実施形態において、免疫グロブリン濃縮は、チオフィリッククロマトグラフィーによって実施される。別の具体的な実施形態において、免疫グロブリン濃縮は、混合モードリガンドクロマトグラフィーによって実施される。

30

【0128】

一実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、アミロイド（A<sub>β</sub>；Aベータ）、膵島アミロイドポリペプチド（IAPP；アミリン）、α-シヌクレイン（SNCA）、主要プリオンタンパク質（PrP）、ハンチンチン（HD）、カルシトニン（CCP）、心房性ナトリウム利尿因子（ANF）、アポリポタンパク質A I（アポ-A I）、血清アミロイドAタンパク質（SAA）、メディンアミロイド（乳脂肪球-EGF因子8タンパク質；MFG-E8の断片）、プロラクチン（PRL）、トランスサイレチン（ATTR）、リゾチームC（1,4-β-N-アセチルムラミダーゼC）、2マイクログロブリン（2M）、ゲルゾリン（AGEL）、形質転換成長因子誘導タンパク質ig-h3（ig-h3；ケラトエピセリン）、シスタチンC（CST3）、免疫グロブリン軽鎖（AL）、およびポリグルタミン反復を有するアミロイドタンパク質から選択されるアミロイドタンパク質に対して特異的な抗体である。一実施形態において、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質モノマーに対して特異的である。別の実施形態において、抗アミロイド抗体はアミロイドタンパク質オリゴマー（すなわち、ダイマー、トリマーなど）に対して特異的である。さらに別の実施形態において、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質原線維に対して特異的である。

40

【0129】

50

一実施形態において、アミロイドタンパク質に関連する疾患または状態は、アルツハイマー病、2型糖尿病、パーキンソン病、伝染性海綿状脳症、ハンチントン病、甲状腺髄様癌、心不整脈、アテローム性動脈硬化症、関節リウマチ、大動脈中膜アミロイド、プロラクチノーマ、家族性アミロイド多発ニューロパチー、遺伝性非ニューロパチー性全身性アミロイドーシス、透析関連アミロイドーシス、フィンランド型アミロイドーシス、格子状角膜ジストロフィー、脳アミロイド血管症、脳アミロイド血管症（アイスランド型）、および全身性ALアミロイドーシスからなる群から選択される。好適な実施形態において、疾患または状態はアルツハイマー病である。特に好適な実施形態において、疾患または状態はアルツハイマー病であり、検出される抗アミロイド抗体は、抗アミロイド（A $\beta$ ；A $\beta$ ベータ）抗体である。

10

## 【0130】

本明細書において提供される方法の特定の実施形態において、特定のアミロイドタンパク質の存在またはレベルの検出は、特定の疾患または状態を診断するため、あるいは特定の疾患または状態の治療の候補者を選定するために有用である。本明細書において提供される方法における使用に特に適したアミロイドとアミロイド疾患との組み合わせの非限定的な例は、表1に記載されている。特定の実施形態において、表1に記載のアミロイドタンパク質に対して特異的な高アビディティ抗体の存在またはレベルの検出は、記載されている対応する疾患の診断となるであろう。

## 【0131】

（表1）特定の疾患に関連するアミロイドタンパク質の非限定的な例

20

疾患	アミロイドタンパク質	GenBank 受託	UniProt 受託
アルツハイマー病	$\beta$ アミロイド (A $\beta$ ;A $\beta$ ベータ)	NP_000475	P05067
2型糖尿病	膵島アミロイドポリペプチド (IAPP;アミリン)	NP_000406	P10997
パーキンソン病	$\alpha$ -シヌクレイン (SNCA)	NP_000336	P37840
伝染性海綿状脳症 (例えば、クロイツフェルト・ヤコブ病)	主要プリオンタンパク質 (PrP)	NP_000302	P04156
ハンチントン病	ハンチンチン (HD)	NP_002102	P42858
甲状腺髄様癌	カルシトニン (CCP)	NP_001029124	P01258
心不整脈、孤立性心房アミロイドーシス	心房性ナトリウム利尿因子 (ANF)	NP_006163	P01160
アテローム性動脈硬化症	アポリポタンパク質 AI (アポ-AI)	NP_000030	P02647
関節リウマチ	血清アミロイドAタンパク質 (SAA)	NP_954630	P02735
大動脈中膜アミロイド	メディンアミロイド (乳脂肪球-EGF因子8タンパク質; MFG-E8の断片)	NP_005919	Q08431
プロラクチノーマ	プロラクチン (PRL)	NP_000939	P01236
家族性アミロイド多発ニューロパチー	トランスサイレチン (ATTR)	NP_000362	P02766
遺伝性非ニューロパチー性全身性アミロイドーシス	リゾチームC (1,4- $\beta$ -N-アセチルムラミダーゼC)	NP_000230	P61626
透析関連アミロイドーシス	$\beta$ 2ミクログロブリン ( $\beta$ 2M)	NP_004039	P61769
フィンランド型アミロイドーシス	ゲルゾリン (AGEL)	NP_000168	P06396
格子状角膜ジストロフィー	形質転換成長因子 $\beta$ 誘導タンパク質ig-h3 ( $\beta$ ig-h3; クラトエピセリン)	NP_000349	Q15582
脳アミロイド血管症	$\beta$ アミロイド (A $\beta$ ;A $\beta$ ベータ)	NP_000475	P05067
脳アミロイド血管症 (アイスランド型)	シスタチンC (CST3)	NP_000090	P01034
全身性ALアミロイドーシス	免疫グロブリン軽鎖 (AL)		

30

40

## 【0132】

好適な実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、アミロイド（A $\beta$ ；A $\beta$ ベータ）に対して特異的な抗体である。一実施形態において、抗A $\beta$ 抗体はA $\beta$ モノマーに対して特異的である。別の実施形態において、抗A $\beta$ 抗体はA $\beta$ オリゴマー（すなわち、ダイマー、トリマーなど）に対して特異的である。さらに別の実施形態において、抗A $\beta$

50

抗体は A 原線維に対して特異的である。

【 0 1 3 3 】

本明細書において提供される方法の一実施形態において、低親和性抗体または非特異的抗体は低アビディティ抗アミロイド抗体である。具体的な実施形態において、低アビディティ抗アミロイド抗体は低アビディティ抗 A 抗体である。

【 0 1 3 4 】

本明細書において提供される方法で採用されるカオトロピック洗浄ステップは、いかなる公知のカオトロピック剤を用いて実施してもよい。カオトロピック塩を使用する場合、この塩は、塩素酸イオン ( $\text{ClO}_3^-$ ) 以上のカオトロピック効果を有するアニオン、またはカルシウムイオンに優るカオトロピック効果を有するカチオンのいずれかを一般に含むであろう。

10

【 0 1 3 5 】

一実施形態において、カオトロピック塩はグアニジン塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができるグアニジン塩の非限定的な例には、塩化グアニジン、硝酸グアニジン、およびチオシアン酸グアニジンがある。

【 0 1 3 6 】

別の実施形態において、カオトロピック塩はチオシアネート塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができるチオシアネート塩の非限定的な例には、チオシアン酸アンモニウム、チオシアン酸カリウム、チオシアン酸ナトリウム、チオシアン酸リチウム、チオシアン酸カルシウム、およびチオシアン酸グアニジンがある。具体的な実施形態において、カオトロピック塩はチオシアン酸アンモニウムである。一実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約 0.5 M ~ 約 4.0 M で使用する。別の実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約 1.0 M ~ 約 3.0 M で使用する。さらに別の実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約 1.5 M ~ 約 2.5 M で使用する。

20

【 0 1 3 7 】

さらに別の実施形態において、カオトロピック塩は過塩素酸塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができる過塩素酸塩の非限定的な例には、過塩素酸アンモニウム、過塩素酸ナトリウム、過塩素酸リチウム、過塩素酸マグネシウム、および過塩素酸カルシウムがある。

30

【 0 1 3 8 】

さらに別の実施形態において、カオトロピック塩はヨウ化物塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができるヨウ化物塩の非限定的な例には、ヨウ化アンモニウム、ヨウ化カリウム、ヨウ化ナトリウム、ヨウ化リチウム、ヨウ化マグネシウム、およびヨウ化カルシウムである。

【 0 1 3 9 】

さらに別の実施形態において、カオトロピック塩は塩素酸塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができる塩素酸塩の非限定的な例には、塩素酸ナトリウム、塩素酸リチウム、塩素酸マグネシウム、および塩素酸カルシウムがある。

【 0 1 4 0 】

本明細書において提供される方法の洗浄ステップで使用されるカオトロピック剤の濃度は、非特異的（すなわち、低アビディティ）抗アミロイド抗体とアミロイド抗原との間の相互作用を妨害するのに十分であるが、特異的（すなわち、高アビディティ）抗アミロイド抗体とアミロイド抗原との間の相互作用を妨害しないように選択されるべきである。使用されるカオトロピック剤の絶対濃度は、特定のカオトロピック剤の強度、および使用する特定のシステム（例えば、抗 A 抗体 ELISA アッセイ）において形成される抗体 - アミロイド抗原相互作用の強度を含む多数の要因に左右されるであろう。当業者は、その特定のシステムに使用するカオトロピック剤の最適な濃度を容易に決定する方法を認識するであろう。一実施形態において、カオトロピック剤は、洗浄剤濃度約 0.5 M ~ 約 4.0 M で使用する。別の実施形態においてカオトロピック剤は、洗浄剤濃度約 1.0 M ~ 約

40

50

3. 0 Mで使用する。さらに別の実施形態において、カオトロピック剤は、洗浄剤濃度約 1.5 M ~ 約 2.5 Mで使用する。

【0141】

本明細書において提供される方法の特定の実施形態において、生物学的試料（すなわち、血液、血漿、尿、リンパ液など）中に認められる免疫グロブリンは、生物学的試料を1種または複数種のアミロイド抗原と接触させるステップの前に濃縮される。好ましくは、免疫グロブリンは、抗体を部分的または完全に変性させない方法によって濃縮される。一実施形態において、本明細書において提供される高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法は、抗体の変性をもたらさないクロマトグラフ法により免疫グロブリンを濃縮するステップを含む。一実施形態において、このクロマトグラフ法は、チオフィリック樹脂を用いて実施される。別の実施形態において、このクロマトグラフ法は、混合モードリガンド化学物質を用いて実施される（Upfront Chromatography A/S社）。他の実施形態において、本明細書において提供される高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法は、抗体の変性をもたらさない非クロマトグラフ法により免疫グロブリンを濃縮するステップを含む。

10

【0142】

チオフィリック濃縮ステップを採用する方法

一態様において、本発明は、哺乳動物の血漿および他の生体液中のアミロイド形成性タンパク質に対する抗体のレベルを定量化することを含み、免疫グロブリン製剤の投与を含む、治療の候補者である対象を特定するための方法であって、非特異的抗体結合、血漿巨大分子からの干渉、および精製時の免疫グロブリンの変性による結合活性の人為的発生に関連するシグナルを減少させるためにチオフィリック濃縮ステップが採用される方法を提供する。

20

【0143】

関連する態様において、本発明は、哺乳動物の血漿および他の生体液中のアミロイド形成性タンパク質に対する抗体のレベルを定量化することを含み、免疫グロブリン製剤の投与を含むアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法であって、非特異的抗体結合、血漿巨大分子からの干渉、および精製時の免疫グロブリンの変性による結合活性の人為的発生に関連するシグナルを減少させるためにチオフィリック濃縮ステップが採用される方法を提供する。

30

【0144】

既存の方法とは異なり、本発明は、非特異的抗体結合、血漿巨大分子からの干渉、および精製時の免疫グロブリンの変性による結合活性の人為的発生の交絡作用を回避する。

【0145】

例えば、内因性抗アミロイド活性を測定するために全血漿を使用した以前のアッセイは、他の未だに同定されていない血漿巨大分子からの干渉によって、人為的に変更される。有利にも、本明細書において提供される方法は、当該抗アミロイド抗体を保存する様式で、これらの未同定血漿巨大分子の干渉活性を排除する。

【0146】

生体標本から抽出した抗アミロイド抗体を測定するために現在採用されている方法は、変性条件への暴露の結果としての抗アミロイド活性の人為的な増加および損失を受ける。例えば、一部の方法は、Aタンパク質またはGタンパク質親和性クロマトグラフィーを用いた抗体（Ig）の濃縮時に、あるいは結合した抗原から抗体を遊離させるために、酸性化を採用する。低pHへの暴露は、一部の哺乳動物免疫グロブリンを完全または部分的に変性させる。これは、機能の損失または多価性の増加につながり、これら両現象は、特異的抗アミロイド抗体のレベルの測定に有害影響を与える。有利にも、本明細書において提供される方法は、酸または他の変性条件への暴露を用いずに、Igを血漿から分離し、弱く結合した抗原分子を抗アミロイド抗体から解離する。

40

【0147】

したがって、具体的な実施形態において、本発明は、アミロイド関連疾患または状態の

50

治療の候補者である対象を特定するための方法を提供する。一部の実施形態において、この方法は、(a) 生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、試料中に存在する抗アミロイド抗体に結合させるステップと、(b) 抗体を非変性 pH でチオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、(c) 溶出物をアミロイド抗原と接触させて、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、(d) 複合体の存在またはレベルを検出するステップと、(e) 抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、対象が免疫グロブリン製剤の投与を含む治療から利益を得るかどうかを決定するステップと、を含む。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。

**【0148】**

治療の候補者である対象を特定するための方法の一部の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を有さない個人または個人の群に由来し、対照に対して増加したレベルの残留複合体は治療の候補者であることを示す。一部の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を有する個人または個人の群に由来し、対照に対して類似するレベルの残留複合体は治療の候補者であることを示す。さらに別の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を診断され、特定の治療過程に有利に反応した個人または個人の群に由来する。別の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を診断され、特定の治療過程に有利に反応しなかった個人または個人の群に由来する。当業者は、少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

**【0149】**

特定の実施形態において、治療の候補者である対象を特定するための方法は、免疫グロブリン製剤の投与を含む、対象に治療過程を指定する、または治療を投与するステップをさらに含む。一般に、この治療過程は、生物学的試料中の抗アミロイド抗体のレベルが対照閾値（例えば、アミロイド関連状態を有する可能性が高い、または特定の治療に反応する可能性が高い対象を示す閾値）を上回るか、あるいは、陰性対照（例えば、アミロイド関連状態を有さない群または個人に由来する対照レベル、あるいは特定の治療に有利に反応しなかった群または個人に由来する対照レベル）より、陽性対照（例えば、アミロイド関連状態を有する群または個人に由来する対照レベル、あるいは特定の治療に有利に反応した群または個人に由来する対照レベル）により近似している場合に指定されることになる。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。

**【0150】**

特定の実施形態において、治療は、認知治療、例えば身体的および/または社会的活動、記憶ゲーム、ならびにパズルおよび/または問題の解決、薬物療法、例えばコリンエステラーゼ阻害剤（アセチルコリンの減少に対処するため）、グルタミン酸部分拮抗薬（例えば、メマンチン）、および精神医学的薬物（例えば、抗精神病薬、睡眠補助薬、抗不安薬、および遮断薬）から選択される。コリンエステラーゼ阻害剤には、A r i c e p t（登録商標）（塩酸ドネペジル）、E x e l o n（登録商標）（リバステイグミン）、R a z a d y n e（登録商標）（ガランタミン）、およびC o g n e x（登録商標）（タクリン）、ならびにこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。具体的な実施形態において、方法はアルツハイマー病の治療の候補者である対象を特定することを含む。

**【0151】**

関連する実施形態において、本発明は、対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法を提供する。一部の実施形態において、この方法は、(a) 生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、(b) 抗体を非変性 pH でチオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、(c) 溶出物をアミロイド抗原と接触させて、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、(d) 複合体の存在またはレベルを検出するステップと、(e) 抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、対象を診断するステップと、を含む。

10

20

30

40

50

## 【0152】

対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法の一部の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を有さない個人または個人の群に由来し、対照に対して増加したレベルの残留複合体は、その対象がアミロイド関連状態を有する高い可能性を示す。一部の実施形態において、対照は、アミロイド関連疾患を有する個人または個人の群に由来し、対照に対して類似するレベルの残留複合体は、その対象がアミロイド関連状態を有する高い可能性を示す。当業者は、少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

## 【0153】

特定の実施形態において、対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法は、対象に治療過程を指定する、また治療を投与するステップをさらに含む。一般に、この治療過程は、生物学的試料中の抗アミロイド抗体のレベルが対照閾値（例えば、アミロイド関連状態を有する可能性が高い、または特定の治療に反応する可能性が高い対象を示す閾値）を上回るか、あるいは、陰性対照（例えば、アミロイド関連状態を有さない群または個人に由来する対照レベル、あるいは特定の治療に有利に反応しなかった群または個人に由来する対照レベル）より、陽性対照（例えば、アミロイド関連状態を有する群または個人に由来する対照レベル、あるいは特定の治療に有利に反応した群または個人に由来する対照レベル）により近似している場合に指定されることになる。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。

10

## 【0154】

特定の実施形態において、治療は、認知治療、例えば身体的および/または社会的活動、記憶ゲーム、ならびにパズルおよび/または問題の解決、薬物療法、例えばコリンエステラーゼ阻害剤（アセチルコリンの減少に対処するため）、グルタミン酸部分拮抗薬（例えば、メマンチン）、および精神医学的薬物（例えば、抗精神病薬、睡眠補助薬、抗不安薬、および遮断薬）から選択される。コリンエステラーゼ阻害剤には、A r i c e p t（登録商標）（塩酸ドネベジル）、E x e l o n（登録商標）（リバステイグミン）、R a z a d y n e（登録商標）（ガランタミン）、およびC o g n e x（登録商標）（タクリン）、ならびにこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。具体的な実施形態において、方法はアルツハイマー病を診断することを含む。

20

30

## 【0155】

治療の候補者である対象を特定する方法または対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法の一実施形態において、生物学的試料は、生体液、例えば血液、血漿、尿、リンパ液、滑液などである。他の実施形態において、生物学的試料は、組織試料または生検であってよい。好適な実施形態において、生物学的試料は、血液試料またはその画分（例えば、血漿または血漿画分）である。別の好適な実施形態において、生物学的試料は、免疫グロブリン調製物または濃縮物である。具体的な実施形態において、免疫グロブリン濃縮は、チオフィリッククロマトグラフィーによって実施される。別の具体的な実施形態において、免疫グロブリン濃縮は、混合モードリガンドクロマトグラフィーによって実施される。

40

## 【0156】

一実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、アミロイド（A<sub>β</sub>；Aベータ）、隣島アミロイドポリペプチド（IAPP；アミリン）、 $\alpha$ -シヌクレイン（SNCA）、主要プリオンタンパク質（PrP）、ハンチンチン（HD）、カルシトニン（CCP）、心房性ナトリウム利尿因子（ANF）、アポリポタンパク質A I（アポ-A I）、血清アミロイドAタンパク質（SAA）、メディンアミロイド（乳脂肪球-EGF因子8タンパク質；MFG-E8の断片）、プロラクチン（PRL）、トランスサイレチン（ATTR）、リゾチームC（1,4-β-N-アセチルムラミダーゼC）、 $\alpha$ 2ミクログロブリン（ $\alpha$ 2M）、ゲルゾリン（AGEL）、形質転換成長因子誘導タンパク質i g - h 3（i g - h 3；ケラトエピセリン）、シスタチンC（CST3）、免疫グロブリン軽

50

鎖（AL）、およびポリグルタミン反復を有するアミロイドタンパク質から選択されるアミロイドタンパク質に特異的な抗体である。一実施形態において、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質モノマーに対して特異的である。別の実施形態において、抗アミロイド抗体はアミロイドタンパク質オリゴマー（すなわち、ダイマー、トリマーなど）に対して特異的である。さらに別の実施形態において、抗アミロイド抗体はアミロイドタンパク質原線維に対して特異的である。

【0157】

一実施形態において、アミロイドタンパク質に関連する疾患または状態は、アルツハイマー病、2型糖尿病、パーキンソン病、伝染性海綿状脳症、ハンチントン病、甲状腺髄様癌、心不整脈、アテローム性動脈硬化症、関節リウマチ、大動脈中膜アミロイド、プロラクチノーマ、家族性アミロイド多発ニューロパチー、遺伝性非ニューロパチー性全身性アミロイドーシス、透析関連アミロイドーシス、フィンランド型アミロイドーシス、格子状角膜ジストロフィー、脳アミロイド血管症、脳アミロイド血管症（アイスランド型）、および全身性ALアミロイドーシスからなる群から選択される。好適な実施形態において、疾患または状態はアルツハイマー病である。特に好適な実施形態において、疾患または状態はアルツハイマー病であり、検出される抗アミロイド抗体は抗アミロイド（A<sub>β</sub>；Aβ）抗体である。

10

【0158】

本明細書において提供される方法の特定の実施形態において、特定のアミロイドタンパク質の存在またはレベルの検出は、特定の疾患または状態を診断するため、あるいは特定の疾患または状態の治療の候補者を選定するために有用である。本明細書において提供される方法における使用に特に適したアミロイドとアミロイド疾患との組み合わせの非限定的な例は、表1に記載されている。特定の実施形態において、表1に記載のアミロイドタンパク質に対して特異的な高アビディティ抗体の存在またはレベルの検出は、記載されている対応する疾患の診断となるであろう。

20

【0159】

好適な実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、アミロイド（A<sub>β</sub>；Aβ）に対して特異的な抗体である。一実施形態において、抗A<sub>β</sub>抗体はA<sub>β</sub>モノマーに対して特異的である。別の実施形態において、抗A<sub>β</sub>抗体はA<sub>β</sub>オリゴマー（すなわち、ダイマー、トリマーなど）に対して特異的である。さらに別の実施形態において、抗A<sub>β</sub>抗体はA<sub>β</sub>原線維に対して特異的である。

30

【0160】

本明細書において提供される方法の一実施形態において、低親和性抗体または非特異的抗体は低アビディティ抗アミロイド抗体である。具体的な実施形態において、低アビディティ抗アミロイド抗体は低アビディティ抗A<sub>β</sub>抗体である。

【0161】

本明細書において提供される方法の特定の実施形態において、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体は、前記複合体の存在またはレベルを検出する前に、非特異的抗体（すなわち、低アビディティ抗体）とアミロイド抗原との間の相互作用を解離するために、カオトロピック塩を含有する溶液で洗浄される。本明細書において提供される方法で採用されるカオトロピック洗浄ステップは、いかなる公知のカオトロピック剤を用いて実施してもよい。カオトロピック塩を使用する場合、この塩は、塩素酸イオン（ClO<sub>3</sub><sup>-</sup>）以上のカオトロピック効果を有するアニオン、またはカルシウムイオンに優るカオトロピック効果を有するカチオンのいずれかを一般に含むであろう。一実施形態において、カオトロピック剤は、尿素、チオ尿素、グアニジン塩、チオシアネート塩、過塩素酸塩、ヨウ化物塩、および塩素酸塩から選択される。具体的な実施形態において、カオトロピック塩はチオシアン酸アンモニウムである。一実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約0.5M～約4.0Mで使用する。別の実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約1.0M～約3.0Mで使用する。さらに別の実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約1.5M～約2.5Mで使用

40

50

する。

【0162】

本明細書において提供される方法の洗浄ステップで使用されるカオトロピック剤の濃度は、非特異的（すなわち、低アビディティ）抗アミロイド抗体とアミロイド抗原との間の相互作用を妨害するのに十分であるが、特異的（すなわち、高アビディティ）抗アミロイド抗体とアミロイド抗原との間の相互作用を妨害しないように選択されるべきである。使用されるカオトロピック剤の絶対濃度は、特定のカオトロピック剤の強度、および使用する特定のシステム（例えば、抗A抗体ELISAアッセイ）において形成される抗体-アミロイド抗原相互作用の強度を含む多数の要因に左右されるであろう。当業者は、その特定のシステムに使用するカオトロピック剤の最適な濃度を容易に決定する方法を認識するであろう。一実施形態において、カオトロピック剤は、洗浄剤濃度約0.5M~約4.0Mで使用する。別の実施形態においてカオトロピック剤は、洗浄剤濃度約1.0M~約3.0Mで使用する。さらに別の実施形態において、カオトロピック剤は、洗浄剤濃度約1.5M~約2.5Mで使用する。

10

【0163】

予後を提供するための方法

一部の実施形態において、抗アミロイド抗体レベルの検出は、対象の予後を提供することができる。対象は、未治療もしくは未診断であってもよく、または現在治療を受けているか、もしくはアミロイド関連疾患に対する予防措置を取っていてもよい。したがって、抗アミロイド抗体のレベルは、長期にわたって対象をモニタリングするために定期的に検出することができる。具体的な実施形態において、高レベルの抗アミロイド抗体の検出により、対象の予後の提供が可能である。

20

【0164】

一部の実施形態において、抗アミロイド抗体を検出する方法を使用して、治療方法を決定することができる。アミロイド関連疾患を発症するリスクが比較的低いと思われる場合には、対象は、予防措置を取るよう勧められることがある。しかしながら、アミロイド関連疾患の発症のリスクがより高いと判断される一部の場においては、治療が処方されてもよい。治療は、免疫グロブリン製剤、例えばプールされた免疫グロブリン製剤、例えばIVIg、または他の形の免疫療法の投与を含んでもよい。

30

【0165】

アミロイドを検出する方法は、上記に概説されている。例えば、この方法は、対象から生物学的試料を得ること、試料をアミロイドタンパク質またはその抗原と接触させること、抗アミロイド抗体結合の有無を検出すること、および対照と比較して、試料中の高アビディティ抗アミロイド抗体のレベルに基づいて、アミロイド関連傷害の発症の可能性の増加を診断することを含む。一部の実施形態において、この方法は、対象に適した治療過程を選定することをさらに含む。一部の実施形態において、治療は、本明細書に記載のように、対象にIVIgを投与することを含む。

【0166】

カオトロピック洗浄ステップを採用する方法

一態様において、本発明は、哺乳動物の血漿および他の生体液中のアミロイド形成性タンパク質に対する抗体のレベルを定量化することを含む、アミロイドタンパク質に関連する疾患または状態の進行の予後を提供する方法であって、非特異的および低アビディティ抗アミロイド抗原結合に関連するシグナルを減少させるためにカオトロピック洗浄ステップが採用される方法を提供する。

40

【0167】

関連する態様において、本発明は、哺乳動物の血漿および他の生体液中のアミロイド形成性タンパク質に対する抗体のレベルを定量化することを含む、アミロイドタンパク質に関連する疾患または状態の治療の予後を提供する方法であって、非特異的および低アビディティ抗アミロイド抗原結合に関連するシグナルを減少させるためにカオトロピック洗浄ステップが採用される方法を提供する。

50

## 【0168】

既存の方法とは異なり、本発明は、非特異的抗体結合、血漿巨大分子からの干渉、および精製時の免疫グロブリンの変性による結合活性の人為的発生の交絡作用を回避する。

## 【0169】

例えば、従来ガラス、金属、またはプラスチック基体上で行う測定は、抗体のアミロイドタンパク質およびアッセイプレートへの非特異的結合による影響を受ける。ヒト血漿は、アミロイド凝集体に対して低アビディティを有する比較的少量の多価抗体を含有する。かかる抗体、ならびにアッセイ基体に非特異的に結合する抗体の存在は、様々なアッセイ方法で測定された抗アミロイド活性を人為的に変更する。有利にも、本明細書において提供される方法は、結合のアビディティの差に基づいて、特異的抗体と非特異的抗体とを区別することができる。

10

## 【0170】

したがって、具体的な実施形態において、本発明は、対象におけるアミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するための方法を提供する。一部の実施形態において、この方法は、(a) 対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、(i) アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに(ii) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、を形成するステップと、(b) ステップ(a) で形成されたアミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、(c) 残留複合体のレベルを検出するステップと、(d) 抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、疾患の進行の予後を提供するステップと、を含む。

20

## 【0171】

アミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するための方法の一部の実施形態において、対照は、疾患の進行を経験した個人または個人の群に由来し、対照に対して類似するか、または増加したレベルの残留複合体は、疾患の高い可能性または進行を示す。一部の実施形態において、対照は、疾患の進行を経験していない個人または個人の群に由来し、対照に対して類似するレベルの残留複合体は、疾患の進行の低い可能性を示す。さらに別の実施形態において、対照は、以前に採取された同一の患者に由来し、対照に対して増加したレベルの残留複合体は、疾患の高い可能性または進行を示す。特定の実施形態において、以前の試料は、約1ヶ月前、もしくは2ヶ月前、3ヶ月前、4ヶ月前、5ヶ月前、6ヶ月前、7ヶ月前、8ヶ月前、9ヶ月前、10ヶ月前、11ヶ月前、12ヶ月前、13ヶ月前、14ヶ月前、15ヶ月前、16ヶ月前、17ヶ月前、18ヶ月前、19ヶ月前、20ヶ月前、21ヶ月前、22ヶ月前、23ヶ月前、24ヶ月前、25ヶ月前、26ヶ月前、27ヶ月前、28ヶ月前、29ヶ月前、30ヶ月前、31ヶ月前、32ヶ月前、33ヶ月前、34ヶ月前、35ヶ月前、または4年前、5年前、6年前、7年前、8年前、9年前、10年前、あるいはそれ以上前に採取されていてもよい。当業者は、少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

30

## 【0172】

特定の実施形態において、アミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するための方法は、対象に治療過程を指定する、または治療を投与するステップをさらに含む。一般に、この治療過程は、生物学的試料中の抗アミロイド抗体のレベルが対照閾値(例えば、疾患の高い可能性または進行を示す閾値)を上回るか、あるいは、陰性対照(例えば、疾患の進行を経験していない群または個人に由来する対照レベル)より、陽性対照(例えば、疾患の進行を経験している群または個人に由来する対照レベル)により近似している場合に指定されることになる。好適な実施形態において、治療は、免疫グロブリン製剤の投与を含む。

40

## 【0173】

特定の実施形態において、治療は、認知治療、例えば身体的および/または社会的活動、記憶ゲーム、ならびにパズルおよび/または問題の解決、薬物療法、例えばコリンエス

50

テラーゼ阻害剤（アセチルコリンの減少に対処するため）、グルタミン酸部分拮抗薬（例えば、メマンチン）、および精神医学的薬物（例えば、抗精神病薬、睡眠補助薬、抗不安薬、および遮断薬）から選択される。コリンエステラーゼ阻害剤には、A r i c e p t（登録商標）（塩酸ドネペジル）、E x e l o n（登録商標）（リバステイグミン）、R a z a d y n e（登録商標）（ガランタミン）、およびC o g n e x（登録商標）（タクリン）、ならびにこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。具体的な実施形態において、方法はアルツハイマー病を診断することを含む。

#### 【0174】

関連する実施形態において、本発明は、アミロイドタンパク質に関連する疾患の治療、例えばADに対する公知の療法または予防的戦略の予後を提供するための方法を提供する。一部の実施形態において、この治療は、免疫グロブリン製剤、例えばIVIgなどの対象への投与を含んでもよい。一部の実施形態において、この方法は、（a）対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、（i）アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに（ii）アミロイド抗原および高アピディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、を形成するステップと、（b）ステップ（a）で形成されたアミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、（c）残留複合体のレベルを検出するステップと、（d）抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、疾患の治療の予後を提供するステップと、を含む。

10

20

#### 【0175】

アミロイドタンパク質に関連する疾患の治療の予後を提供するための方法の一部の実施形態において、対照は、特定の治療に対して有利に反応した個人または個人の群に由来し、対照に対して類似するレベルの残留複合体は、疾患の治療の良好な予後を示す。一部の実施形態において、対照は、特定の治療に対して有利に反応しなかった個人または個人の群に由来し、対照に対して類似するレベルの残留複合体は、疾患の治療の不良な予後を示す。当業者は、少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

#### 【0176】

特定の実施形態において、アミロイドタンパク質に関連する疾患の治療の予後を提供するための方法は、対象に治療過程を指定する、または治療を投与するステップをさらに含む。一般に、この治療過程は、生物学的試料中の抗アミロイド抗体のレベルが、陰性対照（例えば、特定の治療に対して有利に反応しなかった群または個人に由来する対照レベル）より、陽性対照（例えば、特定の治療に対して有利に反応した群または個人に由来する対照レベル）により近似している場合に指定されることになる。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。

30

#### 【0177】

特定の実施形態において、治療は、認知治療、例えば身体的および/または社会的活動、記憶ゲーム、ならびにパズルおよび/または問題の解決、薬物療法、例えばコリンエステラーゼ阻害剤（アセチルコリンの減少に対処するため）、グルタミン酸部分拮抗薬（例えば、メマンチン）、および精神医学的薬物（例えば、抗精神病薬、睡眠補助薬、抗不安薬、および遮断薬）から選択される。コリンエステラーゼ阻害剤には、A r i c e p t（登録商標）（塩酸ドネペジル）、E x e l o n（登録商標）（リバステイグミン）、R a z a d y n e（登録商標）（ガランタミン）、およびC o g n e x（登録商標）（タクリン）、ならびにこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。具体的な実施形態において、方法はアルツハイマー病を診断することを含む。

40

#### 【0178】

アミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するため、またはアミロイド

50

タンパク質に関連する疾患の治療の予後を提供するための方法の一実施形態において、生物学的試料は、生体液、例えば血液、血漿、尿、リンパ液、滑液などである。他の実施形態において、生物学的試料は、組織試料または生検であってよい。好適な実施形態において、生物学的試料は、血液試料またはその画分（例えば、血漿または血漿画分）である。別の好適な実施形態において、生物学的試料は、免疫グロブリン調製物または濃縮物である。具体的な実施形態において、免疫グロブリン濃縮は、チオフィリッククロマトグラフィーによって実施される。別の具体的な実施形態において、免疫グロブリン濃縮は、混合モードリガンドクロマトグラフィーによって実施される。

#### 【0179】

一実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、アミロイド（A<sub>β</sub>；Aベータ）、*IAPP*（*IAPP*；アミリン）、*SNCA*（*SNCA*）、主要プリオンタンパク質（*PrP*）、ハンチンチン（*HD*）、カルシトニン（*CCP*）、心房性ナトリウム利尿因子（*ANF*）、アポリポタンパク質A I（アポ-A I）、血清アミロイドAタンパク質（*SAA*）、メディンアミロイド（乳脂肪球-EGF因子8タンパク質；*MFG-E8*の断片）、プロラクチン（*PL*）、トランスサイレチン（*ATTR*）、リゾチームC（1,4-*N*-アセチルムラミダーゼC）、*2M*（*2M*）、ゲルゾリン（*AGEL*）、形質転換成長因子誘導タンパク質*ig-h3*（*ig-h3*；ケラトエピセリン）、シスタチンC（*CST3*）、免疫グロブリン軽鎖（*AL*）、およびポリグルタミン反復を有するアミロイドタンパク質から選択されるアミロイドタンパク質に対して特異的な抗体である。一実施形態において、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質モノマーに対して特異的である。別の実施形態において、抗アミロイド抗体はアミロイドタンパク質オリゴマー（すなわち、ダイマー、トリマーなど）に対して特異的である。さらに別の実施形態において、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質原線維に対して特異的である。

#### 【0180】

一実施形態において、アミロイドタンパク質に関連する疾患または状態は、アルツハイマー病、2型糖尿病、パーキンソン病、伝染性海綿状脳症、ハンチントン病、甲状腺髄様癌、心不整脈、アテローム性動脈硬化症、関節リウマチ、大動脈中膜アミロイド、プロラクチノーマ、家族性アミロイド多発ニューロパチー、遺伝性非ニューロパチー性全身性アミロイドーシス、透析関連アミロイドーシス、フィンランド型アミロイドーシス、格子状角膜ジストロフィー、脳アミロイド血管症、脳アミロイド血管症（アイスランド型）、および全身性ALアミロイドーシスからなる群から選択される。好適な実施形態において、疾患または状態はアルツハイマー病である。特に好適な実施形態において、疾患または状態はアルツハイマー病であり、検出される抗アミロイド抗体は抗アミロイド（A<sub>β</sub>；Aベータ）抗体である。

#### 【0181】

本明細書において提供される方法の特定の実施形態において、特定のアミロイドタンパク質の存在またはレベルの検出は、アミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するため、または疾患の治療の予後を提供するために有用である。本明細書において提供される方法における使用に特に適したアミロイドとアミロイド疾患との組み合わせの非限定的な例は、表1に記載されている。特定の実施形態において、表1に記載のアミロイドタンパク質に対して特異的な高アピディティ抗体の存在またはレベルの検出は、記載されている対応する疾患の診断となるであろう。

#### 【0182】

好適な実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、アミロイド（A<sub>β</sub>；Aベータ）に対して特異的な抗体である。一実施形態において、抗A<sub>β</sub>抗体はA<sub>β</sub>モノマーに対して特異的である。別の実施形態において、抗A<sub>β</sub>抗体はA<sub>β</sub>オリゴマー（すなわち、ダイマー、トリマーなど）に対して特異的である。さらに別の実施形態において、抗A<sub>β</sub>抗体はA<sub>β</sub>原線維に対して特異的である。

#### 【0183】

10

20

30

40

50

本明細書において提供される方法の一実施形態において、低親和性抗体または非特異的抗体は低アビディティ抗アミロイド抗体である。具体的な実施形態において、低アビディティ抗アミロイド抗体は低アビディティ抗A抗体である。

【0184】

本明細書において提供される方法で採用されるカオトロピック洗浄ステップは、いかなる公知のカオトロピック剤を用いて実施してもよい。カオトロピック塩を使用する場合、この塩は、塩素酸イオン( $\text{ClO}_3^-$ )以上のカオトロピック効果を有するアニオン、またはカルシウムイオンに優るカオトロピック効果を有するカチオンのいずれかを一般に含むであろう。

【0185】

一実施形態において、カオトロピック塩はグアニジン塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができるグアニジン塩の非限定的な例には、塩化グアニジン、硝酸グアニジン、およびチオシアン酸グアニジンがある。

【0186】

別の実施形態において、カオトロピック塩はチオシアネート塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができるチオシアネート塩の非限定的な例には、チオシアン酸アンモニウム、チオシアン酸カリウム、チオシアン酸ナトリウム、チオシアン酸リチウム、チオシアン酸カルシウム、およびチオシアン酸グアニジンがある。具体的な実施形態において、カオトロピック塩はチオシアン酸アンモニウムである。一実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約0.5 M~約4.0 Mで使用する。別の実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約1.0 M~約3.0 Mで使用する。さらに別の実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約1.5 M~約2.5 Mで使用する。

【0187】

さらに別の実施形態において、カオトロピック塩は過塩素酸塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができる過塩素酸塩の非限定的な例には、過塩素酸アンモニウム、過塩素酸ナトリウム、過塩素酸リチウム、過塩素酸マグネシウム、および過塩素酸カルシウムがある。

【0188】

さらに別の実施形態において、カオトロピック塩はヨウ化物塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができるヨウ化物塩の非限定的な例には、ヨウ化アンモニウム、ヨウ化カリウム、ヨウ化ナトリウム、ヨウ化リチウム、ヨウ化マグネシウム、およびヨウ化カルシウムがある。

【0189】

さらに別の実施形態において、カオトロピック塩は塩素酸塩である。本明細書において提供される方法とともに使用することができる塩素酸塩の非限定的な例には、塩素酸ナトリウム、塩素酸リチウム、塩素酸マグネシウム、および塩素酸カルシウムがある。

【0190】

本明細書において提供される方法の洗浄ステップで使用されるカオトロピック剤の濃度は、非特異的(すなわち、低アビディティ)抗アミロイド抗体とアミロイド抗原との間の相互作用を妨害するのに十分であるが、特異的(すなわち、高アビディティ)抗アミロイド抗体とアミロイド抗原との間の相互作用を妨害しないように選択されるべきである。使用されるカオトロピック剤の絶対濃度は、特定のカオトロピック剤の強度、および使用する特定のシステム(例えば、抗A抗体ELISAアッセイ)において形成される抗体-アミロイド抗原相互作用の強度を含む多数の要因に左右されるであろう。当業者は、その特定のシステムに使用されるカオトロピック剤の最適な濃度を容易に決定する方法を認識するであろう。一実施形態において、カオトロピック剤は、洗浄剤濃度約0.5 M~約4.0 Mで使用する。別の実施形態においてカオトロピック剤は、洗浄剤濃度約1.0 M~約3.0 Mで使用する。さらに別の実施形態において、カオトロピック剤は、洗浄剤濃度約1.5 M~約2.5 Mで使用する。

10

20

30

40

50

## 【0191】

本明細書において提供される方法の特定の実施形態において、生物学的試料（すなわち、血液、血漿、尿、リンパ液など）中に認められる免疫グロブリンは、生物学的試料を1種または複数種のアミロイド抗原と接触させるステップの前に濃縮される。好ましくは、免疫グロブリンは、抗体を部分的または完全に変性させない方法によって濃縮される。一実施形態において、本明細書において提供される高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法は、抗体の変性をもたらさないクロマトグラフ法により免疫グロブリンを濃縮するステップを含む。一実施形態において、このクロマトグラフ法は、チオフィリック樹脂を用いて実施される。別の実施形態において、このクロマトグラフ法は、混合モードリガンド化学物質を用いて実施される（Upfront Chromatography A/S社）。他の実施形態において、本明細書において提供される高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法は、抗体の変性をもたらさない非クロマトグラフ法により免疫グロブリンを濃縮するステップを含む。

10

## 【0192】

チオフィリック濃縮ステップを採用する方法

一態様において、本発明は、哺乳動物の血漿および他の生体液中のアミロイド形成性タンパク質に対する抗体のレベルを定量化することを含む、アミロイドタンパク質に関連する疾患または状態の進行の予後を提供する方法であって、非特異的抗体結合、血漿巨大分子からの干渉、および精製時の免疫グロブリンの変性による結合活性の人為的発生に関連するシグナルを減少させるために、チオフィリック濃縮ステップが採用される方法を提供する。

20

## 【0193】

関連する態様において、本発明は、哺乳動物の血漿および他の生体液中のアミロイド形成性タンパク質に対する抗体のレベルを定量化することを含む、アミロイドタンパク質に関連する疾患または状態の治療の予後を提供するための方法であって、非特異的抗体結合、血漿巨大分子からの干渉、および精製時の免疫グロブリンの変性による結合活性の人為的発生に関連するシグナルを減少させるために、チオフィリック濃縮ステップが採用される方法を提供する。

## 【0194】

既存の方法とは異なり、本発明は、非特異的抗体結合、血漿巨大分子からの干渉、および精製時の免疫グロブリンの変性による結合活性の人為的発生の交絡作用を回避する。

30

## 【0195】

例えば、内因性抗アミロイド活性を測定するために全血漿を使用した以前のアッセイは、他の未だに同定されていない血漿巨大分子からの干渉によって、人為的に変更される。有利にも、本明細書において提供される方法は、当該抗アミロイド抗体を保存する様式で、これらの未同定血漿巨大分子の干渉活性を排除する。

## 【0196】

生体標本から抽出した抗アミロイド抗体を測定するために現在採用されている方法は、変性条件への暴露の結果としての抗アミロイド活性の人為的な増加および損失を受ける。例えば、一部の方法は、Aタンパク質またはGタンパク質親和性クロマトグラフィーを用いた抗体（Ig）の濃縮時に、あるいは結合した抗原から抗体を遊離させるために、酸性化を採用する。低pHへの暴露は、一部の哺乳動物免疫グロブリンを完全または部分的に変性させる。これは、機能の損失または多価性の増加につながり、これら両現象は、特異的抗アミロイド抗体のレベルの測定に有害な影響を与える。有利にも、本明細書において提供される方法は、酸または他の変性条件への暴露を用いずに、Igを血漿から分離し、弱く結合した抗原分子を抗アミロイド抗体から解離する。

40

## 【0197】

したがって、具体的な実施形態において、本発明は、対象におけるアミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するための方法を提供する。一部の実施形態において、この方法は、（a）生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド

50

抗体に結合させるステップと、(b)抗体を非変性pHでチオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、(c)溶出物をアミロイド抗原と接触させて、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、(d)複合体の存在またはレベルを検出するステップと、(e)抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、疾患の進行の予後を提供するステップと、を含む。

#### 【0198】

アミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するための方法の一部の実施形態において、対照は、疾患の進行を経験した個人または個人の群に由来し、対照に対して類似する、または増加したレベルの残留複合体は、疾患の高い可能性または進行を示す。一部の実施形態において、対照は、疾患の進行を経験していない個人または個人の群に由来し、対象に対して類似するレベルの残留複合体は、疾患の進行の低い可能性を示す。さらに別の実施形態において、対照は、以前に採取された同一の患者に由来し、対照に対して増加したレベルの残留複合体は、疾患の高い可能性または進行を示す。特定の実施形態において、以前の試料は、約1ヶ月前、もしくは2ヶ月前、3ヶ月前、4ヶ月前、5ヶ月前、6ヶ月前、7ヶ月前、8ヶ月前、9ヶ月前、10ヶ月前、11ヶ月前、12ヶ月前、13ヶ月前、14ヶ月前、15ヶ月前、16ヶ月前、17ヶ月前、18ヶ月前、19ヶ月前、20ヶ月前、21ヶ月前、22ヶ月前、23ヶ月前、24ヶ月前、25ヶ月前、26ヶ月前、27ヶ月前、28ヶ月前、29ヶ月前、30ヶ月前、31ヶ月前、32ヶ月前、33ヶ月前、34ヶ月前、35ヶ月前、または4年前、5年前、6年前、7年前、8年前、9年前、10年前、あるいはそれ以上前に採取されていてもよい。当業者は、少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

10

20

#### 【0199】

特定の実施形態において、アミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するための方法は、対象に治療過程を指定する、または治療を投与するステップをさらに含む。一般に、この治療過程は、生物学的試料中の抗アミロイド抗体のレベルが対照閾値（例えば、疾患の高い可能性または進行を示す閾値）を上回るか、または、陰性対照（例えば、疾患の進行を経験していない群または個人に由来する対照レベル）より、陽性対照（例えば、疾患の進行を経験している群または個人に由来する対照レベル）により近似している場合に指定されることになる。好適な実施形態において、治療は、免疫グロブリン製剤の投与を含む。

30

#### 【0200】

特定の実施形態において、治療は、認知治療、例えば身体的および/または社会的活動、記憶ゲーム、ならびにパズルおよび/または問題の解決、薬物療法、例えばコリンエステラーゼ阻害剤（アセチルコリンの減少に対処するため）、グルタミン酸部分拮抗薬（例えば、メマンチン）、および精神医学的薬物（例えば、抗精神病薬、睡眠補助薬、抗不安薬、および遮断薬）から選択される。コリンエステラーゼ阻害剤には、A r i c e p t（登録商標）（塩酸ドネペジル）、E x e l o n（登録商標）（リバステイグミン）、R a z a d y n e（登録商標）（ガランタミン）、およびC o g n e x（登録商標）（タクリン）、ならびにこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。具体的な実施形態において、方法はアルツハイマー病を診断することを含む。

40

#### 【0201】

関連する実施形態において、本発明は、アミロイドタンパク質に関連する疾患の治療、例えばADに対する公知の療法または予防的戦略の予後を提供するための方法を提供する。一部の実施形態において、治療は、免疫グロブリン製剤、例えばIVIgの対象への投与を含んでよい。一部の実施形態において、この方法は、(a)生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、(b)抗体を非変性pHでチオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、(c)溶出物をアミロイド抗原と接触させて、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、(d)複合体の存在またはレベルを検出するステップと、(e)抗

50

アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、疾患の治療の予後を提供するステップと、を含む。

【0202】

アミロイドタンパク質に関連する疾患の治療の予後を提供するための方法の一部の実施形態において、対照は、特定の治療に対して有利に反応した個人または個人の群に由来し、対照に対して類似するレベルの残留複合体は、疾患の治療の良好な予後を示す。一部の実施形態において、対照は、特定の治療に対して有利に反応しなかった個人または個人の群に由来し、対照に対して類似するレベルの残留複合体は、疾患の治療の不良な予後を示す。当業者は、少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

10

【0203】

特定の実施形態において、アミロイドタンパク質に関連する疾患の治療の予後を提供する方法は、対象に治療過程を指定する、または治療を投与するステップをさらに含む。一般に、この治療過程は、生物学的試料中の抗アミロイド抗体のレベルが、陰性対照（例えば、特定の治療に対して有利に反応しなかった群または個人に由来する対照レベル）より、陽性対照（例えば、特定の治療に対して有利に反応した群または個人に由来する対照レベル）に、より近似している場合に指定されることになる。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。

【0204】

特定の実施形態において、治療は、認知治療、例えば身体的および/または社会的活動、記憶ゲーム、ならびにパズルおよび/または問題の解決、薬物療法、例えばコリンエステラーゼ阻害剤（アセチルコリンの減少に対処するため）、グルタミン酸部分拮抗薬（例えば、メマンチン）、および精神医学的薬物（例えば、抗精神病薬、睡眠補助薬、抗不安薬、および遮断薬）から選択される。コリンエステラーゼ阻害剤には、Ariccept（登録商標）（塩酸ドネペジル）、Exelon（登録商標）（リバステイグミン）、Razadyne（登録商標）（ガランタミン）、およびCognex（登録商標）（タクリン）、ならびにこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。好適な実施形態において、治療は免疫グロブリン製剤の投与を含む。具体的な実施形態において、方法はアルツハイマー病を診断することを含む。

20

【0205】

アミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するため、またはアミロイドタンパク質に関連する疾患の治療の予後を提供するための方法の一実施形態において、生物学的試料は、生体液、例えば血液、血漿、尿、リンパ液、滑液などである。他の実施形態において、生物学的試料は、組織試料または生検であってよい。好適な実施形態において、生物学的試料は、血液試料またはその画分（例えば、血漿または血漿画分）である。別の好適な実施形態において、生物学的試料は、免疫グロブリン調製物または濃縮物である。具体的な実施形態において、免疫グロブリン濃縮は、チオフィリッククロマトグラフィーによって実施される。別の具体的な実施形態において、免疫グロブリン濃縮は、混合モードリガンドクロマトグラフィーによって実施される。

30

【0206】

一実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、アミロイド（A<sub>β</sub>；Aベータ）、隣島アミロイドポリペプチド（IAPP；アミリン）、 $\alpha$ -シヌクレイン（SNCA）、主要プリオンタンパク質（PrP）、ハンチンチン（HD）、カルシトニン（CCP）、心房性ナトリウム利尿因子（ANF）、アポリポタンパク質A I（アポ-A I）、血清アミロイドAタンパク質（SAA）、メディンアミロイド（乳脂肪球-EGF因子8タンパク質；MFG-E8の断片）、プロラクチン（PRL）、トランスサイレチン（ATTR）、リゾチームC（1,4- $\beta$ -N-アセチルムラミダーゼC）、 $\alpha$ 2ミクログロブリン（ $\alpha$ 2M）、ゲルゾリン（AGEL）、形質転換成長因子誘導タンパク質ig-h3（ig-h3；ケラトエピセリン）、シスタチンC（CST3）、免疫グロブリン軽鎖（AL）、およびポリグルタミン反復を有するアミロイドタンパク質から選択されるア

40

50

ミロイドタンパク質に対して特異的な抗体である。一実施形態において、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質モノマーに対して特異的である。別の実施形態において、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質オリゴマー（すなわち、ダイマー、トリマーなど）に対して特異的である。さらに別の実施形態において、抗アミロイド抗体は、アミロイドタンパク質原線維に対して特異的である。

#### 【0207】

一実施形態において、アミロイドタンパク質に関連する疾患または状態は、アルツハイマー病、2型糖尿病、パーキンソン病、伝染性海綿状脳症、ハンチントン病、甲状腺髄様癌、心不整脈、アテローム性動脈硬化症、関節リウマチ、大動脈中膜アミロイド、プロラクチノーマ、家族性アミロイド多発ニューロパチー、遺伝性非ニューロパチー性全身性アミロイドーシス、透析関連アミロイドーシス、フィンランド型アミロイドーシス、格子状角膜ジストロフィー、脳アミロイド血管症、脳アミロイド血管症（アイスランド型）、および全身性ALアミロイドーシスからなる群から選択される。好適な実施形態において、疾患または状態はアルツハイマー病である。特に好適な実施形態において、疾患または状態はアルツハイマー病であり、検出される抗アミロイド抗体は抗アミロイド（A<sub>β</sub>；Aβ）抗体である。

10

#### 【0208】

本明細書において提供される方法の特定の実施形態において、特定のアミロイドタンパク質の存在またはレベルの検出は、アミロイドタンパク質に関連する、疾患の進行の予後を提供するためまたは疾患の治療の予後を提供するために有用である。本明細書において提供される方法における使用に特に適したアミロイドとアミロイド疾患との組み合わせの非限定的な例は、表1に記載されている。特定の実施形態において、表1に記載のアミロイドタンパク質に対して特異的な高アビディティ抗体の存在またはレベルの検出は、記載されている対応する疾患の診断となるであろう。

20

#### 【0209】

好適な実施形態において、検出される抗アミロイド抗体は、アミロイド（A<sub>β</sub>；Aβ）に対して特異的な抗体である。一実施形態において、抗A<sub>β</sub>抗体はA<sub>β</sub>モノマーに対して特異的である。別の実施形態において、抗A<sub>β</sub>抗体はA<sub>β</sub>オリゴマー（すなわち、ダイマー、トリマーなど）に対して特異的である。さらに別の実施形態において、抗A<sub>β</sub>抗体はA<sub>β</sub>原線維に対して特異的である。

30

#### 【0210】

本明細書において提供される方法の一実施形態において、低親和性抗体または非特異的抗体は低アビディティ抗アミロイド抗体である。具体的な実施形態において、低アビディティ抗アミロイド抗体は低アビディティ抗A<sub>β</sub>抗体である。

#### 【0211】

本明細書において提供される方法の特定の実施形態において、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体は、前記複合体の存在またはレベルを検出する前に、非特異的抗体（すなわち、低アビディティ抗体）とアミロイド抗原との間の相互作用を解離するために、カオトロピック塩を含有する溶液で洗浄される。本明細書において提供される方法で採用されるカオトロピック洗浄ステップは、いかなる公知のカオトロピック剤を用いて実施してもよい。カオトロピック塩を使用する場合、この塩は、塩素酸イオン（ClO<sub>3</sub><sup>-</sup>）以上のカオトロピック効果を有するアニオン、またはカルシウムイオンに優るカオトロピック効果を有するカチオンのいずれかを一般に含むであろう。一実施形態において、カオトロピック剤は、尿素、チオ尿素、グアニジン塩、チオシアネート塩、過塩素酸塩、ヨウ化物塩、および塩素酸塩から選択される。具体的な実施形態において、カオトロピック塩はチオシアン酸アンモニウムである。一実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約0.5M～約4.0Mで使用される。別の実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約1.0M～約3.0Mで使用される。さらに別の実施形態において、チオシアン酸アンモニウムは、洗浄剤濃度約1.5M～約2.5Mで使用される。

40

50

## 【0212】

本明細書において提供される方法の洗浄ステップで使用されるカオトロピック剤の濃度は、非特異的（すなわち、低アビディティ）抗アミロイド抗体とアミロイド抗原との間の相互作用を妨害するのに十分であるが、特異的（すなわち、高アビディティ）抗アミロイド抗体とアミロイド抗原との間の相互作用を妨害しないように選択されるべきである。使用されるカオトロピック剤の絶対濃度は、特定のカオトロピック剤の強度、および使用する特定のシステム（例えば、抗A抗体ELISAアッセイ）において形成される抗体-アミロイド抗原相互作用の強度を含む多数の要因に左右されるであろう。当業者は、それらの特定のシステムに使用するカオトロピック剤の最適な濃度を容易に決定する方法を認識するであろう。一実施形態において、カオトロピック剤は、洗浄剤濃度約0.5M~約4.0Mで使用する。別の実施形態においてカオトロピック剤は、洗浄剤濃度約1.0M~約3.0Mで使用する。さらに別の実施形態において、カオトロピック剤は、洗浄剤濃度約1.5M~約2.5Mで使用する。

10

## 【0213】

薬学的組成物および投与量

免疫グロブリン、例えば、異種性のヒト抗体を含む濃縮免疫グロブリン調製物を含む薬学的組成物は、当技術分野で公知の様々な方法によって投与することができる。投与経路および/または投与形式は、所望の結果によって異なるが、典型的には静脈内、筋肉内、腹腔内、または皮下となる。薬学的組成物は、静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄、または表皮投与（例えば、注射または注入による）に適した許容される担体を含んでもよい。

20

## 【0214】

組成物の適正な流動性を、例えば、レシチンなどのコーティングの使用によって、分散の場合は必要とされる粒径の維持によって、および界面活性剤の使用によって、維持することができる。場合によっては、等張剤、例えば、糖類、多価アルコール、例えばマンニトールまたはソルビトール、ならびに塩化ナトリウムを組成物中に含むことが好ましい。注入可能な組成物の長期吸収は、吸収を遅らせる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウムまたはゼラチンを組成物中に含むことによってもたすことができる。

## 【0215】

本発明の薬学的組成物は、当技術分野で周知であり、日常的に実施される方法に従って調製することができる。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Mack Publishing Co., 20<sup>th</sup> ed., 2000、およびSustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978を参照されたい。薬学的組成物は、好ましくは、GMP条件下で製造される。典型的には、治療有効用量または有効用量の免疫グロブリン製剤が、本発明の薬学的組成物に使用される。薬学的組成物は、当業者に公知の従来の方法によって剤形に配合される。投与計画は、最適な所望の反応（例えば、治療的反応）を提供するために調節される。例えば、単一のボラスを投与してもよく、複数の分割用量を長時間かけて投与してもよく、あるいは治療状況の要件によって指示されるように、用量を比例的に減少または増加してもよい。投与の簡易性および投与量の均一性のために、投与量単位形態の非経口組成物を配合することが有利な場合がある。本明細書に使用される際、投与量単位形態とは、治療される対象に対する単位投与量として好適な物理的に分離した単位を指し、各単位は、必要な薬学的担体と関連して、所望の治療効果を生じるように計算された、所定の量の活性化化合物を含有する。

30

40

## 【0216】

実際の投与量レベルは、特定の患者に対して、患者に有毒となることなく、所望の治療的反応を達成するために効果的な有効成分の量を得られるように異なってよい。医師は、薬学的組成物の用量を、所望の治療効果を達成するために必要なものよりも低いレベルの

50

投与量から開始し、所望の効果が達成されるまで、投与量を徐々に増加させることができる。一般的に、有効用量は、治療される特異的な疾患または状態、その重症度、患者の生理学的状態、投与される他の薬、および治療が予防的であるかまたは治療的であるかを含む、多数の異なる因子によって異なる。例示的な治療計画は、2週間に1回、または1ヶ月に1回、または3～6ヶ月に1回の投与を伴う。

【0217】

組成物は、複数回投与されてもよい。単一の投与の間隔は、毎週、毎月、または毎年であってもよい。間隔はまた、患者における治療の進行を測定することによって示されるように、不規則であってもよい。投与量および頻度は、患者における抗体の半減期によって異なってよい。

10

【0218】

免疫グロブリン製剤の場合、静注用免疫グロブリン ( I V I G ) が一般に使用される。I V I G 剤形は、注入による投与用に設計される。本発明の I g G 製剤は、治療有効用量の量を有意に減少させる、例外的に高い免疫グロブリン濃度 ( 10 % w / v 以上 ) を達成しているため、本発明の組成物は、患者への皮下投与および / または筋肉内投与、ならびに一般に使用される静脈内投与に特に有利である。

【0219】

用語「有効量」は、対象内で治療されている病状 ( 例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病など ) の改善または治療をもたらす、免疫グロブリン、特に I g G 製剤の量を指す。対象に投与される有効量は、年齢、体重、疾患の重症度、投与経路 ( 例えば、静脈内注入、皮下 )、および治療に対する反応の個人差を考慮して、医師が決定することができる。特定の実施形態において、本発明の免疫グロブリン製剤は、毎日約 5 m g / キログラム ~ 約 2 0 0 0 m g / キログラムで、対象に投与することができる。追加の実施形態において、免疫グロブリン製剤は、少なくとも約 1 0 m g / キログラム、少なくとも 1 5 m g / キログラム、少なくとも 2 0 m g / キログラム、少なくとも 2 5 m g / キログラム、少なくとも 3 0 m g / キログラム、または少なくとも 5 0 m g / キログラムの量で投与することができる。追加の実施形態において、免疫グロブリン製剤は、毎日、最大約 1 0 0 m g / キログラム、最大約 1 5 0 m g / キログラム、最大約 2 0 0 m g / キログラム、最大約 2 5 0 m g / キログラム、最大約 3 0 0 m g / キログラム、最大約 4 0 0 m g / キログラムの用量で対象に投与することができる。他の実施形態において、免疫グロブリン製剤の用量は、より多いかまたはより少ないかであってもよい。さらに、免疫グロブリン製剤は、1日当たり、1つまたは複数の用量で投与されてもよい。I g G 製剤で治療される疾患に詳しい臨床医が、当技術分野で公知の基準に従って、患者に対する適切な用量を決定することができる。

20

30

【0220】

特定の実施形態において、濃縮 I g G 製剤は、1回の投与あたり、約 5 m g / キログラム ~ 約 2 0 0 0 m g / キログラムの用量で、対象に投与されてもよい。特定の実施形態において、用量は、少なくとも約 5 m g / k g、または少なくとも約 1 0 m g / k g、または少なくとも約 2 0 m g / k g、3 0 m g / k g、4 0 m g / k g、5 0 m g / k g、6 0 m g / k g、7 0 m g / k g、8 0 m g / k g、9 0 m g / k g、1 0 0 m g / k g、1 2 5 m g / k g、1 5 0 m g / k g、1 7 5 m g / k g、2 0 0 m g / k g、2 5 0 m g / k g、3 0 0 m g / k g、3 5 0 m g / k g、4 0 0 m g / k g、4 5 0 m g / k g、5 0 0 m g / k g、5 5 0 m g / k g、6 0 0 m g / k g、6 5 0 m g / k g、7 0 0 m g / k g、7 5 0 m g / k g、8 0 0 m g / k g、8 5 0 m g / k g、9 0 0 m g / k g、9 5 0 m g / k g、1 0 0 0 m g / k g、1 1 0 0 m g / k g、1 2 0 0 m g / k g、1 3 0 0 m g / k g、1 4 0 0 m g / k g、1 5 0 0 m g / k g、1 6 0 0 m g / k g、1 7 0 0 m g / k g、1 8 0 0 m g / k g、1 9 0 0 m g / k g、または少なくとも約 2 0 0 0 m g / k g であってもよい。

40

【0221】

本発明によると、治療過程を完了するために必要な時間は、医師によって決定され、1

50

日程度の短いものから、1ヶ月を超える範囲に及んでもよい。特定の実施形態において、治療過程は、1～6ヶ月であってもよい。

【0222】

キット

本発明は、高親和性抗アミロイド抗体の検出および/または単離のためのキットをさらに提供する。キットは、アミロイド関連障害の診断、および例えばIVIgを用いての、適切な治療法のための個人の選定のために使用することができる。

【0223】

キットは、典型的には、書面または電子形式の使用説明書、および所望のアッセイのための標準的な試薬、溶液、および緩衝液を含む。キットは、場合によって標準対照、または消耗品の実験機器、例えば、ELISAプレート、クロマトグラフィー用具、容器、および反応容器を含むこともある。キットはまた、生物学的試料の採取用の装置、例えば、シリンジおよび血液分画装置を含んでもよい。

10

【0224】

本発明のキットは、アミロイドに対して特異的な内因性高アビディティ抗体の検出用の物質を含んでもよい。キットは、試料中で、他のタンパク質からIgGを分離するためのチオフィリッククロマトグラフィー試薬および適当な洗浄剤および溶出緩衝液を含んでもよい。

【0225】

キットはまた、高アビディティアミロイド特異的抗体を低アビディティ抗体または非特異的な抗体から分離するための物質を含んでもよい。このような物質は、アミロイドの所望の形態、例えば、モノマー、オリゴマー（球状体）、または原線維のアミロイド（例えば、A）に結合される固体支持体を含んでもよい。固体支持体は、ビーズ、クロマトグラフィー固定相（例えば、アガロース、シリカなど）、ELISAプレートなどであってもよい。物質はまた、低親和性の抗体をアミロイド結合支持体から分離および除去するための、少なくとも1つのカオトロピック洗浄緩衝液を含んでもよい。キットは、有利には、試験試料との比較用に、公知の高アビディティ（陽性）対照および低アビディティ（陰性）対照を含んでもよい。

20

【0226】

本発明のキットは、本明細書に記載のように、高アビディティ抗アミロイド抗体の検出のための試薬をさらに含んでもよい。

30

【0227】

一実施形態において、本発明は、高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための生物学的試料を調製するための方法であって、(a)対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、(i)アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに(ii)アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、を形成するステップと、(b)ステップ(a)で形成されたアミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップとを含む、方法を提供する。具体的な実施形態において、生物学的試料は、チオフィリッククロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組成物である。別の具体的な実施形態において、非特異的抗体は、低アビディティ抗アミロイド抗体である。

40

【0228】

一実施形態において、本発明は、高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための生物学的試料を調製するための方法であって、(a)生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、(b)抗体を非変性pHでチオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、(c)溶出物をアミロイド抗原と接触させて、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、を含む方法を提供する。具体的な実施形態において、この方法は、ステップ(c)で形成された複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄するステップをさらに

50

含む。

【0229】

一実施形態において、本発明は、生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するためのキットであって、カオトロピック剤およびチオフィリッククロマトグラフィー吸着剤からなる群から選択される少なくとも1つを含むキットを提供する。

一実施形態において、このキットは、カオトロピック剤およびチオフィリッククロマトグラフィー吸着剤の双方を含む。

【0230】

別の実施形態において、本発明は、生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するためのキットを製造するための、カオトロピック剤および/またはチオフィリッククロマトグラフィー吸着剤の使用を提供する。

10

【0231】

別の実施形態において、本発明は、生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するためのキットを製造するための、カオトロピック剤およびチオフィリッククロマトグラフィー吸着剤の組み合わせの使用を提供する。

【実施例】

【0232】

実施例 1

ヒト血漿の収集およびIgGの調製

健康成人およびADを有する患者からの血液試料を、Weill Medical College Institutional Review Boardによって承認されたプロトコルの下で入手し、標準的な方法による血漿の製造のためにEDTA管に収集した。-80で保管し、30分間室温に暴露して解凍した標本に対して全血漿を使用する実験を実施した。IgGを、(1)Gタンパク質セファロース(Akerstrom et al., J Biol Chem., 261:10240-10247(1986))上の標準的なクロマトグラフィー、および(2)チオフィリック吸着剤上の分取クロマトグラフィーの2つの方法によって、製造業者(Pierce社、米国イリノイ州ロックフォード)の指定通りに血漿から精製した。Gタンパク質クロマトグラフィーについては、IgGを0.1Mグリシン-HCl、pH2.8で溶出し、低pHへの暴露時間を減少させるために2Mトリス塩基を含有する管に収集した。いずれのカラムからの溶出IgGも使用前にPBSに対して透析した。

20

30

【0233】

実施例 2

様々なオリゴマー種のAの調製

Aモノマー(Biosource International社、米国カリフォルニア州カマリロ)を50%のアセトニトリルに溶解し、37で30分間インキュベートし、凍結乾燥させた。結果として得られたペレットを1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール、すなわちHFIPに溶解し、37で20~30分間インキュベートし、次いでアルゴン下で乾燥させた。

【0234】

Aオリゴマーを、前述のように調製した(Barghorn et al., J Neurochem., 95:834-847(2005))。乾燥Aペプチドフィルムを、次いで、5mMで乾燥DMSO中に溶解し、超音波処理器で30分間超音波分解し、A構造の完全な破壊を確保した。Aを、PBSで400μMに調整し、10分の1の量の2%SDSを添加し、その混合物を37で6時間インキュベートした。次いで、混合物を3倍量の水で希釈し、4で18時間インキュベートした。得られた球状オリゴマーを、SDS:PAGEおよびSECで特徴付け、4で最大4週間保管した。

40

【0235】

A原線維を、O'Nuallain法(O'Nuallain et al., J Immunol., 176:7071-7078(2006))の修正法によって調製し、

50

H F I P 処理した A モノマーを、作りたての 2 m M N a O H に溶解した。穏やかな攪拌後、溶液を 1 0 , 0 0 0 x g で 6 0 分間遠心分離して、大きな塊または原線維を除去した。次いで上清を 0 . 0 5 % のアジ化ナトリウムを含有する 1 倍 P B S に調整し、3 7 で 1 0 ~ 1 4 日間攪拌しながらインキュベートした。原線維構造を、ネガティブ染色したグリッドの透過電子顕微鏡法によって確認した。

#### 【 0 2 3 6 】

##### 実施例 3

##### ヒト抗 A 抗体の E L I S A

モノマー (ギ酸中 1 m g / m L ) または事前に作成された A 球状体のいずれかの A を合計 0 . 1 μ g 含有する p H 9 . 6 の 0 . 1 M N a H C O <sub>3</sub> 緩衝液 0 . 1 m L で M a x i s o r p E L I S A プレート ( N u n c 社、デンマーク、ロスキレ) を 3 7 で 1 時間コーティングした。A 原線維プレートは、前述のように調製した ( O ' N u a l l a i n e t a l . , J I m m u n o l . , 1 7 6 : 7 0 7 1 - 7 0 7 8 ( 2 0 0 6 ) ) 。プレートは、即座に使用するか、または 4 で保管した。A コーティング緩衝液を除去した後、プレートを、0 . 0 5 % の T w e e n 2 0 ( P B S T ) を含有する 0 . 2 m L の P B S ( 1 3 7 m M N a C l , 2 . 7 m M K C l , 1 0 m M N a <sub>2</sub> H P O <sub>4</sub> , p H 7 . 4 ) で 3 回洗浄した。最終洗浄後、プレートを P B S T 中の 0 . 2 m L / ウェルの 1 % B S A で、3 7 で 1 時間ブロッキングした。ブロッキング溶液を除去し、プレートを、上述のように、P B S T で 3 回洗浄した。

#### 【 0 2 3 7 】

各 E L I S A プレートを使用して、P B S T で 1 : 1 0 にそれぞれ希釈した 1 0 個の血漿試料、ならびに陰性 P B S T 対照および 1 0 m g / m L の I V I G 陽性対照 ( G a m m a g a r d L i q u i d , B a x t e r 社) をアッセイした。完全な力価が成された後、各試料を P B S T 中の 3 倍連続希釈物として分析した。プレートを、3 7 で 1 時間インキュベートし、0 . 2 m L の P B S T で 3 回洗浄し、P B S T 中の西洋ワサビペルオキシターゼ結合ヤギ親和性精製抗ヒト I g G 抗体 ( B i o s o u r c e I n t e r n a t i o n a l 社、米国カリフォルニア州カマリロ) の 1 : 1 0 , 0 0 0 希釈物 0 . 1 m L を用いて、3 7 で 3 0 分間インキュベートした。プレートを、P B S T で 4 回洗浄し、0 . 1 m L / ウェルの T M B ( I n v i t r o g e n 社、米国カリフォルニア州カールスバッド) を室温で 1 5 ~ 3 0 分間添加することによって発現させた。陰性対照ウェルが変色する最初の兆候時に、0 . 1 m L の 1 M H C l を各ウェルに添加して、反応を終結させた。4 0 5 n m での光学密度 ( O D ) を、S y n e r g y H T E L I S A リーダ ( B i o - T e k 社、米国バーモント州ウィヌースキ) を使用して測定した。

#### 【 0 2 3 8 】

抗 A 抗体力価を、K C 4 S i g n a t u r e ソフトウェアを使用して計算し、4 つのパラメータの S 字形曲線を血漿または I V I G の連続希釈物から得られた光学密度に適合させた。曲線を適合させる前に、二次抗体のみの対照の平均光学密度を血漿または I V I G を有するウェルの光学密度から差し引いた。必要であれば、試料の希釈を減らして、最低希釈試料の最大光学密度が I V I G 標準値の最大値の半分未満になるようにした。試料中の抗 A 抗体の力価を、光学密度が 1 0 m g / m L まで希釈された I V I G 標準物の半最大光学密度 ( 通常 2 . 0 ~ 3 . 0 ) に等しい希釈の逆数として表した。

#### 【 0 2 3 9 】

##### 実施例 4

##### S P R 測定

カルボキシル化センサーを、S e n s i Q S P R 装置 ( I C X N o m a d i c s 社、米国オクラホマ州オクラホマシティ) に装填し、0 . 1 M リン酸を 1 分注入してすすいで表面の汚染物質を除去し、2 m M E D C 、 0 . 5 m M N H S を対照および実験チャンネルの両方に注入することによって活性化した。p H 4 . 7 の 1 0 m M 酢酸緩衝液中のニュートラアビジン ( 2 5 μ g / m L ) 、続いて 1 0 m M H E P E S 緩衝液 ( p H 7 . 4 ) 中のビオチン標識 A モノマー、オリゴマー、または原線維の 5 0 μ g / m L 溶液

、150 mM NaCl、1.34 mM EDTA、および1%のTween 20を実験チャンネルに注入した。両チャンネルへの1 M エタノールアミン (pH 8) の注入によって、結合を終結させた。血漿または精製 IgG 製剤の連続2倍希釈物を使用して、SPR 抗体結合アッセイを行った。結合の分析を、Qdat ソフトウェア (ICX Nomadic 社、米国オクラホマ州オクラホマシティ) を使用して行った。

#### 【0240】

##### 実施例 5

##### カオトロピック塩による選択的な抗原 - 抗体の解離

選択的解離の条件を、まず、ブランクプレートおよび A - コーティングプレートへ結合する抗体のアビディティを測定することによって測定した。次いで、ブランクプレートまたはアミロイドプレートに対する結合の最適な解離を提供するために必要なカオトロピック塩 (チオシアン酸アンモニウム) のモル濃度を測定した (Pullen et al., J Immunol Methods., 86: 83 - 87 (1986))。簡潔にいうと、A コーティングされた ELISA プレートを、PBST 中に希釈したヒト血漿またはマウスモノクローナル抗 A 抗体 (1 µg/mL) の 1:10 希釈物とともに、上述のようにインキュベートした。ウェルを空にし、pH 6.0 の 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 0.2 mL、または濃度を次第に上げたチオシアン酸アンモニウムを含有するこの緩衝液をウェルの各組に対して4通りに添加した。プレートを25 で30分間インキュベートし、PBSTで3回洗浄し、上述のように標準 ELISA 用に処理した。

#### 【0241】

##### 実施例 6

##### 親和性精製による抗アミロイド抗体の単離

アミノ末端またはカルボキシ末端で樹脂に A ペプチドを結合させる、抗 A モノマー抗体の親和性精製の樹脂を購入した (Alpha Diagnostic Intl. 社、米国テキサス州サンアントニオ)。抗 A オリゴマーおよび抗 A 原線維抗体用の樹脂を、上述のように作製された A オリゴマーと原線維を製造業者 (GE Healthcare, Uppsala, Sweden) の推奨通りに N - ヒドロキシコハク酸イミド - 活性セファロース 4 Fast Flow に結合することによって調製した。カラムを PBST 中で平衡化し、PBST 中 10 mg/mL に希釈した 5 g/mL の IVIG を 0.5 mL / 分で少なくとも合計 5 回、500 mL の完全通過でカラムを通し、その後 PBST で洗浄し、pH 2.5 の 0.1 M グリシンで標準溶出した。溶出した IgG を、即座に中和し、限外濾過スピンカラム上での遠心分離によって濃縮し、PBST に対して透析した。

#### 【0242】

##### 実施例 7

##### 抗 A 抗体測定時のブランクプレート結合

ヒト血漿または血清中の抗 A 抗体の定量化は、ほとんどの場合、モノマーまたは凝集 (オリゴマーまたは原線維) のいずれかの A ペプチドを含有する ELISA プレート上で実施されてきた。この方法でアッセイされる正常ヒトドナー由来の血漿試料は、ブランク ELISA ウェル (いかなる添加された抗原も有さないウェル) に有意に結合する。従来のブロッキング剤、例えば、脱脂乳、ウシ胎仔血清、アルブミン、および市販のブロッキング調製物の使用にもかかわらず、多大な非特異的ブランクプレート結合が生じる (Klaver et al., J. Neurosci. Meth. 187, 263 - 269) 。ブランク ELISA プレートへの結合の範囲は、血漿ドナーによって異なる (図 1) 。

#### 【0243】

ブランク ELISA プレートへの結合は、血漿試料およびプールされた免疫グロブリン調製物、例えば IVIG から単離された精製 IgG でも生じる。IVIG は、飽和可能で濃度に依存する形でブランクプレート、A モノマープレート、A オリゴマープレート、および A 原線維プレートに結合する。A<sub>450nm</sub> 単位における最大結合値は、それぞれ 4.54 (ブランク)、2.7 (モノマー)、2.88 (オリゴマー)、および 2.

10

20

30

40

50

82 (原線維)であった。ELISA曲線の最良適合に基づいて、吸光度単位におけるIVI Gの最大結合は、ブランクプレートでいずれのアミロイド含有プレートよりもおよそ1.6倍大きかった。同様の結果が、正常な個人またはAD患者の血漿から単離された血漿IgGに対して得られた。最大結合の絶対値は個別に異なった。ブランクプレートへのIVI Gの実質的な結合は、アミロイド含有プレートと比較して、ブランクプレートで潜在的な抗体結合部位数がより多いことを示す。

#### 【0244】

最大結合の振幅の差にもかかわらず、ブランクELISAウェルに結合する抗体の見掛け上の力価は、一般的にAペプチドまたはその集合体を含むウェルに結合するものよりも低い。IVI Gに対するブランクプレートの半最大結合力価は、抗Aモノマー、Aオリゴマー、およびA原線維抗体に対するものよりも、それぞれ、17.6倍、3.9倍、および6.5倍低かった。典型的な最大半値力価の値は、2.44 (ブランクプレート)、42.84 (モノマー)、9.42 (オリゴマー)、および15.85 (原線維)であった。ほとんどの個人ドナーの血漿から単離されたIgGに対して、同様の結果が得られた。ブランクプレート結合の範囲は個別に異なったが、ELISA曲線への適合から誘導された最大結合値は、常にブランクプレートの場合に抗アミロイド抗体よりも高かった。これは、力価曲線ではなく、単一の希釈物に基づく抗アミロイド抗体レベルの測定値が、ブランクプレート結合の付加効果のために過大評価される傾向にあることを示唆する。

10

#### 【0245】

ブランクELISAウェルに結合する能力のある抗体の存在は、空のウェルに対して得られた観察された吸光度値が、アミロイド含有プレートに対して得られたものに匹敵するか、またはより大きい場合さえあるため、個人における抗Aオリゴマー抗体の測定を複雑化する(図1)。これは、プレートに結合する抗体が同一であることを意味しない。実際に、空のウェルで使用した濃度で得られた吸光度は、図1に示される22個人のうち6個人において、アミロイド含有ウェルに対するものよりも大きく、抗体の全てが同一の特異性を有するわけではないことを示唆する。したがって、ブランクプレート結合は、場合によってはブランクプレートおよびアミロイド含有プレートの両方に結合する能力のある多価抗体の存在を反映する。

20

#### 【0246】

##### 実施例8

##### ブランクプレート結合は、Fab媒介される

プレート結合相互作用の性質を判定するために、5個人に由来する市販のIgGのプール、ならびにこの同一プールから単離されたFab断片、Fab2'断片、およびFc断片を検査した。ブランクELISAウェルへの抗体の結合は、他のドメインが関与する非特異的相互作用とは対照的に、IgG分子の抗原結合領域(Fab)への結合の結果であることが認められた。図2は、IgGの抗原結合領域(Fab断片およびFab2'断片)が、免疫グロブリン分子の他のドメインを介した非特異的相互作用よりも、むしろ空のウェルへの結合に関与することを示す。

30

#### 【0247】

##### 実施例9

##### ブランクプレート結合抗体の枯渇

血漿試料からのIgGの単離は、ブランクELISAプレートへの抗体の結合を排除しない。ポリスチレンおよび/またはアガロースのカラムにIVI Gを通過させることで、これらの基体に容易に結合するIgG分子を枯渇させ、ブランクELISAウェルへのIVI Gの結合を減少させる可能性があるかどうかを試験した。枯渇は、ブランクプレート結合抗体に特異的ではなかった。ブランクプレートおよびA含有プレートで得られた吸光度の絶対比は、カラムクロマトグラフィーにかかわらず、比較的一定に留まった。この手法のさらなる欠点は、抗A結合抗体の合計量が全枯渇手順によって実質的に減少されたことであり、Aに結合する抗体の一部がアガロースまたはポリスチレンにも付着しう

40

50

ることを示唆する。かかる結合は、A およびポリスチレンを含む複数の非関連エピトープに結合する低親和性多価抗体に起因する可能性が高い。

【0248】

特定の抗A 抗体の多価性についてのより直接的な証拠は、血漿タンパク質のサイログロブリンを使用する競合研究によってもたらされる(図3)。A ペプチド含有ELISA ウェルへのIVI Gの結合は、サイログロブリンが競合として使用される場合に減少し、大型プールのIVI G中の抗A 抗体が多価であり、これらのタンパク質の両方に結合することができることを裏付ける。図3に見られるように、サイログロブリン含有ELISA プレートへのIVI Gの結合を完全に排除したサイログロブリンの濃度は、A プレートへのIVI Gの結合を、対照値のおよそ50%まで減少させる。

10

【0249】

実施例10

カオトロピック塩によるブランクプレート結合の減少

アビディティの差に基づいて、ブランクウェルに結合した抗体をA に結合したものから分ける可能性を試験した。アビディティ測定を、濃度を次第に上げたカオトロピック塩のチオシアン酸アンモニウムを使用して行い、ELISA プレート上に形成された抗体/抗原複合体を解離した。ウェルがブランクであるか、または球状A オリゴマーでコーティングされているELISA プレートへのIVI Gの結合を比較した。図4は、IVI G中の抗球状A オリゴマー抗体のアビディティは、ブランクプレートへのIVI Gの結合に見られたものよりも明らかに大きかったことを示す典型的な実験を示す。ブランクプレート上では、リン酸緩衝液の対照条件に対して認められた結合の50%は、プレートがおよそ2.5Mのチオシアン酸アンモニウム中でインキュベートされる際に生じる。A オリゴマー含有プレートについては、50%結合への減少は、本研究に使用される最高濃度の4M チオシアン酸アンモニウムにおいてさえも達成されない。架橋および非架橋方法(Barghorn et al., J Neurochem., 95:834-847 (2005)、Kayed et al., Molecular Neurodegeneration, 2:18-29 (2007))を含む、いくつかの独立した方法によって調製されたA オリゴマーは、本質的に同一の結果を有した。

20

【0250】

これらの結果は、結合アビディティに基づいて、少なくとも一部の抗A オリゴマー抗体を、ブランクプレートに結合する抗体から区別することができることを示唆する。この仮説をさらに試験するために、高親和性抗A オリゴマー抗体のIVI Gを、A 球状体(globulomer)含有親和性カラムを通して枯渇させた。抗A オリゴマー枯渇IVI Gについては、球状A オリゴマーの最大結合の50%を達成するために必要なカオトロピック塩の濃度は、4M超から1.3M チオシアン酸アンモニウムへ減少した。同様に、空のウェルについては、2.5Mから0.9M チオシアン酸アンモニウムへの減少があった。これらの結果は、ヒトレパートリー中の一部の抗体は、A オリゴマーおよび空のウェルの両方と相互作用することを示唆する。しかしながら、A オリゴマーに対して特異的に高アビディティを有する抗体も存在する。

30

【0251】

実施例11

抗体結合に続く、チオシアン酸アンモニウム中でのインキュベーションが、高親和性抗A オリゴマー抗体と、より無差別に空のELISA ウェルに結合するものとの区別を可能にすることを確認するために、若年対照2例および高齢対照2例の4個人からの血漿中IgGおよび精製IgGのアビディティを測定した(図5)。これらの個人からの精製IgGは、1mg/mLにおいて、空のウェルへの一貫した結合を示した。ブランクプレート結合に対して観察された吸光度は、実施例10におけるIVI Gで得られた結果と同様に、4M チオシアネート処理後に約80%減少した。対照的に、A 42オリゴマーを含有するウェルへの相対的な結合は、約20%のみの減少であった。A オリゴマーと同様に、抗A モノマーおよび抗A 原線維の抗体の両方は、チオシアン酸アンモニウム解

40

50

離に対して、ブランクプレートへの抗体結合よりも抵抗性がある。したがって、空のELISAウェルに結合する能力を有する抗体からの最小限の干渉で、精製ヒト抗体の混合物における抗A抗体の測定を可能にする一連の条件を定義することが可能であると思われる。

【0252】

実施例12

酸および不安定化剤による多価抗体の発生

血清の弱酸性条件への暴露でさえも、多価抗体の力価を増加させることが示されており、その多数が自己抗原を標的にする(Bouvet et al., J Autoimmun., 16:163-172 (2001)、Djoumerska et al., Scand J of Immunol., 61:357-363 (2005))。弱酸性化による多価性の発生もまた、pH変化が、抗原結合部位の部分変性を通じて多価結合の増加につながった、特異的モノクローナル抗体に関して報告されている。(Dimitrov et al., Molec Immunol, 44:1854-1863 (2007))。いくつかのロットのIVI G (Gammaguard, Baxter)を試験し、pH3.0での酸性化が、3.7倍~9.8倍の範囲でAモノマー力価の増加をもたらすことを見出した。力価におけるこの増加は、中性pHおよび室温での24時間のインキュベーション期間により逆転した。pH2.0でのインキュベーションによる多価性の発生は、完全に可逆ではなかった。これは、非常に低いpHでのインキュベーションが抗体の構造的完全性を不可逆的に変化させ、それでもなお様々な抗原に非特異的に結合する能力を保持することを示唆する。

【0253】

6M尿素への暴露は、よりストリンジェントな変性処理であり、また、IVI G中に存在する多数の自己抗体の見掛け上の力価を増加させる(Bouvet et al., J Autoimmun., 16:163-172 (2001))。PBS中で10mg/mLにおけるIVI Gを、単独または6M尿素を含むPBSに対して透析した。抗体力価の増加を、尿素処理後の抗体力価をPBS対照の抗体力価で割ることによって計算した(Wardemann et al., Science, 301:1374-1377 (2003))。表1に示される結果は、各自己抗原に対する2回の実験の最小値の平均である。表1は、6M尿素処理が、IVI Gにおける抗体のAを含む1組の自己抗原への結合を、増加させたことを示す。増加は、対照のIVI G製剤と比較して、尿素処理後に4倍~23倍に及び、最大の効果がAペプチドに見られた。したがって、IgGの部分変性は、特に血清抗A抗体の力価を、おそらくは抗原結合部位を変化させてより無差別な結合を可能にすることによって増加させた。

【0254】

(表1) 6M尿素に対する透析後のIVI Gの自己抗体力価の増加\*

自己抗原	力価の増加倍数
Aβ42 ペプチド モノマー	23
サイログロブリン	9
LPS+	4
ssDNA+	6
dsDNA+	5
インスリン+	5

## 【0255】

酸または他の変性条件への暴露による A 結合活性の人為的発生は、精製ヒト I g G 調製物中の抗 A 抗体力価の測定に重要な意味合いを有する。例えば、正常対照において、G タンパク質方法によって精製された I g G によるブランクプレート結合の半最大力価は、元の血漿に対するものの 100 倍を超える高さであった。これらの同一の個人において、50 倍の増加がオリゴマープレートへの結合に関して酸性化後に認められた。少なくとも部分的に I g G を変性させ得る方法、例えば、G タンパク質樹脂からの酸溶出によるヒト I g G の精製は、酸誘導の多価性により人工的に高い力価をもたらす。

## 【0256】

## 実施例 13

非変性 I g G 精製の効果

次に、チオフィリック吸着剤クロマトグラフィーによる I g G の単離が、酸溶出と関連する多価性の発生を回避するかどうかを調査した。チオフィリック吸着剤クロマトグラフは、スルホン基がチオエーテル基に近接する部分への I g G の結合を十分に引き出す。図 6 に示されるように、チオフィリッククロマトグラフィーによって調製された I g G は、血漿中に存在する非免疫グロブリンタンパク質の大半を除去する。チオフィリック吸着剤は、G タンパク質クロマトグラフィーよりも、他の血漿成分の除去への有効性が幾分低い。免疫グロブリンを多価性の発生を助長しうる変性条件にさらすことはない。この断定と一致して、チオフィリック吸着剤を使用する I V I G からの I g G の再精製は、A プレートまたはブランクプレートのいずれかへの抗体結合の力価を変化させない。

## 【0257】

全血漿中の抗 A 抗体の結合を、様々な方法によって精製されたものと比較するために、上述のように表面プラズモン共鳴 (S P R) を使用した。正常対照からの全血漿の結合をチオフィリック吸着剤または G タンパク質クロマトグラフィーのいずれかによって同一の血漿から精製された I g G と比較した。測定を、A オリゴマーセンサー上で実施した。A オリゴマーセンサーは、ニュートラアビジンに結合したビオチン化 A オリゴマーを含み、これはセンサー上で P E G 鎖に共有結合していた。

## 【0258】

3 つの調製物の比較濃度に対する S P R 反応曲線を、図 7 に示す。チオフィリック試薬によって精製された I g G は、全血漿よりも、より正の偏差をもたらす。この差は、A 結合を有する血漿タンパク質による干渉の減少を反映すると思われる。I g G がチオフィリッククロマトグラフィーによって単離される場合、ブランクプレート結合に対する半最大力価における増加は、血漿よりもおよそ 3 倍大きく、オリゴマープレートへの結合についてはほぼ 5 倍大きかった。したがって、A オリゴマープレートへの特異的結合は、チオフィリック単離法で改善され、干渉する血漿タンパク質の排除を反映する可能性が高い。

## 【0259】

G タンパク質クロマトグラフィーによって精製された I g G は、際立って異なる負の反応を示し、これは抗原含有プレートよりも対照センサーに対するより強い結合を示している。対照センサーは末端にアラニンを含み、P E G コーティングを有し、G タンパク質クロマトグラフィー後の負の反応は、酸暴露後に I g G 中に新しい多価特異性が発生することに起因する可能性が高く、そのうちの少なくとも一部は対照センサー上の P E G コーティングを認識する。

## 【0260】

## 実施例 14

血漿抗アミロイド活性の測定

ヒト血漿中で測定される抗アミロイド活性が、全て天然の多価性または誘発された多価性の結果であったかどうかを判定するために、親和性クロマトグラフィーを使用して、抗 A モノマー抗体、A オリゴマー抗体、および A 原線維抗体を含む、様々な特異性のヒト抗アミロイド抗体を I V I G から分離した。抗 A モノマー抗体の場合、2 種類の抗

10

20

30

40

50

体を単離した。抗体の第1の組は、アミノ末端で親和性樹脂に結合するAモノマーに結合し(抗A<sub>N</sub>)、第2のものは、カルボキシル末端で結合されるAモノマーに結合した(抗A<sub>C</sub>)。

#### 【0261】

抗Aモノマー抗体および抗オリゴマー抗体の2種類について、SPR分析によって解離定数を測定した。表2は、単離した抗アミロイド抗体、およびアミノ末端付近に位置するAエピトープに結合する6E10単クローン性抗A抗体に対する $K_d$ 測定値を示す。結合親和性は、親和性精製に使用されたものと同一形態のアミロイドを含有するセンサーに対して高いため、 $K_d$ 値は、親和性精製抗体が異なる特異性を有することを示している。しかしながら、いくつかの重複する特異性が存在する可能性がある。全ての親和性精製抗体調製物は、ブランクELISAプレートのウェルへの結合を示した。ブランクウェル結合に対して得られた様々なアミロイドプレート上で見られる吸光密度の割合は、異なる親和性精製抗体調製物によって変化した。例えば、抗A<sub>N</sub>抗体の場合、ブランクウェルへの結合は、モノマーウェルへの結合のほぼ28%、原線維ウェルへの結合のほぼ15%、およびオリゴマーウェルへの結合の実質的に全てと同等であった。

#### 【0262】

(表2) I V I G に由来する親和性精製抗アミロイド抗体の $K_d$

センサー	抗体	$K_d$ (nM)
C-末端モノマー	C-末端モノマー	650
	N-末端モノマー	24,000
	オリゴマー	20,000
	6E10	47
N-末端モノマー	C-末端モノマー	1,900
	N-末端モノマー	450
	オリゴマー	4,000
	6E10	158
オリゴマー	C-末端モノマー	4,400
	N-末端モノマー	2,300
	オリゴマー	590
	6E10	69

#### 【0263】

表3は、I V I G から単離された、親和性精製抗A抗体のブランクプレート結合特性をまとめたものである。抗原線維抗体の場合、2つの異なる調製物をアッセイした。第1の抗体調製物は、A<sub>42</sub>原線維カラム上で親和性精製され、Aペプチドに対する抗体、および原線維化と関連する構造的ネオエピトープを含む。抗A<sub>42</sub>原線維抗体の第2の調製物は、I A P P ( 藤島アミロイドポリペプチド ) 原線維カラム上で2回目に親和性精製され、おそらくは、原線維に関連するネオエピトープに対する抗体のみを含有する ( O' Nuallain et al., J Immunol., 176:7071-7078 (2006) )。後者の画分は、減少したブランクプレート結合を示した。

#### 【0264】

(表3) 親和性精製抗A抗体のブランクプレート結合、ブランクプレート結合とアミロイドプレート結合との比率

親和性精製抗体	ELISA プレート		
	モノマー	オリゴマー	原線維
抗A <sub>β</sub> Nモノマー	0.28	1.00	0.15
抗A <sub>β</sub> Cモノマー	0.56	0.36	0.49
抗A <sub>β</sub> オリゴマー	0.58	0.73	0.62
抗A <sub>β</sub> 原線維 #1*	0.72	1.00	0.62
抗A <sub>β</sub> 原線維 #2**	0.27	0.63	0.13

10

20

30

40

50

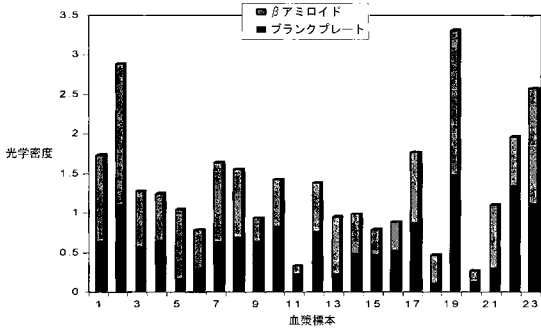
\* 原線維状 A 4 2 親和性樹脂上の通過により精製

\* \* 原線維状 A 4 2 親和性樹脂上での精製、続いて原線維状 I A P P 樹脂上での再精製により精製

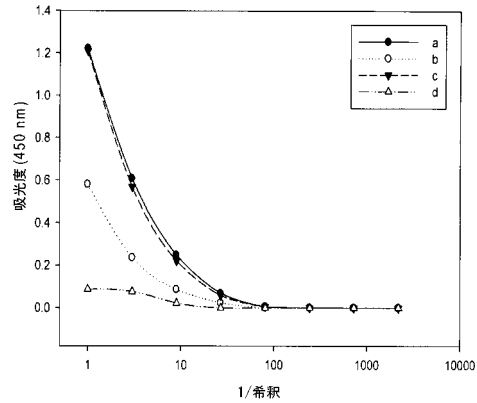
【 0 2 6 5 】

本明細書に記載の実施例および実施形態は、例示のみを目的とするものであり、それを踏まえた様々な修正または変更が、当業者に提示されることであろうが、本出願の精神と範囲および添付の請求項の範囲の内に含まれるものであることを理解されたい。本明細書に引用されるすべての刊行物、特許、および特許出願は、あらゆる目的で、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

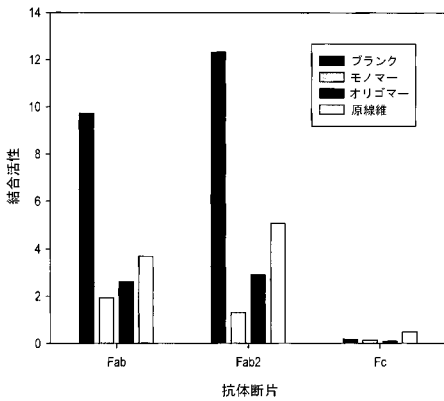
【 図 1 】



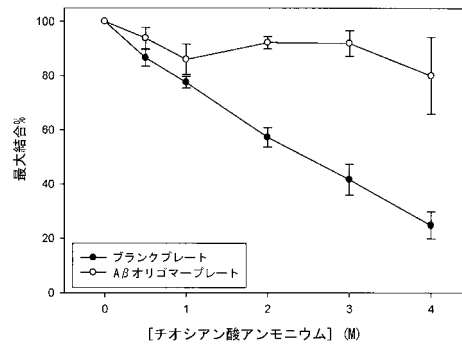
【 図 3 】



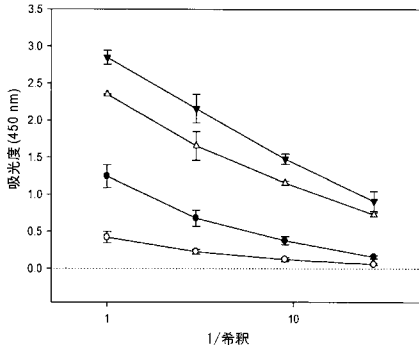
【 図 2 】



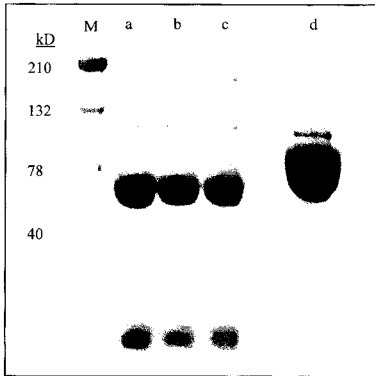
【 図 4 】



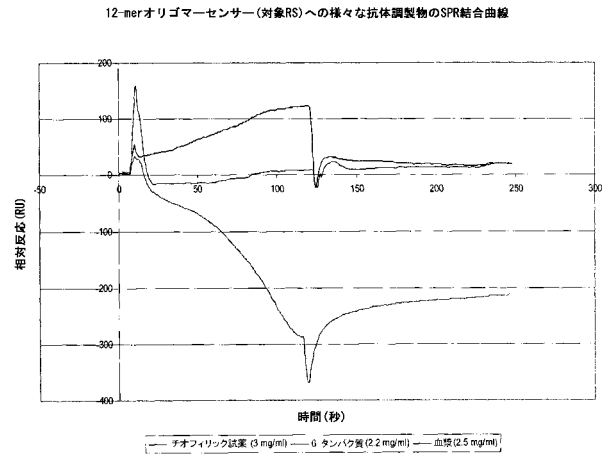
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



## 【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成26年1月16日 (2014.1.16)

## 【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】 特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】 全文

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

## 【 請求項 1 】

生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法であって、

( a ) 前記生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、

( i ) アミロイド抗原および非特異的抗体を含む複合体、ならびに

( i i ) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、

を形成するステップと、

( b ) ステップ ( a ) で形成された前記アミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含む溶液で洗浄して、アミロイド抗原および非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、

( c ) 残留複合体の存在またはレベルを検出するステップと、

を含む、前記方法。

## 【 請求項 2 】

前記生物学的試料がチオフィリック ( thiophilic ) クロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組成物である、請求項 1 に記載の方法。

## 【 請求項 3 】

前記非特異的抗体が低アビディティ抗アミロイド抗体である、請求項 1 または請求項 2

に記載の方法。

【請求項 4】

前記高アビディティ抗アミロイド抗体が、アミロイド(A ; A ベータ)、腓島アミロイドポリペプチド(IAPP ; アミリン)、 $\alpha$ -シヌクレイン(SNCA)、主要プリオンタンパク質(PrP)、ハンチンチン(HD)、カルシトニン(CCP)、心房性ナトリウム利尿因子(ANF)、アポリポタンパク質AI(アポ-AI)、血清アミロイドAタンパク質(SAA)、メディンアミロイド(乳脂肪球-EGF因子8タンパク質; MFG-E8の断片)、プロラクチン(PRL)、トランスサイレチン(ATTR)、リゾチームC(1, 4-N-アセチルムラミダーゼC)、 $\alpha$ 2ミクログロブリン( $\alpha$ 2M)、ゲルゾリン(AGEL)、形質転換成長因子誘導タンパク質ig-h3(ig-h3 ; ケラトエピセリン)、シスタチンC(CST3)、免疫グロブリン軽鎖(AL)、およびポリグルタミン反復を有するアミロイドタンパク質からなる群から選択されるアミロイドタンパク質に特異的である、請求項1~3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 5】

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質モノマーを特異的に認識する、請求項1~3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 6】

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質オリゴマーを特異的に認識する、請求項1~3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 7】

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質原線維を特異的に認識する、請求項1~3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 8】

前記抗アミロイド抗体が抗アミロイド抗体である、請求項1~3のいずれか1項に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0022

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0022】

第10の態様において、本発明は、アミロイドタンパク質に関連する疾患の治療、例えば公知のADに対する療法または予防的戦略の予後を提供するための方法を提供する。一部の実施形態において、治療は、対象における免疫グロブリン製剤、例えばIVIgの投与を含んでもよい。一部の実施形態において、この方法は、(a)生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、(b)抗体を非変性pHでチオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、(c)溶出物をアミロイド抗原と接触させて、アミロイド抗原および抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、(d)複合体の存在またはレベルを検出するステップと、(e)抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、疾患の治療の予後を提供するステップと、を含む。一部の実施形態において、本発明は、対象におけるアルツハイマー病の治療の予後を提供するための方法を提供する。上記に説明したように、当業者は、アミロイド関連障害を診断するための少なくとも1つの適当な対照を選定し、適宜結果を解釈する方法を理解するであろう。

[本発明1001]

生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法であって、

(a)前記生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、

(i)アミロイド抗原および非特異的抗体を含む複合体、ならびに

(ii)アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、

を形成するステップと、

(b) ステップ (a) で形成された前記アミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、

(c) 残留複合体の存在またはレベルを検出するステップと、  
を含む、前記方法。

[本発明1002]

前記生物学的試料がチオフィリック ( t h i o p h i l i c ) クロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組成物である、本発明1001の方法。

[本発明1003]

前記非特異的抗体が低アビディティ抗アミロイド抗体である、本発明1001または本発明1002の方法。

[本発明1004]

生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための方法であって、

(a) 前記生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、前記抗アミロイド抗体に結合させるステップと、

(b) 前記抗体を非変性 pH で前記チオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、

(c) 前記溶出物をアミロイド抗原と接触させて、前記アミロイド抗原および前記抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、

(d) 前記複合体の存在またはレベルを検出するステップと、  
を含む、前記方法。

[本発明1005]

前記ステップ (c) で形成された前記複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄するステップをさらに含む、本発明1004の方法。

[本発明1006]

アミロイド関連疾患または状態の治療の候補者である対象を特定するための方法であって、

(a) 前記対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、

(i) アミロイド抗原および非特異的抗体を含む複合体、ならびに

(i i) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、  
を形成するステップと、

(b) ステップ (a) で形成された前記アミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低アビディティ抗アミロイド抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、

(c) 残留複合体のレベルを検出するステップと、

(d) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記対象が免疫グロブリン製剤の投与を含む治療から利益を得るかどうかを決定するステップと、  
を含む、前記方法。

[本発明1007]

前記治療が免疫グロブリン製剤の投与を含む、本発明1006の方法。

[本発明1008]

前記治療が身体的活動または社会的活動を含む、本発明1006または本発明1007の方法。

[本発明1009]

前記治療がコリンエステラーゼ阻害剤、グルタミン酸部分拮抗薬、または精神医学的薬物を含む、本発明1006~1008のいずれかの方法。

[本発明1010]

前記生物学的試料がチオフィリッククロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組

成物である、本発明1006～1009のいずれかの方法。

[本発明1011]

前記非特異的抗体が低アビディティ抗アミロイド抗体である、本発明1006～1010のいずれかの方法。

[本発明1012]

前記高アビディティ抗アミロイド抗体が、アミロイド(A<sub>β</sub>; Aベータ)、膵島アミロイドポリペプチド(IAPP; アミリン)、 $\alpha$ -シヌクレイン(SNCA)、主要プリオンタンパク質(PrP)、ハンチンチン(HD)、カルシトニン(CCP)、心房性ナトリウム利尿因子(ANF)、アポリポタンパク質AI(アポ-AI)、血清アミロイドAタンパク質(SAA)、メディンアミロイド(乳脂肪球-EGF因子8タンパク質; MFG-E8の断片)、プロラクチン(PRL)、トランスサイレチン(ATTR)、リゾチームC(1,4- $\beta$ -N-アセチルムラミダーゼC)、 $\alpha$ 2ミクログロブリン( $\alpha$ 2M)、ゲルゾリン(AGEL)、形質転換成長因子誘導タンパク質ig-h3(ig-h3; ケラトエピセリン)、シスタチンC(CST3)、免疫グロブリン軽鎖(AL)、およびポリグルタミン反復を有するアミロイドタンパク質からなる群から選択されるアミロイドタンパク質に特異的である、本発明1001～1011のいずれかの方法。

[本発明1013]

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質モノマーを特異的に認識する、本発明1001～1012のいずれかの方法。

[本発明1014]

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質オリゴマーを特異的に認識する、本発明1001～1012のいずれかの方法。

[本発明1015]

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質原線維を特異的に認識する、本発明1001～1012のいずれかの方法。

[本発明1016]

前記抗アミロイド抗体が抗アミロイド抗体である、本発明1001～1015のいずれかの方法。

[本発明1017]

免疫グロブリン製剤の投与を含む治療の候補者である対象を特定するための方法であって、

(a) 前記生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、該試料中に存在する抗アミロイド抗体に結合させるステップと、

(b) 前記抗体を非変性pHで前記チオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、

(c) 前記溶出物をアミロイド抗原と接触させて、前記アミロイド抗原および前記抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、

(d) 前記複合体の存在またはレベルを検出するステップと、

(e) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記対象が免疫グロブリン製剤の投与を含む治療から利益を得るかどうかを決定するステップと、を含む、前記方法。

[本発明1018]

前記治療が免疫グロブリン製剤の投与を含む、本発明1017の方法。

[本発明1019]

前記治療が身体的活動または社会的活動を含む、本発明1017または本発明1018の方法。

[本発明1020]

前記治療がコリンエステラーゼ阻害剤、グルタミン酸部分拮抗薬、または精神医学的薬物を含む、本発明1017～1019のいずれかの方法。

[本発明1021]

前記ステップ(c)で形成された前記複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗

浄するステップをさらに含む、本発明1017～1020のいずれかの方法。

[本発明1022]

前記対象がアミロイドタンパク質に関連する疾患を有すると診断されている、本発明1006～1021のいずれかの方法。

[本発明1023]

前記疾患が、アルツハイマー病、2型糖尿病、パーキンソン病、伝染性海綿状脳症、ハンチントン病、甲状腺髄様癌、心不整脈、アテローム性動脈硬化症、関節リウマチ、大動脈中膜アミロイド、プロラクチノーマ、家族性アミロイド多発ニューロパチー、遺伝性非ニューロパチー性全身性アミロイドーシス、透析関連アミロイドーシス、フィンランド型アミロイドーシス、格子状角膜ジストロフィー、脳アミロイド血管症、脳アミロイド血管症（アイスランド型）、および全身性ALアミロイドーシスからなる群から選択される、本発明1022の方法。

[本発明1024]

前記疾患がアルツハイマー病である、本発明1023の方法。

[本発明1025]

対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法であって、  
(a) 前記対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、  
(i) アミロイド抗原および非特異的抗体を含む複合体、ならびに  
(ii) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、  
を形成するステップと、  
(b) ステップ(a)で形成された前記アミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、  
(c) 残留複合体のレベルを検出するステップと、  
(d) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記対象を診断するステップと、  
を含む、前記方法。

[本発明1026]

前記生物学的試料がチオフィリッククロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組成物である、本発明1025の方法。

[本発明1027]

前記非特異的抗体が低アビディティ抗アミロイド抗体である、本発明1025または本発明1026の方法。

[本発明1028]

対象においてアミロイドタンパク質に関連する疾患を診断するための方法であって、  
(a) 前記生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、  
(b) 前記抗体を非変性pHで前記チオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、  
(c) 前記溶出物をアミロイド抗原と接触させて、前記アミロイド抗原および前記抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、  
(d) 前記複合体の存在またはレベルを検出するステップと、  
(e) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記対象を診断するステップと、  
を含む、前記方法。

[本発明1029]

前記ステップ(c)で形成された前記複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄するステップをさらに含む、本発明1028の方法。

[本発明1030]

前記疾患がアルツハイマー病、2型糖尿病、パーキンソン病、伝染性海綿状脳症、ハンチントン病、甲状腺髄様癌、心不整脈、アテローム性動脈硬化症、関節リウマチ、大動脈中膜アミロイド、プロラクチノーマ、家族性アミロイド多発ニューロパチー、遺伝性非ニューロパチー性全身性アミロイドーシス、透析関連アミロイドーシス、フィンランド型アミロイドーシス、格子状角膜ジストロフィー、脳アミロイド血管症、脳アミロイド血管症（アイスランド型）、および全身性ALアミロイドーシスからなる群から選択される、本発明1025～1032のいずれかの方法。

[本発明1031]

前記疾患がアルツハイマー病である、本発明1030の方法。

[本発明1032]

治療有効量の免疫グロブリン製剤を前記対象に投与することをさらに含む、本発明1006～1031のいずれかの方法。

[本発明1033]

前記治療が身体的活動または社会的活動を含む、本発明1006～1032のいずれかの方法。

[本発明1034]

前記治療がコリンエステラーゼ阻害剤、グルタミン酸部分拮抗薬、または精神医学的薬物を含む、本発明1006～1033のいずれかの方法。

[本発明1035]

対象におけるアミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するための方法であって、

(a) 前記対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、

(i) アミロイド抗原および非特異的抗体を含む複合体、ならびに

(ii) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、を形成するステップと、

(b) ステップ(a)で形成された前記アミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含む溶液で洗浄して、アミロイド抗原および非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、

(c) 残留複合体のレベルを検出するステップと、

(d) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記疾患の進行の予後を提供するステップと、

を含む、前記方法。

[本発明1036]

前記生物学的試料がチオフィリッククロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組成物である、本発明1035の方法。

[本発明1037]

前記非特異的抗体が低アビディティ抗アミロイド抗体である、本発明1035または本発明1036の方法。

[本発明1038]

対象におけるアミロイドタンパク質に関連する疾患の進行の予後を提供するための方法であって、

(a) 前記生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、

(b) 前記抗体を非変性pHで前記チオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、

(c) 前記溶出物をアミロイド抗原と接触させて、前記アミロイド抗原および前記抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、

(d) 前記複合体の存在またはレベルを検出するステップと、

(e) 前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記疾患の進行の予後を提供するステップと、

を含む、前記方法。

[本発明1039]

前記ステップ(c)で形成された前記複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄するステップをさらに含む、本発明1038の方法。

[本発明1040]

アミロイドタンパク質に関連する疾患の治療の予後を提供するための方法であって、  
(a)前記対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、

(i)アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに

(ii)アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、

を形成するステップと、

(b)ステップ(a)で形成された前記アミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、

(c)残留複合体のレベルを検出するステップと、

(d)前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記疾患の治療の予後を提供するステップと、

を含む、前記方法。

[本発明1041]

前記生物学的試料が全血漿またはその画分である、本発明1040の方法。

[本発明1042]

前記生物学的試料がチオフィリッククロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組成物である、本発明1040または本発明1041の方法。

[本発明1043]

前記非特異的抗体が低アビディティ抗アミロイド抗体である、本発明1040~1042のいずれかの方法。

[本発明1044]

アミロイドタンパク質に関連する疾患の治療の予後を提供するための方法であって、

(a)前記生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、抗アミロイド抗体に結合させるステップと、

(b)前記抗体を非変性pHで前記チオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、

(c)前記溶出物をアミロイド抗原と接触させて、前記アミロイド抗原および前記抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、

(d)前記複合体の存在またはレベルを検出するステップと、

(e)前記抗アミロイド抗体のレベルと対照レベルとを比較することにより、前記疾患の治療の予後を提供するステップと、

を含む、前記方法。

[本発明1045]

前記ステップ(c)で形成された前記複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄するステップをさらに含む、本発明1044の方法。

[本発明1046]

前記生物学的試料が全血漿またはその画分である、本発明1044または本発明1045の方法。

[本発明1047]

高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための生物学的試料を調製するための方法であって、

(a)前記対象に由来する生物学的試料を適切な条件下で複数のアミロイド抗原と接触させて、

(i)アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む複合体、ならびに

( i i ) アミロイド抗原および高アビディティ抗アミロイド抗体を含む複合体、  
を形成するステップと、

( b ) ステップ ( a ) で形成された前記アミロイド抗原複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄して、アミロイド抗原および低親和性抗体または非特異的抗体を含む少なくとも1つの複合体を解離するステップと、  
を含む、前記方法。

[本発明1048]

前記生物学的試料がチオフィリッククロマトグラフィーで調製された免疫グロブリン組成物である、本発明1047の方法。

[本発明1049]

前記非特異的抗体が低アビディティ抗アミロイド抗体である、本発明1047または本発明1048の方法。

[本発明1050]

高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するための生物学的試料を調製するための方法であって、

( a ) 前記生物学的試料をチオフィリック樹脂と接触させて、前記抗アミロイド抗体に結合させるステップと、

( b ) 前記抗体を非変性 pH で前記チオフィリック樹脂から溶出して、溶出物を形成するステップと、

( c ) 前記溶出物をアミロイド抗原と接触させて、前記アミロイド抗原および前記抗アミロイド抗体を含む複合体を形成するステップと、  
を含む、前記方法。

[本発明1051]

前記ステップ ( c ) で形成された前記複合体を、カオトロピック剤を含有する溶液で洗浄するステップをさらに含む、本発明1050の方法。

[本発明1052]

カオトロピック剤およびチオフィリッククロマトグラフィー吸着剤からなる群から選択される少なくとも1つを含む、生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するためのキット。

[本発明1053]

カオトロピック剤およびチオフィリッククロマトグラフィー吸着剤の双方を含む、本発明1052のキット。

[本発明1054]

生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するためのキットを製造するための、カオトロピック剤および/またはチオフィリッククロマトグラフィー吸着剤の使用。

[本発明1055]

生物学的試料中に存在する高アビディティ抗アミロイド抗体を検出するためのキットを製造するための、カオトロピック剤およびチオフィリッククロマトグラフィー吸着剤の組み合わせの使用。

[本発明1056]

前記抗アミロイド抗体が、アミロイド ( A ; A ベータ )、豚島アミロイドポリペプチド ( I A P P ; アミリン )、- シヌクレイン ( S N C A )、主要プリオンタンパク質 ( P r P )、ハンチンチン ( H D )、カルシトニン ( C C P )、心房性ナトリウム利尿因子 ( A N F )、アポリポタンパク質 A I ( アポ - A I )、血清アミロイド A タンパク質 ( S A A )、メディンアミロイド ( 乳脂肪球 - E G F 因子 8 タンパク質 ; M F G - E 8 の断片 )、プロラクチン ( P R L )、トランスサイレチン ( A T T R )、リゾチーム C ( 1 , 4 - N - アセチルムラミダーゼ C )、2 ミクログロブリン ( 2 M )、ゲルゾリン ( A G E L )、形質転換成長因子誘導タンパク質 i g - h 3 ( i g - h 3 ; ケラトエピセリン )、シスタチン C ( C S T 3 )、免疫グロブリン軽鎖 ( A L )、およびポリグルタミン反

復を有するアミロイドタンパク質からなる群から選択されるアミロイドタンパク質に特異的である、本発明1017～1055のいずれかの方法。

[本発明1057]

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質モノマーを特異的に認識する、本発明1001～1056のいずれかの方法。

[本発明1058]

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質オリゴマーを特異的に認識する、本発明1001～1056のいずれかの方法。

[本発明1059]

前記抗アミロイド抗体がアミロイドタンパク質原線維を特異的に認識する、本発明1001～1056のいずれかの方法。

[本発明1060]

前記抗アミロイド抗体が抗アミロイド抗体である、本発明1001～1059のいずれかの方法。

[本発明1061]

前記生物学的試料がヒト由来である、本発明1001～1060のいずれかの方法。

[本発明1062]

前記カオトロピック剤がチオシアネート塩である、本発明1001～1061のいずれかの方法

。

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2011/021570
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. G01N33/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
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, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, INSPEC, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SZABO P ET AL: "Measurement of anti-beta amyloid antibodies in human blood", JOURNAL OF NEUROIMMUNOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV, XX, vol. 227, no. 1-2, 8 October 2010 (2010-10-08), pages 167-174, XP027288229, ISSN: 0165-5728 [retrieved on 2010-07-31]	1-62
Y	the whole document	1-62
Y	WO 02/074240 A2 (CORNELL RES FOUNDATION INC [US]; WEKSLER MARC E [FR]; SZABO PAUL [US]) 26 September 2002 (2002-09-26) examples 1-3 claims 1-30	1-62
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" 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 "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
4 March 2011		17/03/2011
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Bayer, Martin

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2011/021570

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>WEKSLER M E ET AL: "Patients with Alzheimer disease have lower levels of serum anti-amyloid peptide antibodies than healthy elderly individuals", EXPERIMENTAL GERONTOLOGY, ELSEVIER SCIENCE, OXFORD, GB, vol. 37, no. 7, 1 July 2002 (2002-07-01), pages 943-948, XP002903206, ISSN: 0531-5565, DOI: DOI:10.1016/S0531-5565(02)00091-8 the whole document</p> <p>-----</p>	1-62
A	<p>HYMAN B T ET AL: "AUTOANTIBODIES TO AMYLOID-BETA AND ALZHEIMER'S DISEASE", ANNALS OF NEUROLOGY, JOHN WILEY AND SONS, BOSTON, US, vol. 49, no. 6, 1 January 2001 (2001-01-01), pages 808-810, XP001030614, ISSN: 0364-5134, DOI: DOI:10.1002/ANA.1061 the whole document</p> <p>-----</p>	1-62

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/021570

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 02074240	A2	AU 2002255755 A1	03-10-2002
-----			

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 25/16	(2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 25/14	(2006.01)	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/14	
A 6 1 P 9/06	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 9/10	(2006.01)	A 6 1 P 9/06	
A 6 1 P 19/02	(2006.01)	A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 3/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 3/10	(2006.01)	A 6 1 P 3/00	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 27/02	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
		A 6 1 P 27/02	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, T M), EP(AL, 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, R S, 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, I D, 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, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

特許法第30条第1項適用申請有り

- (71)出願人 508057896  
 コーネル・ユニバーシティー  
 CORNELL UNIVERSITY  
 アメリカ合衆国14850ニューヨーク州イサカ、パイン・トゥリー・ロード395番、スウィー  
 ト310
- (74)代理人 100102978  
 弁理士 清水 初志
- (74)代理人 100102118  
 弁理士 春名 雅夫
- (74)代理人 100160923  
 弁理士 山口 裕孝
- (74)代理人 100119507  
 弁理士 刑部 俊
- (74)代理人 100142929  
 弁理士 井上 隆一
- (74)代理人 100148699  
 弁理士 佐藤 利光
- (74)代理人 100128048  
 弁理士 新見 浩一
- (74)代理人 100129506  
 弁理士 小林 智彦
- (74)代理人 100130845  
 弁理士 渡邊 伸一
- (74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889

弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 レルキン ノーマン

アメリカ合衆国 ニュージャージー州 ハリントン パーク エッカーソン ロード 53

(72)発明者 スザボ ポール

アメリカ合衆国 ニュージャージー州 リンデン イースト エルム ストリート 570

Fターム(参考) 2G045 AA25 BA13 BB12 CA25 CA26 DA36 FB03 GC10

4C084 AA19 MA02 NA14 ZA011 ZA151 ZA161 ZA331 ZA361 ZA451 ZA961

ZB151 ZC202 ZC211 ZC422

4C085 AA13 AA14 BB11 CC21 EE01 EE03 GG01

专利名称(译)	人血液中抗 $\beta$ 淀粉样蛋白抗体的测定		
公开(公告)号	<a href="#">JP2014507649A</a>	公开(公告)日	2014-03-27
申请号	JP2013549397	申请日	2011-01-18
[标]申请(专利权)人(译)	巴克斯特国际公司 巴克斯特医疗保健股份有限公司 康奈尔大学		
申请(专利权)人(译)	巴克斯特国际公司 百特医疗上课.二. 康奈尔大学		
[标]发明人	レルキンノーマン スザポポール		
发明人	レルキン ノーマン スザポ ポール		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/48 A61K39/395 A61K45/00 A61P25/28 A61P25/16 A61P25/14 A61P35/00 A61P9/06 A61P9/10 A61P19/02 A61P29/00 A61P3/00 A61P3/10 A61P43/00 A61P27/02		
CPC分类号	A61P3/00 A61P3/10 A61P9/06 A61P9/10 A61P19/02 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00 A61P35/00 A61P43/00 G01N33/564 G01N33/6896 G01N2333/4709 G01N2800/2821		
FI分类号	G01N33/53.N G01N33/48.S A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61P25/28 A61P25/16 A61P25/14 A61P35/00 A61P9/06 A61P9/10.101 A61P19/02 A61P29/00.101 A61P3/00 A61P3/10 A61P43/00.111 A61P27/02		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/BA13 2G045/BB12 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/DA36 2G045/FB03 2G045/GC10 4C084/AA19 4C084/MA02 4C084/NA14 4C084/ZA011 4C084/ZA151 4C084/ZA161 4C084/ZA331 4C084/ZA361 4C084/ZA451 4C084/ZA961 4C084/ZB151 4C084/ZC202 4C084/ZC211 4C084/ZC422 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/CC21 4C085/EE01 4C085/EE03 4C085/GG01		
代理人(译)	清水初衷 井上隆一 佐藤俊光 小林智彦 渡边真一 正人大关 五十嵐弘		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本发明提供了一种用于检测生物样品中存在的高亲和力抗淀粉样蛋白抗体的改进的免疫亲和方法。另一方面，本发明提供了诊断与淀粉样蛋白有关的疾病的方法。本发明还提供了鉴定高度可能对治疗有反应的候选物的方法，包括给予免疫球蛋白制剂。

疾患	アミロイドタンパク質	GenBank 受託	UniProt 受託
アルツハイマー病	$\beta$ アミロイド (A $\beta$ :A $\beta$ ペータ)	NP_000475	P05067
2型糖尿病	胰岛アミロイドポリペプチド (IAPP;アミリン)	NP_000406	P10997
パーキンソン病	$\alpha$ -シヌクレイン (SNCA)	NP_000336	P37840
伝染性海綿状脳症 (例えば、クワイツフェルト・ヤコブ病)	主要アポリオンタンパク質 (PrP)	NP_000302	P04156
ハンチントン病	ハンチンチン (HD)	NP_002102	P42858
甲状腺癌様癌	カルシトニン (CCP)	NP_001029124	P01258
心不整脈、孤立性心房アミロイドーシス	心房性ナトリウム利尿因子 (ANF)	NP_006163	P01160
アテローム性動脈硬化症	アポリポタンパク質 A1 (Apo-A1)	NP_000030	P02647
関節リウマチ	血清アミロイドAタンパク質 (SAA)	NP_954630	P02735
大動脈中膜アミロイド	メディンアミロイド (乳脂肪球-EGF因子8タンパク質; MFG-E8の断片)	NP_005919	Q08431
プロラクチノーマ	プロラクチン (PRL)	NP_000939	P01236
家族性アミロイド多発ニューロパチー	トランスサイレチン (ATTR)	NP_000362	P02766
遺伝性非ニューロパチー性全身性アミロイドーシス	リゾチームC (1,4- $\beta$ -D-アセチルムラミダーゼC)	NP_000230	P61626
透析関連アミロイドーシス	$\beta$ 2ミクログロブリン ( $\beta$ 2M)	NP_004039	P61769
フィンランド型アミロイドーシス	グルゾリン (AGEL)	NP_000168	P06396
格子状角膜ジストロフィー	形質転換成長因子 $\beta$ 誘導タンパク質ig-h3 ( $\beta$ ig-h3; クラトエヒゼリン)	NP_000349	P15582
脳アミロイド血管症	$\beta$ アミロイド (A $\beta$ :A $\beta$ ペータ)	NP_000475	P05067
脳アミロイド血管症 (アイスランド型)	シヌタチンC (CST3)	NP_000090	P01034
全身性ALアミロイドーシス	免疫グロブリン軽鎖 (AL)		