

(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2013-527444

(P2013-527444A)

(43) 公表日 平成25年6月27日(2013.6.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	N
GO 1 N 33/49 (2006.01)	GO 1 N 33/53	X
	GO 1 N 33/49	A
	GO 1 N 33/53	D

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 37 頁)

(21) 出願番号	特願2013-506659 (P2013-506659)	(71) 出願人	512278526
(86) (22) 出願日	平成23年4月28日 (2011. 4. 28)		テラディアグ・ソシエテ・アノニム
(85) 翻訳文提出日	平成24年12月25日 (2012.12.25)		THERAD I A G S A
(86) 国際出願番号	PCT/EP2011/056732		フランス、エフ-77183クロワシー-
(87) 国際公開番号	W02011/135024		ポーブル、ブルヴァール・ドゥ・ポー
(87) 国際公開日	平成23年11月3日 (2011.11.3)		ブル4-6番
(31) 優先権主張番号	61/329, 201	(74) 代理人	100081422
(32) 優先日	平成22年4月29日 (2010. 4. 29)		弁理士 田中 光雄
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100084146
(31) 優先権主張番号	10305455.7		弁理士 山崎 宏
(32) 優先日	平成22年4月29日 (2010. 4. 29)	(74) 代理人	100122301
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		弁理士 富田 憲史
		(74) 代理人	100127638
			弁理士 志賀 美苗

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗体を検出するための方法

(57) 【要約】

本発明は、抗薬物抗体を検出する方法に関する。本発明はまた、治療抗体処置を受けている患者をモニターする方法に関する。本発明は、さらに上記方法の実施のために適当なキットに関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

サンプル中の抗薬物抗体 (A D A) を免疫検出するための方法であって、該薬物は標的抗原に対する治療抗体であり、該方法は、

- a) サンプル中の抗原の存在を確認すること ;
- b) 存在するとき、該サンプル中の該抗原を中和すること ; および
- c) 該サンプル中の該 A D A の存在または量を免疫検出すること

を含む、方法。

【請求項 2】

治療抗体処置に対する患者の応答性を検出するための方法であって、該治療抗体は標的抗原に対するものであり、該方法は、該患者由来のサンプル中で、

- 該治療抗体、
- 該抗原、および
- 該治療抗体に対する抗薬物抗体 ;

の存在または量を決定し、患者プロフィールを得ることを含み、該患者プロフィールは該処置に対する該応答性を示す、方法。

【請求項 3】

該決定が、免疫測定法、好ましくは E L I S A または免疫捕獲により行われる、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

該抗原が T N F である、請求項 1 から 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】

薬物が、インフリキシマブ、エタネルセプト、アダリムマブ、ゴリムマブおよびセルトリズマブペゴールから選択される抗 - T N F 抗体である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

患者が自己免疫性または炎症性疾患を有する、請求項 2 から 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

該患者由来のサンプル中で、C 反応性タンパク質 (C R P) または赤血球沈降速度 (E S R) の存在または量を決定することをさらに含む、請求項 2 から 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 8】

患者の処置をモニターまたは調整するための、請求項 2 から 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

サンプルが体液サンプル、好ましくは血清または血漿サンプルである、請求項 1 から 8 のいずれかに記載の方法。

【請求項 10】

抗 - T N A アルファ処置を受けている患者をモニターするための請求項 8 に記載の方法であって、該方法は、該患者由来のサンプル中で、

- 該治療抗体、
- 該抗原、および
- 該治療抗体に対する抗薬物抗体 ;

の存在または量を決定し、患者プロフィールを得ることを含み、該患者プロフィールは、該患者が該処置に対して応答するか否かを示し、それにより、処置の調整を可能にする方法。

【請求項 11】

T N F アルファレベルが 10 pg / ml 未満であり、治療抗体レベルが $1 \text{ } \mu \text{g / ml}$ を越えており、A D A レベルが 50 ng / ml 未満であるとき、患者が応答性であり、該処置が持続または減少さえされるべきである、請求項 10 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 2】

不活性な T N F アルファのレベルが検出されるとき、前記請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 3】

不活性な T N F アルファのレベルが 1 0 p g / m l を越えるとき、患者は該処置に対して非応答性である、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】

治療抗体処置に対する患者の応答性を検出するための方法であって、該治療抗体は T N F アルファに対するものであり、該方法は該患者由来のサンプル中で、不活性な T N F アルファの存在または量を決定し、該存在または量は、該処置に対する該患者の応答性が低いまたは低下していることを示すことを含む、方法。

10

【請求項 1 5】

抗 - T N F アルファ処置を受けている患者をモニターするための方法であって、該方法は該患者由来のサンプル中で、不活性な T N F アルファの存在または量を決定し、該存在または量は、該処置に対する該患者の応答性を示すことを含む、方法。

【請求項 1 6】

サンプル中で、
 - 標的抗原に対する治療抗体、
 - 該抗原、および
 - 該治療抗体に対する抗薬物抗体
 の存在または量を検出するための試薬を含むキット。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、抗薬物抗体を検出する方法に関する。本発明はまた、治療抗体処置を受けている患者をモニターする方法に関する。本発明は、さらに上記方法の実施のために適当なキットに関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

背景

治療抗体は、種々の障害、例えば、免疫学的疾患、炎症性疾患、癌または感染症の処置のためにますます使用されている。これらの治療抗体は、一般的に、様々な種由来のモノクローナル抗体またはキメラもしくはヒト化抗体である（例えば、Leveneら、2005、J. Royal Soc. Med. 98, pp 145-152、参照）。疾患に依存して、異なる標的抗原に対する治療抗体、例えば、T N F、V E G F、H E R 2、C D 2 0、I G F - I 受容体、E G F R または I L - 6 受容体が使用されている。

30

【0 0 0 3】

抗 - T N F 治療抗体は、種々の炎症性または自己免疫疾患、例えば、リウマチ性関節炎、多発性硬化症、クローン病または強直性脊椎炎を有する患者を処置するために広く使用される。このような抗 - T N F 剤の例は、エタネルセプト、ゴリムマブ、セルトリズマブペゴール、アダリムマブまたはインフリキシマブを含む。エタネルセプトは、1 型ヒト免疫グロブリン（I g G 1）の F c フラグメントに連結したヒト p 7 5 T N F 受容体の 2 つの細胞外ドメインからなる二量体融合タンパク質である。ゴリムマブは、ヒト抗 - T N F モノクローナル抗体である。セルトリズマブペゴールは、モノクローナル抗体、さらに正確にはヒト化抗 - T N F モノクローナル抗体のペグ化 F a b ' フラグメントである。アダリムマブは、ヒト化抗 - T N F モノクローナル抗体であり、インフリキシマブは、キメラ抗 - T N F モノクローナル抗体である（Perdriger A, Infliximab in the treatment of rheumatoid arthritis. Biologics: Targets & Therapy 2009:3 183-191）。これらの抗体は T N F に結合し、その炎症性作用をブロックする。

40

【0 0 0 4】

50

治療抗体のさらなる例は、限定はしないが、WO 2004/096274に記載されている抗-IL-6モノクローナル抗体および例えばWO 2005/005635に記載されている抗-IGF-IR抗体を含む。

【0005】

しかしながら、治療抗体での処置中、治療抗体それ自体に対する免疫応答が生じ、患者は、しばしば、処置の過程にわたって、薬物それ自体に対する抗体（「抗薬物抗体」）を創出させる。結果として、治療抗体の血漿割合は減少し、同時にもしくは次に、疾患症状が再発するか、または増加する。したがって、これらの抗薬物抗体（「ADA」）は、治療抗体の効果を減少させるか、または全体として中和する（例えば、Wolbink GJら Development of anti-Infliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis & Rheumatism, 2006 54(3): 711-715; G. M. Barteldsら High levels of human antibodies to adalimumab in a patient not responding to adalimumab treatment. Anna Rheum Dis 2006;65:1249-1250、参照）。したがって、対象由来のサンプル中のこれらのADAの検出は、処置の過程にわたって、患者をモニタリングする方法を示し得る。

【0006】

ADAを検出するための方法は、当分野で、例えば、WO 2008/137885、WO 2007/101661またはWO 2009/091240において報告されている。これらの出願で言及される方法は、捕獲および標識抗体を使用する免疫学的方法である。ADA検出に関してさらなる方法および提案は、Anthony R. Mire-Sluisら Journal of Immunological Methods, 333 (2008) 1-9; Eugen Korenら Journal of Immunological Methods, 289 (2004) 1-16において報告されている。Wolbinkら (Arthritis & Rheumatism 54 (2006) 711-715) はまた、リウマチ性関節炎を有する患者における抗-インフリキシマブ抗体の臨床的関連を議論する。これらの方法は、ADAおよび関連抗原を同時に評価することを提案していない。これらの方法は、種々のパラメーターの組合せ検出の関連を認識していない。

【0007】

Pattersonら (J. Immunol. Methods 304 (2005) 189-195) は、タンパク質に対する抗体を検出するためのELISA方法に関する。

【0008】

本発明は、ADAを検出し、治療抗体処置を受けている患者をモニタリングする改善された方法に関する。

【発明の概要】

【0009】

発明の概要

本発明は、抗薬物抗体を検出する改善された免疫学的方法を提供する。本発明はまた、治療抗体処置を受けている患者をモニターする方法を提供する。本発明は、さらに上記方法の実施のために適当なキットに関する。

【0010】

さらに具体的には、本発明の目的は、サンプル中の（インビトロ）抗薬物抗体（ADA）（の存在または量）を免疫検出するための方法であって、該薬物は標的抗原に対する治療抗体であり、該方法は、

- a) サンプル中の抗原の存在を確認すること；
- b) 存在するとき、該サンプル中の該抗原を中和すること；および
- c) 該サンプル中の該ADA（の存在または量）を免疫検出することを含む、方法に関する。

【0011】

本発明者らは、サンプル中の抗原の存在が対応するADAを検出する能力を実質的に妨害することを見出した。したがって、このような事前の中和工程がない限り、サンプル中のADAの信頼性のある検出を得ることはできない。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 2 】

本発明のさらなる目的は、サンプル中の（インビトロ）抗薬物抗体（A D A）を免疫検出するための方法であって、該薬物は標的抗原に対する治療抗体であり、該方法は、
a) 存在し得る該抗原を中和するために、サンプルを処理すること；および
b) 該サンプル中の該 A D A の存在または量を免疫検出すること
を含む、方法である。

【 0 0 1 3 】

本発明は、また、治療抗体処置に対する患者の応答性を検出するための方法であって、該治療抗体は標的抗原に対するものであり、該方法は、該患者由来のサンプル中で、

- 該治療抗体、
- 該抗原、および

- 該治療抗体に対する抗薬物抗体；

の存在または量を決定し、患者プロフィールを得ることを含み、該患者プロフィールは該処置に対する該応答性を示す、方法に関する。

【 0 0 1 4 】

好ましくは、上記方法において、抗原がサンプル中に存在するとき、該 A D A の存在を決定するさらなる工程を、該抗原を中和するためのサンプルの処理後に行う。したがって、好ましい態様において、本発明は、治療抗体処置に対する患者の応答性を検出するための方法であって、該治療抗体は標的抗原に対するものであり、該方法は、

(a) 該患者由来のサンプル中で、

- 該治療抗体、
- 該抗原、および

- 該治療抗体に対する抗薬物抗体；

の存在または量を決定すること、

(b) 該抗原が工程 (a) においてサンプル中に検出されるとき、抗原を中和するために、該対象のさらなるサンプルを処理し、該処理されたサンプル中の該 A D A の存在を再び決定すること、

それにより患者プロフィールを得ることを含み、該患者プロフィールは該処置に対する該応答性を示す、方法に関する。

【 0 0 1 5 】

該方法は、好ましくは、患者の処置の過程にわたって異なる時点で行われ、その結果、患者の応答性または処置の有効性をモニタリングでき、適宜、該処置は調整され得る。

【 0 0 1 6 】

さらなる態様において、本発明はまた、治療抗体処置に対する患者の応答性を検出するための方法であって、該治療抗体は T N F アルファに対するものであり、該方法は、該患者由来のサンプル中で、不活性な T N F アルファの存在または量を決定し、該存在または量は、該処置に対する該患者の応答性が低いまたは低下していることを示すことを含む、方法に関する。好ましい態様において、該方法はまた、患者プロフィールを得るために治療抗体および該治療抗体に対する抗薬物抗体の存在または量の決定を含み、該患者プロフィールは該処置に対する該応答性を示す。

【 0 0 1 7 】

本発明はまた、患者を処置するための方法であって、有効量の標的抗原に対する治療抗体を該患者に投与し、該治療抗体処置に対する該患者の応答性を上記のとおり評価することを含む方法に関する。

【 0 0 1 8 】

本発明のさらなる目的は、サンプル中で、

- 標的抗原に対する治療抗体、
- 該抗原、および

- 該治療抗体に対する抗薬物抗体

の存在または量を検出するための試薬を含むキットに関する。

10

20

30

40

50

【0019】

該方法は、好ましくはE L I S Aまたは免疫捕獲により行われ、該抗原は、好ましくはT N F である。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】A D A 定量化。H R P : セイヨウワサビペルオキシダーゼ、S A : ストレプトアビジン; B : ビオチン

【図2】A D A 決定における抗原の影響

【図3】図3 : T N F 定量化

【図4】図4 : 抗 - T N F 定量化

【図5】図5 : 患者モニタリング

【図6】図6 : 典型的なモニタリングスコア値

【発明を実施するための形態】

【0021】

発明の詳細な説明

本発明は、A D Aを検出するための、および治療抗体処置を受けている患者をモニターするための組成物、キットおよび方法に関する。本発明は、信頼性のあるデータおよび情報を提供する改善されたA D A検出方法を開示する。本発明者らは、サンプル中に存在する任意の抗原を中和するサンプルの前処理が、信頼性のあるA D A評価のために必須であることを示した。本発明者らはまた、対象由来のサンプル中での3つのパラメーター(A D A、抗原、薬物)の同時決定が、処置に対する患者の発展および応答の予測プロフィールを提供することを証明した。したがって、本発明は、治療抗体処置を受けている患者をモニタリングする効率的な方法を提供し、処置レジメンの適当な、および効率的な調整を可能にする。

【0022】

本発明は、以下の定義を参照することにより、よく理解される：

【0023】

定義

本発明において「治療抗体」なる用語は、活性剤として対象に投与することができるあらゆる抗体を示す。このような治療抗体の特定の例は、炎症性疾患、例えば、リウマチ性関節炎または骨関節症の処置において使用される抗体である。これらは、具体的には、抗-T N F 抗体を含む。「治療抗体」なる用語はまた、標的抗原に選択的に結合する抗体誘導体または抗原特異的リガンド分子、例えば、抗体F a bフラグメントまたは抗体F cフラグメント、合成受容体、可溶性受容体などを含む。

【0024】

「A D A」または「抗薬物抗体」なる用語は、対象において治療抗体に結合する抗体を示す。A D Aは、可変領域または定常領域を含む治療抗体における種々のエピトープに結合し得る。

【0025】

本明細書において使用されるとき、「対象」または「患者」なる用語は、あらゆる哺乳動物対象または患者、好ましくはヒト対象または患者を示す。

【0026】

本明細書において使用されるとき、「組合せ」決定なる用語は、特定のマーカーを、同時に、または連続してのいずれかでサンプル中で評価することを示す。同時評価は必要ではないが、好ましく、より便利である。

【0027】

「サンプル」なる用語は、抗体を含み得るあらゆるサンプルを示す。該用語は、好ましくは、生物学的液体、例えば、血清、血漿もしくは全血液、またはそれらの誘導体(例えば、生物学的液体の希釈、前処理、濃縮、溶解などから得られるもの)を示す。サンプルは、好ましくは、血漿、血液もしくは血清サンプルまたはそれらの希釈物である。

10

20

30

40

50

【0028】

A D A 決定

本発明は、サンプル中で A D A を決定するための改善された方法に関する。この本発明の局面は、とりわけ、抗原それ自体がサンプル中で A D A の定量決定に影響するという事を見出したことから生じる。実験のセクションに示されるとおり、試験サンプル中で抗原の存在下で、A D A の測定される量は、実質的に過大評価され、該試験を役に立たない、信頼性のないものにする。本発明は、最初に、サンプル中で抗原を中和することにより、信頼性のある測定を得ることができることを示す。本発明は、したがって、サンプル中の（インビトロ）抗薬物抗体（A D A）を免疫検出するための方法であって、該薬物は標的抗原に対する治療抗体であり、該方法は、

- a) サンプル中の抗原の存在を確認すること；
 - b) 存在するとき、該サンプル中の該抗原を中和すること；および
 - c) 該サンプル中の該 A D A の存在または量を免疫検出すること
- を含む、方法に関する。

【0029】

本発明はまた、サンプル中の抗薬物抗体（A D A）を免疫検出するための方法であって、該薬物は標的抗原に対する治療抗体であり、該方法は、

- a) 存在し得る該抗原を中和するために、サンプルを処理すること；および
 - b) 該サンプル中の該 A D A の存在または量を免疫検出すること
- を含む、方法に関する。

【0030】

抗原を中和する工程は、異なる技術により行うことができる。好ましくは、抗原は、サンプルの酸処理（一般的に、後に酸の中和）により、サンプル中の抗原を枯渇または捕獲することにより、または免疫中和により中和される。

【0031】

酸処理について、サンプルは、好ましくは、pHを4以下、さらに好ましくは約2.5から3.5に含まれる範囲に低下するように処理される。これは、反応前に、pHを上記好ましい範囲に低下するために適当な条件下（例えば、濃度および強度）で、酸溶液をサンプルに加えることにより成し遂げられ得る。適当な酸の例は、カルボン酸、例えば、酢酸、塩酸または硫酸を含む。好ましくは、酸処理後、サンプルのpHは、A D Aを検出する前に、少なくとも部分的に中和される。該中和は、塩基性溶液をサンプルに加えることにより得ることができる。したがって、酸処理は、一般的に、

- 反応前に、酸溶液をサンプルに加え、pHを約4より下に低下させること；
 - 室温で酸性サンプルをインキュベートすること；および
 - 反応前に、塩基性溶液、例えば、T R I Sバッファーまたはリン酸バッファーまたは炭酸バッファーまたはホウ酸バッファーを酸性サンプルに加え、酸を中和し、pHを4より上、一般的に5から9、さらに一般的に6から8に回復させること
- を含む。

【0032】

抗原はまた、任意の適当な親和性試薬を使用する捕獲または枯渇により中和され得る。一般的に、サンプルを、抗原に対して特異的な結合試薬でコーティングされた支持体または該試薬を含む支持体と接触させる。通過または接触時に、抗原は、支持体により固定または保持され、回収されたか、または得られたサンプルには、実質的に遊離抗原が全くない。サンプルは、抗原に対して特異的な抗体でコーティングされたカラムを介して処理され得る。あるいは、例えば、抗体でコーティングされたビーズをサンプルに加え、所望により次に媒体から分離されるか、または取り出され得る。

【0033】

免疫中和は、モノクローナルまたはポリクローナル抗体により行われ得る。

【0034】

好ましい態様において、抗原は、酸処理により中和される。

10

20

30

40

50

【0035】

A D Aの免疫検出は、限定はしないが、E L I S A、免疫捕獲、マイクロアレイ（タンパク質チップ）、フローサイトメトリー（例えば、F i d i s）またはマルチプレックスドット(multiplex dot)を含む免疫アッセイの種々の型またはプラットフォームにより行うことができる。

【0036】

好ましい態様において、A D Aは、E L I S Aまたは免疫捕獲により免疫検出される。このような方法において、捕獲試薬は支持体上に固定され、試験サンプルは支持体上に置かれ、サンプルの支持体およびA D A間の免疫複合体の形成は、存在するとき、トレース試薬を使用して測定される。一般的に、A D Aを決定するために、コーティングされた、または固定された捕獲試薬は、薬物それ自体（すなわち、治療抗体）である。トレース試薬は、任意の抗 - A D AまたはA D A特異的試薬、例えば、抗体（例えば、ヤギまたはウサギ抗 - ヒト I g 抗体）、または薬物の再開であり得る。トレース試薬は、それ自体標識されているか、または検出可能な暴露薬剤(revealing agent)（ストレプトアビジン/ピオチン；ペルオキシダーゼ；酵素標識、発光標識など）を介してのいずれかであり得る。

10

【0037】

特定の態様において、捕獲試薬は薬物それ自体であり、トレース試薬は、標識化ストレプトアビジンのインキュベーション時に検出することができるピオチン化薬物である（図1参照）。

【0038】

捕獲試薬は、当分野でそれ自体既知の種々の技術、例えば、限定はしないが、吸着、物理的結合または化学結合により支持体上に固定され得る。化学結合は、例えば、N - 末端および/もしくは外側のアミノ基を介して、および/または固定される試薬（例えば、薬物または抗体）のフェノール官能基または糖アルコール基を介して、成し遂げられ得る。

20

【0039】

支持体は、任意の適当なデバイス、例えば、プレート（例えば、マルチウェル滴定プレート）、スライド、皿、チューブ、カラムなどであり得る。支持体はまた、ビーズで作られていてもよい。

【0040】

別の態様において、反応は溶液中で行われる。この態様において、試薬は支持体上に固定されず、溶液中に直接混合される。

30

【0041】

実験のセクションにおいて説明されるとおり、本発明により処理されるサンプル中で測定されるA D Aのレベルは、信頼性があり、安定であるが、抗原を中和する前処理なしで得られる値は不正確であり、信頼性がない（図2参照）。

【0042】

本発明は、特に、対象において抗 - T N F 薬物に対するA D Aの存在を評価するために適している。よりさらに具体的には、本発明は、特に、限定はしないが、インフリキシマブ、エタネルセプト、アダリムマブ、ゴリムマブおよびセルトリズマブペゴールを含む、抗 - T N F 治療抗体に対するA D Aを検出するために適している。

40

【0043】

患者モニタリング

抗薬物抗体（「A D A」）は、治療抗体の効果を減少、低下または中和する。したがって、対象由来のサンプル中のこれらのA D Aの検出は、処置の過程にわたって患者をモニタリングする方法ならびに治療を改善する方法を示す。A D A力価が増加するとき、薬物の治療効果が減少または中和されることを予期することができる。このような状況において、次に、処置プロトコルを、例えば、異なる薬物を使用するように変化させることが推奨される。

【0044】

特定の局面において、したがって、本発明は、治療抗体処置に対する患者の応答性を検

50

出するための方法であって、上記方法を使用して、該患者由来のサンプル中で、該治療抗体に対する抗薬物抗体の存在または量を決定することを含み；サンプル中のA D Aの存在または増加が対象の応答性の喪失を示す、方法に関する。

【0045】

別の局面において、本発明は、治療抗体処置を受けている患者をモニターするための方法であって、上記方法を使用して、該患者由来のサンプル中で、該治療抗体に対する抗薬物抗体の存在または量を決定することを含み；参照値または処置の初期段階で決定される値と比較してサンプル中のA D Aの存在または増加が処置に対する対象の応答性の喪失を示す、方法に関する。

【0046】

対象をモニターするため、または対象の応答性を評価するために、本発明において、A D Aだけでなく、サンプル中の薬物および抗原もまた測定することがさらにより好ましい。実際に、本出願は、このような組合せ決定が、対象の状態の予測指標を提供することを示す。

【0047】

したがって、本発明はまた、治療抗体処置に対する患者の応答性を検出するための方法であって、該治療抗体が標的抗原に対するものであり、該方法は、該患者由来のサンプル中で、

- 該治療抗体、
- 該抗原、および
- 該治療抗体に対する抗薬物抗体；

の存在または量を決定し、患者プロフィールを得ることを含み、該患者プロフィールは該処置に対する該応答性を示す、方法に関する。

【0048】

好ましくは、本発明において記載されているとおり、A D A決定は、抗原を中和するサンプルの処理後に行うべきである。したがって、上記方法において、抗原がサンプル中で検出されたとき、該A D Aの存在を決定するさらなる工程を、抗原を中和するためのサンプルの処理後に、行う。

【0049】

A D Aレベルおよび/または抗原のレベルが、参照値を越えて、または処置の初期段階で対象における決定される値と比較して増加しているとき；ならびに、治療抗体レベルが、参照値を越えて、または処置の初期段階で対象における決定される値と比較して減少しているとき、患者がもはや該処置に対してよく応答しておらず、該処置を適応させるべきであることを推測することができる。モニタリングスコアはまた、以下のとおりに、処置がまだ患者に適応しているか否かを該測定値から直接的に推測するために使用され得る。

【0050】

該方法は、好ましくは患者の処置の過程にわたって異なる時点で行われ、その結果、患者の応答性または処置の有効性をモニタリングでき、適宜、該処置は調整され得る。特定の態様において、検出は、治療抗体のそれぞれの投与の前に行うことができる。あるいは、検出は、1月間隔で3回行われ得る。長期間（例えば、9ヶ月またはそれ以上）治療抗体処置を受けている対象において、本発明の単一検出は、患者を応答者または非応答者として見なすために十分である。

【0051】

図5は、プロフィールがどのように患者の応答性を示すか、どの処置が非有効性とみなされ、変更されるべきであることを示す。図5から決定することができるとおり、3つの主な状況は、区別され得る：

T 0：対象は病気であり、処置されていない。

T 1 - T 2：対象は処置され、処置に対して応答する。本発明者らにより試験されたサンプルは、ほとんどの処置された患者がこのカテゴリー範囲内に入ることを示す。

T 3について：対象は処置されるが、応答しない。治療抗体は、A D Aにより中和される

10

20

30

40

50

。処置は効率的ではなく、変更されるべきである。

【0052】

治療抗体、抗原およびADAは、あらゆる免疫検出方法を含む異なる技術、例えば、ADA決定について上記されている、ELISA、免疫捕獲、マイクロアレイ（タンパク質チップ）、フローサイトメトリー（例えば、Fidiss）またはマルチプレックスドットにより測定することができる。一般的に、全3つのマーカーは、同時に（例えば、同じデバイスで）試験される。しかしながら、決定は、別々に、または連続して行ってもよい。

【0053】

本発明は、特に、抗-TNF 処置を受けている患者をモニターするために適している。このような患者は、一般的に、自己免疫性または炎症性疾患、例えば、多発性硬化症、リウマチ性関節炎、強直性脊椎炎、クローン病、乾癬などに罹患している。モニタリングは、処置有効性の定期的な評価を可能にし、処置を続行してもよいか、または適応させるべきであるか医師が決定することを可能にする。

10

【0054】

この点において、評価は、好ましくは、対象中のTNF、ADAおよび抗-TNF治療抗体のレベルを評価することにより行われる。得られる値は、定性または定量のいずれかであり得る。それらは、参照値または処置の初期段階で同じ患者に対して記録されたレベルと比較され得る。特定の態様において、該値は、患者の直接的モニタリングを可能にする「スコア - 表」を使用して評価される。

20

【0055】

第1の工程において、患者由来のサンプルを上記のとおり試験して、3つのマーカー：TNF、抗-TNF およびADAのレベルを定量する。第2の工程において、「スコア - 表」を使用して、それぞれのパラメーターの比率をスコアと関連させる。次に、それぞれのパラメーターからのスコアの合計：モニタリングスコア = TNFスコア + 抗-TNFスコア + ADAスコアからなる全体的なモニタリングスコアを得る。

【0056】

次に、モニタリングスコアは、モニタリング基準と比較され（または読み取られ）、それにより、対象の状態を提供し得る。この点において、本発明者らは、上記マーカー値を評価するために適当なモニタリング基準を確立した。これらの基準を以下に、抗-TNF治療に関して、提供する。さらなるスコア基準は、実施例に記載されている：

30

【0057】

それぞれのパラメーターに対するスコア - 表

【表1】

TNFの比率(pg/ml)	<10	10から100	>100
TNFスコア	0	2	5
抗-TNFの比率(μg/ml)	<0,5	0,5から3	>3
抗-TNFスコア	5	3	0
ADAの比率(ng/ml)	<10	10から100	>100
ADAスコア	0	10	22

40

【0058】

モニタリング基準：

【表 2】

モニタリングスコア	行動／忠告
0 から 5	処置および薬物濃度のモニタリングを続ける
6 から 10	抗-TNFを増加する
11 から 40	別の処置への変更を考える

【0059】

例として、インフリキシマブで処置されたリウマチ性関節炎患者由来の血清サンプルを、本発明によって試験する。TNF、抗-TNF および ADA の比率は、それぞれ 50 pg/ml、 $< 0,1 \mu\text{g/ml}$ および 6600 ng/ml である。

10

【0060】

TNF の比率は、2 のスコアと関連する。抗-TNF の比率は、5 のスコアと関連する。ADA の比率は、22 のスコアと関連する。

【0061】

したがって、モニタリングスコアは 29 であり、患者に対する提案は、別の処置への変更である。

【0062】

実験のセクションは、抗-TNF アルファ治療を受けている患者由来の 300 以上のヒト血清サンプルにおいて、本発明者らにより行われた試験の結果を報告する。それらは、上記方法にしたがって、患者の状態を確実に決定することができ、非応答者状態に向かうそれらの進行を検出および予測することができることを示す。したがって、本発明は、初めて、患者モニターし、それらの処置を調整するための信頼性のある方法を提供する。

20

【0063】

さらなる応答マーカー

さらなる好ましい態様において、本発明の方法は、上記の値またはスコアを測定または（例えば、臨床記録から）集められ得るさらなる患者データと組み合わせて、試験をさらに精密化することを含む。特定の態様において、したがって、本発明の方法は、サイトカイン、ホルモンおよび成長因子、リウマチ因子および特定の抗体から選択され得る 1 つまたはいくつかのさらなる抗原の存在または量を決定することをさらに含む。このようなさらなる因子の特定の好ましい例は、以下のものを含む：

30

- サイトカインおよびケモカイン：IL1、IL6、IL8、IL10、ILK12、IL17、IL23、GM-CSF、IFNガンマ、ProMPP1 および / または ProMPP3；

- 自己免疫性抗体：抗核抗体（二本鎖 DNA (dsDNA) に対する ANA 抗体）

- 生物学的パラメーターおよび血液学的パラメーター：C 反応性タンパク質 (CRP)、RF リウマチ因子、血清アミロイド A、IgG、IgA、IgM、ヘモグロビン、赤血球沈降速度 (ESR)、白血球および血小板数、CD19-B 細胞の数、CD3__、CD4__、CD8__、CD4__、CD25__、および / または CD8__、HLA-DR__ T 細胞の数

40

- 患者パラメーター：例えば、性別、VS、年齢または DAS28。体重、

- 処置パラメーター：薬量学

【0064】

バイオマーカー濃度 (TNF、抗-TNF および ADA) は、定量免疫測定法を使用して測定され、臨床データセットからのさらなるパラメーターと組み合わせてモニタリングスコアを作成する。アルゴリズムは、異なる重み (Wn) を使用して、処置有効性 (モニタリングスコア) を評価する。得られるモニタリングスコアは、それぞれの試験結果が 1 から 10 の 10 進数であるように尺度付けられる。例として、モニタリングスコアのアルゴリズムは、以下のとおりである：

50

【0065】

モニタリングスコア = $W1 \times \{TNF\} + W2 \times \{\text{抗-TNF}\} + W3 \times \{ADA\} + W4 \times \{CRP\} + W5 \times \{ESR\}$ 。

Wn : 処置の影響に対するこれらのパラメーターの重要性による、それぞれのパラメーターに対する重みである。

{TNF} : TNFのスコア因子。測定されるTNFの濃度による、モニタリングスコアに対するTNF影響。

{抗-TNF} : 抗-TNFのスコア因子。測定される抗-TNFの濃度による、モニタリングスコアに対する抗-TNF影響。抗-TNFのスコア因子のスコア因子は、「薬量学」依存である(臨床データセットにおいて利用できる情報)。

{ADA} : ADAのスコア因子。測定されるADAの濃度による、モニタリングスコアに対するADA影響。

{CRP} : CRPのスコア因子。臨床データセットにより提供されるC反応性タンパク質の濃度による、モニタリングスコアに対するCRP影響。

{ESR} : ESRのスコア因子。臨床データセットにより提供される赤血球沈降速度による、モニタリングスコアに対するESR影響。沈降速度は「年齢および性別」依存である;臨床データセットにおける情報)。

【0066】

モニタリングスコアは、全臨床データセットと共に使用され、処置の経過についてそれらの決定において医師を手助けすることを意図する。

【0067】

モニタリングスコアは、1から10で尺度付けられる数である。モニタリングスコアによって、処置有効性の解釈を、例えば、図6に示されるとおり、行うことができる。

【0068】

処置変更のマーカーとしての不活性なTNFアルファ

本発明者らは、検出されるTNFアルファの生物学的活性が、処置に対して応答しない患者であることを決定した(図5のエリアT3およびT4、参照)、該活性は、TNFアルファサンプルへの暴露時に標的細胞溶解を評価することにより検出した。本発明者らの結果は、驚くべきことに、該TNFアルファが生物学的に不活性であることを示す。これらの結果は全く予期されておらず、抗-TNFアルファ処置を受けている患者が循環不活性なTNFアルファを有していることは報告されていない。本発明者らの結果は、不活性なTNFアルファレベルが抗-TNF処置に対する患者の応答の喪失と相関することをさらに示す。このような不活性なTNFアルファの存在は、興味深い。本発明者らは、TNFアルファが最初に抗-TNFアルファ治療抗体により捕捉され、次にADAが治療抗体分子に結合したとき放出されるという仮説を立てる。ADAから放出されるTNFアルファは、ADA結合により引き起こされる立体構造または構造変化の結果として、不活性である(または不活性化される)。

【0069】

したがって、抗-TNF治療を受けている患者における不活性なTNFアルファの投与は、患者の応答性を決定する、および処置を調整する(例えば、処置を別の治療抗体または処置の別のクラスに変更する)ための新規かつ非常に信頼性のある手段を示す。

【0070】

特定の態様において、したがって、本発明は、治療抗体処置に対する患者の応答性を検出するための方法であって、該治療抗体はTNFアルファに対するものであり、該方法は該患者由来のサンプル中で、不活性なTNFアルファの存在または量を決定し、該存在または量は、該処置に対する該患者の応答性が低いまたは低下していることを示すことを含む、方法に関する。

【0071】

特定の態様において、本発明はまた、抗-TNFアルファ処置を受けている患者をモニターするための方法であって、該方法は該患者由来のサンプル中で、不活性なTNFアル

10

20

30

40

50

ファの存在または量を決定し、該存在または量は、該処置に対する該患者の応答性を示すことを含む、方法に関する。不活性化 T N F アルファの出現は、対象が処置を逃れ始めている徴候である。このような不活性化 T N F アルファのレベルの増加は、患者が別の処置へ変更すべきであることを示す。

【 0 0 7 2 】

この文脈において、「不活性化 T N F アルファ」は、インビトロで標的細胞溶解を引き起こさない T N F アルファを示す。不活性化 T N F アルファは、さらに具体的には、不活性化 T N F アルファ、例えば、抗体不活性化 T N F アルファを含む。上記態様において、該方法は、試験サンプル中で T N F アルファの生物学的活性を検出する工程をさらに含み得る。あるいは、または加えて、該方法は、不活性化 T N F アルファ分子の構造を検出する工程を含み得る。

10

【 0 0 7 3 】

好ましい態様において、上記方法はまた、患者プロフィールを得るために抗 - T N F アルファ治療抗体および抗薬物抗体の存在または量の決定を含み、該患者プロフィールは該処置に対する応答性を示す。さらなる好ましい態様において、該方法は、上記さらなるパラメーターを検出することをさらに含む。

【 0 0 7 4 】

本発明のさらなる目的は、

- サンプル中で、治療抗体に対する抗薬物抗体の存在または量を検出するための 1 つまたはいくつかの試薬；
- サンプル中で、該治療抗体の標的抗原を中和する 1 つまたはいくつかの試薬を含むキットである。

20

【 0 0 7 5 】

好ましい態様において、本発明は、ヒト血清サンプル中のヒト T N F 、抗 - T N F 薬物（好ましくは、インフリキシマブ、エタネルセプト、アダリムマブ、ゴリムマブまたはセルトリズマブペゴール）および対応する A D A の組合せ定量決定のための酵素免疫測定法（E L I S A）キットまたは方法に関する。該キットは、医師が患者血清中のこれらの 3 つのパラメーターの割合の漸進的変化をモニターすることを可能にする。

【 0 0 7 6 】

本発明のさらなる局面および利点は、以下の実験のセクションに記載されているが、これは、説明のためのみと考えられるべきである。

30

【実施例】

【 0 0 7 7 】

実施例

実験のセクションにおいて、全ての用量は、標準に関して較正された量である。T N F の用量（p g / m l）は、国際標準を用いて決定する。薬物の用量（μ g / m l）は、製薬会社により与えられる濃度値を用いて決定する。A D A の用量（n g / m l）は、標準としてウサギポリクローナル抗体を用いて決定する。ウサギ（o r i g i n H y l a）を、抗 - T N F 免疫グロブリンの F a b もしくは F a b ' 2 フラグメントまたはヒト P 7 5 T N F 受容体で免疫化する。A D A ヒト標準の定量化は、ビウレットの方法（比色分析によるタンパク質の用量）により得られる。

40

【 0 0 7 8 】

実施例 A - A D A を検出する方法

薬物をポリスチレンマイクロタイタープレート上に被覆する。

- ・最初に、酸溶液、例えば、酢酸溶液をサンプルに加える。酸性サンプルを、室温で約 5 分インキュベートする。
- ・次に、塩基性溶液、例えば、T R I S 溶液を酸性サンプルに加え、酸溶液を中和する。
- ・次に、サンプル（希釈されているか、または希釈されていない）を抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。
- ・ビオチン化薬物を加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。

50

・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化薬物と形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。

・結合酵素は、基質TMB(3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン)の添加により示される。色強度は、抗-エタネルセプト抗体の量に比例する。

・ H_2SO_4 (0.25M)を添加して、酵素反応を停止させる。

・ H_2SO_4 (0.25M)による該反応停止後、光学濃度は、450nmで分光光度計により読む。

【0079】

較正範囲は、ng/mLにおいて示されるそれぞれの患者サンプルの抗薬物抗体の量の定義を可能にする。

【0080】

試験の原理を図1に示す。該結果を図2に示す。

【0081】

該結果は、驚くべきことに、抗原がサンプル中に存在するとき、ADAの定量化が大幅に過大評価されることを示す。対照的に、酸処理による抗原の中和後、ADAの定量化は正確であり、信頼性がある。ADAの用量中の抗原の存在は、誤って陽性結果を引き起こし得るADAにおける誤った用量を含む。結果として、抗原におけるプラスの用量中で、Adaの正確な結果を得るために、中和後に第2の試験ADAを行う必要がある。

【0082】

実施例B - エタネルセプトで処置された患者をモニターするための方法およびキット

該試験は、血清または血漿上で行うべきである。TNFは溶液中で不安定であるので、血液採取直後のサンプルを使用することが好ましい。決定を即座に行わないとき、サンプルは冷凍すべきである。何らかの非特異的結合を回避するために、6か月以上冷凍されたか、または濁っているサンプルは、遠心し、濾過すべきである。

【0083】

1. TNFの用量

モノクローナル抗-TNF抗体をポリスチレンマイクロタイタープレート(8ウェルの4片)上に被覆する。

・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。

・抗-TNFビオチン化抗体を加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。

・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化抗-TNF抗体と形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。

・結合酵素は、基質TMB(3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン)の添加により示される。色強度は、TNFの量に比例する。

・ H_2SO_4 (0.25M)を添加して、酵素反応を停止させる。

・ H_2SO_4 (0.25M)による該反応停止後、光学濃度は、450nmで分光光度計により読む。

較正範囲は、pg/mLにおいて示されるそれぞれの患者サンプルのTNFの量の定義を可能にする。

【0084】

2. エタネルセプトの用量

TNFをポリスチレンマイクロタイタープレート(8ウェルの4片)上に被覆する。

・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。

・抗-ヒトIgGビオチン化抗体を加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。

10

20

30

40

50

・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化抗-IgG抗体と形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。

・結合酵素は、基質TMB(3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン)の添加により示される。色強度は、エタネルセプトの量に比例する。

・ H_2SO_4 (0.25M)を添加して、酵素反応を停止させる。

・ H_2SO_4 (0.25M)による該反応停止後、光学濃度は、450nmで分光光度計により読む。

校正範囲は、 $\mu g/mL$ において示されるそれぞれの患者サンプルのエタネルセプトの量の定義を可能にする。

【0085】

3. 抗-エタネルセプトの用量

エタネルセプトをポリスチレンマイクロタイタープレート(8ウェルの4片)上に被覆する。

・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。

・ビオチン化エタネルセプトを加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。

・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化エタネルセプトと形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。

・結合酵素は、基質TMB(3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン)の添加により示される。色強度は、抗-エタネルセプト抗体の量に比例する。

・ H_2SO_4 (0.25M)を添加して、酵素反応を停止させる。

・ H_2SO_4 (0.25M)による該反応停止後、光学濃度は、450nmで分光光度計により読む。

校正範囲は、 ng/mL において示されるそれぞれの患者サンプルの抗-エタネルセプト抗体の量の定義を可能にする。

【0086】

4. 結果

処置の過程中、3つのパラメーター(TNF、エタネルセプト、抗-エタネルセプト)の割合の漸進的变化を、ヒト対象において本発明にしたがってモニタリングした。Rheumatoid患者(患者1)由来の血清サンプルを、エタネルセプトの第1の注入前に試験した。該結果は以下に示される：

【表3】

	TNF(pg/ml)	エタネルセプト($\mu g/ml$)	抗-エタネルセプト
患者1、W0	<10	<0,2	<5
患者1、W8	117	1,7	<5

これらの結果は、TNFのレベルおよびエタネルセプトのレベルが処置の過程に増加することを示す。

【0087】

実施例C - アダリムマブで処置された患者をモニターするための方法およびキット

該試験は、血清または血漿上で行った。TNFは溶液中で不安定であるので、サンプルは、血液採取直後に使用するか、または冷凍した。何らかの非特異的結合を回避するために、6か月以上冷凍されたか、または濁っているサンプルは、遠心し、濾過した。

【0088】

1. TNFの用量

モノクローナル抗-TNF抗体をポリスチレンマイクロタイタープレート(8ウェル

10

20

30

40

50

の4片)上に被覆する。

- ・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。

- ・抗-TNF ピオチン化抗体を加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。

- ・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ピオチン化抗-TNF 抗体と形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。

- ・結合酵素は、基質TMB(3, 3', 5, 5'テトラメチルベンジジン)の添加により示される。色強度は、TNF の量に比例する。

- ・H₂SO₄(0.25M)を添加して、酵素反応を停止させる。

- ・H₂SO₄(0.25M)による該反応停止後、光学濃度は、450nmで分光光度計により読む。

較正範囲は、pg/mLにおいて示されるそれぞれの患者サンプルのTNF の量の定義を可能にする。

【0089】

2. アダリムマブの用量

TNF をポリスチレンマイクロタイタープレート(8ウェルの4片)上に被覆する。

- ・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。

- ・抗-ヒトIgGピオチン化抗体を加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。

- ・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ピオチン化抗-IgG抗体と形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。

- ・結合酵素は、基質TMB(3, 3', 5, 5'テトラメチルベンジジン)の添加により示される。色強度は、アダリムマブの量に比例する。

- ・H₂SO₄(0.25M)を添加して、酵素反応を停止させる。

- ・H₂SO₄(0.25M)による該反応停止後、光学濃度は、450nmで分光光度計により読む。

較正範囲は、μg/mLにおいて示されるそれぞれの患者サンプルのアダリムマブの量の定義を可能にする。

【0090】

3. 抗-アダリムマブの用量

アダリムマブをポリスチレンマイクロタイタープレート(8ウェルの4片)上に被覆する。

- ・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。

- ・ピオチン化アダリムマブを加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。

- ・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ピオチン化アダリムマブと形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。

- ・結合酵素は、基質TMB(3, 3', 5, 5'テトラメチルベンジジン)の添加により示される。色強度は、抗-アダリムマブ抗体の量に比例する。

- ・H₂SO₄(0.25M)を添加して、酵素反応を停止させる。

- ・H₂SO₄(0.25M)による該反応停止後、光学濃度は、450nmで分光光度計により読む。

較正範囲は、ng/mLにおいて示されるそれぞれの患者サンプルの抗-アダリムマブ抗体の量の定義を可能にする。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 1 】

4 . 結果

処置の過程中、3つのパラメーター（TNF、アダリムマブ、抗-アダリムマブ）の割合の漸進的变化を、本発明を使用してモニタリングした。

リウマチ性関節炎患者（患者2）由来の血清サンプルを、アダリムマブ（W0）の第1の注入前、およびアダリムマブ（W6、W21、W30、W39）の後の注入前に試験した。

【表4】

	TNF (pg/ml)	アダリムマブ [®] (μg/ml)	抗-アダリムマブ [®] (ng/ml)
患者2、W0	<10	<0.1	<10
患者2、W6	<10	6.4	<10
患者2、W21	<10	16.8	<10
患者2、W30	<10	16.7	<10
患者2、W39	<10	17.1	<10

10

【 0 0 9 2 】

上記表は、アダリムマブのレベルが処置の過程に該患者において増加し、約17 μg/mlのレベルに達することを示す。TNFのレベルおよび抗-アダリムマブのレベルは増加しなかった。

20

【 0 0 9 3 】

実施例D - インフリキシマブで処置された患者をモニターするための方法およびキット

該試験は、血清または血漿上で行った。TNFは溶液中で不安定であるので、サンプルは、血液採取直後に使用するか、または冷凍した。何らかの非特異的結合を回避するために、6か月以上冷凍されたか、または濁っているサンプルは、遠心し、濾過した。

【 0 0 9 4 】

1 . TNF の用量

モノクローナル抗-TNF抗体をポリスチレンマイクロタイタープレート（8ウェルの4片）上に被覆する。

・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。

30

・抗-TNFビオチン化抗体を加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。

・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化抗-TNF抗体と形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。

・結合酵素は、基質TMB（3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン）の添加により示される。色強度は、TNFの量に比例する。

・H₂SO₄（0.25M）を添加して、酵素反応を停止させる。

・H₂SO₄（0.25M）による該反応停止後、光学濃度は、450nmで分光光度計により読む。

40

較正範囲は、pg/mLにおいて示されるそれぞれの患者サンプルのTNFの量の定義を可能にする。

【 0 0 9 5 】

2 . インフリキシマブの用量

TNFをポリスチレンマイクロタイタープレート（8ウェルの4片）上に被覆する。

・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。

・抗-ヒトIgGビオチン化抗体を加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。

50

・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化抗-IgG抗体と形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。

・結合酵素は、基質TMB(3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン)の添加により示される。色強度は、インフリキシマブの量に比例する。

・ H_2SO_4 (0.25M)を添加して、酵素反応を停止させる。

・ H_2SO_4 (0.25M)による該反応停止後、光学濃度は、450nmで分光光度計により読む。

校正範囲は、 $\mu g/ml$ において示されるそれぞれの患者サンプルのインフリキシマブの量の定義を可能にする。

【0096】

3. 抗-インフリキシマブの用量

インフリキシマブをポリスチレンマイクロタイタープレート(8ウェルの4片)上に被覆する。

・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。

・ビオチン化インフリキシマブを加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。

・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化インフリキシマブと形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。

・結合酵素は、基質TMB(3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン)の添加により示される。色強度は、抗-インフリキシマブ抗体の量に比例する。

・ H_2SO_4 (0.25M)を添加して、酵素反応を停止させる。

・ H_2SO_4 (0.25M)による該反応停止後、光学濃度は、450nmで分光光度計により読む。

校正範囲は、 ng/ml において示されるそれぞれの患者サンプルの抗-インフリキシマブ抗体の量の定義を可能にする。

【0097】

4. 結果

処置の過程中、3つのパラメーター(TNF、インフリキシマブ、抗-インフリキシマブ)の割合の漸進的変化を、ヒト対象においてモニタリングした。

第1のリウマチ性関節炎患者(患者3)において、血清サンプルは、インフリキシマブ(W2)の第2の注入前およびインフリキシマブ(W6、W14、W28、W42、W56)の後の注入前に試験した。

【表5】

	TNF (pg/ml)	インフリキシマブ [*] ($\mu g/ml$)	抗-インフリキシマブ [*] (ng/ml)
患者3、W2	<10	<0.1	<10
患者3、W6	<10	<0.1	266
患者3、W14	<10	<0.1	172
患者3、W28	<10	<0.1	192
患者3、W42	<10	<0.1	491
患者3、W56	<10	<0.1	253

該結果は、抗-インフリキシマブのレベルが、処置の過程に増加し、高レベル(>100ng/ml)に達することを示す。TNFのレベルおよび抗-インフリキシマブのレベルは検出不可能であった。

【0098】

別のRheumatoid患者(患者4)において、血清サンプルは、インフリキシマ

10

20

30

40

50

ブ (W 2) の第 2 の注入前およびインフリキシマブ (W 5) の第 3 の注入前に試験した。

【表 6】

	TNF (pg/ml)	インフリキシマブ [®] (μg/ml)	抗-インフリキシマブ [®] (ng/ml)
患者 4、W2	<10	20.1	<10
患者 4、W5	50	<0.1	6600

該結果は、抗 - インフリキシマブのレベルが、処置の過程に増加し、高レベル (> 100 ng/ml) に達することを示す。TNFのレベルは50 pg/mlに増加し、インフリキシマブのレベルは0.1 μg/mlまで下がる。

10

【0099】

実施例 E - セルトリズマブペゴールで処置された患者をモニターするための方法およびキット

該試験は、血清または血漿上で行った。TNF は溶液中で不安定であるので、サンプルは、血液採取直後に使用するか、または冷凍した。何らかの非特異的結合を回避するために、6か月以上冷凍されたか、または濁っているサンプルは、遠心し、濾過した。

【0100】

1. TNF の用量

モノクローナル抗 - TNF 抗体をポリスチレンマイクロタイタープレート (8ウェルの4片) 上に被覆する。

20

・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。

・抗 - TNF ビオチン化抗体を加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。

・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化抗 - TNF 抗体と形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。

・結合酵素は、基質 TMB (3, 3', 5, 5' テトラメチルベンジジン) の添加により示される。色強度は、TNF の量に比例する。

30

・H₂SO₄ (0.25 M) を添加して、酵素反応を停止させる。

・H₂SO₄ (0.25 M) による該反応停止後、光学濃度は、450 nm で分光光度計により読む。

較正範囲は、pg/mL において示されるそれぞれの患者サンプルの TNF の量の定義を可能にする。

【0101】

2. セルトリズマブペゴールの用量

TNF をポリスチレンマイクロタイタープレート (8ウェルの4片) 上に被覆する。

・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。

40

・ビオチン化抗 - PEG 抗体を加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。

・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化抗 - PEG 抗体と形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。

・結合酵素は、基質 TMB (3, 3', 5, 5' テトラメチルベンジジン) の添加により示される。色強度は、インフリキシマブの量に比例する。

・H₂SO₄ (0.25 M) を添加して、酵素反応を停止させる。

・H₂SO₄ (0.25 M) による該反応停止後、光学濃度は、450 nm で分光光度計により読む。

50

較正範囲は、 $\mu\text{g}/\text{mL}$ において示されるそれぞれの患者サンプルのセルトリズマブペゴールの量を定義させる

【0102】

3. 抗 - セルトリズマブペゴールの用量

セルトリズマブペゴールをポリスチレンマイクロタイタープレート（8ウェルの4片）上に被覆する。

- ・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。
- ・ビオチン化セルトリズマブペゴールを加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。
- ・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化セルトリズマブペゴールと形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。
- ・結合酵素は、基質TMB（3, 3', 5, 5'テトラメチルベンジジン）の添加により示される。色強度は、抗 - インフリキシマブ抗体の量に比例する。
- ・ H_2SO_4 （0.25M）を添加して、酵素反応を停止させる。
- ・ H_2SO_4 （0.25M）による該反応停止後、光学濃度は、450nmで分光光度計により読む。

較正範囲は、 ng/mL において示されるそれぞれの患者サンプルの抗 - セルトリズマブペゴール抗体の量の定義を可能にする。

【0103】

4. 抗 - セルトリズマブペゴールの用量（別法）

セルトリズマブペゴールをポリスチレンマイクロタイタープレート（8ウェルの4片）上に被覆する。

- ・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。
- ・ビオチン化抗 - ヒトIgGおよびビオチン化抗 - ヒトIgMを加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。
- ・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化抗 - ヒトIgGおよび抗 - ヒトIgMと形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。
- ・結合酵素は、基質TMB（3, 3', 5, 5'テトラメチルベンジジン）の添加により示される。色強度は、抗 - インフリキシマブ抗体の量に比例する。
- ・ H_2SO_4 （0.25M）を添加して、酵素反応を停止させる。
- ・ H_2SO_4 （0.25M）による該反応停止後、光学濃度は、450nmで分光光度計により読む。

較正範囲は、 ng/mL において示されるそれぞれの患者サンプルの抗 - セルトリズマブペゴール抗体の量の定義を可能にする。

【0104】

実施例F - ゴリムマブで処置される患者をモニターするための方法およびキット

該試験は、血清または血漿上で行った。TNFは溶液中で不安定であるので、サンプルは、血液採取直後に使用するか、または冷凍した。何らかの非特異的結合を回避するために、6か月以上冷凍されたか、または濁っているサンプルは、遠心し、濾過した。

【0105】

1. TNF の用量

モノクローナル抗 - TNF 抗体をポリスチレンマイクロタイタープレート（8ウェルの4片）上に被覆する。

- ・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。

- ・抗 - T N F ビオチン化抗体を加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。
- ・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化抗 - T N F 抗体と形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。
- ・結合酵素は、基質 T M B (3 , 3 ' , 5 , 5 ' テトラメチルベンジジン) の添加により示される。色強度は、T N F の量に比例する。
- ・ H ₂ S O ₄ (0 . 2 5 M) を添加して、酵素反応を停止させる。
- ・ H ₂ S O ₄ (0 . 2 5 M) による該反応停止後、光学濃度は、4 5 0 n m で分光光度計により読む。

10

較正範囲は、p g / m L において示されるそれぞれの患者サンプルの T N F の量の定義を可能にする。

【 0 1 0 6 】

2 . ゴリムマブの用量

- T N F をポリスチレンマイクロタイタープレート (8 ウェルの 4 片) 上に被覆する。
- ・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。
 - ・抗 - ヒト I g G ビオチン化抗体を加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。
 - ・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化抗 - I g G 抗体と形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。
 - ・結合酵素は、基質 T M B (3 , 3 ' , 5 , 5 ' テトラメチルベンジジン) の添加により示される。色強度は、インフリキシマブの量に比例する。
 - ・ H ₂ S O ₄ (0 . 2 5 M) を添加して、酵素反応を停止させる。
 - ・ H ₂ S O ₄ (0 . 2 5 M) による該反応停止後、光学濃度は、4 5 0 n m で分光光度計により読む。

20

較正範囲は、μ g / m L において示されるそれぞれの患者サンプルのゴリムマブの量の定義を可能にする。

【 0 1 0 7 】

3 . 抗 - ゴリムマブの用量

- インフリキシマブをポリスチレンマイクロタイタープレート (8 ウェルの 4 片) 上に被覆する。
- ・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。
 - ・ビオチン化ゴリムマブを加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。
 - ・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化ゴリムマブと形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。
 - ・結合酵素は、基質 T M B (3 , 3 ' , 5 , 5 ' テトラメチルベンジジン) の添加により示される。色強度は、抗 - インフリキシマブ抗体の量に比例する。
 - ・ H ₂ S O ₄ (0 . 2 5 M) を添加して、酵素反応を停止させる。
 - ・ H ₂ S O ₄ (0 . 2 5 M) による該反応停止後、光学濃度は、4 5 0 n m で分光光度計により読む。

40

較正範囲は、n g / m L において示されるそれぞれの患者サンプルの抗 - ゴリムマブ抗体の量の定義を可能にする。

【 0 1 0 8 】

実施例 G : T N F アルファの生物学的活性

T N F 活性は、L 9 2 9 細胞毒性アッセイ (Bloquel C 5 (2004) Hum Gene Ther . 15 : 1

50

89-201) を使用することにより評価した。TNF 血清サンプルの連続希釈物を L929 細胞とインキュベートし、生存細胞数を MTT ダイニング (dying) アッセイにより決定した。

【0109】

該結果は、処置患者由来の TNF アルファが不活性である、すなわち、L929 細胞の実質的な溶解を引き起こさないことを示す。

【0110】

実施例 H - 300 人を越えるヒト患者のコホートにおける方法の検証

該試験は、血清または血漿上で行った。TNF は溶液中で不安定であるので、サンプルは、血液採取直後に使用するか、または冷凍した。何らかの非特異的結合を回避するために、6 か月以上冷凍されたか、または濁っているサンプルは、遠心し、濾過した。それぞれの患者において、処置中の異なる時点で検出を行った。

【0111】

1. TNF の用量

モノクローナル抗 - TNF 抗体をポリスチレンマイクロタイタープレート (8 ウェルの 4 片) 上に被覆する。

- ・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。
- ・抗 - TNF ビオチン化抗体を加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。
- ・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化抗 - TNF 抗体と形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。
- ・結合酵素は、基質 TMB (3, 3', 5, 5' テトラメチルベンジジン) の添加により示される。色強度は、TNF の量に比例する。
- ・ H_2SO_4 (0.25 M) を添加して、酵素反応を停止させる。
- ・ H_2SO_4 (0.25 M) による該反応停止後、光学濃度は、450 nm で分光光度計により読む。

較正範囲は、 $\mu g / mL$ において示されるそれぞれの患者サンプルの TNF の量の定義を可能にする。

【0112】

2. インフリキシマブの用量

TNF をポリスチレンマイクロタイタープレート (8 ウェルの 4 片) 上に被覆する。

- ・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。
- ・抗 - ヒト IgG ビオチン化抗体を加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。
- ・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化抗 - IgG 抗体と形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。
- ・結合酵素は、基質 TMB (3, 3', 5, 5' テトラメチルベンジジン) の添加により示される。色強度は、インフリキシマブの量に比例する。
- ・ H_2SO_4 (0.25 M) を添加して、酵素反応を停止させる。
- ・ H_2SO_4 (0.25 M) による該反応停止後、光学濃度は、450 nm で分光光度計により読む。

較正範囲は、 $\mu g / mL$ において示されるそれぞれの患者サンプルのインフリキシマブの量の定義を可能にする。

【0113】

3. 抗 - インフリキシマブの用量

インフリキシマブをポリスチレンマイクロタイタープレート (8 ウェルの 4 片) 上に被

10

20

30

40

50

覆する。

・最初に、希釈サンプルを抗体被覆ウェルに加え、結合させる。インキュベーション後、非結合タンパク質を洗浄により除去する。

・ビオチン化インフリキシマブを加える。インキュベーション後、非結合抗体を洗浄により除去する。

・次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを加える。該ストレプトアビジンは、ビオチン化インフリキシマブと形成される複合体に結合する。インキュベーション後、ウェルを再び洗浄し、あらゆる過剰の抱合体を除去する。

・結合酵素は、基質 TMB (3 , 3 ' , 5 , 5 ' テトラメチルベンジジン) の添加により示される。色強度は、抗 - インフリキシマブ抗体の量に比例する。

・ H_2SO_4 (0 . 25 M) を添加して、酵素反応を停止させる。

・ H_2SO_4 (0 . 25 M) による該反応停止後、光学濃度は、450 nm で分光光度計により読む。

校正範囲は、ng / mL において示されるそれぞれの患者サンプルの抗 - インフリキシマブ抗体の量の定義を可能にする。

【 0 1 1 4 】

4 . さらなるパラメーター

- [CRP] : CRP 濃度、mg / L にて示される

- ESR : 赤血球沈降速度、mm / h にて示される

- 薬量学 : 薬量学が正常であるか、薬量学が正常薬量学よりも高いかを知るため

- 年齢、性別、体重。

【 0 1 1 5 】

5 . スコア因子 :

{ TNF } : 測定された TNF の濃度による TNF のスコア因子。例として :

10 pg / mL より小さい測定されたサンプルに対するスコア因子は 1 である。

10 から 100 pg / mL の測定されたサンプルに対するスコア因子は 4 である。

100 pg / mL より大きい測定されたサンプルに対するスコア因子は 10 である。

【 0 1 1 6 】

{ 抗 - TNF } : 測定された抗 - TNF の濃度による抗 - TNF のスコア因子。

正常薬量学を有する患者において :

0 . 1 μ g / mL より小さい測定されたサンプルに対するスコア因子は 10 である。

0 . 1 から 0 . 5 μ g / mL の測定されたサンプルに対するスコア因子は 6 である。

0 . 5 から 1 . 8 μ g / mL の測定されたサンプルに対するスコア因子は 4 である。

1 . 8 μ g / mL より大きい測定されたサンプルに対するスコア因子は 1 である。

【 0 1 1 7 】

増強させた薬量学を有する患者において :

0 . 1 μ g / mL より小さい測定されたサンプルに対するスコア因子は 12 . 5 である。

0 . 1 から 0 . 5 μ g / mL の測定されたサンプルに対するスコア因子は 10 である。

0 . 5 から 1 . 8 μ g / mL の測定されたサンプルに対するスコア因子は 7 . 5 である。

1 . 8 μ g / mL より大きい測定されたサンプルに対するスコア因子は 1 . 25 である。

【 0 1 1 8 】

{ ADA } : 測定された ADA の濃度による ADA のスコア因子

10 ng / mL より小さい測定されたサンプルに対するスコア因子は 1 である。

10 から 200 ng / mL の測定されたサンプルに対するスコア因子は 5 である。

200 ng / mL より大きい測定されたサンプルに対するスコア因子は 10 である。

【 0 1 1 9 】

{ CRP } : 臨床データセットにより提供される C 反応性タンパク質の濃度による CRP のスコア因子

6 mg / L より小さい測定されたサンプルに対するスコア因子は 1 である。

6 から 50 mg / L の測定されたサンプルに対するスコア因子は 4 である。

10

20

30

40

50

50 mg / L より大きい測定されたサンプルに対するスコア因子は 10 である。

【 0 1 2 0 】

{ E S R } : 臨床データセットにより提供される赤血球沈降速度による E S R のスコア因子。沈降速度は「年齢および性別」に依存する。

15 mm / h より小さい測定されたサンプルに対するスコア因子は 1 である。

15 から 20 mm / h の測定されたサンプルに対するスコア因子は 4 である。

20 mm / h より大きい測定されたサンプルに対するスコア因子は 10 である。

【 0 1 2 1 】

6 . 重み

それぞれのパラメーターからの全てのスコア因子は、処置に対するこれらのパラメーターの影響による重み因子 (W n) と関連する。 10

例として :

T N F の重み因子は 15 % である。

抗 - T N F の重み因子は 30 % である。

A D A の重み因子は 35 % である。

C R P の重み因子は 10 % である。

E S R の重み因子は 10 % である。

【 0 1 2 2 】

7 . 結果 :

7 . 1 . インフリキシマブで処置されたリウマチ性関節炎患者の分析 20

本発明者らは、処置の過程中的異なる時点で、インフリキシマブで処置されたリウマチ性関節炎患者由来の血清サンプルを試験した。以下の表 A はそれぞれの患者について示す :

- T N F、抗 - T N F (インフリキシマブ) および A D A (抗 - インフリキシマブ) の測定されるレベル

- 臨床データセット : C R P、E S R および薬量学からの情報

- それぞれのパラメーターに対するスコア因子

- それぞれのパラメーターに対する重み因子

- モニタリングスコアの結果

- 全臨床データセットによる処置に対する患者応答 : 応答 (R)、非応答または非完全応答 (N R)、処置開始時 (T 0) 30

【 0 1 2 3 】

それぞれの患者に対する一連の結果は、処置中の異なる時点での測定値を示す。

【 0 1 2 4 】

表 A

【表 7】

患者	測定されるレベル			臨床データセット			スコア因子					重み因子					スコア	処置結果	
	TNF	インアキシマブ	ADA	CRP	薬量	VS	TNF	インアキシマブ	ADA	CRP	VS	薬量	TNF	インアキシマブ	ADA	CRP			VS
7	0	0	0	6	norm.	9	1	10	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.7	T0
7	0	11.5	0	5.4	norm.	10	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
7	0	13	0	5	norm.	5	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
20	0	0.0	67	5	norm.	9	1	10	4	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.8	NR
20	0	0.0	701	5	norm.	16	1	10	10	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	7.2	NR
20	0	0.0	42	5	norm.	26	1	10	4	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	5.7	NR
20	0	0.0	23	5	norm.	20	1	10	4	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	5.1	NR
21	0	0.0	0	5	norm.	25	1	10	1	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.6	T0
21	0	23	0	5.1	norm.	35	1	1	1	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
21	0.0	24	0.0	5	norm.	34	1	1	1	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
21	0	22	0	5	norm.	22	1	1	1	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
31	0	24	0	5	norm.	8	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
31	0.0	24	0.0	5	norm.	1	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
31	0	0.0	47	11.4	norm.	27	1	10	4	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	6.0	NR
47	0	58	0	5	norm.	6	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
47	0	93.4	0	5	norm.	9	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
47	0	65	0	5	norm.	4	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
47	0	41	0	5	norm.	5	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
49	0	52	0	24	aug.	43	1	1	1	4	10	1.3	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.3	R
49	0.0	52	0.0	6	aug.	3	1	1	1	1	1	1.3	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R
49	0	0.0	0	22	aug.	34	1	10	1	4	10	1.3	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	5.7	NR
58	0	27	0	5	norm.	3	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
58	0	06	0	5	norm.	3	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
58	0	19	0	6	norm.	5	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
67	75	0.0	54	15.5	norm.	35	4	10	4	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	6.4	NR
67	10	24.0	0.0	5	norm.	2	4	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.5	R
67	11	11.4	0	5	norm.	3	4	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.5	R
67	0	9.9	0	5	norm.	3	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
86	0	0.0	0	6	norm.	9	1	10	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.7	T0

10

20

30

【表 8】

86	0.0	11.5	0.0	5	norm.	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
86	0	3.8	0	5	norm.	12	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
86	0	2.0	0	5	norm.	23	1	1	1	1	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
89	0	2.0	0	5	norm.	16	1	1	1	1	4	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.3	NR
89	0	5.8	0	14	norm.	22	1	1	1	4	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.2	NR
89	0	5.0	0	6	norm.	21	1	1	1	1	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	NR
91	0	0.2	0	16	norm.	40	1	5	1	4	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.4	NR
91	0	0.3	0	17	norm.	41	1	5	1	4	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.4	NR
91	0	0.2	0	25	norm.	41	1	5	1	4	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.4	NR
105	0.0	2.6	0.0	8.7	norm.	20	1	1	1	1	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
105	0	2.5	0	5.1	norm.	27	1	1	1	1	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
105	0	2.6	0	7.9	norm.	27	1	1	1	1	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
115	0	2.4	66	5	norm.	7	1	1	4	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.1	R
115	0	2.1	0	6	norm.	5	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
116	0	0.0	0	12.7	norm.	46	1	10	1	4	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.9	T0
116	11	18.9	0	5	norm.	21	4	1	1	1	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.4	R
116	0	5.9	0	5	norm.	27	1	1	1	1	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
117	0	0.9	0	5	norm.	22	1	3	1	1	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.5	R
117	0	3.2	0	24	norm.	41	1	1	1	4	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.2	R
117	0	2.1	0	5	norm.	18	1	1	1	1	4	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.3	R
119	0	2.3	0	5	norm.	29	1	1	1	1	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
119	0	1.5	11	5	norm.	16	1	3	4	1	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.6	R
129	0	4.1	0	5	norm.	8	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
129	0	3.9	0	5	norm.	2	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
129	0	4.3	0	5	norm.	3	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
138	0	0.0	0	14	norm.	28	1	10	1	4	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.9	T0
138	0	12.4	0	5	norm.	11	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
138	0	9.9	0	5	norm.	11	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
92	0	0.5	0	5	norm.	24	1	5	1	1	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.1	NR
92	0	0.5	0	17	norm.	41	1	5	1	4	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.4	NR
92	0	0.3	0	5	norm.	25	1	5	1	1	10	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.1	R

10

20

【0125】

上記表 A に示される結果は、(i) 低い、または検出不可能な T N F アルファ、(i i) 検出可能な抗 - T N F レベル、および (i i i) 本質的に低い、または存在しない A D A レベルを組合せた患者は、処置に対して応答しないことを示す。上記スコアおよび重み因子を使用して、3 より小さいスコアを有する患者は応答者に分類することができる。このような患者において、該処置を続けてもよい (用量は調整され得るが) 。

30

【0126】

5 より大きいスコア値を有する全ての患者は、「逃れる人 (escaper)」、すなわち、抗 - T N F 処置が有効であったが、非応答者になっている患者に分類されるべきである。これらの患者において、処置は、関節の不可逆性分解を回避するために、迅速に変更されるべきである。

40

【0127】

3 - 5 の患者は、注意深くモニタリングされるべきである。これらの患者は、次第に非応答者になっていく。処置は調整されるべきであり (例えば、投与の用量またはタイミング)、可能な変更は、進行に依存して考慮されるべきである。

【0128】

3 より小さいスコアを有する 1 人の患者のみ (患者 # 8 9) が非応答者であった。事実、該患者は、一次非応答者、すなわち、抗 - T N F 処置が有効でなかった患者である。このような患者は、本発明を使用して容易に同定することができる : 該患者は応答者と同様のスコアを有するが、病気の患者の全臨床兆候を有する。これらの処置は変更されるべきである。

【0129】

50

7.2. インフリキシマブで処置された炎症性疾患を有する患者の分析

本発明者らはまた、炎症性疾患（強直性脊椎炎、クローン病、乾癬など）の血清サンプルを試験した。患者をインフリキシマブで処置した。サンプルを処置の過程中的異なる時点で分析した。以下の表 B はそれぞれの患者について示す：

- TNF、抗-TNF（インフリキシマブ）および ADA（抗-インフリキシマブ）の測定されるレベル
- 臨床データセット：CRP、ESR および薬量学からの情報
- それぞれのパラメーターに対するスコア因子
- それぞれのパラメーターに対する重み因子
- モニタリングスコアの結果
- 全臨床データセットによる処置に対する患者応答：応答（R）、非応答または非完全応答（NR）、処置開始時（T0）

【0130】

それぞれの患者に対する一連の結果は、処置中の異なる時点での測定値を示す。

表 B

【表 9】

患者	測定されるレベル			臨床データセット			スコア因子					重み因子					スコア	処置応答	
	TNF	インフルエンザ	ADA	CRP	薬量	VS	TNF	インフルエンザ	ADA	CRP	VS	薬量	TNF	インフルエンザ	ADA	CRP			VS
1	0	0.00	0	17	norm.	35	1	10	1	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.9	T0
1	0	21.3	0	5	norm.	16	1	1	1	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.3	R
1	0	26.6	0	5	norm.	13	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
2	0	1.0	0	5	norm.	4	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
2	0.0	0.8	0.0	5	norm.	1	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
3	0	1.0	0	11	norm.	4	1	3	1	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.8	R
3	0.0	1.6	0.0	5	norm.		1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
3	0	1.3	0	11	norm.	27	1	3	1	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.8	R
4	0	2.5	0	5	norm.	10	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
4	0.0	3.0	0.0	5	norm.	8	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
4	0	3.2	0	5	norm.	10	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
11	0	1.9	0	5	norm.	5	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
11	0.0	1.7	0.0	5	norm.	3	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
11	0	1.7	0	5	norm.	5	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
13	0	0.00	1250	5	norm.	1	1	10	10	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	6.9	NR
13	14	0.0	1660	5	norm.	25	4	10	10	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.2	NR
13	0	0.2	12	5	norm.	12	1	5	4	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.3	NR
14	0	1.6	0	6.8	norm.	16	1	3	1	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
14	0	3.2	0	5	norm.	6	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
15	0	0.2	0	5	norm.	31	1	5	1	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.1	NR
15	0	1.0	0	7	high	36	1	3	1	1	10	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.7	R
15	0	1.6	0	5	high	20	1	3	1	1	4	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.1	R
16	0	4.0	0	5	high	43	1	1	1	1	10	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.0	R
18	0	2.6	0	5	norm.	7	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
18	0	2.5	0	5	norm.	8	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
19	0	14.7	0	5	norm.	1	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
19	0.0	18.3	0.0	5	norm.	12	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
22	0	6.8	0	5	norm.	21	1	1	1	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
22	0	5.4	0	5.8	norm.	1	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
22	0	2.1	0	5	norm.	19	1	1	1	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.3	R
23	0	13.8	0	5	high	2	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R
23	0.0	11.1	0.0	5	high	10	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R
23	0	9.1	0	5	high	12	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R
24	0	2.8	0	5	norm.	9	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	NR
24	0.0	4.0	0.0	5	norm.	12	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	NR
24	0	7.0	0	5	norm.	5	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	NR
24	0	8.2	0	5	norm.	7	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
25	0	0.3	0	5	norm.	22	1	5	1	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.1	NR
26	0.0	9.7	0.0	5	high	1	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R
26	0	10.8	0	5	high	9	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R
27	0	3.3	0	10	norm.	24	1	1	1	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.2	R

10

20

30

40

【表 10】

27	0.0	3.0	0.0	9.8	norm.	22	1	1	1	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.2	R
27	0	3.8	0	9.5	norm.	16	1	1	1	4	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
28	0	1.6	0	17.6	norm.	6	1	3	1	4	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
28	145	2.3	0	5	norm.	5	10	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.4	R
29	0	1.3	0	5	norm.	17	1	3	1	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
29	0	1.2	0	5	norm.	14	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
29	0	0.8	0	5	norm.	14	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
32	0	1.6	0	8	high	17	1	3	1	1	4	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.1	NR
32	0.0	1.2	0.0	5	high	19	1	3	1	1	4	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.1	NR
32	0	2.1	0	7	high	15	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	NR
33	0	18.2	0	5	high	8	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R
33	12	16.2	0.0	5	high	14	4	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.5	R
33	10	>6	0	5	high	6	4	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.5	R
34	0	0.0	0	7	norm.	22	1	10	1	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.6	T0
34	0	19.3	0	5	norm.	5	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
34	0.0	3.0	0.0	5	norm.	5	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
34	0	0.1	0	5	norm.	5	1	5	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.2	R
35	0	4.9	0	5	high	25	1	1	1	1	10	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.0	R
35	0.0	4.9	0.0	5	high	1	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R
35	0	5.4	0	5	high	25	1	1	1	1	10	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.0	R
36	0	0.0	0	17.2	norm.	1	1	10	1	4	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.0	T0
36	21	31.3	0.0	5	norm.	5	4	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.5	R
36	0	9.2	0	6	norm.	8	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
36	0	6.1	0	5	norm.	6	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
37	0	3.7	0	5	norm.	4	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
37	0	3.4	0	5	norm.	4	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
37	0	3.6	0	5	norm.	9	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
38	0	3.3	0	5	norm.	5	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
38	0.0	2.5	0.0	5	norm.	5	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
38	0	2.8	0	5	norm.	7	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
39	0	0.7	0	5	norm.	2	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
39	0.0	0.9	0.0	5	norm.	4	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
39	0	1.0	0	5	norm.	3	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
40	0	2.5	0	9	high	25	1	1	1	1	10	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.0	NR
40	0.0	2.6	0.0	5.7	high	12	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	NR
40	0	3.3	0	6.2	high	7	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	NR
41	0	2.8	0	25	norm.	75	1	1	1	10	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.8	R
41	0	0.4	0	105	norm.	110	1	5	1	10	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.0	NR
41	0	0.4	0	112	norm.	25	1	5	1	10	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.0	NR
42	0	1.0	0	5	norm.	10	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	NR
42	0	3.1	0	5	norm.	5	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
43	0	0.6	0	9	norm.	7	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
43	0.0	2.1	0.0	6	norm.	6	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
43	0	0.0	0	14	norm.	16	1	10	1	4	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.3	NR
44	0	6.0	0	5	norm.	3	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
44	0.0	2.6	0.0	5	norm.	1	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
44	0	2.8	0	3	norm.	2	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
45	0	7.8	0	5	norm.	5	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R
45	0	2.5	0	5	high	8	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R
45	0	5.2	0	5	high	6	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R

10

20

30

40

【表 1 1】

45	0	4.4	0	6	high	7	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R	
46	0	0.0	610	5	norm.	8	1	10	10	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	6.0	NR	
46	12	0.0	848	5	norm.	5	4	10	10	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	7.3	NR	
46	0	0.0	895	5	norm.	9	1	10	10	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	6.9	NR	
48	0	1.3	0	5	norm.	7	1	3	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.8	R	
48	0.0	2.9	0.0	5	norm.	1	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R	
48	0	0.4	0	19	norm.	4	1	5	1	4	10	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.8	NR	
50	0	1.3	0	5	norm.	4	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R	
50	0	0.6	12	5	norm.	3	1	3	10	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.8	R	
50	0	1.6	0	5	norm.	1	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R	
51	0	0.0	117	11	norm.	9	1	10	4	4	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	5.1	NR	
51	0.0	0.0	0.0	8.1	norm.	8	1	10	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.7	NR	
51	0	0.5	0	5	norm.	10	1	5	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.2	R	
52	19	0.0	0	12.5	norm.	17	4	10	1	4	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.8	NR	
52	0	7.0	0	5	norm.	6	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R	
52	0	2.0	0	5	norm.	11	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	NR	
52	0	0.3	0	13	norm.	12	1	5	1	4	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.5	R	
52	0	0.1	0	9.6	norm.	14	1	5	1	4	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.5	R	
56	0	7.2	0	5	high	1	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R	
56	12	12.0	0.0	5	high	2	4	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.5	R	
56	0	6.5	0	5	high	2	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R	
59	0	3.9	0	12.7	norm.	11	1	1	1	4	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.3	R	
59	0	>3	0	5	norm.	18	10	1	1	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.7	R	
59	0	4.2	0	5	norm.	20	1	1	1	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.3	R	
60	0.0	0.0	0.0	5	norm.	8	1	10	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.7	TO	
60	0.0	23.2	0.0	5	norm.	8	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R	
68	0	0.0	0	5	norm.	1	1	10	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.7	TO	
68	0	3.2	0	5	norm.	9	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R	
68	0	5.5	0	5	norm.	13	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R	
69	0	0.0	0	5.1	norm.	10	1	10	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.7	TO	
69	0.0	0.0	10	5	norm.	12	1	10	4	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.8	R	
69	0	0.0	607	5	norm.	17	1	10	10	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	7.2	R	
69	0	0.0	174	5	norm.	19	1	10	4	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	5.1	R	
70	0	10.4	0	5	high	1	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R	
70	0.0	9.4	0.0	5	high	1	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R	
71	0	0.3	0	6.3	high	49	1	5	1	1	10	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.5	NR	
71	0	0.8	0	11	high	46	1	3	1	4	10	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.0	NR	
72	0	0.0	0		norm.	1	1	10	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.7	NR	
72	22	0.0	930	59.9	norm.	73	4	10	10	10	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	9.1	NR	
72	10	0.0	8652	99	norm.	65	4	10	10	10	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	9.1	NR	
72	24	0.0	23831	83	norm.	55	4	10	10	10	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	9.1	NR	
73	1092	0.0	80622		5	norm.	59	10	10	10	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	9.1	NR
73	995	0.0	191144		5	norm.	55	10	10	10	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	9.1	NR
73	896	0.1	###		5	norm.	60	10	5	10	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	7.6	R
73	488	0.0	95835	7.7	norm.	53	10	10	10	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	9.1	NR	
73	462	0.0	148001		8	norm.	64	10	10	10	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	9.1	R
75	0	0.6	0	5	norm.	8	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R	
75	0	1.5	0	5	norm.		1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R	
75	0	3.2	0	5	norm.	23	1	1	1	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R	
76	0	7.8	0	3	high	9	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R	

10

20

30

40

【表 1 2】

77	0	9.2	0	5	norm.	10	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
77	0	2.8	0	5	norm.	15	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
78	0	4.8	0	12	high	19	1	1	1	4	4	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.7	R
78	0	8.1	0	10.8	high	20	1	1	1	4	4	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.7	R
78	0	6.1	0	6.7	high	23	1	1	1	1	10	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.0	R
79	0	1.8	0	5	norm.	4	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
80	0	3.2	0	5.6	high	3	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R
80	11	5.0	0	5	high	3	4	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.5	NR
80	0	4.8	0	5	high	3	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	NR
80	0	2.8	0	5	high	3	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	NR
81	10	17.2	0	5	high	8	4	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.5	R
81	20	18.8	0	5	high	6	4	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.5	R
81	15	11.0	0	5	high	12	4	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.5	R
82	25	22.3	0	14	norm.	22	4	1	1	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.7	R
82	24	18.4	0	15.4	norm.	22	4	1	1	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.7	R
82	0	5.3	0	14.2	norm.	24	1	1	1	10	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.8	R
83	0	3.6	0	12	norm.	7	1	1	1	4	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.3	R
83	0	4.8	0	18	norm.	8	1	1	1	4	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.3	R
83	0	2.9	0	11	norm.	10	1	1	1	4	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.3	R
84	0	5.3	0	8	norm.	4	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
84	0	3.9	0	9	norm.	4	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
85	0	1.0	0	5	norm.	14	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
85	0	0.8	0	5	norm.	9	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
85	0	0.4	0	5	norm.	3	1	5	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.2	R
87	0	0.8	0	5	norm.	6	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
87	0	1.0	0	5	norm.	20	1	3	1	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
93	0	2.4	0	18	norm.	40.7	1	1	1	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.2	R
93	0	1.9	0	24	norm.	29	1	1	1	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.2	R
93	0	2.0	0	16	norm.	12	1	1	1	4	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.3	R
95	0	3.1	0	24	norm.	8.3	1	1	1	4	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.3	R
95	0	3.7	0	5	norm.	7	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
97	0.0	4.7	0.0	5	norm.	3	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
97	0	13.3	0	5	high	3	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R
97	0	10.8	0	5	high	1	1	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.1	R
99	27	13.9	0	5	high	12	4	1	1	1	1	1.25	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.5	R
102	0.0	1.0	0.0	7.8	norm.	18	1	3	1	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
102	0	1.4	0	5	norm.	20	1	3	1	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
102	0	0.5	0	5	norm.	23	1	5	1	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.1	R
104	0.0	1.9	0.0	5	norm.	5	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
104	0	1.9	0	5	norm.	5	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
104	0	1.7	0	5	norm.	6	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
108	0	0.6	0	5	norm.	4	1	3	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.6	R
120	0.0	0.0	0.0	103	norm.	76	1	10	1	10	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	5.5	TO
120	18	13.8	0	72.2	norm.	57	4	1	1	10	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.3	R
120	0	2.2	0	72.2	norm.	57	1	1	1	10	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.8	NR
120	0	0.1	0	30	norm.	59	1	5	1	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.4	NR
122	197	0.0	711	6	norm.	13	10	10	10	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	6.2	NR
122	62	0.0	84265	5	norm.	14	4	10	10	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	7.2	NR
122	32	0.0	39638	6	norm.	18	4	10	10	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	7.4	NR
123	0	0.0	0	28.7	norm.	15	1	10	1	4	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	4.0	TO

10

20

30

40

【表 1 3】

123	15	18.7	0	6	norm.	16	4	1	1	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.8	R
123	0	0.0	23	6	norm.	16	1	10	4	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	5.1	NR
123	0	6.7	0	6	norm.	16	1	1	1	1	4	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.3	R
123	0	0.0	2075	24	norm.	32	1	10	10	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	8.1	NR
124	10	17.5	0	5	norm.	4	4	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.5	R
124	0	8.4	0	5	norm.	8	1	1	1	1	1	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.0	R
156	27	0.0	0	10.4	norm.	22	4	10	1	4	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	5.4	NR
156	20	16.1	0	5	norm.	25	4	1	1	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	2.4	R
156	0	9.7	0	9	norm.	55	1	1	1	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	1.9	R
158	0	0.2	0	5	norm.	26	1	5	1	1	10	1	0.15	0.3	0.35	0.1	0.1	3.1	NR

10

【0 1 3 1】

表 B に示される結果は、(i) 低い、または検出不可能な T N F アルファ、(i i) 検出可能な抗 - T N F レベル、および (i i i) 本質的に低い、または存在しない A D A レベルを組合せた患者は、処置に対して応答しないことを示す。上記スコアおよび重み因子を使用して、3 より小さいスコアを有する患者は応答者に分類することができる。該結果は、以下の表に要約される。

【表 1 4】

モニタリングスコア	患者状態	
< 3	応答者	処置を続ける (処置パラメーターは調整され得る)。一次非応答者患者は同定され、別の非抗 - T N F 処置に変更され得る*。
3 - 5	潜在的に逃れる人	患者は、注意深くモニタリングされるべきである。処置は続けられ得るが、可能な変更は、考慮されるべきである。
> 5	非応答者	別の抗 - T N F 処置に変更する

20

* 患者 2 4、3 2、4 0 および 8 0 参照。このような一次非応答者において、T N F が疾患活性における小さな病因的役割を果たすことが推測される。

30

【0 1 3 2】

本発明者らの結果は、応答者および非応答者を区別することができることを示す。本発明者らの結果は、患者の応答者から非応答者状態への進行が予想でき、それにより、実質的に改善された処置レジメンの実施を可能にすることをさらに示す。

【 図 1 】

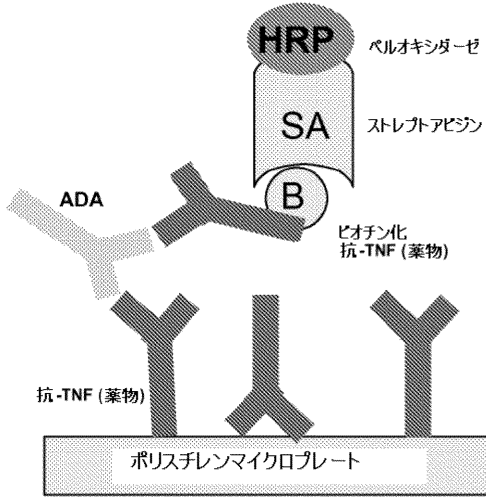


Fig 1

【 図 2 】

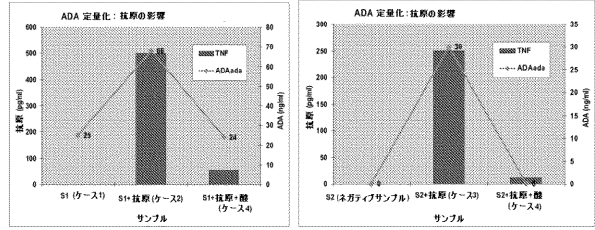


Fig 2

【 図 3 】

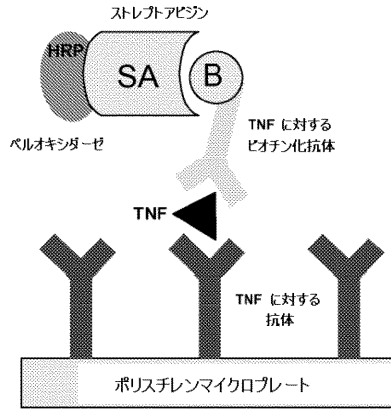


Fig 3

【 図 4 】

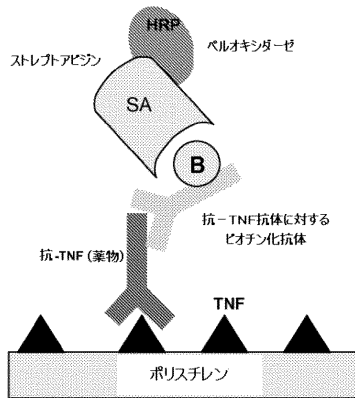


Fig 4

【 図 5 】

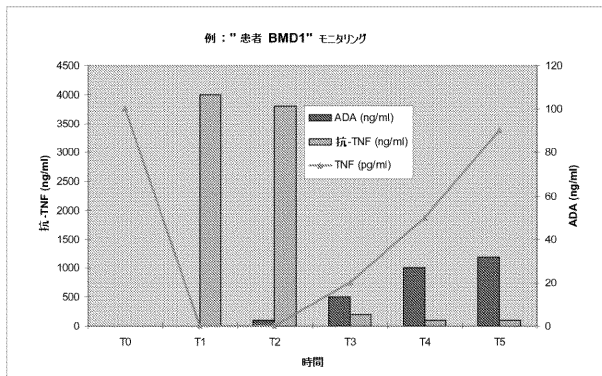


Fig. 5

【 図 6 】

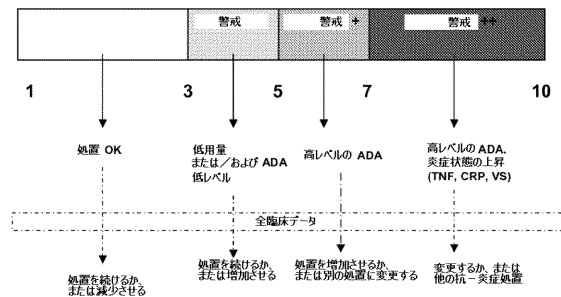


Fig. 6

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2011/056732

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2008/125903 A2 (CHAIM SHEBA MEDICAL CT [IL]; CHOWERS YEHUDA [IL]; BAR-MEIR SIMON [IL];) 23 October 2008 (2008-10-23) page 22 - page 24 -----	1-16
A	WO 2009/117791 A2 (UNIV LEUVEN KATH [BE]; RUTGEERTS PAUL [BE]; SCHUIT FRANS [BE]) 1 October 2009 (2009-10-01) claims 1-34 ----- -/--	1-16
<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. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
15 June 2011		01/07/2011
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Weijland, Albert

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2011/056732

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>WOLBINK GERRIT JAN ET AL: "Development of antiinfluximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis", ARTHRITIS & RHEUMATISM, JOHN WILEY & SONS, INC, US, vol. 54, no. 3, 1 March 2006 (2006-03-01), pages 711-715, XP002588700, ISSN: 0004-3591, DOI: DOI:10.1002/ART.21671 [retrieved on 2006-02-28] abstract</p>	1
X	<p>----- PATTON AARON ET AL: "An acid dissociation bridging ELISA for detection of antibodies directed against therapeutic proteins in the presence of antigen", JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V.,AMSTERDAM, NL, vol. 304, no. 1-2, 1 September 2005 (2005-09-01), pages 189-195, XP002588698, ISSN: 0022-1759, DOI: DOI:10.1016/J.JIM.2005.06.014 [retrieved on 2005-07-25] abstract</p>	2-6, 8-10,16
Y	<p>page 712, left-hand column page 714, right-hand column, paragraph 4 -----</p>	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2011/056732

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008125903 A2	23-10-2008	NONE	

WO 2009117791 A2	01-10-2009	EP 2307563 A2	13-04-2011
		US 2011059445 A1	10-03-2011

フロントページの続き

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

(74)代理人 100170520

弁理士 澤本 真奈美

(72)発明者 エルミス・パルシーニ

フランス、エフ - 6 9 2 1 0 ランティイ、シュマン・ドゥ・モンシェ 1 2 番

(72)発明者 ギョーム・ノギエ

フランス、エフ - 7 7 6 0 0 ブシー・サン・ジュルジュ、アヴェニュー・デュ・ジェネラル・ド・ゴール 2 9 番

Fターム(参考) 2G045 AA02 AA13 BB51 CA25 CA26 DA36 FA04 FA11 FB01 FB03

FB07 FB11 FB15 GC10 GC12 HA16

专利名称(译)	检测抗体的方法		
公开(公告)号	JP2013527444A	公开(公告)日	2013-06-27
申请号	JP2013506659	申请日	2011-04-28
[标]申请(专利权)人(译)	兵馬備鹿ING兴业ANONYME		
申请(专利权)人(译)	Teradiagu - 兴业ANONYME		
[标]发明人	エルミスパルシーニ ギョームノギエ		
发明人	エルミス・パルシーニ ギョーム・ノギエ		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/49		
CPC分类号	G01N33/564 G01N33/6854 G01N33/9493 G01N2333/525 G01N2800/52 G01N15/05 G01N33/68 G01N33/686 G01N33/6863 G01N33/94 G01N2333/4737 G01N2800/065 G01N2800/102 G01N2800 /205 G01N2800/24 G01N2800/285		
FI分类号	G01N33/53.N G01N33/53.X G01N33/49.A G01N33/53.D		
F-TERM分类号	2G045/AA02 2G045/AA13 2G045/BB51 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/DA36 2G045/FA04 2G045 /FA11 2G045/FB01 2G045/FB03 2G045/FB07 2G045/FB11 2G045/FB15 2G045/GC10 2G045/GC12 2G045/HA16		
代理人(译)	田中，三夫 山崎 宏 富田健二		
优先权	61/329201 2010-04-29 US 2010305455 2010-04-29 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及检测抗药物抗体的方法。本发明还涉及监测进行治疗性抗体治疗的患者的方法。本发明还涉及适用于实施上述方法的试剂盒。

TNFの比率(pg/ml)	<10	10から100	>100
TNF _α	0	2	5
抗-TNFの比率(μg/ml)	<0,5	0,5から3	>3
抗-TNF _α	5	3	0
ADAの比率(ng/ml)	<10	10から100	>100
ADA _α	0	10	22