

(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2017-523130

(P2017-523130A)

(43) 公表日 平成29年8月17日(2017.8.17)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00 H	2 G 0 4 5
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00 Z N A	4 B 0 6 3
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	4 C 0 8 4
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 27/02	4 C 0 8 5
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	4 H 0 4 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 62 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-568920 (P2016-568920)
 (86) (22) 出願日 平成27年5月19日 (2015. 5. 19)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年1月10日 (2017. 1. 10)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/031514
 (87) 国際公開番号 W02015/179360
 (87) 国際公開日 平成27年11月26日 (2015. 11. 26)
 (31) 優先権主張番号 62/000, 356
 (32) 優先日 平成26年5月19日 (2014. 5. 19)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 398076227
 ザ・ジョンズ・ホプキンス・ユニバーシテ
 イー
 アメリカ合衆国、メリーランド州 2 1 2
 1 8、ボルチモア、ノース・チャールズ・
 ストリート 3 4 0 0
 (74) 代理人 100189131
 弁理士 佐伯 拓郎
 (74) 代理人 100182486
 弁理士 中村 正展
 (74) 代理人 100158872
 弁理士 牛山 直子
 (74) 代理人 100147289
 弁理士 佐伯 裕子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 視神経脊髄炎の治療に対する高可溶性アクアポリン-4細胞外ループペプチド免疫化

(57) 【要約】

本発明は、治療的有効量のアクアポリン - 4 (A Q P 4) 水チャネルのループC配列含有ペプチド、又は治療的に有効なそのフラグメント若しくは変異体を含む、視神経脊髄炎 (N M O) を治療するための医薬組成物を提供する。また、本発明は、場合によって免疫抑制状況で、治療的有効量の A Q P 4 のループC配列含有ペプチド (複数の場合がある) を投与することによる N M O を治療する方法、また被験体において N M O を検出するための診断薬、 N M O 治療用治療薬及び N M O モデル系を同定するための選別方法を提供する。

【選択図】 図 1

```

NCBI REFERENCE SEQUENCE: NP_001541.1
LOCUS      NP_001541                303 AA
DEFINITION Aquaporin-4 isoform A (RBM2 HAP10S).
ACCESSION  NP_001541
VERSION    NP_001541.1  CC:0.4.01.01

1  MDSDFPARR GRSGLPTRE NIMAFRQWV IQAEKAVTA BELMLIPV LGLSPTNG
100  GRSGLPTRE VLSLQPSL SANNVDFGH ISGLGTFWV TVAMNTRK SIKNSVPLD
121  AQGMARISA GCLLVYTRR VLSLQPSL VLSLQPSL VLSLQPSL VLSLQPSL
181  KSTQTFQSA LAHFSVAGL RFLNITLA SKPRASDF AVYDQVSRK WIKWVQKQ
241  AVLAGLVLE VYCFQVSRK SPKSAFARA QQNESTQV KRSQVWD QLLKPVNR
303  VLVVDRERK KQDQAEVQ. SAN

!SEQ ID NO: 11
    
```

FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

治療的有効量のアクアポリン - 4 (A Q P) 水チャネルのループ C ペプチド、又は治療的に有効なそのフラグメント若しくは変異体を含む、視神経脊髄炎 (N M O) の治療用医薬組成物。

【請求項 2】

前記視神経脊髄炎 (N M O) が単相性視神経脊髄炎 (N M O) である、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

前記視神経脊髄炎 (N M O) が再発性視神経脊髄炎 (N M O) である、請求項 1 に記載の医薬組成物。 10

【請求項 4】

アクアポリン - 4 (A Q P 4) 水チャネルのループ C ペプチドが配列番号 1 であるか、又はそれと少なくとも 90% の配列同一性を有するポリペプチドである、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記治療的有効量が耐性応答を誘導するのに十分である、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記組成物が免疫抑制療法をさらに含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。 20

【請求項 7】

前記免疫抑制療法が、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動薬、インターフェロン、オピオイド、T N F 結合タンパク質、及びミコフェノール酸からなる群から選択される、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

前記免疫抑制療法が、アルキル化剤、ナイトロジェンマスタード (シクロホスファミド)、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシン C、プレオマイシン、ミトラマイシン、I L - 2 受容体に対する抗体、C D 3 に対する抗体、ムロノナブ - C D 3、シクロスポリン (S a n d i m m u n e (登録商標))、タクロリムス (P r o g r a f (登録商標))、シロリムス (R a p a m u n e (登録商標))、I F N - ベータ、インフリキシマブ (R e m i c a d e (登録商標))、エタネルセプト (E n b r e l (登録商標))、アダリムマブ (H u m i r a (登録商標))、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ (R i t u x a n (登録商標))、M a b T h e r a (登録商標)、又は Z y t u x (登録商標)、エクリズマブ (S o l i r i s (登録商標))、インターフェロンベータ - 1 a (A v o n e x (登録商標))、ナタリズマブ (T y s a b r i (登録商標)) 及びマロノニトリルアミド (M N A) である、請求項 6 に記載の医薬組成物。 30

【請求項 9】

免疫原的有効量のアクアポリン - 4 (A Q P 4) 水チャネルのループ C ペプチド、又はその免疫原性のフラグメント若しくは変異体を含む、視神経脊髄炎 (N M O) を有する患者を免疫するための免疫化組成物。 40

【請求項 10】

前記視神経脊髄炎 (N M O) が単相性視神経脊髄炎 (N M O) である、請求項 9 に記載の免疫化組成物。

【請求項 11】

前記視神経脊髄炎 (N M O) が再発性視神経脊髄炎 (N M O) である、請求項 9 に記載の免疫化組成物。

【請求項 12】

アクアポリン - 4 (A Q P 4) 水チャネルのループ C ペプチドが配列番号 1、又はそれ 50

と少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドである、請求項9に記載の免疫化組成物。

【請求項13】

前記治療的有効量が耐性応答を誘導するのに十分である、請求項9に記載の免疫化組成物。

【請求項14】

前記組成物が免疫抑制療法をさらに含む、請求項9に記載の免疫化組成物。

【請求項15】

前記免疫抑制療法が、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動剤、インターフェロン、オピオイド、TNFタンパク質、及びミコフェノール酸からなる群から選択される、請求項14に記載の免疫化組成物。

10

【請求項16】

前記免疫抑制療法が、アルキル化剤、ナイトロジェンマスタード(シクロホスファミド)、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、プレオマイシン、ミトラマイシン、IL-2受容体に対する抗体、CD3に対する抗体、ムロノナブ-CD3、シクロスポリン(Sandimmune(登録商標))、タクロリムス(Prograf(登録商標))、シロリムス(Rapamune(登録商標))、IFN-ベータ、インフリキシマブ(Remicade(登録商標))、エタネルセプト(Enbrel(登録商標))、アダリムマブ(Humira(登録商標))、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ(Rituxan(登録商標))、MabThera(登録商標)、又はZytux(登録商標)、エクリズマブ(Soliris(登録商標))、インターフェロンベータ-1a(Avonex(登録商標))、ナタリズマブ(Tysabri(登録商標))及びマロノニトリルアミド(MNA)である、請求項14に記載の免疫化組成物。

20

【請求項17】

治療的有効量のアクアポリン-4(AQP4)水チャネルのループCペプチド、又は治療的に有効なそのフラグメント若しくは変異体を投与することを含む、視神経脊髄炎(NMO)を有する個体を治療する方法。

【請求項18】

前記視神経脊髄炎(NMO)が単相性視神経脊髄炎(NMO)である、請求項17に記載の方法。

30

【請求項19】

前記視神経脊髄炎(NMO)が再発性視神経脊髄炎(NMO)である、請求項17に記載の方法。

【請求項20】

アクアポリン-4(AQP4)水チャネルのループCペプチドが配列番号1、又はそれと少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドである、請求項17に記載の方法。

【請求項21】

前記治療的有効量が耐性応答を誘導するのに十分である、請求項17に記載の方法。

40

【請求項22】

前記組成物が免疫抑制療法をさらに含む、請求項17に記載の方法。

【請求項23】

前記免疫抑制療法が、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動剤、インターフェロン、オピオイド、TNF結合タンパク質、及びミコフェノール酸からなる群から選択される、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

前記免疫抑制療法がアルキル化剤、ナイトロジェンマスタード(シクロホスファミド)、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン

50

、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、プレオマイシン、ミトラマイシン、IL-2受容体に対する抗体、CD3に対する抗体、ムロノナブ-CD3、シクロスポリン(Sandimmune(登録商標))、タクロリムス(Prograf(登録商標))、シロリムス(Rapamune(登録商標))、IFN-ベータ、インフリキシマブ(Remicade(登録商標))、エタネルセプト(Enbrel(登録商標))、アダリムマブ(Humira(登録商標))、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ(Rituxan(登録商標))、MabThera(登録商標)、又はZytux(登録商標)、エクリズマブ(Soliris(登録商標))、インターフェロンベータ-1a(Avonex(登録商標))、ナタリズマブ(Tysabri(登録商標))及びマロノニトリルアミド(MNA)である、請求項22に記載の方法。

10

【請求項25】

免疫原的有効量のアクアポリン-4(AQP4)水チャネルのループCペプチド、又は免疫原的に有効なそのフラグメント若しくは変異体を投与することを含む、視神経脊髄炎(NMO)を有する個体において耐性応答を誘導する方法。

【請求項26】

前記視神経脊髄炎(NMO)が単相性視神経脊髄炎(NMO)である、請求項25に記載の方法。

【請求項27】

前記視神経脊髄炎(NMO)が再発性視神経脊髄炎(NMO)である、請求項25に記載の方法。

20

【請求項28】

アクアポリン-4(AQP4)水チャネルのループCペプチドが配列番号1、又はそれと少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドである、請求項25に記載の方法。

【請求項29】

治療的有効量が耐性応答を誘導するのに十分である、請求項25に記載の方法。

【請求項30】

前記組成物が免疫抑制療法をさらに含む、請求項25に記載の方法。

【請求項31】

前記免疫抑制療法が糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動剤、インターフェロン、オピオイド、TNF結合タンパク質、及びミコフェノール酸からなる群から選択される、請求項30に記載の方法。

30

【請求項32】

前記免疫抑制療法がアルキル化剤、ナイトロジェンマスタード(シクロホスファミド)、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、プレオマイシン、ミトラマイシン、IL-2受容体に対する抗体、CD3に対する抗体、ムロノナブ-CD3、シクロスポリン(Sandimmune(登録商標))、タクロリムス(Prograf(登録商標))、シロリムス(Rapamune(登録商標))、IFN-ベータ、インフリキシマブ(Remicade(登録商標))、エタネルセプト(Enbrel(登録商標))、アダリムマブ(Humira(登録商標))、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ(Rituxan(登録商標))、MabThera(登録商標)、又はZytux(登録商標)、エクリズマブ(Soliris(登録商標))、インターフェロンベータ-1a(Avonex(登録商標))、ナタリズマブ(Tysabri(登録商標))及びマロノニトリルアミド(MNA)である、請求項30に記載の方法。

40

【請求項33】

視神経脊髄炎(NMO)を有する個体を治療するための医薬キットであって、治療的有効量のアクアポリン-4(AQP4)水チャネルのループCペプチド、又は治療的に有効

50

なそのフラグメント若しくは変異体と、前記個体を治療するための指示書を備える、医薬キット。

【請求項 34】

前記キットが免疫抑制療法をさらに備える、請求項 33 に記載の医薬キット。

【請求項 35】

前記免疫抑制療法が、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動剤、インターフェロン、オピオイド、TNF 結合タンパク質、及びミコフェノール酸からなる群から選択される、請求項 34 に記載の医薬キット。

【請求項 36】

前記免疫抑制療法がアルキル化剤、ナイトロジェンマスタード（シクロホスファミド）、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、プレオマイシン、ミトラマイシン、IL-2 受容体に対する抗体、CD3 に対する抗体、ムロノナブ-CD3、シクロスポリン（Sandimmune（登録商標））、タクロリムス（Prograf（登録商標））、シロリムス（Rapamune（登録商標））、IFN-ベータ、インフリキシマブ（Remicade（登録商標））、エタネルセプト（Enbrel（登録商標））、アダリムマブ（Humira（登録商標））、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ（Rituxan（登録商標））、MabThera（登録商標）、又はZytux（登録商標）、エクリズマブ（Soliris（登録商標））、インターフェロンベータ-1a（Avonex（登録商標））、ナタリズマブ（Tysabri（登録商標））及びマロノニトリルアミド（MNA）である、請求項 34 に記載の医薬キット。

10

20

【請求項 37】

治療的有効量のアクアポリン-4（AQP4）水チャネルのループA及び/又はBペプチド、又は治療的に有効なそれらのフラグメント若しくは変異体をさらに含む、請求項 1 又は 9 に記載の組成物。

【請求項 38】

治療的有効量の第2のNMO治療を投与する工程をさらに含む、請求項 17 又は 25 に記載の方法。

【請求項 39】

治療的有効量のアクアポリン-4（AQP4）水チャネルのループA及び/又はループBのペプチド、又は治療的有効量のそれらのフラグメント若しくは変異体投与する工程をさらに含む、請求項 17 又は 25 に記載の方法。

30

【請求項 40】

配列番号8と整列させた場合に配列番号8の17以上のアミノ酸残基を持つ、治療的有効量の50又はアミノ酸以下の長さのペプチドを含む、視神経脊髄炎（NMO）を治療するための医薬組成物。

【請求項 41】

前記視神経脊髄炎（NMO）が単相性視神経脊髄炎（NMO）である、請求項 40 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 42】

前記視神経脊髄炎（NMO）が再発性視神経脊髄炎（NMO）である、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 43】

前記ペプチドが配列番号8の17以上の連続するアミノ酸残基を含む、前記ペプチドが配列番号8を含んでもよい、前記ペプチドが配列番号8であってもよい、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 44】

前記治療的有効量が耐性応答を誘導するのに十分である、請求項 40 に記載の医薬組成物。

50

【請求項 45】

前記組成物が免疫抑制療法をさらに含む、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 46】

前記免疫抑制療法が、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動剤、インターフェロン、オピオイド、TNF 結合タンパク質、及びミコフェノール酸からなる群から選択される、請求項 45 に記載の医薬組成物。

【請求項 47】

前記免疫抑制療法がアルキル化剤、ナイトロジェンマスタード（シクロホスファミド）、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、プレオマイシン、ミトラマイシン、IL-2 受容体に対する抗体、CD3 に対する抗体、ムロノナブ-CD3、シクロスポリン（Sandimmune（登録商標））、タクロリムス（Prograf（登録商標））、シロリムス（Rapamune（登録商標））、IFN-ベータ、インフリキシマブ（Remicade（登録商標））、エタネルセプト（Enbrel（登録商標））、アダリムマブ（Humira（登録商標））、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ（Rituxan（登録商標））、MabThera（登録商標）、又はZytux（登録商標）、エクリズマブ（Soliris（登録商標））、インターフェロンベータ-1a（Avonex（登録商標））、ナタリズマブ（Tysabri（登録商標））及びマロノニトリルアミド（MNA）である、請求項 45 に記載の医薬組成物。

10

20

【請求項 48】

配列番号 8 と整列させた場合に配列番号 8 の 17 以上のアミノ酸残基を持つ 50 アミノ酸以下の長さの免疫原的有効量のペプチドを含む、視神経脊髄炎（NMO）を有する患者を免疫する免疫化組成物。

【請求項 49】

前記視神経脊髄炎（NMO）が単相性視神経脊髄炎（NMO）である、請求項 48 に記載の免疫化組成物。

【請求項 50】

前記視神経脊髄炎（NMO）が再発性視神経脊髄炎（NMO）である、請求項 48 に記載の免疫化組成物。

30

【請求項 51】

前記ペプチドが配列番号 8 の 17 以上の連続するアミノ酸残基を含む、前記ペプチドが配列番号 8 を含んでもよい、前記ペプチドが配列番号 8 であってもよい、請求項 48 に記載の免疫化組成物。

【請求項 52】

前記治療的有効量が耐性応答を誘導するのに十分である、請求項 48 に記載の免疫化組成物。

【請求項 53】

前記組成物が免疫抑制療法をさらに含む、請求項 48 に記載の免疫化組成物。

【請求項 54】

前記免疫抑制療法が、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動剤、インターフェロン、オピオイド、TNF 結合タンパク質、及びミコフェノール酸からなる群から選択される、請求項 53 に記載の免疫化組成物。

40

【請求項 55】

前記免疫抑制療法がアルキル化剤、ナイトロジェンマスタード（シクロホスファミド）、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、プレオマイシン、ミトラマイシン、IL-2 受容体に対する抗体、CD3 に対する抗体、ムロノナブ-CD3、シクロスポリン（Sandimmune（登録商標））、タクロリムス（Prograf（登録商標））、シロリムス（Rapamun

50

e (登録商標))、IFN-ベータ、インフリキシマブ(Remicade(登録商標))、エタネルセプト(Enbrel(登録商標))、アダリムマブ(Humira(登録商標))、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ(Rituxan(登録商標))、MabThera(登録商標)、又はZytux(登録商標)、エクリズマブ(Soliris(登録商標))、インターフェロンベータ-1a(Avonex(登録商標))、ナタリズマブ(Tysabri(登録商標))及びマロノニトリルアミド(MNA)である、請求項53に記載の免疫化組成物。

【請求項56】

配列番号8と整列させた場合に配列番号8の17以上のアミノ酸残基を持つ50又はアミノ酸以下の長さのペプチドを投与することを含む、視神経髄膜炎(NMO)を有する患者を治療する方法。

10

【請求項57】

前記視神経髄膜炎(NMO)が単相性視神経髄膜炎(NMO)である、請求項56に記載の方法。

【請求項58】

前記視神経髄膜炎(NMO)が再発性視神経髄膜炎(NMO)である、請求項56に記載の方法。

【請求項59】

前記ペプチドが配列番号8の17以上の連続するアミノ酸残基を含む、前記ペプチドが配列番号8を含んでもよい、前記ペプチドが配列番号8であってもよい、請求項56に記載の方法。

20

【請求項60】

前記治療的有効量が耐性応答を誘導するのに十分である、請求項56に記載の方法。

【請求項61】

前記組成物が免疫抑制療法をさらに含む、請求項56に記載の方法。

【請求項62】

前記免疫抑制療法が、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動剤、インターフェロン、オピオイド、TNF結合タンパク質、及びミコフェノール酸からなる群から選択される、請求項61に記載の方法。

30

【請求項63】

前記免疫抑制療法がアルキル化剤、ナイトロジェンマスタード(シクロホスファミド)、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、プレオマイシン、ミトラマイシン、IL-2受容体に対する抗体、CD3に対する抗体、ムロノナブ-CD3、シクロスポリン(Sandimmune(登録商標))、タクロリムス(Prograf(登録商標))、シロリムス(Rapamune(登録商標))、IFN-ベータ、インフリキシマブ(Remicade(登録商標))、エタネルセプト(Enbrel(登録商標))、アダリムマブ(Humira(登録商標))、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ(Rituxan(登録商標))、MabThera(登録商標)、又はZytux(登録商標)、エクリズマブ(Soliris(登録商標))、インターフェロンベータ-1a(Avonex(登録商標))、ナタリズマブ(Tysabri(登録商標))及びマロノニトリルアミド(MNA)である、請求項61に記載の方法。

40

【請求項64】

配列番号8と整列させた場合に配列番号8の17以上のアミノ酸残基を持つ50又はアミノ酸以下の長さのペプチドを投与することを含む、視神経髄膜炎(NMO)を有する個体において耐性応答を誘導する方法。

【請求項65】

前記視神経髄膜炎(NMO)が単相性視神経髄膜炎(NMO)である、請求項64に記載の方法。

50

【請求項 66】

前記視神経脊髄炎（NMO）が再発性視神経脊髄炎（NMO）である、請求項 64 に記載の方法。

【請求項 67】

前記ペプチドが配列番号 8 の 17 以上の連続するアミノ酸残基を含む、前記ペプチドが配列番号 8 を含んでもよい、前記ペプチドが配列番号 8 であってもよい、請求項 64 に記載の方法。

【請求項 68】

前記治療的有効量が耐性応答を誘導するのに十分である、請求項 64 に記載の方法。

【請求項 69】

前記組成物が免疫抑制療法をさらに含む、請求項 64 に記載の方法。

【請求項 70】

前記免疫抑制療法が、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動剤、インターフェロン、オピオイド、TNF 結合タンパク質、及びミコフェノール酸からなる群から選択される、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 71】

前記免疫抑制療法がアルキル化剤、ナイトロジェンマスタード（シクロホスファミド）、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシン C、プレオマイシン、ミトラマイシン、IL-2 受容体に対する抗体、CD3 に対する抗体、ムロノナブ - CD3、シクロスポリン（Sandimmune（登録商標））、タクロリムス（Prograf（登録商標））、シロリムス（Rapamune（登録商標））、IFN-ベータ、インフリキシマブ（Remicade（登録商標））、エタネルセプト（Enbrel（登録商標））、アダリムマブ（Humira（登録商標））、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ（Rituxan（登録商標））、MabThera（登録商標）、又は Zytux（登録商標）、エクリズマブ（Soliris（登録商標））、インターフェロンベータ-1a（Avonex（登録商標））、ナタリズマブ（Tysabri（登録商標））及びマロノニトリルアミド（MNA）である、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 72】

視神経脊髄炎（NMO）を有する個体を治療するための医薬キットであって、配列番号 8 と整列させた場合に配列番号 8 の 17 以上のアミノ酸残基を持つ 50 又はアミノ酸以下の長さの治療的有効用量のペプチドと、前記個体を治療するための指示書を備える、医薬キット。

【請求項 73】

前記キットが免疫抑制療法をさらに含む、請求項 72 に記載の医療キット。

【請求項 74】

前記免疫抑制療法が、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動剤、インターフェロン、オピオイド、TNF 結合タンパク質、及びミコフェノール酸からなる群から選択される、請求項 73 に記載の医療キット。

【請求項 75】

前記免疫抑制療法がアルキル化剤、ナイトロジェンマスタード（シクロホスファミド）、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシン C、プレオマイシン、ミトラマイシン、IL-2 受容体に対する抗体、CD3 に対する抗体、ムロノナブ - CD3、シクロスポリン（Sandimmune（登録商標））、タクロリムス（Prograf（登録商標））、シロリムス（Rapamune（登録商標））、IFN-ベータ、インフリキシマブ（Remicade（登録商標））、エタネルセプト（Enbrel（登録商標））、アダリムマブ（Humira（登録商標））、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ（Rituxan（登録商標））

10

20

30

40

50

、M a b T h e r a (登録商標)、又はZ y t u x (登録商標)、エクリズマブ(S o l i r i s (登録商標))、インターフェロンベータ-1 a (A v o n e x (登録商標))、ナタリズマブ(T y s a b r i (登録商標))及びマロノニトリルアミド(M N A)である、請求項73に記載の医療キット。

【請求項76】

治療的有効量のアクアポリン-4(A Q P 4)水チャネルのループA及び/又はループBのペプチド、又は治療的に有効なそのフラグメント若しくは変異体をさらに含む、請求項40又は48に記載の組成物。

【請求項77】

治療的有効量の第2のN M O治療を投与する工程をさらに含む、請求項56又は64に記載の方法。

10

【請求項78】

治療的有効量のアクアポリン-4(A Q P 4)水チャネルのループA及び/又はループBのペプチド、又は治療的に有効なそのフラグメント若しくは変異体を投与する工程をさらに含む、請求項56又は64に記載の方法。

【請求項79】

前記A Q P 4のループCペプチド、又は配列番号8と整列させた場合に配列番号8の17以上のアミノ酸残基を持つ50又はアミノ酸以下の長さの前記ペプチドが、脊髄炎症に起因する麻痺及び視神経炎症に起因する視力障害からなる群から選択される神経学的症状を前記ペプチドが投与されたマウスにおいて誘導する、上記請求項のいずれかに記載の医薬組成物、方法、免疫化組成物又は医薬キット。

20

【請求項80】

前記ペプチドがマウスにおいて、対応する量の配列番号9が適切な対照マウスにおいて誘導するよりも大きな神経学的症状を誘導する、請求項79に記載の医薬組成物、方法、免疫化組成物、又は医薬キット。

【請求項81】

被験体においてN M Oを検出する方法であって、

a) 被験体からT細胞及び/又は抗体含有試料を得ること、

b) 前記試料と、配列番号8特異的抗体-配列番号8ペプチド複合体の形成を可能とする、又は配列番号8特異的な方式でT細胞活性化を可能とするのに十分な量で配列番号8又はそのフラグメント若しくは変異体からなるペプチドとを接触させること、並びに

30

c) T細胞活性化又は配列番号8特異的抗体-配列番号8ペプチド複合体の形成を検出し、T細胞活性化又は前記配列番号8特異的抗体-配列番号8ペプチド複合体の形成が、前記被験体がN M Oを有することを示し、それによって被験体においてN M Oを検出すること、

を含む、被験体においてN M Oを検出する方法。

【請求項82】

前記T細胞及び/又は抗体含有試料が血液試料である、請求項81に記載の方法。

【請求項83】

前記被験体に対するN M O療法、任意に免疫抑制療法及び/又はA Q P 4ワクチン若しくは免疫寛容療法の投与をさらに含み、任意に、配列番号8と整列させた場合に配列番号8の17以上のアミノ酸残基を持つ50又はアミノ酸以下の長さの治療的有効量のペプチドの投与を含む、請求項81に記載の方法。

40

【請求項84】

被験体においてN M Oを検出するキットであって、配列番号8と整列させた場合に配列番号8の17以上のアミノ酸残基を持ち、被験体の試料と接触させた場合にT細胞活性化を誘導し、それにより被験体におけるN M Oを示す50又はアミノ酸以下の長さのペプチドと、その使用のための指示書を備える、被験体においてN M Oを検出するキット。

【請求項85】

前記ペプチドが配列番号8である、請求項84に記載のキット。

50

【請求項 86】

配列番号 8 と整列させた場合に配列番号 8 の 17 以上のアミノ酸残基を持つ 50 又はアミノ酸以下の長さのペプチドのマウスへの投与によって誘導される NMO モデルマウス。

【請求項 87】

候補 NMO 治療化合物を同定する方法であって、請求項 86 に記載の NMO モデルマウスに試験化合物を投与すること、及び前記試験化合物の存在下において任意に適切な対照と比較される前記 NMO モデルマウスの神経症状の改善を同定し、それによって前記試験化合物を候補 NMO 治療薬として同定することを含む、候補 NMO 治療化合物を同定する方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

関連出願の相互参照

本発明は、2014年5月19日付願の「視神経脊髄炎の治療に対する高可溶性アクアポリン-4細胞外ループCペプチド免疫化」と題される米国仮特許出願番号第62/000,356に対する優先権及び米国特許法第119条(e)の利益を主張する。上述の特許出願の全内容は、この参照により本明細書に援用される。

【0002】

参照による援用

本明細書において引用又は参照される全ての文書、及び本明細書において引用される文書において引用又は参照される全ての文書は、本明細書又は本明細書において参照により援用される任意の文書において言及される任意の製品に関する任意の製造業者による指示書、説明書、製品仕様書、及び製品シートと共に、参照により本明細書に援用され、本明細書の実施において採用され得る。

【0003】

連邦支援による研究

この成果は、国立衛生研究所神経疾患及び脳卒中研究所による助成金 NS078555 によって支持された。政府は、本発明において一定の権利を有する。

【0004】

技術分野

本発明は、概して神経障害及びその治療に関し、特に、抗原に基づくペプチド及び視神経脊髄炎(NMO)を治療するための該ペプチドを含む医薬組成物に関する。

【背景技術】**【0005】**

デビック症候群としても知られる視神経脊髄炎(NMO)は、重篤な脱力、麻痺、呼吸不全、腸及び膀胱の機能の喪失、失明、及び早期死亡をもたらす、破壊的で生命の危険のある非常に希少な神経疾患である。再発性の及び同時に起こる炎症、並びに視神経(視神経炎)及び脊髄(脊髄炎)の脱髄からなる不均一な状態として特徴づけることができ、これらの組織に対して特徴的なNMO病変の形成を引き起こす。NMOを有する患者は、終生繰り返される自己免疫による攻撃のエピソードを有し、大半の患者はそれぞれの攻撃が神経障害を付加するため、累積的な障害を伴う、予測できない再発性の一連の疾患を経験する。NMOは、単相性と再発性の両方の形態を有するが、再発性の形態は90%超の症例を含む。NMOは、100,000の集団当たり推定有病率0.32~2.5である奇病であり、アメリカ合衆国においておよそ4,000名がこの病気に冒されている。

【0006】

NMOは自己免疫障害とされる。該疾患は、障害の特徴である関連する炎症及び脱髄プロセスを引き起こす、視神経及び脊髄の星状細胞に位置する星状細胞水チャネルタンパク質であるアクアポリン-4(AQP4)に対する自己免疫反応を含むと考えられる。しかしながら、自己免疫原性のプロセスの正確な性質は十分に理解されていない。

【0007】

10

20

30

40

50

残念なことに、NM Oに対する治癒はない。現在の管理は、主に攻撃の頻度及び重症度を減らそうとする試みで免疫抑制を使用することに焦点を当てる。医師は、一般的に、攻撃を停止するための副腎皮質ステロイド薬（例えば、メチルプレドニゾロン）と後の攻撃を予防するための免疫抑制薬（例えば、アザチオプリン）の組み合わせによってNM Oの初期の攻撃を治療する。これらのアプローチにもかかわらず、多くは四肢の障害、可動性の低下、及び失明を伴ったままである。特に、発病から5年以内に、NM O疾患を有する患者のおよそ60%は少なくとも一方の目の永続的な失明を有し、52%は四肢の少なくとも1つに永続的な脱力を有する。死亡率は、通常、頸髄における横断性脊髄炎による呼吸不全に起因して25%～32%である。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

使用可能な治療がないこと、及びNM Oに対する治癒がいまだ得られないという事実を考慮すると、当該技術分野においてこの状態を治療及び/又は改善する新たな改良された治療法が必要とされている。本発明は、視神経脊髄炎（NM O）の治療及び/又は改善のため新たに発見された標的、またそれに対する組成物及び方法を提供することによって、この必要性に対処する。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明は、部分的には、AQP4ノックアウトマウスにおいて病原性T細胞増殖を誘発することができる独特のアクアポリン-4ペプチド（ループC配列、例えばLVTPPSVVGLGVTMVHGN（配列番号8）を含むフラグメント（複数の場合がある）を含むループC配列）の同定に関する。この予想外で以前に知られていなかった観察は、視神経脊髄炎（NM O）の治療及び/又は改善のための抗原に基づくペプチド薬の基礎を形成する。したがって、本発明は、NM Oを有する個体における免疫化及び/又は耐性の誘導のための医薬組成物に関する。さらに、本発明は、治療的有効量のループC及び/又はループC配列含有ペプチド（複数の場合がある）、又は治療的有効量のその変異体及び/又はフラグメントを被験体に投与する又は免疫することによってNM O患者を治療及び/又は免疫する方法に関する。治療は、リツキシマブ等の薬物による免疫抑制の状況で行われてもよく、単剤療法として行われてもよい。投与は、経口、静脈内、皮下、又は動脈内を含む任意の好適な手段によってもよい。また、免疫は、ループC及び/又はループC配列含有ペプチドをコードする核酸分子を使用する方法によって考えられる。したがって、また本発明は、ループC及び/又はループC配列含有ペプチドをコードする核酸分子、並びに個体において抗原として発現されるようにかかる分子を投与するための製剤及び医薬組成物に関する。治療剤製品（複数の場合がある）に加えて、本発明は、少なくとも一部は、NM O病のマーカーとして被験体（例えばヒト被験体）においてループC活性化T細胞の存在に関する診断試験に関する。

【0010】

述べられるように、視神経脊髄炎（NM O）は、主に脊髄及び視神経を標的とする再発性自己免疫疾患であり、麻痺及び失明をもたらす。NM Oは、星状細胞水チャネルであるアクアポリン（AQP4）に対する抗体と関連する。後AQP4抗体が動物モデルにおいて悪化する病因において病原性の役割を有することが示されたが、NM OにおけるT細胞の正確な役割はわからないままである。しかしながら、T細胞は、活性なNM O病変において容易に検出可能であり、AQP4応答性T細胞は高親和性高AQP4 IgG1抗体の産生に必要である。

【0011】

最近、NM O患者が、抗AQP4抗体によって標的化される3つの細胞外ドメインを含む、幾つかの別々のAQP4の決定的要因に対してT細胞反応性を有することがわかった。しかしながら、あるとしても、かかるT細胞が疾患の病因において役割を有するかどうかは理解されていなかった。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 2 】

本発明は、炎症の誘発及び視神経及び脊髄に対する応答の指揮における A Q P 4 応答性 T 細胞の潜在的病原性を調査するためマウスにおいて A Q P 4 応答性 T 細胞を作製しようとした。実施例に記載されるように、C 5 7 B L 6 バックグラウンドと戻し交雑された (1 4 回の交雑) A Q P 4 ノックアウトマウスを、A Q P 4 の 3 つの細胞外ループ、すなわちループ A、C、及び E に対応するペプチドで免疫した。

【 0 0 1 3 】

ロバストな T 細胞応答は、著しい T 細胞応答、またループ C 含有ペプチド L V T P P S V V G G L G V T M V H G N (配列番号 8) について観察された表現型 (例えば、脊髄炎症に起因する麻痺、視神経炎症) の発現と共に、ループ C ペプチドに対してのみ見られたが、いずれのマウスも検出可能な抗 A Q P 4 抗体を産生しなかった。ループ C 及び / 又はループ C 配列含有ペプチド A Q P 4 応答性 T 細胞を野生型マウスに養子移植したところ、9 日以内にミエリタンパク質に対する T 細胞によって誘導される実験的な自己免疫脳脊髄炎 (E A E) のモデルに類似する尾及び後肢の脱力を呈した。T h 1 7 表現型に対して極性化された A Q P 4 応答性 T 細胞は、脊髄に加えて視神経において炎症を引き起こす可能性がより一層高かった。組織学は脱髄、T 細胞浸潤、並びに一部の脳の関与も含む脊髄及び視神経全体の小グリア活性化を示した。他の実質臓器における A Q P 4 の広範な発現にもかかわらず、C N S 外の炎症はこのモデルでは観察されなかった。上記研究の意義は、もっぱら視神経及び脊髄に対する炎症の誘発及び局在の両方における、具体的には C ループペプチドに対する、特にループ C 配列含有ペプチド L V T P P S V V G G L G V T M V H G N (配列番号 8) に対する N M O の A Q P 4 応答性 T 細胞の中心的な免疫病原性の役割を指摘し、C ループペプチド、任意に配列番号 8 並びにそのフラグメント、変異体及び誘導體等の特異的 C ループペプチド (複数の場合がある)、及び A Q P 4 応答性 T 細胞を新たな治療標的として、また N M O に対する診断試験用として示唆する。

【 0 0 1 4 】

したがって、或る一つの態様では、本発明は、治療的有効量のアクアポリン - 4 (A Q P 4) 水チャネルのループ C ペプチド、又は治療的に有効なそのフラグメント若しくは変異体を含む、視神経脊髄炎 (N M O) を治療するための医薬組成物を提供する。

【 0 0 1 5 】

さらに別の態様では、本発明は、治療的有効量のアクアポリン - 4 (A Q P 4) 水チャネルのループ C ペプチド、又は治療的に有効なそのフラグメント若しくは変異体を投与することを含む、視神経脊髄炎 (N M O) を有する個体を治療する方法に関する。

【 0 0 1 6 】

さらに他の態様では、本発明は、免疫原的有効量のアクアポリン - 4 (A Q P 4) 水チャネルのループ C ペプチド、又は免疫原的に有効なそのフラグメント若しくは変異体を投与することを含む、視神経脊髄炎 (N M O) を有する個体において耐性応答を誘導する方法を提供する。

【 0 0 1 7 】

さらに他の態様では、本発明は、視神経脊髄炎 (N M O) を有する個体を治療するための医薬キットであって、治療的有効量のアクアポリン - 4 (A Q P 4) 水チャネルのループ C ペプチド、又は治療的に有効なそのフラグメント若しくは変異体と、前記個体を治療するための指示書を備える医薬キットに関する。

【 0 0 1 8 】

さらに他の態様では、本発明は、N M O 病のマーカーとして、ループ C 配列に対して反応する T 細胞、すなわち、ループ C 配列含有ペプチド、例えば L V T P P S V V G G L G V T M V H G N (配列番号 8) に対して反応する T 細胞に対する診断試験に関する。

【 0 0 1 9 】

特定の実施形態では、アクアポリン - 4 (A Q P 4) 水チャネルのループ C ペプチドは、配列番号 1、又はそれと少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するポリペプチドである。

【 0 0 2 0 】

10

20

30

40

50

さらに他の実施形態では、アクアポリン - 4 (A Q P 4) 水チャネルのループ C ペプチドは、配列番号 1、又はそれと少なくとも 50%、若しくは少なくとも 55%、若しくは少なくとも 60%、若しくは少なくとも 70%、若しくは少なくとも 75%、若しくは少なくとも 80%、若しくは少なくとも 85%、若しくは少なくとも 90%、若しくは少なくとも 95%、若しくは少なくとも 99% の配列同一性を有するポリペプチドである。

【 0 0 2 1 】

他の実施形態では、アクアポリン - 4 (A Q P 4) 水チャネルのループ C ペプチドは配列番号 1 の変異体である。

【 0 0 2 2 】

或る一つの態様では、本発明は、治療的有効量の、配列番号 8 と整列させた場合に配列番号 8 の 17 以上のアミノ酸残基を持つ 50 又はアミノ酸以下の長さのペプチドを含む、視神経脊髄炎 (N M O) を治療するための医薬組成物を提供する。

10

【 0 0 2 3 】

さらに別の態様では、本発明は、治療的有効量の、配列番号 8 と整列させた場合に配列番号 8 の 17 以上のアミノ酸残基を持つ 50 又はアミノ酸以下の長さのペプチドを投与することを含む、視神経脊髄炎 (N M O) を有する個体を治療する方法に関する。

【 0 0 2 4 】

さらに他の態様では、本発明は、免疫原的有効量の、配列番号 8 と整列させた場合に配列番号 8 の 17 以上のアミノ酸残基を持つ 50 又はアミノ酸以下の長さのペプチドを投与することを含む、視神経脊髄炎 (N M O) を有する個体において耐性応答を誘導する方法を提供する。

20

【 0 0 2 5 】

さらに他の態様では、本発明は、視神経脊髄炎 (N M O) を有する個体を治療するための医薬キットであって、治療的有効量の、配列番号 8 と整列させた場合に配列番号 8 の 17 以上のアミノ酸残基を持つ 50 又はアミノ酸以下の長さのペプチドと、前記個体を治療するための指示書を備える医薬キットに関する。

【 0 0 2 6 】

特定の実施形態では、視神経脊髄炎 (N M O) は单相性視神経脊髄炎 (N M O) である。他の実施形態では、視神経脊髄炎 (N M O) は再発性視神経脊髄炎 (N M O) である。

【 0 0 2 7 】

さらに他の実施形態では、ループ C 配列含有ペプチドは、配列番号 8 の 17 以上の連続するアミノ酸残基を含む。該ペプチドは、配列番号 8 であってもよく、又は 1 個若しくは 2 個の変異残基を含む配列番号 8 であってもよく、特定の実施形態では、1 個の変異残基を含む配列番号 8 であってもよい。該ペプチドは配列番号 8 であってもよい。

30

【 0 0 2 8 】

さらに他の実施形態では、治療的有効量は耐性応答を誘導するのに十分である。

【 0 0 2 9 】

他の実施形態では、本発明の組成物は免疫抑制療法をさらに含んでもよい。或る場合では、免疫抑制療法は、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動剤、インターフェロン、オピオイド、T N F 結合タンパク質、及びミコフェノール酸から選択されてもよい。さらに他の場合では、免疫抑制療法は、アルキル化剤、ナイトロジェンマスタード (シクロホスファミド)、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシン C、プレオマイシン、ミトラマイシン、I L - 2 受容体に対する抗体、C D 3 に対する抗体、ムロノナブ - C D 3、シクロスポリン (S a n d i m m u n e (登録商標))、タクロリムス (P r o g r a f (登録商標))、シロリムス (R a p a m u n e (登録商標))、I F N - ベータ、インフリキシマブ (R e m i c a d e (登録商標))、エタネルセプト (E n b r e l (登録商標))、アダリムマブ (H u m i r a (登録商標))、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ (R i t u x a n (登録商標))、M a b T h e r a (登録商標)、又は Z y t u

40

50

x (登録商標)、エクリズマブ (Soliris (登録商標))、インターフェロンベータ-1a (Avonex (登録商標))、ナタリズマブ (Tysabri (登録商標)) 及びマロノニトリルアミド (MNA) から選択されてもよい。

【0030】

別の実施形態では、本発明の医薬キットは免疫抑制療法をさらに含んでもよい。或る場合では、免疫抑制療法は、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動剤、インターフェロン、オピオイド、TNF結合タンパク質、及びミコフェノール酸から選択されてもよい。さらに他の場合では、免疫抑制療法は、アルキル化剤、ナイトロジェンマスタード (シクロホスファミド)、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、プレオマイシン、ミトラマイシン、IL-2受容体に対する抗体、CD3に対する抗体、ムロノナブ-CD3、シクロスポリン (Sandimmune (登録商標))、タクロリムス (Prograf (登録商標))、シロリムス (Rapamune (登録商標))、IFN-ベータ、インフリキシマブ (Remicade (登録商標))、エタネルセプト (Enbrel (登録商標))、アダリムマブ (Humira (登録商標))、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ (Rituxan (登録商標))、MabThera (登録商標)、又はZytux (登録商標)、エクリズマブ (Soliris (登録商標))、インターフェロンベータ-1a (Avonex (登録商標))、ナタリズマブ (Tysabri (登録商標)) 及びマロノニトリルアミド (MNA) から選択されてもよい。

10

20

【0031】

特定の実施形態では、AQP4のループCペプチド及び/又は、配列番号8と整列させた場合に配列番号8の17以上のアミノ酸残基を持つ50又はアミノ酸以下の長さのペプチドは、該ペプチドを投与されたマウスにおいて神経学的症状を誘導し、神経学的症状は脊髄炎症による麻痺、又は視神経炎症による視力障害であってもよい。本発明の医薬組成物、方法、免疫化組成物又は医薬キットは、マウスにおいて配列番号9が誘導するよりも大きな神経学的症状を誘導するペプチドを含んでもよい。

【0032】

本発明の別の態様は、被験体においてNMOを検出する方法であって、被験体からT細胞及び/又は抗体含有試料を得ること、前記試料と、配列番号8特異的抗体-配列番号8ペプチド複合体の形成を可能とする、又は配列番号8特異的な方式でT細胞活性化を可能とするのに十分な量で配列番号8又はそのフラグメント若しくは変異体からなるペプチドとを接触させること、並びに特異的な方式でT細胞活性化を検出するか、又は配列番号8特異的抗体-配列番号8ペプチド複合体の形成を検出し、T細胞活性化又は前記配列番号8特異的抗体-配列番号8ペプチド複合体の形成が、上記被験体がNMOを有することを示し、それによって被験体においてNMOを検出すること、を含む方法を提供する。

30

【0033】

或る一つの実施形態では、T細胞及び/又は抗体含有試料は血液試料である。別の実施形態では、該試料は血漿試料又は他の試料である。

【0034】

本発明の別の実施形態では、本発明の方法は、被験体にNMO療法を投与すること、任意に免疫抑制療法及び/又はAQP4ワクチン若しくは免疫耐性療法を投与することをさらに含み、治療的有効量の、配列番号8と整列させた場合に配列番号8の17以上のアミノ酸残基を持つ50又はアミノ酸以下の長さのペプチドを投与することを含んでもよい。

40

【0035】

本発明の別の態様は、被験体においてNMOを検出するキットであって、被験体の試料と接触させた場合にT細胞活性化を誘導し、配列特異的な方式のT細胞活性化によって被験体におけるNMOを示す、配列番号8と整列させた場合に配列番号8の17以上のアミノ酸残基を持つ50又はアミノ酸以下の長さのペプチドと、その使用に関する指示書を備

50

えるキットを提供する。

【0036】

或る一つの実施形態では、上記ペプチドは配列番号8である。

【0037】

本発明の更なる態様は、配列番号8と整列させた場合に配列番号8の17以上のアミノ酸残基を持つ50又はアミノ酸以下の長さのペプチドをマウスにおいて神経学的症状を作り出すのに十分な量でマウスに投与することによって誘導されるNMOモデルマウスを提供する。

【0038】

本発明の別の態様は、本明細書に記載されるNMOモデルマウスに試験化合物を投与すること、及び該試験化合物の存在下で、任意に適切な対照と比較して、NMOモデルマウスにおいてNMOの神経症状の改善を同定することにより、該試験化合物を候補NMO治療薬として同定すること、を含む候補NMO治療化合物を同定する方法を提供する。上記試験化合物は小分子であってもよく、抗体（ヒト化形態及び/又はそのフラグメントを含む）若しくは他の生物学的製剤（biologic）であってもよい。

10

【0039】

適用可能であるか、具体的に放棄されない限り、本明細書に記載されるいずれか一つの実施形態は、その実施形態が本発明の異なる態様のもとに記載されていても、任意の他の1又は複数の実施形態と組み合わせ可能であると考えられる。

これらの及び他の実施形態が開示され、又は以下の詳細な説明から明らかであり、またそれにより包含される。

20

【0040】

例として与えられるが、記載される具体的な実施形態のみに本発明を限定することは意図されない以下の詳細な説明は、添付の図面と併せて最もよく理解され得る。

【図面の簡単な説明】

【0041】

【図1】ヒトアクアポリン-4ペプチド、アイソフォームA（NBCI参照配列：NP__001641.1）（配列番号1）のタンパク質配列。図は、ループA（GTEKPLPV）（配列番号5）、ループC（TPPSVVGGLGVTMVHGNLTAG）（配列番号6）、及びループE（GNWENH）（配列番号7）のアミノ酸配列を示す。

30

【図2】ヒトアクアポリン-4ペプチド、アイソフォームA（NCBI参照配列：NM__001650.4）（配列番号2）をコードするヌクレオチド配列（cDNA）。

【図3】ヒトアクアポリン-4、アイソフォームB（NBCI参照配列：NP__004019.1）（配列番号3）のタンパク質配列。

【図4】ヒトアクアポリン-4ペプチド、アイソフォームB（NCBI参照配列：NM__004028.3）（配列番号4）をコードするヌクレオチド配列（cDNA）。

【図5】ラット、マウス、及びヒトに由来するAQP4のアミノ酸配列アラインメントであり、細胞外ループA、C及びEを示す（本明細書に援用されるPisani et al., J. boi l. Chem., Mar. 18, 2011; 286(11): 9216-9224を参照されたい）。

40

【図6】AQP4ループA（GTEKPLPV）（配列番号5）、ループC（TPPSVVGGLGVTMVHGNLTAG）（配列番号6）、及びループE（GNWENH）（配列番号7）、またループC配列含有ペプチド135~153（LVTPPSVVGGLGVTMVHGN）（配列番号8）に対するアミノ酸配列を提供する。

【図7】図7Aは、AQP4のループC配列含有ペプチド配列番号8に対するロバストな反応を反映するT細胞増殖アッセイを示す。ミエリン-オリゴデンドロサイト糖タンパク質（MOG）ペプチド35~55で免疫した2匹の対照マウス（wt-MOG）に由来するT細胞は、MOG抗原の存在下（赤色バー）でのみトリチウム標識チミジンの取込みによって測定される増殖活性を示した。AQP4のペプチドで免疫された野生型マウス（wt-AQP4）に由来するT細胞は、いずれのAQP4抗原に対しても応答しなかった。

50

AQP4ヌルマウス(KOタイプ)に由来するT細胞は、そのマウスが上記ペプチドによって免疫されない限りAQP4ペプチドのいずれにも生得的に应答しなかった(K01-AQP4及びK02-AQP4)。試験したペプチドのうち、細胞外ループCの配列を含むペプチドである配列番号8は、ループC配列含有ペプチド(茶色バー)又はループC配列含有ペプチドを含んだAQP4ペプチドのミックス(黄色バー)に対して免疫されたAQP4ヌルマウスに由来するT細胞においてのみロバスタな反応を生じた。結果は、3連の反応の平均+SEMで示される。図7Bは、AQP4ループC配列含有ペプチド(AQP4135-53)対非刺激(NS)に暴露された、Th17極性化(Th17-pol)及び非極性化(unpol)細胞培養物におけるIL-17及びインターフェロン-ガンマ(IFN-)サイトカイン産生細胞の数を特定するため使用したELISPOTアッセイの結果を示す。非極性化AQP4应答性T細胞は、未刺激の対照と比較して有意水準のIL-17及びIFN-の両方を発現した。Th17表現型への極性化の後、IL-17産生細胞の数はほぼ2倍になったのに対し、IFN-産生細胞の数は検出不可能に近かった。しかしながら、IL-17産生細胞の頻度もまた、未刺激の培養において増加した(一方、IFN-産生細胞は低いままであった)。

【図8】図8Aは、AQP4のループCペプチドに対して免疫されたAQP4ヌルマウスに由来するT細胞の養子静脈内移植の行動評価を提供する。行動スコアは、神経障害の程度を点数化する5ポイントのEAEスケールである(0は障害無し、5は死亡)。培養したAQP4再刺激、Th17極性化AQP4应答性T細胞によって養子移植された野生型マウス(三角)は、尾及び後肢の脱力を発現させた(EAEスコア1.0~2.0、n=4)。AQP4ペプチドによって再刺激されなかった(四角、n=5)、又は非特異的タンパク質で刺激された(円、n=6)AQP4应答性T細胞の移植は、行動表現型を示さなかった。図8Bは、毎日の体重を示し、Th17極性化AQP4应答性の及びAQP4再刺激したT細胞(三角)を受けたマウスにおいては典型的な体重減少を実証したが、未刺激の(円)又は非AQP4特異的再刺激T細胞(四角)を受けたマウスにおいては体重減少は示されなかった。

【図9】図9A~図9Lは、非極性化AQP4应答性T細胞を受けた野生型マウスに由来する組織(図9A、図9D、図9G、図9J)対Th17極性化AQP4应答性T細胞を受けた野生型マウスに由来する組織(図9B、図9C、図9E、図9F、図9H、図9I、図9K、図9L)の組織学を示す。図9Aは、CD3+T細胞に対して染色された脊髄実質が、図9Bと比較して稀な散在性細胞(矢印)を示したことを示す。図9Bは、著しい血管周囲のCD3+T細胞浸潤を示した、Th17極性化AQP4应答性T細胞の野生型レシピエントに由来する脊髄切片である。図9Cは、白質神経線維束(周囲)内の脱髄領域(濃淡領域の矢印)は炎症性病変内で明らかであったことを示す。図9Dは、CD3+T細胞に対して染色された視神経の縦断切片が、図9Eと比較して稀な散在性細胞(矢印)を示したことを示す。図9Eは、著しい血管周囲のCD3+T細胞浸潤(矢印)を示したTh17-極性化AQP4应答性T細胞の野生型レシピエントに由来する視神経切片である。図9Fは、白質神経線維束(周辺)内の脱髄領域(濃淡を指す矢印)は炎症性病変内で明らかであったことを示す。図9Gは、図9Hと比較して、CD3+T細胞に対して染色された脳実質は稀な散在性細胞(矢印)を示したことを示す。図9Hは、第3脳室周辺のこの病変のように(矢印)著しいCD3+T細胞浸潤を実証したTh17極性化AQP4应答性T細胞の野生型レシピエントに由来する脳切片を示す。図9Iは、AQP4应答性T細胞が、広範な炎症及び脱髄にもかかわらず(脊髄由来の代表的な切片を示す)、病変又は正常な外見の脊髄、視神経若しくは脳のいずれにおいてもAQP4染色を変更しないようであった。図9Jは、実質臓器におけるAQP4の発現にもかかわらず、稀なAQP4应答性CD3+T細胞は、非極性化及びTh-17極性化の野生型レシピエントの両方においてこれらの臓器全体に点在して現れたことを示す。非極性化に由来する肺はCD3+細胞を指す矢印と共にここに示される。図9Kは、場合によってCD3+細胞(矢印)を含む正常な肺を示したTh17極性化レシピエントに由来する肺切片を示す。図9Lは、Th17極性化マウスに由来する筋肉は炎症の証拠を示さなかったことを示す(

10

20

30

40

50

矢印は稀なCD3+T細胞を示す)。

【図10】Th17極性化AQP4応答性T細胞の野生型レシピエントの脊髄(n=8)、視神経(n=6)、及び脳(n=8)におけるCD3細胞の盲検定量(blinded quantification)が、非極性化マウスに対するものと比較してこれらの組織において5倍超の免疫反応性(**p<0.01)を実証したことを示す。

【発明を実施するための形態】

【0042】

本発明は、部分的には、特有のアクアポリン-4ペプチド(ループC)の同定、及び特に、AQP4ノックアウトマウスにおいてT細胞産生を誘発することができる配列番号8のループC配列含有ペプチドに関する。この予想外で以前には知られていなかった観察結果は、視神経脊髄炎(NMO)の治療及び/又は改善に対する抗原に基づくペプチド薬デザインの基礎を形成する。したがって、本発明はNMOを有する個体における免疫化及び/又は耐性の誘導に対する医薬組成物に関する。さらに、本発明は、被験体に治療的有効量のループC及び/又はループC配列含有ペプチド、又は治療的に有効なその変異体及び/又はフラグメントを投与する又はそれらで免疫することによってNMO患者を治療する及び/又は免疫する方法に関する。治療は、任意にリツキシマブ等の薬物による免疫抑制状況下で行われてもよく、単剤療法として行われてもよい。投与は、経口、静脈内、皮下、又は動脈内を含む任意の好適な手段によってもよい。また、免疫化は、ループC及び/又はループC配列含有ペプチドをコードする核酸分子を使用することによって検討される。したがって、本発明は、ループC及び/又はループC配列含有ペプチドをコードする核酸分子にも関し、またかかる分子が個体において抗原を提示するようにかかる分子を投与するための製剤及び医薬組成物に関する。

10

20

【0043】

実施例に記載されるように、視神経脊髄炎(NMO)の正確な動物モデルを作製することを目的として、本発明者らは、AQP4の様々な細胞外ペプチドで免疫されたアクアポリン-4(AQP4)ノックアウトマウスが、AQP4の第2の細胞外ループであるループCに対応する単一のペプチドに活発に应答し、配列番号8のループC配列含有ペプチドに対して顕著に应答したことを見出した。AQP4ノックアウトマウスがAQP4の標的を欠くことから、これらのマウスにおいてはこれらのT細胞は疾患を引き起こさなかった。しかしながら、野生型マウスに養子移植された場合、これらのAQP4応答性T細胞は、症候的な視神経炎及び横断性脊髄炎を引き起こした。これらの結果は、ループC、特に配列番号8のループC配列含有ペプチドが、C57BL/6マウス上のAQP4ノックアウトにおけるT細胞应答の誘発においてAQP4ペプチドのうち独特であり、野生型C57BL/6マウスにおける脊髄及び視神経の炎症攻撃を開始可能であったという観察結果を強調した。脊髄及び神経組織の病理学的評価は、軽度の神経症状をもたらすリンパ球との口バスタな髄膜反応を識別した。これらの細胞をTh17表現型に対して極性化した場合、得られた表現型は、ヒトNMOに類似するパターンの視神経及び脊髄の実質組織を含むより重篤な炎症反応であった。この研究の意義は、主に視神経及び脊髄に対する炎症の誘発及び局在化の両方におけるNMOのAQP4応答性T細胞の中樞免疫病原性の役割を指摘し、それによりNMOを治療するための新たな標的が同定された。理論に束縛されることを望むものではないが、自己応答性T細胞と抗体应答の両方を賦活する条件下で、ループCに対応するペプチド及び/又はAQP4の配列番号8等のループC配列含有ペプチド、又はそのフラグメント、変異体若しくは誘導体に易罹患性の人を暴露することによって治療してもよい。AQP4に対するTh17应答は、実施例で実証されるようにより劇症型の疾患を引き起こす可能性がある。AQP4応答性T細胞が視神経及び脊髄に対する炎症を誘発すると、抗AQP4は、補体活性化及び顆粒球動員をおこなうことによって病態を悪化させる。このモデルは、NMOに対する新たな治療ターゲットを同定する。特異性の高い抗原(AQP4)及び抗体应答(抗AQP4)を有し、現在AQP4応答性T細胞と関連する可能性のある疾患であることから、NMOを本発明による抗原特異的療法によって治療及び/又は改善することができる。耐性应答を誘導するため、高用量の可溶性ル

30

40

50

ープC及び/又はループC配列含有ペプチドを、現在NMOの治療に一般的に使用されるリツキシマブ等の薬物による免疫抑制の状況下で患者に提供してもよい。基礎疾患がある場合、粘膜耐性を達成するための経口経路は、疾患の増悪を回避するためおそらく最も安全性の高いアプローチの可能性がある。AQP4応答性T細胞によって媒介される疾患活性は、AQP4のループC及び/又はループC配列含有ペプチドによる先の免疫により軽減され得る。したがって、本発明は、NMOの治療に対する抗原媒介寛容原性アプローチに関する。免疫抑制の状況下又は単剤療法としてのいずれかにおいて、経口的に、静脈内的に又は皮下で送達される非常に可溶性のループC及び/又はループC配列含有ペプチドを使用することにより、ヒトにおけるNMO病が改善される。

【0044】

以下は、本発明の実施において当業者を補助するために提供される本発明の詳細な説明である。当業者は、本発明の趣旨又は範囲から逸脱することなく本明細書に記載される実施形態において修正及び変化を行ってもよい。別段の規定がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野における当業者の一人によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書では本発明の説明において使用される専門用語は、特定の実施形態を説明するためであり、本発明の限定を意図するものではない。本明細書において言及される全ての出版物、特許出願、特許、数字、及び他の参照文献は、それらの全体において参照により明確に援用される。

【0045】

本明細書に記載されるものに類似又は等価な任意の方法及び材料が本発明の実施又は試験において使用されてもよいが、ここでは好ましい方法及び材料が記載される。本明細書において言及される全ての出版物は、引用される出版物との関連で方法及び/又は材料を開示及び記載するため参照により本明細書に援用される。

【0046】

定義

別段の規定がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野における当業者の一人によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。その開示全体が参照により本明細書に援用される、以下の参照文献は、本発明で使用される多くの用語の一般的な定義（本明細書で別段の定義がない限り）を当業者に提供する：Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (2nd ed., 1994); The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988); The Glossary of Genetics, 5th Ed., R. Rieger et al. (eds.), Springer Verlag (1991); 及びHale & Marham, the Harper Collins Dictionary of Biology (1991)。一般的には、本明細書に記載される又は本明細書に固有の分子生物学の手法等は、当該技術分野において使用される一般的な方法である。かかる標準的な技術は、例えば、Sambrook et al., (2000, Molecular Cloning - A Laboratory Manual, Third Edition, Cold Spring Harbor Laboratories); 及びAusubel et al., (1994, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New-York)等の参照マニュアルに見ることができる。

【0047】

以下の用語は、別段の明示がない限り、以下に帰する意味を有する場合がある。しかしながら、当業者によって知られ又は理解される他の意味もまた可能であり、本発明の範囲に含まれることが理解されるべきである。本明細書において言及される全ての出版物、特許出願、及び他の参照文献は、それらの全体が参照により援用される。抵触する場合、定義を含む本明細書が優先される。さらに、材料、方法及び実施例は解説に過ぎず、限定を

10

20

30

40

50

意図するものではない。

【0048】

本明細書で使用される単数形「1つの(a)」及び「その(the)」は、記載内容が明確に別段の規定をしない限り、複数の参照を含む。本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、同じ意味を有する。

【0049】

具体的に述べられ又は記載内容から明確でない限り、本明細書で使用される「約」の用語は、当該技術分野における一般公差の範囲、例えば平均の2標準偏差以内に含まれると理解される。約は、標準値の10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%、又は0.01%以内と理解される。記載内容から別段明らかでない限り、本明細書に提供される全ての数値は約の用語により修飾され得る。

10

【0050】

本明細書で使用される「抗原」の用語は、被験体において抗体応答を惹起するか、又は抗体によって認識され結合される分子、例えばペプチド、ポリペプチド、タンパク質、フラグメント、又は他の生物学的部分、例えば配列番号6のループCペプチド(すなわち、AQP4のループC細胞外ドメイン)を指す。

【0051】

本明細書で使用される「バイオマーカー」の用語は、生体の生理学的状態を定量的又は定性的な方式で反映する計量可能な性質を意味すると理解される。生体の生理学的状態は、任意の疾患又は非疾患の状態、例えばNMOを有する被験体、或いは健康な被験体を含める。前記別の方法では、バイオマーカーは、治療的介入に対する正常なプロセス、病的プロセス又は薬理学的応答の指標として客観的に測定され評価され得る性質である。バイオマーカーは、臨床パラメーター(例えば、年齢、全身状態)、実験用基準(例えば、前立腺特異的抗原等の分子バイオマーカー)、画像化に基づく基準、又はタンパク質マーカーのリン酸化若しくはアセチル化状態、核酸のメチル化状態、又は生体分子に対する任意の他の検出可能な分子修飾等の遺伝学的若しくは他の分子の決定要因であってもよい。バイオマーカーの例として、例えば、ポリペプチド、ペプチド、ポリペプチドフラグメント、タンパク質、抗体、ホルモン、ポリヌクレオチド、RNA又はRNAフラグメント、マイクロRNA(miRNA)、脂質、多糖、及び他の生体代謝産物が挙げられる。

20

30

【0052】

本発明のバイオマーカーは、第2の表現型(例えば疾患を有しない、例えば対照)の被験体又は被験体群に由来する生体試料と比較して、第1の表現型を有する(例えば、疾患を有する)被験体又は被験体群に由来する生体試料において調節される(例えば、レベルの減少又は増加)。バイオマーカーは、任意のレベルにおいて差次的に提示され得るが、一般的には、正常レベル若しくは対照レベルと比較して少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも110%、少なくとも120%、少なくとも130%、少なくとも140%、少なくとも150%、又は以上増加したレベルで存在するか、又は一般的には、正常レベル若しくは対照レベルと比較して少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは100%(すなわち、不在)減少したレベルで存在する。バイオマーカーは、統計学的に有意なレベルで(例えば、ウェルチのt検定又はウィルコクソン順位和検定のいずれかを使用して特定される0.05未満のp値及び/又は0.10未満のq値)差次的に存在することが好ま

40

50

しい。

【0053】

本明細書で使用される「生検」又は「生検組織」の用語は、その試料が疾患組織を含有するかどうかを特定する目的で被験体から摘除される組織の試料（例えば、NMO病変）を指す。その後、生検組織を疾患の存在又は不在について調べる（例えば、顕微鏡により）。

【0054】

本明細書で使用される「相補的」の用語は、2つの核酸鎖の領域間、又は同じ核酸鎖の2つの領域間の幅広い概念の配列相補性を指す。第1の核酸領域のアデニン残基は、その残基がチミン又はウラシルである場合に第1の領域に逆平衡である、第2の核酸領域の残基と特異的な水素結合（「塩基対合」）を形成することができる。同様に、第1の核酸鎖のシトシン残基は、その残基がグアニンである場合に第1の鎖に逆平衡である第2の核酸鎖の残基と塩基対合が可能であることが知られている。核酸の第1領域は、2つの領域が逆平衡様式で配置されるときに、第1の領域の少なくとも1つのヌクレオチド残基が第2の領域の残基と塩基対合が可能である場合、同じ又は異なる核酸の第2の領域に相補的である。第1の領域は第1の部分を含み、第2の領域は第2の部分を含むことによって、第1及び第2の部分は逆平衡様式で配置され、少なくとも約50%、好ましくは少なくとも75%、少なくとも約90%、又は少なくとも約95%の第1の部分のヌクレオチド残基が第2の部分のヌクレオチド残基と塩基対合可能であることが好ましい。第1の部分の全てのヌクレオチド残基は、第2の部分のヌクレオチド残基と塩基対合可能であることがより好ましい。

10

20

【0055】

本明細書で使用される「対照試料」の用語は、例えば、NMOに冒されていない健康な被験体に由来する試料、又はより初期の時間点、例えば治療前、より初期の薬物評価の時間点、治療のより初期段階の被験体に由来する試料を含む、任意の臨床上関連のある比較試料を指す。対照試料は、キットにより提供される精製された試料、タンパク質、及び/又は核酸であってもよい。かかる対照試料は、試験試料における分析物、例えばマーカーのレベルの定量的測定を可能とするため、例えば希釈系列に希釈されてもよい。対照試料は、1又は複数の被験体に由来する試料を含んでもよい。また、対照試料は、評価される被験体からより初期の時間点で作製された試料であってもよい。例えば、対照試料は、腫瘍学的な障害、例えば前立腺がんの発病前、疾患のより初期段階、又は治療若しくは一部の治療の投与前に評価される被験体から採取された試料であってもよい。また、対照試料は、動物モデルに由来する、又は神経障害、例えばNMOの動物モデルに由来する組織若しくは細胞株に由来する試料であってもよい。対照試料における1又は複数のマーカー（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8又は9以上のマーカー）の活性又は発現のレベルは、例えば平均、中央値、又はモデル値を含む中心傾向の基準等の、例えば任意の適当な統計学的測定に基づいて、決定されてもよい一群の測定からなる。対照との相違は、対照からの統計学的に有意な相違であることが好ましい。

30

【0056】

本明細書で使用される「検出すること (detecting)」、「検出 (detection)」、「決定すること、特定すること (determining)」等は、本発明の遺伝子、タンパク質、又はペプチドの同定に対して行われるアッセイを指すと理解される。

40

【0057】

本明細書で使用される「DNA」又は「RNA」の分子又は配列の用語（また同様に、「オリゴヌクレオチド」の用語の場合がある）は、一般的にはアデニン（A）、グアニン（G）、チミン（T）及び/又はシトシン（C）のデオキシリボヌクレオチドで構成される分子を指す。「RNA」では、Tはウラシル（U）で置き換えられる。

【0058】

「障害」、「疾患」、及び「異常な状態」の用語は、包括的に使用され、身体の任意の

50

部分、臓器、又は器官（又はそれらの任意の組み合わせ）の正常な構造又は機能からの任意の逸脱を指す。具体的な疾患は、生物学的、化学的及び物理的な変化を含む特徴的な症状及び兆候によって明らかになり、しばしば、限定されないが、人工統計学、環境、使用（employment）、遺伝学、及び病歴の要因を含む様々な他の要因と関連する。特定の特徴的な兆候、症状、及び関連する要因は、重要な診断情報を得るため様々な方法によって定量化され得る。本明細書で使用される、障害、疾患、又は異常な状態は、良性前立腺肥大及びがん、特に前立腺がんを含む異常な前立腺の状態である。

【0059】

本明細書で使用される「発現」の用語は、DNAからポリペプチドが産生される、例えばループCペプチドがそれをコードする核酸分子から発現される、プロセスを意味する。該プロセスは、遺伝子のmRNAへの転写及びこのmRNAのポリペプチドへの翻訳を含む。使用される記載内容に応じて、「発現」は、RNA若しくはタンパク質、又は両方の産生を指す場合がある。

10

【0060】

本明細書で使用される、「核酸ハイブリダイゼーション」におけるように「ハイブリダイゼーション」の用語は、一般的には、適切な条件下で熱力学的に好都合な二本鎖構造を形成する、相補塩基配列を有する2つの一本鎖核酸分子のハイブリダイゼーションを指す。ハイブリダイゼーション条件の例を、上に参照される2つの実験室マニュアルに見ることができ（前出の Sambrook et al., 2000、及び前出の Ausubel et al., 1994、又はさらには Higgins and Hames (Eds.) 「Nucleic acid hybridization, a practical approach」 IRL Press Oxford, Washington D.C., (1985)）、当該技術分野で一般的に知られている。ニトロセルロース膜（又はナイロンのような他のかかる支持体）へのハイブリダイゼーションの場合、例えばよく知られたサザンブロッティング手法では、ニトロセルロース膜を典型的な所望のストリンジェンシー条件の温度（高ストリンジェンシーに対して60 ~ 65、中程度のストリンジェンシーに対して50 ~ 60、及び低ストリンジェンシーに対して40 ~ 45）で高塩濃度（6xSSC又は5xSSPE）、5xデンハルト溶液、0.5% SDS、及び100 µg/ml 変性担体DNA（例えば、サケ精子DNA）を含有する溶液中で標識化したプローブと共に一晩インキュベートしてもよい。その後、非特異的に結合するプローブを所望のストリンジェンシーを考慮して選択された温度、すなわち室温（低ストリンジェンシー）、42（中ストリンジェンシー）、又は65（高ストリンジェンシー）で0.2xSSC/0.1% SDS中で何回か洗浄することによってフィルタから洗い流すことができる。また、洗浄溶液の塩及びSDS濃度を、所望のストリンジェンシーに適應するように調整してもよい。選択された温度及び塩濃度は、DNAハイブリッドの溶融温度（ T_m ）に基づく。もちろん、RNA-DNAハイブリッドも形成され、検出され得る。かかる場合では、ハイブリダイゼーション及び洗浄の条件を当業者によってよく知られた方法に従い適合してもよい。ストリンジェントな条件を使用してもよい（前出の Sambrook et al., 2000）。種々のアニーリング溶液及び洗浄溶液を使用する他のプロトコル又は商業的に入手可能なハイブリダイゼーションキット（例えば、BD Biosciences Clontech製の ExpressHyb（登録商標））もまた当該技術分野でよく知られるように使用可能である。よく知られているように、プローブの長さ及び特定される核酸の組成は、ハイブリダイゼーション条件の更なるパラメーターを構成する。上の条件における変化は、ハイブリダイゼーション実験におけるバックグラウンドの抑制に使用される交互のブロッキング試薬の包含及び/又は置換によってなされ得ることに留意されたい。典型的なブロッキング試薬として、デンハルト試薬、BLOTT0、ヘパリン、変性サケ精子DNA、及び商業的に入手可能な独自製剤（proprietary formulations）が挙げられる。特定のブロッキング試薬の包含は、適合性による問題のため、上に記載されるハイブリダイゼーション条件の修正を必要とする場合がある。また、核酸分子をハイブリダイズすることは、上

20

30

40

50

に記載される分子のフラグメントを含む。さらに、上述の核酸分子のいずれかとハイブリダイズする核酸分子もまた、これらの分子の相補フラグメント、誘導体及びアレル変異体を含む。さらに、ハイブリダイゼーション複合体は、相補的なG塩基及びC塩基の間、並びに相補的なA塩基及びT塩基の間の水素結合の形成による2つの核酸配列間の複合体を指し、これらの水素結合は塩基スタッキング相互作用によってさらに安定化されてもよい。逆平衡配置の2つの相補的核酸配列水素結合。ハイブリダイゼーション複合体は溶液中で形成されてもよく（例えば、C o t分析又はR o t分析）、又は溶液中に存在する1つの核酸配列と固体支持体（例えば、それに対して例えば細胞が固定化された、メンブレン、フィルタ、チップ、ピン又はガラススライド）上に固定化された別の核酸配列との間で形成されてもよい。

10

【0061】

2以上の核酸又はアミノ酸の配列の記載において本明細書で使用される「同一」又は「パーセント同一性」の用語は、比較のウィンドウに対して、又は当該技術分野で知られている配列比較アルゴリズムを使用して測定される指定の領域に対して最大の一致について比較及び整列させた場合に、又は手作業の整列及び目視検査によって、同じであるか、又は明示されたパーセンテージのアミノ酸残基若しくは同じヌクレオチド（例えば、60%又は65%同一性、好ましくは70%~95%同一性、より好ましくは少なくとも95%の同一性）を有する、2以上の配列若しくはサブシーケンスを指す。例えば、60%~95%以上の配列同一性を有する配列は、実質的に同一であるとされる。また、かかる定義は、試験配列の相補体に対しても適用される。記載される同一性は、少なくとも約15~25の長さのアミノ酸又はヌクレオチドの領域に亘って存在することが好ましく、より好ましくは約50~100の長さのアミノ酸又はヌクレオチドの領域に亘って存在する。当業者は、例えば、当該技術分野で知られているCLUSTALWコンピュータプログラム（Thompson Nucl. Acids Res. 2 (1994), 4673-4680）又はFASTDB（Brutlag Comp. App. Biosci. 6 (1990), 237-245）等に基づくようなアルゴリズムを使用して配列間（between）/配列間（among）のパーセント同一性を如何にして決定するかわかる。FASTDBアルゴリズムは典型的には配列中の内部非マッチング欠損若しくは付加、すなわちギャップを考慮しないが、その計算では、これは%同一性の過大評価を回避するため手作業で補正され得る。しかしながら、CLUSTALWは、その同一性計算に配列ギャップを考慮に入れる。また、BLAST及びBLAST 2.0アルゴリズム（Altschul Nucl. Acids Res. 25 (1977), 3389-3402）が当業者に利用可能である。核酸配列に対するBLASTNプログラムは、デフォルトとして11のワード長（W）、10の予測（E）、M=5、N=4、及び両方の鎖の比較を使用する。アミノ酸配列に対して、BLASTPプログラムは、デフォルトとして3のワード長（W）、10の予測（E）を使用する。BLOSUM62スコアリングマトリクス（Henikoff Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 89, (1989), 10915）は、50のアラインメント（B）、10の予測（E）、M=5、N=4、及び両方の鎖の比較を使用する。またさらに、本発明は、その配列が上に記載されるハイブリダイズする分子の配列との比較で変性される核酸分子に関する。本発明により使用される場合、「遺伝情報の結果変性した」の用語は、遺伝情報の冗長性に起因する、同じアミノ酸をコードする異なるヌクレオチド配列を意味する。また、本発明は、1又は複数の変異又は欠失を含む核酸分子、及び（1つの）変異（複数の場合がある）若しくは（1つの）欠失（複数の場合がある）を示す、本明細書に記載される核酸分子の1つにハイブリダイズする核酸分子を指す。

20

30

40

【0062】

「調節」の用語は、応答（例えば、マーカーの発現レベル）の増加（すなわち、活性化又は賦活化）、減少（すなわち、阻害又は抑制）、又は2つの組み合わせを指すか、又は2つを別々に指す。「調節因子」は、調節する化合物又は分子であり、例えばアゴニスト、アンタゴニスト、活性化因子、刺激因子、抑制因子、又は阻害因子であってもよい。

50

【0063】

本明細書で使用される「核酸分子」又は「ポリヌクレオチド」は、ヌクレオチドのポリマーを指す。それらの非限定的な例として、例えば配列番号6のループCペプチドをコードする、DNA（例えば、ゲノムDNA、cDNA）、RNA分子（例えば、mRNA）及びそれらのキメラが挙げられる。核酸分子は、クローニング技術又は合成によって得られてもよい。DNAは、二本鎖であっても一本鎖（コーディング鎖又は非コーディング鎖〔アンチセンス〕）であってもよい。従来のリボ核酸（RNA）及びデオキシリボ核酸（DNA）は、「核酸」及びそれらのアナログとしてのポリヌクレオチドの用語に含まれる。核酸骨格は、1又は複数の糖-ホスホジエステル結合、ペプチド核酸結合（「ペプチド核酸」（PNA）と呼ばれる；Hydlig-Hielsens et al., PCT国際特許出願公開第95/32305号）、ホスホロチオエート結合、メチルホスフェート結合、又はそれらの組み合わせを含む、当該技術分野で既知の様々な結合を含んでもよい。核酸の糖部分は、リボース若しくはデオキシリボース、又は既知の置換を有する同様の化合物、例えば、2'メトキシ置換（2'-O-メチルリボフラノシル部分；国際特許出願公開第98/02582号を参照されたい）及び/又は2'ハロゲン化物置換であってもよい。窒素塩基は従来の塩基（A、G、C、T、U）、それらの既知のアナログ（例えば、イノシン又はその他；The Biochemistry of the Nucleic Acids 5-36, Adams et al., ed., 11th ed., 1992を参照されたい）、又はプリン塩基若しくはピリミジン塩基の既知の誘導体（Cook、国際特許出願公開第93/13121号を参照されたい）であってもよく、又はその骨格が1若しくは複数の残基について窒素塩基を含まない「脱塩基の」残基であってもよい（Arnold et al., 米国特許第5,585,481号）。核酸は、RNA及びDNAに見られる従来の糖、塩基及び結合のみを含んでもよく、又は従来の構成成分と置換の両方（例えば、メトキシ骨格によって連結された従来の塩基、又は従来の塩基及び1若しくは複数の塩基アナログを含む核酸）を含んでもよい。一般的に理解され、本明細書で使用される「単離された」核酸分子は、ヌクレオチドのポリマーを指し、限定されるべきではないがDNA及びRNAを含む。「単離された」核酸分子は、天然の *in vivo* 状態から精製されるか、クローニングによって得られるか、又は化学的に合成される。

10

20

30

【0064】

本明細書で使用される「得ること（obtaining）」の用語は、本明細書では製造すること、購入すること、或いは入手することとして理解される。

【0065】

本明細書で使用される「オリゴヌクレオチド」又は「オリゴ」は、2以上のヌクレオチド（リボヌクレオチド、又はデオキシリボヌクレオチド）を有する分子を定義する。オリゴの大きさは、特定の状況及び最終的にはその特定の使用によって規定され、したがって当業者によって適合される。オリゴヌクレオチドを化学的に合成してもよく、又はよく知られる方法に従ってクローニングによって得てもよい。オリゴヌクレオチドは通常一本鎖形態であるが、二本鎖形態であってもよく、さらに「調節領域」を含んでもよい。オリゴヌクレオチドは、天然の希少な、又は合成のヌクレオチドを含んでもよい。オリゴヌクレオチドは、例えば安定性のような選択された基準を増強するように設計されてもよい。デオキシリボヌクレオチド及びリボヌクレオチドのキメラもまた、本発明の範囲に含まれる場合がある。

40

【0066】

本明細書で使用される「1又は複数」は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10の各値及び10より大きい任意の値と理解される。

【0067】

「又は」の用語は、別段の明らかな指示がない限り、「及び/又は」の用語をここに含むことを意味して使用され、その用語と互換的に使用される。例えば、本明細書で使用されるフィラミンB又はLY9は、フィラミンB単独、LY9単独、及びフィラミンBとL

50

Y 9 の組み合わせを含むと理解される。

【 0 0 6 8 】

本明細書で使用される「患者」又は「被験体」は、ヒト又は非ヒト動物のいずれかを意味する場合があります、好ましくは障害、例えば NMO を有する哺乳動物を意味することが好ましい。「被験体」は、ウマ、イヌ、ネコ、ブタ、ヤギ、ヒツジ、ハムスター、サル、モルモット、ラット、マウス、トカゲ、ヘビ、ヒツジ、ウシ、魚、及び鳥を含む任意の動物を意味する。ヒト被験体は、患者と呼ばれる場合がある。本明細書に記載される臨床所見はヒト被験体を用いて行われ、少なくとも幾つかの実施形態では被験体はヒトである。

【 0 0 6 9 】

本明細書で使用される「予防的」又は「治療的」処置は、所望の臨床効果を提供するための 1 若しくは複数の薬剤の被験体への投与又は介入を指す。望ましくない状態（例えば、疾患、又は他の望ましくない宿主動物の状態）の臨床所見に先立って投与される場合であれば、その処置は予防的であり、すなわち、望ましくない状態の少なくとも 1 つの兆候又は症状の発症に対して宿主を保護し、一方、望ましくない状態の所見後に投与される場合、その処置は治療的である（すなわち、既存の望ましくない状態又はそれによる副作用の少なくとも 1 つの兆候又は症状を減少、改善、又は維持することが意図される）。

10

【 0 0 7 0 】

抗体とタンパク質又はペプチドとの相互作用を参照して使用される場合、本明細書で使用される「特異的結合」又は「特異的に結合している」の文言は、その相互作用がタンパク質上の特定の構造（すなわち、抗原決定基又はエピトープ）の存在に依存することを意味し、言い換えれば、抗体は一般的なタンパク質ではなく特異的なタンパク質の構造を認識し、結合している。例えば、抗体がエピトープ「A」に対して特異的である場合、標識化された「A」及び抗体を含む反応においてエピトープ A（又は遊離の、標識化されていない A）を含むタンパク質の存在は、抗体に結合した標識化 A の量を減少する。

20

【 0 0 7 1 】

「等」の用語は、「限定されないが、...等」の文言を意味し、それと互換的に使用される。

【 0 0 7 2 】

「治療的効果」の用語は、薬理的に活性な物質によってもたらされる、動物特に哺乳動物、特にヒトの局所的又は全身的な効果を指す。したがって、その用語は、疾患の診断、治癒、緩和、治療若しくは予防における、又は動物若しくは人における所望の生理学的若しくは精神的な発達及び状態の増強における使用が意図される任意の物質を意味する。治療的効果は、腫瘍成長の減少、腫瘍成長速度の減少、腫瘍量の安定化若しくは減少、腫瘍サイズの安定化若しくは減少、腫瘍悪性度の安定化若しくは減少、腫瘍アポトーシスの増加、及び / 又は腫瘍血管新生の減少として理解され得る。

30

【 0 0 7 3 】

本明細書で使用される「治療的有効量」は、疾患の治療のため患者に投与された場合、その疾患に対するかかる治療をもたらすのに十分な化合物の量を意味し、例えば、任意の治療に適用可能な合理的な利益 / リスク率で幾つかの望ましい局所的又は全身的な効果を生じるかかる物質の量、例えば、疾患の少なくとも 1 つの兆候又は症状を改善するのに十分な量、例えば、疾患又は状態の進行を阻止する量、例えば、NMO 病変の進行を阻止するか、又は NMO を全体的に改善する量を意味する。疾患の予防のため投与された場合、その量は、疾患の発症を回避又は遅延するのに十分である。「治療的有効量」は、化合物、その治療インデックス、可溶性、疾患及びその重症度、並びに治療される患者の年齢、体重等によって変化する。例えば、本発明の方法によって発見された特定の化合物は、かかる治療に対して適用可能な合理的な利益 / リスク率をもたらすのに十分な量で投与され得る。治療的有効量の化合物の投与は、2 用量以上の化合物の投与を必要とする場合がある。

40

【 0 0 7 4 】

「転写されたポリヌクレオチド」又は「ヌクレオチド転写産物」は、本発明のマーカー

50

の、また存在する場合は、RNA転写産物、及びRNA転写産物の逆転写産物の転写、及び正常な翻訳後修飾（例えば、スプライシング）によって作製された成熟したmRNA、の全て又は一部に対して相補的であるか、又はそれと高いパーセント同一性（例えば少なくとも80%同一性）を有するポリヌクレオチド（例えば、mRNA、hnRNA、cDNA、又はかかるRNA若しくはcDNAのアナログ）である。

【0075】

「抗原性フラグメント」等は、被験体において免疫応答を誘導することができる、又は自己免疫疾患、特に抗原がAQP-4に由来する場合、特にNMOを有する又は有することが疑われる被験体に存在する自己抗体によって結合され得るペプチドの少なくともその一部（例えば、ループCペプチド）と理解される。上記ペプチドは、正常な（例えば、自己免疫疾患のない）被験体における免疫応答を誘導することができない場合があると理解される。しかしながら、かかる抗原は、自己抗原として上記ペプチドを認識しない、又は抗原が自己と認識されないような免疫不全を有する動物における免疫応答を促進することができる。典型的には抗原性フラグメントは、少なくとも7アミノ酸の長さである。さらに、自己抗原に対する共通するエピトープがマッピングされ、本明細書に提示される組成物及び方法において抗原性フラグメントとして使用される。抗原性フラグメントは、N末端若しくはC末端、又は両方からのアミノ酸の欠失を含んでもよい。例えば、フラグメントの開始長さに応じて、活性なフラグメントは、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200又はそれ以上のアミノ酸のN末端及び/C末端の欠失を有してもよい。また、抗原性フラグメントは、同じ例示的長さの1又は複数の内部欠失を含んでもよい。また、抗原性フラグメントは、1又は複数の点突然変異、特に保存的突然変異を含んでもよい。酵素の少なくとも1つの抗原性フラグメントは、抗原の全長の野生型配列を含んでもよい。

10

20

【0076】

本明細書で使用される「キット」は、使用のための指示書を備えてもよい、適当な包装において本発明の方法における使用のための少なくとも1つの非標準的な実験試薬を備えると理解される。キットは、乾燥粉末、濃縮溶液又は既製の溶液といった本発明の方法の実施に必要な任意の他の構成成分をさらに備えてもよい。或る実施形態では、キットは、本発明の方法における使用のための試薬を含む1又は複数の容器を備え、かかる容器は、箱、アンプル、瓶、バイアル、管、袋、パウチ、プリスターパック、又は当該技術分野で知られている他の好適な容器の形態であってもよい。かかる容器は、プラスチック、ガラス、ラミネート紙、金属箔、又は試薬を保持するのに適した他の材料で作製されてもよい。

30

【0077】

本明細書で使用される「ポリペプチド」又は「ペプチド」は、共有結合（例えばペプチド結合）によって結合された2以上の独立して選択された天然又は非天然のアミノ酸と理解される。ペプチドは、ペプチド結合によって結合された2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20又はそれ以上の天然又は非天然のアミノ酸を含んでもよい。本明細書に記載されるポリペプチドは、全長タンパク質（例えば、完全にプロセシングされたタンパク質）、また同様により短いアミノ酸配列（例えば、天然のタンパク質のフラグメント又は合成ポリペプチドフラグメント）を含む。

40

【0078】

「感度及び特異性」は、二項分類試験の成績の統計学的尺度である。感度（或る分野では再現率とも呼ばれる）は、それ自体が正確に同定される実際の陽性の割合（例えば、その状態を有すると同定される病気の人々のパーセンテージ）を測定し、特異性は、正確に同定された陰性の割合（例えば、その状態を有しないと同定される健康な人々のパーセンテージ）を測定する。感度と特異性はI型及びII型のエラーの概念と密接に関連する。

50

理論的に最適な予測は、100%感受性（すなわち、病気群に由来する全ての人々を病気と予測する）及び100%特異性（すなわち、健康群に由来する人を誰も予測しない）を達成し得る。

概念は以下の通り数学的に表される：

感度 = 真の陽性の数 / 真の陽性の数 + 偽陰性の数

特異性 = 真の陰性の数 / 真の陰性の数 + 疑陽性の数

本明細書に提示される範囲は、その範囲に含まれる全ての値に対する省略標記であると理解される。例えば、1～50の範囲は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、又は50からなる群に由来する任意の数字、数字の組み合わせ、又は部分範囲を含むと理解される。

10

【0079】

ここに、本発明の例示的实施形態に対して詳細な参照が行われる。本発明は、例示的实施形態と併せて記載されるが、本発明をそれらの実施形態に限定することを意図するものではないことを理解される。対照的に、添付の特許請求の範囲に規定されるように、本発明の趣旨及び範囲に含まれ得る代替物、修飾、及び等価物を包含することが意図される。

【0080】

ペプチド及びそれをコードする核酸

様々な実施例では、本発明の組成物、方法、及びキットは、AQP4ペプチド、特に全長タンパク質の細胞外ループ領域に対応するペプチド、すなわちループCペプチド（配列番号6）及び/又はループC配列含有ペプチド（配列番号8）を含んでもよい。また、他の実施形態では、本発明の組成物、方法、及びキットは、例えばループAペプチド（配列番号5）及びループEペプチド（配列番号7）を含むAQP4の他のペプチドを含んでもよい。

20

【0081】

さらに他の実施形態では、本発明の組成物、方法、及びキットは、AQP4ペプチド、特に全長タンパク質の細胞外ループ領域に対応するペプチド、すなわちループC配列含有ペプチド（配列番号8）をコードする核酸分子を含んでもよい。また、他の実施形態では、本発明の組成物、方法、及びキットは、例えば、ループAペプチド（配列番号5）及びループEペプチド（配列番号7）を含む、AQP4の他のペプチドをコードする核酸分子を含んでもよい。

30

【0082】

NMOを有する個体を免疫及び/又は治療するため、ペプチド及びコードする核酸分子を本発明の様々な方法で使用してもよい。

【0083】

したがって、或る一つの態様では、本明細書は、配列番号6若しくは配列番号8に対応する単離されたループCペプチド及び/又はループC配列含有ペプチド（又はそのフラグメント若しくは誘導體）、又は配列番号6若しくは配列番号8に開示されるポリペプチドに対して少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、又は100%の配列同一性を有するポリペプチドを提供する。他の態様では、本明細書は、配列番号5に対応する単離されたループAペプチド（又はそのフラグメント若しくは誘導體）、又は配列番号5に開示されるポリペプチドに対して少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、又は100%の配列同一性を有するポリペプチドを提供する。さらに他の態様では、本明細書は、配列番号7に対応する単離されたループEペプチド（又はそのフラグメント若しくは誘導體）、又は配列番号7に開示されるポリペプチドに対して少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、又は100%の配列同一性を有するポリペプチドを提供する。

40

【0084】

50

更なる態様では、本明細書は、配列番号 6 又は配列番号 8 に対応するループ C 及び / 又はループ C 配列含有ペプチド（又はそのフラグメント若しくは誘導體）、又は配列番号 6 若しくは配列番号 8 に開示されるポリペプチドに対して少なくとも 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、又は 100% の配列同一性を有するポリペプチドをコードする単離されたループ C 及び / 又はループ C 配列含有ペプチドをコードする核酸分子を提供する。他の態様では、本明細書は、配列番号 5 に対応するループ A（又はそのフラグメント若しくは誘導體）、又は配列番号 5 に開示されるポリペプチドに対して少なくとも 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、又は 100% の配列同一性を有するポリペプチドをコードする単離されたループ A ペプチドコーディング核酸分子を提供する。さらに他の態様では、本明細書は、配列番号 7 に対応するループ E（又はそのフラグメント若しくは誘導體）、又は配列番号 7 に開示されるポリペプチドに対して少なくとも 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、又は 100% の配列同一性を有するポリペプチドをコードする単離されたループ E ペプチドコーディング核酸分子を提供する。

10

【0085】

したがって、或る一つ態様では、本明細書は、配列番号 2 及び配列番号 4 に開示される核酸に対して少なくとも 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、又は 100% の同一性を有する核酸配列を含むループ C 及び / 又はループ C 配列含有ポリペプチドをコードする単離されたループ C 及び / 又はループ C 配列含有ペプチド核酸分子を提供する。特定の実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、ストリンジェントな条件下で、ループ C 及び / 又はループ C 配列含有（又はループ A 若しくはループ E）核酸配列のタンパク質コーディング配列を含む核酸分子に相補的な核酸配列にハイブリダイズする。また、本発明は、ループ C 及び / 又はループ C 配列含有ポリペプチド、又はそのフラグメント、ホモログ、アナログ、融合タンパク質、偽ペプチド、ペプチド模倣物、若しくは誘導體をコードする単離された核酸を含む。例えば、核酸は、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 6、配列番号 7、又は配列番号 8 のアミノ酸配列を含むポリペプチドに対して少なくとも 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、又は 100% の同一性のポリペプチドをコードし得る。核酸は、例えば、ゲノム DNA フラグメント又は cDNA 分子であってもよい。特定の実施形態では、これらのループ C 及び / 又はループ C 配列含有（又はループ A 若しくはループ E）核酸分子は、ループ C 及び / 又はループ C 配列含有（又はループ A 若しくはループ E）をコードする修飾されたコドン最適化ヌクレオチド配列、配列タグ（例えば、ヒスチジンタグ、チオレドキシン（Thx）タグ、マルトース結合タンパク質（MBP）タグ）、又は追加の N 末端メチオニン残基を含む特定の最適化の特徴を含むように修飾されてもよく、それらの各々が、本発明のポリペプチドの発現及び / 又は可溶性及び / 又は回収の改善及び / 又は増強をもたらす。

20

30

【0086】

特定の実施形態では、本発明は、全長アクアポリン - 4（AQP4）ポリペプチドよりも短い長さ（任意に、ペプチドは 100 アミノ酸残基以下の長さ、90 アミノ酸残基以下の長さ、80 アミノ酸残基以下の長さ、70 アミノ酸残基以下の長さ、60 アミノ酸残基以下の長さ、50 アミノ酸残基以下の長さ、40 アミノ酸残基以下の長さ、30 アミノ酸残基以下の長さ、29 アミノ酸残基以下の長さ、28 アミノ酸残基以下の長さ、27 アミノ酸残基以下の長さ、26 アミノ酸残基以下の長さ、25 アミノ酸残基以下の長さ、24 アミノ酸残基以下の長さ、23 アミノ酸残基以下の長さ、22 アミノ酸残基以下の長さ、21 アミノ酸残基以下の長さ、20 アミノ酸残基以下の長さ）のループ C 配列含有ペプチド（又はかかるペプチドをコードする核酸）、及び最大の同一性について配列番号 8 と整列させた場合に、配列番号 8 の少なくとも 17 のアミノ酸残基を含むペプチドを提供する。上記ペプチド配列は、配列番号 8 の少なくとも 18 のアミノ酸残基を含んでもよい。特定の実施形態では、上記ペプチドは配列番号 8 の全配列を含む。或る実施形態では、上記ペプチドは配列番号 8 の少なくとも 17 の連続するアミノ酸残基を含み、上記ペプチドは配列番号 8 の少なくとも 18 の連続するアミノ酸残基を含んでもよい。或る一つの実施形

40

50

態では、上記ペプチドは、配列番号 8 と比較して 1 又は 2 の変異体残基を含む。上記ペプチドは、配列番号 8 と比較して（配列番号 8 - 整列されたペプチド配列内に）単一の変異体を含んでもよい。

【0087】

本発明のペプチドは、本明細書に記載されるループ C 配列含有ペプチドを含む融合タンパク質であってもよい。

【0088】

別の態様では、本明細書は、オリゴヌクレオチド、例えばループ C 及び / 又はループ C 配列含有核酸又は前記オリゴヌクレオチドの総補体の少なくとも 6 個の連続するヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドを提供する。

10

【0089】

他の態様では、本明細書は、実質的に精製されたループ C 及び / 又はループ C 配列含有ポリペプチド（例えば、配列番号 6 又は配列番号 8）を提供する。特定の実施形態では、ループ C 及び / 又はループ C 配列含有ポリペプチドは、ヒトループ C 及び / 又はループ C 配列含有ポリペプチドのアミノ酸配列に実施的に同一のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、精製されたループ C 及び / 又はループ C 配列含有ポリペプチドは、分泌シグナル配列、配列タグ（例えば、ヒスチジンタグ、チオレドキシン（Thx）タグ、マルトース結合タンパク質（MBP）タグ）、又は追加の N 末端メチオニン残基を含む、少なくとも 1 つの最適化の特徴を含む。

【0090】

さらに他の態様では、本明細書は、ループ C 及び / 又はループ C 配列含有ポリペプチド又はそのフラグメント、ホモログ、アナログ、偽ペプチド、ペプチド模倣物、若しくは誘導体に免疫選択的に結合する抗体を提供する。

20

【0091】

更なる態様では、本明細書は、DNA によってコードされるループ C 及び / 又はループ C 配列含有ポリペプチドの発現を可能とする条件下で内因性又は外因性に発現されたループ C 及び / 又はループ C 配列含有ポリペプチドを含む細胞を培養することによってポリペプチドを産生する方法を提供する。所望であれば、その後、ループ C 及び / 又はループ C 配列含有ポリペプチドを回収する。

【0092】

さらに別の態様では、本明細書は、外因性プロモーターの上流又は下流に配置された内因性ループ C 及び / 又はループ C 配列含有ポリペプチドを含有する細胞を培養することによってポリペプチドを産生する方法を提供する。特定の実施形態では、外因性プロモーターは、相同組換え、鎖切断、又はミスマッチ修復機構により宿主細胞のゲノムへと組み込まれる。

30

【0093】

別の態様では、本明細書は、試料中のループ C 及び / 又はループ C 含有ポリペプチドの存在を検出する方法を提供する。上記方法では、ポリペプチドと化合物の間で複合体を形成することを可能とする条件下でポリペプチドに選択的に結合する化合物と試料を接触させる。存在する場合、複合体が検出され、それによって試料内のループ C 及び / 又はループ C 含有ポリペプチドを同定する。

40

【0094】

また、試料をループ C 及び / 又はループ C 配列含有核酸プローブ又はプライマーと接触させ、核酸プローブ又はプライマーが試料中のループ C 及び / 又はループ C 配列含有核酸に結合したかどうかを検出することにより、試料中のループ C 及び / 又はループ C 配列含有核酸の存在を検出する方法が記載される。

【0095】

本発明の或る実施形態では、上記組成物は、本発明の組成物のホモログ、アナログ、誘導体、鏡像異性体、及び / 又はそれらの機能的に等価な組成物をさらに含んでもよい。上記組成物のかかるホモログ、アナログ、誘導体、鏡像異性体、及びそれらの機能的に等価

50

な組成物もまた、上に記載されるいずれかのアッセイにおいて使用され得る。当業者は、かかるホモログ、アナログ、誘導體、鏡像異性体、及び/又はそれらの機能的に等価な組成物を作製する方法において条件を操作することができる。本発明の化合物とほぼ同じ効果の又はより効果的なホモログ、アナログ、誘導體、鏡像異性体、及びそれらの機能的に等価な組成物もまた、本発明の方法における使用に対して意図される。かかる組成物の合成は、当該技術分野で日常的に行われるもののような典型的な化学修飾法によりなされる。

【0096】

本発明の特定の実施形態は、本明細書に記載されるいずれかの組成物を提供すること、並びに好ましくは上記組成物のホモログ、アナログ、誘導體、鏡像異性体、及びそれらの機能的に等価な組成物を得るため、上記組成物に対してコンビナトリアル合成を行うことを含む。その有効性を決定するため、上記ホモログ、アナログ、誘導體、鏡像異性体、又は機能的に等価な組成物によってアッセイを行ってもよい。コンビナトリアル合成は、当業者に知られている技術を使用して、本明細書に記載される複数の組成物をコンビナトリアル合成に供することを含んでもよい。

10

【0097】

幾つかの場合では、本発明のループC及び/又はループC配列含有抗原はハプテン、すなわち、特異的な免疫応答を引き起こすことはできないが、それ自体が単離された場合、それが付着される及び/又はそれが構成成分である化学種(すなわち「担体」)、例えば抗原のエピトープに対する免疫応答を増強することができる、典型的には低分子量を有する物質(例えば、低分子の有機分子又はペプチド)を含んでもよい。免疫応答は、ハプテンに対する抗体を含んでもよい。或る一組の実施形態では、抗原の一部(例えば、エピトープ)はハプテンである。別の一組の実施形態では、ハプテンは抗原及び炭水化物のいずれか又はそれらの両方に結合される分子である。例えば、ハプテンは、抗原と炭水化物の間の連結剤であってもよい。ハプテンの非限定的な例として、特定の薬物、単糖、アミノ酸、低分子ペプチド、リン脂質、トリグリセリド等が挙げられる。

20

【0098】

本発明の特定ループC含有ペプチド(例えば配列番号8)は、代替的なループC含有配列、すなわちG I L Y L V T P P S V V G G L G V T M V(配列番号9、米国特許出願公開第2014/0199333号において以前に記載される)と比較して、明らかに改善された効果を持つ。実際、ヒト患者におけるNMOに類似した表現型(脊髄炎症に起因する麻痺、及び視神経炎症に起因する視力障害等の神経学的症状を含む)が本発明のループC含有ペプチド(配列番号8)を投与されたマウスについて観察され、言うまでもなく、治療有効性がある場合には同様に限定されて、かかる神経学的症状は、配列番号9のペプチドを投与されたマウスについては観察されなかった。したがって、本発明の特定の実施形態では、本発明のループC含有ペプチド(例えば配列番号8)には臨床状況においてより大きな治療有効性があり、及び/又は他のループC配列含有ペプチド(例えば配列番号9)よりも大きなNMO神経症状をマウスにおいて誘導する。

30

【0099】

医薬組成物

本発明は、治療的有効量のアクアポリン-4(AQP4)水チャネルのループC及び/又はループC配列含有ペプチド、又は治療的に有効なそのフラグメント若しくは変異体を含む、視神経脊髄炎(NMO)を治療するための医薬組成物を提供する。さらに別の態様では、本発明は、治療的有効量のアクアポリン-4(AQP4)水チャネルのループC及び/又はループC配列含有ペプチド、又は治療的に有効なそのフラグメント若しくは変異体を投与することを含む、視神経脊髄炎(NMO)を有する個体を治療する方法に関する。さらに別の態様では、本発明は、免疫原的有効量のアクアポリン-4(AQP4)水チャネルのループC及び/又はループC配列含有ペプチド、又は免疫原的に有効なそのフラグメント若しくは変異体を投与することを含む、視神経脊髄炎(NMO)を有する個体において耐性応答を誘導する方法を提供する。

40

50

【0100】

製剤

治療的有効量のループC及び/又はループC配列含有ペプチド(又はそのフラグメント若しくは変異体)、又は治療的有効量のループC核酸を含む本発明の医薬組成物は、簡便には、選択されたpHに緩衝されてもよい、滅菌液体製剤、例えば、等張性水溶液、懸濁物、エマルジョン、分散物、又は粘性組成物として提供され得る。液体製剤は、通常、ゲル、他の粘性組成物、及び固体組成物よりも作製することが容易である。さらに、液体組成物は、特に注射によって投与することがいくぶん簡便である。一方、粘性組成物は、特定の組織とのより長い接触期間を提供するため、適切な粘度範囲内で製剤化され得る。液体又は粘性の組成物は、例えば水、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、ポリオール(例えば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコール等)、及びそれらの好適な混合物を含む溶媒又は分散媒であってもよい、担体を含むことができる。

10

【0101】

滅菌注射用溶液は、所望に応じて、様々な量の他の原料と共に必要量の適切な溶媒中で本発明の実施に利用される遺伝子修飾された免疫応答性細胞を組み込むことによって作製され得る。かかる組成物は、滅菌水、生理学的食塩水、グルコース、デキストロース等の好適な担体、希釈剤、又は賦形剤と共に混合されてもよい。また、上記組成物は凍結乾燥されてもよい。また、上記組成物は、所望の投与及び作製の経路に応じて、湿潤剤、分散剤、又は乳化剤(例えば、メチルセルロース)、pH緩衝剤、ゲル化剤、又は増粘添加剤、防腐剤、香味剤、着色剤等の補助剤を含有してもよい。参照により本明細書に援用される「REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCE」, 17th edition, 1985,等の標準テキストを調べて、過度の実験をせずに好適な製剤を作製してもよい。

20

【0102】

抗菌防腐剤、抗酸化剤、キレート剤、及びバッファーを含む、上記組成物の安定性及び無菌状態を高める様々な添加剤を添加してもよい。微生物の活動を阻止することは、様々な抗菌剤及び抗真菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸等によって保証され得る。注射用医薬形態の持続吸収は、吸収を遅延する薬剤、例えばモノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンの使用によって実施され得る。しかしながら、本発明によれば、使用される任意のビヒクル、希釈剤、又は添加剤は遺伝子修飾された免疫応答性細胞又は他の前駆細胞と適合性でなくてはならない。

30

【0103】

上記組成物は等張性であってもよく、すなわち、血液及び涙液と同じ浸透圧を有し得る。本発明の組成物の望ましい等張性は、塩化ナトリウム、又はデキストロース、ホウ酸、酒石酸ナトリウム、プロピレングリコール、又は他の無機若しくは有機の溶質を使用して達成され得る。塩化ナトリウムは、ナトリウムイオンを含有するバッファーに対して特に好ましい。

【0104】

所望に応じて、上記組成物の粘度は、薬学的に許容可能な増粘剤を使用して選択されるレベルに維持され得る。メチルセルロースは、容易に経済的に入手可能であり、作業が容易であることから好ましい。他の好適な増粘剤として、例えば、キサンタンガム、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボマー等が挙げられる。増粘剤の好ましい濃度は、選択される薬剤に依存する。重要な点は、選択された粘度を達成する量を使用することである。明らかに、好適な担体及び他の添加剤の選択は、正確な投与経路及び特定の剤形の性質、例えば液体剤形(例えば、上記組成物が溶液、懸濁物、ゲル又は徐放形態又は液体充填形態等の他の液体形態に製剤化されるかどうか)に依存する。

40

【0105】

当業者は、上記組成物の成分は、化学的に不活性なものを選択すべきであり、本発明において記載される遺伝子修飾された免疫応答性細胞の生存能力又は有効性に影響を及ぼさ

50

ないことを認識する。これは、化学的及び薬学的な原理において当業者に何らの課題も提示することはなく、又は課題は標準テキストを参照することにより、若しくは本開示及び本明細書で引用される文書より、単純な実験（過度の実験を含まない）によって容易に回避され得る。かかる決定は、当業者の知識、本開示、及び本明細書で引用される文献から過度の実験を必要としない。また、逐次投与に関する時間は過度の実験を行わずに確認され得る。

【0106】

また、本発明の組成物によって誘導される免疫応答は、本発明の組成物と組み合わせてサイトカイン又はB7-1/2共刺激分子の同時投与又は共発現によって増大され得る。サイトカインは、上記組成物と共に直接投与され得る、及び/又はサイトカインを *in vivo* で発現し得るようにサイトカインをコードする核酸ベクターの形態で投与され得る。或る一つの実施形態では、サイトカインは、プラスミド発現ベクターの形態で投与される。「サイトカイン」の用語は、液性調節因子としてナノモル~ピコモルの濃度で作用し、正常状態又は病的状態のいずれかにおいて、個々の細胞及び組織の機能的活性を調節する多様な群の可溶性タンパク質及びペプチドに対する一般名として使用される。また、これらのタンパク質は、細胞間の相互作用を直接媒介し、細胞外環境で行われるプロセスを調節する。サイトカインの非限定的な例として、限定されないが、IL-1、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-15、IL-18顆粒球マクrophageコロニー刺激因子(GM-CSF)、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、インターフェロン-ガンマ、インターフェロン-アルファ、腫瘍壊死因子-アルファ、腫瘍壊死因子-ベータ、TGF-ガンマ、FLT-3リガンド、CD40リガンド等が挙げられる。

10

20

【0107】

本発明の特定の実施形態では、本発明の薬剤は、アジュバントと併せて投与され得る。本明細書で使用される「アジュバント」は、液性及び/又は細胞性の免疫応答を賦活し得る、又は抗原に対するデポーとして機能し得る任意の分子又は化合物である。アジュバントの例として、デポー効果をもたらすアジュバント、免疫賦活アジュバント、デポー効果をもたらす、免疫系を賦活するアジュバント、及び粘膜アジュバントが挙げられる。

【0108】

本明細書で使用される「デポー効果をもたらすアジュバント」は、体内で徐々に抗原が放出されるようにして、抗原に対する免疫細胞の暴露を延長するアジュバントである。このクラスのアジュバントとして、限定されないが、ミョウバン（例えば、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム）、又は鉱物油、非鉱物油、油中水型、若しくは油中水中油型、又は水中油型のエマルジョン、例えばSeppic ISAシリーズのMontamideアジュバント（例えば、Montamide ISA 720、フランス国パリのAir Liquide）、MF-59（Span 85及びTween 80で安定化された水中スクワランエマルジョン、Chiron Corporation）、及びPROVAX（安定化洗浄剤及びミセル形成剤を含有する水中油型エマルジョン、IDEC、Pharmaceuticals Corporation）を含むエマルジョン系製剤が挙げられる。

30

40

【0109】

「免疫賦活アジュバント」は、免疫系の細胞の活性化を引き起こすアジュバントである。免疫賦活アジュバントは、例えば、免疫細胞にサイトカインを産生及び分泌させる。このクラスのアジュバントとして、限定されないが、QS21（HPLC画分により21tピークで溶離する糖脂質、Aquila Biopharmaceuticals, Inc.）等のQ.saponaria樹木の樹皮から精製されるサポニン、ポリ（ジ（カルボキシラトフェノキシ）ホスファゼン）、（PCPPポリマー、Virus Research Institute）、一リン酸化リポドA（MPL、Ribi ImmunoChem Research, Inc.）、ムラミルジペプチド（MDP、Ribi）及びトレオニルムラミルジペプチド（t-M

50

D P、R i b i)、O M - 1 7 4 (リピド A に関連するグルコサミン二糖類、O M P h a r m a S A) 等のリポ多糖の誘導体、並びにリーシュマニア伸長因子 (精製されたリーシュマニアタンパク質、C o r i x a C o r p o r a t i o n) が挙げられる。

【 0 1 1 0 】

「デポー効果をもたらす、免疫系を賦活するアジュバント」は、上に特定される機能の両方を有するそれらの化合物である。このクラスのアジュバントとして、限定されないが、I S C O M S (混合サポニン、脂質を含み、抗原を保持する孔を有するウイルスサイズの粒子を形成する免疫賦活複合体、C S L)、S B - A S 2 (M P L 及び Q S 2 1 を含有する水中油型エマルジョンである、S m i t h K l i n e B e e c h a m アジュバントシステム 2 番 : S m i t h K l i n e B e e c h a m B i o l o g i c a l s)、S B - A S 4 (ミョウバン及び M P L を含有する S m i t h K l i n e B e e c h a m アジュバントシステム 4 番)、C R L 1 0 0 5 (これらは、ポリオキシエチレンの鎖に隣接する疎水性ポリオキシプロピレンの直鎖を含有する、V a x c e l , I n c .)、及び S y n t e x アジュバント製剤 (S A F、T w e e n 8 0 及び非イオン性ブロックコポリマーを含有する水中油型エマルジョン、S y n t e x C h e m i c a l s , I n c .) 等のミセルを形成する非イオン性ブロックコポリマーが挙げられる。

10

【 0 1 1 1 】

本明細書で使用される「粘膜アジュバント」は、抗原と併せて粘膜表面に投与された場合に被験体において粘膜免疫応答を誘導することができるアジュバントである。粘膜アジュバントとして、限定されないが、例えば、コレラ毒素及びコレラ毒素誘導体 (例えば、C T B サブユニット、C T D 5 3、C T K 9 7、C T K 1 0 4、C T D 5 3 / K 6 3、C T H 5 4、C T N 1 0 7、C T E 1 1 4、C T E 1 1 2 K、C T S 6 1 F、C T S 1 0 6、C T K 6 3 等)、Z o n u l a o c c l u d e n s 毒素、大腸菌 (E s c h e r i c h i a c o l i) の易熱性毒素、不安定毒素、及び不安定毒素誘導体 (例えば、L T B サブユニット (L T B)、L T 7 K、L T 6 1 F、L T 1 1 2 K、L T 1 1 8 E、L T 1 4 6 E、L T 1 9 2 G、L T K 6 3、L T R 7 2 等)、百日咳毒素及び百日咳毒素誘導体 (例えば、P T - 9 K / 1 2 9 G)、リピド A 誘導体 (例えば、一リン酸化リピド A、M P L)、ムラミルジペプチド誘導体、細菌外膜タンパク質 (例えば、ライム病菌 (B o r r e l i a b u r g d o r f e r i) の細胞表層タンパク質 A (O s p A) リポタンパク質、髄膜炎菌 (N e i s s e r i a m e n i n g i t i d i s) の細胞表層タンパク質)、水中油型エマルジョン (例えば M F 5 9)、アルミニウム塩、サポニン等が挙げられる。

20

30

【 0 1 1 2 】

N M O は脊髄及び視神経を標的とする

視神経脊髄炎 (N M O) は、主に脊髄及び視神経を標的とし、麻痺及び失明をもたらす再発性自己免疫疾患である (1)。A Q P 4 に対する免疫反応に関わる非常に特異的な抗アクアポリン 4 (A Q P 4) I g G 1 バイオマーカーの発見は、急性 N M O 病変内の液性及び細胞性の両方の病理によって証明された (2、3)。疾患病因における循環抗 A Q P 4 抗体の役割に着目した幾つかの先の N M O のマウス及びラットのモデルは、抗体それ自体では疾患を誘導するのに不十分であったが、ミエリン応答性 T 細胞によって誘導された実験的な自己免疫脳脊髄炎を増悪し得たと結論付けた (4 ~ 8)。抗 A Q P 4 抗体が神経系において星状細胞上で A Q P 4 に対して受動アクセスを有した場合、抗体は実験条件下で A Q P 4 に結合し、星状細胞に対する補体媒介損傷に関与し得たという豊富な証拠が存在した (9 ~ 11)。まとめると、これらの研究は、N M O 攻撃の誘発におけるよりも、N M O 再発に由来する星状細胞の損傷の増大における抗 A Q P 4 抗体に対する重要な役割を示し、N M O の免疫病因における上流に関与し得る他の A Q P 4 特異的免疫成分に関する研究を促す。各受動移入研究では、抗 A Q P 4 抗体は、中枢神経系に対して T 細胞に基づく自己免疫攻撃に関してのみ病原性であった。

40

【 0 1 1 3 】

理論に束縛されることを望むものではないが、A Q P 4 に対する I g G₁ バイオマーカー

50

一の産生は、おそらく免疫グロブリンクラススイッチに対するAQP4応答性のB細胞とT細胞を必要とした。また、免疫細胞のうちT細胞が急性NMO病変において見られ、NMO疾患の免疫病因における免疫T細胞の役割は、免疫優性AQP4ペプチドがマウスにおいてT細胞活性化を誘発することが示された最近の研究の主題となっている(12、13)。しかしながら、AQP4に対するT細胞の活性化にもかかわらず、これらのラット及びマウスのモデルは、病原性T細胞応答が中枢及び末梢の耐性の組み合わせによって制限されたため、又は特定のAQP4エピトープが病原性でなかったためのいずれかにより、臨床上的神経学的表現型を発現しなかった。独特のアプローチを採用し、野生型マウスに養子移植された場合にNMO様疾患を引き起こす、病原性AQP4応答性T細胞をAQP4ヌルマウスにおいて産生した。Tヘルパー17表現型に対するAQP4応答性T細胞の極性化は、表現型を増強し、視神経及び脊髄において、また脳においても炎症及び脱髄をもたらした。マウスにおける幅広いAQP4発現にもかかわらず、実質臓器の炎症の他の証拠はなく、ヒトNMO疾患をモデル化するこのアプローチの特異性を支持する。

【0114】

投与

本発明のAQP4ペプチド、又はそれをコードする核酸分子を含む組成物は、全身的に提供されてもよく、又は新生物、病原体感染、又は感染性疾患の治療のため被験体に直接提供されてもよい。或る一つの実施形態では、本発明の組成物は、目的の臓器(例えば、新生物によって冒された臓器)に直接注射される。代替的には、例えば循環系(例えば腫瘍脈管構造)への投与によって、組成物を目的の臓器に間接的に提供する。

【0115】

上記組成物を、通常、任意の生理学的に許容可能なビヒクルにおいて血管内投与することができるが、骨又は細胞が再生及び分化に適した部位を見出し得る他の簡便な部位(例えば、胸腺)に導入してもよい。通常、少なくとも 1×10^5 細胞が投与され、最終的には 1×10^{10} 以上に達する。用量は、当業者によって容易に調整され得る(例えば、純度の低下は容量の増加を必要とする)。上記組成物を注射、カテーテル等によって導入してもよい。所望に応じて、限定されないがインターロイキン、例えばIL-2、IL-3、IL-6、及びIL-11、また同様に他のインターロイキン、G-CSF、M-CSF及びGM-CSF等のコロニー刺激因子、インターフェロン、例えばガンマ-インターフェロン及びエリスロポエチンを含む因子を含んでもよい。

【0116】

本発明の組成物は、本発明のポリペプチドと薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物を包含する。

【0117】

組成物は、カテーテル投与を含む局所注射、全身注射、局所注射、静脈内注射、又は非経口投与によって投与されてもよい。本発明の治療的組成物を投与する場合、一般的には単位用量の注射用形態(溶液、懸濁物、エマルジョン)に製剤化される。

【0118】

本質的には、本発明の組成物の投与は、その標的、すなわち脊髄及び視神経のNMO病変に組成物が達することを可能とする任意の医学的に許容可能な方法によってなされ得る。選択される特定の様式は、もちろん、先に記載されるもの、例えば、特定の組成、治療される被験者の重症度の状態、治療効果に必要な投薬量等の要因に依存する。本明細書で使用される「医学的に許容可能な」様式の治療は、临床上受け入れられない副作用を生じることなく被験体において有効レベルの上記組成物を生じることができる様式である。

【0119】

任意の医学的に許容可能な方法を使用して被験体に上記組成物を投与してもよい。投与は、治療される状態に応じて、局所化(すなわち、特定の領域、生理系、組織、臓器、又は細胞型)されてもよく、又は全身性であってもよい。例えば、上記組成物を、経口的に、経腔的に、経腸的に、口腔的に(buccally)、経肺的に、局所的に(topically)、経鼻的に、経皮的に、舌下的に、非経口注射又は移植により、外科的投与

10

20

30

40

50

により、又は本発明の組成物による標的へのアクセスが達成される任意の他の投与方法によって投与されてもよい。本発明と共に使用される非経口モダリティの例として、静脈内、皮内、皮下、腔内、筋肉内、腹腔内、硬膜外、又は髄腔内が挙げられる。移植モダリティの例として、任意の移植可能な又は注射可能な薬物送達システムが挙げられる。被験体又は投薬スケジュールに対する利便性のため、幾つかの実施形態では経口投与が好ましい。経口投与に適した組成物は、硬質又は軟質カプセル、丸剤、カセット (c a c h e t t e s)、錠剤、トローチ、又はドロップ等の個別の単位として提示されてもよく、各々所定量の有効成分を含有する。本発明との使用に適した他の経口投与として、シロップ、エリキシル、又はエマルジョン等の水性又は非水性の液体中の溶液又は懸濁物が挙げられる。別の一組の実施形態では、上記組成物は食品又は飲料の栄養価を高めるために使用されてもよい。

10

【0120】

本発明の特定の実施形態では、本発明の組成物の投与は、特定の期間、例えば時間、日、週、月、又は年に亘って上記組成物に対する順次の暴露をもたらすように設計され得る。これは、例えば、上に記載される方法の1つによる本発明の組成物の反復投与によって、又は上記組成物が反復投与によらずに延長された期間に亘って送達される持続放出又は制御放出送達系によってなされてもよい。かかる送達系を使用する上記組成物の投与は、例えば、経口剤形、ポラス注射、経皮パッチ又は皮下インプラントによってもよい。実質的に一定の濃度の上記組成物を維持することは、幾つかの場合では好ましいことがある。

20

【0121】

また、上記組成物を決めたスケジュールで投与してもよいが、代替的には症状の出現に応じて投与してもよい。本明細書で使用される「決めたスケジュール」は、所定の設計された期間を指す。決めたスケジュールは、そのスケジュールが予め決定される限り、長さが同じ又は異なる期間を包含し得る。例えば、決めたスケジュールは、毎日、2日毎、3日毎、4日毎、5日毎、6日毎、毎週、2週毎、毎月、隔月、又はその間の任意の設定された数の日又は週、2ヶ月毎、3ヶ月毎、4ヶ月毎、5ヶ月毎、6ヶ月毎、7ヶ月毎、8ヶ月毎、9ヶ月毎、10ヶ月毎、11ヶ月毎、12ヶ月毎等で上記組成物の投与を含んでもよい。代替的には、決めたスケジュールは、第1週目には毎日、続いて数か月に亘って毎月、その後3ヶ月毎の上記組成物の投与を含んでもよい。適切なスケジュールが特定の日の投与を含むことが予め決められている限り、任意の特定の組み合わせが上記決めたスケジュールによって含まれ得る。

30

【0122】

幾つかの場合では、上記組成物は、NMO病変事象を予防するためNMO事象が見越される被験体に投与される。本明細書で使用される「実質的に先に」は、NMO病変事象の前少なくとも6ヶ月、少なくとも5ヶ月、少なくとも4ヶ月、少なくとも3ヶ月、少なくとも2ヶ月、少なくとも1ヶ月、少なくとも3週間、少なくとも2週間、少なくとも1週間、少なくとも5日、又は少なくとも2日を意味する。

【0123】

同様に、上記組成物は、NMO病変事象の直前(例えば、NMO事象の48時間以内、24時間以内、12時間以内、6時間以内、4時間以内、3時間以内、2時間以内、1時間以内、30分以内、又は10分以内)、実質的にNMO事象と同時に、又は病変症状の後に投与されてもよい。

40

【0124】

本発明の使用に適した他の送達系として、時間放出、遅延放出、持続放出、又は制御放出の送達系が挙げられる。かかる系は、多くの場合上記組成物の反復投与を回避して被験体に対する利便性を高め得る。多くの種類の放出送達系が利用可能であり、当業者に知られている。放出送達系として、例えば、ポリ乳酸及び/又はポリグリコール酸、ポリ無水物、ポリカプロラクトン、及び/又はこれらの組み合わせ等の高分子系システム; コレステロール、コレステロールエステル、及び脂肪酸等のステロール、又はモノ-、ジ-、及

50

びトリ - グリセリド等の天然脂肪を含む脂質系である非高分子系システム；ヒドロゲル放出システム；リポソーム系システム；リン脂質系システム；シラスティックシステム；ペプチド系システム；ワックスコーティング；従来の結合剤及び賦形剤を使用する圧縮錠剤；又は部分的に融合されたインプラントが挙げられる。具体例として、限定されないが、上記組成物がマトリクス内の形態で含有される浸食システム（例えば、米国特許第4,452,775号、第4,675,189号及び第5,736,152号に記載される）、又は活性成分が放出速度を制御する拡散システム（例えば、米国特許第3,854,480号、第5,133,974号及び第5,407,686号に記載される）が挙げられる。例えば、上記製剤は、マイクロスフェア、ヒドロゲル、高分子リザーバー、コレステロールマトリクス、又は高分子システムであってもよい。或る実施形態では、上記システムは、例えば、上記組成物を含有する製剤の拡散又は浸食/分解の速度を制御することによって、組成物の持続放出又は制御放出が起こることを可能とし得る。さらに、ポンプに基づくハードウェア送達系を使用して、1又は複数の本発明の実施形態を送達してもよい。

10

【0125】

長期放出インプラントの使用は、本発明の幾つかの実施形態では特に適している場合がある。本明細書で使用される「長期放出」は、上記組成物を含有するインプラントが、少なくとも30日若しくは45日、好ましくは少なくとも60日若しくは90日、又は幾つかの場合ではより長く治療的有効レベルの上記組成物を送達するように構築され、配置されることを意味する。長期放出インプラントは、当業者によく知られており、上に記載される幾つかの放出システムを含む。

20

【0126】

上記組成物の投与は、単独であってもよく、又は例えば、アレルギー、感染性疾患、がん等を治療するために使用される他の治療剤及び/又は組成物と組み合わせてもよい。特定の実施形態では、本発明のAQP4ペプチド（又はそれをコードする核酸）を免疫抑制療法と共に投与する。

【0127】

免疫抑制療法は、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動薬、インターフェロン、オピオイド、TNF結合タンパク質、及びミコフェノール酸からなる群から選択され得る。また、免疫抑制療法は、アルキル化剤、ナイトロジェンマスタード（シクロホスファミド）、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、プレオマイシン、ミトラマイシン、IL-2受容体に対する抗体、CD3に対する抗体、ムロノナブ - CD3、シクロスポリン（Sandimmune（登録商標））、タクロリムス（Prograf（登録商標））、シロリムス（Rapamune（登録商標））、IFN - ベータ、インフリキシマブ（Remicade（登録商標））、エタネルセプト（Enbrel（登録商標））、アダリムマブ（Humira（登録商標））、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ（Rituxan（登録商標））、MabThera（登録商標）、又はZytux（登録商標）、エクリズマブ（Soliris（登録商標））、インターフェロンベータ - 1a（Avonex（登録商標））、ナタリズマブ（Tysabri（登録商標））及びマロノニトリルアミド（MNA）であってもよい。

30

40

【0128】

また、本発明の組成物は、他の関連する（M.S.）又は関連しない（例えば、がん、感染症）適応症の治療に1又は複数の本発明の組成物と組み合わせて使用され得る他の治療剤及び薬物と共に投与され得る。

【0129】

例えば、アレルギーの治療に対して1又は複数の本発明の組成物と組み合わせて使用され得る治療剤及び治療薬の例として、限定されないが、1又は複数のPDE - 4阻害剤、気管支拡張剤（例えば、サルメテロール、サルブタモール、アルブテロール、テルブタリ

50

ン、D 2 5 2 2 / フォルモテロール、フェノテロール、ビトルテロール、ピルプロール、メチルキサンチン（テオフィリン、オルシブレナリン等）、ベータ - 2 アゴニスト（例えば、アルブテロール、ビトルテロール、ピルブテロール、テルブタリン）、 K^+ チャネル開口薬、V L A - 4 アンタゴニスト、ニューロキンアンタゴニスト、T X A 2 合成阻害剤、キサンチン、アラキドン酸アンタゴニスト、5 - リボキシゲナーゼ阻害剤、トロンボキシン A 2 受容体アンタゴニスト、トロンボキサン A 2 アンタゴニスト、5 - リボキシニン活性化タンパク質の阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、クロモリンナトリウム、又はメドクロミルが挙げられる。可能性のある有用なアレルギー医薬の他の例として、限定されないが、ロラタジン、セチリジン、ブクリジン、セチリジンアナログ、フェキソフェナジン、テルフェナジン、デスロラタジン、ノルアステミゾール、エピナスチン、エバスチン、エバスチン、アステミゾール、レボカバスチン、アゼラスチン、トラニラスト、テルフェナジン、ミゾラスチン、ベタタスチン、C S 5 6 0、H S R 6 0 9、プロスタグランジン、ステロイド（例えば、ベクロメタゾン、フルチカゾン、トランシノロン、ブデソニド、ブデソニド等）、コルチコステロイド（例えば、ベクロメタゾンジプロピオネート、ブデソニド、フルニソリド、フルチカゾン、プロピオネート、トリアムシノロンアセトニド、デキサメタゾン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、プレドニゾン）、免疫調節剤（例えば、抗炎症剤、フィルルカスト又はジレウトン、I L - 4 ムテイン、可溶性 I L - 4 受容体、寛容化ペプチドワクチン、抗 I L - 4 抗体、I L - 4 アンタゴニスト、抗 I L - 5 抗体、可溶性 I L - 1 3 受容体 - F c 融合タンパク質、抗 I L - 9 抗体、C C R 3 アンタゴニスト、C C R 5 アンタゴニスト、V L A - 4 阻害剤等の免疫抑制剤）、I g E の減少剤（例えば、I g E 受容体に結合可能なペプチド又は他の分子、I g E に対するモノクローナル抗体、I g E 抗体の結合を阻止することが可能な特定のポリペプチド等）が挙げられる。さらに他の可能性のある有用な免疫調節因子として、免疫調節特性を有することが示されている神経ペプチド、例えばサブスタンス P が挙げられる。

【 0 1 3 0 】

本明細書で使用される「がん」の用語は、限定されないが、胆道がん；膀胱がん；グリア芽細胞腫及び髄芽腫を含む脳がん；乳がん；子宮頸がん；絨毛がん；結腸がん；子宮内膜がん；食道がん；胃がん；急性リンパ性白血病及び骨髄性白血病を含む血液腫瘍；多発性骨髄腫；A I D S 関連白血病及び成人 T 細胞白血病リンパ腫；ボーエン病及びバジレット病を含む上皮内新生物；肝臓がん；肺がん；ホジキン病及びリンパ球性リンパ腫を含むリンパ腫；神経芽細胞腫；扁平上皮がんを含む口腔がん；上皮細胞、間質細胞、生殖細胞及び間葉細胞から生じるものを含む卵巣がん；膵臓がん、前立腺がん；直腸がん；平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、脂肪肉腫、線維肉腫、及び骨肉腫を含む肉腫；黒色腫、カボジ肉腫、基底細胞がん、及び扁平上皮細胞がんを含む皮膚がん；セミノーマ、非セミノーマ、奇形腫等の胚腫瘍を含む精巣がん；絨毛がん；間質腫瘍及び生殖細胞腫瘍；甲状腺腺がん及び髄様がんを含む甲状腺がん；並びに腺がん及びウィルムス腫瘍を含む腎がんを含む。一般的に遭遇するがんとして、乳がん、前立腺がん、肺がん、卵巣がん、大腸がん、及び脳がんが挙げられる。一般に、がん治療のための本発明の組成物の有効量は、*i n s i t u* での哺乳動物のがん細胞増殖を阻害するのに必要な量となる。当業者は、当該技術分野において抗がん剤の有効量の評価に練れている（*w e l l - s c h o o l e d*）。

【 0 1 3 1 】

本明細書で使用される「がん治療」として、限定されないが、化学療法、放射線療法、アジュバント療法、又はこれらの方法の任意の組み合わせが挙げられる。変化し得るがん治療の態様として、限定されないが、投薬量、投与又は期間又は治療法のタイミングを含み、かかる態様は、同じく用量、タイミング及び / 又は期間が変化し得る他の治療と組み合わせてもよく、組み合わせなくてもよい。別のがん治療は、単独で又は先に記載される治療方法のいずれかと組み合わせられて利用され得る手術である。当業者は、被験体に対する適切ながん治療を決定することができる。

【 0 1 3 2 】

がんの治療に対して 1 又は複数の本発明の組成物と組み合わせ使用され得る抗がん剤

及び抗がん薬の非限定的な例として、限定されないが、1又は複数の20-エピ-1, 2
 5ジヒドロキシビタミンD3、4-イソポタノール、5-エチニルウラシル、9-ジヒド
 ロタキソール、アピラテロン、アシピシン、アクラルピシン、塩酸アコダゾール、アクロ
 ニン、アシルフルベン、アデシペノール、アドゼレジン、アルデスロイキン、a11-t
 kアンタゴニスト、アルトレタミン、アンバムスタチン、アンボマイシン、アセテートア
 テナントロン、アミドックス(amidox)、アミホスチン、アミノグルテチミド、ア
 ミノレブリン酸、アムルピシン、アムサクリン、アナグレリド、アナストロゾール、アン
 ドログラフォライド、血管新生阻害剤、アンタゴニストD、アンタゴニストG、抗アレ
 ックス、アントラマイシン、抗背側化形態形成タンパク質-1、抗エストロゲン、抗腫瘍
 薬、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アフィジコリングリシネート、アポトーシス遺伝
 子調節因子、アポトーシス調節因子、アプリーリン酸、ARA-CDP-DL-PTBA、
 アルギニンデアミナーゼ、アスパラギナーゼ、アスペリン、アスラクリン、アタメスタン
 、アトリムスチン、アキシナスタチン1、アキシナスタチン2、アキシナスタチン3、ア
 ザシチジン、アザセトロン、ザトキシチン、アザチロシン、アゼテプタ、アゾトマイシン、
 バッカチンIII誘導体、パラノール、パチマスタット、ベンゾクロリン、ベンゾデバ、
 ベンゾイルスタウロスポリン、ベータラクタム誘導体、ベータアレチン、ベタクラマイシ
 ンB、ベツリン酸、BFGF阻害剤、ピカルタミド、ビスアントレン、塩酸ビスアントレ
 ン、ビスアジリジニルスペルミン、ビスナフィド、ビスナフィドジメシレート、ピストラ
 テンA、ピゼレシン、プレオマイシン、硫酸プレオマイシン、BRC/ABLアンタゴニ
 スト、プレフラート、プレキナールナトリウム、プロピリミン、ブドチタン、ブスルファ
 ン、ブチオニンスルホキシミン、カクチノマイシン、カルシポトリオール、カルフォスチ
 ンC、カストステロン、カンプトテシン誘導体、カナリア痘IL-2、カペシタビン、カ
 ラセミド、カルベタイマー、カルボプラチン、カルボキサミド-アミノ-トリアゾール、
 カルボキシアミドトリアゾール、ケアストM3、カルムスチン、カーネル700、軟骨由
 来阻害剤、塩酸カルピシン、カルゼレシン、カゼインキナーゼ阻害剤、カスタノスペルミ
 ン、セクロピンB、セドフェンロール、セトロレリックス、クロラムブシル、クロリン、
 クロロキノキサリンスルホンアミド、シカプレスト、サイロレマイシン、シスプラチン、
 シスポルフィリン、クラドリピン、クロミフェンアナログ、クロトリマゾール、コリスミ
 シンA、コリスマイシンB、コンプレタスタチンA4、コンプレタスタチンアナログ、コ
 ナゲニン、クラムベシジン816、クリスナトール、メシル酸クリスナトール、クリプト
 フィシン8、クリプトフィシンA誘導体、クラシンA、シクロペンタンスラキノロン(c
 ycl opent anthraquinones)、シクロホスファミド、シクロプラタ
 ム、シブマイシン、シタラビン、シタラビンオクホスフェート、細胞溶解因子、サイトス
 タチン、ダカルバジン、ダクリキシマブ、ダクチノマイシン、塩酸ダウノルピシン、デシ
 タピン、デヒドロジデンニンB、デスロレリン、デキシフォスファミド、デキサメタブラ
 チン、デキサゾキサニル、デクスベラパミル、デザグアニン、メシル酸ジザグアニン、ジア
 ジクオン、ジデムニンB、ジドックス、ジエチルノルスペルミン、ジヒドロ-5-アザシ
 チジン、ジオキサマイシン、ジフェニルスピロムスチン、ドセタキセル、ドコサノール、
 ドラセトロン、ドキシフルリジン、ドキシソルピシン、塩酸ドキシソルピシン、ドロロキシフ
 ェン、クエン酸ドロロキシフェン、プロピオン酸ドロモスタノロン、ドロナビノール、デ
 ユアゾマイシン、デュオカルマイシンSA、エブレセン、エコムスチン、エダトレキセー
 ト、エデルホシン、エドレコロマブ、エフロルニチン、塩酸エフロルニチン、エレメン、
 エルサミトルシン、エミテフル、エノプラチン、エムプロメート、エピプロビジン、エ
 ピルピシン、塩酸エピルピシン、エプリステリド、エルプロゾール、赤血球遺伝子療法ベ
 クター系、塩酸エゾルピシン、エストラムスチン、エストラムスチンアナログ、リン酸エ
 ストラムスチンナトリウム、エストロゲンアゴニスト、エストロゲンアンタゴニスト、エ
 タニダゾール、エトポシド、リン酸エトポシド、エトプリン、エキセメスタン、ファドロ
 ザール、塩酸ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フィルグラスチム、フィ
 ナステライド、フラボリピドール、フレゼラスチン、フロクスウリジン、フラステロン、
 フルダラビン、リン酸フルダラビン、塩酸フルオロダウノルニシン、フルオロフラシル、

10

20

30

40

50

フルロシタピン、フォルフェニメックス、フォルメスタン、フォスキドン、フォストリエ
 シン、フォストリエシンナトリウム、フォテムスチン、ガドリニウムテキサフィリン、硝
 酸ガリウム、ガロシタピン、ガニレリックス、ゼラチナーゼ阻害剤、ゲムシタピン、塩酸
 ゲムシタピン、グルタチオン阻害剤、ヘプルフラム、ヘレグリン、ヘキサメチレンビスア
 セトアミド、ヒドロキシ尿素、ヒペリシン、イバンドロン酸、イダルピシン、塩酸イダル
 ピシン、イドキシフェン、イドラマントン、イフォスファミド、イルモフォシン、イロマ
 スタット、イミダゾクリドン、イミキモド、免疫刺激ペプチド、インスリン様成長因子 -
 1 受容体阻害剤、インターフェロンアゴニスト、インターフェロンアルファ - 2 A、イン
 ターフェロンアルファ - 2 B、インターフェロンアルファ - N 1、インターフェロンアル
 ファ - N 3、インターフェロンベータ - I A、インターフェロンガンマ - I B、インター
 ロイキン、ヨーベングアン、ヨードドキシソルピシン、イプロプラチン、イリノテカン、塩
 酸イリノテカン、イロプラクト、イルソグラジン、イソベンガゾール、イソホモハリコン
 ドリン B、イタセトロン、ジャスプラキノリド、カハラリド F、ラメラリン - N トリアセ
 テート、ランレオチド、酢酸ランレオチド、ライナマイシン、レノグラスチム、硫酸レン
 チナン、レプトールスタチン、レトロゾール、白血病阻害因子、白血球アルファインター
 フェロン、酢酸ロイプロリド、ロイプロリド/エストロゲン/プロゲステロン、ロイブレ
 リン、レバミゾール、リアロゾール、塩酸リアロゾール、直鎖ポリアミンアナログ、親油
 性二糖ペプチド、親油性白金化合物、リソクリナミド 7、ロバプラチン、ロムプリシン、
 ロメトレキソール、ロメトレキソールナトリウム、ロムスチン、ロニダミン、ロソキサト
 ロン、塩酸ロソキサトロン、ロバスタチン、ロキソルピン、ルトテカン、ルテチウムテキ
 サフィリン、リゾフィリン、溶解性ペプチド、マイタシン (ma i t a n s i n e)、マ
 ノスタチン A、マリマスタット、マソプロコール、マスピン、マトリリシン阻害剤、マ
 トリクスメタロプロテインナーゼ阻害剤、メイトンシン、塩酸メクロレタミン、酢酸メゲス
 トロール、酢酸メレンゲステロール、メルファラン、メノガリル、メルバロン、メルカプ
 トプリン、メテレリン、メチオニナーゼ、メトトレキサート、メトトレキサートナトリウ
 ム、メトクロプラミド、メトプリン、メツレデバ、マイクロアルガールプロテインキナーゼ
 C 阻害剤、M I F 阻害剤、ミフェプロストン、ミルテフォシン、ミリモスチン、ミスマッ
 チ二本鎖 R N A、ミトインドミド、ミトカルシン、ミトクロミン、ミトギリン、ミトグア
 ゾン、ミトラクトール、ミトマルシン、ミトマイシン、ミトマイシンアナログ、ミトナフ
 ィド、ミトスパー、ミトタイン、マイトトキシン線維芽細胞増殖因子 - サボリン、ミトキ
 サントロン、塩酸ミトキサントロン、モファロテン、モラゲモスチム、モノクローナル抗
 体、ヒト絨毛性腺刺激ホルモン、モノホスホリル脂質 a / マイコバクテリア細胞壁 S K
 、モピダモール、多剤耐性遺伝子阻害剤、複数の主要抑制因子 - 1 に基づく治療法、マス
 タード抗がん剤、マイコペラシド B、マイコバクテリア細胞壁抽出物、ミコフェノール酸
 、ミリオポロン、n - アセチルジナリン、ナファレリン、ナグレスチップ、ナロキソン/
 ペンタゾシン、ナパピン、ナフテルピン、ナルトグラスチム、ネダプラチン、ネモルピシ
 ン、ネリドロロン酸、中性エンドペプチダーゼ、ニルタミド、ニサマイシン、硝酸調節剤、
 ニトロキシド抗酸化剤、ニトルリン、ノコダゾール、ノガラマイシン、n - 置換ベンズア
 ミド、O 6 - ベンジルグアニン、オクトレオチド、オキセノン、オリゴヌクレオチド、オ
 ナプリストン、オンダンセトロン、オラシン、経口サイトカイン誘導剤、オルマプラチン
 、オサテロン、オキサリプラチン、オキサウノマイシン、オキシスラン、パクリタキセル
 、パクリタキセルアナログ、パクリタキセル誘導體、パルミトイルリゾキシシン、パルミド
 ロン酸、パナキシトリオール、パノミフェン、バラバクチン、バゼリブチン、ペガスバル
 ガーゼ、ペルデシン、ペリオマイシン、ペンタムスチン、ポリ硫酸ペンタ酸ナトリウム、
 ペントスタチン、ペントロゾール、硫酸ペプロマイシン、パーフルブロン、パーホスファ
 ミド、ペリリルアルコール、フェナジノマイシン、酢酸フェニル、ホスファターゼ阻害剤
 、ピシパニル、塩酸ピロカルピン、ピポプロマン、ピボスルファン、ピラルピシン、ピリ
 トレキシム、塩酸ピロキサントロン、プラセチン A、プラセチン B、プラスミノーゲン活
 性化因子阻害剤、白金錯体、白金化合物、白金 - トリアミン錯体、プリカマイシン、プロ
 メスタン、ポルフィマーナトリウム、ポルフィロマイシン、ブレドニムスチン、塩酸プロ

10

20

30

40

50

カルバジン、プロピルビス - アクリドン、プロスタグランジン J 2、前立腺がん抗アンドロゲン、プロテアソーム阻害剤、プロテイン A に基づく免疫調節剤、プロテインキナーゼ C 阻害剤、プロテインチロシンホスファターゼ阻害剤、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ阻害剤、ピューロマイシン、塩酸ピューロマイシン、プルプリン、ピラゾフラン、ピラゾロアクリジン、ピリドキシル化ヘモグロビンポリオキシエチレン複合体、RAF アントゴニスト、ラルチトレキセド、ラモセトロン、RAS ファルネシルタンパク質トランスフェラーゼ阻害剤、RAS 阻害剤、脱メチル化レチレプチン、レニウム RE 186 エチドロネート、リゾキシム、リボプリン、リボザイム、RII レチンアミド、RNAi、ログレチミド (rogletimide)、ロヒツキン、ロムルチド、ロキニメックス、ルビジノン B 1、ルボキシル、サフィンゴール、塩酸サフィンゴール、サントピン、サルコシンアミドニトロソウレア (sarcnu)、サルコフィトール A、サルグラモスチム、SDI 1 模倣物、セムスチン、老化誘導阻害因子 1、センスオリゴヌクレオチド、シグナル伝達阻害因子、シグナル伝達調節因子、シムトラゼイン、一本鎖抗原結合タンパク質、シゾフラン、ソブゾキサム、ポロカプテートナトリウム、フェニルアセテートナトリウム、ソルベロール、ソマトメジン結合タンパク質、ソネルミン、スパルホシン酸ナトリウム、スパルフォシン酸、スパルマイシン、スピカマイシン D、塩酸スピロゲルマニウム、スピロムスチン、スピロプラチン、スプレノブチン、スポンジスタチン 1、スクアラミン、幹細胞阻害剤、幹細胞分裂阻害剤、スチピアミド、スチピアミド、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ストロメライシン阻害剤、スルフィノシン、スルフヌール、超活性血管作用性腸管ペプチドアントゴニスト、スラジスター、スラミン、スワインソニン、合成グリコサミノグリカン、タリソマイシン、タリムスチン、タモキシフェンメチオジド、タウロムスチン、タザロテン、テコガランナトリウム、テガフル、テルラピリリウム、テロメラーゼ阻害剤、塩酸テロキサントロン、テモポルフィン、テモゾロミド、テオニボシド、テロキソン、テストラクトン、テトラクロロデカオキシド、テトラゾミン、タリプラチン、サリドマイド、チアミプリン、チオコラリン、チオグアニン、チオテパ、トロンボボエチン、トロンボボエチン模倣物、チマルファシン、チモボエチン受容体アゴニスト、チモトリナン、甲状腺刺激ホルモン、チアゾプリン、エチルエチオプルプリン錫、チ

ラバザミン、二塩化チタノセン、塩酸トポテカン、トブサンチン、トレミフェン、クエン酸トレミフェン、全能性幹細胞因子、翻訳阻害剤、トレストロンアセテート、トレチノイン、トリアセチルウリジン、トリシリピン、トリシリピンリン酸塩、トリメトレキセート、トリメトレキセートグルクロン酸塩、トリプトレリン、トロピセトロン、塩酸チューブロゾル、トロンステリド、チロシンキナーゼ阻害剤、チルホスチン、UBC 阻害剤、ウベニメックス、ウラシルマスタード、ウレデバ、尿生殖器洞由来成長阻害因子、ウロキナーゼ受容体アントゴニスト、パブレオチド、パリオリン B、ベラセロール、ベラミン、ベルジン、ベルテポルフィン、硫酸ピンブラスチン、硫酸ピンクリスチン、ピンデシン、硫酸ピンデシン、硫酸ピネピジン硫酸、ピングリシナート、硫酸ピンロイロシン、ピノレルピン、酒石酸ピノレルピン、硫酸ピンロシジン、ピンキサリチン (vinxaltine)、硫酸ピンゾリジン、ピタキシム、ポロゾール、ザノテロン、ゼニプラチン、ジラスコーブ、ジノスタチン、ジノスタチンスチマラー、並びに塩酸ザルピシン、また同様に、それらの塩、ホモログ、アナログ、誘導体、鏡像異性体、及び / 又は機能的に等価な組成物が挙げられる。

【0133】

がんの治療に有用な薬剤の他の例として、限定されないが、1 又は複数のリブタキシン (Ributaxin)、ハーセプチン、クアドラメット (Quadramet)、パノレックス (Panorex)、IDEC - Y2B8、BEC2、C225、オンコリム (Oncolyim)、SMART M195、ATRAGEN、オバレックス (Ovarex)、ベキサール (Bexxar)、LDP - 03、ior t6、MDX - 210、MDX - 11、MDX - 22、OV103、3622W94、抗 VEGF、ゼナパックス (Zenapax)、MDX - 220、MDX - 447、MELIMMUNE - 2、MEL

IMMUNE - 1、CEACIDE、プレターゲット (Pretarget)、Novo MAb - G2、TNT、Gliomab - H、GNI - 250、EMD - 72000、LymphoCide、CMA 676、Monopharm - C、4B5、ior egf . r3、ior c5、BABS、抗FLK - 2、MDX - 260、ANA Ab、SMART 1D10 Ab、SMART ABL 364 Ab及びImmurAIT - CE Aが挙げられる。

【0134】

本明細書で使用される「感染性疾患」は、感染性微生物による表面的に、局所的に又は全身に宿主への侵入により生じる障害を指す。感染性微生物として、限定されないが、細菌、ウイルス、真菌、カビ等が挙げられる。感染性疾患の治療に対して1又は複数の本発明の組成物と組み合わせて使用され得る治療剤及び薬物の例として、抗菌剤、抗微生物剤、抗ウイルス剤、ヌクレオチドアナログ、抗真菌剤、抗生物質等が挙げられる。かかる薬剤及び薬物は、感染性微生物を殺傷又は阻害することができる天然又は合成の化合物を含む。本発明により有用な抗菌剤の種類は、被験体が感染した、又は感染するリスクのある微生物の種類に依存する。

10

【0135】

本発明において潜在的に有用な抗生物質は、広域抗生物質及び狭域抗生物質を含む。単一の生物又は疾患に有効であり、他の種類の細菌には有効ではない抗生物質は、一般的には限定スペクトル抗生物質と呼ばれる。一般的に、抗生物質は、ベータ - ラクタム系抗生物質等 (例えば、セファロチン、セファピリン、セファレキシン、セファマンドール、セファクロル、セファゾリン、セフロキシム、セフォキシチン、セフォタキシム、セフスロジン、セフェタメ、セフィキシム、セフトリアキソン、セフォペラゾン、セフトジジン、モキサラクタム等を含む、カルバペネム及びセファロスポリン)、天然ペニシリン、半合成ペニシリン (例えば、アンピシリン、カルベニシリン、オキサシリン、アズロシリン、メズロシリン、ピペラシリン、メチシリン、ジクロキサシリン、ナフシリン等) アンピシリン、クラブラン酸、セファロスポリン、バシトラシン等細胞壁合成阻害剤、細胞膜阻害剤 (例えば、ポリミキシン、アンフォテリシンB、ナイスタチン、クロトリマゾール、ミコナゾール、ケトコナゾール、イトラコナゾール、フルコナゾールを含むイミダゾール等) ; タンパク質合成阻害剤 (例えば、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、エリスロマイシン等のマクロライド、ストレプトマイシン、リファンピン、エタンブトール、ストレプトマイシン、カナマイシン、トブラマイシン、アミカシン、ゲンタマイシン、テトラサイクリン (例えば、テトラサイクリン、ミノサイクリン、ドキシサイクリン、及びクワロテトラサイクリン等)、エリスロマイシン、ロキシスロマイシン、クラリスロマイシン、オレアンドマイシン、アジスロマイシン、クロラムフェニコール等のアミノグリコシド) ; 核酸合成又は機能阻害剤 (例えば、キノロン、C o - トリモキサゾール、リファマイシン等) ; 競合阻害剤 (例えば、ガントリシン、トリメトプリム等のスルホンアミド) である。

20

30

【0136】

抗ウイルス剤は、ウイルス、又は細胞内でのウイルスの複製による細胞の感染を予防する化合物である。抗ウイルス剤によって阻止又は阻害され得るウイルス感染のプロセスには幾つかの段階がある。これらの段階は、宿主細胞へのウイルスの付着 (例えば、免疫グロブリン、結合ペプチド等)、ウイルスの脱殻 (例えば、アマンタジン)、ウイルスmRNAの合成又は翻訳 (例えば、インターフェロン)、ウイルスRNA又はDNAの複製 (例えば、ヌクレオチドアナログ)、新たなウイルスタンパク質の成熟 (例えば、プロテアーゼ阻害剤)、ウイルスの出芽及び放出等を含む。

40

【0137】

ヌクレオチドアナログは、ヌクレオチドに類似するが、不完全又は異常なデオキシリボース又はリボース基を有し得る合成化合物である。ヌクレオチドアナログとして、限定されないが、アシクロビル、ガンシクロビル、イドクスウリジン、リバビリン、ジデオキシイノシン、ジデオキシシチジン、及びジドブジン (アジドチミジン) が挙げられる。

50

【0138】

抗真菌剤は、感染性真菌の治療及び予防に有用である。幾つかの抗真菌剤は、グルコースシンターゼを阻害することによって細胞壁阻害剤として機能する。これらとして、限定されないが、パシウギン/ECBが挙げられる。他の抗真菌剤は、膜の完全性を不安定化することによって機能する。これらとして、限定されないが、クロトリマゾール、セルタコナゾール、フルコナゾール、イトラコナゾール、ケトコナゾール、ミコナゾール、及びポリコナゾール等のイミダゾール、また、FK 463、アンフォテリシンB、BAY 38-9502、MK 991、プラジミシン、UK 292、プテナフィン、テルピナフィン等が挙げられる。他の抗真菌剤は、キチン（例えば、キチナーゼ）を破壊することによって、又は免疫抑制（501クリーム）によって機能する。

10

【0139】

本発明の特定の実施形態では、組成物は、例えば、リボソームに組み込まれる、高分子放出システムに組み込まれる、又は液体に懸濁される（例えば溶解形態若しくはコロイド形態で）好適な薬学的に許容可能な担体と組み合わせられてもよい。一般に、本発明における使用に適した薬学的に許容可能な担体は、当業者によく知られている。本明細書で使用される「薬学的に許容可能な担体」は、投与される有効成分（複数の場合がある）の生物学的活性の有効性と著しく干渉しない非毒性物質を指すが、例えば、使用前に該組成物内の有効成分（複数の場合がある）を安定化又は保護するための製剤化原料として使用される。薬学的に許容可能な担体は、幾つかの場合無菌であってもよい。「担体」の用語は、本発明の1又は複数の有効成分が組み合わせられて該組成物の適用を容易にする、天然又は合成であってもよい、有機又は無機の原料を指す。担体は、実質的に所望の薬学的効果を損なう相互作用が存在しないような方式で、本発明の1又は複数の有効成分と、また互いに混ざって或いは混合されてもよい。担体は、適用に応じて可溶性又は不溶性のいずれであってもよい。よく知られている担体の例として、ガラス、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエチレン、デキストラン、ナイロン、アミラーゼ、天然及び修飾セルロース、ポリアクリルアミド、アガロース、及びマグネタイトが挙げられる。単体の性質は可溶性又は不溶性のいずれかであってもよい。当業者は、他の好適な担体を知り、又は日常の実験のみを使用してかかるものを確認することができる。

20

【0140】

或る実施形態では、本発明の組成物は、塩、担体、緩衝剤、乳化剤、希釈剤、賦形剤、キレート剤、充填剤、乾燥剤、抗酸化剤、抗菌剤、防腐剤、結合剤、増量剤、シリカ、可溶化剤、又は有効成分として使用され得る安定化剤等の製剤原料と共に薬学的に許容可能な担体を含む。例えば、製剤が液体である場合、担体は溶媒、部分溶媒、又は非溶媒であってもよく、水性又は有機的に基づいてもよい。好適な製剤原料の例として、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、ラクトース、カオリン、リン酸カルシウム、若しくはリン酸ナトリウム等の希釈剤；コーンスターチ若しくはアルギン酸（alginic acid）等の顆粒化剤及び崩壊剤；デンプン、ゼラチン、若しくはアカシアゴム（acacia）等の等の結合剤；ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、若しくはタルク等の滑沢剤；モノステアリン酸グリセロール、若しくはジステアリン酸グリセロール等の時間遅延物質；カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン等の懸濁剤；レシチン若しくは他の天然ホスファチド等の分散剤若しくは湿潤剤；セチルアルコール若しくはミツロウ等の増粘剤、酢酸及びその塩、クエン酸及びその塩、ホウ酸及びその塩、若しくはリン酸及びその塩等の緩衝剤；又は塩化ベンザルコニウム、クロロブタノール、パラベン、若しくはチメロサル等の防腐剤が挙げられる。好適な担体の濃度は、日常の実験のみを使用して当業者によって決定され得る。本発明の組成物は、錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、粉末、顆粒、軟膏、溶液、保管（depositories）、吸入剤又は注射剤等の固体、半固体、液体又は気体の形態の製剤に製剤化され得る。当業者は、他の好適な製剤原料を知り、又は日常の実験のみを使用してかかるものを確認することができる。

30

40

【0141】

50

製剤は、特定の実施形態では被験体の血液と等張であってもよい、滅菌水性又は非水性の溶液、懸濁物、及びエマルジョンを含む。非水性溶媒の例は、ポリプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油、ゴマ油、ココナッツ油、ラッカセイ油、ピーナッツ油等の植物油、鉱物油、オレイン酸エチル等の注射用有機エステル、又は合成モノ-若しくはジ-グリセリドを含む揮発性油である。水性担体として、生理食塩水及び緩衝媒質を含む、水、アルコール/水性溶液、エマルジョン又は懸濁物が挙げられる。非経口ビヒクルとして、塩化ナトリウム溶液、1, 3-ブタンジオール、リンゲルデキストロース、デキストロース及び塩化ナトリウム、乳酸加リンゲル又は揮発性油が挙げられる。静脈内ビヒクルとして、流体及び栄養補充液、電解質補充液(リンゲルデキストロースに基づくもの等)等が挙げられる。また、例えば、抗菌剤、抗酸化剤、キレート剤、及び不活性ガス等の防腐剤及び他の添加剤が存在してもよい。当業者は、過度の実験に頼ることなく本発明の組成物の作製及び製剤化に対して様々なパラメーターを容易に決定することができる。

【0142】

或る実施形態では、本発明は、本発明の組成物を、1又は複数の副成分を構成し得る好適な担体と関連させる又は接触させる工程を含む。最終組成物は、任意の好適な技術によって、例えば、該組成物を均一かつ本質的に液体担体、細かく分割された固体担体若しくはそれらの両方と、任意に1又は複数の先に記載される製剤原料と関連させ、その後、必要に応じて製品を形成することにより作製されてもよい。

【0143】

或る実施形態では、本発明の組成物は、薬学的に許容可能な塩として存在してもよい。「薬学的に許容可能な塩」の用語は、上記組成物内又は所望の治療モダリティに見られる特定の化合物に応じて、例えば、酸又は塩基と組み合わせる作製された組成物の塩を含む。薬学的に許容可能な塩は、リチウム、ナトリウム若しくはカリウムの塩等のアルカリ金属塩として、又はベリリウム、マグネシウム、若しくはカルシウムの塩等のアルカリ土類塩として調製され得る。塩を形成するための使用され得る好適な塩基の例として、アンモニウム、又は水酸化ナトリウム、水酸化リチウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウム等の鉱物性塩基が挙げられる。塩を形成するため使用され得る好適な酸の例として、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、フッ化水素酸、硝酸、炭酸、一水素炭酸、リン酸、一水素リン酸、二水素リン酸、硫酸、一水素硫酸、亜リン酸等が挙げられる。他の好適な酸として、有機酸、例えば、酢酸、プロピオン酸、イソブチル酸、マレイン酸、マロン酸、安息香酸、コハク酸、フマル酸、マンデル酸、フタル酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルイルスルホン酸、クエン酸、酒石酸、メタンスルホン酸、グルクロン酸、ガラクトロン酸、サリチル酸、ギ酸、ナフタレート-2-スルホン酸等が挙げられる。さらに他の好適な酸として、アルギン酸塩、アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩等のアミノ酸が挙げられる。

【0144】

用量

本発明のいずれかの組成物を治療的有効量で被験体に投与してもよい。本明細書で使用される「治療的有効量」又は「有効」量若しくは用量は、被験体内で免疫性又は耐性を誘導する、及び/又は被験体がより効果的にNMOの症状を軽減する若しくは全体的にNMOを改善することを可能とするのに必要な量を意味する。被験体に投与された場合、有効量は、治療される特定の状態及び所望の結果に依存する。治療的有効用量は、例えば、以下にさらに記載されるもの等の要因を用い、また日常的な実験野範囲内で、当業者によって決定され得る。

【0145】

或る実施形態では、治療的有効量は細胞培養アッセイから最初に決定され得る。例えば、樹状細胞応答を誘導するのに有用な本発明の組成物の有効量は、シミュレーションインデックスに関して *in vitro* アッセイを使用して評価され得る。シミュレーションインデックスを使用して、特定の被験体に対する本発明の特定の組成物の有効量を決定す

10

20

30

40

50

ることができ、該用量を被験体における所望のレベルを達成するように増加又は減少して調整することができる。また、治療的有効量を動物モデルから決定することもできる。適用される用量を相対的な生体適合性及び投与される組成物の効能に基づいて調整することができる。上に記載される方法及び他の方法に基づいて最大の効果を達成するため用量を調整することは、当業者の能力の範囲に含まれる。これらの用量は、日常的な実験のみを使用して調整され得る。

【0146】

被験体に対する本発明の組成物の投与において、投薬量、投薬スケジュール、投与経路等は、これらの組成物の既知の活性に影響を及ぼすように選択され得る。投薬量は、実験モデルの結果に基づいて、任意には本発明の組成物のアッセイの結果と組み合わせ、推定され得る。投薬量は、投与の様式に応じて所望の組成の、局所又は全身のレベルを達成するように適切に調整され得る。用量は、1日当たり1回又は数回の投与で与えられてもよい。特定の被験体の応答がかかる用量において不十分である場合、被験体の耐性が許容する程度まで、さらに高用量（又は異なる、より局所化された送達経路による實際上より高い用量）を採用してもよい。また、幾つかの場合では、被験体内又は被験体の活動部位内における組成物の適切な全身レベルを達成するため、1日当たり複数の用量も考慮される。

10

【0147】

被験体に対する上記組成物の用量は、該組成物の治療的有効量が被験体内の組成物の活動部位、すなわち視神経及び/又は脊髄に到達するような用量であってもよい。投薬量は、幾つかの場合では、被験体内での任意の可能性のある有害な副作用を回避又は最小化しながら、最大量で与えられてもよい。実際に投与される組成物の投薬量は、活動部位において望まれる最終濃度、被験体への投与方法、組成物の効能、被験体内での組成物の寿命、投与のタイミング、併用療法の効果（例えば、カクテルにおけるような）等の要因に依存する。また、送達される用量は、被験体と関連する状態に依存し、幾つかの場合では被験体によって変化し得る。例えば、年齢、性別、体重、大きさ、環境、生理学的条件、又は被験体の現在の健康状態もまた、必要とされる用量及び/又は活動部位における上記組成物の濃度に影響を与え得る。投薬の変化は、異なる個体間で、又は同じ個体であっても異なる日で起こり得る。使用される最大用量、すなわち、健全な医学的判断に従う最も安全性の高い用量が好ましい場合がある。剤形は、実質的には被験体に有害な影響を与えないものであることが好ましい。特定の実施形態では、上記組成物は、予防手段として被験体に投与され得る。或る実施形態では、本発明の組成物は、人口統計研究若しくは疫学的研究に基づいて被験体に投与されてもよく、特定の分野若しくはキャリアの被験体に投与されてもよい。

20

30

【0148】

治療方法

本明細書において、被験体においてNMOを治療する方法及び/又はNMOに対して被験体を免疫する方法が提供される。

【0149】

したがって、或る一つの態様では、本発明は、治療的有効量のアクアポリン-4（AQP4）水チャネルのループCペプチド、又は治療的に有効なそのフラグメント若しくは変異体を投与することを含む、視神経脊髄炎（NMO）を有する個体を治療する方法を提供する。特定の態様では、上記組成物は、免疫抑制療法と共にさらに投与されてもよい。免疫抑制療法は、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動薬、インターフェロン、オピオイド、TNF結合タンパク質、及びミコフェノール酸からなる群から選択され得る。また、免疫抑制療法は、アルキル化剤、ナイトロジェンマスタード（シクロホスファミド）、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、プレオマイシン、ミトラマイシン、IL-2受容体に対する抗体、CD3に対する抗体、ムロノナブ-CD3、シクロスポリン（San

40

50

dimmine (登録商標)、タクロリムス (Prograf (登録商標))、シロリムス (Rapamune (登録商標))、IFN-ベータ、インフリキシマブ (Remicade (登録商標))、エタネルセプト (Enbrel (登録商標))、アダリムマブ (Humira (登録商標))、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ (Rituxan (登録商標))、MabThera (登録商標)、又はZytux (登録商標)、エクリズマブ (Soliris (登録商標))、インターフェロンベータ-1a (Avonex (登録商標))、ナタリズマブ (Tysabri (登録商標)) 及びマロノニトリルアミド (MNA) から選択されてもよい。

【0150】

したがって、或る一つの態様では、本発明は、治療的有効量のアクアポリン-4 (AQP4) 水チャンネルのループCペプチド、又は治療的に有効なそのフラグメント若しくは変異体を投与することを含む、視神経脊髄炎 (NMO) を有する個体を治療する方法を提供する。特定の態様では、上記組成物は、免疫抑制療法と共にさらに投与されてもよい。免疫抑制療法は、糖質コルチコイド剤、細胞増殖抑制剤、抗体、イムノフィリン作動薬、インターフェロン、オピオイド、TNF結合タンパク質、及びミコフェノール酸からなる群から選択され得る。また、免疫抑制療法は、アルキル化剤、ナイトロジェンマスタード (シクロホスファミド)、ニトロソウレア、白金化合物、メトトレキサート、アザチオプリン、メルカプトプリン、フルオロウラシル、タンパク質合成阻害剤、ダクチノマイシン、アントラサイクリン、マイトマイシンC、プレオマイシン、ミトラマイシン、IL-2受容体に対する抗体、CD3に対する抗体、ムロノナブ-CD3、シクロスポリン (Sandimmune (登録商標))、タクロリムス (Prograf (登録商標))、シロリムス (Rapamune (登録商標))、IFN-ベータ、インフリキシマブ (Remicade (登録商標))、エタネルセプト (Enbrel (登録商標))、アダリムマブ (Humira (登録商標))、フィンゴリモド、レフルノミド、リツキシマブ (Rituxan (登録商標))、MabThera (登録商標)、又はZytux (登録商標)、エクリズマブ (Soliris (登録商標))、インターフェロンベータ-1a (Avonex (登録商標))、ナタリズマブ (Tysabri (登録商標)) 及びマロノニトリルアミド (MNA) から選択されてもよい。

【0151】

治療のため、投与される量は、所望の効果を生じるのに有効な量である。有効量は、1回又は一連の投与において提供され得る。有効量は、ボラスで、又は連続する灌流により提供され得る。

【0152】

「有効量」(又は「治療的有効量」)は、治療による有益な又は所望の臨床結果をもたらすのに十分な量である。有効量を1又は複数の用量で被験体に投与してもよい。治療に関して、有効量は、疾患の進行を一時的に和らげる、改善する、安定化する、逆にする、若しくは遅くする、或いは疾患の病理学的な結果を減少するのに十分な量である。有効量は、一般的には、症例毎に内科医によって決定され、当該技術分野の範囲に含まれる。幾つかの要因は、典型的には、有効量を達成するための適切な投薬量を決定する際に考慮に入れられる。これらの要因として、被験体の年齢、性別及び体重、治療される状態、状態の重症度、並びに投与される抗原結合フラグメントの形態及び有効濃度が挙げられる。

【0153】

キット

特定の実施形態では、本発明は、視神経脊髄炎 (NMO) を有する個体を治療する医薬キットであって、治療的有効量のアクアポリン-4 (AQP4) 水チャンネルのループCペプチド及び/又はループC配列含有ペプチド、又は治療的有効量のその変異体及び/又はフラグメントと、前記個体を治療するための指示書とを備える医薬キットを提供する。或る実施形態では、本発明の治療剤を含有する滅菌容器を備え、かかる容器は、箱、アンブル、瓶、バイアル、管、袋、パウチ、プリスターパック、又は当該技術分野で既知の好適な容器の形態であってもよい。かかる容器は、プラスチック、ガラス、ラミネート紙、金

10

20

30

40

50

属箔、又は医薬品を保持するのに適した他の材料で作製されてもよい。

【0154】

上記キットは診断キット、例えば、ループC AQP4ポリペプチドのペプチド配列との接触によってT細胞活性化が起こることによりNMOを有する被験体を同定する、被験体を同定するための、ループC AQP4ポリペプチドのペプチド配列（配列番号8）及びその使用に関する指示書を備えるキットである。

【0155】

所望であれば、NMOを有する又はNMOを発症するリスクにある被験体に上記組成物を投与するための指示書と共に上記キットを提供する。指示書は、一般的にはNMOの治療又は予防のための組成物の使用に関する情報を含む。他の実施形態では、指示書は少なくとも以下の1つを含む：治療剤の説明、NMO若しくはその症状の治療若しくは予防のための投薬スケジュール及び投与、警告、指示、カウンタ表示、過量投与の情報、有害反応、動物による薬理学、臨床研究、及び/又は参照文献。指示書は、（存在する場合は）容器に直接印刷されてもよく、容器に貼り付けられるラベルとして、又は容器の中若しくは容器と共に供給される別々のシート、パンフレット、カード若しくはフォルダとしてであってもよい。

10

【0156】

組換え法は当該技術分野でよく知られている。本発明の実施は、別段の指示がない限り、当該技術分野の範囲に含まれる分子生物学（組み換え技術を含む）、微生物学、細胞生物学、生化学、及び免疫学の従来技術を採用する。かかる技術は、「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」, second edition (Sambrook et al., 1989); 「Oligonucleotide Synthesis」 (Gait, ed., 1984); 「Animal Cell Culture」 (Freshney, ed., 1987); 「Methods in Enzymology」 (Academic Press, Inc.); 「Handbook of Experimental Immunology」 (Wei & Blackwell, eds.); 「Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells」 (Miller & Calos, eds., 1987); 「Current Protocols in Molecular Biology」 (Ausubel et al., eds., 1987); 「PCR: The Polymerase Chain Reaction」, (Mullis et al., eds., 1994); 及び「Current Protocols in Immunology」 (Coligan et al., eds., 1991)等の文献に十分に説明される。これらの技術は、ポリヌクレオチド及びポリペプチドの産生に適用可能であり、それ自体、本発明の作製及び実施において考慮され得る。特に有用な技術は以下の欄で考察される。

20

30

【0157】

本発明は、限定として解釈されるべきではない以下の実施例によってさらに解説される。本出願を通して引用される全ての参照文献、並びに公開特許及び特許出願の内容は参照により本明細書に援用される。

40

【実施例】

【0158】

本発明は、限定と解釈されるべきではない以下の実施例によってさらに説明される。本出願を通して引用される全ての参照文献、GenBankアクセッション番号及び遺伝子番号、並びに公開された特許及び特許出願の内容は、参照より本明細書に援用される。当業者は、開示される構造、材料、組成及び方法対する変化を伴って本発明が実施され得ることを認識し、かかる変化は本発明の範囲に含まれるとされる。

【0159】

実施例1：AQP4応答性T細胞によって作製された視神経脊髄炎（NMO）動物モデルは、可溶性ループCペプチドに基づく抗原特異性療法を使用するNMOを標的とする治

50

療標的としてAQP4応答性T細胞を同定した。

野生型マウスに養子移植した場合に野生型マウスにNMO様疾患を引き起こした、病原性AQP4応答性T細胞をAQP4ヌルマウスにおいて産生するため、独特のアプローチを採用した。Tヘルパー17表現型に対するAQP4応答性T細胞の極性化は、表現型を増強し、視神経及び脊髄の炎症及び脱髄をもたらした。特に、マウスにおける病原性AQP4応答性T細胞を使用するNMOの血清陰性モデルは、Th17表現型に対して極性化され、野生型マウスに移植された場合に尾及び四肢の脱力をもたらした、AQP4の第2の細胞外ループであるループC（例えば、ループC配列含有ペプチド、配列番号8）に対応するペプチドによってAQP4ヌルマウスを免疫することによって作製された。組織学は、脳と同様に脊髄及び視神経全体に亘る脱髄及びT細胞浸潤を示した。予想外なことに、AQP4応答性T細胞は抗AQP4抗体無しにマウスにおいてNMO様疾患を誘発するのに十分であり、病原性AQP4応答性T細胞がヒトにおいて同様の役割を果たす可能性があることを示した。マウスにおける幅広いAQP4発現にもかかわらず、実質臓器の炎症の他の証拠はなく、ヒトNMO疾患のモデリングに対するこのアプローチの特異性を支持した。

【0160】

材料及び方法

動物

C57BL/6バックグラウンドに対して戻し交雑されたアクアポリン-4ヌルマウスをErlend Nagelhus（ノルウェー国オスローのオスロー大学）から得て、室内で繁殖させた。6週齢～8週齢の雌性C57BL/6をThe Jackson Laboratoryから購入した。全てのマウスを病原体フリーで12時間の人工明暗サイクルのもと飼育し、食物及び水に自由にアクセスさせた。ジョンズ・ホプキンス研究所実験動物委員会は全ての実験手順を承認した。

【0161】

試料

注射の2日前に樹脂に基づく精製法（Melon Gel IgG Purificationキット、Thermo Scientific）を使用して、血漿交換を受けている患者の血漿からヒトIgG画分を精製した。精製したIgGをスピンカラム遠心分離（Amicon Ultra、100kD MWカットオフ）により濃縮し、100µlの腹腔内注射のため最終タンパク質濃度を25mg/mlに調整した。Mayo臨床NMO-IgGアッセイにより全てのNMOタンパク質はNMO-IgGに対して血清陽性と確認し、3名の患者に由来するNMO血漿試料を精製前にプールした。ヒトIgG画分（対照IgG）を得た。研究に試料を使用するためのインフォームドコンセントによって無名化（deidentified）された方式で、ジョンズ・ホプキンス研究所治験審査委員会によって承認されたプロトコルにより全ての試料を得た。

【0162】

T細胞作製及び培養

ジョンズ・ホプキンス合成及び配列決定基盤施設においてアクアポリン-4細胞外ループペプチド（ヒト56～69、135～53及び212～30）を合成した。120mg/mlのストック溶液をDMSO中に作製した。3つ全てのペプチドを各々2mg/mlでリン酸緩衝生理食塩水にさらに希釈し、不完全アジュバント（Imject; Thermo-Fisher）（14）中8mg/mlの加熱殺菌した結核菌（M.tuberculosis）H37Ra（Difco）を含む完全アジュバントと共に1:1で混合した。アクアポリン-4KO及びシンジェニックC57BL/6マウス（米国マサチューセッツ州ジャクソン）を合計100µlエマルジョンを用いて側腹部に免疫した。また、0日目及び2日目に250ngの百日咳毒素（Tocris）によりマウスを腹腔内注射した。免疫の23日後、脾臓を採取し、脾臓をシリンジプランジャーを使用して70µmのセルストレーナー（Becton Dickinson）に押し通して細胞単一（single）細胞懸濁物を作製した。2mlのACKリシス溶液中（米国メリーランド州のQu

10

20

30

40

50

ality Biological) に室温にて2分間、各脾臓を再懸濁することによって赤血球を枯渇させ、その後培地で洗浄した。細胞を計数し、Glutamax、1%必須アミノ酸、1%ピルビン酸ナトリウム、抗生物質 - 抗真菌剤 (Life Technologies, Inc.)、10%仔ウシ血清 (Sigma)、及び50 μ M ベタメルカプトエタノール (Sigma) で補足したRPMI 1640中、1ウェル当たり 3×10^5 細胞で96ウェル平底プレートに播種した。ペプチドを含有する100マイクロリットルの培地 (最終濃度: 10 μ g/ml) : MOG₃₅₋₅₅、Aqp4₅₆₋₆₉ (ループA)、Aqp4₁₃₅₋₅₃ (ループC関連)、又はAqp4₂₁₂₋₃₀ (ループE) をウェルに三連で添加した。

ペプチドを添加しない培地、又は0.1% DMSOを含有する培地は、「刺激無し (NS)」バックグラウンド対照としての役割を果たした。加湿雰囲気下37、5% CO₂ のインキュベータで4日間培養した後、0.5マイクロCuの³H - チミジン (Perkin-Elmer) を含有する10 μ l の溶液を各ウェルに添加し、さらに18時間インキュベートした。細胞を濾紙マットに採取した。乾燥後、マットをシンチレーション液で処理し、³H 取込みについてアッセイした。結果をカウント毎分 (cpm) として表す。

【0163】

T細胞作製、養子移植、及び行動スコアリング

初期の実験では、DMSO/PBS中AQP4の第2の細胞外ループ、ループCに対応するペプチド (配列番号6) によるAQP4ヌルマウスの免疫を、0日目にフロイントアジュバントと共に皮下注射した。23日目に脾臓を採取し、バルクNH₄溶解し (bulk NH₄-lysed)、標準培地中で培養した。T細胞増殖アッセイについて、12.5 mg/ml の加熱殺菌した結核菌を含有する最終濃度10 mg の不完全フロイントアジュバントのペプチド: したがって、各動物は625 μ g の結核菌を受けた (0日目)。百日咳毒素 (300 ng) を0日目及び2日目に腹腔内投与した。動物を毎日計量し、盲検 (blinded examiner) により標準化した5点の障害スケールに基づいて点数を付けた (Jones et al. 2008)。プールしたNMO血漿又は対照ヒト血漿のいずれかから精製されたヒトIgGの一連の4回の腹腔内注射を合計10 mg / 動物に対して13日目、14日目、18日目、及び19日目に投与した。ビヒクル対照は等容量のPBSを受けた。

【0164】

更なる実験では、1 mg/ml のループC関連ペプチド (135~53) を含む4 mg/ml のフロイント完全アジュバントのエマルジョンを用いて各側腹部及び各肩 (1注射部位当たり50 μ l) に対して、6週齢~7週齢の雌性アクアポリン-4 KOマウスを免疫した。免疫の10日後、リンパ節 (鼠径部、腰部、上腕、及び腋窩) を収集した。シリンジプランジャーを使用して70 μ m のセルストレーナーにリンパ節を通過させセルことによって単一細胞懸濁物を作製した。完全培地 (10% FCS、5 μ M -メルカプトエタノール、非必須アミノ酸、ピルビン酸ナトリウム、HEPES) 中で洗浄した後、細胞を計数し、1 ml 当たり 6×10^6 細胞でT75フラスコに播種した。非極性化細胞をペプチド (最終濃度は50 μ g/ml であった) のみで刺激した。Th17極性化のため、ペプチドに加えて30 ng/ml IL-6、20 ng/ml IL-23 (eBioSciences)、及び10 μ g/ml の抗IFNガンマ (XMG1.2; BD Biosciences) で細胞を刺激した。3日間の培養の後、細胞を採取し、滅菌PBSで洗浄し、 5×10^6 細胞を尾静脈よりマウスに静脈注射した。百日咳毒素 (250 ng; Tocris) を細胞に続いてすぐに静脈注射し、2日後に再度注射した。細胞移植の5日後から開始して、盲検により標準化された5点のEAE障害スケールを使用して定量される、行動サイン及び体重を追跡した (14)。細胞移植から14日後~21日後に動物を安楽死させ、組織学的評価のため細胞を採取した。

【0165】

ELISPOTアッセイ

ELISPOTアッセイを使用して極性化及び非極性化された細胞培養物におけるサイ

10

20

30

40

50

トカイン産生細胞の頻度を特定した。免疫化されたAQP4ヌルマウスから細胞を採取する前日に、イモビロンP-底96ウェルプレート(Multiscreen(登録商標)HTS、0.45 μ m孔径;米国EMB Millipore)のウェルを35%エタノールで30秒間プリウェット(pre-wet)し、被覆バッファーで3回洗浄し、ELISPOT Ready-Set-Goキット(eBioscience)より提供される50 μ lの1:250希釈の捕捉抗体である抗IL17(Th17)で被覆した。プレートを被覆して4で一晚インキュベートした。その後、ウェルを被覆バッファーで2回洗浄し、完全培地で1回洗浄し、細胞が用意されるまでプレートをインキュベータに保存した。脾臓及びリンパ節を上に記載されるよう、また極性化条件で及びその条件によらずに調製した。採取した細胞を、抗原提示細胞(APC)として 3×10^7 照射脾臓細胞(3,500radで照射)を含む培地に2倍連続希釈したところ、12:1で1ウェル当たり 1.25×10^5 リンパ節細胞と混合されたAPCは、最も明確なスポットを生じた。一晚の培養の後、ウェルを洗浄した(TBS+0.05%Tween(登録商標)-20)。検出抗体をキットに提供される希釈剤に1:250に希釈し、室温にて2時間に亘り50 μ lを各ウェルに適用した。洗浄後、ストレプトアビジン-アルカリホスファターゼを各ウェル(1:2500;Sigma)に45分間添加した。更なる洗浄の後、暗所において室温で10分間、BCIP及びNBT(すなわち、4mMのレバミソール(Sigma)、0.15mg/ml 5-プロモ-4-クロロ-3-インドリル-ホスフェート、及び0.36mg/mlの4-ニトロブルーテトラゾリウムクロリド(Roche)で補足された150mM Tris-HCl、5mM MgCl₂、100mM NaCl、pH9.5)を含む現像液でシグナルを現像した。反応をPBSで洗浄することにより停止した後、風乾前に蒸留H₂Oで洗浄した。スポットをImmunospot Series 3 Analyzer(Cellular Technology, Ltd.)により画像化し、Image J及び「find Maxima」機能を使用して計数した。結果を、1ウェル当たり 10^6 細胞当たり調整して、三連の値の平均(\pm 平均の標準誤差、SEM)として表す。ステューデントT検定をデータに対して行い、 $p < 0.05$ を統計学的に有意とした。

【0166】

組織加工及び組織学

イソフルラン(isoflurane)により麻酔し、心臓穿刺により最初にPBS、その後新たに作製した4%パラホルムアルデヒド溶液により灌流した。視神経及び脊髄を採取し、一晚固定し、30%ショ糖中で凍結保存し、切片作製のため冷凍した。O.C.T. Compound(TissueTek(登録商標))中に組織を包埋した後、10ミクロン~30ミクロンの切片をSuperfrost Plus Microscope Slides(Fisher brand)に固定した。ヒト抗体がマウスの中枢神経系に入ることを追跡する目的のため、最後のヒトIgGの腹腔内注射の20分後に第1のコホートの動物を犠牲した。第2のコホートの動物を犠牲し、疾患誘導の62日目に同様の方法で組織を調製した。

【0167】

ミエリンに対するエリクロムシアニン染色及び免疫組織化学染色

エリクロムシアニンを使用して切片組織における脱髄病変を特定した。エリクロムシアニンを450mlの0.5% H₂SO₄(0.2%)に溶解し、最終濃度0.4%まで10%FeCl₃を添加してエリクロムシアニン溶液を作製した。切片組織を100%エタノール、95%エタノール、70%エタノール、及び蒸留水で各々10分間連続洗浄することにより水和した後、エリクロムシアニン溶液に15分間浸漬した。染色後、新たに作製した0.1% NH₄OH中で20秒間~30秒間に亘り識別を行い、蒸留水で洗浄することによって停止した。スライドを以下に記載されるように固定した。アセテートバッファー中0.1%エオシンYで切片を対比染色した。マイクロ波加圧調理器において0.05Mホウ酸ナトリウム(pH8.0)中の熱媒介抗原賦活化を行う前に、生理食塩水中で切片を洗浄することによりCD3+T細胞に対する免疫組織化学染色を行った。バッファ

ーに浸漬したスライドを最大圧力が達成されるまで最大出力で（5分間）マイクロ波で加熱した後、20%の出力でさらに7分間加熱した。3分間の冷却及び室温の生理食塩水によるスライド容器の浸水の後、内因性ペルオキシダーゼをクエンチするためスライドを20分間3% H₂O₂に移し、アビジン/ビオチンブロッキングキット（Vector Laboratories, Inc.）を使用して内因性ビオチンをブロックした。室温にて30分間、0.1% Triton（登録商標）X-100中5%ヤギ血清により非特異的結合をブロックした。抗CD3ウサギモノクローナル抗体（クローンSP7；米国Gene Tex）を1：75で4で一晚適用し、ビオチニル化ヤギ抗ウサギIgG（1：1000；Vector Laboratories, Inc.）の後、アビジン-ビオチン複合体-セイヨウワサビペルオキシダーゼ（Vector Laboratories, Inc.）によって検出した。シグナルを0.03% H₂O₂を含むPBS中0.5mg/mlのジアミノベンジジンHClにより5分間現像した。洗浄後、スライドにFast Green対比染色を行い、脱水し、固定した。ミエリン及びCD3染色の定量及び分析は記載される通りである（7）。グリア線維酸性タンパク質（GFAP）、ミエリンに対するミエリン塩基性タンパク質、及びアクアポリン-4を、マウス抗GFAP（1：1000；Sigma）、ウサギモノクローナル抗MBP（1：250；Epitomics/Abcam）、及びウサギ抗AQP4（H-19）（1：250；Santa Cruz Biotechnology）を4で一晚適用した後、ヤギAlexa Fluor（登録商標）555-複合抗ウサギIgG及びFluor（登録商標）488-複合抗マウスIgG（1：250；Life Technologies/Molecular Probes）で室温にて30分間適用する免疫蛍光法（抗原賦活を伴わない）により調べた。蛍光切片を2µg/ml 4', 6-ジアミジノ-2-フェニルインドール（DAPI）を含むFluorogel（Electron Microscopy Sciences）により固定し、透明なマニキュアにより密封した。

10

20

30

40

50

【0168】

現在の実施例では、野生型C57Bl/6マウスは、幾つかの免疫優性ペプチドに対するT細胞応答を生じたにもかかわらず、AQP4のペプチドで免疫された後に脳脊髄炎を発症しなかった。ヒトNMO抗AQP4抗体がAQP4の細胞外エピトープを標的とすることから、AQP4ループA、C、及びEの細胞外ループに対応するペプチドに対する抗体産生及びT細胞応答をAQP4ヌルマウスにおいてスクリーニングした。いずれのループに対しても抗体産生の証拠は特定されなかったが、AQP4の第2の細胞外ループであるループCに対してロバストなT細胞応答が存在した（データは示されていない）。

【0169】

NMOでは、抗AQP4抗体は、AQP4の細胞外エピトープを標的とする。AQP4ヌルマウスを使用して、AQP4の細胞外ループであるループA、ループC（具体的には、配列番号8のループC関連ペプチド配列135~153）、及びループEに対応するペプチドに対する抗体産生及びT細胞応答を調べた。AQP4ヌルマウスは病原性AQP4応答性T細胞の発現に対して免疫耐性を克服しなくてもよかったため、このモデルではAQP4ヌルマウスを使用した。上記ループのいずれかに対する抗体産生の証拠は特定されなかったが、配列番号8のループC関連ペプチド配列135~153に対するロバストなT細胞応答が存在した（図7A）。短いペプチドは常にロバストな抗体応答を呈しないことから、抗AQP4抗体産生の欠如は予測されていなかった。極性化AQP4応答性T細胞は、非刺激対照（図7B）と比較して、相当数のインターロイキン17（IL17）及びIFN-ガンマ分泌細胞を産生した。しかしながら、Th17表現型にのみ極性化した場合、IL17分泌細胞の数は二倍になり、IFN-ガンマ産生細胞の数はほとんど検出不可能であった（図7B）。

【0170】

配列番号8のループC関連ペプチド配列135~153に対してロバストなT細胞反応を生じたAQP4ヌルマウスは、標的抗原を発現しなかったため、自己免疫性神経疾患を発病しなかった。野生型AQP4発現C57Bl/6マウスに静脈内移植された場合であ

ってもこれらの A Q P 4 応答性 T 細胞は臨床上意義のある行動学的特徴又は髄膜の炎症を超える CNS の脱髄疾患の組織学的証拠を発現しなかった（データは示されていない）。養子移植に先立って、A Q P 4 応答性 T 細胞をより炎症促進性 T h 1 7 ヘルパー細胞表現型に対して極性化した場合、臨床効果は少なくとも 2 . 0（図 8 A）の行動スコアを伴う尾の引きずり、及び関連する体重減少（図 8 B）に加えて足の脱力及び麻痺が著しかった。

【 0 1 7 1 】

3 つの重要な対照は、臨床上又は組織学的な表現型を示さず、このモデルの特異性を確認した。第 1 に、非刺激培養物又は非 CNS タンパク質によって刺激された培養物に由来する T h 1 7 極性化 A Q P 4 応答性 T 細胞の養子移植は無害であり、極性化プロセスの間に A Q P 4 ペプチドが必要されたことを強調した（図 8 A ~ 図 8 B）。第 2 に、ナイーブ A Q P 4 ヌルマウスに戻し移植（*transferred back*）した T h 1 7 に対して極性化された A Q P 4 応答性 T 細胞も無害であり、宿主マウスにおける A Q P 4 の星状細胞発現はこのモデルに必要であったことを実証した（データは示されていない）。組織学的には、非極性化 A Q P 4 応答性 T 細胞の臨床学的に無症状の野生型レシピエントでは、脊髄の軟組織、視神経及び脳（図 9 A、図 9 D、図 9 G）、また同様に肺等の他の A Q P 4 発現実質臓器（図 9 J）において散在する希少な C D 3 + T 細胞が存在した。養子移植された T h 1 7 極性化 A Q P 4 応答性 T 細胞の臨床的影響を受けた野生型レシピエントでは、組織学は、脱髄及び炎症性浸潤の増加が脊髄、視神経、及び脳に主に C D 4 + リンパ球を含んだことを明らかにした。脊髄（図 9 B、図 9 C）及び視神経（図 9 E、図 9 F）における炎症及び脱髄は、症状の大半を占めるが、脳幹、小脳、及び大脳皮質の一部は、炎症領域を示し、これはマウスほど臨床上明白ではなかった（図 9 H）。A Q P 4 水チャネルがこれらの病原性 T 細胞によって標的化されたが、星状細胞 A Q P 4 発現は、急性炎症病変内であっても比較的無傷のようであった（図 9 I）。多くの他の実質臓器における A Q P 4 発現にもかかわらず、臨床的影響を受けたマウスにおいて肺（図 9 K）又は筋肉（図 9 L）を含む CNS 外における炎症又は A Q P 4 喪失の証拠はなかった。T h 1 7 極性化 A Q P 4 応答性 T 細胞の野生型レシピエントの脊髄、視神経及び脳における C D 3 細胞の盲検による定量は、非極性化 A Q P 4 応答性 T 細胞を受けたマウスと比較して 5 倍超の免疫反応性（** $p < 0 . 0 1$ ）を示した（図 1 0）。

【 0 1 7 2 】

したがって、上の研究は、N M O に類似する疾患は、A Q P 4 の第 2 の細胞外ループであるループ C に対する自己応答性 T 細胞の養子移植によって野生型マウスにおいて引き起こされ得ることを実証した。また、上の研究は、病原性 A Q P 4 応答性 T 細胞の養子静脈内移植は、他の A Q P 4 発現実質臓器を除いて、視神経及び脊髄を攻撃する N M O 様炎症性疾患を引き起こすのに十分であったことを実証した。移植前の T h 1 7 表現型への A Q P 4 応答性 T 細胞の極性化は炎症を増幅し、より重篤な脱髄及び神経障害をもたらした。この応答に対する最良の説明は、A Q P 4 ヌルマウスにおける A Q P 4 ループ C 配列含有ペプチド配列番号 8 による免疫は、野生型マウスにおける同じループの免疫化とは異なる T 細胞応答を生じたことであった（15）。ヌルマウスにおいて A Q P 4 応答性 T 細胞は、野生型マウスにおいて産生された場合のような任意の程度の負の選択に曝されなかった。また、任意の可能性のある自己応答傾向を抑制する野生型マウスにおける保護調節応答が存在し得る。

【 0 1 7 3 】

ループ C 全長に及ぶわずかに短いペプチドを使用する先の研究では、免疫化は、C 5 7 B 1 / 6 マウスにおいて T 細胞応答を惹起したが、いかなる種類の臨床上の疾患も誘発しなかった。また同様に、A Q P 4 ヌルマウスにおけるループ C ペプチドによる免疫化は、臨床上の表現型を伴わずに T 細胞応答を賦活した。後者は、ヌルマウスに A Q P 4 応答性 T 細胞が攻撃する A Q P 4 が存在しなかったことから予測された。しかしながら、A Q P 4 ヌルマウスに由来する A Q P 4 応答性 T 細胞が野生型マウスに養子移植された場合、自己応答性 T 細胞は CNS 炎症を伴う N M O 様疾患を生じた。移植前のそれらの T 細胞の T

h 1 表現型ではなく T h 1 7 表現型に対する極性化は、炎症を増幅し、その炎症は視神経及び脊髄に限定されたままであり、マウスにおいて A Q P 4 を発現する他の臓器と同様に脳には炎症を生じない。

【 0 1 7 4 】

この応答に対する最良の説明は、A Q P 4 ヌルマウスにおける A Q P 4 - ループ C ペプチドによる免疫化は、野生型マウスにおける同じループの免疫化とは異なる T 細胞応答を生じることである。ヌルマウスにおけるこれらの A Q P 4 応答性 T 細胞は、野生型マウスで産生された場合に A Q P 4 応答性 T 細胞が暴露されるような任意の程度の負の選択に曝されない。また、野生型マウスでは、任意の可能性のある自己応答傾向を抑制する保護的な調節応答が存在する可能性がある。

10

【 0 1 7 5 】

本研究の意義は、視神経及び脊髄に対してのみ誘発及び局在化された炎症の両方における N M O の T H 1 7 極性化 A Q P 4 応答性 T 細胞の中樞免疫病原性の役割を示す。A Q P 4 を標的とする病原性 T 細胞は、A Q P 4 発現星状細胞を殺傷せず、A Q P 4 発現の喪失を引き起こさなかった。むしろ、このモデルにおいて実証された病原性 T 細胞の役割は、C N S の A Q P 4 に富む領域に対する攻撃を誘発した後、抗体及び補体を含む免疫系の他の成分を動員して星状細胞の損傷を媒介することである。ヒト N M O の病理学では、星状細胞の死滅及びアクアポリン - 4 の喪失は抗 A Q P 4 抗体の結合によって開始され、補体の媒介による A Q P 4 の M 2 3 アイソフォームの破壊、又は M 1 アイソフォームの内部移行のいずれかをもたらす (1 6 、 1 7) 。神経炎症を悪化する抗 A Q P 4 抗体の病原性機能が以前に実証されたが、進行中の実験的な脊髄炎の状況下のみであって、疾患の発病下 (*in instigating the disease*) ではない (5 ~ 7) 。ラット又はマウスへの抗 A Q P 4 抗体の受動移入は、血液脳関門が発達途中であり、C N S 標的に対して抗体が結合可能である P 2 の子においても、自己応答性 T 細胞の不在下では神経炎症を誘発できなかった。したがって、神経系に対する免疫標的の特異性は、抗 A Q P 4 抗体によっては媒介されず、抗 A Q P 4 抗体は、任意の臓器において結合し得たことから、A Q P 4 標的間で区別しなかった。

20

【 0 1 7 6 】

細胞外ループ C は、ヒトにおいて抗 A Q P 4 抗体の最も一般的な標的である (1 9) 。A Q P 4 応答性 T 細胞及び病原性 A Q P 4 抗体は、共にはたらいで N M O を引き起こす可能性がある。このモデルでは、自己応答性 T 細胞及び抗体応答の両方を賦活する条件下で A Q P 4 のループ C に対応するペプチドに易罹患性の人を暴露する。A Q P 4 に応答する T h 1 7 は、本研究及び以前の動物モデル (2 0) において実証されたように、より劇症型の疾患を引き起こす可能性がある。A Q P 4 応答性 T 細胞が視神経及び脊髄に対する炎症を誘発すると、抗 A Q P 4 は補体活性化及び顆粒球動員をおこなうことによって病状を悪化させる。

30

【 0 1 7 7 】

このモデルは、N M O に対する A Q P 4 特異的免疫療法の可能性を強調する。非常に特異的な抗原 (A Q P 4) 及び抗体応答 (抗 A Q P 4) を伴い、ここで A Q P 4 応答性 T 細胞と関連する可能性を有する疾患として、N M O は抗原特異性療法による治療に適している (2 1 、 2 2) 。耐性応答を誘導するため、高用量の可溶性ループ C ペプチド (例えば、ループ C 配列含有ペプチド配列番号 8 、及び / 又はそのフラグメント若しくは誘導体) を、現在 N M O の治療に一般的に使用されるリツキシマブ等の薬物による免疫抑制の状況下で患者に提供することができる。基礎疾患により、粘膜耐性を達成するための経口経路が疾患の増悪を回避する最も安全な初期アプローチのようである (2 3) 。(抗原特異的療法が試験された) より抗原特異性の低い、関節リウマチ及び多発性硬化症等の他の疾患では、免疫優性抗原応答における顕著な不均一性があり、対照的に、N M O は、大部分が A Q P 4 水チャネルにのみ対する反応によって定義される、A Q P 4 関連疾患であるが、一部の患者がループ A 及びループ E に対しても抗体応答を生じ、A Q P 4 内の正確な標的は N M O 患者の間でわずかに変化する可能性がある (1 9) 。理論に束縛されることを望む

40

50

ものではないが、大半の病原性抗体はAQP4のループC（例えば、ループC配列含有ペプチド配列番号8及び/又はそのフラグメント若しくは誘導体）を標的とするが、一部の患者はループA及びループEに対しても応答する抗体を産生する（19）。ループEに対して応答性のT細胞が脊髄における炎症を誘導することができたLewisラットにおける研究は、ループC以外のAQP4の細胞外標的も同様に関与する可能性を示唆した（24）。

【0178】

等価物：

当業者は、日常的な実験のみによって、本明細書に記載される具体的な実施形態及び方法に対する多くの等価物を認識する、又は確認することが可能である。かかる等価物は、以下の特許請求の範囲によって包含されることが意図される。

10

【0179】

本明細書に記載される詳細な実施例及び実施形態は、解説目的のみの例示として与えられ、何ら本発明を限定するとみなされるものではないと理解される。様々な修正又は変化が当業者に対して示唆され、本出願の趣旨及び範囲に含まれ、添付の特許請求の範囲に含まれるとみなされる。例えば、原料の相対量は、所望の効果を最適化するために変化してもよく、追加の原料が添加されてもよく、及び/又は同様の原料を1若しくは複数の記載される原料について置換してもよい。本発明のシステム、方法、及びプロセスと関連する追加の有利な特徴及び機能は、添付の特許請求の範囲から明らかとなる。さらに、当業者は、日常的な実験のみによって、本明細書に記載される具体的な実施形態及び方法に対する多くの等価物を認識する、又は確認することが可能である。かかる等価物は、以下の特許請求の範囲によって包含されることが意図される。

20

【0180】

参考文献

1. Oh J, Levy M. 2012. Neuromyelitis optica: an antibody-mediated disorder of the central nervous system. *Neurol Res Int* 2012: 460825.
2. Matsuoka T, Suzuki SO, Suenaga T, Iwaki T, Kira J. 2011. Reappraisal of aquaporin-4 astrocytopathy in Asian neuromyelitis optica and multiple sclerosis patients. *Brain Pathol* 21: 516-32.
3. Popescu BF, Lucchinetti CF. 2012. Pathology of demyelinating diseases. *Annu Rev Pathol* 7: 185-217.
4. Bennett JL, Lam C, Kalluri SR, Saikali P, Bautista K, Dupree C, Glogowska M, Case D, Antel JP, Owens GP, Gilden D, Nessler S, Stadelmann C, Hemmer B. 2009. Intrathecal pathogenic anti-aquaporin-4 antibodies in early neuromyelitis optica. *Ann Neurol* 66: 617-29.
5. Bradl M, Misu T, Takahashi T, Watanabe M, Mader S, Reindl M, Adzemovic M, Bauer J, Berger T, Fujihara K, Itoyama Y, Lassmann H. 2009. Neuromyelitis optica: pathogenicity of patient immunoglobulin in vivo. *Ann Neurol* 66: 630-43.
6. Kinoshita M, Nakatsuji Y, Kimura T, Moriya M, Takata K, Okuno T, Kumanogoh A, Kajiyama K, Yoshikawa H, Sakoda S. 2009. Neuromyelitis optica: Passive transfer to rats by human immunoglobulin. *Biochem Biophys Res Commun* 386: 623-7.
7. Saini H, Rifkin R, Gorelik M, Huang H, Ferguson Z, Jones MV, Levy M. 2013. Passively transferred human NMO-IgG exacerbates demyelination in mouse experimental autoimmune encephalomyelitis. *BMC Neurol* 13: 104.
8. Ratelade J, Asavapanumas N, Ritchie AM, Wemlinger S, Bennett JL, Verkman AS. 2013. Involvement of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in inflammatory demyelination in a mouse model of neuromyelitis optica. *Acta Neuropathol* 126: 699-709.
9. Kinoshita M, Nakatsuji Y, Kimura T, Moriya M, Takata K, Okuno T, Kumanogoh A, Kajiyama K, Yoshikawa H, Sakoda S. 2010. Anti-aquaporin-4 antibody induces astr

30

40

50

- ocytic cytotoxicity in the absence of CNS antigen-specific T cells. *Biochem Biophys Res Commun* 394: 205-10.
10. Saadoun S, Waters P, Bell BA, Vincent A, Verkman AS, Papadopoulos MC. 2010. Intra-cerebral injection of neuromyelitis optica immunoglobulin G and human complement produces neuromyelitis optica lesions in mice. *Brain* 133: 349-61.
 11. Saadoun S, Waters P, Macdonald C, Bridges LR, Bell BA, Vincent A, Verkman AS, Papadopoulos MC. 2011. T cell deficiency does not reduce lesions in mice produced by intracerebral injection of NMO-IgG and complement. *J Neuroimmunol* 235: 27-32.
 12. Nelson PA, Khodadoust M, Prodhomme T, Spencer C, Patarroyo JC, Varrin-Doyer M, Ho JD, Stroud RM, Zamvil SS. 2010. Immunodominant T cell determinants of aquaporin-4, the autoantigen associated with neuromyelitis optica. *PLoS One* 5: e15050.
 13. Kalluri SR, Rothhammer V, Staszewski O, Srivastava R, Petermann F, Prinz M, Hemmer B, Korn T. 2011. Functional characterization of aquaporin-4 specific T cells: towards a model for neuromyelitis optica. *PLoS One* 6: e16083.
 14. Jones MV, Nguyen TT, Deboy CA, Griffin JW, Whartenby KA, Kerr DA, Calabresi PA. 2008. Behavioral and pathological outcomes in MOG 35-55 experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 199: 83-93.
 15. Lin RH, Stockinger B. 1989. T cell immunity or tolerance as a consequence of self antigen presentation. *Eur J Immunol* 19: 105-10.
 16. Hinson SR, Romero MF, Popescu BF, Lucchinetti CF, Fryer JP, Wolburg H, Fallier-Becker P, Noell S, Lennon VA. 2012. Molecular outcomes of neuromyelitis optica (NMO)-IgG binding to aquaporin-4 in astrocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 1245-50.
 17. Rossi A, Ratelade J, Papadopoulos MC, Bennett JL, Verkman AS. 2012. Neuromyelitis optica IgG does not alter aquaporin-4 water permeability, plasma membrane M1/M23 isoform content, or supramolecular assembly. *Glia* 60: 2027-39.
 18. Saadoun S, Waters P, Leite MI, Bennett JL, Vincent A, Papadopoulos MC. 2013. Neuromyelitis optica IgG causes placental inflammation and fetal death. *J Immunol* 191: 2999-3005.
 19. Iorio R, Fryer JP, Hinson SR, Fallier-Becker P, Wolburg H, Pittock SJ, Lennon VA. 2013. Astrocytic autoantibody of neuromyelitis optica (NMO-IgG) binds to aquaporin-4 extracellular loops, monomers, tetramers and high order arrays. *J Autoimmun* 40: 21-7.
 20. Herges K, de Jong BA, Kolkowitz I, Dunn C, Mandelbaum G, Ko RM, Maini A, Han MH, Killestein J, Polman C, Goodyear AL, Dunn J, Steinman L, Axtell RC. 2012. Protective effect of an elastase inhibitor in a neuromyelitis optica-like disease driven by a peptide of myelin oligodendroglial glycoprotein. *Mult Scler* 18: 398-408.
 21. Vaknin-Dembinsky A, Brill L, Kassis I, Petrou P, Ovadia H, Ben-Hur T, Abramsky O, Karussis D. 2012. T-cell reactivity against AQP4 in neuromyelitis optica. *Neurology* 79: 945-6.
 22. Varrin-Doyer M, Spencer CM, Schulze-Topphoff U, Nelson PA, Stroud RM, Cree BA, Zamvil SS. 2012. Aquaporin 4-specific T cells in neuromyelitis optica exhibit a Th17 bias and recognize Clostridium ABC transporter. *Ann Neurol* 72: 53-64.
 23. Harrison LC. 2008. Vaccination against self to prevent autoimmune disease: the type 1 diabetes model. *Immunol Cell Biol* 86: 139-45.
 24. Pohl M, Fischer MT, Mader S, Schanda K, Kitic M, Sharma R, Wimmer I, Misu T, Fujihara K, Reindl M, Lassmann H, Bradl M. 2011. Pathogenic T cell responses ag

ainst aquaporin 4. Acta Neuropathol 122: 21-34.

【 図 1 】

NCBI 参照配列 : NP_001641.1

遺伝子座 NP_001641 323 AA

定義 AQUAPORIN-4 ISOFORM A [HOMO SAPIENS].

アクセッション NP_001641

バージョン NP_001641.1 GI:4502181

1 MSDRPTARRW GKCGPLCTRE NIMVAFKGVW TQAFWKAVTA EFLAMLIFVL LSLGSTINWG
 (ループ A)

61 **STEKPLP**VDM VLISLCFGLS IATMVQCFGH ISGGHINPAV TVAMVCTRKI SIAKSVFYIA
 (ループ C)

121 AQLGAIIGA GILYLV**TPPS VVGGLGVTMV HGNLTAG**HGL LVELIITFQL VFTIFASCD S
 (ループ E)

181 KRTDVTGSIA LAIGFVVAIG HLFAINYGA SMNPARSFGP AVIMGNWENE WIYVWGPPIG

241 AVLAGGLY EY VFCPDVEFKR RFKEAFSKAA QQTKGSYMEV EDNRSQVETD DLILKPGVWH

301 VIDVDRGEEK KKDQSGEVL SSV

[配列番号 1]

図 1

【 図 2 - 1 】

1 GACI~~CCC~~CAGC ACACAGGGAG CTGCGGGGCA GGCANTGAGA GCTGCAC~~TCT~~ GGCTGGGGAA
 61 GGCA~~TG~~AGTG ACAGAGCCAC AGCAAGGGGG TGGGTAAGT GTGGACCTTT GTGTACCAGA
 121 GAGAA~~CA~~PCA TGGTGGCTTT CAAGGGGGTC TGGACTCAAG CTTTCTGGAA AGCACTCA~~CA~~
 181 CGCGAA~~TTC~~ TGGCCATGCT TATTTTGTGT CTCCCTCAGCC TGGGATCCAC CATCACTCG
 241 GGTGGAA~~CAG~~ AAAAGCCTTT ACCGGTCCGAC ATGGTTCCTCA TCTCCCTTTG CTTTGGAC~~TC~~
 301 AGCA~~TG~~CAA CCATGGTGCA GTGCTTTGGC CATATCAGCG GTGGCCCAT CAACCC~~TC~~GCA
 361 GTGACT~~GTG~~ CCATGGTG~~GTG~~ CACCAGGAAG ATCAGCATGG CCAAGTGTGT CTTCTA~~CA~~TC
 421 GCAGCC~~CAGT~~ GGCTGGGGGC CATCATTGGA GCAGGAATCC TCTATCTGGT CACAGC~~CTCC~~
 481 AGTGTGG~~TG~~ GAGGCTGGG AGTCACCATG GTTCATGGAA ATCTTACC~~CG~~ TGGCTAG~~GT~~
 541 CTCCTGG~~TTG~~ AGTTGATAAT CACATTTCAA TTGGTGT~~TTA~~ CTAICTTTGC CAGCTGTGAT
 601 TCCAAAC~~CGA~~ CTGATGTCAC TGGCTCAATA GCTTTAGCAA TTGGATTTTC TGTGCA~~AAT~~
 661 GGACAT~~TAT~~ TTGCAATCAA TTATACTG~~GT~~ GCCAGCATGA ATCCGGCCCG ATCC~~TT~~TGGA
 721 CCTGCAG~~TTA~~ TCATGGGAAA TTGGGAAAAC CAITGGATAT ATTGGG~~TTG~~ GCCCAT~~CATA~~
 781 GGAGCT~~GTCC~~ TCGCTGGTGG CCTTIATGAG TAIGTCT~~ITCT~~ GTCCAGATGT TGAAT~~CAAA~~
 841 CGTCG~~TTTTA~~ AAGAAGCCTT CAGCAAAGCT GCCCAGCAA CAAAAGGAAG CTACATGGAG
 901 GTGGAG~~GCA~~ ACAGGAGTCA GGTAGAGACG GATGACCTGA TTCTAAA~~ACC~~ TGGAGTGG~~TG~~
 961 CATCTG~~ATTG~~ ACCTTGACCG GGGAGAGGAG AAGAGGGGA AAGACCAATC TGGAGAG~~GT~~
 1021 TTGCTT~~CAG~~ TATGACTAGA AGATCCGACT GAAGGCAGAC AAGACTCCTT AGAAGT~~GTCC~~
 1081 TCAGAT~~TCC~~ TTCACCCCAT TAAGGAAACA GATTTGTTAT AAATTAGAAA TGTGAG~~GT~~
 1141 TGTG~~TTCA~~ TGTCAATATA CTCAGTCTAA ACAATAAATA TTTCAT~~AAT~~ TACAAGGAG
 1201 GAACGG~~AAGA~~ AACCTATTGT GAATTC~~CAA~~ TCTAAAAA~~AA~~ GAATAT~~TTT~~ TAAATGT~~TC~~
 1261 TTAAGCA~~AAT~~ ATATACCTAT TTTATCTAGT TACCTTICAT TACAAC~~CAA~~ TTTTAC~~CTC~~
 1321 GTGCA~~AAGT~~ TGGTTAAGT CTTCCTGAC AGAACTCAA GACAGCT~~CTA~~ TCAGT~~TAT~~
 1381 CCTT~~CTAC~~ TGGAAATATG GTATAGTCAA TCTT~~ATTG~~ AATAT~~TAT~~ CTA~~TAA~~ACT
 1441 GAGTT~~AACA~~ ATGGCAAAAT ACAGTATGTC ACAGTCA~~TG~~ ACATICA~~AGA~~ GAGAA~~AAT~~
 1501 AACAG~~TCT~~ TTTATGAGCA ATCCCTTATG CATAGACTAC CTTGGCA~~AAA~~ GAGAT~~TAG~~
 1561 AAGT~~GTCACT~~ GCTCATCAGT TACTTCTCT CATTTATATC ACAAA~~TACC~~ AAGT~~TCAAT~~
 1621 TCTA~~ACTTCA~~ TTTCATGGTA TTTCTTCCTC CTCATG~~CCC~~ AAGG~~TAATGT~~ GGGCA~~TAA~~
 1681 CCCAGA~~ATT~~ TGAAGA~~AAT~~ ATTCAGAAAT CCTTCC~~CAA~~ TCATAAG~~GGC~~ ACCTAT~~TG~~
 1741 ATTC~~AA~~GCA ACAAGACTCG TAAATCTTG TAGAGGCAGA GGCA~~AAGTTA~~ TCATCA~~TACA~~
 1801 AAAT~~CA~~CAA ACAAA~~RAGGA~~ GATCTGTAT CGGTAT~~CAA~~ ACGG~~TGATC~~ TGT~~TCA~~GT
 1861 GCAC~~ACCCTC~~ AAATGCACCA CACCAG~~TTT~~ ACGATCTAAG CTTT~~TA~~ACC~~CT~~ TTTAC~~CACT~~
 1921 TTGCT~~TAT~~TT TAAAA~~AAT~~ TATTTGGCAA ACTGGG~~AT~~T TGT~~TTG~~TAA CTTT~~GT~~TT
 1981 CTA~~TAT~~TTAA ACA~~T~~TAGCTG AGCA~~AT~~TTT TTGA~~TA~~ACAA GAACT~~TAG~~CT AGT~~GA~~GTCC
 2041 TGGCT~~TTT~~GTG TGTAT~~TATA~~ AGCTGTG~~TT~~CT ACTCTA~~AG~~AG GTGTA~~AG~~GGC CCG~~TCC~~CAA
 2101 TCTCTG~~CTCT~~ CTCAC~~TTCTC~~ GTGACT~~TTG~~ TTGTA~~ATCT~~ TACTTGG~~CA~~AG TGTAT~~GATA~~
 2161 TTTG~~AGT~~GA TAAAA~~TGCA~~ TGACAG~~ACAA~~ GGTACA~~ACAT~~ GGT~~TC~~AGAA TAA~~AG~~GGT~~G~~
 2221 AGGAC~~ATCAG~~ ATCAC~~CTCT~~ ATTCAA~~AGCT~~ TACTAG~~ACGA~~ ACAAT~~CTTC~~ ATTT~~CTGG~~AT
 2281 ATAT~~TGT~~AGC TAA~~CC~~CAACA CAT~~TT~~TTAA CTA~~TTT~~TTGT TACT~~GA~~CTCA CTACT~~TGTC~~
 2341 AAAT~~AAT~~TTG GTTT~~TT~~CTGT CCTG~~CTG~~CT CTT~~TTG~~TCAC TAA~~AT~~GTTC TCCAG~~AA~~ACC
 2401 CCAG~~TTCTG~~ TCA~~TT~~TAACT TGTCTAG~~CT~~ AGCCG~~T~~AAC TTAG~~ACA~~AAAG AAGT~~CA~~AAT
 2461 GTCA~~AT~~TTCA CTA~~AA~~CAAAA GCTAT~~TAGAA~~ GTA~~AA~~AGCAGA AAC~~CT~~ATCAC TGA~~AG~~AGAT
 2521 GACT~~TG~~TAAA TA~~ACT~~GATGA TCAAGG~~GCTG~~ TCTTCT~~CTCA~~ AGCAT~~TG~~GTTC CA~~CT~~TTGTG
 2581 TCAC~~TT~~TTA GGG~~T~~TAATGG CAG~~TT~~GTGTG TCTG~~TGGCAG~~ TGAGATA~~ATG~~ GACC~~ACT~~ATT
 2641 AAAC~~TG~~ATT CTCT~~TCGGTG~~ CTAGGAA~~AGA~~ GTGAT~~GTGTG~~ AGAT~~TCC~~AG AAG~~T~~CTG~~TC~~
 2701 CACC~~AGT~~GT ATG~~C~~CTGGGA GTGCC~~ACTGG~~ CAT~~ACC~~GCAG GTGC~~CT~~AAAT CCG~~AG~~GGCC
 2761 TTTCT~~CAGGG~~ GGCG~~TGGCCA~~ CACC~~CACAC~~ TGCC~~CCAGTG~~ ACACAT~~AGTT~~ ACT~~TC~~TGGC
 2821 TGGG~~ACGGCA~~ CCTAT~~AGAAA~~ CTAGG~~TACA~~ AAT~~CTCC~~CAA AGAT~~GG~~TTTG CAC~~CG~~CTATT
 2881 TCAA~~TG~~TTT GCACA~~ATATA~~ CCAC~~T~~TAGAG GCT~~TAAA~~ATC AGG~~TG~~GTTC AGT~~T~~CAAAG
 2941 GAA~~AT~~TCAA CCT~~CAGCAA~~ ACAT~~GT~~CAGT TAAAA~~ATA~~ GT~~TC~~GGT~~TAA~~ CAA~~GA~~AGT~~G~~
 3001 TTAAG~~CAGAT~~ TTT~~TT~~GAATA CACT~~TACA~~AT ATACT~~GGCT~~ ATAA~~TCATTT~~ TACT~~CTGC~~
 3061 AAT~~GG~~TTTA TTT~~CATA~~TAC ACT~~CAC~~TTT AC~~ACT~~CACT CCAA~~ITATAG~~ CA~~TC~~CAATA

図 2

【 図 2 - 2 】

3121 GTTACGGTTA AAGAAAGT AATGGTGT TTGTAATTG TTTCTAGTA GCTAGCAGAG
3181 AGCCTGGCAC ATAGATGTA TTCAAAACA GTGTGTTAT TAATAAAAT ATATAAATCT
3241 CAITTTGAGT TTAGAATAT AAATAATTTT CTTTAATCT TTATTTTGT CAATATTTAA
3301 TAGGAAGTAT GATTTCAAGG ACTACTAAG GAAGGCAATA TACATGTGAA AACCAATAAA
3361 TACATTTTTT GCATTTACT ATTTTAGGG GCATGAAAG AATGAAAGCT TTAGACGTTT
3421 TTGGCCCTA CATAGAGC ACATATTTT GTATTTTACT CATGGCTCT CGATATAAA
3481 GTAATGAAT TGACTTTCT TAATGACAT TATGACGAG GGTCTATCG CCTTGTGGAT
3541 GGCACCAAT TATCCAGTGT TATTAGGAGA CTGGGGCTTT TTCTTTAAT CCTCTCTAT
3601 TATGAGAGT CATAGTCTG CTCCAGGAG ACCACTGCT ACAGATACAC AGAGAAGAGA
3661 TCAGAGAGGA AAACTGGGA AGACATAAT GAATTATACC CAGCCATGAA ACAATGCCAA
3721 CTGTCTCTC CTAAGGAAG AGTACAAGTA CCCTAAAAT GAAAGTGGT CCCTACACTG
3781 AAAACGCACA TAGTTTGTCA AAAGTGTACA AAAGGGAAG AGTCTTATTT TAAGCTTTCA
3841 GCCTTCTTA AAACTTGGG GACCAGAAT TCAATGTAT TTCCATTGT TGAAGATAC
3901 ATTTCTTCA AAGAGCCTTA ACCTTTTGT CTGGAAGAA ATATTTTCTG GACTTAAGTA
3961 GTTGCCTAAA TTAGAATTC CTACACTTA TTCTGCAAT TGATGTTTT CCTAAACCT
4021 TATACTACT TTTTATATC TGAGCCCTTT CCTAATGCAG CTCATAGTGT CTAGTGTAGG
4081 CTGCTGCTA GTATTGAGA CTTTACAGG AGATAGAAA TCCTTGGAAA ACATATGTGA
4141 TGAATTTGAG CTATTTGAT TATACAGAT CTGATTTCAA AGACACAGG ATACTTGTCT
4201 CAGACCATGA ACCGACAAA CAGATCTATT GGTTTAACT CGATAATAC AGGAARATC
4261 CAACACTAGG CAGTAATTC AAATGGTAA ATGAATCTTA GAAGGCCCT GATTGACAGA
4321 TGTGACAC ACCTCACGT TACGAACAT TCACAGAGAA TTTGCCCTTG TGGCACTGA
4381 AGATGGAGT CTGGGGGCA CAGACAACCT TATCAACAA TATAAAGCC AATATAAAT
4441 CTGATAGCA CTATAGAAT TGCAAATCA GAACATTTA TACCTAAAAG TAATTTCTG
4501 TTTCTTAAG TGTTTTAACT ATGAAAATA GTAGGAAGT GTGGTACTA TTTGGAAGT
4561 GTAATGTAC AAACTCTCT TTTTGTACC AAAATTTGT GAGTTTATA CTCTACAGT
4621 TGCCCATAA GAGCAGTAG TTTTGAACCT CATAATCTC TGAATAAAT GAAAGCATT
4681 TAATTCAGG ATCAAAAAT GTGGCCATCT TTGCAATGA CTACCTATAG CCTGTGAAA
4741 TACATTTCA AAAATTTAT GTGCAATGA CACTAATTT ABGAGCATT ACAGTGTGAC
4801 TACTACTT TAAABAAA TGGAAAGCT AAAAATACG TCTAATTTT GTACCCATT
4861 GGAATGTAT TCTAGTCTT CTTCAGGAT AATTAATAA ACNTGGAAT TATGAAAACA
4921 TATAAGCAAT TATTTATAC TTTTATGACC CAAATCACAA TAAATTTGT ATTTAGATA
4981 AACTGGGAG ATAGACTGA ACATATGTT ATATTCACAG TTATTTATA ACTTAAATG
5041 TATTCACCA TTAGAGTAA TGTAAAAGG ATTTAAACTG TAAGCTTAA TATTTGGAAT
5101 AATATATTA AGTATTAGCA CTGTGGTGA TTTCTGTAA TTAGTTGCA TCTGTACTA
5161 CTAAGCTTGT GAAAATAAC ATTTGGATG TTTAAAAGT AAAAAAATA AAAAAA

【 記列番号 2 】

図 2 (続き)

【 図 3 】

遺伝子座 NP_004019 301 AA
定義 AQUAPORIN-4 ISOFORM B [HOMO SAPIENS].
アクセッション NP_004019
バージョン NP_004019.1 GI:4755125
(ループ A)
1 MVAFKGVWVQ AFWKAVTAEF LAMLIFVLLS LGSTINWGGT EKPLPVDMVL ISLCLGLSIA
(ループ C)
61 TMVQCFGHIS GGHINPAVTV AMVCTRKISI AKSVFYIAAQ CLGAIIGAI LYLWTPPSVV
(ループ C 続き)
121 GGLVYTMVHG NLTAGHGLLV ELIITFQLVF TIFASCDSCR TDVTSIALA IGFVSVAIHL
(ループ E)
181 FAINVTGASM NPARSFGPAV INGNWENHRI YVWVPIIGAV LAGGLYEVFV CPDVEFKRRF
241 KEAFSKAAQQ TKGSYMEVED NRSQVETDDL ILKPGVHVHI DVDRGEKKK KQDSGEVLLS
301 V

図 3

【 図 4 - 1 】

1 TGTTCCTT TTGAGTAA GTGGACCTT GTGIACCAGA GAGAATCA TGGTGGCTTT
121 TATTTTGTG CTCCCTAGCC TGGGATCCAC CATCAACTGG GGTGGACAG AAAAGCCTTT
181 ACCGGTGGAC ATGGTTCTCA TCTCCCTTGG CTTTGGACTC AGCATTTGCA CCATGGTGTG
241 TGCTTTTGGC CATACAGCG GTGGCCACAT CAACCCITGA CAGACITGTT CAACGGTGTG
301 CACGAGGAG ATCAGCATCG CCAAGTCTGT CTTCATACAT CGAGCCCGAT GCGTGGGGGG
361 CATCATTTGA GCAGGAATCC TCTATCTGGT CCACCCFCCC AGTGTGGTGG GACGCCCTGGG
421 AGTCACCATG GTTCAATGAA ATCTTACCOC TGGTCAITGT CTCTGGTGTG AGTGTGTAAT
481 CACATTTGAA TTGGTGTGTT ATACTTGTGC CAGCTGTGAT TCCAAACGGA CTGATGTAC
541 TGGCTCAATA GCTTTAGCAA TTGGATTTTC TGTGCAATTT GGCAITTTAT TTGCAATCAA
601 TTATACTGTT GCCACGATGA ATCCCGCCCG ATCCCTTGGG CCTGCAATTA TCGATGGGAA
661 TTGGGAAAAC CATTTGGTAT ATTTGGTGGG GCCCATATA GGAGCTGTCC TCGTGGTGG
721 CCTTTATGAG TARGCTTCT GTCCAGATGT TGAATTCAAA CGTGTGGTGA AAGAGCCTTT
781 CAGCAAGCTG GCCCAGCAA CAAAGGAAAG CTACATGGAG GTGGAGGACA ACAGAGGATCA
841 GGTGAGAGCG GATGACCTGA TCTTAAACCC TGGAGTGGTG CATGTGATTT AGCTTGAACC
901 GGGAGAGGAG AAGAGGGGGA AAGACCAATC TGGAGAGGTA TTTCTTTCAG TATGACTAGA
961 AGATGCGACI AAGAGCAGAC AAGACTCCTT AGAACTGCTC TCGAITTCCT TCCACCCATA
1021 TAAGGAACA GATTTGTTAT AATATAGAAA TGTCAGGTTT TGTGTTTCA TGTCAATATA
1081 CTCACTCTAA ACATATAATA TTCTATAATT TACAAAGGAG GAACCGAATG ACACATTTGT
1141 GAATTCACAA TCTAAAATAA GAAATATTTT TAAATGTTC TTAGCAAAAT ATATACCTAT
1201 TTATCTTAGT TACCTTTTCA TACAAACCAA TTTTAAACCG TGTGCAAGAT TTTGTTAAGT
1261 CTGGCTGAG AGAATTCAAA GACAGCTCTA CTAGCTTAT CTCTCTCTAC TGGATTAATG
1321 GTATAGTCAA TTCTTATTTG AATATTTAT CTATTAACCT GAGTTTAACT TATGCAAAAT
1381 ACAGTATGTC ACAGTCTATG ACATTCAGAA GAGAAAATAT AACAGTTCT TTTATGAGCA
1441 ATCCCTTATG CATAGACTAC TTTGGCAAAA GAGCATTAGC AAGTGTCTCT GTCATCGAT
1501 TACTTCTTTC CATTTATATC ACAAAATACC AAGTTTCAAT TCTAATCTCA TTTCAAGGTA
1561 TTTCTTCTCT CTCAAATGCC AAGGTAATGT GGGACTAAAG CCCAGAAAT TAAAGAGAT
1621 ATTCAGAAAT CCTTCCAAA TCAATAGGGC ACCIATITAG ATCAAGACA AGCAGACTCG
1681 TAAAATCTTG TAGAGGACGA GGCAGAGTTA TCAATACAGA AAAATCACAA ACAAAAAGGA
1741 GATCTGTATT CGGGTATCAA ACGGTGTATC TGTTTTCTAGT GCACACCCCT AAAATGACCA
1801 CACAGTTTTT ACGACTTAAG CTTTAAACCC CTTTACCCTT TTGCTTATTT TTAAGAAAAT
1861 TATTTGCAAA ACTGGGGATT TTGTTGTGAA CTTTGGTATT CTATATTTAA ACATATAGCT
1921 AGACATATTT TTGATACAAA GAACTTAGCT AGTITAGTCC TGGCTTTTGT TTAGATTAITA
1981 AGCTGTGTTT ACCTTAGAAG TTGTAAGAGG CCGTGTCCAA TCTCTGCTCT CTAATTTCTC
2041 GTGACATTTG TTGATATCT TTACTGCAAG TGTAAATGTA TTTGAGTGA TTAGAATGCA
2101 TGACAGACAA GGTCAACATC GGTTCAGAAA TAAAGGGGTT AGGCATCAT ATCACTCTGT
2161 ATTCAAAAGT GTTATAGACA ACAATCTTTC ATTTCTGAT ATATTGTAGC TAACCCACAA
2221 CAITTTTAAA CTATTTTGT TACTGACTCA CTTACTTGTG AAAATATITG GTTTTCTGT
2281 CCTGCTTTGC CTTTGTCTAC TGAATGTTC TCCAGAAAAC CCAGTTTCTG TCACTTTAAC
2341 TGTCTAGTCT AGCCGTTAAC TTAGACAAG AGTGCATAAT GTCAATTTCA CTAAGCAAAA
2401 GCTATTAGAA GTAAAGCAGA AACCTATCAC TCGAAGGAGT GACTTGTAAA TAACGTATGA
2461 TCAAGGGCTG TCTTCTCTA AGCATGTTTC CAATCTGTG TCACTTTTIA CGTTTAAATG
2521 CAGTTGTGTG TCTGTGCGAG TGAGATAATG GACCACTATT AAACCTGATT CTCTCCGTTG
2581 CTAGGAAAGA GTGATGTGTG AGATTTCCAG AGAGTCTCCA CACCAGTGT ATGCTTGGGA
2641 TGCCCACTEG CATACCCGAG GTGCCTAAAT CCCAGGCCCT TTTCTCAGGG GCGCTGGCCA
2701 CACCAACAC TGCCCGAGTG ACACATAGTT ACTTCCITGG TGGACGGCCA CTAATAGAAA
2761 CTAGGGTACA AATCTCCAAA AGATGGTTTG CACCGTATT TCAATGTTT GCACAATAIA
2821 CCACCTTAGG CTTTAAATCT AGGGTGTTC AGTTCAAAAG GTAATATCAA CCGTCAGAAA
2881 ACATGTGAGT TTAATAATA GTTCGGTAAA CAAGGAAGTG TTAGCAGAT TTTTGAATA
2941 CACTTACAT ATACTGGCTT ATAACTAATT TTAATCTGCC ATATGGTTTA TTTCAATATC

図 4

【 図 4 - 2 】

3001 ACTCACTTTT ACACACTCTT CCAATTATAG CATTCAATAA GTTACGGTTA AAGAAAAGTG
3061 AATGGTGTG TTGTAATTTG TTTTCTAGTA GCTAGCAGAG AGCCTGGCAC ATAGATGTA
3121 TCCAAAACAA GTGGTGTAT TAATAAAAT ATATAAATCT CAITTTGAGT TTAGAATAT
3181 AAATAAATTT CTTTAATCT TATTTTGTCT CAATATTTAA TAGGAAGTAT GATTTCAAGG
3241 ACTACTAAG GAAAGCAATA TACATGTGAA AACCAATAAA TACATGTGAA AACCAATAAA
3301 ATTTTATAGG CGTGAAATG AATGAAAGCT TTGACCTATT TTTGCCCTA CATATGACAC
3361 AAAAAATTTT GATTTTACT CAAGGCTCTG CCGACTAAA GAAATGAAAT GATTTCTATC
3421 TATGACATC TATGACGAG GGGCTATMCG CCTTGTGGAT GGCACCAAT TFCOALGCTG
3481 TATTAGAGA CTGGGGCTTT TTCTTTAAT CCTCTCTAT TATGAGAGT CATAGTCTAT
3541 CTCCAGGAG ACCACTGCTG ACAGATACAC AGAGAAGAGA TCAGAGAGGA AAACTGGGA
3601 AGACATAAT GAATTATACC CAGCCATGAA ACAATGCCAA CTGTCTCTC CTAAGAGAG
3661 ACTACAAGTA CCAATAAAT GAAAGTGGT CCCTACACTG AAAACGCACA TACTTTGTA
3721 AAGGTGTACA AAGGGAAG AGTCTTATTT TAAGCTTTCA CAGGCTCTG CCGACTAAA
3781 CAAAGATTT TCAATGTAT TTCCATTGT TGAAGATAC ATTTCTTCA AAGAGCCTTA
3841 AAAGTGTGA AAGGGAAG AGTCTTATTT TAAGCTTTCA CAGGCTCTG CCGACTAAA
3901 CTACACTTA TTTCTGCCAT TGATGTTTT CCTAAACCT CTACATAGT CTGATAGTGT
3961 TGCCCTTTG CTAATGCAAG TCTAATGCAG CTCATAGTGT CTAGTGTAGG
4021 CTTTCAAGG AGATAGAAA TCCTTGGAAA ACATATGTGA TGAATTTGAG CTATATGAT
4081 TATCAGAT CTGATTTCAA AGCAGCAGAG ATACTTGTCT CAGACATGA ACCGACATG
4141 CACATGATTT GGTTTAATCT CGATAATAC AGGAARATC CAAACTAGAG CACTAAATTC
4201 AAAGTCTAAG ATTTGCTCTA GAAGCCTCTC GATTTGACCA TGTGACAC ACCCTGCTG
4261 TACCAACAT TCACAGAG TTTGCCCTTG TGGCACTGA AGATGAGGT CTGGGGGGA
4321 CAGCAGACT TATCAACAA TATAAAGCC AATATAAAT CTGATAGCA CTATAGAAT
4381 TCAAAATCA GAACATTTA TACCTAAAAG TAATTTCTG TTTCTTAAG TGTTTTAACT
4441 ATGAAAATTA GTAGAGTAA TGTAAAAGG ATTTAAACTG TAAGCTTAA TATTTGGAAT
4501 TTTTGAAGT GAGTTTATA CTCTACAGT
4561 GTGGCCATCT TGCATAGTA CTACCTATAG CACTAATTT GAAAGCATT
4681 GTCAATGAA CACTAAAAT AAGAGCATT ACAGCTGAC TCACTCTGAC GATCTGTA
4741 TCGAAGAGCT AAAAATACG TCTAATTTAT GTAACCCATT GGAATGATTT TCTAGGTTCT
4801 CTTGAGACT AATTAATAA ACATGCAAT TATGAAAACA TATAAACAAT TATTTATCAC
4861 TTTTATGACC CAAATCACAA TAAAATGTC ATTTAGGATA AACTGGGGAG AATAGACTGA
4921 ACATATGTT ATATTCACAG TTTTATTA ACTTAAATG TAITCCARCA TTAGAGCTAA
4981 TGTAAAAG ATTTAAACTG TAAGCTTAA TATTTGGAAT AATATATTA AGTATTAGCA
5041 CTGGTGTGA TTTCTGAAA TTAGTTGCA TCTGTACTA CTAGCTTGT GAAAATAAAC
5101 ATTTGATGT TTTAAAAGT AAAAAAATA AAAAAA

図 4 (続き)

【 図 9 】

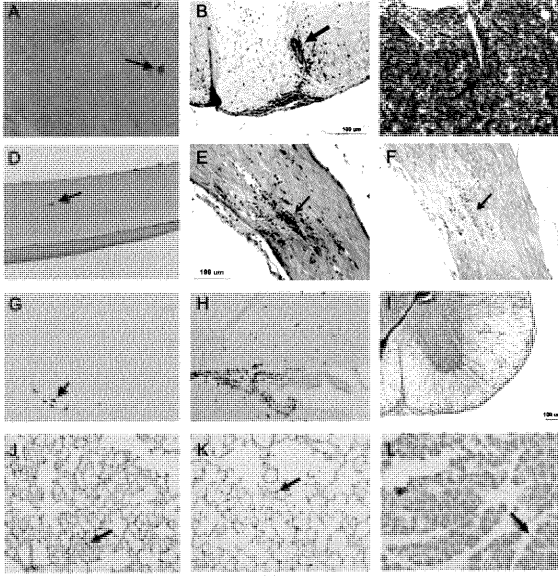


図 9A-9L

【 図 10 】

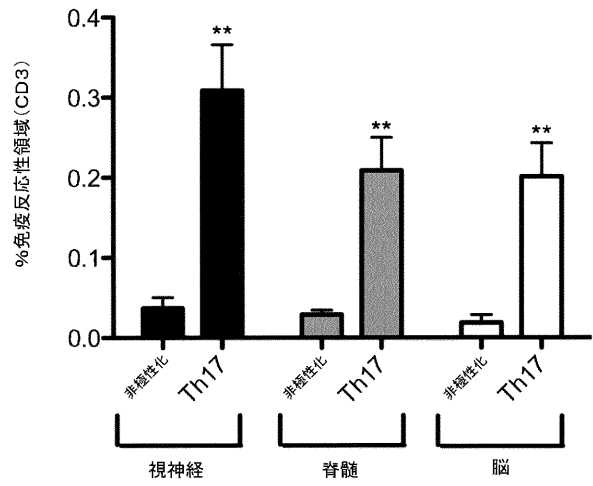




図 10

【 配列表 】

2017523130000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2015/031514
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61K 38/16(2006.01)i, A61K 38/17(2006.01)i, A61K 31/66(2006.01)i, A61K 31/282(2006.01)i, A61P 25/00(2006.01)i, A61P 29/00(2006.01)i		
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) A61K 38/16; A61K 38/17; A61K 31/66; A61K 31/282; A61P 25/00; A61P 29/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: neuromyelitis optica, loop C, aquaporin-4, immune tolerance, mouse model, AQP4-reactive T cell, devic's disease		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LEVY et al., `Adoptive transfer of T-cell reactive to aquaporin-4 creates neuromyelitis optica mouse model` Neurology, Vol.82, No.10, Supplement P4.006 (08 April 2014) See the whole document.	84-87
A		1-16, 33-37, 40-55 , 72-76
A	KALLURI et al., `Functional characterization of aquaporin-4 specific T cells: towards a model for neuromyelitis optica` Plos One, Vol.6, Issue.1, Article No.e16083 (internal pages 1-11) (2011) See abstract and pages 1-4 and 8.	1-16, 33-37, 40-55 , 72-76, 84-87
A	VARRIN-DOYER et al., `Aquaporin 4-specific T cells in neuromyelitis optica exhibit a Th17 bias and recognize Clostridium ABC transporter` Annals of Neurology, Vol.72, No.1, pp.53-64 (2012) See abstract.	1-16, 33-37, 40-55 , 72-76, 84-87
A	POHL et al., `Pathogenic T cell responses against aquaporin 4` Acta Neuropathologica, Vol.122, Issue.1, pp.21-34 (2011) See the whole document.	1-16, 33-37, 40-55 , 72-76, 84-87
<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: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 20 July 2015 (20.07.2015)		Date of mailing of the international search report 21 July 2015 (21.07.2015)
Name and mailing address of the ISA/KR  International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-472-7140		Authorized officer KIM, Seung Beom  Telephone No. +82-42-481-3371

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2015/031514

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	POHL et al., `T cell-activation in neuromyelitis optica lesions plays a role in their formation` Acta Neuropathologica Communications, Vol.1, Article No. 85 (internal pages 1-13) (2013) See the whole document.	1-16,33-37,40-55 ,72-76,84-87

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US2015/031514

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.: 17-32,38-39,56-71,77-83
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 17-32, 38-39, 56-71 and 77-83 pertain to methods for treatment of the human body by therapy or surgery, and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv), to search.
2. Claims Nos.: 80
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:
Claim 80 refers to a multiple dependent claim which does not drafted in accordance with PCT Rule 6.4(a) (PCT Article 6).
3. Claims Nos.: 79
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:

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 any 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.:

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2015/031514

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
None			

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	45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
C 0 7 K	14/705 (2006.01)	C 0 7 K 14/705	
A 0 1 K	67/027 (2006.01)	A 0 1 K 67/027	
C 1 2 Q	1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	
G 0 1 N	33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N	33/50 (2006.01)	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N	33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	N
		G 0 1 N 33/53	Y

(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 レヴィ, マイケル

アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 1 3 1 フェニックス, クーパー フィールド コート
1 5

Fターム(参考) 2G045 AA25 DA36 FB03
4B063 QA18 QA19 QQ02 QQ08 QQ79 QR48 QR72 QR77 QS07 QS33
QX01
4C084 AA01 AA02 AA19 BA01 BA08 BA22 BA23 BA44 NA05 NA14
ZA011 ZA012 ZA331 ZA332 ZB081 ZB082 ZB111 ZB112 ZC751
4C085 AA03 BB11 CC21 CC32 EE01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA50 DA75 DA86 EA20
EA21 FA71

专利名称(译)	高度可溶的水通道蛋白-4细胞外环肽免疫用于治疗视神经脊髓炎		
公开(公告)号	JP2017523130A	公开(公告)日	2017-08-17
申请号	JP2016568920	申请日	2015-05-19
[标]申请(专利权)人(译)	约翰霍普金斯大学		
申请(专利权)人(译)	约翰·霍普金斯大学		
[标]发明人	レヴィマイケル		
发明人	レヴィ, マイケル		
IPC分类号	A61K39/00 A61P25/00 A61P37/06 A61P27/02 A61P29/00 A61K45/00 C07K14/705 A01K67/027 C12Q1/02 C07K16/28 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53		
CPC分类号	A61K39/0008 A61K31/175 A61K31/365 A61K31/407 A61K31/513 A61K31/519 A61K31/52 A61K31/538 A61K31/573 A61K31/675 A61K38/177 A61K38/21 A61K39/395 A61K45/06 A61K49/0008 A61K2039/55544 A61K2039/55566 A61K2039/55594 A61K2039/57 A61K2039/577 A61P25/00 A61P27/02 G01N33/6854 G01N2800/285 A61K2300/00		
FI分类号	A61K39/00.H A61P25/00.ZNA A61P37/06 A61P27/02 A61P29/00 A61K45/00 C07K14/705 A01K67/027 C12Q1/02 C07K16/28 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.N G01N33/53.Y		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/DA36 2G045/FB03 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ79 4B063/QR48 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QS07 4B063/QS33 4B063/QX01 4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA19 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/BA44 4C084/NA05 4C084/NA14 4C084/ZA011 4C084/ZA012 4C084/ZA331 4C084/ZA332 4C084/ZB081 4C084/ZB082 4C084/ZB111 4C084/ZB112 4C084/ZC751 4C085/AA03 4C085/BB11 4C085/CC21 4C085/CC32 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/EA21 4H045/FA71		
代理人(译)	佐伯优子		
优先权	62/000356 2014-05-19 US		
其他公开文献	JP2017523130A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了用于治疗视神经脊髓炎 (NMO) 的药物，其包含治疗有效量的包含水通道蛋白4 (AQP4) 水通道的环C序列的肽，或其治疗有效量的AQP4的含有环C序列的肽 (一种或多种) ，任选地在免疫抑制条件下，以及在受试者中检测NMO来治疗NMO的方法。 本发明提供了用于NMO治疗的诊断剂，治疗剂以及用于识别NMO模型系统的选择方法。

[选型图]图1

```

NCBI REFERENCE SEQUENCE: NP_001641.1
LOCUS      NP_001641                323 AA
DEFINITION AQP4-EXTRIN-4 INTRON A (BOND PATENT).
ACCESSION  NP_001641
VERSION   NP_001641.1  CC:RS2.01

1  MDDREAREW GKGQPCQTRR NDMVAFKGVV IQNFWQVTA EPLAQLIFVL LQIGSTINQ
   (Loop A)
61  GGGGKLVNK VLESLPGLS IATNVEKFGH ISEGLSTPAV TVAGVUTRRI SIKNSVPEA
   (Loop C)
121  AQCLARLISA GLLVLTPEK VAGGKLVNKK GGGKLVNKK LVELIITQKQ VPIKASQGS
   (Loop E)
181  KATVEVGGHA LAHPSVVAQ ELPLINTEGA SKKPAKSTSP AVTGGKLVNKK KISYKVFEG
241  AVLAGGLVEK VFGKQVREK RSGGLAFKKA EQRESYKQV KDKRQVVED QLEKSNVAV
301  VEVORDEEK KKKQKQKVL SAV
1582 ID NO: 11
    
```