

(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2011-510913**(P2011-510913A)**(43) 公表日 **平成23年4月7日 (2011. 4. 7)**

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C 0 7 K 16/46 Z N A	4 B 0 2 4
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	C 0 7 K 16/18	4 B 0 6 4
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	4 C 0 8 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	4 H 0 4 5
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 126 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2010-540936 (P2010-540936)	(71) 出願人	399013971
(86) (22) 出願日	平成20年12月29日 (2008.12.29)		エラン ファーマシューティカルズ, イン
(85) 翻訳文提出日	平成22年8月24日 (2010. 8. 24)		コーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2008/088493		アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
(87) 国際公開番号	W02009/086539		80, サウス サンフランシスコ, ゲイト
(87) 国際公開日	平成21年7月9日 (2009. 7. 9)		ウェイ ブールバード 800
(31) 優先権主張番号	61/007, 544	(74) 代理人	100078282
(32) 優先日	平成19年12月28日 (2007.12.28)		弁理士 山本 秀策
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100062409
(31) 優先権主張番号	61/095, 932		弁理士 安村 高明
(32) 優先日	平成20年9月10日 (2008. 9. 10)	(74) 代理人	100113413
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 森下 夏樹
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 アミロイドーシスの処置および予防

(57) 【要約】

ネオエピトープ、たとえば A A の C 末端領域からの A A 断片と、凝集アミロイドタンパク質のネオエピトープに特異的な抗体、たとえば A A 原線維の C 末端領域に特異的な抗体とを含むペプチドを投与することによって、A A アミロイドーシスおよび A L アミロイドーシスを含む、アミロイドーシスの予防または処置を実施するのに有用な方法。患者のアミロイド沈着の形成の抑制および / または排除の増加による、アミロイド疾患の予防の実施またはアミロイド疾患の処置のための抗体。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒトアミロイド A ペプチドの残基 70 ~ 76 内のエピトープに特異的に結合する、単離ヒト抗体、ヒト化抗体、もしくはキメラ抗体、またはその抗原結合断片。

【請求項 2】

配列番号 2 の残基 70 ~ 76 内のエピトープに特異的に結合する、請求項 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 3】

配列番号 4、5、6、7、8、9、10、または 11 として示される残基を含むエピトープに特異的に結合する、請求項 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

10

【請求項 4】

A T C C アクセション番号 P T A - 9 6 6 2 によって産生された抗体 2 A 4 と、ヒトアミロイド A ペプチドへの結合で競合する、請求項 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 5】

配列番号 152 の残基 20 ~ 131 として示される軽鎖可変領域および配列番号 154 の残基 20 ~ 138 として示される重鎖可変領域を有する抗体と、ヒトアミロイド A ペプチドへの結合で競合する、請求項 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 6】

A T C C アクセション番号 P T A - 9 4 6 8 によって産生された抗体 7 D 8 と、ヒトアミロイド A ペプチドへの結合で競合する、請求項 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

20

【請求項 7】

配列番号 153 の残基 20 ~ 131 として示される軽鎖可変領域および配列番号 154 の残基 20 ~ 138 として示される重鎖可変領域を有する抗体と、ヒトアミロイド A ペプチドへの結合で競合する、請求項 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 8】

A T C C アクセション番号 P T A - 9 6 6 2 によって産生された抗体 2 A 4 のヒト化もしくはキメラバージョンまたは A T C C アクセション番号 P T A - 9 4 6 8 によって産生された抗体 7 D 8 のヒト化もしくはキメラバージョンである、請求項 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 9】

配列番号 152 の残基 20 ~ 131 として示される 2 A 4 軽鎖可変領域の 1 つ以上の相補性領域または配列番号 153 の残基 20 ~ 131 として示される 7 D 8 軽鎖可変領域の 1 つ以上の相補性領域を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

30

【請求項 10】

配列番号 152 の残基 20 ~ 131 として示される 2 A 4 軽鎖可変領域の 3 つの相補性領域または配列番号 153 の残基 20 ~ 131 として示される 7 D 8 軽鎖可変領域の 3 つの相補性領域を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 9 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 11】

Y および F によってそれぞれ占有される L 87 および L 90 (K a b a t ナンバリング規則) から成る群より選択される少なくとも 1 つの軽鎖フレームワーク残基を含み、ここで前記軽鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、請求項 10 に記載の抗体または抗原結合断片。

40

【請求項 12】

T、S、L、D、Q、K、Y、L、F、および L によってそれぞれ占有される + 7、+ 14、+ 15、+ 17、+ 18、+ 50、+ 75、+ 88、+ 92、および + 109 (リニアナンバリング) から成る群より選択される少なくとも 1 つの軽鎖フレームワーク残基を含み、ここで前記軽鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、請求項 10 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 13】

50

Y および F によってそれぞれ占有される + 7 5 および + 9 2 (リニアナンバリング) から成る群より選択される少なくとも 1 つの軽鎖フレームワーク残基を含み、ここで前記軽鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、請求項 1 2 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 1 4】

前記ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域がヒトカップサブグループ 2 軽鎖可変領域 (K a b a t 規則) である、請求項 1 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 1 5】

前記ヒトサブグループ 2 軽鎖可変領域がヒト生殖細胞系 V K I I A 1 9 / A 3 からである、請求項 1 4 に記載の抗体または抗原結合断片。

10

【請求項 1 6】

前記ヒト V k 軽鎖可変領域が配列番号 1 6 6 または 1 6 7 として示される配列を含む、請求項 1 5 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 1 7】

前記軽鎖可変領域が、配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1、配列番号 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示されるか、または配列番号 1 5 5、1 5 6、1 5 7、1 5 8、1 5 9、1 6 0、1 7 4、1 7 5、もしくは 1 7 6 として示されるアミノ酸配列を含む、請求項 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 1 8】

配列番号 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 として示される 2 A 4 重鎖可変領域の 1 つ以上の相補性領域を含む重鎖可変領域を含む、請求項 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

20

【請求項 1 9】

配列番号 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 として示される 2 A 4 重鎖可変領域の 2 つの相補性領域を含む重鎖可変領域を含む、請求項 1 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 2 0】

配列番号 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 として示される 2 A 4 重鎖可変領域の 3 つの相補性領域を含む重鎖可変領域を含む、請求項 1 9 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 2 1】

I、A、F、または V によってそれぞれ占有される H 3 7、H 4 9、H 7 0、および H 9 3 (K a b a t ナンバリング規則) から成る群より選択される少なくとも 1 つの重鎖フレームワーク残基を含み、ここで前記重鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、請求項 2 0 に記載の抗体または抗原結合断片。

30

【請求項 2 2】

R、K、K、I、A、F、Q、S、M、N、M、V、または A によってそれぞれ占有される + 1 0、+ 1 5、+ 1 9、+ 3 7、+ 4 9、+ 7 3、+ 7 8、+ 7 9、+ 8 0、+ 8 7、+ 9 5、+ 9 9、+ 1 1 9 (リニアナンバリング) から成る群より選択される少なくとも 1 つの重鎖フレームワーク残基を含み、ここで前記重鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、請求項 2 0 に記載の抗体または抗原結合断片。

40

【請求項 2 3】

I、A、F、または V によってそれぞれ占有される + 3 7、+ 4 9、+ 7 3、および + 9 9 (リニアナンバリング) から成る群より選択される少なくとも 1 つの重鎖フレームワーク残基を含み、ここで前記重鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、請求項 2 2 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 2 4】

前記ヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域がヒトガンマサブグループ 3 重鎖可変領域 (K a b a t 規則) である、請求項 2 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 2 5】

50

前記ヒトガンマサブグループ 3 重鎖可変領域が配列番号 1 6 5 として示される配列を含む、請求項 2 4 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 2 6】

前記重鎖可変領域が配列番号 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 として示されるか、または配列番号 1 6 1、1 6 2、もしくは 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む、請求項 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 2 7】

配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 2 A 4 軽鎖可変領域の 3 つの相補性決定領域、または配列番号 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 7 D 8 軽鎖可変領域の 3 つの相補性領域を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 として示される 2 A 4 重鎖可変領域の 3 つの相補性領域を含む重鎖可変領域を含む、請求項 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

10

【請求項 2 8】

配列番号 1 6 8、1 6 9、および 1 7 0 として示される 3 つの相補性決定領域を含む軽鎖可変領域、ならびに配列番号 1 7 1、1 7 2、および 1 7 3 として示される 3 つの相補性領域を含む重鎖可変領域を含む、請求項 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 2 9】

配列番号 1 7 7、1 6 9、および 1 7 0 として示される 3 つの相補性決定領域を含む軽鎖可変領域、ならびに配列番号 1 7 1、1 7 2、および 1 7 3 として示される 3 つの相補性領域を含む重鎖可変領域を含む、請求項 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

20

【請求項 3 0】

配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1 または配列番号 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、請求項 2 7 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 3 1】

配列番号 1 5 5、1 5 6、1 5 7、1 5 8、1 5 9、1 6 0、1 7 4、1 7 5、または 1 7 6 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 1、1 6 2、または 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、請求項 2 7 に記載の抗体または抗原結合断片。

30

【請求項 3 2】

前記軽鎖可変領域が配列番号 1 5 5 として示されるアミノ酸配列を含み、前記重鎖可変領域が配列番号 1 6 1 として示されるアミノ酸配列を含む、請求項 3 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 3 3】

前記軽鎖可変領域が配列番号 1 5 6 として示されるアミノ酸配列を含み、前記重鎖可変領域が配列番号 1 6 2 として示されるアミノ酸配列を含む、請求項 3 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 3 4】

前記軽鎖可変領域が配列番号 1 5 7 として示されるアミノ酸配列を含み、前記重鎖可変領域が配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む、請求項 3 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

40

【請求項 3 5】

凝集アミロイドタンパク質中の $X_1 E D X_2$ を含むエピトープに特異的に結合する単離抗体またはその抗原結合断片であって、式中、 X_1 および X_2 は任意のアミノ酸である、単離抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 3 6】

X_1 が H、T、F、S、P、A、L、C、Q、R、E、K、D、G、V、Y、I、または W であり、 X_2 が T、S、E、R、I、V、F、D、A、G、M、L、N、P、C、K、Y、または Q である、請求項 3 5 に記載の抗体または抗原結合断片。

50

【請求項 37】

X_1 が H、T、F、または A である、請求項 36 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 38】

X_2 が T、S、E、D、または A である、請求項 36 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 39】

X_1 が H または A であり、 X_2 が T、S、または A である、請求項 37 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 40】

X_1 が T であり、 X_2 が E である、請求項 37 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 41】

X_1 が F であり、 X_2 が D である、請求項 37 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 42】

X_1 が S であり、 X_2 が E、F または A である、請求項 36 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 43】

X_1 が P であり、 X_2 が E、I または F である、請求項 36 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 44】

前記エピトープが G H E D T (配列番号 3)、H E D T (配列番号 12)、A E D S (配列番号 13)、A E D T (配列番号 14)、H E D A (配列番号 15)、および T E D E (配列番号 16) から成る群より選択されるアミノ酸配列から成る、請求項 36 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 45】

アミノ酸配列 G H G A E D S (配列番号 4) を含むエピトープにて凝集アミロイドタンパク質に特異的に結合する、請求項 44 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 46】

約 10^{-7} M^{-1} 未満の親和性で、単量体形の前記アミロイドタンパク質に前記抗体が結合する、請求項 35 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 47】

前記アミロイドタンパク質が血清アミロイド A タンパク質 (S A A) である、請求項 35 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 48】

前記アミロイドタンパク質が免疫グロブリン軽鎖タンパク質、ヒト腓島アミロイド前駆体ポリペプチド (I A P P)、ベータアミロイドペプチド、トランスサイレチン (T T R) および A p o A 1 から成る群より選択される、請求項 35 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 49】

前記アミロイドタンパク質が免疫グロブリン軽鎖タンパク質である、請求項 48 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 50】

免疫グロブリン軽鎖タンパク質が V λ 6 W i l である、請求項 49 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 51】

免疫グロブリン軽鎖タンパク質が V κ である、請求項 49 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 52】

前記アミロイドタンパク質がヒト腓島アミロイド前駆体ポリペプチド (I A P P) である、請求項 48 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 53】

前記アミロイドタンパク質がベータアミロイドペプチドである、請求項 48 に記載の抗体

10

20

30

40

50

または抗原結合断片。

【請求項 5 4】

前記アミロイドタンパク質がトランスサイレチン (T T R) である、請求項 4 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 5 5】

前記アミロイドタンパク質が A p o A 1 である、請求項 4 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 5 6】

ヒト抗体、ヒト化抗体、もしくはキメラ抗体または抗原結合断片である、請求項 3 5 に記載の抗体または抗原結合断片。

10

【請求項 5 7】

ヒトアミロイド A ペプチドの残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープに特異的に結合する、請求項 5 6 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 5 8】

有効投薬量の請求項 1 に記載の抗体または抗原結合断片を対象に投与して、それにより該対象の A A アミロイドーシスを処置するステップを含む、A A アミロイドーシスを有する該対象を治療的に処置する方法。

【請求項 5 9】

前記対象がヒトである、請求項 5 8 に記載の方法。

【請求項 6 0】

治療的に処置するステップが A A アミロイドーシスの進行を遅らせることを含む、請求項 5 8 に記載の方法。

20

【請求項 6 1】

治療的に処置するステップが A A アミロイド原線維凝集体の沈着を抑制することを含む、請求項 5 8 に記載の方法。

【請求項 6 2】

治療的に処置するステップが A A アミロイド原線維凝集体の排除を含む、請求項 5 8 に記載の方法。

【請求項 6 3】

前記対象が関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髓炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャスルマン病から成る群より選択されるアミロイド疾患に罹患する、請求項 5 8 に記載の方法。

30

【請求項 6 4】

有効投薬量の請求項 1 に記載の抗体または抗原結合断片を対象に投与して、それにより該対象の A A アミロイドーシスの予防を達成するステップを含む、A A アミロイドーシスに罹りやすい該対象を予防的に処置する方法。

【請求項 6 5】

前記対象がヒトである、請求項 6 4 に記載の方法。

【請求項 6 6】

予防的に処置するステップが A A アミロイドーシスの開始を遅延することである、請求項 6 4 に記載の方法。

40

【請求項 6 7】

予防的に処置するステップが A A アミロイドーシスのリスクを低下させることである、請求項 6 4 に記載の方法。

【請求項 6 8】

請求項 3 0 に記載の抗体または抗原結合断片を対象に投与して、それによりアミロイドーシスを処置するステップを含む、アミノ酸配列 E D を含む凝集アミロイドタンパク質に関

50

連する該アミロイドーシスに罹患している該対象を治療的に処置する方法。

【請求項 69】

前記対象がヒトである、請求項 68 に記載の方法。

【請求項 70】

治療的に処置するステップがアミロイドーシスの進行を遅らせることを含む、請求項 68 に記載の方法。

【請求項 71】

治療的に処置するステップがアミロイド原線維凝集体の沈着を抑制することを含む、請求項 68 に記載の方法。

【請求項 72】

治療的に処置するステップがアミロイド原線維凝集体の排除を含む、請求項 68 に記載の方法。

【請求項 73】

前記アミロイドタンパク質が配列 A E D V (配列番号 23) を含み、アミロイド形成性疾患が、A A アミロイドーシス、A L アミロイドーシス、アミロイド多発性神経障害、地中海熱、マッケル - ウェルズ症候群、全身性炎症疾患に関連する反応性全身性アミロイドーシス、骨髓腫またはマクログロブリン血症関連アミロイドーシス、免疫担当細胞疾患に関連するアミロイドーシス、単クローン性高ガンマグロブリン血症、不顕性疾患、および慢性炎症疾患に関連する限局性結節性アミロイドーシスである、請求項 68 に記載の方法。

【請求項 74】

請求項 30 に記載の抗体または抗原結合断片を対象に投与して、それによりアミロイドーシスを処置するステップを含む、アミノ酸配列 E D を含む凝集アミロイドタンパク質に関連する該アミロイドーシスに罹りやすい該対象を予防的に処置する方法。

【請求項 75】

検出可能な標識に結合されている請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合断片を対象に投与するステップと、該対象において該検出可能な標識を検出するステップとを含む、該対象において A A アミロイドーシスに関連するアミロイド沈着を検出する方法。

【請求項 76】

前記対象がヒトである、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 77】

前記対象が関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髓炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャッスルマン病から成る群より選択されるアミロイド疾患に罹患するかまたは罹りやすい、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 78】

前記検出可能な標識が放射性標識である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 79】

放射性標識が ^{125}I である、請求項 78 に記載の方法。

【請求項 80】

前記検出が S P E C T / C T 画像化によって実施される、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 81】

前記検出が N M R 分光法によって実施される、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 82】

検出可能な標識に結合されている請求項 30 に記載の抗体またはその抗原結合断片を対象に投与するステップと、該検出可能な標識を検出するステップとを含む、該対象においてアミロイド沈着を検出する方法。

【請求項 83】

前記対象がヒトである、請求項 82 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 8 4】

アミロイドーシスが A A アミロイドーシス、A L アミロイドーシス、アルツハイマー病、軽度認知障害、アミロイド多発性神経障害、地中海熱、マックル - ウェルズ症候群、全身性炎症疾患に関連する反応性全身性アミロイドーシス、骨髄腫またはマクログロブリン血症関連アミロイドーシス、免疫担当細胞疾患に関連するアミロイドーシス、単クローン性高ガンマグロブリン血症、不顕性疾患、または慢性炎症疾患に関連する限局性結節性アミロイドーシスである、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 5】

前記検出可能な標識が放射性標識である、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 6】

前記放射性標識が ^{125}I である、請求項 8 5 に記載の方法。

【請求項 8 7】

前記検出が S P E C T / C T 画像化によって実施される、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 8】

前記検出が N M R 分光法によって実施される、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 9】

アミロイド A ペプチドの残基 7 0 ~ 7 6 に対する抗体を含む、免疫応答を誘導して、それにより対象の A A アミロイドーシスを処置するのに有効なアミロイド A ペプチドの残基 7 0 ~ 7 6 に対する免疫応答を誘導する薬剤を投与するステップを含む、A A アミロイドーシスを有する該対象を治療的に処置する方法。

【請求項 9 0】

アミロイド A ペプチドの残基 7 0 ~ 7 6 に対する抗体を含む、免疫応答を誘導して、それにより対象の A A アミロイドーシスの予防を達成するのに有効なアミロイド A ペプチドの残基 7 0 ~ 7 6 に対する免疫応答を誘導する薬剤を投与するステップを含む、A A アミロイドーシスに罹りやすい該対象を予防的に処置する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

優先権を、2008年9月10日に出願された米国仮出願第61/095,932号および2007年12月28日に提出された米国仮出願第61/007,544号（各々は、その全体が参考として本明細書に援用される）に対して主張する。

【0002】

技術分野

本発明は、免疫学および医学の技術分野に存する。

【背景技術】

【0003】

アミロイドーシスは、局所部位でまたは全身的に発生し得る、多くの「アミロイド沈着」または「アミロイド斑」を形成するタンパク質原線維の細胞外沈着を含むことが多い、アミロイドタンパク質の病理形態の存在を特徴とするいくつかの疾患を説明する一般用語である。これらの沈着または斑は、各種の組織部位において直径10~100 μm の広範囲に及ぶ不溶性沈着へと凝集する、主に天然発生型可溶性タンパク質またはペプチドから成る。沈着は、直径約10~15 nmである原線維の一般に側方への凝集体から成る。アミロイド原線維は、コンゴレッド染料で染色したときに、偏光中で特徴的な青リンゴ色の複屈折を生じる。一般にこれらの沈着の原線維組成は、各種の形態のアミロイド疾患を識別する特徴である。

【0004】

斑沈着を形成するペプチドまたはタンパク質は、より大型の前駆体タンパク質から産生されることが多い。さらに詳細には、原線維沈着などのアミロイド凝集体の病原は一般に、「異常な」前駆体タンパク質の、逆平行 β ブリーツシートへ凝集する断片へのタンパク

10

20

30

40

50

質分解切断を含む。

【 0 0 0 5 】

これらの沈着の原線維組成は、各種の形態のアミロイド疾患を識別する特徴である。たとえば、主にベータアミロイドペプチド (β -AP) の原線維から成る脳内および脳血管沈着は、アルツハイマー病 (家族型および散発型の両方) の特徴を示しており、膵島アミロイドタンパク質ペプチド (IAPP; アミリン) は、I I 型糖尿病に関連する膵島細胞アミロイド沈着における原線維の特徴を示しており、 β 2 - ミクログロブリンは、長期の血液透析治療の結果として生成するアミロイド沈着の主成分である。さらに最近ではプリオン関連疾患、たとえばクロイツフェルト - ヤコブ病もアミロイド疾患として認識されてきた。

10

【 0 0 0 6 】

一般に疾患の原発性アミロイドーシスは、AL 原線維のN末端領域の、免疫グロブリン軽鎖の可変領域 (カッパまたはラムダ) に対する相同性にちなんで名付けられた、「アミロイド軽鎖型」 (AL 型) タンパク質原線維の存在を特徴とする。

【 0 0 0 7 】

各種の疾患の形態は、アミロイドーシスが基礎全身性疾病に関連するか否かに主に基づいてクラスに分類されている。それゆえ、ある障害は、既存のまたは同時に存在する疾患の証拠がない原発性アミロイドーシスと見なされる。アミロイドタンパク質A (AA) 原線維の沈着の存在を特徴とする続発性または反応性 (AA 型) アミロイドーシスでは、基礎または関連する慢性炎症性または感染性疾患状態がある。

20

【 0 0 0 8 】

家族遺伝性アミロイドーシスは、ATTR トランスサイレチン型の関連する神経障害性、腎臓、または心血管沈着を有することがある。他の家族遺伝性アミロイドーシスは、他の症候群を含み、異なるアミロイド構成成分 (たとえばAA 原線維を特徴とする家族性地中海熱) を有し得る。アミロイドーシスの他の形態は、独立した器官に発生する限局性の、しばしば腫瘍様の沈着を特徴とする局所形態を含む。他のアミロイドーシスは加齢に関連しており、一般に心臓または脳における斑形成を特徴とする。長期血液透析に関連するアミロイド沈着も一般的である。アミロイド疾患のこれらのおよび他の形態は、表1 (非特許文献1; 非特許文献2) に要約されており、その全体が参照により本明細書に組み入れられている特許文献1、特許文献2、特許文献3、特許文献4、および特許文献5に記載されている。

30

【 0 0 0 9 】

【表 1 - 1】

表1 アミロイド疾患の分類			
アミロイドタンパク質/ペプチド	タンパク質前駆体	タンパク質変種	臨床
AA	血清アミロイドAタンパク質 (ApoSSA)		反応性(続発性)アミロイドーシス: 家族性地中海熱 蕁麻疹および難聴を伴う家族性アミロイド腎症(マックルーウェルズ症候群)
AA	血清アミロイドAタンパク質 (ApoSSA)		全身性炎症性疾患に関連する反応性全身性アミロイドーシス
AL	モノクローナル免疫グロブリン軽鎖(カッパ、ラムダ)	Ak, A, (たとえば AkIII)	特発性(原発性)アミロイドーシス: 骨髄腫またはマクログロブリン血症関連; 免疫細胞疾患に関連する全身性アミロイドーシス; 単クローン性免疫グロブリン血症; 不顕性疾患; 慢性炎症性疾患に関連する限局性結節性アミロイドーシス
AH	IgG (1(γ1))	Aγ1	複数の免疫細胞疾患に関連する重鎖アミロイドーシス
ATTR	トランスサイレチン(TTR)	少なくとも30の公知の点突然変異	家族性アミロイド多発性神経障害(たとえば Met 30, ボルトガル)
ATTR	トランスサイレチン(TTR)	たとえば Met 111	家族性アミロイド心筋症(デンマーク)
ATTR	トランスサイレチン(TTR)	野生型 TTR または Ile 122	全身性老年性アミロイドーシス
AapoAI	ApoAI	Arg 26	家族性アミロイド多発性神経障害
Agel	ゲルソリン	Asn 187	家族性アミロイドーシス(フィンランド)
Acys	シスタチンC	Gln 68	アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血(アイスランド)
Aβ	アミロイドβタンパク質前駆体(たとえばβ-APP ₆₉₅)	各種: Gln 618,	アルツハイマー病 ダウン症候群 遺伝性脳出血アミロイドーシス(オランダ) 散発性脳アミロイド血管症 封入体筋炎
AB ₂ M	ベータ ₂ ミクログロブリン		長期血液透析に関連
Acal	(プロ)カルシトニン	(プロ)カルシトニン	甲状腺髄様癌

10

20

30

40

【表 1 - 2】

AANF A β SVEP ^a AB ₂ M	心房性ナトリウム利尿因子 β -アミロイド前駆体タンパク質 - ベータ ₂ ミクログロブリン		限局性老年性アミロイドーシス: 孤立性心房性アミロイド脳 精囊 前立腺
	ケラチン		原発性限局性皮膚アミロイド(黄斑性、丘疹性)
PrP	プリオン前駆体タンパク質(33-35kDa 細胞形)	スクレイピータンパク質 27-30kDa	散発性クロイツフェルトーヤコブ病 クールー(感染性海綿状脳症、プリオン病)
AIAPP	膵島アミロイドポリペプチド(IAPP)		ランゲルハンス島II型糖尿病、インスリノーマ
ペプチドホルモン、断片	たとえばプレカルシトニン		APUDomas に関連する、外分泌アミロイドーシス

^a精囊外分泌タンパク質

10

20

しばしばアミロイド沈着の大部分を形成する原線維は、1つ以上の主要な前駆体タンパク質またはペプチドに由来しており、通常、硫酸化グリコサミノグリカンに関連している。さらにアミロイド沈着は、多様な種類の微量タンパク質およびペプチドを、続く節でさらに詳細に記載するように、他の構成成分、たとえばプロテオグリカン、ガングリオシドおよび他の糖と共に含み得る。

【0011】

AA原線維は、血清アミロイドAタンパク質(SSA)のタンパク質分解切断によって形成された、サイズに幅があるが、一般に約8000ダルトン(AAペプチドまたはタンパク質)であるペプチド断片より成り、血清アミロイドAタンパク質は、HDL粒子内に存在して、インターロイキン(IL)-1およびIL-6などのサイトカインはもちろんのこと、腫瘍壊死因子 α にも応答して肝細胞で合成される、循環アポリポタンパク質である。非特許文献3を参照。タンパク質分解切断は、SSAタンパク質の~76残基N末端の3分の2の病的沈着を引き起こす。ヒトでは、SSAの血漿濃度は通常~0.1mg/mlであるが、炎症性刺激に応答して1,000倍超に上昇することがある。このプロセスの一環として、SSA分子はタンパク質分解を受けて、N末端切断生成物が肝臓、脾臓、腎臓、および副腎を含む重要器官にAA原線維として全身的に沈着する。沈着は心臓および消化管でも一般的である。

30

【0012】

一般に、AAアミロイドーシスは、持続性急性期応答を誘導する疾患の顕在化である。このような疾患は、慢性炎症性障害、慢性限局性または全身性微生物感染症、および悪性新生物を含む。AAアミロイド疾患は、これに限定されるわけではないが、炎症性疾患、たとえば関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症(psoriatic arthropathy)、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、およびクローン病を含む。AA沈着は、慢性微生物感染症、たとえばらい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髄炎、およびウィップル病の結果としても生じる。ある悪性新生物もAA原線維アミロイド沈着を引き起こす可能性がある。これらはホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、およびヘアリー細胞白血病などの状態も含む。AAアミロイド疾患は、家族性地中海熱などの遺伝性炎症性疾患からも発生し得る。さらにAAアミロイド疾患は、キャッスルマン病などのリンパ球増殖性障害から発生し得る。

40

50

【 0 0 1 3 】

A A アミロイドーシスは潜行性および進行性である。症状は一般に、疾患の後期に現れる。患者は、著しい器官損傷が発生するまで診断されないことが多い。A A 原線維は重要器官に沈着して、器官不全に、そして続いて死に至らせる。5 年生存率は 4 5 ~ 5 0 % である。診断後の生存期間中央値は 4 ~ 8 年である。末期腎疾患は、症例の 4 0 ~ 6 0 % で死の原因である。非特許文献 4 を参照。

【 0 0 1 4 】

現在、A A アミロイドーシスを含むアミロイド疾患のいずれにも、具体的なアミロイドに対する治療法は承認されていない。非特許文献 4 を参照。基礎または関連した疾患状態がある場合には、療法は、基礎疾患を治療することによって、アミロイド形成性タンパク質の産生を低下させることを目的としている。たとえば、A A アミロイドーシスの現在の治療方法は、基礎炎症を標的として、A p o S S A レベルを 1 0 m g / l 以下に低下させることである。現在利用されている療法は、化学療法（クロラムブシル（c h o l o r a m b u c i l ）および M T X ）、免疫抑制剤（アザチオプリン）、抗炎症薬（コルヒチン）および T N F 阻害薬を含む。本発明はそれゆえ、A A アミロイドーシスの影響を予防または緩和するための治療計画に対する長年の要求を満足する。

10

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 1 5 】

【 特許文献 1 】 米国特許 6 , 8 7 5 , 4 3 4 号明細書

20

【 特許文献 2 】 米国特許 6 , 8 9 0 , 5 3 5 号明細書

【 特許文献 3 】 米国特許 6 , 9 1 3 , 7 4 5 号明細書

【 特許文献 4 】 米国特許 6 , 9 2 3 , 9 6 4 号明細書

【 特許文献 5 】 米国特許 6 , 9 3 6 , 2 4 6 号明細書

【 非特許文献 】

【 0 0 1 6 】

【 非特許文献 1 】 Tan , S . Y . and P e p y s , H i s t o p a t h o l o g y (1 9 9 4) 2 5 : 4 0 3 - 4 1 4

【 非特許文献 2 】 H a r r i s o n ' s H a n d b o o k o f I n t e r n a l M e d i c i n e , 1 3 t h E d . , I s s e l b a c h e r , K . J . 5 , e d s , M c G r a w - H i l l , S a n F r a n c i s c o , 1 9 9 5

30

【 非特許文献 3 】 H u s b y , G . 5 , A m y l o i d (1 9 9 4) 1 , 1 1 9 - 1 3 7

【 非特許文献 4 】 G i l l m o r e J . D . 5 , L a n c e t (2 0 0 1) 3 5 8 : 2 4 - 9

【 発明の概要 】

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 7 】

本発明は、ヒトアミロイド A ペプチドの残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープ、たとえば配列番号 2 の残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープまたは配列番号 4、5、6、7、8、9、10、または 11 として示される残基を含むエピトープに特異的に結合する、単離されたヒト抗体、ヒト化抗体、もしくはキメラ抗体、またはその抗原結合断片を提供する。本発明の抗体または抗原結合断片は、A T C C アクセション番号 _____ によって産生された抗体 2 A 4 または A T C C アクセション番号 _____ によって産生された抗体 7 D 8 と、ヒトアミロイド A ペプチドへの結合で競合するものを含む。本発明のさらなる抗体は、配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1 または 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される軽鎖可変領域および配列番号 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 として示される重鎖可変領域を有する抗体と、ヒトアミロイド A ペプチドへの結合で競合する。

40

【 0 0 1 8 】

開示した抗体は、A T C C アクセション番号 _____ によって産生された抗体 2 A 4 のヒト化バージョンまたはキメラバージョン、または A T C C アクセション番号 _____ によ

50

て産生された抗体 7 D 8 のヒト化バージョンもしくはキメラバージョンを含む。

【 0 0 1 9 】

たとえば代表的な抗体および抗原結合断片は、配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 2 A 4 軽鎖可変領域の 1 つ以上の相補性領域または配列番号 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 7 D 8 軽鎖可変領域の 1 つ以上の相補性領域を含む軽鎖可変領域を含む。別の例として、代表的な抗体および抗原結合断片は、配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 2 A 4 軽鎖可変領域の 2 つの相補性領域または配列番号 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 7 D 8 軽鎖可変領域の 2 つの相補性領域を含む軽鎖可変領域を含む。さらなる代表的な抗体および抗原結合断片は、配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 2 A 4 軽鎖可変領域の 3 つの相補性領域または配列番号 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 7 D 8 軽鎖可変領域の 3 つの相補性領域を含む軽鎖可変領域を含む。2 A 4 または 7 D 8 抗体の代表的なヒト化バージョンは、Y および F によってそれぞれ占有される L 8 7 および L 9 0 (K a b a t ナンバリング規則) から成る群より選択される少なくとも 1 つの軽鎖フレームワーク残基を含み、ここで軽鎖可変領域の残りは、ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される。代表的な抗体および抗原結合断片は、T、S、L、D、Q、K、Y、L、F、および L によってそれぞれ占有される + 7、+ 1 4、+ 1 5、+ 1 7、+ 1 8、+ 5 0、+ 7 5、+ 8 8、+ 9 2、および + 1 0 9 (リニアナンバリング) から成る群より選択される少なくとも 1 つの軽鎖フレームワーク残基を含み、ここで軽鎖可変領域の残りは、ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される。たとえば、代表的な抗体および抗原結合断片は、Y および F によってそれぞれ占有される + 7 5 および + 9 2 (リニアナンバリング) から成る群より選択される少なくとも 1 つの軽鎖フレームワーク残基を含み、ここで軽鎖可変領域の残りは、ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される。本発明の他の代表的な抗体および抗原結合断片において、軽鎖可変領域は、Q に占有される + 1 0 5 (リニアナンバリング) にフレームワーク残基を含む。

10

20

【 0 0 2 0 】

たとえば本発明の抗体および抗原結合断片は、T に占有される + 7 (リニアナンバリング) にフレームワーク残基を含む軽鎖可変領域を含み、ここで軽鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有されるもの ; S に占有される + 1 4 (リニアナンバリング) にフレームワーク残基を含む軽鎖可変領域を含み、ここで軽鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片 ; L に占有される + 1 5 (リニアナンバリング) にフレームワーク残基を含む軽鎖可変領域を含み、ここで軽鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片 ; D に占有される + 1 7 (リニアナンバリング) にフレームワーク残基を含む軽鎖可変領域を含み、ここで軽鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片 ; Q に占有される + 1 8 (リニアナンバリング) にフレームワーク残基を含む軽鎖可変領域を含み、ここで軽鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片 ; K に占有される + 5 0 (リニアナンバリング) にフレームワーク残基を含む軽鎖可変領域を含み、ここで軽鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片 ; Y に占有される + 7 5 (リニアナンバリング) にフレームワーク残基を含む軽鎖可変領域を含み、ここで軽鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片 ; L に占有される + 8 8 (リニアナンバリング) にフレームワーク残基を含む軽鎖可変領域を含み、ここで軽鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片 ; F に占有される + 9 2 (リニアナンバリング) にフレームワーク残基を含む軽鎖可変領域を含み、ここで軽鎖可変領域

30

40

50

の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；Lに占有される+109（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む軽鎖可変領域を含み、ここで軽鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；およびQに占有される+105（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む軽鎖可変領域を含み、ここで軽鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；を含む。

【0021】

本発明で使用するヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域は、ヒトカップサブグループ2軽鎖可変領域（Kabat規則）、たとえばヒト生殖細胞系VKIIA19/A3からのヒトサブグループ2軽鎖可変領域、たとえば配列番号166または167として示される配列を含む、ヒトVk軽鎖可変領域を含む。本発明の詳細な態様において、抗体および抗原結合断片は、配列番号152の残基20～131、配列番号153の残基20～131として示される、または配列番号155、156、157、158、159、160、174、175、または176として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

10

【0022】

本発明の代表的な抗体および抗原結合断片は、配列番号154の残基20～138として示される2A4重鎖可変領域の1つ以上の相補性領域を含む重鎖可変領域、たとえば配列番号154の残基20～138として示される2A4重鎖可変領域の2つの相補性領域を含む重鎖可変領域または配列番号154の残基20～138として示される2A4重鎖可変領域の3つの相補性領域を含む重鎖可変領域を含むものも含む。代表的なヒト化2A4および7D8抗体および抗原結合断片は、I、A、F、またはVによってそれぞれ占有されるH37、H49、H70、およびH93（Kabatナンバリング規則）から成る群より選択される少なくとも1つの重鎖フレームワーク残基を含み、ここで重鎖可変領域の残りは、ヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される。代表的なヒト化抗体および抗原結合断片は、R、K、K、I、A、F、Q、S、M、N、M、V、またはAによってそれぞれ占有される+10、+15、+19、+37、+49、+73、+78、+79、+80、+87、+95、+99、+119（リニアナンバリング）から成る群より選択される少なくとも1つの重鎖フレームワーク残基を含み、ここで重鎖可変領域の残りは、ヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される。たとえば代表的なヒト化抗体および抗原結合断片は、I、A、F、またはVによってそれぞれ占有される+37、+49、+73、および+99（リニアナンバリング規則）から成る群より選択される少なくとも1つの重鎖フレームワーク残基を含み、ここで重鎖可変領域の残りは、ヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される。

20

30

【0023】

たとえば本発明の抗体および抗原結合断片は、Rに占有される+10（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む重鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有されるもの；Kに占有される+15（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む重鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；Kに占有される+19（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む重鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；Iに占有される+37（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む重鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；Aに占有される+49（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む重鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対

40

50

応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；Fに占有される+73（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む重鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；Qに占有される+78（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む重鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；Sに占有される+79（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む重鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；Mに占有される+80（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む重鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；Nに占有される+87（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む重鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；Mに占有される+95（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む重鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；Vに占有される+99（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む重鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；およびAに占有される+109（リニアナンバリング）にフレームワーク残基を含む重鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域の残りがヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、抗体および抗原結合断片；を含む。

10

20

【0024】

ヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域は、ヒトガンマサブグループ3重鎖可変領域（Kabatt規則）、たとえば配列番号165として示される配列を含むヒトガンマサブグループ3重鎖可変領域、たとえば配列番号154の残基20～138として示されるまたは配列番号161、162、もしくは163として示されるアミノ酸配列を含む、重鎖可変領域を含む。

30

【0025】

さらなる代表的な抗体および抗原結合断片は、配列番号152の残基20～131として示される2A4軽鎖可変領域の3つの相補性決定領域または配列番号153の残基20～131として示される7D8軽鎖可変領域の3つの相補性領域を含む軽鎖可変領域、および配列番号154の残基20～138として示される2A4重鎖可変領域の3つの相補性領域を含む重鎖可変領域を含む。たとえば、このような抗体および抗原結合断片は、配列番号168、169、および170として示される3つの相補性決定領域を含む軽鎖可変領域、ならびに配列番号171、172、および173として示される3つの相補性領域を含む重鎖可変領域を有するものを含む。別の例として、このような抗体および抗原結合断片は、配列番号177、169、および170として示される3つの相補性決定領域を含む軽鎖可変領域、ならびに配列番号171、172、および173として示される3つの相補性領域を含む重鎖可変領域を有するものを含む。別の例として、このような抗体および抗原結合断片は、配列番号152の残基20～131としてまたは配列番号153の残基20～131として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号154の残基20～138として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含むものを含む。別の例として、このような抗体および抗原結合断片は、配列番号155、156、157、158、159、160、174、175、または176として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、ならびに配列番号161、162、または163として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を有するものを含む。

40

【0026】

本発明の詳細な態様において、抗体または抗原結合断片は、配列番号155として示さ

50

れるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 1 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 5 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 2 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 5 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 6 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 1 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 6 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 2 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 6 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 7 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 1 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 7 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 2 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 7 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 8 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 1 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 8 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 2 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 8 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 9 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 1 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 9 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 2 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 5 9 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 6 0 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 1 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 6 0 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 2 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 6 0 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 7 4 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 1 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 7 4 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 2 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 7 4 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 7 5 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 1 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 7 5 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 2 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 7 5 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 7 6 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 1 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号 1 7 6 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 2 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；または配列番号 1 7 6 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。

【0027】

ヒトアミロイド A ペプチドの残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープに特異的に結合する、ヒト抗体、ヒト化抗体、もしくはキメラ抗体、またはその抗原結合断片をコードする単離核酸も、本明細書で上述され、請求項で示されるこのようなすべての抗体および抗原結合領域を含めて提供される。このような核酸を発現する細胞がさらに提供される。

【0028】

他の態様において、本発明は、凝集アミロイドタンパク質中の $X_1 E D X_2$ (式中、X

10

20

30

40

50

₁ および X_2 は任意のアミノ酸である)を含むエピトープに特異的に結合する単離抗体、またはその抗原結合領域を提供する。このような抗体および抗原結合断片は、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体、およびその抗原結合断片、たとえばヒトアミロイドAペプチドの残基70～76内のエピトープに特異的に結合するものを含む。

【0029】

さらなる代表的な抗体および抗原結合断片は、 X_1 が H、T、F、S、P、A、L、C、Q、R、E、K、D、G、V、Y、I、もしくは W であり、 X_2 が T、S、E、R、I、V、F、D、A、G、M、L、N、P、C、K、Y、もしくは Q である；または X_1 が H、T、F、S、P、もしくは A であり、 X_2 が T、S、E、R、I、V、F、D、もしくは A である；または X_1 が H、T、F、もしくは A である；または X_2 が T、S、E、D、もしくは A である；または X_1 が H、T、F、または A であり、 X_2 が T、S、E、D、もしくは A である；または X_1 が H、T、もしくは A であり、 X_2 が T、S、E、もしくは A である；または X_1 が H もしくは A であり、 X_2 が T、S、もしくは A である；または X_1 が H であり、 X_2 が T もしくは A である；または X_1 が A であり、 X_2 が S、T、E もしくは V である；または X_1 は A であり、 X_2 が S、T もしくは E である；または X_1 が T であり、 X_2 が E である；または X_1 が F であり、 X_2 が D である；または X_1 が S であり、 X_2 が E、F もしくは A である；または X_1 が P であり、 X_2 が E、I または F であるものを含む。たとえば、このような抗体および抗原結合断片は、GHEDT (配列番号3)、HEDT (配列番号12)、AEDS (配列番号13)、AEDT (配列番号14)、HEDA (配列番号15)、TEDE (配列番号16)、FEDD (配列番号17)、SEDE (配列番号18)、AEDE (配列番号19)、PEDE (配列番号20)、PEDI (配列番号21)、PEDF (配列番号22)、AEDV (配列番号23)、SEDF (配列番号24)、およびSEDA (配列番号25)から成る群より選択されるアミノ酸配列から成るエピトープ；またはGHEDT (配列番号3)、HEDT (配列番号12)、AEDS (配列番号13)、AEDT (配列番号14)、HEDA (配列番号15)、TEDE (配列番号16)、FEDD (配列番号17)、SEDE (配列番号18)、AEDE (配列番号19)、PEDE (配列番号20)、PEDI (配列番号21)、PEDF (配列番号22)、SEDF (配列番号24)、およびSEDA (配列番号25)から成る群より選択されるアミノ酸配列から成るエピトープ；またはGHEDT (配列番号3)、HEDT (配列番号12)、AEDS (配列番号13)、AEDT (配列番号14)、HEDA (配列番号15)、およびTEDE (配列番号16)から成る群より選択されるアミノ酸配列から成るエピトープを結合する。開示されたエピトープ、たとえばGHGAEDS (配列番号4)、GHDAEDS (配列番号5)、GDHAEDS (配列番号7)、配列番号STVIEDS (配列番号8)、およびGRGHEDT (配列番号9)から成る群より選択されるアミノ酸配列を含むエピトープ；またはアミノ酸配列GHGAEDS (配列番号4)を含むエピトープ；またはアミノ酸HEDT (配列番号12)を含むエピトープ；またはアミノ酸HEDA (配列番号15)を含むエピトープ；またはアミノ酸AEDS (配列番号13)を含むエピトープもしくはアミノ酸AEDT (配列番号14)を含むエピトープ；またはアミノ酸TEDE (配列番号16)を含むエピトープ；またはアミノ酸配列AEDV (配列番号23)を含むエピトープ；またはアミノ酸配列SEDF (配列番号24)もしくはPEDF (配列番号22)を含むエピトープ；またはPEDS (配列番号26)、PEDL (配列番号27)、TEDV (配列番号28)、AEDE (配列番号19)、SEDI (配列番号29)およびTEDT (配列番号30)から成る群より選択されるアミノ酸配列を含むエピトープ；またはLEDG (配列番号31)、AEDM (配列番号32)、HEDS (配列番号33)、CEDD (配列番号34)、QEDS (配列番号35)、REDS (配列番号36)、TEDG (配列番号16)、QEDR (配列番号38)、TEDL (配列番号39)、PEDN (配列番号40)、EEDP (配列番号41)、LEDL (配列番号42)、KEDA (配列番号43)、SEDC (配列番号44)、EEDD (配列番号45)、SEDK (配列番号46)、DEDD (配列番号47)、DEDG (配列番号13)、LEDE (配列番号49)、

G E D A (配列番号 1 3)、V E D F (配列番号 5 1)、Y E D E (配列番号 5 2)、I E D L (配列番号 5 3)、W E D Y (配列番号 5 4)、D E D W (配列番号 5 5)、S E D L (配列番号 5 6)、Y E D Q (配列番号 5 7)、L E D W (配列番号 5 8)、Y E D R (配列番号 5 9) および P E D K (配列番号 6 0) から成る群より選択されるアミノ配列を含むエピトープは、凝集アミロイドタンパク質に見出され得る。

【0030】

本明細書に記載する抗体および抗原結合断片は、親和性が約 10^7 M^{-1} 未満の単量体形のアミロイドタンパク質に結合するものを含む。代表的なアミロイドタンパク質は、血清アミロイド A タンパク質 (S A A)、免疫グロブリン軽鎖タンパク質 (たとえば V λ 6 W i l および V κ)、ヒト膵島アミロイド前駆体ポリペプチド (human i s l e t t a m y l o i d p r e c u r s o r p o l y p e p t i d e) (I A P P)、ペータアミロイドペプチド、トランスサイレチン (T T R)、および A p o A 1 を含む。

10

【0031】

凝集アミロイドタンパク質中の $X_1 E D X_2$ (式中、 X_1 および X_2 は任意のアミノ酸である) を含むエピトープに特異的に結合する抗体、またはその抗原結合断片をコードする単離核酸も、本明細書で上述され、請求項で示されるこのようなすべての抗体および抗原結合領域を含めて提供される。このような核酸を発現する細胞がさらに提供される。

【0032】

本発明は、ヒトアミロイド A ペプチドの残基 70 ~ 76 内のエピトープ、たとえば配列番号 2 の残基 70 ~ 76 内のエピトープに特異的に結合するヒト抗体、ヒト化抗体、もしくはキメラ抗体、またはその抗原結合断片を使用して、A A アミロイドーシスを有する対象を治療的に処置するまたは予防的に処置する方法をさらに提供する。A A アミロイドーシスを処置する開示した治療方法から恩恵を受け得る対象は、関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髓炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャスルマン病から成る群より選択されるアミロイド疾患に罹患している対象を含む。開示した予防方法から恩恵を受け得る対象は、上述の障害のいずれかに罹りやすいまたは発症するリスクに瀕した対象を含む。

20

30

【0033】

凝集アミロイドタンパク質中の $X_1 E D X_2$ (式中、 X_1 および X_2 は任意のアミノ酸である) を含むエピトープに特異的に結合する抗体または抗体結合断片を使用して、アミノ酸配列 E D を含む凝集アミロイドタンパク質に関連するアミロイドーシスを有する対象を治療的に処置するまたは予防的に処置する方法も提供される。凝集アミロイドタンパク質に関連するアミロイドーシスを処置する開示した治療方法から恩恵を受け得る対象は、A A アミロイドーシス、A L アミロイドーシス、アルツハイマー病、軽度認知障害、アミロイド多発性神経障害、地中海熱、マックル - ウェルズ症候群、全身性炎症性疾患に関連する反応性全身性アミロイドーシス、骨髓腫またはマクログロブリン血症関連アミロイドーシス、免疫担当細胞疾患 (i m m u n o c y t e d y s c r a s i a) に関連するアミロイドーシス、単クローン性高ガンマグロブリン血症、不顕性疾患 (o c c u l t d y s c r a s i a)、および慢性炎症性疾患に関連する限局性結節性アミロイドーシスに罹患している対象を含む。開示した予防方法から恩恵を受け得る対象は、上述の障害のいずれかに罹りやすいまたは発症するリスクに瀕した対象を含む。本発明の一態様において、アミロイドタンパク質は配列 A E D V (配列番号 2 3) を含み、開示した方法を使用して治療的または予防的に処置されるアミロイド形成性疾患 (a m y l o i d o g e n i c d i s e a s e) は、A A アミロイドーシス、A L アミロイドーシス、アミロイド多発性神経障害、地中海熱、マックル - ウェルズ症候群、全身性炎症性疾患に関連する反応性全身性アミロイドーシス、骨髓腫またはマクログロブリン血症関連アミロイドーシス、免疫担当細胞疾患に関連するアミロイドーシス、単クローン性高ガンマグロブリン血症、不

40

50

頭性疾患、および慢性炎症性疾患に関連する限局性結節性アミロイドーシスである。

【 0 0 3 4 】

開示した治療的および予防的方法は、ヒト対象を処置するのに有用である。

【 0 0 3 5 】

有効な治療的処置の代表的な指標は、アミロイドーシスの進行を遅らせること、アミロイド原線維凝集体の沈着を抑制すること、および／またはアミロイド原線維凝集体を除去することを含む。有効な予防的処置の代表的な指標は、アミロイドーシスの開始を遅延することおよび／またはアミロイドーシスのリスクを低下させることを含む。

【 0 0 3 6 】

ヒトアミロイドAペプチドの残基70～76内のエピトープに特異的に結合するヒト抗体、ヒト化抗体、もしくはキメラ抗体、またはその抗原結合断片であって、検出可能な標識に結合されている抗体または抗原結合断片によって、対象におけるAAアミロイドーシスに関連するアミロイド沈着を検出して、次に対象における検出可能な標識を検出する方法もなおさらに提供される。さらなる方法は、凝集アミロイドタンパク質中の X_1EDX_2 （式中、 X_1 および X_2 は任意のアミノ酸である）を含むエピトープに特異的に結合する抗体または抗原結合断片を使用して、アミノ酸配列EDを含む凝集アミロイドタンパク質を検出することを含む。上述の検出方法はたとえば、上記の疾患および障害のいずれかにおいて疾患の開始もしくは進行または治療を監視するために使用され得る。本明細書に開示した処置方法に関して、このような監視はヒトにおいてはもちろんのこと、非ヒト対象においても実施され得る。有用な検出可能な標識は、放射性標識、たとえば ^{125}I を含む。このような検出方法を実施するにあたって、検出可能な標識を検出するステップは、非侵襲性技法、たとえばSPECT/CT画像化およびNMR分光法によって実現され得る。

【 0 0 3 7 】

アミロイドAペプチドの残基70～76に対する抗体を含む免疫応答を誘導するのに有効なアミロイドAペプチドの残基70～76に対する免疫応答を誘導する薬剤を使用して、AAアミロイドーシスを有する対象の能動免疫療法の方法がなお提供される。免疫応答を誘導する代表的な薬剤は、アミロイドAペプチドの残基70～76またはAAペプチドからの20未満の隣接アミノ酸を有するその少なくとも3つの隣接残基のサブ断片を含む。これらの方法は、受動免疫療法、すなわちアミロイドAペプチドの残基70～76に特異的に結合する抗体または抗原結合断片を投与することに関して本明細書で上述した対象の処置に、治療上および／または予防上の両方で有用である。治療的および予防的有効性の指標も、受動免疫療法に関して本明細書で上述した通りである。

【 0 0 3 8 】

上記で本発明の詳細な態様が要約され、本発明のさらなる態様が本明細書に記載される。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 3 9 】

【図1】ヒトSAA1、ヒトSAA2、ヒトSAA3およびヒトSAA4の配列アラインメント。

【図2】ヒトSAA1およびヒトAA1の配列アラインメント。

【図3】ヒトSAA2およびヒトAA2の配列アラインメント。

【図4】ヒトSAA3およびヒトAA3の配列アラインメント。

【図5】ヒトSAA4およびヒトAA4の配列アラインメント。

【図6】ヒトAA1、ヒトAA2、ヒトAA3およびヒトAA4の配列アラインメント。

【図7】ヒトAA1、ヒトAA2、ヒトAA3およびヒトAA4の最後の7残基の配列アラインメント。

【図8】マウスSAA1、マウスSAA2、マウスSAA3およびマウスSAA4の配列アラインメント。

【図9】マウスSAA1およびマウスAA1の配列アラインメント。

【図 10】マウス S A A 2 およびマウス A A 2 の配列アラインメント。

【図 11】マウス S A A 3 およびマウス A A 3 の配列アラインメント。

【図 12】マウス S A A 4 およびマウス A A 4 の配列アラインメント。

【図 13】マウス A A 1、マウス A A 2、マウス A A 3、マウス A A 4 の配列アラインメント。

【図 14】マウス A A 1、マウス A A 2、マウス A A 3 およびマウス A A 4 の最後の 7 残基の配列アラインメント。

【図 15】マウス S A A 1 およびマウス S A A 1 の配列アラインメント。

【図 16】ヒト A A 1 およびマウス A A 1 の配列アラインメント。

【図 17】ヒト S A A 1 およびマウス S A A 1 断片の配列アラインメント。

【図 18】ヒト S A A 1 アルファ、ヒト S A A 1 ベータ、およびヒト S A A 1 ガンマの配列アラインメント。

【図 19】ヒト S A A 2 アルファおよびヒト A A 2 ベータの配列アラインメント。

【図 20】S A A タンパク質の配列比較。2 A 4、8 G 9 および 7 D 8 を産生するのに使用したペプチド領域を破線で示す。シャープイ配列の位置 6 7 と 6 8 の間に挿入した 8 アミノ酸を下線および矢印で示す。アライメントは C L U S T A L W によって実施。

【図 21】V κ 軽鎖の生殖細胞系配列。

【図 22】V λ 軽鎖の生殖細胞系配列。

【図 23】V λ 6 W i l のアミノ酸配列。

【図 24】G l u 5 0 - A s p 5 1 の位置を示す V λ 6 W i l の X 線結晶。

【図 25】G l u 8 1 - A s p 8 2 の位置を示す V λ 6 W i l の X 線結晶。

【図 26】V λ 6 W i l 原線維を合成するための E l a n m A b s の結合反応速度。m A b 2 A 4、7 D B および 8 G 9 の 6 . 6 n M における固定化 V λ 6 W i l 原線維への相互作用の B I A c o r e 測定。各相互作用について計算した K D は ~ 1 n M であった。

【図 27】V λ 6 W i l 原線維を合成するための m A b 7 D 8 の濃度依存性結合反応速度。固定化 V λ 6 W i l 原線維への濃度 6 . 6 ~ 3 3 . 3 n M における抗体相互作用を B I A c o r e によって測定した。

【図 28】p 3 9 および p 4 1 ペプチドの存在下での m A b 7 D 8 の V λ 6 W i l 原線維への結合反応速度。6 . 6 n M における m A b 7 D 8 の固定化 V λ 6 W i l 原線維との相互作用は、p 3 9 および p 4 1 ペプチドの存在下で、1 または 2 0 μ g / m L で B I A c o r e によって測定した。

【図 29】モノクローナル抗体の A L λ 組織アミロイド沈着との反応性。

【図 30】ヒト A L λ アミロイドーマを持つマウスにおける ¹²⁵I 標識 m A b 7 D 8 の生体内分布。

【図 31】培養物上清の抗 A A とマウス由来 A A 原線維との相互作用。マウス A A A E F を結合する m A b 培養物上清の結果。上パネルおよび下パネルは、第 1 および第 2 の培養液流体回収物それぞれのデータである。

【図 32】タンパク質 A 精製 2 A 4、8 G 9 および 7 D 8 m A b の S D S - P A G E 分析。

【図 33】精製 m A b s の固定化 (p # 3 9) および対照ペプチド (p # 4 1) への結合。

【図 34】マウス A A アミロイド抽出物 (A E F) への結合。

【図 35】精製 m A b s のヒト腎 A A アミロイド抽出物への結合。

【図 36 A】マウス 2 A 4、7 D 8、および 8 G 9 軽鎖および重鎖可変領域の配列 (図 3 6 A) ; ヒト化 2 A 4 / 8 G 9 および 7 D 8 軽鎖可変領域の配列 (図 3 6 B ~ 3 6 C) ; 受容体フレームワークとして使用したヒト軽鎖可変領域の配列 (図 3 6 D) ; 受容体フレームワークとして使用したヒト化 2 A 4 / 7 D 8 / 8 G 9 重鎖可変領域およびヒト重鎖可変領域の配列 (図 3 6 E) 。下線、C D R ; 二重下線、リーダー配列 ; 小文字、逆突然変異。

10

20

30

40

50

【図 3 6 B】マウス 2 A 4、7 D 8、および 8 G 9 軽鎖および重鎖可変領域の配列（図 3 6 A）；ヒト化 2 A 4 / 8 G 9 および 7 D 8 軽鎖可変領域の配列（図 3 6 B ~ 3 6 C）；受容体フレームワークとして使用したヒト軽鎖可変領域の配列（図 3 6 D）；受容体フレームワークとして使用したヒト化 2 A 4 / 7 D 8 / 8 G 9 重鎖可変領域およびヒト重鎖可変領域の配列（図 3 6 E）。下線、C D R；二重下線、リーダー配列；小文字、逆突然変異。

【図 3 6 C】マウス 2 A 4、7 D 8、および 8 G 9 軽鎖および重鎖可変領域の配列（図 3 6 A）；ヒト化 2 A 4 / 8 G 9 および 7 D 8 軽鎖可変領域の配列（図 3 6 B ~ 3 6 C）；受容体フレームワークとして使用したヒト軽鎖可変領域の配列（図 3 6 D）；受容体フレームワークとして使用したヒト化 2 A 4 / 7 D 8 / 8 G 9 重鎖可変領域およびヒト重鎖可変領域の配列（図 3 6 E）。下線、C D R；二重下線、リーダー配列；小文字、逆突然変異。

【図 3 6 D】マウス 2 A 4、7 D 8、および 8 G 9 軽鎖および重鎖可変領域の配列（図 3 6 A）；ヒト化 2 A 4 / 8 G 9 および 7 D 8 軽鎖可変領域の配列（図 3 6 B ~ 3 6 C）；受容体フレームワークとして使用したヒト軽鎖可変領域の配列（図 3 6 D）；受容体フレームワークとして使用したヒト化 2 A 4 / 7 D 8 / 8 G 9 重鎖可変領域およびヒト重鎖可変領域の配列（図 3 6 E）。下線、C D R；二重下線、リーダー配列；小文字、逆突然変異。

【図 3 6 E】マウス 2 A 4、7 D 8、および 8 G 9 軽鎖および重鎖可変領域の配列（図 3 6 A）；ヒト化 2 A 4 / 8 G 9 および 7 D 8 軽鎖可変領域の配列（図 3 6 B ~ 3 6 C）；受容体フレームワークとして使用したヒト軽鎖可変領域の配列（図 3 6 D）；受容体フレームワークとして使用したヒト化 2 A 4 / 7 D 8 / 8 G 9 重鎖可変領域およびヒト重鎖可変領域の配列（図 3 6 E）。下線、C D R；二重下線、リーダー配列；小文字、逆突然変異。

【発明を実施するための形態】

【0040】

発明の詳細な説明

本発明は、凝集アミロイドタンパク質中の $X_1 E D X_2$ （式中、 X_1 および X_2 は任意のアミノ酸である）を含むエピトープに特異的に結合する単離抗体、またはその抗原結合領域を提供する。

【0041】

本発明の代表的な抗体は、（a） $X_1 E D X_2$ を含むエピトープへの結合で 2 A 4、7 D 8、もしくは 8 G 9 抗体と競合する；（b）2 A 4、7 D 8、もしくは 8 G 9 抗体と同じ $X_1 E D X_2$ を含むエピトープに結合する；（c）2 A 4、7 D 8、もしくは 8 G 9 抗体の抗原結合ドメインを含む；または（d）2 A 4、7 D 8、もしくは 8 G 9 抗体の 6 つの相補性決定領域（C D R）を含む；抗体またはその断片も含む。

【0042】

本発明は、（a）2 A 4、7 D 8、もしくは 8 G 9 抗体に由来する抗体の軽鎖可変領域；または（b）2 A 4、7 D 8、もしくは 8 G 9 抗体に由来する抗体の重鎖可変領域；を含む単離抗体可変領域も提供する。

【0043】

本発明は、（a）7 D 8、2 A 4、もしくは 8 G 9 抗体の軽鎖または重鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列；（b）軽鎖または重鎖可変領域をコードする 7 D 8、2 A 4、もしくは 8 G 9 抗体のヌクレオチド配列と同一であるヌクレオチド配列；（c）（a）もしくは（b）のヌクレオチド配列と実質的に同じであるヌクレオチド配列；または（d）厳密ハイブリダイゼーション条件下で（a）もしくは（b）のヌクレオチド配列の補体であるヌクレオチド配列を有する核酸に特異的にハイブリダイズする核酸；を含む抗体軽鎖可変領域または重鎖可変領域をコードする単離核酸も提供する。

【0044】

本発明の抗体および抗原結合断片を発現する細胞も提供される。本発明は、本発明の核

10

20

30

40

50

酸を発現する細胞をさらに提供する。

【0045】

本発明は、本発明の抗体および抗原結合断片を使用してアミロイド疾患を処置する方法およびアミロイド疾患を予防する方法も含む。現在、AAアミロイドーシスおよびALアミロイドーシスを含むアミロイド疾患のいずれにも、具体的なアミロイドに対する治療法は承認されていない。Gillmore J. D.ら、Lancet 358: 24-9 (2001)を参照。基礎または関連した疾患状態がある場合には、療法は、基礎疾患を治療することによって、アミロイド形成性タンパク質の産生を低下させることを目的としている。たとえば、AAアミロイドーシスの現在の治療方法は、基礎炎症を標的として、ApoSSAレベルを10mg/l未満に低下させることである。現在利用されている療法は、化学療法（クロランブシルおよびMTX）、免疫抑制剤（アザチオプリン）、抗炎症薬（コルヒチン）およびTNF阻害薬を含む。本発明は、アミロイドーシス、たとえばAAアミロイドーシスおよびALアミロイドーシスを含む、いくつかのアミロイド疾患を処置するための製薬組成物および方法を提供する。一態様により、本発明は、アミロイド構成成分に対する患者の免疫応答を誘導するのに有効である薬剤を活性成分として含む製薬組成物を含む。薬剤は、アミロイドタンパク質に由来するアミノ酸配列 X_1EDX_2 から成る断片を含むペプチドであることが可能である。薬剤は、 X_1EDX_2 を含むエピトープに特異的に結合する抗体であることが可能である。他の実施形態において、薬剤は抗体の抗原結合断片であることが可能である。このような組成物は一般に賦形剤も含み、好ましい実施形態では、アジュバントも含み得る。さらに好ましい実施形態において、アジュバントはたとえば水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、MPL（商標）、QS-21（STIMULON（商標））またはフロイント不完全アジュバントを含む。関連する実施形態により、このような製薬組成物は、患者における2つ以上のアミロイド構成成分に対して免疫応答を誘導するのに有効である複数の薬剤を含み得る。

【0046】

関連実施形態において、薬剤は、凝集アミロイドタンパク質、たとえば原線維ペプチドまたはタンパク質アミロイド構成成分に対する免疫応答を生じるのに有効である。好ましくは、このような原線維ペプチドまたはタンパク質は、本明細書に記載するようなある形態のアミロイド疾患に関連することが公知である原線維前駆体タンパク質に由来する。このような前駆体タンパク質は、これに限定されるわけではないが、血清アミロイドAタンパク質（ApoSSA）、免疫グロブリン軽鎖、免疫グロブリン重鎖、ApoAI、トランスサイレチン、リゾチーム、フィブログゲン α 鎖、ゲルソリン、シスタチンC、アミロイド β タンパク質前駆体（ β -APP）、ベータ₂ミクログロブリン、プリオン前駆体タンパク質（PrP）、心房性ナトリウム利尿因子、ケラチン、豚島アミロイドポリペプチド、ペプチドホルモン、およびシヌクレインを含む。このような前駆体は、このような前駆体のミュータントタンパク質、タンパク質断片およびタンパク質分解ペプチドも含む。好ましい実施形態において、薬剤は、原線維前駆体タンパク質に関して、原線維タンパク質またはペプチドによって形成されたネオエピトープに対する免疫応答を誘導するのに有効である。すなわち本明細書でさらに詳細に記載するように、多くの原線維形成ペプチドまたはタンパク質は、上で挙げたようなこのような前駆体タンパク質の断片である。このような断片がたとえばタンパク質分解切断によって形成されるとき、前駆体に存在せずに、したがって断片が前駆体タンパク質の一部であるときに免疫系が免疫学的に利用できないエピトープが出現し得る。このようなエピトープに対する薬剤は、それらが患者において自己免疫応答を誘導しにくいことがあるため、好ましい治療剤であり得る。好ましくはこのような薬剤は、アミロイドタンパク質の非病理学的形態と比べて、アミロイドタンパク質の病理学的形態、たとえば凝集アミロイドタンパク質に対する免疫応答を優先的に生じる。

【0047】

関連する実施形態により、本発明の製薬組成物は、これに限定されるわけではないが、以下の凝集（たとえば原線維）ペプチドまたはタンパク質：AA、AL、ATTR、AA

10

20

30

40

50

p o A 1、A l y s、A g e l、A c y s、A β 、A B₂ M、A S c r、A c a l、A I A P P およびシヌクレイン - N A C 断片を含む群より選択されるものなどの、アミロイド凝集体に向けられた薬剤を含む。これらのペプチドのフルネームおよび組成は本明細書に記載する。このようなペプチドは本明細書に記載するように、当分野で周知の方法に従って作製できる。

【 0 0 4 8 】

方法は、アミロイドタンパク質中の X₁ E D X₂ を含むエピトープに特異的に結合する有効投薬量の抗体を患者に投与するステップを含み、式中、X₁ は、H、T、F、S、P、A またはこのようなアミロイドタンパク質で E D の直前に先行するその他のアミノ酸残基であり；式中、X₂ は、T、S、E、R、I、V、F、A またはこのようなアミロイドタンパク質で E D の直後に続くその他のアミノ酸残基である。いくつかの方法において、患者は、アミノ酸配列 E D を含む凝集アミロイドタンパク質に関連するアミロイドーシスに罹患している。いくつかの抗体は、このような X₁ E D X₂ から成るエピトープに特異的に結合する。いくつかの抗体において、X₁ は、H、T、F、S、P、または A であり、X₂ は、T、S、E、D、R、I、V、F または A である。いくつかのこのような抗体において、X₁ が H であるとき、X₂ は、T または A である；X₁ が A であるとき、X₂ は、S、T、E または V である；X₁ が T であるとき、X₂ は E である；X₁ が F であるとき、X₂ は D である；X₁ が S であるとき、X₂ は、E、F または A である；X₁ が P であるとき、X₂ は、E、I または F である。いくつかの抗体において、X₁ が A ならば、X₂ は V でないという条件で、X₁ は、H、T、F、S、P、または A であり、X₂ は、T、S、E、D、R、I、V、F または A である。いくつかの抗体において、X₁ が A であるとき、X₂ は S、T または E である。

【 0 0 4 9 】

いくつかの抗体は、アミノ酸配列 G H E D T、(配列番号 3)、H E D T、(配列番号 1 2)、A E D S、(配列番号 1 3)、A E D T、(配列番号 1 4)、H E D A、(配列番号 1 5)、T E D E、(配列番号 1 6)、F E D D、(配列番号 1 7)、S E D E、(配列番号 1 8)、A E D E、(配列番号 1 9)、P E D E、(配列番号 2 0)、P E D I、(配列番号 2 1)、P E D F、(配列番号 2 2)、A E D V、(配列番号 2 3)、S E D F、(配列番号 2 4)、または S E D A、(配列番号 2 5) を含むエピトープを特異的に結合する。

【 0 0 5 0 】

いくつかの抗体は、G H E D T、(配列番号 3)、H E D T、(配列番号 1 2)、A E D S、(配列番号 1 3)、A E D T、(配列番号 1 4)、H E D A、(配列番号 1 5)、T E D E、(配列番号 1 6)、F E D D、(配列番号 1 7)、S E D E、(配列番号 1 8)、A E D E、(配列番号 1 9)、P E D E、(配列番号 2 0)、P E D I、(配列番号 2 1)、P E D F、(配列番号 2 2)、S E D F、(配列番号 2 4)、または S E D A、(配列番号 2 5) から成る群より選択されるアミノ酸配列を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、G H E D T、(配列番号 3)、H E D T、(配列番号 1 2)、A E D S、(配列番号 1 3)、A E D T、(配列番号 1 4)、H E D A、(配列番号 1 5)、および T E D E、(配列番号 1 6) から成る群より選択されるアミノ酸配列を含むペプチドに特異的に結合する。

【 0 0 5 1 】

いくつかの抗体は、A A の残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープに特異的に結合する。いくつかの抗体は、A A の残基 7 1 ~ 7 5 内のエピトープに特異的に結合する。いくつかの抗体は、G H E D T、(配列番号 3) を含むペプチドに対して産生される。

【 0 0 5 2 】

いくつかの抗体は、アミノ酸配列 P E D S、(配列番号 2 6)、P E D L、(配列番号 2 7)、T E D V、(配列番号 2 8)、A E D E、(配列番号 1 9)、S E D I、(配列番号 2 9)、および T E D T、(配列番号 3 0) を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列 L E D G、(配列番号：3 1)、A E D M、(配列番号 3

10

20

30

40

50

2)、HEDS、(配列番号33)、CEDD、(配列番号34)、QEDS、(配列番号35)、REDS、(配列番号36)、TE DG、(配列番号37)、QEDR、(配列番号38)、TEDL、(配列番号39)、PEDN、(配列番号40)、EEDP、(配列番号41)、LE DL、(配列番号42)、KEDA、(配列番号43)、SEDC、(配列番号44)、EEDD、(配列番号45)、SE DK、(配列番号46)、DEDD、(配列番号47)、DE DG、(配列番号48)、LE DE、(配列番号49)、GEDA、(配列番号50)、VEDF、(配列番号51)、YE DE、(配列番号52)、IE DL、(配列番号53)、WE DY、(配列番号54)、DE DW、(配列番号55)、SE DL、(配列番号56)、YE DQ、(配列番号57)、LE DW、(配列番号58)、YE DR、(配列番号59)、およびPE DK、(配列番号60)を含むペプチドに特異的に結合する。

10

【0053】

いくつかの抗体は、アミノ酸配列AEDV、(配列番号:23)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列SEDF、(配列番号:24)またはPEDF、(配列番号22)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列AEDS、(配列番号:13)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列PE DI (配列番号21)、AEDV、(配列番号23)、SEDF、(配列番号24)、SEDA、(配列番号25)、SEDE、(配列番号18)、AEDE、(配列番号19)、およびPEDE、(配列番号20)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列TEDE、(配列番号16)を含むペプチドに結合する。

20

【0054】

いくつかの抗体は、アミノ酸配列AEDV、(配列番号:23)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列SEDF、(配列番号:24)またはPEDF、(配列番号22)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列AEDS、(配列番号:13)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列PE DI (配列番号21)、AEDV、(配列番号23)、SEDF、(配列番号24)、SEDA、(配列番号25)、SEDE、(配列番号18)、AEDE、(配列番号19)、およびPEDE、(配列番号20)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列TEDE、(配列番号16)を含むペプチドに結合する。

30

【0055】

上述の抗体のいずれも、アミロイドタンパク質、たとえばアミノ酸配列EDを含むアミロイドタンパク質の沈着を特徴とする疾患の処置または予防実施のために、上述の方法で投与することができる。いくつかの方法において、アミロイドタンパク質がアミノ酸配列AEDV、(配列番号23)を含む場合、抗体はアルツハイマー病または軽度認知障害の処置または予防実施のために投与されない。アミロイドタンパク質は、血清アミロイドAタンパク質、免疫グロブリン軽鎖タンパク質、たとえばVλ6 WilもしくはVκ、ヒト膝島アミロイド前駆体ポリペプチド(IAPP)、ベータアミロイドペプチド、トランスサイレチン(TTR)、またはApoA1のいずれでも可能である。

40

【0056】

場合により、患者はヒトである。場合により、抗体は、残基が配列番号4、5、6、7、8、9、10、または11から成るペプチドに特異的に結合する。場合により、抗体は(配列番号2)の残基70~76内のエピトープに特異的に結合する。場合により、抗体はヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体である。場合により、ヒト抗体は、ヒトアイソタイプIgG1、IgG4、IgG2またはIgG3である。場合により、ヒト化抗体は、ヒトアイソタイプIgG1、IgG4、IgG2またはIgG3のヒト化抗体である。場合により、キメラ抗体は、ヒトアイソタイプIgG1、IgG4、IgG2またはIgG3のキメラ抗体である。場合により、抗体はマウス抗体である。場合により、抗体はポリクローナル抗体である。場合により、抗体はモノクローナル抗体である。

50

【 0 0 5 7 】

いくつかの処置方法において、抗体は軽鎖および重鎖の同じ対を2コピー含む。他の方法において、抗体は、 $A\beta$ のエピトープに特異的に結合する第1の軽鎖および重鎖対ならびに小グリア細胞のFc受容体に特異的に結合する第2の軽鎖および重鎖対を含む2重特異性抗体である。他の方法において、抗体の鎖は異種ポリペプチドに融合する。

【 0 0 5 8 】

いくつかの処置方法において、抗体の投薬量は、少なくとも1mg/kg患者の体重である。他の方法において、抗体の投薬量は、少なくとも10mg/kg患者の体重である。

【 0 0 5 9 】

いくつかの処置方法において、抗体は担体と共に製薬組成物として投与される。他の方法において、抗体は、AAペプチドによって免疫化されたヒトからのB細胞から調製されたAAに対するヒト抗体である。場合により、AAペプチドによって免疫化されたヒトは患者である。いくつかの方法において、抗体は、腹腔内に、経口的に、鼻内に、皮下に、筋肉内に、局所的にまたは静脈内に投与される。

【 0 0 6 0 】

いくつかの処置方法において、抗体は少なくとも1つの抗体鎖をコードするポリヌクレオチドを患者に投与することによって投与され、ポリヌクレオチドが発現されて患者内で抗体を産生する。場合により、ポリヌクレオチドは抗体の重鎖および軽鎖をコードして、ポリヌクレオチドが発現されて患者内で重鎖および軽鎖を産生する。

【 0 0 6 1 】

上の処置方法のいくつかは、AAの異なるエピトープに結合する少なくとも1つの他の抗体の有効投薬量を投与するステップをさらに含む。上の処置方法のいくつかは、患者を患者の血液中の投与抗体のレベルについて監視するステップをさらに含む。他の方法において、抗体は少なくとも6ヶ月の期間にわたって複数回の投薬量で投与される。他の方法において、抗体は持続放出組成物として投与される。

【 0 0 6 2 】

本発明は、AAアミロイドーシスに罹りやすい患者でのAAアミロイドーシスの予防を達成する方法をさらに提供する。方法は、AAの残基70~76内のエピトープに特異的に結合する抗体の有効投薬量を患者に投与するステップを含む。場合により、患者はヒトである。場合により、抗体は、残基が配列番号4、5、6、7、8、9、10、または11から成るペプチドに特異的に結合する。場合により、抗体は(配列番号2)の残基70~76内のエピトープに特異的に結合する。いくつかの方法において、患者は、関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人ステイル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髓炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャッスルマン病から成る群より選択される基礎アミロイド疾患に罹患する。

【 0 0 6 3 】

本発明は、AAの残基70~76内のエピトープに特異的に結合するヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体をさらに提供する。場合により、ヒト化抗体は、AAの残基70~76内のエピトープに特異的に結合する。場合により、ヒト化抗体はヒト化バージョン7D8抗体(ATCCアクセション番号_____)である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン7D29抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン7D19抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン7D47抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン7D39抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン7D66抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン8G9抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン8G3抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン8G4抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン8G51抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バー

10

20

30

40

50

ジョン 8 G 2 2 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 8 G 3 0 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 8 G 4 6 抗体である。場合により、ヒト化抗体はヒト化バージョン 2 A 4 抗体 (A T C C アクセション番号 _____) である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 2 A 2 0 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 2 A 4 4 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 2 A 7 7 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 2 A 1 3 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 2 A 1 4 抗体である。

【 0 0 6 4 】

本発明は製薬組成物をさらに提供する。製薬組成物は、A A の残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープに特異的に結合する抗体、および製薬的に許容される担体を含む。いくつかの製薬組成物は、A A の残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープに特異的に結合するヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体、および製薬的に許容される担体を含む。他の製薬組成物は、A A の残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープに特異的に結合する抗体および製薬的に許容される担体を含み、ここで抗体のアイソタイプはヒト I g G 1 であり、および製薬的に許容される担体である。いくつかの製薬組成物において、抗体のアイソタイプはヒト I g G 2 、 I g G 3 、または I g G 4 である。いくつかの製薬組成物において、抗体はヒトである。いくつかの製薬組成物において、抗体はヒト化である。いくつかの製薬組成物において、抗体はキメラである。いくつかの製薬組成物において、抗体はポリクローナル抗体である。いくつかの製薬組成物において、抗体はモノクローナル抗体である。

【 0 0 6 5 】

いくつかの製薬組成物において、抗体は軽鎖および重鎖の同じ対を 2 コピー含む。いくつかの製薬組成物において、抗体は、A A のエピトープに特異的に結合する第 1 の軽鎖および重鎖対ならびに小グリア細胞の F c 受容体に特異的に結合する第 2 の軽鎖および重鎖を含む 2 重特異性抗体である。いくつかの製薬組成物において、抗体の鎖は異種ポリペプチドに融合される。いくつかの製薬組成物において、担体は、非経口投与のための生理学的に許容される希釈剤である。いくつかの製薬組成物は、腹腔内に、経口的に、鼻内に、皮下に、筋肉内に、局所的にまたは静脈内に投与されるのに適している。いくつかの製薬組成物は、少なくとも 6 ヶ月の期間にわたって複数回の投与量で投与されるのに適している。いくつかの製薬組成物は、持続放出組成物として投与されるのに適している。いくつかの製薬組成物は、A A の異なるエピトープに結合する少なくとも 1 つの他の抗体をさらに含む。

【 0 0 6 6 】

本発明は、患者の A A アミロイドーシスを処置する方法を提供する。方法は、A A 7 0 ~ 7 6 に対する抗体を含む免疫応答を誘導するのに有効な投薬計画において、A A 7 0 ~ 7 6 に対する抗体を含む免疫応答を誘導するのに有効な投薬計画において、A A 7 0 ~ 7 6 に対する免疫応答を誘導する薬剤を投与するステップを含む。いくつかの方法において、患者はヒトである。場合により、薬剤は、A A 7 0 ~ 7 6 またはその少なくとも 3 つの隣接残基のサブ断片を含み、A A ペプチドからの 2 0 未満の隣接アミノ酸を有する。場合により、薬剤は、配列番号 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 1 0 および 1 1 から成る群より選択される配列を有するペプチドおよびその少なくとも 3 つの隣接残基のサブ断片であり、A A ペプチドからの 2 0 未満の隣接アミノ酸を有する。場合により、薬剤はその N および C 末端にて第 1 および第 2 の異種ポリペプチドに結合される。場合により、薬剤はその N 末端において異種ポリペプチドに、その C 末端において N 末端セグメントの少なくとも 1 つのさらなるコピーに結合される。いくつかの方法において、異種ポリペプチドは、異種ポリペプチドに対する T 細胞応答を、それにより A A に対する B 細胞応答を誘導する。いくつかの方法において、ポリペプチドは A A の少なくとも 1 つのさらなるコピーを含む。場合により、ポリペプチドは、N 末端から C 末端までの A A 、 A A の複数のさらなるコピーおよび異種アミノ酸セグメントを含む。

【 0 0 6 7 】

いくつかの処置方法において、ポリペプチドは、N 末端セグメントに対する免疫応答を

向上させるアジュバントと共に投与される。場合により、アジュバントおよびポリペプチドは組成物として共に投与される。場合により、アジュバントはポリペプチドの前に投与される。場合により、アジュバントはポリペプチドの後に投与される。いくつかの方法において、アジュバントはミョウバンである。いくつかの方法において、アジュバントはMPLである。いくつかの方法において、アジュバントはQS-21である。いくつかの方法において、アジュバントは不完全フロイントアジュバントである。いくつかの方法において、免疫応答は、AAペプチドにMHC IまたはMHC II複合体の成分として結合するT細胞を含む。

【0068】

本発明は、患者のAAアミロイドーシスの予防を達成する方法を提供する。方法は、AA 70～76に対する抗体を含む免疫応答を誘導するのに有効な投薬計画において、AA 70～76に対する抗体を含む免疫応答を誘導するのに有効な投薬計画において、AA 70～76に対する免疫応答を誘導する薬剤を投与するステップを含む。いくつかの方法において、患者はヒトである。いくつかの方法において、患者は無症候性である。いくつかの方法において、患者は、関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髓炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャスルマン病から成る群より選択される基礎アミロイド疾患に罹患する。

10

20

【0069】

予防を達成するいくつかの方法において、薬剤はAA 70～76またはその少なくとも3つの隣接残基のサブ断片を含み、AAペプチドからの20未満の隣接アミノ酸を有する。場合により、薬剤は、配列番号4、5、6、7、8、9、10および11から成る群より選択される配列を有するペプチドおよびその少なくとも3つの隣接残基のサブ断片であり、AAペプチドからの20未満の隣接アミノ酸を有する。場合により、薬剤はそのNおよびC末端にて第1および第2の異種ポリペプチドに結合される。場合により、薬剤はそのN末端において異種ポリペプチドに、そのC末端においてN末端セグメントの少なくとも1つのさらなるコピーに結合される。いくつかの方法において、異種ポリペプチドは、異種ポリペプチドに対するT細胞応答を、それによりAAに対するB細胞応答を誘導する。いくつかの方法において、ポリペプチドはAAの少なくとも1つのさらなるコピーを含む。場合により、ポリペプチドは、N末端からC末端まで、AA、AAの複数のさらなるコピーおよび異種アミノ酸セグメントを含む。

30

【0070】

本発明は製薬組成物をさらに提供する。製薬組成物は、AAの残基70で開始して、AAの残基76で終了する残基から成るAA断片を含む。場合により、AA断片はそのC末端で異種ポリペプチドに結合される。場合により、AA断片はそのN末端で異種ポリペプチドに結合される。場合により、AA断片はそのNおよびC末端にて第1および第2の異種ポリペプチドに結合される。場合により、AA断片はそのN末端において異種ポリペプチドに、そのC末端においてN末端セグメントの少なくとも1つのさらなるコピーに結合される。場合により、ポリペプチドはN末端セグメントの少なくとも1つのさらなるコピーをさらに含む。場合により、ポリペプチドは、N末端からC末端まで、AA、N末端セグメントの複数のさらなるコピー、および異種アミノ酸セグメントを含む。いくつかの製薬組成物において、異種ポリペプチドは、異種ポリペプチドに対するT細胞応答を、それによりN末端セグメントに対するB細胞応答を誘導する。

40

【0071】

いくつかの製薬組成物は、AAに対する免疫応答を向上させるアジュバントをさらに含む。場合により、アジュバントはミョウバンである。場合により、アジュバントはMPLである。場合により、アジュバントはQS-21である。場合により、アジュバントは不完全フロイントアジュバントである。場合により、アジュバントはGM-CSFをさらに

50

含む。場合により、アジュバントはM - C S Fである。場合により、組成物は10マイクログラムを超えるポリペプチドを含む。

【0072】

本発明は、患者のAAアミロイドーシスを処置する方法を提供する。方法は、患者のアミロイド沈着のペプチド構成成分に対する免疫応答を誘導するのに有効な薬剤、および基礎疾患を処置し、それにより患者のAAアミロイドーシスを処置する別の薬剤を投与するステップを含む。いくつかの方法において、基礎疾患は、関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髄炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャッスルマン病から成る群より選択される。

10

【0073】

本発明は、患者のAAアミロイドーシスの予防を達成する方法を提供する。方法は、患者のアミロイド沈着のペプチド構成成分に対する免疫応答を誘導するのに有効な薬剤、および基礎疾患を処置し、それにより患者のAAアミロイドーシスを処置する別の薬剤を投与するステップを含む。いくつかの方法において、基礎疾患は、関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髄炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャッスルマン病から成る群より選択される。

20

【0074】

本発明は、AAアミロイドーシスを有する患者を処置する活性について抗体をスクリーニングする方法を提供する。方法は、抗体をAAペプチドと接触させるステップと、抗体がAAに特異的に結合するか否かを判定するステップとを含み、特異的結合は、抗体がAAアミロイドーシスの処置に活性を有するという指摘を与える。

【0075】

本発明は、抗原と物理的に結合した生物学的実体を除去する活性について抗体をスクリーニングする方法を提供する。方法は、抗原結合生物学的実体、抗体およびFc受容体を持つ食細胞を培地中で混合するステップと；培地に残存する抗原結合生物学的実体の量を監視するステップとを含み、抗原結合生物学的実体の量の減少は、抗体が抗原に対して除去活性を有することを示す。いくつかの方法において、監視ステップは、培地に残存する抗原の量を監視する。いくつかの方法において、混合は、抗原結合生物学的実体を培地に添加することと、培地をFc受容体を持つ食細胞と接触させることを含む。いくつかの方法において、抗原結合生物学的実体は組織試料として提供される。いくつかの方法において、抗原は生物学的実体である。いくつかの方法において、組織試料はアミロイド沈着を含む。場合により、組織試料は、AAアミロイドーシス病態を有する患者または哺乳動物からである。いくつかの方法において、抗原はAAである。いくつかの方法において、食細胞は小グリア細胞である。いくつかの方法において、組織試料は、癌性組織試料、ウイルス感染組織試料、炎症細胞を含む組織試料、非悪性異常細胞増殖、および異常細胞外基質を含む組織試料から成る群より選択される。

30

40

【0076】

本発明は、患者のアミロイド沈着を検出する方法を提供する。方法は、AAのアミノ酸70～76内のエピトープに特異的に結合する抗体を患者に投与するステップと、患者における抗体の存在を検出するステップとを含む。場合により、抗体は標識される。場合により、抗体は常磁性標識によって標識される。場合により、標識抗体は核磁気共鳴によって検出される。場合により、標識抗体はSPECT/CT画像化によって検出される。いくつかの方法において、抗体には、患者におけるアミロイド沈着への結合時にクリアランス応答を誘導する能力がない。

50

【 0 0 7 7 】

本発明は、診断キットを提供する。キットは、A Aの残基70～76を持つエピトープに特異的に結合する抗体を含む。いくつかのキットは、患者におけるA Aのアミロイド沈着に関連する疾患のインビボ診断または監視のための抗体の使用について説明するラベルをさらに含む。いくつかの実施形態において、キットはA Aの検出での抗体またはその抗原結合断片の使用についての説明書を含む。

【 0 0 7 8 】

本発明は：(a) 検出可能な標識に結合されており、凝集アミロイドタンパク質中の $X_1 E D X_2$ (式中、 X_1 および X_2 は任意のアミノ酸である) を含むエピトープに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片を対象に投与するステップと；(b) 結合した抗体または断片の存在または非存在がA Aアミロイドーシスの診断を示す、結合した抗体またはその断片の存在または非存在を検出するステップと；を含む、対象のアミロイドーシスを診断する方法をさらに提供する。

10

【 0 0 7 9 】

凝集アミロイドタンパク質中の $X_1 E D X_2$ (式中、 X_1 および X_2 は任意のアミノ酸である) を含むエピトープに特異的に結合する抗体、またはその抗原結合断片を使用する、アミロイドーシスの処置または予防の方法が本明細書でさらに提供される。

【 0 0 8 0 】

本発明は、凝集アミロイドタンパク質中の $X_1 E D X_2$ (式中、 X_1 および X_2 は任意のアミノ酸である) を含むエピトープに特異的に結合する抗体、またはその抗原結合領域を提供する。たとえば X_1 は、H、T、F、S、P、A、L、C、Q、R、E、K、D、G、V、Y、IもしくはW、たとえばH、T、F、S、P、もしくはA、またはたとえばH、T、F、もしくはAを含む。 X_2 は、T、S、E、R、I、V、F、D、A、G、M、L、N、P、C、K、Y、もしくはQ、たとえばT、S、E、R、I、V、F、D、もしくはA、またはたとえばT、S、E、D、またはAを含む。他の例において、 X_1 は、H、T、またはAであり、 X_2 は、T、S、E、またはAであり、たとえば X_1 は、HまたはAであり、 X_2 は、T、S、またはAである。またさらなる例において、 X_1 はHであり、 H_2 はTもしくはAである；または X_1 はAであり、 X_2 はS、T、E、もしくはVであり、たとえば X_1 はAであり、 X_2 はS、T、もしくはEであり、または X_1 はTであり、 X_2 はEであり、または X_1 はFであり、 X_2 はDであり、または X_1 はSであり、 X_2 はE、F、もしくはAであり；または X_1 はPであり、 X_2 はE、I、もしくはFである。

20

30

【 0 0 8 1 】

詳細には、エピトープは、配列番号3～配列番号25、たとえば配列番号3、12、13、14、15、および16に示されている配列のようなアミノ酸配列を含む。さらなる例は、配列番号4、5、7、8、および9、たとえば配列番号4を含む。エピトープに、たとえば配列番号3に結合する本発明の抗体は、2A4、7D8、および8G9抗体を含む。

【 0 0 8 2 】

本発明の抗体が結合する凝集アミロイドタンパク質は、非単量体タンパク質である。このような凝集アミロイドタンパク質は、血清アミロイドAタンパク質(SAA)、免疫グロブリン軽鎖タンパク質、ヒト膵島アミロイド前駆体ポリペプチド(IAPP)、ベータアミロイドペプチド、トランスサイレチン(TTR)、およびApoA1、たとえばSAAを含む。

40

【 0 0 8 3 】

本発明は、(a) $X_1 E D X_2$ を含むエピトープへの結合で2A4、7D8、もしくは8G9抗体と競合する；(b) 2A4、7D8、もしくは8G9抗体と同じ $X_1 E D X_2$ を含むエピトープに結合する；(c) 2A4、7D8、もしくは8G9抗体の抗原結合ドメインを有する；または(d) 2A4、7D8、もしくは8G9抗体の6つの相補性決定領域(CDR)を含む；抗体またはその抗原結合断片をさらに提供する。本発明は、2A

50

4、7 D 8、または8 G 9抗体のキメラバージョンまたはヒト化バージョンも提供する。

【0084】

X_1EDX_2 を含むエピトープに特異的に結合する代表的な抗体は、2 A 4、7 D 8、または8 G 9抗体の軽鎖の少なくとも1つ、2つ、または3つの相補性決定領域(CDR)を有する抗体も含む。 X_1EDX_2 を含むエピトープに特異的に結合する本発明の抗体は、2 A 4、7 D 8、または8 G 9抗体の重鎖の少なくとも1つ、2つ、または3つのCDRを有する抗体も含む。

【0085】

CDRは、当分野で公知の方法で同定することができる。たとえば、CDRを同定するナンバリング系は普通に使われる。Kabat定義は配列可変性に基づいており、Chothia定義は構造ループ領域の位置に基づいている。AbM定義は、Kabat手法とChothia手法の折衷案である。軽鎖可変領域のCDRは、Kabat、Chothia、またはAbMアルゴリズムに従って、位置24および34(CDR1-L)、50および56(CDR2-L)、ならびに89および97(CDR3-L)の残基によって境界が示される。Kabat定義により、重鎖可変領域のCDRは、位置31および35B(CDR1-H)、50および65(CDR2-H)、ならびに95および102(CDR3-H)(Kabatによるナンバリング)の残基によって境界が示される。Chothia定義により、重鎖可変領域のCDRは、位置26および32(CDR1-H)、52および56(CDR2-H)、ならびに95および102(CDR3-H)(Chothiaによるナンバリング)の残基によって境界が示される。AbM定義により、重鎖可変領域のCDRは、位置26および35B(CDR1-H)、50および58(CDR2-H)、ならびに95および102(CDR3-H)(Kabatによるナンバリング)の残基によって境界が示される。Martinら(1989)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272; Martinら(1991)Methods Enzymol. 203:121-153; Pedersenら(1992)Immunomethods 1:126; およびReesら(1996)In Sternberg M. J. E. (ed.), Protein Structure Prediction, Oxford University Press, Oxford, pp. 141-172を参照。

【0086】

本発明の抗体は、2 A 4、7 D 8、または8 G 9抗体の可変領域に由来する可変領域を有する、凝集アミロイドタンパク質中の X_1EDX_2 (式中、 X_1 および X_2 は任意のアミノ酸である)を含むエピトープに特異的に結合する抗体をさらに含む。2 A 4、7 D 8、または8 G 9抗体の可変領域を有する抗体も含まれる。

【0087】

本発明の抗体は、キメラ抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、単鎖抗体、4量体抗体、4価抗体、多重特異性抗体ドメイン特異性抗体、ドメイン欠失抗体または融合タンパク質をさらに含む。

【0088】

本発明の抗体の断片も提供される。本発明の断片は、Fab断片、Fab'断片、F(ab')₂断片、Fv断片またはScFv断片であり得る。このような抗体またはその断片は、細胞毒性剤、放射線治療剤、または検出可能な標識と結合させることができる。

【0089】

本発明は、(a)7 D 8、2 A 4、もしくは8 G 9抗体軽鎖可変領域に由来する軽鎖可変領域;または(b)7 D 8、2 A 4、もしくは8 G 9抗体軽鎖可変領域に由来する重鎖可変領域;を含む単離抗体可変領域も提供する。7 D 8、2 A 4、もしくは8 G 9抗体の軽鎖または重鎖可変領域を有する単離可変領域も提供される。単離抗体可変領域は、抗体産生においても有用である。

【0090】

本発明は、(a)7 D 8、2 A 4、もしくは8 G 9抗体の軽鎖または重鎖可変領域をコ

10

20

30

40

50

ードするヌクレオチド配列；(b) 軽鎖または重鎖可変領域をコードする 7 D 8、2 A 4、もしくは 8 G 9 抗体のヌクレオチド配列と同一であるヌクレオチド配列；または(c) (a) もしくは(b) のヌクレオチド配列と実質的に同一、すなわち少なくとも 50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、99.5 %、または 99 % 同一であるヌクレオチド配列；または(d) 厳密ハイブリダイゼーション条件、たとえば 65 °C にて 0.1 × SSC の最終洗浄条件の下で、(a) もしくは(b) のヌクレオチド配列の補体であるヌクレオチド配列を有する核酸に特異的にハイブリダイズする核酸；を有する抗体軽鎖可変領域または重鎖可変領域をコードする単離核酸も提供する。

10

【0091】

本発明は、本発明の抗体または核酸を発現する細胞または細胞株もさらに提供する。代表的な宿主細胞は、哺乳動物およびヒト細胞、たとえば CHO 細胞、HEK-293 細胞、HeLa 細胞、CV-1 細胞、および COS 細胞を含む。異種構築物の宿主細胞中への形質転換の後に安定な細胞株を産生する方法は、当分野で公知である。代表的な非哺乳動物宿主細胞は、昆虫細胞を含む (Potter ら (1993) Int. Rev. Immunol. 10 (2-3): 103-112)。抗体は、トランスジェニック動物 (Houdebine (2002) Curr. Opin. Biotechnol. 13 (6): 625-629) およびトランスジェニック植物 (Schillberg ら (2003) Cell Mol. Life Sci. 60 (3): 433-45) においても産生され得る。

20

【0092】

本発明は、 X_1EDX_2 を含むアミロイドタンパク質中の免疫原性断片を使用する、関連するアミロイドーシスの処置または予防の実施の方法も提供し、式中、 X_1 は、H、T、F、S、P、A またはこのようなアミロイドタンパク質で ED の直前に先行するその他のアミノ酸残基であり；式中、 X_2 は、T、S、E、R、I、V、F、A またはこのようなアミロイドタンパク質で ED の直後に続くその他のアミノ酸残基である。特定の理論に縛られたくはないが、 X_1EDX_2 を含むエピトープは、アミロイドタンパク質が凝集する、または原線維形成を受ける、またはそうでなければ原線維構造になるときに、より大型の前駆体タンパク質からの切断、または立体配座変化のどちらかによって露出され得ることが考えられる。たとえば AA アミロイドーシスの処置または予防の代表的な方法は、AA 70 ~ 76 断片またはその免疫原性断片の投与を含む。本発明は、凝集アミロイドタンパク質中の X_1EDX_2 と反応性である抗体を使用する、アミロイドタンパク質の沈着に関連するアミロイドーシスの処置または予防の実施の方法も提供し、式中、 X_1 は、H、T、F、S、P、A またはこのような凝集アミロイドタンパク質で ED の直前に先行するその他のアミノ酸残基であり；式中、 X_2 は、T、S、E、R、I、V、F、A またはこのような凝集アミロイドタンパク質で ED の直後に続くその他のアミノ酸残基である。好ましくは、このような抗体は、非病的アミロイドタンパク質と比較して、凝集アミロイドタンパク質と優先的に反応性である。たとえば、AA 原線維に関連する AA アミロイドーシスの処置または予防の方法は、AA 原線維の C 末端領域 (~ AA の残基 70 ~ 76) に特異的な抗体の投与を含み得る。抗体は、AA 凝集体 (たとえば原線維) の形成を妨害する、またはその脱凝集および除去を引き起こすことが可能であり、それゆえ AA アミロイドーシスの処置または予防の実施を行う。

30

40

【0093】

I. 定義

「実質的同一性」という用語は、2 つのペプチド配列が、デフォルトギャップ重み付けを使用してプログラム GAP または BESTFIT などによって最適に整列されたときに、少なくとも 65 パーセントの配列同一性、好ましくは少なくとも 80 または 90 パーセントの配列同一性、さらに好ましくは少なくとも 95 パーセントの配列同一性またはそれ以上 (たとえば 99 パーセントの配列同一性またはそれ以上) を共有することを意味する

50

。好ましくは、同一でない残基位置は、保存アミノ酸置換によって異なる。

【0094】

配列比較のために、通例一方の配列は、試験配列が比較される参照配列として作用する。配列比較アルゴリズムを使用して、試験配列および参照配列をコンピュータに入力するときに、サブ配列座標が指定され、必要ならば配列アルゴリズムプログラムのパラメータが指定される。配列比較アルゴリズムは次に、指定されたプログラムパラメータに基づいて、参照配列に対する試験配列の配列同一性パーセントを計算する。

【0095】

比較のための配列の最適なアラインメントは、たとえばSmith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2: 482 (1981)の局所相同性アルゴリズムによって、Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48: 443 (1970)の相同性アラインメントアルゴリズムによって、Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85: 2444 (1988)の類似性検索方法によって、これらのアルゴリズムのコンピュータ処理による実施(GAP, BESTFIT, FASTA, and TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI)によって、または目視検査(一般にAusubelら、同上を参照)によって実施することができる。配列同一性および配列類似性のパーセントを決定するのに好適であるアルゴリズムの一例はBLASTアルゴリズムであり、これはAltschulら、J. Mol. Biol. 215: 403-410 (1990)に記載されている。BLAST解析を実施するためのソフトウェアは、National Center for Biotechnology Information(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)から公的に入手できる。通例、デフォルトのプログラムパラメータを使用して配列比較を実施することができるが、カスタマイズされたパラメータも使用できる。アミノ酸配列の場合、BLASTPプログラムはデフォルトとして、語長(W)3、期待値(E)10、およびBLOSUM62スコアリングマトリクスを使用する(Henikoff & Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 10915 (1989)を参照)。

【0096】

アミノ酸置換基を保存的または非保存的として分類する目的で、アミノ酸は次のように分類される：群I(疎水性側鎖)：ノルロイシン、met、ala、val、leu、ile；群II(中性親水性側鎖)：cys、ser、thr；群III(酸性側鎖)：asp、glu；群IV(塩基性側鎖)：asn、gin、his、lys、arg；群V(側鎖配向に影響する残基)：gly、pro；および群VI(芳香族側鎖)：trp、tyr、phe。保存的置換は、同じクラスのアミノ酸間の置換を含む。非保存的置換は、これらのクラスの1つのメンバを別のメンバと交換することを構成する。

【0097】

「オールD」という用語は、75%、80%、85%、90%、95%、および100%のD配置アミノ酸を有するペプチドを指す。

【0098】

「薬剤」という用語は、薬理学的活性を有するまたは有し得る化合物を説明するために使用される。薬剤は、公知の薬物である化合物、薬理学的活性が確認されているが、さらなる治療的評価を受けている化合物、ならびに薬理学的活性についてスクリーニングされる集合およびライブラリのメンバである化合物を含む。

【0099】

「アミロイド疾患」または「アミロイドーシス」は、症状としてまたはその病態の一部としてアミロイド斑の蓄積または形成を有するいくつかの障害を指す。「アミロイド斑」は、主にタンパク質性原線維で構成される細胞外沈着である。一般に、原線維は支配的なタンパク質またはペプチドで構成される；しかし斑は、本明細書に記載するようなペプチ

10

20

30

40

50

ドまたは非ペプチド分子であるさらなる構成成分も含み得る。

【0100】

「アミロイドタンパク質」または「アミロイドペプチド」は、切断、立体配座変化、凝集または原線維形成を受けることが可能なタンパク質またはペプチドであり、病的オリゴマー、アミロイド原線維、アミロイド斑および/またはアミロイド構成成分の形成を引き起こす。

【0101】

「アミロイド構成成分」は、このような分子の抗原部分を含む、アミロイド斑に存在する任意の分子実体である。アミロイド構成成分は、これに限定されるわけではないが、タンパク質、ペプチド、プロテオグリカン、および炭水化物を含む。

10

【0102】

「抗アミロイド剤」は、能動または受動免疫化技法によって投与されるときに、脊椎動物対象においてアミロイド斑成分に対する免疫応答を産生することができる薬剤である。

【0103】

「AAタンパク質」または「AAペプチド」は、単量体または凝集、可溶性または不溶性にかかわらず、血清アミロイドAタンパク質(SAA)のタンパク質分解切断によってアミロイドタンパク質Aタンパク質またはペプチドの形を指す。

【0104】

「凝集アミロイドタンパク質」または「凝集アミロイドペプチド」または「アミロイド凝集体」は、アミロイドタンパク質またはアミロイドペプチドの病的非単量体凝集形を指す。凝集アミロイドタンパク質およびアミロイドペプチドは、可溶性または不溶性であることが可能である。いくつかの凝集アミロイドタンパク質および凝集アミロイドペプチドは、オリゴマー、原線維および/またはアミロイド斑から形成することができる。原線維ペプチドおよびタンパク質を含むこのような凝集アミロイドタンパク質および凝集アミロイドペプチドの例が、本明細書で提供される。

20

【0105】

「AA凝集体」は、AAの凝集形を指す。

【0106】

本発明の治療剤は通例、望ましくない汚染物質を含まず実質的に純粋である。このことは、薬剤が通例少なくとも約50%w/w(重量/重量)の純度であることはもちろんのこと、妨害タンパク質および汚染物質を実質的に含まないことも意味する。時々、薬剤は少なくとも約80%w/w、さらに好ましくは少なくとも90または約95%w/wの純度である。しかし、在来タンパク質精製技法を使用すると、少なくとも99%w/wの均質なペプチドを得ることができる。本発明の治療剤は、アミロイド沈着に関連する疾患の防止、予防の実施、または処置を行い得る。

30

【0107】

2つの実体の間の特異的結合は、実体が対照、たとえば無関係な抗原または抗体の異なる抗原に対するどちらかの実体の親和性よりも少なくとも10倍、100倍または1000倍の大きさである、互いに対する相互親和性を有することを意味する。2つの実体の互いに対する相互親和性は通常、少なくとも 10^7 M^{-1} 、 10^8 M^{-1} 、 10^9 M^{-1} 、または 10^{10} M^{-1} 、である。 10^8 M^{-1} を超える親和性が好ましい。

40

【0108】

「免疫グロブリン」または「抗体」という用語(本明細書で互換的に使用される)は、2つの重鎖および2つの軽鎖から成る塩基性4ポリペプチド鎖構造を有する抗原結合タンパク質を指し、前記鎖はたとえば、抗原を特異的に結合する能力を有する鎖間ジスルフィド結合によって安定化されている。重鎖および軽鎖はどちらもドメインに折畳まれる。「ドメイン」という用語は、たとえばβブリーツシートおよび/または鎖間ジスルフィド結合によって安定化されたペプチドループを含む(たとえば3~4個のペプチドループを含む)重鎖または軽鎖ポリペプチドの球状領域を指す。ドメインは、「定常」ドメインの場合には各種のクラスメンバのドメイン内の配列変化の相対的な欠如に基づいて、または「

50

可変」ドメインの場合には各種のクラスメンバのドメイン内の著しい変化に基づいて、本明細書で「定常」または「可変」とさらに呼ばれる。軽鎖の「定常」ドメインは、互換的に「軽鎖定常領域」、「軽鎖定常ドメイン」、「C L」領域または「C L」ドメインと呼ばれる。重鎖の「定常」ドメインは、互換的に「重鎖定常領域」、「重鎖定常ドメイン」、「C H」領域または「C H」ドメインと呼ばれる。軽鎖の「可変」ドメインは、互換的に「軽鎖可変領域」、「軽鎖可変ドメイン」、「V L」領域または「V L」ドメインと呼ばれる。重鎖の「可変」ドメインは、互換的に「重鎖定常領域」、「重鎖定常ドメイン」、「C H」領域または「C H」ドメインと呼ばれる。

【0109】

「領域」という用語は、抗体鎖の一部または部分を指し、本明細書で定義するような定常または可変ドメインはもちろんのこと、前記ドメインのより不連続な一部または部分も含む。たとえば、軽鎖可変ドメインまたは領域は、本明細書で定義するように、「フレームワーク領域」または「F R」間に散在した「相補性決定領域」または「C D R」を含む。

【0110】

免疫グロブリンまたは抗体は、単量体または重合体形で存在することができる。「抗原結合断片」という用語は、抗原と結合する、または抗原結合（すなわち特異的結合）のために無処置抗体（すなわちそれらが由来した無処置抗体）と競合する、免疫グロブリンまたは抗体のポリペプチド断片を指す。「立体配座」という用語は、タンパク質またはポリペプチドの3次構造（たとえば抗体、抗体鎖、そのドメインまたは領域）を指す。たとえば、「軽（または重）鎖立体配座」という句は、軽（または重）鎖可変領域の3次構造を指し、「抗体立体配座」または「抗体断片立体配座」という句は、抗体またはその断片の3次構造を指す。

【0111】

抗体の「特異的結合」は、抗体が抗原または好ましいエピトープに対して測定可能な親和性を示し、好ましくは著しい交差反応性を示さないことを意味する。「測定可能な」または好ましい結合は、少なくとも 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 M^{-1} 、または 10^{10} M^{-1} の親和性を持つ結合を含む。 10^7 M^{-1} を超える、好ましくは 10^8 M^{-1} を超える親和性がさらに好ましい。本明細書で示す親和性の中間の値も本発明の範囲内に含まれるものとされ、好ましい結合親和性は、たとえば $10^6 \sim 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、好ましくは $10^7 \sim 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、さらに好ましくは $10^8 \text{ M}^{-1} \sim 10^{10} \text{ M}^{-1}$ の親和性の範囲として示すことができる。「著しい交差反応性を示さない」抗体は、望ましくない実体（たとえば望ましくないタンパク質性実体）に測定可能なほど結合しない抗体である。たとえば A A に特異的に結合する抗体は、A A に測定可能なほど結合するが、非 A A タンパク質またはペプチド（たとえば斑に含有された非 A A タンパク質またはペプチド）とは著しく反応しない。好ましいエピトープに特異的な抗体は、同じタンパク質またはペプチド上の離れたエピトープと著しく交差反応しないであろう。特異的結合は、このような結合を決定するための当分野で認識された任意の手段に従って決定することができる。好ましくは、特異結合は、スクヤッチャード分析および/または競合結合アッセイに従って決定される。

【0112】

抗原結合抗体断片は、組換え DNA 技法によって、または無処置免疫グロブリンの酵素的もしくは化学的切断によって産生される。結合断片は、F a b、F a b'、F (a b')₂、F a b c、F v、単鎖、および単鎖抗体を含む。さらなる抗体断片およびエフェクタ機能変種は、本明細書の「抗体」という名称の節で議論される。「2重特異性」または「2官能性」免疫グロブリンまたは抗体以外に、免疫グロブリンまたは抗体は、その結合部位それぞれが同一であることが理解される。「2重特異性」または「2官能性抗体」は、2つの異なる重鎖/軽鎖対および2つの異なる結合部位を有する人工ハイブリッド抗体である。2重特異的抗体は、ハイブリドーマの融合または F a b' 断片の結合を含む各種の方法によって産生できる。たとえば Song s i v i l a i & L a c h m a n n ,

10

20

30

40

50

Clin. Exp. Immunol. 79: 315 - 321 (1990); Kostelnýら、J. Immunol. 148, 1547 - 1553 (1992)を参照。

【0113】

「ヒト化免疫グロブリン」または「ヒト化抗体」という用語は、少なくとも1つのヒト化免疫グロブリンまたは抗体鎖（すなわち少なくとも1つのヒト化軽鎖または重鎖）を含む免疫グロブリンまたは抗体を指す。「ヒト化免疫グロブリン鎖」または「ヒト化抗体鎖」（すなわち「ヒト化免疫グロブリン軽鎖」または「ヒト化免疫グロブリン重鎖」）は、実質的にヒト免疫グロブリンまたは抗体からの可変フレームワーク領域および実質的に非ヒト免疫グロブリンまたは抗体からの相補性決定領域（CDR）（たとえば少なくとも1つのCDR、好ましくは2つのCDR、さらに好ましくは3つのCDR）を含み、定常領域（たとえば軽鎖の場合には、少なくとも1つの定常領域またはその部分、好ましくは重鎖の場合には3つの定常領域）をさらに含む可変領域を有する免疫グロブリンまたは抗体鎖（すなわちそれぞれ軽鎖または重鎖）を指す。「ヒト化可変領域」（たとえば「ヒト化軽鎖可変領域」または「ヒト化重鎖可変領域」）という用語は、実質的にヒト免疫グロブリンまたは抗体からの可変フレームワーク領域および実質的に非ヒト免疫グロブリンまたは抗体からの相補性決定領域（CDR）を含む可変領域を指す。

10

【0114】

「実質的にヒト免疫グロブリンまたは抗体からの」または「実質的にヒト」という句は、比較の目的でヒト免疫グロブリンまたは抗体アミノ配列と整列させたときに、領域が、たとえば保存的置換、コンセンサス配列置換、生殖細胞系置換、逆突然変異などを可能にするヒトフレームワークまたは定常領域配列と少なくとも80～90%の、好ましくは90～95%の、さらに好ましくは95～99%の同一性（すなわち局所配列同一性）を共有することを意味する。保存的置換、コンセンサス配列置換、生殖細胞系置換、逆突然変異などの導入は、ヒト化抗体または鎖の「最適化」と呼ばれることが多い。「実質的に非ヒト免疫グロブリンまたは抗体からの」または「実質的に非ヒト」という句は、非ヒト生物、たとえば非ヒト哺乳動物の免疫グロブリンまたは抗体配列と少なくとも80～95%、好ましくは90～95%、さらに好ましくは96%、97%、98%、または99%同一である免疫グロブリンまたは抗体配列を有することを意味する。

20

【0115】

したがって、おそらくCDRを除く、ヒト化免疫グロブリンもしくは抗体の、またはヒト化免疫グロブリンまたは抗体鎖のすべての領域または残基は、1つ以上の未変性ヒト免疫グロブリン配列の対応する領域または残基と実質的に同一である。「対応する領域」または「対応する残基」という用語は、第1および第2の配列が比較の目的で最適に整列されているときに、第1のアミノ酸またはヌクレオチド配列上の領域または残基と同じ（すなわち同等の）位置を占有する第2のアミノ酸またはヌクレオチド配列上の領域または残基を指す。

30

【0116】

「ヒト化免疫グロブリン」または「ヒト化抗体」という用語は、以下で定義するように、キメラ免疫グロブリンまたは抗体を含むことを意図しない。ヒト化免疫グロブリンまたは抗体はその構造がキメラである（すなわち1種を超えるタンパク質からの領域を含む）が、それらは本明細書で定義するように、キメラ免疫グロブリンまたは抗体で見出されないさらなる特徴（すなわちドナーCDR残基およびアクセプタフレームワーク残基を含む可変領域）を含んでいる。

40

【0117】

「キメラ免疫グロブリン」または抗体という用語は、その可変領域が第1の種に由来して、その定常領域が第2の種に由来する免疫グロブリンまたは抗体を指す。キメラ免疫グロブリンまたは抗体は、たとえば異なる種に属する免疫グロブリン遺伝子セグメントから遺伝子組み換えによって構築することができる。

【0118】

「抗原」は、抗体が特異的に結合する実体（たとえばタンパク質（protenace

50

ous) 実体またはペプチド) である。

【0119】

「エピトープ」または「抗原決定基」は、免疫グロブリンまたは抗体（またはその抗原結合断片）が特異的に結合する抗原上の部位を差す。エピトープは、タンパク質の3次折畳みによって並置された隣接アミノ酸または非隣接アミノ酸の両方から形成することができる。隣接アミノ酸から形成されたエピトープは通例、変性溶媒への曝露時に保持されるが、3次折畳みによって形成されたエピトープは通例、変性溶媒による処理時に消失する。エピトープは、独自の空間立体配座に少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14または15のアミノ酸を含む。エピトープの空間立体配座を決定する方法はたとえば、x線結晶学および2次元核磁気共鳴を含む。たとえばEpitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)を参照。

10

【0120】

本発明の代表的な抗体は、たとえば2A4、7D8、または8G9抗体によっても結合される X_1EDX_2 を含むエピトープに結合する、凝集アミロイドタンパク質中の X_1EDX_2 を含むエピトープに特異的に結合する抗体またはその断片を含む。同じエピトープを認識する抗体は、1つの抗体が別の抗体の標的抗原への結合を遮断する能力を示す簡単な免疫測定法、すなわち競合結合アッセイで同定することができる。競合結合は、試験中の免疫グロブリンが参照抗体の共通抗原、たとえば $A\beta$ への特異的結合を阻害するアッセイで決定される。多くの種類の競合結合アッセイ、たとえば：固相直接または間接放射性免疫測定法(RIA)、固相直接または間接酵素免疫測定法(EIA)、サンドイッチ競合アッセイ(Stahliら、Methods in Enzymology 9:242 (1983)を参照)；固相直接ピオチン-アビジンEIA(Kirklandら、J. Immunol. 137:3614 (1986)を参照)；固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチアッセイ(Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press (1988)を参照)；I-125標識を使用する固相直接標識RIA(Morelら、Mol. Immunol. 25(1):7 (1988)を参照)；固相直接ピオチン-アビジンEIA(Cheungら、Virology 176:546 (1990))；および直接標識RIA(Moldenhauerら、Scand. J. Immunol. 32:77 (1990))が公知である。通例、このようなアッセイは、固体表面に結合した精製抗原またはこれらのいずれかを持つ細胞、未標識試験免疫グロブリンおよび標識基準免疫グロブリンの使用を含む。競合的阻害は、試験免疫グロブリンの存在下で固体表面または細胞に結合された標識の量を決定することによって測定される。通常、試験免疫グロブリンは過剰に存在する。通常、競合抗体が過剰に存在するとき、競合抗体は、参照抗体の共通抗原への特異的結合を少なくとも50~55%、55~60%、60~65%、65~70%、70~75%またはそれ以上阻害するであろう。

20

30

【0121】

エピトープは、免疫細胞、たとえばB細胞および/またはT細胞によっても認識される。エピトープの細胞認識は、 3H -チミジン包含によって、サイトカイン分泌によって、抗体分泌によって、または抗原依存性死滅(細胞毒性Tリンパ球アッセイ)によって決定されるような、抗原依存性増殖を測定するインビトロアッセイによって決定できる。

40

【0122】

「ネオエピトープ」という用語は、Bおよび/またはT細胞が応答する抗原上の新規および/または独自部位を指す。

【0123】

「ネオエピトープ抗体」という用語は、分子のタンパク質分解切断によって露出された新規のNまたはC末端アミノ酸配列を特異的に認識するが、未変性(未切断)分子上のこのようなエピトープには結合しない抗体を指す。「ネオエピトープ抗体」という用語は、

50

S A A のタンパク質分解切断によって露出された新規の N または C 末端アミノ酸配列を特異的に認識するが、未変性（未切断）S A A 分子上のこのようなエピトープには結合しない抗体を指し得る。いくつかのネオエピトープ抗体は、可溶性または不溶性 A A のどちらかに結合して、A A 原線維を含む A A 凝集体の解離を引き起こす。「ネオエピトープ抗体」は、たとえば A L アミロイドーシスおよび軽鎖の場合と同様に、軽鎖のみが発現されて、アミロイドを形成するときに、タンパク質が立体配座変化を受けた後にのみ抗体に結合することが可能である新規エピトープを特異的に認識する抗体でもあり得る。

【0124】

「免疫学的」または「免疫」応答という用語は、レシピエント患者においてアミロイドペプチドに向けられた有益な体液性（抗体媒介）および／または細胞性（抗原特異的 T 細胞またはその分泌生成物が媒介）応答の発生である。このような応答は、免疫源の投与によって誘導された能動応答または抗体または初回刺激を受けた T 細胞の投与によって誘導された受動応答であり得る。細胞性免疫応答は、抗原特異性 C D 4 ⁺ T ヘルパー細胞および／または C D 8 ⁺ 細胞毒性 T 細胞を活性化するための、クラス I またはクラス II M H C 分子と結合したポリペプチドエピトープの提示によって誘導される。応答は、単球、マクロファージ、N K 細胞、好塩基球、樹状細胞、星状細胞、ミクログリア細胞、好酸球または自然免疫の他の構成成分の活性化も含み得る。細胞媒介免疫応答の存在は、増殖アッセイ（C D 4 ⁺ T 細胞）または C T L （細胞毒性 T リンパ球）アッセイによって決定することができる（B u r k e , 同上；T i g g e s , 同上を参照）。免疫源の保護または治療効果への体液性および細胞性応答の相対的寄与は、免疫化同系動物から抗体および T 細胞を個別に単離して、第 2 の対象における保護または治療効果を測定することによって区別することができる。

10

20

【0125】

「免疫原性剤」または「免疫原」は、場合によりアジュバントと併せた哺乳動物への投与時にそれ自体に対して、免疫応答を誘導することができる。

【0126】

「裸のポリヌクレオチド」という用語は、コロイド状物質と複合体化していないポリヌクレオチドを指す。裸のポリヌクレオチドは時には、プラスミドベクターにてクローニングされる。

30

【0127】

「アジュバント」という用語は、抗原と併せて投与したときに抗原に対する免疫応答を増強するが、単独で投与したときには抗原に対する免疫応答を発生しない化合物を指す。アジュバントは、リンパ球補充、B および／または T 細胞の刺激、およびマクロファージの刺激を含む複数の機構によって、免疫応答を増強することができる。

【0128】

「有効用量」または「有効投薬量」という用語は、所望の効果を達成または少なくとも部分的に達成するのに十分な量として定義される。「治療的有效用量」という用語は、疾患にすでに罹患している患者において疾患およびその合併症を治癒または少なくとも部分的に停止するのに十分な量として定義される。この用途に有効な量は、感染症の重症度および患者自身の免疫系の一般的な状態に依存するであろう。

40

【0129】

「患者」という用語は、予防的または治療的処置のどちらかを受けるヒトおよび他の哺乳動物対象を含む。

【0130】

本発明は、凝集アミロイドタンパク質中に X₁ E D X₂ を含むエピトープに特異的に結合して、X₁ E D X₂ を含むエピトープへの結合においてたとえば 2 A 4、7 D 8、または 8 G 9 抗体と競合する、抗体またはその抗原結合断片を提供する。抗体間の競合は、試験中の免疫グロブリンが参照抗体の共通抗原、たとえば A A への特異的結合を阻害するアッセイで決定される。多くの種類の競合結合アッセイ、たとえば：固相直接または間接放射性免疫測定法（R I A）、固相直接または間接酵素免疫測定法（E I A）、サンドイッチ

50

チ競合アッセイ (Stahliら、Methods in Enzymology、9: 242-253 (1983) を参照) ; 固相直接ビオチン-アビジンEIA (Kirklandら、J. Immunol. 137: 3614-3619 (1986) を参照) ; 固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチアッセイ (Harlow and Lane, "Antibodies, A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Press (1988) を参照) ; I-125 標識を使用する固相直接標識RIA (Morelら、Molec. Immunol. 25 (1): 7-15 (1988) を参照) ; 固相直接ビオチン-アビジンEIA (Cheungら、Virology、176: 546-552 (1990)) ; および直接標識RIA (Moldenhauerら、Scand. J. Immunol. 32: 77-82 (1990)) が公知である。通例、このようなアッセイは、固体表面に結合した精製抗原または抗原を発現する細胞、未標識試験免疫グロブリンおよび標識基準免疫グロブリンの使用を含む。競合的阻害は、試験免疫グロブリンの存在下で固体表面または細胞に結合された標識の量を決定することによって測定される。通常、試験免疫グロブリンは過剰に存在する。競合アッセイによって同定された抗体 (競合抗体) は、参照抗体と同じエピトープに結合する抗体および立体障害を発生させるために参照抗体によって結合されたエピトープに十分に近接した隣接エピトープに結合する抗体を含む。通常、競合抗体が過剰に存在するとき、競合抗体は、参照抗体の共通抗原への特異的結合を少なくとも50%~75%阻害するであろう。

10

20

【0131】

アミロイドタンパク質に特異的に結合する抗体は、親和性が少なくとも 10^7 M^{-1} のアミロイドタンパク質に結合する抗体を意味する。いくつかの抗体は、親和性が $10^8 \text{ M}^{-1} \sim 10^{11} \text{ M}^{-1}$ のアミロイドタンパク質に結合する。

【0132】

単量体アミロイドタンパク質に特異的に結合することなく、凝集アミロイドタンパク質、たとえば凝集AAに特異的に結合する抗体は、たとえば上記の原線維 (たとえば元AAアミロイドーシス患者の死体またはトランスジェニック動物モデルからなどの凝集 β -ブリーツシート形のAA) などの凝集アミロイドタンパク質に結合して、アミロイドタンパク質の単量体形に対して少なくとも10分の1の、通常は少なくとも100分の1の低さの特異的結合親和性を有する抗体を意味する。たとえばこのような抗体は、親和性が 10^9 M^{-1} の可溶性AAに、そして親和性が 10^7 M^{-1} 未満の斑に結合するかもしれない。このような抗体の斑に対する親和性は通常、 10^7 または 10^6 M^{-1} 未満である。このような抗体は、抗体が原線維に接触して、結合が蛍光標識によって評価されるときに、無関係な対照抗体 (たとえばリバースマーAAペプチドに対する抗体またはポリクローナル抗体の混合物) に対する蛍光強度によってさらにまたは代わりに定義される。斑に結合することなく、可溶性AAペプチドに結合する抗体の蛍光強度は、対照抗体の蛍光強度の5倍以内、時には2倍以内であり、時には対照抗体の蛍光強度からの実験誤差範囲内で識別不能である。

30

【0133】

1つ以上の引用された要素を「含む」組成物または方法は、特に引用されない他の要素を含み得る。たとえば、AAペプチドを含む組成物は、単離AAペプチドおよびより大きいポリペプチドの配列の成分としてのAAペプチドの両方を含む。

40

【0134】

II. アミロイド疾患

1. 概要および病原

アミロイド疾患またはアミロイドーシスは、多種多様な外部症状を有するいくつかの疾患状態を含む。これらの障害は、通常は直径が約 $10 \sim 100 \mu\text{m}$ であり、特定の臓器または組織領域に局在化する「アミロイド沈着」または「アミロイド斑」として公知である、タンパク質原線維の異常細胞外沈着の存在を共通して有する。このような斑は、天然発生型可溶性タンパク質またはペプチドから主に構成される。これらの不溶性沈着は、直径

50

約 10 ~ 15 nm である原線維の一般に側方への凝集体から成る。アミロイド原線維は、コンゴレッド染料で染色したときに、偏光中で特徴的な青リンゴ色の複屈折を生じる。障害は、以下で議論するように、斑沈着を形成する主な原線維構成成分に基づいて分類される。

【0135】

斑沈着を形成するペプチドまたはタンパク質は、より大型の前駆体タンパク質から産生されることが多い。さらに詳細には、アミロイド原線維沈着の病原は一般に、「異常な」前駆体タンパク質の断片へのタンパク質分解切断を包含する。これらの断片は一般に、逆平行βブリーツシートに凝集する；しかし、家族性アミロイド多発性神経障害（変種トランスサイレチン原線維）および透析関連アミロイドーシス（β₂ミクログロブリン原線維）において、前駆体タンパク質のある未分解形は凝集して原線維を形成することが報告されている（Tanら、1994、同上）。

10

【0136】

2. 臨床的症候群

本節は、主要な種類のアミロイドーシスの説明を、その特徴的な斑原線維組成物を含めて提供する。各種の疾患特異的アミロイド沈着の構成要素に対する免疫応答を刺激するように作用する薬剤を投与することによってアミロイド疾患を処置できることは、本発明の全体的な発見である。下のC節でさらに詳細に議論するように、このような構成成分は好ましくは、斑を形成する原線維の構成要素である。下の節は、アミロイドーシスの主な形態を例示する役割を果たし、本発明を制限する意図はない。

20

【0137】

a. ALアミロイドーシス

ALアミロイド沈着は一般に、形質細胞の悪性腫瘍（多発性骨髄腫）から良性単クローン性高ガンマグロブリン血症に及ぶ、Bリンパ球系統のほぼすべての疾患に関連する。時々、アミロイド沈着の存在は、基礎疾患の主要な指標であり得る。

【0138】

ALアミロイド沈着の原線維は、モノクローナル免疫グロブリン軽鎖またはその断片から構成される。さらに詳細には、断片は、軽鎖（カッパまたはラムダ）のN末端領域に由来しており、その可変（V_L）ドメインの全部または一部を含有する。沈着は一般に間葉組織で発生して、末梢および自律性神経障害、手根管症候群、巨舌、拘束型心筋症、大関節の関節症、免疫疾患、骨髄腫はもちろんのこと、潜在性疾患を引き起こす。しかし、ほぼすべての組織、特に内臓器官、特に心臓が関与し得ることに注目すべきである。

30

【0139】

b. 遺伝性全身性アミロイドーシス

遺伝性全身性アミロイドーシスには多くの形態がある。それらは比較的まれな状態であるが、症状の成人発症およびその遺伝パターン（通常は常染色体優性）は、一般集団におけるこのような障害の持続をもたらしている。一般に症候群は、変種アミロイド形成性ペプチドまたはタンパク質の産生をもたらす、前駆体タンパク質の点突然変異に起因し得る。表2に、これらの障害の例示的形態の原線維組成をまとめる。

【0140】

40

【表 2】

表2
遺伝性アミロイドーシス*

原線維ペプチド/タンパク質	遺伝性変種	臨床症候群
トランスサイレチンおよび断片 (ATTR)	Met30、その他多数	家族性アミロイド多発性神経障害 (FAP)、(主に末梢神経)
トランスサイレチンおよび断片 (ATTR)	Thr45, Ala60, Ser84, Met111, Ile122	神経障害を伴わない、主に心臓障害
アポリポタンパク質A1 (apoA1) の N末端断片	Arg 26	家族性アミロイド多発性神経障害 (FAP)、(主に末梢神経)
アポリポタンパク質A1 (apoA1) の N末端断片	Arg26, Arg50, Arg 60、その他	オステルターク型、非神経障害性 (主に内臓障害)
リゾチーム (Alys)	Thr56, His67	オステルターク型、非神経障害性 (主に内臓障害)
フィブログゲン α 鎖断片	Leu554, Val 526	オステルターク型、非神経障害性 (主に内臓障害)
ゲルソリン断片 (Agel)	Asn187, Tyr187	格子状角膜ジストロフィを伴う脳神経障害
シスタチンC断片	Glu68	遺伝性脳出血 (脳アミロイド血管症) - アイスランド型
アミロイド前駆体タンパク質 (APP) に由来する β - アミロイドタンパク質 ($A\beta$)	Gln693	遺伝性脳出血 (脳アミロイド血管症) - オランダ型
アミロイド前駆体タンパク質 (APP) に由来する β - アミロイドタンパク質 ($A\beta$)	Ile717, Phe717, Gly717	家族性アルツハイマー病
アミロイド前駆体タンパク質 (APP) に由来する β - アミロイドタンパク質 ($A\beta$)	Asn670, Leu671	家族性認知症 - おそらくアルツハイマー病
PrP前駆体タンパク質51~91インサートに由来するプリオンタンパク質 (PrP)	Leu102, Val167, Asn178, Lys200	家族性クロイツフェルトーヤコブ病 ; ゲルストマンーストロイスラーシャインカー症候群 (遺伝性海綿状脳症、プリオン病)
血清アミロイドAタンパク質に由来するAA (ApoSSA)		家族性地中海熱、主に腎障害 (常染色体劣性)
血清アミロイドAタンパク質に由来するAA (ApoSSA)		マックルーウェルズ症候群、腎症、難聴、蕁麻疹、下肢痛
不明		持続的心房停止を伴う心筋症
不明		皮膚沈着 (水疱、丘疹、皮膚膿疱)

* Tan & Pepys, 1994, 同上から得たデータ。

表 2 に与えたデータは例示的であり、本発明の範囲を制限する意図はない。たとえばトランスサイレチン遺伝子の 40 を超える別個の点突然変異が記載されており、そのすべては家族性アミロイド多発性神経障害の臨床的に同様の形態を生じさせる。

【0141】

トランスサイレチン (TTR) は、時にはプレアルブミンと呼ばれる 14 キロダルトンタンパク質である。トランスサイレチンは肝臓および脈絡叢によって産生され、甲状腺ホルモンおよびビタミン A の運搬で機能する。該タンパク質の少なくとも 50 の変種形は、それぞれ 1 個のアミノ酸変化を特徴として、家族性アミロイド多発性神経障害の各種の形態の原因となっている。たとえば位置 55 におけるロイシンのプロリンによる置換によって、特に進行型の神経障害が生じる；位置 111 におけるロイシンのメチオニンによる置換によって、デンマーク人患者に重篤な心臓疾患が生じた。全身性アミロイドーシス患者の心臓組織から単離したアミロイド沈着によって、沈着が集合的に ATTR と呼ばれる、

T T R およびその断片の異種混合物から構成されることが明らかになり、A T T R の全長配列はキャラクタリゼーションされている。A T T R 原線維構成成分は、このような斑から抽出可能であり、その構造および配列は当分野で公知の方法に従って決定できる（たとえば Gustavsson, A. ら、Laboratory Invest. 73:703-708, 1995; Kametani, F. ら、Biochem. Biophys. Res. Commun. 125:622-628, 1984; Pras, M. ら、PNAS 80:539-42, 1983）。

【0142】

分子アポリポタンパク質 A I に点突然変異（たとえば Gly → Arg 26; Trp → Arg 50; Leu → Arg 60）を有する人々は、タンパク質アポリポタンパク質 A I またはその断片（A A p o A I）の沈着を特徴とするアミロイドーシスの形態（「オステルターク型」）を示す。これらの患者は、低レベルの高密度リポタンパク質（H D L）を有し、末梢神経障害または腎不全を示す。

10

【0143】

酵素リゾチームのアルファ鎖における突然変異（たとえば Ile → Thr 56 または Asp → His 57）は、英国の家族で報告されたオステルターク型非神経障害性遺伝性アミロイドの別の基礎形である。ここでミュータントリゾチームタンパク質の原線維（A l y s）が沈着して、患者は一般に腎機能障害を示す。このタンパク質は、本明細書に記載する大半の原線維形成タンパク質とは異なり、通常は全体（非断片化）形で存在する（Benson, M. D. ら、CIBA Fdn. Symp. 199:104-131, 1996）。

20

【0144】

β - アミロイドペプチド（A β）は、ベータアミロイド前駆体タンパク質（β A P P）として公知の大型タンパク質からのタンパク質分解によって得られる 39 ~ 43 アミノ酸ペプチドである。β A P P の突然変異は、以下でさらに詳細に説明する、A β 原線維および他の構成成分から構成される斑の脳沈着を特徴とする家族型のアルツハイマー病、ダウン症候群および / または老年性認知症を引き起こす。アルツハイマー病に関連する A P P の公知の突然変異は、β または γ セクレターゼの切断部位の近位で、または A β 内で発生する。たとえば位置 717 は、その β A への加工において A P P の γ - セクレターゼ切断部位の近位であり、位置 670 / 671 は β - セクレターゼ切断部位の近位である。これらの残基のいずれにおける突然変異も、A P P から生成した A β の 42 / 43 アミノ酸形の量をおそらく増加させることによって、アルツハイマー病を引き起こし得る。各種の長さの A β ペプチドの構造および配列が当分野で周知である。このようなペプチドは、当分野で公知の方法によって作製できる（たとえば Glenner and Wong, Biochem Biophys. Res. Comm. 129:885-890, 1984; Glenner and Wong, Biochem Biophys. Res. Comm. 122:1131-1135, 1984）。さらに各種の形態のペプチドが市販されている。

30

【0145】

シヌクレインは、アポリポタンパク質に似たシナプス結合タンパク質であり、ニューロンサイトゾルおよびシナプス前終末に豊富である。N A C と呼ばれる α - シヌクレインに由来するペプチド断片も、アルツハイマー病のアミロイド斑の構成成分である（Clayton ら、1998）。この構成成分も、下で詳説するように、本発明の免疫学に基づく処置の標的として作用する。

40

【0146】

ゲルソリンは、アクチンフィラメントに結合して、アクチンフィラメントを断片化するカルシウム結合タンパク質である。タンパク質の位置 187 における突然変異（たとえば Asp → Asn; Asp → Tyr）は、オランダまたは日本出身の人々と同様に、フィンランドからの患者に通常見出される、遺伝性全身性アミロイドーシスの形態を引き起こす。罹患した個人において、ゲルソリン断片から形成された原線維（A g e l）は通常、ア

50

ミノ酸 173 ~ 243 (68 kDa カルボキシ末端断片) から構成され、血管および基底膜に沈着して、角膜ジストロフィおよび脳神経障害を引き起こして、これらは末梢神経障害、ジストロフィ性皮膚変化および他の臓器への沈着に進行する (Kangas, H. ら、Human Mol. Genet. 5 (9) : 1237 - 1243, 1996)。

【0147】

他の突然変異タンパク質、たとえばフィブリノゲンのミュータントアルファ鎖 (AfibA) およびミュータントシスタチン C (Acys) も原線維を形成して、特徴的な遺伝性障害を生じる。AfibA 原線維は、腎疾患を伴う非神経障害性遺伝性アミロイドに特有の沈着を形成する；Acys 沈着は、アイスランドで報告された遺伝性脳アミロイド血管症の特徴である (Isselbacher ら、Harrison's Principles of Internal Medicine, McGraw-Hill, San Francisco, 1995; Benson ら、同上)。少なくともいくつかの症例において、脳アミロイド血管症 (CAA) 患者は、ベータタンパク質と併せて非変異型のシスタチン C を含有するアミロイド原線維を有することが示されている (Nagai, A. ら、Molec. Chem. Neuropathol. 33 : 63 - 78, 1998)。

10

【0148】

ある形態のプリオン疾患は現在、遺伝性であると見なされており、症例の最大 15% を占めており、以前は自然界において主に感染性であると考えられていた (Baldwin ら、in Research Advances in Alzheimer's Disease and Related Disorders, John Wiley and Sons, New York, 1995)。このようなプリオン障害で、患者には正常プリオンタンパク質 (PrP^C) の異常アイソフォームから成る斑が発生する。主な変異アイソフォーム PrP^{S^C} は、AScr とも呼ばれ、プロテアーゼ分解に対するその耐性、洗浄剤抽出後の不溶性、2 次リソソームでの沈着、翻訳後合成、および高い β プリーツシート含有率で正常な細胞タンパク質とは異なる。クロイツフェルト - ヤコブ病 (CJD)、ゲルストマン - ストロイスラー - シャインカー症候群 (GSS)、および致死性家族性不眠症 (FFI) を引き起こす少なくとも 5 つの突然変異に関して、遺伝連鎖が確立されている。(Baldwin) スクレピー原線維から原線維ペプチドを抽出して、配列を決定し、このようなペプチドを作製する方法は、当分野で公知である (たとえば Beekes, M. ら、J. Gen. Virol. 76 : 2567 - 76, 1995)。

20

30

【0149】

たとえば GSS の 1 つの形態はコドン 102 における PrP 突然変異に関連しているのに対して、終脳 GSS はコドン 117 における突然変異によって分離される。コドン 198 および 217 における突然変異は、アルツハイマー病に特徴的な老人斑が A β ペプチドの代わりに PrP を含有する GSS の形態を引き起こす。家族性 CJD のある形態は、コドン 200 および 210 における突然変異と関連付けられている；コドン 129 および 178 の突然変異は、家族性 CJD および FFI の両方で見出されている (Baldwin、同上)。

40

【0150】

c. 老人性全身性アミロイドーシス

全身性または限局性のどちらのアミロイド沈着も年齢と共に増加する。たとえば野生型トランスサイレチン (TTR) の原線維は高齢者の心臓組織で一般に見出される。これらは無症候性であり、臨床的に無症状であり得るか、または心不全を引き起こし得る。無症候性原線維限局性沈着も脳 (A β)、前立腺のアミロイド小体 (A β ₂ ミクログロブリン)、関節および精嚢に発生し得る。

【0151】

d. 脳アミロイドーシス

アミロイドの局所沈着は特に高齢者の脳で一般的である。脳で最も多いアミロイドの種類は、主に A β ペプチド原線維から構成されており、認知症または散発性 (非遺伝性) ア

50

ルツハイマー病を引き起こす。実際に、散発性アルツハイマー病の発生率は、遺伝性であると見られる形態を大きく超えている。これらの斑を形成する原線維ペプチドは、アルツハイマー病（AD）の遺伝性形態に関連して上述したものと非常に類似している。

【0152】

e．透析関連アミロイドーシス

β_2 ミクログロブリン（ $A\beta_2M$ ）原線維から構成される斑は一般に、長期血液透析または腹膜透析を受けている患者に発生する。 β_2 ミクログロブリンは、11.8キロダルトンのポリペプチドであり、すべての有核細胞に存在する、クラスⅠ MHC 抗原の軽鎖である。通常状況下では、 β_2 ミクログロブリンは細胞膜から絶え間なく放出されて、通常は腎臓によって濾過される。腎機能障害の場合などにクリアランスができないと、腎臓または他の部位における（主に関節のコラーゲンが豊富な組織における）沈着が生じる。他の原線維タンパク質とは異なり、 $A\beta_2M$ 分子は一般に、原線維に未断片形で存在する（Benson, 同上）。

10

【0153】

f．ホルモン由来アミロイドーシス

特に高齢者の内分泌器官は、アミロイド沈着を有し得る。ホルモン分泌腫瘍は、ホルモン由来アミロイド斑も含有することがあり、その原線維はカルシトニン（甲状腺髄様癌）、膵島アミロイドポリペプチド（アミリン；大半のⅠⅠ型糖尿病患者で発生する）、および心房性ナトリウム利尿ペプチド（孤立性心房性アミロイドーシス）などのポリペプチドホルモンで構成されており、これらのタンパク質の配列および構造は当分野で周知である。

20

【0154】

g．多様なアミロイドーシス

通常はアミロイドの局所沈着として顕在化する、多種多様の他の形態のアミロイド疾患がある。一般に、これらの疾患はおそらく、特異性原線維前駆体の局所産生および/もしくはその異化の不足または特定の組織（たとえば関節）の原線維沈着への素因の結果である。これらの特異性沈着の例は、結節性ALアミロイド、皮膚アミロイド、内分泌アミロイド、および腫瘍関連アミロイドを含む。

【0155】

ⅠⅠⅠ．AAアミロイド疾患

AAアミロイドーシスは、既存または共存する疾患の次に発症するために、以前は2次または反応性アミロイドーシスと呼ばれた。このような疾患は、これに限定されるわけではないが、炎症性疾患、たとえば関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、およびクローン病を含む。AA沈着は、慢性微生物感染症、たとえばらい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髓炎、およびウィップル病の結果としても生じる。ある悪性新生物もAAフィブリルアミロイド沈着を引き起こす可能性がある。これらは、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、およびヘアリー細胞白血病などの状態も含む。AAアミロイド疾患は、家族性地中海熱などの遺伝性炎症性疾患からも発生し得る。さらにAAアミロイド疾患は、キャッスルマン病などのリンパ球増殖性障害から発生し得る。

30

40

【0156】

1．AAアミロイドーシスに関連する炎症性疾患

関節リウマチは、主に関節の慢性全身性疾患である。関節リウマチの症状は、滑膜および関節構造（関節）の炎症性変化ならびに骨の萎縮および粗鬆化（骨密度低下）を特徴とする。関節リウマチの後期には、変形および強直（関節の固定）が発生する。関節リウマチのモデルを、フロイント完全アジュバント中のⅠⅠ型コラーゲンを投与することによって、マウスまたはラットで誘導することができる。

【0157】

若年性慢性関節炎は、多くの形態で生じる；最も一般的なのは、若年性関節リウマチで

50

ある。若年性関節リウマチは、どの年齢の小児にも発症する可能性があるが、最初に2～6歳に最も多く現れる。3種類の主な若年性関節リウマチ、すなわち少関節性関節炎、多関節性関節炎、および全身性関節炎（スティル病としても公知）がある。少関節性関節炎は通例、4個以下の関節、通常は膝などのより大きい関節に影響を及ぼす。硬直を伴い、小児に跛行を引き起こす可能性がある。多関節性関節炎は、5個以上の関節、最も一般的には手および足のより小さい関節が罹患していることを特徴とする。多関節性関節炎の小児は、より重篤な形態の疾患を有することが多い。全身性関節炎は、発熱および淡紅色発疹を伴う関節腫脹を特徴とする。関節は、発熱開始後、数ヶ月または数年まで腫脹を開始しないことがある。全身性関節炎は、肝臓、心臓、脾臓およびリンパ節などの内部器官に影響を及ぼすこともあり、貧血は一般的である。全身性関節炎は自然に寛解する傾向があるが、これらの小児のほんの数パーセンテージが成人期まで継続する重篤な関節炎を有する可能性がある。

10

【0158】

強直性脊椎炎は、脊椎および仙腸関節の関節炎を引き起こすリウマチ性疾患であり、眼、肺、および心臓弁の炎症を引き起こす可能性がある。強直性脊椎炎は、生涯を通じて発生する背痛の間欠的な症状発現から脊椎、末梢関節および他の体器官を攻撃する重篤な慢性疾患まで様々であり、年齢を重ねるにつれて重篤な関節および背硬直、運動低下および奇形を生じる。

【0159】

乾癬は、増悪および寛解を特徴として、多遺伝子性遺伝パターンを有する一般的な慢性扁平皮膚病である。乾癬の症状は、伸側面、爪、頭皮、生殖器および腰仙部への偏向を有する灰色がかった白色または銀色がかった白色の鱗屑に覆われた、各種の大きさの円形で乾燥した落屑性斑の存在を特徴とする。

20

【0160】

乾癬性関節症は、乾癬が関節炎の発症に関連している障害である。該障害は各種の方法で示すことが可能である。関節炎は一般に軽症であり、ごく少数の関節を含む。数人の患者で、該疾患は重篤であり、通常、指および脊椎に影響を及ぼす。脊椎が罹患しているとき、症状は強直性脊椎炎の症状と非常に似ている。

【0161】

ライター症候群は、関節炎、尿道炎（尿生殖路の炎症）、結膜炎（目の裏層の炎症）、ならびに皮膚および粘膜の病変から成る症状の群である。ライター症候群は、反応性関節炎とも呼ばれ、関節炎が体の別の箇所でも発生した感染症に対する「反応」として起こることを意味する。*Chlamydia trachomatis* は、性的接触を介して得られたライター症候群にほとんどの場合関連している細菌である。*Salmonella*、*Shigella*、*Yersinia*、および *Campylobacter* を含む、消化管を介して得られた複数の異なる細菌がライター症候群に関連している。

30

【0162】

成人スティル病は、成人発症スティル病とも呼ばれ、内部器官、関節および体の他の部分を攻撃するまれな炎症性状態である。成人スティル病は突然出現および消失することがある。非常に重篤な症例では、成人スティル病は、慢性で非常に消耗性となり、激痛および硬直を引き起こす。該疾患は何年も後に、心臓および肺などの重要器官に障害を与える。

40

【0163】

ベーチェット症候群は、再発性口腔内および/または性器潰瘍形成、失明および神経学的障害を引き起こし得る慢性再発性ブドウ膜炎を示す多臓器障害である。ベーチェット症候群は、4つの主要な症状：口腔内アフタ性潰瘍、皮膚病変、眼の症状、および性器潰瘍形成によって、そして時には、消化管、中枢神経系、脈管系、肺、および腎臓を含む体全体の組織および器官における炎症によって特徴付けられる。ベーチェット症候群の関節炎は通常は間欠的で自己限定性であり、変形性ではなく、膝および足首に局在する。

【0164】

50

クローン病は、口から肛門までの消化管の任意の部分に関係するが、一般に、回腸（小腸下部5分の3）に関与して腸壁の癒痕および肥厚を伴う、慢性肉芽腫性（小粒様体または増殖）炎症性疾患である。クローン病の症状は、慢性下痢の存在、腸音の増大、痙攣を含み、おそらく体重減少および摂食嫌悪によって明らかである。

【0165】

2. AAアミロイドーシスに関連する慢性微生物感染疾患

らいは、外観を損なう皮膚びらん、末梢神経損傷、および進行性衰弱を特徴とする感染性疾患である。らいは、感染性が低く、長い潜伏期間を有する *Mycobacterium leprae* という生物によって引き起こされる。らいは、結核型および癰腫型の2つの一般的な形態がある。どちらの形態も皮膚にびらんを発生させるが、癰腫型は非常に重篤であり、大きく外観を損なう結節（塊および瘤）を生成する。らいは最終的に、末梢神経学的障害を引き起こす。長期のらい患者は、感覚喪失から生じる反復性傷害により、手や足を使用できなくなることがある。

10

【0166】

結核は、*Mycobacterium tuberculosis* による感染性細菌感染症である。該疾患は、感染組織での肉芽腫（顆粒腫瘍）の発生を特徴とする。肺が主に関係するが、感染症は他の器官にも広がる可能性がある。気管支拡張症は、太い気道の異常な破壊および拡張である。

【0167】

気管支拡張症は、太い気道の異常な破壊および拡張である。気管支拡張症は、気道の再発性炎症または感染症によって引き起こされることが多い。気管支拡張症患者に見られる古典的な細菌は、根絶が困難なことで悪名高い、*Pseudomonas aeruginosa* である。この細菌による気道の反復感染症は、この生物による気管支のコロニー形成につながることもあり、処置には特殊な抗生物質を必要とする *Pseudomonas pneumoniae* にこのような人々を罹りやすくなる。

20

【0168】

褥瘡性潰瘍は、圧迫潰瘍または床ずれとしても公知であり、罹患部位に対する長期の圧迫によって引き起こされた皮膚および下層組織の潰瘍形成である。それらは皮膚の赤みとして始まり、進行的に悪化して、水疱、次に開放びらん、最後にクレータを形成する。これらの潰瘍形成は通常、かかと、臀部の尾骨部位および頭後部などの骨張っている突起に発生する。

30

【0169】

慢性腎盂腎炎は、腎臓および輸尿管（腎臓から尿を運搬する管）の感染症である。腎盂腎炎は、膀胱から輸尿管または腎盂への尿の臨時的または持続性の逆流の存在下で特に、尿路感染症の結果として起こることが最も多い。

【0170】

骨髄炎は、通常は細菌によって発生する急性または慢性骨感染症である。骨髄炎は、体の別の部分で発症して、血液を介して骨に広がることが多い。骨が感染しているときに、骨内で膿が産生されて、膿瘍を引き起こし得る。膿瘍によって次に、骨からその血液供給が奪われる。慢性骨髄炎は、血液供給消失の結果として骨組織が死滅したときに発生する。慢性的な感染が数年にわたって間欠的に持続する可能性がある。

40

【0171】

ウィップル病は、腸の感染のために腸管からの栄養吸収が不十分となる、まれな状態である。これは *Tropheryma whipplei* という細菌によって引き起こされる。症状は、下痢、腸内出血、腹痛、食欲不振、体重減少、疲労、および脱力を含む。関節炎および発熱は、腸症状が発症する数年前に発生することが多い。患者は、神経学的症状も同様に経験し得る。診断は、症状および小腸または罹患している他の器官からの組織生検の結果に基づく。認識および処置されると、ウィップル病は通常治癒が可能である。処置を行わないと、状態は通常、致死的である。

【0172】

50

3. A A アミロイドーシスに関連する悪性新生物

ホジキンリンパ腫は、リンパ節、脾臓、肝臓、および骨髄に見出されるリンパ組織の癌である。癌の最初の徴候は、リンパ節の膨大であることが多い。該疾患は、近くのリンパ節に広がるのが可能であり、後で肺、肝臓、または骨髄まで広がり得る。

【0173】

腎臓癌は腎臓の癌である。癌性細胞は腎尿細管の内層に見出される。最初の症状は通常、血尿である。時には両方の腎臓が関係する。癌はほとんどの場合、肺および他の器官まで容易に広がる。腎細胞癌は、乳頭状腎細胞癌、色素嫌性腎臓癌および集合管腎臓癌が続く、一般的な種類の腎臓癌である。腎臓癌の約5%は、その外観が他の分類のいずれにも適合しないために分類されていない。

10

【0174】

消化管の癌は、たとえば結腸直腸、膵臓、胃および食道などの消化管癌を含む。結腸直腸癌は、大腸から直腸まで発生する癌である。ほぼすべての結腸直腸癌は、良性ポリープとして始まり、数年の期間にわたって癌へと進行する。結腸直腸癌の大半の症例は症状がない。膵臓癌は、膵臓の悪性腫瘍である。症状は腹痛、食欲不振、著しい体重減少および無痛性黄疸を含む。胃 (stomach) 癌は、胃 (gastric) 癌とも呼ばれ、胃のいずれの部分にも発生する可能性があり、胃全体および他の器官；特に食道および小腸に広がることもある。胃癌は胃壁を通じて、付近のリンパ節ならびに肝臓、膵臓、および肺などの器官に、または鎖骨の上のリンパ節、結腸、および卵巣などの離れた器官にまで広がることもある。胃癌は、無症候性であることが多い。食道癌は、食道の悪性腫瘍である。症状は嚥下障害 (嚥下困難)、疼痛および実質的な体重減少を含む。

20

【0175】

肺癌は、悪性腫瘍の存在を特徴とする肺の癌である。肺がんには主な2つの形態：非小細胞肺癌および小細胞肺癌がある。症状は癌の特定の形態によって変わるが、慢性的な咳、喀血、息切れ、喘鳴、胸痛、食欲不振、体重減少および疲労を含み得る。

【0176】

尿生殖路の癌は、これに限定されるわけではないが、前立腺癌、膀胱癌、子宮内膜癌、子宮頸癌および卵巣癌を含む。前立腺癌は、前立腺内での悪性腫瘍増殖を含む。症状は、頻尿、一定の尿流の開始および維持の困難、血尿、尿排泄時疼痛、勃起困難または射精時疼痛を含み得る。膀胱癌は、複数の形態の膀胱の悪性腫瘍のいずれかを指す。症状は血尿、頻尿、尿排泄時疼痛、および尿意逼迫を含む。子宮内膜癌は、子宮内膜 (子宮の内層) の癌性増殖を含む。子宮内膜癌は主に閉経後に発生して、膣出血を示す。子宮頸癌は、子宮頸部の悪性腫瘍である。子宮頸癌の早期は、完全に無症候性であり得る。膣出血は、悪性腫瘍の存在を示し得る。進行段階では、転移が腹部、肺または他の箇所に存在し得る。卵巣癌は、卵巣の悪性新生物である。卵巣癌の症状は不明瞭で非特異的であることが多く、不明瞭な下腹部不快感、骨盤重感、月経周期異常、膣出血、体重増加または減少、非特異的消化管症状を含む。卵巣癌が放出した癌細胞は、子宮、膀胱、腸、および腸壁内層に埋没することが多い。これらの癌細胞は、癌が疑われる前にさえ、新しい腫瘍増殖の形成を開始する可能性がある。

30

【0177】

基底細胞癌は、基底皮膚細胞の癌性変化を含む進行の遅い皮膚腫瘍である。症状は、顔、耳、頸部、胸部、背部、または頭皮に位置する皮膚病変；病変または隣接皮膚における血管の可視化；および持続性で治癒しない触痛を含む。この癌は通常、局所に留まり、体の離れた部分に広がることはほとんどないが、増殖を続けて、神経、骨、および脳を含む付近の組織および構造に浸潤し得る。

40

【0178】

ヘアリー細胞白血病は、血球数の低下を引き起こすリンパ球 (B細胞) の癌である。該疾患は、頭髮様突起を持つ異常な形状のB細胞によって引き起こされる。症状は不明瞭なことが多い。ヘアリー細胞白血病によって引き起こされた血球数の低下は、感染症、疲労、および過剰な出血をもたらす可能性がある。

50

【 0 1 7 9 】

4 . A A に関連する遺伝性炎症性疾患

家族性地中海熱は、腹部または肺に関係することが多い、再発性の発熱および炎症を特徴とする遺伝性障害である。症状は、通常 1 2 ~ 2 4 時間後にピークに達する高熱と共に発生する、腹腔内層、胸腔、皮膚、または関節における炎症を含む。発作は症状の重症度で異なることがあり、人々は通常、発作の間は無症状である。この疾患は非常にまれである。リスク因子は、家族性地中海熱の家族歴または地中海の祖先を有することを含む。

【 0 1 8 0 】

5 . A A アミロイドーシスに関連するリンパ球増殖性障害

キャッスルマン病は、病理学的に形質細胞浸潤を伴う巨大リンパ節増殖の存在を特徴とする、リンパ球増殖性障害の形態である。キャッスルマン病患者は、発熱、貧血、高ガンマグロブリン血症、および急性期反応物質タンパク質の血清濃度の上昇を一般に有し、そのすべてはリンパ節で産生された大量の I L - 6 に起因している。

10

【 0 1 8 1 】

I V . 血清アミロイド A

1 . ヒト血清アミロイド A

血清アミロイド A (S A A) は、アミロイド沈着の原線維構成成分である、アミロイド A タンパク質の循環前駆体である。構造的研究により、ヒト S A A は不均一であり、多形 S A A 遺伝子およびタンパク質生成物のファミリーを表すことが示された。S A A 遺伝子スーパーファミリーは、1 1 p 1 5 . 1 に局在する密接に結合した遺伝子のクラスタを含む。S e l l a r , G C ら、G e n o m i c s 1 9 : 2 2 1 - 2 2 7 (1 9 9 4) を参照。ヒトでは、4 つの S A A 遺伝子が説明されている。4 つの S A A 遺伝子によってコードされたタンパク質の代表的なアミノ酸配列を図 1 に示す。2 つの遺伝子 (S A A 1 および S A A 2) は、急性期血清アミロイド A (A - S A A) をコードして、炎症に応答して協調的に誘導される。S A A 1 および S A A 2 は、コード領域および非コード領域の両方で 9 5 % の同一性を共有している。図 1 8 および 1 9 に示すように、ヒト S A A 1 のアルファ、ベータおよびガンマアイソフォームならびにヒト S A A 2 のアルファおよびベータアイソフォームがある。S A A 3 は偽遺伝子である。S A A 4 は、構成 S A A をコードして、最小限の誘導性である。C u n n a n e G . B a i l l i e r e ' s C l i n . R h e u m a t o l . 1 3 (4) : 6 1 5 - 6 2 8 を参照。すべてのヒト S A A / A A 分子は、自己会合のためにおそらく重要であり、原線維形成におけるアミロイドの原線維外部分を有する、理論的カルシウム結合テトラペプチド配列 G l y - P r o - G l y - G l y を含有する。F y k s e , E . M . ら、B i o c h e m . J . 2 5 6 : 9 7 3 - 9 8 0 (1 9 8 8) および T u r n e l l ら、M o l . B i o l . M e d . 3 : 3 8 7 - 4 0 7 (1 9 8 6) を参照。S A A / A A の N 末端部分は強い疎水性であり、自己会合およびアミロイド沈着における他の構成成分にとっておそらく重要である。H u s b y ら、C l i n . I m m u n o l . I m m u n o p a t h o l . 7 0 (1) : 2 - 9 (1 9 9 4) を参照。A A の各アイソフォームの配列およびその対応する S A A アイソフォームに対するその関係を図 2 ~ 5 に示す。たとえばヒト S A A 1 アルファは、配列：

20

30

【 0 1 8 2 】

40

【 化 1 】

H₂N-Met-Lys-Leu-Leu-Thr-Gly-Leu-Val-Phe-Cys-Ser-Leu-Val-Leu-Gly-Val-Ser-Ser-Arg-Ser-Phe-Phe-Ser-Phe-Leu-Gly-Glu-Ala-Phe-Asp-Gly-Ala-Arg-Asp-Met-Try-Arg-Ala-Tyr-Ser-Asp-Met-Arg-Glu-Ala-Asn-Tyr-Ile-Gly-Ser-Asp-Lys-Tyr-Phe-His-Ala-Arg-Gly-Asn-Tyr-Asp-Ala-Ala-Lys-Arg-Gly-Pro-Gly-Gly-Ala-Try-Ala-Ala-Glu-Val-Ile-Ser-Asp-Ala-Arg-Glu-Asn-Ile-Gln-Arg-Phe-Phe-Gly-His-Gly-Ala-Glu-Asp-Ser-Leu-Ala-Asp-Gln-Ala-Ala-Asn-Glu-Try-Gly-Arg-Ser-Gly-Lys-Asp-Pro-Asn-His-Phe-Arg-Pro-Ala-Gly-Leu-Pro-Glu-Lys-Tyr-OH (配列番号 1)

50

を有する。

【0183】

S A A のタンパク質分解断片である A A も異成分から成る。主なヒト A A ペプチドは、76 アミノ酸から成る。A A の例は配列：

【0184】

【化2】

H₂N-Arg-Ser-Phe-Phe-Ser-Phe-Leu-Gly-Glu-Ala-Phe-Asp-Gly-Ala-Arg-Asp-Met-Try-Arg-Ala-Tyr-Ser-Asp-Met-Arg-Glu-Ala-Asn-Tyr-Ile-Gly-Ser-Asp-Lys-Tyr-Phe-His-Ala-Arg-Gly-Asn-Tyr-Asp-Ala-Ala-Lys-Arg-Gly-Pro-Gly-Gly-Ala-Try-Ala-Ala-Glu-Val-Ile-Ser-Asp-Ala-Arg-Glu-Asn-Ile-Gln-Arg-Phe-Phe-Gly-His-Gly-Ala-Glu-Asp-Ser-OH (配列番号2)

10

を有する。

【0185】

A A 70 ~ 76 は、配列 G H G A E D S から成る (配列番号2)、(配列番号4)、またはそのタンパク質の配列が配列番号2と最大限に整列されたときの、ヒトまたは他の種からの別の天然発生型 A A タンパク質による対応するセグメントの、残基70にて開始して、残基76にて終結する A A 断片を指す。

【0186】

2. マウス血清アミロイド A

20

マウスでは、4つの S A A 遺伝子が説明されている。4つのマウス S A A 遺伝子によってコードされたタンパク質の代表的なアミノ酸配列を図8に示す。マウス S A A 遺伝子ファミリーは、染色体7にて密接に関連する4つのメンバを含む。主要なマウス S A A アイソタイプ (S A A 1 および S A A 2) をコードするこれらの遺伝子のうち2つは、エキソンにおいてだけでなく、イントロンおよびフランキング領域においても高い配列同一性を共有しており、アミロイド誘導モデルに応答してほぼ等しい量で誘導される。これらの2つのアイソタイプは、103 アミノ酸残基のうち9つのみが異なる；しかし、S A A 2 のみがアミロイド原線維中に選択的に沈着する。de Beer M. C. Biochem J. 1991 280 (Pt 1): 45 - 49 (1991); Hoffman J. S. ら、J Exp Med. 159: 641 - 646 (1984); Shiroo M ら、Scand J Immunol. 26: 709 - 716 (1987) を参照。S A A 3 は、微量の H D L アポリポタンパク質であり、急性期に末梢で産生される。S A A 4 は、恒常性の間に S A A の 90 % 超を構成する、微量の正常 H D L アポリポタンパク質である構成サブファミリーである。Stearman R. S. ら、Nucleic Acids Research, 14 (2) 797 - 809 (1986) および de Beer M. C. Genomics, 34 (1): 139 - 42 (1996) を参照。

30

【0187】

S A A のタンパク質分解断片であるマウス A A も異成分から成る。A A の各マウスアイソフォームの配列およびその対応する S A A アイソフォームに対するその関係を図9 ~ 12に示す。マウス A A 1、A A 2、A A 3 および A A 4 の配列アラインメントを図13に示す。

40

【0188】

マウス A A 1 は、ヒト A A 1 のマウス同等物である。図16を参照。特に、マウス A A 1 の残基69 ~ 75 (G R G H E D T、配列番号9) は、ヒト A A 1 の残基70 ~ 76 (G H G A E D A S、配列番号4) と最大限に配列されている。図17も参照。

【0189】

3. シャーペイ血清アミロイド A

シャーペイ配列を図20に示す。興味深いことに、ヒト S A A タンパク質の相同領域 - A E D S、(配列番号13) は、位置76に保存的 T h r ~ S e r 置換はもちろんのこと、位置73に残基の著しく異なる残基 (H i s ~ A l a ; 図1) も含有する。 - A E D S

50

、（配列番号：13）配列は、AAアミロイドーシスに対して特に罹りやすい血統である、イヌのシャーペイ種でも観察され、AAアミロイド特異性抗体および他の化合物の新規診断および治療用途を評価するための全身性AAの天然発生型モデルを提供することができる。

【0190】

4. AAタンパク質のN末端セグメントがその原線維形成特性を決定する

アミロイド原線維タンパク質AAは、前駆体タンパク質血清AAの可変長N末端部分から成る。証拠は、分子のアミロイド形成部がN末端10～15アミノ酸長セグメントであることを示している。分子のこの部分でのアミノ酸置換は、2つのマウスSAAアイソフォームの一方のみがアミロイド形成性である理由を説明し得る。Westermarck G. T. Biochem Biophys Res Commun. 182(1): 27-33 (1992) を参照。

10

【0191】

V. 他のヒトアミロイド形成性タンパク質

上の表2に挙げたもののいくつかも含めて、複数のヒトアミロイド形成性タンパク質のGenbankアクセション番号およびX₁EDX₂配列を下の表3に示す。

【0192】

【表 3 - 1】

表3
ヒトアミロイド形成性タンパク質

ヒトアミロイド形成性タンパク質	コンセンサス配列	GenBank アクセッション番号
SAA1	AEDS、(配列番号13)	
SAA2	AEDS、(配列番号13)	
SAA3	AEDS、(配列番号13)	
SAA4	AEDS、(配列番号13)	
抗Sm免疫グロブリンカッパ軽鎖V領域;モノ クローナル抗体4B4カッパ鎖	AEDV、(配列番号23)	AAB26897
ITC52カッパ軽鎖によって使用される免疫グ ロブリン可変領域(サブグループVカッパⅡ)	PEDS、(配列番号26)	AAC61608
ITC48カッパ軽鎖によって使用される免疫グ ロブリン可変領域(サブグループVカッパⅣ)	AEDV、(配列番号23)	AAC61606
抗RhDモノクローナルT125カッパ軽鎖前駆 体	SEDF、(配列番号24)	AAW82027
免疫グロブリンカッパ軽鎖前駆体	AEDV、(配列番号23)	CAA45496
免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAT44350
免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAT44349
免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAT44348
免疫グロブリンカッパ軽鎖	PEDF、(配列番号22)	CAA09185
免疫グロブリンカッパ軽鎖	SEDF、(配列番号24)	CAA09181
免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域	SEDF、(配列番号24)	AAU14891
抗狂犬病SOJA免疫グロブリンカッパ軽鎖	PEDF、(配列番号22)	AAO17825
抗連鎖球菌/抗ミオシン免疫グロブリンカッ パ軽鎖可変領域	SEDF、(配列番号24)	AAB68786
抗連鎖球菌/抗ミオシン免疫グロブリンカッ パ軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAB68785
抗HLA-A2/抗HLA-A28免疫グロブリン カッパ軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAC99644
免疫グロブリンカッパ軽鎖V領域;抗DNA抗 体18/2	PEDF、(配列番号22)	AAB62946
免疫グロブリンカッパ軽鎖	PEDF、(配列番号22)	BAF75949
抗HIV-1 gp120免疫グロブリン48dカッ パ 軽鎖	PEDF、(配列番号22)	AAR88370
免疫グロブリンカッパ軽鎖	PEDL、(配列番号27)	BAA97671
抗赤痢アメーバ免疫グロブリンカッパ軽鎖	PEDF、(配列番号22)	BAA82105
抗赤痢アメーバ免疫グロブリンカッパ軽鎖	TEDV、(配列番号28)	BAA82102
免疫グロブリンカッパ軽鎖	PEDF、(配列番号22)	AAC41705
抗GM2ガングリオシド(ganglioside)IgMモ ノクローナルカッパ軽鎖可変領域	AEDV、(配列番号23)	AAC26480
抗SARS-CoV免疫グロブリンカッパ 軽鎖 可変領域	PEDV、(配列番号151)	AAT51719
抗SARS-CoV免疫グロブリンカッパ軽鎖 可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAT51718
免疫グロブリンカッパ軽鎖VLJ領域	PEDF、(配列番号22)	BAD27502
免疫グロブリンカッパ軽鎖VLJ領域	SEDF、(配列番号24)	BAD27497
抗HIV-1 gp120免疫グロブリン47eカッ パ軽鎖	PEDF、(配列番号22)	AAR88378

10

20

30

40

【表 3 - 2】

ヒトアミロイド形成性タンパク質	コンセンサス配列	GenBank アクセッション番号
抗HIV-1 gp120免疫グロブリン16cカッ パ軽鎖	PEDF、(配列番号22)	AAR88374
抗HIV-1 gp120免疫グロブリン411gカッ パ軽鎖	SEDF、(配列番号24)	AAR88372
免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAF14212
免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAF14211
免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAF14210
免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAF14209
免疫グロブリンV領域カッパ軽鎖	PEDI、(配列番号21)	AAR02415
免疫グロブリンカッパ軽鎖	PEDF、(配列番号22)	AAM46647
免疫グロブリンカッパ軽鎖	AEDV、(配列番号23)	AAM46643
抗赤痢アメーバ免疫グロブリンカッパ軽鎖	PEDF、(配列番号22)	BAA82103
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	AEDV、(配列番号23)	AAL65723
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAL65718
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	SEDF、(配列番号24)	AAL65717
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	SEDF、(配列番号24)	AAL65716
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAL65714
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAL65713
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAL65712
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAL65711
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAL65710
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	LEDG、(配列番号31) PEDF、(配列番号22)	AAL65709
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	LEDG、(配列番号31) PEDF、(配列番号22)	AAL65708
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAL65707
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAL65706
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAL65705
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAL65704
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAL65703
免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域	SEDF、(配列番号24)	AAC64146
免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域	SEDF、(配列番号24)	AAC64144
免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	ABI64139
抗肺炎球菌莢膜多糖体免疫グロブリンカッパ 軽鎖	AEDV、(配列番号23)	AAL04535
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	AEDV、(配列番号23)	AAL65722
免疫グロブリン軽鎖カッパ可変領域	AEDV、(配列番号23)	AAL65720
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	PEDF、(配列番号22)	BAA19563
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	AEDE、(配列番号19)	BAA19562
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	AEDE、(配列番号19)	BAA19561
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	PEDF、(配列番号22)	BAA19560
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	PEDF、(配列番号22)	BAA19559
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	AEDV、(配列番号23)	BAA19558
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	PEDI、(配列番号21)	BAA19556
免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	AAA71907
免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域	AEDV、(配列番号23)	AAA71905

【 0 1 9 4 】

【表 3 - 3】

ヒトアミロイド形成性タンパク質	コンセンサス配列	GenBank アクセッション番号
免疫グロブリンG1 Fab軽鎖可変領域	AEDV、(配列番号23)	BAF49281
免疫グロブリンG1 Fab軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	BAF48998
免疫グロブリンG1 Fab軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	BAF48996
カッパ軽鎖V領域	AEDM、(配列番号32)	CAA37675
免疫グロブリン(immunoglobulin)G1 Fab軽鎖可変領域	SEDF、(配列番号24)	BAF48994
免疫グロブリン(immunoglobulin)G1 Fab軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	BAF48992
Igカッパ鎖前駆体V-J-C領域	AEDV、(配列番号23)	A53261
Igカッパ鎖前駆体V領域	AEDV、(配列番号23)	A49137
Igカッパ鎖前駆体V-I領域	SEDI、(配列番号29)	PN0445
Igカッパ鎖前駆体V-III領域(EVI-15)	PEDF、(配列番号22)	A32274
Igカッパ鎖V-IV領域(Dep)	AEDV、(配列番号23)	A34153
Igカッパ鎖V-IV領域(Fue)	AEDV、(配列番号23)	B34153
Igカッパ鎖V-II領域(Pec)	AEDV、(配列番号23)	C34153
鎖L、IgG Fab断片(Cd25結合)	AEDA、(配列番号62)	1MIM_L
鎖H、IgG Fab断片(Cd25結合)	HEDS、(配列番号33)	1MIM_H
Ig mu鎖C領域、分泌スプライス形	GEDD、(配列番号34)	MHHU
免疫グロブリンカッパ鎖VJ領域	AEDV、(配列番号23)	AAA58923
組み換えモノクローナル抗体IgM 12カッパ軽鎖可変領域	PEDF、(配列番号22)	ABA41551
免疫グロブリン軽鎖	AEDE、(配列番号19)	CAA65054
免疫グロブリン軽鎖ラムダ可変領域	AEDE、(配列番号19)	AAL65769
免疫グロブリン軽鎖ラムダ可変領域	AEDE、(配列番号19)	AAL65767
免疫グロブリン軽鎖ラムダ可変領域	AEDE、(配列番号19)	AAL65765
免疫グロブリン軽鎖ラムダ可変領域	TEDE、(配列番号16)	AAL65764
免疫グロブリン軽鎖ラムダ可変領域	AEDE、(配列番号19)	AAL65763
免疫グロブリン軽鎖ラムダ可変領域	SEDE、(配列番号18)	AAL65762
免疫グロブリン軽鎖ラムダ可変領域	SEDE、(配列番号18)	AAL65761
免疫グロブリン軽鎖ラムダ可変領域	SEDE、(配列番号18)	AAL65760
免疫グロブリン軽鎖ラムダ可変領域	AEDE、(配列番号19)	AAL65759
免疫グロブリン軽鎖ラムダ可変領域	AEDE、(配列番号19)	AAL65758
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	PEDF、(配列番号22)	BAA19563
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	AEDE、(配列番号19)	BAA19562
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	AEDE、(配列番号19)	BAA19561
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	PEDF、(配列番号22)	BAA19560
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	PEDF、(配列番号22)	BAA19559
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	AEDV、(配列番号23)	BAA19558
免疫グロブリン軽鎖V-J領域	PEDI、(配列番号21)	BAA19556
30-ラムダ免疫グロブリン軽鎖可変領域	AEDE、(配列番号19)	AAK95335
予測:低親和性免疫グロブリンガンマFc領域受容体II-a前駆体(Fc-ガンマRII-a)(FcRII-a)(IgG Fc受容体II-a)(Fc-ガンマRIIa)(CD32抗原)(CDw32)に類似	QEDS、(配列番号35)	XP_001129584

10

20

30

40

【 0 1 9 5 】

【表 3 - 4】

ヒトアミロイド形成性タンパク質	コンセンサス配列	GenBank アクセッション番号
IgG、高親和性Ia、受容体(CD64)のFc断片	REDS、(配列番号36) TEDG、(配列番号37) QEDR、(配列番号38)	NP_000557
(CD32)アイソフォーム2のIgG、低親和性IIb、受容体のFc断片	QEDS、(配列番号35)	NP_001002273 XP_943944
(CD32)アイソフォーム1のIgG、低親和性IIb、受容体のFc断片	QEDS、(配列番号35)	NP_003992
(CD32)アイソフォーム4のIgG、低親和性IIb、受容体のFc断片	QEDS、(配列番号35)	NP_001002275
(CD32)アイソフォーム3のIgG、低親和性IIb、受容体のFc断片	QEDS、(配列番号35)	NP_001002274 XP_001129592
IgG、高親和性Ib、受容体(CD64)アイソフォームaのFc断片	QEDR、(配列番号38)	NP_001017986
IgG、高親和性Ib、受容体(CD64)アイソフォームbのFc断片	QEDR、(配列番号38)	NP_001004340 XP_496386
IgG、低親和性IIa、受容体(CD32)のFc断片	QEDS、(配列番号35)	NP_067674 XP_943942
低親和性免疫グロブリンガンマFc領域受容体III-B前駆体	TEDL、(配列番号39) PEDN、(配列番号40) EEDP、(配列番号41)	NP_000561
IgG、低親和性IIIa、受容体(CD16)のFc断片	TEDL、(配列番号39) PEDN、(配列番号40) EEDP、(配列番号41)	NP_000560 XP_001133750
低親和性免疫グロブリンガンマFc領域受容体II-a前駆体(Fc-ガンマリII-a)(FcRII-a)(IgG Fc受容体II-a)(Fc-ガンマRIIa)(CD32抗原)(CDw32)	QEDS、(配列番号35)	P12318
低親和性免疫グロブリンガンマFc領域受容体III-B前駆体(IgG Fc受容体III-1)(Fc-ガンマリIII-ベータ)(Fc-ガンマリIIIb)(FcRIIIb)(Fc-ガンマリIII)(FcRIII)(FcR-10)(CD16b抗原)	TEDL、(配列番号39) PEDN、(配列番号40) EEDP、(配列番号41)	O75015
低親和性免疫グロブリンガンマFc領域受容体III-A前駆体(IgG Fc受容体III-2)(Fc-ガンマリIII-アルファ)(Fc-ガンマリIIIa)(FcRIIIa)(Fc-ガンマリIII)(FcRIII)(FcR-10)(CD16a抗原)	TEDL、(配列番号39) PEDN、(配列番号40) EEDP、(配列番号41)	P08637
高親和性免疫グロブリンガンマFc受容体I前駆体(Fc-ガンマリI)(FcRI)(IgG Fc受容体I)(CD64抗原)	REDS、(配列番号36) TEDG、(配列番号37) QEDR、(配列番号38)	P12314
IGHG1免疫グロブリン 重定常ガンマ1(G1mマーカー)	AEDT、(配列番号14)	Q6PJA4
apoAI[ヒト]	LEDL、(配列番号42)	CAA01253
アポリポタンパク質C-III前駆体[ヒト]	AEDA、(配列番号62)	NP_000031
アポリポタンパク質A-IV前駆体[ヒト]	AEDV、(配列番号23)	NP_000473

10

20

30

40

【表 3 - 5】

ヒトアミロイド形成性タンパク質	コンセンサス配列	GenBank アクセッション番号
ゲルゾリン(アミロイドーシス、フィンランド型) [ヒト]	TEDT、(配列番号30) KEDA、(配列番号43) SEDC、(配列番号44) QEDL、(配列番号63)	CAM20459
ゲルゾリン(アミロイドーシス、フィンランド型) [ヒト]	TEDT、(配列番号30) KEDA、(配列番号43) SEDC、(配列番号44) QEDL、(配列番号63)	CAI14413
ゲルゾリン(アミロイドーシス、フィンランド型) 、アイソフォームCRA__c[ヒト]	TEDT、(配列番号30) KEDA、(配列番号43) SEDC、(配列番号44) QEDL、(配列番号63)	EAW87491
ゲルゾリン(アミロイドーシス、フィンランド型) 、アイソフォームCRA__b[ヒト]	TEDT、(配列番号30) KEDA、(配列番号43) SEDC、(配列番号44) QEDL、(配列番号63)	EAW87490
ゲルゾリン(アミロイドーシス、フィンランド型) 、アイソフォームCRA__a[ヒト]	TEDT、(配列番号30) KEDA、(配列番号43) SEDC、(配列番号44) QEDL、(配列番号63)	EAW87489
アミロイド前駆体タンパク質;APP[ヒト]	AEDV、(配列番号23)	AAB23646
アミロイド前駆体タンパク質;APP[ヒト]	AEDV、(配列番号23)	AAB19991
アミロイドペプチド	AEDV、(配列番号23)	AAA51768
アミロイドベータA4タンパク質前駆体(APP) (ABPP)(アルツハイマー病アミロイドタンパ ク質)(脳血管アミロイドペプチド)(CVAP)(プロテアーゼネキシン-II)(PN-II)(APPI) (PreA4)[可溶性APP-アルファ(S-APP -アルファ);可溶性APP-ベータ(S-APP -ベータ);C99;ベータ-アミロイドタンパ ク質42(ベータ-APP42);ベータ-アミロイド タンパク質40(ベータ-APP40);C83;P3 (42);P3(40);ガンマーCTF(59)(ガンマ -セクレターゼC末端断片59)(アミロイド細 胞内ドメイン59)(AID(59))(AICD-59); ガンマーCTF(57)(ガンマーセクレターゼC 末端断片57)(アミロイド細胞内ドメイン57)(AID(57))(AICD-57);ガンマーCTF(50) (ガンマーセクレターゼC末端断片50)(アミ ロイド細胞内ドメイン50)(AID(50))(AICD -50);C31を含有]	EEDD、(配列番号45) SEDK、(配列番号46) DEDD、(配列番号47) DEDG、(配列番号48) AEDV、(配列番号23)	P05067
APPタンパク質[ヒト]	EEDD、(配列番号45) SEDK、(配列番号46) DEDD、(配列番号47) DEDG、(配列番号48)	AAH65523

【 0 1 9 7 】

【表 3 - 6】

ヒトアミロイド形成性タンパク質	コンセンサス配列	GenBank アクセッション番号
APPタンパク質[ヒト]	EEDD、(配列番号45) SEDK、(配列番号46) DEDD、(配列番号47) DEDG、(配列番号48)	AAH04369
アミロイドペータ(A4)前駆体タンパク質(プロテアーゼネキシン-II、アルツハイマー病)[ヒト]	EEDD、(配列番号45) SEDK、(配列番号46) DEDD、(配列番号47) DEDG、(配列番号48) AEDV、(配列番号23)	AAW82435
カルシトニン	SEDE、(配列番号18)	AAA58403
カルシトニン前駆体	SEDE、(配列番号18)	AAA35501
プレプロカルシトニン[ヒト]	SEDE、(配列番号18)	CAA25103
プレプロカルシトニン	SEDE、(配列番号18)	AAA51913
カルシトニン前駆体[カルシトニン;カタカルシン(カルシトニンカルボキシル末端ペプチド)(CCP)(PDN-21)を含有]	SEDE、(配列番号18)	P01258
カルシトニンアイソフォームCALCAプレプロタンパク質[ヒト]	SEDE、(配列番号18)	NP_001029124
カルシトニンアイソフォームCALCAプレプロタンパク質[ヒト]	SEDE、(配列番号18)	NP_001732
カルシトニンアイソフォームCGRPプレプロタンパク質[ヒト]	SEDE、(配列番号18)	NP_001029125
カルシトニン遺伝子関連ペプチド1前駆体(カルシトニン遺伝子関連ペプチドI)(CGRP-I)(アルファ型CGRP)	SEDE、(配列番号18)	P06881
心房性ナトリウム利尿因子	LEDE、(配列番号49)	AAA35528
心房性ナトリウム利尿因子プロペプチド[ヒト]	LEDE、(配列番号49)	CAA25700
心房性ナトリウム利尿因子	LEDE、(配列番号49)	1101403A
心房性ナトリウム利尿因子前駆体(ANF)(心房性ナトリウム利尿ペプチド)(ANP)(プレプロナトリオジラチン)(CDD-ANF)[カーディオジラチン関連ペプチド(CDP)を含有]	LEDE、(配列番号49)	P01160
心房性ナトリウム利尿ペプチド	LEDE、(配列番号49)	AAA35529
セラチン[ヒト]	GEDA、(配列番号50)	AAB30058
セラチン[ヒト]	VEDF、(配列番号51) YEDE、(配列番号52)	CAA31695
セラチン	IEDL、(配列番号53) GEDA、(配列番号50)	AAB59562
セラチン、II型細胞骨格6C(サイトセラチン-6C)(CK 6C)(K6cセラチン)(サイトセラチン-6E)(CK 6E)(セラチンK6h)	VEDL、(配列番号64) YEDE、(配列番号52) LEDA、(配列番号65)	P48668
フィブリノゲン[ヒト]	WEDY、(配列番号54)	CAA50740
フィブリノゲンアルファサブユニット前駆体[ヒト]	DEDW、(配列番号55) SEDL、(配列番号56) YEDQ、(配列番号57) SEDG、(配列番号66) LEDW、(配列番号58)	AAC97142

10

20

30

40

【表 3 - 7】

ヒトアミロイド形成性タンパク質	コンセンサス配列	GenBank アクセッション番号
フィブリノゲンアルファ鎖[ヒト]	DEDW、(配列番号55) SEDL、(配列番号56) YEDQ、(配列番号57) SEDG、(配列番号66)	AAI01936
フィブリノゲンアルファ鎖[ヒト]	DEDW、(配列番号55) SEDL、(配列番号56) YEDQ、(配列番号57) SEDG、(配列番号66)	AAH98280
フィブリノゲンアルファ鎖、アイソフォームCR A_b[ヒト]	DEDW、(配列番号55) SEDL、(配列番号56) YEDQ、(配列番号57) SEDG、(配列番号66) LEDW、(配列番号58)	EAX04926
フィブリノゲンアルファ鎖、アイソフォームCR A_c[ヒト]	DEDW、(配列番号55) SEDL、(配列番号56) YEDQ、(配列番号57) SEDG、(配列番号66)	EAX04928
フィブリノゲンアルファ鎖、アイソフォームCR A_a[ヒト]	DEDW、(配列番号55) SEDL、(配列番号56)	EAX04924
プリオンタンパク質前駆体;PRNP[ヒト]	YEDR、(配列番号59)	AAC62750
主要プリオン前駆体(PrP)(PrP27-30)(PrP33-35C)(ASCR)(CD230抗原)	YEDR、(配列番号59)	P04156
プリオンタンパク質プレプロタンパク質[ヒト]	YEDR、(配列番号59)	NP_000302
プロラクチン[ヒト]	PEDK、(配列番号60)	CAA38264
プロラクチン[ヒト]	PEDK、(配列番号60)	AAH88370

V I . 能動免疫化のためのアミロイドペプチド

本発明の方法で使用するための治療剤は、患者への投与時にたとえばA Aの残基70～76間のエピトープなどの、 $X_1 E D X_2$ を含む1つ以上のエピトープに特異的に結合する抗体を生成する、免疫原性ペプチド、たとえばA AペプチドおよびA Lペプチドである(「A A剤」)。薬剤のさらなる例は、他のアミロイドタンパク質に由来する $X_1 E D X_2$ (「 $X_1 E D X_2$ 断片」)から成る免疫原性ペプチドを含み、たとえばA L V_K断片は、アミノ酸配列P E D I、(配列番号21)、P E D F、(配列番号22)、A E D V、(配列番号23)、S E D F、(配列番号24)、またはS E D A、(配列番号25)から成り、A L V_λ断片は、アミノ酸配列S E D E、(配列番号18)、A E D E、(配列番号19)、T E D E、(配列番号16)またはP E D E、(配列番号20)から成る。アミノ酸配列F E D D、(配列暗号: 17)から成るA L V_λ断片も使用され得る。いくつかの好適なアミロイドタンパク質は、血清アミロイドAタンパク質、免疫グロブリン軽鎖タンパク質、ヒト脾臓アミロイド前駆体ポリペプチド(I A P P)、ベータアミロイドペプチド、トランスサイレチン(T T R)、A p o A 1ならびに表1に挙げ、配列 $X_1 E D X_2$ を含む他のアミロイドタンパク質を含む。いくつかの薬剤において、 X_1 は、H、T、F、S、P、Aまたはアミロイドタンパク質でE Dの直前に先行するその他のアミノ酸残基であり； X_2 は、T、S、E、R、I、V、F、D、Aまたはこのようなアミロイドタンパク質でE Dの直後に続くその他のアミノ酸残基である。いくつかの薬剤において、 X_1 は、H、T、F、S、P、またはAであり、 X_2 は、T、S、E、D、R、I、V、FまたはAである。いくつかのこのような薬剤において、 X_1 がHであるとき、 X_2 は、TまたはAである； X_1 がAであるとき、 X_2 は、S、T、EまたはVである； X_1 がTであるとき、 X_2 はEである； X_1 がFであるとき、 X_2 はDである； X_1 がSであるとき、 X_2 は、E、FまたはAである； X_1 がPであるとき、 X_2 は、E、IまたはFである。いくつかの薬剤において、 X_1 がAならば、 X_2 はVでないという条件で、

X_1 は、H、T、F、S、P、またはAであり、 X_2 は、T、S、E、D、R、I、V、FまたはAである。いくつかの薬剤において、 X_1 がAであるとき、 X_2 はS、TまたはEである。

【0199】

いくつかの薬剤は、アミノ酸配列GHEDT、(配列番号3)、HEDT、(配列番号12)、AEDS、(配列番号13)、AEDT、(配列番号14)、HEDA、(配列番号15)、TEDE、(配列番号16)、FEDD、(配列番号17)、SEDE、(配列番号18)、AEDE、(配列番号19)、PEDE、(配列番号20)、PEDI、(配列番号21)、PEDF、(配列番号22)、AEDV、(配列番号23)、SEDF、(配列番号24)、またはSEDA、(配列番号25)を含む。いくつかの薬剤は、コンジュゲートを形成するために担体と連結されたGHEDT、(配列番号3)、HEDT、(配列番号12)、AEDS、(配列番号13)、AEDT、(配列番号14)、HEDA、(配列番号15)、TEDE、(配列番号16)、FEDD、(配列番号17)、SEDE、(配列番号18)、AEDE、(配列番号19)、PEDE、(配列番号20)、PEDI、(配列番号21)、PEDF、(配列番号22)、AEDV、(配列番号23)、SEDF、(配列番号24)、またはSEDA、(配列番号25)から成る群より選択されるアミノ酸配列から成る。いくつかの薬剤は、アミノ酸配列GHEDT、(配列番号3)、HEDT、(配列番号12)、AEDS、(配列番号13)、AEDT、(配列番号14)、HEDA、(配列番号15)、TEDE、(配列番号16)、FEDD、(配列番号17)、SEDE、(配列番号18)、AEDE、(配列番号19)、PEDE、(配列番号20)、PEDI、(配列番号21)、PEDF、(配列番号22)、AEDV、(配列番号23)、SEDF、(配列番号24)、またはSEDA、(配列番号25)を含む。いくつかの薬剤は、コンジュゲートを形成するために担体と連結されたGHEDT、(配列番号3)、HEDT、(配列番号12)、AEDS、(配列番号13)、AEDT、(配列番号14)、HEDA、(配列番号15)、TEDE、(配列番号16)、FEDD、(配列番号17)、SEDE、(配列番号18)、AEDE、(配列番号19)、PEDE、(配列番号20)、PEDI、(配列番号21)、PEDF、(配列番号22)、AEDV、(配列番号23)、SEDF、(配列番号24)、およびSEDA、(配列番号25)から成る群より選択されるアミノ酸配列から成る。いくつかの薬剤は、GHEDT、(配列番号3)、HEDT、(配列番号12)、AEDS、(配列番号13)、AEDT、(配列番号14)、HEDA、(配列番号15)、およびTEDE、(配列番号16)から成る群より選択されるアミノ酸配列を含む。

【0200】

好ましいAA断片は、ヒトAA1(HAA1)アルファアイソフォーム残基70~76(GHGAEDS、配列番号4)、HAA1ベータアイソフォーム残基70~76(GHDAEDS、配列番号5)、HAA1ガンマアイソフォーム残基70~76(GHDAEDS、配列番号5)、HAA2アルファおよびベータアイソフォーム残基70~76(GHGAEDS、配列番号4)、HAA3残基70~76(GDHAEDS、配列番号7)、HAA4残基78~84(STVIEDS、配列番号8)、マウスAA1(MAA1)残基69~75(GRGHEDT、配列番号9)、MAA2残基69~75(GRGHEDT、配列番号9)、MAA3残基62~68(GHGAEDS、配列番号10)、およびMAA4残基76~82(NHGLETL、配列番号11)またはこれらのいずれかの少なくとも3個の隣接アミノ酸のサブ断片である。いくつかのAA断片は、上で示したセグメント以外のAAアミロイドーシスペプチドの残基を含有しない。他のAA断片は、AAアミロイドーシスペプチドからのさらなるフランキング残基を含有するが、AAアミロイドーシスペプチドから合計で20個を超える、または好ましくは10個を超える隣接残基を含有しない。さらなる好ましい X_1 ED X_2 およびAL断片は、GHEDT、(配列番号3)、HEDT、(配列番号12)、AEDS、(配列番号13)、AEDT、(配列番号14)、HEDA、(配列番号15)、およびTEDE、(配列番号16)を含む。

【0201】

本発明の方法で使用するための治療剤は、患者への投与時にAAのN末端エピトープに特異的に結合する抗体を生成する免疫原性AAペプチドも含む。好ましい薬剤は、ヒトAAの残基1～15内のエピトープに向けた免疫原性応答を誘導する。

【0202】

好ましくは、投与されたAAもしくはALの断片または X_1EDX_2 断片などの他の薬剤は、断片に対するT細胞応答を生成するエピトープを欠失している。一般に、T細胞エピトープは10隣接アミノ酸より大きい。したがってアミロイドタンパク質の好ましい断片、たとえばAAまたは X_1EDX_2 断片は、4～10または好ましくは7～10隣接アミノ酸のサイズ；すなわちT細胞応答を生成せずに抗体応答を生成するのに十分な長さである。T細胞エピトープが存在しないことが好ましいのは、これらのエピトープが断片の免疫原性活性には不要であり、患者のサブセットで望ましくない炎症性応答を引き起こし得るからである（Andersonら（2002）J. Immunol. 168, 3697-3701；Senior（2002）Lancet Neurol. 1, 3）。

10

【0203】

好ましいAA断片は、ヒトAA1（HAA1）アルファアイソフォーム残基70～76（GHGAEDS、配列番号4）、HAA1ベータアイソフォーム残基70～76（GHDAEDS、配列番号5）、HAA1ガンマアイソフォーム残基70～76（GHDAEDS、配列番号5）、HAA2アルファおよびベータアイソフォーム残基70～76（GHGAEDS、配列番号4）、HAA3残基70～76（GDHAEDS、配列番号7）、HAA4残基78～84（STVIEDS）（配列番号8）、マウスAA1（MAA1）残基69～75（GRGHEDT）（配列番号9）、MAA2残基69～75（GRGHEDT、配列番号9）、MAA3残基62～68（GHGAEDS）（配列番号10）、およびMAA4残基76～82（NHGLETL）（配列番号11）またはこれらのいずれかの少なくとも3個の隣接アミノ酸のサブ断片である。いくつかのAA断片は、上で示したセグメント以外のAAアミロイドーシスペプチドの残基を含有しない。他のAA断片は、AAアミロイドーシスペプチドからのさらなるフランキング残基を含有するが、AAアミロイドーシスペプチドから合計で20個を超える、または好ましくは10個を超える隣接残基を含有しない。さらなる好ましい X_1EDX_2 およびAL断片は、GHEDT、（配列番号3）、HEDT、（配列番号12）、AEDS、（配列番号13）、AEDT、（配列番号14）、HEDA、（配列番号15）、およびTEDE、（配列番号16）を含む。

20

30

【0204】

天然型AAアミロイドーシス、ALアミロイドーシス、および他のアミロイドーシスペプチドの類似体も、免疫応答を誘導するために本発明の方法および組成物で使用可能である。類似体としては対立遺伝子、種および誘導変種が挙げられる。AAの類似体は、天然AA70～76ペプチドと特異的に結合する抗体を誘導する。いくつかのこのような類似体は、AA70～76外部のエピトープに特異的に結合する抗体を誘導できない。AAの類似体は通例、天然発生型ペプチドとは、30%までのアミノ酸位置にて1、2、3、4、5、6、7、8、9または10までの位置変化で異なる。天然アミノ酸残基の各欠失または置換は、置換を伴わない残基の挿入と同様に、位置変化と見なされる。アミノ酸置換は保存的置換であることが多い。

40

【0205】

AAもしくはAA断片またはALもしくはAL断片または他のアミロイドタンパク質断片、たとえば X_1EDX_2 断片のいくつかの類似体も、非天然アミノ酸またはNもしくはC末端アミノ酸の1、2、5、10またはすべての位置でさへの修飾を含む。たとえば天然アスパラギン酸残基は、イソアスパラギン酸によって置換することができる。非天然アミノ酸の例は、D、アルファ、アルファ置換アミノ酸、N-アルキルアミノ酸、乳酸、4-ヒドロキシプロリン、ガンマ-カルボキシグルタメート、イブシロン-N、N、N-トリメチルリジン、イブシロン-N-アセチルリジン、O-ホスホセリン、N-アセチルセ

50

リン、N - ホルミルメチオニン、3 - メチルヒスチジン、5 - ヒドロキシリジン、オメガ - N - メチルアルギニン、 β - アラニン、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン (hydroxypoline)、チロキシン、ガンマ - アミノ酪酸、ホモセリン、シトルリン、およびイソアスパラギン酸である。本発明のいくつかの治療剤は、オールDペプチド、たとえばオールD AAまたはオールD AA断片、およびオールDペプチド類似体である。本発明のいくつかの治療剤は、90%オールDペプチド、たとえば90%オールD AAまたは90%オールD AA断片、および90%オールDペプチド類似体である。本発明のいくつかの治療剤は、80%オールDペプチド、たとえば80%オールD AAまたは80%オールD AA断片、および80%オールDペプチド類似体である。断片および類似体は、後述するように未処置またはプラセボ対照と比較したトランスジェニック動物モデルにおける予防または治療有効性についてスクリーニングできる。

10

【0206】

AA、AL、その断片、および類似体ならびに X_1EDX_2 断片およびその類似体は、固相ペプチド合成もしくは組換え発現によって合成することができるか、または天然源から得ることができる。自動ペプチド合成装置は、多くの供給者、たとえばApplied Biosystems, Foster City, Californiaから市販されている。組換え発現は細菌、たとえばE. coli、酵母、昆虫細胞または哺乳動物細胞において可能である。組換え発現の手順は、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual (C. S. H. P. Press, NY 2d ed., 1989.)に記載されている。

20

【0207】

治療剤は、たとえばAAペプチド、ALペプチドの免疫原性断片または X_1EDX_2 断片を、AAペプチド、ALペプチドまたは X_1EDX_2 断片の片側または両側で隣接している1つ以上の他のアミノ酸と共に含む、より長いポリペプチドも含む。たとえば好ましい薬剤は、異種アミノ酸配列に融合されたAA、ALまたは X_1EDX_2 断片のセグメントを含む融合タンパク質を含み、異種アミノ酸配列は、異種アミノ酸配列に対してヘルパーT細胞応答を、それによりAAセグメント、ALセグメントまたは X_1EDX_2 断片に対してB細胞応答を誘導する。1つ以上のフランクング異種アミノ酸を使用して、AAもしくはALペプチドまたは X_1EDX_2 断片をキャップして製造、貯蔵または使用時の分解からそれを保護することができる。このようなポリペプチドは、後述するように未処置またはプラセボ対照と比較した動物モデルにおける予防または治療有効性についてスクリーニングできる。本発明の治療剤は、ポリリジン配列に隣接されたAAもしくはALの免疫原性断片または X_1EDX_2 断片を含む。ポリリジン配列は、AAもしくはALのN末端、C末端、またはNおよびC末端の両方またはAAもしくはALの免疫原性断片または X_1EDX_2 断片に融合することができる。AAまたは他のポリペプチドのAAまたはALペプチド、 X_1EDX_2 断片、類似体、活性断片は、結合もしくは多量体形または解離形で投与することができる。治療剤は、単量体免疫原性剤の多量体も含む。

30

【0208】

さらなる変形において、AAもしくはAL免疫原性断片または X_1EDX_2 断片は、免疫原性組成物の一部としてウイルスまたは細菌によって提示されることが可能である。免疫原性ペプチドをコードする核酸は、ウイルスまたは細菌のゲノムまたはエピソーム中に包含される。場合により核酸は、ペプチドが提示されるために、免疫原性ペプチドが分泌タンパク質としてまたはウイルスの外面タンパク質もしくは細菌の膜貫通タンパクとの融合タンパク質として発現されるような方式で包含される。このような方法で使用するウイルスまたは細菌は非病原性であるか、または弱毒化されているべきである。好適なウイルスは、アデノウイルス、HSV、ベネズエラウマ脳炎ウイルスおよび他のアルファウイルス、水疱性口内炎ウイルス、ならびに他のラウドウイルス、ワクシニアおよび鶏痘を含む。好適な細菌は、SalmonellaおよびShigellaを含む。免疫原性ペプチドのHBVのHBsAgへの融合が特に好適である。

40

50

【0209】

治療剤は、AAもしくはALまたはX₁EDX₂断片との著しいアミノ酸配列類似性を必ずしも有さないが、それにもかかわらずAAもしくはALまたはX₁EDX₂断片のミメティックとして作用して、類似の免疫応答を誘導するペプチドおよび他の化合物も含む。たとえば、β-ブリーツシートを形成する任意のペプチドおよびタンパク質は好適性についてスクリーニングすることができる。AAもしくはALまたは他のアミロイド形成性ペプチド、たとえばX₁EDX₂断片へのモノクローナル抗体に対する抗イディオタイプ抗体も使用できる。このような抗Id抗体は、抗原を模倣して、それに対する免疫応答を生成する(Essential Immunology (Roit ed., Blackwell Scientific Publications, Palo Alto, 6th ed.), p. 181を参照)。AAペプチド以外の薬剤は、上に挙げたAA(たとえばAA70-76またはGHEDT、(配列番号3)または上に挙げたALもしくはX₁EDX₂断片、たとえばHEDT、(配列番号12)、AEDS、(配列番号13)、AEDT、(配列番号14)、HEDA、(配列番号15)およびTEDE、(配列番号16)の好ましいセグメントの1つ以上に対する免疫原性応答を誘導するはずである。

10

【0210】

好ましくは、このような薬剤は、X₁EDX₂断片が由来したAAもしくはALまたはアミロイドタンパク質の他の断片に向けられることなく、これらの断片の1つに特異的に向けられた免疫原性応答を誘導する。

20

【0211】

ペプチドまたは他の化合物のランダムライブラリも好適性についてスクリーニングすることができる。段階的方式で合成することができる多くの種類の化合物について、コンビナトリアルライブラリを作製することができる。このような化合物は、ポリペプチド、ペーターソンミメティック、ポリサッカライド、リン脂質、ホルモン、プロスタグランジン、ステロイド、芳香族化合物、複素環式化合物、ベンゾジアゼピン、オリゴマーN置換グリシンおよびオリゴカルバメートを含む。化合物の大規模なコンビナトリアルライブラリは、Affymax, WO 95/12608, Affymax, WO 93/06121, Columbia University, WO 94/08051, Pharmacopeia, WO 95/35503およびScrrips, WO 95/30642(そのそれぞれはあらゆる目的のために参照により組み入れられている)に記載されたコード化合成ライブラリ(ESL)法によって構築できる。ペプチドライブラリもファージ提示法によって作製できる。たとえばDevlin, WO 91/18980を参照。

30

【0212】

コンビナトリアルライブラリおよび他の化合物は、AAまたは他のアミロイド形成性ペプチドに対して特異的であることが公知の抗体またはリンパ球(BまたはT)に特異的に結合するその能力を判定することによって、好適性について最初にスクリーニングされる。たとえば初期スクリーニングはALもしくはALまたはその断片に対する、またはX₁EDX₂断片に対する任意のポリクローナル血清またはモノクローナル抗体を用いて実施できる。化合物は次に、AA(たとえばAA70-76またはGHEDT、(配列番号3)もしくはAL内の特異的エピトープまたは上に挙げたX₁EDX₂断片、たとえばHEDT、(配列番号12)、AEDS、(配列番号13)、AEDT、(配列番号14)、HEDA、(配列番号15)およびTEDE、(配列番号16)への特異的結合についてスクリーニングすることができる。

40

【0213】

化合物は、抗体エピトープ特異性をマッピングするために記載されたのと同じ手順によって試験することができる。このようなスクリーンによって同定された化合物は次に、AAもしくはALまたはその断片に対して、またはX₁EDX₂断片に対して抗体または反応性リンパ球を誘導する能力についてさらに分析される。たとえば血清の複数の希釈物を、AAもしくはALまたはその断片またはX₁EDX₂断片によってプレコートされたマイクロタイタープレートで試験することが可能であり、AAもしくはALまたはその断片

50

に対する、または X_1 E D X_2 断片に対する反応性抗体について試験するために標準 E L I S A を実施することが可能である。化合物は次に、アミロイドーシス、たとえば A A アミロイドーシスまたは A L アミロイドーシスへの素因があるトランスジェニック動物における予防および治療有効性について試験することができる。同じスクリーニング手法を、上述の A A、A L の断片および X_1 E D X_2 断片を含む、他の潜在的な薬剤、A A の類似体、A L の類似体およびより長いペプチドに対して使用することができる。

【0214】

V I I . コンジュゲート

免疫応答を誘導するいくつかの薬剤は、A A に対する免疫応答を誘導するための適切なエピトープを含有するが、小さすぎて免疫原性にはなれない。この状況で、ペプチド免疫源を好適な担体分子に連結して、免疫応答の誘導を補助するコンジュゲートを形成できる。単一の薬剤を単一の担体に連結することが可能であり、薬剤の複数のコピーを、次に相互に連結される担体の複数のコピーに連結することが可能であり、薬剤の複数のコピーを担体の単一のコピーに連結することが可能であり、または薬剤の単一のコピーを担体の複数のコピー、または別の担体に連結することが可能である。好適な担体は、血清アルブミン、キーホール・リンペット・ヘモシアニン、免疫グロブリン分子、サイログロブリン、オボアルブミン、破傷風トキソイド、または他の病原菌、たとえばジフテリア、E . c o l i 、コレラ、もしくは H . p y l o r i などからのトキソイド、または減弱された毒素誘導体を含む。T細胞エピトープも好適な担体分子である。いくつかのコンジュゲートは、本発明の薬剤を免疫賦活性ポリマー分子（たとえばトリバルミトイル - S - グリセリンシステイン (P a m ₃ C y s)、マンナン (マンノースポリマー) またはグルカン (ベータ 1 → 2 ポリマー))、サイトカイン (たとえば I L - 1、I L - 1 アルファおよびベータペプチド、I L - 2、ガンマ - I N F、I L - 1 0、G M - C S F)、およびケモカイン (たとえば M I P 1 アルファおよびベータ、ならびに R A N T E S) に連結することによって形成できる。免疫原性剤も、O ' M a h o n y , W O 97 / 17613 および W O 97 / 17614 に記載されているように、組織での輸送を促進するペプチドに連結することができる。免疫源は、スパーサアミノ酸 (たとえば g l y - g l y) を用いて、または用いずに担体に連結され得る。

【0215】

いくつかのコンジュゲートは、本発明の薬剤を少なくとも 1 つの T 細胞エピトープに連結することによって形成することができる。いくつかの T 細胞エピトープは無差別的であるが、他の T 細胞エピトープはユニバーサルである。無差別的 T 細胞エピトープは、各種の H L A 型を提示する多種多様の対象における T 細胞免疫の誘導を促進することができる。無差別的 T 細胞エピトープとは対照的に、ユニバーサル T 細胞エピトープは、T 細胞免疫の誘導を高いパーセンテージで、たとえば異なる H L A - D R 対立遺伝子によってコードされた各種の H L A 分子を提示する対象の少なくとも 75 % で促進することができる。

【0216】

多数の天然型 T 細胞エピトープ、たとえば破傷風トキソイド (たとえば P 2 および P 3 0 エピトープ)、B 型肝炎表面抗原、百日咳トキソイド、麻疹ウイルス F タンパク質、C h l a m y d i a t r a c h o m i t i s 腫瘍外膜タンパク質、ジフテリアトキソイド (たとえば C R M 197)、熱帯熱マラリア原虫スポロゾイド周囲 T、熱帯熱マラリア原虫 C S 抗原、マンソン住血吸虫トリオースリン酸イソメラーゼ、E s c h e r i c h i a c o l i T r a T、およびインフルエンザウイルス血球凝集素 (H A) が存在する。本発明の免疫原性ペプチドも S i n i g a g l i a F . ら、N a t u r e , 336 : 778 - 780 (1988) ; C h i c z R . M . ら、J . E x p . M e d . , 178 : 27 - 47 (1993) ; H a m m e r J . ら、C e l l 74 : 197 - 203 (1993) F a l k K . ら、I m m u n o g e n e t i c s , 39 : 230 - 242 (1994) ; W O 98 / 23635 ; S o u t h w o o d S . ら、J . I m m u n o l o g y 160 : 3363 - 3373 (1998) ; および G i a n n i n i , G . ら、N u c l e i c A c i d s R e s . 12 : 4063 - 4069 (1984) (そのそ

10

20

30

40

50

れぞれはすべての目的のために、参照により本明細書に組み入れられている)に記載されたT細胞エпитープに結合することができる。さらなる例は:

【0217】

【化3】

インフルエンザ血球凝集素: HA₃₀₇₋₃₁₉

マラリアCS:T3エпитープ EKKI AKMEKASSVFNV, (配列番号67)

B型肝炎表面抗原: HBsAg₁₉₋₂₈ FLLTRILTI, (配列番号68)

熱ショックタンパク質 65: hsp65₁₅₃₋₁₇₁ DQSIGDLIAEAMDKVGNEG, (配列番号69)

10

カルメット-ゲラン杆菌 QVHFQPLPPAVVKL, (配列番号70)

破傷風トキソイド: TT₈₃₀₋₈₄₄ QYIKANSKFIGITEL, (配列番号71)

破傷風トキソイド: TT₉₄₇₋₉₆₇ FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE, (配列番号72)

HIV gp120 T1: KQIINMWQEVGKAMYA, (配列番号73)

破傷風トキソイド: TT₉₄₇₋₉₆₇ FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE

HIV gp120 T1: KQIINMWQEVGKAMYA.

20

を含む。

【0218】

またはコンジュゲートは、本発明の薬剤を、MHCクラスII分子の大部分を結合することができる少なくとも1つの人工T細胞エпитープ、たとえばパンDREエпитープ(「PADRE」)に連結することによって形成できる。PADREは、US 5,736,141、WO 95/07707、およびAlexander Jら、Immunity, 1:751-761(1994)(そのそれぞれはすべての目的のために、参照により本明細書に組み入れられている)に記載されている。好ましいPADREペプチドは、

【0219】

【化4】

30

AKXVAAWTLKAAA,

(配列番号74)

(共通残基は太字)であり、ここでXは好ましくはシクロヘキシルアラニン、チロシンまたはフェニルアラニンであり、シクロヘキシルアラニンが最も好ましい。

【0220】

免疫原性剤は化学架橋によって担体に連結することができる。免疫原を担体に連結する技法は、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジル-チオ)プロピオナート(SPDP)およびスクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート(SMCC)を使用するジスルフィド結合の形成(ペプチドスルフィド基を欠失している場合、これはシステイン残基の付加によって供給できる)を含む。これらの試薬は、それ自体と1つのタンパク質のペプチドシステイン残基との間のジスルフィド結合およびリジンのイプシロンアミノ、または他のアミノ酸の遊離アミノ基によるアミド結合を生成する。各種のこのようなジスルフィド/アミド形成剤は、Immun. Rev. 62, 185(1982)に記載されている。他の2官能性カップリング剤は、ジスルフィド結合よりもチオエーテルを形成する。これらのチオエーテル形成剤の多くは市販されており、6-マレイミドカプロン酸、2-プロモ酢酸、および2-ヨード酢酸、4-(N-マレイミド-メチル)シクロヘキサン-1-カルボン酸の反応性エステルを含む。カルボキシ基は、それらをスクシンイミドまたは1-ヒドロキシル-2-ニトロ-4-スルホ

40

50

ン酸ナトリウム塩と化合させることによって活性化することができる。

【0221】

免疫原性は、スペーサ残基（たとえばG l y - G l y）をT_h エピトープと本発明のペプチド免疫原との間に付加することによって改善することができる。T_h エピトープをB細胞エピトープ（すなわちペプチド免疫原）から物理的に分離することに加えて、グリシン残基は、T_h エピトープのペプチド免疫原との結合によって生成された任意の2次構造を破壊して、それによりTおよび/またはB細胞応答の間の干渉を排除することができる。それゆえヘルパーエピトープと抗体誘導ドメインとの間の立体配座分離によって、提示された免疫原と適切なT_h およびB細胞との間で、より効率的な相互作用が可能となる。

【0222】

本発明の薬剤に対して各種のHLA型を提示する対象の大部分のパーセンテージでT細胞免疫の誘導を促進するために、コンジュゲートと各種のT_h 細胞エピトープとの混合物を調製することができる。混合物は、少なくとも2つのコンジュゲートと各種のT_h 細胞エピトープとの混合物、少なくとも3つのコンジュゲートと各種のT_h 細胞エピトープとの混合物、または少なくとも4つのコンジュゲートと各種のT_h 細胞エピトープとの混合物を含有し得る。混合物はアジュバントと共に投与され得る。

【0223】

免疫原ペプチドは、担体との融合タンパク質としても発現することができる（すなわち異種ペプチド）。免疫原性ペプチドは、そのアミノ末端、そのカルボキシ末端、またはその両方で担体に連結することができる。場合により、融合タンパク質中には免疫原性ペプチドの複数の反復が存在することができる。場合により、免疫原性ペプチドは、異種ペプチドの複数のコピーにペプチドのNおよびC末端の両方にて連結することができる。場合により、免疫原性ペプチドの複数のコピーを、相互に連結される異種ペプチドの複数のコピーに連結することができる。いくつかの担体ペプチドは、担体ペプチドに対するヘルパーT細胞応答を誘導するように作用する。誘導されたヘルパーT細胞は次に、担体に連結された免疫原性ペプチドに対するB細胞応答を誘導する。

【0224】

本発明で使用するのに好適な融合タンパク質のいくつかの例を下に示す。これらの融合タンパク質のいくつかは、US 5,196,512、EP 378,881およびEP 427,347に記載されているような、破傷風トキソイドエピトープに連結されたA Aのセグメントを含む。いくつかの融合タンパク質は、US 5,736,142に記載されているように少なくとも1つのPADREペプチドに連結されたA Aのセグメントを含む。いくつかの異種ペプチドは無差別的T細胞エピトープであるが、他の異種ペプチドはユニバーサルT細胞エピトープである。いくつかの方法において、投与のための薬剤は単に、A Aセグメントが異種セグメントに線形構成で連結された単一の融合タンパク質である。本発明の治療剤は、式を使用して表すことができる。たとえばいくつかの方法において、薬剤は、式2^xによって表される融合タンパク質の多量体であり、式中、xは1～5の整数である。好ましくは、xは1、2または3であり、2が最も好ましい。xが2であるとき、このような多量体は、MAP4と呼ばれる好ましい構成で連結された4つの融合タンパク質を有する（US 5,229,490）を参照）。

【0225】

MAP4構成を下に示すが、ここで分枝構造は、N末端およびリジンの側鎖アミンの両方でペプチド合成を開始することによって産生される。リジンが配列に包含されて分枝される場合の回数に応じて、得られる構造は複数のN末端を示すであろう。この例では、4つの同じN末端が分枝リジン含有コアに産生されている。このような多重度によって、同族B細胞の応答性が大きく促進される。下の例では、ZはA A、A Lの免疫原性断片またはX₁ E D X₂断片を示し、Z1～4はA A、A L（複数の）免疫原性断片またはX₁ E D X₂断片を示す。断片は相互に同じであるか、または異なることが可能である。

【0226】

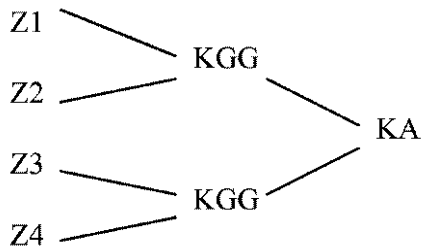
10

20

30

40

【化 5】



融合タンパク質の他の例は：

【 0 2 2 7 】

【化 6】

MAP4構成のZ-破傷風トキソイド830-844:

Z-QYIKANSKFIGITEL, (配列番号71)

MAP4構成のZ-破傷風トキソイド947-967:

Z-FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE, (配列番号72)

MAP4構成のZ-破傷風トキソイド830-844:

Z-QYIKANSKFIGITEL, (配列番号71)

線形構成のZ-破傷風トキソイド830-844+947-967:

Z-QYIKANSKFIGITELFNNFTVSFWLRVPKVSASHLE, (配列番号75)

PADRE ペプチド (すべて線形構成)、ここでXは好ましくは、シクロヘキシルアラニン、チロシンまたはフェニルアラニンであり、シクロヘキシルアラニンが最も好ましい-Zである:

【 0 2 2 8 】

【化 7】

AKXVAAWTLKAAA-Z, (配列番号74)

Z_x3-PADREペプチド:

Z-Z-Z-AKXVAAWTLKAAA, (配列番号74)

線形構成のZ-オボアルブミン323-339:

Z-ISQAVHAAHAEINEAGR, (配列番号76)

を含む。

【 0 2 2 9 】

融合タンパク質のさらなる例は：

【 0 2 3 0 】

【化 8】

AKXVAAWTLKAAA-Z-Z-Z-Z, (配列番号74)

Z-AKXVAAWTLKAAA, (Z-(配列番号74)

PKYVKQNTLKLAT-Z-Z-Z, (配列番号77)

Z-PKYVKQNTLKLAT-Z, (配列番号77)

Z-Z-Z-PKYVKQNTLKLAT, (配列番号77)

【 0 2 3 1】

10

【化 9】

Z-Z-PKYVKQNTLKLAT, (Z-Z-(配列番号77)

Z-PKYVKQNTLKLAT-EKKIAKMEKASSVFNV-QYIKANSKFIGITEL-
FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE-(配列番号78)Z-Z-Z-QYIKANSKFIGITEL-FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE, (配列
番号79)

Z-QYIKANSKFIGITELCFNNFTVSFWLRVPKVSASHLE-Z, (配列番号79)

20

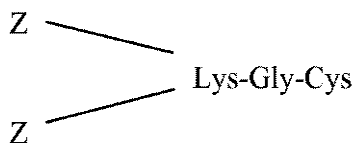
QYIKANSKFIGITELCFNNFTVSFWLRVPKVSASHLE-Z, (配列番号79)

2分枝残基(resin)のZ-QYIKANSKFIGITEL, (配列番号71)

を含む。断片は相互に同じであるか、または異なることが可能である。

【 0 2 3 2】

【化 1 0】



30

AAまたはAA、ALの免疫原性断片またはX₁EDX₂断片に対する抗体の生成に使用される免疫源を生成するために、同じまたは同様の担体タンパク質および連結方法を使用することができる。たとえば担体に連結されたAAまたはAA、ALの免疫原性断片またはX₁EDX₂断片は、AAまたはAA、ALの免疫原性断片またはX₁EDX₂断片に対するモノクローナル抗体の産生の際に実験動物に投与することができる。

【 0 2 3 3】

VIIII. 治療剤をコードする核酸

40

本発明の治療剤は核酸も含む。アミロイド沈着に対する免疫応答は、受動免疫化に使用される、AAペプチドのセグメント、およびその断片、X₁EDX₂断片などの他のペプチド免疫原、または抗体およびその構成成分鎖、たとえば抗体2A4、8G9および7D8をコードする核酸の投与によっても誘導することができる。本発明の方法で使用するためのこのような薬剤は、患者への投与時にAA、ALの残基70～76間の1つ以上のエピトープに特異的に結合する抗体を生成するAAペプチドをコードする核酸、またはX₁EDX₂断片を含むペプチドをコードする核酸を含む。本発明の方法で使用するためのこのような薬剤は、AAのC末端ネオエピトープまたはX₁EDX₂に特異的に結合する抗体をコードする核酸も含む。特にこのような核酸は、残基70～76内のHAA1アルファアイソフォーム(GHGAEDS、(配列番号4)、残基70～76内のHAA1ベータ

50

タアイソフォーム (GHDAEDS、(配列番号5)、残基70~76内のHAA1ガンマアイソフォーム (GHDAEDS、(配列番号5)、HAA2アルファおよびベータアイソフォーム残基70~76 (GHGAEDS、(配列番号4)、残基70~76内のHAA3 (GDHAEDS、(配列番号7)、残基78~84内のHAA4 (STVIEDS、(配列番号8)、残基69~75内のマウスAA1 (MAA1) (GRGHEDT、(配列番号9)、残基69~75内のMAA2 (GRGHEDT、(配列番号9)、残基62~68内のMAA3 (GHGAEDS、(配列番号4)、および残基76~82内のMAA4 (NHGLETL、(配列番号11)に特異的に結合する抗体をコードする。このような核酸は、DNAまたはRNA分子であることが可能である。さらに好ましい核酸は、HEDT (配列番号12)、AEDS (配列番号13)、AEDT (配列番号14)、HEDA (配列番号15)もしくはTEDE (配列番号16)または上に挙げた他の X_1 ED X_2 に特異的に結合する抗体をコードする。免疫原をコードする核酸セグメントは通例、患者の所期の標的細胞内でのDNAの発現を可能にする調節要素、たとえばプロモータおよびエンハンサに連結される。血液細胞での発現では、免疫応答の誘導に所望であるように、軽鎖または重鎖免疫グロブリン遺伝子からのプロモータもしくはエンハンサ要素またはCMV主要中間体早期プロモータおよびエンハンサは、発現を指示するのに好適である。連結された調節要素およびコード配列はベクター中にクローニングされることが多い。2重鎖抗体の投与では、2つの鎖を同じまたは別個のベクター中にクローニングすることができる。本発明の治療剤をコードする核酸は、少なくとも1つのT細胞エピトープもコードすることができる。アジュバントの使用および担体の使用に関連する本明細書の開示は、必要な変更を加えて、本発明の治療剤をコードする核酸でのその使用に適用される。

【0234】

レトロウイルス系 (たとえばLawrie and Tumin, Cur. Opin. Genet. Develop. 3, 102-109 (1993)); アデノウイルスベクター (たとえばBettr, J. Virol. 67, 5911 (1993)を参照); アデノ随伴ウイルスベクター (たとえばZhouら、J. Exp. Med. 179, 1867 (1994)を参照)、ワクシニアウイルスおよび鶏痘ウイルスを含む水痘ファミリーからのウイルスベクター、シンドビスおよびセムリキ森林熱ウイルスからのウイルスベクターなどのアルファウイルス属からのウイルスベクター (たとえばDubenskyら、J. Virol. 70, 508-519 (1996)を参照)、ベネズエラウマ脳炎ウイルス (US 5, 643, 576を参照)ならびにラブドウイルス、たとえば水疱性口内炎ウイルス (WO 96/34625を参照)およびパピローマウイルス (Oheら、Human Gene Therapy 6, 325-333 (1995); Wooら、WO 94/12629およびXiao & Brandsma, Nucleic Acids. Res. 24, 2630-2622 (1996))を含む、いくつかのウイルスベクター系が利用可能である。

【0235】

免疫原をコードするDNA、またはそれを含有するベクターをリボソーム中にパッケージすることができる。好適な脂質および関連類似体は、US 5, 208, 036、5, 264, 618、5, 279, 833および5, 283, 185に記載されている。免疫原をコードするベクターおよびDNAは、粒子担体に吸収または結合させることも可能であり、その例はポリメチルメタクリレートポリマーならびにポリラクチドおよびポリ(ラクチド-co-グリコリド)を含む、たとえばMcGeeら、J. Micro Encap. (1996)を参照。

【0236】

遺伝子療法ベクターまたは裸のDNAは、個々の患者への投与によって、通例は全身投与 (たとえば静脈内、腹腔内、経鼻、胃、皮内、筋肉内、皮下、または頭蓋内注入)または局所利用 (たとえばUS 5, 399, 346を参照)によってインビボに送達することができる。このようなベクターは、ブピバカイン (bupivacaine)などの促進

剤をさらに含むことができる (US 5,593,970)。DNAは、遺伝子銃を使用して投与することも可能である (Xiao & Brandsma、同上を参照)。免疫源をコードするDNAは、微視的な金属ビーズの表面に沈着する。微小発射体は、ショック波または膨張ヘリウムガスによって加速されて、組織に数細胞層の深さまで浸透する。たとえばAgacetis, Inc. Middleton WIによって製造されたAccel (商標) 遺伝子送達装置が好適である。または裸のDNAは、DNAを化学的または機械的炎症のある皮膚にスポットするだけで、皮膚を通じて血流まで通過することができる (WO 95/05853を参照)。

【0237】

さらなる変形において、免疫原をコードするベクターをエキスピボで細胞、たとえば個々の患者から外植された細胞 (たとえばリンパ球、骨髄吸引物、組織生検) または万能給血者造血幹細胞に送達して、続いてベクターを包含した細胞の選抜の後に、患者に細胞を再移植することが可能である。

10

【0238】

IX. アジュバント

本発明の免疫原性剤、たとえばペプチドは時々アジュバントと組み合わせて投与される。アジュバントは、ペプチドが単独で使用される場合の状況と比較して、誘導された抗体の力価および/または誘導された抗体の結合親和性を上昇させる。各種のアジュバントをAAの免疫原性断片と組み合わせて使用して、免疫応答を誘導することができる。好ましいアジュバントは、応答の質的な形態に影響を及ぼす免疫原の立体配座変化を引き起こすことなく、免疫原に対する固有応答を増強する。好ましいアジュバントは、水酸化アルミニウムおよびリン酸アルミニウム、3De-O-アシル化モノホスホリル脂質A (MPL (商標)) (GB 2220211を参照 (RIBI ImmunoChem Research Inc., Hamilton, Montana、現在、Corixaの一部)、RC-529 (Corixa, Hamilton, Montana)を含む。STIMULON (商標) QS-21は、南米で見出されるキラヤ・サボナリア・モリナという木の樹皮から単離されたトリテルペングリコシドまたはサポニンである (Kensilら、in Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (eds. Powell & Newman, Plenum Press, NY, 1995); US Patent No. 5,057,540を参照) (Aquila BioPharmaceuticals, Framingham, MA)。他のアジュバントは、場合により免疫刺激薬、たとえばモノホスホリル脂質A (Stoutら、N. Engl. J. Med. 336, 86-91 (1997))、ブルロニックポリマー、および死菌ミコバクテリアと組み合わされた、水中油型エマルジョン (スクアレナまたはラッカセイ油など) である。別のアジュバントはCpGである (WO 98/40100)。アジュバントは、活性剤を含む治療組成物の構成成分として投与することができるか、または治療剤投与の前、同時、または後に別個に投与することができる。

20

30

【0239】

アジュバントの好ましいクラスはアルミニウム塩 (ミョウバン)、たとえば水酸化ミョウバン、リン酸ミョウバン、硫酸ミョウバンである。このようなアジュバントは、他の特異的な免疫刺激剤、たとえばMPLまたは3-DMP、QS-21、重合体または単量体アミノ酸、たとえばポリグルタミン酸またはポリリジンと共に、またはそれらなしで使用する。アジュバントの別のクラスは、水中油型エマルジョン製剤である。このようなアジュバントは、他の特異的な免疫刺激剤、たとえばムラミルペプチド (たとえばN-アセチルムラミル-L-トレオニル-D-イソグルタミン (thr-MDP)、N-アセチル-ノルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン (nor-MDP)、N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン-L-アラニン-2-(1'-2'-ジバルミトイル-sn-グリセロ-3-ヒドロキシホスホリルオキシ)-エチルアミン (MTP-PE)、N-アセチルグルコサミニル (acetylglucosamyl)-N-アセチルムラミル-L-Al-D-イソグル-L-Ala-ジバルミトキシプロ

40

50

ピルアミド (DTP - DPP) THERAMIDE (商標))、または他の細菌細胞壁構成成分と共に、またはそれらなしで使用することができる。水中油型エマルジョンは、(a) Model 110 Y マイクロ流体化装置 (Microfluidics, Newton MA) などのマイクロ流体化装置を使用してミクロン未満の粒子に配合された、5% スクアラン、0.5% Tween 80、および 0.5% Span 85 (場合により各種の量の MTP - PE を含有する) を含有する MF59 (WO 90/14837)、(b) ミクロン未満のエマルジョンにマイクロ流体化された、またはボルテックスにかけてより大きい粒径のエマルジョンに生成された、10% スクアレン、0.4% Tween 80、5% pluronic 遮断重合体 L121、および thr - MDP を含有する SAF、(c) 2% スクアレン、0.2% Tween 80、およびモノホスホリル脂質 A (MPL)、トレハロースジミコレート (TDM)、および細胞壁骨格 (CWS)、好ましくは MPL + CWS (DETOX (商標)) から成る群より選択される 1 つ以上の細菌細胞壁構成成分を含有する、RIBI (商標) アジュバント系 (RAS) (Ribi ImmunoChem, Hamilton, MT) を含む。

【0240】

別のクラスの好ましいアジュバントは、サポニンアジュバント、たとえば STIMULON (商標) (QS - 21, Aquila, Framingham, MA) またはそこから生成した粒子、たとえば ISCOM (免疫刺激複合体) および ISCOMATRIX である。他のアジュバントは、RC - 529、GM - CSF ならびに完全フロイントアジュバント (CFA) および不完全フロイントアジュバント (IFA) を含む。他のアジュバントは、サイトカイン、たとえばインターロイキン (たとえば IL - I α および β ペプチド、IL - 2、IL - 4、IL - 6、IL - 12、IL 13、および IL - 15)、マクロファージコロニー刺激因子 (M - CSF)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM - CSF)、腫瘍壊死因子 (TNF)、ケモカイン、たとえば MIP 1 α および β ならびに RANTES を含む。別のクラスのアジュバントは、N - グリコシルアミド、N - グリコシル尿素および N - グリコシルカルバメートを含む糖脂質類似体であり、そのそれぞれは免疫調節薬またはアジュバントとして、糖残基においてアミノ酸によって置換される (US Pat. No. 4, 855, 283 を参照)。熱ショックタンパク質、たとえば HSP 70 および HSP 90 もアジュバントとして使用され得る。

【0241】

アジュバントは、免疫原と共に単一組成物として投与することができるか、または免疫原投与の前、免疫原投与と同時に、または免疫原投与の後に投与することができる。免疫原およびアジュバントは、同じバイアルで包装および供給することができるか、または別個のバイアルに包装して使用前に混合することができる。免疫原およびアジュバントは通例、所期の治療用途を示すラベルを用いて包装される。免疫原およびアジュバントが別個に包装される場合、法層は通例、使用前に混合するための説明書を含む。アジュバントおよび/担体の選択は、アジュバントを含有する免疫原性製剤の安定性、投与経路、投薬スケジュール、ワクチン接種される種に対するアジュバントの有効性に依存しており、ヒトにおいては、製薬的に許容されるアジュバントは、関係規制機関によって承認されたまたは承認され得るアジュバントである。たとえば完全フロイントアジュバントは、ヒトへの投与には好適でない。ミョウバン、MPL および QS - 21 が好ましい。場合により、2 つ以上の異なるアジュバントを同時に使用することができる。好ましい組み合わせは、ミョウバンと MPL、ミョウバンと QS - 21、MPL と QS - 21、MPL または RC - 529 と GM - CSF、ならびに共にミョウバン、QS - 21 および MPL を含む。または不完全フロイントアジュバントは、場合により、ミョウバン、QS - 21、および MPL ならびにそのすべての組み合わせと組み合わせて使用することができる (Changら、Advanced Drug Delivery Reviews 32, 173 - 186 (1998))。

【0242】

X. 抗体の受動投与

10

20

30

40

50

本発明の治療剤は、A Aなどのアミロイドペプチド中のエピトープを含む、凝集アミロイドタンパク質中の X_1EDX_2 を含むエピトープに特異的に結合する抗体を含み、式中、 X_1 は、H、T、F、S、P、Aまたはこのような凝集アミロイドタンパク質でEDの直前に先行するその他のアミノ酸残基であり；式中、 X_2 は、T、S、E、R、I、V、F、Aまたはこのような凝集アミロイドタンパク質でEDの直後に続くその他のアミノ酸残基である。受動投与に使用する抗体は、A AのC末端またはN末端エピトープに結合する抗体であることが可能である。他のアミロイドタンパク質は、血清アミロイドAタンパク質に加えて、血清アミロイドAタンパク質、免疫グロブリン軽鎖タンパク質、たとえば $V\lambda 6$ W i l または $V\kappa$ 、ヒト膵島アミロイド前駆体ポリペプチド(I A P P)、ベータアミロイドペプチド、トランスサイレチン(T T R)、およびA p o A 1はもちろんのこと、上の表1に挙げたその他も含む。

10

【0243】

A Aは、S A Aのタンパク質分解切断によって形成される。好ましい抗体は、S A Aのタンパク質分解切断時に生成するA Aのネオエピトープに特異的に結合する。好ましい抗体はA AのC末端ネオエピトープに特異的に結合し、特にこのような抗体は残基70～76内のH A A 1アルファアイソフォーム(G H G A E D S、配列番号4)、残基70～76内のH A A 1ベータアイソフォーム(G H D A E D S、配列番号5)、残基70～76内のH A A 1ガンマアイソフォーム(G H D A E D S、配列番号5)、残基70～76内のH A A 2アルファおよびベータアイソフォーム(G H G A E D S、配列番号10)、残基70～76内のH A A 3(G D H A E D S、配列番号7)、残基78～84内のH A A 4(S T V I E D S、配列番号8)、残基69～75内のマウスA A 1(M A A 1、G R G H E D T、配列番号9)、残基69～75内のM A A 2(G R G H E D T、配列番号9)、残基62～68内のM A A 3(G H G A E D S、配列番号10)、および残基76～82内のM A A 4(N H G L E T L、配列番号11)に特異的に結合する。いくつかの抗体はこれらのペプチドの1つの中のエピトープのみに結合する。他の結合はこれらのペプチドの2つ以上の中のエピトープに結合する。たとえばいくつかの抗体は、G H G A E D S(配列番号4)ペプチドおよびG H D A E D S、配列番号5)ペプチドに特異的に結合する。たとえばいくつかの抗体は、G H D A E D S、配列番号5)ペプチドに特異的に結合することなく、G H G A E D S(配列番号4)ペプチドに特異的に結合する。ヒトA Aペプチドの少なくとも1つに結合することが好ましい。ヒトA Aペプチドの少なくとも1つおよび対応するマウスペプチドに結合することは、同じ抗体をマウスモデルで試験して、続いてヒトで使用する点で有用である。いくつかの好ましい抗体は、H A A 1アルファアイソフォーム残基71～76、72～76、73～76、74～76、70～75、70～74、70～73、70～72、71～75、72～75、73～75、71～74、71～73、72～74、またはM A A 1残基70～75、71～75、72～75、73～75、69～74、69～73、69～72、69～71、70～74、71～74、72～74、70～73、70～72内のエピトープに特異的に結合する。このような抗体は通例、アミロイド沈着に特異的に結合するが、可溶性A Aには結合することも結合しないこともある。たとえばH A A 1アルファアイソフォーム残基70～76などの、規定された残基内のエピトープに抗体が特異的に結合すると言われるとき、抗体が規定された残基(すなわちこの例ではH A A 1アルファアイソフォームの残基70～76)を含有するポリペプチドに特異的に結合するということを意味する。このような抗体は、H A A 1アルファアイソフォームの残基70～76内の各残基と必ずしも接触するわけではない。H A A 1アルファアイソフォームの残基70～76内での1つ1つのアミノ酸置換または欠失も、結合親和性に必ずしも著しい影響を及ぼすわけではない。このようなネオエピトープ抗体はA Aには結合するが、S A Aには結合しない。抗体のエピトープ特異性は、たとえばW O 0 0 / 7 2 8 8 0に記載されているように決定できる。

20

30

40

【0244】

受動投与に使用される抗体は、A AのN末端エピトープに対する抗体であることが可能

50

である。好ましい抗体は、AAのN末端ネオエピトープに特異的に結合して、このような抗体はHAA1残基1～15(RSFFSFLGEAFDGAR、配列番号80)、HAA2残基1～15(RSFFSFLGEAFDGAR、配列番号80)、HAA3残基1～15(QGWLTLKAAAGQGAK、配列番号81)、HAA4残基1～15(ESWRSFFKEA、(配列番号82)、MAA1残基1～15(GFFSFVHEAFQGAGD、配列番号83)、MAA2残基1～15(GFFSFVHEAFQGAGD、配列番号83)、MAA3残基1～9(EAGQGSRD、(配列番号84)、および残基1～14MAA4(WYSFFREAVQGTWD、配列番号85)に特異的に結合する。いくつかの抗体はこれらのペプチドの1つの中のエピトープのみに結合する。他の結合はこれらのペプチドの2つ以上の中のエピトープに結合する。たとえばいくつかの抗体は、RSFFSFLGEAFDGAR、配列番号80)ペプチドおよびQGWLTLKAAAGQGAK、配列番号81)ペプチドに特異的に結合する。ヒトAAペプチドの少なくとも1つに結合することが好ましい。ヒトAAペプチドの少なくとも1つおよび対応するマウスペプチドに結合することは、同じ抗体をマウスモデルで試験して、続いてヒトで使用するができるという点で有用である。

【0245】

いくつかの抗体は、このような X_1EDX_2 から成るエピトープに特異的に結合する。好ましくは、このような抗体は、凝集アミロイドタンパク質中のこのようなエピトープに特異的に結合する。このような抗体のいくつかは、このようなアミロイドタンパク質の単量体形と比較して、凝集アミロイドタンパク質に優先的に特異的に結合する。いくつかの抗体において、 X_1 は、H、T、F、S、P、またはAであり、 X_2 は、T、S、E、D、R、I、V、FまたはAである。いくつかのこのような抗体において、 X_1 がHであるとき、 X_2 は、TまたはAである； X_1 がAであるとき、 X_2 は、S、T、EまたはVである； X_1 がTであるとき、 X_2 はEである； X_1 がFであるとき、 X_2 はDである； X_1 がSであるとき、 X_2 は、E、FまたはAである； X_1 がPであるとき、 X_2 は、E、IまたはFである。いくつかの抗体において、 X_1 がAならば、 X_2 はVでないという条件で、 X_1 は、H、T、F、S、P、またはAであり、 X_2 は、T、S、E、D、R、I、V、FまたはAである。いくつかの抗体において、 X_1 がAであるとき、 X_2 はS、TまたはEである。

【0246】

いくつかの抗体は、アミノ酸配列GHEDT、(配列番号3)、HEDT、(配列番号12)、AEDS、(配列番号13)、AEDT、(配列番号14)、HEDA、(配列番号15)、TEDE、(配列番号16)、FEDD、(配列番号17)、SEDE、(配列番号18)、AEDE、(配列番号19)、PEDE、(配列番号20)、PEDI、(配列番号21)、PEDF、(配列番号22)、AEDV、(配列番号23)、SEDF、(配列番号24)またはSEDA、(配列番号25)を含むエピトープを特異的に結合する。

【0247】

いくつかの抗体は、GHEDT、(配列番号3)、HEDT、(配列番号12)、AEDS、(配列番号13)、AEDT、(配列番号14)、HEDA、(配列番号15)、TEDE、(配列番号16)、FEDD、(配列番号17)、SEDE、(配列番号18)、AEDE、(配列番号19)、PEDE、(配列番号20)、PEDI、(配列番号21)、PEDF、(配列番号22)、SEDF、(配列番号24)、またはSEDA、(配列番号25)から成る群より選択されるアミノ酸配列を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、GHEDT、(配列番号3)、HEDT、(配列番号12)、AEDS、(配列番号13)、AEDT、(配列番号14)、HEDA、(配列番号15)、およびTEDE、(配列番号16)から成る群より選択されるアミノ酸配列を含むペプチドに特異的に結合する。

【0248】

いくつかの抗体は、GHEDT、(配列番号3)を含むペプチド、たとえば2A4、7

10

20

30

40

50

D 8 および 8 G 9 に対して産生されるか、またはそのヒト化もしくはキメラバージョンである。

【0249】

抗体はポリクローナルまたはモノクローナルであることが可能である。ポリクローナル血清は通例、A A の長さに沿った複数のエピトープに特異的に結合する抗体の混合集団を含有する。しかし、ポリクローナル血清は、A A の特定のセグメント、たとえば H A A 1 アルファアイソフォームの残基 70 ~ 76 に対して特異的であることが可能である。好ましい抗体は、キメラ、またはヒト化 (Queen ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 10029 - 10033 (1989) および WO 90/07861、US 5,693,762、US 5,693,761、US 5,585,089、US 5,530,101 および Winter、US 5,225,539 を参照)、またはヒト (Lonberg ら、WO 93/12227 (1993); US 5,877,397、US 5,874,299、US 5,814,318、US 5,789,650、US 5,770,429、US 5,661,016、US 5,633,425、US 5,625,126、US 5,569,825、US 5,545,806、Nature 148, 1547 - 1553 (1994)、Nature Biotechnology 14, 826 (1996)、Kucherlapati、WO 91/10741 (1991)) である。ベニアリングとしても公知である抗体をヒト化する別の手法は、US 6,797,492 に記載されている。結合特異性が異なる複数のマウス抗体は、ヒト化抗体を作製するための開始材料として利用できる。

【0250】

代表的なヒト化抗体は、ヒト化バージョン 7 D 8 抗体 (ATCC アクセション番号 _____)、ヒト化バージョン 7 D 2 9 抗体、ヒト化バージョン 7 D 1 9 抗体、ヒト化バージョン 7 D 4 7 抗体、ヒト化バージョン 7 D 3 9 抗体、ヒト化バージョン 7 D 6 6 抗体、ヒト化バージョン 8 G 9 抗体、ヒト化バージョン 8 G 3 抗体、ヒト化バージョン 8 G 4 抗体、ヒト化バージョン 8 G 5 1 抗体、ヒト化バージョン 8 G 2 2 抗体、ヒト化バージョン 8 G 3 0 抗体、ヒト化バージョン 8 G 4 6 抗体、ヒト化バージョン 2 A 4 抗体 (ATCC アクセション番号 _____)、ヒト化バージョン 2 A 2 0 抗体、ヒト化バージョン 2 A 4 4 抗体、ヒト化バージョン 2 A 7 7 抗体、ヒト化バージョン 2 A 1 3 抗体、およびヒト化バージョン 2 A 1 4 抗体である。7 D 8 抗体 (JH 80 7 D 8 . 29 . 19 . 47) および 2 A 4 抗体 (JH 80 2 A 4 . 20 . 44077) を産生するハイブリドーマは、特許手続きのための微生物寄託の国際認識に関するブダペスト条約 (「ブダペスト条約」) の条項に基づいて、現在は 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110 - 2209 にある American Type Culture Collection (ATCC) へ 2008 年 9 月 4 日および 2008 年 12 月 17 日にそれぞれ寄託した。ATCC は、7 D 8 を産生するハイブリドーマに ATCC アクセション番号 _____ を、2 A 4 を産生するハイブリドーマに ATCC アクセション番号 _____ を割り当てた。

【0251】

ヒトアイソタイプ Ig G 1 が A A の C 末端領域に対する抗体に好ましいのは、食細胞の Fc R I 受容体に対してヒトアイソタイプの最も高い親和性を有するためである。いくつかの抗体は、約 10^7 、 10^8 、 10^9 、もしくは 10^{10} M^{-1} またはそれ以上の結合親和性で A A に特異的に結合する。

【0252】

A A の断片の能動免疫化は、抗体の受動投与と組み合わせることができる。特異的組み合わせの例は、H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 内のエピトープに特異的に結合する抗体; H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 71 ~ 76 内のエピトープに特異的に結合する抗体; H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 72 ~ 76 内

のエピトープに特異的に結合する抗体；H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 73 ~ 76 内のエピトープに特異的に結合する抗体；H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 74 ~ 76 内のエピトープに特異的に結合する抗体；H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 75 内のエピトープに特異的に結合する抗体；H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 74 内のエピトープに特異的に結合する抗体；H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 73 内のエピトープに特異的に結合する抗体；H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 72 内のエピトープに特異的に結合する抗体；H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 71 ~ 75 内のエピトープに特異的に結合する抗体；H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 72 ~ 75 内のエピトープに特異的に結合する抗体；H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 73 ~ 75 内のエピトープに特異的に結合する抗体；H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 71 ~ 74 内のエピトープに特異的に結合する抗体；H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 71 ~ 73 内のエピトープに特異的に結合する抗体；H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76 を含む A A 断片と H A A 1 アルファアイソフォーム残基 72 ~ 74 内のエピトープに特異的に結合する抗体を含む。さらに、H A A 1 アルファアイソフォーム残基 71 ~ 76、72 ~ 76、73 ~ 76、74 ~ 76、70 ~ 75、70 ~ 74、70 ~ 73、70 ~ 72、71 ~ 75、72 ~ 75、73 ~ 75、71 ~ 74、71 ~ 73、72 ~ 74 を含む A A 断片は、H A A 1 残基アルファアイソフォーム残基 71 ~ 76、72 ~ 76、73 ~ 76、74 ~ 76、70 ~ 75、70 ~ 74、70 ~ 73、70 ~ 72、71 ~ 75、72 ~ 75、73 ~ 75、71 ~ 74、71 ~ 73、72 ~ 74 内のエピトープに特異的に結合する抗体と組み合わせ得る。H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76、H A A 1 ベータアイソフォーム残基 70 ~ 76、H A A 1 ガンマアイソフォーム残基 70 ~ 76、H A A 2 アルファおよびベータアイソフォーム残基 70 ~ 76、M A A 1 残基 69 ~ 75、M A A 2 残基 69 ~ 75、または M A A 3 残基 62 ~ 68 を含む A A 断片は、H A A 1 アルファアイソフォーム残基 70 ~ 76、H A A 1 ベータアイソフォーム残基 70 ~ 76、H A A 1 ガンマアイソフォーム残基 70 ~ 76、H A A 2 アルファおよびベータアイソフォーム残基 70 ~ 76、M A A 1 残基 69 ~ 75、M A A 2 残基 69 ~ 75、または M A A 3 残基 62 ~ 68 内のエピトープに特異的に結合する抗体と組み合わせ得る。

【0253】

上記の抗体のいくつかは、アミロイドタンパク質の単量体形または前駆体形に特異的に結合しない。このような抗体のいくつかは、アミロイドタンパク質を生じる前駆体タンパク質の切断時に生成されるネオエピトープに特異的に結合する。たとえばいくつかの抗体は、マウス A A 原線維 - H E D T、(配列番号 12) の C 末端残基に特異的に結合するが、S A A の非アミロイド部分 (G H E D T M A D Q E、配列番号 61) 内に伸長するペプチドには特異的に結合しない。いくつかの抗体は、立体配座エピトープに特異的に結合する。立体配座エピトープのいくつかは線形である。このような立体配座エピトープのいくつかは、アミロイドタンパク質が凝集 (たとえば原線維) 構造に入るときに、または部分的に変性されるときに露出される。このような抗体の例は、マウスモノクローナル抗体 2 A 4 (A T C C アクセション番号 _____)、8 G 9 (A T C C アクセション番号 _____) および 7 D 8 (A T C C アクセション番号 _____)、そのヒト抗体、ヒト化抗体およびキ

メラ形抗体、2A4、8G9または7D8と同じエピトープに特異的に結合する他の抗体、ならびに任意のそのような抗体の抗原結合断片を含む。いくつかの抗体は、アミノ酸配列EDを含むアミロイドタンパク質に特異的に結合する。いくつかの抗体は、免疫グロブリン軽鎖タンパク質、ヒト臍島アミロイド前駆体ポリペプチド(IAPP)、ベータアミロイドペプチド、トランスサイレチン(TTR)、およびApoA1から成る群より選択されるアミロイドタンパク質に特異的に結合する。

【0254】

基本的な抗体構造単位は、サブユニットの4量体を含むことが公知である。各4量体はポリペプチド鎖の2つの同一の対で構成され、各対は1つの「軽」鎖(約25kDa)および1つの「重」鎖(約50~70kDa)を有する。各鎖のアミノ末端部分は、主に抗原認識に關与する約100~110またはそれ以上のアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシ末端部分は、主にエフェクタ機能に關与する定常領域を画成する。

【0255】

1. 抗体

本発明は、無処置抗体および抗原結合抗体断片はもちろんのこと、ペグ化抗体および抗体断片はもちろんのこと、改変(たとえば低減または排除された)エフェクタ機能を持つ抗体、たとえばFc領域に突然変異または置換残基を含む抗体も含む。免疫グロブリン分子の免疫学的活性部分の例は、抗体を酵素、たとえばペプシンによって処理することによって生成できる、または当分野で認識された組換え工学技法によって産生できる、F(ab)およびF(ab')₂トリFab'、Fab'、Fv、scFv、ジFab'断片を含む。本発明のさらなる抗原結合断片は、ペグ化抗体断片、たとえばペグ化Fab'およびペグ化ジFab'を含む、治療用抗体断片を含む。エフェクタ機能ミュータントの例は、その全体が参照により本明細書に組み入れられているU.S. Patent No. 5,624,821に記載されている。いくつかの抗体は、FcガンマRI受容体に対する結合親和性が低下した。エフェクタ機能ミュータント抗体は、ヒンジ領域に突然変異を含む抗体を含む。いくつかのミュータントIgG抗体は、重鎖定常領域内の位置234、235、236、237、297、318、320および322の1つ以上に突然変異を含む。いくつかの抗体において、残基234、236および237の1つ以上がアラニンによって置換される。いくつかの抗体において、残基235はグルタミンによって置換される。いくつかの抗体において、残基297はアラニンによって置換される。いくつかの抗体において、残基318、320および322はアラニンによって置換される。いくつかの抗体において、残基318はバリンによって置換される。いくつかの抗体において、残基322はグルタミンによって置換される。エフェクタ機能が向上した抗体は、抗体単S239DおよびI332Eならびに2重および3重ミュータントS239D/I332EおよびS239D/I332E/A330L(Kabatナンバリング)を含む。

【0256】

2. ポリクローナル抗体

ポリクローナル抗体は、好適な対象を免疫原によって免疫化することによって上述のように調製できる。免疫化対象の抗体力価は、固定化標的抗原を使用する酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)などの標準技法によって、経時的に監視することができる。所望ならば、標的抗原に向けられた抗体分子を哺乳動物から(たとえば血液から)単離して、周知の技法、たとえばタンパク質Aセファロースクロマトグラフィーによってさらに精製して、抗体、たとえばIgG画分を得ることができる。免疫化後の適切な時間に、たとえば抗抗原抗体力価が最も高いときに、抗体産生細胞を対象から得て、モノクローナル抗体を標準方法、たとえばKohler and Milstein(1975)Nature 256:495-497)によって最初に記載されたハイブリドーマ技法によって調製することができる(Brownら(1981)J. Immunol. 127:539-46; Brownら(1980)J. Biol. Chem. 255:4980-83; Yehら(1976)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76:2927-31; およびYehら(1982)Int. J. Cancer 29:269-75も参照

）。キメラポリクローナル抗体の調製については、Buechlerら、U.S. Patent No. 6,420,113を参照。

【0257】

3. モノクローナル抗体

リンパ球および不死化株化細胞を融合するために使用される多くの周知のプロトコルのいずれも、モノクローナル抗体を生成する目的で利用できる（たとえばG. Galfrèら（1977）Nature 266:55052; Gefterら、Somatic Cell Genet., 上で引用; Lerner, Yale J. Biol. Med., 上で引用; Kenneth, Monoclonal Antibodies, 上で引用を参照）。さらに当業者は、また有用であるこのような方法の多くの変形があることを認識するであろう。通例、不死化細胞（たとえば骨髓腫株化細胞）は、リンパ球と同じ哺乳動物種に由来する。たとえばマウスハイブリドーマは、本発明の免疫原性調製物によって免疫化したマウスからのリンパ球を不死化マウス株化細胞と融合することによって作製できる。好ましい不死化細胞は、ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジンを含む培養培地（「HAT培地」）に感受性であるマウス骨髓腫株化細胞である。いくつかの骨髓腫株化細胞のいずれも、たとえばP3-NS1/1-Ag4-1、P3-x63-Ag8.653またはSp2/O-Ag14骨髓腫系統も、標準技法による融合パートナーとして使用することができる。これらの骨髓腫系統はATCCから入手できる。通例、HAT感受性マウス骨髓腫細胞は、ポリエチレングリコール（「PEG」）を使用してマウス脾細胞に融合される。融合から生じるハイブリドーマ細胞は次にHAT培地を使用して選択され、HAT培地は未融合または融合が無効な骨髓腫細胞を死滅させる（未融合脾細胞は、形質転換されないため、数日後に死滅する）。本発明のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞は、標準ELISAアッセイを使用して、標的抗原、たとえばAβを結合する抗体についてハイブリドーマ培養上清をスクリーニングすることによって検出される。

10

20

【0258】

4. 組換え抗体

モノクローナル抗体分泌ハイブリドーマを調製する代わりに、組換えコンビナトリアル免疫グロブリンライブラリ（たとえば抗体ファージ提示ライブラリ）を標的抗原によってスクリーニングして、それにより標的抗原を結合する免疫グロブリンライブラリのメンバを単離することによって、モノクローナル抗体を同定および単離することができる。ファージ提示ライブラリを生成およびスクリーニングするためのキットは市販されている（たとえばPharmacia Recombinant Phage Antibody System, Catalog No. 27-9400-01; およびStratagene SurfZAP（商標）Phage Display Kit, Catalog No. 240612）。さらに、抗体提示ライブラリの生成およびスクリーニングでの使用に特に適した方法および試薬の例は、たとえばLadnerら、U.S. Patent No. 5,223,409; Kangら、PCT International Publication No. WO 92/18619; Dowerら、PCT International Publication No. WO 91/17271; Winterら、PCT International Publication WO 92/20791; Marklandら、PCT International Publication No. WO 92/15679; Breitlingら、PCT International Publication WO 93/01288; McCaffertyら、PCT International Publication No. WO 92/01047; Garrardら、PCT International Publication No. WO 92/09690; Ladnerら、PCT International Publication No. WO 90/02809; Fuchsら（1991）Bio/Technology 9:1370-1372; Hayら（1992）Hum. Antibod. Hybridomas 3:81-85; H

30

40

50

use (1989) Science 246:1275-1281; Griffiths (1993) EMBO J 12:725-734; Hawkins (1992) J. Mol. Biol. 226:889-896; Clarkson (1991) Nature 352:624-628; Gram (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:3576-3580; Garrad (1991) Bio/Technology 9:1373-1377; Hoogenboom (1991) Nuc. Acid Res. 19:4133-4137; Barbass (1991) Proc Natl Acad. Sci USA 88:7978-7982; および McCafferty、Nature (1990) 348:552-554に見出される。

10

【0259】

5. キメラおよびヒト化抗体

さらに、標準組換えDNA技法を使用して作製できる、ヒトおよび非ヒト部分の両方を含む組換え抗体、たとえばキメラおよびヒト化モノクローナル抗体は、本発明の範囲内である。

【0260】

「ヒト化免疫グロブリン」または「ヒト化抗体」という用語は、少なくとも1つのヒト化免疫グロブリンまたは抗体鎖（すなわち少なくとも1つのヒト化軽鎖または重鎖）を含む免疫グロブリンまたは抗体を指す。「ヒト化免疫グロブリン鎖」または「ヒト化抗体鎖」（すなわち「ヒト化免疫グロブリン軽鎖」または「ヒト化免疫グロブリン重鎖」）は、実質的にヒト免疫グロブリンまたは抗体からの可変フレームワーク領域および実質的に非ヒト免疫グロブリンまたは抗体からの相補性決定領域（CDR）（たとえば少なくとも1つのCDR、好ましくは2つのCDR、さらに好ましくは3つのCDR）を含み、定常領域（たとえば軽鎖の場合には、少なくとも1つの定常領域またはその部分、重鎖の場合には3つの定常領域）をさらに含む可変領域を有する免疫グロブリンまたは抗体鎖（すなわちそれぞれ軽鎖または重鎖）を指す。「ヒト化可変領域」（たとえば「ヒト化軽鎖可変領域」または「ヒト化重鎖可変領域」という用語は、実質的にヒト免疫グロブリンまたは抗体からの可変フレームワーク領域および実質的に非ヒト免疫グロブリンまたは抗体からの相補性決定領域（CDR）を含む可変領域を指す。

20

【0261】

「実質的にヒト免疫グロブリンまたは抗体からの」または「実質的にヒト」という句は、比較の目的でヒト免疫グロブリンまたは抗体アミノ酸配列と整列させたときに、領域が、ヒトフレームワークまたは定常領域配列と少なくとも80～90%の、90～95%の、または95～99%の同一性（すなわち局所配列同一性）を共有して、たとえば保存的置換、コンセンサス配列置換、生殖細胞系置換、逆突然変異などを可能にすることを意味する。保存的置換、コンセンサス配列置換、生殖細胞系置換、逆突然変異などの導入は、ヒト化抗体または鎖の「最適化」と呼ばれることが多い。「実質的に非ヒト免疫グロブリンまたは抗体からの」または「実質的に非ヒト」という句は、非ヒト生物、たとえば非ヒト哺乳動物の免疫グロブリンまたは抗体配列と少なくとも80～95%、好ましくは少なくとも90～95%、さらに好ましくは96%、97%、98%、または99%同一である免疫グロブリンまたは抗体配列を有することを意味する。

30

40

【0262】

したがってCDRを除く、ヒト化免疫グロブリンもしくは抗体の、またはヒト化免疫グロブリンもしくは抗体鎖のすべての領域または残基は、1つ以上の未変性ヒト免疫グロブリン配列の対応する領域または残基と実質的に同一である。「対応する領域」または「対応する残基」という用語は、第1および第2の配列が比較の目的で最適に整列されているときに、第1のアミノ酸またはヌクレオチド配列上の領域または残基と同じ（すなわち同等の）位置を占有する第2のアミノ酸またはヌクレオチド配列上の領域または残基を指す。

【0263】

50

「著しい同一性」という用語は、2つのポリペプチド配列が、デフォルトギャップ重み付けを使用してプログラムGAPまたはBESTFITなどによって最適に整列されたときに、少なくとも50～60%の配列同一性、好ましくは少なくとも60～70%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも70～80%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも80～90%の配列同一性、なおさらに好ましくは少なくとも90～95%の配列同一性、およびなおさらに好ましくは少なくとも95%の配列同一性またはそれ以上（たとえば99パーセントの配列同一性またはそれ以上）を共有することを意味する。「実質的同一性」という用語は、2つのポリペプチド配列が、デフォルトギャップ重み付けを使用してプログラムGAPまたはBESTFITなどによって最適に整列されたときに、少なくとも80～90%の配列同一性、好ましくは少なくとも90～95パーセントの配列同一性、さらに好ましくは少なくとも95パーセントの配列同一性またはそれ以上（たとえば99パーセントの配列同一性またはそれ以上）を共有することを意味する。配列比較のために、通例一方の配列は、試験配列が比較される参照配列として作用する。配列比較アルゴリズムを使用して、試験配列および参照配列をコンピュータに入力するときに、サブ配列座標が指定され、必要ならば配列アルゴリズムプログラムのパラメータが指定される。配列比較アルゴリズムは次に、指定されたプログラムパラメータに基づいて、参照配列に対する試験配列の配列同一性パーセントを計算する。

10

【0264】

比較のための配列の最適なアラインメントは、たとえばSmith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2: 482 (1981)の局所相同性アルゴリズムによって、Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48: 443 (1970)の相同性整列アルゴリズムによって、Pearson & Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 2444 (1988)の類似性検索方法によって、これらのアルゴリズムのコンピュータ処理による実施(GAP, BESTFIT, FASTA, and TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI)によって、または目視検査（一般にAusubelら、Current Protocols in Molecular Biologyを参照）によって実施することができる。配列同一性および配列類似性のパーセントを決定するのに好適であるアルゴリズムの一例はBLASTアルゴリズムであり、Altschulら、J. Mol. Biol. 215: 403 (1990)に記載されている。BLAST解析を実施するためのソフトウェアは、(National Institutes of Health NCB Internet serverを通じて公にアクセスできる)National Center for Biotechnology Informationを通じて公に入手できる。通例、デフォルトのプログラムパラメータを使用して配列比較を実施することができるが、カスタマイズされたパラメータも使用できる。アミノ酸配列の場合、BLASTPプログラムはデフォルトとして、語長(W)3、期待値(E)10、およびBLOSUM62スコアリングマトリクスを使用する(Henikoff & Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 10915 (1989)を参照)。

20

30

40

【0265】

好ましくは、同一でない残基位置は、保存アミノ酸置換によって異なる。アミノ酸置換基を保存的または非保存的として分類する目的で、アミノ酸は次のように分類される：群I（疎水性側鎖）：leu、met、ala、val、ile；群II（中性親水性側鎖）：cys、ser、thr；群III（酸性側鎖）：asp、glu；群IV（塩基性側鎖）：asn、gin、his、lys、arg；群V（側鎖配向に影響する残基）：gly、pro；および群VI（芳香族側鎖）：trp、tyr、phe。保存的置換は、同じクラスのアミノ酸間の置換を含む。非保存的置換は、これらのクラスの1つのメンバを別のメンバと交換することを構成する。

50

【0266】

好ましくは、ヒト化免疫グロブリンまたは抗体は、対応する非ヒト化抗体の親和性の3倍、4倍、または5倍以内である親和性で抗原を結合する。たとえば非ヒト化抗体が 10^{-9} Mの結合親和性を有する場合、ヒト化抗体は少なくとも 3×10^{-8} M、 4×10^{-8} M、 5×10^{-8} M、または 10^{-9} Mの結合親和性を有するであろう。免疫グロブリンまたは抗体鎖の結合特性を説明するときに、鎖は「抗原（たとえばA β ）結合を指示する」その能力に基づいて説明することができる。鎖は、無処置免疫グロブリンまたは抗体（またはその抗原結合断片）に特異的結合特性または結合親和性を与えるときに、「抗原結合を指示する」と言われる。突然変異（たとえば逆突然変異）は、重鎖または軽鎖が前記鎖を含む無処置免疫グロブリンまたは抗体（またはその抗原結合断片）の結合親和性に、前記突然変異のない同等の鎖を含む抗体（またはその抗原結合断片）の結合親和性と比較して少なくとも1桁だけ影響を及ぼす（たとえば低下させる）場合に、重鎖または軽鎖が抗原結合を指示する能力に実質的に影響を及ぼすと言われる。突然変異は、鎖が前記鎖を含む無処置免疫グロブリンまたは抗体（またはその抗原結合断片）の結合親和性に、前記突然変異のない同等の鎖を含む抗体（またはその抗原結合断片）の結合親和性のわずか2倍、3倍、または4倍だけ影響を及ぼす（たとえば低下させる）場合に、「鎖が抗原結合を指示する能力に実質的に影響を及ぼさない（たとえば低下させない）」。

10

【0267】

「キメラ免疫グロブリン」または抗体という用語は、その可変領域が第1の種に由来して、その定常領域が第2の種に由来する免疫グロブリンまたは抗体を指す。キメラ免疫グロブリンまたは抗体は、たとえば異なる種に属する免疫グロブリン遺伝子セグメントから遺伝子組み換えによって構築することができる。「ヒト化免疫グロブリン」または「ヒト化抗体」という用語は、以下で定義するように、キメラ免疫グロブリンまたは抗体を含むことを意図しない。ヒト化免疫グロブリンまたは抗体はその構造がキメラである（すなわち1種を超えるタンパク質からの領域を含む）が、それらは本明細書で定義するように、キメラ免疫グロブリンまたは抗体で見出されないさらなる特徴（すなわちドナーCDR残基およびアクセプタフレームワーク残基を含む可変領域）を含んでいる。

20

【0268】

このようなキメラおよびヒト化モノクローナル抗体は、たとえばRobinsonら、International Application No. PCT/US86/02269; Akiraら、European Patent Application 184,187; Taniguchi, M., European Patent Application 171,496; Morrisonら、European Patent Application 173,494; Neubergerら、PCT International Publication No. WO 86/01533; Cabillyら、U.S. Patent No. 4,816,567; Cabillyら、European Patent Application 125,023; Betterら(1988) Science 240:1041-1043; Liuら(1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439-3443; Liuら(1987) J. Immunol. 139:3521-3526; Sunら(1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214-218; Nishimuraら(1987) Cane. Res. 47:999-1005; Woodら(1985) Nature 314:446-449; およびShawら(1988) J. Natl. Cancer Inst. 80:1553-1559; Morrison, S. L. (1985) Science 229:1202-1207; Oiら(1986) BioTechniques 4:214; Winter U.S. Patent 5,225,539; Jonesら(1986) Nature 321:552-525; Verhoeyanら(1988) Science 239:1534; およびBeidlerら(1988) J. Immunol. 141:4053-4060に記載された方法を使用して、当分野で公知の組換えDNA技法によって産生することができる。治療剤は、

30

40

50

相補性決定領域 (C D R) ミメティックなどの抗体ミメティックも含む。

【 0 2 6 9 】

6 . トランスジェニック動物およびファージ提示からのヒト抗体

または免疫化時に内因性免疫グロブリン産生の非存在下でヒト抗体の全レパートリーを産生できるトランスジェニック動物 (たとえばマウス) を産生することが、今や可能である。たとえば、キメラおよび生殖系列ミュータントマウスにおける抗体重鎖結合領域 (J_H) 遺伝子のホモ接合欠失は、内因性抗体産生の完全な抑制を生じることが記載されている。このような生殖系列ミュータントマウスへのヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子アレイの転移は、抗原投与時にヒト抗体の産生を引き起こす。たとえば U . S . P a t e n t N o s . 6 , 1 5 0 , 5 8 4 ; 6 , 1 1 4 , 5 9 8 ; および 5 , 7 7 0 , 4 2 9 を参照

10

【 0 2 7 0 】

完全ヒト抗体もファージ提示ライブラリから得ることができる (H o o g e n b o o m ら、J . M o l . B i o l , 2 2 7 : 3 8 1 (1 9 9 1) ; M a r k s ら、J . M o l . B i o l , 2 2 2 : 5 8 1 - 5 9 7 (1 9 9 1)) 。キメラポリクローナル抗体もファージ提示ライブラリから得ることもできる (B u e c h l e r ら、U . S . P a t e n t N o . 6 , 4 2 0 , 1 1 3) 。

【 0 2 7 1 】

7 . 2 重特異性抗体、抗体融合ポリペプチド、および単鎖抗体

2 重特異性抗体 (B s A b) は、少なくとも 2 つの異なるエピトープに対する結合特異性を有する抗体である。このような抗体は、全長抗体または抗体断片 (たとえば F (a b)₂ 2 重特異性抗体) から得ることができる。2 重特異性抗体を作製する方法は当分野で公知である。全長 2 重特異性抗体の慣習的な産生は、2 つの鎖が異なる特異性を有する、2 つの免疫グロブリン重鎖 - 軽鎖対の同時発現に基づいている (M i l s t e i n ら、N a t u r e , 3 0 5 : 5 3 7 - 5 3 9 (1 9 8 3)) 。免疫グロブリン重鎖および軽鎖のランダムな組み合わせのために、これらのハイブリドーマ (クアドローマ) は、異なる抗体分子の潜在的な混合物を産生する (W O 9 3 / 0 8 8 2 9 および T r a u n e c k e r ら、E M B O J . , 1 0 : 3 6 5 5 - 3 6 5 9 (1 9 9 1) を参照) 。

20

【 0 2 7 2 】

2 重特異性抗体は、架橋または「ヘテロ接合」抗体も含む。たとえばヘテロ接合体における抗体の一方をアビジンに、他方をビオチンまたは他のペイロードに結合させることができる。ヘテロコンジュゲート抗体は、任意の好都合な架橋法を使用して作製され得る。適切な架橋剤は当分野で公知であり、多くの架橋技法と共に U . S . P a t . N o . 4 , 6 7 6 , 9 8 0 に開示されている。

30

【 0 2 7 3 】

また別の態様において、抗体は反応性、検出可能、または官能性部分などのペイロード、たとえば免疫毒素に化学的または遺伝的に融合させて、抗体融合ポリペプチドを産生することができる。このようなペイロードはたとえば、免疫毒素、化学治療薬、および放射性同位体を含み、そのすべては当分野で周知である。

【 0 2 7 4 】

単鎖抗体も本発明による安定化に好適である。断片は軽鎖可変ドメイン (V L) にリンカによって連結された重鎖可変ドメイン (V H) を含み、このことによって各可変領域は相互に作用して、V L および V H 領域が由来する親抗体の抗原結合ポケットを再形成する。G r u b e r ら、J . I m m u n o l . 1 5 2 : 5 3 6 8 (1 9 9 4) を参照。

40

【 0 2 7 5 】

上記のポリペプチドの分子のいずれも単独でまたは組み合されて、本発明による安定化製剤としての調製に好適であることが理解される。

【 0 2 7 6 】

X I . 処置に適した対象

処置に適した対象および患者は、疾患のリスクに瀕しているが症状を示していない個人

50

はもちろんのこと、現在症状を示している患者も含む。したがって本方法は、対象患者のリスク評価を一切必要とせずに、一般集団に対して予防的に投与することができる。本方法は、公知の遺伝的リスクである自己免疫障害を有する個人に特に有用である。このような個人は、この疾患を経験したことがある親戚を有する個人および遺伝マーカーまたは生化学マーカーの分析によってそのリスクが判定される個人を含む。

【0277】

AAアミロイドーシスに罹患している患者は、長期間にわたって無症候性であり得る。したがってAAアミロイドーシスの臨床診断は、アミロイド沈着が大規模になるまで遅れるか、または見落とされることが多い。症候性である患者の場合、症例のわずか53%が診断されると推定される。L. E. K. Consulting, Independent Market Research (2003)を参照。

10

【0278】

本発明は、表1に挙げた疾患を含む、たとえば上述の疾患などのアミロイドタンパク質の沈着を特徴とする疾患を処置するまたは疾患の予防を達成するのに有用な方法を提供する。いくつかの方法は、アミノ酸配列EDを含むアミロイドタンパク質の沈着を特徴とする疾患を処置するまたは疾患の予防を達成するのに有用である。いくつかの方法において、アミロイドタンパク質がアミノ酸配列AEDVを含む場合、ここで抗体はアルツハイマー病または軽度認知障害の処置または予防実施のために投与されない。アミロイドタンパク質は、表1に挙げたアミロイドタンパク質、たとえば血清アミロイドAタンパク質(SAA)、免疫グロブリン軽鎖タンパク質、たとえばVλ6 WILおよびVκ、ヒト臍島アミロイド前駆体ポリペプチド(IAPP)、ベータアミロイドペプチド、トランスサイレチン(TTR)、またはApoA1を含む、上述のアミロイドタンパク質のいずれでも可能である。

20

【0279】

本方法は、AAアミロイドーシスまたはALアミロイドーシスの既知のリスクを有する、AAアミロイドーシスまたはALアミロイドーシスを有することが疑われる、またはAAアミロイドーシスまたはALアミロイドーシスであると診断されている個人に特に有用である。このような個人は、これに限定されるわけではないが、慢性炎症性疾患、遺伝性炎症性疾患、および慢性微生物感染疾患、たとえば関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、家族性地中海熱、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髓炎、ウィップル病、骨髓腫、マクログロブリン血症、免疫担当細胞疾患、単クローン性高ガンマグロブリン血症、不顕性疾患を有する個人を含む。慢性炎症性および感染性状態はAAアミロイドーシス発症に不可欠であり、限局性結節性アミロイドーシスによって顕在化したALアミロイドーシスは、慢性炎症性疾患に関連することがある。AAアミロイドーシスの既知のリスクを有する個人は、これに限定されるわけではないが、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、およびヘアリー細胞白血病などの悪性新生物を有する個人も含む。さらに、AAアミロイドーシスの既知のリスクを有する個人は、これに限定されるわけではないが、キャッスルマン病などのリンパ球増殖性障害を有する個人も含む。

30

40

【0280】

無症候性および症候性患者の両方において、処置は基礎AAまたはALアミロイド疾患の診断前または後のいつでも開始することができる。処置は通例、期間にわたる複数回の投薬を含む。処置は、治療剤(たとえばAAペプチド)に対する抗体、活性化T細胞(副作用)もしくはB細胞応答を評価することによって、または経時的に放射性標識SAPシンチグラフィーを利用することによって監視することができる。応答が低下する場合、ブースター投薬量が指示される。

【0281】

XII. 処置投薬計画

一般に処置投薬計画は、アミロイドタンパク質に対して、および好ましくはこのような

50

アミロイドタンパク質、たとえばAAまたはALの凝集形に対して免疫応答を誘導するのに有効な薬剤を投与することを含む。好ましくは、AAもしくはALの免疫原性断片または X_1EDX_2 断片が患者に投与される。予防用途では、製薬組成物または薬剤は、アミロイドーシス、たとえばAAアミロイドーシスまたはALアミロイドーシスに罹りやすい、またはそうでなければアミロイドーシスのリスクに瀕した患者に、疾患の身体的、生化学的、組織学のおよび/または行動上の症状、その合併症ならびに疾患発症の間に現れる中間病的表現型を含めて、疾患のリスクを排除もしくは低下させる、重症度を軽減する、または開始を遅延させるのに十分な量で投与される。治療用途では、薬剤は、このような疾患が疑われる、またはこのような疾患にすでに罹患している患者に、その合併症および疾患発症時の中間病的表現型を含めて、疾患の(身体的、生化学的、組織学のおよび/または行動上の)症状を治癒させる、または少なくとも部分的に停止させる、またはその悪化を抑制するのに十分な薬剤の投与の量および頻度を含む投薬計画で投与される。いくつかの方法において、薬剤の投与によって、特徴的なAAまたはALアミロイドーシス病状をまだ発症していない患者における早期の総体的症状が低減または排除される。治療的または予防的処置を実現するのに十分な量は、治療的または予防的有効用量として定義される。治療的または予防的処置を実現するのに十分な量および投薬頻度の組み合わせは、治療的または予防的有効投薬計画として定義される。予防的および治療的投薬計画の両方において、十分な免疫応答が実現されるまで、薬剤は通常、複数の投薬量で投与される。治療的または予防的処置を実現するのに十分な投与の投薬量および頻度は、治療的または予防的有効投薬計画として定義される。通例、患者の免疫応答は監視され、免疫応答が低下し始めた場合には、反復投与量が投与される。免疫応答は、患者の血中でたとえばAAもしくはALに対する抗体を検出することによって、またはたとえばAAまたはALのレベルを検出することによって監視することができる。

10

20

30

40

【0282】

上述の状態の処置のための本発明の薬剤および組成物の有効用量は、投与手段、標的部、患者の生理学的状態、患者がヒトまたは動物であるか、投与された他の薬剤、および処置が予防または治療であるかを含む、多くの異なる因子に応じて変化する。通常、患者はヒトであるが、トランスジェニック動物を含む非ヒト哺乳動物も処置することができる。処置投薬量は、安全性および有効性を最適化するために滴定する必要がある。免疫原の量はアジュバントも投与されるか否かによって変わり、アジュバントがない場合にはより高い投薬量が必要とされる。投与のための免疫原の量は、時々、患者1名当たり1~500 μ gで、通常はヒト投与のための注射1回当たり5~500 μ gで変化する。時々、注射1回当たり1~2mgのより高い用量が使用される。通例、各ヒト注射に少なくとも10、20、50または100 μ gが使用される。免疫原の質量はまた、免疫原中の免疫原性エпитオプの、免疫原全体としての質量に対する質量比に応じて変わる。通例、免疫原性エпитオプの 10^{-3} ~ 10^{-5} マイクロモルが免疫原1マイクログラムに使用される。注射のタイミングは、1日1回から1年に1回、10年に1回まで著しく変わることがある。免疫原の投薬量が投与されるいずれの日においても、投薬量は、アジュバントも投与される場合には、1 μ g/患者を超え、通常は10 μ g/患者を超えるが、アジュバントがない場合には、10 μ g/患者を超え、通常は100 μ g/患者を超える。代表的な投薬計画は、免疫化と、続いての6週間隔などの間隔でのブースター注射とで構成される。別の投薬計画は、免疫化と、それに続く1、2および12ヵ月後のブースター注射とで構成される。別の投薬計画は、生涯にわたって2ヶ月おきの注射を含む。またはブースター注射は、免疫応答の監視によって示されるように、不規則ベースでもよい。

【0283】

免疫原をコードする核酸の用量は、患者1名当たりDNA約10ng~1g、100ng~100mg、1 μ g~10mg、または30~300 μ gの範囲である。感染ウイルスベクターの用量は、用量当たり10~100ビリオンまたはそれ以上で変化する。

【0284】

(併用療法での)抗体による受動免疫化では、投薬量は宿主体重の約0.0001~1

50

0.0 mg/kg、0.5 ~ 5 mg 未満/kg、およびさらに通常は0.01 ~ 5 mg/kg、0.5 ~ 3 mg/kgの範囲である。たとえば投薬量は、1 mg/kg 体重もしくは10 mg/kg 体重または1 ~ 10 mg/kgの範囲内、または言い換えれば、70 kgの患者に対してそれぞれ、70 mgもしくは700 mgまたは70 ~ 700 mgの範囲内であることが可能である。さらなる例として、投薬量は、5 mg/kg 体重もしくは1.5 mg/kg 体重未満、または0.5 ~ 1.5 kg/kgの範囲内、好ましくは少なくとも1.5 mg/kgであることが可能である。例示的な処置投薬計画は、2週間に1回または1ヶ月に1回または3 ~ 6ヶ月に1回の投与を含む。いくつかの方法において、結合特異性の異なる2つ以上のモノクローナル抗体が同時に投与され、このような場合に、投与された各抗体の投薬量は示された範囲内に含まれる。抗体は通常、複数回の機会に投与される。単回投薬間の間隔は毎週、毎月または毎年であることが可能である。間隔は、患者のAAに対する抗体の血中レベルを測定することによって示されるように、不規則でも可能である。いくつかの方法において、投薬量は、1 ~ 1000 µg/mlの、いくつかの方法では25 ~ 300 µg/mlの血漿抗体濃度を達成するように調整される。または、抗体は持続放出製剤として投与することが可能であり、この場合にはより低頻度の投与が必要とされる。投薬量および頻度は、患者における抗体の半減期に応じて変化する。一般に、ヒト抗体は最も長い半減期を示し、ヒト化抗体、キメラ抗体、および非ヒト抗体が続く。投与の投薬量および頻度は、処置が予防的または治療的のどちらであるかに応じて変化する可能性がある。予防用途では、比較的低い投薬量が長期間にわたって比較的低頻度の間隔で投与される。何人かの患者は、生涯にわたって処置を受け続ける。治療用途においては、疾患の進行が低減または停止するまで、好ましくは患者が疾患の症状の部分的または完全な緩和を示すまで、比較的小さい間隔での比較的高い用量が時には必要とされる。その後、患者に予防的投薬計画を投与することができる。

【0285】

免疫応答を誘導する薬剤は、予防的および/または治療的処置のために非経口、局所、静脈内、経口、皮下、動脈内、頭蓋内、腹腔内、鼻内または筋肉内手段によって投与することができる。免疫原性剤の最も代表的な投与経路は皮下であるが、他の経路も等しく有効である可能性がある。次に最も一般的な経路は、筋肉内注射である。この種の注射は、最も通例は腕または脚の筋肉に行われる。いくつかの方法において、薬剤は、沈着が蓄積した特定の組織に、たとえば頭蓋内注射で直接注射される。筋肉内注射または静脈内注入は、(併用療法での)抗体の投与に好ましい。いくつかの方法において、特定の治療抗体は、頭蓋内に直接注射される。いくつかの方法において、抗体は持続放出組成物またはデバイス、たとえばMEDIPAD(商標)デバイスとして投与される。

【0286】

本発明の薬剤は、すなわち活性治療剤および各種の製薬的に許容される構成成分を含む製薬組成物として投与されることが多い。Remington's Pharmaceutical Science(15th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1980)を参照。好ましい形態は、所期の投薬方式および治療用途によって異なる。組成物は、所望の製剤に応じて、動物またはヒトへの投与のための製薬組成物を調合するために一般に使用されるビヒクルとして定義される、製薬的に許容される非毒性担体または希釈剤も含むことができる。希釈剤は、組み合わせの生物活性に影響を及ぼさないように選択される。このような希釈剤の例は、滅菌水、リン酸生理食塩水、リンゲル液、デキストロス溶液、およびハンス液である。さらに製薬組成物または製剤は、他の担体、アジュバント、または非毒性非治療的非免疫原性安定剤なども含み得る。

【0287】

製薬組成物は、大型の低速で代謝される巨大分子、たとえばタンパク質、キトサンなどのポリサッカライド、ポリ乳酸、ポリグリコール酸および共重合体(たとえばラテックス官能化SEPHAROSE(商標)、アガロース、セルロースなど)、重合体アミノ酸、アミノ酸共重合体、および脂質凝集体(たとえば油滴またはリボソーム)も含むことがで

10

20

30

40

50

きる。さらに、これらの単体は免疫刺激剤（たとえばアジュバント）として機能することができる。

【0288】

非経口投与では、本発明の薬剤は、水、油、食塩水、グリセロール、またはエタノールなどの滅菌液体であり得る製薬的担体と共に、生理学的に許容される希釈剤中の物質の溶液または懸濁液の注射可能な投薬量として投与することが可能である。さらに補助物質、たとえば湿潤剤または乳化剤、界面活性剤、pH緩衝物質などが組成物中に存在することができる。製薬組成物の他の構成成分は、石油、動物、野菜、または合成起源の構成成分、たとえばラッカセイ油、ダイズ油、および鉱油である。一般にグリセロール、たとえばプロピレングリコールまたはポリエチレングリコールは特に注射用溶液に好ましい液体担体である。抗体は、活性成分の持続放出を可能にするような方法で調合可能なデポー注射またはインプラント調製物の形で投与することができる。例示的な組成物は、50 mL - ヒスチジン、150 mM NaCl から成り、HCl によって pH 6.0 に調整された水性緩衝液中で調合されたモノクローナル抗体を 5 mg/mL で含む。非経口投与用組成物は通例、実質的に滅菌、等張性であり、FDA または同様の機関の GMP 条件下で製造される。

10

【0289】

通例、組成物は、液体液剤または懸濁剤のどちらかとしての注射用剤として調製される；注射前に液体ビヒクルへの溶解または懸濁に適した固体形も調製することができる。調製物は、上述のようにアジュバント効果を増強するために、乳化するか、またはリポソームもしくは微粒子、たとえばポリラクチド、ポリグリコリド、もしくは共重合体の中にカプセル化することも可能である（Langer, Science 249, 1527 (1990) および Hanes, Advanced Drug Delivery Reviews 28, 97-119 (1997) を参照。本発明の薬剤は、活性成分の持続またはパルス放出を可能にするような方法で調合可能なデポー注射またはインプラント調製物の形で投与することができる。

20

【0290】

他の投与様式に適したさらなる製剤は、経口、経鼻および肺内製剤、坐剤、ならびに経皮塗布を含む。

【0291】

坐剤では、結合剤および担体はたとえばポリアルキレングリコールまたはトリグリセリドを含む；このような坐剤は、活性成分を 0.5% ~ 10% の、好ましくは 1% ~ 2% の範囲で含有する混合物から形成することができる。経口製剤は賦形剤、たとえば製薬グレードのマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムサッカライド、セルロース、および炭酸マグネシウムを含む。これらの組成物は、液剤、懸濁剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、持続放出製剤または粉剤の形を取り、10 ~ 95% の、好ましくは 25% ~ 70% の活性成分を含有する。

30

【0292】

局所用途は、経皮または皮内送達で行うことができる。局所投与は、薬剤のコレラ毒素またはその解毒誘導体もしくはサブユニットまたは他の同様の細菌毒素との同時投与によって促進することができる（Glennら、Nature 391, 851 (1998) を参照）。同時投与は、混合物もしくは化学的架橋によって得た連結分子を使用することによって、または融合タンパク質としての発現によって実現することができる。

40

【0293】

または経皮送達は、皮膚パッチを使用することまたはトランスフェロソームを使用することによって実現することができる（Paulら、Eur. J. Immunol. 25, 3521-24 (1995)；Cevcら、Biochem. Biophys. Acta 1368, 201-15 (1998)）。

【0294】

XIII. 併用薬物療法処置投与計画

50

本発明による併用療法は、A A アミロイドーシスの処置または予防の実施のために単独でまたは別の療法と併せて実施され得る。本発明による併用療法はまた、基礎アミロイド疾患、たとえば炎症性疾患、慢性微生物感染症、悪性新生物、遺伝性炎症性疾患、およびリンパ球増殖性障害を処置するまたは予防する別の療法と併せて実施され得る。併用薬物療法によってA A アミロイドーシスの予防および処置を実施するために現在開示された発明で使用するために選択できる、商業用途、臨床評価および前臨床開発で利用可能な多くの処置がある。このような処置は、これに限定されるわけではないが、複数の主要な分類、すなわち(i)非ステロイド性抗炎症薬(NSAID;たとえばデトプロフェン、ジクロフェナク、ジフルニサル、エトドラク、フェノプロフェン、フルビプロフェン、イブプロフェン、インドメタシン、ケトプロフェン、メクロフェナム酸塩、メフェナム酸、メロキシカム、ナブメトン(nabumetone)、ナプロキセンナトリウム、オキサプロジン、ピロキシカム、スリンダク、トルメチン、セレコキシブ、ロフェコキシブ、アスピリン、サリチル酸コリン、サルサラート(salsalate)、ならびにサリチル酸ナトリウムおよびマグネシウム);(ii)ステロイド(たとえばコルチゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾン、プレドニゾン、プレドニゾン、トリアムシノロン);(iii)DMARD、すなわち疾患修飾抗リウマチ薬(たとえばシクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキセート、レフルノミド、シクロホスファミド、ヒドロキシクロロキン、スルファサラジン、D-ペニシラミン、ミノサイクリン、および金)または(iv)組換えタンパク質(たとえばENBREL(登録商標)(エタネルセプト、可溶性TNF受容体)およびREMICADE(登録商標)(インフリキシマブ)キメラモノクローナル抗TNF抗体)から選択される1つ以上の化合物であることが可能である。

10

20

30

40

50

【0295】

併用療法の期間は、処置される基礎疾患の種類、患者の年齢および状態、患者の疾患の段階および種類、ならびに患者の処置に対する応答に応じて変わる。医師は療法の効果を厳密に観察して、必要とされる任意の調整を行うことができる。さらに、A A アミロイドーシス(たとえば遺伝的に素因がある、または以前に炎症性障害もしくは他の基礎疾患を有した人)またはA L アミロイドーシスを発症するリスクがより大きい人は、A A、A L凝集体、たとえば原線維の発生を抑制または遅延するための予防処置を受けることができる。

【0296】

併用の各構成成分の投薬量、頻度および投与様式は、個別に制御することができる。たとえば1つの薬剤は1日3回経口投与され得るが、第2の薬剤は1日1回筋肉内投与され得る。併用療法は、休止期間を含むオン・オフサイクルで投与され得る。化合物は、1回の投与が両方の化合物を送達するように共に調合されることもある。本発明の組み合わせは、製薬パックの構成成分としても供給することができる。薬物は共にまたは別個に、個々の投薬量で調合することができる。各化合物は好適な担体物質と混合され、一般に組成物の総重量の1~95重量%の量で存在する。

【0297】

組成物は、経口、非経口(たとえば静脈内、筋肉内、皮下)、直腸、経皮、経鼻、経膈、吸入、または眼内投与に好適である投薬形で供給され得る。それゆえ組成物は、たとえば錠剤、カプセル剤、丸剤、粉剤、顆粒剤、懸濁剤、乳剤、液剤、ハイドロゲルを含むゲル、ペースト、軟膏、クリーム、硬膏剤、水薬、送達デバイス、坐剤、浣腸剤、注射剤、インプラント、スプレー剤またはエアゾール剤の形であり得る。製薬組成物は、在来の薬務に従って調合され得る(たとえばRemington: The Science and Practice of Pharmacy, (19th ed.) ed. A. R. Gennaro, 1995, Mack Publishing Company, Easton, Pa.およびEncyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, N. Y.を参照。

【0298】

XIV. AAまたはALアミロイドーシスの監視または診断方法

AAまたはALアミロイドーシスを監視または診断する方法は、SAAおよびC反応性タンパク質の血漿濃度の測定、組織生検（腎臓、直腸、胃、歯肉、脂肪、唾液、口唇腺）ならびにコンゴレッド染色を用いた組織診断および/または原線維などのAAまたはAL凝集体に向けられた特異的抗体を用いた免疫染色の実施を含む。本発明は、AAアミロイドーシスに罹患している、またはAAアミロイドーシスに罹りやすい患者においてAAペプチドに対する抗体応答を検出する方法を提供する。方法は患者に投与されている処置経過を監視するのに特に有用である。方法は、症候性患者に対する治療的処置および無症候性患者に対する予防的処置の両方を監視するために使用できる。いくつかの方法は、免疫原性剤の投薬量を投与する前に患者の抗体応答の基準値を決定するステップと、これを処置後の免疫応答の値と比較するステップとを含む。抗体応答の値の著しい上昇（すなわちこのような測定値の平均からの1標準偏差として表される、同じ試料の反復測定値における実験誤差の通例の範囲を超える）は、正の処置結果（すなわち薬剤の投与が免疫応答を実現または増強したこと）を示す。抗体応答の値が著しく変化しない、または低下する場合、負の処置結果が示されている。一般に、免疫原性剤を用いた初期処置経過を受けている患者は、連続投薬量によって、最終的にプラトーに達する抗体応答の上昇を示すことが期待される。薬剤の投与は一般に、抗体応答が上昇する間に継続される。プラトーに到達することは、投与された処置が中止可能であること、または処置の投薬量もしくは頻度を低減できることの指標である。

10

20

【0299】

他の方法では、対照集合に対して抗体応答の対照値（すなわち平均および標準偏差）が決定される。通例、対照集団の個人は前処置を受けていない。次に治療剤投与後の患者における抗体応答の測定値が、対照値と比較される。対照値に対して著しい上昇（たとえば平均から1標準偏差を超える）は、正の処置結果を示す。著しい上昇がないことまたは低下は、負の処置結果を示す。薬剤の投与は一般に、抗体応答が対照値と比較して上昇する間に継続される。前と同様に、対照値と比較してプラトーに到達することは、処置の投与が中止可能であること、または処置の投薬量もしくは頻度を低減できることの指標である。

30

【0300】

他の方法において、抗体応答の対照値（たとえば平均および標準偏差）は、治療剤による処置を受けて、その抗体応答が処置に反応してプラトーに到達した個人の対象集団から決定される。患者の抗体応答の測定値は対照値と比較される。患者の測定レベルが対照値とは著しく異ならない（たとえば1標準偏差を超える）場合、処置を中止することができる。患者のレベルが対照値より著しく低い場合、薬剤の継続投与が正当化される。患者において対照値よりも低いレベルが継続する場合、ここで処置投薬計画の変更、たとえば別のアジュバント、断片の使用または受動投与への切り替えが指示され得る。

【0301】

他の方法において、現在処置を受けていないが、以前の治療経過を受けた患者は、処置の再開が必要か否かを判定するために抗体応答が監視される。患者の抗体応答の測定値を、以前の治療経過後に患者で以前に実現された抗体応答の値と比較することができる。以前の測定値に対する著しい低下（すなわち同じ試料の反復測定値の通例の誤差範囲を超える）は、処置を再開できるという指標である。または患者の測定値は、治療経過を受けた後の患者の集合で決定された対照値（平均プラス標準偏差）と比較することができる。または患者の測定値は、疾患の症状がないままである予防的処置患者の集団の、または疾患特徴の緩和を示す治療的処置患者の集合の対照値と比較することができる。これらの症例すべてにおいて、対照値に対する著しい低下（すなわち1標準偏差を超える）は、患者の処置を再開すべきであるという指標である。

40

【0302】

いくつかの方法は、ヨウ素123標識またはヨウ素125標識血清アミロイドP構成

50

分 ($^{123}\text{I} - \text{SAP}$ または $^{125}\text{I} - \text{SAP}$) シンチグラフィーを利用する。 $^{123}\text{I} - \text{SAP}$ または $^{125}\text{I} - \text{SAP}$ は、患者に静脈内注射されて、ガンマカメラで観察される。放射性標識 SAP シンチグラフィーは、患者のアミロイドーシス進行を監視して、処置を評価するのに有用な方法である。それはアミロイドに対して特異性であり、患者でのアミロイド沈着の位置および量を定量的に監視するために使用できる。 $^{123}\text{I} - \text{SAP}$ または $^{125}\text{I} - \text{SAP}$ は、健常対象または非アミロイド患者には蓄積しない。放射性標識 SAP シンチグラフィーは、アミロイドの動的ターンオーバーを監視するために使用することが可能であり、アミロイド沈着の消失を目的とする処置の有効性を評価することができる。さらに放射性標識 SAP シンチグラフィーは、非侵襲性であり、全身スキャンを与える。本発明の方法は、薬剤の投薬量を投与する前に患者の抗体応答の基準値を決定することと、これを患者の処置後の免疫応答の値と比較することを含む。抗体応答の値の著しい上昇（すなわちこのような測定値の平均からの1標準偏差として表される、同じ試料の反復測定値における実験誤差の通例の範囲を超える）は、正の処置結果（すなわち薬剤の投与が免疫応答を実現または増強したこと）を示す。抗体応答の値が著しく変化しない、または低下する場合、負の処置結果が示されている。一般に、免疫原性剤を用いた初期処置経過を受けている患者は、連続投薬量によって、最終的にプラトーに達する抗体応答の上昇を示すことが期待される。薬剤の投与は一般に、抗体応答が上昇する間に継続される。プラトーへの到達は、投与された処置が中止可能であること、または処置の投薬量もしくは頻度を低減できることの指標である。

10

20

【0303】

分析のための組織試料は通例、患者からの血液、血漿、血清、粘膜または脳脊髄液である。試料は、 AA または AL ペプチドの任意の形に対する免疫応答の指標について分析される。免疫応答は、 AA または AL ペプチドに特異的に結合する抗体の存在から決定することができる。抗体は、抗体に特異的に結合するリガンドに対する結合アッセイで検出することができる。通例、リガンドは固定化される。結合は、標識抗イディオタイプ抗体を使用して検出できる。

【0304】

能動および受動投与の両方を利用する併用投薬計画において、類似の手法を使用して受動投与から生じた抗体のレベルを監視することができる。

【0305】

アミロイドーシスを診断する方法は、検出可能な標識に結合されている抗体またはその抗原結合断片を対象に投与すること（ここで抗体またはその断片は凝集アミロイドタンパク質中の X_1EDX_2 を含むエピトープに特異的に結合し、式中、 X_1 および X_2 は任意のアミノ酸である）と、結合した抗体またはその断片の存在または非存在を検出することによって利用することによっても可能である。結合した抗体または断片の検出によって、アミロイドーシスの診断が裏付けられる。アミロイドーシスの診断に有用な抗体および断片は、本発明の開示された抗体を含む。

【0306】

本発明の診断抗体または断片は、たとえば患者の体内への静脈内注射によって、または頭蓋内注射によって脳内へ直接、投与することができる。抗体投薬量は、当業者によってただちに決定される。通例、抗体は標識されるが、いくつかの方法において、抗体は未標識であり、2次標識剤を使用して抗体に結合する。標識の選択は、検出手段に依存する。たとえば蛍光標識は、光学的検出に好適である。常磁性標識の使用は、外科的介入を伴わない断層撮影検出に好適である。 ^{211}At 、 ^{212}Bi 、 ^{67}Cu 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{111}In 、 ^{32}P 、 ^{212}Pb 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、または ^{90}Y を含む放射性標識が使用され得る。このような標識は、PET もしくは SPECT または他の好適な技法を使用して検出され得る。

40

【0307】

診断は、対応する基準値に対して標識部位の数、サイズ、および/または強度を比較することによっても実施され得る。基準値は、罹患していない個人の集合の平均値を表すこ

50

とができる。基準値は、同じ患者で決定された前のレベルも表すことができる。たとえば基準値は患者にて決定され、その後に測定した値を基準値と比較することができる。基準シグナルに対する値の上昇により、AAアミロイドーシスの診断が裏付けられる。

【0308】

本発明の診断方法は、AAアミロイドーシス、ALアミロイドーシス、アルツハイマー病、軽度認知障害、アミロイド多発性神経障害、地中海熱、マッケル・ウェルズ症候群、全身性炎症疾患に関連する反応性全身性アミロイドーシス、骨髄腫またはマクログロブリン血症関連アミロイドーシス、免疫担当細胞疾患に関連するアミロイドーシス、単クローン性高ガンマグロブリン血症、不顕性疾患、または慢性炎症疾患に関連する限局性結節性アミロイドーシスを含むアミロイドーシス疾患を診断するために使用され得る。

10

【0309】

XV. AAアミロイドーシスの動物モデル

AAアミロイドーシスは、硝酸銀、カゼイン、またはリボサッカライドの注射によってSAA濃度が著しく上昇するマウスにおいて実験的に誘導することができる。これらの薬剤は、サイトカインの産生を刺激する。Skinnerら、Lab Invest. 36: 420 - 427 (1997) およびKisilevskyら、Bailliere's Clin. Immunol. Immunopathol. 8(3) 613 - 626 (1994) を参照。炎症性刺激後の2～3週間以内に、動物は、AAアミロイドーシス患者に見出されるように、全身性AA沈着を発症する。マウスにAAアミロイド罹患マウス脾臓または肝臓から抽出したタンパク質の静脈内注射を同時に投与すると、この遅滞期は劇的に短縮される。Axelradら、Lab Invest. 47(2): 139 - 46 (1982) を参照。このような調製物のアミロイド形成性加速活性は、「アミロイド増強因子」(AEF)と呼ばれた。Lundmarkらは、AEFの有効成分が明らかにAA線維そのものであることを報告している。さらにLundmarkらは、この物質がきわめて強力であり、1ng未満の用量で活性であることと、かなりの長さの期間にわたってその生物活性を維持することとを証明した。特にAEFも、経口投与されたときに有効であった。Lundmarkらは、AAおよびアミロイドーシスの他の形態が、プリオン関連障害と似て、伝染性疾患であるという結論を下した。Lundmarkら、Proc. Nat. Acad. Sci. 99: 6979 - 6984 (2002) を参照。

20

【0310】

AAアミロイドも、メタロチオネインIプロモータの制御下で、ヒトインターロイキン6遺伝子を保持するマウスのトランスジェニック系統において誘導することが可能であり、SAAの濃度の顕著な上昇がもたらされ、3月齢までに脾臓、肝臓および腎臓にアミロイドを発症する。約8～9ヶ月の死亡時に、これらのトランスジェニックマウスの器官は広範囲のアミロイド沈着を有している。Solomonら、Am. J. Pathol. 154(4): 1267 - 1272 (1999) を参照。

30

【0311】

トランスジェニック急速誘導アミロイド疾患(TRIAD)トランスジェニック・マウス・モデルは、上述のトランスジェニック・マウス・モデルの改良である。TRIADマウスは、H-2L^D組織適合性プロモータの制御下でヒトインターロイキン6遺伝子を保持する。AEFの8週齢TRIADマウスへの投与によって、3～4週間以内に顕著な脾臓および肝臓AAアミロイド沈着が生じる。次に、このプロセスは他の器官へ進行して、4～6週間後に死に至らしめる。全身性アミロイドーシスの発症は、上述のトランスジェニック・マウス・モデルと比較して加速される。University of Tennessee Research Corporation, WO 01/77167, Pharmacopeia, WO 95/35503 およびScrapps, WO 95/30642 Wallら、Amyloid 12(3): 149 - 156 (2005) を参照(そのそれぞれはすべての目的のために参照により組み入れられている)。

40

【0312】

コモンマーモセット(Callithrix jacchus)は、ブラジル原産の新

50

世界小型霊長類であり、生物医学研究で幅広く使用されてきた。Ludlageらは、コモンマーモセットが肝臓、副腎、腎臓、および腸を含む1つ以上の器官にアミロイド沈着を有することが判明したと報告している。著者らは、この霊長類におけるAAアミロイドーシスの発症には遺伝的因子が寄与しているかもしれないことを推測している。この点で、コモンマーモセットは、AAおよび他の全身性アミロイド障害の病原および治療の研究のための独自の実験モデルとして役立つ可能性がある。Ludlageら、Vet Pathol 42: 117 - 124 (2005)を参照。

【0313】

シャーペイ種のイヌは、-AEDSモチーフのあるAA配列を有し、AAアミロイドーシスに特に罹りやすい品種であり、AAアミロイド特異性抗体および他の化合物の新規な診断および治療用途を評価するための、全身性AAの天然発生型モデルを提供する。

【実施例】

【0314】

(実施例I)

AA断片

Yamamoto and Migita Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 2915 - 2919に記載されたような、アミノ酸71~75-GHEDTに相当するペプチドをAnaspec, San Jose, CA, USAによって合成した。Bard, F.ら(2000) Nat. Med. 6, 916 - 919によって先に記載されたように、ポリクローナル抗体(Pab)AAを産生して、免疫グロブリン画分を単離した。

【0315】

(実施例II)

マウス抗体調製のための免疫原

使用したエピトープは、そのN末端にCGリンカを有するGHEDT、(配列番号3)であった。エピトープを含有するペプチドEPRB-39をヒツジ抗マウス抗体に結合させる。EPRB-39は、Anaspec, San Jose, CAから入手する。産生された抗体は、領域GHEDT IADQE、(配列番号89)に及ぶペプチドに特異的に結合しないため、ネオエピトープ特異性であるように思われる。

【0316】

(実施例III)

免疫化手順

6週齢A/Jマウスに、完全フロイントアジュバント(CFA)と共にEPRB-39/ヒツジ抗マウスIgG 50ugを、続いて不完全フロイントアジュバント(IFA)を1週おきに、合計3回の注射を腹腔内注射した。融合の3日前に、尾静脈にPBS 90ul中のEPRB-39 SAM IgG 50ugを注射した。力価は高バックグラウンドのELISAから1/10000で概算した。

【0317】

JH80は、EPRB-39の融合番号である。以下は、活性であるクローンおよび限界希釈クローンのリストである：

7D8.29.19.47*, 39, 66 IgG2b k
8G9.3.4.51.22*, 30, 46 IgG2b k
2A4.20.44.77*, 13, 14 IgG2b k

7D47、8G9および2A77は、好ましいサブクローンを示す。産生した抗体は、SAAのC末端切断部位に及ぶペプチドと反応しないため、ネオエピトープ特異性であると思われる。

【0318】

(実施例IV)

凝集および可溶性AAへの抗体結合

血清力価(段階希釈によって決定)および凝集AAへのモノクローナル抗体結合は、S

chenk D.ら(1999) Nature 400, 173-177で先に記載されたように、ELISAによって実施した。可溶性AAは、ジメチルスルホキシド中で超音波処理したAA原線維を指す。抗体の段階希釈物は、¹²⁵I-AAの50,000 cpmによって一晚室温にてインキュベートした。75 mg/mlタンパク質Aセファロース(Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden)/200 µgウサギ抗マウスIgG(H+L)(Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA, USA)を含有するスラリー50 µlを、希釈した抗体によって1時間室温にてインキュベートして、2回洗浄し、Wallacガンマカウンタ(PerkinElmer Life Science, Grove, IL, USA)でカウントした。すべてのステップは、10 mM Tris、0.5 M NaCl、1 mg/mlゼラチン、および0.5% Nonidet P-40から成る放射免疫測定緩衝液、pH 8.0中で実施した。

10

【0319】

(実施例V)

Vλ6 Wil構造の分析

発現されたヒトVκおよびVλ免疫グロブリン軽鎖生殖細胞系遺伝子の配列を図21および22に示す。κ1a、λ1a、λ3a、およびλ3cサブグループを除いて、すべてのVκおよびVλ生殖細胞系遺伝子配列の位置81および82にGlu-Asp残基対形成がある(図21および22)。さらに位置50および51の第2の生殖細胞系コード化Glu-Asp対形成は、Vλ6生殖細胞系遺伝子に独自のものである。それゆえVλ6 Wilは、50~51および81~82 Glu-Asp対の両方を含有する。残基50および51の側鎖は、x線結晶学によって示されるように、Vλ6 Wilの表面上でどちらにも到達可能である(図24)。これに対して、Glu81側鎖は表面露出されているが、Asp82は側鎖は部分的に埋もれており、Lys79およびArg61の側鎖と相互作用(静電相互作用またはH結合のどちらかによって)しているように思われる(図25)。

20

【0320】

x線結晶構造のこのような分析およびGlu-Asp側鎖の相対的有効性に基づいて、出願人は、ドメインが凝集(たとえば原線維)構造に入る(または部分的に変性されるようになる)と、埋もれたGlu81に到達可能となり、それゆえそうでなければ隠れている潜在性エピトープが露出されるという結論に達する。

30

【0321】

(実施例VI)

Vλ6への抗AAモノクローナル抗体結合の分析

A. 表面プラズモン共鳴

表面プラズモン共鳴を使用して、複数のモノクローナル抗体とVλ6 Wil原線維および単量体との結合反応速度を確立した。6.6 nMの濃度にて、3つの抗体すべてを固定化合成Vλ6 Wil原線維に、~1 nMのKD(マウスAA原線維とのその反応性について見出された値に匹敵する値)で結合させた(図26)。結合段階の間の偏向(RUで表す)は、mAb 7D8および2A4では同様であったが、8G9では50%低かった。このことは、計算した親和性が3つの抗体すべてで同様であったため、原線維に対するこの抗体の密度が他の2つの触媒よりも低かったことを示唆する。IgG1 mAbは、対照として作用して、Vλ6 Wil原線維への結合は示さなかった。

40

【0322】

6.6 nM~33.3 nMの範囲にわたるmAb 7D8の滴定によって、konに関連する、予測された最大偏向の低下が生じた(図27)。一般に、各濃度において結合反応速度は同様であったが、これらのパイロット実験における、26.6 nMでの7D8のKD値は、他の濃度で得られた値とは異なっていた。

【0323】

反応の特異性を評価して、(Fc媒介結合または非特異性吸着とは対照的に)古典的な

50

F (a b) - 抗原相互作用によって m A b と原線維との結合が発生するようにするために、20 および 1 μ g / m L の免疫原ペプチド (p 3 9) の存在下で結合データを得た (図 8)。低濃度の m A b 7 D 8 を結合しないペプチド p 4 1 は、対照として役割を果たした。20 μ g / m L p 4 1 ペプチドの存在下での m A b 7 D 8 と V λ 6 W i l 原線維との結合反応速度は、7 D 8 単独と同じであった。対照的に、1 μ g / m L の免疫原ペプチド p 3 9 は、測定したシグナルの偏向によって判定されるように、結合の程度を 2 分の 1 未満に低下させた (図 2 8)。7 D 8 による原線維結合の抑制は、20 μ g / m L の p 3 9 ペプチドを使用したときに、ほぼ完全に抑制された。これらのデータは、免疫原ペプチドによってこの相互作用を完全に抑制できる限り、m A b 7 D 8 が分子の F (a b) 領域を介して原線維を結合することを示した。

10

【 0 3 2 4 】

m A b 7 D 8 とチップに固定された V λ 6 単量体との反応性は、B I A c o r e を使用して調査した。抗体は、単量体タンパク質と反応しなかった。これらのデータは、m A b 7 D 8 によって認識された結合部位が原線維に存在するが、可溶性前駆体タンパク質には存在しないことを示し、抗原が実際に立体配座的または潜在性であることを示唆している。

【 0 3 2 5 】

B . 免疫組織化学

免疫組織化学は次のように実施した：ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから切り出した 6 μ m 厚切片を C i t r a P l u s (B i o G e n e x , S a n R a m o n , C A) によって 90 での 30 分間のインキュベーションによって、抗原賦活を受けさせた。組織を m A b 2 A 4、7 D 8、または 8 G 9 の 3 μ g / m L 溶液によって免疫染色した。I g G 2 a m A b T Y 1 1 は対照として役割を果たした。H R P O 結合ウマ抗マウス I g 抗体 (I m m P R E S S U n i v e r s a l R e a g e n t , V e c t o r L a b s , B u r l i n g a m e , C A) を 2 次試薬として使用した。3 , 3 ' - ジアミノベジデン (V e c t o r L a b s) を使用してスライドを作製して、L e i c a D M 5 0 0 顕微鏡を使用して調査した。モノクローナル抗体と A L κ および A L λ アミロイド組織沈着との相互作用も免疫組織化学を使用して調査した。図 2 9 に示すように、 λ 2 断片で構成された患者の甲状腺におけるアミロイド沈着を 7 D 8、2 A 4 および 8 G 9 によって免疫染色した。コンゴレッド染色組織切片で見られた緑金の複屈折によって示されるように、反応性の範囲はアミロイド沈着と相関していた。最も印象的な反応性は、m A b 7 D 8 および 2 A 4 m A b で実現されたのに対して、8 G 9 は陽性であるものの、かなり弱かった。これらの定性的データは、8 G 9 が V λ 6 W i l 原線維に他の 2 つの試薬よりも弱く結合した B I A c o r e 分析とよく一致する (図 2 6)。対照としての役割を果たしたアイソタイプマッチ m A b T Y 1 1 は、アミロイド免疫反応性を示さなかった。

20

30

【 0 3 2 6 】

この λ 2 タンパク質のアミノ酸配列 (配列番号 8 6) (以下に示す) は、位置 8 1 および 8 2 に生殖細胞系コード G l u および A s p 残基をそれぞれ含有する。

【 0 3 2 7 】

40

【 化 1 1 】

```

1          11          21          31d         35
GSVVIQPPS VSGAPQIVA ISCSSESENI GNNAVN WYQQLPGKAP
45          55          65          73          83
NVLIIYDELL PAGVSRREFSG SSGSTGAS LAIRGLOSED ESDYYCAND
93
DSLIAL

```

A L κ アミロイド組織沈着の調査によって、2 A 4 が、そしてより低い程度で 7 D 8 および 8 G 9 が正の反応性を有することが明らかになった。再び、免疫染色および複屈折に

50

よるコンゴ好染アミロイド領域間に一致が見られた。T Y 1 1 m A b は未反応であった。

【0328】

C . ^{1 2 5} I 標識 7 D 8 を使用する A L アミロイドーマの放射線画像化

A L アミロイドーマの実験的インビボモデルを使用して、放射性標識 m A b 7 D 8 がヒト A L アミロイドを画像化するか否かを調査した。S D S - P A G E によって決定したような 7 D 8 の放射性標識効率によって、I g H および I g L 鎖の両方が I - 1 2 5 標識を含むことが明らかとなり、断片化または凝集に関連するバンドの痕跡は観察されなかった。A L アミロイドーマが誘導されたマウスの S P E C T / C T 画像化によって、アミロイドを含まない組織（たとえば肝臓、心臓、脾臓、および腎臓）と比較したアミロイド中の放射性標識抗体の蓄積によって明らかであるように、誘導された背側に位置するアミロイド塊に ^{1 2 5} I 標識抗体が局在することが判明した。放射性標識された無関係の I g G m A b は塊中に蓄積しなかった；しかし遊離した放射性ヨウ素が甲状腺に蓄積しているのが観察され、I g G 抗体の異化および脱ハロゲン化が示された。アミロイドーマ保有マウスでの ^{1 2 5} I - 7 D 8 m A b の分布を、肝臓、脾臓、腎臓、胃、心臓、および肺と比較した、アミロイド塊に関連する活性を測定することによって定量した。データによって S P E T C / C T 画像化調査が確認された。注射 7 2 時間後（この時点で画像を取り込み、組織を回収した）、アミロイドーマは、肝臓 - m A b 異化の部位 - および残留血液プール活性が高いことが予想された心臓で見られるよりも 4 倍高い、~ 8 % I D を含有していた。肺で見られた活性は、安楽死の方式によるものであった（データは示さず）。

10

20

【0329】

生体内分布データを確認するために、アミロイドーマはもちろんのこと、肝臓、脾臓、心臓、および腎臓を回収して、オートラジオグラフ分析用の組織切片を作製した。放射性標識は次の通りであった：7 D 8 抗体を r e d u c t a n t - f r e e ^{1 2 5} I (P e r k i n E l m e r) 2 m C i で制限量のクロラミン T を使用して標識して、5 m g / m l ウシ血清アルブミンを含有する P B S (B S A / P B S) に懸濁させた。未結合同位体およびタンパク質凝集体を、U l t r o g e l A c A 3 4 カラム (A m e r s h a m P h a r m a c i a) によるサイズ排除液体クロマトグラフィーによって除去した。I g G 単量体を含有する画分は、画像化実験のためにプールした。放射化学収率は ~ 5 0 % であり、~ 2 5 μ C i / μ g の比放射能を与えた。^{1 2 5} I 標識 m A b は、還元剤の存在下または非存在下で S D S / P A G E (1 0 % ゲル) にかけて、C y c l o n e ホスホイメージャによって解析した。S P E C T 画像化および生体内分布測定値と一致して、オートラジオグラフによって、肝臓に対してアミロイドーマにおける ^{1 2 5} I - 7 D 8 の著しい蓄積が確認された。その他の器官では放射性標識抗体 ^{1 2 5} I - 7 D 8 の吸収の証拠はなかった（予想肝臓活性以外が抗体の異化に関係している）。m A b 7 D 8 はアミロイド塊のバルクの至るところに比較的均一に分布していたが、腹部 - アミロイド境界の周辺区域に中程度により高い密度が見られた。いずれの器官にも放射性標識対照 I g G の吸収はなかった。

30

【0330】

D . 概要および結論

40

表面プラズモン共鳴、免疫組織化学およびインビボ放射線画像化によって、A A 反応性抗体 2 A 4、7 D 8、および 8 G 9 が免疫グロブリン軽鎖に由来する A L アミロイドおよび原線維 (K d ~ 1 n M) を結合することが確認された。この相互作用は、位置 8 1 および 8 2 における高度に保存された G l u および A s p アミノ酸にてそれぞれ発生しやすく、アミロイド形成性軽鎖が原線維中に包含されるときにのみ露出されるようになる潜在性線形エピトープを形成する。

(実施例 V I I)

E L I S A 分析によって、X ₁ E D X ₂ ペプチドへの抗体結合が証明される

B I A c o r e 分析を実施して、各種配列のペプチドに対する抗体 2 A 4、7 D 8 および 8 G 4 の結合を評価した。下の表 4 に示すように、抗体は配列 X ₁ E D X ₂ を有するペ

50

プチドと反応することが見出された。興味深いことに、抗体はさらなるC末端残基を有するペプチドとは反応しなかった。このことは、ネオエピトープに特異的に結合する抗体がSAAの切断を引き起こして、遊離C末端を生成したことを示唆している。しかし実施例Vで示したように、これらの抗体のV λ 6 W i lへの結合には遊離端は必須ではなく、むしろX₁ E D X₂ドメインは凝集（たとえば原線維）構造に入る（または部分的に変性されるようになる）ときに抗体への結合に好ましい立体配座を取り、そうでなければ隠れた潜在性エピトープを露出する。

【 0 3 3 1 】

【表 4】

表4

抗体	ペプチド	陽性/陰性	
2A4(39)	CGGHEDT, (配列番号87)	陽性	
40	CGGAEDS, (配列番号88)	陽性	
41	GHEDTIADQE, (配列番号89)	陰性	
64	CGGAEDT, (配列番号90)	陽性	
65	CGGHADT, (配列番号91)	弱	10
66	CGGHEAT, (配列番号92)	陰性	
67	CGGHEDA, (配列番号93)	陽性	
68	CGGHEDTM, (配列番号94)	陰性	
69	CGGHEDTMA, (配列番号95)	陰性	
70	CGGHEDTMAD, (配列番号96)	陰性	
71	CGGHED, (配列番号97)	偽陽性	
7d8 (39)	CGGHEDT, (配列番号87)	陽性	20
40	CGGAEDS, (配列番号88)	陽性	
41	GHEDTIADQE, (配列番号89)	陰性	
64	CGGAEDT, (配列番号90)	陽性	
65	CGGHADT, (配列番号91)	陰性	
66	CGGHEAT, (配列番号92)	陰性	
67	CGGHEDA, (配列番号93)	陽性	
68	CGGHEDTM, (配列番号94)	陰性	30
69	CGGHEDTMA, (配列番号95)	陰性	
70	CGGHEDTMAD, (配列番号96)	陰性	
71	CGGHED, (配列番号97)	陰性	
8g4 (39)	CGGHEDT, (配列番号87)	陽性	
40	CGGAEDS, (配列番号88)	陽性	
41	GHEDTIADQE, (配列番号89)	陰性	
64	CGGAEDT, (配列番号90)	陽性	40
65	CGGHADT, (配列番号91)	陰性	
66	CGGHEAT, (配列番号92)	陰性	
67	CGGHEDA, (配列番号93)	弱	
68	CGGHEDTM, (配列番号94)	偽 +?	
69	CGGHEDTMA, (配列番号95)	偽 +?	
70	CGGHEDTMAD, (配列番号96)	陰性	
71	CGGHED, (配列番号97)	陰性	

(実施例 V I I I)

マウス A A の免疫組織化学分析

A A 脾臓および肝臓アミロイド沈着（アミロイド沈着の主要な部位）に対する抗体 2 A 4、8 G 9 および 7 D 8 を発現するハイブリドーマからの上清の反応性を免疫組織化学的に実証した。これらの調査では、（緑色複屈折コンゴ好染沈着によって証明されたような）肝臓および脾臓に広範囲の A A アミロイドがある T R I A D マウスから回収した組織切片を、m A b 含有上清によって染色した。3 つすべてが肝臓および脾臓アミロイドに結合した。対照的に、無関係なハイブリドーマに由来する培養上清との反応性はなかった。2 A 4、8 G 9 および 7 D 8 を使用するアミロイドが新鮮な（未固定）、O C T 包埋マウス肝臓および脾臓中のアミロイドを免疫染色する能力を試験した。m A b が肝臓中の A A アミロイドを結合するその能力を保持する証拠があった。さらに脾臓組織との抗体反応性は容易に解釈され、毛包周囲のアミロイドは強く免疫染色された。m A b が特異的結合 A A アミロイドであることを証明するために、1 : 2 5 希釈の m A b 上清をペプチド # 3 9 (p # 3 9) または # 4 1 (p # 4 1) のどちらか 5 0 μ g / m L によって室温にて 1 時間ブリンキュベートした。基質としてのホルマリン固定組織を用いて、p # 3 9 ペプチド (5 0 μ g / m L) は、2 A 4 および 7 D 8 m A b の両方のアミロイド反応性を著しく抑制した（8 G 9 による結果は保留されている）。対照的に、p # 4 1 は無効であった。新鮮な組織によって匹敵する結果が得られた。

（実施例 I X）

ヒト A A の免疫組織化学分析

位置 7 3 ~ 7 6 からのマウスおよびヒト S A A のアミノ酸配列の比較によって、2 つの同じ残基、保存的 S e r → T h r 置換、および非保存的 A l a → H i s 置換が明らかになる。2 A 4、8 G 9 および 7 D 8 m A b がヒト A A アミロイド沈着と交差反応するか否かを試験するために、我々はヒト A A 含有腎臓、副腎、卵巣および肝臓に対するその反応性を試験した。すべての症例において、m A b 上清はアミロイド沈着を免疫染色した。卵巣組織において、p # 3 9 ペプチドは m A b の血管周囲 A A アミロイドへの結合を効果的に遮断したのに対して、p # 4 1 ペプチドはこの反応を抑制しなかった。

（実施例 X）

培養物上清の抗 A A とマウス由来 A A 原線維との相互作用。

【 0 3 3 2 】

2 A 4、8 G 9 および 7 D 8 m A b と A A アミロイドとの相互作用は、最初に E L I S A によって試験を行い、S i g m a P l o t (S P S S I n c .) を使用して解析したデータを図 3 1 に与える。各点は平均 ± S E を表す (n = 3) 。無関係なハイブリドーマからの培養物上清を対照として使用した (C t r l C u l t u r e S u p) 。きわめて低い信号対雑音比があり、結果は、対照上清に対してより大きい吸収信号によって明らかであるように、最初の回収物が第 2 の回収物よりも多くの m A b を含有していることを示した。（さらに、第 1 日の物質の免疫組織化学反応性は、第 2 日の試料よりも大きかった）。S E 値は大きかったが、これらのデータから、2 A 4、8 G 9 および 7 D 8 の結合親和性はほぼ等しく、反応性は ~ 1 : 6 4 希釈以降に存在しないことが明らかであった。結合データは、容量、すなわち結合した m A b の量が 7 D 8 > 8 G 9 > 2 A 4 と変化することも示している；しかしこれらのデータは、m A b 濃度に対して補正されず、次の試験ではこの傾向は見られなかった。培養物上清によって見出された低い信号および高い可変性のために、そしてより高い精度で m A b のマウスおよびヒト A A アミロイド原線維への相対結合親和性を決定するために（および、インビボ生体内分布試験のための材料を提供するためにも）、m A b をタンパク質 A 親和性クロマトグラフィーによって単離することが必要であった。単離 m A b の純度は、還元および非還元条件下で 1 0 % アクリルアミドゲルを使用して S A S - P A G E によって確認した（図 3 2）。レーン 1 ~ 4 のサンプルはメルカプトエタノールを用いて、レーン 5 ~ 9 は用いずに処理した。ゲルをクマシーブルーによって染色した：m A b 8 G 9、レーン 1 および 6；m A b 2 A 4、レーン 2 および 7；m A b 7 D 8、レーン 3 および 8；S P 2 / 0 対照上清、レーン 4 および 9；ブランク、レーン 5。タンパク質 M r マーカー (S t d) は、上から下へ：1 7 6、

119、75、49、39、25および19 kDaである。精製mAbの免疫化ペプチドp#39、対照ペプチド(p#41)、マウスおよびヒトAA抽出物との相互作用は、上述のようにELISAによって決定した。データはSigmaPlotソフトウェアを使用してS字形曲線を当てはめることによって解析して、50%飽和のmAb濃度(EC50)を決定した(表5)。

【0333】

【表5】

表5

精製mAb結合のEC₅₀値

10

基質				
mAb	ヒトAA	マウスAA(AEF)	ペプチド39	ペプチド41
8G9	31.7 nM	5.64 nM	4.0 nM	>> 100 nM
2A4	26.4 nM	4.09 nM	3.4 nM	>> 100 nM
7D8	13.3 nM	1.84 nM	2.3 nM	>> 100 nM

20

3つのmAbとペプチドp#39との相互作用は、低ナノモル範囲にEC50値を持つ飽和結合を示した。対照的に、使用したmAbの最高濃度においても(100 nM)、p#41ペプチドに対する検出可能な結合はほとんどなかった(図33 - 各点は平均±SEを表す(各濃度においてn=3))。これらのデータは、上に記載した免疫組織化学結果、すなわちペプチドp#39がmAbのAAアミロイド沈着組織への結合を完全に遮断できることを確証した。各mAbのp#39との結合について計算したEC50値は、マウスAAアミロイド抽出物を基質として使用した場合と本質的に同じであった(図34 - 各点は平均±SEを表す(各濃度においてn=3))。各mAbのマウスAA抽出物について計算したEC50値は、p#39ペプチドを基質として使用したときに得た値と本質的に同じであった(図34; 表5)。対照的にヒトAAアミロイド抽出物をマイクロプレートのウェル上へ乾燥させたときに、EC50は、マウスAAおよびペプチドp#39で観察された値の7分の1~5分の1の低さであった。7D8 mAb結合のEC50値は、試験を行った3つの抗体のうちで最も低く、出願人はこの試薬をインビボ同時局在化および画像化試験のために選択した。マウスタンパク質と比較して、ヒトSAA配列における2アミノ酸置換は、EC50値に影響を及ぼした。特定の理論に縛られたいはないが、出願人は、ヒトAAのより高いEC50が抗原結合部位のアミノ酸側鎖のより低い「適合」に起因すると考えているが、この効果はELISAにおけるように、アミロイド抽出物が表面吸着されるときにの相対親和性のわずかに5分の1までの低下に相当する。さらにこれらのデータは、3つのmAbすべてがマウスおよびヒト組織AAアミロイド沈着に結合したという観察結果を裏付けている。

30

40

【0334】

(実施例XI)

MabのマウスおよびヒトAAアミロイドへの競合結合

マイクロタイターウェルの表面に結合されたときに、潜在的な変性がある場合に、その効果を決定するために、マウスまたはヒトAAアミロイド抽出物をmAbと表面結合AA抽出物との相互作用での可溶性競合物として用いる競合ELISAを使用して、2A4、8G9および7D4の反応性を評価した。

【0335】

すべての場合において、ヒトおよびマウス起源の両方の可溶性(非吸着)AAアミロイ

50

ド原線維は3つのmAbと競合することが可能であり、試薬によって認識されたエピトープは表面吸着から生じる部分変性に依存しないことを示している。一般に、マウスAA(AEF)抽出物は、ヒトAAよりも良好な競合物であった(表6)。

【0336】

【表6】

表6

AAアミロイドへのmAb結合のIC ₅₀ 値(μg/mL)		
mAb	ヒトAA [†]	マウスAA(AEF) [‡]
8G9	>119.5	17.3
2A4	>211.7	14.7
7D8	>881.1	26.8

10

[†]吸着されたマウスAA(AEF)について競合する、溶解したヒトAAアミロイド;

[‡]プレートに吸着されたヒトAAアミロイド抽出物について競合する、溶解したマウスAA(AEF)

溶解したマウスAEFのIC₅₀値(mAb結合を50%低下させたAAの(重量による)濃度)は~20μg/mLであったのに対して、ヒトAAでは値は6~44倍高かった(対照的にヒトAAのEC₅₀値は、マウスAAのEC₅₀値のわずか7分の1の低さであった)。このことは、溶解しているときに、アミロイド原線維のエピトープはマウスAAと比較してヒトAA調製物に到達しにくいという事実を反映し得る。

20

【0337】

予想した通り、表面吸着されたときにヒトおよびマウスAA原線維に対して最高の相対親和性を示した7D8 mAbは、競合を実現するためにAAアミロイドの最高濃度を必要とした。

【0338】

(実施例XII)

放射性標識mAb 7D8

7D8の放射性標識効率はSDS-PAGEによって決定した。還元および未変性mAbを分析して、ホスホイメーゼを使用してタンパク質を描出した。IgHおよびIgL鎖のどちらもI-125標識を包含しており、断片化または凝集に関連するバンドの痕跡は観察されなかった。

30

【0339】

(実施例XIII)

¹²⁵I標識7D8を使用するAAアミロイドの画像化

放射性標識mAb 7D8のインビボ局在化を調査するために、3群のマウスを使用した: トランスジェニックIL-6; AgNO₃/AEF誘導、およびアミロイド欠失対照(WT)。SPECT/CT画像化により、肝臓における低い血液プール活性および甲状腺における遊離ヨウ素のみを示す対照マウスと比較したこれらの組織への放射性標識mAbの蓄積によって明らかであるように、¹²⁵I-7D8 mAbは脾臓および肝臓のマウスAAアミロイド沈着に局在化することが明らかになった。

40

【0340】

これらのマウスとは対照的に、AgNO₃注入マウスは、遊離ヨウ素の甲状腺摂取、多少の肝臓活性を示したが、¹²⁵I-7D8結合の主要部位は皮下AgNO₃注射の部位(右下腹側範囲)に見られた。この範囲における活性は、CTで見られるようにx線減弱銀溶液によって明確に制限されている。7D8 mAbは、SPECT画像によって明らかであるように、TRIADマウスにおける循環sAAの存在下で肝臓および脾臓の両方

50

の A A アミロイド沈着に結合することが示されている。

【0341】

A. マウスにおける ^{125}I -7D8 の生体内分布

^{125}I -7D8 注射の 48 時間後、血液プールに放射能があり、このことによって肺での比較的高い摂取が説明された（マウスを殺処分するときに肺は血液で満たされている）。注目すべきは、IL-6 マウスでの mAb の肝脾蓄積がアミロイドの存在を示すということである。SPECT/CT 画像により、これらの器官への mAb の分布が確認された。注射 72 時間後に、血液プール値は、48 時間で殺処分されたマウスと比較して心臓および肺での活性が不変であったことによって明らかであるように、この mAb では比較的長期（～60 時間）であるために、ほとんど変化しなかった。IL-6 マウスには放射性標識 mAb の著しい蓄積があり、このことは顕著な脾臓摂取と、より少ない程度の肝臓摂取を示す、取り込まれた SPECT 画像と相関していた。他の器官のうち、最も重要なのは肝臓であった（急性期応答の間に IgG の異化の部位および sAA 源である）。WT マウスでは、炎症誘導またはアミロイドはなく、肝臓は、血液プールがほぼ信号だけに寄与する腎臓および心臓に匹敵した、 $<6\%$ ID/g を含有していた。

10

【0342】

B. オートラジオグラフおよび組織化学分析

IL-6 および AgNO₃ マウスの ^{125}I -7D8 の肝臓蓄積の増加がアミロイド摂取、異化クリアランスまたは新たに合成された sAA への結合から生じたか否かを判定するために、肝臓はもちろんのこと、他の組織に対してもオートラジオグラフ分析を実施した。

20

【0343】

SPECT 画像化および生体内分布測定値に基づいて、トランスジェニック IL-6 マウスにおける最大量のアミロイドは肝臓および脾臓にあることが推測された。この推測は、赤色脾髄全体はもちろんのこと、肝臓の血管周囲領域および洞様毛細血管でも大量のアミロイドが観測されたコンゴレッド染色切片において確認された。さらに、より目立たない複屈折沈着が腎臓および心臓に存在していた。これらの組織内での ^{125}I -7D8 の分布は、コンゴレッドおよび AA 反応性物質と十分に相関があった。アミロイドを含まない肝細胞には蓄積はなかった。

30

【0344】

生体内分布データに基づいて、AgNO₃ 処置マウスは脾臓よりも肝臓に多くの ^{125}I -7D8 摂取があり、このことはこのような動物における AA 蓄積の通常のパターンでないため予想外であった。コンゴレッド染色によって、脾臓の単一の毛包周囲領域における少量のアミロイド（上右角）および広範囲の肝臓血管周囲沈着が明らかとなり、そのどちらもオートラジオグラフで明白であった。さらに AgNO₃ 注射の皮下部位は SPECT 画像で相当の濃度の ^{125}I -7D8 があることがわかった（我々は、放射性ヨウ素化 SAP を造影剤として使用したときにもこれを観察している）。この部位はアミロイド（すなわちコンゴレッド複屈折物質）を含有していない；しかしアミロイドは抗 AAmAb によって免疫染色された。特定の理論に縛られたくはないが、mAb 78D は炎症または（成熟アミロイド沈着と同様に）「ブレアミロイド」の部位に局在する可能性がある。IL-6 マウスの器官での 7D8 の顕著な蓄積に対して、対照マウスの組織は血液プール以外のどの器官にもトレーサはほとんどまたは全くないことが見出された。これらの対照のどの器官のコンゴレッド染色切片にも、アミロイドは見出されなかった。

40

【0345】

C. ^{125}I -7D8 の薬物動態学

放射性標識 7D8 抗体の注射後に、分子の消失速度を測定して、半減期測定を表 7 にまとめる。結果は 7D8 の $T_{1/2b}$ が～60 時間であり、IgG2b マウス mAb の $T_{1/2b}$ と一致することを示した（7D8 が IgG2b サブクラスであることに注意）。IL-6 (TR1AD) マウスにおける ^{125}I -7D8 のややより急速なクリアランスは有意とは見なされなかった。これらのデータに基づいて、SPECT データで明

50

らかであるように、72時間にわたる組織アミロイドによるmAbの保持によって、排出速度は影響を受けない。

【0346】

【表7-1】

表7

マウスにおける¹²⁵I-7D8の半減期分析

マウス	A (S.E.)	K (S.E. × 10 ⁻⁴)	R ²	t _{1/2 bio}	t _{1/2 eff}
IL-6, 48時間	191.7 (2.96)	0.0117 (7.0)	0.98	59.2時間	56.2
IL-6, 72時間	175.2 (3.99)	0.012 (8.9)	0.97	57.7時間	
AgNO ₃ , 48時間	181.0 (1.99)	0.0106 (4.9)	0.99	65.3時間	61.1
AgNO ₃ , 72時間	174.1 (2.97)	0.0112 (5.8)	0.98	62.2時間	
対照, 48時間	185.1 (3.19)	0.0108 (7.6)	0.98	64.3時間	61.3
対照, 72時間	185.1 (3.09)	0.0109 (5.6)	0.98	63.7時間	

10

1. トランスジェニックまたはTRIADマウスを使用してアミロイドーシスを予防または処置する薬剤を同定する方法。薬剤の調製手順は、Schenkら、Nature 400: 173-177に記載されている。薬剤はトランスジェニックマウスの最初の免疫化のために完全フロイントアジュバントによって1:1(v/v)で乳化して、その後、2週間後および毎月、完全フロイントアジュバントでのブーストを続けた。PBS注射は同じスケジュールに従って、マウスには対照のためにPBS/アジュバントの1:1ミックスを注射した。トランスジェニックマウスの寿命を比較して、薬剤が動物の寿命を延長することによってAAアミロイドーシスを予防するのに有効であるか否かを判断する。

20

【0347】

2. 組織病理学。光学および偏光顕微鏡法のために、4~6μm厚の組織切片を切り出し、ヘマトキシリンおよびエオシン(HE)および新たに調製したアルカリ性コンゴレッド溶液によってそれぞれ染色した。電子顕微鏡法のためには、切片をEpon(Ted Pella, Redding, CA)に包埋して、薄切りにして、JEOL 100S透過型電子顕微鏡によって調査した。Ludlageら、Vet Pathol 42: 117-124(2005)を参照。

30

【0348】

3. 免疫組織化学。パラフィン包埋組織切片(6μm厚)をマイクロトームで切り出して、ポリ-Lリジンコートスライドに載せ、室温にて一晩乾燥させて、脱パラフィンした。先に記載されたようにアビジンビオチン複合体(ABC-elite)技法を使用して、免疫染色を実施した。1次抗体は、マウス抗ヒトアミロイドA(Accurate Chemical and Scientific Corporation, Westbury, NY)および抗マウスSAAポリクローナル抗血清であった。アフニティ精製ウマ抗マウス免疫グロブリン-G(IgG)ホースラディッシュペルオキシダーゼコンジュゲート(Vector Laboratories, Burlingame, CA)またはヤギ抗ウサギ、ヤギ抗マウス、もしくはヤギ抗ラットIgGホースラディッシュペルオキシダーゼコンジュゲート(BioRad Laboratories, Richmond, CA)を2次抗体として使用した。

40

【0349】

4. ELISAによるSAA定量。SAA濃度は、製造者(Biosource, Camarillo, CA)が提供した指示に従ってMultispecies SAA ELISAキットを使用して、酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)によって測定した。既知量のヒトSAAタンパク質を使用して標準曲線を作成して、モデル4450 Bio

50

Radプレートリーダー(Fullerton, CA)によって405nmで吸収を測定した。

【0350】

5. マウスにおける放射性標識SAPシンチグラフィーターンオーバー試験。N-ブロモスクシンイミドを使用することによって、SAPを ^{125}I (2~5MBq/mg)により酸化的にヨウ素化した。6~12週齢マウスに200μL中 ^{125}I -SAP 2~10μgを静脈内投与した。正確に測定した尾血(0.01~0.04g)を規定の時間間隔で採取して、各実験の終りに同じランにおいて注入トレーサの標準分割量と共にトリクロロ酢酸沈殿性放射能をカウントした。Pepysら、Proc Natl Acad Sci USA 91:5602-5606(1994)。

10

【0351】

6. ヒトにおける放射性標識SAPシンチグラフィーターンオーバーおよび画像化試験。ヒトに使用するSAPは、正常な適格ドナー1名の血漿から単離して、N-ブロモスクシンイミドを使用することによって、 ^{125}I (2~5MBq/mg)または ^{123}I (110MBq/タンパク質50μg)により酸化的にヨウ素化した。 ^{123}I -SAPの注射後に、データを取り込んで、IGE Starcamガンマカメラ(IGE Medical Systems, Slough, U.K.)で処理した。 ^{125}I 標識SAPのクリアランスは、健常者およびAAアミロイドーシスに罹患した患者で試験した。Pepysら、Proc Natl Acad Sci USA 91:5602-5606(1994)。

20

【0352】

7. アミロイドの抽出および精製。組織からアミロイドを抽出するために使用した方法は、Prasらによって記載された。Prasら、J. Clin. Invest. 47:924-933(1968)を参照。簡潔には、肝臓または他の器官の組織の部分を検死時に得て、-80℃に維持して、Omni-Mixer(Omni International, Waterbury, CT)を使用して氷浴中で冷生理食塩水を用いてホモジナイズした。抽出物を10,000rpmで30分間、4℃にて遠心分離して、ペレットを冷生理食塩水で2回、0.1Mクエン酸ナトリウムTris緩衝生理食塩水、pH8.0で1回、次に生理食塩水で、A280の上清が<0.10となるまで再抽出した。生じたペレットを、冷蒸留水を用いてホモジナイズして、混合物を35,000rpmで3時間、4℃にて遠心分離した。水抽出から得たペレットを次に凍結乾燥させた。

30

【0353】

8. 表面プラズモン共鳴。結合反応速度はBIAcore X装置で測定した。Vλ6 Wilから調製した原線維をプローブ超音波処理装置で短時間超音波処理して、次にBIAcoreプロトコルに従ってアミン化学作用を使用してCM-5チップに結合した。このプロセスはEDCおよびNHSを利用して、原線維の遊離アミノ基との結合のためにチップのカルボキシル基を活性化する。結合は100μg/mLの濃度のNaOAc緩衝液、pH4.0中で実施した。対照チャンネルは「偽結合」され、どちらのチャンネルもエタノールアミンと反応させて未反応部位を飽和させた。約16,000RUのVλ6 Wil原線維が結合された。

40

【0354】

センソグラムをBIAcoreからのHBS-EP緩衝液中で、20μL/分にてFcI(Vλ6 Wil原線維)マイナスFc-2(対照)モードで運転した。mAbまたはmAbプラスペプチド阻害薬を含有する試料を注入して(70μL)、200秒の遅延洗浄機能を使用してセンソグラムを収集した。データは、質量作用補正を用いた1:1ラングミュアモデルを使用して、BIAevaluationソフトウェアで解析した。

【0355】

9. MicroSPECT/CT。マウス各3匹のコホート2つにヒトALアミロイド抽出物50mgを肩甲骨の間に皮下注射した。7日後、マウスの1群に ^{125}I 標識mAb 7D8~300μCiの注射を、尾静脈を介して投与した。第2群には、同量のマ

50

ウスmAb MOPC 31Cを対照として投与した。72時間後、マウスを過量のイソフルランによって殺処分して、SPECT/CT画像を取り込んだ。CT画像の血管コントラストを増強するために、走査5分前にマウスにFenestra VC(商標)(Advanced Research Technologies, Montreal, Canada)200 μ Lを静脈内投薬で与えた。

【0356】

0.5mm孔径ピンホールコリメータを装着したときにミリメートル未満の空間分解が可能であるmicroCAT II+SPECTデュアルモダリティ画像化プラットフォーム(Siemens Preclinical Solutions, Knoxville, TN)によって、SPECTデータを収集した。画像化時に、2個の検出装置(1.2mm²グリッド上の1 $\times$ 1 $\times$ 8mm CsI(Tl)結晶アレイに連結された直径50mmのHamamatsu R2486-02マルチアノード光電子増倍管で構成された)を回転中心から $\sim$ 45mmに位置決めした。各SPECTデータセットは、 $\sim$ 50分間の経過中に360 $^{\circ}$ にわたって収集した45個の投影を含んでいた。期待値最大化-最尤(EM-ML)アルゴリズムの実行を使用して、画像を再構築した。

10

【0357】

SPECTデータの収集後、高分解能CT画像を得た。microCAT IIスキャナは、円軌道円錐ビーム形状を有し、20 $\sim$ 80kVpの微小焦点X線源を装備しており、光ファイバ束によってminR蛍光スクリーンに光結合された、2048 $\times$ 3072CCDアレイ検出装置を使用して90mm $\times$ 60mm視野を捕捉する。1 $^{\circ}$ 方位角で360 $^{\circ}$ の投射で構成された各CTデータセットを8分間で得た。Feldkamp逆投影アルゴリズムの実行を使用して、画像をリアルタイムで等方性77 μ mボクセル上に再構築した。

20

【0358】

再構築したSPECTおよびCT画像の同時登録を容易にするために、Co-57密閉源を画像化ベッド上に配置した。microSPECTおよびCTデータセットを描出して、3D画像解析ソフトウェアパッケージ(Amira, Version 3.1: Mercury Computer Systems)を用いて手動で同時登録した。

【0359】

10. 生体内分布。肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、および移植アミロイド腫瘍(すなわちアミロイドーマ)の試料をマウスから回収して、風袋を差し引いたバイアルに入れ、秤量して、放射能を測定した。1次指数値を%注入線量/g組織(%ID/g)として表した。

30

【0360】

11. オートラジオグラフィ。1²⁵I-7D8注射72時間後に殺処分したマウスから得た組織のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから切り出した6 μ m厚切片をProbond顕微鏡スライド(Fisher Scientific)上に配置して、NTB-2エマルジョン(Eastman Kodak)に浸漬し、暗所で貯蔵して、24時間露出後に現像した。切片をヘマトキシリンおよびエオシン(H&E)で対比染色して、Permount(Fisher Scientific)を用いてカバーガラスをかけ、光学顕微鏡で調査した。さらに連続スライドをアルカリ性コンゴレッドで染色して、交差偏光照明下で描出した。最後に第3のスライドを、1次試薬を我々のAA反応性mAbとして使用して免疫染色した。デジタルカメラ顕微鏡画像を撮影して、画像解析ソフトウェアパッケージ(Image Pro Plus, Media Cybernetics)を使用して評価した。

40

【0361】

(実施例XIV)

ヒト化2A4および7D8抗体の調製。

【0362】

ヒト化2A4、7D8および8G9抗体は、当分野で公知の技法に従ってマウス2A4

50

、 7 D 8 および 8 G 9 C D R をヒト受容体フレームワークにグラフトすることによって調製した。逆突然変異を行って、結合親和性を保全しながら抗原性を低下させた。マウス 2 A 4 の軽鎖および重鎖可変領域は、配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1 および残基 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 としてそれぞれ示される。マウス 7 D 8 の軽鎖および重鎖可変領域は、配列番号 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1 および残基 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 としてそれぞれ示される。マウス 2 A 4 および 8 G 9 の軽鎖可変領域は相互に同じであり、7 D 8 の軽鎖可変領域とは C D R 1 の 1 つの残基が異なる。2 A 4、7 D 8、および 8 G 9 それぞれの重鎖可変領域は同じである。

【 0 3 6 3 】

2 A 4 および 7 D 8 の可変カップ (V k) は、ヒトサブグループ 2 に対応するマウスサブグループ 2 に属しており、可変重鎖 (V h) はヒトサブグループ 3 に対応するマウスサブグループ 3 に属している (K a b a t ら (1 9 9 1) S e q u e n c e s o f P r o t e i n s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t F i f t h E d i t i o n N I H P u b l i c a t i o n N o . 9 1 - 3 2 4 2) 。 C D R - L 1 は、1 6 残基を含み、V k の標準クラス 4 に属する。C D R - L 2 は、7 残基を含み、V k のクラス 1 に属する。C D R - L 3 は、9 残基を含み、V k のクラス 1 に属する。M a r t i n A C , T h o r n t o n J M . (1 9 9 6) J M o l B i o l . 2 6 3 , 8 0 0 - 1 5 を参照。7 D 8 における位置 2 7 のロイシンはかなり珍しく、2 A 4 のグルタミンはより普通である。モデルは、側鎖が結合部位表面にあり、したがって抗原結合にとって重要であるはずであることを示している。C D R - H 1 は 5 残基を含んでクラス 1 に属し、C D R - H 2 は 1 9 残基を含んでクラス 4 に属する (M a r t i n & T h o r n t o n , 1 9 9 6) 。 C D R - H 3 には標準クラスがないが、8 残基ループはおそらく S h i r a i ら (1 9 9 9) F E B S L e t t . 4 5 5 , 1 8 8 - 9 7 の規則に従ってキंक化塩基を有する。これはモデルに保存されるが、C D R - H 3 の頂端の立体配座は異なり得る。V k ドメインと V h ドメインとの間の界面の残基は、2 A 4 V k、7 D 8 V k および 2 A 4 V k に一般に見られる残基とは異なる。

【 0 3 6 4 】

逆突然変異の選択を案内する構造を見出すために、P D B データベースの検索が行われた (D e s h p a n d e ら (2 0 0 5) N u c l e i c A c i d s R e s 3 3 : D 2 3 3 - 7) 。 N C B I から非冗長タンパク質配列データベース検索によって、マウス C D R を中にグラフトするのに好適なヒトフレームワークの選択が可能となった。V k については、N C B I アクセションコード B A C 0 1 5 6 2 (g i : 2 1 6 6 9 0 7 5) (配列番号 1 6 6) のヒト κ 軽鎖が選択された。これは同じ長さの C D R - L 3 を有し、ヒト生殖細胞系 V K I I A 1 9 / A 3 およびヒトカップサブグループ 2 に属する。N C B I アクセションコード B A C 0 1 7 3 3 (g i : 2 1 6 6 9 4 1 7) (配列番号 1 6 7) の、J 領域においてのみ異なる同様のフレームワークも見出された。B A C 0 1 5 6 2 を 2 A 4 V k のフレームワークとして使用して、B A C 0 1 7 3 3 を 7 D 8 V k のフレームワークとして使用した。V h の場合、I g 重鎖 A A C 5 1 0 2 4 (g i : 1 7 9 1 0 6 1) (配列番号 1 6 5) を使用した。G l a s ら (1 9 9 7) C l i n . E x p . I m m u n o l . 1 0 7 : 3 7 2 - 3 8 0 を参照。これはヒト生殖細胞系 V H 3 - 7 2 およびヒト重鎖サブグループ 3 に属する。

【 0 3 6 5 】

代表的なヒト化 2 A 4 軽鎖可変領域は、配列番号 1 5 5、1 5 6、および 1 5 7 として示される。代表的なヒト化 7 D 8 軽鎖可変領域は、配列番号 1 5 8、1 5 9、1 6 0、1 7 4、1 7 5、および 1 7 6 として示される。代表的なヒト化 2 A 4 / 7 D 8 重鎖可変領域は、配列番号 1 6 1、1 6 2、および 1 6 3 として示される。図 3 6 A ~ 3 6 E を参照。

【 0 3 6 6 】

本発明の代表的なヒト化抗体は、配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1、配列番号 1 5 3、ならびに配列番号 1 5 5、1 5 6、1 5 7、1 5 7、1 5 9、1 6 0、1 7 4、1 7 5

10

20

30

40

50

、および 176 の 20 ~ 131 の 1 つから選択される軽鎖可変領域；ならびに配列番号 154 ならびに配列番号 161、162、および 163 の残基 20 ~ 138 の 1 つから選択される重鎖可変領域を含む。

【0367】

(実施例 XV)

重篤な全身性 AA アミロイドーシスのマウスにおける mAb 2A4 の治療効果

mAb 2A4 の治療有効性を重篤な全身性アミロイドーシスの H2/huIL-6 マウスで評価した。ヒト IL-6 トランスジーンを構成的に発現するトランスジェニック H2/huIL-6 マウスは、急速および不可逆性の全身性 AA アミロイドーシスになりやすい。第 1 および第 2 の試験では、マウスにおける活性が報告されていないアイソタイプ マッチ mAb TY-11 で処置したマウスを対照として使用した。AA を誘導するためのアミロイド増強因子を投与する前に、H2/huIL-6 マウスを試料採取して、後眼窩洞を介して採血し、血清を調製して、市販の ELISA キットを使用して sAA 濃度を決定した。代表的な値は次の通りである：2196.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、823.91 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1415.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1673.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、814.53 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1088.18 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、736.34 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1546.35 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、953.70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、886.46 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、平均 = 1213.4 $\pm$ 478 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

【0368】

第 2 の試験の開始時（第 0 週）に、H2/huIL-6 マウスにアミロイド増強因子（AEF）100 μg を静脈内注射した。AEF を注射することによる AA 病態の誘導後に、マウスに mAb 2A4（13 匹）または TY11（11 匹）100 μg の皮下注射を、肢へ代わるがわる 5 回投与した。治療は AEF 注射の約 1 週間後に開始した。各処置群の動物の生存をプロットおよび解析した。結果を表 7 に示す。mAb TY11 処置マウスのわずか 45% が試験終了まで生存した。対照的に 2A4 処置マウスのいずれも、試験経過を通じて死亡しなかった。標準方法を使用する生存データの分析によって、両群の生存曲線に有意差（ $P < 0.0025$ ）が示された。TY11 処置マウスの生存中央値は、先の試験で観察された値（38.5 日）に匹敵して、41 日と計算された。

【0369】

【表 7 - 2】

表 7

生存動物のパーセンテージ		
注射後日数	TY11 処置	2A4 処置
0	100.00	100.00
22	81.82	100.00
33	72.73	100.00
37	63.64	100.00
41	45.45	100.00
42	45.45	100.00

AEF 後の第 6 週に、マウスを採血および殺処分して、さらなる分析のためにその器官を回収した。肝臓および脾臓のアミロイド定量のために、コンゴーレッド複屈折を交差偏光照明下で顕微鏡により描出して、デジタル記録した。複屈折物質の面積は、アミロイド関連画素を（スペクトルセグメント化法を使用して）選択して、定量することによって決定した。アミロイド含有量の尺度であるアミロイド負荷指数（ABI）を、各器官においてアミロイドに占有された面積のパーセンテージとして表した。2A4 および TY11 処置マウスの肝臓および脾臓でのアミロイドの定量によって、2 つの処置の間の有意差は明

らかにならなかった。しかし2 A 4 処置マウスとの比較のために第42日まで生存したT Y 1 1 処置マウスは、それにより病的状態を生じるA A アミロイドの罹患度または分布を生じなかったマウスであった。生存試験の経過中に肝脾アミロイド負荷も監視して、病的状態に関連するアミロイド負荷の増加を評価する。

【0370】

第3の試験では、m A b 2 A 4 を、マウスでは反応性が報告されていないアイソタイプマッチm A b J H 7 0 と比較した。さらに血液化学作用および他のパラメータを処置期間を通じて監視した。この試験では、08年8月1日～08年9月7日に生まれたオスおよびメスH 2 / h u I L - 6 マウスを使用した。メスマウス23匹およびオスマウス16匹から後眼窩洞を介して採血した。全血を血中尿素窒素(B U N)およびアラニンアミノトランスフェラーゼ(A L T)の化学的キャラクタリゼーションに使用して、V e t S c a n V 2 (A b a x i s , U n i o n C i t y , C A)を使用することによって腎および肝機能を測定した。他の12のタンパク質および検体の血清濃度を同時に測定した。V e t S c a n H M 5 プラットフォームを使用して、全血球計算(C B C)を実施した。さらに各マウスに、5 m g / m L ウシ血清アルブミン中の放射性ヨウ素化ヒト血清アミロイドP構成成分(¹²⁵I - S A P)の低用量(～50～60 μ C i)を投与して、疾患プロセスの開始前にマウスのアミロイド負荷を評価した。注射後(p i)24時間にて維持された¹²⁵I - S A Pのパーセントを、各マウスを用量校正装置に入れることによって測定した。非トランスジェニック(対照)マウスで観察されたよりも高い¹²⁵I - S A Pが維持されたことは、アミロイド疾患を示していた。最後に、血清を使用して、市販のE L I S A アッセイを用いて血清アミロイドタンパク質A(s A A)の濃度を測定した。これらの処置前データ、血液化学作用値、および各マウスに投与した処置のまとめを下の表8および9に示す。

【0371】

10

20

【表 8】

表8
各動物に対する処置前データおよびMAb療法のまとめ

マウス番号	sAA 濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	性別	出生日	^{125}I -SAP 維持(%)	療法(グループ 番号)
3488	360	F	8/1/08	9	2A4 (1)
3489	996	F	8/1/08	29	2A4 (1)
3490	472	F	8/1/08	10	2A4 (1)
3492	2068	M	8/1/08	13	2A4 (1)
3493	1740	M	8/1/08	11	JH70 (1)
3494	1272	M	8/1/08	10	JH70 (1)
3495	1436	M	8/1/08	13	JH70 (1)
3496	2080	M	8/1/08	9	2A4 (1)
3498	268	M	8/1/08	9	2A4 (1)
3500	700	F	8/11/08	11	JH70 (1)
3501	ND	F	8/11/08	9	JH70 (1)
3503	1040	F	8/11/08	11	JH70 (1)
3504	960	F	8/11/08	10	JH70 (1)
3513 ¹	4400	M	8/13/08	60	2A4 (1)
3514 ¹	4400	M	8/13/08	40	2A4 (1)
3515	2800	M	8/13/08	13	2A4 (1)
3521	1480	M	8/18/08	11	2A4 (1)
3524	1680	M	8/18/08	9	2A4 (1)
3549	720	F	9/6/08	9	2A4 (2)
3550	760	F	9/6/08	9	2A4 (2)
3552 ²	0	F	9/6/08	11	2A4 (2)
3553	1160	F	9/6/08	12	2A4 (2)
3558	1660	M	9/6/08	9	JH70 (2)
3559	3520	M	9/6/08	12	JH70 (2)
3562	1312	F	9/6/08	11	JH70 (2)
3563	1120	M	9/6/08	9	JH70 (2)
3564	2512	M	9/6/08	11	2A4 (2)
3565	1960	M	9/6/08	10	2A4 (2)
3567	1880	F	9/6/08	12	2A4 (2)
3570	792	F	9/7/08	13	2A4 (2)
3573	700	F	9/7/08	8	2A4 (2)
3577 ²	0	F	9/7/08	10	2A4 (2)
3578 ²	0	F	9/7/08	9	2A4 (2)
3579	1120	F	9/7/08	10	2A4 (2)
3580 ²	0	F	9/7/08	8	JH70 (2)
3581	700	F	9/7/08	9	JH70 (2)
3582	1680	F	9/7/08	9	JH70 (2)
3583	804	F	9/7/08	9	JH70 (2)
3584	1040	F	9/7/08	14	JH70 (2)

10

20

30

40

1, sAAレベルが高く、生後すぐにアミロイド疾患を有したホモ接合IL-6動物。

2, 循環sAAおよびアミロイド疾患のない野生型マウス。これらの動物での ^{125}I -SAP維持は、正常と見なされ、アミロイド負荷を表していない。

【 0 3 7 2 】

【表 9】

表9
H2/huIL-6マウスの血液化学作用パラメータの正常値

	BUN(mg/dL)		GLU(mg/dL)		ALT(U/L)		ALB(g/dL)		TP(g/dL)		GLOB(g/dL)	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
平均	21.1	23.8	144.7	151.2	37.6	42.3	2.5	1.9	5.6	6.2	3.1	4.4
標準偏差	4.0	2.7	14.0	17.6	16.3	24.3	0.3	0.4	0.2	0.6	0.4	0.6
n	18	13	18	13	18	13	18	13	18	13	18	13
高	28.0	30.0	184.0	179.0	79.0	105.0	3.0	2.6	6.0	7.4	3.7	5.8
低	15.0	20.0	126.0	119.0	21.0	23.0	2.0	1.2	5.1	5.5	2.6	3.4
中央値	20.0	24.0	143.0	154.0	32.5	32.0	2.4	1.9	5.6	6.0	3.2	4.3

BUN、血中尿素窒素;GLU、グルコース;ALT、アラニンアミノトランスフェラーゼ;ALB、アルブミン;TP、血清総タンパク;GLOB、免疫グロブリン;F、メス;M、オス;SD、標準偏差;nは、値を決定するために使用したマウス数である。

10

第3の試験の開始時(第0週)に、すべてのH2/huIL-6マウスのすべてにアミロイド増強因子(1mg/mL)100μgを静脈内投与した。その1週間後、治療を開始し、表8にまとめるように、各マウスにmAb 2A4またはJH70のどちらか100μgを皮下投与した。mAb注射は7週間にわたって毎週続けた。

【0373】

AEFの2週間後、後眼窩洞を介して収集した血液を使用して、CBC、血液化学作用、および血清sAA測定を実施した。またこの時点で、群1のマウスにBSA中の¹²⁵I-SAP ~ 60μCiを前と同様に投与して、放射性標識SAPの維持によって明らかにされるアミロイドの蓄積を評価した。複数の動物が極度に窮乏した有害作用を示し、したがって¹²⁵I-SAPを使用するアミロイド負荷の評価を中止した。AEFの2週間後に得た、選択した血液化学作用パラメータの結果を表10に示す。

20

【0374】

【表10】

表10

	BUN (mg/dL)		GLU (mg/dL)		ALT (U/L)		ALB (g/dL)		TP (g/dL)		GLOB (g/dL)	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
平均	31.4	52.1	145.1	129.8	33.9	63.3	2.3	1.8	6.5	8.1	4.2	6.2
標準偏差	24.3	39.1	16.6	25.6	6.9	30.6	0.3	0.5	1.0	1.7	1.1	1.5
n	15	13	15	13	15	13	15	13	15	13	15	12
高	100.0	159.0	177.0	178.0	46.0	134.0	2.7	3.0	8.6	11.7	7.0	9.6
低	16.0	20.0	104.0	82.0	22.0	32.0	1.7	1.0	5.2	6.0	3.1	4.5
中央値	22.0	31.0	150.0	120.0	32.0	54.0	2.3	1.7	6.5	7.5	4.0	6.0

BUN、血中尿素窒素;GLU、グルコース;ALT、アラニンアミノトランスフェラーゼ;ALB、アルブミン;TP、血清総タンパク;GLOB、免疫グロブリン;F、メス;M、オス;SD、標準偏差;nは、値を決定するために使用したマウス数である。

30

40

AEFの8週後に、マウスから最後に採血して、その直後に担体として5%正常マウス血清を使用して¹²⁵I-SAP ~ 200μCiを投与した。この処置に応答して、2、3匹の動物が多少の異常挙動を示し、30分以内に軽減された。24時間後、マウスにx線CT造影剤(尾静脈に~200μL静脈内)を注射して、次にイソフルラン過量によって殺処分した。各動物の単光子射出(SPECT)およびx線(CT)断層画像を得た。器官を回収して、各試料の放射能の量を計算して、組織1グラム当りの注入線量%として表した。さらに切片作成および顕微鏡分析の準備のために、各組織の部分を緩衝ホルマリンで一晩固定した。

【0375】

7週間の治療試験の間、マウス2匹が死亡しているのが発見され、マウス3匹は一晩生

50

存しそうにないと思なされ、ボディ・コンディション・スコアが低かった（＜ 2；＞ 1 5 %の体重減少と関連）ために殺処分した。^{1 2 5} I - S A P注射に対する有害反応を経験したマウスおよび後眼窩出血から生じた合併症のために殺処分されたマウス 1 匹は、生存分析の一部として評価しなかった。各 m A b 処置群のマウスの生存率を表 1 1 に示す。

【 0 3 7 6 】

【表 1 1】

表11

生存動物のパーセンテージ		
注射後日数	TY11処置	2A4処置
0	100.00	100.00
41		100.00
42		100.00
53	85.71	100.00
55	71.43	100.00
56	64.29	100.00
57	64.29	100.00

10

20

評価可能であった m A b J H 7 0 処置マウスの約 6 5 % が試験終了まで生存した。対照的に、評価可能であった 2 A 4 マウスのいずれも 5 7 日間に死亡しなかった。標準方法を使用する生存データの解析によって、生存曲線の有意差が示された（M a n t e l - C o x 検定を使用して $P = 0 . 0 1 5$ および G r e h a n - B r e s l o w - W i l c o x o n 検定を使用して $P = 0 . 0 1 6$ ）。

【 0 3 7 7 】

最終血液化学作用データは、各マウスに投与された療法に従って解析した。オスおよびメス H 2 / h u I L - 6 マウスに関連する平均パラメータ値の相違のために（殺処分時に、メスマウスの B U N レベルは、2 A 4 処置および J H 7 0 処置マウスの両方でより高かった）、生存したメスマウスのみを下の表 1 2 に含める。

30

【 0 3 7 8 】

【表 1 2】

表12

	BUN(mg/dL)		GLU(mg/dL)		ALT(U/L)		ALB(g/dL)		TP(g/dL)		GLOB(g/dL)	
	2A4	JH70	2A4	JH70	2A4	JH70	2A4	JH70	2A4	JH70	2A4	JH70
平均	60.7	73.3	107.8	100.1	45.5	119.7	2.3	2.2	9.2	9.1	7.0	7.1
標準												
偏差	27.2	25.7	27.0	13.3	6.2	123.1	0.5	0.6	1.5	1.5	2.0	2.1
n	6.0	7.0	6.0	7.0	6.0	7.0	6.0	7.0	6.0	7.0	6.0	7.0
高	95.0	120.0	160.0	123.0	52.0	381.0	2.9	3.0	11.7	11.9	10.1	10.6
低	17.0	36.0	83.0	83.0	35.0	33.0	1.5	1.2	7.2	7.5	4.3	5.3
中央値	66.5	70.0	99.5	98.0	46.5	65.0	2.2	2.1	9.1	8.9	7.1	6.2

BUN、血中尿素窒素；GLU、グルコース；ALT、アラニンアミノトランスフェラーゼ；ALB、アルブミン；TP、血清総タンパク；GLOB、免疫グロブリン；F、メス；M、オス；SD、標準偏差；nは、値を決定するために使用したマウスの数である。

40

2 A 4 で処置したマウスは、J H 7 0 で処置したマウスと比較したときに、血中尿素窒素（B U N）およびアラニンアミノトランスフェラーゼ（A L T）のレベルの低下を示した。B U N および A L T は、腎機能および肝機能それぞれのマーカーであり、そのレベル

50

の低下は、器官機能が 2 A 4 処置によってより良好に維持され得ることを示している。

(項目 1) ヒトアミロイド A ペプチドの残基 70 ~ 76 内のエピトープに特異的に結合する、単離ヒト抗体、ヒト化抗体、もしくはキメラ抗体、またはその抗原結合断片。

(項目 2) 配列番号 2 の残基 70 ~ 76 内のエピトープに特異的に結合する、項目 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 3) 配列番号 4、5、6、7、8、9、10、または 11 として示される残基を含むエピトープに特異的に結合する、項目 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 4) A T C C アクセション番号 _____ によって産生された抗体 2 A 4 と、ヒトアミロイド A ペプチドへの結合で競合する、項目 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 5) 配列番号 152 の残基 20 ~ 131 として示される軽鎖可変領域および配列番号 154 の残基 20 ~ 138 として示される重鎖可変領域を有する抗体と、ヒトアミロイド A ペプチドへの結合で競合する、項目 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 6) A T C C アクセション番号 _____ によって産生された抗体 7 D 8 と、ヒトアミロイド A ペプチドへの結合で競合する、項目 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 7) 配列番号 153 の残基 20 ~ 131 として示される軽鎖可変領域および配列番号 154 の残基 20 ~ 138 として示される重鎖可変領域を有する抗体と、ヒトアミロイド A ペプチドへの結合で競合する、項目 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 8) A T C C アクセション番号 _____ によって産生された抗体 2 A 4 のヒト化もしくはキメラバージョンまたは A T C C アクセション番号 _____ によって産生された抗体 7 D 8 のヒト化もしくはキメラバージョンである、項目 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 9) 配列番号 152 の残基 20 ~ 131 として示される 2 A 4 軽鎖可変領域の 1 つ以上の相補性領域または配列番号 153 の残基 20 ~ 131 として示される 7 D 8 軽鎖可変領域の 1 つ以上の相補性領域を含む軽鎖可変領域を含む、項目 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 10) 配列番号 152 の残基 20 ~ 131 として示される 2 A 4 軽鎖可変領域の 3 つの相補性領域または配列番号 153 の残基 20 ~ 131 として示される 7 D 8 軽鎖可変領域の 3 つの相補性領域を含む軽鎖可変領域を含む、項目 9 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 11) Y および F によってそれぞれ占有される L 87 および L 90 (K a b a t ナンバリング規則) から成る群より選択される少なくとも 1 つの軽鎖フレームワーク残基を含み、ここで上記軽鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、項目 10 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 12) T、S、L、D、Q、K、Y、L、F、および L によってそれぞれ占有される + 7、+ 14、+ 15、+ 17、+ 18、+ 50、+ 75、+ 88、+ 92、および + 109 (リニアナンバリング) から成る群より選択される少なくとも 1 つの軽鎖フレームワーク残基を含み、ここで上記軽鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、項目 10 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 13) Y および F によってそれぞれ占有される + 75 および + 92 (リニアナンバリング) から成る群より選択される少なくとも 1 つの軽鎖フレームワーク残基を含み、ここで上記軽鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、項目 12 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 14) 上記ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域がヒトカップサブグループ 2 軽鎖可変領域 (K a b a t 規則) である、項目 11 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 15) 上記ヒトサブグループ 2 軽鎖可変領域がヒト生殖細胞系 V K I I A 19 / A 3 からである、項目 14 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 16) 上記ヒト V k 軽鎖可変領域が配列番号 166 または 167 として示される配列を含む、項目 15 に記載の抗体または抗原結合断片。

10

20

30

40

50

(項目 17) 上記軽鎖可変領域が、配列番号 152 の残基 20 ~ 131、配列番号 153 の残基 20 ~ 131 として示されるか、または配列番号 155、156、157、158、159、160、174、175、もしくは 176 として示されるアミノ酸配列を含む、項目 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 18) 配列番号 154 の残基 20 ~ 138 として示される 2A4 重鎖可変領域の 1 つ以上の相補性領域を含む重鎖可変領域を含む、項目 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 19) 配列番号 154 の残基 20 ~ 138 として示される 2A4 重鎖可変領域の 2 つの相補性領域を含む重鎖可変領域を含む、項目 18 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 20) 配列番号 154 の残基 20 ~ 138 として示される 2A4 重鎖可変領域の 3 つの相補性領域を含む重鎖可変領域を含む、項目 19 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 21) I、A、F、または V によってそれぞれ占有される H37、H49、H70、および H93 (Kabat ナンバリング規則) から成る群より選択される少なくとも 1 つの重鎖フレームワーク残基を含み、ここで上記重鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、項目 20 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 22) R、K、K、I、A、F、Q、S、M、N、M、V、または A によってそれぞれ占有される +10、+15、+19、+37、+49、+73、+78、+79、+80、+87、+95、+99、+119 (リニアナンバリング) から成る群より選択される少なくとも 1 つの重鎖フレームワーク残基を含み、ここで上記重鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、項目 20 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 23) I、A、F、または V によってそれぞれ占有される +37、+49、+73、および +99 (リニアナンバリング) から成る群より選択される少なくとも 1 つの重鎖フレームワーク残基を含み、ここで上記重鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、項目 22 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 24) 上記ヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域がヒトガンマサブグループ 3 重鎖可変領域 (Kabat 規則) である、項目 21 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 25) 上記ヒトガンマサブグループ 3 重鎖可変領域が配列番号 165 として示される配列を含む、項目 24 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 26) 上記重鎖可変領域が配列番号 154 の残基 20 ~ 138 として示されるか、または配列番号 161、162、もしくは 163 として示されるアミノ酸配列を含む、項目 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 27) 配列番号 152 の残基 20 ~ 131 として示される 2A4 軽鎖可変領域の 3 つの相補性決定領域、または配列番号 153 の残基 20 ~ 131 として示される 7D8 軽鎖可変領域の 3 つの相補性領域を含む軽鎖可変領域、および配列番号 154 の残基 20 ~ 138 として示される 2A4 重鎖可変領域の 3 つの相補性領域を含む重鎖可変領域を含む、項目 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 28) 配列番号 168、169、および 170 として示される 3 つの相補性決定領域を含む軽鎖可変領域、ならびに配列番号 171、172、および 173 として示される 3 つの相補性領域を含む重鎖可変領域を含む、項目 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 29) 配列番号 177、169、および 170 として示される 3 つの相補性決定領域を含む軽鎖可変領域、ならびに配列番号 171、172、および 173 として示される 3 つの相補性領域を含む重鎖可変領域を含む、項目 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

10

20

30

40

50

(項目30) 配列番号152の残基20～131または配列番号153の残基20～131として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号154の残基20～138として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、項目27に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目31) 配列番号155、156、157、158、159、160、174、175、または176として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号161、162、または163として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、項目27に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目32) 上記軽鎖可変領域が配列番号155として示されるアミノ酸配列を含み、上記重鎖可変領域が配列番号161として示されるアミノ酸配列を含む、項目31に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目33) 上記軽鎖可変領域が配列番号156として示されるアミノ酸配列を含み、上記重鎖可変領域が配列番号162として示されるアミノ酸配列を含む、項目31に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目34) 上記軽鎖可変領域が配列番号157として示されるアミノ酸配列を含み、上記重鎖可変領域が配列番号163として示されるアミノ酸配列を含む、項目31に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目35) 凝集アミロイドタンパク質中の X_1EDX_2 を含むエピトープに特異的に結合する単離抗体またはその抗原結合断片であって、式中、 X_1 および X_2 は任意のアミノ酸である、単離抗体またはその抗原結合断片。

(項目36) X_1 がH、T、F、S、P、A、L、C、Q、R、E、K、D、G、V、Y、I、またはWであり、 X_2 がT、S、E、R、I、V、F、D、A、G、M、L、N、P、C、K、Y、またはQである、項目35に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目37) X_1 がH、T、F、またはAである、項目36に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目38) X_2 がT、S、E、D、またはAである、項目36に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目39) X_1 がHまたはAであり、 X_2 がT、S、またはAである、項目37に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目40) X_1 がTであり、 X_2 がEである、項目37に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目41) X_1 がFであり、 X_2 がDである、項目37に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目42) X_1 がSであり、 X_2 がE、FまたはAである、項目36に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目43) X_1 がPであり、 X_2 がE、IまたはFである、項目36に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目44) 上記エピトープがGHEDT(配列番号3)、HEDT(配列番号12)、AEDS(配列番号13)、AEDT(配列番号14)、HEDA(配列番号15)、およびTEDE(配列番号16)から成る群より選択されるアミノ酸配列から成る、項目36に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目45) アミノ酸配列GHGAEDS(配列番号4)を含むエピトープにて凝集アミロイドタンパク質に特異的に結合する、項目44に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目46) 約 $10^7 M^{-1}$ 未満の親和性で、単量体形の上記アミロイドタンパク質に上記抗体が結合する、項目35に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目47) 上記アミロイドタンパク質が血清アミロイドAタンパク質(SAA)である、項目35に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目48) 上記アミロイドタンパク質が免疫グロブリン軽鎖タンパク質、ヒト腓島アミロイド前駆体ポリペプチド(IAPP)、ベータアミロイドペプチド、トランスサイレチン(TTR)およびApoA1から成る群より選択される、項目35に記載の抗体また

10

20

30

40

50

は抗原結合断片。

(項目 49) 上記アミロイドタンパク質が免疫グロブリン軽鎖タンパク質である、項目 48 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 50) 免疫グロブリン軽鎖タンパク質が V λ 6 W i l である、項目 49 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 51) 免疫グロブリン軽鎖タンパク質が V κ である、項目 49 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 52) 上記アミロイドタンパク質がヒト腓島アミロイド前駆体ポリペプチド (I A P P) である、項目 48 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 53) 上記アミロイドタンパク質がベータアミロイドペプチドである、項目 48 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 54) 上記アミロイドタンパク質がトランスサイレチン (T T R) である、項目 48 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 55) 上記アミロイドタンパク質が A p o A 1 である、項目 48 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 56) ヒト抗体、ヒト化抗体、もしくはキメラ抗体または抗原結合断片である、項目 35 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 57) ヒトアミロイド A ペプチドの残基 70 ~ 76 内のエピトープに特異的に結合する、項目 56 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 58) 有効投薬量の項目 1 に記載の抗体または抗原結合断片を対象に投与して、それにより該対象の A A アミロイドーシスを処置するステップを含む、A A アミロイドーシスを有する該対象を治療的に処置する方法。

(項目 59) 上記対象がヒトである、項目 58 に記載の方法。

(項目 60) 治療的に処置するステップが A A アミロイドーシスの進行を遅らせることを含む、項目 58 に記載の方法。

(項目 61) 治療的に処置するステップが A A アミロイド原線維凝集体の沈着を抑制することを含む、項目 58 に記載の方法。

(項目 62) 治療的に処置するステップが A A アミロイド原線維凝集体の排除を含む、項目 58 に記載の方法。

(項目 63) 上記対象が関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髓炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャスルマン病から成る群より選択されるアミロイド疾患に罹患する、項目 58 に記載の方法。

(項目 64) 有効投薬量の項目 1 に記載の抗体または抗原結合断片を対象に投与して、それにより該対象の A A アミロイドーシスの予防を達成するステップを含む、A A アミロイドーシスに罹りやすい該対象を予防的に処置する方法。

(項目 65) 上記対象がヒトである、項目 64 に記載の方法。

(項目 66) 予防的に処置するステップが A A アミロイドーシスの開始を遅延することである、項目 64 に記載の方法。

(項目 67) 予防的に処置するステップが A A アミロイドーシスのリスクを低下させることである、項目 64 に記載の方法。

(項目 68) 項目 30 に記載の抗体または抗原結合断片を対象に投与して、それによりアミロイドーシスを処置するステップを含む、アミノ酸配列 E D を含む凝集アミロイドタンパク質に関連する該アミロイドーシスに罹患している該対象を治療的に処置する方法。

(項目 69) 上記対象がヒトである、項目 68 に記載の方法。

(項目 70) 治療的に処置するステップがアミロイドーシスの進行を遅らせることを含む、項目 68 に記載の方法。

(項目 71) 治療的に処置するステップがアミロイド原線維凝集体の沈着を抑制するこ

10

20

30

40

50

とを含む、項目 68 に記載の方法。

(項目 72) 治療的に処置するステップがアミロイド原線維凝集体の排除を含む、項目 68 に記載の方法。

(項目 73) 上記アミロイドタンパク質が配列 AEDV (配列番号 23) を含み、アミロイド形成性疾患が、AA アミロイドーシス、AL アミロイドーシス、アミロイド多発性神経障害、地中海熱、マッケル・ウェルズ症候群、全身性炎症疾患に関連する反応性全身性アミロイドーシス、骨髄腫またはマクログロブリン血症関連アミロイドーシス、免疫担当細胞疾患に関連するアミロイドーシス、単クローン性高ガンマグロブリン血症、不顕性疾患、および慢性炎症疾患に関連する限局性結節性アミロイドーシスである、項目 68 に記載の方法。

10

(項目 74) 項目 30 に記載の抗体または抗原結合断片を対象に投与して、それによりアミロイドーシスを処置するステップを含む、アミノ酸配列 ED を含む凝集アミロイドタンパク質に関連する該アミロイドーシスに罹りやすい該対象を予防的に処置する方法。

(項目 75) 検出可能な標識に結合されている項目 1 に記載の抗体またはその抗原結合断片を対象に投与するステップと、該対象において該検出可能な標識を検出するステップとを含む、該対象において AA アミロイドーシスに関連するアミロイド沈着を検出する方法。

(項目 76) 上記対象がヒトである、項目 75 に記載の方法。

(項目 77) 上記対象が関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髄炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャスルマン病から成る群より選択されるアミロイド疾患に罹患するかまたは罹りやすい、項目 75 に記載の方法。

20

(項目 78) 上記検出可能な標識が放射性標識である、項目 75 に記載の方法。

(項目 79) 放射性標識が ^{125}I である、項目 78 に記載の方法。

(項目 80) 上記検出が SPECT/CT 画像化によって実施される、項目 75 に記載の方法。

(項目 81) 上記検出が NMR 分光法によって実施される、項目 75 に記載の方法。

(項目 82) 検出可能な標識に結合されている項目 30 に記載の抗体またはその抗原結合断片を対象に投与するステップと、該検出可能な標識を検出するステップとを含む、該対象においてアミロイド沈着を検出する方法。

30

(項目 83) 上記対象がヒトである、項目 82 に記載の方法。

(項目 84) アミロイドーシスが AA アミロイドーシス、AL アミロイドーシス、アルツハイマー病、軽度認知障害、アミロイド多発性神経障害、地中海熱、マッケル・ウェルズ症候群、全身性炎症疾患に関連する反応性全身性アミロイドーシス、骨髄腫またはマクログロブリン血症関連アミロイドーシス、免疫担当細胞疾患に関連するアミロイドーシス、単クローン性高ガンマグロブリン血症、不顕性疾患、または慢性炎症疾患に関連する限局性結節性アミロイドーシスである、項目 82 に記載の方法。

(項目 85) 上記検出可能な標識が放射性標識である、項目 82 に記載の方法。

40

(項目 86) 上記放射性標識が ^{125}I である、項目 85 に記載の方法。

(項目 87) 上記検出が SPECT/CT 画像化によって実施される、項目 82 に記載の方法。

(項目 88) 上記検出が NMR 分光法によって実施される、項目 82 に記載の方法。

(項目 89) アミロイド A ペプチドの残基 70 ~ 76 に対する抗体を含む、免疫応答を誘導して、それにより対象の AA アミロイドーシスを処置するのに有効なアミロイド A ペプチドの残基 70 ~ 76 に対する免疫応答を誘導する薬剤を投与するステップを含む、AA アミロイドーシスを有する該対象を治療的に処置する方法。

(項目 90) アミロイド A ペプチドの残基 70 ~ 76 に対する抗体を含む、免疫応答を誘導して、それにより対象の AA アミロイドーシスの予防を達成するのに有効なアミロイ

50

ド A ペプチドの残基 7 0 ~ 7 6 に対する免疫応答を誘導する薬剤を投与するステップを含む、 A A アミロイドーシスに罹りやすい該対象を予防的に処置する方法。

【 図 1 】

HSAA1 (			1	NKLLTGLVFC	SLVLGVSSRS	FFSTLGEAFD	GARDWRAYS	DKREANYIGS
HSAA2 (	配列番号 98)		1	NKLLTGLVFC	SLVLGVSSRS	FFSTLGEAFD	GARDWRAYS	DKREANYIGS
HSAA3 (	配列番号 99)		1	NKLLTGLVFC	SLVLGVSSRS	FFSTLGEAFD	GARDWRAYS	DKREANYIGS
HSAA4 (	配列番号 100)		1	NKLLTGLVFC	SLVLGVSSRS	FFSTLGEAFD	GARDWRAYS	DKREANYIGS
HSAA1 (	配列番号 101)		1	NKLLTGLVFC	SLVLGVSSRS	FFSTLGEAFD	GARDWRAYS	DKREANYIGS
HSAA2 (	配列番号 98)		51	DKYFHAGNY	DAKRGPGGV	WAEALISDAR	ENIQRFCHG	A-----E
HSAA3 (	配列番号 99)		51	DKYFHAGNY	DAKRGPGGV	WAEALISDAR	ENIQRFCHG	A-----E
HSAA4 (	配列番号 100)		51	DKYFHAGNY	DAKRGPGGV	WAEALISDAR	ENIQRFCHG	A-----E
HSAA1 (	配列番号 101)		51	DKYFHAGNY	DAKRGPGGV	WAEALISDAR	ENIQRFCHG	A-----E
HSAA2 (	配列番号 98)		93	DSLADQANE	WRSQGDHNN	FPAGLPKRY		
HSAA3 (	配列番号 99)		93	DSLADQANE	WRSQGDHNN	FPAGLPKRY		
HSAA4 (	配列番号 100)		93	DSLADQANE	WRSQGDHNN	FPAGLPKRY		
HSAA1 (	配列番号 101)		101	DSKSNKQAE	WRSQGDHNN	FPAGLPKRY		

FIG. 1

【 図 2 】

HSAA1 (	配列番号 98)		1	NKLLTGLVFC	SLVLGVSSRS	FFSTLGEAFD	GARDWRAYS	DKREANYIGS
HSAA2 (	配列番号 102)		1	NKLLTGLVFC	SLVLGVSSRS	FFSTLGEAFD	GARDWRAYS	DKREANYIGS
HSAA1 (	配列番号 98)		51	DKYFHAGNY	DAKRGPGGV	WAEALISDAR	ENIQRFCHG	ASDLSAQGA
HSAA2 (	配列番号 102)		51	DKYFHAGNY	DAKRGPGGV	WAEALISDAR	ENIQRFCHG	ASDLSAQGA
HSAA1 (	配列番号 98)		101	DSKSNKQAE	WRSQGDHNN	FPAGLPKRY		
HSAA2 (	配列番号 102)		101	DSKSNKQAE	WRSQGDHNN	FPAGLPKRY		

FIG. 2

【 3 】

HSAA2 (7ル77) { HAA2 (7ル77) {	配列番号 99) 配列番号 103)	1 1	mklllglyfc alviivwars -----RS FFSFLGEAFD GARDMWAYS DMEANTIGS -----RS FFSFLGEAFD GARDMWAYS DMEANTIGS
HSAA2 (7ル77) { HAA2 (7ル77) {	配列番号 99) 配列番号 103)	51 33	DKYFHAGNY DAAKRGFGA WAAEVIENAR ENIOELAGHG AEDSLAQGA DKYFHAGNY DAAKRGFGA WAAEVIENAR ENIOELAGHG AEDS-----
HSAA2 (7ル77) { HAA2 (7ル77) {	配列番号 99) 配列番号 103)	101	nkwtgsgtdp nhfrpaelpe ky -----

FIG. 3

【 4 】

HSAA3 { HAA3 {	配列番号 100) 配列番号 104)	1 1	mklsagilfc alviivwsgg -----QS WLFLEKAGQ GAKDMWRAYS DKEANTIKS -----QS WLFLEKAGQ GAKDMWRAYS DKEANTIKS
HSAA3 { HAA3 {	配列番号 100) 配列番号 104)	51 33	DKYFHAGNY DAVORGPGGV WATEVIDAR ENVOELATCUH AEDSLAGSAT DKYFHAGNY DAVORGPGGV WATEVIDAR ENVOELATCUH AEDS-----
HSAA3 { HAA3 {	配列番号 100) 配列番号 104)	101	dkwtgsgtdp nhfrpaelpe ky -----

FIG. 4

【 5 】

HSAA4 { HAA4 {	配列番号 101) 配列番号 105)	1	mklllglyfc alungviers -----ES NRSEFFKELQ GVDKMGKAW DIMENSIONIS -----ES NRSEFFKELQ GVDKMGKAW DIMENSIONIS
HSAA4 { HAA4 {	配列番号 101) 配列番号 105)	51 33	NRVYFASGNY DAAKRGPGGV WAKLIERER VYLOGLIDYI LFQMSGSLVIE NRVYFASGNY DAAKRGPGGV WAKLIERER VYLOGLIDYI LFQMS-----
HSAA4 { HAA4 {	配列番号 101) 配列番号 105)	101	dekanokaea wgrngtdpdr frpdgldpky -----

FIG. 5

【 6 】

HAAL { HAA2 { HAA3 { HAA4 {	配列番号 102) 配列番号 103) 配列番号 104) 配列番号 105)	1 1 1	RSFFFLGHA FDGARDMWA YSDMREANYI GSKYFHANG NYDAKRGFG RSFFFLGHA FDGARDMWA YSDMREANYI GSKYFHANG NYDAKRGFG QGMLEFLKAA GGMKMDMWA YSDMREANYI GSKYFHANG NYDAKRGFG ESNRSEFFKELQ GGVGVGNGRA NYOLMSNHQ NSKILLIANG NYDAKRGFG
HAAL { HAA2 { HAA3 { HAA4 {	配列番号 102) 配列番号 103) 配列番号 104) 配列番号 105)	51 51 51	GVWAAEALSD ARENTORF-- --FQHG-- --EDS GVWAAEALSD ARENTORF-- --FQHG-- --EDS GVWAAEALSD ARENTORF-- --FQHG-- --EDS GVWAAEALSD ARENTORF-- --FQHG-- --EDS

FIG. 6

【 図 7 】

HAA1 (	配列番号 102)	70	GHGAEDS
HAA2 (	配列番号 103)	70	GHGAEDS
HAA3 (	配列番号 104)	70	GdhaEDS
HAA4 (	配列番号 105)	78	stVLEDS

FIG. 7

【 図 9 】

MSA1 (	配列番号 106)	1	mklltslvfc alllgvchg ffsfvheafo gacdmwrayt dmkeanwns
MSA1 (	配列番号 110)	1	-----G ffsfvheafo gacdmwrayt dmkeanwns
MSA1 (	配列番号 106)	51	dkyfhargny daargsggy waakvisdar bapqfforg hdtadqea
MSA1 (	配列番号 110)	52	dkyfhargny daargsggy waakvisdar bapqfforg hdtadqea
MSA1 (	配列番号 106)	101	nrhgrsgkdp nyvffglpa ky
MSA1 (	配列番号 110)		-----

FIG. 9

【 図 8 】

ワズ SAAL (	配列番号 106)	1	mklltslvfc alllgvchg ffsfvheafo gacdmwrayt dmkeanwns
ワズ SAAL (	配列番号 107)	1	mklltslvfc alllgvchg ffsfvheafo gacdmwrayt dmkeanwns
ワズ SAAL (	配列番号 109)	1	mklltslvfc alllgvchg ffsfvheafo gacdmwrayt dmkeanwns
ワズ SAAL (	配列番号 106)	51	dkyfhargny daargsggy waakvisdar bapqfforg hdtadqea
ワズ SAAL (	配列番号 107)	51	dkyfhargny daargsggy waakvisdar bapqfforg hdtadqea
ワズ SAAL (	配列番号 109)	51	dkyfhargny daargsggy waakvisdar bapqfforg hdtadqea
ワズ SAAL (	配列番号 106)	93	dtiaohene nrhgrsgkdp nyvffglpa ky
ワズ SAAL (	配列番号 107)	93	dtiaohene nrhgrsgkdp nyvffglpa ky
ワズ SAAL (	配列番号 109)	93	dtiaohene nrhgrsgkdp nyvffglpa ky
ワズ SAAL (	配列番号 106)	101	dtiaohene nrhgrsgkdp nyvffglpa ky
ワズ SAAL (	配列番号 107)	101	dtiaohene nrhgrsgkdp nyvffglpa ky
ワズ SAAL (	配列番号 109)	101	dtiaohene nrhgrsgkdp nyvffglpa ky

FIG. 8

【 図 10 】

MSA2 (	配列番号 107)	1	mklltslvfc alllgvchg ffsfvheafo gacdmwrayt dmkeanwns
MSA2 (	配列番号 111)	1	-----G ffsfvheafo gacdmwrayt dmkeanwns
MSA2 (	配列番号 107)	51	dkyfhargny daargsggy waakvisdar bapqfforg hdtadqea
MSA2 (	配列番号 111)	52	dkyfhargny daargsggy waakvisdar bapqfforg hdtadqea
MSA2 (	配列番号 107)	101	nrhgrsgkdp nyvffglpa ky
MSA2 (	配列番号 111)		-----

FIG. 10

MSAA1 (	配列番号 110)	1	GFSPVHEAF QGAGIMWRAY TDKKEANWRN SDKYFHARGN YDAARQGGG	MSAA3 (	配列番号 108)	1	mhpaiailic ililgyvdcqr wqfuknkgq GSRDWRAYS DKKANWRHS	【 ☒ 1 1 】
MAA2 (	配列番号 111)	1	GFSPSTGEAF QGAGIMWRAY TDKKEAGMKD GSKYFHARGN YDAARQGGG	MAA3 (	配列番号 112)	1	-----BAQG GSRDWRAYS DKKANWRHS	
MAA3 (	配列番号 112)	1	GFSPSTGEAF QGAGIMWRAY TDKKEAGMKD GSKYFHARGN YDAARQGGG					
MAA4 (	配列番号 113)	1	-MYSPFREAV QGVDLWRAY EDLEANTYCN DQYFYARGN YDAARQGGG	MSAA3 (	配列番号 108)	51	DKYFHARGNY DAARQGGGA VAAKVISEDAR EAVKFTTGHG AEDSTAGGA	
				MAA3 (	配列番号 112)	25	DKYFHARGNY DAARQGGGA VAAKVISEDAR EAVKFTTGHG AEDS-----	
MAA1 (	配列番号 110)	51	VAAKVISEDAR EAVKFTTGHG AEDS-----FTG---RGN EDT	MSAA3 (	配列番号 108)	101	newczsckdp chfrpaagldk ry	
MAA2 (	配列番号 111)	51	VAAKVISEDAR EAVKFTTGHG AEDS-----FTG---RGN EDT	MAA3 (	配列番号 112)		-----	
MAA3 (	配列番号 112)	44	AAVAAKVISEDAR EAVKFTTGHG AEDS-----FTG---RGN EDT					
MAA4 (	配列番号 113)	50	IAVAAKVISEDAR EAVKFTTGHG AEDS-----FTG---RGN EDT					

FIG. 13

MAA1 (	配列番号 110)	69	GRGHEDT	【 ☒ 1 4 】
MAA2 (	配列番号 111)	69	GRGHEDT	
MAA3 (	配列番号 112)	62	GHGAEDS	
MAA4 (	配列番号 113)	76	nHGLETL	

FIG. 14

FIG. 11

MSAA4 (	配列番号 109)	1	mcrlarvivic siflgyvdcqr WYSPFREAV QGVDLWRAYR DLEANTYCN	【 ☒ 1 2 】
MAA4 (	配列番号 113)	1	-----WYSPFREAV QGVDLWRAYR DLEANTYCN	
MSAA4 (	配列番号 109)	51	DQYFYARGNY EAQGGSSGI VAAKVISEDAR KYFGGLARY YFGIHHGLE	
MAA4 (	配列番号 113)	31	DQYFYARGNY EAQGGSSGI VAAKVISEDAR KYFGGLARY YFGIHHGLE	
MSAA4 (	配列番号 109)	101	TLqatqdaee wrgsghnph frpegldkfr	
MAA4 (	配列番号 113)	81	IL-----	

FIG. 12

【 1 5 】

HSAA1 (	配列番号 98)	1	NKLLTGLVFC	SYLVGVSSRS	FFSFLGEAFD	GARDNWRAYS	DREANVTGS
MSAA1 (	配列番号 106)	1	NKLLTSLVFC	SYLVGVCHGG	FFSFLVHEAFQ	GARDNWRAYT	DREANWVNS
HSAA1 (	配列番号 98)	51	DKYFHARGNY	DAAKGPGGV	WAAEAISDAR	ENLORFFGKG	AEDSLAQQA
MSAA1 (	配列番号 106)	51	DKYFHARGNY	DAAKGPGGV	WAAEKISDR	enLORFFGKG	HEDITADQEA
HSAA1 (	配列番号 98)	101	NEWGSGKDP	NHFRPAGLPE	KY		
MSAA1 (	配列番号 106)	101	NRHSGSKDP	NYFRPGLPD	KY		

FIG. 15

【 1 6 】

HAAL (	配列番号 102)	1	1-FFSFLGEA	FDGARDWREA	YSDMREANY1	GSXKYFHARG	NYDRAKPGG
MAAL (	配列番号 110)	1	S-FFSFLVHEA	FQAGDNWREA	YTDKREANNK	NSXKYFHARG	NYDRAKGRPG
HAAL (	配列番号 102)	51	GWAHAELICD	AREALCISFG	WGAEDS		
MAAL (	配列番号 110)	50	GWAHAELICD	GREALCEFFG	EGHEDT		

FIG. 16

【 1 7 】

HAAL (	配列番号 102)	1	CHGAEDS
MAAL (	配列番号 110)	1	GRGHEDT

FIG. 17

【 1 8 】

HSAA1 7/L77 (	配列番号 114)	1	NKLLTGLVFC	SYLVGVSSRS	FFSFLGEAFD	GARDNWRAYS	DREANVTGS
HSAA1 ベータ (	配列番号 118)	1	NKLLTSLVFC	SYLVGVSSRS	FFSFLGEAFD	GARDNWRAYS	DREANVTGS
HSAA1 ガンマ (	配列番号 116)	1	NKLLTGLVFC	SYLVGVSSRS	FFSFLGEAFD	GARDNWRAYS	DREANVTGS
HSAA1 7/L77 (	配列番号 114)	51	DKYFHARGNY	DAAKGPGGV	WAAEAISDAR	ENLORFFGKG	AEDSLAQQA
HSAA1 ベータ (	配列番号 118)	51	DKYFHARGNY	DAAKGPGGV	WAAEVISDAS	ENLORFFGKG	AEDSLAQQA
HSAA1 ガンマ (	配列番号 116)	51	DKYFHARGNY	DAAKGPGGV	WAAEAISDAR	ENLORFFGKG	AEDSLAQQA
HSAA1 7/L77 (	配列番号 114)	101	NEWGSGKDP	NHFRPAGLPE	KY		
HSAA1 ベータ (	配列番号 118)	101	NEWGSGKDP	NHFRPAGLPE	KY		
HSAA1 ガンマ (	配列番号 116)	101	NEWGSGKDP	NHFRPAGLPE	KY		

FIG. 18

【 図 1 9 】

HSAA27ル77 (配列番号 114)	1	ELLITGLVFC SLVLSVSSSS FFSFLGDAFD GARDWRANS DREANVYGS
HSAA2ベータ (配列番号 115)	1	ELLITGLVFC SLVLSVSSSS FFSFLGDAFD GARDWRANS DREANVYGS
HSAA27ル77 (配列番号 114)	51	DKYFHAGSY DAARGPOGA MAARVSNAN ENICORFUSG AERGLADDA
HSAA2ベータ (配列番号 115)	51	DKYFHAGSY DAARGPOGA MAARVSNAN ENICORFUSG AERGLADDA
HSAA27ル77 (配列番号 114)	101	NKOGRGDDP NHFRPAOLDE KY
HSAA2ベータ (配列番号 115)	101	NKOGRGDDP NHFRPAOLDE KY

FIG. 19

【 図 2 0 】

ヒト (配列番号 119) : RSFFSFLGEA	10	20	30	40
マウス (配列番号 120) : G FFSFLGEA	FGAGDMWEA	FGAGDMWEA	YSDMREANYI	GSDKYFHARG
シャレーイ (配列番号 121) : E WVSFVGEA	FGAGDMWEA	FGAGDMWEA	YSDMREANYK	DDSKYFHARG
				NSDKYFHARG
ヒト (配列番号 119) : NYDAAGQPG	50	60	70	80
マウス (配列番号 120) : NYDAAGQPG	GYNAARAIKD	GYNAARAIKD	ARENTQRFYG	HGAERTIALQ
シャレーイ (配列番号 121) : NYDAAGQPG	GYNAARAIKD	GYNAARAIKD	ARENTQRFYG	KGHETHALQ
				HGAERTIALQ
<u>ITDLEPFG</u>				
ヒト (配列番号 119) : ANENGGRSK	90	100	104	
マウス (配列番号 120) : ENHGRGRSK	DNHFRPAGL	DNHFRPAGL	PKY	
シャレーイ (配列番号 121) : ANENG	DNHFRPGL	DNHFRPGL	PAKY	

FIG. 20

【 図 2 1 】

Kp1a (配列番号 123)	0	1	2	3	4	5
Kp1b (配列番号 124)	1	DIQVQSPST	ISASVHERVT	ITCRASQST*	****SGLA	HYQKQGHAP
Kp1c (配列番号 125)	1	S	Q..D..	NY..N	D..N..	K..D..
Kp1d (配列番号 126)	1	S	G..	RND..G	R..A..	D..
Kp1e (配列番号 127)	1	S	G..	NY..F..	S..A..	D..
Kp1f (配列番号 128)	1	S	G..	NY..F..	S..A..	D..
Kp1g (配列番号 129)	1	S	G..	NY..F..	S..A..	D..
Kp1h (配列番号 130)	1	S	G..	NY..F..	S..A..	D..
Kp1i (配列番号 131)	1	S	G..	NY..F..	S..A..	D..
Kp1j (配列番号 132)	1	S	G..	NY..F..	S..A..	D..
Kp1k (配列番号 133)	1	S	G..	NY..F..	S..A..	D..
Kp1l (配列番号 134)	1	S	G..	NY..F..	S..A..	D..
Kp1m (配列番号 135)	1	S	G..	NY..F..	S..A..	D..
Kp1n (配列番号 136)	1	S	G..	NY..F..	S..A..	D..
Kp1o (配列番号 137)	1	S	G..	NY..F..	S..A..	D..

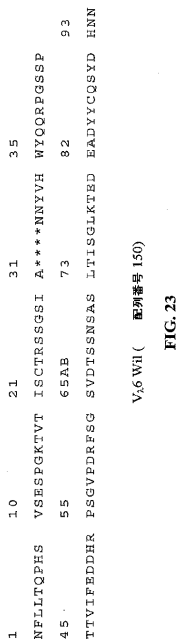
FIG. 21

【 図 2 2 】

lm1a (配列番号 138)	0	1	2	3	4	5
lm1b (配列番号 139)	1	QSVLTPFS*	VSAAPQAVT	ISGSSSNI	G****NNYS	WYQQLGTPAF
lm1c (配列番号 140)	1	V	A.GT..R..	T.....	S..Y..	R..Q..
lm1d (配列番号 141)	1	V	A.GT..R..	T.....	S..Y..	R..Q..
lm1e (配列番号 142)	1	V	A.GT..R..	T.....	S..Y..	R..Q..
lm1f (配列番号 143)	1	V	A.GT..R..	T.....	S..Y..	R..Q..
lm1g (配列番号 144)	1	V	A.GT..R..	T.....	S..Y..	R..Q..
lm1h (配列番号 145)	1	V	A.GT..R..	T.....	S..Y..	R..Q..
lm1i (配列番号 146)	1	V	A.GT..R..	T.....	S..Y..	R..Q..
lm1j (配列番号 147)	1	V	A.GT..R..	T.....	S..Y..	R..Q..
lm1k (配列番号 148)	1	V	A.GT..R..	T.....	S..Y..	R..Q..
lm1l (配列番号 149)	1	V	A.GT..R..	T.....	S..Y..	R..Q..

FIG. 22

【 図 2 3 】

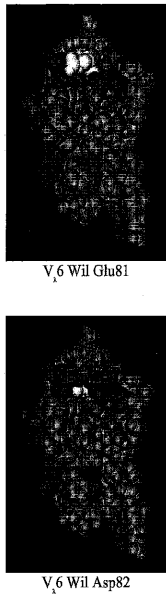


【 図 2 4 】



FIG. 24

【 図 2 5 】



【 図 2 6 】

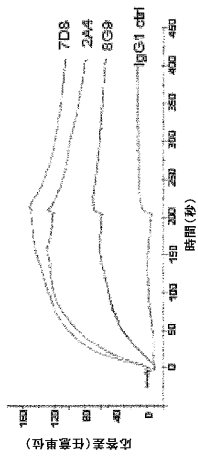


FIG. 26

【図 27】

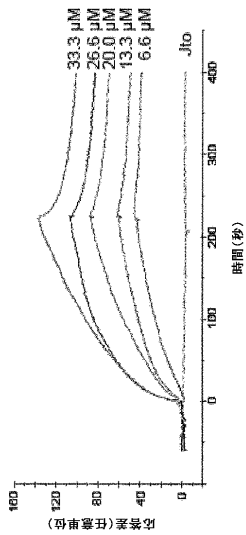


FIG. 27

【図 28】

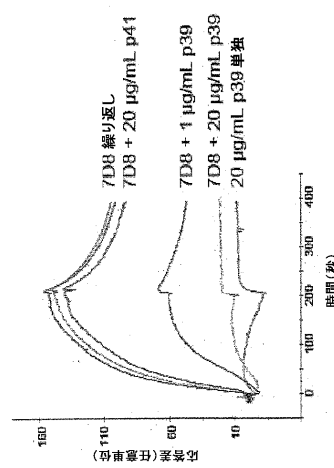


FIG. 28

【図 29】

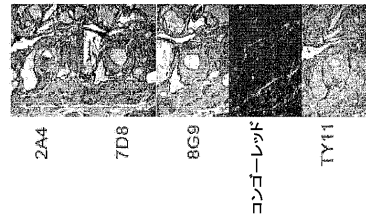


FIG. 29

【図 30】

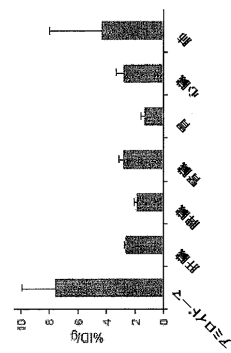


FIG. 30

【図 32】

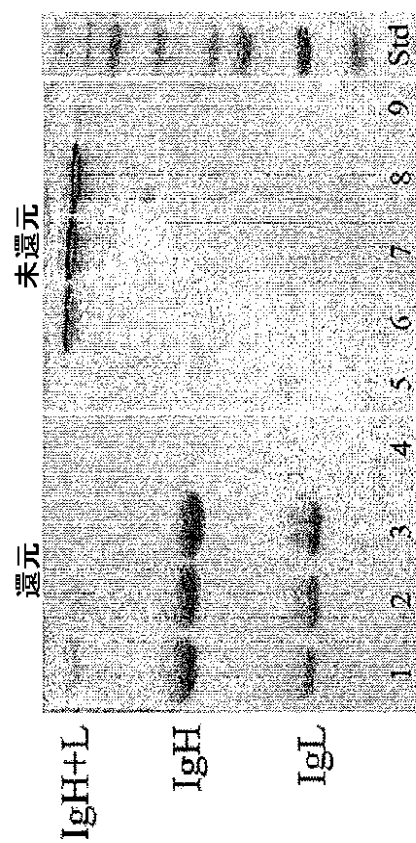


FIG. 32

【図 31】

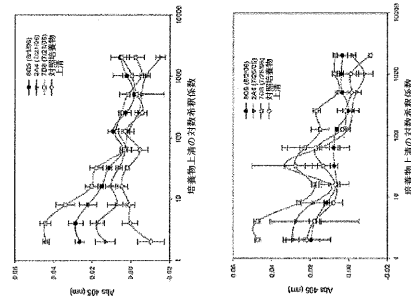


FIG. 31

【 図 3 3 】

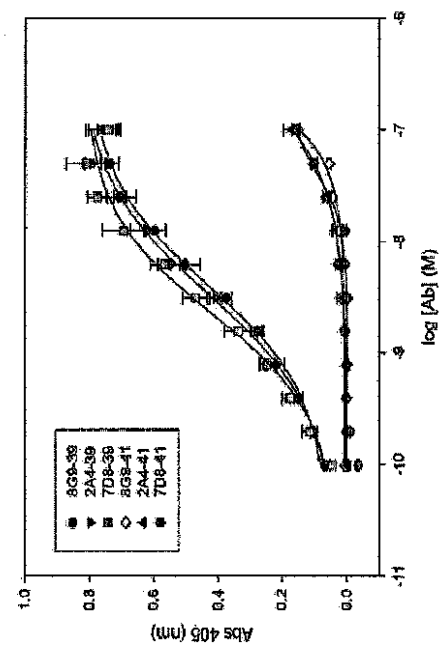


FIG. 33

【 図 3 4 】

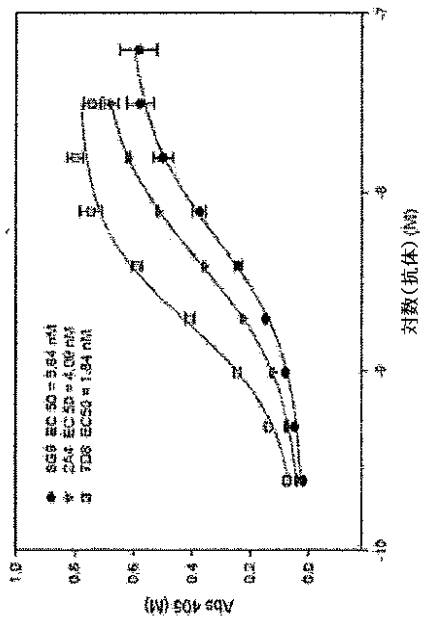


FIG. 34

【 図 3 5 】

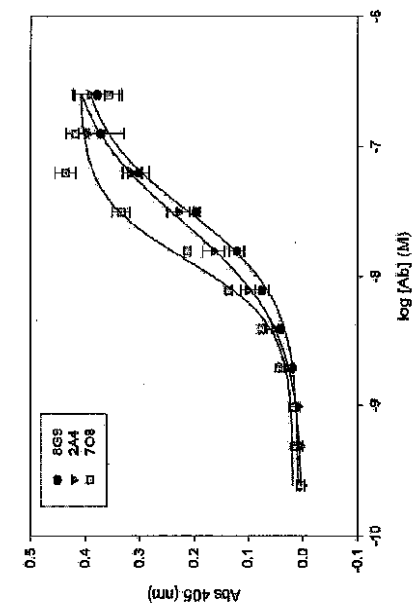


FIG. 35

【 図 3 6 A 】

772AVL(2A4 #468G9)
MKLPVRLVLMENVPASSSDVVMQTPLSLPVLGDQASICRSSLSLVHSTGNTLYHWYLOKPGQSPKLLIYKYSNRESGVDPDFSGS
GSGTYFLTKISKVEAEDLGVPFCSTHVPETFGGKLEIK (配列番号 152)
772AVL(7D8)
MKLPVRLVLMENVPASSSDVVMQTPLSLPVLGDQASICRSSLSLVHSTGNTLYHWYLOKPGQSPKLLIYKYSNRESGVDPDFSGS
GSGTYFLTKISKVEAEDLGVPFCSTHVPETFGGKLEIK (配列番号 153)
772AVH(2A4, 7D8, 8G9)
MVLGLKAWFPAVYEQGHCEVOLVESGRIVQPKSLKSCAASGTFENTYAMYWIRQARKGLEWVARRSKSNNTAITYADSYK
DRFTFDDSQSMLYLQNNNLKTEDTANTYCYRPSISEALYWGQILVTYSA (配列番号 154)

FIG. 3.6A

【 3 6 B 】

Hum2A4 VLバージョン1
DVVMTQSPSLPVTPTGEPASISCRSSQSLVHSTGNTYLHWYLQKFGQSPQLLIYKYSNRFSGVPDRFSGSGGTyFTLKISRVEAEDVGV
YFCSQSTHVPTFGGGTKVEIK (配列番号 155)

Hum2A4 VLバージョン2
DVVMTQSPSLPVTPTGEPASISCRSSQSLVHSTGNTYLHWYLQKFGQSPQLLIYKYSNRFSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGV
YFCSQSTHVPTFGGGTKVEIK (配列番号 156)

Hum2A4 VLバージョン3
DVVMTQSPSLPVTPTGEPASISCRSSQSLVHSTGNTYLHWYLQKFGQSPQLLIYKYSNRFSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGV
YFCSQSTHVPTFGGGTKVEIK (配列番号 157)

FIG. 36B

【 3 6 D 】

フレームワークVL Gen Bankアクセション番号 BAC01562
DVVMTQSPSLPVTPTGEPASISCRSSQSLHNSNGNYLDWYLQKFGQSPQLLIYLGSNRAGVDPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGV
YYCMQALQTLPTFGGGTKVEIK (配列番号 166)

フレームワークVL Gen Bankアクセション番号 BAC01733
MKYLLPTAAAGLLILAAOPAMADVMMTQSPSLPVTPTGEPASISCRSSQSLHNSNGNYLDWYLQKFGQSPQLLIYLGSNRAGVDPDR
FSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTLPTFGGGTKVEIKRYAAPSVEIFFPSDEQLKSGTASVYCLLNINFPREAKVQWKV
DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECARQSTIPVCEYQGQSSDLPPPVN
AGGSGGGSG (配列番号 167)

FIG. 36D

【 3 6 C 】

Hum7D8 VLバージョン1
DVVMTQSPSLPVTPTGEPASISCRSSLSLVHSTGNTYLHWYLQKFGQSPQLLIYKYSNRFSGVPDRFSGSGGTyFTLKISRVEAEDVGV
YFCSQSTHVPTFGGGTKLEIK (配列番号 158)

Hum7D8 VLバージョン2
DVVMTQSPSLPVTPTGEPASISCRSSLSLVHSTGNTYLHWYLQKFGQSPQLLIYKYSNRFSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGV
YFCSQSTHVPTFGGGTKLEIK (配列番号 159)

Hum7D8 VLバージョン3
DVVMTQSPSLPVTPTGEPASISCRSSLSLVHSTGNTYLHWYLQKFGQSPQLLIYKYSNRFSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGV
YFCSQSTHVPTFGGGTKLEIK (配列番号 160)

Hum7D8 VLバージョン4
DVVMTQSPSLPVTPTGEPASISCRSSLSLVHSTGNTYLHWYLQKFGQSPQLLIYKYSNRFSGVPDRFSGSGGTyFTLKISRVEAEDVGV
YFCSQSTHVPTFGGGTKLEIK (配列番号 174)

Hum7D8 VLバージョン5
DVVMTQSPSLPVTPTGEPASISCRSSLSLVHSTGNTYLHWYLQKFGQSPQLLIYKYSNRFSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGV
YFCSQSTHVPTFGGGTKLEIK (配列番号 175)

Hum7D8 VLバージョン6
DVVMTQSPSLPVTPTGEPASISCRSSLSLVHSTGNTYLHWYLQKFGQSPQLLIYKYSNRFSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGV
YFCSQSTHVPTFGGGTKLEIK (配列番号 176)

FIG. 36C

【 3 6 E 】

Hum2A4/7D8/8G9 VHバージョン1
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLAAASGFTFNTYAMYWIROAPGKGLEWVAVIRSKSNYYAIYYADSVKDRFTIRDDSKNSLYLQMNSL
KTIEDTAVYYCARPYSDSFAYWGQGLTVTS (配列番号 161)

Hum2A4/7D8/8G9 VHバージョン2
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLAAASGFTFNTYAMYWIROAPGKGLEWVAVIRSKSNYYAIYYADSVKDRFTIRDDSKNSLYLQMNSL
KTIEDTAVYYCARPYSDSFAYWGQGLTVTS (配列番号 162)

Hum2A4/7D8/8G9 VHバージョン3
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLAAASGFTFNTYAMYWIROAPGKGLEWVAVIRSKSNYYAIYYADSVKDRFTIRDDSKNSLYLQMNSL
KTIEDTAVYYCARPYSDSFAYWGQGLTVTS (配列番号 163)

2A4 3G9 7D8 H chain pro (マウス2A4 VH)
EVQLVESGRLVQPGGSLRLSCLAAASGFTFNTYAMYWIROAPGKGLEWVAVIRSKSNYYAIYYADSVKDRFTIRDDSKNSLYLQMN
LKTEDTAMYYCVRPYSDFAYWGQGLTVTSA (配列番号 164)

フレームワークVH Gen Bankアクセション番号 AAC51024
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLAAASGFTFSDHYNDWVRQAPGKGLEWVGRTRNKANSYTYEAAASVKGRTISRDDSKNSLYLQMN
SLKTIEDTAVYYCARYVVGATLDYWGGQGLTVTS (配列番号 165)

FIG. 36E

【配列表】

2011510913000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 08/88493

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - C12P 21/08 (2009.01) USPC - 530/387.9, 530/388.85 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8) - C12P 21/08 (2009.01) USPC - 530/387.9, 530/388.85 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched IPC(8) - C12P 21/08 (2009.01) - see keyword below USPC - 530/387.9, 530/388.85 - see keyword below Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST(USPT,PGPB,EPAB,JPAB); Medline, Google Search terms: amyloid A, epitope, antibody, GHGAEDS, AEDS, human, humanized, chimeric, AA amyloidosis, fibril, deposition, rheumatoid, arthritis, juvenile, ankylosing, radiolabel, I-125, NMR, SPECT/CT, treating, preventing, administering, inhibit, clearing		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2007/0178504 A1 (COLPITTS et al.) 02 August 2007 (02.08.2007), para [0113], [0118], [0140], [0253], and [0379]	1-3, 5, 35-36, 44-45, 56-67, 75-81
Y	MALLE et al. "Mapping of antigenic determinants of purified, lipid-free human serum amyloid A proteins". Scand. J. Immunol.; 1998; Vol. 48; p.557-561. Abstract; and pg 559, Fig 1-B	1-3, 5, 35-36, 44-45, 56-67, 75-81, 89-90
Y	US 2005/0038117 A1 (KONG et al.) 17 February 2005 (17.02.2005), para [0006], [0018], [0083], [0090], [0099], [0100], [0105], [0116], [0146], [0153], [0302], [0323], [0328], [0392], and [0454]	58-67, 89-90
Y	US 2007/0003552 A1 (GEBBINK et al.) 04 January 2007 (04.01.2007), para [0039], [0045], [0075], [0094], [0100], [0106], [0228], [0294], and [0328]	75-81
Y	US 2004/0223912 A1 (MONTALTO et al.) 11 November 2004 (11.11.2004), para [0009], and [0023]	80
A	US 6,375,949 B1 (HIRANO et al.) 23 April 2002 (23.04.2002)	1-3, 5, 35-36, 44-45, 56-67, 75-81, 89-90
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐		
* 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 application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "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 14 July 2009 (14.07.2009)		Date of mailing of the international search report 23 JUL 2009
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

international application no.

PCT/US 08/88493

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

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

a. type of material



a sequence listing



table(s) related to the sequence listing

b. format of material



on paper



in electronic form

c. time of filing/furnishing



contained in the international application as filed



filed together with the international application in electronic form



furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

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

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application no.

PCT/US 08/88493

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 4, 6, 8-34, 68-74 and 82-88
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
Claims 4, 6, 8-34, 68-74 and 82-88 are unsearchable because they do not comply with Rule 6.3 requiring claims to be specific as to the invention for which protection is being sought. In particular, the claims are directed to an ATCC deposit number, but fail to supply said number.

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

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

Group I: Claims 1-3, 5, 35, 36, 44, 45, 56-67, 75-81, 89 and 90, directed to an antibody that binds to an epitope within residues 70-76 of human amyloid A, uses of said antibody, and methods of producing said antibody; wherein the binding epitope is limited to residues 70-76 of SEQ ID NO: 2, (which also comprises SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6 and SEQ ID NO: 10).
Group II: claims 1 and 3 directed to an antibody that binds to an epitope within residues 70-76 of human amyloid A, wherein said epitope comprises SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 or, SEQ ID NO: 11; limited to wherein the epitope comprises SEQ ID NO: 5.
Group III: claims 1, 5, and 7, directed to an antibody that binds to an epitope within residues 70-76 of human amyloid A, wherein the antibody is limited to a light chain sequence represented by residues 20-131 of SEQ ID NO: 152, or SEQ ID NO: 153, and a heavy chain sequence represented by residues 20-138 of SEQ ID NO: 154.

- Please see extra sheet for continuation -

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-3, 5, 35, 36, 44, 45, 56-67, 75-81, 89 and 90

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application no.

PCT/US 08/88493

Continuation of Box III: Lack of Unity of Invention -

Group IV: claims 35-39, 44, and 46-57, directed to an antibody that binds to an epitope comprising the sequence: X.sub.1EDX.sub.2 in an aggregated amyloid protein, wherein X.sub.1 is H, T, F, S, P, A, L, C, Q, R, E, K, D, G, V, Y, I, or W, and wherein X.sub.2 is T, S, E, R, I, V, F, D, A, G, M, L, N, P, C, K, Y, or Q, excepting wherein X.sub.1 is A and X.sub.2 is S, wherein X.sub.1 is T and X.sub.2 is E, wherein X.sub.1 is F and X.sub.2 is D, wherein X.sub.1 is S and X.sub.2 is E, F or A, or wherein X.sub.1 is P and X.sub.2 is E, I or F; further wherein the epitope is limited to wherein X.sub.1 is H and X.sub.2 is T, as in SEQ ID NO: 3, or SEQ ID NO: 9).

Group V: claims 35-37 and 40, directed to an antibody that binds to an epitope comprising the sequence: X.sub.1EDX.sub.2 in an aggregated amyloid protein, X.sub.1 is T, and X.sub.2 is E.

Group VI: claims 25-37 and 41, directed to an antibody that binds to an epitope comprising the sequence: X.sub.1EDX.sub.2 in an aggregated amyloid protein, X.sub.1 is F and X.sub.2 is D.

Group VII: claims 35-37 and 42, directed to an antibody that binds to an epitope comprising the sequence: X.sub.1EDX.sub.2 in an aggregated amyloid protein, X.sub.1 is S and X.sub.2 is E, F, or A.

Group VIII: claims 35-37 and 43, directed to an antibody that binds to an epitope comprising the sequence: X.sub.1EDX.sub.2 in an aggregated amyloid protein, X.sub.1 is P and X.sub.2 is E, I or F.

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

The special technical feature of the Group I claims is an antibody that binds to an epitope within residues 70-76 of human amyloid A, uses of said antibody, and methods of producing said antibody; wherein the binding epitope is limited to residues 70-76 of SEQ ID NO: 2. The special technical feature of the Group II claims is an antibody that binds to an epitope within residues 70-76 of human amyloid A, wherein said epitope comprises SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 or, SEQ ID NO: 11; limited to wherein the epitope comprises SEQ ID NO: 4. The special technical feature of the Group III claims is an antibody that binds to an epitope within residues 70-76 of human amyloid A, wherein the antibody is limited to a light chain sequence represented by residues 20-131 of SEQ ID NO: 152, or SEQ ID NO: 153, and a heavy chain sequence represented by residues 20-138 of SEQ ID NO: 154. The special technical feature of the Group IV claims is an antibody that binds to an epitope comprising the sequence: X.sub.1EDX.sub.2 in an aggregated amyloid protein, wherein the epitope is limited to wherein X.sub.1 is H and X.sub.2 is T, as in SEQ ID NO: 3, or SEQ ID NO: 9. The special technical feature of the Group V claims is an antibody that binds to an epitope comprising the sequence: X.sub.1EDX.sub.2 in an aggregated amyloid protein, X.sub.1 is T, and X.sub.2 is E. The special technical feature of the Group VI claims is an antibody that binds to an epitope comprising the sequence: X.sub.1EDX.sub.2 in an aggregated amyloid protein, X.sub.1 is F and X.sub.2 is D. The special technical feature of the Group VII claims is an antibody that binds to an epitope comprising the sequence: X.sub.1EDX.sub.2 in an aggregated amyloid protein, X.sub.1 is S and X.sub.2 is E, F, or A. The special technical feature of the Group VIII claims is an antibody that binds to an epitope comprising the sequence: X.sub.1EDX.sub.2 in an aggregated amyloid protein, X.sub.1 is P and X.sub.2 is E, I or F.

The only common technical element shared by the above groups is that they are related to antibodies to amyloid proteins. This common technical element does not represent an improvement over the prior art of the article entitled "Quantification and mapping of antigenic determinants of serum amyloid A (SAA) protein utilizing sequence-specific immunoglobulins and Eu.sup.3+ as a specific probe for time-resolved fluorometric immunoassay" by Malle et al. (see abstract). Therefore, the inventions of Groups I-VIII lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

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 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P 29/00 1 0 1	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 31/08 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 31/06 (2006.01)	A 6 1 P 31/08	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/06	
A 6 1 P 17/02 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 17/02	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 K 51/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	A 6 1 K 49/02 C	
	G 0 1 N 33/53 D	
	C 1 2 P 21/08	

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

(72)発明者 シェンク , デール ビー .
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 1 0 , バーリンゲーム , ロス アルトス ドライブ
 1 5 4 2
 (72)発明者 シューバート , ピーター エー .
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 1 4 , サンフランシスコ , カストロ ストリート
 8 0 1
 (72)発明者 ウォール , ジョナサン
 アメリカ合衆国 テネシー 3 7 9 2 2 , ノックスビル , ハーリントン ドライブ 1 2 1 6
 (72)発明者 サルダナー , ホセ
 イギリス国 イーエヌ 1 - 3 ビーディー ミドルセックス , エンフィールド , ファイレブルック
 アベニュー 2 1

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA53 CA04 DA02 EA04 FA02 HA03
 4B064 AG27 CA10 CA19 CA20 DA01 DA13
 4C085 AA13 AA14 AA16 BB11 DD61 EE01 HH03 KA04 KA05 KA29
 KB18
 4H045 AA11 AA30 BA40 CA40 DA76 EA20 EA50 FA72 FA74

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2011510913A5	公开(公告)日	2012-04-12
申请号	JP2010540936	申请日	2008-12-29
[标]申请(专利权)人(译)	伊兰制药公司		
申请(专利权)人(译)	伊兰制药公司		
[标]发明人	シェンクデールビー シューバートピーターエー ウォールジョナサン サルダナーホセ		
发明人	シェンク, デール ビー. シューバート, ピーター エー. ウォール, ジョナサン サルダナー, ホセ		
IPC分类号	C07K16/46 C07K16/18 C12N15/09 A61K39/395 A61P19/02 A61P29/00 A61P17/06 A61P1/04 A61P31/08 A61P31/06 A61P11/00 A61P17/02 A61P13/12 A61P35/00 A61P35/02 A61P25/00 A61K51/00 G01N33/53 C12P21/08		
CPC分类号	A61K51/1018 A61K2039/505 A61P1/04 A61P11/00 A61P13/12 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/00 A61P19/02 A61P19/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/06 A61P31/08 A61P35/00 A61P35/02 C07K16/18 C07K2317/24 C07K2317/32 C07K2317/34 Y10S530/809 A61K39/0008 A61K49/00 A61K49/16 C07K2317/52 C07K2317/56 C07K2317/565 C07K2317/567 C07K2317/92		
FI分类号	C07K16/46.ZNA C07K16/18 C12N15/00.A A61K39/395.D A61K39/395.N A61P19/02 A61P29/00.101 A61P17/06 A61P1/04 A61P31/08 A61P31/06 A61P11/00 A61P17/02 A61P13/12 A61P35/00 A61P35/02 A61P25/00 A61P29/00 A61K49/02.C G01N33/53.D C12P21/08		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA53 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/HA03 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/DA01 4B064/DA13 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB11 4C085/DD61 4C085/EE01 4C085/HH03 4C085/KA04 4C085/KA05 4C085/KA29 4C085/KB18 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA40 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	61/007544 2007-12-28 US 61/095932 2008-09-10 US		
其他公开文献	JP5730020B2 JP2011510913A		

摘要(译)

用于预防或治疗淀粉样变性，包括AA淀粉样变性和AL淀粉样变性的方法，通过施用包含新表位的肽，例如来自AA的C末端区域的AA片段，和对聚集的淀粉样蛋白的新表位具有特异性的抗体，例如抗体特异于AA原纤维的C末端区域。用于抑制患者中淀粉样沉积物形成和/或增加其清除的抗体，从而实现预防或治疗淀粉样蛋白病。

