

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4769722号
(P4769722)

(45) 発行日 平成23年9月7日 (2011.9.7)

(24) 登録日 平成23年6月24日 (2011.6.24)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D
GO 1 N 33/577 (2006.01)	GO 1 N 33/577 B
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08
CO 7 K 16/18 (2006.01)	CO 7 K 16/18

請求項の数 47 (全 66 頁)

(21) 出願番号	特願2006-530173 (P2006-530173)	(73) 特許権者	399044160 イノジェネティックス・ナムローゼ・フェ ンノートシャップ I N N O G E N E T I C S N. V. ベルギー、ペー 9 0 5 2 ヘント、テヒノ ロギーパルク 6 番
(86) (22) 出願日	平成16年5月3日 (2004.5.3)	(74) 代理人	100081422 弁理士 田中 光雄
(65) 公表番号	特表2007-522434 (P2007-522434A)	(74) 代理人	100116311 弁理士 元山 忠行
(43) 公表日	平成19年8月9日 (2007.8.9)	(74) 代理人	100122301 弁理士 富田 憲史
(86) 国際出願番号	PCT/EP2004/050684	(72) 発明者	フーゴ・ファンダースティヘレ ベルギー、ペー 9 0 0 0 ヘント、タイン ウェイクラーン 4 3 番
(87) 国際公開番号	W02004/104597		
(87) 国際公開日	平成16年12月2日 (2004.12.2)		
審査請求日	平成18年12月6日 (2006.12.6)		
(31) 優先権主張番号	03447120.1		
(32) 優先日	平成15年5月22日 (2003.5.22)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		
(31) 優先権主張番号	60/477,621		
(32) 優先日	平成15年6月11日 (2003.6.11)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アルツハイマー病の予測、診断および鑑別診断のための方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被験体が A D を発現する可能性を有するかどうかを試験する方法であって、以下の工程

：
(a) 前記被験体から得られる体液サンプルにおいて、比 x/y を決定することであって、ここで：

・ x は、A β ペプチドの第 1 アミノ酸 (D；アスパラギン酸)、第 2 アミノ酸 (A；アラニン)、および／または第 3 アミノ酸 (E；グルタミン酸) を含有する A β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な A β ペプチドのレベルであり；

・ y は、A β ペプチドの第 1 アミノ酸 (D；アスパラギン酸)、第 2 アミノ酸 (A；アラニン)、および／または第 3 アミノ酸 (E；グルタミン酸) を含有しない A β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な A β ペプチドのレベルである；

(b) (a) において得られる比 x/y と、サンプリング時に A D の臨床徴候を示さずかつ後に A D を発現した被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された x/y 比の範囲、およびサンプリング時に A D の臨床徴候を示さずかつ A D を発現しなかった被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された x/y 比の範囲とを比較すること；ここで、サンプリング時に A D の臨床徴候を示さずかつ後に A D を発現した被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比 x/y は、前記被験体

がADを発現する可能性を有することを示し；および、サンプリング時にADの臨床徴候を示さずかつADを発現しなかった被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比 x/y は、前記被験体がADを発現する可能性を有さないことを示す、ことを含む、方法。

【請求項2】

被験体が記憶障害の個体であることをさらに特徴とする、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

記憶障害の個体がMCIを患っていることをさらに特徴とする、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

被験体におけるADの有無および／またはDLBなどの別の認知症の有無を試験する方法であって、以下の工程：

(a) 前記被験体から得られる体液サンプルにおいて、比 x/y を決定することであって、ここで：

- ・ x は、A β ペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)、第2アミノ酸(A；アラニン)、および／または第3アミノ酸(E；グルタミン酸)を含有するA β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルであり；

- ・ y は、A β ペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)、第2アミノ酸(A；アラニン)、および／または第3アミノ酸(E；グルタミン酸)を含有しないA β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルである；

(b) (a)において得られる比 x/y と、ADを患っているとして診断された被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された x/y 比の範囲、コントロール被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された x/y 比の範囲、およびDLBなどの別の認知症を患っているとして診断された被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された x/y 比の範囲とを比較すること；ここで、ADを患っているとして診断された被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比 x/y は、前記被験体がADを患っていることを示し；コントロール被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比 x/y は、前記被験体がADを患っていないことを示し；および、DLBなどの別の認知症を患っているとして診断された被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比 x/y は、前記被験体がDLBなどの別の認知症を患っていることを示す、ことを含む、方法。

【請求項5】

x がA β ペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)、第2アミノ酸(A；アラニン)、および／または第3アミノ酸(E；グルタミン酸)を含有するA β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β_{42} ペプチドあるいはA β_{43} ペプチドのレベルであり、 y がA β ペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)、第2アミノ酸(A；アラニン)、および／または第3アミノ酸(E；グルタミン酸)を含有しないA β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β_{42} ペプチドあるいはA β_{43} ペプチドのレベルであることをさらに特徴とする、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項6】

x がA β ペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)を含有するA β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルであることをさらに特徴とする、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

x がモノクローナル抗体3D6、BAN-50、および／または抗N1(D)と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルであることをさらに特徴とする、請求

10

20

30

40

50

項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

y が A β ペプチドの第 1 アミノ酸 (D ; アスパラギン酸) を含有しない A β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な A β ペプチドのレベルであることをさらに特徴とする、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

y が 3 D 6、B A N - 5 0、および／または抗 N 1 (D) エピトープとは異なるエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な A β ペプチドのレベルであることをさらに特徴とする、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

y がモノクローナル抗体 4 G 8、モノクローナル抗体 6 E 1 0 および／またはモノクローナル抗体 1 0 H 3 と免疫複合体を形成することが可能な A β ペプチドのレベルであることをさらに特徴とする、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

x が A β _(1 - C) ペプチドのレベルであり、y が A β _(N - C) ペプチドのレベルであることをさらに特徴とする、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

x が A β _(1 - 4 2) および／または A β _(1 - 4 3) ペプチドのレベルであり、y が A β _(N - 4 2) および／または A β _(N - 4 3) ペプチドのレベルであることをさらに特徴とする、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

x が A β _(1 - 4 2) ペプチドのレベルであり、y が A β _(N - 4 2) ペプチドのレベルであることをさらに特徴とする、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

x が A β _(1 - C) ペプチドのレベルであり、y が A β _(1 1 - C) ペプチドのレベルであることをさらに特徴とする、請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

x が A β _(1 - 4 2) および／または A β _(1 - 4 3) ペプチドのレベルであり、y が A β _(1 1 - 4 2) および／または A β _(1 1 - 4 3) ペプチドのレベルであることをさらに特徴とする、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

x が A β _(1 - 4 2) ペプチドのレベルであり、y が A β _(1 1 - 4 2) ペプチドのレベルであることをさらに特徴とする、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

体液サンプルが脳脊髄液サンプルまたは血漿もしくは血清サンプルであることをさらに特徴とする、請求項 1 ～ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

A D を発現する可能性を有する被験体または A D を患っているとして診断される被験体のための治療の効果をモニターするための、請求項 1 ～ 17 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

比 x / y が、A β ペプチドの第 1 アミノ酸 (D ; アスパラギン酸)、第 2 アミノ酸 (A ; アラニン)、および／または第 3 アミノ酸 (E ; グルタミン酸) を含有する A β ペプチドのエピトープを特異的に認識する第 1 の抗体ならびに A β ペプチドの第 1 アミノ酸 (D ; アスパラギン酸)、第 2 アミノ酸 (A ; アラニン)、および／または第 3 アミノ酸 (E ; グルタミン酸) を含有しない A β ペプチドのエピトープを認識する第 2 の抗体を免疫学的に利用して決定されることをさらに特徴とする、請求項 1 ～ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

被験体が A D を発現する可能性を有するかどうかを決定することにおける使用のため、

10

20

30

40

50

A Dを患っている被験体の診断のため、ならびに／あるいはA Dを患っている被験体対D L Bなどの別の認知症を患っている被験体の鑑別診断のために、少なくとも、A βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有するA βペプチドのエピトープを特異的に認識する第1の抗体ならびにA βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有しないA βペプチドのエピトープを認識する第2の抗体を含んでなる抗体の組。

【請求項21】

被験体がA Dを発現する可能性を有するかどうかを決定するため、A Dを患っている被験体の診断のため、ならびに／あるいはA Dを患っている被験体対D L Bなどの別の認知症を患っている被験体の鑑別診断のための診断キットであって、A βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有するA βペプチドのエピトープを特異的に認識する第1の抗体ならびにA βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有しないA βペプチドのエピトープを認識する第2の抗体を含んでなる、キット。

【請求項22】

異なるA βペプチドのレベルの同時検出のためのマルチパラメータアッセイにて使用される、請求項21に記載の診断キット。

【請求項23】

マルチパラメータアッセイがx M a p^{T M}技術を使用する、請求項22に記載の診断キット。

【請求項24】

第1の抗体が、A βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有するA βペプチドのエピトープを特異的に認識する、請求項19に記載の方法。

【請求項25】

第1の抗体がモノクローナル抗体3 D 6、B A N－5 0または抗N 1（D）であることをさらに特徴とする、請求項19に記載の方法。

【請求項26】

第2の抗体が、A βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有しないA βペプチドのエピトープを認識する、請求項19に記載の方法。

【請求項27】

第1の抗体が、A βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有するA βペプチドのエピトープを特異的に認識し、第2の抗体が、A βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有しないA βペプチドのエピトープを認識する、請求項19に記載の方法。

【請求項28】

第1の抗体がモノクローナル抗体3 D 6、B A N－5 0、または抗N 1（D）であり、第2の抗体は、A βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有しないA βペプチドのエピトープを認識することをさらに特徴とする、請求項19に記載の方法。

【請求項29】

第2の抗体が、3 D 6、B A N－5 0、および／または抗N 1（D）エピトープとは異なるA βペプチドのエピトープを認識することをさらに特徴とする、請求項19に記載の方法。

【請求項30】

第1の抗体が、A βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有するA βペプチドのエピトープを特異的に認識し、第2の抗体が、3 D 6、B A N－5 0、および／または抗N 1（D）エピトープとは異なるA βペプチドのエピトープを認識することをさらに特徴とする、請求項19に記載の方法。

【請求項31】

第1の抗体がモノクローナル抗体3D6、BAN-50、または抗N1(D)であり、第2の抗体が、3D6、BAN-50、および／または抗N1(D)エピトープとは異なるAβペプチドのエピトープを認識することをさらに特徴とする、請求項19に記載の方法。

【請求項32】

第1の抗体が、Aβペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)を含有するAβペプチドのエピトープを特異的に認識する、請求項20に記載の抗体の組。

【請求項33】

第1の抗体がモノクローナル抗体3D6、BAN-50または抗N1(D)であることをさらに特徴とする、請求項20に記載の抗体の組。

10

【請求項34】

第2の抗体が、Aβペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)を含有しないAβペプチドのエピトープを認識する、請求項20に記載の抗体の組。

【請求項35】

第1の抗体が、Aβペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)を含有するAβペプチドのエピトープを特異的に認識し、第2の抗体が、Aβペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)を含有しないAβペプチドのエピトープを認識する、請求項20に記載の抗体の組。

【請求項36】

第1の抗体がモノクローナル抗体3D6、BAN-50、または抗N1(D)であり、第2の抗体は、Aβペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)を含有しないAβペプチドのエピトープを認識することをさらに特徴とする、請求項20に記載の抗体の組。

20

【請求項37】

第2の抗体が、3D6、BAN-50、および／または抗N1(D)エピトープとは異なるAβペプチドのエピトープを認識することをさらに特徴とする、請求項20に記載の抗体の組。

【請求項38】

第1の抗体が、Aβペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)を含有するAβペプチドのエピトープを特異的に認識し、第2の抗体が、3D6、BAN-50、および／または抗N1(D)エピトープとは異なるAβペプチドのエピトープを認識することをさらに特徴とする、請求項20に記載の抗体の組。

30

【請求項39】

第1の抗体がモノクローナル抗体3D6、BAN-50、または抗N1(D)であり、第2の抗体が、3D6、BAN-50、および／または抗N1(D)エピトープとは異なるAβペプチドのエピトープを認識することをさらに特徴とする、請求項20に記載の抗体の組。

【請求項40】

第1の抗体が、Aβペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)を含有するAβペプチドのエピトープを特異的に認識する、請求項21～23のいずれか一項に記載の診断キット。

40

【請求項41】

第1の抗体がモノクローナル抗体3D6、BAN-50または抗N1(D)であることをさらに特徴とする、請求項21～23のいずれか一項に記載の診断キット。

【請求項42】

第2の抗体が、Aβペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)を含有しないAβペプチドのエピトープを認識する、請求項21～23のいずれか一項に記載の診断キット。

【請求項43】

第1の抗体が、Aβペプチドの第1アミノ酸(D；アスパラギン酸)を含有するAβペプチドのエピトープを特異的に認識し、第2の抗体が、Aβペプチドの第1アミノ酸(D

50

；アスパラギン酸）を含有しないA β ペプチドのエピトープを認識する、請求項21～23のいずれか一項に記載の診断キット。

【請求項44】

第1の抗体がモノクローナル抗体3D6、BAN-50、または抗N1（D）であり、第2の抗体は、A β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有しないA β ペプチドのエピトープを認識することをさらに特徴とする、請求項21～23のいずれか一項に記載の診断キット。

【請求項45】

第2の抗体が、3D6、BAN-50、および／または抗N1（D）エピトープとは異なるA β ペプチドのエピトープを認識することをさらに特徴とする、請求項21～23のいずれか一項に記載の診断キット。

10

【請求項46】

第1の抗体が、A β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有するA β ペプチドのエピトープを特異的に認識し、第2の抗体が、3D6、BAN-50、および／または抗N1（D）エピトープとは異なるA β ペプチドのエピトープを認識することをさらに特徴とする、請求項21～23のいずれか一項に記載の診断キット。

【請求項47】

第1の抗体がモノクローナル抗体3D6、BAN-50、または抗N1（D）であり、第2の抗体が、3D6、BAN-50、および／または抗N1（D）エピトープとは異なるA β ペプチドのエピトープを認識することをさらに特徴とする、請求項21～23のいずれか一項に記載の診断キット。

20

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、アルツハイマー病の予測、診断および鑑別診断に関する。より詳細には、本発明は、アルツハイマー病の任意の臨床徴候を示さない被験体がアルツハイマー病を発現する可能性を有するかどうかを決定するための方法を提供する。本発明は、ADの診断および／またはアルツハイマー病対レビー小体型認知症などの他の認知症の鑑別診断のための方法をさらに提供する。

【0002】

30

背景技術

認知症は、ヘルスケアの利用増加に伴う重大、一般的、かつ迅速に増加している世界規模の問題である。それは、高齢者の罹患率および死亡率の主な予測物である。この症状を生じる100を超える既知の疾患の発生は、年齢、ならびに地理、種族、および民族的な遺伝要因に依存する。認知症は、日常生活の活動のうち以前は問題なく実行できていたことが損なわれる複数の認知能力（記憶力、注意力、判断力など）における慢性的悪化として規定することができる。その臨床プロフィールおよび重症度は、ニューロン消失の合計量だけではなく、基本的病変の特異的局在によっても影響を受ける。認知症の極めて一般的な形態は、アルツハイマー病（40～60%の症例）、レビー小体型認知症（10～20%の症例）、血管性認知症（25%および40%の症例にまでおそらく寄与している）、および前頭側頭型認知症（その有病率については明らかにされていない）である（レーベ（Lowe）ら、2001年；リーズ（Ley）ら、2002年；マックキースら、2002年；ナップマン（Knopman）ら、2002年）。65の年齢を超える33%を超える女性および20%を超える男性が、それらの生涯において認知症または軽度の形態の認知障害を発現するであろう（ヤフェ（Yaffe）およびグレッグ（Gregg）、2002年）。

40

【0003】

アルツハイマー病（AD）（認知症の根源形態および原型）は、様々な基準に従って分類することができる。遺伝的観点からは、疾患を次の2つのタイプに分類することができる。（i）より少ない頻度の遺伝性家族型（すべての遺伝的予測因子が含まれる場合、早

50

発性の＜５％～遅発性の１０～１５％の範囲）、および（i i）明らかな遺伝パターンが確立されていない、はるかにより一般的な散発型。散発形態は、一般に、６５歳の年齢後に出現し、実際には多因性であると考えられる。

【０００４】

A Dの確定診断は、解剖時に認められる新皮質の罹患領域における破壊的に多量の老人斑および神経原線維変化の所見に基づく。広範囲の灰白質萎縮と共に、これらの２つのタイプの異常な構造が疾患の特質である。

【０００５】

神経原線維変化は、神経細胞内に見出されるもつれた糸状物の異常な集積からなる。これらのタングルの主要成分は、タウと呼ばれるタンパク質の異常な凝集である。中枢神経系では、正常なタウタンパク質は、細胞内構造の重要な構成成分である微小管に結合し、安定化させる。しかし、A Dでは、タウは、過剰リン酸化され、それ自体がねじれて対合した対螺旋状フィラメントを形成する。タウの２つの糸状物が相互に巻きつく。これらのフィラメントは凝集して、判定材料となる神経原線維変化を形成する（ゴエデルト（Goedert）１９９６年）。

【０００６】

A Dの第２の特質、老人斑は、概して、様々なニューロンおよびグリアのプロセスによって囲まれるβアミロイド（Aβ）と呼ばれる不溶性ペプチドからなる。この無定形な無細胞性材料は、脳の神経細胞間の空間に見出される。Aβは、主に２つのサイズ、４０（Aβ₄₀）および４２（Aβ₄₂）アミノ酸で、ならびにより少量で、他のサイズで見出される小さなペプチドである（以下を参照のこと）。Aβは、２つの経路に沿って、A P Pのタンパク質切断から代謝される（サイド（Saido）２０００年）ことが公知である。第１の非病理性経路では、セクレターゼ酵素によるA P P分子の切断によって、より短い非アミロイド原性タンパク質（Aβ₃₉またはAβ₄₀）が生じる。第２の疾患関連経路では、A P P切断は、適切に折り畳まれず（misfold）に、プラークを育成するだけでなく、究極的にニューロンの損傷を生じ得る高分子鎖に凝集する傾向がある、より長くかつ潜在的にアミロイド原性のAβ₄₂フラグメントを生じる（セルコエ（Selkoe）１９９１年）。

【０００７】

老人斑コアに見出されるアミロイドは、主にAβ₄₂である（ローヘル（Rohrer）ら、１９９３年；ミラー（Miller）ら、１９９３年）。アミロイド沈着は、正常な加齢脳でも散見されるが、アルツハイマー病の初期および以後の段階では、より多量に増加する。分泌される可溶性のAβは正常な細胞代謝の産物であり、血漿およびC S Fを含む多様な体液において見出される。生物学的液体では、Aβ₄₀およびAβ₄₂が、一般に主なアミロイド種であると考えられる（ソイベルト（Seubert）ら、１９９２年；ショージ（Shoji）ら、１９９２年；ビゴーペルフレイ（Viggo-Pelfrey）ら、１９９３年；イダ（Ida）ら、１９９６年）。しかし、Aβ₄₀およびAβ₄₂に加えて、Aβ_{37/38/39}もまた、A Dおよび正常被験体からのC S Fにおいて見出されている（ウィルトファング（Wiltfang）ら、２００２年）。

【０００８】

N末端は、Aβの最も不均質な部分であり、短縮、ラセミ化および異性化に供される。A Dにおけるアミロイド沈着の主な構成成分としてのAβの発見（グレンナー（Glenner）およびウォング（Wong）１９８４年）から、A D患者のプラークにおいて、異なるN末端短縮型および／または修飾型Aβペプチドが単離されている（マスターズ（Masters）ら、１９８５年；モリ（Mori）ら、１９９２年；ネスルンド（Naslund）ら、１９９４年；サイド（Saido）ら、１９９５年；１９９６年；イワツボ（Iwatsubo）ら、１９９６年；ルッソ（Russo）ら、１９９７年；テキリアン（Tekirian）ら、１９９８年；ラーナー（Larner）、１９９９年；タール（Thal）ら、１９９９年；ハリガヤ（Harigaya）ら、２０００年；ウィルトファング（Wiltfang）ら、２００１年；カルバック（Kalback）ら

10

20

30

40

50

、2002年；サージェアント（Sergeant）ら、2003年）。N末端短縮型および／または修飾型A β ペプチドはまた、ADおよび正常被験体のCSFにおいても同定された（セウバート（Seubert）ら、1992年；ビゴーペルフレイ（Vigoo-Pelfrey）ら、1993年；イダ（Ida）ら、1996年；レウクズク（Lewczuk）ら、2004年）。

【0009】

アルツハイマー病後の一次性認知症の第2の最も一般的な原因は、すべての認知症のうちの10%～20%未満の原因であるレビー小体型認知症（DLB）である（ローウェ（Lowe）、2001；マクキース（McKeith）、2002年）。疾患を規定するレビー小体は、異常にリン酸化されたニューロフィラメント、ユビキチン、および α -シヌクレインからなるニューロン内封入体である。これらの異常は、罹患した脳領域に依存して、アルツハイマー病およびパーキンソン病に関連する徴候に部分的に類似し得る臨床症状を生じる神経学的機能不全に寄与すると考えられる。実際に、DLBの多くの症例がなおアルツハイマー病として間違っ

10

20

【0010】

最近の臨床的調査から、正常な加齢および認知症において見出される認知機能低下間の過渡期の状態が同定されている。この前駆状態は軽度認知障害（MCI）と呼ばれている。早期にかつ1を超える程度でMCIでの経験に一貫する記憶障害を伴う者は、それらの年齢で予想され得るが、依然として機能的に独立している。従って、それらは、一次性認知症の1つの肯定的診断の許容された基準を満たすには至っていない（ペーターセン（Petersen）ら、2001年）。臨床的に軽度の認知症状を示す個体は不均質な群に属し、究極的に同じ運命を共有する。ADを発現しうる者もいれば、一方で認知症の別の形態に進行し得るものもある。被験体のいくつかは、決してMCIの状態を超えてまでは進行しない可能性もある。それにも係わらず、コホート供給源および規定に依存して、MCIと診断された個体の19%～50%は、認知症に進行する（通常、アルツハイマー病）（チャートコウ（Chertkow）、2002年）。

30

【0011】

ADおよび他の認知症の大量の治療オプションを試験するために、鋭意努力されている。これらのアプローチとして、アセチルコリンエステラーゼ阻害薬、非ステロイド系抗炎症薬（NSAIDs）、エストロゲン、神経栄養剤、およびビタミン類などの多数の薬剤（スラメク（Sramek）およびカルター（Culter）、2000年；タール（Thal）、2000年）ならびにセクレターゼ阻害薬の適応による老人斑形成の減少およびアミロイド沈着の防止のための免疫モデルの開発（コンデ（Conde）、2002年）が挙げられる。疾患改変治療は疾患経過の早期において最も有効であるようであるため、MCIは治療介入のための至適段階であり得る（チャートコウ（Chertkow）、2002年）。現在、MCIのために推奨されている処置はない一方、潜在的治療に関する臨床試験が行われている。従って、神経変性が重度になり、広範囲に及ぶ前の早期診断が大いに所望される。従って、医師にとって、患者が正常な加齢とMCIとの間の希薄な境界線を超えているかどうかを評価することは重要な課題である。実際に、初期の認知症は、年齢、不安、注意力の欠如、共存する医薬品の問題、またはうつに関連する良性の記憶に係わる問題と明確に識別されなければならない。さらに、認知症の形態のいくつかは、処置に対して部分的または完全に可逆的であるため（例えば、ビタミン欠乏、薬物中毒、アルコール中毒、内分泌障害などによる認知症）、臨床診断および鑑別診断における適時性および精度の重要性は明らかである。

40

50

【0012】

A Dなどの認知症の診断は、現在、(i) 緻密な臨床評価（身体検査、患者および家族の既往歴、投薬の再検討を含む）；(ii) 神経心理学的試験および放射線額に關与する神経学的検査；ならびに(iii) 臨床検査（例えば、ビタミンB12、葉酸、甲状腺機能、完全な血液化学検査および血球数など）（マリン（Marin）ら、2002年）ならびに他のすべての形態の認知症の排除よりなる広範、包括的な精密検診に基づく。しかし、究極的に、解剖による確認のみでしか多様な認知症障害を明白に識別することはできない。

【0013】

早期の記憶および認知障害の存在を同定し—そして患者が罹患している程度を定量する—ことに役立つための神経心理学的試験の価値については、十分に記録されている（ウェルシュ（Welsh）ら、1991；ペーターセン（Petersen）ら、1994年；マスア（Masur）ら、1994年）。しかし、疾患の極めて早期の段階では、「正常な加齢」から疾患のプロセスを詳細に記述することは依然として困難である。疾患の後期の段階でさえ、A Dの診断、および認知症に關連する多くの神経変性疾患（具体的にはDLB）からA Dを識別することもまた、困難であり得る。

【0014】

前認知症段階でA Dを同定し、A Dと認知障害または認知症の他の原因とを識別することができよう、診断手順を改善することが必要である。A Dの病理学的なカスケードのいくつかの局面は、体液における変更されたタンパク質濃度において反映される。疾患に關連する中心的病原性プロセス、即ち、それらが規定する特徴的病変—老人斑および神経原線維変化において反映されるニューロンおよびそれらのシナプスの変性に反映するそのようなタンパク質（バイオマーカーまたは生物学的マーカー）（国立加齢研究所ワーキング・グループのアルツハイマー病協会ロナルド・ナンシー・レーガン研究所（The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association of the National Institute on Aging Working Group）、1998）は、この早期および鑑別診断の精度を増加することができる。脳全体がCSFおよびA D直接關連し、關連障害は脳の疾患とみなされるため、有意な差異を見出す可能性は、この体液において認められるようである。

【0015】

2つのそのような主流のバイオマーカーは、アミノ酸42（ $A\beta_{42}$ ）で終止するCSF-A β タンパク質およびCSFタウタンパク質である。その一部については、CSF-A β_{42} の濃度 β アミロイドの細胞外老人斑への沈着に關連すると思われる（モッター（Mottter）ら、1995年；アンドレアセン（Andreassen）ら、1999年a）。CSFタウについては、このタンパク質のレベルは、ニューロンおよび軸索の変性（ブレンノウ（Blennow）ら、1995年；アンドレアセン（Andreassen）ら、1998年）または神経原線維変化の可能な形成（タピオラ（Tapiola）ら、1997年）に反映すると思われる。非認知症コントロールと比較して、有意に増加したCSFタウレベル（モッター（Mottter）ら、1995年；ビゴーペルフレイ（Viggo-Pelfrey）ら、1995年）および顕著に減少したCSF-A β_{42} 濃度（ブレンノウ（Blennow）ら、1995年；タピオラ（Tapiola）ら、1997年）が、アルツハイマー病患者において觀察された。実際に、米国（ガラスコ（Galasko）ら、1998年）および日本（カナイ（Kanaï）ら、1998年）での大規模な、良好にデザインされた多施設研究、ならびに国際的な多施設研究（ハルステルト（Hulstert）ら、1999年）では、CSFタウおよびCSF-A β_{42} マーカーの併用は、高い感度および特異性を生じ、正常な加齢および特定の神経学的障害からアルツハイマー病を識別するための要件を満たすことが一貫して見出された（スンダーランド（Sunderland）ら、2003年）。このことは、コンセンサスガイドラインの範囲内でのそれらの共同使用が良好であることを明確にしている。

【0016】

認知症の診断の改善について別の潜在的に飛躍的な前進は、非タウ認知症患者（例えば、パーキンソン病、DLB）の脳細胞において異常にリン酸化されたタウタンパク質が相対的に認められないことと、それに対してアルツハイマー病患者において大量に見出されること（ハリントン（Harrington）ら、1994年）が観察されることに関連する。有意な差異が、アルツハイマー病と他の認知症、具体的には、DLBとの間のCSFリン酸化タウレベルで認められた（パルネッティ（Parnetti）ら、2001年；バンメシェレン（Vanmechelen）ら、2001年）。

【0017】

ウィルトフアング（Wiltfang）および共同研究者らもまた、AD患者由来のCSFにおいて $A\beta_{(2-42)}$ のレベルの上昇を観察した。CSF- $A\beta_{x-42}$ （43）および $A\beta_{1-42}$ （43）レベルの両方とも、コントロール群よりもAD患者において有意に低い一方、CSF- $A\beta_{x-40}$ およびCSF- $A\beta_{1-40}$ レベルのいずれも2つの群間で何ら差異を示さなかった（タマオカ（Tamaoka）ら、1997年）。しかし、どの $A\beta_{x-42}$ ペプチドが該研究において測定されたかについては特定されなかった。

【0018】

さらに、これらの研究のうち、認知障害患者におけるこれらのバイオマーカーの挙動またはMCI患者の認知症への進行の予測におけるそれらの価値について評価したものはなかった。

【0019】

記憶障害およびMCIは、臨床的および病理学的に不均質であり得るため、バイオマーカーは、サブタイプを同定するのに特に有用であり得る。現在、MCIを分類し、MCI患者がアルツハイマー病などの一次性認知症を発現するかどうかを予測するバイオマーカーの有用性に関する明確なデータは存在しない。CSFタウの測定は、MCIを有するとして臨床的に診断された患者間の初期のADを同定するのに有効に使用し得る（スUNDERランド（Sunderland）ら、1999年；リーメンシュナイダー（Riemenschneider）ら、2002年）。しかし、バーガー（Burger）ら（2002年）は、高CSFリン酸化タウレベルが認知機能低下およびMCIからADへの変換に関連するがCSFタウレベルは関連しないことを観察した。アライ（Arai）ら（2000年）は、ADの発現に至らなかったMCI患者のCSFにおけるタウおよびリン酸化タウ（phospho-tau）の上昇を観察した。オカムラ（Okamura）ら（2002年）は、ADに進行したMCIとADに進行しなかったMCIとを識別するためのCSF-CBF指数を使用した。CSF-CBF指数は、CSFタウレベルを後部帯状回における局所脳血流量（CBF）で割ることに基づく。いくつかの研究は、ADに進行するMCIのための生物学的マーカーとしての（CSFタウおよび／またはCSFリン酸化タウと組み合わせた）CSF- $A\beta_{42}$ の使用について報告している（アンドレアセン（Andreasen）ら、1999年b；リーメンシュナイダー（Riemenschneider）ら、2002年；アンドレアセン（Andreasen）ら、2003年）。3年間の追跡期間中に認知症を発現した非認知症個体は、依然として非認知症のままであった個体よりも、すでに、低い $A\beta_{(1-42)}$ レベル（しかし、 $A\beta_{(1-40)}$ ではない）を有していた（スコーク（Skog）ら、2003年）。 β アミロイド形態のレベルは、ADの発症から絶えず減少するようである。比 $A\beta_{40}/A\beta_{42}$ は、ADの進行に伴って増加を示したが、その増加は、すでに、ADの臨床症状の出現前に開始していた（カナイ（Kanai）1998年）。

【0020】

上記は、臨床的認知症に変換する前に所定のバイオマーカーが異常に変更され、それらは一次性認知症（具体的には、アルツハイマー病）を発現するであろうMCI患者を同定するための潜在的な早期マーカーとして有望であり得ることを示す。そのような所見は、MCI、アルツハイマー病、および他の認知症の広範な診断的精密検診の部分として、そ

のようなバイオマーカーの他の適切な試験との将来的な併用を指摘している。従って、臨床的認知症への変換前の患者においてすでに変更され、A Dの診断およびA Dなどの認知症に進行するであろう認知症患者の予測を援助し得るさらなるバイオマーカーを同定することは、極めて重要である。

【0021】

発明の開示

本発明は、アルツハイマー病（A D）の予測、診断および鑑別診断のための方法ならびに診断キットを提供する。

【0022】

より詳細には、本発明は、サンプリング時にA Dの臨床徴候を示さない被験体がA Dを発現する可能性を有するかどうかを決定するための方法および診断キットを提供する。本発明の方法および診断キットは、診断対象の被験体から得られる体液におけるx/y比の決定に基づき、ここで、

- ・ xは、A βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有するA βペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA βペプチドのレベルであり；

- ・ yは、A βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有しないA βペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA βペプチドのレベルである。

【0023】

サンプリング時にA Dの臨床徴候を示さずかつ後にA Dを発現した被験体から得られる体液サンプルにおけるx/y比は、サンプリング時にA Dの臨床徴候を示さずかつA Dを発現しなかった被験体から得られる体液サンプルにおけるx/y比と比較して、有意に変化したと思われる。従って、本発明は、被験体がA Dを発現する可能性を有するかどうかを決定するための方法および診断キットを提供し、以下の工程を含んでなる。

（a）前記被験体から得られる体液サンプルにおいて、比x/yを決定することであって、ここで、

- ・ xは、A βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有するA βペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA βペプチドのレベルであり；

- ・ yは、A βペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有しないA βペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA βペプチドのレベルである；

（b）（a）において得られる比x/yと、サンプリング時にA Dの臨床徴候を示さずかつ後にA Dを発現した被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定されたx/y比の範囲、およびサンプリング時にA Dの臨床徴候を示さずかつA Dを発現しなかった被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定されたx/y比の範囲とを比較すること；

（c）工程（b）の比較から、被験体がA Dを発現する可能性を有するかどうかを決定することであって、これによって、サンプリング時にA Dの臨床徴候を示さずかつ後にA Dを発現した被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比x/yは、前記被験体がA Dを発現する可能性を有することを示唆し；およびこれによって、サンプリング時にA Dの臨床徴候を示さずかつA Dを発現しなかった被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比x/yは、前記被験体がA Dを発現する可能性を有さないことを示唆する。

【0024】

本発明の方法および診断キットは、記憶障害、MCI、または認知症の臨床徴候を示さない被験体から得られる体液サンプルに対して行うことができる。好適な実施形態では、本発明の方法は、記憶障害を伴う被験体またはMCIを有するとして臨床的に診断されている被験体から得られる体液サンプルに対して行われる。

【 0 0 2 5 】

本発明はまた、ＡＤを患っている被験体の診断および／またはＡＤを患っている被験体対ＤＬＢなどの他の認知症を患っている被験体の鑑別診断のための方法ならびに診断キットを提供する。本発明の方法ならびに診断キットは、ＡＤを患っている被験体から得られる体液サンプルにおける x/y 比が、コントロール被験体およびＤＬＢを患っている被験体から得られる体液サンプルにおける x/y 比と比較して有意に変更されているという所見に基づく。従って、本発明は、ＡＤを患っている被験体の診断および／またはＡＤを患っている被験体対ＤＬＢなどの別の認知症を患っている被験体の診断のための方法および診断キットを提供し、以下の工程を含んでなる：

(a) 前記被験体から得られる体液サンプルにおいて、比 x/y を決定することであって、ここで：

・ x は、A β ペプチドの第 1 アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第 2 アミノ酸（A；アラニン）、および／または第 3 アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有する A β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な A β ペプチドのレベルであり；

・ y は、A β ペプチドの第 1 アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第 2 アミノ酸（A；アラニン）、および／または第 3 アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有しない A β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な A β ペプチドのレベルである；

(b) (a)において得られる比 x/y と、ADを患っているとして診断された被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された x/y 比の範囲、コントロール被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された x/y 比の範囲、およびDLBなどの別の認知症を患っているとして診断された被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された x/y 比の範囲とを比較すること；

(c) 工程 (b) の比較から、被験体が A D を患っているかまたは D L B などの別の認知症を患っているかを決定することであって、これによって、A D を患っているとして診断された被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比 x / y は、前記被験体が A D を患っていることを示唆し；これによって、コントロール被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比 x / y は、前記被験体が A D を患っていないことを示唆し；およびこれによって、D L B などの別の認知症を患っているとして診断された被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比 x / y は、前記被験体が D L B などの別の認知症を患っていることを示唆する。

【 0 0 2 6 】

本発明の好適な実施形態では、 x はA β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有するA β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルである。さらにより好ましくは、 x はモノクローナル抗体3D6、BAN-50、および／または抗N1（D）と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルである。本発明の別の実施形態では、 y はA β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有しないA β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルである。さらにより好ましくは、 y は、モノクローナル抗体4G8、モノクローナル抗体6E10、および／またはモノクローナル抗体10H3などの3D6、BAN-50、および／または抗N1（D）エピトープとは異なるエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルである。別の好適な実施形態では、 x はA $\beta_{(1-C)}$ ペプチドのレベルであり、 y はA $\beta_{(N-C)}$ ペプチドのレベルである。別の好適な実施形態では、 x はA $\beta_{(1-42)}$ および／またはA $\beta_{(1-43)}$ ペプチドのレベルであり、 y はA $\beta_{(N-42)}$

2) および／または $A\beta_{(N-43)}$ ペプチドのレベルである。別の好適な実施形態では、 x は $A\beta_{(1-42)}$ ペプチドのレベルであり、 y は $A\beta_{(N-42)}$ ペプチドのレベルである。

【0027】

本発明の方法および診断キットは、被験体から得られる任意の体液サンプルに対して使用することができる。好適な実施形態では、体液サンプルは脳脊髄液サンプルまたは血漿もしくは血清サンプルである。

【0028】

本発明の方法および診断キットはまた、ADを発現する可能性を有する被験体またはADを患っているとして診断される被験体の処置フォローアップにおいて使用することができる。

【0029】

発明の詳細な記述

本発明はADの予測、診断および鑑別診断のための方法を提供する。より詳細には、本発明は、ADの任意の臨床徴候を示さない被験体がADを発現する可能性を有するかどうかを決定するための方法に関する。本発明の方法は以下の工程を含んでなる：

(a) 前記被験体から得られる体液サンプルにおいて、比 x/y を決定することであって、ここで：

- ・ x は、 $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸 (D；アスパラギン酸)、第2アミノ酸 (A；アラニン)、および／または第3アミノ酸 (E；グルタミン酸) を含有する $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な $A\beta$ ペプチドのレベルであり；

- ・ y は、 $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸 (D；アスパラギン酸)、第2アミノ酸 (A；アラニン)、および／または第3アミノ酸 (E；グルタミン酸) を含有しない $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な $A\beta$ ペプチドのレベルである；

(b) (a) において得られる比 x/y と、サンプリング時にADの臨床徴候を示さずかつ後にADを発現した被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された x/y 比の範囲、およびサンプリング時にADの臨床徴候を示さずかつADを発現しなかった体液サンプルの特徴として予め規定された x/y 比の範囲とを比較すること；

(c) 工程 (b) の比較から、被験体がADを発現する可能性を有するかどうかを決定することであって、これによって、サンプリング時にADの臨床徴候を示さずかつ後にADを発現した被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比 x/y は、前記被験体がADを発現する可能性を有することを示唆し；およびこれによって、サンプリング時にADの臨床徴候を示さずかつADを発現しなかった被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比 x/y は、前記被験体がADを発現する可能性を有さないことを示唆する。

【0030】

本発明は、サンプリング時にADの臨床徴候を示さずかつ後にADを発現した被験体から得られる体液サンプルにおける上記のように規定されるこの比 x/y が、サンプリング時にADの臨床徴候を示さずかつADを発現しなかった被験体から得られる体液サンプルにおけるこの x/y 比と比較して、有意に減少した所見に基づく。この比 x/y がADを発現するであろう被験体の体液サンプルにおいて有意に変化するという示唆は、被験体がADを発現する可能性を有するかどうかを決定するための診断試験の開発のための基礎を形成する。現在のところ、「正常な加齢」から疾患プロセスを詳述することはまだ困難である。しかし、疾患改変治療 (disease modifying therapy) は疾患過程の早期において最も有効であるようであるため、認知症の臨床徴候が認められる前の疾患プロセスの早期診断が大いに所望されている。

【0031】

上記の方法における診断対象の被験体は、認知症の臨床徴候を示さない任意の被験体で

あり得る。診断対象の被験体は、（限定されないが）ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、サル、ウサギ、ノウサギ、ニワトリ、イヌ、ネコ、マウス、ラット、ヘラジカ、シカ、トラ、ゼブラフィッシュ、フグ、ハエ、虫（worm）またはC. エレガンス（C. elegans）などの非ヒト被験体であってもよい。好ましくは、被験体は霊長類である。さらに好ましくは、被験体はヒトである。好適な実施形態では、被験体は、NINCDS-ADRDA基準（マックハン（McKhann）ら、1984）、ICD-10基準（世界保健機構（World Health Organization）、1992）、および／またはDSM-IV基準（米国精神医学会（American Psychiatric Association）、1994）に従ってADの臨床徴候を示さないヒトである。用語「AD」はアルツハイマー病を意味するべきである。

10

【0032】

上記の方法は、認知症またはADの臨床徴候が認められないことに加えて、記憶障害またはMCIの臨床徴候をも示さない被験体から得られる体液サンプルに対して行うこともできる。しかし、本発明の好適な実施形態では、上記の方法は、記憶障害を患っている被験体またはMCIを患っている被験体から得られる体液サンプルに対して行われる。記憶障害およびMCIの臨床診断は、現在ピーターセン（Petersen）ら（1999）、パーマー（Palmer）ら（2003）および／またはウォールンド（Wahlund）ら（2003）に従って行われている。

【0033】

本発明において、用語「ADを発現する」、「ADに進行する」、「ADを有するであろう」などは交換可能に使用され、被験体は、（本発明の方法が行われる）体液のサンプリング時に、ADの臨床徴候を示さないが、前記被験体は、前記体液のサンプリング後、最大で5年、好ましくは最大で3年、最も好ましくは1年以内にADの臨床徴候を示すことを意味する。

20

【0034】

用語「可能性」、「危険性」、「感受性」、「素因」、「予後」または「予測」は交換可能であり、ADを発現する可能性について使用される。

【0035】

本発明はまた、ADを患っている被験体の診断および／またはADを患っている被験体対DLBなどの他の認知症を患っている被験体の鑑別診断のための方法に関する。本発明の方法は以下の工程を含んでなる：

30

（a）前記被験体から得られる体液サンプルにおいて、比 x/y を決定することであって、ここで：

- ・ x は、 $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有する $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な $A\beta$ ペプチドのレベルであり；

- ・ y は、 $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有しない $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な $A\beta$ ペプチドのレベルである；

40

（b）（a）において得られる比 x/y と、ADを患っているとして診断された被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された x/y 比の範囲、コントロール被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された x/y 比の範囲、およびDLBなどの別の認知症を患っているとして診断された被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された x/y 比の範囲とを比較すること；

（c）工程（b）の比較から、被験体がADを患っているかまたはDLBなどの別の認知症を患っているかを決定することであって、これによって、ADを患っているとして診断された被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比 x/y は、前記被験体がADを患っていることを示唆し；これによって、コントロール被験体から得

50

られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比 x/y は、前記被験体がADを患っていないことを示唆し；およびこれによって、DLBなどの別の認知症を患っているとして診断された被験体から得られる体液サンプルの特徴として予め規定された範囲の比 x/y は、前記被験体がDLBなどの別の認知症を患っていることを示唆する。

【0036】

上記の方法は、ADを患っている被験体から得られる体液サンプルにおける上記において規定されるような x/y 比が、コントロール被験体およびDLBを患っている被験体から得られる体液サンプルにおける x/y 比と比較して、有意に減少する所見に基づく。ADを患っている被験体から得られる体液サンプルにおける x/y 比が、コントロール被験体およびDLBを患っている被験体から得られる体液サンプルにおける x/y 比と比較して有意に変化するという示唆は、ADの診断および／またはAD対DLBなどの他の認知症の鑑別診断のための診断試験の開発のための基礎を形成する。用語「診断」は、所定の神経疾患を患っている被験体が、前記神経疾患を患っていない被験体から識別されることを意味する。本発明では、ADを患っている被験体はコントロール被験体から区別される。用語「鑑別診断」は、所定の神経疾患を患っている被験体が、別の神経疾患を患っている被験体から識別されることを意味する。本発明では、ADを患っている被験体は、DLBなどの別の認知症を患っている被験体から識別される。AD（マックハン（McKhan）ら、1984；世界保健機構（World Health Organization）、1992；米国精神医学会（American Psychiatric Association）、1994）およびDLBなどの他の認知症（マックキース（McKeith）ら、1996）の診断のための基準は現在利用可能であるが、それらは、DLBなどのこれらの認知症とADとを識別するための十分な詳細を欠如し得る（マックキース（McKeith）、2002）。ADを患っている被験体とDLBを患っている被験体との識別は、依然として主要な問題のままである。究極的に、解剖のみでしか多様な認知症障害を明白に識別することはできない。しかし、ADを患っている被験体およびDLBを患っている被験体の治療が潜在的に異なる関係にあることを考えると、この識別は極めて重要である。本発明の方法は、ADを患っている被験体対DLBを患っている被験体の鑑別診断におけるさらなるツールを提供する。用語「DLB」はレビー小体型認知症を意味するべきである。

【0037】

上記の方法における診断対象の被験体は、認知症の臨床徴候を示す任意の被験体であり得る。診断対象の被験体は、（限定されないが）ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、サル、ウサギ、ノウサギ、イヌ、ネコ、マウス、ラット、ヘラジカ、シカまたはトラなどの非ヒト被験体であってもよい。好ましくは、被験体は霊長類である。さらに好ましくは、被験体はヒトである。コントロール被験体は、精神または神経疾患の既往歴、症状または徴候を伴わない被験体である。

【0038】

本発明の方法は、診断対象の被験体から得られる体液サンプルにおける比 x/y の検出に基づく。用語「体液」は、 $A\beta$ ペプチドを含有する血液、リンパ、尿、および脳脊髄液（CSF）を含むがこれらに限定されない身体に存在するすべての液体を指す。血液サンプルは、血漿サンプルであってもまたは血清サンプルであってもよい。 x を所定の体液サンプルにおいて識別する一方、 y を別の体液サンプルにおいて識別することが可能であり得る。しかし、好適な実施形態では、 x および y は同じ体液サンプルにおいて識別される。本発明の好適な実施形態では、 x/y 比は、被験体から採取された脳脊髄液サンプルにおいて識別される。用語「脳脊髄液」または「CSF」は、脳脊髄液全体または当業者に周知のその画分の誘導体を含むことが意図される。従って、脳脊髄液サンプルは、多様な分画された形態の脳脊髄液を含むことができるか、または添加されて貯蔵もしくは特定のアッセイにおけるプロセッシングを容易にする多様な希釈剤を含むことができる。そのような希釈剤は当業者に周知であり、多様な緩衝液、保存剤などを含む。

【0039】

本発明の比 x/y のうち、分子 (x) は、 $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸 (D; アスパラギン酸)、第2アミノ酸 (A; アラニン)、および/または第3アミノ酸 (E; グルタミン酸) を含有する $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な $A\beta$ ペプチドのレベルとして規定される。本発明の比 x/y のうち、分母 (y) は、 $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸 (D; アスパラギン酸)、第2アミノ酸 (A; アラニン)、および/または第3アミノ酸 (E; グルタミン酸) を含有しない $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な $A\beta$ ペプチドのレベルとして規定される。 $A\beta$ ペプチド、 $A\beta$ 、 β アミロイドペプチド、または $A4$ ペプチドは、本発明を通して交換可能に使用され、アルツハイマー病の特徴的なプラークの主成分である 37~43 個のアミノ酸のペプチド ($A\beta_{37}$ 、 $A\beta_{38}$ 、 $A\beta_{39}$ 、 $A\beta_{40}$ 、 $A\beta_{41}$ 、 $A\beta_{42}$ もしくは $A\beta_{43}$) を指す。 $A\beta$ は、 β -および γ -セクレターゼと呼ばれる2つの酵素によるより大きなタンパク質 APP のプロセッシングによって作製される (図1; ハース (Haass) ら、1992; ソイベルト (Seubert) ら、1992)。 $A\beta_{42}$ ペプチドの配列は以下の通りである:

DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA

(配列番号1)

【0040】

$A\beta_{41}$ 、 $A\beta_{40}$ 、 $A\beta_{39}$ 、 $A\beta_{38}$ および $A\beta_{37}$ は、C末端からそれぞれ Ala (A)、Ile-Ala (IA)、Val-Ile-Ala (VIA)、Val-Val-Ile-Ala (VVIA) および Gly-Val-Val-Ile-Ala (GVVIA) が脱落している点が $A\beta_{42}$ と異なる。 $A\beta_{43}$ は、C末端にスレオニン残基が存在することが $A\beta_{42}$ と異なる。本発明の方法では、任意のC末端を伴う $A\beta$ ペプチドが検出される。本発明の好適な実施形態では、Ala42 ($A\beta_{42}$) および/または Thr43 ($A\beta_{43}$) で終止する $A\beta$ ペプチドのレベルが決定される。別の好適な実施形態では、Ala42で終止する $A\beta$ ペプチド ($A\beta_{42}$) のレベルが決定される。本発明の方法において検出される $A\beta$ ペプチドはまた、異性化されたペプチドを含んでもよい。例えば、アスパラギン酸結合性異性化については、サンドレイ (Szandrei) ら、(1996) により記載されている。本発明の方法において検出される $A\beta$ ペプチド (x および y) はまた、「特異的 $A\beta$ ペプチド」と呼ばれ、所定の $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な $A\beta$ ペプチドを指す。用語「免疫複合体を形成することが可能な」、「(特異的に) 認識する」、「(特異的に) 結合する」、「(特異的に) 反応する」、または「(特異的に) 免疫反応を形成する」は、他のペプチド、タンパク質、および/または生物学的物質の異種集団の存在下で、サンプル中の前記特異的 $A\beta$ ペプチドの存在の決定基である特異的 $A\beta$ ペプチドへの抗体による結合反応を指す。従って、指定された免疫アッセイ条件下では、特定された抗体は、好ましくは、特異的 $A\beta$ ペプチドに結合する一方、他のペプチドまたはタンパク質への結合は、有意な量では生じない。抗体の $A\beta$ ペプチドへの結合は、前記 $A\beta$ ペプチド上で利用可能なエピトープに依存する。用語「エピトープ」は、抗体結合部位によって特異的に結合される抗原 (即ち、 $A\beta$ ペプチド) の部分を指す。エピトープは当該分野において公知の技術のいずれかによって決定することができるかまたは当該分野において公知の様々なコンピュータ予測モデルによって予測することができる。

【0041】

比 x/y (x) の分子について、検出される「特異的 $A\beta$ ペプチド」と結合することが可能である抗体によって認識されるエピトープは、 $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸 (D; アスパラギン酸)、第2アミノ酸 (A; アラニン)、および/または第3アミノ酸 (E; グルタミン酸) を含有するべきである。好適な実施形態では、前記エピトープは $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸 (D; アスパラギン酸) を含有するべきである。従って、本好適な実施形態では、 x は $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸 (D; アスパラギン酸) を含有する $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能な $A\beta$ ペプチドのレ

10

20

30

40

50

ベルである。A β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有するA β ペプチドのエピトープを認識する抗体の例として、（限定されないが）モノクローナル抗体3D6、モノクローナル抗体BAN-50およびモノクローナル抗体抗N1（D）（表1）が挙げられる。従って、好適な実施形態では、xはモノクローナル抗体3D6、BAN-50、および／または抗N1（D）と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルである。

【0042】

比x/y（y）の分母について、検出される「特異的A β ペプチド」と結合することが可能である抗体によって認識されるエピトープは、A β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有しなくてもよい。

10

【0043】

好適な実施形態では、分子（x）については、検出される「特異的A β ペプチド」と結合することが可能である抗体によって認識されるエピトープは、A β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有し、分母（y）については、検出される「特異的A β ペプチド」に結合することが可能である抗体によって認識されるエピトープは、A β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有しなくてもよい。従って、本好適な実施形態では、yはA β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有しないA β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルである。従って、前記エピトープは、3D6、BAN-50、および／または抗N1（D）エピトープとは異なるべきであり、従って、yは3D6、BAN-50、および／または抗N1（D）エピトープとは異なるエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルである。A β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有しないA β ペプチドのエピトープを認識しないそのような抗体の例として、（限定されないが）表1に記載のような抗体が挙げられる。好適な抗体としては、4G8、6E10、および10H3が挙げられる。従って、好適な実施形態では、yは、モノクローナル抗体4G8、モノクローナル抗体6E10、および／またはモノクローナル抗体10H3と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルである。

20

【0044】

別の実施形態では、分子（x）については、検出される「特異的A β ペプチド」と結合することが可能である抗体によって認識されるエピトープは、A β ペプチドの第2アミノ酸（A；アラニン）を含有し、分母（y）については、検出される「特異的A β ペプチド」に結合することが可能である抗体によって認識されるエピトープは、A β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）および第2アミノ酸（A；アラニン）を含有しなくてもよい。従って、この好適な実施形態では、xは、A β ペプチドの第2アミノ酸（A；アラニン）を含有するA β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルであり、yは、A β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）および第2アミノ酸（A；アラニン）を含有しないA β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルである。

30

【0045】

別の実施形態では、分子（x）については、検出される「特異的A β ペプチド」と結合することが可能である抗体によって認識されるエピトープは、A β ペプチドの第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有し、分母（y）については、検出される「特異的A β ペプチド」に結合することが可能である抗体によって認識されるエピトープは、A β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）および第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有しなくてもよい。従って、この好適な実施形態では、xは、A β ペプチドの第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有するA β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルであり、yは、A β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）および第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有しないA β ペプチドのエピトープを

40

50

認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能なA β ペプチドのレベルである。

【0046】

比x/yの分子(x)において検出される特異的A β ペプチドは、A β ペプチドの第1アミノ酸(D;アスパラギン酸)、第2アミノ酸(A;アラニン)、および/または第3アミノ酸(E;グルタミン酸)を含有するA β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能である。従って、前記特異的A β ペプチドは、少なくとも、前記抗体にアクセス可能なA β ペプチドの第1アミノ酸(D;アスパラギン酸)、第2アミノ酸(A;アラニン)、および/または第3アミノ酸(E;グルタミン酸)を含有すべきである。「アクセス可能な」は、前記抗体がA β ペプチドの第1アミノ酸(D;アスパラギン酸)、第2アミノ酸(A;アラニン)、および/または第3アミノ酸(E;グルタミン酸)を含有する前記エピトープと免疫複合体を形成することが可能であることを意味する。

10

【0047】

比x/yの分母(y)において検出される特異的A β ペプチドは、A β ペプチドの第1アミノ酸(D;アスパラギン酸)、第2アミノ酸(A;アラニン)、および/または第3アミノ酸(E;グルタミン酸)を含有しないA β ペプチドのエピトープを認識する抗体と免疫複合体を形成することが可能である。従って、前記特異的A β ペプチドは、A β ペプチドのアクセス可能な第1アミノ酸(D;アスパラギン酸)、第2アミノ酸(A;アラニン)、および/または第3アミノ酸(E;グルタミン酸)を欠如する。このようなアクセス可能性の欠如は、例えば、A β ペプチドの第1アミノ酸(D;アスパラギン酸)、第2アミノ酸(A;アラニン)、および/または第3アミノ酸(E;グルタミン酸)が遮蔽され、従ってアクセス不能である前記特異的A β ペプチドによる凝集体またはオリゴマーの形成によって生じ得る。凝集したA β は、モノマー単位が非共有結合によって結合されるオリゴマーの混合物として同定される。A β ペプチドのアクセス可能な第1アミノ酸(D;アスパラギン酸)、第2アミノ酸(A;アラニン)、および/または第3アミノ酸(E;グルタミン酸)の欠如はまた、A β ペプチドのN末端の修飾の存在によっても生じ得る。A β ペプチドのN末端に対する修飾は、A β ペプチドの第1アミノ酸(D;アスパラギン酸)、第2アミノ酸(A;アラニン)、および/または第3アミノ酸(E;グルタミン酸)を含んでなるエピトープのアクセス可能性を防止することができる。そのような修飾の例として、(限定されないが)アセチル化が挙げられる。

20

30

【0048】

A β ペプチドのアクセス可能な第1アミノ酸(D;アスパラギン酸)、第2アミノ酸(A;アラニン)、および/または第3アミノ酸(E;グルタミン酸)の欠如はまた、N末端短縮型A β ペプチドを生じる前記N末端アミノ酸の単純な欠失によっても生じ得る。N末端短縮型A β ペプチドは、A β ペプチドのアミノ酸2(A;アラニン)、3(E;グルタミン酸)、4(F;フェニルアラニン)、5(R;アルギニン)、6(H;ヒスチジン)、7(D;アスパラギン酸)、8(S;セリン)、9(G;グリシン)、10(Y;チロシン)、11(E;グルタミン酸)、12(V;バリン)、13(H;ヒスチジン)、14(H;ヒスチジン)、15(Q;グルタミン)、16(K;リジン)、または17(L;ロイシン)からそれらのアミノ酸配列を開始してもよい。ヒトおよび動物細胞、脳および/またはCSFにおいて同定されているN末端短縮型A β ペプチドのいくつかを表2に示す。アクセス可能なエピトープの欠如が1つもしくはそれ以上のN末端アミノ酸の欠失によって生じる本特異的实施形態では、xはA $\beta_{(1-C)}$ とも呼ばれるA β の前記N末端アミノ酸を含んでなるA β ペプチドのレベルであってもよく、ここで、Cは任意の可能なC末端を意味する(上記を参照のこと)。好ましくは、Cは42および/または43であり得、従って、xはA $\beta_{(1-42)}$ および/またはA $\beta_{(1-43)}$ ペプチドのレベルである。より好ましくは、A1a42で終止するA β ペプチド、即ち、A $\beta_{(1-42)}$ が検出され、従って、xはA $\beta_{(1-42)}$ ペプチドのレベルである。同じ特定の实施形態(ここで、アクセス可能なエピトープの欠如が1つもしくはそれ以上のN末端アミノ酸の欠失によって生じる)では、次いで、x/y比の分母(y)において検出される特

40

50

異的A β ペプチドは、A β ($N - C$) と呼ばれるA β ペプチドの任意のアミノ酸から開始するA β ペプチドであり、ここで、Nは任意の可能なN末端（即ち、A β のアミノ酸1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17）を意味する。上記で示唆されるように、好ましくは、Cは42および／または43であり得、yはA β ($N - 42$) および／またはA β ($N - 43$) ペプチドのレベルである。より好ましくは、A β のA1a42で終止するペプチド、即ち、A β ($N - 42$) が検出される。従って、これらの好適な実施形態では、xはA β ($1 - 42$) および／またはA β ($1 - 43$) ペプチドのレベルであり、yはA β ($N - 42$) および／またはA β ($N - 43$) ペプチドのレベルである。別の好適な実施形態では、xはA β ($1 - 42$) ペプチドのレベルであり、yはA β ($N - 42$) ペプチドのレベルである。別の好適な実施形態では、Nは11であり、yはA β ($11 - C$) ペプチドのレベルである。好ましくは、yはA β ($11 - 42$) および／またはA β ($11 - 43$) ペプチドである。より好ましくは、yはA β ($11 - 42$) のレベルである。

【0049】

本発明において使用される用語「レベル」は、体液サンプル中に存在する特異的A β ペプチドの量を指す。体液サンプルおよびそれらの比x/yの解析時に得られる特異的A β ペプチド（xおよびy）のレベルは、使用する特定の解析プロトコルおよび検出技術に依存する。従って、当業者であれば、本説明に基づく任意の実験により、（1）サンプリング時にADの任意の臨床徴候を示さず、後にADを発現する被験体の群、（2）サンプリング時にADに任意の臨床徴候を示さず、後にADを発現しない被験体の群、（3）ADを患う被験体の群、（4）コントロール被験体の群および（5）DLBなどの別の認知症を患う被験体の群に特徴的な比x/yに対する適切な参照範囲を確立することができることを理解するであろう。次いで、診断対象の被験体について得られる比x/yは、これらの参照範囲と比較することができ、この比較に基づいて、診断対象の被験体が上記のどの群に属し得るかに関して結論を導き出すことができる。

【0050】

特異的A β ペプチドのレベルは、当業者に公知の任意の方法によって決定することができる。それらは、それらの構造、部分アミノ酸配列決定、機能アッセイ、酵素アッセイ、多様な免疫学的方法、またはキャピラリー電気泳動、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、薄層クロマトグラフィー（TLC）、ハイパー・ディフュージョン（hyperdiffusion）クロマトグラフィー、2次元液相電気泳動（2D-LPE；デビッドソン（Davidsson）ら、1999）などの生化学的方法、またはゲル電気泳動におけるそれらの泳動パターンによって、同定することができる。ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）は、複合体混合物からタンパク質を分離するために広範に使用されているアプローチである（パターンソン（Paterson）およびアエバーソルト（Aebersold）、1995）。それは1または2次元（2D）配置において実施することができる。A β ペプチドの異なる変異体の同時分析は、表面活性化レーザー脱離イオン化（SELDI）プロテイン・チップ（ProteinChip）TMアレイによって提供される（サイファージェン・バイオシステムズ（Ciphergen Biosystems Inc.）、米国カリフォルニア州パロアルト（Palo Alto, CA, USA）；デービーズ（Davies）ら、1999；オースティン（Austin）ら、2000）。好適な実施形態では、特異的A β ペプチドのレベルはイムノアッセイによって検出される。本明細書において使用される「イムノアッセイ」は、抗原（即ち、特異的A β ペプチド）に特異的に結合する抗体を利用するアッセイである。従って、イムノアッセイは、特異的A β ペプチドの抗体への特異的結合の検出によって特徴付けられる。特異的A β ペプチドを検出するためのイムノアッセイは、競合的であってもまたは非競合的であってもよい。非競合イムノアッセイは、捕捉された分析物（即ち、特異的A β ペプチド）の量を直接測定するアッセイである。競合アッセイでは、サンプル中に存在する分析物（即ち、特異的A β ペプチド）によって捕捉因子（即ち抗体）から置換（または競合的に排除）される添加された（外因性の）分析物の

量を測定することによって、サンプル中に存在する分析物（即ち、特異的A β ペプチド）の量を間接的に測定する。1つの競合アッセイでは、既知の量の（外因性）特異的A β ペプチドをサンプルに添加し、次いでサンプルを抗体に接触させる。抗体に結合した添加された（外因性の）特異的A β ペプチドの量は、特異的A β ペプチドが添加される前のサンプルにおける特異的A β ペプチドの濃度に反比例する。1つの好適な「サンドイッチ」アッセイでは、例えば、抗体を直接固体基体に結合させることができ、ここで、それらは固定化される。次いで、これらの固定化された抗体（捕捉抗体）は、試験サンプル中に存在する目的の特異的A β ペプチドを捕捉する。他の免疫学的方法として、液体またはゲル沈降反応、免疫拡散（単純または二重）、凝集アッセイ、免疫電気泳動、ラジオイムノアッセイ（RIA）、酵素免疫吸着測定法（ELISA）、ウエスタンブロット、リポソームイムノアッセイ（LIA；モンロー（Monroe）ら、1986）、補体結合アッセイ、免疫放射線検定法、蛍光イムノアッセイ、プロテインAイムノアッセイ、またはイムノPCRが挙げられるが、これらに限定されない。異なるイムノアッセイの概観については、ワイルド（Wild）（2001）およびギンジリス（Ghindilis）ら（2002）ならびにプライス（Price）およびニューマン（Newman）（1997）に掲載されている。おそらく他の生物学的マーカーを伴う異なるA β ペプチドのレベル、または特異的A β ペプチドのレベルを同時に検出することができるシステムが特に有利である。このマルチパラメータアプローチでは、抗体をマイクロスフェアまたはチップに結合させることができる。そのような同時検出を提供するイムノアッセイの例として、（限定されないが）xMapTM技術（ルミネックス（Luminex）100IS、米国テキサス州オースティン（Austin, Texas, USA）を挙げることができる。

【0051】

好適な実施形態では、特異的A β ペプチドのレベルはイムノアッセイによって決定され、少なくとも以下の工程を含んでなる：

- （a）抗原－抗体複合体を産生させるのに適切な条件下で、特異的A β ペプチドと、特異的A β ペプチドを特異的に認識する抗体とを接触させること；ならびに
- （b）抗体と特異的A β ペプチドとの間に生じた免疫結合を検出すること。

【0052】

従って、本発明の方法では、比x/yは、2種の抗体（1組の抗体）、即ち、A β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有するA β ペプチドのエピトープを特異的に認識する第1の抗体（xを検出する）ならびにA β ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有しないA β ペプチドのエピトープを認識する第2の抗体（yを検出する）を免疫学的に利用して決定される。

【0053】

別の好適な実施形態では、特異的A β ペプチドは、サンドイッチELISAによって検出ことができ、以下の工程を含んでなる：

- （a）抗原－抗体複合体を産生させるのに適切である条件下で、前記特異的A β ペプチドを、前記特異的A β ペプチドを認識する抗体（捕捉抗体）に接触させること；
- （b）抗原－抗体複合体を産生させるのに適切である条件下で、前記特異的A β ペプチドと前記捕捉抗体との間に形成された複合体を、前記特異的A β ペプチドまたは前記A β ペプチド捕捉抗体複合体を特異的に認識する別の抗体（検出抗体）に接触させること；
- （c）抗原－抗体複合体を、前記検出抗体への特異的タグ付けもしくは結合のいずれかのためのマーカーまたは標識と接触させることであって、前記マーカーは、当業者に既知の任意の可能なマーカーである；
- （d）おそらくまた、標準化の目的のために、抗体を、両方の抗体に反応性である精製された特異的A β ペプチドに接触させること。

【0054】

有利には、検出抗体自体は、マーカーまたはマーカーに直接的もしくは間接的に結合す

るための基を担持するものである。

【0055】

従って、本発明の方法では、比 x/y は、2種の捕捉抗体（または1組の抗体）、即ち、 $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有する $A\beta$ ペプチドのエピトープを特異的に認識する第1の（捕捉）抗体（ x を検出する）ならびに $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有しない $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する第2の（捕捉）抗体（ y を検出する）を免疫学的に利用して決定することができる。本発明の好適な実施形態では、第1の抗体は $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有する $A\beta$ ペプチドのエピトープを特異的に認識し、第2の抗体は $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有しない $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する。別の好適な実施形態では、第1の抗体はモノクローナル抗体 3D6、BAN-50、または抗N1（D）であり、第2の抗体は $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有しない $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する。本発明の別の好適な実施形態では、第1の抗体は $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有する $A\beta$ ペプチドのエピトープを特異的に認識し、第2の抗体は $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有しない $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する。本発明の別の好適な実施形態では、第1の抗体は $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）、第2アミノ酸（A；アラニン）、および／または第3アミノ酸（E；グルタミン酸）を含有する $A\beta$ ペプチドのエピトープを特異的に認識し、第2の抗体は 3D6、BAN-50、および／または抗N1（D）エピトープとは異なる $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する。本発明の別の好適な実施形態では、第1の抗体は $A\beta$ ペプチドの第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有する $A\beta$ ペプチドのエピトープを特異的に認識し、第2の抗体は 3D6、BAN-50、および／または抗N1（D）エピトープとは異なる $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する。本発明の別の好適な実施形態では、第1の抗体はモノクローナル抗体 3D6、BAN-50、または抗N1（D）であり、第2の抗体は 3D6、BAN-50、および／または抗N1（D）エピトープとは異なる $A\beta$ ペプチドのエピトープを認識する。検査対象の特異的 $A\beta$ ペプチドを特異的に認識する任意の抗体を、上記の方法に使用することができる。当該分野において公知の抗体の例を表1に示す。

【0056】

上記で考察したようなサンドイッチ ELISA において使用すべき検出抗体は、 $A\beta$ ペプチド上または捕捉抗体によって遮蔽されていない $A\beta$ ペプチド-捕捉抗体複合体上のエピトープを認識する任意の抗体であり得る。検出抗体として使用することができる抗体の例を表3に示す。好適な実施形態では、A1a42（即ち、 $A\beta_{42}$ ）または Thr43（即ち、 $A\beta_{43}$ ）で終止する $A\beta$ ペプチドは、 $A\beta_{42}$ および／または $A\beta_{43}$ を特異的に認識する抗体で検出される。別の好適な実施形態では、A1a42で終止する $A\beta$ ペプチド（即ち、 $A\beta_{42}$ ）が検出される。

【0057】

本発明のサンドイッチ ELISA では、捕捉および検出抗体を置き換え得ることは明らかである。従って、捕捉抗体として、これらの第1および／または第2抗体によって認識

されるエピトープとは異なるA β ペプチド上のエピトープを認識する抗体が使用される場合、上記で考察した第1および第2の抗体はまた、検出抗体として使用し得る。

【0058】

上記で考察した抗体は、本発明の方法における使用のための診断キットの調製に使用することができる。従って、本発明は、被験体がADを発現する可能性を有するかどうかを決定するため、ADを患っている被験体の診断のため、および／またはADを患っている被験体対DLBなどの別の認知症を患っている被験体の鑑別診断のための診断キットの製造のための上記で考察した第1抗体および第2抗体（1組の抗体）に関する。

【0059】

本発明において使用する「抗体」は、免疫グロブリン遺伝子または免疫グロブリン遺伝子のフラグメントによって実質的にコードされる1つもしくはそれ以上のポリペプチドよりなるタンパク質を指す。認識される免疫グロブリン遺伝子は、 κ 、 λ 、 α 、 γ 、 δ 、 ϵ および μ 定常領域遺伝子、ならびに無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子を含む。軽鎖は、 κ または λ のいずれかに分類される。重鎖は、 γ 、 μ 、 α 、 δ 、または ϵ に分類され、それぞれこの順で、免疫グロブリンクラス、IgG、IgM、IgA、IgD、およびIgEを規定する。基本的な免疫グロブリン（抗体）の構造単位は、四量体または二量体を含んでなることが公知である。各四量体は、ポリペプチド鎖の2つの同一な対よりなり、各対は、1本の「軽」（約25kD）および1本の「重」鎖（約50～70kD）を有する。各鎖のN末端は、主に抗原認識を担う約100～110もしくはそれ以上のアミノ酸の可変領域を規定する。用語「可変軽鎖（V_L）」および「可変重鎖（V_H）」は、それぞれ、軽および重鎖のこれらの可変領域を指す。場合により、抗体または抗体の免疫学的部分は、他のタンパク質に化学的にコンジュゲートするか、または他のタンパク質との融合タンパク質として発現させることができる。

【0060】

本発明の抗体として、ポリクローナル、モノクローナル、二重特異性、ヒト、ヒト化またはキメラ抗体、単一可変フラグメント（ssFv）、単一鎖フラグメント（scFv）、Fabフラグメント、F（ab'）フラグメント、Fab発現ライブラリーによって産生されるフラグメント、抗イデオタイプ抗体および上記のいずれかのエピトープ結合フラグメントが挙げられるが、これらに限定されず、但し、それらは、本来の結合特性を保持する。また、ミニ抗体および二重特異性抗体、三重特異性抗体、4価抗体および五重特異性抗体などの多価抗体を本発明の方法に使用することができる。これらのフラグメントおよび多価抗体の調製ならびに使用については、国際特許出願国際公開第98／29442号パンフレットに広範に記載されている。本発明の免疫グロブリン分子は、任意のクラス（即ち、IgG、IgE、IgM、IgDおよびIgA）またはサブクラスの免疫グロブリン分子であることができる。

【0061】

本発明において検出される特異的A β ペプチドを免疫原として使用し、そのような免疫原に特異的に結合する本発明の抗体を作製することができる。前記特異的A β ペプチドによる注入のために、ウサギ、マウス、ラットなどを含むがそれらに限定されない多様な宿主動物に免疫することができる。免疫学的応答を増強するために、宿主種に依存して、完全または不完全フロイントアジュバント、水酸化アルミニウムなどの鉱物ゲル、リゾレシチンなどの界面活性物質、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油乳濁液、キーホールリンペットヘモシニアン、ジニトロフェノール、またはBCG（ウシ型弱毒結核菌ワクチン）もしくはコリネバクテリウム・パルヴム（*Corynebacterium parvum*）などのアジュバントを含んでなるがこれらに限定されない多様なアジュバントを使用することができる。モノクローナル抗体の調製のために、培養中の連続細胞株による抗体分子の調製のための任意の技術を使用することができる。抗原による適切なドナー、一般にマウスの過剰免疫を行う。次いで、脾臓抗体産生細胞の単離を行う。これらの細胞を、骨髄腫細胞などの不死を特徴とする細胞と融合させ、培養中に維持することができ、必要とされるモノクローナル抗体を分泌する融合細胞雑種（ハイブリドーマ

）を提供する。次いで、細胞を大量培養し、使用のために培養培地からモノクローナル抗体を回収する。特定の技術として、コラー（K o h l e r）およびマイルスタイン（M i l s t e i n）（1975）が開発したハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術（コズボール（K o z b o r）ら、1983）、またはヒトモノクローナル抗体を産生するためのEBV-ハイブリドーマ技術（コール（C o l e）ら、1985）が挙げられるが、これらに限定されない。所望の抗体のスクリーニングは、ELISAなどの当該分野において公知の技術によって行うことができる。特異的Aβペプチドに特異的に結合するが、別のタンパク質には特異的に結合しない抗体の選択は、第1に対してポジティブに結合し、第2に対する結合を欠如することに基づいて行うことができる。

【0062】

パパイン、ペプシンまたは他のプロテアーゼによる無傷な（i n t a c t）抗体の酵素的消化について、多様な抗体フラグメントが規定されているが、当業者であれば、そのような抗体フラグメントならびにフルサイズの抗体は、化学的かまたは組換えDNA方法論を利用するかのいずれかによって、デノボ合成することができることを理解するであろう。従って、本明細書で使用する用語である抗体はまた、抗体全体の修飾によって生成されるかまたは組換えDNA方法論を使用してデノボ合成されるかのいずれかである抗体および抗体フラグメントを含む。用語「ヒト化抗体」は、免疫グロブリンのフレームワーク領域の少なくとも一部がヒト免疫グロブリン配列由来であることを意味する。マウスモノクローナル抗体のヒト化バージョンは、例えば、HおよびL鎖をコードするマウスおよび／またはヒトゲノムDNA配列あるいはHおよびL鎖をコードするcDNAクローンから出発する組換えDNA技術によって作製することができる。ヒト化形態のマウス抗体は、組換えDNA技術によって、非ヒト抗体のCDR領域をヒト定常領域に連結することにより作製することができる（クイーン（Q u e e n）ら、1989；国際公開第90／07861号パンフレット）。あるいは、本発明の方法において使用されるモノクローナル抗体はヒトモノクローナル抗体であってもよい。ヒト抗体は、例えば、ファージディスプレイ法を使用して、得ることができる（国際公開第91／17271号パンフレット；国際公開第92／01047号パンフレット）。これらの方法では、メンバーがそれらの外表面上で異なる抗体を提示するファージのライブラリーが生成される。抗体は、通常、FvまたはFabフラグメントとして提示される。特異的Aβペプチドに対するヒト抗体はまた、少なくともヒト免疫グロブリン座位のセグメントおよび不活性型内因性免疫グロブリン座位をコードする導入遺伝子を有する非ヒトトランスジェニック哺乳動物からも産生させることができる（国際公開第93／12227号パンフレット；国際公開第91／10741号パンフレット）。ヒト抗体は、競合的結合実験によって、またはそうでなければ、特定のマウス抗体として同じエピトープ特異性を有するように選択することができる。そのような抗体は、特に、マウス抗体の有用な機能的特性を共有すると思われる。ヒトポリクローナル抗体もまた、免疫原性因子を免疫したヒト由来の血清の形態で提供することができる。場合により、そのようなポリクローナル抗体は、アフィニティー試薬として特異的Aβペプチドを使用するアフィニティー精製によって濃縮することができる。モノクローナル抗体は、国際公開第99／60846号パンフレットに記載の技術に従って血清から得ることができる。ラクダ科の哺乳動物の体液性免疫応答の部分として産生される重鎖可変ドメイン（VHH）もまた、上記の方法において有用であり得る。「ラクダ化」ヒトVHライブラリーから選択される組換えVHHは、本発明の特異的Aβペプチドの検出のための優れたリガンドを構成し得る（スパイネル（S p i n e l l i）ら、2000；マイルダーマンズ（M u y l d e r m a n s）、2001；コルテスーレタモゾ（C o r t e z - R e t a m o z o）ら、2002）。

【0063】

本発明の方法において使用される抗体を、適切な標識でマーカーまたは標識で標識してもよい。アッセイで使用する特定の標識または検出可能な基は、該標識がアッセイにおいて使用される抗体の特異的結合を顕著に妨害しない限り、本発明の極めて重要な局面ではない。検出可能な基は、検出可能な物理的または化学的特性を有する任意の材料である

10

20

30

40

50

ことができる。そのような検出可能な標識は、イムノアッセイの領域において良好に開発されており、一般に、そのような方法において有用なほとんどの標識も本発明の方法に適用することができる。従って、標識は、分光的、光化学的、生化学的、免疫化学的、電気的、光学的、放射線的または化学的手段によって検出可能な任意の組成物である。本発明において有用な標識として、磁気ビーズ（例えば、ダイナビーズ（Dynabeads）TM）、蛍光染料（例えば、フルオレセインイソチオシアネート、テキサス・レッド、ローダミン、フィコエリスリン、アレキサ（Alexa）532、シアン（cyanine）3）、放射性標識物（例えば、³H、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C、または³²P）、酵素（例えば、西洋ワサビペルオキシターゼ、アルカリホスファターゼおよびELISAにおいて一般に使用される他の酵素）、ならびに金コロイド、着色ガラスまたはプラスチック（例えば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックスなど）ビーズなどの比色標識物が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0064】

標識物は、当該分野において周知の方法に従って、アッセイの所望される成分に直接的または間接的に結合させてもよい。上記で示されるように、広範な標識物を使用することができ、標識の選択は、要求される感受性、化合物とのコンジュゲーションの簡便性、安定性要件、利用可能な器械および処理規定に依存する。非放射性標識は、しばしば、間接的手段によって付着される。一般に、リガンド分子（例えば、ビオチン）を抗体に共有結合する。次いで、リガンドを、本来的に検出可能であるか、または検出可能な酵素、蛍光化合物、もしくは化学発光化合物などのシグナル系に共有結合されるかのいずれかである抗リガンド（例えば、ストレプトアビジン）分子に結合させる。多くのリガンドおよび抗リガンドを使用することができる。リガンドが天然の抗リガンド、例えば、ビオチン、チロキシン、およびコルチゾールを有する場合、該リガンドを、標識した天然に存在する抗リガンドと共に使用することができる。あるいは、ハプテン性または抗原性化合物を、抗体と共に使用することができる。抗体はまた、例えば、酵素または蛍光団とのコンジュゲートによって、シグナル発生化合物に直接コンジュゲートさせることができる。標識物としての目的の酵素は、本来、加水分解酵素、特に、ホスファターゼ、エステラーゼおよびグリコシダーゼ、または酸化還元酵素、特に、ペルオキシダーゼである。蛍光化合物としては、フルオレセインおよびその誘導体、ローダミンおよびその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロンなどが挙げられる。化学発光化合物としては、ルシフェリン、および2, 3-ジヒドロフタラジンジオン、例えば、ルミノールが挙げられる。他の標識またはシグナル生成系の再検討については、米国特許第4, 391, 904号明細書において得ることができる。

20

30

【0065】

標識を検出するための手段は、当該分野において周知である。従って、例えば、標識が放射性標識である場合、検出のための手段は、シンチレーションカウンタまたはオートラジオグラフィにおけるような写真フィルムを含む。標識が蛍光標識である場合、それは、適切な波長の光で蛍光団を励起し、得られる蛍光を検出することによって検出することができる。蛍光は、写真フィルムによって、電化結合素子（CCD）または光電子増倍管などの電子検出器の使用によって、可視で検出することができる。同様に、酵素標識は、適切な基質を酵素に提供し、得られる反応産物を検出することによって、検出することができる。最後に、簡単な比色標識は、標識に伴う色を観察することによって、簡単に検出することができる。

40

【0066】

いくつかのアッセイ形式は、標識化合物の使用を必要としない。例えば、凝集アッセイを使用して、標的抗体の存在を検出することができる。この場合、抗原被覆粒子は、標的抗体を含んでなるサンプルによって、凝集する。この形式では、標識を必要とする成分は存在せず、標的抗体の存在は、簡単な目視検査で検出される。

【0067】

本発明はまた、上記において言及した抗体を含んでなる診断キットを提供する。従って

50

、本発明は、被験体がA Dを発現する可能性を有するかどうかを決定するため、A Dを患っている被験体の診断のため、および／またはA Dを患っている被験体対D L Bなどの別の認知症を患っている被験体の鑑別診断のための、少なくとも上記で考察した第1抗体および第2抗体（1組の抗体）を含んでなる診断キットを提供する。

【0068】

本発明の方法を行うための好適なキットは：

- －検出しようとする特異的A β ペプチドと免疫複合体を形成する第1および第2抗体(捕捉抗体)；
- －検出しようとする特異的A β ペプチド(または特異的A β ペプチド－捕捉抗体複合体)を認識し、第1または第2抗体によって認識されるエピトープは認識しない抗体(検出抗体)；
- －前記検出抗体への特異的タグ付けまたは結合のいずれかのためのマーカーもしくは標識；
- －捕捉抗体と特異的A β ペプチドとの間、検出抗体と捕捉抗体－特異的A β ペプチド複合体との間ならびに／あるいは結合検出抗体とマーカーまたは標識との間の免疫反応を行うための適切な緩衝溶液；
- －おそらく、標準化の目的のための、精製された特異的A β ペプチド、を含んでなる。

10

【0069】

従って、本発明は、被験体がA Dを発現する可能性を有するかどうかを決定するため、A Dを患っている被験体の診断のため、および／またはA Dを患っている被験体対D L Bなどの別の認知症を患っている被験体の鑑別診断のための上記で考察した第1抗体および第2抗体（1組の抗体）または診断キットを提供する。

20

【0070】

本発明の方法では、少なくとも比x/yの検出は、場合により、他のA β ペプチド、タウ、リン酸化タウ（phospho-tau）、シヌクレイン、Rab3a、サイトカイン、グルタミン合成酵素（GS）および神経線維タンパク質（neural thread protein）を含むがこれらに限定されない神経疾患のための1つもしくはそれ以上のさらなる既知のバイオマーカーの検出と組み合わせてもよい。関連の生物学的マーカーの組み合わせは、診断の感度および特異性を増加することができる。本発明の方法はまた、1つもしくはそれ以上の生物学的マーカーで予め行った診断のさらなる確認のために使用することができる。

30

【0071】

本発明の方法、診断キットならびに／あるいは抗体の組はまた、治療モニタリングまたは処置フォローアップおよび患者管理とも呼ばれる被験体に投与された治療の効果をモニターするためにも使用することができる。従って、本発明はまた、A Dを発現する可能性を有する被験体またはA Dを患っているとして診断される被験体の処置フォローアップにおける使用のための上記で考察した方法に関する。x/y比の変化を使用して、被験体の薬物処置に対する応答を評価することができる。この方法では、被験体のx/y比を調べることによって、新しい処置レジメを開発することもできる。従って、本発明の方法は、例えば、記憶障害被験体、MCIを伴う被験体またはA Dを患っている被験体のための所定の治療の評価のための臨床治験をモニターすることを支援することができる。この場合、化学化合物は、A Dを発現しているかまたは患っているとして診断された被験体におけるx/y比を正常化する能力について、試験される。

40

【0072】

本発明の方法はまた、例えば、薬物スクリーニングのために、動物または細胞モデルにおいて使用することができる。本発明の方法を適用することができる動物モデルは、身体制御システムが、CNSによって指令される動物の任意のモデルであり得る。従って、動物は、扁形動物（Platyhelminthes）、袋形動物（Aschelminthes）、環形動物（Annelida）、節足動物（Arthropoda）、軟体動

50

物 (Mollusca)、棘皮動物 (Echinodermata)、無頭動物 (Acrania)、円口類 (Cyclostomata)、軟骨魚類 (Chondrichthyes)、硬骨魚類 (Osteichthyes)、両生類 (Amphibia)、爬虫類 (Reptilia)、鳥類 (Aves) および哺乳類 (Mammalia) に属し得る。好適な実施形態では、動物モデルの動物は、マウス、ラット、サル、ウサギ、虫 (worm)、ハエ、ゼブラフィッシュ、フグまたは C. エレガンス (C. elegans) である。別の実施形態では、動物は、おそらく、AD を生じる 1 つもしくはそれ以上の決定基によって改変されたトランスジェニック動物である。本発明の方法を適用することができる細胞モデルは、APP が発現される任意の細胞株であり得る。例として、デ・ジョング (De Jonghe) ら (2001) により記載のニューロンの APP 発現初代培養物、ヒト野生型または変異 APP でトランスフェクトした CHO (チャイニーズハムスター卵巣) 細胞および国際公開第 02/37118 号パンフレットに記載のヒト野生型または変異 APP でトランスフェクトしたヒト神経芽腫細胞 (SKNSH-SY5Y) が挙げられる。

10

【0073】

本明細書および以降の特許請求の範囲の全体を通じ、本文中で断らない限り、語句「含んでなる (comprise)」、ならびに「含んでなる (comprises)」および「含んでなっている (comprising)」は、陳述した完全体もしくは工程、または陳述した完全体もしくは工程の群の包含を意味するものであって、他の完全体もしくは工程、または完全体もしくは工程の群のいずれかの除外を意味するものではないことが理解されよう。

20

【0074】

特に有利な実施形態を記載する以下の実施例を参考にして、本発明を例示する。しかし、これらの実施例は、例示的であり、かついかなる方法においても本発明を制限するように解釈することはできないことに注意されたい。

【0075】

実施例 1：本発明において使用されるモノクローナル抗体のエピトープマッピング

1. ELISA におけるモノクローナル抗体 3D6、6E10 および 4G8 の結合特異性の決定

30

3 種の β -アミロイド抗体、3D6 (エラン・ファーマシューティカルズ (Eli Lilly Pharmaceuticals) 米国カリフォルニア州南サンフランシスコ (South San Francisco, CA, USA))、6E10 および 4G8 (シグネット・ラボラトリーズ (Signet Laboratories) 米国マサチューセッツ州デダム (Dedham, MA, USA)) を、N 末端で短縮した異なる β -アミロイドペプチド： $A\beta_{(1-42)}$ 、 $A\beta_{(2-42)}$ 、 $A\beta_{(3-42)}$ 、 $A\beta_{(4-42)}$ 、 $A\beta_{(5-42)}$ 、 $A\beta_{(8-42)}$ 、 $A\beta_{(9-42)}$ との免疫結合について、ELISA において試験した。合成ペプチドは、バッヘム (Bachem) (独国ハイデルベルグ (Heidelberg, Germany))、ネオシステムズ (Neosystems) (仏国ストラスブール (Strasbourg, France))、またはアナスペック (AnaSpec) (米国カリフォルニア州サンノゼ (San Jose, California, USA)) より入手した。ELISA 形式およびその特徴については、詳述されている (ファンデルスティケル (Vanderstichele) ら、2000)。簡単に説明すると、プレートを、予め捕捉抗体として $A\beta_{42}$ の N 末端に特異的な 3D6、6E10 または 4G8 モノクローナル抗体で被覆した。各ウェルに対し、100 μ l のブランクまたはピペットサンプルを添加し、3 時間、インキュベートした。数回の洗浄ステップ後、プレートを、 $A\beta_{42}$ のカルボキシ末端に特異的なビオチン化モノクローナル抗体 21F12 と共に 1 時間、インキュベートした。ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを介して、ビオチン化抗体を検出した。最終洗浄工程後、基質を添加し、0.2 N 硫酸を添加することによって、30 分後に反応を停止させた。450 nm で光学密度 (OD) を測定した。

40

50

【0076】

3D6、6E10および4G8の異なるN末端短縮型Aβペプチドとの反応性を、それぞれ図7、8および9に示す。4G8抗体との反応性に従って、ペプチド濃度を正規化した。3D6は、Aβ₍₁₋₄₂₎とのみ反応性であったことから、3D6は、第1アミノ酸(D; アスパラギン酸)を含有するAβペプチドのエピトープを認識することが示された。6E10はAβ₍₁₋₄₂₎、Aβ₍₂₋₄₂₎、Aβ₍₃₋₄₂₎、Aβ₍₄₋₄₂₎、およびAβ₍₅₋₄₂₎と反応した。従って、6E10は、第1(D; アスパラギン酸)、第2(A; アラニン)および第3(E; グルタミン酸)のアミノ酸を含有しないAβペプチドのエピトープを認識する。4G8は、試験したすべてのAβペプチドと反応性であった。従って、4G8は、アミノ酸9を超えて存在するAβのエピトープを認識するはずである。これらのモノクローナル抗体によって認識されたエピトープを図1に示す。

10

【0077】

2. マルチパラメータタイムノアッセイにおけるモノクローナル抗体3D6、6E10および4G8の結合特異性の決定

3種のβ-アミロイド抗体、3D6、6E10および4G8を、Aβ₍₁₋₄₂₎およびAβ₍₂₋₄₂₎との免疫結合について、マルチパラメータアッセイにおいて試験した。合成ペプチドは、バッヘム(Bachem)(独国ハイデルベルグ(Heidelberg, Germany))、ネオシステムズ(Neosystems)(仏国ストラスブル(Strasbourg, France))、またはアナスペック(AnaSpec)(米国カリフォルニア州サンノゼ(San Jose, California, USA))より入手した。

20

【0078】

xMAPTM技術(ルミネックス(Luminex)、米国テキサス州オースティン(Austin, Texas, USA))を使用して、マルチパラメータのビーズアッセイを設計した。3D6、6E10、および4G8を、製造者により供給された改変されたプロトコルに従って、カルボキシル化マイクロスフェアセット上に共有結合させた。簡単に説明すると、水溶性1-エチル-3-(3-ジメチル-ラミノプロピル(lamino propyl))-カルボジイミド塩酸塩(EDC; ピアス・ケミカルズ(Pierce Chemicals)、ベルギー、エーレムボードヘム(Erembodegem, Belgium)およびN-ヒドロキシスルホスクシンイミド(スルホ-NHS; ピアス・ケミカルズ(Pierce Chemicals)、ベルギー、エーレムボードヘム(Erembodegem, Belgium))の混合物を使用して、ビーズの遊離のカルボキシル基を活性化させた。続いて、抗体のアミノ基をマイクロスフェアのカルボキシル基に共有結合させた。ヘマチトメーターを使用して、抗体結合ビーズを計数した。結合したマイクロスフェアを暗所、2~8℃で貯蔵した。

30

【0079】

すべてのインキュベーションは、室温(25℃)で実施した。96ウェルフィルタープレート(ミリポア・コーポレーション(Millipore Corporation)、米国マサチューセッツ州ベッドフォード(Bedford, MA, US))を、最初に、250μl洗浄緩衝液(PBS、0.05%ツイーン(Tween)20)で前処置した。減圧マニフォールド(ミリポア・コーポレーション(Millipore Corporation)、ベルギー、ブリュッセル(Brussels, Belgium))により、プレートから洗浄緩衝液を取り出した。結合したマイクロスフェアを少なくとも15分間、室温で平衡化させ、その後、100μlの音波処理したマイクロスフェア(各パラメータあたりビーズ30,000個/ml)をフィルタープレートに添加し、その後、プレートをアルミホイルで被覆した。緩衝液のアスピレーション後、50μlのビオチン化検出抗体21F12(イノジェネティクスN.V.(Innogenetics N.V.))、ベルギー、ヘント(Gent, Belgium)および50μlのペプチドサンプルをウェルに添加した。室温で、オービタル・プレート・シェーカー上、1000rp

40

50

mで振盪することによって、インキュベーションを1晩（16時間）実施した。300 μ lの洗浄緩衝液での吸引によって、ウェルを3回洗浄し、100 μ lのストレプトアビジン-フィコエリスリン（ストレプトアビジン-PE；カルタグ（Caltag）、米国カリフォルニア州バーリングゲーム（Burlingame, CA, US）；サンビオ（Sanbio）、オランダ、ウーデン（Uden, the Netherlands））と共に60分間、プレートシェーカー上でインキュベートした。洗浄緩衝液による吸引により、ウェルを再度、3回洗浄した。最後に、マイクロスフェアをPBS中に再溶解した。解析のためのソフトウェア・バージョン2.1を使用して、ルミネックス（Luminex）100装置において蛍光強度を測定した。

【0080】

3D6、6E10および4G8のA β （1-42）およびA β （2-42）ペプチドとの反応性を図10に示す。3D6は、A β （1-42）に反応性であったが、A β （2-42）との反応性は認められなかった。このことから、3D6は、第1アミノ酸（D；アスパラギン酸）を含有するA β ペプチドのエピトープを認識することが確認される。6E10および4G8は、両方のペプチドA β （1-42）およびA β （2-42）と反応したことから、6E10および4G8は第1の（D；アスパラギン酸）アミノ酸を含有しないA β ペプチドのエピトープを認識することが確認された。これらのモノクローナル抗体によって認識されるエピトープを図1に示す。

【0081】

実施例2：記憶障害または認知症を患っている被験体から得られるCSFサンプルにおける3D6に結合するA β ペプチドおよび4G8または6E10に結合するA β ペプチドの分析

1. 被験体

166例の被験体を含む、サルグレン・ユニバーシティー・ホスピタル（Sahlgren's University Hospital）、スウェーデン、イエーテボリ（Goeteborg, Sweden）において記録されたCSFサンプルに基づいて研究を行った。12のCSFサンプルについて、すべてのパラメータを決定したわけではなかった。これらの結果を部分的に除外しても最終的な解析に影響を及ぼさなかった。ここでは、以下の患者群を含む154例のサンプルの結果について考察した：18例の中等度AD（modAD）患者、21例の重度AD（sevAD）患者、20例の軽度AD（mildAD）患者、39例の認知障害患者、12例のレビー小体型認知症（DLB）患者、15例のパーキンソン病（PD）患者および29例のコントロール被験体（C）。すべてのAD患者がNINCDS-ADRDA基準（マックハン（McKhann）、1984）を満たした。認知障害患者群では記憶障害以外の症状は報告または同定されず、これらの患者のうち、認知症に関するDSM-IV基準を満たしたものは認められなかった。5年間のフォローアップ期間内で、14例の認知障害患者がAD（Cog-AD）に進行した一方、25例の認知障害患者では、記憶上の問題がAD（Cog）に進展することはない。レビー小体型認知症の臨床および病理診断のためのコンセンサスガイドライン（マックキース（McKeith）ら、1996）に従って、DLBを診断した。PD患者は、ラングストン（Langston）ら、（1992）に従って含めた。コントロール群（C）は、精神または神経疾患の既往歴、症状、もしくは徴候、悪性疾患、あるいは全身障害（例えば、関節リウマチ、感染性疾患）を伴わない個体からなる。

【0082】

イエーテボリ大学倫理委員会（The Ethics Committees of the University of Goeteborg）、スウェーデン（Sweden）が研究を承認した。すべての患者（または彼らの近親者）およびコントロールは、ヘルシンキ宣言（Declaration of Helsinki）の規定に従って行われた研究参加の同意（informed consent）を提示した。

【0083】

2. サンプルング

被験体のL3/L4またはL4/L5椎間腔に配置された非外傷性カニューレ (a t r a u m a t i c c a n n u l a s) を使用してC S Fサンプルを採取した。滅菌ポリプロピレンチューブに12mlを回収し、緩徐に混合した。C S Fを、10分間、4000gで遠心分離した。サンプルをスウェーデン、ムルンダール (M o e l n d a l S w e d e n) のクリニカル・ニューロケミストリー・ラボラトリー・アット・サルグレンス・ユニバーシティ・ホスピタル (C l i n i c a l N e u r o c h e m i s t r y L a b o r a t o r y a t S a h l g r e n s ' s U n i v e r s i t y H o s p i t a l) に送った。到着後、サンプルをアリコートに分け、 -80°C で冷凍保存した。サンプルは、融解および再凍結することなく、保持した。生来のC S Fでは、白血球および赤血球細胞数ならびにグルコースおよび乳酸測定値、総タンパク質含有量、アルブミンおよび免疫グロブリンGのC S F-血清比、ならびに乏クロン帯のスクリーニングを含む日常的な化学パラメータの決定を実施した。C S Fサンプルが $1\mu\text{L}$ あたり500を超える赤血球を含有した場合、該C S Fサンプルは研究に含めなかった。

10

【0084】

3. イムノアッセイ

xMapTM技術 (ルミネックス (L u m i n e x) 100IS、米国テキサス州オースティン (A u s t i n, T e x a s, U S A)) を使用して、C S Fサンプルにおける特異的A β ペプチドのレベルxおよびyを決定した。捕捉抗体として、xの検出のためにモノクローナル抗体3D6 (エラン・ファーマシューティカルズ (E l a n P h a r m a c e u t i c a l s) 米国カリフォルニア州南サンフランシスコ (S o u t h S a n F r a n c i s c o, C A, U S)) を使用し、yの検出のためにモノクローナル抗体6E10および4G8 (シグネット・ラボラトリーズ (S i g n e t L a b o r a t o r i e s) 米国マサチューセッツ州デダム (D e d h a m, M A, U S A)) を使用した。モノクローナル抗体21F12 (イノジェネティクスN. V. (I n n o g e n e t i c s N. V.)、ベルギー、ヘント (G e n t, B e l g i u m)) を検出抗体として使用した。上記のようにマルチパラメータアッセイを行った。標準として合成アミロイド (1-42) ペプチドおよび曲線近似モデルとしてシグモイドフィットを使用し、ルミネックス (L u m i n e x) 単位をE L I S A p g ペプチド等価物/mlに変換した。

20

【0085】

4. 統計解析

データ解析は、ボックスプロットによるグラフ表示に基づいた。これらのプロットは、中央値および各変数についてデータポイントの中央部50%を含む25%~75%範囲を表す。2群間を識別するための変数の能力に対するさらなる支持が、正規のマン-ホイットニー (M a n n - W h i t n e y) U検定によって提供される。この検定は、各群におけるデータポイントの階級の合計が同じであるという仮説を評価する。有意なp値 (<0.05) は、この仮説を棄却し、従って、2群間の変数の識別能に対する強力な証拠を提供する。P値 <0.10 は、2群間の変数の識別能に対する傾向を示唆する。

30

【0086】

5. 長期間記憶に問題がある患者からADに進行するであろう記憶障害被験体の識別

図2 ([x]_{3D6})、図3 ([y]_{6E10}) および図4 ([y]_{4G8}) では、それぞれ捕捉抗体として、3D6、6E10および4G8を使用した異なる被験体群のC S Fサンプルにおける特異的A β ペプチドのレベルxおよびyの中央値および25%~75%区間を示す。AD (C o g) に進行しなかった認知障害患者と比較して、AD (C o g - A D) に進行した認知障害患者間では、3D6に結合するA β ペプチド、または6E10もしくは4G8に結合するA β ペプチドのレベルにおいて差異を観察することができなかった。[x]_{3D6}、[y]_{6E10}および[y]_{4G8}に対するマン-ホイットニー (M a n n - W h i t n e y) U検定のp値は、それぞれ、0.46、0.23、および0.15であった。

40

【0087】

図5 ([x]_{3D6} / [y]_{6E10}) および図6 ([x]_{3D6} / [y]_{4G8}) で

50

は、異なる被験体群のCSFサンプルにおける x/y の比の中央値および25%–75%区間を示す。この比の場合、AD (Cog)を発現しなかった認知障害患者と比較して、AD (Cog-AD)に進行した認知障害患者において明確な減少が観察された。 $[x]_{3D6} / [y]_{6E10}$ および $[x]_{3D6} / [y]_{4G8}$ に対するマン-ホイットニー (Mann-Whitney) U検定のp値は、それぞれ、 <0.001 および <0.001 であった。このことは、記憶に問題がある被験体の集団において、 x/y の比がADを発現している被験体とADを発現しなかった長期間記憶に問題がある被験体との間の優れた識別を可能にすることを示す。

【0088】

6. ADを患っている被験体とDLBを患っている被験体との識別

10

図2 ($[x]_{3D6}$)、3 ($[y]_{6E10}$)、および4 ($[y]_{4G8}$)では、それぞれ捕捉抗体として、3D6、6E10、および4G8を使用した異なる被験体群のCSFサンプルにおける特異的A β ペプチドのレベル x および y の中央値および25%–75%区間を示す。コントロール被験体 (C)、PD患者 (PD) または記憶障害を患っている患者 (Mem、Mem-AD) と比較して、任意の形態のAD (ModAD、SevAD、MildAD) を患っている患者間の3D6に結合するA β ペプチドのレベルにおいて明確な減少を観察することができる一方、レベル x および y は、ADを患っている患者対DLBを患っている患者間の識別は提供しなかった。すべてのAD (プールされたModAD、SevAD、およびMildAD) とDLBとの比較において、 $[x]_{3D6}$ 、 $[y]_{6E10}$ および $[y]_{4G8}$ に対するマン-ホイットニー (Mann-Whitney) U検定のp値は、それぞれ、0.16、0.68、および0.79であった。

20

【0089】

図5 ($[x]_{3D6} / [y]_{6E10}$) および6 ($[x]_{3D6} / [y]_{4G8}$)では、異なる被験体群のCSFサンプルにおける x/y の比の中央値および25%–75%区間を示す。この比の場合、DLBを患っている患者と比較して、任意の形態のAD (ModAD、SevAD、MildAD) を患っている患者において明確な減少を観察することができる。 $[x]_{3D6} / [y]_{6E10}$ および $[x]_{3D6} / [y]_{4G8}$ に対するマン-ホイットニー (Mann-Whitney) U検定のp値は、それぞれ、0.098および <0.001 であった。このことは、 x/y の比が、ADを患っている被験体対DLBを患っている患者間の識別を可能にすることを示す。

30

【0090】

実施例3：ADを患っている被験体から得られるサンプルの特異的A β ペプチドのレベル x および y の解析

1. 被験体

AD患者 ($n=22$) および非認知症コントロール ($n=20$) 由来のCSFサンプルは、サルグレン・ユニバーシティー・ホスピタル (Sahlgren's University Hospital)、スウェーデン、イエーテボリ (Goeteborg, Sweden) より提供された。それらは、AD、ICD-10 (世界保健機構 (World Health Organization)、1992) および神経およびコミュニケーション障害および脳卒中-アルツハイマー病ならびに関連疾患協会の国立研究所 (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related disorder Association) (NINCDS-ADRDA基準; マックカン (McKann) ら、1984) の一般に受け入れられた基準に従って、日常的な診断手順の目的のために診断した患者から回収した。コントロール群は、精神または神経疾患の既往歴、症状、または徴候を伴わない個体からなる。

40

【0091】

イエーテボリ大学倫理委員会 (The Ethics Committees of the University of Goeteborg)、スウェーデン (Swed

50

en) が研究を承認した。すべての患者 (または彼らの近親者) およびコントロールは、ヘルシンキ宣言 (Declaration of Helsinki) の規定に従って行われた研究参加の同意 (informed consent) を提示した。

【0092】

2. マルチパラメータ免疫アッセイによる特異的 A β ペプチドのレベル x および y の解析

xMapTM 技術 (ルミネックス (Luminex)、米国テキサス州オースティン (Austin, Texas, USA)) を使用して、CSF サンプルにおける特異的 A β ペプチドのレベル x および y を決定した。捕捉抗体として、x の検出のためにモノクローナル抗体 3D6 を使用し、y の検出のためにモノクローナル抗体 4G8 を使用した。モノクローナル抗体 21F12 を検出抗体として使用した。上記のようにマルチパラメータアッセイを行った。

10

【0093】

データ解析は、ボックスプロットによるグラフ表示に基づいた。これらは、中央値および各変数についてデータポイントの中央部 50% を含む 25% ~ 75% 範囲を表す。2 群 (AD とコントロール) 間を識別するための変数の能力に対するさらなる支持が、対比較のためのスチューデント・ニューマン・クルーズ (Student-Newman-Keuls) の検定によって提供される。有意な p 値 (< 0.05) は、AD とコントロール患者間の変数の識別能に対し、強力な支持を提供する。

【0094】

20

図 11 (3D6 - 21F12) および図 12 (4G8 - 21F12) では、AD 患者およびコントロール群の CSF サンプルにおける特異的 A β ペプチドのそれぞれレベル x および y の中央値および 25% - 75% 区間を示す。AD を患っている患者とコントロール被験体との間で、3D6 または 4G8 に結合する A β ペプチドの明確な差異が観察された。スチューデント・ニューマン・クルーズ (Student-Newman-Keuls) の検定の p 値は < 0.001 および 0.008 であり、それぞれレベル x (3D6 に結合する特異的 A β ペプチド) および y (4G8 に結合する特異的 A β ペプチド) の識別能を示す。

【0095】

図 13 (RATIO: 3D6 対 4G8) では、AD 患者およびコントロール群の CSF サンプルにおける x/y の比 (ここで、x は 3D6 に結合する特異的 A $\beta_{42(43)}$ ペプチドのレベルであり、y は 4G8 に結合する特異的 A $\beta_{42(43)}$ ペプチドのレベルである) の中央値および 25% ~ 75% 区間を示す。また、この比 x/y の場合、AD を患っている患者とコントロール被験体との間に、明確な差異が観察される。スチューデント・ニューマン・クルーズ (Student-Newman-Keuls) の検定の p 値は 0.003 であり、この比の識別能を示す。

30

【0096】

3. 表面活性化レーザー脱離イオン化技術による特異的 A β ペプチドのレベル x および y の解析

表面活性化レーザー脱離イオン化 (SELDI) 技術を適用して、AD 患者 (n = 22) および非認知症コントロール (n = 20) 由来の 22 の個々の CSF サンプルの CSF における A $\beta_{(42)}$ ペプチドのパターンを解析および比較した。CSF サンプルを、特異的 A $\beta_{(42)}$ ペプチドの存在について、SELDI-TOF (PBS IIc) 上で分析した。これを可能にするために、以下のイムノアレイ調製プロトコルによって、A β ペプチドを、免疫学的にプロテインチップ (ProteinChip) に結合させた。1 μ g 4D7A3 をアレイスポット上に適用し、PS10 プロテインチップ (ProteinChip) アレイへの共有結合を可能にするための保湿チャンバーにおけるインキュベーション (3 時間、RT) によって、 β -アミロイド ($_{42}$) ペプチドの C 末端に対するモノクローナル抗体 (4D7A3; イノジェネティクス (Innogenetics) カタログ番号 BR032D) を PS10 プロテインチップ (ProteinChip)

40

50

に共有結合させた。PBS/0.1%トリトン (T r i t o n) X-100で2回、アレイを洗浄した。2×PBS (pH8.0)でさらなる洗浄を実施した。0.5Mトリス (T r i s) pH8.0 (2時間中、RT)でアレイをブロックした。PBS/0.1%トリトン (T r i t o n) X-100で2回、アレイを再度洗浄した。プロテインチップ (P r o t e i n C h i p) バイオプロセッサーを使用して、0.1M尿素/0.1%CHAPS中100μl CSFをスポット上に充填し、一定の振盪により、1晩、4℃でインキュベートした。PBS/0.1%トリトン (T r i t o n) X-100で2回、アレイを再度洗浄し、50mMヘ pes (H e p e s) pH8.0でさらに2回洗浄した。空気乾燥したアレイスポット上に50%ACN/50%TFA中α-シアノー4-ヒドロキシ桂皮酸を適用し、質量分析を実施した。コントロール抗体としての抗体31D11で同じイムノアレイを調製し、Aβペプチドを伴わないスペクトルを得た (図14)。

【0097】

ダイナフォリン (D y n a p h o r i n) (Mr=2147, 50Da)、ヒトACTH (1-24) (2933, 50)、ウシインスリンβ鎖 (3495, 94)、およびヒトインスリン (5807, 65) によって、外部校正を実施した。このことに基づいて、4514, 1Daの理論的質量により、Aβ (42) ペプチドピークについての質量精度を算出した。SELDI-TOFによって測定されたm/z値は、4512, 069Da (STDEV1, 193456、%CV0, 02645)であり、450ppmのこの実験についての精度が得られた。SELDI-TOF (450ppm)のこの質量精度を考慮し、関連の合成βアミロイドペプチドの補足分析を使用して、新規のN末端短縮型βアミロイドペプチドを、それらの分子量に基づいて以下の通りに割り当てた。1-42、11-42、8-42、5-42および3-42 (図14)。CSFサンプルを酸化すると、Aβペプチドでは16ダルトンの質量の変化が生じた (図15)。理論的および測定された質量ならびに本技術の質量精度を表4に示す。多くのAβペプチドについて、極めて高い精度が得られた。試験したサンプルにおける異なる特異的Aβペプチドのピーク強度を表5に示す。非認知症コントロールのCSFと比較すると、Aβ (1-42) のペプチドピーク強度は、AD CSFにおいて特異的に減少する。測定したN短縮型βアミロイド (42) ペプチドピーク強度では、2つの患者群間で有意な差異が検出されなかった。しかし、検出されたアミロイド種の質量ピーク強度をAβ (1-42) /Aβ (N-42) の比として表した場合、アルツハイマー病患者をコントロールの群から識別することができた (データ示さず)。

【0098】

測定を改善するために、同じサンプルを高レーザー強度に暴露し、いくつかのサンプルについてより高精度のデータを入手した。校正目的のために、7fmolの9-42βアミロイドペプチド (アナスペック・サン・ホセ (AnaSpec San Jose)、カリフォルニア州 (CA) ; カタログ番号60084-1) および6fmolウシインスリン (サイファージェン・バイオシステムズ・フレモント (CIPHERGENE Biosystems Fremont)、カリフォルニア州 (CA)) を適用し、データ校正に使用した。図16および17では、ADおよびコントロール群のCSFサンプルにおける特異的Aβ (1-42) およびAβ (11-42) ペプチドに関する正規化されたデータにより、中央値および25%~75%区間を算出した。Aβ (1-42) およびAβ (11-42) レベルがADおよびコントロール被験体間を識別する能力を、対比較のためのスチューデント・ニューマン・クルーズ (Student-Newman-Keuls) の検定によってさらに評価した。Aβ (11-42) レベルに対する値は0.041であり、Aβ (11-42) レベルの識別能が示された。図18では、ADおよびコントロール群のCSFサンプルにおける比Aβ (1-42) /Aβ (11-42) に関する正規化されたデータにより、中央値および25%~75%区間を算出した。この比についても、ADを患っている患者およびコントロール被験体間で明確な差異が観察される。スチューデント・ニューマン・クルーズ (Student-Newman-Keuls) の検定によって算出されたp値は0.003であり、この比Aβ (1-42) /Aβ (11-42)

10

20

30

40

50

－ 4 2) の識別能を示した。正規化されたデータを比の解析に使用した場合、A D およびコントロールグループ間の識別の程度が改善された。

【 0 0 9 9 】

【表 1】

表 1. 本発明の方法で検出される特異的 A β ペプチドと免疫複合体を形成することが可能な抗体

抗体	A β のエピトープ	参考文献
x/y 比の分子(即ち、x)の特異的 Aβ ペプチドの検出[第1の抗体]		
3D6	1-5	Games ら、1995; Bard ら、2000; Vanderstichele ら、2000; DeMattos ら、2001; Brayden ら、2001; Elan Pharmaceuticals, South San Francisco, CA, US
BAN-50	(1-10)	Iwatsubo ら、1994; Suzuki ら、1994; Gravina ら、1995; Tamaoka ら、1997; Enya ら、1999; Harigaya ら、2000; Kawarabayashi ら、2001; Oshima ら、2001; EP 0 683 234 A1
抗 A β ₁₋₅ 抗 N1(D)	1-5	Saido ら、1995; 1996; Russo ら、1997; Tekirian ら、1998
x/y 比の分母(即ち、y)の特異的 Aβ ペプチドの検出[第 2 の抗体]		
6E10	4-13	Kim ら、1990; Metha ら、1991; Ghiso ら、1992; Pirtilla ら、1994; Kida ら、1995; Wang ら、1996; Russo ら、1997; Kawarabayashi ら、2001; Oshima ら、2001; Wiltfang ら、2002; セネテック(Senetek)、米国ミズーリ州セントルイス(St. Louis, MO, USA); シグネット・ラボラトリーズ、デダム(Signet Laboratories)、米国、マサチューセッツ州 (Dedham, MA, US)
10H3	7-12	国際公開第 89/06242 号パンフレット; Majocha ら、1992; Friedland ら、1994
4G8	17-24	Kim ら、1988; Bancher ら、1989; Kim ら、1990; Spillantini ら、1990; Metha ら、1991; Anderson ら、1992; Shoji ら、1992; Harrington ら、1993; Pirtilla ら、1994; Gravina ら、1995; Kida ら、1995; Wang ら、1996; Russo ら、1997; Enya ら、1999; Harigaya ら、2000; Kawarabayashi ら、2001; Oshima ら、2001; セネテック、米国ミズーリ州セントルイス、シグネット・ラボラトリーズ、デダム、米国マサチューセッツ州
266	13-28	Citron ら、1992; Haass ら、1992; Seubert ら、1992; Vigo-Pelfrey ら、1993
5E2	(6-24)	Kim ら、1988; 国際公開第 89/06242 号パンフレット
4D12	8-17	Allsop ら、1986; 1990
2F9	17-24	Kim ら、1988; Bancher ら、1989; Kim ら、1990
1D2	8-17	Allsop ら、1986
1G10	8-17	Allsop ら、1986; Ikeda ら、1987
3B6	8-17	Allsop ら、1986
4G5	17-24	Kim ら、1988; Bancher ら、1989
4E11	17-24	Kim ら、1988; Bancher ら、1989
2B8	17-24	Kim ら、1988; Bancher ら、1989
BNT 77	11-16	Asami-Odaka ら、1995; Tamaoka ら、1997; Enya ら、1999; Kawarabayashi ら、2001; Oshima ら、2001
WO2	5-8	Ida ら、1996; Jensen ら、2000
6F/3D	8-17	Tanzi ら、1988; Thal ら、1999; ダコサイトメーション (DakoCytomation)N.V., ベルギー、ヒバリ (Heverlee, Belgium)、ノボカストラ・ラボラトリーズ (Novocastra Laboratories)Ltd, 英国ニューカッスルアポン・タイン (Newcastle upon Tyne, UK)
Hyb310-01	10-16	アンチボディショップ (Antibodyshop)、デンマーク、コペンハーゲン (Copenhagen, Denmark)
Hyb310-03	9-10	Antibodyshop, Copenhagen, Denmark
Hyb310-04	10-16	Antibodyshop, Copenhagen, Denmark
Hyb310-07	5-9	Antibodyshop, Copenhagen, Denmark
Hyb310-08	10-16	Antibodyshop, Copenhagen, Denmark
8E1	N3pE	IBL-(ハンブルグ)Hamburg, ドイツ、ハンブルグ (Hamburg, Germany)

【 0 1 0 0 】

【表 2】

表 2. 同定されている N 末端短縮型 A β ペプチド

A β ペプチド	供給源	参考文献
2-13	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
2-14	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
2-15	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
2-16	AD 被験体の脳	Sergeant ら, 2003
2-18	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
2-19	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
2-20	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
2-36	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
2-37	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
2-38	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
2-39	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
2-40	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
2-42	神経膠腫 H4 またはトランスフェクトした初代マウスニューロン	Wiltfang ら, 2001
	AD 脳の界面活性剤(RIPA)可溶性画分	Wiltfang ら, 2001
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
3-14	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
3-16	AD 被験体の脳	Sergeant ら, 2003
3-34	CSF プール	Vigo-Pelfrey ら, 1993
3-38	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
3-40	ヒト腎 293 細胞	Haass ら, 1992
	AD 脳	Näslund ら, 1994
	ヒト腎 293 細胞	Cescato ら, 2000
3p-40	A β 沈着	Harigaya ら, 2000
	ブールした脳ホモジネート	Wiltfang ら, 2001
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
3-42	AD 脳	Näslund ら, 1994
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
3p-42	A β 沈着	Harigaya ら, 2000
	ブールした脳ホモジネート	Wiltfang ら, 2001
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
3p-C	A β 沈着	Saido ら, 1995; 1996
	びまん性老人斑	Iwatsubo ら, 1996
	脳抽出物	Russo ら, 1997
	AD 脳	Tekirian ら, 1998
4-14	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
4-16	AD 被験体の脳	Sergeant ら, 2003
4-18	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
4-19	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
4-42	脳皮質	Näslund ら, 1994
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
5-16	AD 被験体の脳	Sergeant ら, 2003
5-27	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
5-29	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
5-34	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
5-36	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
5-40	ヒト腎 293 細胞	Cescato ら, 2000
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
6-27	CSF プール	Vigo-Pelfrey ら, 1993
	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
6-34	CSF プール	Vigo-Pelfrey ら, 1993
	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
6-35	CSF プール	Vigo-Pelfrey ら, 1993
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002

【表 3】

表 2. 続き

6-42	CSF プール	Vigo-Pelfrey ら, 1993
	AD 脳	Näslund ら, 1994
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
7-40	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
7-42	AD 脳	Näslund ら, 1994
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
8-16	AD 被験体の脳	Sergeant ら, 2003
8-34	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
8-40	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
8-42	脳皮質	Näslund ら, 1994
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
9-16	AD 被験体の脳	Sergeant ら, 2003
9-42	AD 脳	Näslund ら, 1994
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
10-16	AD 被験体の脳	Sergeant ら, 2003
10-40	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
10-42	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
11-27	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
11-28	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
11-33	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
11-34	CSF プール	Vigo-Pelfrey ら, 1993
	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
11-37	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
11-38	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
11-39	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
11-40	ヒト腎 293 細胞	Haass ら, 1992
	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
11-42	脳皮質	Näslund ら, 1994
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
11p-42	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
11-43	CSF プール	Vigo-Pelfrey ら, 1993
11-C	CSF	Seubert ら, 1992
11p-C	脳抽出物	Russo ら, 1997
12-33	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
12-34	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
12-37	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
12-38	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
12-40	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
12-43	CSF プール	Vigo-Pelfrey ら, 1993
14-34	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
14-38	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
14-40	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
14-42	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
15-34	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
15-38	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
15-40	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
16-34	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
16-40	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
16-42	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
17-34	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
17-40	ヒト腎 293 細胞	Haass ら, 1992
	トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
	非トランスフェクト(APP)マウス神経芽(N2a)細胞	Wang ら, 1996
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002

【表 4】

表 2. 続き

17-42	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
18-40	ヒト腎 293 細胞	Haass ら, 1992
	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002
19-42	AD の A β 沈着	Kalback ら, 2002

p:ピログルタミン酸;C:A β の C 末端は規定されていない

【 0 1 0 3 】

【表 5】

表 3. 本発明の方法において検出抗体として使用すべき抗体

抗体	特異性	参考文献
21F12	A β_{42}	Bard ら, 2000; Vanderstichele ら, 2000; Brayden ら, 2001; Elan Pharmaceuticals, South San Francisco, CA, US; Innogenetics N.V., Ghent, Belgium
4D7A3	A β_{42}	Innogenetics N.V., Ghent, Belgium
13E9	A β_{40}	Wiltfang ら, 2002; シェーリング(Shering) AG, 独国ベルリン (Berlin, Germany)
6D5	A β_{42}	Wiltfang ら, 2002; Shering AG, Berlin, Germany
BA-27	A β_{42}	Iwatsubo ら, 1994; Suzuki ら, 1994; Tabaton ら, 1994; Gravina ら, 1995; Fukumoto ら, 1996; Tamaoka ら, 1997; Enya ら, 1999; Harigaya ら, 2000; Kawarabayashi ら, 2001; Oshima ら, 2001
BC-05	A β_{40}	Iwatsubo ら, 1994; Suzuki ら, 1994; Tabaton ら, 1994; Gravina ら, 1995; Fukumoto ら, 1996; Tamaoka ら, 1997; Enya ら, 1999; Harigaya ら, 2000; Kawarabayashi ら, 2001; Oshima ら, 2001
G2-10	A β_{40}	Ida ら, 1996; Jensen ら, 2000
G2-11	A β_{42}	Ida ら, 1996; Jensen ら, 2000
369.2B	A β_{42}	König ら, 1996
108.1	A β_{42}	Murphy ら, 1994

【 0 1 0 4 】

【表 6】

表 4. ヒト CSF において検出される A β ペプチドの分子量および質量精度

示唆されるペプチド	測定された平均質量(Da)	理論的質量(Da)	質量精度(ppm)
A β 1-42	4513.93	4514.1	37
A β 11-42	3335.99	3335.9	22
A β 8-42	3643.2	3643.2	8
A β 8-42ox	3654.05	3659.2	1415
A β 5-42	4051.12	4051.6	126

ox: 酸化型

【 0 1 0 5 】

10

20

30

【表 7】

表 5. 42 例の臨床症例の CSF における $A\beta_{42}$ ペプチド。データは、モノクローナル抗体 4D7A3 (ox:酸化型) による免疫捕捉後の SELDI-TOF によって検出されたピーク高または強度を示す

	ピーク高 非正規化						
	1-42+2H	11-42	8-42ox	5-42	5-42ox	3-42ox	1-42
AD 001	4,04	2,45	0,51	0,62	0,63	1,1	16,52
AD 002	1,65	1,96	0,96	0,87	0,71	0,43	11,57
AD 003	6,23	4,99	0,65	1,06	0,59	1,23	29,67
AD 004	7,1	4,04	1,04	0,61	0,16	0,43	11,73
AD 005	4,87	2,46	0,47	0,56	0,62	0,88	14,88
AD 006	2,9	1,35	0,79	0,56	0,38	0,32	6,19
AD 007	4,81	3,98	1,28	0,88	0,65	0,85	20,93
AD 008	4,1	5,38	1,48	0,74	0,52	1,22	21,91
AD 009	4,02	4,01	1,59	0,71	0,4	0,99	22,45
AD 010	4,6	4,59	0,72	0,51	0,49	0,76	20,04
AD 011	4,73	5,18	0,75	1,12	0,45	0,83	32,31
AD 012	2,7	2,68	1,54	0,62	0,66	0,72	13,73
AD 013	2,35	1,97	0,67	0,53	0,78	0,86	16,1
AD 014	1,27	0,98	0,75	0,43	0,58	0,38	3,49
AD 015	1,73	2,2	0,65	0,45	0,48	0,42	6,15
AD 016	8,45	7,9	0,94	1,49	0,71	1,36	49,83
AD 017	2,46	1,69	0,75	0,57	0,9	0,64	11,82
AD 018	2,74	2,17	1,28	0,27	0,36	0,69	8,83
AD 019	1,56	1,07	1,13	0,46	0,71	0,99	4,83
AD 020	5,08	5,07	0,33	1,2	0,68	0,65	25,3
AD 021	1,09	0,97	1,62	0,78	0,71	0,48	4,36
AD 022	4,88	6,08	1,47	0,66	0,77	0,63	27
コントロール 34384	1,06	0,91	5,58	0,52	2,24	0,46	3,25
コントロール 34393	1,5	1,09	1,19	0,62	0,71	0,26	3,94
コントロール 34411	1,99	1,37	1,89	0,24	0,9	0,69	7,75
コントロール 34417	4,92	3,07	0,89	0,76	0,94	0,69	22,92
コントロール 34431	1,95	0,93	0,87	0,35	0,89	0,43	8,75
コントロール 9002163	2,85	1,71	1,49	0,46	0,55	0,36	8,52
コントロール 34460	3,78	0,76	2,09	0,67	0,83	0,55	16,53
コントロール 34490	9,3	4,19	1,25	0,71	0,44	1,5	38,38
コントロール 34493	6,59	2,67	1,05	0,79	0,42	0,92	27,55
コントロール 34500	1,81	1,23	1,82	0,24	1,41	0,61	7,07
コントロール 34610	2,29	1,58	0,64	0,49	0,23	0,7	8,35
コントロール 34667	4,31	1,82	1,21	0,44	0,53	0,71	15,99
コントロール 34681	3,24	2,6	0,72	0,87	0,54	0,94	16,27
コントロール 34699	2,69	1,56	1,92	0,75	0,32	0,69	10,08
コントロール 34861	7,61	2,73	1,63	0,37	0,58	0,88	44,65
コントロール 34951	4,82	5,35	0,95	0,66	0,29	1,47	25,17
コントロール 34993	4,04	3,32	0,3	0,48	0,8	0,63	29,61
コントロール 35007	2,11	1,12	0,33	0,87	0,99	0,41	7,63
コントロール 34401	3,67	0,8	1,37	0,18	0,68	0,63	16,5
コントロール 99002240	4,37	2,37	1,89	0,63	0,46	4,01	21,52

【0106】

参考文献

アルソプ D. (Allsop D.)、ランドン M. (Landon M.)、キッド M. (Kidd M.)、レーベ J. S. (Lowe J. S.)、レイノルズ

10

20

30

40

50

G. P. (Reynolds G. P.)、ガードナー A. (Gardner A.) (1986) 老人斑コアタンパク質のサブ配列に対して生じるモノクローナル抗体は、アルツハイマー病におけるプラークのコア部、プラークの辺縁部および脳血管アミロイドと反応する (Monoclonal antibodies raised against a subsequence of senile plaque core protein react with plaque cores, plaque periphery and cerebrovascular amyloid in Alzheimer's disease.) *Neurosci. Lett.* 68:252-256

アルソプ D. (Allsop D.)、ハガ S. (Haga S.)、ブルートン C. (Bruton C.)、イシイ T. (Ishii T.)、ロバーツ G. W. (Roberts G. W.) (1990) ボクサー認知症のいくつかの症例における神経原線維変化は、アルツハイマー病のアミロイドβタンパク質と共通の抗原を有する (Neurofibrillary tangles in some cases of dementia pugilistica share antigens with amyloid beta-protein of Alzheimer's disease.) *Am. J. Pathol.* 136:255-260

American Psychiatric Association (1994) *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*、第5版、ワシントンDC (Washington, DC): 米国精神医学会 (American Psychiatric Association) アンダーソン J. P. (Anderson J. P.)、チェン Y. (Chen Y.)、キム K. S. (Kim K. S.)、ロバキス N. K. (Robakis N. K.) (1992) 代替的セクレターゼ切断は、潜在的アミロイド原性配列を含有する可溶性アルツハイマーアミロイド前駆体タンパク質を生じる (An alternative secretase cleavage produces soluble Alzheimer amyloid precursor protein containing a potentially amyloidogenic sequence.) *J. Neurochem.* 59:2328-2331

アンドレアセン N. (Andreassen N.)、バンメヒレン E. (Vanmechelen E.)、ファン・デ・フォールデ A. (Van de Voorde A.)、デビッドソン P. (Davidsson P.)、ヘッセ C. (Hesse C.)、タルフォネン S. (Tarvonen S.)、ライハ I. (Raiha I.)、ソーランダー L. (Sourander L.)、ウィンブラッド B. (Winblad B.)、ブレンナウ K. (Blennow K.) (1998) アルツハイマー病の生化学的マーカーとしての脳脊髄液タウタンパク質：コミュニティに基づくフォローアップ研究 (Cerebrospinal fluid tau protein as a biochemical marker for Alzheimer's disease: a community based follow up study.) *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 64:298-305

アンドレアセン N. (Andreassen N.)、ヘッセ C. (Hesse C.)、デビッドソン P. (Davidsson P.)、ミントン L. (Minton L.)、ウォリン A. (Wallin A.)、ウィンブラッド B. (Winblad B.)、ファンデルスティケル H. (Vanderstichele H.)、バンメヒレン E. (Vanmechelen E.)、ブレンナウ K. (Blennow K.) (1999a) アルツハイマー病における脳脊髄液βアミロイド(1-42)：早発性および遅発性アルツハイマー病間の差異および疾患経過中の安定性 (Cerebrospinal fluid beta-amyloid(1-42) in Alzheimer disease: differences between ear

10

20

30

40

50

- ly- and late-onset Alzheimer disease and stability during the course of disease.) Arch. Neurol. 56:673-680
- アンドレアセン N. (Andreasen N.)、ミントン L. (Minton L.)、バンメヒレン E. (Vanmechelen E.)、ファンデルスティケル H. (Vanderstichele H.)、デビッドソン P. (Davidsson P.)、ウィンブラッド B. (Winblad B.)、ブレンナウ K. (Blennow K.) (1999b) 軽度認知障害患者におけるアルツハイマー病の発現の推定物としての脳脊髄液タウおよびA β 42 (Cerebrospinal fluid tau and A β 42 as predictors of development of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment.) Neurosci. Lett. 273:5-8 10
- アンドレアセン N. (Andreasen N.)、バンメヒレン E. (Vanmechelen E.)、ファンデルスティケル H. (Vanderstichele H.)、デビッドソン P. (Davidsson P.)、ブレンナウ K. (Blennow K.) (2003) 全タウ、リン酸化タウおよびA β 42の脳脊髄液レベルは軽度認知障害患者におけるアルツハイマー病の発現を推定する (Cerebrospinal fluid levels of total-tau, phospho-tau and A β 42 predicts development of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment.) Acta Neurol. Scand. 107 (補遺179):47-51 20
- アライ H. (Arai H.)、イシグロ K. (Ishiguro K.)、オオノ H. (Ohno H.)、モリヤマ M. (Moriyama M.)、イトウ N. (Itoh N.)、オカムラ N. (Okamura N.)、マツイ T. (Matsui T.)、モリカワ Y. (Morikawa Y.)、ホリカワ E. (Horikawa E.)、コウノ H. (Kohnno H.)、ササキ H. (Sasaki H.)、イマホリ K. (Imahori K.) (2000) CSFリン酸化タウタンパク質および軽度認知障害：前向き研究 (CSF phosphorylated tau protein and mild cognitive impairment: a prospective study.) Exp. Neurol. 166:201-203 30
- アサミーオダカ A. (Asami-Odaka A.)、イシバシ Y. (Ishibashi Y.)、キクチ T. (Kikuchi T.)、キタダ C. (Kitada C.)、スズキ N. (Suzuki N.) (1995) 野生型ヒト神経芽細胞腫IMR-32細胞から分泌される長鎖アミロイド β タンパク質 (Long amyloid beta-protein secreted from wild-type human neuroblastoma IMR-32 cells.) Biochemistry 34:10272-10278 40
- オースティン B. M. (Austin B. M.)、フリアス E. R. (Fleary E. R.)、デービーズ H. (Davies H.) (2000) トランスフェクト細胞におけるアルツハイマーベータアミロイドの産生をモニターするためのセルディ・プロテインチップ・アッセイの使用 (The use of seldi proteinchip arrays to monitor production of Alzheimer's betaamyloid in transfected cells.) J. Pept. Sci. 6:459-469
- バンカー C. (Bancher C.)、グランドケーイクバル I. (Grundke-Iqbal I.)、イクバル K. (Iqbal K.)、キム K. S. (Kim K. S.)、ウィスニースキー H. M. (Wisniewski H. M.) 50

(1989) ニューロンリポフスチンのアミロイドβタンパク質に対するモノクローナル抗体との免疫反応性 (Immunoreactivity of neuronal lipofuscin with monoclonal antibodies to the amyloid beta-protein.) *Neurobiol. Aging* 10:125-132

バード F. (Bard F.), キャノン C. (Cannon C.), バーバー R. (Barbour R.), バーク R. L. (Burke R. L.), ゲイムズ D. (Games D.), グラジェダ H. (Grajeda H.), グレイド T. (Guido T.), フー K. (Hu K.), ホアン J. (Huan J.), ジョンソン-ウッド K. (Johnson-Wood K.), カーン K. (Khan K.), クホルデンコ D. (Kholodenko D.), リー M. (Lee M.), リーバーバーグ I. (Lieberburg I.), マター R. (Mottter R.), グエン M. (Nguyen M.), ソリアーノ F. (Soriano F.), バスケス N. (Vasquez N.), ベイス K. (Weiss K.), ベルシュ B. (Welsch B.), ソイベルト P. (Seubert P.), シェンク D. (Schenk D.), エドノック T. (Yednock T.)

(2000) 末梢に投与されたアミロイドβ沈着ペプチドに対する抗体は中枢神経系に進入し、アルツハイマー病のマウスモデルの病状を軽減する (Peripherally administered antibodies against amyloid beta-peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease.) *Nat. Med.* 6:916-919

ブレンナウ K. (Blennow K.), ウォリン A. (Wallin A.), アグレン H. (Agren H.), シュペンガー C. (Spenger C.), ジークフリート J. (Siegfried J.), バンメヒレン E. (Vanmechelen E.) (1995) 脳脊髄液中のタウタンパク質：アルツハイマー病の軸索分解の生化学的マーカー？ (Tau protein in cerebrospinal fluid: a biochemical marker for axonal degeneration in Alzheimer's disease?) *Mol. Chem. Neuropathol.* 26:231-235

ブライデン D. J. (Brayden D. J.), テンブルトン L. (Templeton L.), マッククリーン S. (McClean S.), バーバー R. (Barbour R.), ホワン J. (Huang J.), グエン M. (Nguyen M.), アヘルン D. (Ahern D.), マター R. (Mottter R.), ジョンソン-ウッド K. (Johnson-Wood K.), バスケス N. (Vasquez N.), シェンク D. (Schenk D.), ソイベルト P. (Seubert P.) (2001) 生分解性微粒子へのカプセル化はマウスにおいて非経口的に送達されたβアミロイドに対する血清中抗体応答を増強する (Encapsulation in biodegradable microparticles enhances serum antibody response to parentally-delivered beta-amyloid in mice.) *Vaccine* 19:4185-4193

バーガー K. (Buerger K.), テイペル S. J. (Teipel S. J.), ジンコスキー R. (Zinkowski R.), ブレンナウ K. (Blennow K.), アライ H. (Arai H.), エンゲル R. (Engel R.), ホフマン-キーファー K. (Hofmann-Kiefer K.), マカラッチ C. (McCulloch C.), トック U. (Ptok U.), ヒューン R. (Heun R.), アンドレアセン N. (Andreasen N.), デ・バーナーディス J. (DeBernardis J.), ケルクマン D. (Kerkma

10

20

30

40

50

- n D.)、マラー H. -J. (Moeller H. -J.)、デービーズ P. (Davies P.)、ハンペル H. (Hampel H.) (2002) スレオニン 231 がリン酸化された CSF タウタンパク質は、MCI 被験体の認知機能低下に相関する (CSF tau protein phosphorylated at threonine 231 correlates with cognitive decline in MCI subjects.) *Neurology* 59: 627-629
- セスカト R. (Cesca to R.)、デュメルムス E. (Dumermuth E.)、スピース M. (Spiess M.)、パゲネティー P. A. (Paganetti P. A.) (2000) 飲食作用においてアミロイド前駆体タンパク質欠損の変異を発現する細胞における代替的に切断される β アミロイドペプチドの増加された作製 (Increased generation of alternatively cleaved beta-amyloid peptides in cells expressing mutants of the amyloid precursor protein defective in endocytosis.) *J. Neurochem.* 74: 1131-1139
- チャートコウ H. (Chertkow H.) (2002) 軽度認知障害 (Mild cognitive impairment) *Curr. Opin. Neurol.* 15: 401-407
- シトロン M. (Citron M.)、オルターズドルフ T. (Oltersdorf T.)、ハース C. (Haass C.)、マッコンログ L. (McConlogue L.)、フング A. Y. (Hung A. Y.)、ソイベルト P. (Seubert P.)、ビゴーペルフレイ C. (Vigo-Pelfrey C.)、リーバーバーグ I. (Lieberburg I.)、セルコエ D. J. (Selkoe D. J.) (1992) 家族性アルツハイマー病における β アミロイド前駆体タンパク質の変異は β タンパク質産生を増加する (Mutation of the beta-amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases beta-protein production.) *ネイチャー (Nature)* 360: 672-674
- コール (Cole) ら (1985) *In: Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*. アラン R. リス・インク (Alan R. Liss, Inc.) 77~96 頁
- コンデ S. (Conde S.) (2002) アルツハイマー病の処置の標的としての β アミロイドペプチド (β -amyloid peptide as a target for treatment of Alzheimer's disease.) *Expert Opin. Ther. Patents* 12: 503-512
- コルテスーレタモゾ V. (Cortez-Retamozo V.)、ロイウェレイズ M. (Lauwereys M.)、ハッサンザデ Gh. G. (Hassanzadeh Gh. G.)、ゴーベルト M. (Goibert M.)、コンラス K. (Conrath K.)、ムルダーマン S. (Muyldermans S.)、デ・バトセリアー P. (De Baetselier P.)、レベッツ H. (Revet H.) (2002) ラクダの単ドメイン抗体による効率的腫瘍標的化 (Efficient tumor targeting by single-domain antibody fragments of camels.) *Int. J. Cancer* 98: 456-462
- デビッドソン P. (Davidsson P.)、ウエストマン A. (Westman A.)、パチャデス M. (Puchades M.)、ニルソン C. L. (Nilsson C. L.)、ブレンナウ K. (Blennow K.) (1999) 予備 2 次元液相電気泳動およびマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析の組み合わせによるヒト脳脊髄液由来のタンパク質の特徴付け (Characterization of Proteins from Human Cerebrospinal

l Fluid by a Combination of Preparative Two-Dimensional Liquid-Phase Electrophoresis and Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry.) Anal. Chem. 71:642-647

デービーズ H. (Davies H.)、ロマス . L (Lomas . L)、オースティン B. (Austin B.) (1999) SELDIプロテインチップアレイを使用するアミロイドβペプチド変異体のプロファイリング (Profiling of amyloid beta peptide variants using SELDI Protein Chip arrays.) Biotechniques 27:1258-1261

10

デ・ジョング C. (De Jonghe C.)、エッセレンス C. (Esselens C.)、クマー-サイ S. (Kumar-Singh S.)、クラエサエサーツ K. (Craessaerts K.)、サニールズ S. (Serneels S.)、チェクラ F. (Checler F.)、アンナエルト W. (Annaert W.)、ファン・ブルックホーフェン C. (Van Broeckhoven C.)、デ・ストラッパー B. (De Strooper B.) (2001) γ-セクレターゼ切断部位付近の病原性APP変異は、Aβ分泌およびAPPのC末端フラグメントの安定性に特異に影響を及ぼす (Pathogenic APP mutations near the gamma-secretase cleavage site differentially affect Abeta secretion and APP C-terminal fragment stability.) Hum. Mol. Genet. 10:1665-1671

20

デマトス R. B. (DeMattos R. B.)、バレス K. R. (Bales K. R.)、クミンズ D. J. (Cummins D. J.)、ドダート J. C. (Dodart J. C.)、パウル S. M. (Paul S. M.)、ホルツマン D. M. (Holtzman D. M.) (2001) 末梢抗Aβ抗体は、CNSおよび血漿中Aβクリアランスを変更し、アルツハイマー病のマウスモデルにおける脳Aβ負荷を減少する (Peripheral anti-A beta antibody alters CNS and plasma A beta clearance and decreases brain A beta burden in a mouse model of Alzheimer's disease.) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98:8850-8855

30

エンヤ M. (Enya M.)、ヨリシマーカワシマ M. (Morishima-Kawashima M.)、ヨシムラ M. (Yoshimura M.)、シンカイ Y. (Shinkai Y.)、クスイ K. (Kusui K.)、カーン K. (Khan K.)、ゲイムズ D. (Games D.)、シェンク D. (Schenk D.)、スギハラ S. (Sugihara S.)、ヤマグチ H. (Yamaguchi H.)、イハラ Y. (Ihara Y.) (1999) 加齢中の皮質におけるドデシル硫酸ナトリウム安定性アミロイドβタンパク質 (Aβ) ダイマーの出現 (Appearance of sodium dodecyl sulfate-stable amyloid beta-protein (Abeta) dimer in the cortex during aging.) Am. J. Pathol. 154:271-279

40

フリードラント R. P. (Friedland R. P.)、マジョカ R. E. (Majocha R. E.)、リノ J. M. (Reno J. M.)、ライル L. R. (Lyle L. R.)、マロッタ C. A. (Marotta C. A.) (1994) アルツハイマー病におけるアミロイド血管症のインビトロ画像化のための抗Aβモノクローナル抗体の開発 (Development of an anti-A beta monoclonal antibody for in vivo imaging

50

of amyloid angiopathy in Alzheimer's disease.) Mol. Neurobiol. 9:107-113

フクモト H. (Fukumoto H.)、アサミーオダカ A. (Asami-Odaka A.)、スズキ N. (Suzuki N.)、イワツボ T. (Iwatsubo T.) (1996) アルツハイマー病患者の脳および非認知症加齢型個体における A β 40 陽性老人斑と小膠細胞との関連 (Association of A β 40-positive senile plaques with microglial cells in the brains of patients with Alzheimer's disease and in non-demented aged individuals.) Neurodegeneration 5:13-17. 10

ガラスコ D. (Galasko D.)、チャン L. (Chang L.)、マター R. (Mottter R.)、クラーク C. M. (Clark C. M.)、ケイ J. (Kaye J.)、ナップマン D. (Knopman D.)、トーマス R. (Thomas R.)、クホルデンコ D. (Kholodenko D.)、シェンク D. (Schenk D.)、リーバーバーグ I. (Lieberburg I.)、ミラー B. (Miller B.)、グリーン R. (Green R.)、バシャラッド R. (Basherad R.)、ケルタイル L. (Kertiles L.)、ボス M. A. (Boss M. A.)、ソイベルト P. (Seubert P.) (1998) アルツハイマー病の臨床診断における高脳脊髄液タウおよび低アミロイド β 42 レベルならびにアポリポプロテイン E 遺伝子型との関係 (High cerebrospinal fluid tau and low amyloid beta 42 levels in the clinical diagnosis of Alzheimer disease and relation to apolipoprotein E genotype.) Arch. Neurol. 55:937-945 20

ゲイムズ D. (Games D.)、アダムス D. (Adams D.)、アレサンドリニ R. (Alessandrini R.)、バーバー R. (Barbour R.)、バーセレッテ P. (Berthellette P.)、ブラックウェル C. (Blackwell C.)、カル T. (Carr T.)、クレメンズ J. (Clemens J.)、ドナルドソン T. (Donaldson T.)、ギレスピー F. (Gillespie F.) ら (1995) V717F β アミロイド前駆体タンパク質を過剰発現するトランスジェニックマウスにおけるアルツハイマー型神経病理学 (Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F beta-amyloid precursor protein.) ネイチャー (Nature) 373:523-527 30

ギンジリス A. L. (Ghindilis A. L.)、パブロフ A. R. (Pavlov A. R.)、アタナソフ P. B. (Atanassov P. B.) (編) (2002) Immunoassay Methods and Protocols. ヒューマナ・プレス (Humana Press) 米国、ニュージャージー州、トトワ (Totowa, NJ, US.) 40

ギソ J. (Ghisso J.)、ロスタグノ A. (Rostagno A.)、ガーデラ E. (Gardella J. E.)、リーム L. (Liem L.)、ゴアビック P. D. (Gorevic P. D.)、フランギオン B. (Frangione B.) (1992) アルツハイマー病アミロイド前駆体タンパク質の109アミノ酸 C 末端フラグメントは、細胞粘着を促進する配列-RHDS-を含有する (A 109-amino-acid C-terminal fragment of Alzheimer's-disease amyloid precursor protein contains a sequence, -RHDS-, that promotes 50

cell adhesion.) Biochem. J. 288:1053-1059
 グレンナー G. G. (Glenner G. G.)、ウォング C. W. (Wong C. W.) (1984) アルツハイマー病：新規脳血管アミロイドタンパク質の精製および特徴付けに関する最初の報告 (Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein.) Biochem. Biophys. Res. Commun. 120:885-890

ゴエデルト M. (Goedert M.) (1996) アルツハイマー病のタウタンパク質および神経原線維の病理学的変化 (Tau protein and the neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease.) Ann. N. Y. Acad. Sci. 777:121-131

グラビナ S. A. (Gravina S. A.)、ホウ L. (Ho L.)、エックマン C. B. (Eckman C. B.)、ロング K. E. (Long K. E.)、オチボス L. Jr. (Otvos L. Jr.)、ヤンキン L. H. (Younkin L. H.)、スズキ N. (Suzuki N.)、ヤンキン S. G. (Younkin S. G.) (1995) アルツハイマー病脳におけるアミロイドβタンパク質 (Aβ)。Aβ40またはAβ42 (43) で終止する形態に特異的な抗体による生化学的および免疫細胞化学的分析 (Amyloid beta protein (Aβ) in Alzheimer's disease brain. Biochemical and immunocytochemical analysis with antibodies specific for forms ending at Aβ40 or Aβ42 (43).) J. Biol. Chem. 270:7013-7016

ハース C. (Haass C.)、シュロスメイチャー M. G. (Schlossmacher M. G.)、フング A. Y. (Hung A. Y.)、ビゴーペルフレイ C. (Viggo-Pelfrey C.)、メロン A. (Mellon A.)、オスタスゼウスキー B. L. (Ostaszewski B. L.)、リーバーバルク I. (Lieberburg I.)、コー E. H. (Koo E. H.)、シェンク D. (Schenk D.)、テプロー D. B. (Teplow D. B.)、セルコエ D. J. (Selkoe D. J.) (1992) アミロイドβペプチドは、正常な代謝中の培養細胞によって産生される (Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism.) ネイチャー (Nature) 359:322-325

ハリガヤ Y. (Harigaya Y.)、サイド T. C. (Saido T. C.)、エックマン C. B. (Eckman C. B.)、プラダ C.-M. (Prada C.-M.)、ショージ M. (Shoji M.)、ヤンキン S. G. (Younkin S. G.) (2000) 3位のピログルタミン酸から開始するアミロイドβタンパク質は、アルツハイマー病脳のアミロイド沈着の主要成分である (Amyloid β Protein Starting Pyroglutamate at Position 3 Is a Major Component of the Amyloid Deposits in the Alzheimer's Disease Brain.) Biochemical and Biophysical Research Communications 276:422-427

ハリントン C. R. (Harrington C. R.)、クイン G. B. (Quinn G. B.)、ハート J. (Hurt J.)、デイ I. N. (Day I. N.)、ウェスキック C. M. (Wischik C. M.) (1993) β/A4タンパク質のC末端に対応する合成ペプチドに対して生じるモノクローナル抗体によって認識されるヒトエノラーゼのニューロン特異的アイソフォームに特異的なエピトープの特徴付け

10

20

30

40

50

(Characterisation of an epitope specific to the neuron-specific isoform of human enolase recognised by a monoclonal antibody raised against a synthetic peptide corresponding to the C-terminus of beta/A4-protein.) *Biochim. Biophys. Acta* 1158:120-128

ハリントン C. R. (Harrington C. R.)、ペリー R. H. (Perry R. H.)、ペリー E. K. (Perry E. K.)、ハート J. (Hurt J.)、マッキース I. G. (McKeith I. G.)、ロス M. (Roth M.)、ウェスキク C. M. (Wischik C. M.) (1994) レビー小体型およびアルツハイマー型の老人性認知症は、対合した螺旋状フィラメントおよび過剰リン酸化タウタンパク質の点で生化学的に異なる (Senile dementia of Lewy body type and Alzheimer type are biochemically distinct in terms of paired helical filaments and hyperphosphorylated tau protein.) *Dementia* 5:215-228.

ハルスタート F. (Hulstaert F.)、ブレンナウ K. (Blennow K.)、イバノイウ A. (Ivanou A.)、スクーンデルバルト H. C. (Schoonderwaldt H. C.)、リーメンシュナイダー M. (Riemenschneider M.)、デ・デイン P. P. (De Deyn P. P.)、バンカー C. (Bancher C.)、クラス P. (Cras P.)、ウィルトファング J. (Wiltfang J.)、メタ P. D. (Mehta P. D.)、イクバル K. (Iqbal K.)、ポッテル H. (Pottel H.)、バンメヒレン E. (Vanmechelen E.)、ファンデルスティケル H. (Vanderstichele H.) (1999) CSFにおける β -アミロイド $_{(1-42)}$ およびタウを使用するAD患者の改善された識別：多施設研究 (Improved discrimination of AD patients using β -amyloid $_{(1-42)}$ and tau in CSF: a multicenter study.) *Neurology* 52:1555-1562

イダ N. (Ida N.)、ハートマン T. (Hartmann T.)、パンテル J. (Pantel J.)、シュレーダー J. (Schroeder J.)、ゼルフアス R. (Zerfass R.)、フォースト H. (Foerst H.)、サンドブリंक R. (Sandbrink R.)、マスターズ C. L. (Masters C. L.)、ベイロイサー K. (Beyreuther K.) (1996) 新たに開発された高感度ウエスタンブロットアッセイによるヒト脳脊髄液および血液中異種 β A4ペプチドの分析 (Analysis of heterogeneous β A4 peptides in human cerebrospinal fluid and blood by a newly developed sensitive Western blot assay.) *J. Biol. Chem.* 271:22908-22914

イケダ S. (Ikeda S.)、ワング C. W. (Wong C. W.)、アルソプ D. (Allsop D.)、ランドン M. (Landon M.)、キッド M. (Kidd M.)、グレンナー G. G. (Glennner G. G.) (1987) 抗 β タンパク質モノクローナル抗体によるアルツハイマー病における脳血管および老人斑アミロイド線維の免疫金標識化 (Immunogold labeling of cerebrovascular and neuritic plaque amyloid fibrils in Alzheimer's disease with an anti-beta protein monoclonal antibody.) *Lab. Invest.* 57:446-449

10

20

30

40

50

イワツボ T. (Iwatsubo T.)、オダカ A. (Odaka A.)、スズキ N. (Suzuki N.)、ミズサワ H. (Mizusawa H.)、ヌキナ N. (Nukina N.)、イハラ Y. (Ihara Y.) (1994) 末端特異的A β モノクローナル抗体による老人斑におけるA β 42(43)およびA β 40の可視化：初期に沈着した種はA β 42(43)である証拠 (Visualization of A beta 42(43) and A beta 40 in senile plaques with end-specific A beta monoclonals: evidence that an initially deposited species is A beta 42(43).) *Neuron* 13:45-53

10

イワツボ T. (Iwatsubo T.)、サイド T. C. (Saido T. C.)、マン D. M. A. (Mann D. M. A.)、リー V. M. -Y. (Lee V. M. -Y.)、トロジャノウスキー J. Q. (Trojanowski J. Q.) (1996) びまん性斑における全長アミロイド β (1-42(43))ならびにアミノ末端修飾および短縮型アミロイド β 42(43)沈着 (Full-length amyloid- β (1-42(43)) and amino terminally modified and truncated amyloid- β 42(43) deposit in diffuse plaques.) *Am. J. Pathol.* 149:1823-1830

ジェンセン M. (Jensen M.)、ハートマン T. (Hartmann T.)、エングバル B. (Engvall B.)、ワング R. (Wang R.)、ウルジョン S. N. (Uljon S. N.)、センビク K. (Sennvik K.)、ナスランド J. (Naslund J.)、ムーエルハウザー F. (Muehlhauser F.)、ノルトステット C. (Nordstedt C.)、ベイロイサー K. (Beyreuther K.)、ランフェルト L. (Lannfelt L.) (2000) 新規ELISAシステムによる残基40および42で終止するアルツハイマーアミロイド β ペプチドの定量化 (Quantification of Alzheimer amyloid beta peptides ending at residues 40 and 42 by novel ELISA systems.) *Mol. Med.* 6:291-302

20

30

カルバック W. (Kalback W.)、ワトソン M. D. (Watson M. D.)、コクジョン T. A. (Kokjohn, T. A.)、クオ Y. -M. (Kuo Y. -M.)、ウェイス N. (Weiss N.)、ルエルス D. C. (Luehrs D. C.)、ロペス J. (Lopez J.)、ブルネ D. (Brune D.)、シソディア S. S. (Sisodia S. S.)、スタウゲンビエル M. (Staugenbiel M.)、エマーリング M. (Emmerling M.)、ロヘル A. E. (Rohrer A. E.) (2002) APPトランスジェニックマウスTg2576は、アルツハイマー病老人斑に沈着した化学修飾されたかつ不溶性ペプチドとは異なるA β ペプチドを蓄積する (APP transgenic mice Tg2576 accumulate Abeta peptides that are distinct from the chemically modified and insoluble peptides deposited in Alzheimer's disease senile plaques.) *Biochemistry* 41:922-928

40

【0107】

カナイ M. (Kanai M.)、マツバラ E. (Matsubara E.)、イソエ K. (Isoe K.)、ウラカミ K. (Urakami K.)、ナカシマ K. (Nakashima K.)、アライ H. (Arai H.)、ササキ H. (Sasaki H.)、アベ K. (Abe K.)、イワツボ T. (Iwatsubo T.)、コサカ T. (Kosaka T.)、ワタナベ M. (Watanabe

50

- M.)、トミドコロ Y. (Tomidokoro Y.)、シズカ M. (Shizuka M.)、ミズシマ K. (Mizushima K.)、ナナムラ T. (Nakamura T.)、イゲタ Y. (Igeta Y.)、イケダ Y. (Ikeda Y.)、アマリ M. (Amar i M.)、カワラバヤシ T. (Kawarabayashi T.)、イシグロ K. (Ishiguro K.)、ハリガヤ Y. (Harigaya Y.)、ワカバヤシ K. (Wakabayashi K.)、オカモト K. (Okamoto K.)、ヒライ S. (Hirai S.)、ショージ M. (Shoji M.) (1998) アルツハイマー病におけるタウ、 $A\beta 1\sim 40$ 、および $A\beta 1\sim 42$ (43) の脳脊髄液レベルの縦断的研究：日本における研究 (Longitudinal study of cerebrospinal fluid levels of tau, A β 1-40, and A β 1-42 (43) in Alzheimer's disease: a study in Japan.) Ann. Neurol. 44:17-26 10
- カワラバヤシ T. (Kawarabayashi T.)、ヤンキン L. H. (Younkin L. H.)、サイド T. C. (Saido T. C.)、ショージ M. (Shoji M.)、アシェ K. H. (Ashe K. H.)、ヤンキン S. G. (Younkin S. G.) (2001) アルツハイマー病のTg2576トランスジェニックマウスモデルの脳内加齢依存性変化、CSF、および血症中アミロイド β タンパク質 (Age-dependent changes in brain, CSF, and plasma amyloid (beta) protein in the Tg2576 transgenic mouse model of Alzheimer's disease.) J. Neurosci. 21:372-381. 20
- キダ E. (Kida E.)、ウィスニースキー K. E. (Wisniewski K. E.)、ウィスニースキー H. M. (Wisniewski H. M.) (1995) 早期アミロイド β 沈着はアルツハイマー病ならびにダウン症候群脳における β ペプチドのアミノおよびカルボキシ末端領域に対して異なる免疫活性を示す (Early amyloid-beta deposits show different immunoreactivity to the amino- and carboxy-terminal regions of beta-peptide in Alzheimer's disease and Down's syndrome brain.) Neurosci. Lett. 193:105-108 30
- キム K. S. (Kim K. S.)、ミラー D. L. (Miller D. L.)、セイピエンザ V. J. (Sapientza V. J.)、チェン C. -M. J. (Chen C. -M. J.)、バイ C. (Bai C.)、グランドケイクバル I. (Grundke-Iqbal I.)、カリ J. R. (Currie J. R.)、ウィスニースキー H. M. (Wisniewski H. M.) (1988) 合成脳血管アミロイドペプチドに対して反応性のモノクローナル抗体の産生および特徴付け (Production and characterization of monoclonal antibodies reactive to synthetic cerebrovascular amyloid peptide.) Neuroscience Research Communications、ジョン・ワイリー&サンズ, Ltd. (John Wiley & Sons, Ltd.) より出版、第2巻、3号、121~130頁 40
- キム K. S. (Kim K. S.)、ワン G. Y. (Wen G. Y.)、バンカー C. (Bancher C.)、チェン C. M. J. (Chen C. M. J.)、セイピエンザ V. J. (Sapientza V. J.)、ホン H. (Hong H.)、ウィスニースキー H. M. (Wisniewski H. M.) (1990) 2種のモノクローナル抗体によるアミロイド β ペプチドの検出および定量化 (Detection and quantitation of amyloid β -peptide with 2 monoclonal antibodies.) :Neurosci 50

ence Research Communications、ジョン・ワイリー&サンズ、Ltd. (John Wiley & Sons, Ltd.) より出版、第7巻、2号、113~122頁

ナップマン D. (Knopman D.)、リットチエ K. (Ritchie K.)、ポールゲ C. (Polge C.)、アラフゾフ I. (Alafuzoff I.)、ソイニネン H. (Soininen H.) (2002) アルツハイマー病 (Alzheimer's disease): キジルバシュ N. (Qizilbash N.) (編) Evidence-based Dementia Practice. オックスフォード (Oxford): ブラックウェル・サイエンス (Blackwell Science)、228~259頁

10

ケーラー G. (Kohler G.)、ミルスタイン C. (Milstein C.) (1975) 予め規定された特異性の抗体を分泌する融合細胞の連続培養 (Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity.) ネイチャー (Nature) 256: 495-497

ケーニヒ G. (Konig G.)、グレアム P. (Graham P.)、ブッシュネル A. (Bushnell A.)、ウェブスター S. (Webster S.)、ヴァンダーリヒ D. (Wunderlich D.)、パールムッター L. S. (Perlmutter L. S.) (1996) β A4ペプチドのカルボキシル末端に特異的なモノクローナル抗体 369. 2B 開発および特徴付け (Development and characterization of a monoclonal antibody 369. 2B specific for the carboxyl-terminus of the beta A4 peptide.) Ann. NY Acad. Sci. 777: 344-355

20

コズボール D. (Kozbor D.)、デキスター D. (Dexter D.)、ローダー J. C. (Roder J. C.) (1983) ヒトハイブリドーマの構築のための利用可能な融合パートナーの表現型特長の比較分析 (A comparative analysis of the phenotypic characteristics of available fusion partners for the construction of human hybridomas.) Hybridoma 2: 7-16

30

ラングストン J. W. (Langston J. W.)、ウィンダー H. (Widner H.)、ゴーツ C. G. (Goetz C. G.)、ブルックス D. (Brooks D.)、ファン S. (Fahn S.)、フリーマン T. (Freeman T.)、ワッツ R. (Watts R.) (1992) 脳内移植のためのコア評価プログラム (Core assessment program for intracerebral transplantations (CAPIT).) Mov. Disord. 7: 2-13

ラーナー A. J. (Larner A. J.) (1999) 仮説: N末端で短縮されたアミロイド β -ペプチドはアルツハイマー病の病因に寄与する (Hypothesis: amyloid β -peptides truncated at the N-terminus contribute to the pathogenesis of Alzheimer's disease.) Neurobiol. Aging 20: 65-69

40

レウズク P. (Lewczuk P.)、エッセルマン H. (Esselmann H.)、メイヤー M. (Meyer M.)、ウォルシード V. (Wollscheid V.)、ノイマン M. (Neumann M.)、オット M. (Otto M.)、マーラー J. M. (Maler J. M.)、ルーサー E. (Ruther E.)、コーンフーバー J. (Kornhuber J.)、ウィルトファング J. (Wiltfang J.) (2003) アルツハイマー病における脳脊髄液のアミロイ

50

- ドβ (Aβ) ペプチドパターン：新規カルボキシ末端伸張Aβペプチドの証拠 (The amyloid-beta (Abeta) peptide pattern in cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease: evidence of a novel carboxyterminally elongated Abeta peptide.) Rapid. Commun. Mass. Spectrom. 17:1291-1296
- レウズク P. (Lewczuk P.)、エッセルマン H. (Esselmann H.)、グロエマー T. W. (Groemer T. W.)、ビブル M. (Bibl M.)、メイラー J. M. (Malier J. M.)、スタйнаッカー P. (Steinacker P.)、オット M. (Otto M.)、コーンフーバー J. (Kornhuber J.)、ウィルトファング J. (Wiltfang J.) (2004) 表面活性化レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析によりプロファイル作成した脳脊髄液中アミロイドβペプチド：アルツハイマー病における新規バイオマーカーの証拠 (Amyloid beta peptides in cerebrospinal fluid as profiled with surface enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: evidence of novel biomarkers in Alzheimer's disease.) Biol. Psychiatry 55:524-530 10
- リーズ D. (Leys D.)、イングランド E. (Englund E.)、エルキンジュンティ T. (Erkinjuntii T.) (2002) 血管性認知症 (Vascular dementia)：キジルバシュ N. (Qizilbash N.) (編) Evidence-based Dementia Practice. オックスフォード (Oxford)：ブラックウェル・サイエンス (Blackwell Science)、260～287頁 20
- レーベ J. (Lowe J.) (2001) 認知症を生じる神経変性疾患の病理診断 (The pathological diagnosis of neurodegenerative diseases causing dementia.) Curr. Top. Pathol. 95:149-177.
- マジョカ R. E. (Majocha R. E.)、リノ J. M. (Reno J. M.)、フリートランド R. P. (Friedland R. P.)、バン・ヘイト C. (VanHaight C.)、ライル L. R. (Lyle L. R.)、マロッタ C. A. (Marotta C. A.) (1992) アミロイド血管症のインビボ画像化への応用のためのアルツハイマー病脳におけるβ/A4アミロイドに特異的なモノクローナル抗体の開発 (Development of a monoclonal antibody specific for beta/A4 amyloid in Alzheimer's disease brain for application to in vivo imaging of amyloid angiopathy.) J Nucl. Med. 33:2184-2189 30
- マリン D. B. (Marin D. B.)、スーエル M. C. (Sewell M. C.)、シュレヒター A. (Schlechter A.) (2002) アルツハイマー病：プライマリーケア施設における正確かつ早期の診断 (Alzheimer's disease: Accurate and early diagnosis in the primary care setting.) Geriatrics 57:36-40 40
- マスターズ C. L. (Masters C. L.)、シムス G. (Simms G.)、ウェイマン N. A. (Weinman N. A.)、マルサアップ G. (Multhaup G.)、マクドナルド B. L. (McDonald B. L.)、ベイロイサー K. (Beyreuther K.) (1985) アルツハイマー病およびダウン症候群におけるアミロイド斑コアタンパク質 (Amyloid plaque cor 50

e protein in Alzheimer disease and Down syndrome.) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:4245-4249

マスア D. M. (Masur D. M.)、スリウィンスキー M. (Sliwinski M.)、リンプトン R. B. (Lipton R. B.)、ブロー A. D. (Blau A. D.)、クリスタル H. A. (Crystal H. A.) (1994) 認知症の神経心理学的予測および健康な高齢者に認知症が認められないこと (Neuropsychological prediction of dementia and the absence of dementia in healthy elderly persons.) Neurology 44:1427-1432

10

マックキース I. G. (McKeith I. G.)、ガラスコ D. (Galasko D.)、コサカ K. (Kosaka K.)、ペリー E. K. (Perry E. K.)、ディクソン D. W. (Dickson D. W.)、ハンセン L. A. (Hansen L. A.)、サモン D. P. (Salmon D. P.)、レーベ J. (Lowe J.)、ミラ S. S. (Mirra S. S.)、バーン E. J. (Byrne E. J.)、レノックス G. (Lennox G.)、クイン N. P. (Quinn N. P.)、エドワードソン J. A. (Edwardson J. A.)、インス P. G. (Ince P. G.)、ベルジュロン C. (Bergeron C.)、バーンズ A. (Burns A.)、ミラー B. L. (Miller B. L.)、ラバーストーン S. (Loverstone S.)、コレートン D. (Collerton D.)、ジャンセン E. N. H. (Jansen E. N. H.)、バラード C. (Ballard C.)、ド・ボス R. A. I. (d Vos R. A. I.)、ウィルコック G. K. (Wilcock G. K.)、ゼリンガー K. A. (Jellinger K. A.)、ペリー R. H. (Perry R. H.) (1996) レビー小体型認知症 (DLB) の臨床および病理診断のためのコンセンサスガイドライン: DLB国際ワークショップに関するコンソーシアムの報告 (Consensus guidelines for the clinical and pathologic diagnosis of dementia with Lewy bodies (DLB): Report of the consortium on DLB international workshop.) Neurology 47

20

:1113-1124

30

マックキース I. G. (McKeith I. G.) (2002) レビー小体型認知症 (Dementia with Lewy bodies.) Br. J. Psychiatry 180:144-147

マックハン G. (McKhann G.)、ドラクマン D. A. (Drachman D. A.)、ホルスタイン M. F. (Folstein M. F.)、カッツマン R. (Katzman R.)、プライス D. L. (Price D. L.)、スタッドラン E. (Stadlan E.) (1984) アルツハイマー病の臨床診断: アルツハイマー病に関する保健福祉省後援NINCDS-ADRDAワーク・グループの報告 (Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of the Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's disease.) Neurology 34:939-944

40

メタ P. D. (Metha P. D.)、キム K. S. (Kim K. S.)、ウィスニースキー H. M. (Wisniewski H. M.) (1991) アルツハイマー病の診断を援助するための研究的試験としてのELISA (ELISA as a laboratory test to aid the diagnosis of Alzheimer's disease.): ブロック (Bullock) ら、Tech

50

niques in diagnostic pathology、第2巻、アカデミック・プレス (Academic Press) (ロンドン (London)) より出版、100~112頁

ミラー D. L. (Miller D. L.)、パパイヤノポロス I. A. (Papa yannopoulos I. A.)、スタイルズ J. (Styles J.)、ボビン S. A. (Bobin S. A.)、リン Y. Y. (Lin Y. Y.)、ビーマン K. (Biemann K.)、イクバル K. (Iqbal K.) (1993) アルツハイマー病の脳血管および老人斑コアアミロイド沈着のペプチド組成物 (Peptide compositions of the cerebrovascular and senile plaque core amyloid deposits of Alzheimer's disease.) Arch. Biochem. Biophys. 15: 41-52

10

モンロー (Monroe) ら (1986) Amer. Clin. Prod. Rev. 5: 34-41

モリ H. (Mori H.)、トキオ K. (Takio K.)、オガワラ M. (Ogawara M.)、セルコエ D. J. (Selkoe D. J.) (1992) アルツハイマー病における精製されたアミロイド β タンパク質の質量分析 (Mass spectrometry of purified amyloid β protein in Alzheimer's disease.) J. Biol. Chem. 267: 17082-17086.

20

マター R. (Motter R.)、ビゴーペルフレイ C. (Vigoo-Pelfrey C.)、クホルデンコ D. (Kholodenko D.)、バーバー R. (Barbour R.)、ジョンソン-ウッド K. (Johnson-Wood K.)、ガラスコ D. (Galasko D.)、チャン L. (Chang L.)、ミラー B. (Miller B.)、クラーク C. (Clark C.)、グリーン R. (Green R.) ら (1995) アルツハイマー病患者の脳脊髄液における β アミロイドペプチド42の還元 (Reduction of β -amyloid peptide 42 in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease.) Ann. Neurol. 38: 643-648

30

マーフィー G. M. Jr. (Murphy G. M. Jr.)、フォーノ L. S. (Forno L. S.)、ヒギンズ L. (Higgins L.)、スカーディナ J. M. (Scardina J. M.)、イング L. F. (Eng L. F.)、コーデル B. (Cordell B.) (1994) β アミロイド1-42のCOOH末端に特異的なモノクローナル抗体の開発ならびにアルツハイマー病および関連障害におけるその免疫組織化学的反応性 (Development of a monoclonal antibody specific for the COOH-terminal of beta-amyloid 1-42 and its immunohistochemical reactivity in Alzheimer's disease and related disorders.) Am. J. Pathol. 144: 1082-1088

40

マイルダーマンズ S. (Muyldermans S.) (2001) 単ドメインラクダ抗体: 現状 (Single domain camel antibodies: current status.) J. Biotechnol. 74: 277-302.

ナスランド J. (Naeslund J.)、シーアホルン A. (Schierhorn A.)、ヘルマン U. (Hellman U.)、ランフェルト L. (Lanfelft L.)、ローゼズ A. D. (Roses A. D.)、チュレンベルグ O. (Tjernberg L. O.)、シルベリング J. (Silberring J.)、ガンディ S. E. (Gandy S. E.)、ウィンブラッド B. (Winblad B.)、グリーンガード P. (Greengard P.)、ノルトステッ

50

- ト C. (Nordstedt C.)、テレニウス L. (Terenius L.)
(1994) アルツハイマー病および正常な加齢におけるアルツハイマーA β アミロイド
ペプチド変異体の相対量 (Relative abundance of Alzheimer A β amyloid peptide variants in Alzheimer disease and normal aging.) Proc. Natl.
Acad. Sci. USA 91: 8378-8382
- オカムラ N. (Okamura N.)、アライ H. (Arai H.)、マルヤマ
M. (Maruyama M.)、ヒグチ M. (Higuchi M.)、マツイ
T. (Matsui T.)、タンジ H. (Tanji H.)、セキ T. (Sek
i T.)、ヒライ S. (Hirai S.)、チバ H. (Chiba H.)、イト
ウ M. (Itoh M.)、ササキ H. (Sasaki H.) (2002) 軽度
認知障害におけるCSFタウレベルおよび [123 I] ヨードアンフェタミンSPECT
の組み合わせされた分析：アルツハイマー病の新規推定物への関連 (Combined a
nalysis of CSF tau levels and [123 I] Iodam
phetamine SPECT in Mild Cognitive Impai
rment: implications for a novel predictor
of Alzheimer's disease.) Am. J. Psychiatr
y 159: 474-476
- オシマ N. (Oshima N.)、ヨリシマーカワシマ M. (Morishima
-Kawashima M.)、ヤマグチ H. (Yamaguchi H.)、ヨシム
ラ M. (Yoshimura M.)、スギハラ S. (Sugihara S.)、
カーン K. (Khan K.)、ゲイムズ D. (Games D.)、シェンク D.
(Schenk D.)、イハラ Y. (Ihara Y.) (2001) 低密度膜ド
メインにおけるアミロイド β タンパク質の蓄積は、脳における β アミロイド沈着の程度に
的確に反映する (Accumulation of amyloid beta-pro
tein in the low-density membrane domain
accurately reflects the extent of beta-a
myloid deposition in the brain.) Am. J. Pat
hol. 158: 2209-2218
- パーマー K. (Palmer K.)、フラティグリオニ L. (Fratiglioni L.)、ウィンブラッド B. (Winblad B.) (2003) 軽度認知障
害とは何か？認知障害を伴う非認知症者の規定および評価のばらつき (What is
mild cognitive impairment? Variations in
definitions and evolution of nondemented
persons with cognitive impairment.) Acta
Neurol. Scand. 107 (補遺179): 14-20
- パルネティ L. (Parnetti L.)、ラナーリ A. (Lanari A.)
、アミーチ S. (Amici S.)、ガッライ V. (Gallai V.)、バン
メヘレン E. (Vanmechelen E.)、ハルスタート F. (Hulsta
ert F.) (2001) CSFリン酸化タウはアルツハイマー病とレビー小体型認知
症とを識別するための可能なマーカーである。リン酸化タウ国際研究グループ (CSF
phosphorylated tau is a possible marker
for discriminating Alzheimer's disease f
rom dementia with Lewy bodies. Phospho-T
au International Study Group.) Neurol. Sci
. 22: 77-78
- パターンソン S. D. (Patterson S. D.)、アエバーソルト R. (Ae
bersold R.) (1995) ゲル分離タンパク質の同定のための質量分析アプロ
ーチ (Mass spectrometric approaches for the
identification of gel-separated protein

s.) Electrophoresis 16:1791-814

ピーターセン R. C. (Petersen R. C.)、スミス G. E. (Smith G. E.)、イビニク R. J. (Ivnik R. J.)、コウクメン E. (Kokmen E.)、タンジェロス E. G. (Tangelos E. G.) (1994) 極めて早期のアルツハイマー病における記憶機能 (Memory function in very early Alzheimer's disease.) Neurology 44:867-872

ピーターセン R. C. (Petersen R. C.)、スティーブンス J. C. (Stevens J. C.)、ガングリ M. (Ganguli M.)、タンガロス E. G. (Tangalos E. G.)、カミングス J. L. (Cummings J. L.)、デコスキー S. T. (DeKosky S. T.) (2001) 実践パラメータ：軽度認知障害（証拠に基づくレビュー）。米国神経学会の品質基準分科会の報告 (Practice parameter: Early detection of dementia: Mild cognitive impairment (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology.) Neurology 56:1133-1142

ピルトチラ T. (Pirttila T.)、キム K. S. (Kim K. S.)、メタ P. D. (Mehta P. D.)、フレイ H. (Frey H.)、ウィスニースキー H. M. (Wisniewski H. M.) (1994) アルツハイマー病患者、血管性認知症およびコントロール由来の脳脊髄液における可溶性アミロイドβタンパク質 (Soluble amyloid beta-protein in the cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer's disease, vascular dementia and controls.) J. Neurol. Sci. 127:90-95

プライス C. P. (Price C. P.)、ニューマン D. J. (Newman D. J.) (1997) Principles and practice of immunoassay. 第2版、マクミラン・リファレンスLtd. (McMillan Reference Ltd.)

クイーン C. (Queen C.)、シュナイダー W. P. (Schneider W. P.)、セリック H. E. (Selick H. E.)、ペイン P. W. (Payne P. W.)、ランドルフィ N. F. (Landolfi N. F.)、ダンカン J. F. (Duncan J. F.)、アブダロビク N. M. (Avdalovic N. M.)、レビット M. (Levitt M.)、ジュンハンス R. P. (Junghans R. P.)、ウォールドマン T. A. (Waldmann T. A.) (1989) インターロイキン2受容体に結合するヒト化抗体 (A humanized antibody that binds to the interleukin 2 receptor.) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:10029-10033

リーメンシュナイダー M. (Riemenschneider M.)、ロイテンシュラガー N. (Lautenschlager N.)、ウァゲンプフェイル S. (Wagenpfeil S.)、ディール J. (Diehl J.)、ドレゼズガ A. (Drzezga A.)、クルツ A. (Kurz A.) (2002) 脳脊髄液タウおよびβ-アミロイド42タンパク質は軽度認知障害を伴う被験体のアルツハイマー病を同定する (Cerebrospinal fluid tau and β-amyloid 42 proteins identify Alzheimer disease in subjects with Mild Cognitive Impairment) Arch. Neurol. 59:1729-1734

ローヘル A. E. (Roher A. E.)、レーヴェンサン J. D. (Lowen

10

20

30

40

50

son J. D.)、クラーク S. (Clarke S.)、ウッズ A. S. (Woods A. S.)、コッター R. J. (Cotter R. J.)、ガウイング E. (Gowing E.)、ボール M. (Ball M.) (1993) β アミロイド (1-42) は脳血管アミロイド沈着の主要成分である：アルツハイマー病の病院との関連 (β -amyloid-(1-42) is a major component of cerebrovascular amyloid deposits: Implications for the pathology of Alzheimer's disease.) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:10836-10840

ラッソ C. (Russo C.)、サイド T. C. (Saido T. C.)、ディバスク L. M. (DeBusk L. M.)、タバトン M. (Tabaton M.)、ガンベッチ P. (Gambetti P.)、テラー J. K. (Teller J. K.) (1997) アルツハイマー病およびダウン症候群脳における水溶性アミロイド β ペプチドの多様性 (Heterogeneity of water-soluble amyloid β -peptide in Alzheimer's disease and Down's syndrome brains.) FEBS Lett. 409:411-416

10

サイド T. C. (Saido T. C.)、イワツボ T. (Iwatsubo T.)、マン DM. A. (Mann DM. A.)、シマダ H. (Shimada H.)、イハラ Y. (Ihara Y.)、カワシマ S. (Kawashima S.) (1995) 老人斑における異なる β アミロイドペプチド種、 $A\beta$ N3 (pE) の優性および特異沈着 (Dominant and differential deposition of distinct beta-amyloid peptide species, A beta N3 (pE), in senile plaques.) Neuron 14:457-466

20

サイド T. C. (Saido T. C.)、ヤマオーハリガヤ W. (Yamao-Harigaya W.)、イワツボ T. (Iwatsubo T.)、カワシマ S. (Kawashima S.) (1996) ヒト脳に沈着した β アミロイドペプチドのアミノおよびカルボキシル末端異種 (Amino- and carboxyl-terminal heterogeneity of beta-amyloid peptides deposited in human brain.) Neurosci. Lett. 215:173-176

30

サイド T. C. (Saido T. C.) (2000) アミロイド β ペプチドの分解：アルツハイマーの病原性、予防および治療への手掛かり (Degradation of amyloid- β peptide: a key to Alzheimer pathogenesis, prevention and therapy.) Neurosci. News 3:52-62

セルコエ D. J. (Selkoe D. J.) (1991) アルツハイマー病の分子病理学 (The molecular pathology of Alzheimer's disease.) Neuron 6:487-498

40

サージャント N. (Sergeant N.)、ボムボイス S. (Bombois S.)、ゲステム A. (Ghestem A.)、ドロベク H. (Drobeck H.)、コスタジェベキ V. (Kostanjevecki V.)、ミシアン C. (Missiaen C.)、ワッテス A. (Wattez A.)、デイビッド J. -P. (David J. -P.)、バンメケレン E. (Vanmechelen E.)、サーゲラート C. (Sergheraert C.)、デラコート A. (Delacourte A.) (2003) ワクチン化アプローチのための新規標的としての前臨床アルツハイマー病における短縮型 β 種 (Truncated A beta species in preclinical Alzheimer's disease as new targets for the vaccination appr

50

- oach.) J. Neurochem. 受理 (accepted)
- ソイベルト P. (Seubert P.)、ビゴペルフレイ C. (Vigo-Pelfrey C.)、エシュ F. (Esch F.)、リー M. (Lee M.)、ドベイ H. (Dovey H.)、デイビス D. (Davis D.)、シンハ S. (Sinha S.)、シュラスマキサ M. (Schlossmacher M.)、ホエーレイ J. (Whaley J.)、スウィンドルハースト C. (Swindlehurst C.)ら (1992) 生物学的液体由来の可溶性アルツハイマー病βペプチドの単離および定量 (Isolation and quantification of soluble Alzheimer's beta-peptide from biological fluids.) ネイチャー (Nature) 359:325-327 10
- ショージ M. (Shoji M.)、ゴールデ T. E. (Golde T. E.)、ギソ J. (Ghisso J.)、チェウング T. T. (Cheung T. T.)、エスチュス S. (Estus S.)、シェファー L. M. (Shaffer L. M.)、カイ X. -D. (Cai X. -D.)、マッケイ D. M. (McKay D. M.)、ティンター R. (Tintner R.)、フランギオン B. (Frangione B.)、ヤンキン S. G. (Younkin S. G.) (1992) 正常なタンパク質分解プロセッシングによるアルツハイマーアミロイドβタンパク質の産生 (Production of the Alzheimer amyloid β protein by normal proteolytic processing.) サイエンス (Science) 258:126-129 20
- スクーグ I. (Skoog I.)、デビッドソン P. (Davidsson P.)、アエバルソン O. (Aevarsson O.)、ファンデルスティケル H. (Vanderstichele H.)、バンメヒレン E. (Vanmechelen E.)、ブレンナウ K. (Blennow K.) (2003) 脳脊髄液βアミロイド42は散発性認知症の発症前に減少する: 85歳住民を対象とした研究 (Cerebrospinal Fluid Beta-Amyloid 42 Is Reduced before the Onset of Sporadic Dementia: A Population-Based Study in 85-Year-Olds.) Dement Geriatr Cogn Disord. 15:169-176 30
- スピレインチニ M. G. (Spillantini M. G.)、ゴエデルト M. (Goedert M.)、ジェークス R. (Jakes R.)、クルーグ A. (Klug A.) (1990) アルツハイマー病におけるプラークおよびタングルに関連するβアミロイドの異なる形状状態およびそれらの分布 (Different configurational states of beta-amyloid and their distributions relative to plaques and tangles in Alzheimer disease.) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:3947-3951
- スパイネル S. (Spinelli S.)、フレンケン L. G. (Frenken L. G.)、ハーマンス P. (Hermans P.)、ベリップス T. (Verrips T.)、ブラウン K. (Brown K.)、テゴニ M. (Tegoni M.)、キャンピラウ C. (Cambillau C.) (2000) ラクダ重鎖可変ドメインは、ハプテンに対する効率的な結合部位を提供する (Camelid heavy-chain variable domains provide efficient combining sites to haptens.) Biochemistry. 39:1217-1222 40
- スラメク J. J. (Sramek J. J.)、カルター N. R. (Cutler N. R.) (2000) アルツハイマー病の実施中の治験 (Ongoing trials in Alzheimer's disease.) Expert Opin. Investig. Drugs 9:899-915. 50

- サンダーランド T. (Sunderland T.)、ワウラジン B. (Wolozin B.)、ガラスコ D. (Galasko D.)、リーヴィ J. (Levy J.)、デューコフ R. (Dukoff R.)、バーロ M. (Bahro M.)、ラッサー R. (Lasser R.)、マター R. (Mottter R.)、レーチマキ T. (Lehtimaki T.)、ソイベルト P. (Seubert P.) (1999) アルツハイマー患者におけるCSFタウレベルの縦断的安定性。(Longitudinal stability of CSF tau levels in Alzheimer patients.) Biol. Psychiatry 46:750-755
- サンダーランド T. (Sunderland T.)、リンカー G. (Linker G.)、ミルザ N. (Mirza N.)、パトナム K. T. (Putnam K. T.)、フリードマン D. L. (Friedman D. L.)、キンメル L. H. (Kimmel L. H.)、ベルジェソン J. (Bergeson J.)、マネッティ G. J. (Manetti G. J.)、ツィンマーマン M. (Zimmermann M.)、タン B. (Tang B.)、バルトコ J. J. (Bartko J. J.)、コーエン R. M. (Cohen R. M.) (2003) アルツハイマー病患者の脳脊髄液における減少した β アミロイド $_{1-42}$ および増加したタウレベル。(Decreased β -amyloid $_{1-42}$ and increased tau levels in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer disease.) JAMA 289:2094-2103. 10
- スズキ N. (Suzuki N.)、チェウング T. T. (Cheung T. T.)、カイ X. D. (Cai X. D.)、オダカ A. (Odaka A.)、オチボス L. Jr. (Otvos L. Jr.)、エックマン C. (Eckman C.)、ゴールド T. E. (Golde T. E.)、ヤンキン S. G. (Younkin S. G.) (1994) 家族性アミロイド β タンパク質前駆体(β APP717)変異によって分泌される長鎖アミロイド β タンパク質の百分率の増加(An increase in percentage of long amyloid beta protein secreted by familial amyloid beta protein precursor (β APP717) mutants.) サイエンス (Science). 264:1336-1340 30
- センドレイ G. I. (Szendrei G. I.)、プラーマー K. V. (Prammer K. V.)、ベイスコ M. (Vasko M.)、リー V. M. (Lee V. M.)、オチボス L. Jr. (Otvos L. Jr.) (1996) N末端デカペプチドフラグメントをモデルとしたアミロイド β ペプチドのインビトロ特性に対するアスパラギン酸結合異性化の影響(The effects of aspartic acid-bond isomerization on in vitro properties of the amyloid beta-peptide as modeled with N-terminal decapeptide fragments.) Int. J. Pept. Protein Res. 47:289-296 40
- タバトン M. (Tabaton M.)、ヌーンジ M. G. (Nunzi M. G.)、シュウ R. (Xue R.)、ウシアキ M. (Usiak M.)、オーチリオガンベッチ L. (Autilio-Gambetti L.)、ガンベッチ P. (Gambetti P.) (1994) 可溶性アミロイド β タンパク質は、脳には存在するが脳脊髄液には存在しないアルツハイマーアミロイドのマーカーである(Soluble amyloid beta-protein is a marker of Alzheimer amyloid in brain but not in cerebrospinal fluid.) Biochem. Biophys. Res. Commun. 200:1598-1603
- タマオカ A. (Tamaoka A.)、サワムラ N. (Sawamura N.) 50

- 、フクシマ T. (Fukushima T.)、ショージ S. (Shoji S.)、マツバラ E. (Matsubara E.)、ショージ M. (Shoji M.)、ヒライ S. (Hirai S.)、フリヤ Y. (Furiya Y.)、エンドウ R. (Endoh R.)、モリ H. (Mori H.) (1997) アルツハイマー病患者の脳脊髄液におけるアミロイドβタンパク質42(43) (Amyloid β protein 42(43) in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease.) J Neurol. Sci. 148:41-45
- タンジ R. E. (Tanzi R. E.)、マクラッチェー A. I. (McClatchey A. I.)、ランパチ E. D. (Lamperti E. D.)、ヴィヤーコマロフ L. (Villa-Komaroff L.)、グセラ J. F. (Gusella J. F.)、ネーベ R. L. (Neve R. L.) (1988) アルツハイマー病に関連するアミロイドタンパク質前駆体mRNAによってコードされるプロテアーゼ阻害剤ドメイン (Protease inhibitor domain encoded by an amyloid protein precursor mRNA associated with Alzheimer's disease.) ネイチャー (Nature) 331:528-530
- タピオラ T. (Tapiola T.)、オーバーマイヤー M. (Overmyer M.)、レトビルタ M. (Lehtovirta M.)、ヘイサルミ S. (Hellasalmi S.)、ランベルグ J. (Ramberg J.)、アラフゾフ I. (Alafuzoff I.)、リエキネン P. Sr. (Riekkinen P. Sr.)、ソイニネン H. (Soininen H.) (1997) 脳脊髄液タウのレベルは、アルツハイマー病における神経原線維変化に相関する (The level of cerebrospinal fluid tau correlates with neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease.) Neuroreport. 8:3961-3963
- テキリアン T. L. (Tekirian T. L.)、サイド T. C. (Saido T. C.)、マルケスベリー W. R. (Markesbery W. R.)、ラッセル M. J. (Russell M. J.)、ウェクステイン D. R. (Wekstein D. R.)、パティール E. (Patel E.)、ゲッディーズ J. W. (Geddes J. W.) (1998) 実質および脳血管Aβ沈着のN末端多様性 (N-terminal heterogeneity of parenchymal and cerebrovascular Aβ deposits.) J. Neuropathol. Exp. Neurol. 57:76-94
- サール D. R. (Thal D. R.)、サッシン I. (Sassin I.)、シュルツ C. (Schultz C.)、ハース C. (Haass C.)、ブラーク E. (Braak E.)、ブラーク H. (Braak H.) (1999) ヒト内嗅皮質の内層における微細な線維状アミロイド沈着は、AβのN末端短縮型フラグメントからなる (Fleecy amyloid deposits in the internal layers of the human entorhinal cortex are comprised of N-terminal truncated fragments of Aβ.) J. Neuropathol. Exp. Neurol. 58:210-216
- サール L. J. (Thal L. J.) (2000) 進行を遅らせ、疾患の発症を防止するための治験 (Trials to slow progression and prevent disease onset.) J. Neural. Transm. Suppl. 59:243-249
- 国立加齢研究所ワーキング・グループのアルツハイマー病協会ロナルド・ナンシー・レーガン研究所 (The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Associat

ion of the National Institute on Aging Working Group.) (1998) アルツハイマー病の分子および生化学的マーカーに関する ワーキング・グループのコンセンサスレポート (Consensus Report of the Working Group on Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease.) Neurobiol. Aging 19:109-116

ファンデルスティケル H. (Vanderstichelle H.)、ヴァン・ケルシャベル E. (Van Kerschaver E.)、ヘッセ C. (Hesse C.)、デビッドソン P. (Davidsson P.)、ボイセ M. A. (Buys M. A.)、アンドレアセン N. (Andreasen N.)、ミントン L. (Minthon L.)、ウォリン A. (Wallin A.)、ブレンナウ K. (Blennow K.)、バンメヒレン E. (Vanmechelen E.) (2000) 脳脊髄液および血漿におけるβアミロイド (1-42) の測定の標準化 (Standardization of measurement of beta-amyloid (1-42) in cerebrospinal fluid and plasma.) Amyloid 7:245-58

バンメヒレン E. (Vanmechelen E.)、ヴァン・ケルシャベル E. (Van Kerschaver E.)、ブレンナウ K. (Blennow K.)、デ・デイン P. P. (De Deyn P. P.)、ガラスコ D. (Galasko D.)、パルネティ L. (Parnetti L.)、シンディク C. J. M. (Sindic C. J. M.)、アライ H. (Arai H.)、リーメンシュナイダー M. (Riemenschneider M.)、ハンペル H. (Hempel H.)、ポッテル H. (Pottel H.)、バルガエレン A. (Valgaeren A.)、ハルスタート F. (Hulstaert F.)、ファンデルスティケル H. (Vanderstichelle H.) (2001) アルツハイマー病とレビー小体型認知症とを識別するための有望なマーカーとしてのCSFリン酸化タウ (181P) (CSF-phospho-tau (181P) as a promising marker for discriminating Alzheimer's disease from dementia with Lewy bodies.) :イクバル K. (Iqbal K.)、シソーディヤー SS (Sisodia S S)、ウィンブラッド B. (Winblad B.) Alzheimer's disease: Advances in etiology, pathogenesis and therapeutics. チェチェスター (Chichester) :ジョン・ワイリー&サンズ (John Wiley & Sons) 285~291頁

ビゴーペルフレイ C. (Vigo-Pelfrey C.)、リー D. (Lee D.)、カイク P. (Keim P.)、リーバーバーグ I. (Lieberburg I.)、シェンク D. B. (Schenk D. B.) (1993) ヒト脳脊髄液由来のβアミロイドペプチドの特徴付け (Characterization of β-amyloid peptide from human cerebrospinal fluid.) J. Neurochem. 61:1965-1968

ビゴーペルフレイ C. (Vigo-Pelfrey C.)、ソイベルト P. (Seubert P.)、バーバー R. (Barbour R.)、ブロムクイスト C. (Blomquist C.)、リー M. (Lee M.)、リー D. (Lee D.)、コリア F. (Coria F.)、チャン L. (Chang L.)、ミラー B. (Miller B.)、リーバーバーグ I. (Lieberburg I.) ら (1995) アルツハイマー病患者の脳脊髄液における微小管関連タンパク質タウの評価 (Elevation of microtubule-associated protein tau in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease.) Neurology 45:788-793

10

20

30

40

50

ウォールンド L. -O. (Wahlund L. -O.)、ピルストランド E. (Pihlstrand E.)、エリクスドッター・ジェンハゲン M. (Eriksdottter Joenhagen M.) (2003) 軽度認知障害：メモリークリニックにおける経験 (Mild cognitive impairment: experience from a memory clinic.) Acta Neurol. Scand. 107 (補遺179) : 21-24

ワング R. (Wang R.)、スウィーニー D. (Sweeney D.)、ガンディ S. E. (Gandy S. E.)、シソーディヤー SS (Sisodia SS) (1996) 培養細胞培地における可溶性アミロイドβタンパク質のプロファイル。免疫沈降-質量分析によるアミロイドβタンパク質の検出および定量 (The profile of soluble amyloid beta protein in cultured cell media. Detection and quantification of amyloid beta protein and variants by immunoprecipitation-mass spectrometry.) J. Biol. Chem. 271: 31894-31902

ウェルシュ K. A. (Welsh K. A.)、バターズ N. (Butters N.)、ヒューズ J. (Hughes J.)、モース R. (Mohs R.)、ハイマン A. (Heyman A.) (1991) CERAD神経心理学的測定を使用するアルツハイマー病の軽症例における異常な記憶低下の検出 (Detection of abnormal memory decline in mild cases of Alzheimer's disease using CERAD neuropsychological measures.) Arch. Neurol. 48: 278-281

ワイルド D. (Wild D.) (編) (2001) The Immunoassay Handbook、第2版、ネイチャーPr. (Nature Pr.)、英国、ロンドン (London, UK)

ウィルトフアング J. (Wiltfang J.)、エッセルマン H. (Esselmann H.)、クパス P. (Cupers P.)、ノイマン M. (Neumann M.)、クレツシュマー H. (Kretzschmar H.)、ビヤーマン M. (Beyermann M.)、シュロイダー D. (Schleuder D.)、ヤーン H. (Jahn H.)、ラザ E. (Ruther E.)、コーンフーバー J. (Kornhuber J.)、アンナエルト W. (Annaert W.)、デ・ストラッパー B. (De Strooper B.)、サフィヒ P. (Safitig P.) (2001) 散発性および家族性アルツハイマー病におけるβアミロイドペプチド2-42の評価ならびにPS1ノックアウト細胞におけるその作製 (Elevation of beta-amyloid peptide 2-42 in sporadic and familial Alzheimer's disease and its generation in PS1 knockout cells.) J. Biol. Chem. 276: 42645-42657

ウィルトフアング J. (Wiltfang J.)、エッセルマン H. (Esselmann H.)、ビブル M. (Bibl M.)、スミルノブ A. (Smirnov A.)、オット M. (Otto M.)、ポール S. (Paul S.)、シュミット B. (Schmidt B.)、クラフキ H. -W. (Klafki H. -W.)、メイラー M. (Maler M.)、ディルクス T. (Dyrks T.)、ビエネルト M. (Biener M.)、ビヤーマン M. (Beyermann M.)、ラザ E. (Ruether E.)、コーンフーバー J. (Kornhuber J.) (2002) アルツハイマー病および慢性神経炎症患者における1-40/42に加えてカルボキシ末端短縮型Aβペプチド1-37/38/39の高度に保存された疾患特異的パターン (Highly conserved and disease-specific patterns of carboxyterminally

10

20

30

40

50

truncated A β peptides 1-37/38/39 in addition to 1-40/42 in Alzheimer's disease and in patients with chronic neuroinflammation.) J. Neurochem. 81:481-496

World Health Organization (1992) The ICD-10 Classification of Mental and Behavioral Disorders. ジュネーブ (Geneva)、世界保健機構 (World Health Organization)

ヤフェ K. (Yaffe K.)、グレッグ E. W. (Gregg E. W.) (2002) Diabetes mellitus, cognitive function, and risk of dementia in older adults. http://www.harrissonsonline.com/server-java/Arknoide/amed/harrissons/ex_editorials/ed12566_p01.htmlにおいて入手可能。アクセス日：2002年4月26日

【図面の簡単な説明】

【0108】

【図1】A β のアミノ酸配列を含んでなるアミロイド前駆体タンパク質 (APP) の部分アミノ酸配列を表す。APPにおける α 、 β および γ 切断部位を示す。本発明の方法および診断キットにおいて使用されるいくつかのモノクローナル抗体のエピトープをさらに示す。

【図2】モノクローナル抗体3D6に結合可能な特異的A β ペプチドのレベルx (pgペプチド等価物/ml)を表す。レベルは、以下の患者群：中等度AD (modAD)、重度AD (sevAD)、軽度AD (mildAD)、ADに進行した記憶愁訴患者 (Cog-AD)、ADにまで発達しなかった記憶愁訴患者 (Cog)、レビー小体型認知症 (DLB)を患っている患者、パーキンソン病 (PD)を患っている患者、およびコントロール被験体 (C) から得られるCSFサンプルにおいて測定される。

【図3】モノクローナル抗体6E10に結合可能な特異的A β ペプチドのレベルy (pgペプチド等価物/ml)を表す。レベルは、以下の患者群：中等度AD (modAD)、重度AD (sevAD)、軽度AD (mildAD)、ADに進行した記憶愁訴患者 (Cog-AD)、ADにまで発達しなかった記憶愁訴患者 (Cog)、レビー小体型認知症 (DLB)を患っている患者、パーキンソン病 (PD)を患っている患者、およびコントロール被験体 (C) から得られるCSFサンプルにおいて測定される。

【図4】モノクローナル抗体4G8に結合可能な特異的A β ペプチドのレベルy (pgペプチド等価物/ml)を表す。レベルは、以下の患者群：中等度AD (modAD)、重度AD (sevAD)、軽度AD (mildAD)、ADに進行した記憶愁訴患者 (Cog-AD)、ADにまで発達しなかった記憶愁訴患者 (Cog)、レビー小体型認知症 (DLB)を患っている患者、パーキンソン病 (PD)を患っている患者およびコントロール被験体 (C) から得られるCSFサンプルにおいて測定される。

【図5】比x/y [式中、xはモノクローナル抗体3D6に結合可能な特異的A β ペプチドのレベルであり、式中、yはモノクローナル抗体6E10に結合可能な特異的A β ペプチドのレベルである]を表す。比x/yは、以下の患者群：中等度AD (modAD)、重度AD (sevAD)、軽度AD (mildAD)、ADに進行した記憶愁訴患者 (Cog-AD)、ADにまで発達しなかった記憶愁訴患者 (Cog)、レビー小体型認知症 (DLB)を患っている患者、パーキンソン病 (PD)を患っている患者、およびコントロール被験体 (C) から得られるCSFサンプルにおいて決定される。

【図6】比x/y [式中、xはモノクローナル抗体3D6に結合可能な特異的A β ペプチドのレベルであり、式中、yはモノクローナル抗体4G8に結合可能な特異的A β ペプチドのレベルである]を表す。比x/yは、以下の患者群：中等度AD (modAD)、重度AD (sevAD)、軽度AD (mildAD)、ADに進行した記憶愁訴患者 (Cog-AD)、ADにまで発達しなかった記憶愁訴患者 (Cog)、レビー小体型認知症 (

D L B) を患っている患者、パーキンソン病 (P D) を患っている患者、およびコントロール被験体 (C) から得られる C S F サンプルにおいて決定される。

【図 7】E L I S A における捕捉抗体としてのモノクローナル抗体 2 1 F 1 2 および検出抗体としてのモノクローナル抗体 3 D 6 との異なる A β ペプチド、A β (1 - 4 2)、A β (2 - 4 2)、A β (3 - 4 2)、A β (4 - 4 2)、A β (5 - 4 2)、A β (8 - 4 2)、A β (9 - 4 2) の免疫結合を表す。

【図 8】E L I S A における捕捉抗体としてのモノクローナル抗体 2 1 F 1 2 および検出抗体としてのモノクローナル抗体 6 E 1 0 との異なる A β ペプチド、A β (1 - 4 2)、A β (2 - 4 2)、A β (3 - 4 2)、A β (4 - 4 2)、A β (5 - 4 2)、A β (8 - 4 2)、A β (9 - 4 2) の免疫結合を表す。

10

【図 9】E L I S A における捕捉抗体としてのモノクローナル抗体 2 1 F 1 2 および検出抗体としてのモノクローナル抗体 4 G 8 との異なる A β ペプチド、A β (1 - 4 2)、A β (2 - 4 2)、A β (3 - 4 2)、A β (4 - 4 2)、A β (5 - 4 2)、A β (8 - 4 2)、A β (9 - 4 2) の免疫結合を表す。

【図 1 0】捕捉抗体としてのモノクローナル抗体 3 D 6、6 E 1 0 および 4 G 8 ならびに検出抗体としてのモノクローナル抗体 2 1 F 1 2 とのマルチパラメータタイムノアッセイにおける該 A β ペプチド A β (1 - 4 2) および A β (2 - 4 2) の免疫結合を表す。

【図 1 1】モノクローナル抗体 3 D 6 に結合可能な特異的 A β ペプチドのレベル x (ルミネックス単位) を表す。レベルは、A D を患っている被験体およびコントロール被験体から得られる C S F サンプルにおいて測定される。

20

【図 1 2】モノクローナル抗体 4 G 8 に結合可能な特異的 A β ペプチドのレベル y (ルミネックス単位) を表す。レベルは、A D を患っている被験体およびコントロール被験体から得られる C S F サンプルにおいて測定される。

【図 1 3】比 x / y [式中、x はモノクローナル抗体 3 D 6 に結合可能な特異的 A β ペプチドのレベルであり、y はモノクローナル抗体 4 G 8 に結合可能な特異的 A β ペプチドのレベルである] を表す。比 x / y は、A D を患っている被験体およびコントロール被験体から得られる C S F サンプルにおいて決定される。

【図 1 4】A D およびコントロールの C S F サンプルにおける分析された A β (4 2) ペプチドの S E L D I - T O F スペクトルを表す。A β (4 2) ペプチドは 4 D 7 A 3 上で免疫補足された。測定されたペプチドの分子量を示す。実験では、ダイナフォリン (D y n a p h o r i n) (M r = 2 1 4 7, 5 0 D a)、ヒト A C T H (1 - 2 4) (2 9 3 3, 5 0)、ウシインスリン β 鎖 (3 4 9 5, 9 4)、およびヒトインスリン (5 8 0 7, 6 5) によって、外部校正を実施した。このことに基づいて、4 5 1 4, 1 D a の理論的質量により、A β (4 2) ペプチドピークについての質量精度を算出した。S E L D I - T O F によって測定された m / z 値は、4 5 1 2, 0 6 9 D a (S T D E V 1, 1 9 3 4 5 6、% C V 0, 0 2 6 4 5) であり、4 5 0 p p m のこの実験についての精度が得られた。

30

【図 1 5】ヒト C S F サンプルにおける分析された酸化型 A β (4 2) ペプチドの S E L D I - T O F スペクトルを表す。

【図 1 6】A D を患っている被験体およびコントロール被験体から得られる C S F サンプルにおいて測定される A β (1 - 4 2) ペプチドのレベル (ピーク強度) を表す。

40

【図 1 7】A D を患っている被験体およびコントロール被験体から得られる C S F サンプルにおいて測定される A β (1 1 - 4 2) ペプチドのレベル (ピーク強度) を表す。

【図 1 8】A D を患っている被験体およびコントロール被験体から得られる C S F サンプルにおいて測定される A β (1 - 4 2) / A β (1 1 - 4 2) ペプチドの比を表す。

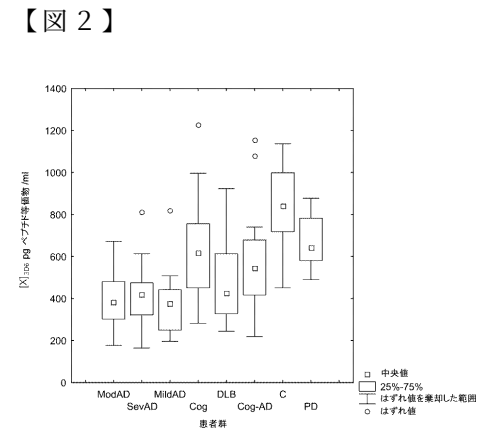
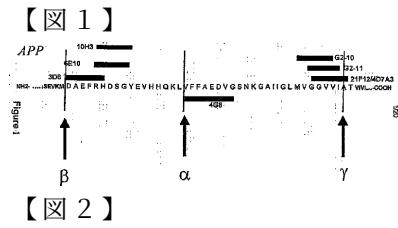


図 2

【図 3】

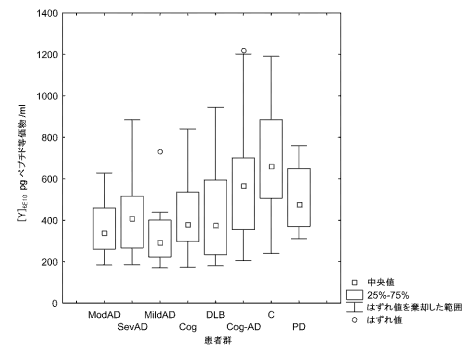


図 3

【図 4】

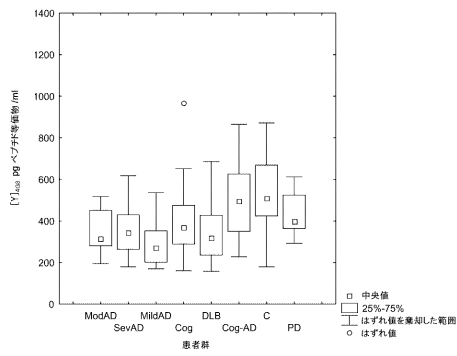


図 4

【図 5】

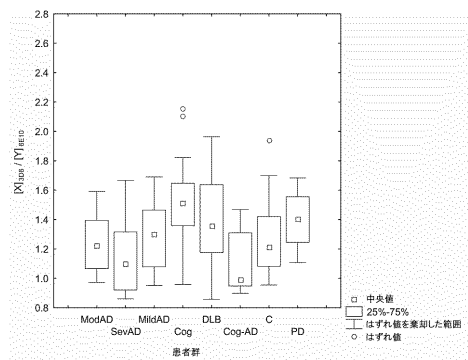


図 5

【図 6】

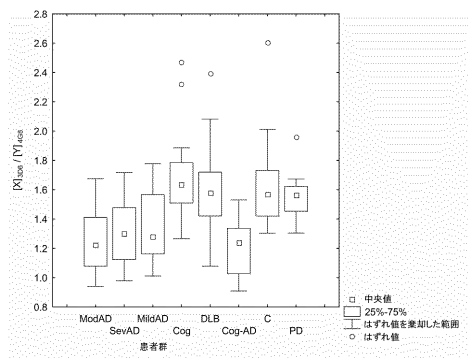


図 6

【図 7】

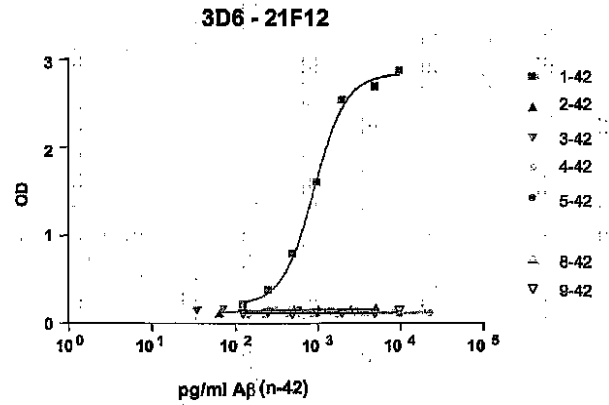


Figure 7

【図 8】

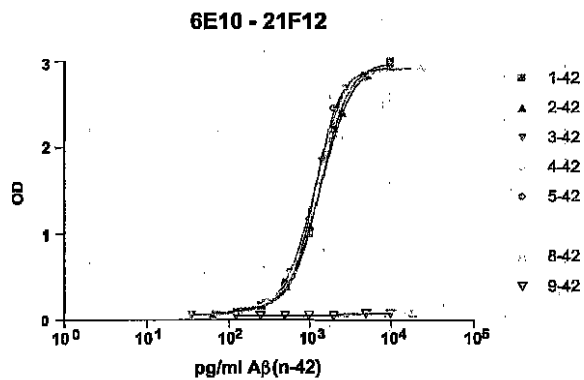


Figure 8

【図 10】

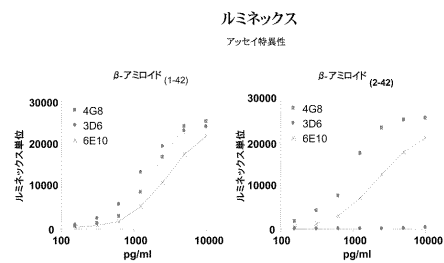


図 10

【図 11】

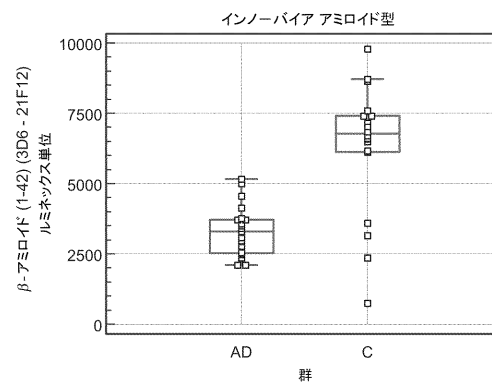


図 11

【図 9】

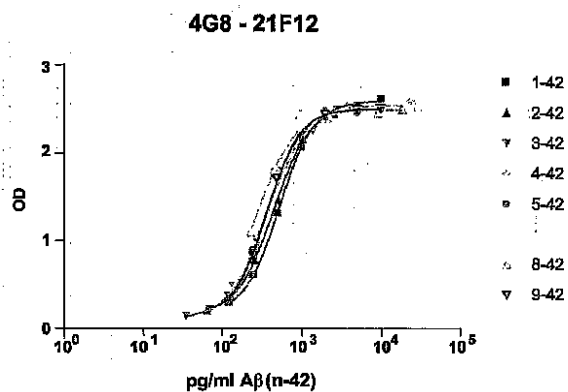


Figure 9

【図 12】

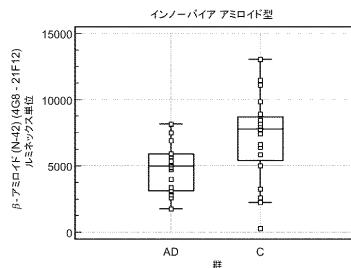


図 12

【図 13】

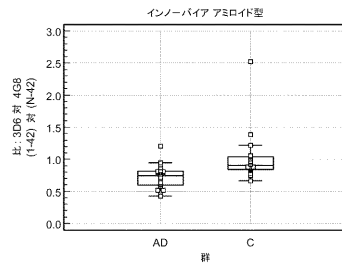


図 13

【図 14】

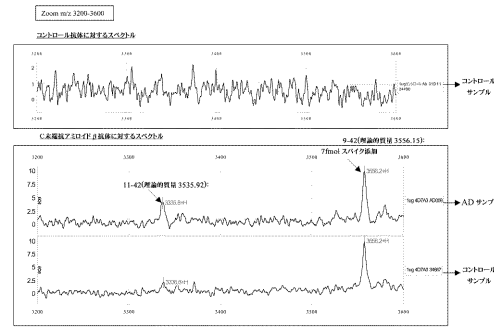


図 14

【図 14-1】

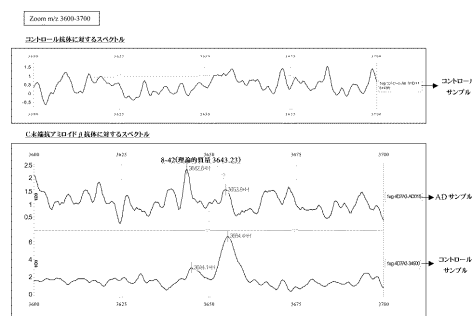


図 14(続き 1)

【図 14-2】

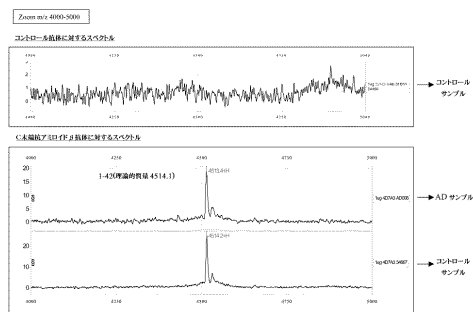


図 14(続き 2)

【図 16】

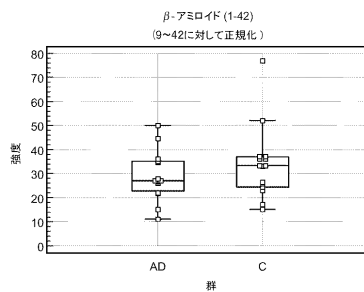


図 16

【図 15】

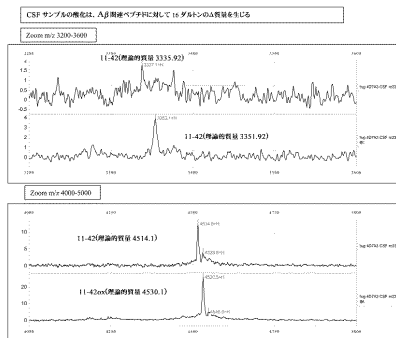


図 15

【図 17】

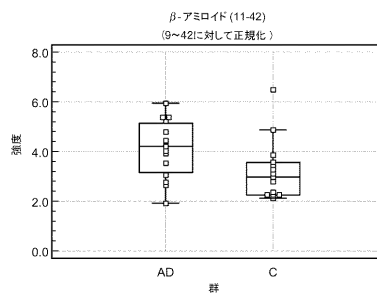


図 17

【図 18】

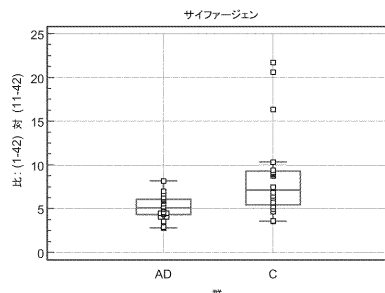


図 18

フロントページの続き

- (72)発明者 エウヘーン・ファンメヘレン
ベルギー、バー9810ナザレトーエケ、テン・エデストラート101番
- (72)発明者 カイ・ブレノフ
スウェーデン、エス416 79イエーテボリ、クリュヴァークスガータン1番
- (72)発明者 ヘールト・デ・マイヤー
ベルギー、バー9000ヘント、ロウスベルフスカイ119番
- (72)発明者 フェスナ・コスタンイエフェッキ
ベルギー、バー9051シント・デネイスーウェストレム、ベルヒエラーン20番

審査官 浅野 美奈

- (56)参考文献 特開2003-012700 (JP, A)
国際公開第00/072880 (WO, A1)
国際公開第03/015617 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/53
G01N 33/577
C07K 16/18
C12P 21/08

专利名称(译)	阿尔茨海默病的预测，诊断和鉴别诊断方法		
公开(公告)号	JP4769722B2	公开(公告)日	2011-09-07
申请号	JP2006530173	申请日	2004-05-03
[标]申请(专利权)人(译)	Innogenetics公司南玫瑰汾笔记本闭嘴 基因创新有限公司		
申请(专利权)人(译)	Innogenetics公司，Namuroze芬恩笔记本闭嘴		
当前申请(专利权)人(译)	Innogenetics公司，Namuroze芬恩笔记本闭嘴		
[标]发明人	フーゴファンダースティヘレ エウヘーンファンメヘレン カイブレノフ ヘルルトデマイヤー フェスナコスタンイエフェッキ		
发明人	フーゴ・ファンダースティヘレ エウヘーン・ファンメヘレン カイ・ブレノフ ヘルルト・デ・マイヤー フェスナ・コスタンイエフェッキ		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/577 C12P21/08 C07K16/18 G01N33/543 G01N33/567 G01N33/68		
CPC分类号	C07K16/18 G01N33/54306 G01N33/6896 G01N2333/4709 G01N2800/2821		
FI分类号	G01N33/53.D G01N33/577.B C12P21/08 C07K16/18		
代理人(译)	田中，三夫 富田健二		
优先权	2003447120 2003-05-22 EP 60/477621 2003-06-11 US		
其他公开文献	JP2007522434A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供了用于阿尔茨海默病的预测，诊断和鉴别诊断的方法。更具体地，提供了一种方法来确定未显示任何阿尔茨海默病临床症状的受试者是否有可能患上阿尔茨海默病。此外，提供了一种方法，用于鉴别患有阿尔茨海默病的受试者与患有路易体痴呆的受试者的鉴别诊断。该方法基于确定特定Aβ肽的比例。

抗体	Aβのエピトープ	参考文献
x,y 位の分子(即ち, x)の特異的 Aβ ペプチドの検出[第 1 の抗体]		
3D6	1-5	Games ら, 1995; Bard ら, 2000; Vanderstichele ら, 2000; DeMattos ら, 2001; Brayden ら, 2001; Elan Pharmaceuticals, South San Francisco, CA, US
BAN-50	(1-10)	Iwatsubo ら, 1994; Suzuki ら, 1994; Gravina ら, 1995; Tamaoka ら, 1997; Enya ら, 1999; Harigaya ら, 2000; Kawarabayashi ら, 2001; Oshima ら, 2001, EP 0 683 234, A1
抗 Aβ ₁₋₅ 抗 N11(D)	1-5	Saido ら, 1995; 1996; Russo ら, 1997; Tekirian ら, 1998
x,y 位の分母(即ち, y)の特異的 Aβ ペプチドの検出[第 2 の抗体]		
6E10	4-13	Kim ら, 1990; Methu ら, 1991; Ghiso ら, 1992; Pirilla ら, 1994; Kida ら, 1995; Wang ら, 1996; Russo ら, 1997; Kawarabayashi ら, 2001; Oshima ら, 2001; Wiltfang ら, 2002; セネテック(Senetek), 米国ミズーリ州セントルイス(SL, Louis, MO, USA); シグネット・ラボトリーズ, デラム(Signet Laboratories), 英国, マサチューセッツ州 (Dedham, MA, US)
10H3	7-12	国際公開第 89/06242 号パンフレット; Majocha ら, 1992; Friedland ら, 1994
4G8	17-24	Kim ら, 1988; Bancher ら, 1989; Kim ら, 1990; Spillantini ら, 1990; Methu ら, 1991; Andersen ら, 1992; Shoji ら, 1992; Harrington ら, 1993; Pirilla ら, 1994; Gravina ら, 1995; Kida ら, 1995; Wang ら, 1996; Russo ら, 1997; Enya ら, 1999; Harigaya ら, 2000; Kawarabayashi ら, 2001; Oshima ら, 2001; セネテック, 米国ミズーリ州セントルイス, シグネット・ラボトリーズ, デラム, 米国マサチューセッツ州
266	13-28	Citron ら, 1992; Hauss ら, 1992; Seubert ら, 1992; Vigo-Pelfrey ら, 1993
5E2	(6-24)	Kim ら, 1988; 国際公開第 89/06242 号パンフレット
4D12	8-17	Allsop ら, 1986; 1990
2F9	17-24	Kim ら, 1988; Bancher ら, 1989; Kim ら, 1990
1D2	8-17	Allsop ら, 1986
1G10	8-17	Allsop ら, 1986; Ikeda ら, 1987
3B6	8-17	Allsop ら, 1986
4G5	17-24	Kim ら, 1988; Bancher ら, 1989
4E11	17-24	Kim ら, 1988; Bancher ら, 1989
2B8	17-24	Kim ら, 1988; Bancher ら, 1989
BNT 77	11-16	Asami-Odaka ら, 1995; Tamaoka ら, 1997; Enya ら, 1999; Kawarabayashi ら, 2001; Oshima ら, 2001
WC2	5-8	Ida ら, 1996; Jensen ら, 2000
6F/3D	8-17	Tanzi ら, 1988; Thal ら, 1999; ダコサイエーション(DakoCytomationN.V., ベルギー, Leuven) (Everlee, Belgium), ノボカスト・ラボトリーズ (Novocastrol Laboratories)Ltd, 英国ニューカッスルアップ・タイン (Newcastle upon Tyne, UK)
Hyb310-01	10-16	デンチボディショップ (Antibodyshop), デンマーク, コペンハーゲン (Copenhagen, Denmark)
Hyb310-03	9-10	Antibodyshop, Copenhagen, Denmark
Hyb310-04	10-16	Antibodyshop, Copenhagen, Denmark
Hyb310-07	5-9	Antibodyshop, Copenhagen, Denmark
Hyb310-08	10-16	Antibodyshop, Copenhagen, Denmark
8E1	N3pE	IBL (ハンブルグ)(Hamburg, ドイツ, ハンブルグ (Hamburg, Germany))