

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-506144  
(P2010-506144A)

(43) 公表日 平成22年2月25日(2010.2.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/53 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 P	4 B 0 6 3
<b>C 1 2 Q 1/68 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 Z	
<b>GO 1 N 33/569 (2006.01)</b>	C 1 2 Q 1/68 A	
<b>GO 1 N 33/573 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/569 F	
	GO 1 N 33/53 N	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 107 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2009-524779 (P2009-524779)  
 (86) (22) 出願日 平成19年8月15日 (2007. 8. 15)  
 (85) 翻訳文提出日 平成21年4月13日 (2009. 4. 13)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2007/075976  
 (87) 国際公開番号 W02008/022177  
 (87) 国際公開日 平成20年2月21日 (2008. 2. 21)  
 (31) 優先権主張番号 60/822, 488  
 (32) 優先日 平成18年8月15日 (2006. 8. 15)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 60/884, 397  
 (32) 優先日 平成19年1月10日 (2007. 1. 10)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 60/895, 962  
 (32) 優先日 平成19年3月20日 (2007. 3. 20)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 508161207  
 プロメテウス ラボラトリーズ インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国、92121 カリフォルニア州、サン ディエゴ、キャロル パーク ドライブ 9410  
 (74) 代理人 100095407  
 弁理士 木村 満  
 (74) 代理人 100109449  
 弁理士 毛受 隆典  
 (74) 代理人 100132883  
 弁理士 森川 泰司

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 過敏性腸症候群診断方法

(57) 【要約】

本発明は、個体からの試料が過敏性腸症候群 ( I B S ) と関連するか否かを正確に分類するための方法、システム及びコードを提供する。特に、本発明は、統計的アルゴリズム及び/又は経験的データを用いて、個体からの試料を I B S 試料として分類するために有用である。本発明はまた、統計的アルゴリズム及び/又は経験的データの併用により、 I B S 様症状を示す1つまたはそれ以上の疾患又は障害を排除し、 I B S を抽出するために有用である。従って、本発明は、 I B S の正確な診断予測と治療法の決定の指針に有用な予後情報を提供する。

【選択図】 図 1

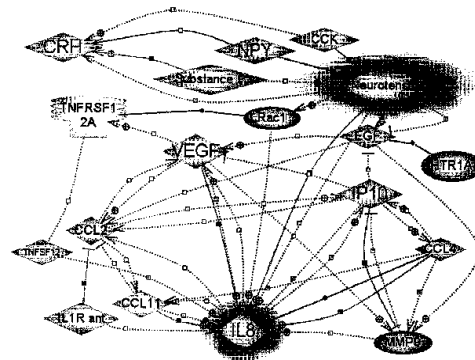


Fig. 1

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

個体からの試料が過敏性腸症候群（IBS）と関連するか否かを分類する分類方法であって、

前記分類方法は、

(a) 前記個体における、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビジエ抗体（ASCA）、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗組織型トランスグルタミナーゼ（抗tTG）抗体、リポカリン、マトリクス・メタロプロテアーゼ（MMP）、組織型メタロプロテアーゼインヒビター（TIMP）、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S100タンパク質、フィブリノペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって診断マーカープロファイルを決定する工程；及び

(b) 前記診断マーカープロファイルに基づくアルゴリズムを用いて、前記試料をIBS試料あるいは非IBS試料として分類する工程、を備えることを特徴とする分類方法。

10

## 【請求項 2】

前記サイトカインは、IL-8、IL-1 $\beta$ 、TNF関連アポトーシス弱誘導因子（TWEAK）、レプチン、オステオプロテジェリン（OPG）、MIP-3、GRO $\alpha$ 、CXCL4/PF-4、CXCL7/NAP-2、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項1に記載の分類方法。

20

## 【請求項 3】

前記増殖因子は、上皮細胞増殖因子（EGF）、血管内皮増殖因子（VEGF）、色素上皮由来因子（PEDF）、脳由来神経栄養因子（BDNF）、アンフィレグリン（SDGF）、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項1に記載の分類方法。

## 【請求項 4】

前記抗好中球抗体は、抗好中球細胞質抗体（ANCA）、核周辺抗好中球細胞質抗体（pANCA）、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項1に記載の分類方法。

30

## 【請求項 5】

前記ASCAは、ASCA-IgA、ASCA-IgG、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項1に記載の分類方法。

## 【請求項 6】

前記抗菌性抗体は、抗外膜タンパク質C（抗OmpC）抗体、抗フラジェリン抗体、抗I2抗体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項1に記載の分類方法。

## 【請求項 7】

前記リポカリンは、好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン（NGAL）、NGAL/MMP-9複合体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項1に記載の分類方法。

40

## 【請求項 8】

前記MMPは、MMP-9であることを特徴とする請求項1に記載の分類方法。

## 【請求項 9】

前記TIMPは、TIMP-1であることを特徴とする請求項1に記載の分類方法。

## 【請求項 10】

前記 $\alpha$ -グロブリンは、 $\alpha$ 2-マクログロブリン、ハプトグロビン、オロソムコイド、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項1に記載の分類方法。

## 【請求項 11】

50

前記アクチン切断タンパク質は、ゲルソリンであることを特徴とする請求項 1 に記載の分類方法。

【請求項 1 2】

前記 S 1 0 0 タンパク質は、カルグラニューリンであることを特徴とする請求項 1 に記載の分類方法。

【請求項 1 3】

前記フィブリノペプチドは、フィブリノペプチド A ( F I B A ) であることを特徴とする請求項 1 に記載の分類方法。

【請求項 1 4】

前記診断マーカープロファイルは、少なくとも 2、3、4、5、あるいは 6 の診断マーカーの存在又は値を検出することによって決定されることを特徴とする請求項 1 に記載の分類方法。

10

【請求項 1 5】

少なくとも 1 つの前記診断マーカーの存在又は値は、ハイブリダイゼーション法、増幅法、免疫測定法、又は免疫組織化学的測定法を用いて検出されることを特徴とする請求項 1 に記載の分類方法。

【請求項 1 6】

前記分類方法は、

症状プロファイルと組み合わせて、前記診断マーカープロファイルを決定する工程；及び、

20

前記診断マーカープロファイル及び前記症状プロファイルに基づくアルゴリズムを用いて、前記試料を I B S 試料あるいは非 I B S 試料として分類する工程、を備え、

前記症状プロファイルは、前記個体における少なくとも 1 つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定される、

ことを特徴とする請求項 1 に記載の分類方法。

【請求項 1 7】

前記少なくとも 1 つの症状は、胸痛、胸部の不快感、胸やけ、普通量の食事後の不快な膨満感、普通量の食事を食べることができないこと、下腹部痛、下腹部の不快感、便秘、下痢、膨満感、下腹部の膨張、痛みあるいは不快感を有することに伴う消極的な考え又は感情、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 1 6 に記載の分類方法。

30

【請求項 1 8】

前記少なくとも 1 つの症状の存在又は重症度は、質問票を用いて同定されることを特徴とする請求項 1 6 に記載の分類方法。

【請求項 1 9】

前記質問票は、前記少なくとも 1 つの症状の存在又は重症度について前記個体に問う一連の質問、痛み又は不快感を有することに伴う消極的な考え又は感情の存在又は重症度について前記個体に問う一連の質問、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 1 8 に記載の分類方法。

40

【請求項 2 0】

前記少なくとも 1 つの症状の存在又は重症度は、前記個体に、前記個体が現在何らかの症状を経験しているか否かを問うことによって同定されることを特徴とする請求項 1 6 に記載の分類方法。

【請求項 2 1】

前記症状プロファイルは、少なくとも 2、3、4、5、あるいは 6 の症状の存在又は重症度を同定することによって決定されることを特徴とする請求項 1 6 に記載の分類方法。

【請求項 2 2】

前記試料は、血清、血漿、全血、及び便からなる群から選択されることを特徴とする請求項 1 に記載の分類方法。

50

## 【請求項 2 3】

前記アルゴリズムは、統計的アルゴリズムを含むことを特徴とする請求項 1 に記載の分類方法。

## 【請求項 2 4】

前記統計的アルゴリズムは、学習統計的分類子システムを含むことを特徴とする請求項 2 3 に記載の分類方法。

## 【請求項 2 5】

前記学習統計的分類子システムは、ランダムフォレスト、分類・回帰木、ブースとされた木、ニューラルネットワーク、サポートベクターマシン、一般的なカイ二乗による相互作用の自動検出モデル、インターアクティブ木、多適応的回帰スプライン、機械学習分類子、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 2 4 に記載の分類方法。

10

## 【請求項 2 6】

前記統計的アルゴリズムは、単一の学習統計的分類子システムを含むことを特徴とする請求項 2 3 に記載の分類方法。

## 【請求項 2 7】

前記統計的アルゴリズムは、少なくとも 2 つの学習統計的分類子システムの組み合わせを含むことを特徴とする請求項 2 3 に記載の分類方法。

## 【請求項 2 8】

前記分類方法は、さらに前記非 I B S 試料を健常者、炎症性腸疾患 ( I B D )、あるいは非 I B D 試料として分類する工程を備えることを特徴とする請求項 1 に記載の分類方法。

20

## 【請求項 2 9】

前記分類方法は、さらに前記分類からの結果を臨床医へ送付する工程を備えることを特徴とする請求項 1 に記載の分類方法。

## 【請求項 3 0】

前記分類方法は、さらに前記個体が I B S を有する確率の形式で診断を提供する工程を備えることを特徴とする請求項 1 に記載の分類方法。

## 【請求項 3 1】

前記分類方法は、さらに前記 I B S 試料を I B S 便秘型 ( I B S - C )、I B S 下痢型 ( I B S - D )、I B S 混合型 ( I B S - M )、I B S 交替型 ( I B S - A )、あるいは感染後型 I B S ( I B S - I P ) 試料として分類する工程を備えることを特徴とする請求項 1 に記載の分類方法。

30

## 【請求項 3 2】

前記方法は、さらに腸炎を除外する工程を備えることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3 3】

個体における過敏性腸症候群 ( I B S ) の進行又は後退をモニタリングするモニタリング方法であって、

40

前記モニタリング方法は、

( a ) 前記試料における、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビジエ抗体 ( A S C A )、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗組織型トランスグルタミナーゼ ( 抗 t T G ) 抗体、リポカリン、マトリクス・メタロプロテアーゼ ( M M P )、組織型メタロプロテアーゼインヒビター ( T I M P )、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S 1 0 0 タンパク質、フィブリノペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチド ( C G R P )、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって診断マーカープロファイルを決定する工程；及び

( b ) 前記診断マーカープロファイルに基づくアルゴリズムを用いて前記個体における I B S の存在又は重症度を決定する工程、

50

を備えることを特徴とするモニタリング方法。

【請求項 34】

前記モニタリング方法は、

症状プロファイルと組み合わせて、前記診断マーカープロファイルを決定する工程；及び

前記診断マーカープロファイル及び前記症状プロファイルに基づくアルゴリズムを用いて、前記個体における IBS の存在又は重症度を決定する工程、

を備え、

前記症状プロファイルは、前記個体における少なくとも 1 つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定される、

ことを特徴とする請求項 33 に記載のモニタリング方法。

【請求項 35】

前記アルゴリズムは、統計的アルゴリズムを含むことを特徴とする請求項 33 に記載のモニタリング方法。

【請求項 36】

前記統計的アルゴリズムは、単一の学習統計的分類子システムあるいは少なくとも 2 つの学習統計的分類子システムの組み合わせを含むことを特徴とする請求項 35 に記載のモニタリング方法。

【請求項 37】

前記モニタリング方法は、さらに工程 (b) において決定した IBS の存在又は重症度を、より早期の前記個体における IBS の存在又は重症度と比較する工程を備えることを特徴とする請求項 33 に記載のモニタリング方法。

【請求項 38】

過敏性腸症候群 (IBS) を治療するために有用な薬を投与されている個体における薬の効果をモニタリングするモニタリング方法であって、

前記モニタリング方法は、

(a) 前記試料における、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビジエ抗体 (ASCA)、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗組織型トランスグルタミナーゼ (抗 tTG) 抗体、リポカリン、マトリクス・メタロプロテアーゼ (MMP)、組織型メタロプロテアーゼインヒビター (TIMP)、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S100タンパク質、フィブリノペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP)、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって診断マーカープロファイルを決定する工程；及び

(b) 前記診断マーカープロファイルに基づくアルゴリズムを用いて前記薬の有効性を決定する工程、

を備えることを特徴とするモニタリング方法。

【請求項 39】

前記モニタリング方法は、

症状プロファイルと組み合わせて前記診断マーカープロファイルを決定する工程；及び

前記診断マーカープロファイル及び前記症状プロファイルに基づくアルゴリズムを用いて前記薬の有効性を決定する工程、

を備え、

前記症状プロファイルは、前記個体における少なくとも 1 つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定される、

ことを特徴とする請求項 38 に記載のモニタリング方法。

【請求項 40】

前記アルゴリズムは、統計的アルゴリズムを含むことを特徴とする請求項 38 に記載のモニタリング方法。

【請求項 41】

10

20

30

40

50

前記統計的アルゴリズムは、単一の学習統計的分類子システムあるいは少なくとも2つの学習統計的分類子システムを含むことを特徴とする請求項40に記載のモニタリング方法。

【請求項42】

前記モニタリング方法は、さらに工程(b)で決定した前記薬の有効性を、治療の早期での前記個体における前記薬の有効性と比較する工程を備えることを特徴とする請求項38に記載のモニタリング方法。

【請求項43】

前記薬は、セロトニン作動薬、抗うつ剤、塩素チャネル活性化因子、グアニル酸シクラーゼ作動薬、抗生物質、オピオイド、ニューロキニン拮抗薬、抗痙攣又は抗コリン作動薬、ベラドンナアルカロイド、パルピツール酸、それらの遊離塩基、それらの薬学的に許容される塩、それらの誘導体、それらのアナログ、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項38に記載のモニタリング方法。

10

【請求項44】

個体からの試料が過敏性腸症候群(IBS)に関連するか否かを分類するために、1つ又はそれ以上のプロセッサを制御するためのコードを含むコンピューター読み取り可能な記憶媒体であって、

前記コードは、診断マーカープロファイルに基づき、前記試料をIBS試料あるいは非IBS試料として分類する統計的に導出される決定を生み出すために、前記診断マーカープロファイルを含むデータセットに統計処理を適用する指示構造を包含し、

20

前記診断マーカープロファイルは、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビジエ抗体(ASCA)、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗組織型トランスグルタミナーゼ(抗tTG)抗体、リポカリン、マトリクス・メタロプロテアーゼ(MMP)、組織型メタロプロテアーゼインヒビター(TIMP)、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S100タンパク質、フィブリノペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトリピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す、

ことを特徴とするコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

30

【請求項45】

前記コンピューター読み取り可能な記憶媒体は、前記診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づき、前記試料をIBS試料あるいは非IBS試料として分類する統計的に導出される決定を生み出すために、前記個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を示す、症状プロファイルと組み合わせて、前記診断マーカープロファイルからなるデータセットに統計処理を適用する指示構造を有することを特徴とする請求項44に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項46】

前記統計処理は、単一の学習統計的分類子システムを含むことを特徴とする請求項44に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項47】

前記統計処理は、少なくとも2つの学習統計的分類子システムの組み合わせを含むことを特徴とする請求項44に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

40

【請求項48】

個体からの試料が過敏性腸症候群(IBS)に関連するか否かを分類する分類システムであって、

前記分類システムは、

(a) 診断マーカープロファイルからなるデータセットを生成するよう構成されたデータ収集モジュール；

(b) 前記診断マーカープロファイルに基づき、前記試料をIBS試料あるいは非IBS試料として分類する、統計的に導出される決定を生み出すために、当該データセットに統

50

計処理を適用することによって、当該データセットを処理するよう構成されたデータ処理モジュール；及び

(c) 統計的に導出される当該決定を表示するよう構成された表示モジュール、を備え、

前記診断マーカープロファイルは、前記試料における、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビジエ抗体 (A S C A)、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗組織型トランスグルタミナーゼ (抗 t T G) 抗体、リポカリン、マトリクス・メタロプロテアーゼ (M M P)、組織型メタロプロテアーゼインヒビター (T I M P)、  
- グロブリン、アクチン切断タンパク質、S 1 0 0 タンパク質、フィブリノペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (C G R P)、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す、  
ことを特徴とする分類システム。

10

【請求項 4 9】

前記分類システムは、

前記個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を示す症状プロファイルと組み合わせて、前記診断マーカープロファイルからなるデータセットを生成するよう構成されたデータ収集モジュール；

前記診断マーカープロファイル及び前記症状プロファイルに基づき、前記試料を I B S 試料あるいは非 I B S 試料として分類する、統計的に導出される決定を生み出すために、  
当該データセットに統計処理を適用することによって、当該データセットを処理するよう構成されたデータ処理モジュール；及び

20

統計的に導出される当該決定を表示するよう構成された表示モジュール、を備えることを特徴とする請求項 4 8 に記載の分類システム。

【請求項 5 0】

前記統計処理は、単一の学習統計的分類子システムを含むことを特徴とする請求項 4 8 に記載の分類システム。

【請求項 5 1】

前記統計処理は、少なくとも2つの学習統計的分類子システムを含むことを特徴とする請求項 4 8 に記載の分類システム。

30

【請求項 5 2】

個体からの試料が I B S と関連するか否かを分類する分類方法であって、

前記分類方法は、

(a) 診断マーカープロファイルを決定する工程；

(b) 前記診断プロファイルに基づくアルゴリズムを用いて前記試料を I B D 試料あるいは非 I B D 試料として分類する工程；及び

(c) 前記診断プロファイルに基づく第2の統計的アルゴリズムを用いて前記非 I B D 試料を I B S 試料あるいは非 I B S 試料として分類する工程、

を備え、

前記診断マーカープロファイルは、前記試料における、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビジエ抗体 (A S C A)、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗組織型トランスグルタミナーゼ (抗 t T G) 抗体、リポカリン、マトリクス・メタロプロテアーゼ (M M P)、組織型メタロプロテアーゼインヒビター (T I M P)、  
- グロブリン、アクチン切断タンパク質、S 1 0 0 タンパク質、フィブリノペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (C G R P)、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す、  
ことを特徴とする分類方法。

40

【請求項 5 3】

前記サイトカインは、I L - 8、I L - 1、T N F 関連アポトーシス弱誘導因子 (T

50

WEAK)、レプチン、オステオプロテジェリン(OPG)、MIP-3、GRO、CXCL4/PF-4、CXCL7/NAP-2、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

【請求項54】

前記増殖因子は、上皮細胞増殖因子(EGF)、血管内皮増殖因子(VEGF)、色素上皮由来因子(PEDF)、脳由来神経栄養因子(BDNF)、アンフィレグリン(SDGF)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

【請求項55】

前記抗好中球抗体は、抗好中球細胞質抗体(ANCA)、核周辺抗好中球細胞質抗体(pANCA)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

10

【請求項56】

前記ASCAは、ASCA-IgA、ASCA-IgG、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

【請求項57】

前記抗菌性抗体は、抗外膜タンパク質C(抗OmpC)抗体、抗フラジェリン抗体、抗I2抗体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

【請求項58】

前記リポカリンは、好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン(NGAL)、NGAL/MMP-9複合体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

20

【請求項59】

前記MMPは、MMP-9であることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

【請求項60】

前記TIMPは、TIMP-1であることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

【請求項61】

前記α-グロブリンは、α<sub>2</sub>-マクログロブリン、ハプトグロビン、オロソムコイド、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

30

【請求項62】

前記アクチン切断タンパク質は、ゲルソリンであることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

【請求項63】

前記S100タンパク質は、カルグラニューリンであることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

【請求項64】

前記フィブリノペプチドは、フィブリノペプチドA(FIBA)であることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

40

【請求項65】

前記診断マーカープロファイルは、少なくとも2、3、4、5、あるいは6つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって決定されることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

【請求項66】

前記少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値は、ハイブリダイゼーション法、増幅法、免疫測定法、又は免疫組織化学的測定法を用いて検出されることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

【請求項67】

前記分類方法は、

50

症状プロファイルと組み合わせて、前記診断マーカープロファイルを決定する工程；及び

前記診断マーカープロファイル及び前記症状プロファイルに基づくアルゴリズムを用いて、前記試料を分類する工程、  
を備え、

前記症状プロファイルは、前記個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定される、  
ことを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

【請求項68】

前記少なくとも1つの症状は、胸痛、胸部の不快感、胸やけ、普通量の食事後の不快な満腹感、普通量の食事を食べることができないこと、下腹部痛、下腹部の不快感、便秘、下痢、膨満感、下腹部の膨張、痛み又は不快感に伴う消極的な考えあるいは感情、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項67に記載の分類方法。

10

【請求項69】

前記少なくとも1つの症状の存在又は重症度は、質問票を用いて同定されることを特徴とする請求項67に記載の分類方法。

【請求項70】

前記質問票は、前記少なくとも1つの症状の存在又は重症度について前記個体に問う一連の質問、痛み又は不快感を有することに伴う消極的な考え又は感情の存在又は重症度について前記個体に問う一連の質問、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項69に記載の分類方法。

20

【請求項71】

前記少なくとも1つの症状の存在又は重症度は、前記個体に、前記個体が現在何らかの症状を経験しているか否かを問うことによって同定されることを特徴とする請求項67に記載の分類方法。

【請求項72】

前記症状プロファイルは、少なくとも2、3、4、5、あるいは6つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定されることを特徴とする請求項67に記載の分類方法。

30

【請求項73】

前記試料は、血清、血漿、全血、及び便からなる群から選択されることを特徴とする請求項52に記載の分類方法。

【請求項74】

個体からの試料がIBSと関連するか否かを分類するために1つ又はそれ以上のプロセッサを制御するためのコードを含むコンピューター読み取り可能な記憶媒体であって、

前記コードは、

(a) 診断マーカープロファイルからなるデータセットに第1の統計処理を適用し；及び前記試料が非IBD試料として分類される場合は、

(b) 前記診断プロファイルに基づき、当該非IBD試料をIBS試料あるいは非IBS試料として分類する、統計的に導出される第2の決定を生み出すために、当該データセットに第2の統計処理を適用する、

40

ための指示構造を含み、

前記診断マーカープロファイルは、前記試料における、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビジエ抗体(ASCA)、抗菌性抗体、ラクtofエリン、抗組織型トランスグルタミナーゼ(抗tTG)抗体、リポカリン、マトリクス・メタロプロテアーゼ(MMP)、組織型メタロプロテアーゼインヒビター(TIMP)、  
- グロブリン、アクチン切断タンパク質、S100タンパク質、フィブリノペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、  
コルチコトロピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少

50

なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す、  
ことを特徴とするコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項75】

前記統計処理は、単一の学習統計的分類子システムを含むことを特徴とする請求項74に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項76】

前記統計処理は、少なくとも2つの学習統計的分類子システムの組み合わせを含むことを特徴とする請求項74に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項77】

前記サイトカインは、IL-8、IL-1、TNF関連アポトーシス弱誘導因子(TWEAK)、レプチン、オステオプロテジェリン(OPG)、MIP-3、GRO、CXCL4/PF-4、CXCL7/NAP-2、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項74に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

10

【請求項78】

前記増殖因子は、上皮細胞増殖因子(EGF)、血管内皮増殖因子(VEGF)、色素上皮由来因子(PEDF)、脳由来神経栄養因子(BDNF)、アンフィレグリン(SDGF)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項74に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項79】

前記抗好中球抗体は、抗好中球細胞質抗体(ANCA)、核周辺抗好中球細胞質抗体(pANCA)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項74に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

20

【請求項80】

前記ASCAは、ASCA-IgA、ASCA-IgG、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項74に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項81】

前記抗菌性抗体は、抗外膜タンパク質C(抗OmpC)抗体、抗フラジェリン抗体、抗I2抗体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項74に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

30

【請求項82】

前記リポカリンは、好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン(NGAL)、NGAL/MMMP-9複合体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項74に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項83】

前記MMPは、MMP-9であることを特徴とする請求項74に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項84】

前記TIMPは、TIMP-1であることを特徴とする請求項74に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

40

【請求項85】

前記α-グロブリンは、α2-マクログロブリン、ハプトグロビン、オロソムコイド、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項74に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項86】

前記アクチン切断タンパク質は、ゲルソリンであることを特徴とする請求項74に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項87】

前記S100タンパク質は、カルグラニユリンであることを特徴とする請求項74に記載

50

載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項 88】

前記フィブリノペプチドは、フィブリノペプチド A ( F I B A ) であることを特徴とする請求項 74 に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項 89】

前記診断マーカープロファイルは、少なくとも 2、3、4、5、あるいは 6 つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって決定されることを特徴とする請求項 74 に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項 90】

前記少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値は、ハイブリダイゼーション法、増幅法、免疫測定法、又は免疫組織化学的測定法を用いて検出されることを特徴とする請求項 74 に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

10

【請求項 91】

前記コンピューター読み取り可能な記憶媒体は、  
症状プロファイルと組み合わせて、前記診断マーカープロファイルを決定する構造；及び

前記診断マーカープロファイル及び前記症状プロファイルに基づくアルゴリズムを用いて前記試料を分類する構造、

を有し、

前記症状プロファイルは、前記個体における少なくとも 1 つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定される、

20

ことを特徴とする請求項 74 に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項 92】

前記少なくとも 1 つの症状は、胸痛、胸部の不快感、胸やけ、普通量の食事後の不快な満腹感、普通量の食事を食べることができないこと、下腹部痛、下腹部の不快感、便秘、下痢、膨満感、下腹部の膨張、痛み又は不快感を有することに伴う消極的な考えあるいは感情、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 91 に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項 93】

前記少なくとも 1 つの症状の存在又は重症度は、質問票を用いて同定されることを特徴とする請求項 91 に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

30

【請求項 94】

前記質問票は、前記少なくとも 1 つの症状の存在又は重症度について前記個体に問う一連の質問、痛み又は不快感を有することに伴う消極的な考え又は感情の存在又は重症度について前記個体に問う一連の質問、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 91 に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項 95】

前記少なくとも 1 つの症状の存在又は重症度は、前記個体に、前記個体が最近何らかの症状を経験しているかについて問うことによって同定されることを特徴とする請求項 91 に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

40

【請求項 96】

前記症状プロファイルは、少なくとも 2、3、4、5、あるいは 6 つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定されることを特徴とする請求項 91 に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項 97】

前記方法は、診断マーカープロファイル及び症状プロファイルを決定する構造を備えることを特徴とする請求項 91 に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

【請求項 98】

前記試料は、血清、血漿、全血、及び便からなる群から選択されることを特徴とする請求項 91 に記載のコンピューター読み取り可能な記憶媒体。

50

## 【請求項 99】

個体からの試料が I B S と関連するか否かを分類するためのシステムであって、  
前記分類システムは、

( a ) 診断マーカープロファイルからなるデータセットを生成するよう構成されたデータ収集モジュール；

( b ) 前記診断マーカープロファイルに基づき、前記試料を I B D 試料あるいは非 I B D 試料として分類する、第 1 の統計的に導出される決定を生み出すために、当該データセットに第 1 の統計処理を適用することによって、当該データセットを処理し；

前記試料が非 I B D 試料として分類される場合には、前記診断マーカープロファイルに基づき、前記非 I B D 試料を I B S 試料又は非 I B S 試料として分類する、第 2 の統計的に導出される決定を生み出すために、当該データセットに第 2 の統計処理を適用するよう構成されたデータ処理モジュール；及び

( c ) 当該第 1 の、及び / 又は第 2 の統計的に導出される決定を表示するよう構成された表示モジュール、  
を備え、

前記診断マーカープロファイルは、前記試料における、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビジエ抗体 ( A S C A )、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗組織型トランスグルタミナーゼ ( 抗 t T G ) 抗体、リポカリン、マトリクス・メタロプロテアーゼ ( M M P )、組織型メタロプロテアーゼインヒビター ( T I M P )、  
- グロブリン、アクチン切断タンパク質、S 1 0 0 タンパク質、フィブリノペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチド ( C G R P )、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、  
コルチコトロピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値を示す、  
ことを特徴とする分類システム。

## 【請求項 100】

前記統計処理は、単一の学習統計的分類子システムを含むことを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

## 【請求項 101】

前記統計処理は、少なくとも 2 つの学習統計的分類子システムの組み合わせを含むことを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

## 【請求項 102】

前記サイトカインは、I L - 8、I L - 1、T N F 関連アポトーシス弱誘導因子 ( T W E A K )、レプチン、オステオプロテジェリン ( O P G )、M I P - 3、G R O、C X C L 4 / P F - 4、C X C L 7 / N A P - 2、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

## 【請求項 103】

前記増殖因子は、上皮細胞増殖因子 ( E G F )、血管内皮増殖因子 ( V E G F )、色素上皮由来因子 ( P E D F )、脳由来神経栄養因子 ( B D N F )、アンフィレグリン ( S D G F )、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

## 【請求項 104】

前記抗好中球抗体は、抗好中球細胞質抗体 ( A N C A )、核周辺抗好中球細胞質抗体 ( p A N C A )、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

## 【請求項 105】

前記 A S C A は、A S C A - I g A、A S C A - I g G、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

## 【請求項 106】

前記抗菌性抗体は、抗外膜タンパク質 C ( 抗 O m p C ) 抗体、抗フラジェリン抗体、抗 I 2 抗体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 9

10

20

30

40

50

9 に記載の分類システム。

【請求項 107】

前記リポカリンは、好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン (NGAL)、NGAL/MM P - 9 複合体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

【請求項 108】

前記 MMP は、MMP - 9 であることを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

【請求項 109】

前記 TIMP は、TIMP - 1 であることを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

10

【請求項 110】

前記 - グロブリンは、 $\alpha_2$  - マクログロブリン、ハプトグロビン、オロソムコイド、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

【請求項 111】

前記アクチン切断タンパク質は、ゲルソリンであることを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

【請求項 112】

前記 S100 タンパク質は、カルグラニューリンであることを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

20

【請求項 113】

前記フィブリノペプチドは、フィブリノペプチド A (FIBA) であることを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

【請求項 114】

前記診断マーカープロファイルは、少なくとも 2、3、4、5、あるいは 6 つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって決定されることを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

【請求項 115】

前記少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値は、ハイブリダイゼーション法、増幅法、免疫測定法、又は免疫組織化学的測定法を用いて検出されることを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

30

【請求項 116】

前記コンピューター読み取り可能な記憶媒体は、  
症状プロファイルと組み合わせて、前記診断マーカープロファイルを決定する構造；及び

前記診断マーカープロファイル及び前記症状プロファイルに基づくアルゴリズムを用いて前記試料を分類する構造、  
を有し、

前記症状プロファイルは、前記個体における少なくとも 1 つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定される、  
ことを特徴とする請求項 99 に記載の分類システム。

40

【請求項 117】

前記少なくとも 1 つの症状は、胸痛、胸部の不快感、胸やけ、普通量の食事後の不快な満腹感、普通量の食事を食べることができないこと、下腹部痛、下腹部の不快感、便秘、下痢、膨満感、下腹部の膨張、痛み又は不快感を有することに伴う消極的な考えあるいは感情、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 116 に記載の分類システム。

【請求項 118】

前記少なくとも 1 つの症状の存在又は重症度は、質問票を用いて同定されることを特徴とする請求項 116 に記載の分類システム。

50

## 【請求項 119】

前記質問票は、前記少なくとも1つの症状の存在又は重症度について前記個体に問う一連の質問、痛み又は不快感を有することに伴う消極的な考え又は感情の存在又は重症度について前記個体に問う一連の質問、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項 116 に記載の分類システム。

## 【請求項 120】

前記少なくとも1つの症状の存在又は重症度は、前記個体に、前記個体が現在何らかの症状を経験しているかを問うことによって同定されることを特徴とする請求項 116 に記載の分類システム。

## 【請求項 121】

前記症状プロファイルは、少なくとも2、3、4、5、あるいは6つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定されることを特徴とする請求項 116 に記載の分類システム。

## 【請求項 122】

前記方法は、診断マーカープロファイル及び症状プロファイルを決定する構造を備えることを特徴とする請求項 116 に記載の分類システム。

## 【請求項 123】

前記試料は、血清、血漿、全血、及び便からなる群から選択されることを特徴とする請求項 116 に記載の分類システム。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

(関連出願の相互参照)

本出願は、2006年8月15日に出願された米国仮出願第60/822488号、2007年1月10日に出願された米国仮出願第60/884397号、2007年3月20日に出願された60/895962号の優先権を主張し、それらの開示は、すべての目的のため、その全体が参照により本明細書に援用される。

## 【背景技術】

## 【0002】

過敏性腸症候群(irritable bowel syndrome (IBS))は、すべての胃腸疾患の中で最も一般的な疾病であり、総人口の10~20%が患い、全患者の50%以上が消化の不調を伴う。しかしながら、IBSを患う人の約10~50%しか実際には医学的治療を受けていない。IBSの患者は、例えば、大部分は排便に伴う下腹部痛、下痢、便秘、あるいは交互に発症する下痢と便秘、下腹部の膨張、ガスや便中の過剰な粘液といった異なる症状を示す。IBS患者の40%以上は非常に激しい症状を示すため、仕事を休み、ひかえめな社会生活をし、性交を避け、約束を中止し、旅行を止め、治療を受け、そしてさらに、その恐怖に家に閉じこもらなければならない。米国で試算されたIBSの医療費は年間80億ドルである(Talleyら、Gastroenterol., 109:1736-1741(1995)を参照)。

## 【0003】

IBSの正確な病態生理はよく分かっていない。そうではあるが、末梢感作として知られる、増大する内臓痛覚過敏がある。この鋭敏化は、モノアミン(例えば、カテコールアミンやインドールアミン)、サブスタンスPや、E型プロスタグランジンといった、様々なサイトカイン類、プロスタノイド類を含む、様々な仲介物質に起因する、一次求心性神経の変換過程の閾値の低下や増幅における増加を含む(Mayerら、Gastroenterol., 107:271-293(1994)を参照)。また、腸管腔内の内容物及び/又はガスの異常な処理を引き起こす、腸管運動機能障害が、IBSの原因病理に関わっている(Kellowら、Gastroenterol., 92:1885-1893(1987); Levittら、Ann. Int. Med., 124:422-424(1996)を参照)。心理学的な要因もIBS症状に寄与し、それによって誘因されて

10

20

30

40

50

いるのでなければ、うつ病や不安を含む障害との組み合わせとして現れることがある（例えば、Drossmanら、*Gastroenterol. Int.*, 8: 47 - 90 (1995)を参照）。

#### 【0004】

IBSの原因はよく分かっていない。腸壁は、食物が胃から腸管を通過して直腸に移動する際に、収縮及び弛緩する筋肉の層で覆われている。通常、これらの筋肉は調和したリズムで収縮し、弛緩する。IBS患者の場合、これらの収縮が正常のものに比べて、一般的により強く、より長く持続する。その結果、食物が速やかに腸を通過し、時には、ガス、膨張や下痢を引き起こす。また逆も生じ、食物がゆっくりと動くため、便が固く、乾燥し、便秘を引き起こす。

10

#### 【0005】

IBSの正確な病態生理については、まだ解明されていない。消化管の運動性障害や変性内臓知覚は、症状の発症に対する重要な要因であると認識されている（Quigley、Scand. J. Gastroenterol., 38 (Suppl. 237): 1 - 8 (2003); Mayerら、*Gastroenterol.*, 122: 2032 - 2048 (2002)を参照)一方で、この状態は、現在、一般的に、脳-腸軸の障害と見なされている。最近、腸溶性感染や腸炎の役割についても提案されている。ある研究では、細菌学上で確認された胃腸炎に引き続いてIBSが発症すると言われている。一方、他の研究では、IBSにおける軽度の粘膜炎症（Spillerら、*Gut*, 47: 804 - 811 (2000); Dunlopら、*Gastroenterol.*, 125: 1651 - 1659 (2003); Cumberlandら、*Epidemiol. Infect.*, 130: 453 - 460 (2003)を参照)及び免疫活性化（Gweeら、*Gut*, 52: 523 - 526 (2003); Pimentelら、*Am. J. Gastroenterol.*, 95: 3503 - 3506 (2000)を参照)の証拠が提供された。腸管フローラもまた関与し、最近の研究では、免疫活性調整障害の治療におけるプロバイオテック生物であるビフィドバクテリウム属 (*Bifidobacterium*)の有効性が示された（O'Mahonyら、*Gastroenterol.*, 128: 541 - 551 (2005)を参照）。

20

#### 【0006】

視床下部-下垂体-副腎軸 (HPA) はヒトにおける中枢内分泌ストレス系であり（De Wiedら、*Front. Neuroendocrinol.*, 14: 251 - 302 (1993)を参照)、脳と腸の免疫系の間的重要な連結を提供する。この軸の活性化は身体的及び心理的なストレス因子の双方に反応して起こり（Dinan、*Br. J. Psychiatry*, 164: 365 - 371 (1994)を参照)、これらストレス因子はともにIBSの病態生理に関わっている（Cumberlandら、*Epidemiol. Infect.*, 130: 453 - 460 (2003)を参照）。IBS患者は、成人期においてストレスの多い人生の出来事の割合が高いとともに、小児期における性的及び身体的な虐待の割合が高いことが報告されている（Gaynesら、*Baillieres Clin. Gastroenterol.*, 13: 437 - 452 (1999)を参照）。このような心理社会的なトラウマ、又は乏しい認識に基づいた対処方法が症状の重篤さ、日常の機能および健康状態に深く影響する。

30

40

#### 【0007】

IBSの原因は、十分に特徴づけられていないが、医学界は、患者病歴に基づくIBS診断を目的として、ローマII基準として知られる、一定の定義と基準を創り出した。ローマII基準は、1年の期間における3ヶ月の継続的又は反復的な下腹部痛あるいはその不調がみられ、これら下腹部痛又は不調は、排便によって改善され、及び/又は排便頻度もしくは軟度の変化と同様に2つ又はそれ以上の次の状態を伴うことを要する：排便頻度の変化、便形状の変化、便排泄の変化、粘液の排泄、又は膨満及び下腹部の膨張。これらの症状を引き起こしうる形態上もしくは生化学的な異常がまったくないこともまた必要な条件である。その結果、ローマII基準は、実質的な患者病歴がある場合のみ使用可能で

50

あり、他方でその症状を説明できる、異常な腸構造又は代謝異常がない場合にのみ信頼性がある。同様に、最近、医学界によって策定されたローマIII基準は、ある特定の組み合わせの症状が認められ、かつ詳細な患者病歴及び身体検査の提示がある場合にのみ用いることができる。

#### 【0008】

IBSと他の疾病又は障害との症状の類似性のため、IBS患者の診断は容易ではないということがよく言われる。実際、IBS症状は、非常に多くの他の消化管疾患症状と類似し又は同一であるため、正確な診断を行うまでに数年を要しうる。例えば、炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease (IBD)) の患者は、膨満、下痢、便秘及び下腹部痛などの、軽度の兆候と症状を示すが、IBSの患者と区別することは難しいかもしれない。その結果、IBSとIBDの症状の類似性が、迅速かつ正確な診断を困難にする。

10

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0009】

IBSとIBDを区別して診断することの困難性が、これらの病気の早期かつ効果的な治療の妨げになっている。類似した症状を示す他の消化管疾患又は障害から、明確にIBSを区別するための迅速かつ正確な診断方法は、残念ながら、現在得られていない。本発明は、この要求を満たし、さらに、関連する有利な点も提供する。

#### 【0010】

20

本発明は、個体からの試料が過敏性腸症候群 (irritable bowel syndrome (IBS)) に関与するか否かを正確に分類するための方法、システム及びコードを提供する。非限定的な例として、例えば、本発明は、統計的アルゴリズム及び/又は経験的なデータにより、個体からの試料をIBS試料として分類するために用いることができる。本発明はまた、統計的アルゴリズム及び/又は経験的なデータの組み合わせを用いて、IBS様の症状を示す1つ又はそれ以上の疾病又は障害を排除し、IBSを判定するために有用である。従って、本発明は、IBSの正確な診断予測と治療法決定の指針に有用な予後情報を提供する。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0011】

30

一態様において、本発明は、個体からの試料がIBSと関連があるか否かを分類する方法を提供し、当該方法は以下の工程を含む：

(a) 試料中の少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって診断マーカープロファイルを決定する工程；及び

(b) その診断マーカープロファイルに基づいたアルゴリズムを用いて、当該試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する工程。

#### 【0012】

ある実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビジエ抗体 (ASCA)、抗菌性抗体、ラクtoferrin (lactoferrin)、抗組織型トランスグルタミナーゼ抗体 (抗tTG抗体)、リポカリン (lipocalin)、マトリクス・メタロプロテアーゼ (MMP)、組織型メタロプロテアーゼインヒビター (TIMP)、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S100タンパク質、フィブリノペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP)、タチキニン (tachykinin)、グレリン (ghrelin)、ニューロテンシン (neurotensin)、コルチコトリピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって決定される。

40

#### 【0013】

好ましい態様において、本発明は個体からの試料がIBSと関連するか否かを分類する方法を提供し、当該方法は以下の工程を含む：

50

( a ) 試料におけるサイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、A S C A、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗 t T G 抗体、リポカリン、M M P、T I M P、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S 1 0 0 タンパク質、フィブリノペプチド、C G R P、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって、診断マーカープロファイルを決定する工程；及び

( b ) その診断マーカープロファイルに基づいたアルゴリズムを用いて、当該試料を I B S 試料又は非 I B S 試料として分類する工程。

【 0 0 1 4 】

好ましい実施形態において、I B S を予測するために有用な診断マーカープロファイルを作成するために、表 1 に示す、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 又はそれ以上のバイオマーカーの存在又は値が検出される。ある例として、ここで言うバイオマーカーは、酵素結合免疫吸着測定法 ( e n z y m e - l i n k e d i m m u n o s o r b e n t a s s a y ( E L I S A ) ) 又は免疫組織化学的測定法などの免疫測定法を用いて解析される。

【表 1】

表 1. IBS 分類に用いるために通した診断的マーカーの具体例

ファミリー	バイオマーカー
サイトカイン (Cytokine)	CXCL8/IL-8
	IL-1 $\beta$
	TNF関連アポトーシス弱誘導因子 (TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK))
	レプチン (Leptin)
	オステオプロテジェリン (Osteoprotegerin (OPG))
	CCL19/MIP-3 $\beta$
	CXCL1/GRO1/GRO $\alpha$
	CXCL4/PF-4 CXCL7/MAP-2
増殖因子 (Growth Factor)	上皮細胞増殖因子 (Epidermal growth factor (EGF))
	血管内皮増殖因子 (Vascular endothelial growth factor (VEGF))
	色素上皮由来因子 (Pigment epithelium-derived factor (PEDF))
	脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor (BDNF))
	神経鞘腫由来増殖因子 (Schwannoma-derived growth factor (SDGF)) / アンフィレグリン (amphiregulin)
抗好中球抗体 (Anti-neutrophil antibody)	抗好中球細胞質抗体 (Anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA))
	核周辺抗好中球細胞質抗体 (Perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody (pANCA))
ASCA	ASCA-IgA ASCA-IgG
抗菌性抗体 (Antimicrobial antibody)	抗OmpC抗体 (Anti-outer membrane protein C (OmpC) antibody)
	抗Cbir-1フラジェリン抗体 (Anti-Cbir-1 flagellin antibody)
リポカリン (Lipocalin)	好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン (Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL))
MMP	MMP-9
TIMP	TIMP-1
$\alpha$ -グロブリン (Alpha-globulin)	$\alpha$ 2-マクログロブリン (Alpha-2-macroglobulin ( $\alpha$ 2-MG))
	ハプトグロビン前駆体 $\alpha$ 2 (Haptoglobin precursor alpha-2 (Hp $\alpha$ 2))
	オロソムコイド (Orosomucoid)
アクチン切断タンパク質 (Actin-severing protein)	ゲルゾリン (Gelsolin)
S100タンパク質 (S100 protein)	カルグラヌリンA/S100A8/MRP-8 (Calgranulin A/S100A8/MRP-8)
フィブリノペプチド (Fibrinopeptide)	フィブリノペプチドA (Fibrinopeptide A (FIBA))
その他	ラクトフェリン (Lactoferrin)
	抗組織型トランスグルタミナーゼ抗体 (Anti-tissue transglutaminase (tTG) antibody)
	カルシトニン遺伝子関連ペプチド (Calcitonin gene-related peptide (CGRP))

10

20

30

## 【0015】

他の実施形態において、IBSを判定する方法は、個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定される、症状プロファイルを選択的に組み合わせ、診断マーカープロファイルを決定する工程；及び、その診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づくアルゴリズムを用いて当該試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する工程、を含む。

40

## 【0016】

症状プロファイルは、一般的に、胸痛、胸部の不快感、胸やけ、普通量の食事後の不快な膨満感、普通量の食事を食べることができないこと、下腹部痛、下腹部の不快感、便秘、下痢、膨満感、下腹部の膨張、痛み又は不快感があることに伴う消極的な考え又は感情、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの症状の存在及び重症度を同定することによって決定される。

## 【0017】

50

好ましい実施形態において、IBSを予測するのに有用な症状プロファイルを作成するために、当該明細書で述べる、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 又はそれ以上の症状の存在又は重症度が同定される。例えば、記述、口頭、又は電話調査の質問票あるいは他の形式が、症状プロファイルを作成するために使用される。その質問票と調査は、現在及び/又は最近のIBS関連症状について、回答者から情報を集める目的のため、一般的には、標準化された一連の質問と回答からなる。

【0018】

ある実施形態において、症状プロファイルは、その質問票又は調査において示された質問に対するすべて又は一部分の回答を編集し、及び/又は解析することによって作成される。他の実施形態において、症状プロファイルは、「あなたは最近何らかの症状を経験していますか」という質問に対する個人の回答に基づいて作成される。これら実施形態のいずれかに従って作成される症状プロファイルは、IBSを予測する精度を改善するために、当該明細書で述べるアルゴリズムに基づく方法において、診断マーカープロファイルと組み合わせて用いることが可能である。

10

【0019】

他の態様において、本発明は、個体からの試料がIBSと関連があるか否かを分類する方法を提供し、その方法は、以下の工程を含む：

(a) 試料における少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって診断マーカープロファイルを決定する工程；

(b) その診断マーカープロファイルに基づく第1の統計的アルゴリズムを用いて、当該試料をIBD試料又は非IBD試料に分類する工程；及び  
当該試料が非IBD試料として分類された場合には、

20

(c) 工程(a)で決定したものと同一の診断マーカープロファイルあるいは異なる診断マーカープロファイルに基づいた第2の統計的アルゴリズムを用いて、当該非IBD試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する工程。

【0020】

ある実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、ASCA、抗菌性抗体、ラクtofエリン、抗tTG抗体、リポカリン、MMP、TIMP、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S100タンパク質、フィブリノペプチド、CGRP、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって決定される。

30

【0021】

他の実施形態において、最初にIBDを排除し、その後、IBSを判定する方法は、個体における少なくとも1つの症状の存在及び重症度を同定することによって決定された症状プロファイルとの組み合わせによって、診断マーカープロファイルを決定する工程；及び、その診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づく第1の統計的アルゴリズムを用いて、当該試料をIBD試料または非IBD試料として分類し、当該試料が非IBD試料として分類された場合は、工程(a)で決定した同一のプロファイルあるいは異なるプロファイルに基づく第2の統計的アルゴリズムを用いて、当該非IBD試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する工程、を含む。

40

【0022】

さらに他の態様においては、本発明は個体におけるIBSの進行と後退をモニタリングする方法を提供し、その方法は、以下の工程を含む：

(a) 試料における少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出することにより診断マーカープロファイルを決定する工程；

(b) その診断マーカープロファイルに基づくアルゴリズムを用いて、個体におけるIBSの存在又は重症度を決定する工程。

【0023】

ある実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン、増殖因子、抗好

50

中球抗体、A S C A、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗 t T G 抗体、リポカリン、M M P、T I M P、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S 1 0 0 タンパク質、フィブリノペプチド、C G R P、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって決定される。

【0024】

他の実施形態において、I B S の進行と後退をモニタリングする方法は、個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定される症状プロファイルを選択的に組み合わせ、診断マーカープロファイルを決定する工程；及び、当該診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づくアルゴリズムを用いて個体におけるI B S の存在及び重症度を決定する工程、を含む。

10

【0025】

関連する態様において、本発明は、I B S の治療に有効な薬を服用している個体における薬の効果をモニタリングする方法を提供し、その方法は以下の工程を含む：

( a ) 試料における少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出することにより診断マーカープロファイルを決定する工程；及び

( b ) その診断マーカープロファイルに基づくアルゴリズムを用いて薬の有効性を決定する工程。

【0026】

1つの実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、A S C A、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗 t T G 抗体、リポカリン、M M P、T I M P、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S 1 0 0 タンパク質、フィブリノペプチド、C G R P、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって決定される。

20

【0027】

他の実施形態において、I B S 薬の効果をモニタリングする方法は、個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定される症状プロファイルを選択的に組み合わせ、診断マーカープロファイルを決定する工程；及び、その診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づくアルゴリズムを用いて薬の有効性を決定する工程、を含む。

30

【0028】

さらなる態様においては、本発明は、個体からの試料がI B S と関連があるか否かを分類する、1つ又はそれ以上のプロセッサを制御するコードを含むコンピューター読み取り可能な記憶媒体を提供し、そのコードは以下の指示構造を含む：診断マーカープロファイルに基づき、試料をI B S 試料又は非I B S 試料として分類するための統計的に導出される決定を生成するために、試料における少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す診断マーカープロファイルからなるデータセットに統計処理を適用する指示構造。

【0029】

ある実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、A S C A、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗 t T G 抗体、リポカリン、M M P、T I M P、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S 1 0 0 タンパク質、フィブリノペプチド、C G R P、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す。

40

【0030】

他の実施形態において、I B S を判定するためのコンピューター読み取り可能な記憶媒体は、診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づき、試料をI B S 試料又は非I B S 試料として分類する統計的に導出される決定を生み出すため、個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を示す症状プロファイルを選択的に組み合わせた診断

50

マーカープロファイルからなるデータセットに統計処理を適用する指示構造を含む。

【0031】

関連する態様において、本発明は、個体からの試料がIBSと関連があるか否かを分類するために、1つ又はそれ以上のプロセッサを制御するためのコードを記録したコンピューター読み取り可能な記憶媒体を提供し、そのコードは以下の指示構造を含む：

(a) 試料における少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す診断マーカープロファイルに基づき、試料をIBD試料又は非IBD試料として分類する統計的に導出される決定を生み出すために、第1の統計処理を上記診断マーカープロファイルからなるデータセットに適用する指示構造；及び

その試料が非IBD試料として分類された場合は、

(b) 当該非IBD試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する、第2の統計的に導出される決定を生み出すために、第2の統計処理を同一又は異なるデータセットに適用する指示構造。

【0032】

ある実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、ASCA、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗tTG抗体、リポカリン、MMP、TIMP、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S100タンパク質、フィブリノペプチド、CGRP、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す。

【0033】

他の実施形態において、第1にIBDを排除し、その後IBSを判定するためのコンピューター読み取り可能な記憶媒体は、診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づき試料をIBD試料又は非IBD試料として分類する、統計的に導出される決定を生み出すため、個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を示す症状プロファイルと選択的に組み合わせた診断マーカープロファイルからなるデータセットに、第1の統計処理を適用する指示構造；及び、その試料が非IBD試料として分類された場合は、当該試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する、第2の統計的に導出される決定を生み出すため、第2の統計処理を同一又は異なるデータセットに適用する指示構造、を含む。

【0034】

付加的な態様においては、本発明は、個体からの試料がIBSと関連するか否かを分類するためのシステムを提供し、当該システムは以下の構成を含む：

(a) 試料における少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す診断マーカープロファイルからなるデータセットを作成するよう構成されたデータ収集モジュール；

(b) その診断マーカープロファイルに基づき、当該試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する、統計的に導出される決定を生み出すため、統計処理を上記データセットに適用することによって、当該データセットを処理するよう構成されたデータ処理モジュール；及び

(c) 統計的に導出される決定を表示するよう構成された表示モジュール。

【0035】

1つの実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、ASCA、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗tTG抗体、リポカリン、MMP、TIMP、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S100タンパク質、フィブリノペプチド、CGRP、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す。

【0036】

他の実施形態において、IBSを判定するためのシステムは、個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を示す症状プロファイルと選択的に組み合わせた診断マーカー

10

20

30

40

50

ープロファイルからなるデータセットを作成するよう構成されたデータ収集モジュール；その診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づき、当該試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する、統計的に導出される決定を生み出すため、統計処理を上記データセットに適用することによって、当該データセットを処理するよう構成されたデータ処理モジュール；及び、統計的に導出される決定を表示するよう構成された表示モジュール、を含む。

【0037】

関連する態様においては、本発明は、個体からの試料がIBSに関連があるか否かを分類するためのシステムを提供し、本システムは以下の構成を含む：

(a) 試料における少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す診断マーカープロファイルからなるデータセットを作成するよう構成されたデータ収集モジュール；

(b) 診断マーカープロファイルに基づき、当該試料をIBD試料又は非IBD試料として分類する、第1の統計的に導出される決定を生み出すため、第1の統計処理を上記データセットに適用することによって、当該データセットを処理するよう構成されたデータ処理モジュールで、当該試料が非IBD試料として分類された場合は、その試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する、第2の統計的に導出される決定を生み出すため、第2の統計処理を同一又は異なるデータセットに適用するよう構成されたデータ処理モジュール；及び

(c) 第1の、及び/又は第2の統計的に導出される決定を表示するよう構成された表示モジュール。

【0038】

1つの実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、ASCA、抗菌性抗体、ラクtofエリン、抗tTG抗体、リポカリン、MMP、TIMP、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S100タンパク質、フィブリノペプチド、CGRP、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す。

【0039】

他の実施形態において、第1にIBDを排除し、その後IBSを判定するシステムは、個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を示す症状プロファイルを選択的に組み合わせた診断マーカープロファイルからなるデータセットを作成するよう構成されたデータ収集モジュール；その診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づいて、当該試料をIBD試料又は非IBD試料として分類する、第1の統計的に導出される決定を生み出すため、第1の統計処理を上記データセットに適用することによって、当該データセットを処理するよう構成されたデータ処理モジュール；試料が非IBD試料として分類された場合に、当該非IBD試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する、第2の統計的に導出される決定を生み出すため、第2の統計処理を同一又は異なるデータセットに適用するよう構成されたデータ処理モジュール；及び、第1の、及び/又は第2の統計的に導出される決定を表示するよう構成された表示モジュールを含む。

【0040】

本発明の他の目的、特徴、利点は、下記の詳細な説明及び図より、当該分野の当業者には明確である。

【図面の簡単な説明】

【0041】

【図1】本発明において同定し、かつ開示したIBSマーカーから導かれた分子経路の1つの実施形態を示す図である。

【図2】本発明の1つの実施形態による疾病分類システム(disease classification system(DCS))を示す図である。

【図3】IBS及び非IBS患者試料におけるレプチン値の四分位解析を示す図である。

【図4】パネルAはIBS-A、IBS-C、及びIBS-Dの患者試料に加えて、非I

10

20

30

40

50

B S 患者の試料においてレプチン値が測定された E L I S A の結果を示す図；パネル B は男性 I B S 患者を女性 I B S 患者と比較した、レプチン値における性差を示す図である。

【図 5】I B S 及び非 I B S 患者の試料における T W E A K 値の四分位解析を示す図である。

【図 6】I B S 及び非 I B S 患者試料における I L - 8 値の四分位解析（図 6 A）及び累積百分率ヒストグラム解析（図 6 B）を示す図である。ドットプロット分布とバー = 中央値 ± 各々の患者母集団の 25%、50%、及び 75% 分布を示す四分位範囲。

【図 7】I B S 及び非 I B S 患者における I L - 8 値の第 2 の累積百分率ヒストグラム解析を示す図である。

【図 8】I B S - A、I B S - C、及び I B S - D の患者試料に加えて、健康な対照患者の試料において I L - 8 値が測定された E L I S A の結果を示す図である。

【図 9】I B S 及び非 I B S 患者試料における E G F 値の四分位解析（図 9 A）及び累積百分率ヒストグラム解析（図 9 B）を示す図である。ドットプロット分布とバー = 中央値 ± 各々の患者母集団の 25%、50%、及び 75% 分布を示す四分位範囲。

【図 10】I B S 及び非 I B S 患者試料における N G A L 値の四分位解析を示す図である。

【図 11】I B S 及び非 I B S 患者試料における M M P - 9 値の四分位解析を示す図である。

【図 12】I B S 及び非 I B S 患者試料における N G A L / M M P - 9 複合体値の四分位解析を示す図である。

【図 13】I B S 及び非 I B S 患者試料におけるサブスタンス P の値の四分位解析を示す図である。

【図 14】非限定的な例としてラクトフェリンを用いた累積百分率ヒストグラム解析を示す図である。

【図 15】I B S を分類するために用いる見本モデルアルゴリズムのためのフローチャートを示した図である。

【図 16】図 15 のモデルを用いて得られたデータセットを示す図である。

【図 17】ニューラルネットワークの 1 つの実施形態を示す図である。

【図 18】ランダムフォレストアルゴリズムを用いたモデリング前後における I B S 及び非 I B S 試料の分布を示す図である。0 = 非 I B S；1 = I B S。

【図 19】分類木の 1 つの実施形態を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0042】

(I. 序文)

患者を過敏性腸症候群 (irritable bowel syndrome (IBS)) として診断することは、IBS と他の疾病及び障害との間の症状における類似性のため、容易ではない。例えば、炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease (IBD)) である患者は、膨満、下痢、便秘、及び下腹部痛などの軽度な兆候及び症状を示すが、IBS 患者と区別することは難しい。結果として、IBS 及び IBD 間における症状の類似性は、迅速かつ正確な診断を困難にし、病気の早期かつ効果的な治療を妨げる。

【0043】

本発明は、一部分では、ある診断マーカー（例えば、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビジエ抗体、抗菌性抗体、ラクトフェリン、等）の存在又はその値を検出すること単独、又は 1 つ又はそれ以上の質問（例えば、「あなたは最近何らかの症状がありますか」）に対する個体の回答に基づく IBS 関連症状の存在又は重症度を同定することの併用によって、個体からの生物学的な試料を IBS 試料として分類する精度が実質的に改善するという、驚くべき発見に基づく。図 1 は、本明細書において同定され、かつ開示された IBS マーカーによって導き出された分子経路の非限定的な例を示す。ある態様においては、本発明は、IBS 試料又は非 IBS 試料としての試料の

10

20

30

40

50

分類を助けるために、統計的アルゴリズムを用いる。他の態様においては、本発明は、IBSの分類を助けるために、他の消化管疾患（例えば、IBD）を排除し、その後、非IBD試料を分類するための統計的アルゴリズムを用いる。

【0044】

(II. 定義)

本明細書において、他に規定されない限り、以下の用語はそれらの意味を持つ。

【0045】

「分類すること (classifying)」という用語は、疾病状態を有する試料を「関連づけること (to associate)」又は「類別すること (to categorize)」を含む。例えば、「分類すること」は、統計的証拠、経験的証拠、又はその両方に基づく。1つの実施形態において、分類の方法及びシステムは、既知の疾病状態を有する試料の、いわゆる訓練セットを用いる。一旦構築されると、訓練データセットは、試料の未知の疾病状態を分類するために、当該未知試料の特徴を比較する基準、モデル又は雛形として働く。例えば、試料を分類することは、試料の疾病状態を診断することに通じる。他の例としては、試料を分類することは、試料の病状をその他の病状から区別することに通じる。

10

【0046】

「過敏性腸症候群 (irritable bowel syndrome)」又は「IBS」という用語は、これに限定されないが、一般的には、明確な構造上の異常がなく、下腹部痛、下腹部の不快感、排便パターンの変化、便通の消失又は頻回な便通、下痢、及び便秘を含む1つ又はそれ以上の症状によって特徴づけられる機能的排便障害群を包含する。症状の顕著さにより、少なくとも3つのIBS型がある：(1)下痢優勢型 (IBS-D)；(2)便秘優勢型 (IBS-C)、及び(3)交互に変化する排泄パターンを持つIBS (IBS-A)。IBSはまた、症状の混合型としても発症し得る (IBS-M)。感染後IBSなどの、様々な臨床上のIBSサブタイプも存在する (IBS-IP)。

20

【0047】

「試料 (sample)」という用語は、個体から得られるあらゆる生物学的試料を含む。本発明における使用に適した試料は、これに限定されないが、全血、血漿、血清、唾液、尿、便、痰、涙、その他のあらゆる体液、組織試料（例えば、生検）、及びそれらの細胞抽出物（例えば、赤血球細胞抽出物）を含む。好ましい実施形態においては、試料は、血清試料である。血清、唾液、及び尿などの試料の使用は、当該分野ではよく知られている (Hashidaら、J. Clin. Lab. Anal., 11: 267-86 (1997)を参照)。当業者は、血清試料などの試料がマーカー値の分析の前に希釈できることを十分に理解している。

30

【0048】

「バイオマーカー (biomarker)」又は「マーカー (marker)」という用語は、個体からの試料をIBS試料として分類する、又は個体からの試料におけるIBS様症状と関連する1つ又はそれ以上の疾病又は障害を排除するために用いることができる生化学マーカー、血清学マーカー、遺伝子マーカー、又は他の臨床的あるいは超音波検査上の特徴といった診断マーカーを含む。「バイオマーカー」又は「マーカー」という用語はまた、IBSを様々な型又は臨床上のサブタイプの1つに分類するために用いることができる生化学マーカー、血清学マーカー、遺伝子マーカー、又は他の臨床的あるいは超音波検査上の特徴といった分類マーカーを包含する。本発明における使用に適した診断マーカーの非限定的な例は、以下に述べられ、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス-セレビジエ抗体、抗菌性抗体、抗組織型トランスグルタミナーゼ抗体 (抗tTG抗体)、リポカリン、マトリクス-メタロプロテアーゼ (MMP)、組織型メタロプロテアーゼインヒビター (TIMP)、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S100タンパク質、フィブリノペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP)、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン (CR

40

50

H)、エラスターゼ (elastase)、C反応性タンパク質 (C-reactive protein (CRP))、ラクtoferrin (lactoferrin)、抗ラクtoferrin抗体 (anti-lactoferrin antibody)、カルプロテクチン (calprotectin)、ヘモグロビン、NOD2/CARD15、セロトニン再取り込み輸送体 (SERT)、トリプトファン水酸化酵素1、5-ヒドロキシトリプタミン (5-hydroxytryptamine (5-HT))、ラクツロース、及び同様のものを含む。分類マーカーの例は、これに限定されないが、レプチン (leptin)、SERT、トリプトファン水酸化酵素1、5-HT、腔粘膜タンパク質8 (antrum mucosal protein 8)、ケラチン-8、クラウディン-8 (claudin-8)、ゾヌリン (zonulin)、コルチコトロピン放出ホルモン受容体1 (CRHR1)、コルチコトロピン放出ホルモン受容体2 (CRHR2)、及び同様のものを含む。他の実施形態において、診断マーカーは、IBSを様々な型又は臨床上のサブタイプに分類するために用いることができる。他の実施形態において、分類マーカーは、試料をIBS試料として分類するため、又はIBS様症状と関連する1つ又はそれ以上の疾病及び障害を排除するために用いることができる。当業者は、本発明における使用に適した、付加的な診断及び分類マーカーについてよく知っている。

10

20

30

40

50

**【0049】**

本明細書において、「プロファイル (profile)」という用語は、IBS又はIBDなどの疾病又は障害と関連する明確な特性又は特徴を示す、あらゆるデータセットを含む。本用語は、試料における1つ又はそれ以上の診断マーカーを分析する「診断マーカープロファイル」、個体が患っている又は患っていた、1つ又はそれ以上のIBS関連臨床因子 (例えば、症状) を同定する「症状プロファイル」、及びそれらの組み合わせを含む。例えば、「診断マーカープロファイル」は、IBS及び/又はIBDに関連する、1つ又はそれ以上の診断マーカーの存在又は値を示すデータセットを含むことができる。同様に、「症状プロファイル」は、IBS及び/又はIBDと関連する1つ又はそれ以上の症状の存在、重症度、頻度、及び/又は持続期間を示すデータセットを含むことができる。

**【0050】**

「個体 (individual)」、「被験者 (subject)」、又は「患者 (patient)」は一般的にはヒトのことを言う。しかし、例えば、他の霊長類、齧歯類、イヌ科、ネコ科、ウマ科、ヒツジ、ブタ、及び同類のものを含む他の動物についても言う。

**【0051】**

本明細書において、「実質的に同じアミノ酸配列 (substantially the same amino acid sequence)」という用語は、自然発生のアミノ酸配列と同一ではないが、類似するアミノ酸配列を含む。例えば、自然発生ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質と実質的に同じアミノ酸配列を持つアミノ酸配列は、その改変した配列が実質的に、免疫活性などの自然発生ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質の、少なくとも1つの生物学的活性を維持することを条件として、自然発生ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質のアミノ酸配列と関連するアミノ酸付加、欠損又は置換などの1つ又はそれ以上の改変を許容する。アミノ酸配列間の実質的な類似性の比較は、通常、約6~100残基間、好ましくは約10~100残基間、より好ましくは約25~35残基間の配列を用いて実行される。本発明におけるペプチド、ポリペプチド及びタンパク質、又はその断片の、特に有用な改変は、例えば、安定性の増大をもたらす改変である。1つ又はそれ以上のD型アミノ酸の取り込みは、ポリペプチド又はポリペプチド断片の安定性の増大に有効な改変である。同様にリジン残基の欠損又は置換は、ポリペプチド又はポリペプチド断片を分解から保護することによって安定性を増大させることができる。

**【0052】**

「IBSの進行又は後退をモニタリングする (monitoring the pro

gression or regression of IBS)」という用語は、個体の疾病状態（例えば、IBSの存在又は重症度）を決定するための本発明の方法、システム及びコードの使用を含む。ある例としては、アルゴリズム（学習統計的分類子システム（learning statistical classifier system））の結果は、より早期での同一個体に対して得られた結果と比較される。1つの実施形態において、本発明の方法、システム及びコードは、例えば、診断マーカーの分析及び/又はその同定、あるいはIBS関連症状に基づいて、個体においてIBSが急速又は緩慢に進行する確率を決定することによって、IBSの進行を予測するために用いることができる。他の実施形態においては、本発明の方法、システム及びコードは、例えば、診断マーカーの分析及び/又はその同定、あるいはIBS関連症状に基づいて、個体においてIBSが急速又は緩慢に後退する確率を決定することによって、IBSの後退を予測するために用いることができる。

10

#### 【0053】

「IBS治療のために有用な薬を服用している個体における薬の有効性をモニタリングすること（monitoring drug efficacy in an individual receiving a drug useful for treating IBS）」という用語は、IBSを治療するための治療剤が投与された後、その効果を決定するために、本発明の方法、システム及びコードを使用することを含む。例えば、アルゴリズム（例えば、学習統計的分類子システム）の結果は、治療剤の使用開始前、又は治療のより早期の段階における同一個体について得られた結果と比較される。本明細書において、IBS治療に有用な薬は、個体の健康を改善するために用いられる、あらゆる化合物又は薬であり、これに限定されないが、セロトニン作動薬、抗うつ剤、塩素チャンネル活性化因子、塩素チャンネル遮断薬、グアニル酸シクラーゼ作動薬、抗生物質、オピオイド、ニューロキニン拮抗薬、抗痙攣又は抗コリン作動薬、ベラドンナアルカロイド、バルビツール酸塩、グルカゴン様ペプチド1（GLP-1）アナログ、コルチコトロピン放出因子（CRF）拮抗薬、プロバイオティクス、それらの遊離塩基、それらの薬学的に許容される塩、それらの誘導体、それらのアナログ、及びそれらの組み合わせなどのIBS薬を含む。

20

#### 【0054】

「治療上有効な用量又は投与量（therapeutically effective amount or dose）」という用語は、必要に応じて被験者における治療効果を達成することができる薬の投与量を含む。例えば、IBS治療に有用な薬の治療に効果的な用量は、IBSに関連する1つ又はそれ以上の症状を予防又は軽減することができる用量である。正確な用量は、既知の技術を用いて、当業者によって確かめられる（Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms, Vols. 1-3 (1992); Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999); Pickar, Dosage Calculations (1999); 及び Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2003)）。

30

40

#### 【0055】

(III. 実施形態の説明)

本発明は、個体からの試料が過敏性腸症候群（irritable bowel syndrome (IBS)）と関連するか否かを正確に分類するための方法、システム及びコードを提供する。1つの実施形態において、本発明は、統計的アルゴリズム（例えば、学習統計的分類子システム）及び/又は経験的データ（例えば、IBSマーカーの存在又は値）を用いて、個体からの試料をIBS試料として分類するのに有用である。本発明はまた、統計的アルゴリズム及び/又は経験的データの組み合わせを用いて、IBS様症状を示す1つ又はそれ以上の疾病又は障害を排除し、IBSを判定するのに有用である。従

50

って、本発明は I B S の正確な診断的予測、及び治療法決定の指針に有用な予後情報を提供する。

【 0 0 5 6 】

一態様において、本発明は、個体からの試料が I B S と関連があるか否かを分類するための方法を提供し、本方法は以下の工程を含む：

( a ) 試料における少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値を検出することにより、診断マーカープロファイルを決定する工程；及び

( b ) その診断マーカープロファイルに基づくアルゴリズムを用いて、当該試料を I B S 試料又は非 I B S 試料として分類する工程。

【 0 0 5 7 】

ある実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビジエ抗体 ( A S C A )、抗菌性抗体、ラクトフェリン、抗組織型トランスグルタミナーゼ抗体 ( 抗 t T G 抗体 )、リポカリン、マトリクス・メタロプロテアーゼ ( M M P )、組織型メタロプロテアーゼインヒビター ( T I M P )、 $\alpha$ -グロブリン、アクチン切断タンパク質、S 1 0 0 タンパク質、フィブリノペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチド ( C G R P )、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値によって決定される。

【 0 0 5 8 】

他の実施形態において、少なくとも 1 , 2 , 3 , 4 , 5 , 6 , 7 , 8 , 9 , 1 0 又はそれ以上の診断マーカーの存在又は値が、個体からの試料において決定される。例えば、サイトカインは、以下に述べるサイトカイン類の 1 つ又はそれ以上のものを含む。好ましくは、I L - 8、I L - 1  $\beta$ 、T N F 関連アポトーシス弱誘導因子 ( T N F - r e l a t e d w e a k i n d u c e r o f a p o p t o s i s ( T W E A K ) )、レプチン、オステオプロテジェリン ( o s t e o p r o t e g e r i n ( O P G ) )、M I P - 3、G R O、C X C L 4 / P F - 4、及び / 又は C X C L 7 / N A P - 2 の存在又は値が、個体からの試料において決定される。他の例として、増殖因子は、以下に述べる増殖因子群の 1 つ又はそれ以上のものを含む。好ましくは、上皮細胞増殖因子 ( E G F )、血管内皮増殖因子 ( V E G F )、色素上皮由来因子 ( P E D F )、脳由来神経栄養因子 ( B D N F )、及び / 又はアンフィレグリン ( a m p h i r e g u l i n ( S D G F ) ) の存在又は値が、個体からの試料において決定される。

【 0 0 5 9 】

ある例としては、抗好中球抗体は、A N C A、p A N C A、c A N C A、N S N A、S A P P A 及びそれらの組み合わせを含む。他の例としては、A S C A は、A S C A - I g A、A S C A - I g G、A S C A - I g M 及びそれらの組み合わせを含む。さらなる例としては、抗菌性抗体は抗 O m p C 抗体、抗フラジェリン抗体、抗 I 2 抗体及びそれらの組み合わせを含む。

【 0 0 6 0 】

例えば、リポカリンは、以下に述べるリポカリン群の 1 つ又はそれ以上のものを含む。好ましくは、好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン ( N G A L ) 及び / 又は N G A L 及びマトリクス・メタロプロテアーゼの複合体 ( 例えば、N G A L / M M P - 9 複合体 ) の存在又は値が、個体からの試料において決定される。他の例としては、マトリクス・メタロプロテアーゼ ( M M P ) は、以下に述べる M M P 群の 1 つ又はそれ以上のものを含む。好ましくは、M M P - 9 の存在又は値が、個体からの試料において決定される。さらなる例としては、組織型メタロプロテアーゼインヒビター ( T I M P ) は、以下に述べる T I M P 群の 1 つ又はそれ以上のものを含む。好ましくは、T I M P - 1 の存在又は値が、個体からの試料において決定される。さらなる例としては、 $\alpha$ -グロブリンは、以下に述べる  $\alpha$ -グロブリン群の 1 つ又はそれ以上のものを含む。好ましくは、 $\alpha$  2 - マクログロブリン ( a l p h a - 2 - m a c r o g l o b u l i n )、ハプトグロビン ( h a p t o g l o b i n )、及び / 又はオロソムコイド ( o r o s o m u c o i d ) の存在又は値が、個体

10

20

30

40

50

からの試料において決定される。

【0061】

他の例としては、アクチン切断タンパク質は以下に述べるアクチン切断タンパク質の1つ又はそれ以上のものを含む。好ましくは、ゲルソリン ( g e l s o l i n ) の存在又は値が、個体からの試料において決定される。付加的な例としては、S100タンパク質は、例えば、カルグラニューリン ( c a l g r a n u l i n ) を含む、以下に述べるS100タンパク質群の1つ又はそれ以上のものを包含する。さらに他の例としては、フィブリノペプチドは、以下に述べるフィブリノペプチド類の1つ又はそれ以上のものを含む。好ましくは、フィブリノペプチドA ( f i b r i n o p e p t i d e A ( F I B A ) ) の存在又は値が、個体からの試料において決定される。さらなる例としては、サブスタンスP ( s u b s t a n c e P ) 、ニューロキニンA ( n e u r o k i n i n A ) 、及び/又はニューロキニンB ( n e u r o k i n i n B ) などのタチキニンの存在又は値が、個体からの試料において決定される。例えば、抗ラクトフェリン抗体、L-セレクチン/CD62L ( L - s e l e c t i n / C D 6 2 L ) 、エラスターゼ、C-反応性タンパク質 ( C R P ) 、カルプロテクチン、抗U1-70kDa自己抗体、密着結合タンパク質1 ( z o n a o c c l u d e n s 1 ( Z O - 1 ) ) 、血管作動性腸管ペプチド ( v a s o a c t i v e i n t e s t i n a l p e p t i d e ( V I P ) ) 、血清アミロイドA、及び/又はガストリン ( g a s t r i n ) などの他の診断マーカーの存在又は値についてもまた決定することができる。

10

【0062】

少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出、あるいは決定するために用いられる試料は、一般的には、全血、血漿、血清、唾液、尿、便 (すなわち、糞)、涙、及びその他のあらゆる体液、又は小さな腸又は結腸試料のような組織試料 (すなわち、生検) である。好ましくは、試料は血清、全血液、血漿、便、尿、又は組織生検である。ある例としては、本発明の方法はさらに、試料における少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出、あるいは決定するのに先立って、個体から試料を獲得することを含む。

20

【0063】

1つの実施形態において、上記診断マーカーの1つ又はそれ以上を測定するためのパネルが構築され、試料をIBS試料又は非IBS試料として分類するために使用されてもよい。当業者は、例えば、個体の部分試料又は希釈試料を用いて、複数の診断マーカーの存在又は値を同時に又は逐次的に決定できることを認識するだろう。例えば、個体からの試料における特定の診断マーカー値が、比較試料 (例えば、正常、GI対照、IBD、及び/又はセリアック病 ( C e l i a c d i s e a s e ) 試料) 又は試料群における同じマーカー値よりも少なくとも約25%、50%、75%、100%、125%、150%、175%、200%、250%、300%、350%、400%、450%、500%、600%、700%、800%、900%、又は1000%増加している (例えば、正常、GI対照、IBD、及び/又はセリアック病試料の相対分布における同じマーカーの中央値よりも高い) 時は、そのマーカー値が上昇していると判断する。他の例としては、個体からの試料における特定の診断マーカー値が、比較試料 (例えば、正常、GI対照、IBD、及び/又はセリアック病試料) 又は試料群における同じマーカー値よりも少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、又は95%低い (例えば、正常、GI対照、IBD、及び/又はセリアック病試料の相対分布における同じマーカーの中央値よりも低い) 時は、そのマーカー値が低下していると判断する。

30

40

【0064】

1つの実施形態において、少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値は、ハイブリダイゼーション法又は増幅法などの分析方法を用いて決定される。本発明の方法における使用に適したハイブリダイゼーション法の例としては、これに限定されないが、ノザンプロット法、ドットプロット法、RNaseプロテクション法、及びこれらの組み合わせが含まれる。本発明の方法における使用に適した増幅法の例として、これに限定されないが、

50

逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 ( R T - P C R ) を含む。

【 0 0 6 5 】

他の実施形態において、少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値は、免疫測定法又は免疫組織学的測定法を用いることによって決定される。本発明の方法における使用に適した免疫測定法の非限定的な例は、酵素結合免疫吸着測定法 ( e n z y m e - l i n k e d i m m u n o s o r b e n t a s s a y ( E L I S A ) ) を含む。本発明の方法における使用に適した免疫組織化学的測定法の例は、これに限定されないが、直接的蛍光抗体法 ( d i r e c t f l u o r e s c e n t a n t i b o d y a s s a y ) 、 間接的蛍光抗体法 ( i n d i r e c t f l u o r e s c e n t a n t i b o d y ( I F A ) a s s a y ) 、 抗補体免疫蛍光法 ( a n t i c o m p l e m e n t i m m u n o f l u o r e s c e n c e a s s a y ) 、 及びアビジン - ビオチン免疫蛍光法 ( a v i d i n - b i o t i n i m m u n o f l u o r e s c e n c e a s s a y ) などの免疫蛍光検出を含む。他の様式の免疫組織化学的測定法は、免疫ペルオキシダーゼ法 ( i m m u n o p e r o x i d a s e a s s a y ) を含む。

10

【 0 0 6 6 】

1つの実施形態において、IBSを判定する方法は、個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定される症状プロファイルと選択的に組み合わせ、診断マーカープロファイルを決定する工程；及び、その診断マーカープロファイル及び上記症状プロファイルに基づくアルゴリズムを用いて、当該試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する工程、を含む。当業者は、当該診断マーカープロファイル及び症状プロファイルが、任意の順序で自動的又は逐次的に決定されることを認識している。

20

【 0 0 6 7 】

症状プロファイルは、胸痛、胸部の不快感、胸やけ、普通量の食事後の不快な膨満感、普通量の食事を食べることができないこと、下腹部痛、下腹部の不快感、便秘、下痢、膨満感、下腹部の膨張、痛み又は不快感があることに伴う消極的な考え又は感情、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの症状の存在とその重症度によって一般的に決定される。

【 0 0 6 8 】

好ましい実施形態において、IBSを予測するために有用な症状プロファイルを作成するために、本明細書にて述べる症状の、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10、あるいはそれ以上の存在又は重症度を同定する。例えば、質問票又は記述、口頭、あるいは電話調査の他の様式は、症状プロファイルを作成するために用いられる。その質問票や調査は、現在及び/又は最近のIBS関連症状に関して回答者から情報を集める目的のため、一般的には、標準化された一連の質問と回答を含む。例えば、実施例13は、個体における1つ又はそれ以上のIBSに関連する症状の存在又は重症度を同定するための質問票に含まれる典型的な質問を提示する。

30

【 0 0 6 9 】

ある実施形態において、症状プロファイルは、質問票又は調査において行われた質問に対するすべて又は一部分の回答を編集し、及び/又は分析することによって作成される。他の実施形態において、症状プロファイルは、「あなたは最近何らかの症状を経験していますか」という質問に対する個体の応答に基づいて作成される。これら実施形態のいずれかに従って作成される症状プロファイルは、IBSを予測する精度を改善するために、当該明細書中で述べるアルゴリズムに基づく方法において、診断マーカープロファイルと組み合わせ用いることができる。

40

【 0 0 7 0 】

ある実施形態において、試料をIBS試料又は非IBS試料として分類することは、統計的アルゴリズムと併用して、診断マーカープロファイル単独、又は症状プロファイルとの組み合わせに基づく。ある例として、統計的アルゴリズムは、学習統計的分類子システムである。学習統計的分類子システムは、ランダムフォレスト ( r a n d o m f o r e

50

st (RF))、分類・回帰木 (classification and regression tree (C&RT))、ブーストされた木 (boosted tree)、ニューラルネットワーク (neural network (NN))、サポートベクターマシン (support vector machine (SVM))、一般的なカイ二乗による相互作用の自動検出モデル (general chi-squared automatic interaction detector model)、インターアクティブ木 (interactive tree)、多適応的回帰スプライン (multi adaptive regression spline)、機械学習分類子 (machine learning classifier)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される得る。好ましくは、学習統計的分類子システムは、木構造に基づく統計的アルゴリズム (例えば、RF、C&RT、等) 及び / 又は NN (例えば、人工的 NN、等) である。本発明における使用に適した学習統計的分類子システムのさらなる例は、米国特許出願第 11 / 368, 285 号に述べられる。

10

20

30

40

50

**【0071】**

ある例として、統計的アルゴリズムは、単一の学習統計的分類子システムである。好ましくは、単一の学習統計的分類子システムは、RF 又は C&RT などの木構造に基づく統計的アルゴリズムを含む。非限定的な例として、単一の学習統計的分類子システムは、予測値又は確率値、及び少なくとも 1 つの診断マーカー (すなわち、診断マーカープロファイル) の存在又は値単独、あるいは少なくとも 1 つの症状 (すなわち症状プロファイル) の存在又は重症度との組み合わせに基づいて、試料を IBS 試料又は非 IBS 試料として分類するのに用いることができる。単一の学習統計的分類子システムは、一般的に少なくとも約 75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% の感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率、及び / 又は精度を伴い、試料を IBS 試料として分類する。

**【0072】**

他の例として、統計的アルゴリズムは、少なくとも 2 つの学習統計的分類子システムの組み合わせである。好ましくは、学習統計的分類子システムは、例えば、タンデム又はパラレルに用いられる、RF 及び NN を含む。これに限定されない例として、第 1 に、診断マーカープロファイル単独、又は症状プロファイルとの組み合わせに基づいた予測値又は確率値を出すために RF を用い、次にその予測値又は確率値、及び同一又は異なる診断マーカープロファイルあるいはプロファイルの組み合わせに基づいて、試料を IBS 試料又は非 IBS 試料として分類するために、NN を用いることができる。有利には、本発明の複合型 RF / NN 学習統計的分類子システムは、少なくとも約 75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% の感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率、及び / 又は、精度を伴い、試料を IBS 試料として分類する。

**【0073】**

ある例として、学習統計的分類子システム又はシステム群を用いて得られたデータは、処理アルゴリズムを用いて処理することができる。そのような処理アルゴリズムは、例えば、多層パーセプトロン (multilayer perceptron)、バックプロパゲーション・ネットワーク (backpropagation network)、及びレーベンベルグ・マルカート (Levenberg-Marquardt) ・アルゴリズムからなる群から選択することができる。他の例としては、そのような処理アルゴリズムの組み合わせを、例えばパラレル又はシリアル方式にて用いることができる。

**【0074】**

ある実施形態において、本発明の方法は、さらに非 IBS 試料を正常、炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease (IBD))、又は非 IBD 試料として分類する工程を含む。非 IBS 試料の分類は、例えば、上述した診断マーカー

の少なくとも1つを用いて行うことができる。

【0075】

他の実施形態において、本発明の方法は、さらに、例えば胃腸科専門医又は一般開業医といった臨床医にIBS分類結果を送付する工程を含む。他の実施形態において、本発明の方法は、個体がIBSを有する確率の形式で診断を提供することができる。例えば、その個体は、約0%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又はそれ以上のIBSを有する可能性がある。さらに他の実施形態において、本発明の方法は、個体におけるIBSの予後についても提供することができる。例えば、予後は、外科処置、IBSのある分類又は临床上のサブタイプの発症、1つ又はそれ以上の症状の発症、又は病気の回復であり得る。

10

【0076】

1つの実施形態において、IBSを有するとの個体の診断は、IBSに関連する1つ又はそれ以上の症状を治療するために有用な薬の治療上有効な用量を個体に投与することに繋がる。適切なIBS薬は、これに限定されないが、セロトニン作動薬、抗うつ剤、塩素チャンネル活性化因子、塩素チャンネル遮断薬、グアニル酸シクラーゼ作動薬、抗生物質、オピオイド作動薬、ニューロキニン拮抗薬、痙攣剤、抗コリン作動薬、ベラドンナアルカロイド、バルピツール酸塩、GLP-1アナログ、CRF拮抗薬、プロバイオティクス、それらの遊離塩基、それらの薬学的に許容される塩類、それらの誘導體、それらのアナログ、及びそれらの組み合わせを含む。他のIBS薬は、充填剤、ドーパミン拮抗薬、駆風剤、鎮静剤、デクストフィソパム、フェニトイン、チモロール、及びジルチアゼムを含む。加えて、神経又はグリア細胞の伝達に影響することによって消化管の透過性を制御するグルタミン及びグルタミン酸などのアミノ酸類は、IBS患者を治療するために投与することができる。

20

【0077】

他の実施形態において、本発明の方法は、さらにIBS試料をIBS便秘型 (IBS-C)、IBS下痢型 (IBS-D)、IBS混合型 (IBS-M)、IBS交替型 (IBS-A)、又は感染後IBS型 (IBS-IP) 試料として分類することを含む。例えば、IBS試料をIBSの分類、型、临床上のサブタイプに分類することは、少なくとも、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10、又はそれ以上の分類マーカーの存在又は値に基づく。分類マーカーの非限定的な例を以下に述べる。好ましくは、IBSの少なくとも1つの型は、レプチンの存在又は値に基づき、少なくとも1つの他のIBS型から区別される。ある例としては、本発明の方法は、以前にIBSを有していると同定された個体において、IBS-C試料をIBS-A及び/又はIBS-D試料から区別するのに用いることができる。他の例としては、本発明の方法は、以前にIBSと診断されていない個体からの試料をIBS-A試料、IBS-C試料、IBS-D試料、又は非IBS試料として分類するのに用いることができる。

30

【0078】

1つの実施形態において、当該方法はさらに、分類から得られた結果を臨床医に送付することを含む。他の実施形態において、当該方法は、さらに、個体がIBS-A、IBS-C、IBS-D、IBS-M、又はIBS-PIである確率の形式で診断を提供する。本発明の方法は、IBS-A、IBS-C、IBS-D、IBS-M、及び/又はIBS-PIを治療するために有効な薬の治療上有効な用量を個体に投与することも含むことができる。適切な治療薬は、これに限定されないが、テガセロド (Zelnorm (登録商標))、アロセトロン (Lotronex (登録商標))、ルビプロストン (Amitiza (登録商標))、リファミキシム (Xifaxan (登録商標))、MD-1100、プロバイオティクス、及びそれらの組み合わせを含む。試料がIBS-A又はIBS-C試料として分類される場合、及び/又は個体がIBS-A又はIBS-Cと診断される場合には、治療上有効な用量のテガセロド又は他の5-HT<sub>4</sub>作用薬 (例えば、モサプリド、レンザプリド、AG1-001、等) が、その個体に投与されることが可能である。

40

50

例えば、試料が I B S - C として分類される場合、及び / 又は個体が I B S - C と診断される場合には、治療上有効な用量のルビプロストン又は他の塩素チャネル活性化因子、リファキシシン又は消化管内微生物の過剰増殖を制御できる他の抗生物質、MD - 1100 あるいは他のグアニル酸シクラーゼ作用薬、アシマドリンあるいは他のオピオイド作用薬、又はタルネタントあるいは他のニューロキシン拮抗薬が、その個体に投与されること可能である。他の例として、試料が I B S - D と分類される場合、及び / 又は個体が I B S - D と診断される場合には、治療上有効な用量のアロセトロン又は他の 5 - H T<sub>3</sub> 拮抗薬（例えば、ラモセトロン、DDP - 225 等）、クロフェレマーあるいは他の塩素チャネル阻害剤、タルネタントあるいは他のニューロキニン拮抗薬（例えば、サレドタント、等）、又は三環系抗うつ薬などの抗うつ薬が、その個体に投与されることが可能である。

10

## 【0079】

さらなる実施形態において、本発明の方法は、腸炎を排除することも更に含む。これに限定されないが、腸炎の例は、急性炎症、憩室炎、回腸囊肛門吻合、顕微鏡的大腸炎、感染性下痢、及びそれらの組み合わせを含む。例えば、腸炎は C 反応性タンパク質（CRP）、ラクトフェリン、カルプロテクチン、又はそれらの組み合わせの存在又は値に基づいて排除される。

## 【0080】

その他の態様においては、本発明は、個体からの試料が I B S に関連があるか否かを分類するための方法を提供し、当該方法は以下の工程を含む：

(a) 試料における少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって、診断マーカープロファイルを決定する工程；

20

(b) その診断マーカープロファイルに基づく第 1 の統計的アルゴリズムを用いて、当該試料を I B D 試料又は非 I B D 試料として分類する工程；及び

その試料が非 I B D 試料として分類された場合は、

(c) 工程 (a) で決定されたものと同じ診断マーカープロファイル又は異なる診断マーカープロファイルに基づく第 2 の統計的アルゴリズムを用いて、当該非 I B D 試料を I B S 試料又は非 I B S 試料として分類する工程。

## 【0081】

1 つの実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン（例えば、IL - 8、IL - 1、TWEAK、レプチン、OPG、MIP - 3、GRO、CXCL 4 / PF - 4、及び / 又は CXCL 7 / NAP - 2）、増殖因子（例えば、EGF、VEGF、PEDF、BDNF、及び / 又は SDGF）、抗好中球抗体（例えば、ANCA、pANCA、cANCA、NSNA、及び / 又は SAPPA）、ASCA（例えば、ASCA - IgA、ASCA - IgG、及び / 又は ASCA - IgM）、抗菌性抗体（例えば、抗 OmpC 抗体、抗フラジェリン抗体、及び / 又は抗 I 2 抗体）、ラクトフェリン、抗 tTG 抗体、リポカリン（例えば、NGAL、NGAL / MMP - 9 複合体）、MMP（例えば、MMP - 9）、TIMP（例えば、TIMP - 1）、 $\alpha$ -グロブリン（例えば、 $\alpha$ 2 - マクログロブリン、ハプトグロビン、及び / 又はオロソムコイド）、アクチン切断タンパク質（例えば、ゲルソリン）、S100 タンパク質（例えば、カルグラニユリン）、フィブリノペプチド（例えば、FIBA）、CGRP、タチキニン（例えば、サブスタンス P）、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される、少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又はそれ以上の診断マーカーの存在又は値を検出することによって決定される。例えば、抗ラクトフェリン抗体、L - セレクチン / CD62L、エラスターゼ、C - 反応性タンパク質（CRP）、カルプロテクチン、抗 U1 - 70 kDa 自己抗体、密着性タンパク質 1（ZO - 1）、血管作動性腸管ペプチド（VIP）、血清アミロイド A、及び / 又はガストリンなどの他の診断マーカーの存在又は値が、また決定されてもよい。

30

40

## 【0082】

I B D を排除するために用いられる診断マーカーは、I B S を判定するために用いられる診断マーカーと同一でありうる。代替として、I B D を排除するために用いられる診断

50

マーカーは I B S を判定する診断マーカーとは異なってもよい。

【 0 0 8 3 】

少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値を検出あるいは決定するために用いられる試料は、一般的には全血、血漿、血清、唾液、尿、便（すなわち、糞）、涙、及びあらゆる他の体液、又は小さな腸又は結腸試料のような組織試料（すなわち、生検）である。好ましくは、試料は、血清、全血、血漿、便、尿、又は組織生検である。例えば、本発明の方法はさらに、試料における少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値を検出、あるいは決定するのに先立って、個体から試料を獲得することを含む。

【 0 0 8 4 】

1 つの実施形態において、上記の 1 つ又はそれ以上の診断マーカーを測定するためのパネルが作成され、I B D を排除し及び / 又は I B S を判定するために用いられてもよい。当業者は、例えば、個体の部分試料又は希釈試料を用いて、複数の診断マーカーの存在又は値を同時に又は逐次的に決定できることを認識している。上記のとおり、個体からの試料における特定の診断マーカー値が、比較試料又は試料群における同じマーカー値よりも少なくとも約 25 %、50 %、75 %、100 %、125 %、150 %、175 %、200 %、250 %、300 %、350 %、400 %、450 %、500 %、600 %、700 %、800 %、900 %、又は 1000 % 増加している（例えば、中央値よりも増加している）時は、そのマーカー値が上昇していると判断する。同様に、個体からの試料における特定の診断マーカー値が、比較試料又は試料群における同じマーカー値よりも少なくとも約 5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、又は 95 % 低い（例えば、中央値よりも低い）時は、そのマーカー値が低下していると判断する。

【 0 0 8 5 】

ある例として、少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値は、ハイブリダイゼーション法又は増幅法のような分析方法を用いて決定される。本発明の方法における使用に適したハイブリダイゼーション法及び増幅法の例は、上記のとおりである。他の例としては、少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値は、免疫測定法又は免疫組織化学的測定法を用いて決定される。これに限られないが、本発明の方法における使用に適した免疫測定法又は免疫組織化学的測定法の例は、上記のとおりである。

【 0 0 8 6 】

1 つの実施形態において、第 1 に I B D を排除し（すなわち、試料を I B D 試料又は非 I B D 試料として分類し）及び、その後 I B S を判定する（すなわち、当該非 I B D 試料を I B S 試料又は非 I B S 試料として分類する）方法は、個体における少なくとも 1 つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定される症状プロファイルと選択的に組み合わせ、診断マーカープロファイルを決定する工程；その診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づく第 1 の統計的アルゴリズムを用いて、当該試料を I B D 試料又は非 I B D 試料として分類する工程；及び、当該試料が非 I B D 試料として分類された場合は、工程（a）で決定されたものと同じのプロファイル又は異なるプロファイルに基づく第 2 の統計的アルゴリズムを用いて、当該非 I B D 試料を I B S 試料又は非 I B S 試料として分類する工程、を含む。当業者は、診断マーカープロファイル及び症状プロファイルが任意の順序で同時に又は逐次的に決定されることを認識している。

【 0 0 8 7 】

他の実施形態において、第 1 の統計的アルゴリズムはランダムフォレスト（RF）、分類・回帰木（C & RT）、ブーストされた木、ニューラルネットワーク（NN）、サポートベクターマシン（SVM）、一般的なカイ二乗による相互作用の自動検出モデル、インターアクティブ木、多適応的回帰スプライン、機械学習分類子、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される学習統計的分類子システムである。例えば、第 1 の統計的アルゴリズムは単一の学習統計的分類子システムである。好ましくは、単一の学習統計的分類子システムは、RF 又は C & RT などの木構造に基づく統計的アルゴリズムを含む。他の例としては、第 1 の統計的アルゴリズムは、例えばタンデム又はパラレルに用いられる、

10

20

30

40

50

少なくとも二つの学習統計的分類子システムの組み合わせである。これに限定されない例として、RFは第1に診断マーカープロファイル単独、又は症状プロファイルとの組み合わせに基づいて予測値又は確率値を出すために用いられ、NN(例えば人工的NN)は、その次に、予測値又は確率値、及び同一又は異なる診断マーカープロファイルあるいはプロファイルの組み合わせに基づいて、当該試料を非IBD試料又はIBD試料として分類するために用いられる。本発明の複合型RF/NN学習統計的分類子システムは、一般的に、感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率、及び/又は少なくとも約75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の精度を伴って、当該試料を非IBD試料として分類する。

10

**【0088】**

さらに他の実施形態において、第2の統計的アルゴリズムは上記のあらゆる学習統計的分類子システムから構成される。ある例として、第2の統計的アルゴリズムは、例えば、木構造を基礎とした統計的アルゴリズム(例えば、RF又はC&RT)のような単一の学習統計的分類子システムである。他の例としては、第2の統計的アルゴリズムは、例えば、タンデム又はパラレルに用いられる、少なくとも二つの学習統計的分類子システムの組み合わせである。これに限定されない例として、RFは、第1に、診断マーカープロファイル単独、又は症状プロファイルとの組み合わせに基づき、予測値又は確率値を出すために用いられ、NN(例えば人工的NN)又はSVMは、その次に、予測値又は確率値、及び同一又は異なる診断マーカープロファイルあるいはプロファイルの組み合わせに基づき、非IBD試料を非IBS試料又はIBS試料として分類するために用いられる。本明細書において述べられる複合型RF/NN又はRF/SVM学習統計的分類子システムは、一般的に、少なくとも約75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の感度、特異度、積陽性的中率、陰性的中率、及び/又は精度を伴って、当該試料をIBS試料として分類する。

20

**【0089】**

ある例として、学習統計的分類子システム又はシステム群を使用することで得られたデータは、処理アルゴリズムを用いて処理することができる。そのような処理アルゴリズムは、例えば多層パーセプトロン、バックプロパゲーション・ネットワーク、及びレーベンベルグ・マルカート・アルゴリズムからなる群から選択することができる。他の例としては、そのような処理アルゴリズムの組み合わせを、例えばパラレル又はシリアル方式で用いることができる。

30

**【0090】**

上記のとおり、本発明の方法はさらに、例えば胃腸科専門医又は一般開業医といった臨床医にIBS分類結果を送付することを含むことができる。この方法は、個体がIBSを有する確率の形式で診断を提供することもできる。例えば、その個体は、約0%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又はそれ以上のIBSを保有している可能性がある。ある例としては、本発明の方法はさらに、個体におけるIBSの予後診断を提供する。例えば、予後診断は、手術、ある種又は臨床上的サブタイプIBSの発症、1つ又はそれ以上の症状の発症、又は病気の回復でありうる。

40

**【0091】**

1つの実施形態において、個体をIBSとして診断することは、その個体に、IBSに関連する1つ又はそれ以上の症状を治療するために有用な薬の治療上有効な用量を投与することにつながる。適切なIBS薬は上記のとおりである。

**【0092】**

他の実施形態において、本発明の方法はさらに、IBS試料をIBS-A、IBS-C、IBS-D、IBS-M、又はIBS-PI試料として分類することも含む。例えば、

50

I B S 試料を I B S の分類、型、臨床上のサブタイプに分類することは、少なくとも 1 つの分類マーカーの存在又は値に基づく。分類マーカーの非限定的な例は、以下に述べる。好ましくは、少なくとも 1 つの I B S 型は、レプチンの存在又は値に基づき I B S の少なくとも 1 つの他の型から区別される。当該分類結果は、臨床医に送付される。ある例において、本方法は、さらに、個体が I B S - A、I B S - C、I B S - D、I B S - M 又は I B S - P I である可能性の形式で診断を提供することができる。他の例においては、本方法は、さらに、テガセロド (Z e l n o r m (登録商標))、アロセトロン (L o t r o n e x (登録商標))、ルビプロストン (A m i t i z a (登録商標))、リファミキシム (X i f a x a n (登録商標))、M D - 1 1 0 0、プロバイオティクス、及びこれらの組み合わせなどの、I B S - A、I B S - C、I B S - D、I B S - M、又は I B S - P I を治療するために有用な薬の治療上有効な用量を、当該個体に投与することを含むことができる。

10

## 【0093】

追加の実施形態において、本発明の方法はさらに、腸炎を排除することを含む。腸炎の非限定的な例は、上記のとおりである。例えば、腸炎は、C R P、ラクトフェリン、及び / 又はカルプロテクチンの存在又は値に基づいて排除される。

## 【0094】

さらに他の例として、本発明は、個体における I B S の進行と後退をモニタリングするための方法を提供し、本方法は、以下の工程を含む：

( a ) 試料における、少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値を検出することにより診断マーカープロファイルを決定する工程；及び

( b ) その診断マーカープロファイルに基づくアルゴリズムを用いて、当該個体における I B S の存在又は重症度を決定する工程。

20

## 【0095】

関連する態様において、本発明は、I B S 治療に有用な薬を服用する個体における薬の効果をモニタリングするための方法を提供し、その方法は以下の工程を含む：

( a ) 試料における少なくとも 1 つの診断マーカーの存在又は値を検出することによって診断マーカープロファイルを決定する工程；及び

( b ) その診断マーカープロファイルに基づくアルゴリズムを用いて薬の有効性を決定する工程。

30

## 【0096】

1 つの実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン (例えば、I L - 8、I L - 1、T W E A K、レプチン、O P G、M I P - 3、G R O、C X C L 4 / P F - 4、及び / 又は C X C L 7 / N A P - 2)、増殖因子 (例えば、E G F、V E G F、P E D F、B D N F、及び / 又は S D G F)、抗好中球抗体 (例えば、A N C A、p A N C A、c A N C A、N S N A、及び / 又は S A P P A)、A S C A (例えば、A S C A - I g A、A S C A - I g G、及び / 又は A S C A - I g M)、抗菌性抗体 (例えば、抗 O m p C 抗体、抗フラジェリン抗体、及び / 又は抗 I 2 抗体)、ラクトフェリン、抗 t T G 抗体、リポカリン (例えば、N G A L、N G A L / M M P - 9 複合体)、M M P (例えば、M M P - 9)、T I M P (例えば、T I M P - 1)、 $\alpha$ -グロブリン (例えば、 $\alpha$  2 - マクログロブリン、ハプトグロビン、及び / 又はオロソムコイド)、アクチン切断タンパク質 (例えば、ゲルソリン)、S 1 0 0 タンパク質 (例えば、カルグラニユリン)、フィブリノペプチド (例えば、F I B A)、C G R P、タチキニン (例えば、サブスタンス P)、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトリピン放出ホルモン、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される、少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又はそれ以上の診断マーカーの存在又は値を検出することによって決定される。例えば、抗ラクトフェリン抗体、L - セレクチン / C D 6 2 L、エラスターゼ、C - 反応性タンパク質 (C R P)、カルプロテクチン、抗 U 1 - 7 0 k D a 自己抗体、密着結合タンパク質 1 (Z O - 1)、血管作動性腸管ペプチド (V I P)、血清アミロイド A、及び / 又はガストリンなどの、他の診断マーカーの存在又は値がまた決定されてもよい。

40

50

## 【0097】

少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出あるいは決定するために用いられる試料は、一般的には、全血、血漿、血清、唾液、尿、便（すなわち、糞）、涙、及びその他のあらゆる体液、又は、小さな腸又は結腸試料のような組織試料（すなわち、生検）である。好ましくは、試料は、血清、全血液、血漿、便、尿、又は組織生検である。例えば、本発明の方法は、さらに試料における少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を検出あるいは決定することに先だつて、個体から試料を獲得することを含む。

## 【0098】

ある実施形態において、上記の診断マーカーの1つ又はそれ以上を測定するためのパネルが、IBSの存在又は重症度を決定する、あるいはIBS薬の有効性を決定するために作成され、使用されてもよい。当業者は、例えば、個体の部分試料又は希釈試料を用いて、複数の診断マーカーの存在又は値を同時に又は逐次的に決定できることを認識している。上記のとおり、個体からの試料における特定の診断マーカー値が、比較試料又は試料群における同じマーカー値よりも少なくとも約25%、50%、75%、100%、125%、150%、175%、200%、250%、300%、350%、400%、450%、500%、600%、700%、800%、900%、又は1000%増加している（例えば、中央値よりも増加している）時は、そのマーカー値が上昇していると判断する。同様に、個体からの試料における特定の診断マーカー値が、比較試料又は試料群における同じマーカー値よりも少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、又は95%より低い（例えば、中央値よりも低い）時は、そのマーカー値が低下していると判断する。

## 【0099】

ある例として、少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値は、ハイブリダイゼーション法又は増幅法などの分析方法を用いて決定される。本発明の方法における使用に適したハイブリダイゼーション法及び増幅法の例は、上記のとおりである。代替的には、少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値は、免疫測定法又は免疫組織学化的測定法を用いて決定される。本発明の方法における使用に適した免疫測定法及び免疫組織学化的測定法の非限定的な例は、上記のとおりである。

## 【0100】

ある実施形態において、IBSの進行と後退をモニタリングする方法は、個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定される症状プロファイルと選択的に組み合わせて診断マーカープロファイルを決定する工程；及びその診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づくアルゴリズムを用いて、当該個体におけるIBSの存在又は重症度を決定する工程、を含む。他の実施形態において、IBS薬の効果をモニタリングする方法は、個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を同定することによって決定される症状プロファイルと選択的に組み合わせて診断マーカープロファイルを決定する工程；及び当該診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づくアルゴリズムを用いて、薬の有効性を決定する工程、を含む。当業者は、診断マーカープロファイル及び診断プロファイルが、任意の順序で同時に又は逐次的に決定できることを認識している。

## 【0101】

ある実施形態において、IBSの存在又は重症度あるいはIBS薬の有効性を決定することは、統計的アルゴリズムと併用して、診断マーカープロファイル単独、又は症状プロファイルとの組み合わせに基づく。例えば、統計的アルゴリズムは、学習統計的分類子システムである。この学習統計的分類子システムは、上記のいずれかの学習統計的分類子システムを含む。

## 【0102】

ある例としては、統計的アルゴリズムは、単一の学習統計的分類子システムである。好ましくは、この単一の学習統計的分類子システムは、木構造を基礎とした統計的アルゴリ

10

20

30

40

50

ズム（例えば、RF、C&RT、等）である。他の例としては、統計的アルゴリズムは、少なくとも2つの学習統計的分類子システムの組み合わせである。好ましくは、この学習統計的分類子システムの組み合わせは、例えばタンデム又はパラレルで用いられる、RF及びNN（例えば、人工的NN、等）を含む。これに限定されない例として、診断マーカープロファイル単独、又は症状プロファイルとの組み合わせに基づいて予測値又は確率値を出すために、RFを第1に用いることができ、次に、その予測値又は確率値、及び同一又は異なる診断マーカープロファイルあるいはプロファイル群の組み合わせに基づいて、個体におけるIBSの存在又は重症度、あるいはIBS薬の効果を決定するためにNNを用いることができる。

【0103】

ある例として、学習統計的分類子システム又はシステム群の使用から得られるデータは、処理アルゴリズムを用いて処理することができる。そのような処理アルゴリズムは、例えば、多層パーセプトロン、バックプロパゲーション・ネットワーク、及びレーベンベルグ・マルカート・アルゴリズムからなる群から選択することができる。他の例としては、そのような処理アルゴリズムの組み合わせは、例えばパラレル又はシリアル方式で用いることができる。

【0104】

ある実施形態において、本発明の方法は、さらに工程(b)で決定された個体におけるIBSの存在又は重症度を、より早い時期での当該個体におけるIBSの存在又は重症度と比較する工程を含む。限定されない例として、IBS薬を服用している個体に対し決定されたIBSの存在又は重症度は、IBS薬の使用開始前あるいは治療のより早い段階での同一個体に対し決定されたIBSの存在又は重症度と比較することができる。他の実施形態において、本発明の方法は、工程(b)で決定されたIBS薬の有効性を治療のより早い段階での当該個体におけるIBS薬の有効性と比較することにより、このIBS薬の有効性を決定することを含むことができる。追加の実施形態において、本方法は、さらにIBSの観察結果を胃腸科専門医又は一般開業医などの臨床医に送付することを含むことができる。

【0105】

さらなる点として、本発明は、個体からの試料がIBSと関連しているか否かを分類するために、1つ又はそれ以上のプロセッサを制御するためのコードを記録したコンピューター読み取り可能な記憶媒体を提供し、そのコードは、試料における少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す診断マーカープロファイルに基づき、当該試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する、統計学的に導出される決定を生み出すために、診断マーカープロファイルからなるデータセットに統計処理を適用する指示構造を含む。

【0106】

ある実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン（例えば、IL-8、IL-1、TWEAK、レプチン、OPG、MIP-3、GRO、CXCL4/PF-4、及び/又はCXCL7/NAP-2）、増殖因子（例えば、EGF、VEGF、PEDF、BDNF、及び/又はSDGF）、抗好中球抗体（例えば、ANCA、pANCA、cANCA、NSNA、及び/又はSAPPA）、ASCA（例えば、ASCA-IgA、ASCA-IgG、及び/又はASCA-IgM）、抗菌性抗体（例えば、抗OmpC抗体、抗フラジェリン抗体、及び/又は抗I2抗体）、ラクトフェリン、抗tTG抗体、リポカリン（例えば、NGAL、NGAL/MMP-9複合体）、MMP（例えば、MMP-9）、TIMP（例えば、TIMP-1）、 $\alpha$ -グロブリン（例えば、 $\alpha$ 2-マクログロブリン、ハプトグロビン、及び/又はオロソムコイド）、アクチン切断タンパク質（例えば、ゲルソリン）、S100タンパク質（例えば、カルグラニユリン）、フィブリノペプチド（例えば、FIBA）、CGRP、タチキニン（例えば、サブスタンスP）、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される、少なくとも1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10、又はそれ以上の診断マーカーの存在又は値を示す。例えば、抗ラクトフェリン抗体

10

20

30

40

50

、L-セレクチン/CD62L、エラスターゼ、C-反応性タンパク質(CRP)、カルプロテクチン、抗U1-70kDa自己抗体、密着性タンパク質1(ZO-1)、血管作動性腸管ペプチド(VIP)、血清アミロイドA、及び/又はガストリンのような他の診断マーカーの存在又は値はまた、診断マーカープロファイルを示すことができる。

【0107】

他の実施形態において、IBSを判定するためのコンピューター読み取り可能な記憶媒体は、診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づいて、試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する、統計的に導出される決定を生み出すために、個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を示す症状プロファイルを選択的に組み合わせた診断マーカープロファイルからなるデータセットに統計処理を適用する指示構造を含む。当業者は、この統計処理が、任意の順序で同時に又は逐次的に診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに適用することができることを認識している。

10

【0108】

1つの実施形態において、統計処理は、学習統計的分類子システムである。本発明における使用に適した学習統計的分類子システムの例は、上記のとおりである。ある例として、統計処理は、例えば、RF又はC&RTのような単一の学習統計的分類子システムである。他の例として、統計処理は、少なくとも2つの学習統計的分類子システムの組み合わせである。これに限定されない例として、学習統計的分類子システムの組み合わせは、例えば、タンデムに用いられるRF及びNNを含む。例えば、学習統計的分類子システム又はシステム群の使用から得られたデータは、処理アルゴリズムを用いて処理することができる。

20

【0109】

関連する態様として、本発明は、ある個体からの試料がIBSと関連するか否かを分類するために1つ又はそれ以上のプロセッサを制御するためのコードを記録したコンピューター読み取り可能な記憶媒体を提供し、このコードは以下の構造を含む：

(a) 上記試料における少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す診断マーカープロファイルに基づき、当該試料をIBD試料又は非IBD試料として分類する、統計的に導出される決定を生み出すために、当該診断マーカープロファイルからなるデータセットに第1の統計処理を適用する指示構造；及び  
その試料が非IBD試料として分類される場合には、

30

(b) 当該非IBD試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する第2の統計的に導出される決定を生み出すため、第2の統計処理を同じ又は異なるデータセットに適用する指示構造。

【0110】

ある実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン(例えば、IL-8、IL-1、TWEAK、レプチン(leptin)、OPG、MIP-3、GRO、CXCL4/PF-4、及び/又はCXCL7/NAP-2)、増殖因子(例えば、EGF、VEGF、PEDF、BDNF、及び/又はSDGF)、抗好中球抗体(例えば、ANCA、pANCA、cANCA、NSNA、及び/又はSAPPA)、ASCA(例えば、ASCA-IgA、ASCA-IgG、及び/又はASCA-IgM)、抗菌性抗体(例えば、抗OmpC抗体、抗フラジェリン抗体、及び/又は抗I2抗体)、ラクトフェリン、抗tTG抗体、リポカリン(例えば、NGAL、NGAL/MMP-9複合体)、MMP(例えば、MMP-9)、TIMP(例えば、TIMP-1)、 $\alpha$ -グロブリン(例えば、 $\alpha$ 2-マクログロブリン、ハプトグロビン、及び/又はオロソムコイド)、アクチン切断タンパク質(例えば、ゲルソリン)、S100タンパク質(例えば、カルグラニユリン)、フィブリノペプチド(例えば、FIBA)、CGRP、タチキニン(例えば、サブスタンスP)、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、少なくとも1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10、又はそれ以上の診断マーカーの存在又は値を示す。例えば、抗ラクトフェリン抗体、L-セレクチン/CD62L、エラスターゼ、C-反応性タンパク質

40

50

(CRP)、カルプロテクチン、抗U1-70kDa自己抗体、密着性タンパク質1(ZO-1)、血管作動性腸管ペプチド(VIP)、血清アミロイドA、及び/又はガストリンなどの他の診断マーカーの存在又は値もまた、診断マーカープロファイルを示すことができる。

#### 【0111】

他の実施形態において、第1にIBDを排除し、次にIBSを判定するためのコンピューター読み取り可能な記憶媒体は、診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づいて、試料をIBD試料又は非IBD試料として分類する統計的に導出される決定を生み出すため、個体における少なくとも1つの症状の存在又は値を示す症状プロファイルと選択的に組み合わせた診断マーカープロファイルからなるデータセットに、第1の統計処理を適用するための指示構造；及び、その試料が非IBD試料として分類された場合には、当該非IBD試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する第2の統計的に導出される決定を生み出すため、第2の統計処理を同一又は異なるデータセットに適用する指示構造、を含む。当業者は第1又は/及び第2の統計処理を、任意の順序で同時に又は逐次的に診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに適用できることを認識している。

10

#### 【0112】

1つの実施形態において、第1及び第2の統計処理は、異なるプロセッサに実装される。代替的には、第1及び第2の統計処理は単一のプロセッサに実装される。他の実施形態において、第1の統計処理は、学習統計的分類子システムである。本発明における使用に適した学習統計的分類子システムの例は、上記のとおりである。ある例として、第1又は/及び第2の統計処理は、例えば、RF又はC&RTといった単一の学習統計的分類子システムである。他の例として、第1又は/及び第2の学習統計的分類子システムは、少なくとも2つの学習統計的分類子システムの組み合わせである。これに限定されない例として、学習統計的分類子システムの組み合わせは、例えば、タンデムに用いられるRF、及びNN又はSVMを含む。例えば、この学習統計的分類子システム及びシステム群を用いることから得られたデータは、処理アルゴリズムを用いて処理することができる。

20

#### 【0113】

追加の態様として、本発明は、個体からの試料がIBSに関連するか否かを分類するためのシステムを提供し、本システムは以下の構成を含む：

(a) 上記試料における少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す診断マーカープロファイルからなるデータセットを作成するよう構成されたデータ収集モジュール；

30

(b) 本診断マーカープロファイルに基づき、当該試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する、統計的に導出される決定を生み出すため、統計処理を上記データセットに適用することによって、そのデータセットを処理するよう構成されたデータ処理モジュール；及び

(c) 統計的に導出される決定を表示するよう構成された表示モジュール。

#### 【0114】

ある実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン(例えば、IL-8、IL-1、TWEAK、レプチン(leptin)、OPG、MIP-3、GRO、CXCL4/PF-4、及び/又はCXCL7/NAP-2)、増殖因子(例えば、EGF、VEGF、PEDF、BDNF、及び/又はSDGF)、抗好中球抗体(例えば、ANCA、pANCA、cANCA、NSNA、及び/又はSAPPA)、ASCA(例えば、ASCA-IgA、ASCA-IgG、及び/又はASCA-IgM)、抗菌性抗体(例えば、抗OmpC抗体、抗フラジェリン抗体、及び/又は抗I2抗体)、ラクトフェリン、抗tTG抗体、リポカリン(例えば、NGAL、NGAL/MMP-9複合体)、MMP(例えば、MMP-9)、TIMP(例えば、TIMP-1)、 $\alpha$ -グロブリン(例えば、 $\alpha$ 2-マクログロブリン、ハプトグロビン、及び/又はオロソムコイド)、アクチン切断タンパク質(例えば、ゲルソリン)、S100タンパク質(例えば、カルグラニューリン)、フィブリノペプチド(例えば、FIBA)、CGRP、タチキニン(例えば、サブスタンスP)、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン

40

50

、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される、少なくとも1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10、又はそれ以上の診断マーカーの存在又は値を示す。例えば、抗ラクトフェリン抗体、L-セレクチン/CD62L、エラスターゼ、C-反応性タンパク質(CRP)、カルプロテクチン、抗U1-70kDa自己抗体、密着性タンパク質1(ZO-1)、血管作動性腸管ペプチド(VIP)、血清アミロイドA、及び/又はガストリンなどの他の診断マーカーの存在又は値はまた、診断マーカープロファイルを示すことができる。

【0115】

他の実施形態において、IBSを判定するためのシステムは、個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を示す症状プロファイルと選択的に組み合わせた診断マーカープロファイルからなるデータセットを作成するよう構成されたデータ収集モジュール；診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づいて、当該試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する統計的に導出される決定を生み出すために、上記データセットに統計処理を適用することによって、そのデータセットを処理するよう構成されたデータ処理モジュール；及び統計的に導出される決定を表示するよう構成された表示モジュール、を含む。

10

【0116】

ある実施形態において、統計処理は、学習統計的分類子システムである。本発明の使用に適した学習統計的分類子システムの例は、上記のとおりである。ある例として、統計処理は、例えば、RF又はC&RTといった単一の学習統計的分類子システムである。他の例として、統計処理は、例えば、タンデム又はパラレルに用いられる、少なくとも2つの学習統計的分類子システムの組み合わせである。ある実施形態において、学習統計的分類子システム又はシステム群を用いることから得られるデータは、処理アルゴリズムを用いて処理することができる。

20

【0117】

関連する態様として、本発明は、個体からの試料がIBS試料と関連するか否かを分類するためのシステムを提供し、本システムは以下の構成を含む：

(a) 上記試料における少なくとも1つの診断マーカーの存在又は値を示す診断マーカープロファイルからなるデータセットを作成するよう構成されたデータ収集モジュール；

(b) 本診断マーカープロファイルに基づき、当該試料をIBD試料又は非IBD試料として分類する、第1の統計的に導出される決定を生み出すために、第1の統計処理を上記データセットに適用することによって、そのデータセットを処理するよう構成されたデータ処理モジュール；

30

上記試料が非IBD試料として分類された場合には、当該非IBD試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する、第2の統計的に導出される決定を生み出すために、第2の統計処理を同じ又は異なるデータセットに適用するよう構成されたデータ処理モジュール；及び

(c) 第1の、及び/又は第2の統計的に導出される決定を表示するよう構成された表示モジュール。

【0118】

ある実施形態において、診断マーカープロファイルは、サイトカイン(例えば、IL-8、IL-1、TWEAK、レプチン、OPG、MIP-3、GRO、CXCL4/PF-4、及び/又はCXCL7/NAP-2)、増殖因子(例えば、EGF、VEGF、PEDF、BDNF、及び/又はSDGF)、抗好中球抗体(例えば、ANCA、pANCA、cANCA、NSNA、及び/又はSAPPA)、ASCA(例えば、ASCA-IgA、ASCA-IgG、及び/又はASCA-IgM)、抗菌性抗体(例えば、抗OmpC抗体、抗フラジェリン抗体、及び/又は抗I2抗体)、ラクトフェリン、抗tTG抗体、リポカリン(例えば、NGAL、NGAL/MMP-9複合体)、MMP(例えば、MMP-9)、TIMP(例えば、TIMP-1)、 $\alpha$ -グロブリン(例えば、 $\alpha$ 2-マクログロブリン、ハプトグロビン、及び/又はオロソムコイド)、アクチン切断タ

40

50

ンパク質（例えば、ゲルソリン）、S100タンパク質（例えば、カルグラニューリン）、フィブリノペプチド（例えば、FIBA）、CGRP、タチキニン（例えば、サブスタンスP）、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される、少なくとも1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10、又はそれ以上の診断マーカーの存在又は値を示す。例えば、抗ラクトフェリン抗体、L-セレクチン/CD62L、エラスターゼ、C-反応性タンパク質（CRP）、カルプロテクチン、抗U1-70kDa自己抗体、密着性タンパク質1（ZO-1）、血管作動性腸管ペプチド（VIP）、血清アミロイドA、及び/又はガストリンなどの他の診断マーカーの存在又は値はまた、診断マーカープロファイルを示すことができる。

#### 【0119】

他の実施形態において、第1にIBDを排除し、次にIBSを判定するためのシステムは、個体における少なくとも1つの症状の存在又は重症度を示す症状プロファイルと選択的に組み合わせた診断マーカープロファイルからなるデータセットを作成するよう構成されたデータ収集モジュール；診断マーカープロファイル及び症状プロファイルに基づいて、試料をIBD試料又は非IBD試料に分類する、第1の統計的に導出された決定を生み出すために上記データセットに第1の統計処理を適用することによって、そのデータセットを処理するよう構成されたデータ処理モジュール；上記試料が非IBD試料として分類された場合には、当該非IBD試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する、第2の統計的に導出された決定を生み出すために、同じ又は異なるデータセットに第2の統計処理を適用するよう構成されたデータ処理モジュール；及び第1の、及び/又は第2の統計的に導出された決定を表示するよう構成された表示モジュール、を含む。

#### 【0120】

1つの実施形態において、第1及び/又は第2の統計処理は、学習統計的分類子システムである。本発明における使用に適した学習統計的分類子システムの例は、上記のとおりである。ある例としては、第1及び/又は第2の統計処理は、例えば、RF又はC&RTといった単一の学習統計的分類子システムである。他の例としては、第1及び/又は第2の統計処理は、例えば、直列又は並列に用いられる少なくとも2つの学習統計的分類子システムの組み合わせである。ある場合には、学習統計的分類子システム又はシステム群を用いることから得られたデータは、処理アルゴリズムを用いて処理することができる。他の実施形態としては、第1及び第2の統計処理は異なるプロセッサに実装される。代替的には、第1及び第2の統計処理は、単一のプロセッサに実装される。

#### 【0121】

(IV. IBS様症状を示す疾病と障害)

様々な構造的又は代謝的疾患及び障害は、IBSと類似する兆候又は症状を引き起こし得る。これに限定されない例として、例えば、炎症性腸疾患（IBD）、セリアック病（CD）、急性炎症、憩室炎、回腸囊肛門吻合、顕微鏡的大腸炎、慢性感染性下痢症、乳糖分解酵素欠損症、癌（例えば、直腸結腸癌）、小腸又は結腸の機能的閉塞、腸管感染症、虚血、消化不良、吸収不良、子宮内膜症、及び、その他未同定の腸管の炎症性疾患といった疾患又は障害を持つ患者は、IBSと同様に、軽度から中等度の痛み、及び便の硬さ及び/又は便通の頻度における変化を伴う下腹部の不快感を示しうる。さらなるIBS様症状は、慢性下痢症又は慢性便秘症又は便秘と下痢を交互に繰り返す症状、体重減少、下腹部の膨張又は膨満、及び排便中の粘液を含む。

#### 【0122】

大部分のIBD患者は、2つの明確な臨床サブタイプであるクローン病及び潰瘍性大腸炎のうちの1つに分類することができる。クローン病は、回腸下部に影響し、しばしば結腸及び腸管の他の領域を含む炎症性疾患である。潰瘍性大腸炎は、主に大腸の粘膜及び粘膜下層に局在する炎症によって特徴づけられる。IBDのこれらの臨床サブタイプを患う患者は、一般的に、例えば、下腹部痛、慢性下痢症、体重減少、及び筋けいれんのようなIBS様症状を示す。

#### 【0123】

セリアック病の臨床所見はまた、慢性的な下痢、体重減少及び下腹部の膨張を伴う下腹部の不快感といったIBS様症状によって特徴づけられる。セリアック病は、一般的に絨毛萎縮、陰窩の過形成、及び/又は小腸の粘膜内層の炎症を伴う腸粘膜の免疫介在疾患である。セリアック病の患者は、栄養の吸収不全に加えて、無機物不足、ビタミン不足、骨粗鬆症、自己免疫疾患、及び腸悪性腫瘍（例えば、リンパ腫及び癌腫）に対する危険に面している。グルテン（例えば、小麦、ライ麦、大麦、オート麦、雑穀、ライコムギ、スペルトムギ及びカムートに存在するグルテニン及びプロラミンタンパク質）のようなタンパク質への暴露がセリアック病の発症の原因であると考えられている。

#### 【0124】

IBS様症状を示す腸炎によって特徴づけられる他の疾病及び障害はまた、例えば、急性炎症、憩室炎、回腸囊肛門吻合、顕微鏡的大腸炎、及び慢性感染性下痢の他に未同定の腸管の炎症性疾患を含む。急性炎症を発症する患者は、一般的にIBS様症状に加えて、C-反応性タンパク質（CRP）値が上昇する。CRPは、炎症過程の急性期に肝臓において生成され、炎症過程の開始後、約24時間で通常放出される。憩室炎、回腸囊肛門吻合、顕微鏡的大腸炎、及び慢性感染性下痢を患う患者は、一般的にIBS様症状に加えて、糞中のラクトフェリン及び/又はカルプロテクチンの値が増加する。ラクトフェリンは、粘膜によって分泌される糖タンパク質であり、白血球の2次顆粒中の主要なタンパク質である。白血球は、一般に炎症部位に補充され、活性化され、周辺領域に顆粒の内容物を放出する。この過程が便中のラクトフェリンを増加させる。

10

#### 【0125】

過敏性腸症候群のような他の非炎症状態の囊と比較して、回腸囊肛門吻合（すなわち、クローン病の重症度の場合に、囊が形成されて、結腸の完全な閉塞をもたらすこと）の患者では、増加したラクトフェリン値が観察される。増加したラクトフェリン値は、憩室炎患者でも観察され、消化管における膨張した囊（すなわち、憩室）が炎症を起こし、及び/又は感染し、重症度の下腹部痛、熱、悪心、及び排便習慣の顕著な変化を引き起こす。顕微鏡的大腸炎は、これもまた便のラクトフェリン値の増加を伴う慢性炎症性疾患である。顕微鏡的大腸炎は、持続性の水様下痢（非血性）、通常、体重の減少を伴う下腹部痛、大腸内視鏡検査及び放射線検査における正常な粘液、及び非常に特異的な組織病理学的変化によって、特徴づけられる。顕微鏡的大腸炎は、コラーゲン性大腸炎及びリンパ性大腸炎の2つの疾患を含む。コラーゲン性大腸炎は、病因が不明であり、長期間の水様下痢及び正常な内視鏡検査結果を示す患者に見られる。コラーゲン性大腸炎及びリンパ性大腸炎はともに、結腸内膜における増加したリンパ球によって特徴づけられる。コラーゲン性大腸炎はさらに、結腸の上皮下コラーゲン層の肥大化によって特徴づけられる。慢性感染性下痢はまた、増加した便のラクトフェリン値を伴う病気である。慢性感染性下痢は通常、細菌、ウイルス、又は原生動物の感染によって引き起こされ、その患者は下痢や下腹部痛といったIBS様症状を示す。増加するラクトフェリン値は、IBD患者においても観察される。

20

30

#### 【0126】

腸炎症を伴う疾病及び障害はまた、CRP及び/又はラクトフェリン及び/又はカルプロテクチン値を決定することに加えて、便のヘモグロビンといった便中の血液の存在を検出することによって排除することができる。患者の自覚なく起こる腸出血は、潜在出血（occult bleeding）又は潜出血（hidden bleeding）と呼ばれる。潜在出血（例えば、便のヘモグロビン）の存在は、一般的に患者の便試料中に観察される。潰瘍（例えば、胃、十二指腸）、癌（胃癌、大腸癌）、及び痔といった他の状態はまた、下腹部痛及び排便の硬度及び/又は頻度の変化を含むIBS様症状を示す。

40

#### 【0127】

加えて、便のカルプロテクチン値はまた、評価され得る。カルプロテクチンは、主に好中球及び単核白血球に由来する抗菌活性を持つカルシウム結合タンパク質である。カルプロテクチンは、嚢胞性繊維症、間接リウマチ、IBD、大腸癌、HIV及び他の炎症性疾患と臨床的関連があることが見いだされている。その値は、血清、血漿、口腔、脳脊髄及

50

び滑液、尿、及び便において測定されている。G I疾患における便中のカルプロテクチンの利点は、次の通り認識されている：室温で3から7日間安定であり、普通郵便による試料の運搬を可能にし；クローン病患者の便中の $\alpha$ -アンチトリプシン( $\alpha$ -antitrypsin)と相関関係を示し；ほとんど大部分の消化管癌及びIBD患者で上昇する。便中のカルプロテクチンは、潰瘍性大腸炎の疾病活性の内視鏡的及び組織学的格付け、及びIBD試料における疾病活性の指標であるインジウム111で標識された好中性顆粒球の便中への排出とよく相関する関係がある。

#### 【0128】

上記事項を考慮すると、広範囲の疾病及び障害がIBS様症状を引き起こし得、それにより、試料をIBS試料として明確に分類することに対する実質的な障害を生み出すことが明らかである。しかしながら、本発明は、例えば、統計的アルゴリズムを用いて個体からの試料をIBS試料として分類することによって、又は、例えば、統計的アルゴリズムの組み合わせを用いて、IBSと類似する臨床症状を共有するこれらの疾病又は障害を除き（すなわち、排除し）、試料中のIBS試料を同定（すなわち、抽出）することによって、当該制限を克服する。

10

#### 【0129】

##### (V. 診断マーカー)

様々な診断マーカーは、個体からの試料をIBS試料として分類する、又は個体からの試料におけるIBS様症状と関連する1つ又はそれ以上の疾病又は障害を排除するための本発明の方法、システム及びコードにおける使用に適している。診断マーカーの例は、これに限られないが、サイトカイン、増殖因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレピジエ抗体、抗菌性抗体、抗組織型トランスグルタミナーゼ(tTG)抗体、リポカリン、MMP、リポカリンとMMPの複合体、組織型メタロプロテアーゼインヒビター(TIMP)、グロブリン(例えばアルファ・グロブリン)、アクチン切断タンパク質、S100タンパク質、フィブリノペプチド、カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)、タチキニン、グレリン、ニューロテンシン、コルチコトロピン放出ホルモン(CRH)、エラスターゼ、C-反応性タンパク質(CRP)、ラクトフェリン、抗ラクトフェリン抗体、カルプロテクチン、ヘモグロビン、NOD2/CARD15、セロトニン再取り込み輸送体(SERT)、トリプトファン水酸化酵素1、5-ヒドロキシトリプタミン(5-HT)、ラクツロース、及びこれらの組み合わせを含む。本発明に関連して、IBSを予測するための追加の診断マーカーは、実施例14に述べる技術を用いて選択することができる。当業者は、本発明における使用に適した他の診断マーカーについても認識している。

20

30

#### 【0130】

##### (A. サイトカイン群)

試料中の少なくとも1つのサイトカインの存在又は値の決定は、本発明において特に有用である。本明細書において、「サイトカイン(cytokine)」という用語は様々な免疫システム機能を制御する免疫細胞によって分泌される、様々なポリペプチド又はタンパク質の全てを含み、ケモカインといった小さなサイトカイン類も包含する。「サイトカイン」という用語はまた、例えば、体重、血液生成、血管形成、傷の治療、インスリン耐性、免疫応答及び炎症応答の制御に機能する脂肪細胞によって分泌されるサイトカイン群からなるアジポサイトカイン(adipocytokine)も含む。

40

#### 【0131】

ある点では、これに限定されないが、TNF- $\alpha$ 、TNF関連アポトーシス弱誘導因子(TWEAK)、オステオプロテジェリン(OPG)、IFN- $\gamma$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\delta$ 、IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-1受容体拮抗薬(IL-1ra)、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、可溶性IL-6受容体(sIL-6R)、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-17、IL-23、及びIL-27を含む少なくとも1つのサイトカインの存在又は値を、試料において決定する。ほかの点では、例えば、CXCL1/GRO1/GRO、CXCL2/GRO2、CXCL3/GRO3、CXCL4/PF-4、CXCL5/ENA-7

50

8、CXCL6/GCP-2、CXCL7/NAP-2、CXCL9/MIG、CXCL10/IP-10、CXCL11/I-TAC、CXCL12/SDF-1、CXCL13/BCA-1、CXCL14/BRAK、CXCL15、CXCL16、CXCL17/DMC、CCL1、CCL2/MCP-1、CCL3/MIP-1、CCL4/MIP-1、CCL5/RANTES、CCL6/C10、CCL7/MCP-3、CCL8/MCP-2、CCL9/CCL10、CCL11/エオタキシン(Eotaxin)、CCL12/MCP-5、CCL13/MCP-4、CCL14/HCC-1、CCL15/MIP-5、CCL16/LEC、CCL17/TARC、CCL18/MIP-4、CCL19/MIP-3、CCL20/MIP-3、CCL21/SLC、CCL22/MDC、CCL23/MPIF1、CCL24/エオタキシン-2、CCL25/TECK、CCL26/エオタキシン-3、CCL27/CTACK、CCL28/MEC、CL1、CL2、及びCX<sub>3</sub>CL1といった少なくとも1つのケモカインの存在又は値が、試料において決定される。さらなる態様では、これに限られないが、レプチン、アジポネクチン(adiponectin)、レジスチン(resistin)、活性型又は総プラスミノゲン活性化因子インヒビター1(plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1))、ビスファチン(visfatin)及びレチノール結合タンパク質4(retinol binding protein 4(RBP4))を含むアジポサイトカインのうち少なくとも1つの存在又は値が試料において決定される。好ましくは、IL-8、IL-1、TWEAK、レプチン、OPG、MIP-3、GRO、CXCL4/PF-4、及び/又はCXCL7/NAP-2の存在又は値が決定される。

#### 【0132】

ある例として、特定のサイトカインの存在又は値は、例えばハイブリダイゼーション法又は増幅法といった分析方法を用い、mRNA発現レベルで検出される。他の例として、特定のサイトカインの存在又は値は、例えば、免疫測定法(例えば、ELISA)又は免疫組織化学的測定法を用いて、タンパク質の発現レベルで検出される。血清、血漿、唾液、又は尿試料中のIL-8、IL-1、MIP-3、GRO、CXCL4/PF-4又はCXCL7/NAP-2といったサイトカインの存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、例えばR&D Systems, Inc.(Minneapolis, MN)、Neogen Corp.(Lexington, KY)、Alpco Diagnostics(Salem, NH)、Assay Designs, Inc.(Ann Arbor, MI)、BD Biosciences Pharmingen(San Diego, CA)、Invitrogen(Camarillo, CA)、Calbiochem(San Diego, CA)、CHEMICON International, Inc.(Temecula, CA)、Antigenix America Inc.(Huntington Station, NY)、QIAGEN Inc.(Valencia, CA)、Bio-Rad Laboratories, Inc.(Hercules, CA)、及び/又はBender MedSystems Inc.(Burlingame, CA)から入手することができる。

#### 【0133】

##### (1. TWEAK)

TWEAKは、構造的に関連するサイトカインのTNFスーパーファミリーの一員である。全長膜アンカー型TWEAKは、多くの細胞型の表面で見られることができ、タンパク質分解性プロセッシングによって生じる、より小さな生物学的活性型は、細胞外にて検出される(例えば、Chicheporticheら、J. Biol. Chem., 272:32401-32410(1997)を参照)。TWEAKは、繊維芽細胞増殖因子誘導性14(Fn14;腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー12A又はTNFRSF12Aとしても知られる)と名付けられたTNF受容体スーパーファミリーメンバーと結合することによって活性をもつ。TWEAKは、細胞増殖や血管形成の刺激、炎症性サイトカインの誘導、及びアポトーシスの刺激を含む多様な生物学的活性を持つ(例

えば、Wileyら、Cytokine Growth Factor Rev., 14 : 241 - 249 (2003)を参照)。特に、TWEAKは、繊維芽細胞及び滑膜細胞において、PGE2、MMP-1、IL-6、IL-8、RANTESおよびIP-10の発現を誘導すること、及び内皮細胞においてICAM-1、E-セレクトリン、IL-8、あるいはMCP-1の発現を増加させるように制御することが示されている(例えば、Campbellら、Front. Biosci., 9 : 2273 - 2284 (2004)を参照)。FN14受容体に結合したTWEAK、又は定常的なFn14の過剰発現は、免疫又は炎症過程、発癌、癌治療耐性及び腫瘍形成において重要な役割を果たすNF-Bを活性化する(例えば、Winklesら、Cancer Lett., 235 : 11 - 17 (2006); Winklesら、Front. Biosci., 12 : 2761 - 2771 (2007)を参照)。当業者は、TWEAKが腫瘍壊死因子リガンドスーパーファミリーメンバー12(TNFSF12)、APO3リガンド(APO3L)、CD255、DR3リガンド、FN14及びUNQ181/PRO207としても知られることを認識している。

10

#### 【0134】

血清、血漿、唾液又は尿試料といった生物学的試料中のTWEAKの存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、Antigenix America Inc. (Huntington Station, NY)、Bender MedSystem Inc. (Burlingame, CA)、Agdia Inc. (Elkhart, IN)、American Research Products Inc. (Belmont, MA)、Biomeda Corp. (Foster City, CA)、BioVision, Inc. (Mountain View, CA)、及びKamiya Biomedical Co. (Seattle, WA)から入手することができる。

20

#### 【0135】

##### (2. オステオプロテジェリン群(OPG))

OPGは、構造的に関連するサイトカイン群のTNFスーパーファミリーの401アミノ酸メンバーである。OPGは、NF-Bの受容体活性化因子(RANK)に相同性があり、RANKリガンド(RANKL; OPGリガンド(OPGL)としても知られる)の可溶性のおとり受容体として働くことにより、マクロファージの破骨細胞への分化を阻害し、破骨細胞の吸収を制御する。結果としてOPG-RANK-RANKLシステムは、破骨細胞の形成、機能及び生き残りにおいて、直接的かつ本質的な働きをする。OPG-RANK-RANKLシステムはまた、癌細胞の移動を減速させ、これにより、骨への転移の進行を制御することが示されている。当業者は、OPGはまたオステオプロテグリン(osteoprotegerin)及び破骨細胞形成阻害因子(osteoclastogenesis inhibitory factor(OCIF))として知られることを認識している。

30

#### 【0136】

血清、血漿、唾液又は尿試料中のOPGの存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、Antigenix America Inc. (Huntington Station, NY)、Immunodiagnostic Systems Ltd. (Baldon, United Kingdom)及びBio Vender, LLC (Candler, NC)から入手することができる。

40

#### 【0137】

##### (3. レプチン)

レプチンは、サイトカイン群のアジボサイトカインファミリーの一員であり、食物の取り込みを阻害し、エネルギーの消費を刺激することにより、体重の制御に決定的な働きをする16-kDのペプチドホルモンである。それは主に脂肪細胞で合成され、体脂肪に比例した量が血漿中を循環する(例えば、Maffeiら、Nat. Med., 1 : 1155 - 1161 (1995); Considineら、Diabetes, 45 : 992 - 994 (1996)を参照)。レプチンは、異種間で非常に高い相同性を示し、他のサイ

50

トカイン群とも似た構造である(例えば、Madejら、F E B S L e t t . , 3 7 3 : 1 3 - 1 8 ( 1 9 9 5 ) を参照)。レプチンは、細胞外モチーフである4つのシステイン残基と多くのフィブロネクチンタイプIIドメインによって特徴づけられる受容体のI型サイトカインスーパーファミリーの一回膜貫通ドメイン受容体であるレプチン受容体を介して機能する(例えば、Heim、Eur. J. Clin. Invest. , 26 : 1 - 12 ( 1 9 9 6 ) を参照)。レプチン受容体は、ホモ2量体として存在することが知られており、構造変化によって受容体にリガンドが結合することにより活性化される(例えば、Devosら、J. Biol. Chem. , 272 : 18304 - 18310 ( 1 9 9 7 ) を参照)。選択的な切断によって生じる、6つのレプチン受容体のアイソフォームがこれまでに同定されている(例えば、Wangら、Nature , 393 : 684 - 688 ( 1 9 9 8 ) ; Leeら、Nature , 79 : 632 - 635 ( 1 9 9 6 ) を参照)。

10

#### 【0138】

血清、血漿、唾液又は尿試料といった生物学的試料中のレプチンの存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、例えば、R & D Systems, Inc. (Minneapolis, MN)、B-Bridge International (Mountain View, CA)、Neogen Corp. (Lexington, KY)、Assay Designs, Inc. (Ann Arbor, MI)、Invitrogen (Camarillo, CA)、CHEMICON International, Inc. (Temecula, CA)、Antigenix America Inc. (Huntington Station, NY)、LINCO Research, Inc. (St. Charles, MO)、Diagnostic Systems Laboratories, Inc. (Webster, TX)、Immuno-Biological Laboratories, Inc. (Minneapolis, MN)、及びCayman Chemical Co. (Ann Arbor, MI)から入手することができる。

20

#### 【0139】

(B. 増殖因子群)

試料中の1つ又はそれ以上の増殖因子の存在又は値の決定はまた、本発明において有用である。本明細書において、「増殖因子(growth factor)」という用語は、細胞増殖及び/又は細胞分化を刺激することができる様々なペプチド、ポリペプチド又はタンパク質の全てを含む。

30

#### 【0140】

ある態様では、これに限定されないが、上皮細胞増殖因子(EGF)、ヘパリン結合性上皮細胞増殖因子(HB-EGF)、血管内皮増殖因子(VEGF)、色素上皮由来因子(PEDF; SERPINF1としても知られる)、アンフィレグリン(AREG; 神経鞘腫由来増殖因子(SDGF)としても知られる)、塩基性繊維芽細胞増殖因子(bFGF)、肝細胞増殖因子(HGF)、腫瘍増殖因子(transforming growth factor - (TGF - ))、腫瘍増殖因子(TGF - )、骨形成タンパク質(例えばBMP1 - BMP15)、血小板由来増殖因子(platelet-derived growth factor(PDGF))、神経増殖因子(NGF)、神経増殖因子(-NGF)、神経栄養因子(例えば、脳由来神経栄養因子(BDNF))、ニューロトロフィン3(NT3)、ニューロトロフィン4(NT4)等)、成長分化因子-9(growth differentiation factor-9(GDF-9))、顆粒球-結腸刺激因子(granulocyte-colony stimulating factor(G-CSF))、顆粒球-マクロファージ結腸刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor(GM-CSF))、ミオスタチン(myostatin(GDF-8))、エリスロポイエチン(erythropoietin(EPO))、及びスロンボポイエチン(thrombopoietin(TPO))を含む少なくとも1つの増殖

40

50

因子の存在又は値が、試料において決定される。好ましくは、EGF、VEGF、PEDF、アンフィレグリン(SDGF)、及び/又はBDNFの存在又は値が決定される。

【0141】

ある例として、特定の増殖因子の存在又は値は、例えば、ハイブリダイゼーション法又は増幅法といった分析方法を用いて、mRNA発現レベルで検出される。他の例として、特定の増殖因子の存在又は値は、例えば、免疫測定法(例えば、ELISA)又は免疫組織学化的測定法を用いて、タンパク質の発現レベルで検出される。血清、血漿、唾液又は尿試料中のEGF、VEGF、PEDF、SDGF又はBDNFといった増殖因子の存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、Antigenix America Inc. (Huntington Station, NY)、Promega (Madison, WI)、R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN)、Invitrogen (Camarillo, CA)、CHEMICON International, Inc. (Temecula, CA)、Neogen Corp. (Lexington, KY)、Peprotech (Rocky Hill, NJ)、Alpco Diagnostics (Salem, NH)、Pierce Biotechnology, Inc. (Rockford, IL)、及び/又はAbzyme (Needham, MA)から入手することができる。

10

【0142】

(C. リポカリン群)

試料中の1つ又はそれ以上のリポカリンの存在又は値を決定することはまた、本発明において有用である。本明細書において、「リポカリン(lipocalin)」という用語は、いくつかの共通する分子認識特性：様々な小さな疎水性分子と結合することが可能であること；特異的な細胞表面受容体と結合すること；及び可溶性高分子と複合体を形成すること、によって特徴づけられる、様々な小さな細胞外タンパク質の全てを含む(例えば、Flowersら、Biochem. J., 318:1-14(1996)を参照)。リポカリンの様々な生化学的機能は、1つ又はそれ以上の上記特性によって介される。リポカリンタンパク質ファミリーは、レチノール輸送、無脊椎動物の隠蔽色、嗅覚、フェロモン輸送、及びプロスタグランジンの生合成における役割を持ち、機能の多様性を示す。リポカリンはまた、細胞の恒常性の調節、免疫応答の調整に関与し、担体タンパク質として、内因性及び外因性物質の一般的な撤去に作用する。リポカリン類は配列レベルでは非常に多様性があるが、それらの3次元構造は統一した特徴がある。リポカリンの結晶構造は、高く保存されており、内部のリガンド結合部位を囲む、単一の8本の連続的に水素結合した逆並行パレルを含む。

20

30

【0143】

ある態様では、これに限定されないが、好中球ゲラチナーゼ関連リポカリン(neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL))；ヒト型好中球リポカリン(human neutrophil lipocalin (HNL)又はリポカリン-2としても知られる)、フォンエブネル腺タンパク質(von Ebner's gland protein (VEGP))；リポカリン-1としても知られる)、レチノール結合タンパク質(retinol-binding protein (RBP))、プルプリン(purpurin (PURP))、レチノイン酸結合タンパク質(retinoic acid-binding protein (RABP))、<sub>2</sub>U-グロブリン(A2U)、主要尿タンパク質(major urinary protein (MUP))、ビリルビン結合タンパク質(bilirubin-binding protein (BBP))、<sub>1</sub>-クルスタシアニン(<sub>1</sub>-crustacyanin)、妊娠性タンパク質14(pregnancy protein 14 (PP14))、<sub>1</sub>-ラクトグロブリン(<sub>1</sub>-lactoglobulin (Blg))、<sub>1</sub>-ミクログロブリン(<sub>1</sub>-microglobulin (A1M))、C8鎖(chain of C8 (C8))、アポリポタンパク質D (apolipoprotein D (ApoD))、ラザリロ(lazarillo (LAZ))、プロスタグ

40

50

ランジンD2合成酵素 ( prostaglandin D2 synthase ( PGDS ) )、休眠特異的タンパク質 ( quiescence-specific protein ( QSP ) )、脈絡膜叢タンパク質 ( choroid plexus protein )、におい物質結合タンパク質 ( odorant-binding protein ( OBP ) )、<sub>1</sub>-酸性糖タンパク質 ( <sub>1</sub>-acid glycoprotein ( AGP ) )、プロバシン ( probasin ( PBAS ) )、アフロジシン ( aphrodisin )、オロソムコイド ( orosomucoid )、及び黄体ホルモン関連子宮内膜タンパク質 ( progesteragen-associated endometrial protein ( PAEP ) ) を含む少なくとも1つのリポカリンの存在又は値が、試料において決定される。他の例としては、例えば、NGAL及びマトリクス・メタロプロテアーゼの複合体 ( 例えば、NGAL / MMP - 9 複合体 ) を含む少なくとも1つのリポカリン複合体の存在又は値が決定される。好ましくは、NGAL又はMMP - 9との複合体の存在又は値が決定される。

#### 【0144】

ある例としては、特定のリポカリンの存在又は値は、例えば、ハイブリダイゼーション法又は増幅法といった分析方法を用いてmRNA発現レベルで検出される。他の例としては、特定のリポカリンの存在又は値は、例えば免疫測定法 ( 例えば、ELISA ) 又は免疫組織化学的測定法を用いてタンパク質発現レベルで検出される。血清、血漿又は尿試料中のNGALといったリポカリンの存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、Antibody Shop A / S ( Gentofte, Denmark )、Lab Clinics SA ( Barcelona, Spain )、Lucerna-Chem AG ( Luzern, Switzerland )、R & D Systems, Inc. ( Minneapolis, MN )、及びAssay Designs, Inc. ( Ann Arbor, MI ) から入手することができる。NGAL / MMP - 9 複合体の存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、例えばR & D Systems, Inc. ( Minneapolis, MN ) から入手することができる。追加的なNGAL及びNGAL / MMP - 9 複合体のELISA技術は、例えば、Kjeldsenら、Blood, 83 : 799 - 807 ( 1994 ) ; 及び、Kjeldsenら、J. Immunol. Methods, 198 : 155 - 164 ( 1996 ) に述べられている。

#### 【0145】

( D . マトリクス・メタロプロテアーゼ群 )

試料中の少なくとも1つのマトリクス・メタロプロテアーゼの存在又は値の決定はまた、本発明において有用である。本明細書において、「マトリクス・メタロプロテアーゼ ( matrix metalloproteinases ) 」又は「MMP」という用語は、様々な細胞外基質タンパク質を分解し、細胞表面受容体を切断し、アポトーシス基質を放出し、及び / 又はケモカイン群を制御することができる亜鉛依存型エンドペプチダーゼを含む。MMP群はまた細胞増殖、移動 ( 接着 / 分散 )、分化、血管形成および生体防御といった細胞行動において主要な役割を果たすと考えられる。

#### 【0146】

ある態様では、これに限られないが、MMP - 1 ( 間質性コラゲナーゼ )、MMP - 2 ( ゲラチナーゼA ( gelatinase - A ) )、MMP - 3 ( ストロメライシン - 1 ( stromelysin - 1 ) )、MMP - 7 ( マトリライシン ( matrilysin ) )、MMP - 8 ( 好中球コラゲナーゼ )、MMP - 9 ( ゲラチナーゼB )、MMP - 10 ( ストロメライシン - 2 )、MMP - 11 ( ストロメライシン - 3 )、MMP - 12 ( マクロファーゼメタロエラスターゼ )、MMP - 13 ( コラゲナーゼ - 3 )、MMP - 14、MMP - 15、MMP - 16、MMP - 17、MMP - 18 ( コラゲナーゼ - 4 )、MMP - 19、MMP - 20 ( エナメライシン ( enamelysin ) )、MMP - 21、MMP - 23、MMP - 24、MMP - 25、MMP - 26 ( マトリライシン - 2 )、MMP - 27 及びMMP - 28 ( エピライシン ( epilysin ) ) を含む少なくとも1つのMMPの存在又は値が試料において決定される。好ましくは、MMP - 9の存

在又は値が決定される。

【0147】

ある例としては、特定のMMPの存在又は値は、例えば、ハイブリダイゼーション法又は増幅法といった分析方法を用いてmRNA発現レベルで検出される。他の例としては、特定のMMPの存在又は値は、例えば、免疫測定法(例えばELISA)又は免疫組織化学的測定法を用いてタンパク質発現レベルで検出される。血清又は血漿試料中のMMP-9といったMMPの存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、例えば、Calbiochem(San Diego, CA)、CHEMICON International, Inc.(Temecula, CA)、及びR&D Systems, Inc.(Minneapolis, MN)から入手することができる。

10

【0148】

(E. 組織型メタロプロテアーゼインヒビター)

試料中の少なくとも1つの組織型メタロプロテアーゼインヒビター(TIMP)の存在又は値の決定はまた、本発明において有用である。本明細書において、「組織型メタロプロテアーゼインヒビター(tissue inhibitor of metalloprotease)」又は「TIMP」という用語はMMP群を阻害することができるタンパク質を含む。

【0149】

ある態様では、これに限られないが、TIMP-1、TIMP-2、TIMP-3及びTIMP-4を含む少なくとも1つのTIMPの存在又は値が試料において決定される。好ましくは、TIMP-1の存在又は値が決定される。

20

【0150】

ある例としては、特定のTIMPの存在又は値は、例えば、ハイブリダイゼーション法又は増幅法といった分析方法を用いてmRNA発現レベルで検出される。他の例としては、特定のTIMPの存在又は値は、例えば免疫測定法(例えばELISA)又は免疫組織化学的測定法を用いてタンパク質発現レベルで検出される。血清又は血漿試料中のTIMP-1といったTIMPの存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、例えば、Alpco Diagnostics(Salem, NH)、Calbiochem(San Diego, CA)、Invitrogen(Camarillo, CA)、CHEMICON International, Inc.(Temecula, CA)、及びR&D Systems, Inc.(Minneapolis, MN)から入手することができる。

30

【0151】

(F. グロブリン群)

試料中の少なくとも1つのグロブリンの存在又は値の決定はまた、本発明においては有用である。本明細書において、「グロブリン(globulin)」という用語は、血清電気泳動時にアルブミンよりも移動しない血清タンパク質ファミリーの異種系列の全てのメンバーを含む。タンパク質電気泳動は、一般的にグロブリン群を次の3つの系列： - グロブリン群(すなわち、1-グロブリン群又は2-グロブリン群)； - グロブリン群；及び - グロブリン群、に分類するのに用いられる。

40

【0152】

- グロブリン群は、アルカリ又は電荷を帯びた溶液中でよく移動する血漿中の球状タンパク質の1集団を含む。それらは、一般的にある血液タンパク質分解酵素及び阻害活性を阻害する機能をもつ。 - グロブリン群の例は、これに限定されないが、2-マクログロブリン(2-MG)、ハプトグロビン(Hp)、オロソムコイド、1-アンチトリプシン、1-アンチキモトリプシン(alpha-1-antichymotrypsin)、-2-アンチプラズミン(alpha-2-antiplasmin)、アンチスロンピン(antithrombin)、セルロプラズミン(ceruloplasmin)、ヘパリンコファクターII(heparin cofactor II)、レチノール結合タンパク質及びトランスコルチン(transcortin)を含む。好ま

50

しくは、 $\alpha$ 2-MG、ハプトグロビン、及び/又はオロソムコイドの存在又は値が決定される。ある例としては、例えば、Hp前駆体、Hp $\alpha$ 、Hp $\beta$ 1、及びHp $\beta$ 2といった1つ又はそれ以上のハプトグロビンアロタイプが決定される。

【0153】

ある例としては、特定のグルブリンの存在又は値は、例えば、ハイブリダイゼーション法又は増幅法といった分析方法を用いてmRNA発現レベルで検出される。他の例としては、特定のグルブリンの存在又は値は、例えば、免疫測定法(例えばELISA)又は免疫組織化学的測定法を用いてタンパク質発現レベルで検出される。血清、血漿又は尿試料中の $\alpha$ 2-MG、ハプトグロビン、又はオロソムコイドといったグルブリンの存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、例えば、GenWay Biotech, Inc. (San Diego, CA)及び/又はImmundiagnostik AG (Bensheim, Germany)から入手することができる。

10

【0154】

(G. アクチン切断タンパク質群)

試料中の少なくとも1つのアクチン切断タンパク質の存在又は値の決定はまた、本発明においては有用である。本明細書において、「アクチン切断タンパク質(actin-severing protein)」という用語は、アクチンの再構成及び細胞の走化性に関わるタンパク質ファミリーのあらゆるメンバーを含む。アクチン切断タンパク質群の非限定的な例は、ゲルソリン(ブレビン(brevin)又はアクチン脱重合化因子としても知られる)、ピリン(villin)、フラグミン(fragmin)及びアドセベリン(adseverin)を含む。例えば、ゲルソリンは白血球、血小板、及び他の細胞のタンパク質であり、マイクログラム未満のカルシウム存在下でアクチンフィラメントを切断し、それによって細胞質のアクチンゲルをゾル化する。

20

【0155】

ある例としては、特定のアクチン切断タンパク質の存在又は値は、例えば、ハイブリダイゼーション法又は増幅法といった分析方法を用いてmRNA発現レベルで検出される。他の例としては、特定のアクチン切断タンパク質の存在又は値は、例えば、免疫測定法(例えばELISA)又は免疫組織化学的測定法を用いてタンパク質発現レベルで検出される。血漿試料中のゲルソリンといったアクチン切断タンパク質の存在又は値を決定するための適切なELISA技術は、例えば、Smithら、J. Lab. Clin. Med., 110:189-195(1987);及びHiyoshiら、Biochem. Mol. Biol. Int., 32:755-762(1994)に述べられている。

30

【0156】

(H. S100タンパク質群)

試料中の少なくとも1つのS100タンパク質の存在又は値の決定はまた、本発明においては有用である。本明細書において、「S100タンパク質(S100 protein)」という用語は、細胞型特異的な発現及び2つのEFハンドカルシウム結合ドメインの存在によって特徴づけられる低分子量酸性タンパク質ファミリーの全てのメンバーを含む。ヒトには、少なくとも21の異なる型のS100タンパク質が存在する。その名前は、S100タンパク質が中性pHの硫酸アンモニウム中で100%可溶である事実に由来する。ほとんどのS100タンパク質は、ホモ2量体を形成し、非共有結合によって結合する2つの同一のポリペプチドを含む。S100タンパク質は、構造的にはカルモジュリンと類似するが、それらは、環境因子に依存して異なるレベルで特定の細胞において細胞特異的に発現する点で異なる。S100タンパク質は、神経冠に由来する細胞(例えば、シュワン細胞、メラノサイト、グリア細胞)、軟骨細胞、脂肪細胞、筋上皮細胞、マクロファージ、ランゲルハンス細胞、樹状細胞、及びケラチノサイトに通常存在する。S100タンパク質は、タンパク質のリン酸化、転写因子、カルシウムイオン( $Ca^{2+}$ )の恒常性、細胞骨格構成成分の動態、酵素活性、細胞増殖及び分化、及び炎症応答の制御といった様々な細胞内及び細胞外の機能に関連している。

40

【0157】

50

カルグラニューリンは、腎上皮細胞及び好中球を含む多様な細胞型において発現するS100タンパク質であり、慢性炎症の状態下における浸潤単球及び顆粒球中に豊富である。カルグラニューリンの例は、これに限定されないが、カルグラニューリンA (S100A8又はMRP-8としても知られる)、カルグラニューリンB (S100A9又はMRP-14としても知られる)、及びカルグラニューリンC (S100A12としても知られる)を含む。

【0158】

ある例としては、特定のS100タンパク質の存在又は値は、例えば、ハイブリダイゼーション法又は増幅法といった分析方法を用いてmRNA発現レベルで検出される。他の例としては、特定のS100タンパク質の存在又は値は、例えば、免疫測定法(例えばELISA)又は免疫組織化学的測定法を用いてタンパク質発現レベルで検出される。血清、血漿、又は尿試料中のカルグラニューリンA (S100A8)、カルグラニューリンB (S100A9)といったS100タンパク質の存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、例えば、Peninsula Laboratories Inc. (San Carlos, CA)及びHycult bitechnology b.v. (Uden, The Netherlands)から入手することができる。

10

【0159】

カルプロテクチン、S100A8及びS100A9の複合体は、好中球、単球及びケラチノサイトの細胞質におけるカルシウム及び亜鉛結合性タンパク質である。カルプロテクチンは、好中性の顆粒球及びマクロファージにおける主要なタンパク質であり、これら細胞中の細胞質画分における総タンパク質の約60%程度を占める。そのため、好中球の代謝回転の代替的なマーカーである。便中のその濃度は腸粘膜好中球の浸潤の強度及び炎症の重症度と相関する。ある例としては、カルプロテクチンは、小さな(50-100mg)の便試料を用いたELISA法で測定することができる(例えば、Johnera, Scand J Gastroenterol., 36:291-296(2001)を参照)。

20

【0160】

(I. タチキニン群)

試料中の少なくとも1つのタチキニンの存在又は値の決定はまた、本発明においては有用である。本明細書において、「タチキニン(tachykinin)」という用語は、カルボキシ末端の配列Phe-X-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub>を共有するアミド化されたニューロペプチドを含む。タチキニン群は、一般的に1つ又はそれ以上のタチキニン受容体(例えば、TACR1、TACR2、及び/又はTACR3)と結合する。

30

【0161】

ある態様では、これに限られないが、サブスタンスP、ニューロキニンA、及びニューロキニンBを含む少なくとも1つのタチキニンの存在又は値が試料において決定される。好ましくは、サブスタンスPの存在又は値が決定される。サブスタンスPは、中枢及び末端の両方の神経系において、神経末端から放出される、長さ11アミノ酸のペプチドである。サブスタンスP放出神経が分布する非常に多くの生物学的な部位には、皮膚、腸、胃、囊及び心血管系がある。

40

【0162】

ある例としては、特定のタチキニンの存在又は値は、例えば、ハイブリダイゼーション法又は増幅法といった分析方法を用いてmRNA発現レベルで検出される。他の例としては、特定のタチキニンの存在又は値は、例えば、免疫測定法(例えばELISA)又は免疫組織化学的測定法を用いてタンパク質発現レベルで検出される。血清、血漿、唾液又は尿試料中のサブスタンスPといったタチキニンの存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、例えば、MD Biosciences Inc. (St. Paul, MN)、Assay Designs, Inc. (Ann Arbor, MI)、R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN)、Sigma-Aldrich Corp. (St. Louis, MO)、及びCayman Chemical

50

l Co. (Ann Arbor, MI) から入手することができる。

【0163】

(J. グレリン)

試料中の少なくとも1つのグレリンの存在又は値の決定はまた、本発明においては有用である。本明細書において、「グレリン (ghrelin)」という用語は、成長ホルモン分泌促進受容体 (growth hormone secretagogue receptor (GHSR)) に対する内因性リガンドであり、成長ホルモンの放出の制御に關与する28アミノ酸のペプチドを含む。グレリンは、活性型グレリンを形成するため、一般的に3番目のセリン残基でn-オクタノイル基とアシル化され得る。代替的には、グレリンは、非アシル化型 (すなわち、デスアシルグレリン) として存在することができる。グレリンは、胃底の粘膜に主に局在する特定のクロム親和性細胞において、主に発現され、レプチンの代謝に対する効果とは反対の効果を持つ。グレリンは、食物の摂食を促進し、炭水化物の利用を増加させて脂肪の利用を減少させ、胃の運動及び酸分泌を増加させ、自発運動を低下させる。

10

【0164】

ある例としては、グレリンの存在又は値は、例えば、ハイブリダイゼーション法又は増幅法といった分析方法を用いてmRNA発現レベルで検出される。他の例としては、グレリンの存在又は値は、例えば、免疫測定法 (例えば、ELISA) 又は免疫組織化学的測定法を用いてタンパク質発現レベルで検出される。血清、血漿、唾液又は尿試料中の活性型グレリン又はデスアシルグレリンの存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、例えば、Alpco Diagnostics (Salem, NH)、Cayman Chemical Co. (Ann Arbor, MI)、LINCO Research, Inc. (St. Charles, MO)、及びDiagnostic Systems Laboratories, Inc. (Webster, TX) から入手することができる。

20

【0165】

(K. ニューロテンシン)

試料中の少なくとも1つのニューロテンシンの存在又は値の決定はまた、本発明においては有用である。本明細書において、「ニューロテンシン (neurotensin)」という用語は、中枢神経系及び胃腸軸に渡り広く分布するトリデカペプチドを含む。ニューロテンシンは、複数の胃腸機能及び病態の発症及び進行において重要な仲介者として同定され、神経、上皮細胞、及び/又は免疫及び炎症システムにおいて直接的又は間接的に働く特定の受容体と相互作用することによって、その効果を発揮する (例えば、Zhaor, Peptides, 27: 2434-2444 (2006) を参照)。

30

【0166】

ある例としては、ニューロテンシンの存在又は値は、例えば、ハイブリダイゼーション法又は増幅法といった分析方法を用いてmRNA発現レベルで検出される。他の例としては、ニューロテンシンの存在又は値は、例えば、免疫測定法 (例えば、ELISA) 又は免疫組織化学的測定法を用いてタンパク質発現レベルで検出される。試料中のニューロテンシンの存在又は値を決定するための適切なELISA技術は、例えば、Davisら、J. Neurosci. Methods, 14: 15-23 (1985); 及びWilliamsら、J. Histochem. Cytochem., 37: 831-841 (1989) に述べられている。

40

【0167】

(L. コルチコトロピン放出ホルモン)

試料中の少なくとも1つのコルチコトロピン放出ホルモン (CRH; コルチコトロピン放出因子又はCRFとしても知られる) の存在又は値の決定はまた、本発明においては有用である。本明細書において、「コルチコトロピン放出ホルモン (corticotropin-releasing hormone)」、「CRH」、「コルチコトロピン放出因子」又は「CRF」という用語は、ヒトなどの哺乳類におけるストレス応答の隣接

50

した部分を仲介する視床下部の室傍核によって分泌される41アミノ酸ペプチドを含む。CRHは、一般的に1つ又はそれ以上のコルチコトロピン放出ホルモン受容体（例えば、CRHR1及び/又はCRHR2）と結合する。CRHは視床下部、脊髄、胃、脾臓、十二指腸、副腎、及び胎盤によって発現される。

【0168】

ある例としては、CRHの存在又は値は、例えばハイブリダイゼーション法又は増幅法といった分析方法を用いてmRNA発現レベルで検出される。他の例としては、CRHの存在又は値は、例えば免疫測定法（例えばELISA）又は免疫組織化学的測定法を用いてタンパク質発現レベルで検出される。血清、血漿、唾液、又は尿試料中のCRHの存在又は値を決定するための適切なELISAキットは、例えば、Alpco Diagnostics (Salem, NH) 及びCosmo Bio Co., Ltd. (Tokyo, Japan) から入手することができる。

10

【0169】

(M. 抗好中球抗体群)

試料中のANCA値及び/又はpANCAの存在又は非存在の決定はまた、本発明においては有用である。本明細書において、「抗好中球抗体 (anti-neutrophil antibodies)」又は「ANCA」という用語は、好中球の細胞質及び/又は核成分に対する抗体群を含む。ANCA活性は、好中球におけるANCAの染色パターン：(1)核周囲の際立った明るさを伴わない好中球細胞質の染色(cANCA)；(2)核の外縁周りの核周辺部の染色(pANCA)；(3)核の内縁周りの核周辺部の染色(NSNA)；及び(4)好中球全体に渡る小斑点状を伴う拡散した染色(SAPPA)、に基づいて、いくつかの幅のある分類に分けられる。ある例としては、pANCA染色は、DNase処理に感受性がある。ANCAという用語は、これに限られないが、cANCA、pANCA、NSNA、及びSAPPAを含む、すべての種類の抗好中球反応性を含む。同様にANCAという用語は、これに限られないが、免疫グロブリンA及びGを含むすべての免疫グロブリンのアイソタイプを含む。

20

【0170】

個体からの試料におけるANCA値は、例えば、アルコールで固定した好中球に対して酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)のような免疫測定法を用いて決定することができる。pANCAといった特定の種類のANCAの存在又は非存在は、例えば、間接的蛍光抗体分析(indirect fluorescent antibody (IFA) assay)といった免疫組織化学的測定法を用いて決定することができる。好ましくは、試料中のpANCAの存在又は非存在は、DNase処理した固定された好中球に対して免疫蛍光分析を用いて決定される。固定した好中球に加えて、ANCA値を決定するために適したANCA特異的抗原は、これに限定されないが、非精製又は部分的に精製された好中球抽出物；ヒストンH1又はこれらのANCA反応性断片の精製タンパク質、タンパク質フラグメント、又は合成ペプチド（例えば、米国特許第6074835号を参照）；ヒストンH1様抗原、ポーリン抗原、バクテロイド抗原、又はこれらのANCA反応性断片（例えば、米国特許第6033864号を参照）；分泌小胞抗原又はこれらのANCA反応性断片（例えば、米国特許出願第08/804106号を参照）；及び抗ANCAのイデオタイプの抗体を含む。当業者は、ANCAに特異的な、追加の抗原の使用が本発明の範囲内であることを認識している。

30

40

【0171】

(N. 抗サッカロマイセス・セレビジエ抗体)

試料中のASCA（例えば、ASCA-IgA及び/又はASCA-IgG）値の決定はまた、本発明においては有用である。本明細書において、「抗サッカロマイセス・セレビジエ免疫グロブリンA (anti-Saccharomyces cerevisiae immunoglobulin A)」又は「ASCA-IgA」という用語は、S.セレビジエと特異的に反応する免疫グロブリンAのアイソタイプの抗体を含む。同様に、「抗サッカロマイセス・セレビジエ免疫グロブリンG (anti-Saccharom

50

yces cerevisiae immunoglobulin G)」又は「ASCA - IgG」という用語は、S.セレビジエと特異的に反応する免疫グロブリンGのアイソタイプの抗体を含む。

#### 【0172】

試料がASCA - IgA及び/又はASCA - IgGに陽性であるか否かの決定は、ASCA特異的抗原を用いて行われる。そのような抗原は、ASCA - IgA及び/又はASCA - IgGに特異的に結合するあらゆる抗原又は抗原の混合物であることができる。ASCA抗体は、当初はS.セレビジエに結合できることによって特徴づけていたが、当業者は、ASCAに特異的に結合される抗原が、S.セレビジエから、又は抗原がASCA抗体に特異的に結合できる限り様々な他の供給源から獲得することができることを認識している。従って、試料中のASCA - IgA及び/又はASCA - IgG値を決定するために使用できるASCA特異的抗原の典型的な源は、これに限られないが、サッカロマイセス(Saccharomyces)又はカンジダ(Candida)細胞といった完全に死滅した酵母細胞；ホスホペプチドマンナン(DPM)のような酵母細胞壁マンナン；オリゴマンノシドのような多糖類；ネオ糖脂質；抗ASCAイデオタイプ抗体；及び同様のものを含む。S.セレビジエ株Su1、Su2、CBS1315、又はBM156、あるいはカンジダ・アルビカンス(Candida albicans)株VW32といった異なる種及び株の酵母は、ASCA - IgA及び/又はASCA - IgGに特異的な抗原としての使用に適している。ASCAに特異的な精製抗原又は合成抗原はまた、試料中のASCA - IgA及び/又はASCA - IgG値の決定における使用に適している。精製抗原の例は、これに限られないが、オリゴマンノシドといった精製多糖抗原を含む。合成抗原の例は、これに限られないが、米国特許出願公開第20030105060号に述べられているような合成オリゴマンノシドを含む。例えば、D-Man(1-2)D-Man(1-2)D-Man(1-2)D-Man-OR、D-Man(1-2)D-Man(1-2)D-Man(1-2)D-Man-OR、及びD-Man(1-3)D-Man(1-2)D-Man(1-2)D-Man-ORであり、ここでRは水素原子、C<sub>1</sub>からC<sub>20</sub>のアルキル、又は選択的にラベルされた連結基である。

10

20

#### 【0173】

酵母細胞壁マンナン、例えば、PPM、の標品は、試料中のASCA - IgA及び/又はASCA - IgG値を決定する際に用いられる。そのような可溶性表面抗原は、当該分野で知られる適切な抽出技術、例えば、高圧滅菌処理によって用意することができ、又は市販で得ることができる(例えば、Lindbergら、Gut, 33:909-913(1992)を参照)。PPMの酸安定性画分はまた、本発明の統計的アルゴリズムにおいて有用である(例えば、Sendidら、Clin. Diag. Lab. Immunol., 3:219-226(1996)を参照)。試料中のASCA値を決定するのに有用な、典型的なPPMはS.ウパラム(S. uvarum)株ATCC#38926から得られる。

30

#### 【0174】

オリゴマンノシドのような精製多糖抗原はまた、試料中のASCA - IgA及び/又はASCA - IgG値を決定するのに用いることができる。精製オリゴマンノシド抗原は、例えば、Failleら、Eur. J. Microbiol. Infect. Dis., 11:438-446(1992)に述べられているように、好んで、ネオ糖脂質に変換される。当業者は、そのようなオリゴマンノシド抗原のASCAとの反応が、マンノシル鎖の長さ(Froshら、Proc Natl. Acad. Sci. USA, 82:1194-1198(1985)を参照)；アノマー配置(Fukazawaら、In "Immunology of Fungal Disease," E. Kurstak(ed.), Marcel Dekker Inc., New York, pp. 37-62(1989)；Nishikawaら、Microbiol. Immunol., 34:825-840(1990)；Poulainら、Eur. J. Clin. Microb

40

50

iol., 23:46-52 (1993); Shibataら、Arch. Biochem. Biophys., 243:338-348 (1985); Trinelら、Infect. Immun., 60:3845-3851 (1992)を参照); 又は連結部位 (Kikuchiら、Planta, 190:525-535 (1993)を参照)、を改変することによって最適化されうることを理解している。

#### 【0175】

本発明の方法における使用に適したオリゴマンノシドは、これに限定されないが、マンノテトラオースMan(1-3)Man(1-2)Man(1-2)Manを持つオリゴマンノシドを含む。そのようなオリゴマンノシドは、例えば、上記のFailleらの文献に述べられるようにPPMから精製することができる。ASCA特異的である、典型的なネオ糖脂質は、それぞれのPPMからオリゴマンノシドを放出し、次に放出されたオリゴマンノシドを4-ヘキサデシルアニリン又は同様のものとカップリングさせることによって構築することができる。

10

#### 【0176】

(O. 抗菌性抗体群)

試料中の抗OmpC抗体の値の決定はまた、本発明においては有用である。本明細書において、「抗外膜タンパク質C抗体(anti-outer membrane protein C antibody)」又は「抗OmpC抗体(anti-OmpC antibody)」という用語は、例えば、国際公開第WO01/89361号に述べられるように細菌の外膜ポーリンに対する抗体を含む。「外膜タンパク質C(outer membrane protein C)」又は「OmpC」は抗OmpC抗体と免疫反応する細菌のポーリンのことを言う。

20

#### 【0177】

個体からの試料中に存在する抗OmpC抗体の値は、OmpCタンパク質又は免疫反応性を有する断片といったその断片を用いて決定することができる。試料中の抗OmpC抗体の値を決定するのに有用で適したOmpC抗原は、これに限られないが、OmpCタンパク質、OmpCタンパク質と実質的に同じアミノ酸配列を持つOmpCポリペプチド、又は免疫反応性を有する断片といったその断片を含む。本明細書において、OmpCポリペプチドは一般的に、CLUSTALWのような配列アライメントプログラムを用いて決定されるアミノ酸同一性において、OmpCタンパク質と約50%以上の同一性、好ましくは約60%以上の同一性、さらに好ましくは約70%以上の同一性、さらにより好ましくは約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、又は99%以上のアミノ酸配列の同一性のあるアミノ酸配列を持つポリペプチドを言う。例えば、エシエリヒア・コリ(E. coli)のような腸内細菌からの精製、Genbank Accession No. K00541などの核酸の組み換えによる発現、液相又は固相ペプチド合成のような合成法、又はファージディスプレイ法を用いることによって、そのような抗原を得ることができる。

30

#### 【0178】

試料中の抗I2抗体の値の決定はまた、本発明において有用である。本明細書において、「抗I2抗体(anti-I2 antibody)」という用語は、例えば、米国特許第6309643号に述べられるような細菌の転写制御因子と相同性を共有する微生物抗原に対する抗体を含む。「I2」という用語は、抗I2抗体と免疫反応性がある微生物抗原のことを言う。微生物I2タンパク質は、C・パスツリアヌム(C. pasteurianum)由来の予測タンパク質4(predicted protein 4)、マイコバクテリウム・ツバクロシス(Mycobacterium tuberculosis)由来のRv3557c、及びアクイフェックス・エオリカス(Aquifex aeolicus)由来の転写制御因子とある程度の類似性と弱い相同性を共有する100アミノ酸のポリペプチドである。I2タンパク質の核酸及びタンパク質配列は、例えば、米国特許第6309643号に述べられている。

40

#### 【0179】

50

個体からの試料中の抗I2抗体の値は、I2タンパク質又は免疫反応性を有する断片といったその断片を用いて決定することができる。試料中の抗I2抗体の値を決定するのに有用で適したI2抗原は、これに限られないが、I2タンパク質、I2タンパク質と実質的に同じアミノ酸配列を持つI2ポリペプチド、又は免疫反応性を有する断片といったその断片を含む。そのようなI2ポリペプチドは、C・パスツリアヌムのタンパク質4よりもI2タンパク質に高い配列類似性を示し、そのアイソタイプ変異型及びホモログを含む。本明細書において、I2ポリペプチドは一般的に、CLUSTALWのような配列アライメントプログラムを用いて決定されるアミノ酸同一性において、自然発生のI2タンパク質と約50%以上の同一性、好ましくは約60%以上の同一性、さらに好ましくは約70%以上の同一性、さらにより好ましくは約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、又は99%以上のアミノ酸配列の同一性のあるアミノ酸配列を持つポリペプチドを言う。例えば、そのようなI2抗原は、微生物からの精製、I2抗原をコードする核酸の組み換えによる発現、液相又は固相ペプチド合成のような合成方法、又はファージディスプレイ法を用いることによって用意することができる。

10

20

30

40

50

#### 【0180】

試料中の抗フラジェリン抗体の値の決定はまた、本発明において有用である。本明細書において、「抗フラジェリン抗体 (anti-flagellin antibody)」という用語は、国際公開第WO03/053220号及び米国特許出願公開第20040043931号に述べられる細菌鞭毛の蛋白性構成成分に対する抗体を含む。「フラジェリン (flagellin)」という用語は、抗フラジェリン抗体に免疫反応性を有する細菌の鞭毛のタンパク質を言う。微生物のフラジェリンは、フィラメント形成のために中空の筒状に構成された細菌の鞭毛に見られるタンパク質である。

#### 【0181】

個体からの試料中の抗フラジェリン抗体の値は、フラジェリンタンパク質又は免疫反応性を有する断片といったその断片を用いて、決定することができる。試料中の抗フラジェリン抗体の値を決定するのに有用で適したフラジェリン抗原は、これに限定されないが、Cbir-1フラジェリン、フラジェリンX、フラジェリンA、フラジェリンB、それらの断片、及びそれらの組み合わせといったフラジェリンタンパク質、フラジェリンタンパク質と実質的に同じアミノ酸配列を有するフラジェリンポリペプチド、又は免疫反応性を有する断片といったその断片を含む。本明細書において、フラジェリンポリペプチドは、一般に、CLUSTALWのような配列アライメントプログラムを用いて決定されるアミノ酸同一性において、自然発生のフラジェリンタンパク質と約50%以上の同一性、好ましくは約60%以上の同一性、さらに好ましくは約70%以上の同一性、さらにより好ましくは約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、又は99%以上のアミノ酸配列の同一性のあるアミノ酸配列を持つポリペプチドを言う。そのようなフラジェリン抗原は、ヘリコバクター・ピリス (Helicobacter Bilis)、ヘリコバクター・ムステレ (Helicobacter mustelae)、ヘリコバクター・ピロリ (Helicobacter pylori)、ブチリビブリオ・フィブリゾーベンス (Butyrivibrio fibrisolvens)、及び盲腸中で認められる細菌からの精製、フラジェリン抗原をコードする核酸の組み換えによる発現、液相又は固相ペプチド合成のような合成方法、又はファージディスプレイ法を用いることによって用意することができる。

#### 【0182】

(P. 他の診断マーカー)

試料中のラクトフェリンの存在又は値の決定はまた、本発明において有用である。ある例としては、ラクトフェリンの存在又は値は、例えば、ハイブリダイゼーション法又は増幅法といった分析方法を用いてmRNA発現レベルで検出される。他の例としては、ラクトフェリンの存在又は値は、例えば、免疫測定法 (例えばELISA) 又は免疫組織学的測定法を用いてタンパク質発現レベルで検出される。Calbiochem (San Diego, CA) から入手できるラクトフェリンのELISAキットは、血漿、尿、気

管支肺胞洗浄、脳脊髄液試料中のヒトラクトフェリンを検出するために用いることができる。同様に、U . S . B i o l o g i c a l ( S w a m p s c o t t , M A ) から入手できるE L I S Aキットは、血漿試料中のラクトフェリン値を決定するために用いることができる。米国特許出願公開第20040137536号は便試料中の増加したラクトフェリン値の存在を決定するためのE L I S A法について述べている。同様に、米国特許出願公開第20040033537号は、便、粘液、胆汁試料中の内因性ラクトフェリン濃度を決定するためのE L I S A法について述べている。ある実施形態においては、抗ラクトフェリン抗体の存在又は値は、例えば、ラクトフェリタンパク質又はその断片を用いて試料中で決定することができる。

【0183】

E L I S Aのような免疫測定法はまた、試料中のC - 反応性タンパク質 ( C R P ) の存在又は値を決定するために有用である。例えば、A l p c o D i a g n o s t i c s ( S a l e m , N H ) から入手することができるサンドイッチ比色E L I S A法は、血清、血漿、尿、便試料中のC R P値を決定するために用いることができる。同様に、B i o m e d a C o r p o r a t i o n ( F o s t e r C i t y , C A ) から利用することができるE L I S Aキットは、試料中のC R P値を検出するために用いることができる。試料中のC R P値を決定するための他の方法は、例えば米国特許第6838250号及び第6406862号；及び米国特許出願公開第20060024682号及び第20060019410号において述べられている。

【0184】

加えて、潜血、便中の潜血は、しばしば胃腸病の指標となり、様々なキットが胃腸出血を観察するために開発されてきた。例えば、H e m o c c u l t S E N S Aは、B e c k m a n C o u l t e rの製品であるが、胃腸出血、鉄欠乏、消化性潰瘍、潰瘍性大腸炎、及び、ある例としては大腸癌のスクリーニングにおいて、診断の助けとなるものである。この特定の分析方法は、青色を生じる過酸化水素によるグアヤク脂の酸化に基づく。同様の比色法は、便試料中の血液を検出するために、H e l e n a L a b o r a t o r i e s ( B e a u m o n t , T X ) から、市販で入手することができる。ヘモグロビン又はヘム活性の存在又は値を決定することによる便試料中の潜血を検出するための他の方法は、例えば米国特許第4277250号、第4920045号、第5081040号、及び第5310684号において述べられている。

【0185】

試料中のフィブリノーゲン又はフィブリノペプチドといったそのタンパク質分解生成物の存在又は値の決定はまた、本発明において有用である。フィブリノーゲンは、肝臓で合成される血漿糖タンパク質で、3つの構造的に異なるサブユニット： ( F G A ) ; ( F G B ) ; 及び ( F G G ) を含む。スロンピンは、フィブリノーゲン分子の限定的なタンパク質分解を引き起こし、フィブリノペプチドA及びBが 及び 鎖のN末端領域からそれぞれ放出される。フィブリノペプチドA及びBは、多くの生物種で配列解読がなされており、血管収縮剤としての生理的役割及び血液凝固における局所止血に作用すると思われる。1つの実施形態において、ヒトフィブリノペプチドAは、配列：A l a - A s p - S e r - G l y - G l u - G l y - A s p - P h e - L e u - A l a - G l u - G l y - G l y - G l y - V a l - A r g ( 配列番号1 ) を含む。他の実施形態においては、ヒトフィブリノペプチドBは、配列：G l p - G l y - V a l - A s n - A s p - A s n - G l u - G l u - G l y - P h e - P h e - S e r - A l a - A r g ( 配列番号2 ) を含む。A m e r i c a n D i a g n o s t i c a I n c . ( S t a m f o r d , C T ) から入手することができるE L I S Aキットは、血漿又は他の生物学的な液体中のヒトフィブリノペプチドAの存在又は値を検出するために用いることができる。

【0186】

ある実施形態においては、試料中のカルシトニン遺伝子関連ペプチド ( C G R P ) の存在又は値を検出することは、本発明において有用である。カルシトニンは、甲状腺の傍濾胞細胞によって合成される32アミノ酸のペプチドホルモンである。それは、副甲状腺の

10

20

30

40

50

ものとは反対の効果である、血清カルシウム濃度の低下をもたらす。CGRPは、カルシトニンとともに、染色体11上に配座するCT/CGRP遺伝子に由来する。CGRPは37アミノ酸のペプチドで、強い内因性血管拡張剤である。CGRPは主に神経組織で生成される；しかしながら、その受容体は体中に発現する。Cayman Chemical Co. (Ann Arbor, MI) から入手することができるELISAキットは、血漿、血清、神経組織、CSF、及び培養液を含む様々な試料におけるヒトCGRPの存在又は値を検出するために用いることができる。

【0187】

他の実施形態においては、試料中の抗組織型トランスグルタミナーゼ抗体（抗tTG抗体）の存在又は値の決定は、本発明において有用である。本明細書において、「抗tTG抗体 (anti-tTG antibody)」という用語は、組織型トランスグルタミナーゼ (tTG) 又はその断片を認識するあらゆる抗体を含む。トランスグルタミナーゼは、偏在し、種間で高く保存されたCa<sup>2+</sup>依存性酵素の多様なファミリーである。すべてのトランスグルタミナーゼ群の中で、tTGは最も広く分布している。ある例としては、抗tTG抗体は、抗tTG・IgA抗体、抗tTG・IgG抗体、又はこれらの混合物である。ScheBo Biotech USA Inc. (Marietta, GA) から入手することができるELISAキットは、血液試料中のヒト抗tTG・IgA抗体の存在又は値を検出するために用いることができる。

10

【0188】

試料中のNOD2/CARD15遺伝子における多型の存在の決定はまた、本発明において有用である。例えば、R703Wタンパク質変異に帰するC2107T核酸変異といったNOD2遺伝子における多型は、個体からの試料において同定することができる（例えば、米国特許出願公開第20030190639号を参照）。他の実施形態においては、NOD2のmRNAレベルは、IBSを分類する助けとなるために本発明の診断マーカーとして用いることができる。

20

【0189】

試料中のセロトニン再取り込み輸送体 (SERT) 遺伝子における多型の存在の決定はまた、本発明において有用である。例えば、SERT遺伝子のプロモーター領域における多型は、転写活性に影響し、5-HT再取り込み効率を変える結果となる。SERT-P欠損/欠損遺伝子型とIBS表現型の間には強い遺伝子型の関連が観察されることが報告されている（例えば、Yeo, Gut, 53:1396-1399 (2004) を参照）。他の実施形態においては、SERTのmRNAレベルは、IBSを分類する助けとなるために本発明の診断マーカーとして用いることができる（例えば、Gershon, J. Clin. Gastroenterol., 39 (5 Suppl.): S184-193 (2005) を参照）。

30

【0190】

ある態様では、トリプトファン水酸化酵素1のmRNAのレベルは、診断マーカーである。例えば、トリプトファン水酸化酵素1のmRNAは、IBSにおいては有意に減少していることが示されている（例えば、Coats, Gastroenterology, 126:1897-1899 (2004) を参照）。ある他の態様では、メタンを測定するためのラクツロース呼気検査は、細菌の過剰増殖の指標となるが、IBS試料としての分類のための診断マーカーとして用いることができる。

40

【0191】

追加の診断マーカーは、これに限られないが、L-セレクチン/CD62L、抗U1-70kDa自己抗体、密着結合タンパク質1 (ZO-1)、血管作動性腸管ペプチド (VIP)、血清アミロイドA、ガストリン、NB3遺伝子多型、NCI1遺伝子多型、便中白血球、2A及び2Cアドレナリン受容体遺伝子多型、IL-10遺伝子多型、TNF- $\alpha$  遺伝子多型、TNF- $\beta$  1遺伝子多型、アドレナリン受容体、Gタンパク質、5-HT<sub>2A</sub> 遺伝子多型、5-HT<sub>1B</sub> LPR遺伝子多型、5-HT<sub>4</sub> 受容体遺伝子多型、ゾヌリン、及び33merペプチドを含む (Shanら、Science, 297:22

50

75 - 2279 (2002) ; 国際公開第03 / 068170号を参照)。

【0192】

(VI. 分類マーカー群)

様々な分類マーカーが、IBSをカテゴリ、型、臨床上のサブタイプ、例えば、IBS便秘型 (IBS - C)、IBS下痢型 (IBS - D)、IBS混合型 (IBS - M)、IBS交替型 (IBS - A)、又は感染後IBS (IBS - IP) に分類するための本発明の方法、システム、コードにおける使用のために適している。分類マーカーの例は、これに限定されないが、上記のあらゆる診断マーカー (例えば、レプチン、セロトニン再取り込み輸送体 (SERT)、トリプトファン水酸化酵素1、5 - ヒドロキシトリプタミン (5 - HT)、及び同様のもの) とともに腔粘膜タンパク質8、ケラチン - 8、クラウディン - 8、ゾヌリン、コルチコトロピン放出ホルモン受容体1 (CRHR1)、コルチコトロピン放出ホルモン受容体2 (CRHR2)、及び同様のものを含む。

10

【0193】

例えば、実施例1は、レプチン値の測定がIBS - C患者試料をIBS - A及びIBS - D患者試料から識別するために特に有用であることを示す。加えて、粘性SERT及びトリプトファン水酸化酵素1の発現は、IBS - C及びIBS - Dでは減少していることが示されている (例えば、Gershon, J. Clin. Gastroenterol., 39 (5 Suppl) : S184 - 193 (2005) を参照)。さらに、IBS - C患者は、弱まった食後の5 - HT放出を示し、IBS - PI患者は、より高いピークレベルの5 - HTを有する (例えば、Dunlop, Clin Gastroenterol Hepatol., 3 : 349 - 357 (2005) を参照)。

20

【0194】

(VII. 分析)

当該分野における様々な分析、技術、及びキットの全ては、試料がIBSに関連するかどうかを分類するために試料における1つ又はそれ以上のマーカーの存在又は値を決定するために用いることができる。

【0195】

本発明は、一部分は、個体から得られる試料中の少なくとも1つのマーカーの存在又は値を決定することによる。本明細書において、「少なくとも1つのマーカーの存在を決定すること (determining the presence of at least one marker)」という用語は、当業者に知られたあらゆる量的及び質的分析を用いることによって、関心のあるそれぞれのマーカーの存在を決定することを含む。ある例としては、特定の形質、変化、又は生化学的もしくは血清学的な物質 (例えば、タンパク質又は抗体) の存在又は値を決定する質的分析は、関心のあるそれぞれのマーカーを検出するために適している。他の例としては、RNA、タンパク質、抗体、又は活性の存在又は非存在を決定する量的分析は、関心のあるそれぞれのマーカー値を検出するために適している。本明細書において、「少なくとも1つのマーカー値を決定すること (determining the level of at least one marker)」という用語は、当業者に知られたあらゆる直接的又は間接的な量的分析によって関心のあるそれぞれのマーカー値を決定することを含む。ある例としては、例えば、RNA、タンパク質、抗体又は活性の相対的あるいは絶対的な量を決定する量的分析は、関心のあるそれぞれのマーカー値を決定するために適している。当業者は、マーカー値を決定するために有用なあらゆる分析がまた、そのマーカーの存在又は非存在を決定するために有用であることを認識している。

30

40

【0196】

本明細書において、「抗体 (antibody)」という用語は、免疫グロブリン分子の集団を含み、それはポリクローナル又はモノクローナル、又はどのようなアイソタイプであってもよく、あるいは免疫グロブリン分子の免疫活性断片であってもよい。そのような免疫活性断片は、重鎖及び軽鎖の可変領域を含み、これらは特異的に抗体に結合する抗体分子の部分を構成する。例えば、当該分野では、Fab、Fab'、又はF(ab')

50

2として知られる免疫グロブリン分子の免疫活性断片は、抗体という用語の意味に含まれる。

【0197】

フローサイトメトリーは、試料中の1つ又はそれ以上のマーカーの存在又は値を決定するために使用することができる。そのようなフローサイトメトリー分析は、粒子に基づく免疫測定法を含むが、例えば、カンジダ・アルピカンス及びHIVタンパク質に対する血清抗体を検出するために述べられるのと同じ方法で抗体マーカー値を決定するために用いることができる(例えば、Bishop and Davis, *J. Immunol. Methods*, 210:79-87(1997); McHughら、*J. Immunol. Methods*, 116:213(1989); Scillianら、*Blood*, 73:2041(1989)を参照)。

10

【0198】

マーカーに特異的な組み換え抗原を発現するためのファージディスプレイ技術はまた、試料中の1つ又はそれ以上のマーカーの存在又は値を決定するために用いることができる。例えば、抗体マーカーに特異的な抗原を発現しているファージ粒子は、必要に応じて、抗ファージモノクローナル抗体といった抗体を用いて、多孔プレートに固定することができる(Feliciら、"Phage-Displayed Peptides as Tools for Characterization of Human Sera" in Abelson(Ed.), *Methods in Enzymol.*, 267, San Diego: Academic Press, Inc.(1996)を参照)。

20

【0199】

様々な免疫測定法技術は、競合的及び非競合的免疫測定法を含むが、試料中の1つ又はそれ以上のマーカーの存在又は値を決定するために用いることができる(例えば、Self and Cook, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 7:60-65(1996)を参照)。免疫測定法という用語は、これに限られないが、酵素多重免疫測定法(enzyme multiplied immunoassay technique(EMIT))、酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)、抗原捕獲ELISA、サンドイッチELISA、IgM抗体捕獲ELISA(IgM antibody capture ELISA(MACELISA))、及び微量分子酵素免疫測定法(microparticle enzyme immunoassay(MEIA))といった酵素免疫測定法(enzyme immunoassays(EIA));キャピラリー電気泳動免疫測定法(CEIA);放射免疫測定法(radioimmunoassays(RIA));免疫放射線測定法(immunoradiometric assays(IRMA));蛍光偏光免疫測定法(fluorescence polarization immunoassays(FPIA));及び化学発光測定法(chemiluminescence assays(CL))を含む技術を包含する。必要に応じて、そのような免疫測定法は、自動化されてもよい。免疫測定法は、またレーザーに誘導される蛍光と連結して用いられてもよい(例えば、Schmalzing and Nashabeh, *Electrophoresis*, 18:2184-2193(1997); Bao, *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci.*, 699:463-480(1997)を参照)。フローインジェクションリポソーム免疫測定法及びリポソーム免疫センサーといったリポソーム免疫測定法はまた、本発明における使用に適している(例えば、Rongen et al., *J. Immunol. Methods*, 204:105-133(1997)を参照)。加えて、タンパク質/抗体複合体の形成が、マーカーの濃度に応じてピーク信号に変換される増加した光分散をもたらすネフェロメトリー法は、本発明における使用に適している。ネフェロメトリー法は、Beckman Coulter(Brea, CA; Kit#449430)から入手することができ、Behring Nephelometer Analyzerを用いて実施することが可能である(Finkら、*J. Clin. Chem. Clin. Biol. Chem.*

30

40

50

, 27:261-276 (1989) を参照)。

【0200】

抗原捕獲 E L I S A は、試料中の 1 つ又はそれ以上のマーカーの存在又は値を決定するために用いることができる。例えば、抗原捕獲 E L I S A では、関心のあるマーカーに対する抗体は固相に結合され、そのマーカーが当該抗体によって結合されるように試料が添加される。非結合型タンパク質が洗浄によって除かれた後、結合型マーカーの量を、例えば、放射線免疫測定法を用いて定量することができる。(例えば、Harlow and Lane、Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York (1988) を参照)。サンドイッチ E L I S A はまた、本発明における使用に適している。例えば、2 抗体サンドイッチ測定法では、第 1 抗体が固体基盤に結合し、関心のあるマーカーが第 1 抗体に結合することが可能となる。そのマーカーの量は、当該マーカーに結合する第 2 抗体の量を測定することによって定量される。本抗体は、磁性又はクロマトグラフの基質粒子、分析プレートの表面(例えば、マイクロタイタープレート)、個体基質素材または膜の一部(例えばプラスチック、ナイロン、紙)及び同様のものといった、様々な固体基盤に固定させることが可能である。分析ストリップは、固体基盤上に抗体又は複数の抗体を整列してコーティングすることによって用意することができる。当該ストリップは、その後、試験試料に浸されてもよいし、有色点といった測定可能なシグナルを生じさせるため、すぐに洗浄及び検出工程によって処理されてもよい。

10

【0201】

例えば、ヨウ素 - 125 ( $^{125}\text{I}$ ) で標識した第 2 抗体 (Harlow and Lane、上記参照) を用いた放射線免疫測定法はまた、試料中の 1 つ又はそれ以上のマーカーの存在又は値を決定するために適している。化学発光マーカーに標識された第 2 抗体はまた、本発明における使用に適している。化学発光第 2 抗体を用いた化学発光法は、マーカー値の高感度な非放射性検出に適している。そのような第 2 抗体は、様々な市販源、例えば Amersham Lifesciences, Inc. (Arlington Heights, IL) から市販で取得することができる。

20

【0202】

上記の免疫測定法は特に、試料中の 1 つ又はそれ以上のマーカーの存在又は値を決定するために有用である。限定されない例として、抗 IL - 8 抗体又は細胞外 IL - 8 結合タンパク質 (例えば、IL - 8 受容体) といった IL - 8 結合分子を用いた E L I S A 法は、試料が IL - 8 タンパク質に陽性かどうかを決定するため、あるいは試料中の IL - 8 タンパク質値を決定するために有用である。固定された好中球 E L I S A は、試料が ANCA に陽性かどうかを決定するため、あるいは試料中の ANCA 値を決定するために有用である。同様に、酵母細胞壁ホスホペプチドマンナンを用いた E L I S A 法は、試料が ASCA - IgA 及び / 又は ASCA - IgG に陽性であるか否かを決定するため、あるいは試料中の ASCA - IgA 及び / 又は ASCA - IgG 値を決定するために有用である。OmpC タンパク質又はその断片を用いた E L I S A 法は、試料が抗 OmpC 抗体に陽性かどうかを決定するために、あるいは試料中の抗 OmpC 抗体の値を決定するために有用である。I2 タンパク質又はその断片を用いた E L I S A 法は、試料が抗 I2 抗体に陽性であるか否かを決定するために、あるいは試料中の抗 I2 抗体の値を決定するために有用である。フラジェリンタンパク質 (例えば、Cbir - 1 フラジェリン) 又はその断片を用いた E L I S A 法は、試料が抗フラジェリン抗体に陽性かどうかを決定するために、あるいは試料中の抗フラジェリン抗体の値を決定するために有用である。加えて、上記の免疫測定法は特に試料中の診断マーカーの存在又は値を決定するために有用である。

30

40

【0203】

関心のあるマーカーに対する抗体の特異的な免疫結合は、直接的又は間接的に検出されることが可能である。直接的標識は、蛍光又は発光タグ、金属、色素、放射性核種及び同様のものを含み、抗体に結合される。ヨウ素 125 ( $^{125}\text{I}$ ) で標識された抗体は試料中の 1 つ又はそれ以上のマーカー値を決定するために使用することができる。マーカーに

50

対し特異的な化学発光抗体を用いた化学発光法は、マーカー値の高感度な非放射性検出に適している。蛍光色素で標識された抗体はまた、試料中の1つ又はそれ以上のマーカー値を決定するために適している。蛍光色素の例は、これに限定されないが、DAPI、フルオレセイン、ヘキスト33258、R-フィコシアニン、B-フィコエリスリン、R-フィコエリスリン、ローダミン、テキサスレッド、及びリサミンを含む。化学発光体に結合した2次抗体は、市販で入手することが可能であり、例えば、ヤギF(ab')<sub>2</sub>抗ヒトIgG-FITCは、Tago Immunologicals (Burlingame, CA) から入手することが可能である。

#### 【0204】

間接的標識は、セイヨウワサビ・ペルオキシダーゼ (HRP)、アルカリホスファターゼ (AP)、ガラクトシダーゼ、ウレアーゼ、及び同様のものといった、当該分野においてよく知られた様々な酵素を含む。セイヨウワサビ・ペルオキシダーゼ検出システムは、例えば、発色基質のテトラメチルベンジジン (TMB) とともに用いることができ、過酸化水素存在下で、450 nmで検出可能な可溶性生成物をもたらす。アルカリホスファターゼ検出システムは、発光基質であるp-ニトロフェニルホスフェートとともに用いることができ、例えば、405 nmで直ちに検出可能な可溶性生成物をもたらす。同様に、

ガラクトシダーゼ検出システムは、発光基質であるo-ニトロフェニル-D-ガラクトピラノシド (ONPG) とともに用いることができ、それは、410 nmで検出可能な可溶性生成物をもたらす。ウレアーゼ検出システムは、ウレア-プロモクレゾールパープル (Sigma Immunochemicals; St. Louis, MO) のような基質とともに用いることができる。酵素に結合した有用な2次抗体は、多くの市販源から入手することが可能であり、例えば、ヤギF(ab')<sub>2</sub>抗ヒトIgG-アルカリホスファターゼは、Jackson ImmunoResearch (West Grove, PA) から購入することができる。

#### 【0205】

直接又は間接的標識からのシグナルは、例えば、化学発光基質からの色を検出するために分光光度計；<sup>125</sup>Iの検出のためにカウンターといった放射能検出のための放射能カウンター；ある波長の光の存在下で蛍光を検出するために蛍光計を用いて、解析することができる。酵素結合抗体の検出のために、マーカー値の量の量的分析は、メーカーの指導に従ってEMAXマイクロプレートリーダー (Molecular Devices; Menlo Park, CA) といった分光光度計を用いて行うことができる。必要があれば、本発明の分析は、自動で、又はロボットによって実施されてもよく、様々な試料からのシグナルは、同時に検出されてもよい。

#### 【0206】

定量ウエスタンブロット法はまた、試料中の1つ又はそれ以上のマーカーの存在又は値を検出、もしくは決定するために用いることができる。ウエスタンブロットは、濃度又は光画像を走査するといった、よく知られた方法によって、定量化することが可能である。これに限定されない例として、タンパク質サンプルは、10% SDS-PAGE Laemmliゲル上で電気泳動される。1次マウスモノクローナル抗体は、そのプロットと反応させられ、抗体の結合は、予備的なスロットプロット試験を用いて、直線性があることで確認することができる。ヤギ・抗マウス・セイヨウワサビ・ペルオキシダーゼ結合抗体 (BioRad) は、2次抗体として用いられ、シグナル検出は、化学発光を用いて、例えば、ルネサンス (Renaissance) 化学発光キット (New England Nuclear; Boston, MA) を用いてメーカーの指導に従って行うことができる。プロットのオートラジオグラフは、スキャニング・デンシトメーター (Molecular Dynamics; Sunnyvale, CA) を用いて分析され、陽性対照に対して標準化される。その値は、例えば、陽性対照に対する実値の割合として報告される (densitometric index)。そのような方法は、例えばParraら、J. Vasc. Surg., 28: 669-675 (1998) に述べられているように、当該分野ではよく知られている。

10

20

30

40

50

## 【0207】

代替的には、多様な免疫組織学的測定法技術は、試料中の1つ又はそれ以上のマーカーの存在又は値を決定するために用いることができる。免疫組織学的測定法という用語は、蛍光顕微鏡又は光学顕微鏡を用いた、関心のあるマーカーと反応する抗体に結合させた（即ち共役した）蛍光色素又は酵素の視覚的検出を活用する技術を含み、これに限られないが、直接蛍光抗体測定法、間接蛍光抗体（IFA）測定法、抗補体免疫蛍光法、アビジン・ビオチン免疫蛍光法、および免疫ペルオキシダーゼ測定法を含む。例えば、IFA測定法は、試料がANCAに陽性かどうか、試料中のANCA値、試料がpANCSに陽性かどうか、試料中のpANCA値、及び/又はANCA染色パターン（例えば、cANCA, pANCA, NSNA, 及び/又はSAPPA染色パターン）を決定するために有用である。試料中のANCAの濃度は、例えば、終点滴定によって、又は既知の参照標準と比較して視覚的蛍光強度を測定することによって定量することができる。

10

## 【0208】

代替的には、目的物のマーカーの存在又は値は、精製したマーカーの量を検出又は定量することによって決定することができる。マーカーの精製は、例えば、高圧液体クロマトグラフィー（HPLC）単独、又はマススペクトロメトリーとの併用（例えば、MALDI/MS、MALDI-TOF/MS、SELDI-TOF/MS、タンデムMS、等）によって達成することができる。関心のあるマーカーの質的又は量的検出はまた、これに限定されないが、ブラッドフォード法、クマシーブルー染色、銀染色、放射性同位元素で標識したタンパク質のための分析方法、及びマススペクトロメトリーを含む、よく知られた方法によって決定することができる。

20

## 【0209】

多数のマーカーの分析は、別個に又は1つの試験試料について同時に実施されてもよい。マーカーの別個の又は逐次的な分析のために、適した装置は、Elec Sys (Roche)、the AxSym (Abbott)、the Access (Beckman)、the ADVIA (登録商標)、the CENTAUR (登録商標) (Bayer)、及びthe NICHOLS ADVANTAGE (登録商標) (Nichols Institute) 免疫測定法システムなどの臨床研究室用分析装置を含む。好ましい装置又はタンパク質チップは、単一表面上で多数のマーカーの同時分析を実施する。特に有用な物理的なフォーマットは、多数の異なるマーカー検出のために、多数の独立した、アドレス可能な領域を有する表面からなる。そのようなフォーマットは、タンパク質マイクロアレイ、又は「タンパク質チップ (protein chips)」(例えば、Ngら、J. Cell. Mol. Med., 6: 329-340 (2002)を参照) 及びある種のキャピラリー装置 (例えば、米国特許第6019944号を参照) を含む。これらの実施形態においては、それぞれの独立した表面上の領域は、それぞれの領域で1つ又はそれ以上のマーカーを固定するために、抗体を包含してもよい。表面は、代替的には、表面の独立した領域に固定された1つ又はそれ以上の別個の粒子 (例えば、マイクロ粒子又はナノ粒子) を包含し、そのマイクロ粒子は、検出のための1つ又はそれ以上のマーカーを固定するために抗体を包含する。

30

## 【0210】

関心のある様々なマーカーの存在又は値を決定するための上記の分析方法に加えて、ノザン分析、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR)、又はマーカーがコードする配列の部分相補する核酸配列に対するハイブリダイゼーション法に基づく他のあらゆる方法 (例えば、スロットプロットハイブリダイゼーション) といった一般的な技術を用いたマーカーのmRNAレベルの分析はまた、本発明の範囲内である。実用的なPCR増幅技術は、例えば、Ausubelら、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc. New York (1999), Chapter 7 and Supplement 47; Theophilusら、"PCR Mutation Detection Protocols," Humana Press, (2002); 及びInnisら、PCR P

40

50

rotocols, San Diego, Academic Press, Inc. (1990) に述べられている。一般的な核酸ハイブリダイゼーション法は、Anderson, "Nucleic Acid Hybridization," BIOS Scientific Publishers, 1999 に述べられている。多種の転写された核酸配列（例えば、mRNA 又は cDNA）の増幅又はハイブリダイゼーションはまた、マイクロアレイ上に配列した mRNA 又は cDNA 配列から実施することが可能である。マイクロアレイ法は、一般的には、Hardiman, "Microarrays Methods and Applications: Nuts & Bolts," DNA Press, 2003; 及び Baldiř, "DNA Microarrays and Gene Expression: From Experiments to Data Analysis and Modeling," Cambridge University Press, 2002 に述べられている。

10

20

30

40

#### 【0211】

遺伝子マーカーといったマーカーの遺伝子型の分析は、これに限定されないが、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）に基づいた分析、配列解析、及び電気泳動分析を含む当該分野ではよく知られた技術を用いて行うことができる。PCR に基づく分析方法の非限定的な例は、Applied Biosystems から利用することができる Taqman（登録商標）対立遺伝子識別解析（allelic discrimination assay）を含む。配列解析の非限定的な例は、マキサム・ギルバート法（Maxam-Gilbert sequencing）、サンガー法（Sanger sequencing）、キャピラリーアレイ DNA シークエンス解析（capillary array DNA sequencing）、サーマルサイクラーシークエンス解析（thermal cycle sequencing）（Sears ら、Biotechniques, 13:626-633（1992）を参照）、固相法（solid-phase sequencing）（Zimmerman ら、Methods Mol. Cell Biol., 3:39-42（1992））、マトリクス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析（MALDI-TOF/MS; Fu ら、Nature Biotech., 16:381-384（1998）を参照）といったマススペクトロメトリーを用いたシークエンス解析、及びハイブリダイゼーション法によるシークエンス解析（Chee ら、Science, 274:610-614（1996）; Drmanac ら、Science, 260:1649-1652（1993）; Drmanac ら、Nature Biotech., 16:54-58（1998））を含む。電気泳動分析の非限定的な例は、アガロース、ポリアクリルアミドゲル電気泳動、キャピラリー電気泳動、及び変性勾配ゲル電気泳動といった平板ゲル電気泳動を含む。マーカー中の多型部位での個体の遺伝子型を決定するための他の方法は、例えば、Third Wave Technologies, Inc. からの INVADER（商標登録）assay、制限酵素断片長多型（restriction fragment length polymorphism (RFLP)）分析、アリル特異的オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション（allele-specific oligonucleotide hybridization）、ヘテロ二本鎖分析（heteroduplex motility analysis）、及び一本鎖 DNA 高次構造多型（single-strand conformational polymorphism (SSCP)）分析を含む。

#### 【0212】

関心のある複数のマーカーは、多様な試料の効果的な処理のために 1 試験にまとめられてもよい。加えて、当業者は、同一の被験者からの、試験する多様な試料の値（例えば、連続的な時間点、等）を認識している。そのような一連の試料の試験は、経時的なマーカー値における変化の同定を可能にできる。マーカー値の増減は、マーカー値における変化がないことと同様に、IBS を分類する、又は IBS 様症状と関連する疾病及び障害を排除するために有用な情報を提供する。

#### 【0213】

50

上記の1つ又はそれ以上のマーカーを測定するためのパネルは、試料をIBSに関連するとして分類するための本発明のアプローチに係る関連情報を提供するために構築されていてもよい。そのようなパネルは、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40、もしくはそれ以上の個々のマーカーの存在又は値を決定するために構築されてもよい。単一のマーカー又はマーカー群の分析はまた、様々な臨床背景において当業者によって実施されることが可能である。これらは、巡回、緊急治療、臨床治療、集中治療、モニタユニット、入院患者、通院患者、クリニック、診療所、及び健康診断を含むが、これに限定されない。

#### 【0214】

マーカーの分析は、同様に様々な物理的なフォーマットで実施されてもよい。例えば、マイクロタイタープレート又は、自動化の利用は多くの試験試料の処理を促進するために用いられるかもしれない。代替的には、単一の試料フォーマットが、定期的に、治療と診断を促進するために開発されてもよい。

#### 【0215】

##### (VII. 統計的アルゴリズム)

ある態様においては、本発明は、統計的アルゴリズムを用いて試料がIBSと関連しているか否かを分類するための方法、システム、及びコード、あるいは当該試料をIBS試料又は非IBS試料として分類するためのプロセスを提供する。他の点では、本発明は、第1の統計的アルゴリズムを用いて、試料がIBSと関連しているかどうかを分類するための方法、システム、及びコード、あるいは当該試料を非IBD試料又はIBD試料として分類し(すなわち、IBDを排除するステップ)、それに続く第2の統計的アルゴリズムあるいは非IBD試料をIBS試料又は非IBS試料として分類するプロセス(すなわち、IBS抽出ステップ)を提供する。好ましくは、統計的アルゴリズム又はプロセスは、独立して1つ又はそれ以上の学習統計的分類子システムを含む。当該明細書では、学習統計的分類子システムの組み合わせは、有利に、試料がIBSと関連するか否かを分類することに対する改善された感度、特異度、陰性的中率、陽性的中率、及び/又は精度を提供する。

#### 【0216】

「統計的アルゴリズム(statistical algorithm)」又は「統計処理(statistical process)」という用語は、あらゆる変数間の関係を決定するために用いられる多様な統計分析を含む。本発明では、変数は、関心のある少なくとも1つのマーカーの存在又は値、あるいは少なくとも1つのIBS関連症状の重症度である。あらゆるマーカー又は症状は、当該明細書で述べる統計的アルゴリズムを用いて分析することができる。例えば、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60、又はそれ以上のバイオマーカー及び/又は症状は、統計的アルゴリズムに包含され得る。1つの実施形態においては、ロジスティック回帰が用いられる。他の実施形態においては、直線回帰が用いられる。ある例としては、本発明の統計的アルゴリズムは、変数として、一定の母集団内における特定のマーカーの四分位数測定を用いることができる。四分位数は、(可能な限り)等数の観察結果を含む集団にデータサンプルを分割する一組の「カットポイント(cut points)」である。例えば、四分位数は、データサンプルを(可能な限り)等数の観察結果を含む4つの集団に分割する値である。下位四分位は、順位づけられたデータセットから上位4分の1のデータ値である; 上位四分位は、順位づけられたデータセットから下位4分の1のデータ値である。五分位数は、データサンプルを(可能な限り)等数の観察結果を含む5つの集団に分割する値である。本発明はまた、アルゴリズムにおける変数として(ちょうど連続変数と同じように)、マーカー値のパーセンタイル範囲(例えば、三分位数、四分位数、五分位数、等)、又はその累積指数(例えば、マーカー値の四分位数の合計、等)も含むことができる。

。

10

20

30

40

50

## 【0217】

好ましくは、本発明の統計的アルゴリズムは、1つ又はそれ以上の学習統計的分類子システムを含む。本明細書において、「学習統計的分類子システム (learning statistical classifier system)」という用語は、複雑なデータセット (例えば、関心のあるマーカーのパネル及び/又はIBS関連症状のリスト) に適応し、そのようなデータセットに基づいて決定を下すことが可能な機械学習アルゴリズム技術を含む。ある実施形態においては、分類木 (例えば、ランダムフォレスト) といった単一の学習統計的分類子システムが用いられる。他の実施形態においては、2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10又はそれ以上の学習統計的分類子システムの組み合わせが、好ましくは直列に用いられる。学習統計的分類子システムの例は、これに限定されないが、帰納学習 (例えば、ランダムフォレスト、分類・回帰木 (C&RT)、ブーストされた木、等のような決定・分類木)、PAC学習 (Probably Approximately Correct (PAC) learning)、コネクショニスト学習 (connectionist learning) (例えば、ニューラルネットワーク (NN)、人工ニューラルネットワーク (ANN)、ニューロファジーネットワーク (neuro fuzzy networks (NFN))、ネットワーク構造 (network structure)、多層パーセプトロンといったパーセプトロン、多層フィードフォワードネットワーク (multi-layer feed-forward networks)、ニューラルネットワークの適用、ベイジアンネットワーク (Bayesian network in belief networks)、等)、強化学習 (例えば、ナイーブ学習 (naive learning)、適応型ダイナミック学習 (adaptive dynamic learning)、及び時間的差分学習 (temporal difference learning) といった既知環境下での受動的学習、未知環境下での受動的学習、未知環境下での能動学習、学習行動価値関数、強化学習の適用、等) 及び遺伝的アルゴリズムと進化的プログラミングを含む。他の学習統計的分類子システムは、サポートベクトルマシン (例えば、ケネル法 (Kernel methods))、多適応的回帰スプライン (multivariate adaptive regression splines (MARS))、レーベンベルグ・マルカート (Levenberg-Marquardt) ・アルゴリズム、ガウス・ニュートン (Gauss-Newton) ・アルゴリズム、ガウス混合 (mixture of Gaussian)、勾配降下 (gradient descent) アルゴリズム、及び学習ベクトル量子化 (learning vector quantization (LVQ)) を含む。

10

20

30

## 【0218】

ランダムフォレストは、Leo Breiman及びAdele Cutlerによって開発されたアルゴリズムを用いて構築される学習統計的分類子システムである。ランダムフォレストは、多数の個々の決定木を使用して、個々の木によって決定されたクラス群のモード (すなわち、最も頻繁に起こること) を選択することにより、クラスを決定する。ランダムフォレストは、例えば、Salford Systems (San Diego, CA) から入手することができるランダムフォレストソフトウェアを用いることによって実行することができる。ランダムフォレストの解説については、例えば、Breiman, Machine Learning, 45: 5-32 (2001); 及び [http://stat-www.berkeley.edu/users/breiman/RandomForests/cc\\_home.htm](http://stat-www.berkeley.edu/users/breiman/RandomForests/cc_home.htm) を参照する。

40

## 【0219】

分類・回帰木は、古典的回帰モデルにフィッティングすることに対する、コンピューターを駆使した代替案を示し、一般的に、1つ又はそれ以上の予測変数に基づいた関心のある分類的又は連続的応答のための最良のモデルを決定するために使用される。分類・回帰木分析は、例えば、Salford Systemsから入手することができるCARTソフトウェア、又はStatSoft, Inc. (Tulsa, OK) から入手することがで

50

きる *Statistica data analysis* ソフトウェアを用いて実行することができる。分類・回帰木の解説は、例えば、Breimanら、"Classification and Regression Trees," Chapman and Hall, New York (1984); 及び Steinbergら、"CART: Tree-Structured Non-Parametric Data Analysis," Salford Systems, San Diego, (1995) に示されている。

#### 【0220】

ニューラルネットワークは、計算に対する接続リストアプローチに基づく情報処理のための数理又は計算モデルを用いた、相互結合した人工ニューロン群である。一般的に、ニューラルネットワークは、そのネットワークを流れる外内情報に基づいて、それらの構造を変化する適応型システムである。ニューラルネットワークの具体的な例は、パーセプトロン、単層パーセプトロン、多層パーセプトロン、バックプロパゲーション・ネットワーク、ADALINEネットワーク、MADALINEネットワーク、ランマトリクス・ネットワーク (Learnmatrix networks)、動径基底関数 (radial basis function (RBF)) ネットワーク、及び自己組織化マップ (self-organizing maps) 又はコホネン (Kohonen) 自己組織化ネットワークなどのフィードフォワードニューラルネットワーク; 単純リカレント・ネットワーク (simple recurrent networks) 及びホップフィールド・ネットワーク (Hopfield networks) などのリカレント・ネットワーク; ボルツマンマシン (Boltzmann machines) などの確率的ニューラルネットワーク; コミッティマシン及び関連ニューラルネットワーク群 (committee of machines and associative neural networks) などのモジュール型ニューラルネットワーク; 瞬時訓練型ニューラルネットワーク (instantaneously trained neural networks)、スパイクング・ニューラルネットワーク (spiking neural networks)、ダイナミック・ニューラルネットワーク (dynamic neural networks)、及びカスケード型ニューラルネットワーク (cascading neural networks) といった他の種類のニューラルネットワークを含む。ニューラルネットワーク分析は、例えば、StatSoft, Inc. から入手することができる *Statistica data analysis* ソフトウェアを用いて、実行することができる。ニューラルネットワークの解説については、例えば、Freemanら、In "Neural Networks: Algorithms, Applications and Programming Techniques," Addison-Wesley Publishing Company (1991); Zadeh、Information and Control, 8: 338-353 (1965); Zadeh、"IEEE Trans. on Systems, Man and Cybernetics," 3: 28-44 (1973); Gershoら、In "Vector Quantization and Signal Compression," Kluwer Academic Publishers, Boston, Dordrecht, London (1992); 及び Hassoun、"Fundamentals of Artificial Neural Networks," MIT Press, Cambridge, Massachusetts, London (1995) を参照する。

#### 【0221】

サポートベクターマシンは、分類と回帰に用いられる一連の関連する教師付き学習法であり、例えば、Cristianiniら、"An Introduction to Support Vector Machines and Other Kernel-Based Learning Methods," Cambridge University Press (2000) に述べられている。サポートベクターマシン分析

10

20

30

40

50

は、例えば、Thorsten Joachims (Coenell University) によって構築された SVM<sup>light</sup> ソフトウェア又は Chih-Chung Chang 及び Chih-Jen Lin (National Taiwan University) によって構築された LIBSVM ソフトウェアを用いて、実行することができる。

#### 【0222】

本明細書で述べる学習統計的分類子システムは、健常人、IBS患者、IBD患者、及び/又はセリアック病患者からの一群の試料(例えば、血清試料)を用いて訓練され、かつ試験されることができる。例えば、生検、結腸内視術、又は例えば、米国特許第6218129号に述べられている免疫測定法を用いて、医師及び好ましくは胃腸科専門医によってIBDを保有していると診断された患者の試料は、本発明の学習統計的分類子システムを訓練し、かつ試験する際の使用に適している。IBDと診断された患者からの試料はまた、例えば、米国特許第5750355号及び第5830675号に述べられている免疫測定法を用いて、クローン病又は潰瘍性大腸炎に分類することができる。マニング(Manning)、ローマI、ローマII、又はローマIII診断基準といった公表された基準を用いてIBSと診断された患者からの試料は、本発明の学習統計的分類子システムを訓練し、かつ試験する際の使用に適している。健康な個体からの試料は、IBD及び/又はIBSとして同定されなかったものを含むことができる。当業者は、本発明の学習統計的分類子システムを訓練し、かつ試験する際に使用することができる一群の患者試料を獲得するための追加の技術及び診断基準について知っている。

10

20

#### 【0223】

本明細書において、「感度(sensitivity)」という用語は、本発明の診断方法、システム又はコードが、試料が陽性である(例えば、IBSを有する)場合に陽性結果を出す確率を言う。感度は、真陽性の結果の数を真陽性と偽陰性の合計で割ったものとして計算することができる。感度は、本質的に、本発明の方法、システム又はコードがいかに正しくIBSを有するものを、本疾病を有しないものから区別するかの基準である。統計的アルゴリズムは、IBSを分類する感度が少なくとも約60%であり、例えば、少なくとも約65%、70%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、97%、98%、又は99%でありうるように選択することができる。好ましい実施形態においては、IBSを分類する感度は、学習統計的分類子システムの組み合わせを用いる場合(実施例10を参照)には少なくとも約90%であり、あるいは単一の学習統計的分類子システムを用いる場合(実施例11を参照)には少なくとも約85%である。

30

#### 【0224】

「特異度(specificity)」という用語は、本発明の診断方法、システム、又はコードが、試料が陽性ではない(例えばIBSを有していない)場合に陰性結果を出す確率を言う。特異度は、真陰性の結果の数を真陰性及び偽陽性の合計で割ったものとして計算することができる。特異度は、本質的に、本発明の方法、システム又はコードがいかに正しくIBSを有していないものを、本疾病を有するものから排除するかの基準である。統計的アルゴリズムは、IBSを分類する特異度が少なくとも約70%であり、例えば、少なくとも約75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、97%、98%、又は99%であるように選択することができる。好ましい実施形態においては、IBSを分類する特異度は、学習統計的分類子システムの組み合わせを用いる場合(実施例10を参照)には少なくとも約86%であり、単一の学習統計的分類子システムを用いる場合(実施例11を参照)には少なくとも約84%である。

40

#### 【0225】

本明細書において、「陰性的中率(negative predictive value)」又は「NPV」という用語は、IBSを有していないと同定された個体が実際に

50

当該疾病を有していない確率を言う。陰性的中率は、真の陰性結果の数を真の陰性値と偽の陰性値の合計で割ったものとして計算することができる。陰性的中率は、診断方法、システム、又はコードの特徴に加えて、分析した母集団における疾病の有病率によって決定される。統計的アルゴリズムは、疾病の有病率を持つ母集団における陰性的中率が、約70%から約99%の範囲内にある、あるいは、例えば、少なくとも約70%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、97%、98%、又は99%でありうるように選択することができる。好ましい実施形態においては、IBSを分類する陰性的中率は、学習統計的分類子システムの組み合わせを用いた場合（実施例10を参照）には、少なくとも約87%である。

10

## 【0226】

「陽性的中率 (positive predictive value)」又は「PPV」という用語は、IBSを有していると同定された個体が実際に当該疾病を有している確率を言う。陽性的中率は、真の陽性結果の数を真の陽性値及び偽の陽性値の合計で割ったものとして計算される。陽性的中率は、診断方法、システム、又はコードの特徴に加えて、分析した母集団における疾病の有病率によって決定される。統計的アルゴリズムは、疾病の有病率を持つ母集団における陽性的中率が、約80%から約99%の範囲内にある、あるいは例えば、少なくとも約80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%でありうるように選択することができる。好ましい実施形態においては、IBSを分類する陽性的中率は、学習統計的分類子システムの組み合わせを用いた場合（実施例10を参照）には、少なくとも約90%である。

20

## 【0227】

予測値は、陰性及び陽性的中率を含むが、分析した母集団における当該疾病の有病率に影響される。本発明の方法、システム、又はコードでは、統計的アルゴリズムは、特定のIBS保有率を持つ臨床母集団のための望ましい臨床パラメータを生成するために選択することができる。例えば、学習統計的分類子システムは、例えば、胃腸科専門医の診療所又は一般開業医の診療所といった診療所において認められ得る、約1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、又は70%までのIBS有病率に対して選択することができる。

30

## 【0228】

本明細書において、「包括的な合意 (overall agreement)」又は「精度 (overall accuracy)」という用語は、本発明の方法、システム、又はコードが疾病状態を分類する際の正確さを言う。精度は、真陽性と真陰性の合計を試料結果の総数で割ったものとして計算され、分析した母集団における疾病有病率によって影響を受ける。例えば、統計的アルゴリズムは、疾病有病率を持つ患者の母集団における精度が少なくとも約60%であり、及び、例えば、少なくとも約65%、70%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%でありうるように選択することができる。好ましい実施形態においては、IBSを分類する精度は、学習統計的分類子システムの組み合わせを用いた場合（実施例10）には、少なくとも約80%である。

40

## 【0229】

## 「IX. 疾病分類システム」

図2は、本発明の1つの実施形態に従った疾病分類システム (disease classification system (DCS)) 200を示す。そこに示されるとおり、DCSは、プロセッサ215及び記憶モジュール210を持つ、コンピューターといったDCS知能モジュール205を含む。その知能モジュールはまた、1つ又はそれ以上の直接接続（例えば、USB、ファイアワイア、又は他のインターフェイス）及び1つ

50

又はそれ以上のネットワーク接続（例えば、モデムあるいは他のネットワークインターフェイス装置を含む）を通して情報を伝達し、かつ受信するためのコミュニケーションモジュール（図示せず）も含む。記憶モジュールは、内部の記憶装置及び1つ又はそれ以上の外部の記憶装置を含んでいてもよい。知能モジュールはまた、モニターあるいはプリンターといった表示モジュール225を含んでいる。ある態様では、知能モジュールは、検査システム250といったデータ収集モジュールからの患者試験結果といったデータを、直接接続を通して、あるいはネットワーク240上のいずれかで受信する。例えば、検査システムは1つ又はそれ以上の患者試料255に対し多重試料検定を実行し、かつ自動的にその試験結果を知能モジュールに提供するように配列されていてもよい。そのデータはまた、ユーザーによる直接入力を通じて知的モジュールに提供されてもよいし、又はコンパクトディスク（CD）あるいはデジタル多用途ディスク（DVD）といった携帯用媒体からダウンロードされてもよい。検査システムは、直接的に知能モジュールと連結させて、知能モジュールと統合されてもよいし、ネットワーク上で知能モジュールと遠隔的に接続されてもよい。知能モジュールはまた、よく知られたネットワーク上で、1つ又はそれ以上のクライアントシステム230とデータをやりとりしてもよい。例えば、要求している医師やヘルスケア提供者は、クライアントシステム230を用いて、研究室又は病院に置いてあるであろう知能モジュールから報告を取得し、閲覧してもよい。

10

20

30

40

50

#### 【0230】

当該ネットワークは、LAN（ローカルエリア・ネットワーク）、WAN（ワイドエリア・ネットワーク）、無線ネットワーク、2地点間ネットワーク、スター型ネットワーク、トークン・リング・ネットワーク、ハブ・ネットワーク、又は他の機器構成であることができる。現在使用されている最も一般的な種類のネットワークは、しばしば「インターネット」又は大文字の「I」と称されるネットワークのグローバルな相互接続ネットワークなどのTCP/IP（伝送制御プロトコル/インターネット・プロトコル）ネットワークであり、本明細書中の多くの実施例において用いられるが、TCP/IPは現在好ましいプロトコルではあるが、本発明が用いるであろうネットワークは、これに限定されないことは理解されなければならない。

#### 【0231】

図2に示したシステムにおけるいくつかの要素は、ここで詳細に説明する必要がない、一般的でよく知られた要素を含んでいるかもしれない。例えば、知能モジュールは、デスクトップ型パソコン、ワークステーション、大型汎用コンピュータ、ノート型コンピュータ、等として実装されてもよい。各々のクライアント・システムは、デスクトップ型パソコン、ワークステーション、ノート型コンピュータ、PDA、携帯電話、又はあらゆるWAP可能な装置あるいは直接又は間接的にインターネット又は他のネットワーク接続に接続可能な、あらゆる他のコンピュータ・デバイスを含んでもよい。クライアント・システムは、一般的には、HTTPクライアント、例えば、Microsoft's Internet Explorer（商標登録）ブラウザ、Netscape's Navigator（商標登録）ブラウザ、Operaブラウザ、又は携帯電話、PDAあるいは他の無線装置の場合にはWAP可能なブラウザ、又は同様のものなどの閲覧ソフトウェアプログラム、を走らせ、クライアント・システムのユーザーがネットワーク上で知能モジュールから利用できる情報及びページにアクセスし、処理し、かつ表示することを可能にする。各々のクライアント・システムはまた、一般的には、知能モジュールによって提供されるページ、フォーム、及び他の情報と関連して、ディスプレイ（例えば、受信装置、液晶ディスプレイなど）235に閲覧ソフトによって提供されるグラフィカル・ユーザー・インターフェース（GUI）と相互作用するために、キーボード、マウス、タッチスクリーン、ペン又は同様のものなどの1つ又はそれ以上のユーザー・インターフェース機器も含む。上記のとおり、本発明は、ネットワークの特定の世界的相互接続ネットワークのことを言う、インターネットとともに使用することに適している。しかしながら、イントラネット、エクストラネット、仮想プライベートネットワーク（VPN）、非TCP/IPに基づくネットワーク、あらゆるLANあるいはWAN、又は同様のものなどの他のネットワー

クが、インターネットの代わりに用いられることが可能であることは理解されるべきである。

【0232】

1つの実施形態に従うと、各々のクライアント・システム及び全てのその構成要素は、Intel（商標登録）Pentium（商標登録）プロセッサ又は同様のものなどの中央プロセッサを用いたコンピュータコードの実行を含む、閲覧ソフトなどのアプリケーションを用いて、オペレーターによる設定が可能である。同様に、知能モジュール及び全てのその構成要素は、Intel Pentiumプロセッサ又は同様のものなどの中央プロセッサ215を用いたコンピュータコードの実行を含むアプリケーションを用いて、オペレーターによる設定が可能であるかもしれない。本明細書で述べたように、データ及び試験結果を処理するように知能モジュールを操作し、構成するためのコンピュータコードは、好ましくはハードディスク上にダウンロードされ、かつ保存されるが、全体のプログラムコード、又はその一部は、他の揮発性あるいは不揮発性記憶媒体、又はROMあるいはRAMなどのよく知られた装置に保存されてもよいし、あるいはコンパクトディスク（CD）媒体、デジタル多用途ディスク（DVD）媒体、フロッピーディスク、ROM、RAM、及び同様のものなどの、プログラムコードを保存することが可能な、あらゆる他のコンピュータ読取り可能な記憶媒体260に提供されてもよい。

10

【0233】

本発明の様々な形態及び実施形態を実行するためのコンピュータコードは、例えば、C、C++、C#、HTML、Java、JavaScript、あるいはVBScriptなどのあらゆる他のスクリプト言語といった、コンピュータシステム上で実行可能な全てのプログラミング言語で実行されることが可能である。加えて、全てのプログラム、コードあるいはそれらの一部は、搬送波信号として実施されてもよく、その搬送波信号は、よく知られたあらゆる通信媒体あるいはプロトコル（例えば、TCP/IP、HTTP、HTTPS、Ethernet、等）を用いて、インターネットを介し、又は、よく知られた全ての他の一般的なネットワーク接続（例えば、エクストラネット、VPN、LAN等）を介して、ソフトウェア源（例えば、サーバー）から伝達され、かつダウンロードされてもよい。

20

【0234】

1つの実施形態に従うと、知能モジュールは、患者試料がIBSと関連しているかどうかを決定するために、患者の試験結果及び/又は質問票の回答を解析するための疾病分類プロセスを実行する。そのデータは、メモリー（210）内の1つ又はそれ以上のデータ表あるいは他の論理データ構造、又は知能モジュールと連動する単独の記憶装置あるいはデータベースシステムに保存されてもよい。1つ又はそれ以上の統計処理は、一般的に特定の患者に対する試験データを含むデータセットに適用される。例えば、試験データは、その患者からの試料における少なくとも1つのマーカーの存在又は値を示すデータを含む、診断マーカープロファイルを含んでよい。試験データはまた、その患者が患っている、あるいは最近患っていたIBSと関連する、少なくとも1つの症状の存在又は重症度を示すデータからなる症状プロファイルを含んでよい。1つの点では、統計処理は、診断マーカープロファイル及び/又は症状プロファイルに基づいて患者試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する統計的に導出される決定を生み出す。他の態様では、第1の統計処理は、診断マーカープロファイル及び/又は症状プロファイルに基づいて患者試料をIBD試料又は非IBD試料として分類する第1の統計的に導出される決定を生み出す。その患者試料が非IBD試料として分類された場合は、当該非IBD試料をIBS試料又は非IBS試料として分類する第2の統計的に導出される決定を生み出すために、第2の統計処理が同一又は異なるデータセットに適用される。第1及び/又は第2の統計的に導出される決定は、知能モジュールと関連して、又は連動して表示装置に表示されてもよく、その決定は、単独のシステム、例えばクライアント・システム230に提供され、かつ表示されてもよい。表示された結果は、医師が理に適った診断又は予後診断をすることを可能にする。

30

40

50

## 【0235】

(X. 治療及び治療モニタリング)

個体からの試料がIBS試料として分類されると、本発明の方法、システム及びコードは、さらに、IBSに関連する1つ又はそれ以上の症状を治療するため有用な薬(すなわちIBS薬)の治療に効果的な量を、その個体に投与するように構成することができる。治療上の適用のため、そのIBS薬は、単独で投与されてもよいし、あるいは、1つ又はそれ以上の追加のIBS薬及び/又はIBS薬に関連する副作用を軽減する、1つ又はそれ以上の薬と組み合わせて同時投与されてもよい。

## 【0236】

IBS薬は、必要に応じて適切な医薬品用賦形剤とともに投与されてもよく、一般に受け入れられているあらゆる投与の方法によって行われてもよい。従って、投与は、例えば、静脈注射、局所、皮下、経皮的、経皮、筋内、経口、口腔、舌下、歯肉、口蓋、関節内、非経口、動脈内、皮内、脳室内、頭蓋内、腹腔内、病巣内、鼻内、直腸、腔内、又は吸入でありうる。「同時投与」とは、IBS薬が、第2薬(例えば、他のIBS薬、当該IBS薬の副作用を軽減するために有用な薬、等)の投与と同時に、その直前に、又はその直後に投与されることを意味する。

10

## 【0237】

治療に効果的な量のIBS薬は、例えば、少なくとも2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 又はそれ以上の回数、繰り返し投与されてもよく、その投与量は、連続的に投与されてもよい。その投与は、例えば、タブレット、ピル、ペレット、カプセル、粉体、溶液、懸濁液、エマルジョン、座薬、持続性浣腸剤、クリーム、軟膏、ローション、ゲル、エアロゾル、泡、又は同様のものなどの固形、半固形、凍結乾燥粉末、液体製剤であってよく、好ましくは、正確な用量の単純な投与のために適したユニット型製剤であってよい。

20

## 【0238】

本明細書において、「ユニット型製剤(unit dosage form)」は、被験者及び他の哺乳類に対する単一の投与量として適した物理的に分離したユニットのことを言い、それぞれのユニットは、目的とする薬効の発現、忍容性、及び/又は治療効果を出すように計算された、事前に決定された量のIBS薬を、適切な医薬品用賦形剤とともに含む(例えば、アンプル)。加えて、より高濃度製剤が作られてもよく、そこからより低濃度のユニット型製剤が作られてもよい。従って、より高濃度化した製剤は、例えば、少なくとも1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10、又はそれ以上の倍率の量のIBS薬を実質的に含んでいる。

30

## 【0239】

そのような製剤を作る方法は、当業者にはよく知られている(例えば、REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18TH ED., Mack Publishing Co., Easton, PA (1990)を参照)。当該製剤は、一般的には、標準的な医薬品用担体又は賦形剤を含み、加えて他の薬剤、担体、補助剤、希釈剤、組織透過促進剤、可溶化剤、及び同様のものを含んもよい。適切な賦形剤は、当該分野でよく知られた方法によって、特定の製剤及び投与経路に応じて個々に調整されることが可能である(例えば、REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES、上記参照)。

40

## 【0240】

適切な賦形剤の例は、これに限定されないが、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、でんぷん、アカシア、リン酸カルシウム、アルギン酸塩、トラガカント、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、マイクロクリスタリン・セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、水、塩水、シロップ、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、及び例えば、Carbopol 941、Carbopol 980、Carbopol 981、等のCarbopolといったポリアクリル酸である。その製剤は、加えて、滑石、ステアリン酸マグネシウム、及びミネラルオイルなどの平滑剤；湿潤剤；乳濁化剤；懸濁化剤；メチル、エチル、及びヒド

50

ロキシ安息香酸プロピル（すなわちパラベン）などの保存剤；無機及び有機酸及び塩基などのpH調整剤；甘味剤；及び着香剤を含んでよい。その製剤はまた、生分解性重合ビーズ、デキストラン、及びシクロデキストリン含有複合体を含んでもよい。

【0241】

経口投与のためには、治療に有効な投与は、タブレット、カプセル、エマルジョン、懸濁液、溶液、シロップ、スプレー、トローチ剤、粉末、及び徐放性製剤の形態であることができる。経口投与に適した賦形剤は、医薬品品質のマニトール、ラクトース、でんぷん、ステアリン酸マグネシウム、サッカリン酸ナトリウム、滑石、セルロース、グルコース、ゼラチン、スクロース、炭酸カルシウム、及び同様のものを含む。

【0242】

ある実施形態においては、治療に有効な投与は、ピル、タブレット、又はカプセルの形態をとり、従って、その製剤は、IBS薬とともに、次のいずれか：ラクトース、スクロース、第2リン酸カルシウム、及び同様のもの；でんぷん又はその誘導体などの崩壊剤；ステアリン酸マグネシウム及び同様のものといった潤滑剤；及びでんぷん、ガムアカシア、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、セルロース及びそれらの誘導体のような結合材、を含むことができる。IBS薬はまた、例えば、ポリエチレングリコール（PEG）キャリアに配置される座薬に調剤されることも可能である。

【0243】

液体製剤は、例えば、経口、局所、又は静脈投与のための溶液あるいは懸濁液を作成するため、例えば、食塩水（例えば、0.9%塩化ナトリウム）、水性デキストリン、グリセロール、エタノール、及び同様のものなどのキャリア中で、IBS薬及び、選択的に1つ又はそれ以上の製剤的に許容できる補助剤を溶解又は分散させることによって用意することができる。IBS薬はまた、持続性浣腸剤に調剤されることが可能である。

【0244】

局所投与のためには、治療に有効な投与は、エマルジョン、ローション、ゲル、泡、クリーム、ゼリー、溶液、懸濁液、軟膏、及び経皮パッチの形態であることができる。吸入による投与のためには、IBS薬は、噴霧器を介して、乾燥粉末として又は液状にて運搬することができる。非経口投与のためには、治療に有効な投与は、滅菌した注射可能な溶液及び滅菌包装された粉末の形態であることができる。好ましくは、注射可能な溶液は、pHが約4.5から約7.5に調整される。

【0245】

治療に有効な投与はまた、凍結乾燥した形態で提供することができる。そのような製剤は、投与前の再構成のために緩衝液、例えば、二酸化炭素、を含んでもよく、又はその緩衝液は、例えば、水で再構成するために凍結乾燥製剤の中に含まれてもよい。凍結乾燥製剤はさらに、適切な血管収縮剤、例えば、エピネフリン、を含んでもよい。凍結乾燥製剤は、シリンジにて提供されることができ、選択的には、再構成した製剤がすぐに個体に投与されることが可能となるように、再構成のための緩衝液とともに包装されることが可能である。

【0246】

IBS治療のための治療的使用において、IBS薬は、一日あたり約0.001mg/kgから約1000mg/kgの初回用量にて投与されることができる。約0.01mg/kgから約500mg/kg、約0.1mg/kgから約200mg/kg、約1mg/kgから約100mg/kg、又は10mg/kgから50mg/kgの一日の投与量の幅が用いられることが可能である。しかしながら、本投与量は、個体の要求、IBS症状の重症度、及び採用したIBS薬に応じて変えられてもよい。例えば、用量は、本明細書で述べられる方法に従ってIBSを保有していると分類された個体におけるIBS症状の重症度を考慮して、経験的に決定されることができる。個体に投与する投与量は、本発明との関係において、経時にて、個体における有利な治療効果に影響するのに十分でなければならない。投与の量はまた、その個体における特定のIBS薬の投与に伴う全ての不利益な副作用の存在、性質及び程度によっても決定されることができる。ある特定の状況

10

20

30

40

50

に対する適切な用量の決定は、医者の技能の範囲内である。一般的に、治療は、IBS薬の最適な投与量よりも少ない用量で開始される。その後、その用量は、状況下における最適な効果に達するまで少しずつ増加される。便宜上、希望があれば、一日の総量は、その日の間で分割され、部分的に投与されてもよい。

【0247】

本明細書において、「IBS薬 (IBS drug)」という用語は、IBSに関連する1つ又はそれ以上の症状を治療するために有用な、全ての薬学的に許容される形態の薬を含む。例えば、IBS薬は、ラセミ体又は異性体の混合物、イオン交換樹脂に結合した固体複合体、又は同様のものであることができる。加えて、IBS薬は、溶媒和物の形態であることができる。「IBS薬」という用語はまた、すでに述べたIBS薬の、全ての薬学的に許容される塩類、誘導體、及びアナログ、それに加えてそれらの複合体を含むことも意図されている。例えば、IBS薬の薬学的に許容される塩類は、これに限定されないが、タートレート、コハク酸塩、タータレート、バイタータレート、2塩酸塩、サリチル酸塩、ヘミコハク酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、塩酸塩、カルバミン酸塩、硫酸塩、硝酸塩、及びそれらの安息香酸塩の他にそれらの組み合わせ及び同様のものを含む。IBS薬の全ての形態、例えばIBS薬の薬学的に許容される塩類、IBS薬の遊離塩基、又はそれらの混合物は、本発明の方法における使用に適している。

10

【0248】

IBSに関連する1つ又はそれ以上の症状を治療するために有用である、適切な薬は、これに限定されないが、セロトニン作動薬、抗うつ剤、塩素チャネル活性化因子、塩素チャネル遮断薬、グアニル酸シクラーゼ作動薬、抗生物質、オピオイド、ニューロキニン拮抗薬、抗痙攣あるいは抗コリン作動薬、ベラドンナアルカロイド、バルビツール酸塩、グルカゴン様ペプチド (GLP-1) アナログ、コルチコトロピン放出因子 (CRF) 拮抗薬、プロバイオティクス、これらの遊離塩基、これらの薬学的に許容される塩類、これらの誘導體、これらのアナログ、及びこれらの組み合わせを含む。他のIBS薬は、賦形剤、ドーパミン拮抗薬、駆風剤、鎮静剤、デクストフィソバム、フェニトイン、チモール、及びジルチアゼムを含む。

20

【0249】

セロトニン作動薬は、便秘、下痢、及び/又は交互に発症する下痢と便秘などのIBS症状の治療のために有用である。セロトニン作動薬の非限定的な例は、Cashら、*Aliment. Pharmacol. Ther.*, 22: 1047-1060 (2005) に述べられており、5-HT<sub>3</sub>受容体作動薬 (例えば、MKC-733、等)、5-HT<sub>4</sub>受容体作動薬 (例えば、テガセロド (Zelnorm (登録商標))、ブルカロプライド、AG1-001、等)、5-HT<sub>3</sub>受容体拮抗薬 (例えば、アロセトロン (Lontorone x (登録商標))、シランセトロン、オングンセトロン、グラニセトロン、ドラセトロン、ラモセトロン、パロノセトロン、E-3620、DDP-225、DDP-733、等)、5-HT<sub>3</sub>受容体拮抗薬/5-HT<sub>4</sub>受容体作動薬の混合物 (例えば、シサプライド、モサプライド、レンザプライド、等)、これらの遊離塩基、これらの薬学的に許容される塩類、これらの誘導體、これらのアナログ、及びこれらの組み合わせを含む。加えて、神経またはグリア細胞に影響することによって消化管の透過性を制御するグルタミン及びグルタミン酸などのアミノ酸は、IBS患者を治療するために投与することができる。

30

40

【0250】

選択的セロトニン再取り込み阻害剤 (SSRI) あるいは三環系抗うつ剤などの抗うつ剤は、特に下腹部痛、便秘、及び/又は下痢といったIBS症状の治療のために有用である。SSRI抗うつ剤の非限定的な例は、シタロプラム、フルボキサミン、パロキセチン、フルオキセチン、セルトラリン、これらの遊離塩基、これらの薬学的に許容される塩類、これらの誘導體、これらのアナログ、及びこれらの組み合わせを含む。三環系抗うつ剤の例は、これに限定されないが、デシプラミン、ノルトリプチリン、プロトリプチン、アミトリプチリン、クロミプラミン、ドキセピン、イミプラミン、トリミプラミン、マプロ

50

チリン、アモキサピン、クロミプラミン、これらの遊離塩基、これらの薬学的に許容される塩類、これらの誘導体、これらのアナログ、及びこれらの組み合わせを含む。

【0251】

塩素チャネル活性化因子は、便秘などのIBS症状の治療のために有用である。塩素チャネル活性化因子の非限定的な例は、ルビプロストン（Amittiza（登録商標））、この遊離塩基、この薬学的に許容される塩、この誘導体、又はこのアナログである。加えて、クロフェレマーなどの塩素チャネル遮断薬は、下痢などのIBS症状の治療のために有用である。MD-1100などのグアニル酸シクラーゼ作動薬は、IBSに関連する便秘の治療のために有用である（例えば、Bryantら、Gstroenterol., 128:A-257(2005)を参照）。ネオマイシンなどの抗生物質はまた、IBS 10  
 に関連する便秘を治療する際の使用に適している（例えば、Parkら、Gastroenterol., 128:A-258(2005)を参照）。リファキシミン（Xifaxan（登録商標））などの非吸収性抗生物質は、IBSに関連する小腸の細菌過剰増殖及び/又は便秘を治療するのに適している（例えば、Shararaら、Am.J.Gastroenterol., 101:326-333(2006)を参照）。

【0252】

kオピオイドなどのオピオイド（例えば、アシマドリン）は、IBSに関連する痛み及び/又は便秘を治療するために有用であるかもしれない。タルネタント、サレデュータント、及び他のNK2及び/又はNK3拮抗薬などのニューロキニン（NK）拮抗薬は、大腸の筋肉の過剰敏感性、便秘、及び/又は下痢などのIBS症状を治療するために有用であるかもしれない。20  
 ジサイクロミンといった抗痙攣又は抗コリン作用剤は、消化管及び膀胱の筋肉における痙攣などのIBS症状を治療するために有用であるかもしれない。ペラドンナルカロイドなどの他の抗痙攣又は抗コリン作用性剤（例えば、アトロピン、スコポラミン、ヒヨスチアミン、等）は、IBSに関連する腸管痙攣を低減するために、フェノバルピタールなどのバルピツール酸系化合物と組み合わせて用いられることができる。GTP-010などのGLP-1アナログは、便秘などのIBS症状を治療するために有用であるかもしれない。アストレシンなどのCRF拮抗薬及びVSL#3（登録商標）などのプロバイオティクスは、1つ又はそれ以上のIBS症状を治療するために有用であるかもしれない。30  
 当業者は、最近使用され、あるいは開発された、IBSに関連する1つ又はそれ以上の症状を治療するために適切した追加のIBS薬について知っているであろう。

【0253】

個体からの試料がIBS試料として分類されると、その個体はまた、ある治療法の効果を評価するために定期的な間隔で観察されうる。例えば、あるマーカー値は、薬などの処置の治療効果に基づいて変化する。患者は、個別的な方法で、反応を評価し、ある薬又は処置の効果を理解するために観察される。さらに、患者は薬に反応しないかもしれないが、そのマーカーは変化するかもしれない、これは、当該患者が、本マーカー値によって同定されうる特別な集団（非反応性）に属することを示唆している。当該患者は、彼らの現在の治療法及び指示された代替の治療法を中止することができる。

【実施例】

【0254】

以下、本発明を具体例により、更に具体的に説明する。しかし本発明は、これらの具体例によって何ら限定されるものではない。

【0255】

（実施例1．レプチンはIBSと非IBS患者試料を識別する）

本実施例は、例えば、IBSを抽出することによって、患者試料をIBS試料として分類するために、レプチンの存在又は値を決定することが有用であることを説明する。レプチン濃度は、健常者、IBS、IBD（すなわち、CD、UC）、及びセリアック病患者からの血清試料において、免疫測定法（すなわち、ELISA法）を用いて測定された。図3に示すように、四分位解析は、レプチン値が、非IBS試料（すなわち、CD、UC 50

、セリアック病、健常者)と比較してIBS試料において上昇したことを示した。従って、レプチンは、有利にIBSと非IBS試料を識別することができる。

【0256】

レプチンはまた、IBSの様々な類型を識別するためにも有用である。図4Aは、健常者、IBD(すなわち、CD、UC)、及びセリアック病患者試料とIBS-A、IBS-C、あるいはIBS-Dを有する患者からの試料において、レプチン値が測定されたELISAの結果を示す。レプチン値は、IBS-C試料と比較して、IBS-A及びIBS-D患者試料において上昇した。図4Bは、男性IBS患者と女性IBS患者からの試料間におけるレプチン値の違いを示す。

【0257】

(実施例2 . TWEAKはIBSと非IBS患者試料を識別する)

本実施例は、例えば、IBSを抽出することによって、患者試料をIBS試料として分類するために、TWEAKの存在又は値を決定することが有用であることを説明する。TWEAK濃度は、健常者、GI対照、IBS、及びIBD(すなわち、CD、UC)患者からの血清試料において、免疫測定法(すなわち、ELISA法)を用いて測定された。図5に示すように、四分位解析は、TWEAK値が、非IBS(すなわち、CD、UC、GI対照、健常者)試料と比較して、IBS試料において上昇したことを示した。従って、TWEAKは、有利にIBSと非IBS試料を識別することができる。

【0258】

(実施例3 . IL-8はIBSと正常な患者試料を識別する)

本実施例は、例えば、IBSを抽出することによって、患者試料をIBS試料として分類するために、IL-8の存在又は値を決定することが有用であることを説明する。IL-8濃度は、健常者、GI対照、IBS、IBD(すなわち、CD、UC)、及びセリアック病患者において、免疫測定法(すなわち、ELISA法)を用いて測定された。図6Aに示すように、四分位解析は、IL-8値が、健常者の試料と比較して、IBS試料において上昇したことを示した。従って、IL-8は、有利にIBSと正常な患者試料を識別することができる。

【0259】

図6Bは、IL-8が、40pg/mlのカットオフ値で、IBS患者試料の約45%を正常な患者試料から識別することを明示する累積百分率ヒストグラム解析を示す。IL-8はまた、同じカットオフ値で、セリアック病患者試料の約55%を正常な患者試料から識別することができる。図7は、IL-8が、30pg/mlのカットオフ値で、IBS患者試料の約80%を正常な患者試料から識別することを明示する累積百分率ヒストグラム解析を示す。この累積百分率ヒストグラム解析を行うための典型的な方法は、以下に提供する。

【0260】

図8は、健康な対照患者試料とIBS-D、IBS-C、又はIBS-Aを有する患者からの試料において、IL-8値が測定されたELISAの結果を示す。IL-8値は、対照試料と比較して、IBS-D、IBS-C、及びIBS-A患者試料において上昇した。

【0261】

(実施例4 . EGFはIBSとIBD患者試料を識別する)

本実施例は、例えば、IBSを抽出し、あるいはIBDを排除することによって、患者試料をIBS試料として分類するために、EGFの存在又は値を決定することが有用であることを説明する。EGF濃度は、健常者、GI対照、IBS、IBD(すなわち、CD、UC)、及びセリアック病患者からの試料において、免疫測定法(すなわち、ELISA法)を用いて測定された。図9Aに示すように、四分位解析は、EGF値がIBD試料と比較してIBS試料において減少したことを示した。従って、EGFは、有利にIBSとIBD患者試料を識別することができる。

【0262】

10

20

30

40

50

図9Bは、EGFが、300pg/mlのカットオフ値で、IBS患者試料の約60%をIBD患者試料から識別することを明示する累積百分率ヒストグラム解析を示す。EGFはまた、同じカットオフ値で、セリアック病患者試料の約45%を正常な患者試料から識別することができる。この累積百分率ヒストグラム解析を行うための典型的な方法は、以下に提供する。

**【0263】**

(実施例5 . NGALはIBSと正常な患者試料を識別する)

本実施例は、例えば、IBSを抽出することによって、患者試料をIBS試料として分類するために、NGALの存在又は値を決定することが有用であることを説明する。NGAL濃度は、健常者、IBS、IBD、及びセリアック病患者において、免疫測定法(すなわち、ELISA法)を用いて測定された。図10に示すように、四分位解析は、NGAL値が正常な試料と比較してIBS試料において上昇したことを示した。従って、NGALは、有利にIBSと正常な患者試料を識別することができる。

10

**【0264】**

(実施例6 . MMP-9はIBSとIBD患者試料を識別する)

本実施例は、例えば、IBSを抽出し、あるいはIBDを排除することによって、患者試料をIBS試料として分類するために、MMP-9の存在又は値を決定することが有用であることを説明する。MMP-9濃度は、健常者、GI対照、IBS、及びIBD患者において、免疫測定法(すなわち、ELISA法)を用いて測定された。図11に示すように、四分位解析は、MMP-9値が、IBD試料と比較して、IBS試料において低下したことを示した。従って、MMP-9は、有利にIBSとIBD患者試料を識別することができる。

20

**【0265】**

(実施例7 . NGAL/MMP-9複合体はIBSとIBD患者試料を識別する)

本実施例は、例えば、IBSを抽出し、あるいはIBDを排除することによって、患者試料をIBS試料として分類するために、NGALとMMP-9の複合体(すなわち、NGAL/MMP-9複合体)の存在又は値を決定することが有用であることを説明する。NGAL/MMP-9複合体の濃度は、健常者、IBS、及びIBD患者において免疫測定法(すなわち、ELISA法)を用いて測定された。図12に示すように、四分位解析は、NGAL/MMP-9複合体値がIBD試料と比較してIBS試料において低下したことを示した。従って、NGAL/MMP-9複合体は、有利にIBSとIBD患者試料を識別することができる。

30

**【0266】**

(実施例8 . サブスタンスPはIBSと正常な患者試料を識別する)

本実施例は、例えば、IBSを抽出することによって、患者試料をIBS試料として分類するために、サブスタンスPの存在又は値を決定することが有用であることを説明する。サブスタンスP濃度は、健常者、IBS、IBD(すなわち、CD、UC)、及びセリアック病患者からの試料において免疫測定法(すなわち、ELISA法)を用いて測定された。図13に示すように、四分位解析は、サブスタンスP値が正常な試料と比較してIBS試料において上昇したことを示した。従って、サブスタンスPは、有利にIBSと正常な患者試料を識別することができる。

40

**【0267】**

(実施例9 . 累積百分率ヒストグラム解析)

図14は、血清中のラクトフェリン濃度の範囲での試料度数に基づいた非限定的な例として、ラクトフェリンを用いた累積百分率ヒストグラム解析を示す。これらの値は、濃度に対する度数を表す標準棒グラフヒストグラム(灰色の棒)としてプロットされることができる。試料総数で割られた各度数は、試料を収集した母集団の大きさに対して標準化された、その範囲に対する百分率度数を提供する。より低い範囲の合計に加えらる各連続範囲に対する百分率度数は、累積百分率度数であり、最大のラクトフェリン濃度で100パーセントに達する曲線を作成するようにプロットされる。各患者母集団に対する累積度

50

数曲線は、その後、異なる母集団間で測定された違いをより直観的に可視化できるようにするために、単一のグラフに統合される。特定の曲線が他の曲線から離れているほど、患者は、2つの母集団の1つに正確に割り当てられることができる。

【0268】

(実施例10. IBSを予測するための組み合わせの統計的アルゴリズム)

(試料)

2357の患者からの血清試料は、多数のセンター(表2)から事後的に取得された。全ての試料に対し、生検及び/又は大腸内視鏡検査を受けて、各サイトにおける研究責任者によって、診断が与えられた。およそ1mlの試料が、そのサイトでSSTあるいは血清セパレータに引き抜かれた。そのチューブは回転され、輸送まで-70で冷凍された。試料は保冷剤とともに運搬され、受け取り次第、再度回転させ、試験まで-70で冷凍された。

10

【表2】

表2. 研究コホートのための試料獲得に用いられたセンター、N=2357

場所	患者数
CA	402 (HC+IBD)
トロント、カナダ	1287 (HC+IBD)
ヘレストラート、ベルギー	319 (HC+IBD)
ベセダ、MD	163 (IBS)
ニューヨーク、NY	31 (IBS)
ボストン、MA	59 (IBS)
シカゴ、IL	60 (IBS)
レバノン、NH	36 (IBS)

20

IBS=過敏性腸症候群、IBD=炎症性腸疾患、HC=健康な対照。全てのIBD検体が当該試験の開発に用いられたわけではない。

【0269】

(分析)

ANCA、ASCA-G、抗OmpC抗体、抗Cbir1抗体、及びIL-8の血清値は、ELISA法又は免疫蛍光測定法を用いて検討された。これら分析の分析性能は、前もって確認されている。IL-8値は、市販のELISAキット(Invitrogen)を用いて測定された。

30

【0270】

(統計的アルゴリズム)

本研究において、血清学的マーカー群の値又は存在に基づき、IBSを予測するために、2つの異なる学習統計的分類子(例えば、ランダムフォレスト(RF)及び人工ニューラルネットワーク(ANN))を用いる、新しいアプローチが開発された。これらの学習統計的分類子は、例えば、複雑なデータに適応し、標準統計分類子の制約を受けることなく、厳密に提示されたデータに基づいて決定を下すことができる、フィードフォワード・バックプロパゲーションを伴う多層パーセプトロンなどの多変量統計手法を用いる。特に、1つ以上の学習統計的分類子でマーカー値を解析することによって重判別関数を使用する組み合わせのアプローチは、本診断試験の感度及び特異度を更に改善するために作り出された。1つの好ましい方法は、タンデムに用いられるRFとANNの組み合わせである。精度は、検証母集団における当該試験の臨床上的有効性を決定するために用いられた。

40

【0271】

2000以上の患者試料のマーカー値は、最初に訓練、試験、及び検証コホートに分割された(表3)。異なる患者の試料が、訓練、試験、及び検証目的のために用いられた。

## 【表 3】

表 3. 診断アルゴリズムを作成するために用いられた試料セット

	試料数	I B S 有病率	正常 / I B S / I B D
訓練コホート	263	30%	108/79/76
試験コホート	100	35%	36/35/29
合計：訓練+試験	363	31%	144/114/105
検証コホート	200	28%	86/55/59

正常及び I B D 患者は非 I B S 対照として用いた。I B S 試料は D-I B S, C-I B S, 及び A-I B S の混合とした。

10

## 【0272】

(ランダムフォレスト)

4つのELISA分析の各々からの抗体の値(予測変数)及び263の患者試料コホート(30% I B S 有病率、訓練セット、表2に示す)からの診断(0 = 非 I B S、1 = I B S、2 = I B D、従属変数)が、RFソフトウェアモジュールへの入力として用いられた。多重RFモデルが構築され、本試験コホートを用いてI B S 予測精度について解析された。最良の予測RFモデルが選択され、検証コホートからのデータを用いてI B S 予測精度について試験された。

## 【0273】

いくつかのRFモデルは、訓練セットからI B S、I B D、又は非I B Sを予測するのに使用された。本出力データは、ニューラルネットワークを訓練するための入力として用いられた。このRFソフトウェアからの出力は、予測値(すなわち、0 [非I B S]、1 [I B S]、又は2 [I B D])及び3つの確率又は信頼値(各予測に対し1つ)を包含した。この3つの確率値は、ANNを用いたさらなる統計解析のための予測変数の値として、マーカー値とともに使用された。データ処理の概略図は、図15に示す。図16は、図15のモデルを用いて得られたデータセットを示す。

20

## 【0274】

(人工ニューラルネットワーク)

ニューラルネットワークソフトウェアを用いて多重ANNを作成するため、マーカー値と、RFモデル(Salford Systems; San Diego, CA)から得られた非I B S、I B S、及びI B D予測の確率が予測変数として使用され、診断は従属変数として使用された。ニューラルネットワークのソフトウェアパッケージ(Statistica; StatSoft, Inc.; Tulsa, OK)のIntelligent Problem Solverモジュールは、訓練コホートを用いて、フィードフォワード、バックプロパゲーション、及び分類モードにおけるANNモデルを作成するために使用された。1000以上のANNが、様々なRFモデルからの入力を用いて作成された。最良のモデルは、試験データセットにおけるI B S 予測の最小誤差に基づいて選択された。

30

## 【0275】

ANNの概略図は、図17に示される。本モデルは、10のニューロンを有する1つの隠れ層を含む多層パーセプトロンから構成される。本ニューロンの相対活性は、色によって同定される。

40

## 【0276】

(アルゴリズムの検証と予測精度)

選択されたアルゴリズムは、その後、訓練及び試験セットで使用されていない試料コホート(すなわち、検証セット)を用いて検証された。本試験で得られたデータは、当該アルゴリズムに対する全ての精度パラメータを計算するのに用いられた。

## 【0277】

加えて、精度の最終的な検証及び計算は、上記訓練及び試験セットと被らない試料コホートからのデータに対し実行された。2x2の混同マトリクス(表4)は、検証コホート

50

に対するアルゴリズム予測結果を示す。

【表 4】

表 4. 2 × 2 の混同マトリクス

検証コホートに対する アルゴリズム予測の2×2マトリクス		
	非 I B S	I B S
非 I B S	91	8
I B S	7	125

10

【0 2 7 8】

I B S に対するアルゴリズム予測精度は、表 5 に示される。

【表 5】

表 5. I B S 予測におけるアルゴリズムの臨床上の有効性

検証コホートにおいて試験された ハイブリッドモデルの I B S 予測精度			
TP	187	I B S 感度	91.2%
FN	18	I B S 特異度	86.8%
FP	19	I B S PPV	90.8%
TN	125	I B S NPV	87.4%

TP = 真陽性、FN = 偽陰性、FP = 偽陽性、  
TN = 真陰性、PPV = 陽性予測値、  
NPV = 陰性予測値

20

予測精度は検証セットに対しアルゴリズムを用いて計算された。

【0 2 7 9】

I B S 予測の感度と特異度は、それぞれ約 9 1 % と約 8 7 % であった。I B S の PPV と NPV は、それぞれ約 9 1 % と約 8 7 % であった。I B S の正確な同定は、ほぼ 9 0 % 、あるいはそれ以上の感度と特異度によって示された。予測精度は、表 6 に示されるように計算された。複合型 RF / ANN モデルは、高精度で I B S を予測した。

【表 6】

表 6. 予測精度

ハイブリッドモデル	現在予測された数 / 診断された総数	% 精度予測
全体の分析精度	159/200	80%

百分率精度予測は次のように計算された：精度 =  $(I B S \ TP + I B S \ D \ TP + TN) /$  試験した試料の総数

30

【0 2 8 0】

(実施例 1 1 . I B S 予測のためのランダムフォレスト統計的アルゴリズム)

(データセット)

総数 9 3 9 の患者試料が、ランダムフォレスト (RF) 統計的アルゴリズムを用いて解析された。本試料は、以下のように訓練、試験、及び検証コホートに分割された：(1) 7 3 9 の訓練および試験試料 (表 7) ; 及び (2) 2 0 0 の検証試料。異なる患者試料が訓練、試験、及び検証目的のために用いられた。

40

## 【表 7】

表 7. 訓練及び試験コホートの構成

訓練・試験コホートの構成		
正常	257	35%
I B S	152	21%
セリアック病	34	5%
C D	154	21%
U C	142	19%
総数	739	

10

## (分析)

I L - 8、ラクトフェリン、A N C A、A S C A - G、及び抗 O m p C 抗体の血清値は、上述のとおり E L I S A 法を用いて検討された。

## 【0281】

## (研究アプローチ)

本研究では、一群の血清学的マーカー値又は存在に基づき I B S を予測するために、単一の学習統計的分類子(すなわち、ランダムフォレスト)を用いる新しいアプローチが開発された。各々の E L I S A 分析からの抗体値(予測変数;表 8)と患者試料の訓練・試験コホートからの診断は、R F ソフトウェアモジュール(S a l f o r d S y s t e m s ; S a n D i e g o , C A ) の入力として用いられた。多重 R F モデルが作成され、訓練・試験コホートを用いて I B S 予測精度が解析された。最良の予測 R F モデルが選択され、検証コホートからのデータを用いて、I B S 予測精度が試験された。

20

## 【表 8】

表 8. 分析された診断マーカー各々の予測重要度

マーカー	スコア
I L - 8	100.0
ラクトフェリン	34.14
A N C A	19.15
抗 O m p C 抗体	7.18
A S C A - G	6.14

値は I L - 8 に対して標準化した。

30

## 【0282】

## (アルゴリズム検証及び予測精度)

選択された R F アルゴリズムは、その後、訓練及び試験セットで使用されなかった試料コホート(すなわち、検証コホート)を用いて検証された。本試験で得られたデータは、本アルゴリズムに対する全ての精度パラメーターを計算するために用いられた。

## 【0283】

R F アルゴリズムの I B S 予測精度は、表 9 に示される。

40

## 【表 9】

表 9. I B S 予測における R F アルゴリズムの臨床上的有効性

症例	症例数	百分率精度	非 I B S (N = 135)	I B S (N = 65)
非 I B S	151	84.7 (特異度)	128	23
I B S	49	85.8 (感度)	7	42

## 【0284】

I B S 予測の感度と特異度は、それぞれ 85.7% と 84.7% であった。I B S の正確な同定は、ほぼ 85%、あるいはそれ以上の感度と特異度によって示された。本 R F モ

50

デルは、高精度でIBSを予測した。

【0285】

図18は、IL-8、EGF、ANCA、及びASCA-Gの血清値を用いたRFアルゴリズムによるモデリング前後でのIBSと非IBS試料の分布を示す。

【0286】

(実施例12. IBS予測のための分類木統計的アルゴリズム)

(データセット)

約430の症例は、分類木統計的アルゴリズムを用いて解析される。これらの症例は、IL-8、ANCA ELISA、抗OmpC抗体、ASCA-A、ASCA-G、抗Cbir1抗体、pANCA、及び/又はラクトフェリンに対する血清学的マーカー情報を有することができる。

10

【0287】

(検討アプローチ)

本検討において、一群の血清学的マーカー値及び/又は存在に基づきIBSを予測するために、単一の学習統計的分類子(すなわち、分類木)を用いた新しいアプローチが開発される。各分類手法の有効性のロバスト推定を行うため、500反復のシミュレーションが実行される。各反復に対し、データは、訓練セットと検証セットに分割される。各回、観測値の80%がランダムに訓練セットに割り当てられ、観測値の20%がランダムに検証セットに割り当てられる。本訓練セットを用いて、分類モデルが分類木により構築される。

20

【0288】

(分類木)

分類木は、完全なデータセットから始め、そのデータの部分集合の2分岐の繰り返しによって構築される。2分岐が実施される毎に、親部分集合に比べて「より純粋」あるいはより同次である下位の部分集合を生成することを試みる。これは、下位の部分集合の平均不純度の減少が最大に達する分割を計算的に見つけることによって行われる。不純度は、通常、演算上、3つの基準:

- 1) 誤分類率;
  - 2) ジニ(Gini)係数; 又は
  - 3) エントロピー(逸脱度);
- の1つによって定義される。

30

【0289】

誤分類率を最小限にすることは包括的な最終目的ではあるが、それは一段階のみの最適化しか生成しないため、分岐探索には不十分な基準であるとみなされる。ジニ係数及びエントロピー基準は、2クラス問題に対して、同様の結果を生成する(Hastieら、The Elements of Statistical Learning, New York; Springer(2001)を参照)。各2分岐によって生じるノードは、次の3つの条件が真になるまで帰納的に分岐される。

- 1) ノードにおけるすべてのケースが同じ観測クラスである(すなわち、不純度がゼロである);
- 2) ノードは、同一の測定値を有する観測値のみを含む(すなわち、残りの出力をこれ以上分割することができない); あるいは、
- 3) ノードが、小さく、一般的には1~5の観測値である。

40

【0290】

すべてのノードが終点に達すると、木は上方に剪定される。この工程により、一連のより小さな木を生じる。これら木の各々の包括的な不純度が測定され、最小の全不純度を有する一つが選択され得る。これは、「最良の」分類木として見なされるかもしれない(Breimanら、Classification and Regression Trees, Wadsworth; Belmont, CA(1984)を参照)。

【0291】

50

「最良の」分類木が選択されると、終端ノードの各々の予測クラスが、そのノードにおける各観測値の単純な大多数「票数」によって決定される。新しい観測値を分類するために、その新しい観測値が当該木に単純に送られる。新しい観測値の予測クラスは、それが位置する終端ノードの予測クラスである。さらなる論議と具体例は、例えば、Hastieら、上述；及びVenablesら、Modern Applied Statistics with S - Plus, 4th edition; New York; Springer (2002) に示されるだろう。

【0292】

図19は、IL-8、ラクトフェリン、及びANCA ELISAの値に基づいて試料をIBS試料又は非IBS試料として分類するための、3ノードの分類木を示す。本分類木は、おおよそ87.6%の包括的な分類正答率を提供する。

10

【0293】

(実施例13. IBS関連症状の存在又は重症度を同定するための質問票)

本実施例は、個体における1つ又はそれ以上のIBS関連症状の存在又は重症度を同定するために有用な質問票について説明する。本質問票は、クリニック又は開業医の診療所で患者個人によって全ての項目を記入されてもよいし、あるいは、家に持ち帰り、個人がクリニック又は開業医の診療所に戻ってくる(例えば、患者の採血のため)ときに提出されてもよい。

【0294】

ある実施形態においては、本質問票は、その個人に、1つ又はそれ以上のIBS関連症状の存在又は重症度に関する回答を提供することを求める一連の質問を含む第1セクションからなる。本質問票は一般的に、胸痛、胸部の不快感、胸やけ、普通量の食事後の不快な膨満感、普通量の食事を食べることができないこと、下腹部痛、下腹部の不快感、便秘、下痢、膨満感、及び/又は下腹部の膨張などのIBS関連症状の存在、重症度、頻度、及び/又は持続期間を同定するように方向付けられた質問を包含する。

20

【0295】

ある例としては、本質問票の第1セクションは、ローマIII基準に基づく、ローマ委員会によって作成された、<http://www.romecriteria.org/questionnaires/>から入手できる、質問票の質問の全てあるいはその一部を包含する。例えば、本質問票は、成人機能性GI障害に対するローマIII診断質問票(別表C)、<http://www.romecriteria.org/pdfs/AdultFuncGIQ.pdf>から利用できる、の920-936ページに説明される93の質問の全てあるいはその一部を包含することができる。好ましくは、本質問票の第1セクションはローマIII診断質問票に説明される93の質問の16個を含む(表10を参照)。代替的には、本質問票の第1セクションは表10に示される16の質問の一部(例えば、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14、又は15)を含む。非限定的な例として、表10で説明される次の10の質問: 質問番号2, 3, 5, 6, 9, 10, 11, 13, 15、及び16、が、本質問票に包含されることができる。当業者は、本質問票の第1セクションが痛み、不快感、及び/又は便の硬さの変化に関する表10に示す質問に類似する質問を含んでもよいことを認識している。

30

40

【表 10】

表 10. IBS関連症状の存在又は重症度を同定するための質問票の具体的な第1セクション

1. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で(心臓疾患とは無関係に)胸部の中心に痛み又は不快感を持ちましたか。	0. 全くない 1. 月に1日より少ない 2. 月に1日 3. 月に2~3日 4. 週に1日 5. 週に1日より多い 6. 毎日
2. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で胸やけ(胸部における灼熱様の不快感又は灼熱痛)がありましたか。	0. 全くない 1. 月に1日より少ない 2. 月に1日 3. 月に2~3日 4. 週に1日 5. 週に1日より多い 6. 毎日
3. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で普通量の食事後に不快な満腹感を感じましたか。	0. 全くない → 1. 月に1日より少ない 2. 月に1日 3. 月に2~3日 4. 週に1日 5. 週に1日より多い 6. 毎日
4. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で普通量の食事を摂取することができませんでしたか。	0. 全くない → 1. 月に1日より少ない 2. 月に1日 3. 月に2~3日 4. 週に1日 5. 週に1日より多い 6. 毎日
5. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で下腹部の中央、胸ではなくへその上あたりに痛み又は灼熱感がありましたか。	0. 全くない → 1. 月に1日より少ない 2. 月に1日 3. 月に2~3日 4. 週に1日 5. 週に1日より多い 6. 毎日
6. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で腰部に不快感又は痛みがありましたか。	0. 全くない → 1. 月に1日より少ない 2. 月に1日 3. 月に2~3日 4. 週に1日 5. 週に1日より多い 6. 毎日
7. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で、排便が週に3回より少ないこと(0~2)がありましたか。	0. ないか、まれに 1. とまどき 2. しばしば 3. ほとんど 4. いつも
8. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で硬い、又は塊状の便をしましたか。	0. ないか、まれに 1. とまどき (25%) 2. しばしば (50%) 3. ほとんど (75%) 4. いつも
9. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で排便時に力みみましたか。	1. ないか、まれに 2. とまどき 3. しばしば 4. ほとんど 5. いつも
10. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で排便後に残便感がありましたか。	0. ないか、まれに 1. とまどき 2. しばしば 3. ほとんど 4. いつも
11. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で排便時に便が動かない(すなわち、ふさがれている)という感覚がありましたか。	0. ないか、まれに 1. とまどき 2. しばしば 3. ほとんど 4. いつも
12. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で排便を完了するために臀部あるいは周辺を押ししたり、便を移動させたりしましたか。	0. ないか、まれに 1. とまどき 2. しばしば 3. ほとんど 4. いつも
13. 上記27-32の質問に記載された便秘の症状のいずれかが6ヶ月より以前に現れましたか。	0. いいえ 1. はい
14. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で軟便、泥状便、水様便がありましたか。	0. ないか、まれに → 1. とまどき (25%) 2. しばしば (50%) 3. ほとんど (75%) 4. いつも
15. 過去3ヶ月において、どのくらいの頻度で膨満又は膨張感がありましたか。	0. 全くない → 1. 月に1日より少ない 2. 月に1日 3. 月に2-3日 4. 週に1日 5. 週に1日より多い 6. 毎日
16. 膨満又は膨張感の症状は6ヶ月より以前に現れましたか。	0. いいえ 1. はい

10

20

30

40

【0296】

他の実施形態においては、本質問票は、患者個人にIBSに関連する痛みあるいは不快感を有することに伴う消極的な考えあるいは感情の存在又は重度に関する回答を提供することを求める一連の質問を含む第2セクションからなる。例えば、本質問票は、個人がI

50

BSの1つ又はそれ以上の症状に関連して痛みや不快感を経験している時の不安、恐れ、緊張感、懸念、心配、悩み、ストレス、落ち込み、失望感、絶望、悲観、疑念、及び/又は否定的なことの存在、重症度、頻度、及び/又は持続期間を同定するように方向付けられた質問を含むことができる。

【0297】

ある例としては、本質問票の第2セクションは、Sullivanら、The Pain Catastrophizing Scale: Development and Validation, Psychol. Assess., 7: 524-532 (1995) に述べられる質問票からの質問の全て又はその一部を含む。例えば、その質問票は、患者個人が痛みを感じたときに、ある消極的な考え又は感情を持つ程度: 0 = 全くない、1 = 軽度、2 = 中程度、3 = 重度、4 = いつも、を示す痛みの認知面の評価(Pain Catastrophizing Scale (PCS))に従って、その患者個人によって回答される一連の質問を含むことができる。本質問票の第2セクションは、IBSに関連する痛み又は不快感を持つことに伴う消極的な考えあるいは感情の存在又は重症度を同定することに関連する、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15、又はそれ以上の質問又は記述を含むことができる。非限定的な例として、患者個人が痛みを感じたときに抱く次の考え又は感情: 「私はいつもその痛みが止むかどうか心配している」; 「私はもうこれ以上痛みを耐えられないと感じる」; 「私はその痛みが悪化するのではないかと恐れている」; 「私はその痛みが消えてしまうことを切望している」; 及び「私はその痛みがどれほど痛いかについて考え続けている」、に対する程度を評価するように患者個人に求めることができる。当業者は、本質問票がIBSに関連する痛み又は不快感を持つことに伴う消極的な考え又は感情に関する類似の質問から構成されてもよいことを理解している。

10

20

【0298】

ある実施形態としては、本質問票は、質問票の第1セクション又はその1部からの質問(例えば、表10を参照)のみを含む。他の実施形態においては、本質問票は、質問票の第2セクション又はその1部からの質問のみを含む。

【0299】

患者個人によって本質問票が全て記入されると、各質問に対する回答に対応する数字が合算され、その結果の値は、本個体からの試料中の1つ又はそれ以上の診断マーカの分析結果と組み合わせて、IBS予測精度を向上させるために、本明細書で述べる統計的アルゴリズムを用いて処理することができる。

30

【0300】

代替的には、次の質問: 「あなたは最近何らかの症状を経験していますか」、に対する患者個人のからの「はい」又は「いいえ」の回答は、本明細書で述べる1つ又はそれ以上のバイオマーカの分析結果と組み合わせて、IBS予測精度を向上させるために、単一の統計的アルゴリズム又は統計的アルゴリズムの組み合わせを用いて処理することができる。

【0301】

(実施例14 . IBS予測のための診断マーカ及び症状の選択)

40

本実施例は、IBSを予測するために、本発明の診断マーカ及び症状プロファイルに含まれ得る特徴を選択するための手法について説明する。

【0302】

(1. 導入)

分類の最終目標は、入力ベクトル $X$ を取り、それを $K$ 個の明確なクラス $C_j$  ( $j$ は1~ $K$ の幅をもつ)の1つ又はそれ以上に割り当てることである(Bishop, Pattern Recognition and Machine Learning, Springer, p. 179 (2006)を参照)。診断試験アルゴリズムとの関係では、入力ベクトルは、定量的測定(例えば、バイオマーカ)、名義変数(例えば、性別)、及び順序変数(例えば、調査回答からの症状の存在又は重症度)の組み合わせから構成されても

50

よい。これらの入力ベクトルの構成要素はまとめて、特徴と呼ばれるかもしれない。その入力ベクトルは、診断が望まれる患者を表す。上記モデルの出力は、診断、カテゴリ変数（例えば、2値変数、ここで0 = 健康、1 = 疾病）である。

### 【0303】

診断試験は、入力ベクトルの特徴、及びその分類を予測するために用いられるアルゴリズムを特定することを含む。全ての入力特徴とそれらの相互関係を含む最大限のモデルを用いることが可能であるが、これは、経済 (economy) 及び節約の原理 (parsimony) の理由から好ましくない (Crawley, *Statistical Computing: An Introduction to Data Analysis using S-Plus*, Wiley, p. 211 (2002) を参照)。経済は、入力を収集することは費用を要し、入力を取得する費用は、その利益と比較考慮されなければならないことを提案する。節約の原理は、試験の明確さと信頼性を最大限にするためには、より単純なモデルが好ましく、重要でない入力及び/又は項目は含まれるべきではないことを提案する。

10

### 【0304】

多数の手法が、診断試験で使用される入力ベクトルの特徴を選択するために用いられてもよい。これらの手法は、次の段落で論じる。いくつかの入力選択手法は、アルゴリズム非依存的であり、あらゆる分類アルゴリズムで用いられてもよい。他の入力選択手法は、アルゴリズム特異的である。ランダムフォレスト、ロジスティック回帰、又は判別分析アルゴリズムに特異的に適用可能な手法が続く、いくつかのアルゴリズム非依存的手法の例が提供される。

20

### 【0305】

#### (2. アルゴリズム非依存的手法)

一般的に適用可能な手法を考慮すると、2つのファミリーのアプローチ：統計的及び逐次的・探索的なもの、が利用できる。入力データがある仮定（変数の正規性及び等価性に関する）と一致する場合は、以下に述べるように、統計的手法が用いられてよい。逐次的手法は、これらの仮定がデータと一致するか否かに関わらず、使用されてもよい。

### 【0306】

#### (2.1. 統計的手法)

多数の古典的な標準検定は、個別に（単変量検定）あるいは集団として（多変量検定）、特徴に対して用いられてもよい。例えば、量的バイオマーカーに対しては、入力データの診断的分類は、t検定を用いて比較することができる集団平均値をもたらす。これは、2つの仮定：変数が各集団において正規分布すること；及び2つの集団の分散が同一であること、が妥当であることを要求する (Petrie & Sabin, *Medical Statistics at a Glance*, 2nd ed., Blackwell Publishing, p. 52 (2005) を参照)。本検定は、多変量のアナログを有する：多変量比較では、ホテリング $T^2$ 検定が用いられてもよい (Flury, *A First Course in Multivariate Statistics*, Springer-Verlag, p. 402 (1997) を参照)。

30

### 【0307】

要求された仮定が一致しない場合、マンウィットニーの順位和検定、ウィルコクソンの順位和検定、及び3又はそれ以上の集団に対するクルスカール・ワリスの統計などの、多数のノンパラメトリックな検定が利用できる (Glantz, *Primer of Biostatistics*, 4th ed., McGraw-Hill, Chapter 10 (1997) を参照)。

40

### 【0308】

パラメトリックとノンパラメトリックな検定の両方において、その結果は、どのバイオマーカー（又は特徴群）がその診断集団に対する有意に異なる平均値を持つのか又は持たないのかを示唆するために用いられてもよい。

### 【0309】

50

## (2.2 逐次的手法)

次の逐次的手法は、アルゴリズムが選択されていると想定されるが（例えば、ランダムフォレスト、ロジスティック回帰）、これらの手法は、あらゆるアルゴリズムで使用されてもよく、その意味では、それらはアルゴリズム非依存的である。選択されたアルゴリズムとの関係において、入力ベクトルに利用可能なものから一組の特徴を選択することが望ましい。探索的手法を用いるために、評価基準と探索方法が定義されなければならない。

## 【0310】

## (2.2.1 評価基準)

第1工程は、一組の競合する特徴が評価されるであろう基準を選択することである。1つの可能な基準は、精度、分類子によって作成される予測正答率（真陽性及び真陰性の両方）である。代替的には、評価基準は、感度（疾病を有すると分類される当該疾病を有する個体の割合）及び/又は特異度（疾病を有しないと分類される当該疾病を有しない個体の割合）に関して定義されてもよい（Fisher & Belle, *Biostatistics: A Methodology for the Health Sciences*, Wiley-Interscience, p. 206 (1993)を参照）。一般的ではないが、本基準はまた、陽性的中率（ppv、当該疾病を有するという陽性検定をもつ個体の割合）及び陰性的中率（npv、当該疾病を有しないという陰性検定をもつ個体の割合）を含むかもしれない。

10

## 【0311】

利用可能な基準の一覧を次に示す：精度；感度（単独）；特異度（単独）；感度と特異度の算術平均；感度と特異度の幾何平均；感度と特異度の最小値；及び感度と特異度の最大値。同様の基準は、ppv及びnpv：ppv/npv単独；算術平均；幾何平均；最大値；及び最小値で用いられてもよい。感度、特異度、ppv、及びnpvを組み合わせる基準（例えば、これら4つの値の算術平均）を定義することも可能である。擬陽性及び偽陰性に対する特異的なペナルティを定義することもまた可能であり、この場合、スコアが最大化されるというよりもむしろ最小化されることになる。

20

## 【0312】

## (2.2.2 探索方法)

上記で定義したあらゆる評価基準に対し、入力ベクトルにおける全ての可能な特徴の部分集合を網羅的に列挙することによって、あらゆるアルゴリズム（ランダムフォレスト、ロジスティック回帰、判別分析、及びその他を含む）を評価することが可能である。これが、コンピューターを駆使することを全く受け入れない場合には、一連の段階で、個体の特徴を1つずつ付け加える（前方探索）あるいは1つずつ取り除く（後方探索）という逐次的探索を行うことが可能である（Petrie & Sabin, *Medical Statistics at a Glance*, 2nd ed., Blackwell Publishing, p. 89 (2005)を参照）。

30

## 【0313】

前方探索においては、特徴（例えば、バイオマーカー、症状、等）は、段階で1つずつ加えられる。第1段階では、1つの特徴からなる入力ベクトルが訓練データにおいて評価され、最良の特徴（上述した基準によって定義される）が同定される。第2段階では、一組の新しい入力特徴が構築され、評価される。それぞれのセットは、2つの特徴を持ち、その1つは第1段階の評価からの「最良の」特徴である。第2段階からの最良の一組の特徴が選択され、第3段階に対するバイアスとなる。第3段階では、全ての入力ベクトルが3つの特徴を有し、そのうちの2つは第2段階で同定されたものである、等々となる。この工程は、入力ベクトルにおける有効な特徴の数と同数の段階で繰り返し実施される。結果として、最良の入力ベクトル（すなわち、一組の特徴）が、本基準によって定義され、選択される。

40

## 【0314】

後方探索は、同様に、しかしモデル拡張というよりもむしろモデル単純化の工程に進む（Crawley, *Statistics: An Introduction Using*

50

g R, Wiley, p. 105 (2005) を参照)。開始点は、特徴の完全なセットを有する入力ベクトルである。各段階で、1つのパラメーターが、上述の基準によって評価され、削除するために選択される。

#### 【0315】

網羅的な前方及び後方探索に加えて、確率的に探索することが可能である。1つの手法は、種として用いられる一組の特徴をランダムに生成することである。各々の種は、その後、前方及び後方の両方で評価されてもよく、そして最良の結果である入力を用いられるかもしれない。他の手法は、多重前方及び/又は後方探索を実施することであるが、各段階では、最良の特徴の付加あるいは削除を確定的に選択するというよりむしろ、直前の段階での順位付けに基づいて付加・削除の確率を単調に減少・増加する式によって含める又は削除するために、その特徴を確率的に選択する。

10

#### 【0316】

##### (3. アルゴリズム特異的手法)

あらゆるアルゴリズムに適用できる、特徴の選択手法について論じてきたが、本節では、特定のアルゴリズムに特異的な手法について述べる。3つの典型的なアルゴリズム：ランダムフォレスト；ロジスティック回帰；及び判別分析、について論じる。

#### 【0317】

##### (3.1 ランダムフォレスト)

ランダムフォレストに対しては、特徴の重みを表すために2つの基準：順列の重み (permutation importance) (Stroblら、BMC Bioinformatics, 8:25 (2007) 参照)；ジニの重み (gini importance) (Breimanら、Classification and Regression Trees, Chapman & Hall/CRC, p. 146 (1984) を参照) が利用できる。

20

#### 【0318】

順列の重みに関しては、その概念は、完全な森のスコアを、1つの特徴に対する入力値が散乱している森によって生成されるスコアと比較することである。直感的には、その特徴がより重要であるほど、当該特徴の値がランダムに並べ替えられた際に、そのスコアがより低下するだろう。このスコアの低下が順列の重みであり；本方法で全ての特徴を評価することにより、それらの重みが順位付けられるかもしれない。

30

#### 【0319】

ジニの重みに関しては、その概念は、各特徴により生成される「ジニ・ゲイン (gini gain)」分岐基準における個々の木の改善の重み付け平均をとることである。ある特徴においてノードの分岐が作られる度に、2つの子ノードに対するジニ不純度の基準は親ノードよりも低くなる。森の木全体において、個々の特徴それぞれに対するジニの減少を加算することは、特徴の重みの尺度を与える。

#### 【0320】

##### (3.2 ロジスティック回帰)

ロジスティック回帰は、従属変数 (例えば、診断) がカテゴリ・名義である場合に用いられる (Agresti, An Introduction to Categorical Data Analysis, 2nd ed., Wiley-Interscience, Chapter 4 (2007) を参照)。多くの文献が多重回帰における特徴・モデル選別の手法について説明する (Maindonald & Braun, Data Analysis and Graphics Using R, 2nd ed., Cambridge University Press, Chapter 6 (2003) を参照)。

40

#### 【0321】

ロジスティック及び他のタイプの回帰においては、個々の特徴の有意性は、対応する回帰係数がゼロであるという仮説を検定することによって評価されてもよい (Kachigan, Multivariate Statistical Analysis, A C

50

conceptual Introduction, 2nd ed., Radius Press, p. 178 (1991)を参照)。例えば、与えられた項目が回帰モデルから取り除かれた時に結果として生じる偏差の増加の有意性を評価するためにF検定を用いる、削除検定に基づいて特徴群を評価することも可能である (Crawley, Statistics: An Introduction Using R, Wiley, p. 103 (2005); Devore, Probability and Statistics for Engineering and the Sciences, 4th ed., Brooks/Cole, p. 560 (1995)を参照)。

#### 【0322】

##### (3.3 判別分析)

判別分析は、パラメリックな形式の判別関数が仮定され、その判別関数のパラメーターが当てはめられる一組の手法を表す。これは、パラメリックな形式の根本的な確率密度が仮定され、当てはめられる手法と対比される。本ファミリーの手法の具体例は、フィッシャーの線形判別分析 (LDA) であり; 関連する手法と拡張は、2次判別分析 (QDA)、正則化判別分析、混合判別分析、及びその他を含む (Vanables & Ripley, Modern Applied Statistics with S, 4th ed., Springer, Chapter 12 (2002)を参照)。LDAのための特徴選択は以下に述べる; その議論は、本ファミリーの関連する手法にも適用できる。

#### 【0323】

LDAにおいては、線形判別係数は、クラス間偏差とクラス内分散の割合によって測定され、クラス分類を最大にするように選択される (Everitt & Dunn, Applied Multivariate Data Analysis, 2nd ed., Oxford University Press, p. 253 (2001)を参照)。この関係において、特徴の重複は、形式的に推論される (Flury, A First Course in Multivariate Statistics, Springer-Verlag, Sections 5.6 and 6.5 (1997)を参照)。これは、相関判別関数係数がゼロであるという仮説を検定することによって行われる。本判別関数係数における推定によって、有効な特徴群に対する充足・重複の検定を構築することが可能である。

#### 【0324】

##### (3.4 他のアルゴリズム)

多数の他のアルゴリズムは、診断分類のために利用可能であり、ニューラルネットワーク、サポートベクターマシン、CART (分類・回帰木)、教師なしクラスターリング (k-means法、ガウス混合)、k-近傍法、及び多くの他の手法を含む。これらの多くのアルゴリズムに対して、アルゴリズム特異的な手法は、特徴を評価し選択するために利用可能である。加えて、いくつかの技術は、特徴の抽出 (利用可能な特徴の線形或いは非線形の組み合わせであるかもしれないより少数の特徴を選択すること) に焦点を当てる。これらの手法は、主成分分析、独立成分分析、因子分析、及び他のバリエーションを含む (Dudaら、Pattern Classification, 2nd ed., Wiley-Interscience, p. 568 (2001)を参照)。

#### 【0325】

##### (実施例15. IBS予測のための症状プロフィール)

本実施例は、IBS診断予測アルゴリズムの精度を向上するための質問票の使用の手法を説明する。

#### 【0326】

ある例としては、IBS患者を同定することは、代替的なアルゴリズムを作成するための予測変数、あるいは追加の感度と特異度を向上させるためのさらなる入力として1つ又はそれ以上の質問を用いると、より正確に予測される。

#### 【0327】

ある例としては、「あなたは最近何らかの症状を経験していますか」という質問が作成

10

20

30

40

50

され；一方、他の質問は、ローマII、ローマIII、痛みの認知面の評価といった既知の質問票（Sullivanら、The Pain Catastrophizing Scale: Development and Validation, Psychol. Assess., 7: 524-532 (1995)を参照）、等から抽出された。いくつかの質問は、名義回答（発生率）を有し、他のものは、分類的（カテゴリカル、2値）であった。ローマIIIの質問においては、患者からの全ての回答の名義値は、単純化された「疾病重症度（disease severity）」スコアと見なされる単一のスコアを生成するために加算された。ある実施形態においては、このスコアをバイオマーカー値とともに包含することが、アルゴリズムの感度と特異度の両方を改善した。

【0328】

1つの実施形態においては、各質問のスコア（例えば、0～4）は、全てのバイオマーカーとともに入力（予測変数）として用いられた。モデルは、その後、ランダムフォレスト及びニューラルネットワークを用いて作成された。ランダムフォレスト及びニューラルネットワークの両者は、アルゴリズム予測の精度を向上させる最も重要な質問を決定する能力がある。最良の質問を選択した後、特定の患者に対する各質問の値を合算することによって、1つのスコアが「疾病重症度」あるいは破局的思考レベルを予測するのに用いられた。質問票のスコアを含むデータは、ランダムフォレスト、ニューラルネットワーク及び他の統計分類を用いてアルゴリズムを訓練するのに用いられた。ローマII、ローマIII、及び痛みの認知面の評価からの質問は、IBS患者を同定するために多様なバイオマーカーと組み合わせることで、予測精度を改善した。加えて、単一の質問、「あなたは最近何らかの症状を経験していますか」（はい又はいいえ）、は、いくつかの例では、本質問票における質問に対する回答のスコア合計と同様に重要であった。

【0329】

表11は、症状プロファイルがIBS予測精度を改善できることを示す。入力予測変数として質問票からの様々なデータを含むことによって、感度と特異度がともに改善される。

【表11】

表11. 入力予測子として様々な質問を包含することによるIBS予測精度の向上

重症度		X			X
破局的思考の程度			X		X
現在の症状				X	X
CBIR1	X	X	X	X	X
ANCA ELISA	X	X	X	X	X
EGF	X	X	X	X	X
ASCA-IgG	X	X	X	X	X
ASCA-IgA	X	X	X	X	X
AGE	X	X	X	X	X
抗OMP C	X	X	X	X	X
IL-8	X	X	X	X	X
ラクトフェリン	X	X	X	X	X
抗トランスグルタミナーゼ	X	X	X	X	X
感度	69%	76%	70%	73%	69%
特異度	44%	89%	87%	63%	94%

【0330】

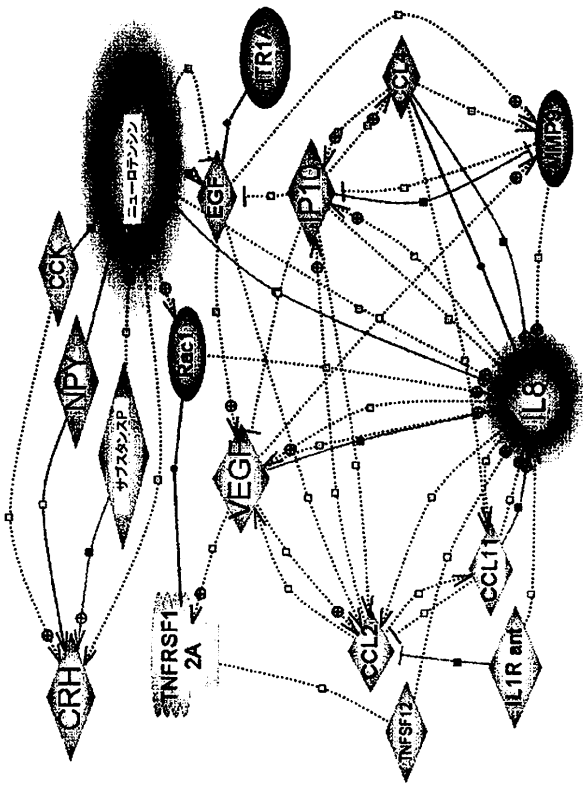
表11のデータのように、特異度は、質問票のデータの使用とともに増加し、平均的に感度もまた増加する。感度は、IBS患者間での陽性検定確率であり、一方、特異度は、非IBS患者間での陰性検定確率である。

【0331】

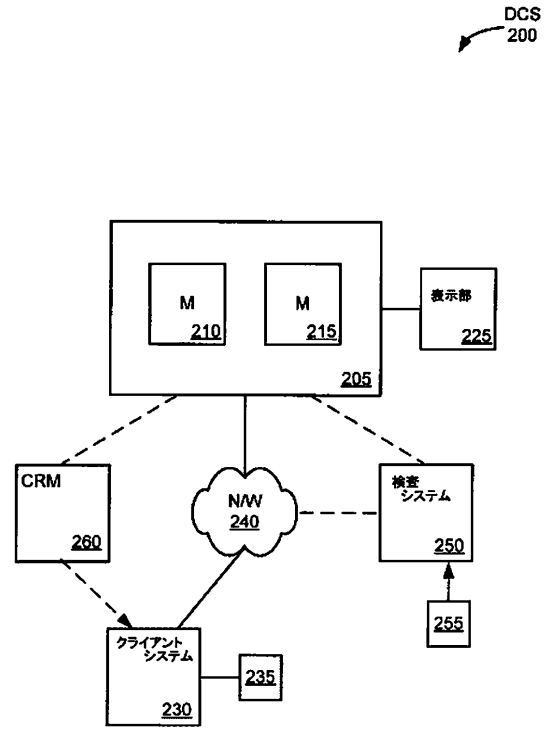
以上、本発明は、明確な理解の目的のために、説明及び実施例により詳細に開示されているが、当業者は、添付する特許請求の範囲の範囲内において変更及び修正を加えること

が許容されることを理解するだろう。加えて、本明細書にて提供される各引用文献は、各引用文献が参照により個別に援用されたのと同程度に全体として参照により援用される。

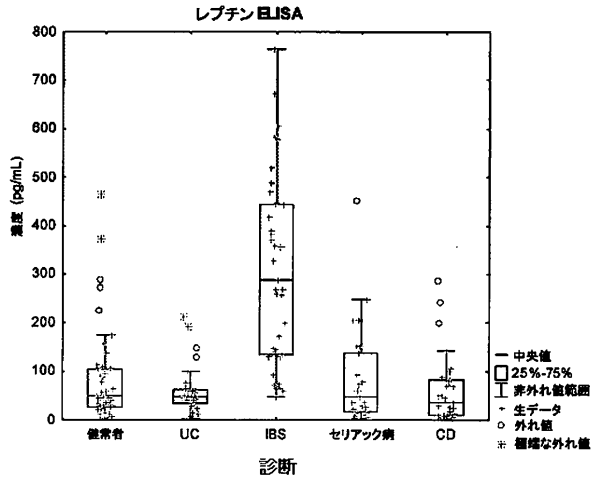
【 図 1 】



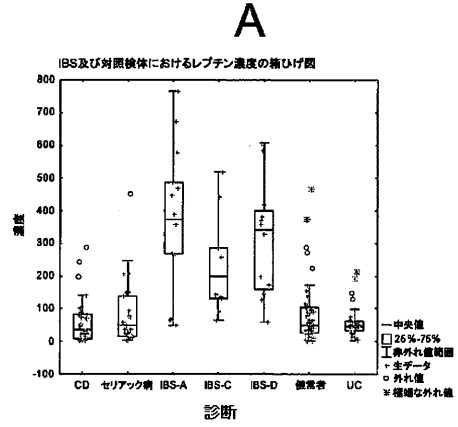
【 図 2 】



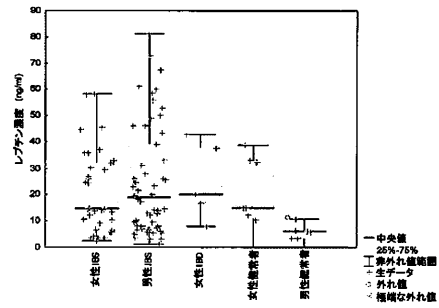
【 図 3 】



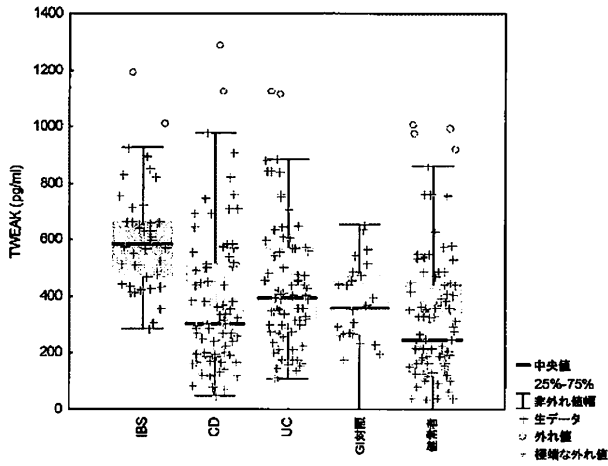
【 図 4 】



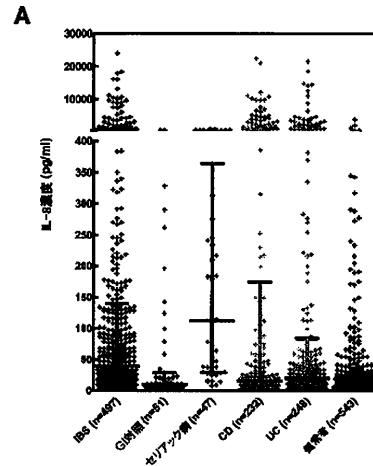
B



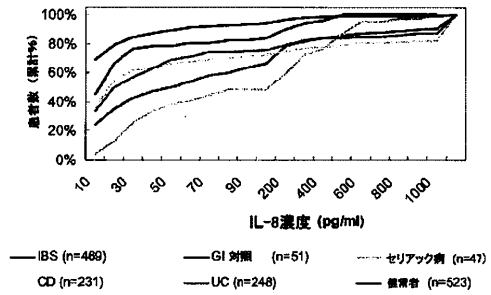
【 図 5 】



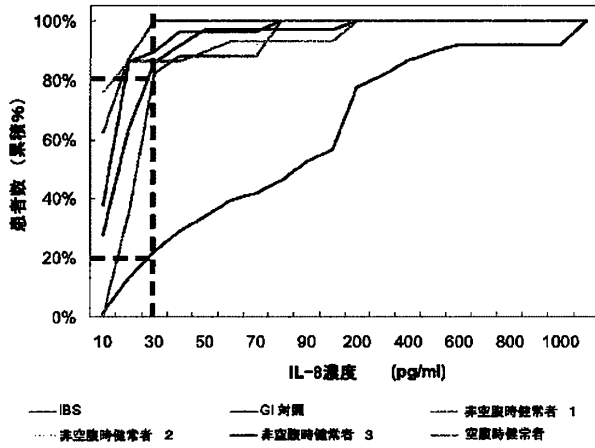
【 図 6 】



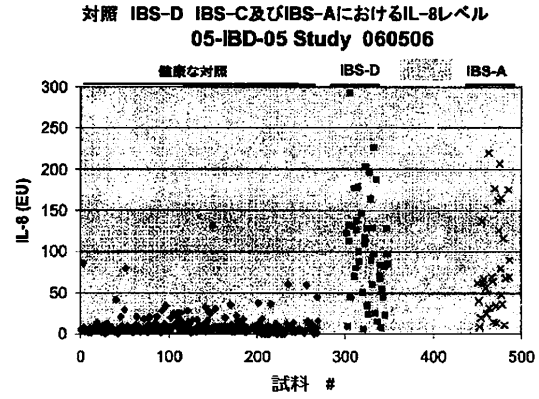
B



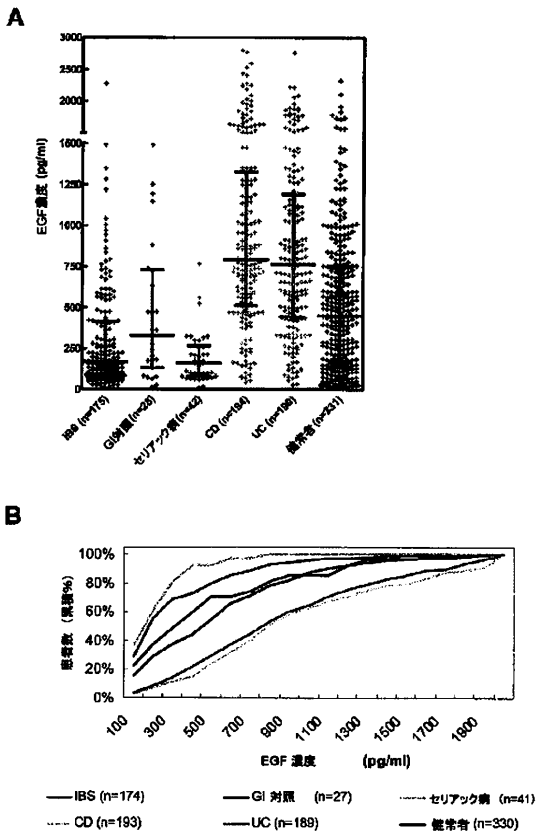
【 図 7 】



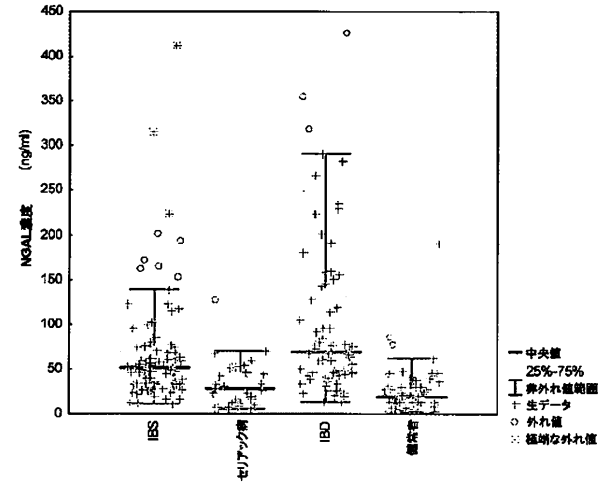
【 図 8 】



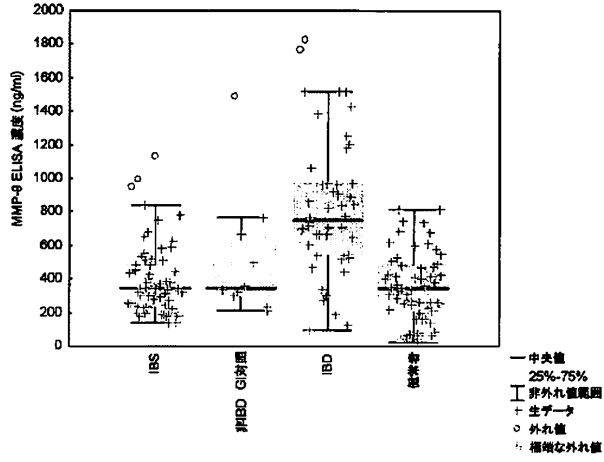
【 図 9 】



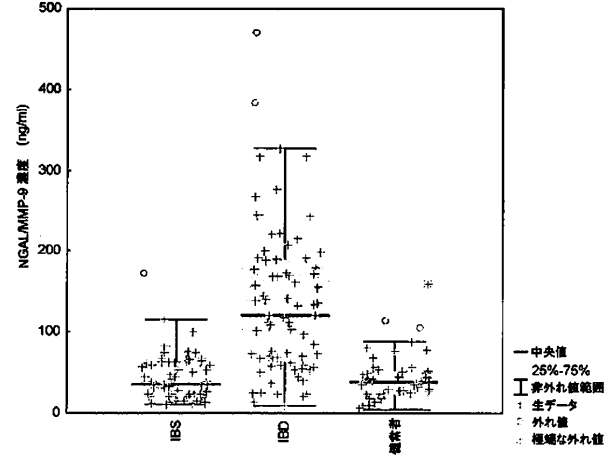
【 図 10 】



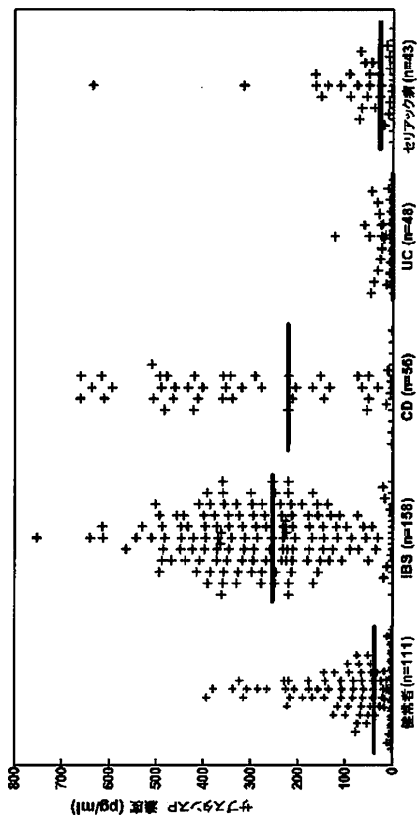
【 図 1 1 】



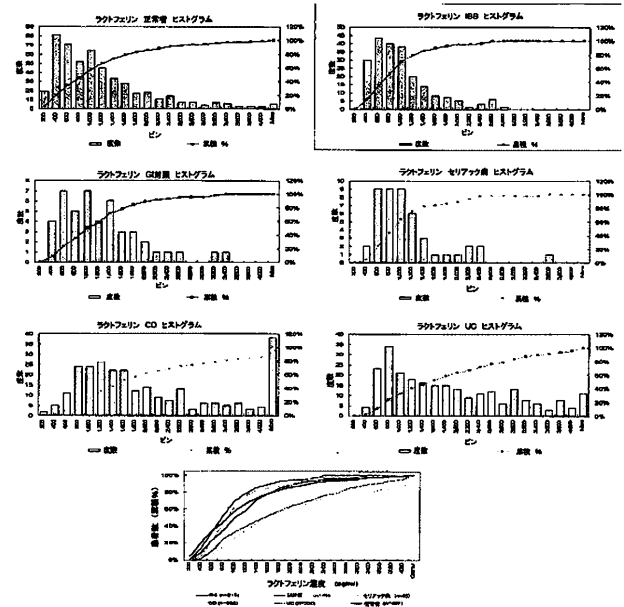
【 図 1 2 】



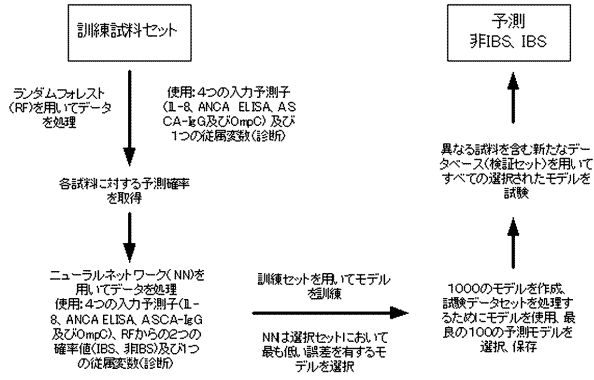
【 図 1 3 】



【 図 1 4 】



【 図 1 5 】



【 図 1 6 】

IBS予測精度 060106  
 060106時点におけるIL-8のデータ  
 IL-8 ELISA値が800EUより大きい場合は、800EUの値とした

		モデル			
TN	99	IBS	感度	75%	22
FN	26	IBS	特異度	98%	22
TP	79	IBS	PPV	98%	22
FP	2	IBS	NPV	79%	22
TN	88	IBS	感度	88%	38
FN	15	IBS	特異度	85%	38
TP	90	IBS	PPV	86%	38
FP	15	IBS	NPV	85%	38
TN	85	IBS	感度	87%	39
FN	14	IBS	特異度	84%	39
TP	91	IBS	PPV	85%	39
FP	16	IBS	NPV	86%	39

混合マトリクス		
	0	-1
0.22	99	26
-1.22	2	79
0.38	88	15
-1.38	15	90
0.39	85	14
-1.39	16	91

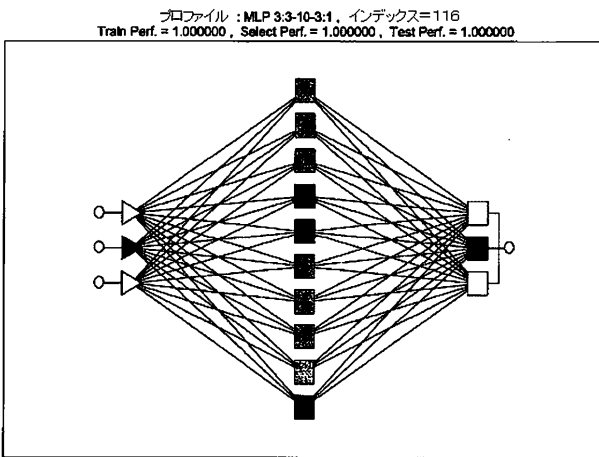
  

モデル	感度	特異度	PPV	NPV
22	75%	98%	98%	79%
38	86%	85%	86%	85%
39	87%	84%	85%	86%

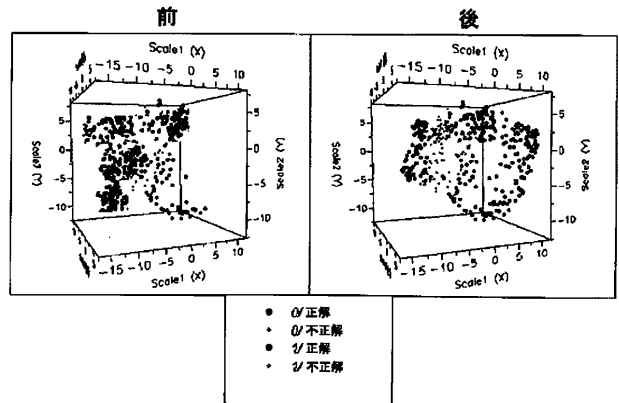
  

試料数	
総数	735
健康な対照	333
IBS	402

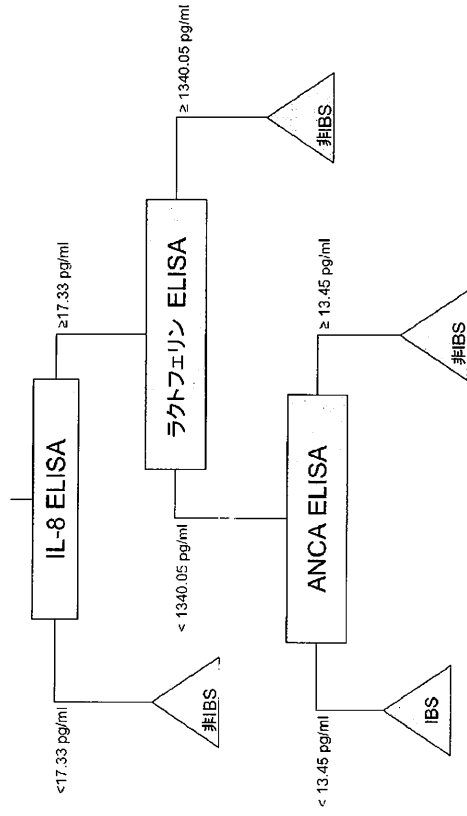
【 図 1 7 】



【 図 1 8 】



【 図 19 】



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/US2007/075976
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. G01N33/68 G06F19/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N G06F		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, COMPENDEX, BIOSIS, INSPEC, CHEM ABS Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	THIERRY PICHE ET AL: "Impact of fatigue in irritable bowel syndrome: Role of plasma leptin" GASTROENTEROLOGY, ELSEVIER, PHILADELPHIA, PA, vol. 128, no. 4, Suppl. 2, 1 April 2005 (2005-04-01), page A623, XP009101044 ISSN: 0016-5085 abstract	1,2, 14-53, 65-102, 114-123
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *8* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
12 June 2008		04/09/2008
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Thumb, Werner

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.  
 PCT/US2007/075976

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DINAN ET AL: "Hypothalamic-Pituitary-Gut Axis Dysregulation in Irritable Bowel Syndrome: Plasma Cytokines as a Potential Biomarker?" GASTROENTEROLOGY, ELSEVIER, PHILADELPHIA, PA, vol. 130, no. 2, 1 February 2006 (2006-02-01), pages 304-311, XP005284533 ISSN: 0016-5085 abstract page 306, column 2, paragraph 2	1,2, 14-53, 65-102, 114-123
Y	CURNOW S JOHN ET AL: "Multiplex bead immunoassay analysis of aqueous humor reveals distinct cytokine profiles in uveitis" IOVS, vol. 46, no. 11, November 2005 (2005-11), pages 4251-4259, XP002483959 ISSN: 0146-0404 abstract page 4253, column 1, paragraphs 2,3	1,2, 14-53, 65-102, 114-123
X	US 2004/122787 A1 (AVINASH GOPAL B [US] ET AL) 24 June 2004 (2004-06-24) abstract paragraphs [0008] - [0014] paragraphs [0155] - [0208], [0248] - [0263], [0298] - [0301], [0413] - [0420]	44-47, 74-98
A	WO 01/11334 A (CEDARS SINAI MEDICAL CENTER [US]) 15 February 2001 (2001-02-15)  abstract page 25, lines 8-23 example 3	1,2, 14-53, 65-102, 114-123
A	WILEY S ET AL: "TWEAK, a member of the TNF superfamily, is a multifunctional cytokine that binds the TweakR/Fn14 receptor" CYTOKINE AND GROWTH FACTOR REVIEWS, OXFORD, GB, vol. 14, 1 January 2003 (2003-01-01), pages 241-249, XP002356994 ISSN: 1359-6101 the whole document.	1,2, 14-53, 65-102, 114-123

-/-

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2007/075976
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DROSSMAN DOUGLAS A: "What does the future hold for irritable bowel syndrome and the functional gastrointestinal disorders?" JOURNAL OF CLINICAL GASTROENTEROLOGY, RAVEN PRESS LTD., NEW YORK, NY, US, vol. 39, no. 4 Suppl. 3, 1 May 2005 (2005-05-01), pages S251-S256, XP009101344 ISSN: 0192-0790 the whole document	1,2, 14-53, 65-102, 114-123

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2007/075976**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

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

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
  
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of additional fees.
  
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

see additional sheet(s)

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2007 /075976

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1(partially), 2, 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially) 53, 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 102, 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of cytokines in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

2. claims: 1(partially), 3, 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 54, 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 103, 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of growth factor in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

3. claims: 1(partially), 4, 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 55, 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 104, 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of anti-neutrophil antibody in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

4. claims: 1(partially), 5, 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 56, 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 105, 114-123(partially)

International Application No. PCT/US2007/075976

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of anti-Saccharomyces antibody in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

5. claims: 1(partially), 6, 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 57, 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 106, 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of anti-microbial antibody in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

6. claims: 1(partially), 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of lactoferrin in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

7. claims: 1(partially), 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of anti-tissue transglutaminase antibody in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

8. claims: 1(partially), 7, 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 58, 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 107, 114-123(partially)

International Application No. PCT/US2007 /075976

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of lipocalin in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

9. claims: 1(partially), 6, 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 59, 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 108, 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of matrix metalloproteinase in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

10. claims: 1(partially), 7, 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 60, 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 109, 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of tissue inhibitor of metalloproteinase in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

11. claims: 1(partially), 10, 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 61, 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 110, 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of alpha globulin in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

12. claims: 1(partially), 11, 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 62, 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 111, 114-123(partially)

International Application No. PCT/US2007/075976

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of actin-severing protein in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

13. claims: 1(partially), 12, 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 63, 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 112, 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of S100 protein in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

14. claims: 1(partially), 13, 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 64, 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 113, 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of fibrinopeptide in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

15. claims: 1(partially), 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of calcitonin gene-related peptide in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

16. claims: 1(partially), 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 114-123(partially)

International Application No. PCT/US2007/075976

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of tachykinin in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

17. claims: 1(partially), 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of ghrelin in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

18. claims: 1(partially), 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of neurotensin in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

19. claims: 1(partially), 14-32 (partially), 33-43(partially), 44-47, 48-51(partially), 52(partially), 65-73(partially), 74-98, 99-101(partially), 114-123(partially)

Methods for classifying whether a sample from an individual is associated with IBS, monitoring the progression of IBS or monitoring drug efficacy of a drug for treating IBS comprising determining the presence or level of corticotropin-releasing hormone in said sample; computer readable media and systems for performing said methods.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No  
PCT/US2007/075976

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2004122787 A1	24-06-2004	AU 2003295699 A1	29-07-2004
		CN 1748217 A	15-03-2006
		EP 1576523 A2	21-09-2005
		JP 2006511882 T	06-04-2006
		KR 20050085778 A	29-08-2005
		WO 2004061744 A2	22-07-2004
WO 0111334 A	15-02-2001	AU 6638300 A	05-03-2001
		US 6562629 B1	13-05-2003

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
	G 0 1 N 33/573	A
	G 0 1 N 33/53	D

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

- 1 . フ ロ ッ ピ ー
- 2 . J A V A
- 3 . E T H E R N E T

(72) 発明者 ロイス、オーガスト

アメリカ合衆国、 9 2 1 2 1 カリフォルニア州、 サン ディエゴ、 パノラミック レーン 5 4  
3 6

Fターム(参考) 4B063 QA18 QA19 QQ03 QR56 QR62 QS25 QS34 QX02

专利名称(译)	过敏性肠症候群诊断方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP2010506144A</a>	公开(公告)日	2010-02-25
申请号	JP2009524779	申请日	2007-08-15
[标]申请(专利权)人(译)	普罗米修斯实验室公司		
申请(专利权)人(译)	普罗米修斯实验室公司		
[标]发明人	ロイスオーガスト		
发明人	ロイス、オーガスト		
IPC分类号	G01N33/53 C12Q1/68 G01N33/569 G01N33/573		
CPC分类号	G01N33/686 G01N33/564 G01N33/6869 G01N33/6893 G01N33/74 G01N2800/065 G01N2800/52		
FI分类号	G01N33/53.P G01N33/53.Z C12Q1/68.A G01N33/569.F G01N33/53.N G01N33/573.A G01N33/53.D		
F-TERM分类号	4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02		
代理人(译)	木村充		
优先权	60/822488 2006-08-15 US 60/884397 2007-01-10 US 60/895962 2007-03-20 US		
其他公开文献	JP2010506144A5 JP5571951B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明提供了用于准确分类来自个体的样品是否与肠易激综合征 (IBS) 相关的方法，系统和代码。特别地，本发明可用于使用统计算法和/或经验数据将来自个体的样品分类为IBS样品。本发明还可用于排除使用统计算法和/或经验数据的组合在IBS中存在的具有IBS样症状和排异的一种或多种疾病或病症。因此，本发明提供了IBS的准确诊断预测和用于指导治疗决定的预后信息。

ニ  
レ  
ド  
ト  
一  
人  
目  
別

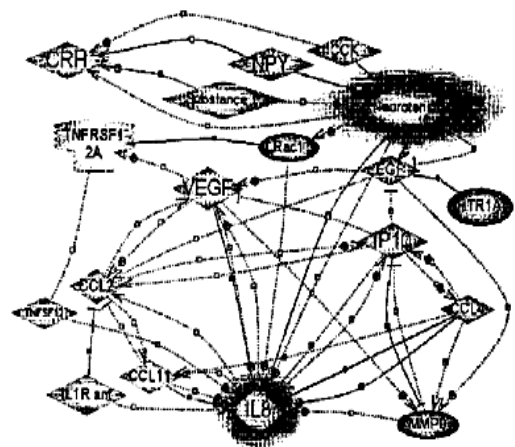


Fig. 1