

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2015-108635

(P2015-108635A)

(43) 公開日 平成27年6月11日(2015.6.11)

| (51) Int.Cl.                  | F I          | テーマコード (参考)       |
|-------------------------------|--------------|-------------------|
| <b>GO 1 N 33/53</b> (2006.01) | GO 1 N 33/53 | Z N A X 4 B O 6 3 |
| <b>CO 7 K 14/47</b> (2006.01) | CO 7 K 14/47 | 4 H O 4 5         |
| <b>C 1 2 Q 1/68</b> (2006.01) | C 1 2 Q 1/68 | A                 |

審査請求 有 請求項の数 5 O L (全 119 頁)

|              |                                  |          |  |
|--------------|----------------------------------|----------|--|
| (21) 出願番号    | 特願2015-10255 (P2015-10255)       | (71) 出願人 | 503259129<br>ノルディック・バイオサイエンス・エー／エス<br>N O R D I C B I O S C I E N C E A / S<br>デンマーク国、デーカー 2730 ヘルレフ、ヘルレフ・ホーフエダガーデ 207 |
| (22) 出願日     | 平成27年1月22日 (2015.1.22)           |          |  |
| (62) 分割の表示   | 特願2012-502618 (P2012-502618) の分割 |          |  |
| 原出願日         | 平成22年3月29日 (2010.3.29)           |          |  |
| (31) 優先権主張番号 | 61/211,467                       | (71) 出願人 | 504389991<br>ノバルティス アーゲー<br>スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ 35   |
| (32) 優先日     | 平成21年3月30日 (2009.3.30)           |          |  |
| (33) 優先権主張国  | 米国 (US)                          | (74) 代理人 | 100099623<br>弁理士 奥山 尚一   |
| (31) 優先権主張番号 | 61/289,081                       |          |  |
| (32) 優先日     | 平成21年12月22日 (2009.12.22)         |          |  |
| (33) 優先権主張国  | 米国 (US)                          |          |  |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 線維症バイオマーカーアッセイ

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 線維症の診断または定量化の方法を提供する。

【解決手段】 方法は、生体液試料中に天然に存在するネオエピトープ含有タンパク質断片を測定する免疫検定法を実施するステップと、正常レベルを上回る、患者における測定の上昇を、線維症の存在または程度と関連付けるステップとを含む。前記免疫検定法は、前記試料中に天然に存在するタンパク質断片を、プロテイナーゼによるタンパク質の切断によって形成されるネオエピトープに対して反応性である免疫学的結合パートナーと接触させるステップと、前記ネオエピトープを含むタンパク質断片を測定するために前記免疫学的結合パートナーへのペプチド断片の結合の程度を測定するステップとを含む方法によって実施され、ここで、前記タンパク質は、C反応性タンパク質である。

【選択図】 なし

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

線維症の診断または定量化の方法であって、患者の生体液試料を得ること、前記試料中に天然に存在するネオエピトープ含有タンパク質断片を測定する免疫検定法を実施すること、および正常レベルを上回る、前記患者における前記測定の上昇を線維症の存在または程度と関連付けることを含み、前記免疫検定法が、

前記試料中に天然に存在するタンパク質断片を、プロテイナーゼによるタンパク質の切断によって形成されるネオエピトープと反応性の免疫学的結合パートナーと接触させること、および前記ネオエピトープを含むタンパク質断片を測定するために前記免疫学的結合パートナーへのペプチド断片の結合の程度を測定することを含む方法によって実施され、前記タンパク質が、I I I型コラーゲン、I型コラーゲン、I V型コラーゲン、V型コラーゲンもしくはV I型コラーゲン、エラスチン、ピグリカン、デコリン、ルミカン、パーシカン、パールカン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、ビメンチンまたはC反応性タンパク質であり、但し、該ネオエピトープがI型コラーゲンの切断によって形成される場合、該切断は、I型コラーゲンがカテプシンKによって切断される部位ではないことを条件とする、線維症の診断または定量化の方法。

10

**【請求項 2】**

前記免疫学的結合パートナーが、N末端配列K N G E T G...を有するI I I型コラーゲンの断片に特異的に結合する、請求項1に記載の方法。

20

**【請求項 3】**

前記免疫学的結合パートナーが、N末端配列K A F V F P... (配列番号1167)を有するC R Pの断片に特異的に結合する、請求項1に記載の方法。

**【請求項 4】**

前記免疫学的結合パートナーが、I I I型コラーゲンの切断によって生成されるペプチド中に存在するN末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

【表 1】

| III型コラーゲン          |                    |                     |
|--------------------|--------------------|---------------------|
| GIPGAP... 配列番号 372 | GDPGPP... 配列番号 373 | LAGPPG... 配列番号 89   |
| IAGITG... 配列番号 375 | IKGHRG... 配列番号 376 | RGLAGP... 配列番号 377  |
| KGDAGQ... 配列番号 381 | ITGARG... 配列番号 379 | VKGESG... 配列番号 380  |
| GKSGDR... 配列番号 383 | LQGLPG... 配列番号 384 | LRGGAG... 配列番号 382  |
| DGTSGH... 配列番号 135 | IGSPGP... 配列番号     | AIGSPG... 配列番号 143  |
| GPPGVA... 配列番号 158 | AGPPGM... 配列番号 145 | LSGERG... 配列番号 176  |
| GARGLA... 配列番号 111 | GAPGEK... 配列番号 141 | PQGPPG... 配列番号 389  |
| KGESGK... 配列番号 374 | GLSGER... 配列番号 387 | YQGPPG... 配列番号 401  |
| QPGVMG... 配列番号 144 | IPGAPG... 配列番号 117 | FRGPAG... 配列番号 137  |
| GPPGPT... 配列番号 391 | INGSPG... 配列番号 392 | GPPGEP... 配列番号 393  |
| GLPGBP... 配列番号 394 | KNGETG... 配列番号 395 | LPGIAG... 配列番号 396  |
| GINGSP... 配列番号 397 | PGENGK... 配列番号 398 | LKGENG... 配列番号 399  |
| LMGARG... 配列番号 400 | GKDGES... 配列番号 418 | QQGAI G... 配列番号 390 |
| DKGEPG... 配列番号 403 | GHAGAQ... 配列番号 404 | GERGAP... 配列番号 402  |
| PGMKGH... 配列番号 406 | FPGARG... 配列番号 407 | GFPGAR... 配列番号 408  |
| FPGMKG... 配列番号 409 | PGDKGE... 配列番号 410 | GDKGET... 配列番号 411  |
| GQPGDK... 配列番号 412 | GPPGEN... 配列番号 413 | AAGFPG... 配列番号 417  |
| GERGSP... 配列番号 415 | PGVPGA... 配列番号 416 | GARGND... 配列番号 419  |
| GSDGQP... 配列番号 405 | GPPGPP... 配列番号 100 | GGAGPP... 配列番号 425  |
| GFPGAP... 配列番号 420 | GAAGEP... 配列番号 421 | GARGPP... 配列番号 422  |
| PGPQGH... 配列番号 426 | PGFPGM... 配列番号 427 | GSPGGP... 配列番号 428  |
| PGPPGI... 配列番号 432 | GITGAR... 配列番号 430 | GIAGIT... 配列番号 431  |
| GPPGSN... 配列番号 423 | RPGLPG... 配列番号 436 | GAPGPM... 配列番号 438  |
| PQGLQG... 配列番号 440 | GPPGVA... 配列番号 158 | SGDRGE... 配列番号 429  |
| GAPGFR... 配列番号 435 | PGFRGP... 配列番号 443 | GPVGPS... 配列番号 447  |
| GAPGPQ... 配列番号 445 | GFPGNP... 配列番号 446 | GPPGIN... 配列番号 470  |
| GPTGPI... 配列番号 448 | GDAGQP... 配列番号 449 | NGEKGE... 配列番号 450  |
| KGSPGA... 配列番号 444 | GSPGER... 配列番号 439 | AIGPSG... 配列番号 368  |
| GSRGAP... 配列番号 462 | TGARGL... 配列番号 378 | ERGLPG... 配列番号 385  |
| NTGAPG... 配列番号 437 | VGGLAG... 配列番号 155 | VAGPPP... 配列番号 452  |
| HAGAQG... 配列番号 434 | PGAPGG... 配列番号 455 | GIPGFP... 配列番号 414  |
| PGPQGP... 配列番号 453 | AGQQGA... 配列番号 457 | PGPPGP... 配列番号 458  |
| AGQPGE... 配列番号 454 | GLAGPP... 配列番号 388 | GRNGEK... 配列番号 460  |
| VKGERG... 配列番号 159 | GGAGEP... 配列番号 463 | SPGGKG... 配列番号 459  |
| GPPGAP... 配列番号 461 | SPGAQG... 配列番号 465 | PGVSGP... 配列番号 466  |
| GSPGAQ... 配列番号 464 | IKGPAG... 配列番号 169 | PGAPGQ... 配列番号 456  |
| PGAPGL... 配列番号 467 | GIPGQP... 配列番号 468 | SRGAPG... 配列番号 451  |
| ESCPTG... 配列番号 433 | DAGAPG... 配列番号 469 | GPKGDA... 配列番号 424  |
| GPAGIP... 配列番号 441 |                    |                     |

10

20

30

40

から成る群より選択されるN末端配列を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記免疫学的結合パートナーが、III型コラーゲンの切断によって生成されるペプチド中に存在するC末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

【表 2】

| I I I型コラーゲン         |                     |                     |
|---------------------|---------------------|---------------------|
| ...GPPGPA 配列番号 94   | ...NGDPGI 配列番号 471  | ...SPGPQG 配列番号 472  |
| ...GMPGPR 配列番号 473  | ...SPGPAG 配列番号 474  | ...PGPQGV 配列番号 475  |
| ...ERGAAG 配列番号 476  | ...PGPLGI 配列番号 477  | ...AAGTPG 配列番号 478  |
| ...ERGPPG 配列番号 147  | ...PGPPGT 配列番号 479  | ...GNRGER 配列番号 480  |
| ...GLPGLA 配列番号 486  | ...APGLRG 配列番号 481  | ...HPGSPG 配列番号 482  |
| ...GLAGTA 配列番号 488  | ...GSPGPA 配列番号 484  | ...GPAGPP 配列番号 485  |
| ...LAGPPG 配列番号 89   | ...PGLMGA 配列番号 489  | ...QGPPGP 配列番号 487  |
| ...IPGFPG 配列番号 492  | ...GPPGPQ 配列番号 490  | ...GFPGMK 配列番号 493  |
| ...FPGPKG 配列番号 491  | ...GPAGIP 配列番号 441  | ...FPGAGP 配列番号 494  |
| ...GPPGIC 配列番号 2187 | ...PPGPPG 配列番号 119  | ...FPGARG 配列番号 407  |
| ...PGPQGL 配列番号 497  | ...GAPGLM 配列番号 498  | ...GAIGPS 配列番号 495  |
| ...SPGPKG 配列番号 499  | ...LPGAAG 配列番号 2188 | ...APGPLG 配列番号 2189 |
| ...LPGPPG 配列番号 72   | ...GPPGIN 配列番号 470  | ...IPGQPG 配列番号 501  |
| ...GHRGFD 配列番号 503  | ...PGLPGI 配列番号 504  | ...GAAGIK 配列番号 505  |
| ...GLPGIA 配列番号 507  | ...PGPKGD 配列番号 506  | ...GPPGVA 配列番号 158  |
| ...GLPGPP 配列番号 394  | ...GANGLP 配列番号 510  | ...GPPGPS 配列番号 511  |
| ...TGARGL 配列番号 378  | ...GPPGIK 配列番号 512  | ...TAGFPG 配列番号 513  |
| ...PQGLPG 配列番号 508  | ...GAPGLR 配列番号 509  | ...GPQGVK 配列番号 524  |
| ...GTPGLQ 配列番号 521  | ...GEVGPA 配列番号 514  | ...GSPGPQ 配列番号 533  |
| ...GMKGHR 配列番号 531  | ...GKPGAN 配列番号 537  | ...QPGPPG 配列番号 536  |
| ...EMGPAG 配列番号 534  | ...PGAAGF 配列番号 539  | ...PGANGL 配列番号 529  |
| ...GVKGER 配列番号 538  | ...GDAGAP 配列番号 542  | ...GPAGER 配列番号 543  |
| ...GPPGPR 配列番号 544  | ...GPAGPR 配列番号 545  | ...RGFDGR 配列番号 546  |
| AGPRGA 配列番号 547     | ...GGKGER 配列番号 548  | ...APGLMG 配列番号 549  |
| ...GRNGDP 配列番号 171  | ...GPAGAN 配列番号 550  | ...PQGVKG 配列番号 541  |
| ...AGIPGF 配列番号 496  | ...VKGESG 配列番号 380  | ...TGERGA 配列番号 540  |
| ...PPGPQG 配列番号 103  | ...TGPRGP 配列番号 177  | ...GSPGYQ 配列番号 526  |
| ...IPGAPG 配列番号 117  | ...EPGPRG 配列番号 516  | ...GAAGAR 配列番号 528  |
| ...TSGHPG 配列番号 518  | ...GAPGPA 配列番号 519  | ...TGAPGS 配列番号 502  |
| ...PSGPPG 配列番号 483  | ...GTSGHP 配列番号 522  | ...GTGGPP 配列番号 530  |
| ...PPGPAG 配列番号 52   | ...GAPGLK 配列番号 525  | ...GITGAR 配列番号 430  |
| ...FPGMKG 配列番号 409  | ...GEPGPR 配列番号 500  | ...GIAGPR 配列番号 535  |
| ...EKGPAG 配列番号 515  | ...PGPKGN 配列番号 527  | ...GLSGER 配列番号 387  |
| ...MPGPRG 配列番号 523  | ...PPGAPG 配列番号 517  | ...EGGPPG 配列番号 532  |
| ...GIPGAP 配列番号 372  | ...TPGLQG 配列番号 520  | ...GFPGAR 配列番号 408  |
|                     |                     |                     |

10

20

30

40

から成る群より選択されるC末端配列を含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項6】

前記免疫学的結合パートナーが、I型コラーゲンの切断によって生成されるペプチド中に存在するN末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

【表 3】

| I型コラーゲン、 $\alpha 1$ |                    |                    |
|---------------------|--------------------|--------------------|
| ISVPGP... 配列番号 23   | VPGPMG... 配列番号 24  | PGPMGP... 配列番号 25  |
| FGGPPG... 配列番号 27   | KNGDDG... 配列番号 28  | ARGLPG... 配列番号 29  |
| LDGAKG... 配列番号 31   | LPGERG... 配列番号 32  | ATGAAG... 配列番号 67  |
| VRGEPG... 配列番号 33   | PGAKGA... 配列番号 34  | GIAGAP... 配列番号 69  |
| GGPPGP... 配列番号 35   | NSGEPG... 配列番号 36  | VQGPPG... 配列番号 71  |
| DGVAGP... 配列番号 37   | ERGSPPG... 配列番号 38 | RGSPGP... 配列番号 74  |
| LTGSPG... 配列番号 39   | QDGRPG... 配列番号 40  | ARGQAG... 配列番号 77  |
| RGVPGP... 配列番号 41   | VGPAGK... 配列番号 42  | KDGEAG... 配列番号 80  |
| ERGEQG... 配列番号 43   | RGEQGP... 配列番号 44  | QGLPGP... 配列番号 83  |
| PGERGV... 配列番号 45   | ANGAPG... 配列番号 46  | AGLPGP... 配列番号 86  |
| ARGAPG... 配列番号 47   | PGDRGE... 配列番号 48  | FAGPPG... 配列番号 75  |
| AKGDAG... 配列番号 49   | PIGNVG... 配列番号 50  | NVGAPG... 配列番号 78  |
| AAGRVG... 配列番号 51   | PPGPAG... 配列番号 52  | GEVPPP... 配列番号 81  |
| GADGPA... 配列番号 53   | GPQGIA... 配列番号 54  | IAGQRG... 配列番号 84  |
| GQRGVV... 配列番号 55   | QRGVVG... 配列番号 56  | RGVVGL... 配列番号 87  |
| GLPGQR... 配列番号 57   | PGLPGP... 配列番号 58  | EPGKQG... 配列番号 90  |
| PMGPPG... 配列番号 59   | MGPPGL... 配列番号 60  | LAGPPG... 配列番号 89  |
| DKGETG... 配列番号 61   | LQGPAG... 配列番号 62  | PSGASG... 配列番号 92  |
| SAGAPG... 配列番号 63   | RTGDAG... 配列番号 64  | VGPPGP... 配列番号 99  |
| FDFS... 配列番号 65     | DFS... 配列番号 66     | AGQRGV... 配列番号 95  |
| LPGGG... 配列番号 26    | QAGVMG... 配列番号 76  | VVGLPG... 配列番号 98  |
| SGLDGA... 配列番号 30   | PAGERG... 配列番号 79  | GKQGPS... 配列番号 93  |
| AKGEAG... 配列番号 68   | ARGERG... 配列番号 82  | ARGPAG... 配列番号 96  |
| IAGAPG... 配列番号 70   | LTGPIG... 配列番号 85  | ASGPAG... 配列番号 97  |
| LPGPPG... 配列番号 72   | AGPPGA... 配列番号 88  | GPPGPP... 配列番号 100 |
| AGPKGS... 配列番号 73   | ATGFPG... 配列番号 91  |                    |
|                     | GPPGPA... 配列番号 94  |                    |

10

20

30

から成る群より選択されるN末端配列を含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項7】

前記免疫学的結合パートナーが、I型コラーゲンの切断によって生成されるペプチド中に存在するC末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

【表 4】

| I型コラーゲン、 $\alpha 1$ |                    |                    |
|---------------------|--------------------|--------------------|
| ...QLSYGY 配列番号 101  | ...EKSTGG 配列番号 102 | ...PPGPQG 配列番号 103 |
| ...KGHRGF 配列番号 104  | ...PSGPRG 配列番号 105 | ...APGPQG 配列番号 106 |
| ...APGPAG 配列番号 107  | ...FPGAVG 配列番号 108 | ...SEGPQG 配列番号 109 |
| ...GANGAP 配列番号 110  | ...ANGAPG 配列番号 46  | ...SGPQGP 配列番号 112 |
| ...EPGPVG 配列番号 113  | ...EPGPTG 配列番号 114 | ...RGFPGA 配列番号 115 |
| ...KGPAGE 配列番号 116  | ...RGSPGP 配列番号 74  | ...LPGAKG 配列番号 118 |
| ...AVGPAG 配列番号 122  | ...PPGARG 配列番号 120 | ...PGKAGE 配列番号 121 |
| ...APGPDG 配列番号 125  | ...PAGPAG 配列番号 123 | ...AGPAGE 配列番号 124 |
| ...KDGVRG 配列番号 128  | ...RGERGF 配列番号 126 | ...PAGPRG 配列番号 127 |
| ...PGPAGF 配列番号 131  | ...PAGPTG 配列番号 129 | ...TGARGA 配列番号 130 |
| ...SAGPPG 配列番号 134  | ...EPGDAG 配列番号 132 | ...PAGPPG 配列番号 133 |
| ...GEVGPP 配列番号 81   | ...ATGFPG 配列番号 91  | ...NAGPPG 配列番号 136 |
| ...PGPQGI 配列番号 140  | ...GEKSP 配列番号 138  | ...GAPGTP 配列番号 139 |
| ...IAGQRG 配列番号 84   | ...GPQGI A 配列番号 54 | ...PQGIAG 配列番号 142 |
| ...GPSGEP 配列番号 146  | ...GQRGVV 配列番号 55  | ...RGERGF 配列番号 126 |
| ...PVGPPG 配列番号 149  | ...ERGPPG 配列番号 147 | ...RGPPGP 配列番号 148 |
| ...EQGPSG 配列番号 152  | ...PQGPRG 配列番号 150 | ...HRGFSG 配列番号 151 |
| ...GPPGPP 配列番号 100  | ...PRGPPG 配列番号 153 | ...PPGPRG 配列番号 154 |
| ...PPGPPG 配列番号 119  | ...GPPSAG 配列番号 156 | ...PPSAGF 配列番号 157 |
| ...QMGPARG 配列番号 161 | ...PPGPAG 配列番号 52  | ...TPGPQG 配列番号 160 |
| ...PGADGQ 配列番号 164  | ...PGPPGA 配列番号 162 | ...QGIAGQ 配列番号 163 |
| ...PPGPKG 配列番号 167  | ...AGSPGF 配列番号 165 | ...LPGPSG 配列番号 166 |
| ...PKGARG 配列番号 170  | ...PGERGA 配列番号 168 | ...PMGPPG 配列番号 59  |
| ...GPARGP 配列番号 173  | ...PPGPIG 配列番号 174 | ...SPGEQG 配列番号 172 |
| ...TGDAGP 配列番号 175  |                    |                    |
|                     |                    |                    |

10

20

から成る群より選択されるC末端配列を含む、請求項1に記載の方法。

30

## 【請求項 8】

前記免疫学的結合パートナーが、I V型コラーゲンの切断によって生成されるペプチド中に存在するN末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

【表 5】

| I V型コラーゲン          |                    |                    |
|--------------------|--------------------|--------------------|
| IDGYRG... 配列番号 609 | MGPPGT... 配列番号 610 | DGLPGS... 配列番号 611 |
| PGSKGE... 配列番号 612 | RGFPGP... 配列番号 613 | PGPPGL... 配列番号 614 |
| GPPGPP... 配列番号 100 | GLPGSM... 配列番号 615 | GLPGQQ... 配列番号 616 |
| PGIGVQ... 配列番号 618 | GIGPPG... 配列番号 611 | PGLPGI... 配列番号 504 |
| PGPKGF... 配列番号 621 | SPGIPG... 配列番号 619 | PGMQGE... 配列番号 620 |
| LGSKGE... 配列番号 617 | KGQPLG... 配列番号 622 | RGPPGP... 配列番号 148 |
| IRGEPG... 配列番号 626 | FPGPPG... 配列番号 627 | GPLGEK... 配列番号 625 |
| DGVIGM... 配列番号 629 | PGNPGI... 配列番号 630 | PGLKGD... 配列番号 624 |
| IKGDKG... 配列番号 631 | PGSPGC... 配列番号 632 | PPSDEI... 配列番号 623 |
| GPPGVP... 配列番号 633 | DQGDQG... 配列番号 634 | GAPGPQ... 配列番号 445 |
| KGSIGI... 配列番号 635 | GIPGAP... 配列番号 372 | DRGPQG... 配列番号 442 |
| ERGSPG... 配列番号 38  | LQGIRG... 配列番号 628 | DGGVFN... 配列番号 638 |
| SGRDGL... 配列番号 639 | PGPMGP... 配列番号 25  | GPPGLM... 配列番号 643 |
| DGYRGP... 配列番号 642 | AEGLPG... 配列番号 641 | LPGFAG... 配列番号 644 |
| GIPGMP... 配列番号 645 | PPGRLG... 配列番号 636 | GPPGEK... 配列番号 640 |
| EKGQKG... 配列番号 637 | .LPGPDG 配列番号 2214  | .PGIPGT 配列番号 2227  |
| .ILGHVP 配列番号 2212  | .LRGIPG 配列番号 760   | .PGDIVF 配列番号 2215  |
| .PGLPGQ 配列番号 2213  | .PGFPGA 配列番号 2218  | .GNKGDG 配列番号 2216  |
| .SGYPGN 配列番号 2217  | .QQGNRG 配列番号 2221  | .PGPRGK 配列番号 2219  |
| .VSGPPG 配列番号 2220  | .VGQPGP 配列番号 2222  | .PGPPGP 配列番号 458   |
| .KRGPFG 配列番号 2223  | .GEPGMQ 配列番号 2224  | .SKGEKG 配列番号 2226  |
| .LHGFPG 配列番号 2225  |                    | .GEPGPP 配列番号 675   |
|                    |                    |                    |

10

20

から成る群より選択されるN末端配列を含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項9】

前記免疫学的結合パートナーが、I V型コラーゲンの切断によって生成されるペプチド中に存在するC末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

30

【表 6】

| I V型コラーゲン          |                    |                    |
|--------------------|--------------------|--------------------|
| ...RGPPGP 配列番号 148 | ...SVDHGF 配列番号 646 | ...PSVDHG 配列番号 647 |
| ...VDHGFL 配列番号 648 | ...PGQPGY 配列番号 649 | ...QPGYTN 配列番号 650 |
| ...PGLPGS 配列番号 651 | ...GTPSVD 配列番号 652 | ...SVGSPG 配列番号 653 |
| ...LPGSMG 配列番号 654 | ...GPPGVP 配列番号 633 | ...PGFPGI 配列番号 655 |
| ...PGLPGE 配列番号 656 | ...GDPGPP 配列番号 373 | ...HQGEMG 配列番号 657 |
| ...GPPGLV 配列番号 658 | ...PGIPGP 配列番号 659 | ...PGFPGT 配列番号 660 |
| ...PGLPGP 配列番号 58  | ...DGIPGP 配列番号 661 | ...SGPKGY 配列番号 662 |
| ...GIGPPG 配列番号 611 | ...PGPRGE 配列番号 663 | ...GQGPPG 配列番号 664 |
| ...PGAIGP 配列番号 668 | ...KVDMSG 配列番号 665 | ...PGIDGV 配列番号 666 |
| ...GPKGPP 配列番号 671 | ...PPGPPG 配列番号 119 | ...KGHMGE 配列番号 667 |
| ...GPKGLP 配列番号 670 | ...SPGPPG 配列番号 672 | ...KGLPGP 配列番号 669 |
| ...GSVGY 配列番号 673  | ...PQGPPG 配列番号 389 | ...PPGSPG 配列番号 674 |
| ...GEPGPP 配列番号 675 | ...AGNPGP 配列番号 676 | ...FPGPQG 配列番号 679 |
| ...PGYTNG 配列番号 678 | ...SVDHGF 配列番号 646 | ...LSGPPG 配列番号 680 |
| ...PGPQGP 配列番号 453 | ...GQGPPG 配列番号 664 | ...PGAPGL 配列番号 467 |
| ...GVMGTP 配列番号 681 | ...PGIKGS 配列番号 677 | ...PGPPGP 配列番号 458 |
| ...GVSGPK 配列番号 682 |                    |                    |
| HVPGML. 配列番号 2228  | LPVPGQ. 配列番号 2229  | LGPPGL. 配列番号 2230  |
| GVPGQA. 配列番号 2231  | VPGQAQ. 配列番号 2232  | GPDGFL. 配列番号 2233  |
| QEGPLG. 配列番号 2234  | LPGEVL. 配列番号 2235  | RGIPGF. 配列番号 2236  |
| NRGLGF. 配列番号 2238  | IPSDTL. 配列番号 2239  | PAGEKG. 配列番号 2240  |
| GEKGNK. 配列番号 2241  | PVGPPG. 配列番号 2242  | DIVFRK. 配列番号 2243  |
| PPGPKG. 配列番号 167   | RGKPGM. 配列番号 2244  | PGTRGL. 配列番号 2245  |
| GEKGSK. 配列番号 2246  | EKGSKG. 配列番号 2247  | SGQPGL. 配列番号 2248  |
| AGIPQK. 配列番号 2237  |                    |                    |

10

20

から成る群より選択されるC末端配列を含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項10】

前記免疫学的結合パートナーが、ビグリカン、デコリン、ルミカン、パーシカンまたはパールカンの切断によって生成されるペプチド中に存在するN末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

30

【表 7】

|                    |                    |                    |
|--------------------|--------------------|--------------------|
| ビグリカン              |                    |                    |
| SVPKEI... 配列番号 949 | GLKLN... 配列番号 950  | RISEAK... 配列番号 951 |
| NSGFEP... 配列番号 952 | LKSVPK... 配列番号 953 | AIELED... 配列番号 954 |
| LRISEA... 配列番号 958 | QCSDLG... 配列番号 955 | EAKLTG... 配列番号 956 |
| LLDLQN... 配列番号 961 | LTGIPK... 配列番号 959 | LKAVPK... 配列番号 960 |
| IELEDL... 配列番号 957 |                    |                    |
| デコリン               |                    |                    |
| IVIELG... 配列番号 962 | DEASGI... 配列番号 963 | VNNKIS... 配列番号 964 |
| NGLNQ... 配列番号 965  | LHLDGN... 配列番号 966 | LILVNN... 配列番号 967 |
| KITEIK... 配列番号 969 | GLPPSL... 配列番号 970 | SNPVQY... 配列番号 971 |
| SSGIEN... 配列番号 968 |                    |                    |
| ヴァーシカン             |                    |                    |
| LLASDA... 配列番号 972 | LATVGE... 配列番号 973 | ETTVLV... 配列番号 974 |
| ENQDAR... 配列番号 975 | NGFDQC... 配列番号 976 | SLTVVK... 配列番号 977 |
| ルミカン               |                    |                    |
| SLEDLQ... 配列番号 978 | LKEDAV... 配列番号 979 | HLQHNR... 配列番号 980 |
| LQHNRL... 配列番号 985 |                    |                    |
| パールカン              |                    |                    |
| SIEYSP... 配列番号 981 | LVNFTR... 配列番号 982 | VSEAVV... 配列番号 983 |
| EVSEAV... 配列番号 984 |                    |                    |
|                    |                    |                    |

10

20

から成る群より選択される N 末端配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 11】

前記免疫学的結合パートナーが、ビグリカン、デコリン、ルミカン、ヴァーシカンまたはパールカンの切断によって生成されるペプチド中に存在する C 末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

30

【表 8】

|                     |                     |                     |
|---------------------|---------------------|---------------------|
| ビグリカン               |                     |                     |
| ...NNDISE 配列番号 986  | ...YWEVQP 配列番号 987  | ...EDLLRY 配列番号 988  |
| ...RISEAK 配列番号 951  | ...KIQAIE 配列番号 989  | ...PETLNE 配列番号 990  |
| ...LRKDDF 配列番号 991  | ...LLRYSK 配列番号 992  | ...ELRKDD 配列番号 993  |
| ...KDLPET 配列番号 994  | ...DLLRYS 配列番号 995  | ...AFDGLK 配列番号 996  |
| ...LNELHL 配列番号 997  |                     |                     |
| デコリン                |                     |                     |
| ...GTNPLK 配列番号 998  | ...EVPDDR 配列番号 999  | ...GAFTPL 配列番号 1000 |
| ...SSGIEN 配列番号 968  | ...RVDAAS 配列番号 1001 | ...LVKLER 配列番号 1002 |
| ...GMKKLS 配列番号 1003 | ...KDGDFK 配列番号 1004 | ...HLDGNK 配列番号 1005 |
| ...QPSTFR 配列番号 1006 | ...AFQGMK 配列番号 1007 |                     |
| ヴァーシカン              |                     |                     |
| ...CDVMYG 配列番号 1008 | ...NGFDQC 配列番号 976  | ...QNGINK 配列番号 1009 |
| ...IGQDYK 配列番号 1010 |                     |                     |
| ルミカン                |                     |                     |
| ...QLTHNK 配列番号 1011 | ...VSAAFK 配列番号 1012 | ...GLKSLE 配列番号 1013 |
| パールカン               |                     |                     |
| ...EDAGSR 配列番号 1014 | ...EFREVS 配列番号 1015 | ...VAQQDS 配列番号 1016 |
| ...SAKEFR 配列番号 1017 | ...LEPEYR 配列番号 1018 |                     |

10

20

から成る群より選択される C 末端配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 1 2】

前記免疫学的結合パートナーが、C 反応性タンパク質の切断によって生成されるペプチド中に存在する N 末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

30

【表 9】

| CRP              |                  |                   |
|------------------|------------------|-------------------|
| AFVFPK 配列番号 1033 | SFGGNF 配列番号 1305 | FGQTDN 配列番号 1306  |
| VSLKAP 配列番号 1172 | KAFVFP 配列番号 1167 | EVFTKP 配列番号 1201  |
| TDMSRK 配列番号 1307 | MSRKAF 配列番号 1308 | SRKAFV 配列番号 1309  |
| VFPKES 配列番号 1310 | FPKESD 配列番号 1311 | KESDTS 配列番号 1312  |
| LSSTRG 配列番号 1313 | SSTRGY 配列番号 1314 | STRGYS 配列番号 1080  |
| KRQDNE 配列番号 1315 | WSKDIG 配列番号 1316 | SKDIGY 配列番号 1317  |
| SIILGQ 配列番号 1318 | YLGPF 配列番号 1322  | ILGQEQ 配列番号 1320  |
| IYLGGP 配列番号 1321 | KYEVQG 配列番号 1294 | LGGPFS 配列番号 1323  |
| ALKEYE 配列番号 1133 | YTELSS 配列番号 1325 | VQGEVF 配列番号 1324  |
| KPQLWP 配列番号 1157 | QEQDSF 配列番号 1328 | ILIFWS 配列番号 1326  |
| LVGDIG 配列番号 1327 | QDSFGG 配列番号 1331 | RGYSIF 配列番号 1329  |
| GAEASI 配列番号 1330 | DTSYVS 配列番号 1334 | TIYLG 配列番号 1332   |
| EINTIY 配列番号 1333 | SPDEIN 配列番号 1337 | AEASII 配列番号 1335  |
| TSWESA 配列番号 1336 | FVLSPD 配列番号 1340 | GGPFSP 配列番号 1338  |
| YEVQGE 配列番号 1339 | IVEFW 配列番号 1343  | LKKGYT 配列番号 1341  |
| IILGQE 配列番号 1319 | EVQGEV 配列番号 1346 | ESDTSY 配列番号 1344  |
| RKAFVF 配列番号 1342 | SLKAPL 配列番号 1222 | FVFPK 配列番号 1059   |
| SDTSYV 配列番号 1347 | SYATKR 配列番号 1349 | LKAPLT 配列番号 1173  |
| IFSYAT 配列番号 1348 | WVDGKP 配列番号 1352 | YATKRQ 配列番号 1350  |
| EFWDG 配列番号 1351  | GQEQDS 配列番号 1355 | VDGKPR 配列番号 1353  |
| LGQEQD 配列番号 1354 | LNWRA 配列番号 1127  | QSLVGD 配列番号 1356  |
| SPNVLN 配列番号 1357 | GEVFTK 配列番号 1359 | LNWRAL 配列番号 1128  |
| QGEVFT 配列番号 1358 | VRKSLK 配列番号 1205 | VFTKPQ 配列番号 1153  |
| IFWSKD 配列番号 1181 | ATKRQD 配列番号 1362 | KKGYTV 配列番号 1360  |
| FSYATK 配列番号 1361 | NWRAL 配列番号 1253  | FWSKDI 配列番号 1363  |
| VLNWR 配列番号 1249  | DFVLS 配列番号 1366  | NWRALK 配列番号 1364  |
| GSQSLV 配列番号 1365 | INTIYL 配列番号 1372 | VLSPDE 配列番号 1367  |
| LKEYEQ 配列番号 1134 | WRALKY 配列番号 1375 | KSLKKG 配列番号 1371  |
| GNFEQS 配列番号 1369 | TKPQLW 配列番号 1345 | RALKYE 配列番号 1373  |
| FVFPKE 配列番号 1060 | KGYTVG 配列番号 1296 | GGPFSPN 配列番号 1376 |
| FYTELS 配列番号 1374 | TKRQDN 配列番号 1368 | SLKKG 配列番号 1370   |
|                  |                  |                   |

10

20

30

から成る群より選択される N 末端配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 13】

前記免疫学的結合パートナーが、C 反応性タンパク質の切断によって生成されるペプチド中に存在する C 末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

【表 10】

| CRP              |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| AFVFPK 配列番号 1033 | KPQLWP 配列番号 1157 | PDEINT 配列番号 1377 |
| KESDTS 配列番号 1312 | DSFGGN 配列番号 1378 | VFTKPQ 配列番号 1153 |
| LTKPLK 配列番号 1379 | SDTSYV 配列番号 1347 | DTSYVS 配列番号 1334 |
| KDIGYS 配列番号 1380 | STRGYS 配列番号 1080 | YATKRQ 配列番号 1350 |
| GAEASI 配列番号 1330 | DGKPRV 配列番号 1381 | VDGKPR 配列番号 1353 |
| SPNVLN 配列番号 1357 | GPFSPN 配列番号 1376 | NFEGSQ 配列番号 1382 |
| ALKYEV 配列番号 1133 | YEVQGE 配列番号 1339 | LKYEVQ 配列番号 1134 |
| KAFVFP 配列番号 1167 | VSLKAP 配列番号 1172 | LKAPLT 配列番号 1173 |
| LKKGYT 配列番号 1341 | LGQEQD 配列番号 1354 | NVNMWD 配列番号 1383 |
| PRVRKS 配列番号 1384 | TVGSEI 配列番号 1385 | SRKAFV 配列番号 1309 |
| GYSFTV 配列番号 1386 | IILGQE 配列番号 1319 | EGSQSL 配列番号 1387 |
| INTIYL 配列番号 1372 | WSKDIG 配列番号 1316 | EQDSFG 配列番号 1388 |
| NVLNWR 配列番号 1389 | ASGIVE 配列番号 1390 | NTIYLG 配列番号 1391 |
| VGAEAS 配列番号 1392 | TDMSRK 配列番号 1307 | FVFPKE 配列番号 1060 |
| QTDMSR 配列番号 1394 | TSYVSL 配列番号 1396 | MSRKAF 配列番号 1308 |
| PKESDT 配列番号 1395 | QDNEIL 配列番号 1398 | ESDTSY 配列番号 1344 |
| DNEILI 配列番号 1397 | TVGAEA 配列番号 1401 | NEILIF 配列番号 1399 |
| YTVGAE 配列番号 1400 | GNFEGS 配列番号 1369 | DIGNVN 配列番号 1404 |
| FEGSQS 配列番号 1403 | LNWRAL 配列番号 1128 | NWRALK 配列番号 1364 |
| LNWRA 配列番号 1127  | EVFTKP 配列番号 1201 | VFTKPQ 配列番号 1153 |
| KYEVQG 配列番号 1294 | RQDNEI 配列番号 1405 | IFWSKD 配列番号 1181 |
| KRQDNE 配列番号 1315 | VRKSLK 配列番号 1205 | SYVSLK 配列番号 1407 |
| FTKPQL 配列番号 1406 | TKPLKA 配列番号 1408 | SIFSYA 配列番号 1409 |
| SLKAPL 配列番号 1222 | GNVNMW 配列番号 1410 | SQSLVG 配列番号 1411 |
| GSQSLV 配列番号 1365 | GGNFEG 配列番号 1413 | LVGDIG 配列番号 1327 |
| FGGNFE 配列番号 1412 | RALKYE 配列番号 1373 | KKGYTV 配列番号 1360 |
| VQGEVF 配列番号 1324 | GKPRVR 配列番号 1414 | PFSPNV 配列番号 1402 |
| DMSRKA 配列番号 1415 | EILIFW 配列番号 1416 | QGEVFT 配列番号 1358 |
| FPKESD 配列番号 1311 | IGYSFT 配列番号 1417 | SPDEIN 配列番号 1337 |
| APLTKP 配列番号 1393 | FWSKDI 配列番号 1363 |                  |
|                  |                  |                  |

10

20

30

から成る群より選択されるC末端配列を含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項14】

前記免疫学的結合パートナーが、エラスチンの切断によって生成されるペプチド中に存在するN末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

【表 1 1 A】

| エラスチン            |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| GVPGAI 配列番号 1898 | AIPGGV 配列番号 1899 | GVPGGV 配列番号 1900 |
| ALGGGA 配列番号 1901 | LGGGAL 配列番号 1902 | GGALGP 配列番号 1903 |
| PLKPVP 配列番号 1904 | LKPVPG 配列番号 1905 | GLAGAG 配列番号 1906 |
| GLGAGL 配列番号 1907 | LGAGLG 配列番号 1908 | AGLGAF 配列番号 1909 |
| LVPGGV 配列番号 1910 | VADAAA 配列番号 1911 | KAAGAG 配列番号 1912 |
| PVGYPG 配列番号 1913 | ARFPGV 配列番号 1914 | RFPGGV 配列番号 1915 |
| VGPFGG 配列番号 1916 | GPQPGV 配列番号 1917 | PQPGVP 配列番号 1918 |
| TTGKLP 配列番号 1919 | LPYGYG 配列番号 1920 | GYGGG 配列番号 1921  |
| FGAGAA 配列番号 1922 | GVLPGV 配列番号 1923 | VLPGGV 配列番号 1924 |
| TPAAAA 配列番号 1928 | VPGAIP 配列番号 1926 | AIPGIG 配列番号 1927 |
| VGVPGA 配列番号 1931 | PAAAAA 配列番号 1929 | AAAAAA 配列番号 1930 |
| GIPVVP 配列番号 1934 | AVGGV 配列番号 1932  | GVPGGV 配列番号 1933 |
| ARPGV 配列番号 1937  | IPGAAV 配列番号 1935 | GAAVPG 配列番号 1936 |
| SVGGVP 配列番号 1940 | RPGVGV 配列番号 1938 | VGGIPT 配列番号 1939 |
| VGVPAG 配列番号 1943 | VGGVPG 配列番号 1941 | VGTPA 配列番号 1942  |
| GVPVAP 配列番号 1946 | VAPGGV 配列番号 1944 | GVAPGV 配列番号 1945 |
| LGAGIP 配列番号 1949 | GAGIPG 配列番号 1947 | PGGVAA 配列番号 1948 |
| PGALAA 配列番号 1952 | AKYGAA 配列番号 1953 | AGIPGL 配列番号 1925 |
| ALGGVG 配列番号 1955 | LGGVGI 配列番号 1956 | YGAAVP 配列番号 1954 |
| AGPAAA 配列番号 1958 | GPAAAA 配列番号 1959 | VGIPG 配列番号 1957  |
| GLGVPG 配列番号 1961 | LGGIPP 配列番号 1962 | FGLVGA 配列番号 1960 |
| PLGGVA 配列番号 1964 | LGGVAA 配列番号 1965 | LGGVLG 配列番号 1963 |
| GVGLPG 配列番号 1967 | VGLPGV 配列番号 1968 | GGVAAR 配列番号 1966 |
| VPGVPV 配列番号 1970 | VPGVGI 配列番号 1971 | LPGVYP 配列番号 1969 |
| APGGV 配列番号 1973  | VPGGVA 配列番号 1974 | VGISPE 配列番号 1972 |
| VPGGVF 配列番号 1979 | YPTGTG 配列番号 1977 | YPGVGL 配列番号 1975 |
| LPGGGK 配列番号 1982 | GVFYPG 配列番号 1980 | VPGAGV 配列番号 1978 |
| LAGAGL 配列番号 1985 | GPGGKP 配列番号 1983 | VFYPGA 配列番号 1981 |
| LGAFPA 配列番号 1988 | AGAGLG 配列番号 1986 | PGGKPL 配列番号 1984 |
| LGVSAG 配列番号 1991 | AFFAVT 配列番号 1989 | GAGLGA 配列番号 1987 |
| FPGVGV 配列番号 1994 | VPGVGL 配列番号 1992 | AVTFPG 配列番号 1990 |
| PGVPLG 配列番号 1996 | KPGAPG 配列番号 1995 | PGVGLP 配列番号 1993 |
| YGGGGV 配列番号 1999 | GYPIKA 配列番号 1997 | PKAPGV 配列番号 1493 |
| GAGVPG 配列番号 2002 | AGYPTG 配列番号 2000 | PKLPGG 配列番号 1998 |
| IPGIGG 配列番号 2005 | AGVPGV 配列番号 2003 | TGVGPQ 配列番号 2001 |
| GPFGP 配列番号 1976  | IGGIAG 配列番号 2006 | GVPGGV 配列番号 2004 |
| VPGVGV 配列番号 2008 | PGFGPG 配列番号 1950 | GIAGVG 配列番号 2007 |
| AVPGVV 配列番号 2011 | VPVGA 配列番号 2009  | PGVVGV 配列番号 1951 |
| GVGAGG 配列番号 2014 | VPGVVS 配列番号 2012 | VPGAGI 配列番号 2010 |
| FGLVPG 配列番号 2017 | VGAGGF 配列番号 2015 | YGARPG 配列番号 2013 |
| PGVGLA 配列番号 2020 | GLVPGV 配列番号 2018 | VGGGI 配列番号 2016  |
| LRAAAG 配列番号 2023 | GVGLAP 配列番号 2021 | LVPGGV 配列番号 2019 |
| GIPGLG 配列番号 2026 | LVGAAG 配列番号 2024 | VGLAPG 配列番号 2022 |
| VGIPGG 配列番号 2032 | LGVGGV 配列番号 2027 | LVPGGP 配列番号 2025 |
| GLVGAA 配列番号 2035 | AVPGVL 配列番号 2030 | VGVPL 配列番号 2028  |
| GGVLGG 配列番号 2038 | IPGGVV 配列番号 2033 | VLGGLG 配列番号 2031 |
| GVAARP 配列番号 2041 | VGAAGL 配列番号 2036 | VVGAGP 配列番号 2034 |

10

20

30

40

【表 1 1 B】

|                  |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| GVYPPG 配列番号 2044 | GAGQFP 配列番号 2039 | LGGLGV 配列番号 2037 |
| AAVPGV 配列番号 2047 | VAARPG 配列番号 2042 | AFQFPL 配列番号 2041 |
| VPGLG 配列番号 2050  | AAGLGG 配列番号 2048 | RPGFGL 配列番号 2043 |
| ISPEAQ 配列番号 2053 | GQFPLG 配列番号 2051 | FGPGVV 配列番号 2046 |
| LGALGG 配列番号 2056 | GVLPGA 配列番号 2054 | FPGALV 配列番号 2049 |
| GKPLKP 配列番号 2059 | PQAAAA 配列番号 2077 | ALVPPG 配列番号 2052 |
| AGLGAG 配列番号 2062 | VPGVPG 配列番号 2057 | AAAGLG 配列番号 2029 |
| VTFPGA 配列番号 2065 | IAGVGT 配列番号 2060 | VGAGVP 配列番号 2055 |
| GLPGVY 配列番号 2068 | VVGVPG 配列番号 2063 | GGLGAL 配列番号 2058 |
| GAFAGI 配列番号 2071 | AGIPVV 配列番号 2066 | VGAGPA 配列番号 2061 |
| YTTGKL 配列番号 2074 | GARPGV 配列番号 2069 | LGVGGL 配列番号 2064 |
| PGVGVA 配列番号 2075 | VAGVPS 配列番号 2072 | FPLGGV 配列番号 2067 |
| LAPGVG 配列番号 2078 | VGTPAA 配列番号 2076 | PGFGLS 配列番号 2070 |
| LPYTTG 配列番号 2045 | GPGVVG 配列番号 2073 |                  |

10

から成る群より選択される N 末端配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 1 5】

前記免疫学的結合パートナーが、エラスチンの切断によって生成されるペプチド中に存在する C 末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

20

【表 1 2 A】

|                   |                  |                   |
|-------------------|------------------|-------------------|
| エラスチン             |                  |                   |
| PGGVPG 配列番号 2079  | PGAGLG 配列番号 2080 | GAGLGA 配列番号 1987  |
| GALGGG 配列番号 2081  | LGGGAL 配列番号 1902 | GGGALG 配列番号 2082  |
| GLGAFP 配列番号 2083  | LGAFPA 配列番号 1988 | LGAGLG 配列番号 1908  |
| VPGGVA 配列番号 1974  | ADAAAA 配列番号 2084 | VPTGAG 配列番号 2087  |
| RFPGVG 配列番号 1915  | VGVLPG 配列番号 2086 | VPLGYP 配列番号 2089  |
| PKAPGV 配列番号 1493  | GVGPFG 配列番号 2088 | IPGIGG 配列番号 2005  |
| LPYGYG 配列番号 1920  | AAAAAK 配列番号 2090 | IGGIAG 配列番号 2006  |
| GIAGVG 配列番号 2007  | AIPGIG 配列番号 1927 | GVPGVG 配列番号 1933  |
| AAAAKA 配列番号 2091  | VVGVPG 配列番号 2063 | VVSPEA 配列番号 2094  |
| GVGVPG 配列番号 2092  | PVVPGA 配列番号 2093 | GIPTYG 配列番号 2096  |
| VGGIPT 配列番号 1939  | GGIPTY 配列番号 2095 | GVGAGG 配列番号 2014  |
| GVGVGG 配列番号 2097  | GVGGIP 配列番号 2098 | VAPGVG 配列番号 1944  |
| GFPGVG 配列番号 2099  | FGGVGG 配列番号 2100 | APGVGL 配列番号 2104  |
| PGVVIS 配列番号 2101  | SPEAQA 配列番号 2102 | VAPGIG 配列番号 2107  |
| PGVVA 配列番号 2075   | GVGVAP 配列番号 2103 | AAGLGA 配列番号 2109  |
| GIGPGG 配列番号 2105  | APGIGP 配列番号 2106 | AGVPGL 配列番号 2112  |
| RAAAGL 配列番号 2108  | AAAGLG 配列番号 2029 | GAGPAA 配列番号 2113  |
| GVPGLG 配列番号 2110  | GVPGFG 配列番号 2111 | GLGGLG 配列番号 2115  |
| VLGGLG 配列番号 2031  | VGIPGG 配列番号 2032 | PAAAAK 配列番号 2117  |
| PAAAAA 配列番号 1929  | VPGVGG 配列番号 2114 | AARPGF 配列番号 2118  |
| GLGVPG 配列番号 1961  | PGVGG 配列番号 2116  | GPPIPG 配列番号 2121  |
| RPGFGL 配列番号 2043  | GVAARP 配列番号 2041 | ALGPGG 配列番号 2124  |
| LSPIFP 配列番号 2119  | AQAAAA 配列番号 2120 | KPVPGG 配列番号 2127  |
| GPGGVA 配列番号 2122  | LGALGG 配列番号 2056 | VTFPGA 配列番号 2065  |
| GLGALG 配列番号 2123  | PGAIPG 配列番号 2146 | VPQPGA 配列番号 2130  |
| GALGPG 配列番号 2125  | TPAAAA 配列番号 1928 | AGVKPK 配列番号 2133  |
| AFPAVT 配列番号 1989  | AVTFPG 配列番号 1990 | YGYGPG 配列番号 2136  |
| AAAAYK 配列番号 2128  | AAKAGA 配列番号 2129 | GVGTPA 配列番号 1942  |
| PGVPTG 配列番号 2131  | GVPTGA 配列番号 2132 | AAAAAA 配列番号 1930  |
| PIKAPK 配列番号 2134  | KLPGGY 配列番号 2135 | GVPGAG 配列番号 2140  |
| VGTPAA 配列番号 2076  | VPGVPG 配列番号 2057 | ARPGVG 配列番号 1937  |
| GIGGIA 配列番号 2137  | GTPAAA 配列番号 2138 | YGVGAG 配列番号 2144  |
| IPVVPG 配列番号 2139  | VGVPGA 配列番号 1931 | VGAGGF 配列番号 2015  |
| GAGIPG 配列番号 1947  | PEAAAA 配列番号 2141 | GISPEA 配列番号 2149  |
| IPTYGV 配列番号 2145  | TYGVGA 配列番号 2143 | VPGAPG 配列番号 2150  |
| AGGFPG 配列番号 2147  | PTYGVG 配列番号 2142 | APGVGV 配列番号 1973  |
| VGVA PG 配列番号 1943 | GIPGVA 配列番号 2148 | PGIGPG 配列番号 2152  |
| PGVGLA 配列番号 2020  | VGLAPG 配列番号 2022 | LGVGVG 配列番号 2027  |
| GAGVPG 配列番号 2002  | LAPGVG 配列番号 2078 | LGGLGA 配列番号 2157  |
| PGVGVG 配列番号 2169  | GGVAAA 配列番号 2151 | GPAAAA 配列番号 1959  |
| GLGVGG 配列番号 2153  | PGLGVG 配列番号 2154 | GVGGLG 配列番号 2159  |
| GLGVGA 配列番号 2155  | ALAAAK 配列番号 2156 | VAARPG 配列番号 2042  |
| VGAGPA 配列番号 2061  | AGPAAA 配列番号 1958 | IFPGGA 配列番号 2163  |
| GGLGVG 配列番号 2158  | LGVGGL 配列番号 2064 | AKAAK 配列番号 2166   |
| AGQFPL 配列番号 2160  | GGVAAR 配列番号 1966 | PGGVAA 配列番号 1948  |
| GFG LSP 配列番号 2161 | PIFPGG 配列番号 2162 | VGV PGL 配列番号 2028 |
| AAKFGA 配列番号 2164  | AAKYGA 配列番号 2165 | PGVLGG 配列番号 2085  |

10

20

30

40

【表 1 2 B】

|                  |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| AGLGAL 配列番号 2167 | RPGVGV 配列番号 1938 | GIPGGV 配列番号 2168 |
| LKPVPG 配列番号 1905 | GGFPGF 配列番号 2173 | IPPAAA 配列番号 2170 |
| ALVPPG 配列番号 2052 | VGGVPG 配列番号 1941 | ARPGFG 配列番号 2171 |
| VLPGAR 配列番号 2172 | GVAPGV 配列番号 1945 | GLSPIF 配列番号 2174 |
| PTGAGV 配列番号 2175 | VAPVGV 配列番号 2126 | GIPVVP 配列番号 1934 |
| AGAAGK 配列番号 2176 |                  |                  |
|                  |                  |                  |

10

から成る群より選択される C 末端配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 1 6】

前記免疫学的結合パートナーが、V 型コラーゲンの切断によって生成されるペプチド中に存在する N 末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

【表 1 3】

| V 型コラーゲン        |                  |                  |
|-----------------|------------------|------------------|
| GDPGPP 配列番号 373 | LRGIPG 配列番号 760  | IGPPGI 配列番号 761  |
| LQGPPG 配列番号 62  | IGSLGH 配列番号 762  | IRGPPG 配列番号 763  |
| ANGSPG 配列番号 764 | LIGTPG 配列番号 765  | LPGEPPG 配列番号 766 |
| IPGRPG 配列番号 767 | GPDGPP 配列番号 768  | QPGPSG 配列番号 769  |
| LKGNEG 配列番号 770 | ERGHPG 配列番号 771  | GPPGEQ 配列番号 772  |
| FPGPKG 配列番号 491 | PFRFGG 配列番号 773  | ESQAQA 配列番号 774  |
| LLGPKG 配列番号 775 | QQGNPG 配列番号 776  | KEGPPG 配列番号 777  |
| IGLIGP 配列番号 778 | GPPGPP 配列番号 100  | LGPPGE 配列番号 779  |
| GPPGPK 配列番号 780 | SLGHPG 配列番号 781  | KDGIPG 配列番号 782  |
| PVGEPG 配列番号 783 | LRGIPG 配列番号 760  | KDGIPG 配列番号 782  |
| ANGSPG 配列番号 764 | LIGTPG 配列番号 765  | PGEPGP 配列番号 784  |
| KDGIP 配列番号 813  | VLGPQG 配列番号 814  | DGIPGP 配列番号 661  |
| QMGPPG 配列番号 802 | LLGAPG 配列番号 785  | GLPGL 配列番号 786   |
| ALRGPA 配列番号 810 | LALRGP 配列番号 788  | LTGRPG 配列番号 789  |
| ETGFQG 配列番号 808 | LRGFPG 配列番号 790  | KTGPIG 配列番号 791  |
| EAGHPG 配列番号 811 | PGPKGN 配列番号 527  | EQGLPG 配列番号 793  |
| GSKGPM 配列番号 809 | AIGGPP 配列番号 794  | GPNGDP 配列番号 795  |
| EKGHPG 配列番号 812 | LLGPRG 配列番号 797  | GPDGPP 配列番号 768  |
| GPKGSI 配列番号 816 | GPKGDP 配列番号 799  | GDPGPP 配列番号 373  |
| ELGFQG 配列番号 817 | LQGPPG 配列番号 62   | EKGHIG 配列番号 801  |
| LRGPAG 配列番号 818 | SRGERG 配列番号 803  | EKGKSG 配列番号 804  |
| EDGERG 配列番号 815 | LPGEPPG 配列番号 766 | PQGAIG 配列番号 806  |
| GIPGEK 配列番号 787 | PPGRPG 配列番号 792  | PGPPGE 配列番号 796  |
| LLGPKG 配列番号 775 | GPPGEK 配列番号 640  | ERGPNG 配列番号 798  |
| GPMGLT 配列番号 807 | GPIGEK 配列番号 805  | PGIPGE 配列番号 800  |
| QMGPPG 配列番号 802 |                  |                  |

20

30

40

から成る群より選択される N 末端配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 1 7】

前記免疫学的結合パートナーが、V 型コラーゲンの切断によって生成されるペプチド中に存在する C 末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

【表 1 4】

| V型コラーゲン         |                 |                 |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| PIGSLG 配列番号 819 | PVGEPG 配列番号 783 | PGPPGE 配列番号 796 |
| PPGPTG 配列番号 820 | PKGPPG 配列番号 821 | VAGPLG 配列番号 822 |
| RPGVTG 配列番号 823 | MMPFQF 配列番号 824 | PGAAGP 配列番号 825 |
| PVGPAQ 配列番号 826 | HEGPTG 配列番号 827 | EPGPRG 配列番号 516 |
| GPPGLP 配列番号 828 | GQGPPG 配列番号 664 | PPGPPG 配列番号 119 |
| AGSPGE 配列番号 829 | PVGALG 配列番号 830 | EQGLPG 配列番号 793 |
| YPGPRG 配列番号 831 | HPGQRG 配列番号 832 | GGGGDA 配列番号 833 |
| LIGPPG 配列番号 834 | GLPGLK 配列番号 835 | PPGPPG 配列番号 119 |
| PPGPIG 配列番号 174 | KGLPGL 配列番号 836 | PGPPGP 配列番号 458 |
| QMGPPG 配列番号 802 | LLGAPG 配列番号 785 | RPGVTG 配列番号 823 |
| QQARLA 配列番号 837 | PPGHPG 配列番号 838 | PQGPRG 配列番号 150 |
| PLGPPG 配列番号 839 | GEPGLL 配列番号 840 | EVGPLG 配列番号 841 |
| IMMPFQ 配列番号 842 | GLPGLK 配列番号 835 | PLGPSG 配列番号 843 |
| AAGPSG 配列番号 844 | PPGPLG 配列番号 845 | PPGSRG 配列番号 846 |
| PAGPMG 配列番号 847 | PPGSGG 配列番号 848 | PPGPPG 配列番号 119 |
| GLPGPV 配列番号 849 | LPGPVG 配列番号 850 | KPGPDG 配列番号 851 |
| LPGPQG 配列番号 852 | VIQPLP 配列番号 853 | RGPNGP 配列番号 854 |
| PGPQGS 配列番号 855 | EKGPLG 配列番号 856 | PLGPPG 配列番号 839 |
| PPGPLG 配列番号 845 | TGPKGE 配列番号 858 | GPKGSI 配列番号 816 |
| GPPGAA 配列番号 857 | PPGPAG 配列番号 52  | PPGPTG 配列番号 820 |
| LLGAPG 配列番号 785 | PLGPLG 配列番号 863 | PPGSRG 配列番号 846 |
| PSGLPG 配列番号 860 | LPGPPG 配列番号 72  | KPGPRG 配列番号 862 |
| PPGPAG 配列番号 52  | PPGLPG 配列番号 861 | PKGPPG 配列番号 821 |
|                 | QGLPGL 配列番号 859 | PPGSRG 配列番号 846 |
|                 |                 |                 |

10

20

から成る群より選択されるC末端配列を含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項18】

前記免疫学的結合パートナーが、V I型コラーゲンの切断によって生成されるペプチド中に存在するN末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

30

## 【表 1 5】

| V I型コラーゲン       |                 |                 |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| YRGPEG 配列番号 883 | PIGPKG 配列番号 865 | GIGIGN 配列番号 885 |
| ISGPRG 配列番号 886 | PGPAGP 配列番号 887 | VAAKPA 配列番号 888 |
| GEPGPP 配列番号 675 | RGPIGS 配列番号 889 | PPPPQP 配列番号 890 |
| AQGPAG 配列番号 891 | LIGEQQ 配列番号 892 | PGLIGE 配列番号 893 |
| GEPGLN 配列番号 894 | IGPKGI 配列番号 895 | VAVVQH 配列番号 896 |
| FGPSAA 配列番号 897 | GPKGET 配列番号 898 | LGPMGV 配列番号 899 |
| PGEPGP 配列番号 784 |                 |                 |

40

から成る群より選択されるN末端配列を含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項19】

前記免疫学的結合パートナーが、V I型コラーゲンの切断によって生成されるペプチド中に存在するC末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

【表 1 6】

| V I 型コラーゲン      |                 |                 |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| GDEGPP 配列番号 900 | GNADIT 配列番号 901 | PAGPPG 配列番号 133 |
| DPGLMG 配列番号 902 | PEVPRP 配列番号 903 | TGPKGI 配列番号 904 |
| GDEGGP 配列番号 905 | PARSAS 配列番号 906 | TPAPPG 配列番号 915 |
| ISGPRG 配列番号 886 | GISGPR 配列番号 907 | GIGNRG 配列番号 908 |
| YRGYPG 配列番号 909 | KVEFSL 配列番号 910 | GVPGRD 配列番号 911 |
| PGETGK 配列番号 912 | RTGPLG 配列番号 913 | APGERG 配列番号 914 |

から成る群より選択される C 末端配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

10

## 【請求項 2 0】

前記免疫学的結合パートナーが、ビメンチンの切断によって生成されるペプチド中に存在する N 末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

## 【表 1 7】

| ビメンチン            |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| LLQDSV 配列番号 2182 | FADLSE 配列番号 2183 | ISLPLP 配列番号 2184 |

から成る群より選択される N 末端配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

20

## 【請求項 2 1】

前記免疫学的結合パートナーが、ビメンチンの切断によって生成されるペプチド中に存在する C 末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

## 【表 1 8】

| ビメンチン            |                  |
|------------------|------------------|
| SVPGVR 配列番号 2185 | SVPGVL 配列番号 2186 |

から成る群より選択される C 末端配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

30

## 【請求項 2 2】

前記ネオエピトープが I 型コラーゲンの切断によって形成される場合、該切断は、I 型コラーゲンがトリプシンによって切断される部位ではないことをさらなる条件とする、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 2 3】

体液試料中に天然に存在するネオエピトープ含有タンパク質断片を測定する免疫検定の方法であって、前記免疫検定法が、前記試料中に天然に存在するタンパク質断片を、プロテイナーゼによるタンパク質の切断によって形成されるネオエピトープに対して反応性である免疫学的結合パートナーと接触させるステップと、前記ネオエピトープを含むタンパク質断片を測定するために前記免疫学的結合パートナーへのペプチド断片の結合の程度を測定するステップとを含む方法によって実施され、ここで、前記タンパク質が、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、エラスチン、I 型コラーゲン、IV 型コラーゲン、V 型コラーゲンもしくは V I 型コラーゲン、C R P またはビメンチンであり、但し、該ネオエピトープが I 型コラーゲンの切断によって形成される場合、該切断は、I 型コラーゲンがカテプシン K によって切断される部位ではないことを条件とする、免疫検定の方法。

40

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0 0 0 1】

本発明は、慢性傷害の後に線維症を発症する危険性を示すバイオマーカを含む、線維性

50

疾患の診断およびその発症の予測に有用なバイオマーカについてのアッセイに関する。

【 0 0 0 2 】

特に、本発明によれば、I、III、IV、VおよびVI型コラーゲン、エラスチン、C反応性タンパク質、ならびにピグリカン、デコリン、パーシカンおよびパルカンを含むプロテオグリカンの分解断片に関するバイオマーカは有用であることが認められる。

【 背景技術 】

【 0 0 0 3 】

線維性疾患（表1に列挙するものを含む）は病的状態および死亡の主要原因であり、例えば肝硬変による死亡は世界中で年間800,000例に上る<sup>1</sup>。

【 0 0 0 4 】

10

【 表 1 】

表1. 種々の線維性疾患<sup>2</sup>

| 組織     | 原因の例  |
|--------|---|
| 肝臓     | ウイルス性肝炎<br>住血吸虫症<br>脂肪性肝炎（アルコール性または非アルコール性） |
| 肺      | 特発性肺線維症（IPF）<br>全身性硬化症（強皮症）                 |
| 腎臓     | 腎性全身性線維症（NSF）<br>糖尿病<br>未治療高血圧症             |
| 心臓     | 心臓発作<br>高血圧症<br>アテローム性動脈硬化症<br>再狭窄          |
| 眼      | 黄斑変性、網膜および硝子体網膜症                            |
| 皮膚     | 全身性硬化症および強皮症、ケロイド、過形成性癬痕、熱傷、遺伝因子、NFS        |
| 脾臓     | 自己免疫性/遺伝性的の原因                               |
| 腸      | クローン病/炎症性腸疾患                                |
| 脳      | アルツハイマー病、AIDS                               |
| 骨髄     | がん、老化                                       |
| 多臓器線維症 | 手術の合併症、化学療法剤誘発性線維症、放射線誘発性線維症、機械的損傷          |

20

30

【 0 0 0 5 】

「線維性疾患」は、主症状としてであるか二次症状としてであるかにかかわらず、線維症を生じさせるあらゆる疾患である。

【 0 0 0 6 】

線維症は、持続性感染、自己免疫反応、アレルギー応答、化学的傷害、放射線および組織損傷を含む様々な刺激によって誘発される慢性炎症反応の最終結果である。線維症は細胞外マトリックス（ECM）の蓄積と再編成を特徴とする。明らかな病因および臨床上の違いを有するにもかかわらず、ほとんどの慢性的な線維性障害は、共通して、増殖因子、タンパク質分解酵素、血管新生因子および線維形成性サイトカインの産生を維持する持続性刺激原を有し、前記物質は共に、正常組織の構造を漸進的に再構築し、破壊する、結合組織要素、特に、コラーゲンおよびプロテオグリカンの沈着を刺激する<sup>3、4</sup>。ヒトの健康へのその多大の影響にもかかわらず、現在のところ、線維症の機序を直接標的とする承認された治療法はない<sup>5</sup>。

40

【 0 0 0 7 】

線維症の鍵となる細胞メディエータは筋線維芽細胞であり、筋線維芽細胞は、活性化された場合、主要なコラーゲン産生細胞として働く。

【 0 0 0 8 】

50

<細胞外マトリックス (ECM) >

線維形成は、通常は組織損傷から生じる複雑な細胞および分子機構を含む動的過程である<sup>6</sup>。線維形成は、漸進的な機能障害を伴う、組織の大きさと密度の増大をもたらす巨大分子の濃度を変化させる正常なECM調節が不均衡である結果である。これらの巨大分子は、主として、コラーゲンおよびプロテオグリカンなどの構造および接着機能を有する線維性タンパク質である。

【0009】

<コラーゲン>

コラーゲンは人体に広く分布する、すなわち人体のタンパク質量の約30%がコラーゲンから成る。コラーゲンは大部分の結合組織のECMの構造的完全性に関与する。ECM含量は、遺伝子発現とタンパク質分泌の調節を介して、同時にまた内因性プロテアーゼ阻害ならびにメタロプロテイナーゼおよびシステインプロテアーゼによるタンパク質分解を介して、厳密に制御される合成と分解の微妙なバランスから生じる<sup>7-9</sup>。表2は、主要なコラーゲン型をそれらの主要な組織分布と共に列挙する。

10

【0010】

【表2】

表2. 主要なコラーゲン型とそれらの組織分布

| コラーゲン型 | 組織分布                   |
|--------|------------------------|
| I型     | 大部分の結合組織               |
| II型    | 軟骨、硝子体液                |
| III型   | 伸張性結合組織、例えば肝臓、皮膚、肺、脈管系 |
| IV型    | 基底膜                    |
| V型     | I型コラーゲンを含有する組織         |
| VI型    | 大部分の結合組織               |
| VII型   | 皮膚、膀胱、口腔粘膜、臍帯、羊膜       |
| VIII型  | 多くの組織、特に内皮             |
| XIII型  | 内皮細胞、皮膚、眼、心臓、骨格筋       |
| XIV型   | 脈管、骨、皮膚、軟骨、眼、神経、腱、子宮   |
| XXI型   | 脈管、心臓、胃、腎臓、骨格筋、胎盤      |

20

30

【0011】

I型コラーゲンは最も豊富なコラーゲンであり、大部分の結合組織で認められる。I型コラーゲンは骨および皮膚の構造のために特に重要であり、そこでの主要なコラーゲン成分はI型およびIII型コラーゲンである<sup>10</sup>。

【0012】

I型およびIII型コラーゲンは、健常組織では1:1の割合で肝臓および肺の主要成分である。加えて、IV型およびVI型コラーゲンは、大部分の組織の基底膜中で認められる。V型コラーゲンの最も一般的な局在は、I型およびIII型コラーゲンに関連して、特徴的なコラーゲン原線維内にある<sup>10</sup>。

40

【0013】

一部のコラーゲンは限られた組織分布を有する：例えば、II型は、ほとんど排他的に軟骨で認められる<sup>11</sup>。

【0014】

線維形成の間、コラーゲンの正味量が増加する<sup>12-14</sup>。表3は、例として肝線維症におけるコラーゲン増加を示す。

【0015】

## 【表 3】

表 3. ヒトの正常肝臓から硬変肝臓へのコラーゲンの組成の変化<sup>15</sup>

| コラーゲン型 | 鎖                | 正常肝臓のコラーゲン (mg/g) | 硬変肝臓のコラーゲン (mg/g) | 倍数増加 | 正常肝臓分布 (%) | 硬変肝臓分布 (%) |
|--------|------------------|-------------------|-------------------|------|------------|------------|
| I      | $\alpha_1$ (I)   |                   | 16                | 8    | 37         | 42         |
|        | $\alpha_2$ (I)   | 2                 |                   |      |            |            |
| III    | $\alpha_1$ (III) | 2                 | 8                 | 4    | 37         | 21         |
| IV     | $\alpha_1$ (IV)  | 0.5               | 7                 | 14   | 9          | 18         |
|        | $\alpha_2$ (IV)  |                   |                   |      |            |            |
| V      | $\alpha_1$ (V)   | 0.9               | 7                 | 8    | 17         | 18         |
|        | $\alpha_2$ (V)   |                   |                   |      |            |            |
|        | $\alpha_3$ (V)   |                   |                   |      |            |            |
| VI     | $\alpha_1$ (VI)  | 0.01              | 0.1               | 10   | 0.2        | 0.3        |
|        | $\alpha_2$ (VI)  |                   |                   |      |            |            |

## 【0016】

## &lt; エラスチン &gt;

エラスチンは、多くの結合組織、主として弾性の結合組織中に存在するタンパク質である。アミノ酸のグリシン、バリン、アラニンおよびプロリンの非常に高い含量を有し、分子量は64～66kDaである。830個のアミノ酸から成る不規則なまたはランダムなコイル立体配座で構成されている。エラスチンは、リシルオキシダーゼによって触媒される反応において、多くの可溶性トロポエラスチンタンパク質分子を連結し、不溶性で耐久性のある巨大な架橋アレイを作製することによって作られる。

## 【0017】

エラスチンは、血流を助ける圧力波伝搬のための媒体として動脈において重要な機能を果たし、大動脈のような大きな弾性血管において特に豊富である。エラスチンはまた、肺、弾性靭帯および皮膚においても非常に重要である。

## 【0018】

エラスチンの合成および代謝回転の理解に多大の努力が費やされてきたにもかかわらず、このマトリックス分子のタンパク質分解切断から生じるネオエピトープは、現在まで線維症の疾患発症に関連付けられていなかった。

## 【0019】

## &lt; ビメンチン &gt;

ビメンチンは、中間径フィラメントファミリーのタンパク質の成員である。中間径フィラメントは真核細胞の重要な構造特徴である。それらは、微小管およびアクチンマイクロフィラメントと共に、細胞骨格を構成する。大部分の中間径フィラメントは安定な構造であるが、線維芽細胞においては、ビメンチンは動的構造体として存在する。このフィラメントは中胚葉由来組織についてのマーカーとして使用され、それ自体、肉腫の免疫組織化学的マーカーとして使用されてきた。

## 【0020】

Hertigと共同研究者たち(Hertig et al., J Am Soc Nephrol. 2008 Aug; 19(8): 1584-91)は、慢性移植腎症を有する被験者の尿細管上皮細胞における上皮間葉移行が移植片における線維症の進行を予測できるかどうかを検討し、これらの被験者からの83例の生検においてビメンチン発現を測定した。Hertigらは、手術の1年後にビメンチン発現の上昇と腸線維症スコアの間に関連性を認めた。

## 【0021】

肝線維症の別の試験において、Meridenと共同研究者たち(Meriden e

10

20

30

40

50

t al., Clin Gastro & Hepatol 2010; 8: 289 - 296) は、ビメンチン発現 (F0期で得た生検における) と線維症の進行の間に有意の関連性を認め、高レベルのビメンチン発現は肝線維症の速やかな進行を予測した。

【0022】

従って、本発明者らは、ビメンチンの循環断片が感受性の高い特異的な線維症のバイオマーカーとして働き得るどうかを検討したいと考えた。

【0023】

<プロテオグリカン>

プロテオグリカンは、様々な数のグリコサミノグリカン (GAG) 側鎖をコアタンパク質に共有結合連結する、多様な巨大分子群である<sup>16</sup>。これらのGAGは二糖の繰り返し単位 (例えばN - アセチルグルコサミンまたはN - アセチルガラクトサミン) の重合体であり、それらは二糖単位上のヒドロキシル、カルボキシルおよび硫酸側鎖のために酸性である (負に荷電している)。これによりGAGは高度に親水性であり、従って水および陽イオン (例えば細胞外液からのナトリウム) の拡散を助ける<sup>17</sup>。さらに、GAGは、例えばヒアルロン酸鎖と非共有結合連結を形成して、さらに一層大きな分子複合体を形成する能力を有する<sup>16</sup>。表4は、結合組織に関連する、最も広く検討されているプロテオグリカンを列挙する。

【0024】

【表 4】

表 4. 結合組織の細胞外マトリックスのプロテオグリカン

| 群                            | プロテオグリカン                | 起源                                 | 機能  |
|------------------------------|-------------------------|------------------------------------|---|
| 大型の細胞外プロテオグリカン(集合およびヒアルロン結合) | アグリカン <sup>18</sup>     | 関節軟骨細胞、椎間円板、鼻軟骨                    | 細胞外マトリックスの安定性(ヒアルロン結合)                          |
|                              | パーシカン <sup>19, 20</sup> | 結合組織: 線維芽細胞、ケラチノサイト、平滑筋細胞、メサンギウム細胞 | 細胞間相互作用および細胞マトリックス相互作用、Ca 依存的な糖類の結合             |
|                              | ニューロカン <sup>21</sup>    | 神経組織                               | 神経細胞接着分子に結合する                                   |
|                              | プレビカン <sup>22</sup>     | 神経組織                               | 細胞外マトリックスの安定性                                   |
| 小型のロイシンリッチプロテオグリカン(コラーゲン結合)  | デコリン <sup>23</sup>      | 結合組織、軟骨、骨                          | コラーゲン分子に結合し、連結する(マトリックスの安定化および厚さ)、器官発生、TGFβ の結合 |
|                              | ビグリカン <sup>24</sup>     | 毛細管内皮、皮膚(ケラチノサイト)、腎臓の上皮            | 細胞分化、コラーゲン原線維に結合し、連結する                          |
|                              | フィブロモジュリン <sup>17</sup> | 結合組織、骨、軟骨                          | コラーゲン線維の方向を調節する                                 |
|                              | ルミカン <sup>23</sup>      | 角膜、筋、軟骨、腎臓、肺、腸                     | コラーゲン線維の間隔と厚さを制御する                              |
|                              | セルグリシン <sup>25</sup>    | 内皮-細胞間区画に広く分布                      | 造血細胞分化、リンパ球の接着および活性化                            |
|                              | シンデカン <sup>26</sup>     | 広く分布-しばしば細胞膜に結合                    | コラーゲン、フィブロンectin、トロンボスポンジン、テネイシンおよびbFGFに結合する    |
| 細胞関連プロテオグリカン                 | βグリカン <sup>27</sup>     | 広く分布                               | TGFβ 受容体およびシグナル伝達、TGFβ の貯蔵所の可能性                 |
|                              | 基底膜プロテオグリカン             | パールカン <sup>28</sup>                | すべての基底膜   |

10

20

30

## 【0025】

## &lt; C 反応性タンパク質 &gt;

C 反応性タンパク質 (CRP) は、炎症、感染または外傷などの種々の臨床状態に反応して肝臓によって産生される急性期血清タンパク質である<sup>29</sup>。CRP の産生は、罹患組織または損傷組織から放出される、IL-6 などのサイトカインによって誘導される。CRP の生理的役割はまだ不明であり、その前炎症作用または抗炎症作用に関する検討が進められている。

40

## 【0026】

## &lt; プロテアーゼ &gt;

線維形成の間の ECM の合成と分解の不均衡は、低密度の内皮下マトリックスの、間質コラーゲンに富むマトリックスへの変換から生じる。コラーゲンおよびプロテオグリカンの増加は、(1) タンパク質産生の減少および(2) タンパク質分解の低下の一方または両方によると考えられる。タンパク質分解の低下は、最近ますます関心を集めている。このプロセスの調節において、マトリックスメタロプロテイナーゼ (MMP) およびそれらの組織阻害剤 (TIMP) は、システインプロテアーゼおよびシスタチンなどの他のプロテアーゼおよびそれらの阻害剤と同様に、重要な役割を果たす。

50

## 【 0 0 2 7 】

## &lt; M M P &gt;

M M P は、E C M の、すべてではないにせよ大部分の成分を分解することができる、エンドペプチダーゼの大きな群である。現在、25 を超える M M P が発見されている。M M P は、金属原子、典型的には亜鉛を含む活性部位を特徴とし、チモーゲンとして分泌される。種々の M M P が種々の組織で発現される。表 5 では、肝臓中の M M P を示す。

## 【 0 0 2 8 】

## 【表 5】

表 5. 肝臓中の M M P<sup>30~32</sup>

| ファミリ   | プロテ    | 供給源            | 基質   |
|--------|--------|----------------|--|
| ー      | アーゼ    |                |  |
| コラゲナ   | MMP-1  | HSC            | I、II、III、VII、VIII、X、ゼラチン   |
| ーゼ     | MMP-8  | 好中球            | I、II、III、V、VII、X、ゼラチン  |
|        | MMP-13 | HSC、<br>MFB、KC | I、II、III、VII、X、ゼラチン  |
| ストロメ   | MMP-3  | HSC            | III、IV、V、IX、X、XI、ゼラチン、ラミニン、フィブロネクチン、<br>プロテオグリカン、糖タンパク質、エラスチン、プロ MMP-<br>1/13        |
| ライシン   | MMP-10 | HSC            | III、IV、V、ゼラチン、エラスチン、アグリカン  |
|        | MMP-11 | HC             | PAI-1、マトリックスタンパク質に対する弱い活性  |
| ゼラチナ   | MMP-2  | HSC、MBF        | I、II、III、IV、V、VII、X、XI、ゼラチン、エラスチン、ラミニン   |
| ーゼ     | MMP-9  | KC、<br>HSC、HC  | I、II、III、IV、V、VII、X、XI、ゼラチン、エラスチン、ラミニン   |
|        | MMP-7  | HSC            | エンタクチン、ゼラチン、エラスチン、フィブロネクチン、<br>ビトロネクチン、ラミニン、フィブリノーゲン                                 |
| メタロエ   | MMP-12 | マクロフ           | エラスチン、ゼラチン、IV、ラミニン、フィブロネクチン、<br>エンタクチン、ビトロネクチン、プロテオグリカン、ミエリ<br>ン塩基性タンパク質、α1 アンチトリプシン |
| ラストー   |        | ァージ            |  |
| ゼ      |        |                |  |
| MT-MMP | MMP-14 | HSC、<br>MFB、KC | I、II、III、ゼラチン、フィブロネクチン、ビトロネクチン、<br>ラミニン、フィブリノーゲン、プロ MMP-2、プロ MMP-13                  |
|        | MMP-15 | HC、BDEC        | プロ MMP-2、フィブロネクチン、テネイシン、ラミニン、ア<br>グリカン、パールカン   |

## 【 0 0 2 9 】

T I M P は、3 分子複合体中の M M P および膜 1 型メタロプロテイナーゼに対して基質特異的および組織特異的に結合することによって、M M P のタンパク質分解活性をブロックする（表 6）。線維症において T I M P レベルは劇的に上昇し、M M P レベルはやや上昇するかまたは比較的不変のままであり（M M P - 2 を除く）、全体としてコラーゲンの分解の低下を生じさせる。

## 【 0 0 3 0 】

## 【表 6】

表 6. 肝臓中の T I M P<sup>31</sup>

| 名称     | 供給源           | 阻害されるメタロプロテイナーゼ                                   |
|--------|---------------|---|
| TIMP-1 | HSC、MFB、KC、HC | プロ MMP-9、MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-13                 |
| TIMP-2 | KC、HSC        | MT-MMP-1、MT-MMP-2、プロ MMP-2、MMP-3、MMP-<br>13、MMP-7 |
| TIMP-3 | HC            | MT-MMP-1、MT-MMP-2、TACE、MMP-13                     |

## 【 0 0 3 1 】

10

20

30

40

50

< 線維芽細胞活性化タンパク質 >

線維芽細胞活性化タンパク質 サブユニット (FAP または FAP、 ) は、セリンプロテアーゼファミリーに属する内在性膜ゼラチナーゼである。FAP は、170 kDaメラノーマ膜結合ゼラチナーゼ、内在性膜セリンプロテイナーゼ、およびセプラーゼとしても知られるヘテロ二量体膜結合プロテイナーゼ複合体の サブユニットであり、DPP4 (CD26) は サブユニットである。一部の細胞はFAP ホモ二量体だけを作製し、また別の細胞はDPP4 ホモ二量体だけを作製する。単量体は不活性である。FAP は、上皮癌の反応性間質線維芽細胞、治癒創傷の顆粒組織、ならびに骨および軟組織肉腫の悪性細胞において選択的に発現される<sup>33</sup>。このタンパク質は、発生、組織修復および上皮癌発生の過程で線維芽細胞増殖の制御または上皮間葉相互作用に参与すると考えられる。FAPの発現は線維症の病期と共に上昇することが示されている<sup>34</sup>、<sup>35</sup>。

10

【0032】

< 線維症バイオマーカ >

多くの生化学的マーカが、疾患の特異的な生成物ではないが、線維性疾患に関して示唆されてきた。表7は、臨床試験で使用される肝線維症の生化学的マーカの例である。加えて、他の線維性疾患のバイオマーカの数多くの例が存在する<sup>12</sup>、<sup>36-42</sup>。

【0033】

【表 7 A】

表 7. 肝線維症の公知のマーカの一部の要約

| バイオマーカ                | パラメータ   | 慢性肝疾患                                      | 参考文献                          |
|-----------------------|---|--|-------------------------------|
| 1パラメータ                |   |  |                               |
| CRP                   |   | NASH                                       | 43                            |
| ヒアルロナン                |   | HCV  | 44-47                         |
| IGF-1                 |   | HCV  | 48                            |
| レプチン                  |   | HCV  | 49                            |
| PIIIP                 |   | HCV  | 50                            |
| 複数のパラメータ              | パラメータ   | 慢性肝疾患                                      | 参考文献                          |
| MP3                   | PIIINP, MMP1  | HCV  | 51, 52                        |
| Zheng et al の指数       | HA, PIIICP, PIIINP, ラミニン, C-IV                                  | 慢性肝炎                                       | 53                            |
| Lebensztjen et al の指数 | ラミニン-2, C-IV, MMP2, MMP9-TIMP1 指数                               | HBV  | 54                            |
|                       | テネイシン, ヒアルロナン, VI 型コラーゲン, TIMP-1                                | HBV  | 55                            |
| Tsochatzis et al の指数  | レプチン, アディポネクチン, レジスチン   | HCV, HBC, NASH                             | 56                            |
| Patel et al の指数       | ヒアルロナン, TIMP-1, $\alpha_2$ -マクログロブリン                            | HCV  | 57                            |
|                       | TIMP-1, テネイシン, IV 型コラーゲン, PIIINP, MMP2, ラミニン, ヒアルロナン            | NASH                                       | 58                            |
| Forns 指数 (76, 77)     | 年齢, 血小板数, $\gamma$ GT, コレステロール                                  | HCV<br>HIV/HCV                             | 51, 59~62                     |
| Fibrotest (76, 78)    | ハプトグロビン, $\alpha_2$ -マクログロブリン, アポリポタンパク質 A1, $\gamma$ GT, ビリルビン | HCV<br>HIV/HCV<br>NAFLD<br>糖尿病患者における NAFLD | 45, 51, 60, 61, 63~75         |
| Actitest              | フィブロテスト+ALT   | HCV  | 65, 76-78                     |
| APRI (Wai 指数)         | AST, 血小板数   | HIV/HCV<br>HCV<br>NAFLD                    | 45, 51, 60, 61, 64, 66, 79~87 |
| Hepascore             | ビリルビン, $\gamma$ GT, ヒアルロナン, $\alpha_2$ -マクログロブリン, 年齢, 性別        | HCV<br>HIV/HCV                             | 51, 61, 64, 66, 68            |
| FIB-4                 | 血小板数, AST, ALT, 年齢  | HIV/HCV                                    | 61, 83                        |
| SHASTA                | ヒアルロナン, アルブミン, AST  | HIV/HCV                                    | 61                            |
| Fibroindex            | FORN+APRI   | HCV  | 89                            |
| Fibrometer test       | 血小板数, プロトロンビン指数, AST, $\alpha_2$ -マクログロブリン, ヒアルロナン, 尿素, 年齢      | HIV/HCV<br>HCV<br>NAFLD                    | 51, 61, 64, 66, 81            |
| NFSA                  | 年齢, 高血糖症, ボディマス指数, 血小板数, アルブミン, AST/ALT                         | NAFLD                                      | 81                            |
| 超音波+APRI              |   | HCV  | 82                            |
| Metwally et al の指数    | 血小板数, アルブミン, AST, 輸血歴, HBV コア抗体                                 | HCV  | 90                            |

10

20

30

40

【表 7 B】

|                        |   |                |            |
|------------------------|---|----------------|------------|
| Mohamadnejad et al の指数 | 年齢、HBV DNA レベル、アルカリホスファターゼ、アルブミン、血小板数、AST   | HCV            | 91         |
| FibroSpect II          | ヒアルロナン、TIMP-1、 $\alpha_2$ -マクログロブリン   | HCV            | 85, 92, 93 |
| 段階的組合せアルゴリズム           | APRI と Fibrotest の組合せ   | HCV            | 94         |
| Imbert-Bismut 指数       | $\alpha_2$ マクログロブリン、AST、ALT、 $\gamma$ GT、総ビリルビン、アルブミン、 $\alpha_1$ グロブリン、 $\alpha_2$ グロブリン、 $\beta$ グロブリン、 $\gamma$ グロブリン、アポリポタンパク質 A <sub>1</sub> | HCV            | 95         |
| Nunes et al            | 年齢、血小板、INR、CD4、AST/ALT、ヒアルロナン、YKL-40、PIIINP   | HCV/HIV<br>HCV | 96         |
| Fibroscan+++           | Fibroscan、Fibrotest、APRI  | HCV            | 97         |

10

## 【0034】

米国特許第 5 3 8 7 5 0 4 号は、アグリカン部位 N<sub>341</sub> ~ F<sub>342</sub> においてストロメライシンの作用によって放出されるネオエピトープ、VDIPEN およびこのネオエピトープに特異的なモノクローナル抗体を使用する RIA アッセイを述べる。より一般的には、特異的なストロメライシン切断によって生成されるアグリカンの断片に特異的な単一特異性抗体の使用が記述されている。ストロメライシンの上昇は、変形性関節症、関節リウマチ、アテローム性動脈硬化病変、痛風、炎症性腸疾患 (IBD)、特発性肺線維症 (IPF)、特定のがん、関節損傷および数多くの炎症性疾患で起こる。ストロメライシンは特発性肺線維症において上昇することが報告され、アグリカンのストロメライシン切断産物を検出するためのアッセイが血液または他の生体液に関して実施できること、およびそのような断片の定量は IPF や他の状態に関して診断的に使用できることが主張されている。しかし、これについての証拠は提供されておらず、本発明者らの知る限り、この予測を実証するその後の公表文献はない。そのような RIA アッセイは長年市販されているが、線維性疾患を診断するまたは観測する際にそれらが成功裏に使用されたという報告は現れていない。

20

## 【0035】

米国特許第 7, 225, 080 号は、患者における炎症性、線維性または癌疾患の診断のための方法であって、前記患者における肝線維症および/または肝の壊死性炎症性病変の存在を調べるために、 $\alpha_2$ -マクログロブリン、AST (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ)、ALT (アラニンアミノトランスフェラーゼ)、GGT (グルタミルトランスペプチダーゼ)、 $\alpha_1$ -グロブリン、総ビリルビン、アルブミン、 $\alpha_2$ -グロブリン、 $\beta$ -グロブリン、ハプトグロビン、 $\gamma$ -グロブリン、アポ A1、IL-10、TGF- $\beta$ 1、アポ A2 およびアポ B から成る群より選択される少なくとも 4 つの生化学的マーカーの値を前記患者の血清または血漿中で測定し、その後前記の値を組み合わせることによる方法を開示する。この特許は、線維性疾患の間に生成されるネオエピトープを担持するペプチド断片の定量的測定を教示していない。

30

40

## 【0036】

米国特許第 6, 060, 255 号は、肝線維症の程度を診断するための方法であって、IV型コラーゲンに特異的に結合する抗体を使用して試料中の IV型コラーゲンの高分子形態の濃度を測定する段階、および該測定を肝線維症の程度に関連付ける段階を含む方法を述べる。やはり、体内で作用するタンパク質分解酵素によって生成されるネオエピトープは使用されていない。試料は、実際にはペプシンで消化され、このことは試料中のコラーゲン切断の天然パターンをあいまいにし得る。

## 【0037】

米国特許第 4, 628, 027 号 (Gay) は、結合組織タンパク質に特異的な抗体の作製、より詳細には、ヒトコラーゲンおよびコラーゲン分解に参与する酵素に対する融合

50

細胞ハイブリッドによるモノクローナル抗体の作製を開示する。組織学的、細胞学および生物学的液体試料のコラーゲンプロファイルを確立するための、結合組織タンパク質に対するモノクローナル抗体の使用が述べられている。しかし、この特許は、結合組織タンパク質上のネオエピトープへの抗体の結合に基づく前記結合組織タンパク質の測定を記述していない。

【0038】

Guaneabens N et al, J Bone Miner Res, 1998<sup>98</sup> は、悪化した肝線維症を伴う疾患である原発性胆汁性肝硬変を有する患者において、骨代謝回転マーカである I 型コラーゲンの N-テロペプチド (NTX)、I 型コラーゲンの C-テロペプチド (CTX) および I 型コラーゲンの N 末端プロペプチド (PINP) を評価した。NTX、CTX および PINP のレベルは対照と比較して患者において高く、疾患の組織学的病期と相関した。NTX で使用された抗体は、I 型コラーゲンの N 末端のカテプシン K 切断部位に対して惹起されたものであり、ネオエピトープ JYDGKGVG に依存する。CTX において使用された抗体は、I 型コラーゲンの C 末端のカテプシン K 切断部位に対して惹起され、ネオエピトープ EK AHDGGR に依存する。これらのマーカは、I 型コラーゲンのテロペプチド内に位置し、I 型コラーゲンの内部 (三重らせん部分) には位置しない。PINP アッセイのために使用されたモノクローナル抗体は、ネオエピトープではない PINP 配列中の内部エピトープに対して惹起された。

10

【0039】

Moeller S et al, Gut, 1999<sup>99</sup> は、I 型コラーゲンの C 末端架橋テロペプチド (ICTP) が、アルコール性肝硬変患者では対照と比較して上昇していることを明らかにした。記述されている試験は、生化学的マーカが肝線維症を反映し得ることを示した。ICTP ポリクローナル抗体は、トリプシンおよびコラゲナーゼ切断 I 型コラーゲンに対して惹起された。しかし、抗体はネオエピトープに結合していない。

20

【0040】

Rosen HN et al, Calcif Tissue Int, 2004<sup>100</sup> は、ホルモン補充治療 (HRT) を受けている女性において骨代謝回転マーカである I 型コラーゲンの N-テロペプチド (NTX) および I 型コラーゲンの C-テロペプチド (CTX) を評価した。試験では、骨代謝回転マーカが治療と共に低下することが認められた。NTX で使用された抗体は、I 型コラーゲンの N 末端のカテプシン K 切断部位に対して惹起されたものであり、ネオエピトープ JYDGKGVG に依存する。CTX において使用された抗体は、I 型コラーゲンの C 末端のカテプシン K 切断部位に対して惹起され、ネオエピトープ EK AHDGGR に依存する。本発明と異なり、これらの抗体は骨代謝の評価のために使用され、線維症の評価のためではなかった。

30

【0041】

Lein M et al, Eur Urol, 2007<sup>101</sup> は、ゾレドロン酸を摂取している前立腺癌患者においてネオエピトープ特異的な骨代謝回転マーカである I 型コラーゲンの N-テロペプチド (NTX) および I 型コラーゲンの C-テロペプチド (CTX) の使用を評価した。試験では、骨代謝回転マーカが治療と共に低下することが認められた。NTX で使用された抗体は、I 型コラーゲンの N 末端のカテプシン K 切断部位に対して惹起され、ネオエピトープ JYDGKGVG に依存する。CTX において使用された抗体は、I 型コラーゲンの C 末端のカテプシン K 切断部位に対して惹起され、ネオエピトープ EK AHDGGR に依存する。本発明と異なり、これらの抗体は骨転移の浸潤における骨代謝の評価のために使用され、線維症の評価のためではなかった。

40

【0042】

PIIINP は、線維性疾患の重症度を評価する多くの試験において<sup>102</sup>、重度の熱傷外傷後の皮膚線維症を有する患者において<sup>103</sup>、非硬変性原発性胆汁性肝硬変における疾患の進行に関して<sup>104</sup>、原発性胆汁性肝硬変および慢性ウイルス性 C 型肝炎において<sup>105</sup> 使用されてきた。

【0043】

50

PIIINPおよびICTPは、心筋の線維症を有する患者において測定された<sup>106</sup>。

【0044】

多くの報告は、生化学的指標の予測値を改善するために生化学的マーカーのセットを組み合わせている。11の異なる血清マーカーがF0～F4の線維症病期を有する205名の患者において測定され、最も有用なマーカーは、 $\alpha_2$ -マクログロブリン、 $\alpha_2$ -グロブリン（またはハプトグロビン）、 $\alpha_1$ -グロブリン、アポリポタンパク質A1、 $\alpha$ -グルタミルトランスペプチダーゼ、および総ビリルビンであった<sup>107</sup>。これらのマーカーの指数は、0～0.10の範囲のスコア（全患者の12%〔41名〕）に関しては負の予測値（F2、F3またはF4の不在について100%の確実性）、および0.60～1.00の範囲

10

【発明の概要】

【0045】

しかし、上記の報告のいずれにおいても、本明細書で特許請求するようなネオエピトープに結合する抗体に基づくペプチド断片の測定が線維性疾患を有する患者の評価のために有用であり得ることは示唆されていない。

【0046】

本発明は、ここに、線維症の診断の方法であって、患者の生体液試料中に天然に存在するネオエピトープ含有タンパク質断片を測定する免疫検定法を実施するステップと、正常レベルを上回る、前記患者における前記測定の上昇を線維症の存在と関連付けるステップとを含み、ここで、前記免疫検定法は、前記試料中に天然に存在するタンパク質断片を、プロテイナーゼによるタンパク質の切断によって形成されるネオエピトープに対して反応性である免疫学的結合パートナーと接触させるステップと、前記ネオエピトープを含むタンパク質断片を測定するために、前記免疫学的結合パートナーへのペプチド断片の結合の程度を測定するステップとを含む方法によって実施し、かつ、ここで、前記タンパク質が、I型コラーゲン、III型コラーゲン、IV型コラーゲン、V型コラーゲンもしくはVI型コラーゲン、ビグリカン、デコリン、ルミカン、パーシカン、パールカン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、 $\alpha$ グリカン、CRPまたはビメンチンであり、但し、ネオエピトープがI型コラーゲンの切断によって形成される場合、切断は、I型コラーゲンがカテプシンKによって切断される部位ではないことを条件とする方法を提供する。2009年5月14日（その優先日後）に公開された国際公開第WO2009/059972号パンフレットは、III型コラーゲンのネオエピトープについてのアッセイを開示するが、そのような測定の高いレベルが線維症の存在または程度に関連することは開示していない。場合により、本発明によるアッセイは、III型コラーゲン以外の上記に挙げたタンパク質の1つに基づくか、またはIII型コラーゲンに基づく場合、切断部位で形成されるネオエピトープ、PGIPGRNGDP\* 配列番号1、\*ESCPTGPQNY 配列番号2、またはPKGDTGPRGP\* 配列番号3（\*は切断部位を示す）の1つに対する免疫学的結合パートナーを利用する。

20

30

【0047】

これらの目的に関して、心臓血管疾患は線維症とみなされなくてもよいし、本発明によって検出される線維症は、心臓血管疾患に付随する線維症以外であってもよい。場合により、本発明による免疫検定法における高レベル結果は、皮膚線維症、肺線維症または肝線維症に関連する。

40

【0048】

本発明の方法は、患者の生体液試料を得る予備段階を含み得る。

【0049】

本発明は、体液試料中に天然に存在するネオエピトープ含有タンパク質断片を測定する免疫検定の方法を含み、前記免疫検定法は、

前記試料中に天然に存在するタンパク質断片を、プロテイナーゼによるタンパク質の切

50

断によって形成されるネオエピトープと反応性の免疫学的結合パートナーと接触させるステップと、前記ネオエピトープを含むタンパク質断片を測定するために、ここで、前記免疫学的結合パートナーへのペプチド断片の結合の程度を測定するステップとを含む方法によって実施され、前記タンパク質は、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、I型コラーゲン、IV型コラーゲン、V型コラーゲン、VI型コラーゲン、CRPまたはビメンチンであり、但し、ネオエピトープがI型コラーゲンの切断によって形成される場合、切断は、I型コラーゲンがカテプシンKによって切断される部位ではないことを条件とする。場合により、本発明によるアッセイは、III型コラーゲン以外の上記に挙げたタンパク質の1つに基づくか、またはIII型コラーゲンに基づく場合、切断部位で形成されるネオエピトープ、PGIPGRNGDP\* 10  
配列番号1、\*ESCPTGPQNY 配列番号2、またはPKGDTGPRGP\* 配列番号3 (\*は切断部位を示す)の1つに対する免疫学的結合パートナーを利用する。

#### 【0050】

前記免疫学的結合パートナーは、C末端ネオエピトープまたはN末端ネオエピトープを含むペプチド断片に対して特異的結合親和性を有し得る。

#### 【0051】

ネオエピトープとの特異的反応性またはネオエピトープに対する免疫学的親和性は、関連する免疫学的結合パートナーが、該ネオエピトープが由来する未切断タンパク質と反応性ではないことを意味する。好ましくは、前記免疫学的結合パートナーは、配列がそれぞれの切断部位を越えて伸びる場合は、以下に列挙する配列のようなネオエピトープ配列と反応性ではない。 20

#### 【0052】

本明細書で使用される「免疫学的結合パートナー」という用語は、ポリクローナルおよびモノクローナル抗体ならびにFabまたはF(ab')<sub>2</sub>のような抗体の特異的結合断片も包含する。従って、前記免疫学的結合パートナーは、モノクローナル抗体または特異的結合親和性を有するモノクローナル抗体の断片であり得る。

#### 【0053】

好ましくは、前記ペプチド断片は、I型、III型、IV型、V型もしくはVI型コラーゲン、エラスチン、C反応性タンパク質、またはプロテオグリカンであるビグリカン、デコリン、パーシカンおよびパルカンのうちの1つの断片である。結合組織タンパク質が好ましい。好ましくは、免疫学的結合パートナーが結合するネオエピトープ配列は、いかなる他のタンパク質においても認められないか、または本発明の方法が関連する他のタンパク質のいずれにおいても認められない。 30

#### 【0054】

いくつかの候補プロテアーゼは、線維組織中のタンパク質の消化に参与し得る。おそらく、これは、疾患のレベルに依存して異なるネオエピトーププロフィールを生じさせる広範囲の複雑なプロセスの結果である。

#### 【0055】

<コラーゲンアッセイ>

#### I型コラーゲン

本発明者らは、以下の表に列挙する酵素が少なくとも以下の切断部位(「.」で示す)でI型コラーゲンを切断すると判定した。 40

#### 【0056】

【表 8】

表 8. I 型コラーゲン切断部位

| プロテアーゼ | I 型コラーゲン   |
|--------|--|
| MMP-2  | V. PGPMPGSPGRGLPGPPGAPGPQG. F 配列番号 4   |
| MMP-2  | S. VPGPMGSPGRGLPGPPGAPGPQG. F 配列番号 5   |
| MMP-2  | G. ISVPGPMGSPGRGLPGPPGAPGPQG. F 配列番号 6   |
| MMP-9  | G. ISVPGPMGSPGRGLPGPPGAPGPQG. F 配列番号 6   |
| MMP-13 | G. FQGPPGEPGEGASGPMGPRGPPGPPG. K 配列番号 7  |
| MMP-13 | V. PGPMPGSPGRGLPGPPGAPGPQG. F 配列番号 8   |
| MMP-2  | F. SGLDGA <del>K</del> G <del>D</del> A <del>G</del> P <del>A</del> G <del>P</del> K <del>G</del> E <del>P</del> G <del>S</del> P <del>G</del> E <del>N</del> G <del>A</del> P <del>G</del> Q <del>M</del> G <del>P</del> R <del>G</del> . L 配列番号 9  |
| MMP-9  | F. SGLDGA <del>K</del> G <del>D</del> A <del>G</del> P <del>A</del> G <del>P</del> K <del>G</del> E <del>P</del> G <del>S</del> P <del>G</del> E <del>N</del> G <del>A</del> P <del>G</del> Q <del>M</del> G <del>P</del> R <del>G</del> . L 配列番号 9  |
| MMP-13 | F. SGLDGA <del>K</del> G <del>D</del> A <del>G</del> P <del>A</del> G <del>P</del> K <del>G</del> E <del>P</del> G <del>S</del> P <del>G</del> E <del>N</del> G <del>A</del> P <del>G</del> Q <del>M</del> G <del>P</del> R <del>G</del> . L 配列番号 9  |
| MMP-9  | G. L <del>P</del> G <del>E</del> R <del>R</del> P <del>G</del> A <del>P</del> G <del>P</del> A <del>G</del> . A 配列番号 10  |
| MMP-13 | G. L <del>P</del> G <del>E</del> R <del>R</del> P <del>G</del> A <del>P</del> G <del>P</del> A <del>G</del> . A 配列番号 10  |
| MMP-2  | G. L <del>T</del> G <del>S</del> P <del>G</del> S <del>P</del> G <del>P</del> D <del>G</del> K <del>T</del> G <del>P</del> P <del>G</del> P <del>A</del> G. Q 配列番号 11  |
| MMP-2  | E. R <del>G</del> S <del>P</del> G <del>P</del> A <del>G</del> P <del>K</del> G <del>S</del> P <del>G</del> E <del>A</del> G <del>R</del> P <del>G</del> E <del>A</del> G <del>L</del> P <del>G</del> A <del>K</del> G. L 配列番号 12  |
| MMP-2  | G. E <del>R</del> G <del>S</del> P <del>G</del> P <del>A</del> G <del>P</del> K <del>G</del> S <del>P</del> G <del>E</del> A <del>G</del> R <del>P</del> G <del>E</del> A <del>G</del> L <del>P</del> G <del>A</del> K <del>G</del> . L 配列番号 13  |
| MMP-9  | G. L <del>T</del> G <del>S</del> P <del>G</del> S <del>P</del> G <del>P</del> D <del>G</del> K <del>T</del> G <del>P</del> P <del>G</del> P <del>A</del> G. Q 配列番号 14  |
| MMP-9  | G. L <del>T</del> G <del>S</del> P <del>G</del> S <del>P</del> G <del>P</del> D <del>G</del> K <del>T</del> G <del>P</del> P <del>G</del> P <del>A</del> G <del>Q</del> D <del>G</del> R <del>P</del> G <del>P</del> P <del>G</del> P <del>P</del> G. A 配列番号 15  |
| MMP-9  | G. L <del>T</del> G <del>S</del> P <del>G</del> S <del>P</del> G <del>P</del> D <del>G</del> K <del>T</del> G <del>P</del> P <del>G</del> P <del>A</del> G <del>Q</del> D <del>G</del> R <del>P</del> G <del>P</del> P <del>G</del> P <del>P</del> G <del>A</del> R <del>G</del> . Q 配列番号 16   |
| MMP-13 | G. L <del>T</del> G <del>S</del> P <del>G</del> S <del>P</del> G <del>P</del> D <del>G</del> K <del>T</del> G <del>P</del> P <del>G</del> P <del>A</del> G. Q 配列番号 14  |
| MMP-13 | G. E <del>R</del> G <del>S</del> P <del>G</del> P <del>A</del> G <del>P</del> K <del>G</del> S <del>P</del> G <del>E</del> A <del>G</del> R <del>P</del> G <del>E</del> A <del>G</del> L <del>P</del> G <del>A</del> K <del>G</del> . L 配列番号 13  |
| MMP-9  | G. Q <del>D</del> G <del>R</del> P <del>G</del> P <del>P</del> G <del>P</del> P <del>G</del> A <del>R</del> G. Q 配列番号 17   |
| MMP-9  | G. L <del>T</del> G <del>S</del> P <del>G</del> S <del>P</del> G <del>P</del> D <del>G</del> K <del>T</del> G <del>P</del> P <del>G</del> P <del>A</del> G <del>Q</del> D <del>G</del> R <del>P</del> G <del>P</del> P <del>G</del> P <del>P</del> G <del>A</del> R <del>G</del> . Q 配列番号 18   |
| MMP-2  | G. K <del>D</del> E <del>A</del> G <del>A</del> Q <del>G</del> P <del>P</del> G <del>P</del> A <del>G</del> P <del>A</del> G <del>E</del> R <del>G</del> E <del>Q</del> G <del>P</del> A <del>G</del> S <del>P</del> G <del>F</del> . Q 配列番号 19  |
| MMP-2  | G. E <del>R</del> G <del>E</del> Q <del>G</del> P <del>A</del> G <del>S</del> P <del>G</del> F. Q 配列番号 20  |
| MMP-3  | E. R <del>G</del> V <del>P</del> G <del>P</del> P <del>G</del> A <del>V</del> G <del>P</del> A <del>G</del> K <del>D</del> E <del>A</del> G <del>A</del> Q <del>G</del> P <del>P</del> G <del>P</del> A <del>G</del> P <del>A</del> G <del>E</del> R <del>G</del> E <del>Q</del> G <del>P</del> A <del>G</del> S <del>P</del> G <del>F</del> . Q 配列番号 21 |
| MMP-8  | E. R <del>G</del> V <del>P</del> G <del>P</del> P <del>G</del> A <del>V</del> G <del>P</del> A <del>G</del> K <del>D</del> E <del>A</del> G <del>A</del> Q <del>G</del> P <del>P</del> G <del>P</del> A <del>G</del> P <del>A</del> G <del>E</del> R <del>G</del> E <del>Q</del> G <del>P</del> A <del>G</del> S <del>P</del> G <del>F</del> . Q 配列番号 21 |
| -      | 113 PKGDTGPRGP. 122 配列番号 22  |

10

20

## 【0057】

30

P はヒドロキシプロリンを示し、M は酸化メチオニンを示し、K はヒドロキシリシンを示す。

## 【0058】

免疫学的結合パートナーは、カテプシン K の I 型コラーゲン部位における切断を除き、I 型コラーゲンの切断によって形成される C 末端または N 末端ネオエピトープと特異的に反応するものであり得る。

## 【0059】

適切な免疫学的結合パートナーは、従って、ペプチドの N 末端の以下の配列のいずれかと特異的に反応性であり得る。

## 【0060】

40

【表 9】

表 9. プロテアーゼによって生成される I 型コラーゲンのペプチド断片の N 末端配列 (「.」の記号は切断部位を示す)

| I 型コラーゲン、 $\alpha 1$ |                  |                   |
|----------------------|------------------|-------------------|
| . ISVPGP 配列番号 23     | . VPGPMG 配列番号 24 | . PGPMGP 配列番号 25  |
| . LPGPGG 配列番号 26     | . FQGPPG 配列番号 27 | . KNGDDG 配列番号 28  |
| . ARGLPG 配列番号 29     | . SGLDGA 配列番号 30 | . LDGAKG 配列番号 31  |
| . LPGERG 配列番号 32     | . VRGEPG 配列番号 33 | . PGAKGA 配列番号 34  |
| . GGPPGP 配列番号 35     | . NSGEPG 配列番号 36 | . DGVAGP 配列番号 37  |
| . ERGSPG 配列番号 38     | . LTGSPG 配列番号 39 | . QDGRPG 配列番号 40  |
| . RGVPGP 配列番号 41     | . VGPAGK 配列番号 42 | . ERGEQG 配列番号 43  |
| . RGEQGP 配列番号 44     | . PGERGV 配列番号 45 | . ANGAPG 配列番号 46  |
| . ARGAPG 配列番号 47     | . PGDRGE 配列番号 48 | . AKGDAG 配列番号 49  |
| . PIGNVG 配列番号 50     | . AAGRVG 配列番号 51 | . PPGPAG 配列番号 52  |
| . GADGPA 配列番号 53     | . GPQGIA 配列番号 54 | . GQRGVV 配列番号 55  |
| . QRGVVG 配列番号 56     | . GLPGQR 配列番号 57 | . PGLPGP 配列番号 58  |
| . PMGPPG 配列番号 59     | . MGPPGL 配列番号 60 | . DKGETG 配列番号 61  |
| . LQGPPG 配列番号 62     | . SAGAPG 配列番号 63 | . RTGDAG 配列番号 64  |
| . FDFS 配列番号 65       | . DFSF 配列番号 66   | . ATGAAG 配列番号 67  |
| . AKGEAG 配列番号 68     | . GIAGAP 配列番号 69 | . IAGAPG 配列番号 70  |
| . VQGPPG 配列番号 71     | . LPGPPG 配列番号 72 | . AGPKGS 配列番号 73  |
| . RGSPGP 配列番号 74     | . FAGPPG 配列番号 75 | . QAGVMG 配列番号 76  |
| . ARGQAG 配列番号 77     | . NVGAPG 配列番号 78 | . PAGERG 配列番号 79  |
| . KDGEAG 配列番号 80     | . GEVGPP 配列番号 81 | . ARGERG 配列番号 82  |
| . QGLPGP 配列番号 83     | . IAGQRG 配列番号 84 | . LTGPIG 配列番号 85  |
| . AGLPGP 配列番号 86     | . RGVVGL 配列番号 87 | . AGPPGA 配列番号 88  |
| . LAGPPG 配列番号 89     | . EPGKQG 配列番号 90 | . ATGFPG 配列番号 91  |
| . PSGASG 配列番号 92     | . GKQGPS 配列番号 93 | . GPPGPA 配列番号 94  |
| . AGQRGV 配列番号 95     | . ARGPAG 配列番号 96 | . ASGPAG 配列番号 97  |
| . VVGLPG 配列番号 98     | . VGPPGP 配列番号 99 | . GPPGPP 配列番号 100 |
| . TGDAGP 配列番号 175    |                  |                   |

10

20

30

## 【 0 0 6 1 】

あるいは、適切な免疫学的結合パートナーは、ペプチドの C 末端の以下の配列のいずれかと特異的に反応性であり得る。

## 【 0 0 6 2 】

## 【表 10】

表 10. プロテアーゼによって生成される I 型コラーゲンのペプチド断片の C 末端配列 (「.」の記号は切断部位を示す)

| I 型コラーゲン、 $\alpha 1$ |                   |                  |
|----------------------|-------------------|------------------|
| QLSYGY. 配列番号 101     | EKSTGG. 配列番号 102  | PPGPQG. 配列番号 103 |
| KGHRGF. 配列番号 104     | PSGPRG. 配列番号 105  | APGPQG. 配列番号 106 |
| APGPAG. 配列番号 107     | FPGA VG. 配列番号 108 | SEGPQG. 配列番号 109 |
| GANGAP. 配列番号 110     | ANGAPG. 配列番号 46   | SGPQGP. 配列番号 112 |
| EPGPVG. 配列番号 113     | EPGPTG. 配列番号 114  | RGFPGA. 配列番号 115 |
| KGPAGE. 配列番号 116     | RGSPGP. 配列番号 74   | LPGAKG. 配列番号 118 |
| PPGPPG. 配列番号 119     | PPGARG. 配列番号 120  | PGKAGE. 配列番号 121 |
| AVGPAG. 配列番号 122     | PAGPAG. 配列番号 123  | AGPAGE. 配列番号 124 |
| APGPDG. 配列番号 125     | RGERGF. 配列番号 126  | PAGPRG. 配列番号 127 |
| KDGV RG. 配列番号 128    | PAGPTG. 配列番号 129  | TGARGA. 配列番号 130 |
| PGPAGF. 配列番号 131     | EPGDAG. 配列番号 132  | PAGPPG. 配列番号 133 |
| SAGPPG. 配列番号 134     | ATGFPG. 配列番号 91   | NAGPPG. 配列番号 136 |
| GEV GPP. 配列番号 81     | GEKGSP. 配列番号 138  | GAPGTP. 配列番号 139 |
| PGPQGI. 配列番号 140     | GPQGIA. 配列番号 54   | PQGIAG. 配列番号 142 |
| IAGQ RG. 配列番号 84     | GQRGVV. 配列番号 55   |                  |
| GPSGEP. 配列番号 146     | ERGPPG. 配列番号 147  | RGPPGP. 配列番号 148 |
| PVGPVG. 配列番号 149     | PQGPRG. 配列番号 150  | HRGFSG. 配列番号 151 |
| EQGPSG. 配列番号 152     | PRGPPG. 配列番号 153  | PPGPRG. 配列番号 154 |
| GPPGPP. 配列番号 100     | GPPSAG. 配列番号 156  | PPSAGF. 配列番号 157 |
|                      | PPGPAG. 配列番号 52   | TPGPQG. 配列番号 160 |
| QMGP RG. 配列番号 161    | PGPPGA. 配列番号 162  | QGIAGQ. 配列番号 163 |
| PGADGQ. 配列番号 164     | AGSPGF. 配列番号 165  | LPGPSG. 配列番号 166 |
| PPGPKG. 配列番号 167     | PGERGA. 配列番号 168  | PMGPPG. 配列番号 59  |
| PKGPAG. 配列番号 170     | GRNGDP. 配列番号 171  | SPGEQG. 配列番号 172 |
| GPAGRP. 配列番号 173     | PPGP IG. 配列番号 174 | TGDAGP. 配列番号 175 |
| TGPRGP. 配列番号 177     |                   |                  |

10

20

30

## 【0063】

## I I I 型コラーゲン

本発明者らは、以下の表に列挙する酵素が少なくとも以下の切断部位 (\* で示す) で I I I 型コラーゲンを切断すると判定した。

## 【0064】

【表 1 1 A】

表 1.1. III型コラーゲンにおける切断部位

| プロテアーゼ     | ネオエピトープ  |
|------------|--|
| MMP-1      | A*GIPGAPGLMGARGPPGPA*G 配列番号 178                            |
| MMP-1      | K*GDPGPPGIPGRNGDPGI*P 配列番号 179                             |
| MMP-1      | G*LAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 180                             |
| MMP-1      | G*ERGLPGPPGKGPAGIPGF*P 配列番号 181                            |
| MMP-1      | G*IAGITGARGLAGPPGMPGPR*G 配列番号 182                          |
| MMP-1      | G*IKGHRGFPGNPGAPGSPGPA*Q 配列番号 183                          |
| MMP-1      | A*RGLAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 184                           |
| MMP-1      | I*TGARGLAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 185                        |
| MMP-1      | I*TGARGLAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 186                        |
| MMP-1      | G*ITGARGLAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 187                       |
| MMP-1      | G*VKGESGKPGANGLSGERGPPGPG*L 配列番号 188                       |
| MMP-1      | G*SRGAPGPGPRGDKGETGERGAAG*I 配列番号 189                       |
| MMP-1      | P*KGDAGQPGKESGPAQPPGAPGLG*I 配列番号 190                       |
| MMP-1      | G*ITGARGLAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 191                       |
| MMP-1      | G*LRGAGPPGPEGKGAAGPPGPAAGTPG*L 配列番号 192                    |
| MMP-1      | G*HAGAQQPPPPGINGSPGKGMGPAGIPGAPG*L 配列番号 193                |
| MMP-1      | A*GKSGDRGESGPAAGPAGSRGAPGPGPRGDKGETGERGAAG*I 配列番号 194      |
| MMP-1      | G*LQGLPGTGGPPGENKGPGEKGDAGAPGAGGKGDAGAPGERGPPG*L 配列番号 195  |
| MMP-3      | G*ERGLPGPPGKGPAGIPGF*P 配列番号 196                            |
| MMP-3      | A*VGGLAGYGPAGPPGPPGPGT*S 配列番号 197                          |
| MMP-3      | K*DGTSGHGPGIPGPPRGNRGER*G 配列番号 198                         |
| MMP-3      | A*VGGLAGYGPAGPPGPPGPGTSGHPG*S 配列番号 199                     |
| MMP-3      | G*IAGITGARGLAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 200                    |
| MMP-3      | A*PGAPGGKGDAGAPGERGPPGLAGAPLRG*G 配列番号 201                  |
| MMP-3      | A*VGGLAGYGPAGPPGPPGPGTSGHPGSPG*S 配列番号 202                  |
| MMP-2      | A*IGSPGAPRGPVGPSPGPG*K 配列番号 203                            |
| MMP-3 + -8 | G*AIGSPGAPRGPVGPSPGPG*K 配列番号 204                           |
| MMP-8      | P*AGQQGAIGSPGPA*G 配列番号 205                                 |
| MMP-8      | G*GPPGVAGPPGGSPAGPP*G 配列番号 206                             |
| MMP-8      | L*AGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 207                              |
| MMP-8      | G*LSGERGPPGQGLPGLA*G 配列番号 208                              |
| MMP-8      | R*GLAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 209                            |
| MMP-8      | G*LAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 210                             |
| MMP-8      | R*GLAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 211                            |
| MMP-8      | G*PQGGPKNGETGPGPPGP*T 配列番号 212                             |
| MMP-8      | G*VKGERGSPGGPAAGFPGAR*G 配列番号 213                           |
| MMP-8      | A*RGLAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 214                           |
| MMP-8      | N*GLSGERGPPGQGLPGLAGTA*G 配列番号 215                          |
| MMP-8      | A*VGGLAGYGPAGPPGPPGPGT*S 配列番号 216                          |
| MMP-8      | G*SPGKGMGPAGIPGAPGLMGA*R 配列番号 217                          |
| MMP-8      | T*GARGLAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 218                         |
| MMP-8      | V*KGESGKPGANGLSGERGPPGPG*L 配列番号 219                        |
| MMP-8      | G*VKGERGSPGGPAAGFPGARLPGPPGSGNPNPSPGSPGKDGPPGPA*N 配列番号 220 |
| MMP-8      | G*SPGAGPPGAPGLGIAGITGARGLAGPPG*M 配列番号 221                  |
| MMP-8      | R*GAPGKGEKGGPPGVPAGPPGGSPAGPPGPQ*G 配列番号 222                |
| MMP-8      | R*GAPGKGEKGGPPGVPAGPPGGSPAGPPGPQ*G 配列番号 223                |
| MMP-8      | G*IAGITGARGLAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 224                    |

10

20

30

40

【表 1 1 B】

|                   |  |
|-------------------|--|
| MMP-9             | G*IKGPAGIPGFPG*M 配列番号 225                                    |
| MMP-9             | G*QPGVMGFPGPKG*N 配列番号 226                                    |
| MMP-9             | G*IKGPAGIPGFPGMK*G 配列番号 227                                  |
| MMP-9             | G*IKGPAGIPGFPGMK*H 配列番号 228                                  |
| MMP-9             | I*PGAPGLMGARGPPGPAG*A 配列番号 229                               |
| MMP-9             | G*ERGLPGPPGKGPAGIP*G 配列番号 230                                |
| MMP-9             | G*IPGAPGLMGARGPPGPAG*A 配列番号 231                              |
| MMP-9             | G*FRGPAGPNGIPGEKGPAG*E 配列番号 232                              |
| MMP-9             | P*GIPGQPGSPGSPGPPGIC*E 配列番号 233                              |
| MMP-9             | G*ERGLPGPPGKGPAGIPGF*P 配列番号 234                              |
| MMP-9             | A*VGGLAGYGPAGPPGPPPG*I 配列番号 235                              |
| MMP-9             | G*VKGERGSPGGGAAGFPGARG*L 配列番号 236                            |
| MMP-9             | G*DAGAPGAPGGKDAGAPGERGPPG*L 配列番号 237                         |
| MMP-9             | Q*GPPGPTGPGGDKGDTGPPGQGL*Q 配列番号 238                          |
| MMP-9             | G*INGSPGGKEMGPAGIPGAPGLM*G 配列番号 239                          |
| MMP-9             | Q*GPPGEGQAGPSGPPGPAIGPS*G 配列番号 240                           |
| MMP-9             | P*GPPGINGSPGGKEMGPAGIPGAP*G 配列番号 241                         |
| MMP-9             | R*GLPPPGSNGNPSPGSPGKDGPPGPAG*N 配列番号 242                      |
| MMP-9             | G*KNGETGPGQPPGPTGPGDKGDTGPPGQGL*L 配列番号 243                   |
| MMP-9             | G*LPGIAGPRGSPGERGETGPPGAGFPAG*Q 配列番号 244                     |
| MMP-9             | G*INGSPGGKEMGPAGIPGAPGLMGARGPPGPAG*A 配列番号 245                |
| MMP-9             | P*GINGSPGGKEMGPAGIPGAPGLMGARGPPGPAG*A 配列番号 246               |
| MMP-9             | P*PGENGKPGEPGPKGDAGAPGAPGGKDAGAPGERGPPG*L 配列番号 247           |
| MMP-9             | G*LKGENLPGENGAPGPMGRGAPGERGRPLGAAG*A 配列番号 248                |
| MMP-9             | G*NTGAPGSPGVSQPKGDAGQPGKQSPGAQPPGAPGLG*I 配列番号 249            |
| MMP-9             | G*LMGARGPPGPAGANGAPGLRGGAGEPGKNGAKGEPGRG*E 配列番号 250          |
| MMP-9             | G*LRGGAGPPGPEGGKGAAGPPGPAAGTPGLQGMPPGERGGLGSPGPKG*D 配列番号 251 |
| MMP-8 および -9      | G*QQGAI GSPGPAGPRGPVGSPPG*K 配列番号 252                         |
| MMP-9             | K*GDPGPPGIPGRNGDPGIPGQPG*S 配列番号 253                          |
| MMP-9             | G*LRGGAGPPGPEGGKGAAGPPGPPG*A 配列番号 254                        |
| MMP-9             | G*KNGETGPGQPPGPTGPGDKGDTGPPGQGL*L 配列番号 255                   |
| MMP-9             | G*YQPPGEPGQAGPSGPPGPPG*A 配列番号 256                            |
| MMP-9             | G*VAGPPGSSGPAGPPGQGL*V 配列番号 257                              |
| MMP-8, -9 および -13 | G*DKGEPGGGADGVPGKDGPRGPTGPIGPPGPAG*Q 配列番号 258                |
| ADAMTS-5          | Q*GHAGAQQPPGPPGIN*G 配列番号 259                                 |
| カテプシンK            | A*GERGAPGPA*G 配列番号 260                                       |
| カテプシンK            | A*GIPGFPGMK*G 配列番号 261                                       |
| カテプシンK            | F*PGMKGHRGFD*G 配列番号 262                                      |
| カテプシンK            | G*FPGARGLPGPPG*S 配列番号 263                                    |
| カテプシンK            | A*GFPGARGLPGPPG*S 配列番号 264                                   |
| カテプシンK            | P*PGLPPGPPGTSGHP*G 配列番号 265                                  |
| カテプシンK            | G*FPGMKGHRGFD*G 配列番号 266                                     |
| カテプシンK            | Q*PGDKGEGGAPGLGI*A 配列番号 267                                  |
| カテプシンK            | R*GDKGETGERGAAGIK*G 配列番号 268                                 |
| カテプシンK            | D*GRNGEKGETGAPGLK*G 配列番号 269                                 |
| カテプシンK            | A*GQPGDKGEGGAPGLGI*A*G 配列番号 270                              |
| カテプシンK            | G*GPPGENGKPGEPGPKGD*A 配列番号 271                               |
| カテプシンK            | A*GIPGFPGMKGHRGFD*G 配列番号 272                                 |
| カテプシンK            | R*GGAGEPGKNGAKGEPGR*G 配列番号 273                               |
| カテプシンK            | K*GERGSPGGGAAGFPGARGLPGPP*G 配列番号 274                         |
| カテプシンK            | I*PGVPGAKGEDGKDGSPGEPGANGLP*G 配列番号 275                       |

10

20

30

40

【表 11C】

|         |   |
|---------|---|
| カテプシンK  | G*AAGFPARGLPGPPGNSGNPGLPPGPS*G 配列番号 276                     |
| カテプシンK  | R*PGPPGPSGRGQPGVMGFPGKGN*D 配列番号 277                         |
| カテプシンK  | Q*GPPGPPGINGSPPGKGMGPAGIPGAP*G 配列番号 278                     |
| カテプシンK  | A*GKDGESGRPGRGERGLPGPPGIK*G 配列番号 279                        |
| カテプシンK  | A*GARGNDGARGSDGQPGPPGPPGTAGFP*G*S 配列番号 280                  |
| カテプシンK  | S*PGVSGPKGDAGQPGKEKSPGAQGGPPGAP*P 配列番号 281                  |
| カテプシンK  | R*GSDGQPGPPGPPGTAGFPSPGAKGEVGA*G 配列番号 282                   |
| カテプシンK  | Q*GPPGPPGINGSPPGKGMGPAGIPGAPGLM*G 配列番号 283                  |
| カテプシンK  | A*GPPGPPGPPGTSHPGSPGSPGYQGGPPGEP*Q 配列番号 284                 |
| カテプシンK  | F*PGAPQNGEPGGKGERGAPGEKGEPPGVA*G 配列番号 285                   |
| カテプシンK  | A*GFPGAPQNGEPGGKGERGAPGEKGEPPG*V 配列番号 286                   |
| カテプシンK  | A*GARGNDGARGSDGQPGPPGPPGTAGFPSPGAKGEVGA*G 配列番号 287          |
| カテプシンK  | R*GAAGEPGRDGVPGGPMRGMPSGPGSDGKPGPPGSGESGRPGPPGPS*G 配列番号 288 |
| カテプシンS  | G*IAGITGARGL*A 配列番号 289                                     |
| カテプシンS  | A*GPPGPPGAAGTPGLQG*M 配列番号 290                               |
| カテプシンS  | N*GLSGERPPGQGLPG*L 配列番号 291                                 |
| カテプシンS  | M*GARGPPGAPANGAPGLR*G 配列番号 292                              |
| カテプシンS  | N*GLSGERPPGQGLPGLA*G 配列番号 293                               |
| カテプシンS  | G*IAGITGARGLAGPPGMPGPRG*S 配列番号 294                          |
| カテプシンS  | G*IAGITGARLAGPPGMPGPRGSPGQ*V 配列番号 295                       |
| カテプシンS  | R*GGAGPPGPEGGKGAAGPPGPPGAAGTPGLQ*G 配列番号 296                 |
| カテプシンS  | S*GPKDAGQPGKEKSPGAQGGPPGAPGLG*I 配列番号 297                    |
| カテプシンS  | G*IAGITGARLAGPPGMPGPRGSPGQGVK*G 配列番号 298                    |
| カテプシンS  | S*GPKDAGQPGKEKSPGAQGGPPGAPGLG*I 配列番号 299                    |
| カテプシンS  | G*IAGITGARLAGPPGMPGPRGSPGQGVK*G 配列番号 300                    |
| カテプシンS  | A*VGGLAGYPPGAPPPGPPGPPGTSHPGSPGSPGYQ*G 配列番号 301             |
| カテプシンS  | E*PGPQGHAGQGGPPGPPGINGSPPGKGMGPAGIPGAPGL 配列番号 302           |
| ADAMTS1 | I*PGFPGMKGHR*G 配列番号 303                                     |
| ADAMTS1 | R*GSPGPGAAGFPGAR*G 配列番号 304                                 |
| ADAMTS1 | K*GPAGIPGFPGMKGHR*G 配列番号 305                                |
| ADAMTS1 | R*GLAGPPGMPGPRGSPGQ*G 配列番号 306                              |
| ADAMTS1 | A*GITGARGLAGPPGMPGPR*G 配列番号 307                             |
| ADAMTS1 | L*GIAGITGARLAGPPGMPGPR*G 配列番号 308                           |
| ADAMTS1 | T*GARLAGPPGMPGPRGSPGQ*G 配列番号 309                            |
| ADAMTS1 | Q*GPPGPPGINGSPPGKGMGPAG*I 配列番号 310                          |
| ADAMTS1 | L*PGPPGIKGPAGIPGFPGMKGHR*G 配列番号 311                         |
| ADAMTS1 | A*GITGARLAGPPGMPGPRGSPGQ*G 配列番号 312                         |
| ADAMTS1 | T*GARLAGPPGMPGPRGSPGQGVK*G 配列番号 313                         |
| ADAMTS1 | R*GLPGPPGIKGPAGIPGFPGMKGHR*G 配列番号 314                       |
| ADAMTS1 | G*RPGLPGAAGARGNDGARGSDGQPGPP*P 配列番号 315                     |
| ADAMTS1 | N*GAPGPMGPRGAPGERGRPLPGAAGAR*G 配列番号 316                     |
| ADAMTS1 | A*GSRGAPGQGRGDKGETGERGAAGIK*G 配列番号 317                      |
| ADAMTS1 | R*GLAGPPGMPGPRGSPGQGVKGESGKPGAN*G 配列番号 318                  |
| ADAMTS1 | R*GLAGPPGMPGPRGSPGQGVKGESGKPGANGL*S 配列番号 319                |
| ADAMTS1 | P*GPPGNSGNPGLPPGSPGKDGPPGAGNTGAPGS*P 配列番号 320               |
| ADAMTS1 | T*GARLAGPPGMPGPRGSPGQGVKGESGKPGAN*G 配列番号 321                |
| ADAMTS1 | R*GAPGEKGEPPGVPAGPPGSGPAGPPGQGVKGER*G 配列番号 322              |
| ADAMTS1 | G*GPPGVPAGPPGSGPAGPPGQGVKGERGSPGPGAAGF*P 配列番号 323           |
| ADAMTS1 | K*SGDRGESGAPGAPGAPGSRGAPGQGRGDKGETGERGAAGIK*G 配列番号 324      |
| ADAMTS4 | I*PGFPGMKGHR*G 配列番号 325                                     |
| ADAMTS4 | R*GLAGPPGMPGPR*G 配列番号 326                                   |
| ADAMTS4 | G*PQGLQGLPGTGGPP*G 配列番号 327                                 |

10

20

30

40

【表 1 1 D】

|         |  |
|---------|--|
| ADAMTS4 | K*GPAGIPGFPGMKGHR*G 配列番号 328                                 |
| ADAMTS4 | R*GLAGPPGMPGPRGSPGPG*V 配列番号 329                              |
| ADAMTS4 | G*GPPGENGKPGEPGPKGDAGAP*G 配列番号 330                           |
| ADAMTS4 | A*PGFRGPAGPNGIPGEKGPAGER*G 配列番号 331                          |
| ADAMTS4 | E*KGSPGAQGGPPGAPGLGIAGITGAR*G 配列番号 332                       |
| ADAMTS4 | L*PGPPGIKGPAGIPGFPGMKGHR*G 配列番号 333                          |
| ADAMTS4 | R*GAPGFRGPAGPNGIPGEKGPAGER*G 配列番号 334                        |
| ADAMTS4 | R*GLPGPPGIKGPAGIPGFPGMKGHR*G 配列番号 335                        |
| ADAMTS4 | R*GVPGPSGPPGKDGTSGHPIGPPGPR*G 配列番号 336                       |
| ADAMTS4 | A*PGPQGRGDKGETGERGAAGIKGHR*G 配列番号 337                        |
| ADAMTS4 | R*GAPGQGRGDKGETGERGAAGIKGHR*G 配列番号 338                       |
| ADAMTS4 | R*GFGNPGAPGSPGAGQGAIGSPGAPGR*G 配列番号 339                      |
| ADAMTS4 | L*PGPPGIKGPAGIPGFPGMKGHRGDFGR*N 配列番号 340                     |
| ADAMTS4 | D*AGQPGKEKSPGAQGGPPGAPGLGIAGITGAR*G 配列番号 341                 |
| ADAMTS4 | R*GPTGPIGPPGAPGDKGEGGAPGLPIAGPR*G 配列番号 342                   |
| ADAMTS4 | K*GDAGQPGKEKSPGAQGGPPGAPGLGIAGITGAR*G 配列番号 343               |
| ADAMTS4 | R*NGEKGETGAPGLKGENLPGENGAPGPMGPR*G 配列番号 344                  |
| ADAMTS4 | A*PGFRGPAGPNGIPGEKGPAGERGAPGAPGRGA*A 配列番号 345                |
| ADAMTS4 | R*GAPGFRGPAGPNGIPGEKGPAGERGAPGAPGR*G 配列番号 346                |
| ADAMTS4 | R*GSPGERGETGPPGAPGFPAGQNGEPGGKGER*G 配列番号 347                 |
| ADAMTS4 | G*HAGAQQPPPPGINGSPGGKGMGPAGIPGAPGLMG*A 配列番号 348              |
| ADAMTS4 | R*GLAGPPGMPGPRGSPGPGQVKGESGKPGANGLSGER*G 配列番号 349            |
| ADAMTS8 | L*GIAGITGARGL*A 配列番号 350                                     |
| ADAMTS8 | I*PGFPGMKGHR*G 配列番号 351                                      |
| ADAMTS8 | R*GLAGPPGMPGPR*G 配列番号 352                                    |
| ADAMTS8 | Q*GPPGAPGLGIAGITGAR*G 配列番号 353                               |
| ADAMTS8 | A*GITGARGLAGPPGMPGPR*G 配列番号 354                              |
| ADAMTS8 | A*GIPGAPGLMGARGPPGAGAN*G 配列番号 355                            |
| ADAMTS8 | R*GLAGPPGMPGPRGSPGPGQVKG*E 配列番号 356                          |
| ADAMTS8 | K*GSPGAQGGPPGAPGLGIAGITGAR*G 配列番号 357                        |
| ADAMTS8 | L*PGPPGIKGPAGIPGFPGMKGHR*G 配列番号 358                          |
| ADAMTS8 | K*DGTSGHPIGPPGPRNGRGER*G 配列番号 359                            |
| ADAMTS8 | A*GITGARGLAGPPGMPGPRGSPGPGQ*G 配列番号 360                       |
| ADAMTS8 | R*GLAGPPGMPGPRGSPGPGQVKGESG*K 配列番号 361                       |
| ADAMTS8 | R*GLAGPPGMPGPRGSPGPGQVKGESGKPGAN*G 配列番号 362                  |
| ADAMTS8 | R*GLAGPPGMPGPRGSPGPGQVKGESGKPGANGL*S 配列番号 363                |
| ADAMTS8 | P*GPPSGNNGPPGSPGKDGPPGAGNTGAPGS*P 配列番号 364                   |
| ADAMTS8 | R*GAPGEKGEPPGVPAGPPGSGPAGPPGQVKGGER*G 配列番号 365               |
| ADAMTS8 | K*SGDRGESGAPAGAPGAGSRGAPGQGRGDKGETGERGA*A 配列番号 366           |
| ADAMTS8 | R*GAPGEKGEPPGVPAGPPGSGPAGPPGQVKGGERGSPGGGAAGFPGAR*G 配列番号 367 |
| MMP9    | _ *AIGPSG * 配列番号 368   |
| MMP9    | 117' PGIPGRNGDP* 124' 配列番号 369                               |
| MMP9    | 142' . *ESCPGPNY 151' 配列番号 370                               |
| MMP9    | 113' PKGDTGPRGP* . ' 122 配列番号 371                            |

10

20

30

40

## 【 0 0 6 5 】

免疫学的結合パートナーは、III型コラーゲンの切断によって形成されるC末端またはN末端ネオエピトープと特異的に反応性のものであり得る。

## 【 0 0 6 6 】

適切な免疫学的結合パートナーは、従って、ペプチドのN末端の以下の配列のいずれかと、またはペプチドのC末端の以下の配列のいずれかと特異的に反応性であり得る。

## 【 0 0 6 7 】

【表 1 2】

表 1 2. プロテアーゼによって生成される I I I 型コラーゲンのペプチド断片の N 末端配列

| I I I 型コラーゲン    |                  |                 |
|-----------------|------------------|-----------------|
| GIPGAP 配列番号 372 | GDPGPP 配列番号 373  | LAGPPG 配列番号 89  |
| IAGITG 配列番号 375 | IKGHRG 配列番号 376  | RGLAGP 配列番号 377 |
| TGARGL 配列番号 378 | ITGARG 配列番号 379  | VKGESG 配列番号 380 |
| KGDAGQ 配列番号 381 | LRGGAG 配列番号 382  | ERGLPG 配列番号 385 |
| GKSGDR 配列番号 383 | LQGLPG 配列番号 384  | AIGSPG 配列番号 143 |
| DGTSGH 配列番号 135 | VGGLAG 配列番号 155  | LSGERG 配列番号 176 |
| GPPGVA 配列番号 158 | AGPPGM 配列番号 145  | IGSPGP 配列番号 386 |
| GLSGER 配列番号 387 | GLAGPP 配列番号 388  | PQGGPG 配列番号 389 |
| GARGLA 配列番号 111 | KGESGK 配列番号 374  | VKGERG 配列番号 159 |
| GAPGEK 配列番号 141 | QPGVMG 配列番号 144  | IKGPAG 配列番号 169 |
| IPGAPG 配列番号 117 | FRGPAG 配列番号 137  | QQGAIG 配列番号 390 |
| GPPGPT 配列番号 391 | INGSPG 配列番号 392  | GPPGEP 配列番号 393 |
| GLPGPP 配列番号 394 | KNGETG 配列番号 395  | LPGIAG 配列番号 396 |
| GINGSP 配列番号 397 | PGEN GK 配列番号 398 | LKGENG 配列番号 399 |
| LMGARG 配列番号 400 | YQGPPG 配列番号 401  | GERGAP 配列番号 402 |
| DKGEPG 配列番号 403 | GHAGAQ 配列番号 404  | GSDGQP 配列番号 405 |
| PGMKGH 配列番号 406 | FPGARG 配列番号 407  | GFPGAR 配列番号 408 |
| FPGMKG 配列番号 409 | PGDKGE 配列番号 410  | GDKGET 配列番号 411 |
| GQPGDK 配列番号 412 | GPPGEN 配列番号 413  | GIPGFP 配列番号 414 |
| GERGSP 配列番号 415 | PGVPGA 配列番号 416  | AAGFPG 配列番号 417 |
| GPPGPP 配列番号 100 | GKDGES 配列番号 418  | GARGND 配列番号 419 |
| GFPGAP 配列番号 420 | NTGAPG 配列番号 437  | GAAGEP 配列番号 421 |
| IAGITG 配列番号 375 | GLSGER 配列番号 387  | GARGPP 配列番号 422 |
| GPPGSN 配列番号 423 | GPKGDA 配列番号 424  | GGAGPP 配列番号 425 |
| PGPQGH 配列番号 426 | PGFPGM 配列番号 427  | GSPGGP 配列番号 428 |
| SGDRGE 配列番号 429 | GITGAR 配列番号 430  | GIAGIT 配列番号 431 |
| PGPPGI 配列番号 432 | ESCPTG 配列番号 433  | HAGAQG 配列番号 434 |
| GAPGFR 配列番号 435 | RPGLPG 配列番号 436  | GAPGPM 配列番号 438 |
| GSPGER 配列番号 439 | PQGLQG 配列番号 440  | GPAGIP 配列番号 441 |
| AIGPSG 配列番号 368 | PGFRGP 配列番号 443  | KGSPGA 配列番号 444 |
| GAPGPQ 配列番号 445 | GFPGNP 配列番号 446  | GPVGPS 配列番号 447 |
| GPTGPI 配列番号 448 | GDAGQP 配列番号 449  | NGEKGE 配列番号 450 |
| SRGAPG 配列番号 451 | VAGPPG 配列番号 452  | PGPQGP 配列番号 453 |
| AGQPGE 配列番号 454 | PGAPGG 配列番号 455  | PGAPGQ 配列番号 456 |
| AGQQGA 配列番号 457 | PGPPGP 配列番号 458  | SPGGKG 配列番号 459 |
| GARGLA 配列番号 111 | GRNGEK 配列番号 460  | GPPGAP 配列番号 461 |
| GSRGAP 配列番号 462 | GGAGEP 配列番号 463  | GSPGAQ 配列番号 464 |
| SPGAQG 配列番号 465 | PGVSGP 配列番号 466  | PGAPGL 配列番号 467 |
| GIPGQP 配列番号 468 | DAGAPG 配列番号 469  | GPPGIN 配列番号 470 |

10

20

30

40

【 0 0 6 8 】

【表 1 3】

表 1 3. プロテアーゼによって生成される I I I 型コラーゲンのペプチド断片の C 末端配列

| I I I 型コラーゲン     |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| GPPGPA 配列番号 94   | NGDPGI 配列番号 471  | SPGPQG 配列番号 472  |
| GMPGPR 配列番号 473  | SPGPAG 配列番号 474  | PGPQGV 配列番号 475  |
| ERGAAG 配列番号 476  | PGPLGI 配列番号 477  | AAGTPG 配列番号 478  |
| ERGPPG 配列番号 147  | PGPPGT 配列番号 479  | GNRGER 配列番号 480  |
|                  | APGLRG 配列番号 481  | HPGSPG 配列番号 482  |
| PSGPPG 配列番号 483  | GSPGPA 配列番号 484  | GPAGPP 配列番号 485  |
| GLPGLA 配列番号 486  | GPPGPQ 配列番号 490  | QGPPGP 配列番号 487  |
| GLAGTA 配列番号 488  | FPGPKG 配列番号 491  | PGLMGA 配列番号 489  |
| LAGPPG 配列番号 89   | GPAGIP 配列番号 441  | FPGARG 配列番号 407  |
| IPGFPG 配列番号 492  | PPGPPG 配列番号 119  | GFPGMK 配列番号 493  |
| FPGAPG 配列番号 494  | GAI GPS 配列番号 495 | AGIPGF 配列番号 496  |
| GPPGIC 配列番号 2187 | LPGAAG 配列番号 2188 | APGPLG 配列番号 2189 |
| PGPQGL 配列番号 497  | GAPGLM 配列番号 498  | GPPGIN 配列番号 470  |
| SPGPKG 配列番号 499  | GEPGPR 配列番号 500  | IPGQPG 配列番号 501  |
| TGAPGS 配列番号 502  | GHRGFD 配列番号 503  | LPGPPG 配列番号 72   |
| PGPKGD 配列番号 506  | PGLPGI 配列番号 504  | GAAGIK 配列番号 505  |
| GLPGIA 配列番号 507  | PQGLPG 配列番号 508  | GAPGLR 配列番号 509  |
| GLPGPP 配列番号 394  | GANGLP 配列番号 510  | GPPGPS 配列番号 511  |
| IPGAPG 配列番号 117  | GPPGIK 配列番号 512  | TAGFPG 配列番号 513  |
| GEVGPA 配列番号 514  | PPGPQG 配列番号 103  | GPPGVA 配列番号 158  |
| GEVGPA 配列番号 499  | GFPGAR 配列番号 408  | TGARGL 配列番号 378  |
| EKGPA 配列番号 515   | EPGPRG 配列番号 516  | PPGAPG 配列番号 517  |
| TSGHPG 配列番号 518  | GAPGPA 配列番号 519  | TPGLQG 配列番号 520  |
| GTPGLQ 配列番号 521  | GTSGHP 配列番号 522  | MPGPRG 配列番号 523  |
| GPQGVK 配列番号 524  | GAPGLK 配列番号 525  | GSPGYQ 配列番号 526  |
| PPGPAG 配列番号 52   | PGPKG 配列番号 527   | GAAGAR 配列番号 528  |
| FPGMKG 配列番号 409  | PGANGL 配列番号 529  | GTGGPP 配列番号 530  |
| GLSGER 配列番号 387  | TGPRGP 配列番号 177  | GITGAR 配列番号 430  |
| GMKGHR 配列番号 531  | EGGPPG 配列番号 532  | GSPGPQ 配列番号 533  |
| EMGPAG 配列番号 534  | GIAGPR 配列番号 535  | QPGGPG 配列番号 536  |
| GRNGDP 配列番号 171  | GKPGAN 配列番号 537  | VKGESG 配列番号 380  |
| GVKGER 配列番号 538  | PGAAGF 配列番号 539  | TGERGA 配列番号 540  |
| PQGVKG 配列番号 541  | GDAGAP 配列番号 542  | GPAGER 配列番号 543  |
| GPPGPR 配列番号 544  | GPAGPR 配列番号 545  | RGFDR 配列番号 546   |
| AGPRGA 配列番号 547  | GGKGER 配列番号 548  | APGLMG 配列番号 549  |
| GPAGAN 配列番号 550  |                  |                  |

10

20

30

40

【 0 0 6 9 】

## I V 型コラーゲン

本発明者らは、以下の表に列挙する酵素が少なくとも以下の切断部位（「 . 」で示す）で I V 型コラーゲンを切断すると判定した。

【 0 0 7 0 】

【表 1 4 A】

表 1 4. I V型コラーゲンの切断部位

| プロテアーゼ | ネオエピトープ  |
|--------|--|
| FAP    | D. IDGYRPPGP. Q 配列番号 551                               |
| FAP    | S. MGPPGTPSVDHGF. L 配列番号 552                           |
| FAP    | P. DGLPGSMGPPGTPSVDHG. F 配列番号 553                      |
| FAP    | P. DGLPGSMGPPGTPSVDHGF. L 配列番号 554                     |
| FAP    | P. DGLPGSMGPPGTPSVDHGFL. V 配列番号 555                    |
| FAP    | P. SGRDGLPGPPGSPGPPGQPGY. T 配列番号 556                   |
| FAP    | P. SGRDGLPGPPGSPGPPGQPGYTN. G 配列番号 557                 |
| FAP    | P. SGRDGLPGPPGSPGPPGQPGYTN. I 配列番号 558                 |
| FAP    | I. PGSKGEQGMPPGPPGQPGPLGS. P 配列番号 559                  |
| FAP    | P. RGFPGPPGDGLPGSMGPPGTPSVD. H 配列番号 560                |
| FAP    | E. PGPPGLPGSVGSPG. V 配列番号 561                          |
| FAP    | I. DGYRPPGPPGP. P 配列番号 562                             |
| FAP    | P. RGFPGPPGDGLPGSMG. P 配列番号 563                        |
| FAP    | D. GLPGSMGPPGTPSVDHGF. L 配列番号 564                      |
| FAP    | D. GLPGSMGPPGTPSVDHGFL. V 配列番号 565                     |
| FAP    | P. GLPQQGAPGIPGFPKSGEMGMGTP. G 配列番号 566                |
| FAP    | I. GIPGMPGSPGLKSGPSVGYGSPGLPGE. K 配列番号 567             |
| FAP    | P. GPPGPPGEGKQMLSFQGPKGDKDQGVSGPPGVP. G 配列番号 568       |
| FAP    | P. GIPPPARGPPGGQPPGLSGPPGKGEKGFPGFPL. D 配列番号 569       |
| FAP    | E. PGLPGIPGVSGPK. G 配列番号 570                           |
| FAP    | G. EKGQKGDTPGPPGLV. I 配列番号 571                         |
| FAP    | L. PGIVGQPPGPPGIPGPIGQPLHGIPGEKGDPPG. G 配列番号 572       |
| FAP    | G. SPGIPGHQEMG. P 配列番号 573                             |
| FAP    | E. PGMQGEPPGP. P 配列番号 574                              |
| FAP    | G. PPGRLGAPGTPGLPG. R 配列番号 575                         |
| FAP    | P. PGPKGFPGIPG. P 配列番号 576                             |
| FAP    | A. KGQPLPGFPGT. P 配列番号 577                             |
| FAP    | D. RGPPGPPGIRPPGP. P 配列番号 578                          |
| FAP    | P. GPPGEKKGQDGIPIG. A 配列番号 579                         |
| FAP    | L. LGSKEGEGPLPGIPGVSGPKGY. Q 配列番号 580                  |
| MMP-9  | D. GLPGSMGPPGTPSVDHG. F 配列番号 581                       |
| MMP-9  | D. GLPGSMGPPGTPSVDHGF. L 配列番号 564                      |
| MMP-9  | T. GPLGEKGERGYPTGPRGE. P 配列番号 582                      |
| MMP-9  | G. LQGIRGEPGPPGLPGSVGSPGVPIGPPGARGPPGGQPPG. L 配列番号 583 |
| MMP-9  | P. DGLPGSMGPPGTPSVDHGFL. V 配列番号 555                    |
| MMP-9  | D. PGLKGDKGDVGLPGKPGSMDKVDMS. M 配列番号 584               |
| MMP-9  | L. PGPMGPPGLPIDGV. K 配列番号 585                          |
| MMP-9  | D. GLPGSMGPPGTPSVDHGFL. V 配列番号 565                     |
| MMP-9  | G. IRGEPGPPGLPGSVGSPGVPIGPPG. A 配列番号 586               |
| MMP-9  | G. FPGPPGDGLPGSMGPPGTPSVDHGF. L 配列番号 587               |
| MMP-9  | G. LQGIRGEPGPPGLPGSVGSPGVPIGPPG. A 配列番号 588            |
| MMP-9  | G. IRGEPGPPGLPGSVGSPGVPIGPPGARGPPGGQPPG. L 配列番号 589    |
| MMP-9  | E. DGVIGMMGPPGAIGP. P 配列番号 590                         |
| MMP-9  | Y. PGNPILGPPGEDGVIGMMGPPGAIGPPGPPG. N 配列番号 591         |
| MMP-9  | I. PPSDEICEPPGP. P 配列番号 592                            |
| MMP-9  | L. PGLPGKGEPLGYGNPGLKGS. V 配列番号 593                    |
| MMP-9  | G. IKGDKSMGHPGPKGPP. G 配列番号 594                        |

10

20

30

40

【表 1 4 B】

|                   |  |
|-------------------|--|
| MMP-9             | T. PGSPGCAGSPGLPGSPGPPG. P 配列番号 595                      |
| MMP-9             | P. GAPGQGLPGPPGFPGVGGPPGFFGFGAMGPRGPKGHMGE. R 配列番号 596   |
| MMP-9             | G. LPGAAGNPGP 配列番号 597                                   |
| MMP-9+FAP         | G. AEGLPGSPGFPGPQG. D 配列番号 598                           |
| MMP-9+FAP         | M. GPPGVPGFQGPGLP. G 配列番号 599                            |
| MMP-9+FAP         | D. IDGYRGGPPGQGGPPG. E 配列番号 600                          |
| MMP-9+FAP         | G. DQGDQGVPGAKGLPGP. P 配列番号 601                          |
| MMP-9+FAP         | G. DRGPQGGPGLPGLPGP. M 配列番号 602                          |
| MMP-9+FAP         | P. DGLPGSMGPPGTPSVDHGF. L 配列番号 554                       |
| MMP-9+FAP         | E. KSGIGIPGMGSPGLKSGSPGVP. G 配列番号 603                    |
| MMP-9+FAP         | G. LQGIRGEGPPGLPGSVGSPGVP. G 配列番号 588                    |
| MMP-9+FAP         | G. IRGEGPPGLPGSVGSPGVP. G 配列番号 589                       |
| MMP-9+FAP         | G. LQGIRGEGPPGLPGSVGSPGVP. G 配列番号 583                    |
| MMP-9+FAP         | G. LQGIRGEGPPGLPGSVGSPGVP. G 配列番号 604                    |
| MMP-9+FAP         | I. PPSDEICEGPPGP. P 配列番号 592                             |
| MMP-9+FAP         | P. GPPGLMGPPGPPGLPGP. K 配列番号 605                         |
| MMP-9+FAP         | G. ERGSPGIPGAPGIPGPPGSPG. L 配列番号 606                     |
| MMP-9+FAP         | P. GIPGAPGAPGFPKSGGEPDILTFPGMKGDKGELGSPGAPGL. P 配列番号 607 |
| MMP-9+FAP         | C. DGGVPNTGPPGEGPP. G 配列番号 608                           |
| MMP12, $\alpha$ 1 | . ILGHVPGML. 配列番号 2190                                   |
| MMP12, $\alpha$ 1 | . PGLPGQGGPPGLPVPGQ. 配列番号 2191                           |
| MMP12, $\alpha$ 1 | . SGYPGNPGLPGIPGQDGGPPGIPGCNGTKGERGGLGPPGL. 配列番号 2192    |
| MMP12, $\alpha$ 1 | . VSGPPGVPGQA. 配列番号 2193                                 |
| MMP12, $\alpha$ 1 | . VSGPPGVPGQAQ. 配列番号 2194                                |
| MMP12, $\alpha$ 2 | . KRGPPGPPGLGPPGPDGFL. 配列番号 2195                         |
| MMP12, $\alpha$ 2 | . LHGFPGAPGQEGPLG. 配列番号 2196                             |
| MMP12, $\alpha$ 2 | . LPGPDGPPGERGLPGEVL. 配列番号 2197                          |
| MMP12, $\alpha$ 2 | . LRGIPGF. 配列番号 2198                                     |
| MMP12, $\alpha$ 2 | . PGFPGAPGTGAPGAGIPQK. 配列番号 2199                         |
| MMP12, $\alpha$ 2 | . QQGNRGLGF. 配列番号 2200                                   |
| MMP12, $\alpha$ 2 | . VGQGPNGIPSDTL. 配列番号 2201                               |
| MMP12, $\alpha$ 3 | . GEPGMQGEPPGPPGNLGPCGPRGKPKGDKGKGTGPGAGEKG. 配列番号 2202   |
| MMP12, $\alpha$ 3 | . GEPGPPGPPGNLGPCGPRGKPKGDKGKGTGPGAGEKGNK. 配列番号 2203     |
| MMP12, $\alpha$ 3 | . PGIPGTGPPGLPGLQGPVGGP. 配列番号 2204                       |
| MMP12, $\alpha$ 3 | . PGDIVFRK. 配列番号 2205                                    |
| MMP12, $\alpha$ 4 | . GNKGDPAHFPPGPKG. 配列番号 2206                             |
| MMP12, $\alpha$ 4 | . PGPRGKPGM. 配列番号 2207                                   |
| MMP12, $\alpha$ 5 | . PGLPGQPGTRGL. 配列番号 2208                                |
| MMP12, $\alpha$ 5 | . PGPPGPLGIPGRSGVPLKGGDGLGQGPGLPGPTGEGKSK. 配列番号 2209     |
| MMP12, $\alpha$ 5 | . PGPPGPLGIPGRSGVPLKGGDGLGQGPGLPGPTGEGKSKG. 配列番号 2210    |
| MMP12, $\alpha$ 5 | . SKGEGEPGLGIPGVSGPKGYQGLPGDPGQPLSGQPGL. 配列番号 2211       |

10

20

30

40

## 【0071】

免疫学的結合パートナーは、I V型コラーゲンの切断によって形成されるC末端またはN末端ネオエピトープと特異的に反応するものであり得る。

## 【0072】

適切な免疫学的結合パートナーは、従って、ペプチドのN末端の以下の配列のいずれかと、またはペプチドのC末端の以下の配列のいずれかと特異的に反応性であり得る。

## 【0073】

## 【表 15】

表 15. プロテアーゼによって生成される I V 型コラーゲンのペプチド断片の N 末端配列

| I V 型コラーゲン        |                   |                   |
|-------------------|-------------------|-------------------|
| IDGYRG 配列番号 609   | MGPPGT 配列番号 610   | DGLPGS 配列番号 611   |
| PGSKGE 配列番号 612   | RGFPGP 配列番号 613   | PGPPGL 配列番号 614   |
| GPPGPP 配列番号 100   | GLPGSM 配列番号 615   | GLPGQQ 配列番号 616   |
| LGSKGE 配列番号 617   | GIGPPG 配列番号 611   | PGLPGI 配列番号 504   |
| PGIGVQ 配列番号 618   | SPGIPG 配列番号 619   | PGMQGE 配列番号 620   |
| PGPKGF 配列番号 621   | KGQGL 配列番号 622    | RGPPGP 配列番号 148   |
| PPSDEI 配列番号 623   | PGLKGD 配列番号 624   | GPLGEK 配列番号 625   |
| IRGEPG 配列番号 626   | FPGPPG 配列番号 627   | LQGIRG 配列番号 628   |
| DGVIGM 配列番号 629   | PGNPGI 配列番号 630   | PGLPGP 配列番号 58    |
| IKGDKG 配列番号 631   | PGSPGC 配列番号 632   | GAPGPQ 配列番号 445   |
| GPPGVP 配列番号 633   | DQGDQG 配列番号 634   | DRGPQG 配列番号 442   |
| KGSIGI 配列番号 635   | PPGRLG 配列番号 636   | EKGQKG 配列番号 637   |
| ERGSPG 配列番号 38    | GIPGAP 配列番号 372   | DGGVFN 配列番号 638   |
| SGRDGL 配列番号 639   | GPPGEK 配列番号 640   | AEGLPG 配列番号 641   |
| DGYRGP 配列番号 642   | GPPGLM 配列番号 643   | LPGFAG 配列番号 644   |
| GIPGMP 配列番号 645   | PGPMGP 配列番号 25    | .PGIPGT 配列番号 2227 |
| .ILGHVP 配列番号 2212 | .LPGPDG 配列番号 2214 | .PGDIVF 配列番号 2215 |
| .PGLPGQ 配列番号 2213 | .LRGIPG 配列番号 760  | .GNKGDP 配列番号 2216 |
| .SGYPGN 配列番号 2217 | .PGFPGA 配列番号 2218 | .PGPRGK 配列番号 2219 |
| .VSGPPG 配列番号 2220 | .QQGNRG 配列番号 2221 | .PGPPGP 配列番号 458  |
| .KRGPFG 配列番号 2223 | .VGQPGP 配列番号 2222 | .SKGEKG 配列番号 2226 |
| .LHGFPF 配列番号 2225 | .GEPGMQ 配列番号 2224 | .GEPGPP 配列番号 675  |
|                   |                   |                   |

10

20

## 【 0 0 7 4 】

## 【表 16】

表 16. プロテアーゼによって生成される I V 型コラーゲンのペプチド断片の C 末端配列

|                   |                   |                   |
|-------------------|-------------------|-------------------|
| I V 型コラーゲン        |                   |                   |
| RGPPGP 配列番号 148   | SVDHGF 配列番号 646   | PSVDHG 配列番号 647   |
| VDHGFL 配列番号 648   | PGQPGY 配列番号 649   | QPGYTN 配列番号 650   |
| PGLPGS 配列番号 651   | GTPSVD 配列番号 652   | SVGSPG 配列番号 653   |
| LPGSMG 配列番号 654   | GPPGVP 配列番号 633   | PGFPGL 配列番号 655   |
| PGLPGE 配列番号 656   | GDPGPP 配列番号 373   | HQGEMG 配列番号 657   |
| GPPGLV 配列番号 658   | PGIPGP 配列番号 659   | PGFPGT 配列番号 660   |
| PGLPGP 配列番号 58    | DGIPGP 配列番号 661   | SGPKGY 配列番号 662   |
| PGPRGE 配列番号 663   | GQGPPG 配列番号 664   | KVDMGS 配列番号 665   |
| GIGPPG 配列番号 611   | PGIDGV 配列番号 666   | KGHMGE 配列番号 667   |
| PGAIGP 配列番号 668   | PPGPPG 配列番号 119   | KGLPGP 配列番号 669   |
| GPKGPP 配列番号 671   | SPGPPG 配列番号 672   | GPKGLP 配列番号 670   |
| GSVGYP 配列番号 673   | PQGPPG 配列番号 389   | PPGSPG 配列番号 674   |
| GEPGPP 配列番号 675   | AGNPGP 配列番号 676   | PGIKGS 配列番号 677   |
| PGYTNG 配列番号 678   | FPGPQG 配列番号 679   | PGPQGP 配列番号 453   |
| LSGPPG 配列番号 680   | PGAPGL 配列番号 467   | GVMGTP 配列番号 681   |
| GVSGPK 配列番号 682   | PGPPGP 配列番号 458   |                   |
| HVPGML. 配列番号 2228 | LPVPGQ. 配列番号 2229 | LGPPGL. 配列番号 2230 |
| GVPGQA. 配列番号 2231 | VPGQAQ. 配列番号 2232 | GPDGFL. 配列番号 2233 |
| QEGPLG. 配列番号 2234 | LPGEVL. 配列番号 2235 | RGIPGF. 配列番号 2236 |
| NRGLGF. 配列番号 2238 | IPSDTL. 配列番号 2239 | PAGEKG. 配列番号 2240 |
| GEKGNK. 配列番号 2241 | PVGPPG. 配列番号 2242 | DIVFRK. 配列番号 2243 |
| PPGPKG. 配列番号 167  | RGKPGM. 配列番号 2244 | PGTRGL. 配列番号 2245 |
| GEKGSK. 配列番号 2246 | EKGSKG. 配列番号 2247 | SGQPGL. 配列番号 2248 |
| AGIPQK. 配列番号 2237 |                   |                   |

10

20

## 【0075】

## V 型コラーゲン

本発明者らは、以下の表に列挙する酵素が少なくとも以下の切断部位（「・」で示すか、または「・」が存在しない場合は配列の末端）で V 型コラーゲンを切断すると判定した。

30

## 【0076】

【表 17A】

表 14A. V型コラーゲンの切断断片

| プロテアーゼ           | ネオエピトープ (COV)                                      |
|------------------|--|
| MMP2, $\alpha$ 3 | K. GDPGPPGPIGSLG. H 配列番号 683                       |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. LRGIPGPVGEPE. L 配列番号 684                        |
| MMP2, $\alpha$ 3 | V. IGPPGLQGLPGPPGE. K 配列番号 685                     |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. KDGIPGPLGPLGPPG. A 配列番号 686                     |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. LRGIPGPVGEPEGLL. G 配列番号 687                     |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. VLGPGQKTGEVGPLG. E 配列番号 688                     |
| MMP2, $\alpha$ 3 | K. DGIPGPLGPLGPPGAA. G 配列番号 689                    |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. EDGERGAEPPGPTG. Q 配列番号 690                      |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. LQGPPGFPKGGPPG. H 配列番号 691                      |
| MMP2, $\alpha$ 3 | P. IGSLGHPGPPGVAGPLG. Q 配列番号 692                   |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. IRGPPGTVIMMPFQ. F 配列番号 693                      |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. QMGPPGPLGPSGLPGLK. G 配列番号 694                   |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. LLGAPGQMGPPGLGPSG. L 配列番号 695                   |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. LRGIPGPVGEPEGLL. GAPG. Q 配列番号 696               |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. LLGPRGSPGPTGRPGVTG. I 配列番号 697                  |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. IRGPPGTVIMMPFQF. A 配列番号 698                     |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. KDGIPGPLGPLGPPGAAGP. S 配列番号 699                 |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. KDGIPGPLGPLGPPGAAGPSG. E 配列番号 700               |
| MMP2, $\alpha$ 3 | Q. GLPGLGREGAKGELGPPGPLG. K 配列番号 701               |
| MMP2, $\alpha$ 3 | L. GPIGEKGSKGTGQPGLEGERPPGSRG. E 配列番号 702          |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. LRGIPGPVGEPEGLL. GAPGQMGPPGLGPSG. L 配列番号 703    |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. ANGSPGERGPLGPAGGIGLPGQSGSEGPVGPAG. K 配列番号 704   |
| MMP2, $\alpha$ 3 | G. LIGTPGEKGGPNPGIPGLPGSDGPLGHPGHEGPTG. E 配列番号 705 |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. LPGEPPRG. L 配列番号 706                            |
| MMP2, $\alpha$ 1 | L. ALRGAPPMG. L 配列番号 707                           |
| MMP2, $\alpha$ 1 | R. LALRGAPPMG. L 配列番号 708                          |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. LTGRPGVPVPPGSGG. L 配列番号 709                     |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. LLGPKGPPGPPGPPG. V 配列番号 710                     |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. IPGRPGVQGGPPGAG. E 配列番号 711                     |
| MMP2, $\alpha$ 1 | P. GPDGPPGPMGPPGLP. G 配列番号 712                     |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. QPGPSGADGEPGPRG. Q 配列番号 713                     |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. ETGFQKGTGPPGPPG. V 配列番号 714                     |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. LRGFPDRGLPGPV. G 配列番号 715                       |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. LRGFPDRGLPGPVG. A 配列番号 716                      |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. KTGPIGPQGAPGKPGPDG. L 配列番号 717                  |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. PPGRPLGADGLGPPG. T 配列番号 718                     |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. LKGNPPGPPGPPGAGSPGE. R 配列番号 719                 |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. LRGFPDRGLPGVGLG. L 配列番号 720                     |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. ERGHPGPPGPPGEQGLPG. L 配列番号 721                  |
| MMP2, $\alpha$ 1 | I. GPPGEQGEKDRGLPGPQG. S 配列番号 722                  |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. EAGHPGPPGPPGPPGEVIQPLP. I 配列番号 723              |
| MMP2, $\alpha$ 1 | K. PGPKNSGGDPAGPPGERPNP. Q 配列番号 724                |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. EQGLPGSPGPDGPPGPMGPPGLPG. L 配列番号 725            |
| MMP2, $\alpha$ 1 | E. GPPGEKGGQPPGPPGPIGYGPRG. V 配列番号 726             |
| MMP2, $\alpha$ 1 | G. FPGPKGPPGPPGKDGLPGHGQRG. E 配列番号 727             |
| MMP2             | L. PFRFGGGDA 配列番号 728                              |
| MMP2 および 9       | GSKGPMVSAQ. E 配列番号 729                             |

10

20

30

40

【表 17B】

|                   |   |
|-------------------|---|
| MMP2 および 9        | Q. ESQAQAILQQ 配列番号 730                              |
| MMP9, $\alpha$ 1  | L. ALRGPAGPMG. L 配列番号 707                           |
| MMP9, $\alpha$ 1  | G. AIGPPGEKGPLG. K 配列番号 731                         |
| MMP9, $\alpha$ 1  | G. GPNQDPGGLGPPG. E 配列番号 732                        |
| MMP9, $\alpha$ 1  | P. PGPPGEQGLPGL. A 配列番号 733                         |
| MMP9, $\alpha$ 1  | G. LLGPKGPPGPPGPPG. V 配列番号 734                      |
| MMP9, $\alpha$ 1  | G. IPGRPGPQGGPPAG. E 配列番号 711                       |
| MMP9, $\alpha$ 1  | G. QPGPSGADGEPGPRG. Q 配列番号 713                      |
| MMP9, $\alpha$ 1  | G. QQGNPGAQGLPGPQG. A 配列番号 735                      |
| MMP9, $\alpha$ 1  | G. KEGPPGEKGGQGGPPG. P 配列番号 736                     |
| MMP9, $\alpha$ 1  | G. ETGFQGKTGPPGPPG. V 配列番号 737                      |
| MMP9, $\alpha$ 1  | G. EKGHPGLIGLIGPPG. E 配列番号 738                      |
| MMP9, $\alpha$ 1  | G. LRGFPDRGLPGPVG. A 配列番号 716                       |
| MMP9, $\alpha$ 1  | G. KTGPIGPQAGPKGPPDG. L 配列番号 739                    |
| MMP9, $\alpha$ 1  | P. GPDGPPGPMGPPGLPGLK. G 配列番号 740                   |
| MMP9, $\alpha$ 1  | G. ERGHPGPPGPPGEQGLPG. L 配列番号 721                   |
| MMP9, $\alpha$ 1  | G. ERGNPGPQGTGFPKGGPPGPPG. K 配列番号 741               |
| MMP9, $\alpha$ 1  | L. IGLIGPPGEQGEKGRGLPGQGS. S 配列番号 742               |
| MMP9, $\alpha$ 1  | E. GPPGEKGGQGGPPGQGGPIGYGPRG. V 配列番号 726            |
| MMP9, $\alpha$ 1  | I. GPPGPPGLPGPPGPKGAKSSGPTGPKGE. A 配列番号 743         |
| MMP9, $\alpha$ 1  | P. LGPPGEKGLGVPGLPGYPGRQGPKGS. I. G 配列番号 744        |
| MMP9, $\alpha$ 1  | Q. GPKGSI GFPGFPGANGEKGRGTPGKPGPRG. Q 配列番号 745      |
| MMP9, $\alpha$ 3  | P. GPKGDPGPPGPIG. S 配列番号 746                        |
| MMP9, $\alpha$ 3  | K. GDPGPPGPIGSLG. H 配列番号 683                        |
| MMP9, $\alpha$ 3  | A. PGI <del>P</del> GEKGLPGL. Q 配列番号 747            |
| MMP9, $\alpha$ 3  | Q. GPPGPKGDPGPPGP. I 配列番号 748                       |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. SLGHPGPPGVAGPLG. Q 配列番号 749                      |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. KDGIPGGLGPLGPPG. A 配列番号 686                      |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. VLGPGGKTGEVGPLG. E 配列番号 688                      |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. ELGFQGGTGPPGAG. V 配列番号 750                       |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. EDGERGAEGPPGPTG. Q 配列番号 690                      |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. LQGGPPGFPGPKGPPG. H 配列番号 691                     |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. EKGHIGLIGLIGPPG. E 配列番号 751                      |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. QMGPPGLGPSGLPGLK. G) 配列番号 694                    |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. PVGEPGLLAGPQMGPPG. P 配列番号 752                    |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. LRGIPGPVGEPLLAGP. Q 配列番号 696                     |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. LLGPRGSPGTPGRPGVTG. I 配列番号 697                   |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. KDGIPGGLGPLGPPGAAGPSG. E 配列番号 700                |
| MMP9, $\alpha$ 3  | Q. GLPGLGREGAKGELGPPGPLG. K 配列番号 701                |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. SRGERGPPGPTGKDGIPGGLGPLG. P 配列番号 753             |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. EKGKSGKTGQPGLEGERGPPGSRG. E 配列番号 754             |
| MMP9, $\alpha$ 3  | L. GPIGEKGSKGTGQPGLEGERGPPGSRG. E 配列番号 702          |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. ANGSPGERGLPGAGGIGLPGQSGSEGPVGPAG. K 配列番号 704     |
| MMP9, $\alpha$ 3  | G. LIGTPGEKGGPPGPNPIGLPGSDGPLGHPGHEGPTG. E 配列番号 705 |
| MMP13, $\alpha$ 1 | L. PGEPGPRG. L 配列番号 755                             |
| MMP13, $\alpha$ 1 | A. LRGPAAGPMG. L 配列番号 756                           |
| MMP13, $\alpha$ 1 | G. LPGEPGPRG. L 配列番号 706                            |
| MMP13, $\alpha$ 1 | L. ALRGPAGPMG. L 配列番号 707                           |
| MMP13, $\alpha$ 1 | R. LALRGPAGPMG. L 配列番号 708                          |
| MMP13, $\alpha$ 1 | G. LRGFPDRGLPGPVG. A 配列番号 716                       |
| MMP13, $\alpha$ 1 | Q. ESQAQAILQARLA. L 配列番号 730                        |
| MMP13, $\alpha$ 1 | P. GPDGPPGPMGPPGLPGLK. G 配列番号 740                   |

10

20

30

40

【表 17C】

|                   |  |
|-------------------|--|
| MMP13, $\alpha$ 1 | G. PQGAI GPPGEKGPLGKPGLP GMPGADGPPGHPG. K 配列番号 757       |
| MMP13, $\alpha$ 1 | A. GPMGLTGRPGVPVGGSGGLKGEVGDVGPQGPGRG. V 配列番号 758        |
| MMP13, $\alpha$ 3 | G. VLG PQGKTGEVGPLG. E 配列番号 688                          |
| MMP13, $\alpha$ 3 | G. LRG I PGPVGE PGLLGAPG. Q 配列番号 696                     |
| MMP13, $\alpha$ 3 | G. LRG I PGPVGE PGLLGAPG QMGPPGPLG PSG. L 配列番号 703       |
| MMP13, $\alpha$ 3 | G. LRG I PGPVGE PGLLGAPG QMGPPGPLG PSG L P G. L 配列番号 759 |

## 【0077】

10

P はヒドロキシプロリンであり、K はヒドロキシリシン、グリコシル化、リボキシ化または架橋を示す。

## 【0078】

免疫学的結合パートナーは、V型コラーゲンの切断によって形成されるC末端またはN末端ネオエピトープと特異的に反応するものであり得る。

## 【0079】

適切な免疫学的結合パートナーは、従って、ペプチドのN末端の以下の配列のいずれかと、またはペプチドのC末端の以下の配列のいずれかと特異的に反応性であり得る：

## 【0080】

## 【表 18】

20

表 15 a. プロテアーゼによって生成されるV型コラーゲンのペプチド断片のN末端配列

| V型コラーゲン          |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| GDPGPP 配列番号 373  | LRGIPG 配列番号 760  | IGPPGI 配列番号 761  |
| LQGPPG 配列番号 62   | IGSLGH 配列番号 762  | IRGPPG 配列番号 763  |
| ANGSPG 配列番号 764  | LIGTPG 配列番号 765  | LPGE PG 配列番号 766 |
| IPGRPG 配列番号 767  | GPDGPP 配列番号 768  | QPGPSG 配列番号 769  |
| LKGNEG 配列番号 770  | ERGH PG 配列番号 771 | GPPGEQ 配列番号 772  |
| FPGPKG 配列番号 491  | PFRFGG 配列番号 773  | ESQAQA 配列番号 774  |
| LLGPKG 配列番号 775  | QQGNPG 配列番号 776  | KEGPPG 配列番号 777  |
| IGLIGP 配列番号 778  | GPPGPP 配列番号 100  | LGPPGE 配列番号 779  |
| GPPGPK 配列番号 780  | SLGHPG 配列番号 781  | KDGIPG 配列番号 782  |
| PVGE PG 配列番号 783 | LRGIPG 配列番号 760  | KDGIPG 配列番号 782  |
| ANGSPG 配列番号 764  | LIGTPG 配列番号 765  | PGE PG 配列番号 784  |
| LLGAPG 配列番号 785  | GLPGLE 配列番号 786  | GIPGEK 配列番号 787  |
| LALRGP 配列番号 788  | LTGRPG 配列番号 789  | LLGPKG 配列番号 775  |
| LRGFPG 配列番号 790  | KTGPIG 配列番号 791  | PPGRPG 配列番号 792  |
| PGPKGN 配列番号 527  | EQGLPG 配列番号 793  | GPPGEK 配列番号 640  |
| AIGGPP 配列番号 794  | GPNGDP 配列番号 795  | PGPPGE 配列番号 796  |
| LLGPRG 配列番号 797  | GPDGPP 配列番号 768  | ERGPNG 配列番号 798  |
| GPKGDP 配列番号 799  | GDPGPP 配列番号 373  | PGIPGE 配列番号 800  |
| LQGPPG 配列番号 62   | EKGHIG 配列番号 801  | QMGPPG 配列番号 802  |
| SRGERG 配列番号 803  | EKGKSG 配列番号 804  | GPIGEK 配列番号 805  |
| LPGE PG 配列番号 766 | PQGAIG 配列番号 806  | GPMGLT 配列番号 807  |
| QMGPPG 配列番号 802  | ETGFQG 配列番号 808  | GSKGPM 配列番号 809  |
| ALRGPA 配列番号 810  | EAGHPG 配列番号 811  | EKGHPG 配列番号 812  |
| KDGIP 配列番号 813   | VLGPQG 配列番号 814  | EDGERG 配列番号 815  |
| GPKGSI 配列番号 816  | ELGFQG 配列番号 817  | LRGPAG 配列番号 818  |

30

40

## 【0081】

P はヒドロキシプロリンであり、K はヒドロキシリシン、グリコシル化、リボキシ化または架橋を示す。

50

【 0 0 8 2 】

【 表 1 9 】

表 1 6 a. プロテアーゼによって生成される V 型コラーゲンのペプチド断片の C 末端配列

| V 型コラーゲン        |                 |                 |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| PIGSLG 配列番号 819 | PVGEPG 配列番号 783 | PGPPGE 配列番号 796 |
| PPGPTG 配列番号 820 | PKGPPG 配列番号 821 | VAGPLG 配列番号 822 |
| RPGVTG 配列番号 823 | MMPFQF 配列番号 824 | PGAAGP 配列番号 825 |
| PVGPAG 配列番号 826 | HEGPTG 配列番号 827 | EPGPRG 配列番号 516 |
| GPPGLP 配列番号 828 | GQGPPG 配列番号 664 | PPGPPG 配列番号 119 |
| AGSPGE 配列番号 829 | PVGALG 配列番号 830 | EQGLPG 配列番号 793 |
| YGPARG 配列番号 831 | HPGARG 配列番号 832 | GGGDA 配列番号 833  |
| LIGPPG 配列番号 834 | GLPGLK 配列番号 835 | PPGPPG 配列番号 119 |
| PPGPIG 配列番号 174 | KGLPGL 配列番号 836 | PGPPGP 配列番号 458 |
| QMGPPG 配列番号 802 | LLGAPG 配列番号 785 | RPGVTG 配列番号 823 |
| QQARLA 配列番号 837 | PPGHPG 配列番号 838 | PQGARG 配列番号 150 |
| PLGPPG 配列番号 839 | GEPGLL 配列番号 840 | EVGPLG 配列番号 841 |
| IMMPFQ 配列番号 842 | GLPGLK 配列番号 835 | PLGPSG 配列番号 843 |
| AAGPSG 配列番号 844 | PPGPLG 配列番号 845 | PPGSRG 配列番号 846 |
| PAGPMG 配列番号 847 | PPGSGG 配列番号 848 | PPGPPG 配列番号 119 |
| GLPGPV 配列番号 849 | LPGPVG 配列番号 850 | KPGPDG 配列番号 851 |
| LPGPQG 配列番号 852 | VIQPLP 配列番号 853 | RGPNGP 配列番号 854 |
| PGPQGS 配列番号 855 | EKGPLG 配列番号 856 | PLGPPG 配列番号 839 |
| GPPGAA 配列番号 857 | TGPKGE 配列番号 858 | GPKGSI 配列番号 816 |
| PPGPAG 配列番号 52  | PPGPAG 配列番号 52  | PPGPTG 配列番号 820 |
| QGLPGL 配列番号 859 | PSGLPG 配列番号 860 | LLGAPG 配列番号 785 |
| PPGSRG 配列番号 846 | LPGPPG 配列番号 72  | PPGLPG 配列番号 861 |
| PPGPLG 配列番号 845 | KGPARG 配列番号 862 | PKGPPG 配列番号 821 |
| PLGPLG 配列番号 863 | PPGSRG 配列番号 846 |                 |

10

20

【 0 0 8 3 】

P はヒドロキシプロリンであり、K はヒドロキシリシン、グリコシル化、リボキシ化または架橋を示す。

【 0 0 8 4 】

V I 型コラーゲン

本発明者らは、以下の表に列挙する酵素が少なくとも以下の切断部位（「 . 」で示すか、または「 . 」が存在しない場合は配列の末端）で V I 型コラーゲンを切断すると判定した。

【 0 0 8 5 】

30

## 【表 2 0】

表 1 4 B. V I 型コラーゲンの切断断片

| プロテアーゼ     | ネオエピトープ                                 |
|------------|---|
| MMP2       | G. YRGPEGPQGPPG. H 配列番号 864             |
| MMP2       | G. PIGPKGYRGDEGPP. G 配列番号 865           |
| MMP2, (a3) | I. GIGIGNADIT. E 配列番号 866               |
| MMP2, (a3) | G. AQGPAGPAGPPG. L 配列番号 867             |
| MMP9       | G. LIGEQGISGPRG. S 配列番号 868             |
| MMP9       | P. PGLIGEQGISGPR. G 配列番号 869            |
| MMP9       | E. PGEPGPKGGIGNRG. P 配列番号 870           |
| MMP9       | G. ISGPRGSGGAAGAPGERGRTGPLG. R 配列番号 871 |
| MMP13      | PGPAGPPGDPGLMG 配列番号 872                 |
| FAP-1      | VAAKPAAVRPPAAAAAKPVATKPEVPRP 配列番号 873   |
| FAP-1      | GEPGLNGTTGPKGI 配列番号 874                 |
| FAP-1      | IGPKGIPGEDGYRGYPG 配列番号 875              |
| FAP-1      | VAVVQHAPSESVDNASMPVKVEFSL 配列番号 876      |
| FAP-2      | LGPMGVGRD 配列番号 877                      |
| FAP-2      | GEPGPPGEKGEAGDEGNPGPDGAPGERG 配列番号 878   |
| FAP-2      | RGPIGSIGPKGIPGEDGYRGYPGDEGGP 配列番号 879   |
| FAP-2      | PPPPQPARSAS 配列番号 880                    |
| FAP-2      | FGPSAATPAPPG 配列番号 881                   |
| FAP-2      | GPKGETGDLGPMGVGRDGVPGGPGETGK 配列番号 882   |

10

20

## 【0086】

免疫学的結合パートナーは、V型コラーゲンの切断によって形成されるC末端またはN末端ネオエピトープと特異的に反応するものであり得る。

## 【0087】

適切な免疫学的結合パートナーは、従って、ペプチドのN末端の以下の配列のいずれかと、またはペプチドのC末端の以下の配列のいずれかと特異的に反応性であり得る。

30

## 【0088】

## 【表 2 1】

表 1 5 b. プロテアーゼによって生成されるV I 型コラーゲンのペプチド断片のN末端配列

| V I 型コラーゲン      |                 |                 |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| YRGPEG 配列番号 883 | PIGPKG 配列番号 865 | GIGIGN 配列番号 885 |
| ISGPRG 配列番号 886 | PGPAGP 配列番号 887 | VAAKPA 配列番号 888 |
| GEPGPP 配列番号 675 | RGPIGS 配列番号 889 | PPPPQP 配列番号 890 |
| AQGPAG 配列番号 891 | LIGEQG 配列番号 892 | PGLIGE 配列番号 893 |
| GEPGLN 配列番号 894 | IGPKGI 配列番号 895 | VAVVQH 配列番号 896 |
| FGPSAA 配列番号 897 | GPKGET 配列番号 898 | PGEPGP 配列番号 784 |
| LGPMGV 配列番号 899 |                 |                 |

40

## 【0089】

## 【表 2 2】

表 1 6 b. プロテアーゼによって生成される V I 型コラーゲンのペプチド断片の C 末端配列

| V I 型コラーゲン      |                 |                 |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| GDEGPP 配列番号 900 | GNADIT 配列番号 901 | PAGPPG 配列番号 133 |
| DPGLMG 配列番号 902 | PEVPRP 配列番号 903 | TGPKGI 配列番号 904 |
| GDEGGP 配列番号 905 | PARSAS 配列番号 906 | TPAPPG 配列番号 915 |
| ISGPRG 配列番号 886 | GISGPR 配列番号 907 | GIGNRG 配列番号 908 |
| YRGYPG 配列番号 909 | KVEFSL 配列番号 910 | GVPGRD 配列番号 911 |
| PGETGK 配列番号 912 | RTGPLG 配列番号 913 | APGERG 配列番号 914 |

10

## 【 0 0 9 0 】

プロテオグリカン

本発明のもう 1 つの態様では、前記ペプチド断片は、プロテオグリカンのパーシカン、ルミカン、パールカン、ビグリカンおよびデコリンの断片であり、それらはすべて線維性組織において同定される。

## 【 0 0 9 1 】

いくつかの候補プロテアーゼは、線維性病変中のプロテオグリカンの消化に関与し得る。本発明者らは、表 1 7 に列挙する酵素が、少なくとも以下の切断産物を生じさせるルミカン、パーシカン、ビグリカン、パールカンおよびデコリンを生成すると判定した。

20

## 【 0 0 9 2 】

【表 2 3】

表 17. ビグリカン、デコリン、パーシカン、ルミカンおよびパールカンの切断断片

| プロテアーゼ  | ビグリカン                              |
|---------|------------------------------------|
| MMP-3   | SVPKEISPDITLLDLQNDISE 配列番号 916     |
| MMP-3   | KSVPKEISPDITLLDLQNDISE 配列番号 917    |
| MMP-9   | NSGFEPGAFDGLKLNLYLRISEAK 配列番号 918  |
| MMP-9   | LKSVPKEISPDITLLDLQNDISE 配列番号 919   |
| MMP-12  | LRISEAKLTGIPKDLPET 配列番号 920        |
| MMP-13  | LKSVPKEISPDITLLDLQNDISE 配列番号 919   |
| MMP-13  | LTGIPKDLPETLNEHLHDHNIQAIE 配列番号 921 |
| ADAMTS4 | RISEAKLTGIPKDLPETLNE 配列番号 922      |
| ADAMTS4 | AIELEDLLRYSK 配列番号 923              |
| ADAMTS4 | AIELEDLLRY 配列番号 924                |
| ADAMTS4 | EAKLTGIPKDLPETLNE 配列番号 925         |
| ADAMTS4 | LKAVPKEISPDITLLDLQNDISE 配列番号 926   |
| MMP-8   | LLDLQNDISELRKDD 配列番号 927           |
| MMP-8   | IELEDLLRYS 配列番号 928                |
| カテプシンS  | NSGFEPGAFDGLK 配列番号 929             |
| プロテアーゼ  | デコリン                               |
| MMP-12  | IVIELGTNPLK 配列番号 930               |
| MMP-3   | DEASGIGPEVPDDR 配列番号 931            |
| MMP-3   | LHLDGNKISRVAAS 配列番号 932            |
| MMP-3   | VNNKISKVSPGAFPL 配列番号 933           |
| MMP-3   | LILVNNKISKVSPGAFPLVKLER 配列番号 934   |
| MMP-9   | SNPVQYWEIQPSTFR 配列番号 935           |
| カテプシンK  | SSGIENGAFQGMK 配列番号 884             |
| カテプシンK  | SSGIENGAFQGMKLS 配列番号 946           |
| ADAMTS1 | KITEIKDGFDFK 配列番号 936              |
| ADAMTS1 | GLPPSLTELHLDGNK 配列番号 937           |
|         | パーシカン                              |
| 不明      | LLASDAGLYR 配列番号 938                |
| 不明      | LATVGELQAAR 配列番号 939               |
| 不明      | ETTVLVAQNGNIK 配列番号 940             |
|         | ルミカン                               |
| 不明      | SLEDLQLTHNK 配列番号 941               |
| 不明      | LKEDAVSAAF 配列番号 942                |
|         | パールカン                              |
| 不明      | SIEYSPQLEDAGSR 配列番号 943            |
| 不明      | LEGDTLIIPR 配列番号 944                |
| ADAMTS4 | VSEAVVEKLEPEYR 配列番号 945            |
| ADAMTS4 | EVSEAVVEKLEPEYR 配列番号 947           |
| ADAMTS4 | SIEYSPQLEDASAKEFR 配列番号 948         |

10

20

30

40

## 【0093】

免疫学的結合パートナーは、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカンの切断によって形成されるC末端またはN末端ネオエピトープと特異的に反応するものであり得る。

## 【0094】

適切な免疫学的結合パートナーは、従って、ペプチドのN末端の以下の配列のいずれかと、またはペプチドのC末端の、表19中の以下の配列のいずれかと特異的に反応性であり得る。

50

【 0 0 9 5 】

【 表 2 4 】

表 18. プロテアーゼによって生成されるビグリカン、デコリン、ルミカン、パーシカンおよびパールカンのペプチド断片のN末端配列

|                 |                 |                 |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| ビグリカン           |                 |                 |
| SVPKEI 配列番号 949 | GLKLN 配列番号 950  | RISEAK 配列番号 951 |
| NSGFEP 配列番号 952 | LKSVPK 配列番号 953 | AIELED 配列番号 954 |
| IELEDL 配列番号 957 | QCSDLG 配列番号 955 | EAKLTG 配列番号 956 |
| LRISEA 配列番号 958 | LTGIPK 配列番号 959 | LKAVPK 配列番号 960 |
| LLDLQN 配列番号 961 |                 |                 |
| デコリン            |                 |                 |
| IVIELG 配列番号 962 | DEASGI 配列番号 963 | VNNKIS 配列番号 964 |
| NGLNQM 配列番号 965 | LHLDGN 配列番号 966 | LILVNN 配列番号 967 |
| SSGIEN 配列番号 968 | KITEIK 配列番号 969 | GLPPSL 配列番号 970 |
| SNPVQY 配列番号 971 |                 |                 |
| パーシカン           |                 |                 |
| LLASDA 配列番号 972 | LATVGE 配列番号 973 | ETTVLV 配列番号 974 |
| ENQDAR 配列番号 975 | NGFDQC 配列番号 976 | SLTVVK 配列番号 977 |
|                 |                 |                 |
| ルミカン            |                 |                 |
| SLEDLQ 配列番号 978 | LKEDAV 配列番号 979 | HLQHNR 配列番号 980 |
| LQHNR 配列番号 985  |                 |                 |
| パールカン           |                 |                 |
| SIEYSP 配列番号 981 | LVNFTR 配列番号 982 | VSEAVV 配列番号 983 |
| EVSEAV 配列番号 984 |                 |                 |

10

20

【 0 0 9 6 】

【 表 2 5 】

表 19. プロテアーゼによって生成されるビグリカン、デコリン、ルミカン、パーシカンおよびパールカンのペプチド断片のC末端配列

|                  |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| ビグリカン            |                  |                  |
| NNDISE 配列番号 986  | YWEVQP 配列番号 987  | EDLLRY 配列番号 988  |
| RISEAK 配列番号 951  | KIQAI 配列番号 989   | PETLNE 配列番号 990  |
| LRKDDF 配列番号 991  | LLRYSK 配列番号 992  | ELRKDD 配列番号 993  |
| KDLPET 配列番号 994  | DLLRYS 配列番号 995  | AFDGLK 配列番号 996  |
| LNELHL 配列番号 997  |                  |                  |
| デコリン             |                  |                  |
| GTNPLK 配列番号 998  | EVPDDR 配列番号 999  | GAFTPL 配列番号 1000 |
| SSGIEN 配列番号 968  | RVDAAS 配列番号 1001 | LVKLER 配列番号 1002 |
| GMKKLS 配列番号 1003 | KDGDFK 配列番号 1004 | HLDGNK 配列番号 1005 |
| QPSTFR 配列番号 1006 | AFQGMK 配列番号 1007 |                  |
| パーシカン            |                  |                  |
| CDVMYG 配列番号 1008 | NGFDQC 配列番号 976  | QNGINK 配列番号 1009 |
| IGQDYK 配列番号 1010 |                  |                  |
| ルミカン             |                  |                  |
| QLTHNK 配列番号 1011 | VSAAFK 配列番号 1012 | GLKSLE 配列番号 1013 |
|                  |                  |                  |
| パールカン            |                  |                  |
| EDAGSR 配列番号 1014 | EFREVS 配列番号 1015 | VAQQDS 配列番号 1016 |
| SAKEFR 配列番号 1017 | LEPEYR 配列番号 1018 |                  |

30

40

50

【 0 0 9 7 】

## C R P

いくつかの候補プロテアーゼは線維組織中のCRPの消化に関与すると考えられ、文献は、線維性組織中の多くの異なるプロテアーゼを報告している。おそらく、これは、最終的に線維症へと至る広範囲の複雑なプロセスの結果である。しかし、本発明者らの評価では、初期は様々なMMPで構成され得るが、後期はマトリックスのカテプシンK分解に大きく依存すると考えられ、疾患のレベルに依存して異なるネオエピトーププロファイルを生じさせる。本発明者らは、純粋な天然タンパク質の様々なインビトロ切断を通して、以下の表に列挙する酵素が少なくとも以下の切断部位（表20では\*で示すが、表21では各配列の末端）でCRPを切断すると判定した。

10

【 0 0 9 8 】

【表26】

表20. 特異的プロテアーゼによって生成されるCRP断片

| プロテアーゼ/タンパク質    | ネオエピトープ                       |
|-----------------|-------------------------------|
| CRP + CatK      | K*ESDTSYVSLKAPLT*K 配列番号 1019  |
| CRP + CatK      | G*GNFEGSQSLVGDIG*N 配列番号 1020  |
| CRP + MMP9      | A*LKYEVQGEVFTKPQ*L 配列番号 1021  |
| CRP + MMP9      | G*IVEFWVDGKPRV*R 配列番号 1022    |
| CRP + MMP1/MMP3 | R*KAFVFPKE*S 配列番号 1023        |
| CRP + MMP3      | K*YEVQGEVFTKPQLWP*- 配列番号 1024 |
| CRP + MMP3      | D*SFGGNFEGSQS*L 配列番号 1025     |
| CRP + MMP3      | D*FVLSPEINT*I 配列番号 1026       |
| CRP + MMP3      | S*LKKGYTVGAEA*S 配列番号 1027     |
| CRP + MMP3      | A*FGQTDMSRKA*F 配列番号 1028      |
| CRP + MMP3      | S*LKKGYTVGAEAS*I 配列番号 1029    |
| CRP + MMP3      | G*EVFTKPQLWP*- 配列番号 1030      |
| CRP + MMP3      | S*ILLGQEQDSFGGN.F 配列番号 1031   |
| CRP + MMP3      | K*YEVQGEVFTKPQ.L 配列番号 1032    |

20

【 0 0 9 9 】

30

【表 27A】

表 21. 特異的プロテアーゼによって生成されるCRP断片

| プロテアーゼ | ネオエピトープ                           | アミノ酸番号  |
|--------|-----------------------------------|---------|
| MMP9   | AFVFPK 配列番号 1033                  | 026-031 |
| MMP9   | FGQTDMSR 配列番号 1034                | 017-024 |
| MMP9   | FGQTDMSRK 配列番号 1035               | 017-025 |
| MMP9   | FGQTDMSRKA 配列番号 1036              | 017-026 |
| MMP9   | FGQTDMSRKAF 配列番号 1037             | 017-027 |
| MMP9   | FGQTDMSRKAFVFPKE 配列番号 1038        | 017-032 |
| MMP9   | FGQTDMSRKAFVFPKESDTS 配列番号 1039    | 017-036 |
| MMP9   | FGQTDMSRKAFVFPKESDTSYV 配列番号 1040  | 017-038 |
| MMP9   | FGQTDMSRKAFVFPKESDTSYVS 配列番号 1041 | 017-039 |
| MMP9   | TDMSRKAFVFPKESDTSYV 配列番号 1042     | 020-038 |
| MMP9   | MSRKAFVFPKESDTS 配列番号 1043         | 022-036 |
| MMP9   | SRKAFVFPKESDTSYV 配列番号 1044        | 023-038 |
| MMP9   | RKAFVFPKE 配列番号 1045               | 024-032 |
| MMP9   | RKAFVFPKESDTSYV 配列番号 1046         | 024-038 |
| MMP9   | RKAFVFPKESDTSYVS 配列番号 1047        | 024-039 |
| MMP9   | KAFVFPKE 配列番号 1048                | 025-032 |
| MMP9   | KAFVFPKESD 配列番号 1049              | 025-034 |
| MMP9   | KAFVFPKESDT 配列番号 1050             | 025-035 |
| MMP9   | KAFVFPKESDTS 配列番号 1051            | 025-036 |
| MMP9   | KAFVFPKESDTSYV 配列番号 1052          | 025-038 |
| MMP9   | KAFVFPKESDTSYVS 配列番号 1053         | 025-039 |
| MMP9   | AFVFPKE 配列番号 1054                 | 026-032 |
| MMP9   | AFVFPKESDT 配列番号 1055              | 026-035 |
| MMP9   | AFVFPKESDTSYV 配列番号 1056           | 026-038 |
| MMP9   | AFVFPKESDTSYVS 配列番号 1057          | 026-039 |
| MMP9   | AFVFPKESDTSYVSL 配列番号 1058         | 026-040 |
| MMP9   | FVFPK 配列番号 1059                   | 027-031 |
| MMP9   | FVFPKE 配列番号 1060                  | 027-032 |
| MMP9   | FVFPKESD 配列番号 1061                | 027-034 |
| MMP9   | FVFPKESDTS 配列番号 1062              | 027-036 |
| MMP9   | FVFPKESDTSY 配列番号 1063             | 027-037 |
| MMP9   | FVFPKESDTSYV 配列番号 1064            | 027-038 |
| MMP9   | FVFPKESDTSYVS 配列番号 1065           | 027-039 |
| MMP9   | FVFPKESDTSYVSL 配列番号 1066          | 027-040 |
| MMP9   | VFPKESDTS 配列番号 1067               | 028-036 |
| MMP9   | VFPKESDTSYV 配列番号 1068             | 028-038 |
| MMP9   | VFPKESDTSYVS 配列番号 1069            | 028-039 |
| MMP9   | VFPKESDTSYVSL 配列番号 1070           | 028-040 |
| MMP9   | FPKESDTSYVS 配列番号 1071             | 029-039 |
| MMP9   | KESDTSYVSLKAPLTKP 配列番号 1072       | 031-047 |
| MMP9   | SDTSYVSLKAPLTKP 配列番号 1073         | 033-047 |
| MMP9   | SLKAPLTKP 配列番号 1074               | 039-047 |
| MMP9   | SLKAPLTKPLK 配列番号 1075             | 039-049 |
| MMP9   | LKAPLTKPLK 配列番号 1076              | 040-049 |
| MMP9   | FYTELSSTRGYS 配列番号 1077            | 057-068 |
| MMP9   | LSSTRGYS 配列番号 1078                | 061-068 |
| MMP9   | SSTRGYS 配列番号 1079                 | 062-068 |

10

20

30

40

【表 27B】

|      |                                      |         |
|------|--------------------------------------|---------|
| MMP9 | STRGYS 配列番号 1080                     | 063-068 |
| MMP9 | IFSYATKRQ 配列番号 1081                  | 069-077 |
| MMP9 | IFSYATKRQDNEILI 配列番号 1082            | 069-083 |
| MMP9 | SYATKRQDNEILI 配列番号 1083              | 071-083 |
| MMP9 | YATKRQDNEIL 配列番号 1084                | 072-082 |
| MMP9 | YATKRQDNEILI 配列番号 1085               | 072-083 |
| MMP9 | YATKRQDNEILIF 配列番号 1086              | 072-084 |
| MMP9 | TKRQDNEILI 配列番号 1087                 | 074-083 |
| MMP9 | TKRQDNEILIF 配列番号 1088                | 074-084 |
| MMP9 | TKRQDNEILIFWSDI 配列番号 1089            | 074-089 |
| MMP9 | KRQDNEILI 配列番号 1090                  | 075-083 |
| MMP9 | KRQDNEILIF 配列番号 1091                 | 075-084 |
| MMP9 | WSDIGYS 配列番号 1092                    | 085-092 |
| MMP9 | SKDIGYS 配列番号 1093                    | 086-092 |
| MMP9 | IVEFVWDGKPRV 配列番号 1094               | 124-135 |
| MMP9 | EFVWDGKPR 配列番号 1095                  | 126-134 |
| MMP9 | WVDGKPRV 配列番号 1096                   | 128-135 |
| MMP9 | VDGKPRV 配列番号 1097                    | 129-135 |
| MMP9 | SLKKGTVGAE 配列番号 1098                 | 138-148 |
| MMP9 | SLKKGTVGAEA 配列番号 1099                | 138-149 |
| MMP9 | SLKKGTVGAEAS 配列番号 1100               | 138-150 |
| MMP9 | LKKGTV 配列番号 1101                     | 139-145 |
| MMP9 | LKKGTVG 配列番号 1102                    | 139-146 |
| MMP9 | LKKGTVGA 配列番号 1103                   | 139-147 |
| MMP9 | LKKGTVGAE 配列番号 1104                  | 139-148 |
| MMP9 | LKKGTVGAEA 配列番号 1105                 | 139-149 |
| MMP9 | LKKGTVGAEAS 配列番号 1106                | 139-150 |
| MMP9 | LKKGTVGAEASI 配列番号 1107               | 139-151 |
| MMP9 | SIILGQEQDSFGGN 配列番号 1108             | 150-163 |
| MMP9 | SIILGQEQDSFGGNFEGSQ 配列番号 1109        | 150-168 |
| MMP9 | SIILGQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1110       | 150-169 |
| MMP9 | IILGQEQDSFGGNFEGS 配列番号 1111          | 151-067 |
| MMP9 | IILGQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1112        | 151-169 |
| MMP9 | ILGQEQDSFGGN 配列番号 1113               | 152-163 |
| MMP9 | ILGQEQDSFGGNFEGSQ 配列番号 1114          | 152-168 |
| MMP9 | ILGQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1115         | 152-169 |
| MMP9 | LGQEQDSFGGNFEGSQ 配列番号 1116           | 153-168 |
| MMP9 | LGQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1117          | 153-169 |
| MMP9 | GQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1118           | 154-169 |
| MMP9 | SFGGNFEGSQS 配列番号 1119                | 159-169 |
| MMP9 | QSLVGDIGNVN 配列番号 1120                | 168-178 |
| MMP9 | INTIYLGGPFSPNV 配列番号 1121             | 189-202 |
| MMP9 | INTIYLGGPFSPNVLN 配列番号 1122           | 189-204 |
| MMP9 | IYLGPFSPNVLN 配列番号 1123               | 192-204 |
| MMP9 | YLGPFSPNVLN 配列番号 1124                | 193-204 |
| MMP9 | LGPFSPN 配列番号 1125                    | 194-201 |
| MMP9 | SPNVLNWRALKYEVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1126 | 199-224 |
| MMP9 | LNWRA 配列番号 1127                      | 203-207 |
| MMP9 | LNWRAL 配列番号 1128                     | 203-208 |
| MMP9 | LNWRALK 配列番号 1129                    | 203-209 |
| MMP9 | WRALKYE 配列番号 1130                    | 205-211 |
| MMP9 | WRALKYEV 配列番号 1131                   | 205-212 |

10

20

30

40

【表 27C】

|       |                              |         |
|-------|------------------------------|---------|
| MMP9  | WRALKYEVQGE 配列番号 1132        | 205-215 |
| MMP9  | ALKYEV 配列番号 1133             | 207-212 |
| MMP9  | LKYEVQ 配列番号 1134             | 208-213 |
| MMP9  | LKYEVQG 配列番号 1135            | 208-214 |
| MMP9  | LKYEVQGE 配列番号 1136           | 208-215 |
| MMP9  | LKYEVQGEVFTKP 配列番号 1137      | 208-220 |
| MMP9  | LKYEVQGEVFTKPQ 配列番号 1138     | 208-221 |
| MMP9  | LKYEVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1139  | 208-224 |
| MMP9  | KYEVQGE 配列番号 1140            | 209-215 |
| MMP9  | KYEVQGEVFTKPQ 配列番号 1141      | 209-221 |
| MMP9  | KYEVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1142   | 209-224 |
| MMP9  | YEVQGEVFTKP 配列番号 1143        | 210-220 |
| MMP9  | YEVQGEVFTKPQ 配列番号 1144       | 210-221 |
| MMP9  | YEVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1145    | 210-224 |
| MMP9  | VQGEVFTKPQ 配列番号 1146         | 212-221 |
| MMP9  | VQGEVFTKPQLWP 配列番号 1147      | 212-224 |
| MMP9  | QGEVFTKPQ 配列番号 1148          | 213-221 |
| MMP9  | GEVFTKP 配列番号 1149            | 214-220 |
| MMP9  | GEVFTKPQ 配列番号 1150           | 214-221 |
| MMP9  | EVFTKPQ 配列番号 1151            | 215-221 |
| MMP9  | EVFTKPQLWP 配列番号 1152         | 215-224 |
| MMP9  | VFTKPQ 配列番号 1153             | 216-221 |
| MMP9  | FTKPQ 配列番号 1154              | 217-221 |
| MMP9  | FTKPQLWP 配列番号 1155           | 217-224 |
| MMP9  | TKPQLWP 配列番号 1156            | 218-224 |
| MMP9  | KPQLWP 配列番号 1157             | 219-224 |
| MMP12 | FGQTDMSRKA 配列番号 1036         | 017-026 |
| MMP12 | MSRKAFVFP 配列番号 1158          | 022-030 |
| MMP12 | MSRKAFVFPKE 配列番号 1159        | 022-032 |
| MMP12 | MSRKAFVFPKESD 配列番号 1160      | 022-034 |
| MMP12 | MSRKAFVFPKESDTS 配列番号 1043    | 022-036 |
| MMP12 | MSRKAFVFPKESDTSYVS 配列番号 1161 | 022-039 |
| MMP12 | SRKAFVFP 配列番号 1162           | 023-030 |
| MMP12 | SRKAFVFPKESD 配列番号 1163       | 023-034 |
| MMP12 | SRKAFVFPKESDTS 配列番号 1164     | 023-036 |
| MMP12 | RKAFVFP 配列番号 1165            | 024-030 |
| MMP12 | RKAFVFPKESD 配列番号 1166        | 024-034 |
| MMP12 | KAFVFP 配列番号 1167             | 025-030 |
| MMP12 | KAFVFPKE 配列番号 1048           | 025-032 |
| MMP12 | KAFVFPKESD 配列番号 1049         | 025-034 |
| MMP12 | AFVFPKE 配列番号 1054            | 026-032 |
| MMP12 | AFVFPKESDTS 配列番号 1168        | 026-036 |
| MMP12 | AFVFPKESDTSYVS 配列番号 1057     | 026-039 |
| MMP12 | FVFPKE 配列番号 1060             | 027-032 |
| MMP12 | FVFPKESD 配列番号 1061           | 027-034 |
| MMP12 | FVFPKESDTS 配列番号 1062         | 027-036 |
| MMP12 | FVFPKESDTSY 配列番号 1063        | 027-037 |
| MMP12 | FVFPKESDTSYVS 配列番号 1065      | 027-039 |
| MMP12 | VFPKESD 配列番号 1169            | 028-034 |
| MMP12 | KESDTSY 配列番号 1170            | 031-037 |
| MMP12 | KESDTSYVS 配列番号 1171          | 031-039 |
| MMP12 | VSLKAP 配列番号 1172             | 038-043 |

10

20

30

40

【表 27D】

|       |                               |         |
|-------|-------------------------------|---------|
| MMP12 | LKAPLT 配列番号 1173              | 040-045 |
| MMP12 | LKAPLTKP 配列番号 1174            | 040-047 |
| MMP12 | YTELSSTRGYS 配列番号 1175         | 058-068 |
| MMP12 | LSSTRGYS 配列番号 1078            | 061-068 |
| MMP12 | STRGYS 配列番号 1080              | 063-068 |
| MMP12 | YATKRQDNE 配列番号 1176           | 072-080 |
| MMP12 | YATKRQDNEI 配列番号 1177          | 072-081 |
| MMP12 | YATKRQDNEIL 配列番号 1084         | 072-082 |
| MMP12 | TKRQDNEIL 配列番号 1178           | 074-082 |
| MMP12 | KRQDNEIL 配列番号 1179            | 075-082 |
| MMP12 | ILIFWSKD 配列番号 1180            | 081-088 |
| MMP12 | IFWSKD 配列番号 1181              | 083-088 |
| MMP12 | SKDIGYS 配列番号 1093             | 086-092 |
| MMP12 | WVDGKPRV 配列番号 1096            | 128-135 |
| MMP12 | WVDGKPRVR 配列番号 1182           | 128-136 |
| MMP12 | VRKSLKKGTYVGAEAS 配列番号 1183    | 135-150 |
| MMP12 | SLKKGTY 配列番号 1184             | 138-144 |
| MMP12 | SLKKGTYVG 配列番号 1185           | 138-146 |
| MMP12 | SLKKGTYVGA 配列番号 1186          | 138-147 |
| MMP12 | SLKKGTYVGAE 配列番号 1098         | 138-148 |
| MMP12 | SLKKGTYVGAEA 配列番号 1099        | 138-149 |
| MMP12 | SLKKGTYVGAEAS 配列番号 1100       | 138-150 |
| MMP12 | SLKKGTYVGAEASI 配列番号 1187      | 138-151 |
| MMP12 | LKKGTYV 配列番号 1101             | 139-145 |
| MMP12 | LKKGTYVG 配列番号 1102            | 139-146 |
| MMP12 | LKKGTYVGA 配列番号 1103           | 139-147 |
| MMP12 | LKKGTYVGAE 配列番号 1104          | 139-148 |
| MMP12 | LKKGTYVGAEA 配列番号 1105         | 139-149 |
| MMP12 | LKKGTYVGAEAS 配列番号 1106        | 139-150 |
| MMP12 | LKKGTYVGAEASI 配列番号 1107       | 139-151 |
| MMP12 | KKGTYVGAEAS 配列番号 1188         | 140-150 |
| MMP12 | KGTYVGAEAS 配列番号 1189          | 141-150 |
| MMP12 | KGTYVGAEASI 配列番号 1190         | 141-151 |
| MMP12 | SIILGQEQDSFGGN 配列番号 1108      | 150-163 |
| MMP12 | IILGQEQD 配列番号 1191            | 151-158 |
| MMP12 | IILGQEQDSFGGN 配列番号 1192       | 151-163 |
| MMP12 | IILGQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1112 | 151-169 |
| MMP12 | ILGQEQDSFGGN 配列番号 1113        | 152-163 |
| MMP12 | LVGDIGNVMWD 配列番号 1193         | 170-181 |
| MMP12 | INTIYLGPFSPNVLN 配列番号 1122     | 189-204 |
| MMP12 | IYLGPFSPN 配列番号 1194           | 192-201 |
| MMP12 | IYLGPFSPNV 配列番号 1195          | 192-202 |
| MMP12 | IYLGPFSPNVLN 配列番号 1123        | 192-204 |
| MMP12 | LGGPFSPNVLN 配列番号 1196         | 194-204 |
| MMP12 | WRALKYE 配列番号 1130             | 205-210 |
| MMP12 | YEVQGEVFTKP 配列番号 1143         | 210-220 |
| MMP12 | YEVQGEVFTKPQ 配列番号 1144        | 210-221 |
| MMP12 | YEVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1145     | 210-224 |
| MMP12 | EVQGEVFTKP 配列番号 1197          | 211-220 |
| MMP12 | EVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1198      | 211-224 |
| MMP12 | VQGEVFTKP 配列番号 1199           | 212-220 |
| MMP12 | VQGEVFTKPQ 配列番号 1146          | 212-221 |

10

20

30

40

【表 27E】

|       |                                |         |
|-------|--------------------------------|---------|
| MMP12 | VQGEVFTKPQLWP 配列番号 1147        | 212-224 |
| MMP12 | GEVFTKPQLWP 配列番号 1200          | 214-224 |
| MMP12 | EVFTKP 配列番号 1201               | 215-220 |
| MMP12 | EVFTKPQLWP 配列番号 1152           | 215-224 |
| MMP12 | VFTKPQ 配列番号 1153               | 216-221 |
| MMP12 | VFTKPQL 配列番号 1202              | 216-222 |
| MMP12 | VFTKPQLWP 配列番号 1203            | 216-224 |
| MMP12 | FTKPQLWP 配列番号 1155             | 217-224 |
| MMP12 | TKPQLWP 配列番号 1156              | 218-224 |
| MMP1  | AFVFPK 配列番号 1033               | 006-031 |
| MMP1  | KAFVFPK 配列番号 1204              | 025-031 |
| MMP1  | VRKSLK 配列番号 1205               | 135-140 |
| MMP1  | YEVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1145      | 210-224 |
| MMP3  | FGQDMSRKA 配列番号 1036            | 017-026 |
| MMP3  | FGQDMSRKAF 配列番号 1037           | 017-027 |
| MMP3  | MSRKAFVFPKESDTSYV 配列番号 1206    | 022-038 |
| MMP3  | MSRKAFVFPKESDTSYVS 配列番号 1161   | 022-039 |
| MMP3  | SRKAFVFPKESDTSYV 配列番号 1044     | 023-038 |
| MMP3  | SRKAFVFPKESDTSYVS 配列番号 1207    | 023-039 |
| MMP3  | RKAFVFPKESDTSYV 配列番号 1046      | 024-038 |
| MMP3  | RKAFVFPKESDTSYVS 配列番号 1047     | 024-039 |
| MMP3  | KAFVFPKE 配列番号 1048             | 025-032 |
| MMP3  | KAFVFPKESDTS 配列番号 1051         | 025-036 |
| MMP3  | KAFVFPKESDTSYVS 配列番号 1053      | 025-039 |
| MMP3  | KAFVFPKESDTSYVSL 配列番号 1208     | 025-040 |
| MMP3  | KAFVFPKESDTSYVSLK 配列番号 1209    | 025-041 |
| MMP3  | AFVFPKESDTSYVS 配列番号 1057       | 026-039 |
| MMP3  | AFVFPKESDTSYVSL 配列番号 1058      | 026-040 |
| MMP3  | AFVFPKESDTSYVSLKAP 配列番号 1210   | 026-043 |
| MMP3  | FVFPKESDTSYV 配列番号 1064         | 027-038 |
| MMP3  | FVFPKESDTSYVSLK 配列番号 1211      | 027-041 |
| MMP3  | VFPKESDTSYVSLK 配列番号 1212       | 028-041 |
| MMP3  | KESDTSYVSLKAP 配列番号 1213        | 031-043 |
| MMP3  | TKRQDNEILIFW 配列番号 1214         | 074-085 |
| MMP3  | IVEFWVDGKPRVRKS 配列番号 1215      | 124-138 |
| MMP3  | SLKKGTYVGAEA 配列番号 1099         | 138-149 |
| MMP3  | SLKKGTYVGAEAS 配列番号 1100        | 138-150 |
| MMP3  | LKKGTYVGAEA 配列番号 1105          | 139-149 |
| MMP3  | LKKGTYVGAEAS 配列番号 1106         | 139-150 |
| MMP3  | LKKGTYVGAEASI 配列番号 1107        | 139-151 |
| MMP3  | LKKGTYVGAEASII 配列番号 1216       | 139-152 |
| MMP3  | SIILGQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1110 | 150-169 |
| MMP3  | IILGQEQDSFGGN 配列番号 1192        | 151-163 |
| MMP3  | IILGQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1112  | 151-169 |
| MMP3  | ILGQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1115   | 152-169 |
| MMP3  | LGQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1117    | 153-169 |
| MMP3  | QEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1217      | 155-169 |
| MMP3  | SFGGNFEGSQS 配列番号 1119          | 159-169 |
| MMP3  | LVGDIGNVMWD 配列番号 1193          | 170-181 |
| MMP3  | FVLSPEINT 配列番号 1218            | 182-191 |
| MMP3  | YLGPFSPNVLN 配列番号 1124          | 193-204 |
| MMP3  | LKYEVQGEVFTKPQ 配列番号 1138       | 208-221 |

10

20

30

40

【表 27F】

|      |                                  |         |
|------|----------------------------------|---------|
| MMP3 | KYEVQGEVFTKPQ 配列番号 1141          | 209-221 |
| MMP3 | KYEVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1142       | 209-224 |
| MMP3 | YEVQGEVFTKPQ 配列番号 1144           | 210-221 |
| MMP3 | YEVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1145        | 210-224 |
| MMP3 | EVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1198         | 211-224 |
| MMP3 | VQGEVFTKPQLWP 配列番号 1147          | 212-224 |
| MMP3 | GEVFTKPQLWP 配列番号 1200            | 214-224 |
| MMP3 | EVFTKPQLWP 配列番号 1152             | 215-224 |
| MMP3 | SKDIGYSFTVGGSEI 配列番号 1219        | 86-100  |
| MMP8 | FGQTDMSR 配列番号 1034               | 017-024 |
| MMP8 | FGQTDMSRK 配列番号 1035              | 017-025 |
| MMP8 | FGQTDMSRKA 配列番号 1036             | 017-026 |
| MMP8 | FGQTDMSRKAF 配列番号 1037            | 017-027 |
| MMP8 | FGQTDMSRKAFV 配列番号 1220           | 017-028 |
| MMP8 | FGQTDMSRKAFVFPKESDTSYV 配列番号 1040 | 017-038 |
| MMP8 | MSRKAFVFPKESDTSYV 配列番号 1206      | 022-038 |
| MMP8 | SRKAFVFPKESDTSYV 配列番号 1044       | 023-038 |
| MMP8 | RKAFVFPKESDTSYV 配列番号 1046        | 024-038 |
| MMP8 | KAFVFPKESDT 配列番号 1050            | 025-035 |
| MMP8 | KAFVFPKESDTS 配列番号 1051           | 025-036 |
| MMP8 | KAFVFPKESDTSYV 配列番号 1052         | 025-038 |
| MMP8 | KAFVFPKESDTSYVS 配列番号 1053        | 025-039 |
| MMP8 | AFVFPKESDTSYV 配列番号 1056          | 026-038 |
| MMP8 | FVFPKESDTSYV 配列番号 1064           | 027-038 |
| MMP8 | VFPKESDTSYV 配列番号 1068            | 028-038 |
| MMP8 | FPKESDTSYV 配列番号 1221             | 029-038 |
| MMP8 | SLKAPL 配列番号 1222                 | 039-044 |
| MMP8 | SLKAPLTKP 配列番号 1074              | 039-047 |
| MMP8 | SLKAPLTKPLKA 配列番号 1223           | 039-050 |
| MMP8 | RGYSIFSVA 配列番号 1224              | 065-073 |
| MMP8 | FSYATKRQDNEILI 配列番号 1225         | 070-083 |
| MMP8 | SYATKRQDNEILI 配列番号 1083          | 071-083 |
| MMP8 | YATKRQDNEILI 配列番号 1085           | 072-083 |
| MMP8 | ATKRQDNEILI 配列番号 1226            | 073-083 |
| MMP8 | TKRQDNEILI 配列番号 1087             | 074-083 |
| MMP8 | TKRQDNEILIF 配列番号 1088            | 074-084 |
| MMP8 | FWSKDIGYS 配列番号 1227              | 084-092 |
| MMP8 | FWSKDIGYSFT 配列番号 1228            | 084-094 |
| MMP8 | FWSKDIGYSFTV 配列番号 1229           | 084-095 |
| MMP8 | WSKDIGYSFTV 配列番号 1230            | 085-095 |
| MMP8 | KSLKKGTVGAEA 配列番号 1231           | 137-149 |
| MMP8 | SLKKGTVGAEA 配列番号 1099            | 138-149 |
| MMP8 | LKKGTV 配列番号 1101                 | 139-145 |
| MMP8 | LKKGTVGAEA 配列番号 1105             | 139-149 |
| MMP8 | LKKGTVGAEAS 配列番号 1106            | 139-150 |
| MMP8 | KKGYTVGAEA 配列番号 1232             | 140-149 |
| MMP8 | GAEASILGQE 配列番号 1233             | 146-156 |
| MMP8 | GAEASILGQEOD 配列番号 1234           | 146-158 |
| MMP8 | SILGQEOD 配列番号 1235               | 150-158 |
| MMP8 | SILGQEODSFGGNFEQS 配列番号 1109      | 150-168 |
| MMP8 | SILGQEODSFGGNFEQSQS 配列番号 1110    | 150-169 |
| MMP8 | IILGQEODSFGGN 配列番号 1192          | 151-163 |

10

20

30

40

【表 27G】

|      |                               |         |
|------|-------------------------------|---------|
| MMP8 | ILGQEQDSFGGNFEGSQ 配列番号 1236   | 151-168 |
| MMP8 | ILGQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1112  | 151-169 |
| MMP8 | ILGQEQDSFGGN 配列番号 1113        | 152-163 |
| MMP8 | ILGQEQDSFGGNFEGS 配列番号 1237    | 152-167 |
| MMP8 | ILGQEQDSFGGNFEGSQ 配列番号 1114   | 152-168 |
| MMP8 | ILGQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1115  | 152-169 |
| MMP8 | LGQEQDSFGGN 配列番号 1238         | 153-163 |
| MMP8 | LGQEQDSFGGNFEGS 配列番号 1239     | 153-167 |
| MMP8 | LGQEQDSFGGNFEGSQ 配列番号 1116    | 153-168 |
| MMP8 | LGQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1117   | 153-169 |
| MMP8 | LGQEQDSFGGNFEGSQSL 配列番号 1240  | 153-170 |
| MMP8 | LGQEQDSFGGNFEGSQSLV 配列番号 1241 | 153-171 |
| MMP8 | QDSFGGNFEGSQS 配列番号 1242       | 157-169 |
| MMP8 | SFGGNFEGSQ 配列番号 1243          | 159-168 |
| MMP8 | SFGGNFEGSQS 配列番号 1119         | 159-169 |
| MMP8 | SFGGNFEGSQSLV 配列番号 1244       | 159-171 |
| MMP8 | LVGDIGNVMW 配列番号 1245          | 170-180 |
| MMP8 | INTIYLGGPFSPN 配列番号 1246       | 189-201 |
| MMP8 | TIYLGGPFSPN 配列番号 1247         | 191-201 |
| MMP8 | IYLGGPFSPN 配列番号 1194          | 192-201 |
| MMP8 | YLGPFSPNV 配列番号 1248           | 193-202 |
| MMP8 | YLGPFSPNVLN 配列番号 1124         | 193-204 |
| MMP8 | LGGPFSPNVLN 配列番号 1196         | 194-204 |
| MMP8 | VLNWRAL 配列番号 1249             | 202-207 |
| MMP8 | VLNWRAL 配列番号 1250             | 202-208 |
| MMP8 | VLNWRALK 配列番号 1251            | 202-209 |
| MMP8 | LNWRAL 配列番号 1128              | 203-208 |
| MMP8 | LNWRALK 配列番号 1129             | 203-209 |
| MMP8 | LNWRALKYEV 配列番号 1252          | 203-212 |
| MMP8 | NWRAL 配列番号 1253               | 204-208 |
| MMP8 | NWRALKY 配列番号 1254             | 204-210 |
| MMP8 | NWRALKYEV 配列番号 1255           | 204-212 |
| MMP8 | NWRALKYEVQ 配列番号 1256          | 204-213 |
| MMP8 | WRALKYEV 配列番号 1130            | 205-211 |
| MMP8 | WRALKYEVQ 配列番号 1257           | 205-213 |
| MMP8 | WRALKYEVQGE 配列番号 1132         | 205-215 |
| MMP8 | RALKYEV 配列番号 1258             | 206-212 |
| MMP8 | RALKYEVQ 配列番号 1259            | 206-213 |
| MMP8 | RALKYEVQGE 配列番号 1260          | 206-215 |
| MMP8 | ALKYEV 配列番号 1133              | 207-212 |
| MMP8 | ALKYEVQGEVFTKPQ 配列番号 1261     | 207-221 |
| MMP8 | LKYEVQGE 配列番号 1136            | 208-215 |
| MMP8 | LKYEVQGEVFTKPQ 配列番号 1138      | 208-221 |
| MMP8 | KYEVQGEVFTKPQ 配列番号 1141       | 209-221 |
| MMP8 | KYEVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1142    | 209-224 |
| MMP8 | YEVQGEVFTKPQ 配列番号 1144        | 210-221 |
| MMP8 | YEVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1145     | 210-224 |
| MMP8 | EVQGEVFTKPQ 配列番号 1262         | 211-221 |
| MMP8 | EVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1198      | 211-224 |
| MMP8 | VQGEVFTKPQ 配列番号 1146          | 212-221 |
| MMP8 | VQGEVFTKPQLWP 配列番号 1147       | 212-224 |
| MMP8 | QGEVFTKPQ 配列番号 1148           | 213-221 |

10

20

30

40

【表 27H】

|          |                              |         |
|----------|------------------------------|---------|
| MMP8     | QGEVFTKPQL 配列番号 1263         | 213-222 |
| MMP8     | QGEVFTKPQLWP 配列番号 1264       | 213-224 |
| MMP8     | GEVFTKPQ 配列番号 1150           | 214-221 |
| MMP8     | GEVFTKPQLWP 配列番号 1200        | 214-224 |
| MMP8     | VFTKPQ 配列番号 1153             | 216-221 |
| MMP8     | VFTKPQLWP 配列番号 1203          | 216-224 |
| MMP8     | FTKPQLWP 配列番号 1155           | 217-224 |
| MMP8     | TKPQLWP 配列番号 1156            | 218-224 |
| ADAMTS-1 | ESDTSYVSLK 配列番号 1265         | 032-041 |
| ADAMTS-1 | QEQDSFGGNFEGSQ 配列番号 1266     | 155-168 |
| ADAMTS-1 | QEQDSFGGNFEGSQSLVG 配列番号 1267 | 155-172 |
| ADAMTS-1 | GNFEGSQSLVG 配列番号 1268        | 162-172 |
| ADAMTS-1 | YEVQGEVFT 配列番号 1269          | 210-218 |
| ADAMTS-1 | YEVQGEVFTKPQ 配列番号 1144       | 210-221 |
| ADAMTS-1 | GEVFTKPQ 配列番号 1150           | 214-221 |
| ADAMTS-8 | VFPKESDTSYVS 配列番号 1069       | 028-039 |
| ADAMTS-8 | QEQDSFGGNFEGSQSLVG 配列番号 1267 | 155-172 |
| ADAMTS-8 | EINTIYL 配列番号 1270            | 188-194 |
| ADAMTS-8 | KYEVQ 配列番号 1271              | 209-213 |
| ADAMTS-8 | KYEVQGE 配列番号 1140            | 209-215 |
| Cat K    | FGQTDMSR 配列番号 1034           | 017-024 |
| Cat K    | AFVFPK 配列番号 1033             | 026-031 |
| Cat K    | FVFPK 配列番号 1059              | 027-031 |
| Cat K    | ESDTSYVSLK 配列番号 1265         | 032-041 |
| Cat K    | ESDTSYVSLKAPLT 配列番号 1272     | 032-045 |
| Cat K    | SDTSYVSLK 配列番号 1273          | 033-041 |
| Cat K    | DTSYVSLK 配列番号 1274           | 034-041 |
| Cat K    | STRGYS 配列番号 1080             | 063-068 |
| Cat K    | IFWSKDIG 配列番号 1275           | 083-090 |
| Cat K    | KGYTVGAE 配列番号 1276           | 141-148 |
| Cat K    | AEASIIILGQEQDSFG 配列番号 1277   | 147-161 |
| Cat K    | LGQEQDSFG 配列番号 1278          | 153-161 |
| Cat K    | LGQEQDSFGGNFE 配列番号 1279      | 153-165 |
| Cat K    | GQEQDSFG 配列番号 1280           | 154-161 |
| Cat K    | GQEQDSFGGNFE 配列番号 1281       | 154-165 |
| Cat K    | GQEQDSFGGNFEGSQ 配列番号 1282    | 154-168 |
| Cat K    | GQEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1118   | 154-169 |
| Cat K    | QEQDSFGGN 配列番号 1283          | 155-163 |
| Cat K    | QEQDSFGGNFE 配列番号 1284        | 155-165 |
| Cat K    | QEQDSFGGNFEG 配列番号 1285       | 155-166 |
| Cat K    | QEQDSFGGNFEGS 配列番号 1286      | 155-167 |
| Cat K    | QEQDSFGGNFEGSQ 配列番号 1266     | 155-168 |
| Cat K    | QEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1217    | 155-169 |
| Cat K    | GNFEGSQSLV 配列番号 1287         | 162-171 |
| Cat K    | GNFEGSQSLVG 配列番号 1268        | 162-172 |
| Cat K    | GNFEGSQSLVGDIG 配列番号 1288     | 162-175 |
| Cat K    | GSQSLVGDIG 配列番号 1289         | 166-175 |
| Cat K    | GSQSLVGDIGNVN 配列番号 1290      | 166-178 |
| Cat K    | DFVLSPEIN 配列番号 1291          | 181-190 |
| Cat K    | FVLSPEINT 配列番号 1218          | 182-191 |
| Cat K    | VLSPEINT 配列番号 1291           | 183-191 |
| Cat K    | GPFSPNVLN 配列番号 1292          | 196-204 |

10

20

30

40

【表 27 I】

|       |                              |         |
|-------|------------------------------|---------|
| Cat K | SPNVLNWR 配列番号 1293           | 199-206 |
| Cat K | KYEVQG 配列番号 1294             | 209-214 |
| Cat K | YEVQGEVFT 配列番号 1269          | 210-218 |
| Cat K | YEVQGEVFTKPQ 配列番号 1144       | 210-221 |
| Cat K | VQGEVFTKPQ 配列番号 1146         | 212-221 |
| Cat K | GEVFTKPQ 配列番号 1150           | 214-221 |
| Cat K | EVFTKPQ 配列番号 1151            | 215-221 |
| Cat S | FGQDMSR 配列番号 1034            | 017-024 |
| Cat S | AFVFPKESDTSYVS 配列番号 1057     | 026-039 |
| Cat S | FVFPKESDTSYVS 配列番号 1065      | 027-039 |
| Cat S | VFPKESDTSYVS 配列番号 1069       | 028-039 |
| Cat S | FPKESDTSYVS 配列番号 1071        | 029-039 |
| Cat S | ESDTSYVSLK 配列番号 1265         | 032-041 |
| Cat S | TSWESASGIVE 配列番号 1295        | 116-126 |
| Cat S | KGYTVG 配列番号 1296             | 141-146 |
| Cat S | QEQDSFGGNFE 配列番号 1284        | 155-165 |
| Cat S | QEQDSFGGNFEG 配列番号 1285       | 155-166 |
| Cat S | QEQDSFGGNFEGSQ 配列番号 1266     | 155-168 |
| Cat S | QEQDSFGGNFEGSQS 配列番号 1217    | 155-169 |
| Cat S | QEQDSFGGNFEGSQSLV 配列番号 1297  | 155-171 |
| Cat S | QEQDSFGGNFEGSQSLVG 配列番号 1267 | 155-172 |
| Cat S | SFGGNFEGSQSLVG 配列番号 1298     | 159-172 |
| Cat S | GNFEGSQSLVG 配列番号 1268        | 162-172 |
| Cat S | GNFEGSQSLVGDIG 配列番号 1288     | 162-175 |
| Cat S | SPDEINTIYL 配列番号 1299         | 185-194 |
| Cat S | SPDEINTIYLG 配列番号 1300        | 185-195 |
| Cat S | LGGPFSPNVLN 配列番号 1196        | 194-204 |
| Cat S | GGPFSPNVLN 配列番号 1301         | 195-204 |
| Cat S | GPFSPNVLN 配列番号 1292          | 196-204 |
| Cat S | ALKYE 配列番号 1302              | 207-211 |
| Cat S | ALKYEVQ 配列番号 1303            | 207-213 |
| Cat S | YEVQGEVF 配列番号 1304           | 210-217 |
| Cat S | YEVQGEVFT 配列番号 1269          | 210-218 |
| Cat S | YEVQGEVFTKPQ 配列番号 1144       | 210-221 |
| Cat S | YEVQGEVFTKPQLWP 配列番号 1145    | 210-224 |
| Cat S | VQGEVFTKPQLWP 配列番号 1147      | 212-224 |
| Cat S | GEVFTKPQ 配列番号 1150           | 214-221 |
| Cat S | GEVFTKPQLWP 配列番号 1200        | 214-224 |
| Cat S | EVFTKPQLWP 配列番号 1152         | 215-224 |
| Cat S | TKPQLWP 配列番号 1156            | 218-224 |
| Cat S | KPQLWP 配列番号 1157             | 219-224 |

\* CRPの配列中の番号

## 【0100】

従って、本発明の方法では、前記ペプチド断片は、好ましくは、表 20 中の CRP の上記部分配列のいずれか 1 つの \* 記号で示される部位での、または表 21 中の CRP の任意の部分配列のいずれかの末端での、プロテアーゼによる CRP の切断によって形成されるネオエピトープを含む。

## 【0101】

免疫学的結合パートナーは、CRP の切断によって形成される C 末端または N 末端ネオエピトープと特異的に反応するものであり得る。

## 【0102】

10

20

30

40

50

適切な免疫学的結合パートナーは、従って、ペプチドのN末端の以下の配列のいずれかと、またはペプチドのC末端の以下の配列のいずれかと特異的に反応性であり得る：

【 0 1 0 3 】

【 表 2 8 】

表 2 2 . プロテアーゼによって生成されるCRPのペプチド断片のN末端配列

| CRP               |                  |                  |
|-------------------|------------------|------------------|
| AFVFPK 配列番号 1033  | SFGGNF 配列番号 1305 | FGQTM 配列番号 1306  |
| VSLKAP 配列番号 1172  | KAFVFP 配列番号 1167 | EVFTKP 配列番号 1201 |
| TDMSRK 配列番号 1307  | MSRKAF 配列番号 1308 | SRKAFV 配列番号 1309 |
| VFPKES 配列番号 1310  | FPKESD 配列番号 1311 | KESDTS 配列番号 1312 |
| LSSTRG 配列番号 1313  | SSTRGY 配列番号 1314 | STRGYS 配列番号 1080 |
| KRQDNE 配列番号 1315  | WSKDIG 配列番号 1316 | SKDIGY 配列番号 1317 |
| SIILGQ 配列番号 1318  | IILGQE 配列番号 1319 | ILGQEQ 配列番号 1320 |
| IYLGGP 配列番号 1321  | YLGGP 配列番号 1322  | LGGPFS 配列番号 1323 |
| ALKYEV 配列番号 1133  | KYEVQG 配列番号 1294 | VQGEVF 配列番号 1324 |
| KPQLWP 配列番号 1157  | YTELSS 配列番号 1325 | ILIFWS 配列番号 1326 |
| LVGDIG 配列番号 1327  | QEQDSF 配列番号 1328 | RGYSIF 配列番号 1329 |
| GAEASI 配列番号 1330  | QDSFGG 配列番号 1331 | TIYLG 配列番号 1332  |
| EINTIY 配列番号 1333  | DTSYVS 配列番号 1334 | AEASII 配列番号 1335 |
| TSWESA 配列番号 1336  | SPDEIN 配列番号 1337 | GGPFSP 配列番号 1338 |
| YEVQGE 配列番号 1339  | FVLSPD 配列番号 1340 | LKKGYT 配列番号 1341 |
| RKAFVF 配列番号 1342  | IVEFWV 配列番号 1343 | ESDTSY 配列番号 1344 |
| TKPQLW 配列番号 1345  | EVQGEV 配列番号 1346 | FVFPK 配列番号 1059  |
| SDTSYV 配列番号 1347  | SLKAPL 配列番号 1222 | LKAPLT 配列番号 1173 |
| IFSYAT 配列番号 1348  | SYATKR 配列番号 1349 | YATKRQ 配列番号 1350 |
| EFWVDG 配列番号 1351  | WVDGKP 配列番号 1352 | VDGKPR 配列番号 1353 |
| LGQEQD 配列番号 1354  | GQEQDS 配列番号 1355 | QSLVGD 配列番号 1356 |
| SPNVLN 配列番号 1357  | LNWRA 配列番号 1127  | LNWRAL 配列番号 1128 |
| QGEVFT 配列番号 1358  | GEVFTK 配列番号 1359 | VFTKPQ 配列番号 1153 |
| IFWSKD 配列番号 1181  | VRKSLK 配列番号 1205 | KKGYTV 配列番号 1360 |
| FSYATK 配列番号 1361  | ATKRQD 配列番号 1362 | FWSKDI 配列番号 1363 |
| VLNWRAL 配列番号 1249 | NWRAL 配列番号 1253  | NWRALK 配列番号 1364 |
| GSQSLV 配列番号 1365  | DFVLSP 配列番号 1366 | VLSPDE 配列番号 1367 |
| LKYEVQ 配列番号 1134  | TKRQDN 配列番号 1368 | KGYTVG 配列番号 1296 |
| GNFEQS 配列番号 1369  | SLKKG 配列番号 1370  | KSLKKG 配列番号 1371 |
| FVFPKE 配列番号 1060  | INTIYL 配列番号 1372 | RALKYE 配列番号 1373 |
| FYTELS 配列番号 1374  | WRALKY 配列番号 1375 | GPFSN 配列番号 1376  |

10

20

30

【 0 1 0 4 】

## 【表 2 9】

表 2 3. プロテアーゼによって生成されるCRPのペプチド断片のC末端配列

| CRP              |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| AFVFPK 配列番号 1033 | KPQLWP 配列番号 1157 | PDEINT 配列番号 1377 |
| SPDEIN 配列番号 1337 | DSFGGN 配列番号 1378 | VFTKPQ 配列番号 1153 |
| KESDTS 配列番号 1312 | SDTSYV 配列番号 1347 | DTSYVS 配列番号 1334 |
| LTKPLK 配列番号 1379 | STRGYS 配列番号 1080 | YATKRQ 配列番号 1350 |
| KDIGYS 配列番号 1380 | DGKPRV 配列番号 1381 | VDGKPR 配列番号 1353 |
| GAEASI 配列番号 1330 | QGEVFT 配列番号 1358 | NFEGSQ 配列番号 1382 |
| SPNVLN 配列番号 1357 | GPFSPN 配列番号 1376 | RALKYE 配列番号 1373 |
| ALKYEV 配列番号 1133 | YEVQGE 配列番号 1339 | LKYEVS 配列番号 1134 |
| KAFVFP 配列番号 1167 | VSLKAP 配列番号 1172 | LKAPLT 配列番号 1173 |
| LKKGYT 配列番号 1341 | LGQEQD 配列番号 1354 | NVNMWD 配列番号 1383 |
| PRVRKS 配列番号 1384 | TVGSEI 配列番号 1385 | SRKAFV 配列番号 1309 |
| GYSFTV 配列番号 1386 | IILGQE 配列番号 1319 | EGSQSL 配列番号 1387 |
| INTIYL 配列番号 1372 | WSKDIG 配列番号 1316 | EQDSFG 配列番号 1388 |
| NVLNWR 配列番号 1389 | ASGIVE 配列番号 1390 | NTIYLG 配列番号 1391 |
| VGAEAS 配列番号 1392 | APLTKP 配列番号 1393 | FVFPKE 配列番号 1060 |
| QDMSR 配列番号 1394  | TDMSRK 配列番号 1307 | MSRKAF 配列番号 1308 |
| PKESDT 配列番号 1395 | TSYVSL 配列番号 1396 | ESDTSY 配列番号 1344 |
| DNEILI 配列番号 1397 | QDNEIL 配列番号 1398 | NEILIF 配列番号 1399 |
| YTVGAE 配列番号 1400 | TVGAEA 配列番号 1401 | PFSPNV 配列番号 1402 |
| FEGSQS 配列番号 1403 | GNFEGS 配列番号 1369 | DIGNVN 配列番号 1404 |
| LNWRA 配列番号 1127  | LNWRAL 配列番号 1128 | NWRALK 配列番号 1364 |
| KYEVQG 配列番号 1294 | EVFTKP 配列番号 1201 | VFTKPQ 配列番号 1153 |
| KRQDNE 配列番号 1315 | RQDNEI 配列番号 1405 | IFWSKD 配列番号 1181 |
| FTKPQL 配列番号 1406 | VRKSLK 配列番号 1205 | SYVSLK 配列番号 1407 |
| SLKAPL 配列番号 1222 | TKPLKA 配列番号 1408 | SIFSVA 配列番号 1409 |
| GSQSLV 配列番号 1365 | GNVNMW 配列番号 1410 | SQSLVG 配列番号 1411 |
| FGGNFE 配列番号 1412 | GGNFEG 配列番号 1413 | LVGDIG 配列番号 1327 |
| VQGEVF 配列番号 1324 | GKPRVR 配列番号 1414 | FWSKDI 配列番号 1363 |
| DMSRKA 配列番号 1415 | EILIFW 配列番号 1416 | KKGYTV 配列番号 1360 |
| FPKESD 配列番号 1311 | IGYSFT 配列番号 1417 |                  |

10

20

30

## 【 0 1 0 5 】

## エラスチン

いくつかの候補プロテアーゼは、線維性組織中のエラスチンの消化に関与し得る。本発明者らは、純粋な天然タンパク質の様々なインビトロ切断を通して、以下の表に列挙する酵素が、少なくとも以下の配列の各末端の切断部位で、または「 . 」で示す切断部位で、または「 . 」が示されていない場合は配列の末端でエラスチンを切断すると判定した。

## 【 0 1 0 6 】

【表 3 0 A】

表 2 4 : 特異的プロテアーゼによって生成されるエラスチン断片

| プロテアーゼ  | 切断部位の間の配列                                   | 番号*     |
|---------|---|---------|
| MMP9+12 | GVPGAIPGGVPG 配列番号 1418                      | 028-039 |
| MMP9+12 | AIPGGVPGGVFYPGAGLG 配列番号 1419                | 032-049 |
| MMP9+12 | AIPGGVPGGVFYPGAGLGA 配列番号 1420               | 032-050 |
| MMP9+12 | GVPGGVFYPGAGLGA 配列番号 1421                   | 036-050 |
| MMP9+12 | GVPGGVFYPGAGLGALG 配列番号 1422                 | 036-052 |
| MMP9+12 | VPGGVFYPGAGLGALGG 配列番号 1423                 | 037-053 |
| MMP9+12 | GVFYPGAGLGALGGGALGPGG 配列番号 1424             | 040-060 |
| MMP9+12 | VFYPGAGLG 配列番号 1425                         | 041-049 |
| MMP9+12 | VFYPGAGLGA 配列番号 1426                        | 041-050 |
| MMP9+12 | VFYPGAGLGAL 配列番号 1427                       | 041-051 |
| MMP9+12 | VFYPGAGLGALG 配列番号 1428                      | 041-052 |
| MMP9+12 | VFYPGAGLGALGG 配列番号 1429                     | 041-053 |
| MMP9+12 | VFYPGAGLGALGGG 配列番号 1430                    | 041-054 |
| MMP9+12 | VFYPGAGLGALGGGAL 配列番号 1431                  | 041-056 |
| MMP9+12 | VFYPGAGLGALGGGALG 配列番号 1432                 | 041-057 |
| MMP9+12 | VFYPGAGLGALGGGALGPG 配列番号 1433               | 041-059 |
| MMP9+12 | VFYPGAGLGALGGGALGPGG 配列番号 1434              | 041-060 |
| MMP9+12 | VFYPGAGLGALGGGALGPGGKPLKPVPGG 配列番号 1435     | 041-069 |
| MMP9+12 | LGALGGGALGPGGKPLKPVPGG 配列番号 1436            | 048-069 |
| MMP9+12 | ALGGGALGPGGKPLKPVPGG 配列番号 1437              | 050-069 |
| MMP9+12 | LGGGALGPGGKPLKPVPG 配列番号 1438                | 051-068 |
| MMP9+12 | LGGGALGPGGKPLKPVPGG 配列番号 1439               | 051-069 |
| MMP9+12 | GGALGPGGKPLKPVPGG 配列番号 1440                 | 053-069 |
| MMP9+12 | LGPGGKPLKPVPGG 配列番号 1441                    | 056-069 |
| MMP9+12 | GPGGKPLKPVPGG 配列番号 1442                     | 057-069 |
| MMP9+12 | PGGKPLKPVPGG 配列番号 1443                      | 058-069 |
| MMP9+12 | GKPLKPVPGG 配列番号 1444                        | 060-069 |
| MMP9+12 | PLKPVPGG 配列番号 1445                          | 062-069 |
| MMP9+12 | LKPVPGG 配列番号 配列番号 1446                      | 063-069 |
| MMP9+12 | GLAGAGLGAGLGAFP 配列番号 1447                   | 069-083 |
| MMP9+12 | GLAGAGLGAGLGAFPA 配列番号 1448                  | 069-084 |
| MMP9+12 | LAGAGLGAGLG 配列番号 1449                       | 070-080 |
| MMP9+12 | LAGAGLGAGLGAFP 配列番号 1450                    | 070-083 |
| MMP9+12 | LAGAGLGAGLGAFPA 配列番号 1451                   | 070-084 |
| MMP9+12 | LAGAGLGAGLGAFPAVT 配列番号 1452                 | 070-086 |
| MMP9+12 | LAGAGLGAGLGAFPAVTFPG 配列番号 1453              | 070-089 |
| MMP9+12 | LAGAGLGAGLGAFPAVTFPGA 配列番号 1454             | 070-090 |
| MMP9+12 | LAGAGLGAGLGAFPAVTFPGALVPGG 配列番号 1455        | 070-095 |
| MMP9+12 | LAGAGLGAGLGAFPAVTFPGALVPGGVA 配列番号 1456      | 070-097 |
| MMP9+12 | LAGAGLGAGLGAFPAVTFPGALVPGGVADAAAA 配列番号 1457 | 070-102 |

10

20

30

40

【表 3 0 B】

|         |  |         |
|---------|--|---------|
| MMP9+12 | AGAGLGAGLGAFPAVTFPGALVPGG 配列番号 1458    | 071-095 |
| MMP9+12 | GAGLGAGLGAFPA 配列番号 1459                | 072-084 |
| MMP9+12 | GAGLGAGLGAFPAVTFPGA 配列番号 1460          | 072-090 |
| MMP9+12 | AGLGAGLGAFPA 配列番号 1461                 | 073-084 |
| MMP9+12 | GLGAGLGAFPA 配列番号 1462                  | 074-084 |
| MMP9+12 | LGAGLGAFPA 配列番号 1463                   | 075-084 |
| MMP9+12 | LGAGLGAFPAVTFPGA 配列番号 1464             | 075-090 |
| MMP9+12 | LGAGLGAFPAVTFPGALVPGG 配列番号 1465        | 075-095 |
| MMP9+12 | LGAGLGAFPAVTFPGALVPGGVADAAAA 配列番号 1466 | 075-102 |
| MMP9+12 | AGLGAFPAVTFPG 配列番号 1467                | 077-089 |
| MMP9+12 | LGAFPAVTFPGA 配列番号 1468                 | 079-090 |
| MMP9+12 | LGAFPAVTFPGALVPGGVA 配列番号 1469          | 079-097 |
| MMP9+12 | LGAFPAVTFPGALVPGGVADAAAA 配列番号 1470     | 079-102 |
| MMP9+12 | AFPAVTFPGALVPGG 配列番号 1471              | 081-095 |
| MMP9+12 | AVTFPGALVPGG 配列番号 1472                 | 084-095 |
| MMP9+12 | AVTFPGALVPGGVADAAAA 配列番号 1473          | 084-102 |
| MMP9+12 | VTFPGALVPGG 配列番号 1474                  | 085-095 |
| MMP9+12 | VTFPGALVPGGVADAAAA 配列番号 1475           | 085-102 |
| MMP9+12 | LVPGGVADAAAA 配列番号 1476                 | 091-102 |
| MMP9+12 | LVPGGVADAAAAYK 配列番号 1477               | 091-104 |
| MMP9+12 | VADAAAAYK 配列番号 1478                    | 096-104 |
| MMP9+12 | KAAGAGA 配列番号 1479                      | 104-110 |
| MMP9+12 | LGVSAGAVVPQPGA 配列番号 1480               | 121-134 |
| MMP9+12 | VPVGLPGVYVPGVLPGAR 配列番号 1481           | 141-159 |
| MMP9+12 | PGVGLPGVYVPGVLPGAR 配列番号 1482           | 142-159 |
| MMP9+12 | GLPGVYVPGVLPGAR 配列番号 1483              | 145-159 |
| MMP9+12 | PGVYVPGVLPGAR 配列番号 1484                | 147-159 |
| MMP9+12 | ARFPGVG 配列番号 1485                      | 158-164 |
| MMP9+12 | ARFPGVGLPG 配列番号 1486                   | 158-168 |
| MMP9+12 | RFPVGLPGVPTGAG 配列番号 1487               | 159-174 |
| MMP9+12 | FPGVGLPGVPTG 配列番号 1488                 | 160-172 |
| MMP9+12 | FPGVGLPGVPTGA 配列番号 1489                | 160-173 |
| MMP9+12 | FPGVGLPGVPTGAGV 配列番号 1490              | 160-175 |
| MMP9+12 | FPGVGLPGVPTGAGVKKP 配列番号 1491           | 160-178 |
| MMP9+12 | KPKAPGV 配列番号 1492                      | 176-182 |
| MMP9+12 | PKAPGV 配列番号 1493                       | 177-182 |
| MMP9+12 | GAFAGIPGVGPF 配列番号 1494                 | 184-196 |
| MMP9+12 | VGPFGGPPGVPLGYP 配列番号 1495              | 192-207 |
| MMP9+12 | GPQGVPLGYP 配列番号 1496                   | 197-207 |
| MMP9+12 | PQGVPLGYP 配列番号 1497                    | 198-207 |
| MMP9+12 | PGVPLGYP 配列番号 1498                     | 200-207 |
| MMP9+12 | GYPIKAPK 配列番号 1499                     | 205-212 |
| MMP9+12 | PKLPGGY 配列番号 1500                      | 211-217 |
| MMP9+12 | YTTGKLPYGYGPG 配列番号 1501                | 221-233 |
| MMP9+12 | YTTGKLPYGYGPGVAGAAGK 配列番号 1502         | 221-241 |
| MMP9+12 | TTGKLPYGYG 配列番号 1503                   | 222-231 |

10

20

30

40

【表 30C】

|         |  |         |
|---------|--|---------|
| MMP9+12 | TTGKLPYGYGPGGVAGAAGK 配列番号 1504                   | 222-241 |
| MMP9+12 | LPYGYGPGGVAGAAGK 配列番号 1505                       | 226-241 |
| MMP9+12 | GYGPGGVAGAAGK 配列番号 1506                          | 229-241 |
| MMP9+12 | YGPGGVAGAAGK 配列番号 1507                           | 230-241 |
| MMP9+12 | AGYPTGTGVPQAAAAAAAAAK 配列番号 1508                  | 242-261 |
| MMP9+12 | TGVGPQAAAAAAAAAK 配列番号 1509                       | 248-261 |
| MMP9+12 | PQAAAAAAAAAK 配列番号 1510                           | 252-261 |
| MMP9+12 | FGAGAAGVLPVGGAGVPGVPGAIPGIGG 配列番号 1511           | 266-294 |
| MMP9+12 | FGAGAAGVLPVGGAGVPGVPGAIPGIGG IAGVGTAAA 配列番号 1512 | 266-303 |
| MMP9+12 | GVLPVGGAGVPGVPG 配列番号 1513                        | 272-287 |
| MMP9+12 | VLPVGGAGVPGVPGAIPGIGG 配列番号 1514                  | 273-294 |
| MMP9+12 | VLPVGGAGVPGVPGAIPGIGG IAGVGTAAA 配列番号 1515        | 273-302 |
| MMP9+12 | VLPVGGAGVPGVPGAIPGIGG IAGVGTAAA 配列番号 1516        | 273-303 |
| MMP9+12 | GAGVPGVPGAIPG 配列番号 1517                          | 279-291 |
| MMP9+12 | GAGVPGVPGAIPGIGG IAGVG 配列番号 1518                 | 279-299 |
| MMP9+12 | AGVPGVPGAIPGIG 配列番号 1519                         | 280-293 |
| MMP9+12 | AGVPGVPGAIPGIGG 配列番号 1520                        | 280-294 |
| MMP9+12 | AGVPGVPGAIPGIGG IAG 配列番号 1521                    | 280-297 |
| MMP9+12 | AGVPGVPGAIPGIGG IAGVGTAAA 配列番号 1522              | 280-302 |
| MMP9+12 | GVPGVPGAIPGIGG 配列番号 1523                         | 281-294 |
| MMP9+12 | GVPGVPGAIPGIGG IAG 配列番号 1524                     | 281-296 |
| MMP9+12 | GVPGVPGAIPGIGG IAGVG 配列番号 1525                   | 281-299 |
| MMP9+12 | VPGVPGAIPGIGG 配列番号 1526                          | 282-294 |
| MMP9+12 | GVPGAIPGIGG IAGVGTAAA 配列番号 1527                  | 284-302 |
| MMP9+12 | VPGAIPGIGG IAGVG 配列番号 1528                       | 285-299 |
| MMP9+12 | VPGAIPGIGG IAGVGTAAA 配列番号 1529                   | 285-302 |
| MMP9+12 | VPGAIPGIGG IAGVGTAAAA 配列番号 1530                  | 285-304 |
| MMP9+12 | VPGAIPGIGG IAGVGTAAAAA AAK 配列番号 1531             | 285-312 |
| MMP9+12 | AIPGIGG IAGVG 配列番号 1532                          | 288-299 |
| MMP9+12 | AIPGIGG IAGVGTAAA 配列番号 1533                      | 288-302 |
| MMP9+12 | AIPGIGG IAGVGTAAA 配列番号 1534                      | 288-303 |
| MMP9+12 | AIPGIGG IAGVGTAAAA 配列番号 1535                     | 288-304 |
| MMP9+12 | AIPGIGG IAGVGTAAAAA 配列番号 1536                    | 288-307 |
| MMP9+12 | AIPGIGG IAGVGTAAAAA AAK 配列番号 1537                | 288-312 |
| MMP9+12 | IPGIGG IAGVGTAAAA 配列番号 1538                      | 289-304 |
| MMP9+12 | IGG IAGVGTAAAA 配列番号 1539                         | 292-305 |
| MMP9+12 | GIAGVGTAAAA 配列番号 1540                            | 294-305 |
| MMP9+12 | GIAGVGTAAAAA 配列番号 1541                           | 294-309 |
| MMP9+12 | GIAGVGTAAAAA AAK 配列番号 1542                       | 294-312 |
| MMP9+12 | IAGVGTAAAAA 配列番号 1543                            | 295-309 |
| MMP9+12 | IAGVGTAAAAA 配列番号 1544                            | 295-310 |
| MMP9+12 | IAGVGTAAAAA AAK 配列番号 1545                        | 295-312 |
| MMP9+12 | TPAAAAA AAK 配列番号 1546                            | 300-312 |
| MMP9+12 | PAAAAAA AAK 配列番号 1547                            | 301-312 |
| MMP9+12 | AAAAA AAK 配列番号 1548                              | 302-312 |
| MMP9+12 | AAAAA AAK 配列番号 1549                              | 303-312 |

10

20

30

40

【表 3 0 D】

|         |  |         |
|---------|--|---------|
| MMP9+12 | AAAAAAAK 配列番号 1550                             | 304-312 |
| MMP9+12 | AAAAAAAKA 配列番号 1551                            | 304-313 |
| MMP9+12 | AAAAAAAK 配列番号 1552                             | 305-312 |
| MMP9+12 | LVPGGPGFGPGVVGVPGA 配列番号 1553                   | 322-339 |
| MMP9+12 | GPFGPGVVGVPG 配列番号 1554                         | 326-338 |
| MMP9+12 | GPFGPGVVGVPGAGVPGVG 配列番号 1555                  | 326-345 |
| MMP9+12 | GPFGPGVVGVPGAGVPGVGAGIPVVPG 配列番号 1556          | 326-356 |
| MMP9+12 | PGFGPGVVGVPG 配列番号 1557                         | 327-338 |
| MMP9+12 | PGFGPGVVGVPGA 配列番号 1558                        | 327-339 |
| MMP9+12 | PGFGPGVVGVPGAG 配列番号 1559                       | 327-340 |
| MMP9+12 | PGVVGVPGAGVPG 配列番号 1560                        | 331-343 |
| MMP9+12 | PGVVGVPGAGVPGVPG 配列番号 1561                     | 331-348 |
| MMP9+12 | PGVVGVPGAGVPGVPGAGIPVPGA 配列番号 1562             | 331-357 |
| MMP9+12 | VVGVPGAGVPGVPGA 配列番号 1563                      | 333-349 |
| MMP9+12 | VGVPGAGVPGVPGAGIPVVPGAGIPGAAPGVVSPEA 配列番号 1564 | 334-372 |
| MMP9+12 | AGVPGVPGAGIPVVPG 配列番号 1565                     | 339-356 |
| MMP9+12 | GVPGVPGAGIPVVPG 配列番号 1566                      | 340-356 |
| MMP9+12 | GVPGVPGAGIPVPGA 配列番号 1567                      | 340-357 |
| MMP9+12 | VPGVPGAGIPVVPG 配列番号 1568                       | 341-356 |
| MMP9+12 | VGVPGAGIPVVPG 配列番号 1569                        | 344-356 |
| MMP9+12 | VGVPGAGIPVVPGAGIPG 配列番号 1570                   | 344-361 |
| MMP9+12 | VPGAGIPVVPG 配列番号 1571                          | 346-356 |
| MMP9+12 | AGIPVVPGAGIPG 配列番号 1572                        | 349-361 |
| MMP9+12 | AGIPVVPGAGIPGAAPGVVSPEAAK 配列番号 1573            | 349-375 |
| MMP9+12 | GIPVVPGAGIPG 配列番号 1574                         | 350-361 |
| MMP9+12 | IPGAAPGVVSPEAAK 配列番号 1575                      | 359-375 |
| MMP9+12 | GAAPGVVSPEAAK 配列番号 1576                        | 361-375 |
| MMP9+12 | AVPGVVSPEAAK 配列番号 1577                         | 363-375 |
| MMP9+12 | VPGVVSPEAAK 配列番号 1578                          | 364-375 |
| MMP9+12 | YGARPGVG 配列番号 1579                             | 383-390 |
| MMP9+12 | YGARPGVVG 配列番号 1580                            | 383-392 |
| MMP9+12 | YGARPGVVGGIPT 配列番号 1581                        | 383-396 |
| MMP9+12 | YGARPGVVGGIPTY 配列番号 1582                       | 383-397 |
| MMP9+12 | YGARPGVVGGIPTYG 配列番号 1583                      | 383-398 |
| MMP9+12 | YGARPGVVGGIPTYGVG 配列番号 1584                    | 383-400 |
| MMP9+12 | YGARPGVVGGIPTYGVGA 配列番号 1585                   | 383-401 |
| MMP9+12 | YGARPGVVGGIPTYGVGAG 配列番号 1586                  | 383-402 |
| MMP9+12 | GARPGVG 配列番号 1587                              | 384-391 |
| MMP9+12 | GARPGVGG 配列番号 1588                             | 384-393 |
| MMP9+12 | GARPGVGGIP 配列番号 1589                           | 384-395 |
| MMP9+12 | GARPGVVGGIPTY 配列番号 1590                        | 384-397 |
| MMP9+12 | GARPGVVGGIPTYGV 配列番号 1591                      | 384-399 |
| MMP9+12 | GARPGVVGGIPTYGVG 配列番号 1592                     | 384-400 |
| MMP9+12 | GARPGVVGGIPTYGVGAGGF 配列番号 1593                 | 384-404 |
| MMP9+12 | GARPGVVGGIPTYGVGAGGFPGF 配列番号 1594              | 384-407 |
| MMP9+12 | GARPGVVGGIPTYGVGAGGFPGFG 配列番号 1595             | 384-408 |

10

20

30

40

【表 3 0 E】

|         |  |         |
|---------|--|---------|
| MMP9+12 | GARPGVGVGGIPTYGVGAGGFPGFVGVG 配列番号 1596               | 384-412 |
| MMP9+12 | ARPGVGVGG 配列番号 1597                                  | 385-393 |
| MMP9+12 | ARPGVGVGGIP 配列番号 1598                                | 385-395 |
| MMP9+12 | ARPGVGVGGIPTY 配列番号 1599                              | 385-397 |
| MMP9+12 | ARPGVGVGGIPTYGVGA 配列番号 1600                          | 385-401 |
| MMP9+12 | ARPGVGVGGIPTYGVGAGG 配列番号 1601                        | 385-403 |
| MMP9+12 | ARPGVGVGGIPTYGVGAGGFPG 配列番号 1602                     | 385-406 |
| MMP9+12 | ARPGVGVGGIPTYGVGAGGFPGF 配列番号 1603                    | 385-407 |
| MMP9+12 | RPGVGVG 配列番号 1604                                    | 386-392 |
| MMP9+12 | RPGVGVGG 配列番号 1605                                   | 386-393 |
| MMP9+12 | PGVGVGGIPTY 配列番号 1606                                | 387-397 |
| MMP9+12 | PGVGVGGIPTYG 配列番号 1607                               | 387-398 |
| MMP9+12 | PGVGVGGIPTYGVGAG 配列番号 1608                           | 387-412 |
| MMP9+12 | VGGIPTYGVGAG 配列番号 1609                               | 391-402 |
| MMP9+12 | GVGAGGFPGFVGVGIPGVA 配列番号 1610                        | 398-418 |
| MMP9+12 | VGAGGFPGFVGVG 配列番号 1611                              | 399-412 |
| MMP9+12 | VGVGGIPGVAGVPSVGVPGVGVPGVGVISPEA 配列番号 1612           | 409-441 |
| MMP9+12 | VAGVPSVGVPGVGVPGV 配列番号 1613                          | 417-434 |
| MMP9+12 | VAGVPSVGVPGVGVPGVGVISPEA 配列番号 1614                   | 417-441 |
| MMP9+12 | SVGGVPGVGVPGVGVISPEA 配列番号 1615                       | 422-441 |
| MMP9+12 | VGGVPGVGVPGVGVISPEA 配列番号 1616                        | 423-441 |
| MMP9+12 | GVPGVGVPGVGVIS 配列番号 1617                             | 425-438 |
| MMP9+12 | GVPGVGVPGVGVISPEA 配列番号 1618                          | 425-441 |
| MMP9+12 | GVPGVGVPGVGVISPEAQA 配列番号 1619                        | 425-443 |
| MMP9+12 | GVPGVGVISPEAQAAAAAK 配列番号 1620                        | 431-448 |
| MMP9+12 | GVGTPAAAAAK 配列番号 1621                                | 482-492 |
| MMP9+12 | TPAAAAAK 配列番号 1622                                   | 485-492 |
| MMP9+12 | FGLVPGVGVAPGVG 配列番号 1623                             | 500-513 |
| MMP9+12 | FGLVPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1624                         | 500-517 |
| MMP9+12 | FGLVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1625                   | 500-523 |
| MMP9+12 | FGLVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGVG 配列番号 1626                 | 500-525 |
| MMP9+12 | FGLVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGVGLAPG 配列番号 1627             | 500-529 |
| MMP9+12 | FGLVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPG 配列番号 1628       | 500-535 |
| MMP9+12 | FGLVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPGV 配列番号 1629      | 500-536 |
| MMP9+12 | FGLVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1630 | 500-541 |
| MMP9+12 | GLVPGVGVAPG 配列番号 1631                                | 501-511 |
| MMP9+12 | GLVPGVGVAPGV 配列番号 1632                               | 501-512 |
| MMP9+12 | GLVPGVGVAPGVGVA 配列番号 1633                            | 501-515 |
| MMP9+12 | GLVPGVGVAPGVGVAP 配列番号 1634                           | 501-516 |
| MMP9+12 | GLVPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1635                          | 501-517 |
| MMP9+12 | GLVPGVGVAPGVGVAPGVG 配列番号 1636                        | 501-519 |
| MMP9+12 | GLVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1637                    | 501-523 |
| MMP9+12 | GLVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGVGL 配列番号 1638                 | 501-524 |
| MMP9+12 | GLVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGVGLA 配列番号 1639                | 501-525 |
| MMP9+12 | GLVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGVGLAPG 配列番号 1640              | 501-527 |
| MMP9+12 | GLVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGVGLAPGVG 配列番号 1641            | 501-529 |

10

20

30

40

【表 30 F】

|         |  |         |
|---------|--|---------|
| MMP9+12 | GLVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGVGLAPGVGVVA 配列番号 1642         | 501-531 |
| MMP9+12 | GLVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPG 配列番号 1643        | 501-533 |
| MMP9+12 | LVPGVGVAPGVG 配列番号 1644                               | 502-513 |
| MMP9+12 | LVPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1645                           | 502-517 |
| MMP9+12 | LVPGVGVAPGVGVAPGVG 配列番号 1646                         | 502-519 |
| MMP9+12 | LVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGVG 配列番号 1647                   | 502-525 |
| MMP9+12 | LVPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPGVG 配列番号 1648       | 502-537 |
| MMP9+12 | PGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1649                             | 504-517 |
| MMP9+12 | VG VAPGVGVAPGVGV 配列番号 1650                           | 506-520 |
| MMP9+12 | VG VAPGVGVAPGVGVAPGVG 配列番号 1651                      | 506-525 |
| MMP9+12 | VG VAPGVGVAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPG 配列番号 1652            | 506-535 |
| MMP9+12 | VAPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1653                           | 508-523 |
| MMP9+12 | VAPGVGVAPGVGVAPGVG 配列番号 1654                         | 508-525 |
| MMP9+12 | VAPGVGVAPGVGVAPGVGLAPGVG 配列番号 1655                   | 508-531 |
| MMP9+12 | VAPGVGVAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPG 配列番号 1656               | 508-535 |
| MMP9+12 | VG VAPGVGVAPGVGLA 配列番号 1657                          | 512-527 |
| MMP9+12 | VG VAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPG 配列番号 1658                  | 512-535 |
| MMP9+12 | VG VAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGPGG 配列番号 1659 | 512-552 |
| MMP9+12 | VAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPGVG 配列番号 1660                   | 514-537 |
| MMP9+12 | VAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPGVGVVA 配列番号 1661                | 514-539 |
| MMP9+12 | VAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1662               | 514-541 |
| MMP9+12 | VAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGP 配列番号 1663      | 514-550 |
| MMP9+12 | VAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGPGG 配列番号 1664    | 514-552 |
| MMP9+12 | PGVGVAPGVGLAPG 配列番号 1665                             | 516-529 |
| MMP9+12 | PGVGVAPGVGLAPGVGVAP 配列番号 1666                        | 516-534 |
| MMP9+12 | PGVGVAPGVGLAPGVGVAPGVG 配列番号 1667                     | 516-537 |
| MMP9+12 | VG VAPGVGLAPGVGVVA 配列番号 1668                         | 518-533 |
| MMP9+12 | VG VAPGVGLAPGVGVAP 配列番号 1669                         | 518-534 |
| MMP9+12 | VG VAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1670                  | 518-541 |
| MMP9+12 | VG VAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPGVG 配列番号 1671                | 518-543 |
| MMP9+12 | VG VAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1672            | 518-547 |
| MMP9+12 | VG VAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGPGG 配列番号 1673       | 518-552 |
| MMP9+12 | GVAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGPGG 配列番号 1674         | 519-552 |
| MMP9+12 | VAPGVGLAPGVGVVA 配列番号 1675                            | 520-533 |
| MMP9+12 | VAPGVGLAPGVGVAPG 配列番号 1676                           | 520-535 |
| MMP9+12 | VAPGVGLAPGVGVAPGVG 配列番号 1677                         | 520-537 |
| MMP9+12 | VAPGVGLAPGVGVAPGVGVVA 配列番号 1678                      | 520-539 |
| MMP9+12 | VAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1679                     | 520-541 |
| MMP9+12 | VAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPGVGVVA 配列番号 1680                | 520-545 |
| MMP9+12 | VAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGPGG 配列番号 1681          | 520-552 |
| MMP9+12 | PGVGLAPGVGVAPG 配列番号 1682                             | 522-535 |
| MMP9+12 | GVGLAPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1683                        | 523-541 |
| MMP9+12 | VGLAPGVGVAPGVG 配列番号 1684                             | 524-537 |
| MMP9+12 | VGLAPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1685                         | 524-541 |
| MMP9+12 | VGLAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIG 配列番号 1686                 | 524-549 |
| MMP9+12 | VGLAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGPGG 配列番号 1687              | 524-552 |

10

20

30

40

【表 3 0 G】

|         |   |         |
|---------|---|---------|
| MMP9+12 | VGLAPGVGVAPGVGVAPGVAPGIGPG 配列番号 1688          | 524-553 |
| MMP9+12 | VGLAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGPGGAAA 配列番号 1689    | 524-556 |
| MMP9+12 | LAPGVGVAPGVGVAPGVG 配列番号 1690                  | 526-543 |
| MMP9+12 | LAPGVGVAPGVGVAPGVGVA 配列番号 1691                | 526-545 |
| MMP9+12 | LAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGP 配列番号 1692           | 526-550 |
| MMP9+12 | LAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGPGG 配列番号 1693         | 526-552 |
| MMP9+12 | GVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGPGG 配列番号 1694            | 529-552 |
| MMP9+12 | GVVAPGVGVAPGVGVA 配列番号 1695                    | 530-545 |
| MMP9+12 | GVVAPGVGVAPGVGVAPG 配列番号 1696                  | 530-547 |
| MMP9+12 | GVVAPGVGVAPGVGVAPGIGPG 配列番号 1697              | 530-551 |
| MMP9+12 | GVVAPGVGVAPGVGVAPGIGPGG 配列番号 1698             | 530-552 |
| MMP9+12 | GVVAPGVGVAPGVGVAPGIGPGGAAA 配列番号 1699          | 530-556 |
| MMP9+12 | VAPGVGVAPGVGVAP 配列番号 1700                     | 532-546 |
| MMP9+12 | VAPGVGVAPGVGVAPGIG 配列番号 1701                  | 532-549 |
| MMP9+12 | VAPGVGVAPGVGVAPGIGPGG 配列番号 1702               | 532-552 |
| MMP9+12 | PGVGVAPGVGVAPGIGPG 配列番号 1703                  | 534-551 |
| MMP9+12 | PGVGVAPGVGVAPGIGPGG 配列番号 1704                 | 534-552 |
| MMP9+12 | GVVAPGVGVAPGIGPGG 配列番号 1705                   | 536-552 |
| MMP9+12 | GVVAPGVGVAPGIGPGGAAA 配列番号 1706                | 536-555 |
| MMP9+12 | VAPGVGVAPGIGPG 配列番号 1707                      | 538-551 |
| MMP9+12 | PGVGVAPGIGPG 配列番号 1708                        | 540-551 |
| MMP9+12 | GVVAPGIGPGGAAA 配列番号 1709                      | 542-555 |
| MMP9+12 | PGGAAAAK 配列番号 1710                            | 550-558 |
| MMP9+12 | LRAAAGL 配列番号 1711                             | 569-575 |
| MMP9+12 | LRAAAGLG 配列番号 1712                            | 569-576 |
| MMP9+12 | LRAAAGLGA 配列番号 1713                           | 569-577 |
| MMP9+12 | AAAGLGAGIPGLGVG 配列番号 1714                     | 571-585 |
| MMP9+12 | AAAGLGAGIPGLGVGVG 配列番号 1715                   | 571-587 |
| MMP9+12 | LGAGIPGLGVG 配列番号 1716                         | 575-585 |
| MMP9+12 | LGAGIPGLGVGVG 配列番号 1717                       | 575-587 |
| MMP9+12 | LGAGIPGLGVGVGVPLGVG 配列番号 1718                 | 575-594 |
| MMP9+12 | LGAGIPGLGVGVGVPG 配列番号 1719                    | 575-590 |
| MMP9+12 | LGAGIPGLGVGVGVPLGVGA 配列番号 1720                | 575-595 |
| MMP9+12 | LGAGIPGLGVGVGVPL 配列番号 1721                    | 575-591 |
| MMP9+12 | LGAGIPGLGVGVGVPLG 配列番号 1722                   | 575-592 |
| MMP9+12 | LGAGIPGLGVGVGVPLGVGAGVPG 配列番号 1723            | 575-599 |
| MMP9+12 | LGAGIPGLGVGVGVPLGVGAGVPGLG 配列番号 1724          | 575-601 |
| MMP9+12 | LGAGIPGLGVGVGVPLGVGAGVPGLGVG 配列番号 1725        | 575-603 |
| MMP9+12 | LGAGIPGLGVGVGVPLGVGAGVPGLGVGAGVPGFG 配列番号 1726 | 575-610 |
| MMP9+12 | GAGIPGLGVGVGVPLG 配列番号 1727                    | 576-592 |
| MMP9+12 | AGIPGLGVGVGVPG 配列番号 1728                      | 577-590 |
| MMP9+12 | GIPGLGVGVGVPLGVGA 配列番号 1729                   | 578-595 |
| MMP9+12 | LVGVGVPLGVGA 配列番号 1730                        | 582-595 |
| MMP9+12 | GVVPLGVGAGVPG 配列番号 1731                       | 586-599 |
| MMP9+12 | GVVPLGVGAGVPGL 配列番号 1732                      | 586-600 |
| MMP9+12 | GVVPLGVGAGVPGLG 配列番号 1733                     | 586-601 |

10

20

30

40

【表 3 0 H】

|         |   |         |
|---------|---|---------|
| MMP9+12 | VGVPGLGVGAGVPGLGVG 配列番号 1734              | 586-603 |
| MMP9+12 | VGVPGLGVGAGVPGLGVGA 配列番号 1735             | 586-604 |
| MMP9+12 | VGAGVPGLGVGAGVPGFG 配列番号 1736              | 593-610 |
| MMP9+12 | PGALAAAK 配列番号 1737                        | 646-653 |
| MMP9+12 | AKYGAAVPGVLGGLGA 配列番号 1738                | 655-670 |
| MMP9+12 | YGAAVPGVLGG 配列番号 1739                     | 657-667 |
| MMP9+12 | YGAAVPGVLGGLG 配列番号 1740                   | 657-669 |
| MMP9+12 | YGAAVPGVLGGLGA 配列番号 1741                  | 657-670 |
| MMP9+12 | YGAAVPGVLGGLGALG 配列番号 1742                | 657-672 |
| MMP9+12 | YGAAVPGVLGGLGALGGVGIPGG 配列番号 1743         | 657-679 |
| MMP9+12 | YGAAVPGVLGGLGALGGVGIPGGVVGAGPAA 配列番号 1744 | 657-687 |
| MMP9+12 | GAAVPGVLGGLG 配列番号 1745                    | 658-669 |
| MMP9+12 | GAAVPGVLGGLGALGGVGIPGG 配列番号 1746          | 658-679 |
| MMP9+12 | AVPGVLGGLGA 配列番号 1747                     | 660-670 |
| MMP9+12 | AVPGVLGGLGALGGVGIPGG 配列番号 1748            | 660-679 |
| MMP9+12 | VLGGLGALGGVGIPGG 配列番号 1749                | 664-679 |
| MMP9+12 | GGLGALGGVGIPGGVVGAGPA 配列番号 1750           | 666-686 |
| MMP9+12 | GGLGALGGVGIPGGVVGAGPAAA 配列番号 1751         | 666-688 |
| MMP9+12 | LGALGGVGIPGG 配列番号 1752                    | 668-379 |
| MMP9+12 | LGALGGVGIPGGVVGAGPA 配列番号 1753             | 668-686 |
| MMP9+12 | LGALGGVGIPGGVVGAGPAA 配列番号 1754            | 668-687 |
| MMP9+12 | LGALGGVGIPGGVVGAGPAAA 配列番号 1755           | 668-688 |
| MMP9+12 | LGALGGVGIPGGVVGAGPAAAA 配列番号 1756          | 668-689 |
| MMP9+12 | ALGGVGIPGGVVGAGPAA 配列番号 1757              | 670-687 |
| MMP9+12 | ALGGVGIPGGVVGAGPAAA 配列番号 1758             | 670-688 |
| MMP9+12 | LGGVGIPGGV 配列番号 1759                      | 671-680 |
| MMP9+12 | LGGVGIPGGVVGAGPA 配列番号 1760                | 671-686 |
| MMP9+12 | LGGVGIPGGVVGAGPAAA 配列番号 1761              | 671-688 |
| MMP9+12 | LGGVGIPGGVVGAGPAAAAA 配列番号 1762            | 671-690 |
| MMP9+12 | LGGVGIPGGVVGAGPAAAAAAK 配列番号 1763          | 671-693 |
| MMP9+12 | GVGIPGGVVGAGPAAAA 配列番号 1764               | 673-689 |
| MMP9+12 | GVGIPGGVVGAGPAAAAAAK 配列番号 1765            | 673-693 |
| MMP9+12 | VGIPGGVVGAGPAAA 配列番号 1766                 | 674-688 |
| MMP9+12 | VGIPGGVVGAGPAAAAAAK 配列番号 1767             | 674-693 |
| MMP9+12 | IPGGVVGAGPAAAA 配列番号 1768                  | 676-689 |
| MMP9+12 | VVGAGPAAAAAAK 配列番号 1769                   | 680-693 |
| MMP9+12 | VGAGPAAAAAAK 配列番号 1770                    | 681-693 |
| MMP9+12 | AGPAAAAAAK 配列番号 1771                      | 683-693 |
| MMP9+12 | GPAAAAAAK 配列番号 1772                       | 684-693 |
| MMP9+12 | PAAAAAAAK 配列番号 1773                       | 685-693 |
| MMP9+12 | FGLVGAAGLGGLGVGGLGVPGVGG 配列番号 1774        | 701-724 |
| MMP9+12 | GLVGAAGLGGLG 配列番号 1775                    | 702-713 |
| MMP9+12 | GLVGAAGLGGLGVGG 配列番号 1776                 | 702-716 |
| MMP9+12 | GLVGAAGLGGLGVGGLGVPGVG 配列番号 1777          | 702-723 |
| MMP9+12 | GLVGAAGLGGLGVGGLGVPGVGG 配列番号 1778         | 702-724 |
| MMP9+12 | LVGAAGLGGLGVG 配列番号 1779                   | 703-715 |

10

20

30

40

【表 3 0 I】

|         |   |         |
|---------|---|---------|
| MMP9+12 | LVGAAGLGGLVGG 配列番号 1780                 | 703-716 |
| MMP9+12 | LVGAAGLGGLVGGL 配列番号 1781                | 703-717 |
| MMP9+12 | LVGAAGLGGLVGGLGVPVGGGLG 配列番号 1782       | 703-726 |
| MMP9+12 | LVGAAGLGGLVGGLGVPVGGGLGGIPAAA 配列番号 1783 | 703-733 |
| MMP9+12 | VGAAGLGGLVGG 配列番号 1784                  | 704-716 |
| MMP9+12 | LGGLGVGGLGVP 配列番号 1785                  | 709-721 |
| MMP9+12 | LGGLGVGGLGVPVGG 配列番号 1786               | 709-723 |
| MMP9+12 | LGGLGVGGLGVPVGGGL 配列番号 1787             | 709-725 |
| MMP9+12 | LGGLGVGGLGVPVGGGLG 配列番号 1788            | 709-726 |
| MMP9+12 | LGVGGLGVPVGGGLG 配列番号 1789               | 712-726 |
| MMP9+12 | GLGVPVGGGLGGIPAAAAK 配列番号 1790           | 716-735 |
| MMP9+12 | LGGIPAAAAK 配列番号 1791                    | 725-735 |
| MMP9+12 | LGGVLGGAGQFPL 配列番号 1792                 | 744-756 |
| MMP9+12 | LGGVLGGAGQFPLGGVAAR 配列番号 1793           | 744-762 |
| MMP9+12 | LGGVLGGAGQFPLGGVAARPG 配列番号 1794         | 744-764 |
| MMP9+12 | LGGVLGGAGQFPLGGVAARPGFG 配列番号 1795       | 744-766 |
| MMP9+12 | GGVLGGAGQFPLGGVAARPG 配列番号 1796          | 745-764 |
| MMP9+12 | GAGQFPLGGVAAR 配列番号 1797                 | 750-762 |
| MMP9+12 | GAGQFPLGGVAARPGFG 配列番号 1798             | 750-766 |
| MMP9+12 | AGQFPLGGVAARPGFG 配列番号 1799              | 751-766 |
| MMP9+12 | FPLGGVAARPG 配列番号 1800                   | 754-764 |
| MMP9+12 | PLGGVAAR 配列番号 1801                      | 755-762 |
| MMP9+12 | PLGGVAARPG 配列番号 1802                    | 755-764 |
| MMP9+12 | PLGGVAARPGFG 配列番号 1803                  | 755-766 |
| MMP9+12 | PLGGVAARPGFGL 配列番号 1804                 | 755-767 |
| MMP9+12 | PLGGVAARPGFGLSPIFPG 配列番号 1805           | 755-773 |
| MMP9+12 | LGGVAAR 配列番号 1806                       | 756-762 |
| MMP9+12 | LGGVAARP 配列番号 1807                      | 756-763 |
| MMP9+12 | LGGVAARPG 配列番号 1808                     | 756-764 |
| MMP9+12 | LGGVAARPGF 配列番号 1809                    | 756-765 |
| MMP9+12 | LGGVAARPGFG 配列番号 1810                   | 756-766 |
| MMP9+12 | LGGVAARPGFGL 配列番号 1811                  | 756-767 |
| MMP9+12 | LGGVAARPGFGLSP 配列番号 1812                | 756-769 |
| MMP9+12 | LGGVAARPGFGLSPIFPG 配列番号 1813            | 756-773 |
| MMP9+12 | LGGVAARPGFGLSPIFPGG 配列番号 1814           | 756-774 |
| MMP9+12 | LGGVAARPGFGLSPIFPGGA 配列番号 1815          | 756-775 |
| MMP9+12 | GGVAARPGFG 配列番号 1816                    | 757-766 |
| MMP9+12 | GGVAARPGFGL 配列番号 1817                   | 757-767 |
| MMP9+12 | GGVAARPGFGLSPIFPGGA 配列番号 1818           | 757-775 |
| MMP9+12 | GVAARPGFGLSPIF 配列番号 1819                | 758-771 |
| MMP9+12 | GVAARPGFGLSPIFP 配列番号 1820               | 758-772 |
| MMP9+12 | VAARPGFG 配列番号 1821                      | 759-766 |
| MMP9+12 | VAARPGFGLSPIFP 配列番号 1822                | 759-772 |
| MMP9+12 | VAARPGFGLSPIFPG 配列番号 1823               | 759-773 |
| MMP9+12 | RPGFGLSPIFPG 配列番号 1824                  | 762-773 |
| MMP9+12 | PGFGLSPIFPGG 配列番号 1825                  | 763-774 |

10

20

30

40

【表 3 0 J】

|          |  |          |    |
|----------|--|----------|----|
| MMP9+12  | PGFGLSPIFPGGA 配列番号 1826                    | 763-775  |    |
| ADAMTS-1 | P. GVGLPGVYPGGVLPGAR. F 配列番号 1827          | 143- 159 |    |
| ADAMTS-1 | G. VGLPGVYPGGVLPGAR. F 配列番号 1828           | 144- 159 |    |
| ADAMTS-1 | G. LPGVYPGGVLPGAR. F 配列番号 1829             | 146- 159 |    |
| ADAMTS-1 | P. GVYPGGVLPGAR. F 配列番号 1830               | 148- 159 |    |
| ADAMTS-1 | K. AGYPTGTGVPQAAAAAAK. A 配列番号 1831         | 242- 261 |    |
| ADAMTS-1 | G. GPGFGPGVVGVPAGVPGVGVPGA. G 配列番号 1832    | 326- 349 |    |
| ADAMTS-1 | G. FPGVVGVPAGVPGVGVPG. A 配列番号 1833         | 329- 348 | 10 |
| ADAMTS-1 | F. GPGVVGVPAGVPGVGVPG. A 配列番号 1834         | 330- 348 |    |
| ADAMTS-1 | G. VPGVGVPGAGIPVVP. A 配列番号 1835            | 341- 356 |    |
| ADAMTS-1 | G. ARPGVGVGGIPTYGVG. A 配列番号 1836           | 385- 400 |    |
| ADAMTS-1 | G. ARPGVGVGGIPTYGVGAGG. F 配列番号 1837        | 385- 403 |    |
| ADAMTS-1 | A. RPPGVGVGGIPTYGVGAG. G 配列番号 1838         | 386- 402 |    |
| ADAMTS-1 | G. GVPGVGVPGVVISPEAQAAAA. A 配列番号 1839      | 425- 446 |    |
| ADAMTS-1 | G. VPGVVISPEAQAAAAK. A 配列番号 1840           | 432- 448 |    |
| ADAMTS-1 | G. VGISPEAQAAAAK. A 配列番号 1841              | 435- 448 |    |
| ADAMTS-1 | V. PPGVAPGVGVAPGVVAPGVGL. A 配列番号 1842      | 504- 526 |    |
| ADAMTS-1 | G. VAPGVGVAPGVVAPGVGLAPGVVAPG. V 配列番号 1843 | 508- 535 | 20 |
| ADAMTS-1 | G. VGVAPGVGVAPGVGLAPGVG. V 配列番号 1844       | 512- 531 |    |
| ADAMTS-1 | G. VGVAPGVGVAPGVGLAPGVVAPGVG. V 配列番号 1845  | 512- 537 |    |
| ADAMTS-1 | A. PPGVAPGVGVAPGVVAPGVGIPG. G 配列番号 1846    | 528- 551 |    |
| ADAMTS-1 | G. VAPGVGVAPGVVAPGVGIPG. G 配列番号 1847       | 532- 551 |    |
| ADAMTS-1 | G. AAVPGVLGGLGALGGVGIPG. G 配列番号 1848       | 659- 678 |    |
| ADAMTS-1 | G. AAGLGGLGVGGLGVPGVGG. G 配列番号 1849        | 706- 726 |    |
| ADAMTS-4 | P. GVGLPGVYPGGVLPGAR. F 配列番号 1827          | 143- 159 |    |
| ADAMTS-4 | G. LPGVYPGGVLPGAR. F 配列番号 1829             | 146- 159 |    |
| ADAMTS-4 | K. AGYPTGTGVPQAAAAAAK. A 配列番号 1831         | 242- 261 |    |
| ADAMTS-4 | G. GAGVPGVPGAIPGIGGIAGVG. T 配列番号 1850      | 279- 299 | 30 |
| ADAMTS-4 | G. AGVPGVPGAIPGIGGIAGVG. T 配列番号 1851       | 280- 299 |    |
| ADAMTS-4 | A. VGTAAAAAAK. A 配列番号 1852                 | 297- 312 |    |
| ADAMTS-4 | G. VGTAAAAAAK. A 配列番号 1853                 | 298- 312 |    |
| ADAMTS-4 | G. GPGFGPGVVGVPAGVPGVGVPG. A 配列番号 1854     | 326- 348 |    |
| ADAMTS-4 | G. ARPGVGVGGIPTYGVGA. G 配列番号 1855          | 385- 401 |    |
| ADAMTS-4 | A. RPPGVGVGGIPTYGVGAG. G 配列番号 1838         | 386- 402 |    |
| ADAMTS-4 | A. RPPGVGVGGIPTYGVGAGG. F 配列番号 1856        | 386- 403 |    |
| ADAMTS-4 | G. VGISPEAQAAAAK. A 配列番号 1841              | 435- 448 |    |
| ADAMTS-4 | G. VGVAPGVGVAPGVVAPGVGLAPGVG. V 配列番号 1857  | 506- 531 |    |
| ADAMTS-4 | A. PPGVAPGVGLAPGVVAPGVGVA. P 配列番号 1858     | 516- 539 | 40 |
| ADAMTS-4 | G. VGVAPGVGLAPGVVAPGVG. V 配列番号 1859        | 518- 537 |    |
| ADAMTS-4 | L. APGVGVAPGVVAPGVGIPG. G 配列番号 1860        | 527- 551 |    |
| ADAMTS-4 | Y. GAAVPGVLGGLGALGGVGIPG. G 配列番号 1861      | 658- 678 |    |
| ADAMTS-4 | G. AAVPGVLGGLGALGGVGIPG. G 配列番号 1848       | 659- 678 |    |
| ADAMTS-4 | G. GAGGFPLGGVAARPGFGL. S 配列番号 1862         | 750- 767 |    |
| ADAMTS-8 | L. VPGGVADAAAAYK. A 配列番号 1863              | 092- 104 |    |
| ADAMTS-8 | G. VGLPGVYPGGVLPGAR. F 配列番号 1828           | 144- 159 |    |
| ADAMTS-8 | G. LPGVYPGGVLPGAR. F 配列番号 1829             | 146- 159 |    |

【表 30K】

|          |  |          |
|----------|--|----------|
| ADAMTS-8 | P. GVYPGGVLPGAR. F 配列番号 1830                 | 148- 159 |
| ADAMTS-8 | V. YPGGVLPGAR. F 配列番号 1864                   | 150- 159 |
| ADAMTS-8 | F. GPGVVGVPAGVPGVGVPG. A 配列番号 1834           | 330- 348 |
| ADAMTS-8 | G. ARPGVGVGGIPTYGVA. G 配列番号 1855             | 385- 401 |
| ADAMTS-8 | V. APGVGVAPGVGVAPGVGLAPGVG. A 配列番号 1865      | 509- 532 |
| ADAMTS-8 | L. APGVGVAPGVGVAPGVGV. A 配列番号 1866           | 527- 544 |
| ADAMTS-8 | L. APGVGVAPGVGVAPGVGVAPG. I 配列番号 1867        | 527- 547 |
| ADAMTS-8 | L. APGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIG. P 配列番号 1868      | 527- 549 |
| ADAMTS-8 | L. APGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGP. G 配列番号 1869     | 527- 550 |
| ADAMTS-8 | L. APGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGPG. G 配列番号 1860    | 527- 551 |
| ADAMTS-8 | L. APGVGVAPGVGVAPGVGVAPGIGPGVAA. A 配列番号 1870 | 527- 555 |
| ADAMTS-8 | G. VGVAPGVGVAPGVGVAPGIGPG. G 配列番号 1871       | 530- 551 |
| ADAMTS-8 | G. VAPGVGVAPGVGVAPGIGPG. G 配列番号 1847         | 532- 551 |
| ADAMTS-8 | G. AAVPGVLGGLGALGGVGIPG. G 配列番号 1848         | 659- 678 |
| ADAMTS-8 | G. AAVPGVLGGLGALGGVGIPGG. V 配列番号 1872        | 659- 679 |
| ADAMTS-8 | A. AVPGVLGGLGALGGVGIPG. G 配列番号 1873          | 660- 678 |
| ADAMTS-8 | A. VPGVLGGLGALGGVGIPGG. V 配列番号 1874          | 661- 679 |
| ADAMTS-8 | A. GQFPLGGVAARPGFGL. S 配列番号 1875             | 752- 767 |
|          |  |          |
| Cat K    | G. ALVPGGVADAAAAYK. A 配列番号 1876              | 090- 104 |
| Cat K    | G. LPYTTGKLPYGYGPG. G 配列番号 1877              | 219- 233 |
| Cat K    | A. AAAAAKAAAKFGA. G 配列番号 1878                | 255- 268 |
| Cat K    | A. GVGTPAAAAAAYK. A 配列番号 1852                | 297- 312 |
| Cat K    | A. AAAAAAAYKAAKYGA. A 配列番号 1879              | 303- 318 |
| Cat K    | G. FPGVVGVPAGVPGVGVPG. A 配列番号 1833           | 329- 348 |
| Cat K    | G. VGISPEAQAAAAAYK. A 配列番号 1841              | 435- 448 |
| Cat K    | G. VAPGVGVAPGVGVAPGVGLAPGVG. V 配列番号 1880     | 508- 531 |
| Cat K    | G. VGVAPGVGVAPGVGVAPGIGPG. G 配列番号 1871       | 530- 551 |
| Cat K    | G. VAPGVGVAPGVGVAPGIGPG. G 配列番号 1847         | 532- 551 |
|          |  |          |
| Cat S    | T. FPGALVPGGVADAAAAYK. A 配列番号 1881           | 087- 104 |
| Cat S    | G. VGLPGVYPGGVLPGAR. F 配列番号 1828             | 144- 159 |
| Cat S    | G. LPGVYPGGVLPGARFPGVG. V 配列番号 1882          | 146- 164 |
| Cat S    | G. YPTGTGVGPQAAAAAAYK. A 配列番号 1883           | 244- 261 |
| Cat S    | G. GAGVPGVPGAIPGIGGAGVG. T 配列番号 1850         | 279- 299 |
| Cat S    | G. TPAAAAAAAYKAAK. Y 配列番号 1884               | 300- 315 |
| Cat S    | G. VPGAGVPGVPGAGIPVVP. G 配列番号 1885           | 336- 355 |
| Cat S    | G. VPGAGVPGVPGAGIPVVPAGIPG. A 配列番号 1886      | 336- 361 |
| Cat S    | G. ISPEAQAAAAAAYK. Y 配列番号 1887               | 437- 451 |
| Cat S    | V. PGVGVAPGVGVAPGVGVA. P 配列番号 1888           | 504- 521 |
| Cat S    | G. VAPGVGVAPGVGVAPGIGPGVAA. A 配列番号 1889      | 532- 554 |
| Cat S    | G. IPGGVVGAGPAAAAAAYK. A 配列番号 1890           | 676- 693 |
|          |  |          |
| MMP1     | G. GVLPGARFPGVGVLPGVPTGA. G 配列番号 1891        | 153- 173 |
| MMP1     | G. GVPGVGGVPGVGVISPEA. Q 配列番号 1892           | 425- 441 |
| MMP1     | V. PGVGVAPGVGVAPGVGVA. P 配列番号 1888           | 504- 521 |

10

20

30

40

【表 3 0 L】

|      |                                      |          |
|------|--------------------------------------|----------|
| MMP1 | G. VGVAPGVGVAPGVGVAPGVG. L 配列番号 1893 | 506- 525 |
| MMP1 | G. VAPGVGVAPGVGVAPGIGPG. G 配列番号 1847 | 532- 551 |
| MMP1 | A. AVPGVLGGLGALGGVGI PG. G 配列番号 1873 | 660- 678 |
| MMP1 |                                      |          |
| MMP3 | G. ALVPGGVADAAAAYK. A 配列番号 1876      | 090- 104 |
| MMP3 | G. YPTGTGVGPQAAAAAAK. A 配列番号 1883    | 244- 261 |
| MMP3 | G. VPGVPGAIPGIGGIAGVG. T 配列番号 1894   | 282- 299 |
| MMP3 | F. GPGVVGVPAGVPGVGVPGA. G 配列番号 1895  | 330- 349 |
| MMP3 | G. VGISPEAQAAAAAK. A 配列番号 1841       | 435- 448 |
| MMP3 | G. VGVAPGVGVAPGVGLAPGVG. V 配列番号 1844 | 512- 531 |
| MMP3 | G. VAPGVGVAPGVGVAPGIGPG. G 配列番号 1847 | 532- 551 |
|      |                                      |          |
| MMP8 | P. GVYPGGVLPGAR. F 配列番号 1830         | 148- 159 |
| MMP8 | K. AGYPTGTGVGPQAAAAAAK. A 配列番号 1831  | 242- 261 |
| MMP8 | G. VPGVPGAIPGIGGIAGVG. T 配列番号 1894   | 282- 299 |
| MMP8 | F. GPGVVGVPAGVPGVGVPGA. A 配列番号 1834  | 330- 348 |
| MMP8 | G. VPGVGVPGAIPVPGA. G 配列番号 1896      | 341- 357 |
| MMP8 | G. ARPGVGVGGIPTYGVG. A 配列番号 1836     | 385- 400 |
| MMP8 | A. RPGVGVGGIPTYGVGAG. G 配列番号 1838    | 386- 402 |
| MMP8 | G. VGVAPGVGVAPGVGVAP. G 配列番号 1897    | 506-522  |
| MMP8 | G. VGVAPGVGVAPGVGLAPGVG. V 配列番号 1844 | 512- 531 |
| MMP8 | G. VGVAPGVGVAPGVGVAP. G 配列番号 1897    | 530-546  |
| MMP8 | G. IPGGVVGAGPAAAAAAK. A 配列番号 1890    | 676- 693 |

\* ヒトエラスチン配列中のアミノ酸残基番号

## 【 0 1 0 7 】

従って、本発明の方法では、前記ペプチド断片は、好ましくは、表 2 4 中のエラスチンの部分配列のいずれか 1 つの N 末端もしくは C 末端部位での、または指示されている場合は「・」記号で示される部位での、プロテアーゼによるエラスチンの切断によって形成されるネオエピトープを含む。

## 【 0 1 0 8 】

免疫学的結合パートナーは、エラスチンの切断によって形成される C 末端または N 末端ネオエピトープと特異的に反応するものであり得る。

## 【 0 1 0 9 】

適切な免疫学的結合パートナーは、従って、ペプチドの N 末端の以下の配列のいずれかと、またはペプチドの C 末端の以下の配列のいずれかと特異的に反応性であり得る。

## 【 0 1 1 0 】

10

20

30

40

【表 3 1 A】

表 2 5. プロテアーゼによって生成されるエラスチンのペプチド断片のN末端配列

## エラスチン

|                  |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| GVPGAI 配列番号 1898 | AIPGGV 配列番号 1899 | GVPGGV 配列番号 1900 |
| ALGGGA 配列番号 1901 | LGGGAL 配列番号 1902 | GGALGP 配列番号 1903 |
| PLKPVP 配列番号 1904 | LKPVPG 配列番号 1905 | GLAGAG 配列番号 1906 |
| GLGAGL 配列番号 1907 | LGAGLG 配列番号 1908 | AGLGAF 配列番号 1909 |
| LVPGGV 配列番号 1910 | VADAAA 配列番号 1911 | KAAGAG 配列番号 1912 |
| PVGYPG 配列番号 1913 | ARFPGV 配列番号 1914 | RFPGGV 配列番号 1915 |
| VGPFGG 配列番号 1916 | GPQPGV 配列番号 1917 | PQPGVP 配列番号 1918 |
| TTGKLP 配列番号 1919 | LPYGYG 配列番号 1920 | GYGPGG 配列番号 1921 |
| FGAGAA 配列番号 1922 | GVLPGV 配列番号 1923 | VLPGGV 配列番号 1924 |
| AGIPGL 配列番号 1925 | VPGAIP 配列番号 1926 | AIPGIG 配列番号 1927 |
| TPAAAA 配列番号 1928 | PAAAAA 配列番号 1929 | AAAAAA 配列番号 1930 |
| VGVPGA 配列番号 1931 | AVGPGV 配列番号 1932 | GVPGGV 配列番号 1933 |
| GIPVVP 配列番号 1934 | IPGAAV 配列番号 1935 | GAAVPG 配列番号 1936 |
| ARPGVG 配列番号 1937 | RPGGGV 配列番号 1938 | VGGIPT 配列番号 1939 |
| SVGGVP 配列番号 1940 | VGGVPG 配列番号 1941 | GVGTPA 配列番号 1942 |
| VGVAPG 配列番号 1943 | VAPGGV 配列番号 1944 | GVAPGV 配列番号 1945 |
| GVPVAP 配列番号 1946 | GAGIPG 配列番号 1947 | PGGVAA 配列番号 1948 |
| LGAGIP 配列番号 1949 | PGFGPG 配列番号 1950 | PGVGGV 配列番号 1951 |
| PGALAA 配列番号 1952 | AKYGAA 配列番号 1953 | YGAAVP 配列番号 1954 |
| ALGGVG 配列番号 1955 | LGGVGI 配列番号 1956 | GVGIPG 配列番号 1957 |
| AGPAAA 配列番号 1958 | GPAAAA 配列番号 1959 | FGLVGA 配列番号 1960 |
| GLGVPG 配列番号 1961 | LGGIPP 配列番号 1962 | LGGVLG 配列番号 1963 |
| PLGGVA 配列番号 1964 | LGGVAA 配列番号 1965 | GGVAAR 配列番号 1966 |
| GVGLPG 配列番号 1967 | VGLPGV 配列番号 1968 | LPGVYP 配列番号 1969 |
| VPGVPV 配列番号 1970 | VPGVGI 配列番号 1971 | VGISPE 配列番号 1972 |
| APGGVG 配列番号 1973 | VPGGVA 配列番号 1974 | YPGGVL 配列番号 1975 |
| GPGFGP 配列番号 1976 | YPTGTG 配列番号 1977 | VPGAGV 配列番号 1978 |
| VPGGVF 配列番号 1979 | GVFYPG 配列番号 1980 | VFYPGA 配列番号 1981 |
| LGPGGK 配列番号 1982 | GPGGKP 配列番号 1983 | PGGKPL 配列番号 1984 |
| LAGAGL 配列番号 1985 | AGAGLG 配列番号 1986 | GAGLGA 配列番号 1987 |
| LGAFPA 配列番号 1988 | AFPAVT 配列番号 1989 | AVTFPG 配列番号 1990 |
| LGVSAG 配列番号 1991 | VPGVGL 配列番号 1992 | PGVGLP 配列番号 1993 |
| FPGGGV 配列番号 1994 | KPGAGP 配列番号 1995 | PKAPGV 配列番号 1493 |
| PGVPLG 配列番号 1996 | GYPIKA 配列番号 1997 | PKLPGG 配列番号 1998 |
| YGPGGV 配列番号 1999 | AGYPTG 配列番号 2000 | TGVGPQ 配列番号 2001 |
| GAGVPG 配列番号 2002 | AGVPGV 配列番号 2003 | GVPGGV 配列番号 2004 |
| IPGIGG 配列番号 2005 | IGGIAG 配列番号 2006 | GIAGVG 配列番号 2007 |
| VPGGGV 配列番号 2008 | VPGGVA 配列番号 2009 | VPGAGI 配列番号 2010 |
| AVPGVV 配列番号 2011 | VPGVVS 配列番号 2012 | YGARPG 配列番号 2013 |
| GVGAGG 配列番号 2014 | VGAGGF 配列番号 2015 | VGVGGI 配列番号 2016 |
| FGLVPG 配列番号 2017 | GLVPGV 配列番号 2018 | LVPGGV 配列番号 2019 |
| PGVGLA 配列番号 2020 | GVGLAP 配列番号 2021 | VGLAPG 配列番号 2022 |
| LRAAAG 配列番号 2023 | LVGAAG 配列番号 2024 | LVPGGP 配列番号 2025 |
| GIPGLG 配列番号 2026 | LGVGGV 配列番号 2027 | VGVVGL 配列番号 2028 |
| AAAGLG 配列番号 2029 | AVPGVL 配列番号 2030 | VLGGLG 配列番号 2031 |

10

20

30

40

【表 3 1 B】

|                  |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| VGIPGG 配列番号 2032 | IPGGVV 配列番号 2033 | VVGAGP 配列番号 2034 |
| GLVGAA 配列番号 2035 | VGAAGL 配列番号 2036 | LGGLGV 配列番号 2037 |
| GGVLGG 配列番号 2038 | GAGQFP 配列番号 2039 | AFQFPL 配列番号 2040 |
| GVAARP 配列番号 2041 | VAARPG 配列番号 2042 | RPGFGL 配列番号 2043 |
| GVYPPG 配列番号 2044 | LPYTTG 配列番号 2045 | FGPGVV 配列番号 2046 |
| AAVPGV 配列番号 2047 | AAGLGG 配列番号 2048 | FPGALV 配列番号 2049 |
| VPGLVG 配列番号 2050 | GQFPLG 配列番号 2051 | ALVPPG 配列番号 2052 |
| ISPEAQ 配列番号 2053 | GVLPGA 配列番号 2054 | VGAGVP 配列番号 2055 |
| LGALGG 配列番号 2056 | VPGVPG 配列番号 2057 | GGLGAL 配列番号 2058 |
| GKPLKP 配列番号 2059 | IAGVGT 配列番号 2060 | VGAGPA 配列番号 2061 |
| AGLGAG 配列番号 2062 | VVGVPG 配列番号 2063 | LGVGGL 配列番号 2064 |
| VTFPGA 配列番号 2065 | AGIPVV 配列番号 2066 | FPLGGV 配列番号 2067 |
| GLPGVY 配列番号 2068 | GARPGV 配列番号 2069 | PGFGLS 配列番号 2070 |
| GAFAGI 配列番号 2071 | VAGVPS 配列番号 2072 | GPGVVG 配列番号 2073 |
| YTTGKL 配列番号 2074 | PGVGVA 配列番号 2075 | VGTPAA 配列番号 2076 |
| PQAAAA 配列番号 2077 | LAPGVG 配列番号 2078 |                  |

【 0 1 1 1 】

【表 3 2 A】

表 2.6. プロテアーゼによって生成されるエラスチンのペプチド断片のC末端配列

|                  |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| エラスチン            |                  |                  |
| PGGVPG 配列番号 2079 | PGAGLG 配列番号 2080 | GAGLGA 配列番号 1987 |
| GALGGG 配列番号 2081 | LGGGAL 配列番号 1902 | GGGALG 配列番号 2082 |
| GLGAFP 配列番号 2083 | LGAFPA 配列番号 1988 | LGAGLG 配列番号 1908 |
| VPGGVA 配列番号 1974 | ADAAAA 配列番号 2084 | PGVLGG 配列番号 2085 |
| RFPGVG 配列番号 1915 | VGVLPG 配列番号 2086 | VPTGAG 配列番号 2087 |
| PKAPGV 配列番号 1493 | GVGPFV 配列番号 2088 | VPLGYP 配列番号 2089 |
| LPYGYG 配列番号 1920 | AAAAAK 配列番号 2090 | IPGIGG 配列番号 2005 |
| GIAGVG 配列番号 2007 | AIPGIG 配列番号 1927 | IGGIAG 配列番号 2006 |
| AAAAKA 配列番号 2091 | VGVVPG 配列番号 2063 | GVPGVG 配列番号 1933 |
| GVGVPG 配列番号 2092 | PVVPGA 配列番号 2093 | VVSPEA 配列番号 2094 |
| VGGIPT 配列番号 1939 | GGIPTY 配列番号 2095 | GIPTYG 配列番号 2096 |
| GVGVGG 配列番号 2097 | GVGGIP 配列番号 2098 | VGVPGL 配列番号 2028 |
| GFPVFG 配列番号 2099 | FGVGVG 配列番号 2100 | GVGAGG 配列番号 2014 |
| PGVVIS 配列番号 2101 | SPEAQA 配列番号 2102 | VAPGVG 配列番号 1944 |
| PGGVVA 配列番号 2075 | GVGVAP 配列番号 2103 | APGVGL 配列番号 2104 |
| GIGVGG 配列番号 2105 | APGIGP 配列番号 2106 | VAPGIG 配列番号 2107 |
| RAAAGL 配列番号 2108 | AAAGLG 配列番号 2029 | AAGLGA 配列番号 2109 |
| GVPGLG 配列番号 2110 | GVPVFG 配列番号 2111 | AGVPGL 配列番号 2112 |
| VLGGLG 配列番号 2031 | VGIPGG 配列番号 2032 | GAGPAA 配列番号 2113 |
| PAAAAA 配列番号 1929 | VPGVGG 配列番号 2114 | GLGGLG 配列番号 2115 |
| GLGVPG 配列番号 1961 | PGVGGI 配列番号 2116 | PAAAAK 配列番号 2117 |
| RPVFGI 配列番号 2043 | GVAARP 配列番号 2041 | AARPGF 配列番号 2118 |
| LSPIFP 配列番号 2119 | AQAAAA 配列番号 2120 | GPGIPG 配列番号 2121 |
| GPGVVA 配列番号 2122 | TPAAAA 配列番号 1928 | PGGVAA 配列番号 1948 |
| GLGALG 配列番号 2123 | LGALGG 配列番号 2056 | ALGPGG 配列番号 2124 |
| GALGPG 配列番号 2125 | VAPVGV 配列番号 2126 | KPVVGG 配列番号 2127 |
| AFPAVT 配列番号 1989 | AVTFPG 配列番号 1990 | VTFPGA 配列番号 2065 |
| AAAAYK 配列番号 2128 | AAKAGA 配列番号 2129 | VPQPGA 配列番号 2130 |
| PGVPTG 配列番号 2131 | GVPTGA 配列番号 2132 | AGVKPK 配列番号 2133 |
| PIKAPK 配列番号 2134 | KLPGGY 配列番号 2135 | YGYGPG 配列番号 2136 |
| VGTPAA 配列番号 2076 | VPGVPG 配列番号 2057 | GVGTPA 配列番号 1942 |
| GIGGIA 配列番号 2137 | GTPAAA 配列番号 2138 | AAAAAA 配列番号 1930 |
| IPVVPG 配列番号 2139 | VGVPGA 配列番号 1931 | GVPGAG 配列番号 2140 |
| GAGIPG 配列番号 1947 | PEAAAK 配列番号 2141 | ARPGVG 配列番号 1937 |
| PTYGVG 配列番号 2142 | TYGVGA 配列番号 2143 | YGVGAG 配列番号 2144 |
| IPTYGV 配列番号 2145 | PGAIPG 配列番号 2146 | VGAGGF 配列番号 2015 |
| AGGFPG 配列番号 2147 | GIPGVA 配列番号 2148 | GISPEA 配列番号 2149 |
| GVVAPG 配列番号 1943 | VGLAPG 配列番号 2022 | VPGAPG 配列番号 2150 |
| PGVGLA 配列番号 2020 | LAPGVG 配列番号 2078 | APGVGV 配列番号 1973 |
| GVAPGV 配列番号 1945 | GGVAAA 配列番号 2151 | PGIGPG 配列番号 2152 |
| GLGVGG 配列番号 2153 | PGLGVG 配列番号 2154 | LGGVVG 配列番号 2027 |
| GLGVGA 配列番号 2155 | ALAAAK 配列番号 2156 | LGGLGA 配列番号 2157 |
| VGAGPA 配列番号 2061 | AGPAAA 配列番号 1958 | GPAAAA 配列番号 1959 |
| GGLGVG 配列番号 2158 | LGVGGL 配列番号 2064 | GVGGLG 配列番号 2159 |
| AGQFPL 配列番号 2160 | GGVAAR 配列番号 1966 | VAARPG 配列番号 2042 |
| GFGLSP 配列番号 2161 | PIFVGG 配列番号 2162 | IFVPGA 配列番号 2163 |

10

20

30

40

【表 3 2 B】

|                  |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| AAKFGA 配列番号 2164 | AAKYGA 配列番号 2165 | AAKAAK 配列番号 2166 |
| AGLGAL 配列番号 2167 | GAGVPG 配列番号 2002 | GIPGGV 配列番号 2168 |
| LKPVPG 配列番号 1905 | PGVGVG 配列番号 2169 | IPPAAA 配列番号 2170 |
| ALVPGG 配列番号 2052 | RPGVGV 配列番号 1938 | ARPGFG 配列番号 2171 |
| VLPGAR 配列番号 2172 | GGFPGF 配列番号 2173 | GLSPIF 配列番号 2174 |
| PTGAGV 配列番号 2175 | VGVVPG 配列番号 1941 | GIPVVP 配列番号 1934 |
| AGAAGK 配列番号 2176 |                  |                  |

## 【0112】

10

## ビメンチン

いくつかの候補プロテアーゼは、線維性組織中のビメンチンの消化に参与し得る。本発明者らは、純粋な天然タンパク質の様々なインビトロ切断を通して、以下の表に列挙する酵素が、少なくとも以下の配列の各末端の切断部位で、または「・」で示す切断部位で、または「・」が示されていない場合は配列の末端でビメンチンを切断すると判定した。

## 【0113】

【表 3 3】

表 2 7 : 特異的プロテアーゼによって生成されるビメンチン断片

| プロテアーゼ            | 切断部位の間の配列             | アミノ酸残基番号 |
|-------------------|-----------------------|----------|
| MMP2, MMP8, トリプシン | RLRSSVPGVR. 配列番号 2177 | 69-78    |
| MMP2, MMP8, トリプシン | RLRSSVPGVL. 配列番号 2178 | 69-78    |
| MMP2, MMP8, トリプシン | .LLQDSVDFSL 配列番号 2179 | 79-89    |
| MMP2, MMP8, トリプシン | .FADLSEAANR 配列番号 2180 | 295-304  |
| MMP2              | .ISLPLTFSS 配列番号 2181  | 410-420  |

20

\* ヒトビメンチン配列中

## 【0114】

従って、本発明の方法では、前記ペプチド断片は、好ましくは、表 2 4 中のビメンチンの部分配列のいずれか 1 つの N 末端もしくは C 末端部位での、または指示されている場合は「・」記号で示される部位での、プロテアーゼによるビメンチンの切断によって形成されるネオエピトープを含む。

30

## 【0115】

免疫学的結合パートナーは、ビメンチンの切断によって形成される C 末端または N 末端ネオエピトープと特異的に反応するものであり得る。

## 【0116】

適切な免疫学的結合パートナーは、従って、ペプチドの N 末端の以下の配列のいずれかと、またはペプチドの C 末端の以下の配列のいずれかと特異的に反応性であり得る：

## 【0117】

【表 3 4】

40

表 2 8. プロテアーゼによって生成されるビメンチンのペプチド断片の N 末端配列

| ビメンチン            |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| LLQDSV 配列番号 2182 | FADLSE 配列番号 2183 | ISLPLP 配列番号 2184 |

## 【0118】

## 【表 3 5】

表 2 9. プロテアーゼによって生成されるビメンチンのペプチド断片の C 末端配列

|                  |                  |
|------------------|------------------|
| ビメンチン            |                  |
| SVPGVR 配列番号 2185 | SVPGVL 配列番号 2186 |

## 【 0 1 1 9 】

同様の方法で検定し得るネオエピトープを規定するさらなる切断部位は、コラーゲン、エラスチン、CRP およびプロテオグリカンまたは他の線維性組織タンパク質を本明細書で述べる酵素のいずれかに暴露し、それによって生成されたペプチドを単離して、配列決定することによって同定できる。さらに、アッセイは、例示した切断部位に隣接して生成される、すなわち上記で示した N 末端エピトープに至る C 末端配列および上述した C 末端エピトープに結合する N 末端配列中のネオエピトープに基づき得る。

10

## 【 0 1 2 0 】

上述したペプチドの 2 以上についてのアッセイは、別々に実施して、それらの結果を組み合わせてもよく、または上述したペプチドの 2 以上を一緒に測定してもよい。

## 【 0 1 2 1 】

本発明によるアッセイの結果は、診断または予後値の総合指標を形成する 1 またはそれ以上の他の測定バイオマーカーと組み合わせてもよい。

20

## 【 0 1 2 2 】

一般に、不均一および均一形式、サンドイッチアッセイ、競合アッセイ、酵素結合アッセイ、放射免疫検定法等を含む、これまでに公知のすべての免疫検定法の形式が本発明に従って使用できる。従って、場合により、前記方法は、前記免疫学的結合パートナーと競合物質を前記試料の存在下でインキュベートし、競合物質が免疫学的結合パートナーと結合するために試料中のペプチド断片と競合する競合免疫検定法として実施される。

## 【 0 1 2 3 】

前記競合物質は、(1) I 型、III 型、IV 型、V 型もしくは VI 型コラーゲンの配列、または CRP、またはプロテオグリカンであるパーシカン、ルミカン、パールカン、デコリンおよびビグリカンペプチドのいずれかに由来する合成ペプチドであり得るか、または競合物質は、(2) プロテアーゼによって切断されて前記ネオエピトープとなる、精製された天然の I 型、III 型、IV 型、V 型もしくは VI 型コラーゲン、または CRP、またはプロテオグリカンであるニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、パールカン、デコリンおよびビグリカンのいずれかに由来し得る。

30

## 【 0 1 2 4 】

1 つの適切な方法は、I 型、III 型、IV 型、V 型、VI 型コラーゲン、CRP、ビメンチンもしくはプロテオグリカンのニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカン断片のいずれかのネオエピトープ、または線維性組織に由来する他のタンパク質からのペプチド断片上のネオエピトープに結合するモノクローナル抗体または抗体結合断片を使用した競合免疫検定法であり得る。マイクロタイタープレートの固体表面上に被覆された、適切に選択された合成ペプチドは、モノクローナル抗体または結合断片への結合に関して試料と競合し得る。あるいは、モノクローナル抗体または結合断片によって認識されるネオエピトープを担持する精製天然 I 型、III 型、IV 型、V 型、VI 型コラーゲン、CRP、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカン断片を固体表面で使用し得る。さらにもう 1 つの代替例は、モノクローナル抗体または結合断片を固体表面に固定化し、次に、試料を、シグナル分子、例えばホースラディッシュペルオキシダーゼまたはビオチンに適切に連結された合成ペプチドと共にインキュベ

40

50

トすることである。

【0125】

試料は、血清、血液、血漿または他の、例えば線維性組織生検の試料であり得る。

【0126】

アッセイは、前記ネオエピトープと特異的に反応する第一免疫学的結合パートナーと、ネオエピトープが属する関連タンパク質に対して反応性の第二免疫学的結合パートナーを用いたサンドイッチアッセイとして実施し得る。場合により、前記第二免疫学的結合パートナーは、同じタンパク質の第二のエピトープに対する結合パートナーである。

【0127】

特定の好ましい方法では、本発明の方法は、前記ペプチド断片の前記結合の測定レベルを、(a) 匹敵する健常個体および/または(b) 病的線維性状態の特徴を示す数値と比較し、場合により測定されたペプチドの高レベル(通常は高い結合レベルによって示される)をより重度の前記状態と関連付けることをさらに含む。

【0128】

本発明の1つの態様は、前述したネオエピトープ、特にI型およびIV型コラーゲンについてのネオエピトープを認識するモノクローナル抗体の開発に関する。これは、I型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカン分子のアミノ酸配列(上記に列挙した配列またはその中で終了する配列を含む)に由来する合成ペプチドでマウスを免疫し、選択したマウスからの脾細胞を骨髓腫細胞に融合して、関連合成ペプチド上のネオエピトープに対する結合に関してモノクローナル抗体を試験することによって達成できる。ネオエピトープに対する特異性は、合成ペプチドとの反応性、および免疫ペプチドのC末端延長形態(C末端ネオエピトープに関して)または免疫ペプチドのN末端延長形態(N末端ネオエピトープに関して)との反応性の欠如を求めることによって確実にし得る。天然のI型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカンへの結合能力の欠如を確認するために、ネオエピトープに対する抗体も評価し得る。あるいは、ネオエピトープに対する特異性は、抗体の反応性が、末端アミノ酸の1つに共有結合連結されたビオチンまたは他の官能基の存在に負の依存性を有することを求めることによって確実にし得る。

【0129】

本発明は、上記に提示したI型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカンの部分配列のいずれか1つの末端部位における、プロテアーゼによるI型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカンの切断によって形成されるネオエピトープと特異的に免疫反応性である免疫学的結合パートナーを含み、例えばモノクローナル抗体またはその結合断片であり得る。

【0130】

本発明は、上記に提示したI型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカンの部分配列のいずれか1つにおける配列の末端部位でのI型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカンの切断によって形成されるC末端またはN末端ネオエピトープに対するモノクローナル抗体を産生する細胞株を含む。

## 【 0 1 3 1 】

本発明は、上記に提示したこれらのタンパク質の部分配列のいずれか1つにおけるI型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカンの切断によって形成されるC末端またはN末端ネオエピトープを含むペプチドをさらに提供する。そのようなペプチドは、前記ペプチドに対する免疫応答を生じさせるためにハプテンとして担体に結合し得るか、または免疫検定法における使用のために固体表面に固定化し得るもしくは検出可能なマーカに結合し得る。

## 【 0 1 3 2 】

本発明は、上記に提示したI型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカンの部分配列のいずれか1つにおける、I型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカンの切断によって形成されるC末端またはN末端ネオエピトープを含むペプチドをコードする単離核酸分子をさらに含む。

## 【 0 1 3 3 】

本発明は、上記に提示したI型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカンの部分配列のいずれか1つにおける、I型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカンの切断によって形成されるC末端またはN末端ネオエピトープを含むペプチドの発現のための発現シグナルおよび該ペプチドの発現をコードするコード配列を含有する核酸配列を含むベクターをさらに含み、そのようなベクターで形質転換された、前記ペプチドを発現する宿主細胞をさらに含む。

## 【 0 1 3 4 】

本発明のさらにもう1つの態様は、上述した方法を実施するために好都合に使用できるキットに関する。そのようなキットは、(1)合成ペプチドで被覆されたマイクロタイタープレートと、(2)前記合成ペプチドと反応性の本発明のモノクローナル抗体または抗体結合断片と、(3)標識抗マウスIgG免疫グロブリンとを含み得る。あるいは、そのようなキットは、(1)精製天然I型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカン断片で被覆されたマイクロタイタープレートと、(2)I型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカン断片上のネオエピトープを認識し、前記精製I型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカン断片と反応性であるモノクローナル抗体と、(3)標識抗マウスIgG免疫グロブリンとを含み得る。あるいは、そのようなキットは、(1)ストレプトアビジンで被覆されたマイクロタイタープレートと、(2)ビオチンに連結された合成ペプチドと、(3)I型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカン断片上のネオエピトープを認識し、前記合成ペプチドと反応性であるモノクローナル抗体と、(4)標識抗マウスIgG免疫グロブリンとを含み得る。さらにもう1つの代替例は、(1)ス

10

20

30

40

50

トレプトアビジンで被覆されたマイクロタイタープレートと、(2) ビオチンに連結された合成ペプチドと、(3) I型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカン断片上のネオエピトープを認識する(および前記合成ペプチドと反応性である)、ホースラディッシュペルオキシダーゼに結合されたモノクローナル抗体とを含むキットであり得る。

【0135】

従って、本発明は、本明細書で述べる、特にI型およびIV型コラーゲンに関する免疫学的結合パートナー、ならびに前記免疫学的結合パートナーに結合する競合物質、ならびに、場合により洗浄試薬、緩衝液、停止試薬、酵素標識、標識酵素の基質、校正基準、抗マウス抗体および指示書の1またはそれ以上を含む免疫検定キットを包含する。

10

【0136】

本明細書で述べるアッセイは患者における線維症の診断に有用である。加えて、試験は、疾患の進行の評価および治療に対する応答を監視するために有用である。本発明の免疫学的結合パートナーは、I型、III型、IV型、V型、VI型コラーゲン、CRP、ビメンチン、ニューロカン、プレビカン、フィブロモジュリン、セルグリシン、シンデカン、グリカン、パーシカン、ルミカン、デコリン、パールカンおよびビグリカン切断産物の存在または位置を示すために免疫染色においても使用し得る。

【0137】

以下の実施例および添付の図面を参照して本発明をさらに説明し、例示する。

20

【図面の簡単な説明】

【0138】

【図1】図1は、種々の生物学的試料：プールされたヒト血清試料(血清)；ヒト羊水(AF)；ヒト線維芽細胞培地(Fibr. Cltr.)のCO3 ELISA結果を表示するグラフを示す。

【図2a】偽手術したラット(s)ならびに基線時(b)および終了時(t)の胆管結紮ラットにおけるCO3血清レベルを表示するグラフを示す。

【図2b】ラット血清中のCO3の対応する値：終了時レベル-基線レベルを示す。

【図3】図3は、種々のヒト血清試料中のCO3レベルを表示するグラフを示す。正常血清：健常個体より。COPD：慢性閉塞性肺疾患(肺線維症を導く)。強皮症(皮膚および肺線維症を導く)。HCV：C型ウイルス性肝炎(肝線維症を導く)。

30

【図4】図4は、実施例5で測定した肝重量と肝スコアを示す。

【図5】図5は、実施例5で本発明に従って測定したIII型コラーゲンのMMP-9切断断片のレベルを示す。

【図6】図6は、実施例5で測定したBDLラットまたは偽手術ラットにおけるIII型コラーゲン遺伝子発現のレベルを示す。

【図7】図7は、ウエスタンブロット法によって測定した、実施例5で使用された抗体と反応性のIII型コラーゲンのMMP-9切断断片の発現レベルの変化を示す。

【図8】図8は、実施例5で得た肝切片の組織染色の結果を示す。

【図9】図9は、実施例5で測定した、本発明によるIII型コラーゲンの断片の測定と他の肝バイオマーカーの相関を示す。

40

【図10】図10は、実施例6においてヒト血清試料に関して得た結果を示す。

【図11】図11は、CRPからのN末端ネオエピトープを認識するモノクローナル抗体の反応性を試験して得た結果を示す。

【図12】図12は、実施例8で測定したラット肝におけるコラーゲン蓄積を示す。

【図13】図13は、実施例8で得た免疫検定法の結果を示す。

【図14】図14は、肝コラーゲン含量と図13の免疫検定法結果の相関を示す。

【図15】図15は、本発明による免疫検定法の結果と、実施例8におけるヒアルロン酸およびシリウスレッド染色の測定との比較を示す。

【図16】図16は、最初のパネルではシリウスレッド染色と本発明による免疫検定法が

50

らの結果の相関、および2番目のパネルではヒアルロン酸レベルとシリウスレッド染色との相関を示す。

【図17】図17は、本発明の免疫検定法の結果とヒアルロン酸レベルとの間に相関がないことを示す。

【図18】図18は、実施例9で述べる皮膚切片と皮膚の厚さの測定を示す。

【図19】図19は、実施例9における本発明に従った免疫検定法からの結果を示す。

【図20】図20は、パネルAでは実施例9で得たウエスタンブロット像およびパネルBでは本発明による対応する免疫検定法結果を示す。

【図21】図21は、免疫検定法の結果と皮膚厚さ測定との相関を示す。

【図22】図22は、実施例9で述べる尿の免疫検定法結果とウエスタンブロット測定との相関を示す。

【実施例】

【0139】

<実施例1：MMP-9で分解したIII型コラーゲン>

方法

切断：ヒト胎盤から単離したIII型コラーゲンを10mM酢酸に溶解した(1mg/ml)。次に混入断片を除去するためにタンパク質溶液をフィルター(Microcon Ultracel YM-10)に通した。MMP-9を酢酸4-アミノフェニル水銀(APMA, Sigma)で37にて3時間予備活性化した。活性化後、III型コラーゲンとMMP-9を100:1で混合し、37で3日間、振とうしながらインキュベートした。

【0140】

溶液を液体クロマトグラフィー/質量分析法(LC/MS)によって分析し、Mascot検索を実施することによって断片を同定した。ペプチド配列を相同性検索によって選択し、他のタンパク質もしくは関連タンパク質に対する交差反応性、または種間交差反応性がないことを確実にした。

【0141】

抗体設計：ペプチド配列を合成し、オボアルブミン(OVA)に結合した。マウスを2~3週間ごとに5回まで免疫した。抗体価を、選択および非選択の両方のスクリーニングペプチドによって検査した。十分な抗体価が達成された場合、陽性マウスを融合のために選択し、安楽死させて、脾臓を分解し、B細胞を骨髄腫細胞との融合のために取り出した。抗体産生細胞の選択は、単細胞クローン中の生存キメラ細胞を培養し、再接種することによって実施した。ネオエピトープは小さな合成ペプチド配列によって生成され、これは天然タンパク質を反映しないことがあり得るので、クローンを選択および非選択ペプチドによって、次いで天然反応性試験によって選択する(図1)。IgGサブタイプクローンを抗体産生のために選択する。プロテインGカラムによって抗体の精製を行う。

【0142】

アッセイの開発：最適抗体濃度を、抗体被覆およびスクリーニングペプチドの希釈液を用いて、競合ELISAにおいてチェッカーボード解析によって決定する。MMP-9(CO3)アッセイによる分解されたコラーゲンについての種々の測定を表24に示す。

【0143】

【表36】

表24. 検出限界、CO3アッセイ間平均変動およびCO3アッセイ内平均変動

|           |           |
|-----------|-----------|
| 検出限界      | 0.5 ng/ml |
| アッセイ間平均変動 | 3.71 %    |
| アッセイ内平均変動 | 5.48 %    |

【0144】

<実施例2：生物学的関連試料中のCO3：偽手術ラットと比較した胆管結紮ラットにお

10

20

30

40

50

けるCO<sub>3</sub>レベル>

方法：40匹の雌性Sprague-Dawleyラット(6ヶ月齢)をNordic Bioscienceの動物実験施設に収容した。実験は、デンマーク法務省の実験動物委員会(Experimental Animal Committee of the Danish Ministry of Justice)によって承認され、臨床試験実施基準のヨーロッパ規格(European Standard for Good Clinical Practice)(2008/561-1450)に従って実施された。ラットを、敷き料および巣材(Altromin 1324; Altromin, Lage, Germany)と共に標準的なIII-H型ケージに18~22で収容し、精製水(Milli-Q system; Millipore, Glostrup, Denmark)を自由に摂取させた。ラットを12時間の明/暗周期の条件下で飼育した。

10

【0145】

肝線維症を総胆管結紮(common BDL)によって誘発した。簡単に述べると、ラットを麻酔し、胆管を見つけ出して、胆管の周囲で2つの結紮を実施し、次いで結紮の間を切断して、腹部を閉じた。偽手術したラットでは、胆管結紮を行わずに腹部を閉じた。ラットを2つの群に分けた。第1群(BDLラット10匹と偽手術ラット10匹)は2週間後に犠死させ、第2群(BDLラット9匹と偽手術ラット10匹)は4週間後に犠死させた。試験期間(2または4週間)の終了時に、少なくとも14時間の絶食後、すべての生存動物をCO<sub>2</sub>によって窒息させ、瀉血によって犠死させた。

20

【0146】

基線時および終了時に軽いCO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>麻酔下で、少なくとも14時間絶食させたラットの後眼窩洞から血液試料を採取した。血液を収集し、室温で30分間放置して凝固させ、次いで1500gで10分間遠心分離した。血餅を取り除いた液体全部を新しい管に移し、再び1500gで10分間遠心分離した。次に血清を清浄な管に移し、-80で保存した。CO<sub>3</sub>をラットからの5倍希釈血清試料中で測定した。偽手術とBDLのレベルを、正規分布を仮定した統計的有意性のマン-ホイットニー両側ノンパラメトリック検定( $\alpha = 0.05$ )によって比較した。CO<sub>3</sub>レベルは、偽手術動物と比較してBDL群において有意に高かった。結果を図2aおよびbに示す。

30

【0147】

<実施例3：種々の線維性疾患におけるCO<sub>3</sub>(ヒト血清)>

CO<sub>3</sub>レベルを、3つの異なる線維性疾患(慢性閉塞性肺疾患(COPD)、強皮症およびC型ウイルス性肝炎(HCV))を有するヒトからの血清中で測定した。血清試料はSera Laboratories International Ltd(SLI Ltd), UKから入手した。CO<sub>3</sub>レベルは、3つの異なる線維性疾患において上昇していた(図3)。

【0148】

<実施例4：抗体の開発 - マーカCO<sub>3</sub>-610Cの検出>

III型コラーゲン(Abcam, Cambridge, UK)を活性化MMP-9(Merck KGaA, Darmstadt, Germany)によってインビトロで2日間分解した。分解断片をLS-MS/MSによって配列決定し、MASCOT検索によって同定した。特定ペプチド配列、<sup>610</sup>KNGETGPQを抗体作製のために選択した。この配列のN末端はヒトIII型コラーゲンの残基610である。合成ペプチドをオボアルブミンに結合した後、4~6週齢のBalb/Cマウスを乳化抗原約200μLおよびCO<sub>3</sub>-610C(KNGETGPQGPGC-OVA)50μgにより皮下免疫した。安定な血清力価レベルに達するまで、フロイント不完全アジュバント中、2週間の間隔で連続免疫を実施した。2回目の免疫時からマウスを採血した。各採血時に、血清力価を測定し、最も高い抗血清力価を有するマウスを融合のために選択した。4回目の免疫後、このマウスを1ヶ月間休息させ、次に0.9%塩化ナトリウム溶液100μL中のCO<sub>3</sub>-610C 50μgで3日間静脈内追加免疫した後、細胞融合のために脾臓を単離し

40

50

た。

【0149】

モノクローナル抗体産生クローンを、Chinese Peptide Company, Beijing, Chinaより購入した、a)免疫原性ペプチド：KNGETGPQGP-GGC-オボアルブミン(OVA)(807678)、b)スクリーニングペプチド：KNGETGPQGP-PG-K-ビオチン(807971)、c)非選択ペプチド：II型コラーゲン1鎖であるKDGETGAAGPPGK-ビオチン(118318)、I型コラーゲン1鎖の分解産物であるKDGEAGA QGPPGK-ビオチンを用いて選択した。ELISA被覆プレートはNUNC(ThermoFisher, Copenhagen, Denmark)より入手した。ペプチド結合試薬および緩衝液はPierce(ThermoFisher, Copenhagen, Denmark)によって生産された。

10

【0150】

被覆ペプチドを溶解するために使用した緩衝液は以下のもので構成された：40mMの $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、12 $\text{H}_2\text{O}$ 、7mMの $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、137mMの $\text{NaCl}$ 、2.7mMの $\text{KCl}$ 、25mMの $\text{EDTA}$ 、0.1%Tween20、1%BSA、10%ソルビトール、pH7。血清アッセイについては、以下の化学物質を含有する緩衝液を使用した：8mMの $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、12 $\text{H}_2\text{O}$ 、1.5mMの $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、13.7mMの $\text{NaCl}$ 、2.7mMの $\text{KCl}$ 、0.1%Tween20、1%BSA、0.003%フェノールレッド、pH7.4。尿のアッセイに使用した異なる緩衝液は、400mMのTRIZMA、0.05%Tween20、0.1%BSA、0.36%Bronidox L5、pH8.0を含んだ。血清及び尿アッセイの両方について、25mMのTRIZMA、50mMの $\text{NaCl}$ 、0.036%Bronidox L5、0.1%Tween20から成る洗浄緩衝液、および0.1% $\text{H}_2\text{SO}_4$ から成る反応停止緩衝液を使用した。アッセイ開発のために使用したELISAプレートは、Roche(Hvidovre, Denmark)からのストレプトアビジン被覆プレート、カタログ番号：11940279であった。すべてのELISAプレートをMolecular Devices, SpectraMax M(CA, USA)からのELISAリーダーで分析した。

20

【0151】

予備実験において、いくつかのチェッカーボード解析を実施することによって試薬、これらの濃度およびインキュベーション期間を最適化した。ストレプトアビジンで被覆した96穴ELISAプレートを、300rpmで絶えず振とうすることによって20で30分間PBS-TBE緩衝液に溶解した5ng/mlの合成ペプチド、ビオチニル化KNGETGPQGPでさらに被覆した。洗浄緩衝液で洗った後、試料20 $\mu\text{l}$ を添加し、次いでペルオキシダーゼ結合抗ヒトmAb-NB51-32 CO3-610C溶液(インキュベーション緩衝液中23pg/ml)100 $\mu\text{l}$ を添加した。プレートを20で1時間インキュベートし、その期間中300rpmで振とうした。その後洗浄し、最後に、テトラメチルベンジリジン(TMB)100 $\mu\text{l}$ (Kem-En-Tec、カタログ番号4380H)を加えて、プレートを暗所にて300rpmで振とうしながら15分間インキュベートした。反応を停止するため、停止溶液100 $\mu\text{l}$ を添加し、プレートを、650nmを参照として用いて450nmでELISAリーダーにおいて分析した。

30

40

【0152】

血清アッセイについてはビオチニル化NB51-32 CO3-610Cおよび尿アッセイについてはビオチニル化NB51-134 CO3-610Cの連続希釈によって標準曲線を作成した。標準濃度は、0、0.33、1、3、9、27、81および162ng/mlであった。

【0153】

配列KNGETGPQGPのN末端のアミノ酸Kは、ヒトIII型コラーゲン配列のアミノ酸610であるので、このようにして得られた免疫検定法を用いて検出された断片をCO3-610Cと称する。

50

## 【0154】

<実施例5：ラットで誘発した肝線維症におけるCO3-610Cと他のバイオマーカとの比較>

試験動物

40匹の6ヶ月齢の雌性Sprague-DawleyラットをNordic Bioscience, Copenhagen, Denmarkの動物実験施設に収容した。実験は、デンマーク法務省の実験動物委員会によって承認され、臨床試験実施基準のヨーロッパ規格(2008/561-1450)に従って実施された。ラットを、敷き料および巢材(Altromin 1324; Altromin, Lage, Germany)と共に標準的なIII-H型ケージに18~22で収容し、水を自由に摂取させた。ラットを12時間の明/暗周期の条件下で飼育した。

10

## 【0155】

試験計画

20匹のラットにおいて、肝線維症を総BDLによって誘発した。手術手順は無菌条件下で実施した。ラットを麻酔し、胆管の位置を特定して、2か所で結紮し、次いで結紮の間を切断して、腹部を閉じた。その他の20匹のラットは偽手術に供し、胆管結紮を行わずに腹部を閉じた。次にラットを2つの群に分けた。第1群(BDLラット10匹と偽手術ラット10匹)は2週間後に犠死させ、第2群(BDLラット10匹と偽手術ラット10匹)は4週間後に犠死させた。試験期間(2または4週間)の終了時に、少なくとも14時間の絶食後、すべての生存動物をCO<sub>2</sub>によって窒息させ、瀉血によって犠死させた。

20

## 【0156】

採血

基線時および終了時に軽いCO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>麻酔下で、少なくとも14時間の絶食後にラットの後眼窩洞から血液試料を採取した。血液を室温で30分間放置して凝固させ、次いで1500gで10分間遠心分離した。血餅を取り除いた液体全部を新鮮な管に移し、再び1500gで10分間遠心分離した。次に血清を清浄な管に移し、-80で保存した。

## 【0157】

組織の取扱い

ラットを安楽死させた後、肝臓を慎重に切開し、計量して、4%ホルムアルデヒド中に少なくとも24時間固定し、適切な切片に切断して、パラフィンに包埋した。5μmの厚さの切片を切断し、スライドガラスに載せて、シリウスレッドで染色した。肝切片を、構造、炎症の存在、胆管の増殖および線維症の評価によって組織学的に評価した。実質中の新たな胆管形成を、以下の採点法を用いて半定量的に評価した：正常=0、軽度の変化(1/3以下の罹患小葉)=1、中等度の変化(1/3~2/3の罹患小葉)=2、および重度の変化(2/3以上の罹患小葉)=3。40倍および100倍の倍率のOlympus BX60顕微鏡とOlympus 5050ズームデジタルカメラ(Olympus, Tokyo, Japan)を使用してデジタル写真を撮影した。

30

## 【0158】

総コラーゲンおよび血清CTX-I Iの測定

市販のQuickZyme Collagen Assay(QuickZyme Bioscience, Leiden, The Netherlands)を使用して総コラーゲン濃度を検定した。市販のRat CTX-I Iキット(IDS Nordic, Herlev, Denmark)を使用してCTX-I Iの濃度を検定した。すべての試料を2回重複して検定した。

40

## 【0159】

I I I型コラーゲンのmRNAの定量化

肝組織試料中のI I I型コラーゲン(Col3a1)の転写産物の数を、蛍光レポータープロンプを用いて定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)によって測定した。試料中のCol3a1コピー数を、Col3a1プラスミドcDNA Ima

50

ge Clone 7097081 (Geneservice, Cambridge, UK) を希釈標準品として使用して得た標準曲線から推定した。Col3a1の量を、ハウスキッピング遺伝子、ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ1 (Hprt1) の量で基準化した。Col3a1およびHprt1 mRNAについてのプライマーおよびプローブは、それぞれNCBI参照配列NM\_032085.1およびNM\_012583.2 (TIB Molbiol GmbH, Berlin, Germany) を鋳型として用いて設計した。Absolutely RNA Miniprepキット (Stratagene, La Jolla, CA, USA) を製造者の指示に従って使用して全RNAを凍結肝試料から抽出し、2100 Bioanalyzer装置 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) を用いてその品質をRNAナノチップ中で評価した。RNAの単離後すぐに、1 µgのRNAを鋳型として用いて、Transcriptor First Strand cDNA合成キット (Roche, Basel, Switzerland) で相補的DNA (cDNA) を合成した。試験した各々の試料について、反応混合物から逆転写酵素を除いた、cDNA合成陰性対照を含めた。Col3a1およびHprt1について別々のPCR反応を、Lightcycler Faststart DNA Master Plus Hybprobeキット (Roche) を製造者の指示に従って使用して20 µL形式で実施した。リアルタイム蛍光データをLightcycler 2.0装置 (Roche) で収集した。

10

20

【0160】

抽出

組織をスチール製粉碎機中の過剰の液体窒素中で粉碎した。次に試料を1.5 ml エッペンドルフ管に移し、プロテアーゼ阻害剤カクテル (Roche) を含有する0.5 M 酢酸溶液中、4 で一晩振とうした。次に試料を、60% 振幅の5パルスを用いて超音波で破碎し (U50 control, IKA Labortechnik)、4 でさらに2時間放置した後、13,000 rpmで5分間遠心分離した。上清を慎重に取り出し、新しいエッペンドルフ管に移して、-80 で保存した。

【0161】

デンシトメトリー

Silk Scientific (give city, country) からのUN-SCAN-ITバージョン6.1を用いてデンシトメトリー測定を実施した。

30

【0162】

組織像分析

シリウスレッドで染色した組織学的切片を、Visiopharmソフトウェアバージョン3.2.8.0 (give city, country) を用いて分析した。Pixelink PL-A623C顕微鏡デジタルカメラを用いて画像を取得した。

【0163】

SDS-PAGEおよびウエスタンブロット法

組織抽出物20 µgを、還元剤 (InvitrogenからのNuPAGE、NP0004) を含有する充填緩衝液 (Invitrogen LDS 4x、NP0007) と混合した。次に試料を4~12%ビス-トリス勾配ゲル (InvitrogenからのNP0332BOX) に充填し、200Vで52分間泳動させた。その後i-Blotトランスファースystem (Invitrogen) を用いてタンパク質をニトロセルロース膜に転写し、(? Need to spell out?) TTBS中5%乳を用いて4で一晩ブロックした。アクチン抗体 (AbCam ab8229, give company, city country?) を充填対照として使用した。

40

【0164】

統計分析

平均値および平均の標準誤差 (SEM) を、GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) を用いて

50

計算し、正規分布を仮定した統計的有意性のスチューデント両側ペアード t 検定によって ( $\alpha = 0.05$ )、またはマン-ホイットニー両側ノンパラメトリック検定によって ( $\alpha = 0.05$ ) 比較した。相関係数 ( $R^2$ ) および対応する p 値を線形回帰によって決定した。

#### 【0165】

##### 結果

肝臓の外観：犠死の時点で、対照動物の肝臓は正常な全体形態を示したが、BDL動物の肝臓は腫脹していた。肝重量は、偽手術対照と比較してBDLラットでは有意に増大していた(犠死時の平均重量：手術後2週間目、偽手術では8.1g；BDLでは14.1g；手術後4週間目、偽手術では9.0g；BDLでは19.4g)(図4、パネルA)。0~3等級を用いた肝切片の半定量的採点は、2週間目と比較して4週間目では肝臓の有意に大きな構造変化を示した(図4、パネルB)。図4、パネルAは、胆管結紮(BDL)ラットまたは偽手術ラットにおける肝重量を示す。データは平均+SEMで示している。\*\*\*、 $P < 0.0001$ 。パネルBは、各群の肝臓における構造変化の採点を示す。データは平均+SEMで示している。\*\*、 $P = 0.0094$ 。パネルCは、手術後2週間目と4週間目の偽手術ラットおよびBDLラットにおける肝構造を示すシリウスレッド顕微鏡写真を示す。門脈路の周囲の肝構造は、偽手術ラットと比較してBDLラットでは明らかに破壊されている。コラーゲンを赤色で強調している。もとの倍率は40倍であった。

10

20

#### 【0166】

組織学的検査下で、偽手術動物の肝臓は線維症の徴候を示さず、顕微鏡的に正常であった(図4C)。BDLラットの肝臓では、著明な胆管増殖が観察された。手術後2週間目の群では、増殖は門脈路の周囲に位置したが、4週間目の群では増殖が広がっていた(図4C)。コラーゲン沈着が胆管構造の周囲で認められた。炎症はわずかであり、門脈路に限定された。細胞内胆汁うっ滞、胆管塞栓、胆汁梗塞または肝細胞ロゼット形成のいずれに関しても、胆汁うっ滞の徴候は見られなかった。

#### 【0167】

CO3-610Cレベルの変化：図5は、パネルAでは胆管結紮(BDL)ラットまたは偽手術ラットにおけるMMP-9媒介性CO3分解の血清レベルを示す。データは平均+平均の標準誤差として示している。手術後2週間目、\*\*\* $P < 0.0001$ および手術後4週間目、\*\* $P = 0.0014$ 。パネルBでは、CO3-610Cの値(終了時-基線時、ペアード)を示す。手術後2週間目、 $P < 0.0001$ および手術後4週間目、 $P = 0.0016$ 。パネルCでは、BDLラットおよび偽手術ラットにおけるCTX-IIレベルを示す。データは平均+平均の標準誤差として示している。

30

#### 【0168】

BDL群では、偽手術群と比較してCO3-610Cレベルが有意に上昇していた(平均値：手術後2週間目の偽手術群39.7ng/ml、BDL群100.3ng/ml；群間の平均上昇率は153%であった；手術後4週間目の偽手術群39.7、BDL群92.6ng/ml；群間の平均上昇率は133%であった)(図5、パネルAおよびB)。偽手術群では変化がなかった。II型コラーゲン分解を示すCTX-IIレベルは、偽手術群またはBDL群において変化しなかった(図5、パネルC)。

40

#### 【0169】

III型コラーゲン遺伝子発現：図6は、BDLまたは偽手術ラットにおけるIII型コラーゲン遺伝子発現を示す。データは平均+平均の標準誤差として示している；手術後2週間目、 $P < 0.0001$ および手術後4週間目、 $P = 0.0006$ 。

#### 【0170】

III型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖のmRNAは、偽手術ラットと比較して両方のBDL群で有意に上昇していた。

#### 【0171】

ウェスタンブロット法およびデンシトメトリー：図7は、A)手術後2週間目と4週間

50

目のウエスタンブロット法、およびB) デンシトメトリーによって定量化したウエスタンブロット法からのバンドによって評価したBDL群および偽手術群のラットの肝臓におけるCO3-610Cの発現の変化を示す。

【0172】

ウエスタンブロット分析は、偽手術ラットにおいて非常に低いレベルのCO3-610Cを示した(図7、パネルA)。手術後2週間目およびそれ以後はCO3-610Cレベルが著しく上昇した(図7、パネルA)。結果をデンシトメトリー分析によって定量化した(図7、パネルB)。

【0173】

組織像分析：図8のパネルAは、上の列ではシリウスレッドで染色したBDLラットまたは偽手術ラットからの組織学的切片を示す。下の列は、肝臓における総コラーゲン含量(赤色)を定量するためにマスクされた組織学的切片を示す。パネルBは、Visiopharmソフトウェアによって定量化した総コラーゲンを示す - 手術後2週間目、 $P = 0.0081$ ；手術後4週間目、 $P = 0.0047$ 。

【0174】

シリウスレッドで染色し、Visiopharmソフトウェアを用いて増強した組織学的切片は、BDL処置ラットにおいて経時的なコラーゲン含量の増加を示した(図8、パネルA)。コラーゲンを示すマスク中の赤色は、同じソフトウェアを用いて定量化されたものであり(図8、パネルB)、偽手術ラットと比較してBDL処置ラットにおける総コラーゲン含量の有意の増加を確認した(手術後2週間目、 $P = 0.0081$ ；手術後4週間目、 $P = 0.0047$ )。

【0175】

相関：図9のパネルAは、CO3-610Cに対するCol3a1の相関が $R^2 = 0.6993$ 、 $P < 0.0001$ で認められたことを示す。パネルBでは、コラーゲン%に対するCO3-610Cの相関が $R^2 = 0.2278$ および $P = 0.0050$ で認められた。パネルCでは、コラーゲン%に対するCol3a1の相関が $R^2 = 0.5409$ 、 $P < 0.0001$ で認められた。

【0176】

以下について相関が認められた：CO3-610Cに対するCol3a1 mRNAが $R^2 = 0.6993$ および $P < 0.0001$ で(図9A)、visiopharmによって定量化されたコラーゲン%に対するCO3-610Cが $R^2 = 0.2278$ および $P = 0.0050$ で(図9B)、ならびにvisiopharmによって定量化されたコラーゲン%に対するCol3a1 mRNAが $R^2 = 0.5409$ および $P < 0.0001$ で(図9C)。

【0177】

ECMリモデリングは組織の発生、維持および病因の総合プロセスである。正しく且つ最適な組織の方向づけと質のために、タンパク質分解活性は、細胞移動、損傷組織の除去および新しいタンパク質の分離のためのプロセスにおいて不可欠である(108:109)。特異的なマトリックス分解産物であるネオエピトープは、肝線維症のマトリックス代謝回転の新しい生化学的マーカーの同定のためおよび線維症の病因を理解するために重要であると考えられる。現在のところ、線維症の病因におけるECMリモデリングの評価を可能にする使用可能な測定技術または生化学的マーカーは存在しない。

【0178】

この実施例では、インビボ状況下でCO3-610Cマーカーを検討するため、6ヶ月齢のBDLラットを選択した。前記ラットは、より若齢のラットに比べて低いコラーゲンリモデリングを有することが以前に示されていたからである。ラットは骨格的に成熟し、骨端軟骨板はほとんど休止して、そのため全体的なコラーゲン代謝回転に寄与する割合はるかに低い。これは、バイオマーカーに対する感受性と特異性に影響を及ぼす。これらのラットは、定量的な組織学的分析および重量増加を伴う腫脹の両方によって評価されたように、明らかに肝線維症を示し、従ってこのモデルはECMリモデリングの証拠、特に

10

20

30

40

50

血清中の I I I 型コラーゲンの証拠を探索するために適切であった。

【0179】

本発明のデータは、MMP-9 媒介性 I I I 型コラーゲン分解からのネオエピトープ C O 3 - 6 1 0 C が肝線維症についての生化学的診断マーカであり、BDL 処置ラットでは偽手術ラットから 153% までの血清中の平均上昇を有することを明らかに示す。

【0180】

C O 3 - 6 1 0 C マーカの上昇についての生物学的な理論的根拠をさらに検討するため、健常肝臓と疾患肝臓からタンパク質抽出を行った。ウエスタンブロット法によって主要バンドを同定し、これが、疾患肝臓では豊富であるが、健常肝臓では豊富でないタンパク質断片であることを示唆した。これは、この新規マーカの病理学的正確さの証拠を提供する。

10

【0181】

肝臓の病的代謝回転像をさらに検討するため、I I I 型コラーゲンの mRNA を測定した。偽手術を受けたラットと比較して BDL ラットでは mRNA の上昇を認め、これはこれまでの所見と一致する。これらのデータは、肝線維症が単なる ECM タンパク質の蓄積だけではなく、組織形成と組織分解の両方が高度に上方調節される、加速された代謝回転状況でもあることを強く示唆する。組織形成は組織分解を上回り、経時的に瘢痕組織の蓄積を導く。これまでの研究者たちは、肝線維症を評価するために他のマトリックス代謝回転タンパク質を使用し、その一つは I I I 型コラーゲン形成マーカである N 末端 I I I 型プロコラーゲンであった。このマーカは I I I 型コラーゲンの形成を示し、これまでの試験で肝線維症において上昇することが示されている。

20

【0182】

生化学的マーカ C O 3 - 6 1 0 C の動力学をさらに理解するため、様々な相関関係を検討した。最も重要な点として、定量的組織学検査によって肝臓で測定された線維症の程度に対する C O 3 - 6 1 0 C の有意の相関が存在した。肝線維症のレベルは I I I 型コラーゲンの mRNA の発現レベルに相関した。最後に、C O 3 - 6 1 0 C は肝臓における I I I 型コラーゲンの mRNA に相関した。合わせて考慮すると、肝臓における病的プロセスと全身性生化学的マーカ C O 3 - 6 1 0 C のレベルには有意の相関が存在した。加えて、組織抽出は、循環レベルが局所的に生成されることの証拠を提供した。

30

【0183】

< 実施例 6 : ヒト血清試料に関する E L I S A >

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) (n = 5)、強皮症 (n = 5)、慢性 C 型肝炎ウイルス感染症 (n = 5) を有する患者、および健常対照 (n = 5) からヒト血清試料を得た。C O 3 - 6 1 0 断片の濃度を測定するために血清試料を C O 3 - 6 1 0 E L I S A において試験した (上記実施例 4 参照)。結果を図 10 に示す。健常被験者からの血清試料は 30 ng / ml 未満の C O 3 - 6 1 0 C 断片の濃度を有していたが、疾患被験者は循環中で高いレベルを有することが認められ、罹患線維症組織における大量の組織リモデリングを示唆した。

【0184】

< 実施例 7 : クローン nb94 の反応性 >

マウスを、オボアルブミンに結合した合成ペプチド K A F V F P (配列番号 1167) (K A F V F P K E S D - G G C - O V A (配列番号 1049)) で免疫し、脾細胞を融合のために使用して、モノクローナル抗体を、ストレプトアビジンで前被覆したマイクロタイタープレートのウエル中に固定化したビオチニル化 K A F V F P (配列番号 1167)、すなわち (K A F V F P K E S D - ビオチン (配列番号 1049)) に対する反応性に関して試験した。ビオチニル化 K A F V F P K E S D (配列番号 1049) に結合する抗体をさらなる特徴づけのために選択し、前記抗体は、K A F V F P K E S D (配列番号 1049) との共インキュベーションによって阻害され得るが、伸長ペプチド R K A F V F P K E S D (配列番号 1166) によっては阻害されない。好ましいモノクローナル抗体を N B 9 4 - 3 7 - 1 A 7 と称した。

40

50

## 【0185】

競合ELISAを使用して、基本的にストレプトアビジン被覆マイクロタイタープレート（ウエル）中に固定化したビオチニル化KAFVFPKESD（配列番号1049）（0.15 ng/mlで使用した）に関して上述したように、試料とモノクローナル抗体NB94-37-1A7をインキュベートし（20℃で90分間）、次いで洗浄して、次にペルオキシダーゼ結合抗マウス免疫グロブリンを添加した。競合のために以下の物質を2倍希釈で使用した：（1）合成KAFVFP（配列番号1167）ペプチド；（2）CRPに無関係なナンセンスペプチド（KNEGTTG）；（3）ヒト血清試料のプール；（4）MMP3で7日間タンパク質分解切断し、その後プロテアーゼ活性をブロックするためにEDTAを添加して停止させ、試験時まで-80℃で保存したCRP；（5）（4）と同じであるがMMP3の代わりにMMP8を使用したCRP；（6）MMP3の代わりにカテプシンK（およびカテプシンK活性をブロックするための阻害剤としてE64）を使用した（2日間）ことを除いて（4）と同じCRP。

10

## 【0186】

データは、モノクローナル抗体NB94-37-1A7が合成ペプチドKAFVFPKESD（配列番号1049）、ならびにMMP3およびMMP8で切断したCPRと強く結合することを明らかにする。カテプシンKによるCRPの切断は、モノクローナル抗体NB94-37-1A7によって認識される分析物の放出がより少ない。最後に、データは、抗体がヒト血清中のペプチド断片に結合することを示し、循環ペプチド断片中にこの配列が存在することを確認する。

20

## 【0187】

<実施例8：生物学的関連試料中のCO3：ラットの四塩化炭素（CCl<sub>4</sub>）誘発性肝硬変におけるCO3レベル>

試験動物および肝硬変の誘発：

この試験は、線維症または肝硬変を有する52匹の雄性Wistarラットと35匹の雄性Wistar対照ラットを含んだ。ラットに線維症または肝硬変を発症させるために、四塩化炭素（CCl<sub>4</sub>）およびフェノバルビタール処置による誘発プログラムに3ヶ月齢の動物を含めた。CCl<sub>4</sub>を吸入によって週に2回投与し、フェノバルビタール（0.3 g/l）を飲料水に添加した。試験期間を通じて動物には水と飼料を自由に摂取させた。

30

## 【0188】

線維症の定量化：

肝切片（4 μm）を飽和ピクリン酸（Sigma-Aldrich, St. Louis, MO）中の0.1%シリウスレッドF3B（Sigma-Aldrich）で染色した。各動物につきシリウスレッド染色肝切片の36視野を分析することによって相対的線維症面積（総肝面積のパーセンテージとして表す）を評価した。各々の視野を10倍の倍率で取得した[E600顕微鏡（Nikon）およびRT-Slider SPOTデジタルカメラ（Diagnostic Instruments, Inc., Sterlिंग Heights, MI）。結果をコンピュータ化Bioquant Life Science形態計測システムを用いて分析した。相対的線維症面積を評価するため、測定されたコラーゲン面積を正味の視野面積で除して、次に100を乗じた。総視野面積から血管内腔面積を差し引いて正味線維症面積の最終算定を得た。分析した各動物から、パーセンテージとしての線維症の量を測定し、平均値を提示した。

40

## 【0189】

線維症/肝硬変病期による群の分類：

動物を線維症および肝硬変の4つの異なる病期に分類し（A群：中等度の線維症、B群：進行した線維症、C群：中等度の肝硬変、およびD群：進行した肝硬変）、この分類は、シリウスレッド陽性肝面積のパーセンテージによって決定した（A群：<5%、B群：5~10%、C群：10~15%およびD群：>15%）。このために、対照ラットと線維症/肝硬変ラットを、CCl<sub>4</sub>処置の間の4つの異なる時点：肝硬変誘発プログラムの

50

開始後 8、12、16 および 20 週間目を考慮して検討した。

【0190】

ヒアルロン酸測定：

サンドイッチ ELISA キット (R & D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA) を用いて血清ヒアルロナンを測定した。

【0191】

統計：

結果の統計分析は、適切な場合は対スチューデント t 検定によって実施した。データは平均 ± S.E.M. として表し、0.05 以下の p 値を有意とみなした。

【0192】

試験計画：

このプロトコールに含めた動物を以下の群の 1 つに無作為に割り当てた。A / 8 週間の CCl<sub>4</sub> 処置、B / 12 週間の CCl<sub>4</sub> 処置、C / 16 週間の CCl<sub>4</sub> 処置および D / 20 週間の CCl<sub>4</sub> 処置。並行して、4 つの対照群を同じ時点で検討した。13 匹の線維症ラットと 7 匹に対照ラットを各々の群に含めた。試験終了時に、3 日間の適応地期間中ラットを標準的な代謝ケージ (Tecniplast Deutschland, Hohepeissenberg, Germany) に入れ、その後 24 時間の尿収集を実施した。尿量を重量測定で決定した。適応期間中、ラットに水道水と飼料を自由に摂取させた。次に、24 時間の尿試料を 2,500 rpm で 5 分間遠心分離し、10 のポリプロピレンチューブに分取した (各々 400 μL)。尿試料をその後の分析のために -80 で保存した。

【0193】

予定されていた剖検時に、ラットを計量し、ペントバルビタール (50 mg / kg) で麻酔して、断頭した。血液を採取し、室温で 20 分間放置して凝固させ、その後 2500 rpm で 10 分間遠心分離した。血清をポリプロピレンチューブにアリコートとして収集し (各々 400 μL)、ドライアイスを通して -80 の冷凍庫に移した。CCl<sub>4</sub> 処置の開始時の基線血液試料の収集は、感染の危険性を上昇させ得るおよび / または誘発される病態生理学的プロセスの進行に支障をきたす可能性がある実験モデルの変化を導入し得る、付加的な介入処置を回避するため、考慮しなかった。組織学的検査およびシリウスレッド染色のために、肝臓の左葉の半分を 10% 中性緩衝ホルマリン中に 16 時間入れ、パラフィンに包埋して、4 μm 厚さの切片に切断した。肝線維症の定量化後、使用しなかったパラフィンブロック材料をバイオマーカー定量化のために保存した。左葉の他の半分は液体窒素中で急速冷凍し、ウエスタンブロット法、RT-PCR または免疫組織化学分析のために保存した。肝線維症面積、血清および尿重量オスモル濃度、Na<sup>+</sup> および K<sup>+</sup>、アルブミン、クレアチニン、アラニンアミノトランスフェラーゼおよび乳酸デヒドロゲナーゼの測定を試験材料および方法の章に従って実施した。

【0194】

結果：

モデルの組織学的有効性確認：

肝コラーゲンを、肝切片のシリウスレッド染色によってすべての試験動物において定量した。各動物についての最終データを、36 の連続する顕微鏡視野で観察されたレッド染色の平均として収集した (図 12)。

【0195】

図 12 は、四塩化炭素でそれぞれ 8 週間および 20 週間処置したラット No. 1 (左側) およびラット No. 43 (右側) の肝臓におけるコラーゲン蓄積を定量するために使用した 36 の画像の 2 セットからの代表的写真を示す。

【0196】

血清 CO3 マーカは、対照ラットと比較して線維症および肝硬変ラットの両方において統計的に有意の上昇を示す。動物を、線維症を定量するために使用した肝臓の完全自動化シリウスレッド染色手順に従って分類した (図 13 および 14)。

10

20

30

40

50

## 【0197】

図13は、Hospital Clinic (Barcelona)において実施されたCCL<sub>4</sub>吸入ラットおよび対照ラットにおける血清CO<sub>3</sub>レベルを示す。各々の点は1匹の動物を表す。ラットを、線維症を定量するために使用した肝臓のシリウスレッド染色のコンピュータ画像解析に従って分類した。

## 【0198】

血清CO<sub>3</sub>および肝臓のシリウスレッド染色の定量値を各々の動物において検討した場合、2つの変数の間で統計的に有意の相関を認めた ( $R^2 = 0.4087$ ;  $n = 21$ ) (図14)。

## 【0199】

CO<sub>3</sub>-610Cのレベルを肝線維症の血清学的指標であるヒアルロン酸(HA)と比較した。HAレベルを市販のELISAキットで定量し、結果は、肝硬変ラットと線維症動物におけるこのECM成分の有意の上昇を示す(図15および16)。

## 【0200】

シリウスレッドに対するCO<sub>3</sub>の相関はHAの相関を上回った。肝線維症の組織学的定量化における変動の70%以上がCO<sub>3</sub>の血清学的測定によって説明できる。残りの30%は未知の変数または固有の変動性によるものである。これに対し、ヒアルロン酸の測定によっては肝線維症の25%しか説明できない(図15)。

## 【0201】

これまでの結果から予想されたように、CO<sub>3</sub>とヒアルロン酸の間で相関は認められず、それらが肝線維症の発症における2つの独立した病態生理学的プロセスの結果であることを示唆した(図17)。

## 【0202】

実施例9：マウスにおけるブレオマイシン誘発性皮膚線維症

マウスをPBSまたはブレオマイシンの皮膚への適用によって処置した。MMP-9媒介性I型コラーゲン(CO<sub>3</sub>)分解断片CO<sub>3</sub>-610Cの尿中レベルの上昇は、マウスにおける皮膚線維症の進行と関連した。

## 【0203】

図18は、処置の8週間目のPBS処置ラットからの皮膚切片(パネルA)および処置の8週間目のブレオマイシン処置ラットからの皮膚切片(パネルB)を示す。2週間( $P = 0.0029$ )、4週間( $P = 0.0004$ )、6週間( $P < 0.0001$ )および8週間( $P < 0.0001$ )にわたってPBS( $n = 7$ /時点)およびブレオマイシン( $n = 13$ /時点)で処置したマウスの間での皮膚厚さの増大をパネルCおよびDにプロットしている。全体的な皮膚厚さは、試験期間中、PBS( $n = 28$ )およびブレオマイシン( $n = 52$ )処置マウスの間で増大する( $P < 0.0001$ )。皮膚幅は、写真をサンプリングする代わりに皮膚切片当たりの全体的な数としてVisiopharmソフトウェアによって計算した。

## 【0204】

図19は、試験の時点全体を通して有意の上昇を明らかにする、CO<sub>3</sub>-610C尿アッセイの結果を示す。この図は、各時点についての結果(終了時点についてPBS処置 $n = 7$ 、ブレオマイシン処置 $n = 13$ )およびすべての時点についての集合的なCO<sub>3</sub>-610Cレベル(PBS処置マウス $n = 28$ およびブレオマイシン処置マウス $n = 52$ )を示す。2週間、 $P = 0.0008$ 、4週間、 $P < 0.0001$ 、6週間、 $P < 0.0001$ 、8週間、 $P < 0.0001$ および全体、 $P < 0.0001$ 。

## 【0205】

図20は、2週間および8週間の処置後の対照CとブレオマイシンBに関するCO<sub>3</sub>-610Cウエスタンプロット像を示す(パネルA)。すべての時点についてのCO<sub>3</sub>-610Cデンシトメトリー測定(終了時点についてPBS処置 $n = 7$ 、ブレオマイシン処置 $n = 13$ )および集合的CO<sub>3</sub>-610Cレベル(PBS処置マウス $n = 28$ およびブレオマイシン処置マウス $n = 52$ )をパネルBに示し、CO<sub>3</sub>-610Cレベルの統計的に有意の

10

20

30

40

50

上昇 ( $P < 0.0001$ ) を明らかにする。

【0206】

図21に認められるように、尿アッセイにおけるCO3-610レベルは皮膚厚さの進行、従って総コラーゲン沈着と相関することが認められた。 $r = 0.4883$ 、 $R^2 = 0.2384$ 。

【0207】

図22に認められるように、統計的に有意の相関がCO3-610 ELISA尿アッセイとウエスタンブロットデンストメトリー測定の間で認められた ( $r = 0.6528$ 、 $P < 0.0001$ )。

【0208】

本明細書において、明白に指示されない限り、「または」の語は、記述される状態のいずれかまたは両方を満たす場合、真値を返す演算子 (operator) の意味で使用され、これに対し演算子「排他的にまたは」は状態の1つだけを満たすことが求められる。「含む」という語は、「から成る」を意味するのではなく「包含する」の意味で使用される。上記で認識したすべての先行教示は参照により本明細書に組み込まれる。本明細書におけるいかなる先行公表文献の認識も、その教示がその日現在、オーストラリアまたは別の場所での共通の一般的知識であったことの承認または表明であると解釈されるべきではない。

【0209】

[文献リスト]

10

20

## 【表 3 7 A】

## Reference List

1. World Health Organization. Reducing Risks, Promoting Healthy Life. Reducing Risks, Promoting Healthy Life, Geneva: WHO, 2002:1-230.
2. Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol* 2008;214:199-210.
3. Friedman SL. Mechanisms of disease: Mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2004;1:98-105. 10
4. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown RA. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3:349-363.
5. Wynn TA. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases. *J Clin Invest* 2007;117:524-529. 20
6. Marcellin P, Asselah T, Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S47-S56.
7. Gagliano N, Arosio B, Grizzi F, Masson S, Tagliabue J, Dioguardi N, Vergani C, Annoni G. Reduced collagenolytic activity of matrix metalloproteinases and development of liver fibrosis in the aging rat. *Mech Ageing Dev* 2002;123:413-425.
8. Laurent GJ. Dynamic state of collagen: pathways of collagen degradation in vivo and their possible role in regulation of collagen mass. *Am J Physiol* 1987;252:C1-C9. 30
9. Mays PK, McAnulty RJ, Campa JS, Laurent GJ. Age-related changes in collagen synthesis and degradation in rat tissues. Importance of degradation of newly synthesized collagen in regulating collagen production. *Biochem J* 1991;276 ( Pt 2):307-313.
10. Garrone R, Lethias C, Le Guellec D. Distribution of minor collagens during skin development. *Microsc Res Tech* 1997;38:407-412.
11. Gelse K, Poschl E, Aigner T. Collagens--structure, function, and biosynthesis. *Adv Drug Deliv Rev* 2003;55:1531-1546. 40
12. Phan SH, Thrall RS. Pulmonary Fibrosis. *Lung Biology in Health and Disease*. 80 ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 1995.

## 【表 3 7 B】

13. Martinez-Hernandez A, Amenta PS. The hepatic extracellular matrix. II. Ontogenesis, regeneration and cirrhosis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1993;423:77-84.
14. Gilliam AC. Scleroderma. *Curr Dir Autoimmun* 2008;10:258-279.
15. Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006;10:76-99. 10
16. Heinegard D, Oldberg A. Structure and biology of cartilage and bone matrix noncollagenous macromolecules. *FASEB J* 1989;3:2042-2051.
17. Svensson L, Oldberg A, Heinegard D. Collagen binding proteins. *Osteoarthritis and Cartilage* 2001;9:S23-S28.
18. Kiani C, Chen L, Wu YJ, Yee AJ, Yang BB. Structure and function of aggrecan. *Cell Res* 2002;12:19-32.
19. Krusius T, Gehlsen KR, Ruoslahti E. A fibroblast chondroitin sulfate proteoglycan core protein contains lectin-like and growth factor-like sequences. *J Biol Chem* 1987;262:13120-13125. 20
20. Yang BL, Zhang Y, Cao L, Yang BB. Cell adhesion and proliferation mediated through the G1 domain of versican. *J Cell Biochem* 1999;72:210-220.
21. Rauch U, Karthikeyan L, Maurel P, Margolis RU, Margolis RK. Cloning and primary structure of neurocan, a developmentally regulated, aggregating chondroitin sulfate proteoglycan of brain. *J Biol Chem* 1992;267:19536-19547. 30
22. Yamada H, Watanabe K, Shimonaka M, Yamaguchi Y. Molecular cloning of brevican, a novel brain proteoglycan of the aggrecan/versican family. *J Biol Chem* 1994;269:10119-10126.
23. Blochberger TC, Cornuet PK, Hassell JR. Isolation and partial characterization of lumican and decorin from adult chicken corneas. A keratan sulfate-containing isoform of decorin is developmentally regulated. *J Biol Chem* 1992;267:20613-20619.
24. Fisher LW, Termine JD, Young MF. Deduced protein sequence of bone small proteoglycan I (biglycan) shows homology with proteoglycan II (decorin) and several nonconnective tissue proteins in a variety of species. *J Biol Chem* 1989;264:4571-4576. 40
25. Toyama-Sorimachi N, Sorimachi H, Tobita Y, Kitamura F, Yagita H, Suzuki K, Miyasaka M. A novel ligand for CD44 is serglycin, a hematopoietic cell lineage-specific proteoglycan. Possible involvement in lymphoid cell adherence and activation. *J Biol Chem* 1995;270:7437-7444.

## 【表 3 7 C】

26. Bartlett AH, Hayashida K, Park PW. Molecular and cellular mechanisms of syndecans in tissue injury and inflammation. *Mol Cells* 2007;24:153-166.
27. Lopez-Casillas F, Wrana JL, Massague J. Betaglycan presents ligand to the TGF beta signaling receptor. *Cell* 1993;73:1435-1444.
28. Olsen BR. Life without perlecan has its problems. *J Cell Biol* 1999;147:909-912. 10
29. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999;340:448-454.
30. Benyon RC, Arthur MJ. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis* 2001;21:373-384.
31. Guo J, Friedman SL. Hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2007;27:413-426.
32. Iredale JP, Benyon RC, Arthur MJ, Ferris WF, Alcolado R, Winwood PJ, Clark N, Murphy G. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 messenger RNA expression is enhanced relative to interstitial collagenase messenger RNA in experimental liver injury and fibrosis. *Hepatology* 1996;24:176-184. 20
33. Lee KN, Jackson KW, Christiansen VJ, Lee CS, Chun JG, McKee PA. Antiplasmin-cleaving enzyme is a soluble form of fibroblast activation protein. *Blood* 2006;107:1397-1404.
34. Acharya PS, Zukas A, Chandan V, Katzenstein AL, Pure E. Fibroblast activation protein: a serine protease expressed at the remodeling interface in idiopathic pulmonary fibrosis. *Hum Pathol* 2006;37:352-360. 30
35. Levy MT, McCaughan GW, Marinos G, Gorrell MD. Intrahepatic expression of the hepatic stellate cell marker fibroblast activation protein correlates with the degree of fibrosis in hepatitis C virus infection. *Liver* 2002;22:93-101.
36. Meyer O. Prognostic markers for systemic sclerosis. *Joint Bone Spine* 2006;73:490-494.
37. Hummers LK. Microvascular damage in systemic sclerosis: detection and monitoring with biomarkers. *Curr Rheumatol Rep* 2006;8:131-137. 40
38. McHugh NJ, Distler O, Giacomelli R, Riemekasten G. Non organ based laboratory markers in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2003;21:S32-S38.
39. Muller-Quernheim J. Serum markers for the staging of disease activity of sarcoidosis and other interstitial lung diseases of unknown etiology. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 1998;15:22-37.

## 【表 3 7 D】

40. Gressner OA, Weiskirchen R, Gressner AM. Biomarkers of liver fibrosis: clinical translation of molecular pathogenesis or based on liver-dependent malfunction tests. *Clin Chim Acta* 2007;381:107-113.
41. Gressner OA, Weiskirchen R, Gressner AM. Biomarkers of hepatic fibrosis, fibrogenesis and genetic pre-disposition pending between fiction and reality. *J Cell Mol Med* 2007;11:1031-1051. 10
42. Mariat C. [Diagnosis and follow-up of chronic kidney graft dysfunction: from DFG to new biomarkers]. *Nephrol Ther* 2008;4 Suppl 3:S204-S207.
43. Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Iida H, Yonemitsu K, Kato S, Takahashi H, Kirikoshi H, Inamori M, Nozaki Y, Abe Y, Kubota K, Saito S, Iwasaki T, Terauchi Y, Togo S, Maeyama S, Nakajima A. High-sensitivity C-reactive protein is an independent clinical feature of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and also of the severity of fibrosis in NASH. *J Gastroenterol* 2007;42:573-582. 20
44. Wong VS, Hughes V, Trull A, Wight DG, Petrik J, Alexander GJ. Serum hyaluronic acid is a useful marker of liver fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 1998;5:187-192.
45. Parise ER, Oliveira AC, Figueiredo-Mendes C, Lanzoni V, Martins J, Nader H, Ferraz ML. Noninvasive serum markers in the diagnosis of structural liver damage in chronic hepatitis C virus infection. *Liver Int* 2006;26:1095-1099.
46. McHutchison JG, Blatt LM, de Medina M, Craig JR, Conrad A, Schiff ER, Tong MJ. Measurement of serum hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C and its relationship to liver histology. Consensus Interferon Study Group. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:945-951. 30
47. Camacho VR, Silveira TR, Oliveira JR, Barros SG, Cerski CT. Relationship between serum concentrations of type III procollagen, hyaluronic acid and histopathological findings in the liver of HCV-positive blood donors. *Arq Gastroenterol* 2007;44:118-122.
48. Lorenzo-Zuniga V, Bartoli R, Masnou H, Montoliu S, Morillas RM, Planas R. Serum concentrations of insulin-like growth factor-I (igf-I) as a marker of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 2007;52:3245-3250. 40
49. Manolakopoulos S, Bethanis S, Liapi C, Stripeli F, Sklavos P, Margeli A, Christidou A, Katsanika A, Vogiatzakis E, Tzourmakliotis D, Theocharis S. An assessment of serum leptin levels in patients with chronic viral hepatitis: a prospective study. *BMC Gastroenterol* 2007;7:17.

## 【表 3 7 E】

50. Camacho VR, Silveira TR, Oliveira JR, Barros SG, Cerski CT. Relationship between serum concentrations of type III procollagen, hyaluronic acid and histopathological findings in the liver of HCV-positive blood donors. *Arq Gastroenterol* 2007;44:118-122.
51. Leroy V, Hilleret MN, Sturm N, Trocme C, Renversez JC, Faure P, Morel F, Zarski JP. Prospective comparison of six non-invasive scores for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2007;46:775-782. 10
52. Trocme C, Leroy V, Sturm N, Hilleret MN, Bottari S, Morel F, Zarski JP. Longitudinal evaluation of a fibrosis index combining MMP-1 and PIINP compared with MMP-9, TIMP-1 and hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C treated by interferon-alpha and ribavirin. *J Viral Hepat* 2006;13:643-651.
53. Zheng M, Cai WM, Weng HL, Liu RH. ROC curves in evaluation of serum fibrosis indices for hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2002;8:1073-1076.
54. Lebensztejn DM, Sobaniec-Lotowska ME, Bauer M, Kaczmarek M, Voelker M, Schuppan D. Serum fibrosis markers as predictors of an antifibrotic effect of interferon alfa in children with chronic hepatitis B. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:843-848. 20
55. Lebensztejn DM, Sobaniec-Lotowska ME, Kaczmarek M, Voelker M, Schuppan D. Matrix-derived serum markers in monitoring liver fibrosis in children with chronic hepatitis B treated with interferon alpha. *World J Gastroenterol* 2006;12:3338-3343.
56. Tsochatzis E, Papatheodoridis GV, Hadziyannis E, Georgiou A, Kafiri G, Tiniakos DG, Manesis EK, Archimandritis AJ. Serum adipokine levels in chronic liver diseases: association of resistin levels with fibrosis severity. *Scand J Gastroenterol* 2008;43:1128-1136. 30
57. Patel K, Gordon SC, Jacobson I, Hezode C, Oh E, Smith KM, Pawlotsky JM, McHutchison JG. Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate-to-advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2004;41:935-942.
58. Lieber CS, Weiss DG, Paronetto F. Value of fibrosis markers for staging liver fibrosis in patients with precirrhotic alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* 2008;32:1031-1039. 40
59. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-Bauer E, Bruguera M, Sanchez-Tapias JM, Rodes J. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology* 2002;36:986-992.
60. Bourliere M, Penaranda G, Renou C, Botta-Fridlund D, Tran A, Portal I, Lecomte L, Castellani P, Rosenthal-Allieri MA, Gerolami R, Ouzan D, Deydier R, Degott C, Halfon

## 【表 3 7 F】

- P. Validation and comparison of indexes for fibrosis and cirrhosis prediction in chronic hepatitis C patients: proposal for a pragmatic approach classification without liver biopsies. *J Viral Hepat* 2006;13:659-670.
61. Cacoub P, Carrat F, Bedossa P, Lambert J, Penaranda G, Perronne C, Pol S, Halfon P. Comparison of non-invasive liver fibrosis biomarkers in HIV/HCV co-infected patients: the fibrovic study--ANRS HC02. *J Hepatol* 2008;48:765-773. 10
62. Nunes D, Fleming C, Offner G, O'Brien M, Tumilty S, Fix O, Heeren T, Koziel M, Graham C, Craven DE, Stuver S, Horsburgh CR, Jr. HIV infection does not affect the performance of noninvasive markers of fibrosis for the diagnosis of hepatitis C virus-related liver disease. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40:538-544.
63. Grigorescu M, Rusu M, Neculoiu D, Radu C, Serban A, Catanas M, Grigorescu MD. The FibroTest value in discriminating between insignificant and significant fibrosis in chronic hepatitis C patients. The Romanian experience. *J Gastrointestin Liver Dis* 2007;16:31-37. 20
64. Halfon P, Bacq Y, De MA, Penaranda G, Bourliere M, Ouzan D, Tran A, Botta D, Renou C, Brechot MC, Degott C, Paradis V. Comparison of test performance profile for blood tests of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2007;46:395-402.
65. Halfon P, Bourliere M, Deydier R, Botta-Fridlund D, Renou C, Tran A, Portal I, Allemand I, Bertrand JJ, Rosenthal-Allieri A, Rotily M, Sattonet C, Benderitter T, Saint Paul MC, Bonnot HP, Penaranda G, Degott C, Masseyeff MF, Ouzan D. Independent prospective multicenter validation of biochemical markers (fibrotest-actitest) for the prediction of liver fibrosis and activity in patients with chronic hepatitis C: the fibropaca study. *Am J Gastroenterol* 2006;101:547-555. 30
66. Leroy V, Halfon P, Bacq Y, Boursier J, Rousselet MC, Bourliere M, De MA, Sturm N, Hunault G, Penaranda G, Brechot MC, Trocme C, Cales P. Diagnostic accuracy, reproducibility and robustness of fibrosis blood tests in chronic hepatitis C: a meta-analysis with individual data. *Clin Biochem* 2008;41:1368-1376.
67. Ratziu V, Massard J, Charlotte F, Messous D, Imbert-Bismut F, Bonyhay L, Tahiri M, Munteanu M, Thabut D, Cadranet JF, Le BB, de L, V, Poynard T. Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol* 2006;6:6. 40
68. Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratziu V, Chevret S, Jardel C, Moussalli J, Messous D, Degos F. Biochemical markers of liver fibrosis in patients infected by hepatitis C virus: longitudinal validation in a randomized trial. *J Viral Hepat* 2002;9:128-133.

## 【表 3 7 G】

69. Poynard T, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Charlotte F, Thabut D, Le CS, Messous D, Thibault V, Benhamou Y, Moussalli J, Ratziu V. Prospective analysis of discordant results between biochemical markers and biopsy in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem* 2004;50:1344-1355.
70. Poynard T, Morra R, Halfon P, Castera L, Ratziu V, Imbert-Bismut F, Naveau S, Thabut D, Lebrec D, Zoulim F, Bourliere M, Cacoub P, Messous D, Munteanu M, de L, V. Meta-analyses of FibroTest diagnostic value in chronic liver disease. *BMC Gastroenterol* 2007;7:40. 10
71. Ngo Y, Munteanu M, Messous D, Charlotte F, Imbert-Bismut F, Thabut D, Lebray P, Thibault V, Benhamou Y, Moussalli J, Ratziu V, Poynard T. A prospective analysis of the prognostic value of biomarkers (FibroTest) in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem* 2006;52:1887-1896.
72. Naveau S, Raynard B, Ratziu V, Abella A, Imbert-Bismut F, Messous D, Beuzen F, Capron F, Thabut D, Munteanu M, Chaput JC, Poynard T. Biomarkers for the prediction of liver fibrosis in patients with chronic alcoholic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;3:167-174. 20
73. Myers RP, Tainturier MH, Ratziu V, Piton A, Thibault V, Imbert-Bismut F, Messous D, Charlotte F, Di M, V, Benhamou Y, Poynard T. Prediction of liver histological lesions with biochemical markers in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2003;39:222-230.
74. Jacqueminet S, Lebray P, Morra R, Munteanu M, Devers L, Messous D, Bernard M, Hartemann-Heurtier A, Imbert-Bismut F, Ratziu V, Grimaldi A, Poynard T. Screening for liver fibrosis by using a noninvasive biomarker in patients with diabetes. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008;6:828-831. 30
75. Nunes D, Fleming C, Offner G, O'Brien M, Tumilty S, Fix O, Heeren T, Koziel M, Graham C, Craven DE, Stuver S, Horsburgh CR, Jr. HIV infection does not affect the performance of noninvasive markers of fibrosis for the diagnosis of hepatitis C virus-related liver disease. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40:538-544.
76. Poynard T, Zoulim F, Ratziu V, Degos F, Imbert-Bismut F, Deny P, Landais P, El HA, Slama A, Blin P, Thibault V, Parvaz P, Munteanu M, Trepo C. Longitudinal assessment of histology surrogate markers (FibroTest-ActiTest) during lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B infection. *Am J Gastroenterol* 2005;100:1970-1980. 40
77. Poynard T, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Charlotte F, Thabut D, Le CS, Messous D, Thibault V, Benhamou Y, Moussalli J, Ratziu V. Prospective analysis of discordant results between biochemical markers and biopsy in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem* 2004;50:1344-1355.

## 【表 3 7 H】

78. Myers RP, Tainturier MH, Ratziu V, Piton A, Thibault V, Imbert-Bismut F, Messous D, Charlotte F, Di M, V, Benhamou Y, Poynard T. Prediction of liver histological lesions with biochemical markers in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2003;39:222-230.
79. Carvalho-Filho RJ, Schiavon LL, Narciso-Schiavon JL, Sampaio JP, Lanzoni VP, Ferraz ML, Silva AE. Optimized cutoffs improve performance of the aspartate aminotransferase to platelet ratio index for predicting significant liver fibrosis in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus co-infection. *Liver Int* 2008;28:486-493. 10
80. Al-Mohri H, Cooper C, Murphy T, Klein MB. Validation of a simple model for predicting liver fibrosis in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *HIV Med* 2005;6:375-378.
81. Cales P, Laine F, Boursier J, Deugnier Y, Moal V, Oberti F, Hunault G, Rousselet MC, Hubert I, Laafi J, Ducluzeaux PH, Lunel F. Comparison of blood tests for liver fibrosis specific or not to NAFLD. *J Hepatol* 2008. 20
82. Paggi S, Colli A, Fraquelli M, Viganò M, Del PP, Facciotto C, Colombo M, Ronchi G, Conte D. A non-invasive algorithm accurately predicts advanced fibrosis in hepatitis C: a comparison using histology with internal-external validation. *J Hepatol* 2008;49:564-571.
83. Trang T, Petersen JR, Snyder N. Non-invasive markers of hepatic fibrosis in patients co-infected with HCV and HIV: comparison of the APRI and FIB-4 index. *Clin Chim Acta* 2008;397:51-54. 30
84. Snyder N, Gajula L, Xiao SY, Grady J, Luxon B, Lau DT, Soloway R, Petersen J. APRI: an easy and validated predictor of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol* 2006;40:535-542.
85. Snyder N, Nguyen A, Gajula L, Soloway R, Xiao SY, Lau DT, Petersen J. The APRI may be enhanced by the use of the FIBROSpect II in the estimation of fibrosis in chronic hepatitis C. *Clin Chim Acta* 2007;381:119-123.
86. Hongbo L, Xiaohui L, Hong K, Wei W, Yong Z. Assessing routine and serum markers of liver fibrosis in CHB patients using parallel and serial interpretation. *Clin Biochem* 2007;40:562-566. 40
87. Nunes D, Fleming C, Offner G, O'Brien M, Tumilty S, Fix O, Heeren T, Koziel M, Graham C, Craven DE, Stuver S, Horsburgh CR, Jr. HIV infection does not affect the performance of noninvasive markers of fibrosis for the diagnosis of hepatitis C virus-related liver disease. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40:538-544.

## 【表 3 7 I】

88. Adams LA, Bulsara M, Rossi E, DeBoer B, Speers D, George J, Kench J, Farrell G, McCaughan GW, Jeffrey GP. Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. *Clin Chem* 2005;51:1867-1873.
89. Koda M, Matunaga Y, Kawakami M, Kishimoto Y, Suou T, Murawaki Y. FibroIndex, a practical index for predicting significant fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2007;45:297-306. 10
90. Metwally MA, Zein CO, Zein NN. Predictors and noninvasive identification of severe liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 2007;52:582-588.
91. Mohamadnejad M, Montazeri G, Fazlollahi A, Zamani F, Nasiri J, Nobakht H, Forouzanfar MH, Abedian S, Tavangar SM, Mohamadkhani A, Ghoujehi F, Estakhri A, Nouri N, Farzadi Z, Najjari A, Malekzadeh R. Noninvasive markers of liver fibrosis and inflammation in chronic hepatitis B-virus related liver disease. *Am J Gastroenterol* 2006;101:2537-2545. 20
92. Zaman A, Rosen HR, Ingram K, Corless CL, Oh E, Smith K. Assessment of FIBROSpect II to detect hepatic fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Am J Med* 2007;120:280-14.
93. Patel K, Nelson DR, Rockey DC, Afdhal NH, Smith KM, Oh E, Hettinger K, Vallee M, Dev A, Smith-Riggs M, McHutchison JG. Correlation of FIBROSpect II with histologic and morphometric evaluation of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008;6:242-247.
94. Sebastiani G, Vario A, Guido M, Noventa F, Plebani M, Pistis R, Ferrari A, Alberti A. Stepwise combination algorithms of non-invasive markers to diagnose significant fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006;44:686-693. 30
95. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet* 2001;357:1069-1075.
96. Nunes D, Fleming C, Offner G, O'Brien M, Tumilty S, Fix O, Heeren T, Koziel M, Graham C, Craven DE, Stuver S, Horsburgh CR, Jr. HIV infection does not affect the performance of noninvasive markers of fibrosis for the diagnosis of hepatitis C virus-related liver disease. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40:538-544. 40
97. Castera L, Vergniol J, Foucher J, Le BB, Chanteloup E, Haaser M, Darriet M, Couzigou P, de L, V. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005;128:343-350.

## 【表 3 7 J】

98. Guanabens N, Pares A, Alvarez L, Martinez de Osaba MJ, Monegal A, Peris P, Ballesta AM, Rodes J. Collagen-related markers of bone turnover reflect the severity of liver fibrosis in patients with primary biliary cirrhosis. *J Bone Miner Res* 1998;13:731-738.
99. Moller S, Hansen M, Hillingso J, Jensen JE, Henriksen JH. Elevated carboxy terminal cross linked telopeptide of type I collagen in alcoholic cirrhosis: relation to liver and kidney function and bone metabolism. *Gut* 1999;44:417-423. 10
100. Rosen HN, Parker RA, Greenspan SL, Iloputaife ID, Bookman L, Chapin D, Perlmutter I, Kessel B, Qvist P, Rosenblatt M. Evaluation of ability of biochemical markers of bone turnover to predict a response to increased doses of HRT. *Calcif Tissue Int* 2004;74:415-423.
101. Lein M, Wirth M, Miller K, Eickenberg HU, Weissbach L, Schmidt K, Haus U, Stephan C, Meissner S, Loening SA, Jung K. Serial Markers of Bone Turnover in Men with Metastatic Prostate Cancer Treated with Zoledronic Acid for Detection of Bone Metastases Progression. *Eur Urol* 2007. 20
102. Attallah AM, Toson EA, Shiha GE, Omran MM, bdel-Aziz MM, El-Dosoky I. Evaluation of serum procollagen aminoterminal propeptide III, laminin, and hydroxyproline as predictors of severe fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Immunoassay Immunochem* 2007;28:199-211.
103. Ulrich D, Noah EM, von HD, Pallua N. TIMP-1, MMP-2, MMP-9, and PIINP as serum markers for skin fibrosis in patients following severe burn trauma. *Plast Reconstr Surg* 2003;111:1423-1431. 30
104. Farkkila M, Rautiainen H, Karkkainen P, Karvonen AL, Nurmi H, Niemela O. Serological markers for monitoring disease progression in noncirrhotic primary biliary cirrhosis on ursodeoxycholic acid therapy. *Liver Int* 2008;28:787-797.
105. Guechot J, Poupon RE, Giral P, Balkau B, Giboudeau J, Poupon R. Relationship between procollagen III aminoterminal propeptide and hyaluronan serum levels and histological fibrosis in primary biliary cirrhosis and chronic viral hepatitis C. *J Hepatol* 1994;20:388-393. 40
106. Klappacher G, Franzen P, Haab D, Mehrabi M, Binder M, Plesch K, Pacher R, Grimm M, Pribill I, Eichler HG, . Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. *Am J Cardiol* 1995;75:913-918.
107. Imbert-Bismut F, Ratzu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study.

【表 3 7 K】

Lancet 2001;357:1069-1075.

108. Suzuki,K., Enghild,J.J., Morodomi,T., Salvesen,G., and Nagase,H. 1990. Mechanisms of activation of tissue procollagenase by matrix metalloproteinase 3 (stromelysin). Biochemistry 29:10261-10270.

109. Lijnen,H.R. 2001. Plasmin and matrix metalloproteinases in vascular remodeling. Thromb. Haemost. 86:324-333.

【 図 1 】

標準曲線

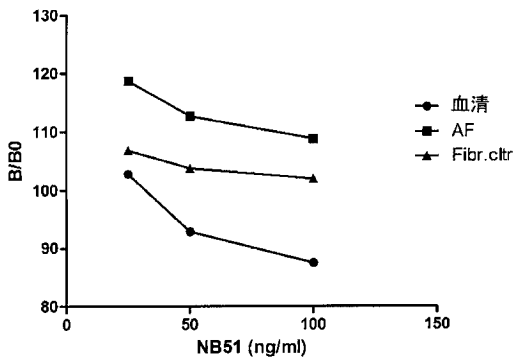


Figure 1

【 図 2 b 】

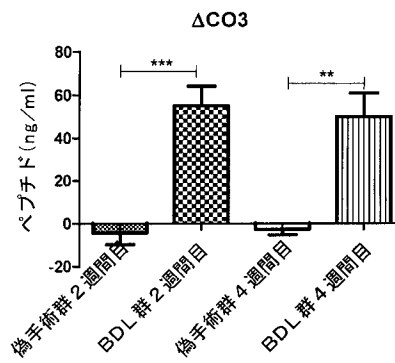


Figure 2b

【 図 2 a 】

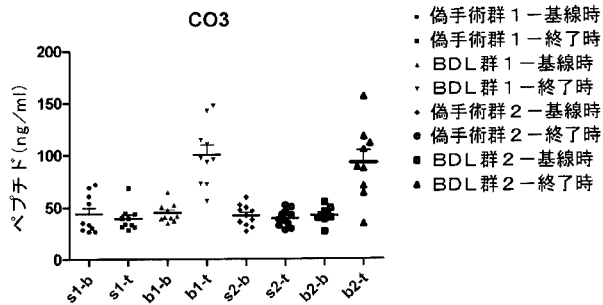


Figure 2a

【 図 3 】

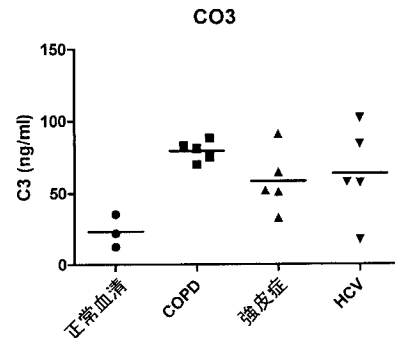


Figure 3

【 図 9 】

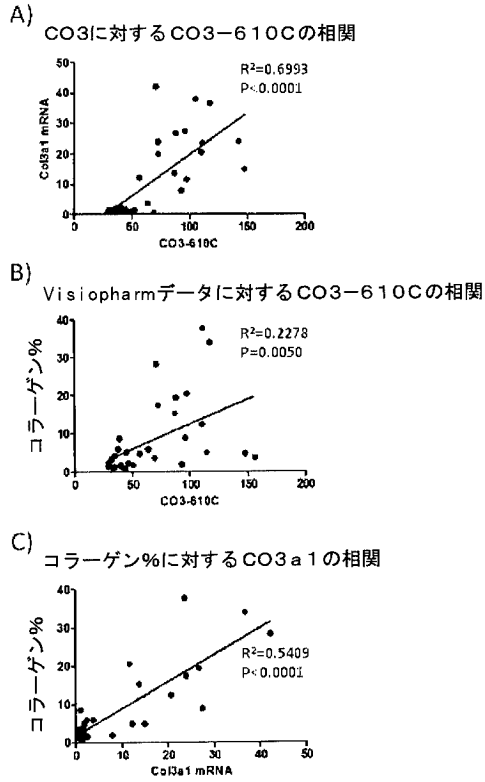


Figure 9

【 図 1 0 】

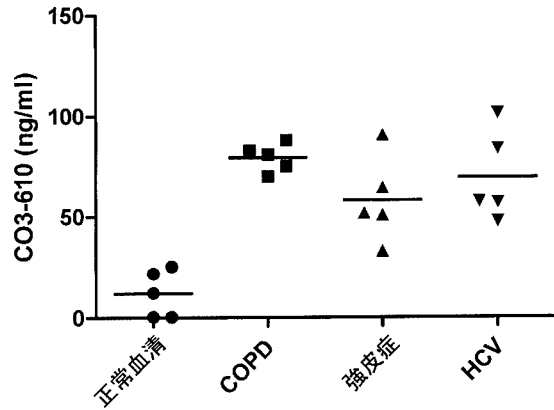


Figure 10

【 図 1 1 】

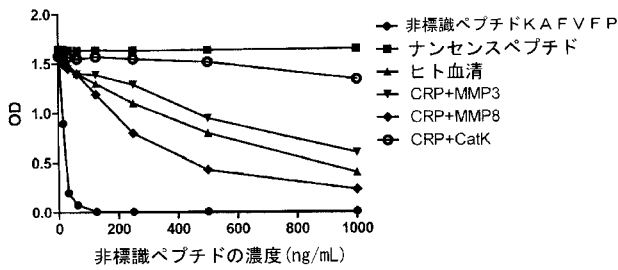
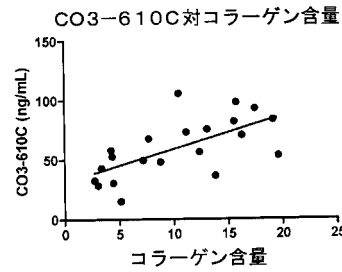


Figure 11

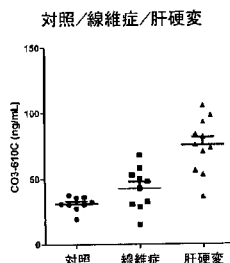
【 図 1 4 】



|                             |                  |
|-----------------------------|------------------|
| XY対の数                       | 21               |
| ピアソンr                       | 0.6393           |
| 95%信頼区間                     | 0.2866 to 0.8394 |
| P値(両側)                      | 0.0018           |
| P値の要約                       | **               |
| 相関は有意であるか ( $\alpha=0.05$ ) | 肯定               |
| R二乗                         | 0.4087           |

Figure 14

【 図 1 3 】



| 対照対肝硬変                   |            | 線維症対肝硬変                  |        |
|--------------------------|------------|--------------------------|--------|
| アンペアードt検定                |            | アンペアードt検定                |        |
| P値                       | $P<0.0001$ | P値                       | 0.0007 |
| P値の要約                    | ***        | P値の要約                    | ***    |
| 平均値は有意に異なるか ( $P<0.05$ ) | 肯定         | 平均値は有意に異なるか ( $P<0.05$ ) | 肯定     |

Figure 13

【 図 1 5 】

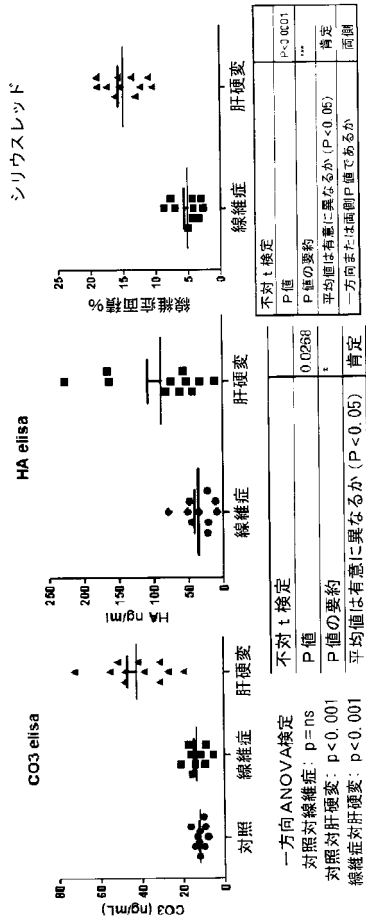


Figure 15

【 図 1 7 】

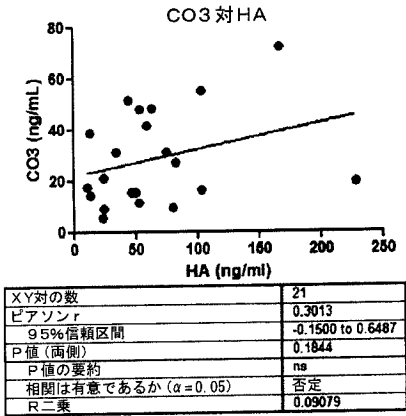


Figure 17

【 図 1 6 】

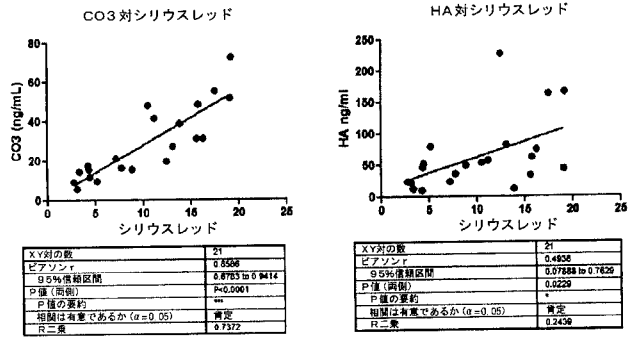


Figure 16

【 図 1 9 】

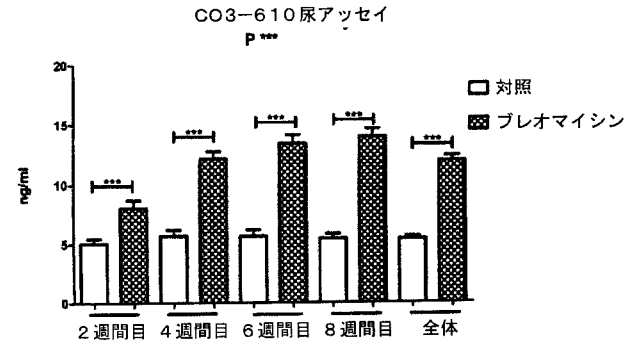


Figure 19

【 図 2 1 】

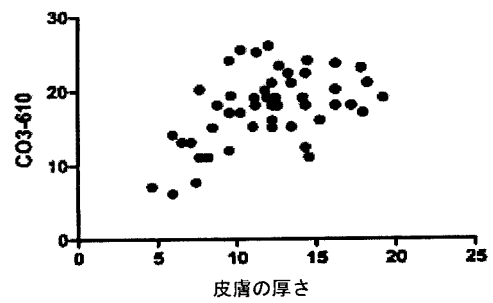


Figure 21

【 図 2 2 】

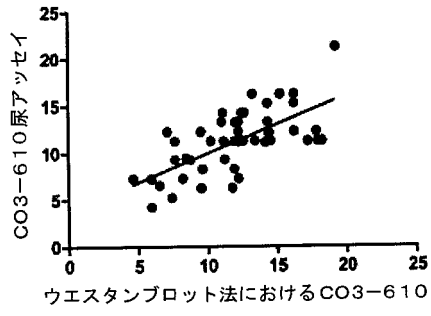


Figure 22

【 図 4 】

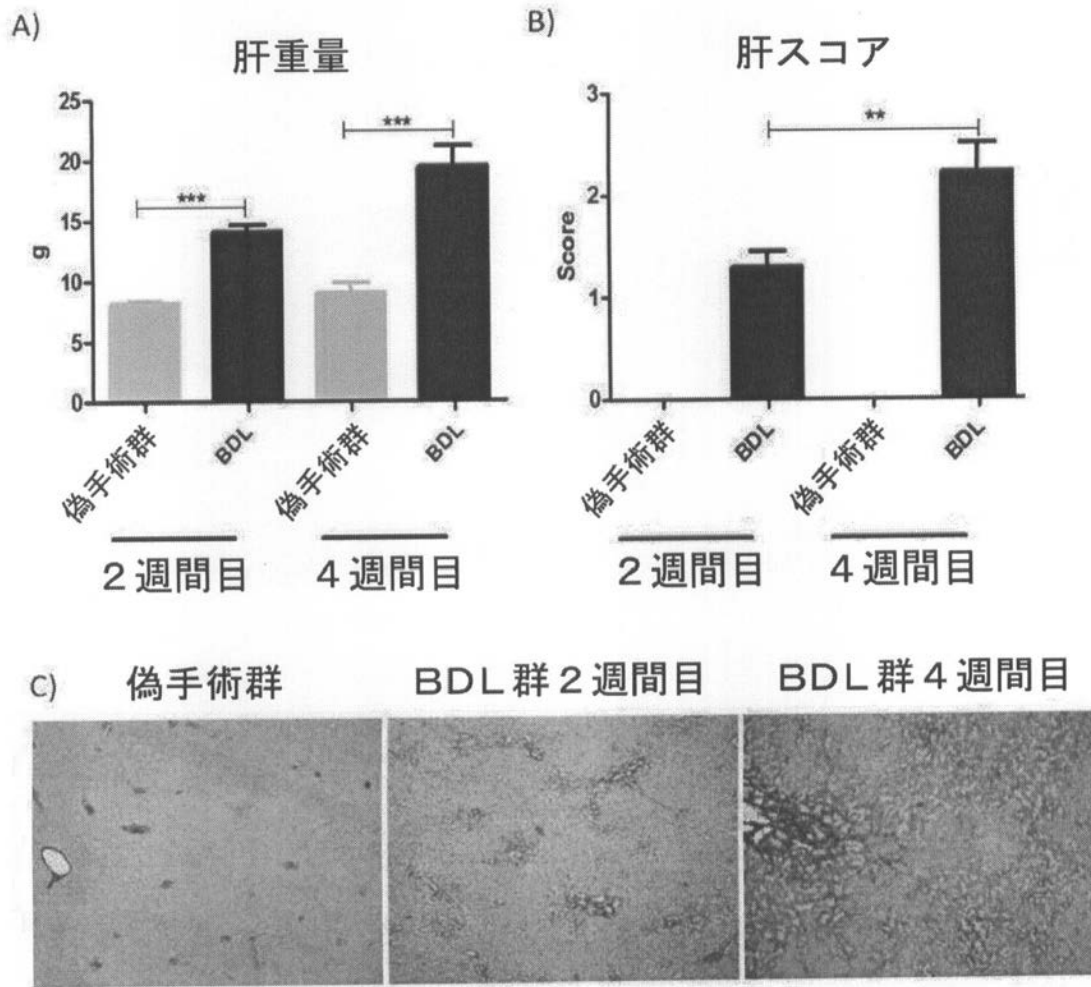


Figure 4

【 図 5 】

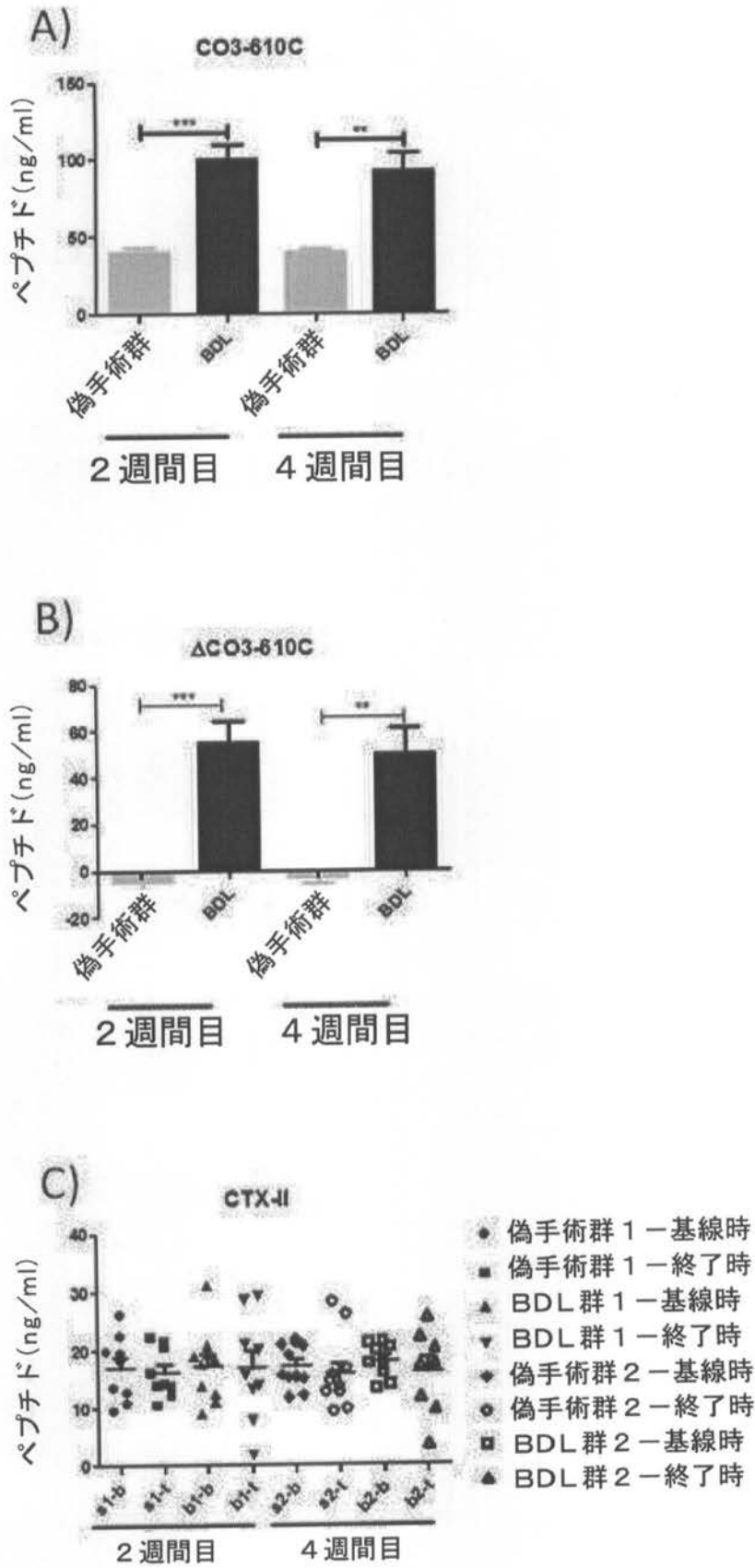


Figure 5

【 図 6 】

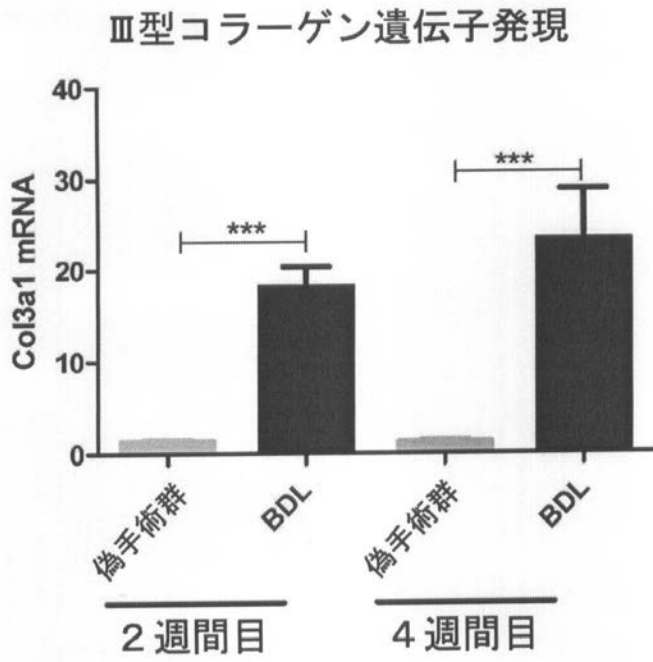


Figure 6

【 図 7 】

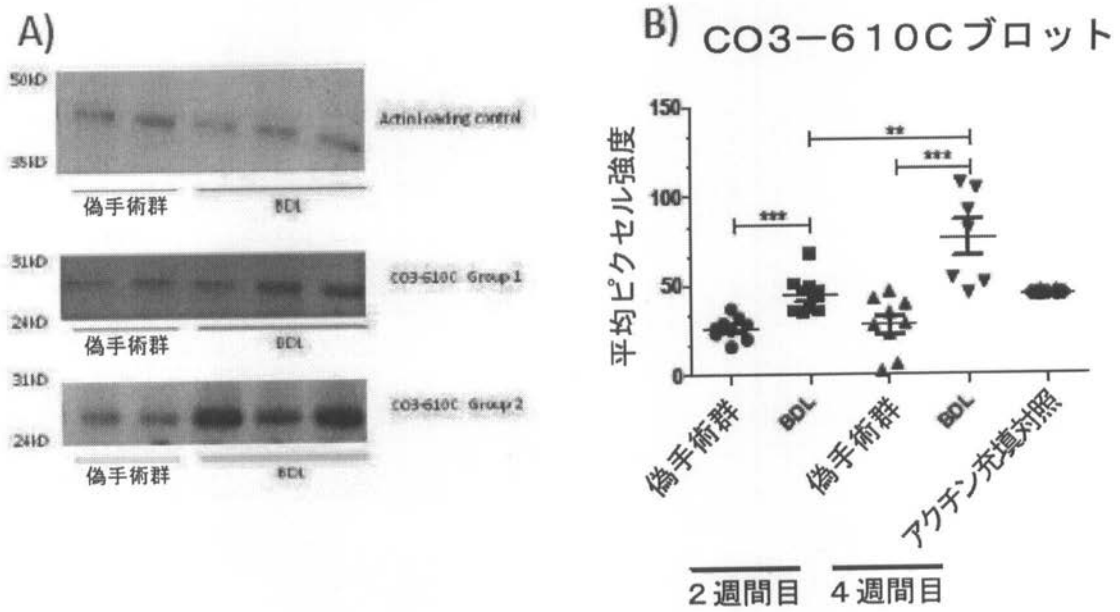
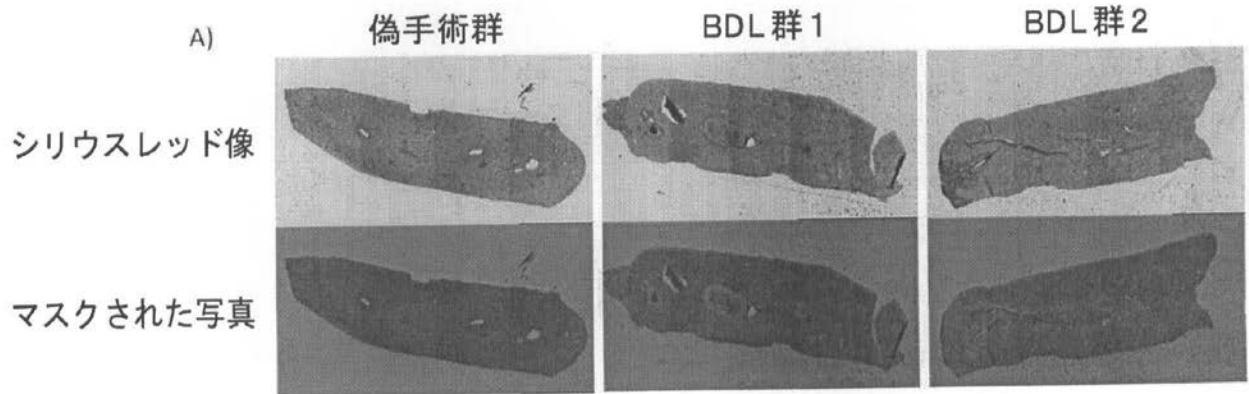


Figure 7

【 図 8 】



Visiopharmによって定量化した総コラーゲン

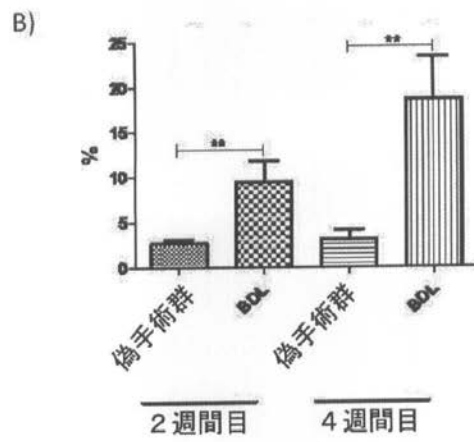


Figure 8

【 図 1 2 】

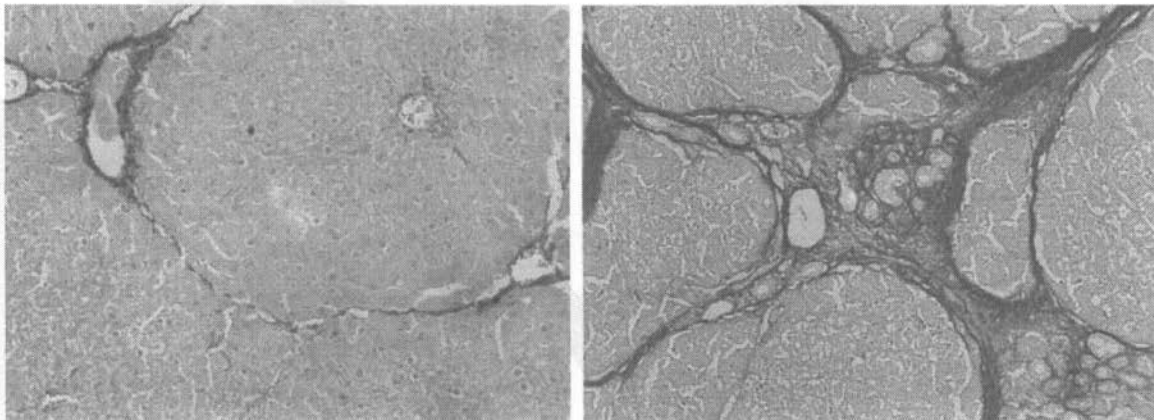


Figure 12

【図 18】

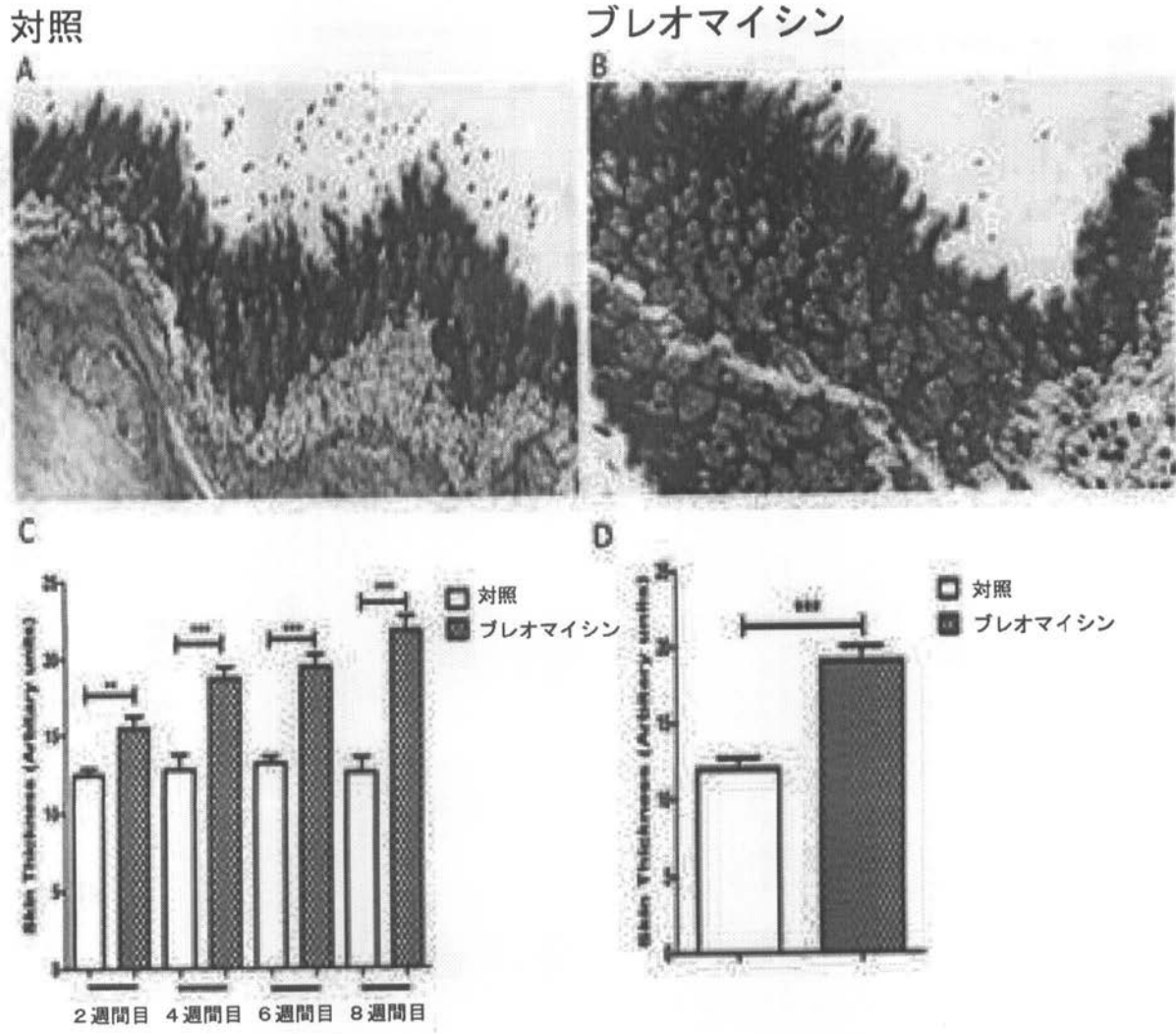


Figure 18

【 図 2 0 】

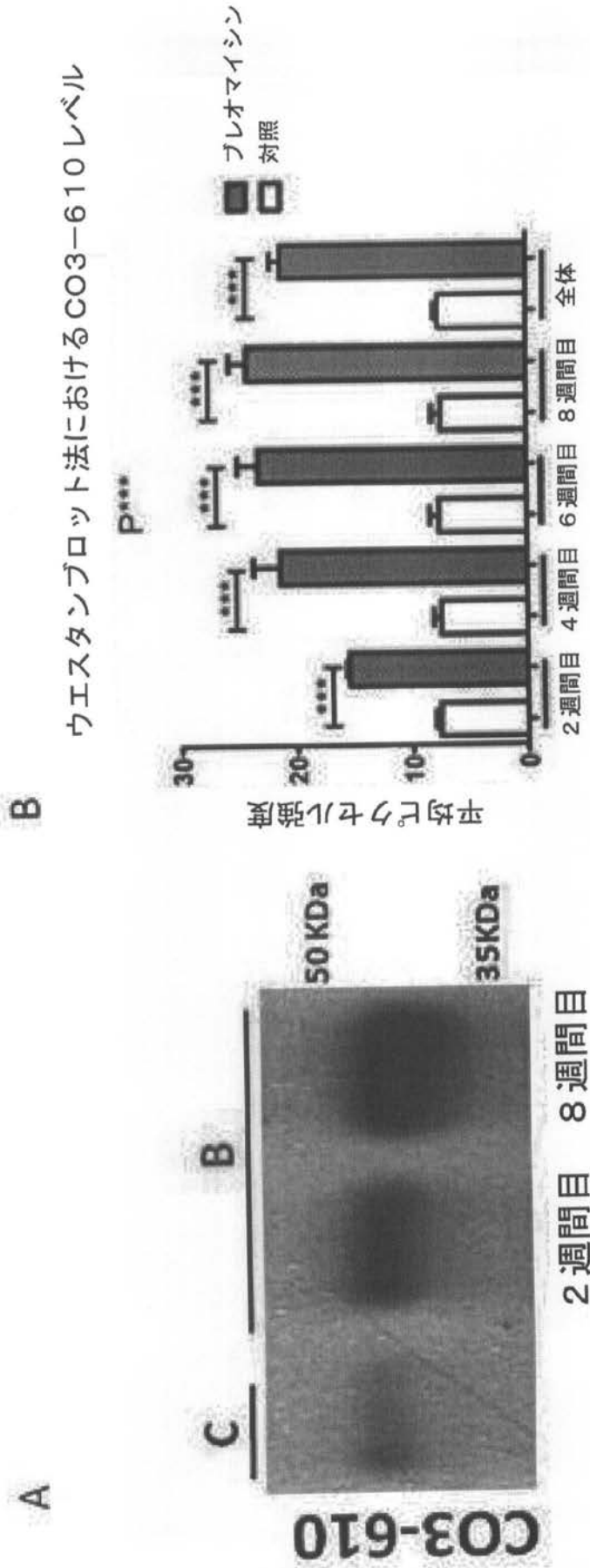


Figure 20

【 配 列 表 】

2015108635000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成27年1月22日(2015.1.22)

【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】

線維症の診断または定量化の方法であって、患者の生体液試料中に天然に存在するネオエピトープ含有タンパク質断片を測定する免疫検定法を実施すること、および正常レベルを上回る、前記患者における前記測定の上昇を線維症の存在または程度と関連付けることを含み、前記免疫検定法が、

前記試料中に天然に存在するタンパク質断片を、プロテイナーゼによるタンパク質の切断によって形成されるネオエピトープと反応性の免疫学的結合パートナーと接触させること、および前記ネオエピトープを含むタンパク質断片を測定するために前記免疫学的結合パートナーへのペプチド断片の結合の程度を測定することを含む方法によって実施され、前記タンパク質が、C反応性タンパク質である、線維症の診断または定量化の方法。

【請求項2】

前記免疫学的結合パートナーが、N末端配列K A F V F P... (配列番号1167)を有するCRPの断片に特異的に結合する、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記免疫学的結合パートナーが、C反応性タンパク質の切断によって生成されるペプチド中に存在するN末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

【表 1】

| CRP              |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| AFVFPK 配列番号 1033 | SFGGNF 配列番号 1305 | FGQTDN 配列番号 1306 |
| VSLKAP 配列番号 1172 | KAFVFP 配列番号 1167 | EVFTKP 配列番号 1201 |
| TDMSRK 配列番号 1307 | MSRKAF 配列番号 1308 | SRKAFV 配列番号 1309 |
| VFPKES 配列番号 1310 | FPKESD 配列番号 1311 | KESDTS 配列番号 1312 |
| LSSTRG 配列番号 1313 | SSTRGY 配列番号 1314 | STRGYS 配列番号 1080 |
| KRQDNE 配列番号 1315 | WSKDIG 配列番号 1316 | SKDIGY 配列番号 1317 |
| SIILGQ 配列番号 1318 | YLGPF 配列番号 1322  | ILGQEQ 配列番号 1320 |
| IYLGGP 配列番号 1321 | KYEVQG 配列番号 1294 | LGGPFS 配列番号 1323 |
| ALKYEV 配列番号 1133 | YTELSS 配列番号 1325 | VQGEVF 配列番号 1324 |
| KPQLWP 配列番号 1157 | QEQDSF 配列番号 1328 | ILIFWS 配列番号 1326 |
| LVGDIG 配列番号 1327 | QDSFGG 配列番号 1331 | RGYSIF 配列番号 1329 |
| GAEASI 配列番号 1330 | DTSYVS 配列番号 1334 | TIYLG 配列番号 1332  |
| EINTIY 配列番号 1333 | SPDEIN 配列番号 1337 | AEASII 配列番号 1335 |
| TSWESA 配列番号 1336 | FVLSPD 配列番号 1340 | GGPFSP 配列番号 1338 |
| YEVQGE 配列番号 1339 | IVEFWV 配列番号 1343 | LKKGYT 配列番号 1341 |
| IILGQE 配列番号 1319 | EVQGEV 配列番号 1346 | ESDTSY 配列番号 1344 |
| RKAFVF 配列番号 1342 | SLKAPL 配列番号 1222 | FVFPK 配列番号 1059  |
| SDTSYV 配列番号 1347 | SYATKR 配列番号 1349 | LKAPLT 配列番号 1173 |
| IFSYAT 配列番号 1348 | WVDGKP 配列番号 1352 | YATKRQ 配列番号 1350 |
| EFWVDG 配列番号 1351 | GQEQDS 配列番号 1355 | VDGKPR 配列番号 1353 |
| LGQEQD 配列番号 1354 | LNWRA 配列番号 1127  | QSLVGD 配列番号 1356 |
| SPNVLN 配列番号 1357 | GEVFTK 配列番号 1359 | LNWRAL 配列番号 1128 |
| QGEVFT 配列番号 1358 | VRKSLK 配列番号 1205 | VFTKPQ 配列番号 1153 |
| IFWSKD 配列番号 1181 | ATKRQD 配列番号 1362 | KKGYTV 配列番号 1360 |
| FSYATK 配列番号 1361 | NWRAL 配列番号 1253  | FWSKDI 配列番号 1363 |
| VLNwRA 配列番号 1249 | DFVLSP 配列番号 1366 | NWRALK 配列番号 1364 |
| GSQSLV 配列番号 1365 | INTIYL 配列番号 1372 | VLSPDE 配列番号 1367 |
| LKYEVQ 配列番号 1134 | WRALKY 配列番号 1375 | KSLKKG 配列番号 1371 |
| GNFEFS 配列番号 1369 | TKPQLW 配列番号 1345 | RALKYE 配列番号 1373 |
| FVFPKE 配列番号 1060 | KGYTVG 配列番号 1296 | GPFSN 配列番号 1376  |
| FYTELS 配列番号 1374 | TKRQDN 配列番号 1368 | SLKKG 配列番号 1370  |

から成る群より選択される N 末端配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記免疫学的結合パートナーが、C 反応性タンパク質の切断によって生成されるペプチド中に存在する C 末端アミノ酸配列によって構成されるネオエピトープに特異的に結合し、前記ペプチドが、

【表 2】

| CRP              |                  |                  |
|------------------|------------------|------------------|
| AFVFPK 配列番号 1033 | KPQLWP 配列番号 1157 | PDEINT 配列番号 1377 |
| KESDTS 配列番号 1312 | DSFGGN 配列番号 1378 | VFTKPQ 配列番号 1153 |
| LTKPLK 配列番号 1379 | SDTSYV 配列番号 1347 | DTSYVS 配列番号 1334 |
| KDIGYS 配列番号 1380 | STRGYS 配列番号 1080 | YATKRQ 配列番号 1350 |
| GAEASI 配列番号 1330 | DGKPRV 配列番号 1381 | VDGKPR 配列番号 1353 |
| SPNVLN 配列番号 1357 | GPFSPN 配列番号 1376 | NFEGSQ 配列番号 1382 |
| ALKYEV 配列番号 1133 | YEVQGE 配列番号 1339 | LKYEVD 配列番号 1134 |
| KAFVFP 配列番号 1167 | VSLKAP 配列番号 1172 | LKAPLT 配列番号 1173 |
| LKKGYT 配列番号 1341 | LGQEOD 配列番号 1354 | NVNMWD 配列番号 1383 |
| PRVRKS 配列番号 1384 | TVGSEI 配列番号 1385 | SRKAFV 配列番号 1309 |
| GYSFTV 配列番号 1386 | IILGQE 配列番号 1319 | EGSQSL 配列番号 1387 |
| INTIYL 配列番号 1372 | WSKDIG 配列番号 1316 | EQDSFG 配列番号 1388 |
| NVLNWR 配列番号 1389 | ASGIVE 配列番号 1390 | NTIYLG 配列番号 1391 |
| VGAEAS 配列番号 1392 | TDMSRK 配列番号 1307 | FVFPKE 配列番号 1060 |
| QTDMSR 配列番号 1394 | TSYVSL 配列番号 1396 | MSRKAF 配列番号 1308 |
| PKESDT 配列番号 1395 | QDNEIL 配列番号 1398 | ESDSY 配列番号 1344  |
| DNEILI 配列番号 1397 | TVGAEA 配列番号 1401 | NEILIF 配列番号 1399 |
| YTVGAE 配列番号 1400 | GNFEGS 配列番号 1369 | DIGNVN 配列番号 1404 |
| FEGSQS 配列番号 1403 | LNWRAL 配列番号 1128 | NWRALK 配列番号 1364 |
| LNWRA 配列番号 1127  | EVFTKP 配列番号 1201 | VFTKPQ 配列番号 1153 |
| KYEVDG 配列番号 1294 | RQDNEI 配列番号 1405 | IFWSKD 配列番号 1181 |
| KRQDNE 配列番号 1315 | VRKSLK 配列番号 1205 | SYVSLK 配列番号 1407 |
| FTKPQL 配列番号 1406 | TKPLKA 配列番号 1408 | SIFSYA 配列番号 1409 |
| SLKAPL 配列番号 1222 | GNVNMW 配列番号 1410 | SQSLVG 配列番号 1411 |
| GSQSLV 配列番号 1365 | GGNFEG 配列番号 1413 | LVGDIG 配列番号 1327 |
| FGGNFE 配列番号 1412 | RALKYE 配列番号 1373 | KKGYTV 配列番号 1360 |
| VQGEVF 配列番号 1324 | GKPRVR 配列番号 1414 | PFSPNV 配列番号 1402 |
| DMSRKA 配列番号 1415 | EILIFW 配列番号 1416 | QGEVFT 配列番号 1358 |
| FPKESD 配列番号 1311 | IGYSFT 配列番号 1417 | SPDEIN 配列番号 1337 |
| APLTKP 配列番号 1393 | FWSKDI 配列番号 1363 |                  |
|                  |                  |                  |

から成る群より選択される C 末端配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

体液試料中に天然に存在するネオエピトープ含有タンパク質断片を測定する免疫検定の方法であって、前記免疫検定法が、前記試料中に天然に存在するタンパク質断片を、プロテイナーゼによるタンパク質の切断によって形成されるネオエピトープに対して反応性である免疫学的結合パートナーと接触させるステップと、前記ネオエピトープを含むタンパク質断片を測定するために前記免疫学的結合パートナーへのペプチド断片の結合の程度を測定するステップとを含む方法によって実施され、ここで、前記タンパク質が、C 反応性タンパク質である、免疫検定の方法。

## フロントページの続き

- (74)代理人 100096769  
弁理士 有原 幸一
- (74)代理人 100107319  
弁理士 松島 鉄男
- (74)代理人 100114591  
弁理士 河村 英文
- (74)代理人 100125380  
弁理士 中村 綾子
- (74)代理人 100142996  
弁理士 森本 聡二
- (74)代理人 100180231  
弁理士 水島 亜希子
- (72)発明者 ヴァイダル, サンネ・エス  
デンマーク国, 3 6 5 0 オルスティッケ, ビルケモーセン 3 3
- (72)発明者 カルスダル, モルテン・エイ  
デンマーク国, 2 1 0 0 コペンハーゲン, ホルスタインスガーデ 2 1, 3 . t h
- (72)発明者 レーミング, ディアーナ・ジェイ  
スウェーデン国, 2 4 3 3 0 ホール, パルクガータン 1 3
- (72)発明者 パラスクク, ナターシャ  
デンマーク国, 2 1 0 0 コペンハーゲン, ヘルニンガーデ 2 1, 3 . t v
- (72)発明者 ショート アルキル, ヘレーネ  
デンマーク国, 2 3 0 0 コペンハーゲン, イェンス・オットー・クラークス・ガーデ 1 8, 4  
. t v
- (72)発明者 セゴビア シルベストレ, アントニオ  
デンマーク国, 2 2 0 0 コペンハーゲン, バルデシュガーデ 1, 2 T H
- (72)発明者 ヴァシリアディス, エフスタティオス  
デンマーク国, 2 6 1 0 セーボー, タルンヴァイ 5 9 m f
- Fターム(参考) 4B063 QA01 QA19 QQ53 QR55 QS25 QX02  
4H045 AA30 BA14 BA15 BA17 BA18 BA19 CA40 EA50

|                |   |         |            |
|----------------|---|---------|------------|
| 专利名称(译)        | FIBROSIS BIOMARKER ASSAY  |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">JP2015108635A</a>   | 公开(公告)日 | 2015-06-11 |
| 申请号            | JP2015010255  | 申请日     | 2015-01-22 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 瑞士商诺华公司   |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 北欧生物科学ER / ES<br>诺华公司   |         |            |
| [标]发明人         | ヴァイダルサンネエス<br>カルスダルモルテンエイ<br>レーミングディアーナジェイ<br>バラスククナターシャ<br>ショートアルキルヘレーネ<br>セゴビアシルベストリアントニオ<br>ヴァシリアディスエフスタティオス   |         |            |
| 发明人            | ヴァイダル,サンネ・エス<br>カルスダル,モルテン・エイ<br>レーミング,ディアーナ・ジェイ<br>バラスクク,ナターシャ<br>ショート-アルキル,ヘレーネ<br>セゴビア-シルベストレ,アントニオ<br>ヴァシリアディス,エフスタティオス                                   |         |            |
| IPC分类号         | G01N33/53 C07K14/47 C12Q1/68  |         |            |
| CPC分类号         | C12Q1/37 G01N33/6893 G01N2800/32 G01N33/53 G01N2333/4737 G01N2333/78 G01N2800/085<br>G01N2800/50  |         |            |
| FI分类号          | G01N33/53.ZNA.X C07K14/47 C12Q1/68.A G01N33/53.XZN.A  |         |            |
| F-TERM分类号      | 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ53 4B063/QR55 4B063/QS25 4B063/QX02 4H045/AA30 4H045<br>/BA14 4H045/BA15 4H045/BA17 4H045/BA18 4H045/BA19 4H045/CA40 4H045/EA50 |         |            |
| 代理人(译)         | 河村 英文<br>中村 綾子  |         |            |
| 优先权            | 61/211467 2009-03-30 US<br>61/289081 2009-12-22 US  |         |            |
| 其他公开文献         | JP6095702B2   |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a>   |         |            |

#### 摘要(译)

要解决的问题：提供一种诊断或定量纤维化的方法。该方法包括以下步骤：进行免疫测定以测量生物体液样品中天然存在的含新表位的蛋白质片段，以及将患者体内的测定值提高到正常水平以上以确定是否存在纤维化或与学位相关。所述免疫测定包括使样品中天然存在的蛋白质片段与免疫结合伴侣接触，所述免疫结合伴侣对通过蛋白酶切割蛋白质形成的新表位具有反应性；测量肽片段与免疫结合伴侣的结合程度，以确定包含该蛋白质的蛋白质片段，其中该蛋白质是C反应蛋白。[选择图]无

| I I I 型コーラン        |                    |                     |
|--------------------|--------------------|---------------------|
| GIPGAP... 配列番号 372 | GDPGPP... 配列番号 373 | LAGPPG... 配列番号 89   |
| IAGITG... 配列番号 375 | IKGHRG... 配列番号 376 | RLGAGP... 配列番号 377  |
| KGDAGQ... 配列番号 381 | ITGARG... 配列番号 379 | VKGESG... 配列番号 380  |
| KKSGDR... 配列番号 383 | LOGLPG... 配列番号 384 | LRGAG... 配列番号 382   |
| DGTSQH... 配列番号 135 | IGSPGP... 配列番号     | AI GSPG... 配列番号 143 |
| GPPGVA... 配列番号 158 | AGPPGM... 配列番号 145 | LSGERG... 配列番号 176  |
| GARGLA... 配列番号 111 | GAPGEK... 配列番号 141 | PGGPPG... 配列番号 389  |
| KGESGK... 配列番号 374 | GLSGEK... 配列番号 387 | YGPPG... 配列番号 401   |
| OPVYMG... 配列番号 144 | IPFARG... 配列番号 117 | FRGFAG... 配列番号 137  |
| GPPGPT... 配列番号 391 | INGSPG... 配列番号 392 | GPPGEP... 配列番号 393  |
| GLPGPP... 配列番号 394 | KNGETG... 配列番号 395 | LPGIAG... 配列番号 396  |
| GINGSP... 配列番号 397 | PGENGR... 配列番号 398 | LKGENG... 配列番号 399  |
| LMGARG... 配列番号 400 | GKDES... 配列番号 419  | ODGAI... 配列番号 390   |
| DKGEFG... 配列番号 403 | GHAGAG... 配列番号 404 | GERGAP... 配列番号 402  |
| PGMKGH... 配列番号 406 | FPGARG... 配列番号 407 | GFPGAR... 配列番号 408  |
| FPGMKG... 配列番号 409 | PGDKGE... 配列番号 410 | GDKGET... 配列番号 411  |
| GPPGDK... 配列番号 412 | GPPGEN... 配列番号 413 | AAFGP... 配列番号 417   |
| GERKSP... 配列番号 415 | PGVPGA... 配列番号 416 | GARGND... 配列番号 419  |
| GSPGAP... 配列番号 405 | GPPGPP... 配列番号 100 | GGAGPP... 配列番号 425  |
| GFPGAP... 配列番号 420 | GAAGEP... 配列番号 421 | GARGPP... 配列番号 422  |
| PGPQGH... 配列番号 426 | PGFPGM... 配列番号 427 | GSPGPP... 配列番号 428  |
| PGPPG1... 配列番号 432 | GITGAR... 配列番号 430 | G1AGIT... 配列番号 431  |
| GPPGNS... 配列番号 423 | RPGLPG... 配列番号 436 | GAPGPM... 配列番号 438  |
| PQLOG... 配列番号 440  | GPPGVA... 配列番号 158 | SODRGE... 配列番号 429  |
| GAPGFR... 配列番号 435 | PGFRGP... 配列番号 443 | GPVGPS... 配列番号 447  |
| GAPGPG... 配列番号 445 | GFPDNP... 配列番号 446 | GPGIN... 配列番号 470   |
| GFTGPI... 配列番号 448 | GDAGQP... 配列番号 449 | NGEKGE... 配列番号 450  |
| KGSPA... 配列番号 444  | GSPGER... 配列番号 439 | AI GPSG... 配列番号 368 |
| GSRGAP... 配列番号 462 | TGARGL... 配列番号 378 | ERGLPG... 配列番号 385  |
| NTGAPG... 配列番号 437 | VGLAG... 配列番号 155  | VAGPPG... 配列番号 452  |
| HAGAAG... 配列番号 434 | PGAPGG... 配列番号 455 | G1PGFP... 配列番号 414  |
| PGPQGP... 配列番号 453 | AGQGA... 配列番号 457  | PGPPGP... 配列番号 458  |
| AGPQGE... 配列番号 454 | GLAGPP... 配列番号 388 | GRNGEK... 配列番号 460  |
| VKGERG... 配列番号 159 | GGAGEP... 配列番号 463 | SPGKKB... 配列番号 459  |
| GPPGAP... 配列番号 461 | SPGAQS... 配列番号 465 | PEVSGP... 配列番号 466  |
| GSPGAP... 配列番号 464 | IKGPAQ... 配列番号 169 | PGAPGG... 配列番号 456  |
| PGAPGL... 配列番号 467 | G1PGQP... 配列番号 468 | SRGAPG... 配列番号 451  |
| ESCPTG... 配列番号 433 | DAGAPG... 配列番号 469 | GPKGDA... 配列番号 424  |
| GPAGIP... 配列番号 441 |                    |                     |