

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-519505

(P2018-519505A)

(43) 公表日 平成30年7月19日(2018.7.19)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 N	2GO41
GO 1 N 27/62 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D	4B050
C 1 2 Q 1/04 (2006.01)	GO 1 N 27/62 X	4B063
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	C 1 2 Q 1/04 ZNA	4C084
A 6 1 K 31/505 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4C085
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求		(全 92 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-561625 (P2017-561625)
 (86) (22) 出願日 平成28年5月27日 (2016. 5. 27)
 (85) 翻訳文提出日 平成30年1月25日 (2018. 1. 25)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2016/062090
 (87) 国際公開番号 W02016/189163
 (87) 国際公開日 平成28年12月1日 (2016. 12. 1)
 (31) 優先権主張番号 1509134.1
 (32) 優先日 平成27年5月28日 (2015. 5. 28)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)
 (31) 優先権主張番号 1512596.6
 (32) 優先日 平成27年7月17日 (2015. 7. 17)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 505423678
 エレクトロフォレティクス リミテッド
 イギリス国 WC 1 H 9 B B ロンドン
 マブレドン プレイス ハミルトン ハ
 ウス
 (74) 代理人 100097456
 弁理士 石川 徹
 (72) 発明者 イアン ヒューゴ ピケ
 イギリス国 WC 1 H 9 B B ロンドン
 マブレドン プレイス ハミルトン ハ
 ウス エレクトロフォレティクス リミテ
 ッド

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アルツハイマー病に関係する生体分子

(57) 【要約】

本発明は、タンパク質ホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A及び/又は2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ及び/又はリン酸化されたタウもしくはその断片を含むバイオマーカーのパネル、並びにタウ毒性を特徴とする神経認知障害、特に、アルツハイマー病を診断するため、ステージ分類するため、治療するため、及び該障害の治療の応答を評価するためにそれを用いる方法に関する。本発明は、本明細書において開示されるバイオマーカーが、神経認知障害の進行したステージ(BraakステージV/VI)の対象の脳において上昇する、かつ/又は認知的に冒されている非AD対照と比較してAD対象のCSFにおいて調節される;かつ/又は2種のカゼインキナーゼ1デルタ阻害剤に応答して調節されることを示す。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項1】

i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリ-サブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片;及び/あるいは

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片

を含むバイオマーカーのパネル。

【請求項2】

タウ又はその1以上の断片を含むバイオマーカーのパネルであって、タウが:

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含み;

タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルが、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む、前記パネル。

【請求項3】

表5、6、7、8、9、10、11、12、13、又はそれらの組合せから選択される1以上、任意に2以上のタンパク質を含むバイオマーカーのパネル。

【請求項4】

配列番号:11のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するアクチンアルファ心筋1、配列番号:12のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するアンチトロンピン-III、配列番号:3のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するBH3共役ドメインデスアゴニスト、配列番号:24のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するcAMP依存性プロテインキナーゼI型-ベータレギュラトリ-サブユニット、配列番号:4のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するカテニンデルタ-1、配列番号:23のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する170kDaの中心体タンパク質、配列番号:5のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するクラスリン軽鎖B、配列番号:13のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するEglnineホモログ1、配列番号:14のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するフィブリノーゲンガンマ鎖、配列番号:27のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するGMP還元酵素1、配列番号:6のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するグアニンヌクレオチド結合タンパク質G(q)サブユニットアルファ、配列番号:15のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するインスリン様増殖因子結合タンパク質6、配列番号:28のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するKxDLモチーフ含有タンパク質1、配列番号:18のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するラムダ-クリスタリンホモログ、配列番号:20のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するミエリン関連オリゴデンドロサイト塩基性タンパク質、配列番号:7のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する中性アルファ-グルコシダーゼAB、配列番号:19のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する核膜孔複合体タンパク質Nup155、配列番号:16のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するOC1Aドメイン含有タンパク質1、配列番号:25のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するタンパク質KIAA1045、配列番号:8のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するセセルニン-2、配列番号:17のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する血清アルブミン、配列番号:9のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する短鎖特異的アシルCoAデヒドロゲナーゼ、配列番号:22のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するシナプトポリン、配列番号:10のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するシタフィリン、配列番号:21のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する膜

10

20

30

40

50

貫通型タンパク質119、及び配列番号:26のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するチューブリンアルファ鎖様3を含む群Aから選択される1以上の、代わりの2以上のタンパク質をさらに含む、請求項1記載のバイオマーカーのパネル。

【請求項5】

群B、C、又はDから選択される1以上のタンパク質をさらに含む、請求項1記載のバイオマーカーのパネル。

【請求項6】

請求項2記載のパネルにおいて定義される1以上のバイオマーカーをさらに含む、請求項1、4、又は5のいずれか1項記載のバイオマーカーのパネル。

【請求項7】

請求項3記載のパネルにおいて定義される1以上のバイオマーカーをさらに含む、請求項1、4、5、又は6のいずれか1項記載のバイオマーカーのパネル。

【請求項8】

タウが:

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) S61、S64、S199、S205、及びS396から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含む、請求項2記載のバイオマーカーのパネル。

【請求項9】

少なくともベシジン及び/又はミトコンドリアのシトクロムcオキシダーゼサブユニット7A関連タンパク質を含む、請求項3記載のバイオマーカーのパネル。

【請求項10】

対象における神経認知障害を診断するための方法であって:

- a) 該対象から得られる試料を、請求項1~9のいずれか1項において定義されるパネルのバイオマーカーについてアッセイすること;
- b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること;
- c) 該試料中の該パネルの各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、神経認知障害を有しているかどうかを決定することを含む、前記方法。

【請求項11】

対象における神経認知障害をステージ分類するための方法であって:

- a) 該対象から得られる試料を、請求項1~9のいずれか1項において定義されるパネルのバイオマーカーについてアッセイすること;
- b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること;
- c) 該試料中の該パネルの各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象における該神経認知障害のステージを決定することを含む、前記方法。

【請求項12】

対象において神経認知障害を発症する可能性を評価するための方法であって:

- a) 該対象から得られる試料を、請求項1~9のいずれか1項において定義されるパネルのバイオマーカーについてアッセイすること;
- b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること;
- c) 該試料中の該バイオマーカーパネルの各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、神経認知障害を発症する可能性があるかどうかを決定することを含む、前記方法。

【請求項13】

対象における神経認知障害を治療するための方法であって:

- a) 該対象から得られる試料を、請求項1~9のいずれか1項において定義されるパネルのバイオマーカーについてアッセイすること;
- b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること;
- c) 該試料中の各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は

10

20

30

40

50

量と比較することによって、該対象が、神経認知障害を有しているかどうかを決定すること;

d) 該神経認知障害を治療するための薬物を、該対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 14】

対象における神経認知障害を治療するための薬物に対する応答を評価するための方法であって、該対象が、該薬物で治療されてきたか又は該薬物で治療されており、該方法が:

a) 対象から得られる試料を、請求項1~9のいずれか1項において定義されるパネルのバイオマーカーについてアッセイすること;

b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること;

c) 該試料中の各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、該薬物に反応してきたかどうか又は該薬物に反応しているかどうかを決定することを含む、前記方法。

【請求項 15】

神経認知障害を治療するための前記薬物が、キナーゼ阻害剤である、請求項13又は請求項14記載の方法。

【請求項 16】

前記キナーゼ阻害剤が、タウキナーゼ阻害剤、又はカゼインキナーゼ阻害剤、任意に、カゼインキナーゼ1アルファ、ベータ、ガンマ、デルタ、もしくはイプシロンから選択される、請求項15記載の方法。

【請求項 17】

前記キナーゼ阻害剤が、5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン;

2-アミノ-3-[(チオフェン-2-イル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド;

2-[3-(ピリジン-4-イル)-1H-ピラゾール-4-イル]-1,3-ベンゾオキサゾール;

2-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド; 2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド;

2-アミノ-3-ベンゾイルインドリジン-1-カルボキサミド;

2-アミノ-1-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]-1H-インドール-3-カルボキサミド; それらの組合せ; 又はそれらの医薬として許容し得る塩もしくは溶媒和物から選択されるカゼインキナーゼ1デルタ阻害剤である、請求項16記載の方法。

【請求項 18】

前記カゼインキナーゼ1デルタ阻害剤が、5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン;

2-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド; 2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミドから選択される、請求項17記載の方法。

【請求項 19】

前記神経認知障害が、タウ毒性を特徴とする、請求項10~18のいずれか1項記載の方法。

【請求項 20】

前記神経認知障害が、タウオパチーである、請求項8~17のいずれか1項記載の方法。

【請求項 21】

前記タウオパチーが、アルツハイマー病、17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症(FTDP-17)、進行性核上性麻痺(PSP)、ピック病、皮質基底核変性症、多系統萎縮症(MSA)、鉄蓄積を伴う神経基底変性、1型(ハラールホルデン・スパッツ)、嗜銀顆粒性認知症、ダウン症候群、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、ボクサー認知症、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、筋強直性ジストロフィー、ニーマン・ピック病C型、進行性皮質下グリオーシス、プリオンタンパク質脳アミロイドアンギオパチー、神経原線維変化型認知症、脳炎後パーキンソニズム、亜急性硬化性全脳炎、クロイツフェルト・ヤコブ病、筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症症候群、神経原線維

10

20

30

40

50

変化/認知症を伴う非グアム型運動ニューロン疾患、慢性外傷性脳障害、アルファ-シヌクレイン病、パーキンソン病、又はそれらの組合せの群から選択される、請求項20記載の方法。

【請求項22】

前記タウオパチーが、アルツハイマー病である、請求項21記載の方法。

【請求項23】

工程d)が、メマンチン(例えば、Namenda(登録商標))、ガラントミン(例えば、Razadyne(登録商標))、リバスチグミン(例えば、Exelon(登録商標))、ドネペジル(例えば、Aricept(登録商標))、ソラネズマブ、5HT₅アンタゴニスト、又はそれらの組合せの群から選択される追加の治療薬剤を投与することをさらに含む、請求項13記載の方法。

10

【請求項24】

請求項14記載の方法であって:

i)前記対象が、メマンチン(例えば、Namenda(登録商標))、ガラントミン(例えば、Razadyne(登録商標))、リバスチグミン(例えば、Exelon(登録商標))、ドネペジル(例えば、Aricept(登録商標))、ソラネズマブ、5HT₅アンタゴニスト、若しくはそれらの組合せの群から選択される追加の治療薬剤でも治療されてきたか又は治療されており;かつ/又は

ii)工程c)の後に、該方法が、メマンチン(例えば、Namenda(登録商標))、ガラントミン(例えば、Razadyne(登録商標))、リバスチグミン(例えば、Exelon(登録商標))、ドネペジル(例えば、Aricept(登録商標))、ソラネズマブ、5HT₅アンタゴニスト、若しくはそれらの組合せの群から選択される追加の治療薬剤を投与することを含む、前記方法。

20

【請求項25】

前記アッセイする工程a)及び/又は前記測定する工程b)が:

i)前記試料を、前記パネルの前記バイオマーカの各々に対する1以上の結合性物質と接触させること;又は

ii)前記試料中で前記バイオマーカの各々に特異的な自己抗体を検出すること;又は

iii)前記試料中で、質量分析により、前記パネルの前記バイオマーカ又はそれらの断片の各々を、任意に該試料を1以上のアイソパリックな反応性質量標識で事前に標識して、検出すること;又は

iv)前記試料中で、2Dゲル電気泳動により、前記パネルの前記バイオマーカの各々を検出すること;又は

30

iv) i)、ii)、iii)、もしくはiv)のいずれかの組合せを含む、請求項10~24のいずれか1項記載の方法。

【請求項26】

工程a)における前記アッセイすること及び/又は工程b)における前記測定することが:

i)前記パネルにおける前記バイオマーカの1以上の断片を検出すること、及び/又は

ii)配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するタウもしくはその1以上の断片上の1以上のリン酸化アミノ酸を検出することであって、検出されるべきタウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合、タウ又はその1以上の断片上の少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸が検出される、前記検出すること;を含む、請求項25記載の方法。

40

【請求項27】

前記試料が、固体支持体上に固定化されている、請求項25又は請求項26記載の方法。

【請求項28】

前記試料が、脳脊髄液(CSF)、血液、血漿、血清、唾液、尿、組織(例えば、脳組織)又はそれらの組合せの群から選択される、請求項10~27のいずれか1項記載の方法。

【請求項29】

前記試料が、CSF又は血液である、請求項10~28のいずれか1項記載の方法。

【請求項30】

前記対象が、ヒト対象である、請求項10~29のいずれか1項記載の方法。

【請求項31】

50

試料中で、請求項1～9のいずれか1項において定義されるパネルの前記バイオマーカーをアッセイ及び/又は測定するための試薬を含むキット。

【請求項32】

前記試薬が、前記パネルの前記バイオマーカーに特異的に結合する1以上の結合性物質を含む、請求項31記載のキット。

【請求項33】

前記1以上の結合性物質が、一次抗体であり、各々の一次抗体が：

i) 前記パネルの異なるバイオマーカー、及び/又は

ii) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するタウもしくはその断片の1以上のリン酸化アミノ酸

に特異的に結合する、請求項32記載のキット。

【請求項34】

前記試薬が、前記一次抗体に特異的に結合する1以上の二次抗体をさらに含む、請求項33記載のキット。

【請求項35】

前記二次抗体が、標識されている、請求項34記載のキット。

【請求項36】

前記試料が、脳脊髄液(CSF)、血液、血漿、血清、唾液、尿、組織(例えば、脳組織)又はそれらの組合せの群から選択される、請求項31～35のいずれか1項記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(本発明の分野)

本発明は、タウ毒性を特徴とする神経認知障害、特に、アルツハイマー病のためのバイオマーカーのセット、並びに該障害を診断するため、ステージ分類するため、治療するため、及び該障害の治療の応答を評価するために該セットを用いる方法に関する。

【背景技術】

【0002】

(発明の背景)

タウタンパク質の細胞内凝集体から構成される神経原線維変化は、タウオパチーと総称されるアルツハイマー病(AD)及び他の神経変性疾患の鍵となる神経病理学的特徴である。タウは細胞内微小管関連タンパク質であり、天然には折り畳まれていないコンホメーション、熱安定性、酸安定性、及び翻訳後修飾の能力などのいくつかのユニークな特徴を有する。

【0003】

異常に過剰リン酸化されたタウは、ヒトタウオパチーの鍵となる特徴である。ADの病態形成において、アミロイド-ペプチド(A β)の蓄積が、タウのリン酸化を調節するシグナル伝達経路と相互作用する。タウの過剰リン酸化は、軸索輸送の調節におけるその正常な機能を乱し、神経原線維変化及び可溶性タウの有毒種の蓄積に繋がる

【0004】

現在のところ、ADを治癒させる方法はない。承認されている治療は少なく、かつ有効性は限られており、ほとんどは、進行を減速又は遅延させる役割を果たしている。

【0005】

AD及び他のタウオパチーの治療のための新たな療法の特定及び開発もまた、効果的な診断用、予後用、及び予測用バイオマーカーを欠くこと、並びに新たな療法の設計のための新たな標的を欠くことによって大いに影響を受けている。現在のところ、ADは、脳生検によるか、患者が死亡した後の剖検時にしか確定診断することができない。明らかに、臨床現場では、脳生検は滅多に行われず、診断は、今でも主に、症状の履歴に基づいて行われ、一連の神経学的検査、心理測定的検査、及び生化学的検査に依存している。これらの後者の検査としては、ApoE e4アレル状態の評価、及び脳脊髄液中のアミロイドベータ、タ

10

20

30

40

50

ウ、及びホスホ-タウの測定が挙げられる。

【0006】

それでもやはり、これらの現行の方法はなお、AD及び他のタウオパチーの早期診断のために不満足なものであるのみでなく、患者を臨床試験に動員するために重要である神経疾患の進行を予測するため、新たな療法を設計するため、及び現行の療法及び新たな療法の有効性を予測するためにも不満足なものである。

【0007】

理想的な診断用バイオマーカーは、非疾患と比較した疾患に対する高い特異性、並びに疾患の種類及びステージを区別する高い感度を有するべきである。

【0008】

予後用バイオマーカーは、病理学的変化の強度及び重症度を反映し、変性が観察される前の疾患の非常に初期の段階から、疾患の進行したステージまでのそれらの将来の経過を予測するものであるべきである。

【0009】

薬力学的バイオマーカーは、容易に利用可能な体液、例えば、血液、血小板、血清、及び最も好ましくは血漿を含む血液産物、並びにCSFにおける疾患関連タンパク質のレベルの変化に基づいて、実施された療法が効果的であるのかどうかについての信頼できる指標を提供すべきである。そのような薬力学的バイオマーカーが、いつ治療を中止したらよいか、又はいつ別の療法に変更したらよいかのガイダンスを臨床医に提供することも望ましい。

【0010】

新たな標的は、効果的であり、安全であり、臨床的及び商業的必要性を満たし、かつ特に、「ドラッグブル (druggable)」である必要がある。「ドラッグブル」な標的は、小分子であれより大きな生体分子であれ想定される薬物分子にとって到達可能なものであり、結合すると、インピトロ及びインピボの双方で測定し得る生物学的応答を誘発する。言い換えれば、その阻害又は活性化は、疾患状態に治療効果をもたらすこととなる。

【0011】

従って、アルツハイマー病及び他のタウオパチーの患者の診断、ステージ分類、予後モニタリング、及び治療有効性の評価において、バイオマーカーとして優れた感度及び/又は特異性で働き得るとともに、新たな療法の開発のための新たな標的として役立つタンパク質が依然として必要とされている。

【発明の概要】

【0012】

(発明の概要)

従って、本発明は、タウ毒性を特徴とする神経認知障害、例えば、タウオパチー、特に、アルツハイマー病を診断するため、ステージ分類するため、治療するため、及び該障害の治療の応答を評価するための方法における使用のための新規のバイオマーカー及びタウ又はその断片のリン酸化アミノ酸を提供する。加えて、本発明は、タウオパチーに対する新たな療法の開発のため、又は元々は神経認知障害、例えば、タウオパチーの治療のために設計されたものではない既存の療法の別用途への使用のための新規の標的を提供する。

【0013】

第1の態様において、本発明は:

i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリ-サブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片;及び/又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片

を含むバイオマーカーのパネルを提供する。

【0014】

10

20

30

40

50

第2の態様において、本発明は、タウ又はその1以上の断片を含むバイオマーカーのパネルであって、タウが：

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含み；

タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルが、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む、前記パネルを提供する。

【0015】

第3の態様において、本発明は、表5、6、7、8、9、10、11、12、13、又はそれらの組合せから選択される1以上、任意に2以上のタンパク質を含むバイオマーカーのパネルを提供する。

【0016】

第1の態様の一実施態様において、前記バイオマーカーのパネルは、配列番号:11のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するアクチンアルファ心筋1、配列番号:12のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するアンチトロネピン-III、配列番号:3のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するBH3共役ドメインデスアゴニスト、配列番号:24のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するcAMP依存性プロテインキナーゼI型-ベータレギュラトリ-サブユニット、配列番号:4のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するカテニンデルタ-1、配列番号:23のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する170kDaの中心体タンパク質、配列番号:5のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するクラスリン軽鎖B、配列番号:13のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するEglnineホモログ1、配列番号:14のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するフィブリノーゲンガンマ鎖、配列番号:27のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するGMP還元酵素1、配列番号:6のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するグアニンヌクレオチド結合タンパク質G(q)サブユニットアルファ、配列番号:15のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するインスリン様増殖因子結合タンパク質6、配列番号:28のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するKxDLモチーフ含有タンパク質1、配列番号:18のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するラムダ-クリスタリンホモログ、配列番号:20のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するミエリン関連オリゴデンドロサイト塩基性タンパク質、配列番号:7のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する中性アルファ-グルコシダーゼAB、配列番号:19のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する核膜孔複合体タンパク質Nup155、配列番号:16のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するOC1Aドメイン含有タンパク質1、配列番号:25のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するタンパク質KIAA1045、配列番号:8のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するセセルニン-2、配列番号:17のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する血清アルブミン、配列番号:9のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する短鎖特異的アシルCoAデヒドロゲナーゼ、配列番号:22のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するシナプトポリン(Synaptopodin)、配列番号:10のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するシンタフィリン(Syntaphilin)、配列番号:21のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する膜貫通型タンパク質119、及び配列番号:26のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するチューブリンアルファ鎖様3(Tubulin alpha chain-like 3)を含む群Aから選択される1以上の、代わりに2以上のタンパク質をさらに含む。

【0017】

別の実施態様において、本発明の第1の態様によるバイオマーカーのパネルは、群B、C、又はDから選択される1以上のタンパク質をさらに含む。

【0018】

10

20

30

40

50

他の一実施態様において、第1の態様およびその実施態様によるバイオマーカーのパネルは、本発明の第2及び/又は第3の態様において定義される1以上のバイオマーカーをさらに含んでいてもよい。

【0019】

第4の態様において、本発明は、対象における神経認知障害を診断するための方法であって：

- a) 該対象から得られる試料を、それらの実施態様を含む本発明の第1、第2、及び第3の態様のうちのいずれか1つにおいて定義される前記パネルの前記バイオマーカーについてアッセイすること；
 - b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること；
 - c) 該試料中の該パネルの各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、神経認知障害を有しているかどうかを決定すること
- を含む、前記方法を提供する。

10

【0020】

第5の態様において、本発明は、対象における神経認知障害をステージ分類するための方法であって：

- a) 該対象から得られる試料を、それらの実施態様を含む本発明の第1、第2、及び第3の態様のうちのいずれか1つにおいて定義される前記パネルの前記バイオマーカーについてアッセイすること；
 - b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること；
 - c) 該試料中の該パネルの各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象における該神経認知障害のステージを決定すること
- を含む、前記方法を提供する。

20

【0021】

第6の態様において、本発明は、対象において神経認知障害を発症する可能性を評価するための方法であって：

- a) 該対象から得られる試料を、それらの実施態様を含む本発明の第1、第2、及び第3の態様のうちのいずれか1つにおいて定義される前記パネルの前記バイオマーカーについてアッセイすること；
 - b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること；
 - c) 該試料中の該バイオマーカーパネルの各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、神経認知障害を発症する可能性があるかどうかを決定すること
- を含む、前記方法を提供する。

30

【0022】

第7の態様において、本発明は、対象における神経認知障害を治療するための方法であって：

- a) 該対象から得られる試料を、それらの実施態様を含む本発明の第1、第2、及び第3の態様のうちのいずれか1つにおいて定義される前記パネルの前記バイオマーカーについてアッセイすること；
 - b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること；
 - c) 該試料中の各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、神経認知障害を有しているかどうかを決定すること；
 - d) 該神経認知障害を治療するための薬物を、該対象に投与すること
- を含む、前記方法を提供する。

40

【0023】

あるいは、本発明の第7の態様は、対象における神経認知障害の治療における使用のため

50

めの薬物であって、該対象が：

- a) 該対象から得られる試料を、それらの実施態様を含む本発明の第1、第2、及び第3の態様のうちのいずれか1つにおいて定義される前記パネルの前記バイオマーカーについてアッセイすること；
 - b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること；
 - c) 該試料中の各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、神経認知障害を有しているかどうかを決定すること
- を含む方法によって選択される、前記薬物として説明され得る。

【0024】

あるいは、本発明の第7の態様は、対象における神経認知障害の治療のための薬品の生産のための薬物の使用であって、該対象が：

- a) 該対象から得られる試料を、それらの実施態様を含む本発明の第1、第2、及び第3の態様のうちのいずれか1つにおいて定義される前記パネルの前記バイオマーカーについてアッセイすること；
 - b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること；
 - c) 該試料中の各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、神経認知障害を有しているかどうかを決定すること
- を含む方法によって選択される、前記使用として説明され得る。

【0025】

第8の態様において、本発明は、対象における神経認知障害を治療するための薬物に対する応答を評価するための方法であって、該対象が、該薬物で治療されてきたか又は該薬物で治療されており：

- a) 対象から得られる試料を、それらの実施態様を含む本発明の第1、第2、及び第3の態様のうちのいずれか1つにおいて定義される前記パネルの前記バイオマーカーについてアッセイすること；
 - b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること；
 - c) 該試料中の各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、該薬物に反応してきたかどうか又は該薬物に反応しているかどうかを決定すること
- を含む、前記方法を提供する。

【0026】

本発明の第7及び第8の態様の一実施態様において、神経認知障害を治療するための前記薬物は、キナーゼ阻害剤である。好ましくは、該キナーゼ阻害剤は、タウキナーゼ阻害剤、又はカゼインキナーゼ阻害剤、任意に、カゼインキナーゼ1アルファ、ベータ、ガンマ、デルタ、もしくはイプシロンから選択される。より好ましくは、該キナーゼ阻害剤は、5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン；2-アミノ-3-[(チオフェン-2-イル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド；2-[3-(ピリジン-4-イル)-1H-ピラゾール-4-イル]-1,3-ベンゾオキサゾール；2-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド；2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド；2-アミノ-3-ベンゾイルインドリジン-1-カルボキサミド；2-アミノ-1-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]-1H-インドール-3-カルボキサミド；それらの組合せ；又はそれらの医薬として許容し得る塩もしくは溶媒和物から選択されるカゼインキナーゼ1デルタ阻害剤である。さらにより好ましくは、前記カゼインキナーゼ1デルタ阻害剤は、5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン；2-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド；2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミドから選択される。

【0027】

10

20

30

40

50

本発明の第4、第5、第6、第7、及び第8の態様の好ましい実施態様において、前記神経認知障害は、タウ毒性を特徴とする。より好ましくは、前記神経認知障害は、タウオパチーである。

【0028】

前記タウオパチーは、アルツハイマー病、17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症(FTDP-17)、進行性核上性麻痺(PSP)、ピック病、皮質基底核変性症、多系統萎縮症(MSA)、鉄蓄積を伴う神経基底変性、1型(ハラールホルデン・スパッツ)、嗜銀顆粒性認知症、ダウン症候群、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、ボクサー認知症、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、筋強直性ジストロフィー、ニーマン・ピック病C型、進行性皮質下グリオーシス、プリオンタンパク質脳アミロイドアンギオパチー、神経原線維変化型認知症、脳炎後パーキンソニズム、亜急性硬化性全脳炎、クロイツフェルト・ヤコブ病、筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症症候群、神経原線維変化/認知症を伴う非グアム型運動ニューロン疾患、慢性外傷性脳障害、アルファ-シヌクレイン病、パーキンソン病、又はそれらの組合せの群から選択されてもよい。

10

【0029】

さらにより好ましくは、前記タウオパチーは、アルツハイマー病である。

【0030】

本発明の第7の態様の一実施態様において、工程d)は、メマンチン(例えば、Namenda(登録商標))、ガラントミン(例えば、Razadyne(登録商標))、リバスチグミン(例えば、Exelon(登録商標))、ドネペジル(例えば、Aricept(登録商標))、ソラネズマブ、5HT₅アンタゴニスト、又はそれらの組合せの群から選択される追加の治療薬剤を投与することをさらに含む。

20

【0031】

本発明の第8の態様の他の一実施態様において、前記対象は、メマンチン(例えば、Namenda(登録商標))、ガラントミン(例えば、Razadyne(登録商標))、リバスチグミン(例えば、Exelon(登録商標))、ドネペジル(例えば、Aricept(登録商標))、ソラネズマブ、5HT₅アンタゴニスト、又はそれらの組合せの群から選択される追加の治療薬剤でも治療されてきたか又は治療されていてもよい。

【0032】

第8の態様の別の実施態様において、好ましくは又は代わりに、工程c)の後に、前記方法は、メマンチン(例えば、Namenda(登録商標))、ガラントミン(例えば、Razadyne(登録商標))、リバスチグミン(例えば、Exelon(登録商標))、ドネペジル(例えば、Aricept(登録商標))、ソラネズマブ、5HT₅アンタゴニスト、又はそれらの組合せの群から選択される追加の治療薬剤を投与することを含む。

30

【0033】

本発明の第4、第5、第6、第7、及び第8の態様の実施態様において、前記アッセイする工程a)及び/又は前記測定する工程b)は:

i)前記試料を、前記パネルの前記バイオマーカの各々に対する1以上の結合性物質と接触させること;又は

ii)前記試料中で前記バイオマーカの各々に特異的な自己抗体を検出すること;又は

iii)前記試料中で、質量分析により、前記パネルの前記バイオマーカ又はそれらの断片の各々を、任意に該試料を1以上のアイソパリックな反応性質量標識で事前に標識して、検出すること;又は

iv)前記試料中で、2Dゲル電気泳動により、前記パネルの前記バイオマーカの各々を検出すること;又は

iv)i)、ii)、iii)、もしくはiv)のいずれかの組合せ

を含む。

40

【0034】

好ましくは、工程a)における前記アッセイすること及び/又は工程b)における前記測定することは:

50

i) 前記パネルにおける前記バイオマーカの1以上の断片を検出すること、及び/又は
 ii) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するタウもしくはその1以上の断片上の1以上のリン酸化アミノ酸を検出することであって;検出されるべきタウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合、タウ又はその1以上の断片上の少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸が検出される、前記検出することを含む。

【0035】

より好ましくは、前記試料は、固体支持体上に固定化されている。

【0036】

本発明の第4、第5、第6、第7、及び第8の態様の実施態様において、前記試料は、脳脊髄液(CSF)、血液、血漿、血清、唾液、尿、組織(例えば、脳組織)又はそれらの組合せの群から選択される。好ましくは、前記試料は、CSF又は血液である。同じく好ましくは、前記対象は、ヒト対象である。

10

【0037】

第9の態様において、本発明は、試料中でそれらの実施態様を含む本発明の第1、第2、及び第3の態様のうちのいずれか1つにおいて定義されるパネルのバイオマーカをアクセシ及び/又は測定するための試薬を含むキットを提供する。

【0038】

前記試薬は、前記パネルの前記バイオマーカに特異的に結合する1以上の結合性物質を含んでいてもよい。好ましくは、前記1以上の結合性物質は、一次抗体であり、各々の一次抗体は:

20

i) 前記パネルの異なるバイオマーカ、及び/又は

ii) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するタウもしくはその断片の1以上のリン酸化アミノ酸に特異的に結合する。

【0039】

前記試薬は、該一次抗体に特異的に結合する1以上の二次抗体をさらに含んでいてもよい。好ましくは、前記二次抗体は、標識されている。

【0040】

第9の態様及びその実施態様の別の実施態様において、前記試料は、脳脊髄液(CSF)、血液、血漿、血清、唾液、尿、組織(例えば、脳組織)又はそれらの組合せの群から選択される。

30

【図面の簡単な説明】

【0041】

(図面の簡単な説明)

【図1】ヒトプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aの配列。記号又は*でフラグを付けたアミノ酸は、それぞれ、ヒトプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aのアイソフォーム又はバリエーションにおいて異なるアミノ酸又は修飾アミノ酸によって置換されたアミノ酸を示す。

【図2】ヒト2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼの配列。記号又は*でフラグを付けたアミノ酸は、それぞれ、ヒト2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼのアイソフォーム又はバリエーションにおいて異なるアミノ酸又は修飾アミノ酸によって置換されたアミノ酸を示す。

40

【図3】プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aのベン図。

【図4】2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼのベン図。

【図5】(A)軽症(Braak 0~II)(n=3)、中等症(Braak III/IV)、又は重症(Braak V/VI)タウ病態のヒト脳;(B)ピヒクル単独で、又は30mg/kgのカゼインキナーゼ1デルタ阻害剤5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン(PS110)、及び2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド(PS278-05)を含むピヒクルで経口的に処置したヒトタウオパチーのTMHTモデル由来のマウス脳;及び(C)認知的に冒されている非AD対照(CTL;n=3)及び生化学的に診断されたAD患

50

者(AD;n=3)由来のCSFにおけるプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aのレベル(全ての非修飾ペプチドのイオン強度の合計としてのもの)。

【図6】(A)軽症(Braak 0~II)(n=3)、中等症(Braak III/IV)(n=3)、又は重症(Braak V/VI)(n=3)タウ病態のヒト脳;(B)ピヒクルのみ(n=3)、又は30mg/kgのカゼインキナーゼ1デルタ阻害剤5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン(PS110;n=3)及び2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド(PS278-05;n=3)を含むピヒクルで経口的に処置したヒトタウオパチーのTMHTモデル由来のマウス脳;及び(C)認知的に冒されている非AD対照(CTL;n=3)、及び生化学的に診断されたAD患者(AD;n=3)由来の脳脊髄液における2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼのレベル(全ての非修飾ペプチドのイオン強度の合計としてのもの)。

10

【図7】ヒト対照及び生化学的に診断されたAD対象のCSFにおける脳由来のタンパク質を測定するTMTcalibrator(商標)実験の実験設計。

【発明を実施するための形態】

【0042】

(定義)

「バイオマーカー」という用語は、翻訳後修飾を含む、同定されたタンパク質の全ての生物学的に関係のある形態を含む。例えば、バイオマーカーは、グリコシル化形態、リン酸化形態、多量体形態、断片化形態、又は前駆体形態で存在することができる。バイオマーカー断片は、天然に存在するものであってもよく、又は例えば、酵素的に生成され、完全なタンパク質の生物学的に活性のある機能を依然として保持しているものであってもよい。断片は、典型的には、少なくとも約10アミノ酸、通常、少なくとも約50アミノ酸の長さであり、300アミノ酸もの長さ、又はそれより長いものとすることができる。

20

【0043】

「標準配列」という用語は、オルソログスな種の中で最もよく見られる配列及び/又は最もよく似ている配列を指すために本明細書において使用される。特に、別途規定されない限り、標準配列は、本明細書において、ヒト配列を指す。

【0044】

「KEGG経路」という用語は、代謝、遺伝情報処理、環境情報処理、細胞プロセス、生物システム、ヒト疾患、及び創薬についての分子相互作用及び反応ネットワークを表す手描きの一群の経路地図を指す。「KEGG経路マッピング」とは、分子データセット、特に、ゲノミクス、トランスクリプトミクス、プロテオミクス、及びメタボロミクスにおける大規模なデータセットを、高次全身機能の生物学的解釈のためにKEGG経路地図にマッピングするプロセスのことである;(http://www.genome.jp/kegg/pathway.html)。

30

【0045】

「濃度又は量」という用語は、例えば、曲線下面積及びスペクトルカウントなどのLC-MS/MS無標識定量法によって決定されるような試料中のバイオマーカーの相対濃度又は量を指す。

【0046】

「比較すること」もしくは「比較する」という用語又はその文法的等価物は、試料中のバイオマーカーの相対濃度又は量を、他の試料(例えば、私的な又は公的なデータベースに保存されているタンパク質濃度又は量)と比べて測定することを意味する。

40

【0047】

「参照濃度もしくは量」という用語は、私的な又は公的なデータベースに保存されているタンパク質濃度又は量を指すが、この用語は、それに限定されるものではない。「参照濃度又は量」は、患者の大規模スクリーニングから、又はそのような決定と対照患者における臨床情報との間の既知のもしくは以前に決定された相関を参照することにより得られたものであってもよい。例えば、参照値は、対象と同様の年齢及び性別の対照対象、例えば、健常者(すなわち、認知症を有しない者)におけるバイオマーカーの濃度又は量との比較によって決定されてもよい。あるいは、参照値は、文献中に見出すことができる値、例えば、位置112及び158における変異の有無が比較すべき参照を表すApoE 4アレルの存在

50

、又はCSF中の > 350ng/Lの全タウ(T-タウ)、 > 80ng/Lのホスホ-タウ(P-タウ)、及び < 530 ng/LのA 42のレベルのようなものである(Hansson 0らの文献、Lancet Neurol. 2006, 5(3):228-34)。さらに、参照値は、時間的に試験時点よりも前の1以上の時点で同じ対象から得られたものであってもよい。そのような早期の試料を、試験時点の日付から1週間以上、1カ月以上、3カ月以上、最も好ましくは、6カ月以上前に採取してもよい。いくつかの実施態様において、複数の早期の試料を長期的に比較してもよく、バイオマーカー発現の変化の傾きを認知低下の関連要因として算出してもよい。

【0048】

「対照」又は本明細書で使用される場合、「非AD対照」もしくは「非AD対象」という用語は、認知的に正常であるヒト又は非ヒト対象、又は認知異常と診断されたか、もしくはその症状を呈しているが、既存の生化学的検査に関して、非AD対象と定義される、ヒト又は非ヒト対象から採取された組織試料又は体液試料を指す。

10

【0049】

「結合性物質」という用語は、一般に、本発明のバイオマーカーに対する親和性を有する任意の分子を指す。結合性物質は、アパタマー(apatamer)、抗体、レクチン、及び酵素を含み得る。

【0050】

「抗体」という用語は、ポリクローナル抗血清、モノクローナル抗体、抗体の断片、例えば、単鎖及びFab断片、並びに遺伝子改変抗体を含む。抗体は、キメラであっても、単一種のものであってもよい。

20

【0051】

「アパタマー」という用語は、特定の標的に対する選択性を有する小型の親和性物質を含み、これは、核酸、アミノ酸、もしくは他の合成有機分子、又はこれらの構成分子のうちの任意のものの組合せのプロイマー(polymer)である。

【0052】

「選択反応モニタリング」、「SRM」、及び「MRM」という用語は、既知のバイオマーカーを表す既知の質量電荷比のプリカーサーイオンが、優先的にイオントラップ又は三連四重極質量分析計でのタンデム質量分析による分析の標的とされる質量分析アッセイを意味する。分析中、親イオンは断片化され、第2の予め規定された質量電荷比の娘イオンの数がカウントされる。通常、定量内部標準としての役割を果たすように、予め規定された数の安定同位体置換を有するが、他の点では、標的イオンと化学的に同一である等価なプリカーサーイオンが本方法に含まれる。

30

【0053】

「イムノアッセイ」という用語は、本発明の1以上のバイオマーカーのレベルを、1以上の結合性物質を用いて標的バイオマーカーを捕捉すること及び又はその存在を検出することによって定量的に測定する任意の方法を指す。イムノアッセイは、バイオマーカーが表面に吸着され、検出可能な標識を保持する結合性物質を用いて検出される直接的なものであってもよく、バイオマーカーが表面に吸着され、その後、該バイオマーカーに対する特異性を有する第1の結合性物質が該標的バイオマーカーに対する特異的結合を介して該表面に捕捉され、第1の抗体に対して特異的である検出可能な標識を保持する第2の結合性物質を用いて検出される間接的なものであってもよい。あるいは、イムノアッセイは、結合性物質が固体支持体上に固定化されており、分析試料由来の標的バイオマーカーを捕捉するサンドイッチイムノアッセイであってもよい。その後、目下固定化されているバイオマーカーは、上述のように直接的又は間接的な方法において結合性物質を用いて検出される。

40

【0054】

「ビーズ懸濁アレイ」という用語は、バイオマーカーが、懸濁液に保持されている1つ又はモル固体粒子上で検出されるイムノアッセイを意味する。

【0055】

「平面アレイ」という用語は、個々のバイオマーカー又は結合性物質が、ガラススライ

50

ド、シリコンウェハー、ニトロセルロース片を含むがこれらに限定されない連続的な固体表面上の個々に分離したアドレス指定可能な位置に固定化されているイムノアッセイ系を意味する。その後、イムノアッセイの後続の工程が、平面アレイの全表面に適用された通常の試薬を用いて行なわれるか、又は該アレイ内の適切なアドレス指定可能な位置で個別に追加され得る。

【0056】

「単離された」という用語又はその文法的等価物は、本明細書の全体を通じて、タンパク質、抗体、ポリヌクレオチド、又は化学的分子が、場合によっては、それが天然に生じ得る物理的環境とは異なる物理的環境で存在することを意味する。

【0057】

本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、任意のヒト又は非ヒト動物を含む。「非ヒト動物」という用語は、全ての脊椎動物、例えば、哺乳動物及び非哺乳動物、例えば、非ヒト霊長類、齧歯類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類などを含む。

【0058】

「治療する」、「治療すること」、「治療」、「予防する」、「予防すること」、もしくは「予防」という用語又はこれらの文法的等価物は、治療的治療、予防的治療、及び対象が障害を発症するリスク又は他のリスク因子を軽減する適用を含む。治療は、障害の完全な治癒を必要とせず、症状又は基礎となるリスク因子の軽減を包含する。

【0059】

本明細書で使用される「診断」という用語又はその文法的等価物は、患者における障害の存在(existence)もしくは存在(presence)、非存在もしくは不在、又は可能性に関する何らかの情報の提供を含む。これは、障害又はそれに関連して経験されるもしくは経験され得る症状の種類又は分類に関する情報の提供をさらに含む。これには、例えば、障害の重症度の診断が含まれてもよい。これは、障害の医学的経過の予後、例えば、その持続期間、重症度、及び軽度認知障害(MCI)からAD又は他の認知症への進行の経過を包含する。

【0060】

本明細書で使用される「ステージ分類する」という用語又はその文法的等価物は、対象において、神経認知障害、特に、ADのステージを特定することを意味する。例えば、ADは、使用される診断の枠組みに応じて、3つのステージ又は7つのステージにより特徴付けられる。全般的認知症スケール(Global Dementia Scale)は、全体的機能の1つのそのような尺度である。これは、標準化された重症度基準セットに対する認知及び機能を含む重症度の評価によって測定される。

【0061】

「効力」という用語は、所与の介入(例えば、薬物、医療機器、外科的手技など)の有益な変化に関する能力を示す。効力が立証されれば、その介入は、それが比較されることになる他の利用可能な介入と少なくとも同じ程度に良好である可能性がある。「効力」及び「有効性」という用語は、本明細書において互換的に使用される。

【0062】

「含む」という用語は、対象が、列挙された全ての要素を含むが、任意に、追加の、名前を挙げていない要素も含み得ること(すなわち、非限定(open))を示す。

【0063】

本明細書で使用される場合の「及び/又は」という用語は、2つの明記された特徴又は成分の各々の、他方を伴う又は伴わない具体的開示として解釈されるべきである。例えば、「A及び/又はB」は、各々が個別に本明細書に記述されているかのように、(i)A、(ii)B、並びに(iii)A及びBの各々の具体的開示として解釈されるべきである。

【0064】

文脈上、そうでないと指示されない限り、上に記述された特徴/用語の定義は、本発明の任意の特定の態様又は実施態様に限定されるのではなく、本明細書に記載される全ての態様及び実施態様に等しく適用される。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 5 】

(略語)

CSF(脳脊髄液);LBD(レビー小体型認知症);FTD(前頭側頭型認知症);VaD(血管性認知症);ALS(筋萎縮性側索硬化症)CJD(クロイツフェルト・ヤコブ病);CNS(中枢神経系);TMT(登録商標)(Tandem Mass Tag(登録商標));TEAB(炭酸水素テトラ-エチルアモニウム(amonium));TFA(トリフルオロ酢酸);SDS(ドデシル硫酸ナトリウム);TCEP(トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン);ACN(アセトニトリル);Da(ダルトン);HPLC(高速液体クロマトグラフィー);FA(脂肪酸);IFC(インテリジェントフロー制御);LC-MS/MS(タンデム質量分析検出を伴う液体クロマトグラフィー);MS(質量分析);MS/MS又はMS2(タンデムMS);MS/MS/MS又はMS3(トリプルMS)PAGE(ポリアクリルアミドゲル電気泳動);SCX(強陽イオン交換);ppm(百万分率);TiO₂(二酸化チタン);IMAC(鉄金属アフィニティークロマトグラフィー);ELISA(酵素結合免疫吸着測定(enzyme-linked immunosorbent assay))。

10

【 0 0 6 6 】

(詳細な説明)

(1. タンパク質パネル及びそれを使用する方法)

タウが、神経変性障害、例えば、ADのようなタウオパチーの病態に關与していること、及びそれが、神経原線維変化の形成に積極的に關与していることは広く受け入れられているものの、過剰発現されかつ過剰リン酸化されたタウの毒性を媒介する分子過程についてはそれほど知られていない。

【 0 0 6 7 】

本発明者らは、タウの過剰発現及び過剰リン酸化が、脳におけるタウ毒性を引き起こし、疾患の進行及び重症度の一因となり得るシグナル伝達経路の活性化を含むさらなる事象に繋がることを仮定した。本発明者らはさらに、これらの経路に關与するタンパク質の多くが、タウ毒性の発展の間に血液及びCSF中に放出されるであろうこと、及び疾患過程の早期に検出可能であろうことを仮定した。

20

【 0 0 6 8 】

本発明者らは、驚くべきことに、複数の細胞プロセス、関連タンパク質、及び/又はそれらのレベルが、タウ用量依存的な様式で修飾されること、及びこれらの影響を受けた経路が、ADのいくつかの特徴と相関していることを見出した。

【 0 0 6 9 】

さらに、本明細書で同定されるバイオマーカーのパネルは、脳においてのみ発現しているのではなく、これらは、驚くべきことに、脳脊髄液(CSF)においても同定可能であり、かつ最も重要なことには、それらのCSF中での存在量が、実質的なメモリー効果を伴い非AD患者及びAD患者間で調節されている。

30

【 0 0 7 0 】

最後に、本発明者らは、本明細書において、タウキナーゼ阻害剤(タウリン酸化を阻害する酵素)の投与に際し、本発明によるパネルのタンパク質(すなわちバイオマーカー)の存在量が、それらの投与前存在量に逆比例して増加する又は減少して、阻害剤がタウの過剰リン酸化の減少において効果的であることを示すことの実証に成功した。最も驚くべきことに、これらのタンパク質の存在量が、それらの投与前存在量に逆比例して増加する又は減少するにつれて、タウ毒性も同等に減少する。

40

【 0 0 7 1 】

本発明は:

i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片;及び/又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片

を含むバイオマーカーのパネルを提供する。

50

【0072】

プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aは、PPP1CA(セリン/スレオニンプロテインホスファターゼPP1-アルファ触媒サブユニット)の阻害剤である。リン酸化された場合に、1000倍超高い阻害活性を有し、PPP1CA基質のリン酸化状態及び平滑な筋収縮を調節するための分子スイッチを作製している。

【0073】

ミエリン形成細胞におけるRNA代謝に関与すると記載されている2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼは、中枢神経系ミエリンにおいて3番目に多く存在するタンパク質である。その触媒活性は、ヌクレオシド2',3'-環状ホスフェートに対するものであり、これはヌクレオシド2'-ホスフェートに変換される。

10

【0074】

アイソフォームは、標準配列に関する選択的タンパク質配列として本明細書に記載されている。アイソフォームは、単一の選択的プロモーター使用、単一の選択的スプライシング、単一の選択的開始、及び単一のリボソームフレームシフトによるか、又はこれらの組合せによって、同じ遺伝子から生じさせることができる。

【0075】

バリエーションは、(天然に生じる)多形、系統、分離株、又は品種間の变化、疾患に関連する変異、及びRNA編集事象などの、天然のバリエーションを含むように本明細書に記載されている。バリエーションは、通常、標準配列に関するアミノ酸変化として報告される。ほとんどの天然に生じる多形(単一アミノ酸多形又はSAPとも呼ばれる)は、コドンレベルでの単一ヌクレオチド変化によるものである。RNA編集事象には、ヌクレオチドの変換、挿入、及び欠失が含まれる。

20

【0076】

断片は、タンパク質のタンパク質分解的(酵素的又はその他の)切断の結果として本明細書に記載されている。断片は、天然のタンパク質分解的切断の結果、例えば、補体の活性化、凝固カスケードの間に生じたか、又はマトリックスタンパク質の酵素的切断から生じた断片であり得る。あるいは、断片は、インビボ及び/又はインビトロで、例えば、プロテアーゼによって生じ得る。

【0077】

一実施態様において、プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aのバリエーションは、配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有しており、ここで、

30

- a)位置26のセリンが、ホスホセリンによって置き換えられているか;又は
- b)位置38のスレオニンが、ホスホスレオニンによって置き換えられているか;又は
- c)位置136のセリンが、ホスホセリンによって置き換えられているか;又は
- d)位置123のグリシンが、アルギニンによって置き換えられている。

【0078】

図1は、プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A(配列番号:1)のヒト配列を示し;記号 でフラグを付けたものは、d)において上で示したように、ヒトプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aのアイソフォームにおいて異なるアミノ酸と置き換えられたアミノ酸である。*でフラグを付けたアミノ酸は、a)~c)において上で示したように、ヒトプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aのアイソフォームにおいて修飾アミノ酸によって置き換えられたアミノ酸である。

40

【0079】

別の実施態様において、プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aのアイソフォームは、配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有しており、ここで、アミノ酸68~94は、欠失している(アイソフォーム2)。

【0080】

別の実施態様において、2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼのバリエーションは、配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつここで

50

- a) 位置110のチロシンが、ホスホチロシンによって置き換えられているか;又は
 b) 位置418のシステインが、システインメチルエステルによって置き換えられているか;又は
 c) 位置418のシステインが、S-ファルネシルシステインによって置き換えられているか;又は
 d) 位置207のグルタミンが、アルギニンによって置き換えられている。

【0081】

図2は、2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ(配列番号:2)のヒト配列を示し;記号 でフラグを付けたものは、d)において上で示したように、ヒト2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼのアイソフォームにおいて異なるアミノ酸と置き換えられたアミノ酸である。*でフラグを付けたアミノ酸は、a)~c)において上で示したように、ヒトプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aのアイソフォームにおいて修飾アミノ酸によって置き換えられたアミノ酸である。

【0082】

別の実施態様において、2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼのアイソフォームは、

配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有しており、ここで、アミノ酸1~20は、欠失している(アイソフォームCNPI)。一般的な臨床実践において、バイオマーカーとしての使用のためのタンパク質は、少なくとも2つ、好ましくは、少なくとも3つ又は4つのセットとして測定される。従って、配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片、及び/又は配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片に加えて、本発明によるバイオマーカーのパネルは、配列番号:11のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するアクチンアルファ心筋1、配列番号:12のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するアンチトロンピン-III、配列番号:3のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するBH3共役ドメインデスアゴニスト、配列番号:24のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するcAMP依存性プロテインキナーゼI型-ベータレギュラトリーサブユニット、配列番号:4のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するカテニンデルタ-1、配列番号:23のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する170kDaの中心体タンパク質、配列番号:5のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するクラスリン軽鎖B、配列番号:13のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するEglnineホモログ1、配列番号:14のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するフィブリノーゲンガンマ鎖、配列番号:27のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するGMP還元酵素1、配列番号:6のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するグアニンヌクレオチド結合タンパク質G(q)サブユニットアルファ、配列番号:15のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するインスリン様増殖因子結合タンパク質6、配列番号:28のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するKxDLモチーフ含有タンパク質1、配列番号:18のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するラムダ-クリスタリンホモログ、配列番号:20のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するミエリン関連オリゴデンドロサイト塩基性タンパク質、配列番号:7のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する中性アルファ-グルコシダーゼAB、配列番号:19のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する核膜孔複合体タンパク質Nup155、配列番号:16のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するOCIAドメイン含有タンパク質1、配列番号:25のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するタンパク質KIAA1045、配列番号:8のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するセセルニン-2、配列番号:17のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する血清アルブミン、配列番号:9のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する短鎖特異的アシルCoAデヒドロゲナーゼ、配列番号:22のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するシナプトボリン、配列番号:10のアミノ酸配列を

10

20

30

40

50

含むか又は該アミノ酸配列を有するシンタフィリン、配列番号:21のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する膜貫通型タンパク質119、及び配列番号:26のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するチューブリンアルファ鎖様3を含む群Aから選択される1以上の、代わりの2以上の、好ましくは、3つ以上のタンパク質をさらに含んでもよい。

【0083】

表1は、「群A」のバイオマーカーの名称、及びヒトタンパク質及びそのマウス対応物についてのそれらのUniprotコードを示す。

【0084】

表1: 群Aのバイオマーカー

10

【表1】

配列番号:	タンパク質名	UNIPROT ID (ヒト)	UNIPROT ID (マウス)
1	ホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A	Q96A00	Q91VC7
2	2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ	P09543	P16330
3	BH3共役ドメインデスアゴニスト	P55957	P70444
4	カテニンデルタ-1	O60716	P30999
5	クラスリン軽鎖B	P09497	Q61RU5
6	グアニンヌクレオチド結合タンパク質G(q)サブユニットアルファ	P50148	P21279
7	中性アルファ-グルコシダーゼAB	Q14697	Q8BHN3
8	セセルニン-2	Q96FV2	Q8VCA8
9	ミトコンドリアの短鎖特異的アシルCoAデヒドロゲナーゼ	P16219	Q07417
10	シンタフィリン	O15079	Q80U23
11	アクチン、アルファ心筋1	P68032	P68033
12	アンチトロンビン-III	P01008	P32261
13	Eglnineホモログ1	Q9GZT9	Q91YE3
14	フィブリノーゲンガンマ鎖	P02679	Q8VCM7
15	インスリン様増殖因子結合タンパク質	P24592	P47880
16	OCIAドメイン含有タンパク質1	Q9NX40	Q9CRD0
17	血清アルブミン	P02768	P07724
18	ラムダ-クリスタリンホモログ	Q9Y2S2	Q99KP3
19	核膜孔複合体タンパク質Nup155	O75694	Q99P88
20	ミエリン関連オリゴデンドロサイト塩基性タンパク質	Q13875	Q9D2P8
21	膜貫通型タンパク質119	Q4V9L6	Q8R138
22	シナプトポリン	Q8TBG9	Q8BGN8
23	170kDaの中心体タンパク質	Q5SW79	H7BX26
24	cAMP依存性プロテインキナーゼ1型	P31321	P12849
25	タンパク質KIAA1045	Q9UPV7	Q80TL4
26	チューブリンアルファ鎖様3	A6NHL2	Q3UX10
27	GMP還元酵素1	P36959	Q9DCZ1
28	KxDLモチーフ含有タンパク質1	Q9BQD3	Q80XH1

20

30

【0085】

一実施態様において、本発明によるバイオマーカーのパネルは、i)配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片;及び/又はii)配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片、並びに配列番号:11のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するアクチンアルファ心筋1、配列番号:12のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するアンチトロンビン-III、配列番号:3のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するBH3共役ドメインデスアゴニスト、配列番号:4のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するカテニンデルタ-1、配列番号:5のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列

40

50

を有するクラスリン軽鎖B、配列番号:13のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するEglnineホモログ1、配列番号:14のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するフィブリノーゲンガンマ鎖、配列番号:6のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するグアニンヌクレオチド結合タンパク質G(q)サブユニットアルファ、配列番号:15のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するインスリン様増殖因子結合タンパク質6、配列番号:18のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するラムダ-クリスタリンホモログ、配列番号:7のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する中性アルファ-グルコシダーゼAB、配列番号:19のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する核膜孔複合体タンパク質Nup155、配列番号:16のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するOC1Aドメイン含有タンパク質1、配列番号:8のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するセセルニン-2、配列番号:17のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する血清アルブミン、配列番号:9のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する短鎖特異的アシルCoAデヒドロゲナーゼ、及び配列番号:10のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するシタフィリンを含む「群B」から選択される1以上、好ましくは2以上のバイオマーカーを含む。

10

【0086】

このバイオマーカーの部分群(本明細書においては、「群B」と称する)は、非AD個体のヒト血漿又はヒト血清において別々に同定されている(<http://www.plasmaproteomedatabase.org/>)。従って、これらのバイオマーカーが、AD患者の血液/血液産物中に存在するのみではなく、CSFにおいて観察されるそれらの上方/下方調節が血液中/血液産物中に移動することも期待される。血液及びその産物(血漿又は血清)は、診断のためにCSFよりもすぐにかつ簡単に利用可能であるために、このことは特に有利である。

20

【0087】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、i)配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片;及び/又はii)配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片、並びに配列番号:11のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するアクチンアルファ心筋1、配列番号:12のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するアンチトロンビン-III、配列番号:3のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するBH3共役ドメインデスアゴニスト、配列番号:24のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するcAMP依存性プロテインキナーゼI型-ベータレギュラトリーサブユニット、配列番号:4のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するカテニンデルタ-1、配列番号:23のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する170kDaの中心体タンパク質、配列番号:5のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するクラスリン軽鎖B、配列番号:13のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するEglnineホモログ1、配列番号:14のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するフィブリノーゲンガンマ鎖、配列番号:27のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するGMP還元酵素1、配列番号:6のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するグアニンヌクレオチド結合タンパク質G(q)サブユニットアルファ、配列番号:15のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するインスリン様増殖因子結合タンパク質6、配列番号:18のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するラムダ-クリスタリンホモログ、配列番号:20のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するミエリン関連オリゴデンドロサイト塩基性タンパク質、配列番号:7のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する中性アルファ-グルコシダーゼAB、配列番号:19のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する核膜孔複合体タンパク質Nup155、配列番号:16のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するOC1Aドメイン含有タンパク質1、配列番号:25のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するタンパク質K1AA1045、配列番号:17のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する血清アルブミン、配列番号:9のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する短

30

40

50

鎖特異的アシルCoAデヒドロゲナーゼ、配列番号:22のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するシナプトポリン、配列番号:10のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するシタフィリン及び配列番号:26のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するチュープリナルファ鎖様3を含む「群C」から選択される1以上、好ましくは2以上のバイオマーカーを含む。

【0088】

このバイオマーカーの部分群(本明細書において、「群C」と称することとする)は、対照対象と比較して、AD患者のヒトCSFにおいて調節されていること、及びカゼインキナーゼ阻害剤の投与の際に、マウス脳において逆調節されることが見出されている。

【0089】

表2:「群C」のバイオマーカー

【表2】

配列番号:	UNIPROT ID	タンパク質名	ヒトCSF AD/cntrl Log 2		マウス脳 Log 2	
			3/4	5/6	PS110	PS278
			Braakステージ		Ck1 阻害剤	
1	Q96A00	ホスファターゼ1レギュラトリ-サブユニット14A	0.79	0.69	0.71	0.49
2	P09543	2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ	0.57	0.57	0.63	0.62
3	P55957	BH3共役ドメインデアゴニスト	0.80	-	-0.53	-0.56
4	O60716	カテニンデルタ-1	-	0.58	-2.26	-1.07
5	P09497	クラスリン軽鎖B	0.90	-	0.70	0.50
6	P50148	グアニンヌクレオチド結合タンパク質G(q)サブユニットアルファ	0.59	-	0.82	0.62
7	Q14697	中性アルファ-グルコシダーゼAB	0.72	0.59	0.52	-0.78
9	P16219	ミトコンドリアの短鎖特異的アシルCoAデヒドロゲナーゼ	-0.75	-	0.54	0.57
10	O15079	シタフィリン	-	0.52	-0.71	-0.76
11	P68032	アクチン、アルファ心筋I	0.56	-	0.58	-
12	P01008	アンチトロンビン-III	-0.59	-	0.57	-
13	Q9GZT9	Egl nineホモログI	0.77	-	-	-0.73
14	P02679	フィブリノーゲンガンマ鎖	-0.79	-	1.01	-
15	P24592	インスリン様増殖因子結合タンパク質	0.86	-	-0.53	-
16	Q9NX40	OCIAドメイン含有タンパク質1	0.77	0.94	-	-0.59
17	P02768	血清アルブミン	-0.63	-	0.69	-
18	Q9Y2S2	ラムダークリスタリンホモログ	0.60	-	-	0.56
19	O75694	核膜孔複合体タンパク質Nup155	0.49	-	-0.53	-
20	Q13875	ミエリン関連オリゴデンドロサイト塩基性タンパク質	0.60	-	0.84	0.66
22	Q8TBG9	シナプトポリン	0.91	1.03	-	0.72
23	Q5SW79	170kDaの中心体タンパク質	0.91	0.92	-	-0.51
24	P31321	cAMP依存性プロテインキナーゼI型	1.56	-	0.53	-
25	Q9UPV7	タンパク質KIAA1045	0.67	-	-0.63	-
26	A6NHL2	チュープリナルファ鎖様3	1.75	-	-	0.67
27	P36959	GMP還元酵素1	1.30	-	0.68	-

【0090】

別の実施態様において、本発明によるバイオマーカーのパネルは、i)配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリ

10

20

30

40

50

ーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片；及び/又はii)配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片、並びに配列番号:8のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するセセルニン-2、配列番号:21のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する膜貫通型タンパク質119、配列番号:28のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するKxDLモチーフ含有タンパク質1を含む「群D」から選択される1以上、好ましくは2以上のバイオマーカーを含む。

【0091】

このバイオマーカーの部分群(本明細書において、「群D」と称することとする)は、対照と比較して、AD患者の脳において調節されること、及びカゼインキナーゼ阻害剤の投与に際しマウス脳において調節されることが見出されている。

【0092】

表3:「群D」のバイオマーカー

【表3】

配列番号:	UNIPROT ID	タンパク質名	ヒト脳 AD/cntrl Log 2	マウス脳 Log 2	
				Ck1 阻害剤	
				PS110	PS278
1	Q96A00	ホスファターゼレギュラトリサブユニット14A	0.79	0.69	0.71
2	P09543	2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ	0.57	0.57	0.63
8	Q96FV2	セセルニン-2	0.56	-0.76	-0.52
21	Q4V9L6	膜貫通型タンパク質119	1.15	-0.66	-0.52
28	Q9BQD3	KxDLモチーフ含有タンパク質1	0.58	-0.58	-

【0093】

群C及びD(それぞれ、表2及び表3に記載)は、2つの異なるカゼインキナーゼ阻害剤の投与後に、マウス脳において調節されることが示されているバイオマーカー、及びi)(表2;群C)Braakステージ3/4又は5/6のADのヒト患者のCSFにおいて、上方又は下方調節されるバイオマーカー又はii)(表3;群D)対照対象と比較して、AD患者のヒト脳において上方/下方調節されるバイオマーカーを含む。これらのバイオマーカーは、タウオパチーを診断及びステージ分類することを可能とし、その特定の患者において治療が効果的であるかどうか、又は代替のアプローチを次に行うべきかどうかをはっきりさせることを可能とする薬学的バイオマーカーとしても役立つために非常に有利である。

【0094】

さらに、本発明は、タウ又はその1以上の断片を含むバイオマーカーのパネルであって、タウが:

i)配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii)T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含み;タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルが、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む、前記バイオマーカーのパネルを提供する。

【0095】

微小管関連タンパク質タウは、アルツハイマー病の患者の海馬及び皮質において異常にリン酸化され、最終的には、該疾病の病理学的特徴である対を成すらせん状の線維(PHFタ

10

20

30

40

50

ウ)へと器質化する凝集体を形成する。タウタンパク質のある種のリン酸化された形態は、経シナプス伝播によって脳内を伝播することができ、かつ、恐らく、これ及び他のよく理解されていないプロセスによって、脳脊髄液中にも見出される。CSF中の全タウに対するセリン181でリン酸化されたタウ(2N4Rタウアイソフォーム配列;配列番号:29に基づく)の比は、個体を前症候性アルツハイマー病を有するものとして分類するため、及び症候性疾患において臨床診断を確認するために用いられる受け入れられたバイオマーカーである。

【0096】

本発明において同定された配列番号:29のアミノ酸配列を有するか又は該アミノ酸配列を含むタウ又はその断片上のリン酸化されたアミノ酸は、表4に例示されるように、セリン及び/又はスレオニン及び/又はチロシンアミノ酸である。

10

【0097】

表4: ヒトCSF及び/又はヒト脳及び/又はマウス脳由来のタウにおいてリン酸化されていることが分かったタウタンパク質(配列番号:29)のアミノ酸(Xは、検出されたことを意味する)

【表4】

アミノ酸番号	マウス脳	ヒト脳	ヒトCSF
T39	X		
S46	X	X	X
T50	X	X	
T52	X		
T56	X	X	
S61	X	X	X

20

T63	X		
S64	X		X
S68	X		
T69	X		
S113	X		
T181	X	X	X
S184	X	X	X
S185	X	X	X
S191	X	X	
S195	X		
S198	X	X	X
S199	X	X	X
S202	X	X	X
S205	X	X	X
S208	X	X	X
S210	X	X	
T212	X	X	X
S214	X	X	X
T217	X	X	X
T231	X	X	X
S235		X	X
S237		X	X
S238		X	X
S258		X	X
S262	X	X	X
S285			X
S289		X	X
S356	X	X	X
Y394	X	X	
S396	X	X	X
S400	X	X	X
T403	X	X	X
S404		X	X
S409	X	X	
S412	X		
S413	X		
T414/S416	X		
S422		X	

10

20

30

40

【 0 0 9 8 】

表4に示すアミノ酸の各々は、診断用、予後用、及び/又は薬力学的バイオマーカーとして有用なものである。好ましくは、全ての試験において検出された(すべてのカラムでXの

50

)17個のリン酸化残基は、ヒト疾患の間に存在し、カゼインキナーゼ阻害剤で処置した動物モデルにおいても検出され、かつヒトのCSFにおいても検出することができたために、薬力学的バイオマーカーとして最大の可能性を有する。

【0099】

より好ましくは、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S61、S64、T181、S184、S202、S205、T231、及び/又はS235を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【0100】

一実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) S61、S64、S199、S205、及びS396から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【0101】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S61を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【0102】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S64を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【0103】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S199を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【0104】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S205を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【0105】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【0106】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S61及びS64を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【0107】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S61及びS199を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

10

20

30

40

50

【 0 1 0 8 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S61及びS205を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【 0 1 0 9 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S61及びS396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

10

【 0 1 1 0 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S64及びS199を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【 0 1 1 1 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S64及びS205を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

20

【 0 1 1 2 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S64及びS396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【 0 1 1 3 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S199及びS205を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

30

【 0 1 1 4 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S199及びS396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【 0 1 1 5 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S205及びS396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

40

【 0 1 1 6 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S61、S64、及びS199を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【 0 1 1 7 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S61、S64、及びS205を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

50

【 0 1 1 8 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S61、S64、及びS396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【 0 1 1 9 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S61、S199、及びS205を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

10

【 0 1 2 0 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S61、S199、及びS396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【 0 1 2 1 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S61、S205、及びS396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

20

【 0 1 2 2 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S64、S199、及びS205を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【 0 1 2 3 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S64、S199、及びS396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

30

【 0 1 2 4 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S64、S205、及びS396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

40

【 0 1 2 5 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
- ii) リン酸化アミノ酸S199、S205、及びS396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【 0 1 2 6 】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

50

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
 ii) リン酸化アミノ酸S61、S64、S199、及びS205を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【0127】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが:

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
 ii) リン酸化アミノ酸S61、S64、S199、及びS396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【0128】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが:

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
 ii) リン酸化アミノ酸S61、S199、S205、及びS396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【0129】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、タウ又はその1以上の断片であって、タウが:

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
 ii) リン酸化アミノ酸S61、S64、S199、S205、及びS396を含む、前記タウ又はその1以上の断片を含む。

【0130】

上述のような、アミノ酸配列、及びタウ内又はその1以上の断片上の特定のリン酸化アミノ酸に関する実施態様は、本発明の第2の態様の他の実施態様の全て、及びタウ又はその1以上の断片が関与する本発明の他の態様の全てに等しく適用可能である。

【0131】

一実施態様において、バイオマーカーのパネルは、群A、B、C、又はDから選択される少なくとも1つのバイオマーカー、及びタウ又はその1以上の断片であって、タウが:

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ
 ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含む;前記タウ又はその1以上の断片から選択される1つのバイオマーカーを含み、ここで、タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルは、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む。好ましくは、群A、B、C、又はDから選択されるバイオマーカーは:

- i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片であるか;又は

- ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片である。

【0132】

より好ましくは、パネルは、3つ以上、4つ以上、5つ以上のバイオマーカーを含み、ここで、タウに追加される少なくとも2つのバイオマーカーは、群A、B、C、又はDから選択され、かつi) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片;及びii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム

10

20

30

40

50

、もしくはバリエーション、もしくは断片である。

【0133】

さらに、本発明は、表5、6、7、8、9、10、11、12、13、又はそれらの組合せから選択される1以上、任意に2以上のタンパク質を含むバイオマーカーのパネルを提供する。

【0134】

これらのバイオマーカーは、対照と比較して、AD患者のCSFにおいて高度に調節されていることが見出されている。各々のタンパク質の全ての非修飾ペプチドを、3つの対照、及び3つのAD症例についてまとめた。その後、各々のタンパク質のlog2比及びp値を算出した。2以上のペプチド、>60%調節、及びp<0.05であるタンパク質を表5のバイオマーカーとして選択した。

10

【0135】

表5: 対照と比較してAD患者のCSFにおいて上方/下方調節されるバイオマーカー

【表5】

UniProtKB アクセッション 番号	タンパク質名	Log2 AD/ 対照	P 値
I3L192	ベインジン	-3.86	0.04
E5RJZ1	ミトコンドリアのシトクロムcオキシダーゼサブユニット7A 関連タンパク質	4.19	0.05
K7EIT4	14-3-3タンパク質イプシロン	0.78	0.04
K7EJ68	ミトコンドリアの3-ケトアシル-CoAチオラーゼ	0.91	0.01
B4DVF4	ペルオキシソームの3-ケトアシル-CoAチオラーゼ	1.28	0.02
P25325	3-メルカプトピルビン酸硫黄転移酵素	0.81	0.01
P08708	40Sリボソームタンパク質S17	1.34	0.01
E5RIP1	40Sリボソームタンパク質S20	1.32	0.01
D6R9I7	40Sリボソームタンパク質S23	0.83	0.04
P61247	40Sリボソームタンパク質S3a	0.96	0.04
F5GZI0	4F2細胞表面抗原重鎖	1.29	0.03
P32754	4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ	0.76	0.03
F8VPE8	60S酸性リボソームタンパク質P0	0.73	0.03
H7C3M2	60Sリボソームタンパク質L3	2.45	0.01
C9JIJ5	60Sリボソームタンパク質L7	0.86	<0.01
Q8IZP0	Abl相互作用物質1	1.04	0.01
H0YN26	酸性ロイシンリッチ核ホスホプロテイン32ファミリーメンバーA	1.76	0.04
E9PF58	アクチン関連タンパク質2/3複合体サブユニット1A	0.94	0.02
B4DXW1	アクチン関連タンパク質3	0.73	0.04
I3L1U8	活性ブレイクポイントクラスター領域関連タンパク質	0.92	<0.01
O14561	ミトコンドリアのアシルキャリアータンパク質	0.72	0.02
P07108	アシル-CoA結合タンパク質	1.18	0.02
O14734	アシル補酵素Aチオエステラーゼ8	0.76	<0.01
E9PQQ8	アデニル酸キナーゼアイソエンザイム5	0.89	0.02
P12235	ADP/ATPトランスロカーゼ1	0.71	0.03
F5H1V1	ADPリボシル化因子3	0.74	0.03
Q9NVJ2	ADPリボシル化因子様タンパク質8B	0.94	0.01

20

30

40

50

H0Y5U1	アグリン	1.05	0.03
P11766	アルコールデヒドロゲナーゼクラス3	0.87	0.05
A6NHU4	アルド・ケト還元酵素ファミリー1メンバーC1	-1.04	0.01
P55008	アログラフト炎症因子1	0.82	0.03
P02763	アルファ1-酸性糖タンパク質1	-1.03	0.02
G3V3A0	アルファ1-アンチキモトリプシン	-0.84	0.04
H0YJ11	アルファ-アクチニン-1	0.67	0.01
M0R2M1	アルファ-可溶性NSF附着タンパク質	0.74	0.03
P05067	アミロイドベータA4タンパク質	0.90	<0.01
K7EMN4	アミロイド様タンパク質1	0.73	0.01
E9PQS3	アミロイド様タンパク質2	0.94	0.01
P03950	アンジオゲニン	-0.76	0.03
E7EV01	アンキリンリピート及びSOCSボックスタンパク質2	1.68	0.01
P16157	アンキリン-1	0.86	0.01
D6R9U4	アンキリン-2	0.65	0.03
V9GYC1	アポリポタンパク質A-II	-0.85	<0.01
P06727	アポリポタンパク質A-IV	-1.97	0.04
P04114	アポリポタンパク質B-100	0.70	0.04
B0YIW2	アポリポタンパク質C-III	-0.77	0.04
G3V1B6	アポリポタンパク質0	0.84	0.03
H0YER7	アポトーシス阻害剤5	0.79	0.04
E9PMA0	ミトコンドリアのアポトーシス誘導因子1	0.69	0.03
P29972	アクアポリン-1	0.90	<0.01
B0YIW6	アルチェイン(Archain)1	-1.26	0.01
F8VXI9	ARF GTPアーゼ活性化タンパク質GIT2	1.10	0.02
Q96P47	GTPアーゼ、ANKリピート、及び PHドメイン含有タンパク質3を伴うArf-GAP	0.66	0.01
O43776	アスパラギン-tRNAリガーゼ、細胞質型	1.37	0.03
P17174	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、細胞質型	0.99	0.03
B1AJS1	アストロタクチン-1	0.70	0.01
K7EJP1	ミトコンドリアのATPシンターゼサブユニットアルファ	0.77	0.04
C9JU26	ミトコンドリアのATPシンターゼサブユニットf	0.75	0.03
P17858	肝臓型ATP依存性6-ホスホフルクトキナーゼ	0.68	0.02
Q96BJ3	アキシン相互作用物質、背方化関連タンパク質	0.98	0.04
Q4VXN1	バンド4.1様タンパク質1	1.36	0.01
E9PQD2	バンド4.1様タンパク質2	3.48	0.02
P02749	ベータ-2-糖タンパク質1	-0.70	0.00
Q562R1	ベータ-アクチン様タンパク質2	0.77	0.05

10

20

30

40

P35612	ベータ-アデュシン	0.77	0.05
Q96KN2	ベータ-Ala-Hisジペプチダーゼ	0.71	0.05
P07686	ベータ-ヘキソサミニダーゼサブユニットベータ	1.49	0.00
C9JSN9	ビオチニダーゼ	0.97	0.01
Q9NZE6	真核細胞翻訳開始因子4A、 アイソフォーム2、アイソフォームCRA_b	0.75	0.01
Q8WXS3	脳及び急性白血病細胞質タンパク質	0.88	0.05
P11274	ブレークポイントクラスター領域タンパク質	0.99	0.01
Q96GW7	プレビカンコアタンパク質	0.69	0.03
Q9HCU4	カドヘリンEGF LAG7回貫通G型受容体2	0.68	<0.01
P19022	カドヘリン-2	1.17	0.05
Q9UQM7	カルシウム/カルモジュリン依存性プロテイン キナーゼII型サブユニットアルファ	0.81	0.02
E7ETC9	カルシウム/カルモジュリン依存性プロテイン キナーゼII型サブユニットベータ	1.08	<0.01
Q16566	カルシウム/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼIV型	0.85	0.03
H7C4P2	カルシウム依存性分泌アクチベーター1	0.87	0.03
F8WBR5	カルモジュリン	1.09	0.03
Q9P1Y5	カルモジュリン調節スペクトリン関連タンパク質3	0.91	0.01
P07384	カルパイン-1触媒サブユニット	1.06	0.03
O94985	カルシンテニン(Calsyntenin)-1	0.75	0.01
Q9BQT9	カルシンテニン-3	0.76	0.01
O43852	カルメニン	1.15	0.01
C9J9E2	CaMキナーゼ様ベシクル関連タンパク質	0.70	0.05
K7EM13	cAMP依存性プロテインキナーゼI型- アルファレギュラトリーサブユニット	0.97	<0.01
P31321	cAMP依存性プロテインキナーゼI型- ベータレギュラトリーサブユニット	1.56	0.04
Q5TDF0	がん関連ヌクレオシドトリホスファターゼ	0.93	0.01
Q8WXD9	カスキ(Caskin)-1	0.76	0.04
Q92851	カスパーゼ-10	1.21	0.01
Q86VU5	カテコールO-メチルトランスフェラーゼドメイン 含有タンパク質1	1.06	0.01
C9IZ88	カテニンアルファ-2	2.11	0.01
E9PKT6	カテプシンH	0.73	0.01
E9PNW4	CD59糖タンパク質	0.79	0.04
Q5JYX0	細胞分裂制御タンパク質42ホモログ	1.04	0.05
Q99674	EFハンドドメインタンパク質1を伴う細胞増殖制御因子	0.86	<0.01
Q5SW79	170kDaの中心体タンパク質	0.92	0.02

10

20

30

40

Q8NI60	ミトコンドリアのbc1複合体様のシャペロン活性 (Chaperone activity of bc1 complex-like, mitochondrial)	0.78	0.01
Q7LBR1	帯電多胞体タンパク質1b	0.66	0.01
Q96FZ7	帯電多胞体タンパク質6	0.83	<0.01
Q9BWS9	キチナーゼドメイン含有タンパク質1	0.85	0.02
J3KS05	クロモボックスタンパク質ホモログ1	0.84	0.01
G5E968	クロモグラニンA、アイソフォームCRA_b	0.78	0.01
Q9UPT6	C-Jun-アミノ末端キナーゼ相互作用タンパク質3	-0.85	0.01
Q8IZR5	CKLF様MARVEL膜貫通ドメイン含有タンパク質4	0.70	0.01
E5RGY9	クラスリンコートアセンブリタンパク質AP180	1.45	0.02
D6RJD1	クラスリン軽鎖B	0.84	0.02
Q14019	コアクトシン様タンパク質	0.68	0.02
P00740	凝固因子IX	-0.73	0.05
P53618	コートマーサブユニットベータ	1.07	0.03
H0Y8X7	コートマーサブユニットガンマ-1	0.69	0.03
I3L0M4	コイルドコイルドメイン含有タンパク質43	0.99	0.01
Q96A33	コイルドコイルドメイン含有タンパク質47	0.79	0.02
H7C5H1	補体因子B	-1.11	0.03
Q03591	補体因子H関連タンパク質1	-0.67	<0.01
V9GYE7	補体因子H関連タンパク質2	-1.01	0.01
E9PDN6	コンタクチン関連タンパク質様4	0.85	0.01
H0YKU5	COP9シグナロソーム複合体サブユニット2	1.31	0.01
Q92905	COP9シグナロソーム複合体サブユニット5	0.76	0.01
O75367	コアヒストンマクロ-H2A.1	0.67	0.01
H0YJG0	クレアチンキナーゼタイプB	0.68	0.03
E7EPF8	C末端結合タンパク質1	0.84	0.01
E9PC62	CUGBP Elav様ファミリーメンバー2	0.99	0.01
F5H6I6	カリン結合NEDD8解離タンパク質1 (Cullin-associated NEDD8-dissociated protein 1)	1.06	0.04
E9PHZ2	システイン及びヒスチジンリッチドメイン含有タンパク質1	0.67	0.02
Q16878	システインジオキシゲナーゼ1型	1.32	0.05
H0YFA4	システインリッチタンパク質2	0.95	0.03
H3BP04	ミトコンドリアのシトクロムb-c1複合体サブユニット2	0.67	0.02
P14927	シトクロムb-c1複合体サブユニット7	0.98	0.05
P47985	ミトコンドリアのシトクロムb-c1複合体サブユニットRieske	1.13	0.04
Q5JTTJ3	シトクロムcオキシダーゼアセンブリ因子6ホモログ	1.23	0.01
K7EQD3	シトクロムcオキシダーゼサブユニット6B1	0.88	0.02

10

20

30

40

Q99418	サイトヘシン-2	0.77	0.03
E7EPF5	細胞質タンパク質NCK2	0.72	0.02
C9JM78	ミトコンドリアのD-ペーター-ヒドロキシ酪酸デヒドロゲナーゼ	1.46	0.00
Q9UKG1	DCC相互作用タンパク質13-アルファ	0.79	0.01
H7C342	D-ドパクロムデカルボキシラーゼ	0.88	0.03
Q8NFT8	デルタ及びノッチ様上皮増殖因子関連受容体	1.02	0.01
Q08495	デマチン	0.76	0.01
P60981	デストリン	0.93	0.05
Q9BPU6	ジヒドロピリミジナーゼ関連タンパク質5	0.82	0.03
E7EPF1	ディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ ドメイン含有タンパク質22	1.05	0.01
B4E2H8	ディスクラージホモログ1	1.37	0.03
A8MVA8	ディスクラージホモログ2	0.72	0.02
O00273	DNA断片化因子サブユニットアルファ	-0.67	0.03
O75190	DnaJホモログサブファミリーBメンバー6	1.27	<0.01
Q9NVH1	DnaJホモログサブファミリーCメンバー11	0.94	0.01
Q13217	DnaJホモログサブファミリーCメンバー3	0.86	<0.01
K7EIH8	DnaJホモログサブファミリーCメンバー7	0.92	0.02
B7Z4L4	ドリコリル-ジホスホオリゴ糖- タンパク質グリコシルトランスフェラーゼサブユニット1	1.87	0.01
Q9P0K9	DOMONドメイン含有タンパク質FRRSIL	1.48	0.01
F8VYL3	ダイナミン-1様タンパク質	0.89	0.01
P50570	ダイナミン-2	0.89	0.03
Q9P225	軸糸ダイニン重鎖2	1.15	0.00
H3BS86	E3ユビキチン-タンパク質リガーゼCHIP	0.83	0.01
Q05639	伸長因子1-アルファ2	0.68	0.04
H3BNU3	ミトコンドリアの伸長因子Tu	1.14	0.01
Q9NZ08	小胞体アミノペプチダーゼ1	1.16	<0.01
H0YIV0	エンドプラスミン	1.18	0.04
B1AKC9	エフリンB型受容体2	1.26	0.02
P20827	エフリン-A1	0.86	0.05
Q92506	エストラジオール17-ペーター-デヒドロゲナーゼ8	0.87	0.04
Q92731	エストロゲン受容体ベータ	1.73	0.01
E7EMV8	真核生物開始因子4A-II	-0.98	0.03
A6NJH9	Y-染色体の真核細胞翻訳開始因子1A	0.91	0.03
O75821	真核細胞翻訳開始因子3サブユニットG	1.02	0.04
O43909	エキソストシン様3	1.03	<0.01
I3L252	FAD-AMPリアーゼ	3.43	0.02
H3BRW3	FAD連結スルフヒドリルオキシダーゼALR	1.50	0.01

10

20

30

40

C9JPH9	ファスシン	0.86	0.01
G3V1D1	フェリチン	1.37	0.03
Q6MZW2	フォリスタチン関連タンパク質4	1.38	<0.01
H3BR68	フルクトース-ビスホスフェートアルドラーゼA	0.93	<0.01
H6UMI1	ガンマ-アミノ酪酸受容体関連タンパク質	1.40	0.01
H0YJU6	ガンマ-アミノ酪酸受容体サブユニットベータ-3	0.78	0.01
E5RGR6	GDNFファミリー受容体アルファ-2	1.06	<0.01
G3V582	ゲフィリン	1.07	<0.01
K7EMP8	グリア線維性酸性タンパク質	0.66	0.03
Q8TDQ7	グルコサミン-6-ホスフェートイソメラーゼ2	-0.65	0.04
K7EJ70	グルコシダーゼ2サブユニットベータ	0.80	<0.01
P42261	グルタミン酸受容体1	1.13	0.04
G3V164	グルタミン酸受容体4	1.02	0.01
F5H4N6	グルタミン酸受容体相互作用タンパク質1	-0.87	<0.01
H7BZD1	ミトコンドリアのグルタミナーゼ腎臓アイソフォーム	0.79	0.03
O76003	グルタレドキシシン-3	0.90	0.04
P07203	グルタチオンペルオキシダーゼ1	1.13	0.02
Q03013	グルタチオンS-トランスフェラーゼミュー4	1.09	0.04
P78417	グルタチオンS-トランスフェラーゼオメガ-1	1.13	0.01
H0YMX4	ミトコンドリアのグリシナムジノトランスフェラーゼ	1.67	0.04
P23434	ミトコンドリアのグリシン開裂系Hタンパク質	0.94	0.01
H7C024	グリピカン-1	1.05	<0.01
Q9NZH0	Gタンパク質共役型受容体ファミリーCグループ5メンバーB	0.97	0.03
P01112	GTPアーゼHRas	1.09	0.01
Q9Y2T3	グアニンデアミナーゼ	0.75	0.01
B1AM21	グアニンヌクレオチド結合タンパク質G(q)サブユニットアルファ	0.76	0.04
P63092	グアニンヌクレオチド結合タンパク質G(s)サブユニットアルファアイソフォームショート	1.00	0.03
B7Z685	グアニル酸シクラーゼ1、可溶性、ベータ3、アイソフォームCRA_c	-0.64	0.02
B1ANH6	グアニル酸キナーゼ	0.69	0.01
P00738	ハプトグロビン	-1.07	<0.01
P00739	ハプトグロビン関連タンパク質	-1.65	<0.01
Q6PIK3	HCG1995540、アイソフォームCRA_b	0.65	0.03
D6RG00	HCG2018358、アイソフォームCRA_d	0.75	<0.01
H3BQZ7	HCG2044799	0.69	0.01
K7ENF6	熱ショック70kDaタンパク質12A	0.86	0.04
P08107	熱ショック70kDaタンパク質1A/1B	0.70	0.03

10

20

30

40

R4GN69	熱ショックタンパク質105kDa	-0.83	0.01
C9J3N8	熱ショックタンパク質ベータ-1	-0.91	0.01
Q5H962	HECT、UBA及びWWEドメイン含有1	1.00	0.05
Q15477	ヘリカーゼSKI2W	0.86	0.04
F5GWX2	ヘム結合タンパク質1	1.24	<0.01
P02100	ヘモグロビンサブユニットイプシロン	1.50	0.01
Q6ZVN8	ヘモジュベリン	0.87	<0.01
Q8IZP7	ヘパリン硫酸6-O-スルホトランスフェラーゼ3	0.78	0.01
P05546	ヘパリン補助因子2	-0.66	0.03
Q9Y3E1	ヘパトーマ由来増殖因子関連タンパク質3	-0.67	0.04
Q13151	ヘテロ核リボヌクレオタンパク質A0	0.90	0.03
H0YB39	ヘテロ核リボヌクレオタンパク質H	0.80	0.02
M0QYQ7	ヘテロ核リボヌクレオタンパク質M	0.67	0.02
B1AR61	ヘキソキナーゼ-1	0.83	0.02
D6RD60	ヒスチジンリリアドヌクレオチド結合タンパク質1	1.01	0.03
P16403	ヒストンH1.2	1.33	0.05
D6RCF2	ヒストンH2A	0.83	0.01
U3KQK0	ヒストンH2B	0.73	0.03
B4DEB1	ヒストンH3	1.31	0.03
Q6NXT2	ヒストンH3.3C	1.27	0.04
Q16775	ミトコンドリアのヒドロキシアシルグルタチオンヒドロラーゼ	0.85	0.04
Q9Y4L1	低酸素上方調節タンパク質1	0.86	0.02
P22304	イズロネート2-スルファターゼ	1.30	0.03
A6NGN9	IgLNファミリーメンバー5	1.24	<0.01
H0Y4R1	イノシン-5'-モノホスフェートデヒドロゲナーゼ2	0.83	0.04
H0YB38	イノシトールモノホスファターゼ3	1.12	0.04
Q9UMF0	細胞間接着分子5	0.80	0.01
K7EKJ9	インターロイキンエンハンサー結合因子3	1.57	0.04
C9J826	接合部プラログロビン	2.03	0.04
P13645	ケラチン、I型細胞骨格系のもの10	0.66	0.02
O43790	ケラチン、II型角質のものHb6	0.66	0.02
E9PES4	キネシン様タンパク質KIF3A	0.67	0.05
P01042	キニノーゲン-1	-0.67	0.02
Q04760	乳酸グルタチオンリアーゼ	0.71	0.04
E9PLW6	L-アミノアジピン酸-セミアルデヒド デヒドロゲナーゼ-ホスホパンテティニル トランスフェラーゼ	-1.29	<0.01
E5RH50	La関連タンパク質1	0.66	<0.01

10

20

30

40

F6S6P2	大型のプロリンリッチタンパク質BAG6	0.89	0.03	
Q15334	致命的(2)巨大幼虫タンパク質ホモログ1	0.74	0.04	
Q9UIC8	ロイシンカルボキシルメチルトランスフェラーゼ1	1.10	<0.01	
H0YMX3	ロイシンリッチリピート及び 免疫グロブリン様ドメイン含有 Nogo受容体相互作用タンパク質1	1.28	<0.01	
Q6F5E8	ロイシンリッチリピート含有タンパク質16C	-1.05	0.02	
M0R2G0	ロイシンリッチリピート含有タンパク質4B	0.76	<0.01	10
G3V1D4	Lin-7ホモログC(カエノラブディティス・エレガンス(C. elegans))、 アイソフォームCRA_b	0.72	0.05	
Q5VVL7	ミトコンドリアの分岐鎖アルファ-ケト酸デヒドロゲナーゼ 複合体のリポアミドアシルトランスフェラーゼ成分	0.84	0.03	
C9JXK9	脂肪腫優先パートナー	1.08	0.01	
E9PJZ7	リプリン-アルファ-1	1.21	0.03	
Q13136	リプリン-アルファ-1	0.85	0.01	
G3V200	リプリン-アルファ-2	1.52	0.04	
A8MW50	L-乳酸デヒドロゲナーゼ	0.72	0.02	20
F5GZQ4	L-乳酸デヒドロゲナーゼA鎖	0.68	<0.01	
O95573	長鎖脂肪酸-CoAリガーゼ3	0.82	0.01	
P10619	リソソームの防御タンパク質	0.70	0.02	
F8VV32	リゾチームC	-0.99	0.02	
Q9NZW5	MAGUK p55サブファミリーメンバー6	0.72	0.02	
A2A2V1	メジャープリオンタンパク質	1.20	<0.01	
C9JF79	リンゴ酸デヒドロゲナーゼ	1.07	0.04	
F5GX14	マレクチン	0.75	0.02	
P49006	MARCKS関連タンパク質	0.95	0.03	30
B3KM87	マトリン-3	0.70	0.02	
Q8N3F0	マチューリン	0.89	0.02	
Q5HYI7	メタキシン-3	1.07	<0.01	
F8VSC4	メチオニンアミノペプチダーゼ2	0.65	0.01	
Q13825	ミトコンドリアのメチルグルタコニル-CoAヒドラターゼ	1.50	0.03	
D6RCL2	微小管関連タンパク質1B	0.73	0.04	
M0QXQ9	微小管関連タンパク質1S	0.76	0.02	
Q9H936	ミトコンドリアのグルタミン酸輸送体1	0.66	<0.01	
G3V502	ミトコンドリアの移入内膜トランスロカーゼサブユニットTim9	0.92	0.03	40
E5RJK1	ミトコンドリアのペプチドメチオニンスルホキッド還元酵素	0.87	<0.01	
Q10713	ミトコンドリアプロセッシングペプチダーゼサブユニットアルファ	0.70	0.04	
D6RAU3	マイトジェン活性化プロテインキナーゼ10	0.65	0.04	

Q15746	ミオシン軽鎖キナーゼ、平滑筋	1.08	0.01	
E7ERA5	ミオシン-10	0.77	0.02	
P58546	ミオトロフィン	0.79	0.04	
O95865	N(G),N(G)-ジメチルアルギニンジメチルアミノヒドロラーゼ2	0.83	0.01	
O14745	Na(+)/H(+)交換調節補助因子NHE-RF1	1.06	0.05	
Q4G0N4	ミトコンドリアのNADキナーゼ2	0.96	<0.01	
D6RAI5	ミトコンドリアのNAD(P)トランスヒドロゲナーゼ	0.86	<0.01	10
F8VRD8	NADHデヒドロゲナーゼ[ユビキノン]1 アルファ部分複合体サブユニット12	1.00	0.05	
O95182	NADHデヒドロゲナーゼ[ユビキノン]1 アルファ部分複合体サブユニット7	0.73	0.02	
Q16795	ミトコンドリアのNADHデヒドロゲナーゼ[ユビキノン]1 アルファ部分複合体サブユニット9	0.74	0.04	
E9PQ68	ミトコンドリアのNADHデヒドロゲナーゼ[ユビキノン]1 ベータ部分複合体サブユニット8	-0.85	<0.01	
E7EPT4	ミトコンドリアのNADHデヒドロゲナーゼ[ユビキノン] フラボプロテイン2	0.92	0.05	20
P56181	ミトコンドリアのNADHデヒドロゲナーゼ[ユビキノン] フラボプロテイン3	0.70	0.03	
Q9UHQ9	NADH-シトクロムb5還元酵素1	0.72	0.02	
Q9BXJ9	NatA補助サブユニットN-アルファ-アセチルトランスフェラーゼ15	0.95	0.04	
Q8TBC4	NEDD8活性化酵素E1触媒サブユニット	0.82	0.01	
Q59FP8	ネオゲニン	0.98	0.04	
O00533	神経細胞接着分子L1様タンパク質	0.80	<0.01	30
E7EQN4	ニューレキシン-1-ベータ	0.99	<0.01	
H7C2R8	ニューレキシン-2	1.11	<0.01	
Q9Y4C0	ニューレキシン-3	0.93	<0.01	
Q9HDB5	ニューレキシン-3-ベータ	0.98	<0.01	
Q9NPD7	ニューリチン	0.94	0.03	
P61601	ニューロカルシン-デルタ	1.33	0.03	
Q9UBB6	ニューロコンドリン	0.80	0.02	
P16519	神経内分泌コンバーターゼ2	1.52	<0.01	
Q8NFZ4	ニューロリジン-2	0.96	0.04	40
O95502	ニューロンペントラキシン受容体	1.09	<0.01	
P47972	ニューロンペントラキシン-2	1.02	0.01	
O15240	神経分泌タンパク質VGF	1.12	<0.01	
C9JQU8	ニューロセルピン	0.71	0.03	
F5H810	ノエリン	0.90	<0.01	

H7C367	非POUドメイン含有オクタマー結合タンパク質	1.02	0.03
E9PLD1	非特異的脂質輸送タンパク質	1.54	0.02
H0YFY6	核有糸分裂装置タンパク質タンパク質1	1.10	0.02
Q02818	ヌクレオバインディング1	0.87	0.02
Q86U38	核小体タンパク質9	0.86	0.03
E5RHP0	ヌクレオシドジホスフェートキナーゼA	0.84	0.05
F8W543	ヌクレオソーム集合タンパク質1様1	0.75	0.02
P23515	オリゴデンドロサイト-ミエリン糖タンパク質	0.80	<0.01
X6RKL2	オプチニューリン	0.81	<0.01
D6R9C5	オステオポンチン	0.75	0.04
Q9BZF1	オキシステロール結合タンパク質関連タンパク質8	0.78	0.04
Q96HC4	PDZ及びLIMドメインタンパク質5	0.75	0.02
Q9UBV8	ペフリン	0.98	0.03
Q02790	ペプチジル-プロリルシス-トランスイソメラーゼFKBP4	0.73	0.04
O14936	末梢細胞膜タンパク質CASK	1.07	0.04
H7C5W5	ペリフェリン	1.14	0.04
P32119	ペルオキシレドキシニン-2	0.96	0.03
I3L0T4	ペルオキシソームアシル-補酵素Aオキシダーゼ1	1.02	0.01
Q9Y285	フェニルアラニン-tRNAリガーゼアルファサブユニット	0.72	0.02
F8VVM2	ミトコンドリアのホスフェート運搬体タンパク質	0.78	0.01
A8MYT4	ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ	0.83	0.03
A8MTF1	ホスファチジルイノシトール4-キナーゼアルファ	0.71	0.01
P15259	ホスホグリセリン酸ムターゼ2	1.12	0.04
A6NDG6	ホスホグリコール酸ホスファターゼ	1.05	0.03
M0QZI4	ホスホリパーゼD3	0.83	0.01
P36969	ミトコンドリアのリン脂質ヒドロペルオキシド グルタチオンペルオキシダーゼ	0.75	0.02
Q9H008	ホスホリジンホスホヒスチジン 無機ピロホスフェートホスファターゼ	0.74	0.03
Q5SRE7	フィタノイル-CoAジオキシゲナーゼドメイン含有タンパク質1	0.65	0.01
Q9GZP4	PITHドメイン含有タンパク質1	0.71	0.04
Q504U3	PKM2タンパク質	0.73	0.02
I3L495	血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼIBサブユニットアルファ	0.97	0.02
Q09470	カリウム電位依存型チャネルサブファミリーAメンバー1	0.73	0.04
Q9UHV9	プレフォルディンサブユニット2	0.72	0.04
F8W8W4	プレニルシステインオキシダーゼ1	0.74	<0.01
Q8TBB6	高可能性カチオン性アミノ酸輸送体	0.66	0.05

10

20

30

40

P01303	プロ神経ペプチドY	0.86	0.04
Q9H7Z7	プロスタグランジンEシンターゼ2	0.98	0.02
Q16186	プロテアソームのユビキチン受容体ADRM1	1.29	0.05
F5GX11	プロテアソームサブユニットアルファタイプ-1	0.84	0.03
P28066	プロテアソームサブユニットアルファタイプ-5	1.08	0.03
H0Y586	プロテアソームサブユニットアルファタイプ-7	0.78	0.03
P02760	タンパク質AMBP	-0.95	0.04
O60678	タンパク質アルギニンN-メチルトランスフェラーゼ3	1.27	0.01
Q5TA58	タンパク質アルゴノート	-0.78	0.03
E9PGA6	タンパク質C1QTNF3-AMACR	0.76	0.01
D6RAV0	タンパク質CDV3ホモログ	0.69	0.01
B4DFG0	タンパク質DEK	0.84	0.01
I3L3P5	タンパク質ジスルフィド-イソメラーゼ	0.86	0.01
Q92520	タンパク質FAM3C	0.68	0.03
Q13045	タンパク質フライトレス-1ホモログ	0.65	<0.01
Q02156	プロテインキナーゼCイプシロン型	0.99	0.02
Q99435	プロテインキナーゼC結合タンパク質NELL2	0.68	<0.01
Q5SYT8	タンパク質NAMPTL	0.83	0.03
G3V2S0	タンパク質NDRG2	0.94	0.01
Q9BPW8	タンパク質NipSnapホモログ1	0.80	0.04
O75323	タンパク質NipSnapホモログ2	1.61	0.02
Q9UFN0	タンパク質NipSnapホモログ3A	0.73	0.04
G3V3Z8	タンパク質numbホモログ	0.66	0.01
Q96A00	プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A	0.70	0.05
Q9ULR3	プロテインホスファターゼ1H	0.85	0.01
Q9Y570	プロテインホスファターゼメチルエステラーゼ1	1.08	0.03
Q9Y6V0	タンパク質ピッコロ	0.93	0.04
E9PDC2	タンパク質プルーンホモログ2	1.12	0.03
K7EIR2	タンパク質QIL1	-0.74	0.03
P60903	タンパク質S100-A10	0.75	0.02
A8MRB1	タンパク質S100-B	1.05	0.02
H0Y8W8	タンパク質輸送タンパク質Sec31A	1.21	<0.01
H7BY58	タンパク質L-イソアスパラギン酸O-メチルトランスフェラーゼ	1.04	0.01
Q5VT82	プロトカドヘリン9	1.02	<0.01
Q9P2E7	プロトカドヘリン-10	0.78	0.01
A6NEC2	ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ様タンパク質	0.69	0.04
P0C7P4	推定シトクロムb-c1複合体サブユニットRieske様タンパク質1	1.07	0.03
Q5VTE0	推定伸長因子I-アルファ様3	1.30	0.05

10

20

30

40

A8MUU1	推定脂肪酸結合タンパク質5様タンパク質3	0.80	0.02	
Q6DN03	推定ヒストンH2B 2-C型	1.09	0.02	
Q6GMV3	推定ペプチジル-tRNAヒドロラーゼ	0.67	0.01	
Q9H853	推定チューブリン様タンパク質アルファ-4B	0.69	0.04	
Q9NVS9	ピリドキシン-5'-ホスフェートオキシダーゼ	0.81	0.01	
H3BTN5	ピルビン酸キナーゼ	0.71	0.03	
E9PNP4	ラディキシン	3.05	0.04	
Q96S59	Ran結合タンパク質9	0.69	0.01	10
Q9Y4G8	Rapグアニンヌクレオチド交換因子2	0.72	0.01	
Q13283	Ras GTPアーゼ活性化タンパク質結合タンパク質1	0.68	0.04	
P15153	Ras関連C3ボツリヌス毒素基質2	1.05	0.04	
P60763	Ras関連C3ボツリヌス毒素基質3	0.97	0.03	
B4DQU5	Ras関連タンパク質Rab-11A	0.67	0.04	
Q9UL25	Ras関連タンパク質Rab-21	0.69	<0.01	20
K7ES41	Ras関連タンパク質Rab-27B	1.46	0.01	
Q8WUD1	Ras関連タンパク質Rab-2B	0.80	0.01	
Q9NP90	Ras関連タンパク質Rab-9B	1.47	0.04	
F6U784	Ras関連タンパク質Rap-2a	1.16	0.05	
O43353	受容体相互作用セリン/スレオニンプロテインキナーゼ2	0.78	0.04	
P23471	受容体型チロシンプロテインホスファターゼゼータ	0.90	<0.01	
J3KQ66	リーリン	0.70	0.01	
Q15493	レギュカルチン	1.91	0.03	
H0YLG5	微小管ダイナミクスタンパク質3のレギュレーター	0.93	0.04	30
Q92900	ナンセンス転写産物1のレギュレーター	0.80	0.03	
B5MC59	複製タンパク質A 14kDaサブユニット	0.71	<0.01	
Q15293	レチクロカルビン-1	1.35	0.03	
Q86UN3	レチクロン-4受容体様2	1.18	0.01	
Q5SYQ7	レチナールデヒドロゲナーゼ1	1.04	0.01	
Q8TC12	レチノールデヒドロゲナーゼ11	-0.73	0.02	
J3KRE2	Rho GDP解離阻害因子1	0.80	0.03	
Q9P227	Rho GTPアーゼ活性化タンパク質23	0.88	<0.01	40
E9PMN0	リボヌクレアーゼ阻害剤	0.70	0.04	
H0YB34	リボヌクレアーゼUK114	1.04	0.02	
Q9Y3A5	リボソーム成熟タンパク質SBDS	0.86	0.05	
O15034	RIMS結合タンパク質2	2.48	0.04	
Q5TZA2	ルートレチン	0.77	0.03	
H7C5W9	筋小胞体/小胞体カルシウムATPアーゼ2	0.77	0.05	

D6RD99	スクレイパー応答性タンパク質1	0.70	0.02	
P05060	セクレトグラニン-1	0.80	0.03	
H0YKC2	セクレトグラニン-3	0.87	0.01	
C9JDT0	セクレトニューリン	1.16	0.01	
O75326	セマフォリン-7A	0.85	<0.01	
H7C299	セプチン-5	0.83	0.02	
K7EJ51	セプチン-9	0.96	0.04	
B4DLV4	セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ	-1.13	0.03	
P34897	ミトコンドリアのセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ	-1.81	0.04	10
O75494	セリン/アルギニンリッチスプライシング因子10	0.79	0.02	
E9PCD1	セリン/スレオニンプロテインキナーゼWNK2	0.75	0.01	
E9PH38	セリン/スレオニンプロテインホスファターゼ 2A 65kDaレギュラトリーサブユニットAアルファアイソフォーム	1.00	0.02	
E9PHZ6	セリン/スレオニンプロテインホスファターゼ 2A 65kDaレギュラトリーサブユニットAベータアイソフォーム	1.36	0.05	
Q68CR8	セリン/スレオニンプロテインホスファターゼ 2A アクチベーター	0.69	<0.01	20
M0QWZ7	ミトコンドリアのセリン-tRNAリガーゼ	1.17	0.02	
Q6ZV89	SH2ドメイン含有タンパク質5	-0.80	0.04	
Q9BQI5	SH3含有GRB2様タンパク質3相互作用タンパク質1	0.72	<0.01	
P45954	ミトコンドリアの短鎖/分岐鎖特異的アシルCoAデヒドロゲナーゼ	1.11	<0.01	
A6NMU3	シグナル伝達アダプター分子1	1.06	0.02	
C9K0U8	ミトコンドリアの一本鎖DNA結合タンパク質	0.67	0.04	
Q96PX8	SLIT及びNTRK様タンパク質1	0.77	0.02	30
K7EMD6	小型グルタミンリッチ テトラトリコペプチド反復含有タンパク質アルファ	1.62	<0.01	
Q8NHG7	小型VCP/p97相互作用タンパク質	0.76	0.03	
Q99250	ナトリウムチャンネルタンパク質2型サブユニットアルファ	0.80	0.05	
Q99884	ナトリウム依存型プロリン輸送体	1.26	0.01	
Q5VZ42	溶質輸送体ファミリー12メンバー5	0.83	<0.01	
P61278	ソマトスタチン	1.03	0.03	
Q9BX66	ソルビン及びSH3ドメイン含有タンパク質1	0.82	0.05	40
Q99523	ソルチリン	0.68	0.03	
Q9H4F8	SPARC関連モジュラーカルシウム結合タンパク質1	0.91	<0.01	
H0YJE6	赤血球のスペクトリンベータ鎖	0.80	<0.01	

K7EJR2	精子形成関連タンパク質22	0.66	0.03	
H3BS51	スフィンゴミエリンホスホジエステラーゼ3	1.31	0.02	
Q13838	スプライソソームRNAヘリカーゼDDX39B	0.85	0.05	
H0Y9U2	プロリン及びグルタミンリッチのスプライシング因子	1.45	0.01	
Q9HCB6	スポンジン-1	0.75	<0.01	
A2A2D0	スタスミン	0.78	0.04	
P31040	ミトコンドリアのコハク酸デヒドロゲナーゼ[ユビキノ]	1.05	0.03	
C9J8Q5	ミトコンドリアのコハク酸セミアルデヒドデヒドロゲナーゼ	0.77	0.01	10
P17600	シナプシン-1	0.95	0.03	
Q92777	シナプシン-2	0.86	0.03	
Q496J9	シナプス小胞糖タンパク質2C	1.15	0.02	
K7EM19	シナプス小胞膜タンパク質VAT-1ホモログ	0.78	0.04	
H7C4W3	シナプトフィジン	2.38	0.03	
C9J0A2	シナプトポリン	0.92	0.03	
F5GX00	シナプトタグミン-7	1.50	<0.01	
F5GZI8	T-複合体タンパク質1サブユニットアルファ	0.89	0.03	20
P78371	T-複合体タンパク質1サブユニットベータ	0.69	0.02	
E9PM09	T-複合体タンパク質1サブユニットガンマ	1.64	0.03	
P24821	テネイシン	0.73	0.05	
Q08629	テストイカン-1	1.73	<0.01	
Q9BQ16	テストイカン-3	0.84	0.03	
J3QL04	GLUT4のテザー含有UBXドメイン	1.13	0.03	
H0YB37	テトラトリコペプチド反復タンパク質1	1.03	0.02	
Q86TV6	テトラトリコペプチド反復タンパク質7B	0.95	<0.01	
P10599	チオレドキシシン	0.93	0.03	30
K7EME7	チオレドキシシン様タンパク質1	1.28	0.01	
C9JV37	トロンピン軽鎖	-0.71	0.03	
Q9Y2W1	甲状腺ホルモン受容体関連タンパク質3	1.19	0.03	
G3V1L9	タイトジャンクションタンパク質1(密着帯1)、アイソフォームCRA_a	0.67	0.03	
P13726	組織因子	0.68	0.02	
E7EN89	トル相互作用タンパク質、アイソフォームCRA_b	0.74	0.01	
F2Z393	トランスアルドラーゼ	0.86	0.01	40
Q5H9L2	転写伸長因子Aタンパク質様5	1.76	0.01	
E9PL10	転写因子BTF3ホモログ4	1.33	<0.01	
M0R3C0	転写中間因子1-ベータ	0.78	0.04	
Q00577	転写活性化因子タンパク質Pur-アルファ	1.06	0.04	

B4DQI6	トランスフォーマ-2タンパク質ホモログアルファ	0.77	0.02
H7BXF3	トランスフォーマ-2タンパク質ホモログベータ	0.72	0.04
J3KQ45	トランスゴルジネットワーク膜内在性タンパク質2	0.80	0.05
F8W888	トランスケラーゼ	1.44	<0.01
Q9BSH4	シトクロムcオキシダーゼIの翻訳活性化因子 (コイルドコイルドメイン含有タンパク質44) (ミトコンドリアにコードされたシトクロムcオキシダーゼIの 翻訳活性化因子)	1.13	0.01
Q53FP2	膜貫通型タンパク質35	0.87	0.05
Q9BTV4	膜貫通型タンパク質43	-0.80	0.05
C9JE81	ミトコンドリアの三機能酵素サブユニットベータ	0.68	0.02
P60174	トリオースリン酸イソメラーゼ	1.00	0.05
F2Z2W7	tRNA(ウラシル-5)-メチルトランスフェラーゼホモログA	0.89	<0.01
Q9Y3I0	tRNA-スプライシングリガーゼRtcBホモログ	1.15	0.01
P28289	トロポモジュリン-1	1.00	0.04
Q15714	TSG22ドメインファミリータンパク質1	0.89	<0.01
F8VXZ7	チューブリンアルファ-1A鎖	0.95	0.01
M0QZL7	チューブリンベータ-4A鎖	0.75	0.01
D6RG15	ツインフィリン-2	-0.99	0.01
P06241	チロシンプロテインキナーゼFyn (EC 2.7.10.2)(癌原遺伝子Syn) (癌原遺伝子c-Fyn)(Src様キナーゼ) (SLK)(p59-Fyn)	0.79	0.02
E9PLZ4	チロシンプロテインホスファターゼ非受容体型5	0.98	0.02
M0QYR1	U1小型核リボヌクレオタンパク質70kDa(断片)	0.75	<0.01
Q9UHD9	ユビキリン-2	1.15	0.01
K7EJ02	UBXドメイン含有タンパク質6	-0.78	0.01
Q14376	UDP-グルコース4-エピメラーゼ	0.82	0.02
E9PPU6	性質不明のタンパク質	-0.70	0.01
Q9BXV9	性質不明のタンパク質C14orf142	0.70	0.03
H0YEV9	非定型ミオシン-XVIIIa	-0.81	0.02
Q9H3H3	UPF0696タンパク質C11orf68	0.83	0.01
K7ELW1	UV除去修復タンパク質RAD23ホモログA	0.81	0.01
Q5W0S4	UV除去修復タンパク質RAD23ホモログB	0.96	<0.01
Q709C8	液胞タンパク質選別関連タンパク質13C	1.45	0.03
Q6EMK4	バソリン	0.80	0.04
P49748	ミトコンドリアの超長鎖特異的アシルCoAデヒドロゲナーゼ	0.91	0.01

10

20

30

40

B0YJC4	ビメンチン	0.80	0.03
H0Y715	電位依存性カルシウムチャンネル サブユニットアルファ-2/デルタ-1	0.87	0.01
B5MCX6	Vセット及び膜貫通ドメイン含有タンパク質2A	0.81	0.01
K7ERA0	V型プロトンATPアーゼサブユニットa	0.74	<0.01
Q8N8Y2	V型プロトンATPアーゼサブユニットd2	1.66	0.01
Q15904	V型プロトンATPアーゼサブユニットS1	1.00	0.02
Q8TF74	WAS/WASL相互作用タンパク質ファミリーメンバー2	1.71	0.02
H0YMF9	WD反復含有タンパク質61	-2.20	<0.01
Q9UPY6	ウイスコット-アルドリッチ症候群タンパク質ファミリーメンバー3	0.77	0.03
P61129	ジンクフィンガー-CCCHドメイン含有タンパク質6	1.08	0.04
Q9ULF5	亜鉛輸送体ZIP10	0.76	0.02

10

【0136】

－実施態様において、バイオマーカーのパネルは、少なくともベイシジンを含む。

【0137】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、少なくともミトコンドリアのシトクロムcオキシダーゼサブユニット7A関連タンパク質を含む。

20

【0138】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、少なくともベイシジン、及びミトコンドリアのシトクロムcオキシダーゼサブユニット7A関連タンパク質を含む。

【0139】

ベイシジン又はBSG又は細胞外マトリックスメタロプロテイナーゼ誘導因子(EMMPRIN)又は表面抗原分類147(CD147)は、I型内在性膜受容体である。シクロフィリン(CyP)タンパク質Cyp-A及びCyp-B、並びに特定のインテグリンを含む多くのリガンドを有する。ベイシジンは、メタロプロテイナーゼ誘導能を有しており、かつそれは、いくつかの別個機能、例えば、精子形成、モノカルボン酸輸送体の発現、及びリンパ球の応答性も調節している。それは、上皮細胞、内皮細胞、及び白血球を含む多くの細胞型により発現される。ヒトベイシジンタンパク質は、N-末端細胞外部分に2つの重度にグリコシル化されたC2型免疫グロブリン様ドメインを形成する269個のアミノ酸を含有する。その細胞外部分に追加の免疫グロブリン様ドメインを1つ含有するベイシジンの第2の形態も特性が明らかにされている。そのアミノ酸配列を、配列番号:30に示す。

30

【0140】

ミトコンドリアのシトクロムcオキシダーゼサブユニット7A関連タンパク質、すなわちCOX7rは、ヒトにおいてCOX7A2L遺伝子によってコードされる酵素である。ミトコンドリアのシトクロムcオキシダーゼサブユニット7A関連タンパク質は、シトクロムcオキシダーゼ(COX)の成分であり、それは、ミトコンドリア呼吸鎖の末端成分であり、かつ還元型シトクロムcから酸素への電子伝達を触媒する。そのアミノ酸配列を、配列番号:31に示す。

40

【0141】

上記したような、表5から選択されるバイオマーカーに関する実施態様は、本発明の第3の態様の他の実施態様の全て、及び表5から選択されるバイオマーカーが関与する本発明の他の態様の全てに等しく適用可能である。

【0142】

－実施態様において、バイオマーカーのパネルは、表5から選択される少なくとも1つのバイオマーカー、及びタウ又はその1以上の断片から選択される少なくとも1つのバイオマーカーであって、タウが：

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

50

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含む、前記少なくとも1つのバイオマーカーを含み；ここで、タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルは、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む。

【0143】

好ましくは、該パネルは、群A、B、C、又はDから選択される1つのバイオマーカーも含む。より好ましくは、群A、B、C、又はDから選択されるバイオマーカーは：

i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片；又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片である。

【0144】

表5に列挙したバイオマーカーは、ADの病態に関連性があることが知られている特定の経路に属していることもある。それらを、以下で特定のGO用語(<http://geneontology.org/>)に従い表6～表13に例示されているもののような特定のリストにさらにグループ分けしてもよい。

【0145】

データを解析するために用いたGO用語の1つは、「Synap*」という用語であった。表5のうちでこの特定の経路の一部として登録されるバイオマーカーを、表6に示す。

【0146】

一実施態様において、本発明によるバイオマーカーのパネルは、表6から選択される1以上、好ましくは2以上のバイオマーカーを含む。

【0147】

表6: AD患者のCSFにおいて調節されることが分かっているGO用語「Synap*」を有するタンパク質

10

20

30

【表6】

UniProtKB アクセッション 番号	タンパク質名	Log2 AD/ 対照	P 値
P05067	アミロイドベータA4タンパク質	0.90	<0.01
Q9UQM7	カルシウム/カルモジュリン依存性プロテイン キナーゼII型サブユニットアルファ	0.81	0.02
Q16566	カルシウム/カルモジュリン依存性プロテイン キナーゼIV型	0.85	0.03
C9IZ88	カテニンアルファ-2	2.11	0.01
Q5JYX0	細胞分裂制御タンパク質42ホモログ	1.04	0.05
I3L0M4	コイルドコイルドメイン含有タンパク質43	0.99	0.01
Q8NFT8	デルタ、及びノッチ様上皮増殖因子関連受容体	1.02	0.01
P50570	ダイナミン-2	0.89	0.03
P42261	グルタミン酸受容体1	1.13	0.04
P01112	GTPアーゼHRas	1.09	0.01
M0R2G0	ロイシンリッチリピート含有タンパク質4B	0.76	<0.01
Q9Y4C0	ニューレキシン-3	0.93	<0.01
Q9HDB5	ニューレキシン-3-ベータ	0.98	<0.01
P61601	ニューロカルシン-デルタ	1.33	0.03
Q9UBB6	ニューロコンドリン	0.80	0.02
Q8NFZ4	ニューロリジン-2	0.96	0.04
P47972	ニューロンペントラキシン-2	1.02	0.01
Q96HC4	PDZ及びLIMドメインタンパク質5	0.75	0.02
I3L495	血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼIBサブユニットアルファ	0.97	0.02
Q09470	カリウム電位依存型チャネルサブファミリーAメンバー1	0.73	0.04
P01303	プロ神経ペプチドY	0.86	0.04
Q02156	プロテインキナーゼCイプシロン型	0.99	0.02
Q9Y6V0	タンパク質ピッコロ	0.93	0.04
Q9Y4G8	Rapグアニンヌクレオチド交換因子2	0.72	0.01
P61278	ソマトスタチン	1.03	0.03
P17600	シナプシン-1	0.95	0.03
Q92777	シナプシン-2	0.86	0.03
H7C4W3	シナプトフィジン	2.38	0.03

10

20

30

【0148】

－実施態様において、バイオマーカーのパネルは、表6から選択される少なくとも1つのバイオマーカー、及びタウ又はその1以上の断片から選択される少なくとも1つのバイオマーカーであって、タウが：

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含む、前記少なくとも1つのバイオマーカーを含み；ここで、タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルは、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む。

40

【0149】

好ましくは、該パネルは、群A、B、C、又はDから選択される1つのバイオマーカーも含む。より好ましくは、群A、B、C、又はDから選択されるバイオマーカーは：

i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファタ

50

ーゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片であるか;又は

iii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片である。

【0150】

データを解析するために用いた別のGO用語は、「Phosphoryl*」という用語であった。表5のうちでこの特定の経路の一部として登録されるバイオマーカーを表7に示す。

【0151】

別の実施態様において、本発明によるバイオマーカーのパネルは、表7から選択される1以上、好ましくは2以上のバイオマーカーを含む。 10

【0152】

表7:AD患者のCSFにおいて調節されることが分かっているGO用語「Phosphoryl*」を有するタンパク質

【表7】

UniProtKB アクセッション 番号	タンパク質名	Log2 AD/ 対照	P 値
Q8IZP0	Abl相互作用物質1	1.04	0.01
P05067	アミロイドベータA4タンパク質	0.90	<0.01
P03950	アンジオゲニン	-0.76	0.03
P17858	肝臓型ATP依存性6-ホスホフルクトキナーゼ	0.68	0.02
P11274	ブレークポイントクラスター領域タンパク質	0.99	0.01
Q9UQM7	カルシウム/カルモジュリン依存性プロテイン キナーゼII型サブユニットアルファ	0.81	0.02
Q16566	カルシウム/カルモジュリン依存性プロテイン キナーゼIV型	0.85	0.03
P31321	cAMP依存性プロテインキナーゼI型-ベータ レギュラトリーサブユニット	1.56	0.04
Q5JYX0	細胞分裂制御タンパク質42ホモログ	1.04	0.05
O75367	コアヒストンマクロH2A.1	0.67	0.01
P14927	シトクロムb-c1複合体サブユニット7	0.98	0.05
Q08495	デマチン	0.76	0.01
P20827	エフリン-A1	0.86	0.05
E5RGR6	GDNFファミリー受容体アルファ-2	1.06	<0.01
P01112	GTPアーゼHras	1.09	0.01
H0YB38	イノシトールモノホスファターゼ3	1.12	0.04
K7EKJ9	インターロイキンエンハンサー結合因子3	1.57	0.04
A2A2V1	メジャープリオンタンパク質	1.20	<0.01
Q15746	ミオシン軽鎖キナーゼ、平滑筋	1.08	0.01
O14936	末梢細胞膜タンパク質CASK	1.07	0.04
A8MTF1	ホスファチジルイノシトール4-キナーゼアルファ	0.71	0.01
A6NDG6	ホスホグリコール酸ホスファターゼ	1.05	0.03
Q9H008	ホスホリジンホスホヒスチジン 無機ピロホスフェートホスファターゼ	0.74	0.03
Q02156	プロテインキナーゼCイプシロン型	0.99	0.02
Q5SYT8	タンパク質NAMPTL	0.83	0.03
O75323	タンパク質NipSnapホモログ2	1.61	0.02
Q96A00	プロテインホスファターゼレギュラトリーサブユニット14A	0.70	0.05
O43353	受容体相互作用セリン/スレオニンプロテインキナーゼ2	0.78	0.04
P23471	受容体型チロシンプロテインホスファターゼゼータ	0.90	<0.01
O75326	セマフォリン-7A	0.85	<0.01
M0R3C0	転写中間因子1-ベータ	0.78	0.04
P06241	チロシンプロテインキナーゼFyn (EC 2.7.10.2) (癌原遺伝子Syn) (癌原遺伝子c-Fyn) (Src様キナーゼ) (SLK) (p59-Fyn)	0.79	0.02

【0153】

一実施態様において、バイオマーカーのパネルは、表7から選択される少なくとも1つのバイオマーカー、及びタウ又はその1以上の断片から選択される少なくとも1つのバイオマーカーであって、タウが：

10

20

30

40

50

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含む、前記少なくとも1つのバイオマーカーを含み；ここで、タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルは、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む。

【0154】

好ましくは、該パネルは、群A、B、C、又はDから選択される1つのバイオマーカーも含む。より好ましくは、群A、B、C、又はDから選択されるバイオマーカーは：

i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片であるか；又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片である。

【0155】

データを解析するために用いた別のGO用語は、「Stress」という用語であった。表5のうちでこの特定の経路の一部として登録されるバイオマーカーを表8に示す。

【0156】

別の実施態様において、本発明によるバイオマーカーのパネルは、表8から選択される1以上、好ましくは2以上のバイオマーカーを含む。

【0157】

表8:AD患者のCSFにおいて調節されることが分かっているGO用語「Stress」を有するタンパク質

10

20

【表 8】

UniProtKB アクセッション 番号	タンパク質名	Log2 AD/ 対照	P 値
P11766	アルコールデヒドロゲナーゼクラス3	0.87	0.05
P05067	アミロイドベータA4タンパク質	0.90	<0.01
E9PMA0	ミトコンドリアのアポトーシス誘導因子1	0.69	0.03
P29972	アクアポリン-1	0.90	<0.01
Q99674	EFハンドドメインタンパク質1を伴う細胞増殖制御因子	0.86	<0.01
H0YIV0	エンドプラスミン	1.18	0.04
P07203	グルタチオンペルオキシダーゼ1	1.13	0.02
C9J3N8	熱ショックタンパク質ベータ-1	-0.91	0.01
Q9Y4L1	低酸素上方調節タンパク質1	0.86	0.02
Q13136	リプリン-アルファ-1	0.85	0.01
A2A2V1	メジャープリオンタンパク質	1.20	<0.01
E5RJK1	ミトコンドリアのペプチドメチオニンスルホキシド還元酵素	0.87	<0.01
P32119	ペルオキシレドキシニン-2	0.96	0.03
P60903	タンパク質S100-A10	0.75	0.02
Q43353	受容体相互作用セリン/スレオニンプロテインキナーゼ2	0.78	0.04
Q99250	ナトリウムチャンネルタンパク質2型サブユニットアルファ	0.80	0.05
Q9BX66	ソルビン及びSH3ドメイン含有タンパク質1	0.82	0.05

10

20

【 0 1 5 8 】

さらに別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、表8から選択される少なくとも1つのバイオマーカー、及びタウ又はその1以上の断片から選択される少なくとも1つのバイオマーカーであって、タウが：

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含む、前記少なくとも1つのバイオマーカーを含み；ここで、タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルは、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む。

30

【 0 1 5 9 】

好ましくは、該パネルは、群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカーも含む。より好ましくは、群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカーは：

i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片であるか；又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片である。

40

【 0 1 6 0 】

データを解析するために用いた別のGO用語は、「Calcium」という用語であった。表5のうちでこの特定の経路の一部として登録されるバイオマーカーを表9に示す。

【 0 1 6 1 】

50

別の実施態様において、本発明によるバイオマーカーのパネルは、表9から選択される1以上、好ましくは2以上のバイオマーカーを含む。

【0162】

表9:AD患者のCSFにおいて調節されることが分かっているGO用語「Calcium」を有するタンパク質

【表9】

UniProtKB アクセッション 番号	タンパク質名	Log2 AD/ 対照	P値
P05067	アミロイドベータA4タンパク質	0.90	<0.01
E7EV01	アンキリンリピート及びSOCSボックスタンパク質2	1.68	0.01
P07686	ベータ-ヘキササミニダーゼサブユニットベータ	1.49	<0.01
P19022	カドヘリン-2	1.17	0.05
Q9UQM7	カルシウム/カルモジュリン依存性プロテイン キナーゼII型サブユニットアルファ	0.81	0.02
P07384	カルパイン-1触媒サブユニット	1.06	0.03
Q96A33	コイルドコイルドメイン含有タンパク質47	0.79	0.02
Q08495	デマチン	0.76	0.01
P78417	グルタチオンS-トランスフェラーゼオメガ-1	1.13	0.01
P13645	ケラチン、I型細胞骨格系のもの10	0.66	0.02
P01042	キニノーゲン-1	-0.67	0.02
Q15746	ミオシン軽鎖キナーゼ、平滑筋	1.08	0.01
P61601	ニューロカルシン-デルタ	1.33	0.03
Q9UBV8	ペフリン	0.98	0.03
Q14936	末梢細胞膜タンパク質CASK	1.07	0.04
P01303	プロ神経ペプチドY	0.86	0.04
Q02156	プロテインキナーゼCイプシロン型	0.99	0.02
Q15493	レギュカルチン	1.91	0.03
H7C5W9	筋小胞体/小胞体カルシウムATPアーゼ2	0.77	0.05
P06241	チロシンプロテインキナーゼFyn (EC 2.7.10.2)(癌原遺伝子Syn) (癌原遺伝子c-Fyn)(Src様キナーゼ) (SLK)(p59-Fyn)	0.79	0.02

10

20

30

【0163】

別の実施態様の1つにおいて、バイオマーカーのパネルは、表9から選択される少なくとも1つのバイオマーカー、及びタウ又はその1以上の断片から選択される少なくとも1つのバイオマーカーであって、タウが：

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含む、前記少なくとも1つのバイオマーカーを含み；ここで、タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルは、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む。

40

【0164】

好ましくは、該パネルは、群A、B、C、又はDから選択される1つのバイオマーカーも含む。より好ましくは、群A、B、C、又はDから選択されるバイオマーカーは：

50

i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片であるか;又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片である。

【0165】

データを解析するために用いた別のGO用語は、「Cytoskeleton *」という用語であった。表5のうちでこの特定の経路の一部として登録されるバイオマーカーを表10に示す。

【0166】

別の実施態様において、本発明によるバイオマーカーのパネルは、表10から選択される1以上、好ましくは2以上のバイオマーカーを含む。

【0167】

表10:AD患者のCSFにおいて調節されることが分かっているGO用語「Cytoskeleton *」を有するタンパク質

【表10】

UniProtKB アクセッション 番号	タンパク質名	Log2 AD/ 対照	P 値
Q8IZP0	Abl相互作用物質1	1.04	0.01
E9PF58	アクチン関連タンパク質2/3複合体サブユニット1A	0.94	0.02
P16157	アンキリン-1	0.86	0.01
P04114	アポリポタンパク質B-100	0.70	0.04
Q4VXN1	バンド4.1様タンパク質1	1.36	0.01
Q562R1	ベータ-アクチン様タンパク質2	0.77	0.05
C9IZ88	カテニンアルファ-2	2.11	0.01
Q14019	コアクトシン様タンパク質	0.68	0.02
Q08495	デマチン	0.76	0.01
P60981	デストリン	0.93	0.05
Q15334	致命的(2)巨大幼虫タンパク質ホモログ1	0.74	0.04
Q14745	Na(+)/H(+)交換調節補助因子NHE-RF1	1.06	0.05
Q96HC4	PDZ及びLIMドメインタンパク質5	0.75	0.02
Q14936	末梢細胞膜タンパク質CASK	1.07	0.04
Q02156	プロテインキナーゼCイプシロン型	0.99	0.02
Q9Y6V0	タンパク質ピッコロ	0.93	0.04
Q43353	受容体相互作用セリン/スレオニンプロテインキナーゼ2	0.78	0.04
Q5TZA2	ルートレチン	0.77	0.03
B4DLV4	セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ	-1.13	0.03
P34897	ミトコンドリアのセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ	-1.81	0.04
P28289	トロポモジュリン-1	1.00	0.04
B0YJC4	ビメンチン	0.80	0.03
Q8TF74	WAS/WASL相互作用タンパク質ファミリーメンバー2	1.71	0.02
Q9UPY6	ウィスコット-アールドリッチ症候群タンパク質ファミリーメンバー3	0.77	0.03

【0168】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、表10から選択される少なくとも1

つのバイオマーカー、及びタウ又はその1以上の断片から選択される少なくとも1つのバイオマーカーであって、タウが：

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含む、前記少なくとも1つのバイオマーカーを含み；ここで、タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルは、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む。

10

【0169】

好ましくは、該パネルは、群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカーも含む。より好ましくは、群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカーは：

i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片であるか；又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片である。

【0170】

データを解析するために用いたさらに別のGO用語は、「Mitochondri*」という用語であった。表5のうちでこの特定の経路の一部として登録されるバイオマーカーを表11に示す。

20

【0171】

別の実施態様において、本発明によるバイオマーカーのパネルは、表11から選択される1以上、好ましくは2以上のバイオマーカーを含む。

【0172】

表11:AD患者のCSFにおいて調節されることが分かっているGO用語「Mitochondri*」を有するタンパク質

【表 1 1】

UniProtKB アクセッション 番号	タンパク質名	Log2 AD/ 対照	P 値
K7EJ68	ミトコンドリアの3-ケトアシル-CoAチオラーゼ	0.91	0.01
P25325	3-メルカプトピルビン酸硫黄転移酵素	0.81	0.01
O14561	ミトコンドリアのアシルキャリアータンパク質	0.72	0.02
P07108	アシル-CoA結合タンパク質	1.18	0.02
O14734	アシル補酵素Aチオエステラーゼ8	0.76	<0.01
P12235	ADP/ATPトランスロカーゼ1	0.71	0.03
P11766	アルコールデヒドロゲナーゼクラス3	0.87	0.05
E9PMA0	ミトコンドリアのアポトーシス誘導因子1	0.69	0.03
O43776	アスパラギン-tRNAリガーゼ、細胞質型	1.37	0.03
K7EJP1	ミトコンドリアのATPシンターゼサブユニットアルファ	0.77	0.04
Q86VU5	カテコールO-メチルトランスフェラーゼドメイン含有タンパク質1	1.06	0.01
Q8NI60	ミトコンドリアのbc1複合体様のシャペロン活性	0.78	0.01
H3BP04	ミトコンドリアのシトクロムb-c1複合体サブユニット2	0.67	0.02
P14927	シトクロムb-c1複合体サブユニット7	0.98	0.05
P47985	ミトコンドリアのシトクロムb-c1複合体サブユニットRieske	1.13	0.04
Q5JTI3	シトクロムcオキシダーゼアセンブリ因子6ホモログ	1.23	0.01
K7EQD3	シトクロムcオキシダーゼサブユニット6B1	0.88	0.02
E5RJZ1	ミトコンドリアのシトクロムcオキシダーゼサブユニット7A関連 タンパク質	4.19	0.05
Q9NVH1	DnaJホモログサブファミリーCメンバー11	0.94	0.01
Q92506	エストラジオール17-ベータ-デヒドロゲナーゼ8	0.87	0.04
Q92731	エストロゲン受容体ベータ	1.73	0.01
G3V1D1	フェリチン	1.37	0.03
P07203	グルタチオンペルオキシダーゼ1	1.13	0.02
P23434	ミトコンドリアのグリシン開裂系Hタンパク質	0.94	0.01
P08107	熱ショック70kDaタンパク質1A/1B	0.70	0.03
F5GWX2	ヘム結合タンパク質1	1.24	<0.01
B1AR61	ヘキソキナーゼ-1	0.83	0.02
Q16775	ミトコンドリアのヒドロキシアシルグルタチオンヒドロラーゼ	0.85	0.04
K7EKJ9	インターロイキンエンハンサー結合因子3	1.57	0.04
Q5VVL7	ミトコンドリアの分岐鎖アルファ-ケト酸デヒドロゲナーゼ複合体の リポアミドアシルトランスフェラーゼ成分	0.84	0.03
A8MW50	L-乳酸デヒドロゲナーゼ	0.72	0.02
F5GZQ4	L-乳酸デヒドロゲナーゼA鎖	0.68	<0.01
O95573	長鎖脂肪酸-CoAリガーゼ3	0.82	0.01
C9JF79	リンゴ酸デヒドロゲナーゼ	1.07	0.04
Q5HYI7	メタキシン-3	1.07	<0.01
Q13825	ミトコンドリアのメチルグルタコニル-CoAヒドラターゼ	1.50	0.03

10

20

30

40

Q9H936	ミトコンドリアのグルタミン酸輸送体1	0.66	<0.01	
G3V502	ミトコンドリアの移入内膜トランスロカーゼサブユニットTim9	0.92	0.03	
E5RJK1	ミトコンドリアのペプチドメチオニンスルホキシド還元酵素	0.87	<0.01	
Q10713	ミトコンドリアプロセシングペプチダーゼサブユニットアルファ	0.70	0.04	
D6RAU3	マイトジェン活性化プロテインキナーゼ10	0.65	0.04	
O95865	N(G),N(G)-ジメチルアルギニンジメチルアミノヒドロラーゼ2	0.83	0.01	10
Q4G0N4	ミトコンドリアのNADキナーゼ2	0.96	<0.01	
D6RAI5	ミトコンドリアのNAD(P)トランスヒドロゲナーゼ	0.86	<0.01	
F8VRD8	NADHデヒドロゲナーゼ[ユビキノン]1アルファ部分複合体サブユニット12	1.00	0.05	
O95182	NADHデヒドロゲナーゼ[ユビキノン]1アルファ部分複合体サブユニット7	0.73	0.02	
Q16795	ミトコンドリアのNADHデヒドロゲナーゼ[ユビキノン]1アルファ部分複合体サブユニット9	0.74	0.04	
E9PQ68	ミトコンドリアのNADHデヒドロゲナーゼ[ユビキノン]1ベータ部分複合体サブユニット8	-0.85	<0.01	20
P56181	ミトコンドリアのNADHデヒドロゲナーゼ[ユビキノン]フラボプロテイン3	0.70	0.03	
Q9UHQ9	NADH-シトクロムb5還元酵素1	0.72	0.02	
Q02790	ペプチジル-プロリルシス-トランスイソメラーゼFKBP4	0.73	0.04	
F8VVM2	ミトコンドリアのホスフェート運搬体タンパク質	0.78	0.01	
P36969	ミトコンドリアのリン脂質ヒドロペルオキシドグルタチオンペルオキシダーゼ	0.75	0.02	
Q9UHV9	プレフォルディンサブユニット2	0.72	0.04	
Q9H7Z7	プロスタグランジンEシンターゼ2	0.98	0.02	
Q02156	プロテインキナーゼCイプシロン型	0.99	0.02	
Q9BPW8	タンパク質NipSnapホモログ1	0.80	0.04	30
O75323	タンパク質NipSnapホモログ2	1.61	0.02	
K7EIR2	タンパク質QIL1	-0.74	0.03	
H3BTN5	ピルビン酸キナーゼ	0.71	0.03	
H0YLG5	微小管ダイナミクスタンパク質3のレギュレーター	0.93	0.04	
B4DLV4	セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ	-1.13	0.03	
P34897	ミトコンドリアのセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ	-1.81	0.04	
P45954	ミトコンドリアの短鎖/分岐鎖特異的アシルCoAデヒドロゲナーゼ	1.11	<0.01	
C9K0U8	ミトコンドリアの一本鎖DNA結合タンパク質	0.67	0.04	40
P31040	ミトコンドリアのコハク酸デヒドロゲナーゼ[ユビキノン]フラボプロテインサブユニット	1.05	0.03	
C9J8Q5	ミトコンドリアのコハク酸セミアルデヒドデヒドロゲナーゼ	0.77	0.01	
P10599	チオレドキシシン	0.93	0.03	
Q9BSH4	シトクロムcオキシダーゼ1の翻訳活性化因子	1.13	0.01	

	(コイルドコイルドメイン含有タンパク質44) (ミトコンドリアにコードされたシトクロムcオキシダーゼIの 翻訳活性化因子)		
C9JE81	ミトコンドリアの三機能酵素サブユニットベータ	0.68	0.02
P06241	チロシンプロテインキナーゼFyn (EC 2.7.10.2)(癌原遺伝子Syn) (癌原遺伝子c-Fyn)(Src様キナーゼ)(SLK) (p59-Fyn)	0.79	0.02
Q6EMK4	バソリン	0.80	0.04
P49748	ミトコンドリアの超長鎖特異的アシルCoAデヒドロゲナーゼ	0.91	0.01

10

【0173】

別の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、表11から選択される少なくとも1つのバイオマーカー、及びタウ又はその1以上の断片から選択される少なくとも1つのバイオマーカーであって、タウが：

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含む、前記少なくとも1つのバイオマーカーを含み；ここで、タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルは、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む。

20

【0174】

好ましくは、該パネルは、群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカーも含む。より好ましくは、群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカーは：

i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片であるか；又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片である。

30

【0175】

表5のバイオマーカーを、GO用語「Vesicle」及び「Insuline」でも解析した。これらの特定の経路の一部として登録されるものを、表12及び表13にそれぞれ示す。

【0176】

別の実施態様において、本発明によるバイオマーカーのパネルは、表12又は表13から選択される1以上、好ましくは2以上のバイオマーカーを含む。

【0177】

表12:AD患者のCSFにおいて調節されることが分かっているGO用語「Vesicle」を有するタンパク質

40

【表 1 2】

UniProtKB アクセッション 番号	タンパク質名	Log2 AD/ 対照	P 値
P16157	アンキリン-1	0.86	0.01
B0YIW6	アルチェイン(Archain)1	-1.26	0.01
Q9UPT6	C-Jun-アミノ末端キナーゼ相互作用タンパク質3	-0.85	0.01
D6RJD1	クラスリン軽鎖B	0.84	0.02
P53618	コートマーサブユニットベータ	1.07	0.03
H0Y8X7	コートマーサブユニットガンマ-1	0.69	0.03
P50570	ダイナミン-2	0.89	0.03
P61601	ニューロカルシン-デルタ	1.33	0.03
I3L495	血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼIBサブユニットアルファ	0.97	0.02
Q9Y6V0	タンパク質ピッコロ	0.93	0.04
Q8WUD1	Ras関連タンパク質Rab-2B	0.80	0.01
Q99523	ソルチリン	0.68	0.03
P17600	シナプシン-1	0.95	0.03

10

【 0 1 7 8】

表13:AD患者のCSFにおいて調節されることが分かっているGO用語「Insulin」を有するタンパク質

20

【表 1 3】

UniProtKB アクセッション 番号	タンパク質名	Log2 AD/ 対照	P 値
P12235	ADP/ATPトランスロカーゼ1	0.71	0.03
P17174	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、細胞質型	0.99	0.03
P17858	肝臓型ATP依存性6-ホスホフルクトキナーゼ	0.68	0.02
P31321	cAMP依存性プロテインキナーゼI型- ベータレギュラトリーサブユニット	1.56	0.04
Q9UKG1	DGC相互作用タンパク質13-アルファ	0.79	0.01
P01112	GTPアーゼHRas	1.09	0.01
P63092	グアニンヌクレオチド結合タンパク質 G(s)サブユニットアルファアイソフォームショート	1.00	0.03
P16519	神経内分泌コンバーターゼ2	1.52	0.00
O15240	神経分泌タンパク質VGF	1.12	0.00
Q9BZF1	オキシステロール結合タンパク質関連タンパク質8	0.78	0.04
Q02156	プロテインキナーゼCイプシロン型	0.99	0.02
Q9Y6V0	タンパク質ピッコロ	0.93	0.04
Q9BX66	ソルビン及びSH3ドメイン含有タンパク質1	0.82	0.05
Q99523	ソルチリン	0.68	0.03
Q8N8Y2	V型プロトンATPアーゼサブユニットd2	1.66	0.01

30

40

【 0 1 7 9】

他の実施態様において、バイオマーカーのパネルは、表12又は表13から選択される少なくとも1つのバイオマーカー、及びタウ又はその1以上の断片から選択される少なくとも1つのバイオマーカーであって、タウが：

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S19

50

1、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含む、前記少なくとも1つのバイオマーカーを含み；ここで、タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルは、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む。

【0180】

好ましくは、該パネルは、群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカーも含む。より好ましくは、群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカーは：

i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片であるか；又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片である。

【0181】

各々のタンパク質の全ての非修飾ペプチドを、3つの対照及び3つのAD症例についてまとめた。その後、各々のタンパク質のlog2比及びp値を算出した。2以上のペプチド、>60%調節、及びp<0.05であるタンパク質を、シナプス機能障害(表6)、調節不全のリン酸化(表7)、酸化ストレス(表8)、調節不全のカルシウムシグナル伝達(表9)、調節不全の細胞骨格(表10)、ミトコンドリア損傷(表11)、異常なベシクル機能(表12)、及び機能障害性インスリンシグナル伝達(表13)のバイオマーカーとして選択した。

【0182】

本明細書に記載されるバイオマーカーのパネルは、タウ毒性を特徴とする神経認知疾患、例えば、タウオパチー、及び特にアルツハイマー病などの神経認知障害を診断するため、該神経認知障害をステージ分類するため、該神経認知障害を発症する可能性を評価するため、及び該神経認知障害を治療するための薬物への応答を評価するために有用である。このような方法のいずれかにおけるこれら本発明によるバイオマーカーのパネルの使用には、かなりの利点がある。

【0183】

第一に、本発明によるバイオマーカーは、タウ毒性及び結果として脳において生じる経路の変化の、末梢組織、例えばCSF及び血液における末梢シグナルへの翻訳を表す。従って、これらは、組織試験を末梢液試験で置き換えることを可能とする。特に、神経認知障害において主に影響される組織が、脳組織であるために、このことは、大きな利点となる。脳生検(brain biopsy)は、死後でない限り行われぬ。

【0184】

第二に、本発明によるバイオマーカーは、タウ毒性を特徴とする神経認知障害、例えば、アルツハイマー病の特定のステージを説明することができるものとして選択されている。また、現在のところ、疾患の進行をある程度表すものの、疾患のステージに関しては正確ではない可能性があり、従って、特定のステージのために開発及び承認されている療法を選択することを特に難しくする一連の心理測定的試験を介して、ADのような神経認知疾患の進行を臨床医は評価しているために、このことは大きな利点となる。

【0185】

第三に、これらのバイオマーカーは、典型的には文献で報告されているものでも臨床の現場でタウオパチーのバイオマーカーとして現在用いられているものでもないタンパク質をさらに含んでおり、従って、タウ毒性を特徴とする神経認知障害、例えば、ADを有する対象、及び神経認知障害の症状を呈しているにもかかわらず、ADの初期兆候によって影響を受けていない対象を、初期段階においてさえも特定しかつ区別するための追加のツールを、臨床医に提供する。

【0186】

10

20

30

40

50

従って、本発明は、対象における神経認知障害を診断するための方法であって、該方法が：

- a) 該対象から得られる試料を、本明細書において規定されたようなパネルのバイオマーカーについてアッセイすること；
- b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること；
- c) 該試料中の該パネルの各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、神経認知障害を有しているかどうかを決定すること；

を含み、

該バイオマーカーのパネルが：

I) i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片；及び/又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、バリエーション、もしくは断片；又は

II) 群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカー；又は

III) タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含み；タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルが、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む、前記タウ又はその1以上の断片；又は

IV) 表5、6、7、8、9、10、11、12、13、又はそれらの組合せから選択される1以上、任意に2以上のタンパク質；又は

V) I)、II)、III)、及びIV)の組合せ

を含むパネルから選択される、前記方法を提供する。

【0187】

好ましくは、前記神経認知障害は、タウ毒性を特徴とする；より好ましくは、前記神経認知障害は、アルツハイマー病、17番染色体に連鎖しパーキンソンニズムを伴う前頭側頭型認知症(FTDP-17)、進行性核上性麻痺(PSP)、ピック病、皮質基底核変性症、多系統萎縮症(MSA)、鉄蓄積を伴う神経基底変性、1型(ハラールホルデン・スパッツ)、嗜銀顆粒性認知症、ダウン症候群、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、ボクサー認知症、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、筋強直性ジストロフィー、ニーマン・ピック病C型、進行性皮質下グリオーシス、プリオンタンパク質脳アミロイドアンギオパチー、神経原線維変化型認知症、脳炎後パーキンソンニズム、亜急性硬化性全脳炎、クロイツフェルト・ヤコブ病、筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症症候群、神経原線維変化/認知症を伴う非グアム型運動ニューロン疾患、慢性外傷性脳障害、アルファ-シヌクレイン病、パーキンソン病、又はそれらの組合せの群から選択されるタウオパチーである。

【0188】

さらにより好ましくは、該タウオパチーは、アルツハイマー病である。

【0189】

本発明は、対象における神経認知障害をステージ分類するための方法であって：該方法が

- a) 該対象から得られる試料を、本明細書において規定されたパネルのバイオマーカーについてアッセイすること；

- b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること；

c) 該試料中の該パネルの各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象における該神経認知障害のステージを決定すること;

を含み、該バイオマーカーのパネルが:

I) i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片;及び/又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、バリエーション、もしくは断片;又は

II) 群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカー;又は

III) タウ又はその1以上の断片であって、タウが:

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含み;タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルが、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む、前記タウ又はその1以上の断片;又は

IV) 表5、6、7、8、9、10、11、12、13、又はそれらの組合せから選択される1以上、任意に2以上のタンパク質;又は

V) I)、II)、III)、及びIV)の組合せ

を含むパネルから選択される、前記方法も提供する。

【0190】

好ましくは、本発明によるステージ分類する方法においては、プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aのレベルが、神経認知障害の進行したステージにある対象の試料中で増加し;かつ/又は2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼのレベルが、神経認知障害の進行したステージにある対象の試料中で増加する。一実施態様において、神経認知障害のステージ分類が高いほど(すなわちより進行したステージにあるほど)、タウ発現及び過剰リン酸化が高い。従って、該ステージは、タウ依存的である。

【0191】

好ましくは、前記神経認知障害は、タウ毒性を特徴とし、より好ましくは、該神経認知障害は、アルツハイマー病、17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症(FTDP-17)、進行性核上性麻痺(PSP)、ピック病、皮質基底核変性症、多系統萎縮症(MSA)、鉄蓄積を伴う神経基底変性、1型(ハラールホルデン・スパッツ)、嗜銀顆粒性認知症、ダウン症候群、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、ボクサー認知症、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、筋強直性ジストロフィー、ニーマン・ピック病C型、進行性皮質下グリオーシス、プリオンタンパク質脳アミロイドアンギオパチー、神経原線維変化型認知症、脳炎後パーキンソニズム、亜急性硬化性全脳炎、クロイツフェルト・ヤコブ病、筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症症候群、神経原線維変化/認知症を伴う非グアム型運動ニューロン疾患、慢性外傷性脳障害、アルファ-シヌクレイン病、パーキンソン病、又はそれらの組合せの群から選択されるタウオパチーである、

【0192】

さらにより好ましくは、前記タウオパチーは、アルツハイマー病(AD)であり、かつ前記ステージ分類は、ADのBraakステージ分類のステージのいずれか1つである。

【0193】

ADのBraakステージ分類は、1991年に初めて記載(Braak, H.らの文献、(1991) Acta Neuropathologica 82 (4): 239-59)され:

10

20

30

40

50

- ・神経原線維変化の関与が、主として脳のトランス嗅内領域(transentorhinal region)に限定されている場合に使用されるステージI及びII;
- ・海馬などの辺縁系領域の関与も存在する場合のステージIII、及びIV、並びに
- ・広範な新皮質の関与が存在する場合のステージV及びVIを含む。

【0194】

好ましい実施態様において、前記神経認知障害がADである場合、配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片の濃度又は量は、AD BraakステージIII又はステージIVのAD患者と比較してAD BraakステージV又はBraakステージVIのAD患者の試料において増加している。

10

【0195】

別の好ましい実施態様において、前記神経認知障害がADである場合、配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片の濃度又は量は、AD BraakステージIII又はステージIVのAD患者と比較して、AD BraakステージV又はBraakステージVIのAD患者の試料において増加している。

【0196】

本発明は、対象において神経認知障害を発症する可能性を評価するための方法であって

20

a) 該対象から得られる試料を、本明細書において規定されたパネルのバイオマーカーについてアッセイすること;

b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること;

c) 該試料中の該バイオマーカーパネルの各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、神経認知障害を発症する可能性があるかどうかを決定すること;を含み、

前記バイオマーカーのパネルが:

I) i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片;及び/又は

30

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、バリエーション、もしくは断片;又は

II) 群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカー;又は

III) タウ又はその1以上の断片であって、タウが:

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含み;タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルが、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む、前記タウ又はその1以上の断片;又は

40

IV) 表5、6、7、8、9、10、11、12、13、又はそれらの組合せから選択される1以上、任意に2以上のタンパク質;又は

V) I)、II)、III)、及びIV)の組合せ、を含むパネルから選択される、前記方法も提供する。

【0197】

好ましくは、前記神経認知障害は、タウ毒性を特徴とし、より好ましくは、前記神経認知障害は、アルツハイマー病、17番染色体に連鎖しパーキンソンニズムを伴う前頭側頭型認

50

知症(FTDP-17)、進行性核上性麻痺(PSP)、ピック病、皮質基底核変性症、多系統萎縮症(MSA)、鉄蓄積を伴う神経基底変性、1型(ハラールホルデン・スパッツ)、嗜銀顆粒性認知症、ダウン症候群、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、ボクサー認知症、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、筋強直性ジストロフィー、ニーマン・ピック病C型、進行性皮質下グリオーシス、プリオンタンパク質脳アミロイドアンギオパチー、神経原線維変化型認知症、脳炎後パーキンソニズム、亜急性硬化性全脳炎、クロイツフェルト・ヤコブ病、筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症症候群、神経原線維変化/認知症を伴う非グアム型運動ニューロン疾患、慢性外傷性脳障害、アルファ-シヌクレイン病、パーキンソン病、又はそれらの組合せの群から選択されるタウオパチーである。

【0198】

さらにより好ましくは、前記タウオパチーは、アルツハイマー病である。

【0199】

本発明は、対象における神経認知障害を治療するための方法であって：

a) 該対象から得られる試料を、本明細書において規定されたパネルのバイオマーカーについてアッセイすること；

b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること；

c) 該試料中の各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、神経認知障害を有しているかどうかを決定すること；

d) 該神経認知障害を治療するための薬物を、該対象に投与すること；を含み、前記バイオマーカーのパネルが：

I) i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリ-サブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片；及び/又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、バリエーション、もしくは断片；又は

II) 群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカー；又は

III) タウ又はその1以上の断片であって、タウが：

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含み；タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルが、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む、前記タウ又はその1以上の断片；又は

IV) 表5、6、7、8、9、10、11、12、13、又はそれらの組合せから選択される1以上、任意に2以上のタンパク質；又は

V) I)、II)、III)、及びIVの組合せ、を含むパネルから選択される、前記方法も提供する。

【0200】

あるいは、本態様は、対象における神経認知障害の治療における使用のための薬物であって、該対象が：

a) 該対象から得られる試料を、それらの実施態様を含む本発明の第1、第2、及び第3の態様のうちのいずれか1つにおいて定義される前記パネルの前記バイオマーカーについてアッセイすること；

b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること；

c) 該試料中の各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、神経認知障害を有しているかどうかを決定するこ

10

20

30

40

50

と;

を含む方法によって選択され、

該バイオマーカのパネルが:

I) i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片;及び/又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、バリエーション、もしくは断片;又は

II) 群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカ;又は

III) タウ又はその1以上の断片であって、タウが:

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含み;タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルが、少なくとももう一つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む、前記タウ又はその1以上の断片;又は

IV) 表5、6、7、8、9、10、11、12、13、又はそれらの組合せから選択される1以上、任意に2以上のタンパク質;又は

V) I)、II)、III)、及びIVの組合せ

を含むパネルから選択される、前記薬物として、又は、あるいは、対象における神経認知障害の治療のための薬品の生産のための薬物の使用であって、該対象が:

a) 該対象から得られる試料を、それらの実施態様を含む本発明の第1、第2、及び第3の態様のうちのいずれか一つにおいて定義される前記パネルの前記バイオマーカについてアッセイすること;

b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカの濃度又は量を測定すること;

c) 該試料中の各々のバイオマーカの該濃度又は量を、該バイオマーカの参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、神経認知障害を有しているかどうかを決定すること;

を含む方法によって選択され、

該バイオマーカのパネルが:

I) i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片;及び/又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、バリエーション、もしくは断片;又は

II) 群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカ;又は

III) タウ又はその1以上の断片であって、タウが:

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含み;タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルが、少なくとももう一つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む、前記タウ又はその1以上の断片;又は

IV) 表5、6、7、8、9、10、11、12、13、又はそれらの組合せから選択される1以上、任意に2以上のタンパク質;又は

10

20

30

40

50

V) I)、II)、III)、及びIVの組合せ

を含むパネルから選択される、前記使用として説明され得る。

【0201】

一実施態様において、試料が脳試料である場合、配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片;及び/又は配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片の濃度又は量は、神経認知障害を治療するための薬物の投与にตอบสนองして減少するであろう。

【0202】

別の実施態様において、試料がCSFである場合、配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片;及び/又は配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片の濃度又は量は、治療にตอบสนองして増加又は減少する。

【0203】

本発明は、対象における神経認知障害を治療するための薬物に対するตอบสนองを評価するための方法であって、該対象が、該薬物で治療されてきたか又は該薬物で治療されており、該方法が:

- a) 該対象から得られる試料を、本明細書に記載されるパネルのバイオマーカーについてアッセイすること;
- b) 該試料中で、該バイオマーカーパネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること;
- c) 該試料中の該パネルの各々のバイオマーカーの該濃度又は量を、該バイオマーカーの参照濃度又は量と比較することによって、該アルツハイマー病の治療が成功かどうかを決定すること、を含み

該バイオマーカーのパネルが:

- I) i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片;及び/又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、バリエーション、もしくは断片;又は

II) 群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカー;又は

III) タウ又はその1以上の断片であって、タウが:

- i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含み;タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルが、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む、前記タウ又はその1以上の断片;又は

IV) 表5、6、7、8、9、10、11、12、13、又はそれらの組合せから選択される1以上、任意に2以上のタンパク質;又は

V) I)、II)、III)、及びIVの組合せ

を含むパネルから選択される、前記方法も提供する。

【0204】

好ましくは、本発明のこれら2つの態様における神経認知障害は、タウ毒性を特徴とし

10

20

30

40

50

、より好ましくは、前記神経認知障害は、アルツハイマー病、17番染色体に連鎖しパーキンソンニズムを伴う前頭側頭型認知症(FTDP-17)、進行性核上性麻痺(PSP)、ピック病、皮質基底核変性症、多系統萎縮症(MSA)、鉄蓄積を伴う神経基底変性、1型(ハラールホルデン・スパッツ)、嗜銀顆粒性認知症、ダウン症候群、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、ボクサー認知症、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー病、筋強直性ジストロフィー、ニーマン・ピック病C型、進行性皮質下グリオーシス、プリオンタンパク質脳アミロイドアンギオパチー、神経原線維変化型認知症、脳炎後パーキンソンニズム、亜急性硬化性全脳炎、クロイツフェルト・ヤコブ病、筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症候群、神経原線維変化/認知症を伴う非グアム型運動ニューロン疾患、慢性外傷性脳障害、アルファ-シヌクレイン病、パーキンソン病、又はそれらの組合せ、の群から選択されるタウオパチーである。

10

【0205】

好ましい一実施態様において、前記タウオパチーは、アルツハイマー病である。

【0206】

一実施態様において、神経認知障害を治療するための薬物はキナーゼ阻害剤であり;好ましくは、該キナーゼ阻害剤は、タウキナーゼ阻害剤又はカゼインキナーゼ阻害剤、より好ましくはカゼインキナーゼ1アルファ、ベータ、ガンマ、デルタ、又はイプシロンから選択される。

【0207】

さらにより好ましくは、前記キナーゼ阻害剤は、カゼインキナーゼ1デルタ阻害剤である。カゼインキナーゼ1デルタ阻害剤は、引例として本明細書に組み込まれているWO2012080727及びWO2012080729に記載されている。

20

【0208】

カゼインキナーゼ1デルタ阻害剤の例は、5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン(PS110);

2-アミノ-3-[(チオフェン-2-イル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド;

2-[3-(ピリジン-4-イル)-1H-ピラゾール-4-イル]-1,3-ベンゾオキサゾール;

2-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド(PS278);

2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド

2-アミノ-3-ベンゾイルインドリジン-1-カルボキサミド;

30

2-アミノ-1-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]-1H-インドール-3-カルボキサミド;それらの組合せ;又はそれらの医薬として許容し得る塩もしくは溶媒和物である。

【0209】

最も好ましいカゼインキナーゼ1デルタ阻害剤は、5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン(PS110);

2-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド(PS278);

2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド;

それらの組合せ;又はそれらの医薬として許容し得る塩もしくは溶媒和物から選択される。

【0210】

40

好ましくは、本発明による治療の方法における工程d)は、追加の治療薬剤を投与することをさらに含む。一実施態様において、前記対象は、キナーゼ阻害剤で治療されてきたか又は治療されており、かつ前記追加の治療薬剤は、メマンチン(例えば、Namenda(登録商標))、ガラントミン(例えば、Razadyne(登録商標))、リバスチグミン(例えば、Exelon(登録商標))、ドネペジル(例えば、Aricept(登録商標))、ソラネズマブ、5HT5アンタゴニスト、又はそれらの組合せの群から選択される。別の実施態様において、前記対象は、メマンチン(例えば、Namenda(登録商標))、ガラントミン(例えば、Razadyne(登録商標))、リバスチグミン(例えば、Exelon(登録商標))、ドネペジル(例えば、Aricept(登録商標))、ソラネズマブ、5HT5アンタゴニスト、又はそれらの組合せの群から選択される薬剤で治療されてきたか又は治療されており、かつ前記追加の治療薬剤は、キナーゼ阻害剤、好まし

50

くはカゼインキナーゼ1デルタ阻害剤、より好ましくは5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン;
2-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド;2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド;それらの組合せ;又はそれらの医薬として許容し得る塩もしくは溶媒和物から選択されるカゼインキナーゼ阻害剤から選択される。

【0211】

本発明の一実施態様において、対象における神経認知障害を治療するための薬物に対する応答を評価する場合であって、該対象が、該薬物で治療されてきたか、又は治療されている場合:

- i) 該対象は、メマンチン(例えば、Namenda(登録商標))、ガランタミン(例えば、Razadyne(登録商標))、リバスチグミン(例えば、Exelon(登録商標))、ドネペジル(例えば、Aricept(登録商標))、ソラネズマブ、5HT₅アンタゴニスト、又はそれらの組合せの群から選択される追加の治療薬剤でも治療されてきたか又は治療されており;かつ/又は
- ii) 工程c)の後に、該方法が、メマンチン(例えば、Namenda(登録商標))、ガランタミン(例えば、Razadyne(登録商標))、リバスチグミン(例えば、Exelon(登録商標))、ドネペジル(例えば、Aricept(登録商標))、ソラネズマブ、5HT₅アンタゴニスト、又はそれらの組合せの群から選択される追加の治療薬剤を投与することを含む。

【0212】

本発明による全ての方法の前記アッセイする工程a)及び/又は前記測定する工程b)は:

- i) 前記試料を、前記パネルの前記バイオマーカーの各々に対する1以上の結合性物質と接触させること;又は
 - ii) 前記試料中で前記バイオマーカーの各々に特異的な自己抗体を検出すること;又は
 - iii) 前記試料中で、質量分析により、前記パネルの前記バイオマーカーの各々を、任意に該試料を1以上のアイソパリックな反応性質量標識で事前に標識して、検出すること;又は
 - iv) 前記試料中で、2Dゲル電気泳動により、前記パネルの前記バイオマーカーの各々を検出すること;又は
- iv) i)、ii)、iii)、もしくはiv)のいずれかの組合せをさらに含んでもよい。

【0213】

好ましくは、工程a)における前記アッセイすること及び/又は工程b)における前記測定することは:

- i) 前記パネルにおける前記バイオマーカーの1以上の断片を検出すること、及び/又は
- ii) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するタウもしくはその1以上の断片上の1以上のリン酸化アミノ酸を検出することであって;検出されるべきタウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合、タウ又はその1以上の断片上の少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸が検出される、前記検出すること、を含む。

【0214】

任意に、前記試料は、固体支持体上に固定化されている。

【0215】

本発明による方法においてアッセイされる試料は、脳脊髄液(CSF)、血液、血漿、血清、唾液、尿、組織(例えば、脳組織)又はそれらの組合せの群から選択される。

【0216】

好ましくは、前記試料は、CSF又は血液である。

【0217】

診断、評価、又は治療される対象は、ADのもしくは本明細書に記載されるタウオパチーの動物モデル(例えば、齧歯動物又は霊長類)、又はヒト対象であり得る。好ましくは、診断、評価、又は治療される対象は、ヒト対象である。

【0218】

(2.キット)

本発明は、試料中で、本発明によるパネルのバイオマーカーをアッセイ及び/又は測定

10

20

30

40

50

するための試薬を含むキットも提供する。

【0219】

好ましくは、キットは、神経認知障害、特にアルツハイマー病を診断すること、ステージ分類すること、及び該障害の治療に対する応答を評価することを可能とする。

【0220】

本発明によるキット試薬は、本明細書に記載されるパネルのバイオマーカーに特異的に結合する1以上の結合性物質を含んでいてもよい。好ましくは、該1以上の結合性物質は、一次抗体であって、ここで各々の一次抗体は：

i) 該パネルの異なるタンパク質、及び/又は

ii) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するタウもしくはその断片の1以上のリン酸化アミノ酸

に特異的に結合する。

【0221】

より好ましくは、一次抗体は、プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aに対する1以上の抗体、及び/又は2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼに対する1以上の抗体である。他の一次抗体としては、群A、B、C、又はD及び表5~表13に列記したタンパク質のうちの他のバイオマーカーに対する抗体が挙げられる。

【0222】

一次抗体は、アッセイプレート、ビーズ、マイクロスフェア、又は粒子に固定化されていてもよい。任意に、ビーズ、マイクロスフェア、又は粒子は、染色されているか、タグ化されているか、又は標識されていてもよい。任意に、アッセイプレートは、平面アレイ又はマイクロタイターマルチウェルプレートである。

【0223】

キットが、パネルのバイオマーカーに対する一次抗体を含む場合、該キットは、該一次抗体に特異的に結合する1以上の二次抗体をさらに含んでいてもよい。

【0224】

任意に、二次抗体は、標識、例えば、蛍光標識又はタグ化されていてもよい。

【0225】

本発明によるキットは、タグ化された二次抗体の存在を検出するための1以上の検出試薬をさらに含んでいてもよい。

【0226】

試料は、好ましくは、脳脊髄液(CSF)、血液、血漿、血清、唾液、尿、組織(例えば、脳組織)又はそれらの組合せの群から選択される。

【0227】

本発明のキットは：

a) 対象から得られる試料をパネルのバイオマーカーについてアッセイすること；

b) 該試料中で、該パネルの各々のバイオマーカーの濃度又は量を測定すること；

c) 該試料中の該タンパク質の各々の該濃度又は量を、該タンパク質の参照濃度又は量と比較することによって、該対象が、神経認知障害特に、アルツハイマー病を有しているかどうかを決定すること；

を可能とし、ここで、該バイオマーカーのパネルは：

I) i) 配列番号:1のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、又はそのアイソフォーム、もしくはバリエーション、もしくは断片；及び/又は

ii) 配列番号:2のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有する2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼ、又はそのアイソフォーム、バリエーション、もしくは断片；又は

II) 群A、B、C、又はDから選択される1以上のバイオマーカー；又は

III) タウ又はその1以上の断片であって：

i) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有し、かつ

10

20

30

40

50

ii) T39、S46、T50、T52、T56、S61、T63、S64、S68、T69、S113、T181、S184、S185、S191、S195、S198、S199、S202、S205、S208、S210、T212、S214、T217、T231、S235、S237、S238、S258、S262、S285、S289、S356、Y394、S396、S400、T403、S404、S409、S412、S413、T414/S416、又はS422から選択される1以上、任意に2以上のリン酸化アミノ酸を含み；タウ上の該リン酸化アミノ酸が、T181である場合に、該パネルが、少なくとももう1つのリン酸化アミノ酸を有するタウ又はその1以上の断片を含む、前記タウ又はその1以上の断片；又は

IV) 表5、6、7、8、9、10、11、12、13、又はそれらの組合せから選択される1以上、任意に2以上のタンパク質；又は

V) I)、II)、III)、及びIVの組合せ、を含むパネルから選択される。

10

【0228】

特に、本発明によるキットは：

i) 前記試料を、前記パネルの前記バイオマーカーの各々に対する1以上の結合性物質と接触させること；又は

ii) 前記試料中で前記バイオマーカーの各々に特異的な自己抗体を検出すること；又は

iii) 前記試料中で、質量分析により、前記パネルの前記バイオマーカーの各々を、任意に該試料を1以上のアイソパリックな反応性質量標識で事前に標識して、検出すること；又は

iv) 前記試料中で、2Dゲル電気泳動により、前記パネルの前記タンパク質の各々を検出すること；又は

iv) i)、ii)、iii)、もしくはiv)のいずれかの組合せ

20

によって、前記試料をアッセイすること(工程a)と同様に)及び/又は測定すること(工程b)と同様に)を指示し得る。

【0229】

さらに別の実施態様において、キットは、脳組織を調製するのに適した、任意に、ホルマリン固定パラフィン包埋脳組織切片を調製するのに適した試薬を含んでいてもよい。

【0230】

キットは、1以上のバイオマーカーの濃度又は量の決定を比較可能である定量的な尺度を提供する参照をさらに提供し得る。該参照は、神経認知障害、例えば、タウオパチー、特に、ADの存在、又はそのステージ分類、又はそれを発症する可能性を示すタンパク質量又は濃度を示し得る。

30

【0231】

キットは、本発明による方法を実施するための印刷された説明書も含み得る。

【0232】

一実施態様において、キットは、質量分析アッセイを実施するためのものであってもよく、参照ペプチド(例えば、SRMペプチド)のセットをアッセイ適合性のフォーマットで含んでいてもよく、ここで、該セット中の各々のペプチドは、i) 群A、B、C、又はDのバイオマーカーのうちの1以上；ii) 配列番号:29のアミノ酸配列を含むか又は該アミノ酸配列を有するリン酸化されたタウもしくはその1以上の断片；又はiii) 表5～表13に列記したタンパク質のうちの1以上をユニークに表すものである。

【0233】

40

好ましくは、そのようなユニークなペプチドの2以上を、そのためにキットがデザインされ、かつユニークなペプチドの各々のセットが健常対象の試料中のそのようなバイオマーカーの量又は濃度を反映する既知の量で提供される、各々のバイオマーカーに使用する。

【0234】

任意に、キットは、試料からの本発明によるバイオマーカーの単離及び抽出のためのプロトコル及び試薬、トリプシンなどのタンパク質分解酵素の精製調製物、並びにモニタリングされるべきプリカーサー質量及び比遷移の詳細を含む方法の詳細なプロトコルも提供し得る。ペプチドは合成ペプチドであってもよく、かつ炭素、窒素、酸素、及び/又は水素の1以上の重同位体を含んでいてもよい。

50

【0235】

任意に、本発明のキットは、適当な細胞、容器、成長培地、及びバッファーも含み得る。

【0236】

(3. バイオマーカーの検出及び測定)

本明細書に記載されるバイオマーカーのパネルは、発現が調節される、すなわち、定量的に増加又は減少するバイオマーカーと、疾患状態と比べて正常状態でもっぱら存在するか又はもっぱら存在しない、すなわち、定性的に発現されるバイオマーカーの両方を含む。その発現が疾患状態と比べて正常状態で異なる程度は、標準的な特徴解析技術によって可視化されるのに十分な大きさであるだけでよい。

10

【0237】

タンパク質の検出及び定量的方法は当技術分野で周知であり、任意の好適な方法を利用し得る。

【0238】

一実施態様において、パネルのバイオマーカーは、そのバイオマーカーに特異的な結合性物質、例えば、抗体を、例えば、ELISAアッセイ又はウェスタンブロットティングで用いて検出し得る。

【0239】

本明細書に記載されるパネル中の個々のバイオマーカーの、リン酸化アミノ酸又は他の翻訳後修飾を有するアミノ酸を含む1以上のエピトープを特異的に認識する能力がある抗体の産生に関する方法は、当技術分野において公知である。そのような抗体としては、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体(mAb)、ヒト化又はキメラ抗体、単鎖抗体、Fab断片、F(ab')₂断片、Fab発現ライブラリーによって産生される断片、抗イデオタイプ(抗Id)抗体、及び上記のいずれかのエピトープ結合断片を挙げることができるが、これらに限定されない。

20

【0240】

抗体の産生のために、様々な宿主動物をタンパク質又はその部分の注射によって免疫することができる。そのような宿主動物としては、ウサギ、マウス、及びラットを挙げることができるが、これらに限定されない。リゾレシチン、Pluronicポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油乳剤、キーホールリンペットヘモシアミン(keyhole limpet hemocyanin)、ジニトロフェノール、並びに潜在的に有用なヒトアジュバント、例えば、BCGカルメット・ゲラン桿菌(BCG bacille Calmette-Fuerin)及びコリネバクテリウム・パルヴム(Corynebacterium parvum)などの活性物質を含む、様々なアジュバントを用いて、宿主種に応じて、免疫学的応答を増大させることができる。

30

【0241】

ポリクローナル抗体は、抗原、例えば、標的タンパク質、又はその抗原性機能性誘導体で免疫した動物の血清に由来する不均一な抗体分子集団である。ポリクローナル抗体の産生のために、宿主動物、例えば、上記のような宿主動物を、同じく上記のようなアジュバントが補充された示差発現タンパク質又は経路タンパク質の注射によって免疫することができる。

40

【0242】

特定の抗原に対する均一な抗体集団であるモノクローナル抗体は、培養下の継続細胞株による抗体分子の産生をもたらす任意の技術によって得ることができる。これらには、Kohler及びMilsteinのハイブリドーマ技術(1975, Nature 256:495-497;及び米国特許第4,376,110号)、ヒト細胞ハイブリドーマ技術(Kosborらの文献、1983, Immunology Today 4:72; Coleらの文献、1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:2026-2030)、並びにEBVハイブリドーマ技術(Coleらの文献、1985、モノクローナル抗体及び癌療法(Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy)、Alan R. Liss社、pp. 77-96)が含まれるが、これらに限定されない。そのような抗体は、IgG、IgM、IgE、IgA、IgDを含む任意の免疫グロブリンクラス及びその任意のサブクラスのものであり得る。本発明のmAbを産生するハイブリド-

50

マは、インビトロ又はインビボで培養することができる。インビボで高力価のmAbを産生するので、これが現在好ましい産生方法になっている。

【0243】

さらに、適当な抗原特異性のマウス抗体分子由来の遺伝子を適当な生物学的活性のヒト抗体分子由来の遺伝子と一つに結合させることによる「キメラ抗体」の産生のために開発された技術(Morrisonらの文献、1984, Proc. Natl. Acad. Sci. 81:6851-6855; Neubergerらの文献、1984, Nature 312:604-608; Takedaらの文献、1985, Nature 314:452-454)を使用することができる。キメラ抗体は、異なる部分が異なる動物種に由来する分子、例えば、マウスmAbに由来する可変領域及びヒト免疫グロブリン定常領域を有する分子である。

10

【0244】

あるいは、単鎖抗体の産生について記載されている技術(米国特許第4,946,778号; Birdの文献、1988, Science 242: 423-426; Hustonらの文献、1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883;及びWardらの文献、1989, Nature 334:544-546)を、示差発現タンパク質又は経路タンパク質-単鎖抗体を産生するように適合させることができる。単鎖抗体は、アミノ酸架橋によってFv領域の重鎖断片と軽鎖断片を連結させ、単鎖ポリペプチドを生じさせることにより形成される。

【0245】

特異的エピトープを認識する抗体断片は、公知の技術によって作製することができる。例えば、そのような断片としては、抗体分子のペプシン消化によって産生することができるF(ab')₂断片及び該F(ab')₂断片のジスルフィド架橋を還元することにより作製することができるFab断片が挙げられるが、これらに限定されない。所望の特異性を有するモノクローナルFab断片の迅速かつ容易な同定を可能にするために、別のFab発現ライブラリーを構築してもよい(Huseらの文献、1989, Science 246:1275-1281)。

20

【0246】

本明細書に記載される方法のいくつかの実施態様において、試料は、分析用の固体支持体上に固定化されていてもよい。パネルの個々のタンパク質に特異的な結合性物質、例えば、抗体が、平坦な表面又は微粒子ビーズなどの固体支持体上に固定化され、該パネルのタンパク質が、固定化された結合性物質、例えば、固定化された抗体によって捕捉される、抗体サンドイッチ技術を利用してもよい。その後、捕捉されたタンパク質は、シグナル発生物質(酵素、蛍光タグ、放射性標識など)で直接標識することができるか、又はさらなる増幅(酵素、フルオロフォア、放射性標識などを含む、標識された二次抗体、ストレプトアビジン/ビオチン系)を用いて検出することができる、第二の結合性物質、例えば、二次抗体を用いて検出される。他の方法としては、試料の一次元又は二次元(2D)ゲル電気泳動を挙げることができるが、これらに限定されない。そのような方法の後に、ウェスタンブロットティングなどの技術を用いる固体表面への転写、及びその後のパネルのタンパク質に特異的な抗体を用いる検出が続く。

30

【0247】

他の実施態様において、パネルのバイオマーカーに対する自己抗体は、健常対象、ADの患者又は代表者由来の試料を用いる上記のウェスタンブロットティング法を使用し、その後、試料中に存在するが、健常対象に存在しないバイオマーカーに特異的な自己抗体の存在を検出することにより、検出することができる。

40

【0248】

抗体ではない結合性物質の例は、アプタマーである。アプタマーの例としては、核酸アプタマー及びペプチドアプタマーが挙げられる。

【0249】

あるいは、パネルのバイオマーカーは、とりわけ、2Dゲル電気泳動の銀染色、又はLS/MS、MALDI-TOF、SELDI-TOF、及びTMT-SRMを含む質量分析技術によって検出することができる。

【0250】

50

発現の差を可視化し得る他のそのような標準的な特徴解析技術は当業者に周知である。これらには、クロマトグラフィーによる画分の連続的な分離及びピークの比較、キャピラリー電気泳動、マイクロチップ上でのものを含むマイクロチャンネルネットワークを用いた分離、SELDI解析、並びにqPST解析が含まれる。

【0251】

クロマトグラフィーによる分離は、クロマトグラムが分離の時間に対する280nmでの光の吸光度のプロットの形で得られる、文献に記載されているような高速液体クロマトグラフィーによって実施することができる。次に、不完全に分解されたピークを生じる材料を、再度クロマトグラフィーにかけるなどする。

【0252】

キャピラリー電気泳動も採用し得る。この技術は、小さいキャピラリーチューブに含まれる試料にわたって電位を印加することに依存する。このチューブは、電荷を帯びた表面、例えば、負の電荷を帯びたケイ酸塩ガラスを有する。反対の電荷を帯びたイオン(この場合、陽イオン)は表面に引き付けられ、その後、表面と同じ極性の適当な電極(この場合、カソード)に移動する。この試料の電気浸透流(EOF)中では、陽イオンが最も速く移動し、電荷を帯びていない材料及び負の電荷を帯びたイオンがそれに続く。したがって、タンパク質は、本質的には、その電荷に従って分離される。

【0253】

マイクロチャンネルネットワークは、キャピラリーと同様に機能し、ポリマー材料のフォトアブレーションによって形成することができる。この技術では、UVレーザーを用いて、好適なUV吸収特性を有するポリマー、例えば、ポリエチレンテレフタレート又はポリカーボネートに一気に照射される高エネルギー光パルスが発生させる。入射光子は、限定された空間を有する化学結合を破壊し、内圧の上昇、小爆発、及びアブレーションされた材料の排出をもたらす、マイクロチャンネルを形成する空隙を残す。マイクロチャンネル材料は、キャピラリー電気泳動の場合と同様に、EOFに基づく分離を達成する。これは、各々のチップが、それ自体の試料インジェクター、分離カラム、及び電気化学的検出器を有する、マイクロチップの形態に適応可能である。

【0254】

ProteinChip技術と組み合わせた表面増強レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析(SELDI-TOF-MS)も、迅速でかつ感度の高いバイオマーカープロファイリング手段を提供することができる、2Dゲル電気泳動に代わるものとして補足的に使用される。ProteinChipシステムは、タンパク質試料をチップの表面化学(例えば、アニオン性、カチオン性、疎水性、親水性など)に基づいて選択的に結合させることができるアルミニウムチップからなる。結合したバイオマーカーは、その後、モル濃度過剰の小さいエネルギー吸収性分子とともに共結晶化される。チップは、その後、N₂ 320nm UVレーザーの高強度短パルスによって分析され、タンパク質の分離及び検出が飛行時間型質量分析によって行われる。実験における各々の群のスペクトルプロファイルを比較し、対象となる任意のピークを下記のような技術を用いてさらに分析して、パネルのタンパク質の同一性を確認することができる。

【0255】

アイソトピック又はアイソパリックTandem Mass Tags(登録商標)(TMT(登録商標))(Thermo Scientific, Rockford, USA)技術を用いて、本明細書に記載されるパネルのタンパク質を検出することもできる。簡潔に説明すると、比較用の試料中のタンパク質を任意に消化し、安定同位体タグで標識し、質量分析によって定量する。このように、異なる試料中の等価なタンパク質の発現を、そのそれぞれの同位体ピークの強度又はタンデム質量分析実験における断片化の間にTMT(登録商標)試薬から遊離したレポーターイオンの強度を比較することにより直接比較することができる。

【0256】

本明細書に記載されるパネルのタンパク質の検出の前に、最も多く存在するタンパク質を試料から取り除く除去工程があってもよい。血清/血漿のタンパク質組成の大部分は、

10

20

30

40

50

ごくわずかの種類のタンパク質からなる。例えば、35～50mg/mlの濃度で存在するアルブミンは、全タンパク質含有量の約54%に相当し、IgGは、他の16%を上乗せする。対照的に、疾患に応答して、例えば、組織漏出の結果として変化するタンパク質は、10ng/mlで循環し得る。タンパク質濃度のこの非常に広いダイナミックレンジは、分析上の大きな課題となっており、この問題を克服するために、複数の親和性除去カラムを用いて、最も大量に存在するタンパク質(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10種、又はそれより多くの大量に存在するタンパク質)を除去することができる。より多くの出発材料を使用することができ、かつ大量に存在する分子からの干渉がより少ないので、これは、より少ない存在量範囲の変化の検出を可能にする。そのような除去戦略を任意の検出法の前に適用することができる。

10

【実施例】

【0257】

(4.実施例)

これから、本発明の特定の態様及び実施態様を、例として、図面及び上記の表を参照して、説明することとする。本明細書中に言及される文書は全て、あらゆる目的のために引用により完全に本明細書中に組み込まれている。

【0258】

試料調製用の試薬は全て、明記しない限り、Sigma Aldrich(登録商標)(Dorset, UK)から購入した。Tandem Mass Tags(登録商標)(Thermo Scientific(登録商標));アセトニトリル(Fisher Scientific(登録商標), Loughborough, UK);トリプシン(Roche Diagnostics(登録商標), West Sussex, UK)。

20

【0259】

(4.1 脳における神経原線維変化病態と関連しているタンパク質(Braakステージ分類))
(試料調製)

下側頭皮質試料からの9つの凍結組織試料を、より大きな凍結組織切片から切断した。試料は、神経原線維変化(NFT)病態(=Braakステージ分類)に従い選択され、従って、AD関連NFT病態の全ての段階を表す。

【0260】

試験群は、Braakステージ0、I、及びIIの各々について1試料、BraakステージIIIについて1試料、BraakステージIVが2試料、BraakステージVについて1試料、及びBraakステージ6がさらに2試料を含んでいた。

30

【0261】

試料を、本明細書において以下で詳細に記載されるようにSysQuant(登録商標)技術により、9つの試料全て、及び試験参照1つを含む1回のSysQuant(登録商標)TMT 10plex実験の範囲で処理し解析した。

【0262】

データの主成分分析(PCA)による統計学的評価の後に定量的考察を行い、より高いBraakステージ分類の試料において最も有意な相違を示した。PCAの結果に従って、調節を算出し、BraakステージV/VI(重症群)の試料をBraakステージIII/IV(中等症群)の試料と比較することによって統計学的に評価した。

40

【0263】

溶解バッファー(8M尿素、75mM NaCl、50mM トリス、pH 8.2、プロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤カクテル(Roche)中の皮質試料を、超音波処理(20%振幅で20×1秒間、オン/オフパルス、氷上(4))によって溶解させ、その後、4、12,500gで10分間遠心分離して、組織残屑を除去した。上清を、新たなチューブ内に移し、試料のタンパク質濃度を、Bradfordアッセイを用いて決定した。試料毎に、同じタンパク質量を、後続の工程全てに用いた。

【0264】

溶解後、参照試料を、同一量の9つの個々の試料全てを混合することによって調製した。特に、各々の試料について、2.5mgのタンパク質材料を採取し、3mg/mlの濃度に調整し

50

た。各々の調整した試料から、167 μ Lを採取し、合一して、参照試料を調製した。残りの666 μ L (= 2mg)は、個々の試料操作に使用した。

【 0 2 6 5 】

DTTを各々の試料に加え(終濃度5mM)、振盪しながら56 で25分間インキュベートしてジスルフィド結合を還元した。その後、試料を室温で放冷してから、ヨードアセトアミド(終濃度14mM)を添加し、室温及び暗所で30分間インキュベートして、システイン残基をアルキル化した。未反応ヨードアセトアミドを、追加の5mMまでDTTを加えることによりクエンチし、室温及び暗所で15分間インキュベートした。

【 0 2 6 6 】

試料を、25mMトリス-HCl、pH 8.2で希釈して、尿素の濃度を1.6Mまで低下させた。トリプシン(Roche, UK)を、5ng/ μ Lの最終最小濃度(少なくとも1:100のトリプシン対基質比)まで、CaCl₂(1mMの終濃度)と共に加えた。試料を、振盪しながら37 で1晩(~15から18時間)インキュベートした。消化された試料を室温まで放冷し、消化を、0.4% (vol/vol)までTFAを用いて酸性化させることにより停止させた。試料を室温、2,500gで10分間遠心分離し、ペレットは廃棄した。

【 0 2 6 7 】

試料を、200mgのSepPak tC18カートリッジ(Thermo Scientific UK)を製造業者の説明書に従い使用して脱塩し、タンパク質を、溶出バッファー(50%ACN、50%H₂O)で溶出させ、Speedvacで乾固するまで濃縮した。

【 0 2 6 8 】

TMT(登録商標)標識化については、1試料あたり総ペプチド量が2.0~2.5mgの終濃度を目標として、試料を567 μ LのTEAB/ACNバッファーに再可溶化した。TMT(登録商標)10plex試薬セットのTMT(登録商標)標識を、下記表14により各々の試料に加えて、各々の試料中に15mM TMT(登録商標)の終濃度を得た。

【 0 2 6 9 】

表14

10

20

【表 1 4】

試料番号	Braakステージ分類	TMT(登録商標) 標識化
1	V	TMT ⁶ -126
2	IV	TMT ⁶ -128
3	VI	TMT ⁶ -129e
4	I	TMT ⁶ -127
5	VI	TMT ⁶ -130
6	0	TMT ⁶ -128e
7	II	TMT ⁶ -129
8	IV	TMT ⁶ -127e
9	III	TMT ⁶ -130e
Ref.	N/A	TMT ⁶ -131

10

20

Ref. = 全ての試料のアリコートを含む参照試料

【0270】

反応を、室温で1時間進行させた。ヒドロキシルアミンを、0.25% [w/v] ヒドロキシルアミンの終濃度まで各々の試料に加え、15分間インキュベートした。その後、試料を2% TFAで1:3に希釈し、その後、水でさらに希釈して、ACNの濃度を5%未満まで低下させた。試料を、等しい量で混合して、1つのSysQuant10plex試料を得て、その後、それを2つのアリコートへと分割して、それらを脱塩し(500mg SepPak tC18カートリッジ)、表15のプロトコルによるSCXクロマトグラフィー(流速として3mL/min;バッファ-A:水+0.1% TFA;バッファ-C:7mM KH₂PO₄, pH 2.65, 30% ACN (vol/vol));バッファ-D: 7mM KH₂PO₄, 350mM KCl, pH 2.65, 30% ACN (vol/vol))によって分画した。

30

【0271】

表15

【表 15】

時間 [分]	バッファー A [%]	バッファー C [%]	バッファー D [%]
0	0	100	0
2	0	100	0
35	0	75	25
36	0	0	100
46	0	0	100
47	100	0	0
57	100	0	0
58	0	100	0
67	0	100	0
68	0	100	0

10

20

30

40

50

【0272】

脱塩して得た凍結乾燥したペプチドを、800 μ LのバッファーAに再懸濁し、HPLCシステムにインジェクトした。12の画分を採取し、ペプチドの数が少ない画分を、多くの数のペプチドを含有する画分と混合することによって「スマートプール(smart pool)」して、類似の総ペプチド含量の6つの最終画分を得て、脱塩した。

【0273】

その後、各々の画分から少量部分を採取して、非濃縮画分の後続の分析を適用した。画分の残りの部分を、双方とも当技術分野において周知であるIMAC又はTiO₂法のいずれかによってホスホペプチドの濃縮に処した。乾燥画分を、LC-MS分析に移した。

【0274】

(LC-MS/MS分析)

「スマートプール」された画分を、MS取得をTop Speed MS2 HCD法によって行うLC-MS/MS(ダブルショットワークフロー)によって各々2回分析した。

【0275】

非濃縮画分由来のペプチドを、100 μ Lの2% ACN/0.1% FAに再懸濁し、その後、1画分あたり5 μ Lを、2cm \times 75 μ mのAcclaim PepMap100プレカラム上にインジェクトし、EASY-nLC 1000システム(Thermo Fisher Scientific)上でEASY-Spray50cm \times 75 μ m ID、PepMap RSCL、C18、2 μ mを用いて分離した。ペプチドを、200nL/分で8~30% ACN/0.1% FAの160分、分離グラジエントを用いて分離した。

【0276】

全てのホスホ濃縮画分由来のペプチドを、30 μ Lの2% ACN/0.1% FAに再懸濁し、その後、1画分あたり5 μ Lをインジェクトし、200nL/分で10~30%のACN中0.1% FAの160分、分離グラジエントを用いて分離した。

【0277】

質量スペクトルは、Orbitrap Fusion(商標)Tribrid(商標)質量分析計(Thermo Fisher S

cientific)で、各々のFTMSスキャン(120,000分解能)に続き、30,000分解能でトップスピード高エネルギー衝突解離(top speed higher collision induced dissociation: HCD)FTMS2スキャンを用いて180分の総測定時間の間取得した。HCDは、各々のFTMSスキャンの最も強いイオンに対して行い、その後、同じ分析物を繰り返し配列決定することを避けるために、30秒間動的除外リストに載せた。各々の試料を、2回のLC-MS/MS繰り返し分析(ダブルショットワークフロー)によって分析した。

【0278】

(コンピューテーショナルMS)

取得したスペクトルを、2014年2月22日にダウンロードしたヒト特異的UniProtKB/Swiss-Protデータベース(88,647配列が登録されている)を用いるProteome Discoverer 1.4(PD 1.4; Thermo Fisher Scientific)ソフトウェアを用いて処理した。生データを、PD 1.4内のSequest HT及びMascot (Matrix Mascotサーバー2.2.06)検索アルゴリズムを用いて検索した。SysQuant(登録商標)ワークフローのいずれかの濃縮アームの6つの画分に属していたMS生データファイル、及び同じ試行の分析セットに属していたものを、それぞれ、個々のMudPit検索として提示した。このようにして、合計で4回のMudPit検索を行った。検索結果を、ペプチドレベルで1%の偽発見率(FDR)かつ1タンパク質あたり少なくとも1つのランク1ペプチドでフィルタリングした後に、検索結果を、MS Excelファイルにエクスポートした。このデータを、規定されたスクリプトによって処理して、全ての同定されたペプチド及びそれらのタンパク質起源をリスト化した。

【0279】

(データ解析)

全てのタンパク質同定、ペプチド配列、リン酸化部位情報を、ペプチド、タンパク質、及びリン酸化部位に関する定量値及び生物学的情報と共に、Microsoft Excelファイル(QuantSheet)内に整理して、倍数変化、有意性、生物学的功能、及び細胞局在に基づく構造化データ解析を可能とした。

【0280】

全般的データ品質を生物情報学的手段で評価するために、すなわち、Braakステージ分類の効果を可視化するために、かつ、従って、後続の定量計算に指針を与えるために、主成分分析(PCA)を行った。

【0281】

完全な生物学的データ解釈も行い、対象となるタンパク質の標的化分析(targeted analysis)を、例えば、タウタンパク質、及び神経変性に関係があるとされる追加のADバイオマーカータンパク質について適用した。

【0282】

(4.2 TMTcalibrator(商標)を用いるAD CSFにおける調節されるタンパク質の定量)

本発明者らはまた、ADに生化学的に陰性であった対照、及び生化学的に陽性であったものから抜き出したヒトCSF中のタウのリン酸化されたペプチドの存在及び相対的な存在量も確認した。簡単に述べると、別々の実験で行った、中等症タウ病態(BraakステージIII~IV;n=3)又は重症タウ病態(BraakステージV~VI;n=3)のヒト対象から死後に採取した前頭前野の皮質材料をプールし、トリプシンで消化し、4つの別々のアリコート中で、TMT試薬TMT¹⁰-129C、130N、130C、及び131で標識した。同じ脳消化プールからの各々の標識されたアリコートを、それぞれ、0.3mg:1.2mg:1.8mg:3.0mgの比で混合して、較正標準を作製した。同時に、3名の認知障害のない対照個体、及び3件の生化学的に診断されたADの症例からのヒト脳脊髄液試料(1個体あたり600ugのタンパク質含量(600ul))を、トリプシンで消化し、TMT(登録商標)試薬TMT¹⁰-126、127N、127C、128N、128C、及び129Nでそれぞれ標識し、混合して、臨床試験試料を作製した。最後に、等体積の較正標準及び臨床試験試料を混合して、図7による分析試料を作製した。

【0283】

質量分析、及びデータ解析を、セクション4.1において上述したように行った。

【0284】

10

20

30

40

50

(4.3 インビボでのタウ阻害の効果)

発明者らはまた、SysQuantを適用して、タウキナーゼカゼインキナーゼ1デルタ(CK1d)の小分子阻害剤で処置したTMHT(Thy-1変異型ヒトタウ)マウス(QPS(登録商標)Austriaにより開発されたもの、<http://www.qps-austria.com>)の脳におけるタンパク質及びリン酸化変化を分析した。8.5ヶ月(±2週)の月齢から開始して、TMHTマウスは、CK1d阻害剤2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド(PS278-05)、5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン(PS110)、化合物PF4800567(3-[(3-クロロフェノキシ)メチル]-1-(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)-1H-ピラゾロ[3,4-d]ピリミジン-4-アミン;Tocris(登録商標))、又はビヒクル(0.5%w/vメチルセルロース)を、8週間(54回適用)、30mg/kg体重の投与量で、経口的に、強制飼養で受けた。

10

【0285】

合計で48頭の動物が用いられ、4処置群に割り当てられた。表16に、動物、コホート、及び処置グループ割り当て、動物の性別及び月齢を記載する。

【0286】

表16

【表 16】

コホート	群	処置	性別	開始月齢 [ヶ月]
I	A	ビヒクル	m	8.75
I	A	ビヒクル	f	8.75
I	A	ビヒクル	f	8.75
I	A	ビヒクル	f	8.75
I	A	ビヒクル	m	8.42
I	A	ビヒクル	m	8.42
I	B	Cmp A	m	8.75
I	B	Cmp A	m	8.75
I	B	Cmp A	f	8.45
I	B	Cmp A	f	8.45
I	B	Cmp A	f	8.45
I	B	Cmp A	m	8.32
I	C	Cmp 324	f	8.75
I	C	Cmp 324	f	8.75
I	C	Cmp 324	m	8.75
I	C	Cmp 324	m	8.75
I	C	Cmp 324	f	8.75
I	C	Cmp 324	m	8.45
I	D	PF4800567	m	8.75
I	D	PF4800567	f	8.75
I	D	PF4800567	f	8.75
I	D	PF4800567	f	8.45
*I	D	PF4800567	m	8.42
I	D	PF4800567	m	8.32
II	A	ビヒクル	f	8.65
II	A	ビヒクル	f	8.65
II	A	ビヒクル	m	8.55
II	A	ビヒクル	f	8.52
II	A	ビヒクル	f	8.35
II	A	ビヒクル	m	8.19
II	B	Cmp A	f	8.55
II	B	Cmp A	f	8.55
II	B	Cmp A	f	8.52
II	B	Cmp A	m	8.19
II	B	Cmp A	m	8.19
II	B	Cmp A	f	8.35
II	C	Cmp 324	m	8.02
II	C	Cmp 324	m	8.02
II	C	Cmp 324	f	8.65
II	C	Cmp 324	f	8.65
II	C	Cmp 324	f	8.35
II	C	Cmp 324	f	8.52
II	D	PF4800567	f	8.35
II	D	PF4800567	f	8.55
II	D	PF4800567	f	8.55
II	D	PF4800567	m	8.35
II	D	PF4800567	m	8.35
II	D	PF4800567	f	8.19

10

20

30

40

Cmp 324 = 5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン; Cmp A = 2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド; f = 雌性; m = 雄性

【0287】

脳試料を、安楽死の10分以内に採取し、氷冷生理食塩水中で洗浄し、清潔なEppendorfチューブに移して、直ちに液体窒素中で凍結させた。

【0288】

50

ビヒクル、PS110、及びPS278-05群の各々における3頭の動物の各々から海馬試料(左又は右)1点を、SysQuantによる分析のために選択した。9つの試料全てのプールも参照チャンネルとして調製した。全てのTMT(登録商標)標識化、混合、及び質量分析、並びに生物情報学研究は、本質的に、セクション4.1に記載されているように行った。ペプチド及びタンパク質同定には、UniProtKBマウスデータベースを用い、全てのヒトタウアイソフォームの入力を含めることで補完した。

【0289】

全てのタンパク質同定、ペプチド配列、リン酸化部位情報を、該ペプチド、タンパク質、及びリン酸化部位に関する定量値、及び生物学的情報と共に、Microsoft Excelファイル(QuantSheet)内に整理して、倍数変化、有意性、生物学的機能、及び細胞局在に基づく構造化データ解析を可能とした。

10

【0290】

(4.4 リン酸化されたタウの検出)

セクション4.1、4.2、及び4.3において試験した様々なヒト及びマウス試料におけるタウリン酸化の動態プロファイルを、それぞれのQuantSheetの標的化データ解析(targeted data analysis)によって決定した。ヒトMAPT(P10636;P10636-8を含むもの = 配列番号:29) UniProt配列とマッチした全てのペプチドを、別のMicrosoft Excelシートにエクスポートした。

【0291】

各リン酸化されていないペプチドのイオン強度値を合計し、各疾患重症度群(Braakステージ0~II;BraakステージIII~IV;BraakステージV~VI)について平均を算出して、全タウ発現についての値を得た。各リン酸化アミノ酸、例えば、pT181について、該リン酸化アミノ酸を含む全てのペプチドのイオン強度値を合計して、各疾患重症度群(Braakステージ0~II;BraakステージIII~IV;BraakステージV~VI)についての平均を算出した。

20

【0292】

合計で185個のヒトタウ由来のユニークなペプチドを、9つの脳の試料の全てにおいて、35個の高信頼度(ホスホRSスコア > 75%)リン酸化部位を用いて定量した。これらのうち、74個のペプチドのレベルが、中等症(BraakステージIII~IV)の及び重症(BraakステージV~VI)タウ病態の患者の脳において有意に($p < 0.05$)調節されていた。

【0293】

同様に、ビヒクル対照又はCK1d阻害剤PS278-05及びPS110での処置後のマウス脳における全タウの、及び各リン酸化されたセリン、スレオニン、及びチロシンアミノ酸についての発現レベルを算出した。

30

【0294】

ヒトMAPT(P10636;配列番号:29)UniProt配列及び/又はマウスMAPT(P10637)とマッチした全てのペプチドを、別のMicrosoft Excelシートにエクスポートした。各ホスホペプチドについてのイオン強度値を合計し、各処置群(ビヒクル対照、PS110、PS278-05)についての平均を算出した。本発明者らは、124個のヒトタウ由来のユニークなペプチドを、9つの脳の試料の全てにおいて、39個の高信頼度(ホスホRSスコア > 75%)リン酸化部位を用いて定量した。これらのうち、PS110で処置されたマウスの海馬において、37個のペプチドのレベルが有意に($p < 0.05$)調節されていた一方で、PS278-05で処置されたマウスの海馬では、22個のペプチドが有意に($p < 0.05$)調節されていた。

40

【0295】

最後に、対照及び生化学的に(biocheically)確認されたADの症例から抜き出したヒトCSF試料における全タウの、及び各リン酸化されたセリン、スレオニン、及びチロシンアミノ酸についてのレベルを、上述のように決定した。ヒトMAPT(P10636)UniProt配列とマッチした全てのペプチドを、別のMicrosoft Excelシートにエクスポートした。各ホスホペプチドについてのイオン強度値を合計し、各群(対照、AD)についての平均を算出した。ヒトCSF中に、27個の高信頼度リン酸化部位を含む、65個の定量されたタウペプチドが存在した。

50

【0296】

総合すると、3つの試験にわたって、本発明者らは、タウタンパク質上の44個のユニークなリン酸化部位を同定し、19個の部位を、ヒト脳、マウス脳、及びヒトCSFの試料全てにおいて定量した。表4は、マウス、及びヒト脳組織、及びヒトCSFにおいてSysQuant(登録商標)及びTMTcalibrator(商標)によって同定された全てのタウリン酸化部位を校合する。アミノ酸の番号付けは、ヒト2N4Rタウ(配列番号:29のUniprotアクセッション番号P10636-8)に基づいている。

【0297】

タウタンパク質におけるこれらのリン酸化残基の測定の方法が発明を限定することは意図されない。部位のうち1以上を、該リン酸化残基に対して特異的な結合性物質、例えば、抗体又はアプタマーを用いて測定してもよい。しかしながら、いくつかの部位に対しては、結合性物質の使用は、追加の残基に対する隣接リン酸化の影響のために、望ましさ劣るであろう。1つのそのような例は、リン酸化されたスレオニン181(2N4Rタウ番号付け)の測定である。現行のADの診断は、全タウ及びpT181のCSFレベルを測定して比を得ることにより支持されている。該比が大きいほど、患者がADを有する可能性が高い。本試験において、本発明者らは、pT181が、CSF中の2つの別個のペプチド上で測定可能であることを確認した。一方は、スレオニン181で単一リン酸化されたペプチドであり、他方は、スレオニン181、セリン184、及びセリン185で3重リン酸化されている。恐らく、S184及びS185での追加のリン酸化は、結合性物質の親和性と干渉し、その3重リン酸化された種に結合する能力を低下させ、そうすることで、CSF中のpT181の総量を過小表示とするであろう。

【0298】

これらの制限を克服するために、リン酸化されたタウは、好ましくは、質量分析を用いて測定される。各リン酸化の相対的又は絶対的な定量を提供する能力がある質量分析の任意の形態を用い得る。そのような方法としては、データ非依存性取得(DIA)、データ依存性取得(DDA)、選択反応モニタリング(SRM)、多重反応モニタリング(MRM)、又はTMTcalibrator(商標)が挙げられるが、これらに限定されない。いずれの場合にも、質量分析を用いて試験試料中の内在性ホスホタウペプチドと区別することができる参照ホスホペプチドが提供される。該参照ホスホペプチドは、生体試料から提供されてもよく、アイソトピック又はアイソバリックな質量タグを用いて内在性ホスホペプチドから別途作製してもよい。あるいは、該参照ホスホペプチドを、各トリプシンペプチドが確実に、少なくとも1ダルトンの、好ましくは、2ダルトン超の、最も好ましくは5ダルトン超の天然に存在する等価なホスホペプチドを超える質量を有するようにいくつかの H^2 、 C^{13} 、 N^{15} 、 O^{18} 原子置換を有する合成のリジン源を用いて産生された組換えタウタンパク質の消化により生じさせてもよい。逐次アミノ酸を添加することによって産生された完全合成ペプチドを用いてもよく、ここで、該ペプチド配列内の1以上のアミノ酸が、 H^2 、 C^{13} 、 N^{15} 、 O^{18} 、又は他のそのような適切な安定重同位体での原子置換を含有する。

【0299】

検出及び定量の手段によらず、早期診断、疾患の進行予測、又は治療効果のモニタリングを意図したアッセイでは、1つ、2つ、又はそれを超える異なるタウホスホペプチドを測定してもよい。

【0300】

(4.5ヒトCSFにおける他の脳由来タンパク質の同定)

タウタンパク質から誘導される調節されたペプチドを識別することに加えて、本発明者らはまた、実施例4.2からのデータを解析して、ヒトAD CSF中に示差的に発現される他の疾患関連タンパク質を同定した。簡単に述べると、ユニークなUniProt受入番号にマッチさせた全ての非修飾ペプチドについてのTMT(登録商標)レポーターイオン強度を合計し、ヒトCSFにおける関連性のあるタンパク質の相対的な発現を決定するのに用いた。合計した強度値に基づいて、対照(n=3)及びAD(n=3)群における各タンパク質発現についてのlog2比を算出した。統計学的な有意性を、2標本t検定を用いて、6つの独立したタンパク質定

量値に基づいて、p値として算出した。得られたデータマトリックスを、Microsoft Excelにエクスポートし、フィルターをかけて40%超の調節(-0.5 \log_2 0.5)及びp 0.05を示すタンパク質の全てを選択した。これを、中等症及び重症タウ病態の脳検量体を用いる両TMTcalibrator(商標)実験に対して行った。調節されるタンパク質のリストを、 \log_2 比及びp-値も含めて表5に示す。

【0301】

ADの診断用及び/又は予後用バイオマーカーとして、表5に列挙したタンパク質のいずれを用いてもよい。

【0302】

(4.6 結果)

本発明者らは、驚くべきことに、ADの患者の脳において高度に調節されている、かつ/又はCSF中に存在する、かつ/又はカゼインキナーゼ阻害剤の投与に応答して高度に調節されるバイオマーカーを同定した。加えて、これらの実験において用いられた患者の脳におけるタウ毒性は、上昇した発現及び過剰リン酸化(タウ毒性)を呈する。

【0303】

驚くべきことに、データをBraakステージV又はVIに関して解析した場合、プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aが、最も上方調節されるタンパク質という結果となった(図3)。興味深いことに、このタンパク質のレベルは、軽症(Braakステージ0~II)及び中等症(BraakステージIII/IV)の間で先ず低下し、その後、重症疾患において顕著に上昇した。カゼインキナーゼ1デルタ阻害剤5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン又は2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド双方による処置は、プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aの上方調節を結果としてもたらし、ヒトにおいて中等症タウ病態に見られる発現レベルの低下と明らかに反対に作用していた)。図3は、ADの患者の脳(表示「ヒト脳」)、BraakステージV又はVIのADの患者のCSF(表示「ヒトCSF 5/6)、及び5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン(上図)又は2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド(下図)で処置されたマウスの脳(表示「マウスck1 inh.)に対して行った解析のベン図を示す。表示の各々の下の括弧内の数は、同定されたタンパク質の数を示す。図3において分かるように、試料全てにおいて上方調節されたタンパク質が1つのみ存在し、該タンパク質は、プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aである。

【0304】

さらにまた驚くべきことに、BraakステージV又はVIに関してデータを解析した場合、2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼが、最も上方調節されるタンパク質であるという結果となった(図4)。興味深いことに、このタンパク質のレベルは、軽症(Braakステージ0~II)及び中等症(BraakステージIII/IV)の間で先ず低下し、その後、重症疾患で顕著に上昇する。また、タウオパチーのTMHTモデルにおける平行試験において、この種の処置は、顕著な役割を果たさず、双方の化合物が、該タンパク質の発現を増加させた。図4は、ADの患者の脳(表示「ヒト脳」)、Braakステージ3又は4のADの患者のCSF(表示「ヒトCSF 3/4)、及び5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン(上図)又は2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミド(下図)で処置されたマウスの脳(表示「マウス ck1 inh.)に対して行った解析のベン図を示す。図4において分かるように、試料全てにおいて上方調節されたタンパク質が1つのみ存在し、該タンパク質は、2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼである。

【0305】

図5は、軽症(Braak 0~II)(n=3)、中等症(Braak III/IV)、又は重症(Braak V/VI)タウ病態のヒト脳におけるプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aレベルのレベルを表す棒グラフ(A)を示す;プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aのレベルは、神経認知障害の進行したステージ(Braak V/VI)にあるヒト対象の脳

10

20

30

40

50

において増加する。図5グラフ(B)は、ピヒクル単独で、又は30mg/kgのカゼインキナーゼ1デルタ阻害剤5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン及び2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミドを含むピヒクルで経口的に処置したヒトタウオパチーのTMHTモデル由来の Maus 脳が、処置に 応答して、プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aの濃度又は量を変化させたことを示す。最後に、図5グラフ(C)は、生化学的に診断されたAD患者(n=3)由来のCSFが、認知的に冒されている非AD対照(n=3)と比べて、減少したレベルのプロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aを有することを示す。

【0306】

図6は、軽症(Braak 0~II)(n=3)、中等症(Braak III/IV)、又は重症(Braak V/VI)タウ病態のヒト脳における2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼレベルのレベルを表す棒グラフ(A)を示す;2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼのレベルは、神経認知障害の進行したステージにある(Braak V/VI)ヒト対象の脳において増加する。図6のグラフ(B)は、ピヒクル単独で、又は30mg/kgのカゼインキナーゼ1デルタ阻害剤5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン及び2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミドを含むピヒクルで経口的に処置したヒトタウオパチーのTMHTモデル由来の Maus 脳が、処置に 応答して、タンパク質2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼの濃度又は量を変化させたことを示す。最後に、図6のグラフ(C)は、生化学的に診断されたAD患者(n=3)由来のCSFが、認知的に冒されている非AD対照(n=3)と比べて、増加したレベルの2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼを有することを示す。

10

20

【0307】

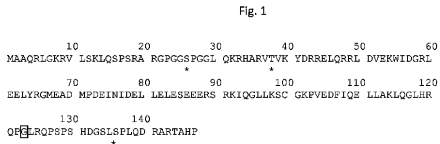
まとめると、1)ホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A、及び2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼの双方が、神経認知障害の進行したステージ(BraakステージV又はステージVI)の対象の脳において上昇する;2)認知的に冒されている非AD対照と比較すると、AD対象のCSFにおいて、プロテインホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14Aが減少するのに対して、2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼは増加する;かつ3)ホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A及び2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼの双方は、カゼインキナーゼ1デルタ阻害剤5-(1,3-ベンゾオキサゾール-2-イル)-4-(ピリジン-4-イル)ピリミジン-2-アミン及び2-メチル-アミノ-3-[(4-フルオロフェニル)カルボニル]インドリジン-1-カルボキサミドに 応答して上方調節される。

30

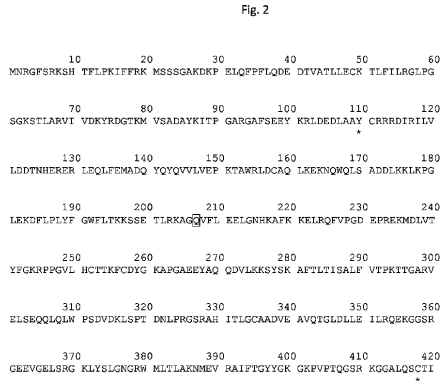
【0308】

最後に、ホスファターゼ1レギュラトリーサブユニット14A及び2',3'-環状ヌクレオチド3'-ホスホジエステラーゼと共に、群A、B、C、D、及び表5~13から追加のタンパク質を選択して、神経認知障害、特にADの診断、ステージ分類、及び治療評価のための拡張したバイオマーカーパネルを形成することができる。

【 図 1 】

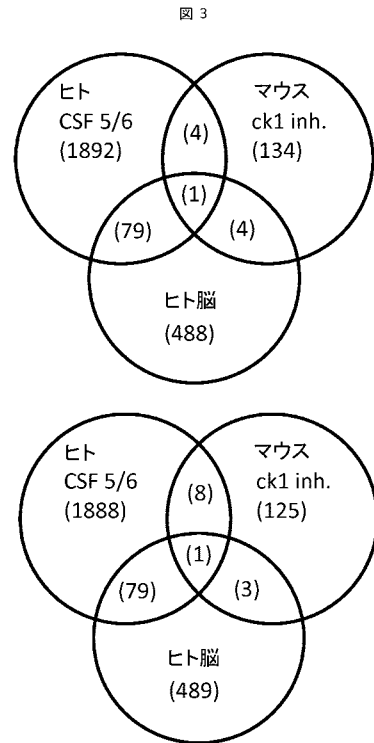


【 図 2 】

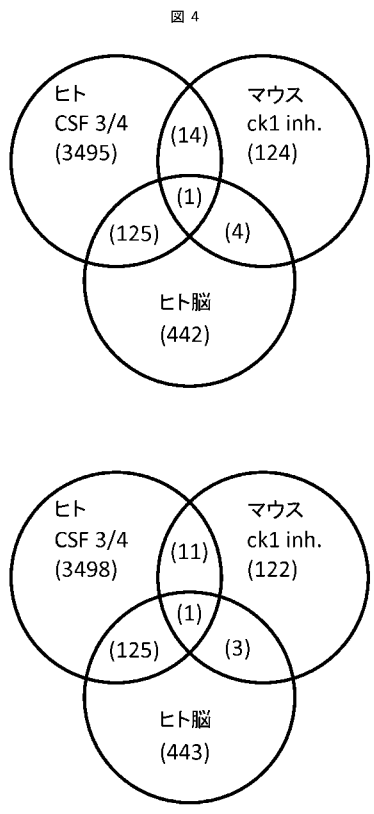


I

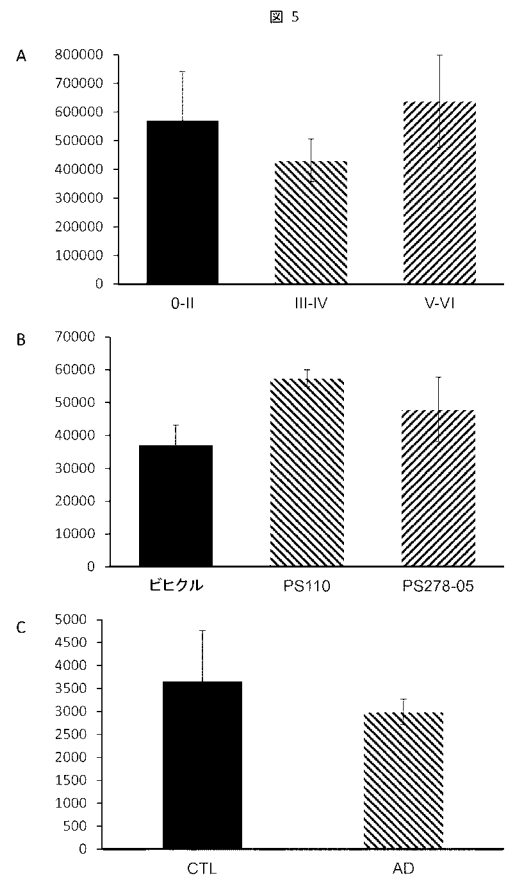
【 図 3 】



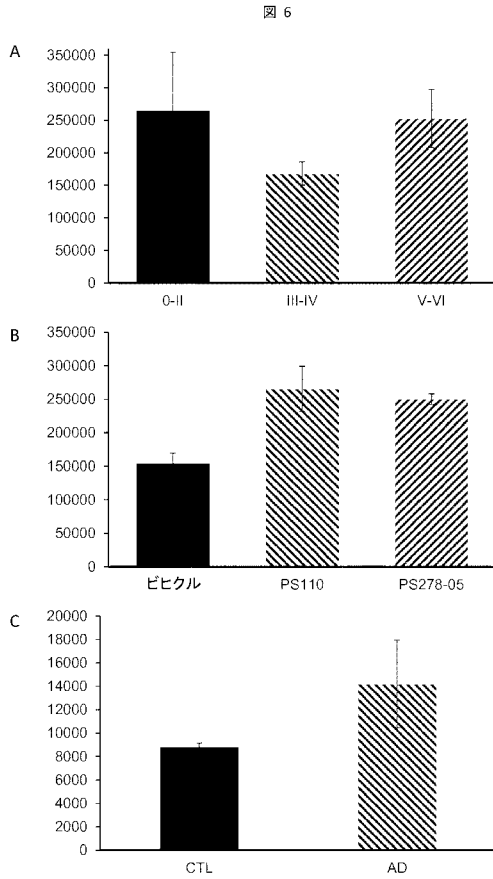
【 図 4 】



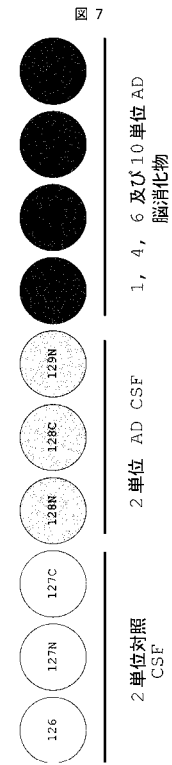
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【 配 列 表 】

2018519505000001.app

【 手 続 補 正 書 】

【 提 出 日 】 平 成 30 年 2 月 28 日 (2018.2.28)

【 手 続 補 正 1 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 配 列 表

【 補 正 方 法 】 追 加

【 補 正 の 内 容 】

【 配 列 表 】

2018519505000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/062090

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER	
INV. G01N33/68 A61P25/28 C07K14/47 C12N9/16 ADD.	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC	
B. FIELDS SEARCHED	
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K C12N G01N	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched	
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EP0-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, FSTA, WPI Data	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages
	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE UniProt [Online]</p> <p>9 November 2004 (2004-11-09), "RecName: Full=Protein phosphatase 1 regulatory subunit 14A; AltName: Full=17 kDa PKC-potentiated inhibitory protein of PP1; AltName: Full=Protein kinase C-potentiated inhibitor protein of 17 kDa; Short=CPI-17;" XP002760051, retrieved from EBI accession no. UNIPROT:Q96A00 Database accession no. Q96A00 sequence</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>
	1,3
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.	
* Special categories of cited documents :	
<p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>	
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
22 July 2016	28/09/2016
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Madruga, Jaime

2

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2016/062090

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>& KOJI YAMAWAKI ET AL: "Identification of Human CPI-17, an Inhibitory Phosphoprotein for Myosin Phosphatase", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 285, no. 4, 27 July 2001 (2001-07-27), pages 1040-1045, XP055289294, US ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1006/bbrc.2001.5290 the whole document ----- DATABASE Geneseq [Online] 15 June 2007 (2007-06-15), "Human polypeptide SEQ ID NO 2497.", XP002760052, retrieved from EBI accession no. GSP:AAM39352 Database accession no. AAM39352 sequence & WO 01/53312 A1 (HYSEQ INC [US]; TANG Y TOM [US]; LIU CHENGHUA [US]; ASUNDI VINOD [US];) 26 July 2001 (2001-07-26) pages 58-60; claims; sequences 711, 2497 -----</p>	1,3
X	<p>ALI D ET AL: "694 Identification of novel epigenetic biomarkers in colorectal cancer, GLDC and PPP1R14A", EUROPEAN JOURNAL OF CANCER. SUPPLEMENT, PERGAMON, OXFORD, GB, vol. 8, no. 5, 1 June 2010 (2010-06-01), page 175, XP027105921, ISSN: 1359-6349 [retrieved on 2010-06-01] the whole document -----</p>	1,3
X	<p>US 2013/237454 A1 (SCHUTZER STEVEN E [US]) 12 September 2013 (2013-09-12) page 77; claims; tables 5C, 8L -----</p>	1,3, 10-14, 31-36
Y	<p>N[GGA KATARINA ET AL: "CEREBROSPINAL FLUID PHOSPHO-TAU, TOTAL TAU AND BETA-AMYLOID(1-42) IN THE DIFFERENTIATION BETWEEN ALZHEIMER'S DISEASE AND VASCULAR DEMENTIA", DEMENTIA AND GERIATRIC COGNITIVE DISORDERS, KARGER, BASEL, CH, vol. 14, no. 4, 1 November 2002 (2002-11-01), pages 183-190, XP008076789, ISSN: 1420-8008, DOI: 10.1159/000066023 the whole document ----- ----- -/--</p>	1,3-36

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2016/062090

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	XIAOZHEN LI ET AL: "Ratio of A[beta]42/P-tau181p in CSF is associated with aberrant default mode network in AD", SCIENTIFIC REPORTS, vol. 3, 26 February 2013 (2013-02-26), XP055289393, DOI: 10.1038/srep01339 the whole document -----	1,3-36
Y	WO 2011/005893 A2 (ABBOTT LAB [US]; DEVANARAYAN VISWANATH [US]; PATTERSON MELANIE JOY [US]) 13 January 2011 (2011-01-13) the whole document -----	1,3-36
Y	ALUISE C D ET AL: "Peptides and proteins in plasma and cerebrospinal fluid as biomarkers for the prediction, diagnosis, and monitoring of therapeutic efficacy of Alzheimer's disease", BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA. MOLECULAR BASIS OF DISEASE, AMSTERDAM, NL, vol. 1782, no. 10, 7 August 2008 (2008-08-07), - 1 October 2008 (2008-10-01), pages 549-558, XP025433990, ISSN: 0925-4439, DOI: 10.1016/J.BBADIS.2008.07.008 [retrieved on 2008-08-07] the whole document -----	1,3-36
Y	MATTHEW D LI ET AL: "Integrated multi-cohort transcriptional meta-analysis of neurodegenerative diseases", ACTA NEUROPATHOLOGICA COMMUNICATIONS, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 2, no. 1, 4 September 2014 (2014-09-04), page 93, XP021198871, ISSN: 2051-5960, DOI: 10.1186/S40478-014-0093-Y the whole document -----	1,3-36
Y	DANIEL FERREIRA ET AL: "Cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer's disease: more to come?", FRONTIERS IN AGING NEUROSCIENCE, vol. 33, no. Pt 3, 24 March 2014 (2014-03-24), page S361, XP055289568, CH ISSN: 1663-4365, DOI: 10.3233/JAD-2012-129035 the whole document -----	1,3-36
	----- -/--	

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2016/062090

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SRAVANI MUSUNURI ET AL: "Quantification of the Brain Proteome in Alzheimer's Disease Using Multiplexed Mass Spectrometry", JOURNAL OF PROTEOME RESEARCH., vol. 13, no. 4, 4 April 2014 (2014-04-04), pages 2056-2068, XP055278512, US ISSN: 1535-3893, DOI: 10.1021/pr401202d the whole document -----	1,3-36

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2016/062090**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1, 3-36(all partially)

Remark on Protest

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

International Application No. PCT/ EP2016/ 062090

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1, 3-36(all partially)

A panel of biomarkers comprising a specific biomarker, methods for diagnosing, staging or assessing in a subject the likelihood of developing a neurocognitive disorder comprising assaying said biomarker; methods of treating a neurocognitive disorder or assaying the response of a drug comprising assaying said biomarker; a kit comprising reagents for assaying or measuring in a sample said biomarker, where said specific biomarker is protein phosphatase 1 regulatory subunit 14A.

2. claims: 1, 4-36(all partially)

as invention 1, but, wherein the biomarker is 2',3'-cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase.

3. claims: 2(completely); 4-36(partially)

as invention 1, but, wherein the biomarker is phosphorylated tau.

4-478. claims: 3-36(partially)

as invention 1, but wherein the biomarker is each one of the additional biomarkers listed on table 5, correspondingly.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2016/062090

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2013237454 A1	12-09-2013	AU 2011253481 A1	10-01-2013
		CA 2799165 A1	17-11-2011
		EP 2569446 A2	20-03-2013
		US 2013237454 A1	12-09-2013
		WO 2011142827 A2	17-11-2011

WO 2011005893 A2	13-01-2011	US 2012178637 A1	12-07-2012
		WO 2011005893 A2	13-01-2011

フロントページの続き

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/437 (2006.01)	A 6 1 K 31/505	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/4439 (2006.01)	A 6 1 K 31/437	4 C 2 0 6
A 6 1 K 31/404 (2006.01)	A 6 1 K 31/4439	4 H 0 4 5
A 6 1 K 31/55 (2006.01)	A 6 1 K 31/404	
A 6 1 K 31/445 (2006.01)	A 6 1 K 31/55	
A 6 1 K 31/13 (2006.01)	A 6 1 K 31/445	
A 6 1 K 31/27 (2006.01)	A 6 1 K 31/13	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/27	
A 6 1 P 25/16 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 21/02 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 P 21/02	
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
C 1 2 N 9/16 (2006.01)	C 0 7 K 16/18	
C 0 7 K 14/47 (2006.01)	C 1 2 N 9/16	B
	C 0 7 K 14/47	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72) 発明者 マルコルム アンドリュー ワード
イギリス国 WC 1 H 9 B B ロンドン マブレドン プレイス ハミルトン ハウス エレクトロフォレティクス リミテッド

(72) 発明者 クレア ルイーズ ラッセル
イギリス国 WC 1 H 9 B B ロンドン マブレドン プレイス ハミルトン ハウス エレクトロフォレティクス リミテッド

(72) 発明者 ヴィクラム ミトラ
イギリス国 WC 1 H 9 B B ロンドン マブレドン プレイス ハミルトン ハウス エレクトロフォレティクス リミテッド

F ターム(参考) 2G041 CA01 EA04 FA10 FA12 GA03 GA06 HA01 JA04
4B050 DD07 LL03
4B063 QA07 QA18 QA19 QQ03 QQ08 QR48 QS33
4C084 AA17 NA05 ZA01 ZA02 ZA15 ZA16 ZA94
4C085 AA14 EE01
4C086 AA01 AA02 BC13 BC21 BC70 CB05 CB22 GA07 GA08 GA09
NA05 ZA01 ZA02 ZA15 ZA16 ZA94
4C206 AA01 AA02 FA23 HA24 KA01 KA09 NA05 ZA01 ZA02 ZA15
ZA16 ZA94
4H045 AA11 AA30 DA76 DA86 EA50

专利名称(译)	生物分子与阿尔茨海默病有关		
公开(公告)号	JP2018519505A	公开(公告)日	2018-07-19
申请号	JP2017561625	申请日	2016-05-27
[标]申请(专利权)人(译)	电泳有限公司		
申请(专利权)人(译)	电Foret的遗传学有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	电Foret的遗传学有限公司		
[标]发明人	イアンヒューゴピケ マルコルムアンドリュワード クレアルイーズラッセル ヴィクラムミトラ		
发明人	イアン ヒューゴ ピケ マルコルム アン ドリュワー ド クレア ルイーズ ラッセル ヴィクラム ミトラ		
IPC分类号	G01N33/53 G01N27/62 C12Q1/04 A61K45/00 A61K31/505 A61K31/437 A61K31/4439 A61K31/404 A61K31/55 A61K31/445 A61K31/13 A61K31/27 A61P25/00 A61P25/16 A61P25/28 A61P21/02 A61K39 /395 C07K16/18 C12N9/16 C07K14/47		
CPC分类号	A61K31/437 A61K31/13 A61K31/445 A61K31/55 A61K31/57 A61P25/28 C07K14/4711 C12N9/16 G01N33/6896 G01N2800/2821 G01N2800/50 G01N2800/56 A61K2300/00		
FI分类号	G01N33/53.N G01N33/53.D G01N27/62.X C12Q1/04.ZNA A61K45/00 A61K31/505 A61K31/437 A61K31/4439 A61K31/404 A61K31/55 A61K31/445 A61K31/13 A61K31/27 A61P25/00 A61P25/16 A61P25/28 A61P21/02 A61K39/395.N C07K16/18 C12N9/16.B C07K14/47		
F-TERM分类号	2G041/CA01 2G041/EA04 2G041/FA10 2G041/FA12 2G041/GA03 2G041/GA06 2G041/HA01 2G041 /JA04 4B050/DD07 4B050/LL03 4B063/QA07 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QR48 4B063/QS33 4C084/AA17 4C084/NA05 4C084/ZA01 4C084/ZA02 4C084/ZA15 4C084 /ZA16 4C084/ZA94 4C085/AA14 4C085/EE01 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BC13 4C086/BC21 4C086/BC70 4C086/CB05 4C086/CB22 4C086/GA07 4C086/GA08 4C086/GA09 4C086/NA05 4C086 /ZA01 4C086/ZA02 4C086/ZA15 4C086/ZA16 4C086/ZA94 4C206/AA01 4C206/AA02 4C206/FA23 4C206/HA24 4C206/KA01 4C206/KA09 4C206/NA05 4C206/ZA01 4C206/ZA02 4C206/ZA15 4C206 /ZA16 4C206/ZA94 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA50		
代理人(译)	石川彻		
优先权	2015009134 2015-05-28 GB 2015012596 2015-07-17 GB		
其他公开文献	JP2018519505A5		

摘要(译)

本发明涉及一组生物标志物，其包含蛋白磷酸酶1调节亚基14A和/或2'， 3' - 环核苷酸3' - 磷酸二酯酶和/或磷酸化tau或其片段，以及tau毒性的特征。特别是诊断阿尔茨海默病，分类，治疗和评估所述疾病的治疗反应。本发明基于以下令人惊讶的发现：本文公开的生物标志物可用于治疗与神经认知障碍晚期（ Braak V / VI期）受试者的脑中与升高和/或认知受影响的非AD对照相关的病症。与酪蛋白激酶1δ抑制剂相比，在AD受试者的CSF中调节，和/或响应于两种酪蛋白激酶1δ抑制剂进行调节。【选择图】无

(5) Int. Cl.	F I	ターマコード (参考)
GO1N 33/53 (2006.01)	GO1N 33/53 N	2G041
GO1N 27/62 (2006.01)	GO1N 33/53 D	4B050
C12Q 1/04 (2006.01)	GO1N 27/62 X	4B063
A61K 45/00 (2006.01)	C12Q 1/04 ZNA	4C084
A61K 31/505 (2006.01)	A61K 45/00	4C085

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 92 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-561625 (P2017-561625)	(71) 出願人	505423678
(86) (22) 出願日	平成28年5月27日 (2016.5.27)		エレクトロフォレティクス リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成30年1月25日 (2018.1.25)		イギリス国 W C I H 9 B B ロンドン
(86) 国際出願番号	PCT/EP2016/062090		マブレードン プレイス ハミルトン ハウス
(87) 国際公開番号	W02016/189163	(74) 代理人	100097456
(87) 国際公開日	平成28年12月1日 (2016.12.1)		弁理士 石川 徹
(31) 優先権主張番号	1509134.1		イアン ヒューゴ ビケ
(32) 優先日	平成27年5月28日 (2015.5.28)	(72) 発明者	イギリス国 W C I H 9 B B ロンドン
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		マブレードン プレイス ハミルトン ハウス
(31) 優先権主張番号	1512596.6		エレクトロフォレティクス リミテッド
(32) 優先日	平成27年7月17日 (2015.7.17)		
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アルツハイマー病に関係する生体分子