(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2015-502740
(P2015-502740A)
(43)公表日　平成27年1月29日(2015.1.29)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12Q 1/68	(2006.01)	C12Q	1/68	ZNAA	4B024
G01N 33/53	(2006.01)	G01N	33/53	D	4B063
G01N 33/543	(2006.01)	G01N	33/53	N	
C12N 15/09	(2006.01)	G01N	33/53	X	
		G01N	33/53	M	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 148 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2014-537335 (P2014-537335)
(86)(22)出願日　平成24年10月19日 (2012.10.19)
(85)翻訳文提出日　平成26年6月18日 (2014.6.18)
(86)国際出願番号　PCT/US2012/061202
(87)国際公開番号　WO2013/059732
(87)国際公開日　平成25年4月25日 (2013.4.25)
(31)優先権主張番号　61/550,293
(32)優先日　平成23年10月21日 (2011.10.21)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/553,853
(32)優先日　平成23年10月31日 (2011.10.31)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/567,096
(32)優先日　平成23年12月5日 (2011.12.5)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　599132904
ネステク　ソシエテ　アノニム
スイス国，ブベイ，アブニュー　ネスレ　５５
(74)代理人　100088155
弁理士　長谷川　芳樹
(74)代理人　100107456
弁理士　池田　成人
(74)代理人　100162352
弁理士　酒巻　順一郎
(74)代理人　100140453
弁理士　戸津　洋介

最終頁に続く

(54)【発明の名称】炎症性腸疾患の診断を改善するための方法

(57)【要約】
１つ又は複数の血清－遺伝子－炎症マーカーの存在、非存在、レベル及び／又は遺伝子型を検出することによって、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）及び亜型（例えば、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、クローン病（ＣＤ））を予測及び診断するための方法及びシステムが開示される。これらの方法を使用すれば、ＩＢＤ対非ＩＢＤの診断を提供すること、ＣＤ及びＤＣに関して不確定のＩＢＤを除外すること、及びＣＤとＤＣとを高い精度で鑑別することが可能となる。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
個体における炎症性腸疾患（ＩＢＤ）及び／又はその臨床亜型を診断するための方法であって、
（ａ）前記個体から得たサンプルを分析して、前記サンプル中の、血清学的マーカー、遺伝子マーカー、炎症マーカー、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１つ又は複数のマーカーの存在、レベル又は遺伝子型を決定して、マーカープロファイルを得るステップと、
（ｂ）第１のランダムフォレスト統計解析を前記マーカープロファイルに適用して、前記マーカープロファイルがＩＢＤサンプルであるか非ＩＢＤサンプルであるかの決定を得るステップと、
（ｃ）任意選択で、ＩＢＤサンプルとして指定された前記サンプルに決定木又はルールセットを適用して、前記ＩＢＤサンプルが不確定サンプルとしてカテゴリー化されるかどうかを決定するステップと、
（ｄ）任意選択で、第２のランダムフォレスト統計解析を前記ＩＢＤサンプルに適用して、ＩＢＤの臨床亜型を決定するステップと、
を含む方法。
【請求項２】
前記炎症マーカーは、急性期タンパク質、アポリポタンパク質、成長因子、細胞接着分子、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記血清学的マーカーは、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体、抗微生物抗体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
前記遺伝子マーカーは、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＮＫＸ２－３、ＳＴＡＴ３、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
前記抗好中球抗体は、抗好中球細胞質抗体（ＡＮＣＡ）、核周囲型抗好中球細胞質抗体（ｐＡＮＣＡ）、ｐＡＮＣＡ２、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項２に記載の方法。
【請求項６】
前記抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体は、抗サッカロマイセス・セレビシエ免疫グロブリンＡ（ＡＳＣＡ－ＩｇＡ）、抗サッカロマイセス・セレビシエ免疫グロブリンＧ（ＡＳＣＡ－ＩｇＧ）、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項２に記載の方法。
【請求項７】
前記抗微生物抗体は、抗外膜タンパク質Ｃ（抗ＯｍｐＣ）抗体、抗フラジェリン抗体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項２に記載の方法。
【請求項８】
前記急性期タンパク質はＣ反応性タンパク質（ＣＲＰ）である、請求項２に記載の方法。
【請求項９】
前記アポリポタンパク質は血清アミロイドＡタンパク質（ＳＡＡ）である、請求項２に記載の方法。
【請求項１０】
前記成長因子は血管内皮成長因子（ＶＥＧＦ）である、請求項２に記載の方法。
【請求項１１】
前記細胞接着分子は、細胞間接着分子１（ＩＣＡＭ－１）、血管細胞接着分子１（ＶＣＡＭ－１）、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項２に記載の方法。

【請求項１２】
前記血清学的マーカーは、ｐＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ２、ＡＮＣＡ、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＶＥＧＦ、ＩＣＡＭ－１、ＶＣＡＭ－１、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項１に記載の方法。
【請求項１３】
前記血清学的マーカーは、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ－１抗体、抗Ｆｌａ２抗体、抗ＦｌａＸ抗体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項１に記載の方法。
【請求項１４】
前記血清学的マーカー又は炎症マーカーの存在又はレベルが、ハイブリダイゼーションアッセイ、増幅ベースのアッセイ、免疫アッセイ、又は免疫組織化学的アッセイを用いて検出される、請求項１に記載の方法。
【請求項１５】
前記遺伝子マーカーは、表Ａ～Ｅに記載されている遺伝子のうちの少なくとも１つである、請求項１に記載の方法。
【請求項１６】
前記遺伝子マーカーの遺伝子型が、前記遺伝子マーカーにおける一塩基多型（ＳＮＰ）の有無に関するジェノタイピングによって検出される、請求項１に記載の方法。
【請求項１７】
前記ＳＮＰは、表Ｂ～Ｅに記載されているＳＮＰのうちの少なくとも１つである、請求項１６に記載の方法。
【請求項１８】
前記遺伝子マーカーは、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＮＫＸ２－３、ＥＣＭ１、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項１６に記載の方法。
【請求項１９】
少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７又は１８種のマーカーの存在、レベル又は遺伝子型を検出することによって、前記マーカープロファイルが決定される、請求項１に記載の方法。
【請求項２０】
第１のランダムフォレストアルゴリズムのためのマーカーが、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、ｐＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ２、抗ＦｌａＸ抗体、ＳＡＡ、抗Ｆｌａ２抗体、ＩＣＡＭ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ１抗体、ＶＣＡＭ、ＣＲＰ、ＮＫＸ２－３、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＥＣＭ１、ＶＥＧＦ、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項１に記載の方法。
【請求項２１】
サンプルは非ＩＢＤサンプルであると決定される、請求項１に記載の方法。
【請求項２２】
第１のランダムフォレストアルゴリズムの後にサンプルがＩＢＤサンプルとして指定され、決定木又はルールセットを使用して、サンプルについて、ＡＮＣＡレベル≧Ｑ３を有し、ｐＡＮＣＡ２陽性であり、抗ＣＢｉｒ１抗体又は抗Ｆｌａ２抗体又は抗ＦｌａＸ抗体が≧Ｑ３であるかをさらに決定し、次いでＩＢＤサンプルを不確定サンプルとして指定する、請求項２０に記載の方法。
【請求項２３】
第１のランダムフォレストアルゴリズムの後にサンプルがＩＢＤサンプルとして指定され、決定木又はルールセットを使用して、サンプルについて、ｐＡＮＣＡ２陽性であり、抗ＣＢｉｒ１抗体、抗Ｆｌａ２抗体及び抗ＦｌａＸ抗体から選択される３種のマーカーのうちの２種が≧Ｑ３であるかをさらに決定し、次いでＩＢＤサンプルを不確定として指定する、請求項２０に記載の方法。
【請求項２４】
サンプルは不確定サンプルであると決定される、請求項２２又は２３に記載の方法。

【請求項２５】
サンプルに関して不確定が除外される、請求項２２又は２３に記載の方法。
【請求項２６】
第１のランダムフォレストアルゴリズムの後にサンプルがＩＢＤサンプルとして指定され、不確定が除外され、第２のランダムフォレストアルゴリズムを使用して、ＩＢＤサンプルがクローン病（ＣＤ）であるか又は潰瘍性大腸炎（ＵＣ）であるかを決定するステップをさらに含む、請求項２０に記載の方法。
【請求項２７】
第２のランダムフォレストアルゴリズムのためのマーカーが、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、ｐＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ２、抗ＦｌａＸ抗体、ＳＡＡ、抗Ｆｌａ２抗体、ＩＣＡＭ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ１抗体、ＶＣＡＭ、ＣＲＰ、ＮＫＸ２－３、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＥＣＭ１、ＶＥＧＦ、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項２６に記載の方法。
【請求項２８】
決定がＣＤである、請求項２７に記載の方法。
【請求項２９】
決定がＵＣである、請求項２７に記載の方法。
【請求項３０】
前記サンプルは、血清、血漿、全血及び便からなる群から選択される、請求項１に記載の方法。
【請求項３１】
前記マーカープロファイルは、前記１つ又は複数のマーカーの各々に対する四分位数スコアを合計することによって得られる、前記個体に対する合計四分位数スコア（ＱＳＳ）を含む、請求項１に記載の方法。
【請求項３２】
前記第１及び／又は前記第２のランダムフォレストは、ＩＢＤ及び／又はＩＢＤの臨床亜型の既知の転帰を使用する後ろ向きコホートを用いて確立される、請求項３１に記載の方法。
【請求項３３】
前記第１及び／又は前記第２のランダムフォレストは、血清学的モデル、血清－遺伝子－炎症モデル、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されるモデルに基づく、請求項３２に記載の方法。
【請求項３４】
前記血清学的モデルは、前記後ろ向きコホートで決定された１つ又は複数の血清学的マーカーの存在又はレベルにランダムフォレストを適用することによって得られる、請求項３３に記載の方法。
【請求項３５】
前記血清－遺伝子－炎症モデルは、前記後ろ向きコホートで決定された１つ若しくは複数の血清学的マーカーの存在若しくはレベル及び１つ若しくは複数の遺伝子マーカーの遺伝子型にランダムフォレストを適用することによって得られる、請求項３３に記載の方法。
【請求項３６】
前記血清学的マーカーは、次にｐＡＮＣＡ２値を決定するためのｐＡＮＣＡである、請求項１に記載の方法。
【請求項３７】
ｐＡＮＣＡ値が０又は＋１である場合、ｐＡＮＣＡ２値が陰性である、請求項３６に記載の方法。
【請求項３８】
ｐＡＮＣＡ値が＋２、＋３又は＋４である場合、ｐＡＮＣＡ２値が陽性である、請求項３６に記載の方法。

【請求項３９】
前記ｐＡＮＣＡ２陰性サンプルにおいて、
ａ）ｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがクローン病の直接的な予測となるかどうかを決定するステップであって、該決定は、血清マーカーパネルを測定し、血清マーカーパネルの血清マーカーの各々をカットオフ値と比較して、サンプルがクローン病に一致するかどうかを決定することによって行われ、血清マーカーパネルは、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ及びＯｍｐＣ－ＩｇＡからなる群のメンバーである、ステップ、あるいは
ｂ）ｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがクローン病に一致するかどうかを決定するステップであって、該決定は、ＣＤ計数パネルを測定してＣＤ計数値を形成することによって行われ、ＣＤ計数パネルは、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、ＯｍｐＣ－ＩｇＡ、ＣＢｉｒ１－ＩｇＧ、Ａ４－Ｆｌａ２－ＩｇＧ及びＦｌａＸ－ＩｇＧからなる群のメンバーであり、ＣＤ計数値が２以上である場合、サンプルはクローン病に一致する、ステップ、あるいは
ｃ）ｐＡＮＣＡ値がゼロであるｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがＩＢＤに一致するかどうかを決定するステップであって、該決定は、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡを測定し、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値を参照値と比較し、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値に基づいて、サンプルをＩＢＤに一致する又は一致しないものとして指定することによって行われる、ステップ、あるいは
ｄ）ｐＡＮＣＡ値がゼロであるｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがＩＢＤに一致するか不確定のＩＢＤであるかを決定するステップであって、該決定は、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡを測定し、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値を比較し、ＣＤ計数値を考慮して、サンプルがＩＢＤに一致するかどうか、又はサンプルがＩＢＤに一致し、クローン病若しくは潰瘍性大腸炎に関して不確定であるかを決定することによって行われる、ステップ、あるいは
ｅ）ｐＡＮＣＡ値が１であるｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがＩＢＤに一致するかどうかを決定するステップであって、該決定は、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡを測定し、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値をカットオフ値と比較して、サンプルがＩＢＤに一致するかどうかを決定することによって行われる、ステップ
をさらに含む、請求項３７に記載の方法。
【請求項４０】
上記パートａにおいて、ＡＳＣＡ－ＩｇＡの値が６９ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、サンプルをクローン病に一致するものとして指定する、請求項３９に記載の方法。
【請求項４１】
上記パートａにおいて、ＡＳＣＡ－ＩｇＧの値が４０ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、サンプルをクローン病に一致するものとして指定する、請求項３９に記載の方法。
【請求項４２】
上記パートａにおいて、ＯｍｐＣ－ＩｇＡの値が６０ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、サンプルをクローン病に一致するものとして指定する、請求項３９に記載の方法。
【請求項４３】
上記パートｂにおいて、下記ｉ～ｖの決定を行うことによってＣＤ計数値を割り当てることをさらに含む、請求項３９に記載の方法。
ｉ．ＡＳＣＡ－ＩｇＡが８．５ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、ＣＤ計数値に＋１を与える。
ｉｉ．ＡＳＣＡ－ＩｇＧが１７．８ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、ＣＤ計数値に＋１を与える。
ｉｉｉ．ＯｍｐＣ－ＩｇＡが１０．９ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、ＣＤ計数値に＋１を与える。
ｉｖ．２種以上のフラジェリンマーカーがそれぞれの参照範囲より高ければ、ＣＤ計数値に＋１を与える。
ｖ．任意のフラジェリンが１００ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、ＣＤ計数値に＋１を与え、総ＣＤ計数値が２以上であるならば、サンプルがクローン病に一致すると指定する。
【請求項４４】

ＣＢｉｒ１－ＩｇＧの参照値が７８．４ＥＵ／ｍＬ以上である、請求項４３に記載の方法。
【請求項４５】
Ａ４－Ｆｌａ２－ＩｇＧの参照値が４４．８ＥＵ／ｍＬ以上である、請求項４３に記載の方法。
【請求項４６】
ＦｌａＸ－ＩｇＧの参照値が３３．４ＥＵ／ｍＬ以上である、請求項４３に記載の方法。
【請求項４７】
上記パートｃにおいて、ｐＡＮＣＡがゼロ（検出されず）である場合、
ｉ．ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡが２０ＥＵ／ｍＬ未満であるならば、サンプルをＩＢＤに一致しないものとして指定するステップ、又は
ｉｉ．ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡが２７．４ＥＵ／ｍＬより大きければ、サンプルを潰瘍性大腸炎に一致するものとして指定するステップ、又は
ｉｉｉ．ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡが２０ＥＵ／ｍＬ以上かつ２７．４ＥＵ／ｍＬ以下であり、ＣＤ計数値がゼロであるならば、サンプルをＩＢＤに一致しないものとして指定するステップ、又は
ｉｖ．ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡが２０ＥＵ／ｍＬ以上かつ２７．４ＥＵ／ｍＬ以下であり、ＣＤ計数値が１であるならば、サンプルを、ＩＢＤに一致するが、クローン病又は潰瘍性大腸炎に関して不確定であるものとして指定するステップ
をさらに含む、請求項３９に記載の方法。
【請求項４８】
ｐＡＮＣＡが１である場合、
ｉ．ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡが１３．７ＥＵ／ｍＬ未満であるならば、サンプルをＩＢＤに一致しないものとして指定するステップ、又は
ｉｉ．ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡが１３．７ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、サンプルが潰瘍性大腸炎に一致するものとして指定するステップ
をさらに含む、請求項３９に記載の方法。
【請求項４９】
個体における炎症性腸疾患（ＩＢＤ）及び／又はその臨床亜型を診断するための方法であって、
（ａ）前記個体から得たサンプルを分析して、前記サンプル中の血清学的マーカー、遺伝子マーカー、炎症マーカー、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１つ又は複数のマーカーの存在、レベル又は遺伝子型を決定して、マーカープロファイルを得るステップと、
（ｂ）第１のランダムフォレスト統計解析を前記マーカープロファイルに適用して、前記マーカープロファイルがＩＢＤサンプルであるか非ＩＢＤサンプルであるかの決定を得るステップと、
（ｃ）ＩＢＤサンプルとして指定された前記サンプルに決定木又はルールセットを適用して、前記ＩＢＤサンプルが不確定サンプルであるかどうかを決定するステップと、
（ｄ）サンプルが不確定でなく、ＩＢＤサンプルであるならば、第２のランダムフォレスト統計解析を前記ＩＢＤサンプルに適用して、臨床亜型を決定するステップと、
を含む方法。
【請求項５０】
第１のランダムフォレストアルゴリズムのためのマーカーが、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、ｐＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ２、抗ＦｌａＸ抗体、ＳＡＡ、抗Ｆｌａ２抗体、ＩＣＡＭ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ１抗体、ＶＣＡＭ、ＣＲＰ、ＮＫＸ２－３、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＥＣＭ１、ＶＥＧＦ、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項４９に記載の方法。
【請求項５１】

第１のランダムフォレストアルゴリズムの後にサンプルがＩＢＤサンプルとして指定され、決定木又はルールセットを使用して、サンプルについて、ＡＮＣＡレベル≧Ｑ３を有し、ｐＡＮＣＡ２陽性であり、抗ＣＢｉｒ１抗体又は抗Ｆｌａ２抗体又は抗ＦｌａＸ抗体が≧Ｑ３であるかをさらに決定し、次いでＩＢＤサンプルを不確定サンプルとして指定する、請求項４９に記載の方法。

【請求項５２】

第１のランダムフォレストアルゴリズムの後にサンプルがＩＢＤサンプルとして指定され、決定木又はルールセットを使用して、サンプルについて、ｐＡＮＣＡ２陽性であり、抗ＣＢｉｒ１抗体、抗Ｆｌａ２抗体及び抗ＦｌａＸ抗体から選択される３種のマーカーのうちの２種が≧Ｑ３であるかをさらに決定し、次いでＩＢＤサンプルを不確定サンプルとして指定する、請求項４９に記載の方法。

【請求項５３】

サンプルは不確定サンプルであると決定される、請求項５１又は５２に記載の方法。

【請求項５４】

サンプルに関して不確定サンプルが除外される、請求項５１又は５２に記載の方法。

【請求項５５】

第１のランダムフォレストアルゴリズムの後にサンプルがＩＢＤサンプルとして指定され、不確定が除外され、第２のランダムフォレストアルゴリズムを使用して、ＩＢＤサンプルがクローン病（ＣＤ）であるか又は潰瘍性大腸炎（ＵＣ）であるかを決定するステップをさらに含む、請求項４９に記載の方法。

【請求項５６】

第２のランダムフォレストアルゴリズムのためのマーカーが、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、ｐＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ２、抗ＦｌａＸ抗体、ＳＡＡ、抗Ｆｌａ２抗体、ＩＣＡＭ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ１抗体、ＶＣＡＭ、ＣＲＰ、ＮＫＸ２－３、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＥＣＭ１、ＶＥＧＦ、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項４９に記載の方法。

【請求項５７】

決定がＣＤである、請求項５６に記載の方法。

【請求項５８】

決定がＵＣである、請求項５６に記載の方法。

【請求項５９】

前記サンプルは、血清、血漿、全血及び便からなる群から選択される、請求項４９に記載の方法。

【請求項６０】

前記マーカープロファイルは、前記１つ又は複数のマーカーの各々に対する四分位数スコアを合計することによって得られる、前記個体に対する合計四分位数スコア（ＱＳＳ）を含む、請求項４９に記載の方法。

【請求項６１】

前記第１及び／又は前記第２のランダムフォレストは、ＩＢＤ及び／又はＩＢＤの臨床亜型の既知の転帰を使用する後ろ向きコホートを用いて確立される、請求項４９に記載の方法。

【請求項６２】

前記第１及び／又は前記第２のランダムフォレストは、血清学的モデル、血清－遺伝子－炎症モデル、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されるモデルに基づく、請求項４９に記載の方法。

【請求項６３】

前記血清学的モデルは、前記後ろ向きコホートで決定された１つ又は複数の血清学的マーカーの存在又はレベルにランダムフォレストを適用することによって得られる、請求項６１に記載の方法。

【請求項６４】

前記血清－遺伝子－炎症モデルは、前記後ろ向きコホートで決定された１つ若しくは複数の血清学的マーカーの存在若しくはレベル及び１つ若しくは複数の遺伝子マーカーの遺伝子型にランダムフォレストを適用することによって得られる、請求項６１に記載の方法。

【請求項６５】

前記血清学的マーカーは、次にｐＡＮＣＡ２値を決定するためのｐＡＮＣＡである、請求項４９に記載の方法。

【請求項６６】

ｐＡＮＣＡ値が０又は＋１である場合、ｐＡＮＣＡ２値が陰性である、請求項６５に記載の方法。

【請求項６７】

ｐＡＮＣＡ値が＋２、＋３又は＋４である場合、ｐＡＮＣＡ２値が陽性である、請求項６５に記載の方法。

【請求項６８】

前記ｐＡＮＣＡ２陰性サンプルにおいて、

ａ）ｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがクローン病の直接的な予測となるかどうかを決定するステップであって、該決定は、血清マーカーパネルを測定し、血清マーカーパネルの血清マーカーの各々をカットオフ値と比較して、サンプルがクローン病に一致するかどうかを決定することによって行われ、血清マーカーパネルは、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ及びＯｍｐＣ－ＩｇＡからなる群のメンバーである、ステップ、あるいは

ｂ）ｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがクローン病に一致するかどうかを決定するステップであって、該決定は、ＣＤ計数パネルを測定してＣＤ計数値を形成することによって行われ、ＣＤ計数パネルは、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、ＯｍｐＣ－ＩｇＡ、ＣＢｉｒ１－ＩｇＧ、Ａ４－Ｆｌａ２－ＩｇＧ及びＦｌａＸ－ＩｇＧからなる群のメンバーであり、ＣＤ計数値が２以上である場合、サンプルはクローン病に一致する、ステップ、あるいは

ｃ）ｐＡＮＣＡ値がゼロであるｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがＩＢＤに一致するかどうかを決定するステップであって、該決定は、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡを測定し、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値を参照値と比較し、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値に基づいて、サンプルをＩＢＤに一致する又は一致しないものとして指定することによって行われる、ステップ、あるいは

ｄ）ｐＡＮＣＡ値がゼロであるｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがＩＢＤに一致するか不確定のＩＢＤであるかを決定するステップであって、該決定は、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡを測定し、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値を比較し、ＣＤ計数値を考慮して、サンプルがＩＢＤに一致するかどうか、又はサンプルがＩＢＤに一致し、クローン病若しくは潰瘍性大腸炎に関して不確定であるかを決定することによって行われる、ステップ、あるいは

ｅ）ｐＡＮＣＡ値が１であるｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがＩＢＤに一致するかどうかを決定するステップであって、該決定は、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡを測定し、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値をカットオフ値と比較して、サンプルがＩＢＤに一致するかどうかを決定することによって行われる、ステップ

をさらに含む、請求項６６に記載の方法。

【請求項６９】

上記パートａにおいて、ＡＳＣＡ－ＩｇＡの値が６９ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、サンプルをクローン病に一致するものとして指定する、請求項６８に記載の方法。

【請求項７０】

上記パートａにおいて、ＡＳＣＡ－ＩｇＧの値が４０ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、サンプルをクローン病に一致するものとして指定する、請求項６８に記載の方法。

【請求項７１】

上記パートａにおいて、ＯｍｐＣ－ＩｇＡの値が６０ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、サンプルをクローン病に一致するものとして指定する、請求項６８に記載の方法。

【請求項７２】

上記パートｂにおいて、下記ｉ～ｖの決定を行うことによってＣＤ計数値を割り当てることをさらに含む、請求項６８に記載の方法。
ｉ．ＡＳＣＡ－ＩｇＡが８．５ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、ＣＤ計数値に＋１を与える。
ｉｉ．ＡＳＣＡ－ＩｇＧが１７．８ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、ＣＤ計数値に＋１を与える。
ｉｉｉ．ＯｍｐＣ－ＩｇＡが１０．９ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、ＣＤ計数値に＋１を与える。
ｉｖ．２種以上のフラジェリンマーカーがそれぞれの参照範囲より高ければ、ＣＤ計数値に＋１を与える。
ｖ．任意のフラジェリンが１００ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、ＣＤ計数値に＋１を与え、総ＣＤ計数値が２以上であるならば、サンプルがクローン病に一致すると指定する。
【請求項７３】
ＣＢｉｒ１－ＩｇＧの参照値が７８．４ＥＵ／ｍＬ以上である、請求項７２に記載の方法。
【請求項７４】
Ａ４－Ｆｌａ２－ＩｇＧの参照値が４４．８ＥＵ／ｍＬ以上である、請求項７２に記載の方法。
【請求項７５】
ＦｌａＸ－ＩｇＧの参照値が３３．４ＥＵ／ｍＬ以上である、請求項７２に記載の方法。
【請求項７６】
上記パートｃにおいて、ｐＡＮＣＡがゼロ（検出されず）である場合、
ｉ．ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡが２０ＥＵ／ｍＬ未満であるならば、サンプルをＩＢＤに一致しないものとして指定するステップ、又は
ｉｉ．ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡが２７．４ＥＵ／ｍＬより大きければ、サンプルを潰瘍性大腸炎に一致するものとして指定するステップ、又は
ｉｉｉ．ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡが２０ＥＵ／ｍＬ以上かつ２７．４ＥＵ／ｍＬ以下であり、ＣＤ計数値がゼロであるならば、サンプルをＩＢＤに一致しないものとして指定するステップ、又は
ｉｖ．ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡが２０ＥＵ／ｍＬ以上かつ２７．４ＥＵ／ｍＬ以下であり、ＣＤ計数値が１であるならば、サンプルを、ＩＢＤに一致するが、クローン病又は潰瘍性大腸炎に関して不確定であるものとして指定するステップ
をさらに含む、請求項６８に記載の方法。
【請求項７７】
ｐＡＮＣＡが１である場合、
ｉ．ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡが１３．７ＥＵ／ｍＬ未満であるならば、サンプルをＩＢＤに一致しないものとして指定するステップ、又は
ｉｉ．ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡが１３．７ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、サンプルが潰瘍性大腸炎に一致するものとして指定するステップ
をさらに含む、請求項６８に記載の方法。
【請求項７８】
個体における炎症性腸疾患（ＩＢＤ）及び／又はその臨床亜型を診断するための方法であって、
（ａ）前記個体から得たサンプルを分析して、前記サンプル中の血清学的マーカー、遺伝子マーカー、炎症マーカー、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１つ又は複数のマーカーの存在、レベル又は遺伝子型を決定して、マーカープロファイルを得るステップと、
（ｂ）回帰分析を前記マーカープロファイルに適用して、前記マーカープロファイルがＩＢＤサンプルであるか非ＩＢＤサンプルであるかの決定を得るステップと、

（ｃ）ＩＢＤサンプルとして指定された前記サンプルに決定木又はルールセットを適用して、前記ＩＢＤサンプルが不確定サンプルであるかどうかを決定するステップと、
（ｄ）サンプルが不確定でなく、ＩＢＤサンプルであるならば、第２の回帰分析を前記ＩＢＤサンプルに適用して、臨床亜型を決定するステップと、
を含む方法。
【発明の詳細な説明】
【関連出願の相互参照】
【０００１】
[0001]本出願は、米国特許仮出願第６１／５５０２９３号（出願日：２０１１年１０月２１日）、米国特許仮出願第６１／５５３８５３号（出願日：２０１１年１０月３１日）、米国特許仮出願第６１／５６７０９６号（出願日：２０１１年１２月５日）、及び米国特許仮出願第６１／５７０２７１号（出願日：２０１１年１２月１３日）の優先権を主張するものである。これらの仮出願の開示内容は、参照によりすべての目的のためにそのまま本明細書に組み入れられる。
【発明の背景】
【０００２】
[0002]世界的に発生し、何百万人もの人を患わせている炎症性腸疾患（ＩＢＤ）は、病因が明らかでない３つの胃腸管系障害、すなわちクローン病（ＣＤ）、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、及び分類不能大腸炎（ＩＣ）を表すのに用いられる総称である。ＩＢＤは、過敏性腸症候群（ＩＢＳ）と共に、全米国人の半数がその一生のうちに患うことになり、ＩＢＤでは２６億ドルを超え、ＩＢＳでは８０億ドルを超える費用となっている。これらの高い医療費の主な決定要因は、消化器疾患及びこれらの疾患がどのように進行するかの診断が困難であることである。これらの障害を患っている人々が全国平均よりも年間少なくとも８日間追加で仕事を休んでおり、ＩＢＤ及びＩＢＳの費用は生産性の損失によって悪化している。
【０００３】
[0003]炎症性腸疾患は、腹痛、慢性下痢、体重減少及び痙攣を含む多くの症状が過敏性腸症候群と共通しており、決定的な診断が非常に困難となっている。米国においてＩＢＤを患っていると疑われる５００万人のうち、１００万人のみがＩＢＤに罹患しているとして診断されている。ＩＢＤの鑑別診断及びその結果の判定が困難なことで、これらの疾患の早期かつ有効な処置が妨げられる。したがって、ＩＢＤ及びその亜型を決定するための迅速かつ高感度の試験方法の必要性が存在する。
【０００４】
[0004]長年にわたって、ＩＢＤの臨床亜型の正確な診断はほとんど進展していない。したがって、ＩＢＤを有する個体を診断するため及びクローン病（ＣＤ）又は潰瘍性大腸炎などの亜型を決定するための改善された方法が緊急に必要である。ＣＤ患者の７０％がＧＩの外科手術を最終的に必要とするので、将来的に不必要な手術を減らすために、ＧＩの外科手術を最終的に必要とする患者を病態初期に診断する能力が重要である。本発明はこれらの必要性を満たし、関連する利点も提供する。
【発明の概要】
【０００５】
[0005]本発明は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）を診断するため、及び／又は潰瘍性大腸炎（ＵＣ）及びクローン病（ＣＤ）を含む亜型を決定する又はサンプルを不確定（例えば、ＣＤ及びＵＣに関して不確定なＩＢＤサンプル）としてカテゴリー化するための方法及びシステムを提供する。有利なことに、本発明を使用すれば、ＩＢＤを有する患者を診断し、患者がＩＢＤを有する場合は、ＵＣ又はＣＤのいずれかを診断することが可能となる。
【０００６】
[0006]いくつかの態様において、本発明は、一方はＩＢＤ対非ＩＢＤ用であり、他方はＵＣ対ＣＤ用である２つの別々のランダムフォレストを含む診断モデルを提供する。他の実施形態では、本発明は、４種の転帰（非ＩＢＤ、ＣＤ、ＵＣ、不確定）を含むモデルを

提供する。さらに別の実施形態では、本発明は、３種の転帰（非ＩＢＤ、ＣＤ、ＵＣ）を含む単一のモデルを提供する。

【０００７】

[0007]特定の実施形態において、本発明は、サンプルを分析して、ＡＴＧ１６Ｌ１（例えば、ｒｓ２２４１８８０、ｒｓ３８２８３０９）、ＥＣＭ１（例えば、ｒｓ７５１１６４９、ｒｓ３７３７２４０、ｒｓ１３２９４）、ＮＫＸ２－３（例えば、ｒｓ１１９０１４０、ｒｓ１０８８３３６５、ｒｓ６５８４２８３）及び／又はＳＴＡＴ３（例えばｒｓ７４４１６６）遺伝子の１つ、２つ、３つ、４つ又はそれより多くのバリアント対立遺伝子（例えば、一塩基多型又はＳＮＰ）の有無を決定することによって、ＩＢＤ又は非ＩＢＤを診断する、及び／又はＵＣ及びＣＤなどのＩＢＤの臨床亜型を鑑別する、又はサンプルを不確定としてカテゴリー化するための方法及びシステムを提供する。これらの実施形態のいくつかの態様では、本発明は、ＩＢＤ又は非ＩＢＤを診断する、及び／又はＩＣ、ＵＣ及びＣＤなどのＩＢＤ臨床亜型を鑑別する、又はサンプルを不確定としてカテゴリー化するために、サンプルを分析して、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、抗Ｆｌａ２、抗ＦｌａＸ、ＶＥＧＦ、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ、ＶＣＡＭ、ＡＮＣＡなどの１つ又は複数の血清学的マーカー及び炎症マーカー（例えばＥＬＩＳＡによる）、及び／又はｐＡＮＣＡ（例えば、ＩＢＤ特異的なｐＡＮＣＡの核周囲パターン及び／又はｐＡＮＣＡのＤＮａｓｅ感受性を検出するための１つ又は複数の間接蛍光抗体（ＩＦＡ）アッセイによる）、ｐＡＮＣＡ２の存在（若しくは非存在）又は濃度レベルを決定することをさらに含むことができる。

【０００８】

[0008]一実施形態において、本発明は、個体における炎症性腸疾患（ＩＢＤ）及び／又はその臨床亜型を診断するための方法であって、臨床亜型が潰瘍性大腸炎（ＵＣ）又はクローン病（ＣＤ）又は不確定であり、

（ａ）個体から得たサンプルを分析して、サンプル中の血清学的マーカー、遺伝子マーカー、炎症マーカー、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１つ又は複数のマーカーの存在、レベル又は遺伝子型を決定して、マーカープロファイルを得るステップと、

（ｂ）第１のランダムフォレスト統計解析をマーカープロファイルに適用して、マーカープロファイルがＩＢＤサンプルであるか非ＩＢＤサンプルであるかの決定を得るステップと、

（ｃ）任意選択で、ＩＢＤサンプルとして指定されたサンプルに決定木又はルールセットを適用して、ＩＢＤサンプルが不確定サンプルであるかどうかを決定するステップと、

（ｄ）任意選択で、第２のランダムフォレスト統計解析をＩＢＤサンプルに適用して、臨床亜型を決定するステップと、

を含む方法を提供する。

【０００９】

[0009]いくつかの実施形態では、ＩＢＤの診断アッセイは、個体の標本を、そのｐＡＮＣＡ２値に応じて決定木法又はランダムフォレストアルゴリズムのいずれかに導くための第１ステップとして、サンプルがｐＡＮＣＡ２陰性であるかどうかを決定するための初期ノードを含む。いくつかの例では、ＩＢＤの臨床的予測を行うために、陰性（０又は「検出されず」）又は弱い（＋１）のｐＡＮＣＡ決定のいずれかを有するｐＡＮＣＡ２サンプルは取り出され、決定行列又はルールセットにかけられる。

【００１０】

[0010]他の実施形態において、本発明は、個体における炎症性腸疾患（ＩＢＤ）及び／又はその臨床亜型を診断するための方法であって、臨床亜型が潰瘍性大腸炎（ＵＣ）又はクローン病（ＣＤ）又は不確定であり、

（ａ）個体から得たサンプルを分析して、サンプル中の血清学的マーカー、遺伝子マーカー、炎症マーカー、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１つ又は複数のマーカーの存在、レベル又は遺伝子型を決定して、マーカープロファイルを得るステップ

と、
（ｂ）第１のランダムフォレスト統計解析をマーカープロファイルに適用して、マーカープロファイルがＩＢＤサンプルであるか非ＩＢＤサンプルであるかの決定を得るステップと、
（ｃ）ＩＢＤサンプルとして指定されたサンプルに決定木又はルールセットを適用して、ＩＢＤサンプルが不確定サンプルであるかどうかを決定するステップと、
（ｄ）サンプルが不確定でなく、ＩＢＤサンプルであるならば、第２のランダムフォレスト統計解析をＩＢＤサンプルに適用して、臨床亜型を決定するステップと、
を含む方法を提供する。
【００１１】
[0011]これら及び他の態様、目的及び実施形態は以下の詳細な説明及び図面からさらに明らかとなる。
【図面の簡単な説明】
【００１２】
【図１】図１は、二段階のランダムフォレストアルゴリズムを含む本発明のＩＢＤ診断アッセイの例示的実施形態に関するフローチャートである。
【図２】図２は、二段階のランダムフォレストアルゴリズム（右側の経路）及び別々のｐＡＮＣＡ決定木（左側の経路）を含む本発明のＩＢＤ診断アッセイの他の例示的実施形態に関するフローチャートである。
【図３】図３は、本発明の疾患分類システム（ＤＣＳ）の例示的実施形態を示す。
【図４】図４は、固定した好中球に対する免疫蛍光、それに続くＤＮＡｓｅ処理によるｐＡＮＣＡ染色パターンを示す。
【図５】図５は、訓練コホート及び検証コホートの特徴並びにｓｇｉアルゴリズム及び個々のマーカーに関するＲＯＣ曲線下面積を示す。
【図６】図６は、ＩＢＤ診断を予測するためのロジスティック回帰モデルの例示的実施形態を示す。
【図７】図７Ａは、ＩＢＤモデルはＩＢＤを予測するための優れた分類子システムであることを示す。図７Ｂは、ＵＣモデルはＵＣを予測するための優れた分類子システムであることを示す。
【図８】図８Ａは、ＩＢＤロジットモデル対Ｒで作出されたＩＢＤランダムフォレストモデルに関する予測Ｐ値の散布図である。図８Ｂは、Ｍａｔｌａｂで作出されたＩＢＤランダムフォレストモデル対ＩＢＤロジットモデルの散布図である。
【図９】図９は、ＩＢＤロジットモデル及び２種のＩＢＤランダムフォレストモデルに関する予測Ｐ値の密度グラフである。グラフは、非ＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣの予測におけるモデルの類似性を比較する。
【図１０】図１０Ａは、ＵＣロジットモデル及びＲで作出されたＵＣランダムフォレストモデルに関する予測Ｐ値の散布図である。図１０Ｂは、ＵＣロジットモデル及びＭａｔｌａｂで作出されたＵＣランダムフォレストモデルに関する予測Ｐ値の散布図である。
【図１１】図１１は、ＵＣロジットモデル及び２種のＵＣランダムフォレストモデルに関する予測Ｐ値の密度グラフである。グラフは、非ＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣの予測におけるモデルの類似性を比較する。
【図１２】図１２は、ＩＢＤ対非ＩＢＤを予測するためのロジットモデリング対ランダムフォレストモデリングの散布図である。
【図１３】図１３は、ＵＣ対ＣＤを予測するためのロジットモデリング対ランダムフォレストモデリングの散布図である。
【図１４】図１４は、Ｒ又はＭａｔｌａｂのいずれかで作出された２種のランダムフォレストＩＢＤ対非ＩＢＤモデルの散布図である。
【図１５】図１５は、Ｒ又はＭａｔｌａｂのいずれかで作出された２種のランダムフォレストＵＣ対ＣＤモデルの散布図である。
【図１６】図１６は、ＩＢＤ　ｓｇｉコホートの血清学的マーカーを示す。

【図１７】図１７は、ＩＢＤ　ｓｇｉコホートの炎症マーカーを示す。
【図１８】図１８は、非ＩＢＤ患者よりも多くのＩＢＤ患者が２つ以上の遺伝子マーカーに関して陽性である一実施形態を示す。
【図１９】図１９は、ＵＣからのＣＤの識別に関する、ＩＢＤ　ｓｇｉ及びＩＢＤセロロジー７の比較の一実施形態を示す。
【図２０】図２０は、ＩＢＤ対非ＩＢＤ並びにＣＤ対ＵＣに関する、ＩＢＤ　ｓｇｉ及びＩＢＤセロロジー７の全体的な診断能力の比較を示す。
【発明の詳細な説明】
【００１３】
Ｉ．イントロダクション
本発明は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）及びその亜型の診断の精度が、個体由来の生体サンプルにおける特定のマーカーの存在、レベル又は遺伝子型を検出することによって実質的に改善することができるという驚くべき発見に一部基づく。すなわち、一実施形態において、本発明は、血清学的及び／又は遺伝的なマーカーパネルに基づく診断プラットフォームを提供する。
【００１４】
[0033]本発明は、ＩＢＤ及びその亜群（例えば、分類不能大腸炎（ＩＣ）、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、クローン病（ＣＤ）、並びにＣＤ及びＵＣに関して不確定（「不確定」））の診断を改善するための方法及びシステムを提供する。一部の例では、本明細書に記載の方法は、転帰を診断及び予測することが非常に難しいと知られている疾患であるＩＢＤを正確に予測する。他の例では、本明細書に記載の方法は、多数の血清学的、タンパク質及び／又は遺伝子マーカーを、単独で又は１つ若しくは複数のアルゴリズム若しくは他の種類の統計解析と組み合わせて利用して、価値のある診断又は予後診断の見識を医師に提供する。一部の例では、本発明の方法及びシステムは、生物学的治療に対して予想される患者の応答の指標を提供する。他の例では、本発明の方法及びシステムは、多数のマーカー（例えば、血清学的、タンパク質及び／又は遺伝子マーカー）を統計解析（例えば四分位数分析）と併せて利用して、合併疾患を有する患者若しくは疾患合併症（例えば、内部狭窄性又は内部穿通性疾患）を発症するリスクを有する患者及び／又は外科的介入の必要がある患者を特定することによって予後診断値を提供する一方で、疾患進行速度評価の補助も行う。いくつかの例では、本方法は、ＩＣ、ＵＣ及びＣＤを含むＩＢＤ亜型の連続的なつながりに沿った疾患重症度の分類を可能にする。さらに、本方法は、進行性疾患を有する患者の治療決定を導く。他の例では、多数のマーカー（例えば、血清学的、タンパク質及び／又は遺伝子マーカー）の使用は、非応答者から応答者を識別する能力及び初期の治療の選択肢（例えば、積極的処置を処方するかどうか）を導く能力を提供し、疾患挙動を変化させる可能性を有する。
【００１５】
[0034]図１は、二段階のランダムフォレストアルゴリズムを含む本発明のＩＢＤ診断アッセイの例示的実施形態のフローチャートを示す。いくつかの実施形態では、ＩＢＤ診断アッセイは、１７種の血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）生物学的マーカー（例えば、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、抗ＦｌａＸ、抗Ａ４－Ｆｌａ２、ｐＡＮＣＡ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ、ＶＣＡＭ、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＶＥＧＦ、ＮＫＸ２－３、及びそれらの組み合わせ）からの測定値を適用し、第１のランダムフォレストモデルに基づいてスコアを算出して、ＩＢＤ対非ＩＢＤを予測する（１１０）。第１のランダムフォレストモデルは、患者がＩＢＤを有するかどうか決定する。スコアがＩＢＤ対非ＩＢＤのカットオフ未満（例えば＜０．６４）であるならば、サンプルは、ＩＢＤを有する患者由来であると予測される（１２５）。そうでなければ、サンプルは、非ＩＢＤを有する患者由来と予測される（１２０）。ＩＢＤを有すると予測されるサンプルは、アルゴリズムの次のステップへ進み、このステップは、サンプルを不確定としてカテゴリー化するのを除外するように設計されている決定木又はルールセットである（１３０）。サンプルが「分類不能」ルールのいずれかに関するパターンと

一致する場合は、アルゴリズムは、ＩＢＤを有するものとしてサンプルを予測するが、ＵＣ及びＣＤに関しては不確定である（１３５）。そうでなければ、サンプルは、アルゴリズムの次のステップへ進み（１４０）、このステップは、ＵＣ対ＣＤを予測するための第２のランダムフォレストモデルである（１５０）。本ＩＢＤ診断アッセイは、１１種のｓｇｉ生物学的マーカー（例えば、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、抗ＦｌａＸ、抗Ａ４－Ｆｌａ２、ｐＡＮＣＡ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＶＥＧＦ、及びそれらの組み合わせ）由来の測定値を適用して、ＵＣ対ＣＤを予測するための第２のランダムフォレストモデルに基づいてモデルスコアを算出する。スコアがＵＣ対ＣＤカットオフ（例えば０．３５）未満である場合、アルゴリズムは、ＣＤを有するものとしてサンプルを予測する（１５３）。そうでなければ、アルゴリズムは、ＵＣを有するものとしてサンプルを予測する（１５５）。

【００１６】

[0035]図２は、二段階のランダムフォレストアルゴリズム（右側の経路）及び別々のｐＡＮＣＡ決定木（左側の経路）を含む本発明のＩＢＤ診断アッセイの他の例示的実施形態のフローチャートを示す。いくつかの実施形態では、ＩＢＤ診断アッセイは、個体の標本をそのｐＡＮＣＡ２値に応じて決定木法（２０５）又はランダムフォレストアルゴリズム（２１０）のいずれかに導くための第１ステップとして、サンプルがｐＡＮＣＡ２陰性であるかどうかを決定するための初期ノード（２０１）を含む。いくつかの例では、陰性（０又は「検出されず」）又は弱い（＋１）ｐＡＮＣＡ決定のいずれかを有するｐＡＮＣＡ２サンプルは、ｓｇｉアルゴリズムの待ち行列（右側の経路）から取り出され、ＩＢＤの臨床的予測を行うための決定行列又はルールセットにかけられる（２０７）。ｐＡＮＣＡ決定木分析に従ってＩＢＤを予測するための決定行列の例は実施例９に記載されている。すなわち、いくつかの態様では、ｐＡＮＣＡ決定木（２０５）は、アッセイ結果がｐＡＮＣＡ２（－）である臨床標本において予測的ＩＢＤ診断を行うための代替経路として実施することができる。

【００１７】

[0036]図２はまた、ｐＡＮＣＡ２陽性サンプルを分析するための経路の例を示す（右側の経路）。いくつかの実施形態では、ｐＡＮＣＡ決定が陽性（＋２、＋３又は＋４）であるｐＡＮＣＡ２サンプルは、ＩＢＤ診断アッセイを使用して処理され、図１に記載の二段階のランダムフォレストアルゴリズムに類似した二段階のランダムフォレストアルゴリズムにかけられる。いくつかの例では、ＩＢＤ診断アッセイは、１７種の血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）生物学的マーカー（例えば、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、抗ＦｌａＸ、抗Ａ４－Ｆｌａ２、ｐＡＮＣＡ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ、ＶＣＡＭ、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＶＥＧＦ、ＮＫＸ２－３、及びそれらの組み合わせ）由来の測定値を適用し、第１のランダムフォレストモデルに基づいてスコアを算出して、ＩＢＤ対非ＩＢＤを予測する（２１０）。第１のランダムフォレストモデルは、患者がＩＢＤを有するかどうかを決定する。スコアがＩＢＤ対非ＩＢＤのカットオフ未満（例えば＜０．６４）であるならば、サンプルはＩＢＤを有する患者由来であると予測される（２２５）。そうでなければ、サンプルは、非ＩＢＤを有する患者由来と予測される（２２０）。ＩＢＤを有するものとして予測されるサンプルはアルゴリズムの次のステップへ進み、このステップは、サンプルを不確定としてカテゴリー化するのを除外するように設計されている決定木又はルールセットである（２３０）。サンプルが「分類不能」ルールのいずれかに対するパターンに一致するならば、アルゴリズムは、ＩＢＤを有するものとしてサンプルを予測するが、ＵＣ及びＣＤに関しては不確定である（２３５）。そうでなければ、サンプルは、アルゴリズムの次のステップ（２４０）へ進み、このステップは、ＵＣ対ＣＤを予測するための第２のランダムフォレストモデルである（２５０）。ＩＢＤ診断アッセイは、１１種のｓｇｉ生物学的マーカー（例えば、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、抗ＦｌａＸ、抗Ａ４－Ｆｌａ２、ｐＡＮＣＡ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＶＥＧＦ、及びそれらの組み合わせ）由来の測定値を適用して、ＵＣ対ＣＤを予測するための第２のランダムフォレストモデル

に基づいてモデルスコアを算出する。スコアがＵＣ対ＣＤカットオフ（例えば０．３５）未満であるならば、アルゴリズムは、ＣＤを有するものとしてサンプルを予測する（２５３）。そうでなければ、アルゴリズムは、ＵＣを有するものとしてサンプルを予測する（２５５）。

【００１８】

[0037]いくつかの例では、本発明の方法及びシステムは、「変換」又はそれと関連する「機器」を含む。例えば、ＥＬＩＳＡ法を行って、本明細書に記載のマーカーのうちの多くの存在又は濃度レベルを測定してもよい。ＥＬＩＳＡには、マーカー（例えば自己抗体）の、マーカー（例えば自己抗体）と結合剤（例えば抗原）との複合体への変換が含まれ、その後、これは標識した二次抗体で測定することができる。多くの場合、標識は、基質を検出可能な生成物へと変換する酵素である。検出可能な生成物の測定は、分光光度計などのプレートリーダーを用いて行うことができる。他の例では、遺伝子マーカーは、ＰＣＲなどの種々の増幅法を用いて決定される。ＰＣＲなどの増幅が含まれる方法ステップは、検出のために核酸の一本鎖又は二本鎖から多重鎖への変換をもたらす。検出には、蛍光光度計などの機器を用いて行われる蛍光体の使用を含めることができる。

【００１９】

[0038]いくつかの実施形態では、本方法は、ＩＢＤ診断を援助するために、統計解析の結果（すなわち診断プロファイル）を参照（すなわち診断モデル）と比較することをさらに含む。特定の実施形態では、本方法は、医師に価値のある診断の見識を提供するために、多数の血清学的、タンパク質及び／又は遺伝子マーカーを利用する。

【００２０】

[0039]有利なことに、本発明のアッセイ方法及びシステムは、多数のマーカー（例えば、血清学的、遺伝子、炎症性マーカー）からなる診断プロファイルを単独で又は統計解析と併せて使用して、ＩＢＤ及びＩＣ、ＵＣ、ＣＤ及び不確定などのＩＢＤ亜型を有する患者を特定することによって診断値を提供する。いくつかの例では、本発明は、これらに限定されないが、ＩＣ、ＵＣ、ＣＤ及び不確定を含むＩＢＤ亜型の連続的なつながりに沿った疾患重症度の分類を可能にする。

【００２１】

ＩＩ．定義

本明細書において、以下の用語は、特に断らない限り、それらの用語に割り当てられた意味を有する。

【００２２】

[0041]用語「分類すること」には、サンプル又は病状若しくは予後診断を有する個体を「関連づけること」又は「カテゴリー化すること」が含まれる。いくつかの例では、「分類すること」は、統計的証拠、経験的証拠、又は両方に基づいている。いくつかの実施形態では、分類する方法及びシステムでは、既知の病状又は予後診断を有する個体からのサンプルの、いわゆる訓練セットが使用される。確立された後、訓練データセットは、個体において未知の病状を分類する又は病状の予後診断を提供するために個体からの未知のサンプルの特長を比較する場合に、その比較対象の基礎、モデル、又は鋳型として役割を果たす。一部の例では、「分類すること」とは、病状を診断すること及び／又は病状を他の病状から識別することと同種である。他の例では、「分類すること」とは、病状が診断された個体において病状の予後診断を提供することと同種である。

【００２３】

[0042]用語「炎症性腸疾患」又は「ＩＢＤ」には、例えば、クローン病（ＣＤ）、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、分類不能大腸炎（ＩＣ）、ＣＤ対ＵＣに関して不確定なＩＢＤ（「不確定」）などの胃腸管系障害が含まれる。炎症性腸疾患（例えば、ＣＤ、ＵＣ、ＩＣ及び不確定）は、過敏性腸症候群（ＩＢＳ）を含む消化管のすべての他の障害、症候群、及び異常から区別される。表題「炎症性腸疾患の診断方法」の米国特許第７８７３４７９号は、参照によりすべての目的のためにそのまま本明細書に組み入れられる。

【００２４】

[0043]用語「サンプル」には、個体から入手した任意の生体検体が含まれる。本発明における使用に適したサンプルには、これらに限定されないが、全血、血漿、血清、唾液、尿、大便、涙、他の任意の体液、組織サンプル（例えば生検）、及びその細胞抽出物（例えば赤血球抽出物）が含まれる。好ましい実施形態では、サンプルは血清サンプルである。血清、唾液、及び尿などのサンプルの使用は当分野で周知である（例えば、Ｈａｓｈｉｄａら，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｌａｂ．Ａｎａｌ．，１１：２６７～８６（１９９７）を参照）。当業者には、マーカーレベルを分析する前に血清サンプルなどのサンプルを希釈できることが理解されよう。

【００２５】

[0044]用語「マーカー」には、ＩＢＤの診断、ＩＢＤの確からしい経過及び結果の予測、及び／又は疾患からの回復の見込みの予測に使用することができる、任意の生化学的マーカー、血清学的マーカー、遺伝子マーカー、又は他の臨床若しくは超音波検査の特徴が含まれる。そのようなマーカーの非限定的な例には、抗好中球抗体（例えば、ＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ）、抗サッカロマイセス・セレビシエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）抗体（例えば、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ）、抗微生物抗体（例えば、抗ＯｍｐＣ抗体、抗Ｉ２抗体、抗Ｆｌａ２抗体、抗ＦｌａＸ抗体、抗ＣＢｉｒ１抗体）、急性期タンパク質（例えばＣＲＰ）、アポリポタンパク質（例えばＳＡＡ）、デフェンシン（例えばβデフェンシン）、成長因子（例えば、ＥＧＦ、ＶＥＧＦ）、サイトカイン（例えば、ＴＷＥＡＫ、ＩＬ－１β、ＩＬ－６）、カドヘリン（例えばＥ－カドヘリン）、細胞接着分子（例えば、ＩＣＡＭ－１、ＶＣＡＭ－１）などの血清学的マーカー、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＮＫＸ２－３、ＳＴＡＴ３及びＮＯＤ２／ＣＡＲＤ１５などの遺伝子マーカー（例えばＳＮＰ）、及びそれらの組み合わせが含まれる。遺伝子マーカーの非限定例としては、ＧＬＩ１（例えば、ｒｓ２２２８２２４及び／又はｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（例えばｒｓ２０３２５８２）、ＡＴＧ１６Ｌ１（例えば、ｒｓ２２４１８８０、ｒｓ３８２８３０９）、ＥＣＭ１（例えば、ｒｓ７５１１６４９、ｒｓ３７３２４０、ｒｓ１３２９４）、ＮＫＸ２－３（例えば、ｒｓ１１９０１４０、ｒｓ１０８８３３６５、ｒｓ６５８４２８３）、ＳＴＡＴ３（例えばｒｓ７４４１６６）及びＮＯＤ２／ＣＡＲＤ１５（例えば、ｒｓ２０６６８４７、ｒｓ２０６６８４５、ｒｓ５７４３２９３）遺伝子のバリアント対立遺伝子が挙げられる。一部の実施形態では、マーカーを１つ又は複数の（例えば複数の）統計解析と組み合わせて利用して、個体におけるＩＢＤの診断又は予後診断を援助又は提供する。いくつかの例では、診断は、ＩＢＤ又はクローン病（ＣＤ）、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、分類不能大腸炎（ＩＣ）若しくは不確定ＩＢＤなどのその臨床亜型であり得る。他のいくつかの例では、予後診断は、手術の必要性（例えば、小腸手術が必要となる可能性若しくはリスク）、ＣＤ若しくはＵＣの臨床亜型の発生（例えば、ＣＤ若しくはＵＣの特定の臨床亜型（例えば、狭窄性、穿通性若しくは炎症性のＣＤ亜型）に罹患する可能性若しくはリスク）、１つ若しくは複数の臨床学的因子の発生（例えば、特定の臨床学的因子の影響を受ける可能性若しくはリスク）、腸癌の発生（例えば、腸癌に罹患する可能性若しくはリスク）、又は疾患からの回復（例えば、寛解の可能性）であり得る。

【００２６】

[0045]本発明は、部分的に、個体から得られたサンプル中の少なくとも１つのマーカーの存在（若しくは非存在）又はレベル（例えば濃度）を決定することに依存する。本明細書において、用語「少なくとも１つのマーカーの存在を検出すること」には、当業者に知られている任意の定量的又は定性的アッセイを使用することによって目的の各マーカーの存在を決定することが含まれる。いくつかの例では、特定の形質、変数、遺伝子型、及び／又は生化学的若しくは血清学的物質（例えば、タンパク質、抗体）の存在又は非存在を決定する定性的アッセイが目的の各マーカーを検出するために適している。他のいくつかの例では、ＤＮＡ、ＲＮＡ、タンパク質、抗体、又は活性の存在又は非存在を決定する定量的アッセイが目的の各マーカーを検出するために適している。本明細書において、用語「少なくとも１つのマーカーのレベルを検出すること」には、当業者に知られている任意

の直接又は間接的な定量的アッセイを使用することによって目的の各マーカーのレベルを決定することが含まれる。いくつかの例では、例えばＤＮＡ、ＲＮＡ、タンパク質、抗体、又は活性の相対的又は絶対的な量を決定する定量的アッセイが目的の各マーカーのレベルを検出するために適している。当業者には、マーカーのレベルの検出に有用な任意のアッセイがマーカーの存在又は非存在の検出にも有用であることが理解されよう。

【００２７】

[0046]用語「マーカープロファイル」には、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、３０、３５、４０、４５、５０又はそれより多くの診断及び／又は予後診断のマーカーが含まれ、マーカーは、血清学的マーカー、タンパク質マーカー、遺伝子マーカーなどであり得る。一部の実施形態では、マーカープロファイルは、統計解析と共に、医師及び介護人に価値のある診断及び予後診断の見識を提供することができる。他の実施形態では、マーカープロファイルは、（任意選択で統計解析と共に、）生物学的治療に対して予想される応答を提供する。本明細書に記載のアッセイは、多数のマーカー（例えば、血清学的、タンパク質、遺伝子マーカー）を統計解析と併せて使用して、ＩＢＤ又はその臨床亜型を有する患者を特定すること、合併疾患の発症のリスクを予測すること、疾患進行速度（例えば、合併疾患又は手術への進行速度）の評価を補助すること、及び治療の選択を補助することによって、診断的、予後診断的及び治療的な値を提供する。

【００２８】

[0047]用語「診断プロファイル」には、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、３０、３５、４０、４５、５０又はそれより多くの、個体のマーカーが含まれ、マーカーは、血清学的マーカー、タンパク質マーカー、遺伝子マーカーなどであり得る。統計解析によって、マーカープロファイルは診断プロファイルに変換される。好ましい統計解析は四分位数スコアであり、各マーカーに対する四分位数スコアを合計して、四分位数の和のスコアを生成することができる。

【００２９】

[0048]用語「診断モデル」には、血清学的モデル、遺伝子モデル、血清－遺伝子－炎症モデル、及びそれらの組み合わせが含まれる。好ましい態様では、遡及的分析は、既知の合併症及び実施された外科手術を伴う既知の疾患の転帰のコホートに関して行われる。一態様では、診断モデルを開発するために、１つ若しくは複数の血清学的マーカーの存在若しくは濃度レベル及び／又は１つ若しくは複数の遺伝子マーカーの遺伝子型に関して回帰分析（例えばロジスティック回帰）を実施することができる。診断モデルは、例えば参照表、グラフ又は他の表示で示す又は表すことができる。次いで、個体の診断プロファイルを診断モデルと比較することができ、診断（例えば、疾患を有するリスク又は可能性）が決定される。

【００３０】

[0049]用語「個体」、「対象」又は「患者」には、典型的にはヒトが含まれるが、例えば、他の霊長類、げっ歯類、イヌ、ネコ、ウマ、ヒツジ、ブタなどの他の動物も含まれる。

【００３１】

[0050]本明細書において、用語「実質的に同一のアミノ酸配列」には、天然に存在するアミノ酸配列と類似するが同一ではないアミノ酸配列が含まれる。例えば、Ｉ２タンパク質と実質的に同一のアミノ酸配列を有するアミノ酸配列、すなわちポリペプチドは、天然に存在するＩ２タンパク質のアミノ酸配列に対するアミノ酸付加、欠失又は置換などの１つ又は複数の修飾を有し得る。但し、修飾されたポリペプチドが、免疫応答性などの少なくとも１つのＩ２の生物活性を実質的に保持するものとする。アミノ酸配列間の実質的な類似性の比較は、約６～１００残基、好ましくは約１０～１００残基、より好ましくは約２５～３５残基の配列を用いて通常実施される。本発明のポリペプチド又はその断片の特に有用な修飾は、例えば安定性の増大を与える修飾である。１つ又は複数のＤ－アミノ酸

の導入は、ポリペプチド又はポリペプチド断片の安定性を増大させるのに有用な修飾である。同様に、リジン残基の欠失又は置換は、ポリペプチド又はポリペプチド断片を分解から保護することによって安定性を増大させることができる。

【００３２】

[0051]用語「臨床学的因子」には、ＩＢＤに関連づけられている、個体における症状が含まれる。臨床学的因子の例には、これらに限定されないが、下痢、腹痛、痙攣、発熱、貧血、体重減少、不安、鬱病、及びそれらの組み合わせが含まれる。一部の実施形態では、ＩＢＤの診断又は予後診断は、個体から得られたサンプルを分析して１つ又は複数の統計解析を適用することによって１つ又は複数のマーカーの存在、レベル、又は遺伝子型を決定することと、個体が１つ又は複数の臨床学的因子を有するかどうかを決定することとの組み合わせに基づいている。

【００３３】

[0052]用語「症状」又は「複数の症状」及びその変形には、個体によって経験される、特定の疾患に関連づけられている又は疾患に伴う、及び疾患の指標としてみなされる、身体機能の任意の感覚、変化又は認知された変化が含まれる。本発明に関して使用される症状に関連し得る疾患には、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）又はクローン病（ＣＤ）が含まれる。

【００３４】

[0053]好ましい態様では、本発明の方法は、個体がＩＢＤを診断された後に使用される。しかし、他の例では、本方法は、ＩＢＤを診断するために使用することができるか、又は、例えばＩＢＤが疑われている又は他の方法を用いて以前に診断されている場合は、「第二診断」として使用することができる。好ましい態様では、本方法は、ＵＣを診断するため、又はＵＣとＣＤとを鑑別するために使用することができる。用語「ＩＢＤを診断すること」及びその変形には、ＩＢＤの存在又は非存在を決定するための、本明細書に記載の方法及びシステムの使用が含まれる。用語「ＵＣを診断すること」には、ＵＣの存在又は非存在を決定するため、及びＵＣとＣＤとを鑑別するための、本明細書に記載の方法及びシステムの使用が含まれる。また、この用語には、個体における疾患活動性のレベルを評価することも含めることができる。一部の実施形態では、統計解析を使用して、Ｔｒｕｅｌｏｖｅら，Ｂｒ．Ｍｅｄ．Ｊ．，１２：１０４１～１０４８（１９５５）によって開発された基準に基づいて、軽度、中等度、重度、又は劇症型のＩＢＤ又はＵＣを診断する。他の実施形態では、統計解析を使用して、Ｈａｎａｕｅｒら，Ａｍ．Ｊ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．，９２：５５９～５６６（１９９７）によって開発された基準に基づいて、軽度から中等度、中等度から重度、又は重度から劇症の型のＩＢＤ又はＵＣを診断する。当業者は、個体におけるＩＢＤ又はＵＣの重症度を評価するための他の方法を知っているであろう。

【００３５】

[0054]いくつかの例では、本発明の方法は、ＩＢＤを診断する、ＵＣを診断する、又はＩＣをＵＣ及び／又はＣＤから識別する、並びにＵＣとＣＤとを鑑別する、又はサンプルを不確定としてカテゴリー化するために使用される。本方法は、疾患の進行及び退行のいずれをモニタリングするためにも使用することができる。用語「ＩＢＤ又はＵＣの進行又は退行をモニタリングすること」には、個体の病状（例えば、ＩＢＤの存在若しくは重症度又はＵＣの存在）を決定するための方法及びマーカープロファイルの使用が含まれる。いくつかの例では、統計解析の結果を、それより前の時点に同じ個体で得られた結果と比較する。一部の態様では、本発明の方法は、例えば、個体においてＩＢＤ又はＵＣが迅速に又はゆっくりと進行する可能性をサンプル中の少なくとも１つのマーカーの存在又はレベルに基づいて決定することによって、ＩＢＤ又はＵＣの進行を予測するためにも使用することができる。他の態様では、本発明の方法は、例えば、個体においてＩＢＤ又はＵＣが迅速に又はゆっくりと退行する可能性をサンプル中の少なくとも１つのマーカーの存在又はレベルに基づいて決定することによって、ＩＢＤ又はＵＣの退行を予測するためにも使用することができる。

【００３６】
[0055]用語「遺伝子」は、ポリペプチド鎖の産生に関与しているＤＮＡのセグメントをいい、コード領域の前及び後の領域（例えば、それぞれプロモーター及び３’非翻訳領域）、並びに個々のコードセグメント（エクソン）間の介在配列（イントロン）が含まれる。
【００３７】
[0056]用語「遺伝子型」は、例えば二倍体の生物が１つ又は複数の目的のバリアント対立遺伝子に関してヘテロ接合性であるかホモ接合性であるかを含む、生物の遺伝的組成をいう。
【００３８】
[0057]用語「多型性」は、集団中の２つ以上の遺伝子決定された代替配列又は対立遺伝子の発生をいう。「多型部位」とは、分岐が起こる座位をいう。好ましい多型部位は、各々が集団中で特定の頻度で発生している少なくとも２つの対立遺伝子を有する。多型座位は１つの塩基対（すなわち一塩基多型又はＳＮＰ）ほど小さくてもよい。多型マーカーには、制限断片長多型、可変数タンデム反復（ＶＮＴＲ）、超可変領域、ミニサテライト、ジヌクレオチド反復、トリヌクレオチド反復、テトラヌクレオチド反復、単純配列反復、及びＡｌｕなどの挿入要素が含まれる。最初に同定された対立遺伝子が自由裁量で参照対立遺伝子と指定され、他方の対立遺伝子が代替対立遺伝子、「バリアント対立遺伝子」、又は「バリアンス」として指定される。選択された集団中で最も頻繁に発生している対立遺伝子は「野生型」対立遺伝子と呼ばれることもある。二倍体の生物は、バリアント対立遺伝子に関してホモ接合性又はヘテロ接合性であり得る。バリアント対立遺伝子は、バリアント対立遺伝子を保有する個体において観察可能な物理的又は生化学的な特徴（「表現型」）を生じても生じなくてもよい。例えば、バリアント対立遺伝子は、目的の遺伝子によってコードされているタンパク質の酵素活性を変更してもよい。
【００３９】
[0058]用語「一塩基多型（ＳＮＰ）」及びその変形は、対立遺伝子内でのものを含む、単一のヌクレオチドをポリヌクレオチドで変えることをいう。これには、１つのヌクレオチドの他のヌクレオチドによる置換え、及び単一のヌクレオチドの欠失又は挿入が含まれる場合がある。最も典型的には、ＳＮＰは二対立遺伝子マーカーであるが、三及び四対立遺伝子マーカーも存在することができる。非限定的な例として、ＳＮＰ　Ａ／Ｃを含む核酸分子には、多型位置にＣ又はＡが含まれていてもよい。ＳＮＰの組み合わせには、用語「ハプロタイプ」、例えば、互いに連結された、単一のＤＮＡ鎖中のＳＮＰの遺伝子型が使用される。一部の実施形態では、用語「ハプロタイプ」は、ＳＮＰ対立遺伝子の組み合わせ、例えば単一のＤＮＡ分子上に一緒に見つかるＳＮＰの対立遺伝子を説明するために使用することができる。さらなる実施形態では、ハプロタイプ中のＳＮＰは互いに連鎖不平衡であり得る。
【００４０】
[0059]用語「特異的」又は「特異性」及びその変形には、バリアント対立遺伝子を検出可能なポリヌクレオチド（例えば、異なる対立遺伝子間を区別することができるポリヌクレオチド）に関して使用される場合、一方のバリアント対立遺伝子を結合又はハイブリダイズ又は検出せずに、他方のバリアント対立遺伝子を結合又はハイブリダイズ又は検出する能力が含まれる。一部の実施形態では、特異性とは、野生型対立遺伝子を検出し、ミュータント又はバリアント対立遺伝子を検出しないポリヌクレオチドの能力をいうことができる。他の実施形態では、特異性とは、ミュータント又はバリアント対立遺伝子を検出し、野生型対立遺伝子を検出しないポリヌクレオチドの能力をいうことができる。
【００４１】
[0060]本明細書において、用語「抗体」には、ポリクローナル若しくはモノクローナルかつ任意のアイソタイプのものであり得る免疫グロブリン分子の集団、又は免疫グロブリン分子の免疫学的に活性のある断片が含まれる。そのような免疫学的に活性のある断片は、抗原と特異的に結合する抗体分子の部分を構成する、重鎖及び軽鎖可変領域を含有する

。例えば、当分野でＦａｂ、Ｆａｂ’又はＦ（ａｂ’）$_2$として知られている免疫グロブリン分子の免疫学的に活性のある断片は用語「抗体」に含まれる。

【００４２】

[0061]四分位数分析では、データ範囲を４等分する３つの数（値）が存在する。第１四分位数（「下位四分位数」とも呼ばれる）は、それより下に下位データの２５パーセントがある数である。第２四分位数（「中央値」）は、データ範囲を中央で分割し、それより下にデータの５０パーセントを有する。第３四分位数（「上位四分位数」とも呼ばれる）は、それより下にデータの７５パーセントを有し、それより上にデータの上位２５パーセントを有する。非限定例としては、四分位数分析は本明細書に記載の抗体又は他のタンパク質マーカーなどのマーカーの濃度レベルに適用することができ、その結果、第１四分位数（＜２５％）内のマーカーレベルは１の値が割り当てられ、第２四分位数（２５～５０％）のマーカーレベルは２の値が割り当てられ、第３四分位数（５１％～＜７５％）のマーカーレベルは３の値が割り当てられ、第４四分位数（７５％～１００％）のマーカーレベルは４の値が割り当てられる。

【００４３】

[0062]本明細書において、「四分位数の和のスコア」又は「ＱＳＳ」には、すべての目的のマーカーに対する四分位数スコアの和が含まれる。非限定例としては、６マーカー（例えば、血清学的、タンパク質及び／又は遺伝子マーカー）のパネルに対する四分位数の和のスコアは６～２４に及んでもよく、個々のマーカーの各々は、マーカーの有無、マーカーの濃度レベル、又はマーカーの遺伝子型に基づいて１～４の四分位数スコア（Ｑ）が割り当てられる。

【００４４】

ＩＩＩ．実施形態の説明

一実施形態において、本発明は、個体における炎症性腸疾患（ＩＢＤ）及び／又はその臨床亜型を診断するための方法であって、

（ａ）個体から得たサンプルを分析して、サンプル中の血清学的マーカー、遺伝子マーカー、炎症マーカー、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１つ又は複数のマーカーの存在、レベル又は遺伝子型を決定して、マーカープロファイルを得るステップと、

（ｂ）第１のアルゴリズム（例えば、ランダムフォレスト又はロジスティック回帰）をマーカープロファイルに適用して、マーカープロファイルがＩＢＤサンプルであるか非ＩＢＤサンプルであるかの決定を得るステップと、

（ｃ）任意選択で、ＩＢＤサンプルとして指定されたサンプルに決定木又はルールセットを適用して、ＩＢＤサンプルが不確定サンプルであるかどうかを決定するステップと、

（ｄ）任意選択で、第２のアルゴリズム（例えば、ランダムフォレスト又はロジスティック回帰）をＩＢＤサンプルに適用して、臨床亜型を決定するステップと、

を含む方法を提供する。

【００４５】

[0064]第２の実施形態において、本発明は、個体における炎症性腸疾患（ＩＢＤ）及び／又はその臨床亜型を診断するための方法であって、

（ａ）個体から得たサンプルを分析して、サンプル中の血清学的マーカー、遺伝子マーカー、炎症マーカー、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１つ又は複数のマーカーの存在、レベル又は遺伝子型を決定して、マーカープロファイルを得るステップと、

（ｂ）ランダムフォレストなどの第１のアルゴリズムをマーカープロファイルに適用して、マーカープロファイルがＩＢＤサンプルであるか非ＩＢＤサンプルであるかの決定を得るステップと、

（ｃ）ＩＢＤサンプルとして指定されたサンプルに決定木又はルールセットを適用して、ＩＢＤサンプルが不確定サンプルであるかどうかを決定するステップと、

（ｄ）サンプルが不確定でなく、ＩＢＤサンプルであるならば、ランダムフォレストな

どの第２のアルゴリズムをＩＢＤサンプルに適用して、臨床亜型を決定するステップと、を含む方法を提供する。

【００４６】

[0065]いくつかの実施形態では、本方法は、ＩＢＤ診断を援助するために、統計解析の結果（すなわち診断プロファイル）を参照（すなわち診断モデル）と比較することをさらに含む。特定の実施形態では、本方法は、医師に価値のある診断の見識を提供するために、多数の血清学的、タンパク質及び／又は遺伝子マーカーを利用する。

【００４７】

[0066]いくつかの実施形態では、本明細書の方法及びシステムは、ｐＡＮＣＡの第１の血清学的マーカーを測定してｐＡＮＣＡ２値を決定する。いくつかの態様では、ｐＡＮＣＡが検出されない又はｐＡＮＣＡがＤＮＡｓｅに細胞質内で感受性である場合、ｐＡＮＣＡは０の値が割り当てられる。ｐＡＮＣＡがＤＮＡｓｅ感受性１＋Ｐ、ＤＮＡｓｅ感受性２＋Ｐ、ＤＮＡｓｅ感受性３＋Ｐ又はＤＮＡｓｅ感受性４＋Ｐの場合は、ｐＡＮＣＡは１の値が割り当てられる。ここで、１＋Ｐ～４＋Ｐは、視覚的評価に基づく蛍光標識の増大量及び強度を示す。例えば、サンプル中のｐＡＮＣＡの値が＋２、＋３又は＋４であるならば、ｐＡＮＣＡ２値は陽性である。

【００４８】

[0067]他のいくつかの態様では、ｐＡＮＣＡが検出されない、ｐＡＮＣＡがＤＮＡｓｅに細胞質内で感受性である、又はＤＮＡｓｅ感受性１＋Ｐである場合、ｐＡＮＣＡ２は０の値（陰性）が割り当てられる。ｐＡＮＣＡがＤＮＡｓｅ感受性２＋Ｐ、ＤＮＡｓｅ感受性３＋Ｐ、又はＤＮＡｓｅ感受性４＋Ｐである場合、ｐＡＮＣＡ２は１の値（陽性）が与えられる。

【００４９】

[0068]本明細書で詳細に説明するように、ｐＡＮＣＡ２が陰性である場合、方法及びシステムは、

ａ）ｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがクローン病の直接的な予測となるかどうかを決定するステップであって、該決定は、血清マーカーパネル（血清マーカーパネルは、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ及びＯｍｐＣ－ＩｇＡからなる群のメンバーである。）を測定し、血清マーカーパネルの血清マーカーの各々をカットオフ値と比較して、サンプルがクローン病に一致するかどうかを決定することによって行われる、ステップ、あるいは

ｂ）ｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがクローン病に一致するかどうかを決定するステップであって、該決定は、ＣＤ計数パネル（ＣＤ計数パネルは、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、ＯｍｐＣ－ＩｇＡ、ＣＢｉｒ１－ＩｇＧ、Ａ４－Ｆｌａ２－ＩｇＧ及びＦｌａＸ－ＩｇＧからなる群のメンバーである。）を測定してＣＤ計数値を形成することによって行われ、ＣＤ計数値が２以上である場合、サンプルはクローン病に一致する、ステップ、あるいは

ｃ）ｐＡＮＣＡ値がゼロであるｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがＩＢＤに一致するかどうかを決定するステップであって、該決定は、ＡＮＣＡのＥＬＩＳＡを測定し、ＡＮＣＡのＥＬＩＳＡ値を参照値と比較し、ＡＮＣＡのＥＬＩＳＡ値に基づいて、サンプルをＩＢＤに一致する又は一致しないものとして指定することによって行われる、ステップ、あるいは

ｄ）ｐＡＮＣＡ値がゼロであるｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがＩＢＤに一致するか不確定のＩＢＤであるかを決定するステップであって、該決定は、ＡＮＣＡのＥＬＩＳＡを測定し、ＡＮＣＡのＥＬＩＳＡ値を比較し、ＣＤ計数値を考慮して、サンプルがＩＢＤに一致するかどうか、又はサンプルがＩＢＤに一致し、クローン病若しくは潰瘍性大腸炎に関して不確定であるかを決定することによって行われる、ステップ、あるいは

ｅ）ｐＡＮＣＡ値が１であるｐＡＮＣＡ２陰性サンプルがＩＢＤに一致するかどうかを決定するステップであって、該決定は、ＡＮＣＡのＥＬＩＳＡを測定し、ＡＮＣＡのＥＬＩＳＡ値をカットオフ値と比較して、サンプルがＩＢＤに一致するかどうかを決定することによって行われる、ステップ

をさらに含む。

【００５０】
[0069]いくつかの例では、上記パートａのＡＳＣＡ－ＩｇＡの値が６９ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、サンプルはクローン病に一致する。
【００５１】
[0070]他の例では、上記パートａのＡＳＣＡ－ＩｇＧの値が４０ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、サンプルはクローン病に一致する。
【００５２】
[0071]さらに別の例では、上記パートａのＯｍｐＣ－ＩｇＡの値が６０ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、サンプルはクローン病に一致する。
【００５３】
[0072]さらに、本システム及び方法は、クローン病（ＣＤ）計数値の割り当てを提供する。例えば、上記パートｂでは、ＣＤ計数値は下記ｉ～ｖのルールを用いて決定される。
ｉ．ＡＳＣＡ－ＩｇＡが８．５ＥＵ／ｍＬ以上である（ＡＳＣＡ－ＩｇＡの参照範囲より高い）ならば、ＣＤ計数値に＋１を与える。
ｉｉ．ＡＳＣＡ－ＩｇＧが１７．８ＥＵ／ｍＬ以上である（ＡＳＣＡ－ＩｇＧの参照範囲より高い）ならば、ＣＤ計数値に＋１を与える。
ｉｉｉ．ＯｍｐＣ－ＩｇＡが１０．９ＥＵ／ｍＬ以上である（ＯｍｐＣ－ＩｇＡの参照範囲より高い）ならば、ＣＤ計数値に＋１を与える。
ｉｖ．２種以上のフラジェリンマーカーがそれぞれの参照範囲より高ければ、ＣＤ計数値に＋１を与える。
ｖ．任意のフラジェリンが１００ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、ＣＤ計数値に＋１を与え、総ＣＤ計数値が２以上であるならば、サンプルがクローン病に一致すると指定する。
【００５４】
[0073]いくつかの例では、ＣＢｉｒ１－ＩｇＧの参照値は７８．４ＥＵ／ｍＬ以上である。
【００５５】
[0074]他のいくつかの例では、Ａ４－Ｆｌａ２－ＩｇＧの参照値は４４．８ＥＵ／ｍＬ以上である。
【００５６】
[0075]さらに別の例では、ＦｌａＸ－ＩｇＧの参照値は３３．４ＥＵ／ｍＬ以上である。
【００５７】
[0076]他のいくつかの態様では、本明細書の方法及びシステムは、上記パートｃに関して、ｐＡＮＣＡがゼロ（検出されず）であるならば、
ｉ．ＡＮＣＡのＥＬＩＳＡが２０ＥＵ／ｍＬ未満であるならば、サンプルをＩＢＤに一致しないものとして指定するステップ、又は
ｉｉ．ＡＮＣＡのＥＬＩＳＡが２７．４ＥＵ／ｍＬより高ければ、サンプルを潰瘍性大腸炎に一致するものとして指定するステップ、又は
ｉｉｉ．ＡＮＣＡのＥＬＩＳＡが２０ＥＵ／ｍＬ以上かつ２７．４ＥＵ／ｍＬ以下であり、ＣＤ計数値がゼロであるならば、サンプルをＩＢＤに一致しないものとして指定するステップ、又は
ｉｖ．ＡＮＣＡのＥＬＩＳＡが２０ＥＵ／ｍＬ以上かつ２７．４ＥＵ／ｍＬ以下であり、ＣＤ計数値が１であるならば、サンプルを、ＩＢＤに一致するが、クローン病又は潰瘍性大腸炎に関して不確定であるものとして指定するステップ
をさらに含む。
【００５８】
[0077]さらに別の態様では、本明細書の方法及びシステムは、ｐＡＮＣＡが１である場合、
ｉ．ＡＮＣＡのＥＬＩＳＡが１３．７ＥＵ／ｍＬ未満であるならば、サンプルをＩＢＤに一致しないものとして指定するステップ、又は

ｉｉ．ＡＮＣＡのＥＬＩＳＡが１３．７ＥＵ／ｍＬ以上であるならば、サンプルが潰瘍性大腸炎に一致するものとして指定するステップ
をさらに含む。
【００５９】
[0078]本発明は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）の改善された診断のため、及び潰瘍性大腸炎（ＵＣ）とクローン病（ＣＤ）とを鑑別するための方法及びシステムを提供する。いくつかの例では、本方法及びシステムは、単にＣＤ又はＵＣとしてではなく、ＩＢＤ亜型の連続的なつながりに沿った疾患重症度の分類を可能にする。いくつかの例では、本方法は、不確定なものとしてサンプルをカテゴリー化する。合併疾患を有する患者を同定し、具体的な疾患の種類の評価を補助することによって、本明細書に記載の方法及びシステムは、疾患の重症度及び処置の選択肢を評価するための貴重な情報をもたらす。一部の実施形態では、統計解析を血清学的、タンパク質、及び／又は遺伝子マーカーのプロファイルに適用することで、ＩＢＤ、ＵＣ及びＣＤを予測することの精度が改善され、生物学的療法、通常療法、手術、又はそれらの組み合わせなどの治療を含む適切な処置の選択も可能となる。
【００６０】
[0079]本発明は、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）を診断するため、及びＵＣとクローン病（ＣＤ）とを鑑別するための改善された方法及びシステムを提供する。いくつかの例では、本方法及びシステムは、単にＣＤ又はＵＣとしてではなく、ＩＢＤ亜型の連続的なつながりに沿った疾患重症度の分類を可能にする。合併疾患を有する患者を特定し、具体的な疾患の種類の評価を補助することによって、本明細書に記載の方法及びシステムは、疾患の重症度及び処置の選択肢を評価するための貴重な情報を提供する。一部の実施形態では、血清学的、タンパク質及び／又は遺伝子マーカーのプロファイルに統計解析を適用することによって、ＵＣ予測の精度が改善され、生物学的療法、通常療法、手術、又はそれらの組み合わせなどの治療を含む適切な処置の選択も可能になる。
【００６１】
[0080]本発明は、クローン病（ＣＤ）の改善された診断のため、及びＵＣとＣＤとを鑑別するための方法及びシステムを提供する。いくつかの例では、本方法及びシステムは、単にＣＤ又はＵＣとしてではなく、ＩＢＤ亜型の連続的なつながりに沿った疾患重症度の分類を可能にする。合併疾患を有する患者を特定し、具体的な疾患の種類の評価を補助することによって、本明細書に記載の方法及びシステムは、疾患の重症度及び処置の選択肢を評価するための貴重な情報を提供する。一部の実施形態では、血清学的、タンパク質及び／又はマーカーのプロファイルに統計解析を適用することによって、ＣＤ予測の精度が改善され、生物学的療法、通常療法、手術、又はそれらの組み合わせなどの治療を含む適切な処置の選択も可能になる。
【００６２】
[0081]本発明は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）の改善された診断のため、及びＩＢＤを非ＩＢＤから識別するための方法及びシステムを提供する。本発明はまた、非炎症性腸疾患（非ＩＢＤ）を診断するため、及び非ＩＢＤをＩＢＤから識別するための方法及びシステムを提供する。いくつかの例では、本方法及びシステムは、単にＣＤ又はＵＣとしてではなく、ＩＢＤ亜型の連続的なつながりに沿った疾患重症度の分類を可能にする。合併疾患を有する患者を特定し、具体的な疾患の種類の評価を補助することによって、本明細書に記載の方法及びシステムは、疾患の重症度及び処置の選択肢を評価するための貴重な情報を提供する。一部の実施形態では、血清学的、タンパク質及び／又は遺伝子マーカーのプロファイルに統計解析を適用することによってＩＢＤ及び非ＩＢＤの予測の精度が改善され、生物学的療法、通常療法、手術、又はそれらの組み合わせなどの治療を含む適切な処置の選択も可能になる。
【００６３】
[0082]本発明は、不確定の改善された診断のため、及び不確定をＵＣ及びＣＤから識別するための方法及びシステムを提供する。いくつかの例では、本方法及びシステムは、単

にＣＤ又はＵＣとしてではなく、ＩＢＤ亜型の連続的なつながりに沿った疾患重症度の分類を可能にする。合併疾患を有する患者を特定し、具体的な疾患の種類の評価を補助することによって、本明細書に記載の方法及びシステムは、疾患の重症度及び処置の選択肢を評価するための貴重な情報を提供する。一部の実施形態では、血清学的、タンパク質及び／又は遺伝子マーカーのプロファイルに統計解析を適用することによって、亜型予測精度が改善され、生物学的療法、通常療法、手術、又はそれらの組み合わせなどの治療を含む適切な処置の選択も可能になる。

【００６４】

[0083]一部の実施形態では、本発明の方法は、ＵＣの症状を有する個体において実施される。さらなる実施形態では、ＵＣの症状には、これらに限定されないが、直腸炎症、直腸出血、直腸痛、下痢、腹部痙攣、腹痛、疲労、体重減少、発熱、結腸破裂、及びそれらの組み合わせが含まれる。

【００６５】

[0084]一部の実施形態では、本発明の方法は、全血、組織、唾液、頬細胞、毛、体液、血漿、血清、脳脊髄液、頬側スワブ、粘液、尿、便、精子、膣分泌物、リンパ、羊水、胸膜液、涙、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される生体サンプルの分析を伴う。

【００６６】

[0085]一部の態様において、本発明は、ＩＢＤを診断するため、及びＵＣ及びＣＤなどのＩＢＤの亜型を鑑別するための方法及びシステムを提供する。特定の実施形態では、本発明の方法及びシステムは、ＩＢＤ、ＣＤ及び／又はＵＣを有する患者を特定すること並びに価値のある診断の見識を医師に提供することを援助又は補助するために、１つ又は複数の（例えば多数の）遺伝子マーカーを、単独で又は１つ若しくは複数の血清学的な及び／又はタンパク質マーカーと組み合わせて、並びに単独で又は１つ若しくは複数のアルゴリズム（例えば、ランダムフォレストモデル及び決定木又はルールセット）若しくは他の種類の統計解析（例えば四分位数分析）と組み合わせて利用する。

【００６７】

[0086]一部の実施形態では、ＩＢＤを診断する方法はＮＫＸ２－３（ｒｓ１１９０１４０）バリアント対立遺伝子の検出を含む。他の実施形態では、ＩＢＤを診断する方法は、好ましくはＮＫＸ２－３（ｒｓ１０８８３３６５）バリアント対立遺伝子の検出を用いる。さらに別の実施形態では、ＩＢＤを診断する方法はＮＫＸ２－３（ｒｓ６５８４２８３）バリアント対立遺伝子の検出を用いる。一部の好ましい実施形態では、ＩＢＤを診断する方法はＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）バリアント対立遺伝子の検出を含む。さらなる実施形態では、ＩＢＤを診断する方法はＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ３８２８３０９）バリアント対立遺伝子の検出を含む。一部の実施形態では、ＩＢＤを診断する方法はＥＣＭ１（ｒｓ７５１１６４９）バリアント対立遺伝子の検出を用いる。他の好ましい実施形態では、ＩＢＤを診断する方法はＥＣＭ１（ｒｓ３７３２４０）バリアント対立遺伝子の検出を含む。さらに別の実施形態では、ＩＢＤを診断する方法はＥＣＭ１（ｒｓ１３２９４）バリアント対立遺伝子の検出を含む。一部の好ましい実施形態では、ＩＢＤを診断する方法はＳＴＡＴ３（ｒｓ７４４１６６）バリアント対立遺伝子の検出を含む。

【００６８】

[0087]一部の実施形態では、ＵＣを診断する方法はＮＫＸ２－３（ｒｓ１１９０１４０）バリアント対立遺伝子の検出を含む。他の実施形態では、ＵＣを診断する方法はＮＫＸ２－３（ｒｓ１０８８３３６５）バリアント対立遺伝子の検出を含む。さらに別の実施形態では、ＵＣを診断する方法はＮＫＸ２－３（ｒｓ６５８４２８３）バリアント対立遺伝子の検出を含む。一部の実施形態では、ＵＣを診断する方法はＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）バリアント対立遺伝子の検出を含む。さらなる実施形態では、ＵＣを診断する方法はＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ３８２８３０９）バリアント対立遺伝子の検出を含む。一部の実施形態では、ＵＣを診断する方法はＥＣＭ１（ｒｓ７５１１６４９）バリアント対立遺伝子の検出を含む。他の実施形態では、ＵＣを診断する方法はＥＣＭ１（ｒｓ３７３

２４０）バリアント対立遺伝子の検出を含む。さらに別の実施形態では、ＵＣを診断する方法はＥＣＭ１（ｒｓ１３２９４）バリアント対立遺伝子の検出を含む。一部の実施形態では、ＵＣを診断する方法はＳＴＡＴ３（ｒｓ７４４１６６）バリアント対立遺伝子の検出を含む。

【００６９】

[0088]一部の実施形態では、ＣＤを診断する方法はＮＫＸ２－３（ｒｓ１１９０１４０）バリアント対立遺伝子の検出を含む。他の実施形態では、ＣＤを診断する方法はＮＫＸ２－３（ｒｓ１０８８３３６５）バリアント対立遺伝子の検出を含む。さらに別の実施形態では、ＣＤを診断する方法はＮＫＸ２－３（ｒｓ６５８４２８３）バリアント対立遺伝子の検出を含む。一部の実施形態では、ＣＤを診断する方法はＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）バリアント対立遺伝子の検出を用いる。さらなる実施形態では、ＣＤを診断する方法はＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ３８２８３０９）バリアント対立遺伝子の検出を含む。一部の実施形態では、ＣＤを診断する方法はＥＣＭ１（ｒｓ７５１１６４９）バリアント対立遺伝子の検出を含む。他の実施形態では、ＣＤを診断する方法はＥＣＭ１（ｒｓ３７３２４０）バリアント対立遺伝子の検出を含む。さらに別の実施形態では、ＣＤを診断する方法はＥＣＭ１（ｒｓ１３２９４）バリアント対立遺伝子の検出を含む。一部の実施形態では、ＣＤを診断する方法はＳＴＡＴ３（ｒｓ７４４１６６）バリアント対立遺伝子の検出を含む。

【００７０】

[0089]他の実施形態では、ＩＢＤを診断する方法は、ＡＴＧ１６Ｌ１（例えば、ｒｓ２２４１８８０、ｒｓ３８２８３０９）、ＥＣＭ１（例えば、ｒｓ７５１１６４９、ｒｓ３７３２４０、ｒｓ１３２９４）、ＮＫＸ２－３（例えば、ｒｓ１１９０１４０、ｒｓ１０８８３３６５、ｒｓ６５８４２８３）及びＳＴＡＴ３（例えばｒｓ７４４１６６）からなる群から選択される１つ又は複数のバリアント対立遺伝子の検出を含む。

【００７１】

[0090]他の実施形態では、ＩＣを診断する及び／又は不確定なものとしてサンプルをカテゴリー化する方法は、ＡＴＧ１６Ｌ１（例えば、ｒｓ２２４１８８０、ｒｓ３８２８３０９）、ＥＣＭ１（例えば、ｒｓ７５１１６４９、ｒｓ３７３２４０、ｒｓ１３２９４）、ＮＫＸ２－３（例えば、ｒｓ１１９０１４０、ｒｓ１０８８３３６５、ｒｓ６５８４２８３）及びＳＴＡＴ３（例えばｒｓ７４４１６６）からなる群から選択される１つ又は複数のバリアント対立遺伝子の検出を含む。

【００７２】

[0091]他の実施形態では、ＵＣを診断する方法は、ＡＴＧ１６Ｌ１（例えば、ｒｓ２２４１８８０、ｒｓ３８２８３０９）、ＥＣＭ１（例えば、ｒｓ７５１１６４９、ｒｓ３７３２４０、ｒｓ１３２９４）、ＮＫＸ２－３（例えば、ｒｓ１１９０１４０、ｒｓ１０８８３３６５、ｒｓ６５８４２８３）及びＳＴＡＴ３（例えばｒｓ７４４１６６）からなる群から選択される１つ又は複数のバリアント対立遺伝子の検出を含む。

【００７３】

[0092]他の実施形態では、ＣＤを診断する方法は、ＡＴＧ１６Ｌ１（例えば、ｒｓ２２４１８８０、ｒｓ３８２８３０９）、ＥＣＭ１（例えば、ｒｓ７５１１６４９、ｒｓ３７３２４０、ｒｓ１３２９４）、ＮＫＸ２－３（例えば、ｒｓ１１９０１４０、ｒｓ１０８８３３６５、ｒｓ６５８４２８３）及びＳＴＡＴ３（例えばｒｓ７４４１６６）からなる群から選択される１つ又は複数のバリアント対立遺伝子の検出を含む。

【００７４】

[0093]遺伝子マーカー中のバリアント対立遺伝子の存在又は非存在は、本明細書に記載のアッセイを使用して決定することができる。バリアント対立遺伝子の状態を決定するために使用することができるアッセイには、これらに限定されないが、電気泳動分析アッセイ、制限長多型分析アッセイ、配列解析アッセイ、ハイブリダイゼーション分析アッセイ、ＰＣＲ分析アッセイ、対立遺伝子特異的ハイブリダイゼーション、オリゴヌクレオチドライゲーション対立遺伝子特異的伸長／ライゲーション、対立遺伝子特異的増幅、一塩基

伸長、分子反転プローブ、侵襲性切断、選択的終結、制限長多型性、配列決定、一本鎖コンホメーション多型性（ＳＳＣＰ）、一本鎖の鎖多型性、ミスマッチ切断、変性勾配ゲル電気泳動、及びそれらの組み合わせが含まれる。これらのアッセイは十分に記載されており、標準の方法が当分野で知られている。例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４～２００８），第７章及び補遺４７；Ｔｈｅｏｐｈｉｌｕｓら，“ＰＣＲ Ｍｕｔａｔｉｏｎ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ”，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ（２００２）；Ｉｎｎｉｓら，ＰＣＲ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．（１９９０）；Ｍａｎｉａｔｉｓら，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８２）；Ａｕｓｕｂｅｌら，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ａｎｄ Ｇｅｎｏｍｉｃｓ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４～２００８）；及びＡｕｓｕｂｅｌら，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４～２００８）（いずれも、参照によりすべての目的のためにそのまま本明細書に組み入れられる。）を参照されたい。

【００７５】

[0094]特定の実施形態では、本明細書に記載の方法は、ＡＮＣＡ及び／又はｐＡＮＣＡに基づいてＵＣを診断する方法と比較してＵＣの診断を改善させる。

【００７６】

[0095]他の実施形態では、ＩＢＤ及び／又は亜型（例えば、ＵＣ、ＣＤ）を診断する方法は、生体サンプルを血清学的マーカーの存在又はレベルについて分析する追加のステップを含み、血清学的マーカー存在又はレベルの検出と１つ又は複数のバリアント対立遺伝子の存在とが相まってＩＢＤ及び／又は亜型（例えば、ＵＣ、ＣＤ）の診断をさらに改善させる。

【００７７】

[0096]さらに別の実施形態では、ＩＢＤ及び／又は亜型（例えば、ＵＣ、ＣＤ）を診断する方法は、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体、抗微生物抗体、急性期タンパク質、アポリポタンパク質、デフェンシン、成長因子、サイトカイン、カドヘリン、細胞接着分子、又は本明細書に記載のマーカーの任意の組み合わせから選択される血清学的マーカーの検出を含む。

【００７８】

[0097]さらなる実施形態では、ＩＢＤ及び／又は亜型（例えば、ＵＣ、ＣＤ）を診断する方法は、ＡＮＣＡ及びｐＡＮＣＡのうちの一つ又はＡＮＣＡとｐＡＮＣＡの組み合わせから選択される抗好中球抗体を利用する。一実施形態では、抗好中球抗体は、免疫アッセイ（例えばＥＬＩＳＡ）によって検出されるＡＮＣＡなどの抗好中球細胞質抗体（ＡＮＣＡ）、免疫組織化学的アッセイ（例えばＩＦＡ）若しくはＤＮＡｓｅ感受性免疫組織化学的アッセイによって検出されるｐＡＮＣＡなどの核周囲型抗好中球細胞質抗体（ｐＡＮＣＡ）、又はそれらの組み合わせを含む。

【００７９】

[0098]さらに別の追加的な実施形態では、ＩＢＤ及び／又は亜型（例えば、ＵＣ、ＣＤ）を診断する方法は、抗サッカロマイセス・セレビシエ免疫グロブリンＡ（ＡＳＣＡ－ＩｇＡ）、抗サッカロマイセス・セレビシエ免疫グロブリンＧ（ＡＳＣＡ－ＩｇＧ）、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体を利用する。

【００８０】

[0099]さらに別の実施形態では、ＩＢＤ及び／又は亜型（例えば、ＵＣ、ＣＤ）を診断する方法は、抗外膜タンパク質Ｃ（抗ＯｍｐＣ）抗体、抗Ｉ２抗体、抗フラジェリン抗体（例えば、抗ＣＢｉｒ１抗体、抗Ｆｌａ２抗体（すなわち抗Ａ４－Ｆｌａ２）、抗Ｆｌａ

Ｘ抗体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される抗微生物抗体を利用する。
【００８１】
[0100]さらに別の実施形態では、ＩＢＤ及び／又は亜型（例えば、ＵＣ、ＣＤ）を診断する方法は、急性期タンパク質（例えばＣ反応性タンパク質（ＣＲＰ））を利用する。
【００８２】
[0101]さらに別の実施形態では、ＩＢＤ及び／又は亜型（例えば、ＵＣ、ＣＤ）を診断する方法は、アポリポタンパク質（例えば血清アミロイドＡ（ＳＡＡ））を利用する。
【００８３】
[0102]さらに別の実施形態では、ＩＢＤ及び／又は亜型（例えば、ＵＣ、ＣＤ）を診断する方法は、βデフェンシン（ＢＤ１）、βデフェンシン－２（ＢＤ２）、又はそれらの組み合わせからなる群から選択されるデフェンシンを利用する。
【００８４】
[0103]さらに別の実施形態では、ＩＢＤ及び／又は亜型（例えば、ＵＣ、ＣＤ）を診断する方法は、上皮成長因子（ＥＧＦ）、血管内皮成長因子（ＶＥＧＦ）、又はそれらの組み合わせからなる群から選択される成長因子を利用する。
【００８５】
[0104]さらに別の実施形態では、ＩＢＤ及び／又は亜型（例えば、ＵＣ、ＣＤ）を診断する方法は、ＴＮＦ関連のアポトーシスの弱い誘導因子（ＴＷＥＡＫ）、ＩＬ－１β、ＩＬ－６、又はそれらの組み合わせからなる群から選択されるサイトカインを利用する。
【００８６】
[0105]さらに別の実施形態では、ＩＢＤ及び／又は亜型（例えば、ＵＣ、ＣＤ）を診断する方法はカドヘリン（例えばＥ－カドヘリン）を利用する。
【００８７】
[0106]さらに別の実施形態では、ＩＢＤ及び／又は亜型（例えば、ＵＣ、ＣＤ）を診断する方法は、細胞間接着分子１（ＩＣＡＭ－１又はＩＣＡＭ）、血管細胞接着分子１（ＶＣＡＭ－１又はＶＣＡＭ）、又はそれらの組み合わせからなる群から選択される細胞接着分子を利用する。
【００８８】
[0107]他の実施形態では、血清学的マーカーは、ＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ（例えば、ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ及び／又はＤＮＡｓｅ感受性ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ）、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、抗ＯｍｐＣ抗体（ＯｍｐＣ）、抗ＣＢｉｒ－１抗体（ＣＢｉｒ１）、抗Ｆｌａ２抗体（Ｆｌａ２又はＡ４－Ｆｌａ２）、抗ＦｌａＸ抗体（ＦｌａＸ）、又はそれらの組み合わせを含むか、あるいはそれからなる。
【００８９】
[0108]他の実施形態では、炎症マーカーは、ＶＥＧＦ、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ、ＶＣＡＭ、又はそれらの組み合わせを含むか、あるいはそれからなる。
【００９０】
[0109]血清学的マーカー又は炎症マーカーの存在又は（濃度）レベルは、ハイブリダイゼーションアッセイ、増幅ベースのアッセイ、免疫アッセイ、免疫組織化学的アッセイ、又はそれらの組み合わせを用いて検出（例えば、決定、測定、分析）することができる。サンプル中の１つ又は複数の血清学的マーカーの存在又はレベルを検出又は決定するためのアッセイ、方法及びキットの非限定例は本明細書に記載されている。サンプル中の１つ又は複数の炎症マーカーの存在又はレベルを検出又は決定するためのアッセイ、方法及びキットの非限定例は本明細書に記載されている。
【００９１】
[0110]特定の実施形態では、本発明の方法及びシステムは、１つ又は複数の（例えば多数の）遺伝子マーカーを、単独で又は１つ若しくは複数の血清学的及び／又は炎症マーカーと組み合わせて利用する。
【００９２】
[0111]一態様において、本発明は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）と診断されている及び／又

は潰瘍性大腸炎（ＵＣ）の疑いのある個体におけるＵＣを診断するための方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、（ｉ）個体から得た生体サンプルを分析して、生体サンプルにおける複数の血清－遺伝子－炎症マーカーの存在、非存在又はレベルを決定して、マーカープロファイルを得るステップ（ここで、遺伝子は、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３又はＮＫＸ２－３のうちの１つ又は複数、血清学的マーカーは、ＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ（例えば、ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ及び／又はＤＮＡｓｅ感受性ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ）、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ－１抗体、抗Ｆｌａ２抗体、抗ＦｌａＸ抗体のうちの１つ又は複数、炎症マーカーは、ＶＥＧＦ、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ－１又はＶＣＡＭ－１のうちの１つ又は複数である。）と、（ｉｉ）ＵＣの診断を援助するために、マーカープロファイルに統計解析を適用して、個体に対する診断プロファイルを得るステップと、を含む。

【００９３】

[0112]他の態様において、本発明は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）と診断されている及び／又はクローン病（ＣＤ）の疑いのある個体におけるＣＤを診断するための方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、（ｉ）個体から得た生体サンプルを分析して、生体サンプルにおける複数の血清－遺伝子－炎症マーカーの存在、非存在又はレベルを決定して、マーカープロファイルを得るステップ（ここで、遺伝子は、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３又はＮＫＸ２－３のうちの１つ又は複数、血清学的マーカーは、ＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ（例えば、ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ及び／又はＤＮＡｓｅ感受性ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ）、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ－１抗体、抗Ｆｌａ２抗体、抗ＦｌａＸ抗体のうちの１つ又は複数、炎症マーカーは、ＶＥＧＦ、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ－１又はＶＣＡＭ－１のうちの１つ又は複数である。）と、（ｉｉ）ＣＤの診断を援助するためにマーカープロファイルに統計解析を適用して、個体に対する診断プロファイルを得るステップと、を含む。

【００９４】

[0113]他の態様において、本発明は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）と診断されている及び／又は分類不能大腸炎（ＩＣ）の疑いのある個体におけるＩＣを診断するための方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、（ｉ）個体から得た生体サンプルを分析して、生体サンプルにおける複数の血清－遺伝子－炎症マーカーの存在、非存在又はレベルを決定して、マーカープロファイルを得るステップ（ここで、遺伝子は、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３又はＮＫＸ２－３のうちの１つ又は複数、血清学的マーカーは、ＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ（例えば、ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ及び／又はＤＮＡｓｅ感受性ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ）、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ－１抗体、抗Ｆｌａ２抗体、抗ＦｌａＸ抗体のうちの１つ又は複数、炎症マーカーは、ＶＥＧＦ、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ－１又はＶＣＡＭ－１のうちの１つ又は複数である。）と、（ｉｉ）ＩＣの診断を援助するために、マーカープロファイルに統計解析を適用して、個体に対する診断プロファイルを得るステップと、を含む。

【００９５】

[0114]一部の実施形態では、本発明の方法は、ＵＣ、ＣＤ又はＩＣの診断を援助するために、個体に対する診断プロファイルを診断モデルに関係付けることを含むさらなるステップを含む。

【００９６】

[0115]一部の実施形態では、ＩＢＤと非ＩＢＤとを鑑別する方法は、生体サンプルにおける複数の血清－遺伝子－炎症マーカーの存在、非存在又はレベルの検出を含む。特定の実施形態では、複数の血清－遺伝子－炎症マーカーの存在、非存在又はレベルの検出はＩＢＤの指標になるが、非ＩＢＤの指標にならない。

【００９７】

[0116]特定の実施形態では、ＵＣとＣＤとを鑑別する方法は、ＩＢＤを有するものとして決定された患者由来の生体サンプルにおける複数の血清－遺伝子－炎症マーカーの存在、非存在又はレベルの検出を含む。一部の実施形態では、複数の血清－遺伝子－炎症マー

カーの存在、非存在又はレベルの検出はＵＣの指標になるが、ＣＤの指標にならない。他の実施形態では、複数の血清－遺伝子－炎症マーカーの存在、非存在又はレベルの検出はＣＤの指標になるが、ＵＣの指標にならない。

【００９８】

[0117]他の実施形態において、本発明は、個体群において、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体、抗微生物抗体、急性期タンパク質、アポリポタンパク質、デフェンシン、成長因子、サイトカイン、カドヘリンなどの血清学的マーカー；ＡＴＧ１６Ｌ１（例えば、ｒｓ２２４１８８０、ｒｓ３８２８３０９）、ＥＣＭ１（例えば、ｒｓ７５１１６４９、ｒｓ３７３２４０、ｒｓ１３２９４）、ＮＫＸ２－３（例えば、ｒｓ１１９０１４０、ｒｓ１０８８３３６５、ｒｓ６５８４２８３）及びＳＴＡＴ３（例えばｒｓ７４４１６６）の遺伝子バリアントなどの遺伝子マーカー；並びにこれらのマーカーの任意の組み合わせからなる群から選択される少なくとも１つの血清－遺伝子－炎症マーカーと潰瘍性大腸炎（ＵＣ）の存在との関連性を検出するための方法を提供する。一部の具体的な実施形態では、本方法は、（ｉ）ＩＢＤと診断されている及び／又はＵＣの疑いのある個体群から生体サンプルを得るステップと、（ｉｉ）生体サンプルをスクリーニングして、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体、抗微生物抗体、急性期タンパク質、アポリポタンパク質、デフェンシン、成長因子、サイトカイン、カドヘリンなどの血清学的マーカー；ＡＴＧ１６Ｌ１（例えば、ｒｓ２２４１８８０、ｒｓ３８２８３０９）、ＥＣＭ１（例えば、ｒｓ７５１１６４９、ｒｓ３７３２４０、ｒｓ１３２９４）、ＮＫＸ２－３（例えば、ｒｓ１１９０１４０、ｒｓ１０８８３３６５、ｒｓ６５８４２８３）及びＳＴＡＴ３（例えばｒｓ７４４１６６）の遺伝子バリアントなどの遺伝子マーカー、；並びに任意のそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも１つの血清－遺伝子－炎症マーカーの存在、非存在又はレベルを決定するステップと、（ｉｉｉ）血清学的マーカーのうちの１つ又は複数がＩＢＤと診断されている及び／又はＵＣの疑いのある個体群に偏っている統計的に有意な分布を示すかどうかを評価するステップであって、比較は、ＩＢＤと診断されている及び／又はＵＣの疑いのある個体群と対照個体群との間で行われる、ステップと、を含む。

【００９９】

[0118]さらに別の実施形態において、本発明は、個体群において、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体、抗微生物抗体、急性期タンパク質、アポリポタンパク質、デフェンシン、成長因子、サイトカイン、カドヘリンなどの血清学的マーカー；ＡＴＧ１６Ｌ１（例えば、ｒｓ２２４１８８０、ｒｓ３８２８３０９）、ＥＣＭ１（例えば、ｒｓ７５１１６４９、ｒｓ３７３２４０、ｒｓ１３２９４）、ＮＫＸ２－３（例えば、ｒｓ１１９０１４０、ｒｓ１０８８３３６５、ｒｓ６５８４２８３）及びＳＴＡＴ３（例えばｒｓ７４４１６６）の遺伝子バリアントなどの遺伝子マーカー；並びにマーカーの任意の組み合わせからなる群から選択される少なくとも１つの血清－遺伝子－炎症マーカーとクローン病（ＣＤ）の存在との関連性を検出するための方法を提供する。一部の具体的な実施形態では、本方法は、（ｉ）ＩＢＤと診断されている及び／又はＣＤの疑いのある個体群から生体サンプルを得るステップと、（ｉｉ）生体サンプルをスクリーニングして、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体、抗微生物抗体、急性期タンパク質、アポリポタンパク質、デフェンシン、成長因子、サイトカイン、カドヘリンなどの血清学的マーカー；ＡＴＧ１６Ｌ１（例えば、ｒｓ２２４１８８０、ｒｓ３８２８３０９）、ＥＣＭ１（例えば、ｒｓ７５１１６４９、ｒｓ３７３２４０、ｒｓ１３２９４）、ＮＫＸ２－３（例えば、ｒｓ１１９０１４０、ｒｓ１０８８３３６５、ｒｓ６５８４２８３）及びＳＴＡＴ３（例えばｒｓ７４４１６６）の遺伝子バリアントなどの遺伝子マーカー；並びに任意のそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも１つの血清－遺伝子－炎症マーカーの存在、非存在又はレベルを決定するステップと、（ｉｉｉ）血清学的マーカーのうちの１つ又は複数がＩＢＤと診断されている及び／又はＣＤの疑いのある個体群に偏っている統計的に有意な分布を示すかどうかを評価するステップであって、比較は、ＩＢＤと診断されている及び／又はＣＤの疑いのある個体群と対照個体群との間で行わ

れる、ステップと、を含む。

【０１００】

[0119]他の実施形態では、遺伝子マーカーは、表Ａ～Ｅ（例えば、表Ａ、Ｂ、Ｃ、Ｄ及び／又はＥ）に記載されている遺伝子の少なくとも１つである。一部の実施形態では、遺伝子マーカーはＮＫＸ２－３である。他の実施形態では、遺伝子マーカーはＡＴＧ１６Ｌ１である。さらに別の実施形態では、遺伝子マーカーはＥＣＭ１である。いくつかの実施形態では、遺伝子マーカーはＳＴＡＴ３である。遺伝子マーカーの遺伝子型は、例えば１つ又は複数の遺伝子マーカーの１つ又は複数の一塩基多型（ＳＮＰ）などの１つ又は複数のバリアント対立遺伝子の有無について、個体をジェノタイピングすることによって検出（例えば、決定、分析）することができる。一部の実施形態では、ＳＮＰは、表Ｂ～Ｅ（例えば、表Ｂ、Ｃ、Ｄ及び／又はＥ）に記載されているＳＮＰの少なくとも１つである。サンプル中の１つ又は複数の遺伝子マーカーの遺伝子型を検出又は決定するための方法の非限定例は本明細書に記載されている。いくつかの実施形態では、遺伝子マーカーはＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＮＫＸ２－３及び／又はＳＴＡＴ３である。いくつかの例では、１つ又は複数のＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＮＫＸ２－３及び／又はＳＴＡＴ３のＳＮＰの有無は、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体、抗微生物抗体、急性期タンパク質、アポリポタンパク質、デフェンシン、成長因子、サイトカイン、カドヘリン、細胞接着分子、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルと組み合わせて決定される。非限定例としては、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ－１抗体、抗フラジェリン抗体、ｐＡＮＣＡ（例えば、ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ及び／又はＤＮＡｓｅ感受性ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ）、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＡＮＣＡ、ＶＥＧＦ、ＩＣＡＭ、ＶＣＡＭ、又はそれらの組み合わせが挙げられる。

【０１０１】

[0120]さらなる態様では、本明細書に記載のマーカーのうちの１つ又は複数を測定するためのパネルは、ＩＢＤの診断及び／又はＵＣとＣＤとの鑑別のための本発明のアプローチに関する関連情報をもたらすために構築されていてもよい。そのようなパネルは、遺伝子、生化学的、血清学的、タンパク質、炎症性、又は本明細書に記載の他のマーカーなどの、少なくとも１個、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個、２０個、２５個、３０個、３５個、４０個、又はそれより多くの個々のマーカーの存在（若しくは非存在）又はレベルを検出又は決定するために構築されていてもよい。本発明のマーカープロファイルは、１つ又は複数の本明細書に記載のマーカーの測定値を含む。また、単一のマーカー又はマーカーのサブセットの分析は、当業者によって種々の臨床設定において実施することもできる。それらには、例えば、通院、応急手当、救命医療、集中治療、モニタリングユニット、入院患者、外来患者、医院、診療所、及び集団検診の設定が含まれる。

【０１０２】

[0121]一部の実施形態では、マーカーの分析は種々の物理的様式で実施することができる。例えば、多数の試験サンプルの処理を容易にするために、マイクロタイタープレート又は自動化を使用することができる。あるいは、適時の様式での処置、診断、及び予後診断を容易にするために、単一サンプルの様式を開発することができる。

【０１０３】

[0122]いくつかの実施形態では、本方法は、ＩＢＤ診断を援助するために、統計解析の結果（すなわち診断プロファイル）を参照（すなわち診断モデル）と比較することをさらに含む。特定の実施形態では、本方法は、医師に価値のある診断の見識を提供するために、多数の血清学的、タンパク質及び／又は遺伝子マーカーを利用する。

【０１０４】

[0123]本発明の方法では、マーカープロファイルは、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０のマーカーの存在、レベル又は遺伝子型を検出することによって決定することができる。特

定の実施形態では、サンプルは、血清、血漿、全血及び／又は便である。他の実施形態では、個体はクローン病（ＣＤ）、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）又は不確定と診断される。

【０１０５】

[0124]マーカープロファイルに適用される統計解析は、本明細書に記載の種々の統計的な方法、モデル及びアルゴリズムのうちのいずれかを含み得る。特定の実施形態では、統計解析は四分位数分析である。一部の例では、四分位数分析は、各マーカーの存在、レベル又は遺伝子型を四分位数スコアに変換する。非限定例としては、ＩＢＤ診断は、各マーカーに対する四分位数スコアを合計することによって得られる、個体に対する合計四分位数スコア（ＱＳＳ）に基づいて行うことができる。他の実施形態では、統計解析は、本明細書に記載の１つ又は複数の学習統計的分類子システムを含む。特定の実施形態では、統計解析は少なくとも２つの学習統計的分類子システムの組み合わせを含む。そうした組み合わせの非限定例としては、例えばタンデムで適用される、決定／分類木（例えば、分類及び回帰木（Ｃ＆ＲＴ）、ランダムフォレスト）及び神経回路網が挙げられる。いくつかの例では、本方法は、第１の統計解析（例えば、決定／分類木又はランダムフォレスト）を各マーカーについて決定された存在、レベル又は遺伝子型に適用して、予測又は確率値を生成するステップと、次いで、第２の統計解析（例えば、決定／分類木又はランダムフォレスト）を予測若しくは確率値及び各マーカーについて決定された存在、レベル若しくは遺伝子型に適用して、（例えば、ＩＢＤサンプル若しくは非ＩＢＤサンプルとしてサンプルを分類することによって）ＩＢＤ診断を援助する及び／又はＵＣとＣＤとを鑑別するステップと、を含む。いくつかの実施形態では、第１のランダムフォレストがマーカープロファイルに適用され、続いて決定木又はルールセット、続いてさらに別のランダムフォレストが適用される。

【０１０６】

[0125]他の実施形態では、診断プロファイルは個体に対する合計四分位数スコア（ＱＳＳ）であり、ＱＳＳは診断モデル（例えば、血清学的モデル、血清－遺伝子－炎症モデル、標準化されたリスク尺度）と比較される。いくつかの実施形態では、ＱＳＳが、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４などより大きい（例えば、好ましくは１０より大きい）場合は、個体は疾患の確率が高いと予測される。

【０１０７】

[0126]いくつかの実施形態では、診断モデルは、ＩＢＤの臨床亜型（例えば、ＣＤ、ＵＣ）の既知の転帰を使用する後ろ向きコホートを用いて確立される。好ましい実施形態では、診断モデルは、血清学的モデル、血清－遺伝子－炎症モデル、遺伝子モデル、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される。特定の一実施形態では、血清学的モデルは、後ろ向きコホートで決定された１つ又は複数の血清学的マーカーの存在又はレベルに対してロジスティック回帰分析を適用することによって得られる。他の特定の実施形態では、血清－遺伝子－炎症モデルは、後ろ向きコホートで決定された１つ又は複数の血清学的マーカー及び１つ又は複数の遺伝子マーカーの遺伝子型の存在又はレベルに対してロジスティック回帰分析を適用することによって得られる。他の実施形態では、血清－遺伝子－炎症モデルは、後ろ向きコホートで決定された１つ又は複数の血清学的マーカー及び１つ又は複数の遺伝子マーカーの遺伝子型の存在又はレベルに対してランダムフォレストモデルを適用することによって得られる。

【０１０８】

[0127]特定の実施形態では、本明細書に記載の方法は、（少なくとも）約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％（又はその中の任意の範囲）の割合で、個体の診断プロファイル（例えばＱＳＳ）に基づいて、また、１つ又は複数の遺伝子マーカー（例えば、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＥＣＭ１及び／又はＮＫＸ２－３）における１つ

又は複数のバリアント対立遺伝子の有無、並びに１つ又は複数の血清学的マーカー（例えば、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ－１抗体、抗フラジェリン抗体、ｐＡＮＣＡ（例えば、ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ及び／又はＤＮＡｓｅ感受性ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ）、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＡＮＣＡ、ＶＥＧＦ、ＩＣＡＭ、ＶＣＡＭ、又はそれらの組み合わせ）のレベルと任意選択で組み合わせて、ＵＣ又はＣＤ診断の予測を提供する。

【０１０９】

[0128]いくつかの実施形態では、参照（濃度）レベルは、ＣＤを有さない個体（例えば、健常個体、非ＣＤ個体、非ＩＢＤ個体、ＵＣ個体）に由来するサンプルにおけるマーカーのうちの一つの（濃度）レベルに対応する。他のいくつかの実施形態では、参照遺伝子型は、遺伝子マーカーのうちの一つの野生型遺伝子型（例えば、非バリアント対立遺伝子又はＳＮＰ）に対応する。

【０１１０】

[0129]特定の実施形態では、本明細書に記載の方法は、（少なくとも）約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％（又はその中の任意範囲）の割合で、個体の診断プロファイル（例えばＱＳＳ）に基づいて、また、１つ又は複数の遺伝子マーカー（例えば、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＮＫＸ２－３及び／又はＳＴＡＴ３）における１つ又は複数のバリアント対立遺伝子の有無、並びに１つ又は複数の血清学的マーカー（例えば、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ－１抗体、抗フラジェリン抗体、ｐＡＮＣＡ（例えば、ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ及び／又はＤＮＡｓｅ感受性ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ）、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＡＮＣＡ、ＶＥＧＦ、ＩＣＡＭ、ＶＣＡＭ、又はそれらの組み合わせ）のレベルと任意選択で組み合わせて疾患の予測を提供する。

【０１１１】

[0130]いくつかの実施形態では、参照（濃度）レベルは、ＩＢＤを有さない個体（例えば、健常個体、非ＩＢＤ個体、非ＣＤ個体、非ＵＣ個体）に由来するサンプルにおけるマーカーのうちの一つの（濃度）レベルに対応する。他のいくつかの実施形態では、参照遺伝子型は、遺伝子マーカーのうちの一つの野生型遺伝子型（例えば、非バリアント対立遺伝子又はＳＮＰ）に対応する。

【０１１２】

[0131]特定の実施形態では、本明細書に記載の方法は、（少なくとも）約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％（又はその中の任意範囲）のＩＢＤ（又はその臨床亜型）の確率を個体のマーカーレベル及び／又は遺伝子型に基づいて提供する。

【０１１３】

[0132]いくつかの実施形態では、本方法は、ＩＢＤ診断を援助するために、統計解析の結果（すなわち診断プロファイル）を参照（すなわち診断モデル）と比較することをさらに含む。一部の例では、診断モデルは、参照表又はグラフなどの表示、印字出力及び／又は報告を含む。他の例では、診断プロファイルは、個体に対する合計四分位数スコア（ＱＳＳ）であり、ＱＳＳは診断モデルと比較される。一部の実施形態では、ＱＳＳが、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４などより大きい場合は、個体はＩＢＤを有する確率が高いと予測される。

【０１１４】

[0133]いくつかの好ましい実施形態では、本発明のＩＢＤ診断アルゴリズムは、１７種の血清－遺伝子－炎症の生物学的マーカー（例えば、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ

－Ｇ、ｐＡＮＣＡ、ＦｌａＸ、ＳＡＡ、Ｆｌａ２、ＩＣＡＭ、ＯｍｐＣ、ＣＢｉｒ１、ＶＣＡＭ、ＣＲＰ、ＮＫＸ２－３、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＥＣＭ１及びＶＥＧＦ）由来の測定値を使用して、ＩＢＤ対非ＩＢＤを予測するための第１のランダムフォレストモデルに基づいてモデルスコアを算出する（１１０）。第１のランダムモデルは、患者のサンプルがＩＢＤであるか又は非ＩＢＤサンプルであるかどうかを決定する。スコアが、ＩＢＤ対非ＩＢＤのカットオフ未満（例えば＜０．６４）であるならば、サンプルは、ＩＢＤを有する患者由来、すなわちＩＢＤサンプルであると予測される（１２５）。そうでなければ、サンプルは、ＩＢＤを有さない患者由来と予測される（１２０）。ＩＢＤを有するものとして予測されるサンプルは、アルゴリズムの次のステップへ進み、このステップは、分類不能大腸炎（ＩＣ）を除外する又はサンプルを不確定としてカテゴリー化するのを除外するように設計されている決定木又はルールセットである（１３０）。サンプルがＩＣルールのいずれかに対するパターンに一致するならば、アルゴリズムは、ＩＢＤサンプルをＩＣであると予測するか、又はアルゴリズムは不確定としてサンプルをカテゴリー化する（１３５）。そうでなければ、サンプルはアルゴリズムの次のステップに進み（１４０）、このステップは、ＵＣ又はＣＤを予測するための第２のランダムフォレストモデルである（１５０）。本発明の診断アルゴリズムは、１１種の血清－遺伝子－炎症の生物学的マーカー（例えば、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、ＦｌａＸ、Ｆｌａ２、ｐＡＮＣＡ、ＯｍｐＣ、ＣＢｉｒ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＶＥＧＦ、及びそれらの組み合わせ）由来の測定値を使用して、ＵＣ又はＣＤを予測するための第２のランダムフォレストモデルに基づいてモデルスコアを算出する。スコアが、ＵＣ対ＣＤカットオフ（例えば０．３５）未満であるならば、アルゴリズムは、ＣＤを有するものとしてサンプルを予測する（１５３）。スコアがカットオフより高ければ、アルゴリズムはＵＣを有するものとしてサンプルを予測する（１５５）。

【０１１５】

[0134]いくつかの実施形態では、ＩＣルール又は不確定ルールは、ＡＮＣＡ≧Ｑ３、ｐＡＮＣＡ２陽性、及び抗Ｃｂｉｒ１抗体、Ｆｌａ２抗体若しくは抗ＦｌａＸ抗体のいずれかが≧Ｑ３であり得る。他の実施形態では、ＩＣルールは、ｐＡＮＣＡ２陽性、及び血清学的な抗フラジェリン抗体（例えば、抗Ｃｂｉｒ１抗体、抗Ｆｌａ２抗体、抗ＦｌａＸ抗体）マーカーのうちの任意の２種が≧Ｑ３であり得る。いくつかの態様では、ＩＣルールは不確定ルールでもある。

【０１１６】

[0135]本発明の方法が、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、又は１７種の血清－遺伝子－炎症マーカーをＩＢＤ診断試験に使用することを含み、診断試験が診断アルゴリズムを含み、アルゴリズムが、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、又は１７種の血清－遺伝子－炎症マーカーを含むサンプルセット（例えば訓練セット）から生じることは、当業者であれば分かるであろう。血清遺伝子マーカーの非限定例としては、例えば、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、ｐＡＮＣＡ、ＦｌａＸ、ＳＡＡ、Ｆｌａ２、ＩＣＡＭ、ＯｍｐＣ、ＣＢｉｒ１、ＶＣＡＭ、ＣＲＰ、ＮＫＸ２－３、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＥＣＭ１、ＶＥＧＦ、及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【０１１７】

[0136]一部の実施形態では、診断モデルは、参照表又はグラフなどの表示、印字出力及び／又は報告を含む。特定の実施形態では、参照表又はグラフは、ＩＢＤを有する又は有さない個体の累積確率を提供する。他のいくつかの実施形態では、参照表又はグラフは、ＩＢＤを有する又は有さない個体の累積確率を提供する。他のいくつかの実施形態では、参照表又はグラフは、ＩＣを有する又は有さない個体の累積確率を提供する。他の実施形態では、参照表又はグラフは、ＣＤを有する又は有さない個体の累積確率を提供する。参照表又はグラフは、ＵＣを有する又は有さない個体の累積確率を提供することもできる。

【０１１８】

ＩＶ．ＩＢＤの臨床亜型

炎症性腸疾患（ＩＢＤ）は、大腸及び小腸の一群の炎症状態である。ＩＢＤの主な形態は、クローン病（ＣＤ）及び潰瘍性大腸炎（ＵＣ）である。ＩＢＤの他の稀な形態には、例えば、分類不能大腸炎（ＩＣ）、コラーゲン大腸炎、リンパ球性大腸炎、虚血性大腸炎、空置大腸炎、ベーチェット症候群、感染性大腸炎が含まれる。ＣＤ及びＵＣに関して不確定のＩＢＤもＩＢＤの形態として本明細書に含まれる。

【０１１９】

Ａ．クローン病

クローン病（ＣＤ）とは、胃腸管の任意の部分に関与する場合がある、慢性炎症の疾患である。一般的に、小腸の遠位部分、すなわち回腸、及び盲腸が冒される。他の事例では、疾患は小腸、結腸、又は肛門直腸の領域に限局されている。ＣＤは、時折十二指腸及び胃に、より稀に食道及び口腔に関与する。

【０１２０】

[0139]ＣＤの変動する臨床徴候は、部分的に、疾患の変動する解剖学的局在化の結果である。ＣＤの最も頻度の高い症状は、腹痛、下痢、及び回帰熱である。ＣＤは、一般的に、腸閉塞又は腸瘻、腸の罹患したループ間の異常な通路に関連づけられている。また、ＣＤには、眼、関節、及び皮膚の炎症、肝疾患、腎結石、並びにアミロイド症などの合併症も含まれる。さらに、ＣＤは、腸癌のリスクの増加に関連づけられている。

【０１２１】

[0140]いくつかの特長は、ＣＤ病理に特徴的である。貫壁性炎症として知られるＣＤに関連づけられている炎症は、腸壁の全層に関与する。例えば、肥厚及び浮腫も、典型的には腸壁全体にわたって出現し、線維症が疾患の長期にわたる形態で存在する。ＣＤの炎症特徴は、「飛び石病変」として知られる炎症組織の区域が見かけ上正常な腸管によって分離されているという点で不連続である。さらに、介在組織の線状潰瘍形成、浮腫、及び炎症は、ＣＤに特有な腸管粘膜の「敷石状」の外見をもたらす。

【０１２２】

[0141]ＣＤの特徴は、一般に粘膜下層で見つかる、肉芽腫として知られる炎症細胞の孤立性の凝集の存在である。一部のＣＤ症例は典型的な孤立性の肉芽腫を示す一方で、他のものはびまん性肉芽腫性反応又は非特異的な貫壁性炎症を示す。その結果、孤立性の肉芽腫の存在はＣＤの指標であるが、肉芽腫の非存在も疾患において一貫している。したがって、肉芽腫の存在ではなく、貫壁性又は不連続の炎症がＣＤの好ましい診断的指標である（Ｒｕｂｉｎ及びＦａｒｂｅｒ，Ｐａｔｈｏｌｏｇｙ（第２版），Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，Ｊ．Ｂ．Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ　Ｃｏｍｐａｎｙ（１９９４））。

【０１２３】

[0142]クローン病は、疾患が進行する際の挙動によってカテゴリー化してもよい。これはクローン病のウィーン分類に形式化されている。Ｇａｓｃｈｅら，Ｉｎｆｌａｍｍ．Ｂｏｗｅｌ　Ｄｉｓ．，６：８～１５（２０００）を参照されたい。クローン病では３つの疾患提示のカテゴリー、すなわち、（１）狭窄性、（２）穿通性、及び（３）炎症性が存在する。狭窄性疾患は、腸閉塞又は糞便の口径の変化をもたらすことがある、腸の狭小化を引き起こす。穿通性疾患は、腸と皮膚などの他の構造との間に異常な通路（瘻孔）を生じる。炎症性疾患（非狭窄性、非穿通性疾患としても知られる。）は、狭窄又は瘻孔を引き起こさずに炎症を引き起こす。

【０１２４】

[0143]したがって、クローン病は胃腸管を冒すいくつかの異種の疾患亜型を表し、同様の症状を生じることがある。ＣＤに関連して本明細書中で使用される用語「臨床亜型」には、１つのＣＤの分類を他のものから区別する１セットの臨床基準によって定義されたＣＤの分類が含まれる。非限定的な例として、ＣＤを有する対象は、本明細書に記載されている狭窄性（例えば内部狭窄性）、穿通性（例えば内部穿通性）又は炎症性疾患に罹患しているとして分類することができる。あるいは、これらの対象は、それに加えて若しくはその代わりに、線維狭窄性疾患、小腸疾患、内部穿孔性疾患、肛門周囲瘻形成疾患、ＵＣ様疾患、小腸手術の必要性、ＵＣ特長の非存在、又はそれらの組み合わせに罹患している

として分類することができる。

【０１２５】

[0144]いくつかの例では、ＣＤを有する対象は、狭窄性又は穿通性の表現型によって特徴づけられている臨床亜型である合併ＣＤに罹患しているとして分類することができる。他のいくつかの例では、ＣＤを有する対象は、次の合併症：線維狭窄症、内部穿孔性疾患、及び小腸手術の必要性のうちの１つ又は複数によって特徴づけられているＣＤの形態に罹患しているとして分類することができる。さらなる例では、ＣＤを有する対象は、小腸手術を必要とする侵襲性形態の線維狭窄性疾患に罹患しているとして分類することができる。これらの亜型に関連する基準は、例えば、Ｇａｓｃｈｅら，Ｉｎｆｌａｍｍ．Ｂｏｗｅｌ　Ｄｉｓ．，６：８～１５（２０００）；Ａｂｒｅｕら，Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ，１２３：６７９～６８８（２００２）；Ｖａｓｉｌｉａｕｓｋａｓら，Ｇｕｔ，４７：４８７～４９６（２０００）；Ｖａｓｉｌｉａｕｓｋａｓら，Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ，１１０：１８１０～１８１９（１９９６）；及びＧｒｅｅｎｓｔｅｉｎら，Ｇｕｔ，２９：５８８～５９２（１９８８）に記載されている。

【０１２６】

[0145]ＣＤの「線維狭窄性亜型」は、線維狭窄性疾患の１つ又は複数の認められている特徴によって特徴づけられているＣＤの分類である。線維狭窄性疾患のそのような特徴には、これらに限定されないが、記述されている持続性の腸閉塞又は腸閉塞の腸切除が含まれる。ＣＤの線維狭窄性亜型には穿孔、膿瘍、又は瘻孔などの他の症状が伴う場合があり、嘔気、嘔吐、腹部膨満、及び固形食品の摂食不能などの持続性の腸管遮断の症状によってさらに特徴づけることができる。ＣＤの線維狭窄性亜型を有する患者の腸管のＸ線は、例えば、遮断点より前の腸の膨満感を示す場合がある。

【０１２７】

[0146]ＣＤの線維狭窄性亜型を有する対象における小腸手術の必要性は、この亜型のより侵襲性の形態を示している場合がある。ＣＤの追加の亜型も当分野で知られており、定義された臨床基準を使用して同定することができる。例えば、内部穿孔性疾患は、腸管－腸内若しくは腸管－小胞の瘻孔、腹腔内膿瘍、又は小腸穿孔の現在又は以前の証拠によって定義されたＣＤの臨床亜型である。肛門周囲穿孔性疾患は、肛門周囲の瘻孔若しくは膿瘍又は直腸腟瘻の現在又は以前の証拠によって定義されたＣＤの臨床亜型である。ＣＤのＵＣ様臨床亜型は、左側結腸障害、出血又は緊急の症状、及び結腸生検の陰窩膿瘍の現在又は以前の証拠によって定義することができる。疾患の位置は、１つ又は複数の内視鏡、放射線又は病理学の研究に基づいて分類することができる。

【０１２８】

[0147]当業者は、ＣＤの臨床亜型間に重複が存在する場合があり、ＣＤに罹患している対象はＣＤの複数の臨床亜型を有する場合があることを理解している。例えば、ＣＤに罹患している対象はＣＤの線維狭窄性亜型を有することができ、小腸手術の必要性又は内部穿孔性疾患亜型によって特徴づけられている臨床亜型の臨床基準も満たすことができる。同様に、本明細書に記載のマーカーはＣＤの複数の臨床亜型に関連づけることができる。

【０１２９】

Ｂ．潰瘍性大腸炎

潰瘍性大腸炎（ＵＣ）とは、痙攣、腹痛、直腸出血、血液の緩い分泌、膿、及び粘液を伴った慢性下痢によって特徴づけられている大腸の疾患である。ＵＣの徴候は広く変動する。増悪及び寛解のパターンがＵＣ患者の約７０％の臨床的経過の典型であるが、寛解のない連続的な症状がＵＣを有する一部の患者で存在する。ＵＣの局所的及び全身性の合併症には、関節炎、ブドウ膜炎などの眼の炎症、皮膚潰瘍、及び肝疾患が含まれる。さらに、ＵＣ、特に疾患の長期にわたる大規模な形態は結腸癌のリスクの増加に関連づけられている。

【０１３０】

[0149]ＵＣは、通常は直腸の最も遠位の部分から可変距離で近位に伸びる、びまん性疾患である。用語「左側大腸炎」とは、脾臓湾曲部にまで伸びる結腸の遠位部分に関与する

炎症を説明する。直腸が冒されないこと（ｓｐａｒｉｎｇ）又は結腸の右側（近位部分）が単独で関与することはＵＣでは珍しい。ＵＣの炎症プロセスは結腸に限定されており、例えば小腸、胃又は食道には及ばない。さらに、ＵＣは、一般に腸壁のより深層は冒さない粘膜の表在性炎症によって区別される。また、変性腸管陰窩が好中球で満たされている陰窩膿瘍もＵＣにおいて典型的である（Ｒｕｂｉｎ及びＦａｒｂｅｒ（上記））。

【０１３１】

[0150]いくつかの例では、ＵＣに関して、症状の可変性は、疾患の程度（すなわち、炎症を起こしている結腸及び直腸の量）及び炎症の強度の相違を反映する。疾患は直腸から始まり、結腸を「上に」移動して器官のより多くの部分に及ぶ。ＵＣは、関与した結腸の量によってカテゴリー化することができる。典型的には、炎症が直腸及び直腸に隣接する結腸の短い区域に限局されている患者は、より広汎性の結腸の炎症を有する患者よりも軽度な症状及び良好な予後診断を有する。

【０１３２】

[0151]直腸が高頻度で冒されていない、斑状の疾患であるＣＤに比べて、ＵＣは、通常は近位よりも遠位でより重度である結腸の連続的な炎症によって特徴づけられている。ＵＣにおける炎症は、通常は粘膜層に限定されているという点で表在性であり、好中球及び陰窩膿瘍を伴った急性炎症性浸潤によって特徴づけられている。対照的に、ＣＤは腸壁の厚さ全体を冒し、必ずではないが多くの場合に肉芽腫が存在する。回盲弁で、又はそれに遠位の結腸中で終結する疾患はＵＣの指標である一方で、回腸末端の関与、敷石状様の外見、孤立性の潰瘍、又は瘻孔はＣＤを示唆する。

【０１３３】

[0152]種々の潰瘍性大腸炎が炎症の位置及び程度に従って分類されている。ＵＣに関連して本明細書中で使用される用語「臨床亜型」には、１つのＵＣの分類を他のものから区別する１セットの臨床基準によって定義されたＵＣの分類が含まれる。非限定的な例として、ＵＣを有する対象は、潰瘍性直腸炎、直腸Ｓ状結腸炎、左側大腸炎、汎大腸炎、劇症大腸炎、及びそれらの組み合わせに罹患しているとして分類することができる。これらの亜型に関連する基準は、例えばＫｏｒｎｂｌｕｔｈら，Ａｍ．Ｊ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．，９９：１３７１～８５（２００４）に記載されている。

【０１３４】

[0153]潰瘍性直腸炎とは、直腸に限定されている炎症によって定義されたＵＣの臨床亜型である。直腸Ｓ状結腸炎とは、直腸及びＳ状結腸を冒すＵＣの臨床亜型である。左側大腸炎とは、結腸の左側全体の、直腸から結腸が脾臓付近で曲がって上腹部を横切り始める場所（脾臓湾曲部）を冒すＵＣの臨床亜型である。汎大腸炎とは、結腸全体を冒すＵＣの臨床亜型である。劇症大腸炎は、汎大腸炎の稀であるが重度の形態である。劇症大腸炎を有する患者は病状が非常に重く、脱水、重度の腹痛、出血を伴う遅延性の下痢、さらにはショックを伴っている。

【０１３５】

[0154]一部の実施形態では、ＵＣの臨床亜型の分類は、有効な処置経過を計画する際に重要である。潰瘍性直腸炎、直腸Ｓ状結腸炎、及び左側大腸炎は、ステロイド系又は他の浣腸及び泡沫を含む肛門から導入した局所剤で処置することができる一方で、汎大腸炎は、活性成分が結腸の冒された部分の全体に達することができるように、経口医薬品で処置しなければならない。

【０１３６】

[0155]当業者は、ＵＣの臨床亜型間に重複が存在する場合があり、ＵＣに罹患している対象はＵＣの複数の臨床亜型を有する場合があることを理解している。同様に、本明細書に記載の予後診断マーカーはＵＣの複数の臨床亜型に関連づけることができる。

【０１３７】

Ｃ．分類不能大腸炎

分類不能大腸炎（ＩＣ）とは、ＣＤ及びＵＣの両方の特長が含まれるＩＢＤの臨床亜型である。両疾患の症状のそのような重複は、ＩＣを有する患者において一時的に（例えば

、疾患の初期に）又は持続的に（例えば、疾患が進行する間中）起こる場合がある。臨床的には、ＩＣは、直腸出血を伴う又は伴わない腹痛及び下痢によって特徴づけられている。例えば、正常な粘膜によって分離された断続的な多数の潰瘍形成を有する大腸炎が、この疾患を有する患者で見つかる。組織学的には、貫壁性炎症を伴った重度の潰瘍形成のパターンが存在する。直腸には典型的には疾患が存在せず、リンパ系炎症細胞は凝集を示さない。ＩＣを有する患者では、深いスリット様の亀裂が筋細胞溶解の病巣で観察されるが、介在粘膜は典型的には最小限に鬱血しており、杯細胞は保存されている。いくつかの態様では、決定木又はルールセットは不確定又はＩＣとしてサンプルをカテゴリー化する。

【０１３８】

Ｖ．ＩＢＤマーカー

生化学マーカー、血清学的マーカー、タンパク質マーカー、遺伝子マーカー及び臨床的又は超音波検査の他の特徴を含む種々のＩＢＤマーカーは、ＩＢＤを診断若しくは予測するため又はＩＢＤの診断若しくは予測を援助若しくは改善するための本発明の方法において使用するのに適する。例えば、米国特許出願公開第２０１１００４５４７６号及び国際出願番号ＰＣＴ／ＵＳ２０１１／０３９１７４（その開示内容は、参照によりすべての目的のためにそのまま本明細書に組み入れられる。）を参照されたい。いくつかの態様では、本明細書に記載の診断方法は、アルゴリズム（例えば統計解析）を、ＩＢＤマーカーのうちの１つ又は複数について決定された存在、濃度レベル、又は遺伝子型に適用することを利用して、ＩＢＤの診断又は予測を援助若しくは補助する。

【０１３９】

[0158]ＩＢＤマーカーの非限定的な例には、（ｉ）例えば、サイトカイン、成長因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体、抗微生物抗体、急性期タンパク質、アポリポタンパク質、デフェンシン、カドヘリン、細胞接着分子、及びそれらの組み合わせなどの生化学的、血清学的、及びタンパク質マーカー、（ｉｉ）例えば表Ａ～Ｅに記載されている遺伝子のうちのいずれか１つ又はそれらの遺伝子の組み合わせなどの遺伝子マーカー、及び（ｉｉｉ）血清学的及び遺伝子マーカーの組み合わせが含まれる。

【０１４０】

Ａ．サイトカイン

サンプル中の少なくとも１つのサイトカインの存在又はレベルの決定は本発明において有用であり得る。本明細書において、用語「サイトカイン」には、種々の免疫系の機能を調節する免疫細胞によって分泌された種々のポリペプチド又はタンパク質のうちの任意のものが含まれ、ケモカインなどの小サイトカインが包含される。また、用語「サイトカイン」には、例えば、体重、造血、血管形成、創傷治癒、インスリン耐性、免疫応答、及び炎症反応の調節において機能する脂肪細胞によって分泌されたサイトカインの群を含むアディポサイトカインも含まれる。

【０１４１】

[0160]いくつかの態様では、これらに限定されないが、ＴＮＦ－α、ＴＮＦ関連のアポトーシスの弱い誘導因子（ＴＷＥＡＫ）、オステオプロテゲリン（ＯＰＧ）、ＩＦＮ－α、ＩＦＮ－β、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１α、ＩＬ－１β、ＩＬ－１受容体拮抗剤（ＩＬ－１ｒａ）、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、可溶性ＩＬ－６受容体（ｓＩＬ－６Ｒ）、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ－１５、ＩＬ－１７、ＩＬ－２３、及びＩＬ－２７を含む少なくとも１つのサイトカインの存在又はレベルをサンプル中で決定する。他のいくつかの態様では、例えば、ＣＸＣＬ１／ＧＲＯ１／ＧＲＯα、ＣＸＣＬ２／ＧＲＯ２、ＣＸＣＬ３／ＧＲＯ３、ＣＸＣＬ４／ＰＦ－４、ＣＸＣＬ５／ＥＮＡ－７８、ＣＸＣＬ６／ＧＣＰ－２、ＣＸＣＬ７／ＮＡＰ－２、ＣＸＣＬ９／ＭＩＧ、ＣＸＣＬ１０／ＩＰ－１０、ＣＸＣＬ１１／Ｉ－ＴＡＣ、ＣＸＣＬ１２／ＳＤＦ－１、ＣＸＣＬ１３／ＢＣＡ－１、ＣＸＣＬ１４／ＢＲＡＫ、ＣＸＣＬ１５、ＣＸＣＬ１６、ＣＸＣＬ１７／ＤＭＣ、ＣＣＬ１、ＣＣＬ２／ＭＣＰ－１、ＣＣＬ３／ＭＩＰ－１α、ＣＣＬ４／ＭＩＰ－１β、ＣＣＬ５／ＲＡＮＴＥＳ、ＣＣＬ６／Ｃ１０、ＣＣＬ７／ＭＣＰ－３、ＣＣＬ８／ＭＣＰ－２、ＣＣＬ９／ＣＣＬ１０、ＣＣＬ１１／エ

オタキシン、ＣＣＬ１２／ＭＣＰ－５、ＣＣＬ１３／ＭＣＰ－４、ＣＣＬ１４／ＨＣＣ－１、ＣＣＬ１５／ＭＩＰ－５、ＣＣＬ１６／ＬＥＣ、ＣＣＬ１７／ＴＡＲＣ、ＣＣＬ１８／ＭＩＰ－４、ＣＣＬ１９／ＭＩＰ－３β、ＣＣＬ２０／ＭＩＰ－３α、ＣＣＬ２１／ＳＬＣ、ＣＣＬ２２／ＭＤＣ、ＣＣＬ２３／ＭＰＩＦ１、ＣＣＬ２４／エオタキシン－２、ＣＣＬ２５／ＴＥＣＫ、ＣＣＬ２６／エオタキシン－３、ＣＣＬ２７／ＣＴＡＣＫ、ＣＣＬ２８／ＭＥＣ、ＣＬ１、ＣＬ２、及びCX_3CL1などの少なくとも１つのケモカインの存在又はレベルをサンプル中で決定する。いくつかのさらなる態様では、これらに限定されないが、レプチン、アディポネクチン、レジスチン、活性又は全プラスミノーゲン活性化阻害剤－１（ＰＡＩ－１）、ビスファチン、及びレチノール結合タンパク質４（ＲＢＰ４）を含む少なくとも１つのアディポサイトカインの存在又はレベルをサンプル中で決定する。

【０１４２】

[0161]いくつかの例では、特定のサイトカインの存在又はレベルは、例えばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅ベースのアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。他のいくつかの例では、特定のサイトカインの存在又はレベルは、例えば免疫アッセイ（例えばＥＬＩＳＡ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。血清、血漿、唾液、又は尿サンプルなどのサンプル中のサイトカインの存在又はレベルを決定するための適切なＥＬＩＳＡキットは、例えば、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ．（Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）、Ｎｅｏｇｅｎ Ｃｏｒｐ．（Ｌｅｘｉｎｇｔｏｎ，ＫＹ）、Ａｌｐｃｏ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ（Ｓａｌｅｍ，ＮＨ）、Ａｓｓａｙ Ｄｅｓｉｇｎｓ，Ｉｎｃ．（Ａｎｎ Ａｒｂｏｒ，ＭＩ）、ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（Ｃａｍａｒｉｌｌｏ，ＣＡ）、Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）、ＣＨＥＭＩＣＯＮ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．（Ｔｅｍｅｃｕｌａ，ＣＡ）、Ａｎｔｉｇｅｎｉｘ Ａｍｅｒｉｃａ Ｉｎｃ．（Ｈｕｎｔｉｎｇｔｏｎ Ｓｔａｔｉｏｎ，ＮＹ）、ＱＩＡＧＥＮ Ｉｎｃ．（Ｖａｌｅｎｃｉａ，ＣＡ）、Ｂｉｏ－Ｒａｄ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．（Ｈｅｒｃｕｌｅｓ，ＣＡ）、及び／又はＢｅｎｄｅｒ ＭｅｄＳｙｓｔｅｍｓ Ｉｎｃ．（Ｂｕｒｌｉｎｇａｍｅ，ＣＡ）から入手可能である。

【０１４３】

Ｂ．成長因子

サンプル中の１つ又は複数の成長因子の存在又はレベルの決定は本発明において有用であり得る。本明細書において、用語「成長因子」には、細胞増殖及び／又は細胞分化を刺激することができる種々のペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質のうちの任意のものが含まれる。

【０１４４】

[0163]いくつかの態様では、これらに限定されないが、表皮成長因子（ＥＧＦ）、ヘパリン結合表皮成長因子（ＨＢ－ＥＧＦ）、血管内皮成長因子（ＶＥＧＦ）、色素上皮由来因子（ＰＥＤＦ、セルピンＦ１としても知られる）、アンフィレギュリン（ＡＲＥＧ、シュワン腫由来成長因子（ＳＤＧＦ）としても知られる）、塩基性線維芽細胞成長因子（ｂＦＧＦ）、肝細胞成長因子（ＨＧＦ）、トランスフォーミング成長因子－α（ＴＧＦ－α）、トランスフォーミング成長因子－β（ＴＧＦ－β）、骨形成タンパク質（例えば、ＢＭＰ１～ＢＭＰ１５）、血小板由来成長因子（ＰＤＧＦ）、神経成長因子（ＮＧＦ）、β－神経成長因子（β－ＮＧＦ）、神経栄養因子（例えば、脳由来神経栄養因子（ＢＤＮＦ）、ニューロトロフィン３（ＮＴ３）、ニューロトロフィン４（ＮＴ４））、成長分化因子－９（ＧＤＦ－９）、顆粒球－コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）、顆粒球－マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）、ミオスタチン（ＧＤＦ－８）、エリスロポエチン（ＥＰＯ）、及びトロンボポエチン（ＴＰＯ）を含む少なくとも１つの成長因子の存在又はレベルをサンプル中で決定する。好ましくは、ＶＥＧＦの存在又はレベルを決定する。

【０１４５】

[0164]ＶＥＧＦは血管内皮成長因子遺伝子（ＶＥＧＦ；Ｅｎｔｒｅｚ ＧｅｎｅＩＤ：７４２２）によってコードされており、転写物（例えば、Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１０２５３６６．２（アイソフォームａ）、ＮＭ＿００３３７６．５（アイソフォームｂ）、ＮＭ＿００１０２５３６７．２（アイソフォームｃ）、ＮＭ＿００１０２５３６８．２（アイソフォームｄ）、ＮＭ＿００１０２５３６９．２（アイソフォームｅ）、ＮＭ＿００１０２５３７０．２（アイソフォームｆ）、ＮＭ＿００１０３３７５６．２（アイソフォームｇ）、ＮＭ＿００１１７１６２２．１（アイソフォームｈ）、ＮＭ＿００１１７１６２３．１（アイソフォームｉ）、ＮＭ＿００１１７１６２４．１（アイソフォームｊ）、ＮＭ＿００１１７１６２５．１（アイソフォームｋ）、ＮＭ＿００１１７１６２６．１（アイソフォームｌ）、ＮＭ＿００１１７１６２７．１（アイソフォームｍ）、ＮＭ＿００１１７１６２８．１（アイソフォームｎ）、ＮＭ＿００１１７１６２９．１（アイソフォームｏ）、ＮＭ＿００１１７１６３０．１（アイソフォームｐ）、ＮＭ＿００１２０４３８４．１（アイソフォームｑ）、及びＮＭ＿００１２０４３８５．１（アイソフォームｒ）を参照）の選択的スプライシング、及び前駆体ポリペプチドスプライスアイソフォーム（Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿００１０２０５３７．２（アイソフォームａ）、ＮＰ＿００３３６７．４（アイソフォームｂ）、ＮＰ＿００１０２０５３８．２（アイソフォームｃ）、ＮＰ＿００１０２０５３９．２（アイソフォームｄ）、ＮＰ＿００１０２０５４０．２（アイソフォームｅ）、ＮＰ＿００１０２０５４１．２（アイソフォームｆ）、ＮＰ＿００１０２８９２８．１（アイソフォームｇ）、００１１６５０９３．１（アイソフォームｈ）、ＮＰ＿００１１６５０９４．１（アイソフォームｉ）、ＮＰ＿００１１６５０９５．１（アイソフォームｊ）、ＮＰ＿００１１６５０９６．１（アイソフォームｋ）、ＮＰ＿００１１６５０９７．１（アイソフォームｌ）、ＮＰ＿００１１６５０９８．１（アイソフォームｍ）、ＮＰ＿００１１６５０９９．１（アイソフォームｎ）、ＮＰ＿００１１６５１００．１（アイソフォームｏ）、ＮＰ＿００１１６５１０１．１（アイソフォームｐ）、ＮＰ＿００１１９１３１３．１（アイソフォームｑ）、ＮＰ＿００１９１３１４．１（アイソフォームｒ））のプロセッシング後に産生される。

【０１４６】

[0165]いくつかの例では、特定の成長因子の存在又はレベルは、例えばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅ベースのアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。他のいくつかの例では、特定の成長因子の存在又はレベルは、例えば免疫アッセイ（例えばＥＬＩＳＡ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。血清、血漿、唾液、又は尿サンプルなどのサンプル中の成長因子の存在又はレベルを決定するための適切なＥＬＩＳＡキットは、例えば、Ａｎｔｉｇｅｎｉｘ Ａｍｅｒｉｃａ Ｉｎｃ．（Ｈｕｎｔｉｎｇｔｏｎ Ｓｔａｔｉｏｎ，ＮＹ）、Ｐｒｏｍｅｇａ（Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ．（Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（Ｃａｍａｒｉｌｌｏ，ＣＡ）、ＣＨＥＭＩＣＯＮ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．（Ｔｅｍｅｃｕｌａ，ＣＡ）、Ｎｅｏｇｅｎ Ｃｏｒｐ．（Ｌｅｘｉｎｇｔｏｎ，ＫＹ）、ＰｅｐｒｏＴｅｃｈ（Ｒｏｃｋｙ Ｈｉｌｌ，ＮＪ）、Ａｌｐｃｏ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ（Ｓａｌｅｍ，ＮＨ）、Ｐｉｅｒｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．（Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）、及び／又はＡｂａｚｙｍｅ（Ｎｅｅｄｈａｍ，ＭＡ）から入手可能である。

【０１４７】

Ｃ．抗好中球抗体

サンプル中のＡＮＣＡレベル及び／又はｐＡＮＣＡの存在若しくは非存在の決定は本発明において有用であり得る。本明細書において、用語「抗好中球細胞質抗体」又は「ＡＮＣＡ」には、好中球の細胞質及び／又は核成分に向けられた抗体が含まれる。ＡＮＣＡ活性は、好中球中のＡＮＣＡ染色パターンに基づいていくつかの広義なカテゴリー、すなわち、（１）核周囲のハイライトのない細胞質好中球染色（ｃＡＮＣＡ）、（２）核の外縁の周りの核周囲染色（ｐＡＮＣＡ）、（３）核の内縁の周りの核周囲染色（ＮＳＮＡ）、

及び（４）好中球全体にわたって点在する広汎性染色（ＳＡＰＰＡ）に分けることができる。いくつかの例では、ｐＡＮＣＡ染色はＤＮａｓｅ処理に感受性がある。用語ＡＮＣＡには、これらに限定されないが、ｃＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ、ＮＳＮＡ、及びＳＡＰＰＡを含む、抗好中球反応性のすべての種類が包含される。同様に、用語ＡＮＣＡには、これらに限定されないが、免疫グロブリンＡ及びＧを含むすべての免疫グロブリンアイソタイプが包含される。好ましくは、ＡＮＣＡ　ＩｇＧの存在又はレベルが決定される。特定の実施形態では、例えば、別々の間接蛍光抗体（ＩＦＡ）アッセイを使用して、核周囲のｐＡＮＣＡ染色パターンの有無及びＤＮＡｓｅ処理に感受性であるｐＡＮＣＡ染色の有無の両方が検出される。

【０１４８】

[0167]個体からのサンプル中のＡＮＣＡレベルは、例えばアルコール固定した好中球を用いた酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）などの免疫アッセイを用いて決定することができる。ｐＡＮＣＡなどのＡＮＣＡの特定のカテゴリーの存在又は非存在は、例えば間接蛍光抗体（ＩＦＡ）アッセイなどの免疫組織化学的アッセイを用いて決定することができる。特定の実施形態では、サンプル中のｐＡＮＣＡの存在又は非存在は、ＤＮａｓｅ処理した固定した好中球を使用する免疫蛍光アッセイを用いて決定する。固定した好中球に加えて、ヒト抗体に向けられた抗体を検出に使用することができる。また、これらに限定されないが、未精製又は部分精製の好中球抽出物、ヒストンＨ１又はそのＡＮＣＡ反応性断片などの精製タンパク質、タンパク質断片、又は合成ペプチド（例えば、米国特許第６０７４８３５号を参照）、ヒストンＨ１様抗原、ポリン抗原、バクテロイデス（Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｅｓ）抗原、又はそのＡＮＣＡ反応性断片（例えば、米国特許第６０３３８６４号を参照）、分泌小胞抗原又はそのＡＮＣＡ反応性断片（例えば、米国特許出願公開第０８／８０４１０６号を参照）、及び抗ＡＮＣＡイディオタイプ抗体を含む、ＡＮＣＡに特異的な抗原も、ＡＮＣＡレベルの決定に適している。当業者には、ＡＮＣＡに特異的なさらなる抗原の使用が本発明の範囲内にあることが理解されよう。

【０１４９】

[0168]いくつかの実施形態では、ｐＡＮＣＡバイオマーカー値は陽性又は陰性のいずれかであるので、ｐＡＮＣＡバイオマーカーは数値変数ではなく二値である。一部の実施形態では、ｐＡＮＣＡ陽性状態は、合併症（例えば、内部狭窄性疾患、内部穿通性疾患及び／又は手術）の低い割合及び／又はリスクと関係がある。一部の例では、陽性状態が「１」としてスコア付けされ、陰性状態が「４」としてスコア付けされるように、ｐＡＮＣＡに対する四分位数のスコア付けは反転させられる。

【０１５０】

Ｄ．抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体

サンプル中のＡＳＣＡ（例えば、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、ＡＳＣＡ－ＩｇＭ）の存在又はレベルの決定も本発明において有用であり得る。用語「抗サッカロマイセス・セレビシエ免疫グロブリンＡ」又は「ＡＳＣＡ－ＩｇＡ」には、エス・セレビシエと特異的に反応する免疫グロブリンＡアイソタイプの抗体が含まれる。同様に、用語「抗サッカロマイセス・セレビシエ免疫グロブリンＧ」又は「ＡＳＣＡ－ＩｇＧ」には、エス・セレビシエと特異的に反応する免疫グロブリンＧアイソタイプの抗体が含まれる。

【０１５１】

[0170]サンプルがＡＳＣＡ－ＩｇＡ又はＡＳＣＡ－ＩｇＧに関して陽性であるかどうかの決定は、ヒト抗体配列に特異的な抗体又はＡＳＣＡに特異的な抗原を用いて行われる。そのような抗原は、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧによって特異的に結合される任意の抗原又は抗原混合物であり得る。ＡＳＣＡ抗体はエス・セレビシエと結合するその能力によって最初に特徴づけられたが、抗原がＡＳＣＡ抗体と特異的に結合することができる限りは、ＡＳＣＡによって特異的に結合される抗原をエス・セレビシエ又は他の種々の供給源から得ることができることが当業者には理解されよう。したがって、サンプル中のＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧのレベルを決定するために使用することができるＡＳＣＡに特異的な抗原の供給源の例には、これらに限定されないが、サ

ッカロマイセス属（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ）又はカンジダ属（Ｃａｎｄｉｄａ）細胞などの死滅酵母細胞全体、ホスホペプチドマンナン（ＰＰＭ）などの酵母細胞壁マンナン、オリゴマンノシドなどのオリゴ糖、ネオ糖脂質、抗ＡＳＣＡイディオタイプ抗体などが含まれる。エス・セレビシエ株Ｓｕ１、Ｓｕ２、ＣＢＳ１３１５、若しくはＢＭ１５６、又はカンジダ・アルビカンス（Ｃａｎｄｉｄａ　ａｌｂｉｃａｎｓ）株ＶＷ３２などの酵母の種々の種及び株が、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧに特異的な抗原としての使用に適切である。また、ＡＳＣＡに特異的な精製抗原及び合成抗原も、サンプル中のＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧのレベルの決定における使用に適切である。精製抗原の例には、これらに限定されないが、オリゴマンノシドなどの精製オリゴ糖抗原が含まれる。合成抗原の例には、これらに限定されないが、米国特許出願公開第２００３０１０５０６０号に記載されているものなどの合成オリゴマンノシド、例えば、Ｄ－Ｍａｎβ（１－２）Ｄ－Ｍａｎβ（１－２）Ｄ－Ｍａｎβ（１－２）Ｄ－Ｍａｎ－ＯＲ、Ｄ－Ｍａｎα（１－２）Ｄ－Ｍａｎα（１－２）Ｄ－Ｍａｎα（１－２）Ｄ－Ｍａｎ－ＯＲ、及びＤ－Ｍａｎα（１－３）Ｄ－Ｍａｎα（１－２）Ｄ－Ｍａｎα（１－２）Ｄ－Ｍａｎ－ＯＲ［式中、Ｒは水素原子、$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{20}$アルキル、又は任意選択で標識された連結基である。］が含まれる。

【０１５２】

[0171]酵母細胞壁マンナン（例えばＰＰＭ）の調製物を、サンプル中のＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧのレベルの決定に使用することができる。そのような水溶性表面抗原は、当分野で知られている任意の適切な抽出法（例えばオートクレーブ）によって調製することができるか、又は商業的に入手することができる（例えば、Ｌｉｎｄｂｅｒｇら，Ｇｕｔ，３３：９０９～９１３（１９９２）を参照）。また、ＰＰＭの酸安定画分は本発明の統計アルゴリズムにおいても有用である（Ｓｅｎｄｉｄら，Ｃｌｉｎ．Ｄｉａｇ．Ｌａｂ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，３：２１９～２２６（１９９６））。サンプル中のＡＳＣＡレベルの決定に有用なＰＰＭは、例えばエス・ウバルム（Ｓ．ｕｖａｒｕｍ）株ＡＴＣＣ＃３８９２６に由来する。

【０１５３】

[0172]オリゴマンノシドなどの精製オリゴ糖抗原も、サンプル中のＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧのレベルの決定に有用であり得る。精製オリゴマンノシド抗原は、例えばＦａｉｌｌｅら，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｉｎｆｅｃｔ．Ｄｉｓ．，１１：４３８～４４６（１９９２）に記載されているように、好ましくはネオ糖脂質へと変換する。そのようなオリゴマンノシド抗原とＡＳＣＡとの反応性が、マンノシル鎖の長さ（Ｆｒｏｓｈら，Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８２：１１９４～１１９８（１９８５））、アノマー立体配置（Ｆｕｋａｚａｗａら，“Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｆｕｎｇａｌ　Ｄｉｓｅａｓｅ”，Ｅ．Ｋｕｒｓｔａｋ（編），Ｍａｒｃｅｌ　Ｄｅｋｋｅｒ　Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，第３７～６２ページ（１９８９）；Ｎｉｓｈｉｋａｗａら，Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，３４：８２５～８４０（１９９０）；Ｐｏｕｌａｉｎら，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．，２３：４６～５２（１９９３）；Ｓｈｉｂａｔａら，Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．，２４３：３３８～３４８（１９８５）；Ｔｒｉｎｅｌら，Ｉｎｆｅｃｔ．Ｉｍｍｕｎ．，６０：３８４５～３８５１（１９９２））、又は結合の位置（Ｋｉｋｕｃｈｉら，Ｐｌａｎｔａ，１９０：５２５～５３５（１９９３））を変動させることによって最適化できることは当業者には理解されよう。

【０１５４】

[0173]本発明の方法で使用するための適切なオリゴマンノシドには、これらに限定されないが、マンノテトラオースＭａｎ（１－３）Ｍａｎ（１－２）Ｍａｎ（１－２）Ｍａｎを有するオリゴマンノシドが含まれる。そのようなオリゴマンノシドは、例えばＦａｉｌｌｅら（上記）のようにＰＰＭから精製することができる。ＡＳＣＡに特異的なネオ糖脂質は、例えば、オリゴマンノシドをその対応するＰＰＭから放出させ、続いて放出されたオリゴマンノシドを４－ヘキサデシルアニリンなどとカップリングさせることによって構

築することができる。

【０１５５】

Ｅ．抗微生物抗体

サンプル中の抗ＯｍｐＣ抗体の存在又はレベルの決定は本発明において有用であり得る。本明細書において、用語「抗外膜タンパク質Ｃ抗体」又は「抗ＯｍｐＣ抗体」には、例えば、米国特許第７１３８２３７号及び国際公開第０１／８９３６１号に記載されている、細菌外膜ポリンに向けられた抗体が含まれる。用語「外膜タンパク質Ｃ」又は「ＯｍｐＣ」とは、抗ＯｍｐＣ抗体と免疫反応性の細菌ポリンをいう。用語「抗ＯｍｐＣ抗体」は、免疫グロブリンＡ及びＧなどのすべての免疫グロブリンアイソタイプを包含する。好ましくは、抗ＯｍｐＣ　ＩｇＡの存在又はレベルが決定される。

【０１５６】

[0175]個体からのサンプル中に存在する抗ＯｍｐＣ抗体のレベルは、ＯｍｐＣタンパク質又はその免疫反応性断片などのその断片を用いて決定することができる。サンプル中の抗ＯｍｐＣ抗体レベルを決定するために有用な適切なＯｍｐＣ抗原には、これらに限定されないが、ＯｍｐＣタンパク質、ＯｍｐＣタンパク質と実質的に同じアミノ酸配列を有するＯｍｐＣポリペプチド、又はその免疫反応性断片などのその断片が含まれる。本明細書において、ＯｍｐＣポリペプチドは、一般に、ＯｍｐＣタンパク質と約５０％より高い同一性、好ましくは約６０％より高い同一性、より好ましくは約７０％より高い同一性、さらにより好ましくは約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％より高いアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを説明し、アミノ酸同一性はＣＬＵＳＴＡＬＷなどの配列アラインメントプログラムを用いて決定する。そのような抗原は、例えば、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）などの腸内細菌からの精製によって、Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号Ｋ００５４１などの核酸の組換え発現によって、液相若しくは固相ペプチド合成などの合成手段によって、又はファージディスプレイを使用することによって調製することができる。サンプル中の抗ＯｍｐＣ抗体レベルの決定は、ＥＬＩＳＡアッセイ又は組織学的アッセイを用いて行うことができる。

【０１５７】

[0176]サンプル中の抗Ｉ２抗体の存在又はレベルの決定も本発明において有用であり得る。本明細書において、用語「抗Ｉ２抗体」には、例えば、米国特許第６３０９６４３号に記載されている、細菌転写調節因子と相同性を共有する微生物抗原に向けられた抗体が含まれる。用語「Ｉ２」とは、抗Ｉ２抗体と免疫反応性の微生物抗原をいう。微生物Ｉ２タンパク質は、シー・パスツーリアヌム（Ｃ．ｐａｓｔｅｕｒｉａｎｕｍ）からの予測タンパク質４、マイコバクテリウム・ツベルクローシス（Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓ）からのＲｖ３５５７ｃ、及びアクリフェックス・エオリカス（Ａｑｕｉｆｅｘ　ａｅｏｌｉｃｕｓ）からの転写調節因子とある程度の類似度の弱い相同性を共有する、１００個のアミノ酸のポリペプチドである。Ｉ２タンパク質の核酸及びタンパク質の配列は、例えば米国特許第６３０９６４３号に記載されている。

【０１５８】

[0177]個体からのサンプル中に存在する抗Ｉ２抗体のレベルは、Ｉ２タンパク質又はその免疫反応性断片などのその断片を用いて決定することができる。サンプル中の抗Ｉ２抗体レベルを決定するために有用な適切なＩ２抗原には、これらに限定されないが、Ｉ２タンパク質、Ｉ２タンパク質と実質的に同じアミノ酸配列を有するＩ２ポリペプチド、又はその免疫反応性断片などのその断片が含まれる。そのようなＩ２ポリペプチドは、Ｉ２タンパク質に対してシー・パスツーリアヌムタンパク質４よりも高い配列類似度を示し、そのアイソタイプバリアント及びホモログが含まれる。本明細書において、Ｉ２ポリペプチドは、一般に、天然に存在するＩ２タンパク質と約５０％より高い同一性、好ましくは約６０％より高い同一性、より好ましくは約７０％より高い同一性、さらにより好ましくは約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％より高いアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを説明し、アミノ酸同一性はＣＬＵＳＴＡＬＷなどの配列アラインメントプログラムを用いて決定する。そのようなＩ

２抗原は、例えば、微生物からの精製によって、Ｉ２抗原をコードしている核酸の組換え発現によって、液相若しくは固相ペプチド合成などの合成手段によって、又はファージディスプレイを使用することによって調製することができる。サンプル中の抗Ｉ２抗体レベルの決定は、例えば、米国特許第７８７３４７９号に記載されている組織学的アッセイ又はＥＬＩＳＡアッセイによって行うことができる。

【０１５９】

[0178]サンプル中の抗フラジェリン抗体の存在又はレベルの決定も本発明において有用であり得る。本明細書において、用語「抗フラジェリン抗体」には、例えば、米国特許第７３６１７３３号及び国際公開第０３／０５３２２０号に記載されている、細菌鞭毛のタンパク質成分に向けられた抗体が含まれる。用語「フラジェリン」とは、抗フラジェリン抗体と免疫反応性の細菌鞭毛タンパク質をいう。微生物フラジェリンは、例えば、自身を中空の円柱に配置してフィラメントを形成する、細菌鞭毛中に見つかるタンパク質である。

【０１６０】

[0179]個体からのサンプル中に存在する抗フラジェリン抗体のレベルは、フラジェリンタンパク質又はその免疫反応性断片などのその断片を用いて決定することができる。サンプル中の抗フラジェリン抗体レベルを決定するために有用な適切なフラジェリン抗原には、これらに限定されないが、ＣＢｉｒ－１フラジェリン、Ａ４－Ｆｌａ２フラジェリン（Ｆｌａ２）、フラジェリンＸ（ＦｌａＸ）、フラジェリンＡ、フラジェリンＢ、その断片、及びそれらの組み合わせなどのフラジェリンタンパク質、フラジェリンタンパク質と実質的に同じアミノ酸配列を有するフラジェリンポリペプチド、又はその免疫反応性断片などのその断片が含まれる。本明細書において、フラジェリンポリペプチドは、一般に、天然に存在するフラジェリンタンパク質と約５０％より高い同一性、好ましくは約６０％より高い同一性、より好ましくは約７０％より高い同一性、さらにより好ましくは約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％より高いアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを説明し、アミノ酸同一性はＣＬＵＳＴＡＬＷなどの配列アラインメントプログラムを用いて決定する。そのようなフラジェリン抗原は、例えば、ヘリコバクター・ビリス（Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ　Ｂｉｌｉｓ）、ヘリコバクター・ムステラエ（Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ　ｍｕｓｔｅｌａｅ）、ヘリコバクター・ピロリ（Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ　ｐｙｌｏｒｉ）、ブチリビブリオ・フィブリソルベンス（Ｂｕｔｙｒｉｖｉｂｒｉｏ　ｆｉｂｒｉｓｏｌｖｅｎｓ）、及び盲腸中に見つかる細菌などの細菌からの精製によって、フラジェリン抗原をコードしている核酸の組換え発現によって、液相若しくは固相ペプチド合成などの合成手段によって、又はファージディスプレイを使用することによって調製することができる。サンプル中の抗フラジェリン（例えば、抗ＣＢｉｒ１、抗Ｆｌａ２、及び／又は抗ＦｌａＸ）抗体レベルの決定は、ＥＬＩＳＡアッセイ又は組織学的アッセイを用いて行うことができる。好ましくは、抗ＣＢｉｒ１　ＩｇＧ、抗Ｆｌａ２　ＩｇＧ、及び／又は抗ＦｌａＸ　ＩｇＧの存在又はレベルを決定する。

【０１６１】

Ｆ．急性期タンパク質

サンプル中の１つ又は複数の急性期タンパク質の存在又はレベルの決定は本発明において有用であり得る。急性期タンパク質とは、その血漿濃度が炎症に応答して増加（陽性急性期タンパク質）又は減少（陰性急性期タンパク質）するタンパク質のクラスである。この応答は急性期反応と呼ばれる（急性期応答とも呼ばれる）。陽性急性期タンパク質の例には、これらに限定されないが、Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）、Ｄ－二量体タンパク質、マンノース－結合タンパク質、アルファ１－抗トリプシン、アルファ１－抗キモトリプシン、アルファ２－マクログロブリン、フィブリノーゲン、プロトロンビン、第ＶＩＩＩ因子、フォンウィルブランド因子、プラスミノーゲン、補体因子、フェリチン、血清アミロイドＰ成分、血清アミロイドＡ（ＳＡＡ）、オロソムコイド（アルファ１－酸糖タンパク質、ＡＧＰ）、セルロプラスミン、ハプトグロビン、及びそれらの組み合わせが含まれ

る。陰性急性期タンパク質の非限定的な例には、アルブミン、トランスフェリン、トランスサイレチン、トランスコルチン、レチノール－結合タンパク質、及びそれらの組み合わせが含まれる。好ましくは、ＣＲＰ及び／又はＳＡＡの存在又はレベルを決定する。

【０１６２】

[0181]いくつかの例では、特定の急性期タンパク質の存在又はレベルは、例えばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅ベースのアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。他のいくつかの例では、ＣＲＰ又はＳＡＡなどの急性期タンパク質の存在又はレベルは、例えば免疫アッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ、免疫電気化学発光アッセイ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。例えば、Ａｌｐｃｏ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ（Ｓａｌｅｍ，ＮＨ）から入手可能なサンドイッチ比色ＥＬＩＳＡアッセイを使用して、血清、血漿、尿又は糞便サンプル中のＣＲＰのレベルを決定することができる。同様に、Ｂｉｏｍｅｄａ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ（Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ，ＣＡ）から入手可能なＥＬＩＳＡキットを使用して、サンプル中のＣＲＰレベルを検出することができる。サンプル中のＣＲＰレベルを決定するための他の方法は、例えば、米国特許第６８３８２５０号及び第６４０６８６２号、並びに米国特許出願公開第２００６００２４６８２号及び第２００６００１９４１０号に記載されている。ＣＲＰレベルを決定するためのさらなる方法には、例えば、免疫比濁測定アッセイ、迅速免疫拡散アッセイ、及び視覚的凝集アッセイが含まれる。

【０１６３】

[0182]Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）とは、血液中で炎症に応答して見つかるタンパク質である（急性期タンパク質）。ＣＲＰは、典型的には肝臓及び脂肪細胞（ｆａｔ　ｃｅｌｌ，ａｄｉｐｏｃｙｔｅ）によって産生される。ＣＲＰはペントラキシンのタンパク質ファミリーのメンバーである。ヒトＣＲＰポリペプチド配列は、例えばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿０００５５８に記載されている。ヒトＣＲＰ　ｍＲＮＡ（コード）配列は、例えばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿０００５６７に記載されている。当業者には、ＣＲＰがＰＴＸ１、ＭＧＣ８８２４４、及びＭＧＣ１４９８９５としても知られていることが理解されよう。

【０１６４】

Ｇ．アポリポタンパク質

サンプル中の１つ又は複数のアポリポタンパク質の存在又はレベルの決定は本発明において有用であり得る。アポリポタンパク質とは、脂肪（脂質）と結合するタンパク質である。これらは、血流を通って食事性脂肪を輸送するリポタンパク質を形成する。食事性脂肪は腸管内で消化され、肝臓へと運ばれる。また、脂肪は肝臓自体中でも合成される。脂肪は脂肪細胞内で貯蔵される。脂肪は格筋、心臓、及び他の器官において必要に応じてエネルギーのために代謝され、母乳中で分泌される。また、アポリポタンパク質は、酵素補因子、受容体リガンド、並びにリポタンパク質の代謝及び組織中へのその取り込みを調節する脂質輸送担体としても役割を果たす。アポリポタンパク質の例には、これらに限定されないが、ＡｐｏＡ（例えば、ＡｐｏＡ－Ｉ、ＡｐｏＡ－ＩＩ、ＡｐｏＡ－ＩＶ、ＡｐｏＡ－Ｖ）、ＡｐｏＢ（例えば、ＡｐｏＢ４８、ＡｐｏＢ１００）、ＡｐｏＣ（例えば、ＡｐｏＣ－Ｉ、ＡｐｏＣ－ＩＩ、ＡｐｏＣ－ＩＩＩ、ＡｐｏＣ－ＩＶ）、ＡｐｏＤ、ＡｐｏＥ、ＡｐｏＨ、血清アミロイドＡ（ＳＡＡ）、及びそれらの組み合わせが含まれる。好ましくは、ＳＡＡの存在又はレベルを決定する。

【０１６５】

[0184]いくつかの例では、特定のアポリポタンパク質の存在又はレベルは、例えばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅ベースのアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。他のいくつかの例では、ＳＡＡなどの特定のアポリポタンパク質の存在又はレベルは、例えば免疫アッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ、免疫電気化学発光アッセイ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。血清、血漿、唾液、尿、大便などのサンプル中のＳＡＡの存在又はレベルを決定するための適切なＥＬＩＳＡキットは、例えば、Ａｎｔｉｇｅｎｉｘ　Ａｍｅｒｉｃａ　Ｉｎｃ

．（Ｈｕｎｔｉｎｇｔｏｎ Ｓｔａｔｉｏｎ，ＮＹ）、Ａｂａｚｙｍｅ（Ｎｅｅｄｈａｍ，ＭＡ）、ＵＳＣＮ Ｌｉｆｅ（Ｍｉｓｓｏｕｒｉ Ｃｉｔｙ，ＴＸ）、及び／又はＵ．Ｓ．Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ（Ｓｗａｍｐｓｃｏｔｔ，ＭＡ）から入手可能である。

【０１６６】

[0185]血清アミロイドＡ（ＳＡＡ）タンパク質とは、血漿中の高密度リポタンパク質（ＨＤＬ）に関連づけられているアポリポタンパク質のファミリーである。ＳＡＡの種々のアイソフォームが、種々のレベルで構成的に（構成的ＳＡＡ）又は炎症性刺激に応答して（急性期ＳＡＡ）発現されている。これらのタンパク質は、主に肝臓によって産生される。無脊椎動物及び脊椎動物の全体にわたってこれらのタンパク質が保存されていることは、ＳＡＡがすべての動物において非常に重要な役割を果たすことを示唆している。急性期血清アミロイドＡタンパク質（Ａ－ＳＡＡ）は炎症の急性期中に分泌される。ヒトＳＡＡポリペプチド配列は、例えばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿０００３２２に記載されている。ヒトＳＡＡ ｍＲＮＡ（コード）配列は、例えばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿０００３３１に記載されている。当業者には、ＳＡＡがＰＩＧ４、ＴＰ５３Ｉ４、ＭＧＣ１１１２１６、及びＳＡＡ１としても知られていることが理解されよう。

【０１６７】

Ｈ．デフェンシン

サンプル中の１つ又は複数のデフェンシンの存在又はレベルの決定は本発明において有用であり得る。デフェンシンとは、脊椎動物及び無脊椎動物のいずれにおいても見られるシステインに富んだ小さな陽イオンタンパク質である。これらは、細菌、真菌、並びに多くの外被及び非外被ウイルスに対して活性である。これらは、典型的には、６個（脊椎動物中）～８個の保存的なシステイン残基を含む１８～４５個のアミノ酸からなる。免疫系の細胞は、例えば好中性顆粒球及びほぼすべての上皮細胞において、貪食された細菌の死滅を補助するためにこれらのペプチドを含有する。ほとんどのデフェンシンは、微生物細胞膜と結合することによって機能し、包埋された後、必須のイオン及び栄養素の流出を可能にする孔様の膜欠損を形成する。デフェンシンの非限定的な例には、α－デフェンシン（例えば、ＤＥＦＡ１、ＤＥＦＡ１Ａ３、ＤＥＦＡ３、ＤＥＦＡ４）、β－デフェンシン（例えば、βデフェンシン－１（ＤＥＦＢ１）、βデフェンシン－２（ＤＥＦＢ２）、ＤＥＦＢ１０３Ａ／ＤＥＦＢ１０３Ｂ～ＤＥＦＢ１０７Ａ／ＤＥＦＢ１０７Ｂ、ＤＥＦＢ１１０～ＤＥＦＢ１３３）、及びそれらの組み合わせが含まれる。

【０１６８】

[0187]いくつかの例では、特定のデフェンシンの存在又はレベルは、例えばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅ベースのアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。他のいくつかの例では、特定のデフェンシンの存在又はレベルは、例えば免疫アッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ、免疫電気化学発光アッセイ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。血清、血漿、唾液、尿、又は大便などのサンプル中のデフェンシンの存在又はレベルを決定するための適切なＥＬＩＳＡキットは、例えば、Ａｌｐｃｏ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ（Ｓａｌｅｍ，ＮＨ）、Ａｎｔｉｇｅｎｉｘ Ａｍｅｒｉｃａ Ｉｎｃ．（Ｈｕｎｔｉｎｇｔｏｎ Ｓｔａｔｉｏｎ，ＮＹ）、ＰｅｐｒｏＴｅｃｈ（Ｒｏｃｋｙ Ｈｉｌｌ，ＮＪ）、及び／又はＡｌｐｈａ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃ Ｉｎｔｌ．Ｉｎｃ．（Ｓａｎ Ａｎｔｏｎｉｏ，ＴＸ）から入手可能である。

【０１６９】

[0188]β－デフェンシンは、微生物コロニー形成に対する上皮表面の耐性に関連づけられている抗微生物ペプチドである。これらはすべてのデフェンシンの中で最も広く分布しており、白血球及び多種の上皮細胞によって分泌される。例えば、これらは舌、皮膚、角膜、唾液腺、腎臓、食道、及び気道上に見つけることができる。ヒトＤＥＦＢ１ポリペプチド配列は、例えばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿００５２０９に記載されている。ヒトＤＥＦＢ１ ｍＲＮＡ（コード）配列は、例えばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿００５２１８に記載されている。当業者には、ＤＥＦＢ１がＢＤ１、ＨＢＤ１、ＤＥＦＢ－１、Ｄ

ＥＦＢ１０１、及びＭＧＣ５１８２２としても知られていることが理解されよう。ヒトＤＥＦＢ２ポリペプチド配列は、例えばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿００４９３３に記載されている。ヒトＤＥＦＢ２　ｍＲＮＡ（コード）配列は、例えばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿００４９４２に記載されている。当業者には、ＤＥＦＢ２がＳＡＰ１、ＨＢＤ－２、ＤＥＦＢ－２、ＤＥＦＢ１０２、及びＤＥＦＢ４としても知られていることが理解されよう。

【０１７０】

Ｉ．カドヘリン

サンプル中の１つ又は複数のカドヘリンの存在又はレベルの決定は本発明において有用であり得る。カドヘリンとは、細胞接着において重要な役割を果たしており、組織内の細胞が一緒に結合されていることを確実にする、１型膜貫通タンパク質のクラスである。これらは機能するためにカルシウム（Ca^{2+}）イオンに依存する。カドヘリンスーパーファミリーには、カドヘリン、プロトカドヘリン、デスモグレイン、及びデスモコリンなどが含まれる。構造的には、これらは細胞外Ca^{2+}－結合ドメインであるカドヘリン反復を共有する。本発明における使用に適したカドヘリンには、これらに限定されないが、ＣＤＨ１－Ｅ－カドヘリン（上皮）、ＣＤＨ２－Ｎ－カドヘリン（中性）、ＣＤＨ１２－カドヘリン１２、２型（Ｎ－カドヘリン２）、ＣＤＨ３－Ｐ－カドヘリン（胎盤）、ＣＤＨ４－Ｒ－カドヘリン（網膜）、ＣＤＨ５－ＶＥ－カドヘリン（血管内皮）、ＣＤＨ６－Ｋ－カドヘリン（腎臓）、ＣＤＨ７－カドヘリン７、２型、ＣＤＨ８－カドヘリン８、２型、ＣＤＨ９－カドヘリン９、２型（Ｔ１－カドヘリン）、ＣＤＨ１０－カドヘリン１０、２型（Ｔ２－カドヘリン）、ＣＤＨ１１－ＯＢ－カドヘリン（骨芽細胞）、ＣＤＨ１３－Ｔ－カドヘリン－Ｈ－カドヘリン（心臓）、ＣＤＨ１５－Ｍ－カドヘリン（筋小管）、ＣＤＨ１６－ＫＳＰ－カドヘリン、ＣＤＨ１７－ＬＩカドヘリン（肝臓－腸管）、ＣＤＨ１８－カドヘリン１８、２型、ＣＤＨ１９－カドヘリン１９、２型、ＣＤＨ２０－カドヘリン２０、２型、及びＣＤＨ２３－カドヘリン２３（神経感覚上皮）が含まれる。

【０１７１】

[0190]いくつかの例では、特定のカドヘリンの存在又はレベルは、例えばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅ベースのアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。他のいくつかの例では、特定のカドヘリンの存在又はレベルは、例えば免疫アッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ、免疫電気化学発光アッセイ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。血清、血漿、唾液、尿、又は大便などのサンプル中のカドヘリンの存在又はレベルを決定するための適切なＥＬＩＳＡキットは、例えば、Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ．（Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）及び／又はＧｅｎＷａｙ　Ｂｉｏｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．（Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）から入手可能である。

【０１７２】

[0191]Ｅ－カドヘリンとは、カドヘリンスーパーファミリーからの古典的カドヘリンである。これは、５つの細胞外カドヘリン反復、１つの膜貫通領域、及び１つの高度に保存的な細胞質側末端からなるカルシウム依存性の細胞間接着糖タンパク質である。Ｅ－カドヘリンの外部ドメインは哺乳動物細胞との細菌接着を媒介し、細胞質ドメインは内部移行に必要である。ヒトＥ－カドヘリンポリペプチド配列は、例えばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿００４３５１に記載されている。ヒトＥ－カドヘリン　ｍＲＮＡ（コード）配列は、例えばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿００４３６０に記載されている。当業者には、Ｅ－カドヘリンがＵＶＯ、ＣＤＨＥ、ＥＣＡＤ、ＬＣＡＭ、Ａｒｃ－１、ＣＤ３２４、及びＣＤＨ１としても知られていることが理解されよう。

【０１７３】

Ｊ．細胞接着分子（ＩｇＳＦ　ＣＡＭ）

サンプル中の１つ又は複数の免疫グロブリンスーパーファミリー細胞接着分子の存在又はレベルの決定は本発明において有用であり得る。本明細書において、用語「免疫グロブリンスーパーファミリー細胞接着分子」（ＩｇＳＦ　ＣＡＭ）には、１つ又は複数の免疫

グロブリン様の折り畳みドメインを有しており、細胞間接着及び／又はシグナル伝達に機能する、細胞の表面に位置する種々のポリペプチド又はタンパク質のうちの任意のものが含まれる。多くの場合、ＩｇＳＦ　ＣＡＭは膜貫通タンパク質である。ＩｇＳＦ　ＣＡＭの非限定的な例には、神経細胞接着分子（ＮＣＡＭ、例えば、ＮＣＡＭ－１２０、ＮＣＡＭ－１２５、ＮＣＡＭ－１４０、ＮＣＡＭ－１４５、ＮＣＡＭ－１８０、ＮＣＡＭ－１８５）、細胞間接着分子（ＩＣＡＭ、例えば、ＩＣＡＭ－１、ＩＣＡＭ－２、ＩＣＡＭ－３、ＩＣＡＭ－４、ＩＣＡＭ－５）、血管細胞接着分子－１（ＶＣＡＭ－１）、血小板－内皮細胞接着分子－１（ＰＥＣＡＭ－１）、Ｌ１細胞接着分子（Ｌ１ＣＡＭ）、Ｌ１ＣＡＭに相同性を有する細胞接着分子（Ｌ１の近いホモログ）（ＣＨＬ１）、シアル酸結合Ｉｇ様レクチン（ＳＩＧＬＥＣ、例えば、ＳＩＧＬＥＣ－１、ＳＩＧＬＥＣ－２、ＳＩＧＬＥＣ－３、ＳＩＧＬＥＣ－４）、ネクチン（例えば、ネクチン－１、ネクチン－２、ネクチン－３）、及びネクチン様分子（例えば、Ｎｅｃｌ－１、Ｎｅｃｌ－２、Ｎｅｃｌ－３、Ｎｅｃｌ－４、Ｎｅｃｌ－５）が含まれる。好ましくは、ＩＣＡＭ－１及び／又はＶＣＡＭ－１の存在又はレベルを決定する。

【０１７４】

１．細胞間接着分子－１（ＩＣＡＭ－１）

ＩＣＡＭ－１とは、白血球及び内皮細胞の膜中に低濃度で連続的に存在する膜貫通細胞接着タンパク質である。サイトカイン刺激の際、濃度は大きく増加する。ＩＣＡＭ－１はＩＬ－１及びＴＮＦαによって誘導することができ、血管内皮、マクロファージ、及びリンパ球によって発現される。ＩＢＤでは、炎症誘発性サイトカインは、ＩＣＡＭ－１及びＶＣＡＭ－１などの接着分子の発現をアップレギュレーションすることによって炎症を引き起こす。増加した接着分子の発現がより多くのリンパ球を感染した組織に動員し、組織の炎症をもたらす（Ｇｏｋｅら，Ｊ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．，３２：４８０（１９９７）；Ｒｉｊｃｋｅｎら，Ｇｕｔ，５１：５２９（２００２）を参照）。ＩＣＡＭ－１は細胞間接着分子１遺伝子（ＩＣＡＭ１；Ｅｎｔｒｅｚ　ＧｅｎｅＩＤ：３３８３；Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿０００２０１）によってコードされており、細胞間接着分子１前駆体ポリペプチド（Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿０００１９２）のプロセッシング後に産生される。

【０１７５】

２．血管細胞接着分子－１（ＶＣＡＭ－１）

ＶＣＡＭ－１とは、血管内皮へのリンパ球、単球、好酸球、及び好塩基球の接着を媒介する膜貫通細胞接着タンパク質である。内皮細胞におけるサイトカインによるＶＣＡＭ－１の上方制御は、増加した遺伝子転写（例えば、腫瘍壊死因子－アルファ（ＴＮＦα）及びインターロイキン－１（ＩＬ－１）に応答したもの）の結果として起こる。ＶＣＡＭ－１は血管細胞接着分子１遺伝子（ＶＣＡＭ１；Ｅｎｔｒｅｚ　ＧｅｎｅＩＤ：７４１２）によってコードされており、転写物（Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１０７８（バリアント１）又はＮＭ＿０８０６８２（バリアント２））の選択的スプライシング、及び前駆体ポリペプチドスプライスアイソフォーム（Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿００１０６９（アイソフォームａ）又はＮＰ＿５４２４１３（アイソフォームｂ））のプロセッシング後に産生される。

【０１７６】

[0195]いくつかの例では、ＩｇＳＦ　ＣＡＭの存在又はレベルは、例えばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅ベースのアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。他のいくつかの例では、ＩＣＡＭ－１又はＶＣＡＭ－１などのＩｇＳＦ　ＣＡＭの存在又はレベルは、例えば免疫アッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ又は免疫電気化学発光アッセイ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。組織サンプル、生検、血清、血漿、唾液、尿、又は大便などのサンプル中のＩＣＡＭ－１及び／又はＶＣＡＭ－１の存在又はレベルを決定するための適切な抗体及び／又はＥＬＩＳＡキットは、例えば、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（Ｃａｍａｒｉｌｌｏ，ＣＡ）、Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．（Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕ

ｚ，ＣＡ）、及び／又はＡｂｃａｍ　Ｉｎｃ．（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，ＭＡ）から入手可能である。

【０１７７】

Ｋ．遺伝子マーカー

サンプル中の１つ又は複数の遺伝子マーカーの対立遺伝子バリアントの有無の決定も本発明で有用である。遺伝子マーカーの非限定例としては、表Ａ～Ｅに記載されている遺伝子のいずれか又はそれらの組み合わせが挙げられる。ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＮＫＸ２－３及びＥＣＭ１遺伝子のうちの１つ又は複数において少なくとも１つの一塩基多型（ＳＮＰ）の有無が検出されることが好ましい。

【０１７８】

[0197]表Ａは、ＩＢＤ、ＵＣ及びＣＤ遺伝子の例示的リストを提供し、これらの遺伝子における１つ又は複数の対立遺伝子バリアント（例えばＳＮＰ）の有無に関するジェノタイピングは本発明の診断方法において有用である。表Ｂは、さらなる本発明の診断方法に従ってジェノタイピングされ得る遺伝子マーカーの例及び対応するＳＮＰを提供する。表Ｃ～Ｅは、本明細書に記載の診断方法に従ってジェノタイピングされ得るさらなるＩＢＤ、ＵＣ及びＣＤの遺伝子マーカーの例及び対応するＳＮＰを提供する。

【０１７９】

表Ａ：ＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣ遺伝子

【表Ａ】

IBD 遺伝子（CD 及び UC）	結腸 IBD 遺伝子	UC 遺伝子	CD 遺伝子
IL23R	HLA 領域	ECM1	NOD2
IL12B/p40		IL10	ATG16L1
JAK2		IFNg	IRGM
STAT3		IL22	NLRP3
NKX2.3		IL26	5p13/PTGER4
3p21/MST1		OTUD3	PTPN2
CCNY		PLA2G2E	TNFSF15 (TL1A)
IL18RAP		ARPC2	IBD5/5q31
LYRM4			ZNF365
CDKAL4			PTPN22
TNFRSF6B			CCR6
PSMG1			LRRK2
			ICOSLG
			ITLN1
			ORMDL3

【０１８０】

表Ｂ：ＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣ遺伝子並びにＳＮＰ

【表Ｂ－１】

遺伝子	SNP
NOD2/CARD15	rs2066847
IL23R	rs11465804
ATG16L1	rs3828309
MST1	rs3197999
PTGER4	rs4613763
IRGM	rs11747270
TNFSF15	rs4263839
ZNF365	rs10995271
NKX2-3	rs11190140
PTPN2	rs2542151
PTPN22	rs2476601
ITLN1	rs2274910
IL12B	rs10045431
CDKAL1	rs6908425
CCR6	rs2301436
JAK2	rs10758669
C11orf30	rs7927894
LRRK2, MUC19	rs11175593
ORMDL3	rs2872507
STAT3	rs744166
ICOSLG	rs762421
GCKR	rs780094
BTNL2, SLC26A3, HLA-DRB1, HLA-DQA1	rs3763313

【表Ｂ－２】

遺伝子	SNP
PUS10	rs13003464
CCL2, CCL7	rs991804
LYRM4	rs12529198
SLC22A23	rs17309827
IL18RAP	rs917997
IL12RB2	rs7546245
IL12RB1	rs374326
CD3D	rs3212262
CD3G	rs3212262
CD247	rs704853
JUN	rs6661505
CD3E	rs7937334
IL18R1	rs1035127
CCR5	
MAPK14	rs2237093
IL18	rs11214108
IFNG	rs10878698
MAP2K6	rs2905443
STAT4	rs1584945
IL12A	rs6800657
TYK2	rs12720356
ETV5	rs9867846
MAPK8	rs17697885

【０１８１】
表Ｃ：ＣＤ遺伝子及びＳＮＰ

【表Ｃ－１】

遺伝子	SNP
NOD2 (R702W)	rs2066844
NOD2 (G908R)	rs2066845
NOD2 (3020insC)	rs5743293
ATG16L1 (T300A)	rs2241880
ATG16L1	rs3828309
IRGM	rs13361189
IRGM	rs4958847
IRGM	rs1000113
IRGM	rs11747270
TL1A/TNFSF15	rs6478109
TL1A/TNFSF15	rs6478108
TL1A/TNFSF15	rs4263839
PTN22	rs2476601
CCR6	rs1456893
CCR6	rs2301436
5p13/PTGER4	rs1373692
5p13/PTGER4	rs4495224
5p13/PTGER4	rs7720838
5p13/PTGER4	rs4613763
ITLN1	rs2274910
ITLN1	rs9286879
ITLN1	rs11584383
IBD5/5q31	rs2188962
IBD5/5q31	rs252057
IBD5/5q31	rs10067603
GCKR	rs780094
TNFRSF6B	rs1736135

【表Ｃ－２】

遺伝子	SNP
ZNF365	rs224136
ZNF365	rs10995271
C11orf30	rs7927894
LRRK2, MUC19	rs1175593
DLG5	rs2165047
IL-27	rs8049439
TLR2	rs4696480
TLR2	rs3804099
TLR2	rs3804100
TLR2	rs5743704
TLR2	rs2405432
TLR4 (D299G)	rs4986790
TLR4 (T399I)	rs4986791
TLR4 (S360N)	rs4987233
TLR9	rs187084
TLR9	rs352140
NFC4	rs4821544
KIF21B	rs11584383
IKZF1	rs1456893
C11orf30	rs7927894
CCL2, CCL7	rs991804
ICOSLG	rs762421
TNFAIP3	rs7753394
FLJ45139	rs2836754
PTGER4	rs4613763

【０１８２】

表Ｄ：ＵＣ遺伝子及びＳＮＰ

【表Ｄ】

遺伝子	SNP
ECM1	rs7511649
ECM1 (T130M)	rs3737240
ECM1 (G290S)	rs13294
GLI1 (G933D)	rs2228224
GLI1 (Q1100E)	rs2228226
MDR1 (3435C>T)	rs1045642
MDR1 (A893S/T)	rs2032582
MAGI2	rs6962966
MAGI2	rs2160322
IL26	rs12815372
IFNG, IL26	rs1558744
IFNG, IL26	rs971545
IL26	rs2870946
ARPC2	rs12612347
IL10, IL19	rs3024493
IL10, IL19	rs3024505
IL23R	rs1004819
IL23R	rs2201841
IL23R	rs11209026
IL23R	rs11465804
IL23R	rs10889677
BTLN2	rs9268480
HLA-DRB1	rs660895
MEP1	rs6920863
MEP1	rs2274658
MEP1	rs4714952
MEP1	rs1059276
PUS10	rs13003464
PUS10	rs6706689
RNF186	rs3806308
RNF186	rs1317209
RNF186	rs6426833
FCGR2A, C	rs10800309
CEP72	rs4957048
DLD, LAMB1	rs4598195
CAPN10, KIF1A	rs4676410

【０１８３】

表Ｅ：ＩＢＤ遺伝子及びＳＮＰ

【表Ｅ】

遺伝子	SNP
IL23R (R381Q)	rs11209026
IL23R	rs11805303
IL23R	rs7517847
IL12B/p40	rs1368438
IL12B/p40	rs10045431
IL12B/p40	rs6556416
IL12B/p40	rs6887695
IL12B/p40	rs3212227
STAT3	rs744166
JAK2	rs10974914
JAK2	rs10758669
NKX2-3	rs6584283
NKX2-3	rs10883365
NKX2-3	rs11190140
IL18RAP	rs917997
LYRM4	rs12529198
CDKAL1	rs6908425
MAGI2	rs2160322
TNFRSF6B	rs2160322
TNFRSF6B	rs2315008
TNFRSF6B	rs4809330
PSMG1	rs2094871
PSMG1	rs2836878
PTPN2	rs2542151
MST1/3p21	rs9858542
MST1/3p21	rs3197999
SLC22A23	rs17309827
MHC	rs660895
XBP1	rs35873774
ICOSLG1	rs762421
BTLN2	rs3763313
BTLN2	rs2395185
BTLN2	rs9268480
ATG5	rs7746082
CUL2, CREM	rs17582416
CARD9	rs4077515
ORMDL3	rs2872507
ORMDL3	rs2305480

【０１８４】

[0198]本発明で有用なさらなるＳＮＰには、例えば、ｒｓ２１８８９６２、ｒｓ９２８６８７９、ｒｓ１１５８４３８３、ｒｓ７７４６０８２、ｒｓ１４５６８９３、ｒｓ１５５１３９８、ｒｓ１７５８２４１６、ｒｓ３７６４１４７、ｒｓ１７３６１３５、ｒｓ４８０７５６９、ｒｓ７７５８０８０及びｒｓ８０９８６７３が含まれる。例えば、Ｂａｒ

ｒｅｔｔら，Ｎａｔ．Ｇｅｎｅｔ．，４０：９５５～６２（２００８）を参照されたい。
【０１８５】
１．ＡＴＧ１６Ｌ１
ＡＴＧ１６Ｌ１（自己貪食関連１６様１としても知られている。）は、細胞質成分をリソソームに送達する細胞内過程である自己貪食と呼ばれる過程に関与するタンパク質である。自己貪食とは、細胞成分を再利用するために細胞によって使用される過程である。また、自己貪食過程は炎症反応にも関与しており、細菌による免疫系の破壊を促進する。ＡＴＧ１６Ｌ１タンパク質は、大きなタンパク質複合体のＷＤリピート含有成分であり、自食胞形成の間、自己貪食性の単離膜と会合する（Ｍｉｚｕｓｈｉｍａら，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｅｌｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ １１６（９）：１６７９～１６８８（２００３）；Ｈａｍｐｅら，Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ３９：２０７～２１１（２００６））。ＡＴＧ１６Ｌ１はクローン病に関連付けられている（Ｒｉｏｕｘら，Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ３９（５）：５９６～６０４（２００７））。例えば、Ｍａｒｑｕｅｚら，Ｉｎｆｌａｍｍ．Ｂｏｗｅｌ Ｄｉｓｅａｓｅ １５（１１）：１６９７～１７０４（２００９）；Ｍｉｚｕｓｈｉｍａら，Ｊ．Ｃｅｌｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ １１６：１６７９～１６８８（２００３）；Ｚｈｅｎｇら，ＤＮＡ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ：Ｔｈｅ Ｊ ｏｆ ＤＮＡ Ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ａｎｄ Ｍａｐｐｉｎｇ １５（４）：３０３～５（２００４）も参照されたい。
【０１８６】
[0200]ＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子中のＳＮＰなどの対立遺伝子バリアントの存在又は非存在の決定は本発明において特に有用である。本明細書において、用語「ＡＴＧ１６Ｌ１バリアント」又はその変形には、野生型のＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子と比較して１つ又は複数の変化を含有するＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子のヌクレオチド配列、又は野生型のＡＴＧ１６Ｌ１ポリペプチド配列と比較して１つ又は複数の変化を含有するＡＴＧ１６Ｌ１ポリペプチドのアミノ酸配列が含まれる。ＡＴＧ１６Ｌ１（自己貪食関連１６様１としても知られている。）はヒト染色体２に位置決定されている。
【０１８７】
[0201]ＡＴＧ１６Ｌ１の遺伝子位置情報は、例えばＧｅｎｅＩＤ：５５０５４に記載されている。ヒトＡＴＧ１６Ｌ１のｍＲＮＡ（コード）及びポリペプチド配列は、例えば、ＮＭ＿０１７９７４．３又はＮＭ＿０３０８０３．６及びＮＰ＿０６０４４４．３又はＮＰ＿１１０４３０．５にそれぞれ記載されている。さらに、ＡＴＧ１６Ｌ１が含まれるヒト染色体２（２ｑ３７．１）の完全配列、ＧＲＣｈ３７一次参照アセンブリーは、例えばＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＴ＿００５１２０．１６に記載されている。さらに、他の種のＡＴＧ１６Ｌ１の配列はＧｅｎＢａｎｋデータベースに見出すことができる。
【０１８８】
[0202]本発明の方法での使用を見出すｒｓ２２４１８８０　ＳＮＰは、ＮＰ＿０６０４４４．３のヌクレオチド位置２８１位でのスレオニンからアラニンへの変化に対応するＡからＧへの転移としてＮＭ＿０１７９７４．３の１０９８位に位置するか、又はＮＰ＿１１０４３０．５の３００位でのスレオニンからアラニンへの変化に対応するＡからＧへの転移としてＮＭ＿０３０８０３．６の１１５５位に位置する。ＡＴＧ１６Ｌ１のｒｓ２２４１８８０　ＳＮＰ及び他のバリアントの存在は、例えば対立遺伝子識別アッセイ又は配列解析によって検出することができる。
【０１８９】
２．ＥＣＭ１
細胞外マトリックスタンパク質としても知られるＥＣＭ１は、小腸及び大腸で発現する糖タンパク質である。ＥＣＭ１は基底膜と相互作用し、マトリックスメタロプロテアーゼ９を阻害する。ＥＣＭ１はまた、免疫応答の重要な制御因子であるＮＦ－κＢのシグナル伝達を強く活性化する。
【０１９０】
[0204]ＥＣＭ１遺伝子のＳＮＰなどの対立遺伝子バリアントの有無の決定は本発明で特

に有用である。本明細書において、用語「ＥＣＭ１バリアント」又はその変形には、野生型ＥＣＭ１遺伝子と比較して１つ又は複数の変化を含有するＥＣＭ１遺伝子のヌクレオチド配列、又は野生型ＥＣＭ１ポリペプチド配列と比較して１つ又は複数の変化を含有するＥＣＭ１ポリペプチドのアミノ酸配列が含まれる。ＥＣＭ１遺伝子は、ヒト染色体１ｑ２１上に位置決定されている（Ｆｉｓｈｅｒら，Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ．，４０：７１０～７１２（２００８））。

【０１９１】

[0205]ＥＣＭ１の遺伝子位置情報は、例えば遺伝子ＩＤ：１８９３に記載されている。ヒトＥＣＭ１のｍＲＮＡ（コード）配列は、例えばＮＭ＿００１２０２８５８．１、ＮＭ＿０２２６６４．２及びＮＭ＿００４４２５．３に記載されている。それぞれのポリペプチド配列は、ＮＰ＿００１１８９７８７．１、ＮＰ＿００４４１６．２及びＮＰ＿０７３１５５．２に記載されている。さらに、ＥＣＭ１が含まれるヒト染色体１（１ｑ２１）の完全配列、ＧＲＣｈ３７．ｐ５の一次参照アセンブリーは、例えばＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＣ＿０００００１．１０に記載されている。さらに、他の種のＥＣＭ１の配列はＧｅｎＢａｎｋデータベースに見出すことができる。

【０１９２】

[0206]ＥＣＭ１遺伝子の近く及びＥＣＭ１遺伝子内の種々のＳＮＰが文献に記載されている。例えば潰瘍性大腸炎に対する非同義ＳＮＰスキャンにおいて同定されたＥＣＭ１のＳＮＰは、ＵＣに関係付けられている（Ｆｉｓｈｅｒら，Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ．，４０：７１０～７１２（２００８））。ＥＣＭ１のＳＮＰの非限定例としては、ｒｓ３７３７２４０、ｒｓ７５１１６４９、ｒｓ１３２９４、ｒｓ１２７２４４５０、ｒｓ１１２０５３８６、ｒｓ１１２０５３８７、ｒｓ９６６１０４０、ｒｓ８７５５１４及びｒｓ１１８１０４１９が含まれる。ＥＣＭ１のｒｓ３７３７２４０　ＳＮＰ及び他のバリアントの存在は、例えば対立遺伝子識別アッセイ又は配列解析によって検出することができる。

【０１９３】

３．ＮＫＸ２－３

ホメオドメイン含有転写因子のＮＫＸファミリーのメンバーであるＮＫＸ２－３は、消化管、脾臓及び消化管に付随するリンパ組織の発達に関連付けられている。

【０１９４】

[0208]ＮＫＸ２－３遺伝子のＳＮＰなどの対立遺伝子バリアントの有無の決定は本発明で特に有用である。本明細書において、用語「ＮＫＸ２－３バリアント」又はその変形には、野生型ＮＫＸ２－３遺伝子と比較して１つ又は複数の変化を含有するＮＫＸ２－３遺伝子のヌクレオチド配列、又は野生型ＮＫＸ２－３ポリペプチド配列と比較して１つ又は複数の変化を含有するＮＫＸ２－３ポリペプチドのアミノ酸配列が含まれる。ＮＫＸ２－３遺伝子は、ヒト染色体１０ｑ２４．２上に位置決定されている。

【０１９５】

[0209]ＮＫＸ２－３の遺伝子位置情報は、例えばＧｅｎｅＩＤ：１５９２９６に記載されている。ヒトＮＫＸ２－３のｍＲＮＡ（コード）配列及び対応するポリペプチド配列は、例えばＮＭ＿１４５２８５．２及びＮＰ＿６６０３２８．２にそれぞれ記載されている。さらに、ＮＫＸ２－３が含まれるヒト染色体１０（１０ｑ２４．２）の完全配列、ＧＲＣｈ３７．ｐ５一次参照アセンブリーは、例えばＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＣ＿０００００１０．１０に記載されている。さらに、他の種のＮＫＸ２－３の配列はＧｅｎＢａｎｋデータベースに見出すことができる。

【０１９６】

[0210]ＮＫＸ２－３遺伝子の近く及びＮＫＸ２－３遺伝子内の種々のＳＮＰが文献に記載されている。例えばＮＫＸ２－３のＳＮＰ　ｒｓ１０８８３３６５は、日本人集団におけるＵＣ及びＣＤ（Ａｒａｉら，Ｈｕｍ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，７２：５８７～９１（２０１１））及び西欧人集団におけるＣＤの罹患率（Ｍｅｇｇｙｅｓｉら，Ｗｏｒｌｄ　Ｊ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．，１６：５２３３～５２４０（２０１０）と関係付けられ

ている。ＮＫＸ２－３のＳＮＰの非限定例としては、ｒｓ１０８８３３６５、ｒｓ６５８４２８３、ｒｓ１１１９０１４０、ｒｓ８８８２０８、ｒｓ１１５９６００８、ｒｓ７９１１６８０、ｒｓ７９０８７０４、ｒｓ４１２９０５０４、ｒｓ７８９３８４０、ｒｓ８８４１４４、ｒｓ１００８２５１１、ｒｓ６０５０５５０９及びｒｓ５９７５４１１２が挙げられる。ＮＫＸ２－３のＳＮＰ　ｒｓ１０８８３３６５及び他のバリアントの存在は、例えば対立遺伝子識別アッセイ又は配列解析によって検出することができる。

【０１９７】

４．ＳＴＡＴ３

ＳＴＡＴタンパク質ファミリーのメンバーであるシグナル伝達性転写因子３（ＳＴＡＴ３）は、細胞成長、アポトーシス、細胞運動及びサイトカイン産生などの多くの細胞内過程に関与する種々の遺伝子の発現を制御する転写因子である。サイトカイン及び成長因子に応答して、ＳＴＡＴ３はＪＡＫキナーゼによって活性化され、核に移行して転写活性化因子として作用する。研究によって、ＳＴＡＴ３が炎症性腸疾患の病変形成を含む種々の免疫異常において重要な役割を果たすことが実証された（例えば、Ｓｕｇｉｍｏｔｏ，Ｗｏｒｌｄ　Ｊ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．，１４：５１１０～５１１４、（２００８）を参照）。

【０１９８】

[0212]ＳＴＡＴ３の遺伝子位置情報は、例えばＧｅｎｅＩＤ：６７７４に記載されている。ヒトＳＴＡＴ３のｍＲＮＡ（コード）配列及び対応するポリペプチド配列は、例えばＮＭ＿１３９２７６．２、ＮＭ＿００３１５０．３及びＮＭ＿２１３６６２．１、並びにＮＰ＿６４４８０５．１、ＮＰ＿００３１４１．２及びＮＰ＿９９８８２７．１にそれぞれ記載されている。さらに、ＳＴＡＴ３が含まれるヒト染色体１７ｑ２１．３１の完全配列、ＧＲＣｈ３７．ｐ５一次アセンブリーは、例えばＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＣ＿０００００１７．１０に記載されている。さらに、他の種のＳＴＡＴ３の配列はＧｅｎＢａｎｋデータベースに見出すことができる。

【０１９９】

[0213]ＳＴＡＴ３遺伝子の近く及びＳＴＡＴ３遺伝子内の種々のＳＮＰが文献に記載されている（Ｆｒａｎｋｅら，Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，４０：７１３～７１５（２００８）；Ｓａｔｏら，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，２９：８１５～２５（２００９）；Ｆｅｒｇｕｓｏｎら，Ｍｕｔａｔ．Ｒｅｓ．，６９０：１０８～１５（２０１０）；Ｂｏｌａｎｄら，Ｄｉｇ．Ｄｉｓ．，２８：５９０～５（２０１０）を参照）。ＳＴＡＴ３のＳＮＰの非限定例としては、ｒｓ７４４１６６、ｒｓ１１５４７４５５、ｒｓ９５７９７０、ｒｓ２２９１２８１、ｒｓ１０６４１１１、ｒｓ１０７７５、ｒｓ９９１２７７３、ｒｓ２３０６５８０、ｒｓ１９０５３４０、ｒｓ１２９４７８０８、ｒｓ１２９４９９１８、ｒｓ３４４６０７１８、ｒｓ１０６４１１０、ｒｓ１０５３００４、ｒｓ３７３６１６４、ｒｓ７２１１７７７、ｒｓ１０６４１１８、ｒｓ１２７２１５７６、ｒｓ３５４９９７５４、ｒｓ４７９６６４４、ｒｓ３７３６１６３、ｒｓ３８０９７５８、ｒｓ３７４４４８３、ｒｓ１７８８５２９１、ｒｓ６５０３６９８及びｒｓ７７４７９８５６が挙げられる。ＳＴＡＴ３のＳＮＰ　ｒｓ７４４１６６及び他のバリアントの存在は、例えば対立遺伝子識別アッセイ又は配列解析によって検出することができる。

【０２００】

５．ＮＯＤ２／ＣＡＲＤ１５

ＮＯＤ２／ＣＡＲＤ１５遺伝子におけるＳＮＰなどの対立遺伝子バリアントの有無の決定も本発明で有用であり得る。本明細書において、用語「ＮＯＤ２／ＣＡＲＤ１５バリアント」又は「ＮＯＤ２バリアント」には、野生型ＮＯＤ２遺伝子と比較して１つ若しくは複数の変化を含有するＮＯＤ２遺伝子のヌクレオチド配列、又は野生型ＮＯＤ２ポリペプチド配列と比較して１つ若しくは複数の変化を含有するＮＯＤ２ポリペプチドのアミノ酸配列が含まれる。ＣＡＲＤ１５としても知られるＮＯＤ２は、染色体１６上のＩＢＤ１座位に位置決定されており、ポジショナルクローニング（Ｈｕｇｏｔら，Ｎａｔｕｒｅ，４１１：５９９～６０３（２００１））及び位置的候補遺伝子戦略（Ｏｇｕｒａら，Ｎａｔ

ｕｒｅ，４１１：６０３～６０６（２００１）；Ｈａｍｐｅら，Ｌａｎｃｅｔ，３５７：１９２５～１９２８（２００１））によって同定されている。ＩＢＤ１座位は、炎症性腸疾患に対して高い多点連鎖スコア（ＭＬＳ）を有する（１６ｑ１２のマーカーＤ１６Ｓ４１１においてＭＬＳ＝５．７）。例えば、Ｃｈｏら，Ｉｎｆｌａｍｍ．Ｂｏｗｅｌ Ｄｉｓ．，３：１８６～１９０（１９９７）；Ａｋｏｌｋａｒら，Ａｍ．Ｊ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．，９６：１１２７～１１３２（２００１）；Ｏｈｍｅｎら，Ｈｕｍ．Ｍｏｌ．Ｇｅｎｅｔ．，５：１６７９～１６８３（１９９６）；Ｐａｒｋｅｓら，Ｌａｎｃｅｔ，３４８：１５８８（１９９６）；Ｃａｖａｎａｕｇｈら，Ａｎｎ．Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅｔ．，６２：２９１～８（１９９８）；Ｂｒａｎｔら，Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ，１１５：１０５６～１０６１（１９９８）；Ｃｕｒｒａｎら，Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ，１１５：１０６６～１０７１（１９９８）；Ｈａｍｐｅら，Ａｍ．Ｊ．Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅｔ．，６４：８０８～８１６（１９９９）；及びＡｎｎｅｓｅら，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅｔ．，７：５６７～５７３（１９９９）を参照されたい。

【０２０１】

[0215]ヒトＮＯＤ２のｍＲＮＡ（コード）及びポリペプチド配列は、例えばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿０２２１６２及びＮＰ＿０７１４４５にそれぞれ記載されている。さらに、ＮＯＤ２が含まれるヒト染色体１６のクローンＲＰ１１－３２７Ｆ２２の完全配列は、例えばＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＡＣ００７７２８に記載されている。さらに、他の種のＮＯＤ２の配列はＧｅｎＢａｎｋデータベースに見出すことができる。

【０２０２】

[0216]ＮＯＤ２タンパク質は、ＮＦ－カッパＢ（ＮＦ－ｋＢ）を活性化することができるアミノ末端カスパーゼ動員ドメイン（ＣＡＲＤ）及びいくつかのカルボキシ末端ロイシンリッチリピートドメインを含有する（Ｏｇｕｒａら，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２７６：４８１２～４８１８（２００１））。ＮＯＤ２は、アポトーシス制御因子Ａｐａｆ－１／ＣＥＤ－４及び植物病害抵抗性遺伝子産物種と構造的相同性を有する（Ｏｇｕｒａら（上記））。植物病害抵抗性遺伝子産物と同様に、ＮＯＤ２は、アミノ末端エフェクタードメイン、ヌクレオチド結合ドメイン及びロイシンリッチリピート（ＬＲＲ）を有する。野生型ＮＯＤ２は、核内因子ＮＦ－カッパＢを活性化し、ＮＦ－カッパＢを細菌性リポ多糖（ＬＰＳ；Ｏｇｕｒａら（上記）；Ｉｎｏｈａｒａら，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２７６：２５５１～２５５４（２００１））に対して応答性とする。ＮＯＤ２はＬＰＳに対する細胞間受容体として機能することができ、ＮＯＤ２のロイシンリッチリピートは応答性に必要とされる。

【０２０３】

[0217]ＮＯＤ２コード領域中の３つの一塩基多型での変異が文献に記載されている。Ｒ７０２Ｗ（「ＳＮＰ８」）、Ｇ９０８Ｒ（「ＳＮＰ１２」）及び１００７ｆｓ（「ＳＮＰ１３」）と命名されたこれらの３つのＳＮＰはＮＯＤ２遺伝子のカルボキシ末端領域に位置する（Ｈｕｇｏｔら（上記））。ＳＮＰ８、ＳＮＰ１２及びＳＮＰ１３並びに本発明での使用に適したさらなるＮＯＤ２遺伝子のＳＮＰのさらなる解説は、例えば、米国特許第６８３５８１５号、第６８５８３９１号及び第７５９２４３７号、並びに米国特許公開第２００３０１９０６３９号、第２００５００５４０２号及び第２００７００７２１８０号に見出すことができる。

【０２０４】

[0218]一部の実施形態では、ＮＯＤ２バリアントは、ＮＯＤ２座位のコード領域、例えばカルボキシ末端部分にあるいくつかのロイシンリッチリピートをコードする領域内に位置する。ＮＯＤ２のロイシンリッチリピート領域に位置するそうしたＮＯＤ２バリアントには、これらに限定されないが、Ｒ７０２Ｗ（「ＳＮＰ８」）及びＧ９０８Ｒ（「ＳＮＰ１２」）が含まれる。本発明で有用なＮＯＤ２バリアントは、野生型ＮＯＤ２ポリペプチドによるＮＦ－カッパＢの活性化と比較して、ＮＦ－カッパＢを活性化する能力が低下したＮＯＤ２ポリペプチドもコードし得る。非限定例として、ＮＯＤ２バリアント１００７ｆｓ（「ＳＮＰ１３」）は、ＬＰＳ刺激に応答してＮＦ－カッパＢを誘導する能力が低下

した、短縮されたＮＯＤ２ポリペプチドをもたらす（Ｏｇｕｒａら，Ｎａｔｕｒｅ，４１１：６０３～６０６（２００１））。

【０２０５】

[0219]本発明で有用なＮＯＤ２バリアントは、例えばＲ７０２Ｗ、Ｇ９０８Ｒ又は１００７ｆｓであり得る。Ｒ７０２Ｗ、Ｇ９０８Ｒ及び１００７ｆｓはＮＯＤ２のコード領域内に位置する。一実施形態では、本発明の方法はＲ７０２Ｗ　ＮＯＤ２バリアントを用いて実施される。本明細書において、用語「Ｒ７０２Ｗ」には、ＮＯＤ２タンパク質のアミノ酸７０２をコードする三つ組内に生じる、ＮＯＤ２遺伝子のエクソン４内の一塩基多型が含まれる。野生型ＮＯＤ２対立遺伝子は、アミノ酸７０２でアルギニンをコードする三つ組内に存在するシトシン（ｃ）残基をＡＣ００７７２８配列の１３８９９１位に含有する。Ｒ７０２Ｗ　ＮＯＤ２バリアントは、チミン（ｔ）残基をＡＣ００７７２８配列の１３８９９１位に含有し、アルギニン（Ｒ）からトリプトファン（Ｗ）への置換をＮＯＤ２タンパク質のアミノ酸７０２でもたらす。したがって、このＮＯＤ２バリアントは「Ｒ７０２Ｗ」又は「７０２Ｗ」で表示され、Ｈｕｇｏｔら（上記）の以前の番号付けシステムに基づいて「Ｒ６７５Ｗ」で表示することもできる。さらに、Ｒ７０２Ｗバリアントは、「ＳＮＰ８」対立遺伝子又はＳＮＰ８での「２」対立遺伝子としても知られる。Ｒ７０２Ｗ又はＳＮＰ８に対するＮＣＢＩのＳＮＰ　ＩＤ番号はｒｓ２０６６８４４である。Ｒ７０２Ｗ　ＮＯＤ２バリアント及び他のＮＯＤ２バリアントの存在は、好都合にも、例えば対立遺伝子識別アッセイ又は配列解析によって検出することができる。

【０２０６】

[0220]本発明の方法は、Ｇ９０８Ｒ　ＮＯＤ２バリアントを用いて実施することもできる。本明細書において、用語「Ｇ９０８Ｒ」には、ＮＯＤ２タンパク質のアミノ酸９０８をコードする三つ組内に生じる、ＮＯＤ２遺伝子のエクソン８内の一塩基多型が含まれる。アミノ酸９０８はＮＯＤ２遺伝子のロイシンリッチリピート領域内に位置する。野生型ＮＯＤ２対立遺伝子は、アミノ酸９０８でグリシンをコードする三つ組内に存在するグアニン（ｇ）残基をＡＣ００７７２８配列の１２８３７７位に含有する。Ｇ９０８Ｒ　ＮＯＤ２バリアントは、シトシン（ｃ）残基をＡＣ００７７２８配列の１２８３７７位に含有し、グリシン（Ｇ）からアルギニン（Ｒ）への置換をＮＯＤ２タンパク質のアミノ酸９０８でもたらす。したがって、このＮＯＤ２バリアントは「Ｇ９０８Ｒ」又は「９０８Ｒ」で表示され、Ｈｕｇｏｔら（上記）の以前の番号付けシステムに基づいて、「Ｇ８８１Ｒ」で表示することもできる。さらにＧ９０８Ｒバリアントは、「ＳＮＰ１２」対立遺伝子又はＳＮＰ１２での「２」対立遺伝子としても知られる。Ｇ９０８Ｒ　ＳＮＰ１２に対するＮＣＢＩのＳＮＰ　ＩＤ番号はｒｓ２０６６８４５である。

【０２０７】

[0221]本発明の方法は、１００７ｆｓ　ＮＯＤ２バリアントを用いて実施することもできる。このバリアントは、ＮＯＤ２タンパク質の１０番目のロイシンリッチリピートにフレームシフトをもたらし、後に未成熟終止コドンが続く単一ヌクレオチドの挿入である。生成されたＮＯＤ２タンパク質短縮体は、細菌性リポ多糖に応答するＮＦ－カッパＢの活性化を妨げるように思われる（Ｏｇｕｒａら（上記））。本明細書において、用語「１００７ｆｓ」には、ＮＯＤ２タンパク質のアミノ酸１００７をコードする三つ組に生じる、ＮＯＤ２遺伝子のエクソン１１内の一塩基多型が含まれる。１００７ｆｓバリアントは、ＡＣ００７７２８配列の１２１１３９位に付加されたシトシンを含有し、アミノ酸１００７でフレームシフト変異をもたらす。したがって、このＮＯＤ２バリアントは、「１００７ｆｓ」で表示され、Ｈｕｇｏｔら（上記）の以前の番号付けシステムに基づいて「３０２０ｉｎｓＣ」又は「９８０ｆｓ」で表示することもできる。さらに、１００７ｆｓ　ＮＯＤ２バリアントは、「ＳＮＰ１３」対立遺伝子又はＳＮＰ１３での「２」対立遺伝子としても知られる。１００７ｆｓ又はＳＮＰ１３に対するＮＣＢＩのＳＮＰ　ＩＤ番号はｒｓ２０６６８４７である。

【０２０８】

[0222]特定のＮＯＤ２バリアント対立遺伝子又は他の多型対立遺伝子は、好都合にも、

例えばＰＥ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ（Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ，ＣＡ）から得られる市販の参照ＤＮＡを使用して、ヒト多型研究センター（ＣＥＰＨ）参照個体（例えば、１３４７－０２（Ｄｉｂら，Ｎａｔｕｒｅ，３８０：１５２～１５４（１９９６））と称される個体）と比較して定義できることを当業者は認識している。さらにＳＮＰに関する具体的な情報は、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のｄｂＳＮＰから得ることができる。

【０２０９】

[0223]ＮＯＤ２バリアントは、ＮＯＤ２座位の非コード領域に位置し得る。非コード領域には、例えばイントロン配列並びに５’及び３’非翻訳配列が含まれる。ＮＯＤ２遺伝子の非コード領域に位置するＮＯＤ２バリアント対立遺伝子の非限定例は、ＪＷ１バリアントであり、これは、Ｓｕｇｉｍｕｒａら，Ａｍ．Ｊ．Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅｔ．，７２：５０９～５１８（２００３）及び米国特許出願公開第２００７００７２１８０号に記載されている。ＮＯＤ２遺伝子の３’非翻訳領域に位置するＮＯＤ２バリアント対立遺伝子の例としては、これらに限定されないが、ＪＷ１５及びＪＷ１６バリアント対立遺伝子が挙げられ、これらは米国特許出願公開第２００７００７２１８０号に記載されている。ＮＯＤ２遺伝子の５’非翻訳領域（例えばプロモーター領域）に位置するＮＯＤ２バリアント対立遺伝子の例としては、これらに限定されないが、ＪＷ１７及びＪＷ１８バリアント対立遺伝子が挙げられ、これらは米国特許出願公開第２００７００７２１８０号に記載されている。

【０２１０】

[0224]本明細書において、用語「ＪＷ１バリアント対立遺伝子」には、ＮＯＤ２遺伝子の介在配列８（イントロン８）のヌクレオチド１５８での遺伝的変異が含まれる。ＡＣ００７７２８配列に関しては、ＪＷ１バリアント対立遺伝子は１２８１４３位に位置する。イントロン８のヌクレオチド１５８での遺伝的変異は、これらに限定されないが、単一のヌクレオチド置換、多数のヌクレオチド置換、又は１つ若しくは複数のヌクレオチドの欠失若しくは挿入であり得る。イントロン８の野生型配列は１５８位にシトシンを有する。非限定例としては、ＪＷ１バリアント対立遺伝子は、シトシン（ｃ）からアデニン（ａ）、シトシン（ｃ）からグアニン（ｇ）、又はシトシン（ｃ）からチミン（ｔ）の置換をイントロン８のヌクレオチド１５８に有し得る。一実施形態では、ＪＷ１バリアント対立遺伝子は、ＮＯＤ２イントロン８のヌクレオチド１５８でのシトシン（ｃ）からチミン（ｔ）への変化である。

【０２１１】

[0225]用語「ＪＷ１５バリアント対立遺伝子」には、ＡＣ００７７２８配列のヌクレオチド位置１１８７９０位での、ＮＯＤ２の３’非翻訳領域の遺伝的変異が含まれる。ヌクレオチド１１８７９０での遺伝的変異は、これらに限定されないが、単一のヌクレオチド置換、多数のヌクレオチド置換、又は１つ若しくは複数のヌクレオチドの欠失若しくは挿入であり得る。野生型配列は１１８７９０位にアデニン（ａ）を有する。非限定例としては、ＪＷ１５バリアント対立遺伝子は、アデニン（ａ）からシトシン（Ｃ）、アデニン（ａ）からグアニン（ｇ）、又はアデニン（ａ）からチミン（ｔ）の置換をヌクレオチド１１８７９０に有し得る。一実施形態では、ＪＷ１５バリアント対立遺伝子は、ヌクレオチド１１８７９０でのアデニン（ａ）からシトシン（ｃ）への変化である。

【０２１２】

[0226]本明細書において、用語「ＪＷ１６バリアント対立遺伝子」には、ＡＣ００７７２８配列のヌクレオチド位置１１８０３１位での、ＮＯＤ２の３’非翻訳領域の遺伝的変異が含まれる。ヌクレオチド１１８０３１での遺伝的変異は、これらに限定されないが、単一のヌクレオチド置換、多数のヌクレオチド置換、又は１つ若しくは複数のヌクレオチドの欠失若しくは挿入であり得る。野生型配列は１１８０３１位にグアニン（ｇ）を有する。非限定例としては、ＪＷ１６バリアント対立遺伝子は、グアニン（ｇ）からシトシン（Ｃ）、グアニン（ｇ）からアデニン、（ａ）又はグアニン（ｇ）からチミン（ｔ）の置換をヌクレオチド１１８０３１に有し得る。一実施形態では、ＪＷ１６バリアント対立遺

伝子は、ヌクレオチド１１８０３１でのグアニン（ｇ）からアデニン（ａ）への変化である。

【０２１３】

[0227]用語「ＪＷ１７バリアント対立遺伝子」には、ＡＣ００７７２８配列のヌクレオチド位置１５４６８８位での、ＮＯＤ２の５’非翻訳領域の遺伝的変異が含まれる。ヌクレオチド１５４６８８での遺伝的変異は、これらに限定されないが、単一ヌクレオチド置換、多数のヌクレオチド置換、又は１つ若しくは複数のヌクレオチドの欠失若しくは挿入であり得る。野生型配列は１５４６８８位にシトシン（ｃ）を有する。非限定例としては、ＪＷ１７バリアント対立遺伝子は、シトシン（ｃ）からグアニン（ｇ）、シトシン（ｃ）からアデニン（ａ）、又はシトシン（ｃ）からチミン（ｔ）の置換をヌクレオチド１５４６８８に有し得る。一実施形態では、ＪＷ１７バリアント対立遺伝子は、ヌクレオチド１５４６８８でのシトシン（ｃ）からチミン（ｔ）への変化である。

【０２１４】

[0228]本明細書において、用語「ＪＷ１８バリアント対立遺伝子」には、ＡＣ００７７２８配列のヌクレオチド位置１５４４７１位での、ＮＯＤ２の５’非翻訳領域の遺伝的変異が含まれる。ヌクレオチド１５４４７１での遺伝的変異は、これらに限定されないが、単一ヌクレオチド置換、多数のヌクレオチド置換、又は１つ若しくは複数のヌクレオチドの欠失若しくは挿入であり得る。野生型配列は１５４４７１位にシトシン（ｃ）を有する。非限定例としては、ＪＷ１８バリアント対立遺伝子は、シトシン（ｃ）からグアニン（ｇ）、シトシン（ｃ）からアデニン（ａ）、又はシトシン（ｃ）からチミン（ｔ）の置換をヌクレオチド１５４４７１に有し得る。一実施形態では、ＪＷ１８バリアント対立遺伝子は、ヌクレオチド１５４４７１でのシトシン（ｃ）からチミン（ｔ）への変化である。

【０２１５】

[0229]本発明の方法は、ＮＯＤ２座位のコード領域又は非コード領域（例えば、イントロン又はプロモーター領域）に位置するこれら又は他のＮＯＤ２バリアント対立遺伝子を用いて実施できることが理解される。本発明の方法は、これらに限定されないがＳＮＰ８、ＳＮＰ１２及びＳＮＰ１３対立遺伝子並びに他のコード及び非コード領域のバリアントを含む、１、２、３、４又はそれより多くのＮＯＤ２バリアントの存在の決定を含むことができることがさらに理解される。

【０２１６】

Ｌ．他の診断マーカー

本発明での使用に適したさらなる診断マーカーには、これらに限定されないが、ラクトフェリン、抗ラクトフェリン抗体、エラスターゼ、カルプロテクチン、ヘモグロビン、及びそれらの組み合わせが含まれる。

【０２１７】

[0231]サンプル中のラクトフェリンの存在又はレベルの決定は本発明で有用であり得る。いくつかの例では、ラクトフェリンの存在又はレベルは、例えばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅ベースのアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現レベルで検出される。他のいくつかの例では、ラクトフェリンの存在又はレベルは、例えば免疫アッセイ（例えばＥＬＩＳＡ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現レベルで検出される。Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）から入手可能なＥＬＩＳＡキットを使用して、血漿、尿、気管支肺胞洗浄又は脳脊髄液サンプル中のヒトラクトフェリンを検出することができる。同様に、Ｕ．Ｓ．Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ（Ｓｗａｍｐｓｃｏｔｔ，ＭＡ）から入手可能なＥＬＩＳＡキットを使用して、血漿サンプル中のラクトフェリンレベルを決定することができる。同じく、ＴＥＣＨＬＡＢ，Ｉｎｃ．（Ｂｌａｃｋｓｂｕｒｇ，ＶＡ）から入手可能なＥＬＩＳＡキットを使用して、便サンプル中のラクトフェリンレベルを決定することができる。さらに、米国特許出願公開第２００４０１３７５３６号は、便サンプル中の上昇したラクトフェリンレベルの存在を決定するためのＥＬＩＳＡアッセイを記載しており、米国特許出願公開第２００４００３３５３７号は、便、粘液又は胆汁サンプル中の内在性ラクトフェリンの濃度を決定するためのＥＬＩ

ＳＡアッセイについて記載している。一部の実施形態では、次に、例えばラクトフェリンタンパク質又はその断片を使用して、サンプル中の抗ラクトフェリン抗体の存在又はレベルを検出することができる。

【０２１８】

[0232]さらに、潜血、便潜血は胃腸病の指標になることが多く、胃腸出血をモニタリングするための種々のキットが開発されている。例えばＢｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒの製品であるＨｅｍｏｃｃｕｌｔ　ＳＥＮＳＡは、胃腸出血、鉄欠乏、消化性潰瘍、潰瘍性大腸炎に関する診断援助となり、一部の例では、結腸直腸癌のスクリーニングにおける診断援助となる。この特定のアッセイは、過酸化水素によってグアヤクが酸化して青色を生じることに基づく。便サンプル中の血液を検出するための類似の比色アッセイは、Ｈｅｌｅｎａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ｂｅａｕｍｏｎｔ，ＴＸ）から市販品として入手可能である。ヘモグロビン又はヘム活性の存在又はレベルを決定することによって便サンプル中の潜血を検出するための他の方法は、例えば、米国特許第４２７７２５０号、第４９２００４５号、第５０８１０４０号及び第５３１０６８４号に記載されている。

【０２１９】

[0233]カルプロテクチンは、すべての細胞、組織及び体液に見出されるカルシウム及び亜鉛結合タンパク質である。カルプロテクチンは、好中性顆粒球及びマクロファージの主要なタンパク質であり、これらの細胞のサイトゾル画分の全タンパク質の６０％をも占める。したがって、カルプロテクチンは好中球の代謝回転の代用マーカーである。便中のカルプロテクチンの濃度は、腸管粘膜の好中球浸潤の強度及び炎症の重症度と相関する。カルプロテクチンは、少量（５０～１００ｍｇ）の糞便サンプルを用いてＥＬＩＳＡにより測定することができる（例えば、Ｊｏｈｎｅら，Ｓｃａｎｄ　Ｊ　Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．，３６：２９１～２９６（２００１）を参照）。

【０２２０】

ＶＩ．アッセイ

ＩＢＤを診断する、及びＩＢＤの診断を分類する（例えば、ＩＣ、ＣＤ、ＵＣ）ために、当分野で知られている種々のアッセイ、方法、及びキットのうちの任意のものを使用して、サンプル中の１つ又は複数のＩＢＤマーカーの存在又はレベルを検出又は決定することができる。

【０２２１】

[0235]本発明は、個体から得たサンプル中の少なくとも１つのマーカーの存在又はレベルの決定に部分的に依拠する。本明細書において、用語「少なくとも１つのマーカーの存在を検出すること」には、当業者に知られている任意の定量的又は定性的アッセイを使用することによって目的の各マーカーの存在を決定することが含まれる。いくつかの例では、特定の形質、変数又は生化学的若しくは血清学的な物質（例えば、タンパク質又は抗体）の有無を決定する定性的なアッセイは目的の各マーカーを検出するのに適する。他のいくつかの例では、ＲＮＡ、タンパク質、抗体又は活性の有無を決定する定量的なアッセイは目的の各マーカーを検出するのに適する。本明細書において、用語「少なくとも１つのマーカーのレベルを検出すること」には、当業者に知られている任意の直接又は間接的な定量的アッセイを使用することによって目的の各マーカーのレベルを決定することが含まれる。いくつかの例では、例えば相対的又は絶対的なＲＮＡ、タンパク質、抗体又は活性の量を決定する定量的なアッセイは目的の各マーカーのレベルを検出するのに適する。マーカーレベルを検出するのに有用な任意のアッセイはマーカーの有無を検出するのにも有用であることを当業者であれば認識するであろう。

【０２２２】

[0236]本明細書において、用語「抗体」には、ポリクローナル若しくはモノクローナルかつ任意のアイソタイプのものであり得る免疫グロブリン分子の集団、又は免疫グロブリン分子の免疫学的に活性のある断片が含まれる。そのような免疫学的に活性のある断片は、抗原と特異的に結合する抗体分子の部分を構成する、重鎖及び軽鎖可変領域を含有する。例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’又はＦ（ａｂ’）$_2$として当技術分野で知られている免疫グ

ロブリン分子の免疫学的に活性な断片は用語「抗体」に含まれる。

【０２２３】

[0237]フローサイトメトリーを使用して、サンプル中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出することができる。ビーズに基づく免疫アッセイを含むそのようなフローサイトメトリーアッセイを使用して、例えば、カンジダ・アルビカンス及びＨＩＶタンパク質に対する血清抗体の検出について記載されたものと同じ様式で、抗体マーカーレベルを決定することができる（例えば、Ｂｉｓｈｏｐ及びＤａｖｉｓ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ，２１０：７９～８７（１９９７）；ＭｃＨｕｇｈら，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ，１１６：２１３（１９８９）；Ｓｃｉｌｌｉａｎら，Ｂｌｏｏｄ，７３：２０４１（１９８９）を参照）。

【０２２４】

[0238]マーカーに特異的な組換え抗原を発現させるためのファージディスプレイも、サンプル中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出するために使用することができる。例えば抗体マーカーに特異的な抗原を発現するファージ粒子を、所望の場合は、抗ファージモノクローナル抗体などの抗体を使用してマルチウェルプレートに固定することができる（Ｆｅｌｉｃｉら，“Ｐｈａｇｅ－Ｄｉｓｐｌａｙｅｄ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ ａｓ Ｔｏｏｌｓ ｆｏｒ Ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒａ”，Ａｂｅｌｓｏｎ（編），Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌ．，２６７，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ：Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．（１９９６））。

【０２２５】

[0239]競合的及び非競合的免疫アッセイを含む種々の免疫アッセイ法も、サンプル中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出するために使用することができる（例えば、Ｓｅｌｆ及びＣｏｏｋ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，７：６０～６５（１９９６）を参照）。用語「免疫アッセイ」には、これらに限定されないが、酵素増幅免疫アッセイ法（ＥＭＩＴ）、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、抗原捕捉ＥＬＩＳＡ、サンドイッチＥＬＩＳＡ、ＩｇＭ抗体捕捉ＥＬＩＳＡ（ＭＡＣ ＥＬＩＳＡ）、及び微粒子酵素免疫アッセイ（ＭＥＩＡ）などの酵素免疫アッセイ（ＥＩＡ）、キャピラリー電気泳動免疫アッセイ（ＣＥＩＡ）、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、免疫放射線アッセイ（ＩＲＭＡ）、蛍光偏光免疫アッセイ（ＦＰＩＡ）、並びに化学発光アッセイ（ＣＬ）を含む方法が包含される。所望の場合は、そのような免疫アッセイは自動であり得る。また、免疫アッセイは、レーザー誘導性蛍光と併せて使用することもできる（例えば、Ｓｃｈｍａｌｚｉｎｇ及びＮａｓｈａｂｅｈ，Ｅｌｅｃｔｒｏｐｈｏｒｅｓｉｓ，１８：２１８４～２１９３（１９９７）；Ｂａｏ，Ｊ．Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒ．Ｂ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｓｃｉ．，６９９：４６３～４８０（１９９７）を参照）。また、フローインジェクションリポソーム免疫アッセイ及びリポソーム免疫センサーなどのリポソーム免疫アッセイも、本発明における使用に適切である（例えば、Ｒｏｎｇｅｎら，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ，２０４：１０５～１３３（１９９７）を参照）。さらに、マーカー濃度の関数としてピーク速度シグナルに変換される増加した光散乱をタンパク質／抗体複合体の形成がもたらす比濁分析アッセイが、本発明における使用に適切である。比濁分析アッセイはＢｅｃｋｍａｎ Ｃｏｕｌｔｅｒから販売されており（Ｂｒｅａ，ＣＡ；キット＃４４９４３０）、ベーリング比濁計分析器（Ｂｅｈｒｉｎｇ Ｎｅｐｈｅｌｏｍｅｔｅｒ Ａｎａｌｙｚｅｒ）を用いて行うことができる（Ｆｉｎｋら，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｃｈｅｍ．Ｃｌｉｎ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２７：２６１～２７６（１９８９））。

【０２２６】

[0240]抗原捕捉ＥＬＩＳＡは、サンプル中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出するために有用であり得る。例えば、抗原捕捉ＥＬＩＳＡでは、目的のマーカーに向けられた抗体を固相に結合させ、マーカーが抗体によって結合されるようにサンプルを加える。洗浄によって未結合のタンパク質を除去した後、結合したマーカーの量を、例えばラジオイムノアッセイを使用して定量することができる（例えば、Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ

Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８８）を参照）。また、サンドイッチＥＬＩＳＡも本発明における使用に適切な場合がある。例えば、二抗体のサンドイッチアッセイでは、第１の抗体を固体支持体と結合させ、目的のマーカーを第１の抗体と結合させる。マーカーの量は、マーカーと結合する第２の抗体の量を測定することによって定量する。抗体は、磁気若しくはクロマトグラフィーマトリックス粒子、アッセイプレート（例えばマイクロタイターウェル）の表面、固体基質材料の小片又は膜（例えば、プラスチック、ナイロン、紙）などの種々の固体支持体上に固定することができる。抗体又は複数の抗体を固体支持体にアレイでコーティングすることによって、アッセイ条片を調製することができる。その後、この条片を試験サンプルに浸し、洗浄及び検出ステップによって素早く処理して、有色スポットなどの測定可能なシグナルを生じさせることができる。

【０２２７】

[0241]例えばヨウ素－１２５（^{125}Ｉ）で標識した二次抗体を使用したラジオイムノアッセイ（Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ（上記））も、サンプル中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出するために適切である。また、化学発光性のマーカーで標識した二次抗体も、本発明における使用に適切な場合がある。化学発光性の二次抗体を使用した化学発光アッセイは、マーカーレベルの高感度の非放射性検出に適している。そのような二次抗体は種々の供給源、例えばＡｍｅｒｓｈａｍ Ｌｉｆｅｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．（Ａｒｌｉｎｇｔｏｎ Ｈｅｉｇｈｔｓ，ＩＬ）から商業的に入手することができる。

【０２２８】

[0242]上述の免疫アッセイは、サンプル中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出するために特に有用である。非限定的な例として、固定した好中球ＥＬＩＳＡは、サンプルがＡＮＣＡに関して陽性であるかどうかを決定するため、又はサンプル中のＡＮＣＡレベルを決定するために有用である。同様に、酵母細胞壁ホスホペプチドマンナンを使用したＥＬＩＳＡは、サンプルがＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧに関して陽性であるかどうかを決定するため、又はサンプル中のＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧレベルを決定するために有用である。ＯｍｐＣタンパク質又はその断片を使用したＥＬＩＳＡは、サンプルが抗ＯｍｐＣ抗体に関して陽性であるかどうかを決定するため、又はサンプル中の抗ＯｍｐＣ抗体レベルを決定するために有用である。Ｉ２タンパク質又はその断片を使用したＥＬＩＳＡは、サンプルが抗Ｉ２抗体に関して陽性であるかどうかを決定するため、又はサンプル中の抗Ｉ２抗体レベルを決定するために有用である。フラジェリンタンパク質（例えば、Ｃｂｉｒ－１フラジェリン、Ｆｌａ２フラジェリン、ＦｌａＸフラジェリン）又はその断片を使用したＥＬＩＳＡは、サンプルが抗フラジェリン抗体に関して陽性であるかどうかを決定するため、又はサンプル中の抗フラジェリン抗体レベルを決定するために有用である。さらに、上述の免疫アッセイは、サンプル中の他のマーカーの存在又はレベルを検出するために特に有用である。

【０２２９】

[0243]抗体と目的のマーカーとの特異的な免疫学的結合は直接又は間接的に検出することができる。直接標識には、抗体に付着した蛍光又はルミネセントのタグ、金属、色素、放射性核種などが含まれる。ヨウ素－１２５（^{125}Ｉ）で標識した抗体を使用して、サンプル中の１つ又は複数のマーカーのレベルを決定することができる。マーカーに特異的な化学発光性抗体を使用した化学発光アッセイは、マーカーレベルの高感度の非放射性検出に適している。また、蛍光色素で標識した抗体も、サンプル中の１つ又は複数のマーカーのレベルを決定するために適している。蛍光色素の例には、これらに限定されないが、ＤＡＰＩ、フルオレセイン、ヘキスト３３２５８、Ｒ－フィコシアニン、Ｂ－フィコエリスリン、Ｒ－フィコエリスリン、ローダミン、テキサスレッド、及びリサミンが含まれる。蛍光色素に連結した二次抗体は商業的に入手することができ、例えば、ヤギＦ（ａｂ’）$_2$抗ヒトＩｇＧ－ＦＩＴＣはＴａｇｏ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌｓ（Ｂｕｒｌｉｎｇａｍｅ，ＣＡ）から入手可能である。

【０２３０】
[0244]間接的な標識には、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）、アルカリホスファターゼ（ＡＰ）、β－ガラクトシダーゼ、ウレアーゼなどなどの当分野で周知の種々の酵素が含まれる。西洋ワサビ－ペルオキシダーゼ検出システムは、例えば、４５０ｎｍで検出可能な可溶性の生成物を過酸化水素の存在下で与える発色基質テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）を用いて使用することができる。アルカリホスファターゼ検出システムは、例えば４０５ｎｍで容易に検出可能な可溶性の生成物を与える発色基質ｐ－ニトロフェニルリン酸を用いて使用することができる。同様に、β－ガラクトシダーゼ検出システムは、４１０ｎｍで検出可能な可溶性の生成物を与える発色基質ｏ－ニトロフェニル－β－Ｄ－ガラクトピラノシド（ＯＮＰＧ）を用いて使用することができる。ウレアーゼ検出システムは、尿素－ブロモクレゾールパープル（Ｓｉｇｍａ　Ｉｍｍｕｎｏｃｈｅｍｉｃａｌｓ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）などの基質を用いて使用することができる。有用な酵素に連結した二次抗体はいくつかの商業的供給源から得ることができ、例えば、ヤギＦ（ａｂ’）$_2$抗ヒトＩｇＧ－アルカリホスファターゼは、Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ（Ｗｅｓｔ　Ｇｒｏｖｅ，ＰＡ）から購入することができる。

【０２３１】
[0245]直接又は間接的な標識からのシグナルは、例えば、発色基質からの色を検出するための分光光度計、^{125}Ｉを検出するためのガンマカウンターなどの放射線を検出するための放射線カウンター、又は特定の波長の光の存在下で蛍光を検出するための蛍光光度計を使用して分析することができる。酵素連結抗体の検出には、マーカーレベルの量の定量分析を、ＥＭＡＸマイクロプレートリーダー（ＥＭＡＸ　Ｍｉｃｒｏｐｌａｔｅ　Ｒｅａｄｅｒ）（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ，Ｍｅｎｌｏ　Ｐａｒｋ，ＣＡ）などの分光光度計を用いて製造者の指示に従って行うことができる。所望の場合は、本明細書に記載のアッセイは、自動化する又はロボットで行うことができ、多数のサンプルからのシグナルを同時に検出することができる。

【０２３２】
[0246]定量的ウエスタンブロッティングを使用して、サンプル中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出又は決定することもできる。ウエスタンブロットは、濃度測定の走査又はリン光体イメージングなどの周知の方法によって定量することができる。非限定的な例として、タンパク質サンプルを１０％ＳＤＳ－ＰＡＧＥレムリ（Ｌａｅｍｍｌｉ）ゲル上で電気泳動させる。一次マウスモノクローナル抗体をブロットと反応させ、予備スロットブロット実験を使用して抗体結合が線形であることを確認することができる。ヤギ抗マウス西洋ワサビペルオキシダーゼカップリング抗体（ＢｉｏＲａｄ）を二次抗体として使用し、シグナル検出は、化学発光を使用して、例えばルネッサンス（Ｒｅｎａｉｓｓａｎｃｅ）化学発光キット（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｎｕｃｌｅａｒ，Ｂｏｓｔｏｎ，ＭＡ）を用いて製造者の指示に従って行う。走査濃度測定計（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｙｎａｍｉｃｓ，Ｓｕｎｎｙｖａｌｅ，ＣＡ）を使用してブロットのオートラジオグラフを分析し、陽性対照に対して正規化する。値は、例えば実測値と陽性対照との比として報告する（濃度測定指数）。そのような方法は、例えばＰａｒｒａら，Ｊ．Ｖａｓｃ．Ｓｕｒｇ．，２８：６６９～６７５（１９９８）に記載のように当分野で周知である。

【０２３３】
[0247]あるいは、種々の免疫組織化学的アッセイ法を使用して、サンプル中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出又は決定することができる。用語「免疫組織化学的アッセイ」には、蛍光顕微鏡観察又は光学顕微鏡観察を使用した、目的のマーカーと反応する抗体とカップリング（すなわちコンジュゲート）させた蛍光色素又は酵素の視覚的検出を利用する方法が包含され、これらに限定されないが、直接蛍光抗体アッセイ、間接蛍光抗体（ＩＦＡ）アッセイ、抗補体免疫蛍光、アビジン－ビオチン免疫蛍光、及び免疫ペルオキシダーゼアッセイが含まれる。例えば、ＩＦＡアッセイは、サンプルがＡＮＣＡに関して陽性かどうか、サンプル中のＡＮＣＡのレベル、サンプルがｐＡＮＣＡに関して陽性かどうか、サンプル中のｐＡＮＣＡのレベル及び／又はＡＮＣＡ染色パターン（例え

ば、ｃＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ、ＮＳＮＡ及び／又はＳＡＰＰＡの染色パターン）を決定するために有用である。サンプル中のＡＮＣＡの濃度は、例えば、エンドポイント滴定によって、又は既知の参照標準と比較した蛍光の視覚的強度を測定することによって定量することができる。

【０２３４】

[0248]あるいは、目的のマーカーの存在又はレベルは、精製したマーカーの量を検出又は定量することによって決定することができる。マーカーの精製は、例えば、高圧液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）によって単独で、又は質量分析（例えば、ＭＡＬＤＩ／ＭＳ、ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ／ＭＳ、ＳＥＬＤＩ－ＴＯＦ／ＭＳ、タンデムＭＳ）と組み合わせて達成することができる。また、目的のマーカーの定性的又は定量的な検出は、これらに限定されないが、ブラッドフォードアッセイ、クマシーブルー染色、銀染色、放射標識したタンパク質用のアッセイ、及び質量分析を含む周知の方法によって決定することもできる。

【０２３５】

[0249]複数のマーカーの分析は、別々に又は１つの試験サンプルを用いて同時に実施してもよい。マーカーの別々又は連続的なアッセイについて、適切な器具には、エレクシス（ＥｌｅｃＳｙｓ）（Ｒｏｃｈｅ）、アックスシム（ＡｘＳｙｍ）（Ａｂｂｏｔｔ）、アクセス（Ａｃｃｅｓｓ）（Ｂｅｃｋｍａｎ）、アドビア（ＡＤＶＩＡ）（登録商標）、セントール（ＣＥＮＴＡＵＲ）（登録商標）（Ｂａｙｅｒ）、及びニコルスアドバンテージ（ＮＩＣＨＯＬＳ　ＡＤＶＡＮＴＡＧＥ）（登録商標）（Ｎｉｃｈｏｌｓ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ）免疫アッセイシステムなどの臨床的実験室分析器が含まれる。好ましい器具又はタンパク質チップは、単一の表面上で複数のマーカーの同時アッセイを行う。特に有用な物理的様式は、複数の異なるマーカーを検出するための複数の異なる、アドレス指定可能な位置を有する表面を含む。そのような様式には、タンパク質マイクロアレイ又は「タンパク質チップ」（例えば、Ｎｇら，Ｊ．Ｃｅｌｌ　Ｍｏｌ．Ｍｅｄ．，６：３２９～３４０（２００２）を参照）及び特定のキャピラリー装置（例えば、米国特許第６０１９９４４号を参照）が含まれる。これらの実施形態では、異なる表面の位置の各々は、各位置で検出するための１つ又は複数のマーカーを固定するための抗体を含んでいてもよい。あるいは、表面は、表面の異なる位置で固定された、検出のために１つ又は複数のマーカーを固定するための抗体を含む１つ又は異なる複数の粒子（例えば、微粒子又はナノ粒子）を含んでいてもよい。

【０２３６】

[0250]種々の目的のマーカーの存在又はレベルを検出するための上述のアッセイに加えて、ノーザン分析、逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応（ＲＴ－ＰＣＲ）、又はマーカーコード配列の一部分と相補的な核酸配列とのハイブリダイゼーションに基づく他の任意の方法（例えばスロットブロットハイブリダイゼーション）などの、ルーチン的な方法を用いるマーカーｍＲＮＡレベルの分析も本発明の範囲内にある。適用可能なＰＣＲ増幅法は、例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら，Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ（１９９９），第７章及び補遺４７；Ｔｈｅｏｐｈｉｌｕｓら，“ＰＣＲ　Ｍｕｔａｔｉｏｎ　Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ”，Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ（２００２）；及びＩｎｎｉｓら，ＰＣＲ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．（１９９０）に記載されている。核酸ハイブリダイゼーション法は、Ａｎｄｅｒｓｏｎ，“Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄ　Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ”，ＢＩＯＳ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，１９９９に記載されている。また、複数の転写された核酸配列（例えば、ｍＲＮＡ又はｃＤＮＡ）の増幅又はハイブリダイゼーションも、マイクロアレイに配置したｍＲＮＡ又はｃＤＮＡ配列で行うことができる。マイクロアレイ法は、Ｈａｒｄｉｍａｎ，“Ｍｉｃｒｏａｒｒａｙｓ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ａｎｄ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ：Ｎｕｔｓ＆Ｂｏｌｔｓ”，ＤＮＡ　Ｐｒｅｓｓ，２００３；及びＢａｌｄｉら，“ＤＮＡ　Ｍｉｃｒｏａｒｒａｙｓ　ａｎ

ｄ Ｇｅｎｅ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ：Ｆｒｏｍ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔｓ ｔｏ Ｄａｔａ Ａｎａｌｙｓｉｓ ａｎｄ Ｍｏｄｅｌｉｎｇ”，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ，２００２に記載されている。

【０２３７】

[0251]多数のサンプルの効率的な処理のために、いくつかの目的のマーカーを１つの試験へと合わせてもよい。さらに、当業者には、同じ対象からの多数のサンプルを（例えば連続する時点で）試験することの価値が理解されよう。そのような一連のサンプルの試験は、マーカーレベルの経時的な変化の同定を可能にすることができる。マーカーレベルの増加又は減少、及びマーカーレベルの変化の非存在は、ＩＢＤの処置を容易にするための有用な予後診断的及び予測的情報を提供することができる。

【０２３８】

[0252]上述のマーカーの１つ又は複数を測定するためのパネルは、ＩＢＤを診断するための、ＩＢＤの確度の高い経過及び転帰を予測するため及びＩＢＤ治療に対する応答の見込みを予測するための本発明のアプローチに関する関連情報を提供するように構築することができる。そうしたパネルは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０、３５、４０又はそれより多くの個々のマーカーの存在又はレベルを検出又は決定するように構築することができる。単一のマーカー又はマーカーのサブセットの分析は、当業者によって種々の臨床設定において実施することもできる。それらには、例えば、通院、応急手当、救命医療、集中治療、モニタリングユニット、入院患者、外来患者、医院、診療所及び集団検診の設定が含まれる。

【０２３９】

[0253]マーカーの分析は種々の物理的様式で行うことができる。多数の試験サンプルの処理を容易にするために、例えばマイクロタイタープレート又は自動化の使用を用いることができる。あるいは、適時の様式での処置、診断及び予後診断容易にするために、単一サンプルの様式を開発することができる。

【０２４０】

[0254]上述に鑑みて、ＩＢＤ又はその臨床亜型に関する診断的情報を提供するため、及びＩＢＤの進行の転帰及び経過に関する予後診断的及び予測的情報を提供するため、及びＩＢＤの処置のための適切な治療方式の選択に関する情報を提供するための本発明の方法は、上述の周知のアッセイ又は当技術分野で知られている他のアッセイの１つ又は任意の組み合わせを使用して、（例えば、本明細書に記載するように、１つ又は複数のＩＢＤマーカーの存在又は濃度レベルを決定することによって）実施できることを当業者は認識している。

【０２４１】

ＶＩＩ．ジェノタイピングの方法

種々の手段を使用して、遺伝子又は任意の本明細書に記載の他の遺伝子マーカー中の多型部位において個体をジェノタイピングして、サンプル（例えば核酸サンプル）が特定のバリアント対立遺伝子又はハプロタイプを含有するかどうかを決定することができる。例えば、個体からの核酸の酵素増幅を好都合に使用して、続く分析のための核酸を得ることができる。また、１つ又は複数の目的の遺伝子マーカーにおける特定のバリアント対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在は、酵素増幅を用いずに個体の核酸から直接決定することもできる。一部の好ましい実施形態では、個体はＡＴＧ１６Ｌ１の座位でジェノタイピングされる。他の好ましい実施形態では、個体はＮＫＸ２－３座位でジェノタイピングされる。さらに別の好ましい実施形態では、個体はＳＴＡＴ３座位でジェノタイピングされる。さらなる好ましい実施形態では、個体はＥＣＭ１座位でジェノタイピングされる。

【０２４２】

[0256]増幅したかどうかにかかわらず、個体からの核酸ジェノタイピングを、種々の方法のうちの任意のものを用いて行うことができる。有用な方法には、これらに限定されな

いが、すべて単独で又は組み合わせて使用することができる、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）に基づく分析、配列解析、及び電気泳動分析が含まれる。本明細書において、用語「核酸」は、例えば、ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ及びｍＲＮＡを含む、一本鎖又は二本鎖のＤＮＡ又はＲＮＡ分子などのポリヌクレオチドを意味する。この用語には、天然及び合成起源のいずれの核酸分子も包含され、また、ネイティブ核酸分子のセンス又はアンチセンス鎖のいずれか又は両方を表す直鎖状、環状又は分岐鎖状の立体配置の分子も包含される。そのような核酸は、精製されていなくても精製されていてもよく、また、例えばビーズ若しくはカラムマトリックスなどの合成材料に結合していてもよいことを理解されたい。

【０２４３】

[0257]核酸を含有する材料は、個体からルーチン的に得られる。そのような材料は、核酸を調製することができる任意の生体物質である。非限定的な例として、材料は、全血、血清、血漿、唾液、頬スワブ、痰、又は核酸を含有する他の体液若しくは組織であり得る。一実施形態では、本発明の方法は、非侵襲性手段によって容易に得てゲノムＤＮＡを調製するために使用することができる全血を用いて実施する。他の実施形態では、ジェノタイピングは、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）を使用した個体の核酸の増幅を含む。核酸を増幅するためのＰＣＲの使用は当分野で周知である（例えば、Ｍｕｌｌｉｓら（編），Ｔｈｅ Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ Ｃｈａｉｎ Ｒｅａｃｔｉｏｎ，Ｂｉｒｋｈａｕｓｅｒ，Ｂｏｓｔｏｎ（１９９４）を参照）。さらに別の実施形態では、ＰＣＲ増幅は、１つ又は複数の蛍光標識したプライマーを用いて行われる。さらなる実施形態では、ＰＣＲ増幅は、ＤＮＡ副溝結合剤を含有する１つ又は複数の標識又は非標識のプライマーを用いて行われる。

【０２４４】

[0258]本発明の方法において１つ若しくは複数の遺伝子又は他の遺伝子マーカーにおけるバリアント対立遺伝子の存在又は非存在を決定するために、種々の異なるプライマーのうちの任意のものを使用して個体の核酸をＰＣＲにより増幅することができる。遺伝子の非限定例としては、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＥＣＭ１及びＮＫＸ２－３が挙げられる。例えば、ＰＣＲプライマーを使用して、ＡＴＧ１６Ｌ１座位の特定の領域を増幅することができる。当業者には理解されるように、ＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中で目的の多型部位に隣接する配列に基づいて、追加のＰＣＲ分析用のプライマーを設計することができる。非限定的な例として、配列プライマーは、ＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中の目的の多型部位の上流又は下流の配列の約１５～約３０個のヌクレオチドを含有することができる。そのようなプライマーは、一般に、増幅反応において安定なアニーリングステップを可能にする高い融解温度を達成するため十分なグアニン及びシトシンの含有率を有するように設計される。プライマーセレクト（Ｐｒｉｍｅｒ Ｓｅｌｅｃｔ）などのいくつかのコンピュータプログラムが、ＰＣＲプライマーの設計を援助するために利用可能である。

【０２４５】

[0259]Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓから入手可能なタックマン（Ｔａｑｍａｎ）（登録商標）対立遺伝子識別アッセイは、多型部位で個体をジェノタイピングし、それによってＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＮＫＸ２－３遺伝子のうちの１つ若しくは複数又は本明細書に記載の他の遺伝子マーカーにおける特定のバリアント対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために有用であり得る。タックマン（登録商標）対立遺伝子識別アッセイでは、各対立遺伝子について特異的に蛍光色素標識したプローブを構築する。プローブは、各対立遺伝子の増幅を識別するためにＦＡＭ及びＶＩＣなどの異なる蛍光レポーター色素を含有する。さらに、各プローブは、蛍光共鳴エネルギー移動によって蛍光を消光させる消光色素を一端に有する。ＰＣＲの間、各プローブは個体からの核酸中の相補的配列と特異的にアニーリングする。Ｔａｑポリメラーゼの５’ヌクレアーゼ活性を使用して、対立遺伝子とハイブリダイズするプローブのみを切断する。切断によりレポーター色素が消光色素から分離され、レポーター色素による蛍光の増加がもたらされる。したがって、ＰＣＲ増幅によって生じる蛍光シグナルは、サンプル中に

どの対立遺伝子が存在するかを示す。プローブと対立遺伝子とのミスマッチは、プローブのハイブリダイゼーション及びＴａｑポリメラーゼによる切断のいずれの効率も低下させ、その結果、蛍光シグナルはわずかから存在しないものとなる。当業者には、例えばＫｕｔｙａｖｉｎら，Ｎｕｃ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２８：６５５～６６１（２０００）に記載されているように、ＤＮＡ副溝結合剤（ＭＧＢ）基をＤＮＡプローブとコンジュゲートさせることによって、対立遺伝子識別アッセイにおける改善された特異性を達成できることが理解されよう。副溝結合剤には、これらに限定されないが、ジヒドロシクロピロロインドールトリペプチド（ＤＰＩ３）などの化合物が含まれる。ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＮＫＸ２－３及びＥＣＭ１遺伝子の対立遺伝子バリアントを検出するのに適するタックマン（登録商標）プローブは、例えばＡｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓから市販品として入手可能である。非限定例としては、カタログ番号：Ｃ＿９０９５５７７＿２０及びＣ＿１１５３０５８６＿１０（ＡＴＧ１６Ｌ１）；Ｃ＿２９５６０２７４＿１０、Ｃ＿２５８０３０６８＿１０及びＣ＿８６９０８２７＿２０（ＥＣＭ１）；Ｃ＿３１４０２８２＿１０（ＳＴＡＴ３）；Ｃ＿＿３０１８６４４＿１０、Ｃ＿３１６５７３６１＿１０及びＣ＿３０１８６４２＿１０（ＮＫＸ２－３）が挙げられる。

【０２４６】

[0260]一部の実施形態では、ＡＴＧ１６Ｌ１のＳＮＰ　ｒｓ２２４１８８０を検出するためのプローブは、配列：ＣＣＣＡＧＴＣＣＣＣＣＡＧＧＡＣＡＡＴＧＴＧＧＡＴＡＣＴＣＡＴＣＣＴＧＧＴＴＣＴＧＧＴＡＡＡＧＡＡＧＴ；及びＣＣＣＡＧＴＣＣＣＣＣＡＧＧＡＣＡＡＴＧＴＧＧＡＴＧＣＴＣＡＴＣＣＴＧＧＴＴＣＴＧＧＴＡＡＡＧＡＡＧＴを含み、両方ともＣＣＣＡＧＴＣＣＣＣＣＡＧＧＡＣＡＡＴＧＴＧＧＡＴ［Ａ／Ｇ］ＣＴＣＡＴＣＣＴＧＧＴＴＣＴＧＧＴＡＡＡＧＡＡＧＴに由来し、［Ａ／Ｇ］の表記はｒｓ２２４１８８０　ＳＮＰの位置を表す。さらなる実施形態では、第１のプローブはＶＩＣ（商標）色素で標識され、Ａ対立遺伝子を含有し、第２のプローブはＦＡＭ（商標）で標識され、Ｇ対立遺伝子を含有する。ｒｓ２２４１８８０　ＳＮＰの存在又は非存在の検出に関して、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｇ／Ｇ）シグナル又はＶＩＣ／ＶＩＣ（Ａ／Ａ）シグナルはホモ接合性の遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の変異遺伝子型を示すであろう。

【０２４７】

[0261]一部の実施形態では、ＳＴＡＴ３のＳＮＰ　ｒｓ７４４１６６を検出するためのプローブは、配列：ＣＴＧＴＴＴＧＴＴＣＴＡＴＡＡＡＴＴＡＣＴＧＴＣＡＡＧＣＴＣＧＡＴＴＣＣＣＴＣＡＡＧＡＣＡＴＴＡＣＡＧ；及びＣＴＧＴＴＴＧＴＴＣＴＡＴＡＡＡＴＴＡＣＴＧＴＣＡＧＧＣＴＣＧＡＴＴＣＣＣＴＣＡＡＧＡＣＡＴＴＡＣＡＧを含み、両方ともＣＴＧＴＴＴＧＴＴＣＴＡＴＡＡＡＴＴＡＣＴＧＴＣＡ［Ａ／Ｇ］ＧＣＴＣＧＡＴＴＣＣＣＴＣＡＡＧＡＣＡＴＴＡＣＡＧに由来し、［Ａ／Ｇ］の表記はｒｓ７４４１６６　ＳＮＰの位置を表す。さらなる実施形態では、第１のプローブはＶＩＣ（商標）色素で標識され、Ａ対立遺伝子を含有し、第２のプローブはＦＡＭ（商標）で標識され、Ｇ対立遺伝子を含有する。ｒｓ７４４１６６　ＳＮＰの存在又は非存在の検出に関して、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｇ／Ｇ）シグナル又はＶＩＣ／ＶＩＣ（Ａ／Ａ）シグナルはホモ接合性の遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の変異遺伝子型を示すであろう。

【０２４８】

[0262]一部の実施形態では、ＥＣＭ１のＳＮＰ　ｒｓ３７３７２４０を検出するためのプローブは、配列：ＣＣＣＡＣＴＧＴＴＴＴＣＣＣＣＡＴＴＣＣＡＧＧＡＡＣＧＣＣＡＧＣＴＣＣＡＴＴＴＧＧＧＧＡＣＣＡＧＡＧＣ；及びＣＣＡＣＴＧＴＴＴＴＣＣＣＣＡＴＴＣＣＡＧＧＡＡＴＧＣＣＡＧＣＴＣＣＡＴＴＴＧＧＧＧＡＣＣＡＧＡＧＣを含み、両方ともＣＣＣＡＣＴＧＴＴＴＴＣＣＣＣＡＴＴＣＣＡＧＧＡＡ［Ｃ／Ｔ］ＧＣＣＡＧＣＴＣＣＡＴＴＴＧＧＧＧＡＣＣＡＧＡＧＣに由来し、［Ｃ／Ｔ］の表記はｒｓ３７３７２４０　ＳＮＰの位置を表す。さらなる実施形態では、第１のプローブはＶＩＣ（商標）色素で標識され、Ｃ対立遺伝子を含有し、第２のプローブはＦＡＭ（商標）で標識され、Ｔ対立遺伝子を含有する。ｒｓ３７３７２４０ＳＮＰの存在又は非存在の検出に関して、ＦＡＭ／

ＦＡＭ（Ｔ／Ｔ）シグナル又はＶＩＣ／ＶＩＣ（Ｃ／Ｃ）シグナルはホモ接合性の遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の変異遺伝子型を示すであろう。

【０２４９】

[0263]一部の実施形態では、ＥＣＭ１のＳＮＰ　ｒｓ１３２９４を検出するためのプローブは、配列：ＣＣＧＧＧＡＣＡＴＣＴＴＧＡＣＣＡＴＴＧＡＣＡＴＣＡＧＴＣＧＡＧＴＣＡＣＣＣＣＣＡＡＣＣＴＣＡＴＧＧＧ；及びＣＣＧＧＧＡＣＡＴＣＴＴＧＡＣＣＡＴＴＧＡＣＡＴＣＧＧＴＣＧＡＧＴＣＡＣＣＣＣＣＡＡＣＣＴＣＡＴＧＧＧを含み、両方ともＣＣＧＧＧＡＣＡＴＣＴＴＧＡＣＣＡＴＴＧＡＣＡＴＣ［Ａ／Ｇ］ＧＴＣＧＡＧＴＣＡＣＣＣＣＡＡＣＣＴＣＡＴＧＧＧに由来し、［Ａ／Ｇ］の表記はｒｓ１３２９４　ＳＮＰの位置を表す。さらなる実施形態では、第１のプローブはＶＩＣ（商標）色素で標識され、Ａ対立遺伝子を含有し、第２のプローブはＦＡＭ（商標）で標識され、Ｇ対立遺伝子を含有する。ｒｓ１３２９４　ＳＮＰの存在又は非存在の検出に関して、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｇ／Ｇ）シグナル又はＶＩＣ／ＶＩＣ（Ａ／Ａ）シグナルはホモ接合性の遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の変異遺伝子型を示すであろう。

【０２５０】

[0264]一部の実施形態では、ＮＫＸ２－３のＳＮＰ　ｒｓ１０８８３３６５を検出するためのプローブは、配列：ＴＴＴＣＧＴＴＣＴＣＡＧＡＣＧＧＴＴＴＧＡＡＧＧＴＡＴＴＴＧＴＧＣＣＡＡＣＧＴＧＡＣＣＣＣＣＧＧＧＧＡ；及びＴＴＴＣＧＴＴＣＴＣＡＧＡＣＧＧＴＴＴＧＡＡＧＧＴＧＴＴＴＧＴＧＣＣＡＡＣＧＴＧＡＣＣＣＣＣＧＧＧＧＡを含み、両方ともＴＴＴＣＧＴＴＣＴＣＡＧＡＣＧＧＴＴＴＧＡＡＧＧＴ［Ａ／Ｇ］ＴＴＴＧＴＧＣＣＡＡＣＧＴＧＡＣＣＣＣＣＧＧＧＧＡに由来し、［Ａ／Ｇ］の表記はｒｓ１０８８３３６５　ＳＮＰの位置を表す。さらなる実施形態では、第１のプローブはＶＩＣ（商標）色素で標識され、Ａ対立遺伝子を含有し、第２のプローブはＦＡＭ（商標）で標識され、Ｇ対立遺伝子を含有する。ｒｓ１０８８３３６５　ＳＮＰの存在又は非存在の検出に関して、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｇ／Ｇ）シグナル又はＶＩＣ／ＶＩＣ（Ａ／Ａ）シグナルはホモ接合性の遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の変異遺伝子型を示すであろう。

【０２５１】

[0265]一部の実施形態では、ＮＫＸ２－３のＳＮＰ　ｒｓ６５８４２８３を検出するためのプローブは、配列：ＣＴＧＣＡＧＡＧＣＧＴＣＴＧＴＧＧＧＣＧＴＧＴＡＴＣＧＧＣＧＡＴＣＡＧＧＣＧＣＴＧＧＡＧＧＧＧＣＧＣＴ；及びＣＴＧＣＡＧＡＧＣＧＴＣＴＧＴＧＧＧＣＧＴＧＴＡＴＴＧＧＣＧＡＴＣＡＧＧＣＧＣＴＧＧＡＧＧＧＧＣＧＣＴを含み、両方ともＣＴＧＣＡＧＡＧＣＧＴＣＴＧＴＧＧＧＣＧＴＧＴＡＴ［Ｃ／Ｔ］ＧＧＣＧＡＴＣＡＧＧＣＧＣＴＧＧＡＧＧＧＧＣＧＣＴに由来し、［Ｃ／Ｔ］の表記はｒｓ６５８４２８３　ＳＮＰの位置を表す。さらなる実施形態では、第１のプローブはＶＩＣ（商標）色素で標識され、Ｃ対立遺伝子を含有し、第２のプローブはＦＡＭ（商標）で標識され、Ｔ対立遺伝子を含有する。ｒｓ６５８４２８３　ＳＮＰの存在又は非存在の検出に関して、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｔ／Ｔ）シグナル又はＶＩＣ／ＶＩＣ（Ａ／Ａ）シグナルはホモ接合性の遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の変異遺伝子型を示すであろう。

【０２５２】

[0266]一部の実施形態では、ＥＣＭ１のＳＮＰ　ｒｓ７５１１６４９を検出するためのプローブは、配列：ＴＴＴＣＴＧＡＣＴＴＣＴＣＣＣＴＧＴＡＡＡＴＣＴＴＣＴＴＣＴＧＴＡＴＧＡＴＴＴＡＴＴＴＴＧＧＴＡＧＡＴ；及びＴＴＴＣＴＧＡＣＴＴＣＴＣＣＣＴＧＴＡＡＡＴＣＴＴＴＴＴＣＴＧＴＡＴＧＡＴＴＴＡＴＴＴＴＧＧＴＡＧＡＴを含み、両方ともＴＴＴＣＴＧＡＣＴＴＣＴＣＣＣＴＧＴＡＡＡＴＣＴＴ［Ｃ／Ｔ］ＴＴＣＴＧＴＡＴＧＡＴＴＴＡＴＴＴＴＧＧＴＡＧＡＴに由来し、［Ｃ／Ｔ］の表記はｒｓ７５１１６４９　ＳＮＰの位置を表す。さらなる実施形態では、第１のプローブはＶＩＣ（商標）色素で標識され、Ｃ対立遺伝子を含有し、第２のプローブはＦＡＭ（商標）で標識され、Ｔ対立遺伝子を含有する。ｒｓ７５１１６４９　ＳＮＰの存在又は非存在の検出に関して、ＦＡ

Ｍ／ＦＡＭ（Ｔ／Ｔ）シグナル又はＶＩＣ／ＶＩＣ（Ａ／Ａ）シグナルはホモ接合性の遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の変異遺伝子型を示すであろう。

【０２５３】

[0267]他の実施形態では、ＮＫＸ２－３のＳＮＰ　ｒｓ１１１９０１４０を検出するためのプローブは、配列：ＣＡＴＴＣＡＧＧＣＴＣＣＴＧＡＴＴＴＣＡＡＴＡＧＧＣＧＧＡＡＡＧＡＡＧＧＣＴＧＣＣＡＡＧＧＣＴＧＧＧ；及びＣＡＴＴＣＡＧＧＣＴＣＣＴＧＡＴＴＴＣＡＡＴＡＧＧＴＧＧＡＡＡＡＧＡＡＧＧＣＴＧＣＣＡＡＧＧＣＴＧＧＧを含み、両方ともＣＡＴＴＣＡＧＧＣＴＣＣＴＧＡＴＴＴＣＡＡＴＡＧＧ［Ｃ／Ｔ］ＧＧＡＡＡＡＧＡＡＧＧＣＴＧＣＣＡＡＧＧＣＴＧＧＧに由来し、［Ｃ／Ｔ］の表記はｒｓ１１１９０１４０　ＳＮＰの位置を表す。さらなる実施形態では、第１のプローブはＶＩＣ（商標）色素で標識され、Ｃ対立遺伝子を含有し、第２のプローブはＦＡＭ（商標）で標識され、Ｔ対立遺伝子を含有する。ｒｓ１１１９０１４０　ＳＮＰの存在又は非存在の検出に関して、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｔ／Ｔ）シグナル又はＶＩＣ／ＶＩＣ（Ｃ／Ｃ）シグナルはホモ接合性の遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の変異遺伝子型を示すであろう。

【０２５４】

[0268]配列解析も、本明細書に記載の方法に従って個体をジェノタイピングして、ＮＯＤ２遺伝子又は他の遺伝子マーカーにおける特定のバリアント対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために有用であり得る。当業者には知られているように、目的のバリアント対立遺伝子は、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＮＫＸ２－３遺伝子のうちの１つ若しくは複数又は他の遺伝子マーカー中の目的の多型部位に隣接する配列に基づいて設計された適切なプライマーを用いる配列解析によって検出することができる。追加又は代替の配列プライマーは、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＮＫＸ２－３遺伝子のうちの１つ若しくは複数又は他の遺伝子マーカー中の目的の多型部位の約４０～約４００塩基対上流又は下流の配列に対応する配列の約１５～約３０個のヌクレオチドを含有することができる。そのようなプライマーは、一般に、配列決定反応において安定なアニーリングステップを可能にする高い融解温度を達成するために十分なグアニン及びシトシンの含有率を有するように設計される。

【０２５５】

[0269]用語「配列解析」には、核酸中のヌクレオチドの順序が決定される任意の手動又は自動の方法が含まれる。一例として、配列解析を使用してＤＮＡのサンプルのヌクレオチド配列を決定することができる。用語「配列解析」には、これらに限定されないが、例えばマクサム－ギルバート及びサンガー配列決定並びにその変形を含むジデオキシ酵素方法などの、化学的及び酵素的方法が包含される。用語「配列解析」には、これらに限定されないが、キャピラリー電気泳動及びレーザー誘導性蛍光検出に依存し、ＭｅｇａＢＡＣＥ１０００又はＡＢＩ３７００などの機器を用いて行うことができるキャピラリーアレイＤＮＡ配列決定がさらに包含される。さらなる非限定的な例として、用語「配列解析」には、熱サイクル配列決定（Ｓｅａｒｓら，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ，１３：６２６～６３３（１９９２）を参照）、固相配列決定（Ｚｉｍｍｅｒｍａｎら，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．，３：３９～４２（１９９２）を参照）、及びマトリックス支援レーザー脱離／イオン化飛行時間質量分析などの質量分析を用いた配列決定（ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ　ＭＳ）（Ｆｕら，Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈ．，１６：３８１～３８４（１９９８）を参照）が包含される。用語「配列解析」には、これらに限定されないが、配列のセグメントを同定するためにすべての可能な短いオリゴヌクレオチドのアレイに依存する、ハイブリダイゼーションによる配列決定（ＳＢＨ）がさらに含まれる（Ｃｈｅｅら，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２７４：６１０～６１４（１９９６）；Ｄｒｍａｎａｃら，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２６０：１６４９～１６５２（１９９３）；及びＤｒｍａｎａｃら，Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈ．，１６：５４～５８（１９９８）を参照）。当業者には、これら及びさらなる変形が本明細書中で定義される用語「配列解析」に包含されることが理解されよう。

【０２５６】

[0270]電気泳動分析も、本発明の方法に従って個体をジェノタイピングして、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＮＫＸ２－３遺伝子のうちの１つ若しくは複数又は他の遺伝子マーカーにおける特定のバリアント対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために有用であり得る。増幅断片などの１つ又は複数の核酸に関連して本明細書で使用される「電気泳動分析」には、荷電分子が電界の影響下で静置培地を通って移動する方法が含まれる。電気泳動遊走は、核酸を主にその荷電に基づいて分離し、荷電は核酸の大きさに比例しており、より小さな分子はより速く遊走する。用語「電気泳動分析」には、これらに限定されないが、アガロース若しくはポリアクリルアミドゲル電気泳動などのスラブゲル電気泳動、又はキャピラリー電気泳動を使用した分析が含まれる。キャピラリー電気泳動分析は、一般に、小さな直径（５０～１００ｍ）の石英キャピラリー内で、高い（キロボルトレベル）の分離電位の存在下で、数分間の分離時間で起こる。キャピラリー電気泳動分析を使用して、核酸はＵＶ吸収又は蛍光標識によって好都合に検出され、数百塩基対までの断片で一塩基の分解能を得ることができる。そのような電気泳動分析方法及びその変形は、例えばＡｕｓｕｂｅｌら，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，第２章（補遺４５），Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９９９）に記載のように当分野で周知である。

【０２５７】

[0271]制限断片長多型（ＲＦＬＰ）分析も、本発明の方法に従って個体をジェノタイピングして、ＮＯＤ２遺伝子又は他の遺伝子マーカーにおける特定のバリアント対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために有用な場合がある（Ｊａｒｃｈｏら，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ（Ｄｒａｃｏｐｏｌｉら），第２．７．１～２．７．５ページ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ；Ｉｎｎｉｓら（編），ＰＣＲ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ：Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．（１９９０）を参照）。本明細書において、「制限断片長多型分析」には、特定の塩基配列、一般には回文構造又は逆方向反復を認識した後に核酸の分解を触媒するエンドヌクレアーゼである制限酵素を使用して多型対立遺伝子を区別するための任意の方法が含まれる。当業者には、ＲＦＬＰ分析の使用は、多型部位でバリアント対立遺伝子を野生型又は他の対立遺伝子から識別することができる酵素に依存することが理解されよう。

【０２５８】

[0272]また、対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションは、本明細書に記載の方法において個体をジェノタイピングして、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＮＫＸ２－３遺伝子のうちの１つ若しくは複数又は他の遺伝子マーカーにおける特定のバリアント対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために有用であり得る。対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションは、例えばバリアント対立遺伝子を包含する配列に完全に相補的な配列を有する、標識したオリゴヌクレオチドプローブの使用に基づいている。適切な条件下では、バリアント対立遺伝子に特異的なプローブは、該バリアント対立遺伝子を含有する核酸とはハイブリダイズするが、プローブに比べて１つ又は複数のヌクレオチドのミスマッチを有する１つ又は複数の他の対立遺伝子とはハイブリダイズしない。所望の場合は、代替（例えば野生型）対立遺伝子に一致する、第２の対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドプローブも使用することができる。同様に、対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドの増幅法を使用して、例えば、バリアント対立遺伝子のヌクレオチド配列と完全に相補的であるが、他の対立遺伝子に比べて１つ又は複数のミスマッチを有する、対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドプライマーを使用することによって、バリアント対立遺伝子を選択的に増幅することができる（Ｍｕｌｌｉｓら（上記））。当業者には、バリアント対立遺伝子と他の対立遺伝子を区別する１つ又は複数のヌクレオチドのミスマッチは、多くの場合、対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションにおいて使用する対立遺伝子に特異

的なオリゴヌクレオチドプライマーの中心に位置することが理解されよう。対照的に、ＰＣＲ増幅において使用する対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドプライマーは、一般に、バリアントと他の対立遺伝子を区別する１つ又は複数のヌクレオチドのミスマッチをプライマーの３’末端に含有する。

【０２５９】

[0273]ヘテロ二重鎖移動度アッセイ（ＨＭＡ）は、本発明の方法においてジェノタイピングを行って、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＮＫＸ２－３遺伝子のうちの１つ若しくは複数又は他の遺伝子マーカーにおける特定のバリアント対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために使用することができる他の周知のアッセイである。ミスマッチを保有するＤＮＡ二重鎖は、完全に塩基対合した二重鎖の移動度に比べてポリアクリルアミドゲル中での移動度が低下しているため、ＨＭＡはバリアント対立遺伝子の存在を検出するために有用である（Ｄｅｌｗａｒｔら，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２６２：１２５７～１２６１（１９９３）；Ｗｈｉｔｅら，Ｇｅｎｏｍｉｃｓ，１２：３０１～３０６（１９９２）を参照）。

【０２６０】

[0274]一本鎖コンホメーション多型性（ＳＳＣＰ）の方法も、本明細書に記載の方法においてジェノタイピングを行って、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＮＫＸ２－３遺伝子のうちの１つ若しくは複数又は他の遺伝子マーカーにおける特定のバリアント対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために有用であり得る（Ｈａｙａｓｈｉ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ａｐｐｌｉｃ．，１：３４～３８（１９９１）を参照）。この方法を使用して、非変性ゲル電気泳動の際に変更された電気泳動移動度を生じる一本鎖ＤＮＡの二次構造の差異に基づいてバリアント対立遺伝子を検出することができる。バリアント対立遺伝子は、試験断片の電気泳動パターンを既知の対立遺伝子を含有する対応する標準の断片と比較することによって検出される。

【０２６１】

[0275]変性勾配ゲル電気泳動（ＤＧＧＥ）も、本発明の方法において、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＮＫＸ２－３遺伝子のうちの１つ若しくは複数又は他の遺伝子マーカーにおける特定のバリアント対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために有用であり得る。ＤＧＧＥでは、二本鎖ＤＮＡを、漸増濃度の変性剤を含有するゲル中で電気泳動する。ミスマッチした対立遺伝子からなる二本鎖断片は、より迅速に融解するセグメントを有しており、それにより、そのような断片が完全に相補的な配列に比べて異なって移動することが引き起こされる（Ｓｈｅｆｆｉｅｌｄら，“Ｉｄｅｎｔｉｆｙｉｎｇ　ＤＮＡ　Ｐｏｌｙｍｏｒｐｈｉｓｍｓ　ｂｙ　Ｄｅｎａｔｕｒｉｎｇ　Ｇｒａｄｉｅｎｔ　Ｇｅｌ　Ｅｌｅｃｔｒｏｐｈｏｒｅｓｉｓ”，Ｉｎｎｉｓら（上述）、１９９０を参照）。

【０２６２】

[0276]個体をジェノタイピングするために有用な他の分子学的方法が当分野で知られており、本発明の方法において有用である。そのような周知のジェノタイピングの方法には、これらに限定されないが、自動配列決定及びＲＮａｓｅミスマッチ法が含まれる（Ｗｉｎｔｅｒら，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，８２：７５７５～７５７９（１９８５）を参照）。さらに、当業者には、多数のバリアント対立遺伝子の存在又は非存在を決定する場合は、分子学的方法の任意の組み合わせによって個々のバリアント対立遺伝子を検出できることが理解されよう。Ｂｉｒｒｅｎら（編），Ｇｅｎｏｍｅ　Ａｎａｌｙｓｉｓ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，第１巻（Ａｎａｌｙｚｉｎｇ　ＤＮＡ），Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ（１９９７）を参照されたい。さらに、当業者には、多数のバリアント対立遺伝子を個々の反応又は単一の反応において検出できることが理解されよう（「多重鎖」アッセイ）。

【０２６３】

[0277]上述に鑑みて、ＩＢＤ又はその臨床亜型に関する診断的情報を提供するため、及

びＩＢＤの進行の転帰及び経過に関する予後診断的及び予測的情報を提供するため、及びＩＢＤの処置のための適切な治療方式の選択に関する情報を提供するための本発明の方法は、上述の周知のジェノタイピングアッセイ又は当技術分野で知られている他のアッセイの１つ又は任意の組み合わせを使用して（例えば、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＥＣＭ１及びＮＫＸ２－３などの遺伝子の１つ又は複数のバリアント対立遺伝子の有無を決定することによって）実施できることを当業者は認識している。

【０２６４】

ＶＩＩＩ．統計解析

一部の態様において、本発明は、ＩＢＤ又は非ＩＢＤを診断するため、ＩＢＤの診断を分類するため（例えば、ＣＤ、ＵＣ、又はＣＤ若しくはＵＣに関して不確定）、ＩＢＤの亜型をＵＣ、ＣＤ又はＩＣとして分類するため、又はＵＣとＣＤとを鑑別するための方法及びシステムを提供する。一部の実施形態では、本明細書に記載のアッセイのうちのいずれかによって決定された１つ又は複数のＩＢＤマーカーの存在、レベル及び／又は遺伝子型に１つ又は複数の学習統計的分類子システムを適用して、ＩＢＤを診断するか、又はその亜型を決定する。他の実施形態では、本明細書に記載のアッセイのうちのいずれかによって決定された１つ又は複数のＩＢＤマーカーの存在、レベル及び／又は遺伝子型に分位分析を適用して、ＩＢＤを診断するか、又はその亜型を決定する。本明細書に記載のように、本発明の統計解析は、有利なことに、ＩＢＤの診断又はその亜型の決定に関して、改善された感度、特異度、陰性予測値、陽性予測値、及び／又は全体的な精度をもたらす。

【０２６５】

[0279]用語「統計解析」又は「統計アルゴリズム」又は「統計プロセス」には、変数間の関係性を決定するために使用される種々の統計学的方法及びモデルのうちの任意のものが含まれる。本発明では、変数は、少なくとも１つの目的のマーカーの存在、レベル、又は遺伝子型である。任意の数のマーカーを、本明細書に記載の統計解析を使用して分析することができる。例えば、１個、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個、２０個、２５個、３０個、３５個、４０個、４５個、５０個、５５個、６０個、又はそれより多くのマーカーの存在又はレベルを統計解析に含めることができる。一実施形態では、ロジスティック回帰を使用する。他の実施形態では、直線回帰を使用する。いくつかの実施形態では、本発明の統計解析は、例えば所定の集団内の変数としての、１つ又は複数のマーカーの分位測定を含む。分位とは、データのサンプルを（可能な限り）等しい数の観察値を含有する群へと分ける１セットの「切点」である。例えば、四分位数とは、データのサンプルを４つの（可能な限り）等しい数の観察値を含有する群へと分ける値である。下位四分位数とは、順序づけたデータセットを４分の１上ったデータ値であり、上位四分位数とは、順序づけたデータセットを４分の１下ったデータ値である。五分位数とは、データのサンプルを５つの（可能な限り）等しい数の観察値を含有する群へと分ける値である。本発明には、（連続的な変数と同様に）統計解析における変数としての、マーカーレベルのパーセンタイル範囲（例えば、三分位数、四分位数、五分位数）又はその累積索引（例えば、合計四分位数スコア（ＱＳＳ）を得るためのマーカーレベルの四分位数の和）の使用も含まれる場合がある。

【０２６６】

[0280]いくつかの実施形態では、本発明は、四分位数分析を使用して１つ又は複数の目的のマーカーの存在、レベル（例えば規模）、及び／又は遺伝子型を検出又は決定することを含む。この種類の統計解析では、目的のマーカーのレベルは、サンプルの参照データベースに関して第１四分位数（＜２５％）、第２四分位数（２５～５０％）、第３四分位数（５１％～＜７５％）、又は第４四分位数（７５～１００％）にあるとして定義される。これらの四分位数は、それぞれ１、２、３、及び４の四分位数スコアを割り当ててもよい。いくつかの例では、サンプル中で検出されないマーカーは、０又は１の四分位数スコアが割り当てられる一方で、サンプル中で検出される（例えば存在する）マーカー（例えば、サンプルはマーカーに関して陽性である。）は、４の四分位数スコアが割り当てられ

る。一部の実施形態では、四分位数１は最低のマーカーレベルを有するサンプルを表す一方で、四分位数４は最高のマーカーレベルを有するサンプルを表す。他の実施形態では、四分位数１は特定のマーカー遺伝子型（例えば野生型対立遺伝子）を有するサンプルを表す一方で、四分位数４は他の特定のマーカー遺伝子型（例えば対立遺伝子バリアント）を有するサンプルを表す。サンプルの参照データベースには、広い範囲のＩＢＤ（例えば、ＣＤ及び／又はＵＣ）患者が含まれる場合がある。そのようなデータベースから、四分位数のカットオフを確立することができる。本発明における使用に適した四分位数分析の非限定的な例は、例えばＭｏｗら，Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ，１２６：４１４～２４（２００４）に記載されている。

【０２６７】

[0281]好ましい実施形態では、本発明の統計解析は１つ又は複数の学習統計的分類子システムを含む。本明細書において、用語「学習統計的分類子システム」には、複雑なデータセット（例えば目的のマーカーのパネル）に適応し、そのようなデータセットに基づいて判断を行うことができる機械学習アルゴリズム法が含まれる。一部の実施形態では、判断／分類木（例えば、ランダムフォレスト（ＲＦ）又は分類及び回帰木（Ｃ＆ＲＴ））などの単一の学習統計的分類子システムを使用する。他の実施形態では、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、又はそれより多くの学習統計的分類子システムの組み合わせを、好ましくはタンデムで使用する。学習統計的分類子システムの例には、これらに限定されないが、帰納的学習（例えば、ランダムフォレスト、分類及び回帰木（Ｃ＆ＲＴ）、ブーストツリーなどの判断／分類木）、確率的近似（ＰＡＣ）学習、コネクショニスト学習（例えば、神経回路網（ＮＮ）、人工神経回路網（ＡＮＮ）、ニューロファジー回路網（ＮＦＮ）、ネットワーク構造、多層パーセプトロンなどのパーセプトロン、多層フィードフォワードネットワーク、神経回路網の適用、信念ネットワークにおけるベイズ学習）、強化学習（例えば、ナイーブ学習、適応性動的学習、及び時間差学習などの既知の環境における受動的学習、未知の環境における受動的学習、未知の環境における能動的学習、学習行動価値関数、強化学習の適用）、並びに遺伝的アルゴリズム及び進化的プログラミングを使用するものが含まれる。他の学習統計的分類子システムには、サポートベクターマシーン（例えばカーネル法）、多変量適応型回帰スプライン（ＭＡＲＳ）、レーベンバーグ－マルカルトアルゴリズム、ガウス－ニュートンアルゴリズム、混合ガウス、勾配降下アルゴリズム、及び学習ベクター量子化（ＬＶＱ）が含まれる。

【０２６８】

[0282]ランダムフォレストとは、Ｌｅｏ Ｂｒｅｉｍａｎ及びＡｄｅｌｅ Ｃｕｔｌｅｒによって開発されたアルゴリズムを使用して構築された学習統計的分類子システムである。ランダムフォレストでは、多数の個々の決定木を使用し、個々の木によって決定されたクラスの最頻値（すなわち最も頻繁に起こっているもの）を選択することによってクラスを決定する。ランダムフォレスト分析は、例えば、Ｓａｌｆｏｒｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）から入手可能なランダムフォレスト（ＲａｎｄａｍＦｏｒｅｓｔｓ）ソフトウェアを用いて行うことができる。ランダムフォレストの説明としては、例えば、Ｂｒｅｉｍａｎ，Ｍａｃｈｉｎｅ Ｌｅａｒｎｉｎｇ，４５：５～３２（２００１）；及びｈｔｔｐ：／／ｓｔａｔ－ｗｗｗ．ｂｅｒｋｅｌｅｙ．ｅｄｕ／ｕｓｅｒｓ／ｂｒｅｉｍａｎ／ＲａｎｄｏｍＦｏｒｅｓｔｓ／ｃｃ＿ｈｏｍｅ．ｈｔｍを参照されたい。

【０２６９】

[0283]分類及び回帰木は、古典的回帰モデルの当てはめのコンピュータ集約的な代替方法を表しており、典型的には、１つ又は複数の予測子に基づいて目的のカテゴリー的又は連続的な応答の最良な可能なモデルを決定するために使用する。分類及び回帰木の分析は、例えば、Ｓａｌｆｏｒｄ Ｓｙｓｔｅｍｓから入手可能なＣ＆ＲＴソフトウェア又はＳｔａｔＳｏｆｔ，Ｉｎｃ．（Ｔｕｌｓａ，ＯＫ）から入手可能なスタティスティカ（Ｓｔａｔｉｓｔｉｃａ）データ分析ソフトウェアを用いて行うことができる。分類及び回帰木は、例えば、Ｂｒｅｉｍａｎら，“Ｃｌａｓｓｉｆｉｃａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｒｅｇｒｅ

ｓｓｉｏｎ Ｔｒｅｅｓ”，Ｃｈａｐｍａｎ ａｎｄ Ｈａｌｌ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４）；及びＳｔｅｉｎｂｅｒｇら，“ＣＡＲＴ：Ｔｒｅｅ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｄ Ｎｏｎ－Ｐａｒａｍｅｔｒｉｃ Ｄａｔａ Ａｎａｌｙｓｉｓ”，Ｓａｌｆｏｒｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ（１９９５）に説明されている。

【０２７０】

[0284]神経回路網とは、計算のコネクショニストアプローチに基づく情報処理に数学的又は計算的なモデルを使用する、相互接続された人工ニューロンの群である。典型的には、神経回路網は、ネットワーク内を流れる外部又は内部情報に基づいてその構造を変化させる適応性システムである。神経回路網の具体的な例には、パーセプトロン、単層パーセプトロン、多層パーセプトロン、逆伝搬ネットワーク、アダリン（ＡＤＡＬＩＮＥ）ネットワーク、マダリン（ＭＡＤＡＬＩＮＥ）ネットワーク、ラーンマトリックス（Ｌｅａｒｎｍａｔｒｉｘ）ネットワーク、ラジアル基底関数（ＲＢＦ）ネットワーク、及び自己組織化マップ又はコホーネン自己組織化ネットワークなどのフィードフォワード神経回路網、単純再帰ネットワーク及びホップフィールドネットワークなどの再帰神経回路網、ボルツマン機械などの確率的神経回路網、機械及び連想神経回路網の委員会などのモジュラー神経回路網、並びに瞬時訓練神経回路網、スパイキング神経回路網、動的神経回路網、及びカスケード神経回路網などの他の種類のネットワークが含まれる。神経回路網の分析は、例えばＳｔａｔＳｏｆｔ，Ｉｎｃ．から入手可能なスタティスティカデータ分析ソフトウェアを用いて行うことができる。神経回路網の説明には、例えば、Ｆｒｅｅｍａｎら，“Ｎｅｕｒａｌ Ｎｅｔｗｏｒｋｓ：Ａｌｇｏｒｉｔｈｍｓ，Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ａｎｄ Ｐｒｏｇｒａｍｍｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ”，Ａｄｄｉｓｏｎ－Ｗｅｓｌｅｙ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ（１９９１）；Ｚａｄｅｈ，Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌ，８：３３８～３５３（１９６５）；Ｚａｄｅｈ，“ＩＥＥＥ Ｔｒａｎｓ．ｏｎ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｍａｎ ａｎｄ Ｃｙｂｅｒｎｅｔｉｃｓ”，３：２８～４４（１９７３）；Ｇｅｒｓｈｏら，“Ｖｅｃｔｏｒ Ｑｕａｎｔｉｚａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｓｉｇｎａｌ Ｃｏｍｐｒｅｓｓｉｏｎ”，Ｋｌｕｙｗｅｒ Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，Ｂｏｓｔｏｎ，Ｄｏｒｄｒｅｃｈｔ，Ｌｏｎｄｏｎ（１９９２）；及びＨａｓｓｏｕｎ，“Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌｓ ｏｆ Ａｒｔｉｆｉｃｉａｌ Ｎｅｕｒａｌ Ｎｅｔｗｏｒｋｓ”，ＭＩＴ Ｐｒｅｓｓ，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，Ｍａｓｓａｃｈｕｓｅｔｔｓ，Ｌｏｎｄｏｎ（１９９５）を参照されたい。

【０２７１】

[0285]サポートベクターマシーンとは、分類及び回帰に使用される１セットの関連する教師ありの学習法であり、例えばＣｒｉｓｔｉａｎｉｎｉら，“Ａｎ Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｓｕｐｐｏｒｔ Ｖｅｃｔｏｒ Ｍａｃｈｉｎｅｓ ａｎｄ Ｏｔｈｅｒ Ｋｅｒｎｅｌ－Ｂａｓｅｄ Ｌｅａｒｎｉｎｇ Ｍｅｔｈｏｄｓ”，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ（２０００）に記載されている。サポートベクターマシーン分析は、例えば、Ｔｈｏｒｓｔｅｎ Ｊｏａｃｈｉｍｓ（カーネル大学）によって開発されたＳＶＭ^{ｌｉｇｈｔ}ソフトウェアを使用して、又はＣｈｉｈ－Ｃｈｕｎｇ Ｃｈａｎｇ及びＣｈｉｈ－Ｊｅｎ Ｌｉｎ（台湾国立大学）によって開発されたＬＩＢＳＶＭソフトウェアを用いて行うことができる。

【０２７２】

[0286]本明細書に記載の種々の統計学的方法及びモデルは、健常な個体並びにＩＢＤ（例えば、ＣＤ及び／又はＵＣ）患者からのサンプル（例えば、血清学的及び／又は遺伝的サンプル）のコホートを使用して訓練及び試験することができる。例えば、医師、好ましくは胃腸科専門医によって、例えば米国特許第６２１８１２９号に記載のように生検、大腸内視鏡検査、又は免疫アッセイを使用してＩＢＤ又はその臨床亜型に罹患しているとして診断された患者からのサンプルが、本発明の統計学的方法及びモデルの訓練及び試験における使用に適している。また、ＩＢＤが診断された患者からのサンプルは、例えば、米国特許第５７５０３５５号及び第５８３０６７５号に記載の免疫アッセイを用いてクローン病又は潰瘍性大腸炎にも階層化することができる。健常な個体からのサンプルには、Ｉ

ＢＤサンプルとして同定されなかったものを含めることができる。当業者は、本発明の統計学的方法及びモデルを訓練及び試験するために使用することができる患者サンプルのコホートを得るためのさらなる方法及び診断基準を知っているであろう。

【０２７３】

[0287]本明細書において、用語「感度」とは、サンプルが陽性である場合に、本発明の診断、又は予測方法、システム又はコードが陽性結果を与える、例えば、予測された診断を有する確率をいう。感度は、真の陽性結果の数を真陽性及び偽陰性の和で除算することによって計算する。感度は、本質的には、本発明がどれだけ良好に予測された診断を有する者を、予測された診断を有さない者から正しく同定するかの測度である。統計学的方法及びモデルは、感度が少なくとも約６０％となるように選択することができ、例えば、少なくとも約６５％、７０％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％であり得る。

【０２７４】

[0288]用語「特異度」とは、サンプルが陽性でない場合に、本発明の診断又は予測方法、システム又はコードが陰性結果を与える、例えば、予測された診断を有さない確率をいう。特異度は、真の陰性結果の数を真陰性及び偽陽性の和で除算することによって計算する。特異度は、本質的には、本発明がどれだけ良好に予測された診断を有さない者を予測された診断を有する者から排除するかの測度である。統計学的方法及びモデルは、特異度が少なくとも約６０％となるように選択することができ、例えば、少なくとも約６５％、７０％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％であり得る。

【０２７５】

[0289]本明細書において、用語「陰性予測値」すなわち「ＮＰＶ」とは、予測された診断を有さないとして同定された個体が実際には予測された診断を有さない確率をいう。陰性予測値は、真陰性の数を真陰性及び偽陰性の和で除算することによって計算することができる。陰性予測値は、診断又は予後診断方法、システム又はコードの特徴、及び分析した集団における疾患の有病率によって決定する。統計学的方法及びモデルは、疾患有病率を有する集団中の陰性予測値が約７０％～約９９％の範囲内となるように選択することができ、例えば、少なくとも約７０％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％であり得る。

【０２７６】

[0290]用語「陽性予測値」すなわち「ＰＰＶ」とは、予測された診断を有するとして同定された個体が実際に予測された診断を有する確率をいう。陽性予測値は、真陽性の数を真陽性及び偽陽性の和で除算することによって計算することができる。陽性予測値は、診断又は予後診断方法、システム又はコードの特徴、及び分析した集団における疾患の有病率によって決定する。統計学的方法及びモデルは、疾患有病率を有する集団中の陽性予測値が約７０％～約９９％の範囲内となるように選択することができ、例えば、少なくとも約７０％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％であり得る。

【０２７７】

[0291]陰性及び陽性の予測値を含む予測値は、分析した集団における疾患の有病率によって影響を受ける。本発明では、統計学的方法及びモデルは、特定のＩＢＤの有病率を有する臨床集団について所望の臨床的パラメータを生成するように選択することができる。例えば、統計学的方法及びモデルは、例えば胃腸科専門医院又は一般開業医院などの診療所において見ることができる、約１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９

％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、又は７０％までのＩＢＤの有病率について選択することができる。

【０２７８】

[0292]本明細書において、用語「全体的な一致」又は「全体的な精度」とは、本発明の診断又は予後診断方法、システム又はコードがＩＢＤを診断又は予測する精度をいう。全体的な精度は、真陽性及び真陰性の和をサンプルの結果の合計数で除算したものとして計算し、分析した集団における疾患の有病率によって影響を受ける。例えば、本発明の統計学的方法及びモデルは、疾患有病率を有する患者集団における全体的な精度が少なくとも約４０％であるように選択することができ、例えば、少なくとも約４０％、４１％、４２％、４３％、４４％、４５％、４６％、４７％、４８％、４９％、５０％、５１％、５２％、５３％、５４％、５５％、５６％、５７％、５８％、５９％、６０％、６１％、６２％、６３％、６４％、６５％、６６％、６７％、６８％、６９％、７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％であり得る。

【０２７９】

[0293]特定の実施形態では、ＩＢＤと関連する診断マーカーの予測モデリングのための本明細書に記載の統計学的方法及びモデルは、モデル構築のランダムフォレスト法を用いる。ランダムフォレストは、一般的には、各木を構築する無作為成分を有する多くの決定木から成り立つ分類子である。各決定木は、同じ分類問題に対処するが、例の異なる集合及び例のデータセットから無作為に選択される特徴の異なるサブセットが提供される。

【０２８０】

[0294]一部の実施形態では、１本の木は、利用可能なサンプル（例えば訓練セット）の無作為の２／３を、木の各ノードで分割される決定を行うために選択される特徴の無作為の２／３と共に用いて構築することができる。訓練の間にフォレストが構築されたら、すべての決定木にわたって採決することによって新しい例を分類する。２クラスのランダムフォレスト分類子に関する最も単純な事例では、最も投票数が多いクラスが勝つ。他の例では、訓練中に確立された、投票の勝利数のカットオフを予め設定して、性能評価尺度を最適化する。一部の例では、偽陽性が偽陰性よりもコストが高い場合、カットオフをより高く設定することができる。

【０２８１】

[0295]前記方法は非常に正確であるため、この種類の統計学的データをモデリングするのに非常に強固である。各決定木はデータの異なるサブセットから構築されるため、それは他の機械学習アプローチよりもデータの過剰適合の傾向が少ない。前記方法はまた、そのアンサンブル性質のため過剰訓練に対して本質的に抵抗性である。典型的には、多数の木を訓練データのランダムサブセットに成長させ、訓練し、個々の木の結果を平均することによって予測を行う。個々の木の過剰適合又は性能不足は、アンサンブル平均が計算された際に取消される傾向がある。ランダムフォレストモデリングの利点としては、取消しに起因する過剰訓練の最小化、予測空間における任意形状領域の作出、任意非線形マッピングの作出、変数重要性、及び異常値が挙げられる。前記方法は、変数（マーカー）重要性をランク付けする能力を有し、リサンプリングの際の計算効率を有する。

【０２８２】

[0296]一部の態様では、本発明のランダムフォレストモデリングはアンサンブル方法を含み、フォレストは数千の決定木を含む。決定木は、一連の質問（例えばスプリット）を生成することによって予測に使用することができる。配列中の所与のノードにおいて、尋ねられる質問（例えばスプリット）は以前の質問に対する回答に依存する。木は、それがクラスをどのように良く分離することができるかに基づいて、各ノードでの最良のスプリットを選択する。これらの木は、訓練データの異なる無作為なサブサンプルを用いることによって生成される。他の例では、木は、各ノードでのマーカーの異なる無作為なサブセットを用いて生成される。予測モードの間、各クラスの確率は、それを予測するアルゴリ

ズムにおける木の割合である。

【０２８３】

[0297]一部の実施形態では、ランダムフォレストの一般的ステップは、（１）訓練に利用可能なデータの大まかに２／３から従来の再帰分割木を構築し、その後の枝刈りを用いないステップ；（２）各ノードで利用可能な変数の小さく異なるサブセットであり、変数の数の平方根以下である前記サブセットのみを考慮するステップ；（３）複数の木（フォレスト）を作出するためにステップ１及び２を複数回反復するステップ；及び（４）予測モードの間に、所与のクラスを予測するフォレストにおける木の割合であるスコアを報告するステップを含む。次いで、カットオフを用いて、クラス予測（例えば、ＩＢＤ、非ＩＢＤ、ＩＣ、ＵＣ若しくはＣＤ診断、あるいはＣＤ及びＵＣに関して不確定とサンプルを分類すること）をもたらすことができる。

【０２８４】

[0298]いくつかの実施形態では、ＩＢＤ診断アルゴリズムは、血清－遺伝子－炎症マーカー（例えば実施例）の既知の存在、非存在及び／又はレベルを有する予測された診断の後ろ向きコホートを用いて確立される。一部の実施形態では、ランダムフォレストを構築するのに用いられる例（例えば訓練及び試験セット）は、本明細書に記載の方法を用いる研究に由来するものである。

【０２８５】

[0299]特定の実施形態では、血清－遺伝子－炎症マーカーの存在、非存在及び／又はレベルのテキストベースの測定値並びに既知の疾患診断は、決定されたルールに基づいてバイナリー値を割り当てられる。一部の実施形態では、検出されないか、又はＤＮＡｓｅ感受性（細胞質性）であると決定されたｐＡＮＣＡ測定値は０の値を割り当てられる。他の実施形態では、ＤＮａｓｅ感受性１＋Ｐ、２＋Ｐ、３＋Ｐ又は４＋Ｐであると決定されたｐＡＮＣＡ測定値は１の値を割り当てられる。一部の実施形態では、検出されない、ＤＮＡｓｅ感受性（細胞質性）であるか、又はＤＮａｓｅ感受性１＋Ｐであると決定されたｐＡＮＣＡ２測定値は０の値を割り当てられる。他の実施形態では、ＤＮａｓｅ感受性２＋Ｐ、３＋Ｐ又は４＋Ｐであると決定されたｐＡＮＣＡ２測定値は１の値を割り当てられる。

【０２８６】

[0300]いくつかの実施形態では、ＩＢＤ診断アルゴリズムのいくつかの部分において用いられる変数（例えば、遺伝子マーカー、血清学的マーカー及び既知の疾患診断）のすべての可能な対の組み合わせに関する相関及び関係を算出した。連続変数対のため、及び連続バイナリー変数対のために、Ｐｅａｒｓｏｎの相関係数及びそのｐ値を算出することができる。バイナリー－バイナリー変数対のためには、カイ二乗分析を用いて関係を評価することができる。すべての計算を、ソフトウェアプログラムＭａｔｌａｂを用いて実施することもできる。

【０２８７】

[0301]一部の実施形態では、ＩＢＤ診断アルゴリズムは、決定された基準を満たすサンプルが訓練データから除去され、ＵＣ対ＣＤを予測するためのランダムフォレストがＩＣではない既知のＩＢＤ患者のみに由来する訓練データを使用し、決定木又はルールのセットが「分類不能」ルールに基づく、サンプル除去後のすべての訓練データを用いてＩＢＤ対非ＩＢＤを予測するためのランダムフォレストモデルを含む。いくつかの実施形態では、ＩＢＤ診断アルゴリズムが予測モードにある場合、それは第１のモデル（例えば、ＩＢＤ対非ＩＢＤに関するランダムフォレスト）を用いてＩＢＤ対非ＩＢＤを予測することができる。非ＩＢＤが予測される場合、アルゴリズムは終了する。そうでなければ、アルゴリズムは、決定木又はルールのセットにおいて「分類不能」ルールを適用する。「分類不能」ルールに基づいてＣＤ及びＵＣに関して不確定と分類されないサンプルは、第２のモデル（例えば、ＵＣ対ＣＤに関するランダムフォレスト）を適用することにより処理される。ＩＢＤ診断アルゴリズムは、個体を非ＩＢＤ、ＣＤ若しくはＵＣ患者と分類するか、又はＩＢＤを有する個体をＣＤ及びＵＣに関して不確定と分類することができる。

【０２８８】
[0302]いくつかの実施形態では、「分類不能」ルール又はルールのセットは、ＡＮＣＡ≧Ｑ３、ｐＡＮＣＡ２陽性、及び抗Ｃｂｉｒ１抗体、抗Ｆｌａ２抗体若しくは抗ＦｌａＸ抗体のいずれかが≧Ｑ３であり得る。他の実施形態では、「分類不能」ルール又はルールのセットは、ｐＡＮＣＡ２陽性、及び血清抗フラジェリン抗体（例えば、抗Ｃｂｉｒ１抗体、抗Ｆｌａ２抗体、抗ＦｌａＸ抗体）のうちのいずれか２つのマーカーが≧Ｑ３であり得る。
【０２８９】
[0303]一部の実施形態では、ＩＢＤ診断アルゴリズムは、訓練及び試験の両方の反復（例えばリサンプリング）が繰り返される内部検証の方法を含む。いくつかの例では、リサンプリングは、統計値を得るために約１００回繰り返される。内部検証は、訓練セットを分割して、２／３をモデル訓練セットにし、１／３を試験セットにするステップ；モデル訓練セットを用いてアルゴリズム（例えば、一対のランダムフォレストモデル）を構築するステップ；及び試験セットを用いて性能を計算するステップを含む。他の実施形態では、内部検証は、訓練セットに適用された検証セットと同じサンプル除去ルール及び「分類不能」ルールを適用するステップ並びにアルゴリズムの性能を算出するステップを含む。いくつかの例では、同じ選抜除去ルールを適用できない場合、２％以上の性能低下を生じ得る。
【０２９０】
[0304]一部の実施形態では、サンプルが、最後に経験した症状が医師への訪問の６か月より前であった患者に由来する場合；サンプルが、最後の症状が「利用できない」と記述され、特定の日付の前に試験に登録した患者に由来する場合；患者が試験対象患者基準／試験除外基準を満たさなかった場合；及び患者の疾患持続期間に関する情報がない場合、ＩＢＤ対非ＩＢＤ又はＵＣ対ＣＤのいずれかを予測するためのランダムフォレストモデルからサンプルが除去される。
【０２９１】
[0305]一部の実施形態では、サンプルが、最後に経験した症状が医師への訪問の６か月より前であった患者に由来する場合；サンプルが、最後の症状が「利用できない」と記述され、特定の日付の前に試験に登録した患者に由来する場合；患者が試験対象患者基準／試験除外基準を満たさなかった場合；及び患者の疾患持続期間に関する情報がない場合、サンプルが除去される。他の実施形態では、ＵＣ対ＣＤ診断のためのランダムフォレストモデルからサンプルが除去される。一部の例では、次の特徴を有するサンプルは、ＵＣ対ＣＤランダムフォレストモデルを構築するのに用いられる訓練データセットから除去される。その特徴としては、（１）ＵＣ診断；（２）四分位スコア（Ｑ）３未満のＡＮＣＡレベル、ｐＡＮＣＡ２陰性；及び（３）Ｑ≧３である２つ以上のマーカー（例えば、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、抗Ｆｌａ２、抗ＦｌａＸ）が挙げられる。典型的には、これらのサンプルの９０％がＣＤ患者に由来する。一部の例では、次の基準を満たすサンプルは排除される。（１）既知のＣＤ診断；（２）ＡＮＣＡ＜１６．８ＥＵ／ｍｌ、ｐＡＮＣＡ２陰性；及び（３）次の条件のうちの２つ以上が満たされる：ＡＳＣＡ－Ａ≧１０．６７５ＥＵ／ｍｌ、ＡＳＣＡ－Ｇ≧１４．１７５ＥＵ／ｍｌ、抗ＯｍｐＣ≧９．４ＥＵ／ｍｌ、抗ＣＢｉｒ１≧２９．４７５ＥＵ／ｍｌ、抗Ｆｌａ２≧３４．５ＥＵ／ｍｌ、又は抗ＦｌａＸ≧２８．８７５ＥＵ／ｍｌ。他の例では、（１）対象がＵＣ診断を有し；（２）ＡＮＣＡ≧１６．８ＥＵ／ｍｌ；ｐＡＮＣＡ２陽性であり；（３）次の条件：ＡＳＣＡ－Ａ＜２０．６７５ＥＵ／ｍｌ、ＡＳＣＡ－Ｇ＜１４．１７５ＥＵ／ｍｌ、抗ＯｍｐＣ＜９．４ＥＵ／ｍｌ、抗ＣＢｉｒ１＜２９．４７５ＥＵ／ｍｌ、抗Ｆｌａ２＜３４．５ＥＵ／ｍｌ及び抗ＦｌａＸ＜２８．８７５ＥＵ／ｍｌのすべてが満たされる場合、ＵＣ対ＣＤランダムフォレストモデルを構築するために用いられる訓練データセットから対象のサンプルが除去される。これらの対象の９０％は典型的にはＵＣ患者に由来する。さらに別の例では、サンプルが次の基準のうちの１つを満たす場合、そのサンプルは訓練セット（例えば訓練及び検証セット）から除外される。（１）ｐＡＮＣＡ２＝

１であり、ＡＮＣＡ＜１１．９である；（２）ｐＡＮＣＡ２＝０であり、ＡＮＣＡ≧１１．９である；（３）明らかな誤差の影響を受ける；及び（４）再試験されるのが通常である。

【０２９２】

[0306]一部の実施形態では、本発明の疾患分類アルゴリズムは、１つ又は複数のランダムフォレストモデルを構築するために訓練セット全体を使用する。それは、リサンプリングフェーズの平均カットオフから疾患を分類するためのカットオフを確立する。アルゴリズムは、訓練セットを、検証セットのための１／３とモデル訓練及び試験セットの両方のための２／３とに繰り返し分割すること；平均カットオフ値を用いて、モデル訓練セット及び試験セット上で１つのアルゴリズムを作出すること；検証セット上での性能を計算し、それを試験セット上での平均性能と比較すること；並びに試験セット上での平均確率を検証セット上での最終確率と比較することによって内部的に検証される。さらに、試験セットの性能は、モデル訓練／試験セット（これは、訓練セット全体のサブセットである。）のサブセットであったモデル訓練セット及び試験セットから作出された一対のランダムフォレストモデルに基づくアルゴリズムから計算される。

【０２９３】

[0307]いくつかの実施形態では、本発明のＩＢＤ診断アルゴリズムは、１７種の血清－遺伝子－炎症生物学的マーカー（例えば、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、ｐＡＮＣＡ、抗ＦｌａＸ、ＳＡＡ、抗Ｆｌａ２、ＩＣＡＭ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、ＶＣＡＭ、ＣＲＰ、ＮＫＸ２－３、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＥＣＭ１、ＶＥＧＦ、及びそれらの組み合わせ）に由来する測定値を用いて、ＩＢＤ対非ＩＢＤを予測するための第１のランダムフォレストモデルに基づくモデルスコアを計算する。第１のランダムモデルは、患者がＩＢＤを有するかどうかを決定する。スコアがＩＢＤ対非ＩＢＤカットオフ未満（例えば＜０．６４）である場合、サンプルはＩＢＤを有する患者に由来するものと予測される。そうでなければ、サンプルは、非ＩＢＤを有する患者に由来するものと予測される。ＩＢＤを有すると予測されたサンプルは、マーカーパターンに基づいて不確定を除外するように設計された決定木又はルールのセットであるアルゴリズムの次のステップに進む。サンプルが「分類不能」ルールのいずれかのパターンに一致する場合、アルゴリズムはサンプルがＩＢＤを有すると予測するが、ＣＤ及びＵＣに関しては不確定とサンプルを分類する。そうでなければ、サンプルは、ＵＣ対ＣＤを予測するための第２のランダムフォレストモデルであるアルゴリズムの次のステップに進む。次いで、診断アルゴリズムは、１１種の血清－遺伝子－炎症生物学的マーカー（例えば、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、抗ＦｌａＸ、抗Ｆｌａ２、ｐＡＮＣＡ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＶＥＧＦ、及びそれらの組み合わせ）に由来する測定値を使用して、ＵＣ対ＣＤを予測するための第２のランダムフォレストモデルに基づくモデルスコアを計算する。スコアがＵＣ対ＣＤカットオフ（例えば０．３５）未満である場合、アルゴリズムはサンプルがＣＤを有すると予測する。そうでなければ、アルゴリズムはサンプルがＵＣを有すると予測する。

【０２９４】

[0308]一部の実施形態では、ＩＢＤ対非ＩＢＤモデルにおいて使用される血清－遺伝子－炎症マーカーは重要度によってランク付けされる。訓練セットにおいて重要性の高い順にマーカーを列挙すると、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、ｐＡＮＣＡ、抗ＦｌａＸ、ＳＡＡ、抗Ｆｌａ２、ＩＣＡＭ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、ＶＣＡＭ、ＣＲＰ、ＮＫＸ２－３、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＴＡＴ３、ＥＣＭ１、及びＶＥＧＦとなる。他の実施形態では、ＵＣ対ＣＤモデルにおいて使用される血清－遺伝子－炎症マーカーは重要度によってランク付けされ、訓練セットにおいて重要性の高い順に次のように列挙される。ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、抗ＦｌａＸ、抗Ｆｌａ２、ｐＡＮＣＡ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、及びＶＥＧＦ。マーカーの重要度は本明細書に記載されており、実施例３を参照されたい。

【０２９５】

[0309]他のいくつかの実施形態では、本発明のＩＢＤ診断アルゴリズムは、サンプルがｐＡＮＣＡ２陰性であるかどうかを決定して、ＩＢＤ対非ＩＢＤを予測するための第１のランダムフォレストモデル又は別々のｐＡＮＣＡ決定木分析のいずれかにサンプルを向かわせる初期ステップを含む（図２及び実施例９参照）。いくつかの例では、陰性（０若しくは「検出されず」）又は弱い（＋１）ｐＡＮＣＡ決定のいずれかを有するｐＡＮＣＡ２サンプルを２ステップのランダムフォレストアルゴリズムキューから除去し、ＩＢＤの臨床予測を行うための決定行列又はルールセットにかける。ｐＡＮＣＡ決定木分析後にＩＢＤを予測するための決定行列の非限定例は実施例９に記載される。すなわち、いくつかの態様では、ｐＡＮＣＡ決定木を、ｐＡＮＣＡ２（－）アッセイ結果を有するサンプルにおいて予測的ＩＢＤ診断を行うための代替経路として実装することができる。

【０２９６】

ＩＸ．疾患分類システム

[0310]図３は、本発明の一実施形態による疾患分類システム（ＤＣＳ）（３００）を例示する。そこに示される通り、ＤＣＳは、プロセッサ（３１５）及び記憶モジュール（３１０）を有するコンピュータなどのＤＣＳ知能モジュール（３０５）を含む。知能モジュールはまた、１つ若しくは複数の直接接続（例えば、ＵＳＢ、Ｆｉｒｅｗｉｒｅ、又は他のインターフェース）及び１つ若しくは複数のネットワーク接続（例えば、モデム又は他のネットワークインターフェースデバイス）上の情報を送信及び受信するための通信モジュール（示さず）も含む。記憶モジュールは、内部記憶デバイス及び１つ若しくは複数の外部記憶デバイスを含んでもよい。知能モジュールはまた、モニター又はプリンターなどのディスプレイモジュール（３２５）も含む。一態様では、知能モジュールは、直接接続を介するか、又はネットワーク（３４０）上で、試験システム（３５０）などのデータ獲得モジュールから、患者の試験結果などのデータを受信する。例えば、試験システムを、１つ又は複数の患者サンプル（３５５）上で多分析物試験を実施し、試験結果を知能モジュールに自動的に提供するように構成することができる。また、データを、ユーザによる直接入力により知能モジュールに提供するか、又はそれをコンパクトディスク（ＣＤ）若しくはデジタル多用途ディスク（ＤＶＤ）などの携帯用媒体からダウンロードすることもできる。試験システムを、知能モジュールと統合する、知能モジュールに直接連結する、又はネットワーク上で知能モジュールと遠隔的に連結することができる。知能モジュールはまた、周知のようにネットワーク上の１つ又は複数のクライアントシステム（３３０）に、及びそれから、データを通信することもできる。例えば、要求中の医師又は医療機関は、クライアントシステム（３３０）を使用して、実験室又は病院にあってもよい知能モジュールからの報告を取得し、見ることができる。

【０２９７】

[0311]ネットワークは、ＬＡＮ（ローカルエリアネットワーク）、ＷＡＮ（ワイドエリアネットワーク）、無線ネットワーク、ポイントツーポイントネットワーク、スター型ネットワーク、トークンリングネットワーク、ハブネットワーク、又は他の機器構成であってもよい。現在使用されている最も一般的な型のネットワークは、ＴＣＰ／ＩＰ（伝送制御プロトコール及びインターネットプロトコール）ネットワーク、例えば、大文字「Ｉ」を用いて「インターネット」と呼ばれることが多いネットワークのグローバルインターネットワークであり、本明細書の実施例の多くにおいて用いられるが、ＴＣＰ／ＩＰは現在好ましいプロトコールであるが、本発明が使用するネットワークはそれに限定されないことが理解されるべきである。

【０２９８】

[0312]図３に示されるシステム中のいくつかの要素は、本明細書で詳細に説明する必要がない従来の周知の要素を含んでもよい。例えば、知能モジュールを、デスクトップパーソナルコンピュータ、ワークステーション、メインフレーム、ラップトップなどとして実装することができる。各クライアントシステムは、デスクトップパーソナルコンピュータ、ワークステーション、ラップトップ、ＰＤＡ、携帯電話、又はインターネット若しくは他のネットワーク接続に直接若しくは間接にインターフェース接続することができる任意

のＷＡＰ対応デバイス若しくは他の任意のコンピュータデバイスを含んでもよい。クライアントシステムは、典型的には、クライアントシステムのユーザが、ネットワーク上の知能モジュールから入手可能な情報及びページにアクセスする、それを処理する、及び見ることを可能にする、ＨＴＴＰクライアント、例えば、Ｍｉｃｒｏｓｏｆｔのインターネットエクスプローラー（Ｉｎｔｅｒｎｅｔ　Ｅｘｐｌｏｒｅｒ）（商標）ブラウザ、Ｎｅｔｓｃａｐｅのナビゲーター（Ｎａｖｉｇａｔｏｒ）（商標）ブラウザ、Ｏｐｅｒａのブラウザ、又は携帯電話、ＰＤＡ若しくは他の無線デバイスの場合、ＷＡＰ対応ブラウザなどのブラウジングプログラムを実行する。各クライアントシステムはまた、典型的には、知能モジュールによって提供されるページ、書式、及び他の情報と共に、ディスプレイ（例えば、モニタースクリーン、ＬＣＤディスプレイ）上でブラウザによって提供されるグラフィカルユーザインターフェース（ＧＵＩ）と相互作用するための、キーボード、マウス、タッチスクリーン、ペンなどの１つ又は複数のユーザインターフェースデバイス（３３５）も含む。上述の通り、本発明は、ネットワークの特異的グローバルインターネットワークを指すインターネットと共に使用するのに好適である。しかしながら、イントラネット、エクストラネット、バーチャルプライベートネットワーク（ＶＰＮ）、非ＴＣＰ／ＩＰに基づくネットワーク、任意のＬＡＮ又はＷＡＮなどの、他のネットワークをインターネットの代わりに使用することができることが理解されるべきである。

【０２９９】

[0313]一実施形態によれば、各クライアントシステム及びその成分のすべては、インテル（Ｉｎｔｅｌ）（登録商標）ペンティアム（Ｐｅｎｔｉｕｍ）（登録商標）プロセッサなどの中央演算ユニットを用いるコンピュータコードの実行を含むブラウザなどのアプリケーションを用いて操作者により設定可能である。同様に、知能モジュール及びその成分のすべては、インテルペンティアムプロセッサなどの中央演算ユニット（３１５）又はマルチプロセッサユニットを用いるコンピュータコードの実行を含むアプリケーションを用いて操作者により設定可能であってもよい。本明細書に記載のデータ及び試験結果を処理するための知能モジュールを操作及び設定するためのコンピュータコードは、ハードディスク上にダウンロード及び保存されるのが好ましいが、全プログラムコード、又はその一部を、周知である他の任意の揮発性若しくは非揮発性記憶媒体若しくはデバイス、例えば、ＲＯＭ若しくはＲＡＭ中に保存するか、又はコンパクトディスク（ＣＤ）媒体、デジタル多用途ディスク（ＤＶＤ）媒体、フロッピーディスク、ＲＯＭ、ＲＡＭなどの、プログラムコードを保存することができる他の任意のコンピュータ可読媒体（３６０）上に提供することもできる。

【０３００】

[0314]本発明の種々の態様及び実施形態を実施するためのコンピュータコードを、例えば、Ｒ、Ｃ、Ｃ＋＋、Ｃ＃、ＨＴＭＬ、Ｊａｖａ、ＪａｖａＳｃｒｉｐｔなどのコンピュータシステム上で実行することができる任意のプログラミング言語、又はＶＢＳｃｒｉｐｔなどの他の任意のスクリプト言語中に実装することができる。Ｒプログラミング言語が好ましい。さらに、全プログラムコード、又はその一部を、周知のような任意の通信媒体及びプロトコール（例えば、ＴＣＰ／ＩＰ、ＨＴＴＰ、ＨＴＴＰＳ、イーサーネット）を使用して、インターネット上で、又は周知のような他の任意の従来のネットワーク接続（例えば、エクストラネット、ＶＰＮ、ＬＡＮ）上でソフトウェアソース（例えばサーバー）から伝送及びダウンロードすることができるキャリア信号として具体化することができる。

【０３０１】

[0315]一実施形態によれば、知能モジュールは、患者の試験結果を分析してＩＢＤ又はＣＤ若しくはＵＣなどのその臨床亜型の診断を決定するための疾患分類プロセスを実装する。このデータを、メモリー（３１０）中の１つ又は複数のデータ表又は他の論理データ構造物中に、あるいは知能モジュールと連結した他の記憶装置又はデータベースシステム中に保存することができる。典型的には、１つ又は複数の統計解析又はプロセスが、特定の患者に関する試験データを含むデータセットに適用される。例えば、試験データは、患

者に由来するサンプル中の少なくとも１つ又は一団のマーカーの存在、レベル、及び／又は遺伝子型を示すデータを含む診断マーカープロファイルを含んでもよい。一実施形態では、ランダムフォレストなどの統計解析は特定の患者に関する試験データに適用され、試験データは、患者に由来するサンプル中で決定された少なくとも１つ又は一団のマーカーの存在、レベル、及び／又は遺伝子型を含む。統計的に誘導された決定を、知能モジュールに結合若しくは連結したディスプレイデバイス上に表示させるか、又は決定を他のシステム、例えばクライアントシステム（３３０）に提供し、表示させることができる。特定の実施形態では、統計的に誘導された決定を、リポート又はプリントアウトの形態で表示してもよく、医師が、表示された結果を比較し、解釈して、合理的なＩＢＤ診断又は予測を行うことができるような参照表、チャート、グラフ又はモデルを含んでもよい。

【０３０２】

Ｘ．療法及び治療モニタリング

[0316]ＩＢＤの診断が本明細書に記載の方法に従って分類又は予測されたら、本発明は、分類又は予測に基づいて療法の経過を推奨することをさらに含んでもよい。いくつかの例では、本発明は、ＩＢＤ、ＣＤ、ＵＣ、ＩＣ、又は不確定ＩＢＤと関連する１つ又は複数の症状を処置するのに有用な治療有効量のＩＢＤ治療剤を個体に投与することをさらに含んでもよい。治療適用のためには、ＩＢＤ治療剤を単独で投与するか、あるいは１つ若しくは複数のさらなるＩＢＤ治療剤及び／又はＩＢＤ治療剤と関連する副作用を軽減させる１つ若しくは複数の薬剤と共に同時投与することができる。ＩＢＤ治療剤の例としては、限定されるものではないが、生物製剤、従来の薬剤、及びそれらの組み合わせが挙げられる。すなわち、本発明は、有利なことに、正しい薬剤が正しい時間に正しい患者に与えられるように、処置決定を指導し、ＩＢＤのための療法選択を通知することにより、医師が「オーダーメイド医療」を実施できるようにする。

【０３０３】

[0317]ＩＢＤ治療剤は、必要に応じて好適な医薬賦形剤と共に投与することができ、許容される投与様式のいずれかによって実施することができる。すなわち、投与は、例えば、静脈内、局所、皮下、経皮膚、経皮、筋肉内、経口、頬、舌下、歯肉、口蓋、関節内、非経口、細動脈内、皮内、心室内、頭蓋内、腹腔内、病変内、鼻内、直腸、経膣、又は吸入によるものであってもよい。「同時投与する」とは、ＩＢＤ治療剤が、第２の薬剤（例えば、他のＩＢＤ治療剤、ＩＢＤ治療剤の副作用を軽減するのに有用な薬剤）の投与と同時、その直前又は直後に投与されることを意味する。

【０３０４】

[0318]ＩＢＤ治療剤の治療有効量を、例えば、少なくとも２、３、４、５、６、７、８回以上反復投与するか、又は用量を連続注入により投与することができる。用量は、好ましくは、正確な用量の単純な投与にとって好適な単位剤形中の、例えば、錠剤、ピル、ペレット、カプセル、粉末、溶液、懸濁液、乳濁液、坐剤、停留浣腸、クリーム、軟膏、ローション、ゲル、エアロゾル、気泡などの、固体、半固体、凍結乾燥粉末、又は液体剤形の形態を取ってもよい。

【０３０５】

[0319]本明細書において、用語「単位剤形」は、各単位が、好適な医薬賦形剤（例えばアンプル）と共に、所望の開始、許容性、及び／又は治療効果をもたらすように算出されたＩＢＤ治療剤の所定量を含有する、ヒト対象及び他の哺乳動物のための単一の用量として好適な物理的に個別の単位を含む。さらに、より濃縮された剤形を調製した後、それからより希薄な単位剤形を生成することができる。すなわち、より濃縮された剤形は、ＩＢＤ治療剤の量よりも実質的に多い、例えば、その少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０倍以上を含む。

【０３０６】

[0320]そのような剤形を調製するための方法は当業者に公知である（例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，第１８版，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，ＰＡ（１９９０）を参照）。剤形は

、従来の医薬担体又は賦形剤を典型的に含み、他の薬剤、担体、アジュバント、希釈剤、組織浸透促進剤、可溶化剤などをさらに含んでもよい。好適な賦形剤を、当業界で周知の方法により、特定の剤形及び投与経路に合わせることができる（例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（上記）を参照）。

【０３０７】

[0321]好適な賦形剤の例としては、限定されるものではないが、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン、アカシアゴム、リン酸カルシウム、アルギネート、トラガカント、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、微結晶性セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、水、塩水、シロップ、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、及びポリアクリル酸、例えば、カーボポール（Ｃａｒｂｏｐｏｌ）、例えば、カーボポール９４１、カーボポール９８０、カーボポール９８１などが挙げられる。剤形は、タルク、ステアリン酸マグネシウム、及び鉱油などの潤滑剤；湿潤剤；乳化剤；懸濁剤；メチル－、エチル－、及びプロピル－ヒドロキシ安息香酸（すなわちパラベン）などの保存剤；無機及び有機の酸及び塩基などのｐＨ調整剤；甘味料；並びに香料をさらに含んでもよい。剤形はまた、生分解性ポリマービーズ、デキストラン、及びシクロデキストリン含有複合体を含んでもよい。

【０３０８】

[0322]経口投与のために、治療有効用量は、錠剤、カプセル、乳濁液、懸濁液、溶液、シロップ、スプレー、ロゼンジ剤、粉末、及び持続放出製剤の形態を取ってもよい。経口投与のための好適な賦形剤としては、医薬等級のマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、タルカム、セルロース、グルコース、ゼラチン、スクロース、炭酸マグネシウムなどが挙げられる。

【０３０９】

[0323]一部の実施形態では、治療有効用量はピル、錠剤、又はカプセルの形態を取り、剤形は、ＩＢＤ治療剤と共に次のいずれかを含んでもよい。ラクトース、スクロース、リン酸二カルシウムなどの希釈剤；デンプン又はその誘導体などの崩壊剤；ステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤；並びにデンプン、アカシアゴム、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、セルロース及びその誘導体などの結合剤。ＩＢＤ治療剤を、例えば、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）担体中に配置される坐剤に製剤化することもできる。

【０３１０】

[0324]ＩＢＤ治療剤及び任意選択で１つ又は複数の薬学的に許容されるアジュバントを、例えば、水性塩水（例えば０．９％ｗ／ｖ塩化ナトリウム）、水性デキストロース、グリセロール、エタノールなどの担体中に溶解又は分散させて、例えば、経口、局所、又は静脈内投与のための溶液又は懸濁液を形成させることによって液体剤形を調製することができる。ＩＢＤ治療剤を滞留浣腸に製剤化することもできる。

【０３１１】

[0325]局所投与のために、治療有効用量は、乳濁液、ローション、ゲル、気泡、クリーム、ゼリー、溶液、懸濁液、軟膏、及び経皮パッチの形態を取ってもよい。吸入による投与のために、ＩＢＤ治療剤を、乾燥粉末として、又はネブライザーを介して液体形態で送達することができる。非経口投与のために、治療有効用量は滅菌注射可能溶液及び滅菌包装粉末の形態を取ってもよい。注射可能溶液は、約４．５～約７．５のｐＨで製剤化されるのが好ましい。

【０３１２】

[0326]治療有効用量を凍結乾燥形態で提供することもできる。そのような剤形は、例えば、投与前の再構成のためのバッファー（例えば重炭酸塩）を含んでもよく、又はバッファーを、例えば、水を用いる再構成のために凍結乾燥剤形中に含有させてもよい。凍結乾燥剤形は、好適な血管収縮剤、例えば、エピネフリンをさらに含んでもよい。凍結乾燥剤形は、再構成された剤形を個体にすぐに投与することができるように、シリンジ（任意選択で、再構成のためのバッファーと共に包装される。）中に提供してもよい。

【０３１３】

[0327]ＩＢＤ又はその臨床サブタイプの処置のための治療的使用において、ＩＢＤ治療剤は、１日約０．００１ｍｇ／ｋｇ～約１０００ｍｇ／ｋｇの初期用量で投与することができる。約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約５００ｍｇ／ｋｇ、約０．１ｍｇ／ｋｇ～約２００ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇ、又は約１０ｍｇ／ｋｇ～約５０ｍｇ／ｋｇの日用量範囲を用いることができる。しかしながら、用量は、個体の要件、ＩＢＤ症状の重篤度、及び用いられるＩＢＤ治療剤に応じて変化してもよい。例えば、用量は、本明細書に記載の方法に従って特定の臨床サブタイプのＩＢＤを有すると分類された個体におけるＩＢＤ症状の型及び重症度を考慮して経験的に決定することができる。本発明の文脈における、個体に投与される用量は、時間と共に個体における有益な治療応答に影響するのに十分なものであるべきである。用量のサイズは、個体における特定のＩＢＤ治療剤の投与に伴う任意の有害な副作用の存在、性質及び程度により決定することもできる。特定の状況のための適切な用量の決定は医師の知見の範囲内にある。一般に、処置はＩＢＤ治療剤の最適用量より少ない、より小さい用量から開始される。その後、環境下での最適効果に達するまで用量を少しずつ増加させる。便宜的に総日用量を分割し、必要に応じて１日の間に一部ずつ投与することができる。

【０３１４】

[0328]本明細書において、用語「ＩＢＤ治療剤」は、ＩＢＤと関連する１つ又は複数の症状を処置するのに有用であるあらゆる薬学的に許容される形態の薬剤を含む。例えば、ＩＢＤ治療剤は、ラセミ混合物又は異性体混合物、イオン交換樹脂に結合した固体複合体などの中にあってもよい。さらに、ＩＢＤ治療剤は溶媒和形態を取ってもよい。この用語はまた、記載されるＩＢＤ治療剤のあらゆる薬学的に許容される塩、誘導体、及び類似体、並びにそれらの組み合わせを含むことが意図される。例えば、ＩＢＤ治療剤の薬学的に許容される塩としては、限定されるものではないが、その酒石酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、重酒石酸塩、二塩酸塩、サリチル酸塩、ヘミコハク酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、塩酸塩、カルバミン酸塩、硫酸塩、硝酸塩、及び安息香酸塩形態、並びにそれらの組み合わせが挙げられる。例えば、ＩＢＤ治療剤の薬学的に許容される塩、ＩＢＤ治療剤の遊離塩基、又はその混合物などの、任意の形態のＩＢＤ治療剤が、本発明の方法における使用にとって好適である。好適なＩＢＤ治療剤の例としては、限定されるものではないが、生物製剤、従来の薬剤、及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【０３１５】

[0329]生物製剤としては、例えば、抗サイトカイン及びケモカイン抗体、例えば、抗腫瘍壊死因子アルファ（ＴＮＦα）抗体が挙げられる。抗ＴＮＦα抗体の非限定例としては、キメラＩｇＧ１抗ＴＮＦαモノクローナル抗体であるインフリキシマブ（レミケード（Ｒｅｍｉｃａｄｅ）（登録商標））（Ｃｅｎｔｏｃｏｒ，Ｉｎｃ，Ｈｏｒｓｈａｍ，ＰＡ）などのキメラモノクローナル抗体；ＣＤＰ５７１及びＰＥＧ化ＣＤＰ８７０などのヒト化モノクローナル抗体；アダリムマブ（ヒュミラ（Ｈｕｍｉｒａ）（登録商標））（Ａｂｂｏｔｔ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ，ＩＬ）などの完全ヒトモノクローナル抗体；エタネルセプト（エンブレル（Ｅｎｂｒｅｌ）（登録商標））（Ａｍｇｅｎ，Ｔｈｏｕｓａｎｄ Ｏａｋｓ，ＣＡ；Ｗｙｅｔｈ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ Ｉｎｃ，Ｃｏｌｌｅｇｅｖｉｌｌｅ，ＰＡ）などのｐ７５融合タンパク質、小分子（例えばＭＡＰキナーゼ阻害剤）；及びそれらの組み合わせが挙げられる。Ｇｈｏｓｈ，Ｎｏｖａｒｔｉｓ Ｆｏｕｎｄ Ｓｙｍｐ．，２６３：１９３～２０５（２００４）を参照されたい。

【０３１６】

[0330]他の生物製剤としては、例えば、細胞接着分子α４－インテグリンに対するヒト化モノクローナル抗体であるナタリズマブ（タイサブリ（Ｔｙｓａｂｒｉ）（登録商標））（Ｅｌａｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．，Ｄｕｂｌｉｎ，Ｉｒｅｌａｎｄ；Ｂｉｏｇｅｎ Ｉｄｅｃ，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，ＭＡ）、及びヒト化ＩｇＧ１抗α４β７インテグリンモノクローナル抗体であるＭＬＮ－０２（Ｍｉｌｌｅｎｎｉｕｍ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，ＭＡ）などの抗細胞接着抗体；抗

Ｔ細胞剤；ヒト化ＩｇＧ２Ｍ３抗ＣＤ３モノクローナル抗体である、ビシリズマブ（ヌビオン（Ｎｕｖｉｏｎ）（登録商標））（ＰＤＬ　ＢｉｏＰｈａｒｍａ，Ｉｎｃｌｉｎｅ　Ｖｉｌｌａｇｅ，ＮＶ）などの抗ＣＤ３抗体；キメラ抗ＣＤ４モノクローナル抗体であるプリリキシマブ（ｃＭ－Ｔ４１２）（Ｃｅｎｔｏｃｏｒ，Ｉｎｃ．，Ｈｏｒｓｈａｍ，ＰＡ）などの抗ＣＤ４抗体；ヒト化ＩｇＧ１抗ＣＤ２５モノクローナル抗体であるダクリズマブ（ゼナパックス（Ｚｅｎａｐａｘ）（登録商標））（ＰＤＬ　ＢｉｏＰｈａｒｍａ，Ｉｎｃｌｉｎｅ　Ｖｉｌｌａｇｅ，ＮＶ；Ｒｏｃｈｅ，Ｎｕｔｌｅｙ，ＮＪ）及びキメラＩｇＧ１抗ＣＤ２５モノクローナル抗体であるバシリキシマブ（シムレクト（Ｓｉｍｕｌｅｃｔ）（登録商標））（Ｎｏｖａｒｔｉｓ，Ｂａｓｅｌ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）などの抗ＩＬ－２受容体アルファ（ＣＤ２５）抗体；及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【０３１７】

[0331]前記生物製剤に加えて、ｍｉＲ又はｍｉＲの阻害剤が本発明において有用である。すなわち、いくつかの実施形態では、本発明は、有効量のｉ）ｍｉＲＮＡ阻害剤分子又はｉｉ）ｍｉＲＮＡ分子を、ＩＢＤを有する患者に導入するか、又は提供することによるＩＢＤの治療又は予防を提供する。

【０３１８】

[0332]ｍｉＲの送達のための１つの有用な製剤は、リポソームである。リポソーム及び乳濁液は、本発明の核酸を送達するのに用いることができる送達ビヒクルの周知の例である。本発明の核酸を、担体又は脂質と共に投与して、細胞による取込みを増加させることができる。例えば、オリゴヌクレオチドを、陽イオン脂質と共に投与することができる。陽イオン脂質の例としては、限定されるものではないが、リポフェクチン、ＤＯＴＭＡ、ＤＯＰＥ、及びＤＯＴＡＰが挙げられる。国際公開第００／７１０９６号（参照により組み入れられる。）には、遺伝子療法のために有効に用いることができるＤＯＴＡＰ：コレステロール又はコレステロール誘導体製剤などの種々の製剤が記載されている。他の開示ではまた、ナノ粒子を含む種々の脂質又はリポソーム製剤及び投与方法が考察されている。そのようなものとしては、限定されるものではないが、米国特許出願公開第２００３／０２０３８６５号、第２００２／０１５０６２６号、第２００３／００３２６１５号、及び第２００４／００４８７８７号（これらは、それらが製剤並びに核酸の投与及び送達の他の関連する態様を開示する程度まで参照により組み入れられる。）が挙げられる。粒子を形成させるために用いられる方法は、米国特許第５８４４１０７号、第５８７７３０２号、第６００８３３６号、第６０７７８３５号、第５９７２９０１号、第６２００８０１号及び第５９７２９００号（これらは、それらの態様に関して参照により組み入れられる。）にも開示されている。核酸を、ポリ（Ｌ－リシン）などの陽イオン性アミンと共に投与することもできる。

【０３１９】

[0333]従来の薬剤の例としては、限定されるものではないが、アミノサリチレート（例えば、メサラジン、スルファサラジン）、コルチコステロイド（例えばプレドニゾン）、チオプリン（例えば、アザチオプリン、６－メルカプトプリン）、メトトレキサート、その遊離塩基、薬学的に許容される塩、誘導体、類似体、及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【０３２０】

[0334]当業者であれば、本発明における使用に好適なさらなるＩＢＤ治療剤が分かるであろう（例えば、Ｓａｎｄｓ，Ｓｕｒｇ．Ｃｌｉｎ．Ｎｏｒｔｈ　ＡＭ．，８６：１０４５－１０６４（２００６）；Ｄａｎｅｓｅら，Ｍｉｎｉ　Ｒｅｖ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，６：７７１－７８４（２００６）；Ｄｏｍｅｎｅｃｈ，Ｄｉｇｅｓｔｉｏｎ，７３（Ｓｕｐｐｌ．１）：６７－７６（２００６）；Ｎａｋａｍｕｒａら，Ｗｏｒｌｄ　Ｊ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．，１２：４６２８－４６３５（２００６）；及びＧｉｏｎｃｈｅｔｔｉら，Ｗｏｒｌｄ　Ｊ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．，１２：３３０６－３３１３（２００６）を参照）。

【０３２１】
[0335]診断及び／又は予測情報が個体のサンプルから得られたら、個体を定期的な時間間隔でモニタリングして特定の治療レジメンの有効性を評価することもできる。例えば、特定のマーカーの存在又はレベルは、薬剤などの処置の治療効果に基づいて変化してもよい。いくつかの実施形態では、患者をモニタリングして、応答を評価し、個別化されたアプローチにおける特定の薬剤又は処置の効果を理解することができる。さらに、患者は薬剤に応答しなくてもよいが、マーカーは変化してもよく、これは、これらの患者がそのマーカーレベルによって同定することができる特殊な集団（非応答性）に属することを示唆する。これらの患者にはその現在の療法を中止させ、代替処置を処方することができる。
【０３２２】
ＸＩ．実施例
[0336]本発明を具体的な実施例によりさらに詳細に説明する。以下の実施例は説明のために提供されるものであり、本発明を限定することを意図したものではない。当業者であれば、変更又は改変しても本質的に同じ結果が得られる種々の重要でないパラメータを容易に理解するであろう。
【０３２３】
実施例１（血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）マーカーを用いるＩＢＤ診断のランダムフォレストモデリング）：
[0337]本実施例は、１つ又は複数のランダムフォレストモデルを含む学習統計分類子システムを訓練及び検証する方法を説明する。一部の実施形態では、疾患を診断するためのランダムフォレストモデルを作出する方法は、血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）マーカーのテキストベースの測定値のバイナリー変数への変換方法を含む。他の実施形態では、疾患を診断するためのランダムフォレストモデルを作出する方法は、リサンプリングによる不完全サンプル再利用及び性能誤差推定を含む段階的変数消去の方法を含む。本実施例はまた、モデルの予測性に対する種々のｓｇｉマーカーの重要性を決定することを含む、疾患を診断するためのランダムフォレストモデルを作出する方法を説明する。
【０３２４】
[0338]一部の実施形態では、ＩＢＤと関連する診断マーカーの予測モデリングのための本明細書に記載の統計的方法及びモデルは、モデル構築のランダムフォレスト方法を用いる。ランダムフォレストは、各木を構築する無作為成分を含む多くの決定木から作られる分類子である。各決定木は同じ分類問題に対処するが、異なる例の集合及び例のデータセットから無作為に選択される特徴の異なるサブセットが提供される。例えば、１本の木を、利用可能な例の無作為の２／３を、木の各ノードで分割される決定を行うために選択される特徴の無作為の２／３と共に用いて構築することができる。訓練の間にフォレストが構築されたら、すべての決定木にわたって採決することによって新しい例を分類する。２クラスのランダムフォレスト分類子に関する最も単純な事例では、最も投票数の多いクラスが勝つ。他の例では、訓練の間に確立された投票の勝利数に関するカットオフを予め設定して、性能尺度を最適化する。一部の例では、偽陽性が偽陰性よりもコストが高い場合、カットオフをより高く設定することができる。
【０３２５】
[0339]ランダムフォレスト分析は、非常に正確であるため、この種類の統計データをモデリングするのに非常に強固である。各決定木はデータの異なるサブセットから構築されるため、ランダムフォレストは他の機械学習アプローチよりもデータの過剰適合の傾向が少ない。個々の木による任意の過剰適合又は標準以下のものは、アンサンブル平均が計算された時に取消される傾向がある。
【０３２６】
[0340]いくつかの実施形態では、ＩＢＤ診断アルゴリズムは、血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）マーカーの既知の存在、非存在及び／又はレベルを有する予測された診断の後ろ向きコホートを用いて確立される。一部の実施形態では、ランダムフォレストを構築するために用いられるサンプル（例えば訓練及び検証データセット）は、本明細書に記載の方法

を用いる研究に由来するものである。簡単に述べると、訓練データセットはアルゴリズムを訓練するために用いられ、検証データセットは訓練されたアルゴリズムの性能を決定するために用いられる。ランダムフォレストモデリングの方法はマーカーの比較を可能にし、したがって、診断を予測するマーカーの重要性を決定することが可能となる。

【０３２７】

Ａ．血清－遺伝子－炎症マーカーのテキストベースの測定値のバイナリー変数への変換

[0341]一部の態様では、バイナリー値はサンプルのデータセットに基づいて定義される（表１参照）。いくつかの実施形態では、データセットは、ＩＢＤ、ＣＤ、ＵＣ又は過敏性腸症候群（ＩＢＳ）を有すると予測された対象、及び健常対照対象のデータを含む。

【０３２８】

表１：データセットに加えられる定義されたバイナリー列

【表１】

新しい列名	バイナリー値	定義
DxIBD	1	診断列が IBD、CD 又は UC である場合
	0	健常、HC 又は IBS の場合

DxUC	1	診断が UC である場合
	0	CD の場合
pANCA	1	「ANCA IFA M3（pANCA）」列が「検出されず」又は「DNAse 耐性」である場合
	0	その他の場合（ブランクを除く）
GLI1	1	「GLI1-G933D-rs2228224」が TT である場合
	0	両方又は FAM の場合
	（ブランク）	不明の場合
MDR1	1	「MDR1 三対立遺伝子-rs2032582」が TT である場合
	0	AA、GA、GG、GT 又は TA である場合
	（ブランク）	不明の場合
ATG	1	「ATG16L1-T300A-rs2241880」が FAM である場合
	0	両方又は VIC の場合
	（ブランク）	不明の場合
ECM1	1	「ECM1-rs3737240」が FAM である場合
	0	両方又は VIC の場合
	（ブランク）	不明の場合
IRGM89	1	「IRGM-rs13361189」が VIC である場合
	0	両方又は FAM の場合
	（ブランク）	不明の場合
IRGM47	1	「IRGM-rs4958847」が VIC である場合
	0	両方又は FAM の場合
	（ブランク）	不明の場合
NKX2	1	「NKX2-3-rs10883365」が FAM である場合
	0	両方又は VIC の場合
	（ブランク）	不明の場合
MAGI2	1	「MAGI2 rs2160322」が VIC である場合
	0	両方又は FAM の場合
	（ブランク）	不明の場合
STAT3	1	「STAT3 rs744166」が VIC である場合
	0	両方又は FAM の場合
	（ブランク）	不明の場合

【０３２９】

Ｂ．リサンプリングによる不完全サンプル再利用及び性能誤差推定を含む段階的変数消去

[0342]他の実施形態では、疾患を診断するためのランダムフォレストモデルを作出する方法は、リサンプリングによる不完全サンプル再利用及び性能誤差推定を含む段階的変数消去の方法を含む。いくつかの実施形態では、マーカーが診断予測を改善することができるかどうかを決定するための方法が用いられる。一部の例では、すべての項目が入力されたデータが全マーカーに関して限られている場合、全マーカーが訓練中に使用される。そ

の後、あまり重要でないマーカーを消去した後、あまり重要でないマーカーを失っているサンプルを再利用し、訓練データセット中で使用する。

【０３３０】

[0343]一部の態様では、以下のステップの「変数消去プロトコール」が使用される。

１）データの不完全な行を一時的に消去する。

２）データを訓練データセット（行の２／３）と試験データセット（行の１／３）に無作為に分割する（注：これを数回繰り返す）。

３）訓練データセットからランダムフォレストモデルを作出する。

４）データセット上での予測を用いて性能を決定する。

ａ．ＲＯＣスコア

ｂ．目的関数を最大化するカットオフを用いる感度／特異度、ここで、Ｗは、０．３に設定された調整可能な重みである。

Ｗ（１－感度）^{2}＋（１－Ｗ）（１－特異度）^{2}

５）所与のフォレストに関する各変数の重要度を計算する。

ａ．所与のフォレストに関する１つの変数の値を無作為に順序変更する。

ｂ．結果として生じる正確度の低下を決定する。

ｃ．すべての変数について繰り返す。

６）これまでに実施されたデータの異なる無作為分割から標準誤差を計算する。

７）標準誤差が十分に小さいか、又は許容可能な最大反復回数を超えた場合、１つの変数を消去する。

ａ．複数のデータ分割にわたる平均重要性が最小である変数を発見する。

ｂ．不完全な行の最後の消去の前のデータセットに戻る。

ｃ．「重要でない」変数を削除する。

ｄ．変数が残っている場合、プロトコールの始めに戻る。

【０３３１】

[0344]上記プロトコールは、どの血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）マーカーがＩＢＤ対非ＩＢＤ診断の予測を改善することができるかを決定するために使用される。表２は、ＡＳＣＡ－Ａ、ＩＲＧＭ４７、ＩＲＧＭ８９、ＭＤＲ１、ＥＣＭ１、ＶＥＧＦ、ＣＲＰ、ＮＫＸ２－３、ＳＴＡＴ３、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＡＡ、ＧＬＩ１、ＭＡＧＩ２、抗ＯｍｐＡ、ＩＣＡＭ、抗Ｆｌａ２、ＡＳＣＡ－Ｇ、ＡＮＣＡ、抗ＦｌａＸ、ＶＣＡＭ－１、抗Ｃｂｉｒ１、抗ＯｍｐＣ、及びｐＡＮＣＡなどの２３種の血清－遺伝子－炎症マーカーを用いるＩＢＤ対非ＩＢＤ診断に関する変数重要性を例示する。ＩＢＤ診断のランダムフォレストモデリングのこの例示的説明においては次の基準が要求された。別の試験データ上のＲＯＣスコアにおける最小リサンプリング数５、最大２０、及び標準誤差目標０．０１。用語「Ｌｅａｓｔ＿ＩＭＰ」とは、最も小さい平均重要性を有する変数を指す。用語「ＯＯＢ＿ＲＯＣ」とは、訓練中のｏｕｔ－ｏｆ－ｂａｇ予測上で計算されたＲＯＣスコアを指す。用語「ＴＥＳＴ＿Ｒｏｃ」とは、フォレストを作出するのに使用されなかった、別の試験セット上でのＲＯＣスコアを指す。用語「ＳＥＮＳ」及び「ＳＰＥＣ」とは、それぞれ、試験セット上での感度及び特異度を指す。用語「ＮＴＲＡＩＮ０」とは、０に等しいＤｘＩＢＤを有する（すなわち非ＩＢＤ）訓練サンプルの数を指す。用語「ＮＴＲＡＩＮ１」とは、１に等しいＤｘＩＢＤを有する（すなわちＩＢＤ）訓練サンプルの数を指す。用語「ＮＴＥＳＴ０」及び「ＮＴＥＳＴ１」は試験サンプルの数である。注目すべきことに、以下の表中のすべての数は、複数の再分割にわたる平均であり、エラーバーは標準誤差（すなわち、平均における誤差の推定値）である。「ＮＶＡＲ」とは、ＩＢＤ診断に対する血清－遺伝子－炎症マーカーの決定された重要性を指す。表２は、アルゴリズムにおいてｐＡＮＣＡが最も重要であり、ＡＳＣＡ－Ａがあまり重要でないことを示す。

【０３３２】

表２：血清－遺伝子－炎症マーカーを使用するＩＢＤ対非ＩＢＤのマーカー重要性

【表２】

	NVAR	OOB_ ROC	TEST_ ROC	SENS	SPEC	LEAST_ IMP	NTRAIN 0	NTRAIN 1	NTEST 0	NTEST 1
1	23	0.919+-0.007	0.937+-0.010	0.897+-0.018	0.913+-0.014	ASCAA	59.7+-1.4	53.3+-1.4	30.3+-1.4	26.7+-1.4
2	22	0.903+-0.006	0.943+-0.010	0.846+-0.018	0.951+-0.020	IRGM47	59.8+-1.9	53.2+-1.9	30.2+-1.9	26.8+-1.9
3	21	0.918+-0.005	0.914+-0.011	0.855+-0.017	0.889+-0.012	IRGM89	60.5+-0.7	54.5+-0.7	29.5+-0.7	28.5+-0.7
4	20	0.908+-0.004	0.955+-0.006	0.910+-0.007	0.934+-0.019	MDR1	60.0+-1.4	57.0+-1.4	30.0+-1.4	29.0+-1.4
5	19	0.917+-0.006	0.941+-0.010	0.904+-0.015	0.942+-0.012	ECM1	60.1+-0.6	56.9+-0.6	29.9+-0.6	29.1+-0.6
6	18	0.903+-0.004	0.908+-0.008	0.774+-0.018	0.914+-0.016	VEGF	87.2+-2.2	281.8+-2.2	41.8+-2.2	143.2+-2.2
7	17	0.893+-0.003	0.903+-0.009	0.770+-0.011	0.906+-0.009	CRP	132.2+-1.4	283.8+-1.4	61.8+-1.4	146.2+-1.4
8	16	0.899+-0.004	0.900+-0.006	0.807+-0.020	0.877+-0.011	NKX2	130.4+-2.8	285.6+-2.8	63.6+-2.8	144.4+-2.8
9	15	0.890+-0.007	0.918+-0.010	0.807+-0.019	0.885+-0.012	STAT3	133.4+-2.0	283.6+-2.0	60.6+-2.0	148.4+-2.0
10	14	0.897+-0.004	0.910+-0.006	0.760+-0.014	0.923+-0.013	ATG16L1	132.4+-1.6	286.6+-1.6	61.6+-1.6	148.4+-1.6
11	13	0.904+-0.003	0.905+-0.005	0.778+-0.019	0.918+-0.012	SAA	132.0+-2.2	292.0+-2.2	63.0+-2.2	149.0+-2.2
12	12	0.899+-0.002	0.893+-0.005	0.779+-0.029	0.879+-0.021	GLI1	125.6+-1.6	306.4+-1.6	69.4+-1.6	146.6+-1.6
13	11	0.902+-0.006	0.906+-0.006	0.778+-0.018	0.910+-0.012	MAGI2	129.4+-2.4	307.6+-2.4	70.6+-2.4	148.4+-2.4
14	10	0.905+-0.004	0.907+-0.004	0.758+-0.014	0.899+-0.017	OmpA	139.6+-3.8	316.4+-3.8	70.4+-3.8	157.6+-3.8
15	9	0.890+-0.003	0.876+-0.007	0.740+-0.022	0.872+-0.017	ICAM	162.8+-1.6	323.2+-1.6	85.2+-1.6	158.8+-1.6
16	8	0.886+-0.004	0.890+-0.007	0.763+-0.024	0.894+-0.025	Fla2	169.6+-2.1	325.4+-2.1	86.4+-2.1	161.6+-2.1
17	7	0.879+-0.005	0.880+-0.009	0.716+-0.028	0.907+-0.007	ASCAG	173.8+-1.5	324.2+-1.5	86.2+-1.5	163.8+-1.5
18	6	0.878+-0.005	0.887+-0.006	0.773+-0.019	0.878+-0.015	ANCA	173.4+-1.8	324.6+-1.8	86.6+-1.8	163.4+-1.8
19	5	0.868+-0.005	0.893+-0.007	0.739+-0.014	0.917+-0.008	Flax	170.2+-2.0	327.8+-2.0	89.8+-2.0	160.2+-2.0
20	4	0.868+-0.006	0.869+-0.007	0.741+-0.013	0.898+-0.013	VCAM	172.8+-4.0	331.2+-4.0	89.2+-4.0	162.8+-4.0
21	3	0.820+-0.006	0.809+-0.005	0.666+-0.023	0.865+-0.017	CBir1	254.2+-1.0	442.8+-1.0	120.8+-1.0	228.2+-1.0
22	2	0.786+-0.004	0.773+-0.009	0.592+-0.016	0.861+-0.008	OmpC	251.9+-4.1	445.1+-4.1	123.1+-4.1	225.9+-4.1
23	1	0.507+-0.003	0.731+-0.006	0.5036+-0.014	0.913+-0.004	pANCA	242.4+-3.0	454.6+-3.0	132.6+-3.0	216.4+-3.0

【０３３３】

[0345]一部の例では、あまり重要でない変数を削除し、行を回復させたので、訓練及び試験データセットのサイズが増大した。他の例では、試験データセット上のＲＯＣスコアは０．９５という高さであった。いくつかの例では、２つのマーカー（すなわち、ＶＣＡＭ及び抗ＦｌａＸ）は、最も重要なマーカーの１つとして２つの血清学的マーカー（すなわち、ＡＳＣＡ－Ｇ及びＡＳＣＡ－Ａ）に取って代わった。表３は、血清学的マーカーのみを用いる場合、ｐＡＮＣＡがＩＢＤ対非ＩＢＤを予測するための最も重要なマーカーであり、このコホートではＡＳＣＡ－Ｇはあまり重要でなかったことを示す。いくつかの例

では、最良の試験ＲＯＣスコアは０．８であったが、これは、試験したマーカーがかなり誤差を低下させることができることを示している。

【０３３４】

表３：血清学的マーカーのみを使用するＩＢＤ対非ＩＢＤのマーカー重要性

【表３】

	NVAR	OOB_ ROC	TEST_ ROC	SENS	SPEC	LEAST_ IMP	NTRAIN 0	NTRAIN 1	NTEST 0	NTEST 1
1	6	0.846+- 0.007	0.850+- 0.010	0.699+- 0.019	0.893+- 0.010	ASCAG	248.3+- 3.1	448.7+- 3.1	126.7+- 3.1	222.3+- 3.1
2	5	0.845+- 0.005	0.843+- 0.008	0.707+- 0.013	0.853+- 0.010	ANCA	254.4+- 3.9	442.6+- 3.9	120.6+- 3.9	228.4+- 3.9
3	4	0.843+- 0.005	0.852+- 0.010	0.714+- 0.010	0.877+- 0.013	ASCAA	246.2+- 3.8	450.8+- 3.8	128.8+- 3.8	220.2+- 3.8
4	3	0.817+- 0.006	0.815+- 0.008	0.669+- 0.014	0.870+- 0.007	CBir1	248.8+- 1.9	448.2+- 1.9	126.2+- 1.9	222.8+- 1.9
5	2	0.776+- 0.009	0.784+- 0.010	0.618+- 0.014	0.876+- 0.014	OmpC	248.7+- 2.0	448.3+- 2.0	126.3+- 2.0	222.7+- 2.0
6	1	0.511+- 0.002	0.742+- 0.005	1.000+- 0.000	0.976+- 0.005	pANCA	248.0+- 3.0	449.0+- 3.0	127.0+- 3.0	222.0+- 3.0

【０３３５】

[0346]上記プロトコールを、ＵＣ対ＣＤの予測を改善するのに有用であり得る血清－遺伝子－炎症マーカーを決定するために使用することもできる。表２は、ＡＳＣＡ－Ａ、ＩＲＧＭ４７、ＩＲＧＭ８９、ＭＤＲ１、ＥＣＭ１、ＶＥＧＦ、ＣＲＰ、ＮＫＸ２－３、ＳＴＡＴ３、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＳＡＡ、ＧＬＩ１、ＭＡＧＩ２、抗ＯｍｐＡ、ＩＣＡＭ、抗Ｆｌａ２、ＡＳＣＡ－Ｇ、ＡＮＣＡ、抗ＦｌａＸ、ＶＣＡＭ－１、抗Ｃｂｉｒ１、抗ＯｍｐＣ、及びｐＡＮＣＡなどの２３種の血清－遺伝子－炎症マーカーを用いるＵＣ対ＣＤ診断のためのマーカー重要性を例示する。一部の例では、データが限られており、コホートは２３種すべてのマーカー及びＵＣの診断を有するサンプルを含まない。いくつかの例では、各マーカーを、コホート中の診断数と比較した後、変数（例えばマーカー）を消去することができるかどうかを決定することができる（表４参照）。

【０３３６】

表４：各マーカーに関するＵＣ診断数（ＮＵＣ）及びＣＤ診断数（ＮＣＤ）

【表４】

	マーカー	NUC	NCD
1	ANCA	435	236
2	pANCA	435	236
3	ASCAA	435	236
4	ASCAG	435	236
5	OmpC	435	236
6	CBir1	435	236
7	GLI1	433	243
8	MDR1	432	242
9	ATG16L1	430	243
10	ECM1	108	171
11	IRGM89	427	231
12	IRGM47	425	229
13	NKX2	402	202
14	MAGI2	401	200
15	STAT3	401	200
16	Flax	405	231
17	Fla2	405	232
18	OmpA	397	231
19	CRP	327	176
20	SAA	315	174
21	ICAM	322	177
22	VCAM	326	168
23	VEGF	427	236

【０３３７】

[0347]この例では、マーカーＥＣＭ１は最も少ない数のＵＣ診断と関連し、それによって段階的変数消去プロトコールから消去された。本発明の方法及びＵＣ対ＣＤを予測するための２２種の血清－遺伝子－炎症マーカーのデータセットを用いて、ランダムフォレスト分類子を構築することができる（表５参照）。

【０３３８】

表５：ＥＣＭ１以外の２２種のマーカーに関するＵＣ対ＣＤ予測のマーカー重要性

【表５】

	NVAR	OOB_ ROC	TEST_ ROC	SENS	SPEC	LEAST_ IMP	NTRAIN 0	NTRAIN 1	NTEST 0	NTEST 1
1	22	0.932+-0.005	0.944+-0.007	0.877+-0.013	0.913+-0.012	STAT3	84.8+-2.7	191.2+-2.7	47.2+-2.7	91.8+-2.7
2	21	0.940+-0.004	0.919+-0.010	0.850+-0.015	0.869+-0.022	MDR1	88.3+-0.8	189.7+-0.8	46.7+-0.8	93.3+-0.8
3	20	0.939+-0.004	0.928+-0.009	0.838+-0.012	0.901+-0.011	GLI1	89.0+-1.1	189.0+-1.1	46.0+-1.1	94.0+-1.1
4	19	0.941+-0.003	0.930+-0.003	0.865+-0.010	0.895+-0.016	MAGI2	89.6+-1.5	189.4+-1.5	45.4+-1.5	94.6+-1.5
5	18	0.938+-0.004	0.951+-0.005	0.876+-0.016	0.921+-0.011	NKX2	90.2+-2.1	189.8+-2.1	46.8+-2.1	94.2+-2.1
6	17	0.940+-0.004	0.954+-0.004	0.868+-0.017	0.930+-0.006	IRGM47	100.2+-2.3	187.8+-2.3	48.8+-2.3	96.2+-2.3
7	16	0.938+-0.003	0.937+-0.007	0.882+-0.013	0.903+-0.010	VCAM	105.0+-1.5	190.0+-1.5	52.0+-1.5	96.0+-1.5
8	15	0.947+-0.001	0.942+-0.008	0.871+-0.029	0.910+-0.024	CRP	114.6+-1.5	185.4+-1.5	50.4+-1.5	100.6+-1.5
9	14	0.946+-0.003	0.938+-0.010	0.834+-0.029	0.920+-0.010	IRGM89	109.1+-1.8	190.9+-1.8	55.9+-1.8	95.1+-1.8
10	13	0.942+-0.003	0.944+-0.005	0.853+-0.010	0.927+-0.009	ATG16L1	110.4+-1.6	195.6+-1.6	60.6+-1.6	93.4+-1.6
11	12	0.944+-0.003	0.944+-0.009	0.888+-0.009	0.894+-0.014	VEGF	107.8+-1.8	202.2+-1.8	63.2+-1.8	92.8+-1.8
12	11	0.944+-0.002	0.936+-0.004	0.838+-0.014	0.907+-0.013	pANCA	115.4+-3.1	198.6+-3.1	55.6+-3.1	101.4+-3.1
13	10	0.943+-0.005	0.947+-0.006	0.869+-0.027	0.916+-0.008	CBir1	111.8+-0.8	202.2+-0.8	59.2+-0.8	97.8+-0.8
14	9	0.943+-0.002	0.939+-0.005	0.855+-0.020	0.923+-0.017	Fla2	116.8+-1.6	197.2+-1.6	54.2+-1.6	102.8+-1.6
15	8	0.937+-0.004	0.944+-0.010	0.836+-0.018	0.929+-0.010	OmpA	115.6+-2.6	198.4+-2.6	55.4+-2.6	102.6+-2.6
16	7	0.938+-0.003	0.953+-0.004	0.849+-0.016	0.947+-0.016	SAA	114.2+-0.7	205.8+-0.7	56.8+-0.7	103.2+-0.7
17	6	0.942+-0.004	0.942+-0.008	0.838+-0.016	0.897+-0.008	ANCA	112.7+-2.5	215.3+-2.5	61.3+-2.5	103.7+-2.5
18	5	0.938+-0.004	0.946+-0.006	0.859+-0.008	0.900+-0.013	Flax	116.8+-1.9	211.2+-1.9	57.2+-1.9	107.8+-1.9
19	4	0.946+-0.004	0.934+-0.007	0.892+-0.023	0.889+-0.013	ASCAA	117.0+-2.7	215.0+-2.7	60.0+-2.7	107.0+-2.7
20	3	0.913+-0.005	0.917+-0.008	0.820+-0.020	0.899+-0.007	ICAM	113.4+-1.7	218.6+-1.7	63.6+-1.7	103.4+-1.7
21	2	0.801+-0.006	0.813+-0.008	0.632+-0.019	0.829+-0.019	OmpC	158.2+-2.6	288.8+-2.6	77.8+-2.6	146.2+-2.6
22	1	0.754+-0.007	0.748+-0.007	0.584+-0.014	0.773+-0.009	ASCAG	157.6+-1.7	289.4+-1.7	78.4+-1.7	145.6+-1.7

【０３３９】

[0348]表５は、ＡＳＣＡ－ＧがＵＣ対ＣＤを予測するための最も重要な血清－遺伝子－炎症マーカーであり、ＳＴＡＴ３はコホートのためのランダムフォレストモデルを用いた場合、あまり重要ではなかったことを示す。この例では、試験セット上のＲＯＣスコアは０．９５の高さであり、７つのマーカーが最も高いマーカー重要性を有すると決定された（例えば、ＡＳＣＡ－Ｇ、ＩＣＡＭ、ＡＳＣＡ－Ａ、抗ＦｌａＸ、ＡＮＣＡ及びＳＡＡ）。注目すべきことに、上から６つの最も重要な変数における２つのマーカー（すなわち、ＶＣＡＭ及び抗ＦｌａＸ）は２つの血清学的マーカーを置き換えた。

【０３４０】

[0349]データは２２種の全マーカーに関して限られているため、サンプルを訓練中に再利用し、あまり重要でない変数は削除した。血清学的マーカー（例えば、ＡＳＣＡ－Ｇ、ｐＡＮＣＡ、抗ＯｍｐＣ、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ及び抗ＣＢｉｒ１）のみを用いる変数の重要性を、本明細書に記載の方法を用いて決定した（表６参照）。最良の試験ＲＯＣスコアは０．８９であったが、これは上から７つのマーカーについて見られた０．９５のスコアよりも有意に低い。

【０３４１】

表６：血清学的マーカーのみを使用するＵＣ対ＣＤ予測のマーカー重要性

【表６】

	NVAR	OOB_ROC	TEST_ROC	SENS	SPEC	LEAST_IMP	NTRAIN0	NTRAIN1	NTEST0	NTEST1
1	6	0.880+-0.005	0.879+-0.009	0.764+-0.016	0.850+-0.015	CBir1	156.0+-1.9	291.0+-1.9	80.0+-1.9	144.0+-1.9
2	5	0.878+-0.006	0.890+-0.009	0.768+-0.028	0.860+-0.014	ASCAA	157.0+-2.0	290.0+-2.0	79.0+-2.0	145.0+-2.0
3	4	0.842+-0.006	0.870+-0.009	0.771+-0.014	0.821+-0.013	ANCA	158.2+-2.1	288.8+-2.1	77.8+-2.1	146.2+-2.1
4	3	0.852+-0.004	0.848+-0.004	0.748+-0.010	0.823+-0.003	OmpC	161.6+-2.8	285.4+-2.8	74.4+-2.8	149.6+-2.8
5	2	0.801+-0.006	0.805+-0.007	0.628+-0.024	0.822+-0.023	pANCA	159.0+-2.5	288.0+-2.5	77.0+-2.5	147.0+-2.5
6	1	0.735+-0.007	0.742+-0.009	0.595+-0.022	0.755+-0.019	ASCAG	157.0+-2.8	290.0+-2.8	79.0+-2.8	145.0+-2.8

【０３４２】

[0350]ｓｇｉアルゴリズムのいくつかの部分において用いられた１７種のマーカーのすべての可能な対の組み合わせに関する相関及び関係を算出した。連続変数対について、及び連続バイナリー変数対について、Ｐｅａｒｓｏｎ相関係数及びそのｐ値を算出した。バイナリー－バイナリー変数対については、カイ二乗分析を用いて関連を評価した。すべての算出を、ソフトウェアプログラムＭａｔｌａｂを用いて行った。

【０３４３】

[0351]結果を表７及び表８に示す。表７には、連続変数間及び連続変数とバイナリー変数と間のペアワイズ相関が、そのｐ値と共に列挙されている。テキストベースのデータから変換されたバイナリー変数間の関係はここでは示されないことに留意されたい。表８は、統計的に有意なペアワイズ相関を列挙する。４２の有意な相関が見出された。遺伝子マーカー、ｐＡＮＣＡ、又はｐＡＮＣＡ２の間には関係はなかった。１つを除くすべて（ＡＮＣＡ及びＡＳＣＡ－Ｇ）が正の相関を示した。

【０３４４】

Ｃ．ｓｇｉアルゴリズムにおいて使用されたマーカー間のペアワイズ相関

[0352]連続変数、及び連続変数とバイナリー変数とのすべての対の組み合わせを用いて相関を算出した。Ｐｅａｒｓｏｎ相関係数及び各相関係数に関するｐ値を示す。ｐ値は、０の相関係数と比較した統計的有意性を表す。０．００００のｐ値は10^{-4}未満である。

【０３４５】

表７：すべてのユニークな対の組み合わせに関する相関

【表７－１】

マーカー1	マーカー2	相関係数	P 値
ASCAA	ASCAG	0.7472	0.0000
ASCAA	ANCA	-0.0915	0.0004
ASCAA	OmpC	0.2191	0.0000
ASCAA	CBir1	0.2878	0.0000
ASCAA	Fla2	0.3742	0.0000
ASCAA	FlaX	0.4015	0.0000
ASCAA	pANCA	-0.0204	0.4270
ASCAA	VEGF	0.1004	0.0001
ASCAA	CRP	0.1160	0.0000
ASCAA	SAA	0.1451	0.0000
ASCAA	ICAM	0.0721	0.0049
ASCAA	VCAM	0.0714	0.0054
ASCAA	ATG16L1	0.0340	0.1847
ASCAA	NKX23	-0.0050	0.8443
ASCAA	ECM1	-0.0357	0.1641
ASCAA	STAT3	-0.0150	0.5601
ASCAA	pANCA2	-0.0798	0.0018
ASCAG	ANCA	-0.0987	0.0001
ASCAG	OmpC	0.1837	0.0000
ASCAG	CBir1	0.2932	0.0000
ASCAG	Fla2	0.3646	0.0000
ASCAG	FlaX	0.3882	0.0000
ASCAG	pANCA	-0.0448	0.0806
ASCAG	VEGF	0.0970	0.0002
ASCAG	CRP	0.1029	0.0001
ASCAG	SAA	0.1222	0.0000
ASCAG	ICAM	0.0543	0.0343
ASCAG	VCAM	0.0640	0.0125
ASCAG	ATG16L1	0.0259	0.3133
ASCAG	NKX23	0.0150	0.5595
ASCAG	ECM1	-0.0682	0.0078
ASCAG	STAT3	-0.0069	0.7868
ASCAG	pANCA2	-0.0858	0.0008
ANCA	OmpC	0.0177	0.4895
ANCA	CBir1	-0.0514	0.0451
ANCA	Fla2	-0.0555	0.0304
ANCA	FlaX	-0.0600	0.0193
ANCA	pANCA	0.6071	0.0000
ANCA	VEGF	0.0511	0.0462
ANCA	CRP	0.0654	0.0108
ANCA	SAA	0.0670	0.0090
ANCA	ICAM	0.0980	0.0001
ANCA	VCAM	0.0760	0.0030
ANCA	ATG16L1	0.0389	0.1291
ANCA	NKX23	0.0408	0.1117
ANCA	ECM1	0.0032	0.9022
ANCA	STAT3	-0.0383	0.1358
ANCA	pANCA2	0.8180	0.0000

【表７－２】

マーカー１	マーカー２	相関係数	Ｐ値
OmpC	CBir1	0.0798	0.0019
OmpC	Fla2	0.1332	0.0000
OmpC	FlaX	0.1451	0.0000
OmpC	pANCA	0.0398	0.1211
OmpC	VEGF	0.0763	0.0029
OmpC	CRP	0.0697	0.0066
OmpC	SAA	0.0827	0.0013
OmpC	ICAM	0.0784	0.0022
OmpC	VCAM	0.1000	0.0001
OmpC	ATG16L1	0.0198	0.4408
OmpC	NKX23	0.0133	0.6030
OmpC	ECM1	-0.0308	0.2308
OmpC	STAT3	-0.0189	0.4622
OmpC	pANCA2	0.0077	0.7634
CBir1	Fla2	0.7023	0.0000
CBir1	FlaX	0.7190	0.0000
CBir1	pANCA	-0.0419	0.1025
CBir1	VEGF	0.0819	0.0014
CBir1	CRP	0.0724	0.0048
CBir1	SAA	0.0771	0.0026
CBir1	ICAM	0.0556	0.0302
CBir1	VCAM	0.0119	0.6417
CBir1	ATG16L1	0.0260	0.3120
CBir1	NKX23	0.0327	0.2026
CBir1	ECM1	0.0121	0.6374
CBir1	STAT3	0.0093	0.7186
CBir1	pANCA2	-0.0598	0.0198
Fla2	FlaX	0.9530	0.0000
Fla2	pANCA	-0.0136	0.5975
Fla2	VEGF	0.1232	0.0000
Fla2	CRP	0.1097	0.0000
Fla2	SAA	0.1167	0.0000
Fla2	ICAM	0.0365	0.1545
Fla2	VCAM	0.0249	0.3328
Fla2	ATG16L1	0.0392	0.1269
Fla2	NKX23	0.0210	0.4139
Fla2	ECM1	-0.0107	0.6779
Fla2	STAT3	0.0064	0.8023
Fla2	pANCA2	-0.0482	0.0602
FlaX	pANCA	-0.0147	0.5659
FlaX	VEGF	0.1380	0.0000
FlaX	CRP	0.1305	0.0000
FlaX	SAA	0.1321	0.0000
FlaX	ICAM	0.0342	0.1827
FlaX	VCAM	0.0186	0.4697
FlaX	ATG16L1	0.0336	0.1898
FlaX	NKX23	0.0236	0.3569
FlaX	ECM1	-0.0119	0.6433
FlaX	STAT3	0.0084	0.7427
FlaX	pANCA2	-0.0562	0.0284

【表７－３】

マーカー1	マーカー2	相関係数	P 値
pANCA	VEGF	0.0259	0.3132
pANCA	CRP	0.0659	0.0101
pANCA	SAA	0.0584	0.0227
pANCA	ICAM	0.0729	0.0045
pANCA	VCAM	0.0573	0.0254
VEGF	CRP	0.3037	0.0000
VEGF	SAA	0.2628	0.0000
VEGF	ICAM	0.1413	0.0000
VEGF	VCAM	0.1017	0.0001
VEGF	ATG16L1	0.0519	0.0429
VEGF	NKX23	0.0442	0.0853
VEGF	ECM1	0.0434	0.0904
VEGF	STAT3	-0.0102	0.6899
VEGF	pANCA2	0.0484	0.0591
CRP	SAA	0.8056	0.0000
CRP	ICAM	0.2810	0.0000
CRP	VCAM	0.2625	0.0000
CRP	ATG16L1	0.0023	0.9289
CRP	NKX23	0.0311	0.2255
CRP	ECM1	0.0253	0.3251
CRP	STAT3	0.0410	0.1102
CRP	pANCA2	0.0640	0.0126
SAA	ICAM	0.2487	0.0000
SAA	VCAM	0.2611	0.0000
SAA	ATG16L1	0.0347	0.1763
SAA	NKX23	0.0064	0.8046
SAA	ECM1	0.0090	0.7259
SAA	STAT3	0.0455	0.0765
SAA	pANCA2	0.0681	0.0079
ICAM	VCAM	0.6830	0.0000
ICAM	ATG16L1	0.0033	0.8979
ICAM	NKX23	0.0052	0.8410
ICAM	ECM1	0.0034	0.8945
ICAM	STAT3	0.0149	0.5607
ICAM	pANCA2	0.0741	0.0039
VCAM	ATG16L1	0.0087	0.7337
VCAM	NKX23	-0.0053	0.8370
VCAM	ECM1	0.0222	0.3873
VCAM	STAT3	-0.0003	0.9903
VCAM	pANCA2	0.0613	0.0169

【０３４６】

[0353]４２の統計的に有意な相関が、ｓｇｉアルゴリズムのいくつかの部分において用いられた１８種の変数のすべての可能なユニークな対の組み合わせのサブセット間で同定された（表８参照）。相関係数及びそのｐ値を示す。ｐ値は、０の相関係数と比較した統計的有意性を表す。０．００Ｅ＋００のｐ値は、ＭＡＴＬＡＢソフトウェアの場合、限界以下である。Ｂｏｎｆｅｒｒｏｎｉ相関を適用して、真のｐ＜０．０５で統計的有意性について試験した。

【０３４７】

表８：すべてのユニークな対の組み合わせの統計的に有意な相関

【表８】

マーカー1	マーカー2	相関係数	P 値
Fla2	FlaX	0.9530	0.00E+00
pANCA2	ANCA	0.8180	0.00E+00
SAA	CRP	0.8056	0.00E+00
ASCAG	ASCAA	0.7472	1.35E-271
pANCA	pANCA2	0.7332	1.53E-256
CBir1	FlaX	0.7190	3.55E-242
Fla2	CBir1	0.7023	2.39E-226
VCAM	ICAM	0.6830	2.42E-209
ANCA	pANCA	0.6071	8.89E-154
ASCAA	FlaX	0.4015	5.59E-60
ASCAG	FlaX	0.3882	7.49E-56
ASCAA	Fla2	0.3742	1.01E-51
ASCAG	Fla2	0.3646	5.53E-49
VEGF	CRP	0.3037	8.51E-34
ASCAG	CBir1	0.2932	1.62E-31
ASCAA	CBir1	0.2878	2.25E-30
CRP	ICAM	0.2810	5.54E-29
SAA	VEGF	0.2628	1.98E-25
CRP	VCAM	0.2625	2.26E-25
SAA	VCAM	0.2611	4.14E-25
SAA	ICAM	0.2487	7.35E-23
ASCAA	OmpC	0.2191	5.60E-18
ASCAG	OmpC	0.1837	5.22E-13
OmpC	FlaX	0.1451	1.34E-08
ASCAA	SAA	0.1451	1.34E-08
VEGF	ICAM	0.1413	3.16E-08
VEGF	FlaX	0.1380	6.62E-08
OmpC	Fla2	0.1332	1.87E-07
FlaX	SAA	0.1321	2.37E-07
FlaX	CRP	0.1305	3.33E-07
VEGF	Fla2	0.1232	1.44E-06
ASCAG	SAA	0.1222	1.76E-06
Fla2	SAA	0.1167	5.07E-06
ASCAA	CRP	0.1160	5.77E-06
CRP	Fla2	0.1097	1.83E-05
ASCAG	CRP	0.1029	5.88E-05
VEGF	VCAM	0.1017	7.09E-05
VEGF	ASCAA	0.1004	8.78E-05
OmpC	VCAM	0.1000	9.46E-05
ANCA	ICAM	0.0980	1.30E-04
VEGF	ASCAG	0.0970	1.53E-04
ANCA	ASCAG	-0.0987	1.16E-04

【０３４８】

[0354]本実施例は、本発明によるランダムフォレストモデリングが、ＩＢＤ対非ＩＢＤを診断し、ＵＣとＣＤとを鑑別するのに特に有用であることを実証する。

【０３４９】

実施例２（ＩＢＤ診断のための３クラスランダムフォレストモデリング）：

[0355]本実施例は、訓練セットが健常対照からのサンプルを含まない場合のＩＢＤ診断のランダムフォレストモデリングの方法を例示する。本実施例は、健常対照サンプルを含まないデータセットを用いてアルゴリズムを訓練することを例示する。本実施例はまた、訓練コホートがＩＢＤ及び過敏性腸症候群（ＩＢＳ）患者を含む、ＩＢＤ対非ＩＢＤを予測するための７種の血清学的マーカーのランダムフォレストモデリングも例示する。本実施例は、非ＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣなどの、３つの疾患分類を予測するためのランダムフォレストモデリングをさらに例示する。本実施例はまた、ＩＢＳ対健常対象を予測するためのランダムフォレストモデルも例示する。

【０３５０】

Ａ．健常対照を含まないランダムフォレストモデリング

[0356]一部の実施形態では、複数のランダムフォレストモデルのＩＢＤ診断アルゴリズムを、血清－遺伝子－炎症マーカーの既知の存在、非存在及び／又はレベルを含む予測された診断の後ろ向きコホートに由来するデータセットを用いて訓練及び検証する。いくつかの例では、データセットは、ＩＢＤ、ＣＤ、ＵＣ又は過敏性腸症候群（ＩＢＳ）を有すると予測された対象のデータを含む（表９参照）。いくつかの例では、健常対照患者に由来するデータはランダムフォレストモデリングから除外される。一部の例では、データセットは、これらに限定されないが、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、ＩＲＧＭ４７、ＩＲＧＭ８９、ＭＡＧＩ２、ＭＤＲ１、抗ＯｍｐＡ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、抗Ｆｌａ２、抗ＦｌａＸ、ＶＥＧＦ、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ、ＶＣＡＭ、ＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ２、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、及びＮＫＸ２－３などの２３種のマーカーを含む。表９は、ＩＢＤ及びＩＢＳ患者のみ（健常対照を含まない）を用いる２３種の血清－遺伝子－炎症マーカーのＩＢＤ対非ＩＢＤ診断に関する変数（例えばマーカー）重要性を例示する。ＩＢＤ診断のランダムフォレストモデリングのこの例示的説明においては次の基準が要求された。別の試験データ上でのＲＯＣスコアにおける最小リサンプリング数５、最大２０、及び標準誤差目標０．０１。用語「Ｌｅａｓｔ＿ＩＭＰ」とは、最も小さい平均重要性を有する変数を指す。用語「ＯＯＢ＿ＲＯＣ」とは、訓練中のｏｕｔ－ｏｆ－ｂａｇ予測上で計算されたＲＯＣスコアを指す。用語「ＴＥＳＴ＿Ｒｏｃ」とは、フォレストを作出するのに使用されなかった、別の試験セット上でのＲＯＣスコアを指す。用語「ＳＥＮＳ」及び「ＳＰＥＣ」とは、それぞれ、試験セット上での感度及び特異度を指す。用語「ＮＴＲＡＩＮ０」とは、０に等しいＤｘＩＢＤを有する（すなわち非ＩＢＤ）訓練サンプルの数を指す。用語「ＮＴＲＡＩＮ１」とは、１に等しいＤｘＩＢＤを有する（すなわちＩＢＤ）訓練サンプルの数を指す。用語「ＮＴＥＳＴ０」及び「ＮＴＥＳＴ１」は試験サンプルの数である。注目すべきことに、以下の表中のすべての数は、複数の再分割にわたる平均であり、エラーバーは標準誤差（すなわち、平均における誤差の推定値）である。表９は、ランダムフォレストモデルをコホートに由来するサンプルを用いずに構築する場合、ＩＢＤ対非ＩＢＤを予測するための最も重要な血清－遺伝子－炎症マーカーはｐＡＮＣＡであり、あまり重要ではないマーカーはＡＳＣＡ－Ａであることを示す。

【０３５１】

表９：ＩＢＤ及びＩＢＳ患者のみを使用する２３種の血清－遺伝子－炎症マーカーに関するＩＢＤ対非ＩＢＤのためのモデリング

【表９】

	NVAR	OOB_ROC	TEST_ROC	SENS	SPEC	LEAST_IMP	NTRAIN0	NTRAIN1	NTEST0	NTEST1	NRESAMPLE	RANSEED
1	23	0.919+-0.007	0.937+-0.010	0.897+-0.018	0.913+-0.014	ASCAA	59.7+-1.4	53.3+-1.4	30.3+-1.4	26.7+-1.4	7	1008
2	22	0.903+-0.006	0.943+-0.010	0.846+-0.018	0.951+-0.020	IRGM47	59.8+-1.9	53.2+-1.9	30.2+-1.9	26.8+-1.9	5	1013
3	21	0.918+-0.005	0.914+-0.011	0.855+-0.017	0.889+-0.012	IRGM89	60.5+-0.7	54.5+-0.7	29.5+-0.7	28.5+-0.7	20	1033
4	20	0.908+-0.004	0.955+-0.006	0.910+-0.007	0.934+-0.019	MDR1	60.0+-1.4	57.0+-1.4	30.0+-1.4	29.0+-1.4	5	1038
5	19	0.917+-0.006	0.941+-0.010	0.904+-0.015	0.942+-0.012	ECM1	60.1+-0.6	56.9+-0.6	29.9+-0.6	29.1+-0.6	8	1046
6	18	0.903+-0.004	0.908+-0.008	0.774+-0.018	0.914+-0.016	VEGF	87.2+-2.2	281.8+-2.2	41.8+-2.2	143.2+-2.2	5	1051
7	17	0.904+-0.005	0.902+-0.010	0.799+-0.025	0.887+-0.013	NKX2	89.0+-2.1	283.0+-2.1	40.0+-2.1	147.0+-2.1	6	1057
8	16	0.897+-0.004	0.909+-0.008	0.789+-0.007	0.914+-0.012	CRP	83.2+-1.5	290.8+-1.5	45.8+-1.5	141.2+-1.5	5	1062
9	15	0.899+-0.004	0.917+-0.009	0.797+-0.030	0.892+-0.011	STAT3	86.6+-2.0	287.4+-2.0	42.4+-2.0	144.6+-2.0	5	1067
10	14	0.912+-0.003	0.896+-0.008	0.766+-0.007	0.892+-0.013	SAA	89.2+-1.9	286.8+-1.9	39.8+-1.9	148.2+-1.9	5	1072
11	13	0.901+-0.005	0.920+-0.004	0.801+-0.025	0.902+-0.027	GLI1	85.4+-1.9	298.6+-1.9	43.6+-1.9	148.4+-1.9	5	1077
12	12	0.903+-0.002	0.909+-0.009	0.800+-0.022	0.896+-0.016	ATG16L1	85.8+-1.7	300.2+-1.7	43.2+-1.7	149.8+-1.7	6	1083
13	11	0.909+-0.003	0.903+-0.009	0.810+-0.011	0.876+-0.014	MAGI2	85.3+-2.2	304.7+-2.2	44.7+-2.2	151.3+-2.2	10	1093
14	10	0.906+-0.005	0.912+-0.008	0.816+-0.017	0.883+-0.012	ICAM	83.6+-1.4	318.4+-1.4	46.4+-1.4	155.6+-1.4	5	1098
15	9	0.896+-0.005	0.914+-0.006	0.774+-0.022	0.921+-0.008	Flax	88.0+-4.0	317.0+-4.0	42.0+-4.0	161.0+-4.0	5	1103
16	8	0.909+-0.003	0.899+-0.009	0.775+-0.018	0.902+-0.012	VCAM	86.7+-1.2	319.3+-1.2	43.3+-1.2	160.7+-1.2	10	1113
17	7	0.904+-0.002	0.910+-0.006	0.792+-0.017	0.886+-0.012	ANCA	88.2+-1.5	416.8+-1.5	43.8+-1.5	209.2+-1.5	5	1118
18	6	0.892+-0.005	0.905+-0.005	0.785+-0.022	0.902+-0.011	ASCAG	86.8+-1.2	418.2+-1.2	45.2+-1.2	207.8+-1.2	5	1123
19	5	0.884+-0.006	0.899+-0.009	0.797+-0.017	0.888+-0.016	OmpA	86.7+-1.9	418.3+-1.9	45.3+-1.9	207.7+-1.9	6	1129
20	4	0.853+-0.005	0.844+-0.004	0.678+-0.013	0.873+-0.012	OmpC	116.4+-0.4	424.6+-0.4	58.6+-0.4	212.4+-0.4	5	1134
21	3	0.802+-0.009	0.827+-0.009	0.672+-0.025	0.855+-0.023	Fla2	114.2+-3.6	426.8+-3.6	60.8+-3.6	210.2+-3.6	5	1139
22	2	0.746+-0.007	0.754+-0.008	0.621+-0.039	0.846+-0.025	CBir1	117.8+-2.0	448.2+-2.0	60.2+-2.0	222.8+-2.0	5	1144
23	1	0.630+-0.004	0.735+-0.006	0.502+-0.018	0.874+-0.022	pANCA	120.0+-3.0	446.0+-3.0	58.0+-3.0	225.0+-3.0	5	1149

【０３５２】

[0357]他の例では、ＩＢＤ対非ＩＢＤのためのランダムフォレストモデルを、ＩＢＤ及びＩＢＳ患者に由来するサンプルのみを用いて血清学的マーカーのみについて決定した。表１０は、血清学的マーカーのＩＢＤ対非ＩＢＤ診断に関する変数重要性を例示する。ＩＢＤ対非ＩＢＤを予測するためには、ｐＡＮＣＡが最も重要であり、ＡＳＣＡ－Ａはあまり重要ではない。

【０３５３】

表１０：血清学的マーカーのみ並びにＩＢＤ及びＩＢＳ患者のみを使用するＩＢＤ対非ＩＢＤのためのモデリング

【表１０】

	NVAR	OOB_ROC	TEST_ROC	SENS	SPEC	LEAST_IMP	NTRAIN0	NTRAIN1	NTEST0	NTEST1	NRESAMPLE	RANSEED
1	6	0.842+-0.006	0.864+-0.004	0.766+-0.011	0.872+-0.009	ASCAA	119.0+-4.1	447.0+-4.1	59.0+-4.1	224.0+-4.1	5	1006
2	5	0.852+-0.005	0.827+-0.010	0.669+-0.034	0.870+-0.006	ANCA	120.3+-2.5	445.7+-2.5	57.7+-2.5	225.3+-2.5	6	1012
3	4	0.828+-0.006	0.844+-0.007	0.701+-0.014	0.868+-0.017	ASCAG	114.6+-3.1	451.4+-3.1	63.4+-3.1	219.6+-3.1	5	1017
4	3	0.818+-0.004	0.825+-0.008	0.686+-0.026	0.871+-0.018	CBir1	120.4+-3.4	445.6+-3.4	57.6+-3.4	225.4+-3.4	5	1022
5	2	0.767+-0.010	0.781+-0.009	0.633+-0.022	0.855+-0.006	OmpC	116.7+-2.5	449.3+-2.5	61.3+-2.5	221.7+-2.5	6	1028
6	1	0.629+-0.006	0.731+-0.009	0.508+-0.021	0.871+-0.019	pANCA	121.8+-2.8	444.2+-2.8	56.2+-2.8	226.8+-2.8	5	1033

【０３５４】

Ｂ．疾患の３つの分類のランダムフォレストモデリング

[0358]アルゴリズムの性能を試験するために、３クラス予測（例えば、非ＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣ）を用いる単一モデルを開発した。「変数消去プロトコール（Ｖａｒｉａｂｌｅ Ｅｌｉｍｉｎａｔｉｏｎ Ｐｒｏｔｏｃｏｌ）」に記載の変数消去及びリサンプリングの方法を、予測のための２つのカットオフ値が確立されるように調整した。一方のカットオフ値をＩＢＤ対非ＩＢＤに対して使用し、ＩＢＤが決定された場合は他方をＵＣ対ＣＤに対して使用した。いくつかの例では、完全な試験データセットをＩＢＤ対非ＩＢＤモデルのために用いて、非ＩＢＤ確率カットオフを見出すことができ、それより上は非ＩＢＤと予測され、それより下はアルゴリズムが第２のカットオフに続く。第１のカットオフ値を使用して、ＩＢＤ対非ＩＢＤに関するＲＯＣ値を決定することができる。第２のカットオフを決定するために、既知のＩＢＤ患者の試験データセットを使用して、ｐ（ＵＣ）／（ｐ（ＣＤ）＋（ＵＣ））（式中、ｐ（ＵＣ）及びｐ（ＣＤ）はそれぞれ、ＵＣ及びＣＤに関するモデル確率である。）を見出すことができる。第２のカットオフ値を使用して、ＵＣ対ＣＤに関するＲＯＣ値を決定することができる。２つのカットオフに基づく３クラス（例えば、非ＩＢＤ、ＣＤ、ＵＣ）の単一混同マトリックスを使用して、各試験サンプルの診断を予測した。

【０３５５】

[0359]全診断ドメインについて「最小重要」変数が選択、消去される単一の３クラスモデル上で段階的変数消去を実施した。３クラスランダムフォレストモデルを、各サンプルについて非ＩＢＤ、ＵＣ及びＣＤを予測するために７種の血清学的マーカーから構築した（表１１参照）。表１１において、１行目は７種全部のマーカーを含み、２行目は最小重要マーカーを除くすべてなどを含む。用語「ＩＢＤ＿ＴＥＳＴ＿ＲＯＣ」とは、非ＩＢＤ試験対／ＩＢＤカットオフ（例えば第１のカットオフ）及び全試験データセットを用いることを指す。用語「ＵＣ＿ＴＥＳＴ＿ＲＯＣ」とは、ＵＣ対ＣＤカットオフ及びＩＢＤであることが知られる試験データセットのサンプルのみを用いることを指す。一部の例では、残りの感度及び選択性は全試験データセット上で決定される。特定の例では、表１１の最終行におけるＩＢＤ性能は、単一バイナリー変数上のランダムフォレスト方法に関する統計プログラムＲにおけるアーチファクトであり、さらに考慮すべきではない。

【０３５６】

表１１：　７種の血清－遺伝子－炎症マーカーに関する非ＩＢＤ、ＵＣ又はＣＤを予測するための３クラスランダムフォレストモデル

【表１１】

	NVAR	IBD_TEST_ROC	UC_TEST_ROC	IBD_SENS	IBD_SPEC	CD_SENS	CD_SPEC	UC_SENS	UC_SPEC	LEAST_IMP	NTRAIN0	NTRAIN1	NTRAIN2	NTEST0	NTEST1	NTEST2
1	6	0.850+-0.008	0.872+-0.010	0.754+-0.018	0.836+-0.009	0.601+-0.031	0.871+-0.007	0.616+-0.026	0.912+-0.007	ANCA	249.4+-2.9	155.3+-2.6	292.3+-4.3	125.6+-2.9	80.7+-2.6	142.7+-4.3
2	5	0.843+-0.007	0.883+-0.009	0.721+-0.012	0.859+-0.014	0.608+-0.020	0.909+-0.016	0.612+-0.015	0.911+-0.008	ASCAA	250.7+-3.6	156.1+-3.1	290.1+-3.8	124.3+-3.6	79.9+-3.1	144.9+-3.8
3	4	0.833+-0.009	0.852+-0.007	0.726+-0.012	0.869+-0.007	0.606+-0.027	0.905+-0.008	0.608+-0.015	0.915+-0.008	CBir1	248.2+-2.9	161.7+-2.2	287.2+-5.0	126.8+-2.9	74.3+-2.2	147.8+-5.0
4	3	0.784+-0.005	0.864+-0.006	0.669+-0.014	0.848+-0.018	0.536+-0.017	0.893+-0.009	0.567+-0.020	0.925+-0.005	OmpC	249.6+-2.3	157.8+-1.9	289.6+-2.9	125.4+-2.3	78.2+-1.9	145.4+-2.9
5	2	0.763+-0.006	0.785+-0.010	0.613+-0.010	0.831+-0.012	0.434+-0.022	0.862+-0.008	0.495+-0.015	0.928+-0.008	ASCAG	247.7+-2.2	159.7+-1.6	289.7+-2.7	127.3+-2.2	76.3+-1.6	145.3+-2.7
6	1	0.746+-0.006	0.691+-0.010	1.000+-0.000	0.000+-0.000	0.356+-0.135	0.685+-0.119	0.835+-0.063	0.439+-0.166	pANCA	250.1+-2.5	158.1+-2.3	288.8+-2.6	124.9+-2.5	77.9+-2.3	146.2+-2.6

【０３５７】

[0360]また、３クラスランダムフォレストモデルを、各サンプルについて非ＩＢＤ、ＵＣ及びＣＤを予測するために２２種の血清－遺伝子－炎症マーカーを用いて構築した。表１２は、このモデルにおいて、最も重要なマーカーはｐＡＮＣＡであり、あまり重要でないマーカーはＭＤＲ１であることを示す。

【０３５８】

表１２：　２２種の血清－遺伝子－炎症マーカーに関する非ＩＢＤ、ＵＣ又はＣＤを予測するための３クラスランダムフォレストモデル

【表１２】

	NVAR	IBD_TEST_ROC	UC_TEST_ROC	IBD_SENS	IBD_SPEC	CD_SENS	CD_SPEC	UC_SENS	UC_SPEC	LEAST_IMP	NTRAIN0	NTRAIN1	NTRAIN2	NTEST0	NTEST1	NTEST2
1	22	0.922+-0.006	0.933+-0.006	0.830+-0.027	0.894+-0.017	0.814+-0.029	0.903+-0.021	0.691+-0.016	0.936+-0.010	MDR1	84.2+-1.9	90.6+-2.2	186.2+-2.0	42.8+-1.9	41.4+-2.2	96.8+-2.0
2	21	0.920+-0.009	0.928+-0.009	0.847+-0.018	0.877+-0.011	0.814+-0.010	0.930+-0.013	0.723+-0.022	0.899+-0.003	CRP	83.4+-0.7	88.8+-1.8	188.8+-2.2	43.6+-0.7	43.2+-1.8	94.2+-2.2
3	20	0.909+-0.010	0.924+-0.009	0.823+-0.016	0.865+-0.016	0.792+-0.016	0.888+-0.009	0.666+-0.022	0.922+-0.011	STAT3	84.4+-1.5	87.9+-1.3	188.7+-1.5	42.6+-1.5	44.1+-1.3	94.3+-1.5
4	19	0.911+-0.006	0.936+-0.007	0.818+-0.014	0.866+-0.009	0.813+-0.029	0.904+-0.012	0.675+-0.025	0.920+-0.012	GLI1	88.4+-1.7	92.0+-2.2	182.6+-1.7	38.6+-1.7	43.0+-2.2	100.4+-1.7
5	18	0.915+-0.009	0.932+-0.007	0.810+-0.015	0.902+-0.013	0.804+-0.031	0.914+-0.005	0.665+-0.013	0.926+-0.008	NKX2	85.5+-2.4	86.8+-2.5	191.7+-3.9	41.5+-2.4	48.2+-2.5	92.3+-3.9
6	17	0.916+-0.007	0.937+-0.010	0.818+-0.026	0.894+-0.015	0.808+-0.017	0.907+-0.014	0.667+-0.018	0.925+-0.007	ATG16L1	85.6+-2.5	90.7+-2.1	187.7+-1.3	41.4+-2.5	44.3+-2.1	96.3+-1.3
7	16	0.933+-0.009	0.933+-0.009	0.855+-0.013	0.903+-0.024	0.819+-0.017	0.914+-0.011	0.715+-0.022	0.913+-0.012	IRGM47	86.2+-2.1	90.0+-2.2	189.8+-2.1	41.8+-2.1	45.0+-2.2	97.2+-2.1
8	15	0.918+-0.008	0.920+-0.009	0.819+-0.018	0.895+-0.009	0.800+-0.031	0.915+-0.014	0.680+-0.015	0.917+-0.014	MAGI2	86.7+-1.6	93.7+-2.4	190.7+-3.1	41.3+-1.6	45.3+-2.4	99.3+-3.1
9	14	0.909+-0.009	0.935+-0.009	0.819+-0.015	0.880+-0.018	0.794+-0.024	0.918+-0.009	0.685+-0.017	0.916+-0.009	IRGM89	84.6+-2.2	104.5+-1.7	193.9+-2.1	43.4+-2.2	52.5+-1.7	96.1+-2.1
10	13	0.911+-0.010	0.933+-0.005	0.830+-0.015	0.890+-0.015	0.792+-0.018	0.920+-0.007	0.688+-0.016	0.903+-0.010	VEGF	87.9+-1.6	106.8+-1.5	196.3+-2.3	42.1+-1.6	55.2+-1.5	98.7+-2.3
11	12	0.907+-0.003	0.930+-0.005	0.794+-0.017	0.888+-0.013	0.748+-0.024	0.916+-0.010	0.675+-0.025	0.937+-0.007	SAA	138.8+-2.7	106.8+-1.9	202.4+-1.5	71.2+-2.7	55.2+-1.9	97.6+-1.5
12	11	0.911+-0.008	0.929+-0.010	0.813+-0.019	0.895+-0.010	0.758+-0.020	0.918+-0.010	0.684+-0.028	0.923+-0.009	Fla2	138.7+-2.6	111.0+-2.0	206.3+-2.7	71.3+-2.6	54.0+-2.0	102.7+-2.7
13	10	0.910+-0.003	0.923+-0.009	0.825+-0.007	0.884+-0.006	0.779+-0.015	0.907+-0.009	0.691+-0.013	0.933+-0.010	OmpA	141.7+-3.3	110.3+-2.6	206.0+-2.9	71.3+-3.3	54.7+-2.6	104.0+-2.9
14	9	0.902+-0.005	0.933+-0.009	0.802+-0.010	0.862+-0.013	0.777+-0.020	0.916+-0.011	0.667+-0.029	0.918+-0.005	ANCA	166.8+-1.2	111.2+-0.7	212.0+-1.8	85.2+-1.2	53.8+-0.7	106.0+-1.8
15	8	0.903+-0.008	0.947+-0.009	0.798+-0.010	0.896+-0.007	0.788+-0.027	0.929+-0.006	0.677+-0.016	0.936+-0.005	VCAM	167.8+-2.2	110.8+-1.9	211.4+-2.9	84.2+-2.2	54.2+-1.9	106.6+-2.9
16	7	0.889+-0.006	0.933+-0.009	0.793+-0.017	0.872+-0.016	0.787+-0.019	0.933+-0.008	0.660+-0.023	0.911+-0.010	Flax	171.1+-1.3	114.9+-1.8	213.0+-1.9	84.9+-1.3	59.1+-1.8	106.0+-1.9
17	6	0.877+-0.005	0.931+-0.007	0.747+-0.018	0.892+-0.008	0.732+-0.016	0.938+-0.003	0.642+-0.026	0.932+-0.010	ICAM	173.8+-1.2	117.6+-4.6	213.6+-4.4	85.2+-1.2	59.4+-4.6	108.4+-4.4
18	5	0.836+-0.005	0.866+-0.010	0.722+-0.006	0.846+-0.011	0.579+-0.028	0.894+-0.011	0.602+-0.022	0.906+-0.004	ASCAA	247.6+-5.3	155.0+-4.3	294.4+-4.0	127.4+-5.3	81.0+-4.3	140.6+-4.0
19	4	0.825+-0.009	0.842+-0.007	0.715+-0.017	0.841+-0.008	0.592+-0.015	0.886+-0.008	0.576+-0.022	0.907+-0.009	CBir1	248.6+-2.9	158.1+-1.8	290.3+-2.4	126.4+-2.9	77.9+-1.8	144.7+-2.4
20	3	0.781+-0.006	0.835+-0.008	0.642+-0.012	0.846+-0.020	0.457+-0.016	0.890+-0.016	0.555+-0.012	0.917+-0.006	OmpC	252.4+-1.3	157.4+-2.1	287.2+-2.5	122.6+-1.3	78.6+-2.1	147.8+-2.5
21	2	0.753+-0.006	0.795+-0.010	0.613+-0.018	0.821+-0.021	0.456+-0.028	0.865+-0.015	0.495+-0.020	0.924+-0.009	ASCAG	252.5+-3.6	158.5+-2.5	286.0+-3.5	122.5+-3.6	77.5+-2.5	149.0+-3.5
22	1	0.731+-0.006	0.693+-0.010	1.000+-0.000	0.000+-0.000	0.000+-0.000	1.000+-0.000	1.000+-0.000	0.000+-0.000	pANCA	242.4+-3.0	158.6+-3.3	296.0+-4.3	132.6+-3.0	77.4+-3.3	139.0+-4.3

【０３５９】

Ｃ．ＩＢＳ対健常個体を診断するためのランダムフォレストモデリング

[0361]健常な対象とＩＢＳを有すると予測される患者とを鑑別するために、別のランダムフォレストモデルを作出した。上述の７種の血清学的マーカーをこのモデルにおいて使用した（表１３参照）。

【０３６０】

表１３：ＩＢＳ対健常対照のためのランダムフォレストモデル

【表１３】

	NVAR	OOB_ ROC	TEST_ ROC	SENS	SPEC	LEAST_ IMP	NTRAIN 0	NTRAIN 1	NTEST 0	NTEST 1
1	6	0.776+- 0.005	0.775+- 0.010	0.639+- 0.020	0.794+- 0.007	pANCA	130.9+- 1.1	119.1+- 1.1	66.1+- 1.1	58.9+- 1.1
2	5	0.785+- 0.006	0.760+- 0.010	0.630+- 0.026	0.782+- 0.023	CBir1	133.6+- 1.6	116.4+- 1.6	63.4+- 1.6	61.6+- 1.6
3	4	0.782+- 0.007	0.791+- 0.010	0.704+- 0.016	0.777+- 0.011	ANCA	130.4+- 1.0	119.6+- 1.0	66.6+- 1.0	58.4+- 1.0
4	3	0.758+- 0.006	0.766+- 0.010	0.643+- 0.017	0.820+- 0.018	ASCAA	131.1+- 1.0	118.9+- 1.0	65.9+- 1.0	59.1+- 1.0
5	2	0.736+- 0.009	0.711+- 0.009	0.595+- 0.016	0.761+- 0.012	ASCAG	130.9+- 1.2	119.1+- 1.2	66.1+- 1.2	58.9+- 1.2
6	1	0.597+- 0.009	0.624+- 0.011	0.488+- 0.022	0.745+- 0.014	OmpC	130.6+- 0.7	119.5+- 0.7	66.5+- 0.7	58.5+- 0.7

【０３６１】

[0362]表１４は、ＩＢＳ対健常対照に関するランダムフォレストモデルを改変することによるさらに別のランダムフォレストモデルを示す。この実施形態では、最も重要なマーカーから開始して、あるマーカーをモデルに順に組み込んだ。クラスのうちの１つについて最早完全なデータが存在しない場合、モデルは完全なものであると決定した。表１４は、１７種の血清－遺伝子－炎症マーカーを用いてＩＢＳ対健常対象を予測するためのランダムフォレストモデルの予測を示す。

【０３６２】

表１４： １７種の血清－遺伝子－炎症マーカーを使用するＩＢＳ対健常対照のためのランダムフォレストモデル

【表１４】

	NVAR	OOB_ ROC	TEST_ ROC	SENS	SPEC	LEAST_ IMP	NTRAIN 0	NTRAIN 1	NTEST 0	NTEST 1
1	17	0.883+- 0.006	0.877+- 0.010	0.775+- 0.024	0.882+- 0.020	CRP	43.5+- 0.8	86.5+- 0.8	22.5+- 0.8	43.5+- 0.8
2	16	0.874+- 0.008	0.900+- 0.010	0.827+- 0.019	0.878+- 0.011	STAT3	43.4+- 0.9	87.6+- 0.9	22.6+- 0.9	43.4+- 0.9
3	15	0.884+- 0.005	0.900+- 0.011	0.818+- 0.014	0.879+- 0.014	GLI1	45.0+- 0.7	86.0+- 0.7	21.0+- 0.7	45.0+- 0.7
4	14	0.896+- 0.004	0.901+- 0.010	0.805+- 0.022	0.883+- 0.010	MAGI2	45.6+- 0.8	87.4+- 0.8	23.4+- 0.8	43.6+- 0.8
5	13	0.885+- 0.005	0.901+- 0.010	0.804+- 0.020	0.886+- 0.015	NKX2	46.9+- 0.7	87.1+- 0.7	23.1+- 0.7	43.9+- 0.7
6	12	0.889+- 0.005	0.922+- 0.010	0.845+- 0.015	0.889+- 0.012	ATG16L1	45.7+- 1.2	88.3+- 1.2	24.3+- 1.2	42.7+- 1.2
7	11	0.888+- 0.008	0.901+- 0.010	0.836+- 0.021	0.867+- 0.012	pANCA	55.3+- 1.2	86.7+- 1.2	25.7+- 1.2	45.3+- 1.2
8	10	0.887+- 0.004	0.897+- 0.010	0.807+- 0.020	0.878+- 0.019	ASCAA	52.0+- 0.8	90.0+- 0.8	29.0+- 0.8	42.0+- 0.8
9	9	0.888+- 0.009	0.900+- 0.010	0.780+- 0.020	0.910+- 0.014	CBir1	54.0+- 1.5	88.0+- 1.5	27.0+- 1.5	44.0+- 1.5
10	8	0.879+- 0.009	0.913+- 0.010	0.802+- 0.019	0.905+- 0.008	SAA	54.2+- 1.5	87.8+- 1.5	26.8+- 1.5	44.2+- 1.5
11	7	0.880+- 0.006	0.888+- 0.009	0.802+- 0.022	0.860+- 0.012	ANCA	54.6+- 1.0	87.4+- 1.0	26.4+- 1.0	44.6+- 1.0
12	6	0.879+- 0.005	0.878+- 0.010	0.768+- 0.021	0.864+- 0.010	Fla2	53.4+- 0.7	88.6+- 0.7	27.6+- 0.7	43.4+- 0.7
13	5	0.869+- 0.005	0.900+- 0.009	0.826+- 0.035	0.866+- 0.012	ASCAG	55.4+- 1.9	88.6+- 1.9	28.6+- 1.9	43.4+- 1.9
14	4	0.867+- 0.003	0.853+- 0.006	0.772+- 0.033	0.822+- 0.024	Flax	56.8+- 2.0	87.2+- 2.0	27.2+- 2.0	44.8+- 2.0
15	3	0.839+- 0.008	0.845+- 0.010	0.730+- 0.015	0.830+- 0.016	OmpA	55.4+- 0.8	88.6+- 0.8	28.6+- 0.8	43.4+- 0.8
16	2	0.767+- 0.008	0.784+- 0.010	0.577+- 0.029	0.861+- 0.019	OmpC	57.4+- 1.2	114.6+- 1.2	27.6+- 1.2	59.4+- 1.2
17	1	0.688+- 0.010	0.718+- 0.015	0.619+- 0.025	0.732+- 0.011	ICAM	56.8+- 0.8	115.2+- 0.8	28.2+- 0.8	58.8+- 0.8

【０３６３】

[0363]用いた１７種のマーカーのうち、アルゴリズムは、ＩＢＳ対健常患者を予測するための最も重要なマーカーがＩＣＡＭ、抗ＯｍｐＣ、抗ＯｍｐＡ、及び抗ＦｌａＸであることを示す。いくつかの態様では、本発明によるランダムフォレストモデリングは、ＩＢＳを有する患者対健常対照患者を予測することによりＩＢＳを診断するのに有用であり得る。

【０３６４】

実施例３（ＩＢＤ血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）診断アルゴリズム）：

[0364]本実施例は、ＩＢＤ血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）診断アルゴリズムの開発及び検証を例示する。いくつかの態様では、診断アルゴリズムは、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）対非炎症性腸疾患（非ＩＢＤ）及び／又はそのサブタイプ（例えば、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、クローン病（ＣＤ）、分類不能大腸炎（ＩＣ）、並びにＣＤ及びＵＣに関して不確定のＩＢＤ）を診断するのに用いることができるＩＢＤ　ｓｇｉ診断試験の成分である。本実施例はまた、本明細書に記載のアルゴリズムを用いてＩＢＤ、非ＩＢＤ、ＵＣ、ＣＤ、ＩＣ、及び／又は不確定ＩＢＤを予測するための方法も例示する。本実施例は、診断アルゴリズムを作出するための方法をさらに説明する。

【０３６５】

[0365]ＩＢＤ　ｓｇｉ診断アルゴリズムは１７種のマーカーの測定値を利用する（ｐＡ

ＮＣＡは２回測定されるため値は１８個）。表１５は、マーカー及びマーカーを測定するためのアッセイ方法の例を記載する。

【０３６６】

表１５：ＩＢＤ診断アルゴリズムの血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）マーカー

【表１５】

	マーカー	アッセイフォーマット
1	ASCA-IgA	ELISA
2	ASCA-IgG	ELISA
3	抗 OmpC	ELISA
4	抗 CBir1	ELISA
5	pANCA	間接免疫蛍光
6	pANCA2	間接免疫蛍光
7	ANCA	ELISA
8	抗 Fla2	ELISA
9	抗 FlaX	ELISA
10	CRP	ELISA
11	SAA	ELISA
12	ICAM	ELISA
13	VCAM	ELISA
14	VEGF	ELISA
15	ATG16L1	ジェノタイピング PCR
16	ECM1	ジェノタイピング PCR
17	NKX2-3	ジェノタイピング PCR
18	STAT3	ジェノタイピング PCR

【０３６７】

[0366]いくつかの実施形態では、ＩＢＤ　ｓｇｉ診断試験はデータ分析計算アルゴリズムを含む。いくつかの実施形態では、最終的な試験結果は、患者のＩＢＤ状態の予測を反映する確率スコアである。

【０３６８】

[0367]本発明のＩＢＤ　ｓｇｉ診断試験は、患者がＩＢＤ及び／又はそのサブタイプ（例えば、ＵＣ、ＣＤ、ＩＣ、及び／又はＣＤ及びＵＣに関して不確定であるＩＢＤ）を有するかどうかを診断するため又は医師が診断するのを助けるために、有利なことに血清、遺伝子及び炎症データを使用する。いくつかの実施形態では、診断試験は、患者のリスクプロファイルを評価するために、１３種の血清学的及び炎症バイオマーカー並びに４種の遺伝子マーカーを用いる。他のいくつかの実施形態では、試験は生物学的マーカーの測定値を取り、患者のＩＢＤ状態を予測するための計算アルゴリズムを用いる。特に、試験は、患者がＩＢＤ又は非ＩＢＤを有するかどうかを予測することができる。試験はまた、ＩＢＤを有すると予測され、分類不能大腸炎（ＩＣ）及び／又はＣＤ及びＵＣに関して不確定のＩＢＤを有するものから除外された患者に由来するマーカー測定値を検査し、患者がＵＣ又はＣＤを有するかどうかを予測することもできる。診断試験は、医師が、（任意選択でさらなる臨床知見を併用して、）最大限の情報に基づいて患者の管理のための決断を行うのを助ける包括的結果を提供する。

【０３６９】

Ａ．血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）マーカーの測定

[0368]ＩＢＤ　ｓｇｉ診断試験は、複数の血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）マーカーの測定値を取り、患者のＩＢＤ状態を予測するための計算アルゴリズムを用いる。血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）マーカーを測定する方法は、例えば、米国特許第５７５０４７９号、

第５８３０６７５号、第７８７３４７９号、米国特許出願公開第２０１１／００４５４７６号、及び国際出願ＰＣＴ／ＵＳ２０１１／０３９１７４（これらは、参照によりすべての目的のためにそのまま本明細書に組み入れられる。）に記載されている。

【０３７０】

Ｂ．ＩＢＤ　ｓｇｉ診断アルゴリズム

[0369]ＩＢＤ　ｓｇｉ診断アルゴリズムは、患者のＩＢＤ状態を予測するための計算アルゴリズム（血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）アルゴリズムと呼ばれる。）を利用する。このアルゴリズムの一実施形態のステップを図１に例示する。第１に、アルゴリズムは、１７種の生物学的マーカー（血清、遺伝子、及び炎症マーカー）の測定データに基づくランダムフォレストモデルを使用し、患者がＩＢＤを有するか、又はＩＢＤを有さない（非ＩＢＤ）かを予測する。次に、決定木又はルールのセットを用いて、ＩＢＤを有すると予測された患者が不確定診断（例えば、ＣＤ対ＵＣに関して不確定との診断）に一致するバイオマーカーパターンを有するかどうかを決定する。次いで、１１種のバイオマーカー測定値を用いる別のランダムフォレストに基づくアルゴリズムは、ＩＢＤを有すると予測された患者がＵＣ又はＣＤのいずれかを有するかどうかを予測する。すなわち、本発明のＩＢＤ　ｓｇｉ診断アルゴリズムは、非ＩＢＤ、ＵＣ、ＣＤ、あるいはＣＤ及びＵＣに関して不確定であるＩＢＤを有するものとして患者を分類する。

【０３７１】

Ｃ．モデリング戦略及び訓練セット

[0370]ｓｇｉアルゴリズムの成分は、各木を構築する無作為成分を含む多くの決定木から作られるランダムフォレストモデルとして知られるある型の計算分類子を用いる。ｓｇｉアルゴリズムについては、１０，０００本の木を有するフォレストを、ＩＢＤ対非ＩＢＤ及びＵＣ対ＣＤ分類の各々について構築した。フォレスト中の各決定木は同じ分類問題に対処するが、例の異なる集合及び例のデータセットから無作為に選択される特徴の異なるサブセットが提供される。例えば、１本の木は、利用可能な例の無作為の２／３を、木のそれぞれのノードで分割される決定を行うために選択される特徴の無作為の２／３と共に用いて構築することができる。フォレストが構築されたら、すべての決定木にわたって新しく採決することによって新しい例を分類する。２クラスの分類子に関する最も単純な事例では、最も投票数が多いクラスが勝つ。一部の事例では、投票の勝利数のカットオフを予め設定して、性能評価尺度を最適化する。例えば、偽陽性が偽陰性よりもコストが高い例では、カットオフをより高い値に設定する。

【０３７２】

[0371]ｓｇｉアルゴリズムのランダムフォレスト分類子を、既知の非ＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣ患者に由来する生物学的データに基づいてサンプルの集合（既知の診断を有する患者のコホートに由来するサンプルのデータセット）である訓練データから構築した。サンプルを、各例に関する真の分類と共に、分類に関連することが疑われる特徴（例えば生物学的マーカー）に関するデータを含む構造化された形式で提供した。この計算分類子アプローチは次の理由から「管理機械学習」と呼ばれる。（１）例の真のクラスが事前に知られている（管理）；（２）コンピュータが処理を行う（機械）；及び（３）アルゴリズムが異なるクラスを識別する特徴パターンを発見し、認識する（学習）。特徴パターンが学習されたら、分類子は新しい例の分類を予測することができる。

【０３７３】

[0372]ＩＢＤ対非ＩＢＤ診断を予測するための２クラスランダムフォレスト分類子を、既知の非ＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣ患者に由来する血清－遺伝子－炎症生物学的マーカーのデータの集合から構築した。２６種のマーカーに関する測定値を含む２４２０個のサンプルが元々考慮された。血清－遺伝子－炎症生物学的マーカーとしては、これらに限定されるものではないが、抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体（例えば、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ）、抗好中球抗体（例えば、ＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ、例えば、ＩＦＡ核周囲パターン及びＤＮａｓｅ感受性）、抗微生物及び抗フラジェリン抗体（例えば、ＯｍｐＡ、ＯｍｐＣ、ＣＢｉｒ１、Ａ４－Ｆｌａ２、ＦｌａＸに対する抗体）、増殖因子（例え

ばＶＥＧＦ）、急性期タンパク質（例えばＣＲＰ）、アポリポタンパク質（例えばＳＡＡ）、細胞接着分子（例えば、ＩＣＡＭ－１、ＶＣＡＭ－１）、及びＳＮＰ（例えば、ＡＴＧ１６Ｌ１　１１５５（Ａ＞Ｇ）、ＧＬＩ１　２８７６（Ｇ＞Ａ）、ＩＬ１０（Ａ＞Ｇ）、ＩＲＧＭ（Ａ＞Ｇ）、ＩＲＧＭ（Ｃ＞Ｔ）、ＭＡＧＩ２（Ｃ＞Ｇ）、ＴＬ１Ａ（Ｃ＞Ｔ）ＸＢＰ１（Ａ＞Ｇ）、ＭＤＲ１　２６７７（Ｇ＞Ｔ／Ａ）、ＥＣＭ１　５８８（Ｃ＞Ｔ）、ＮＫＸ２－３（Ａ＞Ｇ）、ＳＴＡＴ３（Ａ＞Ｇ））が挙げられる。

【０３７４】

[0373]モデリング戦略は、アルゴリズムを作出、試験及び検証するための既知の診断のサンプル（患者）から入手可能なデータを用いる。最初に、入手可能なデータを、訓練データセットと検証データセットとに分割した。得られるアルゴリズムが新しいサンプルを予測する能力について公正に説明するために、基本的なモデリング、変数選択、及びモデル構造に関するすべての実験は、訓練データセットの使用にのみ限定された。異なるアプローチの有効性の評価の間に、訓練データセットを、アルゴリズムを作出するために使用される２／３のモデル訓練、及び性能を測定するために使用される１／３の試験データセットに無作為にさらに分割した。訓練及び試験データセットを無作為に再分割し（「リサンプリング」と呼ばれるプロセス）、平均値を比較し、確実に平均の標準誤差が性能差よりも小さくなるようにすることによって、アルゴリズムのモデリングの間のすべての実験を約５０～１００回繰り返した。

【０３７５】

[0374]入手可能なサンプルは、２６種の生物学的マーカーのデータを含んでいた。マーカーのサブセットがより高い予測値を有するかどうかを決定するために、変数消去プロトコールを行った。簡単に述べると、このプロトコールは、リサンプリングにより各マーカーの平均及び標準誤差重要性を決定すること、最小重要マーカーを削除すること、並びにすべてのマーカーがその標準誤差よりも高い正の重要性を有するようになるまで繰り返すことを含む。変数重要性、アッセイ安定性、及び利用可能性を考慮することにより、ＩＢＤ対非ＩＢＤモデルを構築するのに用いられるマーカーの最終的なセット（例えば１７種のマーカー）を選択した。これらのマーカーのすべてがＵＣ対ＣＤモデルについて有意であったわけではなく、そのため、マーカーのあるサブセットのみ（例えば１１種のマーカー）をこのモデルのために用いた。

【０３７６】

[0375]すべての訓練基準及びマーカーを決めた後、ＩＢＤ対非ＩＢＤモデルを、すべての訓練データを用いて作出した。次いで、ＵＣ対ＣＤモデルを、このデータの適切なサブセット上で作出した。

【０３７７】

[0376]訓練データセット中の既知のＣＤ及びＵＣサンプル（例えば、ＣＤ又はＵＣを有すると以前に診断された患者に由来するサンプル）を次のように階層化した。診断（ＣＤかＵＣか）、民族／人種（ユダヤ系かそれ以外か）、サンプル供給源（地域社会か研究機関か）、診断からの時間（５年未満か５年以上か）。肝炎、ＧＥＲＤ又は他のすべての診断、民族／人種、及びサンプル供給源により、疾患対照サンプルを階層化した。さらに、他に２つの制約を適用した。いくつかの例では、訓練又は検証セットのいずれにおいても、アフリカ系アメリカ人又は小児サンプルは使用しなかった。そして、特定のコホートに由来する１７４個のＣＤサンプルは別のプロトコールの一部として使用されたため、検証セットにおいて使用しなかった。

【０３７８】

Ｄ．個別の数値マーカー尺度へのテキストの転換

[0377]ｓｇｉアルゴリズムには数値が必要であるため、０又は１の値をルールのセットと相関させることにより、任意の生物学的マーカーに関するテキストベースのデータをバイナリー変数に転換する（表１６参照）。

【０３７９】

表１６：　６種の血清－遺伝子－炎症生物学的マーカーに関するテキストベースのデ

ータの離散数値データ（例えばバイナリー変数）への転換のためのルール
【表１６】

バイオマーカー	０の値に割り当てられるデータ	１の値に割り当てられるデータ
pANCA	検出されず DNase 感受性（細胞質）	DNase 感受性 1+P DNase 感受性 2+P DNase 感受性 3+P DNase 感受性 4+P
pANCA2	検出されず DNase 感受性（細胞質） DNase 感受性 1+P	DNase 感受性 2+P DNase 感受性 3+P DNase 感受性 4+P
ATG1L1	VIC 両方	FAM
ECM1	VIC 両方	FAM
NKX2-3	VIC 両方	FAM
STAT3	両方 FAM	VIC

【０３８０】
[0378]ｐＡＮＣＡ及びｐＡＮＣＡ２データは、患者サンプル中で検出されたＡＮＣＡの蛍光標識の量及び位置を指す。用語「検出されず」は、標識が検出されず、それ故、サンプルが陰性であると考えられ、０の値を割り当てられたことを示す。「ＤＮＡｓｅ耐性」と記載されたサンプルは、標識がＤＮａｓｅ処理後に消失することができず、「検出されず」と考えられたことを示す。この標識パターンは本実施例において使用されたｓｇｉアルゴリズムを確立するために使用されたデータサンプルセットにおいては観察されなかったことに留意されたい。しかしながら、「ＤＮＡｓｅ耐性」サンプルは通常、サンプルセットの２％中に生じる。用語「ＤＮａｓｅ感受性（細胞質）」は、ＤＮａｓｅ処理後に、標識が細胞の細胞質に分布し、サンプルが陰性であると考えられたことを示す。それはまた、０の値を割り当てられた。用語「ＤＮａｓｅ感受性１＋Ｐ」、「ＤＮａｓｅ感受性２＋Ｐ」、「ＤＮａｓｅ感受性３＋Ｐ」、「ＤＮａｓｅ感受性４＋Ｐ」は、標識が、１＋Ｐから４＋Ｐまでの見られた標識の強度及び量の増大と共に細胞核の周囲であるという視覚的評価（核周囲パターン）により観察されることを示したが、ここで４＋Ｐは最大量の標識と相関する。ｐＡＮＣＡについては、これらの標識は、検出され、陽性であると考えられ、１の値を割り当てられる。ｐＡＮＣＡ２については、２＋Ｐから４＋Ｐまでの標識のみが陽性であると考えられ、１の値を割り当てられる。注目すべきことに、ｐＡＮＣＡ及びｐＡＮＣＡ２は単一のマーカーの２つの独立に決定される測定値である。図４は、核周囲パターン、ＤＮａｓｅ感受性細胞質パターン、及びＤＮＡｓｅ耐性パターンなどの異なるｐＡＮＣＡ染色パターンの例を示す。

【０３８１】
[0379]ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＮＫＸ２－３及びＳＴＡＴ３などの遺伝子マーカーについて、ＶＩＣ及びＦＡＭとは、各遺伝子の異なる対立遺伝子を標識するのに用いられた蛍光リポーター染料を指す。ＶＩＣ又はＦＡＭ染料のいずれかを用いて各遺伝子の疾患対立遺伝子を標識する。テキストデータ「ＶＩＣ」、「ＦＡＭ」又は「両方」は、正常対立遺伝子、疾患対立遺伝子、又は両方の対立遺伝子がサンプル中に見られるかどうかを示す。一部の実施形態では、正常対立遺伝子のための染料のみ（遺伝子に応じて「ＶＩＣ」又は「ＦＡＭ」）が検出される場合、患者は正常対立遺伝子に関してホモ接合性であり、マーカーデータは０の値を割り当てられる。いくつかの例では、疾患対立遺伝子のための染料のみ（遺伝子に応じて「ＶＩＣ」又は「ＦＡＭ」）が検出される場合、これは患者が

疾患対立遺伝子に関してホモ接合性であることを示し、１の値を割り当てられる。他の例では両方の染料が検出され、「両方」と記載される場合、これは、患者が疾患対立遺伝子に関してヘテロ接合性であることを示し、０の値を割り当てられる。

【０３８２】

Ｅ．サンプル除去

[0380]ｓｇｉアルゴリズムを構築するために、サンプルに関する利用可能なデータを再検討し、サンプルが規定の基準に合致する場合、それらをデータセットから除去した。規定の基準の例としては、サンプルが最後に経験した症状が医師への訪問の６か月より前であった患者に由来する場合、又はサンプルが、最後の症状が「利用できない」と記述され、以前に試験に登録した患者に由来する場合が挙げられる。除外される患者の他の例は、試験対象患者基準及び試験除外基準を満たすことができなかった患者並びに疾患の長さに関する情報がない患者である。ｐＡＮＣＡ２陽性及びＡＮＣＡ＜１１．９ＥＵ／ｍｌを有する患者サンプルは、データから除去された。同様に、ｐＡＮＣＡ２陰性及びＡＮＣＡ＞１１．９ＥＵ／ｍｌを有する患者サンプルも除外された。これにより、訓練セットについては１，０８３個のサンプル及び検証セットについては４３７個のサンプルが残された。

【０３８３】

Ｆ．ＩＢＤ対非ＩＢＤ診断を予測するための第１のランダムフォレストモデリング

[0381]残りのサンプルの全部を使用し、ＲからのＲａｎｄｏｍＦｏｒｅｓｔパッケージなどの管理機械学習アプローチを使用して、ＩＢＤ対非ＩＢＤ診断を予測する２クラスランダムフォレスト分類子を構築した。抗サッカロミセス・セレビジア抗体（例えば、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ）、抗好中球抗体（例えば、ｐＡＮＣＡ及びＡＮＣＡ）、抗微生物及び抗フラジェリン抗体（例えば、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、抗Ｆｌａ２及び抗ＦｌａＸ）、増殖因子（例えばＶＥＧＦ）、急性期タンパク質（ＣＲＰ）、アポリポタンパク質（例えばＳＡＡ）、細胞接着分子（例えば、ＩＣＡＭ及びＶＣＡＭ）、及びＳＮＰ（例えば、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＮＫＸ２－３、ＳＴＡＴ３）などの１７種の血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）マーカーを使用した。感度と特異度の間の所望のトレードオフを達成するために、スコアカットオフを０．６４に設定した。

【０３８４】

[0382]ｓｇｉアルゴリズムは、診断試験における新しいサンプルの最初のモデルスコアを計算するために、１７種の血清－遺伝子－炎症生物学的マーカーからのスコアを用いる。スコアが０．６４未満である場合、サンプルはＩＢＤを有する患者に由来すると予測される。そうでなければ、サンプルは非ＩＢＤを有する患者に由来すると予測される。ＩＢＤを有すると予測されたサンプルはアルゴリズムの次のステップに進み、決定木又はルールのセットを用いて、不確定サンプルを予測する。

【０３８５】

Ｇ．サンプルが不確定であるかどうかを決定するための決定木又はルールのセット

[0383]いくつかの実施形態では、決定木又はルールのセットを用いて、ＩＢＤを有すると第１のランダムフォレストモデルにおいて分類されたサンプルが、不確定として分類することができるような不明瞭なマーカーパターンも有するかどうかを決定する。ＡＮＣＡが１６．８ＥＵ／ｍｌ以上であり、ｐＡＮＣＡ２スコアが陽性であり、以下の条件：ＣＢｉｒ１が２９．４７５ＥＵ／ｍｌ以上である、Ｆｌａ２が３４．５ＥＵ／ｍｌ以上であるか、又はＦｌａＸが２８．８７５ＥＵ／ｍｌ以上である、のうちの１つ又は複数が当てはまる場合、サンプルは「分類不能」と決定され、患者はＣＤ及びＵＣに関して「不確定」である。同様に、ｐＡＮＣＡ２スコアが陽性であり、これらの条件：ＣＢｉｒ１が２９．４７５ＥＵ／ｍｌ以上である、Ｆｌａ２が３４．５ＥＵ／ｍｌ以上であるか、又はＦｌａＸが２８．８７５ＥＵ／ｍｌである、のいずれか２つ以上が当てはまる場合、このサンプルも「分類不能」であり、患者はＣＤ及びＵＣに関して「不確定」である。本明細書に記載の分類及びルールにおける参照値は訓練セットの第三四分位数に由来する。

【０３８６】

Ｈ．ＵＣ対ＣＤ診断を予測するための第２のランダムフォレストモデリング

[0384]ＵＣ対ＣＤを予測するための第２のランダムフォレストモデルを元の訓練データセットのサブセットから作出した。既知の非ＩＢＤサンプル、分類不能サンプル、及びルール１（グループ１とも呼ばれる。）又はルール２（グループ２とも呼ばれる。）違反基準を満たすサンプルであると決定されたサンプルを訓練データセットから除外した。ルール１及びルール２違反の詳細な説明は表１７に記載されている。

【０３８７】

表１７：ＵＣ対ＣＤを予測するための第２のランダムフォレスト分類子の構築において使用されるサンプルを除外するのに用いられる違反基準

【表１７】

ルール 1 違反	ルール 2 違反
以前の診断が UC である	以前の診断が CD である
ANCA <16.8	ANCA ≥16.8 EU/ml
pANCA2 陰性	下記条件のすべてが満たされる: ASCAA <10.675 EU/ml ASCAG <14.175 EU/ml OmpC <9.4 EU/ml CBir1 <29.475 EU/ml Fla2 <34.5 EU/ml FlaX <28.875 EU/ml
下記条件の 2 つ以上が満たされる: ASCAA ≥10.675 EU/ml ASCAG ≥14.175 EU/ml OmpC ≥9.4 EU/ml CBir1 ≥29.475 EU/ml Fla2 ≥34.5 EU/ml FlaX ≥28.875 EU/ml	

【０３８８】

[0385]これらのサンプル除外基準のため、５４０個のサンプルを用いて、ＵＣ対ＣＤ診断を予測するための２クラスランダムフォレスト分類子を決定した。ＩＢＤ対非ＩＢＤランダムフォレストモデルにおいて用いられたマーカー選択の同じ方法を用いた。選択された血清－遺伝子－炎症マーカーは、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、ｐＡＮＣＡ、ＡＮＣＡ、ＯｍｐＣ、ＣＢｉｒ１、Ｆｌａ２及びＦｌａＸ、ＶＥＧＦ、ＥＣＭ１及びＳＴＡＴ３であった。第２のランダムフォレスト分類子のスコアカットオフを０．３５に設定した。

【０３８９】

[0386]いくつかの実施形態では、ｓｇｉ診断アルゴリズムは、新しいサンプルの第２のモデルスコアを計算するために１１種の血清－遺伝子－炎症生物学的マーカーに由来するスコアを適用する。スコアが０．３５未満である場合、サンプルはＣＤを有する患者に由来するものであると予測される。そうでなければ、サンプルはＵＣを有する患者に由来するものであると予測される。

【０３９０】

Ｉ．新しいサンプルにおける診断を予測するためのアルゴリズムの例

[0387]いくつかの実施形態では、本発明のＩＢＤ　ｓｇｉ診断アルゴリズムは、１７種の血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）生物学的マーカー（例えば、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、抗ＦｌａＸ、抗Ａ４－Ｆｌａ２、ｐＡＮＣＡ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ、ＶＣＡＭ、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＶＥＧＦ、ＮＫＸ２－３、及びそれらの組み合わせ）に由来する測定値を使用し、ＩＢＤ対非ＩＢＤを予測するための第１のランダムフォレストモデルに基づくスコアを計算する（図１、１１０参照）。第１のランダムフォレストモデルは、患者がＩＢＤを有するかどうか

を決定する。スコアがＩＢＤ対非ＩＢＤカットオフ未満（例えば０．６４未満）である場合、サンプルはＩＢＤを有する患者に由来するものであると予測される（１２５）。そうでなければ、サンプルは非ＩＢＤを有する患者に由来するものであると予測される（１２０）。ＩＢＤを有すると予測されるサンプルは、アルゴリズムの次のステップに進み、これはサンプルを不確定と分類するのを除外するように設計された決定木又はルールのセットである（１３０）。サンプルが「分類不能」ルールのいずれかのパターンに一致する場合、アルゴリズムは、サンプルがＩＢＤを有するが、ＵＣ及びＣＤに関しては不確定と予測する（１３５）。そうでなければ、サンプルはアルゴリズムの次のステップに進み（１４０）、これは、ＵＣ対ＣＤを予測するための第２のランダムフォレストモデルである（１５０）。本発明の診断アルゴリズムは、１１種の血清－遺伝子－炎症生物学的マーカー（例えば、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、抗ＦｌａＸ、抗Ａ４－Ｆｌａ２、ｐＡＮＣＡ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＶＥＧＦ、及びそれらの組み合わせ）に由来する測定値を用いて、ＵＣ対ＣＤを予測するための第２のランダムフォレストモデルに基づくモデルスコアを計算する。スコアがＵＣ対ＣＤカットオフ（例えば０．３５）未満である場合、アルゴリズムは、サンプルがＣＤを有すると予測する（１５３）。そうでなければ、アルゴリズムは、サンプルがＵＣを有すると予測する（１５５）。

【０３９１】

Ｊ．性能評価

[0388]ｓｇｉアルゴリズムの性能を、訓練の間に用いられたのと同じ除外基準を満たす別の検証セットに対して測定した。第１のランダムフォレストモデルの訓練に用いられたのと同じセットの除外を適用した後、検証セットは４３７個のサンプルからなっていた。第２のランダムフォレストモデルの訓練の間に適用された除外の同じルール（例えば、分類不能患者、及びまた「ルール１／ルール２」違反）を用いた後、ＵＣ対ＣＤコールの性能を決定した。これにより、既知のＵＣ又は既知のＣＤとして１９９個のサンプルが残された。その結果を表１８に示す。データは、ｓｇｉアルゴリズムが高い感度及び特異度でＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣを予測することを示している。図５は、訓練及び検証コホート特性を提供し、ＲＯＣ曲線下面積が個々のマーカー単独よりもｓｇｉアルゴリズムの方が大きいことを示す。すなわち、本発明のｓｇｉアルゴリズムは、有利なことに、（ｉ）ＩＢＤ、非ＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣを鑑別するのに有用である、（ｉｉ）ＡＳＣＡ／ＡＮＣＡカットオフ試験よりも良好な性能を有する、及び（ｉｉｉ）ＩＢＤマーカーは低レベルであるが、依然として疾患陽性である患者を同定する。

【０３９２】

表１８：別の検証セットに関するｓｇｉアルゴリズムの性能結果

【表１８】

性能	sgi
IBD／非 IBD ROC	0.871
UC／CD ROC	0.929
IBD 感度	0.736
IBD 特異度	0.896
CD 感度	0.889
CD 特異度	0.810
UC 感度	0.977
UC 特異度	0.835

【０３９３】

Ｋ．マーカー重要性

[0389]ランダムフォレストモデリングは、変数（例えばマーカー）の重要性を決定する

ための方法を提供する。これは、全サンプル間で１つのマーカーに関する測定値にスクランブルをかけた後、フォレスト中の木の正確度の平均下落を決定することにより行われる。このように、マーカーと予測された結果との間の任意の有意な相関は破壊されるが、同時に、マーカーの統計的分布のすべての特徴を保存する可能性がある。特定の木の訓練において用いられないサンプル（“ｏｕｔ－ｏｆ－ｂａｇ”）のみを正確度決定のために用いる。次いで、他のマーカーの各々について手順を繰り返す。報告されるスコアは、正確度の平均低下をその分散で除算したものである。２つのランダムフォレストモデルがｓｇｉアルゴリズム中にあるため、２セットの重要性が必要である。これらのものを表１９及び表２０に示す。各モデルについて保持されたマーカーはすべて、少なくともいくらかの重要性を有することに留意されたい。アッセイ安定性及びコストなどの実務的関心と共に、測定された重要性を使用して、マーカーがアッセイにおいて保持されるかを決定した。

【０３９４】

表１９：ＩＢＤ対非ＩＢＤモデルにおいて使用されるマーカーの重要度（訓練セットにおいて重要性の高い順）

【表１９】

マーカー	重要性
ANCA	4.57
ASCAA	4.32
ASCAG	3.84
pANCA	3.75
FlaX	3.67
SAA	2.96
Fla2	2.88
ICAM	2.23
OmpC	2.02
CBir1	1.84
VCAM	1.84
CRP	1.35
NKX2	0.65
ATG16L1	0.41
STAT3	0.23
ECM1	0.20
VEGF	0.19

【０３９５】

表２０：ＵＣ対ＣＤモデルにおいて使用されるマーカーの重要度（訓練セットにおいて重要性の高い順）

【表２０】

マーカー	重要性
ANCA	6.37
ASCAA	5.62
ASCAG	4.75
FlaX	4.73
Fla2	4.45
pANCA	3.62
OmpC	3.59
CBir1	3.40
ECM1	0.92
STAT3	0.38
VEGF	0.17

【０３９６】

[0390]当業者であれば、重要性の値によって、ＩＢＤ対非ＩＢＤモデルでは、ＡＮＣＡが最も重要であり、ＶＥＧＦがあまり重要でないことを知るであろう。同様に、ＵＣ対ＣＤモデルでは、ＡＮＣＡが最も高い重要性の値を有し、ＶＥＧＦが最も低い重要性の値を有する。また、当業者であれば、ＩＢＤ対非ＩＢＤの診断を決定又は予測するのに使用されるアルゴリズムが、表１９に列挙された１つ又は複数のマーカーを含んでもよいことを知るであろう。同様に、当業者であれば、ＵＣ対ＣＤの診断を決定又は予測するのに使用されるアルゴリズムが、表２０に列挙された１つ又は複数のマーカーを含んでもよいことを知るであろう。

【０３９７】

実施例４（血清－遺伝子－炎症マーカーを用いるＩＢＤ診断のロジスティック回帰モデリング）：

[0391]本実施例は、ロジスティック回帰モデリングに基づくＩＢＤ診断のためのアルゴリズムを作出する方法を説明する。本実施例は、一方のモデルがＩＢＤ対非ＩＢＤ診断を予測することができ、他方のモデルがＣＤ対ＵＣ診断を予測することができる、２つのロジスティック回帰モデルを含むアルゴリズムを構築する方法をさらに説明する。

【０３９８】

[0392]データをロジット関数ロジスティック曲線に適合させることにより、ロジスティック回帰モデル（ロジスティックモデル又はロジットモデルとも呼ばれる）を事象の発生確率の予測のために用いる。一部の例では、それは二項回帰に用いられる一般化された線形モデルである。

【０３９９】

[0393]一部の実施形態では、ロジスティック回帰モデルは、実施例３に記載のランダムフォレストモデルを構築するのに用いられたものと同じ血清－遺伝子－炎症マーカー及びコホート組成を用いる。１７種の血清－遺伝子－炎症マーカーとしては、限定されるものではないが、抗サッカロミセス・セレビジア抗体（例えば、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ及びＡＳＣＡ－ＩｇＧ）、抗好中球抗体（例えば、ｐＡＮＣＡ及びＡＮＣＡ）、抗微生物及び抗フラジェリン抗体（例えば、ＯｍｐＣ、ＣＢｉｒ１、Ｆｌａ２及びＦｌａＸに対する抗体）、増殖因子（例えばＶＥＧＦ）、急性期タンパク質（ＣＲＰ）、アポリポタンパク質（例えばＳＡＡ）、細胞接着分子（例えば、ＩＣＡＭ及びＶＣＡＭ）、及びＳＮＰ（例えば、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＮＫＸ２－３、ＳＴＡＴ３）が挙げられる。

【０４００】

[0394]実施例３に記載の類似のルールに従って、訓練及び検証セットからの除外のためにサンプルを選択した。ロジスティック回帰モデルを、訓練セット中の１０８３個のサンプルから構築した。次いで、既知の診断の４３７個のサンプルの検証セットを用いて予測

性能についてモデルを試験した。

【０４０１】

[0395]ロジットモデルを、実施例３に記載のランダムフォレストモデルを構築するのに用いられたものと同じ血清－遺伝子－炎症マーカー及びコホート組成を用いて作出した。アルゴリズムを開発する方法を図６に例示する。ＩＢＤ対非ＩＢＤ診断を予測するためのロジスティック回帰モデルを訓練するために（６１０）、抗サッカロミセス・セレビジア抗体（例えば、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ及びＡＳＣＡ－ＩｇＧ）、抗好中球抗体（例えば、ｐＡＮＣＡ及びＡＮＣＡ）、抗微生物及び抗フラジェリン抗体（例えば、ＯｍｐＣ、ＣＢｉｒ１、Ｆｌａ２及びＦｌａＸに対する抗体）、増殖因子（例えばＶＥＧＦ）、急性期タンパク質（ＣＲＰ）、アポリポタンパク質（例えばＳＡＡ）、細胞接着分子（例えば、ＩＣＡＭ及びＶＣＡＭ）、及びＳＮＰ（例えば、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＮＫＸ２－３、ＳＴＡＴ３）からなる１７種の血清－遺伝子－炎症マーカーを使用した。このようにして、サンプルがＩＢＤ又は非ＩＢＤを有すると予測される患者に由来するかどうかを予測することができるコンピュータ計算統計アルゴリズムが作出される（６２０）。

【０４０２】

[0396]ＩＢＤ分類不能サンプルであると決定されたサンプルを除去した後、ＩＢＤを有すると予測されるサンプルを使用して、第２のロジットモデルを作出する（６３０）。実施例３に記載の決定木分析と同様、分類不能サンプルは、次の２つの基準のうちの１つを満たすものと定義される。１）ＡＮＣＡスコアが１６．８ＥＵ／ｍｌ以上であり、ｐＡＮＣＡ２スコアが陽性であり、次の条件：ＣＢｉｒ１が２９．４７５ＥＵ／ｍｌ以上、Ｆｌａ２が３４．５ＥＵ／ｍｌ以上、若しくはＦｌａＸが２８．８７５ＥＵ／ｍｌ以上、のうちの１つ若しくは複数が当てはまる；あるいは２）ｐＡＮＣＡ２が陽性であり、次の条件：ＣＢｉｒ１が２９．４７５ＥＵ／ｍｌ以上、Ｆｌａ２が３４．５ＥＵ／ｍｌ以上、若しくはＦｌａＸが２８．８７５ＥＵ／ｍｌ以上、のうちのいずれか２つ以上が当てはまる。サンプルがＩＢＤ対非ＩＢＤのためのロジスティック回帰モデルに従うＩＢＤを有すると予測され、分類不能サンプルであるか、又は不確定と決定された場合、サンプルは分類不能大腸炎（ＩＣ）を有すると予測されるか、又は不確定である。１１種の血清－遺伝子－炎症マーカー（例えば、ＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、抗ＦｌａＸ、抗Ｆｌａ２、ｐＡＮＣＡ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、ＥＣＭ１、ＳＴＡＴ３、ＶＥＧＦ、及びそれらの組み合わせ）を用いて、第２のロジットモデルを訓練した（６３０）。訓練及び検証されたアルゴリズムは、患者がＣＤ対ＵＣを有するかどうかを予測することができる（６４０）。

【０４０３】

[0397]ロジットモデルアルゴリズムの性能を、既知の診断のサンプルの検証セット上でアルゴリズムを試験することにより分析することができる。実施例３に記載のランダムフォレストアルゴリズムの性能と、上述のロジスティック回帰アルゴリズムとの比較により、ランダムフォレストがより高いＩＢＤ特異度、ＣＤ感度及び特異度、及びＵＣ特異度を示すことが示される（表２１）。

【０４０４】

表２１：アルゴリズム性能の比較

【表２１】

	ランダムフォレスト	ロジスティック回帰
IBD ROC AUC	0.871	0.862
UC ROC AUC	0.929	0.948
IBD 感度	0.736	0.744
IBD 特異度	0.896	0.858
CD 感度	0.889	0.878
CD 特異度	0.810	0.803
UC 感度	0.977	0.978
UC 特異度	0.835	0.800

【０４０５】

[0398]表２２は、ＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣを予測するためのアルゴリズムの性能を示す。感度は、式：真陽性／（真陽性＋偽陰性）を用いて算出される。特異度は、式：真陰性／（真陰性＋偽陽性）を用いて算出される。正確度は、式：（真陽性＋真陰性）／（真陽性＋真陰性＋偽陽性＋偽陰性）を用いて算出される。精度は、式：真陽性／（真陽性＋偽陽性）から算出される。アルゴリズムは、ＵＣを予測するための高い感度及び正確度を有する。

【０４０６】

表２２：ロジスティック回帰アルゴリズムの性能

【表２２】

	IBD	CD	UC
真陽性	189	79	45
真陰性	157	57	92
偽陽性	26	14	23
偽陰性	65	11	1
感度	0.744	0.878	0.978
特異度	0.858	0.803	0.800
正確度	0.792	0.845	0.851
精度	0.879	0.849	0.662

【０４０７】

[0399]アルゴリズムの感度を分析し、一方がＩＢＤロジットモデルであり、他方がＵＣロジットモデルである２つの受信者動作特性（ＲＯＣ）曲線としてプロットすることができる。図７Ａは、ＩＢＤモデルはＩＢＤを予測するための良好な分類子システムであることを示す。図７Ｂは、ＵＣモデルはＵＣを予測するための良好な分類子システムであることを示す。

【０４０８】

[0400]ＩＢＤロジットモデル又はＩＢＤランダムフォレストモデルのいずれかに基づくアルゴリズムの類似性を、予測されたｐ値の散布プロット（図８）又は平均予測ｐ値の密度プロット（図９）において比較することができる。図９は、ロジスティック回帰モデルと、いずれかのランダムフォレストモデルとの間にいくらかの相違が存在することを示す。

【０４０９】

[0401]さらに、ＵＣロジットモデル又はＵＣ対ＣＤランダムフォレストモデルのいずれかに基づくアルゴリズムの類似性を、予測されたｐ値の散布プロット（図１０）又は平均予測ｐ値の密度プロット（図１１）において比較することができる。図１１は、ロジスティック回帰モデルと、いずれかのランダムフォレストモデルとの間にいくらかの相違が存在することを示す。

【０４１０】
実施例５（２つのランダムフォレストモデルに基づくｓｇｉアルゴリズムを用いる改善されたＩＢＤ診断）：
[0402]本実施例は、患者のＩＢＤ状態（例えば、非ＩＢＤ、ＵＣ、ＣＤ、ＩＣ、あるいはＩＢＤであるが、ＵＣ及びＣＤに関して不確定）を予測するための血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）マーカーに基づくアルゴリズムを用いてＩＢＤ診断を改善するための方法を例示する。一部の実施形態では、ｓｇｉアルゴリズムは、コンピュータに基づく分類子を構築するために非ＩＢＤ、ＩＣ、ＵＣ又はＣＤと分類された患者からのサンプルに由来する既知の血清－遺伝子－炎症マーカー測定値を用いる１つ又は複数のランダムフォレストモデルを含む。一部の実施形態では、ｓｇｉアルゴリズムは、ＩＢＤ対非ＩＢＤを予測するランダムフォレストモデルを有してもよい。他の実施形態では、ｓｇｉアルゴリズムは、ＵＣ対ＣＤを予測するランダムフォレストモデルを有してもよい。
【０４１１】
[0403]本発明のＩＢＤ　ｓｇｉアルゴリズムの一実施形態のステップを、図１に例示する。第１に、ｓｇｉアルゴリズムは、１７種の生物学的マーカー（ｐＡＮＣＡは２回測定されるため、１８個の値）の測定データに基づくランダムフォレスト分類子を使用し、患者が非ＩＢＤであるか、又はＩＢＤを有するかどうかを予測する（１１０）。次に、決定木又はルールのセットを使用して、ＩＢＤを有すると予測された患者が不確定診断（例えば、ＣＤ対ＵＣに関して不確定との診断）に一致するバイオマーカーパターンを有するかどうかを決定する（１３０）。次いで、１１種のマーカー測定値を用いる別のランダムフォレストに基づくアルゴリズムは、ＩＢＤを有すると予測される患者がＵＣ又はＣＤのいずれかを有するかどうかを予測する（１５０）。このようにして、ｓｇｉアルゴリズムは、非ＩＢＤ（１２０）、不確定（１３５）、ＣＤ（１５３）又はＵＣ（１５５）患者からサンプルを試験分類する。
【０４１２】
[0404]ｓｇｉアルゴリズムは、非ＩＢＤ、ＩＣ、ＵＣ及び／又はＣＤ患者からのサンプルに由来する既知のマーカー測定値を含む訓練データセット（例えば訓練セット）を用いる一連の訓練、試験及びリサンプリングステップにより構築される。訓練セットは、２／３がモデル訓練セットを含み、１／３が試験セットを含むように分割される。
【０４１３】
[0405]いくつかの例では、訓練データセットのサンプルが、次の基準のうちのいずれかを満たす場合、それをさらなる分析から除去する。（１）対象の最後の症状の経験が医師への訪問の６か月より前である；（２）対象の最後の症状が「Ｎ／Ａ」と記述され、対象が試験に登録した；（３）対象が試験対象患者基準／試験除外基準を満たさなかった；及び（４）対象の履歴が疾患罹患の長さに関する情報を欠く。
【０４１４】
[0406]一部の例では、ＵＣ対ＣＤランダムフォレストモデルに関する訓練データセットからサンプルを除去する。一部の例では、次の基準を満たすサンプルを消去する。１）既知のＣＤ診断；２）ＡＮＣＡ＜１６．８ＥＵ／ｍｌ；ｐＡＮＣＡ２陰性；及び３）以下の条件：ＡＳＣＡ－Ａ≧１０．６７５ＥＵ／ｍｌ、ＡＳＣＡ－Ｇ≧１４．１７５ＥＵ／ｍｌ、ＯｍｐＣ≧９．４ＥＵ／ｍｌ、ＣＢｉｒ≧２９．４７５ＥＵ／ｍｌ、Ｆｌａ２≧３４．５ＥＵ／ｍｌ、又はＦｌａＸ≧２８．８７５ＥＵ／ｍｌの２つ以上を満たす。他の例では、１）対象がＵＣ診断を有する場合；２）ＡＮＣＡ≧１６．８ＥＵ／ｍｌであり、ｐＡＮＣＡ２陽性である場合；及び３）次の条件：ＡＳＣＡ－Ａ＜２０．６７５ＥＵ／ｍｌ、ＡＳＣＡ－Ｇ＜１４．１７５ＥＵ／ｍｌ、ＯｍｐＣ＜９．４ＥＵ／ｍｌ、ＣＢｉｒ１＜２９．４７５ＥＵ／ｍｌ、Ｆｌａ２＜３４．５ＥＵ／ｍｌ及びＦｌａＸ＜２８．８７５ＥＵ／ｍｌの全部を満たす場合、対象のサンプルを、ＵＣ対ＣＤランダムフォレストモデルを構築するための訓練データセットから除去する。さらに別の例では、サンプルが既知の非ＩＢＤサンプルである、例えば、非ＩＢＤを有すると以前に診断されたサンプルである場合、そのサンプルを訓練セットから除外する。一部の例では、以下の条件のいずれかを満た

す、分類不能であると決定されたサンプルも訓練セットから除外する。１つの条件は、ＡＮＣＡ＞１６．８ＥＵ／ｍｌ、ｐＡＮＣＡ２陽性、及びＣＢｉｒ≧２９．４７５ＥＵ／ｍｌ、Ｆｌａ２≧３４．５ＥＵ／ｍｌ又はＦｌａＸ≧２８．８７５ＥＵ／ｍｌである基準のうちの１つ又は複数を含む。他の条件は、ｐＡＮＣＡ２陽性、及びＣＢｉｒ１≧２９．４７５ＥＵ／ｍｌ、Ｆｌａ２≧３４．５ＥＵ／ｍｌ又はＦｌａＸ≧２８．８７５ＥＵ／ｍｌである基準のうちのいずれか２つ以上を含む。さらに別の例では、サンプルが次の基準のうちの１つを満たす場合、そのサンプルを除外する。（１）ｐＡＮＣＡ２＝１及びＡＮＣＡ＜１１．９ＥＵ／ｍｌ；（２）ｐＡＮＣＡ２＝０及びＡＮＣＡ≧１１．９ＥＵ／ｍｌ；（３）明らかに誤差の影響を受ける；又は（４）生成モードにおいて再試験されるのが通常である。

【０４１５】

[0407]本実施例は、モデルに対する訓練セットを用いてＩＢＤ　ｓｇｉアルゴリズムを構築するための方法を例示する。本実施例はまた、ＩＢＤ　ｓｇｉアルゴリズムを検証する方法も例示する。一部の実施形態では、初期カットオフは、アルゴリズムのリサンプリングフェーズの平均カットオフと設定される。人工マーカーデータに関する確率及び予測を、最終的なモデルを平均リサンプリングモデルと比較することができるように作出することができる。一部の例では、人工マーカーデータは、類似する分布を有するマーカーの臨床的に意義のある空間に効率的に広がるデータセットである。いくつかの実施形態では、アルゴリズムは連続マーカーの統計値（例えば、八分位数又は８つの領域を含む変位値）を作出し、八分位数を無作為に拾うか、又はその八分位数内の均一に分布した無作為数を拾うことにより、無作為マーカー値を生成する。バイナリー値マーカーの場合、ｐＡＮＣＡ２＝１である場合、ｐＡＮＣＡが１に等しいと設定されるか、又は他のすべてのマーカーは独立に生成される場合を除いて、八分位数を無作為に拾うことができる。

【０４１６】

[0408]一部の例では、分類不能大腸炎（ＩＣ）を有する患者からサンプルを分類する。特定の例では、ＩＢＤを有し、ＡＮＣＡレベル≧Ｑ３であり、ｐＡＮＣＡ２陽性であり、抗ＣＢｉｒ１若しくは抗Ｆｌａ２若しくは抗ＦｌａＸ≧Ｑ３であると決定されるサンプルは、ＩＣを有する患者に由来するものであると予測される。他の例では、ＩＣ患者は、ｐＡＮＣＡ２陽性でもあり、Ｑ３以上である３つのマーカー（例えば、抗ＣＢｉｒ１、抗Ｆｌａ２、抗Ｆｌａｘ）のうちの２つを発現する、ＩＢＤを有すると決定された患者であってもよい。表２３は、“Ｓｅｒｏｌｏｇｙ７”アッセイ（Ｐｒｏｍｅｔｈｅｕｓ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ　Ｉｎｃ．，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）と比較したｓｇｉアルゴリズムの性能を示す。注目すべきことに、表２３は、ｓｇｉアルゴリズムの性能が“Ｓｅｒｏｌｏｇｙ７”アッセイよりも改善されることを示す。

【０４１７】

表２３：ｓｇｉアルゴリズムの性能

【表２３】

性能	sgi	Serology7
IBD／非 ROC	0.871	0.831
UC／CD ROC	0.929	0.902
IBD 感度	0.736	0.717
IBD 特異度	0.896	0.825
CD 感度	0.889	0.871
CD 特異度	0.810	0.686
UC 感度	0.977	0.815
UC 特異度	0.835	0.778

【０４１８】

[0409]表２４は、アルゴリズムを訓練又は試験するのに用いられない２つのコホートに関する性能と比較した、検証セット（例えば試験セット）に関するＳＧＩアルゴリズムの性能を示す。小児コホートは、サンプル除外ルールを行った後に６１個のサンプルについて比較的小さいことに留意すべきである。検証セットに関するＳＧＩアルゴリズムの性能は、訓練において用いられないコホートに由来するサンプルセットよりも良好である。

【０４１９】

表２４：検証セットを含むｓｇｉアルゴリズムの性能

【表２４】

性能	sgi 検証	アフリカ系 アメリカ人	幼児
IBD／非 ROC	0.871	0.797	0.925
UC／CD ROC	0.929	0.908	0.905
IBD 感度	0.736	0.691	0.487
IBD 特異度	0.896	0.791	1.0
CD 感度	0.889	0.893	1.0
CD 特異度	0.810	0.542	1.0
UC 感度	0.977	1.0	1.0
UC 特異度	0.835	0.857	1.0

【０４２０】

[0410]データは、ｓｇｉアルゴリズムのランダムフォレストモデルと、ロジスティック回帰モデルとの比較を示す。図１２は、ｙ軸に沿ったＩＢＤロジスティック回帰モデルのｐ値（実施例４参照）及びｘ軸に沿ったＲにおいて作出されたＩＢＤランダムフォレストモデルのｐ値の散布プロットを示す。図１３は、ｙ軸に沿ったＵＣ対ＣＤロジスティック回帰モデルのｐ値（実施例４参照）及びｘ軸に沿ったＵＣ対ＣＤランダムフォレストモデルのｐ値の散布プロットを示す。図１４及び１５は、２つのアルゴリズム間の性能差を示している。

【０４２１】

[0411]データは、２つの異なる統計解析プログラム（例えば、Ｒ及びＭａｔｌａｂ）を用いたｓｇｉアルゴリズムの比較を示す。図１４は、ＩＢＤ対非ＩＢＤモデルの比較を示す。図１５は、ＵＣ対ＣＤモデル間の比較を示す。データは、ソフトウェアプログラムが類似する結果を生成したことを示している。

【０４２２】

実施例６（ＩＢＤ診断を予測するためのＩＢＤ　ｓｇｉ診断アルゴリズム及びデータセット）：

[0412]コホートに由来するサンプルのデータの訓練セットを用いてコンピュータ計算モデルを訓練するプロセスにより、ランダムフォレストモデリングアルゴリズムを作出する。訓練されたアルゴリズムを、コホートに由来するサンプルのデータの検証セットを用いて検証する。本実施例は、ランダムフォレストモデリングにおける訓練セット及び検証セットの使用を説明する。

【０４２３】

[0413]本実施例は、ランダムフォレスト機械学習モデリングの診断アルゴリズムを訓練及び検証するための生物学的マーカーの測定値を有するサンプルを用いる方法を例示する。本実施例は、本明細書に記載の方法（例えば、実施例１～５参照）を用いて、非ＩＢＤ、ＩＢＤ、ＩＣ、ＣＤ、ＵＣ、及び／又はＵＣ及びＣＤに関して不確定であるＩＢＤを予測又は診断することができることを示す。本実施例はまた、サンプルの除外のためのルールをアルゴリズムにおいて適用することができることも例示する。

【０４２４】

[0414]一部の実施形態では、訓練及び検証セットは、非ＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣなどの既知の診断を有するサンプルに由来する血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）マーカー（例えば、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、ｐＡＮＣＡ、ＡＮＣＡ、抗ＯｍｐＣ、抗Ｆｌａ２、抗ＦｌａＸ、ＶＥＧＦ、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ、ＶＣＡＭ、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＮＫＸ２－３、及びＳＴＡＴ３）の測定値を含む。訓練セットにおけるサンプルの既知の診断を表２９の列「Ｄｘ３」中に列挙する。ここで、「０」は非ＩＢＤ診断、「１」はＣＤ診断、「２」はＵＣ診断を指す。用語「既知の診断」は、ランダムフォレストモデリングを含まない方法を用いる患者の診断を指す。一部の例では、既知の診断が決定される。異なるコホートに由来するサンプル中での血清－遺伝子－炎症生物学的マーカーの検出を、本明細書に記載のように実施した。表２５は、訓練セットのサンプル番号１～１４の測定値を示す（データセット１）。１４個のサンプルを有するデータセット１は、約１４９０個のサンプルのｎ値を有するはるかにより大きいデータセットの単なる代表的なサブセットにすぎない。テキストベースの生物学的マーカーデータを個別の数値に転換した（例えば、実施例３及び表１６参照）。表２６は、ｐＡＮＣＡ、ＡＴＧ１６Ｌ１、ＥＣＭ１、ＮＫＸ２－３及びＳＴＡＴ３などのマーカーの転換された測定値を示す。

【０４２５】

表２５：訓練セットにおける生物学的マーカー

【表２５】

サンプル番号	識別子	データセット	ASCA A	ASCA G	ANCA	OmpC	CBir1	Fla2	Flax	VEGF	CRP	SAA	ICAM	VCAM
1	10-IBD-07.059-081	1	3	9.1	3	3	18.1	14.7	11.6	45	13706	3935	507	544
2	10-IBD-07.079-002	1	6.2	3	8.2	3	8.1	29.9	6.5	184	751	2088	240	487
3	10-IBD-01.009-024	1	23	27.1	28.7	7.9	26.3	34.1	35.7	171	5470	4341	513	971
4	10-IBD-01.009-026	1	78.3	46	23	11.4	100	100	100	543	29610	85380	441	677
5	10-IBD-07.040-004	1	3	3	5.3	3	7.3	5.3	3.3	116	1369	2727	511	452
6	10-IBD-07.040-006	1	3	3	4.5	6.6	11	17.2	15	30	15826	7843	409	511
7	10-IBD-01.005-031	1	100.1	49.8	84.4	6.2	83.5	95.5	70	71	3430	11039	488	545
8	10-IBD-01.013-028	1	60	100.1	12	7.4	82.5	100	100	106	149199	204889	950	1273
9	10-IBD-07.059-085	1	3	9.6	3	5.1	30.6	47.9	24.6	56	386	1684	340	554
10	10-IBD-07.036-021	1	3	16.2	3	3	31.6	18.3	16.3	30	4831	139982	536	736
11	10-IBD-01.002-008	1	3	3	19.7	3	8.3	15.7	11.7	76	2618	5638	329	458
12	10-IBD-01.011-007	1	4	3	28	8.5	17.4	22.2	16	218	1385	2918	690	878
13	10-IBD-01.001-026	1	42.8	8.8	85.5	53.7	10.9	7.8	8.8	298	18723	46041	672	1118
14	10-IBD-01.001-028	1	10.6	15.2	65.5	18	19.2	21.2	23.1	479	7782	3768	417	794

【０４２６】

表２６：訓練セットにおけるテキストベースの生物学的マーカーのバイナリー変数

【表２６】

サンプル番号	対象識別子	データセット	pANCA	ATG16L1	ECM1	NKX2-3	STAT3
1	10-IBD-07.059-081	1	0	0	0	0	0
2	10-IBD-07.079-002	1	0	1	0	1	0
3	10-IBD-01.009-024	1	1	1	0	1	0
4	10-IBD-01.009-026	1	0	0	0	0	1
5	10-IBD-07.040-004	1	1	0	0	0	0
6	10-IBD-07.040-006	1	0	0	0	0	0
7	10-IBD-01.005-031	1	1	1	0	0	0
8	10-IBD-01.013-028	1	1	1	0	1	1
9	10-IBD-07.059-085	1	1	0	0	0	1
10	10-IBD-07.036-021	1	0	0	0	0	0
11	10-IBD-01.002-008	1	1	0	0	0	1
12	10-IBD-01.011-007	1	1	0	0	0	0
13	10-IBD-01.001-026	1	1	0	0	0	0
14	10-IBD-01.001-028	1	1	1	0	1	1

【０４２７】

[0415]訓練されたランダムフォレストモデルを、表２７及び表２８に列挙されるサンプルの検証セットを用いて検証した。再度、ここで示される検証セット（サンプル１５～２８）は、約６７９個のサンプルのｎ値を有するはるかにより大きいデータセットの単なる代表的なサブセットにすぎない。

【０４２８】

表２７：検証セットにおける生物学的マーカー

【表２７】

サンプル番号	対象識別子	データセット	ASCA-A	ASCA-G	ANCA	OmpC	CBir1	Fla2	Flax	VEGF	CRP	SAA	ICAM	VCAM
15	10-IBD-07.118-074	2	11.4	45.2	11.7	3	26.7	48.4	53.2	318	270	3852	286	554
16	10-IBD-07.118-098	2	3	3	100	3.2	4	35.8	29.3	77	432	2118	264	289
17	10-IBD-07.319-164	2	3	3.2	15.3	6.3	11.4	12.1	8.8	63	978	3343	325	474
18	10-IBD-07.319-169	2	7.7	12.9	27.2	3.9	7.6	7.1	5.7	57	1417	1753	280	439
19	10-IBD-07.319-156	2	3	18.3	9.8	3	67	31.1	36.2	66	2685	1162	281	354
20	10-IBD-07.319-161	2	3	3.7	11	3	14.7	6.7	6.4	103	5831	7248	343	568
21	10-IBD-07.324-004	2	8.8	12.4	45.7	3	100	17	11.3	346	894	2118	376	706
22	10-IBD-07.320-011	2	57.3	44.5	47.4	3	100	100	100	251	16935	48907	412	596
23	10-IBD-07.136-070	2	3	7.8	7.1	3.2	16.8	41	40.8	78	1879	6519	367	371
24	10-IBD-07.136-083	2	6	8.7	6	3	30	56.7	57.6	53	4301	5288	368	502
25	10-IBD-07.118-102	2	3	5.8	20.6	3	3.2	28.2	17.6	244	838	1557	318	526
26	10-IBD-07.118-104	2	3	4	35.4	3	12.2	23.2	18.2	49	1346	1903	272	393
27	10-IBD-07.321-003	2	4	12.6	3	6.4	21.6	11	10.2	125	9459	12652	630	608
28	10-IBD-07.323-011	2	100.1	44.1	8.3	41.9	66.9	100	100	162	14971	73366	831	927

【０４２９】

表２８：検証セットにおけるテキストベースの生物学的マーカーのバイナリー変数

【表２８】

サンプル番号	対象識別子	データセット	pANCA	ATG16L1	ECM1	NKX2	STAT3
15	10-IBD-07.118-074	2	1	0	0	0	1
16	10-IBD-07.118-098	2	1	1	0	0	0
17	10-IBD-07.319-164	2	0	0	1	1	1
18	10-IBD-07.319-169	2	0	1	1	1	1
19	10-IBD-07.319-156	2	0	0	0	0	1
20	10-IBD-07.319-161	2	0	1	0	1	1
21	10-IBD-07.324-004	2	1	0	1	1	0
22	10-IBD-07.320-011	2	1	0	0	0	0
23	10-IBD-07.136-070	2	1	0	0	1	0
24	10-IBD-07.136-083	2	0	1	1	0	0
25	10-IBD-07.118-102	2	1	0	0	1	0
26	10-IBD-07.118-104	2	1	0	1	0	0
27	10-IBD-07.321-003	2	0	1	0	0	1
28	10-IBD-07.323-011	2	1	0	0	0	1

【０４３０】

[0416]表２９は、診断アルゴリズムが訓練セット及び検証セット中のサンプルの診断を予測することができることを示す。特に、列「ＲＦ　Ｄｘ４」中の値は予測された診断を次のように記述する。「０」は非ＩＢＤ、「１」はＣＤ、「２」はＵＣ、「３」はＩＣを指す。表２９はまた、サンプル除外基準、分類不能サンプル決定、グループ１違反及びグループ２違反に基づくアルゴリズムのデータセットにおいてサンプルが除外されたか、又は除外されなかった（例えば含まれた）ことを示す（例えば、実施例１～４を参照）。表２９はまた、本発明の診断アルゴリズムを訓練及び検証する前に決定されたサンプルの既知の診断も示す（表２９、列「Ｄｘ３」参照）。

【０４３１】

表２９：訓練セット及び検証セットにおけるサンプルの予測診断

【表２９】

サンプル番号	対象識別子	データセット	Dx3	IBD 除外理由	UC 除外理由	RF Dx4
1	10-IBD-07.059-081	1	1	６か月を超える	６か月を超える	0
2	10-IBD-07.079-002	1	2	６か月を超える	６か月を超える	0
3	10-IBD-01.009-024	1	1	不一致 ANCA/pANCA2	不一致 ANCA/pANCA2	1
4	10-IBD-01.009-026	1	1	不一致 ANCA/pANCA2	不一致 ANCA/pANCA2	1
5	10-IBD-07.040-004	1	0	含まれる	非 IBD	0
6	10-IBD-07.040-006	1	0	含まれる	非 IBD	0
7	10-IBD-01.005-031	1	1	含まれる	分類不能	3
8	10-IBD-01.013-028	1	1	含まれる	分類不能	3
9	10-IBD-07.059-085	1	2	含まれる	グループ１違反	1
10	10-IBD-07.036-021	1	2	含まれる	グループ１違反	1
11	10-IBD-01.002-008	1	1	含まれる	グループ２違反	2
12	10-IBD-01.011-007	1	1	含まれる	グループ２違反	2
13	10-IBD-01.001-026	1	1	含まれる	含まれる	1
14	10-IBD-01.001-028	1	1	含まれる	含まれる	1
15	10-IBD-07.118-074	2	1	臨床除外基準	臨床除外基準	1
16	10-IBD-07.118-098	2	2	臨床除外基準	臨床除外基準	3
17	10-IBD-07.319-164	2	0	不一致 ANCA/pANCA2	不一致 ANCA/pANCA2	0
18	10-IBD-07.319-169	2	0	不一致 ANCA/pANCA2	不一致 ANCA/pANCA2	0
19	10-IBD-07.319-156	2	0	含まれる	非 IBD	0
20	10-IBD-07.319-161	2	0	含まれる	非 IBD	0
21	10-IBD-07.324-004	2	2	含まれる	分類不能	3
22	10-IBD-07.320-011	2	1	含まれる	分類不能	3
23	10-IBD-07.136-070	2	2	含まれる	グループ１違反	1
24	10-IBD-07.136-083	2	2	含まれる	グループ１違反	1
25	10-IBD-07.118-102	2	1	含まれる	グループ２違反	2
26	10-IBD-07.118-104	2	1	含まれる	グループ２違反	2
27	10-IBD-07.321-003	2	1	含まれる	含まれる	0
28	10-IBD-07.323-011	2	1	含まれる	含まれる	1

【０４３２】

[0417]サンプル番号１及び２は除外ルールを満たしたため、ｓｇｉアルゴリズムの両方のランダムフォレストモデルを構築するために使用される訓練セットから、これらのサンプルを除外した。サンプル番号７及び８は適切な条件を満たしたため、これらのサンプルを用いてＩＢＤ対非ＩＢＤモデルを構築し、分類不能サンプルであると決定した。サンプル番号９、１０、１１及び１２はグループ１違反（番号９及び１０）又はグループ２違反（番号１１及び１２）に関する条件を満たしたため、ＵＣ対ＣＤモデルを構築するための訓練セットから、これらのサンプルを除外した。サンプル番号５及び６は訓練セット中にあり、非ＩＢＤを有すると予測された。サンプル番号１３及び１４は第１のランダムフォレストモデルではＩＢＤを有し、第２のモデルではＣＤを有すると予測された。サンプル番号１５～２８は検証セットのものである。サンプル番号１５～１８は除外条件を満たしたため、それらを除外した。サンプル番号１９及び２０はｓｇｉアルゴリズムによって非ＩＢＤを有すると予測されたが、これは既知の診断又は以前の診断と合致する。サンプル番号２１及び２２はＩＣを有すると予測されたが、その既知の診断はそれぞれＵＣ及びＣＤであった。サンプル番号２７及び２８はＣＤの既知の診断を有するが、ｓｇｉアルゴリズムは、番号２７が非ＩＢＤを有し、番号２８がＣＤを有すると予測した。

【０４３３】

[0418]本実施例は、ｓｇｉアルゴリズムが非ＩＢＤ、ＩＣ、ＵＣ、又はＣＤ診断を予測

するための妥当なモデルであることを実証する。本実施例はまた、血清学的、遺伝子、及び炎症マーカーの組み合わせた使用がＩＣ、ＵＣ及びＣＤなどのＩＢＤサブタイプを鑑別し、ＵＣ及びＣＤに関して不確定であるＩＢＤを同定するための改善された診断試験を提供することも実証する。

【０４３４】

実施例７（ＩＢＤ　ｓｇｉ診断アルゴリズム訓練及び検証セット）：

[0419]本実施例は、ランダムフォレストモデリングにおける訓練セット及び検証セットの使用を説明する。コホートからのサンプルのデータの訓練セットを使用するコンピュータ計算モデルを訓練するプロセスによってランダムフォレストモデリングアルゴリズムを作出する。訓練されたアルゴリズムを、コホートからのサンプルのデータの検証セットを用いて検証する。

【０４３５】

[0420]図１６は、訓練及び／又は検証コホート中に存在する血清学的マーカーの各々の％を示す。左側のベン図は、ＣＤにおけるＣＢｉｒ１、Ｆｌａ２及びＦｌａＸ抗体の重複を示す。右側のベン図は、非ＩＢＤにおけるＣＢｉｒ１、Ｆｌａ２及びＦｌａＸ抗体の重複を示す。

【０４３６】

[0421]図１７は、訓練及び／又は検証コホート中に存在する炎症マーカーの各々の％を示す。左側のベン図は、ＩＢＤにおけるＣＲＰ及びＳＡＡの重複を示す。中央のベン図は、非ＩＢＤにおけるＣＲＰ及びＳＡＡの重複を示す。右側のベン図は、健常対照におけるＣＲＰ及びＳＡＡの重複を示す。

【０４３７】

[0422]図１８は、訓練及び／又は検証コホート中の２つ以上の遺伝子マーカーに関して陽性である患者数を示す。結果は、２つ以上の遺伝子マーカーを有するＩＢＤ患者の％が非ＩＢＤ患者よりも高いことを示す。傾向は統計的に有意である。

【０４３８】

[0423]さらに、本明細書に提示される結果は、ＩＢＤの発症が、炎症及び組織損傷をもたらす遺伝的に疑われる人々における多様な抗原（例えば、酵母、細菌、フラジェリン、自己抗体）に対する脱調節された免疫学的応答を反映することを示す。

【０４３９】

[0424]３クラスのマーカー（血清、遺伝子及び炎症マーカー）間の複雑な相互作用を分析するランダムフォレストモデルは、単一のクラスのマーカー（例えば血清マーカー）を使用するよりも、ＩＢＤ対非ＩＢＤ患者及びＣＤ対ＵＣ患者を鑑別する検出パターンにおいてより正確である。

【０４４０】

実施例８（血清学的、遺伝子及び炎症（ｓｇｉ）マーカーの組み合わせは非ＩＢＤ、クローン病、及び潰瘍性大腸炎患者を正確に鑑別する）：

[0425]本実施例は、非ＩＢＤ、クローン病、及び潰瘍性大腸炎を正確に鑑別するための本発明の方法の使用を説明する。本実施例はまた、ＩＢＤの同定及び階層化を改善することができる確立された、及び新しいバイオマーカーの組み合わせを同定した試験も記載する。

【０４４１】

[0426]ＩＢＤの診断は、臨床検査、画像診断、組織病理に関する内視鏡検査、及び実験室試験の組み合わせに基づく、複雑なものである。血清学的マーカーは、重要な付加情報を提供することができる。ＩＢＤ診断を補助するための血清学の使用は、文献に広く記載されている。典型的にはＩＢＤと関連する自己－及び抗－微生物抗体に加えて、遺伝的バリアント並びに血管新生及び炎症分子がＩＢＤの同定をより良好に支援することができる。ＩＢＤ診断のための理想的な手段は、（１）他の胃腸（ＧＩ）障害を有する患者からＩＢＤ患者を識別する、及び（２）ＣＤからＵＣを識別する。本明細書に記載の試験においては、血清学的バイオマーカーのパネル（例えば、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、ＡＮＣ

Ａ、ｐＡＮＣＡ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１）の診断正確度を、４つの遺伝子バリアント（例えば、ＡＴＧ１６Ｌ１　ｒｓ２２４１８８０、ＮＫＸ２－３　ｒｓ１０８８３３６５、ＥＣＭ１　ｒｓ３７３７２４０、及びＳＴＡＴ３　ｒｓ７４４１６６）、炎症マーカー（例えば、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ、ＶＣＡＭ、ＶＥＧＦ）、及び血清学的マーカー（例えば、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、ＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、抗Ａ４－Ｆｌａ２、抗ＦｌａＸ）を含む１７種の血清、遺伝子、及び炎症（ｓｇｉ）バイオマーカーのパネルと比較した。

【０４４２】

[0427]よく特徴付けられた患者サンプルを、北米における８の研究機関及び４２の地域医療機関から収集した。１，５２０人の患者からのサンプルが含まれていた：５７２人のＣＤ、３２８人のＵＣ、１８３人の健常なボランティア対照、及び過敏性腸症候群、肝炎、慢性便秘、ＧＥＲＤ、セリアック病、憩室炎などを含む４３７人の非ＩＢＤ疾患対照。全コホートから選択された１，０８３人の患者訓練セットに由来するデータを用いて、診断アルゴリズムを構築した。最終的なアルゴリズムの性能を、４３７人の患者の別の検証セットを用いて測定した。受信者動作特性（ＲＯＣ）曲線下面積（ＡＵＣ）を、連続変数としてランダムフォレストスコア（例えば、各分類についての決定木の割合）を用いて算出した。訓練中に選択されたカットオフスコアを適用して、感度及び特異度を算出した。

【０４４３】

[0428]ＲＯＣ分析を用いて、血清学的バイオマーカーのみのパネルの診断正確度と、４つの遺伝子バリアント（例えば、ＡＴＧ１６Ｌ１　ｒｓ２２４１８８０、ＮＫＸ２－３　ｒｓ１０８８３３６５、ＥＣＭ１　ｒｓ３７３７２４０、及びＳＴＡＴ３　ｒｓ７４４１６６）、５つの炎症マーカー（例えば、ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ、ＶＣＡＭ、及びＶＥＧＦ）、及び２つの他の抗微生物血清学的マーカー（例えば、Ａ４－Ｆｌａ２及びＦｌａＸに対する抗体）を含む１７種のマーカーパネルとを比較した。さらなるマーカーは、ＩＢＤ対非ＩＢＤ鑑別、ＡＵＣを０．８０（９５％ＣＩ＝０．７６８２～０．８５０７）から０．８７（９５％ＣＩ＝０．８４４２～０．９０７０）まで増加させた（ｐ＜０．００１）。ＵＣ対ＣＤ鑑別は、０．７８（９５％ＣＩ＝０．７１４４～０．８４０３）から０．９３（９５％ＣＩ＝０．８５８５～０．９３５４）まで増加した（ｐ＜０．００１）。図１９及び２０を参照されたい。ＩＢＤ対非ＩＢＤ並びにＵＣ対ＣＤの鑑別の両方の増加は統計的に有意であると決定された（ｐ＜０．００１）。ＩＢＤについては１８％、ＣＤについては１８％、及びＵＣについては２９％の誤差率の低下があった。疾患可能性を同定する性能における感度は、ＩＢＤについては７４％、ＣＤについては８９％、及びＵＣについては９８％であった。疾患を確認する性能における特異度は、ＩＢＤについては９０％、ＣＤについては８１％、及びＵＣについては８４％であった。

【０４４４】

[0429]これらの結果は、血清、遺伝子、及び炎症マーカーの組み合わせを用いて、血清学的マーカーのみよりも高い正確度で、ＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣ患者をより良好に分類することができることを示している。

【０４４５】

実施例９（ｐＡＮＣＡ決定木）：

[0430]本実施例は、ｐＡＮＣＡ２について陰性である患者標本の集団における診断予測を改善するために、例えば、偽陽性ＩＢＤ予測率を最小化するために開発された決定木を例示する。いくつかの実施形態では、ｐＡＮＣＡ２定義は、陰性（０若しくは「検出されず」）又は弱い（＋１）ｐＡＮＣＡ決定を有するすべての標本を含む。臨床的に特性評価され、生検により確認された患者標本の大きい群上でのその決定木及びその性能特性を開発するための方法が本明細書に記載される。

【０４４６】

開発方法：

[0431]試験対象患者基準／試験除外基準を満たした元のｐＡＮＣＡ２（－）訓練及び検証標本からの実験室データを、新しい決定木を開発、試験及び検証する目的で新しいファ

イル中で解析した。元のｐＡＮＣＡ２（－）、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ＞１１．９ＥＵ／ｍＬ訓練のみのサブグループからの実験室データを用いて、新しい決定木を開発したが、残りは検証及び性能測定基準の算出のために取っておいた。生検（参照）結果に対する疾患予測を比較する共通の混同マトリックスを用いて、決定木内の潜在的なルールの効果を評価した。既知のＵＣ標本に関するＣＤ予測（及びその逆）は偽陽性とスコア化されたが、既知のＣＤ又はＵＣ標本のいずれかに関する不確定ＩＢＤ（ＩＣ）予測は評価のために真陽性とスコア化されたことに留意することが重要である。このルールは、ＩＣ予測を全標本の５％未満に限定するために開発された。

【０４４７】

[0432]この群の標本を規定する主な特徴は、好中球抗核抗体（ＡＮＣＡ）に関する低い又は検出不可能な血清学的証拠である。ＩＦＡ又はＥＬＩＳＡアッセイにおけるＡＮＣＡ反応性は、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）の予測のための主要な決定因子であり、したがって、新しい決定木を開発するために取り組んだのは、ＵＣ予測を行うための規定のルールを適用する前に、任意の特定の標本に関して、その標本における非ＩＢＤ及び／又はクローン病（ＣＤ）のパターンを同定することによってＵＣ予測をまず除外することであった。

【０４４８】

直接クローン病予測：

[0433]第１に、選択された標本からのデータを再検討し、個々のＣＤマーカー（例えば、ＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ、ＯｍｐＣ、Ｃｂｉｒ１、Ｆｌａ２、ＦｌａＸ）の各々に関する潜在的な値を、正確な予測を誘導するその能力について個別に評価した。反復評価により、ＡＳＣＡ又はＯｍｐＣのいずれかに関する特定のアッセイの値が、過剰である場合、これを用いてＣＤ予測を行うことができると決定された。ＡＳＣＡ－ＩｇＡ≧６９ＥＵ／ｍＬ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ≧４０ＥＵ／ｍＬ又はＯｍｐＣ≧６０ＥＵ／ｍＬのいずれかである場合、標本はＣＤであると予測され、その標本はさらなる考慮から除去された。

【０４４９】

「計数」の使用によるＣＤ推定：

[0434]次に、複数のＣＤマーカーの組み合わせを、ＣＤ予測を誘導するその能力について評価した。ＣＤ「計数」の概念を用いて、ＣＤ予測を独立にもたらすことができるＣＤマーカーの複数の潜在的な組み合わせを効率的に管理した。再度、各アッセイについて記述された参照範囲に基づくものであるスコアリングの公正で単純なスキームをもたらす、高度に反復的なプロセスを用いた。最終的なＣＤ計数手順はＡＳＣＡ－Ａ、ＡＳＣＡ－Ｇ及びＯｍｐＣマーカーを等しく計量するが、その対応する参照範囲を超える少なくとも２つのフラジェリンマーカーがＣＤ計数に対して正の影響を有することが必要である。こうして、その対応する参照上限に等しいか、又はそれを超える任意のＣＤマーカー（又はフラジェリンの対）は、ＣＤカウンターにおける＋１の増加をもたらす。さらに、任意のフラジェリンが１００ＥＵ／ｍＬ以上のアッセイ値を有することが分かった場合、さらなる＋１をＣＤカウンターに加える。この≧１００ＥＵ／ｍＬルールを満たすフラジェリンの数にもかかわらず、総計数は＋１だけ増加する。最終的なＣＤ計数が２以上である任意の標本をＣＤと指定する。

【０４５０】

ｐＡＮＣＡ陰性標本：

[0435]ＣＤ予測が上記手順の使用により行われなかった任意の残りの訓練標本を、さらなる分析のためにｐＡＮＣＡ（－）（検出されず）及びｐＡＮＣＡ＋１（弱く検出される）サブグループに分割した。ｐＡＮＣＡ（－）群において、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ参照範囲の使用は、非ＩＢＤ標本の指定において有用であることが分かった。この指定の限界は、この予測における性能を平衡化する記述された上側の参照間隔のわずかに上に設定された。また、ＵＣ予測を行うためにＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値限界を設定することができるが、この値は直接的な非ＩＢＤ及びＵＣ予測の間にギャップを残したことも決定された。クリーンな非ＩＢＤ対ＵＣ予測を行うことができなかったＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値ギャップは、既知の非ＩＢＤ、ＣＤ及びＵＣ標本の複雑な混合物を含むことが分かった。そこで、

不確定ＩＢＤ指定をＣＤ計数＝１を有する任意の標本に適用したが、このギャップ中の他のすべてのものを非ＩＢＤと指定した。

【０４５１】

ｐＡＮＣＡ＋１標本：

[0436]最後に、残りのｐＡＮＣＡ＋１標本からのデータを再検討した。記述された上側の参照間隔よりも低いＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値を用いて、この群におけるＵＣ予測から非ＩＢＤを効率的に区別することができると決定された。

【０４５２】

決定木：

[0437]ルールセットは次の通りである。ｐＡＮＣＡ２陰性（すなわち、ｐＡＮＣＡ＝０又は＋１）であると分かったＩＢＤ　ｓｇｉ（血清、遺伝子及び炎症）プロセッシングに提出された任意の患者標本を、ｓｇｉアルゴリズムキューから除去し、臨床予測を行うために以下の決定行列にかけた。

１）直接クローン病（ＣＤ）予測

ａ．ＡＳＣＡ－ＩｇＡ≧６９ＥＵ／ｍＬである場合、結果を「ＩＢＤ：クローン病に一致するパターン」と指定する。あるいは

ｂ．ＡＳＣＡ－ＩｇＡ≧４０ＥＵ／ｍＬである場合、結果を「ＩＢＤ：クローン病に一致するパターン」と指定する。あるいは

ｃ．ＯｍｐＣ－ＩｇＡ≧６０ＥＵ／ｍＬである場合、結果を「ＩＢＤ：クローン病に一致するパターン」と指定する。あるいは

２）「計数」の使用によるＣＤ推定

ａ．総「計数」を決定する。

ｉ．ＡＳＣＡ－ＩｇＡ≧８．５ＥＵ／ｍＬ（参照範囲より上）である場合、ＣＤ計数に＋１を加える。

ｉｉ．ＡＳＣＡ－ＩｇＡ≧１７．８ＥＵ／ｍＬ（参照範囲より上）である場合、ＣＤ計数に＋１を加える。

ｉｉｉ．ＯｍｐＣ－ＩｇＡ≧１０．９ＥＵ／ｍＬ（参照範囲より上）である場合、ＣＤ計数に＋１を加える。

ｉｖ．対応する参照範囲（Ｃｂｉｒ１－ＩｇＧ≧７８．４ＥＵ／ｍＬ、Ａ４－Ｆｌａ２－ＩｇＧ≧４４．８ＥＵ／ｍＬ、ＦｌａＸ－ＩｇＧ≧３３．４ＥＵ／ｍＬ）より上のフラジェリンマーカーが２以下である場合、ＣＤ計数に＋１を加える。

ｖ．任意のフラジェリン≧１００ＥＵ／ｍＬである場合、ＣＤ計数に＋１を加える。

ｂ．総ＣＤ計数≧２である場合、結果を「ＩＢＤ：クローン病に一致するパターン」と指定する。あるいは

３）ｐＡＮＣＡ陰性標本

ａ．ｐＡＮＣＡ＝０（検出されず）及びＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ＜２０ＥＵ／ｍＬである場合、結果を「ＩＢＤに一致しないパターン」と指定する。あるいは

ｂ．ｐＡＮＣＡ＝０（検出されず）及びＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ＞２７．４ＥＵ／ｍＬである場合、結果を「ＩＢＤ：潰瘍性大腸炎に一致するパターン」と指定する。あるいは

ｃ．ｐＡＮＣＡ＝０（検出されず）及び２０≦ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ≦２７．４ＥＵ／ｍＬであり、上記２ｂに由来するＣＤ計数＝０である場合、結果を「ＩＢＤに一致しないパターン」と指定する。あるいは

ｄ．ｐＡＮＣＡ＝０（検出されず）及び２０≦ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ≦２７．４ＥＵ／ｍＬであり、上記２ｂに由来するＣＤ計数＝１である場合、結果を「ＩＢＤ：クローン病対潰瘍性大腸炎に関して不確定に一致するパターン」と指定する。あるいは

４）ｐＡＮＣＡ＋１標本

ａ．ｐＡＮＣＡ＝＋１及びＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ＜１３．７ＥＵ／ｍＬである場合、結果を「ＩＢＤに一致しないパターン」と指定する。あるいは

ｂ．ｐＡＮＣＡ＝＋１及びＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ≧１３．７ＥＵ／ｍＬである場合、

結果を「ＩＢＤ：潰瘍性大腸炎に一致するパターン」と指定する。

【０４５３】

ルールの効果：

[0438]ｐＡＮＣＡ２（－）標本からの無傷のデータセットに対する上記ルールの適用の累積的効果を、表３０及び表３２に記載する。表３０は、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値≧１１．９ＥＵ／ｍＬである検証標本に対するこれらのルールの効果を実証するが、表３２は、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値＜１１．９ＥＵ／ｍＬであるこれらの検証標本からのデータを含む。この相違の理由は、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値＜１１．９ＥＵ／ｍＬである標本からの予測は、アルゴリズムの性能がこれらの標本に対して十分であると考えられるため、ＩＢＤ　ｓｇｉアルゴリズムの性能測定基準の算出に含まれていたが、性能の算出からＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値≧１１．９ＥＵ／ｍＬである標本を除去し、その群における予測を行うための代替的な方法を開発することに同意されたということである。この変化は、ＩＢＤ　ｓｇｉアルゴリズムが、いくつかの理由から、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値≧１１．９ＥＵ／ｍＬであるｐＡＮＣＡ２（－）標本に関する予測を行うことができなかったことを意味すると解釈されるべきではない。ランダムフォレスト法は、本質的には任意の単一のマーカーに依拠しないパターン照合手段であるため、この方法から誘導されたアルゴリズムをさらに用いて、単一成分マーカーの不正確な（又は欠けている）値を有する標本に関する予測を行うことができる。さらに、ＩＢＤ　ｓｇｉアルゴリズムを１７種のマーカーを用いて訓練し、予測的カットオフをＡＵＣ曲線よりも高く設定して、存在する場合、欠けているか、又は不正確な個々のマーカーの効果を改善させた。このように、検証標本から誘導される性能特性はｐＡＮＣＡ２（－）検証標本のサブセットを含まないが、そのＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ値により規定される、２つのｐＡＮＣＡ（－）群におけるｓｇｉアルゴリズムの実際の全体的な正確度は非常に類似している（表３１及び３３中のランダムフォレストアルゴリズムの性能を参照）。事実、これらの２つの群の間で算出されるＩＢＤ　ｓｇｉ感度及び偽陽性率は事実上同一である。ｐＡＮＣＡ２（－）、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡ、１１．９ＥＵ／ｍＬの群はランダムフォレストアルゴリズムの訓練及び性能検証の両方に含まれていたため、ランダムフォレスト性能が性能検証に含まれていない他方の群に関して本質的に同一であったという事実は、後者の群について行われた臨床予測が前者の群について行われたものと同様に信頼できることを意味する。

【０４５４】

[0439]以下の表は、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡアッセイ値≧１１．９ＥＵ／ｍＬであるｐＡＮＣＡ２（－）標本に対する、決定木予測（表３０）対ランダムフォレストアルゴリズムにより行われた予測（表３１）の効果を実証する混同マトリックスを含む。

【０４５５】

表３０：決定木性能

【表３０】

		臨床診断（生検）	
		陽性	陰性
決定木	陽性	138	49
	陰性	37	65

感度＝（真陽性／（真陽性+偽陰性））×100=78.9%
特異度＝（真陰性／（真陰性+偽陽性））×100=57%
正確度＝（（真陽性+真陰性）／合計）×100=70.2%
偽陽性率＝（偽陽性／偽陽性+真陰性）×100=43%

【０４５６】

表３１：ランダムフォレスト性能

【表３１】

		臨床診断（生検）	
		陽性	陰性
決定木	陽性	130	86
	陰性	27	46

感度＝（真陽性／（真陽性+偽陰性））×100＝82.8%
特異度＝（真陰性／（真陰性+偽陽性））×100＝34.9%
正確度＝（（真陽性+真陰性）／合計）×100＝60.9%
偽陽性率＝（偽陽性／偽陽性+真陰性）×100＝65.2%

【０４５７】

[0440]決定木の感度はランダムフォレストアルゴリズムよりもわずかに低いが、決定木の全体的な正確度は実質的により高く、それぞれ７０．２％対６０．９％であり、偽陽性率もランダムフォレストアルゴリズムと比較して決定木法において実質的に低く、それぞれ４３％対６５．２％であることに留意されたい。

【０４５８】

[0441]表３２は、ＡＮＣＡ　ＥＬＩＳＡアッセイ値＜１１．９ＥＵ／ｍＬであるｐＡＮＣＡ２（－）標本に対する、決定木予測対ランダムフォレストアルゴリズムにより行われた予測（表３３）の効果を実証する混同マトリックスを含む。

【０４５９】

表３２：決定木性能

【表３２】

		臨床診断（生検）	
		陽性	陰性
決定木	陽性	271	54
	陰性	289	589

感度＝（真陽性／（真陽性+偽陰性））×100＝48.4%
特異度＝（真陰性／（真陰性+偽陽性））×100＝91.6%
正確度＝（（真陽性+真陰性）／合計）×100＝71.5%
偽陽性率＝（偽陽性／偽陽性+真陰性）×100＝8.4%

【０４６０】

表３３：ランダムフォレスト性能

【表３３】

		臨床診断（生検）	
		陽性	陰性
決定木	陽性	213	311
	陰性	287	392

感度＝（真陽性／（真陽性+偽陰性））×100＝42.6%
特異度＝（真陰性／（真陰性+偽陽性））×100＝55.8%
正確度＝（（真陽性+真陰性）／合計）×100＝50.3%
偽陽性率＝（偽陽性／偽陽性+真陰性）×100＝44.2%

【０４６１】

[0442]この群の標本において、決定木の感度はランダムフォレストアルゴリズムよりもわずかに高いが、決定木法の特異度及び全体的な正確度はランダムフォレストアルゴリズ

ムよりも実質的に高い。決定木法は偽陽性に対して真陰性予測を効率的に平衡化し、偽陽性率を最小化しながら、特異度を劇的に改善させる。

【０４６２】

結論：

[0443]決定木法を含む提唱されたルールは、ｐＡＮＣＡ２（－）の特定のサブグループ状況ではランダムフォレストアルゴリズムよりも正確なＩＢＤ　ｓｇｉ予測をもたらすと上記データから結論付けられる。偽陽性率は有意に低く、ここで対象の標本は既知のＩＢＤマーカーに対する血清反応性が最小である非常に初期の疾患である可能性が高いため、この観察の重要性は無視されるべきではない。偽ＩＢＤ予測がなされる率を最小化して、ＩＢＤを有さない患者に対する不必要なリスク（例えば、さらなる診断手順又は不必要な介入に由来するリスク）を回避することが重要である。

【０４６３】

[0444]いくつかの態様では、本明細書に記載の決定木法を、ｐＡＮＣＡ２（－）アッセイ結果を有する臨床標本における予測診断を行うための代替経路として実装することができる。特定の実施形態では、改変されたアルゴリズムは、そのｐＡＮＣＡ２値に応じて、決定木法又はランダムフォレストアルゴリズムのいずれかに対して個々の標本を指向させる第１のステップとしての初期ノードを含む。

【０４６４】

実施例１０（遺伝子、血清及び炎症マーカーに関するアッセイの説明）：

[0445]本実施例は、本発明のＩＢＤ診断アルゴリズムにおいて用いられる血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）マーカーを検出又は測定するためのアッセイの例を記載する。

【０４６５】

Ａ．ＳＮＰジェノタイピングのためのＴａｑＭａｎ法の概説

[0446]一部の実施形態では、ＩＢＤ　ｓｇｉ診断パネルにおけるＳＮＰジェノタイピングアッセイは、ＴａｑＭａｎ　ＳＮＰジェノタイピングに基づく。定量的ジェノタイピングアッセイは、ヒト血液ゲノムＤＮＡ（ｇＤＮＡ）又はライセートサンプルを用いて、ＩＢＤ（特にＣＤ及びＵＣ）の診断及び／又は鑑別診断に有用であり得る。これらの対立遺伝子識別ＰＣＲアッセイは、配列の５’側に２つの異なる蛍光染料を含む２つの特異的オリゴヌクレオチド配列（例えば、ＦＡＭ染料又はＶＩＣ染料を含む蛍光性プローブ）であって、それらの各々が、副溝結合剤（融点エンハンサー）に連結された配列の３’側に非蛍光クエンチャーを有する前記配列を使用する。

【０４６６】

[0447]ＰＣＲ増幅の間に、各プローブは標的ＤＮＡ上のフォワード及びリバースプライマーの間でその相補的配列に特異的にアニーリングする。ＤＮＡポリメラーゼは固有の５’ヌクレアーゼ活性を有するため、ゲノム配列にハイブリダイズしたプローブの選択的切断が起こる。これは、クエンチャーからのリポーター染料の分離に起因する蛍光の増加をもたらす。従って、ある染料対他の染料（ＦＡＭ対ＶＩＣ）の選択的増加は、対立遺伝子が試験したゲノムＤＮＡ中に存在することを示す。

【０４６７】

Ｂ．対立遺伝子識別

[0448]各プローブの染料の相対蛍光強度の検査によってサンプルの遺伝子型を決定することができる。ＡＢＩのＳＤＳソフトウェアを用いて、２つの染料の強度のグラフプロットを作出することができる。ホモ接合性の野生型遺伝子型を、ＦＡＭの相対的に高い強度（ｙ軸）及びＶＩＣの非常に低い強度（ｘ軸）によって決定する。ホモ接合性の変異遺伝子型は、高いＶＩＣ（ｘ軸）、低いＦＡＭ（ｙ軸）を有する、類似するが反対のパターンを示す。データが分析されたら、ＡＢＩソフトウェアを用いて対立遺伝子「コール」を作出し、それぞれのＳＮＰに関する遺伝子型を決定する。

【０４６８】

[0449]いくつかの実施形態では、ＳＮＰジェノタイピングアッセイは、読み取り前及び読み取り後のデータ収集のためのＡＢＩ　７５００　Ｆａｓｔの使用を、Ａｐｐｌｉｅｄ

Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ Ｖｅｒｉｔｉ ９６－Ｗｅｌｌ Ｆａｓｔ Ｔｈｅｒｍａｌ Ｃｙｃｌｅｒ（ＡＢＩ Ｖｅｒｉｔｉ）上でのオフラインＰＣＲ増幅ステップと組み合わせるワークフローを用いる。この組み合わせにより、１人の実験室操作者が、複数のＡＢＩ Ｖｅｒｉｔｉマシン上での複数のジェノタイピングの実行（プレート当たり最大で９６個のサンプル）、次いで、１つのＡＢＩ ７５００ Ｆａｓｔ装置上での各反応プレートの迅速な事後読み取りを同時に実施することができる。ＳＮＰアッセイについては、ＰＣＲ反応混合物を自動又は手動でＴｅｃａｎ Ｆｒｅｅｄｏｍ ＥＶＯ １００自動ワークステーションにより９６ウェルプレート中で調製し、予備読み取りをＡＢＩ ７５００ ＦａｓｔリアルタイムＰＣＲシステム上で実施したら、反応プレートをオフライン増幅ステップのためにＡＢＩ Ｖｅｒｉｔｉに移す。増幅が完了した時、事後読み取り及びデータ分析のために反応プレートをＡＢＩ ７５００ Ｆａｓｔ装置に移し戻す。このワークフローにより、増幅前及び増幅後測定のために単一のＡＢＩ ７５００ Ｆａｓｔ装置を用いて複数のプレートを同時に増幅することができる。

【０４６９】

Ｃ．アッセイデータ報告

[0450]ＩＢＤ ｓｇｉ診断試験は、免疫応答に影響する遺伝的感受性を評価するための４つのＳＮＰジェノタイピングアッセイ（表３４参照）を含む。

【０４７０】

表３４：ＳＮＰアッセイデータ出力

【表３４】

アッセイ名	SNP ID	ABI 読み出し（csv ファイル）	遺伝子型（コール）
ATG16L1 SNP	rs2241880	VIC_1	ホモ接合性 AA
		両方	ホモ接合性 AG
		FAM_1	ホモ接合性 GG
ECM1 SNP	rs3737240	VIC_2	ホモ接合性 CC
		両方	ホモ接合性 CT
		FAM_2	ホモ接合性 TT
NKX2-3 SNP	rs10883365	VIC_10	ホモ接合性 AA
		両方	ホモ接合性 AG
		FAM_10	ホモ接合性 GG
STAT3 SNP	rs744166	VIC_11	ホモ接合性 AA
		両方	ホモ接合性 AG
		FAM_11	ホモ接合性 GG

【０４７１】

Ｄ．ＡＴＧ１６Ｌ１ ＳＮＰ ｒｓ２２４１８８０ジェノタイピングアッセイ

[0451]ＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子は第２染色体上に位置し、自食作用の間のオートファゴソームの形成に関与することが知られるタンパク質をコードする。ＡＴＧ１６Ｌ１ １１５５（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰ（ＳＮＰ ＩＤ：ｒｓ２２４１８８０）は、ＡＡ位置についてＴ３００ＡであるｃＤＮＡ配列のコード領域位置１１５５Ａ＞Ｇ内に位置する。ＡＴＧ１６Ｌ１ ＳＮＰ ｒｓ２２４１８８０ジェノタイピングアッセイは、全血サンプルから調製されたゲノムＤＮＡ（ｇＤＮＡ）又はライセートサンプルを用いてＩＢＤ患者におけるＡＴＧ１６Ｌ１ １１５５（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰを検出するための実験室で開発された試験（ＬＤＴ）である。この定性的ジェノタイピングアッセイはＩＢＤの診断に有用である。

【０４７２】

[0452]各遺伝子型について、以前にジェノタイピングされた血液ライセート又はｇＤＮＡサンプルを各試行のための対照として用いる。これらの対照の遺伝子型を、両方の鎖上で配列決定することにより確認する。非鋳型対照（ＮＴＣ）も各試行に含まれる。

【０４７３】

[0453]ｇＤＮＡ対照を、全血サンプルから単離されるＤＮＡ、又は同じ全血サンプルから調製される血液ライセートから調製する。下記の３つの対照を各アッセイにおいて泳動する。

ＡＴＧ１６Ｌ１　１１５５（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰジェノタイピングアッセイ対照ＧＧ
ＡＴＧ１６Ｌ１　１１５５（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰジェノタイピングアッセイ対照ＡＧ
ＡＴＧ１６Ｌ１　１１５５（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰジェノタイピングアッセイ対照ＡＡ

【０４７４】

Ｅ．ＥＣＭ１　ＳＮＰジェノタイピングアッセイ

[0454]ＥＣＭ１遺伝子は第１染色体上に位置し、腸壁の障壁機能の維持に関与する細胞外マトリックスタンパク質１をコードし、ＮＦ－κＢ炎症経路を活性化する。ＥＣＭ１５５８（Ｃ＞Ｔ）ＳＮＰ（ＳＮＰ　ＩＤ：ｒｓ３７３７２４０）は、ＡＡ位置についてＴ１３０Ｍであるｃ ＤＮＡ配列のコード領域位置５８８Ｃ＞Ｔ内に位置する。

【０４７５】

[0455]ＥＣＭ１　ＳＮＰ　ｒｓ３７３７２４０ジェノタイピングアッセイは、全血サンプルから調製されたｇＤＮＡ又はライセートサンプルを用いてＩＢＤ患者におけるＥＣＭ１　５５８（Ｃ＞Ｔ）ＳＮＰ遺伝子型を検出するための実験室で開発された試験（ＬＤＴ）である。この定性的ジェノタイピングアッセイはＩＢＤの診断に有用である。

【０４７６】

[0456]各遺伝子型について、以前にジェノタイピングされた血液ライセート又はｇＤＮＡサンプルを各試行のための対照として用いる。これらの対照の遺伝子型を、両方の鎖上で配列決定することにより確認する。非鋳型対照（ＮＴＣ）も各試行に含まれる。ｇＤＮＡ対照を、全血サンプル、又は同じ全血サンプルから調製される血液ライセートから調製する。

ＥＣＭ１　５５８（Ｃ＞Ｔ）ＳＮＰジェノタイピングアッセイ対照ＴＴ
ＥＣＭ１　５５８（Ｃ＞Ｔ）ＳＮＰジェノタイピングアッセイ対照ＣＴ
ＥＣＭ１　５５８（Ｃ＞Ｔ）ＳＮＰジェノタイピングアッセイ対照ＣＣ

【０４７７】

Ｆ．ＮＫＸ２－３　ＳＮＰジェノタイピングアッセイ

[0457]ＮＫＸ２－３遺伝子は第１０染色体上に位置する。ＮＫＸ２－３（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰ（ＳＮＰ　ＩＤ：ｒｓ１０８８３３６５）はイントロン中に位置する（位置１０１２８７７６４）。ＮＫＸ２－３　ｒｓ１０８８３３６５ジェノタイピングアッセイは、全血サンプルから調製されるゲノムＤＮＡ（ｇＤＮＡ）又はライセートサンプルを用いてＩＢＤ患者においてＮＫＸ２－３（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰ遺伝子型を検出するための実験室で開発された試験（ＬＤＴ）である。この定性的ジェノタイピングアッセイはＩＢＤの診断に有用である。

【０４７８】

[0458]各遺伝子型について、以前にジェノタイピングされた血液ライセート又はｇＤＮＡサンプルを各試行のための対照として用いる。これらの対照の遺伝子型を、両方の鎖上で配列決定することにより確認する。非鋳型対照（ＮＴＣ）も各試行に含まれる。ＤＮＡ対照を、全血サンプル、又は同じ全血サンプルから調製される血液ライセートから調製する。

ＮＫＸ２－３（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰジェノタイピングアッセイ対照ＧＧ
ＮＫＸ２－３（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰジェノタイピングアッセイ対照ＡＧ
ＮＫＸ２－３（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰジェノタイピングアッセイ対照ＡＡ

【０４７９】

Ｇ．ＳＴＡＴ３　ＳＮＰジェノタイピングアッセイ

[0459]ＳＴＡＴ３遺伝子は第１７染色体上に位置し、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）などの種々の自己免疫障害において重要な役割を果たしている。ＳＴＡＴ３（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰ（ＳＮＰ　ＩＤ：ｒｓ７４４１６６）は、３’ＵＴＲの５’フランキング領域に位置する（位置４０５１４２０１）。ＳＴＡＴ３　ｒｓ７４４１６６ジェノタイピングアッセイは、全

血サンプルから調製されるｇＤＮＡ又はライセートサンプルを用いてＩＢＤ患者においてＳＴＡＴ３（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰ遺伝子型を検出するための実験室で開発された試験（ＬＤＴ）である。この定性的ジェノタイピングアッセイはＩＢＤの診断に有用である。

【０４８０】

[0460]各遺伝子型について、以前にジェノタイピングされた血液ライセート又はｇＤＮＡサンプルを各試行のための対照として用いる。これらの対照の遺伝子型を、両方の上で配列決定することにより確認する。

ＳＴＡＴ３（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰジェノタイピングアッセイ対照ＧＧ
ＳＴＡＴ３（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰジェノタイピングアッセイ対照ＡＧ
ＳＴＡＴ３（Ａ＞Ｇ）ＳＮＰジェノタイピングアッセイ対照ＡＡ

【０４８１】

Ｈ．ＦｌａＸアッセイ

[0461]一部の実施形態では、ＦｌａＸアッセイは組換えＦｌａＸ細菌抗原を用いて、ヒト血清中の抗ＦｌａＸ　ＩｇＧ抗体を測定する。このアッセイはＩＢＤ（特にＣＤ及びＵＣ）の診断及び鑑別診断に有用である。

【０４８２】

[0462]一部の実施形態では、前記アッセイは、標準的な９６ウェルプレートフォーマットでの自動化間接ＥＬＩＳＡの実行である。最初に、組換えＦｌａＸ抗原をプレートのウェル表面上に被覆した後、遮断する。希釈された患者血清（１／１００）をウェルに添加し、インキュベートする。未結合の分子を洗浄除去した後、アルカリホスファターゼで標識された検出抗体を、ウェル中でインキュベートする。２回目の洗浄後、比色シグナルの現像のために基質を添加する。停止溶液の添加時に、光密度（ＯＤ）についてプレートを読み取る。標準曲線から抗ＦｌａＸ抗体濃度を算出し、血清１ミリリットル当たりのＥＬＩＳＡ単位（ＥＵ／ｍＬ）で報告する。

【０４８３】

Ｉ．Ｆｌａ２アッセイ

[0463]一部の実施形態では、Ｆｌａ２アッセイは組換えＦｌａ２細菌抗原を用いて、ヒト血清中の抗Ｆｌａ２　ＩｇＧ抗体を測定する。Ｆｌａ２アッセイはＩＢＤ（特にＣＤ及びＵＣ）の診断及び鑑別診断に有用である。

【０４８４】

[0464]一部の実施形態では、前記アッセイは、標準的な９６ウェルプレートフォーマットでの自動化間接ＥＬＩＳＡの実行である。最初に、組換えＦｌａ２抗原をプレートのウェル表面上に被覆した後、遮断する。希釈された患者血清（１／１００）をウェルに添加し、インキュベートする。未結合の分子を洗浄除去した後、アルカリホスファターゼで標識された検出抗体を、ウェル中でインキュベートする。２回目の洗浄後、比色シグナルの現像のために基質を添加する。停止溶液の添加時に、光密度（ＯＤ）についてプレートを読み取る。標準曲線から抗Ｆｌａ２抗体濃度を算出し、血清１ミリリットル当たりのＥＬＩＳＡ単位（ＥＵ／ｍＬ）で報告する。

【０４８５】

Ｊ．ＶＥＧＦアッセイ

[0465]一部の実施形態では、ヒトＶＥＧＦキットは、血清中のヒトＶＥＧＦを測定するためのサンドイッチ抗原検出ＥＬＩＳＡアッセイである（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｉｎｃ．）。このアッセイはＩＢＤ（特にＣＤ及びＵＣ）の診断及び鑑別診断に有用である。

【０４８６】

[0466]一部の実施形態では、前記アッセイは標準的な９６ウェルプレートフォーマットで実施される。プレートを、製造業者による抗ＶＥＧＦ抗体（捕捉抗体）で被覆する。試験時に、希釈された患者血清（１／２）をＶＥＧＦ捕捉結合インキュベーションのためにウェルに添加する。未結合の分子を洗浄除去した後、ビオチン化検出抗体を添加し、それはＶＥＧＦの第２の部位に結合する。２回目の洗浄後、３，３’，５，５’－テトラメチ

ルベンジジン（ＴＭＢ）と反応して比色シグナルを生成するストレプトアビジン－西洋わさびペルオキシダーゼを添加し、光密度（ＯＤ）読み取り装置により測定する。ＯＤの値を、標準曲線に対して算出して、ＶＥＧＦ濃度に関する値を生成し、血清１ミリリットル当たりのピコグラム（ｐｇ／ｍＬ）で報告する。

【０４８７】

[0467]製造業者の推奨プロトコールに基づいて、Ｔｅｃａｎ　Ｆｒｅｅｄｏｍ　ＥＶＯ１５０システムを用いることにより、このアッセイを自動化した。

【０４８８】

Ｋ．ＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ１及びＶＣＡＭ１アッセイ

[0468]一部の実施形態では、ヒト血管損傷ＩＩアッセイは、ＭＵＬＴＩ－ＡＲＲＡＹに基づく多重化サンドイッチ抗原検出アッセイである。このアッセイは、ヒト血清中のＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ１及びＶＣＡＭ１を測定するために用いられる（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　Ｉｎｃ．）。このアッセイはＩＢＤ（特にＣＤ及びＵＣ）の診断及び鑑別診断に有用である。

【０４８９】

[0469]一部の実施形態では、前記アッセイは、９６ウェルプレートフォーマットでのユニークな電気化学発光検出及びパターン化されたアレイを用いる。表面電極ウェル上のＣＲＰ、ＳＡＡ、ＩＣＡＭ１及びＶＣＡＭ１の各分析物に対する４つの捕捉抗体でプレートを被覆する。試験時に、希釈された患者血清（１／１０００）を、抗原捕捉インキュベーションのためにウェルに添加する。未結合の分子を洗浄除去した後、化学発光（ＳＵＬＦＯ－ＴＡＧ）標識された検出抗体を添加し、これは分析物の第２の部位に結合する。２回目の洗浄後、エネルギーを発光放射光シグナルに変換する電子励起を印加し、相対発光単位（ＲＬＵ）により測定することにより、プレートを読み取る。ＲＬＵ値を、標準曲線に対して算出して、濃度に関する値を生成し、ＣＲＰ及びＳＡＡについては血清１リットル当たりのミリグラム（ｍｇ／Ｌ）、又はＶＣＡＭ１及びＩＣＡＭ１については１ミリリットル当たりのマイクログラム（μｇ／ｍＬ）で報告する。

【０４９０】

[0470]製造業者の推奨プロトコールに基づいて、Ｔｅｃａｎ　Ｆｒｅｅｄｏｍ　ＥＶＯ１５０システム及びＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ　Ｊａｎｕｓシステムを用いることにより、これらのアッセイを自動化した。

【０４９１】

実施例１１（ＩＢＤ　ｓｇｉ試験のための参照範囲及び参照コール）：

[0471]本実施例は、本発明のＩＢＤ診断アルゴリズムにおいて検出又は測定された血清－遺伝子－炎症（ｓｇｉ）マーカーの各々のための参照範囲及び参照コールを例示する。いくつかの実施形態では、参照範囲又はコールは、特定のｓｇｉマーカーに関するカットオフ値、切点、変異の存在若しくは非存在、又はＩＦＡパターンの存在若しくは非存在に対応する。

【０４９２】

[0472]ＩＢＤ　ｓｇｉ試験のための参照範囲及び参照コールを個々のアッセイの各々に基づいて決定した（表３５参照）。

【０４９３】

表３５：ＩＢＳ　ｓｇｉアッセイのための参照範囲及び参照コール

【表３５】

アッセイ名	参照値／コール
ASCA IgA ELISA	<8.5 EU/mL
ASCA IgG ELISA	<17.8 EU/mL
抗 OmpC ELISA	<10.9 EU/mL
抗 CBir1IgG ELISA	<78.4 EU/mL
抗 A4-Fla2 IgG ELISA	<44.8 EU/mL
抗 Flax IgG ELISA	<33.4 EU/mL
ANCA ELISA	<19.8 EU/mL
IBD 特異的 pANCA IFA 核周囲パターン	検出されず
IBD 特異的 pANCA DNase 感受性	検出されず
ATG16L1 SNP（rs2241880）	A/A, A/G
ECM1 SNP（rs3737240）	C/C, C/T
NKX2-3 SNP（rs10883365）	A/A, A/G
STAT3 SNP（rs744166）	G/G, A/G
ICAM1	<0.54 μg/mL
VCAM1	<0.68 μg/mL
CRP	<13.2 mg/L
SAA	<10.9 mg/L
VEGF	<345 pg/mL

【０４９４】

[0473]血清学的及び炎症マーカーアッセイに関して、参照範囲は、参照範囲上限の１００００個の推定値にわたる９５％下側信頼区間（ＬＣＩ）であり、参照範囲上限はマーカー測定値の中央９５％の上側境界値である。各範囲限界のＬＣＩを、健常対照のデータベースから繰り返し１２０人の対象を無作為に選択するシミュレーションを用いて決定した。

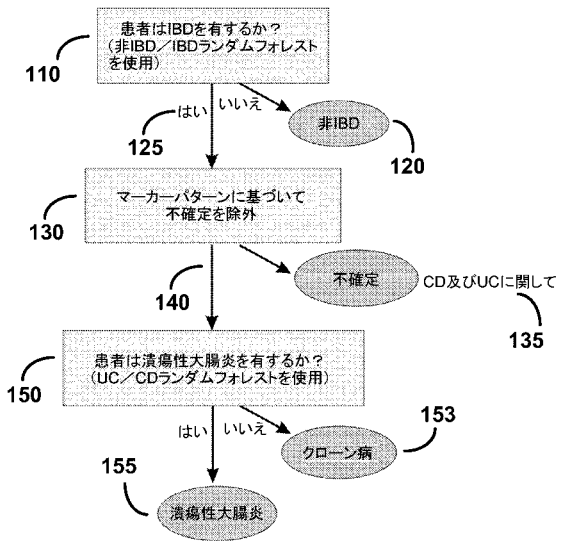
【０４９５】

[0474]遺伝子アッセイ（ＡＴＧ１６Ｌ１　ＳＮＰ　ｒｓ２２４１８８０、ＥＣＭ１　ＳＮＰ　ｒｓ３７３７２４０、ＮＫＸ２－３　ＳＮＰ　ｒｓ１０８８３３６５及びＳＴＡＴ３　ＳＮＰ　ｒｓ７４４１６６）は、定性的ジェノタイピングアッセイである。ＡＴＧ１６Ｌ１　ＳＮＰ　ｒｓ２２４１８８０については、Ａ／Ａ又はＡ／Ｇの参照値／コールは変異が検出されないことに等しい。ＥＣＭ１　ＳＮＰ　ｒｓ３７３７２４０については、Ｃ／Ｃ又はＣ／Ｔの参照値／コールは変異が検出されないことに等しい。ＮＫＸ２－３　ＳＮＰ　ｒｓ１０８８３３６５については、Ａ／Ａ又はＡ／Ｇの参照値／コールは変異が検出されないことに等しい。ＳＴＡＴ３　ＳＮＰ　ｒｓ７４４１６６については、Ｇ／Ｇ又はＡ／Ｇの参照値／コールは変異が検出されることに等しい。

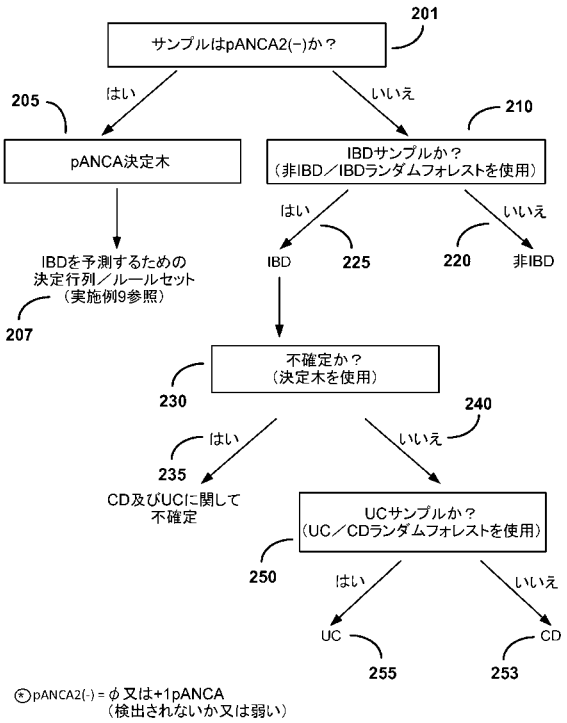
【０４９６】

[0475]本明細書の記載は例示的なものであり、限定的なものではないことが理解されるべきである。多くの実施形態は、本明細書の記載を読む際に当業者に明らかとなるであろう。それ故、本発明の範囲は、本明細書の記載を参照して決定されるべきではなく、添付の特許請求の範囲を、そのような特許請求の範囲の権利が及ぶ等価物の全範囲と共に参照して決定されるべきである。特許出願、特許、ＰＣＴ公報、及びＧｅｎｂａｎｋ受託番号を含むあらゆる論文及び参考文献の開示は、参照によりすべての目的のために本明細書に組み入れられる。

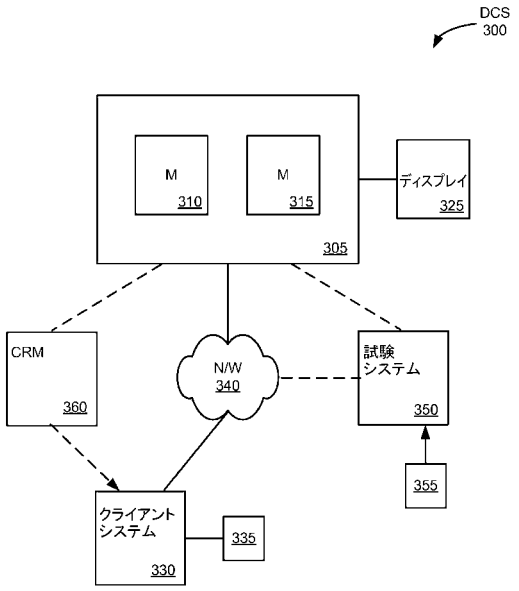
【図１】


患者はIBDを有するか？
（非IBD／IBDランダムフォレストを使用）
110
はい
いいえ
非IBD
120
125
マーカーパターンに基づいて不確定を除外
130
不確定
CD及びUCに関して
135
140
患者は潰瘍性大腸炎を有するか？
（UC／CDランダムフォレストを使用）
150
はい
いいえ
クローン病
153
155
潰瘍性大腸炎

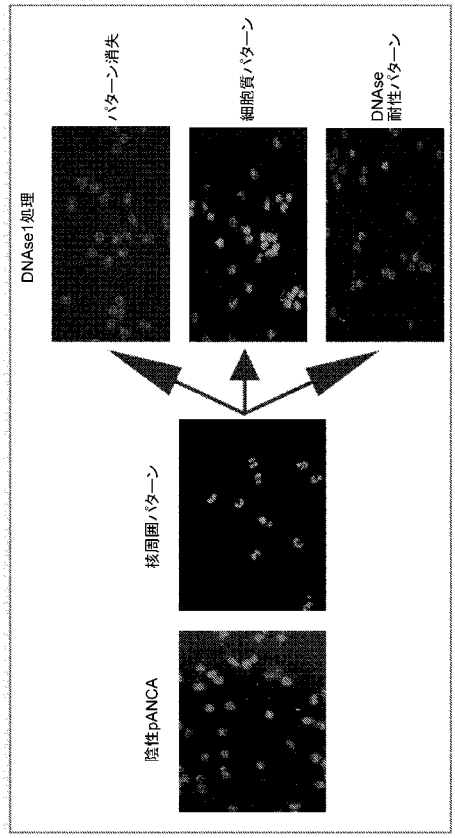
【図２】


サンプルはpANCA2(−)か？
201
はい
いいえ
205
210
pANCA決定木
IBDサンプルか？
（非IBD／IBDランダムフォレストを使用）
はい
いいえ
IBDを予測するための決定行列／ルールセット
（実施例9参照）
207
IBD
225
220
非IBD
不確定か？
（決定木を使用）
230
240
はい
いいえ
235
CD及びUCに関して不確定
UCサンプルか？
（UC／CDランダムフォレストを使用）
250
はい
いいえ
UC
255
CD
253
*pANCA2(-) = φ又は+1pANCA
（検出されないか又は弱い）

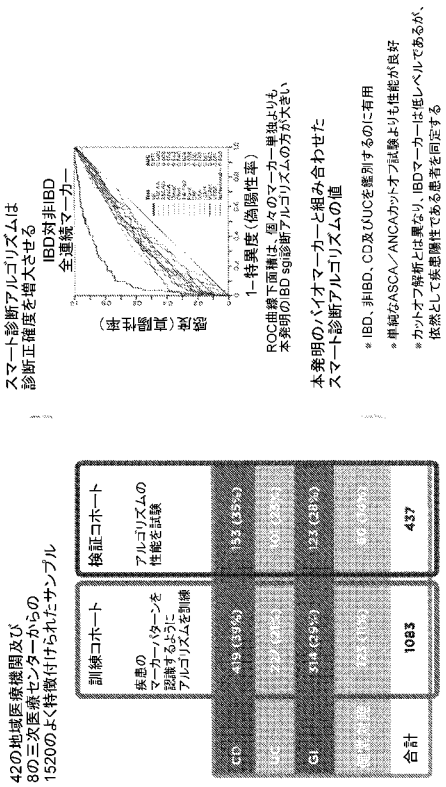
【図３】


DCS
300
M
310
M
315
ディスプレイ
325
305
CRM
360
N/W
340
試験システム
350
355
クライアントシステム
330
335

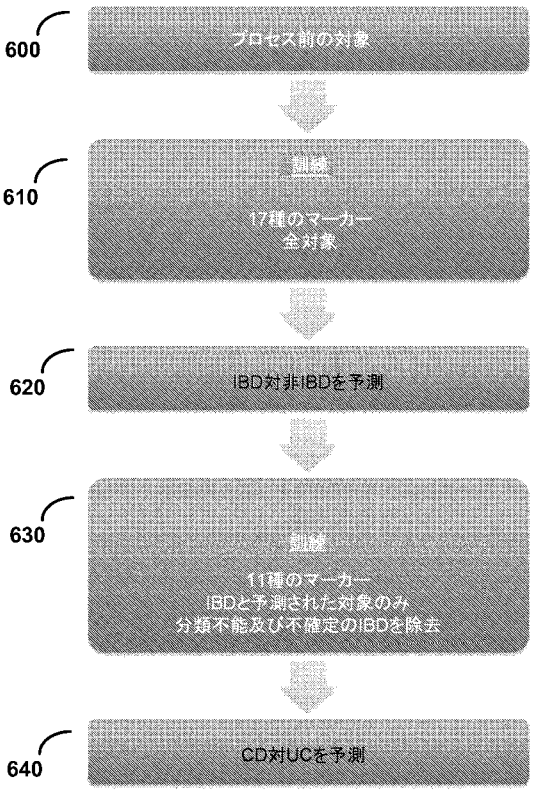
【図４】


パターン消失
細胞質パターン
DNAse耐性パターン
DNAse1処理
核周囲パターン
陰性pANCA

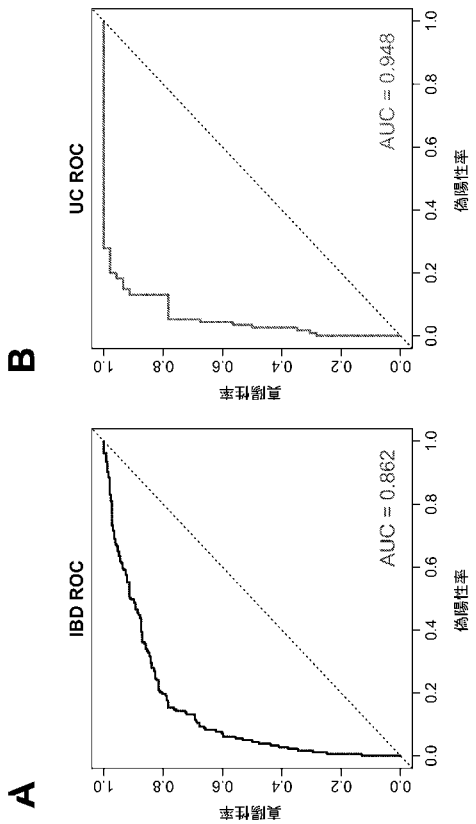
【図５】


スマート診断アルゴリズムは
診断正確度を増大させる
IBD対非IBD
全連続マーカー
感度（真陽性率）
1−特異度（偽陽性率）
ROC曲線下面積は、個々のマーカー単独よりも、
本発明のIBD sg診断アルゴリズムの方が大きい
本発明のバイオマーカーと組み合わせた
スマート診断アルゴリズムの値
* IBD、非IBD、CD及びUCを識別するのに有用
* 単純なASCA／ANCAカットオフ試験よりも性能が良好
* カットオフ解析とは異なり、IBDマーカーは低レベルであるが、
依然として疾患陽性である患者を同定する
42の地域医療機関及び
8の三次医療センターからの
15200よく特徴付けられたサンプル
訓練コホート
疾患の
マーカーパターンを
認識するように
アルゴリズムを訓練
検証コホート
アルゴリズムの
性能を試験
CD
UC
合計
415 (53%)
317 (41%)
732 (94%)
153 (35%)
47 (11%)
200 (46%)
514 (51%)
317 (31%)
831 (82%)
154 (28%)
47 (8%)
201 (36%)
1083
437

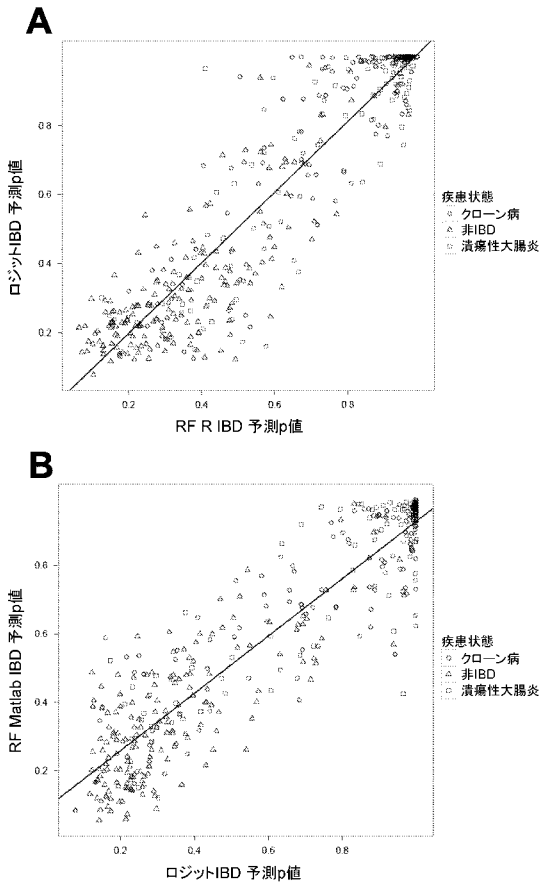
【図６】


600
プロセス前の対象
610
訓練
17種のマーカー
全対象
620
IBD対非IBDを予測
630
訓練
11種のマーカー
IBDと予測された対象のみ
分類不能及び不確定のIBDを除去
640
CD対UCを予測

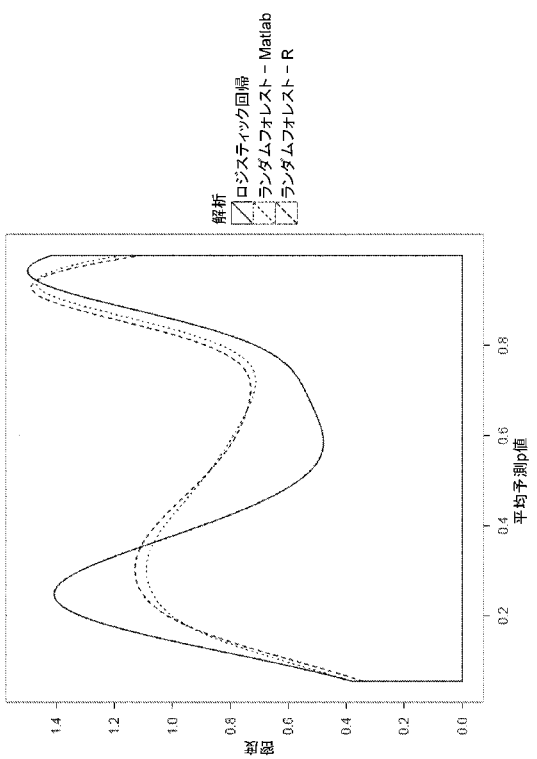
【図７】


B
UC ROC
AUC = 0.948
真陽性率
偽陽性率
A
IBD ROC
AUC = 0.862
真陽性率
偽陽性率

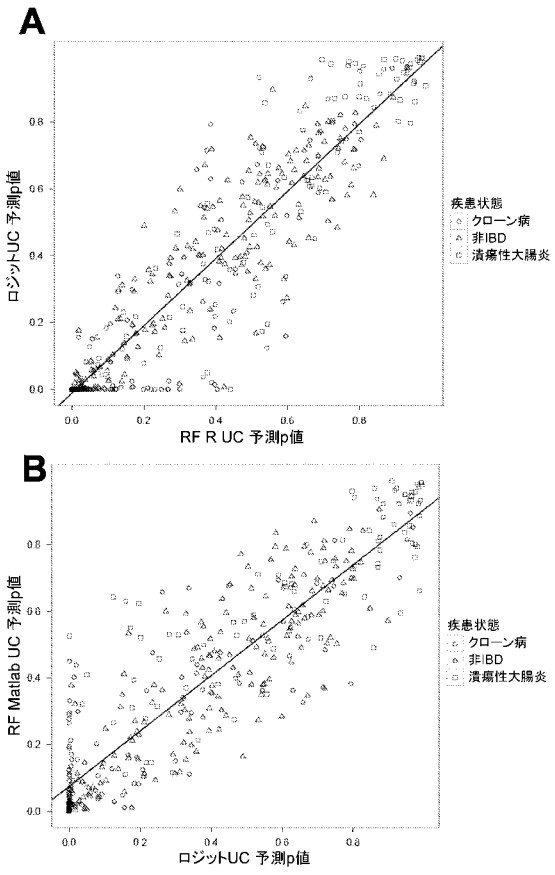
【図８】


A
ロジットIBD 予測p値
RF R IBD 予測p値
疾患状態
クローン病
非IBD
潰瘍性大腸炎
B
RF Matlab IBD 予測p値
ロジットIBD 予測p値
疾患状態
クローン病
非IBD
潰瘍性大腸炎

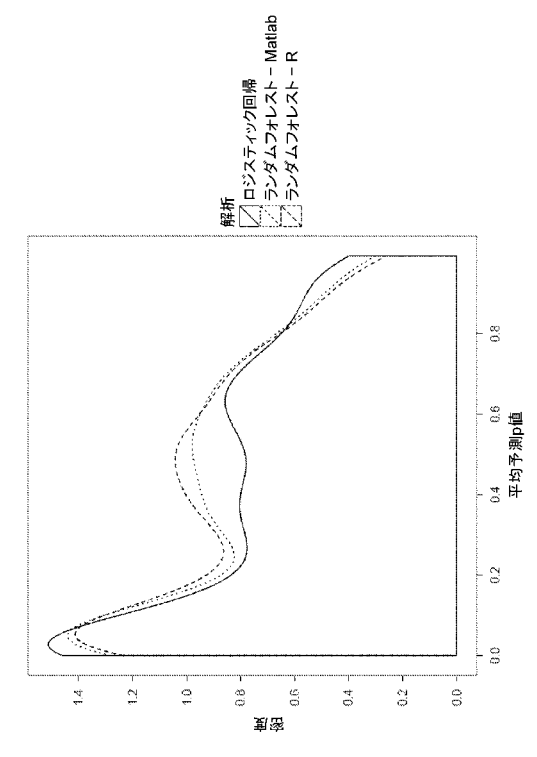
【図９】



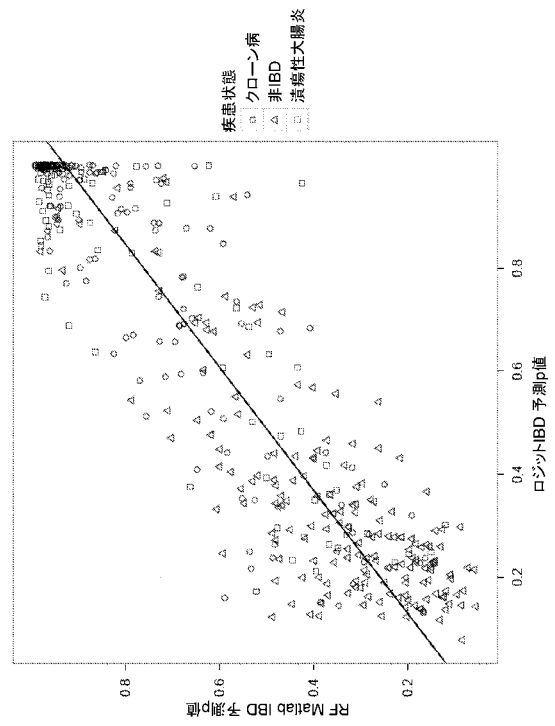
【図１０】



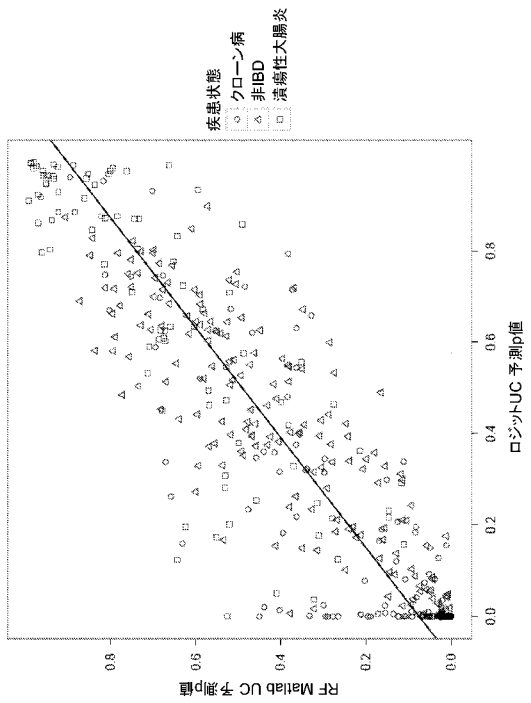
【図１１】



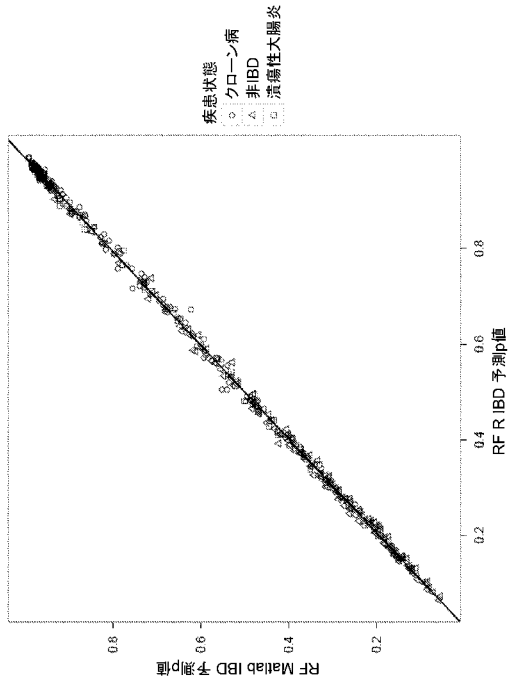
【図１２】



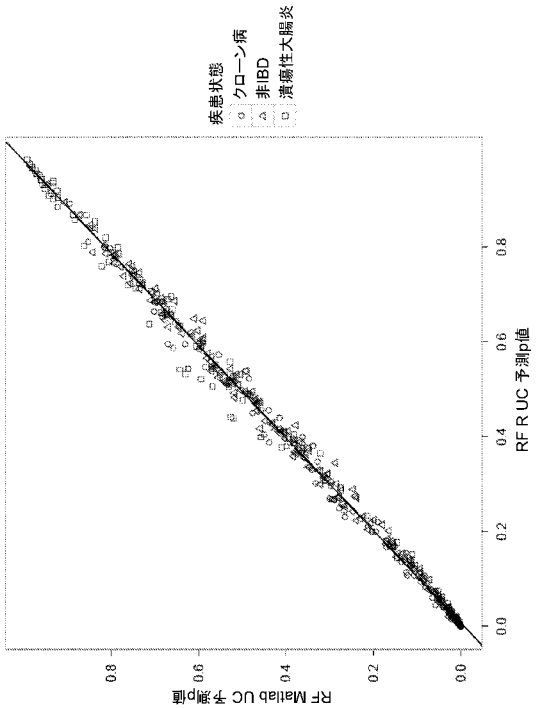
【図１３】



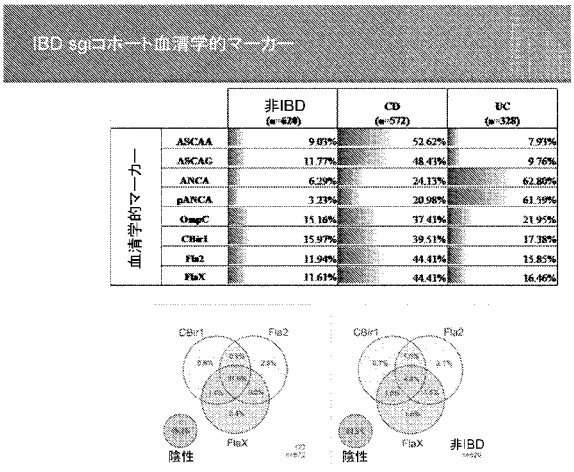
【図１４】



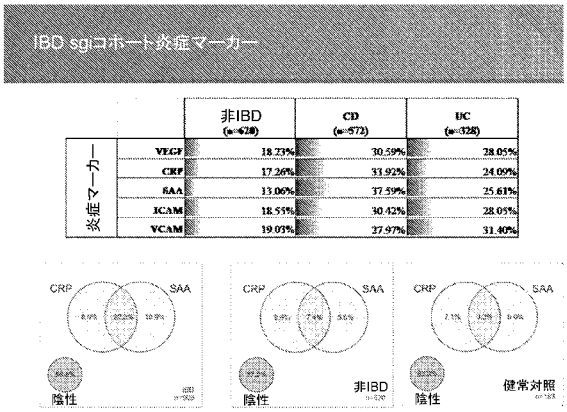
【図１５】



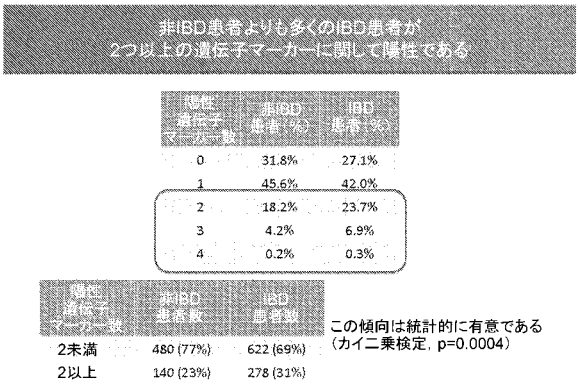
【図１６】



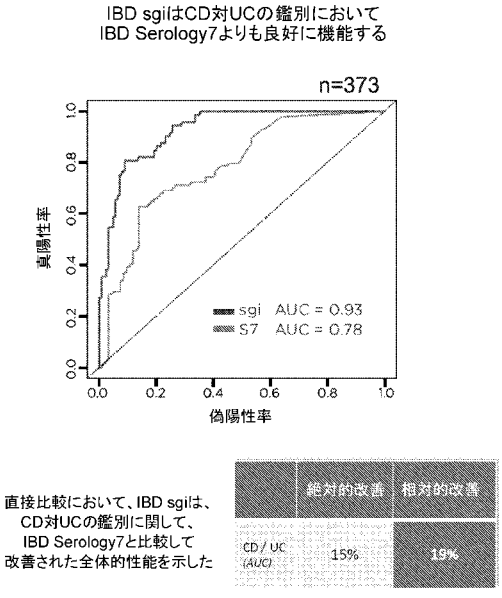
【図１７】



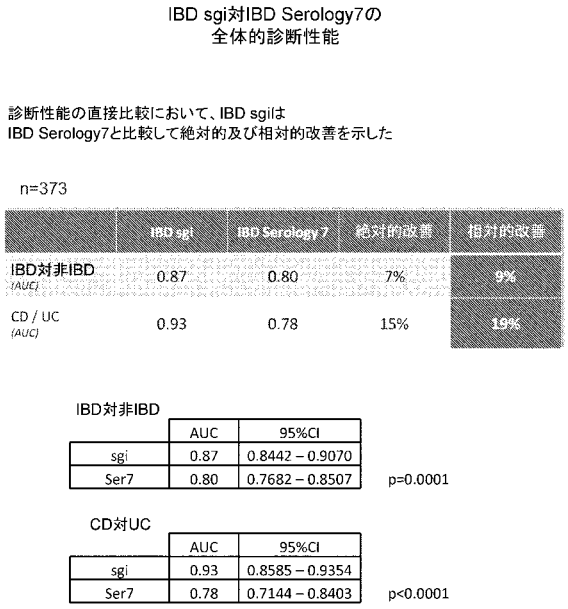
【図１８】



【図１９】



【図２０】



【配列表】
2015502740000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 12/61202

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - G06F 19/00; G01N 33/48, 33/53 (2013.01)
USPC - 702/19; 436/63; 435/4
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(8): G06F 19/00; G01N 33/48, 33/53 (2013.01)
USPC: 702/19; 436/63; 435/4

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC: 436/501, 63; 435/6.1, 7.1, 4; 702/19
(keyword limited; terms below)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PatBase; Google; PubMed
Search terms: inflammatory bowel disease, IBD, random forst, crohn's disease, ANCA, pANCA, pANCA2, ATG16L1, CRP, SAA, VEGF

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2011/0045476 A1 (BARKEN et al.) 24 February 2011 (24.02.2011) abstract; para [0034]-[0036], [0090]-[0092], [0094], [0118]-[0119], [0121]-[0125], [0177], [0195], [0233], [0277],[0307], [0359]-[0360], [0460]-[0461], [0534]-[0535], [0539], [0541]; Tables 1A, 26, 29	1-78
A	US 2008/0131439 A1 (LOIS et al.) 5 June 2008 (05.06.2008) entire document	1-78
A	US 2011/0218956 A1 (LOIS et al.) 8 September 2011 (08.09.2011) entire document	1-78
A	US 2011/0159521 A1 (GONG et al.) 30 June 2011 (30.06.2011) entire document	1-78

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* 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
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"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	Date of mailing of the international search report
12 March 2013 (12.03.2013)	22 MAR 2013
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 12/61202

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
Please see extra 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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

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

International application No.
PCT/US 12/61202

Continuation of Box III: Lack of Unity of Invention

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups I+: Claims 1-78, directed to a method for diagnosing inflammatory bowel disease (IBD) and/or a clinical subtype thereof in an individual, said method comprising:
(a) analyzing a sample obtained from said individual to determine the presence, level or genotype of one or more markers selected from the group consisting of a serological marker, a genetic marker, an inflammation marker, and a combination thereof in said sample to obtain a marker profile;
(b) applying a first random forest statistical analysis to said marker profile to obtain a decision whether said marker profile is an IBD sample or a non-IBD sample; wherein the first invention is limited to wherein the marker is a serological marker (claims 1, 3, 12-14 and 19-78) (applicants may opt for additional marker types to be searched by specifying the marker type and paying an additional invention search fee for each elected marker type).

The inventions listed as Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The special technical feature of the claims of Groups I+ claims is the marker type used to determine a diagnosis for IBD, wherein each subgroup is directed to a different marker type.

The common technical elements shared by the above groups is that they are related to a method for diagnosing inflammatory bowel disease (IBD) and/or a clinical subtype thereof in an individual, said method comprising:
(a) analyzing a sample obtained from said individual to determine the presence, level or genotype of one or more markers selected from the group consisting of a serological marker, a genetic marker, an inflammation marker, and a combination thereof in said sample to obtain a marker profile;
(b) applying a first random forest statistical analysis to said marker profile to obtain a decision whether said marker profile is an IBD sample or a non-IBD sample; (c) applying a decision tree or set of rules to said sample designated as an IBD sample to determine if said IBD sample is an inconclusive sample; and (d) if the sample is not inconclusive, but is an IBD sample, applying a second random forest statistical analysis to said IBD sample to determine a clinical subtype. These common technical elements do not represent an improvement over the combined prior art of US 2008/0131439 A1 to Lois et al. (hereinafter "Lois") and US 2011/0251100 A1 to Li et al. (hereinafter "Li"), as follows:
Lois teaches a method for diagnosing IBD and/or a clinical subtype thereof in an individual (para [0006]-[0009]), said method comprising: (a) analyzing a sample obtained from said individual to determine the presence or level of one or more markers selected from a serological markers in said sample to obtain a marker profile (para [0007]-[0008] - anti-neutrophil antibody; para [0035] - ANCA); and (b) applying a first random forest statistical analysis to said marker profile to obtain a decision whether said marker profile is an IBD sample or a non-IBD sample (para [0009], [0064]). Although Lois does not explicitly recite applying a second random forest analysis to determine a clinical subtype for the sample, Lois teaches the use of a random forest (para [0148]) to determine whether a sample is associated with a clinical subtype of IBD (para [0148]), it would have been obvious to a person of ordinary skill in the art to use first random forest to determine a diagnosis of IBD, and a second random forest to further determine classification based on the teaching of Lois. Although Lois also does not expressly recite applying a decision tree or set of rules to said sample designated as an IBD sample to determine if said IBD sample is an inconclusive sample, in a related disclosure, Li teaches the use of machine learning to determine decision rules for classification of different IBD subtypes (para [0154]). It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art to apply a set of descision rules, such as those developed via machine learning by Li, to indeterminate samples that did not produce an obvious classification based on the methods of Lois, in order to enable a more accurate diagnosis and determination of a course of effective treatment.

Therefore, the inventions of Groups I+ lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I		テーマコード（参考）
	Ｇ０１Ｎ	33/543	５４５Ａ
	Ｃ１２Ｎ	15/00	Ａ

(31)優先権主張番号 61/570,271
(32)優先日 平成23年12月13日(2011.12.13)
(33)優先権主張国 米国(US)

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,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,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,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,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,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＦＩＲＥＷＩＲＥ
２．ＪＡＶＡ
３．ＪＡＶＡＳＣＲＩＰＴ

(72)発明者 プリンセン, フレッド
アメリカ合衆国, カリフォルニア州, ラ ホヤ, カークウッド プレイス ６１０
(72)発明者 ロックトン, スティーブン
アメリカ合衆国, カリフォルニア州, サン ディエゴ, マウント タミ レーン ３３１９
(72)発明者 クローナー, リサ, ジェイ.
アメリカ合衆国, カリフォルニア州, サン ディエゴ, ラムズデル コート １１７０４
(72)発明者 フレッチャー, フレデリック, エー.
アメリカ合衆国, カリフォルニア州, サン ディエゴ, デール ストリート １４２９
(72)発明者 ストックフィッシュ, トーマス
アメリカ合衆国, カリフォルニア州, エスコンディード, キャニオン ロード ２３３６
(72)発明者 シング, シャラット
アメリカ合衆国, カリフォルニア州, ランチョ サンタ フェ, トップ オブ ザ モーニング ウェイ ８１７１

Ｆターム(参考) 4B024 AA11 CA01 CA09 CA20 HA08 HA11
4B063 QA01 QA13 QQ03 QQ28 QQ42 QQ52 QR32 QR35 QR55 QR62
QS25 QS34 QX02

专利名称(译)	改善炎症性肠病诊断的方法		
公开(公告)号	JP2015502740A	公开(公告)日	2015-01-29
申请号	JP2014537335	申请日	2012-10-19
[标]申请(专利权)人(译)	雀巢产品技术援助有限公司		
申请(专利权)人(译)	Nesuteku兴业ANONYME		
[标]发明人	プリンセンフレッド ロックトンスティーブン クローナーリサジェイ フレッチャーフレデリックエー ストックフィッシュトーマス シングシャラット		
发明人	プリンセン, フレッド ロックトン, スティーブン クローナー, リサ, ジェイ. フレッチャー, フレデリック, エー. ストックフィッシュ, トーマス シング, シャラット		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/543 C12N15/09		
CPC分类号	G01N33/54306 C12Q1/6883 C12Q2600/112 C12Q2600/156 C12Q2600/158 G01N33/6854 G01N33/6893 G01N2333/4737 G01N2333/49 G01N2333/70525 G01N2333/70542 G01N2333/775 G01N2800/065 G01N2800/60 G16B20/00 G16B40/00 G16H50/30 Y02A90/24 Y02A90/26		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A G01N33/53.D G01N33/53.N G01N33/53.X G01N33/53.M G01N33/543.545.A C12N15/00.A		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/CA01 4B024/CA09 4B024/CA20 4B024/HA08 4B024/HA11 4B063/QA01 4B063/QA13 4B063/QQ03 4B063/QQ28 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02		
代理人(译)	长谷川良树 池田 成人 小泉纯酒卷		
优先权	61/550293 2011-10-21 US 61/553853 2011-10-31 US 61/567096 2011-12-05 US 61/570271 2011-12-13 US		
其他公开文献	JP2015502740A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了通过检测一种或多种血清型的存在，不存在，水平和/或基因型来预测和诊断炎症性肠病（IBD）和亚型例如溃疡性结肠炎（UC）和克罗恩病（CD）的方法和系统发生炎症标志物。有利地，利用本发明，可以提供IBD对非IBD的诊断，以排除对CD和UC不确定的IBD，并且以更高的准确度区分CD和UC。

IBD 遺伝子（CD 及び UC）	結腸 IBD 遺伝子	UC 遺伝子	CD 遺伝子
IL23R	HLA 領域	ECM1	NOD2
IL12B/p40		IL10	ATG16L1
JAK2		IFNg	IRGM
STAT3		IL22	NLRP3
NKX2.3		IL26	5p13/PTGER4
3p21/MST1		OTUD3	PTPN2
CCNY		PLA2G2E	TNFSF15 (TL1A)
IL18RAP		ARPC2	IBD5/5q31
LYRM4			ZNF365
CDKAL4			PTPN22
TNFRSF6B			CCR6
PSMG1			LRRK2
			ICOSLG
			ITLN1
			ORMDL3