

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5730020号
(P5730020)

(45) 発行日 平成27年6月3日(2015.6.3)

(24) 登録日 平成27年4月17日(2015.4.17)

(51) Int.Cl.

F I

C O 7 K 16/46 (2006.01)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)
C 1 2 P 21/08 (2006.01)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)

C O 7 K 16/46 Z N A
C 1 2 N 15/00 A
C 1 2 N 5/00 1 O 2
C 1 2 P 21/08
A 6 1 K 39/395 N

請求項の数 61 (全 128 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2010-540936 (P2010-540936)
(86) (22) 出願日 平成20年12月29日(2008.12.29)
(65) 公表番号 特表2011-510913 (P2011-510913A)
(43) 公表日 平成23年4月7日(2011.4.7)
(86) 国際出願番号 PCT/US2008/088493
(87) 国際公開番号 W02009/086539
(87) 国際公開日 平成21年7月9日(2009.7.9)
審査請求日 平成23年12月28日(2011.12.28)
(31) 優先権主張番号 61/007,544
(32) 優先日 平成19年12月28日(2007.12.28)
(33) 優先権主張国 米国(US)
(31) 優先権主張番号 61/095,932
(32) 優先日 平成20年9月10日(2008.9.10)
(33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 513007996
ネオトープ バイオサイエンス リミ
テッド
アイルランド国 ダブリン 1, ノース
ウォール キー 25-28
(73) 特許権者 510149507
ユニバーシティ オブ テネシー リサー
チ ファウンデーション
アメリカ合衆国テネシー州37996, ノ
ックスビル, ヘンリー・ストリート 6
00, ユーティ・コンファレンス・セン
ター, スイート 211
(74) 代理人 100078282
弁理士 山本 秀策

微生物の受託番号 ATCC PTA-9662

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アミロイドーシスの処置および予防

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

抗体2A4(ATCCアクセション番号PTA-9662)のヒト化もしくはキメラバージョンまたは抗体7D8(ATCCアクセション番号PTA-9468)のヒト化もしくはキメラバージョンである、キメラ抗体もしくはヒト化抗体またはその抗原結合断片であって、

該抗体の該ヒト化バージョンは、第一の種の抗体2A4または抗体7D8のいずれかの軽鎖相補性決定領域および重鎖相補性決定領域、ならびに、第二の種の抗体2A4または抗体7D8のいずれかの軽鎖フレームワーク領域、軽鎖定常領域、重鎖フレームワーク領域、および、重鎖定常領域を有し、

該抗体の該キメラバージョンは、第一の種の抗体2A4または抗体7D8のいずれかの軽鎖可変領域および重鎖可変領域、ならびに、第二の種の抗体2A4または抗体7D8のいずれかの軽鎖定常領域および重鎖定常領域を有する、キメラ抗体もしくはヒト化抗体またはその抗原結合断片。

【請求項2】

抗体2A4の前記ヒト化もしくはキメラバージョンは、配列番号152の残基20~131として示される2A4軽鎖可変領域の3つの相補性決定領域を含む軽鎖可変領域を含み、抗体7D8の前記ヒト化もしくはキメラバージョンは、配列番号153の残基20~131として示される7D8軽鎖可変領域の3つの相補性決定領域を含む軽鎖可変領域を含む、請求項1に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 3】

Y および F によってそれぞれ占有される L 8 7 および L 9 0 (K a b a t ナンバリング規則) から成る群より選択される少なくとも 1 つの軽鎖フレームワーク残基を含み、ここで前記軽鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、請求項 2 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 4】

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

10

【請求項 5】

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

【請求項 6】

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

【請求項 7】

前記ヒトサブグループ 2 軽鎖可変領域がヒト生殖細胞系 V K I I A 1 9 / A 3 からである、請求項 6 に記載の抗体または抗原結合断片。

20

【請求項 8】

ヒト生殖細胞系 V K I I A 1 9 / A 3 からのものである前記ヒトサブグループ 2 軽鎖可変領域が配列番号 1 6 6 または 1 6 7 として示される配列を含む、請求項 7 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 9】

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

30

【請求項 10】

抗体 2 A 4 の前記ヒト化もしくはキメラバージョン、または抗体 7 D 8 の前記ヒト化もしくはキメラバージョンは、番号 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 として示される重鎖可変領域の 3 つの相補性決定領域を含む重鎖可変領域を含む、請求項 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 11】

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

40

【請求項 12】

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

【請求項 13】

R、K、K、I、A、F、Q、S、M、N、M、V、または A によってそれぞれ占有され

50

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

【請求項 1 4】

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

10

【請求項 1 5】

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

【請求項 1 6】

前記ヒトアクセプタ免疫グロブリン重鎖可変領域がヒトガンマサブグループ 3 重鎖可変領域 (K a b a t 規則) である、請求項 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

20

【請求項 1 7】

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

【請求項 1 8】

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

【請求項 1 9】

抗体 2 A 4 の前記ヒト化もしくはキメラバージョンは、配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 2 A 4 軽鎖可変領域の 3 つの相補性決定領域を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 として示される重鎖可変領域の 3 つの相補性決定領域を含む重鎖可変領域を含み、抗体 7 D 8 の前記ヒト化もしくはキメラバージョンは、配列番号 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 7 D 8 軽鎖可変領域の 3 つの相補性決定領域を含む軽鎖可変領域、および配列番号 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 として示される重鎖可変領域の 3 つの相補性決定領域を含む重鎖可変領域を含む、請求項 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

30

【請求項 2 0】

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

40

【請求項 2 1】

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

【請求項 2 2】

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

50

【請求項 2 3】

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

【請求項 2 4】

前記軽鎖可変領域が配列番号 1 5 7 として示されるアミノ酸配列を含み、前記重鎖可変領域が配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む、請求項 2 3 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 2 5】

AA アミロイドーシスまたは AL アミロイドーシスを有する被験体を治療的に処置するための組成物であって、該組成物は、有効投薬量の請求項 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合断片を含み、該組成物は、該被験体に投与されて、それによって該被験体の AA アミロイドーシスまたは AL アミロイドーシスを処置することを特徴とする、組成物。

【請求項 2 6】

前記被験体がヒトである、請求項 2 5 に記載の組成物。

【請求項 2 7】

AA アミロイドーシスまたは AL アミロイドーシスに罹りやすい被験体における予防のための組成物であって、該組成物は、有効投薬量の請求項 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合断片を含み、該組成物は、該被験体に投与されて、それによって該被験体の AA アミロイドーシスまたは AL アミロイドーシスの予防を達成することを特徴とする、組成物。

【請求項 2 8】

前記被験体がヒトである、請求項 2 7 に記載の組成物。

【請求項 2 9】

被験体において AA アミロイドーシスまたは AL アミロイドーシスを処置するための組成物であって、該組成物は、抗体 2 A 4 (ATCC アクセション番号 PTA - 9 6 6 2) のヒト化バージョンもしくはキメラバージョン、または抗体 7 D 8 (ATCC アクセション番号 PTA - 9 4 6 8) のヒト化バージョンもしくはキメラバージョンである、該アミロイドーシスを処置するための抗体または抗原結合断片を含み、

該抗体の該ヒト化バージョンは、第一の種の抗体 2 A 4 または抗体 7 D 8 のいずれかの軽鎖相補性決定領域および重鎖相補性決定領域、ならびに、第二の種の抗体 2 A 4 または抗体 7 D 8 のいずれかの軽鎖フレームワーク領域、軽鎖定常領域、重鎖フレームワーク領域、および、重鎖定常領域を有し、

該抗体の該キメラバージョンは、第一の種の抗体 2 A 4 または抗体 7 D 8 のいずれかの軽鎖可変領域および重鎖可変領域、ならびに、第二の種の抗体 2 A 4 または抗体 7 D 8 のいずれかの軽鎖定常領域および重鎖定常領域を有する、
組成物。

【請求項 3 0】

前記被験体がヒトである、請求項 2 9 に記載の組成物。

【請求項 3 1】

ヒト被験体において AA アミロイドーシスまたは AL アミロイドーシスを予防するための組成物であって、該組成物は、抗体 2 A 4 (ATCC アクセション番号 PTA - 9 6 6 2) のヒト化バージョンもしくはキメラバージョン、または抗体 7 D 8 (ATCC アクセション番号 PTA - 9 4 6 8) のヒト化バージョンもしくはキメラバージョンである、該アミロイドーシスを処置するための抗体または抗原結合断片を含み、

該抗体の該ヒト化バージョンは、第一の種の抗体 2 A 4 または抗体 7 D 8 のいずれかの軽鎖相補性決定領域および重鎖相補性決定領域、ならびに、第二の種の抗体 2 A 4 または抗体 7 D 8 のいずれかの軽鎖フレームワーク領域、軽鎖定常領域、重鎖フレームワーク領

10

20

30

40

50

域、および、重鎖定常領域を有し、

該抗体の該キメラバージョンは、第一の種の抗体 2 A 4 または抗体 7 D 8 のいずれかの軽鎖可変領域および重鎖可変領域、ならびに、第二の種の抗体 2 A 4 または抗体 7 D 8 のいずれかの軽鎖定常領域および重鎖定常領域を有する、
組成物。

【請求項 3 2】

被験体において A A アミロイドーシスに関連するアミロイド沈着物を検出するための組成物であって、該組成物は、検出可能な標識に結合されている請求項 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片を含み、該組成物は、該被験体に投与されて、該被験体において該検出可能な標識が検出されることを特徴とする、組成物。

10

【請求項 3 3】

前記被験体がヒトである、請求項 3 2 に記載の組成物。

【請求項 3 4】

前記検出可能な標識が放射性標識である、請求項 3 2 に記載の組成物。

【請求項 3 5】

前記放射性標識が^{1 2 5}I である、請求項 3 4 に記載の組成物。

【請求項 3 6】

ヒト被験体において A A アミロイドタンパク質または A L アミロイドタンパク質の凝集によって特徴付けられるアミロイド沈着物を検出するための組成物であって、該組成物は、抗体 2 A 4 (A T C C アクセション番号 P T A - 9 6 6 2) のヒト化バージョンもしくはキメラバージョン、または抗体 7 D 8 (A T C C アクセション番号 P T A - 9 4 6 8) のヒト化バージョンもしくはキメラバージョンである抗体または抗原結合断片を含み、該抗体または該抗原結合断片は、検出可能な標識に結合しており、

20

該抗体の該ヒト化バージョンは、第一の種の抗体 2 A 4 または抗体 7 D 8 のいずれかの軽鎖相補性決定領域および重鎖相補性決定領域、ならびに、第二の種の抗体 2 A 4 または抗体 7 D 8 のいずれかの軽鎖フレームワーク領域、軽鎖定常領域、重鎖フレームワーク領域、および、重鎖定常領域を有し、

該抗体の該キメラバージョンは、第一の種の抗体 2 A 4 または抗体 7 D 8 のいずれかの軽鎖可変領域および重鎖可変領域、ならびに、第二の種の抗体 2 A 4 または抗体 7 D 8 のいずれかの軽鎖定常領域および重鎖定常領域を有する、
組成物。

30

【請求項 3 7】

前記検出可能な標識が放射性標識である、請求項 3 6 に記載の組成物。

【請求項 3 8】

前記放射性標識が^{1 2 5}I である、請求項 3 7 に記載の組成物。

【請求項 3 9】

抗体または抗原結合断片を作製する方法であって、該方法は、請求項 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合断片を合成するかまたは組換え発現させるステップと、該抗体を回収するステップとを包含する、方法。

【請求項 4 0】

40

ヒト被験体において A A アミロイドーシスまたは A L アミロイドーシスを処置するための組成物であって、該組成物は、配列番号 1 5 7 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域とを含む抗体または抗原結合断片を含む、組成物。

【請求項 4 1】

ヒト被験体において A A アミロイドーシスまたは A L アミロイドーシスを予防するための組成物であって、該組成物は、配列番号 1 5 7 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域とを含む抗体または抗原結合断片を含む、組成物。

【請求項 4 2】

50

ヒト被験体においてA Aアミロイドタンパク質またはA Lアミロイドタンパク質の凝集によって特徴付けられるアミロイド沈着物を検出するための組成物であって、該組成物は、配列番号157として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と配列番号163として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域とを含む抗体または抗原結合断片を含み、該抗体または該抗原結合断片は、検出可能な標識に結合している、組成物。

【請求項43】

請求項1～24のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合断片と製薬的に許容される担体とを含む、製薬組成物。

【請求項44】

抗体2A4（ATCCアクセション番号PTA-9662）のヒト化バージョンもしくはキメラバージョン、または抗体7D8（ATCCアクセション番号PTA-9468）のヒト化バージョンもしくはキメラバージョンを含むヒト化抗体もしくはキメラ抗体と、製薬的に許容される担体とを含む、製薬組成物であって、

該抗体の該ヒト化バージョンは、第一の種の抗体2A4または抗体7D8のいずれかの軽鎖相補性決定領域および重鎖相補性決定領域、ならびに、第二の種の抗体2A4または抗体7D8のいずれかの軽鎖フレームワーク領域、軽鎖定常領域、重鎖フレームワーク領域、および、重鎖定常領域を有し、

該抗体の該キメラバージョンは、第一の種の抗体2A4または抗体7D8のいずれかの軽鎖可変領域および重鎖可変領域、ならびに、第二の種の抗体2A4または抗体7D8のいずれかの軽鎖定常領域および重鎖定常領域を有する、
製薬組成物。

【請求項45】

配列番号157として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と配列番号163として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域とを含むヒト化抗体と、製薬的に許容される担体とを含む、製薬組成物。

【請求項46】

非経口投与のために調合される、請求項44または45に記載の製薬組成物。

【請求項47】

配列番号157として示されるアミノ酸配列をコードする核酸。

【請求項48】

配列番号163として示されるアミノ酸配列をコードする核酸。

【請求項49】

配列番号157として示されるアミノ酸配列をコードする核酸を含む宿主細胞。

【請求項50】

CHO細胞、HEK-293細胞、HeLa細胞、CV-1細胞、およびCOS細胞からなる群より選択される哺乳動物細胞である、請求項49に記載の宿主細胞。

【請求項51】

前記宿主細胞が、配列番号157として示されるアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変領域を発現する、請求項49に記載の宿主細胞。

【請求項52】

配列番号163として示されるアミノ酸配列をコードする核酸を含む宿主細胞。

【請求項53】

CHO細胞、HEK-293細胞、HeLa細胞、CV-1細胞、およびCOS細胞からなる群より選択される哺乳動物細胞である、請求項52に記載の宿主細胞。

【請求項54】

前記宿主細胞が、配列番号163として示されるアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変領域を発現する、請求項52に記載の宿主細胞。

【請求項55】

配列番号157として示されるアミノ酸配列および配列番号163として示されるアミノ酸配列をコードする少なくとも1つの核酸を含む、CHO細胞。

【請求項 5 6】

前記宿主細胞が、配列番号 1 5 7 として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域と配列番号 1 6 3 として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域とを含む抗体を発現する、請求項 5 5 に記載の C H O 細胞。

【請求項 5 7】

マウスモノクローナル抗体 2 A 4 (A T C C アクセション番号 P T A - 9 6 6 2) を発現するハイブリドーマ。

【請求項 5 8】

マウスモノクローナル抗体 7 D 8 (A T C C アクセション番号 P T A - 9 4 6 8) を発現するハイブリドーマ。

10

【請求項 5 9】

被験体において A A アミロイドーシスまたは A L アミロイドーシスに関連するアミロイド沈着物を検出するための組成物であって、該組成物は、検出可能な標識に結合した請求項 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合断片を含み、そして該組成物は、該被験体に投与され、該被験体において該検出可能な標識が検出されることを特徴とする、組成物。

【請求項 6 0】

A A アミロイドーシスまたは A L アミロイドーシスを有する被験体を治療的または予防的に処置するための医薬の調製のための、請求項 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合断片の使用。

20

【請求項 6 1】

A A アミロイドーシスまたは A L アミロイドーシスを有する被験体を治療的または予防的に処置するための製薬組成物であって、請求項 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合断片を含む、組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願への相互参照

優先権を、2 0 0 8 年 9 月 1 0 日に出願された米国仮出願第 6 1 / 0 9 5 , 9 3 2 号および 2 0 0 7 年 1 2 月 2 8 日に出願された米国仮出願第 6 1 / 0 0 7 , 5 4 4 号（各々は、その全体が参考として本明細書に援用される）に対して主張する。

30

【0 0 0 2】

技術分野

本発明は、免疫学および医学の技術分野に存する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

アミロイドーシスは、局所部位でまたは全身的に発生し得る、多くの「アミロイド沈着物」または「アミロイド斑」を形成するタンパク質原線維の細胞外沈着を伴うことが多い、アミロイドタンパク質の病理形態の存在を特徴とするいくつかの疾患を説明する一般用語である。これらの沈着物または斑は、各種の組織部位において直径 1 0 ~ 1 0 0 μ m の広範囲に及ぶ不溶性沈着物へと凝集する、主に天然発生型可溶性タンパク質またはペプチドから成る。沈着物は、直径約 1 0 ~ 1 5 n m である原線維の一般に側方への凝集体から成る。アミロイド原線維は、コンゴーレッド染料で染色したときに、偏光中で特徴的な青リンゴ色の複屈折を生じる。一般にこれらの沈着物の原線維組成物は、各種の形態のアミロイド疾患を識別する特徴である。

40

【0 0 0 4】

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

50

【 0 0 0 5 】

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

【 0 0 0 6 】

10

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

【 0 0 0 7 】

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

【 0 0 0 8 】

20

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

【 0 0 0 9 】

30

【表 1 - 1】

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

【表 1 - 2】

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

^a精囊外分泌タンパク質

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

【0011】

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

【0012】

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

【 0 0 1 3 】

AAアミロイドーシスは潜行性および進行性である。症状は一般に、疾患の後期に現れる。患者は、著しい器官損傷が発生するまで診断されないことが多い。AA原線維は重要器官に沈着して、器官不全に、そして続いて死に至らせる。5年生存率は45～50%である。診断後の生存期間中央値は4～8年である。末期腎疾患は、症例の40～60%で死の原因である。非特許文献4を参照。

【 0 0 1 4 】

現在、AAアミロイドーシスを含むアミロイド疾患のいずれにも、具体的なアミロイドに対する治療法は承認されていない。非特許文献4を参照。基礎または関連した疾患状態がある場合には、療法は、基礎疾患を治療することによって、アミロイド形成性タンパク質の産生を低下させることを目的としている。たとえば、AAアミロイドーシスの現在の治療方法は、基礎炎症を標的として、ApoSSAレベルを10mg/l以下に低下させることである。現在利用されている療法は、化学療法（クロラムブシル（chlorambucil）およびMTX）、免疫抑制剤（アザチオプリン）、抗炎症薬（コルヒチン）およびTNF阻害薬を含む。本発明はそれゆえ、AAアミロイドーシスの影響を予防または緩和するための治療計画に対する長年の要求を満足する。

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 1 5 】

【 特許文献 1 】 米国特許 6,875,434 号明細書

【 特許文献 2 】 米国特許 6,890,535 号明細書

【 特許文献 3 】 米国特許 6,913,745 号明細書

【 特許文献 4 】 米国特許 6,923,964 号明細書

【 特許文献 5 】 米国特許 6,936,246 号明細書

【 非特許文献 】

【 0 0 1 6 】

【 非特許文献 1 】 Tan, S. Y. and Pepys, Histopathology (1994) 25: 403-414

【 非特許文献 2 】 Harrison's Handbook of Internal Medicine, 13th Ed., Isselbacher, K. J. 5, eds, McGraw-Hill, San Francisco, 1995

【 非特許文献 3 】 Husby, G. 5, Amyloid (1994) 1, 119-137

【 非特許文献 4 】 Gilmore J. D. 5, Lancet (2001) 358: 24-9

【 発明の概要 】

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 7 】

本発明は、ヒトアミロイドAペプチドの残基70～76内のエピトープ、たとえば配列番号2の残基70～76内のエピトープまたは配列番号4、5、6、7、8、9、10、または11として示される残基を含むエピトープに特異的に結合する、単離されたヒト抗体、ヒト化抗体、もしくはキメラ抗体、またはその抗原結合断片を提供する。本発明の抗体または抗原結合断片は、ATCCアクセション番号_____によって産生された抗体2A4またはATCCアクセション番号_____によって産生された抗体7D8と、ヒトアミロイドAペプチドへの結合で競合するものを含む。本発明のさらなる抗体は、配列番号152の残基20～131または153の残基20～131として示される軽鎖可変領域および配列番号154の残基20～138として示される重鎖可変領域を有する抗体と、ヒトアミロイドAペプチドへの結合で競合する。

【 0 0 1 8 】

開示した抗体は、ATCCアクセション番号_____によって産生された抗体2A4のヒト化バージョンまたはキメラバージョン、またはATCCアクセション番号_____によっ

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

【 0 0 1 9 】

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

【 0 0 2 0 】

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

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

【0021】

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

【0022】

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

【0023】

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

10

20

30

40

50

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

【0024】

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

【0025】

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

【0026】

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

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

【 0 0 2 7 】

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

【 0 0 2 8 】

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

10

20

30

40

50

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

【0029】

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

10

20

30

40

50

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

【 0 0 3 0 】

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

【 0 0 3 1 】

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

【 0 0 3 2 】

本発明は、ヒトアミロイド A ペプチドの残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープ、たとえば配列番号 2 の残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープに特異的に結合するヒト抗体、ヒト化抗体、もしくはキメラ抗体、またはその抗原結合断片を使用して、A A アミロイドーシスを有する被験体を治療的に処置するまたは予防的に処置する方法をさらに提供する。A A アミロイドーシスを処置する開示した治療方法から恩恵を受け得る被験体は、関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髓炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャスルマン病から成る群より選択されるアミロイド疾患に罹患している被験体を含む。開示した予防方法から恩恵を受け得る被験体は、上述の障害のいずれかに罹りやすいまたは発症するリスクに瀕した被験体を含む。

【 0 0 3 3 】

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

10

20

30

40

50

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

【 0 0 3 4 】

開示した治療的および予防的方法は、ヒト被験体を処置するのに有用である。

【 0 0 3 5 】

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

【 0 0 3 6 】

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

【 0 0 3 7 】

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

したがって、本発明は、以下の項目を提供する：

（項目1）

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

（項目2）

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

（項目3）

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

（項目4）

ATCCアクセション番号PTA-9662によって産生された抗体2A4と、ヒトアミロイドAペプチドへの結合で競合する、項目1に記載の抗体または抗原結合断片。

（項目5）

配列番号152の残基20～131として示される軽鎖可変領域および配列番号154の残基20～138として示される重鎖可変領域を有する抗体と、ヒトアミロイドAペプチ

10

20

30

40

50

ドへの結合で競合する、項目 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 6)

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

(項目 7)

配列番号 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される軽鎖可変領域および配列番号 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 として示される重鎖可変領域を有する抗体と、ヒトアミロイド A ペプチドへの結合で競合する、項目 1 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 8)

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

10

(項目 9)

配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 2 A 4 軽鎖可変領域の 1 つ以上の相補性領域または配列番号 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 7 D 8 軽鎖可変領域の 1 つ以上の相補性領域を含む軽鎖可変領域を含む、項目 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 1 0)

配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 2 A 4 軽鎖可変領域の 3 つの相補性領域または配列番号 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示される 7 D 8 軽鎖可変領域の 3 つの相補性領域を含む軽鎖可変領域を含む、項目 9 に記載の抗体または抗原結合断片。

20

(項目 1 1)

Y および F によってそれぞれ占有される L 8 7 および L 9 0 (K a b a t ナンバリング規則) から成る群より選択される少なくとも 1 つの軽鎖フレームワーク残基を含み、ここで上記軽鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、項目 1 0 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 1 2)

T、S、L、D、Q、K、Y、L、F、および L によってそれぞれ占有される + 7、+ 1 4、+ 1 5、+ 1 7、+ 1 8、+ 5 0、+ 7 5、+ 8 8、+ 9 2、および + 1 0 9 (リニアナンバリング) から成る群より選択される少なくとも 1 つの軽鎖フレームワーク残基を含み、ここで上記軽鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、項目 1 0 に記載の抗体または抗原結合断片。

30

(項目 1 3)

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

(項目 1 4)

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

40

(項目 1 5)

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

(項目 1 6)

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

(項目 1 7)

上記軽鎖可変領域が、配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1、配列番号 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1 として示されるか、または配列番号 1 5 5、1 5 6、1 5 7、1 5 8、1 5 9、1

50

60、174、175、もしくは176として示されるアミノ酸配列を含む、項目8に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目18)

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

(項目19)

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

(項目20)

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

10

(項目21)

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

(項目22)

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

20

(項目23)

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

30

(項目24)

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

(項目25)

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

(項目26)

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

40

(項目27)

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

(項目28)

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

50

(項目 29)

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

(項目 30)

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

(項目 31)

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

(項目 32)

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

(項目 33)

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

(項目 34)

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

(項目 35)

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

(項目 36)

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

(項目 37)

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

(項目 38)

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

(項目 39)

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

(項目 40)

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

(項目 41)

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

(項目 42)

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

(項目 43)

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

10

20

30

40

50

片。

(項目 4 4)

上記エピトープが G H E D T (配列番号 3)、H E D T (配列番号 1 2)、A E D S (配列番号 1 3)、A E D T (配列番号 1 4)、H E D A (配列番号 1 5)、および T E D E (配列番号 1 6) から成る群より選択されるアミノ酸配列から成る、項目 3 6 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 4 5)

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

(項目 4 6)

約 10^{-7} M^{-1} 未満の親和性で、単量体形の上記アミロイドタンパク質に上記抗体が結合する、項目 3 5 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 4 7)

上記アミロイドタンパク質が血清アミロイド A タンパク質 (S A A) である、項目 3 5 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 4 8)

上記アミロイドタンパク質が免疫グロブリン軽鎖タンパク質、ヒト脾島アミロイド前駆体ポリペプチド (I A P P)、ベータアミロイドペプチド、トランスサイレチン (T T R) および A p o A 1 から成る群より選択される、項目 3 5 に記載の抗体または抗原結合断片。

。

(項目 4 9)

上記アミロイドタンパク質が免疫グロブリン軽鎖タンパク質である、項目 4 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 5 0)

免疫グロブリン軽鎖タンパク質が V λ 6 W i l である、項目 4 9 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 5 1)

免疫グロブリン軽鎖タンパク質が V κ である、項目 4 9 に記載の抗体または抗原結合断片。

。

(項目 5 2)

上記アミロイドタンパク質がヒト脾島アミロイド前駆体ポリペプチド (I A P P) である、項目 4 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 5 3)

上記アミロイドタンパク質がベータアミロイドペプチドである、項目 4 8 に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目 5 4)

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

(項目 5 5)

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

(項目 5 6)

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

(項目 5 7)

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

(項目 5 8)

有効投薬量の項目 1 に記載の抗体または抗原結合断片を被験体に投与して、それにより該被験体の A A アミロイドーシスを処置するステップを含む、A A アミロイドーシスを有す

10

20

30

40

50

る該被験体を治療的に処置する方法。

(項目 5 9)

上記被験体がヒトである、項目 5 8 に記載の方法。

(項目 6 0)

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

(項目 6 1)

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

(項目 6 2)

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

(項目 6 3)

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

(項目 6 4)

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

(項目 6 5)

上記被験体がヒトである、項目 6 4 に記載の方法。

(項目 6 6)

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

(項目 6 7)

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

(項目 6 8)

項目 3 0 に記載の抗体または抗原結合断片を被験体に投与して、それによりアミロイドーシスを処置するステップを含む、アミノ酸配列 E D を含む凝集アミロイドタンパク質に関連する該アミロイドーシスに罹患している該被験体を治療的に処置する方法。

(項目 6 9)

上記被験体がヒトである、項目 6 8 に記載の方法。

(項目 7 0)

治療的に処置するステップがアミロイドーシスの進行を遅らせることを含む、項目 6 8 に記載の方法。

(項目 7 1)

治療的に処置するステップがアミロイド原線維凝集体の沈着を抑制することを含む、項目 6 8 に記載の方法。

(項目 7 2)

治療的に処置するステップがアミロイド原線維凝集体の排除を含む、項目 6 8 に記載の方法。

(項目 7 3)

上記アミロイドタンパク質が配列 A E D V (配列番号 2 3) を含み、アミロイド形成性疾患が、A A アミロイドーシス、A L アミロイドーシス、アミロイド多発性神経障害、地中海熱、マッケル - ウェルズ症候群、全身性炎症疾患に関連する反応性全身性アミロイドー

10

20

30

40

50

シス、骨髄腫またはマクログロブリン血症関連アミロイドーシス、免疫担当細胞疾患に関連するアミロイドーシス、単クローン性高ガンマグロブリン血症、不顕性疾患、および慢性炎症疾患に関連する限局性結節性アミロイドーシスである、項目 6 8 に記載の方法。

(項目 7 4)

項目 3 0 に記載の抗体または抗原結合断片を被験体に投与して、それによりアミロイドーシスを処置するステップを含む、アミノ酸配列 E D を含む凝集アミロイドタンパク質に関連する該アミロイドーシスに罹りやすい該被験体を予防的に処置する方法。

(項目 7 5)

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

10

(項目 7 6)

上記被験体がヒトである、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 7 7)

上記被験体が関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髄炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャスルマン病から成る群より選択されるアミロイド疾患に罹患するかまたは罹りやすい、項目 7 5 に記載の方法。

20

(項目 7 8)

上記検出可能な標識が放射性標識である、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 7 9)

放射性標識が ^{125}I である、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 0)

上記検出が S P E C T / C T 画像化によって実施される、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 8 1)

上記検出が N M R 分光法によって実施される、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 8 2)

検出可能な標識に結合されている項目 3 0 に記載の抗体またはその抗原結合断片を被験体に投与するステップと、該検出可能な標識を検出するステップとを含む、該被験体においてアミロイド沈着物を検出する方法。

30

(項目 8 3)

上記被験体がヒトである、項目 8 2 に記載の方法。

(項目 8 4)

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

40

(項目 8 5)

上記検出可能な標識が放射性標識である、項目 8 2 に記載の方法。

(項目 8 6)

上記放射性標識が ^{125}I である、項目 8 5 に記載の方法。

(項目 8 7)

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

(項目 8 8)

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

(項目 8 9)

50

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

(項目90)

アミロイドAペプチドの残基70～76に対する抗体を含む、免疫応答を誘導して、それにより被験体のAAアミロイドーシスの予防を達成するのに有効なアミロイドAペプチドの残基70～76に対する免疫応答を誘導する薬剤を投与するステップを含む、AAアミロイドーシスに罹りやすい該被験体を予防的に処置する方法。

【0038】

10

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

【図面の簡単な説明】

【0039】

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

【図2】ヒトSAA1およびヒトAA1の配列アラインメント。

【図3】ヒトSAA2およびヒトAA2の配列アラインメント。

【図4】ヒトSAA3およびヒトAA3の配列アラインメント。

【図5】ヒトSAA4およびヒトAA4の配列アラインメント。

20

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

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

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

【図9】マウスSAA1およびマウスAA1の配列アラインメント。

【図10】マウスSAA2およびマウスAA2の配列アラインメント。

【図11】マウスSAA3およびマウスAA3の配列アラインメント。

【図12】マウスSAA4およびマウスAA4の配列アラインメント。

【図13】マウスAA1、マウスAA2、マウスAA3、マウスAA4の配列アラインメント。

30

【図14】マウスAA1、マウスAA2、マウスAA3およびマウスAA4の最後の7残基の配列アラインメント。

【図15】マウスSAA1およびマウスSAA1の配列アラインメント。

【図16】ヒトAA1およびマウスAA1の配列アラインメント。

【図17】ヒトSAA1およびマウスSAA1断片の配列アラインメント。

【図18】ヒトSAA1アルファ、ヒトSAA1ベータ、およびヒトSAA1ガンマの配列アラインメント。

【図19】ヒトSAA2アルファおよびヒトAA2ベータの配列アラインメント。

【図20】SAAタンパク質の配列比較。2A4、8G9および7D8を産生するのに使用したペプチド領域を破線で示す。シャープイ配列の位置67と68の間に挿入した8アミノ酸を下線および矢印で示す。アラインメントはCLUSTALWによって実施。

40

【図21】Vκ軽鎖の生殖細胞系配列。

【図22】Vλ軽鎖の生殖細胞系配列。

【図23】Vλ6 Wilのアミノ酸配列。

【図24】Glu50-Asp51の位置を示すVλ6 WilのX線結晶。

【図25】Glu81-Asp82の位置を示すVλ6 WilのX線結晶。

【図26】合成Vλ6 Wil原線維へのElan mAbsの結合動態。mAb 2A4、7D8および8G9の6.6 nMにおける固定化Vλ6 Wil原線維への相互作用のBIACore測定。各相互作用について計算したKDは～1 nMであった。

50

【図27】合成Vλ6 W i l 原線維へのmAb 7D8の濃度依存性結合動態。固定化Vλ6 W i l 原線維への濃度6.6~33.3 nMにおける抗体相互作用をB I A c o r eによって測定した。

【図28】p39およびp41ペプチドの存在下でのmAb 7D8の合成Vλ6 W i l 原線維への結合動態。6.6 nMにおけるmAb 7D8の固定化Vλ6 W i l 原線維との相互作用は、1または20 μg/mLでのp39およびp41ペプチドの存在下で、B I A c o r eによって測定した。

【図29】モノクローナル抗体のALλ組織アミロイド沈着物との反応性。

【図30】ヒトALλアミロイドーマを持つマウスにおける¹²⁵I標識mAb 7D8の生体内分布。

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

【図32】プロテインA精製2A4、8G9および7D8 mAbのSDS-PAGE分析。

【図33】精製mAb sの免疫化ペプチド (p#39) および対照ペプチド (p#41) への結合。

【図34】マウスAAアミロイド抽出物 (A E F) への結合。

【図35】精製mAb sのヒト腎AAアミロイド抽出物への結合。

【図36A】マウス2A4、7D8、および8G9軽鎖および重鎖可変領域の配列 (図36A) ; ヒト化2A4/8G9および7D8軽鎖可変領域の配列 (図36B~36C) ; アクセプタフレームワークとして使用したヒト軽鎖可変領域の配列 (図36D) ; アクセプタフレームワークとして使用したヒト化2A4/7D8/8G9重鎖可変領域およびヒト重鎖可変領域の配列 (図36E)。 下線、CDR ; 二重下線、リーダー配列 ; 小文字、復帰変異。

【図36B】マウス2A4、7D8、および8G9軽鎖および重鎖可変領域の配列 (図36A) ; ヒト化2A4/8G9および7D8軽鎖可変領域の配列 (図36B~36C) ; アクセプタフレームワークとして使用したヒト軽鎖可変領域の配列 (図36D) ; アクセプタフレームワークとして使用したヒト化2A4/7D8/8G9重鎖可変領域およびヒト重鎖可変領域の配列 (図36E)。 下線、CDR ; 二重下線、リーダー配列 ; 小文字、復帰変異。

【図36C】マウス2A4、7D8、および8G9軽鎖および重鎖可変領域の配列 (図36A) ; ヒト化2A4/8G9および7D8軽鎖可変領域の配列 (図36B~36C) ; アクセプタフレームワークとして使用したヒト軽鎖可変領域の配列 (図36D) ; アクセプタフレームワークとして使用したヒト化2A4/7D8/8G9重鎖可変領域およびヒト重鎖可変領域の配列 (図36E)。 下線、CDR ; 二重下線、リーダー配列 ; 小文字、復帰変異。

【図36D】マウス2A4、7D8、および8G9軽鎖および重鎖可変領域の配列 (図36A) ; ヒト化2A4/8G9および7D8軽鎖可変領域の配列 (図36B~36C) ; アクセプタフレームワークとして使用したヒト軽鎖可変領域の配列 (図36D) ; アクセプタフレームワークとして使用したヒト化2A4/7D8/8G9重鎖可変領域およびヒト重鎖可変領域の配列 (図36E)。 下線、CDR ; 二重下線、リーダー配列 ; 小文字、復帰変異。

【図36E】マウス2A4、7D8、および8G9軽鎖および重鎖可変領域の配列 (図36A) ; ヒト化2A4/8G9および7D8軽鎖可変領域の配列 (図36B~36C) ; アクセプタフレームワークとして使用したヒト軽鎖可変領域の配列 (図36D) ; アクセプタフレームワークとして使用したヒト化2A4/7D8/8G9重鎖可変領域およびヒト重鎖可変領域の配列 (図36E)。 下線、CDR ; 二重下線、リーダー配列 ; 小文字、復帰変異。

【発明を実施するための形態】

10

20

30

40

50

【 0 0 4 0 】

発明の詳細な説明

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

【 0 0 4 1 】

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

10

【 0 0 4 2 】

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

【 0 0 4 3 】

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

20

【 0 0 4 4 】

本発明の抗体および抗原結合断片を発現する細胞も提供される。本発明は、本発明の核酸を発現する細胞をさらに提供する。

【 0 0 4 5 】

本発明は、本発明の抗体および抗原結合断片を使用してアミロイド疾患を処置する方法およびアミロイド疾患を予防する方法も含む。現在、A A アミロイドーシスおよび A L アミロイドーシスを含むアミロイド疾患のいずれにも、具体的なアミロイドに対する治療法は承認されていない。G i l l m o r e J . D . ら、L a n c e t 3 5 8 : 2 4 - 9 (2 0 0 1) を参照。基礎または関連した疾患状態がある場合には、療法は、基礎疾患を治療することによって、アミロイド形成性タンパク質の産生を低下させることを目的としている。たとえば、A A アミロイドーシスの現在の治療 ストラテジ は、基礎炎症を標的として、A p o S S A レベルを 1 0 m g / l 未満に低下させることである。現在利用されている療法は、化学療法 (クロランブシルおよび M T X)、免疫抑制剤 (アザチオプリン)、抗炎症薬 (コルヒチン) および T N F 阻害薬を含む。本発明は、アミロイドーシス、たとえば A A アミロイドーシスおよび A L アミロイドーシスを含む、いくつかのアミロイド疾患を処置するための製薬組成物および方法を提供する。一態様により、本発明は、アミロイド構成成分に対する患者の免疫応答を誘導するのに有効である薬剤を活性成分として含む製薬組成物を含む。薬剤は、アミロイドタンパク質に由来するアミノ酸配列 $X_1 E D X_2$ から成る断片を含むペプチドであることが可能である。薬剤は、 $X_1 E D X_2$ を含むエピトープに特異的に結合する抗体であることが可能である。他の実施形態において、薬剤は抗体の抗原結合断片であることが可能である。このような組成物は一般に賦形剤も含み、好ましい実施形態では、アジュバントも含み得る。さらに好ましい実施形態において、アジュバントはたとえば水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、M P L (商標)、Q S - 2 1 (S T I M U L O N (商標)) またはフロイント不完全アジュバントを含む。関連する実施形態により、このような製薬組成物は、患者における 2 つ以上のアミロイド構成成分に対して免疫応答を誘導するのに有効である複数の薬剤を含み得る。

30

40

【 0 0 4 6 】

50

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

【0047】

関連する実施形態により、本発明の製薬組成物は、これに限定されるわけではないが、以下の凝集(たとえば原線維)ペプチドまたはタンパク質: AA、AL、ATTR、ApoA1、AlyS、Age1、Acys、A β 、AB₂M、AScr、Acal、AIAAPPおよびシヌクレイン-NAC断片を含む群より選択されるものなどの、アミロイド凝集体に向けられた薬剤を含む。これらのペプチドのフルネームおよび組成は本明細書に記載する。このようなペプチドは本明細書に記載するように、当分野で周知の方法に従って作製できる。

【0048】

方法は、アミロイドタンパク質中のX₁EDX₂を含むエピトープに特異的に結合する有効投薬量の抗体を患者に投与するステップを含み、式中、X₁は、H、T、F、S、P、Aまたはこのようなアミロイドタンパク質でEDの直前に先行する任意の他のアミノ酸残基であり；式中、X₂は、T、S、E、R、I、V、F、Aまたはこのようなアミロイドタンパク質でEDの直後に続く任意の他のアミノ酸残基である。いくつかの方法において、患者は、アミノ酸配列EDを含む凝集アミロイドタンパク質に関連するアミロイドーシスに罹患している。いくつかの抗体は、このようなX₁EDX₂から成るエピトープに特異的に結合する。いくつかの抗体において、X₁は、H、T、F、S、P、またはAであり、X₂は、T、S、E、D、R、I、V、FまたはAである。いくつかのこのような抗体において、X₁がHであるとき、X₂は、TまたはAである；X₁がAであるとき、X₂は、S、T、EまたはVである；X₁がTであるとき、X₂はEである；X₁がFであるとき、X₂はDである；X₁がSであるとき、X₂は、E、FまたはAである；X₁がPであるとき、X₂は、E、IまたはFである。いくつかの抗体において、X₁がAならば、X₂はVでないという条件で、X₁は、H、T、F、S、P、またはAであり、X₂は、T、S、E、D、R、I、V、FまたはAである。いくつかの抗体において、X₁がAであるとき、X₂はS、TまたはEである。

【0049】

いくつかの抗体は、アミノ酸配列GHEDT、(配列番号3)、HEDT、(配列番号12)、AEDS、(配列番号13)、AEDT、(配列番号14)、HEDA、(配列番号15)、TEDE、(配列番号16)、FEDD、(配列番号17)、SEDE、(

配列番号 18)、A E D E、(配列番号 19)、P E D E、(配列番号 20)、P E D I、(配列番号 21)、P E D F、(配列番号 22)、A E D V、(配列番号 23)、S E D F、(配列番号 24)、または S E D A、(配列番号 25)を含むエピトープを特異的に結合する。

【0050】

いくつかの抗体は、G H E D T、(配列番号 3)、H E D T、(配列番号 12)、A E D S、(配列番号 13)、A E D T、(配列番号 14)、H E D A、(配列番号 15)、T E D E、(配列番号 16)、F E D D、(配列番号 17)、S E D E、(配列番号 18)、A E D E、(配列番号 19)、P E D E、(配列番号 20)、P E D I、(配列番号 21)、P E D F、(配列番号 22)、S E D F、(配列番号 24)、または S E D A、(配列番号 25)から成る群より選択されるアミノ酸配列を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、G H E D T、(配列番号 3)、H E D T、(配列番号 12)、A E D S、(配列番号 13)、A E D T、(配列番号 14)、H E D A、(配列番号 15)、および T E D E、(配列番号 16)から成る群より選択されるアミノ酸配列を含むペプチドに特異的に結合する。

10

【0051】

いくつかの抗体は、A A の残基 70 ~ 76 内のエピトープに特異的に結合する。いくつかの抗体は、A A の残基 71 ~ 75 内のエピトープに特異的に結合する。いくつかの抗体は、G H E D T、(配列番号 3)を含むペプチドに対して産生される。

【0052】

いくつかの抗体は、アミノ酸配列 P E D S、(配列番号 26)、P E D L、(配列番号 27)、T E D V、(配列番号 28)、A E D E、(配列番号 19)、S E D I、(配列番号 29)、および T E D T、(配列番号 30)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列 L E D G、(配列番号：31)、A E D M、(配列番号 32)、H E D S、(配列番号 33)、C E D D、(配列番号 34)、Q E D S、(配列番号 35)、R E D S、(配列番号 36)、T E D G、(配列番号 37)、Q E D R、(配列番号 38)、T E D L、(配列番号 39)、P E D N、(配列番号 40)、E E D P、(配列番号 41)、L E D L、(配列番号 42)、K E D A、(配列番号 43)、S E D C、(配列番号 44)、E E D D、(配列番号 45)、S E D K、(配列番号 46)、D E D D、(配列番号 47)、D E D G、(配列番号 48)、L E D E、(配列番号 49)、G E D A、(配列番号 50)、V E D F、(配列番号 51)、Y E D E、(配列番号 52)、I E D L、(配列番号 53)、W E D Y、(配列番号 54)、D E D W、(配列番号 55)、S E D L、(配列番号 56)、Y E D Q、(配列番号 57)、L E D W、(配列番号 58)、Y E D R、(配列番号 59)、および P E D K、(配列番号 60)を含むペプチドに特異的に結合する。

20

30

【0053】

いくつかの抗体は、アミノ酸配列 A E D V、(配列番号：23)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列 S E D F、(配列番号：24)または P E D F、(配列番号 22)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列 A E D S、(配列番号：13)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列 P E D I (配列番号 21)、A E D V、(配列番号 23)、S E D F、(配列番号 24)、S E D A、(配列番号 25)、S E D E、(配列番号 18)、A E D E、(配列番号 19)、および P E D E、(配列番号 20)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列 T E D E、(配列番号 16)を含むペプチドに結合する。

40

【0054】

いくつかの抗体は、アミノ酸配列 A E D V、(配列番号：23)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列 S E D F、(配列番号：24)または P E D F、(配列番号 22)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列 A E D S、(配列番号：13)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの

50

抗体は、アミノ酸配列 P E D I (配列番号 21)、A E D V、(配列番号 23)、S E D F、(配列番号 24)、S E D A、(配列番号 25)、S E D E、(配列番号 18)、A E D E、(配列番号 19)、および P E D E、(配列番号 20)を含むペプチドに特異的に結合する。いくつかの抗体は、アミノ酸配列 T E D E、(配列番号 16)を含むペプチドに結合する。

【0055】

上述の抗体のいずれも、アミロイドタンパク質、たとえばアミノ酸配列 E Dを含むアミロイドタンパク質の沈着を特徴とする疾患の処置または予防実施のために、上述の方法で投与することができる。いくつかの方法において、アミロイドタンパク質がアミノ酸配列 A E D V、(配列番号 23)を含む場合、抗体はアルツハイマー病または軽度認知障害の処置または予防実施のために投与されない。アミロイドタンパク質は、血清アミロイド A タンパク質、免疫グロブリン軽鎖タンパク質、たとえば V λ 6 W i l もしくは V κ 、ヒト脾臓アミロイド前駆体ポリペプチド (I A P P)、ベータアミロイドペプチド、トランスサイレチン (T T R)、または A p o A 1 のいずれでも可能である。

【0056】

場合により、患者はヒトである。場合により、抗体は、残基が配列番号 4、5、6、7、8、9、10、または 11 から成るペプチドに特異的に結合する。場合により、抗体は (配列番号 2) の残基 70 ~ 76 内のエピトープに特異的に結合する。場合により、抗体はヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体である。場合により、ヒト抗体は、ヒトアイソタイプ I g G 1、I g G 4、I g G 2 または I g G 3 である。場合により、ヒト化抗体は、ヒトアイソタイプ I g G 1、I g G 4、I g G 2 または I g G 3 のヒト化抗体である。場合により、キメラ抗体は、ヒトアイソタイプ I g G 1、I g G 4、I g G 2 または I g G 3 のキメラ抗体である。場合により、抗体はマウス抗体である。場合により、抗体はポリクローナル抗体である。場合により、抗体はモノクローナル抗体である。

【0057】

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

【0058】

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

【0059】

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

【0060】

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

【0061】

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

【 0 0 6 2 】

本発明は、A A アミロイドーシスに罹りやすい患者でのA A アミロイドーシスの予防を達成する方法をさらに提供する。方法は、A A の残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープに特異的に結合する抗体の有効投薬量を患者に投与するステップを含む。場合により、患者はヒトである。場合により、抗体は、残基が配列番号 4、5、6、7、8、9、10、または 11 から成るペプチドに特異的に結合する。場合により、抗体は（配列番号 2）の残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープに特異的に結合する。いくつかの方法において、患者は、関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髄炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャッスルマン病から成る群より選択される基礎アミロイド疾患に罹患する。

10

【 0 0 6 3 】

本発明は、A A の残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープに特異的に結合するヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体をさらに提供する。場合により、ヒト化抗体は、A A の残基 7 0 ~ 7 6 内のエピトープに特異的に結合する。場合により、ヒト化抗体はヒト化バージョン 7 D 8 抗体（A T C C アクセション番号_____）である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 7 D 2 9 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 7 D 1 9 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 7 D 4 7 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 7 D 3 9 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 7 D 6 6 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 8 G 9 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 8 G 3 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 8 G 4 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 8 G 5 1 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 8 G 2 2 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 8 G 3 0 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 8 G 4 6 抗体である。場合により、ヒト化抗体はヒト化バージョン 2 A 4 抗体（A T C C アクセション番号_____）である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 2 A 2 0 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 2 A 4 4 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 2 A 7 7 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 2 A 1 3 抗体である。場合により、ヒト化抗体は、ヒト化バージョン 2 A 1 4 抗体である。

20

30

【 0 0 6 4 】

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

40

【 0 0 6 5 】

いくつかの製薬組成物において、抗体は軽鎖および重鎖の同じ対を 2 コピー含む。いくつかの製薬組成物において、抗体は、A A のエピトープに特異的に結合する第 1 の軽鎖および重鎖の対ならびに小グリア細胞の F c 受容体に特異的に結合する第 2 の軽鎖および重鎖の対を含む 2 重特異性抗体である。いくつかの製薬組成物において、抗体の鎖は異種ポリペプチドに融合される。いくつかの製薬組成物において、担体は、非経口投与のための生理学的に許容される希釈剤である。いくつかの製薬組成物は、腹腔内に、経口的に、鼻

50

内に、皮下に、筋肉内に、局所的にまたは静脈内に投与されるのに適合される。いくつかの製薬組成物は、少なくとも6ヶ月の期間にわたって複数回の投薬量で投与されるのに適合される。いくつかの製薬組成物は、持続放出組成物として投与されるのに適合される。いくつかの製薬組成物は、AAの異なるエピトープに結合する少なくとも1つの他の抗体をさらに含む。

【0066】

本発明は、患者のAAアミロイドーシスを処置する方法を提供する。方法は、AA70~76に対する抗体を含む免疫応答を誘導するのに有効な投薬計画において、AA70~76に対する抗体を含む免疫応答を誘導するのに有効な投薬計画において、AA70~76に対する免疫応答を誘導する薬剤を投与するステップを含む。いくつかの方法において、患者はヒトである。場合により、薬剤は、AA70~76またはその少なくとも3つの隣接残基のサブ断片を含み、AAペプチドからの20未満の隣接アミノ酸を有する。場合により、薬剤は、配列番号4、5、6、7、8、9、10および11から成る群より選択される配列を有するペプチドおよびその少なくとも3つの隣接残基のサブ断片であり、AAペプチドからの20未満のアミノ酸を有する。場合により、薬剤はそのNおよびC末端にて第1および第2の異種ポリペプチドに結合される。場合により、薬剤はそのN末端において異種ポリペプチドに、そのC末端においてN末端セグメントの少なくとも1つのさらなるコピーに結合される。いくつかの方法において、異種ポリペプチドは、異種ポリペプチドに対するT細胞応答を、それによりAAに対するB細胞応答を誘導する。いくつかの方法において、ポリペプチドはAAの少なくとも1つのさらなるコピーを含む。場合により、ポリペプチドは、N末端からC末端までのAA、AAの複数のさらなるコピーおよび異種アミノ酸セグメントを含む。

【0067】

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

【0068】

本発明は、患者のAAアミロイドーシスの予防を達成する方法を提供する。方法は、AA70~76に対する抗体を含む免疫応答を誘導するのに有効な投薬計画において、AA70~76に対する抗体を含む免疫応答を誘導するのに有効な投薬計画において、AA70~76に対する免疫応答を誘導する薬剤を投与するステップを含む。いくつかの方法において、患者はヒトである。いくつかの方法において、患者は無症候性である。いくつかの方法において、患者は、関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髓炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャッスルマン病から成る群より選択される基礎アミロイド疾患に罹患する。

【0069】

予防を達成するいくつかの方法において、薬剤はAA70~76またはその少なくとも3つの隣接残基のサブ断片を含み、AAペプチドからの20未満の隣接アミノ酸を有する。場合により、薬剤は、配列番号4、5、6、7、8、9、10および11から成る群より選択される配列を有するペプチドおよびその少なくとも3つの隣接残基のサブ断片であり、AAペプチドからの20未満のアミノ酸を有する。場合により、薬剤はそのNおよび

C末端にて第1および第2の異種ポリペプチドに結合される。場合により、薬剤はそのN末端において異種ポリペプチドに、そのC末端においてN末端セグメントの少なくとも1つのさらなるコピーに結合される。いくつかの方法において、異種ポリペプチドは、異種ポリペプチドに対するT細胞応答を、それによりAAに対するB細胞応答を誘導する。いくつかの方法において、ポリペプチドはAAの少なくとも1つのさらなるコピーを含む。場合により、ポリペプチドは、N末端からC末端まで、AA、AAの複数のさらなるコピーおよび異種アミノ酸セグメントを含む。

【0070】

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

【0071】

いくつかの製薬組成物は、AAに対する免疫応答を向上させるアジュバントをさらに含む。場合により、アジュバントはミョウバンである。場合により、アジュバントはMPLである。場合により、アジュバントはQS-21である。場合により、アジュバントは不完全フロイントアジュバントである。場合により、アジュバントはGM-CSFをさらに含む。場合により、アジュバントはM-CSFである。場合により、組成物は10マイクログラムを超えるポリペプチドを含む。

【0072】

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

【0073】

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

【0074】

本発明は、AAアミロイドーシスを有する患者を処置することにおける活性について抗体をスクリーニングする方法を提供する。方法は、抗体をAAペプチドと接触させるステップと、抗体がAAに特異的に結合するか否かを決定するステップとを含み、特異的結合

は、抗体が A A アミロイドーシスの処置に活性を有するという指標を与える。

【 0 0 7 5 】

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

10

【 0 0 7 6 】

本発明は、患者のアミロイド沈着物を検出する方法を提供する。方法は、A A のアミノ酸 7 0 ~ 7 6 内のエピトープに特異的に結合する抗体を患者に投与するステップと、患者における抗体の存在を検出するステップとを含む。場合により、抗体は標識される。場合により、抗体は常磁性標識によって標識される。場合により、標識抗体は核磁気共鳴によって検出される。場合により、標識抗体は S P E C T / C T 画像化によって検出される。いくつかの方法において、抗体には、患者におけるアミロイド沈着物への結合時にクリアランス応答を誘導する能力がない。

20

【 0 0 7 7 】

本発明は、診断キットを提供する。キットは、A A の残基 7 0 ~ 7 6 を持つエピトープに特異的に結合する抗体を含む。いくつかのキットは、患者における A A のアミロイド沈着物に関連する疾患のインビボ診断または監視のための抗体の使用について説明するラベルをさらに含む。いくつかの実施形態において、キットは A A の検出での抗体またはその抗原結合断片の使用についての説明書を含む。

30

【 0 0 7 8 】

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

【 0 0 7 9 】

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

40

【 0 0 8 0 】

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

50

たはAであり、 X_2 は、T、S、またはAである。またさらなる例において、 X_1 はHであり、 H_2 はTもしくはAである；または X_1 はAであり、 X_2 はS、T、E、もしくはVであり、たとえば X_1 はAであり、 X_2 はS、T、もしくはEであり、または X_1 はTであり、 X_2 はEであり、または X_1 はFであり、 X_2 はDであり、または X_1 はSであり、 X_2 はE、F、もしくはAであり；または X_1 はPであり、 X_2 はE、I、もしくはFである。

【0081】

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

10

【0082】

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

【0083】

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

20

【0084】

X_1 ED X_2 を含むエピトープに特異的に結合する代表的な抗体は、2A4、7D8、または8G9抗体の軽鎖の少なくとも1つ、2つ、または3つの相補性決定領域(CDR)を有する抗体も含む。 X_1 ED X_2 を含むエピトープに特異的に結合する本発明の抗体は、2A4、7D8、または8G9抗体の重鎖の少なくとも1つ、2つ、または3つのCDRを有する抗体も含む。

30

【0085】

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

40

50

ternberg M. J. E. (ed.), Protein Structure Prediction, Oxford University Press, Oxford, pp. 141 - 172 を参照。

【0086】

本発明の抗体は、2A4、7D8、または8G9抗体の可変領域に由来する可変領域を有する、凝集アミロイドタンパク質中の X_1EDX_2 （式中、 X_1 および X_2 は任意のアミノ酸である）を含むエピトープに特異的に結合する抗体をさらに含む。2A4、7D8、または8G9抗体の可変領域を有する抗体も含まれる。

【0087】

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

【0088】

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

【0089】

本発明は、(a)7D8、2A4、もしくは8G9抗体軽鎖可変領域に由来する軽鎖可変領域；または(b)7D8、2A4、もしくは8G9抗体軽鎖可変領域に由来する重鎖可変領域；を含む単離抗体可変領域も提供する。7D8、2A4、もしくは8G9抗体の軽鎖または重鎖可変領域を有する単離可変領域も提供される。単離抗体可変領域は、抗体産生においても有用である。

【0090】

本発明は、(a)7D8、2A4、もしくは8G9抗体の軽鎖または重鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列；(b)軽鎖または重鎖可変領域をコードする7D8、2A4、もしくは8G9抗体のヌクレオチド配列と同一であるヌクレオチド配列；または(c)(a)もしくは(b)のヌクレオチド配列と実質的に同一、すなわち少なくとも50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、または99%同一であるヌクレオチド配列；または(d)ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件、たとえば65℃にて0.1×SSCの最終洗浄条件の下で、(a)もしくは(b)のヌクレオチド配列の相補体であるヌクレオチド配列を有する核酸に特異的にハイブリダイズする核酸；を有する抗体軽鎖可変領域または重鎖可変領域をコードする単離核酸も提供する。

【0091】

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

【0092】

本発明は、 X_1EDX_2 を含むアミロイドタンパク質の免疫原性断片を使用する、関連するアミロイドーシスの処置または予防の実施の方法も提供し、式中、 X_1 は、H、T、F、S、P、Aまたはこのようなアミロイドタンパク質でEDの直前に先行する任意の他のアミノ酸残基であり；式中、 X_2 は、T、S、E、R、I、V、F、Aまたはこのよう

10

20

30

40

50

なアミロイドタンパク質でEDの直後に続く任意の他のアミノ酸残基である。特定の理論に縛られたくはないが、 X_1EDX_2 を含むエピートプは、アミロイドタンパク質が凝集する、または原線維形成を受ける、または他の方法で原線維構造になるときに、より大型の前駆体タンパク質からの切断、または立体配座変化のどちらかによって露出され得ることが考えられる。たとえばAAアミロイドーシスの処置または予防の代表的な方法は、AA70~76断片またはその免疫原性断片の投与を含む。本発明は、凝集アミロイドタンパク質中の X_1EDX_2 と反応性である抗体を使用する、アミロイドタンパク質の沈着に関連するアミロイドーシスの処置または予防の実施の方法も提供し、式中、 X_1 は、H、T、F、S、P、Aまたはこのような凝集アミロイドタンパク質でEDの直前に先行する任意の他のアミノ酸残基であり；式中、 X_2 は、T、S、E、R、I、V、F、Aまたはこのような凝集アミロイドタンパク質でEDの直後に続く任意の他のアミノ酸残基である。好ましくは、このような抗体は、非病的アミロイドタンパク質と比較して、凝集アミロイドタンパク質と優先的に反応性である。たとえば、AA原線維に関連するAAアミロイドーシスの処置または予防の方法は、AA原線維のC末端領域（~AAの残基70~76）に特異的な抗体の投与を含み得る。抗体は、AA凝集体（たとえば原線維）の形成を妨害する、またはその脱凝集および除去を引き起こすことが可能であり、それゆえAAアミロイドーシスの処置または予防の実施を行う。

【0093】

I. 定義

「実質的同一性」という用語は、2つのペプチド配列が、デフォルトギャップ重み付けを使用してプログラムGAPまたはBESTFITなどによって最適に整列されたときに、少なくとも65パーセントの配列同一性、好ましくは少なくとも80または90パーセントの配列同一性、さらに好ましくは少なくとも95パーセントの配列同一性またはそれ以上（たとえば99パーセントの配列同一性またはそれ以上）を共有することを意味する。好ましくは、同一でない残基位置は、保存アミノ酸置換によって異なる。

【0094】

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

【0095】

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

(W) 3、期待値(E) 10、およびBLOSUM 62スコアリングマトリクスを使用する(Henikoff & Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 10915 (1989)を参照)。

【0096】

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

10

【0097】

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

【0098】

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

【0099】

20

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

【0100】

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

30

【0101】

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

【0102】

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

【0103】

「AAタンパク質」または「AAペプチド」は、単量体であるかまたは凝集しているか、可溶性であるかまたは不溶性であるかにかかわらず、血清アミロイドAタンパク質(SAA)のタンパク質分解切断によって形成されるアミロイドタンパク質Aタンパク質またはペプチドを指す。

40

【0104】

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

50

ドペプチドの例が、本明細書で提供される。

【0105】

「AA凝集体」は、AAの凝集形を指す。

【0106】

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

10

【0107】

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

【0108】

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

20

30

【0109】

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

40

【0110】

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

【0111】

50

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

【0112】

抗原結合抗体断片は、組換えDNA技法によって、またはインタクトな免疫グロブリンの酵素的もしくは化学的切断によって産生される。結合断片は、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fabc、Fv、単鎖、および単鎖抗体を含む。さらなる抗体断片およびエフェクタ機能変種は、本明細書の「抗体」という名称の節で議論される。「2重特異性」または「2官能性」免疫グロブリンまたは抗体以外に、免疫グロブリンまたは抗体は、その結合部位それぞれが同一であることが理解される。「2重特異性」または「2官能性抗体」は、2つの異なる重鎖/軽鎖対および2つの異なる結合部位を有する人工ハイブリッド抗体である。2重特異的抗体は、ハイブリドーマの融合またはFab'断片の結合を含む各種の方法によって産生できる。たとえばSongsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79: 315-321 (1990); Kostelnyら, J. Immunol. 148, 1547-1553 (1992)を参照。

【0113】

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

【0114】

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

免疫グロブリンまたは抗体からの」または「実質的に非ヒト」という句は、非ヒト生物、たとえば非ヒト哺乳動物の免疫グロブリンまたは抗体配列と少なくとも80～95%、好ましくは90～95%、さらに好ましくは96%、97%、98%、または99%同一である免疫グロブリンまたは抗体配列を有することを意味する。

【0115】

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

10

【0116】

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

【0117】

20

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

【0118】

「抗原」は、抗体が特異的に結合する実体（たとえばタンパク質（proteinaceous）実体またはペプチド）である。

【0119】

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

30

【0120】

40

本発明の代表的な抗体は、たとえば2A4、7D8、または8G9抗体によっても結合される X_1EDX_2 を含むエピトープに結合する、凝集アミロイドタンパク質中の X_1EDX_2 を含むエピトープに特異的に結合する抗体またはその断片を含む。同じエピトープを認識する抗体は、1つの抗体が別の抗体の標的抗原への結合を遮断する能力を示す簡単な免疫測定法、すなわち競合結合アッセイで同定することができる。競合結合は、試験中の免疫グロブリンが参照抗体の共通抗原、たとえば $A\beta$ への特異的結合を阻害するアッセイで決定される。多くの種類の競合結合アッセイ、たとえば：固相直接または間接放射性免疫測定法（RIA）、固相直接または間接酵素免疫測定法（EIA）、サンドイッチ競合アッセイ（Stahliら、Methods in Enzymology 9:242 (1983)を参照）；固相直接ビオチン-アビジンEIA（Kirklandら、J

50

． Immunol . 137 : 3614 (1986) を参照) ; 固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチアッセイ (Harlow and Lane , Antibodies : A Laboratory Manual , Cold Spring Harbor Press (1988) を参照) ; I - 125 標識を使用する固相直接標識 RIA (Morelら、Mol . Immunol . 25 (1) : 7 (1988) を参照) ; 固相直接ピオチン - アビジン EIA (Cheungら、Virology 176 : 546 (1990)) ; および直接標識 RIA (Moldenhauerら、Scand . J . Immunol . 32 : 77 (1990)) が公知である。通例、このようなアッセイは、固体表面に結合した精製抗原またはこれらのいずれかを持つ細胞、未標識試験免疫グロブリンおよび標識参照免疫グロブリンの使用を含む。競合的阻害は、試験免疫グロブリンの存在下で固体表面または細胞に結合された標識の量を決定することによって測定される。通常、試験免疫グロブリンは過剰に存在する。通常、競合抗体が過剰に存在するとき、競合抗体は、参照抗体の共通抗原への特異的結合を少なくとも 50 ~ 55 %、55 ~ 60 %、60 ~ 65 %、65 ~ 70 %、70 ~ 75 % またはそれ以上阻害するであろう。

【 0121 】

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

【 0122 】

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

【 0123 】

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

【 0124 】

「免疫学的」または「免疫」応答という用語は、レシピエント患者においてアミロイドペプチドに向けられた有益な体液性 (抗体媒介) および / または細胞性 (抗原特異的 T 細胞またはその分泌生成物が媒介) 応答の発生である。このような応答は、免疫原の投与によって誘導された能動応答または抗体または初回刺激を受けた T 細胞の投与によって誘導された受動応答であり得る。細胞性免疫応答は、抗原特異性 CD4⁺ T ヘルパー細胞および / または CD8⁺ 細胞毒性 T 細胞を活性化するための、クラス I またはクラス II MHC 分子と結合したポリペプチドエピトープの提示によって誘導される。応答は、単球、マクロファージ、NK 細胞、好塩基球、樹状細胞、星状細胞、ミクログリア細胞、好酸球または自然免疫の他の構成成分の活性化も含み得る。細胞媒介免疫応答の存在は、増殖アッセイ (CD4⁺ T 細胞) または CTL (細胞毒性 T リンパ球) アッセイによって決定することができる (Burke , 同上 ; Tigges , 同上を参照) 。免疫原の保護または治療効果への体液性および細胞性応答の相対的寄与は、免疫化同系動物から抗体および T 細胞を個別に単離して、第 2 の被験体における保護または治療効果を測定することによって区別することができる。

【 0125 】

「免疫原性剤」または「免疫原」は、場合によりアジュバントと併せた哺乳動物への投

与時にそれ自体に対して、免疫応答を誘導することができる。

【0126】

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

【0127】

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

10

【0128】

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

【0129】

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

【0130】

20

本発明は、凝集アミロイドタンパク質中に X_1EDX_2 を含むエピトープに特異的に結合して、 X_1EDX_2 を含むエピトープへの結合においてたとえば2A4、7D8、または8G9抗体と競合する、抗体またはその抗原結合断片を提供する。抗体間の競合は、試験中の免疫グロブリンが参照抗体の共通抗原、たとえばAAへの特異的結合を阻害するアッセイで決定される。多くの種類の競合結合アッセイ、たとえば：固相直接または間接放射性免疫測定法(RIA)、固相直接または間接酵素免疫測定法(EIA)、サンドイッチ競合アッセイ(Stahlら、Methods in Enzymology、9:242-253(1983)を参照)；固相直接ビオチン-アビジンEIA(Kirklandら、J. Immunol. 137:3614-3619(1986)を参照)；固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチアッセイ(Harlow and Lane, "Antibodies, A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Press(1988)を参照)；I-125標識を使用する固相直接標識RIA(Morelら、Molec. Immunol. 25(1):7-15(1988)を参照)；固相直接ビオチン-アビジンEIA(Cheungら、Virology、176:546-552(1990))；および直接標識RIA(Moldenhauerら、Scand. J. Immunol. 32:77-82(1990))が公知である。通例、このようなアッセイは、固体表面に結合した精製抗原または抗原を発現する細胞、未標識試験免疫グロブリンおよび標識参照免疫グロブリンの使用を含む。競合的阻害は、試験免疫グロブリンの存在下で固体表面または細胞に結合された標識の量を決定することによって測定される。通常、試験免疫グロブリンは過剰に存在する。競合アッセイによって同定された抗体(競合抗体)は、参照抗体と同じエピトープに結合する抗体および立体障害を発生させるために参照抗体によって結合されたエピトープに十分に近接した隣接エピトープに結合する抗体を含む。通常、競合抗体が過剰に存在するとき、競合抗体は、参照抗体の共通抗原への特異的結合を少なくとも50%~75%阻害するであろう。

30

40

【0131】

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

【0132】

50

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

10

【0133】

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

【0134】

II. アミロイド疾患

20

1. 概要および病原

アミロイド疾患またはアミロイドーシスは、多種多様な外部症状を有するいくつかの疾患状態を含む。これらの障害は、通常は直径が約 $10 \sim 100 \mu\text{m}$ であり、特定の臓器または組織領域に局在化する「アミロイド沈着物」または「アミロイド斑」として公知である、タンパク質原線維の異常な細胞外沈着物の存在を共通して有する。このような斑は、天然発生型可溶性タンパク質またはペプチドから主に構成される。これらの不溶性沈着物は、直径約 $10 \sim 15 \text{ nm}$ である原線維の一般に側方への凝集体から成る。アミロイド原線維は、コンゴレッド染料で染色したときに、偏光中で特徴的な青リンゴ色の複屈折を生じる。障害は、以下で議論するように、斑沈着物を形成する主な原線維構成成分に基づいて分類される。

30

【0135】

斑沈着物を形成するペプチドまたはタンパク質は、より大型の前駆体タンパク質から産生されることが多い。さらに詳細には、アミロイド原線維沈着物の病原は一般に、「異常な」前駆体タンパク質の断片へのタンパク質分解切断を包含する。これらの断片は一般に、逆平行 β プリーツシートに凝集する；しかし、家族性アミロイド多発性神経障害（変種トランスサイレチン原線維）および透析関連アミロイドーシス（ β_2 マイクログロブリン原線維）において、前駆体タンパク質のある未分解形は凝集して原線維を形成することが報告されている（Tanら、1994、同上）。

【0136】

2. 臨床的症候群

40

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

【0137】

a. AL アミロイドーシス

AL アミロイド沈着は一般に、形質細胞の悪性疾患（多発性骨髄腫）から良性単クローン性高ガンマグロブリン血症に及ぶ、B リンパ球系統のほぼすべての疾患に関連する。時

50

々、アミロイド沈着物の存在は、基礎疾患の主要な指標であり得る。

【 0 1 3 8 】

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

【 0 1 3 9 】

b . 遺伝性全身性アミロイドーシス

10

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

【 0 1 4 0 】

【表 2】

表2
遺伝性アミロイドーシス^{*}

原線維ペプチド／タンパク質	遺伝性変種	臨床症候群
トランスサイレチンおよび断片 (ATTR)	Met30、その他多数	家族性アミロイド多発性神経障害 (FAP)、(主に末梢神経)
トランスサイレチンおよび断片 (ATTR)	Thr45, Ala60, Ser84, Met111, Ile122	神経障害を伴わない、主に心臓障害
アポリポタンパク質A1 (apoA1) の N末端断片	Arg 26	家族性アミロイド多発性神経障害 (FAP)、(主に末梢神経)
アポリポタンパク質A1 (apoA1) の N末端断片	Arg26, Arg50, Arg 60、その他	オステルターク型、非神経障害性 (主に内臓障害)
リゾチーム (Alys)	Thr56, His67	オステルターク型、非神経障害性 (主に内臓障害)
フィブログゲン α 鎖断片	Leu554, Val 526	オステルターク型、非神経障害性 (主に内臓障害)
ゲルソリン断片 (Agel)	Asn187, Tyr187	格子状角膜ジストロフィを伴う脳神経障害
シスタチンC断片	Glu68	遺伝性脳出血(脳アミロイド血管症)ーアイランド型
アミロイド前駆体タンパク質 (APP) に由来する β -アミロイドタンパク質 (A β)	Gln693	遺伝性脳出血(脳アミロイド血管症)ーオランダ型
アミロイド前駆体タンパク質 (APP) に由来する β -アミロイドタンパク質 (A β)	Ile717, Phe717, Gly717	家族性アルツハイマー病
アミロイド前駆体タンパク質 (APP) に由来する β -アミロイドタンパク質 (A β)	Asn670, Leu671	家族性認知症ーおそらくアルツハイマー病
PrP前駆体タンパク質51~91インサートに由来するプリオンタンパク質 (PrP)	Leu102, Val167, Asn178, Lys200	家族性クロイツフェルトーヤコブ病 ; ゲルストマンーストロイスラーーシャインカー症候群 (遺伝性海綿状脳症、プリオン病)
血清アミロイドAタンパク質に由来するAA (ApoSSA)		家族性地中海熱、主に腎障害 (常染色体劣性)
血清アミロイドAタンパク質に由来するAA (ApoSSA)		マックルーウェルズ症候群、腎症、難聴、蕁麻疹、四肢の疼痛
不明		持続的心房停止を伴う心筋症
不明		皮膚沈着物 (水疱、丘疹、皮膚膿疱)

^{*} Tan & Pepys, 1994, 同上から得たデータ。

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

【 0 1 4 1 】

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

10

20

30

40

50

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

【0142】

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

10

【0143】

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

20

【0144】

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

30

【0145】

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

40

【0146】

ゲルソリンは、アクチンフィラメントに結合して、アクチンフィラメントを断片化するカルシウム結合タンパク質である。タンパク質の位置187における変異（たとえばAsp → Asn; Asp → Tyr）は、オランダまたは日本出身の人々と同様に、フィンランドからの患者に通常見出される、遺伝性全身性アミロイドーシスの形態を引き起こす。罹患した個人において、ゲルソリン断片から形成された原線維（Age1）は通常、アミノ

50

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

【0147】

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

【0148】

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

【0149】

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

【0150】

c. 老人性全身性アミロイドーシス

全身性または限局性のどちらのアミロイド沈着も年齢と共に増加する。たとえば野生型トランスサイレチン (TTR) の原線維は高齢者の心臓組織で一般に見出される。これらは無症候性であり、臨床的に無症状であり得るか、または心不全を引き起こし得る。無症候性原線維限局性沈着物も脳 (A β)、前立腺のアミロイド小体 (A β_2 ミクログロブリン)、関節および精嚢に発生し得る。

【0151】

d. 脳アミロイドーシス

アミロイドの局所沈着は特に高齢者の脳で一般的である。脳で最も多いアミロイドの種類は、主に A β ペプチド原線維から構成されており、認知症または散発性 (非遺伝性) アルツハイマー病を引き起こす。実際に、散発性アルツハイマー病の発生率は、遺伝性であ

10

20

30

40

50

ると見られる形態を大きく超えている。これらの斑を形成する原線維ペプチドは、アルツハイマー病（A D）の遺伝性形態に関連して上述したものと非常に類似している。

【 0 1 5 2 】

e . 透析関連アミロイドーシス

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

10

【 0 1 5 3 】

f . ホルモン由来アミロイドーシス

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

20

【 0 1 5 4 】

g . 多様なアミロイドーシス

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

【 0 1 5 5 】

ⅠⅠⅠ . AAアミロイド疾患

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

30

40

【 0 1 5 6 】

1 . AAアミロイドーシスに関連する炎症性疾患

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

【 0 1 5 7 】

若年性慢性関節炎は、多くの形態で生じる；最も一般的なものは、若年性関節リウマチである。若年性関節リウマチは、どの年齢の小児にも発症する可能性があるが、最初に2～

50

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

10

【0158】

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

【0159】

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

20

【0160】

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

【0161】

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

30

【0162】

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

40

【0163】

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

【0164】

クローン病は、口から肛門までの消化管の任意の部分に関係するが、一般に、回腸（小

50

腸下部5分の3)に關与して腸壁の癰痕および肥厚を伴う、慢性肉芽腫性(小粒様体または増殖)炎症性疾患である。クローン病の症状は、慢性下痢の存在、腸音の増大、痙攣を含み、おそらく体重減少および摂食嫌悪によって明らかである。

【0165】

2. AAアミロイドーシスに關連する慢性微生物感染疾患

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

10

【0166】

結核は、*Mycobacterium tuberculosis* による感染性細菌感染症である。該疾患は、感染組織での肉芽腫(顆粒腫瘍)の発生を特徴とする。肺が主に關係するが、感染症は他の器官にも広がる可能性がある。

【0167】

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

20

【0168】

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

【0169】

30

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

【0170】

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

【0171】

40

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

【0172】

3. AAアミロイドーシスに關連する悪性新生物

ホジキンリンパ腫は、リンパ節、脾臓、肝臓、および骨髓に見出されるリンパ組織の癌

50

である。癌の最初の徴候は、リンパ節の膨大であることが多い。該疾患は、近くのリンパ節に広がるのが可能であり、後で肺、肝臓、または骨髄まで広がり得る。

【 0 1 7 3 】

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

【 0 1 7 4 】

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

【 0 1 7 5 】

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

【 0 1 7 6 】

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

【 0 1 7 7 】

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

【 0 1 7 8 】

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

【 0 1 7 9 】

4 . A A に関連する遺伝性炎症性疾患

家族性地中海熱は、腹部または肺に関係することが多い、再発性の発熱および炎症を特徴とする遺伝性障害である。症状は、通常12～24時間後にピークに達する高熱と共に発生する、腹腔内層、胸腔、皮膚、または関節における炎症を含む。発作は症状の重症度で異なることがあり、人々は通常、発作の間は無症状である。この疾患は非常にまれである。リスク因子は、家族性地中海熱の家族歴または地中海の祖先を有することを含む。

【0180】

5. AAアミロイドーシスに関連するリンパ球増殖性障害

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

【0181】

IV. 血清アミロイドA

1. ヒト血清アミロイドA

血清アミロイドA(SAA)は、アミロイド沈着物の原線維構成成分である、アミロイドAタンパク質の循環前駆体である。構造的な研究により、ヒトSAAは不均一であり、多形SAA遺伝子およびタンパク質生成物のファミリーを表すことが示された。SAA遺伝子スーパーファミリーは、11p15.1に局在する密接に結合した遺伝子のクラスタを含む。Sellar, GCら、Genomics 19:221-227(1994)を参照。ヒトでは、4つのSAA遺伝子が説明されている。4つのSAA遺伝子によってコードされたタンパク質の代表的なアミノ酸配列を図1に示す。2つの遺伝子(SAA1およびSAA2)は、急性期血清アミロイドA(A-SAA)をコードして、炎症にตอบสนองして協調的に誘導される。SAA1およびSAA2は、コード領域および非コード領域の両方で95%の同一性を共有している。図18および19に示すように、ヒトSAA1のアルファ、ベータおよびガンマアイソフォームならびにヒトSAA2のアルファおよびベータアイソフォームがある。SAA3は偽遺伝子である。SAA4は、構造的なSAAをコードして、最小限の誘導性である。Cunnane G. Bailliere's Clin. Rheumatol. 13(4):615-628を参照。すべてのヒトSAA/AA分子は、自己凝集のためにおそらく重要であり、原線維形成におけるアミロイドの原線維外部分を有する、理論的カルシウム結合テトラペプチド配列Gly-Pro-Gly-Gly含有する。Fykse, E.M.ら、Biochem. J. 256:973-980(1988)およびTurnellら、Mol. Biol. Med. 3:387-407(1986)を参照。SAA/AAのN末端部分は強い疎水性であり、自己凝集およびアミロイド沈着物における他の構成成分にとっておそらく重要である。Husbyら、Clin. Immunol. Immunopathol. 70(1):2-9(1994)を参照。AAの各アイソフォームの配列およびその対応するSAAアイソフォームに対するその関係を図2～5に示す。たとえばヒトSAA1アルファは、配列:

【0182】

【化1】

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

【0183】

SAAのタンパク質分解断片であるAAも不均質である。主なヒトAAペプチドは、7

10

20

30

40

50

6 アミノ酸から成る。A A の例は配列：

【 0 1 8 4 】

【 化 2 】

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

を有する。

10

【 0 1 8 5 】

A A 7 0 ~ 7 6 は、配列 G H G A E D S (配列番号 4) から成る (配列番号 2) の残基 7 0 にて開始して、残基 7 6 にて終結する A A 断片、またはそのタンパク質の配列が配列番号 2 と最大限に整列されたときの、ヒトまたは他の種からの別の天然発生型 A A タンパク質由来の対応するセグメントを指す。

【 0 1 8 6 】

2. マウス血清アミロイド A

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

20

30

【 0 1 8 7 】

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

【 0 1 8 8 】

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

40

【 0 1 8 9 】

3. シャーペイ血清アミロイド A

シャーペイ配列を図 20 に示す。興味深いことに、ヒト S A A タンパク質の相同領域 - A E D S、(配列番号 13) は、位置 76 に保存的 T h r ~ S e r 置換はもちろんのこと、位置 73 に残基の著しく異なる残基 (H i s ~ A l a ; 図 1) も含有する。- A E D S、(配列番号 : 13) 配列は、A A アミロイドーシスに対して特に罹りやすい血統である、イヌのシャーペイ種でも観察され、A A アミロイド特異性抗体および他の化合物の新規診断および治療用途を評価するための全身性 A A の天然発生型モデルを提供することがで

50

きる。

【 0 1 9 0 】

4 . A A タンパク質の N 末端セグメントがその原線維形成特性を決定する

アミロイド原線維タンパク質 A A は、前駆体タンパク質血清 A A の可変長 N 末端部分から成る。証拠は、分子のアミロイド形成部が N 末端 1 0 ~ 1 5 アミノ酸長セグメントであることを示している。分子のこの部分でのアミノ酸置換は、2つのマウス S A A アイソフォームの一方のみがアミロイド形成性である理由を説明し得る。W e s t e r m a r k G . T . B i o c h e m B i o p h y s R e s C o m m u n . 1 8 2 (1) : 2 7 - 3 3 (1 9 9 2) を参照。

【 0 1 9 1 】

10

V . 他のヒトアミロイド形成性タンパク質

上の表 2 に挙げたもののいくつかも含めて、複数のヒトアミロイド形成性タンパク質の G e n b a n k アクセス番号および X ₁ E D X ₂ 配列を下の表 3 に示す。

【 0 1 9 2 】

【表 3 - 1】

表3
ヒトアミロイド形成性タンパク質

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

【表 3 - 2】

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

【 0 1 9 4 】

【表 3 - 3】

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

10

20

30

40

【 0 1 9 5 】

【表 3 - 4】

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

10

20

30

40

【表 3 - 5】

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

【 0 1 9 7 】

【表 3 - 6】

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

【表 3 - 7】

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

V I . 能動免疫化のためのアミロイドペプチド

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

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

【0199】

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

【0200】

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

【0201】

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

【0202】

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

【0203】

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

【0204】

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

【0205】

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

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

10

【0206】

AA、AL、その断片、および類似体ならびにX₁EDX₂断片およびその類似体は、固相ペプチド合成もしくは組換え発現によって合成することができるか、または天然源から得ることができる。自動ペプチド合成装置は、多くの供給者、たとえばApplied Biosystems, Foster City, Californiaから市販されている。組換え発現は細菌、たとえばE. coli、酵母、昆虫細胞または哺乳動物細胞において可能である。組換え発現の手順は、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual (C. S. H. P. Press, NY 2d ed., 1989.)に記載されている。

20

【0207】

治療剤は、たとえばAAペプチド、ALペプチドの免疫原性断片またはX₁EDX₂断片を、AAペプチド、ALペプチドまたはX₁EDX₂断片の片側または両側で隣接している1つ以上の他のアミノ酸と共に含む、より長いポリペプチドも含む。たとえば好ましい薬剤は、異種アミノ酸配列に融合されたAA、ALまたはX₁EDX₂断片のセグメントを含む融合タンパク質を含み、異種アミノ酸配列は、異種アミノ酸配列に対してヘルパーT細胞応答を、それによりAAセグメント、ALセグメントまたはX₁EDX₂断片に対してB細胞応答を誘導する。1つ以上のフランキング異種アミノ酸を使用して、AAもしくはALペプチドまたはX₁EDX₂断片をキャップして製造、貯蔵または使用時の分解からそれを保護することができる。このようなポリペプチドは、後述するように未処置またはプラセボ対照と比較した動物モデルにおける予防または治療有効性についてスクリーニングできる。本発明の治療剤は、ポリリジン配列に隣接されたAAもしくはALの免疫原性断片またはX₁EDX₂断片を含む。ポリリジン配列は、AAもしくはALまたはAAもしくはALの免疫原性断片またはX₁EDX₂断片のN末端、C末端、またはNおよびC末端の両方に融合することができる。AAまたはALペプチド、X₁EDX₂断片、類似体、AAまたは他のポリペプチドの活性断片は、結合もしくは多量体形または解離形で投与することができる。治療剤は、単量体免疫原性剤の多量体も含む。

30

【0208】

さらなる変形において、AAもしくはALの免疫原性断片またはX₁EDX₂断片は、免疫原性組成物の一部としてウイルスまたは細菌によって提示されることが可能である。免疫原性ペプチドをコードする核酸は、ウイルスまたは細菌のゲノムまたはエピソーム中に包含される。場合により核酸は、ペプチドが提示されるために、免疫原性ペプチドが分泌タンパク質としてまたはウイルスの外面タンパク質もしくは細菌の膜貫通タンパクとの融合タンパク質として発現されるような方式で包含される。このような方法で使用するウイルスまたは細菌は非病原性であるか、または弱毒化されているべきである。好適なウイルスは、アデノウイルス、HSV、ベネズエラウマ脳炎ウイルスおよび他のアルファウイルス、水疱性口内炎ウイルス、ならびに他のラブドウイルス、ワクシニアおよび鶏痘を含む。好適な細菌は、SalmonellaおよびShigellaを含む。免疫原性ペプチドのHBVのHBsAgへの融合が特に好適である。

40

50

【0209】

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

10

【0210】

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

【0211】

20

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

30

【0212】

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

40

【0213】

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

50

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

【0214】

V I I . コンジュゲート

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

【0215】

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

【0216】

多数の天然型 T 細胞エピトープ、たとえば破傷風トキソイド (たとえば P 2 および P 30 エピトープ)、B 型肝炎表面抗原、百日咳トキソイド、麻疹ウイルス F タンパク質、C h l a m y d i a t r a c h o m i t i s 主要外膜タンパク質、ジフテリアトキソイド (たとえば C R M 197)、熱帯熱マラリア原虫スポロゾイド周囲 T、熱帯熱マラリア原虫 C S 抗原、マンソン住血吸虫トリオースリン酸イソメラーゼ、E s c h e r i c h i a c o l i T r a T、およびインフルエンザウイルス血球凝集素 (H A) が存在する。本発明の免疫原性ペプチドも S i n i g a g l i a F . ら、N a t u r e , 336 : 778 - 780 (1988); C h i c z R . M . ら、J . E x p . M e d . , 178 : 27 - 47 (1993); H a m m e r J . ら、C e l l 74 : 197 - 203 (1993) F a l k K . ら、I m m u n o g e n e t i c s , 39 : 230 - 242 (1994); W O 98 / 23635; S o u t h w o o d S . ら、J . I m m u n o l o g y 160 : 3363 - 3373 (1998); および G i a n n i n i , G . ら、

10

20

30

40

50

Nucleic Acids Res. 12: 4063 - 4069 (1984) (そのそれぞれはすべての目的のために、参照により本明細書に組み入れられている)に記載されたT細胞エピトープに結合することができる。さらなる例は:

【0217】

【化3】

インフルエンザ血球凝集素: HA₃₀₇₋₃₁₉

マラリアCS: T3エピトープ EK K I A K M E K A S S V F N V, (配列番号67)

B型肝炎表面抗原: HBsAg₁₉₋₂₈ F F L L T R I L T I, (配列番号68)

熱ショックタンパク質 65: hsp65₁₅₃₋₁₇₁ D Q S I G D L I A E A M D K V G N E G, (配列番号69)

10

カルメット-ゲラン杆菌 Q V H F Q P L P P A V V K L, (配列番号70)

破傷風トキソイド: TT₈₃₀₋₈₄₄ Q Y I K A N S K F I G I T E L, (配列番号71)

破傷風トキソイド: TT₉₄₇₋₉₆₇ F N N F T V S F W L R V P K V S A S H L E, (配列番号72)

HIV gp120 T1: K Q I I N M W Q E V G K A M Y A, (配列番号73)

破傷風トキソイド: TT₉₄₇₋₉₆₇ F N N F T V S F W L R V P K V S A S H L E

20

HIV gp120 T1: K Q I I N M W Q E V G K A M Y A.

を含む。

【0218】

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

【0219】

30

【化4】

AKXVAAWTLKAAA,

(配列番号74)

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

【0220】

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

40

50

- スルホン酸ナトリウム塩と化合させることによって活性化することができる。

【0221】

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

10

【0222】

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

【0223】

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

20

【0224】

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

30

40

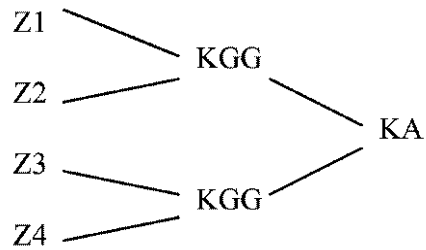
【0225】

MAP4 構成を下に示すが、ここで分枝構造は、N 末端およびリジンの側鎖アミンの両方でペプチド合成を開始することによって産生される。リジンが配列に包含されて分枝される場合の回数に応じて、得られる構造は複数の N 末端を示すであろう。この例では、4 つの同じ N 末端が分枝リジン含有コアに産生されている。このような多重度によって、同族 B 細胞の応答性が大きく促進される。下の例では、Z は AA、AL の免疫原性断片または X₁ EDX₂ 断片を示し、Z1 ~ 4 は AA、AL（複数の）免疫原性断片または X₁ EDX₂ 断片を示す。断片は相互に同じであるか、または異なることが可能である。

【0226】

50

【化5】



融合タンパク質の他の例は：

10

【0227】

【化6】

MAP4構成のZ-破傷風トキソイド830-844：

Z-QYIKANSKFIGITEL, (配列番号71)

MAP4構成のZ-破傷風トキソイド947-967：

Z-FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE, (配列番号72)

MAP4構成のZ-破傷風トキソイド830-844：

Z-QYIKANSKFIGITEL, (配列番号71)

20

線形構成のZ-破傷風トキソイド830-844+947-967：

Z-QYIKANSKFIGITELFNNFTVSFWLRVPKVSASHLE, (配列
番号75)

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

【0228】

【化7】

30

AKXVAAWTLKAAA-Z, (配列番号74)

Z_x3-PADREペプチド：

Z-Z-Z-AKXVAAWTLKAAA, (配列番号74)

線形構成のZ-オボアルブミン323-339：

Z-ISQAVHAAHAEINEAGR, (配列番号76)

を含む。

【0229】

40

融合タンパク質のさらなる例は：

【0230】

【化 8】

AKXVAAWTLKAAA-Z-Z-Z-Z, (配列番号74)

Z-AKXVAAWTLKAAA, (Z-(配列番号74)

PKYVKQNTLKLAT-Z-Z-Z, (配列番号77)

Z-PKYVKQNTLKLAT-Z, (配列番号77)

Z-Z-Z-PKYVKQNTLKLAT, (配列番号77)

【0231】

10

【化 9】

Z-Z-PKYVKQNTLKLAT, (Z-Z-(配列番号77)

Z-PKYVKQNTLKLAT-EKKIAKMEKASSVENV-QYIKANSKFIGITEL-

FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE-(配列番号78)

Z-Z-Z-QYIKANSKFIGITEL-FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE, (配列
番号79)

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

20

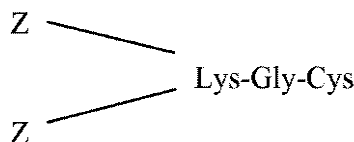
QYIKANSKFIGITELCFNNFTVSFWLRVPKVSASHLE-Z, (配列番号79)

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

を含む。断片は相互に同じであるか、または異なることが可能である。

【0232】

【化 10】



30

AAまたはAA、ALの免疫原性断片または X_1 ED X_2 断片に対する抗体の生成に使用される免疫原を生成するために、同じまたは同様の担体タンパク質および連結方法を使用することができる。たとえば担体に連結されたAAまたはAA、ALの免疫原性断片または X_1 ED X_2 断片は、AAまたはAA、ALの免疫原性断片または X_1 ED X_2 断片に対するモノクローナル抗体の産生の際に実験動物に投与することができる。

【0233】

VII. 治療剤をコードする核酸

40

本発明の治療剤は核酸も含む。アミロイド沈着物に対する免疫応答は、受動免疫化に使用される、AAペプチドのセグメント、およびその断片、 X_1 ED X_2 断片などの他のペプチド免疫原、または抗体およびその構成成分鎖、たとえば抗体2A4、8G9および7D8をコードする核酸の投与によっても誘導することができる。本発明の方法で使用するためのこのような薬剤は、患者への投与時にAA、ALの残基70～76間の1つ以上のエピトープに特異的に結合する抗体を生成するAAペプチドをコードする核酸、または X_1 ED X_2 断片を含むペプチドをコードする核酸を含む。本発明の方法で使用するためのこのような薬剤は、AAのC末端ネオエピトープまたは X_1 ED X_2 に特異的に結合する抗体をコードする核酸も含む。特にこのような核酸は、残基70～76内のHAA1アルファアイソフォーム(GHGAEDS、(配列番号4)、残基70～76内のHAA1ベ

50

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

【0234】

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

【0235】

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

【0236】

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

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

【0237】

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

【0238】

IX. アジュバント

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

【0239】

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

10

20

30

40

50

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

【0240】

別のクラスの好ましいアジュバントは、サポニンアジュバント、たとえば STIMULON (商標) (QS - 21, Aquila, Framingham, MA) またはそこから生成した粒子、たとえば ISCOM (免疫刺激複合体) および ISCOMATRIX である。他のアジュバントは、RC - 529、GM - CSF ならびに完全フロイントアジュバント (CFA) および不完全フロイントアジュバント (IFA) を含む。他のアジュバントは、サイトカイン、たとえばインターロイキン (たとえば IL - I α および β ペプチド、IL - 2、IL - 4、IL - 6、IL - 12、IL 13、および IL - 15)、マクロファージコロニー刺激因子 (M - CSF)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM - CSF)、腫瘍壊死因子 (TNF)、ケモカイン、たとえば MIP1 α および β ならびに RANTES を含む。別のクラスのアジュバントは、N - グリコシルアミド、N - グリコシル尿素および N - グリコシルカルバメートを含む糖脂質類似体であり、そのそれぞれは免疫調節薬またはアジュバントとして、糖残基においてアミノ酸によって置換される (US Pat. No. 4, 855, 283 を参照)。熱ショックタンパク質、たとえば HSP70 および HSP90 もアジュバントとして使用され得る。

【0241】

アジュバントは、免疫原と共に単一組成物として投与することができるか、または免疫原投与の前、免疫原投与と同時に、または免疫原投与の後に投与することができる。免疫原およびアジュバントは、同じバイアルで包装および供給することができるか、または別個のバイアルに包装して使用前に混合することができる。免疫原およびアジュバントは通例、所期の治療用途を示すラベルを用いて包装される。免疫原およびアジュバントが別個に包装される場合、包装物は通例、使用前に混合するための説明書を含む。アジュバントおよび/担体の選択は、アジュバントを含有する免疫原性製剤の安定性、投与経路、投薬スケジュール、ワクチン接種される種に対するアジュバントの有効性に依存しており、ヒトにおいては、製薬的に許容されるアジュバントは、関係規制機関によって承認されたまたは承認され得るアジュバントである。たとえば完全フロイントアジュバントは、ヒトへの投与には好適でない。ミョウバン、MPL および QS - 21 が好ましい。場合により、2 つ以上の異なるアジュバントを同時に使用することができる。好ましい組み合わせは、ミョウバンと MPL、ミョウバンと QS - 21、MPL と QS - 21、MPL または RC - 529 と GM - CSF、ならびに 一緒になった ミョウバン、QS - 21 および MPL を含む。または不完全フロイントアジュバントは、場合により、ミョウバン、QS - 21、および MPL ならびにそのすべての組み合わせと組み合わせて使用することができる (Changら、Advanced Drug Delivery Reviews 32, 173 - 186 (1998))。

【0242】

X. 抗体の受動投与

本発明の治療剤は、A Aなどのアミロイドペプチド中のエピトープを含む、凝集アミロイドタンパク質中の X_1EDX_2 を含むエピトープに特異的に結合する抗体を含み、式中、 X_1 は、H、T、F、S、P、Aまたはこのような凝集アミロイドタンパク質でEDの直前に先行する任意の他のアミノ酸残基であり；式中、 X_2 は、T、S、E、R、I、V、F、Aまたはこのような凝集アミロイドタンパク質でEDの直後に続く任意の他のアミノ酸残基である。受動投与に使用する抗体は、A AのC末端またはN末端エピトープに結合する抗体であることが可能である。他のアミロイドタンパク質は、血清アミロイドAタンパク質に加えて、血清アミロイドAタンパク質、免疫グロブリン軽鎖タンパク質、たとえばV λ 6 W ι 1またはV κ 、ヒト臍島アミロイド前駆体ポリペプチド(IAPP)、ベータアミロイドペプチド、トランスサイレチン(TTR)、およびApoA1はもちろ

10

【0243】

A Aは、S A Aのタンパク質分解切断によって形成される。好ましい抗体は、S A Aのタンパク質分解切断時に生成するA Aのネオエピトープに特異的に結合する。好ましい抗体はA AのC末端ネオエピトープに特異的に結合し、特にこのような抗体は残基70~76内のH A A 1アルファアイソフォーム(GHGAEDS、配列番号4)、残基70~76内のH A A 1ベータアイソフォーム(GHDAEDS、配列番号5)、残基70~76内のH A A 1ガンマアイソフォーム(GHDAEDS、配列番号5)、残基70~76内のH A A 2アルファおよびベータアイソフォーム(GHGAEDS、配列番号10)、残基70~76内のH A A 3(GDHAEDS、配列番号7)、残基78~84内のH A A 4(STVIEDS、配列番号8)、残基69~75内のマウスA A 1(M A A 1、GRGHEDT、配列番号9)、残基69~75内のM A A 2(GRGHEDT、配列番号9)、残基62~68内のM A A 3(GHGAEDS、配列番号10)、および残基76~82内のM A A 4(NHGLETL、配列番号11)に特異的に結合する。いくつかの抗体はこれらのペプチドの1つの中のエピトープのみに結合する。他の抗体はこれらのペプチドの2つ以上の中のエピトープに結合する。たとえばいくつかの抗体は、GHGAEDS(配列番号4)ペプチドおよびGHDAEDS、配列番号5)ペプチドに特異的に結合する。たとえばいくつかの抗体は、GHDAEDS、配列番号5)ペプチドに特異的に結合することなく、GHGAEDS(配列番号4)ペプチドに特異的に結合する。ヒトA Aペプチドの少なくとも1つに結合することが好ましい。ヒトA Aペプチドの少なくとも1つおよび対応するマウスペプチドに結合することは、同じ抗体をマウスモデルで試験して、続いてヒトで使用することができるという点で有用である。いくつかの好ましい抗体は、H A A 1アルファアイソフォーム残基71~76、72~76、73~76、74~76、70~75、70~74、70~73、70~72、71~75、72~75、73~75、71~74、71~73、72~74、またはM A A 1残基70~75、71~75、72~75、73~75、69~74、69~73、69~72、69~71、70~74、71~74、72~74、70~73、70~72内のエピトープに特異的に結合する。このような抗体は通例、アミロイド沈着物に特異的に結合するが、可溶性A Aには結合することも結合しないこともある。たとえばH A A 1アルファアイソフォーム残基70~76などの、規定された残基内のエピトープに抗体が特異的に結合すると言われ

20

30

40

【0244】

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

50

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

【0245】

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

【0246】

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

【0247】

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

【0248】

いくつかの抗体は、GHEDT、(配列番号3)を含むペプチド、たとえば2A4、7D8および8G9に対して産生されるか、またはそのヒト化もしくはキメラバージョンである。

【0249】

抗体はポリクローナルまたはモノクローナルであることが可能である。ポリクローナル血清は通例、AAの長さに沿った複数のエпитープに特異的に結合する抗体の混合集団を含有する。しかし、ポリクローナル血清は、AAの特定のセグメント、たとえばHAA1アルファアイソフォームの残基70~76に対して特異的であることが可能である。好ましい抗体は、キメラ、またはヒト化(Queenら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:10029-10033(1989)およびWO 90/07861、US 5,693,762、US 5,693,761、US 5,585,089、US 5,530,101およびWinter、US 5,225,539を参照)、またはヒト(Lonbergら、WO93/12227(1993); US 5,877,397、US 5,874,299、US 5,814,318、US 5,789,650、US 5,770,429、US 5,661,016、US 5,633,425、US 5,625,126、US 5,569,825、US 5,545,806、Nature 148,1547-1553(1994)、Nature Biotechnology 14,826(1996)、Kucherlapati、WO 91/10741(1991))である。ペニアリングとしても公知である抗体をヒト化する別の手法は、US 6,797,492に記載されている。結合特異性が異なる複数のマウス抗体は、ヒト化抗体を作製するための開始材料として利用できる。

【0250】

代表的なヒト化抗体は、ヒト化バージョン7D8抗体(ATCCアクセション番号____)、ヒト化バージョン7D29抗体、ヒト化バージョン7D19抗体、ヒト化バージョン7D47抗体、ヒト化バージョン7D39抗体、ヒト化バージョン7D66抗体、ヒト化バージョン8G9抗体、ヒト化バージョン8G3抗体、ヒト化バージョン8G4抗体、ヒト化バージョン8G51抗体、ヒト化バージョン8G22抗体、ヒト化バージョン8G30抗体、ヒト化バージョン8G46抗体、ヒト化バージョン2A4抗体(ATCCアクセション番号____)、ヒト化バージョン2A20抗体、ヒト化バージョン2A44抗体、ヒト化バージョン2A77抗体、ヒト化バージョン2A13抗体、およびヒト化バージョン2A14抗体である。7D8抗体(JH80 7D8.29.19.47)および2A4抗体(JH80 2A4.20.44077)を産生するハイブリドーマは、特許手続きのための微生物寄託の国際認識に関するブダペスト条約(「ブダペスト条約」)の条項に基づいて、現在は10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209にあるAmerican Type Culture Collection(ATCC)へ2008年9月4日および2008年12月17日にそれぞれ寄託した。ATCCは、7D8を産生するハイブリドーマにATCCアクセション番号____を、2A4を産生するハイブリドーマにATCCアクセション番号____を割り当てた。

【0251】

ヒトアイソタイプIgG1がAAのC末端領域に対する抗体に好ましいのは、食細胞のFcRI受容体に対してヒトアイソタイプの最も高い親和性を有するためである。いくつかの抗体は、約 10^7 、 10^8 、 10^9 、もしくは 10^{10} M^{-1} またはそれ以上の結合親和性でAAに特異的に結合する。

【0252】

AAの断片の能動免疫化は、抗体の受動投与と組み合わせることができる。特異的組み合わせの例は、HAA1アルファアイソフォーム残基70~76を含むAA断片とHAA1アルファアイソフォーム残基70~76内のエпитープに特異的に結合する抗体; HAA1アルファアイソフォーム残基70~76を含むAA断片とHAA1アルファアイソフォー

10

20

30

40

50

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

【 0 2 5 3 】

上記の抗体のいくつかは、アミロイドタンパク質の単量体形または前駆体形に特異的に結合しない。このような抗体のいくつかは、アミロイドタンパク質を生じる前駆体タンパク質の切断時に生成されるネオエピトープに特異的に結合する。たとえばいくつかの抗体は、マウス A A 原線維 - H E D T、(配列番号 1 2) の C 末端残基に特異的に結合するが、S A A の非アミロイド部分 (G H E D T M A D Q E、配列番号 6 1) 内に伸長するペプチドには特異的に結合しない。いくつかの抗体は、立体配座エピトープに特異的に結合する。立体配座エピトープのいくつかは線形である。このような立体配座エピトープのいくつかは、アミロイドタンパク質が凝集 (たとえば原線維) 構造に入るときに、または部分的に変性されるときに露出される。このような抗体の例は、マウスモノクローナル抗体 2

10

20

30

40

50

A 4 (A T C C アクセション番号 _____)、8 G 9 (A T C C アクセション番号 _____) および 7 D 8 (A T C C アクセション番号 _____)、そのヒト抗体、ヒト化抗体およびキメラ形抗体、2 A 4、8 G 9 または 7 D 8 と同じエピトープに特異的に結合する他の抗体、ならびに任意のそのような抗体の抗原結合断片を含む。いくつかの抗体は、アミノ酸配列 E D を含むアミロイドタンパク質に特異的に結合する。いくつかの抗体は、免疫グロブリン軽鎖タンパク質、ヒト臍島アミロイド前駆体ポリペプチド (I A P P)、ベータアミロイドペプチド、トランスサイレチン (T T R)、および A p o A 1 から成る群より選択されるアミロイドタンパク質に特異的に結合する。

【 0 2 5 4 】

基本的な抗体構造単位は、サブユニットの 4 量体を含むことが公知である。各 4 量体はポリペプチド鎖の 2 つの同一の対で構成され、各対は 1 つの「軽」鎖 (約 2 5 k D a) および 1 つの「重」鎖 (約 5 0 ~ 7 0 k D a) を有する。各鎖のアミノ末端部分は、主に抗原認識に關与する約 1 0 0 ~ 1 1 0 またはそれ以上のアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシ末端部分は、主にエフェクタ機能に關与する定常領域を画成する。

【 0 2 5 5 】

1 . 抗体

本発明は、インタクトな抗体および抗原結合抗体断片はもちろんのこと、ペグ化抗体および抗体断片はもちろんのこと、改変 (たとえば低減または排除された) エフェクタ機能を持つ抗体、たとえば F c 領域に変異または置換残基を含む抗体も含む。免疫グロブリン分子の免疫学的活性部分の例は、抗体を酵素、たとえばペプシンによって処理することによって生成できる、または当分野で認識された組換え工学技法によって産生できる、F (a b) および F (a b ') 2 トリ F a b '、F a b '、F v、s c F v、ジ F a b ' 断片を含む。本発明のさらなる抗原結合断片は、ペグ化抗体断片、たとえばペグ化 F a b ' およびペグ化ジ F a b ' を含む、治療用抗体断片を含む。エフェクタ機能ミュータントの例は、その全体が参照により本明細書に組み入れられている U . S . P a t e n t N o . 5 , 6 2 4 , 8 2 1 に記載されている。いくつかの抗体は、F c ガンマ R I 受容体に対する結合親和性が低下した。エフェクタ機能ミュータント抗体は、ヒンジ領域に変異を含む抗体を含む。いくつかのミュータント I g G 抗体は、重鎖定常領域内の位置 2 3 4、2 3 5、2 3 6、2 3 7、2 9 7、3 1 8、3 2 0 および 3 2 2 の 1 つ以上に変異を含む。いくつかの抗体において、残基 2 3 4、2 3 6 および 2 3 7 の 1 つ以上がアラニンによって置換される。いくつかの抗体において、残基 2 3 5 はグルタミンによって置換される。いくつかの抗体において、残基 2 9 7 はアラニンによって置換される。いくつかの抗体において、残基 3 1 8、3 2 0 および 3 2 2 はアラニンによって置換される。いくつかの抗体において、残基 3 1 8 はバリンによって置換される。いくつかの抗体において、残基 3 2 2 はグルタミンによって置換される。エフェクタ機能が向上した抗体は、抗体単 S 2 3 9 D および I 3 3 2 E ならびに 2 重および 3 重ミュータント S 2 3 9 D / I 3 3 2 E および S 2 3 9 D / I 3 3 2 E / A 3 3 0 L (K a b a t ナンバリング) を含む。

【 0 2 5 6 】

2 . ポリクローナル抗体

ポリクローナル抗体は、好適な被験体を免疫原によって免疫化することによって上述のように調製できる。免疫化被験体の抗体力価は、固定化標的抗原を使用する酵素結合免疫吸着測定法 (E L I S A) などの標準技法によって、経時的に監視することができる。所望ならば、標的抗原に向けられた抗体分子を哺乳動物から (たとえば血液から) 単離して、周知の技法、たとえば プロテイン A セファロースクロマトグラフィー によってさらに精製して、抗体、たとえば I g G 画分を得ることができる。免疫化後の適切な時間に、たとえば抗抗原抗体力価が最も高いときに、抗体産生細胞を被験体から得て、モノクローナル抗体を標準方法、たとえば K o h l e r a n d M i l s t e i n (1 9 7 5) N a t u r e 2 5 6 : 4 9 5 - 4 9 7) によって最初に記載されたハイブリドーマ技法によって調製することができる (B r o w n ら (1 9 8 1) J . I m m u n o l . 1 2 7 : 5 3 9 - 4 6 ; B r o w n ら (1 9 8 0) J B i o l . C h e m . 2 5 5 : 4 9 8 0 - 8 3

10

20

30

40

50

; Yehら (1976) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76:2927-31; および Yehら (1982) Int. J. Cancer 29:269-75 も参照)。キメラポリクローナル抗体の調製については、Buechlerら、U.S. Patent No. 6,420,113を参照。

【0257】

3. モノクローナル抗体

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

【0258】

4. 組換え抗体

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

uchsら(1991) Bio/Technology 9:1370-1372; Hayら(1992) Hum. Antibod. Hybridomas 3:81-85; Huseら(1989) Science 246:1275-1281; Griffithsら(1993) EMBO J 12:725-734; Hawkinsら(1992) J. Mol. Biol. 226:889-896; Clarksonら(1991) Nature 352:624-628; Gramら(1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:3576-3580; Garradら(1991) Bio/Technology 9:1373-1377; Hoogenboomら(1991) Nuc. Acid Res. 19:4133-4137; Barbassら(1991) Proc Natl Acad. Sci USA 88:7978-7982; および McCaffertyら、Nature(1990) 348:552-554に見出される。

10

【0259】

5. キメラおよびヒト化抗体

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

【0260】

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

20

30

【0261】

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

40

【0262】

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

50

。

【0263】

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

【0264】

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

【0265】

好ましくは、同一でない残基位置は、保存アミノ酸置換によって異なる。アミノ酸置換基を保存的または非保存的として分類する目的で、アミノ酸は次のように分類される：群I（疎水性側鎖）：leu、met、ala、val、ile；群II（中性親水性側鎖）：cys、ser、thr；群III（酸性側鎖）：asp、glu；群IV（塩基性側鎖）：asn、gin、his、lys、arg；群V（側鎖配向に影響する残基）：gly、pro；および群VI（芳香族側鎖）：trp、tyr、phe。保存

的置換は、同じクラスのアミノ酸間の置換を含む。非保存的置換は、これらのクラスの1つのメンバを別のメンバと交換することを構成する。

【0266】

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

【0267】

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

【0268】

このようなキメラおよびヒト化モノクローナル抗体は、たとえばRobinsonら、International Application No. PCT/US86/02269; Akiraら、European Patent Application 184,187; Taniguchi, M., European Patent Application 171,496; Morrisonら、European Patent Application 173,494; Neubergerら、PCT International Publication No. WO 86/01533; Cabillyら、U.S. Patent No. 4,816,567; Cabillyら、European Patent Application 125,023; Bett 40
erら(1988) Science 240:1041-1043; Liuら(1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439-3443; Liuら(1987) J. Immunol. 139:3521-3526; Sunら(1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214-218; Nishimuraら(1987) Cane. Res. 47:999-1005; Woodら(1985) Nature 314:446-449; およびShawら(1988) J. Natl. Cancer Inst. 80:1553-1559; Morrison, S. L. (1985) Science 229:1202-1207; Oiら(1986) BioTechniques 4:214; Winter U.S. Patent 5,225,539; Jonesら(1986) Nature 321:552-525; Verhoevenら(1988) Science 239:1534; およびBeidle 50

rら(1988)J. Immunol. 141:4053-4060に記載された方法を使用して、当分野で公知の組換えDNA技法によって産生することができる。治療剤は、相補性決定領域(CDR)ミメティックなどの抗体ミメティックも含む。

【0269】

6. トランスジェニック動物およびファージ提示からのヒト抗体

または免疫化時に内因性免疫グロブリン産生の非存在下でヒト抗体の全レパートリーを産生できるトランスジェニック動物(たとえばマウス)を産生することが、今や可能である。たとえば、キメラおよび生殖系列ミュータントマウスにおける抗体重鎖結合領域(J_H)遺伝子のホモ接合欠失は、内因性抗体産生の完全な抑制を生じることが記載されている。このような生殖系列ミュータントマウスへのヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子アレイの転移は、抗原投与時にヒト抗体の産生を引き起こす。たとえばU. S. Patent Nos. 6,150,584; 6,114,598; および5,770,429を参照。

10

【0270】

完全ヒト抗体もファージ提示ライブラリから得ることができる(Hoogenboomら、J. Mol. Biol., 227:381(1991); Marksら、J. Mol. Biol., 222:581-597(1991))。キメラポリクローナル抗体もファージ提示ライブラリから得ることもできる(Buechlerら、U. S. Patent No. 6,420,113)。

【0271】

7. 2重特異性抗体、抗体融合ポリペプチド、および単鎖抗体

2重特異性抗体(BsAb)は、少なくとも2つの異なるエピトープに対する結合特異性を有する抗体である。このような抗体は、全長抗体または抗体断片(たとえばF(ab)² 2重特異性抗体)から得ることができる。2重特異性抗体を作製する方法は当分野で公知である。全長2重特異性抗体の慣習的な産生は、2つの鎖が異なる特異性を有する、2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の同時発現に基づいている(Milsteinら、Nature, 305:537-539(1983))。免疫グロブリン重鎖および軽鎖のランダムな組み合わせのために、これらのハイブリドーマ(クアドローマ)は、異なる抗体分子の潜在的な混合物を産生する(WO 93/08829およびTrauneckerら、EMBO J., 10:3655-3659(1991)を参照)。

20

30

【0272】

2重特異性抗体は、架橋または「ヘテロ接合」抗体も含む。たとえばヘテロ接合体における抗体の一方をアビジンに、他方をビオチンまたは他のペイロードに結合させることができる。ヘテロコンジュゲート抗体は、任意の好都合な架橋法を使用して作製され得る。適切な架橋剤は当分野で公知であり、多くの架橋技法と共にU. S. Pat. No. 4,676,980に開示されている。

【0273】

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

40

【0274】

単鎖抗体も本発明による安定化に好適である。断片は軽鎖可変ドメイン(VL)にリンカによって連結された重鎖可変ドメイン(VH)を含み、このことによって各可変領域は相互に作用して、VLおよびVH領域が由来する親抗体の抗原結合ポケットを再形成する。Gruberら、J. Immunol. 152:5368(1994)を参照。

【0275】

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

【0276】

50

X I . 処置に適した被験体

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

【 0 2 7 7 】

A A アミロイドーシスに罹患している患者は、長期間にわたって無症候性であり得る。したがって A A アミロイドーシスの臨床診断は、アミロイド沈着物が大規模になるまで遅れるか、または見落とされることが多い。症候性である患者の場合、症例のわずか 5 3 % が診断されると推定される。L . E . K . C o n s u l t i n g , I n d e p e n d e n t M a r k e t R e s e a r c h (2 0 0 3) を参照。

【 0 2 7 8 】

本発明は、表 1 に挙げた疾患を含む、たとえば上述の疾患などのアミロイドタンパク質の沈着を特徴とする疾患を処置するまたは疾患の予防を達成するのに有用な方法を提供する。いくつかの方法は、アミノ酸配列 E D を含むアミロイドタンパク質の沈着を特徴とする疾患を処置するまたは疾患の予防を達成するのに有用である。いくつかの方法において、アミロイドタンパク質がアミノ酸配列 A E D V を含む場合、ここで抗体はアルツハイマー病または軽度認知障害の処置または予防実施のために投与されない。アミロイドタンパク質は、表 1 に挙げたアミロイドタンパク質、たとえば血清アミロイド A タンパク質 (S A A) 、免疫グロブリン軽鎖タンパク質、たとえば V λ 6 W i l および V κ 、ヒト豚島アミロイド前駆体ポリペプチド (I A P P) 、ベータアミロイドペプチド、トランスサイレチン (T T R) 、または A p o A 1 を含む、上述のアミロイドタンパク質のいずれでも可能である。

【 0 2 7 9 】

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

【 0 2 8 0 】

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

【 0 2 8 1 】

X I I . 処置投薬計画

一般に処置投薬計画は、アミロイドタンパク質に対して、および好ましくはこのようなアミロイドタンパク質、たとえばAAまたはALの凝集形に対して免疫応答を誘導するのに有効な薬剤を投与することを含む。好ましくは、AAもしくはALの免疫原性断片または X_1EDX_2 断片が患者に投与される。予防用途では、製薬組成物または薬剤は、アミロイドーシス、たとえばAAアミロイドーシスまたはALアミロイドーシスに罹りやすい、またはそうでなければアミロイドーシスのリスクに瀕した患者に、疾患の身体的、生化学的、組織学的および/または行動上の症状、その合併症ならびに疾患発症の間に現れる中間病的表現型を含めて、疾患のリスクを排除もしくは低下させる、重症度を軽減する、または開始を遅延させるのに十分な量で投与される。治療用途では、薬剤は、このような疾患が疑われる、またはこのような疾患にすでに罹患している患者に、その合併症および疾患発症時の中間病的表現型を含めて、疾患の(身体的、生化学的、組織学的および/または行動上の)症状を治癒させる、または少なくとも部分的に停止させる、またはその悪化を抑制するのに十分な薬剤の投与の量および頻度を含む投薬計画で投与される。いくつかの方法において、薬剤の投与によって、特徴的なAAまたはALアミロイドーシス病状をまだ発症していない患者における早期の総体的症状が低減または排除される。治療的または予防的処置を実現するのに十分な量は、治療的または予防的有効用量として定義される。治療的または予防的処置を実現するのに十分な量および投薬頻度の組み合わせは、治療的または予防的有効投薬計画として定義される。予防的および治療的投薬計画の両方において、十分な免疫応答が実現されるまで、薬剤は通常、複数の投薬量で投与される。治療的または予防的処置を実現するのに十分な投与の投薬量および頻度は、治療的または予防的有効投薬計画として定義される。通例、患者の免疫応答は監視され、免疫応答が低下し始めた場合には、反復投与量が投与される。免疫応答は、患者の血中でたとえばAAもしくはALに対する抗体を検出することによって、またはたとえばAAまたはALのレベルを検出することによって監視することができる。

【0282】

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

【0283】

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

【0284】

(併用療法での)抗体による受動免疫化では、投薬量は宿主体重 1 kg あたり約 0.001 ~ 100 mg、0.5 ~ 5 mg 未満、およびさらに通常は 0.01 ~ 5 mg、0.5 ~ 3 mg の範囲である。たとえば投薬量は、1 mg / kg 体重もしくは10 mg / kg 体重または1 ~ 10 mg / kgの範囲内、または言い換えれば、70 kgの患者に対してそれぞれ、70 mgもしくは700 mgまたは70 ~ 700 mgの範囲内であることが可能である。さらなる例として、投薬量は、5 mg / kg 体重もしくは1.5 mg / kg 体重未満、または0.5 ~ 1.5 kg / kgの範囲内、好ましくは少なくとも1.5 mg / kgであることが可能である。例示的な処置投薬計画は、2週間に1回または1ヶ月に1回または3 ~ 6ヶ月に1回の投与を含む。いくつかの方法において、結合特異性の異なる2つ以上のモノクローナル抗体が同時に投与され、このような場合に、投与された各抗体の投薬量は示された範囲内に含まれる。抗体は通常、複数回の機会に投与される。単回投薬間の間隔は毎週、毎月または毎年であることが可能である。間隔は、患者のAAに対する抗体の血中レベルを測定することによって示されるように、不規則でも可能である。いくつかの方法において、投薬量は、1 ~ 1000 µg / mlの、いくつかの方法では25 ~ 300 µg / mlの血漿抗体濃度を達成するように調整される。または、抗体は持続放出製剤として投与することが可能であり、この場合にはより低頻度の投与が必要とされる。投薬量および頻度は、患者における抗体の半減期に応じて変化する。一般に、ヒト抗体は最も長い半減期を示し、ヒト化抗体、キメラ抗体、および非ヒト抗体が続く。投与の投薬量および頻度は、処置が予防的または治療的のどちらであるかに応じて変化する可能性がある。予防用途では、比較的低い投薬量が長期間にわたって比較的低頻度の間隔で投与される。何人かの患者は、生涯にわたって処置を受け続ける。治療用途においては、疾患の進行が低減または停止するまで、好ましくは患者が疾患の症状の部分的または完全な緩和を示すまで、比較的小さい間隔での比較的高い用量が時には必要とされる。その後、患者に予防的投薬計画を投与することができる。

10

20

【0285】

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

30

【0286】

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

40

【0287】

製薬組成物は、大型の低速で代謝される高分子、たとえばタンパク質、キトサンなどのポリサッカライド、ポリ乳酸、ポリグリコール酸および共重合体(たとえばラテックス官

50

能化 S E P H A R O S E (商標)、アガロース、セルロースなど)、重合体アミノ酸、アミノ酸共重合体、および脂質凝集体(たとえば油滴またはリポソーム)も含むことができる。さらに、これらの単体は免疫刺激剤(たとえばアジュバント)として機能することができる。

【0288】

非経口投与では、本発明の薬剤は、水、油、食塩水、グリセロール、またはエタノールなどの滅菌液体であり得る製薬的担体と共に、生理学的に許容される希釈剤中の物質の溶液または懸濁液の注射可能な投薬量として投与することが可能である。さらに補助物質、たとえば湿潤剤または乳化剤、界面活性剤、pH緩衝物質などが組成物中に存在することができる。製薬組成物の他の構成成分は、石油、動物、野菜、または合成起源の構成成分、たとえばラッカセイ油、ダイズ油、および鉱油である。一般にグリセロール、たとえばプロピレングリコールまたはポリエチレングリコールは特に注射用溶液に好ましい液体担体である。抗体は、活性成分の持続放出を可能にするような方法で調合可能なデポー注射またはインプラント調製物の形で投与することができる。例示的な組成物は、50mM L-ヒスチジン、150mM NaClから成り、HClによってpH6.0に調整された水性緩衝液中で調合されたモノクローナル抗体を5mg/mLで含む。非経口投与用組成物は通例、実質的に滅菌、等張性であり、FDAまたは同様の機関のGMP条件下で製造される。

【0289】

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

【0290】

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

【0291】

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

【0292】

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

【0293】

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

【 0 2 9 4 】

X I I I . 併用薬物療法処置投与計画

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

10

20

【 0 2 9 5 】

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

30

【 0 2 9 6 】

併用の各構成成分の投薬量、頻度および投与様式は、個別に制御することができる。たとえば1つの薬剤は1日3回経口投与され得るが、第2の薬剤は1日1回筋肉内投与され得る。併用療法は、休止期間を含むオン・オフサイクルで投与され得る。化合物は、1回の投与が両方の化合物を送達するように共に調合されることもある。本発明の組み合わせは、製薬パックの構成成分としても供給することができる。薬物は共にまたは別個に、個々の投薬量で調合することができる。各化合物は好適な担体物質と混合され、一般に組成物の総重量の1 ~ 9 5 重量%の量で存在する。

40

【 0 2 9 7 】

組成物は、経口、非経口 (たとえば静脈内、筋肉内、皮下)、直腸、経皮、経鼻、経膈、吸入、または眼内投与に好適である投薬形で供給され得る。それゆえ組成物は、たとえば錠剤、カプセル剤、丸剤、粉剤、顆粒剤、懸濁剤、乳剤、液剤、ハイドロゲルを含むゲル、ペースト、軟膏、クリーム、硬膏剤、水薬、送達デバイス、坐剤、浣腸剤、注射剤、インプラント、スプレー剤またはエアゾール剤の形であり得る。製薬組成物は、在来の薬務に従って調合され得る (たとえばR e m i n g t o n : T h e S c i e n c e a n d P r a c t i c e o f P h a r m a c y , (1 9 t h e d .) e d . A . R . G e n n a r o , 1 9 9 5 , M a c k P u b l i s h i n g C o m p a n y , E a s t o n , P a . およびE n c y c l o p e d i a o f P h a r m a c e u t i c a l

50

Technology, eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, 1988 - 1999, Marcel Dekker, N. Y. を参照。

【0298】

XIV. AAまたはALアミロイドーシスの監視または診断方法

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

10

20

【0299】

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

30

【0300】

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

40

【0301】

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

50

【0302】

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

10

20

【0303】

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

【0304】

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

30

【0305】

アミロイドーシスを診断する方法は、検出可能な標識に結合されている抗体またはその抗原結合断片を被験体に投与すること(ここで抗体またはその断片は凝集アミロイドタンパク質中のX₁EDX₂を含むエピトープに特異的に結合し、式中、X₁およびX₂は任意のアミノ酸である)と、結合した抗体またはその断片の存在または非存在を検出することによって利用することによっても可能である。結合した抗体または断片の検出によって、アミロイドーシスの診断が裏付けられる。アミロイドーシスの診断に有用な抗体および断片は、本発明の開示された抗体を含む。

【0306】

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

40

【0307】

50

診断は、対応する基準値に対して標識部位の数、サイズ、および／または強度を比較することによっても実施され得る。基準値は、罹患していない個人の集合の平均値を表すことができる。基準値は、同じ患者で決定された前のレベルも表すことができる。たとえば基準値は患者にて決定され、その後測定した値を基準値と比較することができる。基準シグナルに対する値の上昇により、AAアミロイドーシスの診断が裏付けられる。

【0308】

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

【0309】

XV. AAアミロイドーシスの動物モデル

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

【0310】

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

【0311】

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

【0312】

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

【0313】

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

【実施例】

【0314】

(実施例I)

AA断片

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

【0315】

(実施例II)

マウス抗体調製のための免疫原

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

【0316】

(実施例III)

免疫化手順

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

【0317】

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

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

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

【0318】

(実施例IV)

凝集および可溶性 A A への抗体結合

血清力価（段階希釈によって決定）および凝集 A A へのモノクローナル抗体結合は、Schenck D. ら (1999) Nature 400, 173-177 で先に記載されたように、ELISA によって実施した。可溶性 A A は、ジメチルスルホキシド中で超音波処理した A A 原線維を指す。抗体の段階希釈物は、 $50,000 \text{ c.m.p.}$ の $^{125}\text{I-A A}$ と共に一晩室温にてインキュベートした。 75 mg/ml プロテイン A セファロース (Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden) / $200 \mu\text{g}$ ウサギ抗マウス IgG (H+L) (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA, USA) を含有するスラリー $50 \mu\text{l}$ を、希釈した抗体と共に 1 時間室温にてインキュベートして、2 回洗浄し、Wallac ガンマカウンタ (PerkinElmer Life Science, Grove, IL, USA) でカウントした。すべてのステップは、 10 mM Tris 、 0.5 M NaCl 、 1 mg/ml ゼラチン、および 0.5% Nonidet P-40 から成る放射免疫測定緩衝液、 $\text{pH } 8.0$ 中で実施した。

【0319】

(実施例 V)

V λ 6 Wil 構造の分析

発現されたヒト V κ および V λ 免疫グロブリン軽鎖生殖細胞系遺伝子の配列を図 21 および 22 に示す。 $\kappa 1a$ 、 $\lambda 1a$ 、 $\lambda 3a$ 、および $\lambda 3c$ サブグループを除いて、すべての V κ および V λ 生殖細胞系遺伝子配列の位置 81 および 82 に Glu - Asp 残基対形成がある (図 21 および 22)。さらに位置 50 および 51 の第 2 の生殖細胞系コード化 Glu - Asp 対形成は、V λ 6 生殖細胞系遺伝子に独自のものである。それゆえ V λ 6 Wil は、50 ~ 51 および 81 ~ 82 Glu - Asp 対の両方を含有する。残基 50 および 51 の側鎖は、x 線結晶学によって示されるように、V λ 6 Wil の表面上でどちらにも到達可能である (図 24)。これに対して、Glu 81 側鎖だけが表面露出されているが、Asp 82 は側鎖は部分的に埋もれており、Lys 79 および Arg 61 の側鎖と相互作用 (静電相互作用または H 結合のどちらかによって) しているように思われる (図 25)。

【0320】

x 線結晶構造のこのような分析および Glu - Asp 側鎖の相対的有効性に基づいて、出願人は、ドメインが凝集 (たとえば原線維) 構造に入る (または部分的に変性されるようになる) と、埋もれた Glu 81 に到達可能となり、それゆえ他の隠れている潜在性エピトープであるものが露出されるという結論に達する。

【0321】

(実施例 VI)

V λ 6 への抗 A A モノクローナル抗体結合の分析

A・表面プラズモン共鳴

表面プラズモン共鳴を使用して、複数のモノクローナル抗体と V λ 6 Wil 原線維および単量体との結合動態を確立した。 6.6 nM の濃度にて、3 つの抗体すべてを固定化合成 V λ 6 Wil 原線維に、 $\sim 1 \text{ nM}$ の KD (マウス A A 原線維とのその反応性について見出された値に匹敵する値) で結合させた (図 26)。結合段階の間の偏向 (RU で表す) は、mAb 7D8 および 2A4 では同様であったが、8G9 では 50% 低かった。このことは、計算した親和性が 3 つの抗体すべてで同様であったため、原線維に対するこの抗体の密度が他の 2 つの試薬よりも低かったことを示唆する。IgG1 mAb は、対照として作用して、V λ 6 Wil 原線維への結合は示さなかった。

【0322】

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

【0323】

反応の特異性を評価し、(Fc媒介結合または非特異性吸着とは対照的に)古典的なF(ab)-抗原相互作用によってmAbと原線維との結合が発生することを確実にするために、20および1μg/mLの免疫原ペプチド(p39)の存在下で結合データを得た(図8)。低濃度のmAb 7D8を結合しないペプチドp41は、対照として役割を果たした。20μg/mL p41ペプチドの存在下でのmAb 7D8とVλ6 Wil原線維との結合動態は、7D8単独と同じであった。対照的に、1μg/mLの免疫原ペプチドp39は、測定したシグナルの偏向によって判断されるように、結合の程度を2分の1未満に低下させた(図28)。7D8による原線維結合の抑制は、20μg/mLのp39ペプチドを使用したときに、ほぼ完全に抑制された。これらのデータは、免疫原ペプチドによってこの相互作用を完全に抑制できる限り、mAb 7D8が分子のF(ab)領域を介して原線維を結合することを示した。

10

【0324】

mAb 7D8とチップに固定されたVλ6単量体との反応性は、BIAcoreを使用して調査した。抗体は、単量体タンパク質と反応しなかった。これらのデータは、mAb 7D8によって認識された結合部位が原線維に存在するが、可溶性前駆体タンパク質には存在しないことを示し、抗原が実際に立体配座的または潜在性であることを示唆している。

【0325】

B. 免疫組織化学

20

免疫組織化学は次のように実施した：ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから切り出した6μm厚切片をCitraplus(BioGenex, San Ramon, CA)によって90度の30分間のインキュベーションによって、抗原賦活を受けさせた。組織をmAb 2A4、7D8、または8G9の3μg/mL溶液によって免疫染色した。IgG2a mAb TY11は対照として役割を果たした。HRPO結合ウマ抗マウスIg抗体(ImmPRESS Universal Reagent, Vector Labs, Burlingame, CA)を2次試薬として使用した。3,3'-ジアミノベジデン(Vector Labs)を使用してスライドを発色させて、Leica DM500顕微鏡を使用して調査した。モノクローナル抗体とALκおよびALλアミロイド組織沈着物との相互作用も免疫組織化学を使用して調査した。図29に示すように、λ2断片で構成された患者の甲状腺におけるアミロイド沈着物を7D8、2A4および8G9によって免疫染色した。コンゴレッド染色組織切片で見られた緑金の複屈折によって示されるように、反応性の範囲はアミロイド沈着物と相関していた。最も印象的な反応性は、mAb 7D8および2A4 mAbで実現されたのに対して、8G9は陽性であるものの、かなり弱かった。これらの定性的データは、8G9がVλ6 Wil原線維に他の2つの試薬よりも弱く結合したBIAcore分析とよく一致する(図26)。対照としての役割を果たしたアイソタイプマッチmAb TY11は、アミロイド免疫反応性を示さなかった。

30

【0326】

このλ2タンパク質のアミノ酸配列(配列番号86)(以下に示す)は、位置81および82に生殖細胞系コードGluおよびAsp残基をそれぞれ含有する。

40

【0327】

【化11】

```

1      11      21      31d    35
GSVVIQPPS VSGAPROIVA ISGSGSSSENI GNNIAVN WYQQLPGKAP
45      55      65      73      83
KVLITYDELL PAVGSDRFSG SSGGTSAS LAIRGLOSED EGOYYCAAND
93
ESISAL

```

50

A L κ アミロイド組織沈着物の調査によって、2 A 4 が、そしてより低い程度で7 D 8 および8 G 9 が正の反応性を有することが明らかになった。再び、免疫染色および複屈折によるコンゴ好染アミロイド領域間に一致が見られた。T Y 1 1 m A b は未反応であった。

【0328】

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

A L アミロイドーマの実験的インビボモデルを使用して、放射性標識m A b 7 D 8 がヒトA L アミロイドを画像化するか否かを調査した。S D S - P A G E によって決定したような7 D 8 の放射性標識効率によって、I g H およびI g L 鎖の両方がI - 1 2 5 標識を取り込むことが明らかとなり、断片化または凝集に関連するバンドの証拠は観察されなかった。A L アミロイドーマが誘導されたマウスのS P E C T / C T 画像化によって、アミロイドを含まない組織（たとえば肝臓、心臓、脾臓、および腎臓）と比較したアミロイド中の放射性標識抗体の蓄積によって明らかであるように、誘導された背側に位置するアミロイド塊に^{1 2 5} I 標識抗体が局在することが判明した。放射性標識された無関係のI g G

m A b は塊中に蓄積しなかった；しかし遊離した放射性ヨウ素が甲状腺に蓄積しているのが観察され、I g G 抗体の異化および脱ハロゲン化が示された。アミロイドーマ保有マウスでの^{1 2 5} I - 7 D 8 m A b の分布を、肝臓、脾臓、腎臓、胃、心臓、および肺と比較した、アミロイド塊に関連する活性を測定することによって定量した。データによってS P E C T / C T 画像化調査が確認された。注射7 2 時間後（この時点で画像を取り込み、組織を回収した）、アミロイドーマは、肝臓 - m A b 異化の部位 - および残留血液プール活性が高いことが予想された心臓で見られるよりも4 倍高い、~ 8 % I D を含有していた。肺で見られた活性は、安楽死の方式によるものであった（データは示さず）。

【0329】

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

【0330】

D . 概要および結論

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

(実施例 V I I)

10

20

30

40

50

E L I S A 分析によって、 $X_1 E D X_2$ ペプチドへの抗体結合が証明される

B I A c o r e 分析を実施して、各種配列のペプチドに対する抗体 2 A 4、7 D 8 および 8 G 4 の結合を評価した。下の表 4 に示すように、抗体は配列 $X_1 E D X_2$ を有するペプチドと反応することが見出された。興味深いことに、抗体はさらなる C 末端残基を有するペプチドとは反応しなかった。このことは、ネオエピトープに特異的に結合する抗体が S A A の切断を引き起こして、遊離 C 末端を生成したことを示唆している。しかし実施例 V で示したように、これらの抗体の V λ 6 W i l への結合には遊離端は必須ではなく、むしろ $X_1 E D X_2$ ドメインは凝集（たとえば原線維）構造に入る（または部分的に変性されるようになる）ときに抗体への結合に好ましい立体配座を取り、他の隠れた潜在性エピトープを露出する。

10

【 0 3 3 1 】

【表 4】

表4

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

(実施例 V I I I)

マウス A A の免疫組織化学分析

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

（実施例 I X）

ヒト A A の免疫組織化学分析

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

（実施例 X）

培養物上清の抗 A A とマウス由来 A A 原線維との相互作用。

【 0 3 3 2 】

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

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

【0333】

【表5】

表5

精製mAb結合のEC₅₀値

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

3つのmAbとペプチドp#39との相互作用は、低ナノモル範囲にEC₅₀値を持つ飽和性の結合を示した(上記の表5を参照のこと)。対照的に、使用したmAbの最高濃度においても(100 nM)、p#41ペプチドに対する検出可能な結合はほとんどなかった(図33 - 各点は平均±SEを表す(各濃度においてn=3))。これらのデータは、上に記載した免疫組織化学結果、すなわちペプチドp#39がmAbのAAアミロイド沈着組織への結合を完全に遮断できることを確証した。各mAbのp#39ペプチドとの結合について計算したEC₅₀値は、マウスAAアミロイド抽出物を基質として使用した場合と本質的に同じであった(図34 - 各点は平均±SEを表す(各濃度においてn=3))。マウスAA抽出物へのmAbの結合について計算したEC₅₀値は、p#39ペプチドを基質として使用したときに得た値と本質的に同じであった(図34; 表5)。対照的にヒトAAアミロイド抽出物をマイクロプレートのウェル上へ乾燥させたときに、EC₅₀は、マウスAAおよびペプチドp#39で観察された値の7分の1~5分の1の低さであった(図35 - 各点は平均±SEを表す(各濃度においてn=3)表5)。7D8 mAb結合のEC₅₀値は、試験を行った3つの抗体のうちで最も低く、出願人はこの試薬をインビボ同時局在化および画像化試験のために選択した。マウスタンパク質と比較して、ヒトSAA配列における2アミノ酸置換は、EC₅₀値に影響を及ぼした。特定の理論に縛られたくはないが、出願人は、ヒトAAのより高いEC₅₀が抗原結合部位のアミノ酸側鎖のより低い「適合」に起因すると考えているが、この効果はELISAにおけるように、アミロイド抽出物が表面吸着されるときに相対親和性のわずか5分の1までの低下に相当する。さらにこれらのデータは、3つのmAbすべてがマウスおよびヒト組織AAアミロイド沈着物に結合したという観察結果を裏付けている。

【0334】

(実施例XI)

Ma bのマウスおよびヒトAAアミロイドへの競合結合

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

【0335】

すべての場合において、ヒトおよびマウス起源の両方の可溶性（非吸着）AAアミロイド原線維は3つのmAbと競合することが可能であり、試薬によって認識されたエピトープは表面吸着から生じる部分変性に依存しないことを示している。一般に、マウスAA（AEF）抽出物は、ヒトAAよりも良好な競合物であった（表6）。

【0336】

【表6】

表6

AAアミロイドへのmAb結合のIC₅₀値(μg/mL)

mAb	ヒトAA [†]	マウスAA (AEF) [‡]
8G9	>119.5	17.3
2A4	>211.7	14.7
7D8	>881.1	26.8

10

[†]吸着されたマウスAA(AEF)について競合する、溶液中のヒトAAアミロイド；

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

20

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

【0337】

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

【0338】

30

(実施例XII)

放射性標識mAb 7D8

7D8の放射性標識効率はSDS-PAGEによって決定した。還元および未変性mAbを分析して、ホスホイメーザを使用してタンパク質を可視化した。IgHおよびIgL鎖のどちらもI-125標識を組み込んでおり、断片化または凝集に関連するバンドの証拠は観察されなかった。

【0339】

(実施例XIII)

¹²⁵I標識7D8を使用するAAアミロイドの画像化

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

40

【0340】

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

50

かであるように、T R I A Dマウスにおける循環 s A A の存在下で肝臓および脾臓の両方の A A アミロイド沈着物に結合することが示されている。

【 0 3 4 1 】

A . マウスにおける ^{125}I - 7 D 8 の生体内分布

^{125}I - 7 D 8 注射の 4 8 時間後、血液プールに放射能があり、このことによって肺での比較的高い摂取が説明された (マウスを殺処分するときに肺は血液で満たされている) 。注目すべきは、I L - 6 マウスでの m A b の肝脾蓄積がアミロイドの存在を示すということである。S P E C T / C T 画像により、これらの器官への m A b の分布が確認された。注射 7 2 時間後に、血液プール値は、4 8 時間で殺処分されたマウスと比較して心臓および肺での活性が不変であったことによって明らかであるように、この m A b についての比較的最長 $T_{1/2\text{bio}}$ (~ 6 0 時間) に起因して、ほとんど変化しなかった。I L - 6 マウスには放射性標識 m A b の著しい蓄積があり、このことは顕著な脾臓摂取と、より少ない程度の肝臓摂取を示す、取得された S P E C T 画像と関連していた。他の器官のうち、最も重要なのは肝臓であった (急性期応答の間に I g G の異化の部位および s A A 源である) 。W T マウスでは、炎症誘導またはアミロイドはなく、肝臓は、血液プールがほぼ排他的に信号に寄与する腎臓および心臓に匹敵した、 $< 6 \% \text{ ID/g}$ を含有していた。

10

【 0 3 4 2 】

B . オートラジオグラフおよび組織化学分析

I L - 6 および A g N O 3 マウスの ^{125}I - 7 D 8 の肝臓蓄積の増加がアミロイド摂取、異化クリアランスまたは新たに合成された s A A への結合から生じたか否かを決定するために、肝臓はもちろんのこと、他の組織に対してもオートラジオグラフ分析を実施した。

20

【 0 3 4 3 】

S P E C T 画像化および生体内分布測定値に基づいて、トランスジェニック I L - 6 マウスにおける最大量のアミロイドは肝臓および脾臓にあることが推測された。この推測は、赤色脾臓全体はもちろんのこと、肝臓の血管周囲領域および洞様毛細血管でも有意なアミロイドが観測されたコンゴレッド染色切片において確認された。さらに、より目立たない複屈折沈着物が腎臓および心臓に存在していた。これらの組織内での ^{125}I - 7 D 8 の分布は、コンゴレッドおよび A A 反応性物質と十分に相関があった。アミロイドを含まない肝細胞には蓄積はなかった。

30

【 0 3 4 4 】

生体内分布データに基づいて、A g N O ₃ 処置マウスは脾臓よりも肝臓に多くの ^{125}I - 7 D 8 摂取があり、このことはこのような動物における A A 蓄積の通常のパターンでないため予想外であった。コンゴレッド染色によって、脾臓の単一の毛包周囲領域における少量のアミロイド (上右角) および広範囲の肝臓血管周囲沈着物が明らかとなり、そのどちらもオートラジオグラフで明白であった。さらに A g N O ₃ 注射の皮下部位は S P E C T 画像で相当の濃度の ^{125}I - 7 D 8 があることがわかった (我々は、放射性ヨウ素化 S A P を造影剤として使用したときにもこれを観察している) 。この部位はアミロイド (すなわちコンゴレッド複屈折物質) を含有していない ; しかしアミロイドは抗 A A m A b によって免疫染色された。特定の理論に縛られたくはないが、m A b 7 8 D は炎症または (成熟アミロイド沈着物と同様に) 「プレアミロイド」の部位に局在する可能性がある。I L - 6 マウスの器官での 7 D 8 の顕著な蓄積に対して、対照マウスの組織は血液プール以外のどの器官にもトレーサはほとんどまたは全くないことが見出された。これらの対照のどの器官のコンゴレッド染色切片にも、アミロイドは見出されなかった。

40

【 0 3 4 5 】

C . ^{125}I - 7 D 8 の薬物動態学

放射性標識 7 D 8 抗体の注射後に、分子の消失速度を測定して、半減期測定を表 7 にまとめる。結果は 7 D 8 の $T_{1/2\text{bio}}$ が ~ 6 0 時間であり、I g G 2 b マウス m A b の $T_{1/2\text{bio}}$ と一致することを示した (7 D 8 が I g G 2 b サブクラスであることに注

50

意)。I L - 6 (T R I A D) マウスにおける¹²⁵I - 7 D 8 のややより急速なクリアランスは有意とは見なされなかった。これらのデータに基づいて、S P E C T データで明らかであるように、72 時間にわたる組織アミロイドによる m A b の保持によって、排出速度は影響を受けない。

【0346】

【表7-1】

表7

マウスにおける¹²⁵I-7D8の半減期分析

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

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

【0347】

2. 組織病理学。光学および偏光顕微鏡法のために、4~6 μm厚の組織切片を切り出し、ヘマトキシリンおよびエオシン (H E) および新たに調製したアルカリ性コンゴレッド溶液によってそれぞれ染色した。電子顕微鏡法のためには、切片をE p o n (T e d P e l l a , R e d d i n g , C A) に包埋して、薄切りにして、J E O L 100S透過型電子顕微鏡によって調査した。L u d l a g e ら、V e t P a t h o l 42:117-124 (2005)を参照。

【0348】

3. 免疫組織化学。パラフィン包埋組織切片 (6 μm厚) をマイクロトームで切り出して、ポリ-Lリジンコートスライドに載せ、室温にて一晩乾燥させて、脱パラフィンした。先に記載されたようにアビジンビオチン複合体 (A B C - e l i t e) 技法を使用して、免疫染色を実施した。1次抗体は、マウス抗ヒトアミロイドA (A c c u r a t e C h e m i c a l a n d S c i e n t i f i c C o r p o r a t i o n , W e s t b u r y , N Y) および抗マウスS A A ポリクローナル抗血清であった。アフィニティ精製ウマ抗マウス免疫グロブリン-G (I g G) ホースラディッシュペルオキシダーゼコンジュゲート (V e c t o r L a b o r a t o r i e s , B u r l i n g a m e , C A) またはヤギ抗ウサギ、ヤギ抗マウス、もしくはヤギ抗ラットI g G ホースラディッシュペルオキシダーゼコンジュゲート (B i o R a d L a b o r a t o r i e s , R i c h m o n d , C A) を2次抗体として使用した。

【0349】

4. E L I S A によるS A A 定量。S A A 濃度は、製造者 (B i o s o u r c e , C a m a r i l l o , C A) が提供した指示に従ってM u l t i s p e c i e s S A A E

L I S A キットを使用して、酵素結合免疫吸着測定法 (E L I S A) によって測定した。既知量のヒト S A A タンパク質を使用して標準曲線を作成して、モデル 4 4 5 0 B i o R a d プレートリーダー (F u l l e r t o n , C A) によって 4 0 5 n m で吸光度を測定した。

【 0 3 5 0 】

5 . マウスにおける放射性標識 S A P シンチグラフィーターオーバー試験。N - プロモスクシンイミドを使用することによって、S A P を ^{125}I (2 ~ 5 M B q / m g) により酸化的にヨウ素化した。6 ~ 1 2 週齢マウスに 2 0 0 μL 中 ^{125}I - S A P 2 ~ 1 0 μg を静脈内投与した。正確に測定した尾の出血 (0 . 0 1 ~ 0 . 0 4 g) を規定の時間間隔で採取して、各実験の終りに同じランにおいて注入トレーサの標準のアリコートと共にトリクロロ酢酸沈殿性放射能をカウントした。P e p y s ら、P r o c N a t l A c a d . S c i . U S A 9 1 : 5 6 0 2 - 5 6 0 6 (1 9 9 4) 。

10

【 0 3 5 1 】

6 . ヒトにおける放射性標識 S A P シンチグラフィーターオーバーおよび画像化試験。ヒトに使用する S A P は、正常な適格ドナー 1 名の血漿から単離して、N - プロモスクシンイミドを使用することによって、 ^{125}I (2 ~ 5 M B q / m g) または ^{123}I (1 1 0 M B q / タンパク質 5 0 μg) により酸化的にヨウ素化した。 ^{123}I S A P の注射後に、データを取得して、I G E S t a r c a m ガンマカメラ (I G E M e d i c a l S y s t e m s , S l o u g h , U . K . で処理した。 ^{125}I 標識 S A P のクリアランスは、健常者および A A アミロイドーシスに罹患した患者で試験した。P e p y s ら、P r o c N a t l A c a d . S c i . U S A 9 1 : 5 6 0 2 - 5 6 0 6 (1 9 9 4) 。

20

【 0 3 5 2 】

7 . アミロイドの抽出および精製。組織からアミロイドを抽出するために使用した方法は、P r a s らによって記載された。P r a s ら、J . C l i n . I n v e s t . 4 7 : 9 2 4 - 9 3 3 (1 9 6 8) を参照。簡潔には、肝臓または他の器官の組織の部分を検死時に得て、- 8 0 に維持して、O m n i - M i x e r (O m n i I n t e r n a t i o n a l , W a t e r b u r y , C T) を使用して氷浴中で冷生理食塩水を用いてホモジナイズした。抽出物を 1 0 , 0 0 0 r p m で 3 0 分間、4 にて遠心分離して、ペレットを冷生理食塩水で 2 回、0 . 1 M クエン酸ナトリウム T r i s 緩衝生理食塩水、p H 8 . 0 で 1 回、次に生理食塩水で、A 2 8 0 の上清が < 0 . 1 0 となるまで再抽出した。生じたペレットを、冷蒸留水を用いてホモジナイズして、混合物を 3 5 , 0 0 0 r p m で 3 時間、4 にて遠心分離した。水抽出から得たペレットを次に凍結乾燥させた。

30

【 0 3 5 3 】

8 . 表面プラズモン共鳴。結合動態は B I A c o r e X 装置で測定した。V λ 6 W i l から調製した原線維をプローブ超音波処理装置で短時間超音波処理して、次に B I A c o r e プロトコルに従ってアミン化学作用を使用して C M - 5 チップに結合した。このプロセスは E D C および N H S を利用して、原線維の遊離アミノ基との結合のためにチップのカルボキシル基を活性化する。結合は 1 0 0 μg / m L の濃度の N a O A c 緩衝液、p H 4 . 0 中で実施した。対照チャンネルは「偽結合」され、どちらのチャンネルもエタノールアミンと反応させて未反応部位を飽和させた。約 1 6 , 0 0 0 R U の V λ 6 W i l 原線維が結合された。

40

【 0 3 5 4 】

センソグラムを B I A c o r e からの H B S - E P 緩衝液中で、2 0 μL / 分にて F c 1 (V λ 6 W i l 原線維) マイナス F c - 2 (対照) モードで運転した。m A b または m A b プラスペプチド阻害薬を含有する試料を注入して (7 0 μL) 、2 0 0 秒の遅延洗浄機能を使用してセンソグラムを収集した。データは、質量作用補正を用いた 1 : 1 ラングミュアモデルを使用して、B I A e v a l u a t i o n ソフトウェアで解析した。

【 0 3 5 5 】

9 . M i c r o S P E C T / C T 。マウス各 3 匹のコホート 2 つにヒト A L アミロイド

50

抽出物 50 mg を肩甲骨の間に皮下注射した。7 日後、マウスの 1 群に ^{125}I 標識 mAb 7D8 ~ 300 μCi の iv 尾静脈注射 を投与した。第 2 群には、同量のマウス mAb MOPC 31C を対照として投与した。72 時間後、マウスを過量のイソフルランによって殺処分して、SPECT/CT 画像を 取得した。CT 画像の血管コントラストを増強するために、走査 5 分前にマウスに Fenestra VC (商標) (Advanced Research Technologies, Montreal, Canada) 200 μL を静脈内投薬で与えた。

【0356】

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

【0357】

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

【0358】

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

【0359】

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

【0360】

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

【0361】

(実施例 XIV)

ヒト化 2A4 および 7D8 抗体の調製。

【0362】

ヒト化2A4、7D8および8G9抗体は、当分野で公知の技法に従ってマウス2A4、7D8および8G9 CDRをヒトアクセプタフレームワークにグラフトすることによって調製した。復帰変異を行って、結合親和性を保全しながら抗原性を低下させた。マウス2A4の軽鎖および重鎖可変領域は、配列番号152の残基20～131および残基154の残基20～138としてそれぞれ示される。7D8の軽鎖および重鎖可変領域は、配列番号153の残基20～131および残基154の残基20～138としてそれぞれ示される。マウス2A4および8G9の軽鎖可変領域は相互に同じであり、7D8の軽鎖可変領域とはCDR1の1つの残基が異なる。2A4、7D8、および8G9それぞれの重鎖可変領域は同じである。

10

【0363】

2A4および7D8の可変カップ(V_k)は、ヒトサブグループ2に対応するマウスサブグループ2に属しており、可変重鎖(V_h)はヒトサブグループ3に対応するマウスサブグループ3_cに属している(Kabatら(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest Fifth Edition NIH Publication No. 91-3242)。CDR-L1は、16残基を含み、V_kの標準クラス4に属する。CDR-L2は、7残基を含み、V_kのクラス1に属する。CDR-L3は、9残基を含み、V_kのクラス1に属する。Martin AC, Thornton JM. (1996) J Mol Biol. 263, 800-15を参照。7D8における位置27のロイシンはかなり珍しく、2A4のグルタミンはより普通である。モデルは、側鎖が結合部位表面にあり、したがって抗原結合にとって重要であるはずであることを示している。CDR-H1は5残基を含んでクラス1に属し、CDR-H2は19残基を含んでクラス4に属する(Martin & Thornton, 1996)。CDR-H3には標準クラスがないが、8残基ループはおそらくShiraiら(1999) FEBS Lett. 455, 188-97の規則に従ってねじれた塩基を有する。これはモデルに保存されるが、CDR-H3の頂端の立体配座は異なり得る。V_kドメインとV_hドメインとの間の界面の残基は、2A4 V_k、7D8 V_kおよび2A4 V_hに一般に見られる残基とは異なる。

20

【0364】

復帰変異の選択を案内する構造を見出すために、PDBデータベースの検索が行われた(Deshpandeら(2005) Nucleic Acids Res 33:D233-7)。NCBIからの非冗長タンパク質配列データベース検索によって、マウスCDRを中にグラフトするのに好適なヒトフレームワークの選択が可能となった。V_kについては、NCBIアクセションコードBAC01562(gi:21669075)(配列番号166)のヒトκ軽鎖が選択された。これは同じ長さのCDR-L3を有し、ヒト生殖細胞系VKIIA19/A3およびヒトカップサブグループ2に属する。NCBIアクセションコードBAC01733(gi:21669417)(配列番号167)の、J領域においてのみ異なる同様のフレームワークも見出された。BAC01562を2A4 V_kのフレームワークとして使用して、BAC01733を7D8 V_kのフレームワークとして使用した。V_hの場合、ヒトIg重鎖AAC51024(gi:1791061)(配列番号165)を使用した。Glassら(1997) Clin. Exp. Immunol. 107:372-380を参照。これはヒト生殖細胞系VH3-72およびヒト重鎖サブグループ3に属する。

30

40

【0365】

代表的なヒト化2A4軽鎖可変領域は、配列番号155、156、および157として示される。代表的なヒト化7D8軽鎖可変領域は、配列番号158、159、160、174、175、および176として示される。代表的なヒト化2A4/7D8重鎖可変領域は、配列番号161、162、および163として示される。図36A～36Eを参照。

【0366】

50

本発明の代表的なヒト化抗体は、配列番号 1 5 2 の残基 2 0 ~ 1 3 1、配列番号 1 5 3 の残基 2 0 ~ 1 3 1、ならびに配列番号 1 5 5、1 5 6、1 5 7、1 5 7、1 5 9、1 6 0、1 7 4、1 7 5、および 1 7 6 のうちの 1 つから選択される軽鎖可変領域；ならびに配列番号 1 5 4 の残基 2 0 ~ 1 3 8 ならびに配列番号 1 6 1、1 6 2、および 1 6 3 のうちの 1 つから選択される重鎖可変領域を含む。

【 0 3 6 7 】

(実施例 X V)

重篤な全身性 A A アミロイドーシスのマウスにおける M A b 2 A 4 の治療効果

m A b 2 A 4 の治療有効性を重篤な全身性アミロイドーシスの H 2 / h u I L - 6 マウスで評価した。ヒト I L - 6 トランスジーンを構成的に発現するトランスジェニック H 2 / h u I L - 6 マウスは、急速および不可逆性の全身性 A A アミロイドーシスであることが証明されている。第 1 および第 2 の試験では、マウスにおける活性が報告されていないアイソタイプマッチ m A b T Y - 1 1 で処置したマウスを対照として使用した。A A を誘導するためのアミロイド増強因子を投与する前に、H 2 / h u I L - 6 マウスを試料採取して、後眼窩洞を介して採血し、血清を調製して、市販の E L I S A キットを使用して s A A 濃度を決定した。代表的な値は次の通りである：2 1 9 6 . 7 μ g / m L、8 2 3 . 9 1 μ g / m L、1 4 1 5 . 0 0 μ g / m L、1 6 7 3 . 0 1 μ g / m L、8 1 4 . 5 3 μ g / m L、1 0 8 8 . 1 8 μ g / m L、7 3 6 . 3 4 μ g / m L、1 5 4 6 . 3 5 μ g / m L、9 5 3 . 7 0 μ g / m L、8 8 6 . 4 6 μ g / m L、平均 = 1 2 1 3 . 4 $\pm$ 4 7 8 μ g / m L。

【 0 3 6 8 】

第 2 の試験の開始時 (第 0 週) に、H 2 / h u I L - 6 マウスにアミロイド増強因子 (A E F) 1 0 0 μ g を静脈内注射した。A E F を注射することによる A A 病態の誘導後に、マウスに m A b 2 A 4 (1 3 匹) または T Y 1 1 (1 1 匹) 1 0 0 μ g の皮下注射を、四肢へ代わるがわる 5 回投与した。治療は A E F 注射の約 1 週間後に開始した。各処置群の動物の生存をプロットし、そして解析した。結果を表 7 に示す。m A b T Y 1 1 処置マウスのわずか 4 5 % が試験終了まで生存した。対照的に 2 A 4 処置マウスのいずれも、試験経過を通じて死亡しなかった。標準方法を使用する生存データの分析によって、両群の生存曲線に有意差 ($P < 0 . 0 0 2 5$) が示された。T Y 1 1 処置マウスの生存中央値は、先の試験で観察された値 (3 8 . 5 日) に匹敵して、4 1 日と計算された。

【 0 3 6 9 】

【 表 7 - 2 】

表 7

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

A E F 後の第 6 週に、マウスを採血および殺処分して、さらなる分析のためにその器官を回収した。肝臓および脾臓のアミロイド定量のために、コンゴーレッド複屈折を交差偏光照明下で顕微鏡により可視化して、デジタル記録した。複屈折物質の面積は、アミロイド関連画素を (スペクトルセグメント化法を使用して) 選択して、定量することによって決定した。アミロイド含有量の尺度であるアミロイド負荷指数 (A B I) を、各器官にお

いてアミロイドに占有された面積のパーセンテージとして表した。2 A 4 および T Y 1 1 処置マウスの肝臓および脾臓でのアミロイドの定量によって、2 つの処置の間に有意差はないことが明らかになった。しかし 2 A 4 処置マウスとの比較のために第 4 2 日まで生存した T Y 1 1 処置マウスは、A A アミロイドの病的な程度も分布（それにより病的状態を生じる）も生じなかったマウスであった。生存試験の経過中に肝脾アミロイド負荷も監視して、病的状態に関連するアミロイド負荷の増加を評価する。

【 0 3 7 0 】

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

【 0 3 7 1 】

10

20

【表 8】

表8

各動物に対する処置前データおよびMAb療法のまとめ

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

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

2, 循環sAAおよびアミロイド疾患のない野生型マウス。これらの動物での ^{125}I -SAP維持は、正常と見なされ、アミロイド負荷がないことを反映する。

【 0 3 7 2 】

【表 9】

表9
H2/huIL-6マウスの血液化学パラメータの正常値

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

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

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

【0373】

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

【0374】

【表10】

表10

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

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

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

【0375】

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

10

20

30

40

50

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

【 0 3 7 6 】

【表 1 1】

表11

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

10

20

評価可能であった m A b J H 7 0 処置マウスの約 6 5 % が試験終了まで生存した。対照的に、評価可能であった 2 A 4 マウスのいずれも 5 7 日間に死亡しなかった。標準方法を使用する生存データの解析によって、生存曲線の有意差が示された（M a n t e l - C o x 検定を使用して $P = 0.015$ および G r e h a n - B r e s l o w - W i l c o x o n 検定を使用して $P = 0.016$ ）。

【 0 3 7 7 】

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

30

【 0 3 7 8 】

【表 1 2】

表12

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

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

2 A 4 で処置したマウスは、J H 7 0 で処置したマウスと比較したときに、血液尿素窒素（B U N）およびアラニンアミノトランスフェラーゼ（A L T）のレベルの低下を示した。B U N および A L T は、腎機能および肝機能それぞれのマーカーであり、そのレベルの低下は、器官機能が 2 A 4 処置によってより良好に保存され得ることを示している。

40

50

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

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

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

(項目4) ATCCアクセション番号_____によって産生された抗体2A4と、ヒトアミロイドAペプチドへの結合で競合する、項目1に記載の抗体または抗原結合断片。

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

10

(項目6) ATCCアクセション番号_____によって産生された抗体7D8と、ヒトアミロイドAペプチドへの結合で競合する、項目1に記載の抗体または抗原結合断片。

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

(項目8) ATCCアクセション番号_____によって産生された抗体2A4のヒト化もしくはキメラバージョンまたはATCCアクセション番号_____によって産生された抗体7D8のヒト化もしくはキメラバージョンである、項目1に記載の抗体または抗原結合断片。

20

(項目9) 配列番号152の残基20～131として示される2A4軽鎖可変領域の1つ以上の相補性領域または配列番号153の残基20～131として示される7D8軽鎖可変領域の1つ以上の相補性領域を含む軽鎖可変領域を含む、項目8に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目10) 配列番号152の残基20～131として示される2A4軽鎖可変領域の3つの相補性領域または配列番号153の残基20～131として示される7D8軽鎖可変領域の3つの相補性領域を含む軽鎖可変領域を含む、項目9に記載の抗体または抗原結合断片。

(項目11) YおよびFによってそれぞれ占有されるL87およびL90(Kabatナンバリング規則)から成る群より選択される少なくとも1つの軽鎖フレームワーク残基を含み、ここで上記軽鎖可変領域の残りが、ヒトアクセプタ免疫グロブリン軽鎖可変領域内の対応する残基によって占有される、項目10に記載の抗体または抗原結合断片。

30

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

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

40

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

(項目15) 上記ヒトサブグループ2軽鎖可変領域がヒト生殖細胞系VKIIA19/A3からである、項目14に記載の抗体または抗原結合断片。

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

(項目17) 上記軽鎖可変領域が、配列番号152の残基20～131、配列番号15

50

3の残基20～131として示されるか、または配列番号155、156、157、158、159、160、174、175、もしくは176として示されるアミノ酸配列を含む、項目8に記載の抗体または抗原結合断片。

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

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

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

10

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

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

20

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

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

30

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

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

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

40

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

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

(項目30) 配列番号152の残基20～131または配列番号153の残基20～1

50

31として示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、および配列番号154の残基20～138として示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、項目27に記載の抗体または抗原結合断片。

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

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

10

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

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

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

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

20

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

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

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

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

30

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

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

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

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

40

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

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

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

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

50

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

(項目50) 免疫グロブリン軽鎖タンパク質がVλ6 W i lである、項目49に記載の抗体または抗原結合断片。

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

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

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

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

(項目55) 上記アミロイドタンパク質がApoA1である、項目48に記載の抗体または抗原結合断片。

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

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

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

(項目59) 上記被験体がヒトである、項目58に記載の方法。

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

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

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

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

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

(項目65) 上記被験体がヒトである、項目64に記載の方法。

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

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

(項目68) 項目30に記載の抗体または抗原結合断片を被験体に投与して、それによりアミロイドーシスを処置するステップを含む、アミノ酸配列EDを含む凝集アミロイドタンパク質に関連する該アミロイドーシスに罹患している該被験体を治療的に処置する方法。(項目69) 上記被験体がヒトである、項目68に記載の方法。

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

(項目71) 治療的に処置するステップがアミロイド原線維凝集体の沈着を抑制することを含む、項目68に記載の方法。

10

20

30

40

50

(項目 7 2) 治療的に処置するステップがアミロイド原線維凝集体の排除を含む、項目 6 8 に記載の方法。

(項目 7 3) 上記アミロイドタンパク質が配列 A E D V (配列番号 2 3) を含み、アミロイド形成性疾患が、A A アミロイドーシス、A L アミロイドーシス、アミロイド多発性神経障害、地中海熱、マッケル - ウェルズ症候群、全身性炎症疾患に関連する反応性全身性アミロイドーシス、骨髄腫またはマクログロブリン血症関連アミロイドーシス、免疫担当細胞疾患に関連するアミロイドーシス、単クローン性高ガンマグロブリン血症、不顕性疾患、および慢性炎症疾患に関連する限局性結節性アミロイドーシスである、項目 6 8 に記載の方法。

(項目 7 4) 項目 3 0 に記載の抗体または抗原結合断片を被験体に投与して、それによりアミロイドーシスを処置するステップを含む、アミノ酸配列 E D を含む凝集アミロイドタンパク質に関連する該アミロイドーシスに罹りやすい該被験体を予防的に処置する方法。

10

(項目 7 5) 検出可能な標識に結合されている項目 1 に記載の抗体またはその抗原結合断片を被験体に投与するステップと、該被験体において該検出可能な標識を検出するステップを含む、該被験体において A A アミロイドーシスに関連するアミロイド沈着物を検出する方法。

(項目 7 6) 上記被験体がヒトである、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 7 7) 上記被験体が関節リウマチ、若年性慢性関節炎、強直性脊椎炎、乾癬、乾癬性関節症、ライター症候群、成人スティル病、ベーチェット症候群、クローン病、らい、結核、気管支拡張症、褥瘡性潰瘍、慢性腎盂腎炎、骨髄炎、ウィップル病、ホジキンリンパ腫、腎臓癌、消化管、肺および尿生殖路の癌、基底細胞癌、ヘアリー細胞白血病、家族性地中海熱、およびキャッスルマン病から成る群より選択されるアミロイド疾患に罹患するかまたは罹りやすい、項目 7 5 に記載の方法。

20

(項目 7 8) 上記検出可能な標識が放射性標識である、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 7 9) 放射性標識が ^{125}I である、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 0) 上記検出が S P E C T / C T 画像化によって実施される、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 8 1) 上記検出が N M R 分光法によって実施される、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 8 2) 検出可能な標識に結合されている項目 3 0 に記載の抗体またはその抗原結合断片を被験体に投与するステップと、該検出可能な標識を検出するステップとを含む、該被験体においてアミロイド沈着物を検出する方法。

30

(項目 8 3) 上記被験体がヒトである、項目 8 2 に記載の方法。

(項目 8 4) アミロイドーシスが A A アミロイドーシス、A L アミロイドーシス、アルツハイマー病、軽度認知障害、アミロイド多発性神経障害、地中海熱、マッケル - ウェルズ症候群、全身性炎症疾患に関連する反応性全身性アミロイドーシス、骨髄腫またはマクログロブリン血症関連アミロイドーシス、免疫担当細胞疾患に関連するアミロイドーシス、単クローン性高ガンマグロブリン血症、不顕性疾患、または慢性炎症疾患に関連する限局性結節性アミロイドーシスである、項目 8 2 に記載の方法。

(項目 8 5) 上記検出可能な標識が放射性標識である、項目 8 2 に記載の方法。

40

(項目 8 6) 上記放射性標識が ^{125}I である、項目 8 5 に記載の方法。

(項目 8 7) 上記検出が S P E C T / C T 画像化によって実施される、項目 8 2 に記載の方法。

(項目 8 8) 上記検出が N M R 分光法によって実施される、項目 8 2 に記載の方法。

(項目 8 9) アミロイド A ペプチドの残基 7 0 ~ 7 6 に対する抗体を含む、免疫応答を誘導して、それにより被験体の A A アミロイドーシスを処置するのに有効なアミロイド A ペプチドの残基 7 0 ~ 7 6 に対する免疫応答を誘導する薬剤を投与するステップを含む、A A アミロイドーシスを有する該被験体を治療的に処置する方法。

(項目 9 0) アミロイド A ペプチドの残基 7 0 ~ 7 6 に対する抗体を含む、免疫応答を誘導して、それにより被験体の A A アミロイドーシスの予防を達成するのに有効なアミロ

50

イドAペプチドの残基70～76に対する免疫応答を誘導する薬剤を投与するステップを含む、AAアミロイドーシスに罹りやすい該被験体を予防的に処置する方法。

【図1】

HSAA1 (配列番号 98)	1	NKLTGLVFC	SLVIGVSSRS	FESFGRLEFD	GAKDMWRAYS	DREANVYIOS
HSAA2 (配列番号 99)	1	NKLTGLVFC	SLVIGVSSRS	FESFGRLEFD	GAKDMWRAYS	DREANVYIOS
HSAA3 (配列番号 100)	1	NKLTGLVFC	SLVIGVSSSQ	WLFLEAAQD	GAKDMWRAYS	DREANVYIOS
HSAA4 (配列番号 101)	1	NKLTGLVFC	SLVIGVTSRS	WRSFEEALQ	GVGEMBRAYW	DIMISHRQNS
HSAA1 (配列番号 98)	51	DKYFHAGNY	DAKRGPGGV	WAANAISDAR	ENIQRFCHG	A-----E
HSAA2 (配列番号 99)	51	DKYFHAGNY	DAKRGPGGA	WAANVISNAR	ENIQRLTCHG	A-----E
HSAA3 (配列番号 100)	51	DKYFHAGNY	DAVQRPQGV	WATEVISDAR	ENVQLTGDH	A-----E
HSAA4 (配列番号 101)	51	NRVYFHAGNY	DAQRCPQGV	WAAKLIGSER	VYIGLIGGV	lfgnsstVLE
HSAA1 (配列番号 98)	93	DSLADQANE	WGRSGMDFNH	FRPAGLPEKY		
HSAA2 (配列番号 99)	93	DSLADQANK	WGRSGMDFNH	FRPAGLPEKY		
HSAA3 (配列番号 100)	93	DSLADQATNK	WQSGGMDFNH	FRPAGLPEKY		
HSAA4 (配列番号 101)	101	DERANEKQNS	WGRSGMDFNH	FRDGLPFKI		

FIG. 1

【図2】

HSAA1 (配列番号 98)	1	mKLTGLVfc	slvlgvssrs	FFSFGRLEFD	GAKDMWRAYS	DREANVYIOS
HAAL (配列番号 102)	1	-----	-----RS	FFSFGRLEFD	GAKDMWRAYS	DREANVYIOS
HSAA1 (配列番号 98)	51	DKYFHAGNY	DAKRGPGGV	WAANAISDAR	ENIQRFCHG	ASDsladqaa
HAAL (配列番号 102)	33	DKYFHAGNY	DAKRGPGGV	WAANAISDAR	ENIQRFCHG	ASDS-----
HSAA1 (配列番号 98)	101	newgrsgmdp	nhtfgraglfse	ky		
HAAL (配列番号 102)		-----	-----	-----		

FIG. 2

【 3 】

HSA2 (7/7) { 1 mklitglvfc slvlyvmsrs ffsflgeatd gsdmweas dmsentigs
 HAA2 (7/7) { 1 -----RS ffsflgeatd gsdmweas dmsentigs
 HSA2 (7/7) { 51 DKYFHAGNY DAARPGGA WAAEVSINR ENIQIATGH AEDSIAGGA
 HAA2 (7/7) { 33 DKYFHAGNY DAARPGGA WAAEVSINR ENIQIATGH AEDSIAGGA
 HSA2 (7/7) { 101 nkwtgsrdp zhrpaciDe ky
 HAA2 (7/7) { 101 -----zhrpaciDe ky

FIG. 3

【 4 】

HSA3 { 1 mklitglvfc slvlyvmsrs ffsflgeatd gsdmweas dmsentigs
 HAA3 { 1 -----RS ffsflgeatd gsdmweas dmsentigs
 HSA3 { 51 DKYFHAGNY DAARPGGA WAAEVSINR ENIQIATGH AEDSIAGGA
 HAA3 { 33 DKYFHAGNY DAARPGGA WAAEVSINR ENIQIATGH AEDSIAGGA
 HSA3 { 101 nkwtgsrdp zhrpaciDe ky
 HAA3 { 101 -----zhrpaciDe ky

FIG. 4

【 5 】

HSA4 { 1 mklitglvfc slvlyvmsrs ffsflgeatd gsdmweas dmsentigs
 HAA4 { 1 -----RS ffsflgeatd gsdmweas dmsentigs
 HSA4 { 51 NKYLKAGNY DAARPGGV WAKLISER VILQILIDY LFQNS---
 HAA4 { 33 NKYLKAGNY DAARPGGV WAKLISER VILQILIDY LFQNS---
 HSA4 { 101 dekanekase wgrngkdpc- f-pdglpky
 HAA4 { 101 -----f-pdglpky

FIG. 5

【 6 】

HAA1 { 1 RSFFFLGHA FDGARDWPA YSDREANYI GSKYFHAG NYDAKRGPG
 HAA2 { 1 RSFFFLGHA FDGARDWPA YSDREANYI GSKYFHAG NYDAKRGPG
 HAA3 { 1 GSKYFHAG NYDAKRGPG YSDREANYI GSKYFHAG NYDAKRGPG
 HAA4 { 1 GSKYFHAG NYDAKRGPG YSDREANYI GSKYFHAG NYDAKRGPG
 HAA1 { 51 GWAAEVSIN AENIQIATGH AEDSIAGGA
 HAA2 { 51 GWAAEVSIN AENIQIATGH AEDSIAGGA
 HAA3 { 51 GWAAEVSIN AENIQIATGH AEDSIAGGA
 HAA4 { 51 GWAAEVSIN AENIQIATGH AEDSIAGGA

FIG. 6

【 図 7 】

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

FIG. 7

【 図 9 】

NSA11 (	配列番号 106)	1	nklltslvfc alllgvchg ffsfvgearq gqcdmwratt dmekawnds
NSA11 (	配列番号 110)	1	-----G ffsfvgearq gqcdmwratt dmekawnds
NSA11 (	配列番号 106)	51	dkxfhargny dnaqrgggv waakisdor rafqffgng hdtiadqea
NSA11 (	配列番号 110)	52	dkxfhargny dnaqrgggv waakisdor rafqffgng hdtiadqea
NSA11 (	配列番号 106)	101	nrhgrsgkdp nyvffslpa ky
NSA11 (	配列番号 110)	101	-----

FIG. 9

【 図 8 】

ワズ SAAL (	配列番号 106)	1	nklltslvfc alllgvchg ffsfvgearq gqcdmwratt dmekawnds
ワズ SAAL (	配列番号 107)	1	nklltslvfc alllgvchg ffsfvgearq gqcdmwratt dmekawnds
ワズ SAAL (	配列番号 109)	1	nklltslvfc alllgvchg ffsfvgearq gqcdmwratt dmekawnds
ワズ SAAL (	配列番号 109)	1	nklltslvfc alllgvchg ffsfvgearq gqcdmwratt dmekawnds
ワズ SAAL (	配列番号 106)	51	dkxfhargny dnaqrgggv waakisdor rafqffgng hdtiadqea
ワズ SAAL (	配列番号 107)	51	dkxfhargny dnaqrgggv waakisdor rafqffgng hdtiadqea
ワズ SAAL (	配列番号 108)	51	dkxfhargny dnaqrgggv waakisdor rafqffgng hdtiadqea
ワズ SAAL (	配列番号 109)	51	dkxfhargny dnaqrgggv waakisdor rafqffgng hdtiadqea
ワズ SAAL (	配列番号 106)	93	dtiaqenr hgrsgkdp nyvffslpa ky
ワズ SAAL (	配列番号 107)	93	dtiaqenr hgrsgkdp nyvffslpa ky
ワズ SAAL (	配列番号 108)	93	dtiaqenr hgrsgkdp nyvffslpa ky
ワズ SAAL (	配列番号 109)	101	dtiaqenr hgrsgkdp nyvffslpa ky

FIG. 8

【 図 10 】

NSA12 (	配列番号 107)	1	nklltslvfc alllgvchg ffsfvgearq gqcdmwratt dmekawnds
NSA12 (	配列番号 111)	1	-----G ffsfvgearq gqcdmwratt dmekawnds
NSA12 (	配列番号 107)	51	dkxfhargny dnaqrgggv waakisdor rafqffgng hdtiadqea
NSA12 (	配列番号 111)	52	dkxfhargny dnaqrgggv waakisdor rafqffgng hdtiadqea
NSA12 (	配列番号 107)	101	nrhgrsgkdp nyvffslpa ky
NSA12 (	配列番号 111)	101	-----

FIG. 10

		【 1 3 】				【 1 1 】	
MAA1 (	配列番号 110)	1	GFPSYHEAF QGAGDMWRAY TDMKEANTWRN SIKYFHARGN YDAAQRGGG	MSAA3 (	配列番号 108)	1	mhpaiailic ililgydsqr wqfukkeago srsdmwrays dmkanvaykus
MAA2 (	配列番号 111)	1	GFPSFTGEAF QGAGDMWRAY TDMKEAGMKD GSKYFHARGN YDAAQRGGG	MAA3 (	配列番号 112)	1	-----EAGQ SRSDMWRAYS DMKANVWKS
MAA3 (	配列番号 112)	1	-----EAG QGSDMWRAV EDNKKEANTWRN SDRKTHARGN YDAAQRGGG				
MAA4 (	配列番号 113)	1	-WYSFFREAV QGDMWLRAY EDNKKEANTWRN ADCKYTHARGN YDAAQRGGG	MSAA3 (	配列番号 108)	51	DQYFHARGNY DAAQRGGGA WAAKVISEDAR EAVCKFTGSH AEDSrdgda
				MAA3 (	配列番号 112)	25	DQYFHARGNY DAAQRGGGA WAAKVISEDAR EAVCKFTGSH AEDS-----
MAA1 (	配列番号 110)	51	WNAEKISDG REAFOR---- -FFG--RGR EDT			101	newrsqkdp nhtfpaqjpk ry
MAA2 (	配列番号 111)	51	WNAEKISDA RESFOR---- -FFG--RGR EDT				
MAA3 (	配列番号 112)	51	WNAEKISDA RESFOR---- -FFG--RGR EDT				
MAA4 (	配列番号 113)	50	WNAEKIISTS RKTGGLINE YTGILHEDU BTL				

FIG. 13

FIG. 11

		【 1 4 】				【 1 2 】	
MAA1 (	配列番号 110)	69	GRGHEDI	MSAA4 (	配列番号 108)	1	mcrlatvivic sifigwsgdg wysffreavo gvwldhrayr dleantvona
MAA2 (	配列番号 111)	69	GRGHEDI	MAA4 (	配列番号 113)	1	-----WYSFFREAVO GVDLHRAVR DLEANTONA
MAA3 (	配列番号 112)	62	GHGAEDS	MSAA4 (	配列番号 109)	51	DQYFHARGNY EAGQRGGSH WAAKIISTSR KYFQGLIARY YFGIHHGLE
MAA4 (	配列番号 113)	76	nHGLETL	MAA4 (	配列番号 113)	31	DQYFHARGNY EAGQRGGSH WAAKIISTSR KYFQGLIARY YFGIHHGLE
				MSAA4 (	配列番号 109)	101	TLqatqasee wrgsghnph frpegjpekf
				MAA4 (	配列番号 113)	81	IL-----

FIG. 14

FIG. 12

【☒ 1 5】

HSAA1 (	配列番号 98)	1	NKLLTGLVFC	SVLVGVSSRS	FPSFVGEAPD	QASDNWRAVS	DREANVIGS
MSAA1 (	配列番号 106)	1	NKLLTSLVFC	SILLVGVHSG	FPSFVHEAPQ	QASDNWRAVT	DREANVWNS
HSAA1 (	配列番号 90)	51	DKYFHASNY	DAKSGGCV	WAAEVSAS	ENIQRFSSHG	AEESLADQAA
MSAA1 (	配列番号 106)	51	DKYFHASNY	DAKSGGCV	WAAEVSIDSR	ENIQRFSSHG	AEESLADQAA
HSAA1 (	配列番号 98)	101	NEWGSGKDP	NHFRPAGLPE	KY		
MSAA1 (	配列番号 106)	101	NEWGSGKDP	NHFRPAGLPE	KY		

FIG. 15

【☒ 1 6】

HAAL (	配列番号 102)	1	FFPSFVGEA	FDGADWMEA	YSDMEANYI	QSDKYFHARG	NYDAARGPS
MAAL (	配列番号 110)	1	S-FFSFVHEA	FQAGDMWRA	YDMKEANW	NSDKYFHARG	NYDAARGPS
HAAL (	配列番号 102)	51	GWAAEALSD	AREALQFSG	WQAEAS		
MAAL (	配列番号 110)	50	GWAAEALSD	GREALCEFFG	ESHEDT		

FIG. 16

【☒ 1 7】

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

FIG. 17

【☒ 1 8】

HSAA1 7/L77 (	配列番号 114)	1	NKLLTGLVFC	SVLVGVSSRS	FPSFVGEAPD	QASDNWRAVS	DREANVIGS
HSAA1 ベータ (	配列番号 118)	1	NKLLTGLVFC	SVLVGVSSRS	FPSFVGEAPD	QASDNWRAVS	DREANVIGS
HSAA1 ガンマ (	配列番号 116)	1	NKLLTGLVFC	SVLVGVSSRS	FPSFVGEAPD	QASDNWRAVS	DREANVIGS
HSAA1 7/L77 (	配列番号 114)	51	DKYFHASNY	DAKSGGCV	WAAEVSAS	ENIQRFSSHG	AEESLADQAA
HSAA1 ベータ (	配列番号 118)	51	DKYFHASNY	DAKSGGCV	WAAEVSIDSR	ENIQRFSSHG	AEESLADQAA
HSAA1 ガンマ (	配列番号 116)	51	DKYFHASNY	DAKSGGCV	WAAEVSIDSR	ENIQRFSSHG	AEESLADQAA
HSAA1 7/L77 (	配列番号 114)	101	NEWGSGKDP	NHFRPAGLPE	KY		
HSAA1 ベータ (	配列番号 118)	101	NEWGSGKDP	NHFRPAGLPE	KY		
HSAA1 ガンマ (	配列番号 116)	101	NEWGSGKDP	NHFRPAGLPE	KY		

FIG. 18

【 2 3 】

1

NFLLTQPHS

10

VSESPGKTVT

21

ISCTRSSGSI

31

A***NNYVH

35

WYQRPFGSSP

45

TTVIFEDDHR

55

PSGVPRDFSG

65AB

SVDTSSNSAS

73

LTISGLKTED

82

EADYYCQSYD

93

HNN

V_h6 Wtl (配列番号 150)

FIG. 23

【 2 5 】



V_h6 Wtl Glu81



V_h6 Wtl Asp82

FIG. 25

【 2 4 】

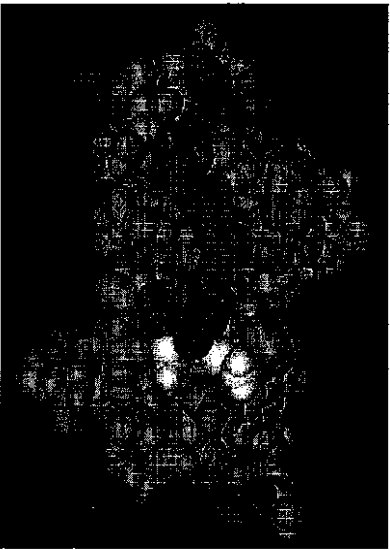


FIG. 24

【 2 6 】

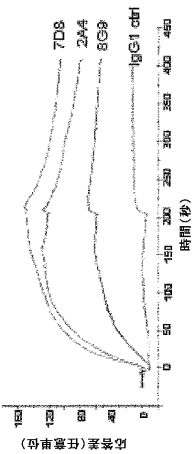


FIG. 26

【図 27】

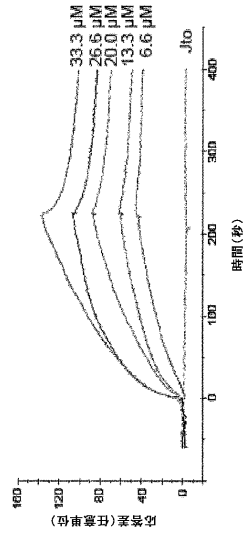


FIG. 27

【図 28】

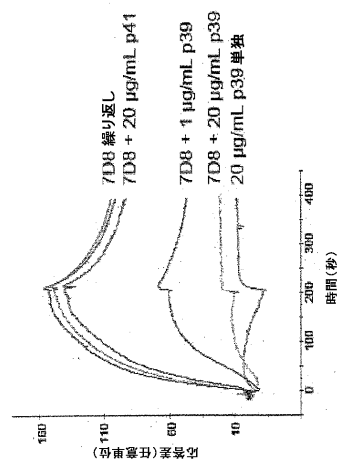


FIG. 28

【図 29】

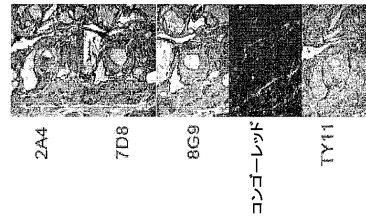


FIG. 29

【図 30】

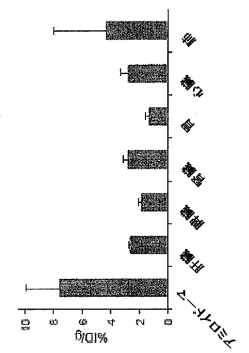


FIG. 30

【図 32】

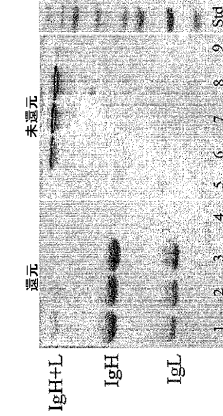


FIG. 32

【図 31】

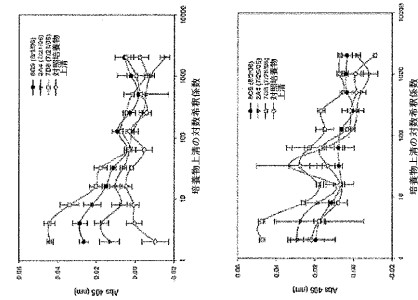


FIG. 31

【 図 3 3 】

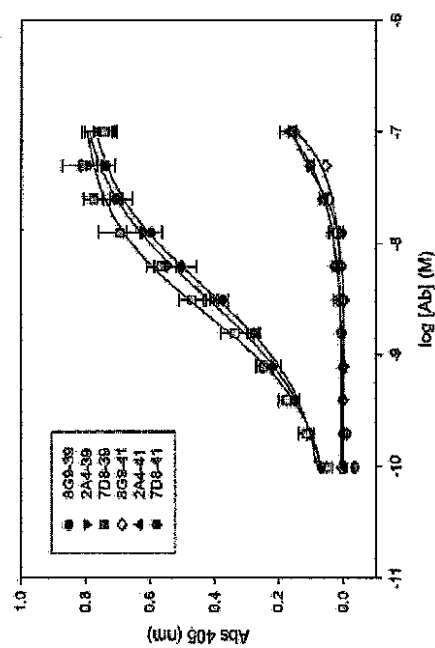


FIG. 33

【 図 3 4 】

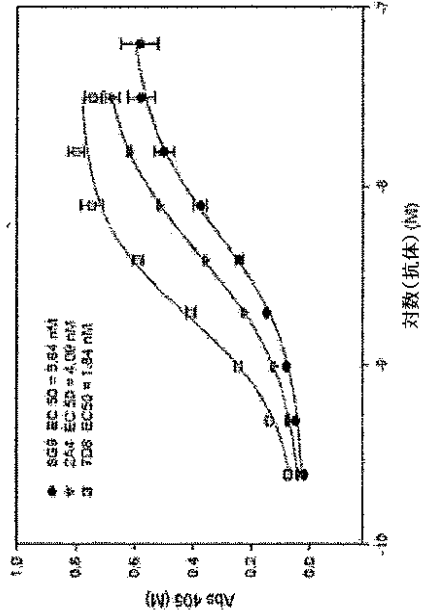


FIG. 34

【 図 3 5 】

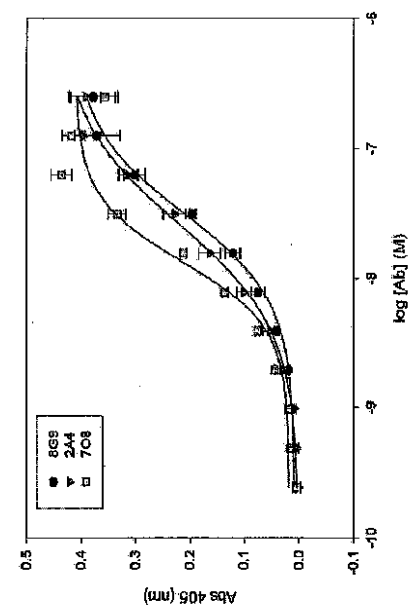


FIG. 35

【 図 3 6 A 】

772AVL(2A4 84-8G9)
NKLPLVLLVLMENIPASSSDVVMQTPLSLPVLGDAQISCRSSSLVHSIGNTYLHWYLOKPGQSPKLLIYKYNRESGVDPDFSGS
GSGTYPLTKISKVEADLGVYFCSSDTHVPEIFGGTKLEIK (配列番号 152)
772AVL(7D8)
NKLPLVLLVLMENIPASSSDVVMQTPLSLPVLGDAQISCRSSSLVHSIGNTYLHWYLOKPGQSPKLLIYKYNRESGVDPDFSGS
GSGTYPLTKISKVEADLGVYFCSSDTHVPEIFGGTKLEIK (配列番号 153)
772AVH(2A4, 7D8, 8G9)
MVLGLKAWFEATVYEQGHCEVOLVESGRLYQPKSLKSCAASGETENTYAMYWIQARCKGLEWVARRSKSNNTAITYADSYK
DRITPDDSQSMLYLQNNILKTEDTANTYCYRPSISEALYWGQILVTYSA (配列番号 154)

FIG. 36A

【図 3 6 B】

Hum2A4 VLパージョン1
 DVVMTQSPISLPVTFGEPAISICRSSQSLVHSTGNTYLHWYLQKPGQSPQLLYKYSNRFSGYPDRFSGSGGTFTLKSRVEAEDVGV
 YICSQSTHVPFTFGGGTKVEIK (配列番号 155)

Hum2A4 VLパージョン2
 DVVMTQSPISLPVTFGEPAISICRSSQSLVHSTGNTYLHWYLQKPGQSPQLLYKYSNRFSGYPDRFSGSGGTFTLKSRVEAEDVGV
 YICSQSTHVPFTFGGGTKVEIK (配列番号 156)

Hum2A4 VLパージョン3
 DVVMTQSPISLPVTFGEPAISICRSSQSLVHSTGNTYLHWYLQKPGQSPQLLYKYSNRFSGYPDRFSGSGGTFTLKSRVEAEDVGV
 YICSQSTHVPFTFGGGTKVEIK (配列番号 157)

FIG. 36B

【図 3 6 C】

Hum7D8 VLパージョン1
 DVVMTQSPISLPVTFGEPAISICRSSLVHSTGNTYLHWYLQKPGQSPQLLYKYSNRFSGYPDRFSGSGGTFTLKSRVEAEDVGV
 YICSQSTHVPFTFGGGTKLEIK (配列番号 158)

Hum7D8 VLパージョン2
 DVVMTQSPISLPVTFGEPAISICRSSLVHSTGNTYLHWYLQKPGQSPQLLYKYSNRFSGYPDRFSGSGGTFTLKSRVEAEDVGV
 YICSQSTHVPFTFGGGTKLEIK (配列番号 159)

Hum7D8 VLパージョン3
 DVVMTQSPISLPVTFGEPAISICRSSLVHSTGNTYLHWYLQKPGQSPQLLYKYSNRFSGYPDRFSGSGGTFTLKSRVEAEDVGV
 YICSQSTHVPFTFGGGTKLEIK (配列番号 160)

Hum7D8 VLパージョン4
 DVVMTQSPISLPVTFGEPAISICRSSLVHSTGNTYLHWYLQKPGQSPQLLYKYSNRFSGYPDRFSGSGGTFTLKSRVEAEDVGV
 YICSQSTHVPFTFGGGTKLEIK (配列番号 174)

Hum7D8 VLパージョン5
 DVVMTQSPISLPVTFGEPAISICRSSLVHSTGNTYLHWYLQKPGQSPQLLYKYSNRFSGYPDRFSGSGGTFTLKSRVEAEDVGV
 YICSQSTHVPFTFGGGTKLEIK (配列番号 175)

Hum7D8 VLパージョン6
 DVVMTQSPISLPVTFGEPAISICRSSLVHSTGNTYLHWYLQKPGQSPQLLYKYSNRFSGYPDRFSGSGGTFTLKSRVEAEDVGV
 YICSQSTHVPFTFGGGTKLEIK (配列番号 176)

FIG. 36C

【図 3 6 D】

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

フレームワーク Gen Bankアクセション番号 BAC01713
 MEYLTPTAALGGLVQPGSLRLSCAASGFTFNTYAMYWIROAPGKGLEWVARIRSKSNYYAIYYADSVKDRFTISRDDSKNSLYLQMNSL
 PSKSGSDFTFLKSRVEAEDVGVYICMQALQPIPLTFGGGKVEIKRYAPHSYGFHNSDDPQLKSGSGTFTLKSRVEAEDVGVYICMQALQPIPLTFGGGKVEIKRY
 DNALQNSQBSAVTPEQSDSTYSLSSTLTLSKADYEKKVYACEVTHQGLSSPVTKSNRGECSARQSTFPVCEIQQSSDLFPFVN
 AGGSGSGSG (配列番号 167)

FIG. 36D

【図 3 6 E】

Hum2A4/7D8/8G9 VHパージョン1
 EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFNTYAMYWIROAPGKGLEWVARIRSKSNYYAIYYADSVKDRFTISRDDSKNSLYLQMNSL
 KTIEDTAVYYCARPYSDSFAYWGQGITLVTS (配列番号 161)

Hum2A4/7D8/8G9 VHパージョン2
 EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFNTYAMYWIROAPGKGLEWVARIRSKSNYYAIYYADSVKDRFTISRDDSKNSLYLQMNSL
 KTIEDTAVYYCARPYSDSFAYWGQGITLVTS (配列番号 162)

Hum2A4/7D8/8G9 VHパージョン3
 EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFNTYAMYWIROAPGKGLEWVARIRSKSNYYAIYYADSVKDRFTISRDDSKNSLYLQMNSL
 KTIEDTAVYYCARPYSDSFAYWGQGITLVTS (配列番号 163)

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

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

FIG. 36E

【配列表】

0005730020000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 P 25/28 (2006.01) A 6 1 P 25/28
G 0 1 N 33/53 (2006.01) G 0 1 N 33/53 D

微生物の受託番号 ATCC PTA-9468

前置審査

(74)代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹
 (74)代理人 100181674
 弁理士 飯田 貴敏
 (74)代理人 100181641
 弁理士 石川 大輔
 (74)代理人 230113332
 弁護士 山本 健策
 (72)発明者 シェンク, デール ビー .
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 1 0 , バーリンゲーム, ロス アルトス ドライブ
 1 5 4 2
 (72)発明者 シューバート, ピーター エー .
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 1 4 , サンフランシスコ, カストロ ストリート
 8 0 1
 (72)発明者 ウォール, ジョナサン
 アメリカ合衆国 テネシー 3 7 9 2 2 , ノックスビル, ハーリントン ドライブ 1 2 1 6
 (72)発明者 サルダナー, ホセ
 イギリス国 イーエヌ 1 - 3 ピーディー ミドルセックス, エンフィールド, フィレブルック
 アベニュー 2 1

審査官 竹内 祐樹

(56)参考文献 特開平 0 9 - 1 2 1 8 8 8 (J P , A)
 特開昭 6 3 - 0 4 4 8 9 5 (J P , A)
 Scand. J. Immunol., 1998, 48(5), pp.557-561

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
 C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0
 C 0 7 K 1 6 / 0 0 - 1 6 / 4 6
 C A p l u s / M E D L I N E / B I O S I S / W P I D S (S T N)
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

专利名称(译)	治疗和预防淀粉样变性		
公开(公告)号	JP5730020B2	公开(公告)日	2015-06-03
申请号	JP2010540936	申请日	2008-12-29
[标]申请(专利权)人(译)	伊兰制药公司		
申请(专利权)人(译)	伊兰制药公司		
当前申请(专利权)人(译)	Neotopu生物科学有限公司 田纳西州研究基金会大学		
[标]发明人	シェンクデールビー シューバートピーターエー ウォールジョナサン サルダナーホセ		
发明人	シェンク, デール ビー. シューバート, ピーター エー. ウォール, ジョナサン サルダナー, ホセ		
IPC分类号	C07K16/46 C12N15/09 C12N5/10 C12P21/08 A61K39/395 A61P25/28 G01N33/53		
CPC分类号	A61K51/1018 A61K2039/505 A61P1/04 A61P11/00 A61P13/12 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/00 A61P19/02 A61P19/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/04 A61P31 /06 A61P31/08 A61P35/00 A61P35/02 C07K16/18 C07K2317/24 C07K2317/32 C07K2317/34 Y10S530 /809 A61K39/0008 A61K49/00 A61K49/16 C07K2317/52 C07K2317/56 C07K2317/565 C07K2317/567 C07K2317/92		
FI分类号	C07K16/46.ZNA C12N15/00.A C12N5/00.102 C12P21/08 A61K39/395.N A61P25/28 G01N33/53.D		
代理人(译)	夏木森下 饭田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作		
优先权	61/007544 2007-12-28 US 61/095932 2008-09-10 US		
其他公开文献	JP2011510913A5 JP2011510913A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

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

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