

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-509331

(P2007-509331A)

(43) 公表日 平成19年4月12日(2007.4.12)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 Y	2GO45
GO 1 N 33/48 (2006.01)	GO 1 N 33/48 K	
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 541A	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 16 頁)

(21) 出願番号	特願2006-535981 (P2006-535981)	(71) 出願人	506134364 ユニベルジテート ライプチヒ
(86) (22) 出願日	平成16年9月29日 (2004.9.29)		ドイツ連邦共和国 ライプチヒ 0410
(85) 翻訳文提出日	平成18年5月1日 (2006.5.1)		9 リッターシュトラッセ 26
(86) 国際出願番号	PCT/EP2004/010889	(74) 代理人	100095832 弁理士 細田 芳徳
(87) 国際公開番号	W02005/050219	(72) 発明者	アレンツ, トーマス
(87) 国際公開日	平成17年6月2日 (2005.6.2)		ドイツ連邦共和国 ライプチヒ 0422
(31) 優先権主張番号	10349162.7		9 ヒュフェルシュトラッセ 61
(32) 優先日	平成15年10月22日 (2003.10.22)	(72) 発明者	シュティーラー, イェンス
(33) 優先権主張国	ドイツ(DE)		ドイツ連邦共和国 ドレスデン 0130
			9 ヤーコビシュトラッセ 21
		Fターム(参考)	2G045 CA25 CB01 DA36 FB03

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アルツハイマー病の診断のための迅速な試験

(57) 【要約】

本発明はアルツハイマー病またはその早期段階もしくは前述の疾患の傾向の診断のための方法に関する。前述の方法は、有糸分裂で発現される表面マーカー、特にCD69、ならびに末梢で到達可能な細胞、例えば皮膚細胞またはリンパ球の、有糸分裂刺激の(a)前および(b)後における定量的決定に基づいている。特異的な刺激指数a:bはアルツハイマー病またはその早期段階もしくは前述の疾患の傾向の指標である。本発明はまた、本発明の診断方法を行うために適したキットに関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) 患者試料中の、末梢で到達可能な細胞の有糸分裂刺激；
 (b) 有糸分裂刺激後に発現する一つ以上の表面マーカーによる、工程(a)の前および後の、細胞集団中の有糸分裂刺激を受けた、表面マーカーに対する抗体により表面マーカーを有さない細胞から分離された、表面マーカーを有する細胞の定量化；
 (c) 工程(a)の前および後に表面マーカーを有する細胞数の関係としての刺激指数の決定、
 の工程を含み、刺激をされていない対照試料の少なくとも10倍、最大として100倍に達する刺激指数が、アルツハイマー病またはこの疾患の早期段階もしくは傾向の兆しである、患者の試料によるアルツハイマー病またはこの疾患の早期段階もしくは傾向の診断方法。 10

【請求項 2】

試料が血液試料であり、細胞がリンパ球である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

表面マーカーがCD69である、請求項 1 または 2 記載の方法。

【請求項 4】

CD69⁺細胞がさらにCD4⁺および/またはCD8⁺副集団に関して特定化される、請求項 3 記載の方法。

【請求項 5】

血液が工程(a)の前に一つ以上の抗血液凝固化合物により安定化される、請求項 1 ~ 4 いずれか記載の方法。 20

【請求項 6】

細胞がPHA、プロテインAまたはPWMにより刺激される、請求項 1 ~ 5 いずれか記載の方法。

【請求項 7】

工程(b)の抗体が磁性粒子に結合しており、分離が免疫磁性分画法により行われる、請求項 1 記載の方法。

【請求項 8】

刺激指数が工程(a)の前および後に表面マーカーを有する細胞のタンパク質含量および/または核酸含量の決定により決定される、請求項 1 ~ 7 いずれか記載の方法。 30

【請求項 9】

以下の構成要素：

(a) 有糸分裂刺激のための化合物；および
 (b) 有糸分裂刺激後に発現する表面マーカーに対する少なくとも一つの抗体、を含む、アルツハイマー病またはこの疾患の早期もしくは傾向の診断のためのキット。

【請求項 10】

(c) 抗血液凝固化合物；および/または
 (d) 細胞溶解バッファー、
 も含む、請求項 9 記載のキット。

【請求項 11】

抗体が磁性粒子に結合した抗体である、請求項 9 または 10 記載のキット。 40

【請求項 12】

抗体が抗CD69抗体である、請求項 9 ~ 11 いずれか記載のキット。

【請求項 13】

抗CD4および/または抗CD8抗体も含む、請求項 9 ~ 12 いずれか記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、アルツハイマー病またはこの疾患の早期段階もしくは傾向の診断方法に関し、該方法は、末梢で到達可能な細胞、例えば皮膚またはリンパ球の、有糸分裂で発現され 50

る表面マーカー、好ましくはCD69の、有糸分裂刺激の (a) 前および (b) 後の定量に基づき、特殊な刺激指数 a:bはアルツハイマー病またはこの疾患の早期段階もしくは傾向の兆しである。本発明はまた、本発明による診断方法を行うのに適したキットに関する。

【0002】

アルツハイマー病は、臨床の手段および利用可能な臨床以外の方法ならびにそのような装置および技術に基づく方法では、確実性が最高の診断はできない。常に解剖による検証が必要である。他の痴呆の原因に関する診断の区別は、特に疾患の早期段階においてしばしば難しい。しかしながら、この疾患の非常に早期の段階において、二つの理由により確かな診断が重要である。一つは、潜在的に治療可能な形態の痴呆の診断の区別を可能にし、それらに効果的な治療を施し得、もう一つはこれらの早期段階においてのみ成功し得る、アルツハイマー病における神経変性の過程への、任意の形態の治療介入の前提条件である。かかる診断の確実性は、アルツハイマー病の生物マーカー (biomarker) によるのみ、すなわちこの疾患に対して感受性と特異性が高く、容易に決定できる生物学的変化によるのみ、保証され得る。

10

【0003】

アルツハイマー病の生物マーカーは診断的価値があり、特にリスクの有る群、ならびに症状発症前の段階および臨床早期の患者を安全に見分けるために特に役立つであろう。生物マーカーはまた、継続管理ならびに予後および治療の介入に対する反応の制御に役立つ。モデル生物マーカーはある理論上および実際の要求に準ずるべきである。これらは特に高い特異性および感受性、症状発症前の段階で識別する能力、ならびに高い正と負の予測値を含む。生物マーカーは、可能なら、非侵襲性的な方法で決定され、患者に負荷や驚愕を与えない。この分析は安価で、容易に、および可能なら家庭医の業務において行えるよう適しているべきである。不幸にも、現在公知の前述した要求に準ずるアルツハイマー病の生物マーカーは無い。特に公知の生物マーカーは低い感受性および特異性のために、診断の手段としては適さない。より高い感受性および特異性を有する他の診断的検査には複雑な技術的前提条件が必要であり、そのため多くの患者を有する部分的な使用には適さない。

20

【0004】

本発明は実質的に、アルツハイマー病の診断のための簡単な方法を提供する技術的な課題に基づき、アルツハイマー病の診断、症状発症前の疾患の段階の検出、および十分な感受性および特異性でのアルツハイマー病と他の痴呆との診断的区別を可能にしている。

30

【0005】

この技術的な課題は、特許請求の範囲で特徴付けられた態様を提供することによって解決された。

【0006】

皮膚細胞もしくは血液リンパ球等の、末梢で接触可能な患者の細胞を用いて、免疫磁気細胞分画法後のような有糸分裂刺激ありまたはなしでの、有糸分裂指数 (活性化指数) の測定に基づいた診断方法を発展させることは可能であった。これらの細胞の活性化は、好ましくは抗原-抗体反応によって定量的に検出され得る活性化マーカーが表面に提示されることと同時に起こり、好ましくは抗体で覆われた磁性粒子が用いられることにより、磁気細胞分画ならびに、その後の有糸分裂刺激の前および後に表面マーカーを発現する細胞数の定量が可能となる。この特徴は正常な所見と比べ、疾患特異的な偏位を示す。本発明の方法は、アルツハイマー病の診断および症状発現前の疾患の段階の検出、およびアルツハイマー病と他の痴呆の診断方法の区別を可能にする。

40

【0007】

本発明は、患者試料による、アルツハイマー病またはこの疾患の早期段階もしくは傾向の診断方法に関し、該方法は以下の工程：

(a) 試料中の末梢で到達可能な細胞を有糸分裂刺激する工程；

(b) 有糸分裂刺激後に発現された一つ以上の表面マーカーによって、工程(a)の前および後の細胞集団中で、有糸分裂刺激を受けた細胞を定量化し、表面マーカーに対する抗体を用

50

いて表面マーカーを有する細胞を、表面マーカーを有さない細胞から分離する工程；および、

(c)工程(a)の前および後での一つまたは複数の表面マーカーを有する細胞数の間の関係としての、刺激指数を測定する工程、

を含み、刺激をされていない対照試料の少なくとも10倍、最大として100倍に達する刺激指数がアルツハイマー病またはこの疾患の早期段階もしくは傾向の兆しである。

【0008】

当業者は、有糸分裂によって刺激され得る細胞を十分に含む、本発明の方法に適しており患者試料を得るために役立つ、適切な手段を知っている。例えば、適切な試料は、皮膚組織試料、好ましくは静脈血由来の、血液試料、脳脊髄液由来の細胞および尿由来の細胞

10

【0009】

本発明に準じた診断方法の好ましい態様において、例えば血液試料が用いられる場合、本方法の他の工程より前に安定化のために、例えばクエン酸ナトリウムまたはヘパリンといった抗血液凝固化合物を加える。

【0010】

用語「アルツハイマー病の診断」はまた、本明細書中で使用される場合において、継続管理および予後、治療の介入の効率の制御および他の痴呆との診断的区別も含む。

【0011】

用語「末梢で到達可能な細胞」は、本明細書中で使用される場合、手術なしで、もしくは(最小限の)侵襲性の方法で人体から除去され得る細胞をいい、それらは、例えば、皮膚細胞、および末梢血のリンパ球を含み、本発明の方法のためには後者が好ましい。

20

【0012】

表面マーカーの発現を得るための有糸分裂刺激は、フィットヘムアグルチニン(PHA)、プロテインA、PWMまたは他の、栄養に関わるもしくは有糸分裂の効果のある化合物等の、公知の刺激物質によって影響され得る。該刺激は、個々の化合物を加えること、もしくは混合して加えることにより影響を受け得る。

【0013】

当業者は、かかる刺激のための適切な実験条件を、例えば、使用する分裂誘発因子の濃度、刺激の持続時間、およびその他の培養条件に関して知っている。刺激は十分にガス交換が行えるような、適切な容器内で行うべきである。それぞれの刺激剤の濃度は、生理的濃度、PHAは $1\mu\text{g/ml}$ ~ $20\mu\text{g/ml}$ 、PWMは $1\mu\text{g/ml}$ ~ $50\mu\text{g/ml}$ 、およびプロテインAは $10\mu\text{g/ml}$ ~ $200\mu\text{g/ml}$ の範囲内とする。刺激時間は、検査される分子の発現速度による。しかしながら、確実な検査には、2~24時間の刺激時間が必要である。CD69の場合、4時間の刺激時間が最適である。刺激は生理学的条件下で行うべきであり、ガス処理インキュベーター(gassing incubator)内で、例として、37 °C および5% CO₂で行われ得る。

30

【0014】

当業者はまた、有糸分裂刺激で明らかになる適切な表面マーカー、例えばCD69、CD25、CD45RO、CD63、およびHLA-Drを知っており、表面マーカーCD69が好ましい。本発明のために、表面マーカーの組み合わせの決定、もしくは、例えば、CD69のような特定の表面マーカーによって分けられた細胞の、さらなる細分化に関する、例えば細分化(例えば、CD4⁺ および/またはCD8⁺ および/またはCD19⁺ および/またはCD56⁺)によるさらなる特定化を行うこともまた、可能である。

40

【0015】

刺激指数(活性化指数)は、刺激の前および後で、一つまたは複数の表面マーカーを有する細胞数の関係から得られる。刺激をされていない対照試料の少なくとも10倍、最大として100倍に達する刺激指数がアルツハイマー病またはこの疾患の早期段階もしくは傾向の兆しである。刺激をされていない対照試料の10倍未満の刺激指数は、アルツハイマー病または、この疾患の早期段階もしくは傾向の兆しではない。表面マーカーを有する細胞は、例えば、ウェスタンブロット、ELISA、RIA、FACS、LSC等の従来の方法により決定され

50

得る。

【0016】

表面マーカーを有する細胞を決定するために、該細胞は、特徴的な細胞特性によって好ましくは、表面マーカーを有さない、もしくは他の表面マーカーを有する細胞から分離される。

【0017】

本発明の診断方法において、所望の（一つまたは複数の）表面マーカーに対する抗体により、表面マーカーを有する細胞は、表面マーカーを有さない細胞から分離される。この目的に適した抗体は、モノクローナル、ポリクローナルもしくは合成の抗体、またはそれらの断片であり得る。この結び付きにおいて、用語「断片」は、完全な抗体と同様のエピトープの特異性を有する、モノクローナル抗体の全ての部位（例えば、Fab、Fvまたは一本鎖Fv断片）を意味する。かかる断片の産物は当業者には公知であり、表面マーカーに対する多くの抗体はまた、市販されている。

【0018】

本発明に準ずる診断方法の最も好ましい態様において、表面マーカーに特異的な、一つまたは複数の抗体は、現在の方法に準じた免疫磁気分画法を介して細胞を対応する表面マーカーにより分離することを可能にする、磁性粒子、例えば常磁性ビーズ（例えば、DYNA L A.S., P.O.Box 158 Skoyen, N-0212 Oslo, Norwayから入手可能）と結合する。

【0019】

例えば、細胞溶解後に分光光度計による核酸もしくはタンパク質含量の決定によって、または、特異的な色素、例えば、エチジウムブロマイド、ヨウ化プロピジウム、アクリジンオレンジ、DAPI、等の特異的な色素を用いた染色後に光度の定量によって、といった現在の方法を用いて、核酸含量および/またはタンパク質含量に基づいて、所望の表面マーカーによって分離された細胞の量を決定することにより、刺激指数は特定され得る。細胞数は検量線によって、試料のタンパク質および/または核酸含量により算出され得る。

【0020】

本発明はまた、本発明の診断方法を行うのに適したキットに関し、および、少なくとも以下の構成要素：

(a)有糸分裂刺激のための化合物；

(b)有糸分裂刺激後に発現する表面マーカーに対する少なくとも一つの抗体、好ましくは磁性粒子に結合した抗体；
を含む。

【0021】

本発明のキットはまた、好ましくは

(a)少なくとも一つの反応容器；

(b)抗血液凝固化合物および/または細胞溶解バッファー；

(c)細胞固定バッファー；

(d)DNAおよび/またはタンパク質濃度の定量に必要な物質、ならびに検量線の作製のための既製の溶液；

(e)磁性粒子に結合した細胞を分離するための磁石（磁性粒子に結合した抗体を使用する場合には含まれている）；ならびに

(f)結合した磁性粒子を取り除くための試薬（磁性粒子に結合した抗体を使用する場合には含まれている）；

を含んでいる。

【0022】

本発明のキットの好ましい態様において、抗体は抗CD69抗体である。さらに、該キットはさらに、または抗CD69抗体の代わりに、抗CD4および/または抗CD8抗体を含み得る。

【0023】

最終的に、本発明のキットは、適切な場合には、一つ以上のさらなる検出剤、例えば蛍光色素と結合した一次抗体、二次抗体、タンパク質および/または核酸の検出剤、例えば

10

20

30

40

50

、挿入色素等、の組み合わせで、提供され得る。

【0024】

実施例

アルツハイマー病を患う患者におけるCD69による有糸分裂刺激指数の決定

生存している患者（生物マーカー）で行われ得る、アルツハイマー病の今日まで公知の特徴の決定は、不十分な感受性および特異性のみを示すか、または費用もしくは非常に複雑な検査の組み合わせのために、症例数の多い検査には適さない。臨床の手段によると、診断の正確性は、80%～90%のみであり、診断の区別に関しては、特に疾患の早期段階で困難である。疾患の症状発症前の段階の検出は現在、適切な生物マーカーが存在しないために、可能ではない。

10

【0025】

アルツハイマー病の場合、神経変性の変化は、栄養に関わるおよび有糸分裂のシグナルの細胞内の仲介の過程が破壊されることに基づいている。これらの細胞内シグナル伝達の機能不全は、神経系に限られていない。患者の皮膚細胞および末梢血のリンパ球にも同様に見つかり得る。かかる疾患の特異性のために、この変化は診断的価値があり、生物マーカーとして適している。

【0026】

以下の実施例において、栄養に関わるおよび有糸分裂のシグナルの細胞内の仲介の、アルツハイマー病の典型的な機能不全があるかどうかという疑問は、有糸分裂刺激の前および後の、CD69提示リンパ球の免疫磁性細胞分画法によって決定される。

20

【0027】

SRASTEDT社の採血装置を用いた静脈穿刺によって血液を回収する。採血の際に、血液は、採血装置に入ったクエン酸ナトリウムまたはヘパリンナトリウム等の抗血液凝固剤により安定化する。血液は、この形態で、室温で24～48時間保存され得る。刺激実験は、Greiner bio-one社の24ウェル懸濁培養プレート等によく通気され得る反応容器内で行った。このため、分裂誘発因子フィトヘムアグルチニン（PHA）、プロテインAおよびアメリカヤマゴボウ分裂誘発因子（PWM）は個々もしくは種々の組み合わせで、400 μ lの安定な全血ごとに使用した。それぞれの分裂誘発因子の終濃度は生理学的な範囲内とし、本実施例において、PHAについては12 μ g/ml、プロテインAについては50 μ g/mlおよびPWMについては4 μ g/mlとした。生理学的条件下で、ガス処理インキュベーター内で4時間、37 および5% CO₂濃度で刺激を行った。刺激した全血を100 μ l毎に、種々の抗体で覆われた磁性粒子と共にインキュベートした。本実施例において、DYNAL社の抗CD4および抗CD8で覆われた磁性粒子を使用した。対応するリンパ球の副集団を確実に完全に単離させるために、対応する磁性粒子を特定の試料に過剰に（10 μ lの磁性粒子懸濁液）加えた。30分、4 のインキュベーションに続いて、対応するリンパ球の副集団を磁力により分離し、次の洗浄の工程の後、1% ウシ胎児血清（FCS）と混合された100 μ lの所定の培地、本実施例においてはRPM1640に移した。結合した磁性粒子は本実施例においては、10 μ lずつのDYNAL社、DETACHa BEADを使用して除去した。45分、室温のインキュベーションに続いて、除去された磁性粒子を分離し、細胞懸濁液を、複数回の洗浄の工程の後、所定の培地、本実施例においてはRPM1640に移した。特異的な溶解バッファーを加えることにより、細胞を破碎し、DNAをエチジウムブロマイド、ヨウ化プロピジウム、アクリジンオレンジまたはDAPI等の特異的なDNA色素により標識し、次に、光度測定により定量化した。試料中のタンパク質含量はBradfordに準じたタンパク質測定法により比較した。細胞数は検量線によって試料中のDNAおよび/またはタンパク質含量から算出した。この手順は細胞数についての直接の結論を可能にする。有糸分裂刺激の前および後においてCD69を提示している細胞数による指数（刺激指数）の計算は、これらの細胞が有糸分裂によって刺激できることの変化に関する情報をもたらした。

30

40

【0028】

刺激をされていない対照試料の少なくとも10倍、最大として100倍に達する刺激指数がアルツハイマー病または、この疾患の早期段階もしくは傾向の兆しである。刺激をされて

50

いない対照試料の10倍未満の刺激指数は、アルツハイマー病または、この疾患の早期段階もしくは傾向の兆しではない。

【 0 0 2 9 】

別の実験において、試料のタンパク質含量を決定し、CD69提示細胞の定量のためのDNA染色物質の添加なしでDNA含量を決定した。この場合、DNAまたはタンパク質によるある波長（例えば、260nmまたは280nm）の光の吸収を測定した。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		Interr. Application No PCT/LI 2004/010889
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G01N33/68		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, PAJ		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	STIELER JENS T ET AL: "Impairment of mitogenic activation of peripheral blood lymphocytes in Alzheimer's disease" NEUROREPORT, vol. 12, no. 18, 21 December 2001 (2001-12-21), pages 3969-3972, XP008039358 ISSN: 0959-4965 the whole document ----- -/--	1-13
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents:		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
E earlier document but published on or after the international filing date		*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*Z* document member of the same patent family
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 23 November 2004		Date of mailing of the international search report 08/12/2004
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Schallich, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP2004/010889

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>SHALIT F ET AL: "T LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS AND ACTIVATION MARKERS CORRELATE WITH SEVERITY OF ALZHEIMER'S DISEASE" CLINICAL IMMUNOLOGY AND IMMUNOPATHOLOGY, SAN DIEGO, CA, US, vol. 75, no. 3, June 1995 (1995-06), pages 246-250, XP002034786 ISSN: 0090-1229 the whole document</p>	1-13
A	<p>LOMBARDI V R M ET AL: "Characterization of cytokine production, screening of lymphocyte subset patterns and in vitro apoptosis in healthy and Alzheimer's Disease (AD) individuals" JOURNAL OF NEUROIMMUNOLOGY, vol. 97, no. 1-2, 1 June 1999 (1999-06-01), pages 163-171, XP002307209 ISSN: 0165-5728 the whole document</p>	1-13
X	<p>DE 199 36 035 A (UNIV LEIPZIG) 8 February 2001 (2001-02-08) claim 2; figure 2; example 1</p>	1-13
X	<p>DATABASE MEDLINE 'Online! US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; 1998, ANDROSOVA L V ET AL: "Correlation between functional activity of lymphocytes in patients with Alzheimer's dementia and their response to therapy!" XP002307210 Database accession no. NLM9634733 abstract & ZHURNAL NEVROLOGII I PSIKHIATRII IMENI S.S. KORSAKOVA / MINISTERSTVO ZDRAVOOKHRANENIIA I MEDITSINSKOI PROMYSHLENNOSTI ROSSIISKOI FEDERATSII, VSEROSSIISKOE OBSHCHESTVO NEVROLOGOV 'I' VSEROSSIISKOE OBSHCHESTVO PSIKHIATROV. 1998, vol. 98, no. 5, 1998, pages 43-46, ISSN: 0044-4588 abstract</p>	1,2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter national Application No PCT/EP2004/010889

G.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE MEDLINE 'Online! US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; 1995, PONOMAREVA N V ET AL: "Neuroimmune interactions in normal aging and in Alzheimer disease!" XP002307211 Database accession no. NLM8664599 abstract & VESTNIK ROSSIISKOI AKADEMII MEDITSINSKIKH NAUK / ROSSIISKAIA AKADEMIIA MEDITSINSKIKH NAUK. 1995, no. 12, 1995, pages 27-32, ISSN: 0869-6047</p>	1,2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PC1/EP2004/010889

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 19936035 A	08-02-2001	DE 19936035 A1	08-02-2001

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

		Inten PCT/EP2004/010889
A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 G01N33/68		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 G01N		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, PAJ		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	STIELER JENS T ET AL: "Impairment of mitogenic activation of peripheral blood lymphocytes in Alzheimer's disease" NEUROREPORT, Bd. 12, Nr. 18, 21. Dezember 2001 (2001-12-21), Seiten 3969-3972, XP008039358 ISSN: 0959-4965 das ganze Dokument ----- -/-	1-13
<input checked="" type="checkbox"/>	Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen	<input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie
<ul style="list-style-type: none"> * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist 		<ul style="list-style-type: none"> *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 23. November 2004		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts 08/12/2004
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2200 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Schalich, J

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

 Inter: ales Aktenzeichen
 PCT/EP2004/010889

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	SHALIT F ET AL: "T LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS AND ACTIVATION MARKERS CORRELATE WITH SEVERITY OF ALZHEIMER'S DISEASE" CLINICAL IMMUNOLOGY AND IMMUNOPATHOLOGY, SAN DIEGO, CA, US, Bd. 75, Nr. 3, Juni 1995 (1995-06), Seiten 246-250, XP002034786 ISSN: 0090-1229 das ganze Dokument -----	1-13
A	LOMBARDI V R M ET AL: "Characterization of cytokine production, screening of lymphocyte subset patterns and in vitro apoptosis in healthy and Alzheimer's Disease (AD) individuals" JOURNAL OF NEUROIMMUNOLOGY, Bd. 97, Nr. 1-2, 1. Juni 1999 (1999-06-01), Seiten 163-171, XP002307209 ISSN: 0165-5728 das ganze Dokument -----	1-13
X	DE 199 36 035 A (UNIV LEIPZIG) 8. Februar 2001 (2001-02-08) Anspruch 2; Abbildung 2; Beispiel 1 -----	1-13
X	DATABASE MEDLINE 'Online! US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; 1998, ANDROSOVA L V ET AL: "Correlation between functional activity of lymphocytes in patients with Alzheimer's dementia and their response to therapy!" XP002307210 Database accession no. NLM9634733 Zusammenfassung & ZHURNAL NEVROLOGII I PSIKHIATRII IMENI S.S. KORSAKOVA / MINISTERSTVO ZDRAVOOKHRANENIIA I MEDITSINSKOI PROMYSHLENNOSTI ROSSIISKOI FEDERATSII, VSEROSSIISKOE OBSHCHESTVO NEVROLOGOV 'I! VSEROSSIISKOE OBSHCHESTVO PSIKHIATROV. 1998, Bd. 98, Nr. 5, 1998, Seiten 43-46, ISSN: 0044-4588 Zusammenfassung ----- -/--	1,2

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP2004/010889

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>DATABASE MEDLINE 'Online! US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; 1995, PONOMAREVA N V ET AL: "Neuroimmune interactions in normal aging and in Alzheimer disease!" XP002307211 Database accession no. NLM8664599 Zusammenfassung & VESTNIK ROSSIISKOI AKADEMII MEDITSINSKIKH NAUK / ROSSIISKAIA AKADEMIIA MEDITSINSKIKH NAUK. 1995, Nr. 12, 1995, Seiten 27-32, ISSN: 0869-6047</p>	1,2

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/010889

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 19936035 A	08-02-2001	DE 19936035 A1	08-02-2001

フロントページの続き

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

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2007509331A5	公开(公告)日	2007-10-18
申请号	JP2006535981	申请日	2004-09-29
申请(专利权)人(译)	Uniberujiteto 莱比锡		
[标]发明人	アレンツトーマス シュテイーラーイェンス		
发明人	アレンツ,トーマス シュテイーラー,イェンス		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/48 G01N33/543		
CPC分类号	A61P25/28 G01N33/505 G01N33/6896 G01N2333/70514 G01N2333/70517 G01N2333/7056 G01N2800/2821		
FI分类号	G01N33/53.Y G01N33/48.K G01N33/543.541.A		
F-TERM分类号	2G045/CA25 2G045/CB01 2G045/DA36 2G045/FB03		
优先权	10349162 2003-10-22 DE		
其他公开文献	JP2007509331A		

摘要(译)

本发明涉及诊断阿尔茨海默病或其上述疾病的早期阶段或趋势的方法。上述方法基于在有丝分裂刺激的 (a) 和 (b) 之前定量测定有丝分裂表达的表面标志物，特别是CD69和外周可及的细胞，例如皮肤细胞或淋巴细胞。它基于决策。特定刺激指数 a : b 是阿尔茨海默氏病或其早期阶段或上述疾病趋势的指征。本发明还涉及适用于实施本发明的诊断方法的试剂盒。