

(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2005-522222
(P2005-522222A)

(43) 公表日 平成17年7月28日(2005.7.28)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	2 G O 4 5
A O 1 K 67/027	A O 1 K 67/027	4 B O 2 4
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 45/00	4 B O 6 3
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 48/00	4 C O 8 4
A 6 1 K 48/00	A 6 1 P 25/00 1 O 1	4 H O 4 5
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 39 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-584344 (P2003-584344)
 (86) (22) 出願日 平成15年4月17日 (2003. 4. 17)
 (85) 翻訳文提出日 平成16年12月10日 (2004. 12. 10)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2003/004058
 (87) 国際公開番号 W02003/087406
 (87) 国際公開日 平成15年10月23日 (2003. 10. 23)
 (31) 優先権主張番号 02008701. 1
 (32) 優先日 平成14年4月18日 (2002. 4. 18)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)
 (31) 優先権主張番号 60/373, 375
 (32) 優先日 平成14年4月18日 (2002. 4. 18)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

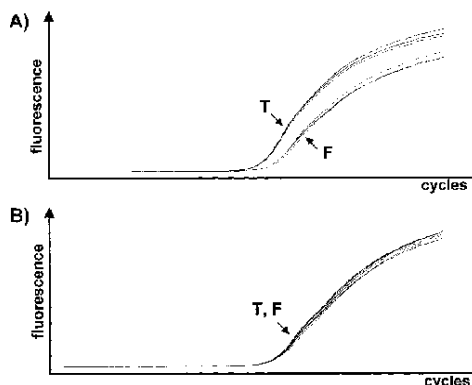
(71) 出願人 504087411
 エヴォテック ニューロサイエンス ゲ
 ゼルシャフト ミット ベシュレンクテル
 ハフツング
 ドイツ連邦共和国 2 2 5 2 5 ハンブル
 ク シュナッケンブルガリー 1 1 4
 (74) 代理人 110000109
 特許業務法人特許事務所サイクス
 (72) 発明者 ヘシュテルカンブ トーマス
 ドイツ連邦共和国 2 2 4 5 5 ハンブル
 ク ノルトホイザー ヴェーク 1 8
 (72) 発明者 フォン デル カンマー ハイנטツ
 ドイツ連邦共和国 2 2 6 0 7 ハンブル
 ク ヴェルビンドウングスシュトラーセ
 6 デー
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 A T P 結合性カセット遺伝子およびタンパク質の神経変性疾患に関する診断的および治療的使用

(57) 【要約】

本発明はアルツハイマー病患者の特定の脳領域における A B C A 1 遺伝子の発現の差を開示する。この知見に基づき、本発明は、被験者において神経変性疾患、特にアルツハイマー病を診断するかまたは予測診断するための、または被験者がそのような疾患を発症する高いリスクがあるかどうかを判定するための方法を提供する。さらに、本発明は、A B C A 1 遺伝子およびその対応する遺伝子産物を用いて、アルツハイマー病および関連する神経変性疾患を治療するかまたは予防するための、治療的または予防的方法を提供する。神経変性疾患の調節物質をスクリーニングする方法もまた開示される。

Differential expression of ABCA1 as determined by RT-PCR analysis



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被験者において神経変性疾患を診断または予測診断する、または被験者が前記疾患を発症する高いリスクがあるかどうかを判定する方法であって、
前記被験者由来の試料中の

(i) A B C A 1 遺伝子の転写産物、および / または

(i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物、および / または

(i i i) 前記転写または翻訳産物の断片、または誘導体、または変異体

のレベルおよび / または活性を測定し、前記レベルおよび / または前記活性を、既知の疾患または健康状態を表す参照値と比較し、それによって前記被験者において前記神経変性疾患を診断または予測診断すること、または前記被験者が前記神経変性疾患を発症する高いリスクがあるかどうかを判定すること

10

: を含む方法。

【請求項 2】

被験者における神経変性疾患の進行を監視する方法であって、
前記被験者由来の試料中の

(i) A B C A 1 遺伝子の転写産物、および / または

(i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物、および / または

(i i i) 前記転写または翻訳産物の断片、または誘導体、または変異体

のレベルおよび / または活性を測定し、前記レベルおよび / または前記活性を、既知の疾患または健康状態を表す参照値と比較し、それによって前記被験者において前記神経変性疾患の進行を監視すること

20

: を含む方法。

【請求項 3】

神経変性疾患のための治療を評価する方法であって、
前記疾患について治療を受けている被験者由来の試料中の

(i) A B C A 1 遺伝子の転写産物、および / または

(i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物、および / または

(i i i) 前記転写または翻訳産物の断片、または誘導体、または変異体の

レベルおよび / または活性を測定し、前記レベルおよび / または前記活性を、既知の疾患または健康状態を表す参照値と比較し、それによって前記神経変性疾患のための前記治療を評価すること

30

: を含む方法。

【請求項 4】

前記神経変性疾患がアルツハイマー病である、請求項 1 から 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】

前記試料が細胞、または組織、または体液、特に脳脊髄液または血液を含む、請求項 1 から 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

前記参照値が前記神経変性疾患に罹患していない被験者に由来する試料中の

40

(i) A B C A 1 遺伝子の転写産物、および / または

(i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物、および / または

(i i i) 前記転写または翻訳産物の断片、または誘導体、または変異体

のレベルおよび / または活性の値である、請求項 1 から 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

既知の健康状態を表す参照値に対する、前記被験者に由来する試料細胞、または組織、または体液、特に脳脊髄液中の、A B C A 1 をコードする遺伝子の転写産物および / または A B C A 1 をコードする遺伝子の翻訳産物および / またはその断片、または誘導体、または変異体のレベルおよび / または活性の変化が、前記被験者におけるアルツハイマー病の診断、または予測診断、または高リスクを示す、請求項 1 から 6 のいずれかに記載の方法

50

。

【請求項 8】

被験者において神経変性疾患、特にアルツハイマー病を診断または予測診断する、または被験者のそのような疾患を発症する傾向または素因を判定するためのキットであって、
(a) (i) A B C A 1 遺伝子の転写産物を選択的に検出する試薬および (i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物を選択的に検出する試薬、から成る群から選択される少なくとも 1 つの試薬；ならびに

(b) (i) 前記被験者に由来する試料中の、A B C A 1 遺伝子の前記転写産物および / または前記翻訳産物の、レベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方を検出すること；および (i i) 神経変性疾患、特にアルツハイマー病を診断するかまたは予測診断する、またはそのような疾患を発症する傾向または素因を判定することによる、神経変性疾患、特にアルツハイマー病を診断するかまたは予測診断する、またはそのような疾患を発症する傾向または素因を判定するための指示であって、既知の健康状態を表す参照値と比較した前記転写産物および / または前記翻訳産物の、変化したレベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方；または既知の健康状態を表す参照値と同様であるかまたは等しい、前記転写産物および / または前記翻訳産物の、レベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方が、神経変性疾患、特にアルツハイマー病の診断または予測診断、またはそのような疾患を発症する高い傾向または素因を示す；ことを含む前記キット。

10

【請求項 9】

(i) A B C A 1 遺伝子、および / または
(i i) A B C A 1 遺伝子の転写産物、および / または
(i i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物、および / または
(i v) (i) から (i i i) の断片、または誘導体、または変異体の活性および / またはレベルに直接的にまたは間接的に影響を及ぼす、治療的にまたは予防的に有効な量の一または複数の物質の前記被験者への投与を含む、被験者において神経変性疾患、特にアルツハイマー病を治療または予防する方法。

20

【請求項 10】

(i) A B C A 1 遺伝子、および / または
(i i) A B C A 1 遺伝子の転写産物、および / または
(i i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物、および / または
(i v) (i) から (i i i) の断片、または誘導体、または変異体から成る群から選択される少なくとも 1 つの物質の活性および / またはレベルの調節因子

30

。

【請求項 11】

A B C A 1 またはその断片、または誘導体、または変異体をコードする非天然遺伝子配列を含む組み換え非ヒト動物であって、

(i) 前記遺伝子配列および選択可能なマーカー配列を含む遺伝子ターゲティング構築物を提供すること、および

(i i) 前記ターゲティング構築物を非ヒト動物の幹細胞へ導入すること、および

40

(i i i) 前記非ヒト動物幹細胞を非ヒト胚へ導入すること、および

(i v) 前記胚を偽妊娠非ヒト動物へ移植すること、および

(v) 前記胚を満期まで発生させること、および

(v i) ゲノムが両方の対立遺伝子に前記遺伝子配列の修飾を含む遺伝子改変非ヒト動物を特定すること、および

(v i i) 段階 (v i) の遺伝子改変非ヒト動物を繁殖させて、ゲノムが前記内因性遺伝子の修飾を含む遺伝子改変非ヒト動物を得ること (ただし、前記破壊は結果として神経変性疾患または関連する疾患または障害の症状を発症する素因を示す前記非ヒト動物を与える)

；によって得ることができる前記動物。

50

【請求項 1 2】

神経変性疾患、特にアルツハイマー病を治療するための診断薬および治療薬の開発において、化合物、物質、および調節因子を、スクリーニング、試験、および評価するための、請求項 1 1 に記載の組み換え非ヒト動物の使用。

【請求項 1 3】

神経変性疾患、特にアルツハイマー病、または関連する疾患または障害の調節因子についての、

- (i) A B C A 1 遺伝子、および / または
 - (i i) A B C A 1 遺伝子の転写産物、および / または
 - (i i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物、および / または
 - (i v) (i) から (i i i) の断片、または誘導體、または変異体
- から成る群から選択された一種類以上の物質のスクリーニングのための測定法であって、
- (a) 細胞を被験化合物と接触させること；
 - (b) (i) から (i v) で列挙された一種類以上の物質の、活性および / またはレベルを測定すること；
 - (c) 前記被験化合物と接触させていない対照細胞中の、(i) から (i v) で列挙された一種類以上の物質の、活性および / またはレベルを測定すること；および
 - (d) 段階 (b) と (c) の細胞中の物質のレベルおよび / または活性を比較すること (但し、接触させた細胞中の物質の活性および / またはレベルの変化は被験化合物が前記疾患または障害の調節因子であることを示す)
- : を含む前記方法。

10

20

【請求項 1 4】

神経変性疾患、特にアルツハイマー病、または関連する疾患または障害の調節因子についての、

- (i) A B C A 1 遺伝子、および / または
 - (i i) A B C A 1 遺伝子の転写産物、および / または
 - (i i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物、および / または
 - (i v) (i) から (i i i) の断片、または誘導體、または変異体
- から成る群から選択された一種類以上の物質のスクリーニングのための測定法であって、
- (a) 神経変性疾患または (i) から (i v) で列挙された一種類以上の物質について関連する疾患または障害の症状を発症する素因があるかまたは既に発症している被験動物に被験化合物を投与すること；
 - (b) (i) から (i v) で列挙された一種類以上の物質の、活性および / またはレベルを測定すること；
 - (c) 神経変性疾患または (i) から (i v) で列挙された一種類以上の物質について関連する疾患または障害の症状を発症する素因があるかまたは既に発症しており、かつそのような被験化合物が投与されていない、一致した対照動物において、(i) から (i v) で列挙された一種類以上の物質の活性および / またはレベルを測定すること；
 - (d) 段階 (b) と (c) の動物における物質の活性および / またはレベルを比較すること (但し、被験動物における物質の活性および / またはレベルの変化は被験化合物が前記疾患または障害の調節因子であることを示す)
- : を含む前記方法。

30

40

【請求項 1 5】

前記被験動物および / または前記対照動物が、天然の A B C A 1 遺伝子転写調節配列ではない転写調節配列の調節下において、A B C A 1、またはその断片、または誘導體、または変異体をコードする遺伝子を発現する組み換え非ヒト動物である、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

リガンドと、A B C A 1 翻訳産物、またはその断片、または誘導體、または変異体との間の結合の阻害について、化合物を試験するための、好ましくは複数の化合物をスクリーニ

50

ングするための測定法であって、

(i) 前記 A B C A 1 翻訳産物、またはその断片、または誘導体、または変異体の懸濁液を複数の容器に加える；

(i i) 前記阻害についてスクリーニングされるべき、一または複数の化合物を前記複数の容器に加える；

(i i i) 検出可能なリガンド、好ましくは蛍光標識リガンドを前記容器に加える；

(i v) 前記 A B C A 1 翻訳産物、またはその前記断片、または誘導体、または変異体、および前記一または複数の化合物、および前記検出可能な、好ましくは蛍光標識リガンドをインキュベートする；

(v) 前記 A B C A 1 翻訳産物に、またはその前記断片、または誘導体、または変異体に付随する検出可能なリガンドまたは蛍光の量を測定する；および

(v i) 前記リガンドの、前記 A B C A 1 翻訳産物、またはその前記断片、または誘導体、または変異体への結合の、一種類以上の前記化合物による阻害の程度を測定する；段階を含む前記測定法。

【請求項 17】

A B C A 1 翻訳産物、またはその断片、または誘導体、または変異体との前記化合物の結合の程度を測定する、化合物を試験するための、好ましくは複数の化合物をスクリーニングするための測定法であって、

(i) 前記 A B C A 1 翻訳産物、またはその断片、または誘導体、または変異体の懸濁液を複数の容器に加える；

(i i) 前記結合についてスクリーニングされるべき、一つの検出可能な化合物、好ましくは複数の検出可能な化合物、特に一つの蛍光標識化合物または複数の蛍光標識化合物を前記複数の容器に加える；

(i i i) 前記 A B C A 1 翻訳産物、またはその前記断片、または誘導体、または変異体、および前記検出可能な、好ましくは前記一または複数の蛍光標識化合物をインキュベートする；

(i v) 前記 A B C A 1 翻訳産物と、またはその前記断片、または誘導体、または変異体に付随する検出可能な化合物または蛍光の量を測定する；および

(v) 前記 A B C A 1 翻訳産物、またはその前記断片、または誘導体、または変異体への、一種類以上の前記化合物による結合の程度を測定する；段階を含む前記測定法。

【請求項 18】

神経変性疾患、好ましくはアルツハイマー病を検出するための診断標的として用いられるための、配列番号 1 に示されるタンパク質分子、またはその断片、または誘導体、または変異体。

【請求項 19】

神経変性疾患、好ましくはアルツハイマー病を予防する、または治療する、または改善する試薬または化合物についてのスクリーニング標的として用いられるための、配列番号 1 に示されるタンパク質分子、またはその断片、または誘導体、または変異体。

【請求項 20】

被験者由来の試料中の細胞の病理状態を検出するための、免疫原と特異的に免疫反応性である抗体の使用であって、前記免疫原が配列番号 1 に示されるタンパク質分子、またはその断片、または誘導体、または変異体であり、前記抗体を用いた前記細胞の免疫細胞化学染色を含む（但し、既知の健康状態を表す細胞と比較した前記細胞における染色の程度の変化、または染色パターンの変化が、前記細胞の病理状態を示す）使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、被験者における神経変性疾患の進行を診断、予測、および監視する方法に関する。さらに、神経変性疾患の調節物質の治療コントロールおよびスクリーニングの方法

を提供する。本発明はまた、医薬組成物、キット、および組み換え動物モデルも開示する。

【0002】

神経変性疾患、特にアルツハイマー病（AD）は、患者の生活を強く衰弱させる影響を与える。さらに、これらの疾患は、甚大な健康上の、社会的な、および経済的な負担を構成する。ADは最も一般的な神経変性疾患であり、痴呆の症例全体の約70%を占め、65歳超の人口の約10%および85歳超の最大45%が罹患する、おそらく最も破壊的な加齢関連神経変性症状である（最近の総説はVickers et al., *Progress in Neurobiology* 2000, 60; 139-165を参照）。現在、これは米国、欧州、および日本において推定約1200万例に達する。この状況は、発展途上国における高齢者数の人口統計上の増加（「ベビーブーマーの高齢化」）に伴い不可避免的に悪化する。ADを有する人の脳に生じる神経病理学的な顕著な特徴は、アミロイド-タンパク質で構成される老人斑、および異常な線維状構造の出現および神経原線維変化の形成と一致して現れる著しい細胞骨格変化である。

10

【0003】

アミロイド-（A）タンパク質は、さまざまな種類のプロテアーゼによるアミロイド前駆体タンパク質（APP）の開裂から生じる。 / -セクレターゼによる開裂はさまざまな長さのAペプチドの形成に繋がり、典型的には、40アミノ酸から構成される短くより可溶性が高く凝集が遅いペプチド、および細胞外で迅速に凝集し特徴的なアミロイド斑を形成する、より長い42アミノ酸ペプチドである（Selkoe, *Physiological Rev* 2001, 81; 741-66; Greenfield et al., *Frontiers Bioscience* 2000, 5; D72-83）。二つの型の斑、すなわちびまん性老人斑と老人斑を、AD患者の脳に検出することができ、後者は古典的で最も一般的な型である。それらは主に大脳皮質および海馬に見出される。老人斑は直径50 μ mないし200 μ mで、不溶性原線維アミロイド、死滅した神経細胞、神経細胞、小膠細胞、および星状細胞の断片、および、神経伝達物質、アポリポタンパク質E、グリコサミノグリカン、1-抗キモトリプシンなどといったその他の構成成分から成る。脳における毒性のA（沈着物の生成は、ADの経過のごく早期に開始し、ADの病理に繋がるその後の破壊過程の中心的存在であると論じられている。ADの他の病理学的な顕著な特徴は、神経原線維変化（NFTs）および、ニューピル・スレッドと表現される異常な神経突起である（Braak and Braak, *Acta Neuropathol* 1991, 82; 239-259）。NFTsは神経細胞の内部に出現し、互いに絡まり合う対のらせん状線維を形成する、化学的に変化したタウタンパク質から成る。NFTsの形成と共に、神経細胞の喪失を観察することができる。前記の神経細胞喪失は、微小管関連輸送系の損傷が原因である可能性がある」と議論されている（Johnson and Jenkins, *J Alzheimers Dis* 1996, 1; 38-58; Johnson and Hartigan, *J Alzheimers Dis* 1999, 1; 329-351）。神経原線維変化の出現およびその数の増加は、ADの臨床的重症度とよく相関する（Schmitt et al., *Neurology* 2000, 55; 370-376）。

20

30

40

【0004】

ADは進行性疾患であり、初期の記憶形成の障害を伴い、最終的にはより高次の認知機能の完全な衰退に繋がる。認知障害には、とりわけ、記憶障害、失語症、失認症、および実行機能の喪失がある。ADの病因の特徴的性質は、脳の特定の領域および神経細胞の部分集団の、変性過程に対する選択的な不安定性である。具体的には、側頭葉領域および海馬は、疾患の経過中に早期におよびより重度に冒される。一方、前頭皮質、後頭皮質、および小脳内の神経細胞は大体は損なわれないうままであり、神経変性から守られている（Terry et al., *Annals of Neurology* 1981, 10; 184-92）。

【0005】

50

A Dの発症年齢は50年の範囲内でさまざまであり、65歳未満の人で起こる早発型A D、65歳超の人で起こる遅発型A Dがある。A Dの全症例のうち約10%が早発型A Dに罹患し、1~2%だけが家族性の遺伝例である。

【0006】

現在、A Dに治癒は無く、A Dの進行を止めるか、または高確率で死亡前にA Dを診断するためさえ、有効な方法は無い。個人がA Dを発症する素因となるいくつかのリスク因子が特定されており、中でも非常に重要なのは、アポリポタンパク質E遺伝子(ApoE)の既存の3つの異なる対立遺伝子(イプシロン2、3、および4)のイプシロン4対立遺伝子である(Strittmatter et al., Proc Natl Acad Sci USA 1993, 90; 1977-81; Roses, Ann NY Acad Sci 1998, 855; 738-43)。他の感受性遺伝子および疾患関連多型を検出する努力は、ヒト第10および第12染色体上の特定の領域および遺伝子が遅発型A Dと関連している可能性があるという仮定に繋がる(Myers et al., Science 2000, 290; 2304-5; Bertram et al., Science 2000, 290; 2303; Scott et al., Am J Hum Genet 2000, 66; 922-32)。

【0007】

第21染色体上のアミロイド前駆体タンパク質(APP)、第14染色体上のプレセニリン-1、および第1染色体上のプレセニリン-2の遺伝子の遺伝的欠陥によるとされる早発型A Dの稀な例が存在するが、遅発型散発性A Dの一般的な型は、これまでのところ病因的起源は不明である。現在までに見出された突然変異は、家族性A Dの症例の半分しか説明せず、それは全A D患者の2%に満たない。神経変性疾患の遅い発症および複雑な病因は、治療用および診断用薬の開発に困難な問題をもたらす。医薬標的および診断マーカーの候補のプールを拡大することが極めて重大である。したがって、神経疾患の病因に関する洞察を与えること、およびこれらの疾患の治療の診断および開発に特に適した方法、材料、物質、組成物、および動物モデルを提供することは、本発明の目的である。この目的は、独立した請求項の条項によって解決される。従属項は、本発明の好ましい実施形態を定義する。

【0008】

A Dの病因に関するいくつかの研究は、本疾患を発症する高いリスクを伴う、コレステロールレベルの調節障害の役割を指摘している。これはA Dを、コレステロール生合成(たとえばスミス・レムリ・オピッツ症候群およびデスモステロール沈着症)またはコレステロールの細胞内輸送(ニーマン・ピック病C型)のどちらかにおける独特の遺伝子欠陥によって引き起こされる他の神経変性疾患の状況に置く。しかし、後者の症候群および疾患が一つの特定の遺伝子だけの欠陥によって引き起こされる常染色体劣性疾患である一方(総説はNwokoro et al., Mol. Genet. Metab. 2001, 74; 105-119)、A Dの遅発型は、浸透度は低いが高有病率は高い、広く行き渡った多型によって引き起こされる複雑で遺伝的に不均一な疾患と考えられている(Tanzi and Bertram, Neuron 2001, 32; 181-184)。

【0009】

A Dに関しては、初期の顕著な特徴である知見は、ApoEアポリポタンパク質の特定の遺伝子、すなわちイプシロン4対立遺伝子が、A Dのリスク増大および早期発症と関連していることであった(Corder et al., Science 1993, 261; 921-923)。ApoEは、血漿および脳の両方で高レベルで見られるリポタンパク質である。末梢組織では(すなわち肝臓の外で)、それはコレステロールにおよびトリグリセリドに富む低密度リポタンパク質(LDL)粒子の分解に参与する。ApoEはLDL受容体と結合することができ、動脈硬化症およびA Dにおいて異なる対立遺伝子ApoE型の役割を決定するのはこの受容体への結合の親和性である、すなわち、イプシロン2対立遺伝子は血漿中の一定のコレステロール低下効果を有しA Dのリスク低下と関連する一方、イプシロン4対立遺伝子は血漿コレステロールレベル上昇およびA Dのリス

10

20

30

40

50

ク上昇と関連する(総説はGolde and Eckman, Drug Discovery Today 2001, 6; 1049-1055)。しかし、85%を超える血漿コレステロールの変動は、キャリアーのApoE遺伝子型とは無関係である(Breslow, Annu. Rev. Genet. 2000, 34; 233-254)。さらに、脳のコレステロールの大部分が*in situ*で合成され(Dietschy and Turley, Curr. Opin. Lipidol. 2001, 12; 105-112)、したがって、ApoEが脳で果たしている役割は、局地的なコレステロール再分配およびAPP由来Aベータ40/Aベータ42-ペプチドの凝集に対する潜在的な直接的効果(Mahley, Science 1988, 240; 622-631; Castano et al., Biochem. J. 1995, 306; 599-604)に限られる可能性が高いことが、広く認められている。 10

【0010】

近年、膜中のコレステロールレベルおよび/またはコレステロールエステルに対する遊離コレステロールの細胞比が膜流動性に直接的に影響を及ぼし、および、アミロイド前駆体タンパク質の処理に、アルファおよびベータ/ガンマセクレターゼに対抗することによって間接的に影響することが認められている。細胞からのコレステロール減少は、アミロイド形成性ベータ-ガンマ-セクレターゼ依存性経路を損なう一方、非アミロイド形成性アルファ-セクレターゼ依存性経路に有利に働くことが実証された(Golde and Eckman, Drug Discovery Today 2001, 6; 1049-1055; Simons et al., Neurology 2001, 57; 1089-1093; Wolozin, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2001, 98; 5371-5373; Puglielli et al., Nat. Cell Biol. 2001, 3; 905-912)。総合すると、現れる図は、細胞における細胞コレステロールレベルの全体の低下はADの発症に関して有益であるということである。これは、脳を含む全身におけるコレステロールの*de novo*合成を遮断する薬剤を用いた疫学的研究によって、さらにそしてより強力に支持されている。そのような処置は調査集団におけるADの発生率を著しく低下させた(Wolozin et al., Arch. Neurol. 2000, 57; 1439-1443; Jick et al., Lancet 2000, 356; 1627-1631)。コレステロール降下薬の同じ有益な影響が、ADの実験動物モデルで観察された(Refolo et al., Neurobiol. Dis. 2000, 7; 321-331; Fassbender et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2001, 98; 5856-5861)。 20 30

【0011】

脳のコレステロールは*in situ*で合成されるとすると、胆汁酸産生および分泌のための、コレステロールの脳から肝臓への逆輸送の恒常的な機構が必要である。現在の見解は、逆輸送の主要経路は24-ヒドロキシコレステロール(「セブレプロステロール」)の酵素的形成、細胞膜および血液脳関門を越えたその拡散、および抽出、修飾、分泌のための、肝臓への循環を介したその後の輸送を含むということである(Dietschy and Turley, Curr. Opin. Lipidol. 2001, 12; 105-112)。興味深いことに、CYP46は、24-ヒドロキシコレステロールの形成を触媒する酵素であるが、ほぼ脳組織に限定されて見出され、したがってこの経路の特化した恒常的機能という考えを裏付ける(Lutjohann et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1996, 93; 9799-9804; Lund et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1999, 96; 7238-7243)。実際、24-ヒドロキシコレステロールの血漿レベルは、ADを含む神経疾患の重症度マーカーとして示唆されてきている(Papassotiropoulos et al., NeuroReport 2000, 11; 1959-62; Bretillon et al., Neurosci. Lett. 2000, 293; 87-90; Bogdanovic et al., 40 50

Neurosci. Lett. 2001, 314; 45-48)。

【0012】

本発明は、AD脳のさまざまな領域の、大きなよく研究されたファミリーのATP結合性カセット輸送体の一員であるが、年齢を合わせた健常対照者の脳には無い、ABCA1の発現の差を開示する。ABCA1は第9染色体上のABCA1遺伝子によってコードされる2261アミノ酸のタンパク質である(Santamarina-Fojo et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2000, 97; 7987-7992; GenBank登録番号AF275948)。ATP結合性カセット輸送体は、ATP加水分解のエネルギーを利用して、イオン、代謝産物、タンパク質断片、その他といった積荷分子の方向性の膜通過輸送を達成する、膜埋め込み輸送タンパク質のファミリーを構成する。このファミリーのよく知られたメンバーは、MDR1、TAP、およびCFTR輸送体であり、それぞれ多剤耐性、MHCクラスI分子によるペプチド提示、および嚢胞性線維症に關与する(最近の総説は、Dean et al., Genome Res. 2001, 11; 1156-1166)。

【0013】

ABCA1はマクロファージでエネルギー依存性逆コレステロールおよびリン脂質輸送体として作用することが示されている(総説は、Oram and Lawn, J. Lipid. Res. 2001, 42; 1173-1179)。ABCA1 mRNAは下記の組織で見つかった; 肝臓、腸、胎盤、脂肪、副腎、マクロファージ、および脾臓(Langmann et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 1999, 257; 29-33; Chawla et al., Science 2001, 294; 1866-1870)。ABCA1 遺伝子における突然変異は、タンジール病および家族性高密度リポタンパク質欠損症に繋がる(Brooks-Wilson et al., Nat. Genet. 1999, 22; 336-345; Bodzioch et al., Nat. Genet. 1999, 22; 347-351; Rust et al., Nat. Genet. 1999, 22; 352-355; Oram and Lawn, J. Lipid. Res. 2001, 42; 1173-1179)。動脈硬化症、冠状動脈疾患、および脂質異常についての、ABCA1の診断マーカーおよび治療標的としての可能性は認められている(WO00/55318、WO00/78971、WO00/78972、WO00/18912、WO01/15676、WO01/70810)。しかし、前記神経変性疾患の病理表現型と關連するABCA1 遺伝子における突然変異は見つかっておらず、また、現在まで、ABCA1 遺伝子発現の調節障害と神経変性疾患、特にADの病因との間の關係を実証することが記載された実験は無い。そのような結びつきは、本発明で開示される通り、特に前記疾患の診断および治療のための新しい方法を提供する。

【0014】

ここでおよび請求項で用いられる単数形「a」、「an」、および「the」は、文脈でそうでないと示されない限り、複数への言及を含む。たとえば、「a細胞(一つの細胞)」は複数の細胞をも意味する、など。本明細書および請求項で用いられる「および/または」の語句は、この語句の前および後の語句が選択肢としてまたは組み合わせて考えられるべきであることを示す。たとえば、「レベルおよび/または活性の測定」という言い回しは、レベルだけ、または活性だけ、またはレベルおよび活性の両方が測定されることを意味する。ここで用いられる「レベル」の語は、転写産物、たとえばmRNA、または翻訳産物、たとえばタンパク質またはポリペプチドの、量または濃度の尺度または指標を含むことを意図する。ここで用いられる「活性」の語は、転写産物または翻訳産物が生物学的効果を生じる能力についての指標、または、生物学的に活性な分子のレベルの指標と理解すべきである。「活性」の語はまた、酵素活性もいう。ここで用いられる「レベル」および/または「活性」の語はさらに、遺伝子発現レベルまたは遺伝子活性をいう。遺伝子発現は、遺伝子産物の産生に繋がる、転写および翻訳による、遺伝子に含まれる情報の利用と定義される。「調節障害」は遺伝子発現のアップレギュレーションまたはダウンレ

10

20

30

40

50

ギュレーションを意味することとする。遺伝子産物はRNAまたはタンパク質のどちらかを含み、遺伝子の発現の結果である。遺伝子産物の量は、遺伝子がどの程度活性であるかを測定するのに用いることができる。本明細書および請求項で用いられる「遺伝子」は、コード領域(エクソン)および非コード領域(たとえばプロモーターまたはエンハンサー、イントロン、リーダーおよびトレーラー配列といった非コード調節配列)の両方を含む。「ORF」の語は「オープン・リーディング・フレーム」の頭文字であり、少なくとも1つの読み枠に終止コドンを持たずしたがって潜在的にアミノ酸の配列に翻訳されうる核酸配列をいう。「調節配列」は、遺伝子発現を推進し調節する、誘導性および非誘導性プロモーター、エンハンサー、オペレーター、およびその他の配列を含む。ここで用いられる「断片」の語は、たとえば択一的にスプライシングされ、または短縮され、またはさもなければ切断された転写産物または翻訳産物を含むことを意図する。ここで用いられる「誘導体」の語は、突然変異体、またはRNA改変された、または化学的に修飾された、または別の方法で改変を受けた翻訳産物をいう。たとえば、「誘導体」は、変化したリン酸化、またはグリコシル化、またはアセチル化、または脂質化といった過程によって、または変化したシグナルペプチド開裂またはその他の型の成熟開裂によって生じうる。これらの過程は翻訳後に起こりうる。本発明および請求項で用いられる「調節因子」の語は、遺伝子、または遺伝子の転写産物、または遺伝子の翻訳産物のレベルおよび/または活性を変化または改変することができる分子をいう。好ましくは、「調節因子」は、遺伝子の転写産物または翻訳産物の生物学的活性を変化または改変することができる。前記の調節は、たとえば、酵素活性の上昇または低下、結合特性の変化、または遺伝子の前記翻訳産物の生物学的、機能的、または免疫学的性質の何らかのその他の変化または改変でありうる。「物質」、「試薬」、または「化合物」の語は、細胞、組織、体液に対して、または任意の生物学的系または被験分析系の背景内で、正または負の生物学的効果を有する任意の物質、化学物質、組成物または抽出物をいう。それらは標的の作用因子、拮抗因子、部分的な作用因子または逆作用因子であることができる。そのような物質、試薬、または化合物は、核酸、天然または合成ペプチドまたはタンパク質複合体、または融合タンパク質でありうる。それらはまた、抗体、有機または無機分子または組成物、小分子、薬物、および上の前記物質のうち任意のものの任意の組み合わせでありうる。それらは診断のまたは治療の目的のための試験に用いることができる。「オリゴヌクレオチドプライマー」または「プライマー」の語は、相補的塩基対のハイブリダイゼーションによって、与えられた標的ポリヌクレオチドとアニーリングすることができ、ポリメラーゼによって伸長することができる、短い核酸配列をいう。それらは特定の配列に対して特異的であるように選択することができ、または任意に選択することができ、たとえばそれらはある混合物中のすべての可能な配列のプライマーとなることができる。ここで用いられるプライマーの長さは10ヌクレオチドから80ヌクレオチドまで変動しうる。「プローブ」はここで記載および開示される核酸配列の短い核酸配列またはそれと相補的である配列である。それらは完全長配列、または断片、誘導体、アイソフォーム、または任意の配列の変異体を含むことができる。プローブと分析試料との間のハイブリダイゼーションの同定は、試料内の他の類似配列の存在の検出を可能にする。ここで用いられる「ホモログまたはホモロジー」は、ヌクレオチドまたはペプチド配列の別のもう一つのヌクレオチドまたはペプチド配列との関係性を表す本分野の語であり、比較される前記配列間の同一性および/または類似性の程度によって測定される。ここで用いられる「変異体」の語は、本発明で開示されたポリペプチドおよびタンパク質に関して、N末端および/またはC末端に、および/または本発明の天然のポリペプチドまたはタンパク質の天然のアミノ酸配列中に1個以上のアミノ酸が付加されたおよび/または置換されたおよび/または欠失したおよび/または挿入された、任意のポリペプチドまたはタンパク質をいう。さらに、「変異体」の語は、ポリペプチドまたはタンパク質の任意のより短いまたはより長い形を含む。「変異体」はまた、ABC A1遺伝子のアミノ酸配列と少なくとも約80%配列同一性、より好ましくは少なくとも約90%配列同一性、および非常に好ましくは少なくとも約95%配列同一性を有する配列も含む。タンパク質分子の「変異体」は、たとえば、高度に保存された領域に

保存されたアミノ酸置換を有するタンパク質を含む。本発明の「タンパク質およびポリペプチド」は、A B C A 1のアミノ酸配列を構成するタンパク質の変異体、断片、および化学的誘導体を含む。それらは、天然から単離することができるかまたは、組み換えおよび/または合成の方法によって製造することができるタンパク質およびポリペプチドを含む。天然タンパク質またはポリペプチドは、天然に存在する短縮型または分泌型、天然に存在する変異型（たとえばスプライス変異体）および天然に存在する対立遺伝子変異体をいう。ここで用いられる「単離された」の語は、天然の環境から取り出された、すなわち通常存在する細胞からまたは生体から単離され、そして天然で付随して見出される共存成分から分離されたかまたは本質的に精製された分子をいうと考えられる。この概念はさらに、そのような分子をコードする配列を人間の手で、自然状態では結合していないポリヌクレオチドと結合させることができること、そしてそのような分子を組み換えおよび/または合成の方法によって製造することができることを意味する。前記の目的のためにそれらの配列が、当業者に既知である方法によって生体または死んだ生物に導入されても、そしてそれらの配列が前記生物中にまだ存在していても、それらはなお単離されていると考えられる。本発明では、「リスク」、「感受性」、および「素因」の語は同等であり、神経変性疾患、好ましくはアルツハイマー病を発症する確率に関して用いられる。

10

【0015】

「AD」の語はアルツハイマー病を意味する。ここで用いられる「AD型神経病理」は、本発明に記載されている通りの、および最先端の文献から一般に既知である通りの、神経病理学的、神経生理学的、組織病理学的、および臨床的な顕著な特徴をいう(Iqbal, Swaab, Winblad and Wisniewski, 『アルツハイマー病と関連疾患(疫学、病因論および治療薬)』(Alzheimer's Disease and Related Disorders (Etiology, Pathogenesis and Therapeutics)), Wiley & Sons, New York, Weinheim, Toronto, 1999; Scinto and Daffner, 『アルツハイマー病の早期診断』(Early Diagnosis of Alzheimer's Disease), Humana Press, Totowa, New Jersey, 2000; Mayeux and Christen, 『アルツハイマー病の疫学: 遺伝子から予防まで』(Epidemiology of Alzheimer's Disease; From Gene to Prevention), Springer Press, Berlin, Heidelberg, New York, 1999; Yonkin, Tanzi and Christen, 『プレインスリンとアルツハイマー病』(Presenilins and Alzheimer's Disease), Springer Press, Berlin, Heidelberg, New York, 1998を参照)。

20

30

【0016】

本発明に記載の神経変性疾患または障害は、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症、ピック病、前頭側頭性痴呆症、進行性核麻痺、大脳皮質基底核変性症、脳血管性痴呆症、多系統変性症、嗜銀性顆粒痴呆症およびその他のタウオパシー、および軽度の認知障害を含む。神経変性過程を含むその他の症状は、たとえば、加齢黄斑変性、ナルコレプシー、運動神経細胞疾患、プリオン病、外傷性神経損傷および修復、および多発性硬化症である。

40

【0017】

一態様では、本発明は、被験者において神経変性疾患を診断または予測診断する、または被験者が前記疾患を発症する高いリスクがあるかどうかを判定する方法に関する。その方法は; 前記被験者由来の試料中の(i) A B C A 1遺伝子の転写産物の、および/または(ii) A B C A 1遺伝子の翻訳産物の、および/または(iii) 前記転写または翻訳産物の断片、または誘導体、または変異体のレベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方を測定すること、および、前記レベル、および/または前記活性を、既知の疾患または健康状態を表す参照値と比較し、それによって前記被験者において前記

50

神経変性疾患を診断または予測診断すること、または前記被験者がを発症する高いリスクがあるかどうかを判定することを含む。

【0018】

本発明はまた、本発明に開示される通り、核酸配列、またはその断片、または変異体に独自のプライマーおよびプローブの構築および使用に関する。そのオリゴヌクレオチドプライマーおよび/またはプローブは、蛍光、生物発光、磁性、または放射性物質で特異的に標識することができる。本発明はさらに、適当な組み合わせの前記特異的オリゴヌクレオチドプライマーを用いた、前記核酸配列、またはその断片および/または変異体の検出および製造に関する。PCR分析は、当業者によく知られた方法であるが、核酸を含む試料から前記遺伝子特異的核酸配列を増幅するために、前記プライマーの組み合わせを用いて実施することができる。そのような試料は、健常者または患者のどちらかから得ることができる。増幅の結果として特定の核酸産物を生じるかどうか、および異なる長さの断片を得ることができるかどうかは、神経変性疾患、特にアルツハイマー病を示しうる。このように、本発明は、調べる核酸配列を含む任意の試料中の、神経変性疾患、特にアルツハイマー病と関連している可能性がある、遺伝子突然変異および一塩基多型の検出に有用な、少なくとも長さ10塩基、最大でコードおよび遺伝子配列全体の、核酸配列、オリゴヌクレオチドプライマー、およびプローブを提供する。この機能は、好ましくはまたキットの形式である、DNAに基づく迅速診断検査を開発するために有用である。

10

【0019】

別の態様では、本発明は被験者における神経変性疾患の進行を監視する方法に関する。前記被験者由来の試料中の(i) ABCA1遺伝子の転写産物の、および/または(ii) ABCA1遺伝子の翻訳産物の、および/または(iii)前記転写または翻訳産物の断片、または誘導体、または変異体のレベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方を測定する。前記レベル、および/または前記活性を既知の疾患または健康状態を表す参照値と比較する。それによって前記被験者において前記神経変性疾患の進行を監視する。

20

【0020】

さらに別の態様では、本発明は、前記疾患について治療されている被験者由来の試料中の(i) ABCA1遺伝子の転写産物の、および/または(ii) ABCA1遺伝子の翻訳産物の、および/または(iii)前記転写または翻訳産物の断片、または誘導体、または変異体の、レベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方を測定することを含む、神経変性疾患の治療を評価する方法に関する。前記レベル、または前記活性、または前記レベルおよび前記活性の両方を、既知の疾患または健康状態を表す参照値と比較し、それによって前記神経変性疾患の治療を評価する。

30

【0021】

ここで請求される本発明の方法、キット、組み換え動物、分子、分析法、および使用の好ましい一実施形態では、ABCA1をコードする前記遺伝子は、ATP結合性カセット1、ABC輸送体1(ABC-1)またはコレステロール排出制御タンパク質(CERP)ともいう、ヒトATP結合性カセット輸送体A1(ABCA1)をコードする遺伝子であり、配列番号1で表される(Genbank登録番号O95477; mRNA Genbank登録番号AF285167、AF285167の前記mRNA配列はGenbank登録番号AF275948およびGenbankデータベースからのESTsに従って訂正されている)。

40

【0022】

ここで請求される本発明の方法、キット、組み換え動物、分子、分析法、および使用の別の好ましい一実施形態では、前記神経変性疾患または障害はアルツハイマー病であり、前記被験者はアルツハイマー病患者である。

【0023】

本発明は、AD患者の特定の脳領域におけるABCA1遺伝子の検出および発現の差および調節を開示する。結果として、ABCA1遺伝子およびその対応する転写および/ま

50

たは翻訳産物は、A Dで典型的に観察される局所性選択的神経細胞変性の原因的な役割を有する可能性がある。あるいは、A B C A 1は残りの生存神経細胞に神経保護機能を与える可能性がある。これらの開示に基づき、本発明は、診断評価および予測診断のために、および神経変性疾患、特にA Dの素因の検出に有用である。さらに、本発明は、そのような疾患のための治療を受けている患者の診断的監視のための方法を提供する。

【0024】

分析および測定する前記試料は、脳組織、またはその他の組織、器官、または体細胞を含む群から選択されるのが特に好ましい。試料はまた、脳脊髄液または、唾液、尿、血液、血清、血漿、または粘液を含むその他の体液を含むことができる。好ましくは、本発明に記載の神経変性疾患の診断、予測診断、進行の監視、または治療の評価は、体外で実施

10

【0025】

さらに好ましい実施形態では、前記参照値は、前記神経変性疾患に罹患していない被験者由来の試料中の(i) A B C A 1遺伝子の転写産物の、および/または(ii) A B C A 1遺伝子の翻訳産物の、および/または(iii)前記転写または翻訳産物の断片、または誘導体、または変異体のレベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方の値である。

【0026】

好ましい実施形態では、既知の健康状態を表す参照値に対する、前記被験者に由来する

20

【0027】

好ましい実施形態では、A B C A 1遺伝子の転写産物のレベルの測定は、被験者の試料から抽出されたRNAの逆転写によって得られたcDNAに由来する前記遺伝子特異的配列を増幅するために、プライマーの組み合わせを用いた定量的PCR分析を使用して、被験者由来の試料で実施される。前記遺伝子に特異的なプローブを用いたノーザンブロットもまた適用することができる。チップを基礎とするマイクロアレイ技術によって転写産物を測定することがさらに好ましい。これらの手法は当業者に既知である(Sambrook and Russell, 『分子クローニング:実験の手引き』(Molecular Cloning; A Laboratory Manual), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001; Schena M., 『マイクロアレイバイオチップ技術』(Microarray Biochip Technology), Eaton Publishing, Natick, MA, 2000を参照)。免疫測定法の一例は、特許出願WO02/14543に開示され記載される通り、酵素活性の検出および測定である。

30

【0028】

さらに、A B C A 1遺伝子の翻訳産物のおよび/または前記翻訳産物の断片、または誘導体、または変異体のレベルおよび/または活性、および/または、前記翻訳産物および/またはその断片、または誘導体、または変異体の活性のレベルは、免疫測定法、活性測定法、および/または結合測定法によって検出することができる。これらの測定法は、前記タンパク質分子と抗タンパク質抗体との間の結合の量を、抗タンパク質抗体かまたはその抗タンパク質抗体と結合する二次抗体のどちらかに結合した、酵素、色力学、放射性、磁性、または発光標識を用いることによって測定することができる。加えて、他の高親和性リガンドを用いることができる。使用することができる免疫測定法は、たとえばELISA、ウェスタンブロット、および当業者に既知のその他の技術を含む(Harlow and Lane, 『抗体:実験の手引き』(Antibodies; A Labora

40

50

tory Manual), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1999 および Edwards R, 『免疫診断：実際的手法』(Immunodiagnos tics; A Practical Approach), Oxford University Press, Oxford; England, 1999を参照)。これらの検出方法すべてはまた、マイクロアレイ, タンパク質アレイ, 抗体マイクロアレイ, 組織マイクロアレイ, 電子バイオチップ、またはタンパク質チップを基礎とする技術の形式で使用することができる (Schen a M., 『マイクロアレイバイオチップ技術』(Microarray Biochip Technology), Eaton Publishing, Natick, MA, 2000)。

10

【0029】

好ましい一実施形態では、前記疾患の進行を監視するため、ある期間にわたって前記被験者から採取された一連の試料中の (i) ABCA1 遺伝子の転写産物の、および/または (ii) ABCA1 遺伝子の翻訳産物の、および/または (iii) 前記転写または翻訳産物の断片、または誘導體、または変異体のレベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方が比較される。さらに好ましい実施形態では、前記被験者は前記試料収集の1回以上の前に治療を受ける。さらに別の好ましい一実施形態では、前記レベルおよび/または活性は、前記被験者の前記治療の前および後に測定される。

【0030】

別の一態様では、本発明は被験者において神経変性疾患、特にADを診断するかまたは予測診断する、または神経変性疾患、特にADを発症する傾向または素因を判定するためのキットを扱い、前記キットは下記を含む；

20

(a) (i) ABCA1 遺伝子の転写産物を選択的に検出する試薬 (ii) ABCA1 遺伝子の翻訳産物を選択的に検出する試薬、から成る群から選択された少なくとも1つの試薬；および

(b)

- 前記被験者に由来する試料中の、ABCA1 遺伝子の前記転写産物および/または前記翻訳産物の、レベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方を検出すること；および

- 神経変性疾患、特にADを診断するかまたは予測診断する、またはそのような疾患を発症する傾向または素因を判定すること

30

による、神経変性疾患、特にADを診断するかまたは予測診断する、またはそのような疾患を発症する傾向または素因を判定するための指示

であって、既知の健康状態を表す参照値と比較した前記転写産物および/または前記翻訳産物の、変化したレベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方；または既知の健康状態を表す参照値と同様であるかまたは等しい、前記転写産物および/または前記翻訳産物の、レベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方が、神経変性疾患、特にADの診断または予測診断、またはそのような疾患を発症する高い傾向または素因を示す。本発明に記載のキットは、神経変性疾患、特にADを発症するリスクがある人の特定に特に有用である可能性がある。結果として、本発明に記載のキットは、疾患経過の不可逆的損傷が与えられる前に、特定された人を疾患の発症前の早期予防処置または治療的介入の対象とする方法となりうる。さらに、好ましい実施形態では、本発明で扱うキットは、被験者において神経変性疾患、特にADの進行を監視、および前記被験者のそのような疾患について治療的処置の成功または失敗を監視するのに有用である。

40

【0031】

別の一態様では、本発明は、(i) ABCA1 遺伝子、および/または (ii) ABCA1 遺伝子の転写産物、および/または (iii) ABCA1 遺伝子の翻訳産物、および/または (iv) (i) から (iii) の断片、または誘導體、または変異体の、レベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方に直接的にまたは間接的に影響を及ぼす、治療的にまたは予防的に有効な量の一または複数の物質の前記被験者への投与を

50

含む、被験者において神経変性疾患、特にADを治療または予防する方法に関する。前記物質は小分子を含むことができ、またはペプチド、オリゴペプチド、またはポリペプチドを含むこともできる。前記ペプチド、オリゴペプチド、またはポリペプチドは、A B C A 1、またはその断片、または誘導體、または変異体をコードする遺伝子の翻訳産物のアミノ酸配列を含むことができる。本発明に記載の、神経変性疾患、特にADを治療するかまたは予防するための物質はまた、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、またはポリヌクレオチドから成ることができる。前記オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドは、A B C A 1をコードする遺伝子のヌクレオチド配列を、センス方向かまたはアンチセンス方向のどちらかで含むことができる。

【0032】

好ましい実施形態では、本方法は前記の一または複数の物質を投与するための遺伝子治療および/またはアンチセンス核酸技術の本質的に既知である方法の応用を含む。一般的に、遺伝子治療はいくつかの手法を含む；変異遺伝子の分子的置換、治療用タンパク質の合成を結果として生じる新しい遺伝子の付加、および組み換え発現方法によるかまたは薬剤による内因性細胞遺伝子発現の調節。遺伝子導入法は詳細に記載されており（たとえば Behr, Acc Chem Res 1993, 26; 274-278 および Mulligan, Science 1993, 260; 926-931 を参照）、機械的マイクロインジェクションといった直接的遺伝子導入法、および生物ベクター（組み換えウイルス、特にレトロウイルスのような）またはモデルリポソームを用いる間接的方法、またはDNAのポリカチオンとの共沈を用いた遺伝子導入に基づく方法、化学的（溶媒、界面活性剤、ポリマー、酵素）または物理的手段（機械的、浸透圧、熱、電気ショック）による細胞膜の不安定化を含む。出生後の中枢神経系への遺伝子導入は詳細に記載されている（たとえば Wolff, Curr Opin Neurobiol 1993, 3; 743-748 を参照）。

【0033】

特に、本発明は、アンチセンス核酸治療、すなわちある種の重要な細胞へのアンチセンス核酸またはその誘導體の導入による、不適切に発現されたかまたは欠陥のある遺伝子のダウンレギュレーションを用いた、神経変性疾患を治療するかまたは予防する方法に関する（たとえば Gillespie, DN&P 1992, 5; 389-395; Agrawal and Akhtar, Trends Biotechnol 1995, 13; 197-199; Crooke, Biotechnology 1992, 10; 882-6 を参照）。ハイブリダイゼーション戦略以外に、リボザイム、すなわち酵素として作用するRNA分子の、疾患のメッセージを運ぶRNAを破壊する適用もまた記載されている（たとえば Barinaga, Science 1993, 262; 1512-1514 を参照）。好ましい実施形態では、治療される被験者はヒトであり、治療的アンチセンス核酸またはその誘導體はA B C A 1をコードする遺伝子の転写産物に対して向けられる。被験者の中枢神経系、好ましくは脳の細胞は、そのような方法で治療されるのが好ましい。細胞透過は、アンチセンス核酸およびその誘導體のキャリアー粒子へのカップリング、または上記の方法といった既知の戦略によって実施することができる。標的化した治療用オリゴデオキシヌクレオチドを投与するための戦略は当業者に既知である（たとえば Wickstrom, Trends Biotechnol 1992, 10; 281-287 を参照）。一部の 경우에는、輸送は単なる局所投与によって実施することができる。別の手法はアンチセンスRNAの細胞内発現を指示する。この戦略では、細胞は標的核酸の領域と相補的であるRNAの合成を指示する組み換え遺伝子を用いて *ex vivo* で形質転換される。細胞内で発現されたアンチセンスRNAの治療的使用は、手続的に遺伝子治療と同様である。RNA干渉 (RNAi) としてさまざまに知られる、二本鎖RNAを用いて遺伝子の細胞内発現を調節する近年開発された方法は、核酸治療のもう一つの有効な手法である可能性がある (Hannon, Nature 2002, 418; 244-251)。

【0034】

10

20

30

40

50

さらに好ましい実施形態では、本方法は前記被験者の中枢神経系、好ましくは脳に、ドナー細胞、または好ましくは移植片拒絶を最小化または低減するように処理されたドナー細胞を移植することを含み、前記ドナー細胞は前記一または複数の物質をコードする少なくとも1つの導入遺伝子の挿入によって遺伝子組み換えされている。前記導入遺伝子は、ウイルスベクター、特にレトロウイルスベクターによって運ばれうる。導入遺伝子は、導入遺伝子をコードするDNAの非ウイルス物理的遺伝子導入によって、特にマイクロインジェクションによってドナー細胞へ挿入することができる。導入遺伝子の挿入はまた、エレクトロポレーション、化学的媒介遺伝子導入、特にリン酸カルシウム遺伝子導入またはリポソーム媒介遺伝子導入によっても実施することができる (Mc Celland and Pardee, 『発現遺伝学：迅速および高処理量法』 (Expression Genetics; Accelerated and High-Throughput Methods), Eaton Publishing, Natick, MA, 1999を参照)。

10

【0035】

好ましい実施形態では、神経変性疾患、特にADを治療または予防するための前記物質は、対象細胞を前記被験者に導入し、ここで前記対象細胞は前記治療用タンパク質をコードするDNA断片を挿入するために *in vitro* で処理されており、前記対象細胞が *in vivo* で前記被験者において治療的に有効な量の前記治療用タンパク質を発現することを含む過程によって、前記被験者、好ましくはヒトに投与することができる治療用タンパク質である。前記DNA断片は、前記細胞へ *in vitro* でウイルスベクター、特にレトロウイルスベクターによって挿入することができる。

20

【0036】

本発明に記載の、治療の方法は、前記の細胞治療的および遺伝子治療的方法の任意のものと組み合わせた、治療的クローニング、移植、および胚性幹細胞または胚性生殖細胞および神経細胞性成体幹細胞を用いた幹細胞治療の適用を含む。幹細胞は全能性または多能性でありうる。それらはまた器官特異性でもありうる。罹患および/または損傷した脳細胞または組織を修復する戦略は、(i) ドナー細胞を成体組織から採取することを含む。これらの細胞の核は、遺伝物質が除去されている未受精卵細胞に移植される。胚性幹細胞は、体細胞核移植を受けた細胞の胚盤胞期から単離される。その時、分化因子の使用は、特化した細胞型、好ましくは神経細胞への幹細胞の分化誘導に繋がる (Lanza et al., Nature Medicine 1999, 9; 975-977)、または (ii) *in vitro* での拡大およびその後の移植のために、中枢神経系、または骨髄 (間葉性幹細胞) から単離された成体幹細胞を精製する、または (iii) 内因性神経幹細胞を直接、増殖、移動、および機能する神経細胞へ分化するように誘導する (Peterson DA, Curr. Opin. Pharmacol. 2002, 2; 34-42)。成体脳の胚中心は神経細胞損傷または機能障害が存在しないように、成体神経幹細胞は、損傷したかまたは罹患した脳組織を修復する大きな可能性がある (Colman A, Drug Discovery World 2001, 7; 66-71)。

30

【0037】

好ましい実施形態では、本発明に記載の治療または予防の被験者は、ヒト、実験動物、たとえばマウスまたはラット、家畜、または非ヒト霊長類であることができる。実験動物は、神経変性疾患の動物モデル、たとえばAD型神経病理を有する遺伝子導入マウスおよび/またはノックアウトマウスであることができる。

40

【0038】

別の態様では、本発明は、(i) ABCA1遺伝子、および/または(ii) ABCA1遺伝子の転写産物、および/または(iii) ABCA1遺伝子の翻訳産物、および/または(iv) (i) から (iii) の断片、または誘導體、または変異体から成る群から選択される少なくとも1つの物質の、レベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方の調節因子に関する。

【0039】

50

別の態様では、本発明は、前記調節因子 および好ましくは医薬キャリアーを含む医薬組成物に関する。前記キャリアーは、希釈剤、アジュバント、賦形剤、または調節因子と共に投与する媒体に関する。

【0040】

別の態様では、本発明は、医薬組成物における使用のための (i) ABCA1 遺伝子、および/または (ii) ABCA1 遺伝子の転写産物、および/または (iii) ABCA1 遺伝子の翻訳産物、および/または (iv) (i) から (iii) の断片、または誘導体、または変異体から成る群から選択される少なくとも1つの物質の、レベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方の調節因子に関する。

【0041】

別の態様では、本発明は、神経変性疾患、特に AD を治療するかまたは予防するための薬剤の調製のための (i) ABCA1 遺伝子、および/または (ii) ABCA1 遺伝子の転写産物、および/または (iii) ABCA1 遺伝子の翻訳産物、および/または (iv) (i) から (iii) の断片、または誘導体、または変異体から成る群から選択される少なくとも1つの物質の、レベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方の調節因子の使用を提供する。

【0042】

一態様では、本発明はまた、治療的にまたは予防的に有効な量の前記医薬組成物を詰めた一種類以上の容器を含むキットを提供する。

【0043】

別の態様では、本発明は ABCA1 またはその断片、または誘導体、または変異体をコードする非天然遺伝子配列を含む組み換え非ヒト動物に関する。前記組み換え非ヒト動物の作製は、(i) 前記遺伝子配列および選択可能なマーカー配列を含む遺伝子ターゲット構築物を提供すること、および (ii) 前記ターゲット構築物を非ヒト動物の幹細胞へ導入すること、および (iii) 前記非ヒト動物幹細胞を非ヒト胚へ導入すること、および (iv) 前記胚を偽妊娠非ヒト動物へ移植すること、および (v) 前記胚を満期まで発生させること、および (vi) ゲノムが両方の対立遺伝子に前記遺伝子配列の修飾を含む遺伝子改変非ヒト動物を特定すること、および (vii) 段階 (vi) の遺伝子改変非ヒト動物を繁殖させて、ゲノムが前記内因性遺伝子の修飾を含み、前記遺伝子が発現していない、または低発現である、または過剰発現である、および前記破壊または改変の結果として神経変性疾患、特に AD と類似した神経病理の症状を発症する素因を示す遺伝子改変非ヒト動物を得ることを含む。そのような動物の作製および構築は当業者に既知である (たとえば Capecchi, Science 1989, 244; 1288-1292 and Hogan et al., 1994, 『マウス胚操作：実験の手引き』 (Manipulating the Mouse Embryo; A Laboratory Manual), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York および Jackson and Abbott, 『マウス遺伝学および遺伝子組み換え：実践的手法』 (Mouse Genetics and Transgenics; A Practical Approach), Oxford University Press, Oxford, England, 1999 を参照)。そのような組み換え非ヒト動物を、神経変性疾患、特にアルツハイマー病を調べるための動物モデルとして利用することが好ましい。そのような動物は、神経変性疾患、特にアルツハイマー病を治療するための診断薬および治療薬の開発において、化合物、物質、および調節因子を、スクリーニング、試験、および評価するのに有用である可能性がある。

【0044】

別の態様では、本発明は、神経変性疾患、特に AD の調節因子、または (i) ABCA1 遺伝子、および/または (ii) ABCA1 遺伝子の転写産物、および/または (iii) ABCA1 遺伝子の翻訳産物、および/または (iv) (i) から (iii) の断片、または誘導体、または変異体から成る群から選択される一種類以上の物質の、関連す

10

20

30

40

50

る疾患および異常のスクリーニングのための測定法に関する。このスクリーニング方法は下記を含む、(a)細胞を被験化合物と接触させること、および(b)(i)から(iv)で列挙された一種類以上の物質の、活性、またはレベル、または活性およびレベルの両方を測定すること、および(c)前記被験化合物と接触させていない対照細胞中の前記物質の、活性、またはレベル、または活性およびレベルの両方を測定すること、および(d)段階(b)と(c)の細胞中の物質のレベルを比較するが、接触させた細胞中の前記物質の活性および/またはレベルの変化は被験化合物が前記疾患および障害の調節因子であることを示す。

【0045】

別の一態様では、本発明は、神経変性疾患、特にADの調節因子、または(i)ABC A1遺伝子、および/または(ii)ABC A1遺伝子の転写産物、および/または(iii)ABC A1遺伝子の翻訳産物、および/または(iv)(i)から(iii)の断片、または誘導体、または変異体から成る群から選択される一種類以上の物質の、関連する疾患および異常のスクリーニング測定法を扱い、下記を含む：(a)神経変性疾患または関連する疾患または障害の症状を発症する素因があるかまたは既に発症している被験動物に被験化合物を投与すること、および(b)(i)から(iv)で列挙された一種類以上の物質の、活性および/またはレベルを測定すること、および(c)等しく前記疾患の症状を発症する素因があるかまたは既に発症している、そのような被験化合物が投与されていない、一致した対照動物における前記物質の活性および/またはレベルを測定すること、および(d)段階(b)と(c)の動物における物質の活性および/またはレベルを比較するが、被験動物における物質の活性および/またはレベルの変化は被験化合物が前記疾患および障害の調節因子であることを示す。

【0046】

好ましい一実施形態では、前記被験動物および/または前記対照動物は、ABC A1、またはその断片、または誘導体、または変異体をコードする、天然のABC A1遺伝子転写調節配列ではない転写調節配列の調節下にある遺伝子を発現する組み換え非ヒト動物である。

【0047】

別の一実施形態では、本発明は、(i)前述のスクリーニング測定の方法によって神経変性疾患の調節因子を特定する、および(ii)調節因子を医薬キャリアーと混合する段階を含む、薬剤を製造する方法を提供する。しかし、前記調節因子はまた、他の種類のスクリーニング測定法によっても特定することができる。

【0048】

別の一態様では、本発明は、リガンドと、ABC A1をコードする遺伝子の翻訳産物、またはその断片、または誘導体、または変異体との間の結合の阻害について、化合物を試験するための、好ましくは複数の化合物をスクリーニングするための測定法を提供する。前記スクリーニング測定法は、(i)前記ABC A1翻訳産物、またはその断片、または誘導体、または変異体の懸濁液を複数の容器に加える、および(ii)前記阻害についてスクリーニングする一または複数の化合物を前記複数の容器に加える、および(iii)検出可能な、好ましくは蛍光標識リガンドを前記容器に加える、および(iv)前記ABC A1翻訳産物、またはその前記断片、または誘導体、または変異体、および前記一または複数の化合物、および前記検出可能な、好ましくは蛍光標識リガンドをインキュベートする、および(v)前記ABC A1翻訳産物に、またはその前記断片、または誘導体、または変異体に結合した蛍光の量を測定する、および(vi)前記リガンドの、前記ABC A1翻訳産物、またはその前記断片、または誘導体、または変異体への結合の、一種類以上の前記化合物による阻害の程度を測定する段階を含む。リガンドと前記ABC A1翻訳産物との間の結合の阻害を測定するためには、前記ABC A1翻訳産物、またはその断片、または誘導体、または変異体を、人工リポソーム中に再構成し、対応するプロテオリポソームを作製するのが好ましい可能性がある。界面活性剤からリポソームへのATP結合性カセット輸送体の再構成の方法は当業者に既知である(Hagmann et al.,

Eur. J. Biochem. 1999, 265; 281-289; Ahn et al., J. Biol. Chem. 2000, 275; 20399-20405)。
)。蛍光標識リガンドを利用する代わりに、一部の態様では、当業者に既知である任意のその他の検出可能な標識、たとえば放射性標識を用い、それをしかるべく検出するのが好ましい可能性がある。前記方法は、新規化合物の同定に、およびABC A1翻訳産物、またはその断片、または誘導體、または変異体へのリガンドの結合を阻害する能力が改良されたかまたはそうでなければ最適化された化合物を評価するために有用である可能性がある。キャリアー粒子の使用を基礎としたこの場合の蛍光結合測定法の一例は、特許出願WO 00/52451に開示され記載されている。別の一例は、特許WO 02/01226に記載された競合測定法である。本発明のスクリーニング測定法のために好ましいシグナル検出方法は、下記の特許出願に記載されている；WO 96/13744、WO 98/16814、WO 98/23942、WO 99/17086、WO 99/34195、WO 00/66985、WO 01/59436、WO 01/59416。

10

【0049】

別の一実施形態では、本発明は、(i)前述の阻害結合測定法によって、化合物を、リガンドとABC A1をコードする遺伝子の遺伝子産物との間の結合の阻害因子として特定する、および(ii)その化合物を医薬キャリアーと混合する段階を含む、薬剤を製造する方法を提供する。しかし、前記化合物はまた、他の種類のスクリーニング測定法によっても特定できる可能性がある。

【0050】

別の一態様では、本発明は、ABC A1をコードする遺伝子の翻訳産物、またはその断片、または誘導體、または変異体との前記化合物の結合の程度を測定する、化合物を試験するための、好ましくは複数の化合物をスクリーニングするための測定法に関する。前記スクリーニング測定法は、(i)前記ABC A1翻訳産物、またはその断片、または誘導體、または変異体の懸濁液を複数の容器に加える、および(ii)前記結合についてスクリーニングする一または複数の化合物を前記複数の容器に加える、および(iii)前記ABC A1翻訳産物、またはその前記断片、または誘導體、または変異体、および前記一または複数の蛍光標識化合物をインキュベートする、および(iv)前記ABC A1翻訳産物と、またはその前記断片、または誘導體、または変異体と結合した蛍光の量を測定する、および(v)前記ABC A1翻訳産物、またはその前記断片、または誘導體、または変異体への、一種類以上の前記化合物による結合の程度を測定する段階を含む。この型の測定では、蛍光標識を用いるのが好ましい。しかし、任意の他の種類の検出可能な標識もまた使用することができる。またこの型の測定法では、ABC A1翻訳産物またはその断片、または誘導體、または変異体を、本発明に記載の通りの人工リポソーム中に再構成するのが好ましい可能性がある。前記測定方法は、新規化合物の同定に、およびABC A1翻訳産物、またはその断片、または誘導體、または変異体へ結合する能力が改良されたかまたはそうでなければ最適化された化合物を評価するために有用である可能性がある。

20

30

【0051】

別の一実施形態では、本発明は、(i)前述の結合測定法によって、ABC A1遺伝子の遺伝子産物への結合因子として化合物を特定する、および(ii)その化合物を医薬キャリアーと混合する段階を含む、薬剤を製造する方法を提供する。しかし、しかし、前記化合物はまた、他の種類のスクリーニング測定法によっても特定できる可能性がある。

40

【0052】

別の一実施形態では、本発明は、ここで請求するスクリーニング測定法に記載の方法のうち任意のものによって得ることができる薬剤を提供する。別の一実施形態では、本発明は、ここで請求するスクリーニング測定法に記載の方法のうち任意のものによって得られた薬剤を提供する。

【0053】

本発明は、神経変性疾患、好ましくはアルツハイマー病を検出するための診断標的としての使用のための、配列番号1に示されるタンパク質分子、ATP結合性カセット輸送体

50

A B C A 1 タンパク質、またはその断片、または誘導体、または変異体をコードする遺伝子の翻訳産物である前記タンパク質分子に関する。

【0054】

本発明はさらに、神経変性疾患、好ましくはアルツハイマー病を予防、または治療、または改善する試薬または化合物についてのスクリーニング標的としての使用のための、配列番号1に示されるタンパク質分子、A T P 結合性カセット輸送体A B C A 1 タンパク質、またはその断片、または誘導体、または変異体をコードする遺伝子の翻訳産物である前記タンパク質分子に関する。

【0055】

本発明は、免疫原と特異的に免疫反応する抗体を扱い、ここで前記免疫原は配列番号1に示されるタンパク質分子、またはその断片、または誘導体、または変異体である。その免疫原は、配列番号1の免疫原性または抗原性のエピトープまたは部分を含むことができ、ここで前記免疫原性または抗原性部分はポリペプチドであり、および前記ポリペプチドは抗体反応を動物において導き、前記ポリペプチドは前記抗体によって免疫特異的に結合している。抗体を作製する方法は当該分野でよく知られている (Harlow et al., 『抗体 - 実験の手引き』 (Antibodies, A Laboratory Manual), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1988を参照)。本発明で使用される「抗体」の語は、ポリクローナル、モノクローナル、キメラ、組み換え、抗イデオタイプ、ヒト化、または一本鎖抗体、およびその断片といった、当該分野で既知のすべての型の抗体を包含する (Dubel and Breitling, 『組み換え抗体』 (Recombinant Antibodies), Wiley-Liss, New York, NY, 1999を参照)。本発明の抗体は、たとえば (Harlow and Lane, 『抗体利用: 実験の手引き』 (Using Antibodies; A Laboratory Manual), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1999およびEdwards R., 『免疫診断法: 実践的手法』 (Immunodiagnosics; A Practical Approach), Oxford University Press, Oxford, England, 1999を参照)、酵素免疫測定法 (たとえば酵素結合免疫吸収測定法、E L I S A)、ラジオイムノアッセイ、化学発光免疫測定法、ウェスタンブロット、免疫沈降法、および抗体マイクロアレイといった、最先端の方法を基礎とするさまざまな診断および治療方法で有用である。これらの方法は、A B C A 1 遺伝子、またはその断片、または誘導体、または変異体の翻訳産物の検出を含む。

【0056】

本発明の好ましい一実施形態では、前記抗体は被験者に由来する試料中の細胞の病理状態を検出するのに用いることができ、前記抗体を用いた前記細胞の免疫細胞化学染色を含み、ここで既知の健康状態を表す細胞と比較した前記細胞における染色の程度の変化、または染色パターンの変化は、前記細胞の病理状態を示す。好ましくは、その病理状態は神経変性疾患、特にA Dに関係する。細胞の免疫細胞化学染色は、当該分野でよく知られたいくつかの異なる実験法によって実施することができる。しかし、抗体結合の検出には自動化法を適用するのが好ましく、ここで、細胞の染色の程度の判定、または細胞の細胞染色または細胞成分染色のパターンの判定、または細胞表面上または細胞内のオルガネラおよびその他の細胞下構造の間の抗原のトポロジカルな分布は、米国特許第6150173号に記載の方法に従って実施される。

【0057】

本発明のその他の特性および利点は、例証に過ぎずいかなる方法でも開示の残りを制限しないことを意図する下記の図および実施例の説明から明らかになる。

【0058】

図1は、A Dにおける神経細胞の喪失および変性に対する選択的不安定性を有する脳領

域を表す。主に、下側頭葉、嗅内皮質、海馬、および小脳扁桃の中の神経細胞が、ADにおいて変性過程を受ける (Terry et al., *Annals of Neurology* 1981, 10; 184-192)。これらの脳領域は大部分が学習および記憶機能の処理に参与する。対照的に、前頭皮質、後頭皮質、および小脳の中の神経細胞は概ね無傷で、ADにおいて神経変性過程から保護されたままである。AD患者および同年齢の対照健常者の前頭皮質 (F)、側頭皮質 (T)、および海馬 (H) に由来する脳組織を、ここで開示する実施例に使用した。例示目的で、Strangeによる発表から正常健康脳の画像を取った (*Brain Biochemistry and Brain Disorders*, Oxford University Press, Oxford, 1992, p. 4)。

10

【0059】

図2および3は、AD脳組織におけるABCA1遺伝子の発現の差を、定量的RT-PCR分析によって実証する。AD患者の前頭皮質 (F) および側頭皮質 (T) から採取したRNA試料 (図2a)、およびAD患者の前頭皮質 (F) および海馬 (H) に由来する試料 (図3a) からのRT-PCR産物の定量を、ライトサイクラー (Light Cycler) 迅速熱サイクル法によって実施した。同様に、同年齢の対照健常者の試料を比較した (図2bは前頭皮質および側頭皮質、図3bは前頭皮質および海馬)。データは、遺伝子発現レベルに有意差を示さなかった標準遺伝子の組の平均値の組み合わせについて正規化した。前記標準遺伝子の組は、シクロフィリンB、リボソームタンパク質S9、トランスフェリン受容体、GAPDH、およびベータアクチンの遺伝子から成った。図は、蛍光によって標識された増幅された物質の量に対してサイクル数をプロットすることによって、増幅の動力学を示す。反応の指数期の間、対照健常者の前頭皮質および側頭皮質、および対照健常者の前頭皮質および海馬、のそれぞれ両方に由来するABCA1 cDNAの増幅動力学は並列しており (図2bおよび3b、矢印)、一方、アルツハイマー病では (図2aおよび3a、矢印) 対応する曲線の有意な分離があり、分析した脳領域のそれぞれでABCA1をコードする遺伝子の発現の差を示していることに注意する。

20

【0060】

図4は、ここで使用したRT-PCRプライマー配列の、ヒトABCA1遺伝子 (GenBank登録番号AF285167、AF285167の前記配列はGenBank登録番号AF275948およびGenBankデータベースからの対応するESTsに従って訂正されている) のヌクレオチド配列との図式的整列を図示する。例示目的で、エクソン1およびエクソン50だけが描かれている; ポリA; ポリアデニル化部位; プライマーは矢印および位置番号付けによって示される

30

【0061】

図5は、ABCA1プライマー対の、ヒトABCA1遺伝子のヌクレオチドに対する正確なヌクレオチド配列整列の概略を示す (GenBank登録番号AF285167、AF285167の前記配列はGenBank登録番号AF275948およびGenBankデータベースからの対応するESTsに従って訂正されている)。

【0062】

図6は、配列番号1、すなわち2261アミノ酸を含むヒトABCA1のポリペプチド配列を開示する (GenBank登録番号O95477)。[図1]

40

【0063】

図7は、抗ABCA1ウサギ (赤色シグナル) および抗ABCA1ヤギ (緑色シグナル) ポリクローナル抗体を用いて二重標識したヒト大脳皮質を示す。ABCA1の免疫反応性は中心前皮質 (CT) および白質 (WM) の両方で検出された (図7a、低倍率)。皮質では、ABCA1免疫反応性は神経細胞体およびグリア細胞体、および内皮細胞に観察された。ABCA1免疫反応性は細胞質中におよび原形質膜に結合して存在することが見出された (図7b、高倍率)。使用した抗体の両方が高度に重複したシグナルを示し、重複する免疫特異性を示唆した。青色シグナルはDAPIで染色した核を示す。

【0064】

50

表1は、内部参照番号P010、P011、P012、P014、P016、P017、P019(1.18ないし2.99倍)で特定されるアルツハイマー病患者7名、および内部参照番号C005、C008、C011、C012、C014(0.81ないし1.49倍)で特定される同年齢の対照健常者5名における、前頭皮質と比較しての側頭皮質でのABCA1遺伝子の遺伝子発現レベルを列記する。散布図は、それぞれ対照試料(点)およびAD患者試料(三角)における、前頭皮質に対する側頭皮質の調節比を視覚化する。

【0065】

表2は、内部参照番号P010、P011、P012、P014、P016、P019(1.96ないし5.83倍)で特定されるアルツハイマー病患者6名、および内部参照番号C004、C005、C008(1.18ないし3.22倍)で特定される同年齢の対照健常者3名における、前頭皮質と比較しての海馬でのABCA1遺伝子の遺伝子発現レベルを列記する。散布図は、それぞれ対照試料(点)およびAD患者試料(三角)における、前頭皮質に対する海馬の調節比を視覚化する。

10

【0066】

実施例1

(i) AD患者由来の脳組織解剖；

AD患者および同年齢の対照被験者由来の脳組織を死後6時間以内に採取し、直ちにドライアイス上で凍結した。診断の組織病理学的確認のため、各組織からの試料切片はパラホルムアルデヒドで固定した。発現差の分析のための脳の部分を特定し(図1参照)、RNA抽出を実施するまで-80にて保存した。

20

【0067】

(ii) 総mRNAの単離；

総RNAは、RNeasyキット(キアゲン(Qiagen))を取扱説明書に従って使用することによって、死後脳組織から抽出した。正確なRNA濃度およびRNA品質は、DNAラブチップ(LabChip)系を用いてアジレント(Agilent)2100バイオアナライザー(アジレント・テクノロジーズ(Agilent Technologies))を使用して測定した。調製したRNAの追加の品質試験、すなわち部分分解の排除およびDNA混入に関する試験のために、特に設計したイントロンGAPDHオリゴヌクレオチドおよび参照対照としてゲノムDNAを使用して、ライトサイクラー(LightCycler)技術を取扱説明書(ロシュ(Roche))に従って用いて融解曲線を作成した。

30

【0068】

(iii) 定量的RT-PCR分析；

前頭皮質に対して側頭皮質におけるヒトABCA1遺伝子の発現レベルを、ライトサイクラー(LightCycler)技術(ロシュ(Roche))を用いて分析した。この手法はポリメラーゼ連鎖反応の迅速熱サイクリングおよび増幅中の蛍光シグナルのリアルタイム測定を特色とし、したがって、終点計測値でなく動力学を用いることによってRT-PCR産物の高度に正確な定量が可能である。側頭皮質および前頭皮質由来の、ならびに海馬および前頭皮質由来の、ABCA1 cDNAの比をそれぞれ測定した(相対的定量)。

40

最初に、ヒトABCA1をコードする遺伝子に特異的なプライマー；

5'-TGTTGCATCCCCCTTAGAATGT-3'および

5'-GAGGGCCAATGATGAACAAG-3'

を用いたPCRの効率を測定するため、標準曲線を作成した。

【0069】

PCR増幅(95で1秒間, 56で5秒間、および72で5秒間)は、ライトサイクラー・ファストスタートDNAマスターSYBRグリーンI(LightCycler-FastStartDNA Master SYBR Green I)混合物(ファストスタートTaqDNAポリメラーゼ、反応緩衝液、dTTPの代わりにdUTPを含

50

む dNTP 混合物、SYBR グリーン I 色素、および 1 mM MgCl₂ ; ロシュ (Roche)、0.5 μM のプライマー、2 μl の cDNA 希釈系列 (ヒト脳総 cDNA 終濃度 40、20、10、5、1、0.5 ng ; クローンテック (Clontech)) および、使用したプライマーに応じて追加の 3 mM MgCl₂ を含む、体積 20 μl で実施した。融解曲線分析は約 79 に単一ピークを示し、プライマー二量体は見られなかった。PCR 産物の品質および大きさは DNA ラブチップ (LabChip) 系を用いて測定した (アジレント 2100 バイオアナライザー、アジレント・テクノロジーズ (Agilent Technologies))。試料の電気泳動図で、ABCA1 の予測サイズ 114 bp に単一ピークが観察された。

【0070】

同様の方法で、PCR 手順を適用して、定量用の参照標準として選択された参照遺伝子の組の PCR 効率を測定した。本発明では、5 種類のそのような参照遺伝子の平均値を測定した ; (1) シクロフィリン B、特異的プライマー 5' - ACTGAAGCACTACGGGCTTG - 3' および 5' - AGCCGTTGGTGTCTTTGCC - 3' を用い MgCl₂ を省いて (別に 1 mM を 3 mM の代わりに加えた)。融解曲線分析は約 87 に単一ピークを示し、プライマー二量体は見られなかった。PCR 産物のアガロースゲル分析は、予想サイズ (62 bp) の単一バンド一本を示した。(2) リボソームタンパク質 S9 (RPS9)、特異的プライマー 5' - GGTCAAATTTACCCCTGGCCCA - 3' および 5' - TCTCATCAAGCGTCAGCAGTTTC - 3' を用いて (例外 ; 別に 1 mM MgCl₂ を 3 mM の代わりに加えた)。融解曲線分析は約 85 に単一ピークを示し、プライマー二量体は見られなかった。PCR 産物のアガロースゲル分析は、予想サイズ (62 bp) を有する単一バンド一本を示した。(3) ベータアクチン、特異的プライマー 5' - TGGAAACGGTGAAGGTGACA - 3' および 5' - GGCAAGGGACTTCCTGTAA - 3' を用いて。融解曲線分析は約 87 に単一ピークを示し、プライマー二量体は見られなかった。PCR 産物のアガロースゲル分析は、予想サイズ (142 bp) を有する単一バンド一本を示した。(4) GAPDH、特異的プライマー 5' - CGTCATGGGTGTGAACCATG - 3' および 5' - GCTAAGCAGTTGGTGGTGCAG - 3' を用いて。融解曲線分析は約 83 に単一ピークを示し、プライマー二量体は見られなかった。PCR 産物のアガロースゲル分析は、予想サイズ (81 bp) を有する単一バンド一本を示した。(5) トランスフェリン受容体 TRR、特異的プライマー 5' - GTCGCTGGTTCAGTTTCGTGATT - 3' および 5' - AGCAGTTGGCTGTTGTACCCTCTC - 3' を用いて。融解曲線分析は約 83 に単一ピークを示し、プライマー二量体は見られなかった。PCR 産物のアガロースゲル分析は、予想サイズ (80 bp) を有する単一バンド一本を示した。

【0071】

値の計算のために、まず cDNA 濃度の対数を、ABCA1 をコードする遺伝子および 5 種類の参照標準遺伝子についてのサイクル数閾値 C_t に対してプロットした。標準曲線の傾きおよび切片 (すなわち直線回帰) をすべての遺伝子について計算した。次の段階で、側頭皮質および前頭皮質由来の、ならびに海馬および前頭皮質由来の cDNA をそれぞれ平行して分析しシクロフィリン B に対して正規化した。C_t 値を測定し、対応する標準曲線を用いて mg 総脳 cDNA に変換した ;

【数 1】

$$10^{((C_t \text{ 値} - \text{切片}) / \text{傾き})} \quad [\text{ng 総脳 cDNA}]$$

【0072】

前頭 および側頭皮質 ABCA1 の cDNA についての値、および海馬および前頭皮質 ABCA1 cDNA についての値はそれぞれ、シクロフィリン B に対して正規化し、比を下記の式に従って計算した ;

10

20

30

40

【数 2】

ABCA1側頭[ng]／シクロフィリンB側頭[ng]

比 = -----

ABCA1前頭[ng]／シクロフィリンB前頭[ng]

【数 3】

ABCA1海馬[ng]／シクロフィリンB海馬[ng]

比 = -----

ABCA1前頭[ng]／シクロフィリンB前頭[ng]

10

【0073】

三番目の段階で、参照標準遺伝子の組を平行して分析し、個別の脳試料それぞれについて参照標準遺伝子の発現レベルの前頭対側頭比の、および前頭対海馬比の平均値をそれぞれ決定した。シクロフィリンBを段階2および段階3で分析し、また、一つの遺伝子から別の遺伝子への比は別々の分析で一定のままであったため、ABCA1についての値を、単一の遺伝子だけに対してでなく、参照標準遺伝子の組の平均値に対して正規化することが可能であった。計算は、上記に示すそれぞれの比を、すべてのハウスキーピング遺伝子の平均値からのシクロフィリンBの偏差で割ることによって行った。ABCA1遺伝子についてのそのような定量的RT-PCR分析の結果を図2および図3に示す。

20

【0074】

(iv) 免疫組織化学；

ヒト脳におけるABCA1の免疫蛍光染色のために、一名の提供者の死後中心前頭回(pre-central gyrus)から凍結切片を調製し(クリオスタット・ライカCM3050S)、アセトン中で10分間固定した。PBSで洗浄後、切片をブロッキング緩衝液(10%正常ヤギ血清、0.2%トリトンX-100を含むPBS)で30分間ブレインキュベートし、その後、抗ABCA1ウサギポリクローナル抗体(ブロッキング緩衝液で1;50希釈;アブカム(Abcam)、バートナウハイム(Bad Nauheim))および抗ABCA1ヤギポリクローナル抗体(N-15、ブロッキング緩衝液で1;20希釈;サンタクルス・バイオテクノロジー(Santa Cruz Biotechnology)、ハイデルベルグ(Heidelberg))の両方と一夜4にてインキュベートした。0.1%トリトンX-100/PBSで3回洗浄後、切片をCy3結合ロバ抗ウサギIgG(1%BSA/PBSで1;600希釈)およびFITC結合ロバ抗ヤギIgG(1%BSA/PBSで1;150希釈)と共に2時間室温にてインキュベートし、その後再びPBSで洗浄した。核の染色は、5μMDAPIを含むPBSとの3分間の切片のインキュベートによって実施した(青色シグナル)。ヒト脳中のリポフスチンの自己蛍光をブロックするため、切片を1%スダンブラックBを含む70%エタノールで2~10分間室温にて処理し、連続して70%エタノール、蒸留水、およびPBSに浸した。切片は、「ベクトラシールド(Vectorshield)封入剤」(ベクター・ラボラトリーズ(Vector Laboratories)、カリフォルニア州バーリングゲーム(Burlingame))によってカバーガラスを掛け、倒立顕微鏡(IX81、オリンパス光学)下で観察した。デジタル画像は適当なソフトウェア(Analysis、オリンパス光学)を用いて取り込んだ。

30

40

【図面の簡単な説明】

【0075】

【図1】図1は、ADにおける神経細胞の喪失および変性に対する選択的不安定性を有する脳領域を表す。

50

【図2】図2は、AD脳組織におけるABCA1遺伝子の発現の差を、定量的RT-PCR分析によって実証する。AD患者の前頭皮質(F)および側頭皮質(T)から採取したRNA試料(図2a)からのRT-PCR産物の定量を、ライトサイクラー(LightCycler)迅速熱サイクル法によって実施した。同様に、同年齢の対照健常者の試料を比較した(図2bは前頭皮質および側頭皮質)。

【図3】図3は、AD脳組織におけるABCA1遺伝子の発現の差を、定量的RT-PCR分析によって実証する。AD患者の前頭皮質(F)および海馬(H)に由来する試料(図3a)からのRT-PCR産物の定量を、ライトサイクラー(LightCycler)迅速熱サイクル法によって実施した。同様に、同年齢の対照健常者の試料を比較した(図3bは前頭皮質および海馬)。

【図4】図4は、ここで使用したRT-PCRプライマー配列の、ヒトABCA1遺伝子のヌクレオチド配列との図式的整列を図示する。例示目的で、エクソン1およびエクソン50だけが描かれている；ポリA；ポリアデニル化部位；プライマーは矢印および位置番号付けによって示される

【図5】図5は、ABCA1プライマー対の、ヒトABCA1遺伝子のヌクレオチドに対する正確なヌクレオチド配列整列の概略を示す。

【図6】図6は、配列番号1、すなわち2261アミノ酸を含むヒトABCA1のポリペプチド配列を開示する(GenBank登録番号O95477)。

【図7】図7は、抗ABCA1ウサギ(赤色シグナル)および抗ABCA1ヤギ(緑色シグナル)ポリクローナル抗体を用いて二重標識したヒト大脳皮質を示す。

【図8】図8の散布図は、それぞれ対照試料(点)およびAD患者試料(三角)における、前頭皮質に対する側頭皮質の調節比を視覚化する。

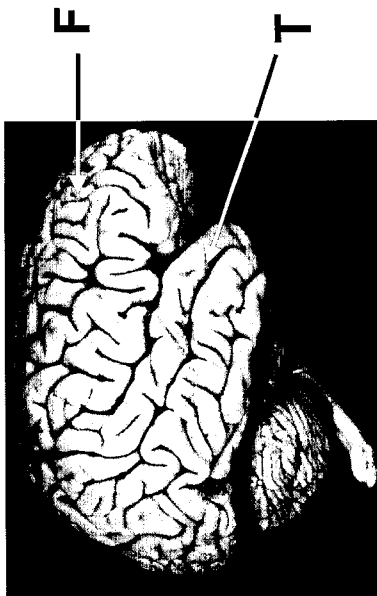
【図9】図9の散布図は、それぞれ対照試料(点)およびAD患者試料(三角)における、前頭皮質に対する海馬の調節比を視覚化する。

10

20

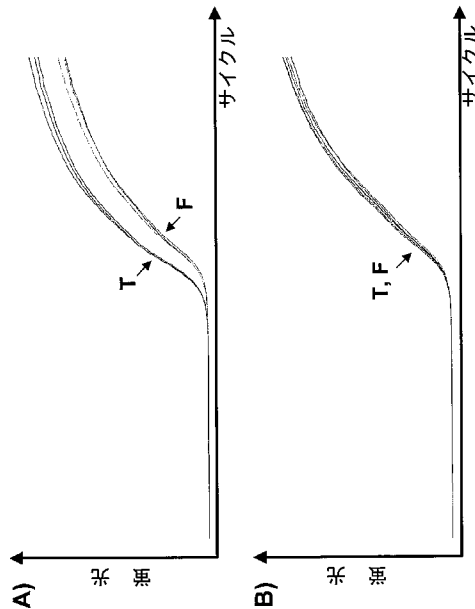
【図1】

図1 アルツハイマー病の病因に関与する遺伝子の特定



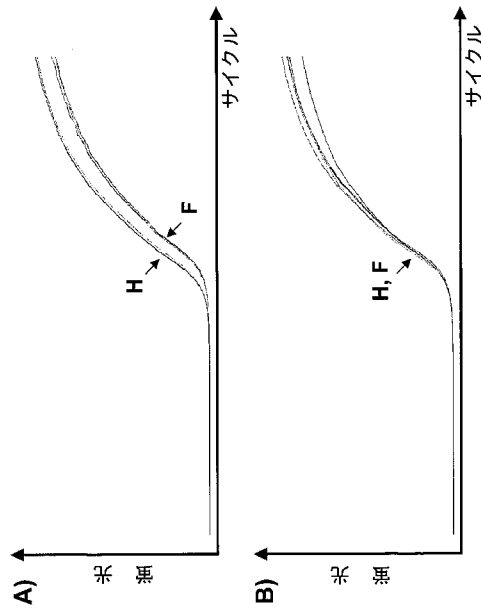
【図2】

図2 RT-PCR分析により測定したABCA1の発現の差



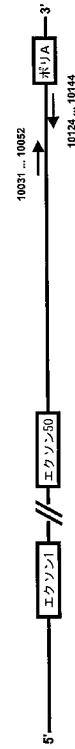
【 図 3 】

図 3 RT-PCR分析により測定したABCA1の発現の差



【 図 4 】

図 4 ヒトABCA1 cDNAと ABCA1 RT-PCRプライマーの図式的配列 (GenBank登録番号: AF275948)



【 図 5 】

図 5 ABCA1 RT-PCRプライマーの ABCA1 cDNA (GenBank登録番号: AF275948) との整合

```

1 TGTTCATCCCCCTTAGAATGT 22
|||||
10031 TGTTCATCCCCCTTAGAATGT 10052

21 CTTTGTTCATCATTGGCCCTC 1
|||||
10124 CTTTGTTCATCATTGGCCCTC 10144

```

【 図 6 】

図 6 配列番号 1: ヒトABCA1のアミノ酸配列

長さ: 2261 アミノ酸

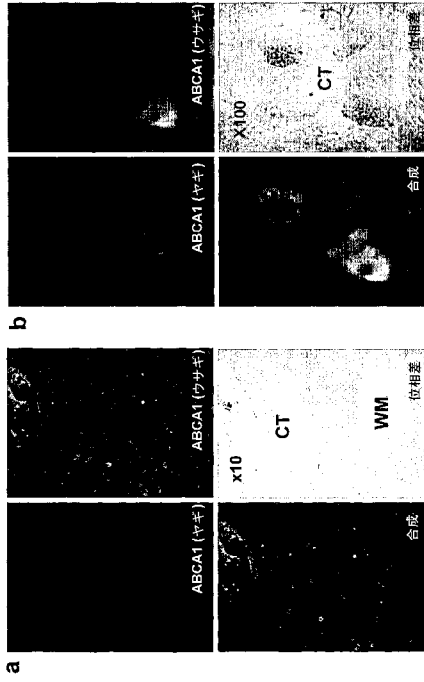
```

1  MACWPGQLRL  LWKNTLFRR  QTCQLLEVA  WFLFIFLLI  SVRLSYPPYE
31  QEHCHPMA  MFSAGLPHV  QGILCNANP  CFYFPTGFA  FGVVGNPKS
101  IVARLPSDA  RLSTYQKCT  SKMDHKVLR  TLAQEKSSS  ALKQDFLVC
151  NETFSGPLVH  NLSLQKSTVD  KMLRADVILH  KFTLQGYQLH  ITELNGSKS
201  EBMQLGQDQ  VSELCSPRE  KLAAMRVLH  SNMELKPLL  RLNLSSTPPP
251  SKELAEATKP  LLHSLGTLAQ  ELFSMRNSWD  MRQVMPFLN  VNSSSSTQI
301  YQAVSRIVCG  HPEGGGLKIK  SLNWDNRY  KALFGNGTE  EDASTFYDNS
351  TTFYNDIMK  NLSGSPISRI  INKA'KPIIV  GKILYTPDT  ATRQVMAEYN
401  KTFQELAVFH  DLGSMRELS  PKIWFPMNS  QMDLVRMLL  DSRNDHFWE
451  QQLDGLDWA  QDIVAFLAKH  PEDVQSSNGS  VYTWREAFNE  TNQAIRTISR
501  FMECVNLNKL  SPIATEVWLI  NKSMELLDER  KFWAGIVFTG  ITPGSIELPH
551  HVKIKRMDI  DNVERTNKIK  DGVNDFCPRA  DPFEDMRYVW  GGFAYLQDVV
601  EQALIRVLTG  TEKKTGVYMQ  QMPYPCYVDD  IFLRVMRSM  PLFMTLAWIY
651  SVAVIKGIV  YKEARLKRT  MRIMGLDMSI  LWFSWFISLL  IPLLVSAGLL
701  VVILKLGML  PYSDESVVVF  FLSVFAVVI  LQCFLISTLF  SRANLAAACG
751  GIIYFTLYLP  YVLCVAVQDY  VGTFLKIFAS  LLSFVAPFGF  CEYFALFBSQ
801  GIGVQWDMLE  ESPVEEGFN  LTTVSMMLF  DTFLYGVMIV  YIEAVFPGQY
851  GIPRPYYPFC  TKSIVWGEES  DEKSHPGSQ  KRISLQMBE  EPWHLKLVG
901  IQNLAVVVD  GHWAVDGLA  LAFYEGQTS  FLHMKAGKT  TMSILTSEL
951  PPTSTAVIL  GDIKRSBET  IROWLQVCP  IHWLFDMLIV  BEHWIYARL
1001  KGLSEKHVKA  EMEQWALDVG  LSSYKLSKKT  QLSGQMQRK  LVALAFVGG
1051  SKVWILDEPT  AGVDPSRRG  IRELLKYRQ  GRTIILSTHH  MDEAVLGDH
1101  IALISHKGLC  CVGSSFLPN  QLCTGYLTL  VKDQVSSLS  SCRNSSTVTS
1151  YLKKEDSVSQ  SSSDAGLSD  HESDTLTDV  SAISNLRKH  VSEARLVBDI
1201  GHELTIVLPE  EAAKSGAFVE  LFEIDDRLS  DLGISYGIS  ETLLEIPLK
1251  VAERSGVDAS  TSDGTLPAR  NRRAFQKQS  CLRPFTRDD  ADPNDSIDP
1301  ESRETDLLSG  MDGKGSYQVK  GWLTOQQFV  ALLWKRLLIA  RRSRKPFAQ
1351  IVLPAVFCI  ALVFSLVPP  FGKYPSELQ  PVMYNEQYTF  VSNDAPEDTG
1401  TLELLNALTK  DPGFGRMCE  GNIPDTPCQ  AGEBEWITAP  VQRIIMDLFQ
1451  NQNWIMQNF  FACQCSSDKI  KXMLPVCPC  AGGLPFPQK  QNTADILQDL
1501  TGRMISDYL  KTYVQIIAK  LKMKLWNEF  RYGGFSLGV  NQALPPSQE
1551  VNDATKQMK  HLLAKDSSA  DRFLNSLRF  MTGLDTRNV  KVPNNKGWH
1601  AISSFLNVIN  NAILRANLQK  GENFSHYGIT  AFNHPNLTK  QQLSEVAPMT
1651  TSDVVLVSI  VIFAMSVPA  SFVYFLIGR  VSKARHLQFI  SGVKEPVIWL
1701  SNFVWDMCN  VVSPATVILI  FICQCKSVV  SSINLPVAL  LLLIKGSI
1751  BLWFSVVF  KLSSTAVVL  TSNALYGH  GSVATFLEL  FDMKLANIN
1801  DLSSVYLLP  HFCCLGKLI  DWYQDQAM  ALRSPGINKF  VSPISWDLVG
1851  RLPLMAVEG  VVFFLITVLI  QVFFRPRP  VNAKSLPAD  EDEDVRSRQ
1901  RLIDGGQND  LLEIKELTKI  YRKRKPAVD  RICVGIIPGE  CFHLLGVNA
1951  OKSSTPKML  GDTTVTRGDA  FLNKSILSN  IREHVQNMGY  CQDPAITEL
2001  LTRBEVZFF  ALLRGVPEKE  VGKVGWAIR  KGLGVKGEK  YAGNYSGNK
2051  RKLSTAMALI  GPPVVFPE  PTTGMDPKAR  RFLNLCALSV  VEGRSVVL
2101  SHSMECCBAL  CTRMAIMVNG  RFRCLGSVQH  LKIRFGDGYT  INVRIAGSNP
2151  DLKPVQDFG  LAFPGSVPE  KERMLQYQL  PSSLSLARI  FSLLSQSKR
2201  LHIEDYSVQ  TTLQGVVNF  AXDQSDDDHL  KDLSELHNQT  VDVVAVLTSE
2251  LQREKVESY  V

```

【 図 7 】

図 7 抗ABCA1抗体で、およびDAPIで標識したヒト大脳皮質画像



【 図 8 】

表 1 :

試料 差 (倍) (側頭/前頭皮質)

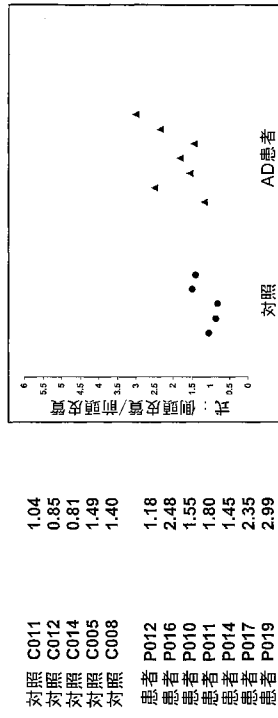


図 8

【 図 9 】

表 2 :

試料 差 (倍) (海馬/前頭皮質)

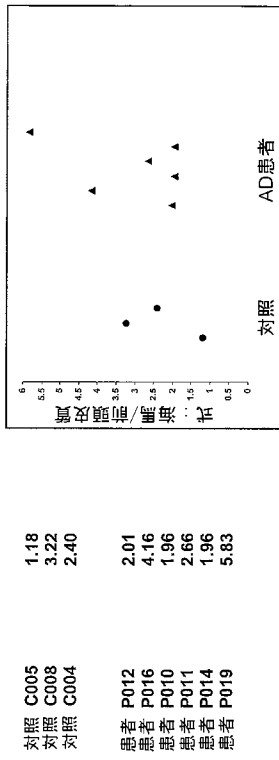


図 9

【手続補正書】

【提出日】平成16年5月6日(2004.5.6)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

被験者において神経変性疾患を診断または予測診断する、または被験者が前記疾患を発症する高いリスクがあるかどうかを判定する方法であって、前記被験者由来の試料中の

(i) ABCA1 遺伝子の転写産物、および/または

(ii) ABCA1 遺伝子の翻訳産物、および/または

(iii) 前記転写または翻訳産物の断片、または誘導体、または変異体

のレベルおよび/または活性を測定し、前記レベルおよび/または前記活性を、既知の疾患または健康状態を表す参照値と比較し、それによって前記被験者において前記神経変性疾患を診断または予測診断すること、または前記被験者が前記神経変性疾患を発症する高いリスクがあるかどうかを判定すること

：を含む方法。

【請求項2】

被験者における神経変性疾患の進行を監視する方法であって、前記被験者由来の試料中の

(i) ABCA1 遺伝子の転写産物、および/または

(ii) ABCA1 遺伝子の翻訳産物、および/または

(iii) 前記転写または翻訳産物の断片、または誘導体、または変異体

のレベルおよび/または活性を測定し、前記レベルおよび/または前記活性を、既知の疾患または健康状態を表す参照値と比較し、それによって前記被験者において前記神経変性疾患の進行を監視すること

：を含む方法。

【請求項3】

神経変性疾患のための治療を評価する方法であって、前記疾患について治療を受けている被験者由来の試料中の

(i) ABCA1 遺伝子の転写産物、および/または

(ii) ABCA1 遺伝子の翻訳産物、および/または

(iii) 前記転写または翻訳産物の断片、または誘導体、または変異体

のレベルおよび/または活性を測定し、前記レベルおよび/または前記活性を、既知の疾患または健康状態を表す参照値と比較し、それによって前記神経変性疾患のための前記治療を評価すること

：を含む方法。

【請求項4】

前記神経変性疾患がアルツハイマー病である、請求項1から3のいずれかに記載の方法。

【請求項5】

前記試料が細胞、または組織、または体液、特に脳脊髄液または血液を含む、請求項1から4のいずれかに記載の方法。

【請求項6】

前記参照値が前記神経変性疾患に罹患していない被験者に由来する試料中の

(i) ABCA1 遺伝子の転写産物、および/または

(ii) ABCA1 遺伝子の翻訳産物、および/または

(iii) 前記転写または翻訳産物の断片、または誘導体、または変異体

のレベルおよび/または活性の値である、請求項 1 から 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

既知の健康状態を表す参照値に対する、前記被験者に由来する試料細胞、または組織、または体液、特に脳脊髄液中の、A B C A 1 をコードする遺伝子の転写産物および/または A B C A 1 をコードする遺伝子の翻訳産物および/またはその断片、または誘導体、または変異体のレベルおよび/または活性の変化が、前記被験者におけるアルツハイマー病の診断、または予測診断、または高リスクを示す、請求項 1 から 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 8】

被験者に由来する試料中の、A B C A 1 遺伝子の転写産物および/または翻訳産物の、既知の健康状態を表す参照値と比較した、変化したレベル、または活性、または前記レベルおよび前記活性の両方を検出することにより、被験者において神経変性疾患、特にアルツハイマー病を診断または予測診断する、または被験者のそのような疾患を発症する傾向または素因を判定するためのキットであって、

(i) A B C A 1 遺伝子の転写産物を選択的に検出する試薬および

(i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物を選択的に検出する試薬

を含む前記キット。

【請求項 9】

(i) A B C A 1 遺伝子、および/または

(i i) A B C A 1 遺伝子の転写産物、および/または

(i i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物、および/または

(i v) (i) から (i i i) の断片、または誘導体、または変異体

の活性および/またはレベルに直接的にまたは間接的に影響を及ぼす、治療的にまたは予防的に有効な量の一または複数の物質の前記被験者への投与を含む、被験者において神経変性疾患、特にアルツハイマー病を治療または予防する方法。

【請求項 10】

(i) A B C A 1 遺伝子、および/または

(i i) A B C A 1 遺伝子の転写産物、および/または

(i i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物、および/または

(i v) (i) から (i i i) の断片、または誘導体、または変異体

から成る群から選択される少なくとも 1 つの物質の活性および/またはレベルの調節因子。

【請求項 11】

A B C A 1 またはその断片、または誘導体、または変異体をコードする非天然遺伝子配列を含む組み換え非ヒト動物であって、

(i) 前記遺伝子配列および選択可能なマーカー配列を含む遺伝子ターゲティング構築物を提供すること、および

(i i) 前記ターゲティング構築物を非ヒト動物の幹細胞へ導入すること、および

(i i i) 前記非ヒト動物幹細胞を非ヒト胚へ導入すること、および

(i v) 前記胚を偽妊娠非ヒト動物へ移植すること、および

(v) 前記胚を満期まで発生させること、および

(v i) ゲノムが両方の対立遺伝子に前記遺伝子配列の修飾を含む遺伝子改変非ヒト動物を特定すること、および

(v i i) 段階 (v i) の遺伝子改変非ヒト動物を繁殖させて、ゲノムが前記内因性遺伝子の修飾を含む遺伝子改変非ヒト動物を得ること(ただし、前記破壊は結果として神経変性疾患または関連する疾患または障害の症状を発症する素因を示す前記非ヒト動物を与える)

：によって得ることができる前記動物。

【請求項 12】

神経変性疾患、特にアルツハイマー病を治療するための診断薬および治療薬の開発におい

て、化合物、物質、および調節因子を、スクリーニング、試験、および評価するための、請求項 1 1 に記載の組み換え非ヒト動物の使用。

【請求項 1 3】

神経変性疾患、特にアルツハイマー病、または関連する疾患または障害の調節因子についての、

(i) A B C A 1 遺伝子、および / または

(i i) A B C A 1 遺伝子の転写産物、および / または

(i i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物、および / または

(i v) (i) から (i i i) の断片、または誘導体、または変異体

から成る群から選択された一種類以上の物質のスクリーニングのための測定法であって、

(a) 細胞を被験化合物と接触させること；

(b) (i) から (i v) で列挙された一種類以上の物質の、活性および / またはレベルを測定すること；

(c) 前記被験化合物と接触させていない対照細胞中の、(i) から (i v) で列挙された一種類以上の物質の、活性および / またはレベルを測定すること；および

(d) 段階 (b) と (c) の細胞中の物質のレベルおよび / または活性を比較すること (但し、接触させた細胞中の物質の活性および / またはレベルの変化は被験化合物が前記疾患または障害の調節因子であることを示す)

：を含む前記方法。

【請求項 1 4】

神経変性疾患、特にアルツハイマー病、または関連する疾患または障害の調節因子についての、

(i) A B C A 1 遺伝子、および / または

(i i) A B C A 1 遺伝子の転写産物、および / または

(i i i) A B C A 1 遺伝子の翻訳産物、および / または

(i v) (i) から (i i i) の断片、または誘導体、または変異体

から成る群から選択された一種類以上の物質のスクリーニングのための測定法であって、

(a) 神経変性疾患または (i) から (i v) で列挙された一種類以上の物質について関連する疾患または障害の症状を発症する素因があるかまたは既に発症している被験動物に被験化合物を投与すること；

(b) (i) から (i v) で列挙された一種類以上の物質の、活性および / またはレベルを測定すること；

(c) 神経変性疾患または (i) から (i v) で列挙された一種類以上の物質について関連する疾患または障害の症状を発症する素因があるかまたは既に発症しており、かつそのような被験化合物が投与されていない、一致した対照動物において、(i) から (i v) で列挙された一種類以上の物質の活性および / またはレベルを測定すること；

(d) 段階 (b) と (c) の動物における物質の活性および / またはレベルを比較すること (但し、被験動物における物質の活性および / またはレベルの変化は被験化合物が前記疾患または障害の調節因子であることを示す)

：を含む前記方法。

【請求項 1 5】

前記被験動物および / または前記対照動物が、天然の A B C A 1 遺伝子転写調節配列ではない転写調節配列の調節下において、A B C A 1、またはその断片、または誘導体、または変異体をコードする遺伝子を発現する組み換え非ヒト動物である、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

リガンドと、A B C A 1 翻訳産物、またはその断片、または誘導体、または変異体との間の結合の阻害について、化合物を試験するための、好ましくは複数の化合物をスクリーニングするための測定法であって、

(i) 前記 A B C A 1 翻訳産物、またはその断片、または誘導体、または変異体の懸濁液

を複数の容器に加える；

(i i) 前記阻害についてスクリーニングされるべき、一または複数の化合物を前記複数の容器に加える；

(i i i) 検出可能なリガンド、好ましくは蛍光標識リガンドを前記容器に加える；

(i v) 前記 A B C A 1 翻訳産物、またはその前記断片、または誘導体、または変異体、および前記一または複数の化合物、および前記検出可能な、好ましくは蛍光標識リガンドをインキュベートする；

(v) 前記 A B C A 1 翻訳産物に、またはその前記断片、または誘導体、または変異体に付随する検出可能なリガンドまたは蛍光の量を測定する；および

(v i) 前記リガンドの、前記 A B C A 1 翻訳産物、またはその前記断片、または誘導体、または変異体への結合の、一種類以上の前記化合物による阻害の程度を測定する
：段階を含む前記測定法。

【請求項 17】

A B C A 1 翻訳産物、またはその断片、または誘導体、または変異体との前記化合物の結合の程度を測定する、化合物を試験するための、好ましくは複数の化合物をスクリーニングするための測定法であって、

(i) 前記 A B C A 1 翻訳産物、またはその断片、または誘導体、または変異体の懸濁液を複数の容器に加える；

(i i) 前記結合についてスクリーニングされるべき、一つの検出可能な化合物、好ましくは複数の検出可能な化合物、特に一つの蛍光標識化合物または複数の蛍光標識化合物を前記複数の容器に加える；

(i i i) 前記 A B C A 1 翻訳産物、またはその前記断片、または誘導体、または変異体、および前記検出可能な、好ましくは前記一または複数の蛍光標識化合物をインキュベートする；

(i v) 前記 A B C A 1 翻訳産物と、またはその前記断片、または誘導体、または変異体に付随する検出可能な化合物または蛍光の量を測定する；および

(v) 前記 A B C A 1 翻訳産物、またはその前記断片、または誘導体、または変異体への、一種類以上の前記化合物による結合の程度を測定する
：段階を含む前記測定法。

【請求項 18】

神経変性疾患、好ましくはアルツハイマー病を検出するための診断標的として用いられるための、配列番号 1 に示されるタンパク質分子、またはその断片、または誘導体、または変異体。

【請求項 19】

神経変性疾患、好ましくはアルツハイマー病を予防する、または治療する、または改善する試薬または化合物についてのスクリーニング標的として用いられるための、配列番号 1 に示されるタンパク質分子、またはその断片、または誘導体、または変異体。

【請求項 20】

被験者由来の試料中の細胞の病理状態を検出するための、免疫原と特異的に免疫反応性である抗体の使用であって、前記免疫原が配列番号 1 に示されるタンパク質分子、またはその断片、または誘導体、または変異体であり、前記抗体を用いた前記細胞の免疫細胞化学染色を含む（但し、既知の健康状態を表す細胞と比較した前記細胞における染色の程度の変化、または染色パターンの変化が、前記細胞の病理状態を示す）使用。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No PCT/EP 03/04058
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/68 A01K67/027 A61K35/00		
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) IPC 7 C12Q C07K G01N A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00 55318 A (UNIV BRITISH COLUMBIA ;XENON BIORESEARCH INC (CA)) 21 September 2000 (2000-09-21) page 46 - page 51; claim 34 -----	1-8, 11-15,20
X	US 2002 037843 A1 (LAM FRED CHIU-LAI ET AL) 28 March 2002 (2002-03-28) paragraph [0012] - paragraph [0019] paragraph [0042] paragraph [0095] - paragraph [0100] claim 8; example 1 -----	1-8, 11-15,20
X	US 6 225 525 B1 (LEUNG WAI-PING ET AL) 1 May 2001 (2001-05-01) abstract; figure 1 ----- -/--	8,11
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"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
"E" earlier document but published on or after the international filing date		"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
"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)		"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
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 4 July 2003		Date of mailing of the international search report 16. 09 2003
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 6818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Aguilera, M.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP 03/04058

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE BIOSIS [Online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; July 2001 (2001-07), VAISMAN BORIS L ET AL: "ABCA1 overexpression leads to hyperalphalipoproteinemia and increased biliary cholesterol excretion in transgenic mice." XP002237202 Database accession no. PREV200100378305 abstract & JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION, vol. 108, no. 2, July 2001 (2001-07), pages 303-309, ISSN: 0021-9738</p> <p>-----</p>	8,11
A	<p>SCHMITZ G ET AL: "STRUCTURE, FUNCTION AND REGULATION OF THE ABC1 GENE PRODUCT" CURRENT OPINION IN LIPIDOLOGY, LONDON, GB, vol. 12, 2001, pages 129-140, XP002944249 ISSN: 0957-9672 the whole document</p> <p>-----</p>	
A	<p>RONALD AND NANCY REAGAN RESEARCH INSTITUTE ALZHEIMER'S ASSOCIATION AND NATIONAL INSTITUTE ON AGING WORKING GROUP: "Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease"." NEUROBIOLOGY OF AGING, vol. 19, no. 2, March 1998 (1998-03), pages 109-116, XP002233088 ISSN: 0197-4580 the whole document</p> <p>-----</p>	
A	<p>LAM FRED C ET AL: "beta-Amyloid efflux mediated by p-glycoprotein." JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY, vol. 76, no. 4, February 2001 (2001-02), pages 1121-1128, XP002212665 ISSN: 0022-3042 the whole document</p> <p>-----</p>	
A	<p>EP 1 189 060 A (EVOTEC NEUROSCIENCES GMBH) 20 March 2002 (2002-03-20) the whole document</p> <p>-----</p>	
	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/04058

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	WOLLMER M AXEL ET AL: "ABCA1 modulates CSF cholesterol levels and influences the age at onset of Alzheimer's disease." NEUROBIOLOGY OF AGING. UNITED STATES 2003 MAY-JUN, vol. 24, no. 3, May 2003 (2003-05), pages 421-426, XP002237201 ISSN: 0197-4580 the whole document	
P,X	----- WO 02 057496 A (FEDEROFF HOWARD J ;ZLOKOVIC BERISLAV V (US); SOCRATECH L L C (US);) 25 July 2002 (2002-07-25) claim 1	1-8, 11-15,20
P,X	----- WO 02 101392 A (UNIV BRITISH COLUMBIA ;WELLINGTON CHERYL L (CA); BROOKS-WILSON ANG) 19 December 2002 (2002-12-19) claims 1-115 -----	1-8, 11-15,20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP 03/04058**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 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.: 9
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claim 9 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.: 10
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:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

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

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-8, 11-15, 20

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/EP 03/04058

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 10

Present claim 10 relates to a product defined by reference to a desirable characteristic or property, namely, that it is able to act as a "modulator" of an activity and/or level of an ABCA1 gene product. The claim covers all products having this characteristic or property, whereas the application does not provide any support within the meaning of EPC Article 6 and/or disclosure within the meaning of EPC Article 5 for any of such products. In the present case, the claim so lacks support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible.

Independent of the above reasoning, the claim also lacks clarity (Article 6 EPC). An attempt is made to define the products by reference to a result to be achieved. Again, this lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible.

Consequently, no search has been carried out for claim 10.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.5), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

International Application No. PCT/EP 03/04058

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-8, 11-15, 20

Methods for diagnosing or prognosing a neurodegenerative disease, and methods for screening for modulators of said diseases, which comprise determining a level and/or an activity of an ABCA1 gene product; recombinant non-human animals comprising a non-native sequence of said gene for use in the development of diagnostics and therapeutics of said diseases.

2. claim: 16

Method for testing a compound for inhibition of binding between a ligand and an ABCA1 translation product.

3. claim: 17

Method for testing a compound to determine the degree of binding to an ABCA1 translation product.

4. claim: 18 and 19

ABCA1 protein molecules

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/04058

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0055318	A	21-09-2000	AU 3832700 A	04-10-2000
			CA 2367955 A1	21-09-2000
			DE 1100895 T1	06-09-2001
			EP 1100895 A2	23-05-2001
			WO 0055318 A2	21-09-2000
			JP 2003513611 T	15-04-2003
			AU 1291901 A	26-03-2001
			CA 2382562 A1	08-03-2001
			EP 1239848 A2	18-09-2002
			WO 0115676 A2	08-03-2001
			JP 2003520780 T	08-07-2003
			US 2002037843	A1
AU 1112800 A	15-05-2000			
CA 2348019 A1	04-05-2000			
EP 1123090 A1	16-08-2001			
JP 2002528411 T	03-09-2002			
WO 0024390 A1	04-05-2000			
AU 7260398 A	24-11-1998			
EP 0979086 A2	16-02-2000			
JP 2002504895 T	12-02-2002			
WO 9848784 A2	05-11-1998			
US 6225525	B1	01-05-2001	AU 7871300 A	23-04-2001
			CA 2385154 A1	19-04-2001
			EP 1237405 A1	11-09-2002
			TR 200200975 T2	23-09-2002
			WO 0126453 A1	19-04-2001
EP 1189060	A	20-03-2002	EP 1189060 A1	20-03-2002
WO 02057496	A	25-07-2002	WO 02057496 A2	25-07-2002
WO 02101392	A	19-12-2002	WO 02101392 A2	19-12-2002

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 25/28	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 P 43/00	C 0 7 K 14/47	
C 0 7 K 14/47	G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 N 15/09	G 0 1 N 33/48	P
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/48	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/50	C 1 2 N 15/00	A
G 0 1 N 33/53	A 6 1 K 37/02	

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 クラッパ ラルフ

ドイツ連邦共和国 2 5 4 3 6 トルネッシュ ローシュトッカー シュトラーセ 1 2

(72) 発明者 ポールナー ヨハーネス

ドイツ連邦共和国 2 2 1 7 5 ハンブルク クヴァイテンヴェーク 1 1

F ターム(参考) 2G045 AA25 AA40 BB20 BB25 CB01 CB17 DA12 DA13 DA14 DA36
 DA77 FB03
 4B024 AA01 AA11 CA04 CA09 CA12 HA08 HA11
 4B063 QA01 QA18 QA19 QQ02 QQ03 QQ08 QQ53 QR08 QR32 QR42
 QR50 QR62 QR66 QR72 QR77 QS03 QS25 QS28 QS34 QS36
 QS39 QX01
 4C084 AA01 AA13 AA17 BA44 MA02 NA14 ZA021 ZA161 ZC751
 4H045 AA10 AA30 BA09 CA45 DA50 EA21 EA50 FA74

专利名称(译)	ATP结合盒基因和蛋白质的神经退行性疾病的诊断和治疗用途		
公开(公告)号	JP2005522222A	公开(公告)日	2005-07-28
申请号	JP2003584344	申请日	2003-04-17
[标]申请(专利权)人(译)	埃沃技术神经科学顺GESELLSCHAFT手套Beshurenkuteru霍夫Tsungu		
申请(专利权)人(译)	埃沃技术神经科学顺GESELLSCHAFT手套Beshurenkuteru有限公司		
[标]发明人	ヘシュテルカンプトーマス フォンデルカンマーハインツ クラッパラルフ ポールナーヨハーネス		
发明人	ヘシュテルカンプトーマス フォンデルカンマーハインツ クラッパラルフ ポールナーヨハーネス		
IPC分类号	A01K67/027 A61K35/00 A61K38/00 A61K45/00 A61K48/00 A61P25/00 A61P25/28 A61P43/00 C07K14/47 C07K14/705 C12N15/09 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/48 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/68		
CPC分类号	A01K2217/05 A01K2227/105 A01K2267/0312 A61P25/00 A61P25/28 C07K14/705 C12Q1/6883 C12Q2600/158		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A A01K67/027 A61K45/00 A61K48/00 A61P25/00.101 A61P25/28 A61P43/00.121 C07K14/47 G01N33/15.Z G01N33/48.P G01N33/50.Z G01N33/53.D C12N15/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/BB20 2G045/BB25 2G045/CB01 2G045/CB17 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/DA77 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA12 4B024/HA08 4B024/HA11 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ53 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR42 4B063/QR50 4B063/QR62 4B063/QR66 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QS03 4B063/QS25 4B063/QS28 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QS39 4B063/QX01 4C084/AA01 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA44 4C084/MA02 4C084/NA14 4C084/ZA021 4C084/ZA161 4C084/ZC751 4H045/AA10 4H045/AA30 4H045/BA09 4H045/CA45 4H045/DA50 4H045/EA21 4H045/EA50 4H045/FA74		
优先权	2002008701 2002-04-18 EP 60/373375 2002-04-18 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明公开了阿尔茨海默氏病患者的特定脑区域中ABCA1基因表达的差异。基于这一发现，本发明是在受试者中的神经变性疾病，特别是用于任一或预测诊断阿尔茨海默氏病，或受试者，以确定是否有发展这些疾病的高风险提供一种方法。此外，本发明提供了使用ABCA1基因及其相应基因产物治疗或预防阿尔茨海默氏病和相关神经变性疾病的治疗或预防方法。还公开了筛选神经变性疾病调节剂的方法。

RT-PCR analysis

