

(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2010-522699

(P2010-522699A)

(43) 公表日 平成22年7月8日(2010.7.8)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 49/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 49/00 A	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 K 45/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 K 33/24 (2006.01)</b>	A 6 1 K 33/24	4 C 0 8 6
<b>A 6 1 P 19/08 (2006.01)</b>	A 6 1 P 19/08	
<b>A 6 1 P 43/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 76 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2010-500039 (P2010-500039)	(71) 出願人	509230344 シュ サントージュスティーン カナダ国, アッシュ3テ 1セ5 ケベック, モンリアル, コートーストーカトリーヌ ヌ 3 1 7 5
(86) (22) 出願日	平成20年3月31日 (2008.3.31)	(74) 代理人	100099759 弁理士 青木 篤
(85) 翻訳文提出日	平成21年11月11日 (2009.11.11)	(74) 代理人	100077517 弁理士 石田 敬
(86) 国際出願番号	PCT/CA2008/000595	(74) 代理人	100087871 弁理士 福本 積
(87) 国際公開番号	W02008/119170	(74) 代理人	100087413 弁理士 古賀 哲次
(87) 国際公開日	平成20年10月9日 (2008.10.9)	(74) 代理人	100117019 弁理士 渡辺 陽一
(31) 優先権主張番号	60/909,408		
(32) 優先日	平成19年3月30日 (2007.3.30)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	61/025,571		
(32) 優先日	平成20年2月1日 (2008.2.1)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 脊柱側弯症の危険性の決定方法

## (57) 【要約】

脊柱側弯症の発症危険性を決定するための方法であって、対象由来のサンプルにおけるオステオポンチン(OPN)の発現を経時で観測することを含んでなり、対象サンプル中で経時的に増加するOPNの発現は、対象が脊柱側弯症を発症する危険性の指標となる。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

脊柱側弯症の発症危険性を決定するための方法であって、対象由来のサンプルにおけるオステオポンチン（OPN）の発現を経時で観測することを含んでなり、対象サンプル中で経時的に増加するOPNの発現は、対象が脊柱側弯症を発症する危険性の指標となる、方法。

## 【請求項 2】

対象がおよそ3歳の時に前記観測を開始する、請求項1の方法。

## 【請求項 3】

前記観測が、少なくとも1月に約1回の頻度でOPNの発現を測定することにより行われる、請求項1に記載の方法。 10

## 【請求項 4】

前記観測が、少なくとも6月に約1回の頻度でOPNの発現を測定することにより行われる、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 5】

前記OPNの発現の観測が、酵素結合の免疫吸着アッセイ（ELISA）又は放射免疫アッセイ（RIA）を用いて行われる、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 6】

脊柱側弯症の発症の危険性を決定するための方法であって、対象由来のサンプルにおけるオステオポンチン（OPN）の発現を測定することを含んでなり、ここで、対象サンプル中でのOPNの発現が対照サンプル中より高いことが、対象が脊柱側弯症を発症する危険性の指標となる、方法。 20

## 【請求項 7】

前記対象が脊柱側弯症を発症する有力な候補である、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記対象が青年期の特発性脊柱側弯症を発症する有力な候補である、請求項1～7のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記対象が脊柱側弯症に罹患すると予備診断される、請求項1～8のいずれか1項に記載の方法。 30

## 【請求項 10】

前記対象が青年期の特発性脊柱側弯症と予備診断される、請求項1～9のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 11】

脊柱側弯症に罹患する対象を階層化する方法であって、対象からのサンプルにおけるオステオポンチン（OPN）の発現を測定することを含んでなり、当該測定ステップにより、対象を脊柱側弯症サブグループに階層化できる、方法。

## 【請求項 12】

脊柱側弯症に罹患する対象への支持具（brace）の効果を評価するための方法であって、対象を支持装着（bracing）前と少なくとも1回の支持装着後の、対象からのサンプルにおけるオステオポンチン（OPN）の発現を測定することを含んでなり、対象への支持装着前と比較して、支持装着後のOPNの発現の増加は、当該支持具が無効であることの指標となる、方法。 40

## 【請求項 13】

支持装着後のOPNの発現の決定が、支持装着後少なくとも1月で行われる、請求項11に記載の方法。

## 【請求項 14】

対象への支持装着後のOPNの発現の決定が、支持装着後少なくとも2月で行われる、請求項11に記載の方法。 50

## 【請求項 15】

対象への支持装着後のOPNの発現の決定が、支持装着後少なくとも3月で行われる、請求項12に記載の方法。

## 【請求項 16】

対象への支持装着後のOPNの発現の決定が、支持装着後少なくとも6月で行われる、請求項12に記載の方法。

## 【請求項 17】

対象からのサンプルにおける可溶性CD44受容体(sCD44)の発現を測定することをさらに含んでなる、請求項1～16のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 18】

対象由来のサンプルが、対象由来の生体液である、請求項1～17のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 19】

前記生体液が、血液、尿、涙及び唾液からなる群から選択される、請求項18に記載の方法。

## 【請求項 20】

前記生体液が血漿である、請求項19の方法。

## 【請求項 21】

OPNの発現がOPNタンパク質である、請求項1～20のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 22】

OPNの発現の決定がOPNに特異的に結合する抗体と共に行われる、請求項21の方法。

## 【請求項 23】

OPNの発現の測定が、酵素結合の免疫吸着アッセイ(ELISA)を用いて行われる、請求項22の方法。

## 【請求項 24】

前記サンプルが血漿サンプルであり、且つ血漿1ミリリットル当たり700ナノグラム超のOPNの発現は、対象が脊柱側弯症を発症する危険性の指標となる、請求項23の方法。

## 【請求項 25】

前記サンプルが血漿サンプルであり、且つ血漿1ミリリットル当たり800ナノグラム超のOPNの発現は、対象が脊柱側弯症を発症する危険性の指標となる、請求項23の方法。

## 【請求項 26】

OPNの発現がOPN RNAである、請求項1～20のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 27】

対象由来のサンプルが、傍脊椎筋生検体であり、且つOPNの発現がOPN RNAである、請求項1～17のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 28】

脊柱側弯症の低減又は予防のための潜在的候補としての剤を選択する方法であって、細胞が発現するオステオポンチン(OPN)と候補剤を接触させること、及びOPNの発現を検出することを含んでなり、候補剤の存在下でのOPNの発現が、不存在下のものと比較して低い場合に候補剤が選択される、方法。

## 【請求項 29】

脊柱側弯症の低減又は予防のための潜在的候補としての剤を選択する方法であって、細胞が発現するsCD44と候補剤を接触させること、及びsCD44の発現を検出することを含んでなり、候補剤の存在下でのOPNの発現が、不存在下のものと比較して高い場合に候補剤が選択される、方法。

## 【請求項 30】

10

20

30

40

50

前記細胞が脊柱側弯症の患者由来の細胞である、請求項 28 及び 29 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 31】

脊柱側弯症の予防又は低減のための潜在的候補としての剤を選択する方法であって、脊柱側弯症の発症前に脊柱側弯症モデル動物に候補剤を投与することを含んでなり、当該モデルにおいて、候補剤を投与されなかった対照動物と比較して、脊柱側弯症が予防又は低減される場合に候補剤が選択される、方法。

【請求項 32】

脊柱側弯症を予防又は低減する方法であって、脊柱側弯症に罹患する対象に、治療有効量のオステオポンチン阻害剤（OPN）又はセレン豊富な食事を投与することを含んでなり、その結果脊柱側弯症が予防又は処置される、方法。

10

【請求項 33】

脊柱側弯症を予防又は低減する方法であって、脊柱側弯症に罹患する対象に、治療有効量の CD44 阻害剤を投与することを含んでなり、その結果脊柱側弯症が予防又は処置される、方法。

【請求項 34】

脊柱側弯症を予防又は低減する方法であって、脊柱側弯症に罹患する対象に、治療有効量の sCD44 刺激因子を投与することを含んでなり、その結果脊柱側弯症が予防又は処置される、方法。

【請求項 35】

前記対象が人である、請求項 1～34 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 36】

前記対象が女性である、請求項 1～34 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 37】

前記対象が男性である、請求項 1～34 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 38】

脊柱側弯症の処置又は予防における使用のためのオステオポンチン阻害剤。

【請求項 39】

脊柱側弯症の処置又は予防における使用のための CD44 阻害剤。

【請求項 40】

脊柱側弯症の処置又は予防における使用のための sCD44 刺激因子。

30

【請求項 41】

脊柱側弯症の処置又は予防のための医薬の製造におけるオステオポンチン阻害剤の使用。

【請求項 42】

脊柱側弯症の処置又は予防のための、オステオポンチン阻害剤の使用。

【請求項 43】

脊柱側弯症の処置又は予防のための医薬の製造における CD44 阻害剤の使用。

【請求項 44】

脊柱側弯症の処置又は予防のための、CD44 阻害剤の使用。

40

【請求項 45】

脊柱側弯症の処置又は予防のための医薬の製造における sCD44 刺激因子の使用。

【請求項 46】

脊柱側弯症の処置又は予防のための、sCD44 刺激因子の使用。

【請求項 47】

前記脊柱側弯症が青年期特発的脊柱側弯症である、請求項 41～46 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 48】

脊柱側弯症を発症する危険性を予測するためのキットであって、オステオポンチン（OPN）特異的ナリガンド、及び脊柱側弯症を発症する危険性を予測するためのキットの使

50

用についての指示書を含んでなる、キット。

【請求項 49】

可溶性CD44 (sCD44) に特異的なリガンドをさらに含んでなる、請求項 48 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、脊柱側弯症を発症する危険性を決定する方法、脊柱側弯症に罹患する対象を階層化する方法、脊柱側弯症に罹患する対象に対する支持具の有効性を評価するための方法、及びこのためのキットに関する。

10

【背景技術】

【0002】

他の出願への相互参照

本出願は、2007年3月30日出願の米国特許法第119条(e)の米国仮出願第60/909,408号及び2008年2月1日出願の米国仮出願第61/025,571号に対する優先権の利益を主張する。上記書類の全ては、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0003】

脊柱奇形及び特に脊柱側弯症は、幼年及び青年期に最も一般的な整形外科的奇形の一種のことを表し、青年期特発的脊柱側弯症(AIS)は、最も一般的な脊柱側弯症の状態を表す。

20

【0004】

青年期特発性脊柱側弯症(AIS)の病因はほとんど解明されておらず、そのためAISが遺伝的素因を伴う多要因疾患であることが従来のパラダイムとなっている<sup>(1-7)</sup>。AISに罹患した患者から手術により入手した生検体由来の細胞における、メラトニンのシグナル伝達機能不全の発生が報告されている<sup>8</sup>。

【0005】

残念ながら、AIS発症の危険性のある幼児もしくは青年を確認するため、又は進行の危険性が原因で処置を必要とするのはどの個体であるかを確認するために、利用可能な、実績ある方法もしくは試験は存在しない。結果的に、現在の処置の応用、例えば支持具での、あるいは外科的な矯正は、顕著な奇形が検出されるまで又は顕著な進行が明確に実証されるまで遅れ、結果として処置が遅れるとともに最適でないものとなる<sup>2,9</sup>。

30

【0006】

本記載では、多数の文献について言及し、その内容は参照により本明細書にその全体が組み込まれる。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

より具体的には、本発明によれば、脊柱側弯症の発症の危険性を決定するための方法であって、対象由来のサンプルにおけるオステオポンチン(OPN)の発現を経時で観測することを含んでなり、対象サンプル中で経時的に増加するOPNの発現は、対象が脊柱側弯症を発症する危険性の指標となる、方法が提供される。

40

【0008】

具体的な実施態様によれば、対象がおよそ3歳の時に観測を開始する。別の具体的な実施態様によれば、観測は少なくとも1月に約1回の頻度でOPN発現を測定することにより行う。別の具体的な実施態様によれば、観測は少なくとも6月に約1回の頻度でOPNの発現を測定することにより行う。別の具体的な実施態様によれば、当該方法が対象由来のサンプルにおけるsCD44発現を測定することをさらに含んでなる。別の具体的な実施態様によれば、OPNの発現の観測は、酵素結合の免疫吸着アッセイ(ELISA)又は放射免疫アッセイ(RIA)を用いて行われる。

50

## 【 0 0 0 9 】

本発明によれば、脊柱側弯症の発症の危険性を決定するための方法であって、対象由来のサンプルにおけるオステオポンチン（OPN）の発現を測定することを含んでなり、ここで、対象サンプル中でのOPN発現がコントロールサンプル中より高いことが、対象が脊柱側弯症を発症する危険性の指標となる、方法が提供される。

## 【 0 0 1 0 】

別の具体的な実施態様によれば、対象は脊柱側弯症を発症する有力な候補である。別の具体的な実施態様によれば、対象は青年期特発性脊柱側弯症を発症する有力な候補である。別の具体的な実施態様によれば、対象は脊柱側弯症に罹患すると予備診断される。

## 【 0 0 1 1 】

別の具体的な実施態様によれば、対象は青年期特発性脊柱側弯症と予備診断される。

## 【 0 0 1 2 】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症に罹患する対象を階層化する方法であって、対象からのサンプル中でのオステオポンチン（OPN）発現を測定することを含んでなり、ここで前記測定ステップにより、対象を脊柱側弯症サブグループに階層化できる方法が提供される。

## 【 0 0 1 3 】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症に罹患する対象に対する支持具（brace）の効果を評価するための方法であって、対象を支持装着（bracing）前と少なくとも1回の支持装着後の、対象からのサンプルにおけるオステオポンチン（OPN）の発現を測定することを含んでなり、対象への支持装着前と比較して、支持装着後のOPNの発現の増加は、当該支持具が無効であることの指標となる、方法が提供される。

## 【 0 0 1 4 】

具体的な実施態様によれば、OPN発現の決定が、支持装着後少なくとも1月で行われる。別の具体的な実施態様によれば、支持装着後のOPN発現の決定が、支持装着後少なくとも2月で行われる。別の具体的な実施態様によれば、支持装着後のOPN発現の決定が、支持装着後少なくとも3月で行われる。別の具体的な実施態様によれば、支持装着後のOPN発現の決定が、支持装着後少なくとも6月で行われる。

## 【 0 0 1 5 】

別の具体的な実施態様によれば、当該方法は対象由来のサンプルにおける可溶性CD44受容体（sCD44）の発現を測定することをさらに含んでなる。

## 【 0 0 1 6 】

別の具体的な実施態様によれば、対象からのサンプルは対象からの生体液である。別の具体的な実施態様によれば、前記生体液は、血液、尿、涙及び唾液からなる群から選択される。別の具体的な実施態様によれば、前記生体液は血漿である。

## 【 0 0 1 7 】

別の具体的な実施態様によれば、OPN発現はOPNタンパク質である。別の具体的な実施態様によれば、OPN発現はOPNに特異的に結合する抗体と共に行われる。別の具体的な実施態様によれば、OPN発現の測定は、酵素結合の免疫吸着アッセイ（ELISA）を用いて行われる。別の具体的な実施態様によれば、サンプルが血漿サンプルであり、且つ血漿1ミリリットル当たり700ナノグラム超のOPN発現は、対象が脊柱側弯症を発症する危険性の指標となる。別の具体的な実施態様によれば、サンプルが血漿サンプルであり、且つ血漿1ミリリットル当たり800ナノグラム超のOPN発現は、対象が脊柱側弯症を発症する危険性の指標となる。

## 【 0 0 1 8 】

別の具体的な実施態様によれば、OPN発現はOPN RNAである。別の具体的な実施態様によれば、対象からのサンプルは傍脊椎筋生検体であり、且つOPN発現がOPN RNAである。

## 【 0 0 1 9 】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症の低減又は予防のための、潜在的候補としての

10

20

30

40

50

剤を選択する方法であって、細胞が発現するオステオポンチン（OPN）と候補剤を接触させること、及びOPNの発現を検出することを含んでなり、候補剤の存在下でのOPNの発現が、不存在下のものと比較して低い場合に、候補剤が選択される方法が提供される。

【0020】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症の低減又は予防のための、潜在的候補としての剤を選択する方法であって、細胞が発現するsCD44と候補剤を接触させること、及びsCD44の発現を検出することを含んでなり、候補剤の存在下でのOPNの発現が不存在下でのものより高い場合に、当該候補剤が選択される方法が提供される。

【0021】

別の具体的な実施態様によれば、細胞は脊柱側弯症の患者由来の細胞である。

【0022】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症の予防又は低減のための潜在的候補としての剤を選択する方法であって、脊柱側弯症の発症前に脊柱側弯症モデル動物に候補剤を投与することを含んでなり、当該モデルにおいて、候補剤を投与されなかった対照動物と比較して、脊柱側弯症が予防又は低減される場合に、候補剤が選択される方法が提供される。

【0023】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症を予防又は低減する方法であって、脊柱側弯症に罹患する対象に、治療有効量のオステオポンチン阻害剤（OPN）又はセレン豊富な食事を投与することを含んでなり、その結果脊柱側弯症が予防又は処置される、方法が提供される。

【0024】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症を予防又は低減する方法であって、脊柱側弯症に罹患する対象に、治療有効量のCD44阻害剤を投与することを含んでなり、その結果脊柱側弯症が予防又は処置される、方法が提供される。

【0025】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症を予防又は低減する方法であって、脊柱側弯症に罹患する対象に、治療有効量のsCD44刺激因子を投与することを含んでなり、その結果脊柱側弯症が予防又は処置される、方法が提供される。

【0026】

本発明の方法の具体的な実施態様によれば、対象は人である。本発明の方法の別の具体的な実施態様によれば、対象は女性である。本発明の方法の別の具体的な実施態様によれば、対象は男性である。

【0027】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症の処置又は予防における使用のためのオステオポンチン阻害剤が提供される。

【0028】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症の処置又は予防における使用のためのCD44阻害剤が提供される。

【0029】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症の処置又は予防における使用のためのsCD44刺激因子が提供される。

【0030】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症の処置又は予防のための医薬の製造におけるオステオポンチン阻害剤の使用が提供される。

【0031】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症の処置又は予防のためのオステオポンチン阻害剤の使用が提供される。

【0032】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症の処置又は予防のための医薬の製造におけるC

10

20

30

40

50

D 4 4 阻害剤の使用が提供される。

【0033】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症の処置又は予防のためのCD44阻害剤の使用が提供される。

【0034】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症の処置又は予防のための医薬の製造におけるsCD44刺激因子の使用が提供される。

【0035】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症の処置又は予防のためのsCD44刺激因子の使用が提供される。

【0036】

本発明の使用の具体的な実施態様によれば、脊柱側弯症は青年期特発的脊柱側弯症である。

【0037】

本発明の別の態様によれば、脊柱側弯症を発症する危険性を予測するためのキットであって、オステオポンチン(OPN)特異的なりガンド及び脊柱側弯症を発症する危険性を予測するためのキットの使用についての指示書を含んでなる、キットが提供される。具体的な実施態様によれば、当該キットは可溶性CD44(sCD44)に特異的なりガンドをさらに含んでなる。

【0038】

本発明のその他の目的、利点及び特徴は、以下の、添付の図面の参照によって単に例として提供される、その特定の実施態様の非制限的な記載を読むことにより明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0039】

添付の図面においては以下の通りである。

【図1】図1は、松果体切除ニワトリにおけるOPN検出及び対応する脊柱側弯症を示す。上下のパネルは、脊柱側弯症を発症する松果体切除ニワトリの傍脊椎筋(S)と、未罹患を維持するもの(NS)において、mRNA及びタンパク質レベルそれぞれで検出するOPN発現の上方制御を示す。

【図2】図2において、左のパネルでは、手術後の脊柱側弯症の二足歩行C57Bl/6Jマウス(bipedal C57Bl/6J mice)におけるOPN血中濃度の動的な変動をグラフで示す。右のパネルでは、二足歩行C57Bl/6Jマウスで観察される脊柱側弯的奇形の典型的なX線であり、雌(708)が雄(709)より重度に影響を受けていることを示す。

【図3】図3は、異なるマウス種における血漿メラトニン濃度の変動を示す。S = 脊柱側弯症、NS = 非脊柱側弯症である。

【図4】図4は、脊柱側弯症松果体切除ニワトリでのOPN転写の薬理的阻害の影響を示す。

【図5】図5は健常対照者、AIS患者及び無症候性対象における、血漿オステオポンチンの感度及び特異性をグラフで示す。パネルAでは、33人の健常対照者、及び32人の重度のコブ角度(Cobb's Angle) ( $45^\circ$ )を有するAIS患者を含む解析から、濃度曲線下面積(AUC)が、0.03の標準偏差で0.94(95%の信頼区間[CI]が0.88~1.000)であることが判明した。パネルBでは、オステオポンチン1ml当たり700ナノグラムのカットオフ値の使用により、AISの早期検出及び脊柱側弯症進行の危険性検出のための、高い感度(90.6%)及び非常に良好な特異性(81.8%)を示した。パネルCでは、オステオポンチン1ml当たり800ナノグラムのカットオフ値の使用により、AISの早期検出及び脊柱側弯症進行の危険性検出のための、高い感度(84.9%)及びより高い特異性(90.9%)を示した。パネルDでは、全てのAIS患者を使用して、血漿オステオポンチンレベルとコブ角度との間の明らかな相関関係が実証され、ここでp値は $<0.001$ で $r^2 = 0.26$ である。

10

20

30

40

50

【図6】図6は、異なる群における年齢の分布を示すグラフを提示し、各群は、男性と女性の組み合わせ（対照者、危険性あり、AIS < 45及びAIS > 45）（パネルA）、並びに性別で分けた、女性（パネルB）及び男性（パネルC）である。

【図7】図7は、所定の4人の女性患者（支持具未処置）、12歳（赤）、14歳（緑及び青）、及び17歳（黄色）の、来診時を基準とした追跡期間中の、OPNレベル、sCD44レベル、及びコブ角度の変化プロファイルを示す。

【図8】図8は、悪化性弯曲奇形のAIS患者（コブ角度の総増加が3°超；n = 14）及び弯曲の顕著な変化のない者（コブ角度の増減が3°未満で、変化がない；n = 36）の、追跡期間中の、OPN（左のパネル）及びsCD44（右のパネル）レベルの総変化の分布を示す。

【図9A】図9は、AIS患者におけるコブ角度の増加と相関する、OPNの増加を示すグラフを提示する。

【図9B】図9は、AIS患者におけるコブ角度の増加と相関する、OPNの増加を示すグラフを提示する。

【図9C】図9は、AIS患者におけるコブ角度の増加と相関する、OPNの増加を示すグラフを提示する。

【図10A】図10は、AIS患者におけるコブ角度の減少又は安定化と相関する、OPNの減少又は安定化を示すグラフを提示する。

【図10B】図10は、AIS患者におけるコブ角度の減少又は安定化と相関する、OPNの減少又は安定化を示すグラフを提示する。

【図10C】図10は、AIS患者におけるコブ角度の減少又は安定化と相関する、OPNの減少又は安定化を示すグラフを提示する。

【図10D】図10は、AIS患者におけるコブ角度の減少又は安定化と相関する、OPNの減少又は安定化を示すグラフを提示する。

【図10E】図10は、AIS患者におけるコブ角度の減少又は安定化と相関する、OPNの減少又は安定化を示すグラフを提示する。

【図10F】図10は、AIS患者におけるコブ角度の減少又は安定化と相関する、OPNの減少又は安定化を示すグラフを提示する。

【図10G】図10は、AIS患者におけるコブ角度の減少又は安定化と相関する、OPNの減少又は安定化を示すグラフを提示する。

【図10H】図10は、AIS患者におけるコブ角度の減少又は安定化と相関する、OPNの減少又は安定化を示すグラフを提示する。

【図11】図11は、脊柱側弯症でない所定の4人の危険性のある対象（1人の男性が3歳（緑）、3人の女性が5歳（金）、11歳（青）、及び9歳（赤））の、来診時を基準とした追跡期間中の、OPN及びsCD44レベルの変化プロファイルを示す。

【図12】図12は、非AIS脊柱側弯症患者（NAIS）におけるOPN、sCD44及びHAレベルを比較する（OPN（n = 28）、sCD44（n = 18）、HA（n = 24）、健常対照者（n = 35）及びAIS患者（n = 252））。

【図13】図13は、手術前のAIS患者（n = 79）と手術後のAIS患者（n = 28）における、脊柱生体力学の機能におけるOPNの血中濃度変化のヒストグラム比較を提示する。

【図14】図14は、手術前AIS女性（OPN（n = 10）、sCD44（n = 15））と手術後AIS女性（OPN（n = 10）、sCD44（n = 12））における、OPN及びsCD44の血中濃度のヒストグラム比較を提示する。

【図15】図15は、手術前（パネルA）及び手術後（パネルB）の、規定のカットオフ値を超える、AIS患者分布のチャートを示す。

【図16】図16は、支持装着前（パネルA）及び支持装着後（パネルB）の、規定のカットオフ値を超える、AIS患者分布のチャートを示す。

【図17】図17は、AISにおける脊柱奇形進行の原因となる、仮説的な分子概念を説明する。

10

20

30

40

50

【図18】図18は、A I S患者における血清レベルとO P Nレベルとの相関のグラフを示す。

【図19】図19は、対象の3つの分類、対照者、低O P N産生者、及び高O P N産生者における、血清レベルを比較するヒストグラムを示す。

【図20A】図20は、3つのヒトO P Nアイソフォームのヌクレオチド配列（転写変異体1、m R N A N M - 0 0 1 0 4 0 0 5 8（配列番号1）；転写変異体2、m R N A N M - 0 0 0 5 8 2（配列番号2））を示す。

【図20B】転写変異体3、m R N A N M - 0 0 1 0 4 0 0 6 0（配列番号3）を示す。

【図20C】ヒトO P Nアイソフォームのアミノ酸配列（アイソフォーム a N P - 0 0 1 0 3 5 1 4 7（配列番号4）；アイソフォーム b N P - 0 0 0 5 7 3（配列番号5）；及びアイソフォーム c N P - 0 0 1 0 3 5 1 4 9（配列番号6））を示す。

【図21A】ヒトC D 4 4の6つのアイソフォームのヌクレオチド配列（m R N A）（N M - 0 0 0 6 1 0 転写変異体1（配列番号7））。

【図21B】ヒトC D 4 4の6つのアイソフォームのヌクレオチド配列（m R N A）（N M - 0 0 0 6 1 0 転写変異体1（配列番号7））。

【図21C】N M - 0 0 1 0 0 1 3 8 9 転写変異体2（配列番号8）。

【図21D】N M - 0 0 1 0 0 1 3 8 9 転写変異体2（配列番号8）。

【図21E】N M - 0 0 1 0 0 1 3 9 0 転写変異体3（配列番号9）。

【図21F】N M - 0 0 1 0 0 1 3 9 0 転写変異体3（配列番号9）；N M - 0 0 1 0 0 1 3 9 1 転写変異体4（配列番号10）。

【図21G】N M - 0 0 1 0 0 1 3 9 1 転写変異体4（配列番号10）。

【図21H】N M - 0 0 1 0 0 1 3 9 2 転写変異体（配列番号11）。

【図21I】N M - 0 0 1 0 0 1 3 9 2 転写変異体（配列番号11）及び腫瘍細胞で確認されたX 6 2 7 3 9 アイソフォーム（配列番号12）。

【図21J】ヒトC D 4 4の6つのアイソフォームのアミノ酸配列（N P - 0 0 0 6 0 1 アイソフォーム1前駆体（配列番号13）；N P - 0 0 1 0 0 1 3 8 9 アイソフォーム2前駆体（配列番号14）；N P - 0 0 1 0 0 1 3 9 0 アイソフォーム3前駆体（配列番号15））。

【図21K】N P - 0 0 1 0 0 1 3 9 1 アイソフォーム4前駆体（配列番号16）；N P - 0 0 1 0 0 1 3 9 2 アイソフォーム5前駆体（配列番号17）；及び腫瘍細胞で同定されるC A A 4 4 6 0 2 アイソフォーム（配列番号18））。

【図22A - B】図22は、s C D 4 4の構造（パネルA）、様々なC D 4 4アイソフォームの起源（パネルB）を示す。

【図22C】s C D 4 4アイソフォームの切断部位（配列番号23）を示す。

【発明を実施するための形態】

【0040】

多機能的サイトカインである、オステオポンチン（O P N）（別名、分泌リン脂質1、骨シアロタンパク質I、初期Tリンパ球活性1）は、青年期特発性脊柱側弯症（A I S）で研究され、血漿O P N濃度は3つの群、すなわちA I Sの患者、脊柱側弯症について家族歴が全くない健常対照者、及び少なくとも一方の親が脊柱側弯症の親である無症候性子供（これは危険性があると考えられる（危険性ある子供））を用いて決定した。

【0041】

A I Sである継続患者の252人の群を、脊柱側弯症の家族歴が全くない健常対照者の35人、及び無症候性の危険性ある対象の70人と比較した。全ての対象は、コーカサス人であり、人口統計学的特徴を以下の表2に示す。血漿O P N、可溶性C D 4 4受容体（s C D 4 4）、及びヒアルロン（H A）のレベルは、酵素結合の免疫吸着アッセイにより測定した。松果体切除ニワトリ、及びO P N又はC D 4 4受容体（O P N受容体として知られる）のいずれか一方を欠損する、遺伝子改変二足歩行C57Bl/6Jマウスについても調べた。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 4 2 】

A I S 患者における平均血漿 O P N 濃度は、コブ角が  $> 45^\circ$  である A I S 患者においては  $(965 \pm 414 \text{ ng/L})$ 、健常対照群における値  $(570 \pm 156 \text{ ng/L})$  及びコブ角が  $< 45^\circ$  である A I S 患者における値  $(799 \pm 284 \text{ ng/L})$  と比較して、有意に高かった ( $p$  値  $< 0.001$ )。A I S についての診断的な O P N の感受性及び特異性は、それぞれ 84.4% 及び 90.6% であった (カットオフ値  $> 800 \text{ ng/mL}$ )。サブグループの分析では、危険性のある子供の 47.9% が  $800 \text{ ng/mL}$  より高い O P N 値であり、対照群のわずか 8.6% とは対照的であることが示され、脊柱側弯症形成に先行して血漿 O P N レベルが上昇することが示唆された。全ての群で、平均血漿 s C D 4 4 及び H A レベルに有意な差異はなかった。脊柱側弯症の病態生理学に関しては、遺伝子改変二足歩行マウスはいずれも脊柱側弯症を発症しなかったことより、脊柱側弯症の発症には、C D 4 4 受容体との O P N 相互作用が必要であることが、二足歩行 C57Bl/6J マウスモデルにより実証された。本明細書に開示した O P N カットオフ値は、市販の I B L 製ヒト O P N に特異的な E l i s a キットを用いて計算した。O P N の発現 (m R N A 又はタンパク質) の測定が異なると (例えば、異なる抗体を使用せずに、異なる生物サンプルにおいて O P N R N A 又は O P N タンパク質を介して O P N 発現を測定する場合等) これらの値も変動し得る。

10

## 【 0 0 4 3 】

O P N (分泌リン脂質 - 1、ミノポンチン (minopontin)、又は E t a - 1 と呼ばれる) は、細胞外マトリクス等の石化組織に存在するアルギニン - グリシン - アスパラギン酸 (R G D) 配列を含有する、リン酸化糖タンパク質である。この多機能サイトカインは、多くの病理学的症状に関与する<sup>9,10</sup>。A I S 患者はまた、姿勢制御、固有感覚及び平衡に欠陥を示すため<sup>(12,13)</sup>、小脳、骨格筋固有受容の感覚器官、及び平衡を制御する内耳構造等の姿勢制御中枢に、O P N 転写及びタンパク質が存在すること<sup>(11)</sup> は注目に値する。異なる成人の癌及び炎症症状において、高レベルの血漿 O P N が見出されている<sup>30-33</sup>。

20

## 【 0 0 4 4 】

O P N シグナル伝達作用：O P N が細胞表面で C D 4 4 受容体と相互作用できることは知られているが<sup>14,15</sup>、インテグリンとの相互作用以外の、O P N シグナル伝達経路は十分に理解されているわけではない。C D 4 4 はヒアルロナン (H A) の主要な受容体であるが、それは O P N の受容体としても作用し、且つ多数の R G D 結合部位を有する。接着分子の C D ファミリーの中の全てのヒトアイソフォームは、単一の遺伝子によってコードされている。ヒト C D 4 4 遺伝子における 19 個のエキソンのうちの 12 個の選択的スプライシングは、多数の変異体アイソフォーム生成物をもたらし<sup>16,17</sup>、かかる構造的異種接合体は、フィブロネクチン<sup>18</sup>、コンドロイチン硫酸<sup>19</sup>、オステオポンチン<sup>20</sup>、少なくとも 2 つのヘパリン結合増殖ホルモン及びヒアルロナン<sup>21,22</sup> 等の C D 4 4 のリガンドレパートリーに関与する。s C D 4 4 の可溶性変異体アイソフォーム (s C D 4 4 v a r) は、複数の病理学的症状に関連する<sup>16,18,23,24</sup>。s C D 4 4 アイソフォームは、細胞表面 C D 4 4 のタンパク質分解性の切断を介して作製しても、選択的スプライシングによるデノボ合成によって作製してもよい。変異エキソン使用とは無関係の C D 4 4 分子間の機能的多様性は、ある細胞型では発現するが別の型においては不活性である場合、C D 4 4 H 又は任意の特定スプライス変異体が、ヒアルロナン (H A) 結合を活性化できることの観察により実証される。多くの C D 4 4 アイソフォームは組織特異的であるが、多様な s C D 4 4 の (1 又は複数の) 可溶性変異体アイソフォームはいくつかの病理学的症状と関連していた。実際、総 s C D 4 4 及び特異的な可溶性 C D 4 4 アイソフォームの血中濃度は、いくつかの悪性疾患において腫瘍転移と相関を示した。かかる疾患には、非ホジキンリンパ腫並びに乳癌、胃癌及び結腸癌等が含まれる。可溶性 C D 4 4 のレベルは、リウマチ様関節炎、回腸囊炎及び大腸炎、並びに気管支炎等の特定の炎症症状を呈する対象の体液においてより高くなることも知られている。ヒアルロネート又はヒアルロン酸とも呼ばれるヒアルロナン (H A) は、体中に広く分布するムコ多糖類であり、線維芽細胞及び他の特殊化結合組織細胞等の様々な細胞により生成される。

30

40

50

## 【0045】

本明細書で使用される「対象」なる用語は、ヒト、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ブタ、サル、ウマ等を含むいずれかの哺乳類のことを言う。具体的な実施態様によれば、それはヒトのことを言う。

## 【0046】

本明細書で使用される「支持具 (brace)」なる用語は、歯科及び整形外科的な支持具を含むことが意図されており、従って「支持装着する (bracing)」とは、対象に支持具を装着する動作のことを言う。特定の実施態様によれば、それは脊柱側弯症の対象を支持することを言うことが意図されている。

## 【0047】

本明細書で使用される「脊柱の障害及び脊柱側弯症を引き起こす障害」なる専門用語は、脊柱側弯症の発症に関与し得る障害のことを言う。限定するものではないが、かかる障害としては、AIS、先天性脊柱側弯症、先天性サイホース (cyphose) 脊柱側弯症、神経学的脊柱側弯症、形成異常性脊柱側弯症、神経線維腫症、脳性麻痺、筋ジストロフィ、神経筋脊柱側弯症、脊椎すべり症、ヌーナン症候群がある。階層化又は予測され得る脊柱側弯症は、事故及びある先天性奇形により引き起こされるものは考慮しない。

## 【0048】

本明細書で使用される「青年期特発性脊柱側弯症を発症する有力な候補」なる用語には、少なくとも親の一方が特発性脊柱側弯症である子供が含まれる。他の要因の中でも、年齢 (青年期)、性別及び家系 (すなわち脊柱側弯症である母又は父から生まれたこと) は、脊柱側弯症を発症する危険性に寄与することが知られており、また AIS 発症の危険性をある程度評価するために使用される。特定の対象において脊柱側弯症は、矯正外科手術を要する段階まで短期間で急速に進行する。AIS と診断される瞬間 (脊柱側弯症が明らかになる時点) から利用できる現行の措置の過程としては、観察 (コブ角がおよそ  $10 \sim 25^\circ$  の時点)、整形外科装置 (コブ角がおよそ  $25 \sim 30^\circ$ )、及び外科手術 ( $45^\circ$  超) がある。進行の危険性を決定し、且つ本発明による治療有効性を観測するためのより確実な方法は、1) 脊柱側弯症の寄与体として確認されている特定食物を除去する、適切な食事を選択すること、2) 最良の治療剤を選択すること、3) 最も侵襲性の低い予防措置、及び / 又は姿勢訓練、整形外科装置等の利用可能な治療、及び / 又は侵襲性の低い外科手術もしくは癒合のない外科手術 (椎骨を癒合せず、柱の可動性を保持する外科手術) を選択すること、により補助することができる。

## 【0049】

本明細書で使用される「重篤な AIS」なる用語は、コブ角が  $45^\circ$  以上であることを特徴とする脊柱側弯症のことを言う。

## 【0050】

本明細書で使用される「脊柱側弯症発症の危険性」なる用語は、脊柱側弯症を発症する (すなわち、脊柱奇形) 及び / 又は今後より重篤な脊柱側弯症を発症する、対象の遺伝的又は代謝的素因のことを言う。例えば、対象のコブ角の増加 (例えば、 $40^\circ$  から  $50^\circ$ 、又は  $18^\circ$  から  $25^\circ$  等) は、脊柱側弯症の「発症」である。

## 【0051】

本明細書で使用される「生物サンプル」なる専門用語は、生きているものから単離した任意の固体又は液体サンプルのことを言う。具体的な実施態様によれば、それはヒトから単離した任意の固体又は液体のサンプルのことを言う。限定するものではないが、生検、血液、涙<sup>(48)</sup>、唾液、母乳、滑液、尿、耳液、羊液及び脳髄液が挙げられる。特定の実施態様によれば、それは血液サンプルのことを言う。

## 【0052】

本明細書で使用される「血液サンプル」なる専門用語は、血液、血漿又は血清のことを言うことが意図される。好ましい実施態様によれば、血漿を使用する。より具体的な実施態様よれば、それは血漿サンプルのことを言う。

## 【0053】

10

20

30

40

50

本明細書で使用される「対照サンプル」なる専門用語は、脊柱側弯症に罹患している又は脊柱側弯症を発症する有力な候補であるとわかっている対象から得たサンプルではないサンプルのことを言う意図である。ただし、脊柱側弯症であると予備診断される対象における脊柱側弯症発症の危険性を決定するための方法において、当該サンプルを疾患又は障害の最も早い段階で、検査された対象から得てもよい。

【0054】

脊柱側弯症に関して本明細書で使用される「治療する」又は「治療」なる用語は、既存の脊柱奇形におけるコブ角の低減、柱可動性の改善、柱可動性の保持/維持、特定の計画における平衡及びバランスの改善；特定の計画における平衡及びバランスの維持/保持、特定の計画における機能性の保持/維持、美容的改善、及び上記任意の組み合わせのうち、少なくとも1つのことを言う意図である。

10

【0055】

脊柱側弯症に関して本明細書で使用される「予防する」又は「予防」なる用語は、脊柱側弯症に罹患する患者又は無症候患者におけるコブ角の低減、脊柱奇形の出現の完全な予防、例えば3Dでの胸部及び骨盤への影響の変化、並びに上記任意の組み合わせのうち、少なくとも1つのことを言う意図である。

【0056】

本明細書で使用される「オステオポンチン阻害剤」なる用語は、OPN (sspMと呼ばれる遺伝子)の発現(転写又は翻訳)を低減もしくはブロックできる剤、OPNセレクションを低減もしくはブロックできる剤、又はOPNの受容体CD44への結合を低減もしくはブロックできる剤のことを言う。限定するものではないが、当該剤は天然物でも合成物でもよく、限定するものではないがOPNに特異的に結合する抗体等のタンパク質、ペプチド、小分子、限定するものではないがアンチセンス等のヌクレオチド、又はOPN特異的なsiRNAが挙げられる。

20

【0057】

本明細書で使用される「CD44阻害剤」なる用語は、CD44の発現(転写又は翻訳)を低減できる剤、又は細胞膜でのCD44局在を低減できる剤のことを言う。限定するものではないが、当該剤は天然物でも合成物でもよく、限定するものではないがCD44に特異的に結合する抗体等のタンパク質、ペプチド、小分子、限定するものではないがアンチセンス等のヌクレオチド、又はCD44特異的なsiRNAが挙げられる。

30

【0058】

本明細書で使用される「sCD44」なる用語は、sCD44の発現(転写又は翻訳)を増加できる剤、sCD44分泌を増加できる剤、又はOPNに対するsCD44親和性を増加できる剤のことを言う。限定するものではないが、当該剤としてはタンパク質、ペプチド、小分子又はヌクレオチドが挙げられる。

【0059】

本明細書において冠詞の"a"、"an"及び"the"は、その冠詞の、文法的な対象物の1つ又は複数について(すなわち少なくとも1つについて)言うために使用する。

【0060】

用語「含む(including)」及び「含んでなる(comprising)」は、本明細書において、「(それに)限定することなく含む」及び「(それに)限定することなく含んでなる」という語句意味するとともに、ほとんど同じ意味で使用される。

40

【0061】

本明細書で使用される「例えば(such as)」なる用語は、「限定することなく、例えば」という語句を意味するとともに、ほとんど同じ意味で使用される。

【0062】

本発明はまた、OPN、HA又はsCD44の発現(すなわち、転写又は翻訳産物)のレベルを決定するための方法に関する。従って本発明はEliisa(酵素結合免疫ソルベントアッセイ)、RIA(ラジオ免疫アッセイ)、リアルタイムPCR及び競合的CR、ノーザンブロット法、ヌクレアーゼ保護、ブランクハイブリダイゼーション法、並び

50

にスロットプロット等の決定のための任意の既知の方法を包含する。

【0063】

本発明はまた、OPN、sCD44又はCD44を検出するプローブ及びプライマーを含む、単離核酸分子に関する。特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを300個以下、又は200個以下、又は100個以下、又は90個以下、又は80個以下、又は70個以下、又は60個以下、又は50個以下、又は40個以下、又は30個以下有する。特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを17個以上、又は18個以上、又は19個以上、又は20個以上、又は30個以上、又は40個以上有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを20個以上且つ300個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを20個以上且つ200個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを20個以上且つ100個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを20個以上且つ90個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを20個以上且つ80個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを20個以上且つ70個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを20個以上且つ60個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを20個以上且つ50個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを20個以上且つ40個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを17個以上且つ40個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを20個以上且つ30個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを30個以上且つ300個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを30個以上且つ200個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを30個以上且つ100個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを30個以上且つ90個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを30個以上且つ80個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを30個以上且つ70個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを30個以上且つ60個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを30個以上且つ50個以下有する。他の特定の実施態様によれば、単離核酸分子はヌクレオチドを30個以上且つ40個以下有する。リアルタイムPCRにおいて、プライマーは従来はこの用語の意味でないプローブも構築すると理解されるべきである。本発明の方法においてOPN、sCD44及びCD44を検出するのに適したプライマー又はプローブは、その個別のヌクレオチド配列にわたって分布する配列を用いる基地の方法で設計できる<sup>(49)</sup>。

【0064】

本発明のプローブは、天然の糖-リン酸骨格、並びにホスホロチオエート、ジチオネート、ホスホン酸アルキル及び-ヌクレオチド等の修飾骨格を利用できる。修飾糖-リン酸骨格が一般的に知られている。本発明のプローブは、リボ核酸(RNA)で構成されてもデオキシリボ核酸(DNA)で構成されてもよく、好ましくはDNAで構成できる。

【0065】

プローブを使用できる検出方法の種類としては、サザンプロット法(DNA検出)、ドット又はスロットプロット(DNA、RNA)、及びノーザンプロット(RNA検出)が挙げられる。それほど好ましくはないが、標識したタンパク質も、それに結合する具体的な核酸配列を検出するのに使用できるであろう。その他の検出方法としては、尿試験紙等のプローブ含有キットがある。

【0066】

本明細書で使用される「検出可能に標識された」なる用語は、本発明に係るOPN、HA及び/又はsCD44の検出を可能とする、本発明に係るプローブ又は抗体のマーキングのことを言う。本発明は具体的な核酸配列の検出用標識の使用に特に依存するものでは

ないが、かかる標識は検出の感度向上という利益があるだろう。さらに、それは自動化できる。プローブは周知の方法により標識できる。標識の非限定的な例としては、<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>32</sup>P、及び<sup>35</sup>Sが挙げられる。検出可能なマーカの非限定的な例としては、リガンド、フルオロフォア、化学発光剤、酵素、及び抗体が挙げられる。プローブとの使用のための、その他の検出可能なマーカであって、本発明の方法の感受性を向上させることができるものとしては、ビオチン及び放射性ヌクレオチドがある。具体的な標識の選択がプローブに結合する方法を決定することは当業者にとって明らかになるであろう。

【0067】

一般的に知られているように、放射性ヌクレオチドは複数の方法により本発明のプローブに組み込まれる。その非限定的な例としては、ガンマ<sup>32</sup>P ATP及びポリヌクレオチドキナーゼを用いて、プローブの5'末端をリン酸化すること、放射性dNTPの存在下でE. coliのPOIIのクレノー断片を用いること(例えば、低融点ゲル中でランダムオリゴヌクレオチドプライマーを用いる、均一標識化DNA)、1又は複数の放射性NTPの存在下でDNAセグメントを転写するSP6/T7系を用いること等が挙げられる。

10

【0068】

本発明はまた、化合物を選択する方法に関する。本明細書で使用される「化合物」なる用語は、限定するものではないが、例えば巨大分子、細胞もしくは組織抽出物(植物又は動物由来)、核酸分子、ペプチド、抗体及びタンパク質等の、天然、合成又は半合成の化合物を包含する。

【0069】

本発明はまた、アレイに関する。本明細書で使用される「アレイ」は、意図的に創出された分子の集合であり、合成的又は生合成的のいずれで調製してもよい。アレイにおける分子は、各々同じであっても異なってもよい。アレイは様々な構成(format)を想定することができ、例えば可溶性分子のライブラリー、樹脂ビーズ、シリカチップ、又はその他の固体支持体と連結された化合物のライブラリーがある。

20

【0070】

本明細書で使用される「核酸分子のアレイ」は、核酸の意図的に創出される集合であり、合成的にも生合成的にも調製でき、様々な異なる構成がある(例えば、可溶性分子のライブラリー;及び樹脂ビーズ、シリカチップ、又はその他の固体支持体と連結されたオリゴヌクレオチドのライブラリー)。さらに、「アレイ」なる用語は、基質に局在する、本質的に任意の長さの核酸により調製できる核酸のライブラリーが含まれることを意味する。本明細書で使用される「核酸」なる用語は、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、又はペプチド核酸(PNA)のいずれであってもよいが、任意の長さの核酸の重合状態のことを言い、プリン及びピリミジン塩基、又は他の天然の、化学的もしくは生化学的に修飾された、非天然の、又は誘導体化されたヌクレオチド塩基を含んでなる。ポリヌクレオチドの骨格は、典型的にRNAもしくはDNA中に見出されるのと同様に、糖及びリン酸基、又は修飾もしくは置換された糖及びリン酸基を含んでなることができる。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチド及びヌクレオチド類似体等の修飾ヌクレオチドを含んでもよい。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド成分により阻害され得る。すなわち、ヌクレオシド、ヌクレオチド、デオキシヌクレオシド及びデオキシヌクレオチドは一般的に、本明細書に記載されるような類似体を含む。これらの類似体は、核酸又はオリゴヌクレオチド配列に組み込まれる場合、溶液状態である天然の核酸配列とのハイブリダイゼーションを可能にさせるような、天然のヌクレオシド又はヌクレオチドに共通するいくつかの構造的特徴を有する分子である。典型的には、これらの類似体は、天然のヌクレオシド及びヌクレオチドから塩基、リボース又はホスホジエステル部分の置換及び/又は修飾により誘導される。当該変化は、個々に合わせて構成のための安定化もしくは不安定化ハイブリッドを作製でき、又は所望の通りに相補的核酸配列とのハイブリダイゼーションの特異性を向上できる。

30

40

【0071】

本明細書で使用される「固体支持体」、「支持体」、及び「基質」は、同じ意味で使用

50

され、1又は複数の硬表面又は半硬表面を有する物質又は物質群のことを言う。多くの実施態様によれば、少なくとも1つの固体支持体の表面は実質的に平面であるが、いくつかの実施態様によれば、例えばウェル、隆起領域、ピン、エッチングされた溝等を伴う異なる化合物のための、物理的に分離した合成領域であってもよい。その他の実施態様によれば、(1又は複数の)固体支持体は、ビーズ、樹脂、ゲル、微小球の形態、又はその他の幾何的立体配置を取り得る。

【0072】

本発明に従って任意の既知の核酸アレイを使用することができる。例えば、当該アレイには、様々な鎖長のオリゴヌクレオチドプローブ及びcDNA又はポリメラーゼ連鎖反応(PCR)産物に基づくものが含まれる。その他の方法には、遺伝子発現の連続分析(serial analysis of gene expression (SAGE))、差次的発現(differential display)、及び差引きハイブリダイゼーション法、ディファレンシャルスクリーニング(DS)、任意のRNAプライマー(RAP)-PCR、異なる発現配列の制限エンドヌクレアーゼ解析(restriction endonucleolytic analysis of differentially expressed sequences (READS))、増幅制限酵素断片長多型(AFLP)が含まれる。

10

【0073】

抗体

本発明は、例えば対象のサンプル中及び本発明のキット中などの、OPN、sCD44又はCD44レベルを検出又は決定するために抗体を使用することを包含する。これらの生物的マーカーに特異的に結合する抗体は、以下さらに記載する定常的方法で作製できる。本発明はまた、市販の抗体を使用することを包含する。制限するものではないが、OPNに特異的に結合する抗体には、以下の表1に列記したものが含まれる。

20

【0074】

表1 市販のヒトOPNELISAキット

【表 1】

会社	キットの名称	カタログ番号	感度
IBL Hambourg	Human Osteopontin ELISA	JP 17158	3.33 ng/ml
IBL America	Human Osteopontin N-Half Assay Kit-IBL	27258	3.90 pmol/L
IBL-America	Human Osteopontin Assay Kit-IBL	27158	3.33 ng/ml
Assay designs	Osteopontin (human) EIA Kit	900-142	0.11 ng/ml
American Research Products, Inc.	Osteopontin, human kit	17158	?
R&D Systems	Human Osteopontin (OPN) ELISA Kit	DOST00	0.024 ng/ml
Promokine	Human Osteopontin ELISA	PK-EL-KA4231	3.6 ng/ml
Uscnlife	Human Osteopontin OPN ELISA Kit	E0899h	?

10

20

## 【0075】

OPNを対象とするモノクローナル及びポリクローナルの両抗体は、当業者に周知の十分確立した手法で作製できるよう、本発明の範囲内に含まれる。さらに、モノクローナルでもポリクローナルでもよいが、一次抗体を対象とする任意の二次抗体も、本発明の範囲内に含まれる。

30

## 【0076】

本明細書で使用される、「抗OPN抗体」又は「免疫学的な特異的抗OPN抗体」はOPNタンパク質に特異的に結合（相互作用）し、OPNタンパク質と同じ抗原決定基を共有するもの以外の、その他の天然のタンパク質との結合が実質的にないことを示す。抗体又は免疫グロブリンなる用語は最も広い意味で使用されるとともに、モノクローナル抗体（全長モノクローナル抗体等）、ポリクローナル抗体、多特異的抗体、及び所望の生物活性を呈するのであれば抗体断片を包含する。抗体断片は、全長抗体の一部、一般的にはその抗原結合又は可変領域を含んでなる。抗体断片の例としては、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、及びFv断片、二特異性抗体、直鎖抗体、単鎖抗体分子、単ドメイン抗体（例えばラクダ由来）、サメNAR単ドメイン抗体、及び抗体断片から形成される多特異性抗体がある。抗体断片はまた、CDR又は抗原結合ドメインを含んでなり、限定するものではないが、例えばVH領域（V<sub>H</sub>、V<sub>H</sub>-V<sub>H</sub>）、anticalin、Peptibodies（商標）、抗体T細胞エプーブ融合体（Troybodies）又はPeptibodies等がある。さらに、モノクローナルでもポリクローナルでもよいが、一次抗体を対象とする任意の二次抗体も、本発明の範囲内に含まれる。

40

## 【0077】

一般的に、抗体調製（モノクローナル抗体及びハイブリドーマ等）及び抗体を用いる抗原検出のための技術は、当業界で周知であり（Campbell, 1984, In "Monoclonal Antibod

50

y Technology: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology", Elsevier Science Publisher, Amsterdam, The Netherlands)、Harlow et al., 1988 (in: Antibody A Laboratory Manual, CSH Laboratories)に記載がある。抗体なる用語には、本明細書でポリクローナル、モノクローナル抗体及び抗体変異体が包含され、例えば単鎖抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体及び抗体の免疫活性断片(例えばFab及びFab'断片)であって、そのハイフンにおける個別の相互作用ドメインを阻害もしくは中性化し、及び/又はそれに特異的であるもの等がある。

#### 【0078】

ポリクローナル抗体は、アジュバントの存在下又は不存在下で、好ましくは関連抗原の皮下(sc)、静脈内(iv)又は腹腔内(ip)注入により動物内で倍数的に増加する。二機能性もしくは誘導化剤、例えばマレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル(システイン残基を介して複合化)、N-ヒドロキシスクシンイミド(リジン残基を介する)、グルタルアルデヒド、無水コハク酸、 $\text{COCl}_2$ 又は $\text{R}^1\text{N}=\text{C}=\text{NR}$ (R及び $\text{R}^1$ は異なるアルキル基)等を使用して、免疫化される種における免疫原であるタンパク質、例えばキーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、又はダイズトリプシン阻害剤等と、関連抗体との複合化が有用な可能性がある。

10

#### 【0079】

抗原又は複合体を(例えば、ウサギの100 $\mu\text{g}$ 、マウスの5 $\mu\text{g}$ )、3容量の完全フロイントアジュバントと組み合わせるとともに、多部位で当該溶液を皮内注入することにより、動物を、抗原、免疫原性複合体、又は誘導体に対して免疫化してもよい。1ヶ月後、当該動物を、完全フロイントアジュバントの存在下、多部位での皮下注入により、抗原又は複合体で(例えば、免疫化に使用された初期量の1/5~1/10で)追加免疫する。7~14日後、当該動物から採血し、その血清を抗体力価のアッセイに供する。この力価がプラトーになるまで動物を追加免疫する。複合体免疫化では、好ましくは、当該動物を同じ抗原の複合体で追加免疫するが、異なるタンパク質及び/又は異なる架橋試薬と複合化される。複合体は、タンパク質融合体として組み換え細胞において作製することもできる。また、ミョウバン等の凝集剤を、免疫応答の増強のために適当に使用する。

20

#### 【0080】

モノクローナル抗体は、Kohler et al., Nature, 256: 495 (1975)により最初に報告されたハイブリドーマ法を用いて作製してもよいし、又は組み換えDNA法(例えば、米国特許第6,204,023号)により作製してもよい。モノクローナル抗体はまた、米国特許第6,025,155号及び第6,077,677号、並びに米国特許出願公開第2002/0160970号及び第2003/0083293号に記載の技術を用いて作製することもできる(例えば、Lindenbaum et al., 2004も参照)。

30

#### 【0081】

ハイブリドーマ法において、マウス、又はラット、ハムスターもしくはサル等の他の適切な宿主動物を免疫化し、免疫化のために使用された抗原と、特異的に結合する抗体を作製するか作製できるリンパ球を取り出す。あるいは、リンパ球をインビトロで免疫化してもよい。その後リンパ球を、ポリエチレングリコール等の好適な融合剤を用いて、骨髄腫細胞と融合させ、ハイブリドーマ細胞を形成させる。

40

#### 【0082】

このように調製されたハイブリドーマ細胞を、好ましくは非融合の親の骨髄腫細胞の増殖又は生存を阻害する1又は複数の基質を含有する、好適な培養培地に播種し増殖させる。例えば、親の骨髄腫細胞が、ヒポキサンチンゲアニジンホスホリボシル転移酵素(HGPRT又はHPRT)を欠損している場合、ハイブリドーマ用の培養培地は、典型的にはヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジン含有(HAT培地)、その基質は、HGPRT欠損細胞の増殖を阻止する。

#### 【0083】

本明細書で使用される、「精製抗体」なる表現中の「精製」なる用語は、動物からその自身の抗原に対して天然に作製された抗体を、人工の抗体と単純に区別する意味である。

50

それゆえ、抗OPN抗体を含有する未処理の血清及びハイブリドーマ培養培地は、本発明の意味する範囲の「精製抗体」である。

【0084】

本発明は、OPN、HA又はsCD44の翻訳産物を検出及び/又は定量するアレイも包含する。かかるアレイにはタンパク質のマイクロ又はマクロアレイが含まれ、可能であれば例えば蛍光標識システムと組み合わせた顕微鏡検査等の細胞レベルでの質量分析画像化システムとの合わせた、抗分解能2Dゲル方法等のゲル技術もある。

【0085】

本発明はまた、転写、翻訳、翻訳後修飾又はOPNの活性に、直接もしくは間接的に影響を及ぼす、特異的な(1又は複数の)変異を同定するための方法を包含する。限定するものではないが、注目の変異には、OPNと任意の可溶性もしくは非可溶性のCD44のアイソフォームとの相互作用、又は任意の可溶性もしくは非可溶性CD44アイソフォームとのHAの結合に影響を及ぼす任意の変異が含まれる。

10

【0086】

本発明はまた、身体的理学療法等の、脊柱側弯症及び弯曲の進行を阻止する多数のアプローチ(例えば、姿勢訓練、理学療法、マニピュレーションによる生体力学的刺激、又は例えば振動板等の特異的な装置の使用)の有効性を評価するための、本明細書開示のバイオマーカーの観測;支持具の有効性又は新規な支持具の開発の観測;椎骨の癒合を伴う又は伴わない新規な外科的装置の観測、及び特定の食事、栄養補助的及び/又は薬理的治療の有効性の観測を包含する。限定するものではないが、支持具を適用後の最初の測定は、例えば支持具がよく順応しているか、及び患者が治療に適合しているかを、1ヶ月後に決定するために実施し得る。その後、高レベルのOPNが検出されるか否かによって、当該観測を3~6ヶ月ごとに実施し得る。本発明の方法は、X線の要請を有利に低減できる。X線は、例えば来診時の検出OPNレベルが高すぎる場合にのみ実施し得る。

20

【0087】

本発明はまた、AISに罹患する患者における、早期の支持具治療又は新規な低癒合性装置を用いる低侵襲性の外科手術、薬理的治療、及び治療への応答を観測するために、進行の危険性がある患者を確認する、本明細書に開示のバイオマーカーの観測を包含する。低癒合性装置は、生育可能性を未だに有する患者に特に有用であり、そのため対象の一生において可能な限り早く脊柱側弯症発症の危険性を確認することが有益であることに留意すべきである。特定の実施態様によれば、脊柱側弯症の家族前例/経歴を有する対象において、対象が約5歳以下のときに観測を開始する。試験の頻度は、典型的には6ヶ月毎である。OPN値がカットオフ値超(すなわち、OPN IBL ELISAキットコード番号27158を使用する場合、>800 ng/ml)の場合、かかる頻度は有利に顕著に上昇する(例えば、1ヶ月毎、2ヶ月毎、3ヶ月毎・・・)。

30

【0088】

本発明はまた、細胞アッセイ全体を使用する、潜在的に有用な治療剤をスクリーニング/選択する方法を包含し、当該治療化合物は、OPNの転写及び/又は合成を抑制でき(ssp1遺伝子にコードされる)、及び/又は血中OPNを隔離するsCD44の産生を増加でき、及び/又はCD44受容体とOPNの連絡を阻止でき、及び/又はCD44受容体をブロックできる。かかる方法における使用のための細胞には、任意の供給源(例えば自家製又は市販の細胞系列)及び型(任意の組織)の細胞が含まれる。自家製細胞系列においては、例えばAIS対象由来の細胞を不死化することにより作製できる。特定の実施態様によれば、本発明のスクリーニングの方法は、OPN発現(転写及び/又は翻訳)を阻害する剤、及びsCD発現(転写及び/又は翻訳)を増加させる剤の確認を要する。かかる実施態様に有用な細胞系列には、OPNを高レベル及び/又はsCD44を低レベルで作製するものが含まれる。かかる有用な細胞系列は、参考文献43~56に記載がある。

40

【0089】

特定の実施態様によれば、脊柱側弯症患者由来の任意の細胞型の細胞が(全細胞アッセ

50

イ全体)含まれる。特定の実施態様によれば、骨芽細胞、軟骨細胞、筋芽細胞又はリンパ球等の血球が含まれる。本明細書で使用される「脊柱側弯症患者由来の細胞」なる用語は、脊柱側弯症患者から直接単離される細胞、又は脊柱側弯症患者から直接単離される細胞を起源とする不死化細胞系列のことを言う。特定の実施態様によれば、細胞は傍脊椎筋細胞である。当該細胞は、例えば針生検で対象から単離されてもよい。

【0090】

医薬組成物はまた、経鼻、静脈内、筋内、皮下、舌下、髄腔内、又は皮内等の経路により投与できる。投与経路は、その環境及び治療目的等の様々な因子に依存し得る。

【0091】

投薬量

薬理的及び/又は栄養補助的及び/又は食事補助的組成物の任意の量を対象に投与できる。投薬量は投与の態様等多くの因子に依存する。典型的には、単一用量内に含有される抗脊柱側弯症組成物(例えば、オステオポンチン阻害剤又はセレン化合物)の量は、顕著な毒性をもたない、脊柱側弯症を有効に予防、遅延又は低減させる量、つまり「治療有効量」である。

【0092】

いくつかの実施態様によれば、栄養補助的な抗脊柱側弯症の組成物(例えば、セレンサプリメント)の治療有効量は、変更可能である。有用な有効量濃度としては、質量対質量基準で総食事の約0.01%~10%、約1%~約6%、又は約02%~6%の範囲の量が含まれる。

【0093】

オステオポンチン阻害剤又はセレン化合物の有効量を直接測定してもよい。有効量は、毎日もしくは毎週与えてもよく、その分割量を与えてもよい。典型的には、本発明の薬理的及び/又は栄養補助的及び/又は食事補助的組成物は、約0.001 mg~最大約500 mg/体重kg/日の量で投与できる(例えば、10 mg、50 mg、100 mg、又は250 mg)。投薬量は、単回又は数回の投薬レジメのいずれで提供してもよい。例えばいくつかの実施態様によれば、用量の有効量は、抗脊柱側弯症調製物を1日当たり、約1 mg~約25 g、約50 mg~約10 g、約100 mg~約5 gを隔日、及び約1 gを隔週である。

【0094】

例として、本発明の薬理的(例えば、オステオポンチン阻害剤含有)及び/又は栄養補助的(例えば、セレン含有)及び/又は食事補助的(例えばセレン含有)組成物は、液体、溶液、懸濁物、丸薬、カプセル、錠剤、ジェルキャップ、粉末、ゲル、軟膏、クリーム、スプレー、ミスト、噴霧蒸気、エアゾール、又はフィトサム(phytosome)の形態があり得る。経口投与用としては、錠剤又はカプセルを、結合剤、充填剤、滑沢剤、崩壊剤、又は湿潤剤等の医薬的に許容可能な賦形剤を少なくとも1つ用いる、従来手法により調製できる。錠剤は当業者に既知の方法で被覆できる。経口投与用の液体調製物は、例えば溶液、シロップ、又は懸濁物の形態をとるか、又は生理食塩水もしくはその他の好適な液体と共に、使用前に組成するための乾燥製品として提示することもできる。本発明の食事補助は、必要に応じて懸濁剤、乳化剤、非水溶性ビヒクル、保存剤、緩衝塩、香料、着色料、及び甘味剤等の医薬的に許容可能な添加剤を含有できる。好適には経口投与用の調製物は、活性成分の制御放出を提供するよう処方できる。

【0095】

さらに、本発明の薬理的(例えば、オステオポンチン阻害剤含有)及び/又は栄養補助的(例えば、セレン含有)及び/又は食事補助的(例えばセレン含有)組成物は、哺乳類に対する医薬的に許容可能な担体の投与を含むことができ、限定するものではないが、滅菌水もしくは非水溶液、懸濁物、及びエマルジョンがある。非水性溶媒の例としては、限定するものではないが、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、及び注入可能な有機エステルがある。水性担体には、限定するものではないが、水、アルコール、食塩水、及び緩衝化溶液が含まれる。医薬的に許容可能な担体は、生理的に許容可能な水性ビヒクル(例えば、生理食塩水)又はその他の既知の投与の特異的な経路に適する

10

20

30

40

50

担体を含むことができる。

【0096】

オステオポンチン阻害剤又はセレンは、医薬調製物において一般的に使用される任意のビヒクル、例えばタルク、アラビアゴム、ラクトース、スターチ、ステアリン酸マグネシウム、ココアバター、水性もしくは非水性溶媒、オイル、パラフィン誘導体又はグリコール等との複合体の投薬形態に組み込んでよい。米国特許第5,434,183号に記載されるようなエマルションは、植物油（例えば、ダイズ油又はサフラワー油）、乳化剤（例えば、卵黄リン脂質）及び水が、グリコールと組み合わせられた中で使用してもよい。適切な製剤を調製するための方法は、当業者に周知である（例えば、Pharmaceutical Science, 16th Ed., 1980, A. Oslo Ed., Easton, Pa.を参照）。

10

【0097】

投与経路として非経口投与が採用される場合、オステオポンチン阻害剤又はセレンを含有する調製物は、医薬的に許容可能な滅菌の水性もしくは非水性溶媒、懸濁物又はエマルションとの組み合わせで患者に提供してもよい。非水性溶媒の例としては、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、魚油、及び注入可能な有機エステルがある。水性担体には、水、水-アルコール溶液、エマルション又は懸濁物、例えば食塩、及び例えば塩化ナトリウム溶液、リンガーのデキストロース溶液、デキストロース+塩化ナトリウム溶液、ラクトース含有リンガー溶液、又は固定油等の緩衝化医療的非経口ビヒクル等が含まれる。静脈内ビヒクルには、液状及び栄養補充剤、電解質補充剤、例えばリンガーデキストロースをベースにしたもの等が含まれる。

20

【0098】

これらは単に指針であり、実際の用量は個々の患者に特有の臨床的因子に基づいて主治医により、又は栄養士により、慎重に選択及び漸増されるべきである。最適な一日用量は当業者に既知の方法で決定でき、また患者の年齢等の因子及びその他の臨床関連因子により影響を受ける。さらに、患者は他の疾患又は症状のための医薬品を服用している可能性もある。他の医薬品は、オステオポンチン阻害剤又はセレン化合物が患者に与えられる期間中継続してもよいが、有害事象が起きる場合は、低用量での開始を決定するのが特に賢明である。

【0099】

本発明はキットにも関する。限定するものではないが、それは脊柱側弯症の対象を階層化及び/又は対象について脊柱側弯症発症の危険性の有無を予測するための、上記の本発明による抗体等の単離核酸、タンパク質又はリガンドを含んでなるキットに関する。例えば、本発明による区分化されたキットには、試薬が別々の容器入れられた、任意のキットが含まれる。当該容器には、小ガラス容器、プラスチック容器、又はプラスチックもしくは紙片が含まれる。当該容器により、ある区分から別の区分へ試薬を有効に移動できるため、サンプルと試薬が互いに混入せず、試薬又は各容器の溶液をあるある区分から別へと定量的に添加できる。当該容器には、対象のサンプル（DNAゲノム核酸、細胞サンプル、又は血液サンプル）を受ける容器、本発明のいくつかのキット中に含有される容器、本発明の方法で使用されるプローブ、酵素を含有する容器、洗浄試薬を含有する容器、及び伸長産物を検出するために使用する試薬を含有する容器が含まれる。本発明のキットは、脊柱側弯症の対象を階層化するか、対象について脊柱側弯症発症の危険性の有無を予測するための、当該プローブ又は抗体を使用するための指示書を含んでもよい。

30

40

【0100】

本発明は、以下の非限定的な実施例により、さらに詳細に例示される。

【実施例1】

【0101】

原料及び方法

二足歩行C57Bl/6J O P Nヌル及びC D 4 4ヌルマウスの作製

マウスでの実験は、Ste-Justine Hospital's Animal Health Care Review Committeeに承認されたプロトコルに従って行った。C57Bl/6Jマウスにおいて、10世代超戻し交配

50

した、OPN又はCD44受容体を欠損の(それぞれOPNヌルマウスとCD44ヌルマウス)C57Bl/6の繁殖ペアを、それぞれ新たなコロニーを作製するため、Dr. Susan Ritting, (Rutger University, NJ, USA) 及び Dr. Tak Mak (University of Toronto, ON, Canada)から入手し、一方C57Bl/6Jマウスは対照群とする(Charles-River, Wilmington, MA, USA)。生まれつきメラトニンを欠損<sup>(26)</sup>、高いOPN血中濃度を示し<sup>(27)</sup>、且つ二足歩行状態にさせると脊柱側弯症を発症する<sup>(28)</sup>ために、C57Bl/6Jマウス種を使用した。これは周知の脊柱側弯症の動物モデルである。二足歩行の外科手術は、既報の方法に従い<sup>(28)</sup>、乳離れ後に、その前肢及び尾を麻酔下で切断することにより実施した。全てのマウスに、麻酔下で、Faxitron(商標)X線装置(Faxitron X-rays Corp. Wheeling, IL, USA)を用いて、6週齢で開始してから2週間毎に全体像のレントゲン撮影検査を行った。10

10

20

30

40

50

#### 【0102】

##### OPNマウスの免疫検出

血清のOPNレベルを決定するために、末梢血からマウス血清を採り、シリカゲル含有の血清分離管(BD Microtainer, BD New Jersey, USA)に採集し、その後遠心分離した。生成された血清サンプルを、分割し、-80℃で凍結させておき、解凍して分析した。OPNの血清濃度を、製品(ABL, Hamburg, Germany)により提供されるプロトコルに従って、捕捉酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)で測定した。血清における、全てのリン酸化及び非リン酸化されたOPNアイソフォームの総濃度を、OPN ELISAキットで測定した。ELISA試験を二重に行われ、AsyS Hi Tech(商標)Expert-96マイクロプレートリーダー(Biochrom, Cambridge, UK)を用いて450nmで最適密度を測定した。本明細書ではマウスにおいて血清を使用した。本発明はマウス血漿におけるOPNを測定することも包含する。

#### 【0103】

##### 松果体切除ニワトリの作製

多くの松果体切除ニワトリは脊柱側弯症を発症するため、これを脊柱側弯症モデルとして使用する。この研究のために、新たに孵化した145匹のニワトリ(Mountain Hubbard)を地元の孵化場で購入し、松果体切除手術を既報の方法に従って行った<sup>(25)</sup>。

#### 【0104】

##### ニワトリOPNの発現解析及び免疫検出

全ての細胞RNAを、松果体切除ニワトリの傍脊椎筋から、フェノール/クロロホルム抽出により調製した。RT-PCR用に、1マイクログラムの全てのRNAを、ThermoScript(商標)逆転写酵素(Invitrogen)を用いて逆転写し、その相当する0.1マイクログラムの逆転写RNAをPCR反応に用いた。これらの反応を、200マイクロモラーのdNTP、1.5ミリモラーのMgCl<sub>2</sub>、10ピコモラーの各プライマー、及び1UのPfu DNAポリメラーゼ(Stratagene, LaJolla, CA, USA)を含有する50マイクロリットルの最終容量中で行った。PCR反応は以下のプライマー及び条件を使用して行った。ニワトリOPN(420bp PCR産物): 5'-ACACTTTCACCTCCAATCGTCC-3'(配列番号19)(順方向)、5'-TGCCCTTTC CGTTGTTGTCC-3'(配列番号20)(逆方向)35サイクル: 95℃/45秒、66℃/45秒、72℃/1分。定量的解析のため、全ての増幅を、ハウスキーピング遺伝子アクチンに対して標準化した。ニワトリ-アクチン(460bp、PCR産物)5'-GGAAATCGTGCGTGACAT-3'(配列番号21)(順方向)、5'-TCATGATGGAGTTGAATGTAGTT-3'(配列番号22)(逆方向)32サイクル: 94℃/45秒、55℃/45秒、72℃/1分。PCR増幅産物を、臭化エチジウム含有の1.5%アガロースゲルで分析した。傍脊椎筋の総タンパク質抽出物を、ニワトリOPNと交差反応する抗ヒトOPNを用いるウェスタンブロットにより、ニワトリOPNを検出するために使用した(clone 8E5, Kamiya Biomedical, WA, USA)。

#### 【0105】

## ヒト群

Sainte-Justine 病院、モントリオール子供病院、モントリオールの子供用のShriners 病院、McGill大学及びAffluent教育委員会の施設内治験審査委員会が本研究を承認した。全ての参加者の親又は法的保護者は同意書を提出し、未成年者はその承認を提出した。

## 【0106】

A I S に罹患する全ての患者は、6人の整形外科医のうちの1人によって診察された。経歴と身体的な診察が、特発性脊柱側弯症の診断と一致するとともに、脊椎(vertebral)の回転を伴う前頭面における最小で10°の弯曲が、脊柱(spine)の立姿勢のレントゲン写真に発見された場合、その人は罹患していると考えられる。モントリオールの小学校において健常対照を募集した。各対象は、脊柱側弯計を用いるアダムの前屈試験を使用して同じ整形外科医により診察された。

10

## 【0107】

3群について調査した。A I S 罹患患者、脊柱側弯症の家族前例/経歴が全くない健常対照者、及び少なくとも一方の脊柱側弯症の親から生まれ、脊柱側弯症発症の危険性があると考えられる無症候性子供である。252人のA I S 継続患者、35人の健常対照者、及び70人の脊柱側弯症発症の危険性がある無症候性子供の群が集められた。全ての対象は、コーカサス人であり、人口統計的特長は以下の表2に示す。

## 【0108】

【表 2】

特徴	AIS				対象のタイプ			
	女性	男性	女性	男性	健康対照者 女性	健康対照者 男性	危険性のある対照者 女性	危険性のある対照者 男性
番号	215	37	19	16	19	16	45	25
平均年齢(年)	14.1±2.1	14.8±2.2	10.6±0.6	10.9±0.6	10.6±0.6	10.9±0.6	9.8±3.7	10.0±2.9
患者の割合と平均コブ角								
胸腰部	35.8%	29.7%	-	-	-	-	-	-
胸部	20.5%	29.7%	-	-	-	-	-	-
二重脊柱側弯症 (胸部+腰部)	30.2%	24.3%	-	-	-	-	-	-
胸部弯曲	34.8±19.0	38.9±21.2	-	-	-	-	-	-
腰部弯曲	31.0±17.3	33.0±18.7	-	-	-	-	-	-
腰部	4.7%	8.1%	-	-	-	-	-	-
二重脊柱側弯症 (胸部+胸腰部)	6.0%	5.4%	-	-	-	-	-	-
胸部弯曲	25.4±13.5	36.0±19.8	-	-	-	-	-	-
腰部弯曲	25.2±15.5	41.0±29.7	-	-	-	-	-	-
三重脊柱側弯症	1.9%	2.7%	-	-	-	-	-	-
	36.8±18.5	8.0	-	-	-	-	-	-
	41.0±14.3	11.0	-	-	-	-	-	-
	30.5±7.7	11.0	-	-	-	-	-	-
二重脊柱側弯症 (胸部+胸部)	0.9%	-	-	-	-	-	-	-
	29.0±5.7	-	-	-	-	-	-	-
	16.5±3.5	-	-	-	-	-	-	-
遺伝的	36.3%	37.8%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	100.0%	100.0%

\* プラス - マイナスの値は、平均値 ± 標準偏差である。+ 離れた胸郭及び腰椎での弯曲による、2つの脊柱側弯症の平均コブ角を表す。± 2つの胸郭及び1つの腰椎の弯曲の、3つの平均コブ角を表す。

10

20

30

40

50

## 【0109】

オステオポンチン、sCD44及びHA酵素結合免疫吸着アッセイ

AIS患者、無症候性子供及び対照者群の抹消血サンプルを、EDTA含有管に採取し、その後遠心分離した。生成された血清サンプルを、分割し、-80で凍結させておき、解凍して分析した。OPN及びsCD44の血清濃度を、製品( IBL, Hamburg, Germany)により提供されるプロトコルに従って、捕捉酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)で測定した。sCD44 Elisaキット(sCD44 std)は、標準的タンパク質配列を含んでなるが、エクソンV2とV10との間の別のスプライシングに関連するレアアイソフォームではない<sup>(50)</sup>、全ての血中(可溶性)CD44アイソフォームを測定した(図22も参照)。OPN IBL ELISAキット(コード番号27158)は、血清における、全てのリン酸化及び非リン酸化されたOPNアイソフォームの、総濃度を測定した。ELISA試験を二重に行うとともに、AsyS Hi Tech(商標)Expert-96マイクロプレートリーダー(Biochrom, Cambridge, UK)を用いて450nmで最適密度を測定した。HAの血中濃度は、ELISAキット(HA-Elisa(K-1200))、Echelon Biosciences, Salt Lake City, UT)を用いて全血漿サンプルにおいて測定した。全てのELISA試験は、二重に行われ、AsyS Hi Tech(商標)Expert-96マイクロプレートリーダー(Biochrom, Cambridge, UK)を用いて、450nm(OPN及びsCD44用)及び405nm(HA用)で最適密度を測定した。市販又は自家製のその他のElisaキットを、本発明の方法において使用できる。統計的に非脊柱側弯症の対象を脊柱側弯症の対象と識別するカットオフ値は、当該その他のキットで決定した脊柱側弯症進行の危険性の予測を補助するものであり、本明細書で使用されるキットで計算されたものとは異なる可能性があるだろう。ただし、本明細書に記載されたように、使用される新たな抗体ごとにそれを計算してよい。

10

20

30

40

## 【0110】

統計的解析

異なるAIS及び対照の群における年齢及び性別の差異を、それぞれピアソンのカイ二乗及びスチューデントのt検定を用いて評価した。群と、OPN、sCD44及びHAのレベルとの間の関連性を試験するため、多重線形回帰モデルを使用した。潜在的交絡因子が、 $p < 0.1$ でバイオマーカーレベルと関連する場合、値を、年齢、性別、及び年齢-性別相互関係に合わせて調整した。群と性別との相互関係も調査した。群の効果の存在下及び不存在下でモデルを比較する広範に及ぶF検定を用いて、全体的な群の効果を試験するのは初めてであった。その後、群間の特異的な差異を試験し、多重試験のためのボンフェローニ補正を適用した。OPNの診断値を評価するため、及び最適閾値を同定するために、受信者操作特性(ROC)曲線を使用した。OPNの、感度(AISの罹患が判明した患者にアッセイを適用した場合、真陽性の結果)及び特異性(健常対照者にアッセイを適用した場合、真偽性の結果)は、曲線によりプロファイルされた。ROC曲線下面積(AUC)及び関連の95%の信頼区間を計算した。理論的AUCが0.5であるという仮定の試験は、信頼区間を基準とした。統計的解析は、ROC曲線解析についてはR用のROCRパッケージ([www.r-project.org](http://www.r-project.org))で行い、それ以外はSASソフトウェア、バージョン9.1で行った<sup>(51,52)</sup>。特に言及した場合を除き、全ての解析においてp値 $< 0.05$ は、統計的に有意であるとみなされた。

## 【実施例2】

## 【0111】

松果体切除ニワトリのmRNA及びタンパク質OPNレベル

松果体切除ニワトリにおける、OPNの発現分析及び免疫検出分析を、上記実施例1に記載の通りに行った。松果体切除ニワトリにおいてmRNA及びタンパク質レベルで存在するOPNを測定した。図1は、脊柱側弯症を発症した松果体切除ニワトリにおいてのみ、mRNA及びタンパク質レベルでのOPNが急激に増加することを示す。

## 【実施例3】

## 【0112】

50

## C57Bl/6JマウスにおけるOPNタンパク質レベル

二足歩行C57Bl/6Jマウスを作製し、このOPNレベルを上記実施例1での記載にしたがって決定した。C57Bl/6Jマウスにおける8週間の二足歩行により脊柱側弯症を誘導し、その比率が雌では46%、雄では24%であり、これは雌でより高い血漿OPNレベルが観察されたことと良好な相関関係がある(以下の表3)。脊柱側弯症は、二足歩行雄(24%)と比較した場合、二足歩行C57Bl/6J雌(46%)における数及び重症度が、より多く観察され、それはヒトにおいても観察されるという事実により、この動物モデルの妥当性はさらに補強される。

## 【0113】

表3. 生まれつきメラトニン欠損のマウス種C57Bl/6Jマウス及び遺伝子改変的OPN又はCD44欠損のC57Bl/6Jマウスにおける、脊柱側弯症頻度。

## 【表3】

		n	脊柱側弯症の%	平均追跡期間
C57Bl/6j	♂	21	24%	57週+/-3
	♀	28	46%	57週+/-3
C57Bl/6j OPN-ヌル	♂	30	0%	54週+/-2
	♀	24	0%	54週+/-2
C57Bl/6j CD44-ヌル	♂	29	0%	52週+/-2
	♀	31	0%	52週+/-2

## 【0114】

図2は、脊柱側弯症のC57Bl/6Jマウスにおける、二足歩行外科手術後(すなわち脊柱側弯症発症中)のOPNタンパク質レベルが急激に上昇することを示す。

## 【実施例4】

## 【0115】

OPN又はCD44不変異二足歩行C57Bl/6Jマウスが脊柱側弯症に与える影響の観察

脊柱側弯症の形成及び弯曲の進行における病因カスケードの不可欠な部分としての、OPN及びCD44の寄与を、上記実施例1での記載に従って実験を行うことにより、遺伝子改変二足歩行C57Bl/6Jマウスを研究することによって試験した。上記の表3で示したように、52週に及ぶ分析を行った場合、二足歩行C57Bl/6JOPNヌルマウス(n=54)及びC57Bl/6JCD44ヌルマウス(n=60)のいずれも、脊柱側弯症を発症しないことが判明した。脊柱側弯症の発症は、外科手術後8週で検出される。脊柱側弯症発症が、OPNヌル及びCD44ヌルマウスにおいて単に遅延しただけではないことを実証するため、より長期の追跡が実施された。

## 【0116】

並行して、二足歩行C57Bl/6OPN-KOマウスにおける脊柱側弯症の不存在が、メラトニン産生の増加が原因である可能性を排除するために、メラトニン血中濃度を、野生及びOPN-KOマウスにおいて測定した。

## 【0117】

図3は、野生型(C57Bl/6J, C57Bl/6J及びFVB)と比較した場合、二足歩行C57Bl/6JOPN-KOマウスの血中メラトニンレベルの2倍の減少を示す。

## 【0118】

上に示したように、C57Bl/6Jマウスはメラトニン欠損型であり、メラトニンを高レベルで産生するFVB種とは対照的に、脊柱側弯症を発症する(S)可能性がある。ゲノム背景(C57Bl/6J)は同じであっても、OPN-ノックアウトマウスは脊柱側弯症を発症しないが(NS)、メラトニンは顕著に減少し、メラトニンがOPNの発現及びインビボ合成を負の方向へ制御することを示す。この仮説に拘束されることなく、遺伝子改変マウスに

10

20

30

40

50

おけるOPNの不存在下で、結果的にOPN発現及び合成を増加させる、適応生理的応答として、メラトニンレベルはさらに低減されるであろう。

【実施例5】

【0119】

脊柱側弯症予防に対するOPN阻害の影響

OPNの転写又は合成に影響を与えると考えられる2つの化合物を、ニワトリに対して、松果体切除の24～48時間前に、500 $\mu$ g/体重kg/日の投薬量で腹腔内注入を行った。

【0120】

図4で明らかのように、薬物での予備的処置を受けた松果体切除ニワトリは、未処理の松果体切除ニワトリよりも脊柱側弯症発症が少なかった(50%の減少)。

【実施例6】

【0121】

2つの群に分類されたAIS患者及び健常対照者における、OPN血中濃度の比較

252人のAISに罹患する患者、及び35人の健常対照者の群を、上記の実施例1で記載の通りに試験した。AISに罹患する患者を、脊柱弯曲の重症度により、2つの群に分けた(10°～44°と45°)。最も重度にAISに罹患するサブグループにおいては、試験の時点で矯正外科手術を受けたことがある者はいなかった。ティーンエイジャーの女兒におけるAIS有病率が、男児の中程度の弯曲と比較して上昇した(コブ角30°の弯曲について10:1の比率)という文献の報告と一致して、AIS群における女児の比率(10°～44°と45°のサブグループにおいてそれぞれ86%と84%)は、対照群と比較して増大することが観察された(健常及び危険性のある対照群においてそれぞれ54%及び64%、対照群と比較した場合 $p=0.0001$ )。有意な性別の差異は、2つのAISサブグループ間( $p=0.76$ )又は2つの対照群間( $p=0.32$ )で存在しなかった。コブ角が45°のAIS患者は、10°～44°の角である者と比較して、平均年齢が有意に高かった(15.2 $\pm$ 1.8と13.8 $\pm$ 2.1,  $p<0.0001$ )。両方のAIS群は共に、対照群と比較して平均年齢が高かった(健常群が10.7 $\pm$ 0.6であり、危険性ある群が9.9 $\pm$ 3.4、AIS群のいずれかと比較した場合、 $p<0.0001$ )。

【0122】

重度の奇形が発生するAISに罹患する患者(コブ角45°)、軽度～中程度の弯曲(コブ角が10°～44°)及び健常対照の血漿OPNレベルを、様々な臨床パラメータにより、以下の表4に要約する。平均血漿OPNレベルについては、健常対照群と比較した場合、両方のAIS群は共に有意に高い値であるが、最も重度の奇形を有する患者(コブ角45°)において、血漿OPNレベルがより上昇した(年齢、性別、及び年齢-性別の相互関係で調節後の、ボンフェローニ補正した $p<0.001$ )。AIS患者における血漿OPNレベルは、女児及び男児の弯曲奇形の重症度と相関があった(図5D)(年齢=0.29、 $p<0.001$ 、及び0.33、 $p=0.04$ でそれぞれ調整済みの部分的ピアソン相関係数)。脊柱側弯症発症の危険性のある群における平均血漿OPNレベルは(846 $\pm$ 402 ng/ml)、健常対照群のもの(570 $\pm$ 156 ng/ml)と有意に異なった(ボンフェローニ補正した $p<0.001$ )。

【0123】

10

20

30

40

【表 4】

対象者タイプ	女性				男性				女性+男性				P-値
	平均		範囲		平均		範囲		平均		範囲		
	N	ハ・イマ-カ- レベル (ng/ml)	N	範囲	N	ハ・イマ-カ- レベル (ng/ml)	N	範囲	N	ハ・イマ-カ- レベル (ng/ml)	N	範囲	
OPN	19	580±150	16	318-882	16	558±168	35	308-856	35	570±156	35	308-882	-
危険性のある対照者	45	829±419	25	208-1834	25	877±378	70	391-1629	70	846±402	70	208-1834	<0.001
AIS<45°	162	774±268	27	373-1585	27	948±335	189	445-1668	189	799±284	189	373-1668	<0.001
AIS≥45°	53	913±398	10	201-1821	10	1238±409	63	575-1872	63	965±414	63	201-1872	<0.001
sCD44	19	522±99	16	373-829	16	575±92	35	404-800	35	546±98	35	373-829	-
危険性のある対照者	45	508±96	25	316-760	25	533±98	70	304-510	70	517±97	70	304-760	>0.5
AIS<45°	162	503±161	27	194-1253	27	527±110	189	364-793	189	506±155	189	194-1253	>0.5
AIS≥45°	53	436±251	10	87-882	10	402±216	63	147-962	63	431±245	63	87-962	0.066
HA	19	128±38	16	72-236	16	132±49	35	80-255	35	130±43	35	72-255	-
危険性のある対照者	45	119±51	25	36-257	25	117±52	70	33-226	70	118±51	70	33-257	>0.5
AIS<45°	162	112±60	27	18-356	27	124±60	189	27-283	189	114±60	189	18-356	>0.5
AIS≥45°	53	93±40	10	32-222	10	128±71	63	41-25435	63	98±48	63	32-254	0.140

\* S D は標準偏差。

† P 値は、年齢、性別、及び年齢 - 性別の相互関係 (OPN と HA) 又は年齢 (sCD44) での調節、及びボンフェローニ補正後の、全ての対象における健常対照群との比較か

10

20

30

40

50

ら得られる。同じ調整後、群とバイオマーカーレベルとの間に関連する、全体のF検定p値は $<0.001$  (OPN)、 $0.035$  (sCD44)、及び $0.163$  (HA)であった。

#### 【0124】

より重度にAISに罹患する患者(コブ角  $45^\circ$ )と健常対照とを比較する、血漿OPNの受信者操作特性(ROC)曲線解析から、 $0.94$ のAUCで標準偏差が $0.03$  (95%信頼区間 $0.88$ から $0.99$ )と示された(図5A参照)。1ミリリットル当たり $>700$ ナノグラムのカットオフ値は、 $90.6\%$ の感度及び $81.8\%$ の特異性となった(図5B参照)。1ミリリットル当たり $>800$ ナノグラムのカットオフ値は、脊柱側弯症の確認のために、最も正確な、 $84.4\%$ の感度及び $90.6\%$ の特異性を有した(図5B参照)(図5C参照)。

#### 【0125】

上記に示した通り、高レベルのOPNは他の成人疾患において見られるが、脊柱側弯症の患者で見られる高レベルの血漿OPNは小児集団に特有である。すなわち、脊柱側弯症(AIS又はその他の脊柱障害及び脊柱側弯症を引き起こす障害)を発症する危険性のある無症候性の子供を確認するため、及び脊柱側弯症の対象、脊柱側弯症の進行を経験する者又はその危険性を有する者を確認するために、OPNレベルの検出を使用することができる。さらに、AIS患者に見られる血漿OPNレベルは、成人疾患で測定されるものより高いことが多い。OPNレベルは、成人における危険性を予測するためにも使用できる(例えば、成人期を通して進行する、変性脊柱側弯症及び特発性脊柱側弯症)。特定の変異は、脊柱側弯症に導く可能性のある他の障害と既に関連していた。特定の実施態様によれば、OPNレベルはこれらの変異の検出と組み合わせて使用することができた。

#### 【実施例7】

#### 【0126】

危険性のある無症候性子供及び健常対照におけるOPN血中濃度の比較

70人の脊柱側弯症発症の危険性のある無症候性子供と、35人の健常対照者の群を、上記の実施例1に記載された通りに試験した。脊柱側弯症発症の危険性のある群における平均血漿OPNレベル( $846.30 \pm 402\text{ng/mL}$ )は、健常対照( $570 \pm 156\text{ng/mL}$ )と有意に( $p=0.001$ )異なったが、両群は年齢及び性別を一致させたものである。有意な性別の差異は観察されなかった(上記表4参照)。

#### 【0127】

$800\text{ng/mL}$ のカットオフ値を使用すると、無症候性子供の $47.9\%$ がこの血漿OPN値を超えるが、健常対照は $8.6\%$ だけがこの値を超えることが観察された。これらの結果は、少なくとも一方の脊柱側弯症に罹患した親の子は、未罹患の親から生まれた者より発症する頻度が高いことを示す、従前の報告と一致している<sup>(34,35)</sup>。

#### 【0128】

すなわち、例えばOPN用の酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)又はRIAは、AIS患者における、早期の支持装着治療又は新規な低癒合性装置を用いる低侵襲性の外科手術、薬理的治療、及び治療への応答の観測のための、予後診断及び/又は脊柱側弯症患者の階層化の目的で、脊柱側弯症発症の危険性がある対象の早期確認のために使用できる。

#### 【実施例8】

#### 【0129】

2つの群に分類されたAIS患者及び健常対照者における、sCD44血中濃度の比較

上記の実施例1に記載の通りに、実験を行った。健常対照、両AIS群及び発症の危険性ある無症候性子供における、血漿sCD44及びHAレベルを、上記表4に示した。全ての群間での比較は、平均の血漿sCD44及びHA値において有意な変化は示されなかった。ただし、最も重度の脊柱奇形( $45^\circ$ )を有するAIS患者は、他の3つの群と比較した場合、最も低い平均血漿OPNレベルであった( $p=0.066$ )。

#### 【0130】

CD44及びsCD44は、それぞれOPNの受容体及びデコイ受容体として作用できる。試験された全ての群において有意な変化が測定されなかったにもかかわらず、最も重

10

20

30

40

50

度に罹患した A I S 患者 ( 45° ) は、試験された全群において最も低い平均 s C D 4 4 値を示した。興味深いことに、血漿 s C D 4 4 レベルの低減は、免疫欠損性及び自己免疫性疾患に見られる<sup>(35-37)</sup>が、これらの症状は通常高レベルの血漿 O P N の不存在下では脊柱側弯症にならないので、s C D 4 4 は、A I S において、O P N の作用を緩衝することにより疾患修飾性因子としての役割を果たし得ることを示す ( 図 17 を参照 ) 。

【実施例 9】

【0131】

A I S 患者の、O P N レベル、s C D 4 4 レベル、及びコブ角の経時プロファイル  
バイオマーカー ( O P N 及び s C D 4 4 レベル ) 及びコブ角の経過を、A I S 患者において追跡して経時的に測定した。図 7 は、12 歳 ( 赤 )、14 歳 ( 緑及び青 )、及び 17 歳 ( 黄 ) である所定の 4 人の A I S 女性患者 ( 支持具治療は受けていない ) における、来診時をベースラインとした経過を示す。

10

【0132】

図 8 は、弯曲奇形が悪化した A I S 患者 ( コブ角の総増加が 3° 超 ) 及び弯曲に有意な変化がなかった者 ( コブ角に変化なし、減少又は増加が 3° 未満 ) における総変化の分布を示し ; O P N レベルにおける全ての平均変化が、悪化した弯曲奇形を有する群より有意に高いことを示す ( ウィルコクソンの順位和検定、 $p < 0.01$  ) 。有意な差異は、s C D 4 4 では検出されなかった ( $p > 0.5$ ) 。追跡時間の長さは、2 つの群間で同じであった ( $p > 0.5$ ) 。

20

【0133】

図 9 は、A I S 患者の群における、コブ角の進行と相関のある O P N の進行を示す。一方、図 10 は、他の A I S 患者におけるコブ角の軽減又は安定化と相関のある O P N の低下を示す。

【0134】

O P N レベルは脊柱側弯症が進行するであろうと予備診断を受けた患者において、確認のために使用することができる。

【実施例 10】

【0135】

無症候性の危険性ある患者の O P N レベル、s C D 4 4 レベル、及びコブ角の経時プロファイル

30

図 11 は、1 人の 13 歳の男児 ( 緑 )、及び 3 人の女兒 5 歳 ( 金 )、11 歳 ( 青 )、及び 9 歳 ( 赤 ) の、脊柱側弯症でない危険性のある、所定の 4 人の対象における、O P N 及び s C D 4 4 レベル及び角における、来診時をベースラインとした変化のプロファイルを示す。有意な対象間の差異が、危険性のある対象における、バイオマーカーの基準レベル及び経時変化において観察され ( 特に O P N について )、危険性のある対象における脊柱側弯症の発病を観測するためのツールとしてこのバイオマーカーを使用できる可能性を示唆する。

【0136】

以下の表 5 ~ 8 は、健常対照対照 ( 表 5 )、コブ角が 45° 未満の A I S 患者 ( 表 6 )、コブ角が 45° 以上の A I S 患者 ( 表 7 )、及び危険性のある無症候性子供 ( 表 8 ) の各々についての詳細な臨床的及び生化学的プロファイルを示す。

40

【0137】

【表 5】

表 5. 健常対照者の臨床的及び生化学的プロファイル

ランダム	誕生日	性別	年齢	捕集日	時点 (月)	[OPN] (ng/ml)	[sCD44] (ng/ml)	[HA] (ng/ml)
1	1996-03-21	M	11.2	2007-05-22	T0	663.92±26.03	533.4	164.87±6.05
2	1996-06-26	M	10.9	2007-05-22	T0	418.23±12.49	504.38	120.49±2.06
			11.6	2008-01-16	T8	593.64±28.77	555.88	150.02±15.74
3	1996-05-28	F	11.0	2007-05-22	T0	629.52±0.64	829.35	140.89±3.90
			11.7	2008-01-16	T8	892.76±1.54	507.54	146.71±24.69
4	1996-06-22	M	10.9	2007-05-22	T0	458.68±11.40	799.57	100.98±6.89
5	1996-10-13	F	10.6	2007-05-22	T0	459.33±2.90	525.76	139.84±2.89
			11.3	2008-01-16	T8	464.46±2.29	476.43	157.36±20.10
7	1996-08-08	F	10.8	2007-05-22	T0	691.18±2.50	664.38	120.69±2.79
			11.5	2008-01-16	T8	825.38±1.16	545.85	180.39±42.55
8	1996-02-01	M	11.3	2007-05-22	T0	498.86±0.66	643.38	99.24±2.35
			12.0	2008-01-16	T8	469.87±11.47	440.44	154.20±2.53
9	1997-06-28	M	9.9	2007-05-22	T0	517.11±53.44	582.66	134.43±6.42
10	1997-07-23	F	9.8	2007-05-22	T0	756.24±23.61	499.03	131.04±1.98
			10.5	2008-01-16	T8	1039.80±3.10	337.33	167.84±2.48
11	1996-02-22	M	11.3	2007-06-06	T0	653.09±15.14	581.14	191.13±17.98
			11.8	2007-12-04	T6	521.00±5.82	861.46	265.54±6.97
12	1996-02-09	F	11.3	2007-06-06	T0	449.97±11.21	490.25	112.71±17.95
			11.8	2007-12-04	T6	923.12±1.03	476.09	188.80±15.17
13	1996-05-17	F	11.1	2007-06-06	T0	488.30±0.80	428.77	168.61±9.49
			11.6	2007-12-04	T6	659.35±1.68	584.96	182.09±13.74
14	1995-10-20	M	11.6	2007-06-06	T0	610.77±8.93	573.88	128.40±6.58
			12.1	2007-12-04	T6	469.87±19.12	527.07	167.16±44.48
16	1997-03-07	F	10.2	2007-06-06	T0	544.82±7.91	516.6	132.83±2.07
			10.7	2007-12-04	T6	723.88±8.56	503.74	65.43±9.60
17	1996-05-09	M	11.1	2007-06-06	T0	450.87±6.41	553.26	255.19±14.61
			11.6	2007-12-04	T6	530.37±16.78	267.86	42.33±7.47
18	1997-09-02	F	9.8	2007-06-06	T0	555.41±32.17	498.65	127.24±10.65
19	1996-11-04	M	10.6	2007-06-06	T0	314.85±9.93	682.71	175.92±16.20
20	1997-05-30	F	10.0	2007-06-06	T0	381.57±4.61	373.01	87.65±3.71
			10.5	2007-12-04	T6	434.48±5.73	497.7	142.61±8.42
21	1997-01-07	F	10.4	2007-06-06	T0	318.19±6.62	474.59	235.76±3.68
			10.9	2007-12-04	T6	393.98±3.87	571.14	209.26±2.40

10

20

30

40

【表 6】

22	1997-02-09	F	10.3	2007-06-06	T0	882.15±18.31	542.95	131.86±1.13
			10.8	2007-12-04	T6	804.46	593.61	120.43±14.60
23	1997-03-02	M	10.3	2007-06-06	T0	307.71±4.88	621.23	157.12±2.29
24	1997-06-19	F	10.0	2007-06-06	T0	423.06±13.90	561.28	149.88±5.65
25	1997-04-12	F	10.1	2007-06-06	T0	758.88±5.74	478.79	169.32±8.25
26	1997-12-02	M	9.5	2007-06-06	T0	441.36±8.32	645.84	148.32±16.36
27	1996-04-03	F	11.2	2007-06-06	T0	794.21±5.50	545.62	77.58±8.87
			11.7	2007-12-04	T6	748.79±7.61	575.46	228.08±27.64
28	1995-09-30	F	11.7	2007-06-12	T0	503.25±8.16	451.68	71.91±4.23
29	1996-09-15	M	10.7	2007-06-12	T0	576.62±5.29	554.79	80.24±3.69
			11.2	2007-12-04	T6	552.15	598.79	108.09±16.44
30	1996-01-18	F	11.4	2007-06-12	T0	578.62±0.24	634.22	126.21±4.18
			11.9	2007-12-04	T6	498.67±8.60	606.57	192.18±31.90
31	1996-08-24	F	10.8	2007-06-12	T0	531.91±4.36	432.2	132.19±5.06
			11.3	2007-12-04	T6	455.46±4.85	660.14	244.46±3.49
32	1997-04-19	F	10.1	2007-06-12	T0	611.32±6.46	481.47	92.69±2.87
			10.6	2007-12-04	T6	406.38±19.28	415.61	142.80±25.25
33	1997-04-21	M	10.1	2007-06-12	T0	543.15±7.32	403.56	91.82±4.49
			10.6	2007-12-04	T6	360.77±9.93	544.36	81.68±23.85
34	1995-11-15	M	11.6	2007-06-12	T0	856.07±3.82	501.71	96.37±4.15
			12.1	2007-12-04	T6	922.12±20.68	535.71	56.34±1.86
35	1996-04-22	F	11.1	2007-06-12	T0	659.81±5.54	502.09	87.90±4.85
			11.6	2007-12-04	T6	596.77±10.14	378.46	242.42±36.30
36	1995-12-09	M	11.5	2007-06-12	T0	816.64±14.56	502.85	83.26±0.12
37	1995-10-07	M	11.7	2007-06-12	T0	805.92±14.01	511.63	80.24±3.69
			12.2	2007-12-04	T6	304.61±14.94	489.06	141.51±21.50

10

20

30

40

\* プラス - マイナスは、平均 ± 標準偏差である。

† 健常対照者は、脊柱側弯症の家族歴がなく、整形外科的手術によるサンプル捕集前に調べられた。

【 0 1 3 8 】

【表 7】

表 6. コブ角が45°未満のAIS患者の臨床的及び生化学的プロファイル

患者ID	誕生日	性別	年齢	捕集日	時点 (月)	手術前コブ角	彎曲タイプ	手術日	家族歴	[OPN] (ng/ml)	[sCD44] (ng/ml)	[HA] (ng/ml)
102	1991-09-12	F	13.8	2005-06-10	T0	18	rT	-	いとこ	1265.10	375.56	132.06±39.35
			14.3	2006-01-13	T7	16	rT	-		766.80	408.06	388.93±23.42
			15.8	2007-06-01	T12	16	rT	-		933.77±13.23	437.55	71.91±4.23
			16.2	2007-11-30	T29	17	rT	-		591.72±66.49	311.40	27.92±1.72
103	1991-09-04	M	13.8	2005-06-10	T0	13	IT	-	父(後彎症)	1338.32	792.62	207.12
104	1992-01-29	F	13.4	2005-06-10	T0	21-22	rTIL	-	-	1221.83	742.48	132.24
106	1992-08-10	F	14.8	2007-06-05	T0	25-54	rTIL	-	-	972.87±16.73	488.72	86.78±6.34
			15.2	2007-10-05	T4	22-18	rTIL	-		485.82±34.70	475.13	293.05±40.93
107	1991-09-09	F	13.8	2005-06-20	T0	31-32	rTIL	-	母	736.61	1253.3	109.39±26.70
113	1995-11-21	F	9.7	2005-07-22	T0	10	rT	-	-	670.49±5.45	695.21	41.10±8.51
			11.5	2007-05-18	T22	15	rT	-		688.49±23.78	613.79	49.16±9.14
118	1991-06-04	F	16.6	2008-01-18	T0	22-22	rTIL	-	両親	372.79±10.86	273.31	70.42±4.85
123	1993-09-23	F	12.1	2005-11-04	T0	28	rTIL	-	両親	1466.97	931.05	128.78±4.22
			14.3	2008-01-18	T26	19-31	ITrIL	-		779.90±16.68	410.10	179.52±21.17
124	1990-12-09	F	14.9	2005-11-04	T0	33-32	rTIL	-	いとこ	625.97	816.60	96.08
127	1992-01-18	F	13.9	2005-12-02	T0	33-19	rTrT	-	-	786.71	755.60	131.36±22.43
128	1997-03-18	F	8.8	2005-12-02	T0	10	ITL	-	-	837.64	628.74	118.73±10.43
130	1991-06-05	F	14.5	2005-12-09	T0	19	rTIL	-	-	559.85	552.78	75.09±7.11
131	1992-11-09	F	13.1	2005-12-09	T0	32-24	rTIL	-	-	568.01	578.96	101.00±11.04
			15.0	2007-11-12	T23	32-24	rTIL	-		450.45±9.36	505.94	100.03±9.66
136	1989-10-10	F	16.3	2006-01-13	T0	14	ITL	-	-	411.02	670.31	84.81±2.56
138	1993-06-04	F	12.7	2006-02-17	T0	24-26	rTIL	-	いとこ	577.78	293.51	63.86±4.11
			14.3	2007-10-24	T20	22-25	rTIL	-		379.04±18.07	388.16	86.23±11.26
			14.7	2008-02-04	T24	23-26	rTIL	-		529.70±4.86	378.03	227.26±0.94
139	1993-12-06	F	12.2	2006-02-24	T0	12-14	rTIL	-	-	847.98	868.95	136.19±7.63
			14.2	2008-02-08	T24	12-6	rTIL	-		1192.61±10.71	444.33	73.88±19.39
141	1992-07-20	F	13.7	2006-03-10	T0	20-18	rTIL	-	祖母,いとこ,叔父	658.28	735.50	90.51
			15.5	2008-01-22	T22	9-13	rTIL	-		172.67±8.59	433.6	37.31±7.61
142	1992-12-19	F	13.2	2006-03-10	T0	31	ITL	-	母,いとこ	776.43	907.96	122.73±7.61
			15.1	2008-01-23	T22	25	ITL	-		542.85±1.41	511.4	146.43±63.23
146	1990-05-13	F	16.0	2006-05-26	T0	32-22	rTIL	-	-	1501.42	475.91	75.68±10.22
148	1993-08-12	F	14.3	2007-12-07	T0	11	ITL	-	母	1416.91±41.50	550.4	37.79±6.19

10

20

30

40

【表 8】

149	1988-09-28	M	17.7	2006-06-02	T0	31-26	rTIL	-	472.61	559.97	138.95±7.42
150	1992-10-16	F	13.6	2006-06-02	T0	25	rT	姉妹	805.88	543.22	71.24±1.52
151	1993-04-11	F	14.7	2007-12-03	T0	28-20	rTIL	-	732.19±2.30	403.51	20.80±3.30
152	1990-10-04	F	15.7	2006-06-02	T0	34	IL	父	655.10	551.24	122.69±0.10
154	1989-11-24	F	16.6	2006-06-08	T0	40	rIL	いとこ	541.07	639.52	104.09±13.96
			18.1	2007-12-07	T18	38	rIL		1101.07±38.84	342.17	35.08±5.40
155	1991-01-01	F	15.4	2006-06-08	T0	26	rIL	叔母	738.59	796.06	121.33±17.72
159	1998-03-04	F	9.7	2007-11-06	T0	3	rIL	母	769.50±21.57	831.18	107.5±1.08
161	1994-04-27	F	13.6	2007-11-30	T0	15	rIL	-	487.11±29.43	355.79	23.63±0.53
165	1995-08-30	F	12.3	2007-12-03	T0	34-20	rTIL	-	1148.04±47.51	607.43	42.39±7.68
168	1992-04-24	F	14.2	2006-06-26	T0	16-18	rTIL	-	810.21±28.48	244.4	103.10±10.39
			14.6	2006-11-21	T5	17-16	rTIL	-	582.52±23.29	338.03	99.20±18.18
			15.5	2007-10-01	T16	14-16	rTIL	-	441.81±7.29	333.4	126.96±1.45
176	1992-10-24	F	13.8	2006-07-03	T0	29	rT	-	503.88±35.81	331.65	91.50±21.99
			14.2	2007-01-15	T6	27	rT	-	675.38±44.20	305.92	193.26±2.38
183	1991-09-13	M	14.8	2006-05-07	T0	17	rL	-	733.99±17.33	550.24	72.91±10.68
			15.4	2007-06-02	T13	7-19	rTIL	-	781.03±3.27	531.96	69.83±7.07
200	1992-07-29	M	15.2	2007-10-30	T0	23-24	rTIL	-	972.10±4.92	401.94	88.41±10.08
201	1992-11-27	F	13.7	2006-07-12	T0	10-17	rTIL	姉妹	782.77±2.63	498.93	142.57±44.69
225	1994-05-09	F	12.2	2006-07-24	T0	15-19	rTIL	姉妹	406.67±3.40	617.37	248.10±24.21
			12.8	2007-02-27	T7	13-18	rL	-	651.89±21.69	524.9	47.95±3.60
234	1990-07-16	M	16.2	2006-10-13	T0	26	rT	-	840.88±1.98	491.26	89.04±5.66
235	1991-10-29	M	15	2006-10-13	T0	20	rL	-	586.25±0.32	403.8	181.655±48.71
			16	2007-10-11	T12	18	rL	-	523.39±9.76	428.29	188.63±6.83
240	1993-10-04	F	13.2	2006-12-11	T0	17-23	rTIL	母、兄弟、いとこ	525.88±7.74	428.83	71.91±4.23
242	1989-09-12	F	17.3	2007-01-12	T0	6	rL	姉妹	590.13±6.00	435.59	80.24±3.69
244	1990-10-20	F	16.2	2007-01-19	T0	27-29	rTIL	-	735.26±4.42	510.44	73.81±6.20
			17.3	2008-02-13	T13	NA	NA	-	1293.68±36.92	449.1	44.51±4.81
245	1992-01-27	F	15.0	2007-01-22	T0	31-35	rTIL	-	496.26±3.54	333.97	70.41±0.88
			15.8	2007-11-14	T10	28-35	rTIL	-	363.60±2.97	562.52	54.98±5.08
247	1994-12-18	F	12.1	2007-01-26	T0	9	rL	母、姉妹	1148.31±2.17	371.29	164.68±23.99
			12.8	2007-10-09	T9	6	rL	-	806.91±16.69	393.27	141.16±2.62
248	1997-06-16	F	9.6	2007-01-26	T0	9	rL	母、姉妹	1010.38±5.14	443.83	142.95±4.69
			10.3	2007-10-09	T9	3	rL	-	841.24±18.47	490.2	158.10±33.95

10

20

30

40

【表 9】

249	1991-03-25	F	15.9	2007-02-02	T0	31	ITL	-	-	534.09±7.74	459.52	74.98±0.08
			16.4	2007-08-03	T6	NA	ITL	-	-	340.44±12.89	499.97	132.91±37.20
			16.9	2008-02-01	T12	36	ITL	-	-	579.65±8.62	413.67	98.93±19.98
250	1992-05-08	F	14.7	2007-02-02	T0	32	ITL	-	叔父	688.35±9.46	587.17	74.40±3.75
			15.4	2007-10-15	T8	21	ITL	-	-	612.19±22.36	540.29	150.73
251	1991-09-05	F	15.4	2007-02-02	T0	40-30	rTIL	-	-	1146.66±7.34	437.25	80.50±5.24
253	1992-10-18	M	14.3	2007-02-27	T0	31	rT	-	-	634.83±0.90	486.03	184.50±20.76
254	1991-12-11	F	15.2	2007-03-09	T0	28	ITL	-	-	701.23±1.92	362.22	72.85±2.66
			15.9	2007-11-12	T8	15	ITL	-	-	548.26±25.55	538.63	83.17±0.07
256	1996-03-19	F	11.0	2007-03-09	T0	11	ITL	-	-	575.73±5.49	530.67	97.73±3.00
257	1995-04-15	F	11.9	2007-03-09	T0	6	rTIL	-	母	995.77±8.22	468.59	94.49±8.02
			12.5	2007-10-16	T7	NA	NA	-	-	879.54±20.53	421.24	102.11±5.69
258	1990-06-24	M	16.8	2007-03-09	T0	14	rT	-	-	876.44±9.21	564.15	89.36±4.66
			17.3	2007-10-02	T8	NA	NA	-	-	520.58±8.52	483.28	175.81±53.68
259	1994-07-07	F	12.7	2007-03-16	T0	8	ITL	-	-	1095.11±7.88	397.45	85.33±4.07
			13.5	2007-10-15	T7	11	ITL	-	-	1050.58±5.08	466.58	139.86±15.48
260	1994-07-07	M	12.7	2007-03-16	T0	6	rTIL	-	-	1084.13±1.82	480.1	127.84±8.13
			13.5	2007-10-05	T7	4	ITL	-	-	494.25±22.05	401.01	188.45±31.29
261	1997-06-19	F	9.7	2007-03-16	T0	21	IL	-	-	745.79±22.70	568.33	122.95±2.89
			10.3	2007-10-17	T7	10	ITL	-	-	1150.38±5.64	506.72	206.45±14.75
			10.4	2008-02-06	T11	5	ITL	-	-	852.44±31.69	432.45	142.46±27.89
263	1994-10-13	F	12.4	2007-03-20	T0	7-12	rTIL	-	-	989.52±4.54	617.16	74.05±5.38
264	1992-05-24	F	14.8	2007-03-20	T0	23-30	rTIL	-	叔父	579.22±9.53	580.38	100.39±2.76
265	1993-05-04	F	13.9	2007-03-20	T0	23	IL	-	-	696.52±8.57	491.96	105.88±7.86
			14.5	2007-11-13	T8	11-14	rTIL	-	-	848.34±8.38	531.14	106.80±1.16
266	1991-01-25	F	16.2	2007-04-02	T0	34	rTIL	-	-	728.63±5.47	462.66	78.08±1.06
			16.8	2007-11-15	T7	34	rTIL	-	-	392.63±9.28	349.34	73.67±3.30
267	1994-05-14	F	12.9	2007-04-02	T0	5	rTIL	-	-	809.78±2.39	579.14	70.57±2.92
			13.5	2007-11-15	T7	5	rTIL	-	-	925.13±23.50	827.31	59.18±8.22
268	1994-08-17	F	12.6	2007-04-04	T0	12-4	rTIL	-	母	750.67±17.49	385.93	107.96±12.28
271	1994-11-17	F	12.4	2007-04-13	T0	23	rTIL	-	-	925.40±10.01	482.89	87.43±12.34
			12.9	2007-10-15	T6	24	rTIL	-	-	1087.79±22.62	423.61	186.49±10.22
272	1994-04-14	F	13.0	2007-04-13	T0	22-24	rTIL	-	叔母	634.87±15.77	531.54	86.12±1.03
			13.6	2007-12-05	T8	14-15	rTIL	-	-	515.84±13.88	594.47	30.80±7.99
273	1991-06-30	F	15.8	2007-04-13	T0	25	rTIL	-	-	455.86±7.52	548.8	91.21±10.34

10

20

30

40

【表 10】

274	1990-02-28	F	17.1	2007-04-17	T0	11.-22	rTIL	-	856.81±23.09	461.61	103.50±8.99
275	1996-04-08	F	11.0	2007-04-19	T0	27-1.	rTIL	-	943.57±8.27	469.65	66.73±5.64
			11.5	2007-10-15	T6	26-19	rTIL	-	339.71±8.66	513.42	159.78±30.24
276	1994-09-26	F	13.1	2007-10-15	T0	19-19	rTIL	-	430.84±16.02	431.09	234.52±26.95
277	1994-11-02	F	12.4	2007-04-19	T0	12	IL	-	724.67±0.64	394.65	96.43±0.04
			13.0	2007-11-14	T7	15-13	rTIL	-	634.03±28.77	659.6	127.07±4.00
278	1992-06-08	M	14.9	2007-05-04	T0	22-14	rTIL	-	1045.58±1.10	364.31	106.88±8.57
			15.3	2007-10-23	T5	26-28	rTIL	-	1118.55±3.48	457.48	234.68±24.37
279	1998-09-22	F	8.7	2007-05-30	T0	19	rT	-	978.20±17.94	442.08	85.62±0.14
			9.2	2007-10-05	T5	8	rT	-	851.57±67.60	573.28	64.64
280	1992-12-18	F	14.4	2007-5-30	T0	19	rT	-	839.91±4.88	415.23	82.19±6.30
			14.9	2007-11-02	T6	24	rTIL	-	930.08±11.55	468.35	63.88±1.83
281	1994-10-17	F	12.6	2007-06-01	T0	11	rT	-	991.09±2.95	522.65	151.89±1.15
			13.1	2007-11-09	T5	9	ITL	-	655.22±54.74	505.44	112.65±14.80
282	1997-09-30	F	9.7	2007-06-13	T0	20	rT	-	732.03±19.20	547.53	138.06±12.04
			10.3	2008-01-30	T7	NA	NA	-	1196.46±21.91	487.63	129.70±7.80
286	1994-06-01	F	13.3	2007-09-17	T0	28	ITL	-	499.69±1.97	400.19	130.85±3.82
287	1991-11-15	F	15.8	2007-09-18	T0	11	rTIL	-	602.68±0.65	418.92	190.43
288	1996-05-13	M	11.3	2007-09-18	T0	20	IL	-	927.74±4.10	533.37	55.21±10.16
289	1992-10-23	F	14.9	2007-09-18	T0	18	rT	-	509.91±5.91	362.72	81.33±11.16
290	1993-10-02	F	14.0	2007-09-18	T0	22	rTIL	-	498.69±46.68	507.71	127.53±8.29
291	1992-07-10	F	20.9	2007-09-18	T0	25-31	rTIL	-	637.03±7.11	467.8	154.54±1.72
292	1994-01-23	F	13.7	2007-09-21	T0	20	ITL	-	691.71±37.30	581.43	76.54±1.66
293	1993-04-03	F	14.5	2007-09-21	T0	16	rT	-	494.81±7.56	359.46	166.11
295	1991-08-09	M	16.1	2007-09-26	T0	11.-8	rTIL	-	838.72±39.67	405.48	159.20±22.89
296	1992-04-04	F	15.5	2007-09-28	T0	15-18	ITL	-	761.74±25.61	494.27	237.77
297	1997-07-13	M	10.2	2007-09-28	T0	20	IT	-	768.08±6.70	515.45	100.00±9.41
298	1994-11-09	F	12.9	2007-09-28	T0	18-21	rTIL	-	750.91±16.94	348.87	290.06±38.15
299	1990-03-21	F	17.5	2007-10-03	T0	33-43	rTIL	-	625.36±6.80	306.11	135.94±1.36
301	1995-02-06	F	12.7	2007-10-09	T0	13	IT	-	948.83±11.23	578.58	150.57±4.40
302	1993-05-07	F	14.4	2007-10-09	T0	14.-12	rTIL	-	873.77±2.17	373.31	230.66±10.50
303	1991-03-29	F	16.5	2007-10-15	T0	14	ITL	-	767.96±29.04	458.27	192.45±10.19
304	1991-10-25	F	16.0	2007-10-16	T0	25	IT	-	493.39±34.21	446.06	185.69±12.07
305	1992-02-24	F	15.7	2007-10-19	T0	23	ITL	-	533.91±18.09	364.52	123.23±15.87

10

20

30

40

【表 1 1】

306	1994-09-22	F	13.1	2007-10-19	T0	13-18	rTIL	-	母	1016.54±23.75	623.32	216.02±19.04
307	1994-01-25	M	13.7	2007-10-24	T0	8-11-11	ITrTIL	-	-	1328.92±1.50	569.35	165.08±16.63
308	1997-05-22	F	10.4	2007-10-26	T0	8	rTIL	-	叔母	430.39±5.44	519.72	133.63±11.13
309	1996-04-10	F	11.5	2007-10-26	T0	10	ITL	-	母、いとこ	536.77±9.30	485.45	285.92±25.08
311	1993-05-07	F	14.5	2007-10-26	T0	17	ITL	-	-	493.18±23.85	546.9	110.66±9.59
313	1993-06-04	F	14.4	2007-10-26	T0	20-18	rTIL	-	いとこ	536.22±4.65	379.49	99.52±2.41
314	1993-03-11	F	14.6	2007-10-29	T0	24	rL	-	母	939.67±37.16	549.66	78.11±7.22
315	1993-12-16	F	13.9	2007-10-31	T0	14	ITL	-	-	537.59±1.16	481.91	142.26±23.98
316	1992-10-07	M	15.1	2007-10-31	T0	28	rTIL	-	-	636.17±2.31	576.05	94.21±5.42
318	1997-05-25	F	10.4	2007-10-15	T0	11	rTIL	-	母	1151.62±33.64	634.57	112.13±23.16
319	1993-06-28	F	14.4	2007-11-06	T0	22	rTIL	-	いとこ	518.10±27.77	667.02	79.46±6.89
320	1993-09-24	F	14.1	2007-11-09	T0	15	rTIL	-	-	452.54±10.01	765.38	134.09±21.38
321	1992-07-04	F	15.3	2007-11-09	T0	16	rTIL	-	-	470.02±16.75	377.13	110.37±12.77
322	1996-06-01	F	11.4	2007-11-09	T0	4	ITL	-	-	565.20±48.73	492.94	95.12±7.44
324	1991-04-20	F	16.6	2007-11-09	T0	19-19	rTIL	-	-	659.93±14.39	562.52	98.61±6.25
325	1994-03-26	F	13.6	2007-11-09	T0	21	rTIL	-	母、祖父母	761.48±3.82	846.66	89.91±12.48
326	1994-02-02	M	13.8	2007-11-13	T0	13	ITL	-	-	1451.37±77.12	617.35	240.72±27.74
328	1994-09-24	F	12.8	2007-11-14	T0	11	ITL	-	-	580.55±24.91	876.97	174.59
329	1996-05-29	F	11.5	2007-11-14	T0	6	rTIL	-	母	877.16±27.08	953.41	269.12±4.88
330	1994-02-05	F	13.8	2007-11-16	T0	12	ITL	-	-	1403.38±20.98	465.43	279.56
332	1992-01-26	M	15.8	2007-11-23	T0	24	ITL	-	-	864.14±43.84	699.27	175.34±30.44
333	1993-10-21	F	14.1	2007-11-23	T0	30	ITL	-	いとこ	564.09±7.37	762.16	143.10±30.54
334	1993-08-07	F	14.3	2007-11-23	T0	29-27	rTIL	-	-	896.91±29.60	727.33	155.95±38.28
335	1996-01-16	F	11.9	2007-11-23	T0	28-27	rTIL	-	-	1192.08±14.98	839.56	162.32±0.67
337	1991-09-04	M	16.2	2007-11-28	T0	24	IL	-	姉妹	914.93±10.71	788.28	114.15±25.71
338	1994-12-31	F	12.9	2007-11-30	T0	10	ITL	-	叔母	539.94±1.35	301.42	38.44±5.53
339	1992-03-17	F	15.7	2007-11-30	T0	25	ITL	-	祖父	747.48±9.20	444.12	253.92
340	1995-05-21	F	12.5	2007-11-30	T0	30	ITL	-	-	746.48±45.11	498.56	259.46
341	1996-02-11	F	11.8	2007-11-30	T0	15-14	rTIL	-	いとこ	947.50±31.38	662.73	75.40±1.41
342	1993-12-01	F	14.0	2007-12-07	T0	16	rTIL	-	-	993.33±55.93	376.73	19.57±5.63
343	1993-06-29	M	14.4	2007-12-07	T0	15	rTIL	-	祖母	996.61±25.86	541.76	43.48±2.96
344	1996-03-26	F	11.7	2007-12-07	T0	10	rTIL	-	-	637.78±7.73	702.48	26.94±5.89
345	1993-04-12	F	14.6	2007-12-07	T0	30	ITL	-	いとこ	722.43±18.56	429.44	31.74±1.77

10

20

30

40

【表 1 2】

346	1996-10-11	F	11.2	2007-12-07	T0	18-17	rITL	-	-	576.26±24.83	436.35	29.25±2.56
347	1997-04-07	F	10.7	2007-12-11	T0	5-6	rITL	-	姉妹	1272.11±18.19	425.98	41.20±4.60
348	1995-06-10	M	12.5	2007-12-11	T0	10	rTL	-	姉妹	776.87±50.77	384.51	27.13±1.84
350	1995-02-22	F	12.8	2007-12-13	T0	25	rTL	-	-	1020.59±46.63	488.19	32.35±2.16
351	1992-05-19	F	15.6	2007-12-13	T0	14	rTL	-	父	557.14±25.67	475.23	20.16±2.76
352	1996-04-13	M	11.7	2007-12-13	T0	14	rTL	-	父	1339.62±39.88	566.82	97.02
353	1993-08-12	M	14.3	2007-12-13	T0	24	rT	-	-	1569.33±43.27	607.43	105.59±95.83
354	1994-06-07	F	13.5	2007-12-13	T0	8	IT	-	-	608.88±6.80	431.16	69.78±40.24
355	1993-08-08	F	14.3	2007-12-13	T0	27	ITL	-	-	691.05±37.53	378.46	24.41±12.43
356	1995-05-17	F	12.6	2007-12-13	T0	19	ITL	-	-	824.89±1.39	467.45	43.63
358	1997-02-27	F	10.9	2008-01-11	T0	18	rTL	-	-	554.86±8.43	387.21	116.04±22.53
359	1995-11-08	F	13.0	2008-01-15	T0	14	rTL	-	-	709.63±3.85	485.94	195.32±34.14
360	1992-05-24	F	15.6	2008-01-15	T0	14	ITL	-	母	466.35±12.61	335.02	157.17±7.22
361	1996-06-29	F	11.5	2008-01-15	T0	23	rTL	-	叔母	899.31±10.09	441.72	81.52±1.47
362	1997-08-21	F	10.4	2008-01-16	T0	11	ITL	-	祖母	471.73±21.57	437.35	110.36±7.42
363	1993-05-24	F	14.6	2008-01-16	T0	20-24-19	ITrITL	-	母, 祖母, 叔母	743.10±15.01	353.53	161.77±25.40
364	1995-03-24	F	12.8	2008-01-16	T0	10	ITL	-	母, 祖母, 叔母	767.06±11.17	460.75	160.24±26.97
365	1990-07-26	F	9.3	2008-01-16	T0	5	rTL	-	母, 祖母, 叔母	883.48±2.32	403.41	127.81±23.58
368	1996-07-12	F	11.5	2008-01-18	T0	14	rTL	-	-	1206.06±43.70	415.24	136.62±28.94
369	1992-05-21	F	15.7	2008-01-18	T0	25	rTL	-	-	454.71±13.34	431.44	132.25±19.69
370	1994-12-01	F	13.1	2008-01-18	T0	18-15	rITL	-	-	855.36±10.35	395.7	140.53±2.77
371	1992-02-04	F	16.0	2008-01-18	T0	26-20	rITL	-	叔母, いとこ	740.05±5.38	487.74	112.07±3.13
372	1991-06-21	F	16.6	2008-01-21	T0	23-21	rITL	-	-	436.58±40.88	395.61	170.65±13.44
374	1992-05-26	F	15.7	2008-01-21	T0	25	IL	-	-	496.50±28.07	401.4	77.69±6.60
375	1992-10-21	F	15.3	2008-01-22	T0	31-55	rITL	-	-	475.88±0.00	385.69	130.95±3.80
376	1993-05-18	F	14.7	2008-01-22	T0	16	rTL	-	-	554.83±44.65	387.61	73.78±0.15
377	1995-01-31	F	13.0	2008-01-22	T0	27	ITL	-	-	739.47±8.03	384.16	79.40±1.15
379	1996-09-14	F	11.4	2008-01-25	T0	5.-5	ITrTL	-	-	1404.12±66.84	659.32	78.73±2.62
381	1992-01-11	M	16.0	2008-01-25	T0	24	rT	-	-	782.27±1.42	505.65	283.01±26.97
382	1993-10-21	F	14.2	2008-01-25	T0	28-25	rITL	-	-	998.95±9.12	327.82	77.64±12.98
383	1994-11-20	F	13.2	2008-01-25	T0	30-27	rITL	-	-	900.32±24.08	401.79	83.98±7.31
384	1992-02-09	M	16.0	2008-01-29	T0	25-19	rTL	-	-	479.70±36.72	444.82	134.93±7.83
386	1994-09-02	F	13.4	2008-02-01	T0	25-14	ITrT	-	-	732.99±28.62	637.86	129.78±2.15

10

20

30

40

【表 1 3】

387	1994-04-11	F	13.8	2008-02-01	T0	14-15	rTTL	-	いとこ	853.05±70.97	373.81	146.21±6.37
388	1995-11-24	F	12.2	2008-02-01	T0	34	rT	-	-	963.01±40.86	465.02	66.49±7.43
389	1997-04-13	F	10.8	2008-02-04	T0	14	rTL	-	父	689.25±35.56	435.9	67.38±15.52
390	1994-04-28	F	13.8	2008-02-04	T0	28-26	rTTL	-	父	930.28±18.25	368.83	56.32±0.12
391	1994-07-01	F	13.6	2008-02-05	T0	37	rTL	-	-	540.38±9.17	501.81	49.99±7.23
392	1998-11-25	F	9.2	2008-02-05	T0	16	rTL	-	兄弟	661.55±38.23	412.14	77.84±23.22
393	1993-09-30	M	14.3	2008-02-05	T0	26	rTL	-	兄弟	1235.01±29.98	488.02	106.86±17.43
395	1995-05-24	F	12.7	2008-02-08	T0	11	rT	-	母	716.48±30.93	496.45	82.74±2.92
397	1999-02-20	F	9.0	2008-02-08	T0	10	rTL	-	母、祖母	751.57±2.34	543.59	85.71±21.81
398	1997-09-16	F	10.4	2008-02-08	T0	16	rTL	-	母、祖母	872.92±6.46	526.34	98.45±6.33
399	2000-09-28	M	7.4	2008-02-08	T0	22-20	rTTL	-	-	444.55±43.23	481.5	74.45±10.16
400	1994-05-25	F	13.7	2008-02-08	T0	12	rTL	-	母、叔母	1492.58±30.46	477.59	135.22±2.80
401	1994-02-17	F	14.0	2008-02-08	T0	28-21	rTTL	-	-	691.24±23.14	316.38	50.01±1.95
402	1991-07-15	F	16.6	2008-02-14	T0	19-12	rTL	-	-	423.93±1.08	314.48	36.64±2.04
403	1995-02-21	F	13.0	2008-02-14	T0	13-13	rTTL	-	姉妹	1216.81±131.72	354.37	52.43±15.76
1264	1997-09-22	F	15.2	2005-04-18	T0	40	rTL	2005-04-18	-	616.12	578.96	65.92
1276	1997-09-23	F	15.2	2005-05-16	T0	42	rT	2005-05-16	-	817.56	450.13	107.62±12.96
1364	1997-09-24	M	14.9	2006-04-24	T0	44	rTL	2006-04-24	姉妹、叔母	1668.06	407.4	80.85±6.90
1365	1990-05-11	F	15.9	2006-04-26	T0	23-53	rTL	2006-04-26	-	947.35	642.66	63.18±5.41
1366	1993-04-06	F	13.1	2006-05-01	T0	36	NA	2006-05-01	-	1317.97	323.04	89.70±20.57
1373	1991-10-07	F	14.6	2006-05-17	T0	41-48	rTL	2006-05-17	-	1584.54	583.14	80.12±18.75
1380	1989-10-09	F	16.7	2006-06-26	T0	35	rL	2006-06-26	-	1289.98	602.35	139.38
1384	1991-01-17	F	15.5	2006-07-03	T0	41	rTL	2006-07-03	-	1502.51±18.63	194.3	121.65±44.94
			15.8	2006-11-15	T4	9-4			-	1258.85±16.20	448.68	162.01±11.64
1385	1990-06-12	F	16.1	2006-07-04	T0	42-23	rTL	2006-07-04	-	1098.75	523.52	102.35
1387	1991-07-15	F	15.0	2006-07-17	T0	29-37-35	rTL	2006-07-17	母	1017.47	689.52	78.42
1388	1991-12-13	F	14.6	2006-07-19	T0	38	rTL	2006-07-19	-	1080.53	811.37	87.57
1409	1993-02-11	F	13.6	2006-09-26	T0	40	rT	2006-09-26	-	499.41±67.54	389.14	113.56±15.03
1433	1992-07-03	F	14.5	2007-01-10	T0	44	rT	2007-01-10	叔父	459.61±17.79	287.42	263.55±34.89
1451	1995-01-13	F	12.2	2007-03-14	T0	42	rT	2007-03-14	祖母	1099.93±48.11	290.5	158.45±3.94
1478	1990-08-06	F	16.8	2007-06-11	T0	41	rTL	2007-06-11	父	619.94±46.51	251.56	190.25±18.46
1481	1990-08-15	F	16.8	2007-06-18	T0	40	rT	2007-06-18	-	748.36±9.30	250.14	95.34±6.52
1483	1989-06-26	F	18.0	2007-06-19	T0	37-25	rTL	2007-06-19	-	489.30±93.18	396.39	167.02±28.62

10

20

30

40

【表 1 4】

1487	1990-05-30	F	17.1	2007-07-03	T0	35-58-35	ICrTIL	2007-07-03	叔母	508.82±50.08	281.48	17.75±1.94
------	------------	---	------	------------	----	----------	--------	------------	----	--------------	--------	------------

10

20

30

40

\* プラス - マイナスは、平均 ± 標準偏差である。

\*\* 全ての患者は A I S と診断される。

† 弯曲種類の命名 r、右 / l、左 / T、胸郭 / L、腰部 / T L、胸腰部 / C、頸部。

50

± 特定の臨床的情報は、研究の時点で利用できなかった可能性がある、N A。

【 0 1 3 9 】

【 表 1 5 】

表 7. コブ角45° 以上のALS患者の臨床的及び生化学的プロファイル

患者 ID	誕生日	性別	年齢	捕集日	時点 (月)	手術前コブ角	手術日	家族歴	[OPN] (ng/ml)	[sCD44] (ng/ml)	[HA] (ng/ml)
101	1988-05-22	F	17.1	2005-06-10	T0	47	-	-	1047.64	728.42	221.97±8.23
108	1989-08-29	F	15.9	2005-07-04	T0	45	-	-	774.45	704.05	86.15±12.73
			17.2	2006-11-21	T16	40	-	-	414.67±55.62	361.83	172.00±3.68
135	1987-12-31	F	18.0	2006-01-13	T0	47-30	-	-	657.01	839.02	117.48±5.37
145	1990-02-15	M	16.2	2006-04-21	T0	50-43	-	兄弟	1178.85	961.85	120.52±8.59
170	1991-07-08	F	14.9	2006-06-26	T0	53-22	2007-08	叔母	480.97±29.49	317.2	33.76±0.92
			15.9	2007-04-18	T10	44-21	-	-	540.63±10.65	410.66	70.69±4.67
1150	1992-04-18	F	12.1	2004-05-11	T0	84	2004-05-11	母, 祖母	884.02	874.59	97.74
1169	1989-09-19	F	14.8	2004-06-22	T0	54-52	2004-06-22	-	776.13	868.43	101.22±9.41
1192	1990-10-16	F	13.9	2004-09-08	T0	59	2004-09-08	-	1140.09	596.41	66.97
1212	1991-05-06	F	13.5	2004-11-22	T0	54	2004-11-22	大叔母	834.47	796.56	75.57
1254	1991-07-23	F	13.7	2005-03-16	T0	52-49	2005-03-16	-	1091.92	882.29	82.8
1267	1990-09-08	F	14.6	2005-04-25	T0	55	2005-04-25	-	509.48	596.41	76.87
1282	1988-12-29	F	16.5	2005-06-06	T0	49	2005-06-06	-	718.45	788.41	53.95±16.65
1310	1990-05-05	F	15.6	2005-11-09	T0	55-42	2005-11-09	-	1042.25	789.32	132.89
1353	1989-08-08	F	16.6	2006-03-27	T0	46	2006-03-27	-	1078.92±33.32	262.59	90.88±1.59
			17.2	2006-10-06	T7	2	-	-	44.35±0.50	342.48	157.74±37.90
1354	1991-11-18	F	14.3	2006-03-27	T0	45	2006-03-27	-	1378.360	725.138	61.016
1355	1990-02-26	M	16.1	2006-03-28	T0	74-53	2006-03-28	-	1871.67	467.38	253.56±6.84
1357	1990-08-23	F	14.8	2005-06-15	T0	47-50	2006-04-04	兄弟	705.92±16.09	415.22	174.61±74.40
			15.7	2006-04-04	T10	57-50	-	-	1788.1	374.7	76.86±4.78
1360	1996-05-09	F	9.9	2006-04-10	T0	53-46	2006-04-10	父, 叔母	1820.95	444.42	80.45±29.61
1361	1989-09-03	F	16.6	2006-04-10	T0	65-95	2006-04-10	-	1512.16	599.64	67.13±10.66
1369	1992-02-19	F	14.2	2006-05-09	T0	88	2006-05-09	-	1498.66	262.58	91.42±8.52
			14.8	2006-11-24	T6	25	-	-	541.43±10.31	317.72	166.79±35.56
1371	1991-01-30	F	15.3	2006-05-15	T0	72-59	2006-05-15	-	1723.91	224.15	89.53±18.60
1372	1990-09-06	F	15.7	2006-05-16	T0	63-45-33	2006-05-16	叔母	1016.66	597.2	65.24±5.40
1374	1989-10-05	F	16.6	2006-05-29	T0	45	2006-05-29	-	1698.01	544.71	70.32±16.24
1378	1992-12-14	M	13.5	2006-06-05	T0	70	2006-06-05	-	1531.64	394.74	249.97
1381	1990-10-03	F	15.7	2006-06-27	T0	66	2006-06-27	-	1032.61	626.25	89.25

10

20

30

40

【表 16】

1389	1995-10-26	F	10.7	2006-07-24	T0	46-66	rTIL	2006-07-24	-	889.76±20.49	359.31	187.61±62.69
			11.0	2006-10-02	T5	NA	NA			770.91±13.31	533.42	82.67±1.55
1390	1990-12-12	F	15.6	2006-07-24	T0	53	ITL	2006-07-24	-	1269.89	839.02	78.42
1392	1993-05-25	F	13.2	2006-07-26	T0	48	rT	2006-07-26	祖母、叔母	1341.80±15.38	87.13	105.48±0.34
1393	1991-05-09	F	15.2	2006-07-26	T0	56	ITL	2006-07-26	-	969.63	821.21	81.59
1395	1988-10-25	F	17.8	2006-08-08	T0	84	ITL	2006-08-08	叔母	1205.3	450.13	41.8
1396	1995-05-27	F	11.2	2006-08-14	T0	74-92	rTIL	2006-08-14	-	1624.64±5.10	166.83	172.75±26.23
			11.3	2006-09-26	T1	NA	NA			773.40±16.42	342.29	218.18±2.83
1397	1988-12-23	M	17.7	2006-08-29	T0	60-58	rTIL	2006-08-29	叔父	1581.40±11.23	440.95	106.21±10.20
			17.9	2006-10-11	T2	34-23	NA			1191.01±14.64	546.18	158.77±21.05
1406	1991-10-29	F	14.9	2006-09-20	T0	62-60	rTIL	2006-09-20	-	628.36±45.23	304.04	52.88±0.66
1410	1993-01-04	F	13.7	2006-09-28	T0	56	rT	2006-09-28	母、叔母	1287.16±3.12	133.56	119.48±24.22
			13.8	2006-11-21	T2	23	NA			903.57±52.88	328.75	141.76±12.56
1416	1991-07-10	F	15.4	2006-11-15	T0	56-30	rTIL	2006-11-15	-	514.30±15.49	233.55	121.42±28.69
1420	1993-06-30	F	13.4	2006-11-29	T0	60-48	rTIL	2006-11-29	姉妹、叔母	661.35±21.22	314.01	127.14±1.06
1422	1994-06-27	F	12.4	2006-12-06	T0	60-50	rTIL	2006-12-06	姉妹	530.56±6.57	190.55	61.30±14.49
1430	1989-09-28	F	17.3	2007-01-03	T0	48	rT	2007-01-03	-	533.56±24.89	228.54	51.29±7.00
1442	1994-08-21	F	12.5	2007-02-14	T0	60	rT	2007-02-14	-	512.99±44.58	163.01	162.44±3.03
1446	1988-07-10	F	18.6	2007-02-26	T0	60	rT	2007-02-26	-	537.87±4.70	332.42	66.44±20.48
1448	1992-12-07	F	14.3	2007-03-13	T0	49	ITL	2007-03-13	-	588.73±25.88	110.3	138.81±10.07
1457	1993-05-30	F	13.9	2007-04-10	T0	50-43	rTIL	2007-04-10	-	1073.67±69.04	401.79	83.21±0.17
1458	1991-09-27	F	15.4	2007-04-11	T0	45	rT	2007-04-11	-	401.08±22.88	212.16	66.48±0.55
1459	1990-03-28	F	17.1	2007-04-16	T0	72-36	rTIL	2007-04-16	-	761.78±11.69	104.61	42.08±5.99
			17.2	2007-05-18	T1	NA	NA			744.34±10.91	340.71	
1461	1990-05-17	F	16.9	2007-04-18	T0	48	rT	2007-04-18	姉妹	200.53±3.68	371.51	112.29±27.44
1464	1990-01-02	F	17.3	2007-04-25	T0	53	rT	2007-04-25	-	778.26±19.40	163.01	133.86±4.16
1467	1990-11-18	F	16.5	2007-05-08	T0	60	rT	2007-05-08	-	453.32±17.32	236.23	48.59±6.73
1468	1991-11-12	M	15.5	2007-05-14	T0	69	rTIL	2007-05-14	いとこ	574.80±42.46	283.37	116.85±14.54
1471	1989-10-08	F	17.6	2007-05-29	T0	60	rTIL	2007-05-29	-	907.06±34.13	332.42	66.91±28.51
1474	1989-06-24	M	18.0	2007-06-04	T0	54-52	rTIL	2007-06-04	-	1254.39±4.53	334.72	71.72±16.08
1477	1992-10-17	F	14.6	2007-06-06	T0	62-65	rTIL	2007-06-06	母、兄弟	829.32±15.89	355.03	150.57±28.87
1484	1991-04-27	F	16.2	2007-06-26	T0	60	rT	2007-06-26	-	489.15±20.09	216.67	88.54±422
1488	1992-02-17	M	15.4	2007-07-16	T0	87	rT	2007-07-16	母	1358.23±56.62	304.83	120.78±13.25

10

20

30

40

【表 1 7】

1489	1990-09-26	M	16.8	2007-07-17	T0	57	rT	2007-07-17	-	1417.61±0.00	146.93	135.42±2.53
1495	1992-03-19	F	15.5	2007-09-17	T0	67-39	rT	2007-09-17	-	437.55±14.74	227.82	32.06±0.29
1498	1992-11-05	F	14.9	2007-09-18	T0	51-42	rTL	2007-09-18	-	557.43±50.58	152.3	62.63±12.90
1501	1989-02-04	F	16.5	2005-07-22	T0	58	rTL	-	-	939.53	711.38	144.30±16.14
			17.8	2006-11-21	T16	60	rTL	-	-	580.11±7.56	503.43	107.24±7.29
1502	1994-03-14	F	13.6	2007-10-15	T0	55-43	rTTL	2007-10-15	-	856.14±4.95	386.19	152.27±5.09
			13.8	2007-12-05	T2	NA	NA	-	-	1089.57±22.51	349.14	55.91±10.45
1506	1992-07-07	F	15.3	2007-11-06	T0	65	rT	2007-11-06	-	675.53±13.63	241.98	85.64±24.87
1517	11/20/1990	M	17.2	2008-02-13	T0	50-62	rTTL	-	-	666.49±65.68	328.96	41.3±8.74
1518	12/8/1991	F	16.2	2008-02-13	T0	62-62	rTTL	-	-	672.59±35.53	440.55	67.71±6.81
1519	1993-04-19	M	14.8	2008-02-08	T0	51	rT	-	-	945.23±53.53	360.02	66.48±1.10
1520	1993-06-26	F	14.6	2008-02-08	T0	54-42	rTTL	-	-	752.87±23.12	288.35	87.08±0.36

10

20

30

40

\* プラス - マイナスは、平均 ± 標準偏差である。

\*\* 全ての患者は A I S と診断される。

† 弯曲種類の命名 r、右 / l、左 / T、胸郭 / L、腰部 / TL、胸腰部 / C、頸部。

50

± 特定の臨床的情報は、研究の時点で利用できなかった可能性がある、N A。

【 0 1 4 0 】

【 表 1 8 】

表 8. 無症候性の危険性のある子供の臨床的及び生化学的プロファイル

家族 Id	誕生日	性別	年齢	採集日	時点 (月)	家族歴	[OPN] (ng/ml)	[sCD44] (ng/ml)	[HA] (ng/ml)
1	1997-09-02	M	8.8	2006-07-10	T0	母	439.72±12.32	561.46	118.71±8.74
1	1995-09-06	F	10.8	2006-07-10	T0	母	207.88±0.93	315.67	180.71±19.91
2	1998-02-08	F	8.7	2006-10-03	T0	母、叔父、祖父	1650.21±13.90	416.99	199.56±55.60
			9.2	2007-04-19	T6		1966.98±1.96	459.89	207.57±39.18
			9.8	2007-12-12	T14		1816.83±24.08	387.1	209.86±21.38
2	2001-06-18	M	5.8	2007-04-19	T0	母、叔父、祖父	493.98±7.26	463.68	43.99±3.74
			6.5	2007-12-12	T8		684.54±10.06	438.94	102.21±61.17
3	1994-08-24	F	12.2	2006-10-19	T0	姉妹	690.58±2.92	418.18	220.8
			12.6	2007-05-02	T7		727.27±17.36	467.79	196.82±18.74
			13.2	2007-12-12	T14		1212.32±0.48	311.06	279.74±30.33
4	2003-10-17	F	3.0	2006-10-19	T0	母	1530.90±28.42	478.58	225.02±20.51
			3.5	2007-04-11	T6		1021.07±7.22	464.63	122.36±15.35
			4.2	2007-12-12	T14		1594.42±23.36	470.05	332.11
5	2003-07-17	M	3.2	2006-10-19	T0	母	905.58±30.14	563.44	58.88±3.86
			3.7	2007-04-19	T6		1865.13±7.36	434.93	128.14±4.00
			4.4	2007-12-09	T14		960.14±26.22	631.93	32.64±5.81
6	1998-07-26	F	8.2	2006-10-19	T0	母	505.03±8.92	564.17	81.86±13.18
7	1995-06-16	F	11.3	2006-10-24	T0	母	548.59±6.61	512.92	80.39±31.53
			11.8	2007-04-11	T6		766.85±5.73	396.69	103.31±22.50
			12.3	2007-10-17	T12		596.91±35.50	465.36	122.40±8.97
8	1996-04-10	F	10.5	2006-10-26	T0	母	1109.78±47.61	401.66	77.16±9.72
			11	2007-04-11	T6		875.81±14.01	366.36	176.96±4.68
9	1995-05-09	F	11.4	2006-10-26	T0	母	1657.97	440.3	112.58±0.45
			11.9	2007-04-11	T6		782.29±1.47	429.56	86.57±1.46
			12.8	2008-02-13	T16		885.10±35.98	255.6	63.42±7.99
10	2002-08-03	F	4.2	2006-10-26	T0	母	901.66±12.01	398.27	158.65±60.85
			4.7	2007-04-11	T6		929.42±3.07	356.88	167.19±0.13
11	1992-09-07	F	14.1	2006-10-26	T0	母	528.00±8.83	469.78	69.05±4.37
			14.8	2007-07-11	T9		714.79±14.44	383.1	37.97±3.99
			15.3	2008-01-23	T15		443.30±0.58	472.69	80.27±11.45
12	1991-12-15	F	14.8	2006-10-26	T0	母	818.88±0.94	518.03	134.08±84.67
			15.3	2007-04-11	T6		648.15	487.38	140.02±50.63
			15.9	2007-11-14	T13		398.28±19.81	521.44	191.07±8.20

10

20

30

40

【表 19】

12	1996-02-23	M	10.7	2006-10-26	T0	母	1203.88±55.29	681.23	85.30±36.75
			11.2	2007-04-11	T6		1930.95±1.96	633.37	107.10±15.99
			11.8	2007-11-14	T13		1341.78±31.57	687.61	170.54±25.46
13	1993-10-09	F	13.0	2006-10-26	T0	母.祖母	730.44±33.95	397.12	41.87±4.55
			13.6	2007-05-02	T7		420.91±23.59	412.49	216.75±27.71
			14.1	2007-11-14	T13		943.64±1.96	698.95	124.28±15.03
14	2001-09-07	F	5.2	2006-11-16	T0	父	919.94±11.91	510.08	45.28±10.89
15	1997-02-18	M	9.8	2006-11-16	T0	母	1629.22±12.49	611.25	129.80±30.80
			10.2	2007-04-11	T5		1030.34±6.55	690.56	146.19±2.58
			10.7	2007-10-10	T11		929.36±11.23	590.8	135.89±18.75
16	2002-02-21	F	4.8	2006-11-16	T0	母	1834.30±4.16	628.94	149.05±19.17
			5.2	2007-04-11	T5		909.22±6.67	661.18	125.31
			5.9	2007-12-12	T13		877.48±23.75	466.59	70.10±33.68
17	2000-03-30	F	6.7	2006-11-16	T0	母	482.76±10.64	678.55	95.92±18.21
18	2000-08-01	F	6.2	2006-11-16	T0	母	870.73±21.30	644.62	146.12±36.68
18	1997-05-05	M	9.5	2006-11-16	T0	母	1123.32±7.06	401.66	112.68±11.34
20	1998-09-27	F	8.2	2006-11-22	T0	父	506.21±10.03	456.42	59.40±30.21
			8.8	2007-07-11	T8		677.71±13.95	416.28	37.11±6.95
21(015)	1998-11-17	F	8.0	2006-11-22	T0	姉妹	482.63±7.58	458.02	99.16±5.46
			8.5	2007-05-23	T6		511.46	488.33	151.08
			9.0	2007-11-14	T12		760.00±3.99	589.62	190.77±5.64
21(016)	1991-08-13	F	15.2	2006-11-22	T0	姉妹	617.06±7.65	511.71	110.15±12.37
			15.7	2007-05-23	T6		619.60±17.63	519.3	93.16±0.39
			16.2	2007-11-14	T12		685.18±0.80	529.63	218.26±27.22
22	1992-05-15	M	14.5	2006-11-22	T0	母.祖母	1082.23±65.01	445.66	81.35±14.77
			14.9	2007-04-11	T5		1044.90±3.21	432.72	152.54±10.62
			15.6	2008-01-23	T14		1010.18±60.70	384.16	106.42±10.80
23(334)	1994-09-24	F	12.2	2006-11-29	T0	姉妹	1365.94±1.71	346.45	150.14±2.53
			12.6	2007-04-19	T5		1856.82±12.74	501.92	167.91±17.19
			13.1	2007-10-10	T11		947.97±16.31	489.38	271.36±20.40
24	1994-11-24	M	12.0	2006-11-29	T0	母.叔母	775.28±20.77	427.49	84.54±0.14
			12.5	2007-05-02	T6		610.29±10.86	436.82	130.53±2.30
			13.1	2007-12-12	T13		718.55±5.97	355.99	127.92±3.93

10

20

30

40

【表 20】

24	1994-11-24	F	12	2006-11-29	T0	母、叔母	815.81±22.25	473.76	160.63±8.36
			12.5	2007-05-02	T6		673.56±16.29	445.36	127.40±37.13
			13.1	2007-12-12	T13		1299.89±28.77	662.73	276.97
25	1998-06-05	F	8.4	2006-11-29	T0	母、父	1245.41±13.75	441.4	108.75±18.90
			8.8	2007-04-19	T5		1766.40±2.69	500.34	197.20±31.62
			9.3	2007-10-10	T11		944.99±25.37	476.76	115.66±10.09
25	2001-06-04	M	5.4	2006-11-29	T0	母、父	1181.70±50.65	303.75	157.81±11.99
			5.8	2007-04-19	T5		1707.51±30.62	319.63	113.24±2.45
			6.3	2007-10-10	T11		867.79±25.36	364.76	114.76±33.42
26	1994-03-18	F	12.7	2006-11-29	T0	母	676.95±9.57	432.08	86.09
27	1987-12-13	F	19	2006-12-19	T0	父	287.27±8.96	572.38	101.88±13.89
28	2003-05-23	F	3.6	2006-12-19	T0	母	612.92±3.03	760.08	45.57±3.40
29	1990-10-17	M	16.2	2006-12-19	T0	母	459.54±29.16	488.33	99.03±54.21
			17.0	2007-10-10	T10		505.24±39.04	441.73	121.53±15.54
29 (652)	1999-05-11	F	7.6	2006-12-19	T0	母	576.64±20.73	656.77	114.39
			8.4	2007-10-10	T10		972.66±7.97	636.32	138.53±16.69
29 (160)	1996-12-02	F	10.0	2006-12-19	T0	母	583.62±19.18	600.16	136.79±10.66
			10.8	2007-10-10	T10		874.79±2.17	535.48	112.73±7.74
30	1995-03-09	M	11.8	2006-12-19	T0	母	1608.98±8.37	607.15	115.19±6.27
			12.3	2007-07-04	T7		1107.95±0.53	504.15	40.04±11.63
			12.8	2008-01-23	T13		1578.17±18.50	469.62	93.33±3.68
30	1997-06-08	F	9.5	2006-12-19	T0	母	1211.80±5.47	586.43	172.18±4.00
			10.1	2007-07-04	T7		774.18±21.15	534.59	40.03±11.95
			10.6	2008-01-23	T13		697.49±12.25	473.45	95.89±6.16
31	1998-03-18	F	8.8	2006-12-19	T0	母、叔母、祖父	467.80±1.39	574.23	106.48±29.19
31	1999-11-03	M	7.1	2006-12-19	T0	母、叔母、祖父	745.53±40.56	552.66	98.22±1.18
32	2004-06-20	F	2.5	2006-12-19	T0	母、祖母	1573.79±0.72	576.5	142.70±0.57
			3.1	2007-07-04	T7		1034.97±25.55	494.82	52.38±5.01
			3.6	2008-01-23	T13		1237.94±48.60	374.2	152.27±0.32
33	1996-05-17	M	10.7	2007-01-10	T0	母	623.78±2.66	649.44	166.16±32.22
			11.5	2007-11-07	T10		671.14±0.27	634.5	36.87±2.05
33	1996-06-25	F	11.2	2007-01-10	T0	母	893.13±34.21	436.86	92.74±2.45
			11.7	2007-07-11	T6		716.31±27.52	543.59	37.95±5.33

10

20

30

40

【表 2 1】

34	1996-08-14	F	10.3	2006-12-21	T0	母	1135.80±18.20	508.95	256.64±37.18
			10.8	2007-06-13	T6		594.41±0.37	490.61	96.56±2.45
			11.4	2008-01-23	T13		978.10±49.46	450.46	103.67±10.95
34	1994-06-21	M	12.5	2006-12-21	T0	母	1010.70±22.34	416.71	172.33±50.68
			13.0	2007-06-13	T6		739.31±3.43	499.04	93.55±6.90
			13.6	2008-01-23	T13		777.22±39.78	448.93	92.70±21.91
35(605)	1995-03-31	M	11.8	2006-12-21	T0	母	1126.22±46.08	552.37	163.66±0.79
35(604)	1995-03-31	M	11.8	2006-12-21	T0	母	933.16±14.20	437.43	118.57±6.65
35	1993-05-12	F	13.6	2006-12-21	T0	母	1679.45	436.58	128.45±17.60
36	1998-09-06	M	8.3	2007-01-10	T0	母	1520.81±20.48	485.39	225.68±85.59
			9.2	2007-11-14	T10		1103.50±27.07	899.87	114.96±0.11
37	2001-07-11	F	5.5	2007-01-17	T0	母	419.51±10.21	524.02	35.52±0.52
			6.0	2007-07-04	T6		606.10±14.32	490.91	209.23
38	1995-01-19	M	12.0	2007-01-17	T0	母	435.87±7.38	600.34	164.49±10.01
38	1992-08-02	F	14.4	2007-01-17	T0	母	328.67±25.67	564.58	166.19±2.53
39	1996-06-08	M	10.6	2007-01-24	T0	母	437.90±23.91	529.14	215.53±70.15
			11.1	2007-07-18	T6		617.26±5.45	445.15	146.08±8.82
39	1997-08-08	F	9.4	2007-01-24	T0	母	399.82±14.71	452.38	71.339±22.51
			9.9	2007-07-18	T6		648.28±6.30	462.01	188.78±12.79
40	1996-05-05	F	10.9	2007-04-05	T0	母	986.26±9.88	478.27	99.9
40	1999-04-23	M	8.0	2007-04-05	T0	母	851.99±4.04	710.05	52.81±12.17
41	1995-03-29	F	12.2	2007-05-30	T0	父	500.68±20.08	416.56	71.27±0.30
42	1996-07-03	M	10.8	2007-05-02	T0	父	391.38±30.03	620.65	32.83
			11.3	2007-11-14	T6		393.23±4.22	445.78	167.25±27.97
42	1992-04-14	F	15.1	2007-05-02	T0	父	452.43±1.68	519.81	38.46±16.02
			15.6	2007-11-14	T6		658.95±1.62	938.89	232.91±2.00
43	2001-11-20	F	5.5	2007-05-23	T0	母	892.70±21.23	484.89	97.65±30.81
44	1995-09-11	M	11.8	2007-06-13	T0	母	1058.59±6.11	547.8	41.15±11.08
			12.2	2007-12-12	T6		1160.10±16.16	456.22	145.61±51.30
45	1994-05-10	F	13.2	2007-08-29	T0	母	714.66±6.88	482.12	120.00±13.64
			13.8	2008-02-13	T6		801.53±42.46	358.64	134.84±16.18
46	1999-11-04	M	7.8	2007-09-12	T0	母	603.75±10.96	569.62	111.95±5.86
46(980)	1996-04-15	F	11.4	2007-09-13	T0	母	504.38±35.85	540.29	118.25±9.11

10

20

30

40

【表 2 2】

46 (982)	2004-01-24	F	3.7	2007-09-12	T0	母	718.72±78.98	510.97	153.13±4.50
47	1996-12-07	F	10.8	2007-10-17	T0	母	1010.10±17.02	494.12	147.00±87.36
47	1999-04-03	M	8.5	2007-10-17	T0	母	844.83±30.84	456.7	156.33±50.36
C6	1997-02-06	F	10.3	2007-05-22	T0	母	669.60±4.19	755.65	133.68±4.10
			11.0	2008-01-16	T8		733.30±11.16	620.67	250.52±38.11
C15	1997-05-27	M	10.0	2007-06-06	T0	兄弟	441.81±0.64	640.33	106.53±1.88
			10.5	2007-12-04	T6		444.69±3.82	958.24	151.86±17.41

10

20

30

40

\* プラス - マイナスは、平均 ± 標準偏差である。

† 全ての対象は、整形外科的手術によるサンプル捕集の前に試験され、可能性ある脊柱側弯症発症を観測する。

【実施例 1 1】

【0 1 4 1】

非 A I S 脊柱側弯症患者における O P N、s C D 4 4 及び H A レベル

非 A I S 側弯症患者 ( N A I S 患者 ) における O P N を測定した。結果を以下の表 9 に要約する。図 1 2 で、健常者、A I S 及び N A I S 患者における O P N、s C D 4 4 及び H A レベルの比較も、提供する。

50

## 【表 2 3】

脊柱側弯症タイプ	数	平均年齢 (年)	平均コブ 角	特徴		
				平均 OPN 濃度 (ng/ml)	平均 sCD44 濃度 (ng/ml)	平均 HA 濃度 (ng/ml)
神経性脊柱側弯症	8	12.3±3.7	79.4±15.1	982±452	274±196	127±101
先天的脊柱側弯症	8	10.0±4.4	51.8±18.1	1016±400	432±79	123±80
脊柱すべり症	5	17.5±2.1	21.0±17.0	832±125	386±193	76±54
後弯症の脊柱側弯症	5	14.4±2.8	80.2±28.5	923±393	352±62	91±56
その他*	2	15.1	74.5±17.7	586±52	240	NA

10

† プラス - マイナスは、平均 ± 標準偏差である。

\* 他の脊柱側弯症種類には、1種の神経筋性脊柱側弯症及び1種の異形成脊柱側弯症が含まれる。

## 【0142】

以下の表10は、非AIS脊柱側弯症患者の詳細なバイオマーカーレベルを示す。

20

【表 2 4】

表10. 非AIS脊柱側弯症患者の臨床的及び生化学的プロフィール

患者ID	誕生日	性別	年齢	捕集日	診断	手術前 コブ角 タイプ	手術日	手術時 の年齢	家族歴	[OPN] (ng/ml)	[sCD44] (ng/ml)	[HA] (ng/ml)	
1208	1999-01-19	M	17.8	2007-10-03	先天的後弯性脊柱側弯症	72	IT 2004-11-08	14.8	-	1101.06±31.26	444.81	82.89±15.11	
1256	1992-03-27	M	13.0	2005-05-09	先天的脊柱側弯症	44-65	rTIL 2005-03-29	13.0	-	1490.59	NA	127.74±9.29	
1278	1998-07-22	F	6.8	2005-05-30	先天的神経性脊柱側弯症	60	IT 2005-05-30	6.8	-	1401.88	NA	75.65±5.16	
1281	1985-05-21	M	20.1	2005-06-01	脊柱すべり症	16	-	2005-06-01	20.1	-	985.85	NA	150.30±7.93
1286	1990-05-08	M	15.1	2005-06-15	形成異常脊柱側弯症	62-66	rTIL 2005-06-15	15.1	-	549.60±5.06	NA	NA	
1356	1993-02-22	F	13.2	2006-04-03	先天的脊柱側弯症	75	rT 2006-04-03	13.2	-	1181.85	NA	111.51±2.30	
1358	2003-11-09	M	2.4	2006-04-04	先天的脊柱側弯症	33-35	rTIL 2006-04-04	2.4	-	1530.6	NA	284.60±69.00	
1367	1993-12-12	F	12.4	2006-02-01	神経性脊柱側弯症	90	ITL 2006-05-01	12.4	-	1525.13	NA	350.01±36.55	
1368	1990-06-21	F	15.9	2006-05-02	神経性後弯性	50	ITL 2006-05-02	15.9	-	1079.23	NA	126.44±3.63	
1370	1995-09-15	M	10.7	2006-05-09	神経性脊柱側弯症	65	rT 2006-05-09	10.7	-	1318.58	NA	104.06±5.18	
1375	1992-09-13	F	13.7	2006-05-30	先天的脊柱側弯症	53	rTIL 2006-05-30	13.7	いとこ	380.08±12.95	NA	NA	
1407	1990-12-22	M	16.8	2007-10-31	脊柱すべり症	9	IL 2006-09-25	15.8	-	818.17±1.52	441.73	1163.09±3.88	
1431	1987-11-23	M	19.2	2007-01-08	神経性脊柱側弯症	90-90	rTIT 2007-01-08	19.2	-	450.78±101.56	275.62	130.30±23.92	
1432	1992-08-08	M	14.4	2007-01-09	神経性脊柱側弯症	64	rT 2007-01-09	14.4	-	558.47±4.70	145.15	98.99±13.92	
1434	1994-08-07	F	12.4	2007-01-10	先天的脊柱側弯症	79-77	rTIL 2007-01-10	12.4	-	631.59±7.42	325.95	44.79±5.73	
1436	1993-02-16	F	13.9	2007-01-22	後弯性脊柱側弯症	120	-	2007-01-22	13.9	-	220.32±2.94	322.03	44.34±6.37
1437	1992-11-06	M	14.2	2007-02-05	神経性脊柱側弯症	100	NA	2007-02-05	14.2	-	388.01±8.22	225.71	76.96±4.53
1455	1996-12-14	F	10.3	2007-04-03	先天的後弯性脊柱側弯症	61	ITL 2007-04-03	10.3	-	1090.51±5.57	323.24	34.79±0.32	
1456	1990-10-03	F	16.5	2007-04-17	神経筋性脊柱側弯症	87	rTIL 2007-04-17	16.5	-	622.46±7.15	240.22	NA	
1462	1997-10-22	F	9.5	2007-04-23	神経性脊柱側弯症	76	ITL 2007-04-23	9.5	-	1118.25±1.32	607.1	55.90±1.82	
1463	1989-03-19	F	18.1	2007-04-24	脊柱側弯症+脊柱すべり症	33	rT 2007-04-24	18.1	-	751.54±8.69	284.71	21.56±4.58	

10

20

30

40

【表 2 5】

1466	1997-08-24	F	9.8	2007-05-08	先天的脊柱側弯症	39	rL	2007-05-08	9.8	-	1110.01±2.38	510.18	47.07±1.48
1475	1993-05-25	M	14.1	2007-06-05	後弯性脊柱側弯症	98	-	2007-06-04	14.1	-	1123.49±5.56	319.93	166.63±34.63
1479	1996-01-24	F	11.4	2007-06-05	神経性脊柱側弯症	90	rTIL	2007-06-05	11.4	-	1098.54±131.44	119.17	NA
1480	2003-06-13	F	4.0	2007-06-18	先天的脊柱側弯症	56	IT	2007-06-18	4.0	-	809.8	468.03	120.72±40.73
1482	1989-03-30	F	18.2	2007-06-19	脊柱すべり症 gr1	-	NA	2007-06-19	18.2	-	678.49±18.32	187.48	46.07±5.27
1486	1993-01-15	M	14.4	2007-06-27	脊柱すべり症 gr2	-	NA	2007-06-27	14.4	-	924.40±17.16	628.78	47.06±6.84
357	1996-07-08	F	11.4	2007-12-18	先天的脊柱側弯症	30-31	rTIT	-	-	-	996.58±8.51	423.72	127.33±3.13

10

20

30

40

\* プラス - マイナスは、平均 ± 標準偏差である。

† 弯曲種類の命名 r、右 / l、左 / T、胸郭 / L、腰部 / TL、胸腰部 / C、頸部。

【実施例 1 2】

50

## 【0143】

手術前後のAIS患者におけるOPN及びsCD44レベル

OPNレベルを、手術前(n=79)及び手術後(N=28)のAIS患者において測定した。興味深いことに、手術前対手術後におけるAIS患者の比較は、OPN血中濃度の低下を示し、これは細胞レベルでの機械感覚因子としてのOPNの役割をさらに補強した(図13)。

## 【0144】

OPNを、AIS女性患者において、支持具での治療の前(n=10)及び後(N=10)測定した。同様に、sCD44レベルを、AIS女性患者において、手術の前(n=15)及び後(N=12)測定した。結果を図14に示す。

10

## 【0145】

手術前及び手術後で規定のカットオフ値を超える12人のAIS患者についての分布を実施した。図15は、外科的治療をした患者の92%が、手術前のOPNレベルが赤の領域(>800ng/mLの血漿OPNレベル)であり、一方残りの8%が黄色の領域(700~800ng/mL)であったことを示す。血漿OPNレベルが<700ng/mLを表す緑の領域である患者は一人もいなかった。これはまた、高濃度のOPNと脊柱側弯症の弯曲の進行との密接な相関を示すものである。

## 【0146】

図15のパネルBは、外科的に治療された赤領域の患者が、血中でOPN濃度の減少を経験することを示す。外科的に治療された患者の75%が、緑及び黄色の領域(800ng/mL以下)になった。

20

## 【実施例13】

## 【0147】

様々な種類の支持具を用いるAIS患者のOPNレベル

支持具で治療前(n=79)及び支持装着後(N=28)のAIS患者におけるOPNレベルも測定した。以下の表11はまた、バイオマーカーに対する支持具の影響を示す。

【表 2 6】

治療	No.	平均年齢 (年)	平均 支持具 着用 (月)	平均 コブ角	特徴 平均 OPN 濃度 (ng/ml)	平均 sCD44 濃度 (ng/ml)	平均 HA 濃度 (ng/ml)
支持具なし							
女性	193	14.2±2.1	-	30.9±19.3	809±376	474±179	108±58
男性	36	14.8±2.2	-	32.2±21.1	1034±376	492±155	126±62
支持具あり (All Female)							
全支持具の 組合わせ	21	14.0±1.8	12.0	21.2±8.3	664±282	483±112	118±60
ポストン	5	13.0±1.4	10.6	25.8±4.4	735±358	568±184	150±57
スパインCor (SpineCor)	14	14.5±1.6	12.7	20.6±8.7	626±279	451±81	108±62
チャールストン	1	15.4	10.0	7.0	781	532	70
プロビデンス ナイトブレース (Providence Night Brace)	1	9.7	1.0	20.0	732	547	138
P-値 ‡					0.018	0.879	0.608

10

20

30

\* プラス - マイナスは、平均 ± 標準偏差である。

‡ 支持具を有する又は有さない患者を比較するための統計解析を、等分散である両側独立スチューデント T 検定により行った。差異は、p 値 < 0.05 で統計的に有意とみなした。

## 【0148】

支持具での処置前後、規定のカットオフ値を超える A I S 患者の分布を行った。8 人の患者について、支持装着後の特定の月数、すなわち 1 番から 8 番の各患者について、それぞれ支持装着後 7、7、8、22、22、22 及び 26 ヶ月の試験を行った。図 16 は、支持装着での処置前は (パネル A)、患者の 63% が赤及び黄領域であったことを示している。図 13 ~ 15 で示すように、外科的治療をされた患者において観察される傾向と一

40

## 【実施例 14】

## 【0149】

A I S 患者対健常対照者のセレンレベルの比較

A I S 患者の血漿で、セレン濃度が顕著に減少することが報告されている<sup>(42)</sup>。セレン及びより具体的には食事中にもともと存在する有機セレンである、Se - メチルセレンオキシステインを、OPN 転写を標的とすることによる化学的予防治療として、乳癌の転移を防止するために使用する<sup>(43-45)</sup>。

## 【0150】

このため、小児群 (A I S 対健常対照) において、低レベルのセレンが A I S でのより

50

高いOPN濃度と相関するか否かを決定するために、血漿セレン濃度を測定した。血漿セレン濃度は、2,3-ジアミノナフタレン(DAN)を用いて蛍光分析法により決定した<sup>(46,47)</sup>。図18及び19に示した結果は、脊柱側弯症及び危険性のある無症候性子供における、高レベルのOPNと低レベルのセレンとの相関を示す。

【0151】

本発明は、その特定の実施態様として本明細書中に記載され、添付の特許請求の範囲での定義の通り、対象の発明の精神及び性質から逸脱しない限り、それは変更可能である。

【0152】

参考文献

## 【表 2 7】

- (1) Brodner W, Krepler P, Nicolakis M et al. Melatonin and adolescent idiopathic scoliosis. *J Bone Joint Surg Br* 2000; 82(3):399-403.
- (2) Lowe TG, Edgar M, Margulies JY et al. Etiology of idiopathic scoliosis: current trends in research. *J Bone Joint Surg Am* 2000; 82-A(8):1157-1168.
- (3) Veldhuizen AG, Wever DJ, Webb PJ. The aetiology of idiopathic scoliosis: biomechanical and neuromuscular factors. *Eur Spine J* 2000; 9(3):178-184.
- (4) Miller NH. Cause and natural history of adolescent idiopathic scoliosis. *Orthop Clin North Am* 1999; 30(3):343-52, vii.
- (5) Miller NH. Genetics of familial idiopathic scoliosis. *Clin Orthop* 2002;(401):60-64.
- (6) Miller NH, Schwab DL, Sponseller PD, Manolio TA, Pugh EW, Wilson AP. Characterization of idiopathic scoliosis in a clinically well-defined population. *Clin Orthop* 2001;(392):349-357.
- (7) Wise CA, Barnes R, Gillum J, Herring JA, Bowcock AM, Lovett M. Localization of susceptibility to familial idiopathic scoliosis. *Spine* 2000; 25(18):2372-2380.
- (8) Moreau A, Wang DS, Forget S et al. Melatonin Signaling Dysfunction in Adolescent Idiopathic Scoliosis. *Spine* 2004.
- (9) Denhardt DT, Noda M, O'Regan AW, Pavlin D, Berman JS. Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival. *J Clin Invest* 2001; 107(9):1055-1061.
- (10) Mazzali M, Kipari T, Ophascharoensuk V, Wesson JA, Johnson R, Hughes J. Osteopontin—a molecule for all seasons. *QJM* 2002; 95(1):3-13.
- (11) Lopez CA, Olson ES, Adams JC, Mou K, Denhardt DT, Davis RL. Osteopontin expression detected in adult cochleae and inner ear fluids. *Hear Res* 1995; 85(1-2):210-222.
- (12) Simoneau M, Richer N, Mercier P, Allard P, Teasdale N. Sensory deprivation and balance control in idiopathic scoliosis adolescent. *Exp Brain Res* 2006; 170(4):576-582.
- (13) Guo X, Chau WW, Hui-Chan CW, Cheung CS, Tsang WW, Cheng JC. Balance control in adolescents with idiopathic scoliosis and disturbed somatosensory function. *Spine* 2006; 31(14):E437-E440.
- (14) Weber B, Rosel M, Arch R, Moller P, Zoller M. Transient expression of CD44 variant isoforms in the ontogeny of the rat: ectoderm-, endoderm- and mesoderm-derived cells express different exon combinations. *Differentiation* 1996; 60(1):17-29.
- (15) Panda D, Kundu GC, Lee BI et al. Potential roles of osteopontin and alphaVbeta3 integrin in the development of coronary artery restenosis after angioplasty. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(17):9308-9313.
- (16) Ruiz P, Schwarzler C, Gunthert U. CD44 isoforms during differentiation and development. *Bioessays* 1995; 17(1):17-24.
- (17) Katagiri YU, Sleeman J, Fujii H et al. CD44 variants but not CD44s cooperate with beta1-containing integrins to permit cells to bind to osteopontin independently of arginine-glycine-aspartic acid, thereby stimulating cell motility

10

20

30

40

## 【表 2 8】

- and chemotaxis. *Cancer Res* 1999; 59(1):219-226.
- (18) Jalkanen S, Jalkanen M. Lymphocyte CD44 binds the COOH-terminal heparin-binding domain of fibronectin. *J Cell Biol* 1992; 116(3):817-825.
- (19) Naujokas MF, Morin M, Anderson MS, Peterson M, Miller J. The chondroitin sulfate form of invariant chain can enhance stimulation of T cell responses through interaction with CD44. *Cell* 1993; 74(2):257-268.
- (20) Weber GF, Ashkar S, Glimcher MJ, Cantor H. Receptor-ligand interaction between CD44 and osteopontin (Eta-1). *Science* 1996; 271(5248):509-512. 10
- (21) Bennett KL, Modrell B, Greenfield B et al. Regulation of CD44 binding to hyaluronan by glycosylation of variably spliced exons. *J Cell Biol* 1995; 131(6 Pt 1):1623-1633.
- (22) Stamenkovic I, Aruffo A, Amiot M, Seed B. The hematopoietic and epithelial forms of CD44 are distinct polypeptides with different adhesion potentials for hyaluronate-bearing cells. *EMBO J* 1991; 10(2):343-348.
- (23) Komura K, Sato S, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K. Elevated levels of circulating CD44 in patients with systemic sclerosis: association with a milder subset. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41(10):1149-1154.
- (24) Scott DA, Stapleton JA, Palmer RM et al. Plasma concentrations of reputed tumor-associated soluble CD44 isoforms (v5 and v6) in smokers are dose related and decline on smoking cessation. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9(11):1211-1214. 20
- (25) Wang X, Jiang H, Raso J et al. Characterization of the scoliosis that develops after pinealectomy in the chicken and comparison with adolescent idiopathic scoliosis in humans. *Spine* 1997; 22(22):2626-2635.
- (26) von Gall C, Lewy A, Schomerus C et al. Transcription factor dynamics and neuroendocrine signalling in the mouse pineal gland: a comparative analysis of melatonin-deficient C57BL mice and melatonin-proficient C3H mice. *Eur J Neurosci* 2000; 12(3):964-972.
- (27) Aherrahrou Z, Axtner SB, Kaczmarek PM et al. A locus on chromosome 7 determines dramatic up-regulation of osteopontin in dystrophic cardiac calcification in mice. *Am J Pathol* 2004; 164(4):1379-1387. 30
- (28) Machida M, Dubouset J, Yamada T et al. Experimental scoliosis in melatonin-deficient C57BL/6J mice without pinealectomy. *J Pineal Res* 2006; 41(1):1-7.
- (29) Scoliosis Research Society. Morbidity & Mortality Committee annual report 1997.
- (30) Mishima R, Takeshima F, Sawai T et al. High plasma osteopontin levels in patients with inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41(2):167-172.
- (31) Ang C, Chambers AF, Tuck AB, Winqvist E, Izawa JI. Plasma osteopontin levels are predictive of disease stage in patients with transitional cell carcinoma of the bladder. *BJU Int* 2005; 96(6):803-805. 40
- (32) Wong CK, Lit LC, Tam LS, Li EK, Lam CW. Elevation of plasma osteopontin concentration is correlated with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44(5):602-606.
- (33) Kim J, Ki SS, Lee SD et al. Elevated plasma osteopontin levels in patients with

## 【表 2 9】

- hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2006; 101(9):2051-2059.
- (34) Wynne-Davies R. Familial (idiopathic) scoliosis. A family survey. *J Bone Joint Surg Br* 1968; 50(1):24-30.
- (35) De George FV, Fisher RL. Idiopathic scoliosis: genetic and environmental aspects. *J Med Genet* 1967; 4(4):251-257.
- (36) Lein M, Jung K, Weiss S, Schnorr D, Loening SA. Soluble CD44 variants in the serum of patients with urological malignancies. *Oncology* 1997; 54(3):226-230. 10
- (37) Karjalainen JM, Tammi RH, Tammi MI et al. Reduced level of CD44 and hyaluronan associated with unfavorable prognosis in clinical stage I cutaneous melanoma. *Am J Pathol* 2000; 157(3):957-965.
- (38) Schlosser W, Gansauge F, Schlosser S, Gansauge S, Beger HG. Low serum levels of CD44, CD44v6, and neopterin indicate immune dysfunction in chronic pancreatitis. *Pancreas* 2001; 23(4):335-340.
- (39) Sjöberg S, Fogelstrand L, Hulthe J, Fagerberg B, Krettek A. Circulating soluble CD44 is higher among women than men and is not associated with cardiovascular risk factors or subclinical atherosclerosis. *Metabolism* 2005; 54(2):139-141.
- (40) Jenkins RH, Thomas GJ, Williams JD, Steadman R. Myofibroblastic differentiation leads to hyaluronan accumulation through reduced hyaluronan turnover. *J Biol Chem* 2004; 279(40):41453-41460. 20
- (41) Lien YH, Fu J, Rucker RB, Scheck M, Abbott U, Stern R. Collagen, proteoglycan and hyaluronidase activity in cultures from normal and scoliotic chicken fibroblasts. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1034(3):318-325.
- (42) Dasty M, Cienciala J. Idiopathic scoliosis and concentrations of zinc, copper, and selenium in blood plasma. *Biol Trace Elem Res* 2002; 89(2):105-110.
- (43) El-Bayoumy K, Sinha R. Molecular chemoprevention by selenium: a genomic approach. *Mutat Res* 2005; 591(1-2):224-236.
- (44) Unni E, Kittrell FS, Singh U, Sinha R. Osteopontin is a potential target gene in mouse mammary cancer chemoprevention by Se-methylselenocysteine. *Breast Cancer Res* 2004; 6(5):R586-R592. 30
- (45) He YT, Liu DW, Ding LY, Li Q, Xiao YH. Therapeutic effects and molecular mechanisms of anti-fibrosis herbs and selenium on rats with hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2004; 10(5):703-706.
- (46) Sheehan TM, Gao M. Simplified fluorometric assay of total selenium in plasma and urine. *Clin Chem* 1990; 36(12):2124-2126.
- (47) Ando M, Takizawa M, Suwabe S, Yamato S, Shimada K. Determination of selenium in human serum by liquid chromatography/electron capture atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry after acid digestion and derivatization using 2,3-diaminonaphthalene. *Eur J Mass Spectrom (Chichester, Eng)* 2003; 9(6):619-622. 40
- (48) Uchio E, Matsuura N, Kadonosono K, Ohno S, Uede T. Tear osteopontin levels in patients with allergic conjunctival diseases. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2002; 240(11): 924-8.
- (49) Buck et al. Design Strategies and Performance of Custom DNA Sequencing

【表 3 0】

- primers . *Biotechniques* 1999; 27:528-536.
- (50) Ponta, H, Sherman L, Herrlich, PA. CD44 : from Adhesion molecules to signalling regulators. *Nature Reviews*. 2004; 4:33-45.
- (51) Garrett, K.A., P.D. Esker, and A.H. Sparks. 2007. Introduction to the R Programming Environment. The Plant Health Instructor. DOI:10.1094/PHI-A-2007-1226-02.
- (52) Ihaka R, Gentleman R. A language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics*1996, 5(3):299-314. 10
- (53) Goodison S, and Tarin D. Clinical Implications Of Anomalous Cd44 Gene Expression In Neoplasia. *Frontiers in Bioscience* 1998, 3, e89-109.
- (54) Ito T, Hashimoto Y, Tanaka E, Kan T, Tsunoda S, Sato F, Higashiyama M, Okumura T, Shimada Y. An Inducible Short-Hairpin RNAVector against Osteopontin Reduces Metastatic Potential of Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma In vitro and In vivo *Clin Cancer Res* 2006;12(4) 1308-1316.
- (55) Kadkol SS, Lin AY, Barak V, Kalickman I, Leach L, Valyi-Nagy K, Majumdar D, Setty S, Maniotis A J, Folberg R, Pe'er J. Osteopontin Expression and Serum Levels in Metastatic Uveal Melanoma — A Pilot Study *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006; 47(3): 802–806. 20
- (56) Guarino V, Faviana P, Salvatore G, Castellone MD, Cirafici A , De Falco V, Celetti A, Giannini R, Basolo F, Melillo RM, Santoro M. Osteopontin Is Overexpressed in Human Papillary Thyroid Carcinomas and Enhances Thyroid Carcinoma Cell Invasiveness. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*.2005 90(9):5270–5278.
- (57) Ponta et al, *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2003 Jan;4(1):33-45. Review.

【 図 1 】

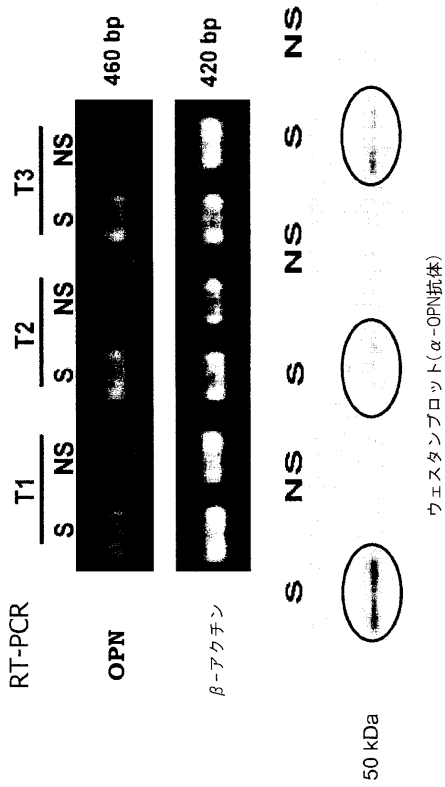


Figure 1

【 図 2 】

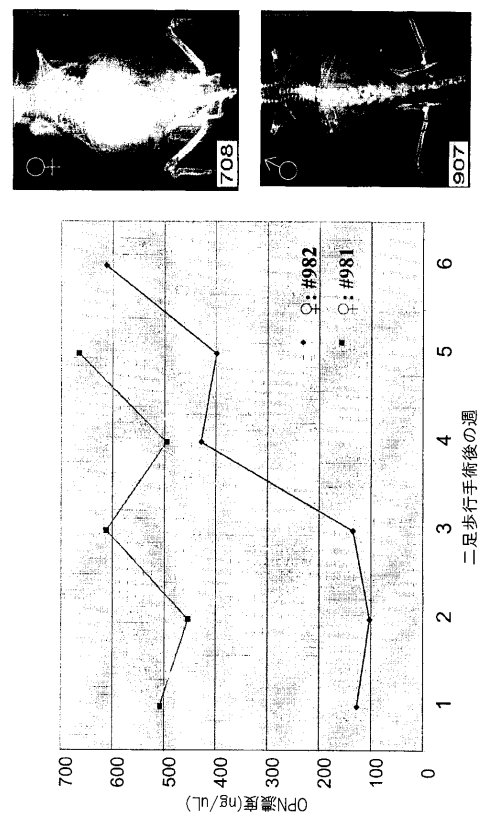
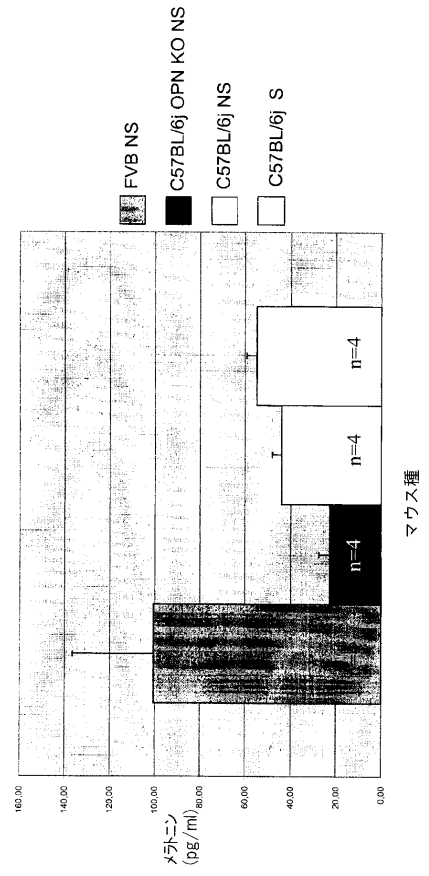


Figure 2

【 図 3 】



【 図 4 】

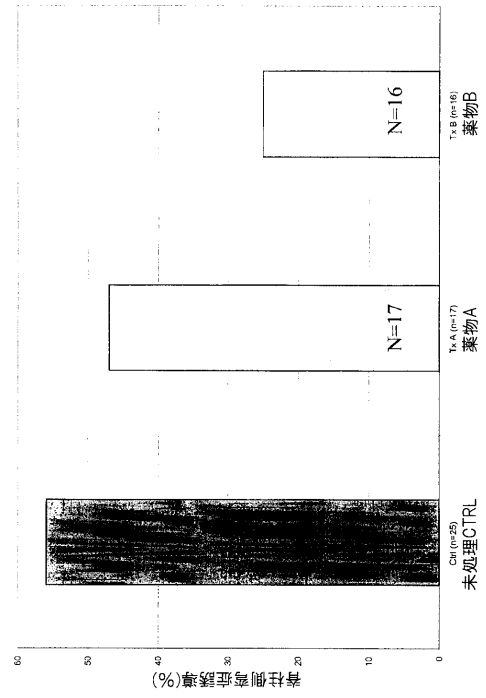


Figure 4

【 図 5 】

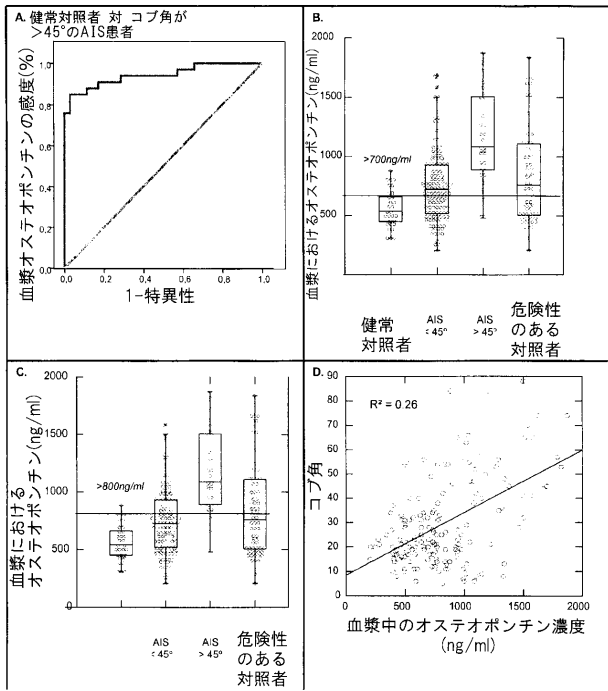
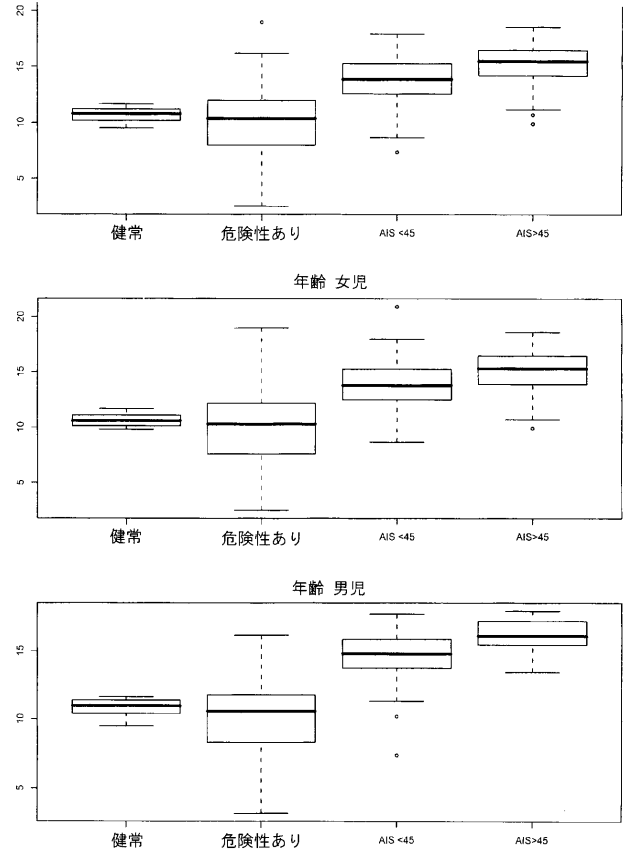


Figure 5

【 図 6 】



【 図 7 】

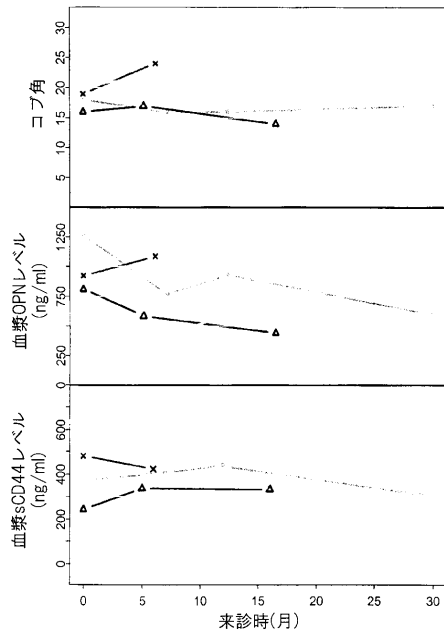


Figure 7

【 図 8 】

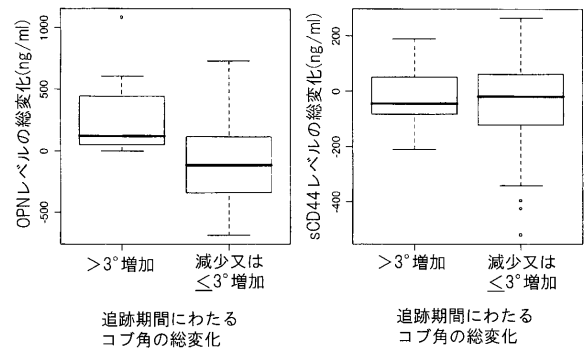
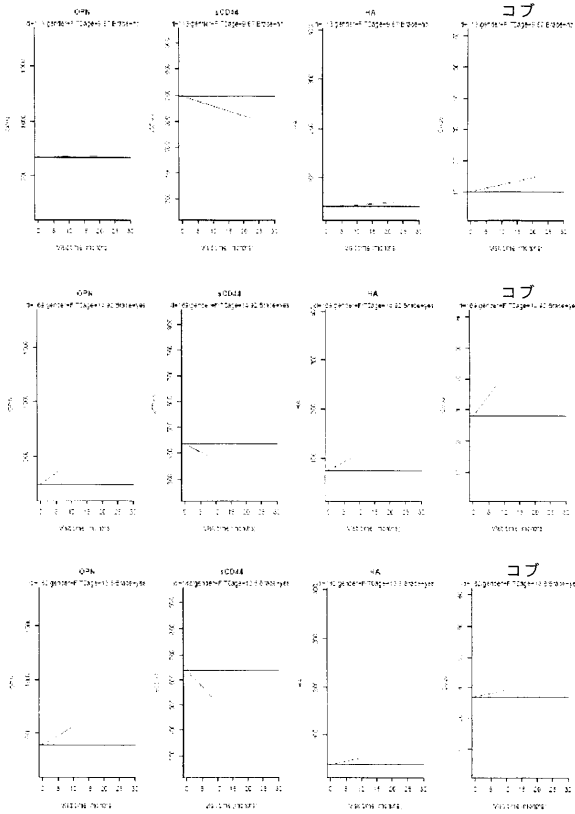
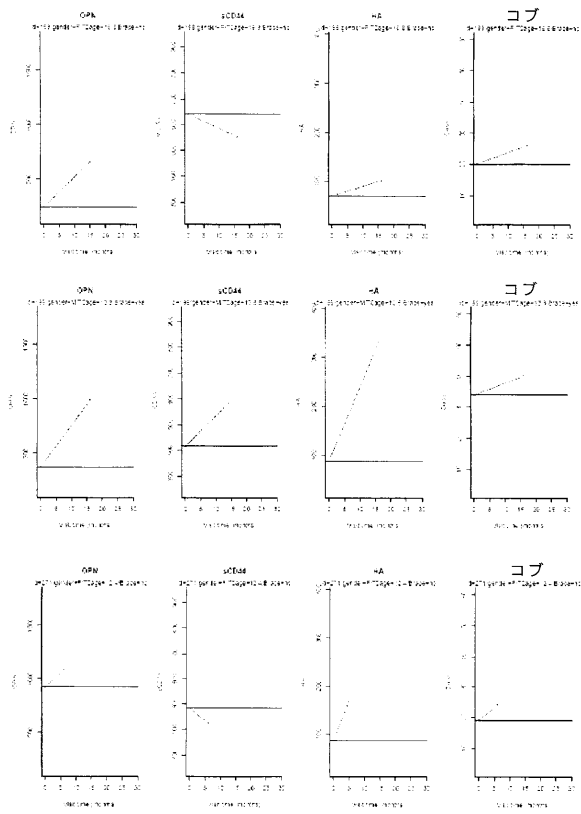


Figure 8

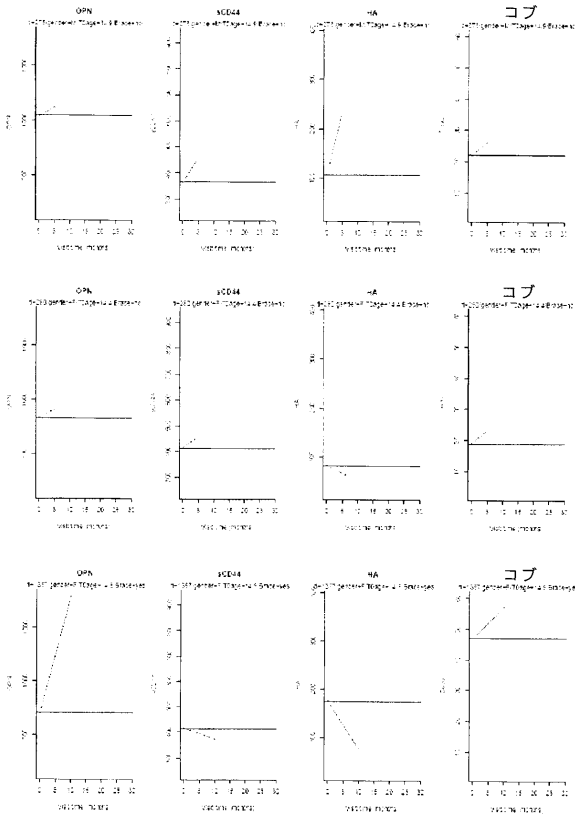
【図9A】



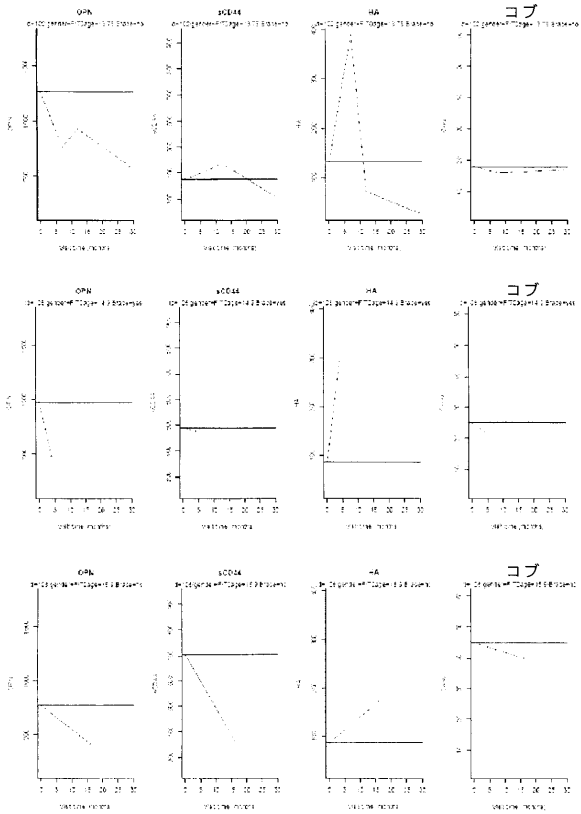
【図9B】



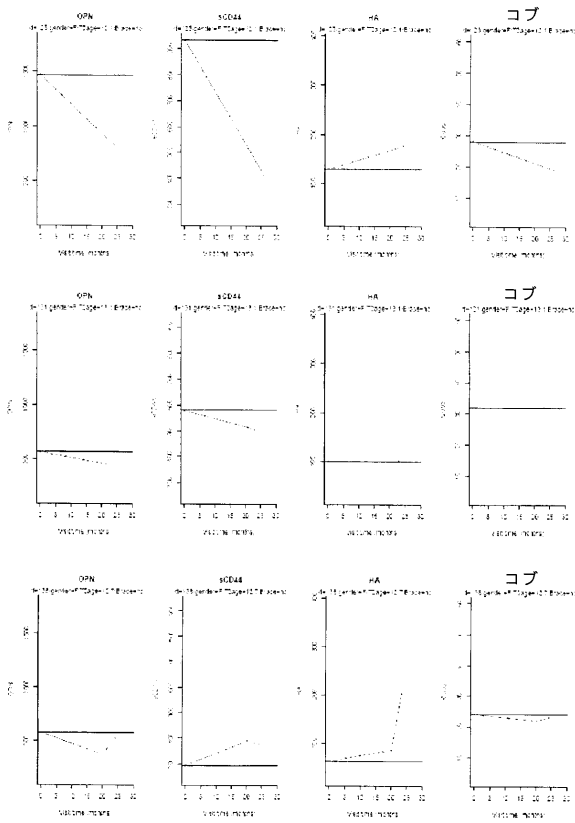
【図9C】



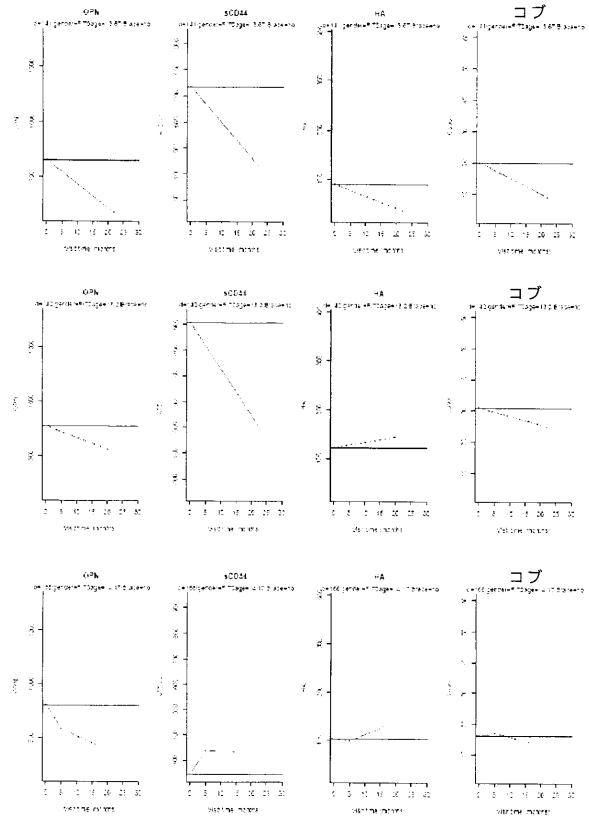
【図10A】



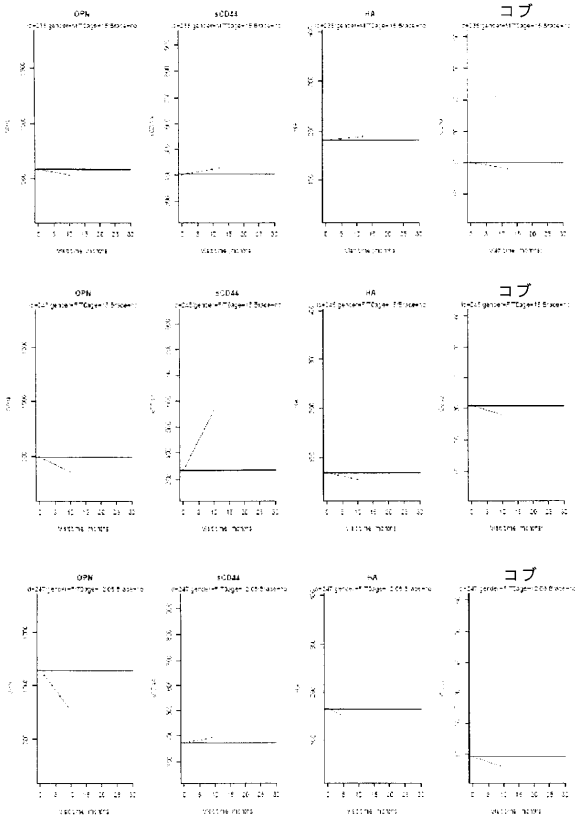
【図10B】



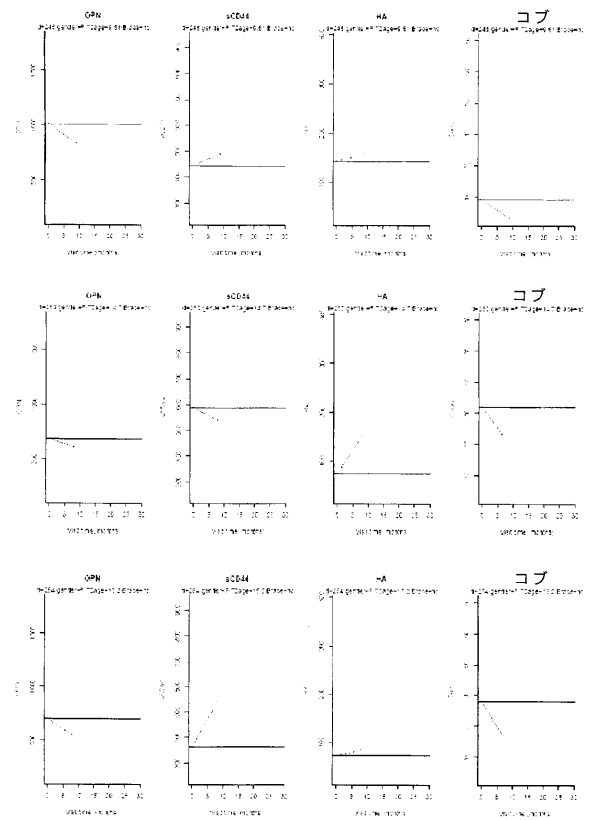
【図10C】



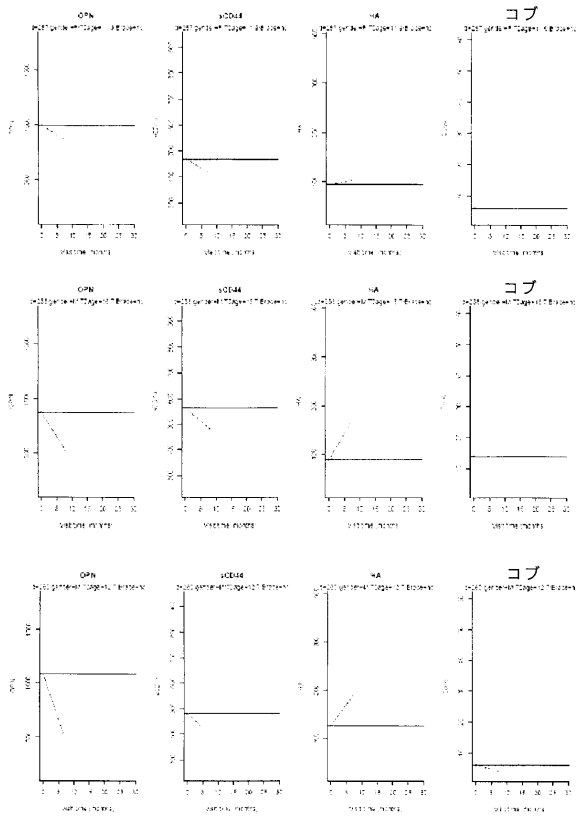
【図10D】



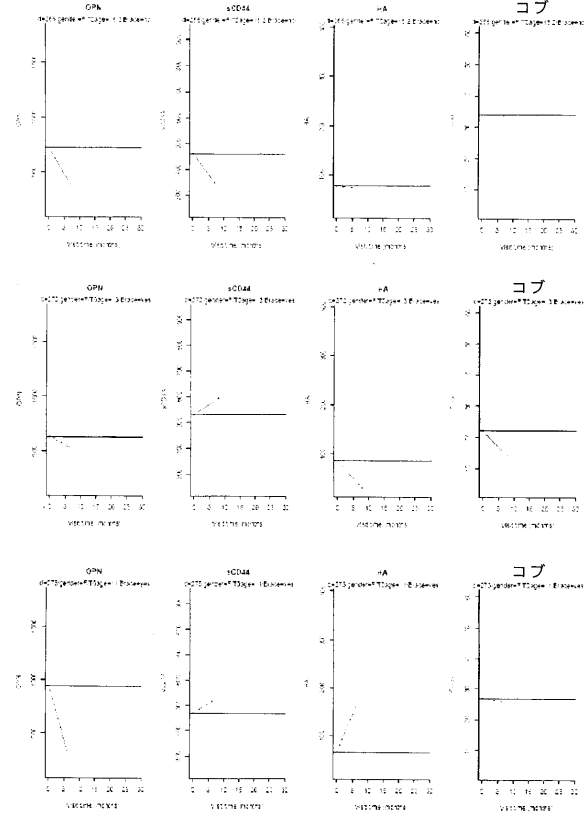
【図10E】



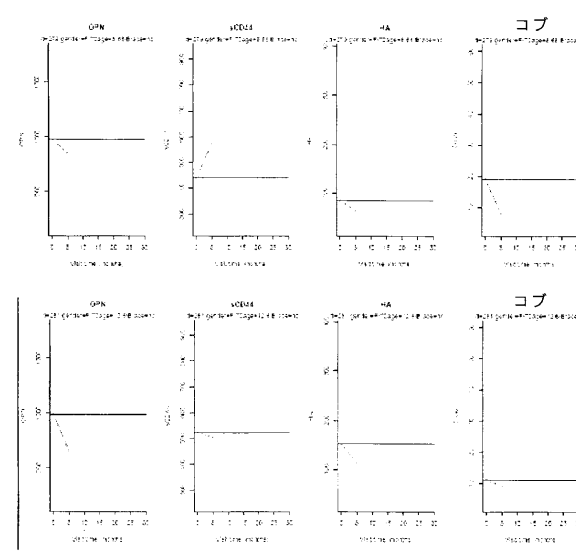
【図10F】



【図10G】



【図10H】



【図11】

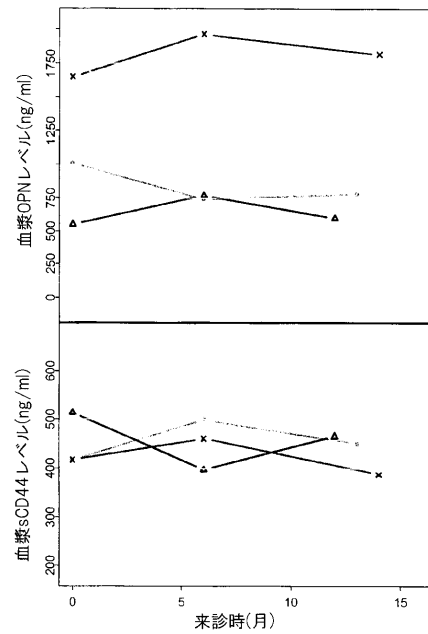
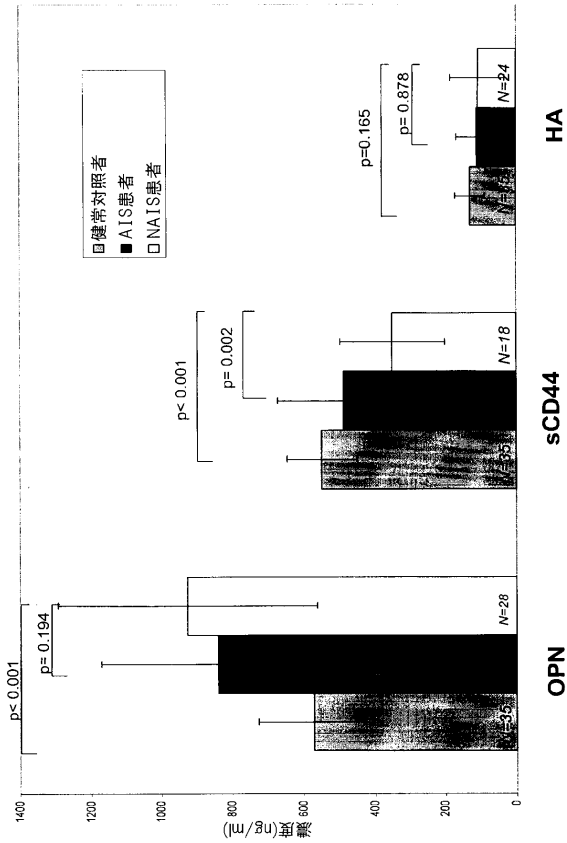


Figure 11

【 図 1 2 】



【 図 1 3 】

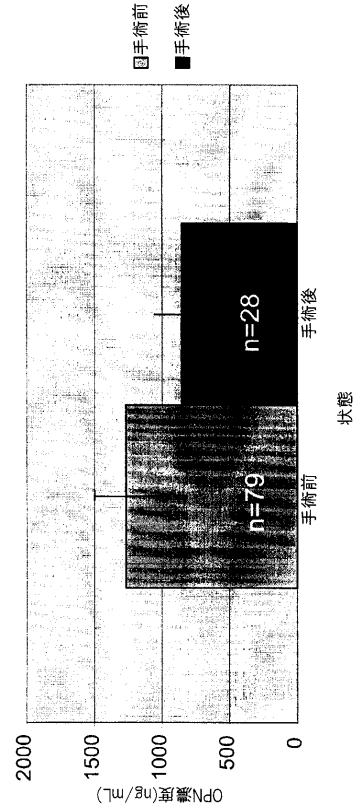


Figure 13

【 図 1 4 】

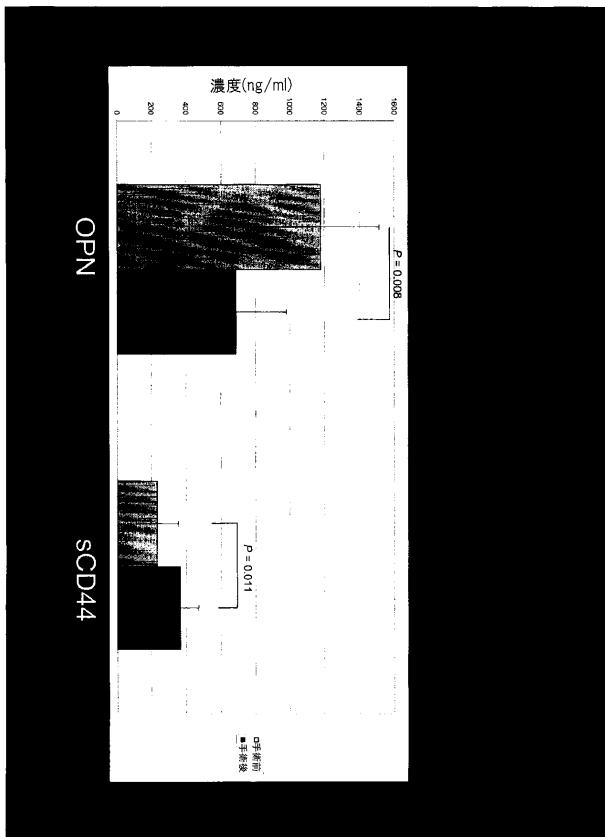


Figure 14

【 図 1 5 】

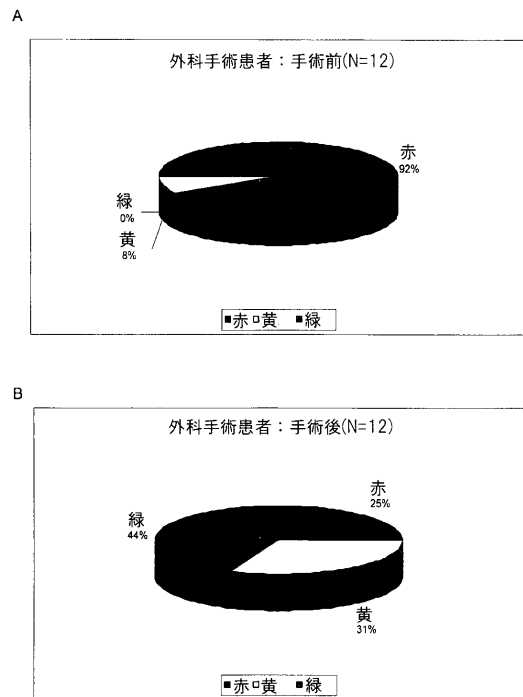


Figure 15

【 図 1 6 】

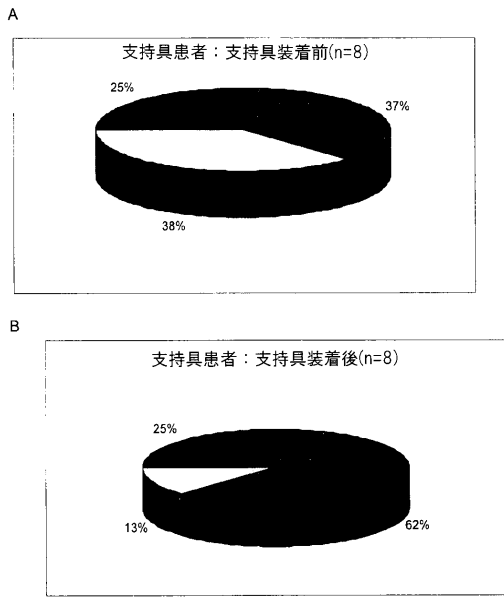


Figure 16

【 図 1 7 】

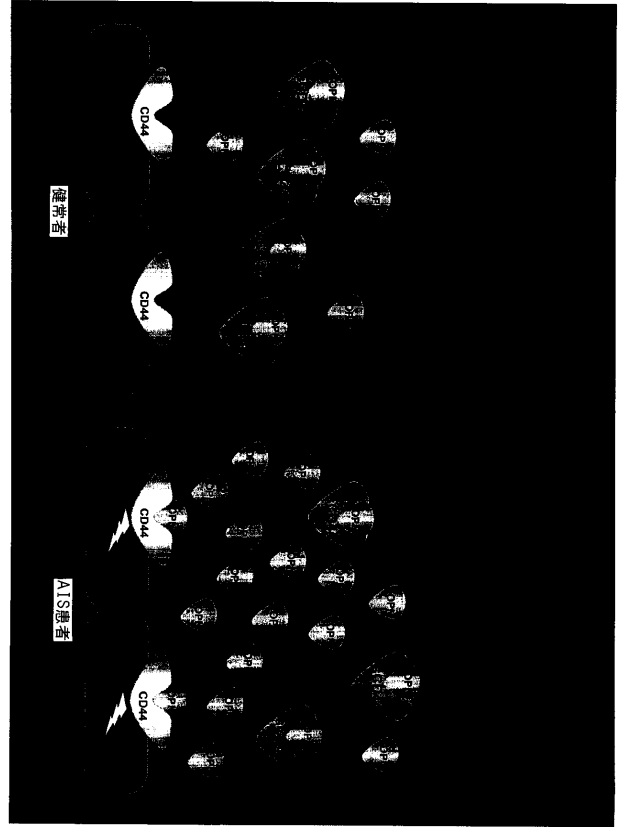


Figure 17

【 図 1 8 】

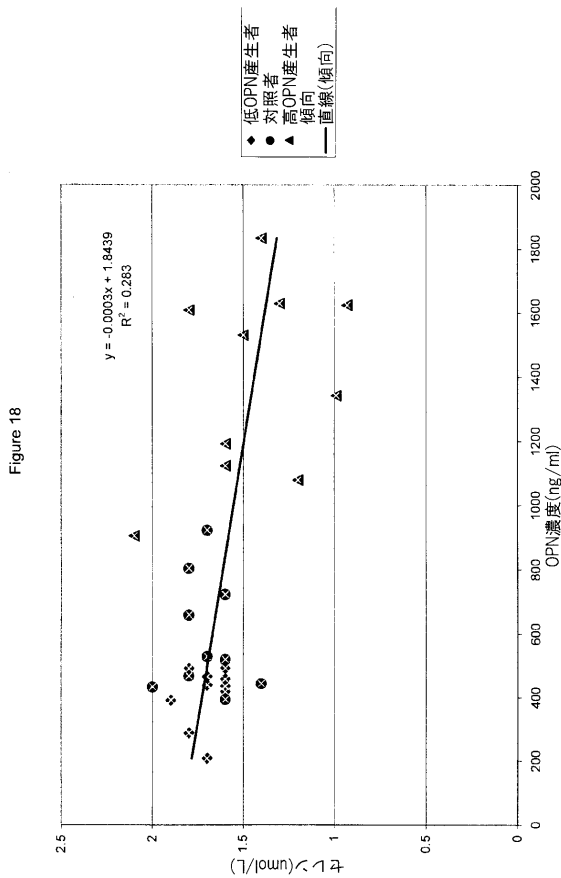


Figure 18

【 図 1 9 】

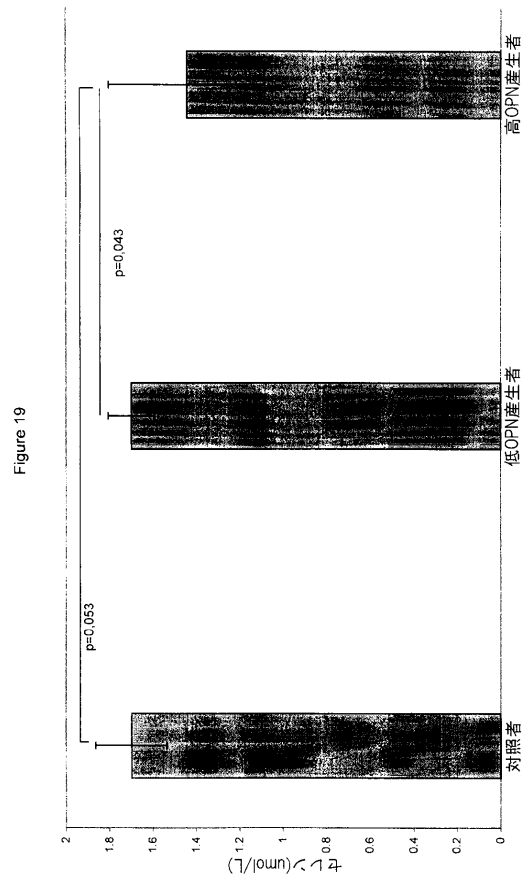


Figure 19

【 図 2 0 A 】

MM\_001040058 転写変異体1

1 ctccctgtgt tggtaggaga tgtctgcagc agcattttaa ttctgggagg gcttgggtgt
61 cagcagcagc aggaggaggc agagcacagc atcgtcgga ccaagactcgt ctcaggccag
121 ttgcagcctt ctcagccaaa cgcagacaaa gaaaactca ctacactgag aattgcagtg
181 atttgccttt gccctcagat cacaacctgt gccataccag ttaaacaggg tgattctgga
241 agttctgagg aaaaagagct ttacaacaaa taccagatg ctgtggccac atgcttaaac
301 cctgaccctc ctcagaagca gaattctoca gccccacaga atgtctgtct cctcgaagaa
361 accaatgact ttaaacaaaga gaccttoca agtaagtcca acgaaagcca tgaaccacatg
421 gatgatatgt atgatgaaga tgatgatgac catgtggaca gccaggaetc cactgactcg
481 aacgactctg atgatgaaga tgactctgat gatctcacc agtctgaaga gtctccaccat
541 tctgatgatc ctgatgaact ggtcactgat ttcccacagg aactgcagca aacgcaagtt
601 ttactctcag ttgtcccacc agtagacaca tatgatggcc gaggtagatg ttgtgtttat
661 ggaactgagt caaaaactaa gaagttctgc agacctgaca tccagtaacc tgatgtaca
721 gacgagaca tccactcaaca catggaagag gaggagtga atgtgtgata caaggccatc
781 ccgcttgccc agcactgaa cgcgctctct gatgggaca gcgctgggaa gacagattat
841 gaaacagctc agctggatga ccagagtgct gaaacccaca gccacaagca gtccagatta
901 taaagcggga aagccaatga tgagagcact gacgactcgc atgtgattga tagtcaggaa
961 cttcccaaaa tcaagcggta atccacagc catgaatttc acagcctaga apatatgctg
1021 gttctgagcc ccaaaagtaa ggaagaagat aaaaactcga aattctgat ttctatgaa
1081 ttgatagctg catctctcga ggtcaattaa aagagapaaa aatacaattt ctaacttgc
1141 atttatgtaa agaaaaaatt gctttatgac aaaaagag agacatgaa atgtctttt
1201 ctacgtttt tggttgaatg tgtatctatt: tgaagctgga aatacaattt gttttgata
1261 attagtttag ttgtggctt catggaagac cctctgaacc taaaagcttc aggtttatgt
1321 ctatgttcat tctatagaag aatgcgaacc taactcgtga ttttaaatat ttttattctc
1381 tcatgaaatg aaaaattatg aagaacaaa aaaaactttt taccactta aaaaagagat
1441 ataacatttt agtccactat aatcttttgc ttttaagtt agtctatatt tttgtgtgat
1501 tctctttctg tggtagaat aatcttttga tcttgaatg aataagaatt tggtagctc
1561 aattctttat tttttttccc acggtttgtcc agcaattaat aaaaataacc cttttttact
1621 gccataaaaa aaaaaaaa a

【 図 2 0 B 】

MM\_001040060 転写変異体3

1 ctccctgtgt tggtaggaga tgtctgcagc agcattttaa ttctgggagg gcttgggtgt
61 cagcagcagc aggaggaggc agagcacagc atcgtcgga ccaagactcgt ctcaggccag
121 ttgcagcctt ctcagccaaa cgcagacaaa cgcagacaaa ctacactgag aattgcagtg
181 atttgccttt gccctcagat cacaacctgt gccataccag ttaaacaggg tgattctgga
241 agttctgagg aaaaagagct ttacaacaaa taccagatg ctgtggccac atgcttaaac
301 cctgaccctc ctcagaagca gaattctoca gccccacaga atgtctgtct cctcgaagaa
361 accaatgact ttaaacaaaga gaccttoca agtaagtcca acgaaagcca tgaaccacatg
421 gatgatatgt atgatgaaga tgatgatgac catgtggaca gccaggaetc cactgactcg
481 aacgactctg atgatgaaga tgactctgat gatctcacc agtctgaaga gtctccaccat
541 tctgatgatc ctgatgaact ggtcactgat ttcccacagg aactgcagca aacgcaagtt
601 ttactctcag ttgtcccacc agtagacaca tatgatggcc gaggtagatg ttgtgtttat
661 ggaactgagt caaaaactaa gaagttctgc agacctgaca tccagtaacc tgatgtaca
721 gacgagaca tccactcaaca catggaagag gaggagtga atgtgtgata caaggccatc
781 ccgcttgccc agcactgaa cgcgctctct gatgggaca gcgctgggaa gacagattat
841 gaaacagctc agctggatga ccagagtgct gaaacccaca gccacaagca gtccagatta
901 taaagcggga aagccaatga tgagagcact gacgactcgc atgtgattga tagtcaggaa
961 cttcccaaaa tcaagcggta atccacagc catgaatttc acagcctaga apatatgctg
1021 gttctgagcc ccaaaagtaa ggaagaagat aaaaactcga aattctgat ttctatgaa
1081 ttgatagctg catctctcga ggtcaattaa aagagapaaa aatacaattt ctaacttgc
1141 atttatgtaa agaaaaaatt gctttatgac aaaaagag agacatgaa atgtctttt
1201 ctacgtttt tggttgaatg tgtatctatt: tgaagctgga aatacaattt gttttgata
1261 attagtttag ttgtggctt catggaagac cctctgaacc taaaagcttc aggtttatgt
1321 ctatgttcat tctatagaag aatgcgaacc taactcgtga ttttaaatat ttttattctc
1381 tcatgaaatg aaaaattatg aagaacaaa aaaaactttt taccactta aaaaagagat
1441 ataacatttt agtccactat aatcttttgc ttttaagtt agtctatatt tttgtgtgat
1501 tctctttctg tggtagaat aatcttttga tcttgaatg aataagaatt tggtagctc
1561 aattctttat tttttttccc acggtttgtcc agcaattaat aaaaataacc cttttttact
1621 gccataaaaa aaaaaaaa a

MM\_000582 転写変異体2

1 ctccctgtgt tggtaggaga tgtctgcagc agcattttaa ttctgggagg gcttgggtgt
61 cagcagcagc aggaggaggc agagcacagc atcgtcgga ccaagactcgt ctcaggccag
121 ttgcagcctt ctcagccaaa cgcagacaaa gaaaactca ctacactgag aattgcagtg
181 atttgccttt gccctcagat cacaacctgt gccataccag ttaaacaggg tgattctgga
241 agttctgagg aaaaagagct ttacaacaaa taccagatg ctgtggccac atgcttaaac
301 cctgaccctc ctcagaagca gaattctoca gccccacaga atgtctgtct cctcgaagaa
361 gaaagcctatg accactcaga tgatgatgac gatgaagatg atgatgaca tgtggacacg
421 caggactcca tgcactcaga cgaactctgat gatgatgatg acactgatga ttctcaccag
481 tctgatgatc ctcaacatc tgatgaatct gatgaactgg tcaactgatt tcccacggac
541 ctgcccagaa ccgaagtttt cactccagtt gtcccacag tagacacata tgatggcgca
601 ggtgatagtg tggttatagg actgaagctca aatctaaaga agttctgcag actgaaatc
661 cagtaacctg atgtcagca cgaagactc accctacaca tggaaagcga ggaagtgaat
721 ggtgatatac aggcctccc cgttcccag gacctgaagc cgcctctcga tgggacagc
781 cgtgggaagg accgattaga aacgactcag ctggatgacc agagtctga aacccacagc
841 caaacagct ccagattata taagcgaaa gccatgatg agagcaatga gcaattccagat
901 gtagtgata gtcagaact tccaaagtc agcctggaat tccacagca tgaattccac
961 agccatgag atatgctgtg tgtagacccc aaaaatagg aagaagata acactgaaa
1021 tttctgattt ctaatgaatt agatagctga tttctggagg tcaataaaa ggagaaaaaa
1081 tacaatttct cactttgat ttatgcaaaa gaaaaaatg tttatagcaa aatgaaagag
1141 aactgaaat gctttctct cagttatg tttgtagtg tctcaattg atcatttg agctgaaa
1201 taactaatg tttgtagaat tagttatgt tttgcttca tggaaactcc ctgtaacta
1261 aagcttcaag ggtttatgct atgttcaatc tatagaagaa atgcaaaact tcaactgatt
1321 ttaattatg tttattctc atgaatgaaa atttatgtag aagcaaaaa aataacttta
1381 cccacttaaa aagaagaat acatatttat gtaactataa tcttttggtt ttaagtaga
1441 tgatatttt ttgttgatta tcttttgg ttgtgataaa atcttttate tgaatgtaa
1501 taagaattg ttgtgtcag tctgatttt gttttcccag gttgtccag caaataaaa
1561 aacataacct ttttttact ctaaaaaaa aaaaaaaa aaaaaa

Figure 20

Figure 20 (Continued)

【 図 2 0 C 】

NP\_001035147 アイソフォームa

1 mriavicfl lqitcaipvk qadgsseek qlynkydav atwlnpdpsq knllapqna
61 vseeetndfk getlpskene shhdmdmdd edddhdvdsq dsidndsdv vddtdsdhgs
121 deshsdesd elvtdfpdl patevfpvpt ptvtdydrq dsvvyrlsr skkfrpdiq
181 ypdtdedit shmeseeing aykaelpvaq dlnapsdwr skdsyetsql ddqsaethsh
241 ksrlylrka ndeasnehsv idskelskvs refshshfhs hedmlvdpk skeedkhkfl
301 risheldsas sevn

NP\_000573 アイソフォームb

1 mriavicfl lqitcaipvk qadgsseek qlynkydav atwlnpdpsq knllapqtl
61 psksneshd mddmdeidd dhdvdsqid snsdvddvt ddsghdesd hedesdelvt
121 dfptdipate vtrvptvld tydrqdrsv yglrskskff rrpdiqppa tdeditshme
181 seelngayka ipvagdlnap sdwdrskds yetsqldgs aethshkgr lyrrkandes
241 nehsvdidsq eiskvarefh shfshshedm lvdvdpkskee dkhlkfrish eldsassevn

NP\_001035149 アイソフォームc

1 mriavicfl lqitcaipvk qadgsseek qnavsseen dfkqetlpsk sneshdmd
61 mddedddhdv dsqdsidnd sddvdduds hqsdeshsd esdelvtdfp tdlpatevft
121 pvvptvtdy drgdsvvyyl rskskfrpp diypdatde ditshmesee lngaykaipv
181 aqdlnapsdv dsrgkdsyevt sqlddgsaet hshkgrlyk rkandesneh sdvdsqels
241 kvarefshse fhshhedmlv dpkskeedkh lkfrisheld sasvevn

Figure 20 (Continued)

【 図 2 1 A 】

MM\_000610 転写変異体1

1 gagaagaag ccagtcgctc tctgggcgca ggggcccagt gggctcgag gcaacggcac
61 cccagcaaac tccagcttcc cgcagctcag tccctgcag cccgcatat ttaagctc
121 agcagcagc ggggcccggg cagaggggccc cgcctccggg gctctgact tcttaaaccc
181 tctgcggctg gttatgctac agccccctt gcttgggtgt gctcttctc cgtccctccc
241 cctcctctta ggtcactggt tcaacctcg aataaaaaat gacccaacc tccaggagc
301 cctcattgcc cagagcagcc cagctctgc caggtctggt ccgcatcct cgtccctccc
361 tcccccggcc cctgcctccc gccccaggt cctccagctc ctttgcctcc cgcctctcct
421 tegtctcga caccatggac aagttttggt ggcacagca ctgggactc tgcctctgct
481 cgttgagcct ggcagagatc gatttgaata taacctgccc ctttgaggt gttatccagc
541 tgggaaaaa tggcgtcac agctctctc ggaagagcc ccttgactc tgaaggctt
601 tcaatagac cttgcccaca atggcccaga tggagaaaga tttgacatc gattgagca
661 cctgacgta tgggttcaata gaaagggcag tgggtattc ccgattccc cccaactca
721 tctgtcagc aaaaacacaa ggggtgata tcttcaatc caaacacctc cagatgaca
781 catatgctt caatgcttca gctccactg aagaagattg taactagctc acagaactc
841 ccaatgctt tgatgacca ataccataa ctatgttaa ccgtaggagc acccgatg
901 tccagaagay agaatacaga acgaatctg aagacatca cctccagcc cactcgtgat
961 atgacgtgag cagcggctcc tccagtgaaa ggaagcagc ttcaggaggt taatcttt
1021 acactcttc tactgtcac cccatcccag acgaaagact tccctggatc accagaca
1081 cagacagat cctgtgacc actctgatga gcaactgct tacagcaact gagacagca
1141 ccaagggcga agaaactcgg gattggtttt catggtttt ttaccatcca gattcaaga
1201 atcatcttca caacaacaa caaatggctg gtaactctc taatcactc tcaagcct
1261 gggagcaaaa tgaagaanaa gaagatgaaa gagaacaga cctcaagttt tctgtgatg
1321 gcaattgta tgatgaagat ttatcttca gcaacttcc aaccaacca cggctcttg
1381 accacacaaa acagaaccag gactggacc atgtggaacc aagcattca aatcccggag
1441 tgcattctca gacaaccaca aggatgcty atgtagacag aatggcacc actgctat
1501 aaggaactg gaaccagaa gcaacacct cctctattca cagtagcat catgagga
1561 aagagccc acattctca agcaattcc aggaactcc tagtatca acgaaaaa
1621 cagctacca gaagaaacag tggtttggca acagatgga taaggatgat cgcacaaca
1681 caaagaaga ctccacttg aacacagga cagctgacg ctacgtcat accagcaca
1741 caatgcaag aagacaaca ccaagccagc aggcagctc ctgactgat ttctcaacc
1801 caatctaca ccccaggga caggttcat acgaaagaa aagatggt atgactcca
1861 gtaactgat aacgttccag cctactgaa atccaaacc aggtttggtg gaagatttg
1921 acaggagcag acctcttca atgacaacc agcagatga ttctcagag ttctcact
1981 cacatgaag ctggaaaga gataaagac atcccaacc tctactctg acatcaaga
2041 aagagagc actctcaac agcaattcc aggaactcc tagtatca acgaaaaa
2101 tactggaag ttataacct taltaaccac acagaagaa aagcaggacc ttaactcag
2161 gtaactcag taagactggg tctttggag ttaactcag tactgtgga gattcoca
2221 caatgctca tcttcttca tcaagagacc agacacatt ccaaccaggt ggggggtccc
2281 ataacactca tggatctgaa tcaagtgac actcaatgg gactcaagaa ggttggaga
2341 acacaacct tggctcata agcaccccc aattccaga atggctgat atcttggat
2401 cctcttggc cttgcttgg atcttggag ttgtctgc agtcaacag cgaagaaggt
2461 tggggcagaa gaaaaagcta tgatcaaca tgggcaatg agctgtggag gaacgaagc
2521 caagggctc caagggagc scagagact ctcagaaatg agctgatct gtagcaag
2581 agtctcaga aactccagc agtttata cagctgta cagctgta gacaagaac ctgcaaatg
2641 tggacatgaa gattgggtg taacacctac accattatc tggaaagaaa caaccttgg
2701 aaacataacc attacagga gctgggacac ttaacagatg caatgtcta ctgattctt
2761 catgcaaat ctttttagc ataaaattt ctactcttt tgtttttgt gttttgtct
2821 taaagctcag gtcccaattg taaaacagc atgtcttct gaattaggy cccaattat
2881 aatcagcag aattgtatc ttcactctc cactggag cctttctac ctgggtgtg
2941 ctatgagtg ctctcaaca aactcaaca tatgtctcc tgaatgcca ccttcccc
3001 accagtagg gactctccc aggttata agtctgtc cctggagaa aatgaa
3061 ggtccattt gccttccat agctaatc ctgggactg cttccactg aggtgggg
3121 tgggggtga ctagttaac atctcaac acccccctc agaattttc agatgctc
3181 tgggagcac caaaggggt agctattt ctgtatgaa actattatc tgytcttct
3241 aaaaataaaa cctggatca gtccttggat cagtataat ttttaagtt acttctcag
3301 agccaaaaa gggtttaaac gattcataa taatattct tactctctg atctccact
3361 ttgtctggt gattctcag ttctcaaac agcactgtc ggttcccac atgtatcag

Figure 21

【図 2 1 B】

3421 gaagagctga gaattgtaag gagactcttc taagtctca tctcagagac cctgagttcc
3481 cactcagacc cactcagcca aatctctatg aagccaagg agggcagcac tgtttttttt
3541 tttttttttt tttttttttt ttttgacat gtccaaagg ttccatctc gctctggact
3601 cagagtgtga agctgagagg ctccagcctc ttttatggt taatggccac ctgtttcttc
3661 ctgtgaaagg ctttgcaagg tcaactaaag tttgatgac ctgttatccc tggggcccta
3721 tttatagata gctgagccca tcaatgattc ccaaaaaaca tatgaaagtg ccttttgatg
3781 ttttacataa agagaagaag ccaatggaaa tgaagaagat tggcaaaagg gaaggatgat
3841 gccatgtaga tccgttttga cttcttttct gctgtatttg taaacttaaa cacaccagtg
3901 tctgtttctg atcagtttgc tattttagat gagttaagtg cctggggagc cctcctaaag
3961 gttcaaaagg tttccatcat tggatcttta tccaccagata ggcagtttta tgcctaaaca
4021 agagagctat gcttttatcc tctaaacctca talttttctcc cacttggcca gctcttttgc
4081 gcattttatc atcagtcagc gttgtccagt gctctataga ettcocaaag ctgttttgrca
4141 tagaagacct tgcattata agocaaagcc tctgtttaaa tggttatccc tttctggagg
4201 tctactctaa agacttttgg taactaaact tatgtgotta acagccaag ctctctcaag
4261 caaaaagcag aaagaagaag aaaaagctct gactaaatca gggctgggct lagacagagt
4321 tgatctgtag aatatttata aaggagctct gctcaacttc tgcactatcc ccaagctctg
4381 ctctcccttg tctacctctc cccctccctc tctccctcca ctcccccaca caatcttgaa
4441 aaacttctct tctgtctgt gaactcaat ggcagatccc attttcaag tctgtgattc
4501 ctttttattt tctttcaac ttgaagaaa ctggacatta ggccactatg tttgttattc
4561 gccactagtg tcaagtgcc tctgtttctc caagagattc cctgggtctg ccaagggccc
4621 agacagctcc actcaagctc tttactgtaa aagcaacaag ccaactcaag acaaggttca
4681 aaatggttac aaacagctct accgtctgcc ccaggsgaaa aggggtagtg atacaagctc
4741 catagccaga gatgttttcc cactcctctc agatattccc aaaaagggc tgaagacaga
4801 ggttatttcc aattttattt tggaaatata cacttttttc cttttatcc tgtttgattc
4861 ctctcacttg atatacctct gttttcaaga tagaataaag gggagcttag agcttctact
4921 ccttgcccat tgtcaacaga gactgagcca agctttcaca aacctgttca acattgtctg
4981 aagtttatgg atcaagatgt atttctactc cctgtatctc ccttgatctc ctctggaagc
5041 acagcttgac tacactgat ttttaacca gattttccgg tgcactgggc taagtctatt
5101 aaactgggtc tttataaaag taaaaggact acatttaatt attttgaaa gcaactcaag
5161 agctaaagat gtaattttt tgcgaatttg aaacttttgg tctctctgca agactctctc
5221 taaaattagc tctgattgaa aaactcaaaag agacaanaa cactctcgaa tccatattc
5281 aagccttgta gaattgctct tctcagcaga acctttccaa aagttttata ttgagattca
5341 taacaacacc aagaaatgat tttgtgacca acactctctc aactactgta tacaagagga
5401 gtaggagaga ggaacacttt gacttatctg gaaaagcaaa atgtacttaa gaataagaa
5461 aacatggctc atccactttc atctctctg tagcttttgg tgaattctg tttgtttgag
5521 ttttcaaga atagccactt gttactctct gtgctgaca atgcaacctg tttattgttg
5581 tttgactttt cagacacacc cctctctctc gtttttggat atttattgat ggtatcaata
5641 taatggagaa atgatgatgt gatatatgct ggttggaaa cacttatggg aaaaatttaa
5701 agggctaaac tttaaagatc aaagaaacaa gaaaaaaaa aaaaaaaa

Figure 21 (continued)

【図 2 1 C】

NM\_001001389 転写変異体2

1 gagaagaag ccaagtgcct tctggggcca ggggcccagtg gggctcgag gcaacggcac
61 ccccgacacc tccagttccc cccagcccag tccctggagc ccccgattat ttcaagctcc
121 agcagacacc gggggcgggg ccagagggcc cggcccggag gctctgact tcttaaaccc
181 tctggggctt gcttagctac agccccctct gcttgggtgt gctctctgct cgtctctccc
241 ctccgtctta ggtcactglt ttcaacctg ggtccactg gaactcaact tccagggagc
301 cctcattgac cagggagacc cagcccctgc caggtctggt ccgcctatct cgtcccccct
361 ccaatgctct tctctccag cctccaggat gcccaggat cctccagctc ctctccagct
421 tctctccgca caccatggac aagtttggg tggccagcagc ctggggactc tgcctgtgce
481 cgtctgactc ggcagcagat gatttgaata taactggcc cttctcaggt gttatccagc
541 tggagaaaaa tggctgctac agcatctccc ggcagggagc cgtctgactc tgaaggctt
601 tcaatagcac ctggcccaca atggcccaga tggagaaaag cctctgactc gttatgtaga
661 cctcgagcta tgggttcaata gaagggcaag tgggtatctc cctgactccc cccaactcca
721 tctgtgagc aaacaacaca ggggtgaca tctccactat caacaactcc cagtatgaca
781 caatttggct caatgctcca gctccactg aagaagttg tacatcagc acagacctgc
841 ccaatgctct tggtagaca attaccataa ctattgttaa caatgctctc cgtgtgagc
901 tccagaagag aagaatcaca agcatctctc aagactatc cccagcaaac cctactgatg
961 atgactgtag cagcggctcc tccagtgaag ggcagcagc ttaagaggtt tacattttt
1021 acacttttct tactgtacc cccatcccag acgaagcagc tctctggatc accagcaga
1081 cagacagaa cctctgacc agtactctt caaatagat cctcagagc tggagagcaa
1141 atgaagaaaa tgaagatgaa agagacagac accctcagtt tcttgatca gttatgtg
1201 atgatgaaga ttttatctcc agcacattt caaacacac accggcttct gacacaocaa
1261 aacaagaaca ggaactggac cagtgaaacc caagccttc aactccgaa gttgactctc
1321 agcaaacaca aagatgatct gatagaca gaattgagca gactgttact cactgttact
1381 ggaaccaga agcaacctct cccctcttc acctgagca cctcagagca aagagactcc
1441 cacattctac aagcaaacat caggcaactc ctagtatct aacagaaaga acagtctacc
1501 aagaagaaca tgggtttggc aacagatgac atgaggata ttcaagagta tcccaaaaag
1561 actccctc gacaacaggc acagctcgag cctcagctca taccagcact ccaatgcaag
1621 taggagcaac accaaagccc gaggacagt cctggactga tttcttcaac ccaactctcc
1681 acccaatggg acgaggtcat caagcagaa gaaggtgtg tttagctctc agtcatgata
1741 taacgctcca gctcactgca aatccaaaca cagtttggg gaagatttg gacagcagc
1801 gactctctc aatcagagca cagagagta attctcaag attctctaca tcaactgag
1861 gcttggaaag agataaagac catccaaaca ctctctactc gactacocag atagagatg
1921 atgctcagc tggagaaga gaccaaacat attctgaag ttaactactc ttaactgag
1981 gttatacctc tcaatccca cacagcaag aagcagagc ctctccoca gtactccga
2041 ctaaagctgg gtcctttgga gttactgag ttaactgag agattccaa ttaactgtca
2101 atctgtctct atcaggagac caagcacact tccaccagc tgggggctcc cataccctc
2161 atgactgata atcagatgga cactcaactg ggaatgaga aactcagaca aacaaactc
2221 cgtgtctact aaggaacacc caaattccag aatgggtgat catcttggca tccctctg
2281 ggtcccaatt gtaaaaacag catgctcttc tgaattagg gcccaattaa taactcagaa
2341 aagaagaact agtgatcaca agtgcgaatg agtgcgctga gactgtgga gcaacagaa
2401 tcaacggaga ggcagcagat tctcagaaa tggttgattt gttgacagac gactgtctgac
2461 aaactccaga ccaagtttat acagctgatg acaacagaa ccaactgag gttgacatg
2521 agattgggtg gtaacacctc caccattatc ttgaaagaa acacagcttg gaaactaac
2581 caatacaggc agctgggaca cttaacagat gcaatgtct actgattgtt tcaattgcaa
2641 tctttttctg cataaaattt tctactcttt ttgttttttg ttgtttgttc tttaaagta
2701 ggtcccaatt gtaaaaacag catgctcttc tgaattagg gcccaattaa taactcagaa
2761 gaattttctc gttttcttgc ccaactgctc caactctgct cctgggtgtg gttatgag
2821 gttetaaca aaaaactcac atatgtatc ttgatgcaca accttctccc caccagtaa
2881 ggaactttcc cagggttaat agggctggtc cctctggagc aaatttgaat ggtctcaatt
2941 tgccttcca tagcttaact cctgggactc gcttccact aggttggggg gttgggggtg
3001 actagttaca catcttcaac agaccctcc tagaaaattt tcaatgctc ctggagaca
3061 cccaagggg gaagctattt atctgtaga aactattat ctgtttttt gaaatataa
3121 accctggatc agtcccttga tcaatataa tttttaaagt tttttgtca gttgcaaaa
3181 aggttctaaa ctgatcaca ataaactctc gtaactcttc gatctccacc tttgtgtctg
3241 tgaattctca gttctcaaa accagctctc tgggtctctc caagtctctc ggaatgagc
3301 agaatgttaa ggaactactc cttaagctct atccagaga cctctgatct ccaactcagc
3361 ccaactagcc aaactctagc gaagcaaac gaggggcaga ctgtttttgt tttttgttt

Figure 21 (continued)

【図 2 1 D】

3421 tttttttttt tttttgacac tgtccaaagg ttttccatcc tgcctggaa tcaagattgg
3481 aagctgagga gcttccagct cttttatggt ttaaaggcca cctgtttctc cctgtaaag
3541 gctttgcaaa gctacatata ttttgaatga cctgttatcc ctggggccct atttcaata
3601 ggtctggccct attagtgatc tcoaaaaaca atatgaaagt cctttttgat gcttcaaat
3661 agagaagaaga gccactagaa atgaagaaga ttggcaaaag ggaagatgga tgcctgtag
3721 atctctcttg acatttttat gctgtattt gtaaacctaa acacacagct ctgtttttt
3781 gatcagtttg ctattttaga tgggttaagt cctggggagc tccctcaaaa ggttaaaagg
3841 attccactca tggaaattct atccacagat agccaagttt atgcaaaaac aagagagatc
3901 tggcttttate cctcaacctc atabtttttc ccaetltgcca agctcttgg ggcattttt
3961 caccagtoag ggttccogat tggctctaga acttccaaag cgtctgtctc atagaagcca
4021 ttgcatctat aagccaagcc cctgtattaa atgttatctc cttctctggc ctctactaa
4081 aagctatttg ttaactaaac ttatgtctct acagccaat gcttctcaga ccaacaaga
4141 gaagaagaaga gaaaagctcc tgcactaaat agggctgggc ttagacagag ttgactgta
4201 gaatatcttt taacagagaga tccactctct ctgcaactat cccagcctct gctctctctc
4261 gctcaccctc tccctccctc ctctccctcc acttccacc caactcttga aaacttctc
4321 tctctctctg tgaactatct tggccagatc agctttcaag ggtctggatt tcttttttt
4381 tctctttcaa cttgaaagaa actgcaaatc aggccactat gttgttttac tgcactagt
4441 gttcaagctc cctttttt cccagagat tctgggttct ccagagggcc cagacagctc
4501 cactcaagct ctctactgta agaaacaaa gccaactcag gacaaggttc aaaaagtta
4561 caacagctcc cactctgcc cccagggaga aagggtagt gatacaagtc tcatgcccag
4621 agatgttttc caactctcc tagatattcc caaaaaggg ctgagaagg aggttatitt
4681 caattttatc ttggaaclaa atabtttttc ccttttata ctgtttagt cctcaacttg
4741 gatatactc ttttttccag atagaataaa gggaggtcta gactctat tccctgacca
4801 ttgtcaacgg agagctggcc agtctttacc aaactctgca aactctctc gaagtttag
4861 gaataagatg tattctccc cctctgatct caagggcga actctggaag cacagttgta
4921 ctacacgtrca tttttccaa tggattttag gtgactctgg caagtctat taaactgtt
4981 ctttataaaa gtaaaaagcc acaatttaat tattttgcaa agcaactcaa gactaaaga
5041 tgaatatttt ctgcaaatg taaactcttt ggtctctctg aagactctcc ttaaaatgag
5101 ctctgagtga aaaaacaaa gagacaaaag acatcttcca atccatatt ccaagctgtg
5161 agaatlyctc ttctagcag aactcttcca aaagtttat atacagagc agtaggagag
5221 caagaattga tttgtagcc acaattcaat caatactggt atacagagc agtaggagag
5281 aggaacactt tgaattatct ggaagaagca atgtactta agaaacagaa taaactggtc
5341 cactcaactt tagttatct atatgtcttt ggttaactca tttgtttgca gttttcaag
5401 atagcccaat tgttctctct ggtgtttgta atgaccaact gttattgta ctttgaatt
5461 tcaagacaca cctctctctc gcttttga taattattga ttgactcaata ataaagctc
5521 aagcatgata ttcatatgct tggatttaaa gcaactattg gaaaattata aaaggctaac
5581 attaaaagac taaaagaaac agaaaaaaa aaaaaaaa

Figure 21 (continued)

【図 2 1 E】

NM\_001001390 転写変異体3

1 gagaagaag ccaagtgcct tctggggcca ggggcccagtg gggctcgag gcaacggcac
61 ccccgacacc tccagttccc cccagcccag tccctggagc ccccgattat ttcaagctcc
121 agcagacacc gggggcgggg ccagagggcc cggcccggag gctctgact tcttaaaccc
181 tctggggctt gcttagctac agccccctct gcttgggtgt gctctctgct cgtctctccc
241 ctccgtctta ggtcactglt ttcaacctg ggtccactg gaactcaact tccagggagc
301 cctcattgac cagggagacc cagcccctgc caggtctggt ccgcctatct cgtcccccct
361 tctctccgca caccatggac aagtttggg tggccagcagc ctggggactc tgcctgtgce
421 tctctccgca caccatggac aagtttggg tggccagcagc ctggggactc tgcctgtgce
481 cgtctgactc ggcagcagat gatttgaata taactggcc cttctcaggt gttatccagc
541 tggagaaaaa tggctgctac agcatctccc ggcagggagc cgtctgactc tgaaggctt
601 tcaatagcac ctggcccaca atggcccaga tggagaaaag cctctgactc gttatgtaga
661 cctcgagcta tgggttcaata gaagggcaag tgggtatctc cctgactccc cccaactcca
721 tctgtgagc aaacaacaca ggggtgaca tctccactat caacaactcc cagtatgaca
781 caatttggct caatgctcca gctccactg aagaagttg tacatcagc acagacctgc
841 ccaatgctct tggtagaca attaccataa ctattgttaa caatgctctc cgtgtgagc
901 tccagaagag aagaatcaca agcatctctc aagactatc cccagcaaac cctactgatg
961 atgactgtag cagcggctcc tccagtgaag ggcagcagc ttaagaggtt tacattttt
1021 acacttttct tactgtacc cccatcccag acgaagcagc tctctggatc accagcaga
1081 cagacagaa cctctgacc aatagactc accatcatg taaagctct cagctctagc
1141 caaatccaaa cacaggtttg tggagaagat tggacagag accccctctc tcaatgaaa
1201 ccagcagagc taattctcag agctttctca catcacatga aggttggaa gaagataag
1261 aactcccaa aacttctact ctgcaatcaa gaaatgcaa tgaigtcaa gttggaaga
1321 gagaactaaa tcaactcaga ggtcacaact cttaactgga aggttatac tctctatcc
1381 caacaagaa ggaagcagc accctctacc cagtgaactc agtcaagctc tttgactgtg
1441 gacttctg cctactgtgt ggaattctca actctgactc cctctgactc cctctctgct
1501 caagacac atccaccoc agtggggggt ccaataccc ctctgtactt gaatgactg
1561 gactcctca tggagctcaa gaaggtggag caaacacac tctgtctctc atagaacac
1621 ccaaatccc agaatggctg atactctggt cacctctctc gctctctgct ttgatcttg
1681 cagtttgcat tgcagtcaac agtcaagaa ggttgggca gaagaaaaag ctagtatca
1741 acagtgcaa tgaagctgtg gaggacaga agccaagtg agctcaagca gaggccaga
1801 agtctcaaga aatggtgcat ttggtgaaa agagatctc agaaactcc aagacttita
1861 tgaagctgga tgaagaagg aactcaga atgtggactc gaacttggg gttgaaccc
1921 caactataa tttggagag aaaaaccgt tggaaaaatc aagactcag ggaagctggg
1981 caactaacag atcagattg ctactgtatg tctactggc aatctctc actcaaaaat
2041 tttctactct tttgtttt ttgtttttgt tttttaaag cagctcaact tttgaaact
2101 agcaattgct tctgaataa gggcccact aataaccag aagaattgga tcttccagc
2161 tcccactgg aggccttcca tccctgggtg gttgatgatc tggcttcaa caaaactac
2221 acatagtat tctgtatgc caactctcc caaccctcc cccaccagc aggaactctc accaggtta
2281 atgggctgt gtcctggga gaaatttga atgggtctat ttgctctc catagctaa
2341 tccctgggca tgccttcca ctgagttgg ggttgggggt ggtctagta cacacttca
2401 acagaccccc ttagaaatt tttcagatg ctttgggaga cccaacagg gttagactat
2461 ttatctgtag taactattt atctgtgtt ttgaaattat aaaaactcc taagctctct
2521 gatcagata attttcaa gtaactttc caggggaca aaggggtta aactgactca cactttca
2581 taataaat ctgtactct tgcatttca aaaaacaca cctttgtg tttgtattc aagagactc
2641 accagactc tctggctccc taactgtat caggaagagc tgaagattg tttttttg
2701 tctaatgct tcaatcaga gacctgagt tccactcag accactcag ccaacttca
2761 tggagacca aggagggcag cactgtttt gttttttgt tttttttt tttttttg
2821 actgcccaca gtttttccat cctgtctgag aatcagagt ggaagctgag gaggctcag
2881 ccttttatg ttttaagtc caactgtct cctctgtgaa aggcttga agctcaact
2941 aagtttcat gactgttat cctggggccc ctatttca gaggctgc ctattagta
3001 ttccaaaaa caatatgaa gtccttttg atgtcttca atagaaga aagccaaagg
3061 aataaaga gatgggca gggaaagat gatcgtgtc caggggca atgactgtc gtaatttg
3121 atggcttat ttgttaact aaaaacaca cctgtgtc atgactgtc tttgtattc
3181 gatgattaa gtctctggg agtcccaag aggttaag gatttcaat cactggaatc
3241 ttatccacc atagccaag ttatgaaa caaagagat atgcttcta tctctaac
3301 tcaatattt tcccactgg caagctctt gggcattt tcaactgc aggggtccc

Figure 21 (continued)

【 図 2 1 F 】

3361 attgttctca gaacttccaa aggetctctg tcatagaag cattgcatct ataaagaac

NM\_001001391 転写変異体4

1 gagaagaag ccagtcgctc tctgggcga gggccagtg gggctggag gcaacggac

Figure 21 (Continued)

【 図 2 1 G 】

1621 tgcgaatctt ttttgacata aaattttcta ccttttttgt ttttttggtt ttgttttta

Figure 21 (Continued)

【 図 2 1 H 】

NM\_001001392 転写変異体5

1 gagaagaag ccagtcgctc tctgggcga gggccagtg gggctggag gcaacggac

Figure 21 (continued)

【 図 2 1 I 】

3421 caattgtaaa ttttttgtgt cctctgaaga cttcccttaa aattagctct gaggtaaaaa

x62739 腫瘍細胞で確認されたアイソフォーム

1 tctgctcttc aaatccatc tccagcaggt gggagccaaa tgaagaanaa gaagatgaaa

Figure 21 (continued)

Figure 21 (continued)

【 図 2 1 J 】

NP\_000601 アイソフォーム1前駆体

1 mdkfwwhaaw glclvplsla qidlnitrcf agvfhvekng rysisrteaa dlckafnstl
61 ptmaqmekal sigfetcryg fieghvviplr ihpnsciaan ntgvyltsn tsqydtycfn
121 asappeeduct svtdlpnafd gpititivnr dgtryvqkge yrtmpediyp snptdddvs

NP\_001001389 アイソフォーム2前駆体

1 mdkfwwhaaw glclvplsla qidlnitrcf agvfhvekng rysisrteaa dlckafnstl
61 ptmaqmekal sigfetcryg fieghvviplr ihpnsciaan ntgvyltsn tsqydtycfn
121 asappeeduct svtdlpnafd gpititivnr dgtryvqkge yrtmpediyp snptdddvs

NP\_001001390 アイソフォーム3前駆体

1 mdkfwwhaaw glclvplsla qidlnitrcf agvfhvekng rysisrteaa dlckafnstl
61 ptmaqmekal sigfetcryg fieghvviplr ihpnsciaan ntgvyltsn tsqydtycfn
121 asappeeduct svtdlpnafd gpititivnr dgtryvqkge yrtmpediyp snptdddvs

Figure 21 (continued)

【 図 2 1 K 】

NP\_001001391 アイソフォーム4前駆体

1 mdkfwwhaaw glclvplsla qidlnitrcf agvfhvekng rysisrteaa dlckafnstl
61 ptmaqmekal sigfetcryg fieghvviplr ihpnsciaan ntgvyltsn tsqydtycfn
121 asappeeduct svtdlpnafd gpititivnr dgtryvqkge yrtmpediyp snptdddvs

NP\_001001392 アイソフォーム5前駆体

1 mdkfwwhaaw glclvplsla qidlnitrcf agvfhvekng rysisrteaa dlckafnstl
61 ptmaqmekal sigfetcslh csqskkwa eekasdqwq wscgggkawk tqrrggqvsg
121 ngafgeggvv rnarpyvds

CAA44602 腫瘍細胞で確認されたアイソフォーム

1 tssntisagw epneeneder drhlsfsgsg iddeddfiss tisttprafd htknqndwtq
61 wnpshsnpev llqtttrmd vdrngttaye gnwpeahpp lihheheee ephststiq
121 atpsstteet atqkeqfwn rhweygrtp redshstgt aasahstshp mgqstpspe

Figure 21 (continued)

【 図 2 2 A - B 】

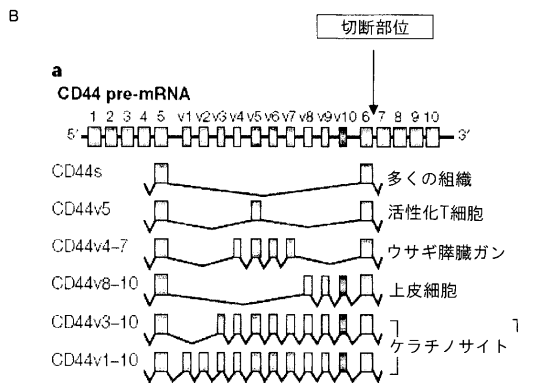
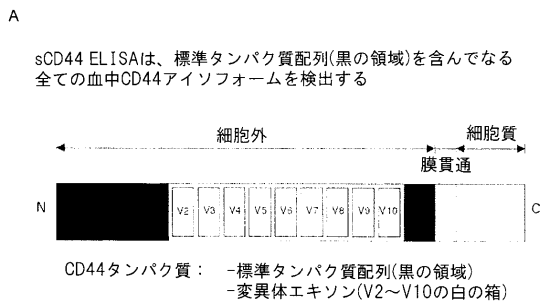


Figure 22

【 図 2 2 C 】

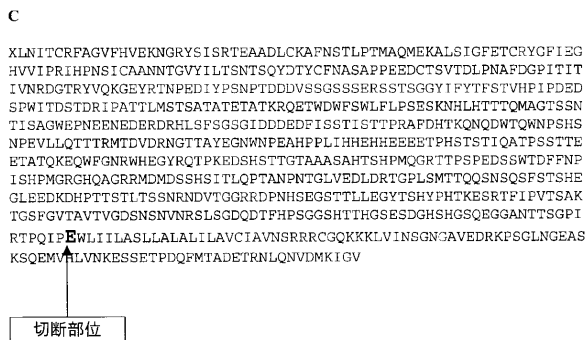


Figure 22 (Continued)

【配列表】

2010522699000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/CA2008/000595
----------------------------------------------------

<p><b>Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of the first sheet)</b></p> <p>This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons :</p> <p>1. <input checked="" type="checkbox"/> Claim Nos. : 31-34 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely :</p> <p>Claims 31-34 are directed to a method of medical treatment of the human or animal body by surgery or therapy which the International Search Authority is not required to search.</p> <p>2. <input type="checkbox"/> Claim 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 :</p> <p>3. <input type="checkbox"/> Claim Nos. : because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).</p>
<p><b>Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)</b></p> <p>This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows :</p> <p>see extra sheet</p> <p>1. <input checked="" type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.</p> <p>2. <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.</p> <p>3. <input type="checkbox"/> 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 claim Nos. :</p> <p>4. <input type="checkbox"/> 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 claim Nos. :</p> <p><b>Remark on Protest</b> <input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.</p> <p><input type="checkbox"/> 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.</p> <p><input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.</p>

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CA2008/000595

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: <i>G01N 33/53</i> (2006.01), <i>A61K 33/04</i> (2006.01), <i>A61K 45/00</i> (2006.01), <i>A61P 19/08</i> (2006.01), <i>C12Q 1/68</i> (2006.01), <i>G01N 33/543</i> (2006.01) (more IPCs on the last page) 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) <i>G01N 33/53</i> (2006.01), <i>A61K 33/04</i> (2006.01), <i>A61K 45/00</i> (2006.01), <i>A61P 19/08</i> (2006.01), <i>C12Q 1/68</i> (2006.01), <i>G01N 33/543</i> (2006.01), <i>G01N 33/68</i> (2006.01), <i>C07K 14/52</i> (2006.01), <i>C07K 14/705</i> (2006.01), <i>C12Q 1/00</i> (2006.01)		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used) CPD, Derwent, Scopus, PubMed, Google search terms: scoliosis, osteopontin, bone sialoprotein, secreted phosphoprotein, early T-lymphocyte activation, Eta-1, minopontin, CD44, soluble		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MOR, G. et al. 'Serum protein markers for early detection of ovarian cancer' PNAS (2005) vol. 102, no. 21, pages 7677-7682, see especially p. 7679.	48
A	US 2005/0130250 A1 (MOREAU, A.) 16 Jun 2005 (16-06-2005) *Whole document*	1-49
A	BERTRAM, H. et al. 'Accelerated intervertebral disc degeneration in scoliosis versus physiological ageing develops against a background of enhanced anabolic gene expression' BIOCHEM. BIOPHYS. RES. COMM. (2006) vol. 342, pages 963-972, see entire document.	1-49
<input 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:	"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	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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	
"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)	"&" document member of the same patent family	
"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		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
03 July 2008 (03-07-2008)	18 July 2008 (18-07-2008)	
Name and mailing address of the ISA/CA Canadian Intellectual Property Office Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT 50 Victoria Street Gatineau, Quebec K1A 0C9 Facsimile No.: 001-819-953-2476	Authorized officer  Kathryn Moore 819-934-9088	

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family membersInternational application No.  
**PCT/CA2008/000595**

Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date
US2005130250	16-06-2005	AT385574T T	15-02-2008
		AU2003208204 A1	09-09-2003
		CA2373854 A1	28-08-2003
		DE60318987D D1	20-03-2008
		DK1478928T T3	19-05-2008
		EP1478928 A1	24-11-2004
		ES2298498T T3	16-05-2008
		WO03073102 A1	04-09-2003

---

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**International application No.  
**PCT/CA2008/000595**

Continuation of Box No. III

The claims are directed to a plurality of inventive concepts as follows:

Group A - Claims 1-27, 48, 49 (completely); 35-37 (partially) are directed to methods for determining risk of developing a scoliosis comprising measuring osteopontin expression.

Group B - Claims 28, 38, 41, 42 (completely); 30, 35-37, 47 (partially) are directed to a method of selecting as a potential candidate for reduction or prevention of scoliosis an inhibitor of osteopontin expression, and use of an osteopontin inhibitor for the treatment or prevention of scoliosis.

Group C - Claims 29, 40, 45, 46 (completely); 30, 35-37, 47 (partially) are directed to a method of selecting as a potential candidate for reduction or prevention of scoliosis a stimulator of sCD44 expression, and use of a sCD44 stimulator for the treatment or prevention of scoliosis.

Group D - Claims 39, 43, 44 (completely); 47 (partially) are directed to the use of a CD44 inhibitor for the treatment or prevention of scoliosis.

The claims must be limited to one inventive concept as set out in Rule 13 of the PCT.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.  
PCT/CA2008/000595

*G01N 33/68* (2006.01), *C07K 14/52* (2006.01), *C07K 14/705* (2006.01), *C12Q 1/00* (2006.01)

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
<b>G 0 1 N 33/53 (2006.01)</b>		G 0 1 N 33/53		D
<b>G 0 1 N 33/543 (2006.01)</b>		G 0 1 N 33/543	5 4 5 A	

(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, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, 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, AO, 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

(74)代理人 100141977  
弁理士 中島 勝

(74)代理人 100160727  
弁理士 石津 縁

(72)発明者 モロー, アレン  
カナダ国, アッシュ1ア 5テ5 ケベック, モンリアル, ジュール - ウオ 3 4 8 9

Fターム(参考) 4C084 AA17 MA52 NA14 ZA962 ZC022  
4C085 HH20 KA03 KB82 LL20  
4C086 AA01 AA02 HA08 MA02 MA04 MA52 NA14 ZA96 ZB02

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	<a href="#">JP2010522699A5</a>	公开(公告)日	2011-04-28
申请号	JP2010500039	申请日	2008-03-31
申请(专利权)人(译)	格哈德·圣 - 海宁		
[标]发明人	モローアレン		
发明人	モロー,アレン		
IPC分类号	A61K49/00 A61K45/00 A61K33/24 A61P19/08 A61P43/00 G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	A61F5/0102 A61K33/04 A61P19/08 A23L33/30 G01N33/6872 G01N33/6893 G01N33/15 G01N33/53 A23V2002/00 G01N2800/108 G01N2800/50		
FI分类号	A61K49/00.A A61K45/00 A61K33/24 A61P19/08 A61P43/00.111 G01N33/53.D G01N33/543.545.A		
F-TERM分类号	4C084/AA17 4C084/MA52 4C084/NA14 4C084/ZA962 4C084/ZC022 4C085/HH20 4C085/KA03 4C085/KB82 4C085/LL20 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/HA08 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/MA52 4C086/NA14 4C086/ZA96 4C086/ZB02		
代理人(译)	青木 笃 石田 敬 渡边洋一 中岛胜 石津边缘		
优先权	60/909408 2007-03-30 US 61/025571 2008-02-01 US		
其他公开文献	JP2010522699A JP5426530B2		

#### 摘要(译)

一种用于确定发展脊柱侧凸的风险的方法，包括随时间监测来自受试者的样品中的骨桥蛋白 ( OPN ) 表达;其中，受试者样品中随时间增加的 OPN表达指示受试者有发展脊柱侧凸的风险。