(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第6037515号
(P6037515)

(45)発行日　平成28年12月7日(2016.12.7)　(24)登録日　平成28年11月11日(2016.11.11)

| (51)Int.Cl. | | F I | | |
|---|---|---|---|---|
| C12Q 1/68 | (2006.01) | C12Q | 1/68 | ZNAA |
| G01N 33/53 | (2006.01) | G01N | 33/53 | M |
| G01N 37/00 | (2006.01) | G01N | 33/53 | D |
| A61K 45/00 | (2006.01) | G01N | 33/53 | P |
| A61P 11/06 | (2006.01) | G01N | 33/53 | Q |

請求項の数 46　外国語出願　(全 81 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2014-107421 (P2014-107421)
(22)出願日　平成26年5月23日 (2014.5.23)
(62)分割の表示　特願2011-503115 (P2011-503115)の分割
原出願日　平成21年3月31日 (2009.3.31)
(65)公開番号　特開2014-204725 (P2014-204725A)
(43)公開日　平成26年10月30日 (2014.10.30)
審査請求日　平成26年6月23日 (2014.6.23)
(31)優先権主張番号　61/072,572
(32)優先日　平成20年3月31日 (2008.3.31)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/041,480
(32)優先日　平成20年4月1日 (2008.4.1)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者　509012625
ジェネンテック，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　サウス　サンフランシスコ　ディーエヌエー　ウェイ　１
(73)特許権者　506115514
ザ　リージェンツ　オブ　ザ　ユニバーシティ　オブ　カリフォルニア
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　９４６０７　オークランド　フランクリン　ストリート　１１１１　トゥエルフス　フロア
(74)代理人　110002077
園田・小林特許業務法人

最終頁に続く

(54)【発明の名称】喘息の治療及び診断のための組成物及び方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
患者のＰＯＳＴＮの遺伝子発現を測定することを含み、ＰＯＳＴＮの上昇した発現レベルが気管支上皮でＩＬ－１３の発現が高い喘息のサブタイプを示す、喘息患者の気管支上皮でＩＬ－１３の発現が高い喘息のサブタイプを検出する方法。
【請求項２】
患者が更にＣＳＴ１、ＣＳＴ２、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＰＲＲ４、ＰＲＢ４、セルピンＢ２、ＣＥＡＣＡＭ５、ｉＮＯＳ、セルピンＢ４、ＣＳＴ４、及びセルピンＢ１０からなる群から選択される遺伝子の何れか又はその組み合わせの上昇した発現レベルを発現する、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
遺伝子ＰＲＢ４、ＴＰＳＤ１、ＴＰＳＧ１、ＭＦＳＤ２、ＣＰＡ３、ＧＰＲ１０５、ＣＤＨ２６、ＧＳＮ、Ｃ２ＯＲＦ３２、ＴＲＡＣＨ２０００１９６（ＴＭＥＭ７１）、ＤＮＡＪＣ１２、ＲＧＳ１３、ＳＬＣ１８Ａ２、ＳＨ３ＲＦ２、ＦＣＥＲ１Ｂ、ＲＵＮＸ２、ＰＴＧＳ１、及びＡＬＯＸ１５を更に含む、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
前記喘息のサブタイプが、ＩＬ－９、ＩＬ－５、ＩＬ－１３、ＩＬ－４、ＯＸ４０Ｌ、ＴＳＬＰ、ＩＬ－２５、ＩＬ－３３、ＩｇＥ、ＩＬ－９レセプター、ＩＬ－５レセプター、ＩＬ－４レセプターα、ＩＬ－１３レセプターα１、ＩＬ－１３レセプターα２、ＯＸ４０、ＴＳＬＰ－Ｒ、ＩＬ－７Ｒα（ＴＳＬＰのコレセプター）、ＩＬ１７ＲＢ（ＩＬ－

２５のレセプター）、ＳＴ２（ＩＬ－３３のレセプター）、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＲＴＨ２、ＦｃεＲＩ、及びＦｃεＲＩＩ／ＣＤ２３（ＩｇＥのレセプター）からなる群より選択される標的に結合する薬剤に反応する可能性が高い、請求項１から３の何れか一項に記載の方法。

【請求項５】

遺伝子発現がタンパク質又はｍＲＮＡレベルのアッセイによって測定される、請求項１から３の何れか一項に記載の方法。

【請求項６】

ｍＲＮＡレベルがＰＣＲ法又はマイクロアレイチップを用いることにより測定される、請求項５に記載の方法。

【請求項７】

ＰＣＲ法がｑＰＣＲである、請求項６に記載の方法。

【請求項８】

コントロール遺伝子のｍＲＮＡレベルと比較して２．５倍より高い対象の遺伝子のｍＲＮＡレベルが前記喘息のサブタイプを示す、請求項５に記載の方法。

【請求項９】

前記患者の試料中の血清ペリオスチンレベルを測定することを含む、請求項５に記載の方法。

【請求項１０】

（１）遺伝子にハイブリダイズする１又は複数の核酸分子又はタンパク質に結合する１又は複数のタンパク質分子であって、遺伝子又はタンパク質がＰＯＳＴＮである、核酸分子又はタンパク質分子；

（２）患者の試料の遺伝子又はタンパク質の発現レベルを測定するための指示書であって、前記遺伝子又はタンパク質の何れか、組み合わせ又は全ての上昇した発現レベルが気管支上皮でＩＬ－１３の発現が高い喘息のサブタイプを示す、指示書

を含む、喘息患者の気管支上皮でＩＬ－１３の発現が高い喘息のサブタイプを診断するためのキット。

【請求項１１】

ＣＳＴ１、ＣＳＴ２、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＰＲＲ４、ＰＲＢ４、セルピンＢ２、ＣＥＡＣＡＭ５、ｉＮＯＳ、セルピンＢ４、ＣＳＴ４、セルピンＢ１０、ＴＰＳＤ１、ＴＰＳＧ１、ＭＦＳＤ２、ＣＰＡ３、ＧＰＲ１０５、ＣＤＨ２６、ＧＳＮ、Ｃ２ＯＲＦ３２、ＴＲＡＣＨ２０００１９６（ＴＭＥＭ７１）、ＤＮＡＪＣ１２、ＲＧＳ１３、ＳＬＣ１８Ａ２、ＳＨ３ＲＦ２、ＦＣＥＲ１Ｂ、ＲＵＮＸ２、ＰＴＧＳ１、及びＡＬＯＸ１５からなる群から選択される遺伝子又はタンパク質を更に含む、請求項１０に記載のキット。

【請求項１２】

前記患者の試料中の血清ペリオスチンレベルを測定するための、請求項１０又は１１に記載のキット。

【請求項１３】

遺伝子発現がｍＲＮＡレベルのアッセイによって測定される、請求項１０から１２の何れか一項に記載のキット。

【請求項１４】

アッセイがＰＣＲ法又はマイクロアレイチップの使用を含む、請求項１３に記載のキット。

【請求項１５】

ＰＣＲ法がｑＰＣＲである、請求項１４に記載のキット。

【請求項１６】

コントロール遺伝子のｍＲＮＡレベルと比較して２．５倍より高い対象の遺伝子のｍＲＮＡレベルが前記喘息のサブタイプを示す、請求項１３に記載のキット。

【請求項１７】

アッセイがタンパク質分子を含むマイクロアレイチップの使用を含む、請求項１０に記

載のキット。
【請求項１８】
ＩＬ－９、ＩＬ－５、ＩＬ－１３、ＩＬ－４、ＯＸ４０Ｌ、ＴＳＬＰ、ＩＬ－２５、ＩＬ－３３、ＩｇＥ、ＩＬ－９レセプター、ＩＬ－５レセプター、ＩＬ－４レセプターα、ＩＬ－１３レセプターα１、ＩＬ－１３レセプターα２、ＯＸ４０、ＴＳＬＰ－Ｒ、ＩＬ－７Ｒα（ＴＳＬＰのコレセプター）、ＩＬ１７ＲＢ（ＩＬ－２５のレセプター）、ＳＴ２（ＩＬ－３３のレセプター）、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＲＴＨ２、ＦｃεＲＩ、又はＦｃεＲＩＩ／ＣＤ２３（ＩｇＥのレセプター）である標的に結合する薬剤を更に含む、請求項１０から１７の何れか一項に記載のキット。
【請求項１９】
喘息患者の血清試料を用いた前記喘息のサブタイプを診断するための、請求項１０から１８の何れか一項に記載のキット。
【請求項２０】
喘息を有する患者のＰＯＳＴＮレベルを測定し、上昇したＰＯＳＴＮレベルを有する喘息患者を治療薬の対象となる患者として同定することを含む、ＴＨ２誘導喘息経路の標的に結合する治療薬の対象となる喘息のサブタイプの患者を同定するための方法。
【請求項２１】
喘息患者が軽度～中等度の喘息を有している、請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
喘息患者が中等度～重度の喘息を有している、請求項２０に記載の方法。
【請求項２３】
喘息患者が中等度～重度の、ステロイド抵抗性の喘息を有している、請求項２０に記載の方法。
【請求項２４】
血清ＰＯＳＴＮレベルが測定される、請求項２０から２３の何れか一項に記載の方法。
【請求項２５】
喘息経路の標的が、ＩＬ－９、ＩＬ－５、ＩＬ－１３、ＩＬ－４、ＯＸ４０Ｌ、ＴＳＬＰ、ＩＬ－２５、ＩＬ－３３、ＩｇＥ、ＩＬ－９レセプター、ＩＬ－５レセプター、ＩＬ－４レセプターα、ＩＬ－１３レセプターα１、ＩＬ－１３レセプターα２、ＯＸ４０、ＴＳＬＰ－Ｒ、ＩＬ－７Ｒα（ＴＳＬＰのコレセプター）、ＩＬ１７ＲＢ（ＩＬ－２５のレセプター）、ＳＴ２（ＩＬ－３３のレセプター）、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＲＴＨ２、ＦｃεＲＩ、及びＦｃεＲＩＩ／ＣＤ２３（ＩｇＥのレセプター）からなる群から選択される、請求項２０から２４の何れか一項に記載の方法。
【請求項２６】
喘息経路の標的がＩＬ－１３レセプターα１である、請求項２５に記載の方法。
【請求項２７】
治療薬が抗ＩＬ－１３／ＩＬ－４経路阻害薬である、請求項２０から２４の何れか一項に記載の方法。
【請求項２８】
治療薬が抗ＩＬ－１３抗体、抗ＩＬ－１３レセプターα１抗体、抗ＩＬ－４レセプターα抗体、及びＩＬ－１３／ＩＬ－４二重特異性抗体からなる群から選択される、請求項２７に記載の方法。
【請求項２９】
治療薬が、ＴＮＸ－６５０抗体の可変ドメイン又は配列番号１９５－２００のアミノ酸配列を含む抗ＩＬ－１３抗体である、請求項２８に記載の方法。
【請求項３０】
ＰＯＳＴＮ遺伝子のｍＲＮＡレベルがコントロール遺伝子のｍＲＮＡレベルと比較して２．５倍より高い、請求項２０から２９の何れか一項に記載の方法。
【請求項３１】
ＰＯＳＴＮの遺伝子発現を測定することを含む、喘息患者の試料における気管支上皮で

ＩＬ－１３の発現が高い喘息のサブタイプを同定する方法であって、ＰＯＳＴＮの上昇した発現レベルが気管支上皮でＩＬ－１３の発現が高い喘息のサブタイプを示し、前記喘息のサブタイプがＩＬ－９、ＩＬ－５、ＩＬ－１３、ＩＬ－４、ＯＸ４０Ｌ、ＴＳＬＰ、ＩＬ－２５、ＩＬ－３３、ＩｇＥ、ＩＬ－９レセプター、ＩＬ－５レセプター、ＩＬ－４レセプターα、ＩＬ－１３レセプターα１、ＩＬ－１３レセプターα２、ＯＸ４０、ＴＳＬＰ－Ｒ、ＩＬ－７Ｒα（ＴＳＬＰのコレセプター）、ＩＬ１７ＲＢ（ＩＬ－２５のレセプター）、ＳＴ２（ＩＬ－３３のレセプター）、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＲＴＨ２、ＦｃεＲＩ、又はＦｃεＲＩＩ／ＣＤ２３（ＩｇＥのレセプター）である標的に結合する薬剤に反応する可能性が高い、方法。

【請求項３２】

ＩＬ－９、ＩＬ－５、ＩＬ－１３、ＩＬ－４、ＯＸ４０Ｌ、ＴＳＬＰ、ＩＬ－２５、ＩＬ－３３、ＩｇＥ、ＩＬ－９レセプター、ＩＬ－５レセプター、ＩＬ－４レセプターα、ＩＬ－１３レセプターα１、ＩＬ－１３レセプターα２、ＯＸ４０、ＴＳＬＰ－Ｒ、ＩＬ－７Ｒα（ＴＳＬＰのコレセプター）、ＩＬ１７ＲＢ（ＩＬ－２５のレセプター）、ＳＴ２（ＩＬ－３３のレセプター）、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＲＴＨ２、ＦｃεＲＩ、又はＦｃεＲＩＩ／ＣＤ２３（ＩｇＥのレセプター）である標的に結合する薬剤の対象となる喘息のサブタイプの患者を同定する方法であって、喘息を有する患者の試料のＰＯＳＴＮの発現レベルを測定し、ＰＯＳＴＮの上昇したレベルを有する喘息患者を薬剤の対象となる患者として同定することを含む、方法。

【請求項３３】

薬剤が、ＩＬ－１３、ＩＬ－４、ＩＬ－４レセプターα、ＩＬ－１３レセプターα１、又はＩＬ－１３レセプターα２に結合する抗ＩＬ－１３／ＩＬ－４経路阻害薬である、請求項３２に記載の方法。

【請求項３４】

抗ＩＬ－１３／ＩＬ－４経路阻害薬が抗ＩＬ－１３抗体、抗ＩＬ－１３レセプターα１抗体、抗ＩＬ－４レセプターα抗体、又はＩＬ－１３／ＩＬ－４二重特異性抗体である、請求項３３に記載の方法。

【請求項３５】

抗ＩＬ－１３／ＩＬ－４経路阻害薬が、（ｉ）配列番号１９３及び１９４のアミノ酸配列；又は（ｉｉ）配列番号１９５－２００のアミノ酸配列、を含む抗ＩＬ－１３抗体である、請求項３４に記載の方法。

【請求項３６】

喘息患者が血清ペリオスチンの上昇したレベルを発現する、請求項３２に記載の方法。

【請求項３７】

治療対象となる患者が、軽度～中等度の、ステロイド未使用の喘息患者である、請求項３２に記載の方法。

【請求項３８】

治療対象となる患者が、中等度～重度の、ステロイド抵抗性の喘息患者である、請求項３２に記載の方法。

【請求項３９】

患者が更にＣＳＴ１、ＣＳＴ２、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＰＲＲ４、ＰＲＢ４、セルピンＢ２、ＣＥＡＣＡＭ５、ｉＮＯＳ、セルピンＢ４、ＣＳＴ４、及びセルピンＢ１０からなる群から選択される遺伝子の何れか又は組み合わせの上昇した発現レベルを発現する、請求項３２に記載の方法。

【請求項４０】

遺伝子ＰＲＢ４、ＴＰＳＤ１、ＴＰＳＧ１、ＭＦＳＤ２、ＣＰＡ３、ＧＰＲ１０５、ＣＤＨ２６、ＧＳＮ、Ｃ２ＯＲＦ３２、ＴＲＡＣＨ２０００１９６（ＴＭＥＭ７１）、ＤＮＡＪＣ１２、ＲＧＳ１３、ＳＬＣ１８Ａ２、ＳＨ３ＲＦ２、ＦＣＥＲ１Ｂ、ＲＵＮＸ２、ＰＴＧＳ１、及びＡＬＯＸ１５を更に含む、請求項３２に記載の方法。

【請求項４１】

遺伝子発現がタンパク質又はｍＲＮＡレベルのアッセイによって測定される、請求項３２に記載の方法。
【請求項４２】
ｍＲＮＡレベルがＰＣＲ法又はマイクロアレイチップを用いることにより測定される、請求項４１に記載の方法。
【請求項４３】
ＰＣＲ法がｑＰＣＲである、請求項４２に記載の方法。
【請求項４４】
コントロール遺伝子のｍＲＮＡレベルと比較して２．５倍より高い対象の遺伝子のｍＲＮＡレベルが前記喘息のサブタイプを示す、請求項４２に記載の方法。
【請求項４５】
前記患者の試料における血清ペリオスチンレベルの、免疫アッセイによる測定を含む、請求項３２に記載の方法。
【請求項４６】
血清ペリオスチンレベルが免疫アッセイにより測定される、請求項４５に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、２００８年３月３１日出願の米国仮出願番号第６１／０７２５７２号、２００８年４月１日出願の同第６１／０４１４８０号、２００８年５月２０日出願の同第６１／１２８３８３号、及び２００９年１月１６日出願の同第６１／２０５３９２号の優先権を主張する。
【０００２】
喘息患者のサブタイプの治療及び診断のための組成物及び方法が提供される。更には、効果的な喘息治療薬を同定し、喘息治療薬に対する応答性を予測する方法が提供される。
【背景技術】
【０００３】
喘息は、伝統的に、２型ヘルパーＴ細胞（Ｔｈ２）プロセスによって引き起こされ、インターロイキン（ＩＬ）－４、ＩＬ－５、及びＩＬ－１３を含むサイトカインによって媒介されるエアロアレルゲン誘導性の炎症に起因すると考えられている。ＩＬ－１３は、活性化されたＴ細胞、好塩基球、好酸球、及びマスト細胞により産生される多面的なＴｈ２サイトカインであり、前臨床モデルでの喘息の病原において強く示唆されてきた[2]。ヒト喘息患者の気道においてＩＬ－１３のレベルの上昇が検出されているが、このような上昇は喘息患者の一部でしか観察されない[3-6]。最近の研究は、Ｔｈ２サイトカインがどのように喘息様の病態及び生理を生じさせるかの理解を目的とするようになった[49,50]。
【０００４】
多くの場合、喘息は、気道の好酸球の浸潤を特徴としているが、この疾病には別の形態の炎症によって引き起こされる他のサブタイプが存在するという証拠が増加している[1、39、48]。例えば、喘息における気道炎症の細胞成分の研究により、喘息には、好酸球性表現型と非好酸球性表現型とが別個に存在するという証拠が得られている[1、39、48]。喘息のこれらの臨床像及び細胞表現型の基礎となっている分子機構が異なるかどうかは不明である。喘息の各分子表現型のバイオマーカーの同定及び開発は、肺におけるＴｈ２応答を特に標的とする新しい喘息の治療法の基礎研究の方向と臨床的用途とを導くと考えられる。
【０００５】
ペリオスチン（periostin）は、繊維症に関連して分泌されるタンパク質であり、その発現は、気管支上皮細胞[7、8]及び気管支繊維芽細胞[9]において組換えＩＬ－４及びＩＬ－１３により上方制御される。ペリオスチンは、ヒト喘息患者の気管支上皮細胞[8]及び上皮下気管支層[9]と、喘息のマウスモデル[10]において、高レベルでインビボ発現さ

れる。ペリオスチンは、ＩＬ－１３依存的に、好酸球性食道炎患者の食道上皮においても高レベルで発現される[11]。ペリオスチンの発現の上昇は複数種の上皮由来の癌[64-67]において観察されており、高レベルの可溶性ペリオスチンが複数の癌患者の血清に観察されている[64、68-70]。

【０００６】

ステロイドを使用していない４２名の軽度～中等度の喘息患者と２８名の健康なコントロール被験者とから採取した気管支上皮細胞に対し、全ゲノム発現マイクロアレイ解析を実施した[8]。これらの試験において、全ての喘息患者と全ての健康なコントロールとの間で発現が最も異なっていた上皮遺伝子のうちの三つは、ペリオスチン、ＣＬＣＡ１、及びセルピンＢ２であった[8]。更に、これらの遺伝子は、７日間の吸入ステロイド薬（ＩＣＳ）による治療を行った後、気管支上皮細胞において有意に下方制御された[8]。これら三つの遺伝子は全て、インビトロでの組換えＩＬ－１３治療により気管支上皮細胞に誘導され、それらの発現は、細胞培養培地にステロイド薬を添加することにより顕著に弱まった[8]。

【０００７】

今日まで、このような全ゲノム発現分析によって、処置に対する個々の喘息患者の治療的応答を予後判定又は予測する遺伝的バイオマーカーは同定されておらず、また喘息患者のサブタイプを区別する遺伝的バイオマーカーも同定されていない。加えて、治療的処置への応答を予後判定又は予測できるか、又は喘息のサブタイプを診断できる広い臨床的利用能を有する信頼性の高い非遺伝的バイオマーカーも同定されていない。したがって、喘息患者の治療のために、特定の患者に有効な治療薬を探すには、少なくない試行錯誤が伴うことになる。このような試行錯誤は、最も有効な治療法を探すために、患者にとって大きな危険と不快さを強いることが多い。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００８】

したがって、いずれの患者がいずれの治療に反応するかを判定する有効性の高い手段、及びそのような判定を喘息患者のための有効性の高い治療に取り込む手段が必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【０００９】

ここに記載する本発明は、上記の必要を満たし、且つ他の利点を提供するものである。

【００１０】

気管支上皮の遺伝子発現シグネチャーを使用して、本発明者らは、喘息の異なる分子サブタイプを定義した。驚くべきことに、ＩＬ－４又はＩＬ－１３による刺激によって上方制御されることが既知である遺伝子とその発現が強く相関する一組の遺伝子に基づくデータを目的変数ありでクラスタリングしたところ、喘息患者のクラスターが一つではなく二つであることが分かった。更に、これらの二分された喘息患者のサブセットの分析により、「ＩＬ－４／１３シグネチャー」の状態と、血清の総ＩｇＥレベル、血清のＣＥＡレベル、血清ペリオスチンレベル、末梢血好酸球増加、（気管支肺胞洗浄検査）ＢＡＬ好酸球増加、及び吸入ステロイド薬への応答性との間に有意な関連性があることが判明した（それぞれ、ウィルコクソン順位和検定によりｐ＜０．０５）。

【００１１】

したがって、本発明は、喘息患者の亜集団の診断方法に関し、本方法は、ＰＯＳＴＮ、ＣＳＴ１、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＣＳＴ２、ＰＲＲ４、セルピンＢ２、ＣＥＡＣＡＭ５、ｉＮＯＳ、セルピンＢ４、ＣＳＴ４、ＰＲＢ４、ＴＰＳＤ１、ＰＴＳＧ１、ＭＦＳＤ２、ＣＰＡ３、ＧＰＲ１０５、ＣＤＨ２６、ＧＳＮ、Ｃ２ＯＲＦ３２、ＴＲＡＣＨ２００１９６（ＴＭＥＭ７１）、ＤＮＡＪＣ１２、ＲＧＳ１３、ＳＬＣ１８Ａ２、セルピンＢ１０、ＳＨ３ＲＦ２、ＦＣＥＲ１Ｂ、ＲＵＮＸ２、ＰＴＧＳ１、及びＡＬＯＸ１５から選択された遺伝子のいずれか１つ又はいずれかの組み合わせの遺伝子発現を測定することを

含む。一実施形態では、遺伝子発現は、ＰＯＳＴＮ、ＣＳＴ１、ＣＳＴ２、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＰＲＲ４、ＰＲＢ４、セルピンＢ２、ＣＥＡＣＡＭ５、ｉＮＯＳ、セルピンＢ４、ＣＳＴ４、及びセルピンＢ１０からなる群より選択された遺伝子のいずれか１つ又はいずれかの組み合わせを測定する。一実施形態によれば、遺伝子発現はマイクロアレイにより測定する。別の実施形態によれば、遺伝子発現は、前記遺伝子のタンパク質発現レベルを観察することにより測定する。別の実施形態によれば、遺伝子発現は、健康なコントロールと比較したとき、対象の遺伝子のｍＲＮＡレベルが、コントロール遺伝子のｍＲＮＡレベルの２．５倍を上回った場合に上昇したとみなした。別の実施形態では、対象の遺伝子のｍＲＮＡレベルが、健康なコントロール遺伝子の発現レベルの３倍、５倍、１０倍、１５倍、２５倍、又は３０倍を上回った。一実施形態によれば、遺伝子発現は、ＰＣＲ法、マイクロアレイ法、又は免疫アッセイ法からなる群より選択された方法により測定した。一実施形態では、マイクロアレイ法は、ストリンジェントな条件の下で上記遺伝子をコードする核酸分子にハイブリダイズすることが可能な１又は複数の核酸分子を有するか、又は上記遺伝子によりコードされる１又は複数のタンパク質に結合できる１又は複数のポリペプチド（例えばペプチド又は抗体）を有するマイクロアレイチップの使用を含む。一実施形態では、ＰＣＲ法はｑＰＣＲである。一実施形態によれば、免疫アッセイ法は、上記の患者試料中において、上記の遺伝子から発現されるタンパク質に抗体を結合させるステップと、患者試料のタンパク質レベルが上昇しているかどうかを決定するステップとを含む。一実施形態によれば、コントロール遺伝子は、アクチン、ＧＡＰＤＨ、ＧＡＳＢ、及びＧＵＳＢからなる群より選択されるハウスキーピング遺伝子である。

【００１２】

本発明は、以下の遺伝子、即ち、ＰＯＳＴＮ、ＣＳＴ１、ＣＳＴ２、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＰＲＲ４、セルピンＢ２、ＣＥＡＣＡＭ５、ｉＮＯＳ、セルピンＢ４、ＣＳＴ４、及びセルピンＢ１０、又はその断片をコードする核酸配列を含むマイクロアレイチップを提供する。本発明は、以下の遺伝子、即ち、ＰＯＳＴＮ、ＣＳＴ１、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＣＳＴ２、ＰＲＲ４、セルピンＢ２、ＣＥＡＣＡＭ５、ｉＮＯＳ、セルピンＢ４、ＣＳＴ４、ＰＲＢ４、ＴＰＳＤ１、ＰＴＳＧ１、ＭＦＳＤ２、ＣＰＡ３、ＧＰＲ１０５、ＣＤＨ２６、ＧＳＮ、Ｃ２ＯＲＦ３２、ＴＲＡＣＨ２０００１９６（ＴＭＥＭ７１）、ＤＮＡＪＣ１２、ＲＧＳ１３、ＳＬＣ１８Ａ２、セルピンＢ１０、ＳＨ３ＲＦ２、ＦＣＥＲ１Ｂ、ＲＵＮＸ２、ＰＴＧＳ１、及びＡＬＯＸ１、又はその断片をコードする核酸配列を含むマイクロアレイチップを提供する。

【００１３】

本発明は、本発明の治療薬によって処置される喘息患者の亜集団を提供する。この亜集団では、喘息患者の気道上皮細胞中のＭｕｃ５ＡＣ：ＭＵＣ５Ｂのタンパク質又はｍＲＮＡのレベルの割合が２５より大きい。

【００１４】

本発明は、血清ＣＥＡレベル、血清ＩｇＥレベル、血清ペリオスチンレベル、末梢血好酸球数、及び気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）中の好酸球の割合（％）から選択された全身性バイオマーカーの一回の測定値又は測定値の組み合わせを取得することにより、喘息患者の亜集団を診断する方法にも関する。全身性バイオマーカーは、一般に非遺伝的バイオマーカーであり、通常、非侵襲性の手順、例えば、限定されないが、血液又は血清や血漿のような血液成分の収集により取得された試料中において測定される。一実施形態によれば、１００ＩＵ／ｍｌのＩｇＥレベル及び／又は０．１４×１０ｅ９／Ｌ個の好酸球を上回る場合に、患者集団は、本発明の治療薬により処置すべきことが予測される。

【００１５】

本発明は、喘息の治療法に関し、本方法は、ＰＯＳＴＮ、ＣＳＴ１、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＣＳＴ２、ＰＲＲ４、セルピンＢ２、ＣＥＡＣＡＭ５、ｉＮＯＳ、セルピンＢ４、ＣＳＴ４、ＰＲＢ４、ＴＰＳＤ１、ＰＴＳＧ１、ＭＦＳＤ２、ＣＰＡ３、ＧＰＲ１０５、ＣＤＨ２６、ＧＳＮ、Ｃ２ＯＲＦ３２、ＴＲＡＣＨ２０００１９６（ＴＭＥＭ７１）、ＤＮＡＪＣ１２、ＲＧＳ１３、ＳＬＣ１８Ａ２、セルピンＢ１０、ＳＨ３ＲＦ２、ＦＣＥ

ＲＩＢ、ＲＵＮＸ２、ＰＴＧＳ１、ＡＬＯＸ１５から選択された遺伝子のいずれか１つ又はいずれかの組み合わせのレベルの上昇を示す患者に対し、治療薬を投与することを含む。一実施形態によれば、患者は、ペリオスチン、ＣＳＴ１、ＣＳＴ２、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＰＲＲ４、セルピンＢ２、ＣＥＡＣＡＭ５、ｉＮＯＳ、ＰＲＢ４、セルピンＢ４、セルピンＢ１０及びＣＳＴ４からなる群より選択された遺伝子のいずれか１つ又はいずれかの組み合わせのレベルの上昇を示す。一実施形態によれば、治療対象となる患者は、軽度～中等度の、ステロイド未使用の（ステロイドによる治療を受けたことが無い）喘息患者である。別の実施形態によれば、治療対象の患者は、中等度～重度の、ステロイド抵抗性の（ステロイドに非応答性の）喘息患者である。このような患者は、治療的に有効な量の治療薬により処置される。一実施形態では、患者は、ＴＨ２経路により誘導された喘息を有している。

【００１６】

一実施形態によれば、治療薬は、抗ＩＬ１３／ＩＬ４経路阻害薬である。別の実施形態によれば、治療薬はＴＨ２に誘導された喘息経路を標的とする。例示的な標的には、限定しないが、ＩＬ－９、ＩＬ－５、ＩＬ－１３、ＩＬ－４、ＯＸ４０Ｌ、ＴＳＬＰ、ＩＬ－２５、ＩＬ－３３、及びＩｇＥといったリガンド又はサイトカインと、ＩＬ－９レセプター、ＩＬ－５レセプター、ＩＬ－４レセプターα、ＩＬ－１３レセプターα１及びＩＬ－１３レセプターα２、ＯＸ４０、ＴＳＬＰ－Ｒ、ＩＬ－７Ｒα（ＴＳＬＰのコレセプター）、ＩＬ１７ＲＢ（ＩＬ－２５のレセプター）、ＳＴ２（ＩＬ－３３のレセプター）、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＲＴＨ２、ＦｃεＲＩ、及びＦｃεＲＩＩ／ＣＤ２３（ＩｇＥのレセプター）が含まれる。したがって、本発明による治療薬には、上記標的に結合できる薬剤、例えばポリペプチド（例えば、抗体、イムノアドヘシン、又はペプチボディ）、アプタマー、又は小分子が含まれる。

【００１７】

一実施形態によれば、治療薬は抗ＩＬ１３抗体である。別の実施形態によれば、抗ＩＬ１３抗体は、配列番号１９３を含むＶＨ配列と、配列番号１９４を含むＶＬ配列とを含んでなる。別の実施形態によれば、抗ＩＬ１３抗体は、（ａ）アミノ酸配列RASKSVDSYGNSFMH（配列番号１９５）を含むＨＶＲ－Ｌ１と、（ｂ）アミノ酸配列LASNLES（配列番号１９６）を含むＨＶＲ－Ｌ２と、（ｃ）アミノ酸配列QQNNEDPRT（配列番号１９７）を含むＨＶＲ－Ｌ３と、（ｄ）アミノ酸配列AYSVN（配列番号１９８）を含むＨＶＲ－Ｈ１と、（ｅ）アミノ酸配列MIWGDGKIVYNSALKS（配列番号１９９）を含むＨＶＲ－Ｈ２と、（ｆ）アミノ酸配列DGYYPYAMDN（配列番号２００）を含むＨＶＲ－Ｈ３とを含んでなる。別の実施形態によれば、治療薬は、抗ＯＸ４０リガンド（ＯＸ４０Ｌ）抗体である。別の実施形態によれば、治療薬は抗ＩＬ１３／抗ＩＬ４二重特異性抗体である。別の実施形態によれば、治療薬は抗ＩｇＥ抗体である。別の実施形態によれば、治療薬はＢ細胞の表面に発現される膜近接ＩｇＥのＭ１’領域を目的とする抗体である。別の実施形態によれば、治療薬は、吸入ステロイド薬である。特定の実施形態では、吸入ステロイド薬は、ベクロメタゾンプロピオン酸エステル、ブデソニド、フルニソリド、フルチカゾン、プロピオン酸、モメタゾン、及びトリアムシノロンアセトニドから選択される。

【００１８】

一実施形態によれば、抗ＯＸ４０Ｌ抗体は、（ａ）配列RSSQSPVHSNGNTYLH（配列番号２０１）を含むＨＶＲ－Ｌ１と、（ｂ）配列KVSNRFS（配列番号２０２）を含むＨＶＲ－Ｌ２と、（ｃ）配列SQSTHIPWT（配列番号２０３）を含むＨＶＲ－Ｌ３と、（ｄ）配列SYWMH（配列番号２０４）を含むＨＶＲ－Ｈ１と、（ｅ）配列EIDPSNGRTNYNEKFKS（配列番号２０５）を含むＨＶＲ－Ｈ２と、（ｆ）配列ERSPRYFDV（配列番号２０６）を含むＨＶＲ－Ｈ３とを含んでなる。別の実施形態によれば、抗ＯＸ４０Ｌ抗体は、(a)配列RSSQSIVHGNGNTYLE（配列番号２０７）を含むＨＶＲ－Ｌ１と、（ｂ）配列RVSNRFS（配列番号２０８）を含むＨＶＲ－Ｌ２と、（ｃ）配列FQGSHVPYT（配列番号２０９）を含むＨＶＲ－Ｌ３と、（ｄ）配列SYWLN（配列番号２１０）を含むＨＶＲ－Ｈ１と、（ｅ）配列MIDPSDSETHYNQVFKD（配列番号２１１）を含むＨＶＲ－Ｈ２と、（ｆ）配列GRGNFYGGSHAMEY（配列番号２

１２）を含むＨＶＲ－Ｈ３とを含んでなる。別の実施形態によれば、抗ＯＸ４０Ｌ抗体は、（ａ）配列SYTMH（配列番号２１５）、SYAMS（配列番号２１６)、NFGMH（配列番号２１７)、又はNYGMH（配列番号２１８)を含むＨＶＲ－Ｈ１と、（ｂ）配列IISGSGGFTYYADSVKG（配列番号２１９）、AIWYDGHDKYYSYYVKG（配列番号２２０）、AIWYDGHDKYYAYYVKG（配列番号２２１）、VIWYDＧＳＮKYYVDSVKG （配列番号２２２）、又はVIWNDGSNKYYVDSVKG（配列番号２２３）を含むＨＶＲ－Ｈ２と、（ｃ）配列 DSSSWYRYFDY（配列番号２２４）、DRLVAPGTFDY（配列番号２２５）、KNWSFDF（配列番号２２６）、又はDRMGIYYYGMDV（配列番号２２７）を含むＨＶＲ－Ｈ３と、（ｄ）配列RASQGISSWLA（配列番号２２８）、RASQSVSSSYLA（配列番号２２９）、RASQSVSSNYLA（配列番号２３０）、RASQGVSRYLA（配列番号２３１）、又はRASQSVSSYLA（配列番号２３２）を含むＨＶＲ－Ｌ１と、（ｅ）配列GASSRAT（配列番号２３３）、AASSLQS（配列番号２３４）、MPPVWKV（配列番号２３５）、DASNRAT（配列番号２３６）、又はLHPLCKV（配列番号２３７）ＨＶＲ－Ｌ２と、（ｆ）配列 NSLIVTLT（配列番号２３８）、QQYNSYPYT（配列番号２３９）、QQYGSSFT（配列番号２４０）、QQRSNWQYT（配列番号２４１）、QQRSNWT（配列番号２４２）、又はNSIIVSLT（配列番号２４３）を含むＨＶＲ－Ｌ３とを含んでなり、この場合、抗ＯＸ４０Ｌ抗体はＯＸ４０Ｌに結合する。一実施形態によれば、抗ＩｇＥ抗体は、配列番号２１３を含むＶＬ配列と、配列番号２１４を含むＶＨ配列とを含んでなる。別の実施形態によれば、抗ＩｇＥ抗体は、（ａ）配列RSSQSLVHNNANTYLH（配列番号２４４）を含むＨＶＲ－Ｌ１と、（ｂ）配列KVSNRFS（配列番号２４５）を含むＨＶＲ－Ｌ２と、（ｃ）配列SQNTLVPWT（配列番号２４６）を含むＨＶＲ－Ｌ３と、（ｄ）配列GFTFSDYGIA（配列番号２４７）を含むＨＶＲ－Ｈ１と、（ｅ）配列AFISDLAYTIYYADTVTG（配列番号２４８）を含むＨＶＲ－Ｈ２と、（ｆ）配列ARDNWDAMDY（配列番号２４９）ＨＶＲ－Ｈ３とを含んでなる。一実施形態によれば、抗ＩｇＥ抗体は、配列番号２５０を含むＶＨ配列と、配列番号２５１を含むＶＬ配列とを含んでなる。一実施形態によれば、抗ＩｇＥ抗体は、配列番号２５２を含むＶＨ配列と、配列番号２５３を含むＶＬ配列とを含んでなる。別の実施形態によれば、抗ＩｇＥ抗体は、（ａ）配列RSSQDISNSLN（配列番号２５４）ＨＶＲ－Ｌ１と、（ｂ）配列STSRLHS（配列番号２５５）ＨＶＲ－Ｌ２と、（ｃ）QQGHTLPWT（配列番号２５６）を含むＨＶＲ－Ｌ３と、（ｄ）配列GYTFTDYYMM（配列番号２５７）を含むＨＶＲ－Ｈ１と、（ｅ）配列GDNIDPNNYDTSYNQKFKG（配列番号２５８）を含むＨＶＲ－Ｈ２と、（ｆ）配列ASKAY（配列番号２５９）を含むＨＶＲ－Ｈ３とを含んでなる。別の実施形態によれば、ＩｇＥ抗体は、（ａ）配列RSSQDISNALN（配列番号２６０）を含むＨＶＲ－Ｌ１と、（ｂ）配列STSRLHS（配列番号２５５）を含むＨＶＲ－Ｌ２と、（ｃ）配列QQGHTLPWT（配列番号２５６）を含むＨＶＲ－Ｌ３と、（ｄ）配列GYTFTDYYMM（配列番号２５７）を含むＨＶＲ－Ｈ１と、（ｅ）配列GDNIDPNNYDTSYNQKFKG（配列番号２５８）を含むＨＶＲ－Ｈ２と、（ｆ）配列ASKAY（配列番号２５９）を含むＨＶＲ－Ｈ３とを含んでなる。別の実施形態によれば、抗ＩｇＥ抗体は、（ａ）配列RSSQDISNALN（配列番号２６０）を含むＨＶＲ－Ｌ１と、（ｂ）配列STSRLHS（配列番号２５５）を含むＨＶＲ－Ｌ２と、（ｃ）配列QQGHTLPWT（配列番号２５６）を含むＨＶＲ－Ｌ３と、（ｄ）配列GYTFTDYYIM（配列番号２６１）を含むＨＶＲ－Ｈ１と、（ｅ）配列GDNIDPNNYDTSYNQKFKG（配列番号２５８）を含むＨＶＲ－Ｈ２と、（ｆ）配列ASKAY（配列番号２５９）を含むＨＶＲ－Ｈ３とを含んでなる。

【００１９】

一実施形態によれば、患者は、ＴＨ２経路に関与しない喘息を有している（非ＴＨ２喘息）。一実施形態では、治療薬は、非ＴＨ２喘息を標的とする。一実施形態によれば、治療薬は、ＩＬ－１７経路の阻害薬である。一実施形態では、治療薬は抗ＩＬ－１７抗体である。一実施形態では、治療薬はＩＬ－１７Ａ及びＩＬ－１７Ｆの両方と交差反応性の抗体である。一実施形態では、治療薬は、ＩＬ－１７Ａ及びＩＬ－１７Ｆの両方に対する結合能を有する二重特異性抗体である。一実施形態では、治療薬は抗ＩＬ－１７Ａ／Ｆ抗体である。

【００２０】

本発明は、患者の喘息のサブタイプの診断のためのキットを提供し、本キットは、（１

）ＰＯＳＴＮ、ＣＳＴ１、ＣＳＴ２、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＰＲＲ４、ＰＲＢ４、セルピンＢ２、ＣＥＡＣＡＭ５、ｉＮＯＳ、セルピンＢ４、ＣＳＴ４、及びセルピンＢ１０からなる群より選択される１の遺伝子とハイブリダイズする１又は複数の核酸分子と、（２）喘息患者試料の遺伝子の発現レベルを測定し、前記遺伝子のいずれか１つ、いずれかの組み合わせ、又は全ての発現レベルが上昇している場合に喘息のサブタイプを示す説明書とを含む。一実施形態によれば、キットは、更に、ＰＲＢ４、ＴＰＳＤ１、ＰＴＳＧ１、ＭＦＳＤ２、ＣＰＡ３、ＧＰＲ１０５、ＣＤＨ２６、ＧＳＮ、Ｃ２ＯＲＦ３２、ＴＲＡＣＨ２０００１９６（ＴＭＥＭ７１）、ＤＮＡＪＣ１２、ＲＧＳ１３、ＳＬＣ１８Ａ２、ＳＨ３ＲＦ２、ＦＣＥＲ１Ｂ、ＲＵＮＸ２、ＰＴＧＳ１、及びＡＬＯＸ１５からなる群より選択される１の遺伝子を含む。更なる一実施形態では、遺伝子発現レベルは、ｍＲＮＡレベルを定量することにより測定される。別の更なる実施形態では、アッセイは、ＰＣＲ法又はマイクロアレイチップの使用を含む。また別の実施形態では、ＰＣＲ法はｑＰＣＲである。一実施形態では、対象の遺伝子のｍＲＮＡレベルがコントロール遺伝子のｍＲＮＡレベルの２．５倍を上回る場合、喘息のサブタイプが示される。

【００２１】

本発明は、患者の喘息のサブタイプを診断するためのキットを提供し、本キットは、（１）ＰＯＳＴＮ、ＣＳＴ１、ＣＳＴ２、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＰＲＲ４、ＰＲＢ４、セルピンＢ２、ＣＥＡＣＡＭ５、ｉＮＯＳ、セルピンＢ４、ＣＳＴ４、及びセルピンＢ１０からなる群より選択される１のタンパク質に結合する１又は複数のタンパク質分子と、（２）患者試料のタンパク質の発現レベルを測定し、前記タンパク質のいずれか１つ、いずれかの組み合わせ、又は全ての発現レベルが上昇している場合に喘息のサブタイプを示す説明書とを含む。一実施形態では、キットは、更に、ＰＲＢ４、ＴＰＳＤ１、ＰＴＳＧ１、ＭＦＳＤ２、ＣＰＡ３、ＧＰＲ１０５、ＣＤＨ２６、ＧＳＮ、Ｃ２ＯＲＦ３２、ＴＲＡＣＨ２０００１９６（ＴＭＥＭ７１）、ＤＮＡＪＣ１２、ＲＧＳ１３、ＳＬＣ１８Ａ２、ＳＨ３ＲＦ２、ＦＣＥＲ１Ｂ、ＲＵＮＸ２、ＰＴＧＳ１、及びＡＬＯＸ１５からなる群より選択された１のタンパク質に結合する１のタンパク質分子を含む。一実施形態では、タンパク質分子は、抗体、ペプチド、又はペプチボディである。更なる一実施形態では、キットは、タンパク質分子を含むマイクロアレイチップを含む。

【００２２】

本発明は、患者の喘息のサブタイプの診断のためのキットを提供し、本キットは、血清総ＩｇＥレベル、血清ＣＥＡレベル、血清ペリオスチンレベル、末梢血好酸球数、及び気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）中好酸球数からなる群より選択された患者試料のバイオマーカーのいずれか１つを測定した際に、ＣＥＡ、血清ペリオスチン、末梢血好酸球数、及び気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）中好酸球数のレベルが上昇している場合の説明書を含む。一実施形態によれば、キットは、ＩｇＥレベルが１００ＩＵ／ｍｌを上回る場合に喘息のサブタイプを示す説明書を提供する。別の実施形態によれば、キットは、末梢血好酸球レベルが０．１４×１０ｅ９／Ｌを上回る場合に喘息のサブタイプを示す説明書を提供する。

【００２３】

本発明は、患者の喘息のサブタイプを診断するためのキットを提供し、本キットは、喘息患者の試料のタンパク質又はＭＵＣ５Ｂ　ｍＲＮＡに対するＭｕｃ５ＡＣの割合を測定し、この割合が２５を上回る場合に、喘息のサブタイプを示す説明書を含む。一実施形態では、試料は、上皮のブラッシングにより採取される。別の実施形態では、試料は気道上皮細胞を含む。一実施形態では、キットは、ストリンジェントな条件下でＭｕｃ５ＡＣにハイブリダイズする核酸分子と、ストリンジェントな条件下でＭＵＣ５Ｂにハイブリダイズする核酸分子とを提供する。一実施形態では、キットは、Ｍｕｃ５ＡＣに結合する１のタンパク質分子と、ＭＵＣ５Ｂに結合する１のタンパク質分子とを提供する。一実施形態では、タンパク質分子は抗体である。

【図面の簡単な説明】

【００２４】

【図１Ａ】図１は、実施例１及び２に記載の気道上皮の遺伝子発現レベルを示している。

Ａは、健康なコントロール（Ｎ＝２７）と、喘息患者（Ｎ＝４２）における、ペリオスチン（左）、ＣＬＣＡ１（中央）、及びセルピンＢ２（右）の発現レベルの比較を示す。正規化された蛍光単位を、各図の左軸に示す。

【図１Ｂ】図１は、実施例１及び２に記載の気道上皮の遺伝子発現レベルを示している。Ｂは、４２名の喘息患者における、ペリオスチン及びＣＬＣＡ１（左）、ペリオスチン及びセルピンＢ２（中央）、及びＣＬＣＡ１及びセルピンＢ２（右）の発現レベルの相互比較を示す。スピアマンの順位相関（ρ）及びｐ値を各図に示す。

【図１Ｃ】図１は、実施例１及び２に記載の気道上皮の遺伝子発現レベルを示している。Ｃは、健康なコントロール及び喘息患者の遺伝子発現マイクロアレイ解析であり、ペリオスチンと、同時制御される遺伝子、即ち；ＩＬ－４／１３シグネチャーが高いクラスター（クラスター１）；ＩＬ－４／１３シグネチャーが低いクラスター（クラスター２）；健康なコントロールとの発現レベルを同定している。

【図１Ｄ】図１は、実施例１及び２に記載の気道上皮の遺伝子発現レベルを示している。Ｄは、全ての被験者のベースラインでの気管支上皮におけるペリオスチン、ＣＬＣＡ１、及びセルピンＢ２の発現レベルの、教師なし階層的クラスタリング（ユークリッド完全）を示すヒートマップである。

【図１Ｅ】図１は、実施例１及び２に記載の気道上皮の遺伝子発現レベルを示している。Ｅは、図１Ａ～Ｄに示す被験者のサブセットから気管支のブラッシングにより同時に採取された気管支生検のホモジネートにおけるＩＬ－４、ＩＬ－５、及びＩＬ－１３の平均（±ＳＥＭ）発現レベルを示す（クラスター１：１８の「ＩＬ－１３が高い」喘息患者；クラスター２：１６の健康なコントロール及び１４の「ＩＬ－１３が低い」喘息患者）。ＩＬ－４、ＩＬ－５、及びＩＬ－１３の全被験者間の相互相関を右に示す（スピアマンの順位相関、ρ及びｐ値）。

【図２Ａ】図２は、実施例３に記載の、セルピン、シスタチン、及びＰＲＲの遺伝子ファミリーと、それらの遺伝子の発現レベルとを示す。Ａは、http://genome.ucsc.eduにおいて閲覧可能なUniversity of California Santa Cruzのゲノムブラウザに見られるセルピン（上）、シスタチン（中）、及びＰＲＲ（下）のゲノム座位及び組成である。

【図２Ｂ】図２は、実施例３に記載の、セルピン、シスタチン、及びＰＲＲのイデンシファミリーと、それらの遺伝子の発現レベルとを示す。Ｂは、Ａに示すシスタチン及びセルピン遺伝子をコードする全てのプローブの階層的クラスタリングを示す。

【図２Ｃ】図２は、実施例３に記載の、セルピン、シスタチン、及びＰＲＲのイデンシファミリーと、それらの遺伝子の発現レベルとを示す。Ｃは、健康なコントロール（Ｎ＝２７）と喘息患者（Ｎ＝４２）との、ＰＲＲ４（左）、ＰＲＢ４（中央）、及びＣＥＡＣＡＭ５（右）の気道上皮における遺伝子発現レベルの比較を示す。正規化された蛍光単位を各図の左の軸に示す。

【図３】図３は、実施例６に記載の、ベースライン及び一週間に亘る吸引フルチカゾンプロピオン酸エステル（ＩＣＳ）治療の後における気管支上皮ブラッシングのマイクロアレイ解析を示す。Ａはペリオスチンの発現を、ＢはＰＲＲ４の発現を、ＣはＲＵＮＸ２の発現を示す。

【図４】図４は、実施例７及び９に記載の、喘息患者における血清ＩｇＥ及び末梢血好酸球の複合グラフを示す。

【図５】図５は、実施例８に記載の、ＩＬ－１３が高い喘息のサブ表現型とＩＬ－１３が低い喘息のサブ表現型との様々な臨床的特徴を示す。Ａは、気道閉塞の指標となる強制呼気の１秒量（$FEV_1$）を示す。Ｂは、アルブテロールの４パフ（３６０μｇ）後の$FEV_1$の向上を示す（気管支拡張薬可逆性試験）を示す。Ｃは、気道の応答性亢進の指標となる、$FEV_1$（$PC_{20}$）を２０％低下させるために必要なメタコリンの刺激性濃度を示す。

【図６Ａ】図６は、実施例８に記載の、ＩＬ１３が高い喘息のサブ表現型とＩＬ－１３が低い喘息のサブ表現型との、種々のアレルギーマーカー、好酸球性炎症、及び気道のリモデリングを示す。Ａは、１２のエアロアレルゲンのパネルを用いたアレルゲン皮膚プリッ

クテスト（ＳＰＴ）の結果を示す。
【図６Ｂ】図６は、実施例８に記載の、ＩＬ１３が高い喘息のサブ表現型とＩＬ－１３が低い喘息のサブ表現型との、種々のアレルギーマーカー、好酸球性炎症、及び気道のリモデリングを示す。Ｂは、血清のＩｇＥ濃度を示す。
【図６Ｃ】図６は、実施例８に記載の、ＩＬ１３が高い喘息のサブ表現型とＩＬ－１３が低い喘息のサブ表現型との、種々のアレルギーマーカー、好酸球性炎症、及び気道のリモデリングを示す。Ｃは、末梢血好酸球数を示す。
【図６Ｄ】図６は、実施例８に記載の、ＩＬ１３が高い喘息のサブ表現型とＩＬ－１３が低い喘息のサブ表現型との、種々のアレルギーマーカー、好酸球性炎症、及び気道のリモデリングを示す。Ｄは、気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）中の好酸球を総細胞数の割合（％）で示す。
【図６Ｅ】図６は、実施例８に記載の、ＩＬ１３が高い喘息のサブ表現型とＩＬ－１３が低い喘息のサブ表現型との、種々のアレルギーマーカー、好酸球性炎症、及び気道のリモデリングを示す。Ｅは、上皮下組織繊維症の指標となる、気管支内生検の網様基底膜（ＲＭＢ）の厚みの立体解析学的測定値を示す。
【図６Ｆ】図６は、実施例８に記載の、ＩＬ１３が高い喘息のサブ表現型とＩＬ－１３が低い喘息のサブ表現型との、種々のアレルギーマーカー、好酸球性炎症、及び気道のリモデリングを示す。Ｆは、ｑＰＣＲによって測定した、上皮ブラッシングにおけるＭＵＣ５Ｂ発現に対するＭＵＣ５ＡＣの割合を示す。
【図７Ａ】図７は、実施例８に記載の、ＩＬ１３が高い喘息のサブ表現型とＩＬ－１３が高い喘息のサブ表現型との、種々の臨床的特徴を示す。Ａは、横軸に沿って示す特定のエアロアレルゲンへの被験者の応答割合を示す。「ＩＬ－１３が低い」喘息のサブ表現型と、「ＩＬ－１３が高い」喘息のサブ表現型（*、ｐ＜０．０５）。
【図７Ｂ】図７は、実施例８に記載の、ＩＬ１３が高い喘息のサブ表現型とＩＬ－１３が高い喘息のサブ表現型との、種々の臨床的特徴を示す。Ｂは、図示のＩＬ－１３喘息サブ表現型（高－白四角、低－黒丸）の、ポジティブなＳＰＴ反応対ＢＡＬ中好酸球割合を示す。図にはスピアマンの順位相関（ρ）及びｐ値を示す。
【図７Ｃ】図７は、実施例８に記載の、ＩＬ１３が高い喘息のサブ表現型とＩＬ－１３が高い喘息のサブ表現型との、種々の臨床的特徴を示す。Ｃは、図示のＩＬ－１３喘息サブ表現型（高－白四角、低－黒丸）の、ポジティブなＳＰＴ反応対血清ＩｇＥを示す。図にはスピアマンの順位相関（ρ）及びｐ値を示す。
【図７Ｄ】図７は、実施例８に記載の、ＩＬ１３が高い喘息のサブ表現型とＩＬ－１３が高い喘息のサブ表現型との、種々の臨床的特徴を示す。Ｄは、図示のＩＬ－１３喘息サブ表現型（高－白四角、低－黒丸）の、ポジティブなＳＰＴ反応対末梢血好酸球数を示す。図にはスピアマンの順位相関（ρ）及びｐ値を示す。
【図８Ａ】図８は、実施例８に記載の、ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型を有する被験者と、ＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型を有する被験者と、健康なコントロールとの、気道上皮のムチン含有量と組成とを示す。Ａは、気道の上皮ムチン含有量の指標となる、上皮に対するムチンの体積比を示す。
【図８Ｂ】図８は、実施例８に記載の、ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型を有する被験者と、ＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型を有する被験者と、健康なコントロールとの、気道上皮のムチン含有量と組成とを示す。Ｂは、ｑＰＣＲにより測定した、ムチンＭＵＣ２の発現を示す。
【図８Ｃ】図８は、実施例８に記載の、ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型を有する被験者と、ＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型を有する被験者と、健康なコントロールとの、気道上皮のムチン含有量と組成とを示す。Ｃは、ｑＰＣＲにより測定した、ムチンＭＵＣ５ＡＣの発現を示す。
【図８Ｄ】図８は、実施例８に記載の、ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型を有する被験者と、ＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型を有する被験者と、健康なコントロールとの、気道上皮のムチン含有量と組成とを示す。Ｄは、ｑＰＣＲにより測定した、ムチンＭＵＣ５Ｂ

の発現を示す。
【図９Ａ】図９は、ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型とＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型との吸引ステロイド剤への応答を示す。Ａは、ベースライン（週０）、フルチカゾンを連日４投与して４週目、同８週目、及びフルチカゾンの休止後一週間（９週目）の時点で測定した$FEV_1$を示す。(*)：各グループの被験者数とｐ値については表５を参照されたい。
【図９Ｂ】図９は、ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型とＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型との吸引ステロイド剤への応答を示す。Ｂは、フルチカゾン（Ｎ＝１９）又はプラセボ（Ｎ＝１３）による処置の開始から一週間後の喘息患者の気管支上皮におけるペリオスチン、ＣＬＣＡ１、及びセルピンＢ２（図１Ｄ）の教師なし階層的クラスタリングを示すヒートマップである。個々の被験者及び処置のベースラインにおけるクラスターの識別を次のヒートマップに示す。（クラスター１：「ＩＬ－１３が高い」喘息患者、クラスター２：「ＩＬ－１３が低い」喘息患者）。
【図１０】図１０は、実施例８に記載の、ＩＬ－１３が高い喘息のサブ表現型を有する被験者、及びＩＬ－１３が低い喘息のサブ表現型を有する被験者における、肺胞マクロファージ遺伝子発現を示す。健康なコントロール（Ｎ＝１５）；ＩＬ－１３が低い喘息のサブ表現型（Ｎ＝５）；ＩＬ－１３が高い喘息の表現型（Ｎ＝９）が示されている。図は、ｑＰＣＲにより測定された、１５－リポキシゲナーゼ（ＡＬＯＸ１５）と、腫瘍壊死因子α（ＴＮＦ－α）の平均（＋ＳＥＭ）発現レベルを示す。(*)：ｐ＜０．０３。
【図１１】図１１は、実施例９に記載の、健康なコントロール及び喘息患者から採取した試料の２８の遺伝子を網羅する３５のプローブを用いた遺伝子発現マイクロアレイ解析を示す。
【図１２Ａ】図１２は、実施例９に記載の、ペリオスチン及びＣＥＡＣＡＭ５の遺伝子発現マイクロアレイ解析とｑＰＣＲ解析とを示す。Ａは、健康なコントロール、クラスター２の喘息患者（「ＩＬ－１３が低い」）、及びクラスター１の喘息患者（「ＩＬ－１３が高い」）のペリオスチンの発現を示す。
【図１２Ｂ】図１２は、実施例９に記載の、ペリオスチン及びＣＥＡＣＡＭ５の遺伝子発現マイクロアレイ解析とｑＰＣＲ解析とを示す。Ｂは、健康なコントロール、クラスター２の喘息患者（「ＩＬ－１３が低い」）、及びクラスター１の喘息患者（「ＩＬ－１３が高い」）のＣＥＡＣＡＭ５の発現を示す。
【図１２Ｃ】図１２は、実施例９に記載の、ペリオスチン及びＣＥＡＣＡＭ５の遺伝子発現マイクロアレイ解析とｑＰＣＲ解析とを示す。Ｃは、「ＩＬ－１３が高い」喘息患者（四角）、及び「ＩＬ－１３が低い」喘息患者（丸）の、ＣＥＡＣＡＭ５とペリオスチンとの複合グラフである。
【図１２Ｄ】図１２は、実施例９に記載の、ペリオスチン及びＣＥＡＣＡＭ５の遺伝子発現マイクロアレイ解析とｑＰＣＲ解析とを示す。Ｄは、ペリオスチン及びＣＥＡＣＡＭ５のｑＰＣＲに基づく発現レベルの最適化されたアルゴリズムの受信者動作特性（ＲＯＣ）であり、健康なコントロール、「ＩＬ－１３が高い」喘息患者、及び「ＩＬ－１３が低い」喘息患者の感受性及び特異性を示している。
【図１３Ａ】図１３は、実施例９に記載の、喘息患者及び健康なコントロールの血清タンパク質の血清レベルを示す。Ａは、ＩｇＥの血清レベルを示す。
【図１３Ｂ】図１３は、実施例９に記載の、喘息患者及び健康なコントロールの血清タンパク質の血清レベルを示す。Ｂは、ペリオスチンの血清レベルを示す。
【図１３Ｃ】図１３は、実施例９に記載の、喘息患者及び健康なコントロールの血清タンパク質の血清レベルを示す。Ｃは、ＣＥＡの血清レベルを示す。
【図１３Ｄ】図１３は、実施例９に記載の、喘息患者及び健康なコントロールの血清タンパク質の血清レベルを示す。Ｄは、ＹＫＬ－４０の血清レベルを示す。
【図１３Ｅ】図１３は、実施例９に記載の、喘息患者及び健康なコントロールの血清タンパク質の血清レベルを示す。Ｅは、吸入ステロイド薬（ＩＣＳ）により治療した（＋）喘息患者又は同治療を受けない（－）喘息患者におけるＩｇＥの血清レベルを示す。

【図１３Ｆ】図１３は、実施例９に記載の、喘息患者及び健康なコントロールの血清タンパク質の血清レベルを示す。Ｆは、吸入ステロイド薬（ＩＣＳ）により治療した（＋）喘息患者又は同治療を受けない（－）喘息患者におけるペリオスチンの血清レベルを示す。
【図１３Ｇ】図１３は、実施例９に記載の、喘息患者及び健康なコントロールの血清タンパク質の血清レベルを示す。Ｇは、吸入ステロイド薬（ＩＣＳ）により治療した（＋）喘息患者又は同治療を受けない（－）喘息患者におけるＣＥＡの血清レベルを示す。
【図１３Ｈ】図１３は、実施例９に記載の、喘息患者及び健康なコントロールの血清タンパク質の血清レベルを示す。Ｈは、吸入ステロイド薬（ＩＣＳ）により治療した（＋）喘息患者又は同治療を受けない（－）喘息患者におけるＹＫＬ－４０の血清レベルを示す。
【図１３Ｉ】図１３は、実施例９に記載の、喘息患者及び健康なコントロールの血清タンパク質の血清レベルを示す。Ｉは、血清ＩｇＥの値が＜１００ＩＵ／ｍｌである喘息患者（＜１００）及び同値が≧１００ＩＵ／ｍｌである喘息患者（≧１００）におけるペリオスチンの血清レベルを示す複合グラフである。
【図１３Ｊ】図１３は、実施例９に記載の、喘息患者及び健康なコントロールの血清タンパク質の血清レベルを示す。Ｊは、血清ＩｇＥの値が＜１００ＩＵ／ｍｌである喘息患者（＜１００）及び同値が≧１００ＩＵ／ｍｌである喘息患者（≧１００）におけるＣＥＡの血清レベルを示す複合グラフである。
【図１３Ｋ】図１３は、実施例９に記載の、喘息患者及び健康なコントロールの血清タンパク質の血清レベルを示す。Ｋは、血清ＩｇＥの値が＜１００ＩＵ／ｍｌである喘息患者（＜１００）及び同値が≧１００ＩＵ／ｍｌである喘息患者（≧１００）におけるＹＫＬ－４０の血清レベルを示す複合グラフである。
【図１３Ｌ】図１３は、実施例９に記載の、喘息患者及び健康なコントロールの血清タンパク質の血清レベルを示す。Ｌは、血清ＩｇＥの値が＜１００ＩＵ／ｍｌである喘息患者（丸）及び同値が≧１００ＩＵ／ｍｌである喘息患者（四角）におけるペリオスチン及びＣＥＡの血清レベルを示す複合グラフである。
【発明を実施するための形態】
【００２５】
定義
特に定義しない限り、ここで使用される専門用語、表記及び他の科学的用語のすべては、この発明に関連する当業者に共通して理解される意味を持つものである。いくつかの場合には、共通して理解される意味を持つ用語を明確化のため及び／又は参照を容易にするためにここで定義するが、ここにそのような定義を含めることが、当該分野で一般的に理解されることに対して実質的な差異を表すものと必ずしも解釈されるものではない。ここに記載され又は参照される技術及び手順は一般的に十分理解されるものであり、例えばSambrook 等,Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2nd. edition (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.に記載の広く利用される分子クローニング方法論などの、当業者による一般的な方法論を用いて通常行われるものである。適切ならば、市販のキットや試薬の使用を伴う手順は、特に明記しない限り、製造者が定めたプロトコール及び／又はパラメータに従って一般的に実施される。
【００２６】
「ＩＬ－４／ＩＬ－１３遺伝子シグネチャー」、「ＩＬ－４／ＩＬ－１３シグネチャー」、「ＩＬ－１３遺伝子シグネチャー」、及び「ＩＬ－１３シグネチャー」は、本明細書に置いて互換可能に使用され、表４に規定される３０個の遺伝子の組み合わせ、又は表９に規定されるこれら３０個の遺伝子の一部の組み合わせを意味し、その遺伝子発現パターンは、特定の喘息患者と相関している。３０個の遺伝子とは、ＰＯＳＴＮ、ＣＳＴ１、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＣＳＴ２、ＰＲＲ４、セルピンＢ２、ＣＥＡＣＡＭ５、ｉＮＯＳ、セルピンＢ４、ＣＳＴ４、ＰＲＢ４、ＴＰＳＤ１、ＴＰＳＧ１、ＭＦＳＤ２、ＣＰＡ３、ＧＰＲ１０５、ＣＤＨ２６、ＧＳＮ、Ｃ２ＯＲＦ３２、ＴＲＡＣＨ２０００１９６（ＴＭＥＭ７１）、ＤＮＡＪＣ１２、ＲＧＳ１３、ＳＬＣ１８Ａ２、セルピンＢ１０、ＳＨ３ＲＦ２、ＦＣＥＲ１Ｂ，ＲＵＮＸ２、ＰＴＧＳ１、ＡＬＯＸ１５である。ＩＬ－４／ＩＬ

－１３遺伝子シグネチャーのポリペプチドは、本発明の「標的ポリペプチド」である。
【００２７】
本明細書において使用される「標的ポリペプチド」という用語は、「天然配列」ポリペプチド及び変異体（下記に定義する）を意味する。
【００２８】
「天然配列」ポリペプチドは、天然由来の対応するポリペプチドと同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含んでなる。よって、「天然配列ポリペプチド」という用語は、ポリペプチドの天然に生じる切断型、増強型、及びフレームシフト型を含み、これには、限定されないが、選択的スプライシング型、アイソフォーム、及び多形型が含まれる。
【００２９】
「天然に生じる変異体」は、参照ポリペプチドドと少なくとも約６０％のアミノ酸配列同一性を有し、天然に発生する参照ポリペプチドの少なくとも一つの生物学的活性を保持する。天然発生変異体は、参照ポリペプチドと、少なくとも６５％のアミノ酸配列同一性、少なくとも７０％のアミノ酸配列同一性、少なくとも７５％のアミノ酸配列同一性、少なくとも８０％のアミノ酸配列同一性、少なくとも８５％のアミノ酸配列同一性、少なくとも９０％のアミノ酸配列同一性、少なくとも９５％のアミノ酸配列同一性、少なくとも９８％のアミノ酸配列同一性、又は少なくとも９９％のアミノ酸配列同一性を有する変位ポリペプチドを含むことができる。
【００３０】
ＰＯＳＴＮの例には、配列番号１を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号３１及び／又は３２にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチドと、天然に発生する変異体といったその他のＰＯＳＴＩＮ天然配列ポリペプチドとが含まれる。
【００３１】
ＣＳＴ１の例には、配列番号２を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号３３にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＣＳＴ１天然配列ポリペプチドとが含まれる。
【００３２】
ＣＣＬ２６の例には、配列番号３を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号３４にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＣＣＬ２６天然配列ポリペプチドとが含まれる。
【００３３】
ＣＬＣＡ１の例には、配列番号４を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号３５にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＣＬＣＡ１天然配列ポリペプチドとが含まれる。
【００３４】
ＣＳＴ２の例には、配列番号５を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号３６にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＣＳＴ天然配列ポリペプチドとが含まれる。
【００３５】
ＰＲＲ４の例には、配列番号６を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号３７にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＰＲＲ４天然配列ポリペプチドとが含まれる。
【００３６】
セルピンＢ２の例には、配列番号７を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな

条件下で配列番号３８にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のセルピンＢ２天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００３７】

ＣＥＡＣＡＭ５の例には、配列番号８を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号３９にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＣＥＡＣＡＭ５天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００３８】

ｉＮＯＳの例には、配列番号９を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号４０にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のｉＮＯＳ天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００３９】

セルピンＢ４の例には、配列番号１０を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号４１及び／又は４２にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のセルピンＢ４天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００４０】

ＣＳＴ４の例には、配列番号１１を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号４３にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＣＳＴ４天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００４１】

ＰＲＢ４の例には、配列番号１２を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号４４にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＰＲＢ４天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００４２】

ＴＰＳＤ１の例には、配列番号１３を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号４５－５１にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＴＰＳＤ１天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００４３】

ＴＰＳＧ１の例には、配列番号１４を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号５２－５５にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＴＰＳＧ１天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００４４】

ＭＦＳＤ２の例には、配列番号１５を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号５６にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＭＦＳＤ２天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００４５】

ＣＰＡ３の例には、配列番号１６を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号５７にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＣＰＡ３天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００４６】

ＧＰＲ１０５の例には、配列番号１７を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェント

な条件下で配列番号５８にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＧＰＲ１０５天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００４７】

ＣＤＨ２６の例には、配列番号１８を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号５９にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＣＤＨ２６天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００４８】

ＧＳＮの例には、配列番号１９を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号６０にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＧＳＮ天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００４９】

Ｃ２ＯＲＦ３２の例には、配列番号２０を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号６１にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＣ２ＯＲＦ３２天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００５０】

ＴＲＡＣＨ２０００１９６（ＴＭＥＭ７１）の例には、配列番号２１を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号６２にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＴＲＡＣＨ２０００１９６（ＴＭＥＭ７１）天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００５１】

ＤＮＡＪＣ１２の例には、配列番号２２を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号６３にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＤＮＡＪＣ１２天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００５２】

ＲＧＳ１３の例には、配列番号２３を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号６４にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＲＧＳ１３天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００５３】

ＳＬＣ１８Ａ２の例には、配列番号２４を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号６５にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＳＬＣ１８Ａ２天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００５４】

セルピンＢ１０の例には、配列番号２５を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号６６にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のセルピンＢ１０天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００５５】

ＳＨ３ＲＦ２の例には、配列番号２６を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号６７にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＳＨ３ＲＦ２天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００５６】

ＦＣＥＲ１Ｂの例には、配列番号２７を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェント

な条件下で配列番号６８にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＦＣＥＲ１Ｂ天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００５７】

ＲＵＮＸ２の例には、配列番号２８を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号６９にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＲＵＮＸ２天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００５８】

ＰＴＧＳ１の例には、配列番号２９を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号７０にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＰＴＧＳ１天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００５９】

ＡＬＯＸ１５の例には、配列番号３０を含んでなるポリペプチドと、ストリンジェントな条件下で配列番号７１にハイブリダイズできる核酸配列によってコードされる天然配列ポリペプチド及び天然に発生する変異体といったその他のＡＬＯＸ１５天然配列ポリペプチドとが含まれる。

【００６０】

「抗ＩＬ１３／ＩＬ４経路阻害薬」は、ＩＬ－１３及び／又はＩＬ－４のシグナル伝達を遮断する薬剤を指す。抗ＩＬ１３、抗ＩＬ４、又は抗ＩＬ１３／ＩＬ４阻害薬の例として、限定されないが、抗ＩＬ１３結合剤、抗ＩＬ４結合剤、抗ＩＬ４レセプターα結合剤が挙げられる。ＩＬ－１３、ＩＬ－４、ＩＬ－１３Ｒα１、ＩＬ－１３Ｒα２、又はＩＬ－４Ｒαに結合できるシグナルドメイン抗体は、特に阻害薬として含まれる。複数の標的に結合できる分子が含まれることを理解されたい。

【００６１】

「抗ＩＬ４結合剤」は、ヒトＩＬ－４に特異的に結合する薬剤である。このような結合剤は、小分子、アプタマー、又はポリペプチドを含むことができる。このようなポリペプチドは、限定されないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディ、及びペプチドからなる群より選択されたポリペプチドを含むことができる。一実施形態によれば、結合剤は、１ｕＭ－１ｐＭの親和性でヒトＩＬ－４配列に結合する。抗ＩＬ－４結合剤の特定の例としては、可溶性のＩＬ４レセプターα（例えば、ヒトＦｃ領域に融合したＩＬ４レセプターの細胞外ドメイン）、抗ＩＬ－４抗体、及び可溶性のＩＬ－１３レセプターα（例えば、ヒトＦｃ領域に融合したＩＬ１３レセプターα１の細胞外ドメイン）を挙げることができる。

【００６２】

「抗ＩＬ４レセプターα結合剤」は、ヒトＩＬ－４レセプターαに特異的に結合する薬剤である。このような結合剤は、小分子、アプタマー、又はポリペプチドを含むことができる。このようなポリペプチドは、限定されないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディ、及びペプチドからなる群より選択されたポリペプチドを含むことができる。一実施形態によれば、結合剤は、１ｕＭ－１ｐＭの親和性でヒトＩＬ－４レセプターα配列に結合する。抗ＩＬ－４レセプターα結合剤の特定の例としては、抗ＩＬ－４レセプターα抗体を挙げることができる。

【００６３】

「抗ＩＬ１３結合剤」は、ヒトＩＬ－１３に特異的に結合する薬剤を指す。このような結合剤は、小分子、アプタマー、又はポリペプチドを含むことができる。このようなポリペプチドは、限定されないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディ、及びペプチドからなる群より選択されたポリペプチドを含むことができる。一実施形態によれば、結合剤は、１ｕＭ－１ｐＭの親和性でヒトＩＬ－１３配列に結合する。抗ＩＬ－１３結合剤の特定の例としては、抗ＩＬ－１３抗体、ヒトＦｃに融合した可溶性のＩＬ－１３レセプター

α２、ヒトＦｃに融合した可溶性のＩＬ４レセプターα、ヒトＦｃに融合した可溶性のＩＬ１３レセプターαを挙げることができる。一実施形態によれば、抗ＩＬ１３抗体は、ＴＮＸ－６５０抗体（国際公開第２００５／０６２９７２号）の可変ドメインを含む。ＴＮＸ－６５０抗体の可変ドメインは、（１）QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTVSGFSLSAYSVNWIRQPPGKALEWLAMIWGDGKIVYNSALKSRLTISKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCAGDGYYPYAMDNWGQGSLVTVSS（配列番号１９３）を含むＶＨ、及び（２）DIVMTQSPDSLSVSLGERATINCRASKSVDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEDPRTFGGGTKVEIK（配列番号１９４）を含むＶＬを含んでなる。

抗ＩＬ１３抗体の他の例は、国際公開第２００８／０８３６９５号（例えば、ＩＭＡ－６３８及びＩＭＡ－０２６）、米国特許公開第２００８／０２６７９５９号、同第２００８／００４４４２０号、及び同第２００８／０２４８０４８号に記載されている。

【００６４】

「抗ＩＬ１３レセプターα１結合剤」は、ヒトＩＬ１３レセプターα１に特異的に結合する薬剤を指す。このような結合剤は、小分子、アプタマー、又はポリペプチドを含むことができる。このようなポリペプチドは、限定されないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディ、及びペプチドからなる群より選択されたポリペプチドを含むことができる。一実施形態によれば、結合剤は、１ｕＭ－１ｐＭの親和性でヒトＩＬ－１３レセプターα１配列に結合する。抗ＩＬ－１３レセプターα１結合剤の特定の例としては、抗ＩＬ－１３レセプターα１抗体を挙げることができる。

【００６５】

「抗ＩＬ１３レセプターα２結合剤」は、ヒトＩＬ１３レセプターα２に特異的に結合する薬剤を指す。このような結合剤は、小分子、アプタマー、又はポリペプチドを含むことができる。このようなポリペプチドは、限定されないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディ、及びペプチドからなる群より選択されたポリペプチドを含むことができる。一実施形態によれば、結合剤は、１ｕＭ－１ｐＭの親和性でヒトＩＬ－１３レセプターα２配列に結合する。抗ＩＬ－１３レセプターα２結合剤の特定の例としては、抗ＩＬ１３レセプターα２抗体を挙げることができる。

【００６６】

「抗ＩｇＥ結合剤」は、ヒトＩｇＥに特異的に結合する薬剤を指す。このような結合剤は、小分子、アプタマー、又はポリペプチドを含むことができる。このようなポリペプチドは、限定されないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディ、及びペプチドからなる群より選択されたポリペプチドを含むことができる。一実施形態によれば、抗ＩｇＥ抗体は、Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val（配列番号２１３）を含むＶＬ配列と、Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Tyr Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Val Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly Gln Gly（配列番号２１４）を含むＶＨ配列とを含んでなる。

【００６７】

「抗Ｍ１’結合剤」は、Ｂ細胞の表面にＩｇＥを発現する膜近傍のＭ１’領域に特異的に結合する薬剤を指す。このような結合剤は、小分子、アプタマー、又はポリペプチドを含むことができる。このようなポリペプチドは、限定されないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディ、及びペプチドからなる群より選択されたポリペプチドを含むことがで

きる。一実施形態によれば、抗ＩｇＥ抗体は、国際公開第２００８／１１６１４９号に記載の抗体、又はその変異体を含む。

【００６８】

「小分子」は、５０ダルトン～２５００ダルトンの分子量を有する有機分子を指す。

【００６９】

「抗体」という用語は最も広い意味で使用され、例えば、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多エピトープ特異性を持つ抗体、一本鎖抗体、多特異性抗体、及び抗体の断片を包含する。このような抗体は、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体及び合成抗体とすることができる。このような抗体と、それらの生成方法について、後述で更に詳しく説明する。

【００７０】

「可変」という用語は、可変ドメインのある部位が、抗体の中で配列が広範囲に異なっているという事実を意味する。Ｖ領域は、抗原結合を媒介し、その特定の抗原に対する特定の抗体の特異性を定義する。しかしながら、可変性は可変ドメインの１１０のアミノ酸スパンに亘って一様には分布していない。そうではなく、Ｖドメインは、１５～３０のアミノ酸からなるフレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる比較的不変のストレッチから構成されており、それらのアミノ酸は、各々が９～１２アミノ酸長の、「高頻度可変領域と呼ばれて極端な可変性を有する短い領域によって分離されている。天然の重鎖及び軽鎖の可変ドメインの各々は、βシート構造を結合し、ある場合にはその一部を形成するループ結合を形成する３つの高頻度可変領域により連結された、βシート配置を主にとる４つのＦＲをそれぞれ含んでいる。各鎖の高頻度可変領域は、ＦＲによって近接して結合され、他の鎖の高頻度可変領域と共に、抗体の抗原結合部位の形成に寄与している(Kabat等, Sequence of Proteins ofImmunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, BEthesda, MD. (1991)参照)。定常ドメインは、抗体の抗原への結合に直接関連しているものではないが、種々のエフェクター機能、例えば抗体依存性細胞障害性（ＡＤＣＣ）への抗体の関与を示す。

【００７１】

ここで使用される「高頻度可変領域」（又は「ＨＶＲ」）なる用語は、抗原結合を担う抗体のアミノ酸残基を指す。高頻度可変領域は、一般に、「相補性決定領域」又は「ＣＤＲ」由来のアミノ酸残基（例えば、ＶＬの、概ね残基２４－３４（Ｌ１）、５０－５６（Ｌ２）、及び８９－９７（Ｌ３）周辺と、ＶＨの概ね３１－３５Ｂ（Ｈ１）、５０－６５（Ｈ２）、及び９５－１０２（Ｈ３））（Kabatら、Sequences of Protein of Immunological Interest, 第５版、Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)）、及び／又は「高頻度可変ループ」由来のそれらの残基（例えば、ＶＬの残基２６－３２（Ｌ１）、５０－５１（Ｌ２）、及び９１－９６（Ｌ３）と、ＶＨの２６－３２（Ｈ１）、５２Ａ－５５（Ｈ２）、及び９６－１０１（Ｈ３）と（Chothia及びLesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)）を含む。

【００７２】

高頻度可変領域は、次のような「拡大ＨＶＲ」を含むことができる、即ち、ＶＬの２４－３６(Ｌ１)、４６－５６(Ｌ２)及び８９－９７(Ｌ３)、並びにＶＨの２６－３５(Ｈ１)、４７－６５(Ｈ２)及び９３－１０２(Ｈ３)である。可変ドメイン残基は、これら各々を規定するために、Kabat等, 上掲に従って番号付けされる。

【００７３】

「フレームワーク」又は「ＦＲ」残基は、ここで定義する高頻度可変領域残基以外の可変ドメイン残基である。例えば、軽鎖フレームワーク１（ＬＣ－ＦＲ１）、フレームワーク２（ＬＣ－ＦＲ２）、フレームワーク３（ＬＣ－ＦＲ３）及びフレームワーク４（ＬＣ－ＦＲ４）領域は、抗体の番号１－２３、３５－４９、５７－８８、及び９８－１０７（Kabat番号付けシステム）の残基をそれぞれ含みうる。別の実施例では、重鎖フレームワーク１（ＨＣ－ＦＲ１）、重鎖フレームワーク２（ＨＣ－ＦＲ２）、重鎖フレームワーク３（ＨＣ－ＦＲ３）、及び重鎖フレームワーク４（ＨＣ－ＦＲ４）は、それぞれ抗体の残

基１－２５、３６－４８、６６－９２、及び１０３－１１３（Kabat番号付けシステム）を含みうる。

【００７４】

ここで示すように、「コンセンサス配列」又はコンセンサスＶドメイン配列は、公知のヒト免疫グロブリン可変領域配列の比較から得られた人工の配列である。

【００７５】

ここで使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を意味する、すなわち、一般的に少量で存在しうる突然変異などの、モノクローナル抗体の生成中に生じる可能性のある突然変異体を除いて、集団を含む個々の抗体が、同一及び／又は同じエピトープに結合する。このようなモノクローナル抗体には典型的には、標的を結合するポリペプチド配列を含んでなる抗体が含まれ、この標的結合ポリペプチド配列は、複数のポリペプチド配列からの単一の標的結合ポリペプチド配列の選択を含む方法によって入手されたものである。例えば、選別方法は、ハイブリドーマクローン、ファージクローン又は組み換えＤＮＡクローンのプールなどの複数のクローンからの特定のクローンの選別でもよい。選別した標的結合配列は、例えば標的に対する親和性を改善するため、標的結合配列をヒト化するため、細胞培養物内での産生を改善するため、インビボの免疫原性を低減するため、多特異性抗体を作製するなどのためにさらに変更することができること、並びに変更した標的結合配列を含んでなる抗体も本発明のモノクローナル抗体であることを理解されたい。一般に、異なる決定基(エピトープ)に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物と比べて、モノクローナル抗体調整物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。その特異性に加えて、モノクローナル抗体調整物は、典型的に他のイムノグロブリンが混入することがない点で有利である。「モノクローナル」との修飾詞は、抗体の実質的に均一な集団から得られるという抗体の性質を示すものであり、抗体を何か特定の方法で生成しなければならないことを意味するものではない。例えば、本発明において用いられるモノクローナル抗体は、様々な技術、例えばハイブリドーマ法(例えばKohler 等, Nature, 256:495 (1975)；Harlow 等, Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988)；Hammerling 等, : Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681, (Elsevier, N.Y., 1981)、組み換えＤＮＡ法(例えば米国特許第４８１６５６７号を参照)、ファージディスプレイ技術(例えばClackson 等, Nature, 352:624-628 (1991)；Marks 等, J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991)；Sidhu 等, J. Mol. Biol. 338(2):299-310 (2004)；Lee 等, J.Mol.Biol.340(5):1073-1093 (2004)；Fellouse, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 101(34):12467-12472 (2004)；及びLee 等 J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132 (2004)を参照)、及び一部ないしはすべてのヒトイムノグロブリン遺伝子座又はヒトイムノグロブリン配列をコードする遺伝子を有する動物からヒトないしはヒト様抗体を生成するための技術(例えば、国際公開第９８／２４８９３号、同第／９６３４０９６号、同第／９６３３７３５号、及び同第／９１　１０７４１号、、Jakobovits 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:2551 (1993)；Jakobovits 等, Nature, 362:255-258 (1993)；Bruggemann 等, Year in Immuno., 7:33 (1993)；米国特許第５５４５８０６号、同第５５６９８２５号、同第5559169９号(すべてGenPharm)；同第５５４５８０７号；国際公開第９７／１７８５２号、米国特許第５５４５８０７号；同第５５４５８０６号；同第５５６９８２５号；同第５６２５１２６号；同第５６３３４２５号；及び同第５６６１０１６号、及びMarks 等, Bio/Technology, 10: 779-783 (1992)；Lonberg 等, Nature, 368: 856-859 (1994)；Morrison, Nature, 368: 812-813 (1994)；Fishwild 等, Nature Biotechnology, 14: 845-851 (1996)；Neuberger, Nature Biotechnology, 14: 826 (1996)；及びLonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol., 13: 65-93 (1995))によって作製してもよい。

【００７６】

ここで、モノクローナル抗体は、重鎖及び／又は軽鎖の一部が、特定の種由来の抗体、あるいは特定の抗体クラス又はサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一であるか又

は相同性があり、鎖の残りの部分が他の種由来の抗体、あるいは他の抗体クラス又はサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一であるか又は相同である「キメラ」抗体、並びにそれが所望の生物的活性を有する限りこのような抗体の断片を特に含む(米国特許第４８１６５６７号；Morrison等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855(1984))。キメラ抗体の作製方法は当分野で公知である。

【００７７】

非ヒト(例えばマウス)抗体の「ヒト化」型は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含むキメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖又はその断片(例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ(ａｂ’)２又は抗体の他の抗原結合サブ配列)である。いくつかの実施態様では、ヒト化抗体は、レシピエントの相補性決定領域(ＣＤＲ)の残基が、所望の特異性、親和性及び能力を有するマウス、ラット又はウサギなどの非ヒト種のＣＤＲの残基(ドナー抗体)によって置換されたヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)である。ある例では、ヒト免疫グロブリンのＦｖフレームワーク領域(ＦＲ)残基が、対応する非ヒト残基によって置換される。更に、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にも、もしくは導入したＣＤＲ又はフレームワーク配列にも見出されない残基を含んでいてもよい。これらの修飾は抗体の特性を更に洗練し、最大にするために行われる。一般に、ヒト化抗体は少なくとも１つの可変ドメインの実質的に全てを含むものであり、その可変ドメインは、全てあるいは実質的に全ての高頻度可変ループが非ヒト免疫グロブリンに由来するものであり、ＦＲ領域は、例えば結合親和性を改善しうる一ないし複数のアミノ酸置換を含みうるが、全てあるいは実質的に全てのＦＲ領域がヒト免疫グロブリン配列のものである。ある好適な実施態様では、ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域(Ｆｃ)、一般的にはヒト免疫グロブリンのもの又はヒトコンセンサス定常配列の少なくとも一部も含む。更なる詳細については、Jones等, Nature, 321:522-525(1986)；Reichmann等, Nature 332:323-329(1988)；及びPresta, Curr.Op.Struct.Biol., 2:593-596(1992)を参照のこと。ヒト化抗体には、抗体の抗原結合領域が、例えば対象の抗原でマカクザルを免疫化することによって産生した抗体由来のものであるPRIMATIZED(登録商標)抗体が含まれる。ヒト化抗体の作製方法は当分野において公知である。

【００７８】

ヒト抗体はまた、ファージディスプレイライブラリを含む従来技術に既知の様々な技術を用いて作成することができる。Hoogenboom及びWinter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991)；Marks等、J. Mol. Biol., 222:581 (1991)。また、Cole等及びBoerner等の技術が、ヒトモノクローナル抗体の調製に利用可能である。Cole等、Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985)；Boerner等、J. Immunol., 147(1):86-95 (1991)。また、Lonberg and Huszar, Int. Rev. Immunol. 13:65-93 (1995)を参照のこと。PCT国際公開第９８／２４８９３号；同第９２／０１０４７号；同第９６／３４０９６号；同第９６／３３７３５号；欧州特許第０５９８８７７号；米国特許第５４１３９２３号；同第５６２５１２６号；同第５６３３４２５号；同第５５６９８２５号；同第５６６１０１６号；同第５５４５８０６号；同第５８１４３１８号；同第５８８５７９３号；同第５９１６７７１号；及び同第５９３９５９８号。

【００７９】

「抗体断片」には、完全長抗体の一部、一般的にその抗体の抗原結合領域又は可変領域が含まれる。抗体断片の例には、Ｆａｂ、Ｆａｂ'、$F(ab')_2$及びＦｖ断片；ダイアボディー(diabodies)；直鎖状抗体；単鎖抗体分子；及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が含まれる。

【００８０】

「Ｆｖ」は、完全な抗原認識及び結合部位を含む最小抗体断片である。この断片は、１の重鎖と１の軽鎖可変領域ドメインが密接に非共有結合した二量体よりなる。この２つのドメインのフォールディングから６つの高頻度可変性ループ(Ｈ鎖及びＬ鎖のそれぞれから３ループずつ)が生じ、それが、アミノ酸残基による抗原結合に寄与して抗体に抗原結合特異性をもたらす。しかしながら、単鎖可変ドメイン(又は抗原特異的なＣＤＲを３つ

しか含まないＦｖの半分)でさえ、結合部位全体より親和性は低いが、抗原を認識して結合する能力を持つ。

【００８１】

本発明のＢＲ３結合抗体の「機能的断片」は、断片が由来するインタクトな完全鎖分子と実質的に同じ親和性でのポリペプチドへの結合を保持し、少なくとも１のアッセイ（例えば、マウスなどのＴＨ２誘導性の喘息経路の阻害、又はインビトロで抗体断片に結合する抗原の生物学的活性の阻害）において活性な断片である。

【００８２】

抗体の「エフェクター機能」とは、抗体のＦｃ領域(天然配列Ｆｃ領域又はアミノ酸配列変異体Ｆｃ領域)に帰する生物学的活性を意味し、抗体のアイソタイプにより変わる。抗体のエフェクター機能の例には、Ｃ１ｑ結合及び補体依存性細胞障害；Ｆｃレセプター結合性；抗体依存性細胞媒介性細胞障害(ＡＤＣＣ)；貪食作用；細胞表面レセプター(例えば、Ｂ細胞レセプター)の下方制御；及びＢ細胞活性化が含まれる。「天然配列Ｆｃ領域」は、天然に見出されるＦｃ領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。

【００８３】

ペプチド又はポリペプチド配列に関する「パーセント(％)アミノ酸配列同一性」とは、如何なる保存的置換も配列同一性の一部と考えて配列を整列させた後の、比較対照のポリペプチドのアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、当業者の技量の範囲にある種々の方法、例えばＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ-２、ＡＬＩＧＮ、又はＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウエアのような公に入手可能なコンピュータソフトウエアを使用することにより達成可能である。当業者であれば、比較される配列の完全長に対して最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。しかし、ここでの目的のためには、％アミノ酸配列同一性値は、配列比較コンピュータプログラムＡＬＩＧＮ-２を使用することによって得られる。ＡＬＩＧＮ－２配列比較コンピュータプログラムの著作権は本出願人が有しており、そのソースコードはユーザードキュメンテーションと共に米国著作権局（Washington D.C., 20559）に提出され、米国著作権登録番号第ＴＸ５１００８７の下に登録されている。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、本出願人（South San Francisco, California）により公に入手可能である。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、ＵＮＩＸオペレーションシステム、好ましくはデジタルＵＮＩＸ　Ｖ４．０Ｄ用にコンパイルされている。全ての配列比較パラメータはＡＬＩＧＮ－２によって設定されており、変動しない。

【００８４】

「Ｆｃ領域を含んだポリペプチド」という用語は、Ｆｃ領域を含む抗体もしくはイムノアドヘンシン(下記記載の定義を参照)などのポリペプチドを指す。Ｆｃ領域のＣ末端リジン(ＥＵ番号付けシステムに従うと残基４４７)は、例えば、ポリペプチドの精製中に、又はポリペプチドをコードする核酸を組み換え操作することによって除去してもよい。したがって、本発明のＦｃ領域を有する、抗体などのポリペプチドを含んでなる組成物は、すべてのＫ４４７残基が除去されたポリペプチド集団、除去されるＫ４４７残基のないポリペプチド集団又はＫ４４７残基を有するポリペプチドとＫ４４７を有さないポリペプチドが混合しているポリペプチド集団を包含する。

【００８５】

本明細書及び特許請求の範囲すべてに亘って、一般的に、可変ドメインの残基を指す場合にはカバット番号付けシステムを用いる(およそ、軽鎖の残基１－１０７と重鎖の残基１－１１３)(例として、Kabat 等, Sequences of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))。一般的に、イムノグロブリン重鎖定常領域内の残基を指す場合には、「ＥＵ番号付けシステム」又は「ＥＵインデックス」を用いる(ＥＵインデックスはKabat 等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes

of Health, Bethesda, MD (1991)において報告されており、出典明記によって本明細書中に組み込まれる)。本明細書中で特に述べない限り、抗体の可変ドメイン内の残基の数の参照は、カバット番号付けシステムによって番号付けした残基を意味する。本明細書中で特に述べない限り、抗体の定常ドメイン内の残基の数の参照は、ＥＵ番号付けシステムによって番号付けした残基を意味する(例として、米国特許仮出願第６０／６４０３２３号、ＥＵ番号付けについての図を参照)。

【００８６】

ハイブリダイゼーション反応の「ストリンジェンシー」は、当業者によって容易に決定され、一般的にプローブ長、洗浄温度、及び塩濃度に依存する経験的な計算である。一般に、プローブが長くなると適切なアニーリングのための温度が高くなり、プローブが短くなると温度は低くなる。ハイブリダイゼーションは、一般的に、相補的鎖がその融点より低い環境に存在するときの変性ＤＮＡが再アニールする能力に依存する。プローブとハイブリダイゼーション可能な配列との間の所望の相同性の程度が高くなると、使用できる相対温度が高くなる。その結果、より高い相対温度は、反応条件をよりストリンジェントにするが、低い温度はストリンジェンシーを低下させる。ハイブリダイゼーション反応のストリンジェンシーの更なる詳細及び説明は、Ausubel等, Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience Publishers, (1995)を参照のこと。

【００８７】

ここで定義される「ストリンジェントな条件」又は「高度のストリンジェント条件」は、（１）洗浄のために低イオン強度及び高温度を用いるもの、例えば、５０℃において０．０１５Ｍの塩化ナトリウム／０．００１５Ｍのクエン酸ナトリウム／０．１％のドデシル硫酸ナトリウムを用いるもの；（２）ハイブリダイゼーション中にホルムアミド等の変性剤を用いるもの、例えば、４２℃において５０％（ｖ／ｖ）ホルムアミド、０．１％ウシ血清アルブミン／０．１％フィコール／０．１％のポリビニルピロリドン／５０ｍＭのｐＨ６．５のリン酸ナトリウムバッファー、及び７５０ｍＭの塩化ナトリウム、７５ｍＭのクエン酸ナトリウムを用いるもの；又は（３）４２℃において５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（０．７５ＭのＮａＣｌ、０．０７５Ｍのクエン酸ナトリウム）、５０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ６．８）、０．１％のピロリン酸ナトリウム、５×デンハード液、超音波処理サケ精子ＤＮＡ（５０μｇ／ｍｌ）、０．１％ＳＤＳ、及び１０％のデキストラン硫酸を用いた溶液中で終夜ハイブリダイゼーションし、４２℃において０．２×ＳＳＣ（塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム）中で洗浄した後、５５℃においてＥＤＴＡを含む０．１×ＳＳＣからなる高ストリンジェント洗浄を用いるものによって同定できる。

【００８８】

「中程度のストリンジェント条件」は、Sambrook等、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989に記載されているように特定され、上記のものよりストリンジェンシーが低い洗浄液及びハイブリダイゼーション条件（例えば、温度、イオン強度及び％ＳＤＳ）の使用を含む。中程度のストリンジェント条件の一例は、２０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（１５０ｍＭのＮａＣｌ、１５ｍＭのクエン酸三ナトリウム）、５０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ７．６）、５×デンハード液、１０％デキストラン硫酸、及び２０ｍｇ／ｍＬの変性剪断サケ精子ＤＮＡを含む溶液中の３７℃での終夜のインキュベーション後に、３７～５０℃にて１×ＳＳＣ中でフィルター洗浄を行うという条件である。プローブ長などの因子に必要に応じて適合させるには、どのようにして温度、イオン強度等を調節するかは当業者であれば分かるであろう。

【００８９】

本明細書で使用する場合、治療対象は哺乳動物（例えば、ヒト、非ヒト霊長類、ラット、マウス、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコなど）である。対象は、臨床患者、臨床試験のボランティア、実験動物などでよい。対象は、喘息を持っていることが疑われるか、又は喘息を有する危険を有しているか、或いは喘息と診断されている。好ましい一実施形態によれば、本発明により治療されるのはヒトである。

【００９０】

「治療すること」又は「処置」又は「寛解」は、治療的処置を表し、この目的は標的とした病態又は疾患を予防する、衰退(減少)させるか、又は疾患の症状の再発を予防することである。処置を必要とするものには、既に疾患を有しているもの、並びに疾患にかかり易いもの、又は疾患を予防しているものが含まれる。対象又は哺乳動物の喘息は、本発明の治療薬を摂取した後、患者が、反復性の喘鳴、咳、呼吸障害、胸部絞扼感、夜間に発生又は悪化する症状、冷気、運動、又はアレルゲンへの暴露によって引き起こされる症状のうちの１又は複数の、観察可能及び／又は測定可能な減少又は消滅を示した場合、成功裏に「治療され」ている。

【００９１】

「治療的有効量」という用語は、対象の疾患又は疾病を「寛解」させる又は「治療」するのに効果的な本発明のポリペプチドの量を指す。

【００９２】

「慢性」投与とは、急性モードの反対の意味で連続モードでの薬剤の投与を指し、これにより初期治療効果（活性）を長期間に亘って維持しようとするものである。「断続的」投与とは、中断無く連続的に行われるのではなく、周期的に行われる性質を持つ処置である。

【００９３】

「強制呼気量（ＦＥＶ１）」は、強制呼気の最初の一秒間に排出された空気量を測定する標準的な試験を指す。ＦＥＶ１は、マウスピースと、結果を記録してグラフに示す器械に接続された使い捨てチューブとから構成される肺活量計によって測定される。肺活量測定を行うには、息を深く吸い込み、チューブの周りで口をきつく閉めてから、チューブを通して息を吸い込みながら測定を行う。吐き出した空気の体積と、一息の継続時間を記録して分析する。肺活量測定の結果はパーセンテージで表わされる。正常な肺活量の例は、一秒後肺活量の７５％に相当するＦＥＶ１を含む。異常な肺活量測定の結果の一例は、正常な予測値の８０％に満たない読み取り値を含む。異常な結果は、通常、何らかの重症度の、喘息、肺気腫、又は慢性気管支炎といった閉塞性肺疾患、或いは肺繊維症といった拘束性肺疾患の存在を示す。例えば、ＦＥＶ１の値（予測値のパーセンテージ）を使用して、喘息により引き起こされうる閉塞症及び肺気腫又は慢性気管支炎のようなその他の肺閉塞疾患を分類することができる。即ち、ＦＥＶ１が予測値の６５～７９％である場合は軽度の閉塞症に、ＦＥＶ１が予測値の４０～５９％である場合は中等度の閉塞症に、ＦＥＶ１が予測値の４０％未満である場合は重度の閉塞症に分類される。

【００９４】

（例えばマイクロアレイ解析により）本明細書で説明するタンパク質を同定するために使用できる核酸プローブの例には、限定されないが、表４に記載のプローブが含まれる。

【００９５】

「発現レベルの上昇」又は「上昇したレベル」は、喘息を有していない個人などのコントロールと比較した場合の、患者におけるｍＲＮＡ又はタンパク質の発現の増大を指す。

【００９６】

本明細書に引用される全ての出版物（特許及び特許出願を含む）は、出典を明記することによりそれらの全体が本明細書に包含される。

【００９７】

本明細書及び請求の範囲を通じて、「含む」、或いは「含んでなる」「有する」といったその変形は、言及された１又は複数の整数が含まれることを意味し、１又は複数のいずれかの他の整数を排除するものではない。

【００９８】

上述に記載の説明は、当業者が本発明を実施するために十分であると考えられる。以下の実施例は、例示のみを目的とするものであり、いかなる意味でも本発明の範囲を制限するものではない。実際、当業者には、上述の説明から、ここに示して説明するものに加えて、本発明の様々な修正が可能であることが明らかであり、それらは請求の範囲に含まれる。

【００９９】
一部参照文献のリスト
1. Haldar, P.及びI.D. Pavord, Noneosinophilic asthma: a distinct clinical and pathologic phenotype. J Allergy Clin Immunol, 2007. 119(5): p. 1043-52; quiz 1053-4.
2. Hershey, G.K., IL-13 receptors and signaling pathways: an evolving web. J Allergy Clin Immunol, 2003. 111(4): p. 677-90; quiz 691.
3. Berry, M.A.ら、Sputum and bronchial submucosal IL-13 expression in asthma and eosinophilic bronchitis. J Allergy Clin Immunol, 2004. 114(5): p. 1106-9.
4. Humbert, M.ら、Elevated expression of messenger ribonucleic acid encoding IL-13 in the bronchial mucosa of atopic and nonatopic subjects with asthma. J Allergy Clin Immunol, 1997. 99(5): p. 657-65.
5. Truyen, E.ら、Evaluation of airway inflammation by quantitative Th1/Th2 cytokine mRNA measurement in sputum of asthma patients. Thorax, 2006. 61(3): p. 202-8.
6. Saha, S.K.ら、Increased sputum and bronchial biopsy IL-13 expression in severe asthma. J Allergy Clin Immunol, 2008. 121(3): p. 685-91.
7. Yuyama, N.ら、Analysis of novel disease-related genes in bronchial asthma. Cytokine, 2002. 19(6): p. 287-96.
8. Woodruff, P.G.ら、Genome-wide profiling identifies epithelial cell genes associated with asthma and with treatment response to corticosteroids. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. 104(40): p. 15858-63.
9. Takayama, G.ら、Periostin: a novel component of subepithelial fibrosis of bronchial asthma downstream of IL-4 and IL-13 signals. J Allergy Clin Immunol, 2006. 118(1): p. 98-104.
10. Hayashi, N.ら、T helper 1 cells stimulated with ovalbumin and IL-18 induce airway hyperresponsiveness and lung fibrosis by IFN-gamma and IL-13 production. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. 104(37): p. 14765-70.
11. Blanchard, C.ら、IL-13 involvement in eosinophilic esophagitis: transcriptome analysis and reversibility with glucocorticoids. J Allergy Clin Immunol, 2007. 120(6): p. 1292-300.
12. Nakanishi, A.ら、Role of gob-5 in mucus overproduction and airway hyperresponsiveness in asthma. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. 98(9): p. 5175-80.
13. Zhou, Y.ら、Characterization of a calcium-activated chloride channel as a shared target of Th2 cytokine pathways and its potential involvement in asthma. Am J Respir Cell Mol Biol, 2001. 25(4): p. 486-91.
14. Kuperman, D.A.ら、Dissecting asthma using focused transgenic modeling and functional genomics. J Allergy Clin Immunol, 2005. 116(2): p. 305-11.
15. Ray, R.ら、Uteroglobin suppresses SCCA gene expression associated with allergic asthma. J Biol Chem, 2005. 280(11): p. 9761-4.
16. Sabatini, L.M.ら、Tissue distribution of RNAs for cystatins, histatins, statherin, and proline-rich salivary proteins in humans and macaques. J Dent Res, 1989. 68(7): p. 1138-45.
17. Lindahl, M., B. Stahlbom,及びC. Tagesson, Newly identified proteins in human nasal and bronchoalveolar lavage fluids: potential biomedical and clinical applications. Electrophoresis, 1999. 20(18): p. 3670-6.
18. Cimerman, N.ら、Serum cystatin C, a potent inhibitor of cysteine proteinases, is elevated in asthmatic patients. Clin Chim Acta, 2000. 300(1-2): p. 83-95.
19. Finkelman, F.D.ら、Suppressive effect of IL-4 on IL-13-induced genes in mouse lung. J Immunol, 2005. 174(8): p. 4630-8.

20. Zimmermann, N.ら、Expression and regulation of small proline-rich protein 2 in allergic inflammation. Am J Respir Cell Mol Biol, 2005. 32(5): p. 428-35.
21. Warner, T.F.及びE.A. Azen, Proline-rich proteins are present in serous cells of submucosal glands in the respiratory tract. Am Rev Respir Dis, 1984. 130(1): p. 115-8.
22. Maeda, Y.ら、[Concentrations of carcinoembryonic antigen in serum and bronchoalveolar lavage fluid of asthmatic patients with mucoid impaction]. Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi, 2004. 42(12): p. 988-93.
23. Suresh, V., J.D. Mih,及びS.C. George, Measurement of IL-13-induced iNOS-derived gas phase nitric oxide in human bronchial epithelial cells. Am J Respir Cell Mol Biol, 2007. 37(1): p. 97-104.
24. Storey, J.D.及びR. Tibshirani, Statistical significance for genomewide studies. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. 100(16): p. 9440-5.
25. Eisen, M.B.ら、Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. 95(25): p. 14863-8.
26. Saldanha, A.J., Java Treeview--extensible visualization of microarray data. Bioinformatics, 2004. 20(17): p. 3246-8.
27. Kelly-Welch, A. E., Hanson, E. M., Boothby, M. R.及びKeegan, A. D. Interleukin-4 and interleukin-13 signaling connections maps. Science 300, 1527-8 (2003).
28. Fixman, E. D., Stewart, A.及びMartin, J. G. Basic mechanisms of development of airway structural changes in asthma. Eur Respir J 29, 379-89 (2007).
29. Holgate, S. T. Pathogenesis of asthma. Clin Exp Allergy 38, 872-97 (2008).
30. Roche, W. R., Beasley, R., Williams, J. H.及びHolgate, S. T. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. Lancet 1, 520-4 (1989).
31. Ferrando, R. E., Nyengaard, J. R., Hays, S. R., Fahy, J. V.及びWoodruff, P. G. Applying stereology to measure thickness of the basement membrane zone in bronchial biopsy specimens. J Allergy Clin Immunol 112, 1243-5 (2003).
32. Ordonez, C. L.ら、Mild and moderate asthma is associated with airway goblet cell hyperplasia and abnormalities in mucin gene expression. Am J Respir Crit Care Med 163, 517-23 (2001).
33. Martin, R. J.ら、The Predicting Response to Inhaled Corticosteroid Efficacy (PRICE) trial. J Allergy Clin Immunol 119, 73-80 (2007).
34. Wenzel, S., Wilbraham, D., Fuller, R., Getz, E. B.及びLongphre, M. Effect of an interleukin-4 variant on late phase asthmatic response to allergen challenge in asthmatic patients: results of two phase 2a studies. Lancet 370, 1422-31 (2007).
35. Grunig, G.ら、Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. Science 282, 2261-3 (1998).
36. Wills-Karp, M.ら、Interleukin-13: central mediator of allergic asthma. Science 282, 2258-61 (1998).
37. Simpson, J. L., Scott, R., Boyle, M. J.及びGibson, P. G. Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum. Respirology 11, 54-61 (2006).
38. Wenzel, S. E.ら、Evidence that severe asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiologic and clinical characteristics. Am J Respir Crit Care Med 160, 1001-8 (1999).
39. Wenzel, S. E. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes. Lancet 368, 804-13 (2006).
40. Berry, M.ら、Pathological features and inhaled corticosteroid response of eosinophilic and non-eosinophilic asthma. Thorax 62, 1043-9 (2007).

41. Pavord, I. D., Brightling, C. E., Woltmann, G.及びWardlaw, A. J. Non-eosinophilic corticosteroid unresponsive asthma. Lancet 353, 2213-4 (1999).
42. McKinley, L.ら、TH17 cells mediate steroid-resistant airway inflammation and airway hyperresponsiveness in mice. J Immunol 181, 4089-97 (2008).
43. Holgate, S. T. Epithelium dysfunction in asthma. J Allergy Clin Immunol 120, 1233-44; quiz 1245-6 (2007).
44. Martin, R. J., Kraft, M., Chu, H. W., Berns, E. A.及びCassell, G. H. A link between chronic asthma and chronic infection. J Allergy Clin Immunol 107, 595-601 (2001).
45. Dolganov, G. M.ら、A novel method of gene transcript profiling in airway biopsy homogenates reveals increased expression of a Na+-K+-Cl- cotransporter (NKCC1) in asthmatic subjects. Genome Res 11, 1473-83 (2001).
46. Innes, A. L.ら、Epithelial mucin stores are increased in the large airways of smokers with airflow obstruction. Chest 130, 1102-8 (2006).
47. Gentleman, R. C.ら、Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. Genome Biol 5, R80 (2004).
48. Douwes J, Gibson P, Pekkanen J, Pearce N. Non-eosinophilic asthma: importance and possible mechanisms. Thorax 2002;57(7):643-8.
49. Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM. The development of allergic inflammation. Nature 2008;454(7203):445-54.
50. Barnes PJ. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. J Clin Invest 2008;118(11):3546-56.
51. Woodruff PG, Koth LL, Yang YH,ら、A distinctive alveolar macrophage activation state induced by cigarette smoking. Am J Respir Crit Care Med 2005;172(11):1383-92.
52. Weibel ER, Hsia CC, Ochs M. How much is there really? Why stereology is essential in lung morphometry. J Appl Physiol 2007;102(1):459-67.
53. Seibold MA, Donnelly S, Solon M,ら、Chitotriosidase is the primary active chitinase in the human lung and is modulated by genotype and smoking habit. J Allergy Clin Immunol 2008;122(5):944-50 e3.
54. Kim EY, Battaile JT, Patel AC,ら、Persistent activation of an innate immune response translates respiratory viral infection into chronic lung disease. Nat Med 2008;14(6):633-40.
55. Peters-Golden M. The alveolar macrophage: the forgotten cell in asthma. Am J Respir Cell Mol Biol 2004;31(1):3-7.
56. Chu HW, Balzar S, Westcott JY,ら、Expression and activation of 15-lipoxygenase pathway in severe asthma: relationship to eosinophilic phenotype and collagen deposition. Clin Exp Allergy 2002;32(11):1558-65.
57. Gordon S. Alternative activation of macrophages. Nat Rev Immunol 2003;3(1):23-35.
58. Anderson GP. Endotyping asthma: new insights into key pathogenic mechanisms in a complex, heterogeneous disease. Lancet 2008;372(9643):1107-19.
59. Berry MA, Hargadon B, Shelley M,ら、Evidence of a role of tumor necrosis factor alpha in refractory asthma. N Engl J Med 2006;354(7):697-708.
60. Takatsu K, Nakajima H. IL-5 and eosinophilia. Curr Opin Immunol 2008;20(3):288-94.
61. Zimmermann N, Hershey GK, Foster PS, Rothenberg ME. Chemokines in asthma: cooperative interaction between chemokines and IL-13. J Allergy Clin Immunol 2003;111(2):227-42; quiz 43.
62. Flood-Page PT, Menzies-Gow AN, Kay AB, Robinson DS. Eosinophil's role remai

ns uncertain as anti-interleukin-5 only partially depletes numbers in asthmatic airway. Am J Respir Crit Care Med 2003;167(2):199-204.
63. Flood-Page P, Swenson C, Faiferman I,ら、A study to evaluate safety and efficacy of mepolizumab in patients with moderate persistent asthma. Am J Respir Crit Care Med 2007;176(11):1062-71.
64. Baril, P.ら、Periostin promotes invasiveness and resistance of pancreatic cancer cells to hypoxia-induced cell death: role of the beta4 integrin and the PI3k pathway. Oncogene, 2007: 26(14): p. 2082-94.
65. Kudo, Y.ら、Periostin promotes invasion and anchorage-independent growth in the metastatic process of head and neck cancer. Cancer Res, 2006:66(14): p. 6928-35
66. Puglisi, F.ら、Expression of periostin in human breast cancer. J Clin Pathol, 2008:61(4): p. 494-8. 15.
67. Siriwardena, B.S.ら、Periostin is frequently overexpressed and enhances invasion and angiogenesis in oral cancer. Br J Cancer, 2006:95(10): p. 1396-403.
68. Sasaki, H.ら、Serum level of the periostin, a homologue of an insect cell adhesion molecule, as a prognostic marker in nonsmall cell lung carcinomas. Cancer, 2001:92(4): p. 843-8.
69. Sasaki, H.ら、Expression of Periostin, homologous with an insect cell adhesion molecule, as a prognostic marker in non-small cell lung cancers. Jpn J Cancer Res, 2001:92(8): p. 869-73.
70. Sasaki, H.ら、Elevated serum periostin levels in patients with bone metastases from breast but not lung cancer. Breast Cancer Res Treat, 2003:77(3): p. 245-52.
71. Komiya, A.ら、Concerted expression of eotaxin-1, eotaxin-2, and eotaxin-3 in human bronchial epithelial cells. Cell Immunol, 2003:225(2): p. 91-100.
72. Chupp, G.L.ら、A chitinase-like protein in the lung and circulation of patients with severe asthma. N Engl J Med, 2007:357(20): p. 2016-27.
73. Liu, S.M.ら、Immune cell transcriptome datasets reveal novel leukocyte subset-specific genes and genes associated with allergic processes. J Allergy Clin Immunol, 2006:118(2): p. 496-503.
74. Nakajima, T.ら、Identification of granulocyte subtype-selective receptors and ion channels by using a high-density oligonucleotide probe array. J Allergy Clin Immunol, 2004:113(3): p. 528-35.
75. De Filippis, D., A. D'Amico,及びT. Iuvone, Cannabinomimetic control of mast cell mediator release: new perspective in chronic inflammation. J Neuroendocrinol, 2008:20 Suppl 1: p. 20-5.
76. Reed, C.E.及びH. Kita, The role of protease activation of inflammation in allergic respiratory diseases. J Allergy Clin Immunol, 2004:114(5): p. 997-1008; quiz 1009.
77. Blanchard, C.ら、Periostin facilitates eosinophil tissue infiltration in allergic lung and esophageal responses. Mucosal Immunol, 2008:1(4): p. 289-96.
78. Wenzel, S.E.ら、Bronchoscopic evaluation of severe asthma. Persistent inflammation associated with high dose glucocorticoids. Am J Respir Crit Care Med, 1997:156(3 Pt 1): p. 737-43.
79. Leung, D.Y.ら、Dysregulation of interleukin 4, interleukin 5, and interferon gamma gene expression in steroid-resistant asthma. J Exp Med, 1995:181(1): p. 33-40.
80. Walsh, G.M., Emerging drugs for asthma. Expert Opin Emerg Drugs, 2008:13(4): p. 643-53.

81. Ballesta, A.M.ら、Carcinoembryonic antigen in staging and follow-up of patients with solid tumors. Tumour Biol, 1995:16(1): p. 32-41.

【０１００】

本明細書で引用する全ての参照文献は、特許出願及び公開公報を含め、その出典を明記することにより、あらゆる目的のためにその全体が本明細書に包含される。加えて、２００８年３月３１日出願の米国仮特許出願シリアル番号６１／０７２５７２号、２００８年４月１日出願の同６１／０４１４８０号、２００８年５月２０日出願の同６１／１２８３８３号、２００９年１月１６日出願の同６１／２０５３９２号は、出典明記によりその全体を本明細書に包含する。また、特に国際公開第２００５／０６２９７２号及び同２００８／１１６１４９号は、出典明記によりその全体を本明細書に包含する。

【実施例１】

【０１０１】

実施例１－方法

気道組織バンク

本発明者らは、健康なボランティアと喘息のボランティアに対して研究目的で実施された気管支鏡検査の間に収集され、カリフォルニア大学サンフランシスコ校（ＵＣＳＦ）の気道組織バンクに蓄積されていた生物学的試料の研究を行った。研究用気管支鏡検査は、上皮ブラッシングの収集、気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）及び上述した特定の方法を用いた気管支生検を含んでいた[8、46]。ＢＡＬ細胞の計数及び微分が実行されてデータベース化され、フローサイトメトリーを用いて気管支肺胞洗浄液からマクロファージが保存された[51]。２～５番目の気管支分岐部（ブラッシング部位の反対側の）から４～６の気管支生検が採取され、ホルマリン固定され、次いで等方性の均一且つ無作為な方向[31]にパラフィン包埋されて、炎症の定量的測定及びデザインに基づく立体解析学の方法を使用した再モデル化が可能であった[52]。更に２つの気管支生検をホモジナイズし、Qiagen RNeasy minikit (Qiagen Inc., Valencia, CA)を用いてＲＮＡのための処理を施した。上皮ブラッシングから抽出されたＲＮＡ、気管支生検のホモジネート、及び洗浄マクロファージは品質保証されたものであり、将来的なマイクロアレイ及びＰＣＲに基づく遺伝子プロファイリングのために分注した。全ての研究的気管支鏡検査は、ＵＣＳＦのヒト研究委員会（ＣＨＲ）によって承認されたものであり、全ての被験者から文書によるインフォームドコンセントが得られており、全ての試験はヘルシンキ宣言に表現された原理に従って実施された。気管支組織バンクの手順も、ＵＣＳＦのＣＨＲによって審査及び承認された。この組織バンク由来のマクロファージ及び上皮ブラッシングの試料が、上述の試験[8、14、46、51、53]に使用された。最新では、上皮ブラッシングにおいて喘息の被験者に異なって発現された遺伝子のマイクロアレイ解析について、本発明者らによる報告が行われている[8]。

【０１０２】

気道の炎症及び別個の炎症の根底にある分子機構に関して異なる喘息患者のサブセット、これらのサブセットの病理学的及び臨床的表現型の特徴を特定する目的で、まず、ｃｏｒｅまでに生成された上皮細胞マイクロアレイデータを新たに分析し、次いでこれらの新規分析を、これらの同じ被験者由来の新規の詳細な臨床的特徴のデータ（気管支拡張性可逆性及びアレルゲン皮膚試験応答性に基づくデータを含む）と、（ｉ）気管支生検及び肺胞マクロファージのホモジネートにおける遺伝子発現プロファイル、（ｉｉ）気管支生検における上皮下コラーゲン及び気道上皮ムチンの定量的測定値、（ｉｉｉ）ＢＡＬにおける総細胞数及び差次的細胞数を含む新規に生成されたデータとで補った。

【０１０３】

ヒト被験者及び試料

喘息を有する被験者（Ｎ＝４２）は、事前に医師から喘息の診断を受けており、研究担当医師により、喘息と一致する症状が確認された症状として、気道の応答性亢進（８ｍｇ／ｍＬのメタコリン[$PC_{20}$メタコリン]による吸入強制呼気量の２０％以上の低下、並びに１）１週間に２日以上の症状、２）１週間に２日以上のβアゴニストの使用、又は３

）予測値の＜８５％のＦＥＶ$_1$と定義される）を有していた。喘息の被験者は、登録前の４週間に亘り、吸入ステロイド薬又は経口ステロイド薬を摂取しなかった。健康なコントロール（Ｎ＝２７）は、肺病歴が無く、気道の応答性亢進を有していなかった（ＰＣ$_{20}$メタコリン＞１６ｍｇ／ｍＬ）。特定の試験には、喘息を有さない現喫煙者が含まれていた（Ｎ＝１６）。全ての被験者の除外基準は、試験前４週間以内の上気道感染症、６週間以内の喘息増悪、及びサルメテロール、アステミゾール、ネドクロミルナトリウム、クロモグリク酸ナトリウム、メチルキサンチン、モンテルカスト、又はザフィルルカストの現行使用であった。被験者は研究担当医師によるベースライン評価を受けた（前述のような肺活量測定及びメタコリン負荷試験を含む）。被験者は、１２のエアロアレルゲンのパネルと、ポジティブコントロールと、ネガティブコントロールとを用いたアレルゲン皮膚プリックテスト（ＡＳＰＴ）も受けた（表６）。

【０１０４】

２２名の喘息被験者は、吸引フルチカゾン（５００μｇ、１日２回、Ｎ＝１９）又は対応するプラセボ（Ｎ＝１３）の、二重盲検無作為化対象臨床試験にも登録された（臨床試験政府識別子：ＮＣＴ００１８７４９９）。試験は、気道の遺伝子発現に対する吸入ステロイド薬（フルチカゾン）の影響を決定し、遺伝子発現の変化を肺機能の向上に関連させるために設計された。臨床試験の喘息の被験者は、ベースライン気管支鏡検査を受け、無作為化されて試験薬物療法を受け、その後試験薬の開始から一週間後に気管支鏡検査を再度受けた。喘息の被験者は試験薬物療法を合計８週間に亘って継続した。健康なコントロールの被験者は、初回は特徴付けのため、２回目は１週間後の気管支鏡検査のための、それぞれ２回の来診を含む３つの断面調査のうちの１つに登録された。３５名の被験者は十分なベースライン気管支鏡検査を有し、３２名は両方の気管支鏡検査における上皮ブラッシングから入手可能なＲＮＡを有していた。試験薬物療法の開始から４週間後及び８週間後に肺機能を測定し（肺活量測定により）、同療法終了の１週間後に最終気管支鏡検査を完了した。気管支鏡検査、上皮ブラッシング、気管支肺胞洗浄、肺活量測定、及び試料取扱の方法は、全ての試験を通して同一のものを使用した。

【０１０５】

気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）は、５０ｍｌの無菌生理食塩水からなる４つのアリコートを、小舌又は右中葉に滴下注入し、吸引により回収することにより実施された。細胞の計数は、血球計数器及びチュルク液（希釈したＨ$_2$Ｏ中、１％の氷酢酸及び０．０１％のゲンチアナバイオレット）を用いて実施した。次いでＢＡＬ細胞分画を、ShandonのKwik-Diff染色キット（Thermo Fisher Scientific, Waltham MA）を用いて細胞遠心分離した調整物に対して実施した。２２名の喘息被験者は、吸入フルチカゾン（５００ｍｃｇ　ＢＩＤ）又は対応するプラセボの二重盲検無作為化対象臨床試験にも登録された。上述の組み入れ基準に加えて、これらの被験者はまた、１週間に２日以上喘息症状を有するか、１週間に２日以上βアゴニストを使用するか、又は予測値の＜８５％のＦＥＶ$_1$を有することが必要であった。臨床試験の被験者は、上述のようなベースライン来診をしてベースライン気管支鏡検査を受け、その１週間後に再度気管支鏡検査を受けた。次いで、被験者らは合計８週間に亘って試験薬物療法を継続し、その間に予定された排気量測定の再評価とメタコリン負荷試験とを受けた。全ての臨床試験は、カリフォルニア大学サンフランシスコ校のヒト研究委員会の承認を受けており、全ての被験者から書面によるインフォームドコンセントが得られており、全ての試験はヘルシンキ宣言に表明された理念に従って実施された。

【０１０６】

マイクロアレイ解析及び形態測定

軽度～中等度の非喫煙喘息患者及び健康な非喫煙被験者由来のマイクロアレイデータを、上述のような過去の研究から取得した[8]。方法論の詳細及びマイクロアレイデータは、遺伝子発現バンクという公のデータベースから入手することができ、このデータベースには、国立バイオテクノロジー情報センターで、受入番号ＧＳＥ４３０２によりオンラインでアクセスすることができる。本発明の試験ではマイクロアレイデータが解析されて、

遺伝子が喘息グループ内で異なって制御されるかどうかが判定された。また、マイクロアレイデータを解析することにより、他の遺伝子が、喘息と最も強く関連するＩＬ－１３誘導型遺伝子と同時制御されるかどうかが判定された。表１のプライマー及びプローブを使用して（即ち、マルチプレックスＰＣＲの後でｃＤＮＡ生成産物にリアルタイムＰＣＲを行った）二段階式リアルタイムＰＣＲ（ｑＰＣＲ）を上述のように実施した[45]。

【０１０７】

上述の各被験者に由来する４～６の気管支内生検に対してデザインに基づく立体解析学を適用することにより、形態計測学的分析を実施した。特異的に、網状の基底膜の厚さの分析を、直交切片法を用いて、トリクローム３μｍの切片において測定した[31]。ポイントアンドライン交差（point and line intersect）計数法を用いて、アルシアンブルー／過ヨウ素酸シッフの３μｍの切片において、気道ムチンの含有量を測定した[46]。

【０１０８】

統計方法

Ｒ統計的環境において、Bioconductorオープンソースソフトウェアと共にＲＭＡを使用して、マイクロアレイ事前プロセシングを実施した[47]。完全なリンケージでユークリッド計量を使用して教師なし階層的クラスタリングを実施した。他の全ての統計解析は、ＪＭＰ統計解析ソフトウェアパッケージ（Institute, Cary, NC）を用いて実施された。値は、特に断らない限り、平均値±標準偏差又は中央値（範囲）で示される。スピアマンの順位相関を用いた相関が実施された。$PC_{20}$及び血清ＩｇＥレベルの優位性試験のために、データをログ変換することにより正規化した。ｐ＜０．０５である場合に統計的に有意であるとみなし、ＡＮＯＶＡにより最初の３グループの比較を行った後、多重比較のためにsidak相関を利用した。

【０１０９】

表１．ｑＰＣＲのプライマー及びプローブ配列

| 遺伝子 | 種類 | 配列 |
|---|---|---|
| IL-13 | RT フォワード | GGATGCTGAGCGGATTCTG[配列番号 73] |
| | RT リバース | CCCTCGCGAAAAAGTTTCTT[配列番号 74] |
| | Taqman フォワード | AAGGTCTCAGCTGGGCAGTTT[配列番号 75] |
| | Taqman リバース | AAACTGGGCCACCTCGATT[配列番号 76] |
| | プローブ | CCAGCTTGCATGTCCGAGACACCA<br>[配列番号 77] |
| IL-4 | RT フォワード | GGGTCTCACCTCCCAACTGC[配列番号 78] |
| | RT リバース | TGTCTGTTACGGTCAACTCGGT<br>[配列番号 79] |
| | Taqman フォワード | GCTTCCCCCTCTGTTCTTCCT[配列番号 80] |
| | Taqman リバース | GCTCTGTGAGGCTGTTCAAAGTT<br>[配列番号 81] |
| | プローブ | TCCACGGACACAAGTGCGATATCACC<br>[配列番号 82] |
| IL-5 | RT フォワード | GCCATGAGGATGCTTCTGCA[配列番号 83] |
| | RT リバース | GAATCCTCAGAGTCTCATTGGCTATC<br>[配列番号 84] |
| | Taqman フォワード | AGCTGCCTACGTGTATGCCA[配列番号 85] |
| | Taqman リバース | GTGCCAAGGTCTCTTTCACCA[配列番号 86] |
| | プローブ | CCCCACAGAAATTCCCACAAGTGCA<br>[配列番号 87] |
| MUC2 | RT フォワード | ACTCCTCTACCTCCATCAATAACTCC<br>[配列番号 88] |
| | RT リバース | TGGCTCTGCAAGAGATGTTAGCT<br>[配列番号 89] |
| | Taqman フォワード | GCTGGCTGGATTCTGGAAAA[配列番号 90] |
| | Taqman リバース | TGGCTCTGCAAGAGATGTTAGC<br>[配列番号 91] |
| | プローブ | TCTCCAATCAATTCTGTGTCTCCACCTGG<br>[配列番号 92] |
| MUC5ac2 | RT フォワード | TGTGGCGGGAAAGACAGC[配列番号 93] |
| | RT リバース | CCTTCCTATGGCTTAGCTTCAGC<br>[配列番号 94] |
| | Taqman フォワード | CGTGTTGTCACCGAGAACGT[配列番号 95] |
| | Taqman リバース | ATCTTGATGGCCTTGGAGCA[配列番号 96] |
| | プローブ | CTGCGGCACCACAGGGACCA[配列番号 97] |

| | | |
|---|---|---|
| MUC5b | RT フォワード | TTGAGGACCCCTGCTCCCT[配列番号 98] |
| | RT リバース | AGGCGTGCACATAGGAGGAC[配列番号 99] |
| | Taqman フォワード | CGATCCCAACAGTGCCTTCT[配列番号 100] |
| | Taqman リバース | CCTCGCTCCGCTCACAGT[配列番号 101] |
| | プローブ | CAACCCCAAGCCCTTCCACTCGA<br>[配列番号 102] |
| ALOX15 | RT フォワード | CCAACCACCAAGGATGCAA[配列番号 103] |
| | RT リバース | TCTGCCCAGCTGCCAAGT[配列番号 104] |
| | Taqman フォワード | CCAACCACCAAGGATGCAA[配列番号 105] |
| | Taqman リバース | GGAGAGAAGCCTGGTGGAAGT<br>[配列番号 106] |
| | プローブ | CAGTGTCGCCATCACTGTCTCCAGC<br>[配列番号 107] |
| ALOX5 | RT フォワード | ACGTCCACCAGACCATCACC[配列番号 108] |
| | RT リバース | GAATCTCACGTGTGCCACCA[配列番号 109] |
| | Taqman フォワード | ATTGCAATGTACCGCCAGC[配列番号 110] |
| | Taqman リバース | GAATCTCACGTGTGCCACCA[配列番号 111] |
| | プローブ | CTGCTGTGCACCCCATTTTCAAGCTG<br>[配列番号 112] |
| ALOX5AP | RT フォワード | CATAAAGTGGAGCACGAAAGCA<br>[配列番号 113] |
| | RT リバース | GGTACGCATCTACACAGTTCTGGTT<br>[配列番号 114] |
| | Taqman フォワード | CAGAATGGGAGGAGCTTCCA<br>[配列番号 115] |
| | Taqman リバース | CACAGTTCTGGTTGGCAGTGTAG<br>[配列番号 116] |
| | プローブ | CCGGAACACTTGCCTTTGAGCGG<br>[配列番号 117] |
| ARG1 | RT フォワード | CAAGGTCTGTGGGAAAAGCAA<br>[配列番号 118] |
| | RT リバース | TGGCCAGAGATGCTTCCAAT[配列番号 119] |
| | Taqman フォワード | GCAGAAGTCAAGAAGAACGGAAGA<br>[配列番号 120] |
| | Taqman リバース | TGCTTCCAATTGCCAAACTG[配列番号 121] |
| | プローブ | TCTCCGCCCAGCACCAGGCT[配列番号 122] |

| | | |
|---|---|---|
| IL1B | RT フォワード | ACTTAAAGCCCGCCTGACAGA |
| | | [配列番号 123] |
| | RT リバース | GCTACTTCTTGCCCCCTTTGAA |
| | | [配列番号 124] |
| | Taqman フォワード | CCACGGCCACATTTGGTT[配列番号 125] |
| | Taqman リバース | AGGGAAGCGGTTGCTCATC[配列番号 126] |
| | プローブ | AGAAACCCTCTGTCATTCGCTCCCACAT |
| | | [配列番号 127] |
| IL1rn | RT フォワード | CTCCGCAGTCACCTAATCACTCT |
| | | [配列番号 128] |
| | RT リバース | GGCTCAATGGGTACCACATCTATCT |
| | | [配列番号 129] |
| | Taqman フォワード | TTCCTGTTCCATTCAGAGACGAT |
| | | [配列番号 130] |
| | Taqman リバース | AGATTCTGAAGGCTTGCATCTTG |
| | | [配列番号 131] |
| | プローブ | TGCCGACCCTCTGGGAGAAAATCC |
| | | [配列番号 132] |
| LTA4H | RT フォワード | ATTCAAGGATCTTGCTGCCTTT |
| | | [配列番号 133] |
| | RT リバース | TGCAGTCACGGGATGCAT[配列番号 134] |
| | Taqman フォワード | CAAGGATCTTGCTGCCTTTGA |
| | | [配列番号 135] |
| | Taqman リバース | TGCTTGCTTTGTGCTCTTGGT[配列番号 136] |
| | プローブ | AAATCCCATGATCAAGCTGTCCGAACC |
| | | [配列番号 137] |
| LTC4S | RT フォワード | CACCACACCGACGGTACCA[配列番号 138] |
| | RT リバース | TGCGCGCCGAGATCA[配列番号 139] |
| | Taqman フォワード | CCATGAAGGACGAGGTAGCTCTA |
| | | [配列番号 140] |
| | Taqman リバース | TGCGCGCCGAGATCA[配列番号 141] |
| | プローブ | CCTGGGAGTCCTGCTGCAAGCCTACT |
| | | [配列番号 142] |

| | | |
|---|---|---|
| MRC1 | RT フォワード | CGCTACTAGGCAATGCCAATG |
| | | [配列番号 143] |
| | | GCAATCTGCGTACCACTTGTTTT |
| | RT リバース | [配列番号 144] |
| | Taqman フォワード | CGCTACTAGGCAATGCCAATG |
| | | [配列番号 145] |
| | Taqman リバース | GCAATCTGCGTACCACTTGTTTT |
| | | [配列番号 146] |
| | プローブ | AGCAACCTGTGCATTCCCGTTCAAGT |
| | | [配列番号 147] |
| MRC2 | RT フォワード | GGGAGCACTGCTATTCTTTCCA |
| | | [配列番号 148] |
| | RT リバース | CAAACACATTCTCCATCTCATCCA |
| | | [配列番号 149] |
| | Taqman フォワード | GAGCACTGCTATTCTTTCCACATG |
| | | [配列番号 150] |
| | Taqman リバース | TCTCCATCTCATCCAGGATAGACA |
| | | [配列番号 151] |
| | プローブ | CCACCCGCTCTCTGGCAGCG[配列番号 152] |
| SCYA22 | RT フォワード | GCATGGCTCGCCTACAGACT[配列番号 153] |
| | RT リバース | CAGACGGTAACGGACGTAATCAC |
| | | [配列番号 154] |
| | Taqman フォワード | TGGCGCTTCAAGCAACTG[配列番号 155] |
| | Taqman リバース | CAGACGGTAACGGACGTAATCA |
| | | [配列番号 156] |
| | プローブ | AGGCCCCTACGGCGCCAACAT |
| | | [配列番号 157] |
| TNFa | RT フォワード | CTGGTATGAGCCCATCTATCTGG |
| | | [配列番号 158] |
| | RT リバース | TTGGATGTTCGTCCTCCTCAC |
| | | [配列番号 159] |
| | Taqman フォワード | GGAGAAGGGTGACCGACTCA |
| | | [配列番号 160] |
| | Taqman リバース | TGCCCAGACTCGGCAAAG[配列番号 161] |
| | プローブ | CGCTGAGATCAATCGGCCCGACTA |
| | | [配列番号 162] |

| | | |
|---|---|---|
| SCYA20 | RT ﾌｫﾜｰﾄﾞ | GGCTGTGACATCAATGCTATCATC |
| | | [配列番号 163] |
| | RT ﾘﾊﾞｰｽ | GTCCAGTGAGGCACAAATTAGATAAG |
| | | [配列番号 164] |
| | Taqman ﾌｫﾜｰﾄﾞ | TCTGGAATGGAATTGGACATAGCCCAAG |
| | | [配列番号 165] |
| | Taqman ﾘﾊﾞｰｽ | CCAACCCCAGCAAGGTTCTTTCTG |
| | | [配列番号 166] |
| | ﾌﾟﾛｰﾌﾞ | ACCCTCCATGATGTGCAAGTGAAACC |
| | | [配列番号 167] |
| SCYA17 | RT ﾌｫﾜｰﾄﾞ | GGATGCCATCGTTTTTGTAACTG |
| | | [配列番号 168] |
| | RT ﾘﾊﾞｰｽ | CCTCTCAAGGCTTTGCAGGTA |
| | | [配列番号 169] |
| | Taqman ﾌｫﾜｰﾄﾞ | GGGCAGGGCCATCTGTTC[配列番号 170] |
| | Taqman ﾘﾊﾞｰｽ | TCTCAAGGCTTTGCAGGTATTTAA |
| | | [配列番号 171] |
| | ﾌﾟﾛｰﾌﾞ | ACCCCAACAACAAGAGAGTGAAGAATGCA |
| | | [配列番号 172] |
| IL12A | RT ﾌｫﾜｰﾄﾞ | CCTCCTCCTTGTGGCTACCC[配列番号 173] |
| | RT ﾘﾊﾞｰｽ | CAATCTCTTCAGAAGTGCAAGGG[配列番号 174] |
| | Taqman ﾌｫﾜｰﾄﾞ | TCCTCCTGGACCACCTCAGT[配列番号 175] |
| | Taqman ﾘﾊﾞｰｽ | GAACATTCCTGGGTCTGGAGTG[配列番号 176] |
| | ﾌﾟﾛｰﾌﾞ | TGGCCAGAAACCTCCCCGTGG[配列番号 177] |
| IFNγ | RT ﾌｫﾜｰﾄﾞ | GTAACTGACTTGAATGTCCAACGC[配列番号 178] |
| | RT ﾘﾊﾞｰｽ | GACAACCATTACTGGGATGCTC[配列番号 179] |
| | Taqman ﾌｫﾜｰﾄﾞ | CCAACGCAAAGCAATACATGA[配列番号 180] |
| | Taqman ﾘﾊﾞｰｽ | TTTTCGCTTCCCTGTTTTAGCT[配列番号 181] |
| | ﾌﾟﾛｰﾌﾞ | TCCAAGTGATGGCTGAACTGTCGCC |
| | | [配列番号 182] |
| IL-10 | RT ﾌｫﾜｰﾄﾞ | GTTGCCTGGTCCTCCTGACT[配列番号 183] |
| | RT ﾘﾊﾞｰｽ | TGTCCAGCTGATCCTTCATTTG[配列番号 184] |
| | Taqman ﾌｫﾜｰﾄﾞ | TGAGAACAGCTGCACCCACTT[配列番号 185] |
| | Taqman ﾘﾊﾞｰｽ | GCTGAAGGCATCTCGGAGAT[配列番号 186] |
| | ﾌﾟﾛｰﾌﾞ | CAGGCAACCTGCCTAACATGCTTCG |
| | | [配列番号 187] |
| IL-17A | RT ﾌｫﾜｰﾄﾞ | ACTGCTACTGCTGCTGAGCCT[配列番号 188] |
| | RT ﾘﾊﾞｰｽ | GGTGAGGTGGATCGGTTGTAGT[配列番号 189] |
| | Taqman ﾌｫﾜｰﾄﾞ | CAATCCCACGAAATCCAGGA[配列番号 190] |
| | Taqman ﾘﾊﾞｰｽ | TTCAGGTTGACCATCACAGTCC[配列番号 191] |
| | ﾌﾟﾛｰﾌﾞ | CCCAAATTCTGAGGACAAGAACTTCCCC |
| | | [配列番号 192] |

【０１１０】

ペリオスチン及びＣＥＡＣＡＭ５のｑＰＣＲのために、上述の方法[45]及びログ$_{10}$変換により、ベースライン気管支上皮ブラッシング試料中におけるペリオスチン及びＣＥＡＣＡＭ５の発現を取得した。実施例９（図１１を参照）に記載する３５のプローブのＩＬ１３シグネチャーを応答の指標として使用した。全てのモデルは、ＪＭＰ７．０のフィッティングモデルプラットフォームを使用して得られた。序数的ロジスティック回帰分析を実行して（健康なコントロール；ＨＣ）＜（ＩＬ１３が低い）＜（ＩＬ１３が高い）となるレベルを有する応答を予測した（３５プローブのＩＬ１３の状態）。各レベルの確率を

求めるための一般化された予測モデルは、下記のように表わされる：

$$p_{HC} = \frac{1}{(1+e^{(-\beta_{HC}-\beta_0)})}$$

$$p_{IL13低} = \frac{1}{(1+e^{(-\beta_{IL13低}-\beta_0)})} - p_{HC}$$

$$p_{IL13高} = 1-(p_{HC}+p_{IL13低})$$

$$\beta_0 = \sum_{qPCR_i}^{k} A_i \times X_i \quad (\text{線形和})$$

$$\beta_0 = \prod_{qPCR_i}^{k} A_i \times X_i \quad (\text{クロス項の積})$$

$\beta_x$ = ｑＰＣＲパラメータｘの切片推定値

【０１１１】

序数的ロジスティック回帰分析は、下記モデルに対して実施された：（３５のプローブのＩＬ１３の状態）～（ＰＯＳＴＮ）＋（ＣＥＡＣＡＭ５）。ｐ値が＜０．０００１である全体モデルが、反復性のフィッティングに基づくデータベースから得られた。

【０１１２】

ＩＬ１３応答性の遺伝子

ペリオスチン（骨芽細胞に特異的な因子としても知られる）（ＰＯＳＴＮ：２１０８０９＿ｓ＿ａｔ）、ＣＬＣＡ１（カルシウムにより活性化される塩素イオンチャネル、ファミリーメンバー１としても知られる）（ＣＬＣＡ１：２１０１０７＿ａｔ）、及びセルピンＢ２（セルピンペプチダーゼ阻害薬、クレイドＢ（卵白アルブミン）、メンバー２）（セルピンＢ２：２０４６１４＿ａｔ）の発現レベルの間の関係を、ウィルコクソン順位和検定を用いて確認した。ＰＯＳＴＮの発現レベルを使用して、ベースラインの喘息試料を分類した。８００単位のカットオフを使用したところ、２１名の喘息のベースラインの喘息試料が「ＩＬ１３が低い」（ＰＯＳＴＮ＜８００単位）に、残りの２１名の試料が「ＩＬ１３が高い」（ＰＯＳＴＮ＞８００）に分類された。ウィルコクソン順位和検定の後で偽発見率分析（ｑ値＜０．０５）を行ったところ[24]、２つのグループの中で異なって発現された３５のプローブが特定された。これらのプローブを使用した階層的クラスタリングは行わなかった。異なって制御されるプローブのリスト中に多数のシステイン及びセルピンファミリー遺伝子が存在することにより、他のシステイン及びセルピンファミリープローブが同定されて別のクラスター解析に使用された。全ての統計解析は、Ｒを使用して実施された。マイクロアレイクラスター解析は、Clusterを使用して実施され、Java Tree viewを用いて可視化された[25、26]。

【０１１３】

血清分析物アッセイ

ＵＣＳＦ臨床検査室により、又は製造者の指示に従った（Bethyl Laboratories）ヒト血清ＩｇＥ　ＥＬＩＳＡキットを用いたＥＬＩＳＡにより、血清ＩｇＥを測定した。血清ＣＥＡは、製造者の指示に従って（Alpco Diagnostics）ヒト血清ＣＥＡ　ＥＬＩＳＡキットを使用して測定した。本発明者らは、抗ペリオスチン抗体（R&D systems）を用いて血清ペリオスチンを測定するための電気化学発光アッセイ（ＥＣＬＡ）を開発した。つまり、モノクローナル抗ペリオスチンを、４℃の炭酸ナトリウムバッファー（ｐＨ９．６）中において、一晩に亘り、１．５マイクログラム／ｍｌでプレートにコーティングした。プレートをアッセイバッファー（１×ＰＢＳ（ｐＨ７．４）、０．３５Ｍ　ＮａＣｌ、０．５％ＢＳＡ、０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０、０．２５％ＣＨＡＰＳ、５ｍＭ　ＥＤＴＡ、１５ｐｐＭ　Ｐｒｏｃｌｉｎ）＋３％のＢＳＡ中で室温で２時間に亘りブロッキングし、次いでＴＢＳＴ（トリスバッファー生理食塩水＋０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０）で４回洗浄

した。アッセイバッファー中で血清を１：５に希釈し、室温で２時間に亘り、攪拌しながらインキュベートした後、ＴＢＳＴで４回洗浄した。組換えペリオスチン（Ｒ＆Ｄシステム）を使用して、標準的範囲を確立した。ビオチン化したポリクローナル抗ヒトペリオスチン（１．５マイクログラム／ｍｌ）（R&D Systems、従来技術に既知の標準的な方法に従ってインビトロでビオチン化されている）及びルテニウム－ストレプトアビジン（０．７５マイクログラム／ｍｌ）（Meso Scale Devices）をアッセイバッファー＋５％ヤギ血清に添加し、室温で90分間インキュベートした。読み取りバッファー（Meso Scale Devices）を添加し、電気化学発光を読み取った（Meso Scale Devices）。ダイナミックレンジは５～２０００ｎｇ／ｍｌであった。

【０１１４】

実施例２－ＩＬ－４／１３シグネチャーと喘息のサブセット

ＩＬ－１３に誘導された３つの遺伝子（ペリオスチン、ＣＬＣＡ１、及びセルピンＢ２）が、喘息の気道上皮において更に広いパターンの遺伝子発現を反映するかどうかを判定するために、本発明者らは、それらの発現が、試験対象の４２名の喘息患者の個々の被験者において、ベースラインで同時制御されるかどうかを試験した。ペアによる比較において、個々の喘息患者のペリオスチン、ＣＬＣＡ１、及びセルピンＢ２の発現レベルは有意に相関していた。更に、これらの遺伝子は、全てではないが一部の喘息患者の被験者に高度に発現された（図１Ａ及び１Ｂ）。加えて、喘息を有する個々の被験者のこれらの３つの遺伝子の発現レベルは高度に相関していた（図１Ｂ）。これらのデータは、特定のＩＬ－１３マーカーが、喘息患者の特定のサブセットに過剰発現されることを示唆するものである。さらなる実験で、本発明者らは、ＩＬ－１３によって直接的又は間接的に制御されうる新規の遺伝子又はマーカーの同定と、ＩＬ－１３マーカーの発現に基づく喘息患者のサブセットの特徴づけとを模索した。

【０１１５】

喘息患者の気道上皮において、ＩＬ－１３により直接的又は間接的に制御されうる他の遺伝子又はマーカーを同定するために、本発明者らは、４２名の喘息患者の被験者を網羅するマイクロアレイデータセット全体を、ペリオスチンの発現と有意に相関する発現を有する遺伝子について調べた。ｑ値の閾値０．０５を下回る個々の被験者において、発現がペリオスチンと同時制御される６５３のプローブからなるクラスターが同定された。それら６５３のプローブの発現レベルに基づく健康なコントロールと喘息患者とを含む全ての被験者の教師なしクラスタリングにより、２つの主要なクラスターが判明した。即ち、ペリオスチンと、同時制御される遺伝子との発現レベルが高いクラスター、及びペリオスチンと、同時制御される遺伝子との発現レベルが低いクラスターである。この遺伝子クラスターのコア（図１Ｃ、右）は、図１３に示す遺伝子を表わす３５のプローブからなるサブセットを含み、これらをここで「ＩＬ－４／１３シグネチャー」、「ＩＬ－４／１３遺伝子シグネチャー」、「ＩＬ－１３シグネチャー」、又は「ＩＬ－１３遺伝子シグネチャー」と呼ぶ。上記に示したように、本明細書においてこれらの用語は同意語として使用される。ペリオスチン及び同時制御される遺伝子の発現レベルの高いクラスターは、２１名の喘息患者の被験者を含み、健康なコントロールは含んでいなかった（図１Ｃ、右、「ＩＬ－４／１３シグネチャーが高い」部分）。一方、ペリオスチン及び同時制御される遺伝子の発現レベルが低いクラスターは、残りの２１名の喘息患者（図１Ｃ、右、「ＩＬ－４／１３シグネチャーが低い」部分）と、その間に分散する健康な２７のコントロールの全て（図１Ｃ、右）を含んでいた。

【０１１６】

クラスター１（「ＩＬ－４／１３シグネチャーが高い」）は、ペリオスチン、ＣＳＴ１、ＣＳＴ２、ＣＳＴ４、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＣＤＨ２６、ＰＲＲ４、セルピンＢ２，セルピンＢ１０、ＣＥＡＣＡＭ５、ｉＮＯＳ、Ｃ２ＯＲＦ３２、ＰＴＧＳ１、Ｐ２ＲＹ１４、ＲＵＮＸ２、ＳＨ３ＲＦ２、ＷＬＲＷ３００、ＤＮＡＪＣ１２、ＡＬＯＸ１５、ＧＳＮ３、ＲＧＳ１３、ＴＧＳＡＢ１、ＰＴＳＧ１、ＦＣＥＲ１Ｂ、及びＣＰＡ３のプローブに対応する遺伝子の高い発現レベルを特徴とし、試験した概ね半分の喘息患者（４２名

の喘息患者中、Ｎ＝２３）と、総数２７名の健康なコントロールのうち１とから構成される。クラスター２（健康なコントロール及び「ＩＬ－４／１３シグネチャーが低い」）は、上に示したプローブに対応する遺伝子の低い発現レベルを特徴とし、残り１９名の喘息患者と２６／２７名の健康なコントロールから構成される。マスト細胞に優性に発現される遺伝子に対応するプローブ、例えばＲＧＳ１３、ＴＰＳＧ１、ＴＰＳＡＢ１、ＦＣＥＲ１Ｂ、ＣＰＡ３、及びＳＬＣ１８Ａ２は、表２に太字で示され、好酸球に優性に発現される遺伝子に対応するプローブ、例えばＰ２ＲＹ１４及びＡＬＯＸ１５は斜体で示される。上皮ブラッシングは主に上皮細胞と杯細胞とからなっていたが（平均値９７％、中央値９８％、最小値９１％）、クラスター１の喘息患者由来のブラッシングには少数の浸潤性マスト細胞及び好酸球が観察され、シグニチャー中のマスト細胞及び好酸球遺伝子のパーセンテージは、このような浸潤を反映しているように思われた。

【０１１７】

ＩＬ－１３マーカーの発現に基づいて喘息を有する被験者のサブセットを特徴付けるために、本発明者らは、全部で７０名の被験者（４２名の喘息患者及び２７名の健康なコントロール）の教師なし階層的クラスタリングを、ペリオスチン、ＣＬＣＡ１、及びセルピンＢ２のマイクロアレイ発現レベルに基づいて実施した（図１Ｄ）。この解析では、喘息を有する被験者の概ね半数（Ｎ＝２２）が一貫して高レベルのＩＬ－１３誘導型遺伝子を示し、クラスターの樹状図の主要な一分岐部にグループ化された（クラスター１、「ＩＬ－１３が高い」サブセット）。注目すべきことに、全４２名の喘息患者を全２７名の健康なコントロールと比較したとき、ペリオスチン、ＣＬＣＡ１、及びセルピンＢ２は有意に過剰発現されていたが[8]、本試験で調べた喘息患者の半数近く（Ｎ＝２０）は、これら３つの遺伝子の発現に基づくと、健康なコントロールから区別することができなかった。喘息患者のこのサブセット（「ＩＬ－１３が低い」サブセット）と、全ての健康なコントロールとは、樹状図の第２の主要な分岐部にグループ化された（図１Ｄ、クラスター２）。このように、上皮の遺伝子発現に基づく階層的なクラスタリングにより、ここで「ＩＬ－１３が高いサブセット」及び「ＩＬ－１３が低い」サブセットからなる２つの別個の喘息患者のサブセットが同定された。

【０１１８】

上皮細胞におけるＩＬ－１３誘導型マーカーの発現を用いて同定されたこれらの喘息患者のサブセットの妥当性を確認するために、本発明者らは、４８名の被験者（１４名の健康なコントロール、１８名のクラスター１喘息患者、及び１６名のクラスター２喘息患者）から同時に採取した気管支生検における、ＩＬ－１３と他の特定のＴｈ２サイトカイン（即ちＩＬ－４及びＩＬ－５）との発現レベルを測定した。ｑＰＣＲを使用することで、ＩＬ－１３、ＩＬ－５、及びＩＬ－４の発現が気管支生検のホモジネートにおいて検出可能であることが判明した。特に、ＩＬ－１３及びＩＬ－５の発現は、クラスター２の喘息患者又は健康なコントロールよりも、クラスター１の喘息患者において有意に高かった（図１Ｅ、＊、ｐ＜０．００２）が、ＩＬ－４の発現はそうではなかった。しかしながら、クラスター２の喘息患者と健康なコントロールとの間には、ＩＬ－４、ＩＬ－５、又はＩＬ－１３の発現に有意な差はなかった（図１Ｅ）。加えて、ＩＬ－１３とＩＬ－５の発現レベルが、全ての喘息患者において強く相関していることが判明した（スピアマンの順位相関ρ＝０．５８、ｐ＜０．０００１;図１Ｅ）。ＩＬ－４は、ＩＬ－１３と主要なシグナル伝達経路を共有し、ＩＬ－１３と同様にペリオスチン[7、9]及びＣＬＣＡ１[12]の発現を誘導することが示されている。喘息患者の気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）液中のＩＬ－４発現Ｔ細胞のレベルの上昇が報告されており、本発明者らは、ＢＡＬ　Ｔ細胞中のサイトカイン遺伝子発現や、ＢＡＬ又は本試験の気管支組織中のサイトカインタンパク質レベルを特に調べなかったので、観察されたペリオスチン、ＣＬＣＡ１、及びセルピンＢ２の誘導が、部分的にはＩＬ－１３だけでなくＩＬ－４によるものであるという可能性を除外することはできなかった。ここに示されるデータに基づいて、気管支ＩＬ－１３の発現と上皮ペリオスチン、ＣＬＣＡ１、及びセルピンＢ２の発現とが相関していることは確実に認められる。したがって、「ＩＬ－４／１３が高い」、及び「ＩＬ－１３が高い」という用

語は同義であってクラスター１の喘息患者に使用され、「ＩＬ－４／１３が低い」、及び「ＩＬ－１３が低い」という用語は同義であってクラスター２の喘息患者に使用される。「ＩＬ－１３が高い」及び「ＩＬ－１３が低い」という用語が使用されるときも、ＩＬ－４及び／又はまだ同定されていない他の因子も、観察された遺伝子の発現パターンに部分的に寄与している可能性があることを理解されたい。

【０１１９】

実施例３－ＩＬ－４／１３シグネチャーの構成遺伝子

ＩＬ－４／１３シグネチャー内には、２つの主要な遺伝子グループが存在する。即ち、上皮又は杯細胞に発現される遺伝子と、マスト細胞に発現される遺伝子である。各気管支ブラッシング試料に含まれる９０％を超える細胞が気管支上皮細胞又は杯細胞である（平均値９７％、中央値９８％、最小値９１％）。以下の上皮又は杯細胞に対応するプローブの発現レベルは、極めて顕著にペリオスチンの同レベルと同時制御される：ＣＳＴ１、ＣＳＴ２、ＣＣＬ２６、ＣＬＣＡ１、ＰＲＲ４、セルピンＢ２，ＣＥＡＣＡＭ５、及びｉＮＯＳ（表２、アスタリスクで示す；ＩＬ－４／１３シグネチャーが高い被験者における発現は、ＩＬ－４／１３シグネチャーが低い被験者の３倍を上回る）。ＣＬＣＡ１、ｍＣＬＣＡ３（ｇｏｂ－５としても知られる）のマウスオルソログは、既に、どちらもＩＬ－９及びＩＬ－１３を含むＴｈ２サイトカインによって誘導される気道上皮の杯細胞異形成と粘膜産生とに関連する遺伝子として同定されている[12-14]。

【０１２０】

表２

| プローブ | 遺伝子名 | 「高」vs.「低」の倍数の変化 | p値、「高」vs.「低」 | q値、「高」vs.「低」 | 「健康」の平均値 | 「IL-4/13シグネチャーが低い」の平均値 | 「IL-4/13シグネチャーが高い」の平均値 | 「高」vs.「コントロール」の倍数の変化 | 「低」vs.「コントロール」の倍数の変化 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1555778_a_at | *POSTN** | **11.35** | 2.60E-11 | 7.11E-07 | 14.93 | 15.73 | 178.51 | 11.96 | 1.05 |
| 206224_at | *CST1** | **11.12** | 9.09E-06 | 0.021609818 | 8.76 | 32.37 | 360.02 | 41.12 | 3.70 |
| 223710_at | *CCL26** | **10.22** | 2.88E-05 | 0.045024394 | 6.33 | 3.87 | 39.57 | 6.25 | 0.61 |
| 206994_at | *CST1** | **9.98** | 4.90E-06 | 0.014874475 | 10.38 | 67.81 | 676.94 | 65.22 | 6.53 |
| 210107_at | *CLCA1** | **9.77** | 1.96E-07 | 0.001785296 | 29.61 | 95.06 | 928.81 | 31.37 | 3.21 |
| 208555_x_at | *CST2** | **9.13** | 9.04E-07 | 0.004119975 | 5.13 | 14.75 | 134.71 | 26.26 | 2.88 |
| 210809_s_at | *POSTN** | **7.70** | 3.72E-12 | 2.03E-07 | 260.24 | 334.28 | 2572.46 | 9.88 | 1.28 |
| 204919_at | *PRR4** | **6.09** | 5.73E-06 | 0.01649484 | 37.33 | 97.20 | 592.05 | 15.86 | 2.60 |
| 207741_x_at | **TPSD1** | **4.76** | 1.54E-06 | 0.005250514 | 9.86 | 18.81 | 89.64 | 9.09 | 1.91 |
| 204614_at | *SERPINB2** | **4.52** | 4.30E-07 | 0.002615287 | 97.43 | 212.63 | 960.75 | 9.86 | 2.18 |
| 201884_at | *CEACAM5** | **3.48** | 4.30E-07 | 0.002615287 | 426.04 | 525.17 | 1830.00 | 4.30 | 1.23 |
| 210037_s_at | *INOS** | **3.30** | 2.51E-05 | 0.045024394 | 6.39 | 6.54 | 21.60 | 3.38 | 1.02 |
| 216485_s_at | **TPSG1** | **3.23** | 7.81E-06 | 0.0203328 | 10.04 | 17.84 | 57.65 | 5.74 | 1.78 |
| 216474_x_at | **TPSD1** | **3.06** | 1.60E-07 | 0.00174608 | 46.63 | 77.82 | 238.00 | 5.10 | 1.67 |
| 205683_x_at | **TPSD1** | **2.97** | 2.72E-08 | 0.00049597 | 53.99 | 76.74 | 227.95 | 4.22 | 1.42 |
| 225316_at | MFSD2 | **2.96** | 2.18E-05 | 0.042590277 | 29.03 | 26.00 | 76.95 | 2.65 | 0.90 |
| 205624_at | **CPA3** | **2.94** | 3.55E-07 | 0.002615287 | 99.69 | 166.29 | 489.17 | 4.91 | 1.67 |
| 206637_at | GPR105 | **2.88** | 6.27E-07 | 0.003117623 | 40.90 | 65.93 | 189.66 | 4.64 | 1.61 |
| 232306_at | CDH26 | **2.85** | 1.29E-06 | 0.00470447 | 223.92 | 326.79 | 932.02 | 4.16 | 1.46 |
| 207134_x_at | **TPSD1** | **2.66** | 6.27E-07 | 0.003117623 | 50.28 | 86.08 | 228.78 | 4.55 | 1.71 |
| 210084_x_at | **TPSD1** | **2.56** | 6.70E-06 | 0.018307462 | 48.91 | 77.59 | 198.54 | 4.06 | 1.59 |
| 200696_s_at | GSN | **2.50** | 2.88E-05 | 0.045024394 | 246.87 | 224.72 | 562.74 | 2.28 | 0.91 |
| 226751_at | C2ORF32 | **2.50** | 9.09E-06 | 0.021609818 | 35.39 | 32.96 | 82.47 | 2.33 | 0.93 |
| 238429_at | TRACH2000 | **2.39** | 2.88E-05 | 0.045024394 | 36.79 | 37.68 | 89.91 | 2.44 | 1.02 |
| 218976_at | DNAJC12 | **2.32** | 2.18E-05 | 0.042590277 | 48.54 | 38.92 | 90.11 | 1.86 | 0.80 |
| 217023_x_at | **TPSD1** | **2.31** | 1.29E-06 | 0.00470447 | 53.13 | 67.76 | 156.32 | 2.94 | 1.28 |
| 215382_x_at | **TPSD1** | **2.30** | 1.08E-06 | 0.004549197 | 38.96 | 52.95 | 121.86 | 3.13 | 1.36 |
| 210258_at | RGS13 | **2.25** | 2.88E-05 | 0.045024394 | 8.75 | 7.56 | 17.04 | 1.95 | 0.86 |
| 205857_at | SLC18A2 | **2.23** | 1.05E-07 | 0.001435039 | 84.08 | 100.96 | 225.07 | 2.68 | 1.20 |
| 214539_at | SERPINB10 | **2.15** | 1.06E-05 | 0.024063758 | 42.37 | 40.04 | 86.16 | 2.03 | 0.95 |
| 243582_at | SH3RF2 | **2.00** | 1.89E-05 | 0.039805857 | 82.64 | 85.89 | 171.80 | 2.08 | 1.04 |
| 207496_at | **FCER1B** | **1.92** | 2.51E-05 | 0.045024394 | 37.55 | 37.03 | 71.28 | 1.90 | 0.99 |
| 232231_at | RUNX2 | **1.77** | 2.88E-05 | 0.045024394 | 288.42 | 299.21 | 529.59 | 1.84 | 1.04 |
| 238669_at | PTGS1 | **1.73** | 4.18E-06 | 0.013429003 | 82.69 | 88.43 | 152.98 | 1.85 | 1.07 |
| 207328_at | ALOX15 | **1.72** | 1.64E-05 | 0.03586964 | 812.57 | 895.94 | 1538.53 | 1.89 | 1.10 |

【０１２１】

セルピンＢ２は、染色体１８ｑ２１上の遺伝子クラスター中においてコードされるセリンプロテアーゼ阻害薬の大きなファミリーのメンバーである（図２Ａ、上段、http://genome.ucsc.eduのＵＣＳＣゲノムブラウザのスクリーン）。セルピンＢ２[8]、Ｂ３、及びＢ４の発現レベルは、組換えＩＬ－４及びＩＬ－１３によるシミュレーションにより気道の上皮細胞に誘導される[7、15]。

【０１２２】

シスタチン（ＣＳＴ）１及び２は、染色体２０ｐ１１上の遺伝子クラスターにおいてコードされるシステインプロテアーゼ阻害薬の大きなファミリーのメンバーである（図２Ａ、中段、ttp://genome.ucsc.eduのＵＣＳＣゲノムブラウザのスクリーン）。複数のシスタチンが気管支上皮に発現される[16]；ＣＳＴ４は、喘息患者の気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）に高レベルで同定されている[17]；血清ＣＳＴ３は、健康なコントロールより喘息患者において高く、そのレベルはＩＣＳ治療により低下する[18]。セルピン及びＣＳＴ遺伝

子ファミリーはそれぞれ染色体上に共存するので、本発明者らは、セルピン及びシスタチン遺伝子ファミリーのいずれかの新しいメンバーが、既に同定されたメンバーと同時制御されるかどうかを調査した。セルピン及びシスタチン遺伝子ファミリーに制限してマイクロアレイデータの教師なしクラスタリングを実行した。セルピンＢ２、Ｂ４、及びＢ１０、並びにシスタチン１、２、及び４が有意に同時制御されることが判明し、「ＩＬ－４／１３シグネチャー」についてポジティブな喘息患者において発現レベルが最大であった（図２Ｂ）。

【０１２３】

ＰＲＲ４は、染色体１２ｐ１３上の遺伝子クラスターにおいてコードされるタンパク質の大きなファミリーのメンバーである（図２Ａ、下段、ttp://genome.ucsc.eduのＵＣＳＣゲノムブラウザのスクリーン）。これらのプロリンリッチタンパク質は、唾液及び涙を含む粘膜分泌物に見られる。関連の、しかし非オルソロガスなタンパク質ＳＰＲＲ１ａ、２ａ、及び２ｂは、喘息のマウスモデルの気管支上皮において同定されており、ＩＬ－１３により誘導される[19、20]。ＰＲＲ／ＰＲＢファミリー由来のプロリンリッチタンパク質は、気管支分泌物において同定されており[21]、それらの発現は気管支上皮で実証されている[16]。ＰＲＲ／ＰＲＢファミリーのうち、ＰＲＲ４及びＰＲＢ４は、ＩＬ－４／１３遺伝子シグネチャーの発現が高い喘息患者において有意に上方制御された（図２Ｃ、左及び中央）。

【０１２４】

ＣＣＬ２６（エオタキシン－３）は、喘息患者の気道上皮にＩＬ－４及びＩＬ－１３を誘導しうるケモカインである。

【０１２５】

ＣＥＡＣＡＭ５は、多数の上皮組織及び上昇した血清において観察される細胞表面の糖タンパク質である。ＣＥＡＣＡＭ５（癌胎児抗原；ＣＥＡ）は、上皮悪性腫瘍及び転移性疾病の全身的なバイオマーカーであり、文書に十分に裏づけされている。ＣＥＡレベルの上昇は、喘息患者の１サブセットに、特に粘液栓子を有する喘息患者に観察される高い血清レベルと共に報告されている[22]。ＣＥＡＣＡＭ５は、ＩＬ－４／１３シグネチャーの低い被験者及び健康なコントロールの気道上皮と比較して、ＩＬ－４／１３シグネチャーの高い喘息患者の気道上皮において顕著に上方制御され（図２Ｃ、右）、これにより、血清ＣＥＡレベルを使用してこれら２つの喘息患者のサブ表現型を区別しうることが示唆された。

【０１２６】

誘導型一酸化窒素合成酵素（ｉＮＯＳ）は、気道の炎症と関連しており、ヒトの初代気管支上皮細胞培養液中においてＬ－１３により誘導される[23]。吐き出された一酸化窒素（ｅＮＯ）の測定値、ｉＮＯＳの酵素活性の結果は、喘息の診断及びモニタリングにおいて一般的に使用される。

【０１２７】

実施例４－マスト細胞

本試験で使用される気道ブラッシングは、主に上皮及び杯細胞を含んでいたが、試料の多数には有意な割合の浸潤性の白血球細胞が存在した。トリプターゼ（ＴＰＳＤ１、ＴＰＳＧ１）、カルボキシペプチダーゼＡ３（ＣＰＡ３）、及びＦｃεＲＩβを含む、マスト細胞に特異的に発現する遺伝子は、ＩＬ－４／１３遺伝子シグネチャーと有意に相関していた（表２及び表４、マスト細胞遺伝子を表４のダブルアスタリスクで示す）。アレルギー性の疾病において組織常在性のマスト細胞の役割が大きいこと、及び喘息患者の気管支内生検の標本においてＩＬ－１３を発現するマスト細胞の存在が痰に含まれるＩＬ－１３の検出可能レベルにポジティブに相関している[6]という最近の観察結果から、マスト細胞特異性遺伝子とＩＬ－４／１３シグネチャーとの高い相関性は、１）マスト細胞が気道上皮におけるＩＬ－１３の大きな供給源である可能性と、２）気道上皮へのマスト細胞の浸潤が、ＩＬ－４／１３シグネチャーが高い喘息患者のサブセットに固有の特徴である可能性とが示唆される。

【０１２８】
実施例５－ＩＬ－４／１３シグネチャーを予測する組み合わせ
ＩＬ－４／１３シグネチャーの個々の遺伝子の発現レベルは、様々な精度で個々の被験者のＩＬ－４／１３シグネチャーの状態を予測することができる；しかしながら、これらの遺伝子の組み合わせを使用して、個々の被験者を、感受性及び特異性を増大させながら、ＩＬ－４／１３シグネチャーが高い又は低いカテゴリーに割り付けることができる。
【０１２９】
実施例６－ステロイドの効果
対症療法（即ち、βアドレナリンアゴニスト）で上手く制御できない気管支喘息の標準的なケアは、吸入ステロイド薬（ＩＣＳ）である。気道におけるＩＬ－１３のレベルが高い軽度～中等度の喘息患者[6]と、食道の組織におけるＩＬ－１３の発現レベルが高い好酸球性食道炎患者[11]では、ＩＣＳ治療により、患部組織のＩＬ－１３のレベル及びＩＬ－１３誘導性遺伝子が実質的に低減する。ＩＣＳ治療を１週間行った後の喘息患者の気道上皮と、培養された気管支上皮細胞において、本発明者らは、ステロイド薬による処置が、ペリオスチン、セルピンＢ２、及びＣＬＣＡ１のＩＬ－１３誘導性の発現レベルを実質的に低下させることを示した[8]。表２に列挙した遺伝子の更なる実験により、２回目の気管支鏡検査の前に1週間に亘るＩＣＳ治療を受けた本試験の１９名の被験者において、ＩＬ－４／１３シグネチャー遺伝子の大部分が、喘息患者の気管支の気道上皮細胞においてＩＣＳ治療により有意に下方制御されることが判明した（例としてペリオスチンを示す、図３Ａ）。このような下方制御は、ＩＬ－１３のレベルのＩＣＳ媒介性の低下、標的遺伝子発現のＩＣＳ媒介性の低下、又は２つの組み合わせの結果と思われる。しかしながら、ＩＬ－４／１３シグネチャーのうちの２つの遺伝子、即ちＰＲＲ４（図３）及びＲＵＮＸ２（図３Ｃ）は、１週間に亘るＩＣＳ治療後も、個々の被験者において実質的に下方制御されなかった。これは、ＰＲＲ４及びＲＵＮＸ２が、喘息患者の気道上皮におけるＩＬ－４／１３シグネチャーのステロイドに非感受性のマーカーである可能性を示唆している。別の可能性は、ＰＲＲ４及びＲＵＮＸ２が、ＩＬ－４及び／又はＩＬ－１３によって間接的にのみ制御されることであり、例えば、ＰＲＲ４は、多くの分泌物に見られることから、杯細胞に特異的な遺伝子でありうる。上皮細胞からの杯細胞の分化はＩＬ－１３によって誘導されるので、ＩＣＳ媒介性のＩＬ－１３及びＩＬ－１３依存性プロセスの阻害は、たった７日間の治療の後で杯細胞数に実質的に影響することはありえないが、もっと長期に亘るＩＣＳ治療の後では、杯細胞数（及び、したがって気管支内ブラッシングのＰＲＲ４の発現）は減少することが予想される。ＩＣＳ治療に抵抗性の重度の喘息患者では、痰ＩＬ－１３レベルが検出可能であった被験者の割合は、ＩＣＳ治療を受けていない、中等度の喘息患者の同レベルと同様（約４０％）であった[6]。これは、本試験で観察されたＩＬ－４／１３シグネチャーを有する被験者の割合と一致する。このような観察結果は、ＩＬ－４／１３シグネチャーが、本試験で調べた軽度～中等度のＩＣＳ応答性の喘息患者においてＩＣＳ治療によって有意に下方制御されるものの、重度のステロイド抵抗性喘息患者に依然として存在していることを示唆するものである。
【０１３０】
実施例７－臨床的特徴及びその他のバイオマーカーとのＩＬ－４／１３シグネチャーの関係
・個体群統計学
気道好酸球レベルの上昇により定義される好酸球性の喘息は、アトピーに関連しており、男女に概ね等しい罹患率で発生するが、気道における好酸球の相対的な不在及び関連するアトピーの不在により定義される非好酸球性喘息は、女性に有意な優性を示す[1]。気道上皮のＩＬ－４／１３遺伝子シグネチャーに従って分類された被験者のうち、ＩＬ－４／１３シグネチャーが高い被験者の１０／２１（４８％）が女性であったのに対し、ＩＬ－４／１３シグネチャーが低い被験者の１５／２１（７１％）が女性であった(表３)。ＩＬ－４／１３シグネチャーが低いグループと高いグループの間には、自己申告された民族

性による有意な歪みは無かった。

IL－4／13シグネチャーの性別による分布、N（%）

| カテゴリー | F | M |
|---|---|---|
| 「低」 | 15/(71) | 6(29) |
| 「高」 | 10(48) | 11(52) |
| 「コントロール」 | 15(54) | 13(46) |

【０１３１】

・ＦＥＶ$_1$及びメタコリン応答性

ＩＬ－４／１３が低いグループと高いグループとの間の性別による歪みは、喘息患者の気道上皮に観察される遺伝子発現パターンが安定な基礎表現型を反映していることを示唆するが、観察される遺伝子発現パターンが単に疾病の重症度又は気管支鏡検査時の活性度を反映している可能性もある。ＩＬ－４／１３シグネチャーが喘息の重症度と相関しているかどうかを判定するために、本発明者らは、１秒間の強制呼気量（ＦＥＶ$_1$、気管支鏡検査の１週間前のスクリーニングのための来診時に測定された、患者の体重から予測されるパーセンテージとして）をグループ間で比較し、ＩＬ－４／１３シグネチャーが高いグループ及び低いグループの両方が、健康なコントロールより有意に低いＦＥＶ$_1$を有し、一方ＩＬ－４／１３シグネチャーが高いグループには、低いグループより「中等度」（即ち、６０～８０％のＦＥＶ$_1$が予測される）として分類されうる被験者が多いものの、それらグループ間には統計的に有意な差は無い（図５Ａ参照）ことを見出した。２０％のＦＥＶ$_1$の低下を誘導するために必要なメタコリンの最小濃度（ｍｇ／ｍｌ）（ＰＣ$_{20}$、気管支鏡検査の１週間前のスクリーニングのための来診時に測定された）は、気管支の応答性亢進の程度を表わしている。これは、気管支過敏症（ＢＨＲ）の程度を表わす。ＩＬ－４／１３シグネチャーが高いグループと低いグループは共に、健康なコントロールより有意に低いＰＣ$_{20}$の値を有しており、またＰＣ$_{20}$の値はＩＬ－４／１３シグネチャーが低いグループより高いグループが低い傾向にあったが、このような差異は統計的に有意なレベルには達していなかった（図５Ｃ参照）。

【０１３２】

・ＩｇＥ及び好酸球（末梢神経及び気道）

個々の被験者のＩＬ－４／１３シグネチャーの状態がアトピーの標準的な指標により予測できるかどうかを判定するために、本発明者らは、標準的な臨床検査試験を使用して、気管支鏡検査時に取得された、血清ＩｇＥ（１ミリリットル当たりの国際単位；１ＩＵ＝２．４ｎｇ）、末梢血好酸球数（血液１リットル当たりの好酸球の絶対数ｘ１０^９）、及び気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）中の好酸球のパーセンテージ（気管支肺胞洗浄液中における非扁平細胞の総数に対する好酸球のパーセンテージ）のレベルを検査した。被験者をＩＬ－４／１３シグネチャーの状態について層別化したところ、血清ＩｇＥ（図６Ｂ参照）、末梢血好酸球数（図６Ｃ参照）、及びＢＡＬ好酸球パーセンテージ（図６Ｄ参照）には有意な差があり、ＩＬ－４／１３シグネチャーが高いグループにおいて観察された各分析物の値は、低いグループより有意に高かった。個別には、ＩｇＥレベル及び末梢血好酸球数のいずれもが、感受性及び特異性が同時に高いいずれかの個々の被験者の気道上皮のＩＬ－４／１３シグネチャーの状態を予測するものではなかった。しかしながら、個々の喘息患者においては、ＩｇＥレベルと末梢血好酸球数とは弱くではあるが、有意に相関している（ｒｈｏ＝０．４４、ｐ＝３．４ｘ１０$^{-3}$）。複合的に考えたとき、ＩｇＥが１００ＩＵ／ｍｌ、好酸球が０．１４ｘ１０$^9$という経験的に得られた両方のカットオフ値は、感受性及び特異性の高い個々の被験者の気道上皮のＩＬ－４／１３シグネチャーの状態を予測する（図４、ＩＬ－４／１３シグネチャーが低い場合及び高い場合両方について、１８／２１が正確であった；感受性＝８６％、特異性＝８６％）。

【０１３３】

表４．ＩＬ－４／１３遺伝子シグネチャーの遺伝子及び例示的プローブ

| 遺伝子 | 例示的プローブ |
|---|---|
| POSTN | 1555778_a_at:<br>AAAGAATCTGACATCATGACAACAAATGGTGTAATTCATGTTGTAGATAAACTCCTCTAT<br>CCAGCAGACACACCTGTTGGAAATGATCAACTGCTGGAAATACTTAATAAATTAATCAAA<br>TACATCCAAATTAAGTTTGTTCGTGGTAGCACCTTCAAAGAAATCCCCGTGACTGTCTAT<br>AGACCCACACTAACAAAAGTCAAAATTGAAGGTGAACCTGAATTCAGACTGATTAAAGAA<br>GGTGAAACAATAACTGAAGTGATCCATGGAGAGCCAATTATTAAAAAATACACCAAAATC<br>ATTGATGGAGTGCCTGTGGAAATAACTGAAAAAGAGACACGAGAAGAACGAATCATTACA<br>GGTCCTGAAATAAAATACACTAGGATTTCTACTGGAGGTGGAGAAACAGAAGAAACTCTG<br>AAGAAATTGTTACAAGAAGAAGACACACCCGTGAGGAAGTTGCAAGCCAACAAAAAAGTT<br>CAANGGATCTAGAAGACGATTAAGGGAAGGTCGTTCTCAGTGAAAATCCA<br>[配列番号 31]<br><br>210809_s_at:<br>AAATTGTGGAGTTAGCCTCCTGTGGAGTTAGCCTCCTGTGGTAAAGGAATTGAAGAAAAT<br>ATAACACCTTACACCCTTTTTCATCTTGACATTAAAAGTTCTGGCTAACTTTGGAATCCA<br>TTAGAGAAAAATCCTTGTCACCAGATTCATTACAATTCAAATCGAAGAGTTGTGAACTGT<br>TATCCCATTGAAAAGACCGAGCCTTGTATGTATGTTATGGATACATAAAATGCACGCAAG<br>CCATTATCTCTCCATGGGAAGCTAAGTTATAAAAATAGGTGCTTGGTGTACAAAACTTTT<br>TATATCAAAAGGCTTTGCACATTTCTATATGAGTGGGTTTACTGGTAAATTATGTTATTT<br>TTTACAACTAATTTTGTACTCTCAGAATGTTTGTCATATGCTTCTTGCAATGC<br>[配列番号 32] |
| CST1 | 206994_at:<br>GCGAGTACAACAAGGCCACCGAAGATGAGTACTACAGACGCCCGCTGCAGGTGCTGCGAG<br>CCAGGGAGCAGACCTTTGGGGGGGTGAATTACTTCTTCGACGTAGAGGTGGGCCGCACCA<br>TATGTACCAAGTCCCAGCCCAACTTGGACACCTGTGCCTTCCATGAACAGCCAGAACTGC<br>AGAAGAAACAGTTATGCTCTTTCGAGATCTACGAAGTTCCCTGGGAGGACAGAATGTCCC |
| | TGGTGAATTCCAGGTGTCAAGAAGCCTAGGGGTCTGTGCCAGGCCAGTCACACCGACCAC<br>CACCCACTCCCACCCCCTGTAGTGCTCCCACCCCTGGACTGGTGGCCCCCACCCTGCGGG<br>AGGCCTCCCCATGTGCCTGTGCCAAGAGACAGACAGAGAAGGCTGCAGGAGTCCTTTGTT<br>GCTCAGCAGGGCGCTCTGCCCTCCCTCCTTCCTTCTTGCTTCTAATAGACCTGGTACATG<br>GTACACACACCCC<br>[配列番号 33]<br><br>206224_at:<br>GGAGGATAGGATAATCCCGGGTGGCATCTATAACGCAGACCTCAATGATGAGTGGGTACA<br>GCGTGCCCTTCACTTCGCCATCAGCGAGTATAACAAGGCCACCAAAGATGACTACTACAG<br>ACGTCCGCTGCGGGTACTAAGAGCCAGGCAACAGACCGTTGGGGGGGTGAATTACTTCTT<br>CGACGTAGAGGTGGGCCGAACCATATGTACCAAGTCCCAGCCCAACTTGGACACCTGTGC<br>CTTCCATGAACAGCCAGAACTGCAGAAGAAACAGTTGTGCTCTTTCGAGATCTACGAAGT<br>TCCCTGGGAGAACAGAAGGTCCCTGGTGAAATCCAGGTGTCAAGAATCCTAGGGATCTGT<br>GCCAG<br>[配列番号 34] |
| CCL26 | 223710_at:<br>GAGAAGGGCCTGATTTGCAGCATCATGATGGGCCTCTCCTTGGCCTCTGCTGTGCTCCTG<br>GCCTCCCTCCTGAGTCTCCACCTTGGAACTGCCACACGTGGGAGTGACATATCCAAGACC<br>TGCTGCTTCCAATACAGCCACAAGCCCCTTCCCTGGACCTGGGTGCGAAGCTATGAATTC<br>ACCAGTAACAGCTGCTCCCAGCGGGCTGTGATATTCACTACCAAAAGAGGCAAGAAAGTC<br>TGTACCCATCCAAGGAAAAAATGGGTGCAAAAATACATTTCTTTACTGAAAACTCCGAAA<br>CAATTGTGACTCAGCTGAATTTTCATCCGAGGACGCTTGGACCCCGCTCTTGGCTCTGCA<br>GCCCTCTGGGGAGCCTGCGGAATCTTTTCTGAAGGCTACATGGACCCGCT<br>[配列番号 35] |
| CLCA1 | 210107_at:<br>GGCCAAATCACCGACCTGAAGGCGGAAATTCACGGGGGCAGTCTCATTAATCTGACTTGG |

| | |
|---|---|
| | ACAGCTCCTGGGGATGATTATGACCATGGAACAGCTCACAAGTATATCATTCGAATAAGT<br>ACAAGTATTCTTGATCTCAGAGACAAGTTCAATGAATCTCTTCAAGTGAATACTACTGCT<br>CTCATCCCAAAGGAAGCCAACTCTGAGGAAGTCTTTTTGTTTAAACCAGAAAACATTACT<br>TTTGAAAATGGCACAGATCTTTTCATTGCTATTCAGGCTGTTGATAAGGTCGATCTGAAA<br>TCAGAAATATCCAACATTGCACGAGTATCTTTGTTTATTCCTCCACAGACTCCGCCAGAG<br>ACACCTAGTCCTGATGAAACGTCTGCTCCTTGTCCTAATATTCATATCAACAGCACCATT<br>CCTGGCATTCACATTTTAAAAATTATGTGGAAGTGGATAGGAGAACTGCAGCTGTCAATA<br>GCCTAGGGC<br>[配列番号 36] |
| CST2 | 208555_x_at:<br>GAGCCCCCAGGAGGAGGACAGGATAATCGAGGGTGGCATCTATGATGCAGACCTCAATGA<br>TGAGCGGGTACAGCGTGCCCTTCACTTTGTCATCAGCGAGTATAACAAGGCCACTGAAGA<br>TGAGTACTACAGACGCCTGCTGCGGGTGCTACGAGCCAGGGAGCAGATCGTGGGCGGGGT<br>GAATTACTTCTTCGACATAGAGGTGGGCCGAACCATATGTACCAAGTCCCAGCCCAACTT<br>GGACACCTGTGCCTTCCATGAACAGCCAGAACTGCAGAAGAAACAGTTGTGCTCTTTCCA<br>GATCTACGAAGTTCCCTGGGAGGA<br>[配列番号 37] |
| PRR4 | 204919_at:<br>AAGACTTTACTTTCACCATACCAGATGTAGAGGACTCAAGTCAGAGACCAGATCAGGGAC<br>CCCAGAGACCTCCTCCTGAAGGACTCCTACCTAGACCCCCTGGTGATAGTGGTAACCAAG<br>ATGATGGTCCTCAGCAGAGACCACCAAAACCAGGAGGCCATCACCGCCATCCTCCCCCAC<br>CTCCTTTTCAAAATCAGCAACGACCACCCCAACGAGGACACCGTCAACTCTCTCTACCCC<br>GATTTCCTTCTGTCAGCCTGCAGGAAGCATCATCATTCTTCCGGAGGGACAGACCAGCAA<br>GACATCCCCA<br>[配列番号 38] |
| セルピン B2 | セルピンペプチダーゼ阻害薬、クレイドB（卵白アルブミン）、メンバー2 |

| | |
|---|---|
| | 204614_at:<br>TTCCTCACCCTAAAACTAAGCGTGCTGCTTCTGCAAAAGATTTTTGTAGATGAGCTGTGT<br>GCCTCAGAATTGCTATTTCAAATTGCCAAAAATTTAGAGATGTTTTCTACATATTTCTGC<br>TCTTCTGAACAACTTCTGCTACCCACTAAATAAAAACACAGAAATAATTAGACAATTGTC<br>TATTATAACATGACAACCCTATTAATCATTTGGTCTTCTAAAATGGGATCATGCCCATTT<br>AGATTTTCCTTACTATCAGTTTATTTTTATAACATTAACTTTTACTTTGTTATTTATTAT<br>TTTATATAATGGTGAGTTTTTAAATTATTGCTCACTGCCTATTTAATGTAGCTAATAAAG<br>TTATAGAAGCAGATGATCTGTTAATTTCCTATCTAATAAATGCCTTTAATTGTTCTCATA<br>ATGAAGAATAAGTAGGTACCCTCCATGCCCTTCTGTAATAAATAT<br>[配列番号 39] |
| CEACAM5 | 201884_at:<br>AGAAGACTCTGACCTGTACTCTTGAATACAAGTTTCTGATACCACTGCACTGTCTGAGAA<br>TTTCCAAAACTTTAATGAACTAACTGACAGCTTCATGAAACTGTCCACCAAGATCAAGCA<br>GAGAAAATAATTAATTTCATGGGACTAAATGAACTAATGAGGATTGCTGATTCTTTAAAT<br>GTCTTGTTTCCCAGATTTCAGGAAACTTTTTTTCTTTTAAGCTATCCACTCTTACAGCAA<br>TTTGATAAAATATACTTTTGTGAACAAAAATTGAGACATTTACATTTTCTCCCTATGTGG<br>TCGCTCCAGACTTGGGAAACTAT<br>[配列番号 40] |
| iNOS | 誘導型一酸化窒素合成酵素<br><br>210037_s_at:<br>TCATCGGGCCTGGCACAGGCATCGCGCCCTTCCGCAGTTTCTGGCAGCAACGGCTCCATG<br>ACTCCCAGCACAAGGGAGTGCGGGGAGGCCGCATGACCTTGGTGTTTGGGTGCCGCCGCC<br>CAGATGAGGACCACATCTACCAGGAGGAGATGCTGGAGATGGCCCAGAAGGGGGTGCTGC<br>ATGCGGTGCACACAGCCTATTCCCGCCTGCCTGGCAAGCCCAAGGTCTATGTTCAGGACA<br>TCCTGCGGCAGCAGCTGGCCAGCGAGGTGCTCCGTGTGCTCCACAAGGAGCCAGGCCACC<br>TCTATGTTTGCGGGGATGTGCGCATGGCCCGGGACGTGGCCCACACCCTGAAGCAGCTGG |

| | |
|---|---|
| | TGGCTGCCAAGCTGAAATTGAATGAGGAGCAGGTCGAGGACTATTTCTTTCAGCTCAAGA<br>GCCAGAAGCGCTATCACGAAGATATCTTTGGTGCTGTATTTCCTTACGAGGCGAAGAAGG<br>ACAGGGTGGCGGTGCAGCCC<br>[配列番号 41] |
| セルピン B4 | 210413_x_at:<br>GTCGATTTACACTTACCTCGGTTCAAAATGGAAGAGAGCTATGACCTCAAGGACACGTTG<br>AGAACCATGGGAATGGTGAATATCTTCAATGGGGATGCAGACCTCTCAGGCATGACCTGG<br>AGCCACGGTCTCTCAGTATCTAAAGTCCTACACAAGGCCTTTGTGGAGGTCACTGAGGAG<br>GGAGTGGAAGCTGCAGCTGCCACCGCTGTAGTAGTAGTCGAATTATCATCTCCTTCAACT<br>AATGAAGAGTTCTGTTGTAATCACCCTTTCCTATTCTTCATAAGGCAAAATAAGACCAAC<br>AGCATCCTCTTCTATGGCAGATTCTCATCCCCATAGATGCAATTAGTCTGTCACTCCATT<br>TAG<br>[配列番号 42]<br><br>211906_s_at:<br>GATACGACACTGGTTCTTGTGAACGCAATCTATTTCAAAGGGCAGTGGGAGAATAAATTT<br>AAAAAAGAAAACACTAAAGAGGAAAAATTTTGGCCAAACAAGGATGTACAGGCCAAGGTC<br>CTGGAAATACCATACAAAGGCAAAGATCTAAGCATGATTGTGCTGCTGCCAAATGAAATC<br>GATGGTCTGCAGAAGCTTGAAGAGAAACTCACTGCTGAGAAATTGATGGAATGGACAAGT<br>TTGCAGAATATGAGAGAGACATGTGTCGATTTACACTTACCTCGGTTCAAAATGGAAGAG<br>AGCTATGACCTCAAGGACACGTTGAGAACCATGGGAATGGTGAATATCTTCAATGGGGAT<br>GCAGACCTCTCAGGCATGACCTGGAGCCACGGTCTCTCAGTATCTAAAGTCCTACACAAG<br>GCCTTTGTGGAGGTCACTGAGGAGGGAGTGGAAGCTGCAGCTGCCACCGCTGTAGTAGTA<br>GTCGAATTATCATCTCCTTCAACTAATG<br>[配列番号 43] |
| CST4 | シスタチン-4 |

| | |
|---|---|
| | 206994_at:<br>GCGAGTACAACAAGGCCACCGAAGATGAGTACTACAGACGCCCGCTGCAGGTGCTGCGAG<br>CCAGGGAGCAGACCTTTGGGGGGGTGAATTACTTCTTCGACGTAGAGGTGGGCCGCACCA<br>TATGTACCAAGTCCCAGCCCAACTTGGACACCTGTGCCTTCCATGAACAGCCAGAACTGC<br>AGAAGAAACAGTTATGCTCTTTCGAGATCTACGAAGTTCCCTGGGAGGACAGAATGTCCC<br>TGGTGAATTCCAGGTGTCAAGAAGCCTAGGGGTCTGTGCCAGGCCAGTCACACCGACCAC<br>CACCCACTCCCACCCCCTGTAGTGCTCCCACCCCTGGACTGGTGGCCCCCACCCTGCGGG<br>AGGCCTCCCCATGTGCCTGTGCCAAGAGACAGACAGAGAAGGCTGCAGGAGTCCTTTGTT<br>GCTCAGCAGGGCGCTCTGCCCTCCCTCCTTCCTTCTTGCTTCTAATAGACCTGGTACATG<br>GTACACACACCCC<br>[配列番号 44] |
| PRB4 | プロリンリッチタンパク質 BstNI サブファミリー4前駆物質<br><br>216881_x_at:<br>CCACCTCCTCCAGGAAAGCCAGAAAGACCACCCCCACAAGGAGGTAACCAGTCCCAAGGT<br>CCCCCACCTCATCCAGGAAAGCCAGAAGGACCACCCCCACAGGAAGGAAACAAGTCCCGA<br>AGTGCCCGATCTCCTCCAGGAAAGCCACAAGGACCACCCCAACAAGAAGGCAACAAGCCT<br>CAAGGTCCCCCACCTCCTGGAAAGCCACAAGGCCCACCCCCAGCAGGAGGCAATCCCCAG<br>CAGCCTCAGGCACCTCCTGCTGGAAAGCCCCAGGGGCCACCTCCACCTCCTCAAGGGGGC<br>AGGCCACCCAGACCTGCCCAGGGACAACAGCCTCCCCAGTAATCTAGGATTCAATGACAG<br>GAAGTGAATAAGAAGATATCAGTGAATTCAAATAATTCAATTGCTACAAATGCCGTGACA<br>TTGGAACAAGGTCATCATAGCTCTAAC<br>[配列番号 45] |
| TPSD1** | 207741_x_at:<br>TGACGCAAAATACCACCTTGGCGCCTACACGGGAGACGACGTCCGCATCATCCGTGACGA<br>CATGCTGTGTGCCGGGAACAGCCAGAGGGACTCCTGCAAGGGCGACTCTGGAGGGCCCCT<br>GGTGTGCAAGGTGAATGGCACCTGGCTACAGGCGGGCGTGGTCAGCTGGGACGAGGGCTG |

TGCCCAGCCCAACCGGCCTGGCATCTACACCCGTGTCACCTACTACTTGGACTGGATCCA
CCACTATGTCCCCAAAAAGCCGTGAGTCAGGCCTGGGTGTGCCACCTGGGTCACTGGAGG
ACCA
[配列番号 46]

Affy 216474_x_at
CCGCCATTTCCTCTGAAGCAGGTGAAGGTCCCCATAATGGAAAACCACATTTGTGACGCA
AAATACCACCTTGGCGCCTACACGGGAGACGACGTCCGCATCGTCCGTGACGACATGCTG
TGTGCCGGGAACACCCGGAGGGACTCATGCCAGGGCGACTCCGGAGGGCCCCTGGTGTGC
AAGGTGAATGGCACCTGGCTGCAGGCGGGCGTGGTCAGCTGGGGCGAGGGCTGTGCCCAG
CCCAACCGGCCTGGCATCTACACCCGTGTCACCTACTACTTGGACTGGATCCACCACTAT
GTCCCCAAAAAGCCGTGAGTCAGGCCTGGGTTGGCCACCTGGGTCACTGGAGGACCAA
[配列番号 47]

205683_x_at:
TGACGCAAAATACCACCTTGGCGCCTACACGGGAGACGACGTCCGCATCGTCCGTGACGA
CATGCTGTGTGCCGGGAACACCCGGAGGGACTCATGCCAGGGCGACTCCGGAGGGCCCCT
GGTGTGCAAGGTGAATGGCACCTGGCTGCAGGCGGGCGTGGTCAGCTGGGGCGAGGGCTG
TGCCCAGCCCAACCGGCCTGGCATCTACACCCGTGTCACCTACTACTTGGACTGGATCCA
CCACTATGTCCCCAAAAAGCCGTGAGTCAGGCCTGGGTTGGCCACCTGGGTCACTGGAGG
ACCAACCCCTGCTGTCCAAAACACCACTGCTTCCTACCCAGGTGGCGACTGCCCCCCACA
CCTTCCCTGCCCCGTCCTGAGTGCCCCTTCCTGTCCTAAGCCCCCTGCTCTCTTCTGAGC
CCCTTCCCCTGTCCTGAGGACCCTTCCCTATCCTGAGCCCCCTTCCCTGTCCTAAGCCTG
ACGCCTGCACCGGGCCCTCCAGCCCTCCCCTGCCCAGATAGCTGGTGGTGGGCGCTAATC
CT
[配列番号 48]

207134_x_at:
TGACGCAAAATACCACCTTGGCGCCTACACGGGAGACGACGTCCGCATCGTCCGTGACGA
CATGCTGTGTGCCGGGAACACCCGGAGGGACTCATGCCAGGGCGACTCCGGAGGGCCCCT
GGTGTGCAAGGTGAATGGCACCTGGCTGCAGGCGGGCGTGGTCAGCTGGGGCGAGGGCTG
TGCCCAGCCCAACCGGCCTGGCATCTACACCCGTGTCACCTACTACTTGGACTGGATCCA
CCACTATGTCCCCAAAAAGCCGTGAGTCAGGCCTGGGTTGGCCACCTGGGTCACTGGAGG
ACCAACCCCTGCTGTCCAAAACACCACTGCTTCCTACCCAGGTGGCGACTGCCCCCCACA
CCTTCCCTGCCCCGTCCTGAGTGCCCCTTCCTGTCCTAAGCCCCCTGCTCTCTTCTGAGC
CCCTTCCCCTGTCCTGAGGACCCTTCCCCATCCTGAGCCCCCTTCCCTGTCCTAAGCCTG
ACGCCTGCACCGGGCCCTCCGGCCCTCCCCTGCCCAGGCAGCTGGTGGTGGGCGCT
[配列番号 49]

210084_x_at:
CCGGTCAGCAGGATCATCGTGCACCCACAGTTCTACATCATCCAGACTGGAGCGGATATC
GCCCTGCTGGAGCTGGAGGAGCCCGTGAACATCTCCAGCCGCGTCCACACGGTCATGCTG
CCCCCTGCCTCGGAGACCTTCCCCCCGGGGATGCCGTGCTGGGTCACTGGCTGGGGCGAT
GTGGACAATGATGAGCCCCTCCCACCGCCATTTCCCCTGAAGCAGGTGAAGGTCCCCATA
ATGGAAAACCACATTTGTGACGCAAAATACCACCTTGGCGCCTACACGGGAGACGACGTC
CGCATCATCCGTGACGACATGCTGTGTGCCGGGAACACCCGGAGGGACTCATGCCAGGGC
GACTCTGGAGGGCCCCTGGTGTGCAAGGTGAATGGCACCTGGCTACAGGCGGGCGTGGTC
AGCTGGGACGAGGGCTGTGCCCAGCCCAACCGGCCTGGCATCTACACCCGTGTCACCTAC
TACTTGGACTGGATCCACCACTATGTCCCCAAAAAGCCGTGAGTCAGGCCTGGGGTGT
[配列番号 50]

217023_x_at:
CCGGTCAGCAGGATCATCGTGCACCCACAGTTCTACACCGCCCAGATCGGAGCGGACATC
GCCCTGCTGGAGCTGGAGGAGCCGGTGAACGTCTCCAGCCACGTCCACACGGTCACCCTG

| | |
|---|---|
| | CCCCCTGCCTCAGAGACCTTCCCCCCGGGGATGCCGTGCTGGGTCACTGGCTGGGGCGAT<br>GTGGACAATGATGAGCGCCTCCCACCGCCATTTCCTCTGAAGCAGGTGAAGGTCCCCATA<br>ATGGAAAACCACATTTGTGACGCAAAATACCACCTTGGCGCCTACACGGGAGACGACGTC<br>CGCATCGTCCGTGACGACATGCTGTGTGCCGGGAACACCCGGAGGGACTCATGCCAGGTG<br>GCGACT<br>[配列番号 51]<br><br>215382_x_at:<br>CCGGTCAGCAGGATCATCGTGCACCCACAGTTCTACATCATCCAGACTGGAGCGGATATC<br>GCCCTGCTGGAGCTGGAGGAGCCCGTGAACATCTCCAGCCGCGTCCACACGGTCATGCTG<br>CCCCCTGCCTCGGAGACCTTCCCCCCGGGNNTGCCGTGCTGGGTCACTGGCTGGGGCGAT<br>GTGGACAATGATGAGCCCCTCCCACCGCCATTTCCCCTGAAGCAGGTGAAGGTCCCCATA<br>ATGGAAAACCACATTTGTGACGCAAAATACCACCTTGGCGCCTACACGGGAGACGACGTC<br>CGCATCATCCGTGACGACATGCTGTGTGCCGGGAACACCCGGAGNGNNTCATGCCAGGGC<br>GACTCNGGAGGGCCCCTGGTGTGCAAGGTGAATGGCACCTGGCTNCAGGCGGGCGTGGTC<br>AGCTGGGNCGAGGGCTGTGCCCAGCCCAACCGGCCTGGCATCTACACCCGTGTCACCTAC<br>TACTTGGACTGGATCC<br>[配列番号 52] |
| TPSG1** | 216485_s_at:<br>GTCGTCACGGACGATGCGGACGTCGTCTCCCGTGTAGGCGCCAAGGTGGTATTTTGCGTC<br>ACAAATGTGGTTTTCCATTATGGGGACCTTCACCTGCTTCAGAGGAAATGGCGGTGGGAG<br>GCGCTCATCATTGTCCACATCGCCCCAGCCAGTGACCCAGCACGGCATCCCCGGGGGGAA<br>GGTCTCTGAGGCAGGGGGCAGGGTGACCGTGTGGACGTGGCTGGAGACGTTCACCGGCTC<br>CTCCAGCTCCAGCAGGGCGATGTCCGCTCCGATCTGGGCGGTGTAGAACTGTGGGTGCAC<br>GATGATCCTGCTGACCGGCAGCAGCTGGTCCTGGTAGTAGAGGTGCTGCTCCCGCAGTTG<br>CACCGGTCCCACGCAGTGCGCTGCGGTCAGCACCCACTGGGGGTGGAT<br>[配列番号 53] |

| | |
|---|---|
| | 220339_s_at:<br>GGTGAAAGTCTCCGTGGTGGACACAGAGACCTGCCGCCGGGACTATCCCGGCCCCGGGGG<br>CAGCATCCTTCAGCCCGACATGCTGTGTGCCCGGGGCCCCGGGGATGCCTGCCAGGACGA<br>CTCCGGGGGGCCTCTGGTCTGCCAGGTGAACGGTGCCTGGGTGCAGGCTGGCATTGTGAG<br>CTGGGGTGAGGGCTGCGGCCGCCCCAACAGGCCGGGAGTCTACACTCGTGTCCCTGCCTA<br>CGTGAACTGGATCCGCCGCCACATCACAGCATCAGGGGGCTCAGAGTCTGGGTACCCCAG<br>GCTCCCCCTCCTGGCTGGCTTATTCCTCCCCGGCCTCTTCCTTCTGCTAGTCTCCTGTGT<br>CCTGCTGGCCAAGTGCCTGCTGCACCCATCTGCGGATGGTACTCCCTTCCCCGCCCCTGA<br>CTGATGGCAGGAATCCAAGTGCATTTCTTAAATAAGTTACTATTTATTCCGCTCCGCCCC<br>CTCCCTCTCCCTTGAGAAGCTGAGTCTTCTGCATCAGATT<br>[配列番号 54]<br><br>213536_s_at:<br>TGCCACAAGGTCGCTGCTTATGAGGGCGCAAACTTCTTGGCTTGTGCTCGGACCCTTTTC<br>TCGTACTCCACTCTGTTTTGGCAGTAAATCGTGTAGGCCTCTGCTTGAGCTGGGTCTTGG<br>ATATTTGGTTCATTTAGAAGTTCCTGTATTCCTAATAGGATCTGTTTGATTGTGATGGCT<br>GGCCTCCAGTCCTTGTCCTCCTCTAAGATGGACAGGCACACTGTCCCCGAAGGGTACACA<br>TTCGGGTGAAATAATGGTGGTTCGAATTTACATTTTGGTGGCGAAGATGGATAATCATCT<br>TTGAAAAGCATCCGTAGTTTAAACAAGCCTCCTTCCCACGGAGTCCCTTTCTTTCCTGGA<br>ATGGCGCACTCCCAGTTCATGAGGTTCATCGTGCCATCGGGATTTTTTGTTGGGACAGCC<br>ACGAAACCAAATGGGTGGTCTTTCCTCCATGCTTTCCTCTCCTGGGCGAGTCTGCTGAGG<br>GCGATCCCCGACATGTTCAAAGTCCCTC<br>[配列番号 55]<br><br>214067_at:<br>AGAGACTTTCAGGGCATACGTGGGGGCCTTGGCCTTCCTCACTCGCTCGATGGCCTCAGT |

| | |
|---|---|
| | GTGCTCCTCAAGGCTGGTGCCAAACACCTGCTGGAGATAGCTGAGCAGGGCCTCCTCGTC<br>GTCCACCTGGTCAGGGCCCATGGTACCCGCGCGGTAAAGCACCGTGTACAGGGCCTCCTC<br>GTAGAGCATCTCCACCTCCTCTGGGGCCAGGGCTCTCAGGCCGAGGCTGGGATCCACAGG<br>CTCCGGGGGTGCTGGCGAGCCACTGCGCAGGGGGACCTCGAGGCACGGCAAGCCCTGTCT<br>GCCTTCCCCCTTCTTCAGCATGAGGCGCATGTGGGCAAAGAACTCCACGCCATCCCCGGG<br>TTTCCAGGCCCCCGTGGCAGGCTCCTGCGGGTCGGCGCTGGCACTCCCTGGGTCCTGCTC<br>AGTCCTGCGGCGGAAGGACGGGCACACCTGCACCTGCCTGAGCACGCTGCTCTTAATGTC<br>CAGCAAGGTCGACATGGCGGGTGACCGTGG<br>[配列番号 56] |
| MFSD2 | 主要な促進性スーパーファミリードメイン含有プロテイン2<br><br>225316_at:<br>TGCTGCTCTTCAAAATGTACCCCATTGATGAGGAGAGGCGGCGGCAGAATAAGAAGGCCC<br>TGCAGGCACTGAGGGACGAGGCCAGCAGCTCTGGCTGCTCAGAAACAGACTCCACAGAGC<br>TGGCTAGCATCCTCTAGGGCCCGCCACGTTGCCCGAAGCCACCATGCAGAAGGCCACAGA<br>AGGGATCAGGACCTGTCTGCCGGCTTGCTGAGCAGCTGGACTGCAGGTGCTAGGAAGGGA<br>ACTGAAGACTCAAGGAGGTGGCCCAGGACACTTGCTGTGCTCACTGTGGGGCCGGCTGCT<br>CTGTGGCCTCCTGCCTCCCCTCTGCCTGCCTGTGGGGCCAAGCCCTGGGGCTGCCACTGT<br>GAATATGCCAAGGACTGATCGGGCCTAGCCCGGAACACTAATGTAGA<br>[配列番号 57] |
| CPA3** | カルボキシペプチダーゼ A3<br><br>205624_at<br>TATGAAACCCGCTACATCTATGGCCCAATAGAATCAACAATTTACCCGATATCAGGTTCT<br>TCTTTAGACTGGGCTTATGACCTGGGCATCAAACACACATTTGCCTTTGAGCTCCGAGAT<br>AAAGGCAAATTTGGTTTTCTCCTTCCAGAATCCCGGATAAAGCCAACGTGCAGAGAGACC<br>ATGCTAGCTGTCAAATTTATTGCCAAGTATATCCTCAAGCATACTTCCTAAAGAACTGCC |

| | |
|---|---|
| | CTCTGTTTGGAATAAGCCAATTAATCCTTTTTTGTGCCTTTCATCAGAAAGTCAATCTTC<br>AGTTATCCCCAAATGCAGCTTCTATTTCACCTGAATCCTTCTCTTGCTCATTTAAGTCCC<br>ATGTTACTGCTGTTTGCTTTTACTTACTTTCAGTAGCACCATAACGAAGTAGCTTTAAGT<br>GAAACCTTTTAACTACCTTTCTTTGCTCCAAGTGAAGTTTGGACCCAGCAGAAAGCATTA<br>TTTTGAAAGGTGATATACAGTGGGGCACAGAAAACAAATGAAAACCCTCAGTTTCTCACA<br>GATTTTCACCATGTGGCTTCATCAA<br>[配列番号 58] |
| GPR105*** | Gタンパク質連結レセプター105<br><br>206637_at:<br>TGAGCCTGGGGTTCTGGTGTTAGAATATTTTTAAGTAGGCTTTACTGAGAGAAACTAAAT<br>ATTGGCATACGTTATCAGCAACTTCCCCTGTTCAATAGTATGGGAAAAATAAGATGACTG<br>GGAAAAAGACACACCCACACCGTAGAACATATATTAATCTACTGGCGAATGGGAAAGGAG<br>ACCATTTTCTTAGAAAGCAAATAAACTTGATTTTTTTAAATCTAAAATTTACATTAATGA<br>GTGCAAAATAACACATAAAATGAAAATTCACACATCACATTTTTCTGGAAAACAGACGGA<br>TTTTACTTCTGGAGACATGGCATACGGTTACTGACTTATGAGCTACCAAAACTAAATTCT<br>TTCTCTGCTATTAACTGGCTAGAAGACATTCATCTATTTTTCAAATGTTCTTTCAAAACA<br>TTTTTATAAGTAATGTTTGTATCTATTTCATGCTTTACT<br>[配列番号 59] |
| CDH26 | カドヘリン様タンパク質 26 [前駆物質]<br><br>232306_at:<br>GGGAATCACTATTCAGGGATTTTTCCCCTTTGCTCTTCTTTTCCCTCCTTAAAAGAAAAA<br>TTACCTTCTAGTCCTAGGATGAGGACACACTATTAGTTTGAATTAAATGCTTTGATATTC<br>TCAGATCAGCCATCTTGAACCAAAGCAAAACCACAAGTTACACTTTCTTAAAATTTGATT<br>TGTCATATTTTCTAGAGAAACTTGAATTTAATTGTGTTATTCTTAGCTTCCACTGGCAGC<br>CTAGCTTTGAGGGTAAATGAAAATATAACCCATAGATTACCCAGCCACTTGGGAACAGCA |

| | |
|---|---|
| | GGTAATACTGAAGAAAAATAAAAATAGATTTTGAAAACGTTANNNANANNNNTATGATTA<br>TGATTCTGTTCCATTTAAGGGAAAACTTAGGTAAATAGAGAAATTTTTTCTATAACATTG<br>TGTAGTCAGT<br>[配列番号 60] |
| GSN | ゲルゾリン[前駆物質]<br><br>200696_s_at:<br>TGCTTCTGGACACCTGGGACCAGGTCTTTGTCTGGGTTGGAAAGGATTCTCAAGAAGAAG<br>AAAAGACAGAAGCCTTGACTTCTGCTAAGCGGTACATCGAGACGGACCCAGCCAATCGGG<br>ATCGGCGGACGCCCATCACCGTGGTGAAGCAAGGCTTTGAGCCTCCCTCCTTTGTGGGCT<br>GGTTCCTTGGCTGGGATGATGATTACTGGTCTGTGGACCCCTTGGACAGGGCCATGGCTG<br>AGCTGGCTGCCTGAGGAGGGGCAGGGCCCACCCATGTCACCGGTCAGTGCCTTTTGGAAC<br>TGTCCTTCCCTCAAAGAGGCCTTAGAGCGAGCAGAGCAGCTCTGCTATGAGTGTGTGT<br>[配列番号 61] |
| C2ORF32 | 226751_at:<br>ACTTTTGACCACTTGTGACTGGAGTTCAGTGGCCCTGGCAGGCTTGTCCTGCTCTTGACC<br>ATTCCACTGACTAACTTTGGTGTTTNGTTTCCAAGTTAAGTGATTCCTCCTTTTTTTNGT<br>TCAATGTTAAATTTAAAAATAACAATGTGTATGGGTCCTCCCATGTGTAATATGGTAACA<br>TGTAACTTGCAGTGTTTGCCAGCTTTCAAAGCAGGCTTTGTGAAAATGTAATACAAACAG<br>CAGTGAATGGGACTCAAATGTTGTGCTTCCTATAAACAGCTCCGCTCTTTCAGGGAAGGA<br>TGGTAACAAACTAGAAGGACAAATATGTACGTATTTATAACGTATTAAAACTCTTTTAAG<br>TAGCTTAAGGTATTGTGCAATGGCCTAGCCTAGTAGAAATGGGGGAAAAGCATTGCTGTG<br>GACCATTGTTAAAGTGACAGGAGTTGTAGGGTTACCCCTTTGACAAGCTTCCATAGTCTT<br>CAGACACGCACATTGATGGCATCCCT<br>[配列番号 62] |
| TRACH2000196<br>(TMEM71) | 238429_at:<br>CTAACTAATACCAACCTGACAACTTGAATAACAATAAATGCAATTTGTACATAAAATATN |

| | |
|---|---|
| | ATGCTGCAAAAGTTNGTCATTCACCTCAGTGGAGTGACTTGATATTAGGTGGTNACCGTA<br>GATGATGGTTNATATGANAANTGGACAGGAAAGAAGCANTTTCTGAAAGTTATANTCTTT<br>TGAACCACGTTCTAAACCAAGTNTTTNATCTTCTTGGGGCTCGTAATTACCTTTCACTTT<br>AATGTCACTTAAAGATATAACACAGAAAAATGCCTTGAGGGCAAAATATAGGCAAAACAC<br>CAATGCGCTTTCAAATGCATGAAAATGGTGCAGTTGTACCCTTGAGCCTTGACTCAAGGG<br>CTGTAGATGTTCCCTTTCCACCCCCCACACTTGGTGCGTGTTCACAAAGCAAATATGGCC<br>TGTAATTCAAATTTGTTCTATGTGATACTCTCTGAGTAAAAACTCATACATGCAGAAAAT<br>TGTCTTTGCTCGAAAT<br>[配列番号 63] |
| DNAJC12 | DnaJ ホモローグサブファミリーCメンバー12<br><br>218976_at:<br>CCCAAGCCCCTAGAGAAGTCAGTCTCCCCGCAAAATTCAGATTCTTCAGGTTTTGCAGAT<br>GTGAATGGTTGGCACCTTCGTTTCCGCTGGTCCAAGGATGCTCCCTCAGAACTCCTGAGG<br>AAGTTCAGAAACTATGAAATATGAAATATCTCTGCTTCAAAAAATGAGGAAGAGCAAGAC<br>TGTCCCCTATGCTGCCAACATGCAGTCTTTGTTTATGTCTTAAAAATGTCATGTTTATGT<br>CATGTCTGTGAATTGCTGAGTACTAATTGATTCCTCCATCCTTGAATCAGTTCTCATAAT<br>GCTTTTTAAATAAGAAAAATTCAGAAGATGAATTTCTTCCAATATTTGAATAAATTAAAG<br>CTCTTAGATACAGAGTAGATTGTATTATATGCTTTTTCCTATTAATACTACTTATAGAAA<br>TCCATTAAAAAGCAATCTCTGTACAGTGTATTTAAATATTTCATTGACATACTGTGATCT<br>CTATTAGTGATGGATGTACAAAAAATGTTTTCTTACCCTTGACTTACAATGAAATGTGAA<br>ATTACTTGTCTGAACCCCGT<br>[配列番号 64] |
| RGS13** | Gタンパク質シグナル伝達13の制御因子<br><br>210258_at:<br>ACAGCAAGCCTATGTAGTTCAATTAATATATAAGGAAAAGGAAGGTCTTTCTTCATGATA |

| | |
|---|---|
| | CAAGCATTATAAAGTTTTTACTGTAGTAGTCAATTAATGGATATTTCCTTGTTAATAAAA<br>TTTTGTGTCATAATTTACAAATTAGTTCTTTAAAAATTGTTGTTATATGAATTGTGTTTC<br>TAGCATGAATGTTCTATAGAGTACTCTAAATAACTTGAATTTATAGACAAATGCTACTCA<br>CAGTACAATCAATTGTATTATACCATGAGAAAATCAAAAAGGTGTTCTTCAGAGACATTT<br>TATCTATAAAATTTTCCTACTATTATGTTCATTAACAAACTTCTTTATCACATGTATCTT<br>CTACGTGTAAAACATTTCTGATGATTTTTTAACAAAAAATATATGAATTTCTTCATTTGC<br>TCTTGCATCTACATTGCTATAANGGATATAAAATGTGGTTTCTATATTTTGAGATGTTTT<br>TTCCTTACAATGTGAACTCATCGTGATCTTGG<br>[配列番号 65] |
| SLC18A2** | 溶質輸送体ファミリー１８メンバー２<br><br>205857_at:<br>CTGCTACTTTGGAAGATGGCTCTGGAGGAAACTCTCATATGGCTAAAAAGGCAGGCTAGT<br>TTCTTACTTCTACAGGGGTAGAGCCTTAAAAAAGAACGTGCTACAAATTGGTTNTCTTNN<br>AGGGTTNCNGGTTCTCCCTGCCCCCAATNCCNATATACTTTANTGCNNTTTTATTTTTGC<br>CTTTACGGNCTCTGTGTCTTTCTGCAAGAAGGCCTGGCAAAGGTATGCCTGCTGTTGGTC<br>CCNTCGGGATAAGATAAAATATAAATAAAACCTTCAGAACTGTTTTGGAGCAAAAGATAG<br>CTTGTACTTGGGGAAAAAAATTCTAAGTTCTTTTATATGACTAATATTCTTGGTTAGCAA<br>GACTGGAAAGAGGTGTTTTTTTAAAATGTACATACCAGAACAAAGAACATACAGCTCTCT<br>GAACATTTATTTTTTGAACAGAGGTGGTTTTTATGTTTGGACCTGGTAATACAGATACAA<br>AAACTTTAATGAGGTAGCAATGAATATTCAACTGTTTGACTGCTAAGTGTATCTGTCCAT<br>ATTTTAGCAAG<br>[配列番号 66] |
| セルピン B10 | セルピンペプチダーゼ阻害薬クレイド B（卵白アルブミン）メンバー10<br><br>214539_at:<br>TACTACAAAAGCCGTGACCTCAGCCTGCTTATACTACTGCCAGAAGACATTAATGGGCTG |

| | |
|---|---|
| | GAACAGCTGGAAAAGGCCATCACCTATGAGAAGCTGAATGAGTGGACCAGTGCAGACATG<br>ATGGAGTTGTATGAAGTGCAGCTACACCTTCCCAAGTTCAAGCTGGAAGACAGTTATGAT<br>CTCAAGTCAACCCTGAGCAGTATGGGGATGAGTGATGCCTTCAGCCAAAGCAAAGCTGAT<br>TTCTCAGGAATGTCTTCAGCAAGAAACCTATTTTTGTCCAATGTTTTCCATAAGGCTTTT<br>GTGGAAATAAATGAACAAGGTACTGAAGCTGCAGCTGGCAGTGGGAGTGAGATAGATATA<br>CGAANTAGAGTCCCATCCATTGAATTCAATGCAAATCACCCATTCCTCTTCTTCATCAGG<br>CACAATAANAACCAACACCATTCTTTTTTATGGAAGATTATGCTCCCCCTAATC<br>[配列番号 67] |
| SH3RF2 | SH3 ドメイン含有 RING フィンガータンパク質 2<br><br>243582_at:<br>GATTCTGTGGTAGACTCAGTGCTTTCAGAGTCCAGAGCTTGACTTGGGTTAGTGGCCTTA<br>ATGAAGTGCTAAATTTGCTCTTTACCGCGAGACTGATCAGAAGAAGCAAAAGGGGAAAGG<br>GGGCTAGAGGTCCACTCGCACCTTTTACATCAGACAAGAGGAGGACTGTGCCAGAAATCT<br>GTGCATGAAACACCATCTGCTCTTCATGCAGGGAGGGGTCAACCGTGTGAACGTGCAGAG<br>ATTACTCGAGCCTTCTTTGCCAAAAATATGCATTCTTCCCAGCTGTA<br>[配列番号 68] |
| FCER1B** | Fc ε RI β<br><br>207496_at:<br>TAATCACATCACTTCCATGGCATGGATGTTCACATACAGACTCTTAACCCTGGTTTACCA<br>GGACCTCTAGGAGTGGATCCAATCTATATCTTTACAGTTGTATAGTATATGATATCTCTT<br>TTATTTCACTCAATTTATATTTTCATCATTGACTACATATTTCTTATACACAACACACAA<br>TTTATGAATTTTTTCTCAAGATCATTCTGAGAGTTGCCCCACCCTACCTGCCTTTTATAG<br>TACGCCCACCTCAGGCAGACACAGAGCACAATGCTGGGGTTCTCTTCACACTATCACTGC<br>CCCAAATTGTCTTTCTAAATTTCAACTTCAATGTCATCTTCTCCATGAAGACCACTGAAT<br>GAACACCTTTTCATCCAGCCTTAATTTCTTGCTCCATAACTACTCTATCCCACGATGCAG |

| | |
|---|---|
| | TATTGTATCATTAATTATTAGTGTGCTTGTGACCTCCTTATGTATTCTCAATTACCTGTA<br>TTTGTGCAATAAATTGGAATAATGTAACTTGATTTCTTATCTGTGTTTGTGTTGGCATGC<br>AAGAT<br>[配列番号 69] |
| RUNX2 | Runt 関連転写制御因子 2<br><br>232231_at:<br>AAGACACTTCTTCCAAACCTTGAATTTGTTGTTTTTAGAAAACGAATGCATTTAAAAATA<br>TTTTCTATGTGAGAATTTTTTAGATGTGTGTTTACTTCATGTTTACAAATAACTGTTTGC<br>TTTTTAATGCAGTACTTTGAAATATATCAGCCAAAACCATAACTTACAATAATTTCTTAG<br>GTATTCTGAATAAAATTCCATTTCTTTTGGATATGCTTTACCATTCTTAGGTTTCTGTGG<br>AACAAAAATATTTGTAGCATTTTGTGTAAATACAAGCTTTCATTTTTATTTTTTCCAATT<br>GCTATTGCCCAAGAATTGCTTTCCATGCACATATTGTAAAAATTCCGCTTTGTGCCACAG<br>GTCATGATTGTGGATGAGTTTACTCTTAACTTCAAAGGGACTATTTGTATTGTATGTTGC<br>[配列番号 70] |
| PTGS1 | プロスタグランジン－エンドペルオキシドシンターゼ 1<br><br>238669_at:<br>AGTATTGACAACTGCACATGAAAGTTTTGCAAAGGGAAACAGGCTAAATGCACCAAGAAA<br>GCTTCTTCAGAGTGAAGAATCTTAATGCTTGTAATTTAAACATTTGTTCCTGGAGTTTTG<br>ATTTGGTGGATGTGATGGTTGGTTTTATTTGTCAGTTTGGTTGGGCTATAGCACACAGTT<br>ATTTAATCAAACAGTAATCTAGGTGTGGCTGTGAAGGTATTTTGTAGATGTGATTAACAT<br>CTACAATCAGTTGACTTTAAGTGAAAGAGATTACTTAAATAATTTGGGTGAGCTGCACCT<br>GATTAGTTGAAAGGCCTCAAGAACAAACACTGCAGTTTCCTGGAAAAGAAGAAACTTTGC<br>CTCAAGACTATAGCCATCGACTCCTGCCTGAGTTTCCAGCCTGCTAGTCTGCCCTATGGA<br>TTTGAAGTTTGCCAACCCCAACAATTGTGTGAATTAATTTCTAAAAATAAAGCTATATAC<br>AGCCANNNNNNNNTATTTGTGGGGGATTTGTTTCAGGATCTCTACAGATACCAA |

| | |
|---|---|
| | [配列番号 71] |
| ALOX15*** | アラキドン酸 15-リポキシゲナーゼ<br><br>207328_at:<br>CCCTAGAGGGGCACCTTTTCATGGTCTCTGCACCCAGTGAACACATTTTACTCTAGAGGC<br>ATCACCTGGGACCTTACTCCTCTTTCCTTCCTTCCTCCTTTCCTATCTTCCTTCCTCTCT<br>CTCTTCCTCTTTCTTCATTCAGATCTATATGGCAAATAGCCACAATTATATAAATCATTT<br>CAAGACTAGAATAGGGGGATATAATACATATTACTCCACACCTTTTATGAATCAAATATG<br>ATTTTTTTGTTGTTGTTAAGACAGAGTCTCACTTTGACACCCAGGCTGGAGTGCAGTGGT<br>GCCATCACCACGGCTCACTGCAGCCTCAGCGTCCTGGGCTCAAATGATCCTCCCACCTCA<br>GCCTCCTGAGTAGCTGGGACTACAGGCTCATGCCATCATGCCCAGCTAATATTTTTTTAT<br>TTTCGTGGAGACGGGGCCTCACTATGTTGCCTAGGCTGGAAATAGGATTTTGAACCCA<br>[配列番号 72] |

** マスト細胞に特異的な遺伝子

*** 好酸球に特異的な遺伝子

【０１３４】

実施例８－「ＩＬ－１３が高い」及び「ＩＬ－１３が低い」喘息のサブ表現型と臨床的特徴の関係

喘息患者の被験者は、更に、実施例７に記載したような他の個体群統計学的な特徴及び臨床的特徴に関して解析された。結果を表５と図５及び６とに示す。個体群統計学的特徴、肺機能、又は気管支拡張薬応答性（アルブテロールによるデルタＦＥＶ１）に基づいて、「ＩＬ－１３が高い」喘息のサブ表現型を有する被験者を「ＩＬ－１３が低い」喘息のサブ表現型から区別することはできなかったが（表５、図５Ａ－Ｂ）、これらのグループは、気道の応答性亢進（ＡＨＲ、メタコリンに対する$ＰＣ_{２０}$、呼気性気流に２０％の減少を誘導するために必要なメタコリンの最小濃度と定義される、図５Ｃ）の程度に関して有意に異なっていた。ＡＨＲにおけるこのような差異は、組み入れ基準により全ての喘息患者が有意なＡＨＲ（全ての喘息患者＜８ｍｇ／ｍｌ、全ての健康なコントロール＞２０

ｍｇ／ｍｌ）を有していることが必要であるにも関わらず明らかであった。

【０１３５】

表５．喘息の表現型による被験者の特徴

| | | 喘息 | | |
|---|---|---|---|---|
| | 健康なｺﾝﾄﾛｰﾙ | IL13ｼｸﾞﾈﾁｬｰが低い | IL13ｼｸﾞﾈﾁｬｰが高い | p値:「低」vs.「高」 |
| 症例数 | 28 | 20 | 22 | - |
| 年齢 | 36±9 | 36±11 | 37±12 | 0.98 |
| 性別、M:F (% F) | 12:16 (56) | 6:14 (70) | 11:11 (50) | 0.19 |
| 民族性 | | | | |
| 白人 | 20 | 9 | 9 | 0.98 |
| ｱﾒﾘｶ黒人 | 0 | 4 | 4 | |
| ﾗﾃﾝｱﾒﾘｶ系 | 3 | 5 | 6 | |
| ｱｼﾞｱ／太平洋諸島 | 5 | 2 | 3 | |
| 部系 | | | | |
| $FEV_1$,予測される% | 107 (13) | 89 (10) | 85 (13) | 0.85 |
| ｱﾙﾌﾞﾃﾛｰﾙによる$\Delta FEV_1$ (ﾍﾞｰｽﾗｲﾝの%) | 2.7±3.4% | 9.7±7.4% | 12.5±9.8 | 0.51 |
| ﾒﾀｺﾘﾝの $PC_{20}$ | 64 (22-64) | 0.93 (0.06-7.3) | 0.27 (0.05-1.9) | <0.001 |
| IgE, IU/ml | 27 (3-287) N=26 | 125 (19-1194) | 244 (32-2627) | 0.031 |
| 血中好酸球, $x10^9/L$ | 0.10±0.07 | 0.23±0.21 | 0.37±0.22 | 0.027 |
| BAL 好酸球 % | 0.26±0.29 N=22 | 0.42±0.46 N=16 | 1.9±1.9 N=20 | 0.001 |
| RBM の厚み, μm | 4.34±1.11 N=22 | 4.67±0.99 N=19 | 5.91±1.72 N=19 | 0.014 |
| ﾌﾙﾁｶｿﾞﾝによる４週目の$\Delta FEV_1$, L | N/A | 0.03±0.12 N=6 | 0.35±0.2 N=10 | 0.004 |
| ﾌﾙﾁｶｿﾞﾝによる８週目の$\Delta FEV_1$, L | N/A | 0.04±0.12 N=6 | 0.25±0.23 N=10 | 0.05 |

正常に分布したデータの場合、値は平均値±標準偏差で示され、スチューデントのｔ検定が実施されている。正常に分布していないデータの場合、値は中央値（範囲）で示され、ウィルコクソン順位和検定が実施されている。データが無い場合、データが存在する被験者の数を注記する。図５及び６には健康なコントロールに対するｐ値も示す。$PC_{20}$は、$FEV_1$に２０％の減少を引き起こすために必要な誘発濃度を、ＢＡＬは気管支肺胞洗浄を、ＲＢＭは網状の基底膜を表わす。

【０１３６】

個々の被験者のＩＬ－１３サブ表現型がアレルギー性の炎症の程度と相関しているかどうかを判定するために、本発明者らは、１２名のエアロアレルゲンからなるパネルに対する皮膚プリック試験（ＳＰＴ）の結果、血清ＩｇＥのレベル、末梢血好酸球数、及び気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）中の好酸球のパーセンテージを検討した。その結果を図６Ａ－Ｄと７Ａ－Ｂに示す。ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型と低い喘息サブ表現型は共に、健康なコントロールと比較した場合にエアロアレルゲンに対するＳＰＴ感受性を上昇させた（

図６Ａ）が、ＩＬ－１３が低い喘息のサブ表現型では、ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型よりポジティブな皮膚試験の数が少なく、イヌ及びハウスダストダニのようなエアロアレルゲンに感作されることが少なかった（図７Ａ）。ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型を有する被験者においては、ＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型を有する被験者より、血清ＩｇＥレベルが高く、末梢決好酸球数が多かったが、ＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型も、アレルギー性炎症のこれらの特徴に関して健康なコントロールとは異なっていた（図６Ｂ－Ｃ）。加えて、ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型を有する被験者においては、ＢＡＬにより評価した場合の肺中の好酸球の数が増加しており（図６Ｄ）、一方ＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型はＢＡＬの好酸球パーセンテージに関して健康なコントロールと差がなかった。これらのデータは、ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型を有する被験者におけるＡＨＲの濃縮、ＩｇＥレベル、及び好酸球性炎症を証明するものであるが、エアロアレルゲンに対するＳＰＴ感受性はこのサブグループに限られていなかった。したがって、エアロアレルゲンに感作する別の非Ｔｈ２の機序が、ＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型を有する被験者において機能していると思われる。

【０１３７】

表６．アレルゲン皮膚プリック試験のパネル

| アレルゲン | | |
|---|---|---|
| ｺﾅﾋｮｳﾋﾀﾞﾆ | ｸﾗﾄﾞｽﾎﾟﾘｳﾑﾍﾙﾊﾞﾙﾑ (herbarum) | ｳｪｽﾄｵｰｸ混合物 |
| ﾔｹﾋｮｳﾋﾀﾞﾆ | ﾈｺ | 牧草混合物/ﾊﾞﾐｭｰﾀﾞ/ｼﾞｮﾝｿﾝ |
| ﾜﾓﾝｺﾞｷﾌﾞﾘ | ｲﾇ | ﾋｽﾀﾐﾝ[10mg/ml](ﾎﾟｼﾞﾃｨﾌﾞｺﾝﾄﾛｰﾙ) |
| ｱﾙﾃﾙﾅﾘｱﾃﾅｰｽ | ｵｵﾊﾞｺｰｷﾞｼｷﾞｼ混合物 | 50%ｸﾞﾘｾﾘﾝ（ﾈｶﾞﾃｨﾌﾞｺﾝﾄﾛｰﾙ） |
| ｱｽﾍﾟﾙｷﾞﾙｽ混合物 | 短いﾌﾞﾀｸｻ | |

【０１３８】

ＩＬ－１３が高い喘息のサブ表現型が、耐久性であるか又はアレルゲンに最近曝されたことによるＴｈ２駆動性の炎症の一過性の症状であるかを判定するために、本発明者らは、同じ被験者由来の気管支生検の病理学的変化を測定した。本発明者他は、既に、喘息が、気道のリモデリングとして知られ、且つ長期に亘る炎症又は障害の影響と時間をかけて行われたその修復とを反映する病理学的変化に関連していることを実証している[28、29]。喘息における２つの特定のリモデリングの結果は、上皮下の網状基底膜（ＲＢＭ）の肥厚として現れる気道繊維症[30、31]と、気道上皮のムチン蓄積の増大[32]である。本発明者らは、ＩＬ－１３が高い喘息のサブ表現型を有する被験者におけるＲＢＭの厚みが、ＩＬ－１３が低い喘息のサブ表現型又は健康なコントロールより大きいことと、ＲＢＭの厚みが、ＩＬ－１３が低い喘息のサブ表現型において正常であることとを発見した（図６Ｅ）。加えて、喘息を有する被験者の両方のサブ表現型において、上皮ムチン蓄積が増大する傾向が観察されたが、このような増大は、ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型の被験者においてのみ有意であった（図８Ａ）。総ムチン蓄積量におけるこれらの差異はわずかなものであったが、ｑＰＣＲにより、ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型の気道上皮細胞における主要なゲル形成ムチンの発現レベルは、ＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型及び健康なコントロールと比較した場合に著しく異なっていることが判明した（図８Ｂ－Ｄ）。具体的には、ＩＬ－１３が高い喘息のサブ表現型は、ＭＵＣ５ＡＣ及びＭＵＣ２の発現及びＭＵＣ５Ｂ発現の抑圧により、ＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型及び健康なコントロールから区別される。ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型における特定のムチン遺伝子の発現のこのような変化は、ＭＵＣ５Ｂの発現に対するＭｕＣ５ＡＣの割合に最も明らかである（図６

Ｆ）。理論に拘束されることなく、本発明者らは、特定のゲル形成ムチンの随伴的誘導及び抑圧は、ＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型及び健康なコントロールと比較した場合に、ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型において上皮ムチン蓄積の増大が比較的わずかであることを説明しうると推測する。即ち、これらの発見は、ＩＬ－１３が高い喘息のサブ表現型が、このサブ表現型を耐久性と同定する、気道内のリモデリングの時間の経過に伴う変化に関連していることが示される。これらの結果も、ヒト被験者における気道リモデリングにＩＬ－１３経路が重要であることを実証している。

【０１３９】

肺胞マクロファージは、ＩＬ－１３[54]、及びロイコトリエン又はエイコサノイド脂質[55、56]の供給源として、或いはＩＬ－１３の影響下での「別の活性」により[57]、喘息のアレルギー性気道炎症を調節することができる。「ＩＬ－１３が高い」喘息を有する被験者の肺胞マクロファージにこれらの発見のうちのいずれかが現れているかどうかを判定するために、本発明者らは、１４名の喘息被験者と、１５名の健康なコントロールとにおいて、ｑＰＣＲを用いて関連遺伝子の発現を測定した（表７）。本発明者らは、喘息全体に、或いは特に「ＩＬ－１３が高い」サブグループに、Ｔｈ２サイトカインの誘導又は別の活性マーカーの誘導の証拠を見出さなかった。ＩＬ－１３の発現のレベルは、２９名の被験者のうち２６名において検出限界を下回っており（サイクル閾値＞４０）、ＩＬ－４は２９名の被験者のうち２０名において検出限界を下回っていた（いずれのサイトカインについても、３つのグループの間に差はなく、全てｐ＞０．３５であった）。他の全ての遺伝子は、試料全体に亘って検出の限界内にあった。これらの解析において、「ＩＬ－１３が高い」喘息に１５－リポキシゲナーゼの発現が増大していることが発見され（図１０、表８）、これは重症の好酸球性喘息の気道において１５－リポキシゲナーゼ産物が増大する[56]という先の発見と一致するものである。また、「ＩＬ－１３が高い」サブグループに限定したＴＮＦαの発現の増大が発見された（図１０、表８）。

【０１４０】

喘息患者の１サブセットのみが、吸入ステロイド薬（ＩＣＳ）により治療したときに肺機能に改善を示した[33]。ステロイド薬応答性の遺伝子発現マーカーを同定するために、本発明者らは、既に報告されているように[8]、吸入フルチカゾン又はプラセボの、８週に亘る無作為化比較試験の間の喘息被験者の１サブセットにおける$FEV_1$を測定した。ＩＬ－１３のサブ表現型により被験者を層別化してそのデータを再度解析すると、$FEV_1$の改善はＩＬ－１３が高いサブ表現型に限定されていることが判明した。具体的には、ＩＬ－１３が高い喘息サブ表現型を有する被験者を吸入フルチカゾンにより治療した場合、それら被験者が、プラセボ治療された被験者と比較して、４週目及び８週目の両方において$FEV_1$に有意な改善を示したのに対し、ＩＬ－１３が低い喘息サブ表現型を有する被験者はそのような改善を示さなかった（図９Ａ）。ＩＬ－１３が高いグループにおけるこのような$FEV_1$の改善は、投薬の停止後１週間で失われた。どちらのグループにおいても、いずれの時点でも、プラセボによる$FEV_1$の有意な変化は無かった（データは示さない、「ＩＬ－が高い」グループ：Ｎ＝５、「ＩＬ－１３が低い」グループ：Ｎ＝６）。既に報告されているように[8]、本発明者らは、治療の開始から１週間後に２回目の気管支鏡検査を実施し、ベースラインとしてマイクロアレイにより気管支上皮の遺伝子発現を解析した。ＩＬ－１３サブ表現型により被験者を層別化するこれらのデータの再解析においては、ベースラインにおいてＩＬ－１３が高い喘息を有する被験者は、プラセボ治療の１週間後も強いＩＬ－１３サブ表現型を示し続けており、これにより、治療をしない場合のこのサブ表現型の短期安定性が実証された。しかしながら、フルチカゾン治療の１週間後、ＩＬ－１３が高い喘息を有する被験者は、治療に関係なく、ベースラインでＩＬ－１３が低かった被験者とクラスター化した（図９Ｂ）。このように、本明細書に記載されるＩＬ－１３シグネチャーに基づく喘息の表現型の分類により、ＩＣＳに対する応答が予測される。これらのデータは、喘息のＩＣＳ治療の全体的な利点が、ＩＬ－１３が高いサブ表現型により説明されることを示唆している。

【０１４１】

本発明の結果は、喘息の臨床的な不均一性の基礎となる分子機構への新たな洞察をもたらすものである。これまでの基礎研究により、アレルギー性炎症及び喘息に関連する病態生理学的変化の多くの中心的制御因子として、ＩＬ－１３とそれに関連するＴｈ２サイトカインとが証明されている[35、36]。ここで、本発明者らは、遺伝子発現プロファイリングを使用して、喘息患者に「ＩＬ－１３が高い」サブ表現型を同定した。厳密な臨床基準及びメタコリン負荷試験を使用して、本発明者らは、このサブ表現型が、喘息と診断された患者の５０％未満にしか含まれないことを発見した。このような「ＩＬ－１３が高い」サブ表現型は、ＩＬ－５発現のレベルの上昇も示し、気道応答性亢進の増強、血清ＩｇＥレベルの上昇及び好酸球性炎症を含む特定の目立った臨床的特徴、上皮下繊維症、並びに「ＩＬ－１３が低い」サブ表現型及び健康なコントロールと比較した場合のゲル形成ムチンの発現の変化を示した。

【０１４２】

本発明者らの研究は、気道上皮細胞におけるＩＬ－１３に駆動された炎症の遺伝子シグネチャーが喘息患者の半数でしか顕著でないこと、したがって残りの半数には非ＩＬ－１３駆動機構が働いているに違いないことを示すことにより、喘息の病変形成の現在の特定の考え方の正当性を問うものである。ここで議論される発見は、喘息が、ここで言及される「ＩＬ－１３が高い」及び「ＩＬ－１３が低い」サブ表現型のような種々の分子サブ表現型に分割されうるという仮定を導くものである。本発明者らは、気管支生検における遺伝子発現の確証的解析、反復実験での再現性の解析、並びに、喘息のこれら２つの分子サブ表現型の個別の臨床的特徴、炎症性特徴、病理学的特徴及び治療に関連する特徴を包括的に特徴付けることにより、ＩＬ－１３が高い／低いグループの分類を検証した。これらの発見により、喘息が複雑で不均一な疾病であるという新しい臨床的所見に機構的フレームワークが提供される[58]。

【０１４３】

Ｔｈ２炎症に基づく喘息の分子表現型は、重要な治療的意味を有している。第１に、「ＩＬ－１３が高い」サブ表現型における気道閉塞は、吸入ステロイド薬により改善するが、「ＩＬ－１３が低い」サブ表現型は殆どないしは全く改善を示さない。本発明者らによって同定されたＴｈ２マーカーを使用して、ステロイド応答性の表現型の代理マーカーを提供することにより、ステロイド応答性を検査するための臨床試験の開発を導くことができる。第２に、ＩＬ－１３及び関連するＴｈ２サイトカインの遮断については、喘息の１治療戦略として、活発な臨床的開発が行われている[34]。本発明のデータは、これらの治療薬に対する臨床的応答が、「ＩＬ－１３が高い」喘息を有する患者の特定のサブ表現型に限定されている可能性を示唆している。したがって、この分子表現型のマーカーは、臨床試験に直接的な用途を有する。

【０１４４】

誘導された痰の分析を用いた以前の研究によって、「好酸球性喘息」が独立した喘息の細胞表現型であることが示唆されていたが、この分子表現型の基礎となる分子機構は定義されていない。本発明のデータによれば、本発明者によって「ＩＬ－１３が高い喘息」に実証された好酸球増加症により、ＩＬ－１３に駆動された炎症が「好酸球性喘息」の基礎となる分子機構であることが示唆される[37]。加えて、本発明者らは、「好酸球性喘息」及び「ＩＬ－１３が高い」喘息の両方が、上皮下繊維症[38、39]、肺胞マクロファージによるＡＬＯＸ１５産生[55]、及び吸入ステロイド薬に対する肺機能応答[40、41]を特徴とすることを実証した。好酸球性喘息に認識されたこれらの特徴に加えて、本発明者らは、「ＩＬ－１３が高い」喘息の更なる臨床的特徴を同定したもので、それには、気道のムチン遺伝子発現の変化、及びＴｈ２サイトカインとは考えられないが、以前より重度の喘息に関連付けられていたメディエーターであるＴＮＦαの誘導が含まれる[59]。これらの特徴は、好酸球性喘息にも観察されると予測される。加えて、ＩＬ－５は、その発現がＩＬ－１３の発現と有意に同時制御されることから、「ＩＬ－１３が高い」喘息に観察される気道及び全身の好酸球への主要な寄与体であると思われる（図１Ｅ）。ＩＬ－５は、好酸球の分化、動員、活性、及び生存[60]の主要な刺激であるが、ＩＬ－１３は、気道におい

て、ＣＣＬ１１、ＣＣＬ２２、及びＣＣＬ２６のような好酸球化学誘引物質の発現を強く誘導することができ、したがってＩＬ－５と協働して、気道における好酸球の浸潤、活性化、及び生存を促進しうる。したがって、残存するＩＬ－１３の活性は、喘息におけるＩＬ－５の遮断の臨床試験に観察される好酸球の不完全な組織枯渇を説明しうる[62、63]。

【０１４５】

加えて、これらのデータは、喘息患者の有意な割合が「ＩＬ－１３が低い」表現型を有することを明らかにしており、この表現型は、Ｔｈ２駆動性の炎症が無いにも関わらず、気道閉塞、気道応答性亢進、及び気管支拡張薬可逆性といった喘息の臨床的特徴を呈する。「ＩＬ－１３が低い」喘息の原因は依然として不明であるが、可能性として、好中球性の炎症[37]、ＩＬ－１７駆動性の炎症[42]、バリアー機能の内因性異常[43]、及び非定型細胞内細菌による慢性的な無症状感染[44]が挙げられる。

【０１４６】

表７．肺胞マクロファージｑＰＣＲに使用される遺伝子

| 記号 | 名称 | カテゴリー | Entrez 遺伝子 ID |
|---|---|---|---|
| IL13 | ｲﾝﾀｰﾛｲｷﾝ 13 | Th2 ｻｲﾄｶｲﾝ | 3596 |
| IL4 | ｲﾝﾀｰﾛｲｷﾝ 4 | Th2 ｻｲﾄｶｲﾝ | 3565 |
| ARG1 | ｱﾙｷﾞﾅｰｾﾞ、肝臓 | 代替的活性化ﾏｰｶｰ | 383 |
| MRC1 | ﾏﾝﾉｰｽﾚｾﾌﾟﾀｰ、C 1 型 | 代替的活性化ﾏｰｶｰ | 4360 |
| MRC2 | ﾏﾝﾉｰｽﾚｾﾌﾟﾀｰ、C 2 型 | 代替的活性化ﾏｰｶｰ | 9902 |
| IL1RN | ｲﾝﾀｰﾛｲｷﾝ 1 ﾚｾﾌﾟﾀｰｱﾝﾀｺﾞﾆｽﾄ | 代替的活性化ﾏｰｶｰ | 3557 |
| CCL17 | T 細胞を標的とする CC ｹﾓｶｲﾝ | 代替的活性化ﾏｰｶｰ | 6361 |
| CCL22 | ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞにより得られたｹﾓｶｲﾝ | 代替的活性化ﾏｰｶｰ | 6367 |
| TNFα | 腫瘍壊死因子 | 古典的活性化ﾏｰｶｰ | 7124 |
| IL1β | ｲﾝﾀｰﾛｲｷﾝ 1、β | 古典的活性化ﾏｰｶｰ | 3553 |
| CCL20 | ﾏｸﾛﾌｧｰｼﾞ炎症性ﾀﾝﾊﾟｸ質 3α | 古典的活性化ﾏｰｶｰ | 6364 |
| ALOX15 | ｱﾗｷﾄﾞﾝ酸 15-ﾘﾎﾟｷｼｹﾞﾅｰｾﾞ | ﾛｲｺﾄﾘｴﾝ経路 | 246 |
| ALOX5 | ｱﾗｷﾄﾞﾝ酸 5-ﾘﾎﾟｷｼｹﾞﾅｰｾﾞ | ﾛｲｺﾄﾘｴﾝ経路 | 240 |
| ALOX5AP | ｱﾗｷﾄﾞﾝ酸 5-ﾘﾎﾟｷｼｹﾞﾅｰｾﾞ-活性化ﾀﾝﾊﾟｸ質 | ﾛｲｺﾄﾘｴﾝ経路 | 241 |
| LTA4H | ﾛｲｺﾄﾘｴﾝ A4 ﾋﾄﾞﾛﾗｰｾﾞ | ﾛｲｺﾄﾘｴﾝ経路 | 4048 |
| LTC4S | ﾛｲｺﾄﾘｴﾝ C4 ｼﾝｾﾀｰｾﾞ | ﾛｲｺﾄﾘｴﾝ経路 | 4056 |

【０１４７】

表８．ｑＰＣＲによる肺胞マクロファージ遺伝子発現

| | 正規化された遺伝子コピー数 | | | P値 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | コントロール | 低 IL-13 | 高 IL-13 | 低 IL-13 | 高 IL-13 | 高 IL-13 vs 低 |
| 遺伝子 | N=15 | N=5 | N=9 | vs. コントロール | vs. コントロール | IL-13 |
| IL13 | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| IL4 | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| ARG1 | 16,707±49,889 | 13,188±29,285 | 177±349 | 0.99 | 0.68 | 0.91 |
| MRC1 | 4,729,405±2,343,659 | 4,281,358±2,235,805 | 5,575,399±2,211,337 | 0.98 | 0.77 | 0.69 |
| MRC2 | 323,199±949,034 | 318,115±704,525 | 1,627±929 | 1.00 | 0.68 | 0.84 |
| IL1RN | 1,217,545±2,179,904 | 1,629,394±2,679,369 | 477,775±147,251 | 0.97 | 0.75 | 0.64 |
| CCL17 | 200±457 | 421±867 | 42±44 | 0.76 | 0.82 | 0.42 |
| CCL22 | 61,812±163,171 | 53,105±113,545 | 4,306±5,750 | 0.99 | 0.65 | 0.88 |
| TNFα | 75,044±41,433 | 75,941±43,938 | 130,385±47,351 | 1.00 | **0.017 ＊** | 0.10 |
| IL1β | 102,121±37,416 | 107,456±20,675 | 111,181±25,317 | 0.98 | 0.88 | 0.99 |
| CCL20 | 16,033±9,224 | 16,826±7,375 | 16,231±5,003 | 0.99 | 1.00 | 0.99 |
| ALOX15 | 18,741±19,420 | 24,167±19,036 | 142,494±188,198 | 1.00 | **0.03 ＊** | 0.16 |
| ALOX5 | 10,655,887±2,754,206 | 1,1308,968±2,851,849 | 11,033,153±1,397,415 | 0.94 | 0.98 | 0.99 |
| ALOX5AP | 13,940,937±3,209,466 | 12,710,464±2,864,216 | 12,877,643±2,812,301 | 0.83 | 0.80 | 1.00 |
| LTA4H | 8,532,533±1,944,551 | 8,455,408±1,191,877 | 7,859,076±1,647,800 | 1.00 | 0.75 | 0.91 |
| LTC4S | 4,959±3,748 | 5,445±3,189 | 9,086±4,988 | 0.99 | 0.07 | 0.33 |

ＩＬ－１３の発現のレベルは、２９名の被験者のうち２６名で検出限界（サイクル閾値＞４０）を下回り、ＩＬ－４は２９名の被験者のうち２０名で検出限界を下回った（いずれのサイトカインについても３つのグループ間に差はなかった、全てのｐ＞０．３５）。他の全ての遺伝子は試料全体に亘って検出限界内であった。

【０１４８】

実施例９－血清タンパク質バイオマーカーと「ＩＬ－１３が高い」及び「ＩＬ－１３が低い」喘息のサブ表現型との関係

更なるマイクロアレイ解析により、本発明者らは、表４に列挙された一組の遺伝子及びプローブから、false discovery rate（ＦＤＲ）ｑ値の閾値として０．０５を下回る個々の被験者において発現がペリオスチンと同時制御される２８の遺伝子を表わす３５のプローブのセットを同定した。これらの遺伝子及びプローブと、関連データとを表９に示す。これらのプローブの発現レベルに基づいた、健康なコントロール及び喘息患者を含む全ての被験者の階層的クラスター解析により、上述の２つの主要クラスター、即ち、（１）ペリオスチン及び同時制御される遺伝子の発現レベルが高いクラスターと、（２）ペリオス

チン及び同時制御される遺伝子の発現レベルが低いクラスターが確認されて、更に定義された（図１１）。マスト細胞遺伝子には、ＲＧＳ１３、 ＴＰＳＧ１、ＴＰＳＡＢ１、ＦＣＥＲ１Ｂ、ＣＰＡ３及びＳＬＣ１８Ａ２が含まれる。好酸球遺伝子には、Ｐ２ＲＹ１４及びＡＬＯＸ１５が含まれる。

【０１４９】

ペリオスチン及び同時制御される遺伝子の発現レベルが高いクラスターは、２３名の喘息患者と、１名の健康なコントロールとからなっており（図１１、クラスター１、赤で示す）、一方ペリオスチン及び同時制御される遺伝子の発現レベルが低いクラスターは、残り１９名の喘息患者と、分散した２６名の健康なコントロールとからなっていた（図１１、クラスター２、緑で示す）。実施例８では、３つのプローブ、即ち、210809_s_at（ペリオスチン）、210107_at（ＣＬＣＡ１）、及び204614_at（セルピンＢ２）のマイクロアレイにより定量された発現レベルに基づいて、このデータセットに含まれる被験者のクラスタリングについて記載した。実施例８に記載したこれら３つのプローブのシグネチャーは、この全３５のプローブのシグネチャーと強く相関しており、７名の喘息患者と１名の健康なコントロールについて異なっている（図１１に*で示される相違コール）。

【０１５０】

表９．ＩＬ－１３遺伝子シグネチャーの遺伝子及び例示的プローブ

マイクロアレイシグナル強度

| プローブ | 遺伝子名 | 倍数「高」vs.「低」 | 「低」IL13 vs 高い P 値 | 「低」IL13 vs 高い q 値 | 「低」IL13 vs. HC P 値 | 「低」IL13 vs. HC q 値 | 「健康」平均 | 「低」IL13 平均 | 「高」IL13 平均 | 倍数「高」vs. HC | 倍数「低」vs. HC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 206224_at | CST1* | 15.46 | 2.33E-06 | 0.004 | 0.87 | 0.95 | 8.76 | 17.86 | 276.18 | 31.54 | 2.04 |
| 208555_x_at | CST2* | 12.69 | 3.02E-07 | 0.001 | 0.86 | 0.95 | 5.13 | 8.95 | 113.65 | 22.16 | 1.75 |
| 206994_at | CST4* | 10.87 | 1.29E-06 | 0.002 | 0.71 | 0.94 | 10.38 | 48.27 | 524.78 | 50.56 | 4.65 |
| 210107_at | CLCA1* | 9.05 | 2.28E-07 | 0.001 | 0.71 | 0.94 | 29.61 | 74.20 | 671.32 | 22.67 | 2.51 |
| 223710_at | CCL26* | 8.83 | 4.66E-05 | 0.030 | 0.74 | 0.95 | 6.33 | 3.79 | 33.50 | 5.29 | 0.60 |
| 1555778_a_at | POSTN* | 7.21 | 9.58E-09 | 4.90E-05 | 0.88 | 0.95 | 14.93 | 17.89 | 129.07 | 8.65 | 1.20 |
| 210809_s_at | POSTN* | 5.31 | 3.90E-13 | 1.93E-08 | 0.60 | 0.94 | 260.24 | 372.07 | 1976.14 | 7.59 | 1.43 |
| 204919_at | PRR4* | 5.14 | 1.75E-06 | 0.003 | 0.49 | 0.94 | 37.33 | 97.62 | 502.21 | 13.45 | 2.62 |
| 207741_x_at | TPSD1** | 4.40 | 1.90E-05 | 0.02 | 0.69 | 0.94 | 9.86 | 14.84 | 65.30 | 6.62 | 1.51 |
| 204614_at | セルピン B2* | 3.72 | 2.84E-07 | 0.001 | 0.35 | 0.92 | 97.43 | 196.39 | 729.95 | 7.49 | 2.02 |
| 216485_s_at | TPSG1** | 3.65 | 8.94E-09 | 4.90E-05 | 0.61 | 0.94 | 10.04 | 13.18 | 48.06 | 4.79 | 1.31 |
| 210037_s_at | INOS* | 3.43 | 2.53E-07 | 0.001 | 0.91 | 0.95 | 6.39 | 6.07 | 20.86 | 3.26 | 0.95 |
| 210258_at | RGS13** | 3.19 | 1.88E-07 | 0.001 | 0.08 | 0.87 | 8.75 | 4.97 | 15.84 | 1.81 | 0.57 |
| 201884_at | CEACAM5 | 2.89 | 1.30E-08 | 5.82E-05 | 0.54 | 0.94 | 426.04 | 535.38 | 1548.02 | 3.63 | 1.26 |
| 216474_x_at | TPSD1** | 2.88 | 7.64E-10 | 1.26E-05 | 0.29 | 0.91 | 46.63 | 69.06 | 199.21 | 4.27 | 1.48 |
| 206637_at | GPR105*** | 2.75 | 3.19E-08 | 0.0001 | 0.45 | 0.94 | 40.90 | 53.89 | 148.29 | 3.63 | 1.32 |
| 205624_at | CPA3** | 2.58 | 3.91E-09 | 2.76E-05 | 0.25 | 0.90 | 99.69 | 145.25 | 374.66 | 3.76 | 1.46 |
| 226751_at | C2ORF32+ | 2.55 | 4.58E-08 | 0.0002 | 0.52 | 0.94 | 35.39 | 29.78 | 76.07 | 2.15 | 0.84 |
| 205683_x_at | TPSD1** | 2.54 | 3.57E-10 | 8.82E-06 | 0.26 | 0.90 | 53.99 | 74.71 | 189.54 | 3.51 | 1.38 |

| プローブ | 遺伝子名 | 倍数「高」vs.「低」 | 「低」IL13 vs 高い P 値 | 「低」IL13 vs 高い q 値 | 「低」IL13 vs. HC P 値 | 「低」IL13 vs. HC q 値 | 「健康」平均 | 「低」IL13平均 | 「高」IL13平均 | 倍数「高」vs. HC | 倍数「低」vs. HC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 210084_x_at | TPSD1** | **2.45** | ***2.01E-09*** | ***1.99E-05*** | 0.23 | 0.90 | 48.91 | 69.02 | 169.00 | 3.46 | 1.41 |
| 225316_at | MFSD2 | **2.44** | ***2.54E-06*** | ***0.004*** | 0.88 | 0.95 | 29.03 | 27.72 | 67.73 | 2.33 | 0.95 |
| 207134_x_at | TPSD1** | **2.37** | ***9.91E-09*** | ***4.90E-05*** | 0.12 | 0.88 | 50.28 | 80.13 | 189.76 | 3.77 | 1.59 |
| 232306_at | CDH26 | **2.31** | ***3.31E-07*** | ***0.001*** | 0.23 | 0.90 | 223.92 | 330.01 | 763.78 | 3.41 | 1.47 |
| 215382_x_at | TPSD1** | **2.22** | ***1.89E-07*** | ***0.001*** | 0.40 | 0.93 | 38.96 | 48.85 | 108.32 | 2.78 | 1.25 |
| 200696_s_at | GSN | **2.08** | ***3.45E-06*** | ***0.005*** | 0.95 | 0.95 | 246.87 | 243.40 | 506.71 | 2.05 | 0.99 |
| 217023_x_at | TPSD1** | **2.02** | ***8.11E-08*** | ***0.0003*** | 0.24 | 0.90 | 53.13 | 68.70 | 138.67 | 2.61 | 1.29 |
| 205857_at | SLC18A2** | **1.88** | ***1.29E-06*** | ***0.002*** | 0.39 | 0.93 | 84.08 | 100.24 | 188.75 | 2.24 | 1.19 |
| 214539_at | セルピン B10 | **1.88** | ***1.20E-05*** | ***0.012*** | 0.54 | 0.94 | 42.37 | 37.53 | 70.62 | 1.67 | 0.89 |
| 207496_at | FCER1B** | **1.82** | ***4.18E-06*** | ***0.005*** | 0.52 | 0.94 | 37.55 | 33.51 | 61.04 | 1.63 | 0.89 |
| 238429_at | TMEM71 | **1.82** | ***3.45E-05*** | ***0.024*** | 0.51 | 0.94 | 36.79 | 42.73 | 77.72 | 2.11 | 1.16 |
| 243582_at | SH3RF2 | **1.80** | ***1.48E-07*** | ***0.0005*** | 0.36 | 0.92 | 82.64 | 96.39 | 173.86 | 2.10 | 1.17 |
| 218976_at | DNAJC12 | **1.79** | ***9.51E-05*** | ***0.044*** | 0.59 | 0.94 | 48.54 | 43.54 | 77.72 | 1.60 | 0.90 |
| 238669_at | PTGS1 | **1.56** | ***2.04E-06*** | ***0.003*** | 0.70 | 0.94 | 82.69 | 86.79 | 135.37 | 1.64 | 1.05 |
| 207328_at | ALOX15*** | **1.55** | ***7.87E-06*** | ***0.009*** | 0.36 | 0.92 | 812.57 | 919.86 | 1424.90 | 1.75 | 1.13 |
| 232231_at | RUNX2 | **1.50** | ***4.99E-05*** | ***0.032*** | 0.28 | 0.91 | 288.42 | 335.71 | 502.48 | 1.74 | 1.16 |

プローブは、「ＩＬ－１３が高い」喘息患者対「ＩＬ－１３が低い」喘息患者の倍数の変化の順に並べられている（左から３列目）；「ＩＬ－１３が高い」喘息の方に２．５倍以上の濃縮度を有するプローブは、遺伝子名を太字で示す。

ペリオスチンに対応するプローブ（ＰＯＳＴＮ）及びＣＥＡＣＡＭ５は網掛けで示す。

「ＩＬ－１３が低い」喘息に対し、「ＩＬ－１３が高い」喘息において３倍を超えて上方

制御された非マスト細胞遺伝子は、アスタリスク１つ(*)で示す。
マスト細胞特異性遺伝子をアスタリスク２つ(**)で示す（クラスタリングのパターンに基づいて、Ｃ２ＯＲＦ３２シグナルがマスト細胞由来と思われる）。
好酸球特異性遺伝子をアスタリスク３つ（***）で示す。

【０１５１】

３つの遺伝子（ペリオスチン、ＣＬＣＡ１及びセルピンＢ２）のＩＬ－１３シグネチャーを使用して、本発明者らは、実施例８において、血清ＩｇＥ及び末梢血好酸球のレベルを含むアレルギー性炎症の全身性マーカーが、「ＩＬ－１３が低いサブ表現型の喘息患者に対して、「ＩＬ－１３が高い」サブ表現型の喘息患者において有意に上昇することを示した。しかしながら、個々に採取されたこれらの測定基準の各々には、喘息患者のグループ間に大きな重複があった。加えて、血清ＩｇＥ又は末梢血好酸球のレベルは、いずれも単独では、気道ＩＬ－１３シグネチャー及び関連する「ＩＬ－１３が高い」又は「ＩＬ－１３が低い」喘息のサブ表現型を予測するための、感受性及び特異性が共に高い非侵襲的な測定基準とはならない。

【０１５２】

ＩｇＥ及び末梢血好酸球のレベルの交差により、どちらか一方の計量のみより高い精度で気道の炎症を予測できるかどうかを判定するために、本発明者らは、血清ＩｇＥ及び末梢血好酸球数の両方を、気道のＩＬ－１３シグネチャーの状態と対比させて評価した。本発明者らは、４２名の喘息患者全体で、弱くではあるが、血清ＩｇＥと末梢血好酸球数とは相関していることを発見した（図４；ＩＬ－４／１３シグネチャーのデータを示す；同様の結果がＩＬ－１３シグネチャーについて取得された[表１０参照]。ＩＬ－１３シグネチャーについて、「ＩＬ－１３が高い」喘息患者の好酸球数は、全員について、０．１４×１０$^{9}$／Ｌであったが、「ＩＬ－１３が低い」喘息患者の多くの好酸球数はそれよりも少なかった。２名を除いて全ての「ＩＬ－１３が高い」喘息患者の血清ＩｇＥレベルが１００ＩＵ／ｍｌより高かったが、「ＩＬ－１３が低い」喘息患者の多くではそうではなかった。２つの測定基準、即ち（１）血清ＩｇＥ≧１００ＩＵ／ｍｌ、及び（２）好酸球数≧０．１４×１０$^{9}$／Ｌを組み合わせることにより、気道におけるＩＬ－１３シグネチャーの感受性及び特異性が向上した（表１０）。したがって、一般的に使用されるアレルギー性炎症の２つの末梢血の測定基準を組み合わせることは、気道ＩＬ－１３に促進された炎症の有効且つ非侵襲的なバイオマーカーとなりうる。

【０１５３】

表１０．ＩＬ－１３シグネチャーの感受性、特異性、ＩｇＥ及び末梢血好酸球測定基準のポジティブ及びネガティブな予測値

| ポジティブな基準: 血清 IgE > 100 IU/ml | | IL-13 シグネチャーの状態 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 高 | 低 | |
| 試験結果 | + | 21 | 10 | 感受性: 21/23 = 0.91<br>特異性: 9/19 = 0.47<br>PPV: 21/31 = 0.68<br>NPV: 9/11 = 0.82 |
| | - | 2 | 9 | |

| ポジティブな基準: 好酸球≥ 0.14x10$^9$/L | | IL-13 シグネチャーの状態 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 高 | 低 | |
| 試験結果 | + | 23 | 11 | 感受性: 23/23 = 1<br>特異性: 8/19 = 0.42<br>PPV: 23/34 = 0.68<br>NPV: 8/8 = 1 |
| | - | 0 | 8 | |

| ポジティブな基準: IgE > 100 IU/ml AND 好酸球≥ 0.14x10$^9$/L | | IL-13 シグネチャーの状態 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 高 | 低 | |
| 試験結果 | + | 21 | 5 | 感受性: 21/23 = 0.91<br>特異性: 14/19 = 0.74<br>PPV: 21/26 = 0.81<br>NPV: 14/16 = 0.88 |
| | - | 2 | 14 | |

【０１５４】

気管支上皮ＩＬ－１３シグネチャーの新規な全身性の（非侵襲的な）候補バイオマーカーを同定するために、本発明者らは、末梢血中に検出可能な細胞外タンパク質又は分泌タンパク質をコードする遺伝子のシグネチャーを調べた。特に対象とした３つの候補は、ＣＣＬ２６、ペリオスチン、及びＣＥＡＣＡＭ５であった。ＣＣＬ２６は、気管支上皮におけるＴｈ２サイトカイン誘導ケモカインとして既に報告されているので[71]、Ｔｈ２炎症の血清バイオマーカーとしてはまだ報告されていないペリオスチン及びＣＥＡＣＡＭ５の特徴に焦点を当てた。ＣＥＡＣＡＭ５は、上皮由来の癌において頻繁に使用される予後診断用血清バイオマーカーである癌胎児抗原（ＣＥＡ）をコードする。ペリオスチンも、特定の癌の血清バイオマーカーとして限定された数の研究に開示されており、興味深いことに、大部分の被験者において血清１ｍｌ当たり数十～数百ｎｇのレベルで検出可能で、これは、イムノアッセイにより容易に検出される血清マーカーの魅力的な特徴である。

【０１５５】

図１２Ａ－Ｂに示すように、ペリオスチン及びＣＥＡＣＡＭ５はそれぞれＩＬ－１３シグネチャーの良好な独立の指標であり、「ＩＬ－１３が高い」喘息患者において、「ＩＬ－１３が低い」喘息患者又は健康なコントロールよりも有意に高い発現を示す。個々の喘息患者のペリオスチンとＣＥＡＣＡＭ５のマイクロアレイ発現レベルの間には、強い相関があった（図１２Ｃ）。これらの遺伝子発現パターンを確認し、ペリオスチンとＣＥＡＣＡＭ５の発現が、「ＩＬ－１３が低い」喘息患者及び健康なコントロールから「ＩＬ－１３が高い」喘息患者を区別するためのアルゴリズムに使用可能であるかどうかを判定するために、本発明者らは、マイクロアレイ解析に使用される同じ気管支上皮ブラッシング試料において、ｑＰＣＲにより２つの遺伝子の発現レベルを解析した。個々の被験者のマイクロアレイ及びｑＰＣＲの値の間には、高度な一致性が存在した（図示しない）。本発明者らは、順次ロジスティック回帰分析を使用して、ペリオスチン及びＣＥＡＣＡＭ５のｑＰＣＲを用いたマイクロアレイ由来の３５プローブ式ＩＬ－１３状態の予測モデルを生成した。このモデルの予測値の有意性は高く（ｐ＜０．０００１）、ペリオスチン及びＣＥＡＣＡＭ５のパラメータの推定値は、それぞれモデルに有意な影響を有していた（ＣＥＡＣＡＭ５の場合ｐ＜０．０２；ペリオスチンの場合ｐ＜０．０００１）。受信者動作特性（ＲＯＣ）曲線の解析により、健康なコントロールが完全に予測できることと、「ＩＬ－

１３が高い」及び「ＩＬ－１３が低い」喘息の感受性及び特異性が極めて高いことが実証された（図１２Ｄ）。総括すると、これらのデータは、ペリオスチン及びＣＥＡＣＡＭ５の気管支上皮発現レベルが、ＩＬ－１３シグネチャー全体を良好に代理することを示している。

【０１５６】

可溶性ペリオスチン及びＣＥＡタンパク質のレベルの上昇が末梢血において検出可能であるかどうかを判定するために、本発明者らは、イムノアッセイを使用して、１００名の喘息患者及び４８名の健康なコントロールから採取した血清中のペリオスチン及びＣＥＡを調べた。加えて、本発明者らは、これらの同じ血清中におけるＩｇＥとＹＫＬ－４０を測定した。ＹＫＬ－４０は、一部の喘息患者において上昇することが文献に既知である血清マーカーである[72]。健康なコントロールと比較して、喘息患者には、ＩｇＥ、ペリオスチン、ＣＥＡ、及びＹＫＬ－４０のレベルの有意な上昇が観察された（図１３Ａ－Ｄ）。しかしながら、全ての症例において、いずれのバイオマーカーの血清レベルにも、グループ間に無視できない重複があった。実施例８に示したように、吸入ステロイド薬（ＩＣＳ）治療により、ベースラインにおいてペリオスチンが高い喘息患者のペリオスチンの気管支上皮発現が低下した（［8］も参照のこと）。本発明において血清を検査した１００名の喘息患者のうち、５１名が吸入ステロイド薬（ＩＣＳ）を摂取しており、４９名がしていなかった。ＩＣＳ治療していない喘息患者とＩＣＳ治療している喘息患者とを比較すると、ＩＣＳ治療を受けた被験者のＩｇＥ及びＣＥＡの血清レベルの中央値は有意に低く、ペリオスチンのレベルも低い傾向にあり、一方ＹＫＬ－４０のレベルには変化がなかった（図１３Ｅ－Ｈ）。それでもなお、ＩＣＳ治療を受けていた喘息患者のＩｇＥ、ペリオスチン、及びＣＥＡの血清レベルの中央値は、健康なコントロールより高かった（表１３）。図４及び表１０に示すように、気管支上皮ＩＬ－１３シグネチャーに陽性の（「ＩＬ－１３が高い」）２１／２３名の喘息患者では、血清ＩｇＥレベルが１００ＩＵ／ｍｌより高かったが、「ＩＬ－１３が低い」喘息患者の一部においてもＩｇＥは高かった。本発明者らは、ＩｇＥ≧１００ＩＵ／ｍｌの喘息患者（Ｎ＝６８）においては、ＩｇＥ＜１００ＩＵ／ｍｌの喘息患者（Ｎ＝３２、図１３Ｉ－Ｊ）と比べて、血清ペリオスチンレベルが高い傾向にあり、ＣＥＡレベルは有意に高かったことを見出した。しかしながら、血清ＹＫＬ－４０レベルは、ＩｇＥが高いグループにおいて有意に低かった（図１３Ｋ）。ペリオスチン及びＣＥＡＣＡＭ５の気道発現レベルが「ＩＬ－１３が高い」喘息患者と高度に相関していたため、本発明者らは、全ての喘息患者の血清ペリオスチンとＣＥＡとの相関を調べた（図１３Ｌ）。喘息患者の集団全体において、且つＩＣＳ治療を受けていない喘息患者又はＩｇＥ≧１００ＵＩ／ｍｌであるが健康なコントロールには含まれない喘息患者、ＩＣＳ治療を受けている喘息患者、或いはＩｇＥ≧１００ＵＩ／ｍｌの喘息患者において、血清ペリオスチン及びＣＥＡのレベルが互いと有意に相関していることが判明した。

【０１５７】

表１１．血清バイオマーカー間の相関

| 変数 | 変数による | スピアマン ρ | P 値 |
|---|---|---|---|
| 全被験者（コントロール, N=48; 喘息患者, N=100） | | | |
| YKL40 (ng/ml) | IgE (IU/ml) | 0.0140 | 0.8661 |
| CEA (ng/ml) | IgE (IU/ml) | 0.4040 | *<.0001* |
| CEA (ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | 0.2935 | *0.0003* |
| ペリオスチン(ng/ml) | IgE (IU/ml) | 0.2259 | *0.0058* |
| ペリオスチン(ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | 0.1253 | 0.1291 |
| ペリオスチン(ng/ml) | CEA (ng/ml) | 0.3556 | *<.0001* |
| 健康なコントロール（N=48） | | | |
| YKL40 (ng/ml) | IgE (IU/ml) | 0.0420 | 0.7768 |
| CEA (ng/ml) | IgE (IU/ml) | −0.0996 | 0.5007 |
| CEA (ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | 0.1914 | 0.1926 |
| ペリオスチン(ng/ml) | IgE (IU/ml) | −0.2451 | 0.0931 |
| ペリオスチン(ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | 0.2246 | 0.1249 |
| ペリオスチン(ng/ml) | CEA (ng/ml) | 0.4495 | *0.0014* |
| 全喘息患者（N=100） | | | |
| YKL40 (ng/ml) | IgE (IU/ml) | −0.2144 | *0.0322* |
| CEA (ng/ml) | IgE (IU/ml) | 0.3579 | *0.0003* |
| CEA (ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | 0.0890 | 0.3787 |
| ペリオスチン(ng/ml) | IgE (IU/ml) | 0.3262 | *0.0009* |
| ペリオスチン(ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | 0.0108 | 0.9152 |
| ペリオスチン(ng/ml) | CEA (ng/ml) | 0.3530 | *0.0003* |
| ICS治療を受けていない喘息患者（N=49） | | | |
| YKL40 (ng/ml) | IgE (IU/ml) | −0.1198 | 0.4123 |
| CEA (ng/ml) | IgE (IU/ml) | 0.3727 | *0.0084* |
| CEA (ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | 0.1111 | 0.4471 |
| ペリオスチン(ng/ml) | IgE (IU/ml) | 0.4236 | *0.0024* |
| ペリオスチン(ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | 0.0186 | 0.8989 |
| ペリオスチン(ng/ml) | CEA (ng/ml) | 0.4033 | *0.0041* |
| ICS治療を受けている喘息患者（N=51） | | | |
| YKL40 (ng/ml) | IgE (IU/ml) | −0.2553 | 0.0706 |
| CEA (ng/ml) | IgE (IU/ml) | 0.2251 | 0.1123 |
| CEA (ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | 0.1035 | 0.4699 |
| ペリオスチン(ng/ml) | IgE (IU/ml) | 0.1974 | 0.1650 |

| 変数 | 変数による | スピアマン ρ | P 値 |
|---|---|---|---|
| 全被験者（コントロール, N=48; 喘息患者, N=100） | | | |
| ペリオスチン(ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | 0.0783 | 0.5849 |
| ペリオスチン(ng/ml) | CEA (ng/ml) | 0.2197 | 0.1213 |
| IgE < 100 IU/ml である喘息患者（N=32） | | | |
| CEA (ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | 0.4003 | ***0.0232*** |
| ペリオスチン(ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | 0.3513 | ***0.0487*** |
| ペリオスチン(ng/ml) | CEA (ng/ml) | 0.1968 | 0.2802 |
| IgE ≥ 100 IU/ml である喘息患者（N=68） | | | |
| CEA (ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | 0.0370 | 0.7647 |
| ペリオスチン(ng/ml) | YKL40 (ng/ml) | −0.1264 | 0.3043 |
| ペリオスチン(ng/ml) | CEA (ng/ml) | 0.4145 | ***0.0004*** |

スピアマンの順位相関係数、ρは、関連するp値と共に相関を示す。高度に有意なｐ値（＜０．０５）は太字且つ斜体で示す。

【０１５８】

ＩＬ－１３シグネチャーの中で、プロテアーゼ阻害薬をコードする遺伝子と、マスト細胞及び好中球に発現されて、それらの細胞から気管支上皮への浸潤及び／又は解剖学的局在化を表わす遺伝子とを含む複数の遺伝子からなる幾つかの機能的グループを観察した。各気管支ブラッシング試料に含まれる細胞の９０％超は、気管支上皮細胞又は杯細胞（平均値９７％、中央値９８％、最小値９１％）であるが、極めて少数の、細胞特異性遺伝子発現パターンを有する浸潤性「汚染」細胞がマイクロアレイにおいて検出可能であった。マスト細胞特異性の遺伝子は、トリプターゼ（ＴＰＳＡＢ１[ＴＰＳＤ１]及びＴＰＳＧ１）、ＣＰＡ３、ＦＣＥＲ１Ｂ、ＲＧＳ１３、及びＳＬＣ１８Ａ２を含んでいた[73、74]。また、マスト細胞遺伝子を密接に有するクラスタリングは、カンナビノイドレセプター相互作用ＧＴＰ加水分解酵素であるＣＮＲＩＰ１（Ｃ２ＯＲＦ３２）であった。マスト細胞機能の制御におけるカンナビノイド類の確立された役割を考慮すると[75]、ＣＮＲＩＰ１は、マスト細胞特異性遺伝子も表わしていると思われる。アレルギー性疾病における組織常在性のマスト細胞の役割が大きいことと、喘息患者の気管支内生検標本中のＩＬ－１３発現マスト細胞の存在が痰において検出可能なレベルのＩＬ－１３とポジティブに相関しているという最近の観察[6]とを考慮すると、マスト細胞特異性遺伝子とＩＬ－１３シグネチャーとの高い相関性は、１）気道上皮においてマスト細胞がＩＬ－１３の大きな供給源でありうること、及び２）気道上皮へのマスト細胞の浸潤が「ＩＬ－１３が高い」喘息患者のサブセットに固有の特徴でありうることを示唆するものである。実施例８では、喘息患者由来の肺胞マクロファージにおけるＡＬＯＸ１５の発現について記載したが、好酸球特異性遺伝子には、２ＲＹ１４（ＧＰＲ１０５）及びＡＬＯＸ１５が含まれている。

【０１５９】

セリン及びシステインプロテアーゼ阻害薬に対応する複数のプローブは、セルピンＢ２及びＢ１０とシステイン（ＣＳＴ）１、２、及び４とを含むＩＬ－１３シグネチャー中に存在する。セルピンＢ２は、染色体１８ｑ２１上の遺伝子クラスターにコードされたセルピンプロテアーゼ阻害薬の大きなファミリーのメンバーである。セルピンＢ２[8]、Ｂ３、及びＢ４の発現レベルは、組換えＩＬ－４及びＩＬ－１３による刺激で気道の上皮細胞中に誘導される[7、15]。システイン（ＣＳＴ）１、２、及び４は、染色体２０ｐ１１上の遺伝子クラスターにコードされたシステインプロテアーゼ阻害薬の大きなファミリーのメンバーである。複数のシステインが気管支上皮に発現される[16]；ＣＳＴ４は、喘息患者の気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）中に高いレベルで同定された[17]；血清ＣＳＴ３は、健

康なコントロールより喘息患者において高く、そのレベルはＩＣＳ治療によって低下する[18]。セルピン及びＣＳＴ遺伝子ファミリーの各々が染色体上に同時に局在していることから、本発明者らは、セルピン及びシステイン遺伝子ファミリーのいずれかの他のメンバーが既に同定されているものと同時に制御されるかどうかを調査した。本発明者らは、セルピン及びシステイン遺伝子ファミリーに限定して、全ての被験者のマイクロアレイデータの階層的クラスタリングを実施した。アレイ上に現れた４０を超えるプロテアーゼ阻害薬遺伝子のうち、セルピンＢ２、Ｂ４、及びＢ１０と、システイン１、２、及び４だけが有意に同時制御され、発現レベルが最高であるのは「ＩＬ－１３が高い」シグネチャーを有する喘息患者においてであることが判明した（図２Ｂ及び表１２）。多数のエアロアレルゲンがプロテアーゼ活性を有しており、プロテアーゼ活性レセプター（ＰＡＲ）がアレルギー性炎症カスケードと関連している[76]ことから、Ｔｈ２サイトカインによるプロテアーゼ阻害薬の上方制御は、プロテアーゼ含有エアロアレルゲンに対する相補的応答を表わしていると思われた。

【０１６０】

表１２．図２Ｂのクラスタリングに使用したセルピン及びＣＳＴ遺伝子のプローブＩＤ

プローブは、図２Ｂの左のヒートマップに見られる順番に（上から下へ、左から右へ）列挙されている。ＩＬ－１３シグネチャー遺伝子を含むプローブのクラスタリングは太字で示す。

| プローブID | 遺伝子名 | プローブID | 遺伝子名 | プローブID | 遺伝子名 |
|---|---|---|---|---|---|
| 205075_at | セルピンF2 | 236599_at | セルピンE2 | 200986_at | セルピンG1 |
| 206595_at | CST6 | 233968_at | CST11 | 1555551_at | セルピンB5 |
| 206325_at | セルピンA6 | 1554616_at | セルピンB8 | 233797_s_at | CST11 |
| 206421_s_at | セルピンB7 | 213874_at | セルピンA4 | 210140_at | CST7 |
| 227369_at | SERBP1 | 220627_at | CST8 | 209720_s_at | セルピンB3 |
| 206034_at | セルピンB8 | 1568765_at | セルピンE1 | 209719_x_at | セルピンB3 |
| 202376_at | セルピンA3 | 206386_at | セルピンA7 | 210413_x_at | セルピンB4 |
| 207636_at | セルピンI2 | 202627_s_at | セルピンE1 | 208531_at | セルピンA2 |
| 1552544_at | セルピンA12 | 1554491_a_at | セルピンC1 | 209723_at | セルピンB9 |
| 231248_at | CST6 | 210076_x_at | SERBP1 | 212190_at | セルピンE2 |
| 1553057_at | セルピンB12 | 217725_x_at | SERBP1 | 211361_s_at | セルピンB13 |
| 240177_at | CST3 | 217724_at | SERBP1 | 217272_s_at | セルピンB13 |
| 202628_s_at | セルピンE1 | 236449_at | CSTB | 204855_at | セルピンB5 |
| 216258_s_at | セルピンB13 | 207714_s_at | セルピンH1 | 209725_at | UTP20 |
| 210049_at | セルピンC1 | 202283_at | セルピンF1 | **214539_at** | **セルピンB10** |
| 220626_at | セルピンA10 | 211474_s_at | セルピンB6 | **204614_at** | **セルピンB2** |
| 209443_at | セルピンA5 | 209669_s_at | SERBP1 | **208555_x_at** | **CST2** |
| 209722_s_at | セルピンB9 | 1556950_s_at | セルピンB6 | **206224_at** | **CST1** |
| 202834_at | セルピンA8 | 228129_at | SERBP1 | **206994_at** | **CST4** |
| 205352_at | セルピンI1 | 201201_at | CSTB | **211906_s_at** | **セルピンB4** |
| 211362_s_at | セルピンB13 | 213572_s_at | セルピンB1 | 230318_at | セルピンA1 |
| 205576_at | セルピンD1 | 212268_at | セルピンB1 | 201360_at | CST3 |
| 1554386_at | CST9 | 1552463_at | セルピンB11 | 210466_s_at | SERBP1 |
| 242814_at | セルピンB9 | 202833_s_at | セルピンA1 | 204971_at | CSTA |
| 239213_at | セルピンB1 | 211429_s_at | セルピンA1 | | |
| 230829_at | CST9L | | | | |

【０１６１】

ＣＬＣＡ１、ｍＣＬＣＡ３（ｇｏｂ－５としても知られる）のマウスオルソログは、既に、共にＩＬ－９及びＩＬ－１３を含むＴｈ２サイトカインによって誘導される気道上皮の杯細胞異形成及び粘液産生に関連する遺伝子として同定されている[12-14]。ＰＲＲ４は、染色体１２ｐ１３上のクラスターにコードされた大きな遺伝子ファミリーのメンバーである。これらの遺伝子は、唾液及び涙を含む粘膜分泌物に見られるプロリンリッチタンパク質をコードする。関連の、但し非オルソロガスタンパク質ＳＰＲＲ１ａ、２ａ、及び２ｂは、喘息のマウスモデル気管支上皮において同定されており、ＩＬ－１３によって誘導される[19、20]。ＰＲＲ／ＰＲＢファミリー由来のプロリンリッチタンパク質は、気管支分泌物において同定されており[21]、それらの発現は気管支上皮において実証されている[16]。ＣＣＬ２６（エオタキシン－３）は、喘息患者の気道上皮においてケモカインを誘引する、十分に実証されたＩＬ－４及びＩＬ－１３誘導性の好酸球である[71]。ＣＤＨ２６は、好酸球性食道炎のマイクロアレイ解析において最近同定された、未知の機能を有するカドヘリン様分子である「１１」。その試験により、ペリオスチン、セルピンＢ４、及びＣＣＬ２６を含む本発明の気管支上皮ＩＬ－１３シグネチャーと重複する遺伝子が他

に複数個同定された[11]。ＣＤＨ２６は、エオタキシンと同時制御され、且つ好酸球性の炎症を特徴とする疾病において過剰発現されるので、粘膜組織への好酸球浸潤にＣＤＨ２６が関連していると推測してみる。誘導性の一酸化炭素合成酵素（ｉＮＯＳ）は、気道の炎症に関連しており、ヒト初代気管支上皮細胞培養物においてＩＬ－１３により誘導される[23]。呼気中一酸化炭素（ｅＮＯ）の測定は、喘息の診断及びモニタリングに共通に使用される。総合的に考えると、ＩＬ－１３シグネチャーの構成要素としてここに記載した遺伝子の多くは、Ｔｈ２炎症のインビトロの動物モデルと一致度が高く、ヒト喘息のＴｈ２促進性の病状に参画していると思われる。

【０１６２】

表１３．血清バイオマーカーのレベル

| | 健康なｺﾝﾄﾛｰﾙ（N=48） | 喘息(N=100) | P 値 |
|---|---|---|---|
| IgE (IU/ml) | 63 (0–590) | 234 (1–2098) | *<0.0001* |
| ﾍﾟﾘｵｽﾁﾝ (ng/ml) | 38 (0–139) | 52 (0–117) | *0.03* |
| CEA (ng/ml) | <0.2 (<0.2–5.5) | 2 (<0.2–21*) | *<0.0001* |
| YKL-40 (ng/ml) | 48 (18–265) | 64 (19–494) | *0.0004* |
| **喘息患者の血清ﾊﾞｲｵﾏｰｶｰに対する吸入ｽﾃﾛｲﾄﾞ薬治療の効果** | | | |
| | No ICS (N=49) | ICS (N=51) | P 値 |
| IgE (IU/ml) | 322 (8–1395) | 132 (1–2098) | *0.011* |
| ﾍﾟﾘｵｽﾁﾝ (ng/ml) | 54 (0–110) | 48 (0–117) | 0.07 |
| CEA (ng/ml) | 2.5 (<0.2–7.5) | 1.9 (<0.2–21*) | *0.041* |
| YKL-40 (ng/ml) | 62 (19–353) | 72 (24–494) | 0.30 |
| **IgE ﾚﾍﾞﾙのｶﾃｺﾞﾘによる喘息患者の血清ﾊﾞｲｵﾏｰｶｰのﾚﾍﾞﾙ** | | | |
| | IgE < 100 IU/ml (N=32) | IgE ≥ 100 IU/ml (N=68) | P 値 |
| CEA (ng/ml) | 1.6 (<0.2–7.5) | 2.5 (<0.2–21*) | *0.031* |
| ﾍﾟﾘｵｽﾁﾝ (ng/ml) | 49 (0–117) | 57 (0–112) | 0.20 |
| YKL-40 (ng/ml) | 83 (19–494) | 61 (23–290) | *0.01* |

表中の値は中央値（範囲）である。

ｐ値はウィルコクソン順位和である。

＊ ９９／１００名の喘息患者において、ＣＥＡ値≦７．５ｎｇ／ｍｌであった。

【０１６３】

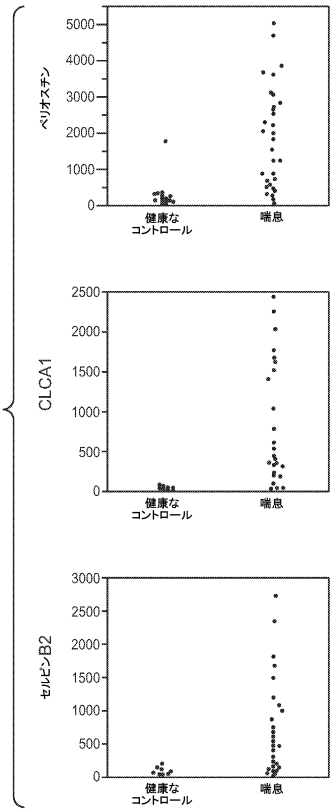
ＣＥＡＣＡＭ５は、多くの上皮組織に見られる細胞表面糖タンパク質をコードし、血清ＣＥＡＣＡＭ５（癌胎児抗原、ＣＥＡ）の上昇は、上皮の悪性腫瘍及び転移性疾病の十分に実証された全身性のバイオマーカーである。ＣＥＡレベルの上昇は、喘息患者のサブセ

ットに報告されており、特に粘液栓子を有する喘息患者に高い血清レベルが観察される[75]。興味深いことに、正常な血清ＣＥＡの上限が２．５～３ｎｇ／ｍｌの範囲であるのに対し、悪性腫瘍の疑いの下限は１０ｎｇ／ｍｌである。本発明者らの解析では、健康なコントロールの９５％超においてＣＥＡレベルが３ｎｇ／ｍｌ未満であったのに対し、喘息患者の１／３においては３～７．５ｎｇ／ｍｌであり、これらの大部分の血清ＩｇＥレベルは１００ＩＵ／ｍｌを上回っていた。これにより、ＣＥＡの堅牢な検出ウィンドウが、Ｔｈ２促進性の気道炎症を有する喘息患者に存在しうることが示唆された。ペリオスチンは、喘息患者の気道におけるＩＬ－４及びＩＬ－１３誘導性の遺伝子として説明されており[7-9、77]、この遺伝子は、侵襲性及び細胞外基質の変化に関連付けられる上皮由来の癌において上方制御され[64、67]、またその血清タンパク質レベルは一部の癌において検出可能であり、上昇する[68、70]。ペリオスチンは、好酸球組織浸潤に関連していると思われる[11、77]ので、Ｔｈ２促進性喘息のような好酸球性の疾病において重要な因子であり、且つそのバイオマーカーとなる可能性がある。

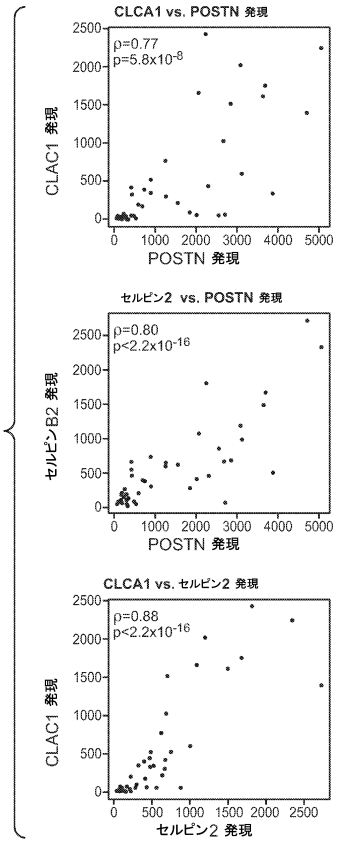
【０１６４】

対症療法（即ちβアゴニスト）ではうまく制御できない気管支喘息の標準的な治療法は、吸入ステロイド薬（ＩＣＳ）である。軽度から中等度の喘息患者において気道のＩＬ－１３のレベルが上昇した場合[6]、及び好酸球性食道炎患者において食道組織のＩＬ－１３の発現レベルが上昇した場合[11]、ＩＣＳ治療により、患部組織のＩＬ－１３及びＩＬ－１３誘導性遺伝子のレベルが実質的に低下する。ＩＣＳ治療の1週間後の喘息患者の気道上皮と、培養した気管支上皮細胞とにおいて、本発明者らは、ステロイド薬による治療により、ペリオスチン、セルピンＢ２、及びＣＬＣＡ１のＩＬ－１３誘導型発現レベルが実質的に低下することを示した[8]。表９に列挙した遺伝子を更に検査することにより、２回目の気管支鏡検査に先立って１週間に亘るＩＣＳ治療を受けた本発明の１９名の被験者において、ＩＬ－１３シグネチャー遺伝子の大多数が、喘息患者の気管支の気道上皮においてＩＣＳ治療により有意に下方制御されたことが判明した。このような下方制御は、ＩＬ－１３レベルのＩＣＳ媒介性の低下、標的遺伝子発現のＩＣＳ媒介性の低下、又はそれら２つの組み合わせの結果と考えられる。ＩＣＳ治療に抵抗性の重度の喘息患者の場合、ＩＣＳ治療を受けていない軽度の喘息患者に見られるものと同様の割合の被験者（約４０％）において、痰ＩＬ－１３レベルが検出可能であり[6]、これは、本試験において観察されたＩＬ－１３シグネチャーを有する被験者の割合に相当する。このような観察結果は、ＩＬ－１３シグネチャーが、本試験において検査した経度～中等度のＩＣＳ応答性の喘息患者においてはＩＣＳ治療によって有意に下方制御したものの、重度のステロイド抵抗性の喘息患者においては依然として存在しうることを示唆するものである。ステロイド抵抗性の喘息患者の気管支生検における好酸球性炎症、[78]、及びＢＡＬにおけるＩＬ－４及びＩＬ－５発現細胞の残留性[79]について同様の観察が報告されている。現在、多数の生物学的治療が、Ｔｈ２炎症のＩＬ－１３又は関連因子を目的とする臨床開発段階にあり[50、80]、それには、限定されないが、本発明に記載したものが含まれる。本発明の発見により、ステロイド治療を受けていない軽度～中等度の喘息患者うち、この経路の活性を有しているのは一部のみであり、ＩＣＳ治療に対するその感受性を考慮すると、ステロイド抵抗性の中程度～重度の喘息患者のうちこの経路の活性を有している割合はもっと小さいと思われる。したがって、気道にＩＬ－１３駆動性の炎症を有していると思われる喘息患者を同定するバイオマーカーは、これらの実験の標的とされる治療法に対する応答性が最も高いと思われる被験者の同定及び選択の補助となる可能性がある。

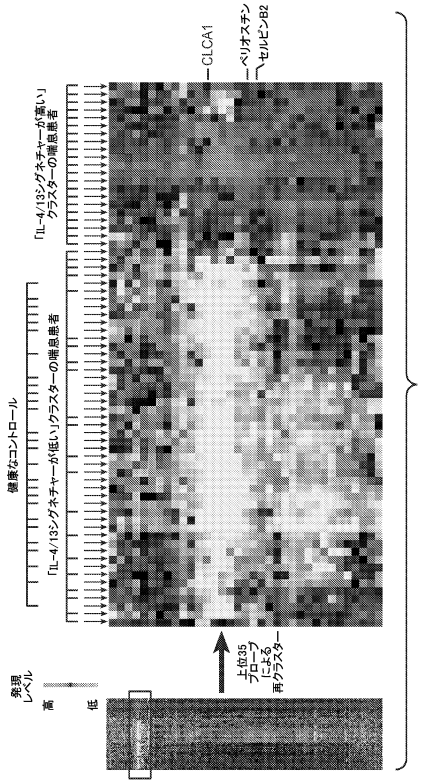
【図１Ａ】



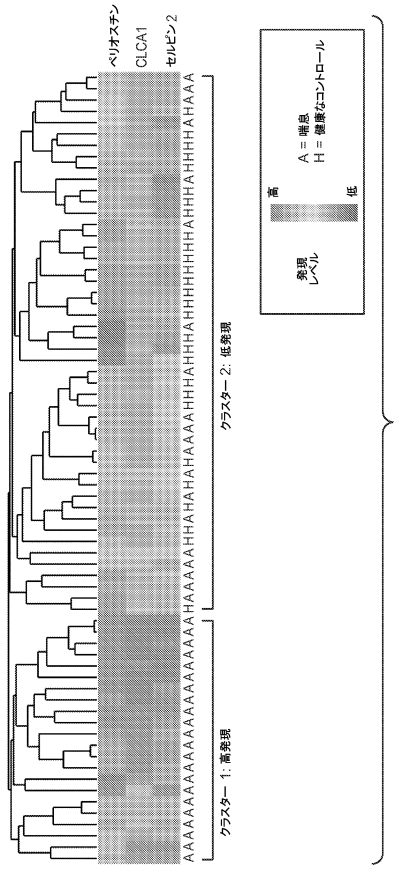

【図１Ｂ】



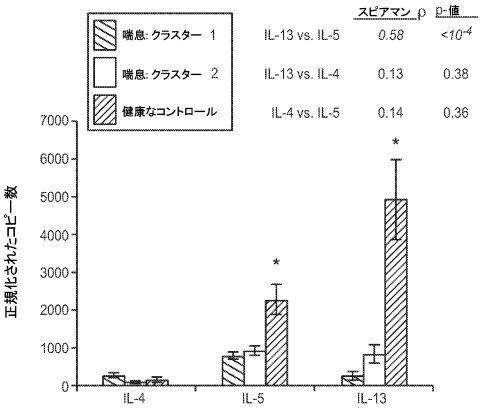

【図１Ｃ】



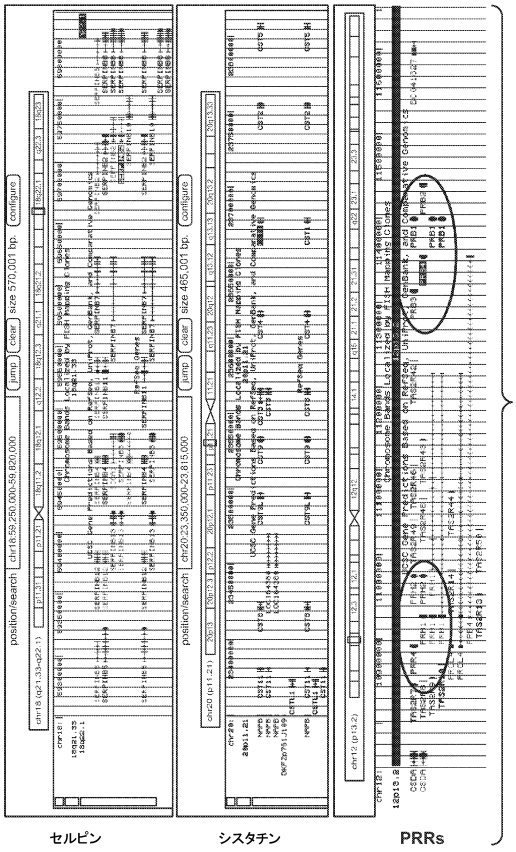

【図１Ｄ】



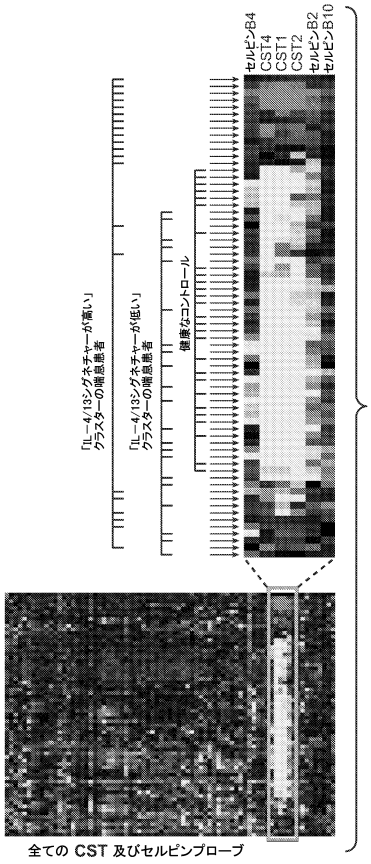
【図１Ｅ】



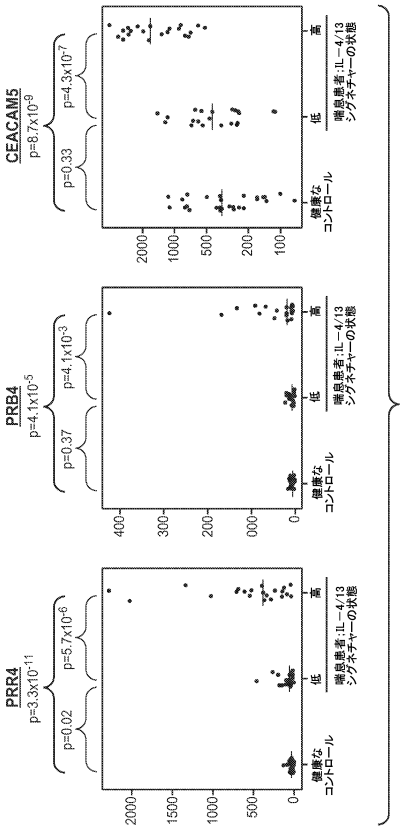

【図２Ａ】



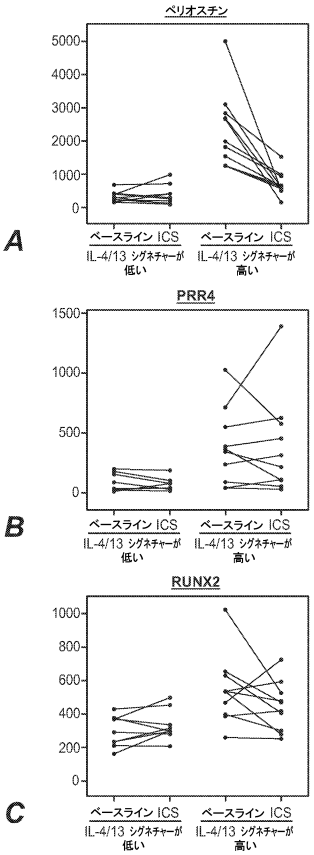

【図２Ｂ】



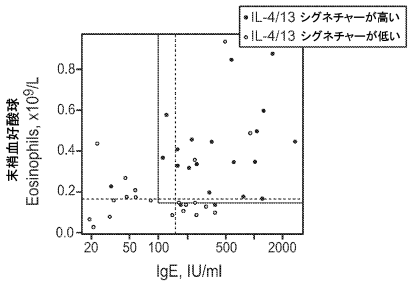

【図２Ｃ】



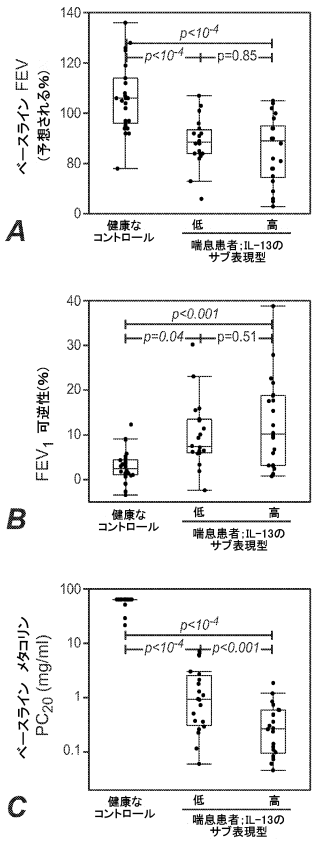
【図３】



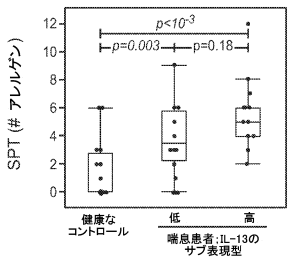

【図４】



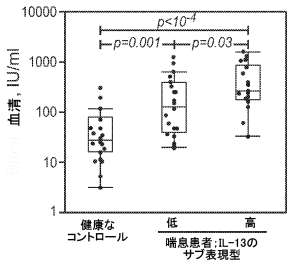

【図５】



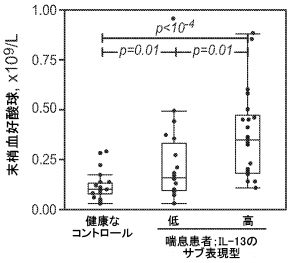

【図６Ａ】



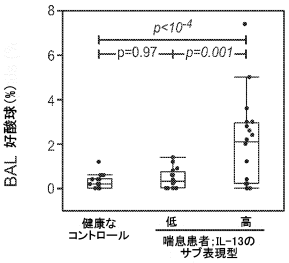

【図６Ｂ】



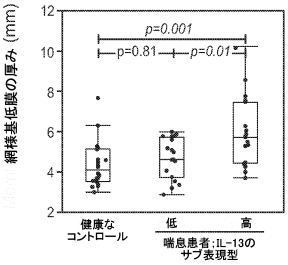
【図６Ｃ】



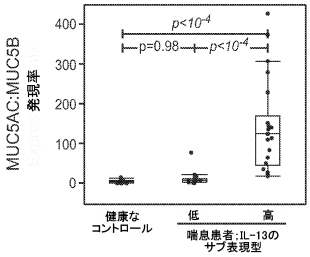

【図６Ｄ】



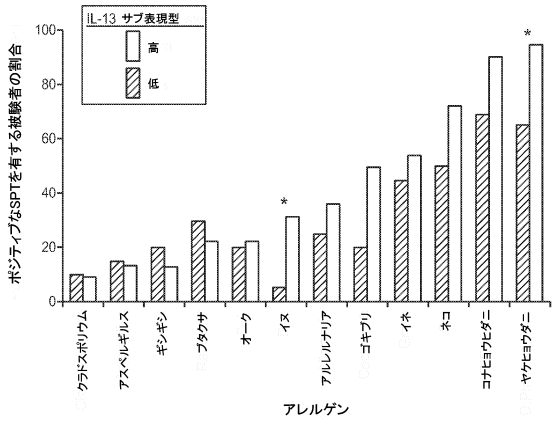

【図６Ｅ】



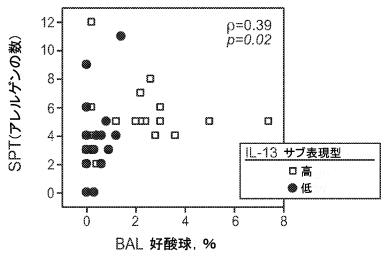

【図６Ｆ】



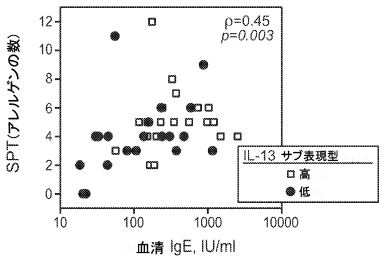

【図７Ａ】



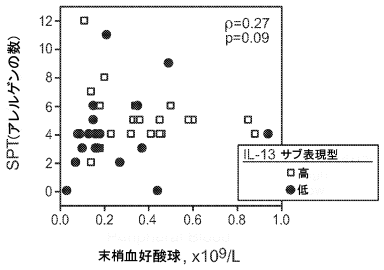

【図７Ｂ】



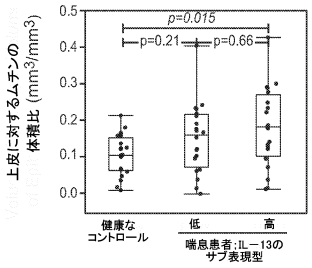

【図７Ｃ】



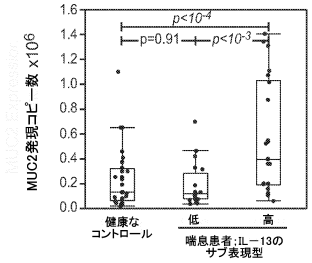

【図７Ｄ】



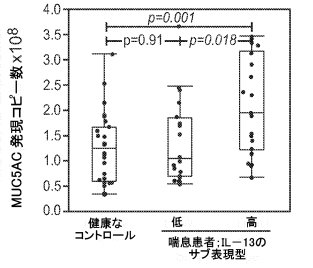
【図８Ａ】



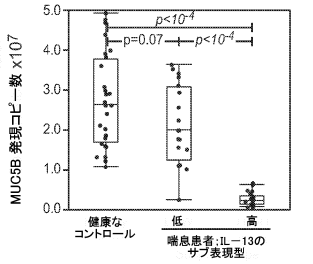

【図８Ｂ】



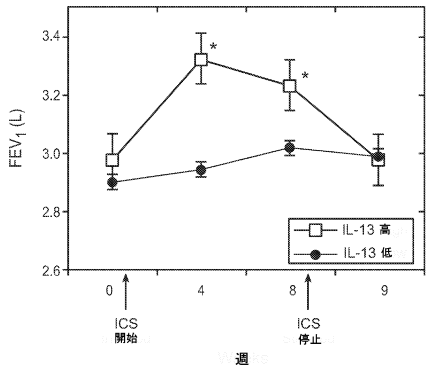

【図８Ｃ】



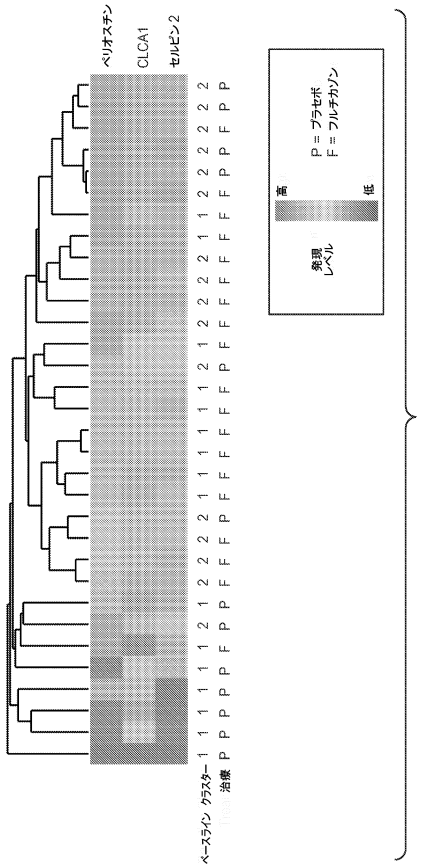

【図８Ｄ】



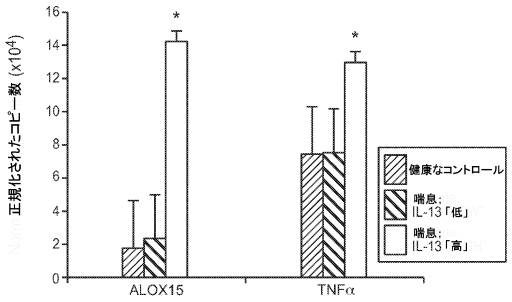

【図９Ａ】



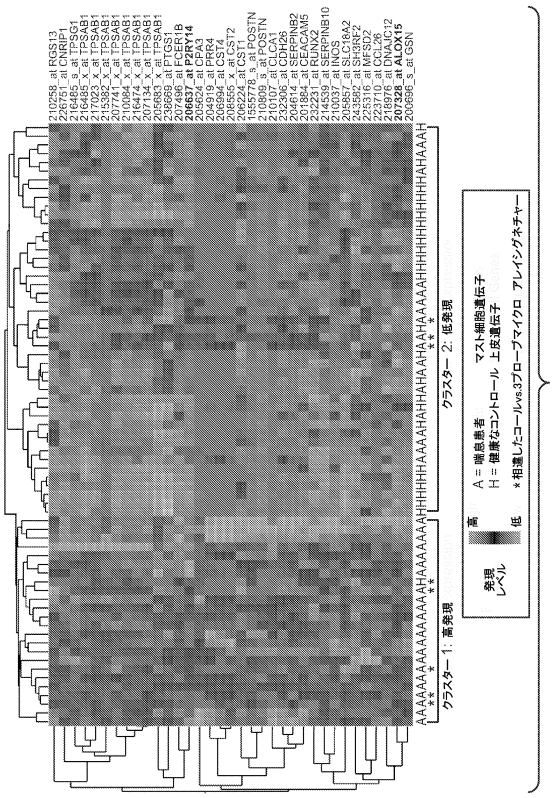

【図９Ｂ】



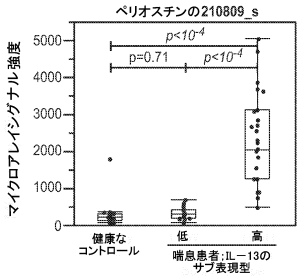
【図１０】



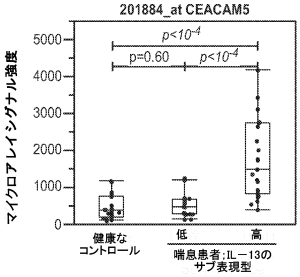

【図１１】



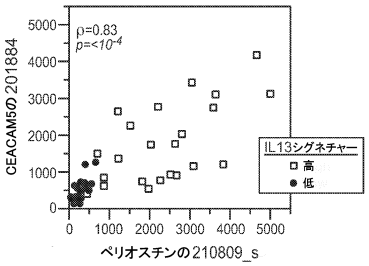

【図１２Ａ】



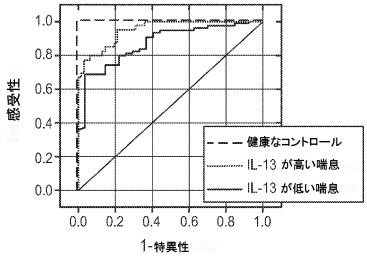

【図１２Ｂ】



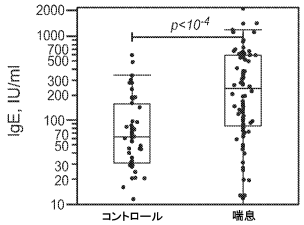

【図１２Ｃ】



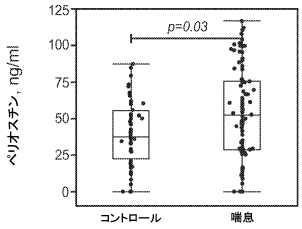

【図１２Ｄ】



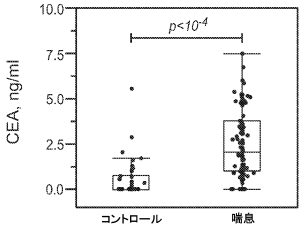

【図１３Ａ】



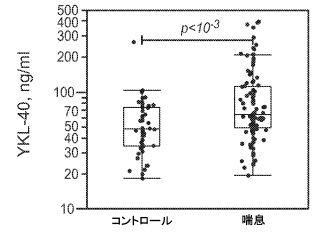
【図１３Ｂ】



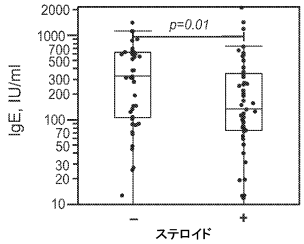

【図１３Ｃ】



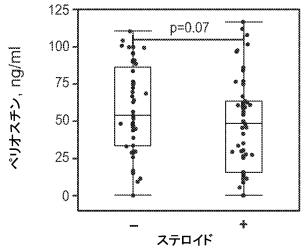

【図１３Ｄ】



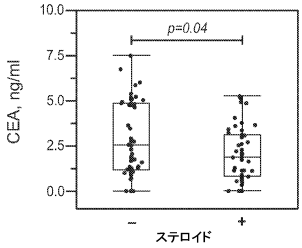

【図１３Ｅ】



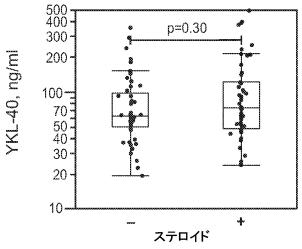

【図１３Ｆ】



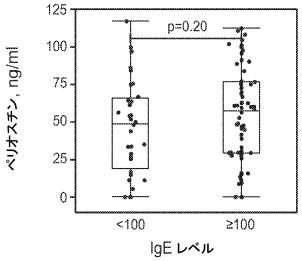

【図１３Ｇ】



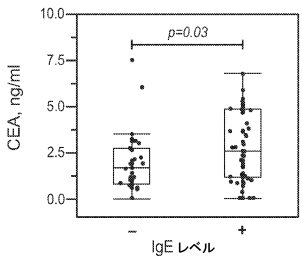

【図１３Ｈ】



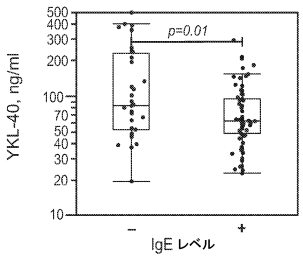

【図１３Ｉ】



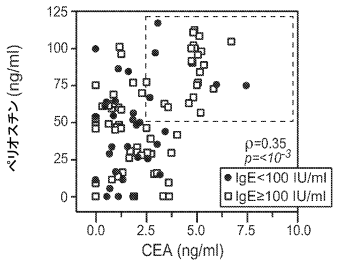

【図１３Ｊ】




【図１３Ｋ】




【図１３Ｌ】



【配列表】
0006037515000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl. FI
G01N 37/00 102
A61K 45/00
A61P 11/06

(31)優先権主張番号 61/128,383
(32)優先日 平成20年5月20日(2008.5.20)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 61/205,392
(32)優先日 平成21年1月16日(2009.1.16)
(33)優先権主張国 米国(US)

前置審査

(72)発明者 アロン, ジョゼフ, アール.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94402, サン マテオ, レキシントン アヴェニュ 1620
(72)発明者 ファイ, ジョン, ヴィ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94116, サンフランシスコ, 14番 アヴェニュ 2469
(72)発明者 モドレック, バーマク
アメリカ合衆国 ノースカロライナ 27707, ダラム, ラシーター ストリート 3328
(72)発明者 ウッドラフ, プレスコット
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94114, サンフランシスコ, 24番 ストリート 4440

審査官 柴原 直司

(56)参考文献 国際公開第2005/062972(WO, A1)
国際公開第2008/116149(WO, A1)
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (2007), 104, [40], p.15858-15863
Am. J. Obstet. Gynecol., (2002), 186, [1], p.103-108

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C12N 15/00-15/90
C12Q 1/68
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
PubMed

| | | | |
|---|---|---|---|
| 专利名称(译) | 用于治疗和诊断哮喘的组合物和方法 | | |
| 公开(公告)号 | JP6037515B2 | 公开(公告)日 | 2016-12-07 |
| 申请号 | JP2014107421 | 申请日 | 2014-05-23 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 健泰科生物技术公司<br>加利福尼亚大学董事会 | | |
| 申请(专利权)人(译) | Genentech公司<br>加州大学董事会 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | Genentech公司<br>加州大学董事会 | | |
| [标]发明人 | アロンジョゼフアール<br>ファイジョンヴィ<br>モドレックバーマク<br>ウッドラフプレスコット | | |
| 发明人 | アロン, ジョゼフ, アール.<br>ファイ, ジョン, ヴィ.<br>モドレック, バーマク<br>ウッドラフ, プレスコット | | |
| IPC分类号 | C12Q1/68 G01N33/53 G01N37/00 A61K45/00 A61P11/06 | | |
| CPC分类号 | A61P11/06 C12Q1/6883 C12Q2600/106 C12Q2600/112 C12Q2600/158 A61K38/00 C12Q1/6837 C12Q1/6851 | | |
| FI分类号 | C12Q1/68.ZNA.A G01N33/53.M G01N33/53.D G01N33/53.P G01N33/53.Q G01N37/00.102 A61K45/00 A61P11/06 C12Q1/68.AZN.A C12Q1/6883.C C12Q1/6883.Z G01N33/53.N | | |
| F-TERM分类号 | 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR36 4B063/QR42 4B063/QR50 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QS25 4B063/QS28 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QS39 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZA592 | | |
| 优先权 | 61/072572 2008-03-31 US<br>61/041480 2008-04-01 US<br>61/128383 2008-05-20 US<br>61/205392 2009-01-16 US | | |
| 其他公开文献 | JP2014204725A | | |
| 外部链接 | Espacenet | | |


摘要(译)

提供了诊断患者哮喘亚型的方法，所述方法包括测量POSTN，CST1，CST2和/或SERPINB10的基因表达，其中所述基因或相应蛋白的升高表达水平指示哮喘亚型。还提供了用于治疗哮喘的方法中的用途，诊断试剂盒和药剂。

(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第6037515号
(P6037515)
(45)発行日　平成28年12月7日(2016.12.7)　(24)登録日　平成28年11月11日(2016.11.11)

| (51)Int.Cl. | | F I | | |
|---|---|---|---|---|
| C12Q 1/68 | (2006.01) | C12Q | 1/68 | ZNAA |
| G01N 33/53 | (2006.01) | G01N | 33/53 | M |
| G01N 37/00 | (2006.01) | G01N | 33/53 | D |
| A61K 45/00 | (2006.01) | G01N | 33/53 | P |
| A61P 11/06 | (2006.01) | G01N | 33/53 | Q |

請求項の数 46　外国語出願　(全 81 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2014-107421(P2014-107421)
(22)出願日　平成26年5月23日(2014.5.23)
(62)分割の表示　特願2011-503115(P2011-503115)の分割
原出願日　平成21年3月31日(2009.3.31)
(65)公開番号　特開2014-204725(P2014-204725A)
(43)公開日　平成26年10月30日(2014.10.30)
審査請求日　平成26年6月23日(2014.6.23)
(31)優先権主張番号　61/072,572
(32)優先日　平成20年3月31日(2008.3.31)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/041,480
(32)優先日　平成20年4月1日(2008.4.1)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者　509012625
ジェネンテック,　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　サウス　サンフランシスコ　ディーエヌエー　ウェイ　1
(73)特許権者　506115514
ザ　リージェンツ　オブ　ザ　ユニバーシティ　オブ　カリフォルニア
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　９４６０７　オークランド　フランクリン　ストリート　１１１１　トゥエルフス　フロア
(74)代理人　110002077
園田・小林特許業務法人

最終頁に続く

(54)【発明の名称】嗜息の治療及び診断のための組成物及び方法