

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-528734
(P2017-528734A)

(43) 公表日 平成29年9月28日 (2017.9.28)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	N
	GO 1 N 33/53	R
	GO 1 N 33/53	D
	GO 1 N 33/53	T

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁)

(21) 出願番号 特願2017-527543 (P2017-527543)
 (86) (22) 出願日 平成27年8月7日 (2015.8.7)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年4月6日 (2017.4.6)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/044372
 (87) 国際公開番号 WO2016/023006
 (87) 国際公開日 平成28年2月11日 (2016.2.11)
 (31) 優先権主張番号 62/035,073
 (32) 優先日 平成26年8月8日 (2014.8.8)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 506405518
 アレゲーニー・シンガー リサーチ イン
 スティテュート
 アメリカ合衆国 15212 ペンシルバ
 ニア, ピッツバーグ, イースト ノース
 アベニュー 320
 (74) 代理人 110001438
 特許業務法人 丸山国際特許事務所
 (72) 発明者 アハーン, ジョセフ, エム.
 アメリカ合衆国 15090 ペンシルベ
 ニア, ウェックスフォード, マッターホル
 ン ドライブ 2486

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 診断用バイオマーカーとしての抗リンパ球自己抗体

(57) 【要約】

【解決手段】 提供されるのは、個体において全身性紅斑性狼瘡を診断又は観察する方法、系、及びキットである。特定の態様において、個体由来の白血球を含む血液サンプルにおいて、サンプル中のTリンパ球の表面に付着又は接触している自己抗体が定量化される。

【選択図】 図1

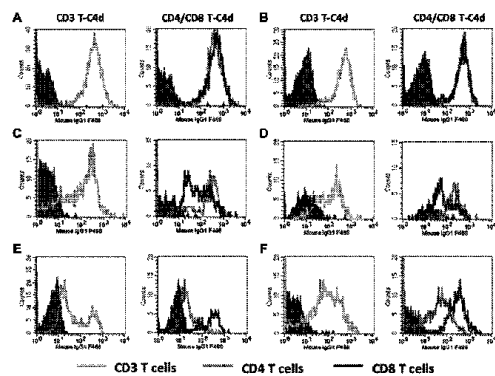


Fig. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

非全身性紅斑性狼瘡炎症性疾患又は非全身性紅斑性狼瘡炎症病態とは異なる個体において全身性紅斑性狼瘡を確定的に診断又は観察する方法であって、

個体由来の白血球を含む血液サンプルにおいて、サンプル中のＴリンパ球の表面に付着又は接触している個体の自己抗体のレベルを定量化する工程を含む方法。

【請求項 2】

Ｔリンパ球の表面に付着又は接触している個体の自己抗体のレベルは、血液サンプルから得た末梢血単核細胞の集団から測定される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

サンプル中のＴリンパ球は、 $CD4^+$ $Th1$ リンパ球、 $CD4^+$ $Th2$ リンパ球、及び $CD8^+$ 細胞障害性リンパ球からなる群から選択される少なくとも一つのＴリンパ球型によって表される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

サンプル中のＴリンパ球の表面に付着又は接触している全身性紅斑性狼瘡の診断用バイオマーカーのレベルを更に定量化する工程を更に含んでおり、診断用バイオマーカーは、 $C4d$ 、 $C3d$ 、補体経路の $C4$ 構成要素、及び補体経路の $C3$ 構成要素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】

診断用バイオマーカーは、 $C4d$ である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

非全身性紅斑性狼瘡炎症性疾患又は非全身性紅斑性狼瘡炎症病態とは異なる個体において全身性紅斑性狼瘡を確定的に診断又は観察する方法であって、

(a) 個体由来の白血球を含む血液サンプルにおいて、サンプル中のＴリンパ球の表面に付着又は接触している個体の自己抗体のレベルを定量化する工程と、

(b) (a) におけるレベルを、コントロールＴリンパ球の表面に付着又は接触している自己抗体のレベルと比較する工程とを含んでおり、

(a) におけるサンプル由来の自己抗体のレベルの増加が、個体の全身性紅斑性狼瘡を同定する方法。

【請求項 7】

Ｔリンパ球の表面に付着又は接触している個体の自己抗体のレベルは、血液サンプルから得た末梢血単核細胞の集団から測定される、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

サンプル中のＴリンパ球は、 $CD4^+$ $Th1$ リンパ球、 $CD4^+$ $Th2$ リンパ球、及び $CD8^+$ 細胞障害性リンパ球からなる群から選択される少なくとも一つのＴリンパ球型によって表される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

Ｔリンパ球は、 $CD4^+$ $Th1$ リンパ球である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 10】

Ｔリンパ球は、 $CD4^+$ $Th2$ リンパ球である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 11】

Ｔリンパ球は、 $CD8^+$ 細胞障害性リンパ球である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 12】

サンプル中のＴリンパ球の表面に付着又は接触している全身性紅斑性狼瘡の診断用バイオマーカーのレベルを更に定量化する工程を更に含んでおり、診断用バイオマーカーは、 $C4d$ 、 $C3d$ 、補体経路の $C4$ 構成要素、及び補体経路の $C3$ 構成要素からなる群から選択される、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 13】

診断用バイオマーカーは、 $C4d$ である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

10

20

30

40

50

非全身性紅斑性狼瘡炎症性疾患又は非全身性紅斑性狼瘡炎症病態とは異なる個体において全身性紅斑性狼瘡を確定的に診断又は観察する方法であって、

(a) 個体から白血球を含む血液サンプルを得る工程と、

(b) 血液サンプルから末梢血単核細胞集団を単離する工程と、

(c) 末梢血単核細胞集団を、末梢血単核細胞集団内のＴリンパ球の細胞表面に結合した自己抗体に特異的に結合する検出可能試薬を用いてインキュベートすることで、Ｔリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体を形成する工程と、

(d) Ｔリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体のレベルを測定する工程と、を含む方法。

【請求項 15】

10

Ｔリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体は、フローサイトメトリーによって測定される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

個体から得たＴ細胞 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体のレベルを、コントロール血液サンプルから得た類似のＴリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体のレベルと比較する工程を更に含んでおり、コントロール血液サンプルと比較した個体の血液サンプル由来のＴリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体のレベルの増加が、個体の全身性紅斑性狼瘡を同定する、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 17】

検出可能試薬は、フローサイトメトリーによって検出可能な蛍光標識抗ヒト I g 抗体である、請求項 14 に記載の方法。

20

【請求項 18】

蛍光標識抗ヒト I g 抗体は、蛍光標識抗ヒト I g G 抗体及び蛍光標識抗ヒト I g M 抗体からなる群から選択される、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

キットであって、

(a) Ｔリンパ球に結合する自己抗体を特異的に認識する蛍光標識抗体であって、抗 I g G モノクローナル抗体又は抗 I g M モノクローナル抗体である抗体と、

(b) 随意選択的に、C D 3 + C D 4 + Ｔリンパ球と C D 3 + C D 8 + Ｔリンパ球とを識別する系統特異的Ｔリンパ球表面マーカーと反応性のフルオロ結合モノクローナル抗体と、

30

(c) 随意選択的に、1 又は複数の生化学試薬と、

(d) 随意選択的に、全身性紅斑性狼瘡の診断におけるキットと (a)、(b) 及び (c) の構成要素の使用についての説明書と、

を含むキット。

【請求項 20】

フルオロ結合モノクローナル抗体は、C D 3、C D 4、C D 8、C X C R 3、C C R 4、C r t h 2、C C R 6、C X C R 5、及び C D 2 5 からなる群から選択される特定のＴリンパ球表面マーカーに反応性を有する、請求項 19 に記載のキット。

【請求項 21】

40

非全身性紅斑性狼瘡炎症性疾患又は非全身性紅斑性狼瘡炎症病態とは異なる個体において全身性紅斑性狼瘡を確定的に診断又は観察するためのシステムであって、

プロセッサと、

プログラム命令を含む非一時的なコンピュータ読出可能記憶媒体と、

を備えており、

プログラム命令は、実行されると、

(a) 個体由来の白血球を含む血液サンプルにおいて、サンプル中のＴリンパ球の表面に付着又は接触している個体の自己抗体のレベルを定量化する工程と、

(b) (a) におけるレベルを、コントロールＴリンパ球の表面に付着又は接触している自己抗体のレベルと比較する工程であって、(a) におけるサンプル由来の自己抗体の

50

レベルの増加が個体の全身性紅斑性狼瘡を同定する、工程と、
行うようにプロセッサに命令するように構成されている、システム。

【請求項 2 2】

Tリンパ球の表面に付着又は接触している、個体の自己抗体のレベルを、血液サンプルから得た末梢血単核細胞の集団から測定する、請求項 2 1 に記載のシステム。

【請求項 2 3】

サンプル中の Tリンパ球は、CD4⁺Th1リンパ球、CD⁺Th2リンパ球、及び CD8⁺細胞障害性リンパ球からなる群から選択される少なくとも一つの Tリンパ球型によって表される、請求項 2 2 に記載のシステム。

【請求項 2 4】

Tリンパ球は、CD4⁺Th1リンパ球である、請求項 2 2 に記載のシステム。

【請求項 2 5】

Tリンパ球は、CD4⁺Th2リンパ球である、請求項 2 2 に記載のシステム。

【請求項 2 6】

Tリンパ球は、CD8⁺細胞障害性リンパ球である、請求項 2 2 に記載のシステム。

【請求項 2 7】

命令は更に、実行されると、サンプル中の Tリンパ球の表面に付着又は接触している全身性紅斑性狼瘡の診断用バイオマーカーのレベルを更に定量化するようにプロセッサに指示するように構成された命令を含んでおり、診断用バイオマーカーは、C4d、C3d、補体経路の C4 構成要素、及び補体経路の C3 構成要素からなる群から選択される、請求項 2 1 に記載のシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

<連邦政府による資金提供を受けた研究の記載>

本発明は、(i) 国立衛生研究所により付与された契約第 RO1 AI077591号及び(ii) 米国国防総省により付与された研究認可第 W81XWH-06-2-0038号の下の政府支援を受けてなされた。政府は、本発明に一定の権利を有する。

【0002】

<関連出願の相互参照>

本出願は、2014年8月8日出願の米国仮特許出願第 62/035073号、表題「Methods of Using Anti-Lymphocyte Autoantibodies as Indicators for Systemic Lupus Erythematosus」の利益を主張し、この出願の開示は、引用を以てその全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0003】

全身性紅斑性狼瘡(SLE)(全身性自己免疫疾患の原型)は、過剰な自己抗体産生、補体系の活性化、リンパ球機能不全やリンパ球減少などの様々な免疫異常によって特徴付けられる。補体系が活性化すると、C3及びC4のタンパク質分解切断が起こって、最終的にC3dフラグメント及びC4dフラグメントが生じる。これらは、高反応性のチオエステル部分を含んでおり、病原体、細胞、又は免疫複合体の表面に共有結合することができる。本発明者らは最近、C4dが有意なレベルで、SLE患者の赤血球、網状赤血球、血小板及びリンパ球の表面に特異的に存在することを報告した。最近の多施設研究により、細胞結合補体活性化産物(cell-bound complement activation products)(CB-CAP)が、狼瘡の診断用バイオマーカーとして有効であると認められ、更なる報告は、狼瘡疾患の活性及び階層化(stratification)のバイオマーカーとしての大きな可能性を実証した。

【0004】

狼瘡バイオマーカーとしての役割に加えて、CB-CAPは、赤血球やTリンパ球など

10

20

30

40

50

の循環細胞に機能異常を与えることが分かっており、狼瘡の病因における関与が示唆される。C B - C A Pを生じさせる細胞事象及び分子事象の解明は、C B - C A P生成のダウンストリーム効果を防止、破壊、又は中和することによって、可能性がある治療薬ターゲットの同定に至り得る。C B - C A Pと狼瘡の病因との最も興味深い潜在的な関係の1つは、S L E患者が循環抗リンパ球抗体を宿すという、以前からあるが十分に理解されていない観察報告である。

【0005】

S L E患者における抗リンパ球抗体(A L A)、特にT細胞特異的A L Aは、1970年代に発見された。それ以来、A L Aの特性を明らかにする多くの取組みがなされてきた。しかしながら、疾患の病因へのその関与は、不確かなままである。S L Eにおいて主要な2つの型の抗T細胞抗体が既に説明されている。最初に、T細胞に4で最適に結合する低温反応性I g M抗体が、S L E患者において一般的なものとして報告された。しかしながら、当該抗体のインビボでの重要性は不明である。なぜなら、インビトロアッセイとインビボの病原性分子及び細胞機構との間に熱的差異があるためである。次に、狼瘡における中温反応性I g G抗T細胞抗体が報告された。当該抗体は、C D 3、C D 4、C D 4 5やI L - 2 Rなどの種々のT細胞表面分子に対する特異性が不均一であることが分かっている。

【0006】

狼瘡の病因について、これらのI g M抗T細胞抗体とI g G抗T細胞抗体の2つの異なる関与が示唆されており、双方とも細胞ターゲットの破壊を伴うものである。I g Mは、古典的補体経路の活性化に500倍有効であり、T細胞の溶解攻撃作用の可能性を示唆している。しかしながら、低温反応性I g M分子の結合が低温でしか起こらないのであれば、このことで、インビボでのこの可能性は除外されるであろう。また、I g M抗T細胞抗体の存在は、S L Eにおいて、リンパ球の減少と相関することは示されなかった。I g Gは、あまり強力でない補体活性化剤である。しかしながら、その中温反応性は、そのようなインビボ機構を少なくとも実行可能とする。抗T細胞I g Gについて、可能性がある他の役割として、抗体依存性細胞障害作用(A D C C)と、T細胞シグナル伝達及び遺伝子発現の調節とが含まれることが示唆されている。

【0007】

幾つかの報告は、狼瘡におけるTリンパ球機能不全は、固有の欠陥(intrinsic defect)に起因しているというよりもむしろ、循環I g M抗T細胞自己抗体及びI g G抗T細胞自己抗体がトリガーとなるかもしれないことを示唆している。しかし、2つの可能性は互いに相容れなくはない。纏めると、先行する報告によれば、抗T細胞抗体は、一部のS L E患者において存在し、そして疾患の病因におけるその潜在的関与の解明には、アイソタイプ、結合及び細胞障害作用の温度振幅(thermal amplitude)、並びに抗原特異性が考慮されるべきであることが示唆されている。

【発明の概要】

【0008】

ある態様において、非全身性紅斑性狼瘡炎症性疾患(nonsystemic lupus erythematosus inflammatory disease)又は非全身性紅斑性狼瘡炎症病態とは異なる個体において全身性紅斑性狼瘡を確定的に診断又は観察する方法及びシステムが提供される。当該方法及びシステムは、個体由来の白血球を含む血液サンプルにおいて、サンプル中のTリンパ球の表面に付着又は接触している個体の自己抗体のレベルを定量化することを含む。

【0009】

ある態様では、キットが提供され、当該キットは、(a) Tリンパ球に結合する自己抗体を特異的に認識する蛍光標識抗体であって、抗I g Gモノクローナル抗体又は抗I g Mモノクローナル抗体である抗体と、(b) 随意選択的に、C D 3 + C D 4 + Tリンパ球とC D 3 + C D 8 + Tリンパ球とを識別する系統特異的Tリンパ球表面マーカーと反応性を有するフルオロ結合モノクローナル抗体と、(c) 随意選択的に、1又は複数の生化学試薬と、(d) 随意選択的に、全身性紅斑性狼瘡の診断におけるキットと、(a)、(b)

10

20

30

40

50

及び(c)の構成要素との使用についての説明書とを含む。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】図1A～図1Fは、C4dが、SLE患者においてCD8T細胞に対してCD4T細胞に特異的に結合し得ることを示す。CD3、CD4、又はCD8を有するT細胞に結合したC4dのレベルを、来院日に得た単一の血液サンプルを用いて、同時に測定した。6人の代表的なSLE患者のフローサイトメトリーのヒストグラムが示されており、同じ患者における所定の時間でのCD4T細胞及びCD8T細胞上の類似の(パネルA及びパネルB)、又は異なる(パネルC～パネルF)レベルでC4dが存在することを示している。クローズドヒストグラムは、Igアイソタイプコントロール染色を表す。オープンヒストグラムは、C4d特異的染色を表す。

10

【0011】

【図2A】図2Aは、C4d及びIgが、SLE患者においてT細胞の表面に同時に存在するが、他の疾患患者又は健康なコントロールにおいて存在しないことを示している。326人のSLE患者から調製した末梢血CD3T細胞を、フローサイトメトリーによって、表面結合Ig(T-Ig)及び表面結合C4d(T-C4d)について測定した。SLE患者の4つの異なる群、C4d⁻/Ig⁻(青色の菱形符号)、C4d⁺/Ig⁺(赤色の正方形符号)、C4d⁺/Ig⁻(緑色の三角形符号)、及びC4d⁻/Ig⁺(水色の円形符号)が示されている。

20

【図2B】図2Bは、C4d及びIgが、SLE患者においてT細胞の表面上に同時に存在するが、他の疾患患者又は健康なコントロールにおいて存在しないことを示している。SLE患者(n=326)、他の疾患(n=185)患者、及び健康なコントロール(n=48)から得たCD3T細胞のT-Igレベルを、フローサイトメトリーによって測定した。赤色の水平線は、T-Ig陽性について、実験に基づいて決定したカットオフを示す。

20

【図2C】図2Cは、C4d及びIgが、SLE患者においてT細胞の表面上に同時に存在するが、他の疾患患者又は健康なコントロールにおいて存在しないことを示している。T細胞に結合したC4d及びIgのレベルを、来院日に得た単一の血液サンプルを用いたフローサイトメトリーによって測定した。10人のSLE患者の代表的な結果が示されている。

30

【0012】

【図3A】図3Aは、T-C4d及びT-Igのレベルが経時的に変動するが、SLE患者における特定のT細胞サブセットのレベルと概ね相関することを示している。(A)T細胞に結合したC4dのレベル(明るい色のカラム)及びIgのレベル(暗い色のカラム)を、異なる来院時に得た単一の血液サンプルを用いたフローサイトメトリーによって測定した。

【図3B】図3Bは、T-C4d及びT-Igのレベルが経時的に変動するが、SLE患者における特定のT細胞サブセットのレベルと概ね相関することを示している。(B)SLE患者のCD4(明るい色のカラム)T細胞及びCD8(暗い色のカラム)T細胞の表面に存在するC4d及びIgを、多色フローサイトメトリー分析を用いて測定した。

40

【0013】

【図4】図4A～図4Dは、血漿及び免疫グロブリンが、ドナーのTC4dのシグネチャを正常なT細胞に移すことを示している。健康なコントロールから調製したPBMCは、処理されず(パネルA;ベースライン表現型)、2人のT-C4d+SLE患者の血漿(パネルB1及びC1)又は精製したIg(パネルB2及びパネルC2)でインキュベートされた。ネガティブコントロールとして、細胞は、健康なコントロールの血漿(パネルD1)と、又は精製したIg(パネルD2)とでインキュベートされた。

【図4C】図4A～図4Dは、血漿及び免疫グロブリンが、ドナーのTC4dのシグネチャを正常なT細胞に移すことを示している。健康なコントロールから調製したPBMCは、処理されず(パネルA;ベースライン表現型)、2人のT-C4d+SLE患者の血漿

50

(パネル B 1 及び C 1) 又は精製した I g (パネル B 2 及びパネル C 2) でインキュベートされた。ネガティブコントロールとして、細胞は、健康なコントロールの血漿 (パネル D 1) と、又は精製した I g (パネル D 2) とでインキュベートされた。

【図 4 D】図 4 A ~ 図 4 D は、血漿及び免疫グロブリンが、ドナーの T C 4 d のシグネチャを正常な T 細胞に移すことを示している。健康なコントロールから調製した P B M C は、処理されず (パネル A ; ベースライン表現型)、2 人の T - C 4 d + S L E 患者の血漿 (パネル B 1 及び C 1) 又は精製した I g (パネル B 2 及びパネル C 2) でインキュベートされた。ネガティブコントロールとして、細胞は、健康なコントロールの血漿 (パネル D 1) と、又は精製した I g (パネル D 2) とでインキュベートされた。

【0014】

【図 5】図 5 A 及び図 5 B は、S L E 患者由来の抗 T 細胞自己抗体が、ドナーの T - C 4 d のシグネチャを、正常な T 細胞で生じさせることができることを示している。(A) I g G 及び I g M を、S L E 患者 (S L E 1 0 2 0 8 6、S L E 1 0 1 6 0 6、及び S L E 1 0 2 7 6 3 (T - C 4 d レベルが高い))、S L E 患者 (S L E 1 0 2 7 7 1 (T - C 4 d レベルが低い))、及び健康なコントロール (H C 2 0 0 9 及び H C 2 0 3 4) の血漿から精製した。精製した I g を、インビトロ移行に用いた。(B) 患者 S L E 1 0 2 0 8 6、S L E 1 0 1 9 1 9、及び S L E 1 2 8 3 0 5 の血漿について、I g G 及び I g M を欠乏させ、又は、健康なコントロールから調製した多数の白血球を用いて前もって吸収して、リンパ球反応性 I g を欠乏させた。その後、I g 欠乏血漿、又は白血球プレ吸収済み血漿を、インビトロ表現型の移行実験に用いた。

【0015】

【図 6 A】図 6 A は、S L E と健康なコントロールとの識別における R O C 比較を示す。図 6 A は、測定した全てのバイオマーカ-との R O C 比較を示す。

【図 6 B】図 6 B は、S L E と健康なコントロールとの識別における R O C 比較を示す。図 6 B は、S L E と健康なコントロールとの識別における、C B - C A P バイオマーカ- (T C 4 d、E C 4 d、R C 4 d、及び B C 4 d) のサブセットとの R O C 比較を示す。

【0016】

【図 7 A】図 7 A は、S L E と他の疾患との識別における R O C 比較を示す。図 7 A は、測定した全てのバイオマーカ-との R O C 比較を示す。

【図 7 B】図 7 B は、S L E と他の疾患との識別における R O C 比較を示す。図 7 B は、S L E と他の疾患との識別における、C B - C A P バイオマーカ- (T C 4 d、E C 4 d、R C 4 d、及び B C 4 d) のサブセットとの R O C 比較を示す。

【発明を実施するための形態】

【0017】

以下の特許出願の開示が、引用を以て本明細書に組み込まれる：(1) 特許協力条約国際出願 P C T / U S 1 3 / 7 3 9 8 3 号 (2013 年 12 月 10 日出願、表題「M e t h o d s a n d S y s t e m s f o r U s i n g C o m p l e m e n t - T a g g e d M o l e c u l e s a s B i o m a r k e r s o f D i s e a s e」) ; 及び (2) 特許協力条約国際出願 P C T / U S 1 4 / 0 1 5 0 3 2 号 (2014 年 2 月 6 日出願、表題「C e l l - B o u n d C o m p l e m e n t A c t i v a t i o n P r o d u c t s a s D i a g n o s t i c B i o m a r k e r s f o r P r e - L u p u s」)。

【0018】

本明細書で用いられているように、「炎症性疾患又は炎症病態」は、個体において炎症の増悪を引き起こす任意の免疫疾患又は免疫状態を指す。炎症性疾患又は炎症病態はまた、個体において炎症の増悪を引き起こす任意の感染症又は感染状態にも言及している。一部の実施形態において、炎症性疾患又は炎症病態は、「慢性炎症性疾患又は慢性炎症病態」である。慢性炎症性疾患又は慢性炎症病態は、何週か、何カ月か、又はそれ以上の期間の後にも解消しない炎症病態である。慢性炎症病態が、急性炎症病態に続く場合もあるし、一部の疾患又は状態について、急性炎症性疾患又は急性炎症病態の不在下で出現する場

10

20

30

40

50

合もある。炎症性疾患又は炎症病態として、以下が挙げられる：SLE、慢性関節リウマチ、脈管炎（その特定の形態がヴェゲナー肉芽腫である）、硬皮症、特発性炎症性筋炎、シェーグレン症候群、血清病、移植拒絶反応、鎌状血球貧血、痛風、妊娠の合併症、例えば子癇前症、多発性硬化症、心血管疾患、感染症、例えばC型肝炎ウイルス感染、未分化結合組織病又はオーバーラップ結合組織病、レイノー病、骨関節炎、乾癬性関節炎、原発性抗リン脂質症候群、皮膚狼瘡など。これらの疾患又は状態はそれぞれ、慢性炎症性疾患又は慢性炎症病態として記載される場合もある。

【0019】

本明細書中で用いられる「全身性紅斑性狼瘡」、「SLE」、又は「狼瘡」は、多臓器障害をもたらす原型自己免疫疾患である。この抗自己応答は、種々の核及び細胞質の細胞構成要素に対して向けられる自己抗体によって特徴付けられる。これらの自己抗体はそれぞれの抗原に結合して免疫複合体を形成し、これが循環して最終的に組織中に付着する。この免疫複合体の付着、及び結果として起こる補体系の活性化が、慢性的な炎症及び組織損傷を引き起こす。

10

【0020】

本明細書中で用いられる「非全身性紅斑性狼瘡炎症性疾患又は非全身性紅斑性狼瘡炎症病態」、「非SLE炎症性疾患又は非SLE炎症病態」、又は「非狼瘡炎症性疾患又は非狼瘡炎症病態」は、全身性紅斑性狼瘡、SLE、又は狼瘡でない任意の炎症性疾患或いは炎症病態であり、慢性関節リウマチ、脈管炎（その特定の形態がヴェゲナー肉芽腫である）、硬皮症、特発性炎症性筋炎、シェーグレン症候群、血清病、移植拒絶反応、鎌状血球貧血、痛風、妊娠の合併症、例えば子癇前症、多発性硬化症、心血管疾患、感染症、例えばC型肝炎ウイルス感染、未分化結合組織病又はオーバーラップ結合組織病、レイノー病、骨関節炎、乾癬性関節炎、原発性抗リン脂質症候群、皮膚狼瘡などが挙げられるが、これらに必ずしも限定されない。

20

【0021】

本明細書で用いられているように、「白血球」は、赤血球でも網状赤血球でもない循環血球、例えば、Tリンパ球及びBリンパ球、NK細胞、好酸球、好塩基球、顆粒白血球、好中球、単球、マクロファージ、巨大核細胞、形質細胞、循環内皮細胞、及び幹細胞に言及している。

【0022】

末梢血単核細胞(PBMC)は、丸型の核を有する任意の血球に対応できる。そのような細胞は、免疫応答に関与することが知られている。PBMCとして、例えば、リンパ球、例えばTリンパ球、Bリンパ球及びNK細胞、単球、並びにマクロファージが挙げられる。

30

【0023】

本発明を実施するのに利用されることが好ましいPBMCは、Tリンパ球に対応する。用語「Tリンパ球」は、本明細書中で、分化の任意のステージにあるTリンパ球を指し、未感作CD4⁺又はCD8⁺Tリンパ球、及び成熟CD4⁺又はCD8⁺リンパ球、例えばCD4⁺Th1リンパ球、CD4⁺Th2リンパ球（細胞表面にてCD4を発現するヘルパーT細胞）、及びCD8⁺細胞障害性細胞（細胞表面にてCD8を発現する細胞障害性Tリンパ球）が挙げられる。この目的で、そのような任意の細胞亜集団が、細胞ベースのそのようなマーカーを特異的に認識する抗体を用いることによって検出されてよい。そしてより具体的には、限定として意図されないが例として、用語「末梢血単核細胞(PBMC)を特異的に認識する抗体」は、PBMC集団上に存在するそのようなマーカーを特異的に認識する任意の抗体を指し、検出されるべきPBMC集団がT細胞集団であるならば抗CD3抗体、又は検出されるべきPBMC集団が細胞障害性Tリンパ球(CTL)集団であるならば抗CD8抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0024】

本明細書で用いられているように、「コントロール白血球」、「コントロールPBMC」、又は「コントロールTリンパ球」は夫々、本明細書中で定義される、炎症性疾患を患

50

ってもいなければ炎症病態にもなく、SLEを患っていない、又はより低いレベルの炎症性疾患若しくは炎症病態(SLEを含む)しか示さない個体から単離された白血球、PBM C、又はTリンパ球に言及している。これらにより、SLEを患う個人との比較によって、そのような「コントロール」Tリンパ球の何れかと比較された場合に、Tリンパ球に対する自己抗体の結合又は関係の、統計学的に意味がある増大が示される。炎症性疾患又は炎症病態が患者において診断又は観察されている場合、コントロール白血球、コントロールPBM C、又はコントロールTリンパ球はまた、より早い時期、例えばより早い週、月又は年に、同じ患者から単離された各細胞型に言及し得る。

【0025】

本明細書で用いられているように、「補体経路の構成要素」は、タンパク質C1、C4、C2、C3、及びそれらのフラグメント、例えば、C1q、C1r、C1s、C4a、C4b、C2a、C2b、C4b2a、C3a、C3b、C4c、C4d、iC3b、C3d、C3i、C3dgを含んでいる。また、C5、C5b、C6、C7、C8、C9、C1inh、MASP1、MASP2、CR1、DAF、MCP、CD59、C3aR、C5aR、C1qR、CR2、CR3、及びCR4、並びに、本明細書で詳細には記載されない他の補体経路構成要素、受容体、及びリガンドも含まれる。

10

【0026】

ある実施形態において種々のプロセス及びシステムを含む又は実施するハードウェアが用いられてよい。ハードウェアは、プロセッサ、例えば、プログラム命令を実行するように作動するCPUを含んでよい。プログラム命令は、非一時的なコンピュータ読み出し可能媒体、例えばリードオンリーメモリ(ROM)、ランダムアクセスメモリ(RAM)、コンパクトディスク、デジタルディスク、フラッシュメモリ、メモリカード、USBドライブ、光ディスク記憶媒体、分散コンピュータストレージプラットフォーム、例えばクラウドベースのアーキテクチャ、及び/又は他の記録媒体上に記憶されてよい。

20

【0027】

本明細書で用いられる場合、用語「プロセッサ」は、シングルプロセッサに言及し、又は、種々のプロセス工程と一緒に実施するマルチプルプロセッサに言及する。同様に、「記憶デバイス」又は「データベース」は、シングルデバイス又はシングルデータベースの言及し、或いは、プログラム命令及び/又はデータが全体にわたって分散されているマルチプルデバイス又はマルチプルデータベースに言及する。

30

【0028】

<略語>

A L A - 抗リンパ球自己抗体 (anti-lymphocyte autoantibodies)

【0029】

A D C C - 抗体依存性細胞障害作用 (antibody-dependent cellular cytotoxicity)

【0030】

C B - C A P - 細胞結合補体活性化産物 (cell-bound complement activation products)

【0031】

C 4 d - 補体C4活性化産物C4d (complement C4 activation product C4d)

40

【0032】

I g - 免疫グロブリン (immunoglobulin)

【0033】

S L E - 全身性紅斑性狼瘡 (systemic lupus erythematosus)

【0034】

T - C 4 d - T細胞結合C4d (T cell-bound C4d)

【0035】

補体活性化産物C4dを有するT細胞は、SLEの診断用バイオマーカーとしてかなり感度が高く、且つ特異的であることが分かっている。C4dを有するT細胞はまた、機能的に異常であり、狼瘡の病因における細胞結合補体活性化産物(CB-CAP)について

50

の関与を示唆している。しかしながら、C4dを有するT細胞(T-C4d)の生成を担う機構は、今まで特定されていない。本発明者らは、横断研究及び前向き研究を行なって、SLEにおける、T-C4dシグネチャの生成に果たす抗T細胞自己抗体の潜在的な役割を調査した。SLE患者、他の炎症性疾患患者、及び健康なコントロール由来のT細胞が、フローサイトメトリーによって、C4d及び/又は免疫グロブリン(Ig)の表面付着について測定された。患者からフレッシュに単離されたリンパ球が、細胞表面上の免疫グロブリン(即ち、ALA)の存在について、フローサイトメトリーによって、患者の血清又は血漿中で先にインキュベーションされることなく、直接分析された。インビトロ表現型移行実験が実行されて、T-C4dシグネチャをインビトロで生じさせる能力について、SLE患者由来のIgが測定された。結果から、SLEの個々の患者は、当該患者のT細胞及びT細胞サブセット上のC4d及び/又はIgの存在を反映する特異的シグネチャを有することが実証されている。また、シグネチャドナーから精製されたIgへの曝露によって、正常なT細胞に、SLE患者特異的シグネチャがインビトロで移行され得る。補体活性化は、C5b-9(膜攻撃複合体)又は細胞溶解の発生を介して進行せず、T-C4dは、リンパ球減少と相関しない。いかなる動作理論にも拘束されることを意図するものではないが、これらの結果から、患者特異的T-C4dシグネチャは、半溶解(sublytic)補体活性化をトリガーする抗T細胞自己抗体によって生じることが示唆される。このことは重要であるが、以前は、狼瘡の病因において、自己抗体と補体活性化との複雑な相互作用における関連が認識されていなかった。T-IgがT-C4dの付着を引き起こす、T-IgとT-C4dとの因果関係が、狼瘡患者において、狼瘡診断にとっただけでなく、疾患活性の観察にとっても重要であり得ると考えられる。

10

20

【0036】

抗Tリンパ球抗体及びCB-CAPの細胞への付着における2つの重要な特徴に基づいて、併用アッセイは、SLE患者において疾患活性を観察するのに特に有用であり得ると考えられている。第一に、本発明者らは、抗T細胞抗体が、細胞表面へのCB-CAPの付着を引き起こすことを実証したので、細胞表面上にCB-CAPが同時に存在しない抗T細胞抗体の検出を用いることで、CB-CAPがその後付着して、疾患活性の増大に寄与することとなると予測できる。対照的に、抗T細胞抗体の不在下でのCB-CAPの存在は、抗T細胞抗体が事前に付着していたことを示すことができ、そしてそれに応じて疾患活性に関して洞察を与えることができる。抗T細胞抗体及びCB-CAP双方の同時存在又は同時不在は、現在の疾患活性を反映すること、又は将来の活性を予測することができると考えられる。第二に、本発明者らは以前に、CB-CAPは、一旦付着すると、細胞の表面に共有結合して、おそらく、細胞の寿命の間、常時結合したままであることを実証した。対照的に、抗T細胞抗体は、共有結合しないので、結合後の任意の時期でも細胞から放出され得る。いかなる動作理論にも拘束されることを意図するものではないが、CB-CAPによる細胞の常時タギングに対する抗T細胞抗体のそのような「ヒットエンドラン」特性は、細胞のターゲティングがいつ起こったかについての洞察を与えることができ、かつ患者の疾患活性を観察且つ予測するのに有用であり得ると考えられる。

30

【0037】

本発明の一実施形態は、異なる炎症性疾患又は炎症病態(即ち、非全身性紅斑性狼瘡(「SLE」)炎症性疾患又は非SLE炎症病態)由来の合併症を有しているかもしれない個体とは異なる個体におけるSLEの特異的な診断法及び/又は観察法を開示する。その方法論は、個体の自己抗体のレベルを定量化する工程を含んでおり、自己抗体は、個体の血液サンプルから得られたTリンパ球の表面に付着しており、接触しており、又は安定に結合しているある種の形態にある。サンプルは、Tリンパ球の集団などの白血球を含む。この目的で、そして分析のために個体から得られた血液サンプルに関して、本発明の別の実施形態は、Tリンパ球の表面上付着した、又は表面と接触している、個体の自己抗体のレベルが、個体の血液サンプルから得られた末梢血単核細胞の集団から測定される方法論を開示する。

40

【0038】

50

本明細書を考察すると、任意の代表的なTリンパ球型が、開示されるこの方法論の範囲によって包含されることが理解されるであろう。即ち、Tリンパ球は、個体の血液サンプルから得られたものであり、これらは、代表的なTリンパ球であってよく、CD4+Th1リンパ球、CD4+Th2リンパ球、CD8+細胞障害性リンパ球、及び他のCD4+リンパ球(CD4+Th9ヘルパー細胞、CD4+Th17ヘルパー細胞、CD4+T濾胞ヘルパー(Tfh)細胞、及びCD4+調節T(Treg)細胞が挙げられるが、これらに限定されない)からなる群から選択されてよい。

【0039】

これらの実施形態は、非SLE炎症性疾患又は非SLE炎症病態ではなくSLEの特定の限定詞(determiner)として、個体内に存在する抗T細胞自己抗体を単一集中検出と定量化することに関する一方で、本発明の更なる実施形態は、定量化の集中と、個体内に存在する抗T細胞自己抗体の定量化に加えて、血液サンプル(例えばPBM C)から得られるTリンパ球の表面に付着又は接触しているSLE診断用バイオマーカのレベルを検出及び定量化する。この二次診断用バイオマーカは、C4d、C3d、補体経路のC4構成要素、及び補体経路のC3構成要素からなる群から選択される。実施形態において、好ましい二次診断用バイオマーカは、C4dである。

10

【0040】

別の実施形態は、異なる炎症性疾患又は炎症病態由来の合併症(即ち、非SLE炎症性疾患又は非SLE炎症病態)を患っている虞がある個体とは異なる個体において、SLEを確定的に診断及び/又は観察する方法を開示している。ある工程は、個体の自己抗体のレベルを定量化することを含んでおり、当該自己抗体は、白血球の集団を含んでいる個体の血液サンプルから得られたTリンパ球の表面に付着している、Tリンパ球の表面と接触している、又は、Tリンパ球の表面と安定結合している何らかの形態にあり(個体から単離されたPBM Cの調製が挙げられるが、これに限定されない)、付加的な工程と組み合わせられる。付加的な工程には、(本明細書にて定義されているように、例えば、コントロール血液サンプルから得られた末梢血単核細胞の集団から調製されたTリンパ球の集団を含む)類似する「コントロール」サンプルを得る工程と、試験される個体のレベルを、Tリンパ球のコントロール集団の表面に付着又は接触している自己抗体のレベルと比較する工程とが含まれる。試験される個体におけるサンプル由来の自己抗体のレベルの増加は、その個体内のSLEを特定する。ここでも、この特定の実施形態は、代表的なTリンパ球型として、個体の血液サンプルから得られ得る任意のTリンパ球を意図しており、当該Tリンパ球は、CD4+Th1リンパ球、CD4+Th2リンパ球、CD8+細胞障害性リンパ球、及び他のCD4+リンパ球(CD4+Th9ヘルパー細胞、CD4+Th17ヘルパー細胞、CD4+T濾胞ヘルパー(Tfh)細胞、及びCD4+調節T(Treg)細胞が挙げられるがこれらに限定されない)からなる群から選択されることが理解されるであろう。

20

30

【0041】

加えて、本明細書に記載されているように、Tリンパ球の集団を含む試験(即ち、個体の)サンプル、及びコントロールTリンパ球の集団を含む「コントロール」サンプルの両方の測定は、先に開示したように、Tリンパ球の表面に付着又は接触することが知られており、SLEと関連している付加的な診断用バイオマーカ又は診断用バイオマーカセットのレベルを定量化するような付加的な測定を更に含んでよいと考えられる。そのような診断用バイオマーカは、C4d、C3d、補体経路のC4構成要素、及び補体経路のC3構成要素からなる群から選択される。実施形態において、好ましいバイオマーカは、C4dである。

40

【0042】

本明細書で開示される別の実施形態は、非SLE炎症性疾患又は非SLE炎症病態とは異なる個体においてSLEを確定的に診断又は観察する方法を包含している。当該方法は、白血球を含む血液サンプルを個体から得る工程と、血液サンプルから末梢血単核細胞集団を単離する工程と、末梢血単核細胞集団内のTリンパ球の細胞表面に結合した自己抗体

50

に特異的に結合する検出可能試薬で末梢血単核細胞集団をインキュベートする工程と、Tリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体を形成する工程と、Tリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体のレベルを測定する工程とを含んでいる。この方法論は、例えば、フローサイトメトリーに関する技術において説明されている任意の既知の方法論を用いたTリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体の測定、認識、又は定量化に十分適している。コントロールサンプルに対する、試験個体由来のそのような任意の複合体のレベルの比較に関して先に開示されているように、この実施形態はまた、個体から得られたT細胞 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体のレベルを、コントロール血液サンプルから得られた類似のTリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体のレベルと比較することを意図している。試験サンプルとコントロールサンプル間でのこのような測定比較は、特定の個体内のSLEを診断する又は継続的に観察するのに更に有益であろう。

10

【0043】

本明細書でさらに開示されるように、検出可能試薬は、フローサイトメトリーによって検出可能な蛍光標識抗ヒトIgG抗体であってよく、特に、本明細書を通して開示されているように、蛍光標識抗ヒトIgG抗体及び蛍光標識抗ヒトIgM抗体からなる群から選択される蛍光標識抗ヒトIgG抗体であり得るが、それらに限定されない。

【0044】

別の実施形態は、個体におけるSLEを特定診断する又は観察するためのキットを提供する。そのキットは、Tリンパ球に結合する自己抗体を特異的に認識する蛍光標識抗体（抗IgGモノクローナル抗体又は抗IgMモノクローナル抗体が挙げられるが、決してこれらに限定されない）を含んでよく、随意選択的に、CD3 + CD4 + Tリンパ球とCD3 + CD8 + Tリンパ球とを識別する系統特異的Tリンパ球表面マーカーと反応性のフルオロ結合モノクローナル抗体を含んでおり、随意選択的に1又は複数の生化学試薬を含んでおり、そして、随意選択的に、SLEの診断又は観察におけるキット及びキット構成要素の使用説明書を含んでいる。そのような任意のキットはまた、本明細書に開示されているように、（Tリンパ球に結合することが見出された個体の自己抗体以外の）1又は付加的なバイオマーカーの同定に適している。当該バイオマーカーは、CD3、CD4、CD8、CXCR3、CCR4、Crth2、CCR6、CXCR5、及びCD25からなる群から選択された特定のTリンパ球表面マーカーに反応性を有するフルオロ結合モノクローナル抗体（fluoro-conjugated monoclonal antibodies）のキットの包含物であってよいが、これらに限定されない。

20

30

【0045】

先に記載された診断及び疾患活性観察の方法と併用して、非SLE炎症性疾患又は非SLE炎症病態とは異なる個体における、少なくともT細胞 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体の測定を用いて、場合によっては、補体経路構成要素（C4d及び/又はC3dが挙げられるが、これらに限定されない）の付加的な測定を更に用いて、SLEを明確に診断又は観察するのに用いられる判定は、手動で実行されてよい。しかしながら、多くの場合、自動化されたシステム及び/又は装置を用いて実行されるのが便利であり、そこでは、血液サンプル（又は、例えば、単離されたPBMC画分）は、必要な判定をするように自動的に分析され、ベース又は基準値との比較は、その目的に適したコンピュータソフトウェアを用いて、自動的に実行される。

40

【0046】

故に、本発明の一実施形態は、非全身性紅斑性狼瘡炎症性疾患又は非全身性紅斑性狼瘡炎症病態とは異なる個体において全身性紅斑性狼瘡を確定的に診断又は観察するためのコンピュータシステムを含んでいる。当該システムは、プロセッサと、プログラム命令を格納した非一時的なコンピュータ読出可能記憶媒体とを含んでいる。当該プログラム命令は、実行されるとプロセッサに命令して、個体由来の白血球を含む血液サンプルにおいて、サンプル中のTリンパ球の表面に付着又は接触している個体の自己抗体のレベルを定量化して、その後、個体のレベルを、コントロールTリンパ球の表面に付着又は接触している自己抗体のレベルと比較するように構成されている。個体からのサンプルの自己抗体のレ

50

ベルが高いと、個体のSLEが同定される。この目的で、本発明の方法に用いられるそのような任意のコンピュータソフトウェア、又はコンピュータ読出可能媒体は、血液サンプルから得られた末梢血単核細胞の集団から測定された、Tリンパ球の表面に付着又は接触している個体の自己抗体のレベルに対応するデータを受信するためのコードを含むコンピュータ読出可能媒体を含んでよい。当該Tリンパ球は、サンプル中の少なくとも1つのTリンパ球型によって表され、CD4+Th1リンパ球、CD4+Th2リンパ球、CD8+細胞障害性リンパ球、及び他のCD4+リンパ球(CD4+Th9ヘルパー細胞、CD4+Th17ヘルパー細胞、CD4+T濾胞ヘルパー(Tfh)細胞、及びCD4+調節T(Treg)細胞が挙げられるが、これらに限定されない)からなる群から選択される代表的なTリンパ球が挙げられる。加えて、本発明の方法に用いられるそのような任意のコンピュータソフトウェア、又はコンピュータ読出可能媒体は、Tリンパ球の表面に付着又は接触することが知られており、SLEと関連する付加的なバイオマーカーのレベルに対応するデータを受信するためのコードを含むコンピュータ読出可能媒体を含んでよい。診断用バイオマーカーは、C4d、C3d、補体経路のC4構成要素、及び補体経路のC3構成要素からなる群から選択され、好ましい一つは、C4dである。別の態様では、本発明の方法に用いられるそのようなコンピュータソフトウェア、又はコンピュータ読出可能媒体に関し、任意の付加的なキット構成要素の個々の使用レベルに対応するデータを受信するためのコードを含むコンピュータ読出可能媒体が挙げられる。当該キット構成要素は、例えば、当該本明細書に記載されているように、CD3、CD4、CD8、CXCR3、CCR4、Crth2、CCR6、CXCR5、及びCD25からなる群から選択される特定のTリンパ球表面マーカーに反応するフルオロ結合モノクローナル抗体である。

【0047】

本発明者らは以前に、補体活性化産物、特にC4dが、SLE患者において循環細胞に高いレベルで特異的に結合することによって、狼瘡診断についてかなり感度が良く、且つ特異的であるCB-CAPのシグネチャが生じることを実証している。狼瘡患者の大半は、C4d及び/又はC3dを有する赤血球、リンパ球、血小板、及び他の循環細胞を、個々の患者に固有の細胞特異的パターンで有する。これらのCB-CAPのシグネチャの生成を担う機構は、今まで特定されていない。本発明者らは、抗細胞特異的自己抗体がCB-CAP付着の原因かもしれないと仮定して、抗T細胞自己抗体の役割の可能性に特に焦点を合わせた。本明細書では、半溶解補体活性化を介したTCD3-C4d、TCD4-C4d、及びTCD8-C4dのシグネチャの生成における抗T細胞自己抗体の役割を裏付けており、これが、狼瘡における以前に認識されていなかった病原性機構であることを示唆する証拠が提供される。

【0048】

第一に、80%を超える狼瘡患者が、高度に患者特異的であるCB-CAPのシグネチャを有することが既に実証されている。これらのシグネチャの原因である機構は、過去に確定されていない。自己抗体が、細胞表面でのC4d付着における特定のパターンの生成について自然と疑われるであろう。しかしながら、細胞表面での補体の抗体媒介活性化により、溶血性貧血において、そして、リツキシマブ等の剤を用いたモノクローナル抗体媒介B細胞欠乏療法において観察されるような細胞の破壊が生じると一般的に考えられる。本発明者らは、抗T細胞自己抗体が、狼瘡患者において循環T細胞に存在すること、そしてT-Ig/T-C4dパターンが、個々の患者間で経時的に合致することを本明細書で実証している。さらに、T細胞にIg及びC4dを有する狼瘡患者から精製されたIgM及びIgGは、T-C4dのシグネチャを健康なT細胞に移行することができる。纏めると、これらの観察は、T細胞の表面における古典的補体経路の活性化が、SLE患者において一般的に起こることを裏付けている。T-C4dシグネチャとリンパ球減少の相関の欠如と、これらT細胞における膜攻撃複合体の不足とは、古典的経路の活性化が、C5転換酵素の顕著な生成を介して進行しないことを実証する。

【0049】

第二に、SLE患者の抗T細胞自己抗体は、40年以上前に最初に発見されたが、疾患

の病因における明らかな役割は明確にされていなかった。ある課題は、低温反応性 I g M がどのようにインビボ温熱状態にて病原性であり得るかについて調整することであった。いかなる動作理論にも拘束されることを意図するものではないが、本明細書に記載される研究から、低濃度の I g M 自己抗体が、T 細胞にインビボで結合することが可能であり、細胞溶解を引き起こすことのない C 4 d の付着の原因となることが示唆される。

【0050】

第三に、本研究の結果は、現在までの C B - C A P の全報告に記載される奇妙な観察を説明することができる。異常なレベルの C 4 d を有する特定の細胞型は、所定の患者において、フローサイトメトリーヒストグラムによって反映されるように、ほぼ常に一様に陽性である。例えば、患者の C B - C A P シグネチャが T C D 3 - C 4 d を含むならば、その患者における全 C D 3 細胞は C 4 d 陽性となるであろうし、各細胞上の C 4 d のレベルは類似するであろう。これは、F c の受容体又は補体活性化産物を有する細胞のサブセットにしか結合し得ない細胞上の循環免疫複合体の付着によって生じるパターンと対照的である。いかなる動作理論にも拘束されることを意図するものではないが、狼瘡患者において循環抗 T 細胞自己抗体は、全循環 T リンパ球を認識することによって、各細胞に C 4 d 付着を生じさせる能力を有すると考えられる。このモデルが、T 細胞上で、そしておそらく他の細胞で観察される C B - C A P の均質パターンを説明する。

10

【0051】

第四に、いかなる動作理論にも拘束されることを意図するものではないが、本明細書に記載される観察によってさらに、C B - C A P シグネチャは、無害なバイスタンダー細胞での全身性補体活性化及び付着によるのではなく、細胞特異的なターゲティング機構を介して生じるという仮説を裏付ける。

20

【0052】

いかなる動作理論にも拘束されることを意図するものではないが、T - I g シングル陽性患者は、疾患が起こっている間におけるターゲット T 細胞への可逆的 I g 結合によって説明され得る。当該結合は、T 細胞上での C 4 d の付着を触媒する。C 4 d は、一旦生じて T 細胞表面に共有結合すると、開始自己抗体が T 細胞から離れた場合ですら、安定したままであり得る。幾つかの I g G サブクラス（例えば、I g G 2 及び I g G 4）の抗 T 細胞自己抗体は、補体系の活性化をトリガーして、C 4 d なしで I g を結合する表現型を生じさせるのに非効率的であるかもしれない。付加的な A L A 独立機構の存在によって、C A P が生じて T 細胞に付着することも考えられる。しかしながら、S L E 患者における特徴的な自己抗体過剰産生を考慮すると、A L A 媒介機構は、細胞特異的、そして患者特異的な T - C 4 d 表現型の培養において支配的な役割を演じるらしいと考えられる。

30

【0053】

本発明者らは、S L E 患者において、T 細胞や T 細胞サブセットでの C 4 d の付着が、抗 T 細胞自己抗体によってトリガーされる半溶解補体活性化によって生じることを明らかにした。いかなる動作理論にも拘束されることを意図するものではないが、この以前に認識されていない経路は、自己抗体が古典的補体経路を半溶解能で活性化する病原性悪循環であり得る。C 4 d の付着は、ターゲットにされた細胞の機能障害に寄与し、この細胞は循環流中に残留し、そして更なる免疫調節不全、自己抗体産生、補体活性化、及び組織損害を引き起こす。

40

【0054】

以下の実施例が、本発明をさらに説明するのに役に立つ。

【実施例】

【0055】

[実施例 1]

<材料及び方法>

[研究参加者]

S L E 患者：確定的 S L E について米国リウマチ学会の分類基準を満たす 3 2 6 人の患者を最初に集め、追跡した。

50

【0056】

他の疾患患者：種々の非SLE自己免疫疾患、例えば慢性関節リウマチ、シェーグレン症候群、硬皮症、特発性炎症性筋疾患、原発性抗リン脂質症候群、及び未分化結合組織病の患者を合計185人、SLE患者集団と同じ期間中に集めた。

【0057】

健康なコントロール：合計48人の健常者を、地方広告を介して集めた。健康な状態を確かめるために、参加者は既存の医学的状态に関して短い質問事項に答えた。

【0058】

[血漿及び血清の調製、免疫グロブリンの単離、並びに免疫グロブリンの欠乏]

各参加者の来院時に、抗凝固剤としてEDTAを含むVacutainer（登録商標）チューブ（Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ）に、4.5mlの血液サンプルを収集した。EDTAで凝固を阻止した血液サンプルを、採血後24時間以内に処理した。10分間の遠心分離によって800×gで血漿を分画し、4（即時の短期使用用）又は-80（将来の長期使用用）で保存した。抗凝固剤のない血清分離チューブに収集した健康なコントロールの血液から、正常なヒト血清を調製し、分注し、使用するまで-80で保存した。Pierce ImmunoPure（登録商標）（A/G）IgG精製キット（Thermo Scientific, Rockford, IL）を用いて、メーカーの説明書に従って、血漿中に存在する免疫グロブリンG（IgG）を単離した。IgGの収集後、タンパク質A/Gアフィニティカラムからのフロースルーを、Pierce NAb（商標）Protein L Spin精製キット（Thermo Scientific）を用いて、メーカーの説明書に従ってさらに分画して、IgMを富化した。各アフィニティカラムから溶出したIgG画分及びIgM画分を脱塩し、バッファをリン酸緩衝食塩水（PBS）に変え、Microcon（登録商標）遠心フィルタ（分子量カットオフ30kD；EMD Millipore, Billerica, MA）を用いて、遠心分離によって濃縮した。Igを欠乏させるために、血漿サンプルを、タンパク質A/Gカラム及びタンパク質Lカラムに2回連続して通した。最終フロースルーを収集し、PBSに対して透析し、Microcon（登録商標）装置を用いて元の体積に濃縮し直した。リンパ球反応性Igを欠乏させるために、血漿サンプル（50µl）を、末梢血リンパ球（10⁷個の細胞；健康なコントロール個体から単離した）と4で30分間インキュベートしてから、遠心分離による細胞の除去によって回収した。

【0059】

[末梢血単核細胞の単離]

末梢血単核細胞（PBMC）を、EDTAで凝固を阻止した血液サンプルから、採血後24時間以内に勾配遠心分離によって単離した。簡潔に、血液サンプルを遠心分離して、血漿及び細胞を分離した。細胞画分を、3つの分量のPBSで希釈し、Ficoll-Plus（商標）溶液（GE Healthcare Bio-Science, Piscataway, NJ）の上に重ね、室温で20分間、400×gで遠心分離した。血漿とFicoll溶液間の界面に配置された単核細胞を、フレッシュなチューブ中に慎重に移して、PBSで十分に洗浄して、混入する血小板を除去し、そしてPBS中に再懸濁させた。

【0060】

[T細胞結合C4d（T-C4d）及びT細胞結合免疫グロブリン（T-Ig）測定のためのフローサイトメトリーアッセイ]

EDTAで凝固を阻止した血液から調製したPBMCを、CB-CAP検出のために等分量のアリコートに分割した。最近開発された多色フローサイトメトリーアッセイを一部変更して用いて、T細胞に結合したC4d及びIgのレベルを測定した。リンパ球、単球、及び残留する顆粒球を、特徴的な表面分子の発現と、前方（サイズ）/側方（粒度）スキャタリングにおけるそれらに固有の特徴とに基づいて識別した。系統特異的細胞表面マーカー（T細胞についてのCD3、CD4、及びCD8；BD Bioscience

s, San Diego, CA)との反応性を有するフィコエリトリン(PE)-、PE-Cy5-、又はアロフィコシアニン(APC)-結合マウスモノクローナル抗体(mAb)を、Zenon抗体ラベリングキット(Life Technologies, Carlsbad, CA)を用いてAlexa Fluor色素で標識されている、マウスモノクローナル抗ヒトC4d mAb(マウスIgG1; C4のC4d含有フラグメントとの反応性を有する; Quidel, San Diego, CA)、抗ヒトIgG(マウスIgG1; BD Biosciences)、或いは、抗ヒトIgM(マウスIgG1; BD Biosciences)と併せて使用した。或いはまた、PE結合抗ヒトIgカッパ鎖、又はPE結合抗ヒトIgラムダ鎖(BD Biosciences)を、抗C4d及び抗細胞表面マーカー抗体と併用して、T細胞結合Igの軽鎖サブタイプを同定した。染色後、FACSCalibur(商標)フローサイトメータ及びCELLQuestソフトウェア(Becton Dickinson Immunocytometry Systems)を用いて、細胞を分析した。検出される抗体染色の特異性を確実にするために、適切なアイソタイプのマウスIgGで染色した各患者由来の白血球アリコートを含めた。LB-CAP測定の日々の信頼性を確実にするために、CaliBrite 3ビーズと、FACSCOMPソフトウェア(Becton Dickinson Immunocytometry Systems)とを用いて、FACSCaliburフローサイトメータを毎日校正した。細胞結合C4d及び細胞結合Igのレベルを、特有の平均(median)蛍光強度(SMFI)として表した。これは、アイソタイプコントロールの平均蛍光強度を引いたC4d(又はIg)-特有の平均蛍光強度として算出された。

【0061】

[インビトロ表現型移行実験]

健康なコントロール、又はT-C4dレベルが低いSLE患者から個別に単離したPBMC(50 μ lのPBS中10⁶個の細胞)を、先に記載したフローサイトメトリー分析に基づいて高T-C4d/T-Ig表現型を有すると同定した個々のSLE患者から調製した血漿の50 μ lを用いて、インキュベートした。一部の実験においては、SLE血漿を、様々な量の精製IgG又はIgM(100~1000 μ g)で、Ig欠乏血漿で、又はリンパ球を吸収済みの血漿で置換した。4にて30分間インキュベーションした後、PBMC懸濁液をPBSで2回洗浄して、GVB²⁺パッファ(1%ゼラチン、5mMペロナルNa、142mM NaCl、pH7.3)の50 μ l中に再懸濁させ、(補体の源として)正常なヒト血清の50 μ lを用いてインキュベートした。一部のケースにおいては、熱不活化した正常なヒト血清又はC1q欠乏ヒト血清(Quidel)を、ネガティブコントロール血清として用いた。37にて40分間インキュベーションした後、細胞懸濁液をPBSで2回洗浄し、先に記載した多色フローサイトメトリーアッセイにかけた。

【0062】

[実施例2]

[TCD3-C4d、TCD4-C4d、及びTCD8-C4dの患者特異的シグネチャが、SLEにおいて生じる]

横断研究を行なって、T細胞上のC4dのレベルがCD4サブセットとCD8サブセットで類似する、又は異なる患者を同定した。一部の患者において、CD3+T(TCD3)細胞のC4d染色ヒストグラムは、細胞の単一集団を反映し、CD4+T(TCD4)細胞及びCD8+T(TCD8)細胞のC4d染色ヒストグラムは区別できず、2細胞サブセットのそれぞれへのC4d結合レベルが等しいことを反映している(図1、パネルA及びパネルB)。しかしながら、二相性TCD3-C4dヒストグラムが、SLE患者の多くで観察された(図1、パネルC~パネルF)。TCD4-C4d及びTCD8-C4dアッセイは、これらの二相性ヒストグラムが、個々の患者内のこれらの2つの細胞サブセットにおけるC4dレベルの差異に起因することを実証した。一部の患者において、TCD8細胞と比較してかなり高いレベルのC4dが、TCD4細胞で検出された(図1、

パネルC及びパネルD)。逆に、他の患者におけるTC4細胞と比較して有意に高いレベルのC4dが、TC8細胞に存在し得た(図1、パネルE及びパネルF)。概して、所定の患者のTC4-C4d/TC8-C4d特異的な選択的結合プロファイル又はシグネチャは、経時的に安定したままであるように見えたが、細胞に存在するC4dの実際のレベルは、経時的に変動し得た(表1)。このパターンに対する例外が存在した。結合パターンの「変換」が、疾患の経過中に、一部の患者において起こった(例えば、患者SLE56525及びSLE102357、表1)。以前に報告されたように、補体C5b-9(膜攻撃複合体)は、T細胞で検出されなかった。いかなる動作理論にも拘束されることを意図するものではないが、T細胞サブセットがC4d付着によって選択的にターゲットとなって、患者特異的T-C4dシグネチャが同定できるというこの結果は、特定の機構がこれらの表現型の生成の原因であり得ることを示唆した。T-C4dシグネチャは、リンパ球減少と関連しなかった(図示せず)。

【表1】

表1

SLE患者におけるT細胞サブセットへのC4dの経時的な特異的結合

患者 ID	研究日	CD3 T-C4d (SMFI)	CD4 T-C4d (SMFI)	CD8 T-C4d (SMFI)
SLE103343	03/05/09	309.44	324.16	320.31
SLE103343	12/01/09	417.70	407.33	422.02
SLE103343	11/04/11	1052.43	911.22	1086.94
SLE107395	05/04/12	404.24	376.10	411.57
SLE107395	05/26/12	627.99	693.17	602.55
SLE107395	02/01/13	228.43	302.68	236.17
SLE8383	05/18/05	7.55	3.92	231.71
SLE8383	01/04/06	13.91	8.17	258.09
SLE8383	09/25/07	10.85	6.29	152.80
SLE101601	09/01/09	57.58	38.76	108.67
SLE101601	03/06/12	184.38	99.19	250.36
SLE101601	12/06/12	126.39	74.33	250.74
SLE56525	04/03/08	35.63	24.54	95.08
SLE56525	10/10/11	177.10	133.54	451.16
SLE56525*	01/24/12	322.26	259.39	169.35
SLE102763	01/17/08	67.04	155.94	30.95
SLE102763	07/01/08	182.99	213.69	125.35
SLE102763	10/16/08	220.42	241.32	129.61
SLE102683	12/14/10	137.34	192.43	66.04
SLE102683	06/16/11	58.20	130.87	31.99
SLE102683	12/06/11	129.57	234.16	34.54
SLE102357	04/14/11	82.37	133.38	39.60
SLE102357	12/01/11	170.33	191.28	44.54
SLE102357*	04/19/12	80.57	68.99	147.62
SLE102357	01/29/13	51.56	42.10	94.00

【0063】

[実施例3]

[免疫グロブリン及びC4dは、SLEにおいてT細胞に同時に存在する]

T-C4dのシグネチャの原因である機構は、一部の患者においては、TCD8細胞に対してTCD4細胞でのC4dの特異的付着の原因であるはずであり、最も可能性が高い説明は、TCD8細胞に対してTCD4細胞に特異的な自己抗体を介するというものである。これは、SLE患者におけるT細胞の表面でのC4d(T-C4d)及び免疫グロブリン(T-Ig)の存在を調査し、かつ相関させるフローサイトメトリー分析によって、調査された。その結果は、SLE患者群の有意な画分(約30%)由来のT細胞が、実際に、来院時にC4d及びIgの双方で同時にデコレートされていることを実証した(図2A)。各患者のT-C4d/T-Ig表現型及びレベルの相当な変化に注目した。全員ではないが一部の患者におけるT-C4dレベルとT-Igレベルとの良好な相関に注目した。各ヒストグラム内の挿入図は、対応する相関分析を示している。青色のカラム：T-C4d；紫色のカラム：T-Ig。残りのSLE患者は、C4d若しくはIgの何れかについてシングルポジティブであり、又はダブルネガティブであった。比較すると、他の疾患の患者及び健康なコントロールのT細胞は、表面結合Ig及びC4dの双方について、ネガティブであった(図2B；T-Igについてのみデータを示す)。他の自己免疫疾患患者185人のうち、2人の患者(両者ともシューグレン症候群)のみが、T細胞の表面に存在するIgのレベルが有意に高かった。2人の患者のうち1人はまた、T-C4dレベルも有意に高かった。

10

【0064】

任意の時点で、C4d及びIgの双方(図2C、パネルa)、C4dのみ(図2C、パネルc)、又はIgのみ(図2C、パネルe)を有するT細胞を、異なるSLE患者において検出することができた。異なる患者におけるT細胞上での、そして同じ患者におけるT細胞サブセット上でのC4d及びIgの共存、又は個別の存在に注目した。一部のケースにおいて、様々なレベルのIg及びC4dを有するT細胞の異なる亜集団を、同じ患者内で同時に検出することができた(図2C、パネルb及びパネルd)。この後者の発見は、これらの亜集団が、動的Ig/C4d結合プロセスにおいて、あるステージから次のステージに移行中の細胞を表すかもしれないことを示唆した。

20

【0065】

選択したSLE患者の群を追跡して、T細胞上のC4d及びIgの存在を周期的に、9から33ヵ月にわたって経時的に調査した。図3Aに示すように、個々の患者の間で、T-C4d及びT-Igの双方のレベル、並びにC4d及び/又はIgを有するT細胞の頻度及び比率は、経時的にかなり変化した。一部の患者において、T-C4dレベルとT-Igレベルは、全ての来院を通して強く相関した(例えば、患者#SLE 102763、 $R^2 = 0.7063$ ；患者#SLE 101592、 $R^2 = 0.9551$)。しかしながら、一部の患者において、T-C4dレベルとIgレベルとの一般的相関は、来院のサブセットに制限された(例えば、患者#SEL 102326の来院1、3、及び5回目)。これらの結果はさらに、個々の患者間で変動し得る動的Ig/C4d結合プロセスを示唆する。

30

【0066】

さらに、T細胞の特定のサブセットにおける表面結合Igの存在が、その特定のT細胞亜集団でのC4dのレベルの増大と相関することに注目した。例えば、TCD4細胞での選抜された高いT-C4dレベルは、所定の患者におけるTCD4細胞でのT-Igレベルの選抜された増大と対応し(図3B、パネルa及びパネルb)、その逆も同様である(図3B、パネルc及びパネルd)。一部の患者においてTCD8細胞よりも高いレベルのIgがTCD4細胞で検出された場合(パネルa)、TCD8細胞よりも高いレベルのC4dがTCD4細胞で検出された(パネルb)点に注目されたい。高いC4dレベル(パネルc)とIgレベル(パネルd)間の類似した相関が、TCD8細胞について観察された。これらの観察は、SLE患者におけるT細胞でのIgの結合とC4dの付着との間の因果リンクを示唆しており、最もありそうなのは、古典的補体経路の活性化を介したものである。

40

50

【 0 0 6 7 】

[実施例 4]

[T - C 4 d 表現型は、 S L E 患者由来の血漿によって移される]

I g 及び C 4 d が、一部の S L E 患者の循環 T 細胞の表面で同時に検出されたので、特定の抗 T 自己抗体の結合が、補体系を活性化して、当該細胞の表面に付着する C 4 d を生じさせるというモデルを仮定した。それ故に、 S L E 患者の血漿が、 T - C 4 d 表現型に結合してこれを正常な T 細胞にインビトロで「移す」ことができるか否かを調査した。 S L E 患者の研究群、他の疾患患者、及び健康なコントロールに由来する様々な血漿サンプルを、健康な個体から、又はごく僅かなレベルの T - C 4 d しか有していない S L E 患者から単離した T 細胞に対して試験した。処理した細胞集団内の T 細胞を、フローサイトメ
10 トリーによって分析した。図 4 に典型的に示すように、 T - C 4 d ネガティブである正常な T 細胞 (パネル A) は、 T - C 4 d 及び T - I g レベルが高いことが知られているドナー S L E 患者から調製した血漿で処理した後の表面で、有意なレベルの C 4 d を獲得した (パネル B 1 及び C 1)。健康なレシピエント細胞上で生じた T - C 4 d のパターンは、注目すべきことに、各実験において、狼瘡ドナー細胞に存在するものと類似していた。比較すると、健康なコントロールの血漿は、正常な T 細胞で C 4 d 付着を生じさせることができな
20 かった (パネル D 1)。高いレベルの C 4 d が、健康なコントロールの血漿及び I g ではなく、 T - C 4 d + S L E の血漿及び I g による処理後の細胞表面に付着した点に留意のこと。それらの結果は、低い T - I g / T - C 4 d 表現型を示した S L E 患者の血漿でも、健康なコントロールの血漿でもなく、 T - I g / T - C 4 d 表現型の高まりを示した S L E 患者ドナーの血漿のみが、 T - C 4 d 表現型を正常な T 細胞に移すことができることを一貫して示した。

狼瘡患者由来の血漿による T C 4 d 表現型の移行は、 C 5 b - 9 の生成にも、細胞数の有意な減少にも至らない (データは示さず)。

【 0 0 6 8 】

[実施例 5]

[T - C 4 d 表現型は、 S L E 患者の免疫グロブリンによって移される]

S L E 患者の血漿から精製した I g を用いて、表現型移行実験を実行した。その結果は、 T - C 4 d レベルが高い S L E 患者の血漿から精製した I g が、正常な T 細胞にインビ
30 トロで T - C 4 d 表現型を移すことができることを実証した (図 4、パネル B 2 及びパネル C 2 ; 図 4 A 参照)。健康なコントロールから (図 4、パネル D 2)、又は T - C 4 d レベルがごく僅かな S L E 患者から (図示せず) 精製した I g は、 T - C 4 d シグネチャを移すことができな
40 かった。 I g G と比較して、等濃度の I g M が、 T - C 4 d シグネチャをより効果的に生じさせたことから、古典的補体経路活性化の機械的役割が裏付けられた (図 5 A)。 I g M は、 I g G と比較して、古典的補体経路のかなり強力な活性化剤であることから、結合後に細胞表面で T - C 4 d をかなり効果的に生じさせる。ドナー S L E 血漿からの I g の減少により、補体活性化と T 細胞への C 4 d 結合をインビトロで誘導する能力は完全に無効となった (図 5 B)。さらに、 S L E 血漿のこの能力は、潜在的な
40 リンパ球反応性液性因子を、リンパ球との血漿のプレインキュベーションによって除去すると、有意に減少した (図 5 B)。ヒト血小板又は線維芽細胞による吸収は、効果が無かった (図示せず)。これらの結果は、 S L E 患者中の T - C 4 d シグネチャが、抗 T 細胞自己抗体及び抗 T 細胞サブセット自己抗体によって生じるという仮説を裏付けている。

【 0 0 6 9 】

[実施例 6]

[S L E と、他の疾患 (O D) と、健康なコントロール (H C) 間での比較]

以下に記載する患者データを用いて、更なる分析を実行した (表 2)。連続したデータを、 S L E、O D、及び H C で階層化して、平均 ± 標準偏差 (S D)、並びにメジアン及び四分位範囲 (I Q R) として報告した。分散分析 (A N O V A) を用いて、3 群間の全
50

体的差異を検定した。相互比較に関する情報を与えるために、事後検定を用いた。C B - C A P バイオマーカーの敏感度及び特異度を夫々、O D 患者及びH C 患者を用いることによって、S L E 患者において判定した。マーカー、そしてまたサブセットのそれぞれに応じて、受信者動作曲線 (R O C) を用いた。

【表 2】

表2
SLEと、他の疾患(OD)と、健康なコントロール(HC)とのCB-CAPパネル比較

疾患	変数	平均	標準偏差	中央値	25 回目 Pctl	75 回目 Pctl
HC (n=48)	TIg	0.5487500	1.2508340	0.1700000	0.0350000	0.5300000
	TC4d	1.4429167	1.0791426	1.3300000	0.5900000	1.9400000
	ECR1	12.5	5.6	12.6	8.2	16.8
	EC4d	3.7488889	2.6261406	2.9300000	2.2300000	4.2900000
	PC4d	0.5611111	1.1148751	0.1300000	0	0.3900000
	RC4d	0.8920000	0.9510965	0.4600000	0.2600000	1.3800000
	BC4d	9.0608696	6.8805636	6.9000000	4.5100000	10.2700000
	MC4d	3.5850000	3.8248850	2.2900000	1.2800000	4.4400000
	GC4d	0.6982609	0.6792947	0.5250000	0.2000000	1.0800000
OD (n=185)	TIg	1.2831892	4.9232849	0.1700000	0	0.8000000
	TC4d	3.2357297	9.3510174	1.8500000	1.0900000	2.9200000
	ECr1	8.9911377	4.2039069	8.3500000	5.9900000	12.1600000
	EC4d	5.1518452	4.2632467	3.8800000	2.7950000	5.6300000
	PC4d	1.0604819	3.2516897	0.4600000	0.1700000	0.8200000
	RC4d	3.0418405	7.3285795	1.2100000	0.6300000	1.8300000
	BC4d	18.6081143	38.3786562	9.8800000	6.8000000	16.9200000
	MC4d	3.9804545	7.2825194	2.0700000	1.4450000	3.6750000
	GC4d	1.2422727	4.1408444	0.5250000	0.2900000	0.9000000
SLE (n=325)	TIg	12.7297908	34.3706459	1.8000000	0.4200000	9.2800000
	TC4d	18.9777231	37.0139756	4.6800000	1.9600000	18.1200000
	ECr1	7.9572635	4.5400761	7.2500000	4.5300000	10.0050000
	EC4d	12.5164189	19.2377533	6.8600000	4.0200000	12.6600000
	PC4d	3.3771769	8.7511549	0.8200000	0.3700000	2.1600000
	RC4d	7.4662324	17.8042195	2.0750000	1.0100000	5.6650000
	BC4d	54.8311429	77.7344434	28.4500000	12.4700000	62.3900000
	MC4d	11.6691304	25.4648764	4.5800000	2.3300000	9.2900000
	GC4d	3.1526087	7.8589359	1.1500000	0.5600000	2.6200000

10

20

30

40

【表 3】

表3
T-Igアッセイ及びCB-CAPアッセイのANOVA及び事後分析

	全体の比較	対比較
T-Ig	<0.001	SLE 対 OD: <0.001 SLE 対 HC: <0.001
TC4d	<0.001	SLE 対 OD: <0.001 SLE 対 HC: <0.001 OD 対 HC: 0.006
ECR1	<0.001	SLE 対 OD: 0.008 SLE 対 HC: <0.001 OD 対 HC: <0.001
EC4d	<0.001	SLE 対 OD: <0.001 SLE 対 HC: <0.001 OD 対 HC: 0.012
PC4d	<0.001	SLE 対 OD: <0.001 SLE 対 HC: <0.001 OD 対 HC: <0.001
RC4d	<0.001	SLE 対 OD: <0.001 SLE 対 HC: <0.001 OD 対 HC: 0.002
BC4d	<0.001	SLE 対 OD: <0.001 SLE 対 HC: <0.001 OD 対 HC: 0.001
MC4d	<0.001	SLE 対 OD: <0.001 SLE 対 HC: <0.001
GC4d	<0.001	SLE 対 OD: <0.001 SLE 対 HC: <0.001

10

20

30

【 0 0 7 0 】

表 4 は、T - I g 陽性及び個々の C B - C A P バイオマーカー陽性（陽性は先に、H C の最大値と定義したので、H C に対する特異度は 1 0 0 % であった）に基づいた、S L E に対する敏感度及び他の疾患（O D）又は健康なコントロール（H C）に対する特異度を示す。

【表 4】

表 4
T-Igアッセイ及び個々のCB-CAPアッセイの診断性能

	SLEに対する感度	ODに対する特異度	HCに対する特異度
T-Ig	33.2% (108/325)	98.4% (182/185)	100% (48/48)
TC4d	48% (156/325)	91.9% (170/185)	100% (48/48)
ECR1(n=508)	13.5% (40/296)	91.0% (152/167)	100% (45/45)
EC4d (n=509)	22.3% (66/296)	94.6% (159/159)	100% (45/45)
PC4d (n=505)	12.6% (37/294)	97.6% (162/166)	100% (45/45)
RC4d (n=492)	29.6% (84/284)	90.2% (147/163)	100% (45/45)
BC4d (n=536)	44.8% (141/315)	91.4% (160/175)	100% (46/46)
MC4d (n=544)	12.7% (41/322)	97.2% (171/176)	100% (46/46)
GC4d (n=544)	20.2% (65/322)	93.4% (165/176)	100% (46/46)

10

【0071】

20

感度を高めるが、最も高い特異度を維持するバイオマーカー又はその組合せを見出すために、T-Ig陰性対象における感度/特異度を、個々のCB-CAPバイオマーカーで最初に判定した。TC4dが最も良く、SLEに対する全体の感度が33.2% (表4) から55.1% (表5) に高められることが見出された。

【表 5】

表5
CB-CAPアッセイの追加によるT-Ig陰性対象間の診断性能及び全体的性能の向上

	T-Ig 陰性			全体		
	SLE に対する感度	OD に対する特異度	HC に対する特異度	SLE に対する感度	OD に対する特異度	HC に対する特異度
TC4d	32.7	92.3	100	55.1	90.8	100
ECR1	10.7	90.9	100	42.3	89.3	100
EC4d	13.2	94.6	100	43.9	92.9	100
PC4d	7.6	97.6	100	40.3	95.8	100
RC4d	22.2	90.1	100	50.0	88.4	100
BC4d	28.7	91.9	100	52.7	90.3	100
MC4d	7.9	97.7	100	38.8	96.0	100
GC4d	13.6	93.6	100	42.6	92.1	100

30

40

【0072】

続いて、T-Ig及びTC4dの双方が陰性である個体間で、2番目に良いバイオマーカーを同定した。表6に示すように、T-Ig及びTC4dを組み合わせることで、全体の感度が33.2%から55.1%に高まる一方で、他の疾患及び健康なコントロールに対して夫々90.8%及び100%という、ほぼ完全な特異度が維持されたことが分かった。B-C4dをTC4dに加えることで、SLEに対する感度が61.1%にさらに高まった。しかしながら、ODに対する全体的な特異度は86.4%に低下した。

【表 6】

表 6
マルチプルCB-CAPアッセイの段階的追加による診断性能の向上

	全体		
	SLE に対する感度	OD に対する特異度	HC に対する特異度
T-Ig のみ	33.2	98.4	100
+ TC4d	55.1	90.8	100
+ BC4d	61.1	86.4	100
+ RC4d	67.7	80.2	100
+ EC4d	68.4	79.1	100
+その他	72.3	72.8	100

10

+ は、列の上から下へと順に加えることを示す。例えば、+ TC4d は、T-Ig 及び TC4d の組合せを意味する。

【0073】

データを、受信者動作特性 (ROC) 曲線を用いてプロットした。それらは、その識別閾値の変化に伴ったバイナリ分類システムの性能を示すグラフィカルプロットである。当該分析は、診断ツールとしての、CB-CAPアッセイと併用したT-Igの付加価値を実証する。

20

【0074】

図6Aは、SLEと健康なコントロールとの識別における、全てのバイオマーカーとのROC比較を示す。SLEと健康なコントロールとを比較するROC分析は、BC4d (AUC = 0.853) 及びTC4d (AUC = 0.840) が最も良い予測因子であり、これにRC4d (AUC = 0.80) 及びEC4d (AUC = 0.80) が続くことが明らかになった。これは、表6において先に示す結果と一致した。

【0075】

図6Bは、SLEと健康なコントロールとの識別における、CB-CAPバイオマーカーのサブセット (TC4d、EC4d、RC4d、及びBC4d) とのROC比較を示す。

30

【0076】

図7Aは、SLEと他の疾患との識別におけるROC比較を示す。

【0077】

SLEと他の疾患とを比較するROC分析は、BC4d (AUC = 0.755) 及びTC4d (AUC = 0.750) が最も良い予測因子であることを明らかにした。T-Igのみ (0.76) と比較して、全体的なROCは0.76から0.80に増大し、この差異は、ほぼ統計的有意性があった ($p = 0.07$)。

【0078】

図7Bは、SLEと他の疾患との識別における、CB-CAPバイオマーカーのサブセット (TC4d、EC4d、RC4d、及びBC4d) とのROC比較を示す。

40

【0079】

先に記載した特徴及び機能、並びに代替案を、他の多くの異なる系又は用途に組み合わせよう。現在予見し難い、又は予期しない種々の変形、改良、変更、又は改善が、当業者によってなされるかもしれない、これらもまた夫々、開示した実施形態によって包含されることが意図される。

【0080】

本発明の特徴又は態様が、代替案のマーカッシュ群又は他の群の観点から記載される場合、当業者であれば、本発明はまた、そのマーカッシュ群又は他の群の任意の個々のメン

50

パー又はメンバーのサブグループを単位として記載されることを認識するであろう。

【0081】

特に明記しない限り、本明細書中に記載する全数値範囲は、その中に包含される範囲及び具体的な整数の全ての組合せ及び部分的組合せを含む。そのような範囲はまた、記載される本発明の範囲内でもある。

【0082】

本明細書中の全ての引用文献は、引用を以てその全体が本明細書に組み込まれる。

【図1】

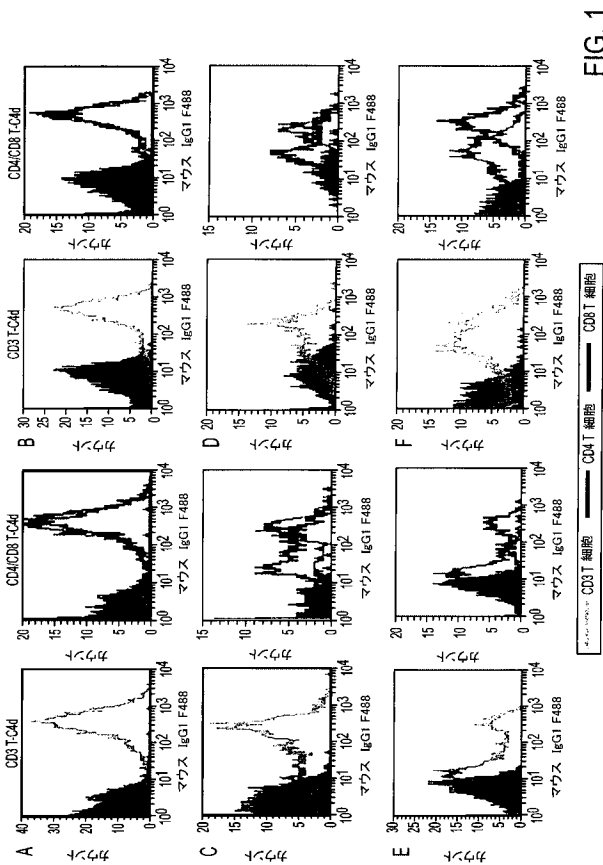


FIG. 1

【図2A】

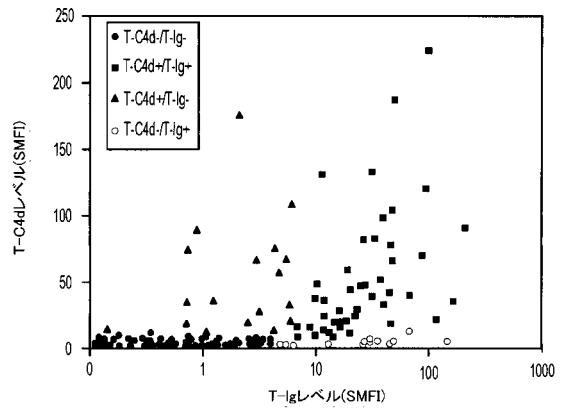


FIG. 2A

【 図 2 B 】

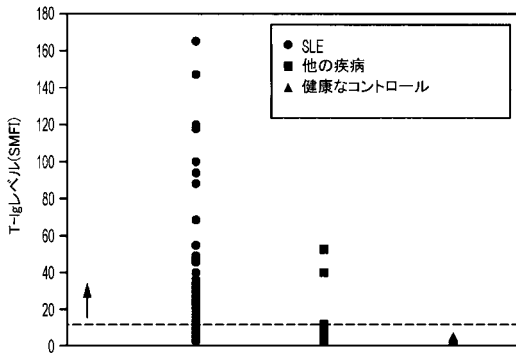


FIG. 2B

【 図 2 C 】

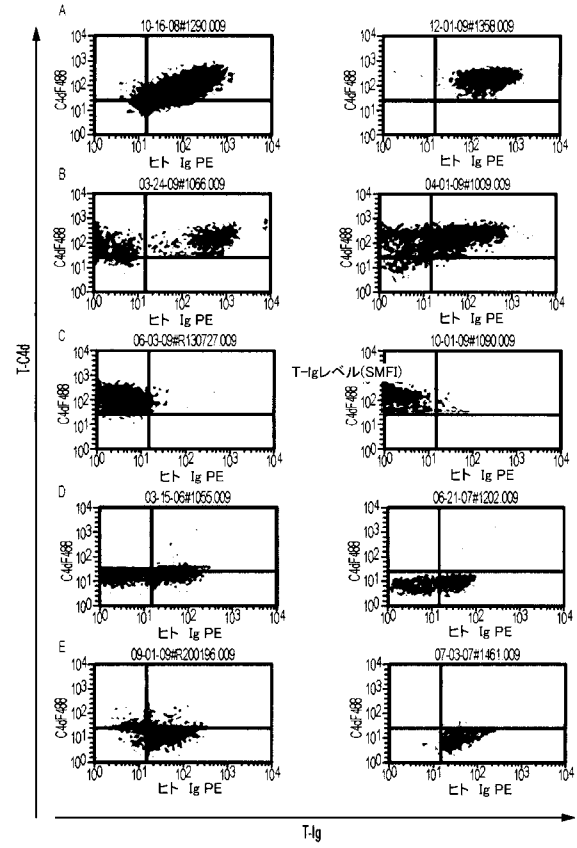


FIG. 2C

【 図 3 A 】

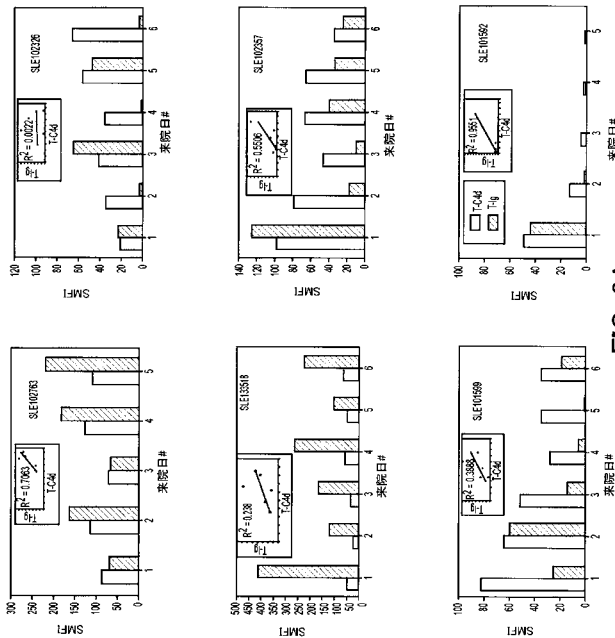


FIG. 3A

【 図 3 B 】

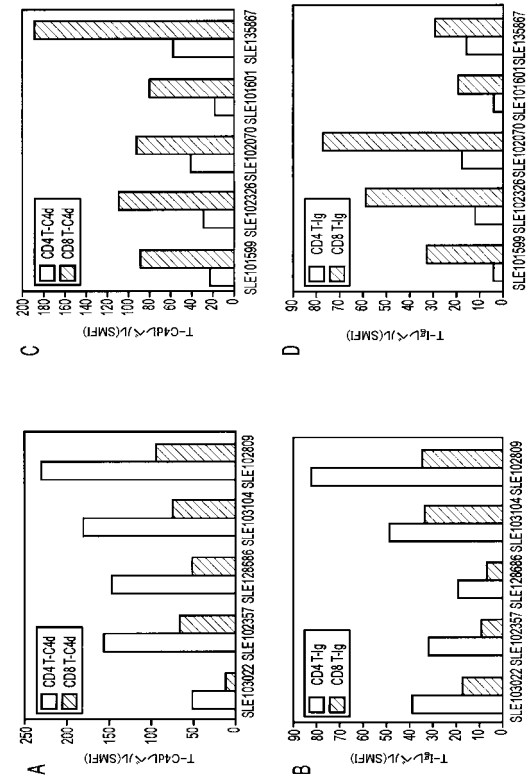


FIG. 3B

【 図 6 A 】

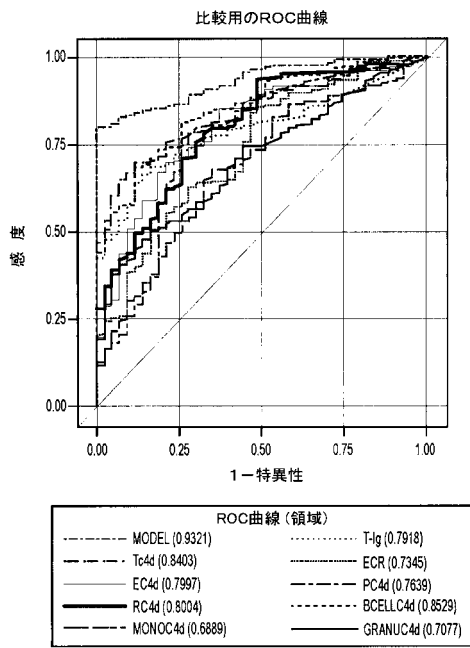


FIG. 6A

【 図 6 B 】

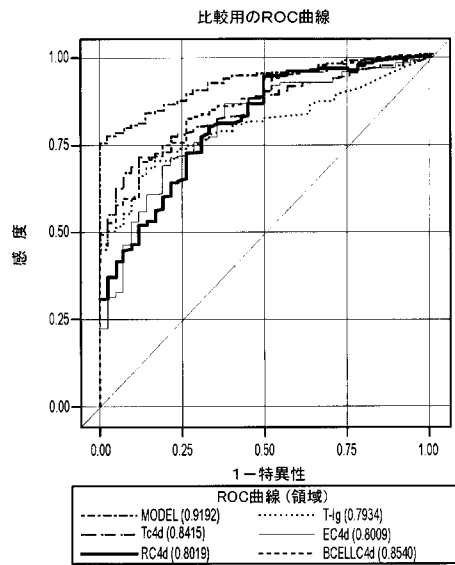


FIG. 6B

【 図 7 A 】

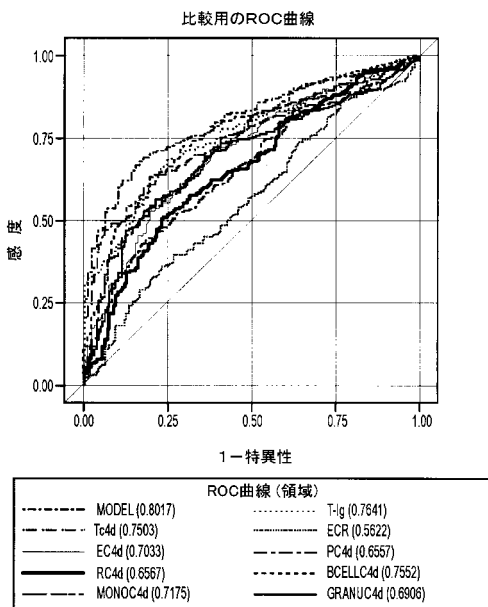


FIG. 7A

【 図 7 B 】

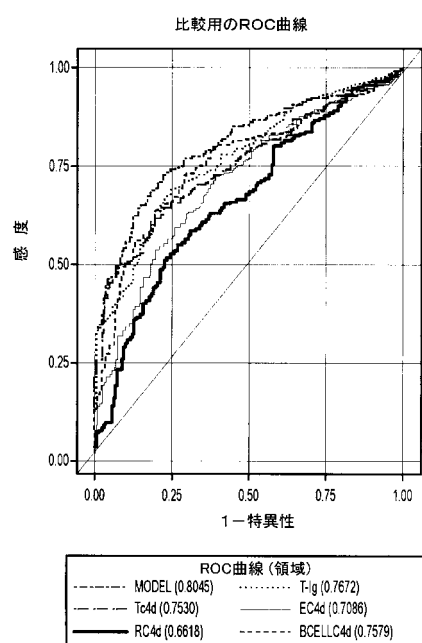


FIG. 7B

【手続補正書】

【提出日】平成27年12月4日(2015.12.4)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

非全身性紅斑性狼瘡炎症性疾患又は非全身性紅斑性狼瘡炎症病態とは異なる個体において全身性紅斑性狼瘡を確定的に診断又は観察する方法であって、

個体由来の白血球を含む血液サンプルにおいて、サンプル中のTリンパ球の表面に付着又は接触している個体の自己抗体のレベルを定量化する工程と、

個体由来の血液サンプルにおいて、TC4d、ECR1、EC4d、PC4d、RC4d、BC4d、MC4d、及びGC4dからなる群から選択される1又は複数のバイオマーカのレベルをアッセイする工程と、

を含む方法。

【請求項2】

Tリンパ球の表面に付着又は接触している個体の自己抗体のレベルは、血液サンプルから得た末梢血単核細胞の集団から測定される、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

サンプル中のTリンパ球は、CD4⁺Th1リンパ球、CD4⁺Th2リンパ球、及びCD8⁺細胞障害性リンパ球からなる群から選択される少なくとも1つのTリンパ球型によって表される、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

非全身性紅斑性狼瘡炎症性疾患又は非全身性紅斑性狼瘡炎症病態とは異なる個体において全身性紅斑性狼瘡を確定的に診断又は観察する方法であって、

(a) 個体由来の白血球を含む血液サンプルにおいて、サンプル中のTリンパ球の表面に付着又は接触している個体の自己抗体のレベルを定量化する工程と、

(b) (a)におけるレベルを、コントロールTリンパ球の表面に付着又は接触している自己抗体のレベルと比較する工程と、

(c) 個体由来の血液サンプルにおいて、TC4d、ECR1、EC4d、PC4d、RC4d、BC4d、MC4d、及びGC4dからなる群から選択される1又は複数のバイオマーカのレベルをアッセイする工程と、

を含み、

(a)におけるサンプル由来の自己抗体のレベルの増加と、1又は複数のバイオマーカのレベルの異常とが、個体の全身性紅斑性狼瘡を同定する方法。

【請求項5】

Tリンパ球の表面に付着又は接触している個体の自己抗体のレベルは、血液サンプルから得た末梢血単核細胞の集団から測定される、請求項4に記載の方法。

【請求項6】

サンプル中のTリンパ球は、CD4⁺Th1リンパ球、CD4⁺Th2リンパ球、及びCD8⁺細胞障害性リンパ球からなる群から選択される少なくとも1つのTリンパ球型によって表される、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

Tリンパ球は、CD4⁺Th1リンパ球である、請求項5に記載の方法。

【請求項8】

Tリンパ球は、CD4⁺Th2リンパ球である、請求項5に記載の方法。

【請求項9】

Tリンパ球は、CD8⁺細胞障害性リンパ球である、請求項5に記載の方法。

【請求項 10】

非全身性紅斑性狼瘡炎症性疾患又は非全身性紅斑性狼瘡炎症病態とは異なる個体において全身性紅斑性狼瘡を確定的に診断又は観察する方法であって、

(a) 個体から白血球を含む血液サンプルを得る工程と、

(b) 血液サンプルから末梢血単核細胞集団を単離する工程と、

(c) 末梢血単核細胞集団を、末梢血単核細胞集団内のＴリンパ球の細胞表面に結合した自己抗体に特異的に結合する検出可能試薬を用いてインキュベートすることで、Ｔリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体を形成する工程と、

(d) Ｔリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体のレベルを測定する工程と、

(e) 個体由来の血液サンプルにおいて、TC4d、ECR1、EC4d、PC4d、RC4d、BC4d、MC4d、及びGC4dからなる群から選択される1又は複数のバイオマーカのレベルをアッセイする工程と、
を含む方法。

【請求項 11】

Ｔリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体は、フローサイトメトリーによって測定される、請求項10に記載の方法。

【請求項 12】

個体から得たＴ細胞 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体のレベルを、コントロール血液サンプルから得た類似のＴリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体のレベルと比較する工程を更に含んでおり、コントロール血液サンプルと比較した個体の血液サンプル由来のＴリンパ球 - 自己抗体 - 検出可能試薬の複合体のレベルの増加と、健康なコントロールのレベルと比較した1又は複数のバイオマーカのレベルの異常とが、個体の全身性紅斑性狼瘡を同定する、請求項10に記載の方法。

【請求項 13】

検出可能試薬は、フローサイトメトリーによって検出可能な蛍光標識抗ヒトIg抗体である、請求項10に記載の方法。

【請求項 14】

蛍光標識抗ヒトIg抗体は、蛍光標識抗ヒトIgG抗体及び蛍光標識抗ヒトIgM抗体からなる群から選択される、請求項13に記載の方法。

【請求項 15】

キットであって、

(a) Ｔリンパ球に結合する自己抗体を特異的に認識する蛍光標識抗体であって、抗IgGモノクローナル抗体又は抗IgMモノクローナル抗体である抗体と、

(b) 随意選択的に、CD3 + CD4 + Ｔリンパ球とCD3 + CD8 + Ｔリンパ球とを識別する系統特異的Ｔリンパ球表面マーカーと反応性のフルオロ結合モノクローナル抗体と、

(c) TC4d、ECR1、EC4d、PC4d、RC4d、BC4d、MC4d、およびGC4dからなる群から選択される1又は複数のバイオマーカの定量化に用いるのに適した1又は複数の生化学試薬と、

(d) 随意選択的に、全身性紅斑性狼瘡の診断におけるキットと(a)、(b)及び(c)の構成要素の使用についての説明書と、
を含むキット。

【請求項 16】

フルオロ結合モノクローナル抗体は、CD3、CD4、CD8、CXCR3、CCR4、Crth2、CCR6、CXCR5、及びCD25からなる群から選択される特定のＴリンパ球表面マーカーに反応性を有する、請求項19に記載のキット。

【請求項 17】

非全身性紅斑性狼瘡炎症性疾患又は非全身性紅斑性狼瘡炎症病態とは異なる個体において全身性紅斑性狼瘡を確定的に診断又は観察するためのシステムであって、

プロセッサと、

プログラム命令を含む非一時的なコンピュータ読出可能記憶媒体と、
を備えており、

プログラム命令は、実行されると、

(a) 個体由来の白血球を含む血液サンプルにおいて、サンプル中の T リンパ球の表面に付着又は接触している個体の自己抗体のレベルを定量化する工程と、

(b) (a) におけるレベルを、コントロール T リンパ球の表面に付着又は接触している自己抗体のレベルと比較する工程と、

(c) 個体由来の血液サンプルにおいて、TC4d、ECR1、EC4d、PC4d、RC4d、BC4d、MC4d、及びGC4dからなる群から選択される1又は複数のバイオマーカーのレベルをアッセイする工程と、

行うようにプロセッサに命令するように構成されており、

(a) におけるサンプル由来の自己抗体のレベルの増加と、1又は複数のバイオマーカーのレベルの異常とが、個体の全身性紅斑性狼瘡を同定する、システム。

【請求項 18】

T リンパ球の表面に付着又は接触している、個体の自己抗体のレベルを、血液サンプルから得た末梢血単核細胞の集団から測定する、請求項 17 に記載のシステム。

【請求項 19】

サンプル中の T リンパ球は、CD4⁺Th1 リンパ球、CD⁺Th2 リンパ球、及び CD8⁺細胞障害性リンパ球からなる群から選択される少なくとも1つの T リンパ球型によって表される、請求項 18 に記載のシステム。

【請求項 20】

T リンパ球は、CD4⁺Th1 リンパ球である、請求項 18 に記載のシステム。

【請求項 21】

T リンパ球は、CD4⁺Th2 リンパ球である、請求項 18 に記載のシステム。

【請求項 22】

T リンパ球は、CD8⁺細胞障害性リンパ球である、請求項 18 に記載のシステム。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2015/044372

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/564 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, COMPENDEX, EMBASE, FSTA, INSPEC, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CHAU-CHING LIU ET AL: "Antilymphocyte autoantibodies generate T cell-C4d signatures in systemic lupus erythematosus", ³ 7 August 2014 (2014-08-07), XP55216005, Retrieved from the Internet: URL:http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931524414002709 [retrieved on 2015-09-24] "Discussion" section page 10; page 11 "conclusion" paragraph ----- -/--	1-27
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
"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
29 September 2015		05/10/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Jacques, Patrice

6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/044372

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LIU C C ET AL: "Complement C4d deposition on T lymphocytes: Mechanisms and significance in systemic lupus erythematosus (SLE)", MOLECULAR IMMUNOLOGY, PERGAMON, GB, vol. 44, no. 1-3, 1 January 2007 (2007-01-01), page 206, XP027452020, ISSN: 0161-5890, DOI: 10.1016/J.MOLIMM.2006.07.139 [retrieved on 2007-01-01] the whole document	1-27
X,P	----- CHAU-CHING LIU ET AL: "Antilymphocyte autoantibodies generate T cell-C4d signatures in systemic lupus erythematosus", TRANSLATIONAL RESEARCH, vol. 164, no. 6, 1 December 2014 (2014-12-01), pages 496-507, XP055215712, ISSN: 1931-5244, DOI: 10.1016/j.trsl.2014.07.007 the whole document	1-27
A	----- AHEARN JOSEPH M ET AL: "The lupus biomarker odyssey: one experience.", METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY (CLIFTON, N.J.) 2014, vol. 1134, 22 January 2014 (2014-01-22), pages 17-35, XP009186208, ISSN: 1940-6029 the whole document	1-27
A	----- LIU CHAU-CHING; KAO AMY H; MANZI SUSAN; AHEARN JOSEPH M: "Biomarkers in systemic lupus erythematosus: challenges and prospects for the future.", THERAPEUTIC ADVANCES IN MUSCULOSKELETAL DISEASE, vol. 5, no. 4, 1 August 2013 (2013-08-01), pages 210-233, XP055127331, ISSN: 1759-720X, DOI: 10.1177/1759720X13485503Therapeutic the whole document ----- -/--	1-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/044372

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LIU C C ET AL: "Lymphocyte-bound complement activation products as biomarkers for diagnosis of systemic lupus erythematosus", CLINICAL AND TRANSLATIONAL SCIENCE - CTS, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING, INC, US, vol. 2, no. 4, 1 August 2009 (2009-08-01), pages 300-308, XP008136831, ISSN: 1752-8054, DOI: 10.1111/J.1752-8062.2009.00135.X [retrieved on 2009-07-31] the whole document	1-27
A	WO 2014/020357 A1 (SENSE PROTEOMIC LTD [GB]) 6 February 2014 (2014-02-06) the whole document	1-27
A	WO 2014/093268 A1 (ALLEGHENY SINGER RES INST [US]) 19 June 2014 (2014-06-19) the whole document	1-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2015/044372

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014020357 A1	06-02-2014	EP 2880445 A1 US 2015204866 A1 WO 2014020357 A1	10-06-2015 23-07-2015 06-02-2014
WO 2014093268 A1	19-06-2014	NONE	

フロントページの続き

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

(72)発明者 リウ, チャウ - チン

アメリカ合衆国 1 5 2 1 7 ペンシルベニア, ピッツバーグ, フォーブス アベニュー 5 5 4
4

(72)発明者 マンツィ, スーザン, エム.

アメリカ合衆国 1 5 0 9 0 ペンシルベニア, ウェックスフォード, マッターホルン ドライブ
2 4 8 6

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2017528734A5	公开(公告)日	2018-08-09
申请号	JP2017527543	申请日	2015-08-07
申请(专利权)人(译)	阿勒格尼歌手研究所		
[标]发明人	アハーンジョセフエム リウチャウチン マンツイスーザンエム		
发明人	アハーン,ジョセフ,エム. リウ,チャウ-チン マンツイ,スーザン,エム.		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/564 G01N33/5047 G01N33/505 G01N33/5052 G01N33/5055 G01N33/536 G01N33/6854 G01N2333/7051 G01N2333/70514 G01N2333/70517 G01N2800/104 G01N2800/7095		
FI分类号	G01N33/53.N G01N33/53.R G01N33/53.D G01N33/53.T		
优先权	62/035073 2014-08-08 US		
其他公开文献	JP2017528734A		

摘要(译)

种类代码：A1提供了用于诊断或观察个体中系统性红斑狼疮的方法，系统和试剂盒。在一个具体实施方案中，在包含来自个体的白细胞的血液样品中定量附着或接触样品中T淋巴细胞表面的自身抗体。背景技术