

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4991847号
(P4991847)

(45) 発行日 平成24年8月1日(2012.8.1)

(24) 登録日 平成24年5月11日(2012.5.11)

(51) Int.Cl. F I
GO 1 N 33/53 (2006.01) GO 1 N 33/53 D

請求項の数 49 (全 18 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2009-508069 (P2009-508069) (86) (22) 出願日 平成19年5月9日(2007.5.9) (65) 公表番号 特表2009-536318 (P2009-536318A) (43) 公表日 平成21年10月8日(2009.10.8) (86) 国際出願番号 PCT/CA2007/000817 (87) 国際公開番号 W02007/128132 (87) 国際公開日 平成19年11月15日(2007.11.15) 審査請求日 平成22年4月7日(2010.4.7) (31) 優先権主張番号 60/798, 712 (32) 優先日 平成18年5月9日(2006.5.9) (33) 優先権主張国 米国 (US)</p>	<p>(73) 特許権者 508282568 ザ ユニバーシティ オブ ブリティッシュ コロンビア カナダ国、ブイ6ティー・1ゼット3、ブ リティッシュ コロンビア、バンクーバー 、アグロノミー・ロード 61 90、ナ ンバー 103、ユニバーシティーインダ ストリー・リアゾン・オフィス内 (74) 代理人 100108855 弁理士 蔵田 昌俊 (74) 代理人 100091351 弁理士 河野 哲 (74) 代理人 100088683 弁理士 中村 誠</p>
---	---

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 溶解したタンパク質関節炎マーカー

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

インビトロで14-3-3 タンパク質を分析して関節炎を評価するため有用な情報を取得する方法であって：

関節炎を有している又は関節炎を有している危険性があると同定された哺乳類の被験者から得られた血清または滑液のサンプルを処理することと；および

前記サンプル中のタンパク質14-3-3エータまたは14-3-3ガンマの存在、非存在、または量を試験することと；

を備える方法。

【請求項2】

インビトロで14-3-3 タンパク質を分析して関節炎の病状の状態を評価するため有用な情報を取得する方法であって、哺乳類の被験者の滑液または血清におけるタンパク質14-3-3エータまたは14-3-3ガンマの存在、非存在または量を試験することと及び前記タンパク質の存在、非存在または量の少なくとも一部に基づいて関節炎の病状の状態を分析することとを備える方法。

【請求項3】

インビトロで14-3-3 タンパク質を分析して関節炎の投薬の有効性を見積もるための有用な情報を取得する方法であって：

投薬での治療の経過を経験している哺乳類の被験者の滑液または血清におけるタンパク質14-3-3エータまたは14-3-3ガンマの存在、非存在または量を試験することと；

前記タンパク質の存在、非存在または量の少なくとも一部に基づいて投薬の有効性を分析することと；
を備える方法。

【請求項 4】

請求項1～3の何れか一項に記載の方法であって、前記タンパク質は14-3-3エータである方法。

【請求項 5】

請求項1～4の何れか一項に記載の方法であって、前記被験者はヒトである方法。

【請求項 6】

請求項1～5の何れか一項に記載の方法であって、前記関節炎は関節リウマチである方法 10

【請求項 7】

請求項1～6の何れか一項に記載の方法であって、前記被験者は関節炎の治療を経験している方法。

【請求項 8】

請求項7に記載の方法であって、前記治療が抗TNF治療である方法。

【請求項 9】

請求項7に記載の方法であって、前記治療が、関節炎に対する疾患修飾性治療である方法。

【請求項 10】

20

インビトロで哺乳類の被験者における関節炎の病状を診断するための有用な情報を取得するためのタンパク質14-3-3エータまたは14-3-3ガンマに結合する化合物の使用。

【請求項 11】

インビトロで哺乳類の被験者における関節炎の病状の進行をモニターするための有用な情報を取得するためのタンパク質14-3-3エータまたはガンマに結合する化合物の使用。

【請求項 12】

請求項10または11に記載の使用であって、前記化合物が抗体である使用。

【請求項 13】

請求項10～12の何れか一項に記載の使用であって、前記使用がインビトロである使用。

【請求項 14】

30

インビトロで哺乳類の被験者の関節炎の管理療法のための有用な情報を取得するための方法であって：

哺乳類の被験者から得られた生物学的サンプルを、インビトロで14-3-3ガンマアイソフォームおよび14-3-3エータアイソフォームからなる群から選択される少なくとも一つの14-3-3 タンパク質アイソフォームの存在、非存在、または量に関して試験して、試験結果をえることと；および

前記試験結果を前記哺乳類の被験者の関節炎の管理療法の調製のための参照として用いることと

を備える方法。

【請求項 15】

40

請求項14に記載の方法であって、前記14-3-3ガンマアイソフォームは、配列番号 2として同定されるアミノ酸配列を含む方法。

【請求項 16】

請求項14または15に記載の方法であって、前記14-3-3エータアイソフォームは、配列番号 3として同定されるアミノ酸を含む方法。

【請求項 17】

請求項14～16の何れか一項に記載の方法であって、前記生物学的サンプルは、さらに関節炎マーカーの存在、非存在、または量に関して試験される方法。

【請求項 18】

請求項17に記載の方法であって、前記関節炎マーカーは、C反応性タンパク質と反応す

50

るマーカー、およびマトリックスメタロプロテイナーゼと反応するマーカーからなる群から選択される方法。

【請求項 19】

請求項14～18の何れか一項に記載の方法であって、前記生物学的サンプルは、さらにそれと関連する赤血球沈降速度を決定するために試験される方法。

【請求項 20】

請求項18に記載の方法であって、前記マトリックスメタロプロテイナーゼは、マトリックスメタロプロテイナーゼ-1、およびマトリックスメタロプロテイナーゼ-3からなる群から選択される方法。

【請求項 21】

請求項14～20の何れか一項に記載の方法であって、前記生物学的サンプルは、血液、血清、血漿、滑液、尿、痰 および 組織からなる群から選択される方法。

【請求項 22】

請求項14～21の何れか一項に記載の方法であって、前記14-3-3ガンマアイソフォームおよび14-3-3エータアイソフォームからなる群から選択される少なくとも一つの14-3-3 タンパク質アイソフォームの存在、非存在、または量が、前記生物学的サンプルを質量分析法を用いて処理することによって決定される方法。

【請求項 23】

請求項14～21の何れか一項に記載の方法であって、前記14-3-3ガンマアイソフォームおよび14-3-3エータアイソフォームからなる群から選択される少なくとも一つの14-3-3 タンパク質アイソフォームの存在、非存在、または量が、抗体、無機の化学的な反応物、有機の化学的な反応物、及びその組み合わせからなる群から選択される反応物で前記生物学的サンプルを処理することによって決定される方法。

【請求項 24】

請求項14～23の何れか一項に記載の方法であって、前記関節炎の管理療方は、薬用療法、栄養療法、物理療法、介入療法、および外科療法からなる群から選択される少なくとも一つの療法である方法。

【請求項 25】

請求項14～24の何れか一項に記載の方法であって、前記試験結果が規定の臨床試験結果の標準のセットと比較される方法。

【請求項 26】

インビトロで14-3-3 タンパク質を分析して哺乳類の被験者に提供される関節炎の治療措置の有効性を見積もるための有用な情報を取得する方法であって、前記関節炎の治療措置は薬用療法、栄養療法、物理療法、介入療法、および外科療法からなる群から選択される少なくとも一つの療法を含み、以下の工程を備える方法：

処方された関節炎の治療措置を受けている哺乳類の被験者に、第一の生物学的サンプルを第一のサンプル期間及び少なくとも第二の生物学的サンプルを少なくとも第二のサンプル期間からえるための少なくとも二つの期間が離れたサンプル期間を処方し、処方された第一のサンプル期間に前記哺乳類の被験者から得られた前記第一の生物学的サンプルを、インビトロで14-3-3ガンマアイソフォームおよび14-3-3エータアイソフォームからなる群から選択される少なくとも一つの14-3-3 タンパク質アイソフォームの存在、非存在、または量に関して試験して、産生性の試験結果をえることと；

少なくとも第二の生物学的サンプルを少なくとも処方された第二のサンプル期間に前記哺乳類の被験者から得られた前記第二の生物学的サンプルを、インビトロで14-3-3ガンマアイソフォームおよび14-3-3エータアイソフォームからなる群から選択される少なくとも一つの14-3-3 タンパク質アイソフォームの存在、非存在、または量に関して試験して、産生性の試験結果をえることと；

前記第一の生物学的サンプルからの試験結果と前記第二の生物学的サンプルからの試験結果とを比較すること。

【請求項 27】

10

20

30

40

50

請求項26に記載の方法であって、前記第一の生物学的サンプルと比較した前記少なくとも第二の生物学的サンプルにおける少なくとも一つの選択された14-3-3 タンパク質アイソフォームのレベルの減少は、前記関節炎の治療措置が前記被験者における関節炎を治療するために効果的であるとの指標である方法。

【請求項 2 8】

請求項26または27に記載の方法であって、少なくとも第一の生物学的サンプルおよび少なくとも第二の生物学的サンプルは、さらに関節炎マーカーの存在、非存在、または量に関して試験される方法。

【請求項 2 9】

請求項28に記載の方法であって、前記関節炎マーカーは、C反応性タンパク質と反応するマーカー、およびマトリックスメタロプロテイナーゼと反応するマーカーからなる群から選択される方法。

10

【請求項 3 0】

請求項26～29の何れか一項に記載の方法であって、少なくとも第一の生物学的サンプルおよび少なくとも第二の生物学的サンプルは、さらにそれと関連する赤血球沈降速度を決定するために試験される方法。

【請求項 3 1】

請求項29に記載の方法であって、前記マトリックスメタロプロテイナーゼは、マトリックスメタロプロテイナーゼ-1、およびマトリックスメタロプロテイナーゼ-3からなる群から選択される方法。

20

【請求項 3 2】

請求項26～31の何れか一項に記載の方法であって、前記少なくとも第一の生物学的サンプルおよび前記少なくとも第二の生物学的サンプルにおける、前記14-3-3ガンマアイソフォームおよび14-3-3エータアイソフォームからなる群から選択される少なくとも一つの14-3-3 タンパク質アイソフォームの存在、非存在、または量が、前記少なくとも第一の生物学的サンプルおよび前記少なくとも第二の生物学的サンプルを質量分析法を用いて処理することによって決定される方法。

【請求項 3 3】

請求項26～31の何れか一項に記載の方法であって、前記14-3-3ガンマアイソフォームおよび14-3-3エータアイソフォームからなる群から選択される少なくとも一つの14-3-3 タンパク質アイソフォームの存在、非存在、または量が、抗体、無機の化学的な反応物、有機の化学的な反応物、及びその組み合わせからなる群から選択される反応物 (reactant) で前記生物学的サンプルを処理することによって決定される方法。

30

【請求項 3 4】

請求項26～33の何れか一項に記載の方法であって、前記第一の生物学的サンプルおよび前記少なくとも第二の生物学的サンプルは、血液、血清、血漿、滑液、尿、痰 および 組織からなる群から選択される方法。

【請求項 3 5】

請求項26～34の何れか一項に記載の方法であって、複数の期間が離れたサンプル期間が、処方された関節炎の治療措置を受けている哺乳類の被験者に処方される方法。

40

【請求項 3 6】

請求項35に記載の方法であって、前記複数の期間が離れたサンプル期間からの複数の試験結果は、哺乳類の被験者における関節炎の進行の程度に関して比較される方法。

【請求項 3 7】

インビトロで哺乳類の被験者における関節炎の状態を評価するため有用な情報を取得するための方法であって、以下の工程を備える方法：

哺乳類の被験者から得られた生物学的サンプルを、14-3-3ガンマアイソフォームおよび14-3-3エータアイソフォームからなる群から選択される少なくとも一つの14-3-3 タンパク質アイソフォームの存在、非存在、または量に関してインビトロで試験して、試験結果をえることと；および

50

前記試験結果を、処方された診断上の試験プログラムにおいて複数の哺乳類の被験者から前に採取されたプールした参照データのセットと比較すること。

【請求項38】

請求項37に記載の方法であって、前記生物学的サンプルは、さらに関節炎マーカーの存在、非存在、または量に関して試験される方法。

【請求項39】

請求項38に記載の方法であって、前記関節炎マーカーは、C反応性タンパク質と反応するマーカー、およびマトリックスメタロプロテイナーゼと反応するマーカーからなる群から選択される方法。

【請求項40】

請求項37～39の何れか一項に記載の方法であって、前記生物学的サンプルは、さらにそれと関連する赤血球沈降速度を決定するために試験される方法。

【請求項41】

請求項39に記載の方法であって、前記マトリックスメタロプロテイナーゼは、マトリックスメタロプロテイナーゼ-1、およびマトリックスメタロプロテイナーゼ-3からなる群から選択される方法。

【請求項42】

請求項37～41の何れか一項に記載の方法であって、前記14-3-3ガンマアイソフォームおよび14-3-3エータアイソフォームからなる群から選択される少なくとも一つの14-3-3タンパク質アイソフォームの存在、非存在、または量が、生物学的サンプルを質量分析を用いて処理することによって決定される方法。

【請求項43】

請求項42に記載の方法であって、前記14-3-3ガンマアイソフォームおよび14-3-3エータアイソフォームからなる群から選択される少なくとも一つの14-3-3タンパク質アイソフォームの存在、非存在、または量が、抗体、無機の化学的な反応物、有機の化学的な反応物、及びその組み合わせからなる群から選択される反応物で前記生物学的サンプルを処理することによって決定される方法。

【請求項44】

請求項37～43の何れか一項に記載の方法であって、前記生物学的サンプルは、血液、血清、血漿、滑液、尿、痰 および 組織からなる群から選択される方法。

【請求項45】

請求項1～44の何れか1項に記載の方法または使用において使用するための、14-3-3ガンマアイソフォームおよび14-3-3エータアイソフォームからなる群から選択される少なくとも一つの14-3-3タンパク質アイソフォームと特異的に結合する少なくとも一つの試薬を含んでいるキット。

【請求項46】

請求項45に記載のキットであって、14-3-3ガンマアイソフォームと特異的に結合する第一の試薬および14-3-3エータアイソフォームと特異的に結合する第二の試薬を含んでいるキット。

【請求項47】

請求項45に記載のキットであって、前記試薬は、抗体、有機化合物、無機化合物、及びその組み合わせからなる群から選択されるキット。

【請求項48】

請求項45～47の何れか一項に記載のキットであって、さらにマトリックスメタロプロテイナーゼと特異的に結合する少なくとも一つのさらなる試薬を具備するキット。

【請求項49】

請求項48に記載のキットであって、前記マトリックスメタロプロテイナーゼは、マトリックスメタロプロテイナーゼ-1、およびマトリックスメタロプロテイナーゼ-3からなる群から選択されるキット。

【発明の詳細な説明】

10

20

30

40

50

【発明の開示】

【0001】

[発明の分野]

本発明は、細胞外の液体に見出される場合に関節炎の診断上のバイオマーカーである選択されたタンパク質アイソフォームのアッセイに関する。

【0002】

[発明の背景]

一般に、関節炎または関節痛 (arthralgia) は、身体の関節の炎症性の障害に関し、通常では疼痛 (pain)、腫脹および硬直 (stiffness) が伴う。関節炎は、感染、外傷 (trauma)、変性疾患 (degenerative disorders)、代謝性の障害または妨害 (disturbances) または他の未知の病因を含む幾つかの原因から生じえる。関節炎は、より具体的には、例えば、関節リウマチ (rheumatoid arthritis)、骨関節炎 (osteoarthritis)、細菌性の又は感染性の関節炎として記載してもよい。関節炎は、さらに痛風、強直性脊椎炎、炎症性の腸疾患または乾癬を含む他の同定された障害を伴ってもよい。

【0003】

正常な関節において、少量の滑液 (SF) は軟骨および滑膜 (synovium) をなめらかにし、溶質および少数の静止期 (resting) の単核球および滑膜細胞 (synovial cells) の貯蔵所として機能する (3)。慢性炎症の間、SF容量 (SF volume) および免疫細胞の濃度および可溶性タンパク質が増加する (4)。

幾つかの形態の関節炎 [例えば、関節リウマチ (RA)] に関して、特定の原因は明らかではないだろう。RAは、疾患が明らかとなるために多くの遺伝的および環境的な影響が同じ人物に作用しなければならない「多因子性の閾値モデル (multifactorial threshold model)」として認識されるものである (1)。特定の標的を欠いているので、現行の治療は主に炎症反応の抑制を目的としている (2)。RAの特徴は、線維芽細胞様の滑膜細胞 (FLS) 増殖および内膜下または滑膜の外層への炎症細胞浸潤を特徴とする滑膜の過形成である (5)。FLS (約三分の二の滑膜集団を含む) は、周知の分泌系 (5) であり、RAにおいて大量の破壊的マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) を分泌し (6)、具体的には MMP-1, 3, 8, 9, 10, 11 および 13 である (7-11)。多数の研究者は、MMP-1 および MMP-3 が RA において重要な役割を演ずること (12) およびコラゲナーゼ (MMP-1) が最も豊富であること (6) を示した。MMP-1 および MMP-3 の双方は、RA において構造上のダメージに予測的妥当性 (predictive validity) を有することが示されたバイオマーカーである。関節炎における MMPs (特に、MMP-1) の局所的な発現は、軟骨および骨の破壊の部位に隣接する関節パニス (joint pannus) で特に顕著である (13)。コラゲナーゼ (特に、MMP-1) は、中性の pH で本来 (native) のコラーゲン分子を切断し、さらにコラーゲンを酵素の分解に感受性にする (14)。

【0004】

FLS を活性化して MMP-1 を産生する既知の因子にはインターロイキン-1 (IL-1) および腫瘍壊死因子アルファ (TNF-alpha) などの炎症促進性サイトカイン (pro-inflammatory cytokines) が含まれ、双方は RA に含まれる (15)。IL-1 アルファ および TNF-アルファ は、インビトロで滑膜の線維芽細胞および軟骨細胞における他の MMPs およびストロメライシンの産生を刺激する能力がある (16)。FLS と活性化の T 細胞からの TNF-アルファ または IL-1 アルファ との相互作用によって、MMP-1 の発現が誘導される (17)。また、T 細胞は、FLS を活性化して炎症性メディエータのアレイ (array) を産生することができる (18)。この FLS および T 細胞 および彼等のそれぞれのサイトカインの間の周期的なフィードバックグループによって、T 細胞の活性化および増殖が誘導され、RA で観察される持続性の炎症が支持される (19-21)。治療上の抗-TNF アルファ 抗体が、TNF アルファ を中和し、この持続性の状態を導く T 細胞活性化をブロックすることが示唆された (22)。

【0005】

14-3-3 タンパク質は、ある範囲の機能に関与している二量体タンパク質のファミリーである (23-24)。七つの哺乳類の 14-3-3 アイソフォーム、即ちベータ ()、ガンマ (

10

20

30

40

50

), イブシロン(), エータ(), シグマ(), タウ()およびゼータ()が存在している。1967年に最初に14-3-3 タンパク質が発見されていらい(26)、14-3-3 タンパク質ファミリーのメンバーは、主にシグナル伝達経路における彼等の新しい生物学的活性に基づいて繰り返しさらに発見されている。彼等は、トリプトファンおよびチロシン水酸化酵素(27-28)およびPKCインヒビター(29)の活性化因子として同定されている。引き続く研究によって、PKCs, Rafファミリーと相互作用する分子として14-3-3 タンパク質が同定され、現在DNAダメージおよび細胞周期制御(32-34)への細胞応答を含む重大な意味を持つ生物学的機能(30-31)を有する200以上の他の細胞内タンパク質が同定されている。

[発明の概要]

本発明は、部分的に14-3-3 タンパク質の特定のアイソフォーム(14-3-3エータおよびガンマ)が、正常な患者と比較して、関節炎患者の血清および滑液におけるレベルが増加して存在しているとの驚くべき発見に基づいている。

10

【 0 0 0 6 】

本発明の一側面に従って、被験者の治療的な療法(therapeutic regimen)への反応性を予測するための方法が提供され、前記被験者は関節炎を有しているか又は疑われ、該方法はサンプル中のタンパク質14-3-3エータまたはガンマの存在, 非存在, 量または相対的なレベルを決定することを備え、前記アイソフォームの存在, 非存在, 量または相対的なレベルは被験者の関節炎への治療的な療法への感受性(sensitivity)の指標(indicative)である。

【 0 0 0 7 】

20

本発明の一側面にしたがって、患者サンプル(例えば、関節炎を有している又はその危険性がある患者からの血清または滑液のサンプル)における14-3-3エータまたはガンマタンパク質を検出するキットが提供される。前記キットは、少なくとも一つのこれらの14-3-3 タンパク質のアイソフォームを検出する特異的な少なくとも一つの抗体を含んでもよい。前記キットは、さらに少なくとも一つのマトリックスメタロプロテイナーゼを検出するための特異的な少なくとも一つの抗体を含んでもよい。

本発明の一側面に従って、関節炎の治療に有用であることが既知の又は期待される治療的な療法の有効性を決定する対象の群から選択する方法が提供され、該方法は患者の血清または滑液サンプル中の14-3-3エータまたはガンマタンパク質の存在, 非存在, 量または相対的なレベルを決定することを備え、その液体中の一以上のこれらの14-3-3タンパク質のアイソフォームの存在, 非存在, 量または相対的なレベルは被験者の関節炎への治療的な療法への感受性の指標である。

30

【 0 0 0 8 】

本発明の別の側面に従って、関節炎の治療を必要とする哺乳類の被験者の関節炎を治療する方法が提供され、該方法はその被験者に治療的な療法を投与することを備え、その被験者からの血清または滑液中の14-3-3エータまたはガンマタンパク質アイソフォームの存在, 非存在, 量または相対的なレベルは治療的な療法への感受性の指標である。

【 0 0 0 9 】

本発明の別の側面に従って、関節炎の治療を必要とする哺乳類の被験者の関節炎を治療する方法が提供され：該方法は、治療的な療法への感受性の指標である血清または滑液における14-3-3エータまたはガンマタンパク質の存在, 非存在, 量または相対的なレベルを有している被験者を選択することと；および該被験者に該治療的な療法を投与することとを備える。

40

【 0 0 1 0 】

本発明の別の側面にしたがって、関節炎を治療するための治療的な療法への感受性が増加した哺乳類の被験者を同定する方法が提供され、該方法は血清または滑液における14-3-3エータまたはガンマタンパク質の存在, 非存在, 量または相対的なレベルに関して被験者の集団をスクリーニングすることと、および液体における前記タンパク質の存在, 非存在, 量または相対的なレベルの少なくとも一部に基づいて前記治療的な療法への被験者の感受性を同定することとを備える。

50

【 0 0 1 1 】

選択された態様において、本発明は、被験者の血清または滑膜の液体における他の関節炎マーカーに関するアッセイを、14-3-3エータまたはガンマタンパク質の存在、非存在、量または相対的なレベルに関するアッセイと関連させて (in conjunction with) 含んでもよい。例えば、本発明のアッセイは、付加的に血清または滑液サンプルにおける一以上のマトリックスメタロプロテイナーゼ (例えば、MMP-1またはMMP-3) の存在、非存在、量または相対的なレベルを決定することを含んでもよい。

【 0 0 1 2 】

[詳細な記載]

「疾患活動性スコア (DAS; Disease Activity Score)」は、患者の関節リウマチの活動性 (activity) または状態 (state) の測定を意味する。DASは、臨床で使用される幾つかの標準またはスコア (scores) の一つである。DASの計算には、次のパラメータを含んでもよい：つまり、触診に敏感な関節の数 (TEN)、腫大した関節の数 (SW)、赤血球沈降速度 (ESR) および疾患の活動性の患者評価 (VAS) である。代わりに、DASは、C反応性タンパク質マーカーの評価 (CRP) を含んでもよい (Skogh T et al 2003. Ann Rheum Dis 62:681-682)。

10

【 0 0 1 3 】

本明細書中に使用される患者または試験被験者 (test subject) には、関節炎の治療を経験しているか、又は経験するところ (about to undergo) であるヒト患者が含まれる。試験被験者には、関節炎の治療を経験しているか、又は経験するところである非ヒト哺乳類が含まれる。試験被験者のケースにおいて、関節炎は、意識的 (deliberately) に導入または移植されてもよい、又は自然発症的 (spontaneously) に発生してもよい。患者または試験被験者は、本明細書中に記載される方法 (又は、例えば、当該技術分野において既知の他の診断上の方法) を用いて前もって (previously) 診断されていてもよい、又は一般的な集団 (「対照」患者または「対照」試験被験者) の一部として選択されてもよい。患者および試験被験者 (対照であろうとなかろうと) は、一般に被験者と称されえる。患者は、疾患の重症度、性別、年齢、または特定の治療又はアッセイの方法に対する適合性の基礎に基づき選択されてもよい又は鑑別 (differentiated) されてもよい。

20

【 0 0 1 4 】

本明細書中に使用される、「アイソフォーム」は、類似するが同一ではないアミノ酸配列を有している任意の2以上の機能上類似するタンパク質を意味し、異なる遺伝子によって又は除去された異なるエキソンを有していた同じ遺伝子からのRNA転写物によってコード化される。

30

【 0 0 1 5 】

配列内のヌクレオチドまたはアミノ酸のポジションの数的な呼称 (numerical designations) が特定の配列に対して相対的であることは当業者によって理解される。また、同じポジションが、配列が番号付けされる様式および選択される配列に応じて異なる数的な呼称が割当てられてもよい。さらにまた、挿入または欠失などの配列バリエーション (sequence variations) は、相対的なポジションで及び特定の部位の又はその周囲の特定のヌクレオチドまたはアミノ酸の数的な呼称で変化してもよい。

40

【 0 0 1 6 】

「ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質」の用語は、互換的に (interchangeably) 使用されてもよく、ペプチドに付加的な所望の特性 (例えば、半減期の増加) を提供しえるペプチドアイソスター (修飾されたペプチド結合) などのペプチド結合または修飾されたペプチド結合によって共有結合性に連結された少なくとも二つのアミノ酸残基から構成される化合物を意味する。ペプチドは、少なくとも二つのアミノ酸を具備しえる。また、本明細書中に記載されるペプチドまたはタンパク質を含むアミノ酸は、天然のプロセス (例えば、翻訳後プロセッシング) によって又は当該技術分野において周知の化学修飾技術によって修飾されてもよい。修飾は、ペプチドバックボーン、アミノ酸側鎖およびアミノまたはカルボキシ末端を含むペプチドの任意の場所で生じえる。同じ型の修飾が所与のペ

50

プチドの幾つかの部位で同じ又は変化した程度で存在しえることが理解される。

【0017】

本発明のペプチド化合物を記載するために使用される命名法は、各アミノ酸残基の左にアミノ基が及び右にカルボキシル基が提示される従来のブラケットにしがたう。選択された本発明の特定の態様において、アミノ-およびカルボキシル-末端基は、特に示さないが、別途特定されないかぎり、生理的なpH値で想定されるだろう形態で存在することが理解される。アミノ酸の構造式において、各残基は、一般にアミノ酸の慣用名に対応する一文字または三文字の表記法によって表されてもよい。

【0018】

本明細書中に使用される「抗体」の用語には、ポリクローナルおよびモノクローナル抗体、キメラ、単鎖、またはヒト化抗体、同様に、FabまたはF(ab)²断片が含まれ、Fabまたは他の免疫グロブリン発現ライブラリの産物が含まれる。係る抗体または断片を作出する方法は、当該技術分野において既知であり、文献（例えば、HARLOW, E and LANE D. *Antibodies: A Laboratory Manual*. 1988. Cold Spring Harbor Laboratory Press）に見つけられる。タンパク質またはタンパク質のアイソフォームの間で分化する抗体を産生するためのエピトープとして使用する特定のペプチド類の選択または同定は、配列比較を用いてなしえる（当業者は、所望の選択性を有する抗体を産生するために有用であろう適切なペプチドまたはタンパク質の配列を同定することができる）。当業者に有用であろう配列の例には、配列番号1-7が含まれる。

【0019】

本明細書中に使用される「関節炎 (arthritis)」、「関節痛 (arthralgia)」は、身体関節の炎症性の障害を意味する。疼痛 (Pain)、腫脹 (swelling)、硬直 (stiffness) 及び移動の困難性 (difficulty of movement) は、頻繁に関節炎の疾患に関連している。関節炎は、感染、外傷 (trauma)、変性疾患 (degenerative disorders)、代謝性の障害 (disorders) または妨害 (disturbances) または他の未知の病因を含む幾つかの原因から生じえる。関節炎は、より具体的には、例えば、関節リウマチ、骨関節炎 (osteoarthritis)、細菌性の又は感染性の関節炎として記載してもよい。関節炎は、さらに痛風、強直性脊椎炎、炎症性の腸疾患または乾癬を含む他の同定された障害を伴ってもよい。

【0020】

14-3-3タンパク質（特に、エータおよびガンマアイソフォーム）は、関節リウマチなどの関節炎に冒された患者の滑液または血清中で容易に検出されえる。本発明の一態様において、炎症の部位のこれらのシグナル伝達タンパク質の検出は、関節炎の早期の又は単純化された診断に又は患者の多様なタイプの関節炎の間の鑑別に適用を有しえる。代わりに、14-3-3タンパク質のアイソフォームの存在または相対的なレベルは、衰弱の病態にまで進行する前の早期段階の関節炎の予後の指標でありえる。衰弱の病態は、軟骨および骨の破壊が構造上のダメージを生じるものであってもよい。早期の予後または診断の利点は、早期に治療措置の手段をとれることである。或いは、患者サンプル中の14-3-3のアイソフォームの存在または相対的なレベルは、特定の治療措置に適合する患者の決定に有用である。

多様なタイプの関節炎の治療措置は、当該技術分野において既知である。関節炎への療法アプローチは、例えば、関節炎に対する疾患修飾性治療または緩解性の療法 (remittive therapies) として一般的に特徴付けられてもよい。例えば、関節リウマチと診断される患者は、初期に非ステロイド性抗炎症医薬 (NSAIDs) を処方されて、不快感を軽くし、炎症を減少させられる。他の治療措置には、例えば、シクロオキシゲナーゼ 2 特異的インヒビター (COX-2 inhibitors)、糖質コルチコイド、疾患修飾性抗リウマチ薬 (DMARDs)、抗TNFアルファ中和因子または免疫抑制薬または細胞毒性薬 (cytotoxic drugs) が含まれてもよい。特定の薬物の用量または例の詳細は、当業者に既知であり、文献（例えば、Harrison's Principles of Internal Medicine 15th ed. BRAUNWALD et al eds. McGraw-Hill または "The Pharmacological basis of therapeutics", 10th edition. HARDMAN HG., LIMBIRD LE. editors. McGraw-Hill, New York, and in "Clinical Oncology", 3rd edition. C

10

20

30

40

50

Churchill Livingstone/ Elsevier Press, 2004.ABELOFF, MD. editor) において見つけられる。

【 0 0 2 1 】

本発明の別の態様において、14-3-3エータまたはガンマタンパク質の存在または相対的なレベルは、マトリックスメタロプロテイナーゼ(MMPs), 例えば、MMP-1またはMMP-3などの患者サンプル中の他のタンパク質の存在または相対的なレベルと相関するだろう。MMPsは、細胞外基質の成分を分解する亜鉛結合性エンドプロテアーゼである。MMPsは、異なる基質特異性を有し、異なる遺伝子によってコード化される。少なくとも25の異なるMMPsが同定されている。患者サンプル中の14-3-3エータまたはガンマタンパク質と組み合わせた少なくとも一つのMMPの検出は、患者における関節炎の早期の又は単純化された診断に又は多様なタイプの関節炎の間の鑑別に適用しえる。或いは、患者サンプル中の14-3-3タンパク質のエータまたはガンマのアイソフォームと組み合わせた少なくとも一つのMMPの存在または相対的なレベルは、関節炎が衰弱の病態 (debilitating form) にまで進行する前の早期段階の関節炎の予後の指標でありえる。早期の予後または診断の利点には、早期の治療措置の手段が含まれる。或いは、患者サンプル中の14-3-3タンパク質のエータまたはガンマのアイソフォームと組み合わせた少なくとも一つのMMPの存在または相対的なレベルは、特定の治療措置に適合する患者の決定に有用である。

10

本発明の別の態様において、患者サンプル中の14-3-3エータまたはガンマタンパク質または特定のMMPsの存在を検出するためのキットが提供され、そのキットは多様なタイプの関節炎の診断または鑑別に適切な診断上または予後の結果の提供に使用するために適切である。キットには、例えば、14-3-3 タンパク質のエータまたはガンマアイソフォームに特異的な抗体が含まれてもよい。かかるキットは、更に特定のMMPsに特異的な抗体を含んでもよい。キットは、更に標識二次抗体、色素生産性または蛍光発生性の試薬、重合剤などの14-3-3エータまたはガンマまたはMMPsの免疫学的な検出に必要な他の試薬および/または診断上または予後の目的としたキットを用いるための説明書を含んでもよい。

20

一般的な方法

一旦、被験者が関節炎を発病または有している危険性があるとされたら、診断された関節炎の病状 (disease state), 関節炎に対する治療上の治療措置への反応性, または関節炎の予後, または関節炎の型を評価するための有用な情報は、患者または検査する被験者から取得しえる。バイオマーカーとして有用であろうタンパク質またはペプチド類を含む被験者からの生物学的サンプルを得るための様々な方法は、当該技術分野において既知である。例えば、組織サンプルを、腫瘍を標本抽出するための搔爬 (curettage), 針吸引バイオプシーまたは針(コア)バイオプシー, 切開性バイオプシー (incisional biopsy), または所望の組織の全除去をふくみえる切除バイオプシー (excisional biopsy) によって得てもよい。代わりに、遺伝物質を含む他の身体サンプル (例えば、滑液, 毛髪, 痰, 尿, 便, 精液, 血漿, 血清または血液) を、当該技術分野において既知の方法を用いて採取してもよい。

30

【 0 0 2 2 】

生物学的サンプルにおける特異的なタンパク質もしくはペプチド類の存在または生物学的サンプルにおける特異的なタンパク質もしくはペプチド類の相対的なレベルは、当該技術分野において既知の任意の幾つかの方法によって検出しえる。かかる方法の例には、ウエスタンブロッティング, ELISA, 免疫組織化学, FACS, 表面プラズモン共鳴またはクロマトグラフィーなどの質量分光法, 免疫学に基づく技術が含まれる。これらの及び他の技術に関する方法は、文献 (例えば、AUSUBEL et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, N.Y., 1998; ABELOFF, Clinical Oncology, 3rd edition. Churchill Livingstone/ Elsevier Press, 2004; HARLOW, E and LANE D. Antibodies: A Laboratory Manual. 1988. Cold Spring Harbor Laboratory Press; SAMBROOK J and RUSSELL DW. Molecular cloning: A Laboratory Manual 2001 Cold Spring Harbor Laboratory Press; Harrison 's Principles of Internal Medicine 15th ed. BRAUNWALD et al eds. McGraw-Hill) に認められる。14-3-3の検出法は、例えば、WO 99/4640

40

50

1, US 2005/9094, WO 97/38315 および WO 97/33601に記載され、これらの文献の全ては本明細書中に参照によって援用される。

【0023】

ウエスタンブロッティング

滑液または血清(各2 μ l)を、12%(wt/vol)アクリルアミドゲルでSDS-PAGE分析し、PVDF膜(Millipore Corporation)に電気転写した。膜上の非特異的なタンパク質を、5%脱脂乳粉末をPBS-0.1% TweenTM-20中に含有するもので一晚ブロッキングした。免疫プロットを、2 μ g/mlの7アイソフォーム特異的なウサギ抗-ヒト14-3-3ポリクローナル抗体を用いて行った(Martin H, Patel Y, Jones D, Howell S, Robinson K and Aitken A 1993. Antibodies against the major brain isoforms of 14-3-3 protein. An antibody specific for the N-acetylated amino-terminus of a protein. FEBS Letters. 331:296-303)。その膜を、次に適切な二次の西洋わさびペルオキシダーゼ結合型抗-ウサギIgG (Sigma, St Louis, USA)または抗-マウスIgG(Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA)抗体(1:2500希釈)でインキュベーションした。免疫反応性のタンパク質を、次にECL + プラス ウエスタンブロッティング検出システム(Amersham Biosciences, Buckinghamshire, England)を用いて視覚化した。ケラチノサイト細胞溶解産物(K)を、正の対照として使用した。S F: 滑液; PS: 患者の血清。

10

【0024】

患者サンプル

滑液を、抗-TNF療法の施設の前に活動的な滑膜炎を有する患者の膝関節から得た。全患者は、>6.0のDASスコアを有していた。適合した血液サンプルを、標準の静脈穿刺処置で得た。血餅を、遠心分離で除去した。

20

【0025】

組換え型14-3-3エータ

ケラチノサイト由来の14-3-3エータに関するcDNAを、Ghahary等(Ghahary et al 2004 J Invest Dermatol 122:1188-1197)に記載された方法にしたがって、ヒトのケラチノサイトから抽出されたトータルRNAから調製し、クローン化し、大腸菌(E. coli)で発現し、アフィニティー精製した。14-3-3エータ cDNAのPCR増幅に使用されたプライマーは、配列番号15 (GCGAATTCCTGCAGCGGGCGCGCTGGCCGA)および配列番号16 (GCTCGAGCCTGAAGGATCTTCAGTTGCCTTC)であった。

30

【0026】

例1

RAに冒された患者の滑液および血清の14-3-3発現

プールされた患者の滑液(SF)および血清(PS)のサンプルにおける14-3-3タンパク質の異なるアイソフォームのレベルを、正の対照としてケラチノサイト細胞溶解産物(K)を用いてウエスタン分析で分析した。アイソフォームのみが、SFサンプルで検出され、PSと比較して強い強度で染色された。活動的な滑膜炎を呈するが抗-TNF療法をまだ受けていない17のRA患者からの関節の滑液サンプルも、14-3-3のアイソフォームの一貫した発現を呈した(図2)。全患者は、6.0より大きい疾患活動性スコア(DAS)を有していた。

40

【0027】

例2

患者の滑液血清におけるMMP発現

これらのバリエーションが同じ滑膜サンプルにおけるMMP-1およびMMP-3のものと相関するかを決定するために、全体の12のRA滑液サンプル及びそれらの適合した血清サンプルを14-3-3およびに関して同様にMMP-1およびMMP-3タンパク質に関して同時に評価した(図3)。14-3-3は、全サンプル中で検出された。MMP-1は全サンプル中(SFおよびPSの両方)で検出されたが、MMP-3は検出のレベルにおいてより可変的(variable)であった。14-3-3アイソフォームも、患者の滑液および血清のサンプル中で検出された(図4, 5)。

50

MMP-1 および MMP-3 の発現は、滑液および血清の両方において14-3-3 および アイソフォームの発現との有意な相関性が実証された(表 1)。

【表 1】

表 1: 血清および滑液における MMP および 14-3-3 タンパク質の相関性

	14-3-3 η 血清	14-3-3 η 滑膜	14-3-3 γ 血清	14-3-3 γ 滑膜
MMP-1	r=0.62; p=0.02	r=0.83; p=0.03	r=0.77; p=0.02	r=0.65; p=0.03
MMP-3	r=0.68; p=0.01	r=0.77; p=0.003	r=0.80; p=0.03	r=0.76; p=0.04

10

20

例3

患者の血清および滑液のサンプル中の14-3-3 タンパク質のウエスタンブロット検出の感受性

滑液 および 血清 サンプルにおける14-3-3 の検出レベルを決定するために、12のRAに冒された又は正常な患者(RA-affected or normal patients)からのサンプルをプールし、プールしたサンプルの限界希釈をウエスタンブロットで分析した。14-3-3 を、滑液の0.1 μ lの有効容積(effective volume)および血清の1.0 μ lの有効容積の程度に低い希釈の範囲で検出可能であった(図 6A)。

2 μ lのプールした正常な血清(NS)または患者の血清(PS)を、0.05 -2.0 μ gの範囲の組換え型の 14-3-3 の既知の濃度と共に分析した。2 μ lの容量のNS および PS サンプルは、それぞれ約 1-1.5 および 15-20 μ gの14-3-3 を有すると見積もられた(図 6B)。これによって、14-3-3 のレベルが通常患者と比較してRAに冒された患者の血清に約10倍過剰に生じることが示唆される。

30

【0028】

例4

抗-TNF療法の前後での14-3-3 の検出

図 7は、抗-TNF- α 治療の前(U)および後(T)のRA患者からの4 mlの血清サンプル中の14-3-3 エータタンパク質のレベルの経時的な検出を説明している。N= 負の対照であり、これは12の健常個体から得られた12の血清サンプルから調製された4 mlのプールされた血清サンプルである。P= 正の対照であり、これは4 mgのケラチノサイトの細胞溶解産物のトータルタンパク質(total protein)である。

40

【0029】

[参考文献]

以下の文献は、本明細書中に参照によって援用される：

1. Harris ED Jr., History and Epidemiology of Rheumatoid Arthritis: How long has it affected us, and who is at risk? In: Rheumatoid Arthritis. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997: 21-27.

2. Harris ED Jr., Introduction. In: Rheumatoid Arthritis. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997: xix-xxiii.

50

3. Harris ED Jr., Rheumatoid Synovium: Complex, and More Than the Sum of its Parts. In: Rheumatoid Arthritis. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997: 127-149.
5. Firestein GS. (1997). Rheumatoid synovitis and pannus. In: J.H. Klippel and P.A. Dieppe, Editors, Rheumatology, Mosby, London , pp. 5/13.1-5/13.5, 1997.
6. Pap T, Shigeyama Y, Kuchen S. (2000). Arthritis Rheum. 43: 1226-1232.
7. Tolboom TCA, Pieterman E, van der Laan WE. Ann. Rheum. Dis. 61: 975-980, 2002.
8. Sorsa T, Konttinen YT, Lindy O. Arthritis Rheum. 22: 44-53, 1992. 10
9. Lindy O, Konttinen YT, Sorsa T. Arthritis Rheum. 40:1391-1399, 1997.
10. Ahrens D, Koch AE, Pope RM. Arthritis Rheum. 39:1576-1587, 1996.
11. Smeets TJM, Dayer JM, Karan MC. Arthritis Rheum. 43:270-274, 2000.
12. Poole AR; Cartilage in health and disease. In: Koopman WJ. Ed. Arthritis and Allied conditions. A textbook of rheumatology. 14th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 2001: 226-284.
13. Konttinen YT, Ceponis A, Takagi M, Ainola M, Sorsa T, Sutinen M, et al. Matrix Biol. 17:585-601, 1998.
14. Katrib.A, McNeil HP, Youssef PP: Inflamm. Res. 51: 170-175, 2002.
15. Harris ED Jr., Cytokines, Lymphokines, Growth Factors, and Chemokines . In: Rheumatoid Arthritis. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997: 105-125. 20
16. Jasser, M.Z., Mitchell P.G. and Cheung, H.S.: induction of stromelysin-1 and collagenases synthesis in fibrochondrocytes by TNF-alpha. Matrix Biology 14: 241, 1994.
17. Burger D, Rezzonico R, Li JM, Modoux C, Pierce RA, Welgus HG, Dayer JM. Arthritis Rheum. 41(10):1748-59, 1998
18. Y. Yamamura, R. Gupta, Y. Morit, X. He, R. Pai, J. Endres, A. Freiberger, K. Chung and D.A. Fox. J. Immunol. 166 (2001), pp. 2270-2275
19. Miranda-Carus ME, Balsa A, Benito-Miguel M, Perez de Ayala C, Martin-Mola E. J. Immunol. 173:1463-1476, 2004 30
20. Cho ML, Yoon CH, Hwang CY. Arthritis Rheum. 50:776-784, 2004
21. Bombara MP, Webb DL, Conrad P. J. Leukocyte Biol. 54: 399-406, 1993.
22. McInnes IB, Leung BP, Liew FY. Arthritis Res. 2(5):374-8.34, 2000.
23. FU H, Subramanian RR, Masters SC:Annu Rev Pharmacol Toxicol 40:617-647, 2000.
24. Hsich G, Kenney K, Gibbs CJ, Lee KH, Harrington MG: N Engl J Med 335: 924-30, 1996
25. Wilker E, Yaffe MB: J Mol Cell Cardiol 37: 633-642, 2004.
26. Moore et al. 1967.
27. Ichimura T, Isobe T, Okuyama T, Yamauchi T, Fujisawa H (1987) FEBS Lett. 219:79-82. 40
28. Ichimura T, Isobe T, Okuyama T, Takahashi N, Araki K, Kuwano R, Akahashi Y (1988).. Proc Natl Acad Sci USA, 85:7084-8.
29. Toker A, Ellis CA, Sellers LA, Atiken A 1990. Eur J Biochem 191:421-429.
30. Craparo A, Freund R, Gustafson T (1997). J Biol Chem 272:11663-69.
31. Yaffe MB (2002). FEBS Lett 513(1):53-57.
32. Hermeking H, Lengauer C, Polyak K, He TC, Zhang L, Thiagalingam S, Kinzler KW, Vogelstein B. Mol Cell 1:3-11, 1997.
33. Chan TA, Hermeking H, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Nature 4 50

01:616-620, 1999.

34. Laronga C, Yang HY, Neal C, Lee MH (2000). J. Biol. Chem. 275:23106-23112.

35. Boston PF, Jackson P, Thompson RJ. J. Neurochem. 38, 1475-82, 1982.

36. Katz AB, Taichman, LB. J Invest Dermatol 112:818-821, 1999.

37. Ghahary A, Karimi-Busheri F, Marcoux Y, Li Y, Tredget EE, Kilani RT, Li L, Zheng J, Karami A, Keller B, Weinfeld M. J. Invest. Dermatol. 122(5): 1188-1197, 2004.

38. Ghaffari A, Li Y, Karami A, Ghaffari M, Tredget EE, Ghahary A. J. Cell. Biochem. Jan. 2006.

10

本発明の特定の態様が記載および説明されたが、かかる態様は本発明を説明するだけであると考えるべきであり、付随する特許請求の範囲に基づいて解釈される本発明を限定しない。

【図面の簡単な説明】

【0030】

本発明の態様を図解する図面

【図1】関節炎患者の滑液 (SF) および 血清 (PS)における14-3-3の様々なアイソフォームのウエスタンブロットによる検出。ケラチノサイト溶解産物(K)を、正の対照として使用した。

【図2】17の関節炎患者の滑液における14-3-3 の検出。滑液のサンプル(2 μ l/レーン)を、活動的な滑膜炎を有する17のRA患者から得て、14-3-3 アイソフォームに対するアイソフォーム特異的抗体を用いるウエスタンブロットで分析した。ケラチノサイト溶解産物(K)を、正の対照として使用した。14-3-3 のレベルは調査された患者集団において変動するが、全滑液サンプルにおいて確實 (reliably) に検出された。

20

【図3】患者の血清および滑液における14-3-3 , MMP-1 および MMP-3 発現。12の患者の適合した滑液 および 血清 サンプルをウエスタンブロットで検査した。ケラチノサイト細胞溶解産物(K)を、正の対照として使用した。SF: 滑液; PS: 患者 血清; MMP-1: マトリックスメタロプロテイナーゼ1; MMP-3: マトリックスメタロプロテイナーゼ3。

【図4】9の適合した患者の血清および滑液のサンプルにおける14-3-3 および のレベルの検出および比較。患者の滑液または血清(2 μ l/レーン)を、ウエスタンブロットで抗 14-3-3 または 抗体を用いて分析した。ケラチノサイト細胞溶解産物(K)を、正の対照として使用した。SF, 滑液; PS, 患者の血清。

30

【図5】適合した患者の血清および滑液のサンプルにおける14-3-3 のレベルを、濃度測定で定量し、下部のパネルに表した。ソリッドバー (Solid bars) は、同じ患者からの滑液サンプル (オープンバー) に対して標準化された血清における14-3-3 のレベルを示す。

【図6 A】正常および患者の血清の異なる容量における14-3-3 , , MMP-1およびMMP-3の検出。

【0031】

A) プールされた12の正常または患者の血清を調製し、ある範囲の容量 (0.1-2.0 μ l/レーン) をウエスタンブロットで14-3-3 , , MMP-1またはMMP-3を用いて分析した。罹患した患者からの2 μ lのプールした滑液(SF)を、正の対照として含ませた。

40

【図6 B】正常および患者の血清の異なる容量における14-3-3 , , MMP-1およびMMP-3の検出。

【0032】

B) 組換え型 (recombinant) の14-3-3 アイソフォーム(0.01- 2.0 μ g/レーン)を、2 μ lの正常な(NS)または患者の血清(PS)と並行してウエスタンブロットで分析した。

【図7】図7は、抗-TNF療法の前後での14-3-3 の検出を説明する。

【0033】

抗-TNF-a治療の前(U)および後(T)のRA患者からの4 mlの血清サンプル中の14-3-3 エータ

50

タンパク質のレベル。N= 負の対照であり、これは12の健常個体から得られた12の血清サンプルから調製された4 mlのプールされた血清サンプルである。P= 正の対照であり、これは4 mgのケラチノサイトの細胞溶解産物のトータルタンパク質 (total protein) である。

【 図 1 】

図 1

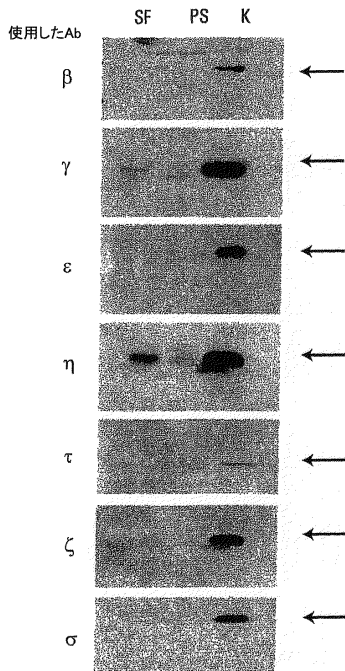


FIG. 1

【 図 2 】

図 2

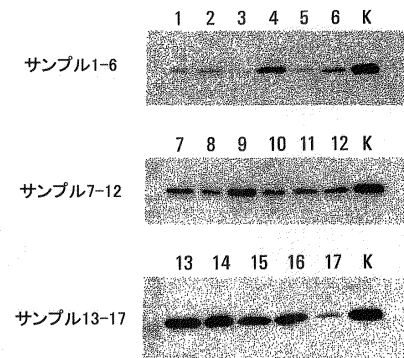


FIG. 2

【 図 3 】

図 3

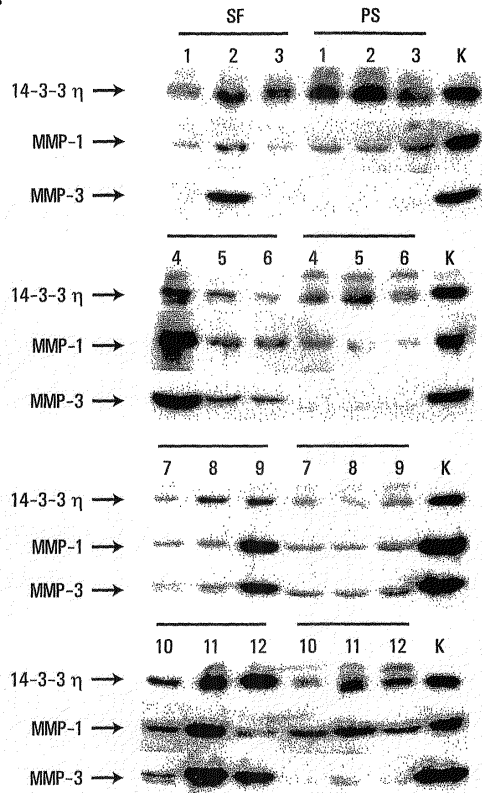


FIG. 3

【 図 4 】

図 4

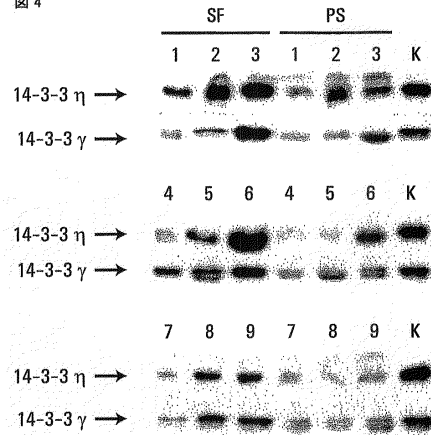


FIG. 4

【 図 5 】

図 5

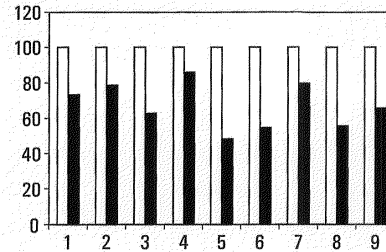


FIG. 5

【 図 6 A 】

図 6A

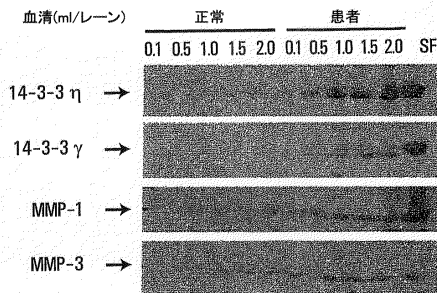


FIG. 6A

【 図 6 B 】

図 6B

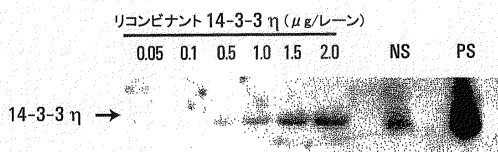


FIG. 6B

【 図 7 】

図 7

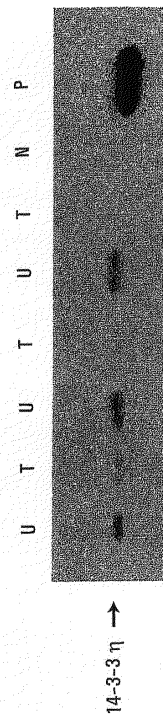


FIG. 7

【配列表】

0004991847000001.app

フロントページの続き

- (74)代理人 100109830
弁理士 福原 淑弘
- (74)代理人 100075672
弁理士 峰 隆司
- (74)代理人 100095441
弁理士 白根 俊郎
- (74)代理人 100084618
弁理士 村松 貞男
- (74)代理人 100103034
弁理士 野河 信久
- (74)代理人 100140176
弁理士 砂川 克
- (74)代理人 100100952
弁理士 風間 鉄也
- (72)発明者 ガハリー、アジズ
カナダ国、ブイ6シー・2シー6、プリティッシュ・コロンビア、バンクーバー、ダブリュ・ロードバ・ストリート 207-1077
- (72)発明者 マクシモウィッチ、ウォロディミア・ウォルター・ピーター
カナダ国、ティー6ジー・2エス2、アルバータ、エドモントン、バターワース・ウィンド 615
- (72)発明者 キラニ、ルハンギズ・タグヒ
カナダ国、ブイ6シー・2シー6、プリティッシュ・コロンビア、バンクーバー、ダブリュ・ロードバー・ストリート 2704-1077

審査官 宮澤 浩

- (56)参考文献 特開平04-237499(JP,A)
特開2002-071695(JP,A)
国際公開第2005/100992(WO,A1)
特表2002-533677(JP,A)
国際公開第95/022765(WO,A1)
国際公開第98/026293(WO,A1)
国際公開第99/046401(WO,A1)
国際公開第03/060465(WO,A1)
国際公開第2006/023412(WO,A1)
Endocrinology, vol.146, no.7, , p.3133-3140
ANNALS NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES, vol.966, p.491-495
Scandinavian Journal of Rheumatol, vol.34, p.426-432,
Annals of the Rheumatic Diseases, vol.57, p.550-558

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/53

专利名称(译)	裂解的蛋白质关节炎标记物		
公开(公告)号	JP4991847B2	公开(公告)日	2012-08-01
申请号	JP2009508069	申请日	2007-05-09
[标]申请(专利权)人(译)	英属哥伦比亚大学		
申请(专利权)人(译)	不列颠哥伦比亚大学		
当前申请(专利权)人(译)	不列颠哥伦比亚大学		
[标]发明人	ガハリーアジズ マクシモウィッチウォロディミアウォルターピーター キラニルハンギズタグヒ		
发明人	ガハリー、アジズ マクシモウィッチ、ウォロディミア・ウォルター・ピーター キラニ、ルハンギズ・タグヒ		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N2800/102		
FI分类号	G01N33/53.D		
代理人(译)	河野 哲 中村 诚		
审查员(译)	宫泽浩		
优先权	60/798712 2006-05-09 US		
其他公开文献	JP2009536318A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供了用于诊断关节炎的方法和试剂盒。该方法包括检测血清或滑液样品中的14-3-3 η 或 γ 蛋白。

	14-3-3 η 血清	14-3-3 η 滑膜	14-3-3 γ 血清	14-3-3 γ 滑膜
MMP-1	r=0.62; p=0.02	r=0.83; p=0.03	r=0.77; p=0.02	r=0.65; p=0.03
MMP-3	r=0.68; p=0.01	r=0.77; p=0.003	r=0.80; p=0.03	r=0.76; p=0.04