

(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2021-525864

(P2021-525864A)

(43) 公表日 令和3年9月27日 (2021.9.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68 Z N A	2 G O 4 5
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 M	
	GO 1 N 33/53 D	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 60 頁)

(21) 出願番号	特願2020-566559 (P2020-566559)	(71) 出願人	518374077
(86) (22) 出願日	令和1年5月28日 (2019.5.28)		オーファザイム エー/エス
(85) 翻訳文提出日	令和3年1月7日 (2021.1.7)		デンマーク国, 2200 コペンハーゲン
(86) 国際出願番号	PCT/EP2019/063854		エヌ, オレ マーローズ ヴェイ 3,
(87) 国際公開番号	W02019/229078		コービス エー/エス内
(87) 国際公開日	令和1年12月5日 (2019.12.5)	(74) 代理人	100114775
(31) 優先権主張番号	18174576.1		弁理士 高岡 亮一
(32) 優先日	平成30年5月28日 (2018.5.28)	(74) 代理人	100121511
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁 (EP)		弁理士 小田 直
		(74) 代理人	100202751
			弁理士 岩堀 明代
		(74) 代理人	100208580
			弁理士 三好 玲奈
		(74) 代理人	100191086
			弁理士 高橋 香元

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 疾患のバイオマーカーとしてのP BMCサンプル中のH s p 7 0タンパク質レベル

(57) 【要約】

本明細書に開示されるのは、リソソーム蓄積症、神経変性疾患、および筋肉疾患などの、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患のバイオマーカーとして機能するP BMCサンプル中の低下されたH s p 7 0レベルの同定に基づく方法である。

【選択図】図1

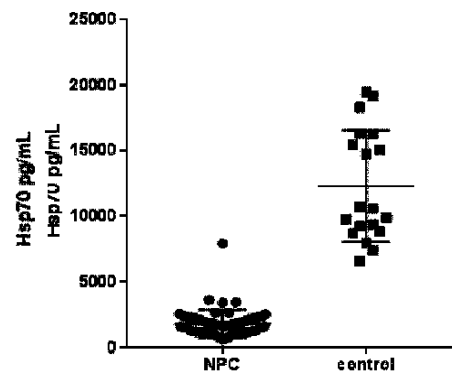


Fig. 1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

末梢血単核細胞（P B M C）サンプル中の H s p 7 0 を検出する方法であって、

- a) P B M C サンプルを提供するステップと、
 - b) 前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
 - c) 任意により前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップ
- を含む、方法。

【請求項 2】

個体において低下されたレベルの H s p 7 0 のレベルを呈する疾患を診断するための方法であって、

10

- a) 前記個体からの P B M C サンプルを提供するステップと、
 - b) 前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
 - c) 前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップ
- を含む、方法。

【請求項 3】

i . 前記個体が低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有するか、または有する可能性があるかを分類するかまたは決定するステップ

をさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

20

【請求項 4】

低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する患者を選択するための方法であって、

- a) 前記患者からの P B M C サンプルを提供するステップと、
 - b) 前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
 - c) 前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップと、
 - d) 個体が低下されたレベルの H s p 7 0 を有するかを分類するかまたは決定するステップ
- を含む、方法。

30

【請求項 5】

I n v i t r o 法である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

- i . H s p A 1 A、
 - i i . H s p A 1 B、または
 - i i i . H s p A 1 A および H s p A 1 B
- から選択される H s p 7 0 を検出しかつ任意により定量化するかまたは決定することを含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記 P B M C サンプルが、個体から得られるかまたは得ることができる、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 8】

前記個体が、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する、有する疑いがある、有するリスクがあるかまたは有する可能性がある、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記個体が、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患と診断された兄弟、親、いとこ、叔父および / または叔母の 1 名以上などの、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患と診断された 1 名以上の家族を有する、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

50

前記個体が、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患の遺伝的素因を有する 1 名以上の家族を有する、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 1】

前記個体が、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患に関連するかまたはそれを示す 1 つ以上の症状を有する、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記ステップ d) が、健康な対照からの P B M C サンプル中のレベルと比較される前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを決定することを含む、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3】

i . 健康な対照中のレベルと比較して前記 P B M C サンプル中の低下されたまたは検出不能なレベルの H s p 7 0 が、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する、有する可能性があるかまたは有するリスクのある個体を示す、かつ / または

i i . 健康な対照中のレベルと比較して前記 P B M C サンプル中の低下されたまたは検出不能なレベルの H s p A 1 A が、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する、有する可能性があるかまたは有するリスクのある個体を示す、かつ / または

i i i . 健康な対照中のレベルと比較して前記 P B M C サンプル中の低下されたまたは検出不能なレベルの H s p A 1 B が、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する、有する可能性があるかまたは有するリスクのある個体を示す、かつ / または

i v . 健康な対照中のレベルに匹敵する、等しいまたはより高い前記サンプル中の H s p 7 0 、 H s p A 1 A および / または H s p A 1 B のレベルが、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有しない個体を示す、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の方法であって、前記個体が、

i . 前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルが、健康な対照で見られるレベルよりも 1 ~ 2 倍、2 ~ 3 倍、3 ~ 4 倍、4 ~ 5 倍、5 ~ 6 倍、6 ~ 7 倍、7 ~ 8 倍、8 ~ 9 倍、9 ~ 1 0 倍、1 0 ~ 1 1 倍、1 1 ~ 1 2 倍、1 2 ~ 1 3 倍、1 3 ~ 1 4 倍、1 4 ~ 1 5 倍、1 5 ~ 1 6 倍、1 6 ~ 1 7 倍、1 7 ~ 1 8 倍、1 8 ~ 1 9 倍、1 9 ~ 2 0 倍、2 0 ~ 2 5 倍、2 5 ~ 3 0 倍、3 0 ~ 3 5 倍、3 5 ~ 4 0 倍、4 0 ~ 4 5 倍、4 5 ~ 5 0 倍、5 0 ~ 7 5 倍、7 5 ~ 1 0 0 倍、1 0 0 ~ 1 5 0 倍、1 5 0 ~ 2 0 0 倍、2 0 0 ~ 2 5 0 倍、2 5 0 ~ 3 0 0 倍、3 0 0 ~ 4 0 0 倍、4 0 0 ~ 5 0 0 倍、5 0 0 ~ 7 5 0 倍、7 5 0 ~ 1 0 0 0 倍低い、または検出できないなどの、健康な対照で見られるレベルよりも 1 ~ 1 0 0 0 倍低い場合に、かつ / または、

i i . 前記 P B M C サンプル中の H s p A 1 A および / または H s p A 1 B のレベルが、健康な対照で見られるレベルよりも、1 ~ 2 倍、2 ~ 3 倍、3 ~ 4 倍、4 ~ 5 倍、5 ~ 6 倍、6 ~ 7 倍、7 ~ 8 倍、8 ~ 9 倍、9 ~ 1 0 倍、1 0 ~ 1 1 倍、1 1 ~ 1 2 倍、1 2 ~ 1 3 倍、1 3 ~ 1 4 倍、1 4 ~ 1 5 倍、1 5 ~ 1 6 倍、1 6 ~ 1 7 倍、1 7 ~ 1 8 倍、1 8 ~ 1 9 倍、1 9 ~ 2 0 倍、2 0 ~ 2 5 倍、2 5 ~ 3 0 倍、3 0 ~ 3 5 倍、3 5 ~ 4 0 倍、4 0 ~ 4 5 倍、4 5 ~ 5 0 倍、5 0 ~ 7 5 倍、7 5 ~ 1 0 0 倍、1 0 0 ~ 1 5 0 倍、1 5 0 ~ 2 0 0 倍、2 0 0 ~ 2 5 0 倍、2 5 0 ~ 3 0 0 倍、3 0 0 ~ 4 0 0 倍、4 0 0 ~ 5 0 0 倍、5 0 0 ~ 7 5 0 倍、7 5 0 ~ 1 0 0 0 倍低い、または検出できないなどの、健康な対照で見られるレベルよりも 1 ~ 1 0 0 0 倍低い場合に、

低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する可能性がある、方法。

【請求項 1 5】

請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の方法であって、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有するか、または有する可能性があるとして個体を分類するかまたは決定する前記ステップ d) が、

i . 前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 の量が事前定義されたカットオフ値を下回っているか、または検出できないかを決定すること、かつ / または

i i . 前記 P B M C サンプル中の H s p A 1 A および / または H s p A 1 B の量が事前定

10

20

30

40

50

義されたカットオフ値を下回っているか、または検出できないかを決定することを含む、方法。

【請求項 16】

前記個体が、前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 の量が 7 5 0 0 p g / m L 以下、7 0 0 0 p g / m L 以下など、6 5 0 0 p g / m L 以下など、6 0 0 0 p g / m L 以下など、5 5 0 0 p g / m L 以下など、5 0 0 0 p g / m L 以下など、4 5 0 0 p g / m L 以下など、4 0 0 0 p g / m L 以下など、3 5 0 0 p g / m L 以下など、3 0 0 0 p g / m L 以下など、2 5 0 0 p g / m L 以下など、2 0 0 0 p g / m L 以下など、1 5 0 0 p g / m L 以下など、1 0 0 0 p g / m L P B M C 以下などである場合に低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有するかまたは有する可能性がある、請求項 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 17】

前記患者が低下されたレベルの H s p 7 0 を有するかを分類するかまたは決定するステップが、低下されたレベルの H s p 7 0 を有する患者を同定するステップを含む、請求項 4 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記患者が低下されたレベルの H s p 7 0 を有するかを分類するかまたは決定するステップが、同じ基礎疾患を呈するが付随する低下されたレベルの H s p 7 0 を有しない患者から得られたまたは得ることができる P B M C サンプル中のレベルと比較して前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを決定することを含む、請求項 4 ~ 1 2、または 1 7

20

【請求項 19】

前記患者が低下されたレベルの H s p 7 0 を有するかを分類するかまたは決定する前記ステップ d) が、

i . 前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 の量が事前定義されたカットオフ値を下回っているか、または検出できないかを決定すること、かつ / または

i i . 前記 P B M C サンプル中の H s p A 1 A および / または H s p A 1 B の量が事前定義されたカットオフ値を下回っているか、または検出できないかを決定すること

を含む、請求項 4 ~ 1 2、または 1 7 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 20】

前記患者が、H s p 7 0 の量が前記カットオフ値を下回る場合、H s p 7 0 を含む、熱ショックタンパク質の細胞内濃度および / または活性を増加させる生物活性剤を含む H s p 7 0 治療法に応答する可能性があるか、または可能性が高い、請求項 4 ~ 1 2、または 1 7 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する患者が、前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 (H s p A 1 A および / または H s p A 1 B など) の量が 7 5 0 0 p g / m L 以下、7 0 0 0 p g / m L 以下など、6 5 0 0 p g / m L 以下など、6 0 0 0 p g / m L 以下など、5 5 0 0 p g / m L 以下など、5 0 0 0 p g / m L 以下など、4 5 0 0 p g / m L 以下など、4 0 0 0 p g / m L 以下など、3 5 0 0 p g / m L 以下など、3 0 0 0 p g / m L 以下など、2 5 0 0 p g / m L 以下など、2 0 0 0 p g / m L 以下など、1 5 0 0 p g / m L 以下など、1 0 0 0 p g / m L P B M C 以下などである場合に H s p 7 0 治療法に

40

応答する可能性があるか、または可能性が高い、請求項 4 ~ 1 2、または 1 7 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

H s p 7 0 を含む、熱ショックタンパク質の細胞内濃度および / または活性を増加させる生物活性剤を含む H s p 7 0 治療法などの、前記患者に低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する前記疾患の治療のための治療法を施すために前記患者の適格性を決定するステップをさらに含む、請求項 4 ~ 1 2、または 1 7 ~ 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 23】

50

i . 低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患の治療のための治療法を施すステップをさらに含む、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

ステップ a) 個体からの P B M C サンプルを提供することが、

i . 個体からの全血サンプルを提供するステップと、
i i . 全血をそのサブ区画に分離して P B M C サンプルを得るステップ
の 1 つ以上のステップを含む、請求項 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 5】

低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体において疾患進行を監視するための方法であって、

i . 2 つ以上のその後の時点で前記個体からの 1 つ以上の P B M C サンプルを提供するステップと、
i i . 前記 P B M C サンプルの各々中で H s p 7 0 を検出するステップと、
i i i . 前記 P B M C サンプルの各々中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップ
を含む、方法。

【請求項 2 6】

第 1 の P B M C サンプルが、 $t = 0$ で採取されかつ 1 つ以上のその後の P B M C サンプルが、 $t > 0$ での 1 つ以上の後の時点で採取される、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

1 つ以上のその後のサンプルが、1 日、2 日、3 日、4 日、5 日、6 日、7 日、1 4 日、3 週間、4 週間、5 週間、6 週間、7 週間、8 週間、1 ヶ月、2 ヶ月、3 ヶ月、4 ヶ月、5 ヶ月、6 ヶ月、7 ヶ月、8 ヶ月、9 ヶ月、1 0 ヶ月、1 1 ヶ月および / または 1 2 ヶ月の間隔で採取される、請求項 2 5 または 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

d) 低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患が進行中であるか寛解中であるかを決定するステップをさらに含む、請求項 2 5 ~ 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 9】

a) 時間の経過に伴う H s p 7 0 のレベルの低下が、前記疾患の進行を示す、かつ / または
b) 経時的な H s p 7 0 のレベルの増加が、前記疾患の寛解を示す、
請求項 2 5 ~ 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 0】

低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体において低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を治療するための治療法の有効性を監視するための方法であって、

a) 治療法が適用される、維持される、減少されるかまたは上昇される前、その間および / またはその後に前記個体からの 1 つ以上の P B M C サンプルを提供するステップと、
b) 前記 1 つ以上の P B M C サンプルの各々中の H s p 7 0 を検出するステップと、
c) 前記 1 つ以上の P B M C サンプルの各々中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップ
を含む、方法。

【請求項 3 1】

i . 1 つ以上の P B M C サンプルが、治療法が適用される、維持される、減少されるかまたは上昇される前に低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体から得られる；

i i . 1 つ以上の P B M C サンプルが、治療法中に低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体から得られる；かつ / または

i i i . 1 つ以上の P B M C サンプルが、治療法が適用された、維持された、減少されたかまたは上昇された後に低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体から得

10

20

30

40

50

られる；かつ／または

i v . 1 つ以上の P B M C サンプルが、治療法が適用される、維持される、減少されるかまたは上昇される前、その間および／またはその後低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体から得られる、

請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 2】

d) 低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患に対する治療法の有効性を監視するステップをさらに含む、請求項 3 0 または 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

a) 治療法が適用された、維持された、減少されたかまたは上昇された後の、H s p 7 0 のレベルの増加が、前記治療法が有効であることを示す、かつ／または

b) 治療法が適用された、維持された、減少されたかまたは上昇された後の、H s p 7 0 のレベルの減少が、前記治療法が有効でないことを示す、

請求項 3 0 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記 H s p 7 0 を検出することが、H s p 7 0 タンパク質または H s p 7 0 タンパク質などの R N A を検出することを含む、請求項 1 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記 H s p 7 0 が、酵素結合免疫吸着検定法 (E L I S A) によって検出されかつ定量化される、請求項 1 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 6】

ステップ c) サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップが、

i . 較正された標準に正規化するステップと、

i i . 前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 を定量化するステップの 1 つ以上を含む、請求項 1 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 7】

低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を治療するための治療法が、H s p 7 0 を含む、熱ショックタンパク質の細胞内濃度および／または活性を増加させる生物活性剤である、請求項 1 ~ 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 8】

H s p 7 0 を含む、熱ショックタンパク質の細胞内濃度および／または活性を増加させる前記生物活性剤が、H s p 7 0 タンパク質、またはその機能的断片またはバリエーション、熱ショックタンパク質誘導物質および H s p 7 0 誘導物質または共誘導物質から選択される、請求項 1 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 9】

H s p 7 0 を含む、熱ショックタンパク質の細胞内濃度および／または活性を増加させる前記生物活性剤が、H s p 7 0 遺伝子発現を増幅することにより H s p 7 0 の細胞内濃度 (またはレベル) を増加させることができる小分子ヒドロキシルアミン誘導体である、請求項 1 ~ 3 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 0】

H s p 7 0 を含む、熱ショックタンパク質の細胞内濃度および／または活性を増加させる前記生物活性剤が、アリモクロモール、イロキサナジン、ピモクロモール、B G P - 1 5、それらの立体異性体およびそれらの酸付加塩からなる群から選択される、請求項 1 ~ 3 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 1】

低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患が、リソソーム蓄積症、神経変性疾患、神経筋障害、筋ジストロフィーおよび炎症性筋障害である、請求項 1 ~ 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 2】

10

20

30

40

50

低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する前記疾患が、リソソーム蓄積症である、請求項 1 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記リソソーム蓄積症が、スフィンゴリピドース；ムコ多糖症；グリコーゲン貯蔵障害；糖タンパク質代謝障害（糖タンパク代謝異常症）；およびムコリピドースを含む脂質貯蔵障害からなる群から選択される、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記リソソーム蓄積症が、スフィンゴリピドースである、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記リソソーム蓄積症が、ニーマンピック病（A 型、B 型、および C 型など）、ファーマー病、クラッペ病、ファブリー病、ゴーシェ病、シアリドーシス（ムコリピドーシス I 型）、異染性白質ジストロフィーなどのスルファチドーシス（後期乳児型、若年型、および成人型）ならびにサポシン欠損症および多発性スルファターゼ欠損症（オースティン病）、ゴーシェ病（I 型、II 型および III 型を含む）、脳腱コレステリン蓄積症、ウォルマン病（リソソーム酸性リパーゼ欠損症）、コレステリルエステル蓄積症、および神経セロイドリポフスチン症（パッテン病（シュピールマイヤー・フォークト病を含む、N C L）、ピールショウスキー・ヤンスキー病、クフス病、サンタヴオリ・ハルティア病）、ムコ多糖症（I 型、II 型、III 型、IV 型、V 型、VI 型、VII 型、VIII 型および IX 型）、ムコリピドース（II 型、III 型および IV 型）、心臓糖原病、アンデルセン病、コリ病（フォブス病）、ハース病、マッカードル病、ボンペ病、タウリ病（タルイ病）、フォン・ギールケ病、II 型ボンペ病、II b 型ダノン病、アスパルチルグルコサミン尿症、フコシドーシス、マンノシドーシス、アルファマンノシドーシス、アルファマンノシドーシス I 型、アルファマンノシドーシス II 型、ベータマンノシドーシス、シアリドーシス II 型（ムコリピドーシス I）およびガラクトシアリドーシスからなる群から選択される、請求項 4 2 に記載の方法。

10

20

【請求項 4 6】

前記リソソーム蓄積症が、ニーマンピック病 C 型などの、ニーマンピック病である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 7】

低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する前記疾患が、神経変性疾患である、請求項 1 ~ 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 4 8】

前記神経変性疾患が、パーキンソン病、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症（A L S）、多発性硬化症、ハンチントン病、ポリグルタミン病、および脊髄小脳失調症（脊髄小脳失調症 1 型、脊髄小脳失調症 2 型、脊髄小脳失調症 3 型（別名、マチャド・ジョセフ病）、脊髄小脳失調症 6 型、脊髄小脳失調症 7 型および脊髄小脳失調症 1 7 型）、D R P L A（歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症）および S B M A（球脊髄性筋萎縮症またはケネディ病）からなる群から選択される、請求項 4 7 に記載の方法。

【請求項 4 9】

低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する前記疾患が、神経筋障害、筋ジストロフィーおよび炎症性筋障害からなる群から選択される、請求項 1 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 5 0】

前記神経筋障害が、筋萎縮性側索硬化症（A L S）、多発性硬化症、パーキンソン病、ハンチントン病、クロイツフェルト・ヤコブ病、重症筋無力症、脊髄性筋萎縮症（S M A）、呼吸困難 1 型を伴う脊髄性筋萎縮症（S M A R D 1；別名遠位脊髄性筋萎縮症 1 型（D S M A 1））、先天性筋無力症候群（C M S）、先天性ミオパチー、痙攣線維束性収縮症候群、筋ジストロフィー、遺伝性痙攣性対麻痺、封入体筋炎、ニューロミオトニア（N M T、別名アイザックス症候群、アイザックス・マートン症候群）、ミトコンドリアミオパチー、ランバート・イートン筋無力症候群（L E M S）、筋緊張性ジストロフィー、末梢

50

神経障害、脊髄性筋萎縮症（S B M A、またはケネディ病）、スティッフパーソン症候群およびギランバレー症候群からなる群から選択される、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記筋ジストロフィーが、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（D M D）、ベッカー型筋ジストロフィー、先天性筋ジストロフィー、遠位型筋ジストロフィー、エメリー・ドレイフス型筋ジストロフィー、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー、肢帯型筋ジストロフィー、筋緊張性筋ジストロフィーおよび眼咽頭型筋ジストロフィーからなる群から選択される、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記炎症性筋障害が、炎症性ミオパチー（炎症性筋疾患または筋炎）、特発性炎症性ミオパチー、多発性筋炎（P M）、皮膚筋炎（D M）、封入体筋炎（s I B M および h I B M）、多発性筋炎（または「筋肉リウマチ」）および横紋筋融解症からなる群から選択される、請求項 4 9 に記載の方法。

10

【請求項 5 3】

H s p 7 0 遺伝子発現を増幅することにより個体における H s p 7 0 の細胞内濃度（またはレベル）を増加させることができる小分子ヒドロキシルアミン誘導体の投与量を調整するための方法であって、

- a) 前記個体からの P B M C サンプルを提供するステップと、
- b) 前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
- c) 前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 の第 1 のレベルを定量化するかまたは決定するステップと、
- d) 第 1 の用量で前記小分子ヒドロキシルアミン誘導体を投与するステップと、
- e) ステップ a) ~ c) を繰り返して前記 P B M C サンプル中の H s p 7 0 の第 2 のレベルを特定するステップと、
- f) 前記第 1 のレベルを H s p 7 0 の第 2 のレベルと比較するステップと、
- g) 任意により前記比較に基づいて前記小分子ヒドロキシルアミン誘導体の投与量を調整するステップを含む、方法。

20

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、熱ショックタンパク質 7 0（H s p 7 0）がリソソーム蓄積症 N P C の末梢血単核細胞（P B M C）患者サンプルにおいて著しく減少し、したがって、脳および肝臓組織を含む、病理学的に罹患している疾患組織で観察された、これまでに観察された H s p 7 0 のレベルの低下が P B M C サンプル中の低レベルの H s p 7 0 タンパク質に直接変換され、H s p 7 0 レベルの簡素な検出手段をもたらす、という発見に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

熱ショックタンパク質（H S P）の最も広く研究されているファミリーの 1 つである H s p 7 0 タンパク質は、すべての真核細胞で合成される。H s p 7 0 タンパク質は、幅広いシャペロン機能を有し、多くの細胞内プロセスの正常な過程をもたらす。さらに、H s p 7 0 タンパク質は、ストレスに対する細胞の耐性に関与しており、特に、それらはタンパク質の凝集を防ぎ、ストレス条件下で損傷したタンパク質の除去を促進する。

40

【0 0 0 3】

H s p 7 0 タンパク質はストレスおよび熱ショックによって誘発され、複数の報告が H s p 7 0 の発現と、疾患またはストレスおよび運動の他の状態との相関関係について実証している。例えば、H s p 7 0（血漿または血清中）の循環レベルの上昇は、心血管疾患（急性心筋梗塞後の心不全、末梢動脈疾患）、癌患者（例えば、小細胞肺癌、胆管癌、頭

50

頸部癌、膵癌)、子癇前症および病理学的妊娠、妊娠性真性糖尿病、多嚢胞性卵巣症候群、炎症状態、喘息および高齢患者における虚弱で確認されている。このような上昇した循環レベルのH s p 7 0レベルは、疾患の進行および好ましくない臨床転帰を予測することが見出されている。

【0004】

特定の病理学的条件下では、タンパク質の品質管理機構は、ミスフォールドタンパク質の蓄積を防ぐのに十分ではない。H s p 7 0は、シャペロンとして機能し、タンパク質の凝集および毒性からニューロンを保護する。アルツハイマー病(AD)、パーキンソン病(PD)、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、および遺伝性ポリグルタミン(Poly Q)疾患(例えば、ハンチントン病(HD); 脊髄小脳失調症(SCA)1型、2型、3型、6型、7型、および17型; 球脊髄性筋萎縮症(SBMA); 齒状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症(DRP LA))を含む、様々な神経変性疾患に共通する特徴は、脳(ニューロンの内側と外側)におけるミスフォールドタンパク質の蓄積および沈着、ならびに中枢神経系(CNS)での選択的なニューロンの喪失である。これらのコンフォメーション/ミスフォールディング疾患のすべてについて、ミスフォールドタンパク質が一般的な治療標的と見なされており、多くの研究がH S Pの神経保護的役割に焦点を合わせている。

10

【0005】

神経変性疾患の発生率は、世界的に高い。神経変性疾患は、高齢の個体に不釣り合いな影響を与えるため、一般的に長寿が増長すると共に、疾患に関連する罹患率が上昇している。神経変性につながる根本的なメカニズムの理解は、予防および治療の方法を特定するために重要である。研究者らは、脳疾患の様々なモデルにおいて、プレコンディショニング、過剰発現、または薬物によって誘発されるH S Pの保護効果を観察した。実験データは、H s p 7 0を提供することを含む、細胞ストレス応答の操作が、神経変性疾患の進行中に脳を保護するための戦略を提供し得ることを示唆する。

20

【0006】

リソソーム蓄積症(LSD)は、まれな疾患群であり、リソソーム区画に物質が蓄積し、その結果それが不安定化することの特徴とし、影響を受けた個体に壊滅的な影響を与える。物質は、それらの異化作用に関与する酵素の欠乏により、リソソーム区画中に蓄積する。

30

【0007】

LSD患者の大多数は、可能であれば酵素アッセイによって最初にスクリーニングされ、これは、確定診断に到達するための最も効率的な方法である。疾患の原因となる変異(複数可)が知られている一部の家族および特定の遺伝的分離株では、変異分析が行われる場合もある。多数の異なる変異が存在し得るため、診断を確認するために、特定の影響を受けるタンパク質/酵素をコードする遺伝子の配列決定が必要になる場合もある。出生前診断は、既知の遺伝的リスク因子がある場合に有用であり得る。

【0008】

LSDとしては、ニーマンピック病(A型、B型、C型を含む)が挙げられる。歴史的に、ニーマンピック病C型(NPC)の診断は、エステル化研究および培養皮膚線維芽細胞のフィリピン染色の両方により組織病理学的に行われ、ほとんどの患者は、この信頼できるが費用がかかり困難な、確定的調査前に実行される様々な検査の組み合わせを受ける。これらの検査は、キトトリオシダーゼ測定、他のリソソーム蓄積症を除外するための白血球酵素研究、ならびに骨髓穿刺液および肝生検試験片の両方の蛍光および電子顕微鏡検査を含む場合がある。フィリピン染色検査は困難であるため、現在最も広く実施され、利用可能な確定診断検査は、NPC 1遺伝子およびNPC 2遺伝子の配列決定である。次世代シーケンサーは、特に関連する遺伝子が、新生児胆汁うっ滞性黄疸などの特定の疾患表現型を示す患者に適した複数遺伝子パネルに含まれる場合、はるかに簡単に実行できるが、このアプローチにも制限がある。患者の10%では、単一の病原性変異のみが特定され得、一部の患者では、臨床的意義が不確かな新しい変異が特定され得る。

40

【0009】

50

ニーマンピック病C型(NPC)マウスモデル(Npc1^{-/-})の脳および肝臓でのHsp70レベルが、野生型マウスの臓器でのHsp70レベルよりも低いことが実証されている(Kirkegaard, T.ら、2016)。

【0010】

したがって、CNSおよびPNSのニューロン、ならびに罹患した個体の臓器などの罹患組織では、低下したレベルのHsp70を有する疾患が多く存在する。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

低下したレベルのHsp70を有する多数の疾患が存在し、上記の疾患の特定を支援するため、または代わりに、低下したレベルのHsp70が共存している疾患の患者のサブセットを特定するための一般的なバイオマーカーとして、低下されたHsp70レベルのこの所見を適用することは非常に有用である。

10

【0012】

この発見は、このような低下したHsp70の病理学的結果および症状に関係なく、低下したレベルのHsp70を呈する疾患を有する患者を診断する、あるいは、低下したレベルのHsp70が共存する疾患の患者のサブセットを特定するかまたは診断するための方法に適用され得る。また、低下したレベルのHsp70を呈する疾患を有する個体での疾患進行および治療の有効性を監視するための方法での使用も見出され得る。

20

【0013】

したがって、Hsp70レベルの測定に加えて、低下したレベルのHsp70を呈する、また共に呈する特定の疾患を決定するために、さらなるレベルの診断が別々に、同時にまたはその後通常実行される。正確な診断は、承認されかつ特定の病状に固有である治療を含む、正確な治療レジメンを可能にするために極めて重要であり、Hsp70の補充および誘導の治療法との併用治療を試験する可能性を開く。

【0014】

低下したレベルのHsp70は、ニーマンピック病C型マウスモデルの脳組織サンプルおよび肝臓組織サンプルで実証されている。しかし、脳組織サンプルおよび肝臓組織サンプルなどの組織で見られるバイオマーカーは、低下したレベルのHsp70を呈する任意の他の疾患は言うまでもなく、NPCの診断の観点から適用可能であるとは見なされない。

30

したがって、低下したレベルのHsp70を呈する疾患を特定するための他の手段が必要である。

【0015】

本発明者らは驚くべきことに、ニーマンピック病C型の患者由来の特に末梢血単核細胞(PBMC)サンプルが、健康な対照と比較して、実質的に低下または減少したレベルの熱ショックタンパク質70(Hsp70)を含むことを発見した。

40

【0016】

PBMCサンプルは、血液サンプルを単に採取し、PBMCの分離および単離のいくつかの簡素なステップを実行することにより、個体から容易に得ることができる。したがって、脳および肝臓組織を含む、病理学的に罹患している疾患組織で観察された低レベルのHsp70が、PBMCサンプル中の低レベルのHsp70タンパク質に直接変換されるという新たな観察結果は、Hsp70レベルの簡素で容易かつ安易な検出手段を提供する。

【0017】

末梢血単核細胞(PBMC)サンプル中のHsp70を検出する方法を提供することは、本開示の一態様であり、この方法は、

- a) PBMCサンプルを提供するステップと、
- b) PBMCサンプル中のHsp70を検出するステップと、
- c) 任意により、PBMCサンプル中のHsp70のレベルを定量化するかまたは決定するステップ、

50

を含む。

【 0 0 1 8 】

本開示のさらなる態様では、個体において低下したレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を診断するための方法が提供され、本方法は、

- a) 個体からの P B M C サンプルを提供するステップと、
 - b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
 - c) P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップと、
 - d) 任意により、個体が低下したレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有しているか、または有する可能性があるかを分類するかまたは決定するステップ、
- を含む。

10

本開示のさらなる態様では、低下したレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する患者を選択するための方法が提供され、本方法は、

- a) 患者からの P B M C サンプルを提供するステップと、
 - b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
 - c) P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップと、
 - d) 個体が低下したレベルの H s p 7 0 を有しているかを分類するかまたは決定するステップ、
- を含む。

20

【 0 0 1 9 】

本開示のさらなる態様では、低下したレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体の疾患の進行を監視するための方法が提供され、本方法は、

- i . 2 つ以上のその後の時点で、個体からの 1 つ以上の P B M C サンプルを提供するステップと、
 - i i . 上記の P B M C サンプルの各々中で H s p 7 0 を検出するステップと、
 - i i i . P B M C サンプルの各々中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップ、
- を含む。

30

【 0 0 2 0 】

本開示のさらなる態様では、低下したレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体において、低下したレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を治療するための治療法の有効性を監視するための方法を提供し、本方法は、

- a) 治療法が適用されるか、維持されるか、減少されるか、または上昇される前、その間、および / またはその後に、個体からの 1 つ以上の P B M C サンプルを提供するステップと、
 - b) 1 つ以上の P B M C サンプルの各々中の H s p 7 0 を検出するステップと、
 - c) 1 つ以上の P B M C サンプルの各々中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップ、
- を含む。

40

【 0 0 2 1 】

一実施形態では、低下したレベルの H s p 7 0 を呈する疾患は、リソソーム蓄積障害、神経変性疾患、神経筋障害、筋ジストロフィー、および炎症性筋障害からなる群から選択される。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 2 】

【 図 1 】 1 回目および 2 回目の臨床試験訪問時にニーマンピック病 C 型 (N P C) を有する個体から、または健康な個体 (対照) から単離された P B M C サンプル中の H s p 7 0 タンパク質のレベルの定量化。 H s p 7 0 のレベルは、 E L I S A によって決定されたとおり、健康な対照から得た P B M C サンプルと比較して、 N P C 患者から得た P B M C サ

50

ンプルにおいて著しく減少した。

【図2】ニーマンピック病C型を有する個体から得たPBMCSンプルにおけるNPC重症度スケールスコア(NPCCSS)とHsp70レベルとの比較。Hsp70レベルとNPCCSSの間に相関は観察されなかった。

【図3】1回目および2回目の訪問時に、ニーマンピック病C型を有する個体から得たPBMCSンプル中のHsp70レベルの比較。2回目の臨床試験訪問は、1回目の臨床試験訪問から6～14か月後に実施した。1回目および2回目の臨床試験訪問からの時間の経過によるHsp70レベルの変化は観察されなかった。

【図4】アリモクロモールを含む前治療を受けたNPC患者でのHSP70レベル。

【図5】アリモクロモールによる治療を受けたNPC患者でのHSP70レベル。

10

【発明を実施するための形態】

【0023】

本発明は、対照と比較して、脳および肝臓組織を含む、病理学的に罹患している疾患組織における、低下したレベルのHsp70を呈するリソソーム蓄積症である、ニーマンピック病C型の患者末梢血単核細胞(PBMC)サンプル中の低下したレベルのHsp70の発見に基づく。

【0024】

Hsp70タンパク質は、タンパク質の折り畳みおよび不安定な細胞タンパク質の分解を含む様々な細胞プロセスに関与し、また、他の細胞保護の役割も果たしている。したがって、Hsp70は、細胞の恒常性、およびリソソーム蓄積症、神経変性疾患、ならびにいくつかの神経筋および筋肉疾患を含む、Hsp70レベルの低下を呈する複数の疾患においていくつかの重要な役割を果たす。

20

【0025】

LSDは、脂質、糖脂質、糖タンパク質、またはムコ多糖の代謝または輸送に必要な単一のリソソームタンパク質または酵素の欠乏の結果としてのリソソーム機能の欠陥に起因するまれな遺伝性代謝障害の群である。各障害は、タンパク質活性の欠乏につながる様々な遺伝子の変異に起因するが、それらはすべて共通の生化学的特性を共有し、すべてのリソソーム障害は、リソソーム内の物質の異常な蓄積から生じる。リソソーム蓄積症は主に小児に影響を及ぼし、多くの場合小児は、生後数ヶ月または数年以内に、若く予測できない年齢で死亡する。他の多くの小児が、特定の障害の様々な症状に何年も苦しんだ後、この疾患で死亡する。

30

【0026】

ニーマンピック病C型(NPC)は、NPC1遺伝子またはNPC2遺伝子のいずれかにおける変異によって引き起こされる、スフィンゴリピドース型の壊滅的なリソソーム蓄積症であり、リソソーム区画の機能不全、複数の組織におけるコレステロール、スフィンゴシン、およびスフィンゴ糖脂質の異常な蓄積をもたらす。血液サンプル中の疾患進行を追跡するためのバイオマーカーの同定は、主にコレステロールおよびその誘導体に焦点が当てられてきた。

【0027】

NPCはまた、脳および肝臓組織において低下したレベルのHsp70を呈し、ここで本発明者らは、この発見が、NPC患者の末梢血単核細胞(PBMC)サンプルにおける低下したレベルのHsp70に結びつくことを確認した。

40

【0028】

低下したレベルのHsp70を呈する疾患を有する患者は、Hsp70のレベルを増加させることから恩恵を受ける可能性がある。したがって、一実施形態における本発明は、低下したレベルのHsp70を呈する疾患を有する患者を特定するための手段を提供し、これは、個体がHsp70のレベルを増加させることから恩恵を受ける可能性がある。

【0029】

一実施形態では、Hsp70のレベルを増加させることは、Hsp70遺伝子の発現を増幅することによってHsp70の細胞内濃度を増加させることを含む。

50

【 0 0 3 0 】

一実施形態では、H s p 7 0 のレベルを増加させることは、H s p 7 0、またはその機能的断片またはそのバリエーションを投与することによってH s p 7 0 の細胞内濃度を上昇させることを含む。

熱ショックタンパク質 7 0 ファミリー

【 0 0 3 1 】

H s p 7 0 タンパク質は、タンパク質の折り畳みおよび不安定な細胞タンパク質の分解を含む様々な細胞プロセスに関与し、また、他の細胞保護の役割も果たしている。これらのプロセスにおけるH s p 7 0 の一般的な機能は、部分的に折り畳まれたポリペプチドの短い疎水性セグメントの結合であると考えられ、それにより適切な折り畳みを容易にし、凝集を防ぐ。真核生物では、H s p 7 0 シャペロンは、機能サイクルの重要なステップを調節するのに役立つ様々なクラスのタンパク質（これらの中では、Jドメインファミリータンパク質H s p 4 0）と*in vivo*で相互作用する。さらに、追加のパートナータンパク質が同定されており、そのうちのいくつかは、H s p 7 0 をH s p 9 0 系などの他のシャペロン系に連結する。

ヒトH s p 7 0 ファミリーのメンバー

【 0 0 3 2 】

分子シャペロンに寄与する重要な機能の一部としては、細胞区画へのタンパク質のインポート、細胞質ゾル、小胞体およびミトコンドリアでのタンパク質のフォールディング、タンパク質凝集の防止、およびミスフォールドされたタンパク質のリフォールディングが挙げられる。現在、ヒトH s p 7 0 ファミリーは、異なる遺伝子によってコードされる15のメンバーを含む。H s p 7 0 遺伝子およびタンパク質は、本明細書ではそれらの遺伝子座名によって参照され得る。H s p 7 0 への言及は通常、遺伝子座名H S P A 1 AおよびH S P A 1 Bを有する2つの主要な誘導性H s p 7 0 ファミリーメンバーを指すが、テキストのコンセンサスから明らかなように、一般にH s p 7 0 ファミリー全体を指す場合もある。

H s p A 1 AおよびH s p A 1 B

【 0 0 3 3 】

遺伝子座H S P A 1 AおよびH S P A 1 Bから転写される遺伝子は、2つの熱/ストレス誘導性H s p 7 0 遺伝子であり、ヒトH s p 7 0 に関する文献の大部分は、これらの2つの遺伝子によってコードされるタンパク質を指す。これらの遺伝子は、641個のアミノ酸からなるタンパク質を生成し、互いに99%の相同性を有し、クローン化および特性評価された最初のヒトH s p 7 0 ファミリーメンバーであった。遺伝子は、6p21.3においてMHCクラスIII複合体中で連結され、イントロンがなく、HSEを含むプロモーター領域を有し、それらがHSFに結合し様々な細胞の攻撃に応答して転写を誘導することを可能にする。

H s p A 1 LおよびH s p A 2

【 0 0 3 4 】

2つのH s p 7 0 ファミリーメンバーは、雄生殖細胞が強い偏向でそれらの発現を優先するため、「優越主義遺伝子(chauvinist gene)」と呼ばれている。h s p A 1 L 遺伝子は、染色体6上の同じMHCクラスIII複合体中のH S P A 1 A 遺伝子座に対し4kbテロメア側に位置する、構成的に発現されるイントロンのないH s p 7 0 ファミリーメンバーである。これは、熱ショックの前後の両方で少量発現されるが、641個のアミノ酸(aa)タンパク質がH s p A 1 Aと90%相同であるマウス、ラット、およびヒトの精巣で有利な発現パターンを有する。H s p A 2 遺伝子は、マウスゲノムライブラリーから最初に単離され、後に、骨格筋、卵巣、小腸、結腸、脳、胎盤、および腎臓を含むヒトの身体の様々な組織において低レベルではあるが、構成的に発現され、精巣では高発現されることが示された。その発現、またはむしろその欠如は、異常なヒト精子形成と関連しており、雄のh s p A 2 (- / -) マウスは無精子である。この遺伝子は、染色体14に位置し、H s p A 1 A に対し84%の相同性を有する639アミノ酸のタ

10

20

30

40

50

ンパク質を生じるが、2つの論文が異なる遺伝子座位置(14q24.1および14q22)を示しているため、正確な位置について議論がなされている。

HspA6およびHspA7

【0035】

HspA6およびhspA7遺伝子は、Hsp70ファミリーの熱誘導性メンバーであり、マウスには明らかな対応物はない。それらはプロモーター部位にHSEを含み、遺伝子にはイントロンがない。それらは染色体1で共同在し、ヌクレオチド配列において互いに94%相同である。しかし、hspA7遺伝子には単一ヌクレオチドの挿入があり+1324で未成熟な終止コドンを生成するため、HspA6のみが機能的である。HspA6タンパク質は、643アミノ酸長であり、HspA1AおよびHspA1Bと77%の

10

相同性を示す。

HspA5およびHspA9

【0036】

HspA5およびhspA9遺伝子は、Hsp70ファミリーの2つの区画固有のメンバーである。655アミノ酸のHspA5タンパク質は、小胞体(ER)に位置し、この区画中で新たに合成されたタンパク質の折り畳みおよび輸送を容易にする。このタンパク質は、HspA1Aと64%相同であり、遺伝子は9q34に位置している。679アミノ酸のHspA9タンパク質は、ミトコンドリアに位置し、タンパク質がミトコンドリア膜を通過した後、それらの折り畳みを支援する。HspA9は、5q31.1に位置し、タンパク質は、HspA1Aと52%相同である。

20

HspA8

【0037】

Hsc70として公知である同族のHsp70メンバーは、11q24においてhspA8という名前の遺伝子によってコードされ、HspA1Aと86%の相同性を有する646アミノ酸のタンパク質を生じ、すべての組織および細胞株で構成的に発現される。このタンパク質は、細胞機能においてHsp70に類似しており、通常の下で必要なシャペロニングを提供するが、クラスリンがコーティングされた小胞のコーティングの除去、およびシャペロン媒介オートファジーにおける役割もある。HspA3およびHspA4、HspA4L、HspA12AおよびHspA14については、本明細書では、さらに論じない。

30

【表 1】

ヒトHsp70遺伝子ファミリーのリスト。

遺伝子を、遺伝子座名、本明細書で使用する名前、染色体場所（位置）、HspA1Aとのアミノ酸相溶性、および文献でよく見られる別名に従って列挙する。

本明細書で使用する遺伝子座	名、遺伝子／タンパク質	位置	HSP A1 Aとの a a 相溶性%	別名
HSP A1 A	<i>h s p A 1 A</i> / <i>H s p A 1 A</i> (H s p 7 0)	6 p 2 3. 1	1 0 0	H s p 7 0 ; H s p 7 2 ; H s p 7 0 - 1
HSP A1 B	<i>h s p A 1 B</i> / <i>H s p A 1 B</i> (H s p 7 0)	6 p 2 3. 1	9 9	H s p 7 0 ; H s p 7 2 ; H s p 7 0 - 2
HSP A1 L	<i>h s p A 1 L</i> / <i>H s p A 1 L</i>	6 p 2 3. 1	9 0	H s p 7 0 - H o m ; H s p 7 0 t
HSP A2	<i>h s p A 2</i> / <i>H s p A 2</i>	1 4 q 2 4. 1	8 4	H s p 7 0 - 3
HSP A4	<i>h s p A 4</i> / <i>H s p A 4</i>	5 q 3 1. 1	3 1	H s p 7 0 R Y ; A P G - 2
HSP A4 L	<i>h s p A 4 L</i> / <i>H s p A 4 L</i>			A P G 1 ; O S P 9 4
HSP A5	<i>h s p A 5</i> / <i>H s p A 5</i>	9 q 3 4	6 4	B i P ; G R P 7 8
HSP A6	<i>h s p A 6</i> / <i>H s p A 6</i>	1 q	8 4	H s p 7 0 - 6 ; H s p 7 0 B ' ;
HSP A7	<i>h s p A 7</i> / <i>H s p A 7</i>	1 q	-	H s p 7 0 - 7 ; H s p 7 0 B
HSP A8	<i>h s p A 8</i> / <i>H s p A 8</i> (H s c 7 0)	1 1 q 2 4	8 6	H s c 7 0 ; H s p 7 3
HSP A9	<i>h s p A 9</i> / <i>H s p A 9</i>	5 q 3 1. 1	5 2	G R P 7 5 ; P B P 7 4 ; m t H s p 7 5 ; モーターン ; m o t - 2
HSP A1 2 A	<i>h s p A 1 2 A</i> / <i>H s p A 1 2 A</i>			K I A A 0 4 1 7
HSP A1 4	<i>h s p A 1 4</i> / <i>H s p A 1 4</i>			H s p 6 0 ; H s p 7 0 L 1

Hsp70バイオマーカーを含む方法

【0038】

本発明者らは、健康な対照と比較して、脳および肝臓組織を含む、病理学的に罹患した疾患組織において低下されたレベルのHsp70を呈することが知られている疾患を有する患者から得た特にPBMCSサンプル中で、Hsp70レベルが有意に低いことを見出した。低下されたレベルのHsp70を呈する疾患は、Hsp70治療法によって軽減される可能性があり、本開示はしたがって、Hsp70治療法による治療から恩恵を得る可能性のある患者を選択するための手段を提供する。

【0039】

「低下された」レベルは、本明細書の減少したレベルまたはより低いレベルと同義に使用され得る。Hsp70レベルは、健康な個体などの対照と比較して、または異なる時点と比較して（例えば、第1回目の訪問/サンプルとその後の訪問/サンプルと比較して）

低下しているか、またはより低い可能性がある。

【0040】

本発明の方法は、P B M C サンプル中の H s p 7 0 レベルの容易かつ安易な検出を可能にし、かつバイオマーカーとしての P B M C 中の H s p 7 0 の使用を可能にして、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を特定するための信頼できる簡単なツールを提供する。

【0041】

本発明の方法は、個体から得た P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出することおよび定量化することを含む。

【0042】

P B M C サンプル中の H s p 7 0 の検出および定量化はしたがって、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患の患者を診断するまたは特定する方法において使用できる。

【0043】

したがって、健康な対照で検出される量と比較して、個体の P B M C サンプル中の低下された量の H s p 7 0 は、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を示すか、または患者が H s p 7 0 治療法の対象となることを示す。

【0044】

本発明の方法はまた、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体または患者における疾患進行を監視する方法において使用できる。

【0045】

本発明の方法はまた、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体または患者における治療の有効性を監視する方法において使用する。

H s p 7 0 の検出方法

【0046】

P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出する方法を提供することは、本開示の一態様であり、この方法は、

- a) P B M C サンプルを提供するステップと、
 - b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
 - c) 任意により、P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップ、
- を含む。

【0047】

一実施形態では、H s p 7 0 を検出することおよび/または定量化することは、H s p 7 0 タンパク質の検出および定量化を指す。

【0048】

一実施形態では、H s p 7 0 を検出することおよび/または定量化することは、H s p A 1 A および H s p A 1 B の一方または両方の検出および定量化を指す。

【0049】

一実施形態では、H s p 7 0 を検出することおよび/または定量化することは、H s p A 1 A および H s p A 1 B の一方または両方の検出および定量化を指し、H s p A 5 および/または H s p A 8 はまったくまたはほとんど検出されない。

【0050】

一実施形態では、H s p 7 0 を検出することおよび/または定量化することは、天然に存在する H s p A 1 A および/または H s p A 1 B ならびに天然に存在する H s p A 1 A および/または H s p A 1 B バリエーションなどの、天然に存在する H s p 7 0 および天然に存在する H s p 7 0 バリエーションの検出を含む。天然に存在する H s p A 1 A および/または H s p A 1 B バリエーションは、当業者に公知である。

【0051】

一実施形態では、H s p 7 0 は、H s p A 1 A (配列番号 1 および 2) および H s p A 1 B (配列番号 4 および 5)、またはそれらの機能的断片もしくはバリエーションから選択さ

10

20

30

40

50

れる。配列番号 2 では、配列番号 1 の開始メチオニン（1 位の M）が除去されている。配列番号 5 では、配列番号 4 の開始メチオニン（1 位の M）が除去されている。In vivo では、これは翻訳後処理によって生じる。

【0052】

一実施形態では、P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出する方法は、in vitro 法である。

【0053】

一実施形態では、定量化は、P B M C サンプル中に存在する H s p 7 0 タンパク質のレベルを決定することを意味する。

【0054】

一実施形態では、H s p 7 0 のレベルは、P B M C サンプル中において検出される、かつ / または定量化される。一実施形態では、P B M C サンプルは、個体から得られるか、または個体から得ることができる。一実施形態では、個体は、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有するか、有する疑いがあるか、有するリスクがあるか、または有する可能性がある。一実施形態では、個体は、スフィンゴリピドース；ムコ多糖症；グリコーゲン貯蔵障害；糖タンパク質代謝障害（糖タンパク代謝異常症）；およびムコリピドース、および本明細書の他の場所で指定されるその任意のサブタイプ（例えば、ニーマンピック病）を含む脂質貯蔵障害からなる群から選択されるリソソーム蓄積症を有するか、有する疑いがあるか、有するリスクがあるか、または有する可能性がある。一実施形態では、個体は、本明細書の他の場所で指定されるとおり、神経変性疾患、神経筋障害、筋ジストロフィー、または炎症性筋障害を有するか、有する疑いがあるか、または有する可能性がある。P B M C サンプルは、本明細書の他の場所でさらに詳細に開示される。

10

20

【0055】

したがって、一実施形態では、本開示は、

- a) P B M C サンプルを提供するステップと、
- b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
- c) P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップ、を含む、P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出する方法を提供する。

【0056】

P B M C サンプル中の H s p A 1 A および / または H s p A 1 B を検出する方法も開示され、本方法は、

30

- a) P B M C サンプルを提供するステップと、
- b) P B M C サンプル中の H s p A 1 A および / または H s p A 1 B を検出するステップと、
- c) 任意により、P B M C サンプル中の H s p A 1 A および / または H s p A 1 B のレベルを定量化するかまたは決定するステップ、を含む。

【0057】

一実施形態では、P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出し、任意により定量化するための方法は、

40

- i) H s p A 1 A、
 - i i) H s p A 1 B、または
 - i i i) H s p A 1 A および H s p A 1 B
- を検出し、任意により定量化することを含む。

【0058】

一実施形態における H s p A 1 A および / または H s p A 1 B を検出し、任意により定量化する本発明の方法は、他の H s p 7 0 タンパク質の検出を排除しない。

【0059】

したがって、一実施形態では、本開示は、

- a) P B M C サンプルを提供するステップと、

50

b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
 c) P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップ、
 を含む P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出する方法を提供し、
 P B M C サンプルは、本明細書の他の場所で指定されるとおり、リソソーム蓄積症、神経変性疾患、神経筋障害、筋ジストロフィー、または炎症性筋障害を含む、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有するか、有する疑いがあるか、有するリスクがあるか、または有する可能性がある個体から得られる。

【 0 0 6 0 】

治療法が適用されるか、維持されるか、減少されるか、または上昇される前、その間、および / またはその後に、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体または患者からの P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出し、任意により定量化する方法も本明細書に開示される。

10

【 0 0 6 1 】

一実施形態では、個体は、スフィンゴリピドース；ムコ多糖症；グリコーゲン貯蔵障害；糖タンパク質代謝障害（糖タンパク代謝異常症）；およびムコリピドース、および本明細書の他の場所で指定されるその任意のサブタイプ（例えば、ニーマンピック病）を含む脂質貯蔵障害からなる群から選択されるリソソーム蓄積症を有する。一実施形態では、個体は、本明細書の他の場所で指定されるとおり、神経変性疾患、神経筋障害、筋ジストロフィーまたは炎症性筋障害を有する。

20

【 0 0 6 2 】

一実施形態では、本治療法は、H s p 7 0 の発現および / または H s p 7 0 の活性を誘導できる生物活性剤などの、H s p 7 0 レベルおよび / または活性を誘導するための治療法を含む。一実施形態では、治療法は、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患の治療において有効な生物活性剤などの、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を治療するための治療法を含む。治療法および生物活性剤は、本明細書の他の場所に開示される。

【 0 0 6 3 】

一実施形態では、個体からの P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出し、任意により定量化する方法は、

i) 治療法が適用されるか、維持されるか、減少されるか、または上昇される前に、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体から得た 1 つ以上の P B M C サンプル；

30

i i) 治療法中に低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体から得た 1 つ以上の P B M C サンプル；および / または

i i i) 治療法が適用されたか、維持されたか、減少されたか、または上昇された後に、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体から得た 1 つ以上の P B M C サンプル；

i v) 治療法が適用されるか、維持されるか、減少されるか、または上昇される前および後に、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体から得た 1 つ以上の P B M C サンプルを含む。

40

【 0 0 6 4 】

疾患の進行を監視するために、その後の時点で低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体の P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出し、任意により定量化する方法も本明細書で開示される。

【 0 0 6 5 】

また、本明細書に開示されるのは、上記障害を診断するために、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有することが疑われる個体の P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出し、任意により定量化する方法である。

【 0 0 6 6 】

50

P B M C サンプルを提供するための手段、P B M C サンプルの性質、および H s p 7 0 の検出のための手段、ならびに H s p 7 0 を定量化するための手段は、本明細書の他の場所に開示される。

H s p 7 0 の検出および定量

【 0 0 6 7 】

本明細書に開示される方法は、P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出する 1 つ以上のステップを含み、

- a) 個体からの 1 つ以上の P B M C サンプルを提供するステップと、
 - b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
 - c) 任意により、P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップ、
- を含む。

【 0 0 6 8 】

本開示による P B M C 中の H s p 7 0 は、D N A レベル、R N A / m R N A レベルおよび / またはタンパク質レベルで検出され得る。好ましい実施形態では、H s p 7 0 はタンパク質レベルで検出される。

【 0 0 6 9 】

H s p 7 0 の検出および定量化は、当技術分野で公知であるいくつかの方法によって実施でき、1 つ以上のステップを含み得る。H s p 7 0 の検出および定量化は、当業者に公知である任意の方法によって実施できる。

【 0 0 7 0 】

一実施形態では、b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップは、P B M C サンプルを 1 つ以上の検出および / または定量化のステップに供することによって実行される。

【 0 0 7 1 】

一実施形態では、H s p 7 0 タンパク質の検出および定量化は、分光分析法または抗体依存性法によって実施される。

【 0 0 7 2 】

一実施形態では、H s p 7 0 タンパク質の検出および定量化は、酵素結合免疫吸着検定法 (E L I S A)、ウエスタンブロッティング、タンパク質免疫沈降、免疫電気泳動、タンパク質免疫染色、高速液体クロマトグラフィー (H P L C) および液体クロマトグラフィー - 質量分析 (L C / M S) からなる群から選択される方法によって実施される。

【 0 0 7 3 】

一実施形態では、H s p 7 0 タンパク質の検出および定量化は、質量分析を使用して実行される。一実施形態では、乾燥血液スポット (D B S) サンプル中の H s p 7 0 タンパク質の検出および定量化は、質量分析を使用して実行される。

【 0 0 7 4 】

乾燥血液スポット検査 (D B S) は、当業者に周知であるバイオサンプリングの形態であり、スポットあたり 7 0 μ L の全血などの血液サンプルを濾紙にプロットし、乾燥させる。乾燥されたサンプルは、分析実験室に容易に出荷でき、本明細書に記載の方法など、例えば質量分析などの様々な方法を使用して分析できる。一実施形態では、総タンパク質は、リン酸緩衝生理食塩水 (P B S) に浸された血液スポットから抽出される。一実施形態では、タンパク質はさらにトリプシン消化に供され、精製され、質量分析によって分析される。

【 0 0 7 5 】

一実施形態では、H s p 7 0 タンパク質の検出および定量化は、酵素結合免疫吸着検定法 (E L I S A) によって実施される。

【 0 0 7 6 】

一実施形態では、b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップおよび / または c) 任意により、P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決

10

20

30

40

50

定するステップは、

- i) P B M C サンプルの溶解、および / または
 - ii) 溶解した P B M C サンプル中に存在する H s p 7 0 タンパク質の固定化、および / または
 - iii) 固定化された H s p 7 0 タンパク質への一次抗体の結合、および / または
 - iv) iii) の一次抗体への二次抗体の結合、および / または
 - v) ストレプトアビジンコンジュゲートをもたらすためのストレプトアビジンコンジュゲートの二次抗体への結合、および / または
 - vi) H s p 7 0 タンパク質に結合した一次抗体の可視化、および / または
 - vii) 二次抗体の可視化
- の 1 つ以上のステップを含む。

10

【0077】

一実施形態では、iii) の一次抗体は、ビオチン分子と共有結合されて、二次抗体のストレプトアビジンコンジュゲートの結合を可能にする。

【0078】

一実施形態では、一次抗体、二次抗体、または v) のストレプトアビジンコンジュゲートは、酵素または蛍光プローブと共有結合される。

【0079】

ステップ vi) および vii) H s p 7 0 に結合した一次抗体または一次抗体に結合した二次抗体の可視化は、比色検出、化学発光検出、放射性検出、電気化学的検出または蛍光検出によって実施できる。一実施形態では、視覚化は、H s p 7 0 に結合した一次抗体、一次抗体に結合した二次抗体、または一次抗体に結合したストレプトアビジンコンジュゲートに共有結合した酵素による 1 つ以上の基質の変換を含む。

20

【0080】

一実施形態では、H s p 7 0 に結合した一次抗体、一次抗体に結合した二次抗体、またはストレプトアビジンコンジュゲートに共有結合した酵素は、西洋ワサビペルオキシダーゼ (H R P) である。一実施形態では、基質は、過酸化水素、ルミノール、テトラメチルベンジジンからなる群から選択される。

【0081】

一実施形態では、b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップおよび / または c) 任意により P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップは、溶解、固定化、結合、および視覚化のステップの間に洗浄ステップをさらに含む。

30

【0082】

E L I S A は典型的には、サンプル中の特定のタンパク質の存在および / または量を測定するのに好適である。したがって E L I S A は、P B M C サンプル中の H s p 7 0 の存在および / または量を測定するのに好適である。

【0083】

一実施形態では、b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップおよび / または c) 任意により、P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップは、直接 H s p 7 0 を検出する 1 つ以上のステップを含む (例えば、E L I S A による)。

40

【0084】

一実施形態では、校正された標準が、P B M C サンプル中に存在する H s p 7 0 の定量化のために使用される。

【0085】

一実施形態では、定量化のための校正された標準は、異なる濃度で使用される。

【0086】

一実施形態では、H s p 7 0 m R N A の検出および定量化は、ノーザンプロット、リボヌクレアーゼ保護アッセイ (R P A)、およびリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応 (R

50

T - P C R) からなる群から選択される方法によって実施される。

診断の方法

【 0 0 8 7 】

個体において低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を診断するための方法を提供することは、本開示の一態様であり、本方法は、個体から得られた、または個体から得ることができる P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップを含む。

【 0 0 8 8 】

一実施形態では、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を診断するための方法は、P B M C サンプル中に存在する H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップをさらに含む。

10

【 0 0 8 9 】

一実施形態では、P B M C サンプル中に存在する H s p 7 0 のレベルは、個体が低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する（もしくは罹患している）かどうかを示すか、または個体が低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する可能性があるか、疾患を有する（もしくは罹患する）リスクがあるかを示す。

【 0 0 9 0 】

この方法は、例えば家族歴、または L S D を示す症状の存在に基づいて、例えば個体が低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する、または罹患している疑いがある場合に、疑わしい診断を確認するために使用され得る。これらの方法は、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を診断する既知の方法に加えて使用できる。

20

【 0 0 9 1 】

個体において低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を診断するための方法を提供することはしたがって、本開示の一態様であり、本方法は、

- a) 個体からの P B M C サンプルを提供するステップと、
- b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
- c) P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップ、を含む。

【 0 0 9 2 】

一実施形態では、P B M C サンプル中に存在する H s p 7 0 のレベルは、個体が低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する（もしくは罹患している）かどうかを示すか、または個体が低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する可能性があるか、疾患を有する（もしくは罹患する）リスクがあるかを示す。

30

【 0 0 9 3 】

個体において低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を診断するための方法も開示され、この方法は、

- a) 個体からの P B M C サンプルを提供するステップと、
- b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
- c) P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップと、
- d) 個体が低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有しているか、または有する可能性があるかを分類するかまたは決定するステップ、を含む。

40

【 0 0 9 4 】

一実施形態では、P B M C サンプルは、個体から得られるか、または個体から得ることができる。

【 0 0 9 5 】

一実施形態では、個体において低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を診断するための方法も開示され、この方法は、

- a) 個体からの P B M C サンプルを提供するステップと、
- b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、

50

c) P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップと、

d) 個体が低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有しているか、または有する可能性があるかを分類するかまたは決定するステップ、
を含み、

疾患は、本明細書の他の場所で指定されるとおり、リソソーム蓄積症、神経変性疾患、神経筋障害、筋ジストロフィー、または炎症性筋障害である。

【0096】

一実施形態では、リソソーム蓄積症は、スフィンゴリピドース；ムコ多糖症；グリコーゲン貯蔵障害；糖タンパク質代謝障害（糖タンパク代謝異常症）；およびムコリピドースなどの脂質貯蔵障害、ならびに本明細書の他の場所で指定されるその任意のサブタイプからなる群から選択される。一実施形態では、リソソーム蓄積症は、NPC などのニーマンピック病である。

【0097】

一実施形態では、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を診断するための方法は、

i) H s p A 1 A、

ii) H s p A 1 B、または

iii) H s p A 1 A および H s p A 1 B

のレベルを検出し、定量化するかまたは決定することを含む。

【0098】

一実施形態では、d) 個体が低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有するか、または有する可能性があるかを分類するかまたは決定するステップは、個体が低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有しているか、または有する可能性があるかを分類するかまたは決定するステップである。

【0099】

本明細書における「このサンプル (t h e s a m p l e) 」または「サンプル (a s a m p l e) 」への言及は、特に明記しない限り、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有するか、または有することが疑われる個体由来の P B M C サンプルを指す。対照的に、健康な対照由来のサンプルは、健康な対照または対照サンプル由来の P B M C サンプルと呼ばれる。

【0100】

一実施形態では、d) 低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有するか、または有する可能性があるとして個体を分類するかまたは決定するステップは、健康な対照から得られた、または得ることができる P B M C サンプル中のレベルと比較して、P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを決定することを含む。本明細書の文脈における健康な対照は、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有していないか、または有している疑いがない個体である。好ましくは、健康な対照はまた、任意の他の明らかな疾患を示さない。一実施形態では、健康な対照は、任意の年齢であり得る。一実施形態では、健康な対照は、年齢一致対照である。一実施形態では、健康な対照は、29 歳未満など、28 歳未満など、27 歳未満など、26 歳未満など、25 歳未満など、24 歳未満など、23 歳未満など、22 歳未満など、21 歳未満など、20 歳未満など、19 歳未満など、18 歳未満などの、30 歳未満である。一実施形態では、健康な対照は、20 歳未満である。一実施形態では、健康な対照は、約 4 歳～約 18 歳である。一実施形態では、健康な対照は、約 2 歳～約 4 歳である。

【0101】

一実施形態では、健康な対照のレベルと比較して P B M C サンプル中の低下されたレベルの H s p 7 0 は、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有するか、または有する可能性があるか、または有するリスクのある個体を示す。

【0102】

10

20

30

40

50

一実施形態では、健康な対照のレベルに匹敵するかまたは等しいP B M Cサンプル中のH s p 7 0のレベルは、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患のない個体を示す。

【0103】

一実施形態では、健康な対照のレベルより高いP B M Cサンプル中のH s p 7 0のレベルは、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患のない個体を示す。

【0104】

一実施形態では、個体は、以下の場合、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有する可能性がある。

i) P B M Cサンプル中のH s p 7 0のレベルが、健康な対照で見られるレベルよりも低いか、または検出できない、

i i) P B M Cサンプル中のH s p A 1 Aのレベルが、健康な対照で見られるレベルよりも低いか、または検出できない、

i i i) P B M Cサンプル中のH s p A 1 Bのレベルが、健康な対照で見られるレベルよりも低いか、または検出できない、および/または

i v) P B M Cサンプル中のH s p A 1 AおよびH s p A 1 Bのレベルが、健康な対照で見られるレベルよりも低いか、または検出できない。

【0105】

一実施形態では、個体は、P B M Cサンプル中のH s p 7 0のレベルが健康対照で見られるレベルよりも1 ~ 1 0 0 0倍低い場合、例えば、健康な対照で見られるレベルより、1 ~ 2倍、2 ~ 3倍、3 ~ 4倍、4 ~ 5倍、5 ~ 6倍、6 ~ 7倍、7 ~ 8倍、8 ~ 9倍、9 ~ 1 0倍、1 0 ~ 1 1倍、1 1 ~ 1 2倍、1 2 ~ 1 3倍、1 3 ~ 1 4倍、1 4 ~ 1 5倍、1 5 ~ 1 6倍、1 6 ~ 1 7倍、1 7 ~ 1 8倍、1 8 ~ 1 9倍、1 9 ~ 2 0倍、2 0 ~ 2 5倍、2 5 ~ 3 0倍、3 0 ~ 3 5倍、3 5 ~ 4 0倍、4 0 ~ 4 5倍、4 5 ~ 5 0倍、5 0 ~ 7 5倍、7 5 ~ 1 0 0倍、1 0 0 ~ 1 5 0倍、1 5 0 ~ 2 0 0倍、2 0 0 ~ 2 5 0倍、2 5 0 ~ 3 0 0倍、3 0 0 ~ 4 0 0倍、4 0 0 ~ 5 0 0倍、5 0 0 ~ 7 5 0倍、7 5 0 ~ 1 0 0 0倍低いか、または検出できない場合、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有する可能性がある。

【0106】

一実施形態では、個体は、P B M Cサンプル中のH s p A 1 Aおよび/またはH s p A 1 Bのレベルが健康対照で見られるレベルよりも1 ~ 1 0 0 0倍低い場合、例えば、健康な対照で見られるレベルより、1 ~ 2倍、2 ~ 3倍、3 ~ 4倍、4 ~ 5倍、5 ~ 6倍、6 ~ 7倍、7 ~ 8倍、8 ~ 9倍、9 ~ 1 0倍、1 0 ~ 1 1倍、1 1 ~ 1 2倍、1 2 ~ 1 3倍、1 3 ~ 1 4倍、1 4 ~ 1 5倍、1 5 ~ 1 6倍、1 6 ~ 1 7倍、1 7 ~ 1 8倍、1 8 ~ 1 9倍、1 9 ~ 2 0倍、2 0 ~ 2 5倍、2 5 ~ 3 0倍、3 0 ~ 3 5倍、3 5 ~ 4 0倍、4 0 ~ 4 5倍、4 5 ~ 5 0倍、5 0 ~ 7 5倍、7 5 ~ 1 0 0倍、1 0 0 ~ 1 5 0倍、1 5 0 ~ 2 0 0倍、2 0 0 ~ 2 5 0倍、2 5 0 ~ 3 0 0倍、3 0 0 ~ 4 0 0倍、4 0 0 ~ 5 0 0倍、5 0 0 ~ 7 5 0倍、7 5 0 ~ 1 0 0 0倍低いか、または検出できない場合、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有する可能性がある。

【0107】

一実施形態では、「検出できない」は、ベースラインノイズを超える信号がないなど、信号が観察されないことを意味する。一実施形態では、「検出できない」は、H s p 7 0のレベルがP B M Cサンプル中で検出できないことを意味する。

【0108】

一実施形態では、d) 低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有するか、または有する可能性があるとして個体を分類するかまたは決定するステップは、P B M Cサンプル中のH s p 7 0の量が所定のカットオフ値を下回るかまたは検出できないかを決定することを含む。

【0109】

H s p 7 0の量が上記のカットオフ値未満である場合、その個体は、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有するか、または有する可能性がある。H s p 7 0の量が上

10

20

30

40

50

記のカットオフ値以上である場合、その個体は、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有しない、または有する可能性がない。

【 0 1 1 0 】

一実施形態では、d) 低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有しないか、または有する可能性がないとして個体を分類するかまたは決定するステップは、P B M C サンプル中のH s p 7 0の量が所定のカットオフ値以上であるかを決定することを含む。

【 0 1 1 1 】

上記のカットオフ値は、健康な対照での値に基づいて決定され、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有する個体での値と比較される。

【 0 1 1 2 】

一実施形態では、カットオフ値は、ニーマンピック病C型などのニーマンピック病などの、L S Dを有する患者での値と比較した健康な対照での値に基づいて決定される。

【 0 1 1 3 】

5 0 0 0 p g / m L P B M CのH s p 7 0のカットオフ値は、5 0 0 0 p g / m L H s p 7 0以下の値が、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有するか、または有する可能性がある個体を示す。

【 0 1 1 4 】

一実施形態では、個体は、P B M C サンプル中のH s p 7 0の量が、7 5 0 0 p g / m L 以下、7 0 0 0 p g / m L 以下など、6 5 0 0 p g / m L 以下など、6 0 0 0 p g / m L 以下など、5 5 0 0 p g / m L 以下など、5 0 0 0 p g / m L 以下など、4 5 0 0 p g / m L 以下など、4 0 0 0 p g / m L 以下など、3 5 0 0 p g / m L 以下など、3 0 0 0 p g / m L 以下など、2 5 0 0 p g / m L 以下など、2 0 0 0 p g / m L 以下など、1 5 0 0 p g / m L 以下など、1 0 0 0 p g / m L P B M C 以下などである場合、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有するか、または有する可能性がある。

【 0 1 1 5 】

一実施形態では、個体は、P B M C サンプル中のH s p A 1 A および / またはH s p A 1 B の量が、7 5 0 0 p g / m L 以下、7 0 0 0 p g / m L 以下など、6 5 0 0 p g / m L 以下など、6 0 0 0 p g / m L 以下など、5 5 0 0 p g / m L 以下など、5 0 0 0 p g / m L 以下など、4 5 0 0 p g / m L 以下など、4 0 0 0 p g / m L 以下など、3 5 0 0 p g / m L 以下など、3 0 0 0 p g / m L 以下など、2 5 0 0 p g / m L 以下など、2 0 0 0 p g / m L 以下など、1 5 0 0 p g / m L 以下など、1 0 0 0 p g / m L P B M C 以下などである場合、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有するか、または有する可能性がある。

【 0 1 1 6 】

逆に、個体は、P B M C サンプル中のH s p 7 0の量が、5 0 0 0 p g / m L 超、5 5 0 0 p g / m L 超など、6 0 0 0 p g / m L 超など、6 5 0 0 p g / m L 超など、7 0 0 0 p g / m L 超など、7 5 0 0 p g / m L 超など、8 0 0 0 p g / m L 超など、8 5 0 0 p g / m L 超など、9 0 0 0 p g / m L 超など、9 5 0 0 p g / m L 超など、1 0 0 0 0 p g / m L 超など、1 0 5 0 0 p g / m L 超など、1 1 0 0 0 p g / m L 超など、1 1 5 0 0 p g / m L 超など、1 2 0 0 0 p g / m L 超など、1 2 5 0 0 p g / m L 超のP B M C などである場合、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有しない、または有する可能性がないものと分類される。

【 0 1 1 7 】

一実施形態では、個体は、P B M C サンプル中のH s p A 1 A および / またはH s p A 1 B の量が、5 0 0 0 p g / m L 超、5 5 0 0 p g / m L 超など、6 0 0 0 p g / m L 超など、6 5 0 0 p g / m L 超など、7 0 0 0 p g / m L 超など、7 5 0 0 p g / m L 超など、8 0 0 0 p g / m L 超など、8 5 0 0 p g / m L 超など、9 0 0 0 p g / m L 超など、9 5 0 0 p g / m L 超など、1 0 0 0 0 p g / m L 超など、1 0 5 0 0 p g / m L 超など、1 1 0 0 0 p g / m L 超など、1 1 5 0 0 p g / m L 超など、1 2 0 0 0 p g / m L 超など、1 2 5 0 0 p g / m L 超のP B M C などである場合、低下されたレベルのH s p

10

20

30

40

50

70を呈する疾患を有しない、または有する可能性がないものと分類される。

【0118】

さらに、個体は、PBMCSAMPLE中のHsp70の量が検出できない場合、低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を有するか、または有する可能性があるかと分類される。

【0119】

診断は、当技術分野において公知である方法を使用して、または本明細書に開示される診断方法を繰り返すことによって確認できる。

【0120】

一実施形態では、本方法は、対象が低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を有するか、または有するリスクがあるかどうかに基づいて、治療法を適用すること、維持すること、低減させること、上昇させること、または適用しないことをさらに含む。

【0121】

一実施形態では、個体において低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を診断するための方法は、e)低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を治療するための治療法を、低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を有すると診断された患者に施すステップを含む。

診断および治療方法

【0122】

個体において低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を診断し、治療するための方法を提供することもまた本開示の一態様であり、本方法は、

- a) 個体からのPBMCSAMPLEを提供するステップと、
 - b) PBMCSAMPLE中のHsp70を検出するステップと、
 - c) PBMCSAMPLE中のHsp70のレベルを定量化するかまたは決定するステップと、
 - d) 個体が低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を有しているか、または有する可能性があるかを分類するかまたは決定するステップと、
 - e) 個体へ低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を治療するための治療法を施すステップ、
- を含む。

【0123】

一実施形態では、e) 個体へ低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を治療するための治療法を施すステップは、その個体に有効量の生物活性剤を投与することを含み、生物活性剤は、低下されたレベルのHsp70を呈する疾患に対し有効である。

【0124】

低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を有する個体を治療する方法を提供することも本開示の一態様であり、本方法は、その個体に低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を治療するための治療法を施すことを含み、個体は、

- a) 個体からのPBMCSAMPLEを提供するステップと、
 - b) PBMCSAMPLE中のHsp70を検出するステップと、
 - c) PBMCSAMPLE中のHsp70のレベルを定量化するかまたは決定するステップと、
 - d) 個体が低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を有しているか、または有する可能性があるかを分類するかまたは決定するステップ、
- を含む方法により低下されたレベルのHsp70を呈する疾患と診断される。

【0125】

低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を治療するための治療法および同じ目的のための生物活性剤は、本明細書の他の場所に開示され、低下されたレベルのHsp70に関連する障害のための治療の上記方法および治療法に含まれる。

【0126】

一実施形態では、個体において低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を診断し、治療するための方法は、本明細書の他の場所で指定されるとおり、リソソーム蓄積症、神経変性疾患、神経筋障害、筋ジストロフィー、または炎症性筋障害からなる群から選択される疾患を診断し、治療することを含む。

【0127】

一実施形態では、リソソーム蓄積症は、スフィンゴリビドース；ムコ多糖症；グリコーゲン貯蔵障害；糖タンパク質代謝障害（糖タンパク代謝異常症）；およびムコリビドースなどの脂質貯蔵障害、ならびに本明細書の他の場所で指定されるその任意のサブタイプからなる群から選択される。一実施形態では、リソソーム蓄積症は、NPCなどのニーマンピック病である。

患者を選択する方法

【0128】

本発明の方法は、PBMCサンプル中のH s p 7 0の検出、および低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有する個体の診断または同定を可能にする。

【0129】

多数の疾患は、多数の生物学的、分子的、病理学的変化の1つとして、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する。低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有する患者、または有意にもしくは著しく低下されたレベルのH s p 7 0を呈するまたは共に呈するなどの、低下されたレベルのH s p 7 0を共に呈する疾患を有する患者のサブセットを容易に特定できることは、非常に有用であろう。

【0130】

低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有する患者、または低下されたレベルのH s p 7 0を共に呈する疾患を有する患者のサブセットの同定は、H s p 7 0を含む、熱ショックタンパク質の細胞内濃度および/または活性を増加させる生物活性剤に応答する、または応答する可能性のある患者を選択するために適用できる。

【0131】

したがって、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有する患者を選択するための方法を提供することは一態様であり、この方法は、

- a) 患者からのPBMCサンプルを提供するステップと、
 - b) PBMCサンプル中のH s p 7 0を検出するステップと、
 - c) PBMCサンプル中のH s p 7 0のレベルを定量化するかまたは決定するステップと、
 - d) 患者が低下されたレベルのH s p 7 0を有するかを分類するかまたは決定するステップ、
- を含む。

【0132】

一実施形態では、H s p 7 0のレベルを検出し、定量化すること、または決定することは、

- i) H s p A 1 A、
- ii) H s p A 1 B、または
- iii) H s p A 1 AおよびH s p A 1 B

のレベルを検出し、定量化すること、または決定することを含む。

【0133】

一実施形態では、患者が低下されたレベルのH s p 7 0を有するかを分類するかまたは決定するステップは、本明細書の他の場所で指定されるとおり、対照と比較して、患者が低下されたレベルのH s p 7 0を有するかを分類するかまたは決定するステップを含む。

【0134】

一実施形態では、患者は、健康な対照でのレベルと比較して、PBMCサンプル中のH s p A 1 Aおよび/またはH s p A 1 Aなどの、減少されたまたは検出できないレベルの

10

20

30

40

50

H s p 7 0 が決定される場合、低下されたレベルの H s p 7 0 を有する。

【 0 1 3 5 】

一実施形態では、患者が低下されたレベルの H s p 7 0 を有するかを分類するかまたは決定するステップは、低下されたレベルの H s p 7 0 を有する患者を特定するステップを含む。

【 0 1 3 6 】

一実施形態では、ステップ d) 患者が低下されたレベルの H s p 7 0 を有するかを分類するかまたは決定するステップは、健康な対照から得られた、または得ることができる P B M C サンプル中のレベルと比較して、P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを決定することを含む。本明細書の文脈における健康な対照は、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有しないか、または有する疑いがない個体である。好ましくは、健康な対照はまた、任意の他の明らかな疾患を呈さない。

10

【 0 1 3 7 】

一実施形態では、d) 患者が低下されたレベルの H s p 7 0 を有するかを分類するかまたは決定するステップは、同じ基礎疾患を呈するが、付随する低下されたレベルの H s p 7 0 を有しない患者から得られた、または得ることができる P B M C サンプル中のレベルと比較して、P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを決定することを含む。

【 0 1 3 8 】

一実施形態では、低下されたレベルの H s p 7 0 を有する患者を選択するための方法が提供され、本患者は基礎疾患を有し、本方法は、

20

- a) 患者からの P B M C サンプルを提供するステップと、
 - b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
 - c) P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップと、
 - d) 同じ基礎疾患を呈する他の患者と比較して、患者が、低下されたレベルの H s p 7 0 を有するかを分類するかまたは決定するステップ、
- を含む。

【 0 1 3 9 】

一実施形態では、低下されたレベルの H s p 7 0 を有するとして、リソソーム蓄積障害、神経変性障害、神経筋障害、筋ジストロフィー、および炎症性筋障害からなる群から選択される疾患を有する患者を選択するかまたは特定するための方法が提供され、本方法は

30

- a) 患者からの P B M C サンプルを提供するステップと、
 - b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
 - c) P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップと、
 - d) 患者が低下されたレベルの H s p 7 0 を有するかを分類するかまたは決定するステップ、
- を含む。

【 0 1 4 0 】

一実施形態では、低下されたレベルの H s p 7 0 を有するとしてニーマンピック病 (N P C など) を有する患者を選択するかまたは特定するための方法が提供され、本方法は、

40

- a) 患者からの P B M C サンプルを提供するステップと、
 - b) P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出するステップと、
 - c) P B M C サンプル中の H s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップと、
 - d) 患者が低下されたレベルの H s p 7 0 を有するかを分類するかまたは決定するステップ、
- を含む。

【 0 1 4 1 】

50

一実施形態では、患者は、P B M C サンプル中の H s p 7 0 (一実施形態では H s p A 1 A および / または H s p A 1 B) のレベルが健康な対照で見られるレベルよりも 1 ~ 1 0 0 0 倍低い場合、例えば、健康な対照で見られるレベルより、1 ~ 2 倍、2 ~ 3 倍、3 ~ 4 倍、4 ~ 5 倍、5 ~ 6 倍、6 ~ 7 倍、7 ~ 8 倍、8 ~ 9 倍、9 ~ 1 0 倍、1 0 ~ 1 1 倍、1 1 ~ 1 2 倍、1 2 ~ 1 3 倍、1 3 ~ 1 4 倍、1 4 ~ 1 5 倍、1 5 ~ 1 6 倍、1 6 ~ 1 7 倍、1 7 ~ 1 8 倍、1 8 ~ 1 9 倍、1 9 ~ 2 0 倍、2 0 ~ 2 5 倍、2 5 ~ 3 0 倍、3 0 ~ 3 5 倍、3 5 ~ 4 0 倍、4 0 ~ 4 5 倍、4 5 ~ 5 0 倍、5 0 ~ 7 5 倍、7 5 ~ 1 0 0 倍、1 0 0 ~ 1 5 0 倍、1 5 0 ~ 2 0 0 倍、2 0 0 ~ 2 5 0 倍、2 5 0 ~ 3 0 0 倍、3 0 0 ~ 4 0 0 倍、4 0 0 ~ 5 0 0 倍、5 0 0 ~ 7 5 0 倍、7 5 0 ~ 1 0 0 0 倍低いか、または検出できない場合、低下されたレベルの H s p 7 0 を有する。

10

【 0 1 4 2 】

一実施形態では、d) 患者が低下されたレベルの H s p 7 0 を有するかを分類するかまたは決定するステップは、P B M C サンプル中の H s p 7 0 (一実施形態では H s p A 1 A および / または H s p A 1 B) の量が、所定のカットオフ値未満であるか、または検出できないかを決定することを含む。

【 0 1 4 3 】

H s p 7 0 の量が上記のカットオフ値未満である場合、患者は、低下されたレベルの H s p 7 0 を有し、H s p 7 0 を含む、熱ショックタンパク質の細胞内濃度および / または活性を増加させる生物活性剤を含む H s p 7 0 治療法に応答する可能性があるか、または可能性が高い。H s p 7 0 の量が上記のカットオフ値以上である場合、患者は、低下されたレベルの H s p 7 0 を有さず、H s p 7 0 を含む、熱ショックタンパク質の細胞内濃度および / または活性を増加させる生物活性剤を含む H s p 7 0 治療法に応答する可能性が低いか、または可能性がない。

20

【 0 1 4 4 】

一実施形態では、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する患者は、P B M C サンプル中の H s p 7 0 (一実施形態では H s p A 1 A および / または H s p A 1 B) の量が、7 5 0 0 p g / m L 以下、7 0 0 0 p g / m L 以下など、6 5 0 0 p g / m L 以下など、6 0 0 0 p g / m L 以下など、5 5 0 0 p g / m L 以下など、5 0 0 0 p g / m L 以下など、4 5 0 0 p g / m L 以下など、4 0 0 0 p g / m L 以下など、3 5 0 0 p g / m L 以下など、3 0 0 0 p g / m L 以下など、2 5 0 0 p g / m L 以下など、2 0 0 0 p g / m L 以下など、1 5 0 0 p g / m L 以下など、1 0 0 0 p g / m L P B M C 以下などである場合、H s p 7 0 治療法に応答する可能性があるか、またはその可能性が高い。

30

【 0 1 4 5 】

逆に、一実施形態では、患者は、P B M C サンプル中の H s p 7 0 (一実施形態では H s p A 1 A および / または H s p A 1 B) の量が、5 0 0 0 p g / m L 超、5 5 0 0 p g / m L 超など、6 0 0 0 p g / m L 超など、6 5 0 0 p g / m L 超など、7 0 0 0 p g / m L 超など、7 5 0 0 p g / m L 超など、8 0 0 0 p g / m L 超など、8 5 0 0 p g / m L 超など、9 0 0 0 p g / m L 超など、9 5 0 0 p g / m L 超など、1 0 0 0 0 p g / m L 超など、1 0 5 0 0 p g / m L 超など、1 1 0 0 0 p g / m L 超など、1 1 5 0 0 p g / m L 超など、1 2 0 0 0 p g / m L 超など、1 2 5 0 0 p g / m L 超の P B M C などである場合、H s p 7 0 の治療法に対して応答する可能性が低いか、または可能性がない。

40

【 0 1 4 6 】

一実施形態では、低下されたレベルの H s p 7 0 を有する患者を特定するステップは、H s p 7 0 を含む、熱ショックタンパク質の細胞内濃度および / または活性を増加させる生物活性剤を含む H s p 7 0 治療法などの、患者に低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を治療するための治療法を施すために、患者の適格性を決定するステップを含む。

【 0 1 4 7 】

一実施形態では、患者を選択するための方法は、e) 個体に低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を治療するための治療法を施すステップをさらに含む。

【 0 1 4 8 】

50

一実施形態では、個体に低下されたレベルのH s p 7 を呈する疾患を治療するための治療法を施すことは、本明細書の他の場所で指定されるとおり、H s p 7 0 誘導物質またはH s p 7 0 タンパク質などの、H s p 7 0 を含む熱ショックタンパク質の細胞内濃度および/または活性を増加させる生物活性剤を投与することを含む。

疾患の進行の監視

【0149】

本明細書に開示の方法はまた、低下されたレベルのH s p 7 0 を呈する疾患の疾患進行を監視するために有用である。

【0150】

したがって、低下されたレベルのH s p 7 0 を呈する疾患を有する個体において、疾患進行を監視するための方法を提供することは一態様であり、この方法は、

- a) 2 つ以上のその後の時点で、個体からの1 つ以上のP B M C サンプルを提供するステップと、
 - b) 上記のP B M C サンプルの各々中でH s p 7 0 を検出するステップと、
 - c) P B M C サンプルの各々中のH s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップ、
- を含む。

【0151】

一実施形態では、H s p 7 0 を検出することは、H s p A 1 A および/またはH s p A 1 B を検出することを含む。

【0152】

一実施形態では、P B M C サンプルの各々中に存在するH s p 7 0 のレベルは、疾患の進行または疾患の寛解を示す。

【0153】

a) 個体から1 つ以上のP B M C サンプルを提供するステップ、b) P B M C サンプル中のH s p 7 0 を検出するステップ、およびc) P B M C サンプル中のH s p 7 0 のレベルを定量化するかまたは決定するステップはそれぞれ、本開示に従って実施され、本明細書の他の場所で指定され得ることが理解される。

【0154】

一実施形態では、疾患の進行を監視するための方法は、d) 低下されたレベルのH s p 7 0 を呈する疾患が進行中であるか寛解中であるかを決定するさらなるステップを含む。

【0155】

一実施形態では、ステップd) は、 $t = 0$ などの、より早い時間にP B M C サンプル中に存在するH s p 7 0 のレベルを決定すること、および $t > 0$ などの、より遅い時間にP B M C サンプル中に存在するH s p 7 0 のレベルを決定することを含む。

【0156】

一実施形態では、第1のサンプルは、 $t = 0$ (より早い時間) で採取され、1 つ以上のその後のサンプルは、 $t > 0$ での1 つ以上のその後の時点(その後のサンプル)で採取される。一実施形態では、P B M C サンプルは、特定の間隔で連続的に採取される。

【0157】

一実施形態では、1 つ以上のその後のサンプルは、 $t = 0$ および $t = 0$ 後の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10またはそれより多い時点で採取されたP B M C サンプルを含む。

【0158】

一実施形態では、1 つ以上のその後のサンプルは、 $t = 1$ 日、 $t = 2$ 日、 $t = 3$ 日、 $t = 4$ 日、 $t = 5$ 日、 $t = 6$ 日、 $t = 7$ 日、 $t = 14$ 日、 $t = 3$ 週間、 $t = 4$ 週間、 $t = 5$ 週間、 $t = 6$ 週間、 $t = 7$ 週間、 $t = 8$ 週間、 $t = 1$ ヶ月、 $t = 2$ ヶ月、 $t = 3$ ヶ月、 $t = 4$ ヶ月、 $t = 5$ ヶ月、 $t = 6$ ヶ月、 $t = 7$ ヶ月、 $t = 8$ ヶ月、 $t = 9$ ヶ月、 $t = 10$ ヶ月、 $t = 11$ ヶ月、 $t = 12$ ヶ月、 $t = 13$ ヶ月、 $t = 14$ ヶ月、 $t = 15$ ヶ月、 $t = 16$ ヶ月、 $t = 17$ ヶ月、 $t = 18$ ヶ月、 $t = 20$ ヶ月、 $t = 22$ ヶ月および/または $t =$

10

20

30

40

50

24ヶ月の1つ以上で採取される。

【0159】

一実施形態では、1つ以上のその後のサンプルは、1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、14日、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、10ヶ月、11ヶ月、および/または12ヶ月の間隔で採取される。1ヶ月の間隔は、その後のサンプルが1ヶ月ごとに採取されることを意味する。

【0160】

一実施形態では、経時的なHs p 70のレベルの減少は、疾患の進行を示す。

【0161】

一実施形態では、経時的なHs p 70のレベルの増加は、疾患の寛解を示す。

【0162】

一実施形態では、本方法は、疾患の進行を示す、Hs p 70のレベルがその後のサンプル(複数可)においてより低いかを決定すること、かつ/または疾患の寛解を示す、Hs p 70のレベルがその後のサンプル(複数可)でより高いかを決定することを含む。

【0163】

一実施形態では、 $t = 0$ において、および1~1000倍の $t > 0$ での1つ以上の時点において測定される経時的なHs p 70のレベルの減少は、Hs p 70のレベルが1~2倍、2~3倍、3~4倍、4~5倍、5~6倍、6~7倍、7~8倍、8~9倍、9~10倍、10~11倍、11~12倍、12~13倍、13~14倍、14~15倍、15~16倍、16~17倍、17~18倍、18~19倍、19~20倍、20~25倍、25~30倍、30~35倍、35~40倍、40~45倍、45~50倍、50~60倍、60~70倍、70~80倍、80~90倍、90~100倍、100~150倍、150~200倍、200~250倍、250~300倍、300~400倍、400~500倍、500~600倍、600~700倍、700~800倍減少するなど、Hs p 70のレベルが900~1000倍減少するなど、疾患の進行を示す。

【0164】

一実施形態では、 $t = 0$ において、および1~1000倍の $t > 0$ での1つ以上の時点において測定される経時的なHs p 70のレベルの減少は、Hs p 70のレベルが1~2倍、2~3倍、3~4倍、4~5倍、5~6倍、6~7倍、7~8倍、8~9倍、9~10倍、10~11倍、11~12倍、12~13倍、13~14倍、14~15倍、15~16倍、16~17倍、17~18倍、18~19倍、19~20倍、20~25倍、25~30倍、30~35倍、35~40倍、40~45倍、45~50倍、50~60倍、60~70倍、70~80倍、80~90倍、90~100倍、100~150倍、150~200倍、200~250倍、250~300倍、300~400倍、400~500倍、500~600倍、600~700倍、700~800倍増加するなど、Hs p 70のレベルが900~1000倍増加するなど、疾患の寛解を示す。

【0165】

一実施形態では、500~750 pg/mLなど、750~1000 pg/mLなど、1000~1500 pg/mLなど、1500~2000 pg/mLなど、2000~3000 pg/mLなど、3000~4000 pg/mLなど、4000~5000 pg/mLなど、5000~7500 pg/mLなど、7500~10000 pg/mLなど、10000~12500 pg/mLなど、12500~15000 pg/mLなど、15000~20000 pg/mL PBMCなどの、500~20000 pg/mLのPBMCの $t = 0$ および $t = 6$ ヶ月(約)で測定される経時的なHs p 70のレベルの減少は、疾患の進行を示す。

【0166】

一実施形態では、低下されたレベルのHs p 70を呈する疾患を有する個体における疾患進行を監視するための方法は、本明細書の他の場所で指定されるとおり、リソソーム蓄積症、神経変性疾患、神経筋障害、筋ジストロフィーまたは炎症性筋障害からなる群から

10

20

30

40

50

選択される疾患を有する個体における疾患進行を監視することを含む。

【0167】

一実施形態では、リソソーム蓄積症は、スフィンゴリピドース；ムコ多糖症；グリコーゲン貯蔵障害；糖タンパク質代謝障害（糖タンパク代謝異常症）；およびムコリピドースなどの脂質貯蔵障害、ならびに本明細書の他の場所で指定されるその任意のサブタイプからなる群から選択される。一実施形態では、リソソーム蓄積症は、NPCなどのニーマンピック病である。

治療法の有効性の監視

【0168】

本明細書に開示される方法はまた、低下されたレベルのHsp70を呈する疾患の治療または潜在的な治療の有効性を監視するために有用である。

【0169】

低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を有する個体において低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を治療するための治療法の有効性を監視するための方法を提供することはしたがって、本開示の一態様であり、本方法は、

a) 治療法が適用されるか、維持されるか、減少されるか、または上昇される前、その間、および/またはその後、個体からの1つ以上のPBMCサンプルを提供するステップと、

b) 1つ以上のPBMCサンプルの各々中のHsp70を検出するステップと、

c) 1つ以上のPBMCサンプルの各々中のHsp70のレベルを定量化するかまたは決定するステップ、を含む。

【0170】

一実施形態では、Hsp70を検出することは、HspA1Aおよび/またはHspA1Bを検出することを含む。

【0171】

一実施形態では、PBMCサンプルの各々中に存在するHsp70のレベルは、低下されたレベルのHsp70を呈する疾患に対する治療法の有効性を示す。

【0172】

a) 個体から1つ以上のPBMCサンプルを提供するステップ、b) PBMCサンプル中のHsp70を検出するステップ、およびc) PBMCサンプル中のHsp70のレベルを定量化するかまたは決定するステップは、それぞれ、本開示に従って実施され、本明細書の他の場所で指定され得ることが理解される。

【0173】

一実施形態では、低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を治療するための治療法の有効性を監視するための方法は、d) 低下されたレベルのHsp70を呈する疾患の治療法の有効性を監視するさらなるステップを含む。

【0174】

一実施形態では、ステップd)は、治療法が適用されるか、維持されるか、減少されるか、または上昇される前に、PBMCサンプル中に存在するHsp70のレベルを決定することを含む。

【0175】

一実施形態では、ステップd)は、治療法中にPBMCサンプル中に存在するHsp70のレベルを決定することを含む。

【0176】

一実施形態では、ステップd)は、治療法が適用されたか、維持されたか、減少されたか、または上昇された後に、PBMCサンプル中に存在するHsp70のレベルを決定することを含む。

【0177】

一実施形態では、ステップd)は、i) 治療法が適用されるか、維持されるか、減少さ

10

20

30

40

50

れるか、または上昇される前に、P B M C サンプル中に存在する H s p 7 0 のレベルを決定することと； i i) 治療法中に P B M C サンプル中に存在する H s p 7 0 のレベルを決定することと、 i i i) 治療法が適用されたか、維持されたか、減少されたか、または上昇された後に、P B M C サンプル中に存在する H s p 7 0 のレベルを決定することの 1 つ以上を含む。

【 0 1 7 8 】

一実施形態では、治療法が適用されたか、維持されたか、減少されたか、または上昇された後の H s p 7 0 のレベルの増加は、治療法が有効であることを示す。

【 0 1 7 9 】

一実施形態では、治療法が適用されたか、維持されたか、減少されたか、または上昇された後の H s p 7 0 のレベルの減少は、治療法が有効でないことを示す。

10

【 0 1 8 0 】

一実施形態では、本方法は、治療法が有効であることを示す、治療法が適用されたか、維持されたか、減少されたか、または上昇された後に H s p 7 0 のレベルがより高いかを決定する 1 つ以上のステップ、および / または治療が有効でないことを示す、治療法が適用されたか、維持されたか、減少されたか、または上昇された後に H s p 7 0 のレベルが低いかを決定する 1 つ以上のステップを含む。

【 0 1 8 1 】

治療法が適用されたか、維持されたか、減少されたか、または上昇された後の H s p 7 0 のレベルの 1 ~ 1 0 0 0 倍の増加、例えば、1 ~ 2 倍、2 ~ 3 倍、3 ~ 4 倍、4 ~ 5 倍、5 ~ 6 倍、6 ~ 7 倍、7 ~ 8 倍、8 ~ 9 倍、9 ~ 1 0 倍、1 0 ~ 1 1 倍、1 1 ~ 1 2 倍、1 2 ~ 1 3 倍、1 3 ~ 1 4 倍、1 4 ~ 1 5 倍、1 5 ~ 1 6 倍、1 6 ~ 1 7 倍、1 7 ~ 1 8 倍、1 8 ~ 1 9 倍、1 9 ~ 2 0 倍、2 0 ~ 2 5 倍、2 5 ~ 3 0 倍、3 0 ~ 3 5 倍、3 5 ~ 4 0 倍、4 0 ~ 4 5 倍、4 5 ~ 5 0 倍、5 0 ~ 6 0 倍、6 0 ~ 7 0 倍、7 0 ~ 8 0 倍、8 0 ~ 9 0 倍、9 0 ~ 1 0 0 倍、1 0 0 ~ 1 5 0 倍、1 5 0 ~ 2 0 0 倍、2 0 0 ~ 2 5 0 倍、2 5 0 ~ 3 0 0 倍、3 0 0 ~ 4 0 0 倍、4 0 0 ~ 5 0 0 倍、5 0 0 ~ 6 0 0 倍、6 0 0 ~ 7 0 0 倍、7 0 0 ~ 8 0 0 倍、9 0 0 ~ 1 0 0 0 倍の増加などは、治療が有効であることを示す。

20

【 0 1 8 2 】

治療法が適用されたか、維持されたか、減少されたか、または上昇された後の H s p 7 0 のレベルの 1 ~ 1 0 0 0 倍の減少、例えば、1 ~ 2 倍、2 ~ 3 倍、3 ~ 4 倍、4 ~ 5 倍、5 ~ 6 倍、6 ~ 7 倍、7 ~ 8 倍、8 ~ 9 倍、9 ~ 1 0 倍、1 0 ~ 1 1 倍、1 1 ~ 1 2 倍、1 2 ~ 1 3 倍、1 3 ~ 1 4 倍、1 4 ~ 1 5 倍、1 5 ~ 1 6 倍、1 6 ~ 1 7 倍、1 7 ~ 1 8 倍、1 8 ~ 1 9 倍、1 9 ~ 2 0 倍、2 0 ~ 2 5 倍、2 5 ~ 3 0 倍、3 0 ~ 3 5 倍、3 5 ~ 4 0 倍、4 0 ~ 4 5 倍、4 5 ~ 5 0 倍、5 0 ~ 6 0 倍、6 0 ~ 7 0 倍、7 0 ~ 8 0 倍、8 0 ~ 9 0 倍、9 0 ~ 1 0 0 倍、1 0 0 ~ 1 5 0 倍、1 5 0 ~ 2 0 0 倍、2 0 0 ~ 2 5 0 倍、2 5 0 ~ 3 0 0 倍、3 0 0 ~ 4 0 0 倍、4 0 0 ~ 5 0 0 倍、5 0 0 ~ 6 0 0 倍、6 0 0 ~ 7 0 0 倍、7 0 0 ~ 8 0 0 倍、9 0 0 ~ 1 0 0 0 倍の減少などは、治療が有効でないことを示す。

30

【 0 1 8 3 】

一実施形態では、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体において低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を治療するための治療法の有効性を監視するための方法は、本明細書の他の場所で指定されるとおり、リソソーム蓄積症、神経変性疾患、神経筋障害、筋ジストロフィーまたは炎症性筋障害からなる群から選択される疾患を有する個体において治療のための治療法の有効性を監視することを含む。

40

【 0 1 8 4 】

一実施形態では、リソソーム蓄積症は、スフィンゴリピドース；ムコ多糖症；グリコーゲン貯蔵障害；糖タンパク質代謝障害（糖タンパク代謝異常症）；およびムコリピドースなどの脂質貯蔵障害、ならびに本明細書の他の場所で指定されているその任意のサブタイプからなる群から選択される。一実施形態では、リソソーム蓄積症は、N P C などのニー

50

マンピック病である。

【 0 1 8 5 】

低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を治療するための治療法および同じ目的のための生物活性剤は、本明細書の他の場所に開示され、治療法の有効性を監視する上記の方法に含まれる。

サンプル

【 0 1 8 6 】

本明細書に開示の方法は、個体由来の末梢血単核細胞 (P B M C) サンプルの提供を含む。

【 0 1 8 7 】

本開示のサンプルは、個体、好ましくはヒトから得られるかまたは得ることができることが理解される。一実施形態では、 P B M C サンプルは、個体から得られるか、または個体から得ることができる。

【 0 1 8 8 】

末梢血単核細胞 (P B M C) は、丸核を有する任意の末梢血細胞であり、これらの細胞は、リンパ球 (T 細胞、 B 細胞、 N K 細胞)、単球および樹状細胞から構成される。対照的に、赤血球および血小板は、核がなく、顆粒球 (好中球、好塩基球、および好酸球) は、多葉性核を有する。

【 0 1 8 9 】

したがって、一実施形態では、 P B M C サンプルは、丸核を有する末梢血単核細胞を含むサンプルである。一実施形態では、 P B M C サンプルは、リンパ球 (T 細胞、 B 細胞、 N K 細胞)、単球および / または樹状細胞を含むサンプルである。

【 0 1 9 0 】

本明細書で定義される個体由来の P B M C サンプルは、一実施形態では、主に P B M C を含むサンプルである。一実施形態では、 P B M C サンプルは、全血から抽出された P B M C を含むサンプルである。一実施形態では、 P B M C サンプルは、全血の P B M C 成分を含むか、または本質的にそれからなるサンプルである。

【 0 1 9 1 】

P B M C は、フィコール (血液の層を分離する親水性多糖類)、および勾配遠心分離を用いて全血から抽出でき、勾配遠心分離は血液を、血漿の最上層に、次いで P B M C の層および多形核細胞 (好中球および好酸球など) ならびに赤血球の最下分画に分離する。多形核細胞は、赤血球を溶解することによってさらに単離できる。好塩基球は、密度の高い画分および P B M C 画分の両方で見られることがある。

【 0 1 9 2 】

ヒトの免疫系研究のために末梢全血を採取する場合、それは多くの場合、密度勾配遠心分離により赤血球を除去するために処理される。最も一般的には、この方法は、高分子量のショ糖ポリマー溶液である F i c o l l P a q u e を使用する。フィコールは、全血を 1 . 0 7 7 g / m l の密度の上と下の 2 つの画分に分離する。

【 0 1 9 3 】

末梢血単核細胞 (P B M C) は、フィコール層の密度の低い上部界面にとどまる免疫細胞の集団であり、パフィーコートと呼ばれることが多く、フィコール分画法を使用する場合に収集される細胞である。赤血球 (e r y t h r o c y t e) (赤血球 (r e d b l o o d c e l l)) および好中球と好酸球を含む多形核細胞 (P M N) は、 1 . 0 7 7 g / m l よりも密度が高いため、通常、この分画中に除去される。しかし、好塩基球は 1 . 0 7 7 g / m l よりも密度が高い場合も低い場合もあり、したがって密度の低い P B M C 画分にわずかに存在する可能性がある。

【 0 1 9 4 】

P B M C の典型的な組成は、 P B M C の 7 0 ~ 9 0 % の範囲のリンパ球 (T 細胞、 B 細胞、および N K 細胞)、 P B M C の 1 0 ~ 3 0 % の範囲の単球を含み、樹状細胞は、まれであり、わずかに P B M C の 1 ~ 2 % である。いくつかの実施形態におけるリンパ球集団

10

20

30

40

50

内の細胞型の頻度は、70～85%のCD3+T細胞(PBMCの45～70%)、5～20%のB細胞(PBMCの最大15%)、および5～20%のNK細胞(PBMCの最大15%)を含み得る。

【0195】

CD3+区画は、ほぼ2:1の比で、CD4(PBMCの25～60%)およびCD8 T細胞(PBMCの5～30%)から構成される。CD4およびCD8 T細胞の両方は、ナイーブな、および休止状態または活性化状態で存在する、抗原経験のあるセントラルメモリー、エフェクターメモリー、およびエフェクターサブタイプにさらにサブセット化できる。複数のマーカーを使用して、これらの区画を様々な類似性に同定でき、したがって様々なマーカーを使用して報告される頻度は異なる場合がある。

10

【0196】

CD4 T細胞は、ヘルパーT細胞として公知であり、さらに、特定のサイトカイン、表面マーカー、または転写因子の発現プロファイルに基づいて、様々な機能サブタイプに分類できる。これらは、制御性T細胞、TH1、TH2、およびTH17細胞、ならびにTH9、濾胞ヘルパー、およびTR1タイプなどの他の記載された亜集団を含む。細胞傷害性CD8 T細胞区画は、マーカーの発現および機能において非常に不均一であることが示されており、約200の機能的表現型で構成され得る。

【0197】

循環するB細胞は、移行型、ナイーブ型、記憶型のサブタイプ、および形質細胞を含み、これらはすべて、末梢血中の様々な集団で見ることができる。循環樹状細胞は、形質細胞様樹状細胞および骨髓由来樹状細胞を含む。循環単球は、古典的単球または非古典的CD16+炎症誘発性単球のいずれかであると説明され、これは末梢血中において単球の最大10%を構成し、古典的単球と比較して独特の機能を有する。

20

【0198】

一実施形態では、個体から1つ以上のPBMCサンプルを提供する本明細書に開示の方法のステップa)は、

i)全血サンプルを提供するステップと、

ii)全血をそのサブ区画に分離して、PBMCサンプルを得るステップ

の1つ以上のステップを含む。

【0199】

一実施形態では、全血サンプルは、PBMCサンプルを得るために遠心分離および/またはフィコール分離に供される。

個体からのサンプル

30

【0200】

一実施形態において、本明細書に提供されるPBMCサンプルは、低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を有するか、有する疑いがあるか、または有するリスクがあるか、または有する可能性がある個体に由来する。

【0201】

一実施形態では、低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を有するか、有するリスクがあるか、有する疑いがあるか、または有する可能性がある個体は、本明細書の他の場所で指定されるとおり、リソソーム蓄積症、神経変性疾患、神経筋障害、筋ジストロフィーまたは炎症性筋障害からなる群から選択される疾患を有するか、有するリスクがあるか、有する疑いがあるか、または有する可能性がある。一実施形態では、リソソーム蓄積症は、スフィンゴリピドース；ムコ多糖症；グリコーゲン貯蔵障害；糖タンパク質代謝障害（糖タンパク代謝異常症）；およびムコリピドースなどの脂質貯蔵障害、ならびに本明細書の他の場所で指定されるその任意のサブタイプからなる群から選択される。一実施形態では、リソソーム蓄積症は、NPCなどのニーマンピック病である。

40

【0202】

一実施形態では、PBMCサンプルは、低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を有するか、有する疑いがあるか、または有するリスクがあるか、または有する可能性があ

50

る個体から得られるか、または得ることができる。

【0203】

一実施形態では、サンプルは、一般集団と比較して、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有するか、または有する疑いがあるか、または有するリスクがあるか、または有する可能性がある個体から得られる。低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有するかまたは発症するリスクの増加は、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患の家族歴の評価、症状の評価、および/または他の診断検査の結果に基づく場合がある。

【0204】

一実施形態では、サンプルは、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患と診断された1名以上の家族を有する個体から得られる。

10

【0205】

一実施形態では、サンプルは、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有する兄弟、親、いとこ、叔父、および/または叔母を有する個体から得られる。

【0206】

一実施形態では、サンプルは、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を有する兄弟を有する個体から得られる。

【0207】

一実施形態では、サンプルは、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を発症する素因がある個体から得られる。

【0208】

20

一実施形態では、サンプルは、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患の遺伝的素因を有する1名以上の家族を有する個体から得られる。

【0209】

本明細書の他の場所で指定されるとおり、「低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患」は、リソソーム蓄積症、神経変性疾患、神経筋障害、筋ジストロフィー、および炎症性筋障害を含む。

【0210】

一実施形態では、サンプルは、NPC 1遺伝子および/またはNPC 2遺伝子に変異を有する1名以上の家族を有する個体から得られる。

【0211】

30

一実施形態では、サンプルは、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患を示す1つ以上の症状などの、低下されたレベルのH s p 7 0を呈する疾患に関連する1つ以上の症状を有する個体から得られる。

【0212】

一実施形態では、サンプルは、LSDを示す1つ以上の症状などの、LSDに関連する1つ以上の症状を有する個体から得られる。

【0213】

兆候および症状は疾患ごとに異なるが、LSDの症状は、身体の細胞の各々に存在するリソソームがそれらの正常な機能を実行する能力を阻害するタンパク質の欠乏のため、それぞれの症例において発生する。

40

【0214】

一実施形態では、サンプルは、ニーマンピック病C型などのニーマンピック病に関連する1つ以上の症状を有する個体から得られる。一実施形態では、症状は、垂直注視麻痺、肝腫大、脾腫大および/または黄疸、運動能力の進行性喪失、摂食困難、進行性学習障害、および発作からなる群から選択される。

【0215】

LSDおよびNPCの他の症状としては、知性および神経機能の両方の悪化、進行性視覚障害（視覚萎縮）、精神障害者、精神退化、肝腫大/脾腫（肝脾腫）、物理的劣化、進行性の筋低下、筋緊張低下（筋緊張低下症）、運動遅滞、摂食障害、呼吸困難および全身脱力感（嗜眠）が挙げられる。

50

H s p 7 0 のレベルの低下を呈する疾患

【 0 2 1 6 】

H s p 7 0 は、細胞の恒常性ならびに、リソソーム蓄積症、神経変性疾患、および一部の神経筋疾患および筋肉疾患を含む、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する多数の疾患においていくつかの重要な役割を果たす。

【 0 2 1 7 】

一実施形態では、全体を通して本明細書で言及されるとおり、低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患は、リソソーム蓄積症、神経変性疾患、神経筋障害、筋ジストロフィー、および炎症性筋障害からなる群から選択される。

リソソーム蓄積症

10

【 0 2 1 8 】

本開示の一態様は、リソソーム蓄積症を有するか、有している疑いがあるか、有するリスクがあるか、または有する可能性がある個体から得られた、または得ることができる P B M C サンプル中の H s p 7 0 を検出する方法；個体におけるリソソーム蓄積症を診断する方法；リソソーム蓄積症を有している個体における疾患進行を監視するための方法；リソソーム蓄積症を有している個体におけるリソソーム蓄積症を治療するための治療法の有効性を監視するための方法；および低下されたレベルの H s p 7 0 を呈する疾患を有する個体を選択するための方法に関する。

【 0 2 1 9 】

本文脈におけるリソソーム蓄積症への言及は、当業者に公知であるあらゆるリソソーム蓄積症を包含することを意味する。

20

【 0 2 2 0 】

一実施形態では、本明細書に開示されるリソソーム蓄積症は、脂質貯蔵障害（またはリピドーシス）、例えば、スフィンゴリピドーシス；ムコ多糖症；グリコーゲン貯蔵障害；糖タンパク質代謝障害（糖タンパク代謝異常症）；およびムコリピドーシスからなる群から選択される。

【 0 2 2 1 】

本開示の一実施形態では、上記で詳細に概説されるように、個体でのリソソーム蓄積症を診断する方法が提供され、L S D は、脂質貯蔵障害（またはリピドーシス）、例えば、スフィンゴリピドーシス；ムコ多糖症；グリコーゲン貯蔵障害；糖タンパク質代謝障害（糖タンパク代謝異常症）；およびムコリピドーシス；および本明細書で指定された L S D の任意のサブタイプからなる群から選択される。

30

【 0 2 2 2 】

本開示の一実施形態では、上記で詳細に概説されるように、リソソーム蓄積症を有する個体での疾患進行を監視するための方法が提供され、L S D は、脂質貯蔵障害（またはリピドーシス）、例えば、スフィンゴリピドーシス；ムコ多糖症；グリコーゲン貯蔵障害；糖タンパク質代謝障害（糖タンパク代謝異常症）；およびムコリピドーシス；および本明細書で指定された L S D の任意のサブタイプからなる群から選択される。

【 0 2 2 3 】

本開示の一実施形態では、上記で詳細に概説されるように、リソソーム蓄積症を有する個体でのリソソーム蓄積症を治療するための治療法の有効性を監視するための方法が提供され、L S D は、脂質貯蔵障害（またはリピドーシス）、例えば、スフィンゴリピドーシス；ムコ多糖症；グリコーゲン貯蔵障害；糖タンパク質代謝障害（糖タンパク代謝異常症）；およびムコリピドーシス；および本明細書で指定された L S D の任意のサブタイプからなる群から選択される。

40

【 0 2 2 4 】

本開示の一実施形態では、上記で詳細に概説されるように、リソソーム蓄積症を有する個体を選択するための方法が提供され、L S D は、脂質貯蔵障害（またはリピドーシス）、例えば、スフィンゴリピドーシス；ムコ多糖症；グリコーゲン貯蔵障害；糖タンパク質代謝障害（糖タンパク代謝異常症）；およびムコリピドーシス；および本明細書で指定された

50

L S D の任意のサブタイプからなる群から選択される。

【 0 2 2 5 】

スフィンゴリピドースは、主に中枢神経系に影響を与えるスフィンゴ脂質代謝の遺伝性疾患の異種群である。これらの障害は主に小児集団において発生し、疾患プロセスの変异性は一般に、精神運動遅滞およびミオクロヌスを伴うニューロン（灰白質）または衰弱および痙攣を伴う線維路（白質）のびまん性かつ進行性の関与を特徴とする。蓄積されるスフィンゴ脂質は、ガングリオシド（ガングリオシドース）、糖脂質/セラミド（ファブリー病、クラッペ病）、グルコセレブロシド（ゴーシェ病）、スフィンゴミエリン（ニーマンピック病）、およびスルファチド（白質ジストロフィー（leukodystrophies）；MLD）を含む。

10

【 0 2 2 6 】

一実施形態では、本明細書で開示のリソソーム蓄積症は、スフィンゴリピドースである。一実施形態では、本明細書で開示のリソソーム蓄積症は、ガングリオシドースおよび白質ジストロフィーから選択されるスフィンゴリピドースである。

【 0 2 2 7 】

一実施形態では、本明細書に開示のリソソーム蓄積症は、サンドホフ病（またはGM2 ガングリオシドースII型）、古典的幼児サンドホフ病、若年性サンドホフ病、成人/遅発性サンドホフ病、テイサックス病（またはGM2 ガングリオシドースI型）、乳児テイサックス病、若年性テイサックス病、成人/遅発性テイ・サックス病、GM2 - ガングリオシドースABバリエーション、GM1 ガングリオシドース、初期の乳児GM1 ガングリオシドース、後期乳児GM1 ガングリオシドース、成人GM1 ガングリオシドース、GM3 ガングリオシドース、およびムコリピドースIVからなる群から選択されるガングリオシドースである。

20

【 0 2 2 8 】

一実施形態では、本明細書に開示のリソソーム蓄積症は、ニーマンピック病、ファブリー病、クラッペ病、ファブリー病、ゴーシェ病、シアリドース（ムコリピドースI型）、異染性白質ジストロフィーなどのスルファチドース（後期乳児型、若年型、および成人型）ならびにサポシン欠損症および多発性スルファターゼ欠損症（オースティン病）からなる群から選択される。

【 0 2 2 9 】

一実施形態では、本明細書に開示のリソソーム蓄積症は、ゴーシェ病、例えば、ゴーシェ病I型（非神経障害型）、II型（急性乳児神経障害性ゴーシェ病）およびIII型（慢性神経障害性形態）である。

30

【 0 2 3 0 】

一実施形態では、本明細書に開示されるリソソーム蓄積症は、ニーマンピック病A型、ニーマンピック病B型およびニーマンピック病C型などのニーマンピック病である。

【 0 2 3 1 】

一実施形態では、本明細書に開示されるリソソーム蓄積症は、ニーマンピック病C型である。

【 0 2 3 2 】

一実施形態では、本明細書に開示されるリソソーム蓄積症は、脳腱コレステリン蓄積症、ウォルマン病（リソソーム酸性リパーゼ欠損症）、コレステリルエステル蓄積症、および神経セロイドリポフスチン症（NCL）からなる群から選択されるリピドースである。一実施形態では、神経セロイドリポフスチン症は、バッテン病（シュピールマイヤー・フォクト病）、ピールショウスキー-ヤンスキー病、クフス病、およびサントヴオリ-ハルティア病からなる群から選択される。

40

【 0 2 3 3 】

一実施形態では、本明細書に開示されるリソソーム蓄積症は、ムコ多糖症I型、ムコ多糖症II型、ムコ多糖症III型、ムコ多糖症IV型、ムコ多糖症VI型、ムコ多糖症VII型、ムコ多糖症VIII型、およびムコ多糖症IX型からなる群から選択されるムコ

50

多糖症である。

【0234】

一実施形態では、本明細書に開示されるリソソーム蓄積症は、ハーラー症候群、ハーラー・シャイエ症候群およびシャイエ症候群（Ⅰ型）；ハンター症候群（ⅠⅠ型）；サンフィリップ症候群A型、B型、C型、またはD型（ⅠⅠⅠ型）；モルキオ症候群、古典的またはモルキオ様（ⅠⅣ型）；マロトー・ラミー症候群、軽度または重度（ⅤⅠ型）；D i F e r r a n t e 症候群またはスライ症候群（ⅤⅠⅠ型）；およびヒアルロニダーゼ欠損症（ⅠⅩ型）からなる群から選択される、ムコ多糖症である。

【0235】

一実施形態では、本明細書に開示されるリソソーム蓄積症は、ムコリピドーシスⅠⅠ型（Ⅰ - c e l l 病）、ムコリピドーシスⅠⅠⅠ型（偽ハーラー多発性ジストロフィー）およびムコリピドーシスⅠⅤ型（ムコリピドーシスⅠ欠損症）からなる群から選択されるムコリピドーシスである。

【0236】

一実施形態では、本明細書に開示されるリソソーム蓄積症は、心臓糖原病、アンデルセン病、コリ病（フォーブス病）、ハース病、マッカードル病、ボンペ病、タウリ病（タリイ病）、フォン・ギールケ病、ⅠⅠ型ボンペ病およびⅠⅠb型ダノン病からなる群から選択される糖原病である。

【0237】

一実施形態では、本明細書に開示されるリソソーム蓄積症は、アスパルチルグルコサミン尿症、フコシドーシス、マンノシドーシス、アルファマンノシドーシス、アルファマンノシドーシスⅠ型、アルファマンノシドーシスⅠⅠ型、ベータマンノシドーシス、シアリドーシスⅠⅠ型（ムコリピドーシスⅠ）およびガラクトシアリドーシスからなる群から選択される糖タンパク質代謝の障害である。

神経変性疾患

【0238】

本開示の一態様は、神経変性疾患を有するか、有することが疑われるか、有するリスクがあるか、または有する可能性がある個体から得られる、または得ることができるPBM Cサンプル中のH s p 7 0を検出する方法に関する。

【0239】

神経変性疾患は、高齢化コミュニティにおける障害の増大する原因である。中枢神経系（CNS）のニューロンおよび軸索接続の喪失に関連する機能障害のゆっくりとした進行である神経変性は、アルツハイマー病、パーキンソン病（PD）、およびハンチントン病（HD）などの神経障害の主な病理学的特徴である。この喪失は、側頭葉および頭頂葉、ならびに前頭皮質および帯状回の一部の変性を含む、疾患の肉眼的萎縮をもたらす。

【0240】

多くの神経変性疾患は、遺伝的変異によって引き起こされ、そのほとんどは、完全に無関係な遺伝子に位置している。様々な疾患の多くにおいて、変異した遺伝子は、共通の特徴：CAGヌクレオチドトリプレット（グルタミンをコードする）の繰り返しを有する。CAGの繰り返しは、ポリグルタミン（poly Q）の区画を生じ、これを示す疾患は、ポリグルタミン疾患（poly Q疾患）として公知である。これらは、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、DRPLA（歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症）およびSBMA（球脊髄性筋萎縮症またはケネディ病）を含む。

【0241】

一実施形態では、本明細書に開示される神経変性障害は、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症（ALS；ルーゲーリック病）、多発性硬化症、およびポリグルタミン病、例えば、脊髄小脳失調症（脊髄小脳失調症Ⅰ型、脊髄小脳失調症Ⅱ型、脊髄小脳失調症Ⅲ型（別名、マチャド・ジョセフ病）、脊髄小脳失調症Ⅵ型、脊髄小脳失調症Ⅶ型および脊髄小脳失調症ⅠⅦ型）、DRPLA（歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症）およびSBMA（球脊髄性筋萎縮症またはケネディ病）からなる群から選

10

20

30

40

50

択される。

筋肉疾患

【0242】

本開示の一態様は、神経筋障害、筋ジストロフィー、および炎症性筋障害からなる群から選択される筋肉疾患などの、筋肉疾患を有するか、有する疑いがあるか、有するリスクがあるか、または有する可能性がある個体から得られた、または得ることができるPBM Cサンプル中のHsp70を検出する方法に関する。

神経筋障害

【0243】

神経筋障害は、随意筋肉を制御する神経に影響を及ぼす。随意筋肉は、腕および脚のような、制御できる筋肉である。ニューロンとも呼ばれる神経細胞は、これらの筋肉を制御するメッセージを送信する。ニューロンが不健康になる、または死滅すると、神経系と筋肉の間の通信が破断する。その結果、筋肉が無力になり衰弱する。脱力感、痙攣、激痛を伴う痙攣、鈍痛および疼痛、ならびに関節および動きの問題をもたらし得る。脱力感、心臓機能および呼吸能力に影響を及ぼすこともある。中枢神経筋障害のいくつかの例としては、脳血管障害、パーキンソン病、多発性硬化症、ハンチントン病、およびクロイツフェルト・ヤコブ病などが挙げられる。脊髄性筋萎縮症は、下位運動ニューロンの障害であり、筋萎縮性側索硬化症は、上位運動ニューロンと下位運動ニューロンの混合状態である。

10

【0244】

一実施形態では、神経筋障害は、中枢神経筋障害である。

20

【0245】

一実施形態では、神経筋障害は、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、多発性硬化症、パーキンソン病、ハンチントン病、クロイツフェルト・ヤコブ病、重症筋無力症、脊髄性筋萎縮症(SMA)、呼吸困難1型を伴う脊髄性筋萎縮症(SMARD1; 別名遠位脊髄性筋萎縮症1型(DSMA1))、先天性筋無力症候群(CMS)、先天性ミオパチー、痙攣線維束性収縮症候群、筋ジストロフィー、遺伝性痙攣性対麻痺、封入体筋炎、ニューロミオトニア(NMT、別名アイザックス症候群、アイザックス-マートン症候群)、ミトコンドリアミオパチー、ランバート・イートン筋無力症候群(LEMS)、筋緊張性ジストロフィー、末梢神経障害、脊髄性筋萎縮症(SBMA、またはケネディ病)、スティッフパーソン症候群およびギランバレー症候群からなる群から選択される。

30

【0246】

一実施形態では、脊髄性筋萎縮症(SMA)は、SMA1(乳児、ウェルドニッヒホフマン病)、SMA0型(、または重度の乳児SMA)、SMA2(中等度、デュボウィッツ病)、SMA3(若年性、クーゲルベルグ・ウェランダ病)およびSMA4(成人発症)からなる群から選択される。

【0247】

一実施形態では、先天性筋無力症候群(CMS)は、シナプス前CMS、シナプスCMS、およびシナプス後CMSからなる群から選択される。

40

【0248】

一実施形態では、先天性ミオパチーは、ネマリンミオパチー、筋管ミオパチー、中心核病または中心核ミオパチー、先天性線維タイプ不均衡ミオパチー、および円柱性螺旋ミオパチーからなる群から選択される。

【0249】

一実施形態では、ボンベ病は、乳児型および遅発型からなる群から選択される。

【0250】

一実施形態では、遺伝性痙攣性対麻痺は、MASA症候群、ペリザエウス-メルツバッハー病、ストランペル病、運動神経障害を伴う白内障、低身長および骨格異常、トロイヤー症候群、MAST症候群、アラン-ハートン-ダドリー症候群、Lison症候群、痙攣性運動失調2、SPOAN症候群、マートソルフ症候群またはワールブルグ・ミクロ症候

50

群、K u f o r - R a k e b 症候群、M E G D E L 症候群および H a r e l - Y o o n 症候群からなる群から選択される。

【0251】

一実施形態では、封入体筋炎は、散発性封入体筋炎 (s I B M) および遺伝性封入体筋炎 (h I B M) からなる群から選択され、h I B M としては、I B M 2、I B M 3 および早期発症型パジェット病および前頭側頭型認知症 (I B M P F D) を伴う封入体ミオパチーが挙げられる。

【0252】

一実施形態では、神経筋緊張症 (N M T) は、慢性、単相性および再発寛解型からなる群から選択される。

10

【0253】

一実施形態では、ミトコンドリアミオパチーは、カーンズ・セイヤー症候群 (K S S)、ミオクロヌステんかんおよび赤色ぼろ線維 (M E R R F)、ミトコンドリア脳筋症、乳酸アシドーシス、脳卒中様症候群 (M E L A S)、および慢性進行性外眼筋麻痺 (C P E O) からなる群から選択される。

【0254】

一実施形態では、筋緊張性ジストロフィーは、筋緊張性ジストロフィー 1 型 (D M 1) または筋緊張性ジストロフィー 2 型 (D M 2) である。

【0255】

一実施形態では、末梢神経障害は、単神経障害、多発神経障害、多発性単神経炎 (または多発性神経炎)、自律神経障害、および神経炎からなる群から選択される。

20

【0256】

一実施形態では、ギランバレー症候群は、急性炎症性脱髄性多発神経炎 (A I D P)、急性運動軸索ニューロパチー (A M A N)、急性運動感覚性軸索型ニューロパチー (A M S A N)、咽頭頸部腕神経叢バリエーションおよびミラーフィッシャー症候群からなる群から選択される。

筋ジストロフィー

【0257】

筋ジストロフィー (M D) は、時間の経過とともに骨格筋の衰弱および破壊を増加させる筋肉疾患のグループである。この障害は、主に影響を受ける筋肉、衰弱の程度、筋肉が悪化する速さ、および症状が始まる時期が異なる。多くのヒトは、最終的に歩くことができなくなる。いくつかのタイプは、他の臓器での問題にも関連している。30を超える特定のタイプを含む筋ジストロフィーの9つの主要なカテゴリーがある。

30

【0258】

一実施形態では、筋ジストロフィーは、デュシェンヌ型筋ジストロフィー (D M D)、ベッカー型筋ジストロフィー、先天性筋ジストロフィー、遠位型筋ジストロフィー、エメリー・ドレイフス型筋ジストロフィー、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー、肢帯型筋ジストロフィー、筋緊張性筋ジストロフィー、および眼咽頭型筋ジストロフィーからなる群から選択される。

炎症性筋障害

40

【0259】

一実施形態では、炎症性筋障害は、炎症性ミオパチー (炎症性筋疾患または筋炎)、特発性炎症性ミオパチー、多発性筋炎 (P M)、皮膚筋炎 (D M)、封入体筋炎 (s I B M および h I B M)、多発性筋炎 (または「筋肉リウマチ」) および横紋筋融解症からなる群から選択される。

治療のための治療法

【0260】

本開示によれば、低下されたレベルの H s p 70 を呈する疾患と診断された患者に、低下されたレベルの H s p 70 を呈する疾患を治療するための治療法を施す方法が提供される。

50

【0261】

一実施形態では、e) 低下されたレベルのHsp70を呈する疾患と診断された患者に低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を治療するための治療法を施すステップは、有効量の生物活性剤を個体に投与することを含む。

【0262】

低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を治療するための治療法および同じ目的のための生物活性剤は、低下されたレベルのHsp70を呈する疾患のための既知の治療法を含む。

【0263】

「生物活性剤」（すなわち、生物学的活性物質/剤）は、*in vivo*または*in vitro*で実証できるいくつかの薬理的、多くの場合有益な効果を提供する任意の剤、薬物、物質、化合物、物質の組成物または混合物である。本明細書で使用される場合、この用語は、個体において任意の局所的効果または全身的效果をもたらす任意の生理学的または薬理的に活性な物質をさらに含む。

Hsp70およびHsp誘導物質

【0264】

一実施形態では、e) 低下されたレベルのHsp70を呈する疾患と診断された患者に、低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を治療するための治療法を施すステップは、細胞内濃度かつ/またはHsp70などの熱ショックタンパク質の活性を増加させる有効量の生物活性剤を投与することを含む。

【0265】

一実施形態では、低下されたレベルのHsp70を呈する疾患を治療するための治療法は、Hsp70およびコシャペロンを含む、1つ以上の熱ショックタンパク質の細胞内濃度（もしくはレベル）および/または活性を増加させる生物活性剤であり、Hsp70自体、またはその機能的断片またはバリエーション、任意の熱ショックタンパク質誘導物質、および当業者に公知である任意のHsp70誘導物質を含む。

【0266】

Hsp70を含む、1つ以上の熱ショックタンパク質の細胞内濃度および/または活性を増加させる生物活性剤、およびHsp70の細胞内濃度および/または活性を増加させる生物活性剤は、本明細書の「Hsp70誘導物質」と交換可能に使用できる。

【0267】

Hsp70誘導物質は、付随するストレスの有無にかかわらず、Hsp70遺伝子の発現およびタンパク質の発現を増幅できる。直接的Hsp70誘導物質は、付随するストレスなしに、Hsp70遺伝子の発現およびタンパク質の発現をそれ自体で増幅できる化合物である。間接的Hsp70誘導物質、またはHsp70共誘導物質は、付随する（軽度の）ストレスなしにHsp70遺伝子の発現およびタンパク質の発現を増幅できない化合物であるが、ストレスによって誘発されるHsp70レベルの増加は、それらの存在によってさらに上昇されるかまたは増強される。

【0268】

したがって、生物活性剤は、Hsp70などの熱ショックタンパク質の細胞内濃度および/または活性を直接的または間接的に増加させ得る。

【0269】

一実施形態では、生物活性剤は、Hsp70タンパク質、またはその機能的断片またはバリエーションである。一実施形態では、Hsp70タンパク質は、HSPA1AおよびHSPA1B、またはそれらの機能的断片またはバリエーションから選択される。一実施形態では、Hsp70の機能的断片またはバリエーションは、Hsp70に対して、例えば、HSPA1AおよびHSPA1Bのいずれか1つに対して、少なくとも75%の配列同一性、例えば、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の配列同一性などを有する。

【0270】

別の実施形態では、生物活性剤は、H s p 7 0を含む、熱ショックタンパク質の誘導物質である。

【0271】

一実施形態では、H s p 7 0を含む、熱ショックタンパク質の誘導物質は、H s p 7 0、H s p 4 0、H s p 7 2およびH s p 9 0、ならびにコシャペロンの1つ以上の誘導物質である。

【0272】

一実施形態では、熱ショックタンパク質の誘導物質は、少なくともH s p 7 0の誘導物質である。一実施形態では、熱ショックタンパク質の誘導物質は、H s p 7 0の誘導物質である。

10

【0273】

H s p 7 0の誘導物質、またはH s p 7 0の誘導への言及は、少なくともH s p 7 0が誘導されることを意味し、他のタンパク質および他の熱ショックタンパク質などのエフェクターの同時誘導を排除しない。H s p 7 0の誘導物質は、H s p 7 0誘導物質および共誘導物質、ならびに直接的および間接的H s p 7 0誘導物質を等しく指す。

【0274】

一実施形態では、生物活性剤は、H s p 7 0、またはその機能的断片またはバリエーションと、H s p 7 0などの熱ショックタンパク質の誘導物質との組み合わせを含む。

【0275】

一実施形態では、生物活性剤は、熱ショック応答を活性化する。一実施形態では、生物活性剤は、H s p 7 0を含む、1つ以上の熱ショックタンパク質の細胞内濃度および/または活性を増加させる。一実施形態では、生物活性剤は、H s p 7 0の細胞内濃度（もしくはレベル）および/または活性を増加させる。一実施形態では、生物活性剤は、H s p 7 0の細胞内濃度（またはレベル）を増加させる。一実施形態では、生物活性剤は、H s p 7 0を含む、1つ以上の熱ショックタンパク質の誘導物質である。一実施形態では、生物活性剤は、H s p 7 0の誘導物質である。

20

熱ショックタンパク質の小分子誘導物質

【0276】

一実施形態では、生物活性剤は、H s p 7 0の小分子誘導物質などの、H s p 7 0を含む熱ショックタンパク質の小分子誘導物質である。

30

【0277】

一実施形態では、H s p 7 0を含む、1つ以上の熱ショックタンパク質の小分子誘導物質は、H s p 7 0遺伝子発現を増幅することなどにより、とりわけH s p 7 0の細胞内濃度（またはレベル）を増加させることができる化合物である。

【0278】

一実施形態では、生物活性剤は、H s p 7 0遺伝子発現を増幅することによりH s p 7 0の細胞内濃度（またはレベル）を増加させることができる。一実施形態では、生物活性剤は、H s p 7 0遺伝子発現を増幅することによりH s p 7 0の細胞内濃度（またはレベル）を増加させることができ、生物活性剤は、ヒドロキシルアミン誘導体小分子などのヒドロキシルアミン誘導体である。

40

【0279】

こうしたヒドロキシルアミン誘導体の例は、アリモクロモール、イロキサナジン、ビモクロモール、BGP-15、それらの立体異性体およびそれらの酸付加塩を含む。

アリモクロモール：

【0280】

一実施形態では、H s p 7 0の小分子誘導物質は、N-[2-ヒドロキシ-3-(1-ピペリジニル)-プロポキシ]-ピリジン-1-オキシド-3-カルボキシイミドイルクロリド（アリモクロモール）、その立体異性体およびその酸付加塩から選択される。アリモクロモールは、例えば、国際公開第00/50403号に記載されている。

【0281】

50

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリド (アリモクロモール)、その光学活性 (+) または (-) エナンチオマー、任意の比率のエナンチオマーの混合物、およびラセミ化合物から選択され、さらに、上記の化合物のいずれかと無機酸または有機酸とから形成される酸付加塩は、本開示の対象を構成する。N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドのすべての可能な幾何異性体形態は、本開示の範囲に属する。「N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドの立体異性体」という用語は、その化合物のすべての可能な光学および幾何学的異性体を指す。

10

【 0 2 8 2 】

所望により、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドまたはその光学活性エナンチオマーのうちの 1 つを、既知の方法により、無機酸または有機酸を含む酸付加塩に変換できる。

【 0 2 8 3 】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドのラセミ体である。

【 0 2 8 4 】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドの光学活性立体異性体である。

20

【 0 2 8 5 】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドのエナンチオマーである。

【 0 2 8 6 】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、(+) - R - N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドおよび (-) - (S) - N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドからなる群から選択される。

30

【 0 2 8 7 】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドの酸付加塩である。

【 0 2 8 8 】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、(N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドクエン酸塩 (B R X - 3 4 5)、および N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドマレイン酸塩 (B R X - 2 2 0) からなる群から選択される。

40

【 0 2 8 9 】

一実施形態では、H s p 7 0 少分子誘導物質は、(+) - R - N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドクエン酸塩；(-) - S - N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドクエン酸塩；(+) - R - N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドマレイン酸塩；および

50

(-) - S - N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - ピリジン - 1 - オキシド - 3 - カルボキシイミドイルクロリドマレイン酸塩からなる群から選択される。

B G P - 1 5 :

【 0 2 9 0 】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドアミド、二塩酸塩 (B G P - 1 5) 、その立体異性体およびそれらの酸付加塩である。

【 0 2 9 1 】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドアミド、二塩酸塩 (B G P - 1 5) 、その光学活性 (+) または (-) エナンチオマー、任意の比率のエナンチオマーの混合物、およびラセミ化合物から選択され、さらに、上記の化合物のいずれかと無機酸または有機酸から形成される酸付加塩は、本開示の対象を構成する。N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドアミド、二塩酸塩のすべての可能な幾何異性体形態は、本開示の範囲に属する。「N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドアミド、二塩酸塩の立体異性体」という用語は、化合物のすべての可能な光学および幾何学的異性体を指す。

10

イロキサナジン :

20

【 0 2 9 2 】

一実施形態では、H s p 7 0 の少分子誘導物質は、5 , 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1 , 2 , 4 - オキサジアジン (イロキサナジン) 、その立体異性体およびその酸付加塩から選択される。イロキサナジンは、例えば、国際公開第 9 7 / 1 6 4 3 9 号および国際公開第 0 0 / 3 5 9 1 4 号に記載されている。

【 0 2 9 3 】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、5 , 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1 , 2 , 4 - オキサジアジン (イロキサナジン) 、その光学活性 (+) または (-) エナンチオマー、任意の比率のエナンチオマーの混合物、およびラセミ化合物から選択され、さらに、上記の化合物のいずれかと無機酸または有機酸から形成される酸付加塩は、本開示の対象を構成する。5 , 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1 , 2 , 4 - オキサジアジンのすべての可能な幾何異性体形態は、本開示の範囲に属する。用語「5 , 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1 , 2 , 4 - オキサジアジンの立体異性体」は、本化合物のすべての可能な光学および幾何学的異性体を指す。

30

【 0 2 9 4 】

所望の場合、5 , 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1 , 2 , 4 - オキサジアジンまた、その光学活性エナンチオマーの 1 つを、既知の方法により、無機酸または有機酸を用いて酸付加塩に変換できる。

40

【 0 2 9 5 】

一実施形態では、H s p 7 0 の少分子誘導物質は、5 , 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1 , 2 , 4 - オキサジアジンのラセミ体である。

【 0 2 9 6 】

一実施形態では、H s p 7 0 の少分子誘導物質は、5 , 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1 , 2 , 4 - オキサジアジンの光学活性立体異性体である。

【 0 2 9 7 】

50

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、5, 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1, 2, 4 - オキサジアジンのエナンチオマーである。

【0298】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、(+) - 5, 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1, 2, 4 - オキサジアジンおよび (-) - 5, 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1, 2, 4 - オキサジアジンからなる群から選択される。

【0299】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、5, 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1, 2, 4 - オキサジアジンの酸付加塩である。

【0300】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、5, 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1, 2, 4 - オキサジアジンクエン酸塩および 5, 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1, 2, 4 - オキサジアジンマレイン酸塩からなる群から選択される。

【0301】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、(+) - 5, 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1, 2, 4 - オキサジアジンクエン酸塩；(-) - 5, 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1, 2, 4 - オキサジアジンクエン酸塩；(+) - 5, 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1, 2, 4 - オキサジアジンマレイン酸塩、および (-) - 5, 6 - ジヒドロ - 5 - (1 - ピペリジニル) メチル - 3 - (3 - ピリジル) - 4 H - 1, 2, 4 - オキサジアジンマレイン酸塩からなる群から選択される。

ビモクロモール：

【0302】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリド (ビモクロモール)、その立体異性体およびその酸付加塩から選択される。ビモクロモールは、例えば、国際公開第 1 9 9 7 / 1 6 4 3 9 にさらに記載されている。

【0303】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリド (ビモクロモール)、その光学活性 (+) または (-) エナンチオマー、任意の比率のエナンチオマーの混合物、およびラセミ化合物から選択され、さらに、上記の化合物のいずれかと無機酸または有機酸から形成される酸付加塩は、本開示の対象を構成する。N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドのすべての可能な幾何異性体形態は、本開示の範囲に属する。「N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドの立体異性体」という用語は、化合物のすべての可能な光学および幾何学的異性体を指す。

【0304】

所望により、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドまたはその光学活性エナンチオマーの 1 つを、既知の方法により、無機酸または有機酸を用いて酸付加塩に変換できる。

【0305】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドのラセミ体

10

20

30

40

50

である。

【0306】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドの光学活性立体異性体である。

【0307】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドのエナンチオマーである。

【0308】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、(+) - R - N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドおよび (-) - (S) - N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドからなる群から選択される。

【0309】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドの酸付加塩である。

【0310】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドクエン酸塩、および N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドマレイン酸塩からなる群から選択される。

【0311】

一実施形態では、H s p 7 0 の小分子誘導物質は、(+) - R - N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドクエン酸塩；(-) - S - N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドクエン酸塩；(+) - R - N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドマレイン酸塩；および (-) - S - N - [2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピペリジニル) - プロポキシ] - 3 - ピリジンカルボキシイミドイルクロリドマレイン酸塩からなる群から選択される。

【0312】

多数の化合物が、H s p 7 0 を含む、H S P を誘導（または共誘導）することが示されている。一実施形態では、H s p 7 0 の誘導物質は、以下からなる群から選択される：アルキルリゾリン脂質エデルホシン（E T - 1 8 - O C H 3 または 1 - オクタデシル - 2 - メチル - r a c - グリセロ - 3 - ホスホコリン）などの膜相互作用化合物；セレコキシブおよびコキシブなどのシクロオキシゲナーゼ 1 / 2 阻害剤を含む抗炎症薬；N S A I D、例えば、アセチルサリチル酸、サリチル酸ナトリウムおよびインドメタシンなど；デキサメタゾン；プロスタグランジン P G A 1、P G j 2 および 2 - シクロペンテン - 1 - オン；ペルオキシダーゼ増殖因子活性化受容体 - ガンマアゴニスト；ピンクリスチンおよびバクリタキセルなどのチューブリン相互作用抗癌剤；インスリン感作物質ピオグリタゾン；抗背品生物剤、例えばカルボプラチン、ドキソルビシン、フルダラビン、イホスファミドおよびシタラビンなど；ゲルダナマイシン、1 7 - A A G、1 7 - D M A G、ラジシコール、ハービマイシン - A およびアラキドン酸などの H s p 9 0 阻害剤；プロテアソーム阻害剤、例えば、M G 1 3 2、ラクタシスチン、ボルテゾミブ、カルフィルゾミブおよびオプロゾミブ；セリンプロテアーゼ阻害剤、例えば、D C I C、T L C K および T P C K；ヒストンデアセチラーゼ阻害剤（H D A C i）、例えば、S A H A / ボリノスタット、ベリノスタット / P X D 1 0 1、L B - 2 0 5、L B H 5 8 9（パノビノスタット）、F K - 2 2 8、C I - 9 9 4、トリコスタチン A（T S A）および P C I - 3 4 0 5 1；抗潰

10

20

30

40

50

瘍薬、例えば、ゲラニルゲラニルアセトン（GGA）、レバミピド、カルベノキシロン、およびボラブレジンク（亜鉛L-カルノシン）など；重金属（亜鉛およびスズ）；コカイン；ニコチン；アルコール；アルファアドレナリンアゴニスト；シクロペンテノンプロスタノイド；L型Ca++チャネル遮断薬、例えば、L型Ca++チャネル遮断薬（リアノジン受容体も阻害する）、例えば、ラシジピン；リアノジン受容体アンタゴニスト、例えば、DHP（1,1'-ジヘプチル-4,4'-ビピリジウム；ならびに漢方薬、例えば、ペオニフロリン、グリチルリチン、セラストロール、ジヒドロセラストロール、ジヒドロセラストロールジアセテートおよびクルクミン。

【0313】

一実施形態では、Hsp70の誘導物質は、プロテアソーム阻害剤である。一実施形態では、プロテアソーム阻害剤は、ボルテゾミブ、カルフィルゾミブ、オプロゾミブ、MG132およびラクタシスチンからなる群から選択される。

10

【0314】

一実施形態では、Hsp70の誘導物質は、HDAC阻害剤である。一実施形態では、HDACiは、SAHA/ボリノスタット、ベリノスタット/PXD101、LB-205、LBH589（パノピノスタット）、FK-228、CI-994、トリコスタチンA（TSA）およびPCI-34051からなる群から選択される。

【0315】

一実施形態では、Hsp70の誘導物質は、膜流動化剤である。膜流動化剤による治療は、脂質療法と呼ばれることもある。一実施形態では、Hsp70の誘導物質は、ベンジルアルコール、ヘプタノール、AL721、ドコサヘキサエン酸、脂肪族アルコール、オレイルアルコール、ジメチルアミノエタノール、A₂C、ファルネソールのほか、リドカイン、ロピバカイン、プピバカイン、およびメピバカインなどの麻酔剤、ならびに同業者に公知である他のものからなる群から選択される膜流動化剤である。

20

LSDの他の治療

【0316】

HspまたはHsp誘導剤による上記の治療に加えて、LSDは、以下に記載の他の手段によって治療され得る。このような治療を、Hspおよび/またはHsp誘導剤による治療と組み合わせてもよい。

【0317】

LSDの根本的な原因は、特定のリソソーム酵素が、脂質などの特定のリソソーム物質を効率的に異化できないことである。したがって、組換え酵素を患者に提供することによる酵素補充療法（ERT）の使用は、ゴーシェ病およびファブリー病を含む、これらの疾患のサブセットに用いられている。ERTは、組換え酵素が産生されている特定の種類の疾患に対してのみ有効である。

30

【0318】

一実施形態では、e)リソソーム蓄積症を治療するための治療法をリソソーム蓄積症と診断された患者に施すステップは、有効量の酵素補充療法（ERT）を施すことを含む。

【0319】

一実施形態では、e)リソソーム蓄積症を治療するための治療法をリソソーム蓄積症と診断された患者に施すステップは、基質減少療法（SRT）を施すことを含む。

40

【0320】

一実施形態では、e)リソソーム蓄積症を治療するための治療法をリソソーム蓄積症と診断された患者に施すステップは、鎮痛剤；コルチコステロイド；移植、例えば、骨髄移植、臍帯血移植または幹細胞移植など；ならびに対症療法および支持療法、例えば理学療法などからなる群から選択される治療法を施すことを含む。

【0321】

一実施形態では、本方法でのLSDは、ニーマンピック病であり、ニーマンピック病を治療するための治療法は、アリモクロモールなどのHsp70など、熱ショックタンパク質の小分子誘導物質、アンブロキソールおよびミグルスタットからなる群から選択される

50

。

【 0 3 2 2 】

一実施形態では、本方法での L S D はゴーシェ病であり、ゴーシェ病を治療するための治療法は、酵素補充療法、例えば、静脈内組換えグルコシルセラミダーゼおよび C e r e z y m e (登録商標) (注射用イミグルセラゼ) ; ミグルスタット ; アンプロキシソール ; 骨髄移植 ; 手術 ; 輸血 ; 関節置換術 ; 抗生物質 ; 抗てんかん薬 ; ビスフォスフォネートおよび肝移植からなる群から選択される。

【 0 3 2 3 】

別の実施形態では、本方法での L S D は、ファブリー病であり、ファブリー病を治療するための治療法は、ファブラザイム (登録商標) (アガルシダーゼベータ) およびリブレガル (アガルシダーゼアルファ) を含む、酵素補充療法からなる群から選択される。

10

配列

配列番号 1 : ホモサピエンス熱ショック 70 k D a タンパク質 1 A (H S P A 1 A _ H U M A N) のタンパク質配列 (N M _ 0 0 5 3 4 5 . 5 / U n i P r o t K B - P 0 D M V 8) :

MAKAAAI GIDL GTTY SCVGV FQH GKVE I I A N D Q G N R T T P S
Y V A F T D T E R L I G D A A K N Q V A L N P Q N T V F D A K R L I G R K F G D
P V V Q S D M K H W P F Q V I N D G D K P K V Q V S Y K G E T K A F Y P E E I S
S M V L T K M K E I A E A Y L G Y P V T N A V I T V P A Y F N D S Q R Q A T K D
A G V I A G L N V L R I I N E P T A A A I A Y G L D R T G K G E R N V L I F D L
G G G T F D V S I L T I D D G I F E V K A T A G D T H L G G E D F D N R L V N H
F V E E F K R K H K K D I S Q N K R A V R R L R T A C E R A K R T L S S S T Q A
S L E I D S L F E G I D F Y T S I T R A R F E E L C S D L F R S T L E P V E K A
L R D A K L D K A Q I H D L V L V G G S T R I P K V Q K L L Q D F F N G R D L N
K S I N P D E A V A Y G A A V Q A A I L M G D K S E N V Q D L L L L D V A P L S
L G L E T A G G V M T A L I K R N S T I P T K Q T Q I F T T Y S D N Q P G V L I
Q V Y E G E R A M T K D N N L L G R F E L S G I P P A P R G V P Q I E V T F D I
D A N G I L N V T A T D K S T G K A N K I T I T N D K G R L S K E E I E R M V Q
E A E K Y K A E D E V Q R E R V S A K N A L E S Y A F N M K S A V E D E G L K G
K I S E A D K K K V L D K C Q E V I S W L D A N T L A E K D E F E H K R K E L E
Q V C N P I I S G L Y Q G A G G P G P G G F G A Q G P K G G S G S G P T I E E V
D

20

30

配列番号 2 : 配列番号 1 の開始剤メチオニン (1 位の M) を除去して、 6 4 0 アミノ酸長の配列を得る (2 ~ 6 4 1 位) :

A K A A A I G I D L G T T Y S C V G V F Q H G K V E I I A N D Q G N R T T P S Y
V A F T D T E R L I G D A A K N Q V A L N P Q N T V F D A K R L I G R K F G D P
V V Q S D M K H W P F Q V I N D G D K P K V Q V S Y K G E T K A F Y P E E I S S
M V L T K M K E I A E A Y L G Y P V T N A V I T V P A Y F N D S Q R Q A T K D A
G V I A G L N V L R I I N E P T A A A I A Y G L D R T G K G E R N V L I F D L G
G G T F D V S I L T I D D G I F E V K A T A G D T H L G G E D F D N R L V N H F
V E E F K R K H K K D I S Q N K R A V R R L R T A C E R A K R T L S S S T Q A S
L E I D S L F E G I D F Y T S I T R A R F E E L C S D L F R S T L E P V E K A L
R D A K L D K A Q I H D L V L V G G S T R I P K V Q K L L Q D F F N G R D L N K
S I N P D E A V A Y G A A V Q A A I L M G D K S E N V Q D L L L L D V A P L S L
G L E T A G G V M T A L I K R N S T I P T K Q T Q I F T T Y S D N Q P G V L I Q
V Y E G E R A M T K D N N L L G R F E L S G I P P A P R G V P Q I E V T F D I D
A N G I L N V T A T D K S T G K A N K I T I T N D K G R L S K E E I E R M V Q E
A E K Y K A E D E V Q R E R V S A K N A L E S Y A F N M K S A V E D E G L K G K
I S E A D K K K V L D K C Q E V I S W L D A N T L A E K D E F E H K R K E L E Q
V C N P I I S G L Y Q G A G G P G P G G F G A Q G P K G G S G S G P T I E E V D

40

50

配列番号3：ホモサピエンス熱ショック70kDaタンパク質1A(HSPA1A)の核酸(DNA)配列(NM_005345.5)：

1	a t a a a a g c c c c a g g g g g c a a g c g g t c c g g a t a a c g g c	
	t a g c c t g a g g a g c t g c t g c g a c a g t	
61	c c a c t a c c t t t t t c g a g a g t g a c t c c c g t t g t c c	
	c a a g g c t t c c c a g a g c g a a c c t g t g c	
121	g g c t g c a g g c a c c g g c g c g t c g a g t t t c c g g c g	
	t c c g g a a g g a c c g a g c t c t t c t c g c g g	
181	a t c c a g t g t t c c g t t t c c a g c c c c c a a t c t c a g	
	a g c g g a g c c g a c a g a g a g c a g g g a a c c	10
241	g g c a t g g c c a a a g c c g c g g c g a t c g g c a t c g a c	
	c t g g g c a c c a c c t a c t c c t g c g t g g g g	
301	g t g t t c c a a c a c g g c a a g g t g g a g a t c a t c g c c	
	a a c g a c c a g g g c a a c c g c a c c a c c c c c	
361	a g c t a c g t g g c c t t c a c g g a c a c c g a g c g g c t c	
	a t c g g g g a t g c g g c c a a g a a c c a g g t g	
421	g c g c t g a a c c c g c a g a a c a c c g t g t t t g a c g c g	
	a a g c g g c t g a t t g g c c g c a a g t t c g g c	
481	g a c c c g g t g g t g c a g t c g g a c a t g a a g c a c t g g	
	c c t t t c c a g g t g a t c a a c g a c g g a g a c	20
541	a a g c c c a a g g t g c a g g t g a g c t a c a a g g g g g a g	
	a c c a a g g c a t t c t a c c c c g a g g a g a t c	
601	t c g t c c a t g g t g c t g a c c a a g a t g a a g g a g a t c	
	g c c g a g g c g t a c c t g g g c t a c c c g g t g	
661	a c c a a c g c g g t g a t c a c c g t g c c g g c c t a c t t c	
	a a c g a c t c g c a g c g c c a g g c c a c c a a g	
721	g a t g c g g g t g t g a t c g c g g g g c t c a a c g t g c t g	
	c g g a t c a t c a a c g a g c c c a c g g c c g c c	
781	g c c a t c g c c t a c g g c c t g g a c a g a a c g g g c a a g	
	g g g g a g c g c a a c g t g c t c a t c t t t g a c	30
841	c t g g g c g g g g g c a c c t t c g a c g t g t c c a t c c t g	
	a c g a t c g a c g a c g g c a t c t t c g a g g t g	
901	a a g g c c a c g g c c g g g g a c a c c c a c c t g g g t g g g	
	g a g g a c t t t g a c a a c a g g c t g g t g a a c	
961	c a c t t c g t g g a g g a g t t c a a g a g a a a c a c a a g	
	a a g g a c a t c a g c c a g a a c a a g c g a g c c	
1021	g t g a g g c g g c t g c g c a c c g c c t g c g a g a g g g c	
	c a a g a g g a c c c t g t c g t c c a g c a c c c a g	
1081	g c c a g c c t g g a g a t c g a c t c c c t g t t t g a g g g	
	c a t c g a c t t c t a c a c g t c c a t c a c c a g g	40
1141	g c g a g g t t c g a g g a g c t g t g c t c c g a c c t g t t	
	c c g a a g c a c c c t g g a g c c c g t g g a g a a g	
1201	g c t c t g c g c g a c g c c a a g c t g g a c a a g g c c c a	
	g a t t c a c g a c c t g g t c c t g g t c g g g g g c	
1261	t c c a c c c g c a t c c c c a a g g t g c a g a a g c t g c t	
	g c a g g a c t t c t t c a a c g g g c g c g a c c t g	
1321	a a c a a g a g c a t c a a c c c c g a c g a g g c t g t g g c	
	c t a c g g g g c g g c g g t g c a g g c g g c c a t c	
1381	c t g a t g g g g g a c a a g t c c g a g a a c g t g c a g g a	
	c c t g c t g c t g c t g g a c g t g g c t c c c c t g	50

1 4 4 1 t c g c t g g g g c t g g a g a c g g c c g g a g g c g t g a t
g a c t g c c c t g a t c a a g c g c a a c t c c a c c
1 5 0 1 a t c c c c a c c a a g c a g a c g c a g a t c t t c a c c a c
c t a c t c c g a c a a c c a a c c c g g g g t g c t g
1 5 6 1 a t c c a g g t g t a c g a g g g c g a g a g g g c c a t g a c
g a a a g a c a a c a a t c t g t t g g g g c g c t t c
1 6 2 1 g a g c t g a g c g g c a t c c c t c c g g c c c c c a g g g g
c g t g c c c c a g a t c g a g g t g a c c t t c g a c
1 6 8 1 a t c g a t g c c a a c g g c a t c c t g a a c g t c a c g g c
c a c g g a c a a g a g c a c c g g c a a g g c c a a c
1 7 4 1 a a g a t c a c c a t c a c c a a c g a c a a g g g c c g c c t
g a g c a a g g a g g a g a t c g a g c g c a t g g t g
1 8 0 1 c a g g a g g c g g a g a a g t a c a a a g c g g a g g a c g a
g g t g c a g c g c g a g a g g g t g t c a g c c a a g
1 8 6 1 a a c g c c c t g g a g t c c t a c g c c t t c a a c a t g a a
g a g c g c c g t g g a g g a t g a g g g g c t c a a g
1 9 2 1 g g c a a g a t c a g c g a g g c g g a c a a g a a g a a g g t
g c t g g a c a a g t g t c a a g a g g t c a t c t c g
1 9 8 1 t g g c t g g a c g c c a a c a c c t t g g c c g a g a a g g a
c g a g t t t g a g c a c a a g a g g a a g g a g c t g
2 0 4 1 g a g c a g g t g t g t a a c c c c a t c a t c a g c g g a c t
g t a c c a g g g t g c c g g t g g t c c c g g g c c t
2 1 0 1 g g g g g c t t c g g g g c t c a g g g t c c c a a g g g a g g
g t c t g g g t c a g g c c c c a c c a t t g a g g a g
2 1 6 1 g t a g a t t a g g g g c c t t t c c a a g a t t g c t g t t t
t t g t t t t g g a g c t t c a a g a c t t t g c a t t
2 2 2 1 t c c t a g t a t t t c t g t t t g t c a g t t c t c a a t t t
c c t g t g t t t g c a a t g t t g a a a t t t t t t g
2 2 8 1 g t g a a g t a c t g a a c t t g c t t t t t t c c g g t t t
c t a c a t g c a g a g a t g a a t t t a t a c t g c c
2 3 4 1 a t c t t a c g a c t a t t t c t t c t t t t t a a t a c a c t
t a a c t c a g g c c a t t t t t t a a g t t g g t t a
2 4 0 1 c t t c a a a g t a a a t a a a c t t t a a a a t t c a a a a a
a a a a a a a a a a a a a

10

20

30

配列番号4：ホモサピエンス熱ショック70kDaタンパク質1B(HSPA1B__HUMAN)のタンパク質配列(NM_005346.4/UniProtKB-P0DMV9)：

MAKAAAGIDLGTTYSCVGVFQHGKVEIIANDQGNRTTPSY
YVAFTDTERLIGDAAKNQVALNPQNTVFDAKRLIGRKFGD
PVVQSDMKHWPFFQVINDGDKPKVQVSYSYKGETKAFYP
EIS SMVLTCKMKEIAEAYLGYPVTNAVITVPAYFNDSQR
QATKD AGVIAAGLNVLRINEPTAAAIAYGLDRTGKG
ERNVLI FDL GGGTFDVSILTI DDGIFEVKATAGDTHL
GGEDFDNRLVNH FVEEFKRKHKKDISQNKRAVRRLRT
ACERAKRTLSSSTQA SLEIDS LFE GIDFYTSITRA
RFEE LCSDLFRSTLEPVEKAL RDAKLDKAQIHDLV
LVGGSTRIPKVQKLLQDFFNGRD LNK SINPDEAVAY
GA AVQAAILMGDKSENVQDLLLLDVAPLS LGLETA
GGVMTALIKRNSTIPTKQTQIFTTYS DNQPGVLI
QVYEGERAMTKDNNLLGRFELSGIPPA PRGVPQIEV
TFDI DANGILNVTATDKSTGKANKITITNDKGR
LSKEEIERMVQ

40

50

E A E K Y K A E D E V Q R E R V S A K N A L E S Y A F N M K S A V E D E G L K G
K I S E A D K K K V L D K C Q E V I S W L D A N T L A E K D E F E H K R K E L E
Q V C N P I I S G L Y Q G A G G P G P G G F G A Q G P K G G S G S G P T I E E V
D

配列番号5：配列番号4の開始メチオニン（1位のM）を除去して、640アミノ酸長の配列（2～641位）を得る：

A K A A A I G I D L G T T Y S C V G V F Q H G K V E I I A N D Q G N R T T P S Y
V A F T D T E R L I G D A A K N Q V A L N P Q N T V F D A K R L I G R K F G D P
V V Q S D M K H W P F Q V I N D G D K P K V Q V S Y K G E T K A F Y P E E I S S
M V L T K M K E I A E A Y L G Y P V T N A V I T V P A Y F N D S Q R Q A T K D A
G V I A G L N V L R I I N E P T A A A I A Y G L D R T G K G E R N V L I F D L G
G G T F D V S I L T I D D G I F E V K A T A G D T H L G G E D F D N R L V N H F
V E E F K R K H K K D I S Q N K R A V R R L R T A C E R A K R T L S S S T Q A S
L E I D S L F E G I D F Y T S I T R A R F E E L C S D L F R S T L E P V E K A L
R D A K L D K A Q I H D L V L V G G S T R I P K V Q K L L Q D F F N G R D L N K
S I N P D E A V A Y G A A V Q A A I L M G D K S E N V Q D L L L L D V A P L S L
G L E T A G G V M T A L I K R N S T I P T K Q T Q I F T T Y S D N Q P G V L I Q
V Y E G E R A M T K D N N L L G R F E L S G I P P A P R G V P Q I E V T F D I D
A N G I L N V T A T D K S T G K A N K I T I T N D K G R L S K E E I E R M V Q E
A E K Y K A E D E V Q R E R V S A K N A L E S Y A F N M K S A V E D E G L K G K
I S E A D K K K V L D K C Q E V I S W L D A N T L A E K D E F E H K R K E L E Q
V C N P I I S G L Y Q G A G G P G P G G F G A Q G P K G G S G S G P T I E E V D

配列番号6：ホモサピエンス熱ショック70kdタンパク質1B（HSPA1B）（NM__005346.4）の核酸（DNA）配列：

1 g g a a a a c g g c c a g c c t g a g g a g c t g c t g c g a g g g t
c c g c t t c g t c t t t c g a g a g t g a c t c
61 c c g c g g t c c c a a g g c t t t c c a g a g c g a a c c t g t g
c g g c t g c a g g c a c c g g c g t g t t g a g t
121 t t c c g g c g t t c c g a a g g a c t g a g c t c t t g t c g c
g g a t c c c g t c c g c c g t t t c c a g c c c c c
181 a g t c t c a g a g c g g a g c c c a c a g a g c a g g g c a c c
g g c a t g g c c a a a g c c g c g g c g a t c g g c
241 a t c g a c c t g g g c a c c a c c t a c t c c t g c g t g g g g
g t g t t c c a a c a c g g c a a g g t g g a g a t c
301 a t c g c c a a c g a c c a g g g c a a c c g c a c c a c c c c c
a g c t a c g t g g c c t t c a c g g a c a c c g a g
361 c g g c t c a t c g g g g a t g c g g c c a a g a a c c a g g t g
g c g c t g a a c c c g c a g a a c a c c g t g t t t
421 g a c g c g a a g c g g c t g a t c g g c c g c a a g t t c g g c
g a c c c g g t g g t g c a g t c g g a c a t g a a g
481 c a c t g g c c t t t c c a g g t g a t c a a c g a c g g a g a c
a a g c c c a a g g t g c a g g t g a g c t a c a a g
541 g g g g a g a c c a a g g c a t t c t a c c c c g a g g a g a t c
t c g t c c a t g g t g c t g a c c a a g a t g a a g
601 g a g a t c g c c g a g g c g t a c c t g g g c t a c c c g g t g
a c c a a c g c g g t g a t c a c c g t g c c g g c c
661 t a c t t c a a c g a c t c g c a g c g c c a g g c c a c c a a g
g a t g c g g g t g t g a t c g c g g g g c t c a a c
721 g t g c t g c g g a t c a t c a a c g a g c c c a c g g c c g c c
g c c a t c g c c t a c g g c c t g g a c a g a a c g

7 8 1	g g c a a g g g g g	a g c g c a a c g t	g c t c a t c t t t	g a c	
	c t g g g c g	g g g g c a c c t t	c g a c g t g t c c		
8 4 1	a t c c t g a c g a	t c g a c g a c g g	c a t c t t c g a g	g t g	
	a a g g c c a	c g g c c g g g g a	c a c c c a c c t g		
9 0 1	g g t g g g g a g g	a c t t t g a c a a	c a g g c t g g t g	a a c	
	c a c t t c g	t g g a g g a g t t	c a a g a g a a a a		
9 6 1	c a c a a g a a g g	a c a t c a g c c a	g a a c a a g c g a	g c c	
	g t g a g g c	g g c t g c g c a c	c g c c t g c g a g		
1 0 2 1	a g g g c c a a g a	g g a c c c t g t c	g t c c a g c a c c	c a	
	g g c c a g c c	t g g a g a t c g a	c t c c c t g t t t		10
1 0 8 1	g a g g g c a t c g	a c t t c t a c a c	g t c c a t c a c c	a g	
	g g c g a g g t	t c g a g g a g c t	g t g c t c c g a c		
1 1 4 1	c t g t t c c g a a	g c a c c c t g g a	g c c c g t g g a g	a a	
	g g c t c t g c	g c g a c g c c a a	g c t g g a c a a g		
1 2 0 1	g c c c a g a t t c	a c g a c c t g g t	c c t g g t c g g g	g g	
	c t c c a c c c	g c a t c c c c a a	g g t g c a g a a g		
1 2 6 1	c t g c t g c a g g	a c t t c t t c a a	c g g g c g c g a c	c t	
	g a a c a a g a	g c a t c a a c c c	c g a c g a g g c t		
1 3 2 1	g t g g c c t a c g	g g g c g g c g g t	g c a g g c g g c c	a t	
	c c t g a t g g	g g g a c a a g t c	c g a g a a c g t g		20
1 3 8 1	c a g g a c c t g c	t g c t g c t g g a	c g t g g c t c c c	c t	
	g t c g c t g g	g g c t g g a g a c	g g c c g g a g g c		
1 4 4 1	g t g a t g a c t g	c c c t g a t c a a	g c g c a a c t c c	a c	
	c a t c c c c a	c c a a g c a g a c	g c a g a t c t t c		
1 5 0 1	a c c a c c t a c t	c c g a c a a c c a	a c c c g g g g t g	c t	
	g a t c c a g g	t g t a c g a g g g	c g a g a g g g c c		
1 5 6 1	a t g a c g a a a g	a c a a c a a t c t	g t t g g g g c g c	t t	
	c g a g c t g a	g c g g c a t c c c	t c c g g c c c c c		
1 6 2 1	a g g g g c g t g c	c c c a g a t c g a	g g t g a c c t t c	g a	
	c a t c g a t g	c c a a c g g c a t	c c t g a a c g t c		30
1 6 8 1	a c g g c c a c g g	a c a a g a g c a c	c g g c a a g g c c	a a	
	c a a g a t c a	c c a t c a c c a a	c g a c a a g g g c		
1 7 4 1	c g c c t g a g c a	a g g a g g a g a t	c g a g c g c a t g	g t	
	g c a g g a g g	c g g a g a a g t a	c a a a g c g g a g		
1 8 0 1	g a c g a g g t g c	a g c g c g a g a g	g g t g t c a g c c	a a	
	g a a c g c c c	t g g a g t c c t a	c g c c t t c a a c		
1 8 6 1	a t g a a g a g c g	c c g t g g a g g a	t g a g g g g c t c	a a	
	g g g c a a g a	t c a g c g a g g c	g g a c a a g a a g		
1 9 2 1	a a g g t t c t g g	a c a a g t g t c a	a g a g g t c a t c	t c	
	g t g g c t g g	a c g c c a a c a c	c t t g g c c g a g		40
1 9 8 1	a a g g a c g a g t	t t g a g c a c a a	g a g g a a g g a g	c t	
	g g a g c a g g	t g t g t a a c c c	c a t c a t c a g c		
2 0 4 1	g g a c t g t a c c	a g g g t g c c g g	t g g t c c c g g g	c c	
	t g g c g g c t	t c g g g g c t c a	g g g t c c c a a g		
2 1 0 1	g g a g g g t c t g	g g t c a g g c c c	t a c c a t t g a g	g a	
	g g t g g a t t	a g g g g c c t t t	g t t c t t t a g t		
2 1 6 1	a t g t t t g t c t	t t g a g g t g g a	c t g t t g g g a c	t c	
	a a g g a c t t	t g c t g c t g t t	t t c c t a t g t c		
2 2 2 1	a t t t c t g c t t	c a g c t c t t t g	c t g c t t c a c t	t c	
	t t t g t a a a	g t t g t a a c c t	g a t g g t a a t t		50

```

2 2 8 1   a g c t g g c t t c   a t t a t t t t t g   t a g t a c a a c c   g a
t a t g t t c a   t t a g a a t t c t   t t g c a t t t a a
2 3 4 1   t g t t g a t a c t   g t a a g g g t g t   t t c g t t c c c t   t t
a a a t g a a t   c a a c a c t g c c   a c c t t c t g t a
2 4 0 1   c g a g t t t g t t   t g t t t t t t t t   t t t t t t t t t t   t t
t t t t g c t t   g g c g a a a a c a   c t a c a a a g g c
2 4 6 1   t g g g a a t g t a   t g t t t t t a t a   a t t t g t t t a t   t t
a a a t a t g a   a a a a t a a a a t   g t t a a a c t t t
2 5 2 1   a a a a a a a a a a   a a a a a a a a a a   a a a a a a a a a a   a

```

実施例

10

実施例 1 : P B M C サンプル中の H s p 7 0 レベルの決定

【 0 3 2 4 】

健康な個体から単離された P B M C サンプル中の H s p 7 0 タンパク質のレベルを、ニーマンピック病 C 型の個体の P B M C サンプル中の H s p 7 0 レベルと比較した。

緒言

【 0 3 2 5 】

ニーマンピック病 C 型 (N P C) は、N P C 1 (症例の 9 5 %) または N P C 2 遺伝子のいずれかでの変異によって引き起こされる、まれな壊滅的な神経変性疾患である。N P C 1 はリソソーム / エンドソーム膜タンパク質であるが、N P C 2 は可溶性コレステロール結合リソソームタンパク質であり、一緒にそれらはリソソーム生成において不可欠な役割を果たす。N P C 病は、この疾患の病状を引き起こすリソソーム区画の拡大および機能不全、ならびに複数の組織の細胞内でのコレステロールおよびスフィンゴ糖脂質 (G S L) の異常な蓄積を特徴とする (P l a t t , 2 0 1 4) 。

20

【 0 3 2 6 】

進化的に保存されたタンパク質である H s p 7 0 は、リソソームタンパク質との直接的な相互作用によりリソソームを安定化する (T K i r k e g a a r d ら、2 0 1 0) 。したがって、H s p 7 0 治療法は、N P C に対する見込みのある治療法と考えられた。これに対応して、H s p 7 0 または熱ショック応答の周知の誘導物質であるアリモクロモールの投与は、リソソーム区画のサイズを縮小し、変異型 N P C 1 マウスの神経および内臓の病理を逆転させた (T h o m a s K i r k e g a a r d ら、2 0 1 6) 。さらに、H s p 7 0 の内因性レベルは、N P C 1 マウスの脳および肝臓で減少されることがわかった。

30

【 0 3 2 7 】

N P C 患者における前向き非介入臨床試験を、アリモクロモールを用いたプラセボ対照試験の開始前に開始した。少なくとも 1 つの神経学的症状を有し、補助を用いて歩く能力を保持した、N P C と診断された、2 ~ 1 8 歳の患者を適格とした。患者は、標準治療法を維持した。すべてのデータを、包含時 (訪問 1) および前向き観察の 6 ~ 1 4 ヶ月後 (訪問 2) に評価した。疾患の重症度を、N P C - 重症度スケールスコアを使用して決定し (Y a n j a n i n ら、2 0 1 0) 、より高いスコアは、より重症の病気と関連する。

40

【 0 3 2 8 】

疾患の病理をよりよく理解するために、未治療の患者で H s p 7 0 を測定することを開始した。しかし、脳および肝臓はいずれも N P C 患者にとって適切なマトリックスではない。本臨床研究の計画時に、P B M C での古典的な N P C 病理を説明する論文が発表されたところであった (T e V r u c h t e ら、2 0 1 4) 。したがって、本発明者らは、N P C 患者において H s p 7 0 を測定するための関連マトリックスとして P B M C を見出した。

方法

サンプルの収集 :

【 0 3 2 9 】

全血サンプルを、臨床研究の場で、6 m L E D T A チューブに収集し、サンプルの調

50

製のために周囲状態から中央研究所に出荷した。

【0330】

臨床試験サンプル (n = 26) を、2 ~ 18 歳であり、NPC と診断され、少なくとも 1 つの神経症状を有し、補助を用いて歩く能力が維持したニーマンピック病 C 型 (NPC 患者) の個体から得た。患者は、研究中、標準治療法を維持した。サンプルを、1 回目の臨床試験訪問 (包含) および 1 回目の訪問から 6 ~ 14 ヶ月後の 2 回目の臨床試験訪問で収集した。

【0331】

対照サンプル (n = 19) を、20 ~ 30 歳の健康な対象から得た。これらのサンプルを、臨床試験サンプルと同じ収集方法および分離方法を使用して処理した。

NPC - 重大度スケールスコア:

【0332】

1 回目および 2 回目の臨床試験訪問時に、NPC 患者の疾患重症度を、NPC 重症度スケールスコア (NPCCSS) を使用して決定し (Yanjani et al., 2010)、ここでより高いスコアは、より重症の病気と関連する。

PBMC の分離:

【0333】

血漿を、室温での遠心分離によって全血から分離した。血液量を、PBS で回復し、PBMC を、Histopaque (商標) を使用する密度勾配遠心分離によって単離した。生存可能 PBMC 細胞数を、フローサイトメトリーによって決定した。1 mio. のアリコートの PBMC を生成し、-70 °C で冷凍保存した。

ヒト PBMC 中の Hsp70 の測定:

【0334】

Hsp70 を、Human / Mouse / Rat total HSP70 DuoSet (登録商標) IC ELISA キット (R&D Systems) を使用して定量化した。臨床試験サンプルを分析する前に、分析方法は、ヒト PBMC サンプル中の Hsp70 の測定について認可された。Human / Mouse / Rat total HSP70 DuoSet (登録商標) IC ELISA キットは、HspA5 および HspA8 の交差反応なしに、HspA1A および HspA1B のレベルを検出する。

結果

【0335】

PBMC サンプル中の Hsp70 の定量化は、健康な対照由来の PBMC サンプルと比較して、NPC 患者由来の PBMC サンプル中での Hsp70 の発現が著しく減少していることを示した。健康な対照サンプルは、平均 12000 pg/mL の Hsp70 を示したが、NPC 患者から単離した PBMC サンプル中の Hsp70 の平均濃度は、1800 pg/mL であった (図 1)。NPC 患者から単離した PBMC サンプル中の Hsp70 の発現は、NPC - 重症度スケールスコア (NPCCSS) との相関を示さなかった (図 2)。さらに、臨床試験の 1 回目の訪問 ~ 2 回目の訪問の時間の経過に伴う Hsp70 レベルの変化は観察されなかった (図 3)。

結論

【0336】

この実施例は、健康な対照と比較して、ニーマンピック病 C 型に罹患している患者の末梢血単核細胞 (PBMC) 中で Hsp70 タンパク質の発現が著しく低下していることを示す。さらに、低レベルの Hsp70 は、NPC 患者の疾患の重症度とは関係がない。

実施例 2: アリモクロモールは NPC 患者において Hsp70 を増加させる

材料および方法

【0337】

材料および方法を、実施例 1 に記載されているとおりに実施した。

結果

【0338】

10

20

30

40

50

H s p 7 0 濃度を、末梢血単核細胞 (P B M C) のホモジネートで測定した。H s p 7 0 を、観察研究 (図 4 および図 5)、スクリーニング (前処理)、および 6 ~ 1 4 か月後 (ベースライン) で決定した。患者を、アリモクロモール (C l i n i c a l t r i a l s . g o v i d e n t i f i e r N C T 0 2 6 1 2 1 2 9) で 1 2 ヶ月間治療した。H s p 7 0 レベルを、1 2 ヶ月の治療前後の H s p 7 0 レベルを比較するベースラインおよび 1 2 ヶ月のデータポイントを使用して、アリモクロモールでの 1 2 名の患者のウィルコクソン符号順位検定により分析した。

【表 2】

取得データの統計分析。

ベースラインアリモクロモールからの変化 (p g / m L)	
n	1 2
平均値 (S D)	1 8 1 5 . 0 (1 7 5 4 . 6)
中央	1 1 7 5 . 5
最小-最大	2 3 4 . 7 - 6 5 0 9 . 0
対応のある t 検定の p 値	0 . 0 0 4 3
ウィルコクソンの符号順位検定の p 値	0 . 0 0 0 5

10

結論

【 0 3 3 9 】

H s p 7 0 の血中レベルは、健康な対照と比較して N P C の患者において低下し、疾患進行 (前治療からベースラインまで) に伴い安定なままである。この例は、アリモクロモールによる 1 2 ヶ月間の治療は、ベースラインと比較して H s p 7 0 の P B M C レベルを大幅に増加させたことを示す。これは、H s p 7 0 の P B M C レベルがアリモクロモール治療法の薬力学的マーカーであることを示す。

20

引用文献

Kirkegaard, T., Gray, J., Priestman, D. A., Wallom, K., Atkins, J., Olsen, O. D., ... Platt, F. M. (2016). Heat shock protein-based therapy as a potential candidate for treating the sphingolipidoses. *Science Translational Medicine*, 8(355), 355ra118. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aad9823>

30

Kirkegaard, T., Roth, A. G., Petersen, N. H. T., Mahalka, A. K., Olsen, O. D., Moilanen, I., ... Jaaattelae, M. (2010). Hsp70 stabilizes lysosomes and reverts Niemann-Pick disease-associated lysosomal pathology. *Nature*, 463(7280), 549-553. <https://doi.org/10.1038/nature08710>

Platt, F. M. (2014). Sphingolipid lysosomal storage disorders. *Nature*, 510(7503), 68-75. <https://doi.org/10.1038/nature13476>

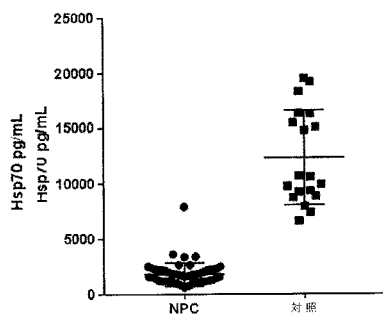
40

Te Vrugte, D., Speak, A. O., Wallom, K. L., Al Eisa, N., Smith, D. A., Hendriks, C. J., ... Platt, F. M. (2014). Relative acidic compartment volume as a lysosomal storage disorder-associated biomarker. *The Journal of Clinical Investigation*, 1-9. <https://doi.org/10.1172/JCI72835>

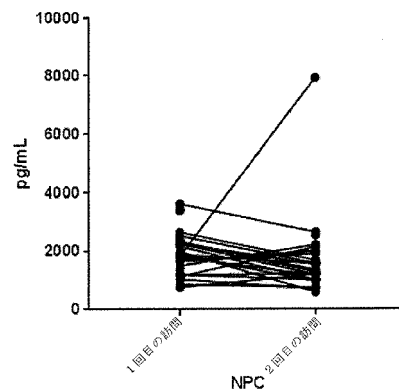
50

Yanjanin, N. M., Velez, J. I., Sc, M., Gropman, A., King, K., Au, D., ... Porter, F. D. (2010). Linear Clinical Progression, Independent of Age of Onset, in Niemann-Pick Disease, type C. American Journal Of Medical Genetics Part B Neuropsychiatric Genetics, (1), 132-140. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30969>. Linear

【図 1】



【図 3】



【図 2】

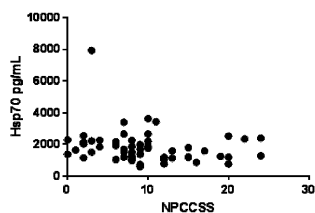
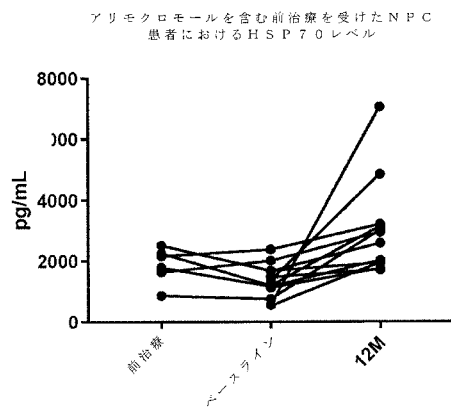
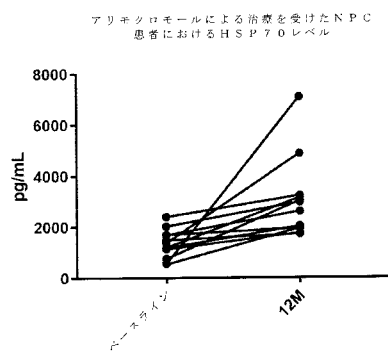


Fig. 2

【 図 4 】



【 図 5 】



【 配列表 】

2021525864000001.xml

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2019/063854

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. G01N33/68
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	THOMAS KIRKEGAARD ET AL: "Heat shock protein-based therapy as a potential candidate for treating the sphingolipidoses", SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE, vol. 8, no. 355, 7 September 2016 (2016-09-07), pages 355ra118-1, XP055390260, US ISSN: 1946-6234, DOI: 10.1126/scitranslmed.aad9823 cited in the application ----- -/--	1-53

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 August 2019

Date of mailing of the international search report

22/08/2019

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Behrens, Ralf

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2019/063854

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SCHULTZ MARK L ET AL: "Lysosome and endoplasmic reticulum quality control pathways in Niemann-Pick type C disease", BRAIN RESEARCH, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 1649, 26 March 2016 (2016-03-26), pages 181-188, XP029761301, ISSN: 0006-8993, DOI: 10.1016/J.BRAINRES.2016.03.035 -----	1-53
A	HUNTER-LAVIN CLAIRE ET AL: "Hsp70 release from peripheral blood mononuclear cells", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 324, no. 2, 2 October 2004 (2004-10-02), pages 511-517, XP028808429, ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1016/J.BBRC.2004.09.075 -----	1-53

フロントページの続き

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

(72)発明者 インゲマン, リンダ

デンマーク国, 2 8 7 0 ディセガード, ヴェド レンデン 1 3

(72)発明者 キルケゴール ジェンセン, トーマス

デンマーク国, 2 6 1 0 レズオウア, レンネホルムスヴェイ 3 7

Fターム(参考) 2G045 AA02 AA24 AA25 CA11 DA14 DA36 FB01 FB02 FB03