

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-153480

(P2017-153480A)

(43) 公開日 平成29年9月7日 (2017.9.7)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B 0 6 3
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	4 B 0 6 4
C 1 2 N 5/16 (2006.01)	C 1 2 N 5/16	4 B 0 6 5
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 C 0 8 4
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	C 0 7 K 16/18	4 C 0 8 5
審査請求 有 請求項の数 1 O L (全 91 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2017-69675 (P2017-69675)
 (22) 出願日 平成29年3月31日 (2017.3.31)
 (62) 分割の表示 特願2016-4910 (P2016-4910)
 の分割
 原出願日 平成18年12月8日 (2006.12.8)
 (31) 優先権主張番号 05027092.5
 (32) 優先日 平成17年12月12日 (2005.12.12)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)
 (31) 優先権主張番号 06014729.5
 (32) 優先日 平成18年7月14日 (2006.7.14)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)
 (31) 優先権主張番号 06020766.9
 (32) 優先日 平成18年10月2日 (2006.10.2)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 506027491
 エーシー イミュン ソシエテ アノニ
 ム
 スイス連邦共和国 ローザンヌ イービー
 エフエル イノベーション パーク ビル
 ディング ビー
 (74) 代理人 100102978
 弁理士 清水 初志
 (74) 代理人 100119507
 弁理士 刑部 俊
 (74) 代理人 100128048
 弁理士 新見 浩一
 (74) 代理人 100129506
 弁理士 小林 智彦

最終頁に続く

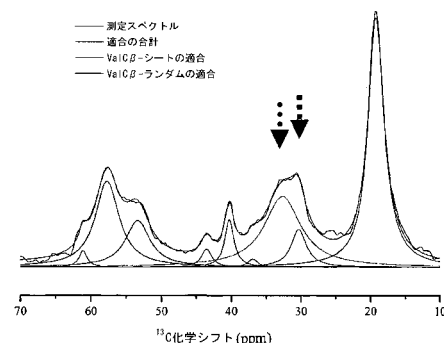
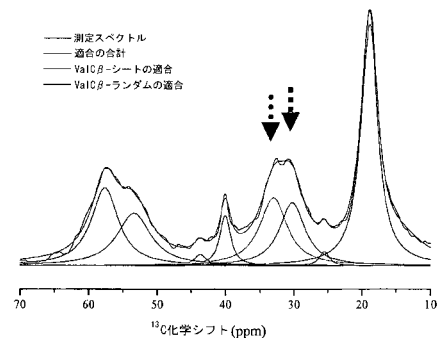
(54) 【発明の名称】 治療的特性を有する β 1 ~ 4 2 特異的モノクローナル抗体

(57) 【要約】

【課題】アルツハイマー病などのアミロイドタンパク質と関連のある一群の障害および異常であるアミロイドシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害の治療における治療的および診断的な使用のための方法および組成物を提供する。

【解決手段】ある範囲にわたる β -アミロイドタンパク質からの特定のエピトープを特異的に認識して結合する能力を有する、高特異的かつ非常に有効な抗体を含む、新規な方法および組成物。

【選択図】 図 4



.....▶ 13C 標識 Val12 の β -シートに関する適合
▶ 13C 標識 Val12 のランダムコイルに関する適合

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどとの共インキュベーションにより、 $A\beta$ 単量体の高分子重合体原線維への凝集を抑制する、抗体。

【請求項 2】

$A\beta$ 単量体の高分子重合体原線維への凝集を、緩衝液中でインキュベートした各々のアミロイドペプチド単量体（対照）と比較して、少なくとも50%、特に少なくとも60%、特に少なくとも65%、より特に少なくとも75%、いっそうより特に少なくとも80%、とりわけ少なくとも85%~90%、またはそれ以上抑制する、請求項1記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

10

【請求項 3】

アミロイド単量体ペプチドと最大で1:100のモル濃度比で共インキュベートされる、請求項1または2記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 4】

アミロイド単量体ペプチドとの1:30~1:100のモル濃度比での共インキュベーションにより、その凝集抑制特性を呈する、請求項3記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

20

【請求項 5】

アミロイド単量体ペプチドとの、37℃の温度で48時間の共インキュベーションにより、その凝集抑制特性を呈する、請求項3または4記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 6】

アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの、1:30~1:100のモル濃度比、特に1:100の比で、共インキュベーションにより、前もって形成された重合体原線維またはフィラメントを、少なくとも35%、特に少なくとも40%、より特に少なくとも50%、いっそうより特に少なくとも60%、とりわけ少なくとも70%、またはそれ以上脱凝集させることができる、

30

請求項5記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 7】

抗体の凝集抑制および脱凝集の能力がそれぞれ、密度勾配超遠心と、その後の前もって形成された勾配でのSDS-PAGE沈降分析によって決定される、請求項1~6のいずれか一項記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 8】

抗体の凝集抑制および脱凝集の能力がそれぞれ、チオフラビンT (Th-T) 蛍光アッセイによって決定される、請求項1~6のいずれか一項記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

40

【請求項 9】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの、共インキュベーションにより、 β -シートコンフォメーションの分子内の所定の位置でのランダムコイルコンフォメーションへの転移を誘導することができ、その結

50

果 β -シートコンフォメーションを代償にしたランダムコイルコンフォメーションの増加、および前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントの可溶化の改善を招く、抗体。

【請求項 10】

ランダムコイルコンフォメーションの増加を、 β -シートコンフォメーションを代償にして誘導することができ、後者が、緩衝液中でインキュベートした各々の前もって形成されたアミロイド重合体原線維またはフィラメント（対照）と比較して、少なくとも30%、特に少なくとも35%、およびより特に少なくとも40%、およびそれ以上減少する、請求項9記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 11】

二次コンフォメーションにおける転移が $A\beta$ タンパク質のVal12の環境内で起こる、請求項9および10のいずれか一項記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 12】

前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの共インキュベーションが37℃の温度で24時間行われた、請求項6～11のいずれか一項記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 13】

二次構造における転移を誘導する抗体の能力が固体NMR分光法によって決定される、請求項9～12記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 14】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1～39；1～40、1～41、1～42、または1～43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどとの共インキュベーションにより、 $A\beta$ 単量体が高分子重合体原線維またはフィラメントへ凝集することを抑制し、かつ加えて、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1～39；1～40、1～41、1～42、または1～43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの、共インキュベーションにより、前もって形成された重合体原線維またはフィラメントを脱凝集させることができる、抗体。

【請求項 15】

アミロイド単量体ペプチドおよび前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの共インキュベーションが、それぞれ最大で1：100のモル濃度比で起こる、請求項14記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 16】

アミロイド単量体ペプチドおよび前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの共インキュベーションが、それぞれ1：30～1：100のモル濃度比、特に1：100のモル濃度比で起こる、請求項15記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 17】

アミロイド単量体ペプチドおよび前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの共インキュベーションが、48時間および24時間、それぞれ37℃の温度で行われる、請求項14～16のいずれか一項記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 18】

前もって形成された重合体原線維またはフィラメントを、少なくとも10%、特に少なくとも25%、より特に少なくとも35%、いっそうより特に少なくとも50%、とりわけ少なくとも60～70%、またはそれ以上脱凝集させることができる、請求項14～17のいずれか一項

10

20

30

40

50

記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 19】

アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド 1~39; 1~40、1~41、1~42、または 1~43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの凝集を、緩衝液中でインキュベートした各々のアミロイドペプチド単量体（対照）と比較して、少なくとも 50%、特に少なくとも 65%、より特に少なくとも 75%、いっそうより特に少なくとも 80%、とりわけ少なくとも 85~90%、またはそれ以上抑制する、請求項 14~17 のいずれか一項記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 20】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、請求項 1~5 および 14~19 のいずれか一項記載の凝集抑制特性、ならびに請求項 6~8、12 および 14~19 のいずれか一項記載の脱凝集特性、さらには請求項 9~13 のいずれか一項記載の β -シート破壊特性が組み込まれている、抗体。

【請求項 21】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、アミノ酸残基 aa_n - aa_m によって限定される $A\beta$ ポリペプチドのエピトープ領域を標的とすることによって $A\beta$ 線維と直接的かつ特異的に結合し、アミノ酸残基 aa_n - aa_m では、 n は 13~15 の間の整数、とりわけ 14 であり、かつ m は 22~24 の間の整数、とりわけ 23 であり、式中 n および m は同一の数であることはできず、かつ n は常に m よりも小さな数であり、 n と m との間の差異が 2 以上でなければならない、抗体。

【請求項 22】

アミロイドのオリゴマーおよび線維とは特異的に結合するが線状化したアミロイド種に対しては結合しないという点でアミロイドの自然なコンフォメーションを認識する、前記請求項のいずれか一項記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 23】

抗体または断片が、 $A\beta$ 単量体と、少なくとも約 1×10^{-6} ~ 少なくとも約 1×10^{-8} 、特に少なくとも約 1×10^{-6} ~ 少なくとも約 1×10^{-7} 、より特に少なくとも約 1×10^{-7} ~ 少なくとも約 1×10^{-8} 、いっそうより特に少なくとも約 1×10^{-7} ~ 少なくとも約 4×10^{-7} の結合親和性で結合するが、好ましくはアミロイド前駆体タンパク質 (APP) と任意の明らかな交差反応を示さない、前記請求項のいずれか一項記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 24】

抗体または断片が、 $A\beta$ 線維、原線維またはフィラメントと少なくとも約 1×10^{-7} ~ 少なくとも約 1×10^{-9} 、特に少なくとも約 1×10^{-7} ~ 少なくとも約 1×10^{-8} 、より特に少なくとも約 1×10^{-8} ~ 少なくとも約 1×10^{-9} 、いっそうより特に少なくとも約 1×10^{-8} ~ 少なくとも約 5×10^{-8} の結合親和性で結合するが、好ましくはアミロイド前駆体タンパク質 (APP) と任意の明らかな交差反応を示さない、前記請求項のいずれか一項記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 25】

抗体または断片が、 $A\beta$ 線維、原線維またはフィラメントに対して、 $A\beta$ 単量体に対する結合親和性よりも少なくとも 5 倍、特に少なくとも 10 倍、より特に少なくとも 15 倍高い結合親和性を呈する、前記請求項に記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 26】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、請求項 1~25 のいずれか一項記載の特性、すなわち、凝集抑制、脱凝集、コンフォメーション転移の誘導、 $A\beta$ ポリペプチドのエピトープ領域の認識および $A\beta$ ポリペプチドのエピトープ領域に対する直接結合のうち少なくとも 1 つ、とりわけ該特性の 2 つまたはそれ以上

10

20

30

40

50

の組み合わせが組み込まれている、抗体。

【請求項 27】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、前記請求項のいずれか一項記載のモノクローナル抗体であって、 $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドに対して高い特異性を呈するが、 $A\beta_{1-38}$ 、 $A\beta_{1-39}$ 、 $A\beta_{1-40}$ 、および/または $A\beta_{1-41}$ 単量体ペプチドに対しては本質的には全く交差反応を示さない、抗体。

【請求項 28】

アミロイドペプチド $A\beta_{1-42}$ に対する感受性が、 $A\beta_{1-38}$ 、 $A\beta_{1-39}$ 、 $A\beta_{1-40}$ 、 $A\beta_{1-41}$ と比較して最大で100倍、特に50~100倍、より特に80~100倍、とりわけ100倍高く、かつインビトロおよびインビボでアミロイド生成性単量体ペプチドの凝集を抑制することができる、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、請求項27記載のモノクローナル抗体。

10

【請求項 29】

アミロイドペプチド $A\beta_{1-42}$ に対して高い結合感受性を有し、かつ最大0.01 μg の濃度、とりわけ0.5 μg ~0.01 μg 、より特に0.1 μg ~0.01 μg の濃度範囲、とりわけ0.01 μg の濃度にある $A\beta_{1-42}$ 線維を検出することができる、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、請求項27または28記載のモノクローナル抗体。

【請求項 30】

脳内の可溶性 $A\beta$ の濃度上昇を招く疾患または病状に罹患した動物、特に哺乳動物、とりわけヒトの脳内の可溶性 $A\beta$ の総量を減少させることができる、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、前記請求項のいずれか一項記載のモノクローナル抗体。

20

【請求項 31】

脳内の斑負荷量 (plaque load) 増加を招く疾患または病状に罹患した動物、特に哺乳動物、とりわけヒトの脳内の斑を崩壊させる、すなわち斑負荷量を減少させることができる、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、前記請求項のいずれか一項記載のモノクローナル抗体。

【請求項 32】

脳内の斑負荷量を、少なくとも20%、特に少なくとも25%、より特に少なくとも30%、いっそうより特に30%を上回って減少させる、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、請求項31記載の抗体。

30

【請求項 33】

脳内の斑負荷量増加を招く疾患または病状に罹患した動物、特に哺乳動物、とりわけヒトの脳内で、斑を可溶化して、斑の量の減少を招くことができる、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、請求項31記載のモノクローナル抗体。

【請求項 34】

脳内の斑の量を、少なくとも10%、特に少なくとも15%、より特に少なくとも20%減少させる、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、請求項31記載の抗体。

【請求項 35】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、凝集抑制、脱凝集、コンフォメーション転移の誘導、エピトープ、特に14~23領域、特に14~20領域内のコンフォメーションの不連続なエピトープの認識およびそれに対する直接結合、アミロイド斑の形成を防止するまたは遅らせること、脳内の可溶性 $A\beta$ の総量を減少させること、脳内の斑負荷量を減少させること、脳内の斑の量を減らすこと、認知記憶能力を保持または向上させることからなる群より選択される特性の少なくとも1つ、とりわけ該特性の2つまたはそれ以上の組み合わせが組み込まれている、抗体。

40

【請求項 36】

上述した特性の少なくとも2つ、特に少なくとも3つ、より特に少なくとも4つ、いっそうより特に少なくとも5つ、6つ、7つまたは8つ、とりわけすべてが組み込まれている、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、請求項35記載のモノクローナル抗

50

体。

【請求項 37】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、 β -アミロイドタンパク質上の、少なくとも1つの識別可能な(distinct)結合部位、特に少なくとも2つの識別可能な結合部位を認識して結合する抗体であり、

該少なくとも1つまたは該少なくとも2つの識別可能な結合部位がそれぞれ、抗体の結合に主として関与する少なくとも1つのアミノ酸残基および少なくとも2つの連続したアミノ酸残基を含み、

本発明の1つの特定の態様において、第1の識別可能な結合部位を構成する少なくとも1つの残基がLeuであり、かつ第2の識別可能な結合部位を構成する少なくとも2つの連続したアミノ酸残基が、以下のコア配列：

-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Leu-Xaa₄-Phe-Phe-Xaa₅-Xaa₆-Xaa₇-

の内部に埋め込まれた-Phe-Phe-であり、

式中、Xaa₁はHis、Asn、Gln、Lys、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₂はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₃はLys、His、Asn、Gln、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₅はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₇はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基である、抗体。

【請求項 38】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、 β -アミロイドタンパク質上の、少なくとも1つの識別可能な結合部位、特に少なくとも2つの識別可能な結合部位、より特に少なくとも3つの識別可能な結合部位を認識して結合する抗体であり、

該識別可能な結合部位がそれぞれ、抗体の結合に主として関与する少なくとも1つおよび少なくとも2つの連続したアミノ酸残基を含み、

抗体結合に関与しないか、または抗体の結合に主として関与するアミノ酸残基と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない少なくとも1つのアミノ酸残基によって隔てられた少なくとも1つおよび少なくとも2つの連続したアミノ酸がそれぞれ、以下のコア配列：

-His-Xaa₂-Lys-Leu-Xaa₃-Xaa₄-Xaa₅-Xaa₆-Xaa₇-Xaa₈-

の内部に埋め込まれた-His-および-Lys-Leu-であり、

式中、Xaa₂はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₃はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₅はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₇はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₈はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、かつ

該アミノ酸残基Xaa₂、Xaa₃、Xaa₆、Xaa₇、Xaa₈が抗体結合に関与しないか、または-His-結合部位および-Lys-Leu-結合部位と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない、抗体。

【請求項 39】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、 β -アミロイドタンパク質上の、少なくとも1つの識別可能な結合部位、特に少なくとも2

つの識別可能な結合部位、より特に少なくとも3つの識別可能な結合部位を認識して結合する抗体であり、

該識別可能な結合部位がそれぞれ、抗体の結合に主として関与する少なくとも1つおよび少なくとも2つの連続したアミノ酸残基を含み、

第1の結合部位に相当する少なくとも2つの連続したアミノ酸残基が-Phe-Phe-であり、かつ少なくとも1つのアミノ酸残基が-His-であり、それぞれ以下のコア配列：

-Xaa₁-His-Xaa₃-Xaa₄-Xaa₅-Xaa₆-Phe-Phe-Xaa₇-Xaa₈-Xaa₉-

の内部に埋め込まれており、

式中、Xaa₁はHis、Asn、Gln、Lys、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

10

Xaa₃はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はHis、Asn、Gln、Lys、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₅はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はAla、Val、Leu、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₇はAla、Val、Leu、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₈はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₉はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、かつ

該アミノ酸残基Xaa₁、Xaa₃、Xaa₆、Xaa₇、Xaa₈、およびXaa₉が抗体結合に関与しないか、またはHis結合部位および-Phe-Phe-結合部位と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない、抗体。

20

【請求項 4 0】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、β-アミロイドタンパク質上の、少なくとも1つの識別可能な結合部位、特に少なくとも2つの識別可能な結合部位、より特に少なくとも3つの識別可能な結合部位を認識して結合する抗体であり、

該識別可能な結合部位がそれぞれ、抗体の結合に主として関与する少なくとも1つおよび少なくとも2つの連続したアミノ酸残基を含み、

抗体の結合に主として関与する少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第1のものが-Lys-および-Leu-であり、かつ少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第2のものが-Phe-Phe-であり、それぞれ以下のコア配列：

30

-Xaa₁-Xaa₂-Lys-Leu-Xaa₄-Phe-Phe-Xaa₅-Xaa₆-Xaa₇-

の内部に埋め込まれており、

式中、Xaa₁はHis、Asn、Gln、Lys、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₂はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₅はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₇はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、かつ

40

該アミノ酸残基Xaa₂、Xaa₃、Xaa₄、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇は抗体結合に関与しないか、または-Lys-Leu結合部位および-Phe-Phe-結合部位と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない、抗体。

【請求項 4 1】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、β-アミロイドタンパク質上の、少なくとも1つの識別可能な結合部位、特に少なくとも2つの識別可能な結合部位、より特に少なくとも3つの識別可能な結合部位を認識して結合する抗体であり、

該識別可能な結合部位がそれぞれ、抗体の結合に主として関与する少なくとも1つおよび少なくとも2つの連続したアミノ酸残基を含み、

50

抗体の結合に主として関与する少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第1のものが-Lys-Leu-であり、かつ少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第2のものが-Phe-Phe-であり、かつ第3の少なくとも1つのアミノ残基が-His-であり、それぞれ以下のコア配列：

-His-Xaa₂-Lys-Leu-Xaa₄-Phe-Phe-Xaa₅-Xaa₆-Xaa₇-

の内部に埋め込まれており、

式中、Xaa₂はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₅はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₇はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、かつ

該アミノ酸残基Xaa₂、Xaa₃、Xaa₄、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇は抗体結合に関与しないか、または-His-結合部位、-Lys-Leu結合部位、および-Phe-Phe-結合部位と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない、抗体。

【請求項 4 2】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、β-アミロイドタンパク質上の、少なくとも1つの識別可能な結合部位、特に少なくとも2つの識別可能な結合部位、より特に少なくとも3つの識別可能な結合部位を認識して結合する抗体であり、

該識別可能な結合部位がそれぞれ、抗体の結合に主として関与する少なくとも1つおよび少なくとも2つの連続したアミノ酸残基を含み、

抗体の結合に主として関与する少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第1のものが-Lys-Leu-であり、かつ少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第2のものが-Phe-Phe-であり、かつ第3の少なくとも1つのアミノ残基が-Asp-であり、それぞれ以下のコア配列：

-Xaa₁-Xaa₂-Lys-Leu-Xaa₄-Phe-Phe-Xaa₅-Xaa₆-Asp-

の内部に埋め込まれており、

式中、Xaa₁はHis、Asn、Gln、Lys、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₂はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₅はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、かつ

該アミノ酸残基Xaa₂、Xaa₃、Xaa₄、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇は抗体結合に関与しないか、または-Asp-結合部位、-Lys-Leu結合部位、および-Phe-Phe-結合部位と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない、抗体。

【請求項 4 3】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、β-アミロイドタンパク質上の4つの識別可能な結合部位と結合し、該4つの識別可能な結合部位がそれぞれ、抗体の結合に主として関与する残基である1つのアミノ酸残基および2つの連続したアミノ酸残基を含み、

該4つの識別可能な結合部位が、抗体結合に関与しないか、または4つの識別可能な結合部位の該1つのアミノ酸残基および該2つの連続したアミノ酸残基と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない少なくとも1つのアミノ酸残基によって隔てられて抗原上に互いに近接して位置し、それ故にコンフォメーションの不連続なエピトープを形成する、抗体。

【請求項 4 4】

抗体の結合に主として関与する2つの連続したアミノ酸残基のうち第1のものが-Lys-Leu

10

20

30

40

50

-であり、かつ少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第2のものが-Phe-Phe-であり、単一のアミノ残基のうち第1のものが-His-であり、かつ単一のアミノ残基のうち第2のものが-Asp-であり、それぞれ以下のコア配列：

-His-Xaa₂-Lys-Leu-Xaa₄-Phe-Phe-Xaa₅-Xaa₆-Asp-

の内部に埋め込まれており、

式中、Xaa₂はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₅はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、かつ

10

該アミノ酸残基Xaa₂、Xaa₃、Xaa₄、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇は抗体結合に関与しないか、または-His-結合部位、-Asp-結合部位、-Lys-Leu結合部位、および-Phe-Phe-結合部位と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない、

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、請求項43記載のモノクローナル抗体。

【請求項 4 5】

β-アミロイドタンパク質の結合に主として関与する、連続したアミノ酸残基、特に16位および17位にある-Lys-Leu-、ならびに19位および20位にある-Phe-Phe-が、以下のアミロイドβペプチドのコア領域：

Val	His	His	Gln	Lys	Leu	Val	Phe	Phe	Ala	Glu	Asp
12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23

20

の中に埋め込まれている、

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、請求項37～44のいずれか一項記載のモノクローナル抗体。

【請求項 4 6】

請求項37～45のいずれか一項に規定されたコンフォメーションの不連続なエピトープを認識して結合する、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、請求項1～36のいずれか一項記載のモノクローナル抗体。

【請求項 4 7】

30

SEQ ID NO：7の軽鎖可変領域（LCVR）を含む、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 4 8】

SEQ ID NO：8の重鎖可変領域（HCVR）を含む、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 4 9】

SEQ ID NO：8の重鎖可変領域（HCVR）およびSEQ ID NO：7の軽鎖可変領域（LCVR）の両方を含む、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 5 0】

軽鎖可変領域（LCVR）もしくは重鎖可変領域（HCVR）またはその両方、SEQ ID NO：7および8でそれぞれ提供されたペプチドのいずれに対しても相同な軽鎖可変領域（LCVR）および重鎖可変領域（HCVR）を含む、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

40

【請求項 5 1】

軽鎖可変領域（LCVR）が、SEQ ID NO：7で与えられた配列に対して90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なアミノ酸配列を有する、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、請求項50記載のモノクローナル抗体。

【請求項 5 2】

重鎖可変領域（HCVR）が、SEQ ID NO：8で与えられた配列に対して90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なアミノ酸配列を有する、任意の

50

機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、請求項50記載のモノクローナル抗体。

【請求項 5 3】

軽鎖可変領域（LCVR）および重鎖可変領域（HCVR）が共に、SEQ ID NO：7および8で与えられた配列に対して85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なアミノ酸配列を有する、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、請求項50記載のモノクローナル抗体。

【請求項 5 4】

請求項37～45のいずれか一項に規定されたコンフォメーションの不連続なエピトープを認識して結合し、かつ請求項1～36のいずれか一項記載の抗体の特異的な特性を呈する、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、請求項47～53のいずれか一項記載のモノクローナル抗体。

10

【請求項 5 5】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、2005年12月01日および2005年12月09日のそれぞれにDSM ACC2752として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3によって産生される抗体の特徴的特性を有する抗体。

【請求項 5 6】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、2005年12月01日および2005年12月09日のそれぞれにDSM ACC2750として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3-C2によって産生される抗体の特徴的特性を有する抗体。

【請求項 5 7】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、2005年12月01日および2005年12月09日のそれぞれにDSM ACC2751として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3-G2によって産生される抗体の特徴的特性を有する抗体。

20

【請求項 5 8】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、2005年12月08日にDSM ACC2755として寄託されたハイブリドーマ細胞株ET 7E3によって産生される抗体の特徴的特性を有する抗体。

【請求項 5 9】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、2005年12月08日にDSM ACC2756として寄託されたハイブリドーマ細胞株EJ 7H3によって産生される抗体の特徴的特性を有する抗体。

30

【請求項 6 0】

その機能的等価物を含む、2005年12月01日および2005年12月09日のそれぞれにDSM ACC2752として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 6 1】

その機能的等価物を含む、2005年12月01日および2005年12月09日のそれぞれにDSM ACC2750として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3-C2によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 6 2】

その機能的等価物を含む、2005年12月01日および2005年12月09日のそれぞれにDSM ACC2751として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3-G2によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

40

【請求項 6 3】

その機能的等価物を含む、2005年12月08日にDSM ACC2755として寄託されたハイブリドーマ細胞株ET 7E3によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体。

【請求項 6 4】

その機能的等価物を含む、2005年12月08日にDSM ACC2756として寄託されたハイブリドーマ細胞株EJ 7H3によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分

50

を含むモノクローナル抗体。

【請求項 6 5】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、例えばパルミチン酸などの疎水性部分、または例えばポリエチレングリコール (PEG) などの親水性部分、または両方の組み合わせによって修飾される、 β -アミロイドペプチドの、特に β -アミロイドペプチド $A\beta_{1\sim 15}$ 、 $A\beta_{1\sim 16}$ 、および $A\beta_{1\sim 16}(\Delta 14)$ のアミノ酸配列に対応する抗原ペプチドを含む超分子抗原構築物に対して産生される抗体であり、

該疎水性および親水性の部分がそれぞれ、アミノ酸など、例えばリジンまたはリンカー分子として働きうる任意の他の適したアミノ酸もしくはアミノ酸類似体を介して各末端と共有結合している、抗体。

10

【請求項 6 6】

以下を含む、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド：

(a) 少なくとも、SEQ ID NO：9の軽鎖可変領域のヌクレオチド配列、

(b) 遺伝暗号の縮重のためコドン配列において (a) のヌクレオチド配列とは異なるヌクレオチド配列、

(c) (a) および (b) に対する相補的配列を伴うヌクレオチド配列、または

(d) 少なくとも20個の連続ヌクレオチド、少なくとも25個の連続ヌクレオチド、少なくとも30個の連続ヌクレオチド、少なくとも35個の連続ヌクレオチド、少なくとも40個の連続ヌクレオチド、少なくとも45個の連続ヌクレオチド、および少なくとも50個の連続ヌクレオチドからなる群より選択される連続的な一続きのヌクレオチドを含む、(a)、(b) または (c) のヌクレオチド配列の断片。

20

【請求項 6 7】

以下を含む、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド：

(a) 少なくとも、SEQ ID NO：10の軽鎖のヌクレオチド配列、

(b) 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列において (a) のヌクレオチド配列とは異なるヌクレオチド配列、

(c) (a) および (b) に対する相補的配列を伴うヌクレオチド配列、または

(d) 少なくとも20個の連続ヌクレオチド、少なくとも25個の連続ヌクレオチド、少なくとも30個の連続ヌクレオチド、少なくとも35個の連続ヌクレオチド、少なくとも40個の連続ヌクレオチド、少なくとも45個の連続ヌクレオチド、および少なくとも50個の連続ヌクレオチドからなる群より選択される連続的な一続きのヌクレオチドを含む、(a)、(b) または (c) のヌクレオチド配列の断片。

30

【請求項 6 8】

以下を含む、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド：

(a) 少なくとも、SEQ ID NO：11の重鎖可変領域のヌクレオチド配列、

(b) 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列において (a) のヌクレオチド配列とは異なるヌクレオチド配列、

(c) (a) および (b) に対する相補的配列を伴うヌクレオチド配列、または

(d) 少なくとも20個の連続ヌクレオチド、少なくとも25個の連続ヌクレオチド、少なくとも30個の連続ヌクレオチド、少なくとも35個の連続ヌクレオチド、少なくとも40個の連続ヌクレオチド、少なくとも45個の連続ヌクレオチド、および少なくとも50個の連続ヌクレオチドからなる群より選択される連続的な一続きのヌクレオチドを含む、(a)、(b) または (c) のヌクレオチド配列の断片。

40

【請求項 6 9】

以下を含む、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド：

(a) 少なくとも、SEQ ID NO：12の重鎖のヌクレオチド配列、

50

(b) 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列において (a) のヌクレオチド配列とは異なるヌクレオチド配列、

(c) (a) および (b) に対する相補的配列を伴うヌクレオチド配列、または

(d) 少なくとも20個の連続ヌクレオチド、少なくとも25個の連続ヌクレオチド、少なくとも30個の連続ヌクレオチド、少なくとも35個の連続ヌクレオチド、少なくとも40個の連続ヌクレオチド、少なくとも45個の連続ヌクレオチド、および少なくとも50個の連続ヌクレオチドからなる群より選択される連続的な一続きのヌクレオチドを含む、(a)、(b) または (c) のヌクレオチド配列の断片。

【請求項 7 0】

請求項66～69のいずれか一項記載のヌクレオチド配列とハイブリダイズするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド。

10

【請求項 7 1】

ヌクレオチド配列が、従来のハイブリダイゼーション条件下、特にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、請求項66～69のいずれか一項記載のヌクレオチド配列とハイブリダイズする、請求項70記載のポリヌクレオチド。

【請求項 7 2】

SEQ ID NO: 7の軽鎖可変領域 (LCVR)。

【請求項 7 3】

SEQ ID NO: 8の重鎖可変領域 (HCVR)。

【請求項 7 4】

SEQ ID NO: 7の軽鎖可変領域 (LCVR) をコードするポリヌクレオチド。

20

【請求項 7 5】

SEQ ID NO: 8の重鎖可変領域 (HCVR) をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 7 6】

請求項1～65のいずれか一項記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体を治療的有效量で含む組成物。

【請求項 7 7】

薬学的に許容される担体を任意でさらに含む薬学的組成物である、請求項76記載の組成物。

【請求項 7 8】

モノクローナル抗体を治療的有效量で含む、請求項77記載の組成物。

30

【請求項 7 9】

アルツハイマー病に関与するA β タンパク質などのアミロイドタンパク質またはアミロイド様タンパク質と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害の治療で用いるための、請求項76～78のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 8 0】

治療的有效量で、請求項1～65のいずれか一項記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体、ならびに任意で、さらなる生物活性物質、および/または薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む混合物。

40

【請求項 8 1】

さらなる生物活性物質が、アルツハイマー病に関与するA β タンパク質などのアミロイドタンパク質またはアミロイド様タンパク質と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害の薬物療法に用いられる化合物である、請求項79記載の混合物。

【請求項 8 2】

請求項1～65のいずれか一項記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を

50

含むモノクローナル抗体に加えて、本発明による抗体と共に、酸化ストレスに対する化合物、抗アポトーシス化合物、金属キレート剤、ピレンゼピンおよび代謝産物などのDNA修復の阻害薬、3-アミノ-1-プロパンスルホン酸（3APS）、1,3-プロパンジスルホナート（1,3PDS）、セクレターゼ活性化剤、 β -および γ -セクレターゼ阻害薬、タウタンパク質、神経伝達物質、 β -シート破壊物質(breaker)、抗炎症性分子、またはタクリン、リバスチグミン、ドネペジル、および/もしくはガラントミンなどのコリンエステラーゼ阻害薬（ChEI）、および他の薬物、ならびに栄養補給物質からなる群より選択される少なくとも1つの化合物、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、請求項80または81記載の混合物。

【請求項 83】

10

化合物がコリンエステラーゼ阻害薬（ChEI）である、請求項82記載の混合物。

【請求項 84】

化合物が、タクリン、リバスチグミン、ドネペジル、ガラントミン、ナイアシン、およびメマンチンからなる群より選択される化合物である、請求項82記載の混合物。

【請求項 85】

モノクローナル抗体および/または生物活性物質を治療的有効量で含む、請求項80～84のいずれか一項記載の混合物。

【請求項 86】

請求項1～65のいずれか一項記載の任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体を生産するための方法であって、

20

適した宿主生物において、例えばパルミチン酸などの疎水性部分、または例えばポリエチレングリコール（PEG）などの親水性部分、または両方の組み合わせによって修飾される、 β -アミロイドペプチドの、特に β -アミロイドペプチド $A\beta_{1-15}$ 、 $A\beta_{1-16}$ 、および $A\beta_{1-16}$ （ $\Delta 14$ ）のアミノ酸配列に対応する抗原ペプチドを含む超分子抗原構築物に対して抗体、特にモノクローナル抗体を産生させる段階であって、該疎水性および親水性の部分がそれぞれアミノ酸など、例えばリジンまたはリンカー分子として働きうる任意の他の適したアミノ酸もしくはアミノ酸類似体を介して各末端と共有結合している、段階；ならびに

抗体を単離する段階

を含む、方法。

30

【請求項 87】

アルツハイマー病（AD）、ならびに例えば、軽度認知障害（MCI）、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（オランダ型）；グアム・パーキンソン認知症複合；ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連のある他の疾患；クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS（筋萎縮性側索硬化症）、成人発症型糖尿病；老人性心アミロイドーシス；内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状などの神経疾患を非限定的に含む疾患などの続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含んだ、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるかまたはそれらと関連のある疾患および障害を治療するためまたはその影響を緩和するための薬物の調製のための、請求項1～65のいずれか一項記載のモノクローナル抗体および/もしくはその機能的部分、ならびに/または請求項76～79のいずれか一項記載の薬学的組成物、または請求項80～85のいずれか一項記載の混合物の使用。

40

【請求項 88】

アルツハイマー病（AD）、ならびに例えば、軽度認知障害（MCI）、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（オランダ型）；グアム・パーキンソン認知症複合；ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連のある他の疾患；クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン

50

病、HIV関連認知症、ALS（筋萎縮性側索硬化症）、封入体筋炎（IBM）、成人発症型糖尿病；老人性心アミロイドーシス；内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状などの神経疾患を非限定的に含む疾患などの続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含んだ、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害の治療またはその影響を緩和において使用するための、請求項76～79のいずれか一項記載の薬学的組成物、または請求項1～65のいずれか一項記載のモノクローナル抗体および／もしくはその機能的部分を用いる請求項80～85のいずれか一項記載の混合物の調製のための方法。

10

【請求項89】

アルツハイマー病（AD）、ならびに例えば、軽度認知障害（MCI）、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（オランダ型）；グアム・パーキンソン認知症複合；ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連のある他の疾患；クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS（筋萎縮性側索硬化症）、封入体筋炎（IBM）、成人発症型糖尿病；老人性心アミロイドーシス；内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状などの神経疾患を非限定的に含む疾患などの続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含んだ、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害を予防する、治療する、またはその影響を緩和するための、請求項1～65のいずれか一項記載のモノクローナル抗体および／もしくはその機能的部分または機能的に等価な抗体、請求項76～79のいずれか一項記載の薬学的組成物、または請求項80～85のいずれか一項記載の混合物を用いる薬物の調製のための方法。

20

【請求項90】

請求項1～65のいずれか一項記載のモノクローナル抗体および／またはその機能的部分もしくは機能的に等価な抗体を用いる、請求項76～79のいずれか一項記載の薬学的組成物の調製のための方法であって、該抗体を薬学的に許容される形態に製剤化する段階を含む、方法。

30

【請求項91】

抗体が治療の有効量で組成物中に含まれる、請求項90記載の方法。

【請求項92】

脳内の斑負荷量増加を招く疾患または病状に罹患した動物、特に哺乳動物、とりわけヒトの脳内の斑負荷量を減らすための方法であって、そのような治療を必要とする動物、特に哺乳動物、より特にヒトに対して、請求項1～65のいずれか一項記載のモノクローナル抗体、または請求項76～79のいずれか一項記載の組成物、または請求項80～85のいずれか一項記載の混合物の、治療的有效量を投与する段階を含む、方法。

【請求項93】

脳内の斑負荷量が、少なくとも20%、特に少なくとも25%、より特に少なくとも30%、いっそうより特に30%を上回って減少する、請求項92記載の方法。

40

【請求項94】

脳内の斑負荷量増加を招く疾患または病状に罹患した動物、特に哺乳動物、とりわけヒトの脳内の斑の量を減らすための方法であって、そのような治療を必要とする動物、特に哺乳動物、より特にヒトに対して、請求項1～65のいずれか一項記載のモノクローナル抗体、または請求項76～79のいずれか一項記載の組成物、または請求項80～85のいずれか一項記載の混合物の、治療的有效量を投与する段階を含む、方法。

【請求項95】

脳内の斑の量が、少なくとも10%、特に少なくとも15%、より特に少なくとも20%減少する、請求項94記載の方法。

50

【請求項 9 6】

脳内の可溶性A β の濃度上昇を招く疾患または病状に罹患した動物、特に哺乳動物、とりわけヒトの脳内の可溶性A β の総量を減少させるための方法であって、そのような治療を必要とする動物、特に哺乳動物、より特にヒトに対して、請求項1～65のいずれか一項記載のモノクローナル抗体、または請求項76～79のいずれか一項記載の組成物、または請求項80～85のいずれか一項記載の混合物の、治療的有效量を投与する段階を含む、方法。

【請求項 9 7】

アルツハイマー病（AD）、ならびに例えば、軽度認知障害（MCI）、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（オランダ型）；グアム・パーキンソン認知症複合；ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連のある他の疾患；クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS（筋萎縮性側索硬化症）、封入体筋炎（IBM）、成人発症型糖尿病；老人性心アミロイドーシス；内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状などの神経疾患を非限定的に含む疾患などの続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含んだ、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害を、請求項1～39のいずれか一項記載の抗体、特にモノクローナル抗体、またはそのような抗体を含む組成物もしくは混合物をそのような障害に冒された動物またはヒトに対して投与することによって、予防する、治療する、またはその影響を緩和するための方法であって、

そのような治療を必要とする動物、特に哺乳動物、より特にヒトに対して、請求項1～65のいずれか一項記載のモノクローナル抗体、または請求項76～79のいずれか一項記載の組成物、または請求項80～85のいずれか一項記載の混合物の、治療的有效量を投与する段階を含む、方法。

【請求項 9 8】

アミロイドに関連した疾患または病状を呈している哺乳動物における認知記憶能力を保持または向上させるための方法であって、そのような治療を必要とする動物、特に哺乳動物、より特にヒトに対して、請求項1～65のいずれか一項記載のモノクローナル抗体、または請求項76～79のいずれか一項記載の組成物、または請求項80～85のいずれか一項記載の混合物の、治療的有效量を投与する段階を含む、方法。

【請求項 9 9】

モノクローナル抗体またはモノクローナル抗体を含む組成物が治療的有效量で投与される、請求項98記載の方法。

【請求項 1 0 0】

請求項1～65のいずれか一項記載のモノクローナル抗体を産生するという点で特徴づけられるハイブリドーマ細胞株。

【請求項 1 0 1】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体を産生するという点で特徴づけられるハイブリドーマ細胞株であって、抗体が2005年12月01日にDSM ACC2752として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3によって産生される抗体の特徴的特性を有する、細胞株。

【請求項 1 0 2】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体を産生するという点で特徴づけられるハイブリドーマ細胞株であって、抗体が2005年12月01日にDSM ACC2750として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3-C2によって産生される抗体の特徴的特性を有する、細胞株。

【請求項 1 0 3】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体を産生するという点で特徴づけられるハイブリドーマ細胞株であって、抗体が2005年12月01日にDSM

ACC2751として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3-G2によって産生される抗体の特徴的特性を有する、細胞株。

【請求項 1 0 4】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体を産生するという点で特徴づけられるハイブリドーマ細胞株であって、抗体が2005年12月08日にDSM ACC2755として寄託されたハイブリドーマ細胞株ET 7E3によって産生される抗体の特徴的特性を有する、細胞株。

【請求項 1 0 5】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体を産生するという点で特徴づけられるハイブリドーマ細胞株であって、抗体が2005年12月08日にDSM ACC2756として寄託されたハイブリドーマ細胞株EJ 7H3によって産生される抗体の特徴的特性を有する、細胞株。

10

【請求項 1 0 6】

2005年12月01日にDSM ACC2752として寄託されたハイブリドーマ細胞株ハイブリドーマ細胞株FP 12H3。

【請求項 1 0 7】

2005年12月01日にDSM ACC2750として寄託されたハイブリドーマ細胞株ハイブリドーマ細胞株FP 12H3-C2。

【請求項 1 0 8】

2005年12月01日にDSM ACC2751として寄託されたハイブリドーマ細胞株ハイブリドーマ細胞株FP 12H3-G2。

20

【請求項 1 0 9】

2005年12月08日にDSM ACC2755として寄託されたハイブリドーマ細胞株ハイブリドーマ細胞株ET 7E3。

【請求項 1 1 0】

2005年12月08日にDSM ACC2756として寄託されたハイブリドーマ細胞株ハイブリドーマ細胞株EJ 7H3。

【請求項 1 1 1】

試料中またはインサイチューのアミロイドタンパク質のエピトープに対するモノクローナル抗体またはその活性断片の免疫特異的結合を検出することを含む、患者におけるアミロイドに関連した疾患または病状の診断の方法であって、

30

(a) アミロイド抗原を含むことが疑われる試料または特定の身体部分もしくは身体部位を、本発明による、および本特許請求の範囲に前述した通りの抗体と接触させる段階であって、抗体がアミロイドタンパク質のエピトープと結合する、段階；

(b) 抗体をアミロイド抗原と結合させて、免疫複合体を形成させる段階；

(c) 免疫複合体の形成を検出する段階；ならびに

(d) 試料または特定の身体部分もしくは部位における、免疫複合体の有無とアミロイド抗原の有無とを相関づける段階

を含む、方法。

【請求項 1 1 2】

40

組織中のアミロイド生成斑の負荷 (burden) の程度を決定する方法であって、

(a) 調査中の組織を代表する試料を入手する段階；

(b) 該試料を、請求項1～65のいずれか一項記載の抗体を用いて、アミロイド抗原の存在に関して検査する段階；

(c) 抗原と結合した抗体の量を決定する段階；および

(d) 組織中の斑負荷を計算する段階

を含む、方法。

【請求項 1 1 3】

段階(c)における免疫複合体の形成が、免疫複合体の有無がアミロイド抗原の有無と相関するように決定される、請求項112記載の方法。

50

【請求項 1 1 4】

試料中またはインサイチューのアミロイドタンパク質のエピトープに対するモノクローナル抗体またはその活性断片の免疫特異的結合を検出することを含む、患者におけるアミロイドに関連した疾患または病状に対する素因を診断するための方法であって、

(a) アミロイド抗原を含むことが疑われる試料または特定の身体部分もしくは身体部位を、本発明による、および本特許請求の範囲に前述した通りの抗体と接触させる段階であって、抗体がアミロイドタンパク質のエピトープと結合する、段階；

(b) 抗体をアミロイド抗原と結合させて、免疫複合体を形成させる段階；

(c) 免疫複合体の形成を検出する段階；ならびに

(d) 試料または特定の身体部分もしくは部位における、免疫複合体の有無とアミロイド抗原の有無とを相関づける段階；

10

(e) 該免疫複合体の量を正常対照値と比較する段階、
を含み、該凝集物の量が正常対照値と比較して多いことにより、該患者がアミロイドに関連した疾患もしくは病状に、罹患しているかまたはそれを発症するリスクを有することが示される、方法。

【請求項 1 1 5】

前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはワクチン組成物による治療後の患者における微小残存病変(minimal residual disease)をモニタリングするための方法であって、

(a) アミロイド抗原を含むことが疑われる試料または特定の身体部分もしくは身体部位を、本発明による、および本特許請求の範囲に前述した通りの抗体と接触させる段階であって、抗体がアミロイドタンパク質のエピトープと結合する、段階；

20

(b) 抗体をアミロイド抗原と結合させて、免疫複合体を形成させる段階；

(c) 免疫複合体の形成を検出する段階；ならびに

(d) 試料または特定の身体部分もしくは部位における、免疫複合体の有無とアミロイド抗原の有無とを相関づける段階；

(e) 該免疫複合体の量を正常対照値と比較する段階
を含み、該凝集物の量が正常対照値と比較して多いことにより、該患者がさらに微小残存病変に罹患していることが示される、方法。

【請求項 1 1 6】

前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはワクチン組成物によって治療された患者の反応性を予測するための方法であって、

30

(a) アミロイド抗原を含むことが疑われる試料または特定の身体部分もしくは身体部位を、本発明による、および本特許請求の範囲に前述した通りの抗体と接触させる段階であって、抗体がアミロイドタンパク質のエピトープと結合する、段階；

(b) 抗体をアミロイド抗原と結合させて、免疫複合体を形成させる段階；

(c) 免疫複合体の形成を検出する段階；ならびに

(d) 試料または特定の身体部分もしくは部位における、免疫複合体の有無とアミロイド抗原の有無とを相関づける段階；

(e) 治療の開始の前および後の該免疫複合体の量を比較する段階
を含み、該凝集物の量が減少することにより、該患者が治療に反応する高い可能性を有することが示される、方法。

40

【請求項 1 1 7】

請求項1～65のいずれか一項記載の抗体を含む、アミロイドに関連した疾患および病状の検出および診断のための検査キット。

【請求項 1 1 8】

本発明による1つまたは複数の抗体、および

抗体をアミロイド抗原と結合させて免疫複合体を形成させ、かつ免疫複合体の有無がアミロイド抗原の有無と相関するように免疫複合体の形成を検出する目的に用いるための説明書

を収容できる容器を含む、請求項114記載の検査キット。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、アルツハイマー病などのアミロイドタンパク質と関連のある一群の障害および異常であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるかまたはそれらと関連のある疾患および障害の治療における、治療的および診断的な使用のための方法および組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

アミロイドーシスは単一の疾患単位ではなく、1つまたは複数の臓器または身体系に蓄積するアミロイドと呼ばれる蟻状のデンブun様タンパク質の細胞外組織沈着を特徴とする多様な進行性疾患プロセスの一群である。アミロイド沈着が累加するにつれて、それらは臓器または身体系の正常な機能を妨げ始める。アミロイドーシスには少なくとも15の種類がある。主な型は、既知の既往症のない原発性アミロイドーシス、他の何らかの病状に続いて起こる続発性アミロイドーシス、および遺伝性アミロイドーシスである。

10

【0003】

続発性アミロイドーシスは、結核、細菌感染症、家族性地中海熱、骨感染症（骨髄炎）、関節リウマチ、小腸の炎症（肉芽腫性回腸炎）、ホジキン病、およびハンセン病のような慢性感染症または炎症性疾患を有する人々に起こる。

【0004】

アミロイド沈着は典型的には3つの構成要素を含む。アミロイドタンパク質原線維、これはアミロイド材料の約90%を占め、いくつかの種類のタンパク質のうち1つを含む。これらのタンパク質は、コンゴレッドの結合部位を提示してアミロイドタンパク質に特有の染色特性をもたらす特有のタンパク質立体配置である、いわゆる「 β プリーツ」シート原線維へとフォールディングすることができる。加えて、アミロイド沈着は、正常な血清アミロイドP（SAP）と関係のある糖タンパク質であり、結合組織の複合糖質である硫酸化グリコサミノグリカン（GAG）を伴うアミロイドP（ペンタゴナル）成分（AP）と密接に関連している。

20

【0005】

加齢性の多くの疾患はアミロイド様タンパク質に基づくかまたはそれと関連しており、これらは疾患の発生病理ならびに進行に寄与するアミロイドまたはアミロイド様材料の細胞外沈着の累加を特徴の1つとする。

30

【0006】

これらの疾患には、例えば、軽度認知障害（MCI）、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（オランダ型）；グアム・パーキンソン認知症複合などの、認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状を含む、アルツハイマー病（AD）などの神経疾患が非限定的に含まれる。アミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連する他の疾患には、進行性核上麻痺、多発性硬化症；クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS（筋萎縮性側索硬化症）、封入体筋炎（IBM）、成人発症型糖尿病；老人性心アミロイドーシス；内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものがある。

40

【0007】

これらの疾患の発生病理は多様でありうるが、それらの特徴的な沈着はしばしば、多くの共通の分子的構成要素を含む。かなりの程度で、これは、活性化された補体成分、急性期反応物質、免疫モジュレーターおよび他の炎症メディエーターの同時発生的沈着を結果として招く、炎症誘発性経路の局所的活性化に原因を求めることができる（McGeer et al., 1994）。

【0008】

アルツハイマー病（AD）は、脳内の異常なタンパク質沈着の蓄積物であるアミロイド斑によって引き起こされると主に考えられている神経疾患である。罹患個体の脳内に認めら

50

れる最も頻度の高い種類のアミロイドは、主としてA β 原線維から構成される。科学的証拠により、斑状の β -アミロイドタンパク質の生成および蓄積が神経細胞死を招き、それがADの発症および進行に寄与することが実証されている。戦略的に重要な脳領域における神経細胞の損失は、次には神経伝達物質の減少および記憶障害を引き起こす。斑の累加の主な原因になるタンパク質には、アミロイド前駆体タンパク質（APP）および2種のプレセニリン（プレセニリンIおよびプレセニリンII）が含まれる。ほとんどの細胞において構成的に発現されて異化されるアミロイド前駆体タンパク質（APP）の、 β および γ セクレターゼという酵素による逐次的切断により、39~43アミノ酸のA β ペプチドの放出がもたらされる。APPの分解は、それらが斑状に凝集する性向を高めると思われる。凝集物を構築する性向が強いのは特にA β （1~42）断片であり、これはそのC末端に2つの極めて疎水性のアミノ酸残基があるためである。A β （1~42）断片はこのため、ADにおける老人斑形成の開始に主として関与し、その原因となり、このため病原性が高いと考えられている。このため、アミロイド斑形成を標的とし、それを拡散させることのできる特異的抗体に対しては需要がある。

【0009】

ADの症状は緩徐に現われ、最初の症状は軽度の物忘れに過ぎない。この段階では、個人は最近の出来事、活動、家族または物の名前を忘れることがあり、簡単な数学の問題を解けないことがある。疾患が進行するにつれて、症状はより容易に目に付くようになり、ADの人々または彼らの家族に医療の助けを求めようとさせるのに十分なほど深刻になる。ADの中期の症状には、身繕いなどの簡単な作業のやり方を忘れることが含まれ、話すこと、理解、読み書きに伴う問題が生じる。後期のAD患者は、不安になったり攻撃的になったりすることがあり、家から出て徘徊することもあり、最終的には全面看護を必要とする。

【0010】

現在、ADを診断するための唯一の確定的な手段は、個体の死後の剖検において脳組織中の斑およびもつれを同定することである。このため、医師は、その人が生存している間は、「ADが疑われる」または「ほぼ確実なAD」という診断を下せるに過ぎない。現行の方法を用いると、医師は、「ほぼ確実な」ADの診断用の複数のツールを用いて、最大90パーセントの確率でADを正しく診断することができる。医師は、患者の全般的な健康状態、既往歴、および日常活動を行う上で覚えた問題の履歴に関する質問を行う。記憶、問題解決、注意、計算、および言語に関する行動学的検査によって認知障害に関する情報が得られ、血液、尿または脊髄液の検査、および脳スキャンなどの医学的検査によってさらに詳細な情報を得ることができる。

【0011】

ADの管理は、投薬を用いる治療と、投薬を用いない治療とからなる。この疾患の基礎をなす過程を変化させること（進行の遅延または逆転）を目的とした治療は、これまでほとんど成功していない。神経細胞の化学的メッセンジャー（神経伝達物質）の不足（欠損）または機能不全を回復させる薬物、特にタクリンおよびリバスチグミンなどのコリンエステラーゼ阻害薬（ChEI）は、症状を改善することが示されている。ChEIは神経伝達物質の酵素的分解を妨げ、それによって脳内で神経シグナルの伝達に利用されうる化学的メッセンジャーの量を増加させる。

【0012】

この疾患の早期および中期の一部の患者の場合、タクリン（COGNEX（登録商標）、Morris Plains, NJ）、ドネペジル（ARICEPT（登録商標）、Tokyo, JP）、リバスチグミン（EXELON（登録商標）、East Hanover, NJ）、またはガランタミン（REMINYL（登録商標）、New Brunswick, NJ）といった薬剤は、ある限られた期間にわたって、いくつかの症状が悪化するのを防ぐのに役立つ可能性がある。別の薬物であるメマンチン（NAMENDA（登録商標）、New York, NY）は、中等度ないし重度のADの治療に対して承認されている。ADの精神症状に対処するための薬物も利用可能である。また、いくつかの薬物は、不眠、興奮、徘徊、不安および抑うつといったADの行動上の症状を抑えるのに役立つ可能性がある。これらの症状を治療することで患者は落ち着き、介護者にとっては介護がより容易になる

。しかし残念ながら、この一群の薬剤が一貫してプラセボよりも優れることを示している大きな治療上の進歩にもかかわらず、この疾患は進行を続け、精神機能に対する平均的な効果はわずかに過ぎない。ChEIにはまた、胃腸機能障害、肝毒性および体重減少を含む副作用もある。

【 0 0 1 3 】

アミロイド様タンパク質の蓄積および沈着に基づくかまたはそれらと関連のある他の疾患には、軽度認知障害、レーヴィ小体認知症（LBD）、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、封入体筋炎（IBM）、および黄斑変性症、特に加齢性黄斑変性症（AMD）がある。

【 0 0 1 4 】

軽度認知障害（MCI）は、軽微ではあるが無視できないほどの記憶障害と定義されることの多い一般的な用語である。MCIを有する人は、加齢に伴って通常予想されるよりも大きい記憶障害をきたすが、判断または推理の障害のような認知症の他の症状は示さない。MCIは、ADの前臨床段階を往々にして反映する病状である。

10

【 0 0 1 5 】

嗅内皮質（EC）内部の β -アミロイドの沈着が、高齢者における軽度認知障害（MCI）の発症に重要な役割を果たすと考えられている。これは、ひとたびADが臨床的に顕性になるとCSF-A β （1~42）レベルが有意に低下するという観察所見と一致する。CSF-A β （1~42）とは対照的に、CSF-タウのレベルはMCI段階では有意に上昇し、これらの値はその後とも上昇を続けており、このことは、CSF-タウのレベルの上昇が、ADを発症すると予想されるMCI対象を発見する一助になる可能性を示している。

20

【 0 0 1 6 】

レーヴィ小体認知症（LBD）は、65歳以上の人に起こりうる神経変性疾患であり、典型的には、認知（思考）障害、および異常な行動変化という症状を引き起こす。症状には、認知障害、神経学的徴候、睡眠障害および自律神経不全が含まれる。認知障害は、ほとんどの症例においてLBDの主な特徴である。患者は再発性の錯乱発作を起こし、それは次第に悪化する。認知能力の変動が、注意および覚醒の度合いの推移をしばしば伴ってみられる。認知障害および思考の変動は数分、数時間または数日で変わることがある。

【 0 0 1 7 】

レーヴィ小体は、リン酸化型および非リン酸化型のニューロフィラメントタンパク質から形成され、それらはシナプスタンパク質である α -シヌクレインのほか、損傷タンパク質または異常タンパク質の排除に関与するユビキチンを含む。レーヴィ小体に加えて、神経細胞の細胞突起内の封入体であるレーヴィ神経突起も存在することがある。DLBに罹患した患者の脳内にアミロイド斑が形成されることがあるが、それらはアルツハイマー病の患者に見られるよりも数が少ない。ADのもう1つの微細な病的特徴である神経原線維のもつれは、DLBの主な特徴ではないが、アミロイド斑に加えて往々にして存在する。

30

【 0 0 1 8 】

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は、上位および下位運動ニューロンの変性を特徴とする。一部のALS患者では、認知症または失語症が存在することがある（ALS-D）。認知症は前頭側頭型認知症（FTD）であることが最も多く、これらの症例の多くは、歯状回ならびに前頭葉および側頭葉の表層のニューロン内にユビキチン陽性でタウ陰性の封入体を有する。

40

【 0 0 1 9 】

封入体筋炎（IBM）は、50歳以上の人々に通常見られる肢体不自由を伴う疾患であり、筋線維に炎症が生じて萎縮が始まるが、脳は影響されず、患者の知的機能はすべて保たれる。アミロイド- β タンパク質の生成に関与する2種の酵素が、高齢者における頻度が非常に高いこの進行性筋疾患の患者の筋細胞の内部で増加しており、アミロイド- β も同じく増加することが見いだされている。

【 0 0 2 0 】

アミロイド様タンパク質の蓄積および沈着に基づくか、またはそれらと関連のあるもう1つの疾患は、黄斑変性症である。

【 0 0 2 1 】

50

黄斑変性症は、網膜（眼の後部にある紙のように薄い組織であり、そこにある光感受性細胞が視覚シグナルを脳に送る）の中心領域にある黄斑の変質を引き起こす、よく見られる眼疾患である。鋭敏で明瞭な「正面からの（straight ahead）」視覚が黄斑によって処理される。黄斑に対する損傷は、盲斑および視野のかすみまたは乱れの発生をもたらす。加齢性黄斑変性症（AMD）は、米国における視覚障害の主な原因の1つであり、65歳以上の人々にとっては白人における法的盲の主因である。40歳およびそれ以上の米国人のおよそ180万人が進行期AMDを有し、中間型AMDを有する別の730万人も視力低下のリスクがかなり高い。政府は、2020年までに進行型AMDの人々が290万人になると推定している。AMDの患者はしばしば、この失明性疾患の原因および治療に関してほとんど解明されていないことを知ると驚いて失望する。

10

【0022】

黄斑変性症には2つの型、すなわち乾性黄斑変性症および湿性黄斑変性症がある。黄斑の細胞がゆっくりと崩壊し始める乾性型は、黄斑変性症の症例の85パーセントで診断される。乾性AMDによって通常は両眼が影響を受けるが、一方の眼で視力が低下し、もう一方の眼は冒されないこともある。網膜下の黄色沈着である晶洞は、乾性AMDの一般的な早期徴候である。進行期の乾性AMDまたは湿性AMDを発症するリスクは、晶洞の数またはサイズが増大するほど高くなる。乾性AMDは湿性型の疾患に転換することなしに進行して視力低下を引き起こすことがある。しかし、また、早期の乾性AMDが湿性型に突然変化することもある。

20

【0023】

湿性型は症例の15パーセントを占めるに過ぎないが、90パーセントが失明を引き起こし、進行期AMDと考えられている（早期または中間期の湿性AMDは存在しない）。湿性AMDは必ず乾性型の疾患が先に起こる。乾性型が悪化すると共に、一部の人々では異常血管が黄斑の背部に成長し始める。これらの血管は極めて脆弱であり、液体および血液を漏出して（それ故に「湿性」黄斑変性症という）、黄斑に対して急激な損傷を引き起こす。

【0024】

乾性型のAMDは、最初はしばしば、視野のわずかなかすみを引き起こす。続いて視野の中心が特にかすむようになり、この領域は疾患が進行すると共に大きくなる。一方の眼のみが冒される場合には症状が気づかれないこともある。湿性AMDでは、直線が波打って見えたり、中心視野の喪失が急激に起こることがある。

30

【0025】

黄斑変性症の診断は、典型的には、散瞳させた眼の検査、視力検査、およびAMDを診断する一助になる眼底検査と呼ばれる手順を用いた眼の後部の観察を伴い、湿性AMDが疑われた場合には、蛍光眼底血管造影法が行われることもある。乾性AMDが進行期に達したならば、視力低下を防ぐための治療法は、現在存在しない。しかし、抗酸化剤および亜鉛の特別な高用量処方剤は、中間型AMDの進行期への進行を遅延または防止する可能性がある。Macugen（登録商標）（ペガブタニブナトリウム注射剤）、レーザー光凝固および光線力学療法は異常血管増殖および黄斑内の出血を抑えることができ、このことは湿性AMDを有する一部の人々にとっては助けになる。しかし、すでに低下した視覚がこれらの手法によって回復することはない。視覚がすでに低下している場合には、生活の質を改善するのに役立つ低視力者用補助具が存在する。

40

【0026】

加齢性黄斑変性症（AMD）の最も早期の徴候は、網膜色素上皮（RPE）の基底層とブルッフ膜（BM）との間の、晶洞として知られる細胞外沈着の蓄積である。Andersonらによって行われた最近の研究により、晶洞はアミロイドβを含むことが確認されている（Experimental Eye Research 78（2004）243-256）。

【0027】

進行中の研究が、AMDの一因になりうる環境因子、遺伝因子、および食事因子を探索するための研究と共に続けられている。網膜細胞移植、疾患の進行を防止または遅らせると考えられる薬物、放射線療法、遺伝子治療、視覚を刺激する一助になる可能性のあるコン

50

ピュータチップの網膜への移植、および黄斑下の新たな血管の増殖を防止すると考えられる薬剤を含む、新たな治療戦略も探索されている。

【0028】

新たな薬物を開発する時に考慮すべき1つの重要な因子は、標的患者にとっての使い易さである。経口薬物送達、特に錠剤、カプセル剤およびソフトゲルは、消費される全剤形の70%を占めているが、これは患者の利便性のためである。薬物の開発者は、患者が注射または他のより侵襲的な形態の薬物投与を受けるよりも経口到達を好むことに同意する。まばらな投与間隔（すなわち、1日1回または持続放出）をもたらす製剤も好ましい。経口剤形にある抗生物質を投与することの容易さは、治療中の患者のコンプライアンスの向上をもたらす。

10

【0029】

求められているのは、抗体を経口剤形で提供しようとする場合の前提条件となる、非常に特異的かつ非常に有効な抗体を作製するための有効な方法および組成物である。このような抗体は、アミロイドタンパク質などの種々の抗原上の特定のエピトープを認識することが好ましい。

【0030】

同じく求められているのは、したがって、例えば、軽度認知障害（MCI）、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（オランダ型）；グアム・パーキンソン認知症複合；ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連のある他の疾患；クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS（筋萎縮性側索硬化症）、封入体筋炎（IBM）、成人発症型糖尿病；老人性心アミロイドーシス；内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状を含む、アルツハイマー病（AD）などの神経疾患を非限定的に含む続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含んだ、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害に伴う合併症に対処するために有効な組成物および方法である。特に、求められているのは、アミロイドペプチドまたはアミロイド様ペプチドの線維の凝集と関連のある斑の形成などの疾患の生理的発現を打ち消すことのできる、特化した非常に有効な抗体である。

20

30

【0031】

フロイント完全または不完全アジュバントと混合した $A\beta_{1-42}$ の接種によって誘発される抗アミロイド抗体は、ヒトアルツハイマー病のトランスジェニックマウスにおけるアミロイド負荷量を減少させることが実証されている（Schenk et al., 1999）。

【0032】

リポソーム中に再構成されたテトラパルミトイル化 $A\beta_{1-16}$ のNORBAトランスジェニックマウスに対する腹腔内接種は、有効な力価の抗アミロイド抗体を誘発し、それはインビトロおよびインビボでアミロイド線維および斑を可溶化させることも実証された（Nicolaou et al., 2002）。

【0033】

想定される、アミロイド斑および線維の溶解を起こす機序は、Bard ら（2000）によって最初に提唱され、彼らは自らのデータに基づいて、抗体が斑をオプソニン化し、斑は続いてミクログリアのマクロファージによって破壊されるという結論を提起した。De Mattos ら（2001）は、 β -アミロイドの中心ドメインを標的とするMAbが、血漿アミロイドと結合してそれらを完全に隔絶させることを示した。彼らは、流血中のこれらのmAbの存在により、脳内への沈着の代わりに末梢での除去および異化を促すように、脳と血漿との間での $A\beta$ の平衡が推移すると主張した。

40

【発明の概要】

【0034】

本発明は、ある範囲にわたる β -アミロイド抗原からの特定のエピトープを特異的に認

50

識してそれらと結合する能力を有する、非常に特異的でかつ非常に有効な抗体を含む、新規な方法および組成物を提供する。本発明の教示によって可能となる抗体は、いくつか例を挙げるならば、例えば、軽度認知障害（MCI）、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（オランダ型）；グアム・パーキンソン認知症複合；ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連のある他の疾患；クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS（筋萎縮性側索硬化症）、封入体筋炎（IBM）、成人発症型糖尿病；老人性心アミロイドーシス；内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状を含む、アルツハイマー病（AD）などの神経疾患を非限定的に含む続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含む、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害のために特に有用である。

10

【0035】

さらに、本発明は、アミロイドに関連した疾患または病状を呈する哺乳動物における認知記憶能力を保持または向上させるための新規な方法および組成物であって、そのような治療を必要とする動物、特に哺乳動物、より特にヒトに対して本発明によるモノクローナル抗体の治療的有効量を投与する段階を含む、方法および組成物も提供する。

【0036】

本発明は、独特な特性を備えた抗体を最終的にもたらず、好ましい抗原コンフォメーションの曝露の強化および安定化をもたらず抗原提示を利用する。

20

【0037】

本発明の1つの態様においては、例えばパルミチン酸などの疎水性部分、または例えばポリエチレングリコール（PEG）などの親水性部分、またはそれらの組み合わせによって修飾され、前記疎水性および親水性の部分がそれぞれ抗原ペプチドの末端のそれぞれと、少なくとも1つの、特に1つまたは2つのアミノ酸を介して、例えば、リジン、グルタミン酸およびシステイン、または疎水性および親水性の部分をペプチド断片と連結させる接続デバイスとして働きうる任意の他の適したアミノ酸もしくはアミノ酸類似体を介して共有結合している、 β -アミロイドペプチドの、特に β -アミロイドペプチド $A\beta_{1-15}$ 、 $A\beta_{1-16}$ 、および $A\beta_{1-16}(\Delta 14)$ のアミノ酸配列に対応する抗原ペプチドを含む超分子抗原構築物に対して産生される、任意の機能的に等価な抗体もしくはその機能的部分を含む抗体、またはより特に任意の機能的に等価な抗体もしくはその機能的部分を含むモノクローナル抗体が提供される。PEGを親水性部分として用いる場合には、遊離PEG末端は、例えば抗原構築物をリボソームの二重層内に埋め込むための、係留構成分子として機能させるのに適したホスファチジルエタノールアミンまたは任意の他の化合物と共有結合している。

30

【0038】

本発明のもう1つの態様においては、アミロイドのオリゴマーおよび線維とは特異的に結合するが線状化したアミロイド種に対しては結合しないという点でアミロイドの自然なコンフォメーションを認識する、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、抗体、特にモノクローナル抗体が提供される。

40

【0039】

本発明のさらなる態様においては、本発明による、および本明細書に前述した通りの、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、少なくとも約 1×10^{-6} ～少なくとも約 1×10^{-8} 、特に少なくとも約 1×10^{-6} ～少なくとも約 1×10^{-7} 、より特に少なくとも約 1×10^{-7} ～少なくとも約 1×10^{-8} 、いっそうより特に少なくとも約 1×10^{-7} ～少なくとも約 4×10^{-7} の結合親和性で $A\beta$ 単量体と結合するが、好ましくはアミロイド前駆体タンパク質（APP）と任意の明らかな交差反応を示さない、抗体または断片が提供される。

【0040】

本発明のもう1つの態様においては、本発明による、および本明細書に前述した通りの

50

、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、少なくとも約 1×10^{-7} ～少なくとも約 1×10^{-9} 、特に少なくとも約 1×10^{-7} ～少なくとも約 1×10^{-8} 、より特に少なくとも約 1×10^{-8} ～少なくとも約 1×10^{-9} 、いっそうより特に少なくとも約 1×10^{-8} ～少なくとも約 5×10^{-8} の結合親和性でA β 線維、原線維またはフィラメントと結合するが、好ましくはアミロイド前駆体タンパク質（APP）と任意の明らかな交差反応を示さない、抗体または断片が提供される。

【0041】

もう1つの態様において、本発明による、および本明細書に前述した通りの、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体は、A β 線維、原線維またはフィラメントに対して、A β 単量体に対する結合親和性よりも少なくとも5倍、特に少なくとも10倍、より特に少なくとも15倍高い結合親和性を呈する。

10

【0042】

本発明による抗体は、インビトロおよびインビボで、アミロイド生成性単量体ペプチド、具体的には β -アミロイド単量体ペプチド、例えばA β 単量体ペプチド1～39；1～40、1～41、1～42、または1～43、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドなどの、高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントへの凝集を抑制することができる。

【0043】

本発明の1つの特定の態様において、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体は、アミロイド単量体ペプチド、特にアミロイド単量体ペプチド、例えば、A β 単量体ペプチド1～39；1～40、1～41、1～42、または1～43、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドなどとの共インキュベーションにより、A β 単量体の高分子重合体原線維への凝集を抑制する。

20

【0044】

本発明のさらなる態様においては、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、共インキュベーション、特に、最大で1：100のモル濃度比、より特に1：30～1：100のモル濃度比、とりわけ1：100のモル濃度比での、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば、A β 単量体ペプチド1～39；1～40、1～41、1～42、または1～43、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドなどとの共インキュベーションにより、A β 単量体の高分子重合体原線維への凝集を抑制する抗体が提供される。特に、前記抑制は、緩衝液中でインキュベートした各々のアミロイドペプチド単量体（対照）と比較して、少なくとも50%、特に少なくとも65%、より特に少なくとも75%、いっそうより特に少なくとも80%、とりわけ少なくとも85%～90%またはそれ以上に達する。

30

【0045】

特に、本発明による抗体とアミロイド単量体ペプチドとの共インキュベーションは、24時間～60時間、特に30時間～50時間、より特に48時間、28～40、特に32～38、より特に37の温度で行われる。

【0046】

もう1つの態様において、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、アミロイド単量体ペプチド、具体的には β -アミロイド単量体ペプチド、例えばA β 単量体ペプチド1～39；1～40、1～41、1～42、または1～43、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドなどとの、1：100のモル濃度比での、37

40

で48時間の共インキュベーションにより、アミロイド単量体の凝集、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えばA β 単量体ペプチド1～39；1～40、1～41、1～42、または1～43などの、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドの、高分子重合体原線維またはフィラメントへの凝集を、緩衝液中でインキュベートした各々のアミロイドペプチド単量体（対照）と比較して、少なくとも85%、特に少なくとも89%、より特に少なくとも95%抑制することができる抗体を提供する。

【0047】

1つの特定の態様において、本発明は、A β_{1-42} 単量体ペプチドに対して高い特異性を

50

呈するが、 $A\beta_{1-38}$ 、 $A\beta_{1-39}$ 、 $A\beta_{1-40}$ 、および/または $A\beta_{1-41}$ 単量体ペプチドに対しては本質的に全くまたはわずかしき交差反応を示さない、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体、特に任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、とりわけモノクローナル抗体であって、アミロイドペプチド $A\beta_{1-42}$ に対する感受性が $A\beta_{1-38}$ 、 $A\beta_{1-39}$ 、 $A\beta_{1-40}$ 、 $A\beta_{1-41}$ と比較して100倍、特に50~100倍、より特に80~100倍、とりわけ100倍高く、アミロイドペプチド $A\beta_{1-42}$ に対する感受性が $A\beta_{1-38}$ と比較して最大で1000倍、特に500~1000倍、より特に800~1000倍、とりわけ1000倍高く、かつそれ故にインビトロおよびインビボでアミロイド生成性単量体ペプチドの、とりわけアミロイドペプチド $A\beta_{1-42}$ の凝集を抑制することができる抗体を提供する。

10

【0048】

本発明のもう1つの特定の態様において、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体は、アミロイドペプチド $A\beta_{1-42}$ に対して高い結合感受性を有し、少なくとも $0.001\mu\text{g}$ に至るまでの濃度、特に $0.5\mu\text{g}\sim 0.001\mu\text{g}$ 、より特に $0.1\mu\text{g}\sim 0.001\mu\text{g}$ の濃度範囲、とりわけ $0.001\mu\text{g}$ の濃度にある $A\beta_{1-42}$ 線維を検出することができる。

【0049】

本発明の極めて特定の態様においては、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、 $A\beta_{1-42}$ 線維を $0.001\mu\text{g}$ に至るまでの最小濃度で、 $A\beta_{1-40}$ 線維を $0.1\mu\text{g}$ に至るまでの最小濃度で、および $A\beta_{1-38}$ 線維を線維量 $1\mu\text{g}$ に至るまでの最小濃度で検出することができる抗体が提供される。

20

【0050】

本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体の、アミロイド生成性単量体ペプチド、特にアミロイド形態(1~42)との結合は、単量体アミロイド生成性ペプチドの高分子原線維またはフィラメントへの凝集の抑制を招く。アミロイド生成性単量体ペプチドの凝集の抑制を通じて、本発明による抗体は、アミロイド斑、特に、二次コンフォメーションの変化によって不溶性になること、および罹患した動物またはヒトの脳内でのアミロイド斑の主要部分であることが知られているアミロイド形態(1~42)の形成を防止または遅らせることができる。

【0051】

本発明による抗体の凝集抑制能力は、当技術分野で公知の任意の適した方法によって、特に密度勾配超遠心法に続いての前もって形成された勾配でのSDS-PAGE沈降分析によって、および/またはチオフラビンT(Th-T)蛍光アッセイによって、決定することができる。

30

【0052】

本発明はさらに、アミロイド単量体ペプチド、具体的にはアミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの、共インキュベーションにより、前記高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントを脱凝集させることができる抗体を提供する。

40

【0053】

本発明のもう1つの態様においては、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、とりわけモノクローナル抗体であって、最大で1:100のモル濃度比、より特に1:30~1:100のモル濃度比、とりわけ1:100のモル濃度比での、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの、共インキュベーションにより、前もって形成されたポリマー原線維またはフィラメントを、少なくとも35%、特に少なくとも40%、より特に少なくとも50%、いっそうより特に少なくとも60%、とりわけ少なくとも70%またはそれ以上脱凝集させることができる抗体が提供さ

50

れる。

【0054】

特に、本発明による抗体は、アミロイドが前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントと、12時間～36時間、特に18時間～30時間、より特に24時間、28～40、特に32～38、より特に37の温度で、共インキュベートされる。

【0055】

1つの特定の態様において、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1～39；1～40、1～41、1～42、または1～43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの、1：100のモル濃度比での、24時間、37での共インキュベーションにより、対照媒体（アミロイドのみ）と共にインキュベートした各々の前もって形成されたアミロイドポリマー原線維またはフィラメント（対照）と比較して、前記前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントを少なくとも35%、特に少なくとも40%、より特に少なくとも50%、いっそうより特に少なくとも60%、とりわけ少なくとも70%またはそれ以上脱凝集させることができる抗体が提供される。

10

【0056】

本発明による抗体の脱凝集能力は、当技術分野で公知の任意の適した方法によって、特に密度勾配超遠心法に続いての前もって形成された勾配でのSDS-PAGE沈降分析によって、および/またはチオフラビンT（Th-T）蛍光アッセイによって、決定することができる。

20

【0057】

本発明はさらに、コンフォメーション感受性のある抗体またはその機能的部分を提供する。

【0058】

本発明のさらなる態様においては、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、とりわけモノクローナル抗体であって、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1～39；1～40、1～41、1～42、または1～43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの、共インキュベーションにより、 β -シートコンフォメーションを代償にしたランダムコイルコンフォメーションの増加および前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントの可溶化の改善を招く、 β -シートコンフォメーションの α -ヘリックスおよび/またはランダムコイルコンフォメーションへの、特にランダムコイルコンフォメーション、いっそうより特に分子内の所定の位置での、とりわけ $A\beta$ タンパク質のVal12の環境内でのランダムコイルコンフォメーションへの転移を誘導することができる。特に、 β -シートコンフォメーションの減少は、緩衝液中でインキュベートした各々の前もって形成されたアミロイド重合体原線維またはフィラメント（対照）と比較して、少なくとも30%、特に少なくとも35%、より特に少なくとも40%およびそれ以上に達する。

30

【0059】

特に、本発明による抗体は、アミロイドが前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントと、12時間～36時間、特に18時間～30時間、より特に24時間にわたり、28～40、特に32～38、より特に37の温度で、共インキュベートされる。

40

【0060】

特に、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば単量体ペプチド1～39；1～40、1～41、1～42、または1～43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの、1：100のモル濃度比での、24時間、37での共イ

50

ンキュベーションにより、ランダムコイルコンフォメーションの増加をβ-シートコンフォメーションを代償にして招き、緩衝液中でインキュベートした各々の前もって形成されたアミロイド重合体原線維またはフィラメント（対照）と比較して、後者の少なくとも30%、特に少なくとも35%、より特に少なくとも40%およびそれ以上の減少を伴う、β-シートコンフォメーションのα-ヘリックスおよび/またはランダムコイルコンフォメーション、特にランダムコイルコンフォメーション、いっそうより特に分子内の所定の位置での、とりわけAβタンパク質のVal12の環境内でのランダムコイルコンフォメーションへの転移を誘導することができる。

【0061】

コンフォメーション転移を誘導する抗体の能力は、当技術分野で公知の任意の適した方法によって、特に固体¹³C NMR分光法によって、特にAβペプチドにおける、特にAβペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけAβ₁₋₄₂単量体ペプチドにおけるVal 12 Cβのコンフォメーションの積分強度を測定することによって決定することができる。

10

【0062】

アミロイド生成性重合体原線維またはフィラメントの脱凝集を通じて、本発明による抗体は、アミロイド斑の形成を防止または遅らせることができ、それは疾患に伴う症状の緩和およびその進行の遅延または逆転をもたらす。

【0063】

したがって、本明細書に前述した通りの任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、脳内でのAβの濃度の上昇を招く疾患または病状に罹患した動物、特に哺乳動物、とりわけヒトの脳内でのAβの総量を減少させることができる抗体を提供することは、本発明の1つのさらなる態様である。

20

【0064】

本発明のもう1つの態様においては、本明細書に前述した通りの任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、脳内での斑負荷量の増加を招く疾患または病状に罹患した動物、特に哺乳動物、とりわけヒトの脳内の斑を崩壊させ、それ故に斑負荷量（plaque load）を減少させることができる抗体が提供される。任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む本発明による抗体は、脳内の斑負荷量を少なくとも20%、特に少なくとも25%、より特に少なくとも30%、いっそうより特に30%以上減少させる。

30

【0065】

本発明のさらにもう1つの態様においては、本明細書に前述した通りの任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、斑を可溶化して、脳内での斑負荷量の増加を招く疾患または病状に罹患した動物、特に哺乳動物、とりわけヒトの脳内での斑の量の減少を招くことができる抗体が提供される。任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む本発明による抗体は、脳内の斑の量を少なくとも10%、特に少なくとも15%、より特に少なくとも20%減少させることができる。

【0066】

本発明による抗体は、本明細書に前述した特異的な特性の1つ、2つまたはそれ以上をさまざまな組み合わせで呈しうることが理解されるべきである。

40

【0067】

例えば、1つの態様において、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、とりわけモノクローナル抗体であって、それらが本明細書において前に定義した通りの凝集抑制特性ならびに脱凝集特性の両方を呈するという点で二機能性であり、特に高度のコンフォメーション感受性を組み合わせた抗体を提供する。

【0068】

本発明のさらにもう1つの態様においては、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む二機能性抗体、とりわけ任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む二機能性モノクローナル抗体であって、アミロイド単量体ペプチド、特にアミロイド

50

単量体ペプチド、例えばA β 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドなどとの共インキュベーションにより、A β 単量体の高分子重合体原線維またはフィラメントへの凝集を抑制する抗体、加えてアミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えばA β 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの、共インキュベーションにより、前もって形成された重合体原線維またはフィラメントを脱凝集させることができる抗体が、提供される。

【0069】

本発明の1つの特定の態様において、本発明による二機能性抗体の、とりわけ本発明による二機能性モノクローナル抗体の、アミロイド単量体ペプチド、および前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの共インキュベーションは、それぞれ最大で1:100のモル濃度比、特に1:30~1:100の比、より特に1:100の比で行われる。

【0070】

特に、本発明による抗体のアミロイド単量体ペプチドとの共インキュベーションは、24時間~60時間、特に30時間~50時間、より特に48時間、28~40、特に32~38、より特に37の温度で行われ、一方アミロイドが前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの共インキュベーションは、12時間~36時間、特に18時間~30時間、より特に24時間、28~40、特に32~38、より特に37の温度で行われる。

【0071】

本発明のさらにもう1つの特定の態様において、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、本発明による二機能性抗体、特に本発明による二機能性モノクローナル抗体は、前もって形成された重合体原線維またはフィラメントを、少なくとも10%、特に少なくとも25%、より特に少なくとも35%、いっそうより特に少なくとも50%、とりわけ少なくとも60~70%またはそれ以上脱凝集させることができる。

【0072】

本発明のさらにもう1つの特定の態様において、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、本発明による二機能性抗体、特に本発明による二機能性モノクローナル抗体は、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えばA β 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドなどの凝集を、緩衝液中でインキュベートした各々のアミロイドペプチド単量体（対照）と比較して、少なくとも50%、特に少なくとも65%、より特に少なくとも75%、いっそうより特に少なくとも80%、とりわけ少なくとも85~90%またはそれ以上抑制する。

【0073】

特に、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、抗体、特に二機能性抗体、とりわけモノクローナル抗体、特に二機能性モノクローナル抗体であって、二次コンフォメーションの転移を招く抗体のA β 線維に対する特異的かつ直接的な結合を通じて、アミロイド単量体ペプチド、具体的にはアミロイド単量体ペプチド、例えば、単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドなどの重合の抑制を媒介する抗体、および/またはアミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えばA β 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、もしくは1~43、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントの可溶化を誘導する抗体、を提供する。

【0074】

本発明はさらに、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、抗体、特に二機能性抗体、とりわけモノクローナル抗体、特に二機能性モノクローナル抗体であって、 β -アミロイドタンパク質のエピトープ領域、特にアミノ酸残基aa_n-aa_mによって限定さ

10

20

30

40

50

れるA β ポリペプチドのエピトープ領域の内部のエピトープを標的として特異的に結合することによって、例えば、A β 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43などを含む線維、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドを含む線維などの β -アミロイド線維と直接的かつ特異的に結合する抗体、および/またはアミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えばA β 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントの可溶化を誘導する抗体を提供し、アミノ酸残基aa_n-aa_mではnは2~16の間、特に5~16の間、より特に8~16の間、いっそうより特に10~16の間の整数であり、mは3~25の間、特に3~23の間、特に3~20の間、特に3~17の間、特に6~17の間、より特に9~17の間、いっそうより特に11~17の間の整数であり、式中、nおよびmは同一の数であることはできず、かつnは常にmよりも小さな数であり、nとmとの間の差異は2以上でなければならない。

10

【0075】

本発明の1つの特定の態様において、nは13~15の間の整数、とりわけ14であり、かつmは22~24の間の整数、とりわけ23である。

【0076】

本発明による抗体の結合は、前記タンパク質におけるコンフォメーション転移、特に β -シートコンフォメーションの α -ヘリックスおよび/またはランダムコイルコンフォメーションへの、特にランダムコイルコンフォメーション、いっそうより特に分子内の所定の位置での、特にA β タンパク質のVal12の環境内でのランダムコイルコンフォメーションへの転移を誘導することができる。

20

【0077】

さらなる態様において、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、抗体、特にモノクローナル抗体であって、本明細書に前述した、凝集抑制、脱凝集、コンフォメーション転移の誘導、エピトープ、特に14~23領域、特に14~20領域内のコンフォメーションの不連続なエピトープの認識およびそれに対する直接結合、アミロイド斑の形成を防止または遅らせること、脳内の可溶性A β の総量を減少させること、脳内の斑負荷量を減少させること、脳内の斑の量を減らすこと、認知記憶能力を保持または向上させることからなる群より選択される特性の少なくとも1つ、とりわけ前記特性の2つまたはそれ以上の組み合わせが組み込まれている抗体を提供する。

30

【0078】

特定の態様において、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、抗体、特にモノクローナル抗体であって、上述した特性の少なくとも2つ、特に少なくとも3つ、より特に少なくとも4つ、いっそうより特に少なくとも5つ、6つ、7つまたは8つ、とりわけすべてが組み込まれている抗体に関する。

【0079】

1つの特定の態様において、本発明は、A β_{1-42} 単量体ペプチドに対して高い特異性を呈するが、A β_{1-38} 、A β_{1-39} 、A β_{1-40} 、および/またはA β_{1-41} 単量体ペプチドに対しては本質的に全くまたはわずかしき交差反応を示さない、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特に二機能性抗体、とりわけモノクローナル抗体、特に二機能性モノクローナル抗体であって、特にアミロイドペプチドA β_{1-42} に対する感受性がA β_{1-38} 、A β_{1-39} 、A β_{1-40} 、A β_{1-41} と比較して最大で100倍、特に50~100倍、より特に80~100倍、とりわけ100倍高く、かつアミロイドペプチドA β_{1-42} に対する感受性がA β_{1-38} と比較して最大で1000倍、特に500~1000倍、より特に800~1000倍、とりわけ1000倍高く、それ故にインビトロおよびインビボでアミロイド生成性単量体ペプチドの、とりわけアミロイドペプチドA β_{1-42} の凝集を抑制することができる抗体である、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、とりわけモノクローナル抗体を提供する。

40

【0080】

本発明のもう1つの特定の態様において、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的

50

部分を含む抗体、特に二機能性抗体、とりわけモノクローナル抗体、特に二機能性モノクローナル抗体は、アミロイドペプチド $A\beta_{1-42}$ に対して高い結合感受性を有し、少なくとも $0.001\mu\text{g}$ に至るまでの濃度、特に $0.5\mu\text{g}\sim 0.001\mu\text{g}$ 、より特に $0.1\mu\text{g}\sim 0.001\mu\text{g}$ の濃度範囲、とりわけ $0.001\mu\text{g}$ の濃度にある $A\beta_{1-42}$ 線維を検出することができる。

【0081】

本発明の極めて特定の態様においては、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特に二機能性抗体、とりわけモノクローナル抗体、特に二機能性モノクローナル抗体であって、 $A\beta_{1-42}$ 線維を $0.001\mu\text{g}$ に至るまでの最小濃度で、 $A\beta_{1-40}$ 線維を $0.1\mu\text{g}$ に至るまでの最小濃度で、および $A\beta_{1-38}$ 線維を線維量 $1\mu\text{g}$ に至るまでの最小濃度で検出することができる抗体が提供される。

10

【0082】

1つの特定の局面において、本発明は、 β -アミロイドタンパク質上の、少なくとも1つの識別可能な(distinct)結合部位、特に少なくとも2つの識別可能な結合部位を認識して結合する、抗体またはその断片に関する。

【0083】

1つの特定の態様において、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体であって、 β -アミロイドタンパク質上の、少なくとも1つの識別可能な結合部位、特に少なくとも2つの識別可能な結合部位を認識して結合する抗体であり、前記少なくとも1つまたは前記少なくとも2つの識別可能な結合部位がそれぞれ、抗体の結合に主として関与する少なくとも1つのアミノ酸残基および少なくとも2つの連続したアミノ酸残基を含む抗体に関し、本発明の1つの特定の態様において、第1の識別可能な結合部位を含む少なくとも1つの残基はLeuであり、かつ第2の識別可能な結合部位を含む少なくとも2つの連続したアミノ酸残基は、以下のコア配列：

20

-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Leu-Xaa₄-Phe-Phe-Xaa₅-Xaa₆-Xaa₇-

の内部に埋め込まれた-Phe-Phe-であり、

式中、Xaa₁はHis、Asn、Gln、Lys、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₂はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₃はLys、His、Asn、Gln、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

30

Xaa₅はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、

Xaa₇はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基である。

【0084】

特に、 β -アミロイドタンパク質上の、少なくとも1つの識別可能な結合部位、特に少なくとも2つの識別可能な結合部位を認識して結合する抗体またはその断片が提供され、前記少なくとも1つまたは前記少なくとも2つの識別可能な結合部位はそれぞれ、抗体の結合に主として関与する少なくとも1つのアミノ酸残基および少なくとも2つの連続したアミノ酸残基を含み、本発明の1つの特定の態様において、第1の識別可能な結合部位を構成する少なくとも1つの残基はLeuであり、かつ第2の識別可能な結合部位を構成する少なくとも2つの連続したアミノ酸残基は、以下のコア配列：

40

-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Leu-Xaa₄-Phe-Phe-Xaa₅-Xaa₆-Xaa₇-

の内部に埋め込まれた-Phe-Phe-であり、

式中、Xaa₁はHis、Asn、Gln、Lys、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₂はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₃はLys、His、Asn、Gln、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

50

Xaa₅はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；
 Xaa₆はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、
 Xaa₇はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基である。

【0085】

本発明のもう1つの態様においては、
 Xaa₁がHisまたはArg、特にHisであり；
 Xaa₂がGlnまたはAsn、特にGlnであり；
 Xaa₃がLysまたはArg、特にLysであり；
 Xaa₄がValまたはLeu、特にValであり；
 Xaa₅がAlaまたはVal、特にAlaであり；
 Xaa₆がGluまたはAsp、特にGluであり；かつ
 Xaa₇がAspまたはGlu、特にAspである、
 抗体またはその断片が提供される。

10

【0086】

もう1つの局面において、本発明は、β-アミロイドタンパク質上の、少なくとも1つの識別可能な結合部位、特に少なくとも2つの識別可能な結合部位、より特に少なくとも3つの識別可能な結合部位を認識して結合する、抗体またはその断片に関し、前記1つまたは少なくとも2つまたは少なくとも3つの識別可能な結合部位はそれぞれ、抗体の結合に主として関与する少なくとも1つ、特に少なくとも2つの連続したアミノ酸残基を含む。

【0087】

20

特に、本発明による抗体またはその断片は、β-アミロイドタンパク質上の少なくとも2つの識別可能な結合部位と結合し、前記少なくとも2つの識別可能な結合部位はそれぞれ、抗体の結合に主として関与する少なくとも2つの連続したアミノ酸残基を含み、前記少なくとも2つの識別可能な結合部位は、抗体結合に関与しないかまたは前記少なくとも2つの連続したアミノ酸残基と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない少なくとも1つのアミノ酸残基によって隔てられて抗原上に互いに近接して位置し、それ故にコンフォメーションの不連続なエピトープを形成する。

【0088】

本発明のもう1つの態様においては、β-アミロイドタンパク質上の、少なくとも1つの識別可能な結合部位、特に少なくとも2つの識別可能な結合部位、より特に少なくとも3つの識別可能な結合部位を認識して結合する、本発明による抗体またはその断片が提供され、前記識別可能な結合部位はそれぞれ、抗体の結合に主として関与する少なくとも1つおよび少なくとも2つの連続したアミノ酸残基を含み、抗体結合に関与しないかまたは前記少なくとも2つの連続したアミノ酸残基と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない少なくとも1つのアミノ酸残基によって隔てられた、少なくとも1つおよび少なくとも2つの連続したアミノ酸はそれぞれ、以下のコア配列：

30

-His-Xaa₂-Lys-Leu-Xaa₃-Xaa₄-Xaa₅-Xaa₆-Xaa₇-Xaa₈-

の内部に埋め込まれた-His-および-Lys-Leu-であり、

式中、Xaa₂はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₃はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

40

Xaa₄はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₅はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₇はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₈はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、かつ

前記アミノ酸残基Xaa₂、Xaa₃、Xaa₆、Xaa₇、Xaa₈は抗体結合に関与しないか、または-His-結合部位および-Lys-Leu-結合部位と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない。

50

【 0 0 8 9 】

もう1つの態様においては、 β -アミロイドタンパク質上の、少なくとも1つの識別可能な結合部位、特に少なくとも2つの識別可能な結合部位、より特に少なくとも3つの識別可能な結合部位を認識して結合する、抗体またはその断片が提供され、前記識別可能な結合部位はそれぞれ、抗体の結合に主として関与する少なくとも1つおよび少なくとも2つの連続したアミノ酸残基を含み、第1の結合部位に相当する少なくとも2つの連続したアミノ酸残基は-Phe-Phe-であり、かつ少なくとも1つのアミノ酸残基は-His-であり、それぞれ以下のコア配列：

-Xaa₁-His-Xaa₃-Xaa₄-Xaa₅-Xaa₆-Phe-Phe-Xaa₇-Xaa₈-Xaa₉-

の内部に埋め込まれており、

式中、Xaa₁はHis、Asn、Gln、Lys、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₃はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はHis、Asn、Gln、Lys、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₅はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はAla、Val、Leu、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₇はAla、Val、Leu、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₈はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₉はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、かつ

前記アミノ酸残基Xaa₁、Xaa₃、Xaa₆、Xaa₇、Xaa₈およびXaa₉は抗体結合に関与しないか、またはHis結合部位および-Phe-Phe-結合部位と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない。

【 0 0 9 0 】

本発明の1つの特定の態様において、抗体の結合に主として関与する少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第1のものは-Lys-および-Leu-を含み、かつ少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第2のものは-Phe-Phe-を含み、それぞれ以下のコア配列：

-Xaa₁-Xaa₂-Lys-Leu-Xaa₄-Phe-Phe-Xaa₅-Xaa₆-Xaa₇-

の内部に埋め込まれており、

式中、Xaa₁はHis、Asn、Gln、Lys、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₂はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₅はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₇はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、かつ

前記アミノ酸残基Xaa₂、Xaa₃、Xaa₄、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇は抗体結合に関与しないか、または-Lys-Leu結合部位および-Phe-Phe-結合部位と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない。

【 0 0 9 1 】

本発明のもう1つの態様においては、

Xaa₁がHisまたはArg、特にHisであり；

Xaa₂がGlnまたはAsn、特にGlnであり；

Xaa₄がValまたはLeu、特にValであり；

Xaa₅がAlaまたはVal、特にAlaであり；

Xaa₆がGluまたはAsp、特にGluであり；かつ

Xaa₇がAspまたはGlu、特にAspである、

抗体またはその断片が提供される。

【 0 0 9 2 】

本発明のさらなる態様において、本発明による抗体またはその断片は、 β -アミロイド

タンパク質上の少なくとも3つの識別可能な結合部位と結合し、前記少なくとも3つの識別可能な結合部位はそれぞれ、抗体の結合に主として関与する残基である少なくとも1つのアミノ酸残基および少なくとも2つの連続したアミノ酸残基を含み、前記少なくとも3つの識別可能な結合部位は、抗体結合に関与しないかまたは前記少なくとも1つのアミノ酸残基および前記少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のそれぞれと比較して著しくわずかな程度でしか関与しない少なくとも1つのアミノ酸残基によって隔てられて抗原上に互いに近接して位置し、それ故にコンフォメーションの不連続なエピトープを形成する。

【0093】

本発明の1つの特定の態様において、抗体の結合に主として関与する少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第1のものは-Lys-Leu-を含み、かつ少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第2のものは-Phe-Phe-を含み、かつ第3の少なくとも1つのアミノ残基は-His-を含み、それぞれ以下のコア配列：

-His-Xaa₂-Lys-Leu-Xaa₄-Phe-Phe-Xaa₅-Xaa₆-Xaa₇-

の内部に埋め込まれており、

式中、Xaa₂はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₅はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₇はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、かつ

前記アミノ酸残基Xaa₂、Xaa₃、Xaa₄、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇は抗体結合に関与しないか、または-His-結合部位、-Lys-Leu結合部位、および-Phe-Phe-結合部位と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない。

【0094】

本発明のもう1つの態様においては、

Xaa₂がGlnまたはAsn、特にGlnであり；

Xaa₄がValまたはLeu、特にValであり；

Xaa₅がAlaまたはVal、特にAlaであり；

Xaa₆がGluまたはAsp、特にGluであり；かつ

Xaa₇がGluまたはAsp、特にAspである、

抗体またはその断片が提供される。

【0095】

本発明の1つの特定の態様において、抗体の結合に主として関与する少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第1のものは-Lys-Leu-を含み、かつ少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第2のものは-Phe-Phe-を含み、かつ第3の少なくとも1つのアミノ残基は-Asp-を含み、それぞれ以下のコア配列：

-Xaa₁-Xaa₂-Lys-Leu-Xaa₄-Phe-Phe-Xaa₅-Xaa₆-Asp-

の内部に埋め込まれており、

式中、Xaa₁はHis、Asn、Gln、Lys、およびArgを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₂はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₅はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、かつ

前記アミノ酸残基Xaa₂、Xaa₃、Xaa₄、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇は抗体結合に関与しないか、または-Asp-結合部位、-Lys-Leu結合部位、および-Phe-Phe-結合部位と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない。

【0096】

本発明のもう1つの態様においては、

Xaa₁がHisまたはArg、特にHisであり；
 Xaa₂がGlnまたはAsn、特にGlnであり；
 Xaa₄がValまたはLeu、特にValであり；
 Xaa₅がAlaまたはVal、特にAlaであり；かつ
 Xaa₆がGluまたはAsp、特にGluである、
 抗体またはその断片が提供される。

【0097】

本発明の1つのさらなる特定の態様においては、β-アミロイドタンパク質上の4つの識別可能な結合部位と結合する、本発明による抗体またはその断片が提供され、前記4つの識別可能な結合部位はそれぞれ、抗体の結合に主として関与する残基である1つのアミノ酸残基および2つの連続したアミノ酸残基を含み、前記4つの識別可能な結合部位は、抗体結合に関与しないかまたは4つの識別可能な結合部位の前記少なくとも1つのアミノ酸残基および前記少なくとも2つの連続したアミノ酸残基と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない少なくとも1つのアミノ酸残基によって隔てられて抗原上に互いに近接して位置し、それ故にコンフォメーションの不連続なエピトープを形成する。

10

【0098】

特に、抗体の結合に主として関与する2つの連続したアミノ酸残基のうち第1のものは-Lys-Leu-であり、かつ少なくとも2つの連続したアミノ酸残基のうち第2のものは-Phe-Phe-であり、単一のアミノ残基のうち第1のものは-His-であり、かつ単一のアミノ残基のうち第2のものは-Asp-であり、それぞれ以下のコア配列：

20

-His-Xaa₂-Lys-Leu-Xaa₄-Phe-Phe-Xaa₅-Xaa₆-Asp-
 の内部に埋め込まれており、

式中、Xaa₂はAsnおよびGlnを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₄はAla、Val、Leu、ノルロイシン、Met、Phe、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₅はAla、Val、Leu、Ser、およびIleを含む群より選択されるアミノ酸残基であり；

Xaa₆はGluおよびAspを含む群より選択されるアミノ酸残基であり、かつ

前記アミノ酸残基Xaa₂、Xaa₃、Xaa₄、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇は抗体結合に関与しないか、または-His-結合部位、-Asp-結合部位、-Lys-Leu結合部位、および-Phe-Phe-結合部位と比較して著しくわずかな程度でしか関与しない。

30

【0099】

本発明の1つの特定の態様において、本明細書で以前に定義した通りの認識部位および結合部位は、β-アミロイドタンパク質のアミノ酸残基12～24位の間、特に残基14～23位の間、より特にアミノ酸残基14～20位の間の領域に位置するコンフォメーションの不連続なエピトープを形成しており、それぞれ1つおよび2つのアミノ酸残基を含む3つの識別可能な認識部位および結合部位はそれぞれ、β-アミロイドタンパク質の結合に主として関与する残基である16位、17位、ならびに19位および20位、ならびに14位に位置し、前記3つの識別可能な認識部位および結合部位は、抗原の結合に関与しないかまたは少なくとも実質的によりわずかな程度でしか関与しないアミノ酸である、それぞれ15位および18位に位置する1つのアミノ酸残基によって隔てられている。

40

【0100】

1つの特定の態様において、β-アミロイドタンパク質の結合に主として関与する、前記連続したアミノ酸残基、特に16位および17位にある-Lys-Leu-、ならびに19位および20位にある-Phe-Phe-は、以下のコア領域：

Val-	His-	His-	Gln-	Lys-	Leu-	Val-	Phe-	Phe-	Ala-	Glu-	Asp
12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23

の中に埋め込まれている。

【0101】

1つのさらなる特定の態様において、β-アミロイドタンパク質の結合に主として関与す

50

る、前記連続したアミノ酸残基、特に16位にある-Lys-、17位にある-Leu-、ならびに19位および20位にある-Phe-Phe-、ならびに14位にある-His-は、以下のコア領域：

Val-	His-	His-	Gln-	Lys-	Leu-	Val-	Phe-	Phe-	Ala-	Glu-	Asp-
12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23

に埋め込まれている。

【0102】

本発明の1つの特定の態様において、本発明による抗体は、前記識別可能な結合部位を含まない抗原断片に対して産生される。

【0103】

10

エピトープ領域におけるこの推移は、少なくとも部分的には、例えばポリエチレングリコール（PEG）などの親水性部分によって修飾されたβ-アミロイドペプチド、特にβ-アミロイドペプチドAβ₁₋₁₆のアミノ酸配列に対応する抗原ペプチドを含む超分子抗原構築物の使用によって引き起こされており、この際、前記親水性部分は、免疫処置の過程において本明細書の以下に述べるように、抗原ペプチドの末端のそれぞれと、少なくとも1つの、特に1つまたは2つのアミノ酸を介して、例えば、親水性部分をペプチド断片と連結させるための接続デバイスとして働きうるリジン、グルタミン酸およびシステインまたは任意の他の適したアミノ酸もしくはアミノ酸類似体を介して共有結合している。PEGを親水性部分として用いる場合には、遊離PEG末端は、例えば、抗原構築物を本明細書に記載したようなリボソームの二重層内に埋め込むための、係留構成分子として機能させるのに適したホスファチジルエタノールアミンまたは任意の他の化合物と共有結合している。

20

【0104】

また、免疫処置プロトコールの一部としてのリピドAの使用も、エピトープ領域における推移に寄与している可能性がある。

【0105】

本発明の1つの特定の態様においては、SEQ ID NO：7の軽鎖可変領域（LCVR）を含む抗体が提供される。

【0106】

もう1つの特定の態様において、本発明は、SEQ ID NO：7の軽鎖可変領域（LCVR）に関する。

30

【0107】

本発明のさらにもう1つの特定の態様においては、SEQ ID NO：8の重鎖可変領域（HCVR）を含む抗体が提供される。

【0108】

1つのさらなる特定の態様において、本発明は、SEQ ID NO：8の重鎖可変領域（HCVR）に関する。

【0109】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO：8の重鎖可変領域およびSEQ ID NO：7の軽鎖可変領域の両方を含む抗体を提供する。

【0110】

40

同じく本発明の一部は、軽鎖可変領域（LCVR）もしくは重鎖可変領域（HCVR）またはその両方、SEQ ID NO：7および8でそれぞれ提供されたペプチドのいずれに対しても相同な軽鎖可変領域（LCVR）および重鎖可変領域（HCVR）を含む抗体である。

【0111】

特に、本発明は、軽鎖可変領域（LCVR）が、SEQ ID NO：7で与えられた配列に対して90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なアミノ酸配列を有する、本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体またはその断片に関する。

【0112】

さらに、本発明は、重鎖可変領域（HCVR）が、SEQ ID NO：8で与えられた配列に対して

50

90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なアミノ酸配列を有する、本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体またはその断片に関する。

【0113】

さらに、本発明は、軽鎖可変領域（LCVR）および重鎖可変領域（HCVR）が共に、SEQ ID NO：7および8で与えられた配列に対して85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なアミノ酸配列を有する、本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体またはその断片に関する。

【0114】

もう1つの特定の態様において、本発明は、SEQ ID NO：7で与えられた配列に対して90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域に関する。

【0115】

1つのさらなる特定の態様において、本発明は、SEQ ID NO：8で与えられた配列に対して90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なアミノ酸配列を有する重鎖可変領域に関する。

【0116】

本発明のもう1つの態様においては、本明細書に前述した通りの本発明による抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。

【0117】

特に、本発明は、以下を含む、本発明による抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドに関する：

- (a) 少なくとも、SEQ ID NO：9の軽鎖可変領域のヌクレオチド配列、
- (b) 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列において（a）のヌクレオチド配列とは異なるヌクレオチド配列、
- (c) （a）および（b）に対する相補的配列、または
- (d) 少なくとも20個の連続ヌクレオチド、少なくとも25個の連続ヌクレオチド、少なくとも30個の連続ヌクレオチド、少なくとも35個の連続ヌクレオチド、少なくとも40個の連続ヌクレオチド、少なくとも45個の連続ヌクレオチド、および少なくとも50個の連続ヌクレオチドからなる群より選択される連続的な一続きのヌクレオチドを含む、（a）、（b）または（c）のヌクレオチド配列の断片。

【0118】

もう1つの態様において、本発明は、以下を含む、本発明による抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドに関する：

- (a) 少なくとも、SEQ ID NO：10の軽鎖のヌクレオチド配列、
- (b) 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列において（a）のヌクレオチド配列とは異なるヌクレオチド配列、
- (c) （a）および（b）に対する相補的配列、または
- (d) 少なくとも20個の連続ヌクレオチド、少なくとも25個の連続ヌクレオチド、少なくとも30個の連続ヌクレオチド、少なくとも35個の連続ヌクレオチド、少なくとも40個の連続ヌクレオチド、少なくとも45個の連続ヌクレオチド、および少なくとも50個の連続ヌクレオチドからなる群より選択される連続的な一続きのヌクレオチドを含む、（a）、（b）または（c）のヌクレオチド配列の断片。

【0119】

さらにもう1つの態様において、本発明は、以下を含む、本発明による抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドに関する：

- (a) 少なくとも、SEQ ID NO：11の重鎖可変領域のヌクレオチド配列、
- (b) 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列において（a）のヌクレオチド配列とは異なるヌクレオチド配列、
- (c) （a）および（b）に対する相補的配列、または

(d) 少なくとも20個の連続ヌクレオチド、少なくとも25個の連続ヌクレオチド、少なくとも30個の連続ヌクレオチド、少なくとも35個の連続ヌクレオチド、少なくとも40個の連続ヌクレオチド、少なくとも45個の連続ヌクレオチド、および少なくとも50個の連続ヌクレオチドからなる群より選択される連続的な一続きのヌクレオチドを含む、(a)、(b)または(c)のヌクレオチド配列の断片。

【0120】

さらにもう1つの態様において、本発明は、以下を含む、本発明による抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドに関する：

(a) 少なくとも、SEQ ID NO：12の重鎖のヌクレオチド配列またはその相補的配列、
(b) 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列において(a)のヌクレオチド配列とは異なるヌクレオチド配列、

10

(c) (a) および (b) に対する相補的配列、または
(d) 少なくとも20個の連続ヌクレオチド、少なくとも25個の連続ヌクレオチド、少なくとも30個の連続ヌクレオチド、少なくとも35個の連続ヌクレオチド、少なくとも40個の連続ヌクレオチド、少なくとも45個の連続ヌクレオチド、および少なくとも50個の連続ヌクレオチドからなる群より選択される連続的な一続きのヌクレオチドを含む、(a)、(b)または(c)のヌクレオチド配列の断片。

【0121】

同じく本発明に含まれるのは、以下を含む、ポリヌクレオチドである：

(a) 軽鎖可変領域をコードするSEQ ID NO：9のヌクレオチド配列、
(b) 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列において(a)のヌクレオチド配列とは異なるヌクレオチド配列、

20

(c) (a) および (b) に対する相補的配列、または
(d) 少なくとも20個の連続ヌクレオチド、少なくとも25個の連続ヌクレオチド、少なくとも30個の連続ヌクレオチド、少なくとも35個の連続ヌクレオチド、少なくとも40個の連続ヌクレオチド、少なくとも45個の連続ヌクレオチド、および少なくとも50個の連続ヌクレオチドからなる群より選択される連続的な一続きのヌクレオチドを含む、(a)、(b)または(c)のヌクレオチド配列の断片。

【0122】

同じく本発明に含まれるのは、以下を含む、ポリヌクレオチドである：

(a) 軽鎖をコードするSEQ ID NO：10のヌクレオチド配列、
(b) 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列において(a)のヌクレオチド配列とは異なるヌクレオチド配列、

30

(c) (a) および (b) に対する相補的配列、または
(d) 少なくとも20個の連続ヌクレオチド、少なくとも25個の連続ヌクレオチド、少なくとも30個の連続ヌクレオチド、少なくとも35個の連続ヌクレオチド、少なくとも40個の連続ヌクレオチド、少なくとも45個の連続ヌクレオチド、および少なくとも50個の連続ヌクレオチドからなる群より選択される連続的な一続きのヌクレオチドを含む、(a)、(b)または(c)のヌクレオチド配列の断片。

【0123】

40

同じく本発明に含まれるのは、以下を含む、ポリヌクレオチドである：

(a) 重鎖可変領域をコードするSEQ ID NO：11のヌクレオチド配列、
(b) 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列において(a)のヌクレオチド配列とは異なるヌクレオチド配列、

(c) (a) および (b) に対する相補的配列、または
(d) 少なくとも20個の連続ヌクレオチド、少なくとも25個の連続ヌクレオチド、少なくとも30個の連続ヌクレオチド、少なくとも35個の連続ヌクレオチド、少なくとも40個の連続ヌクレオチド、少なくとも45個の連続ヌクレオチド、および少なくとも50個の連続ヌクレオチドからなる群より選択される連続的な一続きのヌクレオチドを含む、(a)、(b)または(c)のヌクレオチド配列の断片。

50

【0124】

同じく本発明に含まれるのは、以下を含む、ポリヌクレオチドである：

- (a) 重鎖をコードするSEQ ID NO：12のヌクレオチド配列、
- (b) 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列において(a)のヌクレオチド配列とは異なるヌクレオチド配列、
- (c) (a)および(b)に対する相補的配列、または
- (d) 少なくとも20個の連続ヌクレオチド、少なくとも25個の連続ヌクレオチド、少なくとも30個の連続ヌクレオチド、少なくとも35個の連続ヌクレオチド、少なくとも40個の連続ヌクレオチド、少なくとも45個の連続ヌクレオチド、および少なくとも50個の連続ヌクレオチドからなる群より選択される連続的な一続きのヌクレオチドを含む、(a)、(b)または(c)のヌクレオチド配列の断片。

10

【0125】

さらなる態様において、本発明は、

- a. 本発明による、それぞれSEQ ID NO：9、10、11および12で与えられるヌクレオチド配列、
 - b. 遺伝暗号の縮重のためにコドン配列において(a)のヌクレオチド配列とは異なるヌクレオチド配列、
 - c. (a)および(b)に対する相補的配列、または
 - d. 少なくとも20個の連続ヌクレオチド、少なくとも25個の連続ヌクレオチド、少なくとも30個の連続ヌクレオチド、少なくとも35個の連続ヌクレオチド、少なくとも40個の連続ヌクレオチド、少なくとも45個の連続ヌクレオチド、および少なくとも50個の連続ヌクレオチドからなる群より選択される連続的な一続きのヌクレオチドを含む、(a)、(b)または(c)のヌクレオチド配列の断片、
- とハイブリダイズする、任意のヌクレオチド配列に関する。

20

【0126】

特に、本発明は、従来のハイブリダイゼーション条件下で、特にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、本発明による、それぞれSEQ ID NO：9、10、11および12で与えられたヌクレオチド配列と、特にそれらの相補鎖とハイブリダイズする、任意のヌクレオチド配列に関する。

30

【0127】

さらなる態様において、本発明は、本発明による、それぞれSEQ ID NO：9、10、11および12で与えられたヌクレオチド配列と、特にそれらの相補鎖と、5×SSPE、1%SDS、1×デンハルト溶液を溶液として用い、かつ/またはハイブリダイゼーション温度が35～70、好ましくは65である、従来のハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする、任意のヌクレオチド配列に関する。ハイブリダイゼーション後に、洗浄を、好ましくはまず2×SSC、1%SDSにより、引き続いて0.2×SSCにより、35～70の温度、好ましくは65で行う(SSPE、SSCおよびデンハルト溶液の定義に関しては(Sambrook et al. 前掲箇所を参照のこと)。

【0128】

特に、本発明は、本発明による、それぞれSEQ ID NO：9、10、11および12で与えられたヌクレオチド配列と、特にそれらの相補鎖と、例えば、Sambrookら、前記に記載されたストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、より特に、上に示したようにハイブリダイゼーションおよび洗浄を65で行うストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする、任意のヌクレオチド配列に関する。

40

【0129】

1つの特定の態様において、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、抗体、特に二機能性抗体、とりわけモノクローナル抗体、特に二機能性モノクローナル抗体であって、2005年12月01日および2005年12月09日のそれぞれにDSM ACC2752、DSM ACC 2750およびDSM ACC2751としてそれぞれ寄託されたFP 12H3、FP 12H3-C2およびFP 12H3-G2からなる群より選択されるハイブリドーマ細胞株によって産生される抗体の特

50

徴的特性を有する抗体を提供する。

【0130】

より特に、本発明は、2005年12月01日および2005年12月09日のそれぞれにDSM ACC2752として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体に関する。

【0131】

より特に、本発明は、2005年12月01日および2005年12月09日のそれぞれにDSM ACC2750として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3-C2によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体に関する。

【0132】

より特に、本発明は、2005年12月01日および2005年12月09日のそれぞれにDSM ACC2751として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3-G2によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体に関する。

【0133】

もう1つの特定の態様において、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、抗体、特に二機能性抗体、とりわけモノクローナル抗体、特に二機能性モノクローナル抗体であって、2005年12月08日にDSM ACC2755として寄託されたハイブリドーマ細胞株ET 7E3によって産生される抗体の特徴的特性を有する抗体を提供する。

【0134】

より特に、本発明は、2005年12月08日にDSM ACC2755として寄託されたハイブリドーマ細胞株ET 7E3によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体に関する。

【0135】

もう1つの特定の態様において、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、抗体、特に二機能性抗体、とりわけモノクローナル抗体、特に二機能性モノクローナル抗体であって、2005年12月08日にDSM ACC2756として寄託されたハイブリドーマ細胞株EJ 7H3によって産生される抗体の特徴的特性を有する抗体を提供する。

【0136】

より特に、本発明は、2005年12月08日にDSM ACC2756として寄託されたハイブリドーマ細胞株EJ 7H3によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体に関する。

【0137】

本発明のもう1つの目的は、例えば、軽度認知障害(MCI)、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血(オランダ型); グラム・パーキンソン認知症複合; ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連のある他の疾患; クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS(筋萎縮性側索硬化症)、封入体筋炎(IBM)、成人発症型糖尿病; 老人性心アミロイドーシス; 内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状を含む、アルツハイマー病(AD)などの神経疾患を非限定的に含む疾患などの続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含んだ、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害の、例えばヒトまたは動物に対して本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体による受動免疫処置を行うことによる予防および/または治療的処置および/またはその影響の緩和のための、本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体を含む方法および組成物を提供することである。

【0138】

本発明のもう1つの目的は、例えば、軽度認知障害(MCI)、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血(オランダ型); グラム・パーキンソン認知症複合; ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基

10

20

30

40

50

づくかまたは関連のある他の疾患；クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV 関連認知症、ALS（筋萎縮性側索硬化症）、封入体筋炎（IBM）、成人発症型糖尿病；老人性心アミロイドーシス；内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状を含む、アルツハイマー病（AD）などの神経疾患を非限定的に含む疾患などの続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含んだ、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害診断および治療的介入のために、本発明によるモノクローナル抗体および／またはその機能的部分、ならびに本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体を含む組成物を用いる方法を提供することである。

10

【0139】

特に、本発明によるモノクローナル抗体および／またはその機能的部分、ならびに本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体、特に二重特異性または二重有効性（bi-effective）抗体、とりわけ二重特異性または二重有効性モノクローナル抗体を含む組成物を、アルツハイマー病を非限定的に含む神経疾患の発生を減らすためまたは予防するために用いる方法を提供することは、本発明の1つの目的である。

【0140】

本発明による組成物は、特に治療的有效量で、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、本発明によるおよび本明細書に前述した通りの抗体、特に二重特異性または二重有効性抗体、またはより特に、特に治療的有效量で、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、本発明によるおよび本明細書に前述した通りのモノクローナル抗体、とりわけ二重特異性または二重有効性モノクローナル抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および／または希釈剤および／または添加剤を含む。

20

【0141】

特に、本発明による組成物は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、アミロイド単量体ペプチド、具体的にはβ-アミロイド単量体ペプチド、例えばAβ単量体ペプチド1~39；1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけAβ₁₋₄₂単量体ペプチドなどの高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントへの凝集を阻害することができる抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および／または希釈剤および／または添加剤を含む。

30

【0142】

本発明のさらなる態様においては、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、共インキュベーション、特に、最大で1:100のモル濃度比、より特に1:30~1:100のモル濃度比、とりわけ1:100のモル濃度比での、アミロイド単量体ペプチド、特にβ-アミロイド単量体ペプチド、例えばAβ単量体ペプチド1~39；1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけAβ₁₋₄₂単量体ペプチドなどとの共インキュベーションにより、Aβ単量体の高分子重合体原線維またはフィラメントへの凝集を抑制する抗体を含む、組成物が提供される。特に、前記抑制は、緩衝液、ならびに任意で薬学的に許容される担体および／または希釈剤および／または添加剤の中でインキュベートした各々のアミロイドペプチド単量体（対照）と比較して、少なくとも50%、特に少なくとも65%、より特に少なくとも75%、いっそうより特に少なくとも80%、とりわけ少なくとも85%~90%またはそれ以上に達する。

40

【0143】

特に、本発明による抗体とアミロイド単量体ペプチドとの共インキュベーションは、48時間、37℃の温度で行われる。

【0144】

本発明による抗体の凝集抑制能力は、密度勾配超遠心法と、その後の前もって形成された勾配でのSDS-PAGE沈降分析によって、および／またはチオフラビンT（Th-T）蛍光アッセイによって、決定することができる。

【0145】

50

本発明はさらに、アミロイド単量体ペプチド、具体的にはアミロイド単量体ペプチド、例えばA β 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの、共インキュベーションにより、前記高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントを脱凝集させることができる抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物を提供する。

【0146】

アミロイド生成性重合体原線維またはフィラメントの脱凝集を通じて、本発明による抗体は、アミロイド斑の形成を防止または遅らせることができ、それは疾患に伴う症状の緩和およびその進行の遅延または逆転をもたらす。

10

【0147】

本発明のもう1つの態様においては、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、1:30~1:100のモル濃度比、特に1:100の比での、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えばA β 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの、共インキュベーションにより、特に24時間、37℃の温度での共インキュベーションにより、前もって形成された重合体原線維またはフィラメントを少なくとも35%、特に少なくとも40%、より特に少なくとも50%、いっそうより特に少なくとも60%、とりわけ少なくとも70%またはそれ以上脱凝集させることができる抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物が提供される。

20

【0148】

本発明による抗体の凝集抑制能力は、密度勾配超遠心法と、その後の前もって形成された勾配でのSDS-PAGE沈降分析によって、および/またはチオフラビンT(Th-T)蛍光アッセイによって、決定することができる。

【0149】

本発明はさらに、特に有効量、より特に治療的有效量で、コンフォメーション感受性のある抗体もしくはその機能的部分を含む組成物を提供する。

30

【0150】

本発明のさらなる態様においては、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、とりわけモノクローナル抗体であって、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えばA β 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけA β_{1-42} 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの、共インキュベーションにより、特に24時間、37℃の温度での共インキュベーションにより、 β -シートコンフォメーションを代償にしたランダムコイルコンフォメーションの増加および前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントの可溶化の改善を招く、 β -シートコンフォメーションの α -ヘリックスおよび/またはランダムコイルコンフォメーションへの、特にランダムコイルコンフォメーション、いっそうより特に分子内の所定の位置での、とりわけA β タンパク質のVal12の環境内でのランダムコイルコンフォメーションへの転移を誘導することができる抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物が提供される。特に、 β -シートコンフォメーションの減少は、緩衝液中でインキュベートした各々の前もって形成されたアミロイド重合体原線維またはフィラメント(対照)と比較して、少なくとも30%、特に少なくとも35%、より特に少なくとも40%およびそれ以上に達する。

40

【0151】

二次構造における転移を誘導する抗体の能力は、固体¹³C NMR分光法によって、特にA β_{1-42} ペプチドにおけるVal 12 C β のコンフォメーションの積分強度を測定することによ

50

って決定される。

【0152】

本発明はさらに、特に治療的有効量で、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、本明細書に以前に定義した通りの凝集抑制特性ならびに脱凝集特性の両方を呈するという点で二機能性であり、好ましくは高度のコンフォメーション感受性を組み合わせた抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物を提供する。

【0153】

本発明のさらにもう1つの態様においては、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む二機能性抗体、とりわけ二機能性モノクローナル抗体であって、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどとの共インキュベーションにより、 $A\beta$ 単量体の高分子重合体原線維への凝集を抑制し、加えて、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの、共インキュベーションにより、前もって形成された重合体原線維またはフィラメントを脱凝集させることができる抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物が提供される。

10

【0154】

本発明の1つの特定の態様において、本発明による二機能性抗体の、とりわけ本発明による二機能性モノクローナル抗体の、アミロイド単量体ペプチド、および前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの共インキュベーションは、それぞれ最大で1:100のモル濃度比、特に1:30~1:100の比、より特に1:100の比で行われる。

20

【0155】

本発明の1つのさらなる特定の態様において、アミロイド単量体ペプチド、および前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントとの共インキュベーションは、それぞれ48時間および24時間、37℃の温度で行われる。

【0156】

本発明のさらにもう1つの特定の態様においては、前もって形成された重合体原線維またはフィラメントを、少なくとも10%、特に少なくとも25%、より特に少なくとも35%、いっそうより特に少なくとも50%、とりわけ少なくとも60~70%またはそれ以上脱凝集させることができる、本発明による二機能性抗体、とりわけ本発明による二機能性モノクローナル抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物が提供される。

30

【0157】

本発明のさらにもう1つの特定の態様においては、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの凝集を、緩衝液中でインキュベートした各々のアミロイドペプチド単量体(対照)と比較して少なくとも50%、特に少なくとも65%、より特に少なくとも75%、いっそうより特に少なくとも80%、とりわけ少なくとも85~90%またはそれ以上抑制する本発明による二機能性抗体、とりわけ本発明による二機能性モノクローナル抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物が提供される。

40

【0158】

特に、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、二次コンフォメーションの転移を招く、抗体の $A\beta$ 線維に対する特異的かつ直接的な結合を通じて、アミロイド単量体ペプチド、具体的にはアミロイド単量体ペプチド、例えば、単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43

50

、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの重合の抑制を媒介する抗体、および/または、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントの可溶化を誘導する抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物を提供する。

【0159】

本発明はさらに、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、 β -アミロイドタンパク質のエピトープ領域、特にアミノ酸残基 aa_n - aa_m によって限定される $A\beta$ ポリペプチドのエピトープ領域の内部のエピトープを標的として特異的に結合することによって、 β -アミロイド線維、例えば、 $A\beta$ 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43などを含む線維、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドを含む線維と直接的かつ特異的に結合する抗体、および/または、アミロイド単量体ペプチド、特に β -アミロイド単量体ペプチド、例えば $A\beta$ 単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけ $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドなどの凝集によって形成される前もって形成された高分子重合体アミロイド原線維またはフィラメントの可溶化を誘導する抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む組成物を提供し、アミノ酸残基 aa_n - aa_m では n は2~15の間、特に5~15の間、より具体的には8~15の間、いっそうより具体的には10~15の間の整数であり、 m は3~17の間、特に6~17の間、より具体的には9~17の間、いっそうより具体的には11~17の間の整数であり、式中 n および m は同一の数であることはできず、かつ n は常に m よりも小さな数であり、 n と m との間の差異は2以上でなければならない。

10

20

【0160】

本発明による抗体の結合は、前記タンパク質におけるコンフォメーション転移、特に β -シートコンフォメーションの α -ヘリックスおよび/またはランダムコイルコンフォメーションへの、特にランダムコイルコンフォメーション、いっそうより特に分子内の所定の位置での、とりわけ $A\beta$ タンパク質のVal12の環境内でのランダムコイルコンフォメーションへの転移を誘導することができる。

【0161】

さらなる態様において、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、本明細書に前述した特性、すなわち凝集抑制、脱凝集、コンフォメーション転移の誘導、4~16および/または14~23、特に14~20のエピトープ領域の認識およびそれに対する直接結合のうち少なくとも1つ、とりわけ前記特性の2つまたはそれ以上の組み合わせが組み込まれている抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物を提供する。

30

【0162】

1つの特定の態様において、本発明は、 $A\beta_{1-42}$ 単量体ペプチドに対して高い特異性を呈するが、 $A\beta_{1-38}$ 、 $A\beta_{1-39}$ 、 $A\beta_{1-40}$ 、および/または $A\beta_{1-41}$ 単量体ペプチドに対しては本質的に全くまたはわずかにしか交差反応を示さない、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特に二機能性抗体、とりわけモノクローナル抗体、特に二機能性モノクローナル抗体であって、特に、アミロイドペプチド $A\beta_{1-42}$ に対する感受性が $A\beta_{1-38}$ 、 $A\beta_{1-39}$ 、 $A\beta_{1-40}$ 、 $A\beta_{1-41}$ と比較して100倍、特に50~100倍、より特に80~100倍、とりわけ100倍高く、かつアミロイドペプチド $A\beta_{1-42}$ に対する感受性が $A\beta_{1-38}$ と比較して最大で1000倍、特に500~1000倍、より特に800~1000倍、とりわけ100倍高く、かつそれ故にインビトロおよびインビボでアミロイド生成性単量体ペプチドの、とりわけアミロイドペプチド $A\beta_{1-42}$ の凝集を抑制することができる、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、とりわけモノクローナル抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物を提供する。

40

50

【0163】

本発明のもう1つの特定の態様においては、アミロイドペプチド $A\beta_{1-42}$ に対して高い結合感受性を有し、少なくとも $0.001\mu\text{g}$ に至るまでの濃度、特に $0.5\mu\text{g}\sim 0.001\mu\text{g}$ 、より特に $0.1\mu\text{g}\sim 0.001\mu\text{g}$ の濃度範囲、とりわけ $0.001\mu\text{g}$ の濃度にある $A\beta_{1-42}$ 線維を検出することができる、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特に二機能性抗体、とりわけモノクローナル抗体、特に二機能性モノクローナル抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物が提供される。

【0164】

本発明の極めて特定の態様においては、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、特にモノクローナル抗体であって、 $A\beta_{1-42}$ 線維を $0.001\mu\text{g}$ に至るまでの最小濃度で、 $A\beta_{1-40}$ 線維を $0.1\mu\text{g}$ に至るまでの最小濃度で、および $A\beta_{1-38}$ 線維を線維量 $1\mu\text{g}$ に至るまでの最小濃度で検出することができる抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物が提供される。

10

【0165】

1つの特定の態様において、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、2005年12月01日および2005年12月09日にそれぞれDSM ACC2752、DSM ACC2750およびDSM ACC2751として寄託されたFP 12H3、FP 12H3-C2およびFP 12H3-G2からなる群より選択されるハイブリドーマ細胞株によって産生される抗体の特徴的特性を有する抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物に関する。

20

【0166】

より特に、本発明は、2005年12月01日および2005年12月09日のそれぞれにDSM ACC2752として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物に関する。

【0167】

より特に、本発明は、2005年12月01日および2005年12月09日のそれぞれにDSM ACC2750として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3-C2によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物に関する。

30

【0168】

本発明はさらに、2005年12月01日および2005年12月09日のそれぞれにDSM ACC2751として寄託されたハイブリドーマ細胞株FP 12H3-G2によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物に関する。

【0169】

もう1つの特定の態様において、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、2005年12月08日にDSM ACC2755として寄託されたハイブリドーマ細胞株ET 7E3によって産生される抗体の特徴的特性を有する抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物に関する。

40

【0170】

本発明はさらに、2005年12月08日にDSM ACC2755として寄託されたハイブリドーマ細胞株ET 7E3によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物に関する。

【0171】

もう1つの特定の態様において、本発明は、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、2005年12月08日にDSM ACC2756として寄託さ

50

れたハイブリドーマ細胞株EJ 7H3によって産生される抗体の特徴的特性を有する抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物に関する。

【0172】

本発明はさらに、2005年12月08日にDSM ACC2756として寄託されたハイブリドーマ細胞株EJ 7H3によって産生される、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤を含む、組成物に関する。

【0173】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、本発明による抗体、特にモノクローナル抗体は、疾患の治療のための他の生物活性物質および手順と組み合わせて投与することができる。他の生物活性物質は、混合物の形態にあって、抗体および他の生物活性物質が薬学的に許容される溶媒および/または担体の中でまたはそれらと共に混合されている、本発明による抗体をすでに含む同じ組成物の一部であってもよく、または、別々に提示することも複数の部分からなる1つのキットの形態と一緒に提示することもできる別々の組成物の一部として提供してもよい。

【0174】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、本発明による抗体、特にモノクローナル抗体は、他の生物活性物質または物質と同時に、間欠的に、または逐次的に投与することができる。例えば、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、本発明によるモノクローナル抗体は、第1の追加的な生物活性物質と同時に、または抗体の投与の後もしくは前に逐次的に投与することができる。複数の追加的な生物活性物質を本発明による少なくとも1つの抗体と共に投与する適用方式を選択する場合には、化合物または物質を、部分的には同時に、部分的にはさまざまな組み合わせで投与することができる。

【0175】

例えば、軽度認知障害(MCI)、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血(オランダ型);グアム・パーキンソン認知症複合;ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連のある他の疾患;クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS(筋萎縮性側索硬化症)、封入体筋炎(IBM)、成人発症型糖尿病;老人性心アミロイドーシス;内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状を含む、アルツハイマー病(AD)などの神経疾患を非限定的に含む疾患などの続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含んだ、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害の予防および/または治療的処置および/またはその影響の緩和のための、本発明による少なくとも1つの抗体、および任意で1つまたは複数のさらなる生物活性物質を含む抗体の混合物、ならびに個別の抗体、または前記抗体もしくは抗体の混合物を含む組成物を含むそれらの混合物を用いる方法を提供することは、本発明のもう1つの目的である。

【0176】

本発明による混合物は、本発明による抗体に加えて、例えば、アルツハイマー病に關与するA β タンパク質などのアミロイドタンパク質またはアミロイド様タンパク質と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるかまたはそれらと関連のある疾患および障害の薬物療法に用いられる公知の化合物などの生物活性物質を含みうる。

【0177】

本発明のもう1つの態様において、他の生物活性物質または化合物は、アミロイド β によって引き起こされるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイ

10

20

30

40

50

ド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害の治療に用いる、または他の神経疾患の薬物療法に用いる、治療薬であってもよい。

【0178】

他の生物活性物質または化合物は、その生物学的効果を、本発明による抗体と同じもしくは類似の機序によって発揮してもよく、または関係のない作用機序によって、または複数の関係のあるおよび／もしくは関係のない作用機序によって発揮してもよい。

【0179】

一般に、他の生物活性化合物には、ニューロン伝達賦活薬、精神治療薬、アセチルコリンエステラーゼ阻害薬、カルシウムチャネル拮抗薬、生体アミン、ベンゾジアゼピン系精神安定剤、アセチルコリンの合成、貯蔵または放出の賦活薬、アセチルコリンシナプス後受容体アゴニスト、モノアミンオキシダーゼ-Aまたは-Bの阻害薬、N-メチル-D-アスパラギン酸グルタミン酸受容体アンタゴニスト、非ステロイド性抗炎症薬、抗酸化剤、およびセロトニン作動性受容体アンタゴニストが含まれる。

【0180】

特に、本発明による混合物は、本発明による抗体と共に、酸化ストレスに対する化合物、抗アポトーシス化合物、金属キレート剤、ピレンゼピンおよび代謝産物などのDNA修復の阻害薬、3-アミノ-1-プロパンスルホン酸(3APS)、1,3-プロパンジスルホナート(1,3 PDS)、セクレターゼ活性化剤、 β -および γ -セクレターゼ阻害薬、タウタンパク質、神経伝達物質、 β -シート破壊物質(breaker)、抗炎症性分子、またはタクリン、リバスチグミン、ドネペジル、および／もしくはガラントミンなどのコリンエステラーゼ阻害薬(ChEI)、および他の薬物ならびに栄養補給物質からなる群より選択される少なくとも1つの他の生物活性化合物を、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および／または希釈剤および／または添加剤を含みうる。

【0181】

さらなる態様において、本発明による混合物は、本発明による抗体と共にナイアシンまたはメマンチンを、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および／または希釈剤および／または添加剤を含みうる。

【0182】

本発明のさらにもう1つの態様においては、本発明による抗体と共に、幻覚、妄想、思考障害(顕著な思考散乱、脱線、脱線思考が認められる)および奇態または混乱した行動、ならびに快感消失、感情鈍麻、無気力および社会的引きこもりを含む陽性および陰性の精神病症状の治療のための、例えばクロザピン、ジブラシドン、リスペリドン、アリピプラゾール、またはオランザピンなどの「非定型抗精神病薬」を、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および／または希釈剤および／または添加剤を含む、混合物が提供される。

【0183】

本発明の1つの特定の態様において、本発明による、および本明細書に前述した通りの組成物および混合物は、抗体および生物活性物質をそれぞれ治療的有效量で含む。

【0184】

本発明による抗体と組み合わせた混合物中で好適に用いることができるその他の化合物は、例えば、第WO 2004/058258号(とりわけページ16-17を参照)に記載されており、これには治療薬標的(ページ36-39)、アルカンスルホン酸およびアルカノール硫酸(ページ39-51)、コリンエステラーゼ阻害薬(ページ51-56)、NMDA受容体アンタゴニスト(ページ56-58)、エストロゲン(ページ58-59)、非ステロイド性抗炎症薬(ページ60-61)、抗酸化剤(ページ61-62)、ペルオキシソーム増殖活性化受容体(PPAR)アゴニスト(ページ63-67)、コレステロール低下薬(ページ68-75);アミロイド阻害薬(ページ75-77)、アミロイド形成阻害薬(ページ77-78)、金属キレート剤(ページ78-79)、抗精神病薬および抗鬱薬(ページ80-82)、栄養補給物質(ページ83-89)ならびに脳内での生物活性物質の生物学的利用能を高める化合物(ページ89-93参照)およびプロドラッグ(ページ93および94)が含まれ、この文書は参照により本明細書に組み入れられる。

【0185】

さらに提供されるのは、抗体を生産するための方法、特に、本発明による任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体を生産するための方法であって、例えばパルミチン酸などの疎水性部分、または例えばポリエチレングリコール（PEG）などの親水性部分、または両方の組み合わせによって修飾され、 β -アミロイドペプチドの、特に β -アミロイドペプチド $A\beta_{1\sim 15}$ 、 $A\beta_{1\sim 16}$ 、および $A\beta_{1\sim 16}(\Delta 14)$ のアミノ酸配列に対応する抗原ペプチドを含む超分子抗原構築物に対して、抗体、特にモノクローナル抗体を生産させる段階であって、前記疎水性および親水性の部分はそれぞれ、少なくとも1つの、特に1つまたは2つのアミノ酸など、例えばリジン、またはリンカー分子として働きうる任意の他の適したアミノ酸もしくはアミノ酸類似体、例えばグルタミン酸もしくはシステインを介して各末端と共有結合している段階、を含む方法である。

10

【0186】

同じく本発明の一部は、アルツハイマー病（AD）などの神経疾患、ならびに例えば、軽度認知障害（MCI）、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（オランダ型）；グアム・パーキンソン認知症複合；ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連する他の疾患；クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS（筋萎縮性側索硬化症）、封入体筋炎（IBM）、成人発症型糖尿病；老人性心アミロイドーシス；内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状）を非限定的に含む疾患などの続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含んだ、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害を治療するかまたはその影響を緩和するための、本発明による、および本明細書に前述した通りのモノクローナル抗体および/またはその機能的部分、および/または前記抗体を含む薬学的組成物もしくは混合物の使用である。

20

【0187】

本発明のもう1つの態様においては、アルツハイマー病（AD）、ならびに例えば、軽度認知障害（MCI）、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（オランダ型）；グアム・パーキンソン認知症複合；ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連のある他の疾患；クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS（筋萎縮性側索硬化症）、成人発症型糖尿病；老人性心アミロイドーシス；内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状などの神経疾患を非限定的に含む疾患などの続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含む、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害の治療、またはその影響の緩和において用いるための、本発明による抗体および/またはその機能的部分、とりわけモノクローナル抗体および/またはその機能的部分もしくは機能的に等価な抗体を用いる薬学的組成物の調製のための方法であって、本発明による抗体を薬学的に許容される形態に製剤化する段階を含む方法が提供される。

30

40

【0188】

抗体および/またはその機能的部分、とりわけモノクローナル抗体および/またはその機能的部分もしくは機能的に等価な抗体、ならびに前記本発明による抗体を含む組成物および混合物は、例えば軽度認知障害（MCI）、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（オランダ型）；グアム・パーキンソン認知症複合；ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連のある他の疾患；クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS（筋萎縮性側索硬化症）、封入体筋炎（IBM）、成人発症型糖尿病；老人性心アミロイド

50

ーシス；内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状を含む、アルツハイマー病（AD）などの神経疾患を非限定的に含む続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含んだ、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害を予防する、治療する、またはその影響を緩和するための薬物の調製のために用いることができる。

【0189】

本発明のさらなる態様においては、脳内の斑負荷量増加を招く疾患または病状に罹患した動物、特に哺乳動物、とりわけヒトの脳内の斑負荷量を減らすための方法であって、そのような治療を必要とする動物、特に哺乳動物、より特にヒトに対して、本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体および／もしくはその機能的部分の、とりわけモノクローナル抗体および／もしくはその機能的部分の、または機能的に等価な抗体の、または前記抗体を含む組成物もしくは混合物の、治療的有効量を投与する段階を含む方法が提供される。

10

【0190】

特に、斑負荷量は、少なくとも20%、特に少なくとも25%、より特に少なくとも30%、いっそうより特に30%を上回って減少する。

【0191】

本発明のさらなる態様においては、脳内の斑負荷量増加を招く疾患または病状に罹患した動物、特に哺乳動物、とりわけヒトの脳内の斑の量を減らすための方法であって、そのような治療を必要とする動物、特に哺乳動物、より特にヒトに対して、本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体および／もしくはその機能的部分の、とりわけモノクローナル抗体および／もしくはその機能的部分の、または機能的に等価な抗体の、または前記抗体を含む組成物もしくは混合物の、治療的有効量を投与する段階を含む方法。

20

【0192】

特に、脳内の斑の量は、少なくとも10%、特に少なくとも15%、より特に15%を上回って減少する。

【0193】

本発明のさらにもう1つの態様においては、脳内の可溶性A β の濃度上昇を招く疾患または病状に罹患した動物、特に哺乳動物、とりわけヒトの脳内の可溶性A β の総量を減少させるための方法であって、そのような治療を必要とする動物、特に哺乳動物、より特にヒトに対して、本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体および／もしくはその機能的部分の、とりわけモノクローナル抗体および／もしくはその機能的部分の、または機能的に等価な抗体の、または前記抗体を含む組成物もしくは混合物の、治療的有効量を投与する段階を含む方法。

30

【0194】

例えば、軽度認知障害（MCI）、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（オランダ型）；グアム・パーキンソン認知症複合；ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連のある他の疾患；クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS（筋萎縮性側索硬化症）、封入体筋炎（IBM）、成人発症型糖尿病；老人性心アミロイドーシス；内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状を含む、アルツハイマー病（AD）などの神経疾患を非限定的に含む続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含む、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害を、本発明による抗体、特にモノクローナル抗体またはそのような抗体を含む組成物もしくは混合物をそのような障害に罹患した動物またはヒトに投与することによって、予防する、治療する、またはその影響を緩和するための方法であって、そのような治療を必要

40

50

とする動物、特に哺乳動物、より特にヒトに対して、本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体および/もしくはその機能的部分の、とりわけモノクローナル抗体および/もしくはその機能的部分の、または機能的に等価な抗体の、または前記抗体を含む組成物もしくは混合物の、治療的有効量を投与する段階を含む方法を提供することは、本発明の1つの目的である。

【0195】

1つの特定の態様において、本発明は、記憶障害に罹患した動物、特に哺乳動物またはヒトの認知記憶能力を保持または向上させるための方法であって、そのような治療を必要とする動物、特に哺乳動物またはヒトに対して、本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体、特に本発明によるモノクローナル抗体、またはそのような抗体を含む組成物もしくは混合物を投与することによる方法を提供する。

10

【0196】

本発明のもう1つの態様においては、例えば、軽度認知障害(MCI)、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血(オランダ型); グラム・パーキンソン認知症複合; ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連のある他の疾患; クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS(筋萎縮性側索硬化症)、封入体筋炎(IBM)、成人発症型糖尿病; 老人性心アミロイドーシス; 内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状を含む、アルツハイマー病(AD)などの神経疾患を非限定的に含む続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含んだ、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害を予防する、治療する、またはその影響を緩和するための、本発明による抗体および/もしくはその機能的部分、とりわけモノクローナル抗体および/もしくはその機能的部分、または機能的に等価な抗体を用いる薬学的組成物の調製のための方法が提供される。

20

【0197】

1つの特定の態様において、本発明は、記憶障害に罹患した動物、特に哺乳動物またはヒトの認知記憶能力を保持または向上させるための、本発明による抗体および/もしくはその機能的部分、とりわけモノクローナル抗体および/もしくはその機能的部分、または機能的に等価な抗体を用いる薬学的組成物の調製のための方法であって、動物、特に哺乳動物またはヒトに対して、本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体、特に本発明によるモノクローナル抗体、またはそのような抗体を含む組成物もしくは混合物を投与することによる方法を提供する。

30

【0198】

本発明の上記および他の目的、特徴および利点は、以下に開示する態様および添付する特許請求の範囲の詳細な記述を吟味することによって明らかになると考えられる。

【図面の簡単な説明】

【0199】

【図1】Aβ配列1~15、1~16および1~16(Δ14)、22~35および29~40に由来するペプチド。

40

【図2a】ウエスタンブロットおよびドットブロットにおけるmACI-01-Ab7 C2モノクローナル抗体のアミロイド種に対する結合。

【図2b】ウエスタンブロットおよびドットブロットにおけるmACI-01-Ab7 C2モノクローナル抗体のアミロイド種に対する結合。

【図3a】透過型電子顕微鏡検査によるmACI-01-Ab7 C2モノクローナル抗体のアミロイド線維に対する結合。

【図3b】透過型電子顕微鏡検査によるmACI-01-Ab7 C2モノクローナル抗体のアミロイド線維に対する結合。

【図4】U-¹³C Tyr10およびVa112で標識したβ-アミロイド1~42ペプチドのTh-T蛍光アッ

50

セイと固体NMRとの直接比較 (head-to-head) 実験の結果SEQ ID NO: 1: 抗原ペプチドA β_{1-15} SEQ ID NO: 2: 抗原ペプチドA β_{1-16} SEQ ID NO: 3: 抗原ペプチドA β_{1-16} ($\Delta 14$) SEQ ID NO: 4: 抗原ペプチドA β_{22-35} SEQ ID NO: 5: 抗原ペプチドA β_{29-40} SEQ ID NO: 6: 抗原ペプチドA β_{1-17} SEQ ID NO: 7: マウスC2軽鎖可変領域のアミノ酸配列SEQ ID NO: 8: マウスC2重鎖可変領域のアミノ酸配列SEQ ID NO: 9: マウスC2軽鎖可変領域のヌクレオチド配列SEQ ID NO: 10: シグナル配列を含むマウスC2軽鎖可変領域のヌクレオチド配列SEQ ID NO: 11: マウスC2重鎖可変領域のヌクレオチド配列SEQ ID NO: 12: シグナル配列を含むマウスC2重鎖可変領域のヌクレオチド配列SEQ ID NO: 13~20: A β ペプチド上のエピトープ領域のアミノ酸配列変異体SEQ ID NO: 21: マウスC2軽鎖のアミノ酸配列SEQ ID NO: 22: マウスC2重鎖のアミノ酸配列。

10

【発明を実施するための形態】

【0200】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」という用語は、本明細書で用いる場合、互換的であり、ペプチド結合によって連結されたアミノ酸で構成される生体分子を意味するものと定義される。

【0201】

本明細書で用いる「1つ(a)」、「1つ(an)」、および「その(the)」という用語は、「1つまたは複数の」を意味し、文脈が不適切である場合を除き、複数の含むものと定義される。

【0202】

本明細書で用いる「検出すること」または「検出された」という用語は、免疫化学的方法または組織学的方法といった生体分子の検出のための公知の方法を用いることを意味し、調査中の生体分子の存在または濃度を質的または量的に決定することを指す。

20

【0203】

「アミロイド β 、A β または β -アミロイド」とは、当技術分野で認知されている用語であり、アミロイド β タンパク質およびペプチド、アミロイド β 前駆体タンパク質(APP)、ならびにそれらの修飾物、断片および任意の機能的等価物のことを指す。特に、本明細書で用いるアミロイド β は、APPのタンパク質分解性切断によって生成される任意の断片、とりわけ、A β_{1-38} 、A β_{1-39} 、A β_{1-40} 、A β_{1-41} 、A β_{1-42} 、およびA β_{1-43} を非限定的に含む、アミロイド病態に関与するか、またはそれと関連のある断片のことを意味する。

30

【0204】

上述したアミロイド β ペプチドの構造および配列は当業者に周知であり、前記ペプチドを生産する方法またはそれらを脳および他の組織から抽出する方法は、例えば、Glenner and Wong, Biochem Biophys Res Comm 129, 885-890 (1984)に記載されている。さらに、アミロイド β ペプチドはさまざまな形態で市販されてもいる。

【0205】

「A β 原線維」または「A β フィラメント」または「アミロイド原線維」とは、水性媒質中に不溶性であって、コア内に大量のクロス β -構造(ほとんどは原線維軸1.2.3に対して直交する β -鎖である)を含む、一定の線維直径を有する個々または束状の線維を形成する単量体タンパク質のポリマー形態のことである。

40

【0206】

「単量体A β 」または「A β 単量体」とは、水性媒質中で凝集複合体を伴わない、完全に可溶化されたアミロイド β タンパク質のことである。

【0207】

「重合体可溶性アミロイド」および「オリゴマー性A β 」および「A β オリゴマー」とは、インビトロの水性媒質中でも、かつ哺乳動物またはヒトの体内、より特に脳内のインビボでも可溶性である、アミロイドペプチドの、アミロイド様ペプチドの、または修飾もしくは短縮されたアミロイドペプチドの、またはオリゴマー性もしくは重合体の構造を形成するアミロイドペプチドの他の誘導体の、複数の凝集した単量体、特に、哺乳動物または

50

ヒトの体内、より特に脳内でそれぞれ可溶性である、アミロイド β ($A\beta$) の、または修飾もしくは短縮されたアミロイド β ($A\beta$) ペプチドの、またはそれらの誘導体の、複数の凝集した単量体のことを指す。

【0208】

「単離された」とは、天然の状態で存在する構成要素の少なくとも一部を含まない生体分子のことを意味する。

【0209】

本明細書で用いる「抗体」または「抗体」という用語は、当技術分野で認知されている用語であり、公知の抗原と結合する分子または分子の活性断片、特に免疫グロブリン分子、および免疫グロブリン分子の免疫学的活性部分、すなわち、抗原と免疫特異的に結合する結合部位を含む分子を指すものと解釈される。本発明による免疫グロブリンは、免疫グロブリン分子の任意の種類 (IgG、IgM、IgD、IgE、IgAおよびIgY) またはクラス (IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1およびIgA2) またはサブクラスのものでありうる。

10

【0210】

「抗体」は、本発明の範囲において、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、二重特異性または二重有効性抗体、サル化抗体、ヒト抗体およびヒト化抗体、ならびにそれらの活性断片を含むものとする。公知の抗原と結合する分子の活性断片の例には、Fab免疫グロブリン発現ライブラリーの産物、ならびに上述した抗体および断片の任意のもののエピトープ結合性断片を含む、FabおよびF(ab')₂断片が含まれる。

20

【0211】

これらの活性断片は、数多くの手法によって本発明の抗体から導き出すことができる。例えば、精製されたモノクローナル抗体をペプシンなどの酵素で切断して、HPLCゲル濾過に供することができる。続いて、Fab断片を含む適切な画分を収集して、膜濾過によって濃縮することなどができる。抗体の活性断片の単離のための一般的な手法に関するさらなる記述については、例えば、Khaw, B. A. et al. J. Nucl. Med. 23:1011-1019 (1982); Rousseaux et al. Methods Enzymology, 121:663-69, Academic Press, 1986を参照のこと。

【0212】

「ヒト化抗体」とは、そのCDRが非ヒトドナーの免疫グロブリンに由来し、分子の残りの免疫グロブリン由来の部分が1つ (またはそれ以上の) ヒト免疫グロブリンに由来する、ある種の人工的に操作された抗体のことを指す。加えて、結合親和性を保つためにフレームワーク支持残基を改変することもできる。「ヒト化抗体」を入手するための方法は当業者に周知である (例えば、Queen et al., Proc. Natl Acad Sci USA, 86:10029-10032 (1989), Hodgson et al., Bio/Technology, 9:421 (1991)を参照)。

30

【0213】

「ヒト化抗体」を、例えばウサギなどの大型動物における親和性が成熟したヒト様ポリクローナル抗体の生産を可能にする、新規な遺伝子操作アプローチによって入手することもできる (<http://www.rcitech.com/bioventures/therapeutic.php>)。

【0214】

「モノクローナル抗体」も、当技術分野でよく認知されており、これは実験室において単一のクローンから大量生産され、1つの抗原のみを認識する抗体のことを指す。モノクローナル抗体は典型的には、通常の短寿命の抗体産生性B細胞を、癌細胞 (時には「不死」細胞と呼ばれる) などの急速増殖性細胞と融合させることによって作製される。その結果得られるハイブリッド細胞またはハイブリドーマは、急速に増加して、大量の抗体を産生するクローンを作り出す。

40

【0215】

本発明の目的において、「モノクローナル抗体」は、完全な単クローン性にはまだ達していない母親クローンによって産生される抗体も含むものと解釈されるべきである。

【0216】

50

「機能的に等価な抗体」は、本発明の範囲において、上述し、かつ本明細書に記載された抗体と、以下を含む、少なくとも1つの主要な機能的特性を実質的に共有する抗体のことを指すと解釈される。すなわち、 β -アミロイドタンパク質に対する、特に $A\beta_{1-42}$ タンパク質に対する、より特に $A\beta_{1-42}$ タンパク質の4~16エピトープ領域に対する結合特異性、インビトロでの免疫反応性、 $A\beta_{1-42}$ 単量体の高分子重合体原線維への凝集の抑制、および/または、前もって形成された $A\beta_{1-42}$ 重合体原線維の脱凝集、および/または β -シート破壊特性、ならびに予防的または治療的に投与された場合に、例えば、軽度認知障害(MCI)、レーヴィ小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血(オランダ型); グラム・パーキンソン認知症複合; ならびに進行性核上麻痺、多発性硬化症などのアミロイド様タンパク質に基づくかまたは関連のある他の疾患; クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、HIV関連認知症、ALS(筋萎縮性側索硬化症)、封入体筋炎(IBM)、成人発症型糖尿病; 老人性心アミロイドーシス; 内分泌腫瘍、および黄斑変性症を含む他のものといった認知記憶能力の損失を特徴とする疾患または病状を含む、アルツハイマー病(AD)などの神経疾患を非限定的に含む続発性アミロイドーシスおよび加齢性アミロイドーシスを含んだ、アミロイド斑形成と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害の影響を緩和することである。抗体は、IgG、IgMもしくはIgAなどの任意のクラス、またはIgG1、IgG2aなどの任意のサブクラス、および本明細書に上述したかまたは当技術分野で公知である他のサブクラスのもの、特にIgG2クラスのものであってよい。さらに、抗体をファージディスプレイなどの任意の方法によって生産すること、または細菌、昆虫、哺乳動物、もしくはヒト化抗体のように所望の特性を備える抗体を産生する他の種類の細胞もしくは細胞株を含む、任意の生物もしくは細胞株において産生させることもできる。抗体をまた、異なる種からのFab部分およびFc領域を組み合わせることによって形成させることもできる。

10

20

30

40

50

【0217】

「二重特異性」または「二機能性」および「二重有効性」という用語は、本出願の範囲において、アミロイドまたはアミロイド様線維の形成に対する抑制性ならびにアミロイドまたはアミロイド様線維の脱凝集特性の両方を呈する抗体を特徴づけるために、同義に用いられる。

【0218】

「抗原」という用語は、生物、特に動物、より特にヒトを含む哺乳動物における免疫応答を誘導することができる、ある実体またはその断片のことを指す。この用語は、免疫原、および抗原性または抗原決定基の原因となる領域を含む。

【0219】

本明細書で用いる場合、「可溶性」という用語は、水性溶液中に部分的または完全に溶解することを意味する。

【0220】

同じく本明細書で用いる場合、「免疫原の」という用語は、免疫原物質を標的として、ヒトまたは動物における免疫応答に寄与する、抗体、T細胞および他の反応性免疫細胞の産生を誘発または強化する物質のことを意味する。

【0221】

免疫応答が起こるのは、個体が、投与された本発明の免疫原性組成物に対して十分な抗体、T細胞および他の反応性免疫細胞を産生して、治療しようとする障害が和らいだり緩和されたりする場合である。

【0222】

「重合体可溶性アミロイド」とは、哺乳動物またはヒトの体内、より特に脳内で可溶性である、アミロイドペプチドの、アミロイド様ペプチドの、または修飾もしくは短縮されたアミロイドペプチドの、またはオリゴマー性もしくは重合体の構造を形成するアミロイドペプチドの他の誘導体の、複数の凝集した単量体、特に、哺乳動物またはヒトの体内、より特に脳内で可溶性である、アミロイド β ($A\beta$)の、または修飾もしくは短縮された

アミロイドβ (Aβ) ペプチドの、またはそれらの誘導体の、複数の凝集した単量体のことを指す。

【0223】

「ハイブリドーマ」という用語は当技術分野で認知されており、当業者には、抗体産生細胞と不死細胞、例えば多発性骨髄腫細胞との融合によって生じる細胞を指すものと理解されている。このハイブリッド細胞は、抗体を連続的に供給することができる。融合方法のより詳細な記述については、上記の「モノクローナル抗体」の定義および以下の実施例を参照されたい。

【0224】

本明細書で用いる「担体」という用語は、抗原ペプチドまたは超分子構築物を組み入れること、または結合させることが可能であり、それにより、抗原ペプチドまたはペプチドの一部を、ヒトまたは動物の免疫系に対して提示または曝露することが可能な構造体のことを意味する。動物またはヒトの治療法に好適に用いる任意の粒子、例えば、小胞、粒子または粒状体を、本発明の文脈における担体として用いることができる。

【0225】

「担体」という用語はさらに、抗原ペプチドを含む超分子抗原構築物組成物を送達機構によって所望の部位に輸送することのできる送達方法を含む。このような送達システムの一例は、コロイド金などのコロイド金属を利用する。

【0226】

加えて、「担体」という用語は、キーホールリンペットヘモシアニン (KLH)、ウシ血清アルブミン (BSA) および他のアジュバントを非限定的に含む、当業者に公知の送達機構をさらに含む。

【0227】

本発明による超分子抗原構築物において、リボソームは、本明細書に前述した通りの超分子構築物を含む担体として用いることができ、同時に、本発明による治療ワクチンによって治療しようとする標的動物またはヒトにおける免疫応答を増強または刺激するためのアジュバントとしても働くという点で二重の機能を有しうる。また、本発明の超分子抗原構築物組成物は、例えばリピドA、ミョウバン、リン酸カルシウム、インターロイキン1、ならびにノまたはタンパク質および多糖のマイクロカプセルなどの追加的なアジュバント、特にモノホスホリルリピドAもしくはジホスホリルリピドAなどの解毒化リピドA、またはミョウバン、さらなる保存料、希釈剤、乳化剤、安定剤、ならびに公知であって先行技術のワクチンに用いられている他の成分をさらに含む。さらに、当技術分野で公知の任意のアジュバント系を、本発明の組成物に用いることができる。このようなアジュバントには、フロイント不完全アジュバント、フロイント完全アジュバント、多分散型のβ-(1,4)結合アセチル化マンナン (「Acemannan」)、TITERMAX (登録商標) (CytRx Corporationのポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンコポリマーアジュバント)、Chiron Corporationの修飾脂質アジュバント、Cambridge Biotech社のサポニン誘導体アジュバント、百日咳菌 (Bordetella pertussis) の死菌、グラム陰性菌のリボ多糖 (LPS)、硫酸デキストランなどの大型重合体陰イオン、およびミョウバン、水酸化アルミニウムまたはリン酸アルミニウムなどの無機ゲルが非限定的に含まれる。

【0228】

本発明の超分子抗原構築物組成物に用いる担体タンパク質には、マルトース結合タンパク質「MBP」；ウシ血清アルブミン「BSA」；キーホールリンペットヘモシアニン「KLH」；オボアルブミン；フラジェリン；チログロブリン；任意の種の血清アルブミン；任意の種のガンマグロブリン；同系細胞；Ia抗原を有する同系細胞；ならびにD-アミノ酸およびノまたはL-アミノ酸のポリマーが非限定的に含まれる。

【0229】

さらに、「治療的有効量」という用語は、ヒトまたは動物に投与した場合に、前記ヒトまたは動物における治療効果をもたらすのに十分な免疫応答を誘発する抗体の量のことを指す。有効量は、当業者により、定型的な手順によって容易に決定される。

【0230】

2つの配列間の「相同性」は、配列同一性によって決定される。互いに比較しようとする2つの配列の長さが異なるならば、配列同一性は好ましくは、長い方の配列のヌクレオチド残基と同一である短い方の配列のヌクレオチド残基のパーセンテージに関係する。配列同一性は、Bestfitプログラム (Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive Madison, WI 53711) などのコンピュータプログラムの使用によって慣例的に決定することができる。Bestfitは、2つの配列間で最も高い配列同一性を有するセグメントを見つけ出すために、Smith and Waterman, *Advances in Applied Mathematics* 2 (1981), 482-489の局所相同性アルゴリズムを利用する。ある特定の配列が本発明の参照配列に対して例えば95%の同一性を有するか否かを判定するために、Bestfitまたは別の配列アラインメントプログラムを用いる場合には、パラメーターは好ましくは、一致度 (percentage of identity) が参照配列の全長にわたって計算され、参照配列中のヌクレオチドの総数の最大で5%の相同性ギャップが許容されるように調整される。Bestfitを用いる場合には、いわゆる随意的パラメーターは好ましくはそのプリセット (「デフォルト」) 値のままにする。所定の配列と本発明の上記の配列との間の比較において認められる偏差は、例えば、付加、欠失、置換、挿入または組換えに起因しうる。そのような配列比較を、好ましくは、プログラム「fasta20u66」(バージョン2.0u66, September 1998, William R. PearsonおよびUniversity of Virginiaによる; W.R. Pearson (1990), *Methods in Enzymology* 183, 63-98, 添付の例および<http://workbench.sdsc.edu/>も参照のこと) を用いて行うこともできる。

【0231】

用いられる「ハイブリダイズする」という用語は、従来のハイブリダイゼーション条件、好ましくは、5×SSPE、1% SDS、1×デンハルト溶液を溶液として用いる、および/またはハイブリダイゼーション温度が35 ~ 70、好ましくは65であるハイブリダイゼーション条件のことを指す。ハイブリダイゼーションの後に、洗浄を好ましくはまず2×SSC、1% SDSにより、引き続いて0.2×SSCにより、35 ~ 70の温度、好ましくは65で行う(SSPE、SSCおよびデンハルト溶液の定義に関しては、Sambrook et al. 前掲箇所を参照のこと)。例えばSambrookら、前記に記載されているストリンジェントなハイブリダイゼーション条件が特に好ましい。特に好ましいストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、例えば、上に示したようにハイブリダイゼーションおよび洗浄を65で行う場合に存在する。例えばハイブリダイゼーションおよび洗浄を45で行う、ストリンジェントでないハイブリダイゼーション条件は好ましさが低くなり、35ではさらに低くなる。

【0232】

本発明は、本明細書に含まれる特定の態様に関する以下の詳細な説明を参照することによってより容易に理解されられると思われる。本発明をその特定の態様の具体的な詳細を参照しながら説明しているが、このような詳細は本発明の範囲を制限するものとみなされるべきではない。

【0233】

本発明は、コンフォメーション感受性のある抗体である、抗体およびその機能的部分を提供する。これらの抗体は、多岐にわたるアミロイドタンパク質抗原上の特定のエピトープを認識する。これらの抗体は、アルツハイマー病に関与するAβタンパク質などのアミロイドタンパク質またはアミロイド様タンパク質と関連のある一群の疾患および障害であるアミロイドーシスを含む、アミロイドタンパク質もしくはアミロイド様タンパク質によって引き起こされるか、またはそれらと関連のある疾患および障害における診断的および治療的な介入のために有用である。

【0234】

抗体は、個体に対して、個体をアルツハイマー病などのアミロイドタンパク質と関連のある疾患を非限定的に含む、種々の疾患または障害に対して受動免疫化するために投与される。

10

20

30

40

50

【0235】

本明細書で提供する抗体は、例えばアルツハイマー病のようなアミロイドタンパク質と関連のある種々の障害を代表する抗原ペプチドに対する結合特異性を有する、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体である。

【0236】

本発明による抗体は、固有の抗体またはヒト抗体を産生しうるマウス、ラット、ウサギまたは任意の他の動物種などの動物に対して、超分子抗原構築物組成物による免疫処置を行うことによって調製される。

【0237】

本明細書で開示される超分子抗原構築物は一般に、抗原作用が強化されるように修飾されたペプチドを含み、そのようなペプチドは、ペグ化（ポリエチレングリコールまたは修飾ポリエチレングリコールを用いる）によって修飾されるか、またはパルミチン酸、ポリアミノ酸（例えば、ポリグリシン、ポリヒスチジン）、多糖（例えば、ポリガラクトuron酸、ポリ乳酸、ポリグリコリド、キチン、キトサン）、合成ポリマー（ポリアミド、ポリウレタン、ポリエステル）もしくはコポリマー（例えば、ポリ(メタクリル酸)およびN-(2-ヒドロキシ)プロピルメタクリルアミド)などの他の方法によって修飾される。

【0238】

パルミチン酸による修飾（パルミトイル化）は、リボソーム二重層内でのペプチドに対するアンカーを提供する一方で、C_{16:0}脂肪酸部分の長さが比較的短いことにより、ペプチドを事実上はリボソーム表面に配置させる。このため、抗原を処理する細胞は、ペプチドと共にリボソーム全体を取り込む必要があり、これは大部分の場合に、比較的緩徐な免疫応答をもたらす。

【0239】

本発明の1つの態様においては、修飾されたアミロイド1~15ペプチドが、本発明による抗体、特にモノクローナル抗体の調製に用いられる。修飾されたアミロイド1~15ペプチドは、Nicolau et. al. 2002. に報告された方法に従って合成することができる。Nicolauらに報告されたアプローチは、前もって形成されたペプチドの末端アミノ酸残基に対する親油性部分または疎水性部分の樹脂上グラフティング（on-resin grafting）によって抗原ペプチドを修飾し、かなり高い純度の生成物を得ることを伴う。詳細には、保護されたアミノ酸、特にFmocで保護されたアミノ酸を、公知のカップリング化学を用いて樹脂に結合させる。保護基を除去し、第2の保護されたアミノ酸残基をカップリングさせる。続いて、公知の保護化学、特にFmoc / tBu化学および標準的な側鎖保護基を用いる標準的な自動ペプチド合成を用いて、アミロイドタンパク質A β ₁₋₄₂のアミノ酸1~15上へのカップリングによってA β ₁₋₁₅抗原ペプチドを合成し、SEQ ID NO: 1に与えられた配列を有するペプチド断片を生成させる。最終的な段階では、さらに2つの保護されたアミノ酸を、成長中のペプチド断片にカップリングさせる。続いてMtt基を選択的に切断して、パルミチン酸にカップリングさせることができる。樹脂の洗浄後に、保護基を除去し、樹脂を同時に切断して、その後に側鎖脱保護を標準的な方法を用いて行う。続いて、最終的な生成物を高い純度で入手して、その実体を、当技術分野で公知の方法、例えばエレクトロスプレー質量分析などによって確認することができる。

【0240】

本発明による親油性部分または疎水性部分は、脂肪酸、トリグリセリドまたはリン脂質であってよく、この際、脂肪酸の炭素骨格は少なくとも10個の炭素原子を有する。特に、親油性部分または疎水性部分は、少なくともおよそ14個の炭素原子、最大でおよそ24個の炭素原子の炭素骨格を有する脂肪酸であり、この範囲に含まれる炭素原子のそれぞれの個々の数も本発明の一部である。より特に、親油性部分または疎水性部分は、少なくとも14個の炭素原子の炭素骨格を有する。疎水性部分の例には、パルミチン酸、ステアリン酸、ミリスチン酸、ラウリン酸、オレイン酸、リノレン酸、およびコレステロールまたはDSPEが非限定的に含まれる。本発明の1つの特定の態様において、親油性部分または疎水性部分はパルミチン酸である。

10

20

30

40

50

【0241】

免疫応答を強化するために、例えばポリエチレングリコール（PEG）などの別のアンカー／スパーサーを、リボソーム中にペプチドを再構成させるために好適に適用することができる。

【0242】

ペプチドの両端に結合したアミノ酸残基、特にGlu、CysもしくはLysアミノ酸残基、またはPEGをペプチドに共有結合させるために好適に用いる任意の他のアミノ酸残基に対して、PEGを共有結合させる。鎖のもう一方の端には、リボソーム二重層における係留構成分子として働く疎水性部分、例えばホスファチジルエタノールアミン（PEA）を共有結合させてもよい。こうすることで、リボソームはさらにアジュバントとして働き、ペプチドは単独で処理されうるように二重層から十分に隔てられ、それ故にその免疫原性はパルミトイル化抗原よりも高くなる。

10

【0243】

ある態様において、本発明の範囲で用いられる超分子抗原構築物は、各末端の一方にペグ化リジンが共有結合したペプチド配列を含む。PEG（ポリエチレングリコール）鎖の長さは、 $n=8 \sim n=150.000$ またはそれ以上、特に $n=10 \sim n=80.000$ 、より特に $n=20 \sim n=10.000$ の間でさまざまであってよい。本発明の1つの特定の態様において、PEG鎖の長さは、 $n=45$ を超えず、特に $n=5 \sim n=40$ の間、より特に $n=10 \sim n=30$ の間、いっそうより特に $n=10$ である。

20

【0244】

本明細書に記載された超分子構築物は、自動ペプチド合成および公知の保護化学、特にFmoc / tBu化学および標準的な側鎖保護基を用いて合成することができる。典型的には、ペプチドのペグ化は、位置異性体の混合物をもたらす。

【0245】

A β 部分的保護ペプチドのC末端およびN末端の両方に対するPEG-脂質結合物の部位特異的結合を用いることもできる。内部にLys残基またはHis残基を含むそのようなペプチド配列に対して、直交的に保護されたLys（ivDde）を各末端に付加する。合成を促進するためにC末端に追加的なGlyを加えてもよい。保護基を除去して、無水酢酸を用いてN-アセチル化し、その後、ivDde基の選択的切断を行う。

30

【0246】

樹脂、特に2-クロロトリチル樹脂は、酸感受性が高く、そのために保護ペプチドの単離を可能にすることから好都合である。

【0247】

本発明の1つの特定の態様において、カップリング反応は液相中で行われる。続いて、穏和な条件下での樹脂からの選択的切断により、内部の保護されたペプチドが放出される。

【0248】

β -アミロイドタンパク質配列由来のペプチド、例えばA β_{1-16} （SEQ ID NO: 2）と、脂肪酸-ホスファチジルコリン、例えばDSPEなどによって修飾されたPEG分子との液相カップリングは首尾よく行われた。最終的な側鎖脱保護の前に、陽イオン交換クロマトグラフィーを用いて、モノカップリング産物とジカップリング産物の分離を行うことができる。その後のペプチド側鎖脱保護により、許容される純度を有する所望の結合物の単離がもたらされる。精製は、当技術分野で周知の方法、例えば、HPLCなどによって行うことができる。

40

【0249】

保護されたペプチドを用いるN-およびC末端脂質-PEG β -アミロイド抗原の合成のためのこのアプローチは、多岐にわたるペプチド配列に対して適用可能である。

【0250】

続いて、本発明によるリボソーム抗原を、Nicolau et al., 2002に記載された通りに調製することができる。修飾されたアミロイドA β 抗原ペプチド、特に修飾されたPEG化およ

50

びパルミトイル化 $A\beta_{1-15}$ 、 $A\beta_{1-16}$ 、 $A\beta_{1-16}(\Delta 14)$ 、 $A\beta_{22-35}$ 、および $A\beta_{29-40}$ 抗原ペプチドは、リポソーム、特にジミリスチルホスファチジルコリン (DMPC)、ジミリスチルホスファチジルエタノールアミン (DMPEA)、ジミリスチルホスファチジルグリセロール (DMPG)、およびコレステロールで構成され、任意でモノホスホリルリピドAを含むリポソームからなる構築物中に再構成することができる。

【0251】

本発明の1つの特定の態様においては、リピドAを有するリポソームを、抗アミロイドワグチンを調製するためのアジュバントとして用いる。ジミリスチルホスファチジル-コリン、ジミリスチルホスファチジル-グリセロール、およびコレステロールを、特にモル比0.9:1.0:0.7で混合する。続いて、例えばモノホスホリルリピドAなどの強力な免疫調節薬を、適した濃度、特にリン脂質1mmol当たり30~50mg/mmol、より特に1mmol当たり40mgの濃度で添加する。続いて、修飾された抗原性 $A\beta$ ペプチドを、ペプチドとリン脂質とのモル比が1:30~1:200、特にモル比が1:50~1:120、より特に1:100となるように添加する。溶媒を例えば蒸発によって除去し、その結果得られた薄膜を、例えばPBSなどの滅菌緩衝液によって水和させる。

10

【0252】

また、リポソームを、例えば、Wagner et al (2002) Journal of Liposom Research Vol 12(3), pp 259-270に記載されたように、クロスフロー注入(crossflow injection)技術によって調製することもできる。水性緩衝系への脂質溶液の注入時に、脂質は「沈殿物」を形成する傾向を示し、続いて小胞へと自己配列する。得られる小胞のサイズは、脂質濃度、攪拌速度、注入速度、および脂質の選択などの要因に依存する。調製システムは、クロスフロー注入モジュール、極性相(例えば、PBS緩衝液)用の容器、メタノール/脂質溶液の容器および加圧デバイス、特に窒素加圧デバイスからなっておりよい。水性溶液または極性溶液をクロスフロー注入モジュールを通してポンプでくみ上げると、メタノール/脂質溶液が加えられたさまざまな圧で極性相に注入される。

20

【0253】

リポソームはさらにアジュバントとして働き、ペプチドは単独で処理されうるように二重層から十分に隔てられ、それ故にその免疫原性はパルミトイル化抗原よりも高くなる。

【0254】

遊離PEG末端を、係留構成分子として働かせるために、ホスファチジル-エタノールアミン(脂肪酸は以下でありうる:ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸など、またはそれらの組み合わせ)の分子と共有結合させる。この超分子構造は、リン脂質およびコレステロール(ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、コレステロール)を種々のモル比で含むリポソーム中に再構成することができる。他のリン脂質を用いることもできる。リピドAは、約40 $\mu\text{g}/\text{pmole}$ リン脂質の濃度で用いられる。

30

【0255】

ある態様において、パルミトイル化またはペグ化された超分子抗原構築物は、 β -アミロイドのアミノ酸配列を有するペプチドを含む。これらのペプチドは、アミロイド β ペプチド全体およびその活性断片を含んでもよく、それらに対応してもよい。加えて、本発明に有用なペプチドには、 $A\beta_{1-16}$ (SEQ ID NO:2); $A\beta_{1-16}(\Delta 14)$; (SEQ ID NO:3); $A\beta_{1-15}$ (SEQ ID NO:1); およびそれらの活性断片がさらに含まれる。

40

【0256】

抗体を誘発および調製するため、ならびに修飾された $A\beta$ 抗原構築物の免疫原性を決定するためには、マウス、ラット、ウサギ、ブタ、鳥類など、特にマウス、とりわけC57BL/6マウスからなる群より選択される適した動物を、抗原ペプチドによって免疫処置する。抗原構築物の免疫原性は、免疫処置後に適した間隔において、例えばELISAアッセイなどのイムノアッセイを用いて血清試料を調べることによって決定される。

【0257】

本発明のモノクローナル抗体は、当技術分野で周知の古典的なクローニングおよび細胞

50

融合の手法を用いて調製することができる。関心対象の免疫原（抗原）を、典型的には、固有の抗体またはヒト抗体を産生しうる、野生型または同系のマウス（例えばBALB/c、またはとりわけC57BL/6マウス）、ラット、ウサギもしくは他の動物種またはトランスジェニックマウスに対して投与する（例えば腹腔内注射）。免疫原は単独で投与することもでき、またはアジュバントと混合すること、またはベクター（VEEレプリコンベクター、ワクシニア）から発現させること、またはDNAとして、または免疫応答を誘導するための融合タンパク質として、投与することもできる。融合タンパク質は、それに対する免疫応答が望まれるペプチドが、例えば β -ガラクトシダーゼ、グルタチオンSトランスフェラーゼ、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）、およびウシ血清アルブミンなどの、担体タンパク質とカップリングしたものを含む。これらの場合において、ペプチドは担体タンパク質と共にハプテンとしての役を果たす。動物に例えば2回またはそれ以上の回数の追加免疫処置を行った後に、脾細胞を免疫処置した動物から採取し、感作された脾細胞を、Kohler and Milstein (Nature 256: 495-497 (1975)) およびHarlow and Lane (Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1988)) の公知のプロセスを用いて、マウスSP2/O骨髓腫細胞（ATCC, Manassas, VA）などの骨髓腫細胞株と融合させることによって、ハイブリドーマを作製する。

10

【0258】

本発明の1つの特定の態様においては、本発明による抗原構築物、特に薬学的に許容される形態にある前記抗原構築物を含むワクチン組成物を、特に1~15回の投薬、より特に2~10回の投薬、いっそうより特に3~7回の投薬、とりわけ4~6回の投薬により、1~10週間、特に1~6週間、より特に1~4週間、いっそうより特に2~3週間の間隔で反復投与する。追加免疫処置後の適した時点、特に追加免疫処置から3~10日後、より特に追加免疫処置から4~8日後、より特に追加免疫処置から5~6日後に血清試料を採取して、抗原構築物の免疫原性を、公知の方法、特に、例えばELISAアッセイなどの一般的に用いられるイムノアッセイのいずれかを用いて決定することによって、免疫応答をモニタリングする。

20

【0259】

本発明による抗原構築物による、特に、薬学的に許容される形態で本発明による抗原構築物を含むワクチン組成物による免疫処置は、処置された動物における顕著な免疫応答を招く。治療的力価が見られる動物、とりわけマウスを、抗体産生細胞（特にBリンパ球）と、骨髓腫細胞株などの連続増殖性または不死細胞株との融合のために選択する。ポリエチレングリコールの添加によって、細胞が融合するように誘導する。治療的力価とは、ELISAアッセイにおいて、1:4000~1:6000の間、特に1:4500~1:5500の間、より特に1:5000の希釈度で、陽性の結果を与えるもののことである。

30

【0260】

その結果得られたハイブリッド細胞を、続いて従来の様式で、例えば限界希釈を用いてクローン化し、その結果得られた所望のモノクローナル抗体を産生するクローンを培養する。

【0261】

そのようにして得られたハイブリドーマは、細胞を、ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジン（HAT）を含む選択培地にプレーティングすることによって化学的に選択される。

40

【0262】

その後、アミロイドに関連した特定の疾患または障害に対するモノクローナル抗体を産生する能力に関して、ハイブリドーマをスクリーニングする。関心対象の抗体を産生するハイブリドーマをクローン化し、増殖させ、凍結保存して将来の生産用とする。好ましいハイブリドーマは、IgGアイソタイプ、より好ましくはIgG2アイソタイプを有するモノクローナル抗体を産生する。

【0263】

ポリクローナル抗体は、マウスまたはウサギなどの動物、または任意の他の適した動物に、上記の本発明の超分子抗原性構築物組成物による免疫処置を行うことによって調製さ

50

れる。その後動物から血清を採取し、アミロイド抗原に対する結合反応性に関して血清中の抗体をスクリーニングする。

【0264】

本発明による抗体は、生理的に許容される製剤として調製することができ、かつ薬学的に許容される、担体、希釈剤、および/または添加剤を公知の手法を用いて含んでもよい。例えば、任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含む、本発明によるおよび本明細書に前述した通りの抗体、特に任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体を、薬学的に許容される、担体、希釈剤および/または添加剤と混ぜ合わせて、治療用組成物を形成させる。適した薬学的担体、希釈剤および/または添加剤は当技術分野で周知であり、これには例えば、リン酸緩衝食塩水、水、水中油型エマルジョンなどのエマルジョン、さまざまな種類の湿潤剤、滅菌溶液などが含まれる。

10

【0265】

本発明による薬学的組成物の製剤化は、当技術分野で公知の標準的な方法に従って達成することができる。

【0266】

本発明の組成物は、適した薬学的有効量で固体、液体、またはエアロゾルの形態で対象に投与することができる。固体組成物の例には、丸剤、クリーム、および埋め込み型の投薬単位が含まれる。丸剤は経口的に投与することができる。治療用のクリームは局所的に投与することができる。埋め込み型の投薬単位は、局所的に、例えば腫瘍部位に投与することもでき、または治療用組成物の全身的な放出を目的として、例えば皮下に埋め込むことができる。液体組成物の例には、筋肉内、皮下、静脈内、動脈内への注射に適した製剤、ならびに局所投与用および眼内投与用の製剤が含まれる。エアロゾル製剤の例には、肺への投与を目的とした吸入用製剤が含まれる。

20

【0267】

組成物は、標準的な投与経路によって投与することができる。一般に、組成物は、局所、経口、直腸内、鼻内、または非経口的な（例えば、静脈内、皮下もしくは筋肉内）の経路で投与することができる。加えて、組成物を、送達が望まれる部位、例えば腫瘍部位の近傍に埋め込まれるポリマーである生分解性ポリマーなどの徐放性マトリックス中に組み入れることもできる。本方法は、単回投与、所定の間隔での反復投与、および所定の期間にわたる持続的投与を含む。

30

【0268】

本明細書で用いる場合、徐放性マトリックスは、酵素もしくは酸/塩基による加水分解によってまたは溶解によって分解する材料、通常はポリマーでできたマトリックスである。このようなマトリックスは、身体内に挿入されると、酵素および体液の働きによる作用を受ける。徐放性マトリックスは望ましくは、リポソーム、ポリラクチド（ポリ乳酸）、ポリグリコリド（グリコール酸のポリマー）、ポリラクチドコ-グリコリド（乳酸とグリコール酸のコポリマー）、ポリ無水物、ポリ（オルト）エステル、ポリペプチド、ヒアルロン酸、コラーゲン、硫酸コンドロイチン、カルボン酸、脂肪酸、リン脂質、多糖、核酸、ポリアミノ酸、アミノ酸、例えばフェニルアラニン、チロシン、イソロイシンなど、ポリヌクレオチド、ポリビニルプロピレン、ポリビニルピロリドン、およびシリコンなどの、生体適合性を有する材料から選択される。好ましい生分解性マトリックスは、ポリラクチド、ポリグリコリド、またはポリラクチドコ-グリコリド（乳酸とグリコール酸のコポリマー）のうちいずれか1つのマトリックスである。

40

【0269】

組成物の用量が、例えば、治療される病状、用いる特定の組成物といったさまざまな要因、ならびに、患者の体重、サイズ、性別および全般的健康状態、体表面積、投与しようとする特定の化合物または組成物、同時に投与する他の薬剤および投与の経路といった他の臨床的因子に依存すると考えられることは、当業者には周知である。

【0270】

本組成物は、本発明による抗体と共に、生物活性のある物質または化合物、特に、酸化

50

ストレスに対する化合物、抗アポトーシス化合物、金属キレート剤、ピレンゼピンおよび代謝産物などのDNA修復の阻害薬、3-アミノ-1-プロパンスルホン酸（3APS）、1,3-プロパンスルホナート（1,3PDS）、セクレターゼ活性化剤、 β -および γ -セクレターゼ阻害薬、タウタンパク質、神経伝達物質、 β -シート破壊物質、抗炎症性分子、例えばクロザピン、ジブラシドン、リスベリドン、アリピプラゾールもしくはオランザピンなどの「非定型抗精神病薬」、またはタクリン、リバスチグミン、ドネペジルおよび/もしくはガランタミンなどのコリンエステラーゼ阻害薬（ChEI）、および他の薬物、ならびに例えば、ビタミンB12、システイン、アセチルコリン前駆体、レシチン、コリン、イチョウ葉、アセチル-L-カルニチン、イデベノン、プロペントフィリン、またはキサンチン誘導体などの栄養補給物質からなる群より選択される少なくとも1つの生物活性化合物を、ならびに任意で、薬学的に許容される担体および/または希釈剤および/または添加剤、および疾患の治療のための手順と共に投与することができる。

10

【0271】

タンパク質性の薬学的活性物質は、1回の用量当たり1ng~10mgの量で存在してよい。一般に、投与レジメンは、本発明による抗体が、0.1 μ g~10mgの範囲、特に1.0 μ g~1.0mgの範囲、より特に1.0 μ g~100 μ gの範囲にあるべきであり、これらの範囲内にあるすべての個々の数も同じく本発明の一部である。投与が連続注入によって行われる場合には、より適切な用量は、体重1kgおよび1時間当たり0.01 μ g~10mgの範囲にあってよく、これらの範囲内にあるすべての個々の数も同じく本発明の一部である。

20

【0272】

投与は一般に非経口的、例えば静脈内であると考えられる。非経口的投与のための製剤には、滅菌された水性または非水性溶液、懸濁液およびエマルジョンが含まれる。非水性溶媒には、ポリプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油などの植物油、およびオレイン酸エチルなどの注射可能な有機酸エステルが含まれる。水性溶媒には、食塩液および緩衝媒質を含む、水、アルコール性/水性溶液、エマルジョンまたは懸濁液が含まれる。非経口用媒体には、ナトリウムイオン溶液、リンゲルデキストロース液、デキストロース、およびナトリウムイオン、乳酸加リンゲル液、または固定油が含まれる。静脈内用媒体には、液体および栄養分の補充液、電解質補充液（リンゲルデキストロース液を基にしたものなど）などが含まれる。例えば、抗菌薬、抗酸化物質、キレート剤および不活性ガスなどの、保存料およびその他の添加剤が存在してもよい。

30

【0273】

薬学的組成物はさらに、例えば、血清アルブミンまたは免疫グロブリン、特にヒト由来のものなどのタンパク質性担体を含んでもよい。本発明の薬学的組成物中に、さらなる生物活性物質が、その意図した用途に応じて存在してもよい。

【0274】

さらなる態様において、本発明は、アミロイドに関連した疾患もしくは病状の検出および診断のため、アミロイドに関連した疾患もしくは病状に対する素因を診断するため、または患者における微小残存病変(minimal residual disease)をモニタリングするため、または本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体もしくはワクチン組成物による治療に対する患者の反応性を予測するための、方法およびキットを提供する。これらの方法には、生物試料中の、またはインサイチュー条件における物質を検出または定量するために一般に用いられる公知の免疫学的方法が含まれる。

40

【0275】

患者における、アミロイドに関連した疾患もしくは病状の、またはアミロイドに関連した疾患もしくは病状に対する素因の診断は、試料中またはインサイチューのアミロイドタンパク質のエピトープに対するモノクローナル抗体またはその活性断片の免疫特異的結合を検出することによって達成されてもよく、これにはアミロイド抗原を含むことが疑われる試料または特定の身体部分もしくは身体部位を、アミロイドタンパク質のエピトープと結合する抗体と接触させる段階、抗体をアミロイド抗原と結合させて免疫複合体を形成させる段階、免疫複合体の形成を検出する段階、および、試料または特定の身体部分もしくは

50

は部位における、免疫複合体の有無とアミロイド抗原の有無とを相関づける段階、任意で前記免疫複合体の量を正常対照値と比較する段階が含まれ、前記凝集物の量が正常対照値と比較して多いことにより、前記患者がアミロイドに関連した疾患または病状に罹患していること、またはそれを発症するリスクを有することが示される。

【0276】

本発明による抗体またはワクチン組成物による治療後の患者における微小残存病変のモニタリングは、試料中またはインサイチューのアミロイドタンパク質のエピトープに対するモノクローナル抗体またはその活性断片の免疫特異的結合を検出することによって達成されてもよく、これにはアミロイド抗原を含むことが疑われる試料または特定の身体部分もしくは身体部位を、アミロイドタンパク質のエピトープと結合する抗体と接触させる段階、抗体をアミロイド抗原と結合させて免疫複合体を形成させる段階、免疫複合体の形成を検出する段階、および試料または特定の身体部分もしくは部位における、免疫複合体の有無とアミロイド抗原の有無とを相関づける段階、任意で免疫複合体の量を正常対照値と比較する段階が含まれ、前記凝集物の量が正常対照値と比較して多いことにより、前記患者がさらに微小残存病変に罹患していることが示される。

10

【0277】

本発明によるワクチン組成物による治療に対する患者の反応性を予測することは、試料中またはインサイチューのアミロイドタンパク質のエピトープに対するモノクローナル抗体またはその活性断片の免疫特異的結合を検出することによって達成されてもよく、これにはアミロイド抗原を含むことが疑われる試料または特定の身体部分もしくは身体部位を、アミロイドタンパク質のエピトープと結合する抗体と接触させる段階、抗体をアミロイド抗原と結合させて免疫複合体を形成させる段階、免疫複合体の形成を検出する段階、および試料または特定の身体部分もしくは部位における、免疫複合体の有無とアミロイド抗原の有無とを相関づける段階、任意で治療の開始の前および後の前記免疫複合体の量を比較する段階が含まれ、前記凝集物の量が減少することにより、前記患者が治療に反応する高い可能性を有することが示される。

20

【0278】

アミロイドに関連した疾患もしくは病状の診断に、アミロイドに関連した疾患もしくは病状に対する素因を診断するため、または患者における微小残存病変をモニタリングするため、または本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体もしくはワクチン組成物による治療に対する患者の反応性を予測するために用いる生物試料は、例えば、血清、血漿、唾液、胃液分泌物、粘液、脳脊髄液、リンパ液などの液体、または生物から得られる神経、脳、心臓もしくは血管の組織などの組織試料もしくは細胞試料である。試料中のアミロイド抗原の有無を決定するためには、当業者に公知の任意のイムノアッセイ (Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1988 555-612)を参照)、例えば、検出用の二次試薬を用いる間接的検出法を利用するアッセイ、ELISAおよび免疫沈降および凝集アッセイを用いることができる。これらのアッセイの詳細な記述は、例えば、MaertensおよびStuyverに対するWO96/13590、Zreinら (1998) およびWO96/29605に与えられている。

30

【0279】

インサイチュー診断のために、本発明による抗体とアミロイド抗原上のエピトープ領域との間の特異的結合が起こるように、当技術分野で公知の方法、例えば、静脈内、鼻腔内、腹腔内、大脳内、動脈内注射によって、抗体またはその任意の活性のある機能的部分を、診断しようとする生物に対して投与することができる。抗体/抗原複合体は、抗体またはその機能的断片に結合させた標識によって検出することができる。

40

【0280】

診断用途、または、アミロイドに関連した疾患または病状に対する素因を診断するため、または患者における微小残存病変をモニタリングするため、または本発明による、および本明細書に前述した通りの抗体もしくはワクチン組成物による治療に対する患者の反応性を予測するための用途に用いられるイムノアッセイは、典型的には、標識された抗原、

50

抗体または検出用の二次試薬に依拠する。これらのタンパク質または試薬は、酵素、放射性同位体、ならびにコロイド金およびラテックスビーズなどの着色粒子を含む蛍光性、発光性および発色性物質を含む、当業者に一般に知られた化合物で標識することができる。これらのうち、放射性同位体標識は、ほぼすべての種類のアッセイに用いることができ、バリエーションも非常に多い。酵素結合による標識は、放射能を避けなければならない場合または迅速な結果が求められる場合に特に有用である。蛍光色素は、用いるために高価な装置を必要とするが、極めて感度の高い検出方法を提供する。これらのアッセイにおいて有用な抗体には、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体およびアフィニティー精製されたポリクローナル抗体が含まれる。

【0281】

または、プロテインAもしくはGまたは第2の抗体などの、免疫グロブリンに対する親和性のある標識物質との反応によって、抗体を間接的に標識してもよい。抗体を第2の物質と結合させ、抗体と結合した第2の物質に対する親和性のある標識した第3の物質を用いて検出してもよい。例えば、抗体をビオチンと結合させ、標識したアビジンまたはストレプトアビジンを用いて抗体-ビオチン結合物を検出することができる。同様に、抗体をハプテンと結合させ、標識した抗ハプテン抗体を用いて抗体-ハプテン結合物を検出することもできる。

【0282】

当業者は、本発明に従って用いる上記および他の適した標識を把握していると考えられる。抗体またはその断片に対するこれらの標識の結合は、当業者に公知の標準的な手法を用いて行うことができる。典型的な手法は、Kennedy, J. H., et al., 1976 (Clin. Chim. Acta 70:1-31) および Schurs, A. H. W. M., et al. 1977 (Clin. Chim Acta 81:1-40) に記載されている。後者に言及されているカップリング法には、グルタルアルデヒド法、過ヨウ素酸法、ジマレイミド法、および他のものがあり、これらはすべて参照により本明細書に組み入れられる。

【0283】

現行のイムノアッセイは、検出可能な標識で標識された第2の抗体との反応によって抗体を間接的に標識する、二重抗体法を利用している。第2の抗体は、好ましくは、モノクローナル抗体の由来となった動物の抗体と結合するものである。言い換えると、モノクローナル抗体がマウス抗体である場合には、標識された第2の抗体は抗マウス抗体である。以下に述べるアッセイにモノクローナル抗体を用いる場合には、この標識は好ましくは抗体でコーティングされたビーズ、特に磁性ビーズである。本明細書に記載のイムノアッセイにポリクローナル抗体を用いる場合、標識は好ましくは、放射性、蛍光性または電気化学発光性の物質などの検出可能な分子である。

【0284】

分析物の存在の迅速判定用に適合化されているために迅速フォーマットシステムとしばしば呼ばれる、代替的な二重抗体システムを、本発明の範囲において用いることもできる。本システムは、抗体と分析物との間の高い親和性を必要とする。本発明の1つの態様によれば、アミロイド抗原の存在は、それぞれがアミロイド抗原に対して特異的である一対の抗体を用いて決定される。前記抗体対の一方は本明細書で「検出用抗体」と呼ばれ、前記抗体対のもう一方は本明細書で「捕捉用抗体」と呼ばれる。本発明のモノクローナル抗体は、捕捉用抗体または検出用抗体のいずれとしても用いることができる。また、本発明のモノクローナル抗体を、単一のアッセイで捕捉用抗体および検出用抗体の両方として用いることもできる。このため、本発明の1つの態様は、生体液の試料中のアミロイド抗原を検出するために二重抗体サンドイッチ法を用いる。この方法では、分析物（アミロイド抗原）を検出用抗体と捕捉用抗体との間にサンドイッチ状に挟み、捕捉用抗体は固体支持体に不可逆的に固定化しておく。検出用抗体は、抗体-分析物サンドイッチの存在を同定するため、およびしたがって分析物の存在を同定するために、検出可能な標識を含む。

【0285】

例示的な固相物質には、ラジオイムノアッセイおよび酵素イムノアッセイの分野で周知

10

20

30

40

50

であるマイクロタイタープレート、ポリスチレン製試験管、磁性ビーズ、プラスチックビーズ、またはガラス製ビーズおよびスライドが非限定的に含まれる。抗体を固相に対してカップリングさせるための方法も当業者に周知である。さらに最近では、ナイロン、ニトロセルロース、酢酸セルロース、グラスファイバーおよび他の多孔性ポリマーなどのさまざまな多孔性材料が固体支持体として用いられている。

【0286】

本発明はまた、上記に定義した組成物を含む、生物試料中のアミロイド抗原の存在を検出するための診断キットにも関する。さらに、本発明は、上記に定義した組成物に加えて、上記に定義した検出試薬も含む、後者の診断キットにも関する。「診断キット」という用語は一般に、当技術分野で公知の任意の診断キットのことを指す。より具体的には、後者の用語は、Zreinら（1998）に記載された診断キットのことを指す。

10

【0287】

本発明による抗体を含む、アミロイドに関連した疾患および病状の検出および診断のための新規な免疫プローブおよび検査キットを提供することは、本発明のさらにもう1つの目的である。免疫プローブに関しては、抗体を、適したレポーター分子、例えば酵素または放射性核種に対して直接的または間接的に結合させる。検査キットは、本発明による1つまたは複数の抗体と、抗体をアミロイド抗原と結合させて免疫複合体を形成させ、かつ免疫複合体の有無がアミロイド抗原の有無と相関するように免疫複合体の形成を検出する目的に用いるための説明書とを収容できる容器を含む。

20

【実施例】

【0288】

マウスモノクローナル抗体を産生させるために用いた抗原

（表1）前記抗体を産生させるために用いた抗体および抗原構築物

マウスmAb	抗原／配列	リンカー	アンカー	アジュバント
mACI-01-Ab7	A β ₁₋₁₆	PEG	DSPE	リピドA
mACI-02-Ab6	A β ₁₋₁₆ (Δ 14)	PEG	DSPE	リピドA
mACI-11-Ab9	A β ₂₂₋₃₅	PEG	DSPE	リピドA
mACI-12-Ab11	A β ₂₉₋₄₀	PEG	DSPE	リピドA
mACI-24-Ab4	A β ₁₋₁₅	-	Palm	リピドA

30

【0289】

実施例1：パルミトイル化A β ₁₋₁₅超分子抗原構築物を作製するための方法

テトラ（パルミトイルリジン）-A β ₁₋₁₅ペプチド抗原の合成

パルミトイル化アミロイド1~15ペプチドを、以前に報告された方法（Nicolau et. al. 2002）を改良したものに從って合成した。この新たなアプローチは、修飾アミノ酸9-フルオレニルメトキシカルボニル（Fmoc）-Lys(Pal)-OHを組み込む段階的な固相合成の代わりに、前もって形成されたペプチドの末端Lys残基に対するパルミチン酸の樹脂上グラフティングを伴う。この新たなアプローチはカップリング効率を改善し、かなり高い純度の生成物を与える。すなわち、直交的に保護されたアミノ酸Fmoc-Lys(Mtt)-OHを、[2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルロニウムヘキサフルオロホスフェート]（HBTU）カップリング化学を用いて、Wang樹脂に結合させた。Fmoc基をDMF中の20%ピペリジンで除去し、第2のFmoc-Lys(Mtt)-OH残基をカップリングさせた。続いて、Fmoc / tBu化学および標準的な側鎖保護基を用いる標準的な自動ペプチド合成を次の15アミノ酸に対するカップリングに用いて、SEQ ID NO：1に与えられたペプチド配列を得た。最終的にカップリングさせた最後の2つのアミノ酸はFmoc-Lys(Mtt)-OHであった。続いて、ジクロロメタン中の1%トリフルオロ酢酸（TFA）を用いてMtt基を選択的に切断してペプチド断片を放出させ、続いてHBTUを用いてパルミチン酸とカップリングさせた。樹脂洗浄の後に

40

50

、ジメチルホルムアミド (DMF) 中の20% ピペリジンによってFmoc基を除去し、最後に標準的な条件下でTFAを用いて樹脂切断および側鎖脱保護を同時に行った。冷ジエチルエーテルからの粉末化により、生成物が白色固体として得られた。エレクトロスプレー質量分析により、生成物の実体を確認され (m/z 期待値: 1097.9 ($[M]^+3+$); 実測値: 1096.8 ($[M+H]^+3+$))、他にトリ-、ジ-またはモノ-パルミトイル化ペプチドは検出されなかった。

【0290】

実施例2: 超分子抗原構築物を作製するための方法

ペグ化 β -アミロイドペプチド抗原の合成

免疫応答を強化するために、例えばポリエチレングリコール (PEG) などの別のアンカー/スパーサーが、リポソーム中にペプチドを再構成させるために適用されている。ペプチドの両端に結合したリジン残基に対してPEGを共有結合させた。鎖 ($PEG_n = 70$) のもう一方の端には、リポソーム二重層における係留構成分子として働かせるためにホスファチジルメタノールアミン (PEA) を共有結合させた。こうすることで、リポソームはさらにアジュバントとして働き、ペプチドは単独で処理されうるように二重層から十分に隔てられ、それ故にその免疫原性はパルミトイル化抗原よりも高くなる。

【0291】

本明細書に記載した超分子構築物を、標準的なFmoc / tBuアミノ酸側鎖保護を用いて独自に合成した。典型的には、ペプチドのペグ化は位置異性体の混合物をもたらす。ここでは、部分的に保護されたペプチドを用いる、 $A\beta$ のC末端およびN末端の両方に対するPEG-脂質結合物の部位特異的のための簡便な方法を示す。

【0292】

内部にLys残基またはHis残基を含むそのようなペプチド配列 (1~16、1~16 Δ 14、22~35) に対して、直交的に保護されたLys (ivDde) を各末端に付加した。合成を促進するために、追加的なGlyをC末端に加えた。Fmoc基をDMF中の20% ピペリジンによって除去し、無水酢酸を用いてN-アセチル化した。ivDde基の選択的な切断は、DMF中の3% ヒドラジン水和物を用いて1時間かけて行った。2-クロロトリチル樹脂を、より広く用いられているWang樹脂よりも好都合としたが、これは前者の方がヒドラジン分解に対する抵抗性ははるかに高いことが実証されているためである。さらに、2-クロロトリチル樹脂はWang樹脂とは異なり、極めて酸感受性が高いため、保護ペプチドの単離を可能とする。実際に、カップリング反応は液相中で行う必要があったが、これは樹脂に結合したペプチドの、前もって活性化されたPEG化脂質試薬DSPE-PEG-SPAに対するカップリングが、いかなるカップリング産物も生じさせなかったためである。このようにして、穏和な条件 (酢酸 / トリフルオロエタノール / ジクロロメタン、1:1:8、1時間、室温) 下での樹脂からの選択的な切断により、内部が保護されたペプチドが得られた。

【0293】

DMSO中のDSPE-PEG-SPA、および過剰な塩基に対する、配列 $A\beta_{1-16}$ (SEQ ID NO: 2) に由来するペプチドの液相カップリングは首尾よく達成された。続いて、過剰なエタノールアミンを2時間にわたり添加することによって反応を停止させ、溶液を凍結乾燥させた。

【0294】

配列29~40については、特別な保護戦略は必要でない。

【0295】

HPLC (半調製逆相 C_4 カラム) による精製により、MALDI (マトリックス支援レーザー脱離イオン化) によって実体を確認された、純度が50~70%の、N末端およびC末端のPEG-脂質結合物が得られた。各配列はカップリング反応の容易さの点で大きな差異を示したため、それに応じて条件 (温度、DSPE-PEG-SPAのモル当量、時間) を調整した。所望の生成物からの過剰なDSPE-PEG-SPAの分離のために、HPLC精製を適用した。最終的な側鎖脱保護の前に、陽イオン交換クロマトグラフィーを用いて、モノカップリング産物とジカップリング産物の分離を行うことができる。その後のペプチド側鎖脱保護におよび過剰な失活DSPE-PEG-SPAの分離により、許容される純度を有する所望の結合物の単離がもたらされる。

【0296】

保護されたペプチドを用いるN-およびC末端脂質-PEG β -アミロイド抗原の合成のためのこのアプローチは、多岐にわたるペプチド配列に対して適用可能である。

【0297】

実施例3：超分子抗原構築物によって誘発された抗体

3.1 パルミトイル化 $A\beta_{1-15}$ 超分子抗原構築物に対して産生されるmAbの製造：

パルミトイル化抗原（ACI-24、 $A\beta_{1-15}$ ）を、C57BL/6マウスにおける2週間間隔での免疫処置のために用いた。10~12匹の動物に対して各抗原による免疫処置を行った（注入容積：8nmoleのペプチドを含む200 μ l）。最後の注射は動物の屠殺の4日前に行った。5回の追加免疫処置の後に、治療的力価を有するマウス（血清の1：5,000希釈物がELISAで陽性である場合）を融合のために選択した。脾細胞を免疫処置した動物から採取し、感作された脾細胞を骨髓腫細胞株と融合させることによってハイブリドーマを作製する。マウスの脾細胞からのBリンパ球の融合は、Kohler and Milstein (Nature 256: 495-497 (1975)) およびHarlow and Lane (Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1988)) の公知のプロセスを用いて、マウスSP2-O骨髓腫細胞 (ATCC, Manassas, VA) などの細胞株との間で行った。

10

【0298】

ポリエチレングリコールの添加によって、細胞が融合するように誘導する。その結果得られたハイブリッド細胞を、続いて、クローン増殖を可能にする従来の様式で、 10 ± 14 日にわたって培養する。初期クローン選択は限界希釈を用いて行った。IgGを産生するハイブリドーマクローンを選択して、 $A\beta_{1-42}$ ペプチドに対する特異的結合に関してELISAにより検討し、その結果得られた、所望のモノクローナル抗体を産生するクローンを培養した。

20

【0299】

そのようにして得られたハイブリドーマは、細胞を、ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジン（HAT）を含む選択培地にプレーティングすることによって化学的に選択される。

【0300】

その後、アミロイドに関連した特定の疾患または障害に対するモノクローナル抗体を産生する能力に関して、ハイブリドーマをスクリーニングする。ひとたび母親クローンが同定されたところで、モノクローン性であることを確かめるために4回サブクローニングを行い、ハイブリッドを安定化させた。

30

【0301】

関心対象の抗体を産生するハイブリドーマをクローン化し、増殖させ、凍結保存して将来の生産用とする。

【0302】

市販のマウスモノクローナルアイソタイプ判定キットによって抗体のアイソタイプを判定し、安定したクローンを無血清培地に適応させた上で、抗体生産のためのバイオリアクターに入れた。

【0303】

好ましいハイブリドーマは、IgGアイソタイプ、より好ましくはIgG1アイソタイプを有するモノクローナル抗体を産生する。

40

【0304】

3.2 PEG- $A\beta_{1-16}$ 、 $A\beta_{4-11}$ 、 $A\beta_{22-35}$ および $A\beta_{29-40}$ 超分子抗原構築物に対して産生されるmAbの製造

リポソーム抗原を、記載された通りに調製した (Nicolau et al., 2002, PNAS, 99, 23 32-37)。配列PEG- $A\beta_{1-16}$ 、 $A\beta_{4-11}$ 、 $A\beta_{22-35}$ および $A\beta_{29-40}$ (図1) を、モノホスホリルリピドA (40mg / mMリン脂質) を含む、ジミリストイルホスファチジルコリン (DMP C)、ジミリストイルホスファチジルエタノールアミン (DMPEA)、ジミリストイルホスファチジルグリセロール (DMPG) およびコレステロール (モル比0.9 : 0.1 : 0.1 : 0.7) で

50

きたリボソームからなる構築物中に再構成した。これらの抗原およびペグ化 $A\beta_{1-16}$ を、2週間間隔でのC57BL/6マウスの免疫処置に用いた。10～12匹の動物に対して各抗原による免疫処置を行った。3～6回の追加免疫処置の後に、治療的力価を有するマウス（血清の1：5,000希釈物がELISAで陽性である場合）を融合のために選択した。脾細胞を免疫処置した動物から採取し、感作された脾細胞を骨髓腫細胞株と融合させることによってハイブリドーマを作製する。マウスの脾細胞からのBリンパ球の融合は、Kohler and Milstein (Nature 256: 495-497 (1975)) およびHarlow and Lane (Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1988)) の公知のプロセスを用いて、マウスSP2-O骨髓腫細胞 (ATCC, Manassas, VA) などの細胞株との間で行った。

【0305】

ポリエチレングリコールの添加によって、細胞が融合するように誘導する。その結果得られたハイブリッド細胞を、続いて従来の様式で、例えば限界希釈を用いてクローン化する。IgGを産生するハイブリドーマクローンを選択して、 $A\beta_{1-42}$ ペプチドに対する特異的結合に関してELISAにより検討し、その結果得られた、所望のモノクローナル抗体を産生するクローンを培養した。

【0306】

そのようにして得られたハイブリドーマは、細胞を、ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジン (HAT) を含む選択培地にプレATINGすることによって化学的に選択される。

【0307】

その後、アミロイドに関連した特定の疾患または障害に対するモノクローナル抗体を産生する能力に関して、ハイブリドーマをスクリーニングする。関心対象の抗体を産生するハイブリドーマをクローン化し、増殖させ、凍結保存して将来の生産用とする。好ましいハイブリドーマは、IgGアイソタイプ、より好ましくはIgG1アイソタイプを有するモノクローナル抗体を産生する。

【0308】

実施例4：抗体mACI-24-Ab4に関する特異性の決定

抗体mACI-24-Ab4の特異性を分析するために、種々の濃度の前もって形成されたアミロイド1～42、1～40および1～38原線維を、Hybond ECLニトロセルロース膜 (Amersham Biosciences) に対してプロットした。10%粉乳および0.7% Tween 20でブロックした後に、膜を20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の一次抗体と共に室温で2時間インキュベートした。洗浄後に、膜を、西洋ワサビペルオキシダーゼと結合したヒツジ抗マウスIgG抗体 (Amersham Biosciences) と共に室温で1時間インキュベートし、洗浄して、化学発光溶液と共にインキュベートした後に、膜をX線フィルムに対して露光させた。

【0309】

アミロイド β_{1-42} 線維に対するmAb mACI-24-Ab4の結合を測定するために、 $A\beta_{1-42}$ 、1～40、および1～38線維を37℃で7日間かけて前もって形成させて、膜に対してプロットした。20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の抗体を結合能の測定のために用い、結合した抗体を、西洋ワサビペルオキシダーゼと結合したヒツジ抗マウスIgG抗体による、20分間の曝露によって検出した。

【0310】

ドットプロット分析によって実証されたように、抗体mACI-24-Ab4は、前もって形成された種々の $A\beta$ 線維と、異なる感度で結合する。この抗体は、 $A\beta_{1-40}$ または $A\beta_{1-38}$ に比して、 $A\beta_{1-42}$ 線維に対して最も高い結合感受性を呈した。それは少なくとも0.001 μg の $A\beta_{1-42}$ 線維を検出することができたが、一方、 $A\beta_{1-40}$ 線維に対する抗体の検出限界は少なくとも0.1 μg 、 $A\beta_{1-38}$ 線維に対しては1 μg であり、これはこれらの種類のアミロイド線維に対する感度が100倍～1000倍低いことを意味する。これらのデータは、抗体ACI-24-Ab4が、二次コンフォメーションの変化によって不溶性となり、AD患者の脳内のアミロイド斑の主要部分であることが知られているアミロイド形態 (1～42) に対する感度が少なくとも100倍高いことを示している。

10

20

30

40

50

【0311】

実施例5：ウエスタンブロットおよびドットブロットにおける、AC Immune社のモノクローナル抗体mACI-01-Ab7 C2のアミロイド種に対する結合

マウス抗体mACI-01-Ab7 C2の結合が $A\beta$ の自然なコンフォメーションに依存するか否かを明らかにするために、ウエスタンブロットによる線状化アミロイドに対する、またはドットブロット上の天然アミロイドに対する結合の比較を行った（図2aおよび2b）。

【0312】

アミロイド単量体は、 $A\beta$ 1~42ペプチドをHFIP中に溶解させて溶媒をアルゴン下で蒸発させることによって作製した。乾燥したペプチド薄膜を使用時まで-80℃で保存した。単量体の調製のためには、ペプチド薄膜をDMSO中に再懸濁させて2.75 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ の濃度にし、PBSで希釈して1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ とした。オリゴマーの調製のためには、乾燥したペプチド薄膜をDMSO中に再懸濁させて5mMにし、超音波処理して、PBSを添加して400 μM アミロイドに到達させ、その後にSDSを添加して最終濃度0.2%とした。37℃での6時間のインキュベーションの後に、アミロイドを水で希釈して最終濃度100 μM とし、37℃でさらに18時間インキュベートした。アミロイドオリゴマーを氷冷33%メタノール、4%酢酸溶液によって4℃で1時間かけて沈降させ、16200gで10分間遠心して、ペレットを5mM $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ 、35mM NaCl pH 7.4中に再懸濁させて最終濃度1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ にした。線維の調製のためには、ペプチド薄膜をTris-HCl 50mM緩衝液中に希釈して濃度1mg/mlのアミロイドを得て、37℃で5日間インキュベートした。チューブを10000gで5分間遠心分離にかけ、ペレットを0.1M炭酸緩衝液 pH 9.6中に再懸濁させて1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ に到達させた。

【0313】

1または5 μg の単量体、オリゴマーまたは線維をPBSおよびローディング緩衝液中に希釈して12% SDS-PAGEにかけ、ゲルをニトロセルロース膜にトランスファーした。または、3または1 μg または100および10ngのアミロイド種をPBS中に希釈し、ニトロセルロース膜上に直接ドット化し、膜を室温で1時間乾燥させた。カゼイン溶液（Vector）で30分間ブロックした後に、膜を、カゼイン溶液中に1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に希釈したmACI-01-Ab7 C2または6E10（Chemicon）抗体と共に30分間インキュベートした。カゼイン溶液中で3回洗浄した後に、膜を、カゼイン溶液中に希釈したHRP標識ヤギ抗マウスIgG（Dako Cytomation）と共に室温で30分間インキュベートし、3回洗浄して、DAB基質（Dako Cytomation）で発色させた。

【0314】

モノクローナルマウス抗体mACI-01-Ab7 C2は、陽性対照抗体6E10と同じく、ドットブロットアッセイにおいて単量体、オリゴマーおよび線維と特異的に結合した。これに対して、ウエスタンブロットによれば、mACI-01-Ab7 C2抗体は、すべての線状化ペプチドを明らかに認識した6E10抗体とは異なり、線状化したアミロイド種を検出しなかった。この結果は、アミロイドに対するmACI-01-Ab7 C2の結合はアミロイドの自然なコンフォメーションに依存することを示している。

【0315】

実施例6：mACI-01Ab7 C2- $A\beta$ 1~42の相互作用

AC immune社のリード抗体mACI-01-Ab7 C2（mC2）とアミロイドペプチド $A\beta$ 1~42との間の相互作用を、表面プラズモン共鳴を用いて検討した。 $A\beta$ 1~42の単量体または線維のいずれかに対するマウス抗体mACI-01-Ab7 C2の結合を評価した。

【0316】

SPR実験はすべて、Biacore X装置（Biacore AB）にて行った。固定化のための試薬（EDC、NHSおよびエタノールアミン）、センサーチップCM5およびSA、ならびにランニング緩衝液およびサンプル緩衝液HBS-EPIは、Biacore ABから購入した。酢酸ナトリウム（10mM、pH 5.0）を、カップリング収率を高めるためのカップリング緩衝液として用いた。原線維性 $A\beta$ 1~42（BACHem）は、PBS緩衝液を $A\beta$ 1~42に最終濃度3mg/mlとして添加して、バイアルを37℃に7日間おくことによって調製した。原線維性 $A\beta$ 1~42を、表面結合したカルボキシメチルデキストラン基質を含むCM5センサーチップとカップリングさせた。ピオチ

ン化単量体 $A\beta_{1-42}$ (Bachem) は、ストレプトアビジンが共有結合したカルボキシメチルデキストラン基質からなるセンサーチップSAにカップリングさせた。典型的には、ランニング緩衝液を用いた連続希釈により、mAbの4通りまたは5通りの濃度をアッセイした。注入は最も低い濃度で開始し、fc 1および2の両方の上を流速 $30\mu\text{L}/\text{分}$ で3分間通過させた。フローセル2は誘導体化されておらず、装置のノイズおよび内部屈折性変化を補正するために、応答をfc 1から差し引いた。注入が完了した後に、表面を直ちにランニング緩衝液で5分間洗浄した。残りの結合抗体を $A\beta_{1-42}$ 原線維から除去するために、 10mM NaOH のパルスを注入することによって表面再生を実施した。BIAevaluation 3.0を用いる、数値積分およびグローバル分析のためのアルゴリズムを用いて、動態分析を行った。種々の濃度での分析物の注入に関して得られた曲線を重ね合わせ、ベースラインをゼロに調整した。曲線適合のためには、すべてのデータを1:1均一複合体に対して同時に適合させた。

【0317】

アミロイドに対するマウスmACI-01-Ab7 C2抗体の結合は比較的強いことが明らかにされた。表2に示されているように、マウス抗体mACI-01-Ab7 C2は固定化された $A\beta_{1-42}$ 線維に対して特異的に結合し、平均会合定数(k_a)は $3.8 \times 10^{-4}\text{M}/\text{s}$ 、解離定数(k_d)は $1.1 \times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ であり、その結果得られた平均KDは $3.5 \times 10^{-8}\text{M}$ であった。 $A\beta$ 単量体に対するmACI-01-Ab7 C2の会合は同程度であるか幾分速く、平均 k_a は $1.6 \times 10^{-4}\text{M}/\text{s}$ であったが、解離はより急速であり、KDは $2.5 \times 10^{-7}\text{M}$ であった。

【0318】

(表2)

	単量体			線維		
	$k_a(1/\text{Ms})$	$k_d(1/\text{s})$	KD (M)	$k_a(1/\text{Ms})$	$k_d(1/\text{s})$	KD (M)
mACI-01-Ab7 C2 実験1	1.8E+04	2.7E-03	1.5E-07	2.4E+04	9.9E-04	4.1E-08
mACI-01-Ab7 C2 実験2	1.5E+04	5.3E-03	3.5E-07	5.60E+04	9.66E-04	1.73E-08
mACI-01-Ab7 C2 実験3				3.26E+04	1.49E-03	4.58E-08
平均 mACI-01- Ab7 C2	1.6E+04 ± 0.21	4.0E-03 1.84	2.5E-07 1.41	3.8E+04 1.66	1.1E-03 0.3	3.5E-08 1.53

【0319】

実施例7：アミロイド線維に対するmACI-01-Ab7 C2モノクローナル抗体の結合

前もって形成された線維に対する分子結合部を分析するために、ネガティブコントラスト透過型電子顕微鏡検査(TEM)を行った(図3aおよび3b)。

【0320】

抗体mACI-01-Ab7 C2を、^{4,5}に従って8nmコロイド金とカップリングさせた。アミロイド1~42($A\beta_{1-42}$)線維の共インキュベーションのためには、 $6.65\mu\text{M}$ 線維を金標識した抗体と共にモル比1:100で室温で24時間インキュベートした。その後5 μl の試料を、パーロジウム/Cフィルムで覆って新たにグロー放電させたCuグリッド(メッシュ200)と45秒間インキュベートし、水で3回、新たに希釈して濾過した2%酢酸ウラニルで1回洗浄した。試料を2%酢酸ウラニル中で15~20秒間かけて染色した。グリッド上の過剰な染色剤を吸引し、その結果として風乾させた。各試料について3つのグリッドを調製した。グリッ

ドは透過型電子顕微鏡Hitachi 7000で分析した。

【0321】

モノクローナル抗体mACI-01-Ab7 C2は $A\beta_{1-42}$ 線維と直接結合した。興味深いことに、この抗体は単一線維の軸に対する対称性結合を示さず、線維網の側枝の、すべての領域ではなく、特定の領域に結合した。抗体標的の特異的領域が側枝内部にあるように思われた。考えられる説明は、この特定の側枝のみに存在する特定の二次構造があるということである。この仮説は、抗体がコンフォメーションの転移を誘導したことを示すNMRデータによって裏づけられており、このため、その結合は β -シート構造を含むアミロイド線維のコンフォメーションに依存する可能性が高い。

【0322】

実施例8：密度勾配超遠心による分画

$A\beta_{1-42}$ 線維の重合の抑制および $A\beta_{1-42}$ 線維の脱凝集におけるモノクローナル抗体の特性を、抗体の存在下および非存在下でのインキュベーションに続いて、前もって形成された勾配でのSDS-PAGE沈降分析 (OptiPrep (商標)) を行って、結果的に生じた異なるサイズのペプチド線維を分散させるという原理に基づく、密度勾配超遠心 (Rzepecki et al., 2004) によって検討した。前もって形成された $A\beta$ 線維の集団、共インキュベートした抗体の脱凝集特性および凝集性抑制、ならびに線維に対する抗体の結合の同時分析が、この方法の明らかな利点である。

【0323】

$A\beta_{1-16}$ (mACI-01-Ab7 C2)、 $A\beta_{1-16}$ ($\Delta 14$) (mACI-02-Ab6)、 $A\beta_{1-15}$ (mACI-24-Ab4)、 $A\beta_{22-35}$ (mACI-11-Ab9)、および $A\beta_{29-40}$ (mACI-12-Ab11) に対して産生させたモノクローナル抗体はすべて脱凝集アッセイで分析し、一方、凝集性の抑制についてはモノクローナル抗体mACI-02-Ab6、mACI-24-Ab4、およびmACI-01-Ab7 C2のみで分析した。

【0324】

$A\beta_{1-42}$ 凝集の抑制に関しては、 $A\beta_{1-42}$ 単量体を、2通りのモル比のmAbと共に (単量体 $A\beta_{1-42}$ のモル比をmAbよりも30倍または100倍多くした)、 $A\beta$ 最終濃度を $50\mu\text{M}$ としてインキュベートした。37℃での24時間のインキュベーションの後に、試料をOptiprep (商標) の不連続勾配の上に重ねて乗せ、チューブを259000g、4℃で3時間遠心分離にかけた。15個の画分を収集し (各 $140\mu\text{L}$)、画分1は勾配の最上部からの最も低密度の画分とし、画分15は勾配の最下部からの最も高密度の画分とした。ペレットも採取した。収集した画分を、銀染色を用いてSDS-PAGEによって分析した。抑制アッセイのための $A\beta_{1-42}$ の濃度は脱凝集アッセイのための濃度の5倍未満であり、これはアミロイド凝集動態を低下させ、直線相での測定を保証する。

【0325】

mAbとの共インキュベーション (2通りのモル比1:30および1:100、mAb + 単量体 $A\beta_{1-42}$ 、 $A\beta$ の最終濃度 $246\mu\text{M}$) による、前もって形成された $A\beta_{1-42}$ 原線維の脱凝集に関して、試料を37℃で24時間インキュベートした。上記および以前の記載の通り (Rzepecki et al., 2004) に、24時間後に試料を超遠心によって分画し、SDS-PAGEによって分離した。

【0326】

8.1 $A\beta_{1-42}$ 凝集抑制アッセイ

mAbを添加しなければ、 $A\beta$ ペプチドは24時間のインキュベーション期間後に凝集し、タンパク質の大部分は画分13~15に認められることを示すことができたが、これは $A\beta$ ペプチド単量体の完全な重合を示している。首尾よく顕著に凝集の抑制が行われれば、より小さな線維性または重合体の可溶性アミロイド β ($A\beta$) タンパク質が生じるはずであり、それはより低密度の画分 (10~13) 中に認められるはずである。まさにバンドのこの推移を、画分11、12および13にわたる $A\beta$ ペプチドの分布を示した、mACI-01-Ab7 C2を含む凝集アッセイで示すことができた。

【0327】

このことは、mACI-01-Ab7 C2が同じく主要部バンド (最も強いバンド) の14から13への

10

20

30

40

50

推移、および画分14からペレットまでの中に泳動したバンドの顕著な可溶化を引き起こした、第2の実験で確かめられた。このことは、mACI-01-Ab7 C2がA β ペプチド単量体の線維への重合を抑制する強い能力を呈し、A β 線維（画分13中）に対する特異的結合を示したことを意味する。

【0328】

同様の観察を、抗体mACI-24-Ab4およびmACI-02-Ab6を用いた場合にも行った。mAbを添加しなければ、A β ペプチドは24時間のインキュベーション期間後に凝集し、タンパク質の大部分は画分13からペレットまでの中に認められ（ペレット、12には極めてわずかに）、このことはA β ペプチド単量体の完全な重合を示している。首尾よく顕著に凝集の抑制が行われれば、より小さな線維性または重合体の可溶性アミロイド β （A β ）タンパク質が生じるはずであり、それはより低密度の画分中に認められるはずである。この凝集抑制アッセイにおいて、mACI-24-Ab4は、主要部バンド（最も強いバンド）の13から11および12への推移、および画分13からペレットまでの中に泳動したバンドの顕著な可溶化を引き起こし、一方、mACI-02-Ab6はバンドの13から10への推移を引き起こし、加えて、より大きな線維（13からペレットまでに分画される）の形成の完全抑制も引き起こした。これらのデータは、mACI-24-Ab4およびmACI-02-Ab6が両方とも、A β ペプチド単量体の線維への重合を抑制する強い能力を呈し、A β 線維（画分11および12中）に対する特異的結合を示したことを意味する。

【0329】

これに対して、mACI-11-Ab9をモル比1：30で含む凝集アッセイでは、より大きな凝集物が画分12～15およびペレットの間に広がって認められた。モル比1：30でのmACI-12-Ab11の存在下では、凝集物は画分11～15およびペレットに認められたが、最も強いシグナルは画分11および12に認められた。このことは、mACI-01-Ab7 C2およびmACI-24-Ab4が、A β ペプチド単量体の線維への重合を抑制する最も強い能力を呈したことを意味する。mACI-12-Ab11は、mACI-01-Ab7 C2よりも抑制性が有意に弱く、この弱い抑制活性を得るために3倍高いモル比が必要であった。さらに、A β ペプチド線維の凝集を抑制することができなかったmACI-11-Ab9と比較してわずかな抑制を観察することができた。mAbはいずれもA β 線維に対する特異的結合を明らかに示した（mACI-01-Ab7 C2の場合は画分11 + 12で；mACI-11-Ab9の場合は画分12に加えて弱く13で；mACI-12-Ab11の場合は画分11および12で）。

【0330】

すべての抑制アッセイにおいて、ペプチドは下方の画分で検出された。非結合mAb（37kDa、95kDaおよび120kDa超）は、勾配の上半分（それぞれ画分3～9および4～8）に認められた。

【0331】

8.2 A β_{1-42} 線維脱凝集アッセイ

不完全な線維重合のために、A β_{1-42} 原線維のみの分布はより広範囲の画分（11～15）にわたる。このため、前もって形成された線維と共インキュベートした場合の抗体の首尾よく顕著な脱凝集特性を実証することは、凝集分析におけるよりも困難である。より低密度の側への線維の主要部の推移が見られ、それでもなおアミロイドのみの画分の範囲内にあることにより、脱凝集活性が示されると考えられる。アミロイドのみに関しては主要バンドは画分12である。モル比1：100でのmACI-01-Ab7 C2の添加は、より低密度の画分へのアミロイド線維の推移を示さなかったが（さらに画分11～15の間）、アミロイドのみの場合と比べ、画分範囲内での比較的強いシグナルは12から11に推移した。不完全な線維形成という最適ではない状況にもかかわらず、mACI-01-Ab7 C2は低いとはいえ検出可能な脱凝集活性を示している。

【0332】

これに対して、前もって形成されたA β_{1-42} 原線維のmACI-02-Ab6との共インキュベーションでは、mACI-01-Ab7 C2と同じアミロイドペプチド：抗体のモル比でインキュベートした場合に、より低密度の画分へのバンドの推移は認められなかった。3倍高いモル比である1：30を用いた場合によろしく、アミロイド線維は12～15（抗体共インキュベーション

ンを伴わないアミロイドのみ) から画分11~15に推移した。このため、mACI-01-Ab7 C2はmACI-02-Ab6よりも脱凝集特性が幾分強いように思われる。

【0333】

勾配画分の下半分にあるmAbに対応するバンドの検出により、 $A\beta_{1-42}$ 原線維に対するmACI-02-Ab6およびmACI-01-Ab7 C2の結合が示されている(いずれのmAbとも画分11~15)

。

【0334】

mACI-01-Ab7 C2の脱凝集特性は、画分13からP(ペレット)までの画分における抗体の非存在下での $A\beta_{1-42}$ 原線維の分布によって完全な線維重合を示すことができた、さらに別の実験で確かめることができた。この場合、前もって形成された線維と共にインキュベートした場合の、より低密度の画分への線維の推移は、抗体の脱凝集活性を示す。モル比1:100でのmACI-01-Ab7 C2の添加は、アミロイド線維の主要部の13から12への推移を示し、加えて、最も低密度のバンドの13から11への推移も示した。したがって、mACI-01-Ab7 C2は強い脱凝集活性も示す。

10

【0335】

勾配画分の下半分にあるmAbに対応するバンドの検出により、 $A\beta_{1-42}$ 原線維(画分11~P)に対するmACI-01-Ab7 C2の結合が示されており、一方、画分4~7中のmAbに対応するバンドは非結合抗体を示している。

【0336】

これらの結果をまとめると、アミロイド $A\beta$ ペプチドを標的とするモノクローナル抗体mACI-01-Ab7 C2が、前もって形成された線維と結合すること、および単量体 $A\beta$ ペプチドの線維へのインビトロ凝集を抑制し、前もって形成された線維を脱凝集させることができることが首尾よく実証された。

20

【0337】

同様の観察を、抗体mACI-24-Ab4を用いた場合にも行った。凝集アッセイと同様に、画分12~P(ペレット)における $A\beta_{1-42}$ 原線維のみの分布によって完全な線維重合を示すことができた。この場合、前もって形成された線維と共にインキュベートした場合の、より低密度の画分への線維の推移は、抗体の脱凝集活性を示すと考えられる。モル比1:100でのmACI-01-Ab4の添加は、アミロイド線維の主要部の12から11への推移を示した。したがって、mACI-24-Ab4は強い脱凝集活性も示す。

30

【0338】

実施例9: mAbとの共インキュベーションによる、 $A\beta_{1-42}$ フィラメントの凝集の抑制、および前もって形成された $A\beta_{1-42}$ フィラメントの脱凝集を評価するための蛍光アッセイ BIS-ANS蛍光アッセイ

mAbの抑制性を評価するために、 $A\beta_{1-42}$ フィラメントの単量体または非原線維性集団を特異的に検出する、BIS-ANS(LeVine, 2002) 蛍光アッセイを用いた。蛍光測定の前に、 $A\beta_{1-42}$ 単量体を、対照として用いるための緩衝液、またはmAb(モル比1:100、mAb対 $A\beta_{1-42}$ ペプチド)と共に37℃で14時間ブレインキュベートした。相対蛍光単位を自動記録し、結果を対照に対する変化のパーセンテージとして表した。

【0339】

mACI-02-Ab6は、対照と比較してわずかな抑制能力を示した($125.8 \pm 28.5\%$ 対 $100 \pm 29.5\%$)。mACI-01-Ab7 C2は弱い活性を有するように思われ($108.0 \pm 30.0\%$)、mAb mACI-11-Ab9およびmACI-12-Ab11を用いた場合は対照と比べて改善が観察されなかった($93.5 \pm 21.9\%$ および $73.2 \pm 47.7\%$)。この結果は、mACI-01-Ab7 C2がmACI-11-Ab9およびmACI-12-Ab11よりも大きな抑制能力を示すという超遠心データを裏づけるものである。

40

【0340】

実施例10: チオフラビンT(Th-T) 蛍光アッセイ

mAbの凝集抑制ならびに脱凝集特性の両方を測定するために、原線維性 $A\beta_{1-42}$ 分子と特異的に結合させ、その後に蛍光発光強度を溶液中に存在する $A\beta_{1-42}$ フィラメントの量と相関づけるという、チオフラビンT(Th-T) 蛍光アッセイを用いた。

50

【0341】

蛍光測定の前に、 $A\beta_{1-42}$ 単量体を、緩衝液（対照）またはmAb（モル比1:100、mAb対 $A\beta_{1-42}$ ペプチド）と共に37℃で48時間プレインキュベートした。相対蛍光単位を自動記録し、結果を対照に対する変化のパーセンテージとして表した。

【0342】

mACI-01-Ab7 C2は、対照と比較して有意な抑制能力を示した（ $11.03 \pm 20.7\%$ 対 $100 \pm 40.5\%$ ）。この結果は、mACI-01-Ab7 C2が抑制能力を示すという超遠心データを裏づけるものである。

【0343】

mAbの脱凝集特性を測定するために、原線維性 $A\beta_{1-42}$ 分子と特異的に結合させ、その後、蛍光発光強度を溶液中に存在する $A\beta_{1-42}$ フィラメントの量と相関づけるというチオフラビンT（Th-T）蛍光アッセイを用いた。蛍光測定の前に、すべての $A\beta$ 線維を7日間かけて前もって形成させ（37℃、PBS、pH 7.1中で）、その後、mAbまたは緩衝液（陰性対照）と共にモル比1:100（mAb対 $A\beta_{1-42}$ ）で24時間にわたり37℃で共インキュベートした。相対蛍光単位を自動記録し、結果を対照に対する変化のパーセンテージとして表した。

【0344】

超遠心データに一致して、mACI-01-Ab7 C2は、ThT脱凝集検査でも、2件の独立した実験において、対照をそれぞれ $35 \pm 11\%$ および $64.57 \pm 13.58\%$ （対 $100.0 \pm 15.37\%$ ）上回る脱凝集力を備えるという優れた特性を示した。

【0345】

mACI-24-Ab4はまた、Th-Tアッセイにおいて、有意な脱凝集特性も示した（ $62.99 \pm 10.34\%$ 対 $100.0 \pm 10.03\%$ ； $p < 0.0001$ ）。

【0346】

mACI-11-Ab9は幾分活性が弱く、 $28 \pm 14\%$ であり、一方、ACI-02-Ab6およびACI-12-Ab11は有意な脱凝集特性を示さなかった（それぞれ $17 \pm 12\%$ および $13 \pm 11\%$ ）。

【0347】

超遠心および蛍光アッセイをまとめると、mACI-01-Ab7 C2、mACI-01-Ab6およびmACI-24-Ab4は、遠心実験において、線維凝集を抑制し、かつ前もって形成された $A\beta_{1-42}$ -フィラメントを短縮させるという二重機能性を示し、それは蛍光アッセイによって確認することができた。加えて、遠心実験により、アミロイド線維に対するmAbの特異的結合も実証された。

【0348】

mACI-11-Ab9は、超遠心において、3倍高い濃度であってさえ、mACI-01-Ab7 C2と比べて有意に低い抑制能力を示し、これはBIS-ANSアッセイによって確かめられた。脱凝集分析については、mACI-01-Ab7 C2は遠心分析およびThTアッセイの両方において、前もって形成された $A\beta_{1-42}$ フィラメントを短縮させる特性を示した。遠心実験で3倍高い濃度としたmACI-02-Ab6も両方の実験で陽性であったが、遠心実験の方がはるかに強かった。

【0349】

以上の結果から、 $A\beta_{1-42}$ フィラメントと相互作用して、凝集抑制および前もって形成された線維の脱凝集を示すという二重機能性に関する活性を示す抗体は、mACI-01-Ab7 C2およびmACI-02-Ab6のみであることが明白である。

【0350】

実施例11：mACI-01-Ab7 C2モノクローナル抗体と ^{13}C 標識 β -アミロイド1~42ペプチドとの相互作用に関するNMRおよび蛍光による特性決定

mAbが前もって形成された線維を可溶化する、または線維形成を抑制する機序について評価するために、Th-T蛍光アッセイと、 $\text{U-}^{13}\text{C}$ Tyr10およびVal12で標識した β -アミロイド1~42ペプチドの固体NMRとの直接比較実験を行った（図4）。すなわち、この検討の目的は、モノクローナル抗体の存在下で β -アミロイドペプチドにおける β -シート転移を固体NMR分光法によって追跡し、これをTh-T蛍光アッセイによって測定した脱凝集能力と直接比較することであった。

10

20

30

40

50

【0351】

固体NMR分光法は、二次構造における転移を検出するだけでなく、構造転移を決定づける $A\beta_{1-42}$ -ペプチドのドメインの位置決定も可能にする。固体NMRは、 $A\beta_{1-42}$ 線維の構造決定に貢献していることから、この問題に適用しうることが証明されている (Petkova et al., 2004, Petkova et al., 2002)。特に、 $^{13}C_{\alpha}$ および $^{13}C_{\beta}$ の化学シフトと二次構造との相関 (Cornilescu et al., 1999, Luca et al., 2001, Iwadate et al., 1999) は、ペプチド内部の二次構造の変化を検査するための有用なツールである。

【0352】

^{13}C であらかじめ標識された12位のバリン (^{12}Val) および ^{13}C であらかじめ標識された10位のチロシン (^{10}Tyr) を含む標識ペプチドの合成は、Fmoc合成プロトコールによって行った。ペプチドの実体および純度はMALDI質量分析によって確かめた。標識された β -アミロイドペプチド (1~42) を用いて、PBS緩衝液中でペプチド溶液を37℃で1週間インキュベートすることにより、線維を形成させた。アミロイド β -ペプチドのPBS緩衝液への溶解性が乏しいという重大な問題は、以下のようにして解決することができた。すなわち、アミロイド β -ペプチドを溶解させるために微量のアンモニアを添加することにより、PBS緩衝液のpH値を一時的に上昇させる。アンモニアの揮発性を利用して、より大型のPBS水浴の存在下で試料をインキュベートすることにより、PBS緩衝液の元のpH値を再び得た。

【0353】

β -シートを破壊する抗体の作用について測定するために、NMRおよびTh-Tアッセイの両方について、線維の溶液を抗体共に37℃で24時間インキュベートした。リアルタイム比較のために、同じ溶液の一部をTh-T蛍光アッセイに用い、残りの溶液はNMR測定のために凍結乾燥させた。

【0354】

まずTh-T蛍光アッセイを用いて、前もって形成された ^{13}C 標識アミロイド β 線維との共同インキュベーションにより、mAC1-01-Ab7 C2の脱凝集能力を分析したところ、このmAbが線維を38%脱凝集させることが示された。続いてNMR分光分析を行った。

【0355】

PBS (対照) とmAbインキュベーションとの差異を調べるために、PeakFit (<http://www.systat.com/-products/PeakFit>) を用いて各スペクトルのデコンボリューションを行った。混合ローレンツ/ガウス適合手順を用いることにより、それらの線はよく合致し、その結果は図4に示されている。結果は表3にまとめられているが、最も明白な違いは、30~33 ppm周囲の2つのピークを適合させるために必要な2つの集団の積分強度である。c33ppmのピークは線維の β -シートコンフォメーションに対応し、一方、30ppmのものはランダムコイルコンフォメーションの結果である。PBS中でインキュベートした試料は、ほとんどの標識を β -シートコンフォメーションとして示し (81.7%) (図2上)、これは試料をmAC1-01-Ab7 C2と共にインキュベートすると減少する (53.5%) (図4下)。Val 12 C β の検討によって明らかにされた、ランダムコイルコンフォメーションに対する β -シートコンフォメーションの集団の減少は35%という程度であり、このため蛍光を用いて測定したものとよく一致する。

【0356】

(表3) Val 12 C β の2種のコンフォメーションに関する適合化されたパラメーターの比較

10

20

30

40

共鳴	PBS			mACI-01-Ab7-C2		
	δ (ppm)	ISO (Hz)	積分強度 (%)	δ (ppm)	ISO (Hz)	積分強度 (%)
Val C β - シート	32.60	479	81.7	33.09	366	53.5
Val C β - ランダム	30.27	200	18.3	30.27	340	46.5

10

2種のコンフォメーションに関する適合化された化学シフトは極めて類似しているが、積分強度は大きく異なり、これは元の β -シートコンフォメーションがおよそ35% (1-(53.5/81.7)) 減少したことを反映する。これは蛍光測定から得られた値と非常によく一致する。

【0357】

これらの結果をまとめると、密度勾配超遠心実験ならびにTh-T蛍光アッセイによって示されたように、アミロイドA β -ペプチドのN末端1~16領域を標的とするモノクローナル抗体mACI-01-Ab7 C2が、前もって形成された線維と結合して、単量体A β ペプチドの線維へのインビトロ凝集を抑制する共に前もって形成された線維を脱凝集させることができることを首尾よく示すことができた。加えて、前もって形成された線維に対するこの抗体の結合により、 β -シートを主体とするものから、Val12のランダムコイル二次コンフォメーション環境への転移を誘導することができた。これはモノクローナルmACI-01-Ab7 C2抗体の結合によって線維が可溶化される機序である可能性があり、同じくVal 12 C β ピークの詳細な分析からも β -シート成分の35%の減少が示されており、これは蛍光データ(38%)とよく一致する。

20

【0358】

実施例12：アミロイド線維に対するmACI-01-Ab7 C2の機能性

30

12.1 mACI-01-Ab7 C2抗体の結合後のA β 1~42線維のコンフォメーションの改変および脱凝集の開始

前もって形成された β -アミロイド(A β _{1~42})線維を抗体が脱凝集させる機序について評価するために、脱凝集を測定するチオフラビン-T(ThT)蛍光アッセイと、二次コンフォメーションを分析するU-¹³Cチロシン10およびバリン12で標識したA β 1~42ペプチドの固体核磁気共鳴(NMR)との直接比較を行った。抗体は、前もって形成されたA β 1~42線維の35.4%を可溶化し、同時に β -シートからランダムコイル状への二次コンフォメーションの推移を誘導した。ランダムコイルコンフォメーションに対する β -シートコンフォメーションの集団の減少は35%という程度であり、このため蛍光Th-Tアッセイを用いて測定したものとよく一致する。これらのデータは、抗体の結合によって二次構造の転移が惹起され、それが β -シートの平行的分子間配置の不安定化を引き起こして、伸長した線維のより小型の断片への分解に影響を及ぼす可能性を示している。

40

【0359】

12.2 mACI-01-Ab7 C2抗体のコンフォメーション依存的な結合親和性

抗体抗原結合エネルギーのある割合を抗原のコンフォメーションのエネルギー依存的な改変に利用しうることが科学文献で周知であることから⁶、A β _{1~42}タンパク質全体、および抗体エピトープを含むより小型の9アミノ酸長のペプチドに対するmACI-01-Ab7 C2抗体の結合親和性に関する比較実験を行った。この比較のために、抗体mACI-01-Ab7 C2の親和性を、mACI-01-Ab7 C2のエピトープの完全アミノ酸配列をカバーするビオチン化ペプチド(A β _{1~42}配列のアミノ酸13~21、Mimotopes社により製造、ANAWA Trading SA社より

50

購入)およびビオチン化完全Aβ_{1~42}ペプチド(Bachem)を用いるELISAによって分析した。分析は製造元(Mimotopes)の指示に従って行った。この抗体は、全Aβ_{1~42}タンパク質に対するよりも、その特定のエピトープ(Aβ_{1~42}配列のアミノ酸13~21)を含むペプチドに対して38.40%高い親和性で結合した。このため、結合親和性エネルギーの違いが、抗体相互作用のためにより許容される位置で抗原を提示するような、アミロイドタンパク質の二次コンフォメーションのエネルギー消費性転移に用いられたことが示唆された。これは、抗体の親和性が、単離されたサブユニットに対するよりも自然な状態(全アミロイドタンパク質)に対して低い理由の説明になると思われる。

【0360】

実施例13:種々のクラスのアミロイドタンパク質に対するmACI-01-Ab7 C2のコンフォメーション特異的な結合

種々の段階の重合アミロイドタンパク質、単量体および重合体の可溶性アミロイド、特にアミロイドβ(Aβ)タンパク質、ならびに原線維性アミロイドに対するmACI-01-Ab7 C2の特異性を評価するために、これらの種々の段階の重合体β-アミロイドでコーティングしたELISAを行った。単量体は⁷により発表された方法の変法に従って、ポリマー可溶性アミロイド、特にアミロイドβ(Aβ)は⁸に従って調製し、一方、線維はTris/HCl pH 7.4中に最終濃度1μg/μlとしたアミロイド(Bachem, Switzerland)の37℃での5日間のインキュベーションの後に遠心段階(10,000rpmを5分間)を行うことによって調製した。続いてアミロイドポリマーを最終濃度55μg/mlでELISAプレートにコーティングし、アルカリリン酸で標識した抗マウスIgGモノクローナル抗体(Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.)を用いる結合親和性ELISAを行った。抗体は、線維(IC₅₀=5.27nM)に対するよりも、ポリマー可溶性アミロイドβ(Aβ)タンパク質(IC₅₀=2.53nM)に対してより高い親和性で結合し、単量体に対しては最も低かった(IC₅₀=8.3nM)。これらのデータは、抗体の結合が、そのエピトープだけでなく、種々のアミロイド凝集物のコンフォメーションによっても影響されることを示している。

【0361】

実施例14:モノクローナル抗体mACI-01-Ab7 C2のエピトープマッピング

モノクローナル抗体mACI-01-Ab7 C2のエピトープマッピングを、3種の異なるペプチドライブラリーを用いるELISAによって行った。1つのライブラリーは、Aβ_{1~42}の完全アミノ酸(aa)配列をカバーする合計33種のビオチン化ペプチドを含み(Mimotopes社により製造、ANAWA Trading SA社から購入)、第2のライブラリーは、第1のペプチドライブラリーからのペプチド12(Aβのaa12~20)を用い、配列中の各アミノ酸がアラニンによって置換されたビオチン化ペプチドを含み(以下の表41を参照)、第3のライブラリーは、ビオチン化ペプチド13、14または15(Aβのaa 13~21、14~22、または15~23)を含み、それぞれの場合に最後のアミノ酸はアラニンに、またはすでにそれがアラニンであるaa 21についてはグリシンに置換されている(以下の表5)。ビオチン化完全Aβ_{1~42}ペプチドを陽性対照として用いた(Bachem)。エピトープマッピングは製造元(Mimotopes)の指示に従って行った。手短に述べると、ストレプトアビジンでコーティングしたプレート(NUNC)を、PBS中の0.1%BSAにより4℃で一晩かけてブロックした。PBS-0.05% Tween 20で洗浄した後に、PBS中の0.1% BSA、0.1%アジ化ナトリウム中に最終濃度10μMに希釈したライブラリーからの種々のペプチドにより、プレートを室温で1時間かけてコーティングした。洗浄後に、プレートを、PBS中の2% BSA、0.1%アジ化ナトリウム中に10μg/mlに希釈したmACI-01-Ab7 C2抗体またはアイソタイプ対照のマウスIgG2b抗体と共に室温で1時間インキュベートした。プレートを再び洗浄し、アルカリホスファターゼが結合したヤギ抗マウスIgGと共に室温で1時間インキュベートした。最終洗浄の後に、プレートをホスファターゼ基質(pNPP)と共にインキュベートし、ELISAプレートリーダーを用いて405nmで読み取りを行った。

【0362】

モノクローナル抗体mACI-01-Ab7 C2は、第1のペプチドライブラリーのペプチド12、13、14および15と特異的に結合することが示された。Aβ_{1~42}のこれらの4種のペプチドはA

10

20

30

40

50

$\beta_{1 \sim 42}$ の aa 12 ~ 20 (VHHQKL~~VFF~~)、13 ~ 21 (HHQKL~~VFFA~~)、14 ~ 22 (HQKL~~VFFAE~~) および 15 ~ 23 (QKL~~VFFAED~~) を含み、このことはエピトープが A β の領域 12 ~ 23 に存在することを示唆する。アラニン置換を有する第2のライブラリーは、ペプチド 12 ~ 20 (VHHQKL~~VFF~~) に対する結合のために決定的な aa を決定するために用いた。aa 16、17、19 または 20 をアラニンで置換すると mACI-01-Ab7 C2 抗体の結合は完全に失われ、このことはこれらの aa が A β に対する抗体の結合に極めて決定的であることを示している。aa 15 および 18 を置換した場合には、mACI-01-Ab7 C2 抗体の結合は一部が失われた。

【0363】

aa 14 をアラニンに置換した場合も結合はやはりほぼ完全に失われ、このことは aa 14 も結合のために非常に重要であることを示している。

【0364】

最後に、第3のライブラリーを、aa 21、22 または 23 がエピトープに対する結合のために決定的であるか否かを判定するために用いた。aa 23 をアラニンに置換すると aa 15 ~ 23 に対する抗体の結合は低下し、このことは aa 23 も結合のために重要なことを示している。aa 21 をグリシンに置換した場合には結合は一部が失われ、aa 22 をアラニンに置換した場合にはわずかに失われた。

【0365】

(表4) 第2のライブラリーに用いたペプチドの概要

p12-20	V	H	H	Q	K	L	V	F	F
A12	A	H	H	Q	K	L	V	F	F
A13	V	A	H	Q	K	L	V	F	F
A14	V	H	A	Q	K	L	V	F	F
A15	V	H	H	A	K	L	V	F	F
A16	V	H	H	Q	A	L	V	F	F
A17	V	H	H	Q	K	A	V	F	F
A18	V	H	H	Q	K	L	A	F	F
A19	V	H	H	Q	K	L	V	A	F
A20	V	H	H	Q	K	L	V	F	A

アミノ酸番号 12 13 **14** 15 **16** **17** 18 **19** **20**

結合のために重要な aa はイタリック体で表示して下線を施し、結合のために極めて決定的な aa はイタリック体および太字で表示した上で下線を施してある。

【0366】

(表5) 第3のライブラリーに用いたペプチドの概要

p13-21		H	H	Q	K	L	V	F	F	A
p13-21	G21	H	H	Q	K	L	V	F	F	G
p14-22			H	Q	K	L	V	F	F	A E
p14-22	A22		H	Q	K	L	V	F	F	A A
p15-23				Q	K	L	V	F	F	A E D
p15-23	A23			Q	K	L	V	F	F	A E A

アミノ酸番号 13 **14** 15 **16** **17** 18 **19** **20** 21 22 23

結合のために重要な aa はイタリック体で表示して下線を施してあり、結合のために極めて決定的な aa はイタリック体および太字で表示した上で下線を施してある。

【0367】

実施例15：単一トランスジェニックhAPPマウスにおける脳アミロイド負荷量に対するmACI-01-Ab7 C2による受動ワクチン接種の影響

mACI-01-Ab7 C2モノクローナル抗体が可溶性アミロイドと結合してそれを脳から排出させるインビボでの能力を評価するために、性別および年齢を一致させた6カ月齢の単一hAPPマウス⁹を、種々の用量による受動免疫処置試験のために用いた。試験終了時に、動物の脳を採取してA β 1~40およびA β 1~42に特異的なELISA (TGC, Germany) を行うことによって可溶性アミロイド負荷量を分析した。

【0368】

各群当たり8~13匹の動物に対して、200 μ l PBS中にある100、300および1000 μ gのモノクローナル抗体の注射を1週間間隔で2回行い、PBSのみの注射を対照とした。2回目の注射から1日後に、可溶性アミロイド画分の生化学的分析のために動物を屠殺した。脳ホモジネートの可溶性画分および/または脳脊髄液 (CSF) 中のヒトA β 1~40およびヒトA β 1~42の量を定量するために、市販の固相酵素免疫アッセイ (ELISA) キットを用いた (ヒトアミロイド β 40または β 42高感度ELISA、TGC, Switzerland)。ELISAは製造元のプロトコールに従って行った。手短に述べると、標準物質 (合成A β 1~40またはA β 1~42) の希釈物および試料を、タンパク質結合能のない96ウェルポリプロピレンプレート (Greiner, Germany) 中に調製した。最終濃度1000、500、250、125、62.5、31.3および15.6pg/mlの標準物質の希釈物、ならびに試料を、ELISAキットに付属の試料希釈剤中に希釈し、最終容積を60 μ lとした。アミロイドレベルがマウスの年齢と共に増加すること、および実際の評価には試料の読み取り値が標準曲線の直線部分内にある必要があることを理由として、A β 40分析のための試料は2:3に希釈し、A β 42分析のための試料は希釈しなかった。

【0369】

試料、標準物質およびブランク (50 μ l) を、抗A β 抗体でコーティングしたポリスチロールプレート (抗原のC末端を選択的に認識する捕捉用抗体) に選択的抗A β 抗体結合物 (ビオチン化検出抗体) と共に添加し、4℃で一晩インキュベートして、抗体-アミロイド抗体複合体を形成させた。翌日に、ストレプトアビジン-ペルオキシダーゼ結合物を添加し、その30分後にTMB/ペルオキシド混合物を添加して基質の発色産物への転換を起こさせ、発色強度を、450nmフィルターを付けたELISAリーダーを用いる光度測定法によって測定した。試料のA β 含量の定量は、吸光度を、合成A β 1~40またはA β 1~42を用いて作成した標準曲線と比較することによって得られた。データは、平均対照値に対する個々の変化率 (対照に対するパーセント) として表した。

【0370】

単一hAPPマウスに対して用量300 μ gのモノクローナル抗体ACI-01-Ab7 C2の2回の腹腔内注射による受動免疫処置を行った場合に、脳ホモジネート中のA β 40の総量は有意に減少し、A β 42については概ね有意でなかったが (A β 40: $-27.3 \pm 13.9\%$ 、 $p < 0.05$; A β 42: -8.6 ± 22.4 、 $p = 0.56$; 独立スチューデントT検定)、100および1,000 μ gは有意に達しなかった。100 μ gによる免疫処置は脳ホモジネート中のA β 40およびA β 42の増加を招いたが (A β 40: $32.3 \pm 36.8\%$; A β 42: $38.3 \pm 51.4\%$)、1,000 μ gによる処置はアミロイド負荷が軽減する適正な傾向を誘発し、各群当たりの動物数を増やすと有効とされる可能性があった (A β 40: $-2.2 \pm 26.0\%$; A β 42: $-9.3 \pm 15.9\%$)。これらのデータは、急性免疫処置プロトコールで、抗体mACI-01-Ab7 C2がこのマウスADモデルの脳内の可溶性A β の総量を減少させることを示している。興味深いことに、用量との関係性は一過性であるように思われるが、意味のあるデータを得るためにはより大規模な群での研究を実施しなければならない。

【0371】

実施例16：二重トランスジェニックhAPP $\times$ PS1マウスにおける斑負荷量に対するmACI-01-Ab7 C2の慢性的受動投与の影響

脳内のアミロイド斑と結合してそれを減少させるmACI-01-Ab7 C2モノクローナル抗体のインビボでの能力を評価するために、性別および年齢を一致させた3.5カ月齢の二重トラン

10

20

30

40

50

スジェニックhAPPxPSIマウス¹⁰を、4カ月間にわたる慢性的な受動免疫処置試験に用いた。試験の終了時に、チオフラビンSの結合による動物の脳の組織化学検査によってアミロイド斑を分析した。

【0372】

15匹のトランスジェニック動物に対して、PBS中の500 μ gモノクローナル抗体の毎週の注射を16回行った。15匹の動物にはPBSのみを注射して対照とした。注射はすべて腹腔内に投与した。屠殺時には、マウスに麻酔を施した上で、脳血管から血液を除去するために4の生理的血清を経心臓的に流し入れた。その後、脳を頭蓋から取り出し、冠ノ前頭面に切れ目を入れて後脳および前脳を分離した。中線矢状断を用いて前脳を左半球と右半球に均等に分けた。一方の半球は組織学検査のために4%パラホルムアルデヒドで一晩後固定した。浮動性インキュベーションのためにピブラトームによる矢状切片(40 μ m)を切り出し、0.1%アジ化ナトリウムを含むPBSによる染色時まで4で保存した。異なるレベルの5つの切片を、チオフラビンSを用いて濃密斑に関して染色した。用いたすべての動物の切片は染色に関してランダム化し、盲検下で定量した。画像は、Sony DXC-9100Pカメラを備えたLeica DMR顕微鏡を用いて収集し、Leica Q-Winソフトウェアを用いてコンピュータで解析した。顕微鏡に関する光強度および集光器の設定は、画像収集プロセスの全体を通じて一定にした。調査者による偏差を最小限に抑えるために、収集したすべての画像を同じコンピュータサブルーチンにかけた。密度スライス閾値処理を解析全体を通じて一様に適用した。チオフラビンS染色におけるアミロイド負荷量の自動定量のためには海馬台領域を選択した。

10

20

【0373】

海馬台領域における斑の総負荷量および斑の数は、二重hAPP/PS1マウスに上記の受動免疫処置を4カ月間行ったところ、有意に減少させることができた。斑負荷量については、31%という有意な減少(mACI-01-Ab7 C2: $1.11 \pm 0.21\%$ および対照: $1.61 \pm 0.35\%$; $p = 0.003$, Mann-Whitney U検定)が達成され、一方、慢性的な受動免疫処置は斑の量を19%減少させ(mACI-01-Ab7 C2: 8.73 ± 1.36 および対照: 10.78 ± 1.36 ; $p = 0.006$, Mann-Whitney U検定)、このことから、斑の可溶化は斑の破壊よりも幾分低い程度で起こったことが示された。

【0374】

実施例17: 単一トランスジェニックhAPPマウスにおける記憶能力に対するmACI-01-Ab7 C2による受動ワクチン接種の影響

30

認知機能を修正または向上させるmACI-01-Ab7 C2抗体のインビボでの能力を評価するために、性別および年齢を一致させた9カ月齢の単一hAPPマウスを受動免疫処置試験に用いた。免疫処置期間の終了時に、非空間的認知能力を新規物体認識課題(ORT)によって評価した。

【0375】

各群当たり12匹の動物に対して、200 μ l PBS中の400 μ gモノクローナル抗体の腹腔内注射を2回行い、PBSのみの注射を対照とした。2回目の注射の1日後に、認知能力を新規物体認識課題(ORT)によって試験した^{12,13}。ORTの組み入れに関しては、マウスを行動アリーナに10分間入れて、新たな未知の物体に直面させた。探査時間を記録した。3時間後に同じ動物を2回目の試験のために再びアリーナに再び入れたが、今度は以前に探索した古い物体に加えて、新たな物体にも直面させた。同じく両方の物体に対する探査時間を記録し、その結果得られる認知指数を、新たな物体に対する探査時間と総探査時間との比として算出し、対照に対する変化の比率として表した。

40

【0376】

mACI-01-Ab7 C2による受動ワクチン接種は、単一トランスジェニックADマウスにおける認知記憶能力の有意な向上をもたらした(mACI-01-Ab7 C2: $131.6 \pm 9.1\%$ および対照: $100.0 \pm 9.2\%$, $p < 0.05$; 独立スチューデントT検定、各群当たり $n = 12$)。

【0377】

寄託物:

50

ブダペスト条約の条項に基づき、以下のハイブリドーマ細胞株を、Braunschweig, Mascheroder Weg 1 B, 38124 Braunschweigにある「Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ)」に寄託した。

ハイブリドーマ株の 名称	抗体の名称	寄託日	アクセッション番号
FP 12H3	mACI-01-Ab7	2005年12月01日	DSM ACC2752
FP 12H3-C2	mACI-01-Ab7C2	2005年12月01日	DSM ACC2750
FP 12H3-G2	mACI-01-Ab7G2	2005年12月01日	DSM ACC2751
ET 7E3	mACI-02-Ab6	2005年12月08日	DSM ACC2755
EJ 7H3	mACI-24-Ab4	2005年12月08日	DSM ACC2756

10

【 0 3 7 8 】

参考文献

Bard F, Cannon C, Barbour R, Burke RL, Games D, Grajeda H, Guido T, Hu K, Huang J, Johnson-Wood K, Khan K, Kholodenko D, Lee M, Lieberburg I, Motter R, Nguyen M, Soriano F, Vasquez N, Weiss K, Welch B, Seubert P, Schenk D, Yednock T. (2000). Nature Med. 6, 916-919.

Barghorn S, Nimmrich V, Striebinger A, Krantz C, Keller P, Janson B, Bahr M, Schmidt M, Bitner RS, Harlan J, Barlow E, Ebert U, Hillen H (2005) Globular amyloid beta-peptide oligomer - a homogenous and stable neuropathological protein in Alzheimer's disease. J Neurochem 95:834-847.

10

Baschong W, Wrigley NG (1990) Small colloidal gold conjugated to Fab fragments or to immunoglobulin G as high-resolution labels for electron microscopy: a technical overview. J Electron Microscop Tech 14:313-323.

Blond and Goldberg, 1987, PNAS March 1, 1987 Vol. 84 | no. 5 | 1147-1151

Cornilescu G, Delaglio F, Bax A. (1999) J.Biomol.NMR; 13: 289-302.

Burdick, D. *et al.* Assembly and aggregation properties of synthetic Alzheimer's A4/beta amyloid peptide analogs. *J. Biol. Chem.* **267**, 546-554 (1992).

20

DeMattos, Bales, KR, Cummins, DJ, Dodart, JC, Paul, SM, Holtzman, D.M (2001). Proc Natl Acad Sci U S A 98, 8850-8855.

Dewachter I, Van DJ, Smeijers L, Gilis M, Kuiperi C, Laenen I, Caluwaerts N, Moechars D, Checler F, Vanderstichele H, Van LF (2000) Aging increased amyloid peptide and caused amyloid plaques in brain of old APP/V717I transgenic mice by a different mechanism than mutant presenilin1. J Neurosci 20:6452-6458.

30

Dewachter I, Reverse D, Caluwaerts N, Ris L, Kuiperi C, Van den HC, Spittaels K, Umans L, Serneels L, Thiry E, Moechars D, Mercken M, Godaux E, Van Leuven F (2002) Neuronal deficiency of presenilin 1 inhibits amyloid plaque formation and corrects hippocampal long-term potentiation but not a cognitive defect of amyloid precursor protein [V717I] transgenic mice. J Neurosci 22:3445-3453.

Glennner and Wong, Biochem Biophys Res Comm 129, 885-890 (1984)

Harlow and Lane (Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1988))

40

Heneka MT, Sastre M, Dumitrescu-Ozimek L, Dewachter I, Walter J, Klockgether T, Van LF (2005) Focal glial activation coincides with increased BACE1 activation and

precedes amyloid plaque deposition in APP[V717I] transgenic mice. *J Neuroinflammation* 2:22.

Hodgson et al., *Bio/Technology*, 9:421 (1991)

Iwadata M, Asakura T, Williamson MP. (1999) *J.Biomol.NMR*; 13: 199-211.

Kirschner,D.A., Abraham,C., & Selkoe,D.J. X-ray diffraction from intraneuronal paired helical filaments and extraneuronal amyloid fibers in Alzheimer disease indicates cross-beta conformation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **83**, 503-507 (1986). 10

Khaw, B. A. et al. *J. Nucl. Med.* 23:1011-1019 (1982)

Kennedy, J. H., et al.,1976 (*Clin. Chim. Acta* 70:1-31)

Klein WL (2002) Abeta toxicity in Alzheimer's disease: globular oligomers (ADDLs) as new vaccine and drug targets. *Neurochem Int* 41(5):345-352.

Kohler and Milstein (*Nature* 256: 495-497 (1975))

LeVine, H. III, (2002). *Arch Biochem Biophys* 404, 106-115.

Luca et al., 2001 20

McGeer et al., 1994

Moechars D, Dewachter I, Lorent K, Reverse D, Baekelandt V, Naidu A, Tesseur I, Spittaels K, Haute CV, Checler F, Godaux E, Cordell B, Van LF (1999) Early phenotypic changes in transgenic mice that overexpress different mutants of amyloid precursor protein in brain. *J Biol Chem* 274:6483-6492.

Nelson,R. & Eisenberg,D. Recent atomic models of amyloid fibril structure. *Curr. Opin. Struct. Biol.*(2006). 30

Nicolau, C., Greferath, R., Balaban, T. S., Lazarte, J. E., and Hopkins, R. J. (2002). *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 2332-2337.

Queen et al., *Proc. Natl Acad Sci USA*, 86:10029-10032 (1989)

Pearson W.R. (1990), *Methods in Enzymology* 183, 63-98

Petkova AT, Buntkowsky G, Dyda F, Leapman RD, Yau WM, Tycko R. *J.Mol.Biol.* 2004; 335: 247-260.

Petkova AT, Ishii Y, Balbach JJ, Antzutkin ON, Leapman RD, Delaglio F, Tycko R. (2002) *Proc.Nat..Acad.Sci.U.S.A*; 99: 16742-16747. 40

Rousseaux et al. *Methods Enzymology*, 121:663-69, Academic Press, 1986

Rzepecki, P., Nagel-Steger, L., Feuerstein, S., Linne, U., Molt, O., Zadmard, R., Aschermann, K., Wehner, M., Schrader,T. and Riesner, D. (2004). *J Biol Chem* 279, 47497-47505.

Sambrook et al. loc. cit.

Schenk D, Barbour R, Dunn W, Gordon G, Grajeda H, Guido T, Hu K, Huang J, Smith, S. O., and Bormann, B. J. (1995). Proc Natl Acad Sci U S A 92, 488-491.

Schenk et al., 1999

Schurs, A. H. W. M., et al. 1977 (Clin. Chim Acta 81:1-40

Slot JW, Geuze HJ (1985) A new method of preparing gold probes for multiple-labeling cytochemistry. Eur J Cell Biol 38:87-93.

Smith and Waterman, Advances in Applied Mathematics 2 (1981), 482-489

10

Van dA, I, Wera S, Van LF, Henderson ST (2005) A ketogenic diet reduces amyloid beta 40 and 42 in a mouse model of Alzheimer's disease. Nutr Metab (Lond) 2:28.

Wagner et al (2002) Journal of Liposome Research Vol 12(3), pp 259 – 270

Ye, J., Dave, U. P., Grishin, N. V., Goldstein, J. L., and Brown, M. S. (2000). Proc Natl Acad Sci U S A 97, 5123-5128.

Zrein et al. (1998), Cinincal and Diagnostic Laboratory Immunology, 5(1): 45-49.

Experimental Eye Research 78 (2004) 243-256

20

WO 2004/058258

WO96/1359

WO96/29605

出願人又は代理人の 書類番号 L3017 PCT BS	国際出願番号 新規PCT出願
--------------------------------	-------------------

寄託された微生物又はその他の生物材料に関する表示
(PCT規則13の2)

A. 以下に示される表示は、明細書中 46 頁、21行に 言及されている寄託微生物又はその他の生物材料に関するものである。	
B. 寄託の表示 他の寄託が別紙に記載されている ☐	
寄託機関の名称 DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH	
寄託機関のあて名（郵便番号及び国名を含む） Mascheroder Weg 1 b 38124 Braunschweig DE	
寄託の日付 2005年12月1日 (01/12/2005)	受託番号 DSM ACC2750
C. 追加の表示（該当しない場合には記載しない） この情報は別紙に続いている ☐	
出願人はEPC規則28（4）を利用する。	
D. この表示を行うための指定国（全ての指定国について行わない場合）	
EP	
E. 追加事項の表示の届出（該当しない場合には記載しない）	
下記の表示は後に国際事務局に提出する予定である。（例えば「受託番号」のように表示事項を明記する）	

受理官庁記入欄	国際事務局記入欄
☐ この用紙は国際出願とともに受理した	☐ この用紙が国際事務局に受理された日
権限のある職員	2006 年 12 月 23 日
	権限のある職員
	PETER WIMMER

出願人又は代理人の 書類番号 L3017 PCT BS	国際出願番号 新規PCT出願
--------------------------------	-------------------

寄託された微生物又はその他の生物材料に関する表示
(PCT規則13の2)

A. 以下に示される表示は、明細書中 46 頁、21行に 言及されている寄託微生物又はその他の生物材料に関するものである。	
B. 寄託の表示 他の寄託が別紙に記載されている ☐	
寄託機関の名称 DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH	
寄託機関のあて名（郵便番号及び国名を含む） Mascheroder Weg 1 b 38124 Braunschweig DE	
寄託の日付 2005年12月1日 (01/12/2005)	受託番号 DSM ACC2751
C. 追加の表示（該当しない場合には記載しない） この情報は別紙に続いている ☐	
出願人はEPC規則28（4）を利用する。	
D. この表示を行うための指定国（全ての指定国について行わない場合）	
EP	
E. 追加事項の表示の届出（該当しない場合には記載しない）	
下記の表示は後に国際事務局に提出する予定である。（例えば「受託番号」のように表示事項を明記する）	

受理官庁記入欄	国際事務局記入欄
☐ この用紙は国際出願とともに受理した	☐ この用紙が国際事務局に受理された日
権限のある職員	2006 年 12 月 23 日
	権限のある職員
	PETER WIMMER

出願人又は代理人の 書類番号 L3017 PCT BS	国際出願番号 新規PCT出願
--------------------------------	-------------------

寄託された微生物又はその他の生物材料に関する表示
(PCT規則13の2)

A. 以下に示される表示は、明細書中 46 頁、21 行に 言及されている寄託微生物又はその他の生物材料に関するものである。		10
B. 寄託の表示 他の寄託が別紙に記載されている ☐		
寄託機関の名称 DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH		
寄託機関のあて名（郵便番号及び国名を含む） Mascheroder Weg 1 b 38124 Braunschweig DE		
寄託の日付 2005年12月1日 (01/12/2005)	受託番号 DSM ACC2752	20
C. 追加の表示（該当しない場合には記載しない） この情報は別紙に続いている ☐		
出願人はEPC規則28（4）を利用する。		
D. この表示を行うための指定国（全ての指定国について行わない場合）		
EP		30
E. 追加事項の表示の届出（該当しない場合には記載しない）		
下記の表示は後に国際事務局に提出する予定である。（例えば「受託番号」のように表示事項を明記する）		

受理官庁記入欄 ☐ この用紙は国際出願とともに受理した 権限のある職員	国際事務局記入欄 ☐ この用紙が国際事務局に受理された日 2006 年 12 月 23 日 権限のある職員 PETER WIMMER
---	--

出願人又は代理人の 書類番号 L3017 PCT BS	国際出願番号 新規PCT出願
--------------------------------	-------------------

寄託された微生物又はその他の生物材料に関する表示
(PCT規則13の2)

A. 以下に示される表示は、明細書中 47 頁、11 行に 言及されている寄託微生物又はその他の生物材料に関するものである。	
B. 寄託の表示 他の寄託が別紙に記載されている ☐	
寄託機関の名称 DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH	
寄託機関のあて名（郵便番号及び国名を含む） Mascheroder Weg 1 b 38124 Braunschweig DE	
寄託の日付 2005年12月8日 (08/12/2005)	受託番号 DSM ACC2755
C. 追加の表示（該当しない場合には記載しない） この情報は別紙に続いている ☐	
出願人はEPC規則28（4）を利用する。	
D. この表示を行うための指定国（全ての指定国について行わない場合）	
EP	
E. 追加事項の表示の届出（該当しない場合には記載しない）	
下記の表示は後に国際事務局に提出する予定である。（例えば「受託番号」のように表示事項を明記する）	

受理官庁記入欄 ☐ この用紙は国際出願とともに受理した 権限のある職員	国際事務局記入欄 ☐ この用紙が国際事務局に受理された日 2006 年 12 月 23 日 権限のある職員 PETER WIMMER
---	--

出願人又は代理人の 書類番号 L3017 PCT BS	国際出願番号 新規PCT出願
--------------------------------	-------------------

寄託された微生物又はその他の生物材料に関する表示
(PCT規則13の2)

A. 以下に示される表示は、明細書中 47 頁、23行に 言及されている寄託微生物又はその他の生物材料に関するものである。	
B. 寄託の表示 他の寄託が別紙に記載されている ☐	
寄託機関の名称 DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH	
寄託機関のあて名（郵便番号及び国名を含む） Mascheroder Weg 1 b 38124 Braunschweig DE	
寄託の日付 2005年12月8日 (08/12/2005)	受託番号 DSM ACC2756
C. 追加の表示（該当しない場合には記載しない） この情報は別紙に続いている ☐	
出願人はEPC規則28（4）を利用する。	
D. この表示を行うための指定国（全ての指定国について行わない場合）	
EP	
E. 追加事項の表示の届出（該当しない場合には記載しない）	
下記の表示は後に国際事務局に提出する予定である。（例えば「受託番号」のように表示事項を明記する）	

受理官庁記入欄	国際事務局記入欄
☐ この用紙は国際出願とともに受理した	☐ この用紙が国際事務局に受理された日
	2006 年 12 月 23 日
権限のある職員	権限のある職員
	PETER WIMMER

【 図 1 】

$A\beta_{1-15}$ (ACI-24)

H_2N -Lys-Lys-Asp(OtBu)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Arg(Pbf)-His(Trt)-Asp(OtBu)-Ser(tBu)-Gly-Tyr(tBu)-Glu(OtBu)-Val-His(Trt)-His(Trt)-Gln(Trt)-Lys-Lys-OH

$A\beta_{1-16}$ (ACI-01)

Ac-Lys-Asp(OtBu)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Arg(Pbf)-His(Trt)-Asp(OtBu)-Ser(tBu)-Gly-Tyr(tBu)-Glu(OtBu)-Val-His(Trt)-His(Trt)-Gln(Trt)-Lys(Boc)-Lys-Gly-OH

$A\beta_{1-16(614)}$ (ACI-02)

Ac-Lys-Asp(OtBu)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Arg(Pbf)-His(Trt)-Asp(OtBu)-Ser(tBu)-Gly-Tyr(tBu)-Glu(OtBu)-Val-His(Trt)-Gln(Trt)-Lys(Boc)-Lys-Gly-OH

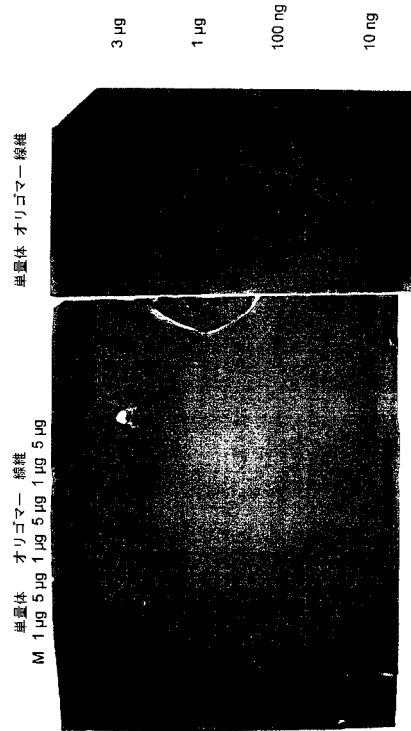
$A\beta_{22-35}$ (ACI-11)

Ac-Lys-Glu(OtBu)-Asp(OtBu)-Val-Gly-Ser(tBu)-Asn(Trt)-Lys(Boc)-Gly-Ala-Ile-Ile-Gly-Leu-Met-Lys-Gly-OH

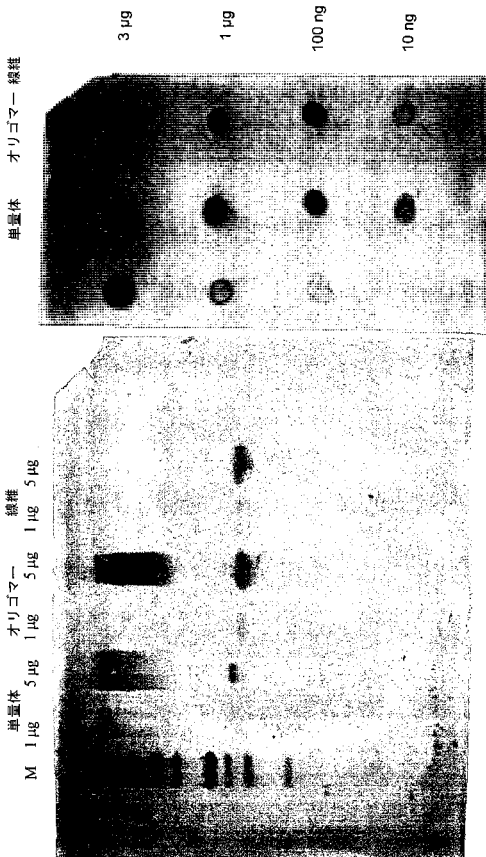
$A\beta_{29-40}$ (ACI-12)

Ac-Lys-Gly-Ala-Ile-Ile-Gly-Leu-Met-Val-Gly-Gly-Val-Val-Lys-Gly-OH

【 図 2 a 】



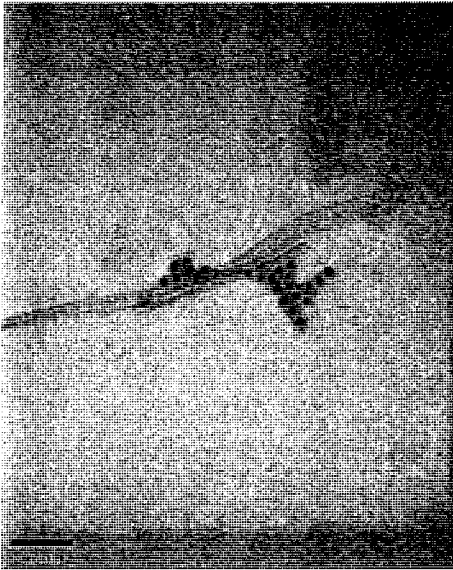
【 図 2 b 】



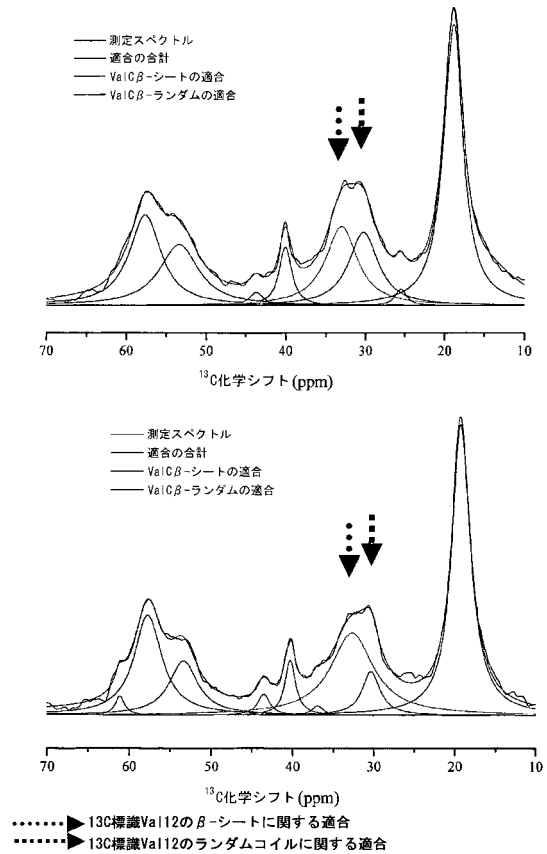
【 図 3 a 】



【図 3 b】



【図 4】



【配列表】

2017153480000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成29年4月27日(2017.4.27)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

任意の機能的に等価な抗体またはその機能的部分を含むモノクローナル抗体であって、アミロイド単量体ペプチド、特にβ-アミロイド単量体ペプチド、例えばAβ単量体ペプチド1~39; 1~40、1~41、1~42、または1~43、とりわけAβ_{1~42}単量体ペプチドなどとの共インキュベーションにより、Aβ単量体の高分子重合体原線維への凝集を抑制する、抗体。

フロントページの続き

(51) Int.Cl.			F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	31/13	(2006.01)	A 6 1 K	31/13	4 C 0 8 6	
A 6 1 K	31/185	(2006.01)	A 6 1 K	31/185	4 C 2 0 6	
A 6 1 K	31/27	(2006.01)	A 6 1 K	31/27	4 H 0 4 5	
A 6 1 K	31/445	(2006.01)	A 6 1 K	31/445		
A 6 1 K	31/455	(2006.01)	A 6 1 K	31/455		
A 6 1 K	31/473	(2006.01)	A 6 1 K	31/473		
A 6 1 K	31/55	(2006.01)	A 6 1 K	31/55		
A 6 1 K	31/5513	(2006.01)	A 6 1 K	31/5513		
A 6 1 K	38/02	(2006.01)	A 6 1 K	38/02		
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00		
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10		
A 6 1 P	7/04	(2006.01)	A 6 1 P	7/04		
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10		
A 6 1 P	21/00	(2006.01)	A 6 1 P	21/00		
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00		
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	25/16		
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28		
A 6 1 P	27/02	(2006.01)	A 6 1 P	27/02		
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5	
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	G 0 1 N	33/53	D	

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(72)発明者 グレフラツ ルツ

ドイツ国 ケール アム ツェゲルホフ 2

(72)発明者 ヒックマン デビッド

スイス連邦共和国 ラ トル ド トルメ シテ セント . ミヒャエル 1 2

(72)発明者 ムス アンドレア

スイス連邦共和国 ブリー アフェヌ デ セリシエルス 3 9 ベー

(72)発明者 ファイファー アンドレア

スイス連邦共和国 セント - レギエール ルテ ド フェニル 1 6 アー

(72)発明者 ニコラ クラウド

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ニュートン グリーンウッド ストリート 1 6 6

F ターム(参考) 4B063 QA07 QA19 QQ03 QQ79 QR48 QS33 QX02

4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 DA01 DA13

4B065 AA90X AB04 BA08 CA25 CA44 CA46

4C084 AA02 AA19 BA44 DC50 MA02 MA05 ZA012 ZA021 ZA151 ZA161

ZA162 ZA331 ZA361 ZA531 ZA941 ZB112 ZB211 ZB212 ZB261 ZC202

ZC35 ZC412 ZC521

4C085 AA14 AA15 AA16 BB41 BB43 CC23 EE01 EE03 GG01 GG02

GG03 GG04 GG08 GG10

4C086 AA01 BC19 BC21 CB11 CB22 DA23 MA02 MA03 MA04 MA05

NA05 ZA02 ZA15 ZA16 ZA33 ZA36 ZA53 ZA94 ZB21 ZB26

专利名称(译)	具有治疗特性的β1-42特异性单克隆抗体		
公开(公告)号	JP2017153480A	公开(公告)日	2017-09-07
申请号	JP2017069675	申请日	2017-03-31
[标]申请(专利权)人(译)	AC免疫有限公司		
申请(专利权)人(译)	应用细胞免疫兴业ANONYME		
[标]发明人	グレフラツルツ ヒックマンデビッド ムスアンドレア ファイファーアンドレア ニコラクラウド		
发明人	グレフラツ ルツ ヒックマン デビッド ムス アンドレア ファイファー アンドレア ニコラ クラウド		
IPC分类号	C12N15/09 C12P21/08 C12N5/16 C12Q1/02 C07K16/18 A61K31/13 A61K31/185 A61K31/27 A61K31/445 A61K31/455 A61K31/473 A61K31/55 A61K31/5513 A61K38/02 A61K45/00 A61K39/395 A61P3/10 A61P7/04 A61P9/10 A61P21/00 A61P25/00 A61P25/16 A61P25/28 A61P27/02 A61P35/00 A61P43/00 G01N33/53		
CPC分类号	A61K39/3955 A61K2039/505 A61P3/10 A61P21/00 A61P21/02 A61P25/00 A61P25/16 A61P25/28 A61P27/02 A61P35/00 C07K16/18 G01N2333/4709 A61K2300/00		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12P21/08 C12N5/16 C12Q1/02 C07K16/18 A61K31/13 A61K31/185 A61K31/27 A61K31/445 A61K31/455 A61K31/473 A61K31/55 A61K31/5513 A61K38/02 A61K45/00 A61K39/395.N A61P3/10 A61P7/04 A61P9/10 A61P21/00 A61P25/00 A61P25/16 A61P25/28 A61P27/02 A61P35/00 A61P43/00.105 G01N33/53.D C07K16/18.ZNA C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N15/06.100		
F-TERM分类号	4B063/QA07 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ79 4B063/QR48 4B063/QS33 4B063/QX02 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA90X 4B065/AB04 4B065/BA08 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA19 4C084/BA44 4C084/DC50 4C084/MA02 4C084/MA05 4C084/ZA012 4C084/ZA021 4C084/ZA151 4C084/ZA161 4C084/ZA162 4C084/ZA331 4C084/ZA361 4C084/ZA531 4C084/ZA941 4C084/ZB112 4C084/ZB211 4C084/ZB212 4C084/ZB261 4C084/ZC202 4C084/ZC35 4C084/ZC412 4C084/ZC521 4C085/AA14 4C085/AA15 4C085/AA16 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/EE03 4C085/GG01 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG08 4C085/GG10 4C086/AA01 4C086/BC19 4C086/BC21 4C086/CB11 4C086/CB22 4C086/DA23 4C086/MA02 4C086/MA03 4C086/MA04 4C086/MA05 4C086/NA05 4C086/ZA02 4C086/ZA15 4C086/ZA16 4C086/ZA33 4C086/ZA36 4C086/ZA53 4C086/ZA94 4C086/ZB21 4C086/ZB26 4C086/ZC35 4C086/ZC52 4C206/AA01 4C206/FA29 4C206/HA24 4C206/JA08 4C206/KA01 4C206/KA09 4C206/MA02 4C206/MA03 4C206/MA04 4C206/MA05 4C206/NA05 4C206/ZA02 4C206/ZA15 4C206/ZA16 4C206/ZA33 4C206/ZA36 4C206/ZA53 4C206/ZA94 4C206/ZB21 4C206/ZB26 4C206/ZC35 4C206/ZC52 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA15 4H045/BA16 4H045/BA17 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	清水初衷 小林智彦 井上隆一 正人大关		
优先权	2005027092 2005-12-12 EP		

外部リンク

Espacenet

摘要(译)

A的与淀粉样蛋白相关，如阿尔茨海默氏病，包括淀粉样变性，一组病症和异常，在疾病和病症治疗的治疗的相关联或由淀粉样蛋白或淀粉状蛋白样蛋白，或使他们的以及用于诊断用途的方法和组合物。 种类代码：A1包含高度特异性和高效抗体的新方法和组合物，其具有特异性识别和结合来自一系列β-淀粉样蛋白的特定表位的能力。点域4

