(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2018-171070
(P2018-171070A)
(43)公開日　平成30年11月8日(2018.11.8)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/115	(2010.01)	C12N	15/115	ZNAZ	4C084
A61K 31/7088	(2006.01)	A61K	31/7088		4C086
A61K 48/00	(2006.01)	A61K	48/00		
A61P 1/00	(2006.01)	A61P	1/00		
A61P 1/02	(2006.01)	A61P	1/02		

審査請求 有　請求項の数 20　ＯＬ　外国語出願　（全 56 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2018-128622 (P2018-128622)
(22)出願日　平成30年7月5日 (2018.7.5)
(62)分割の表示　特願2017-526761 (P2017-526761)の分割
原出願日　平成27年8月4日 (2015.8.4)
(31)優先権主張番号　14179715.9
(32)優先日　平成26年8月4日 (2014.8.4)
(33)優先権主張国　欧州特許庁 (EP)

(71)出願人　517038970
ベルリン　キュアーズ　ホールディング　アクチェンゲゼルシャフト
スイス　チューリッヒ　ツェーハー－８００１　バスタイプラッツ　５
(74)代理人　110000796
特許業務法人三枝国際特許事務所
(72)発明者　ミュラー　ヨハンネス
ドイツ連邦共和国　ベルリン　１０７１７　ギュントツェルシュトラーセ　６３

最終頁に続く

(54)【発明の名称】自己抗体関連疾患に対する使用のためのアプタマー

(57)【要約】　（修正有）
【課題】Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用のためのアプタマーの提供。
【解決手段】Ｇタンパク質共役受容体に特異的な自己抗体とその標的タンパク質との相互作用を阻害するために使用される。Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体が検出できる患者の治療に使用される。また、前記アプタマー分子を含む医薬組成物、前記アプタマー分子を含むアフェレーシスカラム、並びに、前記アプタマー分子の配列として使用されるヌクレオチド配列を決定するための方法に関する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療における使用のためのアプタマーであって、
ａ．）Ｑは、自然数のセットであり、
ｂ．）Ｆは、
Ｆ：＝｛Ｘ∈Ｑ｜（Ｘ＞１）｝
と定義される自然数のサブセットであり、
ｃ．）Ｆを使用して、
【数１】

$$(1)\quad \forall X \in F \exists M : M \rightarrow CXLCX$$

$$(2)\quad \forall X \in F \exists K : K \rightarrow CXLBX$$

$$(3)\quad \forall X \in F \exists V : V \rightarrow CXL$$

$$(4)\quad \forall X \in F : CX \rightarrow BXLBX$$

$$(5)\quad \forall X \in F : BX \rightarrow \prod_{1}^{X} G$$

と定義され、
ｄ．）Ｕは、
Ｕ＝｛Ｓ，Ｍ，Ｎ，Ｄ，Ｅ，Ｙ，Ｈ，Ｒ，Ｚ，Ｌ，ＢＸ，ＣＸ，Ｋ，Ｖ｝
と定義される１セットの非終端であり、
ここでＢＸ及びＣＸについてはｃ）の通りであり、
ｅ．）Ｗは、
Ｗ＝｛Ａ，Ｃ，Ｇ，Ｔ，G^{X}｝
と定義される１セットの終端であり、
ここでG^{X}は、ｂ．）及びｃ．）の（５）に従って導き出せるすべての終端を表し、
ｆ．）Ｓ∈Ｕは、開始記号である
という条件での、生成規則Ｐのセット：
Ｐ＝｛

Ｓ	→	Ｍ｜Ｙ｜Ｄ｜Ｅ｜Ｈ	（１）
Ｍ	→	ＮＲＭ	（２）
Ｍ	→	ＭＲ	（３）
Ｍ	→	ＲＭ	（４）
Ｎ	→	Ｍ	（５）
Ｄ	→	ＹＭ	（６）
Ｅ	→	ＶＭ	（６ａ）
Ｙ	→	Ｋ｜ＫＬ｜ＬＫ｜ＬＫＬ	（７）
Ｈ	→	ＬＶ｜Ｖ	（８）
Ｒ	→	Ｌ	（９）
Ｚ	→	Ａ｜Ｃ｜Ｇ｜Ｔ	（１０）
Ｌ	→	ＺＬ｜Ｚ	（１１）
ＢＸ	→	G^{X}	（１２）
ＣＸ	→	ＢＸＬＢＸ	（１３）
Ｍ	→	ＣＸＬＣＸ	（１４）
Ｋ	→	ＣＸＬＢＸ	（１５）
Ｖ	→	ＣＸＬ	（１６）

}
によって定義される文法を満たすヌクレオチド配列を含み、
式中、「Ａ」はアデニンヌクレオチドを意味し、「Ｃ」はシトシンヌクレオチドを意味し、「Ｇ」はグアニンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＤＮＡ配列である場合にはチミンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である場合にはウラシルヌクレオチドを意味し、
前記アプタマーが、ヌクレオチド配列ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴＴＧＧ（配列番号２２）、ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴ（配列番号２３）又はＣＧＣＣＴＡＧＧＴＴＧＧＧＴＡＧＧＧＴＧＧＴＧＧＣＧ（配列番号２４）を含まない、アプタマー。

【請求項２】
Ｇタンパク質共役受容体に特異的な自己抗体とその標的タンパク質との相互作用を阻害するために使用される、請求項１に記載のアプタマー。

【請求項３】
Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体が検出できる患者の治療における使用のための、請求項１に記載のアプタマー。

【請求項４】
前記ヌクレオチド配列が、最大で５９３ヌクレオチドの長さを有する、請求項１～３のいずれか１項に記載のアプタマー。

【請求項５】
前記ヌクレオチド配列が、ＤＮＡ配列であるか、又はヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である、請求項１～４のいずれか１項に記載のアプタマー。

【請求項６】
前記アプタマー内に含まれるヌクレオチド配列が、以下の配列、
（５’－ＧＴＴＧＴＴＴＧＧＧＧＴＧＧ－３’配列番号１）、
（５’－ＧＴＴＧＴＴＴＧＧＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号２）
（５’－ＧＧＴＴＧＧＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧ－３’配列番号３）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧ－３’配列番号４）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号５）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号６）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号７）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴＧＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号８）、
（５’－ＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号９）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１０）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１１）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１２）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１３）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１４）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴ－３’配列番号１５）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴ－３’配列番号１６）、

（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１７）、
（５’－ＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号１８）、
（５’－ＴＴＡＧＧＧＴＴＡＧＧＧＴＴＡＧＧＧＴＴＡＧＧＧ（配列番号２０）
のうちのいずれか１つである、請求項１～５のいずれか１項に記載のアプタマー。
【請求項７】
前記アプタマーのヌクレオチド配列が、少なくとも４ヌクレオチド、好ましくは少なくとも８ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも１２ヌクレオチドの長さを有し、かつ／又はアプタマーのヌクレオチド配列が、最大で１２０ヌクレオチド、好ましくは最大で１００ヌクレオチド、より好ましくは最大で８０ヌクレオチドの長さを有する、請求項１～６のいずれか１項に記載のアプタマー。
【請求項８】
自己抗体、好ましくは、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な自己抗体、好ましくは、ヒトＧタンパク質共役受容体アドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体のうちのいずれか１つに特異的な自己抗体と相互作用することができる、請求項１～７のいずれか１項に記載のアプタマー。
【請求項９】
Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体の出現に関連する自己免疫疾患に罹っている患者の血液又はその要素の治療的アフェレーシス中の選択的成分としての使用のための、請求項１～８のいずれか１項に記載のアプタマー。
【請求項１０】
自己免疫疾患が、心筋症、拡張型心筋症（ＤＣＭ）、周産期心筋症（ＰＰＣＭ）、特発性心筋症、虚血性心筋症（ｉＣＭ）、シャーガス心筋症、化学療法誘発性心筋症、シャーガス巨大結腸症、シャーガス巨大食道症、シャーガス神経障害、良性前立腺肥大症、強皮症、レイノー症候群、妊娠高血圧腎症、末梢動脈閉塞性疾患（ＰＡＯＤ）、腎同種異系移植片拒絶反応、心筋炎、緑内障、高血圧症、肺高血圧症、悪性高血圧症、メタボリックシンドローム、脱毛症、円形脱毛症、片頭痛、パーキンソン病、癲癇、群発頭痛、多発性硬化症、鬱病、局所痛症候群、不安定狭心症、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、統合失調症、シェーグレン症候群、歯周炎、心房細動、白斑、溶血性尿毒症症候群、スティッフパーソン症候群、及び／又は先天性心ブロックのうちの１つである、請求項１～９のいずれか１項に記載のアプタマー。
【請求項１１】
Ｇタンパク質共役受容体、好ましくは、ヒトＧタンパク質共役受容体であるアドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体に特異的な抗体のｉｎ　ｖｉｔｒｏ検出のための、請求項１～８のいずれか１項に記載のアプタマーの使用。
【請求項１２】
検出される抗体が、自己抗体である、請求項１１に記載のアプタマーの使用。
【請求項１３】
前記抗体が、体液、好ましくは、ヒトの体液、より好ましくは、ヒトの血液、血漿、血清、尿、大便、関節液、間質液、リンパ液、唾液、髄液及び／又は涙液の中に存在する又はそれに由来する、請求項１１又は１２に記載のアプタマーの使用。
【請求項１４】
前記体液が、自己免疫疾患、好ましくは、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な自己抗体が患者の血清中に存在することに関連する自己免疫疾患、より好ましくは、アドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性

ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体に特異的な自己抗体が患者の血清中に存在することに関連する自己免疫疾患に罹っているか又は罹っている疑いがある個体から採取される、請求項１３に記載のアプタマーの使用。

【請求項１５】

以下のヌクレオチド配列（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’　配列番号１２）を含む、請求項１～１０のいずれか１項に記載のアプタマー。

【請求項１６】

前記アプタマーが、以下のヌクレオチド配列（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’　配列番号１２）を含む、請求項１１～１５のいずれか１項に記載のアプタマーの使用。

【請求項１７】

請求項１～１０のいずれか１項で規定される少なくとも１種のアプタマーを含み、少なくとも１種の薬学的に許容される賦形剤を含んでいてもよい、医薬組成物。

【請求項１８】

Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療における使用のための、請求項１７に記載の医薬組成物。

【請求項１９】

アプタマーを含む医薬組成物が、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な自己抗体とその標的タンパク質との相互作用を阻害するために使用される、請求項１８に記載の使用のための医薬組成物。

【請求項２０】

請求項１～１９のいずれか１項に記載のアプタマーを含むアフェレーシスカラム。

【請求項２１】

自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用のための請求項２０に記載のアフェレーシスカラムであって、前記自己免疫疾患が、心筋症、拡張型心筋症（ＤＣＭ）、周産期心筋症（ＰＰＣＭ）、特発性心筋症、虚血性心筋症（ｉＣＭ）、シャーガス心筋症、化学療法誘発性心筋症、シャーガス巨大結腸症、シャーガス巨大食道症、シャーガス神経障害、良性前立腺肥大症、強皮症、レイノー症候群、末梢動脈閉塞性疾患（ＰＡＯＤ）、妊娠高血圧腎症、腎同種異系移植片拒絶反応、心筋炎、緑内障、高血圧症、肺高血圧症、悪性高血圧症、メタボリックシンドローム、脱毛症、円形脱毛症、片頭痛、パーキンソン病、癲癇、群発頭痛、多発性硬化症、鬱病、局所痛症候群、不安定狭心症、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、統合失調症、シェーグレン症候群、歯周炎、心房細動、白斑、溶血性尿毒症症候群、スティッフパーソン症候群、及び／又は先天性心ブロックである、アフェレーシスカラム。

【請求項２２】

前記アプタマーが、該アプタマーによって特異的に標的化される自己抗体を特異的に分離して取り出すための選択的成分として使用される、請求項２０に記載の使用のためのアフェレーシスカラム。

【請求項２３】

自己免疫疾患に罹患した患者が、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体が検出され得る患者である、請求項１８に記載の使用のための医薬組成物又は請求項２０に記載の使用のためのアフェレーシスカラム。

【請求項２４】

アプタマーオリゴヌクレオチドを調製するための方法であって、

Ｉ）アプタマー配列として使用されるヌクレオチド配列を決定するステップであって、

ａ．）Ｑは、自然数のセットであり、

ｂ．）Ｆは、

Ｆ：＝｛Ｘ∈Ｑ｜（Ｘ＞１）｝
と定義される自然数のサブセットであり、
ｃ．）Ｆを使用して、
【数２】

$$(1)\quad \forall X \in F \exists M : M \rightarrow CXLCX$$

$$(2)\quad \forall X \in F \exists K : K \rightarrow CXLBX$$

$$(3)\quad \forall X \in F \exists V : V \rightarrow CXL$$

$$(4)\quad \forall X \in F : CX \rightarrow BXLBX$$

$$(5)\quad \forall X \in F : BX \rightarrow \prod_{1}^{X} G$$

と定義され、
ｄ．）Ｕは、
Ｕ＝｛Ｓ，Ｍ，Ｎ，Ｄ，Ｅ，Ｙ，Ｈ，Ｒ，Ｚ，Ｌ，ＢＸ，ＣＸ，Ｋ，Ｖ｝
と定義される１セットの非終端であり、
ここでＢＸ及びＣＸについてはｃ）の通りであり、
ｅ．）Ｗは、
Ｗ＝｛Ａ，Ｃ，Ｇ，Ｔ，G^{X}｝
と定義される１セットの非終端であり、
ここでG^{X}は、ｂ．）及びｃ．）の（５）に従って導き出せるすべての終端を表し、
ｆ．）Ｓ∈Ｕは、開始記号である
という条件での、以下の生成規則Ｐのセット：
Ｐ＝｛

Ｓ	→	Ｍ｜Ｙ｜Ｄ｜Ｅ｜Ｈ	（１）
Ｍ	→	ＮＲＭ	（２）
Ｍ	→	ＭＲ	（３）
Ｍ	→	ＲＭ	（４）
Ｎ	→	Ｍ	（５）
Ｄ	→	ＹＭ	（６）
Ｅ	→	ＶＭ	（６ａ）
Ｙ	→	Ｋ｜ＫＬ｜ＬＫ｜ＬＫＬ	（７）
Ｈ	→	ＬＶ｜Ｖ	（８）
Ｒ	→	Ｌ	（９）
Ｚ	→	Ａ｜Ｃ｜Ｇ｜Ｔ	（１０）
Ｌ	→	ＺＬ｜Ｚ	（１１）
ＢＸ	→	G^{X}	（１２）
ＣＸ	→	ＢＸＬＢＸ	（１３）
Ｍ	→	ＣＸＬＣＸ	（１４）
Ｋ	→	ＣＸＬＢＸ	（１５）
Ｖ	→	ＣＸＬ	（１６）

｝
の適用を含み、式中、「Ａ」はアデニンヌクレオチドを意味し、「Ｃ」はシトシンヌクレオチドを意味し、「Ｇ」はグアニンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＤＮＡ配列である場合にはチミンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である場合にはウラシルヌクレオチドを意味する、ステップと、
ＩＩ）ステップＩ）で得られたヌクレオチド配列を有するアプタマーオリゴヌクレオチド

を作製するステップと
を含む、方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用のための新しいアプタマー分子、このようなアプタマー分子を含む医薬組成物、このようなアプタマー分子を含むアフェレーシスカラム、ならびにアプタマー分子の配列として使用されるヌクレオチド配列を決定するための方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
免疫系は、あらゆる動物の不可欠な部分を形成している。哺乳動物は、微生物に対する防御において、例えば腫瘍細胞のような異常細胞の検出及び除去において、ならびに組織の再生においてその免疫系を使用している。それによって生物体は、２つの相互に連結した防御機構である体液性免疫及び細胞性免疫に依存している。
抗体は、その抗原に結合したときに、体液性免疫応答を誘発する。抗体は、複数の方法で作用しうる。抗原の中和とは別に、抗体は補体系も活性化する。自身の身体の抗原に向けられる抗体もある。これらのいわゆる自己抗体が産生される理由として、分子擬態及び／又はバイスタンダー活性化が知られている。自身の抗原に自己抗体が特異的に結合することにより、これらの抗原の分解を促進できるナチュラルキラー細胞（ＮＫ細胞）を活性化することができる。
自己免疫疾患は、自身の細胞又は組織に対する免疫応答を誘発する、自身の身体の構成部分に向けられる抗体のこのような特異的な認識及び結合に基づいている。この免疫賦活作用とは別に、自己抗体は他の機構によっても病原性表現型の発現に寄与しうる。
【０００３】
アドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ２受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、プロテイナーゼ活性化型受容体（ＰＡＲ）受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体などのＧタンパク質共役受容体の細胞外部分に特異的であり、かつ、特異的な結合により、これらの受容体を活性化又は遮断することができる自己抗体があることはよく知られている。
Ｇタンパク質共役受容体は、細胞外間隙から細胞内に情報を伝達するシグナル伝達分子である。それらは、１０００種を超える種々の受容体を包含する受容体ファミリーに属し、５つのサブグループに細分される。それらは、多くの異なる種に存在する、細胞膜を越えての細胞内へのシグナル伝達の原理を示す。
典型的なＧＰＣＲの特性は、それらが、物質が結合して異なる細胞内反応を引き起こしうる異なるエピトープを有する３つの異なる細胞外ループを有することである。体液タンパク質アドレナリンは、アドレナリン作動性ベーター１受容体に結合して心筋細胞の拍動の強さ及び頻度を高めることができる。
【０００４】
機能的に病原性の、ＧＰＣＲに対する自己抗体は、常にではないがサブタイプＩｇＧ３（糖タンパク質免疫グロブリンＧ、サブクラス３）のうちであることが多く、異なるＧＰＣＲループ及びループ内の異なる場所に結合する能力を有する。これらの機能的に病原性の抗体は、ＧＰＣＲとのそれらの相互作用によって病理学的な細胞機能及び次いで組織機能を発揮する。
したがって、異なる受容体に対して向けられる多くの異なる自己抗体がある。心筋の場合には、例えば、アドレナリン作動性ベーター１受容体又はムスカリン性アセチルコリン受容体に対して向けられる自己抗体がある。他の疾患において重要な役割を有する他の抗体は、アドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性アルファ－２受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ

２受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、プロテイナーゼ活性化型受容体（ＰＡＲ）受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体、Ｍ３受容体などに対して向けられる。
このような自己抗体が生物体に存在することにより、疾患の発症に関与するそれぞれの受容体の恒久的な活性化又は遮断という意味における作動的又は拮抗的な作用がもたらされうる。

【０００５】

拡張型心筋症（ＤＣＭ）は、高い割合の患者が、アドレナリン作動性ベーター１受容体の細胞外部分に、特に、アドレナリン作動性ベーター１受容体の第１又は第２のループに結合しているこのような活性化自己抗体を有する疾患のうちの１つである。結果として、これらの患者におけるＤＣＭの自己免疫性病因が示唆された。これらの自己抗体の結合により、ＧＰＣＲの活性化を制限する生理的なフィードバック機構が抑制されるので、受容体は持続的に活性化される。

【０００６】

Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体の存在に関連することが示唆された他の心血管系の疾患があり、例えば、シャーガス心筋症、周産期心筋症、心筋炎、肺高血圧症及び悪性高血圧症などである。Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体は、例えば、緑内障、糖尿病、良性前立腺肥大症、強皮症、レイノー症候群、及び妊娠高血圧腎症などを有する患者において、及び慢性シャーガス病において、ならびに腎同種異系移植片拒絶反応を有する患者においても見出された。
通常、これらの受容体のエピトープ領域は、約２０アミノ酸を含むペプチド鎖からなるのに対して、疾患特異的なエピトープは、これらの領域のうちの１つの３～５アミノ酸の配列を構成する。しかし、自己抗体とこれらのエピトープとの望ましくない相互作用は、いくつかの自己免疫疾患の発症及び慢性化に重要な役割を果たす。

【０００７】

最近の研究では、免疫グロブリン吸着を介して血液からこれらの自己抗体を除去することが心筋の再生に役立つことを示すことができている（Wallukat G, Reinke P, Dorffel WV, Luther HP, Bestvater K, Felix SB, Baumann G. (1996) Removal of autoantibodies in dilated cardiomyopathy by immunoadsorption. lnt J Cardiol. 54:191-195; Muller J, Wallukat G, Dandel M, Bieda H, Brandes K, Spiegelsberger S, Nissen E, Kunze R, Hetzer R (2000) Immunoglobulin adsorption in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. Circulation. 101:385-391. W.V. Dorffel, S.B. Felix, G. Wallukat, S. Brehme, K. Bestvater, T. Hofmann, F.K. Kleber, G. Baumann, P. Reinke (1997) Short-term hemodynamic effects of immunoadsorption in dilated cardiomyopathy. Circulation 95, 1994-1997及びW.V. Dorffel, G. Wallukat, Y. Dorffel, S.B. Felix, G. Baumann (2004) lmmunoadsorption in idiopathic dilated cardiomyopathy, a 3-year follow-up. lnt J. Cardiol. 97,20 529-534）。

【０００８】

特定のアプタマーは、ヒトのベーター１アドレナリン作動性受容体の第２の細胞外ループに特異的な抗体、特に、自己抗体と、その標的との相互作用に干渉するために使用されうることがさらに見出されている（国際公開第２０１２／０００８８９号）。アプタマーは、その標的分子に対する高い親和性を特徴とする短鎖オリゴヌクレオチドである。相互作用を阻害することにより、アプタマーは、これらの抗体の除去を必要とすることなく、ベーター１アドレナリン作動性受容体の恒久的な活性化を低減するか又はさらに無効にすることもできた。Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体の存在に関連する自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用のためのさらなるアプタマーは、国際公開第２０１２／１１９９３８号に開示されている。
好ましい一実施形態によれば、アプタマーは、それぞれの自己抗体によってＧタンパク質共役受容体の活性化を低減するか又は無効にするために使用される。別の好ましい実施形態によれば、アプタマーは、Ｇタンパク質共役受容体に対して向けられる自己抗体を中和するため、及び／又は自己抗体が向かうＧタンパク質共役受容体に及ぼす自己抗体の影

響を低減するために使用される。

【０００９】

しかし、上記に挙げた特定の自己免疫疾患に対して適用されうるきわめて限られた数のアプタマーのみが現在利用可能であり、ヒト患者における適用のためのそれらの有効性及び無害性は未だ不明のままである。したがって、自己抗体とＧＰＣＲとの相互作用に対する増強された干渉を示すさらなるアプタマーを利用できることが望ましい。

したがって、本発明の目的は、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用のための新しいアプタマーを提供することである。

【００１０】

さらに、本発明のもう１つの目的は、このようなアプタマー分子を含む医薬組成物ならびにこのようなアプタマーを含むアフェレーシスカラムを提供することである。

Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の療法及び／又は診断における使用のための新しいアプタマーのヌクレオチド配列を決定するための方法を提供することも本発明の目的である。

【発明の概要】

【００１１】

この目的は、以下に詳述されるような本発明の態様によって解決される。

【００１２】

本発明の第１の態様によれば、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用のためのアプタマーであって、

ａ．）Ｑは、自然数のセットであり、

ｂ．）Ｆは、

Ｆ：＝｛Ｘ∈Ｑ｜（Ｘ＞１）｝

と定義される自然数のサブセットであり、

ｃ．）Ｆを使用して、

【数１】

$$(1)\quad \forall X \in F \exists M : M \rightarrow CXLCX$$

$$(2)\quad \forall X \in F \exists K : K \rightarrow CXLBX$$

$$(3)\quad \forall X \in F \exists V : V \rightarrow CXL$$

$$(4)\quad \forall X \in F : CX \rightarrow BXLBX$$

$$(5)\quad \forall X \in F : BX \rightarrow \prod_{1}^{X} G$$

と定義され、

ｄ．）Ｕは、

Ｕ＝｛Ｓ，Ｍ，Ｎ，Ｄ，Ｅ，Ｙ，Ｈ，Ｒ，Ｚ，Ｌ，ＢＸ，ＣＸ，Ｋ，Ｖ｝

と定義される１セットの非終端であり、

ここでＢＸ及びＣＸについてはｃ）の通りであり、

ｅ．）Ｗは、

Ｗ＝｛Ａ，Ｃ，Ｇ，Ｔ，G^{X}｝

と定義される１セットの終端であり、

ここでG^{X}は、ｂ．）及びｃ．）の（５）に従って導き出せるすべての終端を表し、

ｆ．）Ｓ∈Ｕは、開始記号である

という条件での、生成規則Ｐのセット：

Ｐ＝｛

S → M｜Y｜D｜E｜H （１）
M → ＮＲＭ （２）
M → ＭＲ （３）
M → ＲＭ （４）
N → M （５）
D → ＹＭ （６）
E → ＶＭ （６ａ）
Y → K｜ＫＬ｜ＬＫ｜ＬＫＬ （７）
H → ＬＶ｜Ｖ （８）
R → L （９）
Z → A｜C｜G｜T （１０）
L → ＺＬ｜Ｚ （１１）
ＢＸ → G^{X} （１２）
ＣＸ → ＢＸＬＢＸ （１３）
M → ＣＸＬＣＸ （１４）
K → ＣＸＬＢＸ （１５）
V → ＣＸＬ （１６）
}

によって定義される文法を満たすヌクレオチド配列を含み、式中、「Ａ」はアデニンヌクレオチドを意味し、「Ｃ」はシトシンヌクレオチドを意味し、「Ｇ」はグアニンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＤＮＡ配列である場合にはチミンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である場合にはウラシルヌクレオチドを意味し、該アプタマーは、ヌクレオチド配列ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴＴＧＧ（配列番号２２）、ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴ（配列番号２３）又はＣＧＣＣＴＡＧＧＴＴＧＧＧＴＡＧＧＧＴＧＧＴＧＧＣＧ（配列番号２４）を含まない、アプタマーが提供される。

【００１３】

本発明の第１の態様の好ましい実施形態では、アプタマーのヌクレオチド配列は、最大で５９３ヌクレオチドの長さを有する。

【００１４】

本発明の第１の態様の別の好ましい実施形態では、ヌクレオチド配列は、ＤＮＡ配列である。

【００１５】

本発明の第１の態様のさらに別の好ましい実施形態では、ヌクレオチド配列は、ＲＮＡ配列である。

【００１６】

本発明の第１の態様の好ましい実施形態では、アプタマー内に含まれるヌクレオチド配列は、以下の配列のうちのいずれか１つである：

（５’－ＧＴＴＧＴＴＴＧＧＧＧＴＧＧ－３’配列番号１）、
（５’－ＧＴＴＧＴＴＴＧＧＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号２）
（５’－ＧＧＴＴＧＧＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧ－３’配列番号３）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧ－３’配列番号４）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号５）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号６）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号７）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴＧＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列

番号８）、
（５’－ＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号９）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１０）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１１）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１２）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１３）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１４）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴ－３’配列番号１５）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴ－３’配列番号１６）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１７）、
（５’－ＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号１８）、
（５’－ＴＴＡＧＧＧＴＴＡＧＧＧＴＴＡＧＧＧＴＴＡＧＧＧ－３’配列番号２０）

【００１７】

本発明の第１の態様の好ましい実施形態では、アプタマーのヌクレオチド配列は、少なくとも４ヌクレオチド、好ましくは少なくとも８ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも１２ヌクレオチドの長さを有する。

本発明の第１の態様の好ましい実施形態では、アプタマーのヌクレオチド配列は、最大で１２０ヌクレオチド、好ましくは最大で１００ヌクレオチド、より好ましくは最大で８０ヌクレオチドの長さを有する。

【００１８】

本発明の第１の態様の好ましい実施形態では、アプタマーは、自己抗体、好ましくは、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な自己抗体、好ましくは、ヒトＧタンパク質共役受容体であるアドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体のうちのいずれか１つに特異的な自己抗体と相互作用することができる。

本発明の第１の態様の好ましい実施形態では、アプタマーは、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体の出現に関連する自己免疫疾患に罹っている患者の血液又はその要素の治療的アフェレーシス中の選択的成分としての使用のためのものである。

【００１９】

本発明の第１の態様の好ましい実施形態では、自己免疫疾患は、心筋症、虚血性心筋症（ｉＣＭ）、拡張型心筋症（ＤＣＭ）、周産期心筋症（ＰＰＣＭ）、特発性心筋症、シャーガス心筋症、化学療法誘発性心筋症、シャーガス巨大結腸症、シャーガス巨大食道症、シャーガス神経障害、良性前立腺肥大症、強皮症、レイノー症候群、末梢動脈閉塞性疾患（ＰＡＯＤ）、妊娠高血圧腎症、腎同種異系移植片拒絶反応、心筋炎、緑内障、高血圧症、肺高血圧症、悪性高血圧症、メタボリックシンドローム、脱毛症、円形脱毛症、片頭痛、パーキンソン病、癲癇、群発頭痛、多発性硬化症、鬱病、局所痛症候群、不安定狭心症、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、統合失調症、シェーグレン症候群、歯周炎、心房細動、白斑、溶血性尿毒症症候群、スティッフパーソン症候群、及び／又は先天性心ブロックのうちの１つである。

【００２０】

本発明の第１の態様の好ましい実施形態では、アプタマーは、Ｇタンパク質共役受容体、好ましくは、ヒトＧタンパク質共役受容体であるアドレナリン作動性アルファ－１受容

体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体に特異的な抗体のｉｎ　ｖｉｔｒｏ検出における使用のためのものである。

本発明の第１の態様の別の好ましい実施形態では、検出される抗体は、自己抗体である。

【００２１】

本発明の第１の態様のさらに別の好ましい実施形態では、抗体は、体液、好ましくは、ヒトの体液、より好ましくは、ヒトの血液、血漿、血清、尿、大便、関節液、間質液、リンパ液、唾液、髄液及び／又は涙液の中に存在する又はそれに由来する。

本発明の第１の態様のさらに別の好ましい実施形態では、体液は、自己免疫疾患、好ましくは、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な自己抗体が患者の血清中に存在することに関連する自己免疫疾患、より好ましくは、アドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体に特異的な自己抗体が患者の血清中に存在することに関連する自己免疫疾患に罹っている又は罹っている疑いがある個体から採取される。

【００２２】

本発明の第１の態様のさらに別の好ましい実施形態では、アプタマーは、以下のヌクレオチド配列（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’　配列番号１２）を含む。

本発明の第２の態様によれば、本発明の少なくとも１種のアプタマーを含み、少なくとも１種の薬学的に許容される賦形剤を含んでいてもよい、医薬組成物が提供される。

本発明の第２の態様の好ましい実施形態では、医薬組成物は、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療における使用のために提供される。

【００２３】

本発明の第３の態様によれば、本発明の第１の態様によるアプタマーを含むアフェレーシスカラムが提供される。

本発明の第３の態様の好ましい実施形態では、アフェレーシスカラムは、自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用のために提供され、ここで自己免疫疾患は、心筋症、拡張型心筋症（ＤＣＭ）、虚血性心筋症（ｉＣＭ）、周産期心筋症（ＰＰＣＭ）、特発性心筋症、シャーガス心筋症、化学療法誘発性心筋症、シャーガス巨大結腸症、シャーガス巨大食道症、シャーガス神経障害、良性前立腺肥大症、強皮症、レイノー症候群、末梢動脈閉塞性疾患（ＰＡＯＤ）、妊娠高血圧腎症、腎同種異系移植片拒絶反応、心筋炎、緑内障、高血圧症、肺高血圧症、悪性高血圧症、メタボリックシンドローム、脱毛症、円形脱毛症、片頭痛、パーキンソン病、癲癇、群発頭痛、多発性硬化症、鬱病、局所痛症候群、不安定狭心症、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、統合失調症、シェーグレン症候群、歯周炎、心房細動、白斑、溶血性尿毒症症候群、スティッフパーソン症候群、及び／又は先天性心ブロックである。

【００２４】

本発明の第４の態様によれば、アプタマーオリゴヌクレオチドを調製するための方法であって、

アプタマー配列として使用されるヌクレオチド配列を決定するステップであって、

ａ．）Ｑは、自然数のセットであり、

ｂ．）Ｆは、

Ｆ：＝｛Ｘ∈Ｑ｜（Ｘ＞１）｝

と定義される自然数のサブセットであり、

ｃ．）Ｆを使用して、

【数２】

(1) $\forall X \in F \exists M : M \rightarrow CXLCX$

(2) $\forall X \in F \exists K : K \rightarrow CXLBX$

(3) $\forall X \in F \exists V : V \rightarrow CXL$

(4) $\forall X \in F : CX \rightarrow BXLBX$

(5) $\forall X \in F : BX \rightarrow \prod_{1}^{x} G$

と定義され、

ｄ．）Ｕは、

Ｕ＝｛Ｓ，Ｍ，Ｎ，Ｄ，Ｅ，Ｙ，Ｈ，Ｒ，Ｚ，Ｌ，ＢＸ，ＣＸ，Ｋ，Ｖ｝

と定義される１セットの非終端であり、

ここでＢＸ及びＣＸについてはｃ）の通りであり、

ｅ．）Ｗは、

Ｗ＝｛Ａ，Ｃ，Ｇ，Ｔ，$Ｇ^{Ｘ}$｝

と定義される１セットの非終端であり、

ここで$Ｇ^{Ｘ}$は、ｂ．）及びｃ．）の（５）に従って導き出せるすべての終端を表し、

ｆ．）Ｓ∈Ｕは、開始記号である

という条件での、生成規則Ｐのセット：

Ｐ＝｛

Ｓ	→	Ｍ｜Ｙ｜Ｄ｜Ｅ｜Ｈ	（１）
Ｍ	→	ＮＲＭ	（２）
Ｍ	→	ＭＲ	（３）
Ｍ	→	ＲＭ	（４）
Ｎ	→	Ｍ	（５）
Ｄ	→	ＹＭ	（６）
Ｅ	→	ＶＭ	（６ａ）
Ｙ	→	Ｋ｜ＫＬ｜ＬＫ｜ＬＫＬ	（７）
Ｈ	→	ＬＶ｜Ｖ	（８）
Ｒ	→	Ｌ	（９）
Ｚ	→	Ａ｜Ｃ｜Ｇ｜Ｔ	（１０）
Ｌ	→	ＺＬ｜Ｚ	（１１）
ＢＸ	→	$Ｇ^{Ｘ}$	（１２）
ＣＸ	→	ＢＸＬＢＸ	（１３）
Ｍ	→	ＣＸＬＣＸ	（１４）
Ｋ	→	ＣＸＬＢＸ	（１５）
Ｖ	→	ＣＸＬ	（１６）

｝

の適用を含み、式中、「Ａ」はアデニンヌクレオチドを意味し、「Ｃ」はシトシンヌクレオチドを意味し、「Ｇ」はグアニンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＤＮＡ配列である場合にはチミンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である場合にはウラシルヌクレオチドを意味する、ステップと、第１のステップで得られたヌクレオチド配列を有するアプタマーオリゴヌクレオチドを作製するステップとを含む、方法が提供される。

【図面の簡単な説明】

【００２５】

【図１】アプタマー（２μｌ）によるアルファ１アドレナリン受容体ＡＡＢの中和を示す図である。
【図２】アプタマー（２μｌ）によるベータ１アドレナリン受容体ＡＡＢの中和を示す図である。
【図３】ＰＡＲ１／ＰＡＲ２受容体に対するＡＡＢの作用におけるアプタマーの影響を示す図である。
【図４】アプタマー（２μｌ）によるエンドセリン１　ＥＴＡ受容体ＡＡＢの中和を示す図である。
【図５】配列番号１０、配列番号１９及び配列番号２０のアプタマーによるβ１－アドレナリン受容体ＡＡＢの作用の中和を示す図である。
【図６】心筋細胞の拍動数に対する異なるアプタマー（２μｌ）の効果を示す図である。
【図７】異なるＧタンパク質共役受容体に対して向けられるＡＡＢに対する配列番号１２のアプタマーの効果を示す図である。
【図８】１００ｎＭ、４００ｎＭ及び１０００ｎＭの本発明による異なるアプタマー（配列番号１、４～９、１１～１４及び１６～１８）（２μｌ）によるベータ１アドレナリン受容体ＡＡＢの中和を示す図である。
【図９】本発明による所与の文法を使用して算定されたアプタマーの互いに（配列番号２５～４５）及び本発明によらない対照配列（配列番号４６～５０）との相互配列同一性を示す図である。
【図１０】１００ｎＭの本発明による異なるアプタマー（配列番号２５～４５）（２μｌ）によるベータ１アドレナリン受容体ＡＡＢの中和を示す図である。
【図１１】４００ｎＭの本発明による異なるアプタマー（配列番号３１～３４、４４及び４５）（２μｌ）によるベータ１アドレナリン受容体ＡＡＢの中和を示す図である。
【図１２】１００ｎＭ、４００ｎＭ及び１０００ｎＭの本発明によらない異なる対照配列（配列番号４６～５０）（２μｌ）によるベータ１アドレナリン受容体ＡＡＢの中和を示す図である。
【図１３】１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（左から右に）鬱病又はシャーガス心筋症に罹っている患者から単離されたベータ１アドレナリン受容体ＡＡＢの活性を示す図である。
【図１４】１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（左から右に）緑内障、統合失調症、シャーガス心筋症、溶血性尿毒症症候群（ＥＨＥＣ）又はアルツハイマー病に罹っている患者から単離されたベータ２アドレナリン受容体ＡＡＢの活性を示す図である。
【図１５】１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（左から右に）脱毛症、腎同種異系移植片拒絶反応又は腎性高血圧症に罹っている患者から単離されたＡＴ１　ＡＡＢの活性を示す図である。
【図１６】１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（左から右に）肺動脈性肺高血圧症、レイノー病、狭心症又は腎性高血圧症に罹っている患者から単離されたＥＴＡ　ＡＡＢの活性を示す図である。
【図１７】１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（左から右に）肺動脈性肺高血圧症、化学療法、多発性硬化症、脱毛症、円形脱毛症、溶血性尿毒症症候群（ＥＨＥＣ）、シェーグレン症候群、アルツハイマー病、神経皮膚炎、糖尿病Ｉ型又は乾癬に罹っている患者から単離されたアルファ１　ＡＡＢの活性を示す図である。
【図１８】１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（左から右に）レイノー病、狭心症又はシェーグレン症候群に罹っている患者から単離されたＰＡＲ　ＡＡＢの活性を示す図である。
【図１９】１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（左から右に）化学療法、多発性硬化症又は糖尿病Ｉ型に罹っている患者から単離されたＭＡＳ　ＡＡＢの活性を示す図である。

【図２０】１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（左から右に）鬱病、統合失調症又は片頭痛／パーキンソン病に罹っている患者から単離された５ＨＴ４　ＡＡＢの活性を示す図である。
【図２１】１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（左から右に）シャーガス心筋症、円形脱毛症、片頭痛／パーキンソン病又はシェーグレン症候群に罹っている患者から単離されたＭ２　ＡＡＢの活性を示す図である。
【発明を実施するための形態】
【００２６】
本発明者らは、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な自己抗体と相互作用でき、かつそれらの２つの分子間の病原性の相互作用に干渉できるオリゴヌクレオチドが、定められた分子パターンを共有することを認識した。この認識から出発して、本発明者らは、ＧＰＣＲ－自己抗体の有効な結合剤であるアプタマーの構造的なパターンを再現する請求項１による生成規則Ｐのセットによって定義される文法を案出するのに成功した。
これまで、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体の結合に干渉するように見えるきわめて限られた数のアプタマーのみが当技術分野において知られていた。Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療及び／又は診断に好適な新しいアプタマーを同定するための試みは、特に、ヒト患者での診断又は療法におけるアプタマーの医薬適用のための厳しい必要条件の観点において、きわめて面倒であって最終的に好適なヌクレオチド配列を決定するのに有望であるにはほど遠い。この目的のために、これらの自己免疫疾患に対する使用のためのさらなるアプタマーを提供することがきわめて望まれた。
【００２７】
本発明者らは、現在、Ｇタンパク質共役受容体自己抗体に関連する疾患に対して有効なアプタマーの構造的な共通性を初めて同定しており、アプタマーとして機能的で有効な１セットのヌクレオチド配列を定義するための１セットの生成規則を定義することができた。したがって、ＧＰＣＲ－自己抗体と干渉するより多くの数のアプタマーを提供することが今初めて可能になった。
同一又はほぼきわめて同一の特性を共有している配列を同定するための一般的なアプローチは、このような特性を有する所与の配列と例えば少なくとも８０又は９０％の配列同一性を示すすべての配列を選別することである。このようなアプローチの背景にある概念は、きわめて類似した配列が、きわめて類似した特性を共有するはずであるということである。
【００２８】
この配列の類似性と機能的特性の保存との関係は、例えば、知識に基づいたモデリングの場面において、長年にわたって使用及び適用されてきた。しかし、低い相互の配列同一性を共有しているが、依然としてきわめて類似した特性を有するヌクレオチド又はアミノ酸配列があることが知られている。低い配列類似性にもかかわらず機能を保持するそれらの配列を認識及び記載するために、より精巧な方法が必要とされる。
本明細書に示されている発明者らの認識は、配列同一性を考慮することなく、有効で機能的な配列を特異的に認識及び定義するための文法を開発及び使用することである。この文法を使用して、特異的な所望の配列特性を有する配列のみを算出することが可能である。同文法は、任意の配列のプールの中で望ましい特性を有する配列を特異的に認識するためにも使用されうる。
【００２９】
一般に、文法の正確さは、たった１つの誤った文字又は誤った部位にある文字が、文法によって認識できない配列を導く可能性があるという事実によって反映される。これは、本発明及びその適用にきわめて重要である。特許請求されるアプタマー配列の重要な部位に１つの誤ったヌクレオチドがあれば、それらの配列は文法によって認識されないこともある。
このアプローチを使用して、本発明は、文法による配列判定基準セットを満たさないす

べての配列を特異的に除外することを可能にし、それによりＧＰＣＲ自己抗体を結合できなくすると予想される。他方では、この方法は、所与の鋳型に対するいかなる複雑性又は配列同一性にも関係なく、セット判定基準を満たすすべての配列の算出及び／又は選別を可能にする。

算定された配列の機能的特性が、配列の同一性又は類似性ではなく、文法の機能である（低い相互の配列同一性を有する機能的配列が、等しい又はきわめて類似した特性を有する）ことを実証するために、所与の文法の規則は、低い相互の配列同一性を示すいくつかの配列を算定するための境界条件を考慮して適用される。それにもかかわらず、文法によってこうして生成されるすべての配列が、ＧＰＣＲ自己抗体に対する結合の特許請求される特性を有することが本明細書において実証されることになる。

【００３０】

図９は、本発明によって算定されたアプタマーのＩＤ（配列番号２５～４５）及びそれらの相互の配列同一性を示す。配列同一性は、オープンペナルティ値及び延長ペナルティ値のセットを最大にしてＫａｌｉｇｎソフトウェアを使用することによって決定される。このソフトウェアは、Lassmann and Sonnhammer, Kalign--an accurate and fast multiple sequence alignment algorithm. (2005) BMC bioinformatics 6 :298、Lassmann et al., Kalign2: high-performance multiple alignment of protein and nucleotide sequences allowing external features. (2009 Feb) Nucleic acids research 37 (3) :858-65、Goujon et al., A new bioinformatics analysis tools framework at EMBL-EBI. (2010 Jul) Nucleic acids research 38 (Web Server issue) :W695-9、McWilliam et al., Analysis Tool Web Services from the EMBL-EBI. (2013 Jul) Nucleic acids research 41 (Web Server issue) :W597-600及びLi et al., The EMBL-EBI bioinformatics web and programmatic tools framework. (2015 Jul 01) Nucleic acids research 43 (W1) :W580-4に記載されている。

【００３１】

本発明の一実施形態によれば、２つのヌクレオチド配列間の同一性は、上述したようにして決定されうる。本発明の別の実施形態によれば、２つのヌクレオチド配列間の同一性は、上記で引用されている文献のうちの１つ又は複数によって決定されうる。

本発明による特許請求される広範囲の異なる配列は、基本的には、全範囲の理論的に可能な配列同一性を網羅して算定されている。図９から、９０％（配列番号３８から４２の間又は４０から４１の間）～１１％（配列番号２８から２９の間）の範囲に及ぶ機能的なアプタマー配列間の相互の配列同一性が認められる。

すべての配列は、配列番号１２、３、１０及び１５の配列について以下に示されているような移動還元構文解析を使用して文法の所与の規則によって算出されうるかつ／又は認識される。

【００３２】

本発明によらない無作為化されたオリゴヌクレオチドは、対照配列として使用されている（配列番号４６～５０）。これらの配列は、所与の文法によって認識されない。これらの対照は、機能的な本発明のアプタマーと１０％（配列番号３０から４７の間）～６０％（配列番号３９から４８の間）の範囲内の配列同一性を示す。

【００３３】

特に、配列番号２８の本発明のアプタマーは、以下に示されるように（例１１及び図１２を参照されたい）非機能的な対照配列の配列番号４８と４４％の配列同一性を有する。対照的に、配列番号２９の本発明のアプタマーは、配列番号２８とわずか１１％というきわめて低い配列同一性を示すが、いずれの配列も以下に示されるように活性である（例９及び１０ならびに図１０及び１１を参照されたい）。本発明の配列間でのきわめて低い配列同一性と、非機能的な配列に対する比較的高い同一性（すなわち、４倍高い）とを示すこの例は、配列の活性が、配列同一性ではなく文法によって表された配列の共通性の機能であることを明白に示している。

これらの結果は、所与の文法によってコードされる配列特性と、それによって生成又は

認識されて自己抗体を阻害する配列の能力との間の明白な関係を示唆する。この関係は、配列同一性ではなく文法自体に基づいており、これは、きわめて低い相互の配列同一性を有する活性な配列を算定することによって実証された。同様の方法で、本発明のアプタマーの測定された活性と対照配列の結果との比較により、本明細書において特許請求されるすべてのアプタマー配列の機能に関する発見が確認される。

【００３４】

本発明のアプタマーは、請求項１によってさらに定義されるような生成規則のセットによって定義される文法を満たすことを特徴とする。前記文法は、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患に対して有効なアプタマーのための構造的な必要条件を反映している。

本発明の好ましい実施形態では、アプタマーは、文脈自由言語の特徴を表す文法（チョムスキー階層における２型文法）又は文脈依存言語の特徴を表す文法（チョムスキー階層における１型文法）又は句構造文法によって記載されている（帰納的可算）言語の特徴を表す文法（チョムスキー階層における０型文法）を満たすヌクレオチド配列を含む。より好ましい実施形態では、アプタマーは、文脈自由言語の特徴を表す文法（チョムスキー階層における２型文法）を満たすヌクレオチド配列を含む。

【００３５】

本発明の目的では、「アプタマー」という用語は、特異的かつ高親和性で標的分子に結合するオリゴヌクレオチドを指す。定められた条件下で、アプタマーは、特異的な三次元構造に折りたたまれうる。

本発明のアプタマーは、一連の核酸分子、ヌクレオチドを含む又はからなる。好ましい実施形態によれば、本発明のアプタマーは、本発明による文法を満たすヌクレオチド配列からなる又はそれ以外の場合には本明細書において定義されているヌクレオチド配列からなる。

本発明のアプタマーは、好ましくは、未修飾の及び／又は修飾されたＤ－ヌクレオチド及び／又はＬ－ヌクレオチドを含む。核酸塩基の一般的な１文字コードによれば、「Ｃ」はすなわちシトシンを表し、「Ａ」はすなわちアデニンを表し、「Ｇ」はすなわちグアニンを表し、かつ「Ｔ」はすなわちヌクレオチド配列がＤＮＡ配列である場合にはチミンを表し、「Ｔ」はすなわちヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である場合にはウラシルヌクレオチドを表す。以下にそうでないと示されていない場合、「ヌクレオチド」という用語は、リボヌクレオチド及びデオキシリボヌクレオチドを指すものとする。

【００３６】

本発明のアプタマーは、ＤＮＡヌクレオチド配列又はＲＮＡヌクレオチド配列を含んでいてもよく又はからなっていてもよく、したがって、それぞれＤＮＡアプタマー又はＲＮＡアプタマーと呼ばれうる。本発明のアプタマーがＲＮＡヌクレオチド配列を含む場合、本発明の全体にわたって明記されている配列モチーフ内で「Ｔ」はウラシルを表すことが理解される。

本発明の全体にわたる簡潔性のために、参照は、明示のＤＮＡヌクレオチド配列のみになされる。しかし、本発明によってそれぞれのＲＮＡヌクレオチド配列も含まれることが理解される。

【００３７】

一実施形態によれば、ＤＮＡアプタマーの使用が好ましい。ＤＮＡアプタマーは、通常、血漿中でＲＮＡアプタマーよりも安定である。しかし、代替の実施形態によれば、ＲＮＡアプタマーが好ましい。

本発明のアプタマーは、２’－修飾ヌクレオチド、例えば、２’－フルオロ修飾ヌクレオチド、２’－メトキシ修飾ヌクレオチド、２’－メトキシエチル修飾ヌクレオチド及び／又は２’－アミノ修飾ヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を含んでいてもよい。本発明のアプタマーは、デオキシリボヌクレオチド、修飾デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド及び／又は修飾リボヌクレオチドの混合物も含んでいてもよい。それぞれ、「２’－フルオロ修飾ヌクレオチド」、「２’－メトキシ修飾ヌクレオチド」、「２’－メ

トキシエチル修飾ヌクレオチド」及び／又は「２－アミノ修飾ヌクレオチド」という用語は、修飾リボヌクレオチド及び修飾デオキシリボヌクレオチドを指す。

本発明のアプタマーは、修飾を含んでいてもよい。このような修飾は、例えば、アルキル化、すなわち、少なくとも１つのヌクレオチドのメチル化、アリール化もしくはアセチル化、鏡像異性体の包含及び／又は１つもしくは複数の他のヌクレオチドもしくは核酸配列とのアプタマーの融合を包含する。このような修飾は、例えば、５’－ＰＥＧ修飾及び／もしくは３’－ＰＥＧ修飾又は５’－ＣＡＰ修飾及び／もしくは３’－ＣＡＰ修飾を含んでいてもよい。代替的に又は加えて、本発明のアプタマーは、ロックド核酸、２’－フルオロ修飾ヌクレオチド、２’－メトキシ修飾ヌクレオチド及び／又は２’－アミノ修飾ヌクレオチドから選択されることが好ましい、修飾ヌクレオチドを含んでいてもよい。

【００３８】

ロックド核酸（ＬＮＡ）は、高次構造が固定されているそれぞれのＲＮＡヌクレオチドのアナログを表す。ロックド核酸のオリゴヌクレオチドは、１つ又は複数の二環式リボヌクレオシドを含み、ここで、２’－ＯＨ基は、メチレン基を介してC_4－炭素原子と連結される。ロックド核酸は、それぞれの未修飾のＲＮＡアプタマー対応物と比較して、ヌクレアーゼに対する改良された安定性を示す。ハイブリダイゼーション特性も改良され、それにより、親和性の促進及びアプタマーの特異性が可能となる。

【００３９】

もう１つの好ましい修飾は、アプタマーの３’末端及び／又は５’末端へのいわゆる３’－ＣＡＰ構造、５’－ＣＡＰ構造及び／又は修飾グアノシンヌクレオチド（例えば、７－メチル－グアノシン）の付加である。３’末端及び／又は５’末端のこのような修飾は、アプタマーがヌクレアーゼによる急速な分解から保護されるという効果を有する。

代替的に又は加えて、本発明のアプタマーは、ペグ化された３’ 末端又は５’末端を示していてもよい。３’－ＰＥＧ又は５’－ＰＥＧ修飾は、少なくとも１つのポリエチレングリコール（ＰＥＧ）単位の付加を含み、好ましくは、ＰＥＧ基は、１～９００のエチレン基、より好ましくは、１～４５０のエチレン基を含む。好ましい実施形態では、アプタマーは、ＨＯ－（CH_2CH_2O）$_n$－Ｈを有する直鎖状ＰＥＧ単位を含み、式中、ｎは１～９００の整数であり、好ましくは、ｎは１～４５０の整数である。

【００４０】

本発明のアプタマーは、ホスホチオエート主鎖を有する核酸配列を含んでいてもよく、もしくはそれからなっていてもよく、又は完全にもしくは部分的にペプチド核酸（ＰＮＡ）として構成されていてもよい。本発明によるアプタマーは、Keefe AD et al., Nat Rev Drug Discov. 2010 Jul;9(7):537-50 に又はMayer G, Angew Chem Int Ed Engl. 2009;48(15):2672-89 に又はMayer, G. and Famulok M., Pharmazie in unserer Zeit 2007; 36: 432-436に記載のようにさらに修飾されていてもよい。

さらに、アプタマーは、その構造的な完全性を保護するためならびに細胞内でのその送達を促進するための好適なビヒクル中にカプセル封入されていてもよい。好ましいビヒクルとしては、リポソーム、脂質小胞、マイクロ粒子などが含まれる。

【００４１】

脂質小胞は、形質膜に似ており、細胞膜と融合させるために作製されうる。ほとんどのリポソーム及び多層小胞は、容易には融合性ではなく、その理由は、主に、小胞曲率半径の蓄積エネルギーが最小であるからである。好ましい脂質小胞としては、小単層小胞が含まれる。本発明のアプタマーをカプセル封入することが意図される小単層小胞は、それらがきわめて強固な曲率半径を有するのできわめて融合性である。小単層小胞の平均直径は、５ｎｍ～５００ｎｍである；好ましくは１０ｎｍ～１００ｎｍ、より好ましくは２０ｎｍ～６０ｎｍであり、４０ｎｍを含む。このサイズは、小胞が内皮細胞間のギャップを通過するのを可能にし、それによって静脈内投与後のアプタマー含有小胞の全身性送達が可能となる。有用な小胞は、サイズが大きく変化してもよく、かつアプタマーとの特異的な適用によって選択される。

【００４２】

小単層小胞は、当技術分野において利用可能な（例えば国際公開第２００５／０３７３２３号に開示されているような）手順を使用してｉｎ　ｖｉｔｒｏで容易に調製されうる。小胞を形成する組成物は、好ましくは、別の極性脂質、及び任意選択で１種又は複数のさらなる極性脂質及び／又はラフト形成剤と一緒に、安定な小胞形成剤であるリン脂質を含む。安定な小胞形成剤である好ましいリン脂質としては、１－パルミトイル－２－ドコサヘキサエノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン及び１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリンが含まれる。好ましい極性脂質としては、以下：１－パルミトイル－２－オレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスフェート、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－エチルホスホコリン、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－［ホスホ－１－セリン］、典型的なスフィンゴミエリン、１，２－ジミリストイル－ｓｎ－グリセロール、及び１－パルミトイル－２－ヒドロキシ－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリンが含まれる。

【００４３】

他の好ましい極性脂質としては、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロール、混合鎖ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノール、及びドコサヘキサエン酸含有リン脂質が含まれる。好ましいラフト形成剤の１つの例は、コレステロールである。

上述の方法のうちの１つによって本発明のアプタマーを修飾する１つの利点は、アプタマーが、例えば、アプタマーが使用される環境中に存在するヌクレアーゼのような、有害な影響に対して安定化されうることである。前記修飾は、アプタマーの薬理学的特性に適合するためにも好適である。修飾は、好ましくは、アプタマーの親和性又は特異性を変えない。

【００４４】

本発明のアプタマーは、担体分子及び／又はレポーター分子にコンジュゲートされてもよい。担体分子には、アプタマーにコンジュゲートされたときに、ヒト血漿において、コンジュゲートされたアプタマーの血漿中半減期を、例えば、安定性を促進することによってかつ／又は排出速度に影響を及ぼすことによって、延長させるような分子が含まれる。好適な担体分子の１つの例は、ＰＥＧである。

レポーター分子は、コンジュゲートされたアプタマーの検出を可能にする分子を含む。このようなレポーター分子の例は、ＧＦＰ、ビオチン、コレステロール、色素、例えば蛍光染料など、放射性残基を含む電気化学的に活性なレポーター分子及び／又は化合物、特に、ＰＥＴ（陽電子放出断層撮影）検出に好適な放射性核種、例えば、^{18}Ｆ、^{11}Ｃ、^{13}Ｎ、^{15}Ｏ、^{82}Ｒｂ又は^{68}Ｇａなどを含むものである。当業者は、好適な担体及びレポーター分子ならびにそれらを本発明のアプタマーにコンジュゲートする方法を十分に認識している。

【００４５】

好ましい実施形態では、本発明のアプタマーのヌクレオチド配列は、少なくとも４ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも８ヌクレオチド、さらにより好ましくは少なくとも１２ヌクレオチド、さらにより好ましくは少なくとも１６ヌクレオチドの長さを有する。別の好ましい実施形態では、本発明のアプタマーのヌクレオチド配列は、最大で１２０ヌクレオチド、より好ましくは最大で１００ヌクレオチド、さらにより好ましくは最大で８０ヌクレオチド、さらにより好ましくは最大で６０ヌクレオチドの長さを有する。一実施形態によれば、本発明のアプタマーのヌクレオチド配列は、最大で４０ヌクレオチド、特に最大で２０ヌクレオチドの長さを有する。

本発明によれば、アプタマーは、ヌクレオチド配列ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴＴＧＧ（配列番号２２）、ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴ（配列番号２３）又はＣＧＣＣＴＡＧＧＴＴＧＧＧＴＡＧＧＧＴＧＧＴＧＧＣＧ（配列番号２４）のうちのいずれからもなっていない又はそれを含まない。この条件は、本明細書に記載又は定義されているような本発明によるアプタマー又は一群のアプタマーのいかなる定義にも適用されなければならない。

【００４６】

好ましい実施形態によれば、本発明のアプタマーは、配列番号２２、２３もしくは２４のヌクレオチド配列のいずれか又は配列番号２２、２３もしくは２４のヌクレオチド配列のいずれかと９０％を超える同一性であるいかなる配列からもなっていない又はそれを含まない。別の好ましい実施形態によれば、本発明のアプタマーは、配列番号２２、２３もしくは２４のヌクレオチド配列のいずれか又は配列番号２２、２３もしくは２４のヌクレオチド配列のいずれかと８５％を超える同一性であるいかなる配列からもなっていない又はそれを含まない。特定の一実施形態によれば、本発明のアプタマーは、配列番号２２、２３もしくは２４のヌクレオチド配列のいずれか又は配列番号２２、２３もしくは２４のヌクレオチド配列のいずれかと少なくとも８０％の同一性であるいかなる配列からもなっていない又はそれを含まない。

【００４７】

本発明の別の好ましい実施形態によれば、アプタマー配列は、本明細書に開示されている個別的なアプタマー配列と少なくとも８５％の同一性、より好ましくは少なくとも９０％の同一性、さらにより好ましくは少なくとも９５％の同一性である核酸配列からなる又はそれを含む本発明の部分を形成する。

【００４８】

２つの配列間でのパーセント同一性の決定は、Karlin and Altschul (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1993) 90: 5873-5877)の数学的アルゴリズムを使用することによって本発明に従って達成される。このようなアルゴリズムは、Altschul et al. (J. Mol. Biol. (1990) 215: 403-410)のＢＬＡＳＴＮ及びＢＬＡＳＴＰプログラムの基礎である。ＢＬＡＳＴヌクレオチド探索は、ＢＬＡＳＴＮプログラムで行われる。比較の目的でギャップがあるアライメントを得るために、Altschul et al.(Nucleic Acids Res. (1997) 25: 3389-3402)によって記載されているようにギャップ有りＢＬＡＳＴが利用される。ＢＬＡＳＴ及びギャップ有りＢＬＡＳＴプログラムを利用する場合、それぞれのプログラムのデフォルトパラメーターが使用される。

【００４９】

本発明の好ましい実施形態によれば、アプタマー内に含まれるヌクレオチド配列は、以下の配列のうちのいずれか１つである：（５’－ＧＴＴＧＴＴＴＧＧＧＧＴＧＧ－３’配列番号１）、（５’－ＧＴＴＧＴＴＴＧＧＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号２）、（５’－ＧＧＴＴＧＧＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧ－３’配列番号３）、（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧ－３’配列番号４）、（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号５）、（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号６）、（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号７）、（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴＧＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号８）、（５’－ＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号９）、（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１０）、（５’－ＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１１）、（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１２）、（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１３）、（５’－ＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１４）、（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴ－３’配列番号１５）、（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴ－３’配列番号１６）、（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１７）、（５’－ＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号１８）、（５’－ＴＴＡＧＧＧＴＴＡＧＧＧＴＴＡＧＧＧＴＴＡＧＧＧ（配列番号２０）。別の好ましい実施形態によれば、本発明のアプタマーは、上記のヌクレオチド配列のうちの１つを有する。

【００５０】

より好ましい実施形態によれば、アプタマー内に含まれるヌクレオチド配列は、以下の

配列のうちのいずれか１つである：（５’－ＧＴＴＧＴＴＧＧＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号２）、（５’－ＧＧＴＴＧＧＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧ－３’配列番号３）、（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１０）、（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１２）、（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴ－３’配列番号１５）。別のより好ましい実施形態によれば、本発明のアプタマーは、上記のヌクレオチド配列のうちの１つを有する。

【００５１】

特に好ましい実施形態によれば、アプタマーは、ヌクレオチド配列（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’　配列番号１２）を含む。別の特に好ましい実施形態によれば、アプタマーは、ヌクレオチド配列（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’　配列番号１２）を有する。

【００５２】

本発明の異なる好ましい実施形態によれば、アプタマー内に含まれるヌクレオチド配列は、以下の配列のうちのいずれか１つである：（５’－ＧＣＧＧＴＧＧＴＧＧＧＡＴＧＧＧＴＴＧＧＡＴＣＣＧＣ－３’配列番号２５）、（５’－ＧＧＧＴＣＧＧＧＡＴＣＴＡＧＧＧＴＣＡＧＧ－３’配列番号２６）、（５’－ＧＧＴＧＧＧＴＣＧＧＴＡＧＧＧＴＴＴ－３’配列番号２７）、（５’－ＴＴＧＧＣＴＧＧＡＴＣＧＧＡＣＧＧＴ－３’配列番号２８）、（５’－ＧＧＴＣＧＧＧＴＴＣＧＧＴＧＧＴＴＡ－３’配列番号２９）、（５’－ＧＧＧＡＴＣＧＧＴＴＣＧＧＴＡＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧＴＴＧＧ－３’配列番号３０）、（５’－ＧＧＣＣＧＧＣＧＣＧＧＣＣＧＧ－３’配列番号３１）、（５’－ＧＧＡＡＧＧＡＴＣＧＧＡＡＧＧ－３’配列番号３２）、（５’－ＧＧＴＡＧＧＣＴＣＧＧＴＡＧＧ－３’配列番号３３）、（５’－ＧＧＡＴＧＧＴＴＡＧＧＡＴＧＧ－３’配列番号３４）、（５’－ＣＣＧＴＣＧＧＴＣＣＧＴＴＣＧＧＴＡＴＴＴＴＴＴＣＴＧＧＧＴＧＧＣＴＧＡＧＧＡＴＣＧ－３’配列番号３５）、（５’－ＧＧＧＴＴＧＧＴＣＣＧＴＴＧＧＧＴＡＴＴＴＴＴＴＡＴＧＧＧＴＴＧＣＣＴＧＧＴＴＧＧＧ－３’配列番号３６）、（５’－ＴＣＣＣＡＴＣＧＧＧＴＡＧＧＧＴＴＡＴＴＴＧＧＧＴＴＣＴＧＧＧＴＧＧＣＴＧＡＧＧＡＴＣＧＡＴＣ－３’配列番号３７）、（５’－ＴＧＧＣＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号３８）、（５’－ＴＧＧＡＧＧＴＧＧＡ－３’配列番号３９）、（５’－ＡＧＧＴＧＧＴＧＧＡ－３’配列番号４０）、（５’－ＡＧＧＴＧＧＣＧＧＡ－３’配列番号４１）、（５’－ＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＧ－３’配列番号４２）、（５’－ＴＧＧＧＴＴＧＧＧＴＴＧＴＴＧＴＴＧＴＴＧＧＧＴＴＧＧＧＴ－３’配列番号４３）、（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＧＴＴＴＴＴＧＧＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号４４）、（５’－ＣＴＧＧＧＧＴＴＧＧＧＴＴＴＧＧＴＴＴＴＧＴＴＴＴＧＧＴＴＧＧＧＴＴＧＧＧＧＴＣ－３’配列番号４５）。別の好ましい実施形態によれば、本発明のアプタマーは、上記のヌクレオチド配列のうちの１つを有する。

【００５３】

より好ましい実施形態によれば、アプタマー内に含まれるヌクレオチド配列は、以下の配列のうちのいずれか１つである：５’－ＧＧＴＧＧＧＴＣＧＧＴＡＧＧＧＴＴＴ－３’配列番号２７）、（５’－ＴＴＧＧＣＴＧＧＡＴＣＧＧＡＣＧＧＴ－３’配列番号２８）、（５’－ＧＧＴＣＧＧＧＴＴＣＧＧＴＧＧＴＴＡ－３’配列番号２９）、（５’－ＴＧＧＣＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号３８）、（５’－ＴＧＧＡＧＧＴＧＧＡ－３’配列番号３９）、（５’－ＡＧＧＴＧＧＴＧＧＡ－３’配列番号４０）、（５’－ＡＧＧＴＧＧＣＧＧＡ－３’配列番号４１）。別のより好ましい実施形態によれば、本発明のアプタマーは、上記のヌクレオチド配列のうちの１つを有する。

別のより好ましい実施形態によれば、アプタマー内に含まれるヌクレオチド配列は、以下の配列のうちのいずれか１つである：５’－ＧＧＴＧＧＧＴＣＧＧＴＡＧＧＧＴＴＴ－３’配列番号２７）、（５’－ＧＧＴＣＧＧＧＴＴＣＧＧＴＧＧＴＴＡ－３’配列番号２９）、（５’－ＴＧＧＣＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号３８）、（５’－ＴＧＧＡＧＧＴＧ

ＧＡ－３’配列番号３９）、（５’－ＡＧＧＴＧＧＴＧＧＡ－３’配列番号４０）、（５’－ＡＧＧＴＧＧＣＧＧＡ－３’配列番号４１）。別のより好ましい実施形態によれば、本発明のアプタマーは、上記のヌクレオチド配列のうちの１つを有する。

【００５４】

別のより好ましい実施形態によれば、アプタマー内に含まれるヌクレオチド配列は、以下の配列のうちのいずれか１つである：５’－ＧＧＴＧＧＧＴＣＧＧＴＡＧＧＧＴＴＴ－３’配列番号２７）、（５’－ＧＧＴＣＧＧＧＴＴＣＧＧＴＧＧＴＴＡ－３’配列番号２９）、（５’－ＴＧＧＣＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号３８）、（５’－ＴＧＧＡＧＧＴＧＧＡ－３’配列番号３９）。別のより好ましい実施形態によれば、本発明のアプタマーは、上記のヌクレオチド配列のうちの１つを有する。

特に好ましい実施形態によれば、アプタマーは、ヌクレオチド配列（５’－ＴＧＧＣＧＧＴＧＧＴ－３’　配列番号３８）を含む。別の特に好ましい実施形態によれば、アプタマーは、ヌクレオチド配列（５’－ＴＧＧＣＧＧＴＧＧＴ－３’　配列番号３８）を有する。

【００５５】

本発明のアプタマーは、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療及び／又は診断に有用である。本発明の文脈において、アプタマーは、ヒト対象ならびに動物対象に有用であるとみなされる。一実施形態によれば、アプタマーは、ヒト対象における使用のためのものである。別の実施形態によれば、アプタマーは、動物対象における使用のためのものである。好ましい一実施形態によれば、本発明のアプタマーは、本明細書において定義されるような自己免疫疾患の治療における使用のためのものである。

【００５６】

Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する疾患は、当技術分野において知られているような標準的な方法を使用して、このような疾患に罹患した患者においてこのような自己抗体が検出されうる疾患である。好ましい実施形態によれば、疾患は、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体によって惹起される。一実施形態によれば、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体が検出されうるがさらなる症状は認められない患者の状態は、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患と考えられうる。

したがって、本発明のアプタマーは、好ましくは、Ｇタンパク質共役受容体に対する抗体を体液中に有する患者の治療における使用のためのものである。本発明の好ましい実施形態によれば、本発明のアプタマーを使用して治療又は診断される患者は、Ｇタンパク質共役受容体に対する抗体が検出される可能性がある患者である。

いくつかの疾患は、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連することが文献においてすでに報告されている又は知られている。本発明者らは、このような関連を考慮してさらに調査を行っており、以前に報告されているよりも多くの疾患がこのような自己抗体に関連することを発見している（データは示されていない）。

【００５７】

特許請求されるアプタマーの、ＧＰＣＲ自己抗体に対する親和性により、このような自己抗体の存在に関連するいずれの疾患も、本明細書において提供されかつ特許請求されるアプタマーで効果的に治療されるのはもっともらしいことである。したがって、本発明の好ましい実施形態によれば、自己免疫疾患は、心筋症、拡張型心筋症（ＤＣＭ）、虚血性心筋症（ｉＣＭ）、周産期心筋症（ＰＰＣＭ）、特発性心筋症、シャーガス心筋症、化学療法誘発性心筋症、シャーガス巨大結腸症、シャーガス巨大食道症、シャーガス神経障害、良性前立腺肥大症、強皮症、レイノー症候群、末梢動脈閉塞性疾患（ＰＡＯＤ）、妊娠高血圧腎症、腎同種異系移植片拒絶反応、心筋炎、緑内障、高血圧症、肺高血圧症、悪性高血圧症、メタボリックシンドローム、脱毛症、円形脱毛症、片頭痛、パーキンソン病、癲癇、群発頭痛、多発性硬化症、鬱病、局所痛症候群、不安定狭心症、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、統合失調症、シェーグレン症候群、歯周炎、心房細動、白斑、溶血性尿毒症症候群、スティッフパーソン症候群、先天性心ブロック、糖尿病Ｉ型、乾癬、アル

ツハイマー病、疲労、神経皮膚炎、腎疾患、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、レーベル遺伝性視神経症（ＬＨＯＮ症候群）、アレルギー性喘息、不整脈、難治性高血圧症、糖尿病２型、血管性認知症、非シャーガス巨大結腸症(non-Chagas megacolon)及び／又は起立性高血圧のうちの１つである。

【００５８】

本明細書中に示されているデータは、広範囲の疾患についての、本発明によるアプタマーの標的分子との関連を実証しているが、原則として、本明細書において言及される疾患のすべては、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連することが本発明者らによって認識されており、したがって、本発明によるアプタマーで治療される有望な標的疾患である。

【００５９】

本発明の好ましい実施形態によれば、自己免疫疾患は、心筋症、拡張型心筋症（ＤＣＭ）、虚血性心筋症（ｉＣＭ）、周産期心筋症（ＰＰＣＭ）、特発性心筋症、シャーガス心筋症、化学療法誘発性心筋症、シャーガス巨大結腸症、シャーガス巨大食道症、シャーガス神経障害、良性前立腺肥大症、強皮症、レイノー症候群、末梢動脈閉塞性疾患（ＰＡＯＤ）、妊娠高血圧腎症、腎同種異系移植片拒絶反応、心筋炎、緑内障、高血圧症、肺高血圧症、悪性高血圧症、メタボリックシンドローム、脱毛症、円形脱毛症、片頭痛、パーキンソン病、癲癇、群発頭痛、多発性硬化症、鬱病、局所痛症候群、不安定狭心症、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、統合失調症、シェーグレン症候群、歯周炎、心房細動、白斑、溶血性尿毒症症候群、スティッフパーソン症候群、及び／又は先天性心ブロックのうちの１つであり、より好ましくは、自己免疫疾患は、拡張型心筋症（ＤＣＭ）である。

【００６０】

本発明の別の実施形態によれば、自己免疫疾患は、心疾患、神経疾患、血管疾患、結合組織疾患（ＣＴＤ）、皮膚疾患又はシャーガス病であり、特に、自己免疫疾患は、心疾患、神経疾患又は血管疾患である。特定の一実施形態によれば、自己免疫疾患は、心疾患である。

本発明の意味の範囲内の心疾患は、心筋症、拡張型心筋症、虚血性心筋症、特発性心筋症、周産期心筋症、シャーガス心筋症、心房細動、急性心筋炎、慢性心筋炎、先天性心ブロック、不安定狭心症、化学療法誘発性心筋症又は肥大型心筋症であってもよい。

本発明の意味の範囲内の神経疾患は、片頭痛、鬱病、癲癇、パーキンソン病、多発性硬化症、群発頭痛、統合失調症、スティッフマン症候群、シャーガス神経障害又は複合性局所痛症候群であってもよい。

本発明の意味の範囲内の血管疾患は、高血圧症、肺高血圧症、末梢動脈閉塞性疾患、悪性高血圧症又はレイノー症候群であってもよい。

【００６１】

本発明の意味の範囲内の結合組織疾患（ＣＴＤ）は、強皮症、全身性エリテマトーデスＳＬＥ又はシェーグレン症候群であってもよい。本発明の意味の範囲内の皮膚疾患は、円形脱毛症、脱毛症又は白斑であってもよい。本発明の意味の範囲内のシャーガス病は、シャーガス巨大結腸症又はシャーガス巨大食道症であってもよい。

代替の実施形態では、自己免疫疾患は、緑内障、メタボリックシンドローム、歯周炎、溶血性尿毒症症候群、妊娠高血圧腎症、良性前立腺肥大症又は腎同種異系移植片拒絶反応のうちの１つである。

もう１つの代替の実施形態によれば、自己免疫疾患は、拡張型心筋症、特発性心筋症、急性心筋炎、慢性心筋炎、シャーガス心筋症、周産期心筋症、肺高血圧症、高血圧症、妊娠高血圧腎症、悪性高血圧症、不安定狭心症、虚血性心筋症、片頭痛、鬱病、多発性硬化症、パーキンソン病又は癲癇のうちの１つ、特に、拡張型心筋症、特発性心筋症、急性心筋炎、慢性心筋炎、シャーガス心筋症、周産期心筋症、肺高血圧症又は高血圧症のうちの１つであり、拡張型心筋症、特発性心筋症、急性心筋炎又は慢性心筋炎のうちの１つであってもよい。

【００６２】

特に、本発明のアプタマーは、自己抗体、好ましくは、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な自己抗体、好ましくは、ヒトＧタンパク質共役受容体であるアドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ２受容体、アンギオテンシンＩＩＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体のうちのいずれか１つに特異的な自己抗体と相互作用する能力があり、より好ましくは、これらの自己抗体とその標的タンパク質との特異的な相互作用を阻害する能力がある。

【００６３】

本明細書において、アドレナリン作動性ベータ１受容体は、ベータ１受容体、β１－ＡＲ又はベータ１－Ｒとして表示されることもある。さらに、アドレナリン作動性ベータ２受容体も、ベータ１受容体、β２－ＡＲ又はベータ２－Ｒとして表示されることもある。加えて、アンギオテンシンＩＩ受容体、Ｉ型は、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、アンギオテンシンＡＴ１受容体又はＡＴ１－Ｒと呼ばれることもある。エンドセリン１　ＥＴＡ受容体は、ＥＴＡ－Ｒ又はＥＴＡ－１－Ｒとして表示されることもあり、アドレナリン作動性アルファ１受容体は、アルファ１受容体、α１－ＡＲ又はアルファ１－Ｒとして表示されることもある。プロテアーゼ活性化型受容体は、ＰＡＲ－Ｒと呼ばれることもある。アンギオテンシンＩＩ代謝産物アンギオテンシン（１～７）結合受容体は、本明細書において、ｍａｓ関連Ｇタンパク質共役受容体Ａ、ＭＡＳ受容体、ＭＡＳ－Ｒ又はＭＡＳ１と呼ばれることもある。５－ヒドロキシトリプタミン受容体４は、５ＨＴ４－Ｒと略記されることもあり、一方では、ムスカリン受容体は、M_x－Ｒとして表示されることもあり、ｘはムスカリン受容体のサブタイプを示す。

本発明の一実施形態によれば、ムスカリンＭ受容体は、Ｍ１、Ｍ２、Ｍ３及び／又はＭ４受容体を包含することを意味する。別の実施形態によれば、ムスカリンＭ１、Ｍ２、Ｍ３及び／又はＭ４受容体は、自己抗体が向かいうるＧタンパク質共役受容体についての一例としてＭ３受容体が挙げられる特定の例として有用である。

【００６４】

配列番号１２の配列を有するアプタマーについて例示的に以下に示されているように、本発明のアプタマーは、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な全範囲の自己抗体を中和するために使用されうる。本明細書中の例１２～２０において、このアプタマーは、これらの自己抗体に関連する自己免疫疾患に罹っている患者から採取された多様な自己抗体を特異的に中和することが示される（図１３～２１を参照されたい）。したがって、本発明によるアプタマーが、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体を中和することができ、かつしたがって、疾患の治療において有効であることは、もっともらしいことであり、ここで、このような自己抗体はこのような疾患に罹っている患者内に存在する。

【００６５】

Ｇタンパク質共役受容体に対して向けられる自己抗体の病理学的な挙動を阻害することにより、本発明のアプタマーの中和効果は、それぞれのＧタンパク質共役受容体の恒久的な活性化を低減するか又はさらに無効にする。結果として、これらの抗体の困難な除去の必要性がない。したがって、本発明は、Ｇタンパク質共役受容体を認識する自己抗体の存在に関連する自己免疫疾患、すなわち、アドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ２受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体に特異的な自己抗体の存在に関連する自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用に好適な一まとまりの化合物を提供する。

さらに、固定化後、本発明のアプタマーは、上記に示されている自己抗体を捕捉又は固定化する能力がある。したがって、患者の血清から自己抗体を取り除くためのアフェレーシス技術を確立するため、及び自己抗体の測定用の分析ツールを開発するためのプラットフォームが提供される。後者は、特に、自己免疫疾患の診断のために使用されうる。

【００６６】

好ましい実施形態によれば、本発明のアプタマーは、本明細書において定義されるような自己免疫疾患の診断における使用のためのものである。特に、アプタマーは、Ｇタンパク質共役受容体、好ましくは、ヒトＧタンパク質共役受容体であるアドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体に特異的な抗体のｉｎ　ｖｉｔｒｏ検出における使用のためのものである。別の好ましい実施形態によれば、本発明のアプタマーは、本明細書において定義されるような自己免疫疾患のｉｎ　ｖｉｖｏ診断における使用のためのものである。より好ましい実施形態によれば、検出される抗体は、自己抗体である。

【００６７】

本明細書中で使用される場合、「自己抗体」とは、患者の自身の組織の抗原性の要素に応答、及び反応して形成される抗体を意味する。このような抗体は、それが形成された生物の細胞、組織、又は天然タンパク質を攻撃する可能性があり、通常、前記生物における病原性のプロセスと提携する。

好ましい実施形態によれば、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な抗体は、体液、好ましくは、ヒトの体液、より好ましくは、ヒトの血液、血漿、血清、尿、大便、関節液、間質液、リンパ液、唾液、髄液及び／又は涙液の中に存在する又はそれに由来する。より好ましくは、体液は、自己免疫疾患、好ましくは、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な自己抗体が患者の血清中に存在することに関連する自己免疫疾患、より好ましくは、アドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体に特異的な自己抗体が患者の血清中に存在することに関連する自己免疫疾患に罹っている又は罹っている疑いがある個体から採取される。

【００６８】

本発明のアプタマーは、自己免疫疾患の治療又は診断のために使用される場合、個体又は患者に必ずしも投与されなければならないわけではない。治療的又は診断的な効果は、例えば、身体から又は体液からの自己抗体のような、抗体の除去のために本発明のアプタマーを使用することによって達成されてもよい。

このような除去は、本発明のアプタマーが、例えば、免疫吸着及び／又はアフェレーシス中に、単にｅｘ　ｖｉｖｏにおいて体液と接触するだけであり、それによって、本発明のアプタマーが、治療される個体又は患者の体内に入らない設定における本発明のアプタマーの適用を含みうる。したがって、本発明は、本発明のアプタマーを含むアフェレーシスカラムも目的とする。

【００６９】

アフェレーシスは、ドナー又は患者の血液を、ある特定の要素を分離して残りをそのドナー又は患者の循環に戻す装置に通す医療技術である。したがって、アフェレーシスは、患者の血漿を結合することによって行われ、患者の身体及びこの手段は、閉鎖循環において治療効果を達成する、すなわち、アプタマーがカラムに結合される。本発明のアプタマーは、アフェレーシス中に選択的成分として使用されうる。選択的成分は、試料又は血液中に存在し本発明のアプタマーによって特異的に標的化される望ましい特定の要素、すなわち、抗体又は自己抗体を特異的に分離して取り出す役割を果たす。

好ましくは、本発明のアプタマーは、自己免疫疾患の治療及び／又は診断のために使用され、自己免疫疾患は、心筋症、拡張型心筋症（ＤＣＭ）、虚血性心筋症（ｉＣＭ）、周産期心筋症（ＰＰＣＭ）、特発性心筋症、シャーガス心筋症、化学療法誘発性心筋症、シャーガス巨大結腸症、シャーガス巨大食道症、シャーガス神経障害、良性前立腺肥大症、強皮症、レイノー症候群、末梢動脈閉塞性疾患（ＰＡＯＤ）、妊娠高血圧腎症、腎同種異系移植片拒絶反応、心筋炎、緑内障、高血圧症、肺高血圧症、悪性高血圧症、メタボリックシンドローム、脱毛症、円形脱毛症、片頭痛、パーキンソン病、癲癇、群発頭痛、多発

性硬化症、鬱病、局所痛症候群、不安定狭心症、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、統合失調症、シェーグレン症候群、歯周炎、心房細動、白斑、溶血性尿毒症症候群、スティッフパーソン症候群、及び／又は先天性心ブロックである。さらに好ましくは、本発明のアプタマーは、本明細書においてさらに定義されているような自己免疫疾患に罹っている患者に由来する血液又はその要素の治療的アフェレーシスのための選択的成分として使用される。

【００７０】

本発明は、固体支持体に結合された本発明のアプタマーにも関する。当業者は、固体支持体に結合されたこのようなアプタマーを作製するために使用されうる技術及び材料を十分に認識している。好ましい実施形態では、固体支持体は、医学的、生化学的又は生物学的なアッセイにおいて適用可能である固体材料を含む。

前記固体材料は、医学的、生化学的又は生物学的なアッセイにおいて支持体として通常使用されるポリマーを含む。特に、本発明のアプタマーは、アフェレーシスに好適なカラム、好ましくは、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な抗体を液体試料から、好ましくは体液から、除去するためのアフェレーシスにおける使用に好適なカラムの製造において結果として生じる製品の使用を可能にする固体支持体に連結されてもよい。

【００７１】

本発明のアプタマーの製造又は大量生産は、当技術分野においてよく知られており、単なる慣例の作業にすぎない。

本発明は、本発明の少なくとも１種のアプタマーを含み、少なくとも１種の薬学的に許容される賦形剤を含んでいてもよい、医薬組成物も目的とする。本発明は、本発明のアプタマー又は本発明の異なるアプタマーの混合物と、例えば好適な担体又は希釈剤のような薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物も目的とする。

【００７２】

好ましくは、本発明のアプタマーは、医薬組成物の活性成分を構成するかつ／又は有効量で存在する。「有効量」という用語は、疾患又は病態に対する、予防的、診断的又は治療的に重要な効果を有する本発明のアプタマーの量を表す。予防的効果は、疾患の発症を予防する。治療的に重要な効果は、疾患の１つ又は複数の症状をある程度まで軽減させるか、又は疾患もしくは病態に関連するかもしくはその原因となる１つ又は複数の生理学的もしくは生化学的なパラメーターを部分的に又は完全にのいずれかで正常まで回復させる。

【００７３】

本発明のアプタマーを投与するためのそれぞれの量は、望ましい予防的、診断的又は治療的な効果を達成するために十分に高いものである。任意の特定の哺乳動物に対する投与の具体的な用量レベル、頻度及び期間は、採用される特定の成分の活性、年齢、体重、総合的な健康状態、性別、食事、投与の時間、投与の経路、薬物の組合せ、及び特定の療法の過酷性を含む多様な要因によって決まることは、当業者によって理解されるであろう。よく知られている手段及び方法を使用して、正確な量は、当業者によって慣例の実験法の一事項として決定されうる。

本発明の医薬組成物の一実施形態によれば、総アプタマー含量のうちの少なくとも２０％、好ましくは少なくとも５０％、より好ましくは少なくとも７５％、最も好ましくは少なくとも９５％は、本発明のアプタマーでできている。

療法に使用される場合、医薬組成物は、一般に、１種又は複数の薬学的に許容される賦形剤と組み合わされた製剤として投与されることになる。「賦形剤」という用語は、本明細書において、本発明のアプタマー以外の任意の成分を記載するために使用される。賦形剤の選択は、特定の投与様式に大きく依存することになる。賦形剤は、好適な担体及び／又は希釈剤でありうる。

本発明の医薬組成物は、経口で投与されてもよい。経口投与は、嚥下を含んでいてもよく、それによって組成物は消化管に入り、又は頬側もしくは舌下の投与が用いられてもよく、それによって組成物は口腔から直接血流に入る。

【００７４】
経口投与に好適な製剤としては、以下：錠剤；コーティング錠；粒子、液体、又は粉末を含むカプセル剤；トローチ剤（液体充填型を含む）；及び咀嚼剤などの固体製剤；多粒子及びナノ粒子；ゲル；固溶体；リポソーム；フィルム、膣坐剤、噴霧剤及び液体製剤が含まれる。
液体製剤としては、懸濁液、溶液、シロップ剤及びエリキシル剤が含まれる。このような製剤は、軟カプセル又は硬カプセル中の充填剤として用いられてもよく、典型的には、担体、例えば、水、エタノール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、メチルセルロース、又は好適なオイルなど、ならびに１種又は複数の乳化剤及び／又は懸濁化剤を含む。液体製剤は、例えば、サシェ剤からの、固体の再構成によっても調製されうる。
【００７５】
錠剤剤形の場合、用量に依存して、本発明のアプタマーは、剤形の０．１質量％～８０質量％、より典型的には、剤形の５質量％～６０質量％を構成しうる。本発明のアプタマーに加え、錠剤は、一般に、崩壊剤を含む。
崩壊剤の例には、デンプングリコール酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、ポリビニルピロリドン、メチルセルロース、微結晶性セルロース、低級アルキル置換ヒドロキシプロピルセルロース、デンプン、アルファ化デンプン及びアルギン酸ナトリウムが含まれる。
一般に、崩壊剤は、剤形の１質量％～２５質量％、好ましくは、５質量％～２０質量％を含むことになる。
【００７６】
錠剤は、例えば、結合剤、界面活性剤、滑沢剤のようなさらなる賦形剤ならびに／又は、例えば、抗酸化剤、着色剤、香味剤、保存剤及び／もしくは矯味剤のような他の可能な成分を含んでいてもよい。
錠剤ブレンドは、錠剤を形成するために直接に又はローラーによって圧縮されてもよい。錠剤ブレンド又はブレンドの一部は、代替的に、錠剤成形前に湿式造粒、乾式造粒、溶融造粒、溶融凝固、又は押出成形されてもよい。最終的な製剤は、１つ又は複数の層を含んでいてもよく、かつコーティングされていても又はコーティングされていなくてもよい；それは、さらにカプセル封入されていてもよい。
経口投与用の固体製剤は、即時型及び／又は改変型の放出であるように製剤化されてもよい。改変型の放出製剤は、遅延型、持続型、パルス型、調節型、標的化型及びプログラム型の放出を含む。
本発明の医薬組成物は、血流中、筋肉内、又は内部器官内に直接に投与されてもよい。非経口投与のための好適な手段としては、静脈内、動脈内、腹腔内、髄腔内、心室内、尿道内、胸骨内、頭蓋内、筋肉内及び皮下が含まれる。非経口投与のための好適な装置としては、有針（マイクロニードルを含む）注射器、無針注射器及び注入技術が含まれる。
【００７７】
非経口製剤は、典型的には、塩、炭水化物及び（好ましくは３～９のｐＨにする）緩衝剤などの賦形剤を含みうる水溶液であるが、一部の適用では、それらは無菌の非水溶液として、又は無菌の発熱物質を含まない水などの好適なビヒクルと組み合わせて使用される乾燥形態としてより好適に製剤化されうる。
例えば凍結乾燥による、無菌条件下での非経口製剤の調製は、当業者によく知られている標準的な製薬技術を使用して容易に達成されうる。
非経口溶液の調製において使用される本発明の医薬組成物の溶解性は、溶解促進剤の配合のような、適切な製剤技術の使用によって増大させることができる。
非経口投与用の製剤は、即時型及び／又は改変型の放出であるように製剤化されてもよい。改変型の放出製剤は、遅延型、持続型、パルス型、調節型、標的化型及びプログラム型の放出を含む。したがって、本発明の化合物は、有効化合物の改変型放出を提供するイ

ンプラント型デポーとして投与するための固体、半固体、又はチキソトロピー液体として製剤化されてもよい。このような製剤の例には、薬物コーティングステント及びＰＧＬＡポリ（ｄｌ－乳酸－コグリコール）酸（ＰＧＬＡ）マイクロスフェアが含まれる。

【００７８】

本発明の医薬組成物はまた、皮膚又は粘膜、すなわち皮膚又は経皮的に局所的に投与されうる。この目的のための典型的な製剤としては、ゲル、ヒドロゲル、ローション、溶液、クリーム、軟膏、撒布粉剤、包帯、フォーム、フィルム、皮膚パッチ、オブラート、インプラント、スポンジ、繊維、絆創膏及びマイクロエマルションが含まれる。

リポソームも使用されうる。典型的な担体としては、アルコール、水、鉱油、流動ワセリン、白色ワセリン、グリセリン、ポリエチレングリコール及びプロピレングリコールが含まれる。浸透促進剤が配合されてもよい。局所投与の他の手段としては、エレクトロポレーション、イオントフォレーシス、フォノフォレーシス、ソノフォレーシス及びマイクロニードル又は無針（例えば、Ｐｏｗｄｅｒｊｅｃｔ（商標）、Ｂｉｏｊｅｃｔ（商標）など）の注射による送達が含まれる。局所投与用の製剤は、即時型及び／又は改変型の放出であるように製剤化されてもよい。改変型の放出製剤は、遅延型、持続型、パルス型、調節型、標的化型及びプログラム型の放出を含む。

【００７９】

ヒト患者への投与では、本発明のアプタマー及び／又は本発明の医薬組成物の総日用量は、当然、投与の様式に、依存して典型的には０．００１ｍｇ～５０００ｍｇの範囲内である。例えば、静脈内の日用量は、０．００１ｍｇ～４０ｍｇのみを必要としうる。総日用量は、単回用量又は分割用量で投与されてもよく、かつ、医師の判断で、本明細書に示されている典型的な範囲から外れていてもよい。

これらの用量は、約７５ｋｇ～８０ｋｇの体重を有する平均的なヒト対象に基づいている。医師は、小児及び高齢者のように、体重がこの範囲外にある対象に対する用量を容易に決定することができることになる。

本発明は、本発明のアプタマー、医薬組成物、容器及び任意選択で書面による使用説明書を含み、かつ／又は投与のための手段を有するキットも包含する。

【００８０】

疾患の治療及び／又は診断のために、投与の経路にかかわらず、本発明のアプタマーは、２０ｍｇ／ｋｇ体重以下の、好ましくは、１０ｍｇ／ｋｇ体重以下の、より好ましくは、１μｇ／ｋｇ～２０ｍｇ／ｋｇ体重の範囲から選択される、最も好ましくは、０．０１～１０ｍｇ／ｋｇ体重の範囲から選択される、治療サイクル当たりの日用量で投与される。

【００８１】

一実施形態では、本発明は、Ｇタンパク質共役受容体、好ましくは、Ｇタンパク質共役受容体であるアドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ２受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体に特異的な、例えば自己抗体のような、抗体のｉｎ　ｖｉｔｒｏ検出及び／又は特徴付けにおける使用のための本発明のアプタマーを目的とする。したがって、本発明の好ましい一実施形態は、Ｇタンパク質共役受容体、好ましくは、ヒトＧタンパク質共役受容体であるアドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体に特異的な抗体のｉｎ　ｖｉｔｒｏ検出のための請求項１から８までのいずれか１項に定義されているようなアプタマーの使用を目的とする。

このような使用は、有効量の本発明のアプタマーの存在下及び非存在下でのラット心筋細胞拍動頻度アッセイにおける試料の試験を含みうる。試料及び本発明のアプタマーが拍動頻度に及ぼす影響によって、当業者は、個々の抗体の存在を結論づけることができる。

試料中のこのような抗体の総量又は相対量についてのデータも、このような抗体の他の特性についてのデータとともに得られうる。

【００８２】

いわゆるラット心筋細胞拍動頻度アッセイは、例えば、ヒトアドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ２受容体、アンギオテンシンＩＩＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体のようないくつかのヒトＧタンパク質共役受容体に特異的な抗体、例えば、患者由来の自己抗体の検出及び特徴付けのための十分に確立されたアッセイである。

【００８３】

このアッセイは、Wallukat et al. (1987) Effects of the serum gamma globulin fraction of patients with allergic asthma and dilated cardiomyopathy on chromotropic beta adrenoceptor function in cultured neonatal rat heart myocytes, Biomed. Biochim. Acta 46, 634 - 639；Wallukat et al. (1988) Cultivated cardiac muscle cells - a functional test system for the detection of autoantibodies against the beta adrenergic receptor, Acta Histochem. Suppl. 35, 145- 149；及びWallukat et al. (2010) Distinct patterns of autoantibodies against G-protein coupled receptors in Chagas' cardiomyopathy and megacolon. Their potential impact for early risk assessment in asymptomatic Chagas' patients, J. Am. Col. Cardiol. 55, 463 - 468において詳細に説明されている。したがって、当業者はこのアッセイの性質を十分に認識しており、その適用方法を知っている。

【００８４】

このような抗体の検出及び／又は特徴付けのために、本発明のアプタマーは、溶液中で又は固定化形態で使用されうる。

本発明のアプタマーは、前記抗体の直接的又は間接的な検出及び／又は特徴付けのために使用されてもよい。

【００８５】

本発明の別の態様によれば、アプタマーオリゴヌクレオチドを調製するための方法であって、

アプタマー配列として使用されるヌクレオチド配列を決定するステップであって、

ａ．）Ｑは、自然数のセットであり、

ｂ．）Ｆは、

Ｆ：＝｛Ｘ∈Ｑ｜（Ｘ＞１）｝

と定義される自然数のサブセットであり、

ｃ．）Ｆを使用して、

【数３】

$$(1)\quad \forall X \in F \exists M : M \rightarrow CXLCX$$

$$(2)\quad \forall X \in F \exists K : K \rightarrow CXLBX$$

$$(3)\quad \forall X \in F \exists V : V \rightarrow CXL$$

$$(4)\quad \forall X \in F : CX \rightarrow BXLBX$$

$$(5)\quad \forall X \in F : BX \rightarrow \prod_{1}^{X} G$$

と定義され、

ｄ．）Ｕは、

Ｕ＝｛Ｓ，Ｍ，Ｎ，Ｄ，Ｅ，Ｙ，Ｈ，Ｒ，Ｚ，Ｌ，ＢＸ，ＣＸ，Ｋ，Ｖ｝

と定義される１セットの非終端であり、
　ここでＢＸ及びＣＸについてはｃ）の通りであり、
ｅ．）Ｗは、
　Ｗ＝｛Ａ，Ｃ，Ｇ，Ｔ，$Ｇ^{Ｘ}$｝
と定義される１セットの非終端であり、
　ここで$Ｇ^{Ｘ}$は、ｂ．）及びｃ．）の（５）に従って導き出せるすべての終端を表し、
ｆ．）Ｓ∈Ｕは、開始記号である
という条件での、生成規則Ｐのセット：
　Ｐ＝｛

Ｓ	→	Ｍ｜Ｙ｜Ｄ｜Ｅ｜Ｈ	（１）
Ｍ	→	ＮＲＭ	（２）
Ｍ	→	ＭＲ	（３）
Ｍ	→	ＲＭ	（４）
Ｎ	→	Ｍ	（５）
Ｄ	→	ＹＭ	（６）
Ｅ	→	ＶＭ	（６ａ）
Ｙ	→	Ｋ｜ＫＬ｜ＬＫ｜ＬＫＬ	（７）
Ｈ	→	ＬＶ｜Ｖ	（８）
Ｒ	→	Ｌ	（９）
Ｚ	→	Ａ｜Ｃ｜Ｇ｜Ｔ	（１０）
Ｌ	→	ＺＬ｜Ｚ	（１１）
ＢＸ	→	$Ｇ^{Ｘ}$	（１２）
ＣＸ	→	ＢＸＬＢＸ	（１３）
Ｍ	→	ＣＸＬＣＸ	（１４）
Ｋ	→	ＣＸＬＢＸ	（１５）
Ｖ	→	ＣＸＬ	（１６）

　｝
の適用を含み、式中、「Ａ」はアデニンヌクレオチドを意味し、「Ｃ」はシトシンヌクレオチドを意味し、「Ｇ」はグアニンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＤＮＡ配列である場合にはチミンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である場合にはウラシルヌクレオチドを意味する、ステップと、第１のステップで得られたヌクレオチド配列を有するアプタマーオリゴヌクレオチドを作製するステップとを含む、方法が提供される。

【００８６】

好ましい実施形態によれば、アプタマー配列として使用されるヌクレオチド配列を決定するステップは、以下のコンセンサス配列

$$Ｓ_{i}－（ＧＧＧ－Ｓ－ＧＧＧ－Ｓ）_{n}－（ＧＧＧ－Ｓ－ＧＧＧ）_{k}－Ｓ_{m}　　（１）$$

の適用を含み、
式中、ｎ＞１；
ｉ，ｍ，ｋ＝０，１であり；
Ｓ＝｛Ａ，Ｃ，Ｇ，Ｔ｝$^{+}$又は｛Ａ，Ｃ，Ｇ｝$^{+}$又は｛Ａ，Ｃ，Ｔ｝$^{+}$又は｛Ａ，Ｇ，Ｔ｝$^{+}$又は｛Ｃ，Ｇ，Ｔ｝$^{+}$又は｛Ａ，Ｃ｝$^{+}$又は｛Ａ，Ｇ｝$^{+}$又は｛Ａ，Ｔ｝$^{+}$又は｛Ｃ，Ｇ｝$^{+}$又は｛Ｃ，Ｔ｝$^{+}$又は｛Ｇ，Ｔ｝$^{+}$又は｛Ａ｝$^{+}$又は｛Ｃ｝$^{+}$又は｛Ｔ｝$^{+}$であり、ここで｛｝$^{+}$は、所与のアルファベットセットの正クリーネ閉包を表す。

正クリーネ閉包という用語は、有限な、空集合でない記号のセット（語彙又はアルファベット）のメンバーの連結の方法を説明するものである。このプロセスの結果として、新しい単語（記号の配列）が生成されることになる。それぞれの単語は、ゼロより大きい長さを有する。

【００８７】

本発明の別の好ましい実施形態によれば、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に

関連する自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用のための式（１）のコンセンサス配列を満たすヌクレオチド配列を含むアプタマーが提供され、式中、「Ａ」はアデニンヌクレオチドを意味し、「Ｃ」はシトシンヌクレオチドを意味し、「Ｇ」はグアニンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＤＮＡ配列である場合にはチミンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である場合にはウラシルヌクレオチドを意味し、該アプタマーは、ヌクレオチド配列ＣＧＣＣＴＡＧＧＴＴＧＧＧＴＡＧＧＧＴＧＧＴＧＧＣＧ（配列番号２４）を含まない。

【００８８】

さらに別の好ましい実施形態によれば、アプタマー配列として使用されるヌクレオチド配列を決定するステップは、以下のコンセンサス配列

$$S_i-(GG-S-GG-S)_n-(GG-S-GG)_k-S_m \qquad (2)$$

の適用を含み、

式中、ｎ＞１；

ｉ，ｍ，ｋ＝０，１であり；

Ｓ＝｛Ａ，Ｃ，Ｇ，Ｔ｝$^+$又は｛Ａ，Ｃ，Ｇ｝$^+$又は｛Ａ，Ｃ，Ｔ｝$^+$又は｛Ａ，Ｇ，Ｔ｝$^+$又は｛Ｃ，Ｇ，Ｔ｝$^+$又は｛Ａ，Ｃ｝$^+$又は｛Ａ，Ｇ｝$^+$又は｛Ａ，Ｔ｝$^+$又は｛Ｃ，Ｇ｝$^+$又は｛Ｃ，Ｔ｝$^+$又は｛Ｇ，Ｔ｝$^+$又は｛Ａ｝$^+$又は｛Ｃ｝$^+$又は｛Ｔ｝$^+$であり、

ここで｛｝$^+$は、所与のアルファベットセットの正クリーネ閉包を表す。

【００８９】

本発明の別の好ましい実施形態によれば、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用のための式（２）のコンセンサス配列を満たすヌクレオチド配列を含むアプタマーが提供され、式中、「Ａ」はアデニンヌクレオチドを意味し、「Ｃ」はシトシンヌクレオチドを意味し、「Ｇ」はグアニンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＤＮＡ配列である場合にはチミンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である場合にはウラシルヌクレオチドを意味し、該アプタマーは、ヌクレオチド配列ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴＴＧＧ（配列番号２２）、ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴ（配列番号２３）又はＣＧＣＣＴＡＧＧＴＴＧＧＧＴＡＧＧＧＴＧＧＴＧＧＣＧ（配列番号２４）を含まない。

【００９０】

別の好ましい実施形態によれば、アプタマー配列として使用されるヌクレオチド配列を決定するステップは、以下のコンセンサス配列

$$S_i-P-(LM)_j-E_k; \qquad (3)$$

の適用を含み、

式中、ｉ，ｋ＝０，１であり；

ｊ＞＝０であり；

$P=(G_m-(X)-G_m-(Y)-G_m-(Z)-G_m)$であり；

$M=(G_m-(X)-G_m-(Y)-G_m-(Z)-G_m)$であり；

ｍ＞１であり；

Ｓ，Ｌ，Ｅ，Ｘ，Ｙ，Ｚ＝｛Ａ，Ｃ，Ｇ，Ｔ｝$^+$又は｛Ａ，Ｃ，Ｇ｝$^+$又は｛Ａ，Ｃ，Ｔ｝$^+$又は｛Ａ，Ｇ，Ｔ｝$^+$又は｛Ｃ，Ｇ，Ｔ｝$^+$又は｛Ａ，Ｃ｝$^+$又は｛Ａ，Ｇ｝$^+$又は｛Ａ，Ｔ｝$^+$又は｛Ｃ，Ｇ｝$^+$又は｛Ｃ，Ｔ｝$^+$又は｛Ｇ，Ｔ｝$^+$又は｛Ａ｝$^+$又は｛Ｃ｝$^+$又は｛Ｔ｝$^+$であり、ここで｛｝$^+$は、所与のアルファベットセットの正クリーネ閉包を表す。

【００９１】

本発明の別の好ましい実施形態によれば、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用のための式（３）のコンセンサス配列を満たすヌクレオチド配列を含むアプタマーが提供され、式中、「Ａ」はアデニンヌクレオチドを意味し、「Ｃ」はシトシンヌクレオチドを意味し、「Ｇ」はグアニンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＤＮＡ配列である場合にはチミンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である場合にはウラシルヌクレオチドを意味し、該アプタマーは、ヌクレオチド配列ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴＴＧＧ（

配列番号２２）、ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴ（配列番号２３）又はＣＧＣＣＴＡＧＧＴＴＧＧＧＴＡＧＧＧＴＧＧＴＧＧＣＧ（配列番号２４）を含まない。

【００９２】

別の好ましい実施形態によれば、アプタマー配列として使用されるヌクレオチド配列を決定するステップは、以下のコンセンサス配列

$S_i－P－E_j$；　　（４）

の適用を含み、

式中、ｉ，ｊ＝０，１であり；

Ｐ＝（G_m－（Ｘ）－G_m－（Ｙ）－G_m）の適用を含む；

ｍ＞１の適用を含む；

Ｘ，Ｙ，Ｓ，Ｅ＝｛Ａ，Ｃ，Ｇ，Ｔ｝$^+$又は｛Ａ，Ｃ，Ｇ｝$^+$又は｛Ａ，Ｃ，Ｔ｝$^+$又は｛Ａ，Ｇ，Ｔ｝$^+$又は｛Ｃ，Ｇ，Ｔ｝$^+$又は｛Ａ，Ｃ｝$^+$又は｛Ａ，Ｇ｝$^+$又は｛Ａ，Ｔ｝$^+$又は｛Ｃ，Ｇ｝$^+$又は｛Ｃ，Ｔ｝$^+$又は｛Ｇ，Ｔ｝$^+$又は｛Ａ｝$^+$又は｛Ｃ｝$^+$又は｛Ｔ｝$^+$であり、ここで｛｝$^+$は、所与のアルファベットセットの正クリーネ閉包を表す。

【００９３】

本発明の別の好ましい実施形態によれば、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用のための式（４）のコンセンサス配列を満たすヌクレオチド配列を含むアプタマーが提供され、式中、「Ａ」はアデニンヌクレオチドを意味し、「Ｃ」はシトシンヌクレオチドを意味し、「Ｇ」はグアニンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＤＮＡ配列である場合にはチミンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である場合にはウラシルヌクレオチドを意味し、該アプタマーは、ヌクレオチド配列ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴＴＧＧ（配列番号２２）、ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴ（配列番号２３）又はＣＧＣＣＴＡＧＧＴＴＧＧＧＴＡＧＧＧＴＧＧＴＧＧＣＧ（配列番号２４）を含まない。

本発明の方法を使用して、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用のための治療及び／又は診断用のアプタマーとして有効であるために必要かつ十分な構造パターンを有するヌクレオチド配列を決定することが可能である。

【００９４】

本発明のアプタマーの配列は、本発明による方法の使用によって生成されうる。以下において、本発明による配列番号１２の配列の由来が例示的に示される：

配列＃１２の由来：（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’）

Ｘ　＝　２

Ｓ　→　Ｍ

　　→　ＮＲＭ

　　→　ＭＲＭ

　　→　Ｃ２ＬＣ２ＲＭ

　　→　Ｃ２ＬＣ２ＲＣ２ＬＣ２

　　→　Ｂ２ＬＢ２ＬＣ２ＲＣ２ＬＣ２

　　→　Ｂ２ＬＢ２ＬＢ２ＬＢ２ＲＣ２ＬＣ２

　　→　Ｂ２ＬＢ２ＬＢ２ＬＢ２ＲＢ２ＬＢ２ＬＣ２

　　→　Ｂ２ＬＢ２ＬＢ２ＬＢ２ＲＢ２ＬＢ２ＬＢ２ＬＢ２

　　→　ＧＧＬＢ２ＬＢ２ＬＢ２ＲＢ２ＬＢ２ＬＢ２ＬＢ２

　　→　ＧＧＬＧＧＬＢ２ＬＢ２ＲＢ２ＬＢ２ＬＢ２ＬＢ２

　　→　ＧＧＬＧＧＬＧＧＬＢ２ＲＢ２ＬＢ２ＬＢ２ＬＢ２

　　→　ＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧＲＢ２ＬＢ２ＬＢ２ＬＢ２

　　→　ＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧＲＧＧＬＢ２ＬＢ２ＬＢ２

　　→　ＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧＲＧＧＬＧＧＬＢ２ＬＢ２

　　→　ＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧＲＧＧＬＧＧＬＧＧＬＢ２

→ ＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧＲＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＺＧＧＬＧＧＬＧＧＲＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＬＧＧＬＧＧＲＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＺＧＧＬＧＧＲＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＬＧＧＲＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＺＧＧＲＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＲＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＺＬＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＺＺＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＺＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＧＬＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＧＺＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＧＴＧＧＬＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＧＴＧＧＺＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＬＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＺＧＧ
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ　配列番号１２

【００９５】

移動還元構文解析を使用して、配列番号１２の配列は、以下の表に挙げられる文法の規則を適用した後に、無作為化された配列のプールにおいて有効な配列として認識もされうる。入力配列が開始記号Ｓまで還元されうるので、この配列は、定義された文法について有効な文字列である。

【００９６】

【表１】

配列	動作	スタック	規則
GGTGGTGGTGGTTGGTGGTGGTGG	開始	$	
GGTGGTGGTGGTTGGTGGTGGTGG	移動	GG	
GGTGGTGGTGGTTGGTGGTGGT	還元	B2	12a
GGTGGTGGTGGTTGGTGGTGGT	移動	TB2	
GGTGGTGGTGGTTGGTGGTGG	還元	ZB2	10
GGTGGTGGTGGTTGGTGGTGG	還元	LB2	11
GGTGGTGGTGGTTGGTGGTGG	移動	GGLB2	
GGTGGTGGTGGTTGGTGGT	還元	B2LB2	12a
GGTGGTGGTGGTTGGTGGT	還元	C2	13a
GGTGGTGGTGGTTGGTGGT	移動	TC2	
GGTGGTGGTGGTTGGTGG	還元	ZC2	10
GGTGGTGGTGGTTGGTGG	還元	LC2	11
GGTGGTGGTGGTTGGTGG	移動	GGLC2	
GGTGGTGGTGGTTGGT	還元	B2LC2	12a
GGTGGTGGTGGTTGGT	移動	TB2LC2	
GGTGGTGGTGGTTGG	還元	ZB2LC2	10
GGTGGTGGTGGTTGG	還元	LB2LC2	11
GGTGGTGGTGGTTGG	移動	GGLB2LC2	
GGTGGTGGTGGTT	還元	B2LB2LC2	12a
GGTGGTGGTGGTT	還元	C2LC2	13a
GGTGGTGGTGGTT	還元	M	14a
GGTGGTGGTGGTT	移動	TM	
GGTGGTGGTGGT	還元	ZM	10
GGTGGTGGTGGT	還元	LM	11
GGTGGTGGTGGT	移動	TLM	
GGTGGTGGTGG	還元	ZLM	11
GGTGGTGGTGG	還元	LM	11
GGTGGTGGTGG	還元	RM	9

GGTGGTGGTGG	移動	GGRM	
GGTGGTGGT	還元	B2RM	12a
GGTGGTGGT	移動	TB2RM	
GGTGGTGG	還元	ZB2RM	11
GGTGGTGG	還元	LB2RM	11
GGTGGTGG	移動	GGLB2RM	
GGTGGT	還元	B2LB2RM	12a
GGTGGT	還元	C2RM	13a
GGTGGT	移動	TC2RM	
GGTGG	還元	ZC2RM	11
GGTGG	還元	LC2RM	11
GGTGG	移動	GGLC2RM	
GGT	還元	B2LC2RM	12a
GGT	移動	TB2LC2RM	
GG	還元	ZB2LC2RM	11
GG	還元	LB2LC2RM	11
GG	移動	GGLB2LC2RM	
$	還元	B2LB2LC2RM	12
$	還元	C2LC2RM	13a
$	還元	MRM	14a
$	還元	NRM	5
$	還元	M	2
$	還元	S	1
$	受理		

【００９７】

本発明による配列番号３、１０及び１５の特許請求されるアプタマー配列の由来のさらなる実例は、以下に示される：

配列＃３の由来：（５’－ＧＧＴＴＧＧＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧ－３’）

Ｘ　＝　３

Ｓ　→　Ｍ

　　→　ＲＭ

　　→　ＬＭ

　　→　ＬＣ３ＬＣ３

　　→　ＺＬＣ３ＬＣ３

　　→　ＺＺＬＣ３ＬＣ３

　　→　ＺＺＺＬＣ３ＬＣ３

→ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｌ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｌ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｌ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｌ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｌ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｇ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｇ Ｇ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｚ Ｚ Ｚ Ｚ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｚ Ｚ Ｚ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｚ Ｚ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｚ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｚ Ｃ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３ Ｌ Ｃ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｌ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｚ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｌ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｚ Ｌ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｚ Ｚ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｚ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｂ ３ Ｌ Ｂ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｌ Ｂ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｚ Ｂ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｂ ３
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｇ　　配列番号３

配列＃１０の由来：（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’）

Ｘ ＝ ２
Ｓ → Ｍ
→ Ｃ ２ Ｌ Ｃ ２
→ Ｂ ２ Ｌ Ｂ ２ Ｌ Ｃ ２
→ Ｇ Ｇ Ｌ Ｂ ２ Ｌ Ｃ ２
→ Ｇ Ｇ Ｚ Ｂ ２ Ｌ Ｃ ２
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｂ ２ Ｌ Ｃ ２
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｌ Ｃ ２
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｚ Ｃ ２
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｔ Ｃ ２
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｔ Ｂ ２ Ｌ Ｂ ２
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｌ Ｂ ２
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｚ Ｂ ２
→ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｔ Ｇ Ｇ Ｔ Ｂ ２
→ ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ　　配列番号１０

配列＃１５の由来：（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴ
ＧＧＴＴＴ－３’）

Ｘ ＝ ２
Ｓ → Ｍ
→ ＲＭ
→ ＲＮＲＭ

→ R N R M R
→ R M R M R
→ L M R M R
→ Z L M R M R
→ Z Z L M R M R
→ Z Z Z M R M R
→ T Z Z M R M R
→ T T Z M R M R
→ T T T M R M R
→ T T T C 2 L C 2 R M R
→ T T T B 2 L B 2 L C 2 R M R
→ T T T G G L B 2 L C 2 R M R
→ T T T G G L B 2 L C 2 R M R
→ T T T G G Z B 2 L C 2 R M R
→ T T T G G T B 2 L C 2 R M R
→ T T T G G T G G L C 2 R M R
→ T T T G G T G G Z C 2 R M R
→ T T T G G T G G T C 2 R M R
→ T T T G G T G G T B 2 L B 2 R M R
→ T T T G G T G G T G G L B 2 R M R
→ T T T G G T G G T G G Z B 2 R M R
→ T T T G G T G G T G G T B 2 R M R
→ T T T G G T G G T G G T G G R M R
→ T T T G G T G G T G G T G G L M R
→ T T T G G T G G T G G T G G Z L M R
→ T T T G G T G G T G G T G G Z Z L M R
→ T T T G G T G G T G G T G G Z Z Z L M R
→ T T T G G T G G T G G T G G Z Z Z Z M R
→ T T T G G T G G T G G T G G T Z Z Z M R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T Z Z M R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G Z M R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T M R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T C 2 L C 2 R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T B 2 L B 2 L C 2 R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G L B 2 L C 2 R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G Z B 2 L C 2 R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T B 2 L C 2 R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T G G L C 2 R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T G G Z C 2 R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T G G T C 2 R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T G G T G G T B 2 L B 2 R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T G G T G G L B 2 R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T G G T G G Z B 2 R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T G G T G G T B 2 R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T G G T G G T G G R
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T G G T G G T G G L
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T G G T G G T G G Z L
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T G G T G G T G G Z Z L
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T G G T G G T G G Z Z Z
→ T T T G G T G G T G G T G G T T G T G G T G G T G G T G G T Z Z

→ ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＺ
→ ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴ 配列番号１５

【００９８】
本明細書中に記載のような本発明のすべての実施形態は、当業者がこのような組合せをいかなる技術的意味もなさないと考えない限り、あらゆる組合せで組み合わされるものとみなされる。

【実施例】

【００９９】
自己抗体活性の評価のための機能アッセイ（Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体、ＡＡＢ）
本発明のアプタマーのＡＡＢ中和能の評価のために、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体（ＡＡＢ）を同定及び定量することができる機能アッセイを利用した。

【０１００】
この機能アッセイでは、患者のＡＡＢに応答することができる自発的に拍動しているラット心筋細胞を利用し、精製されたＩｇＧ画分の一定分量を添加したときに、それらの拍動頻度における変化、すなわち変時反応を示した。変時反応は、アドレナリン作動性のベータ１受容体、ベータ２受容体又はアルファ１受容体、ムスカリンＭ２受容体及びエンドセリン受容体Ａ型（ＥＴＡ受容体）を標的とするもののようなＡＡＢを刺激することによって引き起こされる陽性変時作用又は陰性変時作用の合計であり、基礎拍動頻度に対する差であるデルタ拍動／時間として表される。

【０１０１】
アレルギー性喘息を有する患者において見出されるベータ２アドレナリン受容体ＡＡＢなどのＡＡＢを阻害することは、ベータ２アドレナリン作動性アゴニストによって誘発される陽性変時効果に拮抗する。
ＡＡＢ種を変時反応（陽性又は陰性の変時作用）に対するそれらの寄与に関して区別するために、ベータ２－ＡＡＢについてはＩＣＩ－１１８．５５１、Ｍ２－ＡＡＢについてはアトロピン、ベータ１／ベータ２－ＡＡＢについてはプロプラノロール、ＥＴＡ受容体についてはＢＱ６１０又はＢＱ１２３、アルファ１アドレナリン受容体についてはプラゾシン又はウラピジル、及びＡＴ１受容体についてはイベサルタン又はロサルタンなどの特異的なアンタゴニストの存在下で、解析を行った。特異的に遮断されたものを除き、残りの活性変化は、ＡＡＢによって引き起こされる。

【０１０２】
さらに、ＡＡＢ活性を中和することができる受容体の細胞外構造に対応するＧタンパク質共役受容体のペプチドを使用して、ＡＡＢの特異性をより詳細に解析した。同様の方法で、アプタマーをそれらのＡＡＢ中和能について試験した。
この機能アッセイは、すべてのヒト血清ＡＡＢ、及びその配列がヒト受容体に対するホモログであり（ＡＡＢ標的化のための前提条件）かつＧタンパク質系などの細胞の拍動頻度（収縮性、変時作用）を調節するタンパク質カスケードに関連する細胞表面上の受容体を標的とする他の分子を検出及び定量することができる。

【０１０３】
新生仔心筋細胞の調製
新生仔心筋細胞の調製のために、１～３日齢のラットの心臓を滅菌条件下で摘出し、ペニシリン／ストレプトマイシンを含むリン酸緩衝生理食塩水溶液（ＰＢＳ）に移した。心室組織の分離後、それを断片に切断し、１０ｍｌのＰＢＳで２回洗浄した。その後、切断した心室断片を、３０ｍｌのＰＢＳ／０．２％トリプシン中に懸濁して３７℃で１５分間インキュベートした。トリプシン処理プロセスを、５ｍｌの氷冷された熱失活された新生仔ウシ血清を添加することによって停止した。得られた懸濁液を遠心分離し（１３０×ｇ、１５分）、ペレットを２０ｍｌのＳＭ２０－Ｉ培地に移した。得られた懸濁液の一定分量を同量のトリパンブルー溶液で希釈して、細胞を計数した。

湿り空気で平衡されて１０％の熱失活された新生仔ウシ血清、２μＭのフルオロデオキシウリジンで補われたＳＭ２０－Ｉ培地を含む２．０ｍｌのグルコース中に懸濁された２．４×１０^{6}個の細胞を、単層として３７℃で４日間培養するために１２．５ｃｍ^{2}のＦａｌｃｏｎフラスコに移した。培地を、１日目及びその後２日毎に新しいものと交換した。実験は、フラスコ内で実施された。

【０１０４】

ＡＡＢ測定のための血清試料の調製

ＡＡＢ測定に好適なＩｇＧ画分の調製のために、１ｍｌの血清及び６６０μｌの飽和硫酸アンモニウム溶液を混合し（最終濃度４０％の硫酸アンモニウム）、４℃で１８時間インキュベートし、６，０００×ｇで１５分間遠心分離した。

ペレットを７５０μｌのＰＢＳ中に再懸濁し、７５０μｌの飽和硫酸アンモニウム溶液と混合して（最終濃度５０％の硫酸アンモニウム）、再び遠心分離した。ペレットを７００μｌのＰＢＳ中に懸濁し、１００倍容量のＰＢＳに対して透析した。得られたＩｇＧ画分はＡＡＢを含んでおり、測定まで－２０℃で保存された。

【０１０５】

ＡＡＢ測定原理及びアプタマー試験セットアップ

実験は、１２．５ｃｍ^{2}のＦａｌｃｏｎフラスコ内で実施された。測定のために使用された６つの独立した細胞クラスターに印をつけ、印をつけた領域における基礎心筋細胞拍動数を記録した。

ＡＡＢ活性の測定のために、調製されたＩｇＧ試料を、図面内に示されているような最終希釈率（例えば、ＡＡＢ　１：５０、これは、２０００μｌの細胞培地中に上記のように調製された４０μｌのＩｇＧ溶液に相当する）で細胞に添加した。ＩｇＧ試料の添加後、フラスコを３７℃で６０分間インキュベートし、印をつけた領域における心筋細胞の拍動数を再び計数し、基礎拍動数に対する差を算定したところ、これは、陽性変時又は陰性変時のＡＡＢ活性についてそれぞれ陽性又は陰性であった。

アプタマー効果を試験するために、ＡＡＢを含むＩｇＧ試料を、混合物が心筋細胞に添加される前に１５分間、対応するアプタマー（図面内に示されているような配列番号）と共にプレインキュベートした。６０分（３７℃）のインキュベーション時間後、拍動頻度を評価し、基礎拍動数に対する差を算定した。２μｌのアプタマーの添加は、最終細胞フラスコ（２０００μｌの総容量）における１００ｎＭのアプタマーの添加に相当した。

【０１０６】

（例１）

アルファ１アドレナリン受容体ＡＡＢの活性を、新生仔心筋細胞の拍動数の増加を記録することによりモニターした（図１参照、カラム１：ＡＡＢ　１：５０）。図１のカラム２～５、及び７は、それぞれの配列（それぞれ配列番号２、３、１０、１５、及び２０）の１００ｎＭのアプタマーとのＡＡＢのプレインキュベーション後に低減したＡＡＢ活性を示す。図１のカラム６の結果は、本発明によるアプタマー配列ではない１００ｎＭの対照アプタマー配列（配列番号１９：ＴＣＧＡＧＡＡＡＡＡＣＴＣＴＣＣＴＣＴＣＣＴＴＣＣＴＴＣＣＴＣＴＣＣＡ）を使用することによって得られた。

【０１０７】

（例２）

ベータ１アドレナリン受容体ＡＡＢの活性を、新生仔心筋細胞の拍動数の増加を記録することによりモニターした（図２参照、カラム１：ＡＡＢ　１：５０）。図２のカラム２～５、及び７は、それぞれの配列（それぞれ配列番号２、３、１０、１５、及び２０）の１００ｎＭのアプタマーとのＡＡＢのプレインキュベーション後に低減したＡＡＢ活性を示す。図２のカラム６の結果は、本発明によるアプタマー配列ではない１００ｎＭの対照アプタマー配列（配列番号１９）を使用することによって得られた。

【０１０８】

（例３）

ＰＡＲ１／ＰＡＲ２受容体ＡＡＢの活性を、新生仔心筋細胞の拍動数の増加を記録する

ことによりモニターした（図３参照、カラム１：ＡＡＢ　１：５０）。図３のカラム２～５、及び７は、それぞれの配列（それぞれ配列番号２、３、１０、１５、及び２０）の１００ｎＭのアプタマーとのＡＡＢのプレインキュベーション後に低減したＡＡＢ活性を示す。図３のカラム６の結果は、本発明によるアプタマー配列ではない１００ｎＭの対照アプタマー配列（配列番号１９）を使用することによって得られた。

（例４）

エンドセリン１　ＥＴＡ受容体ＡＡＢの活性を、新生仔心筋細胞の拍動数の減少を記録することによりモニターした（図３参照、カラム１：ＡＡＢ　１：５０）。図３のカラム２～５、及び７は、それぞれの配列（それぞれ配列番号２、３、１０、１５、及び２０）の１００ｎＭのアプタマーとのＡＡＢのプレインキュベーション後に低減したＡＡＢ活性を示す。図４のカラム６の結果は、本発明によるアプタマー配列ではない１００ｎＭの対照アプタマー配列（配列番号１９）を使用することによって得られた。

【０１０９】

（例５）

β１－アドレナリン受容体ＡＡＢに対する配列番号１０及び配列番号２０のアプタマーの濃度依存的な影響を、新生仔心筋細胞の拍動数の増加を記録することによりモニターした（ｘ軸の表示におけるデータポイント「なし」は、：ＡＡＢ　１：５０に相当する）。これらの曲線は、アプタマー配列番号１０及び２０のアプタマー効果の用量依存性を可視化する。配列番号１９は本発明によるアプタマー配列ではないので、配列番号１９を使用して得られた曲線は対照として役立った。

（例６）

例６では、心筋細胞の基礎拍動数に対する、本発明のアプタマー（カラム１，２，３，４，６、及び７において示されるそれぞれ配列番号２、３、１０、１５、２０、及び１２）のそれ自体での効果が示される。図６のカラム５の結果は、本発明によるアプタマー配列ではない対照アプタマー配列（配列番号１９）を使用することによって得られた。

（例７）

ＡＡＢの活性を、新生仔心筋細胞の拍動数の増加を記録することによりモニターした（図７参照、カラム１：β１－ＡＡＢ　１番、１：５０、カラム３：β１－ＡＡＢ　２番、１：５０、カラム５：β１－ＡＡＢ　３番、１：５０、カラム７：アルファ１－ＡＡＢ　１番、１：５０、カラム８：アルファ１－ＡＡＢ　２番、１：５０、カラム１１：β２－ＡＡＢ　１番、１：５０、カラム１３：β２－ＡＡＢ　２番、１：５０）。図７のカラム２、４、６、８、１０、１２、１４は、１００ｎＭの配列番号１２のアプタマーにおける低減したＡＡＢ活性を示す（β１　ＡＡＢ１、β１　ＡＡＢ２、β１　ＡＡＢ　３、アルファ１　ＡＡＢ１、アルファ１　ＡＡＢ　２、β２－ＡＡＢ　１、β２－ＡＡＢ　２）。ＡＡＢ　１、２、及び３番は、異なる患者の材料から調製されたＡＡＢである。

【０１１０】

（例８）

例８は、上記の例２のように行われた。ベータ１アドレナリン受容体ＡＡＢの活性を、アプタマーの添加なし（図８参照、カラム１：ＡＡＢ　１：５０）及び本発明によるアプタマーの添加に応じての新生仔心筋細胞の拍動数の増加を記録することによりモニターした。本発明のアプタマーで処理されたすべての試料は、それぞれの配列（それぞれ図８内の配列番号１、４～７～９、１１～１４、及び１６～１８）の１００ｎＭ、４００ｎＭ又は１０００ｎＭのアプタマーとのＡＡＢのプレインキュベーション後に低減したＡＡＢ活性を示す。

【０１１１】

（例９）

例９は、上記の例２のように行われた。ベータ１アドレナリン受容体ＡＡＢの活性を、アプタマーの添加なし（図１０参照、カラム１：ＡＡＢ　１：５０）及び本発明によるアプタマーの添加に応じての新生仔心筋細胞の拍動数の増加を記録することによりモニターした。本発明のアプタマーで処理されたすべての試料は、それぞれの配列（それぞれ図８

内の配列番号２５～４５；これらの配列の相互の同一性については、図９を参照されたい）の１００ｎＭのアプタマーとのＡＡＢのプレインキュベーション後に低減したＡＡＢ活性を示す。配列番号３１～３４、４４及び４５の配列のアプタマーでの実験は、４００ｎＭの各アプタマー（以下の例１０内を参照されたい）を使用してさらに繰り返されている。

【０１１２】

（例１０）

例１０は、上記の例２のように行われた。ベータ１アドレナリン受容体ＡＡＢの活性を、アプタマーの添加なし（図１１参照、カラム１：ＡＡＢ　１：５０）及び本発明によるアプタマーの添加に応じての新生仔心筋細胞の拍動数の増加を記録することによりモニターした。本発明のアプタマーで処理されたすべての試料は、それぞれの配列（それぞれ配列番号３１～３４、４４及び４５）の４００ｎＭのアプタマーとのＡＡＢのプレインキュベーション後に低減したＡＡＢ活性を示す。

【０１１３】

（例１１）

例１１は、上記の例２のように行われた。ベータ１アドレナリン受容体ＡＡＢの活性を、アプタマーの添加なし（図１２参照、カラム１：ＡＡＢ　１：５０）及び本発明によらない対照配列の添加に応じての新生仔心筋細胞の拍動数の増加を記録することによりモニターした。対照配列で処理されたすべての試料は、それぞれの配列（それぞれ配列番号４６：５’－ＡＣＣＴＣＴＣＣＴＴＣＣＴＴＣＣＴＣＴＣＣＴＣＴＣＡＡＡＡＡＧＡＧＣＴ－３’，配列番号４７：５’－ＴＣＣＣＡＴＣＴＡＴＴＡＴＴＴＴＴＣＴＴＣＴＡＡＴＣＡＴＣ－３’，配列番号４８：５’－ＡＴＣＴＣＡＴＧＡＡＣＧＴＡＡＡＧＣＣＡＴＴＣＡＡＡＣＧ－３’，配列番号４９：５’－ＡＣＡＣＴＡＧＴＡＧＣＣＡＣＡＣＴＧＡＧ－３’，配列番号５０：５’－ＣＣＴＧＣＣＣＣＣＴＡＡＡ－３’）の１００ｎＭ、４００ｎＭ又は１０００ｎＭの対照とのＡＡＢのプレインキュベーション後に影響されないＡＡＢ活性を示す。

【０１１４】

（例１２）

例１２は、上記の例２のように行われた。（図１３において左から右に）鬱病又はシャーガス心筋症に罹っている患者から単離されたベータ１アドレナリン受容体ＡＡＢの活性を、アプタマーの添加なし（図１３参照、カラム１：ＡＡＢ　１：５０）及び１００ｎＭの本発明による配列番号１２のアプタマーの添加に応じての新生仔心筋細胞の拍動数の増加を記録することによりモニターした。本発明のアプタマーで処理された試料は、アプタマーが添加されていない対照試料と比較して、１００ｎＭの配列番号１２とのＡＡＢのプレインキュベーション後に低減したＡＡＢ活性を示す。

【０１１５】

（例１３）

例１３は、上記の例１２のように行われ、ここで、この例では、１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（図１４において左から右に）緑内障、統合失調症、シャーガス心筋症、溶血性尿毒症症候群（ＥＨＥＣ）又はアルツハイマー病に罹っている患者から単離されたベータ２アドレナリン受容体ＡＡＢの活性をモニターした。

（例１４）

例１４は、上記の例１２のように行われ、ここで、この例では、１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（図１５において左から右に）脱毛症、腎同種異系移植片拒絶反応又は腎性高血圧症(high blood pressure at kidney disease)に罹っている患者から単離されたＡＴ１　ＡＡＢの活性をモニターした。

（例１５）

例１５は、上記の例１２のように行われ、ここで、この例では、１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（図１６において左から右に）

肺動脈性肺高血圧症、レイノー病、狭心症又は腎性高血圧症に罹っている患者から単離されたＥＴＡ　ＡＡＢの活性をモニターした。

【０１１６】

（例１６）

例１６は、上記の例１２のように行われ、ここで、この例では、１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（図１７において左から右に）肺動脈性肺高血圧症、化学療法、多発性硬化症、脱毛症、円形脱毛症、溶血性尿毒症症候群（ＥＨＥＣ）、シェーグレン症候群、アルツハイマー病、神経皮膚炎、糖尿病Ｉ型又は乾癬に罹っている患者から単離されたアルファ１　ＡＡＢの活性をモニターした。

（例１７）

例１７は、上記の例１２のように行われ、ここで、この例では、１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（図１８において左から右に）レイノー病、狭心症又はシェーグレン症候群に罹っている患者から単離されたＰＡＲ　ＡＡＢの活性をモニターした。

【０１１７】

（例１８）

例１８は、上記の例１２のように行われ、ここで、この例では、１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（図１９において左から右に）化学療法、多発性硬化症又は糖尿病Ｉ型に罹っている患者から単離されたＭＡＳ　ＡＡＢの活性をモニターした。

（例１９）

例１９は、上記の例１２のように行われ、ここで、この例では、１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（図２０において左から右に）鬱病、統合失調症又は片頭痛／パーキンソン病に罹っている患者から単離された５ＨＴ４　ＡＡＢの活性をモニターした。

【０１１８】

（例２０）

例２０は、上記の例１２のように行われ、ここで、この例では、１００ｎＭの配列番号１２の本発明のアプタマーの非存在下又は存在下における（図２１において左から右に）シャーガス心筋症、円形脱毛症、片頭痛／パーキンソン病又はシェーグレン症候群に罹っている患者から単離されたＭ２　ＡＡＢの活性をモニターした。

【図１】

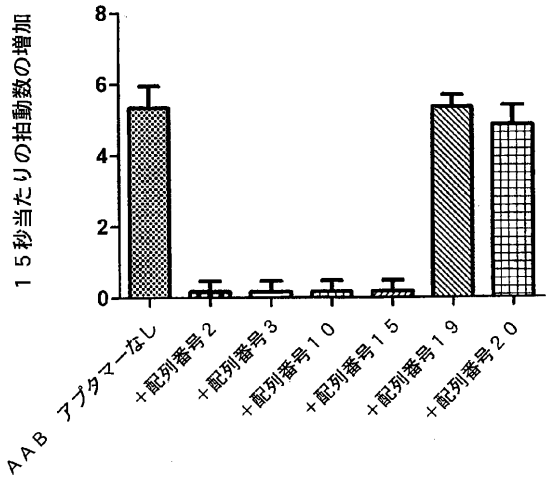


Figure 1

【図２】

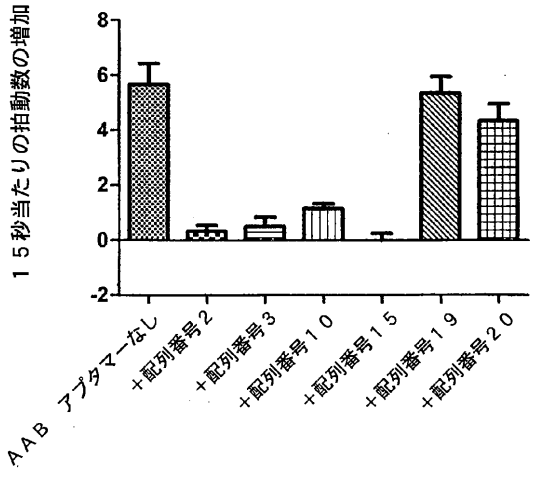


Figure 2

【図３】

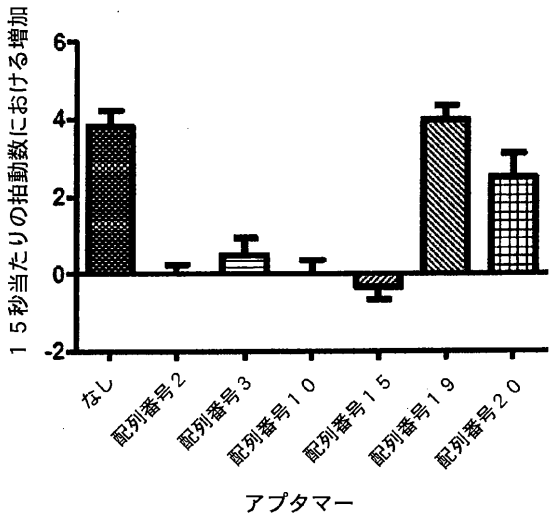


Figure 3

【図４】

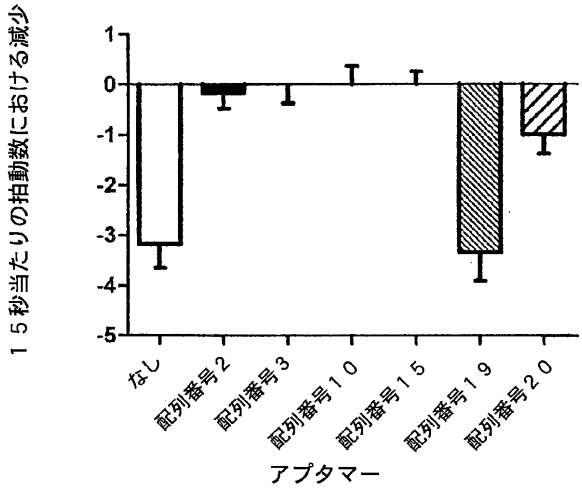


Figure 4

【図５】

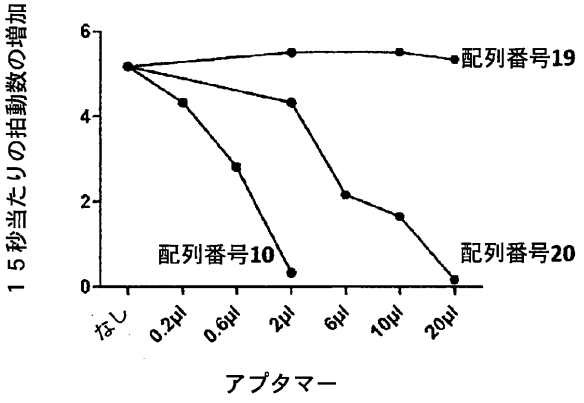


Figure 5

【図６】

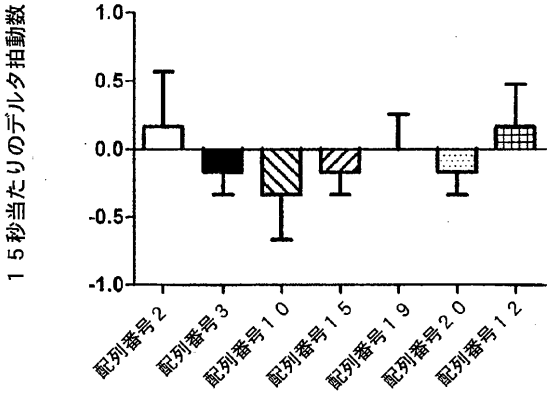


Figure 6

【図７】

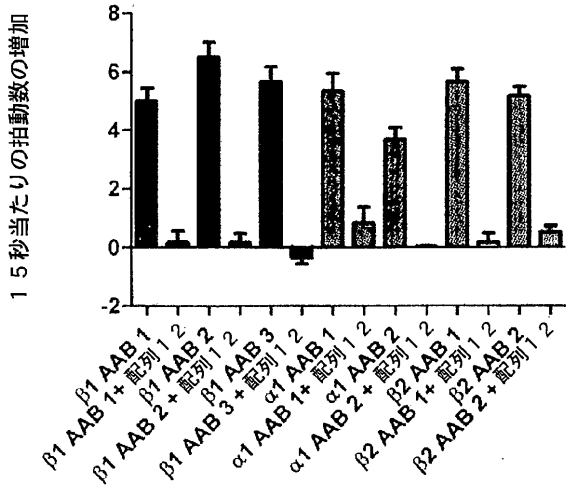


Figure 7

【図８】

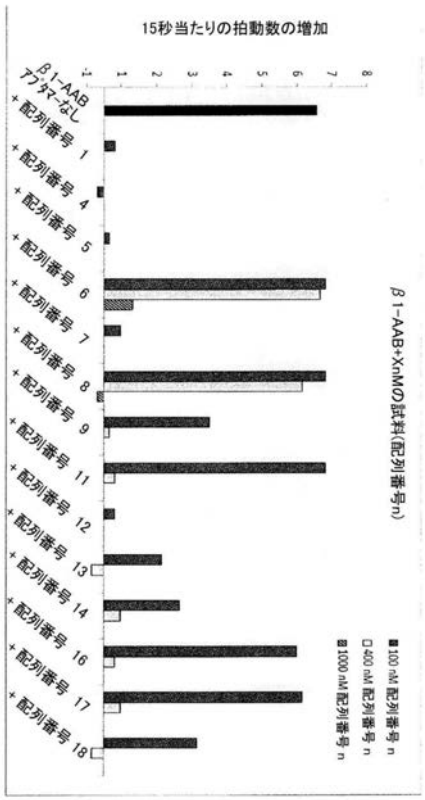


Figure 8

【図９】

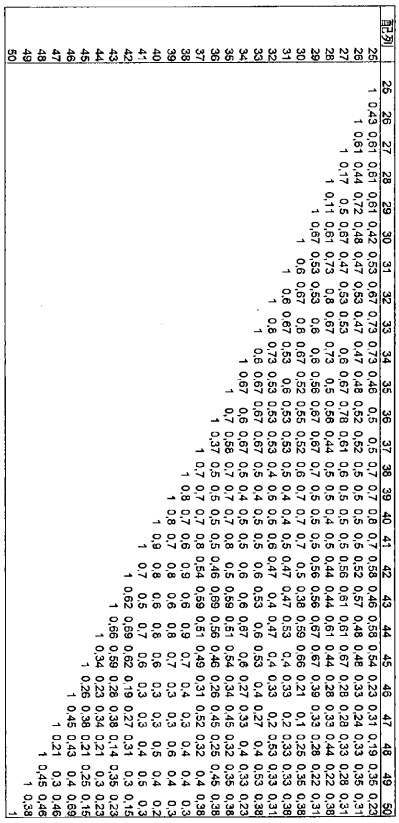


Figure 9

【図１０】

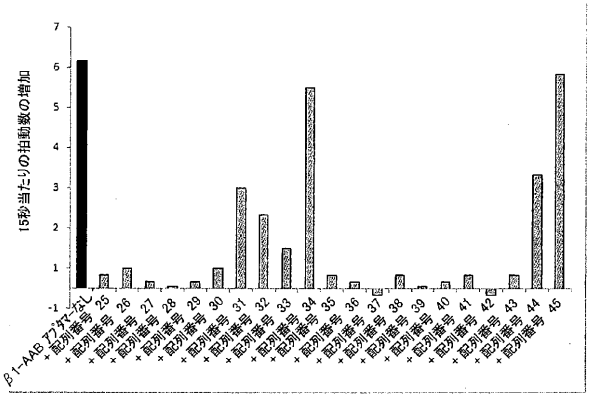


Figure 10

【図１１】

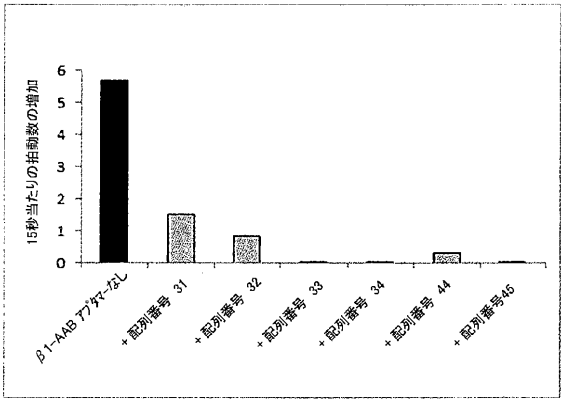


Figure 11

【図１２】

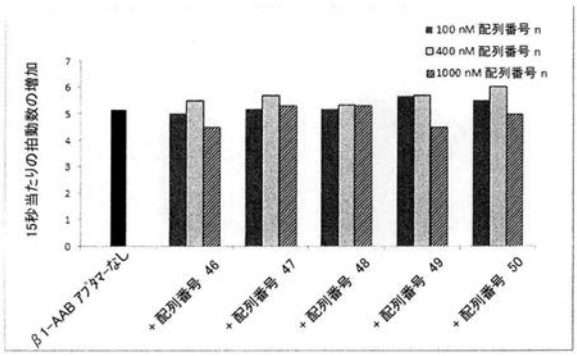


Figure 12

【図１３】

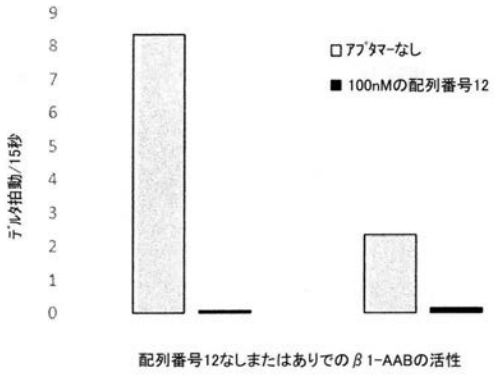


Figure 13

【図１４】

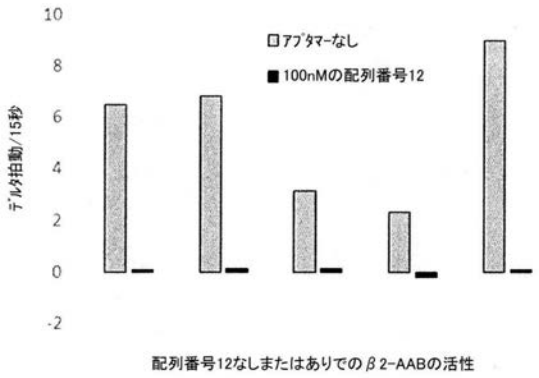


Figure 14

【図１５】

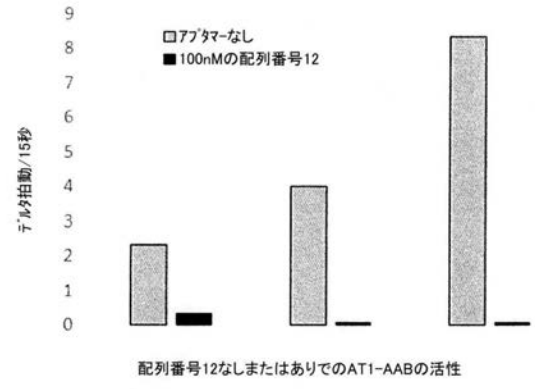


Figure 15

【図１６】

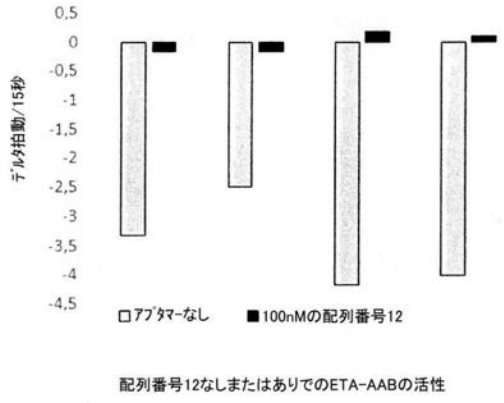


Figure 16

【図１７】

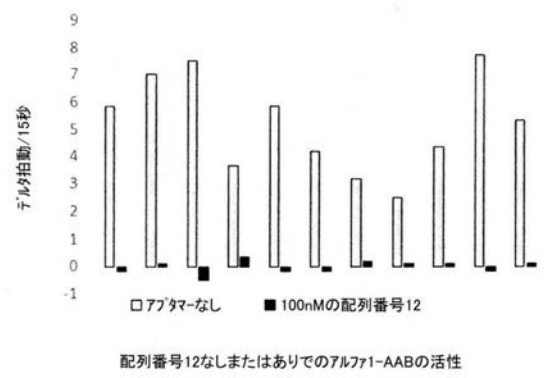


Figure 17

【図１８】

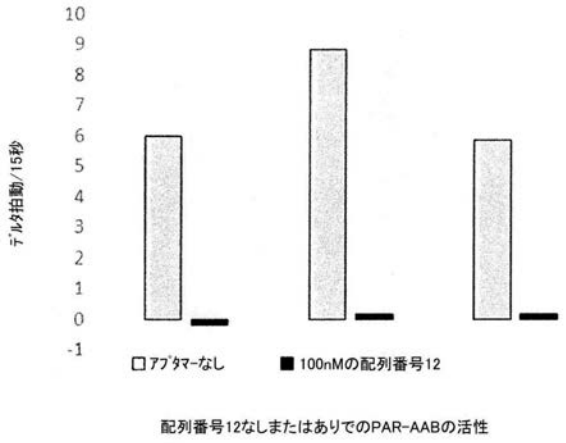


Figure 18

【図１９】

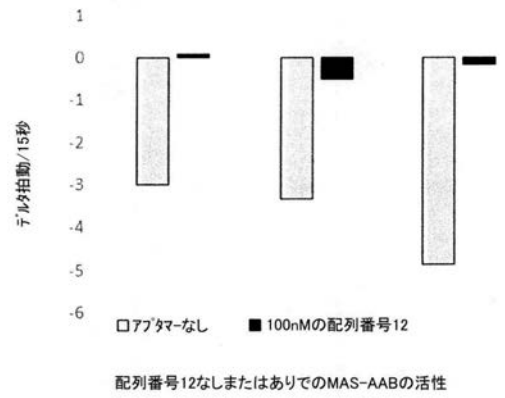


Figure 19

【図２０】

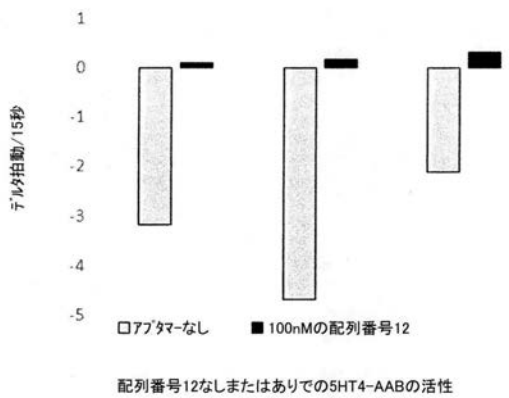


Figure 20

【図２１】

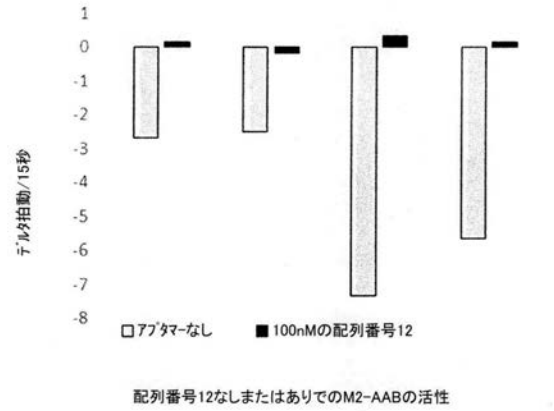


Figure 21

【配列表】
2018171070000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成30年8月28日(2018.8.28)
【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】
アプタマーを含む、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療における使用のための医薬組成物であって、
前記アプタマーが、
ａ．）Ｑは、自然数のセットであり、
ｂ．）Ｆは、
Ｆ：＝｛Ｘ∈Ｑ｜（Ｘ＞１）｝
と定義される自然数のサブセットであり、
ｃ．）Ｆを使用して、
【数１】

(1) $\forall X \in F \exists M : M \rightarrow CXLCX$

(2) $\forall X \in F \exists K : K \rightarrow CXLBX$

(3) $\forall X \in F \exists V : V \rightarrow CXL$

(4) $\forall X \in F : CX \rightarrow BXLBX$

(5) $\forall X \in F : BX \rightarrow \prod_{1}^{X} G$

と定義され、
ｄ．）Ｕは、
Ｕ＝｛Ｓ，Ｍ，Ｎ，Ｄ，Ｅ，Ｙ，Ｈ，Ｒ，Ｚ，Ｌ，ＢＸ，ＣＸ，Ｋ，Ｖ｝
と定義される１セットの非終端であり、
ここでＢＸ及びＣＸについてはｃ）の通りであり、
ｅ．）Ｗは、
Ｗ＝｛Ａ，Ｃ，Ｇ，Ｔ，G^{X}｝
と定義される１セットの終端であり、
ここでG^{X}は、ｂ．）及びｃ．）の（５）に従って導き出せるすべての終端を表し、
ｆ．）Ｓ∈Ｕは、開始記号である
という条件での、生成規則Ｐのセット：
Ｐ＝｛

Ｓ	→	Ｍ｜Ｙ｜Ｄ｜Ｅ｜Ｈ	（１）
Ｍ	→	ＮＲＭ	（２）
Ｍ	→	ＭＲ	（３）
Ｍ	→	ＲＭ	（４）
Ｎ	→	Ｍ	（５）
Ｄ	→	ＹＭ	（６）
Ｅ	→	ＶＭ	（６ａ）
Ｙ	→	Ｋ｜ＫＬ｜ＬＫ｜ＬＫＬ	（７）
Ｈ	→	ＬＶ｜Ｖ	（８）
Ｒ	→	Ｌ	（９）
Ｚ	→	Ａ｜Ｃ｜Ｇ｜Ｔ	（１０）
Ｌ	→	ＺＬ｜Ｚ	（１１）
ＢＸ	→	G^{X}	（１２）
ＣＸ	→	ＢＸＬＢＸ	（１３）
Ｍ	→	ＣＸＬＣＸ	（１４）
Ｋ	→	ＣＸＬＢＸ	（１５）
Ｖ	→	ＣＸＬ	（１６）

｝
によって定義される文法を満たすヌクレオチド配列を含み、
式中、「Ａ」はアデニンヌクレオチドを意味し、「Ｃ」はシトシンヌクレオチドを意味し、「Ｇ」はグアニンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＤＮＡ配列である場合にはチミンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である場合にはウラシルヌクレオチドを意味し、
前記アプタマーが、ヌクレオチド配列ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴＴＧＧ（配列番号２２）、ＧＧＴＴＧＧＴＧＴＧＧＴ（配列番号２３）又はＣＧＣＣＴＡＧＧＴＴＧＧＧＴＡＧＧＧＴＧＧＴＧＧＣＧ（配列番号２４）を含まず、
前記アプタマーのヌクレオチド配列が、４～１２０ヌクレオチドの長さを有し、かつ
前記アプタマーが、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な自己抗体とその標的タンパク質との相互作用を阻害することができる、医薬組成物。
【請求項２】
Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体が検出できる患者の治療における使用のため

の、請求項１に記載の医薬組成物。
【請求項３】
前記ヌクレオチド配列が、ＤＮＡ配列であるか、又はヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である、請求項１又は２に記載の医薬組成物。
【請求項４】
前記アプタマー内に含まれるヌクレオチド配列が、以下の配列、
（５’－ＧＴＴＧＴＴＴＧＧＧＧＴＧＧ－３’配列番号１）、
（５’－ＧＴＴＧＴＴＴＧＧＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号２）
（５’－ＧＧＴＴＧＧＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧ－３’配列番号３）
、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧ－３’配列番号４）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号５）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号６）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号７）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴＧＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号８）、
（５’－ＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号９）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１０）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１１）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１２）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１３）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１４）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴ－３’配列番号１５）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＴ－３’配列番号１６）、
（５’－ＴＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号１７）、
（５’－ＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号１８）、
（５’－ＴＴＡＧＧＧＴＴＡＧＧＧＴＴＡＧＧＧＴＴＡＧＧＧ－３’配列番号２０）
、
（５’－ＧＣＧＧＴＧＧＴＧＧＧＡＴＧＧＧＴＴＧＧＡＴＣＣＧＣ－３’配列番号２５）、
（５’－ＧＧＧＴＣＧＧＧＡＴＣＴＡＧＧＧＴＣＡＧＧ－３’配列番号２６）、
（５’－ＧＧＴＧＧＧＴＣＧＧＴＡＧＧＧＴＴＴ－３’配列番号２７）、
（５’－ＴＴＧＧＣＴＧＧＡＴＣＧＧＡＣＧＧＴ－３’配列番号２８）、
（５’－ＧＧＴＣＧＧＧＴＴＣＧＧＴＧＧＴＴＡ－３’配列番号２９）、
（５’－ＧＧＧＡＴＣＧＧＴＴＣＧＧＴＡＧＧＴＧＧＧＴＧＧＧＴＴＧＧ－３’配列番号３０）、
（５’－ＧＧＣＣＧＧＣＧＣＧＧＣＣＧＧ－３’配列番号３１）、
（５’－ＧＧＡＡＧＧＡＴＣＧＧＡＡＧＧ－３’配列番号３２）、
（５’－ＧＧＴＡＧＧＣＴＣＧＧＴＡＧＧ－３’配列番号３３）、
（５’－ＧＧＡＴＧＧＴＴＡＧＧＡＴＧＧ－３’配列番号３４）、

（５’－ＣＣＧＴＣＧＧＴＣＣＧＴＴＣＧＧＴＡＴＴＴＴＴＴＣＴＧＧＧＴＧＧＣＴＧＡＧＧＡＴＣＧ－３’配列番号３５）、
（５’－ＧＧＧＴＴＧＧＴＣＣＧＴＴＧＧＧＴＡＴＴＴＴＴＴＡＴＧＧＧＴＴＧＣＣＴＧＧＴＴＧＧＧ－３’配列番号３６）、
（５’－ＴＣＣＣＡＴＣＧＧＧＴＡＧＧＧＴＴＡＴＴＴＧＧＧＴＴＣＴＧＧＧＴＧＧＣＴＧＡＧＧＡＴＣＧＡＴＣ－３’配列番号３７）、
（５’－ＴＧＧＣＧＧＴＧＧＴ－３’配列番号３８）、
（５’－ＴＧＧＡＧＧＴＧＧＡ－３’配列番号３９）、
（５’－ＡＧＧＴＧＧＴＧＧＡ－３’配列番号４０）、
（５’－ＡＧＧＴＧＧＣＧＧＡ－３’配列番号４１）、
（５’－ＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＧ－３’配列番号４２）、
（５’－ＴＧＧＧＴＴＧＧＧＴＴＧＴＴＧＴＴＧＴＴＧＧＧＴＴＧＧＧＴ－３’配列番号４３）、
（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＧＴＴＴＴＴＧＧＴＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’配列番号４４）及び
（５’－ＣＴＧＧＧＧＴＴＧＧＧＴＴＴＧＧＴＴＴＴＧＴＴＴＴＧＧＴＴＴＧＧＧＴＴＧＧＧＧＴＣ－３’配列番号４５）
のうちのいずれか１つである、請求項１～３のいずれか１項に記載の医薬組成物。

【請求項５】

前記アプタマーのヌクレオチド配列が、少なくとも８ヌクレオチドの長さを有し、かつ／又はアプタマーのヌクレオチド配列が、最大で１００ヌクレオチドの長さを有する、請求項１～４のいずれか１項に記載の医薬組成物。

【請求項６】

前記アプタマーのヌクレオチド配列が、少なくとも１２ヌクレオチドの長さを有し、かつ／又は前記アプタマーのヌクレオチド配列が、最大で８０ヌクレオチドの長さを有する、請求項１～４のいずれか１項に記載の医薬組成物。

【請求項７】

前記アプタマーが、自己抗体、好ましくは、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な自己抗体、好ましくは、ヒトＧタンパク質共役受容体アドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体のうちのいずれか１つに特異的な自己抗体と相互作用することができる、請求項１～６のいずれか１項に記載の医薬組成物。

【請求項８】

Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体の出現に関連する自己免疫疾患に罹っている患者の血液又はその要素の治療的アフェレーシス中の選択的成分としての使用のための、請求項１～７のいずれか１項に記載の医薬組成物。

【請求項９】

自己免疫疾患が、心筋症、拡張型心筋症（ＤＣＭ）、周産期心筋症（ＰＰＣＭ）、特発性心筋症、虚血性心筋症（ｉＣＭ）、シャーガス心筋症、化学療法誘発性心筋症、シャーガス巨大結腸症、シャーガス巨大食道症、シャーガス神経障害、良性前立腺肥大症、強皮症、レイノー症候群、妊娠高血圧腎症、末梢動脈閉塞性疾患（ＰＡＯＤ）、腎同種異系移植片拒絶反応、心筋炎、緑内障、高血圧症、肺高血圧症、悪性高血圧症、メタボリックシンドローム、脱毛症、円形脱毛症、片頭痛、パーキンソン病、癲癇、群発頭痛、多発性硬化症、鬱病、局所痛症候群、不安定狭心症、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、統合失調症、シェーグレン症候群、歯周炎、心房細動、白斑、溶血性尿毒症症候群、スティッフパーソン症候群、及び／又は先天性心ブロックのうちの１つである、請求項１～８のいずれか１項に記載の医薬組成物。

【請求項１０】
Ｇタンパク質共役受容体、好ましくは、ヒトＧタンパク質共役受容体であるアドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体に特異的な抗体のｉｎ　ｖｉｔｒｏ検出のための、請求項１～７のいずれか１項に記載のアプタマーの使用。
【請求項１１】
検出される抗体が、自己抗体である、請求項１０に記載のアプタマーの使用。
【請求項１２】
前記抗体が、体液、好ましくは、ヒトの体液、より好ましくは、ヒトの血液、血漿、血清、尿、大便、関節液、間質液、リンパ液、唾液、髄液及び／又は涙液の中に存在する又はそれに由来する、請求項１０又は１１に記載のアプタマーの使用。
【請求項１３】
前記体液が、自己免疫疾患、好ましくは、Ｇタンパク質共役受容体に特異的な自己抗体が患者の血清中に存在することに関連する自己免疫疾患、より好ましくは、アドレナリン作動性アルファ－１受容体、アドレナリン作動性ベーター１受容体、アドレナリン作動性ベーター２受容体、エンドセリン１　ＥＴＡ受容体、ムスカリンＭ受容体、アンギオテンシンＩＩ　ＡＴ１受容体、ＰＡＲ受容体、ＭＡＳ受容体、５ＨＴ４受容体及び／又はＭ３受容体に特異的な自己抗体が患者の血清中に存在することに関連する自己免疫疾患に罹っているか又は罹っている疑いがある個体から採取される、請求項１２に記載のアプタマーの使用。
【請求項１４】
以下のヌクレオチド配列（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’　配列番号１２）を含む、請求項１～９のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項１５】
前記アプタマーが、以下のヌクレオチド配列（５’－ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＴＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧ－３’　配列番号１２）を含む、請求項１０～１３のいずれか１項に記載のアプタマーの使用。
【請求項１６】
請求項１～７のいずれか１項に記載のアプタマーを含むアフェレーシスカラム。
【請求項１７】
自己免疫疾患の治療及び／又は診断における使用のための請求項１６に記載のアフェレーシスカラムであって、前記自己免疫疾患が、心筋症、拡張型心筋症（ＤＣＭ）、周産期心筋症（ＰＰＣＭ）、特発性心筋症、虚血性心筋症（ｉＣＭ）、シャーガス心筋症、化学療法誘発性心筋症、シャーガス巨大結腸症、シャーガス巨大食道症、シャーガス神経障害、良性前立腺肥大症、強皮症、レイノー症候群、末梢動脈閉塞性疾患（ＰＡＯＤ）、妊娠高血圧腎症、腎同種異系移植片拒絶反応、心筋炎、緑内障、高血圧症、肺高血圧症、悪性高血圧症、メタボリックシンドローム、脱毛症、円形脱毛症、片頭痛、パーキンソン病、癲癇、群発頭痛、多発性硬化症、鬱病、局所痛症候群、不安定狭心症、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、統合失調症、シェーグレン症候群、歯周炎、心房細動、白斑、溶血性尿毒症症候群、スティッフパーソン症候群、及び／又は先天性心ブロックである、アフェレーシスカラム。
【請求項１８】
前記アプタマーが、該アプタマーによって特異的に標的化される自己抗体を特異的に分離して取り出すための選択的成分として使用される、請求項１６又は１７に記載の使用のためのアフェレーシスカラム。
【請求項１９】
自己免疫疾患に罹患した患者が、Ｇタンパク質共役受容体に対する自己抗体が検出され得る患者である、請求項１～９及び１４に記載の医薬組成物又は請求項１７に記載のアフ

ェレーシスカラム。
【請求項２０】
アプタマーオリゴヌクレオチドを調製するための方法であって、
Ｉ）アプタマー配列として使用されるヌクレオチド配列を設計するステップであって、
ａ．）Ｑは、自然数のセットであり、
ｂ．）Ｆは、
Ｆ：＝｛Ｘ∈Ｑ｜（Ｘ＞１）｝
と定義される自然数のサブセットであり、
ｃ．）Ｆを使用して、
【数２】

$$(1)\quad \forall X \in F \exists M : M \rightarrow CXLCX$$

$$(2)\quad \forall X \in F \exists K : K \rightarrow CXLBX$$

$$(3)\quad \forall X \in F \exists V : V \rightarrow CXL$$

$$(4)\quad \forall X \in F : CX \rightarrow BXLBX$$

$$(5)\quad \forall X \in F : BX \rightarrow \prod_{1}^{X} G$$

と定義され、
ｄ．）Ｕは、
Ｕ＝｛Ｓ，Ｍ，Ｎ，Ｄ，Ｅ，Ｙ，Ｈ，Ｒ，Ｚ，Ｌ，ＢＸ，ＣＸ，Ｋ，Ｖ｝
と定義される１セットの非終端であり、
ここでＢＸ及びＣＸについてはｃ）の通りであり、
ｅ．）Ｗは、
Ｗ＝｛Ａ，Ｃ，Ｇ，Ｔ，G^{X}｝
と定義される１セットの非終端であり、
ここでG^{X}は、ｂ．）及びｃ．）の（５）に従って導き出せるすべての終端を表し、
ｆ．）Ｓ∈Ｕは、開始記号である
という条件での、以下の生成規則Ｐのセット：
Ｐ＝｛

Ｓ	→	Ｍ｜Ｙ｜Ｄ｜Ｅ｜Ｈ	（１）
Ｍ	→	ＮＲＭ	（２）
Ｍ	→	ＭＲ	（３）
Ｍ	→	ＲＭ	（４）
Ｎ	→	Ｍ	（５）
Ｄ	→	ＹＭ	（６）
Ｅ	→	ＶＭ	（６ａ）
Ｙ	→	Ｋ｜ＫＬ｜ＬＫ｜ＬＫＬ	（７）
Ｈ	→	ＬＶ｜Ｖ	（８）
Ｒ	→	Ｌ	（９）
Ｚ	→	Ａ｜Ｃ｜Ｇ｜Ｔ	（１０）
Ｌ	→	ＺＬ｜Ｚ	（１１）
ＢＸ	→	G^{X}	（１２）
ＣＸ	→	ＢＸＬＢＸ	（１３）
Ｍ	→	ＣＸＬＣＸ	（１４）
Ｋ	→	ＣＸＬＢＸ	（１５）
Ｖ	→	ＣＸＬ	（１６）

}
の適用を含み、式中、「Ａ」はアデニンヌクレオチドを意味し、「Ｃ」はシトシンヌクレオチドを意味し、「Ｇ」はグアニンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＤＮＡ配列である場合にはチミンヌクレオチドを意味し、「Ｔ」はヌクレオチド配列がＲＮＡ配列である場合にはウラシルヌクレオチドを意味する、ステップと、
ＩＩ）ステップＩ）で得られたヌクレオチド配列を有するアプタマーオリゴヌクレオチドを作製するステップと
を含む、方法。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ 3/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/00	
Ａ６１Ｐ 9/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/00	
Ａ６１Ｐ 9/10	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/10	
Ａ６１Ｐ 9/12	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/12	
Ａ６１Ｐ 11/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/00	
Ａ６１Ｐ 13/08	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	13/08	
Ａ６１Ｐ 13/12	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	13/12	
Ａ６１Ｐ 17/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/00	
Ａ６１Ｐ 17/14	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/14	
Ａ６１Ｐ 25/04	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/04	
Ａ６１Ｐ 25/06	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/06	
Ａ６１Ｐ 25/08	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/08	
Ａ６１Ｐ 25/16	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/16	
Ａ６１Ｐ 25/24	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/24	
Ａ６１Ｐ 25/28	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/28	
Ａ６１Ｐ 27/06	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	27/06	
Ａ６１Ｐ 43/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00 １１１	
Ｇ０１Ｎ 33/53	*(2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/53 Ｎ	

Ｆターム(参考) 4C084 AA13 NA14 ZA021 ZA022 ZA081 ZA082 ZA121 ZA122 ZA181 ZA182
ZA331 ZA332 ZA361 ZA362 ZA421 ZA422 ZA661 ZA662 ZA671 ZA672
ZA811 ZA812 ZA891 ZA892 ZA921 ZA922 ZB071 ZB072 ZB081 ZB082
ZC211 ZC212 ZC411 ZC412
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA02 ZA08 ZA12
ZA18 ZA33 ZA36 ZA42 ZA66 ZA67 ZA81 ZA89 ZA92 ZB07
ZB08 ZC21 ZC41

【外国語明細書】
2018171070000001.pdf
2018171070000002.pdf
2018171070000003.pdf
2018171070000004.pdf

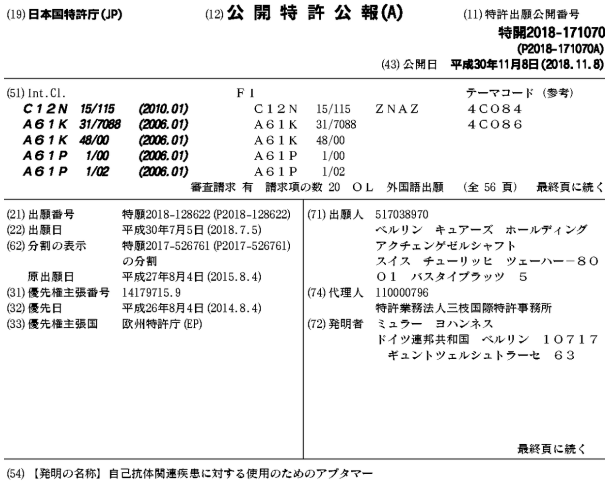
专利名称(译)	用于抗自身抗体相关疾病的适体

公开(公告)号	JP2018171070A	公开(公告)日	2018-11-08
申请号	JP2018128622	申请日	2018-07-05

[标]申请(专利权)人(译)	BERLIN CURES控股
[标]发明人	ミュラーヨハンネス
发明人	ミュラー ヨハンネス
IPC分类号	C12N15/115 A61K31/7088 A61K48/00 A61P1/00 A61P1/02 A61P3/00 A61P9/00 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/00 A61P13/08 A61P13/12 A61P17/00 A61P17/14 A61P25/04 A61P25/06 A61P25/08 A61P25/16 A61P25/24 A61P25/28 A61P27/06 A61P43/00 G01N33/53
CPC分类号	A61P1/00 A61P1/02 A61P3/00 A61P9/00 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/00 A61P13/08 A61P13/12 A61P17/00 A61P17/14 A61P25/04 A61P25/06 A61P25/08 A61P25/16 A61P25/24 A61P25/28 A61P27/06 A61P37/02 A61P37/06 A61P43/00 C12N15/115 C12N2310/16 C12N2330/00 G16B99/00 Y02A90/26 G01N33/6854
FI分类号	C12N15/115.ZNA.Z A61K31/7088 A61K48/00 A61P1/00 A61P1/02 A61P3/00 A61P9/00 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/00 A61P13/08 A61P13/12 A61P17/00 A61P17/14 A61P25/04 A61P25/06 A61P25/08 A61P25/16 A61P25/24 A61P25/28 A61P27/06 A61P43/00.111 G01N33/53.N C12N15/115.ZZN.A
F-TERM分类号	4C084/AA13 4C084/NA14 4C084/ZA021 4C084/ZA022 4C084/ZA081 4C084/ZA082 4C084/ZA121 4C084/ZA122 4C084/ZA181 4C084/ZA182 4C084/ZA331 4C084/ZA332 4C084/ZA361 4C084/ZA362 4C084/ZA421 4C084/ZA422 4C084/ZA661 4C084/ZA662 4C084/ZA671 4C084/ZA672 4C084/ZA811 4C084/ZA812 4C084/ZA891 4C084/ZA892 4C084/ZA921 4C084/ZA922 4C084/ZB071 4C084/ZB072 4C084/ZB081 4C084/ZB082 4C084/ZC211 4C084/ZC212 4C084/ZC411 4C084/ZC412 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/AA03 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA02 4C086/ZA08 4C086/ZA12 4C086/ZA18 4C086/ZA33 4C086/ZA36 4C086/ZA42 4C086/ZA66 4C086/ZA67 4C086/ZA81 4C086/ZA89 4C086/ZA92 4C086/ZB07 4C086/ZB08 4C086/ZC21 4C086/ZC41
优先权	2014179715 2014-08-04 EP
外部链接	Espacenet

摘要(译)

本发明提供了用于在与针对G蛋白偶联受体的自身抗体相关的自身免疫疾病的治疗和/或诊断中使用的适体。 解决方案：该抑制剂用于抑制G蛋白偶联受体特异性自身抗体与其靶蛋白之间的相互作用。它用于治疗能够检测G蛋白偶联受体自身抗体的患者。此外，本发明涉及药物组合物，其包含适体分子，包含适体分子的单采血液成分柱，以及用于确定用作适体分子序列的核苷酸序列的方法。【选择图】无



(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2018-171070
(P2018-171070A)
(43)公開日　平成30年11月8日(2018.11.8)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/115	(2010.01)	C12N	15/115	ZNAZ	4C084
A61K 31/7088	(2006.01)	A61K	31/7088		4C086
A61K 48/00	(2006.01)	A61K	48/00		
A61P 1/00	(2006.01)	A61P	1/00		
A61P 1/02	(2006.01)	A61P	1/02		

審査請求 有　請求項の数 20　ＯＬ　外国語出願　（全 56 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2018-128622 (P2018-128622)
(22)出願日　平成30年7月5日 (2018.7.5)
(62)分割の表示　特願2017-526761 (P2017-526761)の分割
原出願日　平成27年8月4日 (2015.8.4)
(31)優先権主張番号　14179715.9
(32)優先日　平成26年8月4日 (2014.8.4)
(33)優先権主張国　欧州特許庁 (EP)

(71)出願人　517038970
ベルリン　キュアーズ　ホールディング　アクチェンゲゼルシャフト
スイス　チューリッヒ　ツェーハー－８００１　バスタイプラッツ　５
(74)代理人　110000796
特許業務法人三枝国際特許事務所
(72)発明者　ミュラー　ヨハンネス
ドイツ連邦共和国　ベルリン　１０７１７　ギュントツェルシュトラーセ　６３

最終頁に続く

(54)【発明の名称】自己抗体関連疾患に対する使用のためのアプタマー