

(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2018-512857

(P2018-512857A)

(43) 公表日 平成30年5月24日 (2018.5.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)	C 1 2 Q 1/68 A	4 B 0 6 3
C 0 7 K 16/02 (2006.01)	C 0 7 K 16/02	4 C 0 8 5
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53 D	4 H 0 4 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	G 0 1 N 33/53 M	
A 6 1 P 25/04 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 Z	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 31 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2017-553420 (P2017-553420)	(71) 出願人	510232393
(86) (22) 出願日	平成28年4月14日 (2016.4.14)		ユリウス・マクシミリアンスーウニヴェル ジテート・ヴェルツブルク
(85) 翻訳文提出日	平成29年12月6日 (2017.12.6)		J u l i u s M a x i m i l i a n s - U n i v e r s i t a e t W u e r z b u r g
(86) 国際出願番号	PCT/EP2016/058276		ドイツ97070ヴェルツブルク、ザンダ ーリング2番
(87) 国際公開番号	W02016/166246	(71) 出願人	517352164
(87) 国際公開日	平成28年10月20日 (2016.10.20)		イグノヴァ・ゲーエムベーハー
(31) 優先権主張番号	15164087.7		I G N O V A G M B H
(32) 優先日	平成27年4月17日 (2015.4.17)		ドイツ国、61440 オーバーウルゼ ル、フェルトベルガーシュトラッセ 57
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	110001508
			特許業務法人 津国
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗 L P S 免疫グロブリン処置に対する臨床応答の予測バイオマーカー

(57) 【要約】

本発明は、抗 L P S 免疫グロブリン処置を必要とする患者における該処置に対する臨床応答を予測するためのバイオマーカーに関する。特に、本発明は、抗 L P S 免疫グロブリン処置を必要とする患者における該処置に対する臨床応答を予測するための方法であって、前記患者における C D 1 4、C D 6 8、T L R 4、T L R 7、I L 6、I L 8、I L 1 0、I F N - ア ル フ ァ、I G F 1、C X C L 1、C X C L 9、C X C L 1 0、R A G E、G D N F、B C H E、及びその組合せからなる群より選択される予測バイオマーカーの発現を評価するステップを含む方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗 L P S 免疫グロブリン処置を必要とする患者における処置に対する応答を予測するためのインビトロ方法であって、該方法が、前記患者から得られた生物学的試料、例えば血液試料中の 1 つ以上のバイオマーカーの発現を評価するステップを含み、前記 1 つ以上のバイオマーカーが、C D 1 4、C D 6 8、T L R - 4、T L R - 7、I L - 6、I L - 8、I L - 1 0、I F N - アルファ、I G F - 1、C X C L 1、C X C L 9、C X C L 1 0、R A G E、G D N F 及び B C H E からなる群より選択される、方法。

【請求項 2】

評価するステップが、(a) 前記患者から得られた生物学的試料中の選択されたバイオマーカーの 1 つ以上の発現を定量して、各定量されたバイオマーカーについての発現値を得ること、及び (b) ステップ (a) で得られた各発現値を、対応する対照値と比較することを含む、請求項 1 記載の方法。

10

【請求項 3】

前記対照値が、非応答患者、応答患者及び／又は健康な対象において観察された発現値に対応する、請求項 2 記載の方法。

【請求項 4】

前記抗 L P S 免疫グロブリン処置が、I g Y 組成物、好ましくは経口投与用の I g Y 組成物である、請求項 1、2 又は 3 記載の方法。

【請求項 5】

前記 I g Y 組成物が、好ましくは少なくとも 2 つの別個のグラム陰性細菌種からの、グラム陰性細菌又は、その L P S 含有部分で免疫処置されたメンドリから得られる、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項記載の方法。

20

【請求項 6】

前記患者が、末梢血中の活性化単球 (C D 1 4 +) により誘導される慢性疾患、好ましくは：

- 慢性の広範囲にわたる疼痛、線維筋痛症、五十肩又は癒着性関節包炎、口腔粘膜炎、手根管症候群、及び膀胱症候群を含むが、これらに限定されない、突発性慢性疼痛症候群；
- 片頭痛、慢性頭頸部減速外傷、上顎炎、インピンジメント症候群；
- 移植片対宿主病 (G V H D)、非限定的に、クローン病、潰瘍性大腸炎、及び過敏性腸症候群を含む慢性炎症性胃腸疾患；
- クレスト症候群、全身性エリテマトーデス、尋常性天疱瘡、強皮症；
- 骨関節炎及びアテローム動脈硬化症

30

からなる群より選択される疾患の 1 つを患うヒト対象である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 7】

選択されたバイオマーカーの中の 2、3、4、又は 5 つのバイオマーカーの発現が定量される、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 8】

末梢血中の活性化単球 (C D 1 4 +) により誘導される慢性疾患を処置する方法における使用のための抗 L P S 免疫グロブリン組成物であって、前記患者における、C D 1 4、C D 6 8、T L R - 4、T L R - 7、I L - 6、I L - 8、I L - 1 0、I F N - アルファ、I G F - 1、C X C L 1、C X C L 9、C X C L 1 0、R A G E、G D N F 及び B C H E の群より選択される 1 つ以上のバイオマーカーの発現を評価することにより、前記患者が、前記抗 L P S 免疫グロブリン製剤に対する応答者として選択される、抗 L P S 免疫グロブリン組成物。

40

【請求項 9】

方法が、前記 1 つ以上の選択されたバイオマーカーのそれぞれの発現レベルを対応する対照値と比較するステップを含むことを特徴とする、請求項 8 記載の使用のための抗 L P

50

S 免疫グロブリン組成物。

【請求項 10】

好ましくは経口投与用の I g Y 組成物、より好ましくはグラム陰性細菌又はその L P S 含有部分で免疫処置されたメンドリから得られた I g Y 組成物である、請求項 8 又は 9 記載の使用のための抗 L P S 免疫グロブリン組成物。

【請求項 11】

末梢血中の活性化単球（C D 1 4 +）により誘導される前記慢性疾患が：

- － 慢性の広範囲にわたる疼痛、線維筋痛症、五十肩又は癒着性関節包炎、口腔粘膜炎、手根管症候群、及び膀胱症候群を含むが、これらに限定されない、突発性慢性疼痛症候群；
 - － 片頭痛、慢性頭頸部減速外傷、上顎炎、インピンジメント症候群；
 - － 移植片対宿主病（G V H D）、クローン病、潰瘍性大腸炎、及び過敏性腸症候群を含むが、これらに限定されない、慢性炎症性胃腸疾患；
 - － クレスト症候群、全身性エリテマトーデス、尋常性天疱瘡、強皮症；並びに
 - － 骨関節炎及びアテローム動脈硬化症
- からなる群より選択される、請求項 8 ～ 10 のいずれか一項記載の使用のための抗 L P S 免疫グロブリン組成物。

【請求項 12】

慢性疾患に冒された患者に抗 L P S 免疫グロブリン組成物の治療上効果的な量を投与することを含む、末梢血中の活性化単球（C D 1 4 +）により誘導される前記慢性疾患を処置するための方法であって、前記患者が、前記抗 L P S 免疫グロブリン薬の応答者であり、該応答者が、C D 1 4、C D 6 8、T L R - 4、T L R - 7、I L - 6、I L - 8、I L - 10、I F N - アルファ、I G F - 1、C X C L 1、C X C L 9、C X C L 10、R A G E、G D N F 及び B C H E からなる群より選択される 1 つ以上のバイオマーカーの発現レベルを評価することにより選択される、方法。

【請求項 13】

- （a）患者からの生物学的試料、例えば血液試料を提供するステップ；
 - （b）前記生物学的試料中の 1 つ以上の選択されたバイオマーカーの発現を評価するステップ；及び
 - （c）評価するステップ（b）に基づき、前記患者が、前記抗 L P S 免疫グロブリン処置に対する応答者であると予測される場合に限り、患者に前記抗 L P S 免疫グロブリン処置の治療有効量を投与するステップ
- を含む、請求項 12 記載の方法。

【請求項 14】

前記抗 L P S 免疫グロブリン処置が、I g Y 組成物、好ましくは経口投与用の I g Y 組成物、より好ましくは、グラム陰性細菌又はその L P S 含有部分で免疫処置されたメンドリから得られた I g Y 組成物の治療上効果的な量である、請求項 12 又は 13 記載の方法。

【請求項 15】

末梢血中の活性化単球（C D 1 4 +）により誘導される前記慢性疾患が：

- － 慢性の広範囲にわたる疼痛、線維筋痛症、五十肩又は癒着性関節包炎、口腔粘膜炎、手根管症候群、及び膀胱症候群を含むが、これらに限定されない、突発性慢性疼痛症候群；
 - － 片頭痛、慢性頭頸部減速外傷、上顎炎、インピンジメント症候群；
 - － 移植片対宿主病（G V H D）、クローン病、潰瘍性大腸炎、及び過敏性腸症候群を含むが、これらに限定されない、慢性炎症性胃腸疾患；
 - － クレスト症候群、全身性エリテマトーデス、尋常性天疱瘡、強皮症；並びに
 - － 骨関節炎及びアテローム動脈硬化症
- からなる群より選択される、請求項 12 ～ 14 のいずれか一項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗LPS免疫グロブリン処置を必要とする患者における該処置に対する臨床応答を予測するためのバイオマーカーに関する。特に、本発明は、抗LPS免疫グロブリン処置を必要とする患者における該処置に対する臨床応答を予測するための方法であって、該患者におけるCD14、CD68、TLR4、TLR7、IL6、IL8、IL10、IFN-α、IGF1、CXCL1、CXCL9、CXCL10、RAGE、GDNF、BCH E、及びその組合せからなる群より選択される予測バイオマーカーの発現を評価するステップを含む方法を提供する。

【0002】

背景

多様な慢性疾患が腸管リポ多糖（LPS）の全身移行によりトリガー、持続又は強化されるという証拠は、増え続けている [Pinzone et al. 2012]。細菌リポ多糖（LPS）は、多臓器機能障害症候群 [Louis et al. 2013] 及び急性呼吸促迫症候群 [Bernard et al., Am J Respir Crit Care Med 1994; 149: 818-824] の原因であると考えられる。インビトロ研究及びインビボ研究の両方から、LPSの投与が多様な反応を引き起こすことが示された [Windsor et al. 1993; Louis et al. 2013]。インビトロ研究は、LPSが内皮細胞のアポトーシスを直接誘導するわけではないことを示している。いくつかの研究は、内皮細胞のアポトーシスの原因として、LPSにより誘導される腫瘍壊死因子α（TNF-α）を指摘した [Bazzoni and Beutler N Engl J Med 1996; 334: 1717-1725; Buchman et al. Am J Physiol 1993, 265: H165-170; Polunovsky et al. Exp Cell Res 1994, 214: 584-594; Robaye et al. Am J Pathol 1991, 138: 447-453; Takei et al., J Gastroenterol Hepatol, 1995, 10: 65-67; Munshi et al. J Immunol. 2002 Jun 1;168(11):5860-6]。

【0003】

LPSは、単球細胞表面のCD14により誘引されることも公知である [Devitt et al. 1998; Tapping et al. Nature 1998; 392: 505-509]。興味深いことに、これは、LPSを経由したシグナル伝達における第1のステップを反映すると広く考えられている。

【0004】

臨床的視点からの別の問題は、LPSターンオーバーを含む治療的介入が全体的なアポトーシス応答に及ぼす影響に関する。これに関連して、免疫グロブリンは、無症状の免疫活性化に冒された患者にいくつかの有益な免疫効果を長期で発揮し得る。これは、細菌LPS分子に対する抗体、及び同様に強いLPS阻害活性を発揮するラクトフェリンによって主に反映される [Bellamy et al. Biochim Biophys Acta 1992; 1121: 130-136, Appelmelk et al Infection and Immunity 1994; 62(2): 2628-2632; Inubushi et al. 2012]。しかし、経口抗LPS免疫グロブリンのエフェクターメカニズムの効果及び特異性の全容は、完全には研究されていない。主要な1つのエフェクターメカニズムは、単球細胞におけるアポトーシスと関係し得る。

【0005】

本発明者らは、抗LPS抗体（免疫グロブリン）の経口投与に基づく新しい治療アプローチが、そのような処置を必要とする患者、例えば慢性疼痛症候群を有する患者の50%超に有意又は完全な症状緩和をもたらすことを示した（未公表のデータ）。

【0006】

LPSの移行及び炎症によりトリガーされる疾患についてのパラメーターの適切な科学的検証及び全体的な臨床的認定は、そのような疾患の処置に関する現在の見通しを劇的に変化させる可能性がある。

【0007】

予測バイオマーカーは、特定の治療法（薬物）に対する感受性又は抵抗（応答）の可能性に関連する。予測バイオマーカーという概念は、通常、治療法を調整して効力を最大化するという目標で個別の患者に適用される。より具体的で実際的な言い方では、本明細書

10

20

30

40

50

に実証されるような予測バイオマーカーは、どの患者が、抗LPS免疫グロブリン処置に対する応答者であるかを、臨床家が判定することを支援することができよう。

【0008】

したがって、本発明の一目的は、個別の患者の経口免疫グロブリン療法の臨床的有益性（すなわち経口抗LPS免疫グロブリン処置に対する応答者）を判定するため及び非応答者に抗LPS免疫グロブリン処置を施すことを回避するための、信頼できる予後診断アッセイ法を提供することである。患者を処置する前に応答者を選択するための方法は、個別化された治療的決定を可能にし、それは、今度は、患者にとって大きな心理的利益となり、健康アウトカムを向上し、地域社会にとっての経済的利益を提供する。

【0009】

本発明の別の目的は、患者の生物学的試料、好ましくは血液試料から行うこともできる予後診断アッセイ法を提供することである。

【0010】

本発明のさらなる目的は、予後診断アッセイ法に従って応答者として診断された患者の少なくとも80%、若しくは90%、又はより好ましくは少なくとも95%、なおより好ましくは少なくとも98%が、実際に、LPS免疫グロブリン処置に対する真の応答者であるがゆえに高度に特異的な、予後診断アッセイ法を提供することである。

【0011】

この必要性を満たすために、本発明者らは、経口抗LPS免疫グロブリン処置前後の患者における広範囲の免疫パラメーターに焦点を合わせ、その結果を健康な対照個体のパラメーターと比較する実験室スクリーニングを行った。

【0012】

したがって、本発明の方法により、これらの個体が抗LPS免疫グロブリン処置を受ける前に患者の選択を行うことができる。これは、患者への精神的ストレスを緩和し、コストを節減する。

【0013】

本発明者らによって行われた選別の結果から、15個の特異的なパラメーターのプロファイル（すなわち、予測バイオマーカー）が、計画された抗LPS免疫グロブリン処置に対する応答者と非応答者との区別を可能にすることが実証された。

【0014】

好ましい実施態様の概要

一態様では、本発明は、抗LPS免疫グロブリン処置を必要とする患者における該処置に対する応答を予測するためのインビトロ方法であって、該患者から得られた生物学的試料中の1つ以上のバイオマーカーの発現を評価するステップを含む方法に関し、その際、該1つ以上のバイオマーカーは、CD14、CD68、TLR-4、TLR-7、IL-6、IL-8、IL-10、IFN-アルファ、IGF-1、CXCL1、CXCL9、CXCL10、RAGE、GDNF及びBCH Eからなる予測バイオマーカーの群より選択される。

【0015】

より具体的には、前記評価するステップは、前記患者の生物学的試料中の選択された予測バイオマーカーの1つ以上の発現を定量して発現値を得て、各発現値を、対応する対照値と、例えば健康志願者からの対応する発現値と比較するステップを含む。ある特定の実施態様では、そのような対照値は、健康な対象において観察される、対応するバイオマーカーの基準化平均発現値であり得る。

【0016】

好ましい実施態様では、前記抗LPS免疫グロブリン処置は、経口投与用の組成物、例えばIgY組成物である。特定の実施態様では、前記IgY組成物は、好ましくは少なくとも2つの別個の細菌種から得られた、グラム陰性細菌又は、そのLPS含有部分で免疫処置されたメンドリから得られた、IgY（又はその抗原結合部分）を含む。

【0017】

前記実施態様と組み合わせられる場合がある別の特定の実施態様では、前記方法は、末梢血中の活性化単球（CD14+）により誘導される慢性疾患を患うヒト対象のために適用される。末梢血中の活性化単球（CD14+）により誘導されるそのような慢性疾患には、

- － 慢性の広範囲にわたる疼痛、線維筋痛症、及び膀胱症候群を含むが、これらに限定されない、突発性慢性疼痛症候群；
 - － 片頭痛、慢性頭頸部減速外傷、上顎炎、インピンジメント症候群；
 - － 移植片対宿主病（GVHD）、クローン病、潰瘍性大腸炎、及び過敏性腸症候群を含むが、これらに限定されない、慢性炎症性胃腸疾患；
 - － クレスト症候群、全身性エリテマトーデス、尋常性天疱瘡、強皮症；並びに
 - － アテローム動脈硬化症
- が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0018】

本発明の方法の特定の実施態様では、本発明の15個の予測バイオマーカーの中の2、3、4、又は5つのバイオマーカーの発現が評価される。

【0019】

前記実施態様と組み合わせられる場合がある別の特定の実施態様では、生物学的試料は血液試料である。

【0020】

前記実施態様と組み合わせられる場合がある別の特定の実施態様では、前記発現は、リアルタイム定量PCRにより定量される遺伝子発現である。

20

【0021】

前記実施態様と組み合わせられる場合がある別の特定の実施態様では、前記発現は、特定の抗体により定量されるタンパク質バイオマーカーの発現である。

【0022】

別の態様では、本発明は、末梢血中の活性化単球（CD14+）により誘導される慢性疾患を処置するための方法であって、該慢性疾患に冒された患者に抗LPS免疫グロブリン組成物の治療上効果的な量を投与することを含む方法に関し、その際、該患者は、該抗LPS免疫グロブリン組成物に対する応答者であり、該応答者は、CD14、CD68、TLR-4、TLR-7、IL-6、IL-8、IL-10、IFN-アルファ、IGF-1、CXCL1、CXCL9、CXCL10、RAGE、GDNF及びBCH Eからなる群より選択される1つ以上の予測バイオマーカーの発現を評価することにより選択される。典型的には、前記方法は、（a）患者から生物学的試料を提供するステップ；（b）該生物学的試料中の上記と同義の1つ以上の予測バイオマーカーの発現を定量するステップ、及び（c）該1つ以上のバイオマーカーの発現レベルに基づき、前記患者が、該抗LPS免疫グロブリン組成物に対する応答者であると予測される場合に限り、患者に該抗LPS免疫グロブリン組成物の治療有効量を投与するステップを含み得る。

30

【0023】

詳細な説明

抗LPS処置を必要とする患者における該処置に対する応答の予測を可能にする予後診断方法が、本発明により提供される。特に、末梢血中の活性化単球（CD14+）により誘導される慢性疾患を患う患者における抗LPS IgY処置などの抗LPS処置に対する臨床応答の予測を可能にする方法及びキットが、本明細書において提供される。

40

【0024】

本発明により、個別に又は組み合わせ、抗LPS処置に対する臨床応答を高確率で予測する15個のバイオマーカーのセットが特定された。これらの予測バイオマーカーの特定は、非応答患者と比べた応答患者の末梢血試料中のいくつかのサイトカイン又はサイトカイン受容体の発現の系統的定量により可能であった。

【0025】

したがって、本発明の第1の目的は、抗LPS免疫グロブリン処置を必要とする患者に

50

おける該処置に対する応答を予測するための方法であって、該患者から得られた生物学的試料中の1つ以上のバイオマーカーの発現を評価するステップを含む方法からなり、その際、該1つ以上のバイオマーカーは、CD14、CD68、TLR4、TLR7、IL6、IL8、IL10、IFN-α、IGF-1、CXCL1、CXCL9、CXCL10、RAGE、GDNF及びBCH Eからなる予測バイオマーカーの群より選択される。

【0026】

本明細書における実施例に示されるように、本発明者らは、抗LPS処置に対する応答患者と非応答患者との間で候補バイオマーカーの発現レベル値を比較したときに、健康な対象及び非応答対象のいずれかと比較して、応答対象における発現が統計的に異なるバイオマーカーを特定し、それらのバイオマーカーを本明細書で以下では「予測バイオマーカー」と呼び、下記の表1に挙げる。

【0027】

抗LPS免疫グロブリン処置を必要とする患者

本明細書において互換的に使用される用語「患者」及び「対象」は、例えば、末梢血中の活性化単球（CD14+）により誘導される慢性疾患を有するか、あるいは有する疑いがある対象を含む、動物界の任意のメンバー、好ましくは哺乳類、又はヒトを表す。

【0028】

抗LPS免疫グロブリン処置は、実際に、末梢血中の活性化単球（CD14+）により誘導される慢性疾患を患う患者に有効であることが示されている。該CD14+単球は、グラム陰性細菌又はその部分により消化管内で活性化され、単球/マクロファージ関連サイトカインの過剰産生をもたらす。

【0029】

グラム陰性細菌は、ヒト消化管マイクロバイオームの一部である。ある程度の内毒素リポ多糖LPSは、ヒトの防御システムにより耐容されるので、生理学的に健康な消化管環境において、これらのグラム陰性細菌は、ヒトの健康に全くリスクを引き起こさない。それは、実際に、宿主免疫系への正のフィードバックとして必要とされる。

【0030】

病的状況では、グラム陰性細菌の過剰増殖及び粘膜炎によりトリガーされた消化管粘膜透過性の増強がある可能性がある。その両者は、粘膜下レベルでリポ多糖（LPS）及び鞭毛、表面タンパク質などのグラム陰性細菌の他の成分の存在が増加すること、並びに結果として自然免疫系パターン認識受容体との接触が増加することをもたらす。

【0031】

Waaga-Gasserらは、2009年 [International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Vol 47, No. 7/2009 (421-433)] に、特発性疼痛症候群を示している患者が、LPSにより活性化された後にアポトーシスにならないような活性化単球を有していることを示した。

【0032】

したがって、LPSは、マクロファージの活性化に続いて、これらの細胞における機能障害的なアポトーシス誘導をトリガーする。これら2つの組合せは、正のフィードバックループ及び身体の全身部分へのLPSシグナルの移行をもたらす、本質的に閾値以下の慢性炎症をもたらす。

【0033】

この慢性炎症は、今度は症候性疾患に特異的な表現型をもたらす。

【0034】

したがって、特定の実施態様では、そのような抗LPS処置を必要とする患者は、全てがLPSにより活性化された活性化（CD14+）単球により特徴付けられる、以下の慢性疾患の1つ以上を患う：

移行メカニズムに関連する疾患：

— 突発性慢性疼痛症候群（慢性の広範囲にわたる疼痛、線維筋痛症、膀胱症候群を含む

10

20

30

40

50

が、これらに限定されない)などの疼痛関連疾患、

ー 片頭痛、頭頸部減速外傷、上顎炎、インピンジメント症候群、

腸管における局所LPS中和メカニズムに関連する疾患：

ー 移植片対宿主病（GVHD）、クローン病、潰瘍性大腸炎、過敏性腸症候群などの慢性炎症性胃腸疾患、

自己免疫疾患：

ー クレスト症候群、全身性エリテマトーデス、尋常性天疱瘡、強皮症など、

他の疾患：

ー アテローム動脈硬化症、骨関節炎、認知症、アルツハイマー病、並びにうつ病及び統合失調症などの精神疾患など。

10

【0035】

特定の実施態様では、本発明の方法は、特発性疼痛症候群、移植片対宿主病（GVHD）並びに／又は尋常性天疱瘡及び上顎炎、片頭痛、骨関節炎、五十肩若しくは癒着性関節包炎、口腔粘膜炎、手根管症候群を患う患者に適用される。

【0036】

抗LPS免疫グロブリン処置

本明細書に使用される「抗LPS免疫グロブリン処置」は、リポ多糖（LPS）又はそのようなリポ多糖若しくはそのLPS含有部分を産生する微生物に対する免疫グロブリン又はその抗原結合部分から作られた物質又は組成物を有効成分として含む任意の治療的処置に関する。

20

【0037】

本明細書に使用され、当技術分野において十分に理解されているような「処置」は、臨床結果を含む有益な結果又は所望の結果を得るためのアプローチである。有益な結果又は所望の結果は、1つ以上の症状又は状態の軽減又は回復、疾患の程度の縮小、疾患の安定化された（すなわち増悪していない）状態、疾患の蔓延防止、疾患進行の遅延又は減速、疾患の後退、病状の回復又は緩和、及び寛解（部分寛解又は全寛解のいずれにせよ）を含むことができるが、これらに限定されない。

【0038】

そのような抗LPS免疫グロブリン処置は、実際に、上述の末梢血中の活性化単球（CD14+）により誘導される慢性疾患を患う患者の処置に有効であることが示された。

30

【0039】

活性化単球により誘導される慢性疾患を患う患者におけるそのような抗LPS免疫グロブリン処置及びその有益な結果の好ましい例は、国際公開公報第2012136522号及び国際公開公報第2012136534号に記載されている。

【0040】

特定の一実施態様では、そのような抗LPS免疫グロブリン処置は、LPS発現微生物又はLPS含有部分、より好ましくはグラム陰性細菌又はそのLPS含有部分に対するポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体を含む。

【0041】

本明細書に使用される用語「抗体」又は「免疫グロブリン」は、抗体全体及びその任意の抗原結合フラグメント又は誘導体（すなわち「抗原結合部分」）又は単鎖を含む。特定の実施態様では、そのような抗体又は免疫グロブリンは、モノクローナル若しくはポリクローナルの抗体若しくは免疫グロブリン、又は免疫処置された動物若しくは組換え細胞から得られた免疫グロブリン、及びその抗原結合部分を含み得る。

40

【0042】

天然抗体では、2つの重鎖がジスルフィド結合により相互に連結しており、各重鎖はジスルフィド結合により軽鎖と連結している。2種類の軽鎖、すなわちラムダ（ λ ）及びカッパ（ κ ）がある。軽鎖は、2つのドメイン、すなわち可変ドメイン（VL）及び定常ドメイン（CL）を含む。重鎖は、4つのドメイン、すなわち可変ドメイン（VH）及び3つの定常ドメイン（CH1、CH2及びCH3、まとめてCHと呼ばれる）を含む。軽鎖

50

(V L) 及び重鎖 (V H) の両方の可変領域は、抗原への結合認識及び特異性を決定する。軽鎖 (C L) 及び重鎖 (C H) の定常領域ドメインは、抗体鎖の結合、分泌、経胎盤移動、補体結合、及び F c 受容体 (F c R) との結合性などの重要な生物学的性質を付与する。F v フラグメントは、免疫グロブリンの F a b フラグメントの N 末端部分であり、1 つの軽鎖及び 1 つの重鎖の可変部分からなる。抗体の特異性は、抗体結合部位と抗原決定基との間の構造的相補性に備わる。抗体結合部位は、主として、超可変領域又は相補性決定領域 (C D R) 由来の残基から構成される。時として、非超可変領域又はフレームワーク領域 (F R) 由来の残基は、全体的なドメイン構造に、したがって結合部位に影響する。相補性決定領域又は C D R は、一緒になってネイティブな免疫グロブリン結合部位の天然 F v 領域の結合親和性及び特異性を規定するアミノ酸配列を表す。免疫グロブリンの各軽鎖及び重鎖は、それぞれ L C D R 1、L C D R 2、L C D R 3 及び H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3 と呼ばれる 3 つの C D R をそれぞれ有する。したがって、抗原結合部位は、典型的には、重鎖及び軽鎖の V 領域のそれぞれからの C D R セットを含む 6 つの C D R を含む。フレームワーク領域 (F R) は、C D R の間に挿入されたアミノ酸配列を表す。各 V H 及び V L は、アミノ末端からカルボキシ末端に以下の順序：F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、F R 4 に配列された 3 つの C D R 及び 4 つの F R から構成される。

10

【0043】

さらに、F v フラグメントの 2 つのドメイン V L 及び V H は、別々の遺伝子によりコードされているとはいえ、組換え方法を使用して、V L 領域及び V H 領域が対になって一価分子 (単鎖 F v (s c F v)) として公知；例えば、Bird et al., 1988 Science 242:423-426；及び Huston et al., 1988 Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883 参照) を形成する単鎖タンパク質としてそれらのドメインを作ることができる合成リンカーによりそれらを繋ぐことができる。そのような単鎖抗体は、また、抗体の「抗原結合部分」という用語の中に包含されることが意図される。これらの抗体フラグメントは、当業者に公知の従来技法を使用して得られ、インタクトな抗体と同様の方法で、フラグメントが有用性についてスクリーニングされる。

20

【0044】

本明細書に使用される用語「モノクローナル抗体」又は「モノクローナル抗体組成物」は、単一分子組成物の抗体分子の製剤を表す。モノクローナル抗体組成物は、特定のエピトープに対して単一の結合特異性及び親和性を示す。

30

【0045】

本明細書に使用される用語「組換え抗体」は、動物 (例えばマウス) 又はそれから調製されたハイブリドーマから単離された抗体と、抗体を発現するように形質転換された宿主細胞、例えばトランスフェクトーマ、から単離された抗体と、組換えコンビナトリアル抗体ライブラリーから単離された抗体と、免疫グロブリン遺伝子配列の全て又は部分から他の D N A 配列へのスプライシングを含む任意の他の手段により調製、発現、創出又は単離された抗体とのような、組換え手段により調製、発現、創出又は単離された全ての抗体を含む。

【0046】

用語「免疫グロブリン」は、また、キメラ抗体又はヒト化抗体を含む。

40

【0047】

用語「キメラ抗体」は、非ヒト抗体の V H ドメイン及び V L ドメイン、並びにヒト抗体の C H ドメイン及び C L ドメインを含む抗体を表す。

【0048】

本発明により、用語「ヒト化抗体」は、ヒト抗体由来の可変領域フレームワーク及び定常領域を有するが、実質的に非ヒト抗体のまさにその C D R を保持する、抗体を表す。

【0049】

特定の実施態様では、用語「抗原結合部分」は、抗体の C D R を含む可変ドメインを含む、該抗体又は免疫グロブリンのフラグメントを表す。基本抗体フラグメントは、F a b

50

、F a b'、F (a b')₂ F v、s c F v、d s F vなどを含む。抗体フラグメントの例として、Holliger et al Nature Biotechnology 23, issue 9 1126 - 1136 (2005)の総説も参照されたい。

【0050】

用語「F a b」は、分子量約50,000及び抗原結合活性を有する抗体フラグメントを意味し、その際、I g Gをプロテアーゼであるパパインで処理することにより得られるフラグメントのうちH鎖のN末端側約半分及びL鎖全体は、ジスルフィド結合を経由して一緒に結合している。

【0051】

用語「F (a b')₂」は、約100,000の分子量と抗原結合活性とを有する抗体フラグメントであって、I g Gをプロテアーゼであるペプシンで処理することにより得られるフラグメントのうちヒンジ領域のジスルフィド結合を経由して結合している、F a bよりもわずかに大きい抗体フラグメントを表す。

【0052】

用語「F a b'」は、F (a b')₂のヒンジ領域のジスルフィド結合を切断することにより得られる、約50,000の分子量と抗原結合活性とを有する抗体フラグメントを表す。

【0053】

単鎖F v (「s c F v」)ポリペプチドは、V Hをコードする遺伝子及びV Lをコードする遺伝子がペプチドをコードするリンカーにより連結したものを含む融合遺伝子から通常発現される、共有結合したV H：：V Lヘテロ二量体である。「d s F v」は、ジスルフィド結合により安定化されたV H：：V Lヘテロ二量体である。二価及び多価抗体フラグメントは、一価s c F v同士の結合により自然に形成することができるか、又は二価s c (F v)₂のように、ペプチドリンカーにより一価s c F vを結合させることにより生成することができるかのいずれかである。

【0054】

メンドリの天然免疫グロブリンは、ジスルフィド結合により架橋された軽(L)鎖及び重(H)鎖を有する点で哺乳類免疫グロブリンに似ている。その分子は、抗原結合部位を有する可変部及び定常部で構成されている。メンドリの場合、免疫グロブリンM (I g M)、Y (I g Y)及びA (I g A)の間で区別される。I g Mは、哺乳類I g Mと同じ機能を有する。I g Mは、全ての脊椎動物に存在し、その高分子量により一次応答を送達する。最近の遺伝研究の結果は、I g Y分子が系統発生的に哺乳類のI g G及びI g Eの前駆体であることを示唆している。メンドリI g Yの重鎖は哺乳類I g Gのヒンジ領域の代わりに追加的な定常ドメインを有するので、I g Yと哺乳類I g Gとの間に構造の明確な差がある。それで、I g Yの分子量はI g Gと比較して高い。哺乳類I g GのようにI g Yは、その高い血清中濃度及び低い分子量で第2の応答を送達する免疫グロブリンである。文献では、用語I g G及びI g Yは、時に、メンドリに関して同義語として使用されるので、最新の知見に基づき、国際E C V A Mワークショップの枠組内で、用語I g Yをくまなく使用すべきであることが決定された。(Schade et al 2005)。しかし、本明細書に使用される用語I g Yは、そのようなI g Yの任意の抗原結合部分も含む。

【0055】

「L P S産生微生物」は、典型的には、グラム陰性細菌より選択され得、最も好ましくは、ストレプトバシラス モニリフォルミス (Streptobacillus moniliformis)、髄膜炎菌、クラミドフィラ (Chlamydia)、クラミジア (chlamydia)、スピロヘータ、シアノバクテリア、プロテオバクテリア フィルム (Proteobacteria phylum)の種、特に腸内細菌科 (Enterobacteriaceae) (大腸菌 (Escherichia coli)、サルモネラ (Salmonella)、シゲラ (Shigella)、クレブシエラ (Klebsiella)、プロテウス (Proteus)、エンテロバクター (Enterobacter))、シュードモナス (Pseudomonas) 細菌、レジオネラ (Legionella) 細菌、ナイセリア (Neisseria) 細菌、リケッチア (Rickettsia) 細菌、パスツレラ マルトシダ (Pasteurella multocida) 細菌及びバクテロイデス門 (Bacteroidete

10

20

30

40

50

s) 株の種からなる群より選択され得る。

【0056】

LPS 産生微生物の前記 LPS 含有部分は、LPS 産生微生物により産生されるリポ多糖（LPS 抗原決定基とも呼ばれる）に対する免疫応答を生じることが可能な任意の抗原であり得る。

【0057】

特定の実施態様では、前記抗 LPS 免疫グロブリン処置は、免疫グロブリン A、免疫グロブリン D、免疫グロブリン E、免疫グロブリン M、免疫グロブリン G 及び／若しくは免疫グロブリン Y、又はその抗原結合部分を含む又は本質的にそれからなる。

【0058】

特定の実施態様では、前記抗 LPS 免疫グロブリン処置は、ウシ Ig G、より具体的には初乳由来ウシ Ig G 又はその抗原結合部分を含む。

【0059】

好ましい実施態様では、前記抗 LPS 免疫グロブリン処置は、抗 LPS Ig Y 組成物、最も好ましくは、グラム陰性細菌に対して産生されたポリクローナル Ig Y 抗体又はその抗原結合部分を含む。

【0060】

以前の実施態様と組み合わせることができる好ましい実施態様では、Ig Y ポリクローナル抗体は、少なくとも部分的に卵黄粉末、好ましくは脱脂又は部分脱脂卵黄粉末から得られたものである。

【0061】

脱脂又は部分脱脂卵黄粉末は、標準的な工程（液体卵黄又は乾燥卵黄粉末からの脂肪の除去）により、好ましくは、限外濾過、水希釈、濾過、ゲル電気泳動、クロマトグラフィー、ヘキサン又は超臨界 CO₂ を使用することにより得られる。脂肪を除去した後、脱脂された液体卵黄又は卵黄粉末が凍結乾燥又は噴霧乾燥により乾燥される。

【0062】

卵黄から得られた Ig Y 組成物は、典型的には、例えば、HDL 及び LDL などのリポタンパク質、並びに卵黄の水溶性タンパク質、α-リベチン（80 kDa）、β-リベチン（45 kDa）及び／又は γ-リベチン（150 kDa）を含み、該水溶性タンパク質は、卵に見られる酵素の大部分も含む（Ternes, Acker and Scholtyssek, Ei und Eiprodukte, 1994）。

【0063】

メンドリ（又はその卵）から抗 LPS Ig Y を得るために、ニワトリは、有利には LPS 産生微生物により免疫処置され得る。

【0064】

特定の実施態様では、前記抗 LPS 免疫グロブリン処置は、グラム陰性細菌、又は好ましくは少なくとも 2 つの別個のグラム陰性細菌種由来のその LPS 含有部分で免疫処置されたメンドリの卵黄から得られた抗 LPS Ig Y 組成物又はその抗原結合部分を含む。

【0065】

例えば、抗 LPS 処置の調製に適切な前記 Ig Y 組成物は、以下の方法により得られ得る：

- a) メンドリの少なくとも 2 つの別個の群の各群に LPS 産生グラム陰性細菌で免疫処置し、ここで各群に異なる細菌種が与えられること、
- b) 少なくとも 2 つの別個の群のそれぞれから抗体含有画分を得ること、
- c) 結果として生じた抗体製剤が、各細菌種又はその LPS 含有部分に対する各抗体画分を全抗体含量の少なくとも 3 重量% 含み、好ましくは、各微生物種に対する各特異的抗体の全量が全抗体含量の ≥ 7 重量% であるように、少なくとも 2 つの抗体含有画分を混合すること。

【0066】

上記特異的産生方法により、抗 LPS 免疫グロブリン処置は、別個のリポ多糖発現グラ

10

20

30

40

50

ム陰性細菌を標的化する少なくとも2つの特異的抗体画分、例えば2つから10個の間の特異的抗体画分を含むIgY組成物であり得；各場合において各特異的抗体画分が、抗体製剤の全抗体含量の少なくとも3重量%の抗体含量を有し；好ましくは、リポ多糖発現微生物に対するそのような特異的抗体画分の全量は、抗体製剤の全抗体含量の ≥ 7 重量%である。

【0067】

特定の実施態様では、前記IgY組成物は、大腸菌、サルモネラ、シゲラ、クレブシエラ、プロテウス、及びエンテロバクターからなる群より選択されるグラム陰性細菌に対する抗体画分を含む。より具体的には、好ましい一実施態様では、前記IgY組成物は、大腸菌に対するポリクローナルIgYからなる1つの画分及びネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) に対するポリクローナルIgYからなる別の画分を含む。

10

【0068】

より好ましくは、各特異的抗体画分は、IgY組成物の全抗体含量の少なくとも4重量%を占め、なおより好ましくは、該特異的抗体の全量は、抗体製剤の全抗体含量のそれぞれ ≥ 10 重量%である。

【0069】

特定の一実施態様では、前記抗LP S処置は、経口投与用に製剤化される。

【0070】

好ましくは、前記抗LP S処置は、経口投与用の上記IgY組成物である。

【0071】

20

予後診断方法

本発明の方法は、抗LP S免疫グロブリン処置に対する患者の応答を予測可能にする。

【0072】

本明細書に使用される用語「予測する」は、患者が前記処置に応答するかどうかを処置の前に高レベルの確率（統計的に有意）で判定することを可能にする方法を表す。したがって、用語「予測する」は、必ずしも絶対的な応答からなるわけではない。むしろ、この用語は、集団における平均確率と比較して当該患者が良好な応答者である確率がより高いことを判定可能にする応答からなり得る。

【0073】

本明細書に使用される「抗LP S免疫グロブリン処置に対する応答」又は「抗LP S免疫グロブリン処置に対する臨床応答」は、該抗LP S免疫グロブリンにより処置されるべき疾患の症状の少なくとも1つが、処置前の該症状と比較して処置後に減少している場合に同様に観察される。特定の実施態様では、慢性疾患の該症状は、疼痛、例えば、前記患者により毎日合計されたスコア（NRS）（NRS疼痛スコア値）により測定されるような慢性疾患に関連する特異的疼痛症状である。そのような特定の実施態様では、抗LP S免疫グロブリン処置に対する応答は、処置前の対応するNRS疼痛スコア値の平均値と比較して、処置（例えば5日間）後のNRS疼痛スコア値の平均値の有意な減少がある。

30

【0074】

本明細書に使用される用語「減少する」又は「増加する」は、対照値の統計的に有意な減少又は増加、好ましくは、対照値の少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも90%、又は少なくとも99%の減少又は増加を意味する。

40

【0075】

本発明の方法によると、患者は、処置前に生物学的試料中の予測バイオマーカーの1つ以上の発現の評価に基づき応答者又は非応答者であると予測される。

【0076】

本明細書に使用される用語「応答者」は、抗LP S免疫グロブリン処置に対してプラスの処置応答を示す又は示す可能性のある患者を意味する。実施態様では、応答者は、処置後に有意な疼痛緩和又は少なくとも1つの疼痛症状の全緩和さえ示す又は示す可能性のある、特発性疼痛症候群を患う患者である。

50

【0077】

本明細書に使用される用語「非応答者」は、プラスの処置又は抗LPS免疫グロブリン処置に対する応答を示さない患者か、又は示さない可能性がある患者を意味する。実施態様では、非応答者は、特発性疼痛症候群を患い、かつ処置後に疼痛症状のいずれかの任意の有意な疼痛緩和を示さない患者か、又は示さない可能性がある患者である。

【0078】

したがって、本発明の方法は、(a) 前記患者から得られた生物学的試料中の1つ以上の予測バイオマーカの発現を定量し、(b) 得られた発現値を対応する対照値と比較するステップを含む。

【0079】

本明細書に使用される用語「生物学的試料」は、該生物学的試料が、(i) 末梢血液細胞又は(ii) 患者からの末梢血液細胞により産生される核酸若しくはタンパク質を含有しやすいことを条件として、対象から単離された組織、細胞、生体液及びその単離物、並びに対象内に存在する組織、細胞及び液体を含むことが意図される。特定の実施態様では、本発明の方法に使用するための前記生物学的試料は、末梢血液細胞試料及びタンパク質を含む血液試料である。

【0080】

予測バイオマーカの発現の定量

本発明の予測方法は、生物学的試料中の予測バイオマーカの1つ以上の発現を評価するステップを含む。

【0081】

本明細書に使用される用語「評価すること」は、典型的には、(a) 前記対象から得られた生物学的試料中の選択された予測バイオマーカの1つ以上の発現を定量して発現値を得るステップ、及び(b) 得られた、該予測バイオマーカの各発現値を対応する対照値と比較するステップであって、それぞれの対照値と比較された発現値の差が、対象が抗LPS免疫グロブリン処置に対する応答者であることを示すステップを含む。

【0082】

バイオマーカの発現は、対象の生物学的試料、例えば血液試料中の予測バイオマーカの遺伝子又はタンパク質の発現を決定することにより定量することができる。定量は、相対的(バイオマーカの量を、公知の量のバイオマーカを有する対照と比較すること、例えばその対照と比較して「より高い」又は「より低い」量を検出することによる)、又はより正確に言えば、少なくとも公知の対照量と比較して特定の量を決定することであり得る。

【0083】

用語「核酸」及び「ポリヌクレオチド」は、互換的に使用され、デオキシリボヌクレオチド若しくはリボヌクレオチド又はその類似体のいずれかの、任意の長さのポリマー形態のヌクレオチドを表す。ポリヌクレオチドは、任意の三次元構造を有することができ、任意の機能を果たし得る。以下は、ポリヌクレオチドの例であるが、これらに限定されない：遺伝子又は遺伝子フラグメント、エクソン、メッセンジャーRNA(mRNA)、cDNA、任意の配列の単離されたDNA、任意の配列の単離されたRNA、核酸プローブ、及びプライマー。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチド及びヌクレオチド類似体などの改変ヌクレオチドを含むことができる。ヌクレオチド構造への改変は、存在する場合、ポリマーの集合前又は後に付与することができる。ヌクレオチド配列は、非ヌクレオチド成分により中断される可能性がある。ポリヌクレオチドを、さらに、標識成分とのコンジュゲーションなどによる重合後に改変することができる。本用語は、また、二本鎖分子及び一本鎖分子の両方を表す。特に特定又は必要とされない限り、ポリヌクレオチドである本発明の任意の実施態様は、二本鎖形態と、二本鎖形態を構成することが公知であるか、又は予測される、2つの相補的一本鎖形態のそれぞれとの両方を包含する。

【0084】

「遺伝子」は、転写及び翻訳された後で特定のポリペプチド又はタンパク質をコードす

10

20

30

40

50

ることが可能な少なくとも1つのオープンリーディングフレーム（ORF）を含むポリヌクレオチドを表す。ポリヌクレオチド配列は、関連する遺伝子の比較的大きなフラグメント又は全長コード配列を特定するために使用することができる。比較的大きなフラグメント配列を単離する方法は、当業者に公知である。

【0085】

「遺伝子発現」、「遺伝子産物」又は「発現」は、全て、本明細書において互換的に使用され、遺伝子が転写及び翻訳されるときに生成される核酸又はアミノ酸（例えば、ペプチド又はポリペプチド）、バイオマーカーのcDNA又はRNA配列；バイオマーカー遺伝子の発現、バイオマーカータンパク質の発現、バイオマーカーmRNAの発現；バイオマーカータンパク質の機能的効果、バイオマーカー遺伝子、cDNA又はmRNAの機能的効果、タンパク質、cDNA、遺伝子又はmRNAの活性を表す。

10

【0086】

特定の実施態様では、「遺伝子発現」、「遺伝子産物」又は「発現」は、mRNA発現、cDNA発現、タンパク質転写及びタンパク質発現を意味する。

【0087】

用語「ポリペプチド」は、用語「タンパク質」と互換的に使用され、その最も広い意味で、2個以上のサブユニットアミノ酸の化合物を表す。サブユニットは、ペプチド結合により連結されている可能性がある。

【0088】

そのような定量方法は、代替的に、例えばリアルタイム定量PCRを行うことによって、及び、DNAマイクロアレイ、すなわち前記予測バイオマーカーの増幅されたmRNAに対応するcDNAと特異的にハイブリダイズする核酸が上に所定の位置で結合している基材、を使用することによって、前記予測バイオマーカーの対応するmRNAを定量することを包含する、前記予測バイオマーカーの対応する遺伝子発現レベルを検出及び定量することを含み得る。

20

【0089】

典型的には、特定の実施態様では、患者の生物学的試料から得られた、転写されたポリヌクレオチド（mRNA）の混合物は、逆転写及び定量的増幅に供される。前記cDNA又はmRNAは、DNAマイクロアレイとのストリンジェントなハイブリダイゼーション又はノーザンブロットのいずれかによるインビトロ技法により検出され得る。

30

【0090】

いずれにせよ、そのような検出アッセイ法及び定量アッセイ法の一般的原理は、予測バイオマーカー及びプローブを相互作用及び結合させるために適切な条件で十分な時間、予測バイオマーカー及びプローブを含有し得る試料又は反応混合物を調製することで、反応混合物中から検出（及び定量）することができる複合体を形成させることを含む。

【0091】

バイオマーカーのこれらの検出アッセイ法及び定量アッセイ法は、多様な方法で行うことができる。特定のアッセイ法に適切な条件及びその成分は、当業者に周知である。

【0092】

特定の実施態様では、予測バイオマーカーmRNAのレベルは、当技術分野において公知の方法を使用して、インビトロ形式により生物学的試料から決定することができる。

40

【0093】

本発明の予測方法を実施する目的で生物学的マーカーを定量するための具体的な方法を本明細書において後述する。それらの方法は、実施例に記載されたLuminex及びELISA定量方法を含む。

【0094】

cDNAマイクロアレイによる予測バイオマーカーの定量

本実施態様により、本明細書全体にわたり開示された15個の予測バイオマーカーのうち1つ又は2、3、4、5つ若しくは6つの組合せに基づきマイクロアレイが構築される場合がある。これらのバイオマーカー用のプローブが、マイクロアレイ上に配置される場

50

合がある。これらのプローブは、PCR方法に使用されるプローブと異なり得る。しかし、予測バイオマーカーを有する核酸（mRNA若しくはcDNA又はcDNA物質のPCR増幅物）だけがハイブリダイズして陽性の結果を与え得るような条件で、それらを設計及び使用すべきである。

【0095】

好ましい実施態様では、アレイは、さらに、1個以上の対照プローブを含む。

【0096】

特定の実施態様では、前記プローブは、約5～約500個又は約5～約200個のヌクレオチド長、より好ましくは約10～約100個のヌクレオチド長、最も好ましくは約15～約70個のヌクレオチド長の範囲のオリゴヌクレオチドであり得る。他の特に好ましい実施態様では、プローブは、約20又は25個のヌクレオチド長である。別の好ましい実施態様では、試験プローブは、二本鎖又は一本鎖DNA配列である。DNA配列は、天然源から単離若しくはクローニングされる場合があり、又は天然核酸をテンプレートとして使用して天然源から増幅される場合がある。これらのプローブは、予測バイオマーカーの遺伝子の特定の部分配列に相補的な配列を有し、その遺伝子の発現を検出するように設計されている。

【0097】

関心対象の標的核酸（予測バイオマーカーの1個以上の対応する遺伝子発現）と結合する試験プローブに加えて、マイクロアレイは、いくつかの対照プローブを含むことができる。対照プローブは、本明細書において基準化対照；発現レベル対照；及びミスマッチ対照と呼ばれる3つに分類される場合がある。基準化対照は、核酸試料に添加される標識化参照オリゴヌクレオチド又は他の核酸配列に相補的なオリゴヌクレオチド又は他の核酸プローブである。ハイブリダイゼーション後の基準化対照から得られたシグナルは、ハイブリダイゼーション条件、標識強度、「読取り」効率及び完全なハイブリダイゼーションのシグナルをアレイの間で変動させ得る他の要因における変動に関する対照を提供する。好ましい実施態様では、アレイ中の全ての他のプローブからのシグナル（例えば蛍光強度）の読取りを対照プローブからのシグナル（蛍光強度）で除算することにより、測定値が基準化される。事実上、任意のプローブが基準化対照として役立ち得る。しかし、ハイブリダイゼーション効率は、塩基組成及びプローブ長に応じて変動することが認識されている。好ましい基準化プローブは、アレイ中に存在する他のプローブの平均長を反映するように選択されるが、しかし、一連の長さに及ぶようにそれらを選択することもできる。基準化対照は、また、アレイ中の他のプローブの（平均）塩基組成を反映するように選択することができるが、しかし、好ましい実施態様では、1つ又は少数のプローブだけが使用され、プローブは、十分にハイブリダイズして（すなわち二次構造なし）、いずれの標的的特異的プローブともマッチしないように選択される。

【0098】

発現レベル対照は、生物学的試料中の構成性発現される遺伝子と特異的にハイブリダイズするプローブである。事実上、任意の構成性発現される遺伝子が、発現レベル対照に適切な標的となる。典型的な発現レベル対照プローブは、ベータ-アクチン遺伝子、RNA 18S、トランスフェリン受容体遺伝子、GAPDH遺伝子、ユビキチンC（UBC）遺伝子、リボソームタンパク質ラージP0（RPLP0）遺伝子、ベータ-2-ミクログロブリン（B2M）、ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ1（HPR1）遺伝子、TATAボックス結合タンパク質（TBP）遺伝子、ペプチジルプロリルイソメラーゼA（PPIA）遺伝子、グルクロニダーゼベータ（GUSB）遺伝子、及びホスホグリセリン酸キナーゼ1（PGK1）遺伝子を含む、構成的に発現される「ハウスキーピング遺伝子」の部分配列に相補的な配列を有する。

【0099】

差次的に発現される遺伝子用のオリゴヌクレオチドプローブを含む固体支持体は、当業者に公知の任意の固体又は半固体支持物質であることができる。適切な例には、メンブレン、フィルター、組織培養皿、ポリ塩化ビニル皿、ビーズ、試験ストリップ、シリコン又

10

20

30

40

50

はガラスベースチップなどが含まれるがこれらに限定されない。適切なガラスウェーハ及びハイブリダイゼーション方法が、広く利用可能である。オリゴヌクレオチドが直接的又は間接的のいずれかで、共有結合的又は非共有結合的のいずれかで結合することができる任意の固体表面を使用することができる。一部の実施態様では、同じ固体支持体に共有結合するオリゴヌクレオチドもあれば、非共有結合するものもあることが望ましい場合がある。好ましい固体支持体は、高密度アレイ又はDNAチップである。これらは、アレイ上の所定の位置に特定のオリゴヌクレオチドプローブを含む。各所定の位置は、1つを超えるプローブ分子を含む場合があるが、所定の位置内の各分子は、同一の配列を有する。そのような所定の位置は、特徴 (feature) と称される。

【0100】

10

リアルタイム定量PCRによる予測バイオマーカーの定量

核酸 (例えば、予測バイオマーカーのmRNA) を定量するための方法は、リアルタイム定量PCR方法 (RT-qPCR) を含み得る。RT-qPCRは、PCR産物が各増幅サイクルと共に蓄積するにつれて増加する蛍光レポート分子の検出に基づく。蛍光レポート分子は、二本鎖DNA (例えばSYBR Green I) と結合する色素又は配列特異的プローブ (例えば分子ビーコン又はTaqMan (登録商標) プローブ) を含む。そのような方法は、複数の予測バイオマーカーの発現を平行して定量することが可能な多重定量方法を含む。

【0101】

20

例えば、RT-qPCR方法の使用により本発明の予測バイオマーカーを定量するために、患者の血液細胞試料が収集される。該血液細胞を溶解し、標準法により全RNAを抽出する。

【0102】

次に、全RNA抽出物を逆転写に続いてリアルタイム定量PCR (例えば、実施例に記載のような) に供する。

【0103】

バイオマーカーポリペプチドの検出及び定量

バイオマーカーの発現レベルは、また、予測バイオマーカーのうち少なくとも1つのタンパク質発現又はタンパク質産物を調査することにより決定することができる。

【0104】

30

タンパク質レベルを決定することは、患者から得られた試料中のバイオマーカーのポリペプチドを選択的に認識し、それと結合する抗体の間で起こる任意の免疫特異的結合の量を測定すること、及びこれを、対照試料中の少なくとも1つのバイオマーカーの免疫特異的結合の量と比較することを含む。バイオマーカーのタンパク質発現の量は、対照の発現と比較して増加又は減少する可能性がある。あるいは、1つを超える予測バイオマーカーの組合せをアッセイすることができる。

【0105】

当技術分野において、様々なイムノアッセイ法を含む様々な方法が、そのような生物学的試料中のタンパク質の発現レベルを検出するために公知である。それらには、ラジオイムノアッセイ法、ELISA (酵素結合性免疫吸着アッセイ法)、「サンドイッチ」イムノアッセイ法、免疫放射定量アッセイ法、インサイツイムノアッセイ法 (例えば、コロイド金、酵素又は放射性同位体標識を使用する)、ウェスタンブロット分析、免疫沈降アッセイ法、免疫蛍光アッセイ法、フローサイトメトリー、免疫組織化学的検査、共焦点顕微鏡法、酵素アッセイ法、表面プラズモン共鳴法及びPAGE-SDSが含まれるが、これらに限定されない。

【0106】

40

タンパク質レベルを決定することは、例えば、患者から得られた試料中のバイオマーカーのポリペプチドを選択的に認識し、それと結合する抗体の間に起こる任意の免疫特異的結合の量を測定することを含む。これらのアッセイ法は、また、標的バイオマーカーに対する標識化抗体の直接結合も含み得る。

50

【0107】

サンドイッチアッセイ法は、最も有用で一般に使用されているアッセイ法に含まれる。サンドイッチアッセイ技法のいくつかの変形が存在し、全てが本発明により包含されることが意図される。簡潔には、典型的なフォワードアッセイ法では、未標識化抗体が固体支持体上に固定化され、結合した分子と被験試料が接触される。抗体－抗原複合体を形成させるために十分な期間の適切なインキュベーション期間の後で、次に、抗原に特異的であるが、検出可能なシグナルを産生することができる、レポーター分子で標識された二次抗体が添加され、別の抗体－抗原－標識化抗体複合体の形成に十分な時間を見込んでインキュベートされる。あらゆる未反応物質が洗浄除去され、抗原の存在が、レポーター分子により産生されたシグナルの観察により決定される。結果は、可視シグナルの単純な観察による定性的、又は既知量のバイオマーカーを含む対照試料と比較することによる定量的のいずれかであり得る。

10

【0108】

フォワードアッセイ法に関する変形は、結合した抗体に試料及び標識化抗体の両方が同時に添加される同時アッセイ法を含む。これらの技法は、容易に明白であるような任意の小さな変形を含めて、当業者に周知である。典型的なフォワードサンドイッチアッセイ法では、バイオマーカーに特異性を有する一次抗体が、固体表面に共有結合又は受動結合される。

【0109】

結合工程は、当技術分野において周知であり、一般的に、架橋的共有結合又は物理吸着からなり、ポリマー－抗体複合体は、被験試料を調製する際に洗浄される。次に、被験試料の一定分量が固相複合体に添加され、抗体に存在する任意のサブユニットを結合させるために十分な時間（例えば2～40分又はより好都合ならば一晚）及び適切な条件（例えば、25℃ないし32℃（両端の値を含む）などの、室温～40℃）でインキュベーションされる。インキュベーション期間に続いて、抗体サブユニットの固相が洗浄及び乾燥され、バイオマーカーの部分に特異的な二次抗体と共にインキュベートされる。二次抗体は、分子マーカーとの二次抗体の結合を指し示すために使用されるレポーター分子と連結されている。

20

【0110】

代替的な方法は、試料中の予測バイオマーカーを固定化すること、及び次にレポーター分子で標識化されている場合もあり、又は標識されていない場合もある特異的抗体に、固定化されたバイオマーカーを曝露することを含む。バイオマーカー標的の量及びレポーター分子のシグナル強度に応じて、結合したバイオマーカー標的は、抗体を用いた直接標識により検出可能であり得る。あるいは、一次抗体に特異的な二次標識化抗体が、標的－一次抗体複合体に曝露されて標的－一次抗体－二次抗体三元性化合物を形成する。この複合体は、レポーター分子により発生されるシグナルにより検出される。

30

【0111】

本明細書に使用される「レポーター分子」は、その化学的性質により、抗原と結合した抗体の検出を可能にする、分析により特定可能なシグナルを与える分子を意味する。この種のアッセイ法に最も一般に使用されるレポーター分子は、酵素、フルオロフォア又は放射性核種含有分子（すなわち放射性同位体）及び化学発光分子のいずれかである。

40

【0112】

酵素イムノアッセイ法又はELISAアッセイ法の場合、酵素は、典型的には、一般的にグルタルアルデヒド又は過ヨウ素酸塩により二次抗体にコンジュゲートされ得る。しかし、容易に認識されるように、当業者に容易に利用可能な、多種多様な異なるコンジュゲーション技法が存在する。一般に使用される酵素には、とりわけホースラディッシュペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、ガラクトシダーゼ及びアルカリホスファターゼが含まれる。特異的酵素と共に使用されるべき基質は、一般的に、対応する酵素による加水分解の際に、検出可能な変色を産生するために選ばれる。適切な酵素の例には、アルカリホスファターゼ及びペルオキシダーゼが含まれる。上述の発色基質の代わりに蛍光産物

50

を生じる蛍光基質を採用することも可能である。いかなる場合でも、酵素標識化抗体が、一次抗体－分子マーカー複合体に添加され、結合させられ、次に、過剰な試薬が洗浄除去される。次に、適切な基質を含有する溶液が、抗体－抗原－抗体複合体に添加される。基質が、二次抗体と連結した酵素と反応し、定性的可視シグナルを与え、そのシグナルを通常は分光光度的にさらに定量して、試料中に存在したバイオマーカーの量の示度を与えられる場合がある。

【0113】

あるいは、フルオレセイン及びローダミンなどの蛍光化合物は、抗体の結合能を変化させずにその抗体と化学的に結合し得る。特定波長の光照明により活性化されると、蛍光色素標識化抗体は光エネルギーを吸着し、分子の励起状態を誘導し、続いて光学顕微鏡で視覚的に検出可能な特徴的な色で光を放射する。蛍光標識化抗体は、EIAの場合と同様に、一次抗体－分子マーカー複合体と結合させられる。未結合の試薬を洗浄除去後に、次に、残りの三元性複合体が適切な波長の光に曝露され、観察された蛍光は、関心対象の分子マーカーの存在を示す。免疫蛍光及びEIA技法は、両方とも、当技術分野において非常に確立している。しかし、放射性同位体、化学発光分子又は生物発光分子などの他のレポーター分子も採用される場合がある。

【0114】

予測バイオマーカーの発現レベルと対照値との比較

本発明の予測方法の特定の実施態様では、定量するステップは、このように、比較するステップに使用するための「生物学的試料中の各被験バイオマーカーについての「発現値」を得られるようにする。

【0115】

比較するステップに使用しやすいように、前記発現値は、発現レベルの絶対値を参照値と比較した後に得られる基準化（相対）値からなり得、該参照値は、例えば、生物学的試料中の参照タンパク質の発現レベル値からなる。

【0116】

処置前の患者における予測バイオマーカーの1つ以上の発現の定量後に得られた各発現レベル値は、対応する対照値と比較され、患者が応答者であるか又は非応答者であるかを判定可能にする。

【0117】

好ましくは、前記発現レベル値は、絶対発現レベル値を正常値と比較した後に得られる基準化相対値からなり、該正常値は、ハウスキーピング遺伝子である β -アクチン、18S RNA又はペプチジルプロリルイソメラーゼA (PPiA) などの構成性（又は参照）遺伝子の発現レベル値からなる。

【0118】

前記対照値は、例えば、健康な対象、応答患者及び／又は非応答患者の基準化（相対）平均値の平均値であり得る。そのような基準化平均値の例は、15個の予測バイオマーカーのそれぞれについて下の実施例に示される。

【0119】

前記対照値は、また、本発明の方法のために使用される定量方法及び予測バイオマーカーに応じた日常的な実験法により決定することができる。

【0120】

例えば、前記対照値は、非応答患者について観察された発現レベル値に対応し、発現レベル値が対照値と統計的に異なる場合、例えば、対照値と比較して増加している又は対照値と比較して減少している場合、患者は応答者であると予測される。

【0121】

あるいは、前記対照値は、応答患者について観察された発現レベル値に対応し、発現レベル値が対照値と統計的に異なる場合、患者は応答者であると予測される。

【0122】

本発明の方法のステップ（b）に言及される比較は、手作業で又はコンピューターを援

10

20

30

40

50

用して実施され得る。

【0123】

コンピューター援用比較のために、発現値は、データベースに記憶された対照値とコンピュータープログラムにより比較され得る。コンピュータープログラムは、さらに、比較の結果を評価する、すなわち、所望の判断を適切な出力形式で自動的に提供する場合がある。

【0124】

実施例に示されるように、IL6及びBCH E予測バイオマーカーを除き、全てのバイオマーカーは、0.0001以下のP値を有するので、本明細書に挙げた本発明による予測バイオマーカーのそれぞれは、抗LPS免疫グロブリン処置に対する応答を予測するために関連している。

【0125】

アッセイ法において予測バイオマーカーを組み合わせることにより統計的関連性が改善され得る。特定の実施態様では、本発明の15個の予測バイオマーカーのうち、2つの予測バイオマーカー、又は3、4、5、6、7若しくは8つの発現レベルまでもが評価される。

【0126】

予測バイオマーカーの2、3、4つ又はそれ超の任意の組合せが、本発明の方法により包含される。本発明の方法に使用するための予測バイオマーカーの特定の組合せを以下に挙げる：

(i) CD14+TLR4+IGF-1+IL-8+IFN-アルファ+CXCL10+GDNF

(ii) CD14+TLR4+IGF-1+IL-8+IFN-アルファ+RAGE

(iii) CD14+CD68+TLR4+IGF-1+IL-8+IFN-アルファ

(iv) CD14+TLR4+IGF-1+IL-8+IFN-アルファ

(v) CD14+TLR4+IGF-1+IL-8

(vi) CD14+TLR4+IGF-1+IFN-アルファ

(vii) CD14+TLR4+IGF-1+RAGE

又は既述のマーカーとの他の組合せ。

【0127】

比較するステップは、必ずしも、各バイオマーカーの発現値を対応する対照値と別々に比較することを含まない場合がある。特定の実施態様では、多バイオマーカーのスコア値は、発現値又はその基準化値と一緒に組み合わせることにより得ることができ、対応する多バイオマーカーのスコア対照値と比較することができる。

【0128】

予測バイオマーカー

本発明の15個の予測バイオマーカーを、Genbank命名法に従って、本明細書において「遺伝子記号」とも称されるその頭字語名により下記に説明する：

【0129】

10

20

30

【表 1】

バイオマーカー	UniprotKB/Swiss-Prot ¹
CD14	P08571
CD68	P34810
TLR4	O00206
TLR7	Q9NYK1
IL6	P05231
IL8	P10145
IL10	P22301
IFN α	P01562
IGF1	P05019
CXCL1	P09341
CXCL9	Q07325
CXCL10	P02778
RAGE (=AGER)	Q15109
GDNF	P39905
BCHE	P06276

10

20

表 1：予測バイオマーカーのリスト

¹<http://www.uniprot.org/>

【0130】

すでに上に説明したように、本発明においてバイオマーカーを参照する場合、代替的に、該バイオマーカーをコードする遺伝子（ポリヌクレオチド）、転写物RNA分子若しくは対応するcDNA若しくはタンパク質を含むその発現産物及び／又はその翻訳後改変物のいずれかを代替的に参照する場合がある。

30

【0131】

実施例の表2に示すように、予測バイオマーカーCD14、C68、TLR4、TLR7、IL2、IL6、IL8、IFN α 、CXCL1、CXCL9、CXCL10、GDNF、RAGE及びIGF1の相対発現値dCtは、非応答患者における対応する相対発現値と比較して、応答患者において有意に低いことが示されている。

【0132】

予測バイオマーカーBCHEの相対発現値は、非応答患者における対応する相対発現値と比較して応答患者において有意に高いことが示されている。

40

【0133】

バイオマーカーの発現についてのアッセイ及び抗LPS免疫グロブリンを用いた処置

患者が抗LPS免疫グロブリン処置に対する応答者であると予測された後、該応答患者だけに適切な抗LPS免疫グロブリン処置の投与を、処置のクールにわたり単回、連続的又は間欠的に実施することができる。

【0134】

最も有効な手段及び投与量を決定する方法は、当業者に周知であり、治療法のために使用される組成物、治療の目的、及び処置される対象に応じて変動する。単回又は多回投与を、処置にあたる医師により選択される用量レベル及びパターンで実施することができる。適切な投薬製剤及び薬剤を投与する方法は、経験的に調整され得る。好ましくは、経口

50

製剤が使用される。

【0135】

患者が抗LPS免疫グロブリン処置に対する非応答者であると予測される場合、代替的な治療法が好ましい場合がある。

【0136】

抗LPS処置の施行前に、表1から選択されるバイオマーカーの少なくとも1つをアッセイすることができる。あるいは、表1から選択された15個のバイオマーカーのうち1つを超える、例えば2、3、4、5、6、7、若しくは8つ、又は全てを一緒にアッセイすることができる。

【0137】

本発明のキット

本発明は、また、上に開示された本発明の予測方法を実施するためのキットに関する。キットは、それぞれが予測バイオマーカー（その核酸又はタンパク質のいずれか）のうち1つ以上と特異的に結合することが可能な複数の試薬を含み得る。そのようなキットに適切な試薬には、抗体又は核酸が含まれる。例えば、そのようなキットは、上記のDNAマイクロアレイを含む。そのようなキットは、代替的に、表1に挙げた予測バイオマーカーのうち1つ以上に関するRT-qPCRを実施するためのプライマー及びプローブを含み得る。

【0138】

したがって、本発明のモニタリング又は予測キットは、それぞれが予測バイオマーカーの1つの特異的な遺伝子又はタンパク質と特異的に結合可能な複数の試薬を含み得る。タンパク質バイオマーカーと特異的に結合するために適切な試薬は、抗体を含むが、これに限定されない。

【0139】

特定の実施態様では、キットは、以下の群のバイオマーカーを定量するための特定の試薬を含む：

(i) CD14+TLR4+IGF-1+IL-8+IFN-アルファ+CXC10+GDNF；

(ii) CD14+TLR4+IGF-1+IL-8+IFN-アルファ+RAGE；

(iii) CD14+CD68+TLR4+IGF-1+IL-8+IFN-アルファ；

(iv) CD14+TLR4+IGF-1+IL-8+IFN-アルファ；

(v) CD14+TLR4+IGF-1+IL-8；

(vi) CD14+TLR4+IGF-1+IFN-アルファ；若しくは

(vii) CD14+TLR4+IGF-1+RAGE、

又は上述の特異的バイオマーカーとの他の組合せ。

【0140】

実施例

抗LPS IgY処置の準備

下記の試料のための製剤原料の製造工程は、4つの主ステップを含んでいた。第1のステップは、6群のメンドリ（ニワトリ（*Gallus gallus domesticus*））に大腸菌F18及びネズミチフス菌、ポルフィロモナス ジンジバリス（*Porphyromonas gingivalis*）、ウェルシュ菌（*Clostridium perfringens*）C、ミュータンス菌（*Streptococcus Mutans*）の不活性化全細胞細菌、並びに真菌細胞カンジダ アルビカンス（*Candida albicans*）の抗原製剤をそれぞれワクチン接種することによるIgYの卵産生であった。6つの異なるメンドリ群を保持した。各群に上記抗原の1つで免疫処置した。第2のステップは、卵黄の分離、低温殺菌及び卵黄の噴霧乾燥を含む卵処理であった。第3のステップは、ヘキサンをを用いた脱脂及びオリゴ糖を用いた安定化であり、それに、第4のステップである、ワクチン接種後に6つの群から等量の脱脂卵黄粉末を混合することによる製剤原料の調製が続いた。混合された脱脂卵黄粉末（製剤原料）をそれ以上製剤化しなかった。それを患者

10

20

30

40

50

に与え、水で嚥下させた。あるいは、それをプレーンヨーグルトの中に混ぜ、次に食べさせることもできた。それぞれの施設内標準を使用する競合 E L I S A により I g Y の比活性を測定した。

【0141】

実施例 1：突発性慢性疼痛症候群を患う患者における予測バイオマーカー
被験患者のコホート

患者が分類にかかわらず慢性特発性疼痛を有し、あらゆる対症処置に許容可能な応答を有さなかった（慢性難治性疼痛症候群）場合、その患者（ $n = 40$ ）を含めた。卵成分にアレルギーを有する患者を除外した。患者を 4 週間にわたり処置した。I g Y 処置の最初の 2 週間の投薬量は、1 日 2 回 1.25 g、続いて後半の 2 週間に 1 日 2 回 2.5 g であった。臨床パラメーター及び検査パラメーターの両方により治療効果を判断した。その結果、検査パラメーターは盲検的な判断を受けた。使用したプロトコールは、地域の医学倫理委員会により承認され、試料を取得する前にインフォームドコンセントが患者により与えられた。

10

【0142】

臨床パラメーター

疼痛の毎日の要約スコア（数値評価尺度 N R S）及び 5 つの生活の質のパラメーターを含む患者の疼痛日記。疼痛日記は、3 つの異なる分類をされた疼痛症状（長期特発性疼痛を患う患者は、大部分の場合に 1 つを超える慢性疼痛症候群を示す）を毎日記録する選択肢を有していた。1 つを超える慢性疼痛実体を有する患者は、試験の開始前に 1 回、症状を自分が感じる疼痛強度にグレード分けした（疼痛 1 = 最高グレード、疼痛 3 = 最低グレード）。

20

【0143】

試験の主要臨床評価項目を、3 つの疼痛症状のうち少なくとも 1 つの平均 N R S 疼痛スコア値 2 つの変化として定義した。

【0144】

一次評価項目

試験の開始前の 5 日間の平均値と試験の終了前の 5 日間の平均値との間の疼痛日記の V A S 疼痛スコアにおける変化。3 つの恒常的疼痛症候群のうち少なくとも 1 つの数的評価尺度（N R S）の少なくとも 2 点の減少を陽性結果として定義した。標的 I g Y を含む脱脂卵黄粉末の有効性を示すことができた。それぞれの患者を「応答者」と名付けた。

30

【0145】

二次評価項目

（i）試験開始前の 5 日間の平均値と試験終了前の 5 日間の平均値との間の「生活の質のパラメーター」（疼痛日記のデータ）における変化。数的評価尺度（N R S）の少なくとも 2 点の減少を陽性結果として定義した。

（i i）処置前の値と処置終了時の値との間のバイオマーカーの値の有意な変化（応答患者を表す）。

（i i i）応答者と非応答者との間の治療前検査値の平均の有意な検査差（応答予測バイオマーカーの特定のため）。

40

（i v）予想外の有害反応の発生率及び重篤度

【0146】

合計 40 人の患者から、38 個体からの末梢血を分析し、未処置の健康志願者（ $n = 30$ ）の末梢血と比較した。

【0147】

リアルタイム P C R

q R T - P C R を以下のように実施した：ドイツのビュルツブルグ大学で、I g Y で処置された慢性疾患（慢性疼痛症候群）の患者から末梢血を 2 時点で採取した：（i）I g Y を用いた処置の開始前（ $T 1 = 0$ 週目）及び（i i）I g Y を用いた 4 週間処置の後（ $T 2 = 4$ 週目）。

50

【0148】

このために、両時点で患者からEDTA末梢血40mlを採取した。血液細胞を得るために、EDTA血1部と溶解緩衝液(Qiagen社)5部を混合し、室温(RT)で15分間保った。次に、チューブを311gで10分間遠心分離し、上清を捨てた。末梢血単核細胞(PBMC)のペレットをRPMI 1640培地(Gibco社)で洗浄した。この手順を3回行った。細胞を計数し、「凍結培地」(すなわち不活性化ウシ胎仔血清(FCS、Gibco社)+10%ジメチルスルホキシド(DMSO、Sigma社))を使用して細胞 5×10^6 個/mlを希釈し、 -80°C で保存した。

【0149】

定量リアルタイムPCRに従う逆転写(RT-qPCR)を使用して遺伝子発現を分析した。製造業者の説明書に従ってHigh Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Life Technologies, Carlsbad, CA)を使用して、全RNAからcDNAへの逆転写を実施した。

【0150】

(i) Taqman遺伝子発現マスターミックス(Life Technologies)及びTaqman遺伝子発現アッセイ法(Life Technologies)を製造業者の説明書に従って使用して遺伝子定量を行った。Biorad CFX96 TouchリアルタイムPCR検出システム(Biorad, Hercules, CA)で分析を行った。Biorad CFX Manager Analysisソフトウェア(Biorad)及びMicrosoft Excel 2010(Microsoft Corporation, Redmond, WA)並びに(ii) SYBR(登録商標)アッセイ法用のMESA GREEN qPCR MasterMix Plus(Eurogentec, Seraing, Belgium)及びRT2-qPCRプライマーアッセイ法(Qiagen, Hilden, Germany)を用いて定量データを解析した。反応混合物の調製のために、SYBR(登録商標)アッセイ法用のMESA GREEN qPCR MasterMix Plus 12.5 μl 、dH₂O 9.5 μl 及びRT2-qPCRプライマーアッセイ 1.0 μl を混合し、cDNA希釈物(cDNAを100ng含む)2.0 μl を添加した。

【0151】

製造業者の説明書に従って、Biorad CFX96 TouchリアルタイムPCR検出システム(Biorad, Hercules, CA)で分析を行った。Biorad CFX Manager Analysisソフトウェア(Biorad)及びMicrosoft Excel 2010(Microsoft Corporation, Redmond, WA)を用いて定量データを解析した。

【0152】

ハウスキーピング遺伝子である β -アクチン、18S RNA及びPP1Aを相対定量のために使用した。各試料を二つ組にすることにより再現性を確認した。平均閾値サイクル(Ct)の値を、レポーターの蛍光が一定の閾値に達するサイクル数として計算した。標的ウェル中の試料の平均Ct値とハウスキーピング遺伝子の平均Ct値との間の差(ΔCt)を判断した。

【0153】

治療応答の予測バイオマーカーの特定

試験開始前(初回量のDYP IgY産物の摂取前)及び試験最終日に血液試料を採取した。

【0154】

以下のバイオマーカーを分析した：インターロイキン(IL)-1 α 、IL-1 β 、IL-1Ra、IL-2、IL-2R、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-17、IL-18、インターフェロン(IFN)- α 、IFN- γ 、腫瘍壊死因子(TNF)- α 、TNF-R1、TNF-R1I、ケモカイン(C-Cモチーフ)リガンド2(CCL2)、CCL3、CCL4、CCL5、CCL7、CCL8、CCL11、ケモカイン受容体(CXCR)3、ケモカイン(C-X-Cモチーフ)リガンド1(CXCL1)、CXCL9、CXCL10、CXCL12、CXCL13、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、インスリン様成長因子1(IGF-1)、活性化B細胞核内因子カッパー軽

10

20

30

40

50

鎖エンハンサー（NF- κ B）、シクロオキシゲナーゼ（COX）-2、終末糖化産物受容体（RAGE）、高移動度群タンパク質B1（HMGB1）、熱ショックタンパク質（HSP）70、HSP90、CD14、CD19、CD20、CD21、CD45、CD68、tol様受容体（TLR）2、TLR3、TLR4、TLR7、TLR8、TLR9、サブスタンスP、ロイコトリエンB4（LTB4）、フラクタルキン、上皮成長因子（EGF）、血管内皮成長因子（VEGF）、塩基性線維芽細胞成長因子（FGF塩基性）、グリア細胞由来神経栄養因子（GDNF）、ブチリルチオコリン（BChE）。

【0155】

タンパク質及び遺伝子の発現レベルを決定した。イムノビーズ式のマルチプレックスアッセイ法（Luminex分析）を使用して、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1R α 、IL-2、IL-2R、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-17、IL-18、IFN- α 、IFN- γ 、TNF- α 、TNF-R1、TNF-R1I、CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CCL7、CCL8、CCL11、CXCR3、CXCL1、CXCL9、CXCL10、CXCL12、CXCL13、GM-CSF、EGF、VEGF、及び塩基性FGFのタンパク質レベルを血清試料中から二つ組で測定し、捕捉抗体コーティングビーズ及び標識化検出抗体のパネルをBiosource（Camarillo, Germany）から購入した。試薬を予備検査し、製造業者が認定して、抗体コーティングビーズの間の交差反応性がないことを確認した。Bio-Plexシステム（Biosource）を使用してアッセイを行った。製造業者の説明書に従ってイムノアッセイ法（ELISA）を使用して、患者の血清中からヒトIGF-1、サブスタンスP、LTB4、RAGE、及びBChEを測定した（R&D Systems, Wiesbaden, Germany）。

【0156】

患者から得られ、製造業者の説明書（Nycomed Pharma, Oslo, Norway）に従ってLymphoprep（登録商標）で分離した末梢血試料中の細胞の量を決定するために、フローサイトメトリー（FACS）分析を2つの時点のそれぞれで使用した。細胞（ 5×10^5 個）をPEコンジュゲート型抗CD14、抗CD68、FITCコンジュゲート型抗CD45及び7AAD、PEコンジュゲート型抗CD25、FITCコンジュゲート型抗CD3及び7AAD並びにPEコンジュゲート型抗マウスIgG2aで染色した。全ての抗体をBecton Coulter（Krefeld, Germany）から購入した。FACS-Epics XL-MCL（Beckman Coulter）を用いた4色フローサイトメトリーを行い、Expo 32取得ソフトウェア（Beckman Coulter）を使用して細胞を分析した。視認可能なリンパ球をゲート通過させ、 10^5 個のイベントを収集した。

【0157】

結果

- 女性24人及び男性14人の患者38人が試験を完了した。患者の平均年齢は54歳であり、平均疼痛歴期間は12.6年であった。
- 患者38人全てが少なくとも1つの疼痛の経過を記録し、患者30人が少なくとも2つの異なる分類をされた疼痛症候群の経過を記録し、26人が3つの異なる分類をされた疼痛症候群の経過を記録した。
- 分散分析（ANOVA）により、IgY処置に対する応答被験患者群について有意な疼痛緩和が示され、加えて、応答者を一緒にの群に入れた場合、疼痛症候群1、2及び3について疼痛緩和が有意であった。これは、応答患者が群として平均して1つの疼痛症候群において有意な軽減並びに第2及び第3の疼痛実体において同じ軽減を示したことを意味する。
- 試験を完了した対象38人のうち24人が、主要評価項目の定義に従ってIgY応答者として特定された。
- 24人のIgY応答者全てが臨床応答基準及び検査応答基準の両方を満たした。
- 14人の対象が、臨床応答基準及び検査応答基準の両方に届かないIgY非応答者として特定された。

ー 関連する検査パラメーター（遺伝子発現）を、治療に関連する I g Y 効力についての潜在的な予測バイオマーカーとして特定することができた。

ー 患者 2 人が、プロトコルの違反のため、1 人が試験終了の数日前に発生した持続性の咳のため、試験から脱落した。

【0158】

主な治療効果は、I g Y 投薬量 2×2.5 g での試験の第二部の間に発生した。

【0159】

I g Y 処置のための潜在的な予測マーカーとして選ばれた予測バイオマーカーの統計解析及び特定

T 検定を使用して、健康志願者と非応答者又は応答者との間、及び非応答者と応答者との間で、使用された各パラメーターを比較した。さらに、それぞれのパラメーターも、一元配置 A N O V A を使用して非応答者及び応答者と一緒に健康志願者を比較した。使用した統計プログラムは GraphPad Prism5 であった。健康志願者及び非応答者及び応答者の間で $p < 0.05$ で有意差があったパラメーターを、I g Y 処置に関する潜在的な予測マーカーとして選んだ。

【0160】

下の表 2 に、応答者群と非応答者群との間の各予測バイオマーカーについての相対発現データを、統計的有意性を示す P 値と共に示す。

【0161】

【表 2】

予 測 バイ オ マーカー	応答者群における相対発 現 (d C t)	非応答者群における相対 発現 (d C t)	P 値
CD14	5.627 ± 0.2718 N=21	9.959 ± 0.3561 N=11	< 0.0001
CD68	4.718 ± 0.1754 N=21	8.449 ± 0.2215 N=11	< 0.0001
TLR4	10.58 ± 0.2286 N=21	13.48 ± 0.2675 N=10	< 0.0001
TLR7	9.885 ± 0.1858 N=21	11.87 ± 0.2018 N=10	< 0.0001
IL2	13.10 ± 0.5763 N=10	16.82 ± 0.1823 N=7	0.0001
IL6	11.72 ± 0.6477 N=16	15.96 ± 0.2643 N=8	0.0002
IL8	6.323 ± 0.3445 N=21	8.775 ± 0.3917 N=11	0.0001
IFN α	12.80 ± 0.4354 N=13	15.38 ± 0.3370 N=12	0.0001
CXCL1	8.510 ± 0.3240 N=21	11.43 ± 0.2247 N=10	< 0.0001
CXCL9	11.45 ± 0.2191 N=16	14.37 ± 0.1162 N=9	< 0.0001
CXCL10	11.94 ± 0.2639 N=20	14.20 ± 0.2041 N=9	< 0.0001
GDNF	6.403 ± 0.2769 N=20	9.058 ± 0.3319 N=11	< 0.0001
RAGE	5.935 ± 0.2236 N=21	10.59 ± 0.5092 N=10	< 0.0001
BCHE	12.38 ± 0.3535 N=5	9.952 ± 0.6549 N=9	0.0227
IGF1	11.68 ± 0.2025 N=21	13.83 ± 0.1611 N=11	< 0.0001

表 2：応答者及び非応答者における予測バイオマーカーの発現値の比較

【0162】

結論

多価抗グラム陰性全細菌免疫グロブリン Y は、慢性化の最晩期の患者であっても、特発性疼痛症候群を処置する完全に新しいアプローチを与え、広範囲にわたる慢性痛表現型の非常に複雑な病因における一主要構成要素として、新しい一般病原性メカニズムを初めて

強調している。

【0163】

多価抗グラム陰性全細菌免疫グロブリンYの経口適用は、患者の60%超（治療応答者）に持続可能な疼痛緩和を招いた。

【0164】

健康な対象と疼痛患者とを識別するだけでなく、IgY処置に応答する患者と応答しない患者とも識別する予測バイオマーカーが特定された。この観察は、適用前の経口多価抗グラム陰性全細菌免疫グロブリンYの治療応答検査に予後診断の検査室スクリーニング検査が利用可能であることを示している。

【0165】

この観察を通して、潜在的な予測マーカーの代表例は、抗LPS免疫グロブリン療法のための処置応答基準として血中のそのようなマーカーを用いて患者集団を特定できるようにする。

【0166】

参考文献

【0167】

【表3】

Pinzone MR, Celesia BM, Di Rosa M, Cacopardo B, Nunnari G. Microbial translocation in chronic liver diseases. *Int J Microbiol* 2012; 2012:694629. doi: 10.1155/2012/694629.

Louis K, Netea MG, Carrer DP, Kotsaki A, Mylona V, Pistiki A, Savva A, Roditis K, Alexis A, Van der Meer JW, Giamarellos-Bourboulis EJ. Bacterial translocation in an experimental model of multiple organ dysfunctions. *J Surg Res* 2013; 183(2):686-694. doi: 10.1016/j.jss.2013.01.064.

Munshi N1, Fernandis AZ, Cherla RP, Park IW, Ganju RK.. Lipopolysaccharide-induced apoptosis of endothelial cells and its inhibition by vascular endothelial growth factor. *J Immunol*. 2002; 168(11):5860-5866.

Tapping RI, Orr SL, Lawson EM, Soldau K, Tobias PS. Membrane-anchored forms of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein do not mediate cellular responses to LPS independently of CD14. *J Immunol*. 1999; 162(9):5483-5489.

Inubushi T, Kawazoe A, Miyauchi M, Kudo Y, Ao M, Ishikado A, Makino T, Takata T. Molecular Mechanisms of the Inhibitory Effects of Bovine Lactoferrin on Lipopolysaccharide-mediated Osteoclastogenesis. *J Biol Chem*. 2012; 287(28):23527-23536. doi: 10.1074/jbc.M111.324673. .

Schade R, Calzado EG, Sarmiento R et al. Chicken egg yolk antibodies (IgY-technology): a review of progress in production and use in research and human and veterinary medicine. *Altern Lab Anim*. 2005; 33(2):129-154

10

20

30

40

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2016/058276

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K16/12 A61K39/02
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)

C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, COMPENDEX, EMBASE, FSTA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 10 2011 006809 A1 (BAYERN FREISTAAT [DE]; MAT MALTA ADVANCED TECHNOLOGIES LTD [MT]) 11 October 2012 (2012-10-11) the whole document, in particular [0004, 0009, 0013, 0070, 0071, 0101-0128, 0168] and claims -----	1-15
X	WO 2009/113065 A1 (HADASIT MED RES SERVICE [IL]; ILAN YARON [IL]; LALAZAR GAD [IL]; BEN-Y) 17 September 2009 (2009-09-17) the whole document, in particular 2nd paragraph on p.29 and claims ----- -/--	1-15

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

8 June 2016

Date of mailing of the international search report

16/06/2016

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

Bassias, Ioannis

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2016/058276

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WAAGA-GASSER A M ET AL: "Oral immunoglobulin induces mononuclear cell apoptosis in patients suffering from idiopathic chronic pain syndrome: Results from a pilot study", INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS, DUSTRI-VERLAG, DEISENHOFEN-MUENCHEN, DE, vol. 47, no. 7, 1 July 2009 (2009-07-01), pages 421-433, XP009150941, ISSN: 0946-1965 the whole document -----	1-15
T	WO 2015/081982 A1 (JULIUS MAXIMILIANS UNIVERSITÄT WÜRZBURG [DE]) 11 June 2015 (2015-06-11) the whole document, in particular p. 5-6, Fig. 3, 5, 7, 9-11, 13, Table 1 and claims -----	
A	STRUFF W G ET AL: "Bovine colostrum as a biologic in clinical medicine: a review. Part I: biotechnological standards, pharmacodynamic and pharmacokinetic characteristics and principles of treatment", INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS APR 2007 LNKD- PUBMED:17474538, vol. 45, no. 4, 1 April 2007 (2007-04-01), pages 193-202, XP002652476, -----	1-15
A	STRUFF W G ET AL: "Bovine colostrum as a biologic in clinical medicine: a review--Part II: clinical studies", INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS, DUSTRI-VERLAG, DEISENHOFEN-MUENCHEN, DE, vol. 46, no. 5, 1 May 2008 (2008-05-01), pages 211-225, XP009150270, ISSN: 0946-1965 -----	1-15
A	Priscilla Biswas ET AL: "Immunomodulatory effects of bovine colostrum in human peripheral blood mononuclear cells", The new microbiologica, 1 October 2007 (2007-10-01), pages 447-454, XP055202685, Italy Retrieved from the Internet: URL:http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18080681 ----- -/--	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2016/058276

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	OLDENHUIS C N A M ET AL: "Prognostic versus predictive value of biomarkers in oncology", EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON, GB, vol. 44, no. 7, 1 May 2008 (2008-05-01), pages 946-953, XP022625020, ISSN: 0959-8049, DOI: 10.1016/J.EJCA.2008.03.006 [retrieved on 2008-04-07] -----	1-15
A	S. MEHTA ET AL: "Predictive and prognostic molecular markers for cancer medicine", THERAPEUTIC ADVANCES IN MEDICAL ONCOLOGY ENGLAND JAN 2016, vol. 2, no. 2, 1 March 2010 (2010-03-01), pages 125-148, XP055278907, ISSN: 1758-8340, DOI: 10.1177/1758834009360519 -----	1-15
A	CLARK ET AL: "Prognostic factors versus predictive factors: Examples from a clinical trial of erlotinib", 20071208, vol. 1, no. 4, 8 December 2007 (2007-12-08), pages 406-412, XP022535634, -----	1-15
A	KATZ ET AL: "Biomarkers and Surrogate Markers: An FDA Perspective", JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY FOR EXPERIMENTAL NEUROTHERAPEUTICS, XX, XX, vol. 1, no. 2, 1 April 2004 (2004-04-01), pages 189-195, XP005871682, ISSN: 1545-5343, DOI: 10.1602/NEURORX.1.2.189 -----	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2016/058276

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 102011006809 A1	11-10-2012	AU 2012238872 A1 CA 2832373 A1 DE 102011006809 A1 EP 2694540 A2 KR 20140031892 A US 2014112937 A1 WO 2012136534 A2	31-10-2013 11-10-2012 11-10-2012 12-02-2014 13-03-2014 24-04-2014 11-10-2012
WO 2009113065 A1	17-09-2009	AU 2009222965 A1 CA 2718381 A1 EP 2268669 A1 NZ 587901 A US 2011200610 A1 US 2013164302 A1 WO 2009113065 A1	17-09-2009 17-09-2009 05-01-2011 30-11-2012 18-08-2011 27-06-2013 17-09-2009
WO 2015081982 A1	11-06-2015	NONE	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P	25/06	(2006.01)	A 6 1 P 25/04
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P 25/06
A 6 1 P	1/02	(2006.01)	A 6 1 P 19/02
A 6 1 P	13/10	(2006.01)	A 6 1 P 1/02
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P 13/10
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P 9/10
A 6 1 P	17/02	(2006.01)	A 6 1 P 1/04
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P 17/02
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P 37/02
C 0 7 K	16/12	(2006.01)	A 6 1 P 17/00
			C 0 7 K 16/12

(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 シュプロット, ギュンター

ドイツ国、 8 2 4 0 1 ロッテンブーフ、 フランツ・フォン・ヘーアエン・シュトラッセ 8

(72)発明者 ヴァーガーガッセル, アナ・マリア

ドイツ国、 9 7 0 8 0 ヴェルツブルク、 ロートクロイツシュトラッセ 7

Fターム(参考) 4B063 QA13 QA19 QQ03 QQ08 QQ42 QQ53 QR36 QR56 QR62 QR72

QR77 QS25 QS34 QS36 QX02

4C085 AA33 BB31 CC22 CC26 DD88 EE01 GG08

4H045 AA11 AA20 BA10 CA40 DA75 EA20 EA22 FA71

专利名称(译)	预测对抗LPS免疫球蛋白治疗Biomarker的临床反应		
公开(公告)号	JP2018512857A	公开(公告)日	2018-05-24
申请号	JP2017553420	申请日	2016-04-14
申请(专利权)人(译)	朱利叶斯·马克西米利扫描 - 海胆韦利济泰特维尔茨堡		
[标]发明人	シュプロットギュンター ヴァーガガッセルアナマリア		
发明人	シュプロット,ギュンター ヴァーガ-ガッセル,アナ・マリア		
IPC分类号	C12Q1/68 C07K16/02 G01N33/53 A61K39/395 A61P25/04 A61P25/06 A61P19/02 A61P1/02 A61P13/10 A61P9/10 A61P1/04 A61P17/02 A61P37/02 A61P17/00 C07K16/12		
CPC分类号	A61K39/39583 A61K39/40 C07K16/1203 C07K16/44 C07K2317/11 C07K2317/23 C12Q1/6883 C12Q2600/106 C12Q2600/158 G01N33/56911 G01N33/6863 G01N33/92 G01N2333/521 G01N2333/54 G01N2333/56 G01N2333/70596 G01N2400/50 G01N2800/125 G01N2800/26 A61K2039/505 A61P1/00 A61P1/02 A61P1/04 A61P9/10 A61P13/10 A61P17/00 A61P17/02 A61P19/02 A61P19/04 A61P25/04 A61P25/06 A61P29/00 A61P37/02 C12Q1/6876 G01N33/6866 G01N33/6869 G01N2333/475 G01N2333/4756 G01N2333/5412 G01N2333/5421 G01N2333/5428 G01N2333/705 G01N2333/916 G01N2800/52		
FI分类号	C12Q1/68.A C07K16/02 G01N33/53.D G01N33/53.M A61K39/395.Z A61P25/04 A61P25/06 A61P19/02 A61P1/02 A61P13/10 A61P9/10 A61P1/04 A61P17/02 A61P37/02 A61P17/00 C07K16/12		
F-TERM分类号	4B063/QA13 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063/QR36 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX02 4C085/AA33 4C085/BB31 4C085/CC22 4C085/CC26 4C085/DD88 4C085/EE01 4C085/GG08 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA22 4H045/FA71		
优先权	2015164087 2015-04-17 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及用于预测需要抗LPS免疫球蛋白治疗的患者对所述治疗的临床反应的生物标志物。特别地，本发明是一种预测需要抗LPS免疫球蛋白治疗的患者对所述治疗的临床反应的方法，所述方法包括：所述患者中的CD14，CD68，TLR4，TLR7，IL6，IL8，IL10，IFN。提供包括评估选自α，IGF1，CXCL1，CXCL9，CXCL10，RAGE，GDNF，BCHE及其组合的预测性生物标志物的表达的方法。

(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2018-512857 (P2018-512857A)
		(43) 公表日 平成30年5月24日 (2018.5.24)
(51) Int. Cl.	FI	テーマコード (参考)
C12Q 1/68 (2018.01)	C12Q 1/68	A 4B063
C07K 16/02 (2006.01)	C07K 16/02	4C085
G01N 33/53 (2006.01)	G01N 33/53	D 4H045
A61K 39/395 (2006.01)	G01N 33/53	M
A61P 25/04 (2006.01)	A61K 39/395	Z
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求	(全 31 頁) 最終頁に続く
(21) 出願番号 特願2017-553420 (P2017-553420)	(71) 出願人 510232393	
(86) (22) 出願日 平成28年4月14日 (2016.4.14)	ユリウス・マクシミリアンズ-ウニヴェルジテット・ヴュルツブルク	
(85) 翻訳文提出日 平成29年12月6日 (2017.12.6)	Julius Maximilians-Universität Würzburg	
(86) 国際出願番号 PCT/EP2016/058276	ドイツ97070ヴュルツブルク、ザンダーリング2番	
(87) 国際公開番号 WO2016/166246	517352164	
(81) 国際公開日 平成28年10月20日 (2016.10.20)	イグノヴァ・ゲーエムベーハー	
(31) 優先権主張番号 15164087.7	IGNOVA GMBH	
(32) 優先日 平成27年4月17日 (2015.4.17)	ドイツ国、61440 オーバーウルゼル、フェルトベルガーシュトラッセ 57	
(33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人 110001508	
	特許業務法人 津国	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗LPS免疫グロブリン処置に対する臨床応答の予測バイオマーカー