

(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2016-528235

(P2016-528235A)

(43) 公表日 平成28年9月15日(2016.9.15)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 45/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 45/00	2 G 0 4 5
<b>G 0 1 N 33/68 (2006.01)</b>	G 0 1 N 33/68	4 B 0 2 9
<b>G 0 1 N 33/53 (2006.01)</b>	G 0 1 N 33/53	D 4 C 0 8 4
<b>A 6 1 K 38/00 (2006.01)</b>	G 0 1 N 33/53	L 4 C 0 8 5
<b>A 6 1 K 31/7105 (2006.01)</b>	G 0 1 N 33/53	P 4 C 0 8 6
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 151 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2016-533403 (P2016-533403)  
 (86) (22) 出願日 平成26年8月6日 (2014.8.6)  
 (85) 翻訳文提出日 平成28年3月14日 (2016.3.14)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/049957  
 (87) 国際公開番号 W02015/021166  
 (87) 国際公開日 平成27年2月12日 (2015.2.12)  
 (31) 優先権主張番号 61/863, 299  
 (32) 優先日 平成25年8月7日 (2013.8.7)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 61/913, 180  
 (32) 優先日 平成25年12月6日 (2013.12.6)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 503102674  
 アレクシオン ファーマシューティカルズ  
 , インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国 コネチカット 0641  
 0, チェシャー, ノッター ドライブ  
 352  
 (74) 代理人 100078282  
 弁理士 山本 秀策  
 (74) 代理人 100113413  
 弁理士 森下 夏樹  
 (72) 発明者 マックナイト, スーザン ファース  
 アメリカ合衆国 コネチカット 0637  
 1, オールド ライム, ストーンウッ  
 ド ドライブ 14

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 非典型溶血性尿毒症症候群のバイオマーカータンパク質

(57) 【要約】

本開示は、濃度または活性レベルの変化が、非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S ) または補体阻害剤を用いた a H U S の臨床的に意味のある処置に関連するバイオマーカータンパク質を提供する。生体液中のバイオマーカータンパク質のうちの1種または複数種の濃度および/または活性を調査するための組成物および方法も提供される。当該組成物および方法は、とりわけ、 a H U S を発症するリスクを評価するため、 a H U S を診断するため、被験体が a H U S の最初の急性症状を経験しているかどうかを決定するため、 a H U S の進行または緩和をモニターするため、および/または補体阻害剤を用いた処置への応答をモニターするもしくはそのような処置を最適化するために有用である。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

補体の阻害剤を用いた処置に対する被験体の応答性をモニターするための方法であって、該被験体から得た生体液中の少なくとも 2 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定するステップであって、該 a H U S 関連バイオマーカータンパク質が、C X C L 1 0、M C P - 1、T N F R 1、I F N - 、I L - 6、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片、可溶性 C 5 b 9 ( s C 5 b 9 )、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、トロンボモジュリン、V C A M - 1、フォン・ヴィルブランド因子 ( v W F )、補体成分 C 5 a、 2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、アルブミン、C X C L 9、K I M - 1、および C C L 5 からなる群から選択されるステップを含み、

該被験体が、a H U S を有するか、a H U S を有する疑いがあるか、または a H U S を発症するリスクがあり、該被験体が、補体の阻害剤を用いた処置を受けていたまたは受けており、( a ) C X C L 1 0、M C P - 1、T N F R 1、I F N - 、I L - 6、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片、可溶性 C 5 b 9 ( s C 5 b 9 )、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、トロンボモジュリン、V C A M - 1、フォン・ヴィルブランド因子 ( v W F )、補体成分 C 5 a、 2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、アルブミン、C X C L 9、および K I M - 1 のうちの少なくとも 1 種の濃度が、該阻害剤を用いた処置の前に該被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下すること、または ( b ) C C L 5 の濃度が、該阻害剤を用いた処置の前に該被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して上昇することにより、該被験体が該阻害剤を用いた処置に応答することが示される、方法。

## 【請求項 2】

前記少なくとも 2 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質を、イムノアッセイを使用して測定する、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記イムノアッセイが酵素結合免疫吸着アッセイ ( E L I S A ) またはラジオイムノアッセイ ( R I A ) である、請求項 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

前記被験体がヒトである、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 5】

少なくとも 5 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 6】

少なくとも 1 0 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記生体液が血液である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記生体液が血液画分である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記血液画分が血漿または血清である、請求項 8 に記載の方法。

## 【請求項 1 0】

前記生体液が尿である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 1 1】

2 つまたはそれ超の種類 of 生体液において少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカーの濃度を測定する、請求項 1 から 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 1 2】

前記少なくとも 2 種の a H U S バイオマーカータンパク質のうちの第 1 のタンパク質の

10

20

30

40

50

濃度を 1 種類の前記生体液において測定し、該少なくとも 2 種の a H U S バイオマーカータンパク質のうちの第 2 のタンパク質の濃度を第 2 の種類の体液において測定する、請求項 1 から 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3】

B a、s C 5 b - 9、および C 5 a からなる群のうちの少なくとも 2 種の濃度を決定する、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4】

B a および s C 5 b 9 の一方または両方の濃度を決定する、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

C 5 a および C 5 b 9 の一方または両方の濃度を決定する、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 6】

2 M、クラスタリン、シスタチン C、アルブミン、T I M P - 1、N G A L、および F A B P - 1 からなる群のうちの少なくとも 2 種のメンバーの濃度を決定する、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 7】

C X C L 1 0、C X C L 9、M C P - 1、T N F R 1、V E G F、I L - 6、および I F N からなる群のうちの少なくとも 2 種の濃度を決定する、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

D - ダイマーおよび F 1 + 2 の一方または両方の濃度を決定する、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 9】

s C D 4 0 L、プロトロンビン断片 F 1 + 2、および D - ダイマーからなる群のうちの少なくとも 2 種のメンバーの濃度を決定する、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 0】

トロンボモジュリン、V C A M - 1、または v W F の濃度を決定する、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 1】

T N F R 1 の濃度を決定する、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

I F N - 、C X C L 1 0、C X C L 9、T N F R 1、V C A M - 1、M C P - 1、V E G F、C C L 5、および I L - 6 からなる群のうちの少なくとも 2 種のメンバーの濃度を決定する、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

I F N - 、C X C L 1 0、C X C L 9、T N F R 1、V C A M - 1、M C P - 1、V E G F、および I L - 6 からなる群から選択される少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、C X C L 1 0、C X C L 9、アルブミン、および K I M - 1 からなる群から選択される少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカーの濃度を決定する、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 5】

C X C L 1 0、C X C L 9、M C P - 1、T N F R 1、V E G F、I L - 6、C C L 5、I F N - 、I L - 8、および I C A M - 1 からなる群から選択される少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 26】

前記被験体の血清中の C X C L 9、C X C L 10、I F N - 、M C P - 1、C C L 5、s C D 40 L、または s T N F R 1 の濃度を決定する、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 27】

前記被験体の尿中の 2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、C X C L 10、C X C L 9、アルブミン、および K I M - 1 からなる群から選択される少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカーの濃度を決定する、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

10

## 【請求項 28】

前記被験体の血漿中の N G A L、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片、可溶性 C 5 b 9 ( s C 5 b 9 )、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、トロンボモジュリン、またはフォン・ウィルブランド因子 ( v W F ) の濃度を決定する、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 29】

B a の濃度を決定する、請求項 1 から 28 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 30】

前記被験体から得た血漿中の B a の濃度を決定する、請求項 29 に記載の方法。

## 【請求項 31】

前記被験体が、補体阻害剤を用いた処置を長期にわたって受けている、請求項 1 から 30 のいずれか一項に記載の方法。

20

## 【請求項 32】

前記阻害剤が小分子、ポリペプチド、ポリペプチド類似体、ペプチド模倣体、またはアプタマーである、請求項 1 から 31 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 33】

前記阻害剤が抗体または抗体の抗原結合性断片である、請求項 32 に記載の方法。

## 【請求項 34】

前記抗体またはその抗原結合性断片が、ヒト化抗体、組換え抗体、ダイアボディ、キメラ化またはキメラ抗体、モノクローナル抗体、脱免疫化抗体、完全ヒト抗体、単鎖抗体、F v 断片、F d 断片、F a b 断片、F a b ' 断片、および F ( a b ' )<sub>2</sub> 断片からなる群から選択される、請求項 33 に記載の方法。

30

## 【請求項 35】

前記抗体またはその抗原結合性断片が補体成分 C 5 に結合し、C 5 が切断されて断片 C 5 a および C 5 b になるのを阻害する、請求項 33 または 34 に記載の方法。

## 【請求項 36】

前記抗体がエクリズマブである、請求項 35 に記載の方法。

## 【請求項 37】

前記抗原結合性断片がパキセリズマブである、請求項 35 に記載の方法。

## 【請求項 38】

前記阻害剤が、M B 12 / 22、M B 12 / 22 - R G D、A R C 187、A R C 1905、S S L 7、および O m C I からなる群から選択される、請求項 32 に記載の方法。

40

## 【請求項 39】

前記被験体がヒトであり、前記抗体を該ヒトに以下の投薬スケジュール：( i ) エクリズマブ少なくとも 900 m g を毎週、2 週間またはそれ超の週間にわたって；および ( i i ) ( i ) の後に、エクリズマブ少なくとも 1200 m g を少なくとも 12 日毎、の下で投与する、請求項 35 に記載の方法。

## 【請求項 40】

前記被験体の体重が 40 k g 超であるかまたは 40 k g に等しい、請求項 35 に記載の方法。

50

**【請求項 4 1】**

前記抗体を前記被験体に少なくとも7週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも800mgの該抗体を週あたり1回、4週間連続して；  
少なくとも800mgの該抗体を第5週の間1回；および  
少なくとも800mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、請求項40に記載の方法。

**【請求項 4 2】**

前記抗体を前記被験体に少なくとも7週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも900mgの該抗体を週あたり1回、4週間連続して；  
少なくとも1200mgの該抗体を第5週の間1回；および  
少なくとも1200mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、請求項40に記載の方法。

10

**【請求項 4 3】**

前記被験体の体重が40kg未満であるが、30kg超であるかまたは30kgに等しい、請求項35に記載の方法。

**【請求項 4 4】**

前記抗体を前記患者に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも500mgの該抗体を週あたり1回、2週間連続して；  
少なくとも700mgの該抗体を第3週の間1回；および  
少なくとも700mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、請求項43に記載の方法。

20

**【請求項 4 5】**

前記抗体を前記被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも600mgの該抗体を週あたり1回、2週間連続して；  
少なくとも900mgの該抗体を第3週の間1回；および  
少なくとも900mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、請求項43に記載の方法。

**【請求項 4 6】**

前記被験体の体重が30kg未満であるが、20kg超であるかまたは20kgに等しい、請求項35に記載の方法。

30

**【請求項 4 7】**

前記抗体を前記被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも500mgの該抗体を週あたり1回、2週間連続して；  
少なくとも500mgの該抗体を第3週の間1回；および  
少なくとも500mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、請求項46に記載の方法。

**【請求項 4 8】**

前記抗体を前記被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも600mgの該抗体を週あたり1回、2週間連続して；  
少なくとも600mgの該抗体を第3週の間1回；および  
少なくとも600mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、請求項46に記載の方法。

40

**【請求項 4 9】**

前記被験体の体重が20kg未満であるが、10kg超であるかまたは10kgに等しい、請求項35に記載の方法。

**【請求項 5 0】**

前記抗体を前記被験体に少なくとも4週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも500mgの該抗体を週に1回、1週間にわたって；  
少なくとも200mgの該抗体を第2週の間1回；および  
少なくとも200mgの該抗体をその後、隔週で、

50

の下で投与する、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 51】

前記抗体を前記被験体に少なくとも 4 週間にわたって以下のスケジュール：

少なくとも 600 mg の該抗体を週に 1 回、1 週間にわたって；

少なくとも 300 mg の該抗体を第 2 週の間 1 回；および

少なくとも 300 mg の該抗体をその後、隔週で、

の下で投与する、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 52】

前記被験体の体重が 10 kg 未満であるが、5 kg 超であるかまたは 5 kg に等しい、  
請求項 35 に記載の方法。

10

【請求項 53】

前記抗体を前記被験体に少なくとも 5 週間にわたって以下のスケジュール：

少なくとも 200 mg の該抗体を週あたり 1 回、1 週間にわたって；

少なくとも 200 mg の該抗体を第 2 週の間 1 回；および

少なくとも 200 mg の該抗体をその後、3 週間毎に 1 回、

の下で投与する、請求項 52 に記載の方法。

【請求項 54】

前記抗体を前記被験体に少なくとも 5 週間にわたって以下のスケジュール：

少なくとも 300 mg の該抗体を週あたり 1 回、1 週間にわたって；

少なくとも 300 mg の該抗体を第 2 週の間 1 回；および

少なくとも 300 mg の該抗体をその後、3 週間毎に、

の下で投与する、請求項 52 に記載の方法。

20

【請求項 55】

非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S ) を、少なくとも 2 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の生理的变化を誘導するために十分な様式で補体阻害剤を使用して処置するための方法であって、

( a ) 被験体から得た生体液中の少なくとも 2 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定するステップであって、該 a H U S 関連バイオマーカータンパク質が、C X C L 10、M C P - 1、T N F R 1、I F N - 、I L - 6、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片、可溶性 C 5 b 9 ( s C 5 b 9 )、プロトロンビン断片 F 1 + 2、d - ダイマー、トロンボモジュリン、V C A M - 1、フォン・ヴィルブランド因子 ( v W F )、補体成分 C 5 a、2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、アルブミン、C X C L 9、K I M - 1、および C C L 5 からなる群から選択されるステップ、および

30

( b ) a H U S を有するか、a H U S を有する疑いがあるか、または a H U S を発症するリスクがある被験体に、補体の阻害剤を、2 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の少なくともそれぞれの生理的变化を引き起こすために十分な量および頻度で投与するステップであって、該生理的变化が、( a ) C X C L 10、M C P - 1、T N F R 1、I F N - 、I L - 6、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片、可溶性 C 5 b 9 ( s C 5 b 9 )、プロトロンビン断片 F 1 + 2、d - ダイマー、トロンボモジュリン、V C A M - 1、フォン・ヴィルブランド因子 ( v W F )、補体成分 C 5 a、2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、アルブミン、C X C L 9、または K I M - 1 のうちの少なくとも 1 種の濃度が、該阻害剤を用いた処置の前に該被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下すること、および ( b ) C C L 5 の、該被験体から得た生体液中の濃度が、該阻害剤を用いた処置の前に該被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して上昇することからなる群から選択されるステップを含む方法。

40

【請求項 56】

前記少なくとも 2 種の生理的变化が起こったかどうかを決定するステップをさらに含む

50

、請求項 5 5 に記載の方法。

【請求項 5 7】

トロンボモジュリン、VCAM-1、およびvWFからなる群から選択される少なくとも1種のメンバーの濃度が低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【請求項 5 8】

BaおよびsC5b9のそれぞれの濃度が低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【請求項 5 9】

C5aおよびsC5b9のそれぞれの濃度が低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

10

【請求項 6 0】

2M、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、FABP-1からなる群から選択される2種のメンバーの少なくともそれぞれの濃度が低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【請求項 6 1】

2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、CXCL10、CXCL9、アルブミン、およびKIM-1のそれぞれの濃度が低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【請求項 6 2】

トロンボモジュリン、VCAM-1、およびvWFのそれぞれの濃度が低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

20

【請求項 6 3】

プロトロンビン断片F1+2およびD-ダイマーの少なくともそれぞれの濃度が低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【請求項 6 4】

トロンボモジュリン、VCAM-1、およびvWFのそれぞれの濃度が低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【請求項 6 5】

CXCL10、MCP-1、およびTNFR1のそれぞれの濃度が低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

30

【請求項 6 6】

IFN- およびVCAM-1のうちの少なくとも1種の濃度が低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【請求項 6 7】

C5a、C5b-9、F1+2、D-ダイマー、シスタチンC、またはTIMP-1のうちの1種または複数種の濃度が前記補体の阻害剤を用いた処置の開始後少なくとも第1週~第2.5週までに低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【請求項 6 8】

Ba、TNFR1、クラスタリン、またはNGALのうちの1種または複数種の濃度が前記阻害剤を用いた処置の開始後少なくとも第4週~第6週までに低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

40

【請求項 6 9】

VCAM-1、FABP-1、または2Mのうちの1種または複数種の濃度が前記阻害剤を用いた処置の開始後少なくとも第12週~第17週までに低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【請求項 7 0】

補体成分C5の阻害剤を、前記ヒトに、前記aHUS関連バイオマーカーのうちの3種またはそれ超のそれぞれの生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与する、請求項 5 5 から 6 9 のいずれか一項に記載の方法。

50

## 【請求項 7 1】

前記補体成分 C 5 の阻害剤を、前記被験体に、前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの少なくとも 5 種それぞれの生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与する、請求項 5 5 から 6 9 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 7 2】

前記補体成分 C 5 の阻害剤を、前記被験体に、前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの少なくとも 1 0 種それぞれの生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与する、請求項 5 5 から 6 9 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 7 3】

前記補体成分 C 5 の阻害剤を、前記被験体に、前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの 1 5 種またはそれ超のそれぞれの生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与する、請求項 5 5 から 6 9 のいずれか一項に記載の方法。

10

## 【請求項 7 4】

C C L 5 以外の前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの少なくとも 1 種の濃度が前記阻害剤の投与後に少なくとも 1 0 % 低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

## 【請求項 7 5】

C C L 5 以外の前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの少なくとも 1 種の濃度が前記阻害剤の投与後に少なくとも 2 0 % 低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

## 【請求項 7 6】

C C L 5 以外の前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの少なくとも 1 種の濃度が前記阻害剤の投与後に少なくとも 3 0 % 低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

20

## 【請求項 7 7】

C C L 5 以外の前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの少なくとも 1 種の濃度が前記阻害剤の投与後に少なくとも 4 0 % 低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

## 【請求項 7 8】

C C L 5 以外の前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの少なくとも 1 種の濃度が前記阻害剤の投与後に少なくとも 5 0 % 低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

## 【請求項 7 9】

C C L 5 以外の前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの少なくとも 1 種の濃度が前記阻害剤の投与後に少なくとも 6 0 % 低下する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

30

## 【請求項 8 0】

前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの少なくとも 1 種の濃度が前記阻害剤の投与後に正常化する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

## 【請求項 8 1】

前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの少なくとも 2 種それぞれの濃度が前記阻害剤の投与後に正常化する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

## 【請求項 8 2】

前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの少なくとも 3 種それぞれの濃度が前記阻害剤の投与後に正常化する、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

## 【請求項 8 3】

2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、C X C L 1 0、C X C L 9、および K I M - 1 からなる群から選択されるバイオマーカーが正常化する、請求項 8 2 に記載の方法。

40

## 【請求項 8 4】

前記被験体が、前記阻害剤を用いた処置の直前の 3 ヶ月以内に透析を少なくとも 1 回受けている、請求項 5 5 から 8 3 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 8 5】

同じ種類の生体液の試料中の正常な濃度と比較して、T N F R 1、B a、トロンボモジュリン断片 F 1 + 2、および s C 5 b 9 からなる群から選択される少なくとも 1 種のメン

50

パーの濃度が前記補体の阻害剤の投与前には上昇している、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 8 6】

同じ種類の生体液の試料中の正常な濃度と比較して、 $2 M$ 、 $s C 5 b 9$ 、 $C 5 a$ 、シスタチン C、クラスタリン、 $T I M P - 1$ 、および  $N G A L$  のうちの 1 種または複数種の尿濃度が前記補体の阻害剤の投与前には上昇している、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 8 7】

前記被験体が、最初の急性  $a H U S$  発現を経験している被験体である、請求項 5 5 から 8 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 8】

前記被験体が、 $a H U S$  を有さない健康な被験体と比較して、 $D -$ ダイマーの上昇および  $F A B P - 1$  の上昇の一方または両方を有する、請求項 8 7 に記載の方法。

10

【請求項 8 9】

少なくとも 2 種の  $a H U S$  関連バイオマーカータンパク質のそれぞれの前記生理的变化が前記阻害剤の最初の投与後 2 週間以内に起こる、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【請求項 9 0】

少なくとも 2 種の  $a H U S$  関連バイオマーカータンパク質のそれぞれの前記生理的变化が前記阻害剤の長期にわたる投与を開始してから 2 ヶ月以内に起こる、請求項 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【請求項 9 1】

前記被験体が、補体阻害剤を用いた処置を長期にわたって受けている、請求項 5 5 から 9 0 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 9 2】

前記阻害剤が小分子、ポリペプチド、ポリペプチド類似体、ペプチド模倣体、またはアプタマーである、請求項 5 5 から 9 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 3】

前記阻害剤が抗体または抗体の抗原結合性断片である、請求項 9 2 に記載の方法。

【請求項 9 4】

前記抗体またはその抗原結合性断片が、ヒト化抗体、組換え抗体、ダイアボディ、キメラ化またはキメラ抗体、モノクローナル抗体、脱免疫化抗体、完全ヒト抗体、単鎖抗体、 $F v$  断片、 $F d$  断片、 $F a b$  断片、 $F a b'$  断片、および  $F ( a b' )_2$  断片からなる群から選択される、請求項 9 3 に記載の方法。

30

【請求項 9 5】

前記抗体またはその抗原結合性断片が補体成分  $C 5$  に結合し、 $C 5$  が切断されて断片  $C 5 a$  および  $C 5 b$  になるのを阻害する、請求項 9 3 または 9 4 に記載の方法。

【請求項 9 6】

前記抗体がエクリズマブである、請求項 9 5 に記載の方法。

【請求項 9 7】

前記抗原結合性断片がパキセリズマブである、請求項 9 5 に記載の方法。

【請求項 9 8】

前記阻害剤が、 $M B 1 2 / 2 2$ 、 $M B 1 2 / 2 2 - R G D$ 、 $A R C 1 8 7$ 、 $A R C 1 9 0 5$ 、 $S S L 7$ 、および  $O m C I$  からなる群から選択される、請求項 9 2 に記載の方法。

40

【請求項 9 9】

前記被験体がヒトであり、前記抗体を該ヒトに以下の投薬スケジュール：(i) エクリズマブ少なくとも  $9 0 0 m g$  を毎週、2 週間またはそれ超の週間にわたって；および (ii) (i) の後に、エクリズマブ少なくとも  $1 2 0 0 m g$  を少なくとも 1 2 日毎に、の下で投与する、請求項 9 5 に記載の方法。

【請求項 1 0 0】

前記被験体の体重が  $4 0 k g$  超であるかまたは  $4 0 k g$  に等しい、請求項 9 5 に記載の方法。

【請求項 1 0 1】

50

前記抗体を前記被験体に少なくとも7週間にわたって以下のスケジュール：  
 少なくとも800mgの該抗体を週あたり1回、4週間連続して；  
 少なくとも800mgの該抗体を第5週の間に1回；および  
 少なくとも800mgの該抗体をその後、隔週で、  
 の下で投与する、請求項100に記載の方法。

【請求項102】

前記抗体を前記被験体に少なくとも7週間にわたって以下のスケジュール：  
 少なくとも900mgの該抗体を週あたり1回、4週間連続して；  
 少なくとも1200mgの該抗体を第5週の間に1回；および  
 少なくとも1200mgの該抗体をその後、隔週で、  
 の下で投与する、請求項100に記載の方法。

10

【請求項103】

前記被験体の体重が40kg未満であるが、30kg超であるかまたは30kgに等しい、請求項95に記載の方法。

【請求項104】

前記抗体を前記患者に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
 少なくとも500mgの該抗体を週あたり1回、2週間連続して；  
 少なくとも700mgの該抗体を第3週の間に1回；および  
 少なくとも700mgの該抗体をその後、隔週で、  
 の下で投与する、請求項43に記載の方法。

20

【請求項105】

前記抗体を前記被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
 少なくとも600mgの該抗体を週あたり1回、2週間連続して；  
 少なくとも900mgの該抗体を第3週の間に1回；および  
 少なくとも900mgの該抗体をその後、隔週で、  
 の下で投与する、請求項103に記載の方法。

【請求項106】

前記被験体の体重が30kg未満であるが、20kg超であるかまたは20kgに等しい、請求項95に記載の方法。

【請求項107】

前記抗体を前記被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
 少なくとも500mgの該抗体を週あたり1回、2週間連続して；  
 少なくとも500mgの該抗体を第3週の間に1回；および  
 少なくとも500mgの該抗体をその後、隔週で、  
 の下で投与する、請求項106に記載の方法。

30

【請求項108】

前記抗体を前記被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
 少なくとも600mgの該抗体を週あたり1回、2週間連続して；  
 少なくとも600mgの該抗体を第3週の間に1回；および  
 少なくとも600mgの該抗体をその後、隔週で、  
 の下で投与する、請求項106に記載の方法。

40

【請求項109】

前記被験体の体重が20kg未満であるが、10kg超であるかまたは10kgに等しい、請求項95に記載の方法。

【請求項110】

前記抗体を前記被験体に少なくとも4週間にわたって以下のスケジュール：  
 少なくとも500mgの該抗体を週に1回、1週間にわたって；  
 少なくとも200mgの該抗体を第2週の間に1回；および  
 少なくとも200mgの該抗体をその後、隔週で、  
 の下で投与する、請求項109に記載の方法。

50

## 【請求項 1 1 1】

前記抗体を前記被験体に少なくとも 4 週間にわたって以下のスケジュール：  
 少なくとも 600 mg の該抗体を週に 1 回、1 週間にわたって；  
 少なくとも 300 mg の該抗体を第 2 週の間 1 回；および  
 少なくとも 300 mg の該抗体をその後、隔週で、  
 の下で投与する、請求項 1 0 9 に記載の方法。

## 【請求項 1 1 2】

前記被験体の体重が 10 kg 未満であるが、5 kg 超であるかまたは 5 kg に等しい、  
 請求項 1 0 5 に記載の方法。

## 【請求項 1 1 3】

前記抗体を前記被験体に少なくとも 5 週間にわたって以下のスケジュール：  
 少なくとも 200 mg の該抗体を週あたり 1 回、1 週間にわたって；  
 少なくとも 200 mg の該抗体を第 2 週の間 1 回；および  
 少なくとも 200 mg の該抗体をその後、3 週間毎に 1 回、  
 の下で投与する、請求項 1 1 2 に記載の方法。

10

## 【請求項 1 1 4】

前記抗体を前記被験体に少なくとも 5 週間にわたって以下のスケジュール：  
 少なくとも 300 mg の該抗体を週あたり 1 回、1 週間にわたって；  
 少なくとも 300 mg の該抗体を第 2 週の間 1 回；および  
 少なくとも 300 mg の該抗体をその後、3 週間毎に、  
 の下で投与する、請求項 1 1 2 に記載の方法。

20

## 【請求項 1 1 5】

複数の結合作用物質を含むアレイであって、該複数の結合作用物質のそれぞれが該アレイ上に独特のアドレスを有し、該アレイが 500 以下の独特のアドレスを含み、該複数の結合作用物質のそれぞれが異なる生物学的分析物タンパク質に結合し、該アレイが、表 1 に記載されている 4 種またはそれ超のタンパク質に結合する結合作用物質を含む、アレイ。

## 【請求項 1 1 6】

前記結合作用物質が、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片、可溶性 C5b9 (sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子 (vWF)、  
 可溶性 CD40 リガンド (sCD40L)、プロトロンビン断片 F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、ICAM-1、IL-1β、IL-12p70、補体成分 C5a、2 ミクログロブリン (2M)、クラスタリン、シスタチン C、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質 1 (FABP-1)、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF)、IL-6、アルブミン、IL-8、および CCL5 からなる群から選択される 4 種またはそれ超のタンパク質に結合する、請求項 1 1 5 に記載のアレイ。

30

## 【請求項 1 1 7】

タンパク質チップである、請求項 1 1 5 または 1 1 6 に記載のアレイ。

## 【請求項 1 1 8】

前記アレイの各アドレスがアッセイプレートのウェルである、請求項 1 1 5 または 1 1 6 に記載のアレイ。

40

## 【請求項 1 1 9】

少なくとも 10 種の前記分析物タンパク質に結合する抗体を含む、請求項 1 1 5 から 1 1 8 のいずれか一項に記載のアレイ。

## 【請求項 1 2 0】

少なくとも 20 種の前記分析物タンパク質に結合する抗体を含む、請求項 1 1 5 から 1 1 8 のいずれか一項に記載のアレイ。

## 【請求項 1 2 1】

200 以下の独特のアドレスを含む、請求項 1 1 5 から 1 2 0 のいずれか一項に記載の

50

アレイ。

【請求項 1 2 2】

100以下の独特のアドレスを含む、請求項 1 1 5 から 1 2 0 のいずれか一項に記載のアレイ。

【請求項 1 2 3】

50以下の独特のアドレスを含む、請求項 1 1 5 から 1 2 0 のいずれか一項に記載のアレイ。

【請求項 1 2 4】

20以下の独特のアドレスを含む、請求項 1 1 5 から 1 2 0 のいずれか一項に記載のアレイ。

【請求項 1 2 5】

前記結合作用物質が抗体またはその抗原結合性断片である、請求項 1 1 5 から 1 2 4 のいずれか一項に記載のアレイ。

【請求項 1 2 6】

請求項 1 1 5 から 1 2 5 のいずれか一項に記載のアレイを含む診断用キット。

【請求項 1 2 7】

(a)アッセイプレートおよび(b)それぞれが異なる生物学的分析物に結合することが可能である少なくとも3種の結合作用物質を含む診断用キットであって、該分析物が、表1に記載されているaHUS関連バイオマーカータンパク質から選択される、診断用キット。

【請求項 1 2 8】

前記分析物が、補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、ICAM-1、IL-1ベータ、IL-12 p70、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、IL-6、アルブミン、IL-8、およびCCL5からなる群から選択される、請求項 1 2 7 に記載の診断用キット。

【請求項 1 2 9】

前記結合作用物質が抗体またはその抗原結合性断片である、請求項 1 2 7 または 1 2 8 に記載の診断用キット。

【請求項 1 3 0】

被験体を、非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)を有するかまたはaHUSを発症するリスクがあると診断するための方法であって、被験体から得た生体液中の少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定するステップであって、該aHUS関連バイオマーカータンパク質が、補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、ICAM-1、IL-1ベータ、IL-12 p70、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、IL-6、アルブミン、IL-8、およびCCL5からなる群から選択されるステップを含み、

補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、ICAM-1、IL-1ベータ、IL-12 p70

10

20

30

40

50

、補体成分 C 5 a、 2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、C X C L 9、K I M - 1、I L - 1 8、血管内皮細胞増殖因子 ( V E G F )、I L - 6、アルブミン、I L - 8、および C C L 5 のうちの少なくとも 1 種の濃度が、同じ種類の正常対照生体液中の濃度と比較して上昇していることにより、該被験体が a H U S を有するかまたは a H U S を発症するリスクがあることが示される、方法。

【請求項 1 3 1】

少なくとも 5 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、請求項 1 3 0 に記載の方法。

【請求項 1 3 2】

少なくとも 1 0 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、請求項 1 3 0 に記載の方法。

【請求項 1 3 3】

前記生体液が血液である、請求項 1 3 0 から 1 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 4】

前記生体液が血液画分である、請求項 1 3 0 から 1 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 5】

前記血液画分が血漿または血清である、請求項 1 3 4 に記載の方法。

【請求項 1 3 6】

前記生体液が尿である、請求項 1 3 0 から 1 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 7】

2 つまたはそれ超の種類の生体液において少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカーの濃度を決定する、請求項 1 3 0 から 1 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 8】

1 種類の生体液中の少なくとも 2 種の前記 a H U S バイオマーカータンパク質のうちの第 1 のタンパク質の濃度を決定し、第 2 の種類の体液中の少なくとも 2 種の該 a H U S バイオマーカータンパク質のうちの第 2 のタンパク質の濃度を決定する、請求項 1 3 0 から 1 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 9】

被験体が最初の急性非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S ) 発現を経験しているかどうかを決定するための方法であって、該被験体由来の生体液中の D - ダイマーの濃度および脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 ) の濃度の一方または両方を決定するステップを含み、i) 該 D - ダイマー濃度が同じ種類の正常対照生体液中の D - ダイマーの濃度と比較して上昇していること、ii) 該 F A B P - 1 濃度が同じ種類の正常対照生体液中の F A B P - 1 の濃度と比較して上昇していること、または iii) i と ii の両方により、該被験体が最初の急性 a H U S 発現を経験していることが示される、方法。

【請求項 1 4 0】

前記被験体がヒトである、請求項 1 3 9 に記載の方法。

【請求項 1 4 1】

前記被験体から得た血漿の試料中の D - ダイマーの濃度を測定する、請求項 1 3 9 または 1 4 0 に記載の方法。

【請求項 1 4 2】

前記被験体から得た尿の試料中の F A B P - 1 の濃度を測定する、請求項 1 3 9 または 1 4 0 に記載の方法。

【請求項 1 4 3】

非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S ) を処置するための方法であって、a H U S を有するか、a H U S を有する疑いがあるか、または a H U S を発症するリスクがある被験体に、治療有効量の補体の阻害剤および治療有効量の：( i ) 抗凝固剤、( ii ) 線維素溶解剤；( iii ) 抗炎症剤；または( iv ) I L - 6、I L - 8、C X C L - 9、I L - 1 8、または V E G F の阻害剤を投与するステップを含む方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 1 4 4】

前記被験体がヒトである、請求項 1 4 3 に記載の方法。

## 【請求項 1 4 5】

前記補体の阻害剤が抗 C 5 抗体またはその C 5 結合性断片である、請求項 1 4 3 または 1 4 4 に記載の方法。

## 【請求項 1 4 6】

前記抗 C 5 抗体がエクリズマブである、請求項 1 4 5 に記載の方法。

## 【請求項 1 4 7】

所定の投薬スケジュールの下で補体阻害剤を用いた処置を受けた a H U S 患者が、( i ) 異なる補体阻害剤を用いた処置または ( i i ) 同じ補体阻害剤を異なる投薬スケジュールの下で用いた処置を必要とするかどうかを決定するための方法であって、

( A ) 該 a H U S 患者が該所定の投薬スケジュールの下で該補体阻害剤を用いた処置に  
 応答するかどうかを決定するステップであって、該被験体から得た生体液中の少なくとも  
 2 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度および活性の一方または両方を決定  
 することを含み、該 a H U S 関連バイオマーカータンパク質が、C X C L 1 0、M C P -  
 1、T N F R 1、I F N - 、I L - 6、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片、可溶性  
 C 5 b 9 ( s C 5 b 9 )、プロトロンビン断片 F 1 + 2、d - ダイマー、トロンボモジュ  
 リン、V C A M - 1、フォン・ヴィルブランド因子 ( v W F )、補体成分 C 5 a、  
 2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G  
 A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、アルブミン、C X C L 9、K I M - 1

、および C C L 5 からなる群から選択され、  
 ( a ) C X C L 1 0、M C P - 1、T N F R 1、I F N - 、I L - 6、補体成分 B 因子  
 のタンパク質分解断片、可溶性 C 5 b 9 ( s C 5 b 9 )、プロトロンビン断片 F 1 + 2、  
 d - ダイマー、トロンボモジュリン、V C A M - 1、フォン・ヴィルブランド因子 ( v W  
 F )、補体成分 C 5 a、  
 2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シスタチン C  
 、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、アルブ  
 ミン、C X C L 9、および K I M - 1 のうちの少なくとも 1 種の濃度が、該阻害剤を用い  
 た処置の前に該被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下すること  
 、または ( b ) C C L 5 の濃度が、該阻害剤を用いた処置の前に該被験体から得た同じ種  
 類の生体液の試料中の濃度と比較して上昇することにより、該被験体が該阻害剤を用いた

処置に  
 応答することが示されるステップ、ならびに  
 ( B ) 該患者が該補体阻害剤を用いた処置に  
 応答しない場合、該患者に、異なる補体阻  
 害剤を投与するか、または同じ該補体阻害剤を該所定の投薬スケジュールと比較して高用  
 量または高頻度の投薬スケジュールで投与するステップ  
 を含む方法。

## 【請求項 1 4 8】

被験体における少なくとも 1 種の非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S ) 関連バイオマ  
 ーカータンパク質の濃度および活性レベルの一方または両方を評価するための方法であっ  
 て、該被験体から得た生体液において、該生体液中の少なくとも 2 種の a H U S 関連バイ  
 オマーカータンパク質の濃度を測定するステップであって、該 a H U S 関連バイオマ  
 ーカータンパク質が、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片、可溶性 C 5 b 9 ( s C 5 b 9 )  
 、トロンボモジュリン、V C A M - 1、フォン・ヴィルブランド因子 ( v W F )、可溶性  
 C D 4 0 リガンド ( s C D 4 0 L )、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、C X  
 C L 1 0、M C P - 1、T N F R 1、I F N - 、I C A M - 1、I L - 1 ベータ、I L  
 - 1 2 p 7 0、補体成分 C 5 a、  
 2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シ  
 スタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1  
 )、C X C L 9、K I M - 1、I L - 1 8、血管内皮細胞増殖因子 ( V E G F )、I L -  
 6、アルブミン、I L - 8、および C C L 5 からなる群から選択されるステップを含む方  
 法。

## 【請求項 1 4 9】

10

20

30

40

50

前記 B 因子のタンパク質分解断片が断片 B a である、請求項 1 から 1 1 4、請求項 1 3 0 から 1 3 8、および請求項 1 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5 0】

前記 B 因子のタンパク質分解断片が断片 B a である、請求項 1 1 5 から 1 2 5 のいずれか一項に記載のアレイ。

【請求項 1 5 1】

前記 B 因子のタンパク質分解断片が断片 B a である、請求項 1 2 6 から 1 2 9 のいずれか一項に記載の診断用キット。

【請求項 1 5 2】

患者を、非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S ) を有すると診断するための方法であって、

( i ) a H U S を有する疑いがあるまたは a H U S を発症するリスクがある患者から得た生体試料において、B 因子のタンパク質分解断片、C 5 a、可溶性 C 5 b - 9 ( s C 5 b - 9 )、可溶性 T N F R 1 ( s T N F R 1 )、可溶性 V C A M - 1 ( s V C A M - 1 )、トロンボモジュリン、プロトロンビン断片 1 および 2 ( F 1 + 2 )、D - ダイマー、クラスタリン、T I M P - 1、F A B P - 1、ベータ 2 ミクログロブリン ( b 2 m )、およびシスタチン - C からなる群から選択される少なくとも 2 種の a H U S 関連バイオマーカーのそれぞれの濃度を測定するステップ、ならびに

( i i ) a H U S 関連バイオマーカーのうち少なくとも 2 種の濃度が同じ少なくとも 2 種のバイオマーカーの正常対照濃度と比較して上昇している場合に、患者が a H U S を有すると診断するステップ

を含む方法。

【請求項 1 5 3】

少なくとも 2 種の前記 a H U S 関連バイオマーカータンパク質を、イムノアッセイを使用して測定する、請求項 1 5 2 に記載の方法。

【請求項 1 5 4】

前記イムノアッセイが酵素結合免疫吸着アッセイ ( E L I S A ) またはラジオイムノアッセイ ( R I A ) である、請求項 1 5 3 に記載の方法。

【請求項 1 5 5】

少なくとも 3 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、請求項 1 5 2 から 1 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5 6】

少なくとも 5 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、請求項 1 5 2 から 1 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5 7】

前記生体液が血液である、請求項 1 5 2 から 1 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5 8】

前記生体液が血液画分である、請求項 1 5 2 から 1 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5 9】

前記血液画分が血漿または血清である、請求項 1 5 8 に記載の方法。

【請求項 1 6 0】

前記生体液が尿である、請求項 1 5 2 から 1 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 6 1】

2 つまたはそれ超の種類生体液において少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカーの濃度を測定する、請求項 1 5 2 から 1 6 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 6 2】

少なくとも 2 種の前記 a H U S バイオマーカータンパク質のうち第 1 のタンパク質の濃度を 1 種類生体液において測定し、少なくとも 2 種の該 a H U S バイオマーカータンパク質のうち第 2 のタンパク質の濃度を第 2 の種類の体液において測定する、請求項 1 5 2 から 1 6 1 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

- 【請求項 163】  
前記 B 因子のタンパク質分解断片の濃度を測定する、請求項 152 から 162 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 164】  
前記 B 因子のタンパク質分解断片が断片 Ba である、請求項 163 に記載の方法。
- 【請求項 165】  
前記生体試料が血漿試料である、請求項 164 に記載の方法。
- 【請求項 166】  
Ba の正常対照濃度が 1000 ng/mL 未満である、請求項 165 に記載の方法。
- 【請求項 167】  
Ba の正常対照濃度が 600 ng/mL 未満である、請求項 165 に記載の方法。 10
- 【請求項 168】  
Ba の正常対照濃度が 300 ng/mL から 600 ng/mL の間である、請求項 165 に記載の方法。
- 【請求項 169】  
前記生体試料中の Ba の濃度が Ba の正常対照濃度よりも少なくとも 2 倍高いときに該生体試料中の Ba の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 164 から 168 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 170】  
前記生体試料中の Ba の濃度が Ba の正常対照濃度よりも少なくとも 5 倍高いときに該生体試料中の Ba の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 164 から 168 のいずれか一項に記載の方法。 20
- 【請求項 171】  
前記生体試料中の Ba の濃度が少なくとも 1500 ng/mL であるときに該生体試料中の Ba の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 164 から 168 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 172】  
前記生体試料中の Ba の濃度が少なくとも 2500 ng/mL であるときに該生体試料中の Ba の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 164 から 168 のいずれか一項に記載の方法。 30
- 【請求項 173】  
C5a の濃度を測定する、請求項 152 から 162 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 174】  
前記生体試料が尿試料である、請求項 173 に記載の方法。
- 【請求項 175】  
C5a の正常対照濃度が尿中クレアチニン mg あたり 2 ng 未満である、請求項 174 に記載の方法。
- 【請求項 176】  
C5a の正常対照濃度が尿中クレアチニン mg あたり 1 ng 未満である、請求項 174 に記載の方法。 40
- 【請求項 177】  
C5a の正常対照濃度が尿中クレアチニン mg あたり 0 ng から 0.7 ng の間である、請求項 174 に記載の方法。
- 【請求項 178】  
前記生体試料中の C5a の濃度が C5a の正常対照濃度よりも少なくとも 2 倍高いときに該生体試料中の C5a の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 173 から 177 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 179】  
前記生体試料中の C5a の濃度が C5a の正常対照濃度よりも少なくとも 10 倍高いときに該生体試料中の C5a の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 173 から 177 50

のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 180】

前記生体試料中の C5a の濃度が C5a の正常対照濃度よりも少なくとも 40 倍高いときに該生体試料中の C5a の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 173 から 177 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 181】

前記生体試料中の C5a の濃度が尿中クレアチニン mg あたり少なくとも 5 ng であるときに該生体試料中の C5a の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 174 から 177 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 182】

前記生体試料中の C5a の濃度が尿中クレアチニン mg あたり少なくとも 9 ng であるときに該生体試料中の C5a の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 174 から 177 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 183】

sC5b-9 の濃度を測定する、請求項 152 から 162 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 184】

前記生体試料が尿試料である、請求項 183 に記載の方法。

【請求項 185】

sC5b-9 の正常対照濃度が尿中クレアチニン mg あたり 2 ng 未満である、請求項 184 に記載の方法。

【請求項 186】

sC5b-9 の正常対照濃度が尿中クレアチニン mg あたり 1 ng 未満である、請求項 184 に記載の方法。

【請求項 187】

sC5b-9 の正常対照濃度が尿中クレアチニン mg あたり 0 ng から 0.6 ng の間である、請求項 184 に記載の方法。

【請求項 188】

前記生体試料中の sC5b-9 の濃度が sC5b-9 の正常対照濃度よりも少なくとも 10 倍高いときに該生体試料中の sC5b-9 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 183 から 187 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 189】

前記生体試料中の sC5b-9 の濃度が sC5b-9 の正常対照濃度よりも少なくとも 50 倍高いときに該生体試料中の sC5b-9 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 183 から 187 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 190】

前記生体試料中の sC5b-9 の濃度が sC5b-9 の正常対照濃度よりも少なくとも 100 倍高いときに該生体試料中の sC5b-9 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 183 から 187 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 191】

前記生体試料中の sC5b-9 の濃度が尿中クレアチニン mg あたり少なくとも 20 ng であるときに該生体試料中の sC5b-9 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 184 から 187 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 192】

前記生体試料中の sC5b-9 の濃度が尿中クレアチニン mg あたり少なくとも 30 ng であるときに該生体試料中の sC5b-9 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 184 から 187 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 193】

sTNFR1 の濃度を測定する、請求項 152 から 162 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

- 【請求項 194】  
前記生体試料が血清試料である、請求項 193 に記載の方法。
- 【請求項 195】  
s T N F R 1 の正常対照濃度が 2 0 0 0 p g / m L 未満である、請求項 194 に記載の方法。
- 【請求項 196】  
s T N F R 1 の正常対照濃度が 1 5 0 0 p g / m L 未満である、請求項 194 に記載の方法。
- 【請求項 197】  
s T N F R 1 の正常対照濃度が 4 0 0 p g / m L から 1 5 0 0 p g / m L の間である、  
請求項 194 に記載の方法。 10
- 【請求項 198】  
前記生体試料中の s T N F R 1 の濃度が s T N F R 1 の正常対照濃度よりも少なくとも  
2 倍高いときに該生体試料中の s T N F R 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項  
193 から 197 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 199】  
前記生体試料中の s T N F R 1 の濃度が s T N F R 1 の正常対照濃度よりも少なくとも  
5 倍高いときに該生体試料中の s T N F R 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項  
193 から 197 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 200】 20  
前記生体試料中の s T N F R 1 の濃度が s T N F R 1 の正常対照濃度よりも少なくとも  
1 5 倍高いときに該生体試料中の s T N F R 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求  
項 193 から 197 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 201】  
前記生体試料中の s T N F R 1 の濃度が少なくとも 1 0 , 0 0 0 p g / m L であるときに  
該生体試料中の s T N F R 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 194 から 1  
97 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 202】  
前記生体試料中の s T N F R 1 の濃度が少なくとも 1 5 , 0 0 0 p g / m L であるときに  
該生体試料中の s T N F R 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 194 から 1  
97 のいずれか一項に記載の方法。 30
- 【請求項 203】  
s V C A M - 1 の濃度を測定する、請求項 152 から 162 のいずれか一項に記載の方  
法。
- 【請求項 204】  
前記生体試料が血清試料である、請求項 203 に記載の方法。
- 【請求項 205】  
s V C A M - 1 の正常対照濃度が 5 0 0 n g / m L 未満である、請求項 204 に記載の  
方法。
- 【請求項 206】 40  
s V C A M - 1 の正常対照濃度が 3 0 0 n g / m L 未満である、請求項 204 に記載の  
方法。
- 【請求項 207】  
s V C A M - 1 の正常対照濃度が 1 0 0 n g / m L から 5 0 0 n g / m L の間である、  
請求項 204 に記載の方法。
- 【請求項 208】  
前記生体試料中の s V C A M - 1 の濃度が s V C A M - 1 の正常対照濃度よりも少なく  
とも 1 0 % 高いときに該生体試料中の s V C A M - 1 の濃度が上昇しているとみなされる  
、請求項 203 から 207 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 209】 50

前記生体試料中の s V C A M - 1 の濃度が s V C A M - 1 の正常対照濃度よりも少なくとも 30 % 高いときに該生体試料中の s V C A M - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 203 から 207 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 210】

前記生体試料中の s V C A M - 1 の濃度が s V C A M - 1 の正常対照濃度よりも少なくとも 50 % 高いときに該生体試料中の s V C A M - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 203 から 207 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 211】

前記生体試料中の s V C A M - 1 の濃度が少なくとも 600 ng / mL であるときに該生体試料中の s V C A M - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 204 から 207 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 212】

前記生体試料中の s V C A M - 1 の濃度が少なくとも 650 ng / mL であるときに該生体試料中の s V C A M - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 204 から 207 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 213】

トロンボモジュリンの濃度を測定する、請求項 152 から 162 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 214】

前記生体試料が血漿試料である、請求項 213 に記載の方法。

20

【請求項 215】

トロンボモジュリンの正常対照濃度が 5 ng / mL 未満である、請求項 214 に記載の方法。

【請求項 216】

トロンボモジュリンの正常対照濃度が 3 ng / mL 未満である、請求項 214 に記載の方法。

【請求項 217】

トロンボモジュリンの正常対照濃度が 2 ng / mL から 6 ng / mL の間である、請求項 214 に記載の方法。

【請求項 218】

前記生体試料中のトロンボモジュリンの濃度がトロンボモジュリンの正常対照濃度よりも少なくとも 10 % 高いときに該生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 213 から 217 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 219】

前記生体試料中のトロンボモジュリンの濃度がトロンボモジュリンの正常対照濃度よりも少なくとも 30 % 高いときに該生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 213 から 217 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 220】

前記生体試料中のトロンボモジュリンの濃度がトロンボモジュリンの正常対照濃度よりも少なくとも 50 % 高いときに該生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 213 から 217 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 221】

前記生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が少なくとも 8 ng / mL であるときに該生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 214 から 217 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 222】

前記生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が少なくとも 10 ng / mL であるときに該生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 214 から 217 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 223】

50

F 1 + 2 の濃度を測定する、請求項 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2 4】

前記生体試料が血漿試料である、請求項 2 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 2 5】

F 1 + 2 の正常対照濃度が 4 0 0 p m o l / L 未満である、請求項 2 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 2 6】

F 1 + 2 の正常対照濃度が 3 0 0 p m o l / L 未満である、請求項 2 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 2 7】

F 1 + 2 の正常対照濃度が 5 0 p m o l / L から 4 0 0 p m o l / L の間である、請求項 2 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 2 8】

前記生体試料中の F 1 + 2 の濃度が F 1 + 2 の正常対照濃度よりも少なくとも 3 0 % 高いときに該生体試料中の F 1 + 2 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 2 2 3 から 2 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2 9】

前記生体試料中の F 1 + 2 の濃度が F 1 + 2 の正常対照濃度よりも少なくとも 5 0 % 高いときに該生体試料中の F 1 + 2 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 2 2 3 から 2 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3 0】

前記生体試料中の F 1 + 2 の濃度が F 1 + 2 の正常対照濃度よりも少なくとも 1 0 0 % 高いときに該生体試料中の F 1 + 2 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 2 2 3 から 2 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3 1】

前記生体試料中の F 1 + 2 の濃度が少なくとも 9 0 0 p m o l / L であるときに該生体試料中の F 1 + 2 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 2 2 4 から 2 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3 2】

前記生体試料中の F 1 + 2 の濃度が少なくとも 1 0 0 0 p m o l / L であるときに該生体試料中の F 1 + 2 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 2 2 4 から 2 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3 3】

D - ダイマーの濃度を測定する、請求項 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3 4】

前記生体試料が血漿試料である、請求項 2 3 3 に記載の方法。

【請求項 2 3 5】

D - ダイマーの正常対照濃度が 5 0 0 μ g / L 未満である、請求項 2 3 4 に記載の方法。

【請求項 2 3 6】

D - ダイマーの正常対照濃度が 4 0 0 μ g / L 未満である、請求項 2 3 4 に記載の方法。

【請求項 2 3 7】

D - ダイマーの正常対照濃度が 1 0 0 μ g / L から 5 0 0 μ g / L の間である、請求項 2 3 4 に記載の方法。

【請求項 2 3 8】

前記生体試料中の D - ダイマーの濃度が D - ダイマーの正常対照濃度よりも少なくとも 2 倍高いときに該生体試料中の D - ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 2 3 3 から 2 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 239】

前記生体試料中の D - ダイマーの濃度が D - ダイマーの正常対照濃度よりも少なくとも 5 倍高いときに該生体試料中の D - ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 233 から 237 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 240】

前記生体試料中の D - ダイマーの濃度が D - ダイマーの正常対照濃度よりも少なくとも 10 倍高いときに該生体試料中の D - ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 233 から 237 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 241】

前記生体試料中の D - ダイマーの濃度が少なくとも  $1500 \mu\text{g/L}$  であるときに該生体試料中の D - ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 234 から 237 のいずれか一項に記載の方法。

10

## 【請求項 242】

前記生体試料中の D - ダイマーの濃度が少なくとも  $2500 \mu\text{g/L}$  であるときに該生体試料中の D - ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 234 から 237 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 243】

クラスタリンの濃度を測定する、請求項 152 から 162 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 244】

前記生体試料が尿試料である、請求項 243 に記載の方法。

20

## 【請求項 245】

クラスタリンの正常対照濃度が尿中クレアチニン  $\text{mg}$  あたり  $500 \text{ng}$  未満である、請求項 244 に記載の方法。

## 【請求項 246】

クラスタリンの正常対照濃度が尿中クレアチニン  $\text{mg}$  あたり  $400 \text{ng}$  未満である、請求項 244 に記載の方法。

## 【請求項 247】

クラスタリンの正常対照濃度が尿中クレアチニン  $\text{mg}$  あたり  $0 \text{ng}$  から  $500 \text{ng}$  の間である、請求項 244 に記載の方法。

30

## 【請求項 248】

前記生体試料中のクラスタリンの濃度がクラスタリンの正常対照濃度よりも少なくとも 2 倍高いときに該生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 243 から 247 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 249】

前記生体試料中のクラスタリンの濃度がクラスタリンの正常対照濃度よりも少なくとも 5 倍高いときに該生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 243 から 247 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 250】

前記生体試料中のクラスタリンの濃度がクラスタリンの正常対照濃度よりも少なくとも 10 倍高いときに該生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 243 から 247 のいずれか一項に記載の方法。

40

## 【請求項 251】

前記生体試料中のクラスタリンの濃度が尿中クレアチニン  $\text{mg}$  あたり少なくとも  $900 \text{ng}$  であるときに該生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 244 から 247 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 252】

前記生体試料中のクラスタリンの濃度が尿中クレアチニン  $\text{mg}$  あたり少なくとも  $1200 \text{ng}$  であるときに該生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる、請求項 244 から 247 のいずれか一項に記載の方法。

50

## 【請求項 2 5 3】

T I M P - 1 の濃度を測定する、請求項 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 2 5 4】

前記生体試料が血漿試料である、請求項 2 5 3 に記載の方法。

## 【請求項 2 5 5】

T I M P - 1 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 1 0 n g 未満である、請求項 2 5 4 に記載の方法。

## 【請求項 2 5 6】

T I M P - 1 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 5 n g 未満である、請求項 2 5 4 に記載の方法。

## 【請求項 2 5 7】

T I M P - 1 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 0 n g から 1 0 n g の間である、請求項 2 5 4 に記載の方法。

## 【請求項 2 5 8】

前記生体試料中の T I M P - 1 の濃度が T I M P - 1 の正常対照濃度よりも少なくとも 2 倍高いときに該生体試料中の T I M P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 2 5 3 から 2 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 2 5 9】

前記生体試料中の T I M P - 1 の濃度が T I M P - 1 の正常対照濃度よりも少なくとも 1 0 倍高いときに該生体試料中の T I M P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 2 5 3 から 2 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 2 6 0】

前記生体試料中の T I M P - 1 の濃度が T I M P - 1 の正常対照濃度よりも少なくとも 2 0 倍高いときに該生体試料中の T I M P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 2 5 3 から 2 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 2 6 1】

前記生体試料中の T I M P - 1 の濃度が尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 1 5 n g であるときに該生体試料中の T I M P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 2 5 4 から 2 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 2 6 2】

前記生体試料中の T I M P - 1 の濃度が尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 2 0 n g であるときに該生体試料中の T I M P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 2 5 4 から 2 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 2 6 3】

F A B P - 1 の濃度を測定する、請求項 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 2 6 4】

前記生体試料が血漿試料である、請求項 2 6 3 に記載の方法。

## 【請求項 2 6 5】

F A B P - 1 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 2 0 n g 未満である、請求項 2 6 4 に記載の方法。

## 【請求項 2 6 6】

F A B P - 1 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 1 5 n g 未満である、請求項 2 6 4 に記載の方法。

## 【請求項 2 6 7】

F A B P - 1 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 0 n g から 2 0 n g の間である、請求項 2 6 4 に記載の方法。

## 【請求項 2 6 8】

前記生体試料中の F A B P - 1 の濃度が F A B P - 1 の正常対照濃度よりも少なくとも

10

20

30

40

50

2倍高いときに該生体試料中のF A B P - 1の濃度が上昇しているとみなされる、請求項263から267のいずれか一項に記載の方法。

【請求項269】

前記生体試料中のF A B P - 1の濃度がF A B P - 1の正常対照濃度よりも少なくとも10倍高いときに該生体試料中のF A B P - 1の濃度が上昇しているとみなされる、請求項263から267のいずれか一項に記載の方法。

【請求項270】

前記生体試料中のF A B P - 1の濃度がF A B P - 1の正常対照濃度よりも少なくとも20倍高いときに該生体試料中のF A B P - 1の濃度が上昇しているとみなされる、請求項263から267のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項271】

前記生体試料中のF A B P - 1の濃度が尿中クレアチニンmgあたり少なくとも40ngであるときに該生体試料中のF A B P - 1の濃度が上昇しているとみなされる、請求項264から267のいずれか一項に記載の方法。

【請求項272】

前記生体試料中のF A B P - 1の濃度が尿中クレアチニンmgあたり少なくとも50ngであるときに該生体試料中のF A B P - 1の濃度が上昇しているとみなされる、請求項264から267のいずれか一項に記載の方法。

【請求項273】

2mの濃度を測定する、請求項152から162のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項274】

前記生体試料が血漿試料である、請求項273に記載の方法。

【請求項275】

2mの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり5μg未満である、請求項274に記載の方法。

【請求項276】

2mの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり3μg未満である、請求項274に記載の方法。

【請求項277】

2mの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり0μgから5μgの間である、請求項274に記載の方法。

30

【請求項278】

前記生体試料中の2mの濃度が2mの正常対照濃度よりも少なくとも2倍高いときに該生体試料中の2mの濃度が上昇しているとみなされる、請求項273から277のいずれか一項に記載の方法。

【請求項279】

前記生体試料中の2mの濃度が2mの正常対照濃度よりも少なくとも10倍高いときに該生体試料中の2mの濃度が上昇しているとみなされる、請求項273から277のいずれか一項に記載の方法。

【請求項280】

前記生体試料中の2mの濃度が2mの正常対照濃度よりも少なくとも20倍高いときに該生体試料中の2mの濃度が上昇しているとみなされる、請求項273から277のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項281】

前記生体試料中の2mの濃度が尿中クレアチニンmgあたり少なくとも15μgであるときに該生体試料中の2mの濃度が上昇しているとみなされる、請求項274から277のいずれか一項に記載の方法。

【請求項282】

前記生体試料中の2mの濃度が尿中クレアチニンmgあたり少なくとも20μgであるときに該生体試料中の2mの濃度が上昇しているとみなされる、請求項274から2

50

77のいずれか一項に記載の方法。

【請求項283】

シスタチン - Cの濃度を測定する、請求項152から162のいずれか一項に記載の方法。

【請求項284】

前記生体試料が血漿試料である、請求項283に記載の方法。

【請求項285】

シスタチン - Cの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり400ng未満である、請求項284に記載の方法。

【請求項286】

シスタチン - Cの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり300ng未満である、請求項284に記載の方法。

【請求項287】

シスタチン - Cの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり0ngから400ngの間である、請求項284に記載の方法。

【請求項288】

前記生体試料中のシスタチン - Cの濃度がシスタチン - Cの正常対照濃度よりも少なくとも2倍高いときに該生体試料中のシスタチン - Cの濃度が上昇しているとみなされる、請求項283から287のいずれか一項に記載の方法。

【請求項289】

前記生体試料中のシスタチン - Cの濃度がシスタチン - Cの正常対照濃度よりも少なくとも10倍高いときに該生体試料中のシスタチン - Cの濃度が上昇しているとみなされる、請求項283から287のいずれか一項に記載の方法。

【請求項290】

前記生体試料中のシスタチン - Cの濃度がシスタチン - Cの正常対照濃度よりも少なくとも20倍高いときに該生体試料中のシスタチン - Cの濃度が上昇しているとみなされる、請求項283から287のいずれか一項に記載の方法。

【請求項291】

前記生体試料中のシスタチン - Cの濃度が尿中クレアチニンmgあたり少なくとも900ngであるときに該生体試料中のシスタチン - Cの濃度が上昇しているとみなされる、請求項284から287のいずれか一項に記載の方法。

【請求項292】

前記生体試料中のシスタチン - Cの濃度が尿中クレアチニンmgあたり少なくとも1200ngであるときに該生体試料中のシスタチン - Cの濃度が上昇しているとみなされる、請求項284から287のいずれか一項に記載の方法。

【請求項293】

B因子のタンパク質分解断片、C5aおよびsC5b-9のうちの2種またはそれ超の濃度を測定する、請求項152から162のいずれか一項に記載の方法。

【請求項294】

C5aおよびsC5b-9の濃度を測定する、請求項152から162のいずれか一項に記載の方法。

【請求項295】

sVCA M-1およびトロンボモジュリンの濃度を測定する、請求項152から162のいずれか一項に記載の方法。

【請求項296】

F1+2およびD-ダイマーの濃度を測定する、請求項152から162のいずれか一項に記載の方法。

【請求項297】

クラスタリン、TIMP-1、2m、FABP-1、およびシスタチン - Cのうちの2種またはそれ超の濃度を測定する、請求項152から162のいずれか一項に記載の方

10

20

30

40

50

法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の引用

本願は、それぞれ、2013年12月6日および2013年8月7日に出願した米国仮出願第61/913,180号および同第61/863,299号の優先権を主張する。上記出願ならびに本明細書全体を通して引用されたあらゆる特許、特許出願および参考文献の内容全体は、その全体が本明細書中に参考として援用される。

【0002】

技術分野

本発明の分野は医学、免疫学、分子生物学、およびタンパク質化学である。

【背景技術】

【0003】

背景

溶血性尿毒症症候群(HUS)は、血小板減少症、微小血管症性溶血性貧血、および急性腎不全を特徴とする。HUSは、以下の2種類のうちの一方に分類される：下痢を伴うHUS(D+HUS；志賀毒素産生性E.coli(STEC)-HUSまたは典型HUSとも称される)および非下痢性または非典型HUS(aHUS)。D+HUSは症例の90%超を占める最も一般的な形態であり、これは志賀毒素様毒素産生性細菌、例えば、E.coli O157:H7による前述の疾病によって引き起こされる。aHUSは稀であり、死亡率は25%に至る。この疾患を有する多くの患者では恒久的な神経または腎臓の機能障害が持続し、例えば、aHUS患者の少なくとも50%が末期腎不全(ESRF)に進行する。例えば、Kavanaghら(2006年)British Medical Bulletin 77巻および78巻：5~22頁を参照されたい。

【0004】

aHUSは、遺伝性、後天性、または特発性であり得る。遺伝性形態のaHUSは、例えば、補体因子H(CFH)、膜補因子タンパク質(MCP)、補体因子I(CFI)、C4b結合性タンパク質(C4BP)、補体因子B(CFB)、および補体成分3(C3)を含めたいくつものヒト補体成分における変異と関連し得る。例えば、Caprioliら(2006年)Blood 108巻：1267~1279頁を参照されたい。CD55をコードする遺伝子におけるある特定の変異は、まだaHUSに関係づけられていないが、aHUSの重症度に関連する。例えば、Esparza-Gordilloら(2005年)Hum Mol Genet 14巻：703~712頁を参照されたい。

【0005】

最近まで、aHUS患者に対する処置の選択肢は限られており、血漿注入または血漿交換法を伴うことも多い。いくつかの場合には、aHUS患者は一側性または両側性腎摘出術または腎移植を受ける(Artzら(2003年)Transplantation 76巻：821~826頁を参照されたい)。しかし、処置を受けた患者において疾患の再発がよく起こる。最近、薬物Soliris(登録商標)を用いたaHUS患者の処置が米国およびヨーロッパにおいて承認された。aHUS患者を処置するために有用な薬物が最終的にもたらされているにもかかわらず、aHUS患者を診断すること、ならびにaHUSの進行および緩和をモニターすることの必要性がなお存在する。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Kavanaghら(2006年)British Medical Bulletin 77巻および78巻：5~22頁

【非特許文献2】Caprioliら(2006年)Blood 108巻：1267~1279頁

【非特許文献3】Esparza-Gordilloら(2005年)Hum Mol Genet 14巻：703

10

20

30

40

50

～ 7 1 2 頁

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

本開示は、とりわけ、aHUSを患っている患者および/または補体阻害剤療法を受けているaHUS患者では生体液中の活性および/または濃度が異常である種々のタンパク質を提供する。以下、これらのタンパク質を「aHUS関連バイオマーカータンパク質」または「aHUSバイオマーカータンパク質」と称する。例えば、本発明者らは、血液（例えば、血清および/または血漿）および尿中のいくつかのタンパク質の濃度および/または活性がaHUS患者では異常であることを観察した。本発明者らは、アンタゴニスト抗C5抗体（エクリズマブ）をヒトに投与した後にこれらのタンパク質のサブセットの濃度が変化することも観察した。いくつかの場合には、タンパク質のうちの1種または複数種の濃度が正常化する。本開示は、いかなる特定の理論または作用機構にも制約されるものではないが、本発明者らは、補体阻害剤（抗C5抗体など）を用いた処置を受けた患者を、これらのタンパク質 - aHUSバイオマーカータンパク質 - のうちの1種または複数種の濃度の変化についてモニターすることが、例えば、患者を、aHUSを有するまたはaHUSを発症するリスクがあると診断するために有用であると考える。これらのバイオマーカータンパク質のうちの1種または複数種の状態をモニターすることは、aHUS患者が補体阻害剤を用いた療法に応答するかどうかを決定するためにも有用であり得る。さらに、バイオマーカーの1種または複数種の状態を評価することは、ヒトにおけるaHUSバイオマーカータンパク質のうちの1種または複数種の濃度に対する効果に基づいて疾患に対する臨床的に意味のある効果を実現するために十分である（すなわち、aHUSなどの補体関連疾患を処置するために十分である）、抗C5抗体などの補体阻害剤の用量 - 閾値用量 - を同定するためにも有用である。

10

20

【0008】

したがって、一態様では、本開示は、被験体（例えば、ヒトなどの哺乳動物）における非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）関連バイオマーカータンパク質の状態をモニターもしくは評価するための方法または被験体における少なくとも1種の非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）関連バイオマーカータンパク質の濃度および活性レベルの一方もしくは両方を評価するための方法の特徴とする。当該方法は、被験体から得た生体液において、（i）生体液中の少なくとも1種（例えば、少なくとも2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種）のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度であって、aHUS関連バイオマーカータンパク質が表1に記載されているバイオマーカーのいずれか、例えば、補体成分B因子のタンパク質分解断片（例えば、BaまたはBb）、可溶性C5b9（sC5b9）、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子（vWF）、可溶性CD40リガンド（sCD40L）、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、ICAM-1、IL-1ベータ、IL-12 p70、補体成分C5a、2ミクログロブリン（2M）、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1（FABP-1）、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子（VEGF）、IL-6、アルブミン、IL-8、およびCCCL5からなる群から選択されるものである、濃度の一方または両方を測定するステップを含む。被験体は、例えば、aHUSを有するか、aHUSを有する疑いがあるか、またはaHUSを発症するリスクがあるヒトであってよい。被験体は、補体の阻害剤（例えば、抗C5抗体などの補体成分C5の阻害剤）を用いた処置を受けていた（または受けている）被験体であってよい。当該処置は、被験体から試料を得る前の1ヶ月未満（例えば、31日未満、30日未満、29日未満、28日未満、27日未満、26日未満、25日未満、24日未満、23日未満、22日未満、21日未満、20日未満、19日未満、18日未満、17日未満、16日未満、15日未満、14日未満、13日未満、12日未満、11日未満、10日未満

30

40

50

、9日未満、8日未満、7日未満、6日未満、5日未満、4日未満、3日未満、2日未満、または1日未満)のうちに行われていてよい。当該方法は、被験体がaHUSを有するかまたはaHUSを発症するリスクがあるかどうかを決定するステップをさらに含み得る。被験体が所定の投薬スケジュールの下で補体阻害剤(例えば、抗C5抗体)を用いた処置を受けていたまたは受けている場合、当該方法は、患者が補体阻害剤療法に対して(治療的に)応答性であるかどうかを決定するステップをさらに含み得る。

【0009】

別の態様では、本開示は、被験体(例えば、ヒトなどの哺乳動物)における非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)関連バイオマーカータンパク質の状態をモニターもしくは評価するための方法または被験体における少なくとも1種の非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)関連バイオマーカータンパク質の濃度および活性レベルの一方もしくは両方を評価するための方法の特徴とする。当該方法は、(A)被験体から得た生体液において、生体液中の少なくとも1種(例えば、少なくとも2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種)のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定するステップであって、該aHUS関連バイオマーカータンパク質が表1に記載されているバイオマーカーのいずれか、例えば、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9(sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、ICAM-1、IL-1ベータ、IL-12 p70、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、IL-6、アルブミン、IL-8、およびCCCL5からなる群から選択されるものであるステップ、および(B)測定(複数可)の結果を記録する(例えば、電子患者記録に)または測定(複数可)の結果を被験体、被験体の保護者、もしくは被験体の介護を行っている医療専門家に伝達するステップを含む。被験体は、例えば、aHUSを有するか、aHUSを有する疑いがあるか、またはaHUSを発症するリスクがあるヒトであってよい。被験体は、補体の阻害剤(例えば、抗C5抗体などの補体成分C5の阻害剤)を用いた処置を受けていた(または受けている)被験体であってよい。当該処置は、被験体から試料を得る前の1ヶ月未満(例えば、31日未満、30日未満、29日未満、28日未満、27日未満、26日未満、25日未満、24日未満、23日未満、22日未満、21日未満、20日未満、19日未満、18日未満、17日未満、16日未満、15日未満、14日未満、13日未満、12日未満、11日未満、10日未満、9日未満、8日未満、7日未満、6日未満、5日未満、4日未満、3日未満、2日未満、または1日未満)のうちに行われていてよい。当該方法は、被験体がaHUSを有するかまたはaHUSを発症するリスクがあるかどうかを決定するステップをさらに含み得る。被験体が所定の投薬スケジュールの下で補体阻害剤(例えば、抗C5抗体)を用いた処置を受けていたまたは受けている場合、当該方法は、患者が補体阻害剤療法に対して(治療的に)応答性であるかどうかを決定するステップをさらに含み得る。

【0010】

さらに別の態様では、本開示は、患者に血栓性微小血管障害が発症するリスクがあるかどうかをモニターまたは決定するための方法の特徴とする。当該方法は、(A)被験体から得た生体液において、生体液中の血栓症または凝固に関連する少なくとも1種(例えば、少なくとも2種、3種、4種)のバイオマーカータンパク質の濃度を測定するステップであって、該バイオマーカータンパク質が表1または表11に記載されているそのようなバイオマーカーのいずれか、例えば、F1+2またはD-ダイマーであるステップ、および、(B)測定(複数可)の結果を記録する(例えば、電子患者記録に)または測定(複数可)の結果を被験体、被験体の保護者、もしくは被験体の介護を行っている医療専門家に伝達するステップを含む。被験体は、例えば、aHUSを有するか、aHUSを有する

疑いがあるか、または a H U S を発症するリスクがあるヒトであってよい。被験体は、補体の阻害剤（例えば、抗 C 5 抗体などの補体成分 C 5 の阻害剤）を用いた処置を受けていた（または受けている）被験体であってよい。当該処置は、被験体から試料を得る前の 1 ヶ月未満（例えば、31 日未満、30 日未満、29 日未満、28 日未満、27 日未満、26 日未満、25 日未満、24 日未満、23 日未満、22 日未満、21 日未満、20 日未満、19 日未満、18 日未満、17 日未満、16 日未満、15 日未満、14 日未満、13 日未満、12 日未満、11 日未満、10 日未満、9 日未満、8 日未満、7 日未満、6 日未満、5 日未満、4 日未満、3 日未満、2 日未満、または 1 日未満）のうちに行われていてよい。当該方法は、本明細書に記載の方法のいずれかを使用して、被験体が a H U S を有するまたは a H U S を発症するリスクがあるかどうかを決定する（または a H U S の診断を確認する）ステップをさらに含み得る。被験体が所定の投薬スケジュールの下で補体阻害剤（例えば、抗 C 5 抗体）を用いた処置を受けていたまたは受けている場合、当該方法は、患者が補体阻害剤療法に対して（治療的に）応答性であるかどうか、すなわち、補体阻害剤を用いた処置後に血栓症または凝固関連バイオマーカーのうちの 1 種または複数種の濃度の低下が起こるかどうかを決定するステップをさらに含み得る。

10

20

30

40

50

#### 【0011】

別の態様では、本開示は、被験体（例えば、ヒトなどの哺乳動物）における非典型溶血性尿毒症症候群（a H U S）関連バイオマーカータンパク質の状態をモニターもしくは評価するための方法または被験体における少なくとも 1 種の非典型溶血性尿毒症症候群（a H U S）関連バイオマーカータンパク質の濃度および活性レベルの一方もしくは両方を評価するための方法の特徴とする。当該方法は、（A）被験体から得た生体液において、生体液中の少なくとも 1 種（例えば、少なくとも 2 種、3 種、4 種、5 種、6 種、7 種、8 種、9 種、10 種、11 種、12 種、または 13 種）の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定するステップであって、該 a H U S 関連バイオマーカータンパク質が、表 1 に記載されているバイオマーカーのいずれか、例えば、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片（例えば、B a または B b）、可溶性 C 5 b 9（s C 5 b 9）、C 5 a、トロンボモジュリン、V C A M - 1、プロトロンピン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、s T N F R 1、2 ミクログロブリン（2 M）、クラスタリン、シスタチン C、T I M P - 1、および脂肪酸結合タンパク質 1（F A B P - 1）からなる群から選択されるものであるステップ、および、（B）測定（複数可）の結果を記録する（例えば、電子患者記録に）または測定（複数可）の結果を被験体、被験体の保護者、もしくは被験体の介護を行っている医療専門家に伝達するステップを含む。被験体は、例えば、a H U S を有するか、a H U S を有する疑いがあるか、または a H U S を発症するリスクがあるヒトであってよい。被験体は、補体の阻害剤（例えば、抗 C 5 抗体などの補体成分 C 5 の阻害剤）を用いた処置を受けていた（または受けている）被験体であってよい。当該処置は、被験体から試料を得る前の 1 ヶ月未満（例えば、31 日未満、30 日未満、29 日未満、28 日未満、27 日未満、26 日未満、25 日未満、24 日未満、23 日未満、22 日未満、21 日未満、20 日未満、19 日未満、18 日未満、17 日未満、16 日未満、15 日未満、14 日未満、13 日未満、12 日未満、11 日未満、10 日未満、9 日未満、8 日未満、7 日未満、6 日未満、5 日未満、4 日未満、3 日未満、2 日未満、または 1 日未満）のうちに行われていてよい。当該方法は、被験体が a H U S を有するまたは a H U S を発症するリスクがあるかどうかを決定するステップをさらに含み得る。被験体が所定の投薬スケジュールの下で補体阻害剤（例えば、抗 C 5 抗体）を用いた処置を受けていたまたは受けている場合、当該方法は、患者が補体阻害剤療法に対して（治療的に）応答性であるかどうかを決定するステップをさらに含み得る。

#### 【0012】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法のいずれかは、被験体が a H U S を有するまたは a H U S を発症するリスクがあるかどうかを決定するステップをさらに含み得る。一部の実施形態では、B a、s C 5 b - 9、C 5 a、s C D 4 0 L、プロトロンピン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、トロンボモジュリン、V C A M - 1、v W F、F A B P - 1、

2 M、クラスタリン、シスタチンC、TIMP-1、アルブミン、NGAL、CXCL10、CXCL9、IL-18、TNFR1、VCAM-1、MCP-1、VEGF、CCL5、IL-6、IFNのうち少なくとも1種の濃度が、同じ種類の正常対照生体液中の濃度と比較して上昇していることにより、被験体がaHUSを有するまたはaHUSを発症するリスクがあることが示される。

#### 【0013】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法のいずれかは、被験体が補体阻害剤を用いた処置に応答しているかどうかを決定するステップを含む。一部の実施形態では、(a) CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9(sC5b9)、プロトロンビン断片F1+2、d-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、補体成分C5a、sC5b9、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、アルブミン、CXCL10、CXCL9、およびKIM-1のうち少なくとも1種の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下すること、または(b)CCL5の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して上昇することにより、被験体が阻害剤を用いた処置に応答することが示される。

10

#### 【0014】

別の態様では、本開示は、補体成分C5の阻害剤を用いた処置に対する被験体(例えば、ヒトなどの哺乳動物)の応答性をモニターするための方法の特徴とする。当該方法は、生体液中の少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定するステップであって、該aHUS関連バイオマーカータンパク質が、表1に記載されているもののいずれか、例えば、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9(sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN、ICAM-1、IL-1ベータ、IL-12p70、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、IL-6、アルブミン、IL-8、およびCCL5からなる群から選択されるものであるステップを含む。生体液は、(i)aHUSを有するか、aHUSを有する疑いがあるか、またはaHUSを発症するリスクがある被験体および(ii)所定の投薬スケジュールの下で補体成分C5の阻害剤を用いた処置を受けている(または、例えば最近、受けていた)被験体から得る。そのような方法によると、(a)CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9(sC5b9)、プロトロンビン断片F1+2、d-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、アルブミン、CXCL10、CXCL9、およびKIM-1のうち少なくとも1種の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下すること、または(b)CCL5の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して上昇することにより、被験体が阻害剤を用いた処置に応答することが示される。

20

30

40

#### 【0015】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法のいずれかは、被験体が補体阻害剤を用いた処置に応答しているかどうかを決定するステップを含む。一部の実施形態では、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9(sC5b9)、C5a、トロンボモジュリン、VCAM-1、プロトロンビン断片F1+2、D-

50

ダイマー、sTNFR1、2マイクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、TIMP-1、および脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)のうちの少なくとも1種の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下すること。

【0016】

別の態様では、本開示は、補体の阻害剤を用いた処置に対する被験体の応答性をモニターするための方法であって、被験体から得た生体液中の少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定するステップであって、該aHUS関連バイオマーカータンパク質が、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、IL-6、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9(sC5b9)、プロトロンビン断片F1+2、d-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、補体成分C5a、2マイクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、アルブミン、CXCL9、KIM-1、およびCCL5からなる群から選択されるステップを含む方法の特徴とする。被験体は、aHUSを有するか、aHUSを有する疑いがあるか、またはaHUSを発症するリスクがある被験体であり、また、被験体は、補体の阻害剤を用いた処置を受けていたまたは受けている被験体である。(A)CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、IL-6、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9(sC5b9)、プロトロンビン断片F1+2、d-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、補体成分C5a、2マイクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、アルブミン、CXCL9、およびKIM-1のうちの少なくとも1種の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下すること、または(B)CCL5の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して上昇することにより、被験体が阻害剤を用いた処置に応答することが示される。

【0017】

さらに別の態様では、本開示は、血栓症または凝固に関連する少なくとも2種のバイオマーカータンパク質の生理的变化を誘導するために十分な様式で補体阻害剤を使用してTMAの数、頻度、または出現、出現の尤度、またはaHUSを発症するリスクを低下させるための方法の特徴とする。当該方法は、(a)被験体から得た生体液中の少なくとも2種のバイオマーカータンパク質の濃度を決定するステップであって、該バイオマーカータンパク質が、表1または表11から選択され、血栓症および/または凝固に関するもの(例えば、D-ダイマーまたはF1+2)であるステップ、および、(b)TMAを有するか、TMAを有する疑いがあるか、またはTMAを発症するリスクがある被験体に、補体の阻害剤を、バイオマーカータンパク質のうちの2種の少なくともそれぞれの生理的变化を引き起こすために十分な量および頻度で投与するステップであって、該生理的变化が、少なくとも2種のバイオマーカータンパク質の濃度が補体阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同等の生体試料中のマーカーの濃度と比較して低下することであるステップを含む。当該方法は、バイオマーカーの濃度を処置前に測定することと、処置後に測定することの両方を含み得る。

【0018】

さらに別の態様では、本開示は、所定の投薬スケジュールの下で補体阻害剤を用いた処置を受けたaHUS患者が、(i)異なる補体阻害剤を用いた処置または(ii)同じ補体阻害剤を異なる投薬スケジュールの下で用いた処置を必要とするかどうかを決定するための方法の特徴とする。当該方法は、(A)aHUS患者が所定の投薬スケジュールの下で補体阻害剤を用いた処置に応答するかどうかを決定するステップであって、被験体から得た生体液において、生体液中の少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度および活性の一方または両方を測定することを含み、該aHUS関連バイオマ-

カータンパク質が、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片（例えば、B a または B b）、可溶性 C 5 b 9（s C 5 b 9）、トロンボモジュリン、V C A M - 1、フォン・ヴィルブラント因子（v W F）、可溶性 C D 4 0 リガンド（s C D 4 0 L）、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、C X C L 1 0、M C P - 1、T N F R 1、I F N - 、I C A M - 1、I L - 1 ベータ、I L - 1 2 p 7 0、補体成分 C 5 a、2 ミクログロブリン（2 M）、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1（F A B P - 1）、C X C L 9、K I M - 1、I L - 1 8、血管内皮細胞増殖因子（V E G F）、I L - 6、アルブミン、I L - 8、および C C L 5 からなる群から選択され、（ a ） C X C L 1 0、M C P - 1、T N F R 1、I F N - 、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片（例えば、B a または B b）、可溶性 C 5 b 9（s C 5 b 9）、プロトロンビン断片 F 1 + 2、d - ダイマー、トロンボモジュリン、V C A M - 1、フォン・ヴィルブラント因子（v W F）、補体成分 C 5 a、s C 5 b 9、2 ミクログロブリン（2 M）、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1（F A B P - 1）、アルブミン、C X C L 1 0、C X C L 9、および K I M - 1 のうちの少なくとも 1 種の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下すること、または（ b ） C C L 5 の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して上昇することにより、被験体が阻害剤を用いた処置に応答することが示されるステップ、ならびに（ B ）患者が補体阻害剤を用いた処置に応答しない場合、該患者に、異なる補体阻害剤を投与するか、または同じ補体阻害剤を、所定の投薬スケジュールと比較して高用量または高頻度の投薬スケジュールで投与するステップを含む。

10

20

#### 【 0 0 1 9 】

さらに別の態様では、本開示は、所定の投薬スケジュールの下で補体阻害剤を用いた処置を受けた a H U S 患者が、（ i ）異なる補体阻害剤を用いた処置または（ i i ）同じ補体阻害剤を異なる投薬スケジュールの下で用いた処置を必要とするかどうかを決定するための方法の特徴とする。当該方法は、（ A ） a H U S 患者が所定の投薬スケジュールの下で補体阻害剤を用いた処置に応答するかどうかを決定するステップであって、被験体から得た生体液において、生体液中の少なくとも 2 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度および活性の一方または両方を測定することを含み、該 a H U S 関連バイオマーカータンパク質が、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片（例えば、B a または B b）、可溶性 C 5 b 9（s C 5 b 9）、C 5 a、トロンボモジュリン、V C A M - 1、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、s T N F R 1、2 ミクログロブリン（2 M）、クラスタリン、シスタチン C、T I M P - 1、および脂肪酸結合タンパク質 1（F A B P - 1）からなる群から選択され、（ a ）補体成分 B 因子のタンパク質分解断片（例えば、B a または B b）、可溶性 C 5 b 9（s C 5 b 9）、C 5 a、トロンボモジュリン、V C A M - 1、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、s T N F R 1、2 ミクログロブリン（2 M）、クラスタリン、シスタチン C、T I M P - 1、および脂肪酸結合タンパク質 1（F A B P - 1）のうちの少なくとも 1 種の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下することにより、被験体が阻害剤を用いた処置に応答することが示されるステップ、ならびに（ B ）患者が補体阻害剤を用いた処置に応答しない場合、患者に、異なる補体阻害剤を投与するか、または同じ補体阻害剤を、所定の投薬スケジュールと比較して高用量または高頻度の投薬スケジュールで投与するステップを含む。

30

40

#### 【 0 0 2 0 】

タンパク質のうちの 1 種または複数種の濃度は、例えば、イムノアッセイ（例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（E L I S A）、ラジオイムノアッセイ（R I A）、ウエスタンブロッティング、またはドットブロッティング）またはサイトメトリックビーズアレイ（C B A；実施例を参照されたい）を使用して測定することができる。そのような方法ならびに方法を実施するために有用なキットは、本明細書に記載されている。v W F の活性を測定するための適切な方法は当技術分野で公知であり、本明細書に記載されている。

50

## 【 0 0 2 1 】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、少なくとも5種の個々の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、少なくとも10種の個々の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、少なくとも15種の個々の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、少なくとも20種の個々の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定する。

## 【 0 0 2 2 】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、生体液は血液である。一部の  
10  
実施形態では、生体液は、血液画分、例えば血清または血漿である。一部の実施形態では、生体液は尿である。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、全ての測定を1種の生体液に対して実施する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、被験体から得た少なくとも2種の異なる生体液に対して測定を実施する。一部の実施形態では、少なくとも2種の個々の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定し、第1の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を1種類の生体液において測定し、第2の a H U S 関連バイオマーカータンパク質を第2の種類の生体液において測定する。

## 【 0 0 2 3 】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、 I F N - 、 I C A M - 1、  
20  
I L - 1 ベータ、および I L - 1 2 p 7 0 のうちの少なくとも2種（例えば、少なくとも3種、4種、または全て）の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、 B a と s C 5 b 9 の両方の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、 C 5 a および C 5 b 9 の一方または両方の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、 2 M、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、および F A B P - 1 のうちの少なくとも2種（例えば、少なくとも3種、4種、5種、6種、または全て）の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、 C X C L 1 0、C X C L 9、および / または K I M - 1 の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、 D - ダイマーおよび F 1 + 2 の一方または両方の濃度を測定する。本明細書に記載  
30  
の方法のいずれかの一部の実施形態では、 s C D 4 0 L、プロトロンビン断片 F 1 + 2、および D - ダイマーのうちの少なくとも2種（例えば、少なくとも3種、4種、または全て）の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、 トロンボモジュリン、V C A M - 1、および / または v W F の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、 C X C L 1 0、M C P - 1、および / または T N F R 1 の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、 I F N - 、 I C A M - 1、I L - 1 ベータ、および I L - 1 2 p 7 0 のうちの少なくとも2種（例えば、少なくとも3種、4種、または全て）の濃度を測定する。

## 【 0 0 2 4 】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、 C X C L 9、C X C L 1 0、  
40  
I L - 1 ベータ、I L - 1 2 p 7 0、I F N - 、M C P - 1、C C L 5、s C D 4 0 L、および / または s T N F R 1 のうちの1種または複数種の濃度を被験体の血清において測定する。一部の実施形態では、補体成分 C 5 a、s C 5 b 9、 2 ミクログロブリン（ 2 M）、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1（F A B P - 1）、C X C L 1 0、C X C L 9、および / または K I M - 1 のうちの1種または複数種の濃度を被験体の尿において測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、N G A L、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片（例えば、B a または B b）、可溶性 C 5 b 9（s C 5 b 9）、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、トロンボモジュリン、および / またはフォン・ヴィルブランド因子（v W F）のうちの1種または複数種の濃度を被験体の血漿において測定する。  
50

## 【 0 0 2 5 】

一部の実施形態では、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片（例えば、B a または B b）、可溶性 C 5 b 9（s C 5 b 9）、C 5 a、トロンボモジュリン、V C A M - 1、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、s T N F R 1、2 ミクログロブリン（2 M）、クラスタリン、シスタチン C、T I M P - 1、および脂肪酸結合タンパク質 1（F A B P - 1）のうちの 2 種またはそれ超（例えば、3 種、4 種、5 種、6 種、7 種、8 種、9 種、10 種、11 種、12 種、または 13 種）の濃度を測定する。

## 【 0 0 2 6 】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、B a、s C 5 b - 9、および C 5 a からなる群のうちの少なくとも 2 種の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のい  
 10  
 ずれかの一部の実施形態では、B a および s C 5 b 9 の一方または両方の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、C 5 a および C 5 b 9 の一方または両方の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、2 M、クラスタリン、シスタチン C、アルブミン、T I M P - 1、N G A L、および F A B P - 1 からなる群の少なくとも 2 種の個々のメンバーの濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、C X C L 1 0、C X C L 9、I L - 1 8、M C P - 1、T N F R 1、V E G F、I L - 6、および I F N からなる群の少なくとも 2 種の個々のメンバーの濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、d - ダイマーおよび F 1 + 2 の一方または両方の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、s C D 4 0 L、プロトロンビン断片 F 1 +  
 20  
 2、および d - ダイマーからなる群の少なくとも 2 種の個々のメンバーの濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、トロンボモジュリン、V C A M - 1、または v W F の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、T N F R 1 の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、I F N - 、C X C L 1 0、C X C L 9、I L - 1 8、T N F R 1、V C A M - 1、M C P - 1、V E G F、C C L 5、および I L - 6 からなる群の少なくとも 2 種の個々のメンバーの濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、I F N - 、C X C L 1 0、C X C L 9、I L - 1 8、T N F R 1、V C A M - 1、M C P - 1、V E G F、および I L - 6 からなる群から選択される少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれか  
 30  
 の一部の実施形態では、2 ミクログロブリン（2 M）、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1（F A B P - 1）、C X C L 1 0、C X C L 9、アルブミン、および K I M - 1 からなる群から選択される少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカーの濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、C X C L 1 0、C X C L 9、I L - 1 8、M C P - 1、T N F R 1、V E G F、I L - 6、C C L 5、I F N - 、I L - 8、I C A M - 1、I L - 1 ベータ、および I L - 1 2 p 7 0 からなる群から選択される少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、C X C L 9、C X C L 1 0、I L - 1 ベータ、I L - 1 2 p 7 0、I F N - 、M C P - 1、C C L 5、s C D 4 0 L、または s T N F R 1 の濃度を被験体の  
 40  
 血清において測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、2 ミクログロブリン（2 M）、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1（F A B P - 1）、C X C L 1 0、C X C L 9、アルブミン、および K I M - 1 からなる群から選択される少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカーの濃度を被験体の尿において測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、N G A L、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片（例えば、B a または B b）、可溶性 C 5 b 9（s C 5 b 9）、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、トロンボモジュリン、またはフォン・ヴィルブランド因子（v W F）の濃度を被験体の血漿において測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、（例えば、被験体から得た血漿試料中の）B a の濃度を測定する。

10

20

30

40

50

## 【0027】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、当該方法では、少なくとも1種のaHUSバイオマーカータンパク質の濃度の測定値(複数可)の記録が必要とされる。記録は、書面であってもコンピュータ可読媒体上であってもよい。当該方法は、少なくとも1種のaHUSバイオマーカータンパク質の濃度の測定値(複数可)を被験体および/または被験体の介護を行う医療従事者に伝達するステップも含み得る。

## 【0028】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法はいずれも、被験体が所定の投薬スケジュールの下で阻害剤を用いた処置に応答しない場合に、被験体に補体阻害剤を、所定の投薬スケジュールと比較して高用量でまたは投薬の頻度を増やして投与するステップを含み得る。

10

## 【0029】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、被験体に補体阻害剤を、一部被験体の体重に基づいて所定の投薬スケジュールの下で投与する。例えば、アンタゴニストである抗C5抗体(例えば、エクリズマブ)の場合では、体重が40kg超であるかまたは40kgに等しい被験体に対して、抗体を被験体に少なくとも7週間にわたって以下のスケジュールの下で投与することができる:少なくとも800mgの抗体を週あたり1回、4週間連続して;少なくとも800mgの抗体を第5週の間1回;および少なくとも800mgの抗体をその後、隔週で。一部の実施形態では、抗体を被験体に少なくとも7週間にわたって以下のスケジュールの下で投与する:少なくとも900mgの抗体を週あたり1回、4週間連続して;少なくとも1200mgの抗体を第5週の間1回;および少なくとも1200mgの抗体をその後、隔週で。

20

## 【0030】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、体重が40kg未満であるが30kg超であるかまたは30kgに等しい被験体に対して、抗体を被験体に少なくとも7週間にわたって以下のスケジュールの下で投与することができる:少なくとも500mgの抗体を週あたり1回、2週間連続して;少なくとも700mgの抗体を第3週の間1回;および少なくとも700mgの抗体をその後、隔週で。一部の実施形態では、抗体を被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュールの下で投与する:少なくとも600mgの抗体を週あたり1回、2週間連続して;少なくとも900mgの抗体を第3週の間1回;および少なくとも900mgの抗体をその後、隔週で。

30

## 【0031】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、被験体の体重は30kg未満であるが、20kg超であるかまたは20kgに等しく、抗体を被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュールの下で投与する:少なくとも500mgの抗体を週あたり1回、2週間連続して;少なくとも500mgの抗体を第3週の間1回;および少なくとも500mgの抗体をその後、隔週で。一部の実施形態では、抗体を被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュールの下で投与する:少なくとも600mgの抗体を週あたり1回、2週間連続して;少なくとも600mgの抗体を第3週の間1回;および少なくとも600mgの抗体をその後、隔週で。

40

## 【0032】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、被験体の体重は20kg未満であるが、10kg超であるかまたは10kgに等しく、抗体を被験体に少なくとも4週間にわたって以下のスケジュールの下で投与する:少なくとも500mgの抗体を週に1回、1週間にわたって;少なくとも200mgの抗体を第2週の間1回;および少なくとも200mgの抗体をその後、隔週で。一部の実施形態では、抗体を被験体に少なくとも4週間にわたって以下のスケジュールの下で投与する:少なくとも600mgの抗体を週に1回、1週間にわたって;少なくとも300mgの抗体を第2週の間1回;および少なくとも300mgの抗体をその後、隔週で。

## 【0033】

50

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、被験体の体重は10kg未満であるが、5kg超であるかまたは5kgに等しく、抗体を被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュールの下で投与する：少なくとも200mgの抗体を週あたり1回、1週間にわたって；少なくとも200mgの抗体を第2週の間1回；および少なくとも200mgの抗体をその後、3週間毎に1回。一部の実施形態では、抗体を被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュールの下で投与する：少なくとも300mgの抗体を週あたり1回、1週間にわたって；少なくとも300mgの抗体を第2週の間1回；および少なくとも300mgの抗体をその後、3週間毎に。aHUSに対するさらなる例示的な抗C5抗体投薬スケジュール（例えば、長期にわたる投薬スケジュール）は、その開示全体が参照により本明細書に組み込まれる国際特許出願公開第WO2010/054403号（例えば、WO2010/054403の表1および表2）に記載されている。

10

**【0034】**

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、阻害剤は、抗体またはその抗原結合性断片、小分子、ポリペプチド、ポリペプチド類似体、ペプチド模倣体、またはアプタマーである。一部の実施形態では、阻害剤は、補体成分C1、C2、C3、C4、C5、C6、C7、C8、C9、D因子、B因子、プロパージン、MBL、MASP-1、MASP-2、または上記のいずれかの生物活性のある断片のうちの1種または複数種を阻害するものであってよい。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、補体阻害剤は、C5aに関連するアナフィラトキシン活性の発生および/またはC5bに関連する膜攻撃複合体の集合の一方または両方を阻害する。

20

**【0035】**

組成物は、CR1、LEX-CR1、MCP、DAF、CD59、H因子、コブラ毒因子、FUT-175、コンプレスタチン、およびK76 COOHなどの、天然に存在するまたは可溶性の形態の補体阻害性化合物も含有してよい。

**【0036】**

一部の実施形態では、補体阻害剤は、a) CR2（例えば、ヒトCR2）またはその断片を含むCR2部分、およびb) FHまたはその断片を含むFH部分を含む補体受容体2（CR2）-H因子（FH）分子であってよく、CR2-FH分子またはその断片はCR2リガンドに結合することが可能であり、CR2-FH分子は副経路の補体活性化を阻害することが可能である。例示的なCR2-FH融合タンパク質は、例えば、それぞれの開示全体が参照により本明細書に組み込まれる、国際特許出願公開第WO2007/149567号および同第WO2011/143637号に記載および例示されている。一部の実施形態では、補体阻害剤は、例えば、その開示全体が参照により本明細書に組み込まれる国際特許出願公開第WO2011/163412号に記載の通り、CR2または抗C3d抗体などのターゲティングドメインを含む。ターゲティングドメインとCD59、CD55、およびH因子様分子などの他の補体阻害剤との融合物を本明細書に記載の方法において補体阻害剤として使用することができる。上記のWO2011/163412を参照されたい。

30

**【0037】**

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、補体の阻害剤は、アンタゴニスト抗体またはその抗原結合性断片である。抗体またはその抗原結合性断片は、ヒト化抗体、組換え抗体、ダイアボディ、キメラ化またはキメラ抗体、モノクローナル抗体、脱免疫化（deimmunized）抗体、完全ヒト抗体、単鎖抗体、Fv断片、Fd断片、Fab断片、Fab'断片、およびF(ab')<sub>2</sub>断片からなる群から選択することができる。

40

**【0038】**

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、アンタゴニスト抗体はエクリズマブなどの抗C5抗体である。一部の実施形態では、アンタゴニスト抗体は、抗C5抗体のC5結合性断片であるパキセリズマブ（pexelizumab）である。

50

## 【0039】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、補体の阻害剤は、MB12/22、MB12/22-RGD、ARC187、ARC1905、SSL7、およびOmCIからなる群から選択される。

## 【0040】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、従事者がそのうちの1種または複数種（例えば、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、またはそれ超）の濃度を決定することができるaHUS関連バイオマーカータンパク質のサブセットは、Ba、トロンボモジュリン、VCAM-1、TNFR1、F1+2、D-ダイマー、CXCL10、IL-6、クラスタリン、TIMP-1、FABP-1、2M、およびシスタチンCであってよい。

10

## 【0041】

さらに別の態様では、本開示は、複数の結合作用物質を含むアレイであって、複数の結合作用物質のそれぞれがアレイ上に独特のアドレスを有し、アレイが500以下の独特のアドレスを含み、複数の結合作用物質のそれぞれが異なる生物学的分析物タンパク質に結合し、アレイが、表1に記載されている、例えば、補体成分B因子のタンパク質分解断片（例えば、BaまたはBb）、可溶性C5b9（sC5b9）、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子（vWF）、可溶性CD40リガンド（sCD40L）、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、ICAM-1、IL-1ベータ、IL-12 p70、補体成分C5a、2ミクログロブリン（2M）、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1（FABP-1）、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子（VEGF）、IL-6、アルブミン、IL-8、およびCCL5からなる群から選択される4種またはそれ超の分析物タンパク質に結合する結合作用物質を含むアレイを特徴とする。アレイは本明細書に記載の方法のいずれかにおいて有用である。一部の実施形態では、アレイはタンパク質チップである。一部の実施形態では、アレイの各アドレスはアッセイプレートのウェルである。一部の実施形態では、アレイの各アドレスは結合作用物質がその上に固定化された粒子（例えば、ビーズ）である。

20

## 【0042】

本明細書で使用される場合、「結合作用物質」という用語は、抗原（例えば、aHUSバイオマーカータンパク質）に結合するタンパク質などの、任意の天然に存在する、合成のまたは遺伝子操作された作用物質を包含する。結合作用物質は天然に存在する抗体であってもそれに由来するものであってもよい。結合タンパク質または結合作用物質は、特異的な抗原と結合して複合体を形成することによって抗体と同様に機能し得る。結合作用物質または結合タンパク質は、抗体の単離された抗原結合性断片を含み得る。

30

## 【0043】

一部の実施形態では、アレイは、分析物タンパク質のうちの少なくとも2種（例えば、少なくとも3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、または25種）に結合する抗体を含む。例えば、アレイは、補体成分B因子のタンパク質分解断片（例えば、BaまたはBb）、可溶性C5b9（sC5b9）、C5a、トロンボモジュリン、VCAM-1、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、sTNFR1、2ミクログロブリン（2M）、クラスタリン、シスタチンC、TIMP-1、および脂肪酸結合タンパク質1（FABP-1）のうちの少なくとも2種（例えば、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、または13種）に結合する結合作用物質/抗体を含み得る。

40

## 【0044】

一部の実施形態では、アレイは、200以下（例えば、175以下、150以下、125以下、100以下、90以下、80以下、70以下、60以下、50以下、45以下、

50

40以下、35以下、30以下、25以下、または20以下)の独特のアドレスを含む。

【0045】

さらに別の態様では、本開示は、本明細書に記載のアレイのいずれか1つまたは複数、および任意選択で、(a)被験体由来の生体試料(例えば、生体液)を得、かつ/もしくは処理するため、および/または(b)被験体由来の生体試料(例えば、生体液)中の1種または複数種の分析物を測定するための指示を含む診断用キットを特徴とする。

【0046】

別の態様では、本開示は、(a)アッセイプレートおよび(b)それぞれが異なる生物学的分析物に結合することが可能である少なくとも3種の結合作用物質を含む診断用キットであって、該分析物が、表1に示されているもの、例えば、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9(sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、ICAM-1、IL-1ベータ、IL-12 p70、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、IL-6、アルブミン、IL-8、およびCCL5からなる群から選択されるものである診断用キットを特徴とする。一部の実施形態では、診断用キットは、ヒト血漿中のvWFの活性を測定するための1つまたは複数の手段を含む。

10

20

【0047】

別の態様では、本開示は、被験体が非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)を有する、またはaHUSを発症するリスクがあると診断するための方法を特徴とする。当該方法は、生体液において、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9(sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、ICAM-1、IL-1ベータ、IL-12 p70、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、IL-6、アルブミン、IL-8、およびCCL5からなる群から選択される少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定するステップを含む。生体液はaHUSを有する疑いがあるまたはaHUSを発症するリスクがある被験体から得たものである。当該方法によると、Ba、sC5b-9、C5a、sCD40L、プロトロンビン断片F1+2、d-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、vWF、FABP-1、2M、クラスタリン、シスタチンC、TIMP-1、アルブミン、NGAL、CXCL10、CXCL9、IL-18、TNFR1、VCAM-1、MCP-1、VEGF、CCL5、IL-6、またはIFN-のうち少なくとも1種の濃度が、同じ種類の正常対照生体液中の濃度と比較して上昇していることにより、被験体がaHUSを有するまたはaHUSを発症するリスクがあることが示される。一部の実施形態では、少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカーは、表11から選択することができる、すなわち、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9(sC5b9)、C5a、トロンボモジュリン、VCAM-1、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、sTNFR1、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、TIMP-1、および脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)のうち少なくとも2種(例えば、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、または13種)であってよい。

30

40

【0048】

本明細書で使用される場合、「正常な」という用語は、「個体」または「被験体」という用語を修飾するために使用される場合、特定の疾患または状態(例えば、aHUS)を

50

有さず、また、当該疾患もしくは状態を有する疑いも、当該疾患もしくは状態を発症するリスクもない、個体または個体の群を指す。「正常な」という用語は、本明細書では、正常または健康な個体または被験体（またはそのような被験体の群）から単離した生物検体または試料（例えば、生体液）、例えば、「正常対照試料」または「正常対照生体液」を修飾するためにも使用される。

【0049】

さらに別の態様では、本開示は、患者に最初の急性非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）発現を経験している（experiencing）かどうかを決定するための方法の特徴とする。当該方法は、D-ダイマーの濃度（例えば、d-ダイマーの血漿濃度）および脂肪酸結合タンパク質1（FABP-1）の濃度（例えば、FABP-1の尿濃度（urine concentration））の一方または両方を測定するステップを含み、d-ダイマー濃度が正常対照試料中のd-ダイマーの濃度と比較して上昇すること、およびFABP-1濃度が正常対照試料中のFABP-1の濃度と比較して上昇することにより、aHUS患者に最初の急性aHUS発現を経験していることが示される。一部の実施形態では、d-ダイマーおよびFABP-1の一方または両方の上昇は有意な上昇であり得る。

10

【0050】

別の態様では、本開示は、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）を処置するための方法であって、該方法は、aHUSを有するか、aHUSを有する疑いがあるか、またはaHUSを発症するリスクがある被験体に補体の阻害剤（例えば、補体成分C5の阻害剤）を少なくとも1種（例えば、少なくとも2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、または25種）のaHUS関連バイオマーカータンパク質の生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与するステップを含み、該生理的变化が、（a）CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、補体成分B因子のタンパク質分解断片（例えば、BaまたはBb）、可溶性C5b9（sC5b9）、プロトロンビン断片F1+2、d-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子（vWF）、補体成分C5a、sC5b9、2ミクログロブリン（2M）、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1（FABP-1）、アルブミン、CXCL10、CXCL9、およびKIM-1のうちの少なくとも1種の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下すること、または（b）CCL5の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して上昇することからなる群から選択される、方法の特徴とする。一部の実施形態では、少なくとも1種のaHUS関連バイオマーカーは、表11から選択することができる、すなわち、補体成分B因子のタンパク質分解断片（例えば、BaまたはBb）、可溶性C5b9（sC5b9）、C5a、トロンボモジュリン、VCAM-1、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、sTNFR1、2ミクログロブリン（2M）、クラスタリン、シスタチンC、TIMP-1、および脂肪酸結合タンパク質1（FABP-1）のうちの少なくとも1種（例えば、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、または13種）であってよい。

20

30

40

【0051】

さらに別の態様では、本開示は、少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の生理的变化を誘導するために十分な様式で補体阻害剤を使用して非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）を処置するための方法の特徴とする。当該方法は、（a）被験体から得た生体液中の少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定するステップであって、該aHUS関連バイオマーカータンパク質が、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、IL-6、補体成分B因子のタンパク質分解断片（例えば、BaまたはBb）、可溶性C5b9（sC5b9）、プロトロンビン断片F1+2、d-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子（vWF）、補体成分C5a、2ミクログロブリン（2M）、クラスタリン、シスタチ

50

ンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1 (FABP-1)、アルブミン、CXCL9、KIM-1、およびCCL5からなる群から選択されるステップ、ならびに(b) aHUSを有するか、aHUSを有する疑いがあるか、またはaHUSを発症するリスクがある被験体に補体の阻害剤を2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の少なくともそれぞれの生理的变化を引き起こすために十分な量および頻度で投与するステップであって、該生理的变化が、(a) CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN- $\gamma$ 、IL-6、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9 (sC5b9)、プロトロンビン断片F1+2、d-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、補体成分C5a、 $\alpha$ 2ミクログロブリン( $\alpha$ 2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1 (FABP-1)、アルブミン、CXCL9、またはKIM-1のうちの少なくとも1種の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下すること、および、(b) CCL5の、被験体から得た生体液中の濃度が、阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して上昇することからなる群から選択されるステップを含む。当該方法は、生理的变化が起こったかどうかを決定するステップも含み得る。一部の実施形態では、少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカーは、表11から選択することができる、すなわち、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9 (sC5b9)、C5a、トロンボモジュリン、VCAM-1、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、sTNFR1、 $\alpha$ 2ミクログロブリン( $\alpha$ 2M)、クラスタリン、シスタチンC、TIMP-1、および脂肪酸結合タンパク質1 (FABP-1)のうちの少なくとも2種(例えば、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、または13種)であってよい。

10  
20

【0052】

一部の実施形態では、当該方法は、生体液中の少なくとも2種の個々のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定するステップをさらに含んでよく、aHUS関連バイオマーカータンパク質は、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9 (sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN- $\gamma$ 、ICAM-1、IL-1 $\beta$ 、IL-12 p70、補体成分C5a、 $\alpha$ 2ミクログロブリン( $\alpha$ 2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1 (FABP-1)、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、IL-6、アルブミン、IL-8、およびCCL5からなる群から選択される。生体液は被験体から得たものである。一部の実施形態では、少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカーは、表11から選択することができる、すなわち、補体成分B因子のタンパク質分解断片(例えば、BaまたはBb)、可溶性C5b9 (sC5b9)、C5a、トロンボモジュリン、VCAM-1、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、sTNFR1、 $\alpha$ 2ミクログロブリン( $\alpha$ 2M)、クラスタリン、シスタチンC、TIMP-1、および脂肪酸結合タンパク質1 (FABP-1)のうちの少なくとも2種(例えば、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、または13種)であってよい。

30  
40

【0053】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法はいずれも、少なくとも2種(例えば、少なくとも3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、または25種)の生理的变化が起こったかどうかを決定するステップを含み得る。一部の実施形態では、IFN- $\gamma$ 、ICAM-1、IL-1 $\beta$ 、およびIL-12 p70のうちの少なくとも2種の濃度が低下する。一部の実施形態では、BaとsC5b9の両方の濃度が低下する。一部の実施形態では、C5aおよびsC5b9のそれぞ

50

れの濃度（例えば、尿濃度）が低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、 $2\text{ M}$ 、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、およびFABP-1のうちの少なくとも2種（例えば、少なくとも3種、4種、5種、6種、または全て）の濃度（例えば、尿濃度）が低下する。一部の実施形態では、CXCL10、CXCL9、および/またはKIM-1の濃度（例えば、尿濃度）が低下する。一部の実施形態では、D-ダイマーおよびF1+2の一方または両方の濃度（例えば、血漿濃度）が低下する。一部の実施形態では、sCD40L、プロトロンビン断片F1+2、およびD-ダイマーのうちの少なくとも2種（例えば、少なくとも3種、または全て）の濃度（例えば、血清および/または血漿濃度）が低下する。一部の実施形態では、トロンプモジュリン、VCAM-1、および/またはvWFの濃度が低下する。一部の実施形態では、CXCL10、MCP-1、およびTNFR1の濃度（例えば、血清濃度）が低下する。一部の実施形態では、IFN- $\gamma$ 、ICAM-1、IL-1ベータ、およびIL-12 p70のうちの少なくとも2種（例えば、少なくとも3種、4種、または全て）の濃度（例えば、血清濃度）が低下する。一部の実施形態では、少なくとも2種の生理的变化は、表11から選択される少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカー、すなわち、補体成分B因子のタンパク質分解断片（例えば、BaまたはBb）、可溶性C5b9（sC5b9）、C5a、トロンプモジュリン、VCAM-1、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、sTNFR1、 $2\text{ M}$ マイクログロブリン（ $2\text{ M}$ ）、クラスタリン、シスタチンC、TIMP-1、および脂肪酸結合タンパク質1（FABP-1）のうちの少なくとも2種（例えば、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、または13種）の濃度の低下であり得る。

10

20

#### 【0054】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、Ba濃度（例えば、血漿Ba濃度）が処置の開始後第6週までに少なくとも10%低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、Ba濃度（例えば、血漿Ba濃度）が処置の開始後第12週までに少なくとも30%低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、C5a濃度（例えば、尿中C5a濃度（urinary C5a concentration））が処置の開始後第3週までに少なくとも40%低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、C5a濃度（例えば、尿中C5a濃度）が処置の開始後第6週までに少なくとも70%低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、C5b-9濃度（例えば、尿中または血漿C5b-9濃度）が処置の開始後第3週までに少なくとも50%低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、F1+2濃度（例えば、F1+2中の血漿濃度）が処置の開始後第6週までに少なくとも20%低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、d-ダイマー濃度（例えば、d-ダイマーの血漿濃度）が処置の開始後第6週までに少なくとも40%低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、トロンプモジュリン濃度（例えば、トロンプモジュリンの血清濃度）が処置の開始後第12週までに少なくとも20%低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、VCAM-1濃度（例えば、VCAM-1の血清濃度）が処置の開始後第12週までに少なくとも20%低下する。

30

40

#### 【0055】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、補体の阻害剤を被験体に3種またはそれ超のaHUS関連バイオマーカーの生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与する。一部の実施形態では、補体の阻害剤を被験体に少なくとも4種のaHUS関連バイオマーカーの生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与する。一部の実施形態では、補体の阻害剤を被験体に少なくとも5種のaHUS関連バイオマーカーの生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与する。一部の実施形態では、補体の阻害剤を被験体に少なくとも10種のaHUS関連バイオマーカーの生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与する。一部の実施形態では、補体成分C5の阻害剤を被験体に15種またはそれ超のaHUS関連バイオマーカーの

50

生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与する。

【0056】

一部の実施形態では、少なくとも2種（例えば、少なくとも3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、または25種またはそれ超）のaHUS関連バイオマーカータンパク質の生理的变化は、阻害剤の投与（例えば、長期にわたる投与）後2日以内、3日以内、4日以内、5日以内、6日以内、1週間以内、2週間以内、3週間以内、4週間以内、6週間以内、2ヶ月以内、9週間以内、または3ヶ月以内またはそれ超以内に起こる。

【0057】

一部の実施形態では、少なくとも1種（例えば、少なくとも2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、または25種）のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度が阻害剤の投与後に少なくとも5%（例えば、少なくとも10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、または70%）低下する。

【0058】

一部の実施形態では、少なくとも1種（例えば、少なくとも2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、または25種）のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度が、阻害剤を1用量または複数用量投与した後、バイオマーカータンパク質の正常な濃度の50%（例えば、49%、48%、47%、46%、45%、44%、43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、または1%）以内にまで低下する。

【0059】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、FABP-1の濃度（例えば、尿中FABP-1）がヒト補体の阻害剤（例えば、抗C5抗体）の投与後に少なくとも80%（例えば、85%、90%、95%、または100%まで）低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、シスタチン-Cの濃度（例えば、尿中シスタチン-C）がヒト補体の阻害剤（例えば、抗C5抗体）の投与後に少なくとも80%（例えば、85%、90%、95%、99%、または100%まで）低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、クラスタリンの濃度（例えば、尿中クラスタリン）がヒト補体の阻害剤（例えば、抗C5抗体）の投与後に少なくとも80%（例えば、85%、90%、95%、98%、または100%まで）低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、B因子のタンパク質分解断片（例えば、Ba）の濃度がヒト補体の阻害剤（例えば、抗C5抗体）の投与後に少なくとも10%（例えば、15%、20%、25%、30%、または40%）低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、sTNFR1の濃度がヒト補体の阻害剤（例えば、抗C5抗体）の投与後に少なくとも80%（例えば、85%、90%またはそれ超）低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、トロンボモジュリンまたはsVCAM-1の濃度がヒト補体の阻害剤（例えば、抗C5抗体）の投与後に少なくとも80%（例えば、85%、90%、95%、または100%まで）低下する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、F1+2またはD-ダイマーの一方または両方の濃度がヒト補体の阻害剤（例えば、抗C5抗体）の投与後に少なくとも80%（例えば、85%、90%、95%またはそれ超）低下する。

【0060】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、aHUS関連バイオマーカー

10

20

30

40

50

タンパク質のうちの少なくとも1種（例えば、少なくとも2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、または25種）の濃度が阻害剤の投与後に正常化する。一部の実施形態では、2ミクログロブリン（2M）、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1（FABP-1）、CXCL10、CXCL9、およびKIM-1のうちの少なくとも3種の濃度（例えば、尿濃度）が正常化する。

#### 【0061】

本明細書で使用される場合、「正常化する」という用語または同様の文法用語は、補体阻害剤療法の、aHUSバイオマーカータンパク質の濃度または活性に対する効果に関して使用される場合、生体液において測定されたバイオマーカータンパク質の濃度または活性が、健康な個体（正常な個体）の群から得た同じ種類の生体液の試料において測定されたaHUSバイオマーカータンパク質の平均濃度または活性範囲の50%（例えば、49%、48%、47%、46%、45%、44%、43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、または1%）以内になっていることを指す。例えば、補体阻害剤を用いてaHUS患者を処置することにより、上昇した尿クラスタリン濃度が、例えば、クラスタリンの正常な平均尿濃度範囲の20%以内までに正常化し得る。一部の実施形態では、補体阻害剤を用いた処置により、クラスタリンの尿濃度がクラスタリンの正常な平均尿濃度範囲内までに回復する。

10

20

#### 【0062】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、被験体は、阻害剤を用いた処置の前の3ヶ月（例えば、11週間、10週間、9週間、8週間、7週間、6週間、5週間、4週間、3週間、2週間、または1週間）以内に透析を少なくとも1回（例えば、少なくとも2回、3回、4回、または5回またはそれ超）受けた。例えば、一部の実施形態では、被験体は、補体阻害剤療法を受ける2ヶ月前に透析を1回受けている。別の例では、被験体は、補体阻害剤療法を受ける直前の3ヶ月以内に透析を3回受けた被験体であってよい。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、健康な被験体における濃度と比較して、TNFR1、Ba、トロンボモジュリン断片F1+2、およびsC5b9のうちの1種または複数種の濃度が上昇する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、健康なヒトにおける濃度（例えば、尿濃度）と比較して、2M、sC5b9、C5a、シスタチンC、クラスタリン、TIMP-1、およびNGALのうちの1種または複数種の濃度が上昇する。

30

#### 【0063】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、被験体（例えば、ヒト被験体）に最初の急性aHUS発現を経験している。例えば、補体阻害剤を用いた処置の前に、被験体は、D-ダイマーおよびFABP-1の一方または両方の正常な濃度と比較して濃度の上昇を有し得る。

40

#### 【0064】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、被験体（例えば、ヒト被験体）は、aHUSを有するが、臨床的寛解にあるとみなされる被験体である（例えば、被験体は、血小板またはLDHまたはハプトグロビンなどの他の血液学的マーカーのレベルが正常な被験体である）。一部の実施形態では、そのような被験体は、これだけに限定されないが、Ba、D-ダイマー、VCAM-1、およびプロトロンピン断片1+2のうちの1種または複数種を含めた、本明細書に記載のaHUSバイオマーカーのうちの1種または複数種のレベルが上昇している。

#### 【0065】

本明細書に記載の方法のいずれかに関して、1種または複数種のaHUSバイオマーカー

50

ータンパク質の濃度および/または活性を決定することができることが理解される。例えば、一部の実施形態では、従事者は、試料中のvWF（または他のバイオマーカータンパク質）の濃度の代用として、被験体から得た生体試料中のvWFの活性を測定することができる。表1に記載されているaHUSバイオマーカータンパク質の相対的な活性を評価するための方法は当技術分野で公知である。

#### 【0066】

本明細書において（例えば、実施例において）詳細に考察されている通り、aHUSは、慢性の補体調節不全を伴う遺伝性の命にかかわる疾患である。この疾患を患っている患者では、とりわけ、血栓性微小血管障害（TMA）に罹患し、結果として脳卒中および腎不全が生じ得る。アンタゴニスト抗C5抗体であるエクリズマブにより、aHUS患者のTMAが劇的に軽減し、血小板レベルが正常化し、また腎機能が改善されることが示されている。aHUS患者に対する補体阻害剤療法には明白かつロバストな臨床的利益があるにもかかわらず、一部の患者では処置の前にもなおいくつかのaHUSバイオマーカータンパク質のレベルの上昇を経験する。例えば、本発明者らは、一部の患者では、アンタゴニスト抗C5抗体を用いた処置後に補体成分B因子のタンパク質分解断片（例えば、BaまたはBb）レベル（例えば、血漿中の）が正常化しないことを発見した。さらに、一部の患者に関しては、プロトロンビン断片1+2、D-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、TNFR1、およびCXCL10のレベルは経時的に低下するが、正常化しない。本開示は、いかなる特定の理論または作用機構にも制約されるものではないが、これらの観察結果により、一部の患者に関しては、補体阻害剤療法を用いてさえも、低レベルの炎症および凝固障害が持続し得ることが示唆される。したがって、本開示は、補体阻害剤を、一部のaHUS患者における低レベルの持続性炎症に対処するための第2の療法と併用投与方法を意図している。

10

20

#### 【0067】

したがって、さらに別の態様では、本開示は、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）を処置するための方法を特徴とする。当該方法は、aHUSを有するか、aHUSを有する疑いがあるか、またはaHUSを発症するリスクがある被験体（例えば、ヒト被験体）に治療有効量の補体の阻害剤（例えば、補体成分C5の阻害剤）および治療有効量の（i）抗凝固剤、（ii）線維素溶解剤；（iii）抗炎症剤；または（iv）IL-6、IL-8、CXCL-9、IL-18、もしくはVEGFの阻害剤を投与する（例えば、長期にわたって投与する）ステップを含む。一部の実施形態では、補体の2種の阻害剤（例えば、C5の阻害剤と、抗B因子抗体、抗C3抗体または抗C3b抗体などのC3の阻害剤）を使用することができる。一部の実施形態では、C5の阻害剤を用いた療法の中止時に補体成分C3の阻害剤を患者に上流の副経路の活性化を低下させるために十分な時間にわたって投与することができる。

30

#### 【0068】

一部の実施形態では、当該方法は、1種または複数種のaHUSバイオマーカーの状態をモニターし、第2の療法（補体阻害剤療法に加えて）を開始するまたはaHUS患者に投与される1種または複数種の第2の療法の投薬レジメンを改変するかどうかを決定するステップを含み得る。例えば、補体阻害剤を用いた処置（例えば、長期にわたる処置）の間に、1種または複数種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を、被験体から得た1種または複数種の生体液において測定することができる。バイオマーカータンパク質のうちの1種または複数種の濃度が正常化せず、かつ/または上昇したままである場合、医療従事者は、バイオマーカーの上昇に起因するあらゆる病態生理学的影響に対処するために被験体に1種または複数種の追加の二次的作用物質（例えば、抗炎症薬）を投与することを選択することができる。

40

#### 【0069】

補体阻害剤は本明細書に記載されているもののいずれであってもよい。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、阻害剤は、抗体またはその抗原結合性断片、小分子、ポリペプチド、ポリペプチド類似体、ペプチド模倣体、またはアダプターである。

50

一部の実施形態では、阻害剤は、補体成分 C 1、C 2、C 3、C 4、C 5、C 6、C 7、C 8、C 9、D 因子、B 因子、プロパージン、MBL、MASP - 1、MASP - 2、または上記のいずれかの生物活性のある断片のうちの 1 種または複数種を阻害するものであってよい。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、補体阻害剤は、C 5 a に関連するアナフィラトキシン活性の生成および / または C 5 b に関連する膜攻撃複合体の集合の一方または両方を阻害する。

【 0 0 7 0 】

組成物は、CR 1、LEX - CR 1、MCP、DAF、CD 5 9、H 因子、コブラ毒因子、FUT - 1 7 5、コンプレスタチン、および K 7 6 COOH などの、天然に存在するまたは可溶性の形態の補体阻害性化合物も含有してよい。

10

【 0 0 7 1 】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、補体の阻害剤は、アンタゴニスト抗体またはその抗原結合性断片である。抗体またはその抗原結合性断片は、ヒト抗体、組換え抗体、ダイアボディ、キメラ化またはキメラ抗体、モノクローナル抗体、脱免疫化抗体、完全ヒト抗体、単鎖抗体、Fv 断片、Fd 断片、Fab 断片、Fab' 断片、および F ( ab' )<sub>2</sub> 断片からなる群から選択することができる。

【 0 0 7 2 】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、アンタゴニスト抗体はエクリズマブなどの抗 C 5 抗体である。一部の実施形態では、アンタゴニスト抗体は、抗 C 5 抗体の C 5 結合性断片であるパキセリズマブである。

20

【 0 0 7 3 】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、補体の阻害剤は、MB 1 2 / 2 2、MB 1 2 / 2 2 - RGD、ARC 1 8 7、ARC 1 9 0 5、SSL 7、および Om C I からなる群から選択される。

【 0 0 7 4 】

一部の実施形態では、抗凝固剤は、クマリン、ヘパリン、第 X a 因子阻害剤、および トロンピン阻害剤からなる群から選択される。抗凝固剤の例としては、例えば、ワルファリン (クマジン)、アスピリン、ヘパリン、フェニンジオン、フォンダパリヌクス、イドラパリヌクス、および トロンピン阻害剤 (例えば、アルガトロバン、レビルジン、ビバルリジン、またはダビガトラン) が挙げられる。

30

【 0 0 7 5 】

一部の実施形態では、線維素溶解剤は、アネクロッド、 $\epsilon$ -アミノカプロン酸、抗プラスミン薬 - a<sub>1</sub>、プロスタサイクリン、およびデフィプロタイドからなる群から選択される。

【 0 0 7 6 】

一部の実施形態では、抗炎症剤は、炎症性サイトカインに結合し、そのサイトカインの活性を阻害する抗サイトカイン剤、例えば、アンタゴニスト抗体 (またはその抗原結合性断片) または可溶性サイトカイン受容体である。抗サイトカイン剤は、例えば、TNF 阻害剤 (例えば、抗 TNF 抗体または可溶性 TNF 受容体タンパク質) または抗 CD 2 0 剤であってよい。

40

【 0 0 7 7 】

抗炎症剤としては、例えば、ステロイド (例えば、デキサメタゾン)、非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID) (例えば、インドメタシン、ナプロキセン、スリダク、ジクロフェナク、アスピリン、フルルピプロフェン、オキサプロジン、サルサレート、ジフルニサル (difunisal)、ピロキシカム、エトドラク、メクロフェナメート、イブプロフェン、フェノプロフェン、ケトプロフェン、ナブメトン、トルメチン、サリチル酸コリンマグネシウム、COX - 2 阻害剤、TNF アルファアンタゴニスト (エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ、ゴリムマブ)、疾患修飾性抗リウマチ薬 (DMARDs) (例えば、スルファサラジン、メトトレキセート)、シクロスポリン、レチノイドおよびコルチコステロイドも挙げられる。

50

## 【0078】

さらに別の態様では、本開示は、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）を有するか、aHUSを有する疑いがあるか、またはaHUSを発症するリスクがある患者において1種または複数種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度が上昇しているかどうかを決定するための方法であって、（i）患者から得た生体試料において、表11（下記）からの、すなわち、B因子のタンパク質分解断片、C5a、可溶性C5b-9（sC5b-9）、可溶性TNFR1（sTNFR1）、可溶性VCAM-1（sVCAM-1）、トロンボモジュリン、プロトロンビン断片1および2（F1+2）、D-ダイマー、クラスタリン、TIMP-1、FABP-1、ベータ2ミクログロブリン（ $\beta_2m$ ）、およびシスタチン-Cからなる群から選択される少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカーのそれぞれの濃度を測定するステップ、ならびに（ii）患者のaHUS関連バイオマーカーのうちの少なくとも2種のそれぞれの濃度が同じ少なくとも2種のバイオマーカーの正常対照濃度と比較して上昇しているかどうかを決定するステップを含む方法の特徴とする。一部の実施形態では、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）またはラジオイムノアッセイ（RIA）などのイムノアッセイを使用して少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質を測定する。生体液は、例えば、血液、血液画分（例えば、血漿もしくは血清）、または尿であってよい。上記のaHUS-バイオマーカーのうちの任意の2種またはそれ超（例えば、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種または12種）の任意の組合せを本明細書に記載の方法に従って測定および分析することができることが理解される。

10

20

## 【0079】

別の態様では、本開示は、患者を、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）を有すると診断する（または、例えば、患者が実施例1の下で考察されている組み入れ基準の2つまたはそれ超を満たす場合に、aHUSの診断を確認する）ための方法であって、（i）aHUSを有する疑いがあるまたはaHUSを発症するリスクがある患者から得た生体試料において、B因子のタンパク質分解断片、C5a、可溶性C5b-9（sC5b-9）、可溶性TNFR1（sTNFR1）、可溶性VCAM-1（sVCAM-1）、トロンボモジュリン、プロトロンビン断片1および2（F1+2）、D-ダイマー、クラスタリン、TIMP-1、FABP-1、ベータ2ミクログロブリン（ $\beta_2m$ ）、およびシスタチン-Cからなる群から選択される少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカーのそれぞれの濃度を測定するステップ、ならびに（ii）aHUS関連バイオマーカーのうちの少なくとも2種のそれぞれの濃度が同じ少なくとも2種のバイオマーカーの正常対照濃度と比較して上昇している場合に、患者がaHUSを有すると診断する（またはaHUSの診断を確認する）ステップを含む方法の特徴とする。一部の実施形態では、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）またはラジオイムノアッセイ（RIA）などのイムノアッセイを使用して少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質を測定する。生体液は、例えば、血液、血液画分（例えば、血漿もしくは血清）、または尿であってよい。上記のaHUS-バイオマーカーのうちの任意の2種またはそれ超（例えば、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種または12種）の任意の組合せを本明細書に記載の方法に従って測定および分析することができることが理解される。

30

40

## 【0080】

正常対照濃度は、本明細書に記載の方法のいずれかにおいて使用される場合、例えば、1または複数（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、または40またはそれ超）の健康な個体から得た生体試料（複数可）中の所与のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度であってよい（またはそれに基づくものであってよい）。一部の実施形態では、バイオマーカーの正常対照濃度は、例えば、プールした、2またはそれ超（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、または40またはそれ超）の健康な個体から得た試料中のバイオマーカーの濃度であってよい（またはそれに基づくものであってよい）。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、プールした試料は、健康な個体に由来するもので

50

あってもよく、少なくとも a H U S を有さないまたは a H U S を有する疑いがない ( a H U S を発症するリスクもない ) 個体に由来するものであってもよい。例えば、被験体が a H U S を有する被験体であるかどうかを決定するステップには、患者から得た生体試料 ( またはいくつかの異なる種類の生体試料 ) 中の 1 種または複数種の補体成分タンパク質 ( 例えば、表 1 または表 1 1 ) の測定された濃度を比較すること、および測定された濃度とプールした健康な試料中の同じタンパク質の平均濃度を比較することが伴い得る。そのような健康なヒト対照濃度は、一部の実施形態では、値の範囲、またはその範囲から得られた中央値もしくは平均値であってよい。

【 0 0 8 1 】

一部の実施形態では、2 つまたはそれ超の種類の生体液において少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカーの濃度を測定する。一部の実施形態では、少なくとも 2 種の a H U S バイオマーカータンパク質のうちの第 1 のタンパク質の濃度を 1 種類の生体液において測定し、少なくとも 2 種の a H U S バイオマーカータンパク質のうちの第 2 のタンパク質の濃度を第 2 の種類の体液において測定する。

10

【 0 0 8 2 】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、B 因子のタンパク質分解断片の濃度を測定する。断片は、例えば、B a であってよい。生体試料は血漿試料であってよい。表 1 1 に記載の通り、B a の正常対照濃度は 1 0 0 0 n g / m L 未満であり得る。B a の正常対照濃度は 6 0 0 n g / m L 未満であり得る。B a の正常対照濃度は 3 0 0 n g / m L から 6 0 0 n g / m L の間であり得る。

20

【 0 0 8 3 】

一部の実施形態では、B a の正常対照濃度よりも少なくとも 2 倍高いときに生体試料中の B a の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、B a の正常対照濃度よりも少なくとも 5 倍高いときに生体試料中の B a の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、少なくとも 1 5 0 0 n g / m L であるときに生体試料中の B a の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、少なくとも 2 5 0 0 n g / m L であるときに生体試料中の B a の濃度が上昇しているとみなされる。

【 0 0 8 4 】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、C 5 a の濃度を測定する。C 5 a を測定する生体試料は尿試料であってよい。また、一部の実施形態では、C 5 a の正常対照濃度は尿中クレアチニン m g あたり 2 n g 未満である。一部の実施形態では、C 5 a の正常対照濃度は尿中クレアチニン m g あたり 1 n g 未満である。一部の実施形態では、C 5 a の正常対照濃度は尿中クレアチニン m g あたり 0 n g から 0 . 7 n g の間である。

30

【 0 0 8 5 】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、C 5 a の正常対照濃度よりも少なくとも 2 倍高いときに生体試料中の C 5 a の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、C 5 a の正常対照濃度よりも少なくとも 1 0 倍高いときに生体試料中の C 5 a の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、C 5 a の正常対照濃度よりも少なくとも 4 0 倍高いときに生体試料中の C 5 a の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 5 n g であるときに生体試料中の C 5 a の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 9 n g であるときに生体試料中の C 5 a の濃度が上昇しているとみなされる。

40

【 0 0 8 6 】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、s C 5 b - 9 の濃度を測定する。s C 5 b - 9 を測定する生体試料は尿試料であってよい。また、一部の実施形態では、s C 5 b - 9 の正常対照濃度は尿中クレアチニン m g あたり 2 n g 未満である。s C 5 b - 9 の正常対照濃度は尿中クレアチニン m g あたり 1 n g 未満であり得る。一部の実施形態では、s C 5 b - 9 の正常対照濃度は尿中クレアチニン m g あたり 0 n g から 0 . 6

50

ngの間である。

【0087】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、sC5b-9の正常対照濃度よりも少なくとも10倍高いときに生体試料中のsC5b-9の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、sC5b-9の正常対照濃度よりも少なくとも50倍高いときに生体試料中のsC5b-9の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、sC5b-9の正常対照濃度よりも少なくとも100倍高いときに生体試料中のsC5b-9の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニンmgあたり少なくとも20ngであるときに生体試料中のsC5b-9の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニンmgあたり少なくとも30ng

10

【0088】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、sTNFR1の濃度を測定する。sTNFR1を測定する生体試料は血清試料であってよい。また、一部の実施形態では、sTNFR1の正常対照濃度は2000pg/mL未満である。一部の実施形態では、sTNFR1の正常対照濃度は1500pg/mL未満である。一部の実施形態では、sTNFR1の正常対照濃度は400pg/mLから1500pg/mLの間である。

【0089】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、sTNFR1の正常対照濃度よりも少なくとも2倍高いときに生体試料中のsTNFR1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、sTNFR1の正常対照濃度よりも少なくとも5倍高いときに生体試料中のsTNFR1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、sTNFR1の正常対照濃度よりも少なくとも15倍高いときに生体試料中のsTNFR1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、少なくとも10,000pg/mLであるときに生体試料中のsTNFR1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、少なくとも15,000pg/mLであるときに生体試料中のsTNFR1の濃度が上昇しているとみなされる。

20

【0090】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、sVCAM-1の濃度を測定する。sVCAM-1を測定する生体試料は血清試料であってよい。また、一部の実施形態では、sVCAM-1の正常対照濃度は500ng/mL未満である。一部の実施形態では、sVCAM-1の正常対照濃度は300ng/mL未満である。一部の実施形態では、sVCAM-1の正常対照濃度は100ng/mLから500ng/mLの間である。

30

【0091】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、sVCAM-1の正常対照濃度よりも少なくとも10%高いときに生体試料中のsVCAM-1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、sVCAM-1の正常対照濃度よりも少なくとも30%高いときに生体試料中のsVCAM-1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、sVCAM-1の正常対照濃度よりも少なくとも50%高いときに生体試料中のsVCAM-1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、少なくとも550ng/mLであるときに生体試料中のsVCAM-1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、少なくとも650ng/mLであるときに生体試料中のsVCAM-1の濃度が上昇しているとみなされる。

40

【0092】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、トロンボモジュリンの濃度を測定する。トロンボモジュリンを測定する生体試料は血漿試料であってよい。また、一部の実施形態では、トロンボモジュリンの正常対照濃度は5ng/mL未満である。一部の実施形態では、トロンボモジュリンの正常対照濃度は3ng/mL未満である。一部の実施形態では、トロンボモジュリンの正常対照濃度は2ng/mLから6ng/mLの間で

50

ある。

【0093】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、トロンボモジュリンの正常対照濃度よりも少なくとも10%高いときに生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、トロンボモジュリンの正常対照濃度よりも少なくとも30%高いときに生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、トロンボモジュリンの正常対照濃度よりも少なくとも50%高いときに生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、少なくとも8 ng/mLであるときに生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、少なくとも10 ng/mL

10

【0094】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、F1+2の濃度を測定する。F1+2を測定する生体試料は血漿試料であってよい。また、一部の実施形態では、F1+2の正常対照濃度は400 pmol/L未満である。一部の実施形態では、F1+2の正常対照濃度は300 pmol/L未満である。一部の実施形態では、F1+2の正常対照濃度は50 pmol/Lから400 pmol/Lの間である。

【0095】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、F1+2の正常対照濃度よりも少なくとも30%高いときに生体試料中のF1+2の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、F1+2の正常対照濃度よりも少なくとも50%高いときに生体試料中のF1+2の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、F1+2の正常対照濃度よりも少なくとも100%高いときに生体試料中のF1+2の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、少なくとも900 pmol/Lであるときに生体試料中のF1+2の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、少なくとも1000 pmol/Lであるときに生体試料中のF1+2の濃度が上昇しているとみなされる。

20

【0096】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、D-ダイマーの濃度を測定する。D-ダイマーを測定する生体試料は血漿試料であってよい。また、一部の実施形態では、D-ダイマーの正常対照濃度は500 μg/L未満である。一部の実施形態では、D-ダイマーの正常対照濃度は400 μg/L未満である。一部の実施形態では、D-ダイマーの正常対照濃度は100 μg/Lから500 μg/Lの間である。

30

【0097】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、D-ダイマーの正常対照濃度よりも少なくとも2倍高いときに生体試料中のD-ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、D-ダイマーの正常対照濃度よりも少なくとも5倍高いときに生体試料中のD-ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、D-ダイマーの正常対照濃度よりも少なくとも10倍高いときに生体試料中のD-ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、少なくとも1500 μg/Lであるときに生体試料中のD-ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、少なくとも2500 μg/Lであるときに生体試料中のD-ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる。

40

【0098】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、クラスタリンの濃度を測定する。クラスタリンを測定する生体試料は尿試料であってよい。また、一部の実施形態では、クラスタリンの正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり500 ng未満である。クラスタリンの正常対照濃度は、例えば、尿中クレアチニンmgあたり400 ng未満であり得る。一部の実施形態では、クラスタリンの正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり0 ngから500 ngの間である。

50

## 【0099】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、クラスタリンの正常対照濃度よりも少なくとも2倍高いときに生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、クラスタリンの正常対照濃度よりも少なくとも5倍高いときに生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、クラスタリンの正常対照濃度よりも少なくとも10倍高いときに生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニンmgあたり少なくとも900ngであるときに生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニンmgあたり少なくとも1200ngであるときに生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる。

10

## 【0100】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、TIMP-1の濃度を測定する。TIMP-1を測定する生体試料は尿試料であってよい。また、一部の実施形態では、TIMP-1の正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり10ng未満である。一部の実施形態では、TIMP-1の正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり5ng未満である。一部の実施形態では、TIMP-1の正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり0ngから10ngの間である。

## 【0101】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、TIMP-1の正常対照濃度よりも少なくとも2倍高いときに生体試料中のTIMP-1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、TIMP-1の正常対照濃度よりも少なくとも10倍高いときに生体試料中のTIMP-1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、TIMP-1の正常対照濃度よりも少なくとも20倍高いときに生体試料中のTIMP-1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニンmgあたり少なくとも15ngであるときに生体試料中のTIMP-1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニンmgあたり少なくとも20ngであるときに生体試料中のTIMP-1の濃度が上昇しているとみなされる。

20

## 【0102】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、FABP-1の濃度(本明細書ではL-FABP-1とも称される)を測定する。C5aを測定する生体試料は尿試料であってよい。また、一部の実施形態では、FABP-1の正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり20ng未満である。一部の実施形態では、FABP-1の正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり15ng未満である。一部の実施形態では、FABP-1の正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり0ngから20ngの間である。

30

## 【0103】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、FABP-1の正常対照濃度よりも少なくとも2倍高いときに生体試料中のFABP-1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、FABP-1の正常対照濃度よりも少なくとも10倍高いときに生体試料中のFABP-1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、FABP-1の正常対照濃度よりも少なくとも20倍高いときに生体試料中のFABP-1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニンmgあたり少なくとも40ngであるときに生体試料中のFABP-1の濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニンmgあたり少なくとも50ngであるときに生体試料中のFABP-1の濃度が上昇しているとみなされる。

40

## 【0104】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、2mの濃度を測定する。2mを測定する生体試料は尿試料であってよい。また、一部の実施形態では、2mの正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり5μg未満である。一部の実施形態では、2mの正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり3μg未満である。一部の実施形態では、2mの正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり0μgから5μgの間である。

50

## 【0105】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、2 mの正常対照濃度よりも少なくとも2倍高いときに生体試料中の2 mの濃度が上昇しているとみなされる。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、2 mの正常対照濃度よりも少なくとも10倍高いときに生体試料中の2 mの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、2 mの正常対照濃度よりも少なくとも20倍高いときに生体試料中の2 mの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニンmgあたり少なくとも15 µgであるときに生体試料中の2 mの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニンmgあたり少なくとも20 µgであるときに生体試料中の2 mの濃度が上昇しているとみなされる。

10

## 【0106】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、シスタチン - Cの濃度を測定する。シスタチン - Cを測定する生体試料は尿試料であってよい。また、一部の実施形態では、シスタチン - Cの正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり400 ng未満である。一部の実施形態では、シスタチン - Cの正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり300 ng未満である。一部の実施形態では、シスタチン - Cの正常対照濃度は尿中クレアチニンmgあたり0 ngから400 ngの間である。

## 【0107】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、シスタチン - Cの正常対照濃度よりも少なくとも2倍高いときに生体試料中のシスタチン - Cの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、シスタチン - Cの正常対照濃度よりも少なくとも10倍高いときに生体試料中のシスタチン - Cの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、シスタチン - Cの正常対照濃度よりも少なくとも20倍高いときに生体試料中のシスタチン - Cの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニンmgあたり少なくとも900 ngであるときに生体試料中のシスタチン - Cの濃度が上昇しているとみなされる。一部の実施形態では、尿中クレアチニンmgあたり少なくとも1200 ngであるときに生体試料中のシスタチン - Cの濃度が上昇しているとみなされる。

20

## 【0108】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、B因子のタンパク質分解断片、C5aおよびsC5b-9のうちの2種またはそれ超の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、C5aおよびsC5b-9の濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、sVCA M-1およびトロンボモジュリンの濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、F1+2およびD-ダイマーの濃度を測定する。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、クラスタリン、TIMP-1、2 m、FABP-1、およびシスタチン - Cのうちの2種またはそれ超の濃度を測定する。

30

## 【0109】

さらに別の態様では、本開示は、aHUSを有するか、aHUSを有する疑いがあるか、またはaHUSを発症するリスクがある患者において、抗C5抗体などの補体阻害剤を用いた処置の前、その間、またはその後、副経路活性化のレベルを評価するための方法の特徴とする。当該方法は、補体の阻害剤（例えば、ヒト補体成分C5の阻害剤、例えば、抗C5抗体）を用いた処置を受けた患者から得た生体試料中のB因子のタンパク質分解断片（例えば、BaまたはBb）の濃度を測定するステップを含む。

40

## 【0110】

さらに別の態様では、本開示は、患者が補体阻害剤を用いた療法に応答したかどうか（例えば、血栓症を発症するリスクが低下したかどうか、または血栓性微小血管障害の数、頻度、または出現が低下したかどうか）を決定するための方法であって、血栓性微小血管障害（TMA）のリスクが上昇しているか、TMAに罹患しているか、またはTMAを有する疑いがあり、補体阻害剤を用いた処置を受けた患者から得た生体試料中の、表1また

50

は 1 1 に記載されている 1 種または複数種の血栓症または凝固に関するバイオマーカー、例えば、F 1 + 2、D - ダイマー、v W F、またはトロンボモジュリンの濃度を測定するステップ、ならびに生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度が補体阻害剤を用いた処置の前に患者から得た同じ種類の生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度と比較して低下している場合、患者が当該療法に应答したことを決定する、または生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度が補体阻害剤を用いた処置の前に患者から得た同じ種類の生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度と比較して低下していない場合、患者が当該療法に应答しなかったことを決定するステップを含む方法の特徴とする。一部の実施形態では、患者は、a H U S を有するか、a H U S を有する疑いがあるか、または a H U S を発症するリスクがある。

10

**【 0 1 1 1 】**

別の態様では、本開示は、a H U S 患者が補体阻害剤を用いた療法に应答したかどうかを決定するための方法であって、a H U S を有するか、a H U S を有する疑いがあるか、または a H U S を発症するリスクがあり、補体阻害剤（例えば、抗 C 5 抗体）を用いた処置を受けた患者から得た生体試料中の、表 1 または 1 1 に記載されている終末補体活性化に関する 1 種または複数種のバイオマーカー、例えば、C 5 a および / または s C 5 b - 9 の濃度を測定するステップ、ならびに生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度が補体阻害剤を用いた処置の前に患者から得た同じ種類の生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度と比較して低下している場合、患者が当該療法に应答したことを決定する、または生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度が補体阻害剤を用いた処置の前に患者から得た同じ種類の生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度と比較して低下していない場合、患者が当該療法に应答しなかったことを決定するステップを含む方法の特徴とする。したがって、当該方法を使用して、補体阻害剤を用いた処置を受けた a H U S 患者における終末補体の遮断を評価またはモニターすることができる。患者が療法に対して非应答性であるか、または療法に対する应答性が低い複数の実施形態では、当該方法は、補体阻害剤の投薬量もしくは投薬頻度を変化させる、または患者の処置において使用するための異なる補体阻害剤（例えば、C 3 活性化の阻害剤）を選択するステップも含み得る。

20

**【 0 1 1 2 】**

別の態様では、本開示は、a H U S 患者が補体阻害剤を用いた療法に应答したかどうかを決定するための方法であって、a H U S を有するか、a H U S を有する疑いがあるか、または a H U S を発症するリスクがある患者から得た生体試料中の、表 1 または 1 1 に記載されている血管の炎症または内皮活性化に関する 1 種または複数種のバイオマーカー、例えば、s T N F R 1、s V C A M - 1、またはトロンボモジュリンの濃度を測定するステップ、ならびに生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度が補体阻害剤を用いた処置の前に患者から得た同じ種類の生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度と比較して低下している場合、患者が当該療法に应答したことを決定する、または生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度が補体阻害剤を用いた処置の前に患者から得た同じ種類の生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度と比較して低下していない場合、患者が当該療法に应答しなかったことを決定するステップを含む方法の特徴とする。したがって、当該方法を使用して、補体阻害剤を用いた処置を受けた a H U S 患者における血管の炎症を評価またはモニターすることができる。患者が療法に対して非应答性であるか、または療法に対する应答性が低い複数の実施形態では、当該方法は、補体阻害剤の投薬量もしくは投薬頻度を変化させる、または患者の処置において使用するための異なる補体阻害剤（例えば、C 3 活性化の阻害剤）を選択するステップも含み得る。

30

40

**【 0 1 1 3 】**

別の態様では、本開示は、a H U S 患者が補体阻害剤を用いた療法に应答したかどうかを決定するための方法であって、a H U S を有するか、a H U S を有する疑いがあるか、または a H U S を発症するリスクがある患者から得た生体試料中の、表 1 または 1 1 に記

50

載されている腎傷害に関する 1 種または複数種のバイオマーカー、例えば、クラスタリン、TIMP-1、FABP-1、 $\alpha_2\text{m}$ 、および/またはシスタチン-C の濃度を測定するステップ、ならびに生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度が補体阻害剤を用いた処置の前に患者から得た同じ種類の生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度と比較して低下している場合、患者が当該療法に応答したことを決定する、または生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度が補体阻害剤を用いた処置の前に患者から得た同じ種類の生体試料中の 1 種または複数種のバイオマーカーの濃度と比較して低下していない場合、患者が当該療法に応答しなかったことを決定するステップを含む方法の特徴とする。したがって、当該方法を使用して、補体阻害剤を用いた処置を受けた aHUS 患者における腎傷害を評価またはモニターすることができる。患者が療法に対して非応答性であるか、または療法に対する応答性が低い複数の実施形態では、当該方法は、補体阻害剤の投薬量もしくは投薬頻度を変化させる、または患者の処置において使用するための異なる補体阻害剤（例えば、C3 活性化の阻害剤）を選択するステップも含み得る。

10

20

30

40

50

#### 【0114】

本発明者らは、aHUS 患者では、終末補体活性化マーカー C5a および sC5b-9 濃度（例えば、尿中濃度）の相対的な上昇がこれらの患者における補体副経路活性化マーカー（例えば、Ba）のレベルの相対的な上昇よりもはるかに高いことも発見した。すなわち、aHUS 患者における C5a および sC5b-9 の濃度の中央値は、正常な健康なヒトにおけるこれらのマーカーの濃度の中央値よりもそれぞれ 4.5 倍および 3.05 倍高かったが、Ba の濃度の中央値は正常な健康なヒトにおける Ba の濃度の中央値よりもおよそ 5 倍高いだけであった。いかなる特定の理論または作用機構にも制約されるものではないが、本発明者らは、終末補体活性化の副経路活性化に対する比率は aHUS の有用な診断ツールであると考える。したがって、別の態様では、本開示は、aHUS を診断するまたは aHUS の診断を確認する方法であって、終末補体（例えば、sC5b-9 または C5a）の活性化のレベルと上流の副経路の活性化（例えば、Ba または Bb）の活性化のレベルを比較する（正常な健康なヒトと比較して）ステップを含み、終末活性化の程度が副経路活性化と比較して高いことにより、その患者が aHUS を有することが示される方法の特徴とする。例えば、aHUS を示す比率は、例えば、終末補体活性化の誘導倍率対副経路活性化の誘導倍率およそ 4.5 : 5 または 3.05 : 5 であり得る。さらに、本発明者らは、この比率は、aHUS を、そのような終末補体の活性化レベルと上流の副経路の活性化レベルの差異が示されない可能性がある血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）などの他の補体関連疾患と区別するために有用であり得ると考える。

#### 【0115】

「ポリペプチド」、「ペプチド」および「タンパク質」は互換的に使用され、長さまたは翻訳後修飾にかかわらず任意のペプチド連結したアミノ酸の鎖を意味する。本明細書に記載のタンパク質は、野生型タンパク質を含有するものまたは野生型タンパク質であってもよく、50 以下（例えば、1 以下、2 以下、3 以下、4 以下、5 以下、6 以下、7 以下、8 以下、9 以下、10 以下、12 以下、15 以下、20 以下、25 以下、30 以下、35 以下、40 以下、または 50 以下）の保存的アミノ酸置換を有するバリエーションであってもよい。保存的置換は、一般には、以下の群内の置換を包含する：グリシンおよびアラニン；バリン、イソロイシン、およびロイシン；アスパラギン酸およびグルタミン酸；アスパラギン、グルタミン、セリンおよびトレオニン；リシン、ヒスチジンおよびアルギニン；ならびにフェニルアラニンおよびチロシン。

#### 【0116】

本明細書で使用される場合、パーセント（%）アミノ酸配列同一性は、配列をアラインメントし、必要であればギャップを導入して最大のパーセント配列同一性を実現した後に、参照配列内のアミノ酸と同一である候補配列内のアミノ酸の百分率と定義される。パーセント配列同一性を決定するためのアラインメントは、当技術分野の技術の範囲内の種々のやり方で、例えば、BLASTソフトウェアなどの公的に入手可能なコンピュータソフ

トウェアを使用して実現することができる。比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを実現するために必要な任意のアルゴリズムを含めた、アラインメントを測定するための適切なパラメータは、公知の方法によって決定することができる。

【0117】

本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、全抗体と全抗体の抗原結合性断片のどちらも包含する。全抗体は、IgM抗体、IgG抗体、IgA抗体、IgD抗体、およびIgE抗体を含めた異なる抗体のアイソタイプを含む。「抗体」という用語は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ化またはキメラ抗体、ヒト化抗体、霊長類化抗体 (primatized antibody)、脱免疫化抗体、および完全ヒト抗体を包含する。抗体は、種々の種、例えば、ヒト、非ヒト霊長類 (例えば、オランウータン、ヒビ、またはチンパンジー)、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、ウサギ、モルモット、スナネズミ、ハムスター、ラット、およびマウスなどの哺乳動物のいずれかで作製されたものであっても、それに由来するものであってもよい。抗体は精製された抗体であっても組換え抗体であってもよい。

10

【0118】

本明細書で使用される場合、「抗体断片」、「抗原結合性断片」という用語または同様の用語は、標的抗原 (例えば、ヒトC5) に結合し、標的抗原の活性を阻害する能力を保持する抗体の断片を指す。そのような断片としては、例えば、単鎖抗体、単鎖Fv断片 (scFv)、Fd断片、Fab断片、Fab'断片、またはF(ab')<sub>2</sub>断片が挙げられる。scFv断片は、scFvが由来する抗体の重鎖可変領域と軽鎖可変領域の両方を含む単一のポリペプチド鎖である。さらに、イントラボディ、ミニボディ、トリアボディ、およびダイアボディも抗体の定義に含まれ、本明細書に記載の方法における使用に適合する。例えば、それぞれの開示全体が参照により本明細書に組み込まれるTodorovskaら (2001年) J Immunol Methods 248巻 (1号) : 47~66頁 ; HudsonおよびKortt (1999年) J Immunol Methods 231巻 (1号) : 177~189頁 ; Poljak (1994年) Structure 2巻 (12号) : 1121~1123頁 ; およびRondonおよびMarasco (1997年) Annual Review of Microbiology 51巻 : 257~283頁を参照されたい。二重特異性抗体 (DVD-Ig抗体を含む ; 以下を参照されたい) も「抗体」という用語に含まれる。二重特異性抗体とは、少なくとも2種の異なる抗原に対して結合特異性を有するモノクローナル抗体、好ましくはヒトまたはヒト化抗体である。

20

30

【0119】

本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、例えば、ラクダ化単ドメイン抗体などの単ドメイン抗体も包含する。例えば、その全てがその全体において参照により本明細書に組み込まれる、Muyldermansら (2001年) Trends Biochem Sci 26巻 : 230~235頁 ; Nuttallら (2000年) Curr Pharm Biotech 1巻 : 253~263頁 ; Riechmannら (1999年) J Immunol Meth 231巻 : 25~38頁 ; PCT出願公開第WO94/04678号および同第WO94/25591号 ; および米国特許第6,005,079号を参照されたい。一部の実施形態では、本開示は、単ドメイン抗体が形成されるように改変された2つのVHドメインを含む単ドメイン抗体を提供する。

40

【0120】

特に定義されていなければ、本明細書において使用される全ての技術用語および科学用語は、本開示が関係する技術分野の当業者に一般に理解されるものと同じ意味を有する。好ましい方法および材料が下に記載されているが、本明細書に記載のものと同様または同等である方法および材料も、現在開示されている方法および組成物の実施または試験において使用することができる。本明細書において言及されている全ての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0121】

本開示の他の特徴および利点、例えば、被験体における補体関連障害を処置するための方法は、以下の記載、実施例から、および特許請求の範囲から明らかである。

50

## 【図面の簡単な説明】

## 【0122】

【図1A】図1Aは、エクリズマブを用いた処置前のaHUS患者(Pre-Tx)の尿とエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週におけるaHUS患者の尿の両方におけるC5aの濃度(尿中クレアチンmgあたりのngで)を示すドットプロットである。正常な、健康な個体(NORM)由来の尿における尿中C5a濃度も測定した。

【図1B】図1Bは、エクリズマブを用いた処置前のaHUS患者(Pre-Tx)の尿とエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週におけるaHUS患者の尿の両方におけるsC5b-9の濃度(尿中クレアチンmgあたりのngで)を示すドットプロットである。正常な、健康な個体(NORM)由来の尿における尿中C5b9濃度も測定した。

【図1C】図1Cは、エクリズマブを用いた処置前のaHUS患者(Pre-Tx)の血漿とエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週におけるaHUS患者の血漿の両方における補体成分Baの濃度(ng/mLで)を示すドットプロットである。正常な、健康な個体(正常)由来の血漿におけるBaの濃度も測定した。

【図1D】図1Dは、エクリズマブを用いた処置を開始した後のaHUS患者(N=26)における経時的な尿中C5aレベルの平均百分率(%)低下(Y軸)を示す棒グラフである。x軸は、処置開始後の評価のためのaHUS患者の来診の週を示し、例えば、V3は、処置開始後第3週における評価のための患者の来診である。

【図1E】図1Eは、エクリズマブを用いた処置を開始した後のaHUS患者(N=23)における経時的な尿中sC5b-9レベルの平均百分率(%)低下(Y軸)を示す棒グラフである。x軸は、処置開始後の評価のためのaHUS患者の来診の週を示し、例えば、V3は、処置開始後第3週における評価のための患者の来診である。

【図1F】図1Fは、エクリズマブを用いた処置を開始した後のaHUS患者(N=35)における経時的な血漿中Baレベルの平均百分率(%)低下(Y軸)を示す棒グラフである。x軸は、処置開始後の評価のためのaHUS患者の来診の週を示し、例えば、V3は、処置開始後第3週における評価のための患者の来診である。

【図2A-2C】図2A~2Cは、ベースライン(エクリズマブを用いた処置前)およびエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週における、尿中C5a(図2A)、尿中sC5b9(図2B)、および血漿Ba(図2C)の濃度が正常化したaHUS患者の百分率を示す棒グラフである。

【図3A】図3Aは、エクリズマブを用いた処置前のaHUS患者(Pre-Tx)の血漿とエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週におけるaHUS患者の血漿の両方におけるプロトロンビン断片1+2の濃度(pmol/Lで)を示すドットプロットである。正常な、健康な個体(正常)由来の血漿における血漿F1+2濃度も測定した。

【図3B】図3Bは、エクリズマブを用いた処置前のaHUS患者(Pre-Tx)の血漿とエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週におけるaHUS患者の血漿の両方におけるD-ダイマーの濃度( $\mu\text{g/L}$ で)を示すドットプロットである。正常な、健康な個体(正常)由来の血漿における血漿D-ダイマー濃度も測定した。

【図3C】図3Cは、エクリズマブを用いた処置を開始した後のaHUS患者における経時的な血漿プロトロンビン断片F1+2レベルの平均百分率(%)低下(Y軸)を示す棒グラフである。x軸は、処置開始後の評価のためのaHUS患者の来診の週を示し、例えば、V3は、処置開始後第3週における評価のための患者の来診である。

【図3D】図3Dは、エクリズマブを用いた処置を開始した後のaHUS患者における経時的な血漿d-ダイマーレベルの平均百分率(%)低下(Y軸)を示す棒グラフである。x軸は、処置開始後の評価のためのaHUS患者の来診の週を示し、例えば、V3は、処置開始後第3週における評価のための患者の来診である。

【図4A-4B】図4Aおよび4Bは、ベースライン(エクリズマブを用いた処置前)およびエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週における、血漿プロトロンビン断片1+2(図4A)および血漿D-ダイマー(図4B)の濃度が正常化したaHUS患者

10

20

30

40

50

の百分率を示す棒グラフである。

【図5A】図5Aは、エクリズマブを用いた処置前のaHUS患者(Pre-Tx)の血漿(EDTA処理した血漿)とエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週におけるaHUS患者の血漿(EDTA処理した血漿)の両方におけるトロンボモジュリンの濃度( $\text{ng/mL}$ で)を示すドットプロットである。正常な、健康な個体(正常)由来の血漿における血漿トロンボモジュリンの濃度も測定した。EOSは、「試験終了」時に得た試料の分析結果を示す。

【図5B】図5Bは、エクリズマブを用いた処置前のaHUS患者(Pre-Tx)の血清とエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週におけるaHUS患者の血清の両方におけるVCAM-1の濃度( $\text{ng/mL}$ で)を示すドットプロットである。正常な、健康な個体(正常プール)由来の血清における血清VCAM-1の濃度も測定した。EOSは、「試験終了」時に得た試料の分析結果を示す。

【図5C】図5Cは、エクリズマブを用いた処置前のaHUS患者(Pre-Tx)の血漿(EDTA処理した血漿)とエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週におけるaHUS患者の血漿(EDTA処理した血漿)の両方におけるvWFの活性( $\text{mU/mL}$ で)を示すドットプロットである。正常な、健康な個体(正常)由来の血漿におけるvWFの活性も測定した。EOSは、「試験終了」時に得た試料の分析結果を示す。

【図6A-6B】図6Aおよび6Bは、ベースライン(エクリズマブを用いた処置前)およびエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週における、血漿トロンボモジュリン濃度(図6A)および血漿vWF活性レベル(図4B)が正常化したaHUS患者の百分率を示す棒グラフである。

【図6C】図6Cは、エクリズマブを用いた処置を開始した後のaHUS患者( $N=33$ )における経時的な血漿トロンボモジュリンレベルの平均百分率(%)低下(Y軸)を示す棒グラフである。X軸は、処置開始後の評価のためのaHUS患者の来診の週を示し、例えば、V3は、処置開始後第3週における評価のための患者の来診である。

【図6D】図6Dは、エクリズマブを用いた処置を開始した後のaHUS患者( $N=36$ )における経時的な血清VCAM-1レベルの平均百分率(%)低下(Y軸)を示す棒グラフである。X軸は、処置開始後の評価のためのaHUS患者の来診の週を示し、例えば、V3は、処置開始後第3週における評価のための患者の来診である。

【図7A】図7Aは、エクリズマブを用いた処置前のaHUS患者(Pre-Tx)の血清とエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週におけるaHUS患者の血清の両方におけるTNFR1の濃度( $\text{pg/mL}$ で)を示すドットプロットである。正常な、健康な個体(正常プール)由来の血清における血清TNFR1濃度も測定した。EOSは、「試験終了」時に得た試料の分析結果を示す。

【図7B】図7Bは、ベースライン(エクリズマブを用いた処置前)およびエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週における、血清TNFR1濃度が正常化したaHUS患者の百分率を示す棒グラフである。

【図8A】図8Aは、エクリズマブを用いた処置前のaHUS患者(Pre-Tx)の尿とエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週におけるaHUS患者の尿の両方におけるシスタチンC(CysC)の濃度(尿中クレアチン $\text{mg}$ あたりの $\text{ng}$ で)を示すドットプロットである。正常な、健康な個体(NORM)由来の尿における尿中CysC濃度も測定した。

【図8B】図8Bは、エクリズマブを用いた処置前のaHUS患者(Pre-Tx)の尿とエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週におけるaHUS患者の尿の両方における $2M$ の濃度(尿中クレアチン $\text{mg}$ あたりの $\mu\text{g}$ で)を示すドットプロットである。正常な、健康な個体(NORM)由来の尿における尿中 $2M$ 濃度も測定した。

【図8C】図8Cは、エクリズマブを用いた処置前のaHUS患者(Pre-Tx)の尿とエクリズマブを用いた処置を開始した後の種々の週におけるaHUS患者の尿の両方におけるNGALの濃度(尿中クレアチン $\text{mg}$ あたりの $\text{ng}$ で)を示すドットプロットである。正常な、健康な個体(NORM)由来の尿における尿中NGAL濃度も測定した。

10

20

30

40

50

【図9A - 9B】図9A ~ 9Eは、本明細書に記載の試験に登録される前に透析を受けたaHUS患者（透析）と透析を受けていないaHUS患者（透析なし）におけるいくつかのaHUSバイオマーカータンパク質の平均レベルの比較を示す一連の棒グラフである。図9Aは血清TNFR1の平均濃度（pg/mLで）を示し、図9Bは尿中2M（尿中クレアチンmgあたりのμgで）の平均濃度を示す。

【図9C - 9E】図9A ~ 9Eは、本明細書に記載の試験に登録される前に透析を受けたaHUS患者（透析）と透析を受けていないaHUS患者（透析なし）におけるいくつかのaHUSバイオマーカータンパク質の平均レベルの比較を示す一連の棒グラフである。図9Cは血漿Ba濃度（ng/mLで）を示し、図9Dは尿中sC5b9濃度（尿中クレアチンmgあたりのngで）を示し、図9Eは尿中C5a濃度（ng/mLで）を示す。

【図10A】図10Aは、ベースラインおよびエクリズマブを用いた処置開始後第1週 ~ 第2.5週の時点での、安定した臨床的パラメータ（臨床的寛解）を示すaHUS患者（TMAなし）と、ハプトグロビンおよびLDHレベルの上昇を経験したまま（かつ血小板数が低下したまま）であるaHUS患者（その他）における血清TNFR1濃度（pg/mLで）を示すドットプロットである。正常な、健康な個体（正常）由来の血清TNFR1濃度も示されている。

【図10B - 10E】図10B ~ 10Eは、それぞれが、血液学的マーカーであるLDHおよびハプトグロビンが正常である患者（「正常な患者」または臨床的寛解にあるとみなされる患者）、血液学的マーカーが異常である（上昇している）患者（「異常な患者」または活動性aHUSが表れている患者）、および健康な被験体（「正常」）における所与のバイオマーカーの濃度を示す一連の棒グラフである。図10Bはこれらの被験体集団における血漿Baレベル（ng/mL）を示す。図10Cは被験体集団における血清VCAM-1レベル（ng/mL）を示す。図10Eは集団における血漿プロトロンビン断片1+2レベル（pmol/L）を示し、図10Dは血漿D-ダイマーレベル（μg/Lで）を示す。それぞれの群間比較についてのP値が図中に示されている。

【図10F - 10I】図10F ~ 10Iは、それぞれが、血小板レベルが正常である患者（「正常な患者」）、血小板レベルが異常である（低下している）患者（「異常な患者」）、および健康な被験体（「正常」）における所与のバイオマーカーの濃度を示す一連の棒グラフである。図10Fはこれらの被験体集団における血漿Baレベル（ng/mL）を示す。図10Gは被験体集団における血清VCAM-1レベル（ng/mL）を示す。図10Iは集団における血漿プロトロンビン断片1+2レベル（pmol/L）を示し、図10Hは血漿D-ダイマーレベル（μg/Lで）を示す。それぞれの群間比較についてのP値が図中に示されている。

【図11】図11は、完全TMA奏効（complete TMA response）が得られるaHUS患者、および依然としてTMA事象を経験している患者（不完全奏効）における血清TNFR1ならびに尿中クラスタリンレベル、尿中C5aレベル、および尿中C5b9レベルの平均百分率変化を示す棒グラフである。（実施例において記載され、詳述されている通り、完全TMA奏効とは、血液学的パラメータの正常化および腎機能の保護を指す）。

【図12】図12は、完全TMA奏効を経験する、エクリズマブによる処置を受けたaHUS患者、および完全TMA奏効を経験しない、エクリズマブによる処置を受けたaHUS患者（その他（others））における血漿Baレベルの平均百分率変化を示す棒グラフである。

【図13】図13は、エクリズマブを用いた処置の開始後第12週 ~ 第17週および第26週における、血漿Baレベルが正常化したaHUS患者と、血漿Baレベルの上昇が持続しているaHUS患者における血小板数（ $10^9/L$ ）のベースライン（最初の来診、エクリズマブを用いた処置前）からの平均変化を示す棒グラフである。各観察結果についてのp値も図中に提示されている。

【図14A - 14D】図14A ~ 14Dは、aHUS患者では、ベースラインにおいてTMAマーカーの異常と共に、ある特定のaHUS関連バイオマーカーが上昇しているという観察結果を示す一連の棒グラフである。図14Aは、尿中のシスタチンC（CysC）

10

20

30

40

50

の濃度（尿中クレアチンmgあたりのngで）を、血小板数が正常（血液 $\mu\text{L}$ あたり $> 150,000$ 個）であるaHUS患者と、血小板数が減少している（血液 $\mu\text{L}$ あたり $< 150,000$ 個）患者とで比較して示すものである。図14Bは、尿中のクラスタリンの濃度（尿中クレアチンmgあたりのngで）を、血小板数が正常（血液 $\mu\text{L}$ あたり $> 150,000$ 個）であるaHUS患者と、血小板数が減少している（血液 $\mu\text{L}$ あたり $< 150,000$ 個）患者とで比較して示すものである。図14Cは、血清中のVCAM-1濃度を、LDHレベルが正常であるaHUS患者とLDHレベルが上昇している患者とで比較して示すものである。図14Dは、血漿中のd-ダイマーの濃度（ $\mu\text{g}/\text{L}$ で）を、LDHレベルが正常であるaHUS患者とLDHレベルが上昇している患者とで比較して示すものである。各観察結果についてのp値が図中に示されている。

10

【図15】図15は、血漿療法を繰り返し受けたaHUS患者（繰り返しPT；N=23）のベースラインにおける尿中の、血漿療法を受けていないaHUS患者（PTなし；N=3）のベースラインにおける尿中の、または正常な患者（N=9）における尿中のシスタチンCのレベル（尿中クレアチンmgあたりのng）を示す棒グラフである。

【図16】図16は、ベースラインeGFR（ $\text{mL}/\text{分}/1.73\text{m}^2$ ）の平均変化を、エクリズマブによる処置後に種々のバイオマーカー（血漿Ba、血清VCAM-1、血漿F1+2、血漿d-ダイマー、および尿中シスタチンC）のレベルが正常化したaHUS患者と、これらのバイオマーカーの濃度が上昇したままであるaHUS患者とを比較して示す一連の棒グラフである。

【図17A-E】図17A~Eは、aHUS患者では、該患者が血漿交換（PE）療法または血漿注入（PI）療法を受けてきたかどうかにかかわらず、補体阻害剤を用いた処置の前にある特定のaHUS関連バイオマーカーが上昇しているという観察結果を示す一連の棒グラフである。図17Aは、正常な健康な志願者（NHV）、PE療法もしくはPI療法を受けているaHUS患者（PE/PI）、またはPE/PI療法を受けていないaHUS患者（PE/PIなし）の血漿中のB因子タンパク質分解断片Baの濃度（ $\text{ng}/\text{mL}$ で）を示す。図17Bは、正常な健康な志願者（NHV）、PE療法もしくはPI療法を受けているaHUS患者（PE/PI）、またはPE/PI療法を受けていないaHUS患者（PE/PIなし）の血清中のsTNFR1の濃度（ $\text{pg}/\text{mL}$ で）を示す。図17Cは、正常な健康な志願者（NHV）、PE療法もしくはPI療法を受けているaHUS患者（PE/PI）、またはPE/PI療法を受けていないaHUS患者（PE/PIなし）の血清中のsVCAM-1の濃度（ $\text{ng}/\text{mL}$ で）を示す。図17Dは、正常な健康な志願者（NHV）、PE療法もしくはPI療法を受けているaHUS患者（PE/PI）、またはPE/PI療法を受けていないaHUS患者（PE/PIなし）の血漿中のD-ダイマーの濃度（ $\mu\text{g}/\text{L}$ で）を示す。図17Eは、正常な健康な志願者（NHV）、PE療法もしくはPI療法を受けているaHUS患者（PE/PI）、またはPE/PI療法を受けていないaHUS患者（PE/PIなし）の尿中のシスタチン-Cの濃度（尿中クレアチニンmgあたりのngで）を示す。各観察結果についてのp値が図中に示されている。

20

30

【図18A-E】図18A~Eは、aHUS患者では、補体阻害剤を用いた処置の前に、該患者における血小板レベルにかかわらず、ある特定のaHUS関連バイオマーカーが上昇しているという観察結果を示す一連の棒グラフである。図18Aは、正常な健康な志願者（NHV）、血小板レベルが正常である（ $> 150 \times 10^9$ 個）aHUS患者、または血小板数が減少している（ $< 150 \times 10^9$ 個）aHUS患者の血漿中のB因子タンパク質分解断片Baの濃度（ $\text{ng}/\text{mL}$ で）を示す。図18Bは、正常な健康な志願者（NHV）、血小板レベルが正常である（ $> 150 \times 10^9$ 個）aHUS患者、または血小板数が減少している（ $< 150 \times 10^9$ 個）aHUS患者の血清中のsTNFR1の濃度（ $\text{pg}/\text{mL}$ で）を示す。図18Cは、正常な健康な志願者（NHV）、血小板レベルが正常である（ $> 150 \times 10^9$ 個）aHUS患者、または血小板数が減少している（ $< 150 \times 10^9$ 個）aHUS患者の血清中のsVCAM-1の濃度（ $\text{ng}/\text{mL}$ で）を示す。図18Dは、正常な健康な志願者（NHV）、血小板レベルが正常である（ $> 150 \times 10$

40

50

<sup>9</sup>個) aHUS患者、または血小板数が減少している( $< 150 \times 10^9$ 個) aHUS患者の血漿中のD-ダイマーの濃度( $\mu\text{g}/\text{L}$ で)を示す。図18Eは、正常な健康な志願者(NHV)、血小板レベルが正常である( $> 150 \times 10^9$ 個) aHUS患者、または血小板数が減少している( $< 150 \times 10^9$ 個) aHUS患者の尿中のシスタチン-Cの濃度(尿中クレアチニン $\text{mg}$ あたりの $\text{ng}$ で)を示す。各観察結果についてのp値が図中に示されている。

【図19A-E】図19A~Eは、aHUS患者では、ハプトグロビン(Hp)または乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)レベルにかかわらず、補体阻害剤を用いた処置の前にある特定のaHUS関連バイオマーカーが上昇しているという観察結果を示す一連の棒グラフである。図19Aは、正常な健康な志願者(NHV)、HpレベルおよびLDHレベルが正常であるaHUS患者、またはHp/LDHが上昇している(異常である)aHUS患者の血漿中のB因子タンパク質分解断片Baの濃度( $\text{ng}/\text{mL}$ で)を示す。図19Bは、正常な健康な志願者(NHV)、HpレベルおよびLDHレベルが正常であるaHUS患者、またはHp/LDHが上昇している(異常である)aHUS患者の血清中のsTNFR1の濃度( $\text{pg}/\text{mL}$ で)を示す。図19Cは、正常な健康な志願者(NHV)、HpレベルおよびLDHレベルが正常であるaHUS患者、またはHp/LDHが上昇している(異常である)aHUS患者の血清中のsVCAM-1の濃度( $\text{ng}/\text{mL}$ で)を示す。図19Dは、正常な健康な志願者(NHV)、HpレベルおよびLDHレベルが正常であるaHUS患者、またはHp/LDHが上昇している(異常である)aHUS患者の血漿中のD-ダイマーの濃度( $\mu\text{g}/\text{L}$ で)を示す。図19Eは、正常な健康な志願者(NHV)、HpレベルおよびLDHレベルが正常であるaHUS患者、またはHp/LDHが上昇している(異常である)aHUS患者の尿中のシスタチン-Cの濃度(尿中クレアチニン $\text{mg}$ あたりの $\text{ng}$ で)を示す。各観察結果についてのp値が図中に示されている。

【図20A-B】図20A~Bは、aHUS患者における終末補体活性化に対する、持続的なエクリズマブによる処置の長期的効果を示す箱ひげ図である。図20Aは、エクリズマブによる処置後のaHUS患者の尿中C5a濃度(尿中クレアチニン $\text{mg}$ あたりの $\text{ng}$ )の経時的な変化を、正常な健康な志願者(NHV)の尿における尿中C5a濃度と比較して示す。図20Bは、エクリズマブによる処置後のaHUS患者の尿中sC5b-9濃度(尿中クレアチニン $\text{mg}$ あたりの $\text{ng}$ )の経時的な変化を正常な健康な志願者(NHV)の尿における尿中sC5b-9濃度と比較して示す。箱ひげ図は、中央値、25パーセント、75パーセント、および範囲を示すものである。\*は、レベルがベースライン(BL)に対して有意に低下した最初の時点であり、各時点におけるベースラインに対するP値を、制限付き最尤法に基づく反復測定手法(混合モデル)を使用して算出した。NHVと比較した場合のP値はウィルコクソン順位和検定を使用して算出した。

【図21A-C】図21A~Cは、aHUS患者における腎傷害に関連するバイオマーカータンパク質の濃度に対する、持続的なエクリズマブによる処置の長期的効果を示す箱ひげ図である。図20Aは、エクリズマブによる処置後のaHUS患者の尿中FABP-1濃度(尿中クレアチニン $\text{mg}$ あたりの $\text{ng}$ )の経時的な変化を、正常な健康な志願者(NHV)の尿における尿中FABP-1濃度と比較して示す。図21Bは、エクリズマブによる処置後のaHUS患者の尿中シスタチン-C濃度(尿中クレアチニン $\text{mg}$ あたりの $\text{ng}$ )の経時的な変化を、正常な健康な志願者(NHV)の尿における尿中シスタチン-C濃度と比較して示す。図21Cは、エクリズマブによる処置後のaHUS患者の尿中クラスタリン濃度(尿中クレアチニン $\text{mg}$ あたりの $\text{ng}$ )の経時的な変化を、正常な健康な志願者(NHV)の尿における尿中クラスタリン濃度と比較して示す。箱ひげ図は、中央値、25パーセント、75パーセント、および範囲を示すものである。\*は、レベルがベースライン(BL)に対して有意に低下した最初の時点であり、各時点におけるベースラインに対するP値を、制限付き最尤法に基づく反復測定手法(混合モデル)を使用して算出した。NHVと比較した場合のP値はウィルコクソン順位和検定を使用して算出した。

10

20

30

40

50

【図 2 2】図 2 2 は、a H U S 患者における補体副経路活性化に対する、持続的なエクリズマブによる処置の長期的効果を示す箱ひげ図である。エクリズマブによる処置後の a H U S 患者の血漿中の B a の濃度 ( n g / m L ) の経時的な変化が正常な健康な志願者 ( N H V ) における血漿 B a 濃度と一緒に示されている。箱ひげ図は、中央値、25パーセント、75パーセント、および範囲を示すものである。\* は、レベルがベースライン ( B L ) に対して有意に低下した最初の時点であり、各時点におけるベースラインに対する P 値を、制限付き最尤法に基づく反復測定手法 ( 混合モデル ) を使用して算出した。N H V と比較した場合の P 値はウィルコクソン順位和検定を使用して算出した。

【図 2 3 A - C】図 2 3 A ~ C は、a H U S 患者における炎症、内皮細胞活性化、および組織傷害に関連するバイオマーカータンパク質の濃度に対する、持続的なエクリズマブによる処置の長期的効果を示す箱ひげ図である。図 2 3 A は、エクリズマブによる処置後の a H U S 患者の血清中の s T N F R 1 の濃度 ( p g / m L ) の経時的な変化を正常な健康な志願者 ( N H V ) の血清中の s T N F R 1 の濃度と比較して示す。図 2 3 B は、エクリズマブによる処置後の a H U S 患者の血清中の s V C A M - 1 の濃度 ( n g / m L ) の経時的な変化を正常な健康な志願者 ( N H V ) の血清中の分析物の濃度と比較して示す。図 2 3 C は、エクリズマブによる処置後の a H U S 患者の血漿中のトロンボモジュリンの濃度 ( n g / m L ) の経時的な変化を正常な健康な志願者 ( N H V ) の血漿中の分析物の濃度と比較して示す。箱ひげ図は、中央値、25パーセント、75パーセント、および範囲を示すものである。\* は、レベルがベースライン ( B L ) に対して有意に低下した最初の時点であり、各時点におけるベースラインに対する P 値を、制限付き最尤法に基づく反復測定手法 ( 混合モデル ) を使用して算出した。N H V と比較した場合の P 値はウィルコクソン順位和検定を使用して算出した。

【図 2 4 A - B】図 2 4 A ~ B は、a H U S 患者における血栓症および凝固に関連するバイオマーカータンパク質の濃度に対する、持続的なエクリズマブによる処置の長期的効果を示す箱ひげ図である。図 2 4 A は、エクリズマブによる処置後の a H U S 患者の血漿中の F 1 + 2 の濃度 ( p m o l / L ) の経時的な変化を正常な健康な志願者 ( N H V ) の血漿中の分析物の濃度と比較して示す。図 2 4 B は、エクリズマブによる処置後の a H U S 患者の血漿中の D - ダイマーの濃度 ( μ g / L ) の経時的な変化を正常な健康な志願者 ( N H V ) の血漿中の分析物の濃度と比較して示す。箱ひげ図は、中央値、25パーセント、75パーセント、および範囲を示すものである。\* は、レベルがベースライン ( B L ) に対して有意に低下した最初の時点であり、各時点におけるベースラインに対する P 値を、制限付き最尤法に基づく反復測定手法 ( 混合モデル ) を使用して算出した。N H V と比較した場合の P 値はウィルコクソン順位和検定を使用して算出した。

【発明を実施するための形態】

【0123】

補体系の概要

補体系は、細胞性病原体およびウイルス病原体の侵入に対する防御のために、体の他の免疫系と協同して作用する。補体タンパク質は少なくとも 25 種存在し、これらは血漿タンパク質および膜補因子の複合体の集合 ( complex collection ) として見いだされる。血漿タンパク質は脊椎動物の血清中でグロブリン約 10% を構成する。補体成分の免疫防御機能は、一連の複雑であるが正確な酵素的切断および膜結合事象における相互作用によって実現される。生じた補体カスケードにより、オプソニン機能、免疫調節機能、および溶解機能を有する産物の産生がもたらされる。補体活性化に関連する生物活性の簡潔な要約は、例えば、The Merck Manual、第 16 版において提供される。

【0124】

補体カスケードは古典経路、副経路、またはレクチン経路を介して進行する。これらの経路は多くの成分を共有し、これらは、最初のステップは異なるが、標的細胞の活性化および破壊に關与する同じ「終末補体」成分 ( C 5 ~ C 9 ) に収束し、それらを共有する。

【0125】

古典経路 ( C P ) は、一般には、抗体が標的細胞上の抗原部位を認識し、それに結合す

ることによって開始される。副経路 (AP) は抗体非依存性であり得、病原体表面上のある特定の分子によって開始され得る。さらに、レクチン経路は、一般には、マンノース結合性レクチン (MBL) が高マンノース基質に結合することで開始される。これらの経路は、補体成分 C3 が活性化プロテアーゼによって切断されて C3a および C3b を生じる点に収束する。補体による攻撃を活性化し他の経路が一連の事象の後期で作用し、それにより補体機能の種々の側面をもたらされ得る。C3a はアナフィラトキシンである。C3b は細菌細胞および他の細胞、ならびにある特定のウイルスおよび免疫複合体に結合し、それらを循環から除去するためのタグを付ける。この C3b のオプソニン機能は、一般に、補体系の最も重要な抗感染作用であると考えられている。C3b は、各経路に独特である他の成分とも複合体を形成して古典的 C5 転換酵素または代替 C5 転換酵素 (alternative C5 convertase) を形成し、これにより、補体成分 C5 (以本明細書の以下で「C5」と称される) が C5a および C5b に切断される。

10

**【0126】**

C5 が切断されることにより、例えば、強力なアナフィラトキシンかつ走化性因子である C5a、および一連のタンパク質相互作用を通じて溶解性の終末補体複合体である C5b-9 の形成をもたらす C5b などの生物活性のある種が放出される。C5a および C5b-9 は、加水分解酵素、反応性酸素種、アラキドン酸代謝産物および種々のサイトカインなどの下流の炎症性因子の放出を増幅することによる多面的な細胞活性化特性も有する。

**【0127】**

C5b は標的細胞の表面で C6、C7、および C8 と複合して C5b-8 複合体を形成する。いくつかの C9 分子が結合すると、膜攻撃複合体 (MAC、C5b-9、終末補体複合体 - - TCC) が形成される。十分な数の MAC が標的細胞膜に挿入されると、それらにより作り出された開口 (MAC ポア) により、標的細胞の急速な浸透性溶解が媒介される。より低い、非溶解性の濃度の MAC により、他の効果が生じ得る。具体的には、少数の C5b-9 複合体の内皮細胞および血小板への膜挿入により、有害な細胞活性化が引き起こされ得る。いくつかの場合には、活性化が細胞溶解よりも先に起こり得る。

20

**【0128】**

上記の通り、C3a および C5a は活性化された補体成分である。これらにより、好塩基球および肥満細胞からヒスタミンを放出させる肥満細胞の脱顆粒、ならびに他の炎症メディエーターが誘発され、その結果、平滑筋収縮、血管透過性の亢進、白血球活性化、および細胞過形成をもたらす細胞増殖を含めた他の炎症性の現象が生じ得る。C5a は、炎症促進性顆粒球を補体活性化の部位に誘引する機能を果たす走化性ペプチドとしても機能する。C5a 受容体は、気管支および肺胞の上皮細胞ならびに気管支平滑筋細胞の表面上に見いだされる。C5a 受容体は、好酸球、肥満細胞、単球、好中球、および活性化されたリンパ球にも見いだされている。

30

**【0129】****詳細な説明**

本明細書に記載され、実施例において例示されている通り、本発明者らは、aHUS に対するバイオマーカーを同定した。例えば、ある特定のタンパク質の濃度の上昇、またはいくつかの場合には低下が aHUS の存在に関連づけられることが発見された。同様に、補体阻害剤を用いた処置を受けた aHUS 患者から得た生体液中のある特定のタンパク質の濃度 (または活性) の低下または上昇により、患者が阻害剤を用いた療法に応答したことが示される。したがって、そのようなタンパク質の濃度および / または活性レベルの分析を使用して、とりわけ aHUS についてのリスクを評価すること、aHUS を診断すること、aHUS の進行または緩和をモニターすること、および / または補体阻害剤に対する処置応答をモニターすることができる。

40

**【0130】**

aHUS バイオマーカータンパク質および適用

aHUS バイオマーカータンパク質 (ならびにそれらが見いだされる例示的な生体液)

50

が表 1 に記載されている。本出願の出願日時点で入手可能な、GenBank (National Center for Biotechnology Information (NCBI)) にある、表 1 に列挙されているバイオマーカーのそれぞれの名称に付随するタンパク質配列は、参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 1 3 1 】

【 表 1 - 1 】

表 1.

<u>バイオマーカー</u>	<u>略語</u>	<u>供給源の組織</u>			<u>NCBI 参照配列番号*</u>
		<u>血清</u>	<u>血漿</u>	<u>尿</u>	
炎症/血小板または内皮活性化のマーカー					
ケモカイン(C-X-C モチーフ)リガンド 9	CXCL9	X			NP_002407.1
ケモカイン(C-X-C モチーフ)リガンド 10	CXCL-10	X			NP_001556.2

【表 1 - 2】

バイオマーカー	略語	供給源の組織			NCBI 参照 配列番号*
		血清	血漿	尿	
インターロイキン-1 ベータ	IL-1 $\beta$	X			NP_000567.1
インターロイキン-6	IL-6	X			NP_000591.1
インターロイキン-8	IL-8	X			NP_000575.1
インターロイキン-12 p70	IL-12p70	X			NP_000873.2 (p35) NP_002178.2 (p40)
インターフェロン-ガンマ	IFN- $\gamma$	X			NP_000610.2
血小板-セレクチン	p-セレクチン	X			NP_002996.2
内皮-セレクチン	e-セレクチン	X			NP_000441.2
細胞間接着分子-1	ICAM-1	X			NP_000192.2
血管細胞接着分子-1	VCAM-1	X			NP_001069.1
単球走化性タンパク質-1	MCP-1	X			NP_002973.1
血管内皮増殖因子	VEGF	X			NP_001020537.2
活性化の際に調節される、正常な T 細胞の発現および分泌 (CCL5)	CCL5	X			NP_002976.2
可溶性 CD40 リガンド	sCD40L	X			NP_000065.1**
可溶性腫瘍壊死因子受容体 1	sTNFR1	X			NP_001056.1**
インターロイキン-18	IL-18	X			NP_001553.1
<b>炎症/腎傷害のマーカー</b>					
好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン	NGAL			X	NP_005555.2
腎傷害分子-1	KIM-1			X	NP_001092884.1
オステオポンチン	OPN			X	NP_001035147.1
組織メタロプロテイナーゼインヒビター-1	TIMP-1			X	NP_003245.1

10

20

30

40

【表 1 - 3】

バイオマーカー	略語	供給源の組織			NCBI 参照 配列番号*
		血清	血漿	尿	
インターロイキン-18	IL-18			X	上記
ケモカイン(C-X-C モチ ーフリガンド 9	CXCL9			X	上記
ケモカイン(C-X-C モチ ーフリガンド 10	CXCL10			X	上記
クラスタリン	CLU			X	NP_001822.3
シスタチン C	CyC			X	NP_000090.1
アルブミン	ALB			X	NP_000468.1
肝臓-脂肪酸結合タン パク質	L-FABP			X	NP_001434.1
ベータ-2-ミクログロブリン	β2M			X	NP_004039.1
トレフォイルファクター3	TFF-3			X	NP_003217.3
N-アセチル-ベータ-D- グルコサミニダーゼ	NAG			X	NP_000511.2
π-グルタチオン S-転 移酵素	π-GST			X	NP_000843.1
アルファ-グルタチオン S-転移酵素	α-GST			X	NP_665683.1
<b>補体</b>					
補体 Ba	Ba		X		配列番号 1; Morley お よび Campbell(1984 年)EMBO J 3 巻(1 号):153~157 頁の図 2 も参照されたい
補体 C3a	C3a		X		配列番号 2
補体 C5a	C5a		X	X	配列番号 3
可溶性 MAC	sC5b9		X	X	NA
CH <sub>50</sub> (溶血)	CH <sub>50</sub>	X			NA
補体 C5	C5	X	X		NP_001726.2
<b>血栓症/凝固</b>					
D-ダイマー	D-ダイマー		X		<b>P02671***</b>
プロトロンビン F1+2	F1+2		X		活性化断片 1(配列番 号 4)は配列番号 6 の アミノ酸 44~198 に対 応する。活性化断片 2(配列番号 5)は配列 番号 4 のアミノ酸 199 ~327 に対応する

10

20

30

40

【表 1 - 4】

バイオマーカー	略語	供給源の組織			NCBI 参照 配列番号*
		血清	血漿	尿	
フォン・ヴィルブランド因子	vWF		X		NP_000543.2
フォン・ヴィルブランド因子活性	vWF 活性		X		同文献
トロンボモジュリン	TM		X		NP_000352.1

\* 表中に列挙されている各バイオマーカータンパク質について、例示的なヒト配列についての NCBI 受託番号が提示されている。

\*\* 可溶性形態の受容体は膜結合した形態の受容体からタンパク質分解プロセッシングによって生じる。

\*\*\* UniProtKB(consortium:European Bioinformatics Institute, Cambridge, UK;Swiss Institute of Bioinformatics;Geneva, Switzerland;および Protein Information Resource, Washington, D.C)トロンピンによって切断されてフィブリンを形成するヒトフィブリノーゲンアルファについての指定 (designation)。D-ダイマーは、フィブリンの分解生成物である。フィブリノーゲンからフィブリン、フィブリンから D-ダイマーへの切断に基づく変化 (transition) についての記載は Soheir ら(2009 年)Blood 113 巻(13 号):2878~2887 頁に記載されており、少なくとも D-ダイマーの形成に関するその開示全体が本明細書に組み込まれる。

10

## 【 0 1 3 2 】

本発明で提供されるバイオマーカーは、単独でまたは組み合わせで、例えば、a H U S を発症するリスクを評価するため、a H U S を診断するため、被験体に a H U S の最初の急性症状 (acute presentation) を経験しているかどうかを決定するため、a H U S の進行もしくは緩和をモニターするため、および / または補体阻害剤を用いた処置への応答をモニターするもしくはそのような処置を最適化するための指標として使用することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載の個々の a H U S バイオマーカータンパク質を使用することができる。一部の実施形態では、表 1 から選択される少なくとも 2 種、3 種、4 種、5 種、6 種、7 種、8 種、9 種、10 種、11 種、12 種、13 種、14 種、15 種、16 種、17 種、18 種、19 種、20 種、21 種、22 種、23 種、24 種、または 25 種またはそれ超) の a H U S バイオマーカータンパク質を組み合わせることでパネルとして使用することができる。

20

30

## 【 0 1 3 3 】

一部の実施形態では、a H U S バイオマーカータンパク質は、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片 (例えば、B a または B b)、可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b 9)、トロンボモジュリン、V C A M - 1、フォン・ヴィルブランド因子 (v W F)、可溶性 C D 4 0 リガンド (s C D 4 0 L)、プロトロンピン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、C X C L 1 0、M C P - 1、T N F R 1、I F N - 、I C A M - 1、I L - 1 ベータ、I L - 1 2 p 7 0、補体成分 C 5 a、2 ミクログロブリン (2 M)、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 (F A B P - 1)、C X C L 9、K I M - 1、I L - 1 8、血管内皮細胞増殖因子 (V E G F)、I L - 6、アルブミン、I L - 8、および C C L 5 から選択される。表 1 のバイオマーカーの 1 種または複数種 (または本明細書で言及されるバイオマーカーのサブセットのいずれか) の濃度および / または活性を測定することができる。

40

## 【 0 1 3 4 】

一部の実施形態では、d - ダイマー濃度が正常対照試料中の d - ダイマーの濃度と比較して上昇すること、および F A B P - 1 濃度が正常対照試料中の F A B P - 1 の濃度と比較して上昇することにより、a H U S 患者に最初の急性 a H U S 発現を経験していることが示される。いくつかの場合には、これらの a H U S バイオマーカータンパク質の一方または両方の上昇は、正常対照と比較して有意な上昇である。

## 【 0 1 3 5 】

一部の実施形態では、a H U S 患者から得た生体試料中の T N F R 1、B a、C 5 b -

50

9、F1+2、2M、クラスタリン、TIMP-1、NGAL、CysC、およびC5a（表7参照）のうちの1種または複数種の濃度が、例えば、反復透析を受けていないaHUS患者由来の試料のプールから得られる分析物の対照濃度と比較して上昇していることにより、その患者が反復透析を受けた患者であることが示される。

【0136】

一部の実施形態では、aHUS患者から得た生体試料中のC5aおよびFABP-1（例えば、尿中C5aおよびFABP-1）の一方または両方の濃度が、例えば、腎移植を受けていないaHUS患者由来の試料のプールから得られる分析物の対照濃度と比較して上昇していることにより、その患者が腎移植を受けた患者であることが示される。

【0137】

一部の実施形態では、aHUS患者から得た生体試料中のシスタチンC（例えば、尿中シスタチンC）の濃度が、例えば、反復血漿療法を受けていないaHUS患者由来の試料のプールから得られる分析物の対照濃度と比較して上昇していることにより、その患者が反復血漿療法を受けた患者であることが示される。

【0138】

一部の実施形態では、Ba濃度（例えば、血漿Ba濃度）が、処置後に、その被験体から処置前に得た同じ種類の生体液の試料中のBa濃度と比較して少なくとも10%（例えば、少なくとも15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、または50%）低下することにより、その被験体が完全血栓性微小血管障害（thrombotic microangiopathy）（TMA）奏効（すなわち、TMA事象の休止）を有するまたはそれが実現する可能性があることが示される。一部の実施形態では、低下は、補体阻害剤を用いた最初の処置後第12週までに起こる。一部の実施形態では、低下は、補体阻害剤を用いた最初の処置後第12週～第17週以内に起こる。一部の実施形態では、低下は、補体阻害剤を用いた最初の処置後第26週までに起こる。

【0139】

一部の実施形態では、CCL5およびsCD40Lの一方または両方が、処置後に、その被験体から処置前に得た同じ種類の生体液の試料（複数可）中のそれぞれの濃度と比較して少なくとも10%（例えば、少なくとも15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、または50%）低下することにより、その被験体が、血小板数の増加（例えば、血小板の回復）を有するまたはそれが実現される可能性があることが示される。一部の実施形態では、Ba濃度（例えば、血漿Ba濃度）が、処置後に、その被験体から処置前に得た同じ種類の生体液の試料中のBa濃度と比較して少なくとも10%（例えば、少なくとも15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、または50%）低下すること（またはBa濃度が正常化すること）により、その被験体が完全血栓性微小血管障害（thrombotic microangiopathy）（TMA）奏効（すなわち、TMA事象の休止）を有するまたはそれが実現される可能性があることが示される。

【0140】

一部の実施形態では、本明細書に記載のaHUSバイオマーカーのうちの1種または複数種の状態により、補体阻害剤を用いた処置を受けたaHUS患者についての推定糸球体濾過速度（eGFR）の改善を予測することができる。例えば、プロトロンビンF1+2の濃度が低下すること（例えば、長期的な処置レジメンにおける最初の処置後4週間以内、5週間以内または6週間以内に）、および/またはd-ダイマーの濃度が低下すること（例えば、長期的な処置レジメンにおける最初の処置後12週間以内、13週間以内、14週間以内、15週間以内、16週間以内、または17週間以内に）ことにより、補体阻害剤を用いた処置を受けたaHUS患者においてeGFRの臨床的に意味のある改善が実現されたまたは実現される可能性があることが示される。eGFRの臨床的に意味のある改善の実現または実現の可能性は、IL-6およびIFN- $\gamma$ の濃度が正常化すること（例えば、長期的な処置レジメンにおける補体阻害剤を用いた最初の処置後4週間以内、5週間以内または6週間以内に）によっても示される。eGFRの臨床的に意味のある改善の実現または実現の可能性は、Ba、CXCL9、CXCL10、およびvWFの濃度が

10

20

30

40

50

正常化すること（例えば、長期的な処置レジメンにおける補体阻害剤を用いた最初の処置後12週間以内、13週間以内、14週間以内、15週間以内、16週間以内、または17週間以内に）によっても示される。一部の実施形態では、eGFRの臨床的に意味のある改善の実現または実現の可能性は、Ba、CXCL9、CXCL10、2M（例えば、尿中）、CysC（例えば、尿中）、vWF、d-ダイマー、クラスタリン（例えば、尿中）、および/またはFABP-1（例えば、尿中）の濃度が正常化すること（例えば、長期的な処置レジメンにおける補体阻害剤を用いた最初の処置後26週間以内に）によっても示される。

#### 【0141】

被験体（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）における1種または複数種の非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）関連バイオマーカータンパク質の状態をモニターまたは評価するための方法は、被験体から得た生体液において、(i)生体液中の少なくとも1種（例えば、少なくとも2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、または20種）のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度の一方または両方を測定するステップを含む。

#### 【0142】

生体試料中のタンパク質の発現レベルの測定または決定は、任意の適切な方法によって実施することができる（例えば、HarlowおよびLane（1988年）「Antibodies: A Laboratory Manual」、Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor, NYを参照されたい）。一般に、タンパク質レベルは、被験体から得た生体試料をaHUSバイオマーカータンパク質のうちの1種または複数種に対する結合作用物質と接触させ、試料（例えば、生体液）において、結合作用物質に結合する1種または複数種のaHUSバイオマーカータンパク質のレベルを検出し、試料中の1種または複数種のaHUSバイオマーカータンパク質のレベルを対照試料（例えば、正常な試料）中の対応するタンパク質バイオマーカーのレベルと比較することによって決定する。ある特定の実施形態では、適切な結合作用物質は、ペプチド成分、RNA分子、またはポリペプチド（例えば、タンパク質マーカーのポリペプチド配列、そのペプチドバリエーション、またはそのような配列の非ペプチド模倣物を含むポリペプチド）を伴うまたは伴わないリボソームである。

#### 【0143】

適切な結合作用物質は、本明細書に記載のaHUSバイオマーカータンパク質に特異的な抗体（例えば、表1に列挙されている任意のバイオマーカーに特異的な抗体）も含む。本発明の方法において使用するために適した抗体は、モノクローナル抗体およびポリクローナル抗体ならびに抗体の抗原結合性断片（例えば、Fab断片またはscFv）を含む。モノクローナル抗体およびポリクローナル抗体、断片およびキメラを含めた抗体は、当技術分野で公知の方法を使用して調製することができる（例えば、KohlerおよびMilstein（1975年）Nature 256巻：495～497頁；Kozborら（1985年）J Immunol Methods 81巻：31～42頁；Coteら（1983年）Proc Natl Acad Sci US A 80巻：2026～203頁；およびZhangら（2002年）J Biol Chem 277巻：39379～39387頁を参照されたい）。本発明の方法において使用する抗体は、当技術分野で周知の方法によって精製することができる。抗体は、商業的な供給源から入手することもできる。

#### 【0144】

ある特定の実施形態では、結合作用物質を、検出可能部分を用いて直接または間接的に標識する。検出可能な作用物質の役割は、結合作用物質とタンパク質マーカー（またはその断片）の結合によって形成される複合体の可視化を可能にすることによって診断方法の検出ステップを容易にすることである。検出可能な作用物質は、その作用物質により、測定することができ、かつ分析される試料中に存在するタンパク質マーカーの量にその強度が関連する（好ましくは比例する）シグナルが生じるように選択することができる。ポリペプチドおよび抗体などの生体分子を標識するための方法は当技術分野で周知である。多

10

20

30

40

50

種多様な検出可能な作用物質のいずれも本発明の実施において使用することができる。適切な検出可能な作用物質としては、これだけに限定されないが、種々のリガンド、放射性核種、蛍光色素、化学発光剤、微小粒子（例えば、量子ドット、ナノ結晶、リン光体などのような）、酵素（例えば、E L I S Aにおいて使用されるもの、すなわち、西洋ワサビペルオキシダーゼ、ベータガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼなど）、比色標識、磁気標識、およびビオチン、ジゴキシゲニンまたは抗血清またはモノクローナル抗体が利用可能である他のハプテンおよびタンパク質が挙げられる。

#### 【0145】

ある特定の実施形態では、結合作用物質（例えば、抗体）を担体または支持体（例えば、ビーズ、磁性粒子、ラテックス粒子、マイクロタイタープレートウェル、キュベット、または他の反応槽）上に固定化することができる。適切な担体または支持材料の例としては、アガロース、セルロース、ニトロセルロース、デキストラン、S e p h a d e x（登録商標）、S e p h a r o s e（登録商標）、リボソーム、カルボキシメチルセルロース、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、斑瀾岩、濾紙、磁鉄鉱、イオン交換樹脂、プラスチックフィルム、プラスチックチューブ、ガラス、ポリアミン-メチルビニル-エーテル-マレイン酸共重合体、アミノ酸共重合体、エチレン-マレイン酸共重合体、ナイロン、絹などが挙げられる。結合作用物質は、第1の結合作用物質に特異的な第2の結合作用物質を使用して間接的に固定化することができる（例えば、タンパク質マーカーに特異的なマウス抗体を、担体または支持体にコーティングしたヒツジ抗マウス I g G F c断片特異的抗体を使用して固定化することができる）。

10

20

#### 【0146】

生体試料中のタンパク質の発現レベルは、イムノアッセイを使用して決定することができる。そのようなアッセイの例は、時間分解蛍光イムノアッセイ（T R - F I A）、ラジオイムノアッセイ、酵素イムノアッセイ（例えば、E L I S A）、免疫蛍光、免疫沈降、ラテックス凝集、赤血球凝集、ウエスタンブロット、および組織化学的試験であり、これらは当技術分野で周知の従来の方法である。結合作用物質とタンパク質マーカーの結合によって形成される複合体によって生じるシグナルの検出および定量的方法は、アッセイの性質および検出可能部分（例えば、蛍光部分）の性質に依存する。

#### 【0147】

一つの例では、遺伝子のタンパク質発現（例えば、表1に示されている a H U S バイオマーカータンパク質）の存在または量は、ウエスタンブロットティング技法を使用して決定することができる。例えば、生体試料から溶解物を調製することもでき、生体試料（例えば、生体液）自体を L a e m m l i 緩衝液と接触させ、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動（S D S - P A G E）に供することもできる。次いで、サイズによって分けられた、S D S - P A G Eにより分離されたタンパク質を濾過膜（例えば、ニトロセルロース）に転写し、目的のタンパク質に特異的な、検出可能に標識した抗体を使用した免疫ブロットティング技法に供することができる。結合した検出可能に標識した抗体の存在または量により、生体試料中のタンパク質の存在または量が示される。

30

#### 【0148】

別の例では、a H U S バイオマーカータンパク質（例えば、表1に示されているもの）のタンパク質発現を検出および/または測定するために、イムノアッセイを使用することができる。上記の通り、検出のために、検出部分（例えば、蛍光剤または酵素）を有する抗体を用いてイムノアッセイを実施することができる。生体試料由来のタンパク質は、固相マトリックス（例えば、マルチウェルアッセイプレート、ニトロセルロース、アガロース、S e p h a r o s e（登録商標）、コード化粒子、または磁性ビーズ）に直接コンジュゲートすることもでき、特異的な結合対（例えば、ストレプトアビジンまたはビオチン）の第2のメンバーと結合すると固相マトリックスに結合する特異的な結合対（例えば、ビオチンまたはストレプトアビジン）の第1のメンバーとコンジュゲートすることもできる。固相マトリックスへのそのような結合により、精製されるタンパク質を、検出用抗体と接触する前に生体試料の他の干渉成分または無関連の成分から離すことが可能になり、

40

50

また、結合していない抗体をその後洗淨することも可能になる。ここで、上記の通り、結合した検出可能に標識した抗体の存在または量により、生体試料中のタンパク質の存在または量が示される。

【0149】

あるいは、タンパク質の発現レベルは、タンパク質を検出するための、当技術分野で公知の質量分析に基づく方法または画像に基づく方法を使用して決定することができる。他の適切な方法としては、2D-ゲル電気泳動、ゲルから回収された個々のタンパク質の同定（例えば、質量分析またはN末端の配列決定によって）などのプロテオミクスに基づく方法および/またはバイオインフォマティクスが挙げられる。

【0150】

タンパク質の発現を検出または測定するための方法は、任意選択で、多数の試料を迅速に調製、処理、および分析することを可能にする様式で実施することができる。これは、例えば、マルチウェルアッセイプレート（例えば、96ウェルもしくは386ウェル）またはアレイ（例えば、タンパク質チップ）におけるものであり得る。種々の試薬のストック溶液は、手動でまたはロボットにより（robotically）もたらすことができ、その後の試料の調製、ピペット操作、希釈、混合、分配、洗淨、インキュベート（例えば、ハイブリダイゼーション）、試料の読み取り、データ収集（光学データ）および/または解析（コンピュータを利用した画像解析）は、市販の解析ソフトウェア、ロボット工学、およびアッセイにより生じたシグナルを検出することができる検出器械を使用してロボットにより行うことができる。そのような検出器の例としては、これだけに限定されないが、分光光度計、ルミノメーター、蛍光光度計、および放射性同位元素の崩壊を測定するデバイスが挙げられる。例示的なハイスループットな細胞に基づくアッセイ（例えば、細胞内の標的タンパク質の存在またはレベルの検出）では、Array Scan（登録商標）VTHCS ReaderまたはKinetic Scan（登録商標）HCS Reader技術（Cellomics Inc.、Pittsburg、PA）を利用することができる。

【0151】

vWFの活性を決定するための方法も当技術分野で公知であり、本明細書（例えば、実施例）に記載されている。例えば、Horvathら（2004年）Exp Clin Cardiol 9巻（10号）：31～34頁も参照されたい。市販のキットも入手可能である - Instrumentation Laboratory（Bedford、MA；カタログ番号：0020004700）およびQuest Diagnostics（Madison、NJ）。

【0152】

一部の実施形態では、少なくとも2種のaHUSバイオマーカータンパク質（例えば、少なくとも3種のタンパク質、少なくとも4種のタンパク質、少なくとも5種のタンパク質、少なくとも6種のタンパク質、少なくとも7種のタンパク質、少なくとも8種のタンパク質、少なくとも9種のタンパク質、少なくとも10種のタンパク質、少なくとも11種のタンパク質、少なくとも12種のタンパク質、少なくとも13種のタンパク質、少なくとも14種のタンパク質、少なくとも15種のタンパク質、少なくとも16種のタンパク質、少なくとも17種のタンパク質、少なくとも18種のタンパク質、少なくとも19種のタンパク質、少なくとも20種のタンパク質、少なくとも21種のタンパク質、少なくとも22種のタンパク質、少なくとも23種のタンパク質、または少なくとも24種のタンパク質またはそれ超）のタンパク質の発現レベル（または活性）を評価および/または測定することができる。

【0153】

一部の実施形態では、aHUSバイオマーカータンパク質を測定する生体液は血液である。一部の実施形態では、生体液は、血液画分、例えば血清または血漿である。一部の実施形態では、生体液は尿である。一部の実施形態では、全ての測定を1種の生体液試料（例えば、血清試料）に対して実施する。一部の実施形態では、測定は被験体から得た少な

10

20

30

40

50

くとも2種の異なる生体液に対して実施する。例えば、一部の実施形態では、患者から得た血清試料中の1種または複数種のaHUSバイオマーカータンパク質の濃度または活性を測定する。一部の実施形態では、2つの異なる試料マトリックス中の異なる分析物の試験を可能にするために、血液試料および尿試料が利用可能である。

【0154】

被験体は、例えば、aHUSを有するか、aHUSを有する疑いがあるか、またはaHUSを発症するリスクがあるヒトであってよい。被験体は、補体の阻害剤（例えば、抗C5抗体などの補体成分C5の阻害剤）を用いた処置を受けていた（または受けている）被験体であってよい。当該処置は、被験体から試料を得る前の1ヶ月未満（例えば、31日未満、30日未満、29日未満、28日未満、27日未満、26日未満、25日未満、24日未満、23日未満、22日未満、21日未満、20日未満、19日未満、18日未満、17日未満、16日未満、15日未満、14日未満、13日未満、12日未満、11日未満、10日未満、9日未満、8日未満、7日未満、6日未満、5日未満、4日未満、3日未満、2日未満、または1日未満）のうちに行われていてよい。

10

【0155】

当該方法は、被験体がaHUSを有するかまたはaHUSを発症するリスクがあるかどうかを決定するステップをさらに含み得る。被験体が所定の投薬スケジュールの下で補体阻害剤（例えば、抗C5抗体）を用いた処置を受けていたまたは受けている場合、当該方法は、患者が補体阻害剤療法に対して（治療的に）応答性であるかどうかを決定するステップをさらに含み得る。

20

【0156】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、当該方法では、少なくとも1種のaHUSバイオマーカータンパク質の濃度の測定値（複数可）の記録が必要とされる。記録は、書面であってもコンピュータ可読媒体上であってもよい。当該方法は、少なくとも1種のaHUSバイオマーカータンパク質の濃度の測定値（複数可）を被験体および/または被験体の介護を行う医療従事者に伝達するステップも含み得る。

【0157】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法はいずれも、被験体が所定の投薬スケジュールの下で補体阻害剤を用いた処置に応答しない場合に、被験体に該阻害剤を所定の投薬スケジュールと比較して高用量でまたは投薬の頻度を増やして投与するステップを含み得る。

30

【0158】

本明細書に記載の方法のいくつかは、測定されたaHUSバイオマーカータンパク質の濃度または活性（被験体から得た生体試料において測定した）を対照試料と比較することを伴う。一部の実施形態では、対照試料は、被験体に補体阻害剤（例えば、エクリズマブなどのC5阻害剤）を投与する前に被験体から得る。一部の実施形態では、対照試料は、例えば、補体阻害剤の投与を受けていない1または複数（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、または40またはそれ超）の健康な個体から得た試料の収集物（またはそれに基づくもの）であってよい。一部の実施形態では、対照試料は、例えば、2またはそれ超（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、または40またはそれ超）の個体から得た、プールした試料（またはそれに基づくもの）であってよい。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、プールした試料は、健康な個体、または少なくとも、aHUSを有さないかまたはaHUSを有する疑いがない（aHUSを発症するリスクもない）個体に由来するものであってよい。例えば、被験体がaHUSを有する被験体であるかどうかを決定するステップは、被験体において1種または複数種の血清バイオマーカーの測定された濃度を比較し、測定された濃度をプールした健康な試料中の同じバイオマーカーの平均濃度と比較することを伴ってよい。同様に、aHUS関連バイオマーカーの濃度または活性が補体阻害剤を用いた処置後に低下したかどうかを決定するステップは、補体阻害剤を用いた処置の前に被験体から得た生体液中の該タンパク質の濃度または活性を、該阻害

40

50

剤を用いた処置後（例えば、該阻害剤を用いた処置（例えば、長期にわたる療法における一連の処置の最初）の1日後、2日後、3日後、4日後、5日後、6日後、1週間後、2週間後、3週間後、1ヶ月後、6週間後、2ヶ月後、または3ヶ月後）に患者から得た同じ生体液の試料中のタンパク質の濃度と比較することを伴ってよい。

【0159】

一部の実施形態では、補体阻害剤によりヒトにおける所望の効果（例えば、aHUSバイオマーカータンパク質の濃度または活性の低下）が生じたかどうかの決定を、処置後のタンパク質の濃度がヒトによる補体阻害剤に対する応答性を示す所定の範囲内に入るかどうかを照会することによって実施することができる。一部の実施形態では、補体阻害剤によりヒトにおける所望の効果が生じたかどうかの決定は、処置後の1種または複数種のaHUSバイオマーカータンパク質の濃度または活性が所定のカットオフ値を上回るかまたはそれを下回るかを照会することを含み得る。カットオフ値は、一般には、それを上回るまたは下回ることにより、ある特定の表現型 - 例えば補体阻害剤を用いた療法に対する応答性が示されると考えられる、所与の生体液中の所与のタンパク質の濃度または活性である。

10

【0160】

本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態では、同じ従事者が、補体阻害剤を被験体に投与した後に、1種または複数種のaHUSバイオマーカータンパク質の濃度または活性の変化が生じたかどうかを決定することができるが、一部の実施形態では、該阻害剤を被験体に投与する従事者と、被験体において応答が生じたかどうかを決定する従事者は異なる。一部の実施形態では、従事者は、該阻害剤を投与する前に被験体から生体試料（例えば、血液試料）を得ることができる。一部の実施形態では、従事者は、該阻害剤を被験体に投与した後に被験体から生体試料（例えば、血液試料）を得ることができる。一部の実施形態では、処置後の試料を、該阻害剤を被験体に投与した後48時間未満（例えば、47時間未満、46時間未満、45時間未満、44時間未満、43時間未満、42時間未満、41時間未満、40時間未満、39時間未満、38時間未満、37時間未満、36時間未満、35時間未満、34時間未満、33時間未満、32時間未満、31時間未満、30時間未満、29時間未満、28時間未満、27時間未満、26時間未満、25時間未満、24時間未満、23時間未満、22時間未満、21時間未満、20時間未満、19時間未満、18時間未満、17時間未満、16時間未満、15時間未満、14時間未満、13時間未満、12時間未満、11時間未満、10時間未満、9時間未満、8時間未満、7時間未満、6時間未満、5時間未満、4時間未満、3時間未満、2時間未満、またはさらには1時間未満）のうちに被験体から得ることができる。一部の実施形態では、処置後の試料を、被験体に該阻害剤を投与した後20日未満（例えば、19日未満、18日未満、17日未満、16日未満、15日未満、14日未満、13日未満、12日未満、11日未満、10日未満、9日未満、8日未満、7日未満、6日未満、5日未満、4日未満、3日未満、2日未満、または1日未満）のうちに被験体から得ることができる。一部の実施形態では、生体試料を、該阻害剤を被験体に投与した後20日以内（例えば、19日以内、18日以内、17日以内、16日以内、15日以内、14日以内、13日以内、12日以内、11日以内、10日以内、9日以内、8日以内、7日以内、6日以内、5日以内、4日以内、3日以内、2日以内、または1日以内）に被験体から得る。

20

30

40

【0161】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法の種々のステップは、2人以上の従事者が実施することができる。例えば、1人の従事者が被験体から得た処置前の試料および処置後の試料の分析を行う（例えば、当該試料中の1種または複数種のaHUSバイオマーカータンパク質の濃度または活性を測定する）ことができる。別の従事者が試料の分析に関する情報を第1の従事者から受けとり、それにより、例えば、被験体が補体阻害剤を用いた処置に応答しているかどうかを決定することができる。一部の実施形態では、さらに別の従事者が患者から処置前の生体試料を得ることができ、第4の従事者が被験体から処置後の生体試料を得ることができる。一部の実施形態では、全てのステップを同じ従事者が

50

行う。

【0162】

生体試料および試料の収集

本明細書に記載の方法において使用するために適した生体試料としては、例えば、任意の生体液が挙げられる。生体試料は、例えば、被験体（例えば、ヒトなどの哺乳動物）から得た検体であってもよく、そのような被験体由来のものであってもよい。生体試料は、尿、全血またはその画分（例えば、血漿または血清）、唾液、精液、痰、脳脊髄液、涙、または粘液などの生体液であってもよい。生体試料は、所望であれば、目的の特定の分析物（例えば、タンパク質）を含有する画分にまでさらに分画することができる。例えば、全血試料を血清または特定の型のタンパク質を含有する画分にまで分画することができ、所望であれば、生体試料は、2種の異なる体液の組合せなどの、被験体由来の異なる生体試料の組合せであってもよい。

10

【0163】

本発明に適した生体試料は、被験体から収集した新鮮な試料もしくは凍結試料、または診断歴、処置歴および/もしくは転帰歴が既知の保存用試料（archival sample）であり得る。生体試料は、被験体、例えば、aHUSなどの補体関連障害を有するか、補体関連障害を有する疑いがあるか、または補体関連障害を発症するリスクがある被験体から得ることができる。生体試料を得るための任意の適切な方法を使用することができるが、例示的な方法として、例えば、静脈切開術、スワブ（例えば、頬側スワブ）、洗浄（lavage）、または穿刺吸引生検手順が挙げられる。生体試料は、骨髓から得ることもできる。

20

【0164】

一部の実施形態では、生体試料からタンパク質抽出物を調製することができる。一部の実施形態では、タンパク質抽出物は、タンパク質含有量の全てを含有する。タンパク質抽出の方法は当技術分野で周知である。例えば、Roe（2001年）、「Protein Purification Techniques: A Practical Approach」、第2版、Oxford University Pressを参照されたい。体液および組織からタンパク質を抽出するために多数の異なる多用途のキットを使用することができ、これらは、例えば、BioRad Laboratories（Hercules, CA）、BD Biosciences Clontech（Mountain View, CA）、Chemicon International, Inc.（Temecula, CA）、Calbiochem（San Diego, CA）、Pierce Biotechnology（Rockford, IL）、および Invitrogen Corp.（Carlsbad, CA）から市販されている。

30

【0165】

生体試料中の細胞の活性または完全性が保持される、試料を得、かつ/または保管するための方法は当業者には周知である。例えば、生体試料を、タンパク質の構造を保存するまたは変化（例えば、容量オスモル濃度またはpHの変化）を最小限にすることを意図した作用物質である、適切な緩衝剤および/またはプロテアーゼ阻害剤を含めた阻害剤などの1種または複数種の追加の作用物質とさらに接触させることができる。そのような阻害剤としては、例えば、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、エチレンジアミン四酢酸（EGTA）などのキレート化剤、フッ化フェニルメチルスルホニル（PMSE）、アプロチニン、およびロイペプチンなどのプロテアーゼ阻害剤が挙げられる。細胞全体を保管するまたは他の方法で操作を行うための適切なバッファおよび条件は、例えば、PollardおよびWalker（1997年）、「Basic Cell Culture Protocols」、Methods in molecular biology、75巻、Humana Press；Masters（2000年）、「Animal cell culture: a practical approach」、Practical approach series、232巻、Oxford University Press；およびJones（1996年）「Human cell culture protocols」、Methods in molecular medicine、2巻、Humana Pressに記載されている。

40

【0166】

干渉性物質の存在を排除するまたは最小限にするように試料を処理することもできる。例えば、生体試料を分画または精製して、目的のものではない1種または複数種の材料（

50

例えば、細胞)を除去することができる。生体試料を分画または精製する方法としては、これだけに限定されないが、フローサイトメトリー、蛍光活性化細胞選別、および沈降が挙げられる。

#### 【0167】

##### 補体阻害剤

ヒト補体成分のいずれかに結合してそれを阻害する、または他のやり方でヒト補体成分のいずれかの生成および/または活性を阻害する任意の化合物を本開示に従って利用することができる。例えば、補体の阻害剤は、例えば、小分子、核酸もしくは核酸類似体、ペプチド模倣体、または核酸もしくはタンパク質ではない巨大分子であってよい。これらの作用物質としては、これだけに限定されないが、小有機分子、RNAアプタマー、L-RNAアプタマー、Spiegelmer、アンチセンス化合物、二本鎖RNA、低分子干渉RNA、ロックド核酸阻害剤、およびペプチド核酸阻害剤が挙げられる。一部の実施形態では、補体阻害剤は、タンパク質またはタンパク質断片であってよい。

10

#### 【0168】

一部の実施形態では、組成物は、ヒト補体成分に特異的な抗体を含有する。いくつかの化合物は、補体成分C1、C2、C3、C4、C5、C6、C7、C8、C9、D因子、B因子、P因子、MBL、MASP-1、MASP-2、プロパージン、または上記のいずれかの生物学的に活性な断片を対象とする抗体を含み、したがって、C5aに関連するアナフィラトキシン活性の発生を予防し、かつ/または膜攻撃複合体C5b-9の集合を予防するものである。

20

#### 【0169】

組成物は、CR1、LEX-CR1、MCP、DAF、CD59、H因子、コブラ毒因子、FUT-175、コンプレスタチン、およびK76 COOHなどの、天然に存在するまたは可溶性の形態の補体阻害性化合物も含有してよい。ヒト補体成分のいずれかに結合するまたは他のやり方でヒト補体成分のいずれかの生成および/または活性を遮断するために利用することができる他の化合物としては、これだけに限定されないが、タンパク質、タンパク質断片、ペプチド、小分子、ARC187(Archemix Corporation、Cambridge、MAから市販されている)を含めたRNAアプタマー、L-RNAアプタマー、spiegelmer、アンチセンス化合物、セリンプロテアーゼ阻害剤、RNA干渉(RNAi)に利用することができる分子、例えば、低分子干渉RNA(sRNA)を含めた二本鎖RNA、ロックド核酸(LNA)阻害剤、ペプチド核酸(PNA)阻害剤などが挙げられる。

30

#### 【0170】

一部の実施形態では、補体阻害剤は、補体の活性化を阻害する。例えば、補体阻害剤は、C1(例えば、C1q、C1r、もしくはC1s)に結合し、その補体活性化活性を阻害することができ、または補体阻害剤は、C2、C3、もしくはC4に結合し、それを阻害する(例えば、その切断を阻害する)ことができる。一部の実施形態では、該阻害剤は、補体の副経路および/または古典経路のC3転換酵素および/またはC5転換酵素の形成または集合を阻害する。一部の実施形態では、補体阻害剤は、終末補体の形成、例えば、C5b-9膜攻撃複合体の形成を阻害する。例えば、抗体補体阻害剤は抗C5抗体を含み得る。そのような抗C5抗体は、C5および/またはC5bと直接相互作用し、したがって、C5bの形成および/またはその生理機能を阻害し得る。

40

#### 【0171】

一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物は、ヒト補体成分C5の阻害剤(例えば、ヒト補体成分C5タンパク質またはC5aもしくはC5bなどの生物学的に活性なその断片に結合する抗体またはその抗原結合性断片)を含有してよい。本明細書で使用される場合、「補体成分C5の阻害剤」とは、(i)補体成分C5タンパク質の発現、またはその適切な細胞内輸送もしくは細胞による分泌；(ii)C5切断断片C5aまたはC5bの活性(例えば、C5aとそのコグネイト細胞受容体との結合またはC5bのC6および/または終末補体複合体の他の成分との結合；上記を参照されたい)；(iii)C5

50

a および C 5 b が形成されるヒト C 5 タンパク質の切断；( i v ) 補体成分 C 5 タンパク質の適切な細胞内輸送または細胞による分泌、または( v ) C 5 タンパク質または C 5 タンパク質をコードする m R N A の安定性を阻害する任意の作用物質である。補体成分 C 5 タンパク質の発現の阻害は、ヒト C 5 タンパク質をコードする遺伝子の転写の阻害；ヒト C 5 タンパク質をコードする m R N A の分解の増加；ヒト C 5 タンパク質をコードする m R N A の翻訳の阻害；ヒト C 5 タンパク質の分解の増加；プレ - プロヒト C 5 タンパク質の適切なプロセシングの阻害；またはヒト C 5 タンパク質の適切な輸送または細胞による分泌の阻害を含む。候補作用物質がヒト補体成分 C 5 の阻害剤であるかどうかを決定するための方法は当技術分野で公知であり、本明細書に記載されている。

【 0 1 7 2 】

ヒト補体成分 C 5 の阻害剤は、例えば、小分子、ポリペプチド、ポリペプチド類似体、核酸、または核酸類似体であってよい。

【 0 1 7 3 】

「小分子」とは、本明細書で使用される場合、分子量が好ましくは約 6 k D a 未満、最も好ましくは約 2 . 5 k D a 未満である作用物質を指すものとする。多くの医薬品会社は、本出願のアッセイのいずれかを用いてスクリーニングすることができる、小分子のアレイ、多くの場合、真菌抽出物、細菌抽出物、または藻類抽出物を含む化学的混合物および/または生物学的混合物の広範囲にわたるライブラリーを有する。本出願では、とりわけ、小さな化学的ライブラリー、ペプチドライブラリー、または天然産物の収集物の使用が意図されている。T a n らにより、小型化された細胞に基づくアッセイに適合する、2 百万種を超える合成化合物のライブラリーが記載されている ( J A m C h e m S o c ( 1 9 9 8 年 ) 1 2 0 巻 : 8 5 6 5 ~ 8 5 6 6 頁 ) 。そのようなライブラリーを、目的の標的抗原 ( 例えば、補体成分 C 5 ) に結合する作用物質をスクリーニングするために使用することができることは、本出願の範囲内に入る。C h e m b r i d g e D I V E R S e t などの市販の化合物ライブラリーが多数存在する。ライブラリーは、例えば、N C I d e v e l o p m e n t a l t h e r a p e u t i c s p r o g r a m からの多様性セット ( D i v e r s i t y s e t ) など、学術的な研究者からも入手可能である。合理的な薬物設計 ( r a t i o n a l d r u g d e s i g n ) も使用することができる。例えば、合理的な薬物設計では、ヒト補体成分 C 5 タンパク質に関する結晶または溶液構造情報の使用を用いることができる。例えば、Hagemann ら ( 2 0 0 8 年 ) J B i o l C h e m 2 8 3 巻 ( 1 2 号 ) : 7 7 6 3 ~ 7 5 頁およびZuiderweg ら ( 1 9 8 9 年 ) B i o c h e m i s t r y 2 8 巻 ( 1 号 ) : 1 7 2 ~ 8 5 頁に記載の構造を参照されたい。合理的な薬物設計は、公知の化合物、例えば、公知の C 5 の阻害剤 ( 例えば、ヒト補体成分 C 5 タンパク質に結合する抗体またはその抗原結合性断片 ) に基づいて実現することもできる。

【 0 1 7 4 】

ペプチド模倣体は、対象ポリペプチドの少なくとも一部分が改変された化合物であってよく、ペプチド模倣体の 3 次元構造は依然として対象ポリペプチドの 3 次元構造と実質的に同じである。ペプチド模倣体は、それ自体が対象ポリペプチド配列内に 1 つまたは複数の置換または他の改変を含有するポリペプチドである本開示の対象ポリペプチドの類似体であってよい。あるいは、対象ポリペプチド配列の少なくとも一部分が、対象ポリペプチドの 3 次元構造が実質的に保持されよう非ペプチド構造物で置き換えられていてもよい。言い換えれば、対象ポリペプチド配列内の 1 つ、2 つまたは 3 つのアミノ酸残基が非ペプチド構造物で置き換えられていてよい。さらに、対象ポリペプチドの他のペプチド部分が非ペプチド構造物で置き換えられていてもよいがかならずしもそうではない。ペプチド模倣体 ( ペプチド類似体および非ペプチド類似体の両方 ) は、改善された性質 ( 例えば、タンパク質分解の減少、保持の増大または生物学的利用能の増大 ) を有し得る。ペプチド模倣体は、一般に、経口的な利用可能性が改善されており、これにより、ヒトまたは動物における障害の処置に特に適したものになっている。ペプチド模倣体は、類似した 2 次元化学構造を有しても有さなくてもよいが、共通の 3 次元の構造的特徴および幾何学的形状を共有することに留意するべきである。各ペプチド模倣体は、1 つまたは複数の独特の

10

20

30

40

50

追加の結合性エレメントをさらに有し得る。

【0175】

目的の標的抗原に結合させ、それを阻害するために、核酸阻害剤を使用することができる。核酸アンタゴニストは、例えば、アプタマーであってよい。アプタマーは、細胞表面タンパク質を含めたほぼ全ての分子を認識させ、それに特異的に結合させるために使用することができる短いオリゴヌクレオチド配列である。指数関数的富化 (SELEX) プロセスによるリガンドの系統的進化は強力であり、これを使用して、そのようなアプタマーを容易に同定することができる。アプタマーは、増殖因子および細胞表面抗原などの療法および診断に重要な広範囲のタンパク質に対して作製することができる。これらのオリゴヌクレオチドは、それらの標的に抗体と同様の親和性および特異性で結合する (例えば、Ulrich (2006年) Handb Exp Pharmacol. 173巻: 305~326頁を参照されたい)。

10

【0176】

一部の実施形態では、補体阻害剤は、非抗体足場タンパク質である。これらのタンパク質は、一般に、既存の抗原結合性のタンパク質をコンビナトリアルケミストリーに基づいて適応させることによって得られる。例えば、コンビナトリアルケミストリーを使用してヒトトランスフェリン受容体に対するヒトトランスフェリンの結合部位を改変して、トランスフェリンバリエーションの多様なライブラリーを創製することができ、それらのいくつかは異なる抗原に対する後天的な親和性を有する。Aliら (1999年) J Biol Chem 274巻: 24066~24073頁。受容体との結合に関与しないヒトトランスフェリンの部分は変化させずに残し、これは、抗体のフレームワーク領域と同様に、バリエーション結合部位を提示するための足場としての機能を果たす。次いで、ライブラリーを、抗体ライブラリーと同様に、目的の標的抗原に対してスクリーニングして、標的抗原に対して最適な選択性および親和性を有するバリエーションを同定する。非抗体足場タンパク質は、機能が抗体と同様でありながら、抗体と比較していくつもの利点を有するとうたわれており、その利点としては、とりわけ、溶解性および組織透過性が増強されていること、製造費用が低いこと、および目的の他の分子とのコンジュゲーションが容易であることが挙げられる。Heyら (2005年) TRENDS Biotechnol 23巻 (10号): 514~522頁。

20

【0177】

非抗体足場タンパク質の足場部分は、例えば、S. aureus プロテインAのZドメイン、ヒトトランスフェリン、ヒト第10フィブロネクチンIII型ドメイン、ヒトリプシンインヒビターのクニツドメイン、ヒトCTLA-4、アンキリンリピートタンパク質、ヒトリポカリン、ヒトクリスタリン、ヒトユビキチン、またはE. laterium由来のトリプシンインヒビターの全部または一部を含み得ることが当業者には理解されよう。同文献。

30

【0178】

一部の実施形態では、補体阻害剤は、ヒト補体成分C5タンパク質に結合する抗体またはその抗原結合性断片である。(以下、抗体は、時には「抗C5抗体」と称され得る)

【0179】

一部の実施形態では、抗C5抗体は、ヒト補体成分C5タンパク質のアルファ鎖にあるエピトープに結合し得る。C5のアルファ鎖に結合する抗体は、例えば、PCT出願公開第WO2010/015608号および米国特許第6,355,245号に記載されている。一部の実施形態では、抗C5抗体は、ヒト補体成分C5タンパク質のベータ鎖にあるエピトープに結合し得る。C5ベータ鎖に結合する抗体は、例えば、Moongkarndiら (1982年) Immunobiol 162巻: 397頁; Moongkarndiら (1983年) Immunobiol 165巻: 323頁; およびMollnesら (1988年) Scand J Immunol 28巻: 307~312頁に記載されている。

40

【0180】

さらなる例示的なヒト補体成分C5の抗原断片は、例えば、その開示が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第6,355,245号に開示されている。

50

## 【0181】

本明細書に記載の融合タンパク質に使用するために適した追加の抗C5抗体およびその抗原結合性断片は、例えば、その開示全体が参照により本明細書に組み込まれるPCT出願公開第WO2010/015608号に記載されている。

## 【0182】

一部の実施形態では、抗C5抗体は、ヒト補体成分C5タンパク質（例えば、配列番号1に示されているアミノ酸配列を有するヒトC5タンパク質）に特異的に結合する。「特異的な結合」または「特異的に結合する」という用語は、生理的条件下で比較的安定な複合体（例えば、抗体と補体成分C5タンパク質との間の複合体）を形成する2つの分子を指す。一般には、結合は、会合定数（ $K_a$ ）が $10^6 M^{-1}$ よりも高ければ特異的であるとみなされる。したがって、抗体は、C5タンパク質に少なくとも $10^6 M^{-1}$ （または $10^6 M^{-1}$ 超）（例えば、少なくとも $10^7 M^{-1}$ 、 $10^8 M^{-1}$ 、 $10^9 M^{-1}$ 、 $10^{10} M^{-1}$ 、 $10^{11} M^{-1}$ 、 $10^{12} M^{-1}$ 、 $10^{13} M^{-1}$ 、 $10^{14} M^{-1}$ 、もしくは $10^{15} M^{-1}$ もしくはそれ超、または $10^7 M^{-1}$ 超、 $10^8 M^{-1}$ 超、 $10^9 M^{-1}$ 超、 $10^{10} M^{-1}$ 超、 $10^{11} M^{-1}$ 超、 $10^{12} M^{-1}$ 超、 $10^{13} M^{-1}$ 超、 $10^{14} M^{-1}$ 超、もしくは $10^{15} M^{-1}$ 超もしくはそれ超）の $K_a$ で特異的に結合することができる。ヒト補体成分C5タンパク質に特異的に結合する抗体の例は、例えば、その開示全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第6,355,245号に記載されている。

10

## 【0183】

本明細書に記載の抗C5抗体は、補体成分C5タンパク質（例えば、ヒトC5タンパク質）のC5aおよび/またはC5b活性断片の生成または活性の遮断における活性を有し得る。この遮断効果を通じて、抗C5抗体は、例えば、C5aの炎症促進効果および細胞の表面におけるC5b-9膜攻撃複合体（MAC）の生成を阻害する。C5aの生成を遮断する能力を有する抗C5抗体は、例えば、Moongkarndiら（1982年）Immunobiol 162巻：397頁およびMoongkarndiら（1983年）Immunobiol 165巻：323頁に記載されている。

20

## 【0184】

一部の実施形態では、抗C5抗体またはその抗原結合性断片は、C5タンパク質のヒト補体成分C3b（例えば、APまたはCP C5転換酵素複体内に存在するC3b）に結合する能力を50%超（例えば、55%超、60%超、65%超、70%超、75%超、80%超、85%超、90%超、または95%超またはそれ超）低下させることができる。一部の実施形態では、抗C5抗体またはその抗原結合性断片は、C5タンパク質に結合すると、C5タンパク質の補体成分C4b（例えば、CP C5転換酵素内に存在するC4b）に結合する能力を50%超（例えば、55%超、60%超、65%超、70%超、75%超、80%超、85%超、90%超、または95%超またはそれ超）低下させることができる。抗体が、補体成分C5タンパク質のC5aおよび/またはC5b活性断片の生成または活性、または補体成分C4bまたはC3bへの結合を遮断することができるかどうかを決定するための方法は当技術分野で公知であり、例えば米国特許第6,355,245号およびWurznerら（1991年）Complement Inflamm 8巻：328~340頁に記載されている。

30

40

## 【0185】

一部の実施形態では、組成物はエクリズマブ（Soliris（登録商標）；Alexion Pharmaceuticals, Inc., Cheshire, CT）を含み、かつ/または抗体がエクリズマブ（Soliris（登録商標）；Alexion Pharmaceuticals, Inc., Cheshire, CT）である。（例えば、Kaplan（2002年）Curr Opin Investig Drugs 3巻（7号）：1017~23頁；Hill（2005年）Clin Adv Hematol Oncol 3巻（11号）：849~50頁；およびRotherら（2007年）Nature Biotechnology 25巻（11号）：1256~1488頁を参照されたい）。一部の実施形態では、組成物がバキセリズマブ（Ale

50

xion Pharmaceuticals, Inc., Cheshire, CT)を含み、かつ/または、抗体がパキセリズマブ(Alexion Pharmaceuticals, Inc., Cheshire, CT)である。(例えば、Whiss(2002年)Curr Opin Investig Drugs 3巻(6号):870~7頁;Patelら(2005年)Drugs Today (Barc)41巻(3号):165~70頁;およびThomasら(1996年)Mol Immunol 33巻(17~18号):1389~401頁を参照されたい。)

#### 【0186】

一部の実施形態では、C5阻害剤は、C5aに結合する抗体である(時には、本明細書では、「抗C5a抗体」と称される)。一部の実施形態では、抗体はC5aに結合するが全長C5には結合しない。一部の実施形態では、抗体がC5aに結合することにより、C5aの生物活性が阻害され得る。C5a活性を測定するための方法としては、例えば、走化性アッセイ、RIA、またはELISAが挙げられる(例えば、WardおよびZvaifler(1971年)J Clin Invest 50巻(3号):606~16頁およびWurznerら(1991年)Complement Inflamm 8巻:328~340頁を参照されたい)。一部の実施形態では、抗体がC5aに結合することにより、C5aとC5aR1との間の相互作用が阻害され得る。C5aとC5aR1との間の相互作用(抗体の存在下で、および不在下で)を検出および/または測定するための適切な方法は当技術分野で公知であり、例えばMaryおよびBoulay(1993年)Eur J Haematol 51巻(5号):282~287頁;Kanekoら(1995年)Immunology 86巻(1号):149~154頁;Gianniniら(1995年)J Biol Chem 270巻(32号):19166~19172頁;ならびに米国特許出願公開第20060160726号に記載されている。例えば、検出可能に標識した(例えば、放射標識した)C5aのC5aR1を発現している末梢血単核細胞への結合を、抗体の存在下で、および不在下で評価することができる。抗体の存在下でC5aR1に結合する検出可能に標識したC5aの量が、抗体の不在下で結合する量と比較して減少することにより、その抗体がC5aとC5aR1との間の相互作用を阻害することが示される。一部の実施形態では、抗体がC5aに結合することにより、C5aとC5L2との間の相互作用が阻害され得る(以下を参照されたい)。C5aとC5L2との間の相互作用を検出および/または測定するための方法は当技術分野で公知であり、例えばWard(2009年)J Mol Med 87巻(4号):375~378頁およびChenら(2007年)Nature 446巻(7132号):203~207頁(下記参照)に記載されている。

#### 【0187】

一部の実施形態では、C5阻害剤は、C5bに結合する抗体である(時には、本明細書では、「抗C5b抗体」と称される)。一部の実施形態では、抗体はC5bに結合するが、全長C5には結合しない。C5bの構造は、例えば、Mueller-Eberhard(1985年)Biochem Soc Symp 50巻:235~246頁;およびYamamotoおよびGewurz(1978年)J Immunol 120巻(6号):2008~2015頁に記載されている。上記の通り、C5bは標的細胞の表面でC6、C7、およびC8と組み合わさってC5b-8複合体複合体を形成する。一連の組合せの間に形成されるタンパク質複合体中間体として、C5b-6(C5bおよびC6を含む)、C5b-7(C5b、C6、およびC7を含む)、ならびにC5b-8(C5b、C6、C7、およびC8を含む)が挙げられる。いくつかのC9分子が結合すると、膜攻撃複合体(MAC、C5b-9終末補体複合体(TCC))が形成される。十分な数のMACが標的細胞膜に挿入されると、それらにより引き起こされる開口(MACポア)により、標的細胞の迅速な浸透性溶解が媒介される。

#### 【0188】

一部の実施形態では、抗体がC5bに結合することにより、C5bとC6との間の相互作用が阻害され得る。一部の実施形態では、抗体がC5bに結合することにより、C5b-9 MAC-TCCの集合または活性が阻害され得る。一部の実施形態では、抗体がC5bに結合することにより、補体依存性細胞溶解(例えば、in vitroおよび/またはin vivo)が阻害され得る。抗体により補体依存性溶解が阻害されるかどうか

を評価するための適切な方法としては、例えば、溶血アッセイまたは可溶性C5b-9の活性を検出するための他の機能アッセイが挙げられる。例えば、抗体の存在下での補体の細胞溶解能力の低下は、KabatおよびMayer（編）、「Experimental Immunochimistry、第2版」、135～240頁、Springfield、IL、CC Thomas（1961年）、135～139頁に記載されている溶血アッセイ、または、例えばHillmenら（2004年）N Engl J Med 350巻（6号）：552頁に記載されているニワトリ赤血球溶血法などの、そのアッセイの従来の変形によって測定することができる。

【0189】

C5bに結合する抗体ならびにそのような抗体を作製するための方法は当技術分野で公知である。市販の抗C5b抗体が、例えば、Hycult Biotechnology（カタログ番号：HM2080；クローン568）およびAbcam（商標）（ab46151またはab46168）を含めたいくつものベンダーから入手可能である。

10

【0190】

特定の作用物質がヒト補体成分C5の阻害剤であるかどうかを決定するための方法は、本明細書に記載されており、当技術分野で公知である。例えば、体液中のC5aおよびC5bの濃度および/または生理活性を当技術分野で周知の方法によって測定することができる。C5a濃度または活性を測定するための方法としては、例えば、走化性アッセイ、RIA、またはELISAが挙げられる（例えば、WardおよびZvaifler（1971年）J Clin Invest. 50巻（3号）：606～16頁およびWurznerら（1991年）Complement Inflamm. 8巻：328～340頁を参照されたい）。C5bに関しては、溶血アッセイまたは本明細書で考察されている可溶性C5b-9についてのアッセイを使用することができる。当技術分野で公知の他のアッセイも使用することができる。これらのまたは他の適切な種類のアッセイを使用して、例えば、本明細書に記載の方法において有用な化合物を同定し、そのような化合物の適切な投薬レベルを決定するために、抗C5抗体などのヒト補体成分C5を阻害することが可能な候補作用物質をスクリーニングすることができる。

20

【0191】

候補化合物によりヒトC5のC5a形態およびC5b形態への切断が阻害されるかどうかを決定するための方法は当技術分野で公知であり、例えばMoongkarndiら（1982年）Immunobiol 162巻：397頁；Moongkarndiら（1983年）Immunobiol 165巻：323頁；Isenmanら（1980年）J Immunol 124巻（1号）：326～31頁；Thomasら（1996年）Mol. Immunol 33巻（17～18号）：1389～401頁；およびEvansら（1995年）Mol. Immunol 32巻（16号）：1183～95頁に記載されている。

30

【0192】

ヒト補体成分C5の阻害により、被験体の体液中の補体の細胞溶解能力も低下し得る。存在する補体のそのような細胞溶解能力の低下は、例えば、KabatおよびMayer（編）、「Experimental Immunochimistry、第2版」、135～240頁、Springfield、IL、CC Thomas（1961年）、135～139頁に記載されている溶血アッセイなどの従来溶血アッセイ、または、例えばHillmenら（2004年）N Engl J Med 350巻（6号）：552頁に記載されている、ニワトリ赤血球溶血法などの、そのアッセイの従来の変形によるものなどの、当技術分野で周知の方法によって測定することができる。

40

【0193】

C3bに結合し、例えば、C3b転換酵素を阻害する抗体も当技術分野で周知である。例えば、それぞれの開示全体が参照により本明細書に組み込まれる、PCT出願公開第WO2010/136311号、同第WO2009/056631号、および同第WO2008/154251号を参照されたい。アンタゴニストである抗C6抗体および抗C7抗体は、例えば、Brauerら（1996年）Transplantation 61巻（4号）：588～594頁および米国特許第5,679,345号に記載されている。

【0194】

50

一部の実施形態では、抗体は、抗 B 因子抗体 (ATCC 寄託番号 PTA - 6230 によって産生されるモノクローナル抗体 1379 など) である。抗 B 因子抗体は、例えば、Ueda ら (1987 年) J Immunol 138 巻 (4 号) : 1143 ~ 9 頁 ; Tanhehco ら (1999 年) Transplant Proc 31 巻 (5 号) : 2168 ~ 71 頁 ; 米国特許第 7,999,082 号および同第 7,964,705 号 ; ならびに PCT 公開第 WO 09/029669 号にも記載されている。

【0195】

一部の実施形態では、抗体は、抗 D 因子抗体、例えば、Pascual ら (1990 年) J Immunol Methods 127 巻 : 263 ~ 269 頁 ; Sahu ら (1993 年) Mol Immunol 30 巻 (7 号) : 679 ~ 684 頁 ; Pascual ら (1993 年) Eur J Immunol 23 巻 : 1389 ~ 1392 頁 ; Niemann ら (1984 年) J Immunol 132 巻 (2 号) : 809 ~ 815 頁 ; 米国特許第 7,439,331 号 ; または米国特許出願公開第 20080118506 号に記載されている抗体である。

10

【0196】

一部の実施形態では、抗体は、抗プロパージン抗体である。適切な抗プロパージン抗体も当技術分野において周知であり、それらとしては、例えば、米国特許出願公開第 20110014614 号および PCT 出願公開第 WO 2009110918 号が挙げられる。

【0197】

処置方法

本発明では、被験体 (例えば、ヒト) における aHUS を処置または予防するための組成物および方法も提供される。組成物 (例えば、補体阻害剤および / または二次的作用物質) は、被験体、例えば、ヒト被験体に、投与経路にある程度依存する種々の方法を使用して投与することができる。経路は、例えば、静脈内注射または注入 (IV)、皮下注射 (SC)、腹腔内 (IP) 注射、または筋肉内注射であってよい。

20

【0198】

投与は、例えば、局所注入、注射によって、または埋め込み物によって実現することができる。埋め込み物は、シラスティック膜 (sialastic membrane) などの膜、または線維を含めた多孔質材料、非多孔質材料、またはゼラチン質材料の埋め込み物であってよい。埋め込み物は、組成物が被験体に持続的または周期的に放出されるように配置することができる。例えば、それぞれの開示全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許公開第 20080241223 号 ; 米国特許第 5,501,856 号 ; 同第 4,863,457 号 ; および同第 3,710,795 号 ; ならびに欧州特許第 EP 488401 号および同第 EP 430539 号を参照されたい。例えば、拡散性、浸食性のまたは対流性の系に基づく埋め込み型デバイス、例えば、浸透性ポンプ、生分解性埋め込み物、電気拡散系、電気浸透系、蒸気圧ポンプ、電解質ポンプ、発泡性ポンプ、圧電性ポンプ、浸食に基づく系、または電気機械的な系を介して組成物を被験体に送達することができる。

30

【0199】

補体阻害剤 (例えば、抗 C5 抗体またはその断片) の適切な用量は、被験体における aHUS を処置または予防することができる用量であり、例えば、処置される被験体の年齢、性別、および体重ならびに使用する特定の阻害剤化合物を含めた種々の因子に依存し得る。例えば、aHUS の被験体を処置するために必要なヒト C5 に特異的な siRNA の用量は、同じ患者を処置するために必要な抗 C5 抗体の用量と比較して異なる場合がある。被験体に投与される用量に影響を及ぼす他の因子としては、例えば、aHUS の型または重症度が挙げられる。例えば、CFH 関連 aHUS を有する被験体には、MCP 関連 aHUS の被験体とは異なる投薬量で該阻害剤を投与する必要があり得る。他の因子としては、例えば、同時にまたは以前に被験体が冒された他の医学的障害、被験体の全体的な健康、被験体の遺伝的素因、食事、投与時間、排出速度、薬物の組合せ、および被験体に投与される任意の他の追加の治療薬を挙げることができる。任意の特定の被験体に対する特定の投薬量および処置レジメンは、処置にあたっている医療従事者 (例えば、医師または看護師) の判断に依存することも理解されるべきである。

40

50

## 【0200】

上記阻害剤は、固定用量として、またはキログラムあたりのミリグラムである「mg/kg」用量で投与することができる。一部の実施形態では、用量は、組成物中の1種または複数種の活性作用物質に対する抗体の産生または他の宿主の免疫応答が低下するまたは回避されるように選択することができる。決してこれだけに限定するものではないが、抗C5抗体などの阻害剤の例示的な投薬量としては、例えば、1～100mg/kg体重、0.5～50mg/kg体重、0.1～100mg/kg体重、0.5～25mg/kg体重、1～20mg/kg体重、および1～10mg/kg体重が挙げられる。

## 【0201】

一部の実施形態では、ヒトに、抗C5抗体（例えば、エクリズマブ）を、約12日毎（例えば、約10日、11日、13日、14日、15日、16日、17日、18日、19日、20日、21日、28日、30日、42日、または49日またはそれ超毎）に約900mgの用量で静脈内投与することができる。例えば、Hillら（2005年）Blood 106巻（7号）：2559頁を参照されたい。

10

## 【0202】

一部の実施形態では、ヒトに、抗C5抗体（例えば、エクリズマブ）を、毎週約600mg（例えば、約625mg、650mg、700mg、725mg、750mg、800mg、825mg、850mg、875mg、900mg、925mg、950mg、または1,000mgまたはそれ超）の用量で、任意選択で、2週間またはそれ超（例えば、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、または8週間またはそれ超）にわたって、静脈内投与することができる。最初の処置後、ヒトに、抗体を、約14日毎（例えば、約11日、12日、13日、14日、15日、16日、17日、18日、19日、20日、21日、28日、30日、42日、または49日またはそれ超毎）に約900mgの用量で、例えば、維持用量として投与することができる。例えば、Hillmenら（2004年）N Engl J Med. 350巻（6号）：552～9頁およびDmytrijukら（2008年）The Oncologist 13巻（9号）：993頁を参照されたい。

20

## 【0203】

一部の実施形態では、ヒトに、抗C5抗体（例えば、エクリズマブ）を、毎週約900mg（例えば、925mg、950mg、975mg、1000mg、1100mg、または1200mgまたはそれ超）の用量で、任意選択で、2週間またはそれ超（例えば、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、または8週間またはそれ超）にわたって静脈内投与することができる。最初の処置後、ヒトに、抗体を、約1200mgの用量で、約14日毎（例えば、約11日、12日、13日、14日、15日、16日、17日、18日、19日、20日、21日、28日、30日、42日、または49日またはそれ超毎）に、例えば、維持用量として投与することができる。例えば、国際特許出願公開第WO2010/054403号を参照されたい。

30

## 【0204】

本明細書で使用される場合、「長期にわたって投与する」、「長期にわたる処置」、「長期にわたって処置する」、または同様のその文法上の変形は、患者における全身補体活性を長期間にわたって完全にまたは実質的に抑制するために、患者の血液中で治療剤のある特定の閾値濃度を維持するために使用する処置レジメンを指す。したがって、補体阻害剤を用いた長期にわたる処置を受ける患者は、2週間超であるかまたは2週間に等しい（例えば、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、12週間、13週間、14週間、15週間、16週間、17週間、18週間、19週間、20週間、21週間、22週間、23週間、24週間、25週間、26週間、27週間、28週間、29週間、30週間、31週間、32週間、33週間、34週間、35週間、36週間、37週間、38週間、39週間、40週間、41週間、42週間、43週間、44週間、45週間、46週間、47週間、48週間、49週間、50週間、51週間、または52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、または12ヶ月；または1年、1.5年、2年、2.

40

50

5年、3年、3.5年、4年、4.5年、5年、5.5年、6年、6.5年、7年、7.5年、8年、8.5年、9年、9.5年、10年、10.5年、または12年または患者の残りの生涯)期間にわたって、該阻害剤を、患者の血液中の該阻害剤を患者における全身補体活性が阻害されるまたは実質的に阻害される濃度に維持するために十分な量および投薬頻度で用いた処置を受け得る。一部の実施形態では、補体阻害剤を、それを必要とする患者に、血清溶血活性を20%未満または20%(例えば、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、または5%)に維持するために有効な量および頻度で長期にわたって投与することができる。例えば、Hillら(2005年)Blood 106巻(7号):2559頁を参照されたい。一部の実施形態では、補体阻害剤を、患者に、血清乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)レベルをLDHの正常範囲の少なくとも20%(例えば、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、または5%)以内に維持するために有効な量および頻度で投与することができる。Hillら(2005年)、上記を参照されたい。一部の実施形態では、補体阻害剤を患者に、血清LDHレベルを550IU/L未満(例えば、540IU/L未満、530IU/L未満、520IU/L未満、510IU/L未満、500IU/L未満、490IU/L未満、480IU/L未満、470IU/L未満、460IU/L未満、450IU/L未満、440IU/L未満、430IU/L未満、420IU/L未満、410IU/L未満、400IU/L未満、390IU/L未満、380IU/L未満、370IU/L未満、360IU/L未満、350IU/L未満、340IU/L未満、330IU/L未満、320IU/L未満、310IU/L未満、300IU/L未満、290IU/L未満、280IU/L未満、または270IU/L未満)に維持するために有効な量および頻度で投与する。患者における全身補体阻害を維持するために、補体阻害剤を、患者に、例えば、週に1回、2週間毎に1回、週2回、1日1回、1ヶ月に1回、または3週間毎に1回、長期にわたって投与することができる。

10

20

30

40

50

#### 【0205】

医薬組成物は、治療有効量のヒト補体成分C5の阻害剤(例えば、抗C5抗体またはその抗原結合性断片)を含み得る。そのような有効量は、当業者が、投与される阻害剤の効果、または、2種以上の作用物質を使用する場合には抗体と1種または複数種の追加の活性作用物質との組合せの効果に一部基づいて容易に決定することができる。治療有効量のヒト補体成分C5の阻害剤(例えば、抗C5抗体)は、個体の病態、年齢、性別、および体重、ならびに抗体(および1種または複数種の追加の活性作用物質)の、個体における所望の応答、例えば、少なくとも1つの状態パラメータの好転、例えば、aHUSの少なくとも1つの症状の好転を引き出す能力などの因子に応じて変動し得る。例えば、治療有効量のヒト補体成分C5の阻害剤(例えば、抗C5抗体)により、血小板減少症、微小血管症性溶血性貧血、腎不全、および/または当技術分野で公知のまたは本明細書に記載のaHUSの症状の任意の1つを阻害し(その重症度を低下させるまたは出現を排除する)、かつ/または予防することができる。治療有効量は、組成物のあらゆる毒性の影響または有害な影響よりも治療的に有益な影響が上回る量でもある。

#### 【0206】

本明細書で使用される「治療有効量」または「治療有効用量」という用語または同様の用語は、所望の生物学的または医学的応答(例えば、aHUSの1つまたは複数の症状の改善)を引き出す作用物質(例えば、ヒト補体成分5の阻害剤)の量を意味するものとする。一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物は、治療有効量のヒト補体成分C5の阻害剤を含有する。一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物は、治療有効量の、補体成分C5タンパク質に結合する抗体またはその抗原結合性断片を含有する。一部の実施形態では、該組成物は、組成物が全体として治療的に有効になるように、2種またはそれ超(例えば、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、または11種またはそれ超)の異なるヒト補体成分C5の阻害剤を含有する。例えば、組成物は、ヒトC5タンパク質に結合する抗体、およびヒトC5タンパク質をコードするmRNAに結合し、そ

の分解を促進する s i R N A を含有してよく、この場合、抗体および s i R N A のそれぞれの濃度は、組み合わせられた際に治療的に有効な濃度である。一部の実施形態では、上記組成物は、該組成物全体として治療的に有効になるように上記阻害剤および 1 種または複数種の第 2 の活性作用物質を含有する。例えば、上記組成物は、ヒト C 5 タンパク質に結合する抗体、および a H U S を処置または予防するために有用な別の作用物質を含有してよい。

#### 【 0 2 0 7 】

そのような組成物の毒性および治療有効性は、細胞培養物または実験動物 ( a H U S の動物モデル ) において公知の薬学的手順によって決定することができる。これらの手順は、例えば、L D <sub>50</sub> ( 集団の 5 0 % に対して致死的な用量 ) および E D <sub>50</sub> ( 集団の 5 0 % において治療的に有効な用量 ) を決定するために使用することができる。毒性効果と治療効果との間の用量比は治療指数であり、L D <sub>50</sub> / E D <sub>50</sub> 比として表すことができる。治療指数が高い組成物、または組成物の阻害剤 ( 例えば、抗 C 5 抗体 ) が好ましい。毒性の副作用を示す組成物を使用することができるが、そのような化合物を患部組織の部位にターゲティングし、正常細胞に対する潜在的な損傷を最小限にし、それにより、副作用を低下させる送達系を設計するようにすべきである。

10

#### 【 0 2 0 8 】

細胞培養アッセイおよび動物試験から得られたデータを、ヒトにおいて使用するための様々な投薬量の処方を使用することができる。適切な a H U S の動物モデルは当技術分野で公知であり、例えば、Atkinsonら ( 2 0 0 7 年 ) Journal of Experimental Medicine 2 0 4 巻 ( 6 号 ) : 1 2 4 5 ~ 1 2 4 8 頁に記載されている。そのような阻害剤の投薬量は、一般に、毒性をほとんどまたは全く伴わない E D <sub>50</sub> を含む、該阻害剤 ( 例えば、抗 C 5 抗体またはその抗原結合性断片 ) の循環濃度の範囲内に入る。投薬量は、使用する剤形および利用する投与経路に応じて、この範囲内で変動し得る。本明細書に記載の通り使用される ( 例えば、a H U S を処置または予防するため ) ヒト補体成分 C 5 の阻害剤 ( 例えば、抗 C 5 抗体 ) については、最初に細胞培養アッセイから治療有効用量を推定することができる。用量を、動物モデルにおいて、細胞培養において決定される I C <sub>50</sub> ( すなわち、症状の最大半量の阻害が実現される試験化合物の濃度 ) を含む循環血漿濃度範囲が実現されるように設定することができる。そのような情報を使用して、ヒトにおける有用な用量をより正確に決定することができる。血漿中のレベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーによって測定することができる。

20

30

#### 【 0 2 0 9 】

一部の実施形態では、ヒト補体成分 C 5 の阻害剤の必要な用量は、被験体の血液中のヒト C 5 タンパク質の濃度に基づいて決定することができる。例えば、循環ヒト C 5 タンパク質レベルの濃度が高い被験体には、循環ヒト C 5 のレベルが低い被験体よりも高用量のヒト C 5 阻害剤が必要になる場合がある。被験体からの血液由来の体液試料中のヒト補体成分 C 5 の濃度を決定するための方法は当技術分野で公知であり、例えば、Rawalら ( 1 9 9 8 年 ) J Biol Chem 2 7 3 巻 ( 2 7 号 ) : 1 6 8 2 8 ~ 1 6 8 3 5 頁に記載されている。

#### 【 0 2 1 0 】

一部の実施形態では、当該方法は、a H U S に対する他の療法と併せて実施することができる。例えば、組成物を、被験体に、腎摘出術 ( 例えば、両側性の腎摘出術 )、透析、血漿交換法、または血漿注入と同時に、それよりも前に、またはそれよりも後に投与することができる ( 例えば、Norisら ( 2 0 0 5 年 ) 「Non-shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome」: Zipfel P ( 編 )、Complement and Kidney Disease. Basel: Birkhauser-Verlag、6 5 ~ 8 3 頁を参照されたい ) 。

40

#### 【 0 2 1 1 】

「被験体」とは、本明細書で使用される場合、任意の哺乳動物であり得る。例えば、被験体は、ヒト、非ヒト霊長類 ( 例えば、サル、ヒヒ、またはチンパンジー )、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、ウサギ、モルモット、スナネズミ、ハムスター、ラ

50

ット、またはマウスであり得る。一部の実施形態では、被験体は、乳児（例えば、ヒト乳児）である。

【0212】

本明細書で使用される場合、「予防を必要とする」、「処置を必要とする」または「それを必要とする」被験体とは、適切な医療従事者（例えば、ヒトの場合では医師、看護師、または看護従事者；非ヒト哺乳動物の場合では獣医師）の判断により、所与の処置（例えば、ヒト補体成分C5の阻害剤を含む組成物を用いた処置など）が適度に有益である被験体を指す。

【0213】

本明細書で使用される場合、「aHUSを発症するリスクがある」被験体とは、当該障害を発症する危険因子を1つまたは複数（例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、または8つまたはそれ超）有する被験体である。aHUSに関する危険因子は医学の技術分野で周知であり、それらとして、例えば、当該状態を発症する素因、すなわち、当該状態の家族歴または当該状態を発症する遺伝的素因、例えば、補体因子H（CFH）、膜補因子タンパク質（MCP；CD46）、C4b結合性タンパク質、補体因子B（CFB）、または補体因子I（CFI）の1つまたは複数の変異などが挙げられる。例えば、Warwickerら（1998年）*Kidney Int* 53巻：836～844頁；Richardsら（2001年）*Am J Hum Genet* 68巻：485～490頁；Caprioliら（2001年）*Am Soc Nephrol* 12巻：297～307頁；Neumanら（2003年）*J Med Genet* 40巻：676～681頁；Richardsら（2006年）*Proc Natl Acad Sci USA* 100巻：12966～12971頁；Fremeaux-Bacchiら（2005年）*J Am Soc Nephrol* 17巻：2017～2025頁；Esparza-Gordilloら（2005年）*Hum Mol Genet* 14巻：703～712頁；Goicoechea de Jorgeら（2007年）*Proc Natl Acad Sci USA* 104巻（1号）：240～245頁；Blomら（2008年）*J Immunol* 180巻（9号）：6385～91頁；およびFremeaux-Bacchiら（2004年）*J Medical Genet* 41巻：e84頁）を参照されたい。Kavanaghら（2006年）、上記も参照されたい。危険因子としては、例えば、Streptococcus pneumoniaeによる感染症、妊娠、がん、抗がん剤（例えば、キニーネ、マイトマイシンC、シスプラチン、またはブレオマイシン）への曝露、免疫療法剤（例えば、シクロスポリン、OKT3、またはインターフェロン）への曝露、抗血小板剤（例えば、チクロピジンまたはクロピドグレル）への曝露、HIV感染症、移植、自己免疫疾患、および混合型のメチルマロン酸尿症およびホモシスチン尿症（cblC）も挙げられる。例えば、Constantinescuら（2004年）*Am J Kidney Dis* 43巻：976～982頁；George（2003年）*Curr Opin Hematol* 10巻：339～344頁；Gottschallら（1994年）*Am J Hematol* 47巻：283～289頁；Valavaaraら（1985年）*Cancer* 55巻：47～50頁；Miralbellら（1996年）*J Clin Oncol* 14巻：579～585頁；Dragon-Dureyら（2005年）*J Am Soc Nephrol* 16巻：555～63頁；およびBeckerら（2004年）*Clin Infect Dis* 39巻：S267～S275頁を参照されたい。したがって、aHUSを発症するリスクがあるヒトは、例えば、aHUSの家族歴を有するヒトおよび/またはHIV感染症を有するヒトであってよい。上記から、「aHUSを発症するリスクがある」被験体が目的の種の中に入る被験体の全てではないことが明らかになる。

【0214】

「aHUSを有する疑いがある」被験体とは、当該状態の1つまたは複数の症状を有する被験体である。この状態の症状は、医学の当業者に周知であり、それらとして、例えば、重症高血圧症、タンパク尿、尿毒症、嗜眠/疲労、被刺激性、血小板減少症、微小血管症性溶血性貧血、および腎機能障害（例えば、急性腎不全）が挙げられる。「aHUSを有する疑いがある」被験体が目的の種の中に入る被験体の全てではないことは上記の節から明らかである。

【0215】

10

20

30

40

50

a H U S は、遺伝性、後天性、または特発性であり得る。a H U S は、同じ家族の 2 またはそれ超（例えば、3、4、5、または 6 またはそれ超）のメンバーが少なくとも 6 ヶ月離れて当該疾患の影響を受け、共通の誘発因子への曝露が除外される場合、または被験体において 1 つまたは複数の a H U S 関連遺伝子変異（例えば、C F H、M C P / C D 4 6、C F B、または C F I の 1 つまたは複数の変異）が同定される場合、遺伝性とみなすことができる。例えば、被験体は、C F H 関連 a H U S、C F B 関連 a H U S、C F I 関連 a H U S、または M C P 関連 a H U S を有し得る。遺伝性 a H U S の 30% に至るまでが C F H の変異に関連し、12% が M C P の変異に関連し、5 ~ 10% が C F I の変異に関連し、2% 未満が C F B 変異に関連する。遺伝性 a H U S は、多発性（multiplex）（すなわち、家族性；家族のメンバーの 2 またはそれ超が影響を受ける）または単発性（simplex）（すなわち、家族内で単一の出現）であり得る。a H U S は、基礎をなす環境因子（例えば、薬物、全身性疾患、また志賀毒素様外毒素を生じないウイルス病原体もしくは細菌病原体）を同定することができる場合、後天性とみなすことができる。a H U S は、誘発因子（遺伝的または環境的なもの）が不明の場合、特発性とみなすことができる。

#### 【0216】

一部の実施形態では、当該方法は、被験体を、a H U S を有するか、a H U S を有する疑いがあるか、または a H U S を発症するリスクがある被験体だと同定するステップを含み得る。本明細書に記載の a H U S バイオマーカープロファイリングの使用に加えて、検査室での検査を実施して、ヒト被験体が血小板減少症、微小血管症性溶血性貧血、または急性腎不全を有するかどうかを決定することができる。血小板減少症は、医療専門家により、(i) 血小板数が  $150,000 / \text{mm}^3$  未満（例えば、 $60,000 / \text{mm}^3$  未満）であること；(ii) 循環中の血小板破壊の増強を反映する、血小板生存時間の短縮が低下すること、；および (iii) 血小板産生の二次的な活性化と一致する、末梢血塗抹標本中に巨大な血小板が観察されることのうちの 1 つまたは複数で診断され得る。微小血管症性溶血性貧血は、医療専門家により、(i) ヘモグロビン濃度が  $10 \text{ mg} / \text{dL}$  未満（例えば、 $6.5 \text{ mg} / \text{dL}$  未満）であること；(ii) 血清乳酸デヒドロゲナーゼ（LDH）濃度が上昇していること（ $> 460 \text{ U} / \text{L}$ ）；(iii) 高ビリルビン血症、網状赤血球増加症、遊離ヘモグロビンが循環していること、およびハプトグロビン濃度が低いまたは検出不可能であること；ならびに (iv) 末梢血塗抹標本中に有棘赤血球またはヘルメット形赤血球の典型的な外観を有する断片化された赤血球（分裂赤血球）が検出されるとともに、クームス試験が陰性であることのうちの 1 つまたは複数で診断され得る。例えば、Kaplan ら（1992 年）「Hemolytic Uremic Syndrome and Thrombotic Thrombocytopenic Purpura」、Informa Health Care（ISBN 0824786637）および Zipfel（2005 年）、「Complement and Kidney Disease」、Springer（ISBN3764371668）を参照されたい。

#### 【0217】

C3 および C4 の血中濃度を補体活性化または調節不全の尺度として使用することもできる。さらに、被験体の状態は、該被験体が C F I、C F B、C F H、または M C P などの a H U S に関連する遺伝子に 1 つまたは複数の変異（上記）を有すると同定することによってさらに特徴付けることができる。遺伝子の変異を検出するための適切な方法としては、例えば、DNA 配列決定および核酸アレイ技法が挙げられる。例えば、Breslin ら（2006 年）Clin Am Soc Nephrol 1 巻：88 ~ 99 頁および Goicoechea de Jorg e ら（2007 年）Proc Natl Acad Sci USA 104 巻：240 ~ 245 頁を参照されたい。

#### 【0218】

一部の実施形態では、ヒト補体成分 C5 の阻害剤（例えば、抗 C5 抗体またはその抗原結合性断片）を単独療法として被験体に投与することができる。あるいは、上記の通り、該阻害剤を別の処置、例えば a H U S に対する別の処置との併用療法として被験体に投与することができる。例えば、併用療法は、被験体（例えば、ヒト患者）に、a H U S を有するか、または a H U S を発症するリスクがある被験体に治療的利益をもたらす 1 種また

10

20

30

40

50

は複数種の追加の作用物質（例えば、抗高血圧薬）を投与することを含み得る。一部の実施形態では、ヒト補体成分 C 5 の阻害剤および 1 種または複数種の追加の活性作用物質を同時に投与する。他の実施形態では、上記阻害剤を第 1 の丁度良い時間に (first in time) 投与し、1 種または複数種の追加の活性作用物質を第 2 の丁度良い時間に投与する。一部の実施形態では、1 種または複数種の追加の活性作用物質を第 1 の丁度良い時間に投与し、上記阻害剤を第 2 の丁度良い時間に投与する。

#### 【0219】

ヒト補体成分 C 5 の阻害剤により、以前施されていたまたは現在施されている療法を置き換えるまたは増強することができる。例えば、抗 C 5 抗体またはその抗原結合性断片を用いて処置すると、1 種または複数種の追加の活性作用物質の投与を止めるまたは減らす、例えば、より低いレベルで投与することができる。一部の実施形態では、以前の療法の施行を維持することができる。一部の実施形態では、ヒト C 5 の阻害剤のレベルが治療効果をもたらすために十分なレベルに到達するまで、以前の療法を維持する。2 つの療法を組み合わせることで施行することができる。

10

#### 【0220】

本明細書で定義されているとおり、被験体（例えば、ヒト患者）を a H U S の改善についてモニターすることとは、被験体を、疾患パラメータの変化、例えば、疾患の 1 つまたは複数の症状の改善について評価することを意味する。そのような症状は、本明細書に記載の a H U S の症状のいずれも含む。一部の実施形態では、処置開始の少なくとも 1 時間後、例えば、少なくとも 2 時間後、4 時間後、6 時間後、8 時間後、12 時間後、24 時間後、または 48 時間後、または少なくとも 1 日後、2 日後、4 日後、10 日後、13 日後、20 日後またはそれ超後、または少なくとも 1 週間後、2 週間後、4 週間後、10 週間後、13 週間後、20 週間またはそれ超後に評価を実施する。上記被験体を以下の 1 つまたは複数の期間に評価することができる：処置開始前；処置中；または処置の 1 種または複数種の要素が投与された後。評価は、さらなる処置の必要性を評価すること、例えば、投薬量、投与の頻度、または処置の持続時間を変更すべきかどうかを評価することを含み得る。評価は、選択された治療モダリティを追加または中断する、例えば、本明細書に記載の a H U S に対する処置のいずれかを追加または中断する必要性を評価することを含み得る。

20

#### 【0221】

##### キット

本明細書に記載の方法を実行するために有用な種々の試薬および材料を含むキットも提供される。本明細書に記載の測定、診断、評価 (evaluating)、および / または評価 (assessing) の手順は、診断検査所、実験検査所、または個別の従事者によって実施され得る。本発明は、これらの環境のいずれかまたは全てにおいて使用することができるキットを提供する。

30

#### 【0222】

一部の実施形態では、本明細書に記載のキットは、とりわけ、本明細書において提供される方法に従って生体試料（例えば、生体液）を特徴付けるもしくは処理するため、バイオマーカーレベル（例えば、タンパク質または核酸レベル）を測定するため、被験体において a H U S を診断するため、または被験体における処置への応答をモニターするための材料および試薬を含む。ある特定の実施形態では、本発明のキットは、1 種または複数種の a H U S バイオマーカータンパク質（例えば、表 1 から選択されるもの）のタンパク質レベルを特異的に検出する少なくとも 1 種、または複数種の試薬、および、任意選択で、キットを使用するための指示を含む。キットは、例えば、本明細書に記載のアレイのいずれかを含み得る。

40

#### 【0223】

一部の実施形態では、キットは、適切な対照試料（例えば、正常な健康な個体由来の生体液または既知の対照量の特定の分析物を含む溶液）を含み得る。一部の実施形態では、本発明のキットは、本明細書に記載の 1 つまたは複数の方法に従ってキットを使用

50

するための指示を含み得、また、被験体から得た生体試料（例えば、生体液）を処理するためおよび／もしくは試験を実施するための指示または結果を解釈するための指示を含み得る。

【0224】

以下の実施例は、本発明を例示するものであり、それを限定するものではない。

【実施例】

【0225】

aHUSの病態をよりよく理解するために、本発明者らは、aHUSを有するまたはaHUSを有する疑いがある患者から、補体阻害剤（抗C5抗体であるエクリズマブ）を用いた処置の開始前、および開始後のいくつかの時点で生体液（全血、血清、血漿、および尿）の試料を収集した。この試験の1つの目的は、患者の補体阻害剤を用いた処置に対する応答性ならびに疾患およびその進行または緩和のマーカーをモニターするために使用することができる、一連の臨床的に定義できるパラメータを定義することであった。本発明者らは、その発現および／または活性がaHUSの疾患状態および／またはaHUS患者の補体阻害剤を用いた処置に対する応答性のいずれかと相関するいくつかのタンパク質を同定した。そのタンパク質は、補体および／または内皮細胞活性化、炎症、腎傷害、および凝固に関与または関連するものであった（表1参照）。

10

【0226】

試験のために、aHUSの診断が確認された合計41名の成人被験体（女性27名および男性12名）を補充し（recruited）、正常な健康な成人志願者も補充した。患者は全員、以下の特性の1つまたは複数に基づくスクリーニングでaHUSが確認された患者であった：血小板数が $150 \times 10^9 / L$ 未満であること；ヘモグロビンレベルが正常値下限を下回ること；LDHレベルが正常値上限の1.5倍超であるかまたは1.5倍に等しいこと；血清クレアチニンレベルが正常値上限を上回るかまたは正常値上限に等しいこと；およびADAMTS13活性レベルが5%超であること。患者全員が志賀毒素に関して陰性と検査された。

20

【0227】

組入れ時の平均患者年齢は40.3歳であった。患者の68%が女性であり、2名（4.8%）が黒人またはアフリカ系アメリカ人であり、1名（2.4%）がアジア人血統の患者であった。aHUSの家族歴を報告した患者は6名（14.6%）であった。少なくとも1つの同定された補体調節タンパク質の変異を有したまたは補体調節タンパク質に結合する自己抗体に関して陽性と検査された患者は20名（48.7%）であった。aHUSの最初の臨床症状を示していた患者は30名（73.2%）であった。血漿交換／注入（PE／PI）を使用せずにエクリズマブをすぐに開始した患者は6名（14%）であった。ベースライン（エクリズマブによる処置の前）の時点で透析を受けていた患者は24名（58.5%）であった。以前に腎移植を受けたことがある患者は9名（22%）であった。血小板数が $150 \times 10^9 / L$ 未満の患者は27名（66%）であった。血清LDHレベルが正常値上限を上回る患者は32名（78%）であった。このコホートの患者についての平均ハプトグロビン（Hp）レベルは $0.6 \pm 0.4 \text{ g / L}$ であり、この患者コホートにおける平均血清クレアチニンレベルは $4.11 \pm 2.64.6 \mu \text{mol / L}$ （ $N = 40$ ）であった。

30

40

【0228】

生体液を、試験への登録時（処置前）、次いで、処置後、薬物の各投与時に収集した。エクリズマブを被験体に以下のスケジュールの下で投与した：900mgを週あたり1回、4週間にわたって；1200mgを5回目の投薬として；および1200mgを、その後2週間毎に1回、最大55週間にわたって、第2相臨床試験の一部として。

【0229】

（実施例1）

材料および方法

【0230】

50

### 尿試料

新しく収集した尿をすぐにプロテアーゼ阻害剤と混合した。被験体から収集した尿中のNGAL、シスタチンC、クラスタリン、TIMP-1、2-マイクログロブリン、C5b9、C5a、およびクレアチンを含めたいくつかの分析物の濃度を、以下に簡単に記載されている通り、市販のキットを使用して測定した。

#### 【0231】

尿中のNGALレベルを、市販のキット(R&D Systems、Minneapolis、MN；カタログ番号：DLN20)を使用して測定した。簡単に述べると、尿試料を、キットに含まれている(kit supplied)較正希釈剤RD5-24を使用して1：3に希釈した。各試料またはキットの標準対照(NS0で発現させた組換えヒトリボカリン-2)50 $\mu$ Lを、それぞれのウェルがキットに含まれているAssay Diluent RD1-52を100 $\mu$ Lずつ含有するアッセイプレートのウェルに2連で添加した。冷蔵庫内、4で2時間インキュベートした後、ウェルあたり200 $\mu$ Lの洗浄溶液を用いてウェルを4回洗浄した。酵素(西洋ワサビペルオキシダーゼ)標識した抗NGALコンジュゲートをウェルあたり200 $\mu$ L添加し、冷蔵庫内、4で2時間インキュベートした。ウェルあたり200 $\mu$ Lの洗浄溶液を用いてウェルを4回洗浄し、キットに含まれているTMB Substrate Solution(抗NGALコンジュゲートの酵素の基質)をウェルあたり200 $\mu$ L添加することによって発色させ、暗所中、室温で30分インキュベートした。TMBは西洋ワサビペルオキシダーゼの基質であり、ELISAにおいて使用されることも多い。ELISAウェルにおける、基質と、抗体にコンジュゲートしている固定化した西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)との間の反応により、青色を呈した溶液が生じる。所望の呈色強度に達した後、停止溶液(stop solution)(酸性)を添加することによって反応を終了させると溶液の呈色が青色から黄色に変化する。したがって、インキュベーション後に各ウェルにキットに含まれているStop Solutionをウェルあたり50 $\mu$ L添加することによって反応を停止させ、450nmにおける吸光度を読み取った。

10

20

#### 【0232】

シスタチンCレベルを、市販のキット(R&D Systems、Minneapolis、MN；カタログ番号：DSC TC0)を用いて測定した。簡単に述べると、尿試料を、キットに含まれている較正希釈剤RD5-24を使用して1：3に希釈した。各試料またはキットの標準対照(組換えヒトCysC)50 $\mu$ Lを、それぞれのウェルがキットに含まれているAssay Diluent RD1-52を100 $\mu$ Lずつ含有するアッセイプレートのウェルに2連で添加した。冷蔵庫内、4で2時間インキュベートした後、ウェルあたり200 $\mu$ Lの洗浄溶液を用いてウェルを4回洗浄した。酵素標識した抗CysCコンジュゲートをウェルあたり200 $\mu$ L添加し、冷蔵庫内、4で2時間インキュベートした。ウェルあたり200 $\mu$ Lの洗浄溶液を用いてウェルを4回洗浄し、キットに含まれているTMB Substrate Solution(抗CysCコンジュゲートの酵素の基質)をウェルあたり200 $\mu$ L添加することによって発色させ、暗所中、室温で30分インキュベートした。インキュベーション後に、各ウェルにキットに含まれているStop Solutionをウェルあたり50 $\mu$ L添加することによって反応を停止させ、450nmにおける吸光度を読み取った。

30

40

#### 【0233】

クラスタリンレベルを、市販のキット(R&D Systems、Minneapolis、MN；カタログ番号：DCLU00)を用いて測定した。簡単に述べると、尿試料を、キットに含まれている較正希釈剤RD5Tを使用して1：3に希釈した。各試料またはキットの標準対照(組換えヒトクラスタリン)50 $\mu$ Lを、それぞれのウェルがキットに含まれているAssay Diluent RD1-19を100 $\mu$ Lずつ含有するアッセイプレートのウェルに2連で添加した。500rpmに設定したオービタルシェーカー上、室温で2時間インキュベートした後、ウェルあたり200 $\mu$ Lの洗浄溶液を用いてウェルを4回洗浄した。酵素標識した抗クラスタリンコンジュゲートをウェルあたり20

50

0  $\mu$ L 添加し、500 rpm に設定したオービタルシェーカー上、室温で2時間インキュベートした。ウェルあたり200  $\mu$ L の洗浄溶液を用いてウェルを4回洗浄し、TMB Substrate Solution をウェルあたり200  $\mu$ L 添加することによって発色させ、暗所中、室温で30分インキュベートした。インキュベーション後に、各ウェルにウェルあたり50  $\mu$ L の Stop Solution を添加することによって反応を停止させ、450 nm における吸光度を読み取った。

**【0234】**

TIMP-1 レベルを、市販のキット (R&D Systems、Minneapolis、MN；カタログ番号：DTM100) を用いて測定した。簡単に述べると、尿試料を、キットに含まれている校正希釈剤 RD5P を使用して1:2 に希釈した。各試料またはキットの標準対照 (組換えヒトTIMP-1) 50  $\mu$ L を、それぞれのウェルがキットに含まれている Assay Diluent RD1X を100  $\mu$ L ずつ含有するアッセイプレートのウェルに2連で添加した。500 rpm に設定したオービタルシェーカー上、室温で2時間インキュベートした後、ウェルあたり200  $\mu$ L の洗浄溶液を用いてウェルを3回洗浄した。酵素標識した抗TIMP-1 コンジュゲートをウェルあたり200  $\mu$ L 添加し、500 rpm に設定したオービタルシェーカー上、室温で2時間インキュベートした。ウェルあたり200  $\mu$ L の洗浄溶液を用いてウェルを4回洗浄し、TMB Substrate Solution をウェルあたり200  $\mu$ L 添加することによって発色させ、暗所中、室温で30分インキュベートした。インキュベーション後に、各ウェルにウェルあたり50  $\mu$ L の Stop Solution を添加することによって反応を停止させ、450 nm における吸光度を読み取った。

10

20

**【0235】**

2M レベルを、市販のキット (R&D Systems、Minneapolis、MN；カタログ番号：DBM200) を用いて測定した。簡単に述べると、尿試料を、キットに含まれている Sample Diluent を使用して1:10 に希釈した。各試料、キット対照物質またはキットの標準物質20  $\mu$ L を、酵素標識した抗2M コンジュゲートを含有する溶液100  $\mu$ L を含有するウェルに2連で添加した。室温で1時間インキュベートした後、ウェルあたり200  $\mu$ L の洗浄溶液を用いてウェルを6回洗浄した。ウェルあたり100  $\mu$ L の TMB Substrate Solution を添加することによってウェルを発色させ、暗所中、室温で15分インキュベートした。インキュベーション後に、各ウェルにウェルあたり100  $\mu$ L の Stop Solution を添加することによって反応を停止させ、450 nm における吸光度を読み取った。

30

**【0236】**

クレアチニンレベルを、市販のキット (R&D Systems、Minneapolis、MN；カタログ番号：KGE005) を用いて測定した。簡単に述べると、尿試料を、水を使用して1:20 に希釈し、試料、キット対照物質またはキットの標準物質50  $\mu$ L を、キットに含まれている Alkaline Picrate Solution 100  $\mu$ L を含有するウェルに2連で添加した。室温で30分インキュベートした後、490 nm における吸光度を測定した。

**【0237】**

C5b-9 レベルを、市販のキット (BD Biosciences、San Jose、CA；カタログ番号：558315) および optEIA reagent set B (BD Biosciences、San Jose、CA；カタログ番号：550534) を用いて測定した。簡単に述べると、抗C5b-9 捕捉抗体をコーティング緩衝液中1:250 に希釈し、その100  $\mu$ L を 96 well maxisorp plate (Nunc；カタログ番号：439454) の各ウェルに添加し、冷蔵庫内、4で終夜インキュベートした。ウェルあたり200  $\mu$ L の洗浄溶液を用いてウェルを3回洗浄し、キットに含まれている Assay Diluent をウェルあたり200  $\mu$ L 添加することにより、室温で1時間にわたってブロッキングした。ウェルあたり200  $\mu$ L の洗浄溶液を用いてウェルを3回洗浄し、尿試料またはキットの標準物質100  $\mu$ L をウェル

40

50

に2連で添加した。室温で2時間インキュベートした後、ウェルあたり200 $\mu$ Lの洗浄溶液を用いてウェルを3回洗浄した。各ウェルにキットに含まれているC5b-9 Working Detector Antibody Solutionを100 $\mu$ L添加し、室温で1時間インキュベートした。ウェルあたり200 $\mu$ Lの洗浄溶液を用いてウェルを7回洗浄し、ウェルあたり100 $\mu$ LのTMB Substrate Solutionを添加することによって発色させ、暗所中、室温で30分インキュベートした。インキュベーション後に、各ウェルにウェルあたり50 $\mu$ LのStop Solutionを添加することによって反応を停止させ、450nmにおける吸光度を読み取った。

**【0238】**

C5aレベルを、市販のキット(BD Biosciences, San Jose, CA; カタログ番号: 557965)を用いて測定した。簡単に述べると、尿試料またはキットの標準物質100 $\mu$ Lを、キットに含まれているELISA Diluentを50 $\mu$ L含有するウェルに2連で添加した。室温で2時間インキュベートした後、ウェルあたり200 $\mu$ Lの洗浄溶液を用いてウェルを5回洗浄した。各ウェルに、キットに含まれているC5a Working Detector Antibody Solutionを100 $\mu$ Lずつ添加し、室温で1時間インキュベートした。ウェルあたり200 $\mu$ Lの洗浄溶液を用いてウェルを7回洗浄し、ウェルあたり100 $\mu$ LのTMB Substrate Solutionを添加することによって発色させ、暗所中、室温で30分インキュベートした。インキュベーション後に、各ウェルにウェルあたり50 $\mu$ LのStop Solutionを添加することによって反応を停止させ、450nmにおける吸光度を読み取った。

**【0239】****血漿**

血漿試料を以下の通り調製した。血液を、EDTAを含有する10mLのBD(商標)P100 tube(Becton Dickinson)中に収集した。全血を収集後60分以内に冷蔵遠心分離機(4~8に維持されるように設定した)において3000rpmで10分遠心分離した。次いで、血漿を遠心分離後の試料から得た。溶血した試料は廃棄した。

**【0240】**

被験体から収集した血液の血漿画分中のBa、プロトロンビン断片1+2、トロンボモジュリン、vWF、sC5b-9、およびC5aを含めたいくつかの分析物の濃度を、以下に簡単に記載されている通り、市販のキットを使用して測定した。

**【0241】**

Baレベルを、市販のキット(Quidel, San Diego, CA; カタログ番号: A033)を用いて測定した。簡単に述べると、洗浄溶液を用いてアッセイプレートのウェルを3回洗浄した。血漿試料を、キットに含まれている検体希釈剤を用いて1:1000に希釈し、希釈した血漿試料、キット対照物質および標準物質100 $\mu$ Lをウェルに2連で添加した。室温で60分インキュベートした後、ウェルあたり200 $\mu$ Lの洗浄溶液を用いてウェルを5回洗浄した。各ウェルに酵素標識した抗Ba抗体コンジュゲート100 $\mu$ Lを添加し、室温で60分インキュベートした。洗浄液を用いて5回洗浄した後、各ウェルにTMB基質100 $\mu$ Lを添加し、光から保護し、室温で15分インキュベートした。ウェルあたり100 $\mu$ Lの停止液(stop solution)を添加して反応を停止させ、450nmにおける吸光度を読み取った。

**【0242】**

EDTA血漿中のプロトロンビン断片1+2レベルを、Enzygnost F1+2 kit(Siemens Healthcare; カタログ番号: OPBD03)を用いて測定した。簡単に述べると、血漿試料を、試料緩衝液を用いて1:2に希釈し、希釈した試料、または標準物質(既知濃度の組換えヒトプロトロンビン断片1+2を含有する)50 $\mu$ Lをウェルに添加した。37で30分インキュベートした後、ウェルあたり200 $\mu$ Lの洗浄溶液を用いてウェルを3回洗浄した。各ウェルに酵素標識した抗プロト

ンピン断片1+2抗体コンジュゲート100 $\mu$ Lを添加し、37 で15分インキュベートした。さらに3回洗浄した後、各ウェルにクロマゲン(chromagen)基質100 $\mu$ Lを添加し、光から保護し、室温で15分インキュベートした。各ウェルに停止液(stop solution)100 $\mu$ Lを添加することによって反応を停止させ、450nmにおける吸光度を読み取った。

【0243】

EDTA血漿中のトロンボモジュリン(TM)のレベルを、TM ELISA kit (American Diagnostica, Stamford, CT; カタログ番号: 837)を用いて評価した。簡単に述べると、血漿試料を、試料緩衝液を用いて1:4に希釈し、希釈した試料または標準物質(既知濃度の組換えTMを含有する)200 $\mu$ Lをウェルに添加した。室温で60分インキュベートした後、ウェルあたり200 $\mu$ Lの洗浄溶液を用いてアッセイプレートのウェルを4回洗浄した。酵素標識した抗TM抗体の溶液を添加し(ウェルあたり200 $\mu$ L)し、室温で30分インキュベートした。4回洗浄した後、各ウェルに基質200 $\mu$ Lを添加し、ウェルを光から保護し、室温で20分インキュベートした。0.5MのH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、100 $\mu$ Lを用いて反応を停止させ、450nmにおける吸光度を測定した。

10

【0244】

EDTA血漿中のフォン・ヴィルブランド因子(vWF)活性のレベルを、vWFコラーゲン結合性部位に特異的な捕捉用抗体を利用するELISAキット(American Diagnostica; カタログ番号: 885)で決定した。血漿試料およびキット対照物質を、アッセイ希釈剤(assay diluent)を用いて1:20に希釈し、希釈した試料および対照物質100 $\mu$ Lをウェルに2連で添加した。室温で60分インキュベートした後、洗浄溶液を用いてウェルを5回洗浄し、各ウェルに酵素標識した抗vWFコンジュゲート100 $\mu$ Lを添加した。ウェルを室温で15分インキュベートし、洗浄溶液を用いて5回洗浄した。各ウェルにTMB基質(酵素により切断されると検出可能なシグナルを生じる)100 $\mu$ Lを添加した。ウェルを光から保護し、室温で15分インキュベートし、その後、各ウェルにキットに含まれている停止溶液(stop solution)100 $\mu$ Lを添加した。stop solutionの添加後30分以内に450nmにおける吸光度を測定した。

20

【0245】

sC5b-9の循環レベルを、ヒトC5b-9 ELISA set (BD Biosciences, San Diego, CA; カタログ番号: 558315)およびBD optEIA reagent set B (BD Biosciences; カタログ番号: 550534)を用いて決定した。簡単に述べると、抗C5b-9捕捉抗体をキットに含まれているコーティング緩衝液中1:250に希釈し、その100 $\mu$ Lを96 well maxisorp plate (Nunc)のウェルに添加し、4 で終夜インキュベートした。洗浄溶液で3回洗浄した後、キットに含まれている200 $\mu$ Lのassay diluentを用いて室温で1時間にわたってウェルをブロッキングした。洗浄溶液を用いてさらに3回洗浄した後、血漿試料(アッセイ希釈剤(assay diluent)中1:100に希釈)または標準物質(既知濃度の精製sC5b-9を含有する)100 $\mu$ Lを添加し、室温で2時間インキュベートした。洗浄溶液を用いてウェルを3回洗浄し、各ウェルにworking detector(ビオチン標識した抗C5b-9検出用抗体およびストレプトアビジン標識した西洋ワサビペルオキシダーゼを含有し、assay diluent中1:250に希釈したもの)100 $\mu$ Lを添加した。室温で1時間インキュベートした後、洗浄溶液を用いてウェルを7回洗浄し、各ウェルに基質TMB溶液100 $\mu$ Lを添加した。光から保護し、室温で30分、反応物を発色させた。各ウェルに停止溶液(stop solution)50 $\mu$ Lを添加した後、450nmにおける吸光度を決定した。

30

40

【0246】

C5aの循環レベルを、BD optEIA reagent set B (BD B

50

iosciences; カタログ番号: 550534) を利用したサンドイッチ ELISA を用いて決定した。全てのインキュベーションを futhan (BD Biosciences; カタログ番号: 550236) の存在下で実施した。簡単に述べると、抗 C5a 捕捉抗体をキットに含まれているコーティング緩衝液中  $2 \mu\text{g}/\text{mL}$  に希釈し、その  $100 \mu\text{L}$  を 96 well maxisorp plate (Nunc) のウェルに添加し、その後、4 で終夜インキュベートした。洗浄溶液で 3 回洗浄した後、 $200 \mu\text{L}$  のアッセイ希釈剤 (assay diluent) を用いて室温で 1 時間にわたってウェルをブロッキングした。洗浄溶液を用いてさらに 3 回洗浄した後、血漿試料 (assay diluent 中 1:5 に希釈したもの) または標準物質 (既知濃度の C5a を含有する)  $50 \mu\text{L}$  を添加し、室温で 1 時間インキュベートした。洗浄溶液を用いてウェルを 4 回

10

洗浄し、各ウェルに working detector (ビオチン標識した抗 C5a 検出用抗体およびストレプトアビジン標識した西洋ワサビペルオキシダーゼを含有し、assay diluent 中 1:250 に希釈したもの)  $100 \mu\text{L}$  を添加した。室温で 1 時間インキュベートした後、洗浄溶液を用いてウェルを 7 回洗浄し、各ウェルに基質 TMB 溶液  $100 \mu\text{L}$  を添加した。光から保護し、室温で 30 分、反応物を発色させた。各ウェルに停止溶液 (stop solution)  $50 \mu\text{L}$  を添加した後、 $450 \text{nm}$  における吸光度を測定した。

#### 【0247】

##### 血清

血清試料を以下の通り処理した。血液を  $10 \text{mL}$  のバキュテナー血清分離 (SST) チューブ中に収集した。チューブを 5 回反転させ、室温で少なくとも 30 分、2 時間以下にわたって血液を凝固させた。チューブを、ブレーキをオンにし、 $1800 \text{rcf}$  で遠心分離に供した。溶血した試料は廃棄した。

20

#### 【0248】

血清中の種々の分析物の定量的決定を、ヒト Cytometric Bead Array (CBA) Flex Set Kits (CBA Flex Set; Becton Dickinson Biosciences, San Diego, CA) を使用して行い、フローサイトメーター (FACS LSR II, Becton Dickinson) により、製造者の指示に従って取得した。Flex Set 捕捉用ビーズは、別個の蛍光強度を有し、可溶性タンパク質に特異的な捕捉用抗体でコーティングされた単一のビーズ集団である。各ビーズ集団は BD CBA Flex Set システムの他のビーズに対するその位置を示す英数字の位置名を与られている。アッセイにおいて位置が異なるビーズを組み合わせて多重アッセイを創出することができる。Flex Set assay では、捕捉用ビーズ、PE とコンジュゲートした検出用試薬、および標準物質または試験試料と一緒にインキュベートしてサンドイッチ複合体を形成させる。

30

#### 【0249】

簡単に述べると、各分析物に対する標準物質を混合し、アッセイ希釈剤 (assay diluent) を使用して段階希釈を実施した。各分析物に対する捕捉用ビーズ (Capture bead diluent) を調製し、血清/血漿用の捕捉用ビーズ希釈剤を使用してプールした。血清試料を適切に希釈し、標準物質と共に、混合した捕捉用ビーズと一緒に、総体積  $100 \mu\text{L}$  中、室温で 1 時間インキュベートした。全ての分析物について検出用フィコエリトリン (PE) 試薬を混合し、チューブ ( $50 \mu\text{L}$ ) に添加した。試料を暗所中、室温で 2 時間インキュベートした後に洗浄緩衝液を用いて洗浄し、洗浄緩衝液中のペレットの再構成後にフローサイトメーターによって取得した。

40

#### 【0250】

以下のビーズセットを、キットに含まれているアッセイ希釈剤 (assay diluent) 中 1:4 に希釈した血清試料と一緒にインキュベートした (指定されたバイオマーカータンパク質はビーズとコンジュゲートした捕捉抗体を示す): IFN- (Bead E7; カタログ番号: 558283); IL-12 p70 (Bead E5; カタログ番号: 558283); IL-1 (Bead B4; カタログ番号: 558279

50

) ; I L - 6 ( B e a d A 7 ; カタログ番号 : 5 5 8 2 7 6 ) ; I L - 8 ( B e a d A 9 ; カタログ番号 : 5 5 8 2 7 7 ) ; C X C L - 9 ( B e a d E 8 ; カタログ番号 : 5 5 8 2 8 6 ) ; C X C L - 1 0 ( B e a d B 5 ; カタログ番号 : 5 5 8 2 8 0 ) ; M C P - 1 ( B e a d D 8 ; カタログ番号 : 5 5 8 2 8 7 ) ; V E G F ( B e a d B 8 ; カタログ番号 : 5 5 8 3 3 6 ) ; および s C D 4 0 L ( B e a d C 7 ; カタログ番号 : 5 6 0 3 0 5 ) 。 以下のビーズセットを、キットに含まれている希釈剤中 1 : 5 0 に希釈した血清試料と一緒にインキュベートした : I C A M - 1 ( B e a d A 4 ; カタログ番号 : 5 6 0 2 6 9 ) ; V C A M - 1 ( B e a d D 6 ; カタログ番号 : 5 6 0 4 2 7 ) ; T N F R 1 ( B e a d C 4 ; カタログ番号 : 5 6 0 1 5 6 ) ; E - セレクチン ( B e a d D 9 ; カタログ番号 : 5 6 0 4 1 9 ) ; P - セレクチン ( B e a d D 7 ; カタログ番号 : 5 6 0 4 2 6 ) ; および C C L 5 ( B e a d D 4 ; カタログ番号 : 5 5 8 3 2 4 ) 。

【 0 2 5 1 】

( 実施例 2 )

結果

進行している補体活性化のマーカー

以下の表 2 に要約されている通り、大多数の a H U S 患者では、健康な志願者由来の生体液の試料中の濃度と比較して補体成分 B a および s C 5 b 9 の血漿濃度ならびに C 5 a および s C 5 b - 9 の尿濃度が上昇していた。図 1 も参照されたい。

【 0 2 5 2 】

【 表 2 】

表 2.

aHUS バイオマーカータンパク質	ベースラインの時点で上昇していた n/N(%)	P 値
血漿 Ba	35/35 (100.0)	<0.0001
血漿 sC5b-9	37/38 (97.4)	<0.0001
尿 C5a	26/29 (89.7)	0.0007
尿 sC5b-9	23/27 (85.2)	0.0025

\* 「N」は、所与のバイオマーカーについて評価された患者の総数を示し、「n」はバイオマーカータンパク質のレベルが上昇していた、「N」患者のうちの数を示す。

【 0 2 5 3 】

これらの結果により、a H U S 患者において有意な全身性副経路補体活性化が進行していることが示される。

【 0 2 5 4 】

エクリズマブを用いた処置後、これらの a H U S バイオマーカーの平均レベル ( 濃度 ) は低下した ( 図 1 A ~ C ) 。尿中 C 5 a および s C 5 b - 9 の平均レベルは処置開始後 1 週間 ~ 2 . 5 週間間に有意に低下し、そのままになる。尿中 C 5 a レベルの平均百分率低下は処置後第 3 週の時点で 4 0 % を超え、第 6 週までに 7 0 % を超えた ( 図 1 D ) 。尿中 s C 5 b - 9 レベルは第 3 週までに 6 0 % 超低下した ( 図 1 E ) 。これらのマーカーは最終的に正常化した。血漿 B a レベルもエクリズマブを用いた処置の約 4 ~ 6 週間後に有意に低下し ( p = 0 . 0 0 5 3 ) 、これにより、時間と共にエクリズマブにより補体の古典経路の開始または増幅が低下することが示唆された ( 図 1 C ) 。しかし、血漿 B a レベルの平均百分率低下は第 6 週の時点では約 1 0 % であり、第 1 2 週までに 3 0 % を超えた ( 図 1 F ) 。

## 【 0 2 5 5 】

補体バイオマーカータンパク質レベルの経時的な正常化を経験した、処置を受けた a H U S 患者の百分率が図 2 A ~ C に示されている。例えば、図 2 B に示されている通り、処置を受けた a H U S 患者の 5 0 % がエクリズマブを用いた処置開始後 2 . 5 週までに尿中 s C 5 b - 9 のレベルが正常化したことを示している。処置開始後 1 7 週までに、処置を受けた a H U S 患者の 7 9 % が s C 5 b - 9 レベルの正常化を示した。しかし、B a レベルは大部分の患者で正常化しない ( 図 1 C および図 2 C )。これらのデータにより、エクリズマブ療法を用いてさえも、一部の患者では補体活性化が低レベルで継続することが示される。

## 【 0 2 5 6 】

血小板および止血活性化のマーカー

以下の表 3 に要約されている通り、大多数の a H U S 患者では、健康な志願者由来の生体液の試料中の濃度と比較して s C D 4 0 L の血清濃度およびプロトロンビン断片 1 + 2 および D - ダイマーの血漿レベルが有意に上昇していた。図 3 A ~ B も参照されたい。

## 【 0 2 5 7 】

## 【表 3】

表 3.

aHUS バイオマーカータンパク質	ベースラインの時点で上昇していた n/N(%)	P 値
sCD40L	36/38 (94.7)	<0.0001
プロトロンビン断片 F1+2	36/38 (94.7)	<0.0001
D-ダイマー	34/36 (94.4)	=0.0002

\* 「N」は、所与のバイオマーカーについて評価された患者の総数を示し、「n」はバイオマーカータンパク質のレベルが上昇していた、「N」患者のうちの数を示す。

## 【 0 2 5 8 】

s C D 4 0 L の放出は、一般に、血小板代謝および活性に関連する。プロトロンビン断片 F 1 + 2 はプロトロンビンのトロンビンへの変換の間に生成し、D - ダイマーは、線維素溶解を示すフィブリン分解生成物である。

## 【 0 2 5 9 】

エクリズマブを用いた処置後、これらの a H U S バイオマーカーの平均レベル ( 濃度 ) は低下した。F 1 + 2 および D - ダイマーの血漿レベルの平均レベルは処置の開始後 1 週間 ~ 2 . 5 週間間に有意に低下し ( それぞれ  $p = 0 . 0 0 7 8$  および  $0 . 0 0 8 3$  )、そのままになる。図 3 C に示されている通り、F 1 + 2 の平均百分率低下は第 3 週までに約 1 5 % になり、第 1 2 週までに 5 0 % を超えた。d - ダイマーレベルの平均百分率低下は第 6 週の時点で約 4 0 % であったが、第 1 2 週までに 6 0 % を超えた。これらのデータにより、エクリズマブ療法には凝固および線維素溶解経路に対する即効性があることが示される。図 4 A ~ B に示されている通り、処置を受けた a H U S 患者の 3 2 % が処置の開始後第 2 6 週までに F 1 + 2 レベルの正常化を示し、患者の 4 6 % で D - ダイマーのレベルが正常化した。対照的に、s C D 4 0 L レベルは試験全体を通して上昇したままであった。

## 【 0 2 6 0 】

内皮細胞損傷および / または活性化のマーカー

以下の表 4 に要約されている通り、a H U S 患者では、健康な志願者由来の生体液の試

10

20

30

40

50

料中の濃度と比較してトロンボモジュリンおよびvWFの血漿濃度ならびにVCAM-1の血清濃度が有意に上昇していた。図5A～Cも参照されたい。

【0261】

【表4】

表4.

aHUS バイオマーカータンパク質	ベースラインの時点で上昇していた n/N(%)	P 値
トロンボモジュリン	33/34 (97.1)	<0.0001
VCAM-1	36/38 (94.7)	<0.0001
フォン・ウィルブランド因子抗原	15/38 (39.5)	<0.02

\* 「N」は、所与のバイオマーカーについて評価された患者の総数を示し、「n」はバイオマーカータンパク質のレベルが上昇していた、「N」患者のうちの数を示す。n.s.は有意でないことを示す。

【0262】

aHUS患者の生体液中のトロンボモジュリンおよびVCAM-1の濃度が高いことは、有意な内皮細胞活性化を示すものである。トロンボモジュリンはC3aに応答して放出され、これにより、aHUS患者において補体活性化が継続していることがさらに強調される。vWF濃度も有意に上昇する。vWFには血小板接着および凝固を含めたいくつもの生理的役割があり、vWFも同様に内皮の損傷および活性化のマーカーである。

【0263】

エクリズマブを用いた処置後、これらのaHUSバイオマーカーの平均レベル（濃度）は低下した（図5A～C）。トロンボモジュリンおよびVCAM-1の平均レベルは処置の開始後第17週までにベースラインから有意に低下した（それぞれ $p = 0.0007$ および $< 0.0001$ ）（図6Cおよび図6Dを参照されたい）。第26週までに、VCAM-1およびvWFのレベルも低下した。しかし、vWFは処置を受けたaHUS患者の約70%では処置の開始後第17週までに正常化した（図6B）、トロンボモジュリンおよびVCAM-1レベルは上昇したままであった。興味深いことに、トロンボモジュリンレベルが正常化した患者の10%のうち（図6A）、トロンボモジュリンレベルとvWFレベルの両方が正常化した患者は1名のみであった。これらのデータにより、エクリズマブ療法には、内皮細胞損傷および活性化を修正する急速かつ頑健な正の効果があることが示される。

【0264】

炎症のマーカー

表5（下記）に、血漿および/または血清において検出された一連の分析物を示し、また、それぞれの分析物が補体阻害剤療法を用いた処置の前に上昇していたaHUS患者の百分率を示す。

【0265】

## 【表 5】

表 5.

aHUS バイオマーカータンパク質	ベースラインの時点で上昇していた n/N(%)	P 値
血清 CXCL10	23/38 (60.5)	P<0.0001
血清 CXCL9	33/38 (86.8)	P<0.0001
IL-18	19/38 (50.0)	P<0.0001
MCP-1	34/38 (89.5)	P<0.0001
TNFR1	38/38 (100.0)	P<0.0001
VEGF	25/38 (65.8)	P<0.0001
IL-6	21/34 (61.8)	P=0.0019
CCL5	4/38 (10.5)	P=0.0045
IFN- $\gamma$	5/34 (14.7)	P=0.0353
IL-8	22/38 (57.9)	n.s. (P=0.0640)
ICAM-1	2/34 (5.9)	n.s.
IL-1 $\beta$	1/38 (2.6)	n.s.
IL-12p70	2/34 (5.9)	n.s.

\* 「N」は、所与のバイオマーカーについて評価された患者の総数を示し、「n」はバイオマーカータンパク質のレベルが上昇していた、「N」患者のうちの数を示す。

\*\* 「血清」と記された 2 種の分析物の濃度は血清において測定したものである。表中の他の全ての分析物の濃度は血漿において測定したものである。n.s.は有意でないことを示す。

## 【 0 2 6 6 】

エクリズマブを用いた療法の前に、aHUS 患者では、例えば、CXCL-10、CXCL-9、IL-18、TNFR1、MCP-1、VEGF、IL-6、および IL-8 を含めた循環炎症性サイトカインおよびケモカインのレベルが上昇していた。しかし、処置開始後に最も早く有意に低下した炎症性マーカーは TNFR1 であった（第 6 週までに、 $p = 0.0012$ ）（図 7A）。その後の全ての来診時に TNFR1 の平均濃度はベースラインよりも有意に低いままであったが（ $P < 0.0001$ ）、正常化したのは aHUS 患者のたった 6% であった（図 7B）。同様に、CXCL10 の平均レベルは第 26 週までに有意に低下したが（ $p = 0.0055$ ）、全ての aHUS 患者で正常化する訳ではなかった（患者の 31% で正常化しなかった）。第 26 週までに、IFN- の平均レベルは患者のおよそ 50% で正常化した。血清 IL-8（ $p = 0.01$ ）、CXCL-9（ $p = 0.01$ ）、IL-18（ $p < 0.0001$ ）および VEGF（ $p < 0.0001$ ）の平均レベルは大多数の aHUS 患者において正常対照と比較して上昇したままであり

10

20

30

40

50

、ベースラインから有意に異ならなかった。血清IL-6は第26週の時点でベースラインから有意に低下し( $p = 0.04$ )、第26週の時点で正常対照と比較して上昇したままであった。

【0267】

対照的に、CCL-5の平均レベルは処置の開始後第17週までに有意に上昇し、その後上昇していた(第12週~第17週および第26週の時点でそれぞれ $p = 0.0072$ および $0.0021$ )。マウスにおいて、血管傷害にตอบสนองしてCCL5が上方制御され、これにより、血管創傷治癒応答の一部として選択的なT細胞浸潤が促進される。例えば、Rookmaakerら(2007年)Am J Physiol Renal Physiol 293巻(2号):F624~630頁を参照されたい。これらのデータにより、エクリズマブ療法には、多くのaHUS患者における炎症に対する急速かつ頑健な正の効果があるが、これらの患者には処置中であっても低レベルの炎症が存在し得ることが示される。

10

【0268】

腎尿細管および糸球体の傷害のマーカー

表6A(下記)に、患者から収集した尿において検出された一連の分析物を示し、また、それぞれの分析物が補体阻害剤療法を用いた処置の前に上昇していたaHUS患者の百分率を示す。

【0269】

【表6A】

表6A.

20

バイオマーカー	ベースラインの時点で上昇していた n/N(%)	P値
ペーター-2ミクログロブリン( $\beta 2M$ )	20/28 (71.4)	$P < 0.0001$
クラスタリン	24/29 (82.8)	$P < 0.0001$
シスタチンC	18/29 (62.1)	$P = 0.0002$
TIMP-1	22/29 (75.9)	$P = 0.0003$
FABP-1	22/29 (75.9)	$P = 0.0130$
NGAL	5/29 (17.2)	$P = 0.0151$
NAG	3/23 (13.0)	$P = 0.0413$
CXCL10	2/29 (6.9)	n.s.
CXCL9	2/29 (6.9)	n.s.
KIM-1	2/29 (6.9)	n.s.

30

40

\* 「N」は、所与のバイオマーカーについて評価された患者の総数を示し、「n」はバイオマーカータンパク質のレベルが上昇していた、「N」患者のうちの数を示す。n.s.は有意でないことを示す。

【0270】

エクリズマブを用いた処置前に、 $\beta 2M$ 、クラスタリン、シスタチンC、およびNAGを含めた、通常は腎臓により濾過される低分子量分子がaHUS患者の尿では上昇していた。TIMP-1、NGALおよびL-FABPなどの、傷害にตอบสนองして腎尿細管上皮細胞によって産生される分子も上昇していた。しかし、エクリズマブを用いた処置後には、CysC( $p = 0.0012$ )(図8A)、クラスタリン( $p = 0.0446$ )、および

50

T I M P - 1 (  $p = 0 . 0 3 5 3$  ) は処置開始後 1 週間 ~ 2 . 5 週間までに有意に低下し、試験の過程全体を通して有意に低下したままであった。N G A L (  $p = 0 . 0 0 0 3$  ) ( 図 8 C )、L - F A B P (  $p = 0 . 0 3 6 6$  )、および N A G (  $p = 0 . 0 3 6 9$  ) は処置開始後 4 週間 ~ 6 週間までにベースラインから有意に低下し、その後そのままであった。2 M は 1 2 週間 ~ 1 7 週間の時点で有意に低下し (  $p = 0 . 0 0 0 8$  )、それ以降低下していた ( 図 8 B )。第 2 6 週までに、処置を受けた a H U S 患者において全ての分析物の平均尿中レベルが正常化した。

【 0 2 7 1 】

これらのデータにより、エクリズマブ療法には、多くの a H U S 患者によって経験された腎尿細管および糸球体の傷害を直す急速、強力かつ長続きする正の効果があることが示される。

【 0 2 7 2 】

概要

以下の表に、a H U S 患者においてエクリズマブを用いた処置前には上昇しているがエクリズマブを用いた処置後に有意に低下する例示的な a H U S バイオマーカの要約を提示する ( しかし網羅的な一覧ではない )。表 ( 表 6 B ) には、a H U S バイオマーカの有意な低下が起こった、エクリズマブを用いた処置を開始してからの平均時間も提示する。

【 0 2 7 3 】

【 表 6 B 】

表 6B.

<u>バイオマーカー</u>	<u>第 1 週 ~ 第 2.5 週</u>	<u>第 4 週 ~ 第 6 週</u>	<u>第 12 週 ~ 第 17 週</u>	<u>第 26 週</u>
U-C5a	X			
U-C5b-9	X			
F1+2	X			
D-ダイマー	X			
U-Cys-C	X			
U-TIMP-1	X			
血漿 Ba		X		
TNFR1		X		
U-CLU		X		
U-NGAL		X		
トロンボモジュリン			X	
VCAM			X	
L-FABP			X	
B2M			X	
CXCL10				X
IFN- $\gamma$				X

【 0 2 7 4 】

透析を受けた a H U S 患者および / または腎移植を受けた a H U S 患者におけるベースラインの a H U S マーカーレベル

【 0 2 7 5 】

エクリズマブを用いた療法の前に透析を受けた a H U S 患者の血漿および尿の補体マーカー、炎症マーカー、および腎傷害マーカーの濃度も評価した。表 7 ( 下記 ) に示されている通り、反復透析 ( 例えば、処置前の 6 ヶ月以内に 2 回またはそれ超 ) を受けた a H U S 患者では、試験に登録される前 ( 処置前 ) に反復透析を受けていない a H U S 患者と比較して、血清 T N F R 1、血漿 B a、C 5 b 9、プロトロンビン断片 1 + 2、2 M、クラスタリン、s C 5 b 9、T I M P - 1、N G A L、C y s C、および C 5 a の平均濃度が有意に上昇していた。図 9 A ~ E も参照されたい。

【 0 2 7 6 】

【 表 7 】

表 7.

分析物	反復透析で高値
TNFR1(血清)	p=<0.0001
$\beta$ 2m(尿中)	p=0.0009
クラスタリン(尿中)	p=0.0020
Ba(血漿)	p= 0.0021
C5b-9(尿中)	p= 0.0042
TIMP-1(尿中)	p= 0.0070
NGAL(尿中)	p= 0.0110
CysC(尿中)	p= 0.020
F1+2(血漿)	p=0.0191
C5b-9(血漿)	p=0.0476
C5a(尿中)	p=0.0477

10

20

30

\*\* 「血清」と記された分析物の濃度は血清において測定したものである。「尿中」と示されている分析物の濃度は尿において測定したものであり、「血漿」と記された分析物の濃度は患者から得た血漿において測定したものである。

【 0 2 7 7 】

さらに、エクリズマブを用いた処置前に腎移植を受けた a H U S 患者では、ベースラインの時点で尿中 C 5 b - 9 および尿中 F A B P - 1 が腎移植を受けていない患者と比較して低かった。

【 0 2 7 8 】

40

ベースラインの a H U S マーカーレベルと T M A マーカーとの比較

一部の a H U S 患者におけるいくつかの a H U S 関連バイオマーカーのレベルは、血小板数の減少、LDHの上昇、およびハプトグロビンレベルの上昇などの、血栓性微小血管障害 ( T M A ) マーカーの異常と相関した。例えば、ベースラインの時点で血小板数が減少している ( 血液  $\mu$  L あたり < 1 5 0 , 0 0 0 個 ) a H U S 患者では、尿中シスタチン C ( P = 0 . 0 2 7 6 ) および尿中クラスタリン ( P = 0 . 0 4 0 1 ) のレベルの上昇が示された。図 1 4 A ~ B を参照されたい。LDHレベルが上昇している a H U S 患者では、V C A M - 1 ( P = 0 . 0 2 2 6 ) ( 図 1 4 C )、d - ダイマー ( P = 0 . 0 3 6 9 ) ( 図 1 4 D )、I L - 1 8、トロンボモジュリン、および T N F R 1 のレベルの上昇が示された ( 以下を参照されたい )。I L - 1 8 レベルが上昇している a H U S 患者では、多く

50

の場合ハプトグロビンレベルの上昇が示された。

【0279】

血漿療法を受けた a H U S 患者におけるベースラインの a H U S マーカーレベル  
エクリズマブを用いた処置前に反復血漿療法を用いた a H U S 患者では、ベースライン  
の時点でより高い尿中シスタチン C の平均レベルが示された ( 図 1 5 を参照されたい ) 。

【0280】

バイオマーカーレベルと臨床的パラメータとの間の相関

【0281】

血小板

C C L 5 のレベルの上昇はベースラインの時点で血小板数がより多いことと正に相関し  
た (  $p = < 0 . 0 0 0 1$  ;  $c c$  ( 相関係数 ) =  $0 . 8 1 0 6$  ) 。 s C D 4 0 L のレベルの  
上昇もベースラインの時点で血小板数がより多いことと相関した (  $p = < 0 . 0 0 1$  ;  $c$   
 $c = 0 . 6 3 1 3$  ) 。

10

【0282】

さらに、エクリズマブによる処置後に B a レベルが正常化した患者では、処置後に B a  
レベルが上昇したままである患者よりも有意に高い血小板の増加が示される。図 1 3 を参  
照されたい。

【0283】

推定糸球体濾過速度 ( e G F R ) 、 L D H 、 および尿中補体

血漿 B a レベルの上昇と e G F R 低下との間にも相関が認められた (  $p < 0 . 0 0 0 1$   
;  $c c = - 0 . 7 2 1 9$  ) 。 処置前の a H U S 患者の血清中の T N F R 1 の濃度の上昇は  
、乳酸デヒドロゲナーゼ ( L D H ) レベルと相関したが (  $p = 0 . 0 2 7$  ;  $c c = 0 . 3$   
 $5 8 6$  ) 、低 e G F R とより有意に相関した (  $p < 0 . 0 0 0 1$  ;  $c c = - 0 . 6 1 3 4$   
 ) 。 さらに、尿中補体成分 C 5 a および s C 5 b - 9 ならびに腎傷害マーカー ( 2 M 、  
クラスタリン、シスタチン C 、 N G A L 、 および T I M P - 1 ) が高レベルであることは  
、低 e G F R と中程度に相関した (  $p = 0 . 0 0 0 2 \sim 0 . 0 2 4 2$  ;  $c c = - 0 . 4 2$   
 $8 6 \sim - 0 . 6 7 1 4$  ) 。

20

【0284】

尿中 s C 5 b - 9 、クラスタリン、および T I M P - 1 のレベルの上昇は、タンパク尿  
と適度に ( modestly ) 相関し (  $p = 0 . 0 0 8 6 \sim 0 . 0 2 8 4$  ;  $c c = 0 . 4 0 \sim 0 .$   
 $4 7 8 8$  ) 、血漿 B a (  $p = 0 . 0 0 1 7$  ;  $c c = 0 . 5 1 7$  ) 、 2 M 、クラスタリン  
、尿中 s C 5 b - 9 、およびシスタチン C のレベルの上昇は、エクリズマブを用いた処置  
前の患者の尿中のクレアチニンの上昇と相関した (  $p = 0 . 0 4 4 0 \sim 0 . 0 0 1 8$  ;  $c$   
 $c = 0 . 3 9 8 2 \sim 0 . 6 4 5 7$  ) 。

30

【0285】

a H U S の最初の臨床症状

最初の a H U S 発現を経験している患者とベースライン ( エクリズマブによる処置の前  
 ) の時点で血漿 D - ダイマーレベルまたは尿中 F A B P - 1 が有意に上昇していることと  
の間の相関も観察された ( 表 8 参照 ) 。

40

【0286】

【表 8】

表 8.

バイオマーカー	上昇していたバイオマーカー(n%)		p 値
	単一の aHUS 発現	複数の発現	
血漿 D-ダイマー ( $\mu\text{g/L}$ )	27 (100.0)	7 (77.8)	0.0571
尿 FABP-1(クレアチニンに 対して正規化した ng/mg)	19 (90.5)	3 (37.5)	0.0079

50

## 【0287】

## くすぶり型疾患

本試験に参加した a H U S 患者のうち 6 名は登録時に血液学的パラメータ（ハプトグロビン、LDH、および血小板レベルを含む）が正常化していた。しかし、これらの患者では、安定な臨床像にもかかわらず慢性炎症および補体活性化の証拠が依然として示されていた。これらの患者の血清 TNF R 1 のレベルは有意に上昇しており（図 10 A に示されている通り）、同様にトロンボモジュリン、Ba（図 10 B）、プロトロンビン断片 1 + 2（図 10 E）、VCAM - 1（図 10 C）、および d - ダイマー（図 10 D）のレベルも有意に上昇していた。同様に、ベースラインの時点で血小板レベルが正常（ $\mu\text{L}$ あたり血小板  $> 150 \times 10^9$  個）であった患者で依然として大多数のバイオマーカー（例えば、Ba（図 10 F）、VCAM - 1（図 10 G）、D - ダイマー（図 10 H）、および F 1 + 2（図 10 I）のレベルの上昇が示されている。総合すると、これらの所見により、処置後に臨床的寛解にあるとみなされる a H U S 患者のサブセットでさえも、低レベルの補体活性、凝固障害、および炎症が継続している可能性があることが示される。

10

## 【0288】

## バイオマーカーレベルと臨床転帰との間の相関

## 【0289】

## 血液学的奏効

完全な血液学的奏効を有する患者では、TNF R 1、尿中クラスタリン、および尿中補体レベル（C 5 a および C 5 b - 9）のより劇的な低下が示されている（図 11）。例えば、これらの a H U S バイオマーカータンパク質の濃度の低下が示された患者の 86% で、エクリズマブを用いた処置の開始後第 12 週～第 17 週までに完全な血液学的奏効（血小板および LDH の正常化）が達成された。さらに、これらの患者では、完全な血液学的奏効が実現されなかった患者よりも大きな血清 TNF R 1、尿中クラスタリン、尿中 C 5 a、および尿中 C 5 b - 9 の平均百分率低下が示された。

20

## 【0290】

TNF R 1 の低下の迅速性（例えば、第 17 週またはその後と比べて第 12 週までに）が完全な血液学的奏効（ $p = 0.0008$ ）と相関することも観察された。D - ダイマーの正常化の速度は完全な血液学的奏効と有意に関連した（ $p = 0.0109$ ； $cc = 6.26$ ）。

30

## 【0291】

さらに、データにより、第 12 週～第 17 週（ $p = 0.0022$ ）および第 26 週（ $p = 0.0110$ ）における血小板数の有意により大きな増加が、血漿 Ba 濃度が正常化した（それぞれ第 12 週～第 17 週および第 26 週）、エクリズマブによる処置を受けた a H U S 患者で実現されたことが示される。血小板の改善は、第 4 週～第 6 週（ $P = 0.0148$ ； $cc = -0.4087$ ）および第 12 週～第 17 週（ $P = 0.0073$ ； $cc = -0.4396$ ）の時点での平均 F 1 + 2 レベルの有意な低下とも相関し、また、第 12 週～第 17 週の時点での d - ダイマーレベルの低下とより適度に相関した（ $P = 0.0470$ ； $cc = -0.3381$ ）。それにもかかわらず、ある患者のサブセットでは、第 4 週～第 26 週の時点で血小板数のより大きな増加が実証されたにもかかわらず、プロトロンビン断片 1 + 2、トロンボモジュリン、尿中 2 M、クラスタリン、TIMP - 1、およびシスタチン C のレベルの有意な上昇が継続して示され、これにより、基礎疾患活性が進行していたことが示唆された。

40

## 【0292】

本試験から収集されたデータを解析することにより、他のバイオマーカータンパク質濃度の変化と血小板の回復との間の相関も明らかになった。例えば、CCL 5、MCP - 1、および sCD 40L の濃度は、以下の表 9 に示されている通り、エクリズマブによる処置を受けた患者における血小板数の増加と正に相関した。

## 【0293】

【表 9】

表 9.

エクリズマブを用いた処置の開始後の週	バイオマーカー	P 値	相関係数
1-2.5	CCL-5	p<0.0001	0.7419
	sCD40L	P=0.0141	0.3950
	VEGF	P=0.0014	0.5002
4-6	CCL-5	p<0.0001	0.7743
	sCD40L	p<0.0001	0.6818
	MCP-1	P=0.0114	0.4169
12-17	CCL5	P=0.0003	0.5656
26	CCL-5	p<0.0001	0.7845
	sCD40L	P=0.0012	0.5398

10

20

## 【0294】

血栓性微小血管障害 (thrombomicroangiopathy) (TMA) 血漿 Ba レベルが大きく低下した、エクリズマブによる処置を受けた aHUS 患者では、完全 TMA 奏効 (例えば、血液学的パラメータ (例えば、血小板数および LDH レベル) の正常化および腎機能の保護) が実現される頻度が高かった。例えば、患者の 72.7% で第 12 週 ~ 第 17 週までに完全 TMA 奏効が達成され、患者の 85.29% で第 26 週までに完全 TMA 奏効が実現された。図 12 に示されている通り、これらの患者では、完全 TMA 奏効が実現されなかった患者よりも大きな血漿 Ba 濃度の平均百分率低下が示された (それぞれ  $p = 0.0018$  および  $p = 0.006$ )。

30

## 【0295】

## 処置後 eGFR

ある特定のバイオマーカーの低下および / または正常化と eGFR の改善との間の関係も観察された。例えば、eGFR の有意に大きな改善 (表 10) (例えば、eGFR  $15 \text{ mL} / \text{分} / 1.73 \text{ m}^2$  が少なくとも 4 週間空けて得られる少なくとも 2 回の連続した測定で維持されること) が、MCP-1、IL-6、および IFN- $\gamma$  が正常化した患者 (第 4 週 ~ 第 6 週の時点で)、VCAM-1、CXCL10、CXCL9、および Ba が正常化した患者 (第 12 週 ~ 第 17 週の時点で)、および Ba、尿中 2M、尿中 CysC、vWF、D-ダイマー、クラスタリン、CXCL10、CXCL9、尿中 FABP-1、およびその他が正常化した患者 (第 26 週の時点で) の間で観察された (表 10)。図 16 も参照されたい。

40

## 【0296】

## 【表 10】

表 10.

エクリズマブを用いた処置の開始後の週	正常化したバイオマーカー	p 値
1-2.5	*	*
4-6	MCP-1 IL-6 VCAM-1	0.0002 0.0251 0.0166
12-17	VCAM-1 CXCL-10 Ba CXCL-9	0.0003 0.0071 0.0299 0.0441
26	VCAM-1 シスタチン C Ba U-β2m CXCL9 CXCL10 vWF D-ダイマー L-FABP クラスタリン F1+2	<0.0001 <0.0001 0.0002 0.0013 0.0027 0.0172 0.0052 0.0224 0.0230 0.0300 0.0460

10

20

30

## 【0297】

(実施例3)

選択された a H U S バイオマーカータンパク質の a H U S 患者におけるベースラインレベル

## 【0298】

a H U S 患者において、血漿交換 / 血漿注入の使用、または血小板数、H p もしくは L D H の検査値が正常であることにかかわらず、エクリズマブによる処置の前のベースラインの時点で有意な補体活性化、血管の炎症 / 損傷、および器官傷害の実質的な証拠が観察された。表 1 1 に記載されているデータによって証明される通り、補体活性、血管の炎症、内皮活性化および損傷、凝固、ならびに腎傷害の a H U S バイオマーカーの濃度は、a H U S 患者において健康な被験体と比較して有意に上昇していた。

40

## 【0299】

【表 11 - 1】

表 11.

疾患プロセス	バイオマーカー (NHV 範囲;単位)	BL におけるレベル の 中央値[範囲] (NHV に対する P 値**)	BL において 上昇していた n/N(%)	BL における NHV に 対する増加倍率
CAP 活性化	血漿 Ba <sub>4</sub> (388.0~ 588.0ng/mL)	2676.4 [935.0 - 3668.0] (<0.0001)	35/35 (100)	5.53
終末補体 活性化	U-C5a(0.0~0.7 ng/mg U-creat)	9.00 [0.3 - 76.6] (0.0007)	26/29 (89.7)	45
	U-sC5b-9(0.0~0.6 ng/mg U-creat)	30.50 [0.2 - 665.7] (0.0025)	23/27 (85.2)	305
炎症	sTNFR1(407.3~ 1391.3 pg/mL)	17616.85 [4008.5 - 54158.2] (<0.0001)	38/38 (100)	18.71
内皮活性化	sVCAM-1(159.2~ 444.7 ng/mL)	659.75 [375.4 - 1865.5] (<0.0001)	36/38 (94.7)	1.99
内皮損傷	TM(2.0~3.6 ng/mL)	10 [3.4 - 24.1] (<0.0001)	33/34 (97.1)	3.64
凝固	F1+2(82.9~305.5 pmol/L)	1017.55 [217.7 - 5774.0] (<0.0001)	36/38 (94.7)	5.46
	D-ダイマー(157.0~ 395.9 μg/L)	2735 [330.0 - 44100.0] (0.0002)	34/36 (94.4)	9.84
腎傷害	U-クラスタリン(5.7~ 437.1ng/mg U-creat)	1232.30 [129.9 - 6091.2] (<0.0001)	24/29 (82.8)	8.62
	U-TIMP-1 (0.0~5.4 ng/mg U- creat)	23.8 [1.4 - 230.4] (0.0003)	22/29 (75.9)	39.67
	U-L-FABP-1 (0.0~16.9 ng/mg U- creat)	58.00 [3.7 - 1309.8] (0.0130)	22/29 (75.9)	48.33
	U-β2m (0.0~2.7 μg/mg U- creat)	18.4 [0.4 - 127.7] (<0.0001)	20/28 (71.4)	46
	U-シスタチン-C (0.3~301.3 ng/mg)	1256.9 [14.3 - 7189.6] (0.0001)	18/26 (69.2)	23.85

10

20

30

40

【表 1 1 - 2】

疾患プロセス	バイオマーカー (NHV 範囲;単位)	BL におけるレベル の 中央値[範囲] (NHV に対する P 値**)	BL において 上昇していた n/N(%)	BL における NHV に 対する増加倍率
	U-creat)			

NHV は、表中に列挙されている所与の aHUS バイオマーカータンパク質についての正常なヒト値または濃度を意味する。

「creat」はクレアチンを意味し、その濃度を表中に列挙されているある特定のバイオマーカー濃度を正規化するために使用する。

CAPとは、補体の副経路を指す(上記を参照されたい)。

「BL」は、「ベースライン」、すなわち、エクリズマブを用いた処置前を指す。

「N」は、所与の疾患のプロセスおよびバイオマーカーについて分析された患者の総数である。「n」は、所与のバイオマーカーが上昇していた、「N」患者のうちの数である。

「U」は、分析物を尿において測定したこと示す。

\* P 値は、群間の差異を検定する、ウィルコクソン順位和検定を使用して算出した。

## 【 0 3 0 0】

さらに、本発明者らは、血漿交換 ( P E ) または血漿注入 ( P I ) 療法を受けたことがあるまたは受けている患者において観察されたある特定の a H U S バイオマーカーのベースラインにおけるレベルの上昇が、 P E または P I 療法を受けていない患者における a H U S バイオマーカーの上昇のレベルと比較して統計的有意性がないことを観察した。例えば、 B a 、 s T N F R 1 、 s V C A M - 1 、 および D - ダイマーの濃度は P E / P I 療法を受けてきた患者では低下または正常化しなかった ( 図 1 7 A ~ D ) 。 図 1 7 A ~ D において提示されているデータ解析を行った患者 2 6 名のうち 3 名のみが P E / P I を受けていなかったことに留意されたい。大多数の患者 ( n = 2 3 ) でシスタチン C のレベルが正常な健康な志願者と比較して上昇していた。シスタチン C は腎傷害マーカー ( 糸球体傷害 ) であるので、 P E / P I を受けていない患者は腎臓の損傷が少なく、したがって、尿中の腎傷害関連バイオマーカータンパク質のレベルが低下していた可能性がある。

## 【 0 3 0 1】

同様に、エクリズマブ療法の前のベースラインの時点で、補体活性化のタンパク質マーカー ( 例えば、 B a ) 、 炎症のタンパク質マーカー ( 例えば、 s T N F R 1 ) 、 内皮細胞活性化のタンパク質マーカー ( s V C A M - 1 ) 、 凝固のタンパク質マーカー ( D - ダイマー ) 、 および腎傷害のタンパク質マーカー ( シスタチン - C ) の濃度は血小板数が正常な a H U S 患者において上昇していた。図 1 8 A ~ E を参照されたい。また、 H p レベルおよび L D H レベルが正常な患者では補体活性化、炎症、内皮細胞活性化、凝固および腎傷害が継続している証拠が示された ( 図 1 9 A ~ E を参照されたい ) 。

## 【 0 3 0 2】

上記のことを考慮して、補体活性、血管の炎症、内皮活性化および損傷、凝固ならびに腎傷害を反映するバイオマーカーの濃度は、 a H U S 患者では正常な健康な被験体と比較して慢性的に上昇していた。 P E / P I を受けた a H U S 患者では、補体活性化、血管の炎症、内皮活性化、凝固および腎傷害が有意に継続している強固な証拠が示された。一部の患者では P E / P I により正常な血小板数および L D H が一過性に維持される可能性があるが、上記の結果により、基礎をなす補体調節不全および T M A プロセスが持続することが実証される。血小板数、 L D H 、 および H p の検査値が正常であるにもかかわらず、これらの試験により、 a H U S 患者において補体活性化、血管の炎症、内皮活性化、凝固および腎傷害が有意に継続していることが示される。

## 【 0 3 0 3】

( 実施例 4 )

エクリズマブを用いた持続的処置の a H U S バイオマーカー濃度に対する効果

10

20

30

40

50

本発明者らは、aHUS患者において、持続的なエクリズマブによる処置により、補体活性化および終末補体媒介性腎傷害の慢性的な上昇が阻害され、また、炎症、内皮損傷および血栓症リスクが低下することを観察した。例えば、持続的なエクリズマブによる処置により、C5aおよびsC5b-9（例えば、尿中C5aおよびsC5b-9）の両方の濃度が低下することによって示される通り、終末補体活性化が急速かつ完全に阻害された。図20A~Bを参照されたい。ベースラインの時点で、aHUS患者では、一部の患者におけるPE/PIの使用、または血小板数が正常であることにもかかわらず、NHVと比較して有意な終末補体活性化が示された。実際、aHUS患者では、NHVよりも4.5倍高い尿中C5aレベルおよび3.05倍高い尿中sC5b-9レベルが実証された。しかし、持続的なエクリズマブによる処置の間、aHUS患者全員において、急速かつ強力に終末補体が遮断され、病原性の終末補体活性化産物が完全に正常化し、NHVと比較してレベルに差異がないことが実証された。

10

#### 【0304】

さらに、持続的なエクリズマブによる処置により、腎傷害のバイオマーカータンパク質の濃度が正常化された（図21A~C）。エクリズマブ療法を開始する前には、大多数の患者において、以下のバイオマーカーのレベルが上昇していた：尿細管間質性傷害および腎機能の劣化（例えば、L-FABP-1、NHVよりも約4.8倍高い）、糸球体濾過（例えば、シスタチンC、NHVよりも約2.4倍高い）、近位尿細管傷害（例えば、クラスタリン、NHVよりも8.6倍高い）。しかし、持続的なエクリズマブを用いた処置により、FABP-1（100%まで）、シスタチンC（99%まで）、およびクラスタリン（98%まで）の尿中濃度が劇的に低下した。この低下は全ての時点でわたって有意であり（全てについて $P < 0.0001$ ）、全ての腎傷害マーカーに関して、低下した濃度はNHVにおけるレベルと異ならなかった。追加の腎傷害マーカー（例えば、TIMP-1および2-ミクログロブリン）も正常化した（上記の実施例2を参照されたい）。これらの結果により、臓器虚血および損傷は完全に終末補体依存性であり得ることが示唆され、また、補体媒介性TMAの持続的な阻害により、臨床的に意味のあるeGFR改善および透析の中止がもたらされることが実証される臨床データが確認される。

20

#### 【0305】

持続的なエクリズマブを用いた処置により、補体副経路活性化も有意に低下する（図22を参照されたい）。エクリズマブによる処置の前には、aHUS患者全員でC5の上流の有意な全身CAP活性化が示され、BaのレベルはNHVと比較して5.5倍高かった。しかし、エクリズマブ療法を開始した後、CAP活性化の上流のバイオマーカーの濃度（例えば、Baレベル）は30%低下し、第4週~第6週の後の低下は、全ての時点でわたってNHVにおける当該マーカーの濃度と比較して有意であった（ $p < 0.005$ ）。それでもエクリズマブを用いた処置を受けたaHUS患者においてBaレベルは正常化せず、これにより、aHUS患者における基礎をなす補体調節不全を反映するCAP活性化が持続していることが示唆された。明確にすると、それにもかかわらず、エクリズマブを用いた終末補体の遮断により、患者は、進行するCAP活性化の臨床的帰結（clinical consequence）から保護された。

30

#### 【0306】

さらに、aHUS患者のエクリズマブを用いた長期にわたる処置により、炎症、内皮活性化、および組織傷害に関連するバイオマーカーの濃度が有意に低下した（図23A~C）。血清sTNFR1レベルはaHUS患者の100%においてベースラインの時点で上昇していた（NHVレベルよりも18.7倍高い）。持続的なエクリズマブを用いた処置により、sTNFR1が最大94%有意に低下した。第4週~第6週の時点でのこれらのバイオマーカーの濃度の低下は全ての時点でわたって有意であった（ $P < 0.0001$ ）。可溶性VCAM-1レベルおよびTMレベルはaHUS患者の>95%でベースラインの時点で、NHVと比較してそれぞれ2倍および3.6倍上昇しており、これにより、エクリズマブ療法の前の有意な内皮細胞活性化および損傷が実証された。TM濃度およびsVCAM-1濃度もエクリズマブによる処置の間に有意に低下した。第12週~第17週

40

50

の後、内皮損傷のバイオマーカーの濃度の低下は以後の時点全てにわたって有意であったが ( T M ; P < 0 . 0 0 0 1 )、それでも N H V と比較して適度に上昇していた。可溶性 T M レベルの劇的な低下は、血栓症リスクに対して保護的である膜結合した T M の回復を反映し得る。

#### 【 0 3 0 7 】

最後に、エクリズマブを用いた長期にわたる処置により、血栓症リスクおよび凝固に関連するバイオマーカーの濃度が急速かつ有意に低下した ( 図 2 4 A ~ B )。凝固バイオマーカーである F 1 + 2 および D - ダイマーの濃度は、 a H U S 患者の 9 4 % 超においてベースラインの時点で有意に上昇していた ( N H V よりも 5 . 5 倍および 9 . 8 倍高い ) ( それぞれ P < 0 . 0 0 0 1 および P = 0 . 0 0 0 2 )。しかし F 1 + 2 および D - ダイマーはエクリズマブを用いた処置を開始した後 2 . 5 週の時点で有意に低下した。持続的なエクリズマブによる処置で F 1 + 2 の濃度は最大 8 8 % 低下し ( 全ての時点に関して P < 0 . 0 5 )、D - ダイマー濃度は最大 9 9 % 低下した ( P < 0 . 0 0 0 1 全ての時点に関して )。しかし、これらの 2 種のマーカーは正常な健康な被験体におけるそれぞれの濃度よりも適度に上昇したままであった。

10

#### 【 0 3 0 8 】

##### 結論

上記のデータを考慮して、本発明者らはいくつもの結論を引き出すことができた。第 1 に、ベースラインの時点で、全ての血栓性微小血管障害 ( T M A ) バイオマーカーのレベルが、 a H U S 患者では正常な健康な志願者 ( N H V ) 由来の試料におけるレベルと比較して上昇していることが明らかであった。 P E / P I を受けた患者または血小板、 H p または L D H が正常である患者を含めた全ての患者群において、 a H U S 患者では N H V と比較して以下の尺度の有意な上昇が実証された：終末補体活性化 ( N H V レベルよりも 4 5 ~ 3 0 5 倍高い )；生命維持に必要な器官の損傷；補体活性化の副経路 ( 例えば、 B a レベルで表される； N H V レベルよりも 5 . 5 倍高い )；血管の炎症；内皮活性化および損傷；および凝固。

20

#### 【 0 3 0 9 】

a H U S 患者の持続的なエクリズマブによる処置により、高度に上昇した終末補体活性化のマーカーが有意に低下し、正常化した。エクリズマブを用いた終末補体活性化の阻害により、器官損傷のマーカーも劇的に低下し、正常化した。副経路活性化の上流のバイオマーカーも有意に低下したが、正常化はしなかった。また、低レベルの副経路活性化が処置を受けた患者において持続し、これは、 a H U S 患者における基礎をなす補体調節不全を反映していた。とすることで、データにより、エクリズマブを用いた終末補体の遮断により、 a H U S 患者が副経路活性化の継続の臨床的帰結から保護されることが明白に示される。

30

#### 【 0 3 1 0 】

さらに、持続的なエクリズマブによる処置により、以下ももたらされた： ( i ) 血管の炎症のマーカーの有意かつ持続的な低下 ( 最大 9 4 % まで )； ( i i ) 内皮活性化のマーカーの有意な阻害 ( 最大 6 0 % まで )； ( i i i ) 終末補体活性化と内皮損傷との間の明白な関係を実証するものである、内皮損傷のマーカーの正常なレベル付近までの有意かつ持続的な低下 ( 最大 7 7 % まで )；および ( i v ) これらの患者においてクロット形成の潜在性が減少し、したがって T M A の発生率が低下する可能性がある、血栓症リスクのバイオマーカーの濃度の顕著な低下 ( 最大 9 9 % まで )。本発明者らは、いかなる理論または作用機構に縛られるものではないが、 a H U S における終末補体阻害の喪失により、重度に増幅された終末補体活性化の急速な上昇がもたらされ、その後、基礎をなす無症状性内皮活性化の増加、内皮損傷の有意な加速、血栓症リスクの顕著な上昇、ならびに破局的な血管虚血および生命維持に必要な器官損傷の初期および進行するリスクがもたらされるので、エクリズマブを用いた終末補体活性化の阻害を持続させなければならないと結論付ける。さらに、これらのデータにより、腎傷害、血管の炎症、および内皮損傷および活性化が、終末補体活性に全体的にまたは部分的に依存し、この活性はエクリズマブを使用し

40

50

て有効かつ安全に阻害されることが示される。

【 0 3 1 1 】

本開示は、その特定の実施形態に言及して記載されているが、当業者は、本開示の真の趣旨および範囲から逸脱することなく、種々の変化を行うことができ、また等価物で代用することができることが理解されるべきである。さらに、多くの改変を行って、特定の状況、材料、組成物、プロセス、またはプロセスの1つまたは複数のステップを本開示の目的、趣旨および範囲に適合させることができる。そのような改変は全て、本開示の範囲内に入るものとする。

【 図 1 A 】

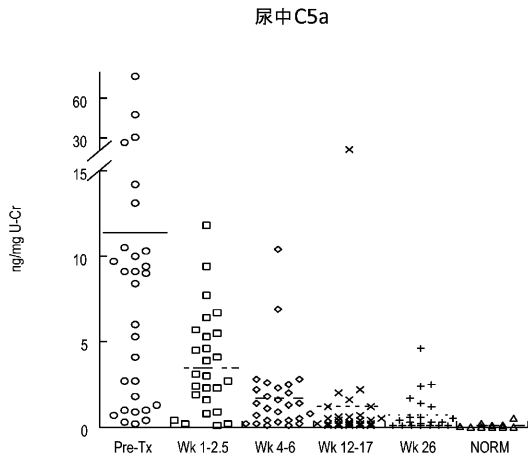


Fig. 1A

【 図 1 B 】

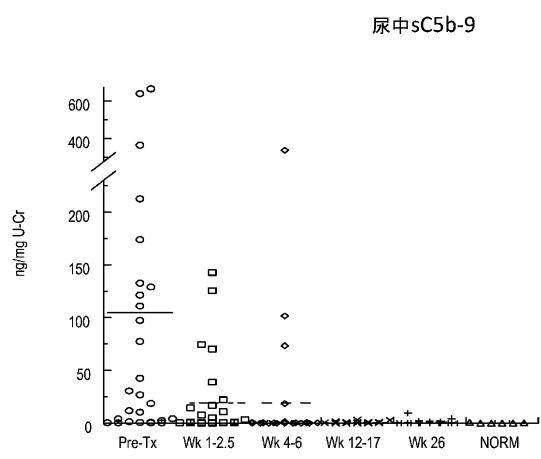


Fig. 1B

【 図 1 C 】

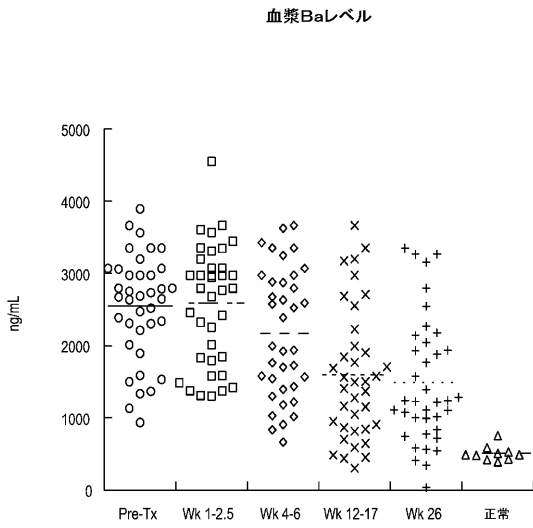


Fig. 1C

【 図 1 D 】

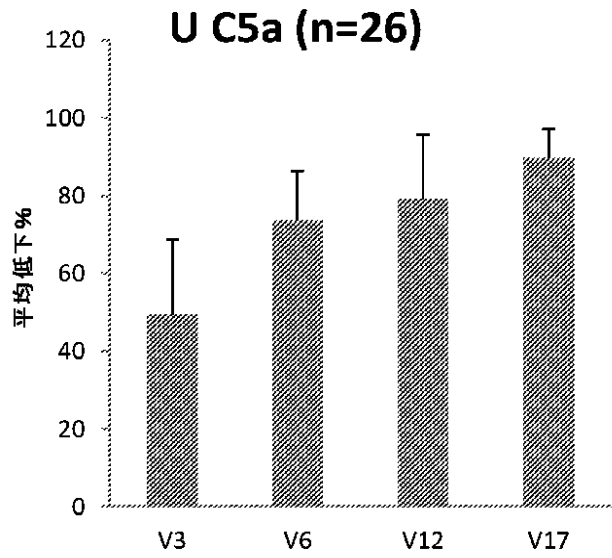


Fig. 1D

【 図 1 E 】

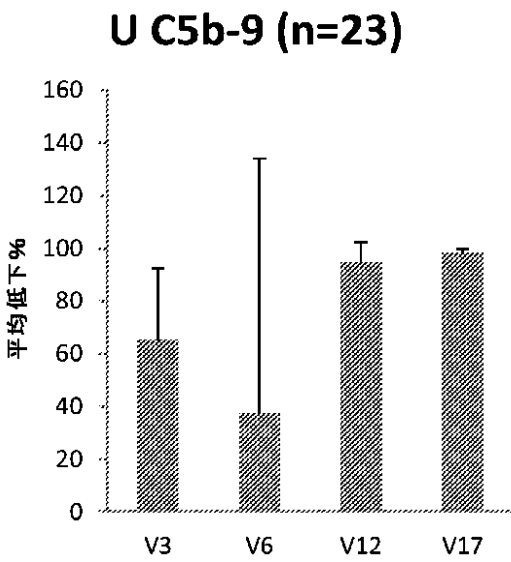


Fig. 1E

【 図 1 F 】

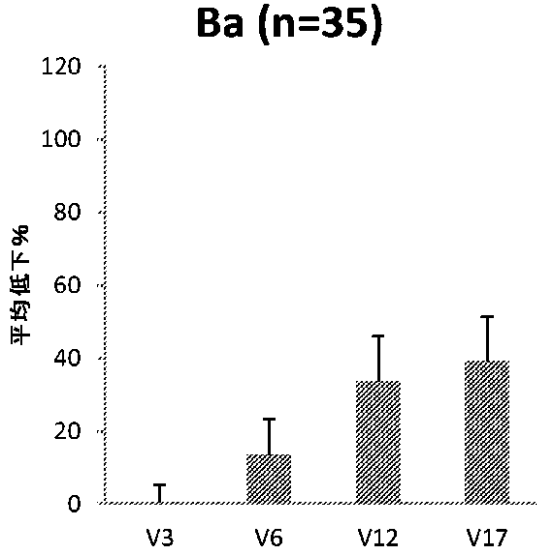


Fig. 1F

【 図 2 A - 2 C 】

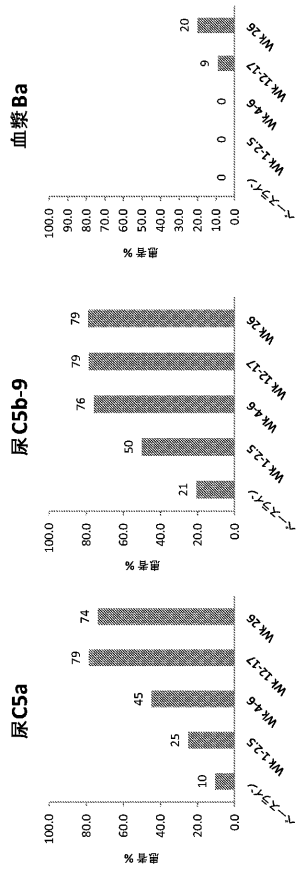


Fig. 2C

Fig. 2B

Fig. 2A

【 図 3 A 】

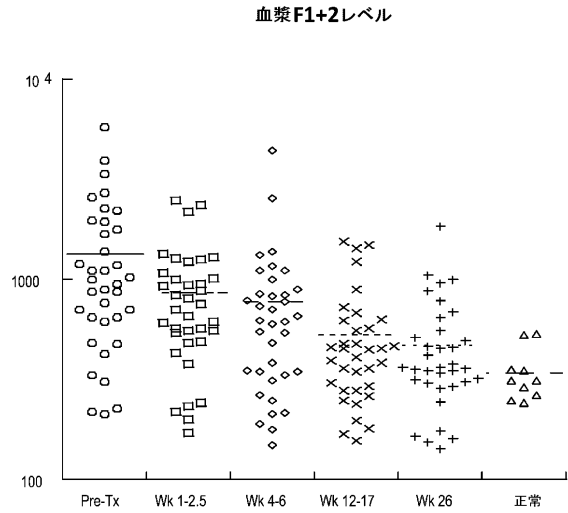


Fig. 3A

【 図 3 B 】

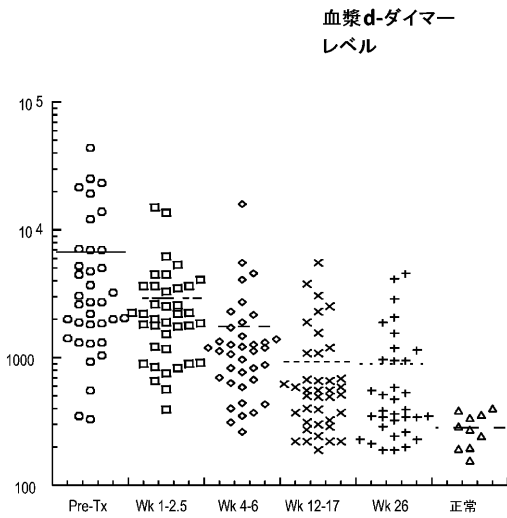


Fig. 3B

【 図 3 C 】

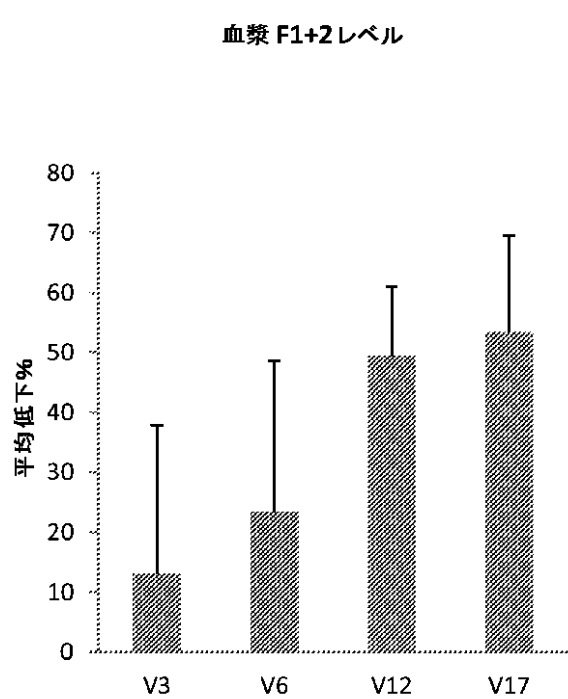


Fig. 3C

【 図 3 D 】

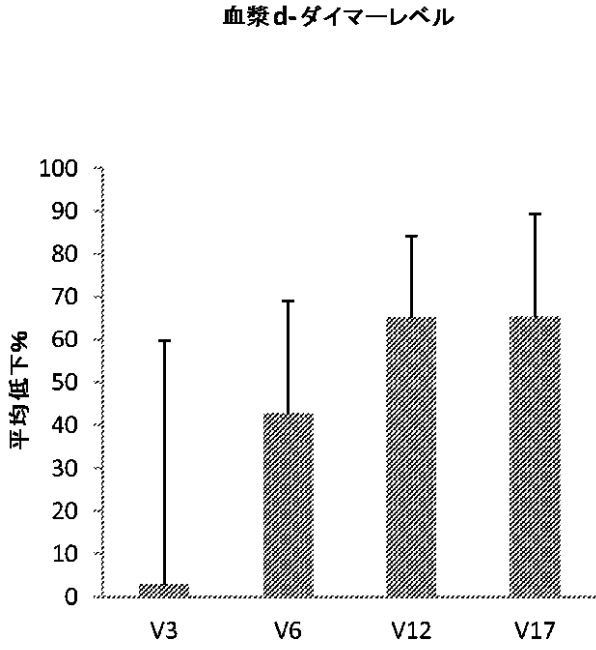


Fig. 3D

【 図 4 A - 4 B 】

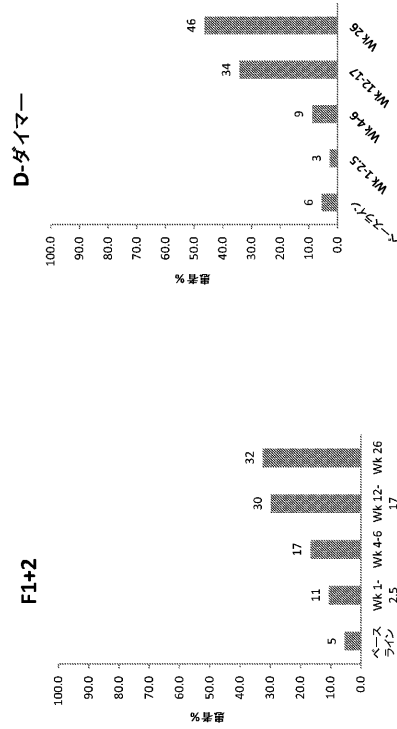


Fig. 4B

Fig. 4A

【 図 5 A 】

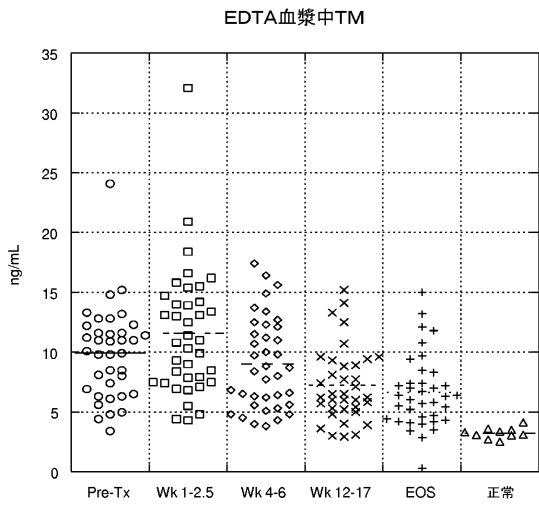


Fig. 5A

【 図 5 B 】

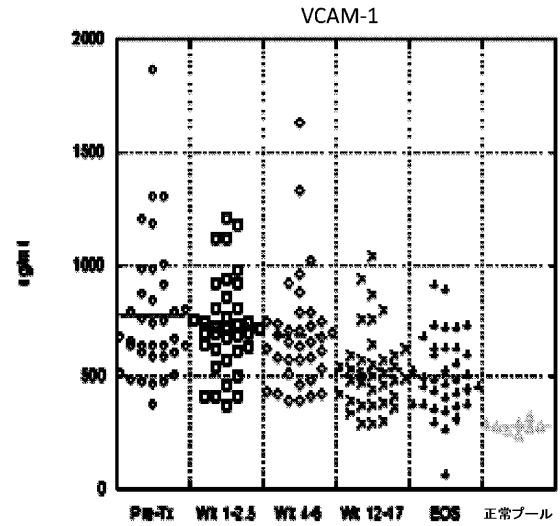


Fig. 5B

【 図 5 C 】

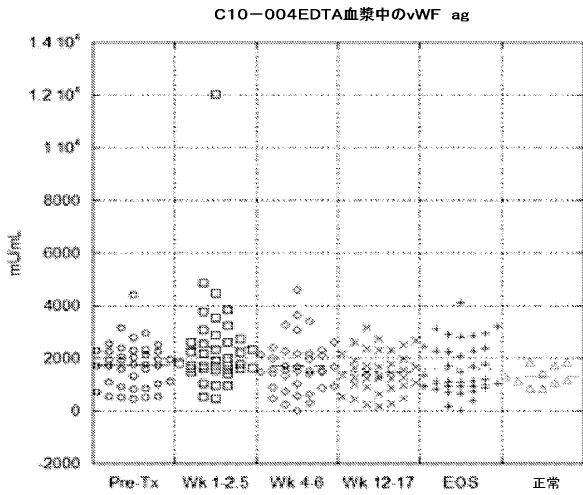


Fig. 5C

【 図 6 A - 6 B 】

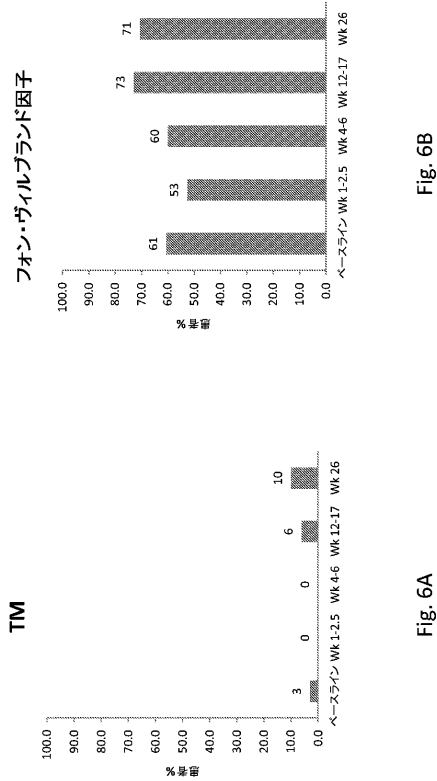


Fig. 6B

Fig. 6A

【 図 6 C 】

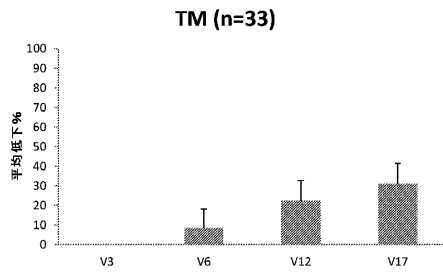


Fig. 6C

【 図 6 D 】

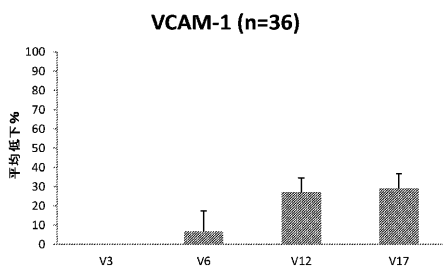


Fig. 6D

【 図 7 A 】

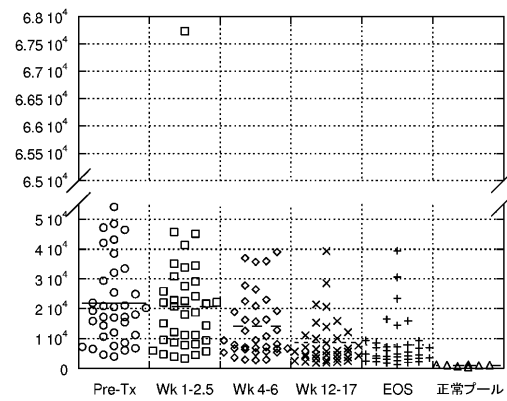


Fig. 7A

【 図 7 B 】

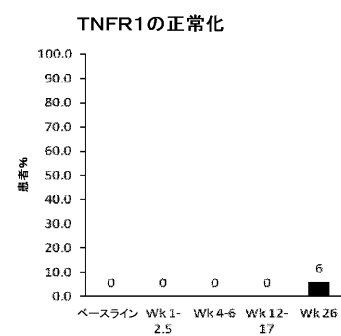


Fig. 7B

【 図 8 A 】

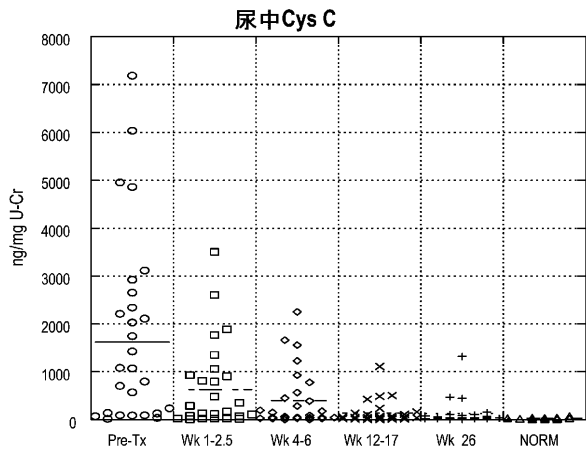


Fig. 8A

【 図 8 B 】

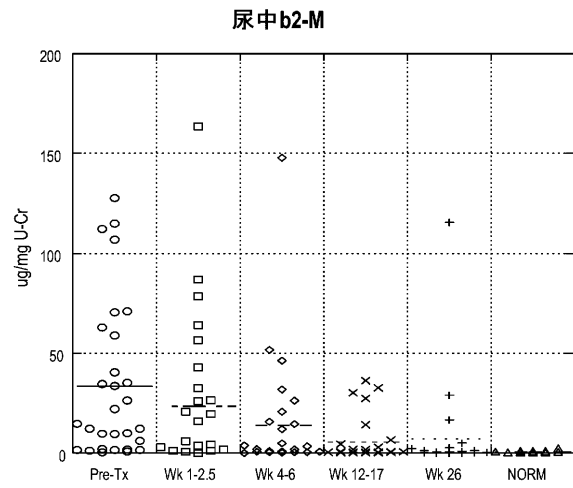


Fig. 8B

【 図 8 C 】

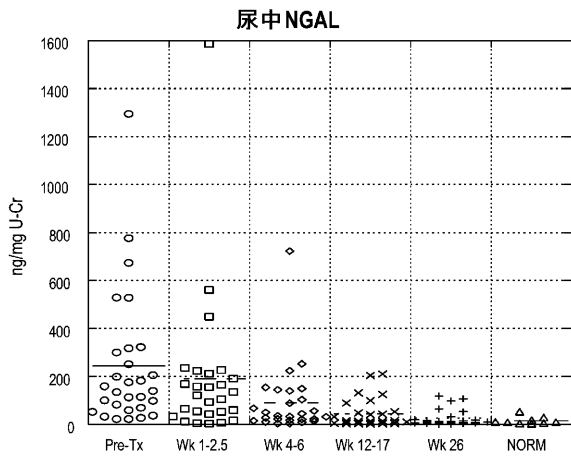


Fig. 8C

【 図 9 A - 9 B 】

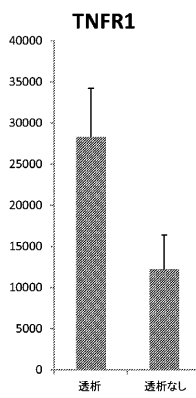


Fig. 9A

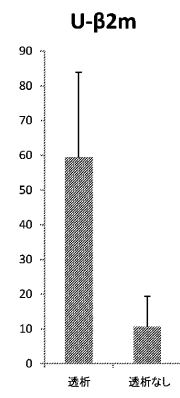


Fig. 9B

【 図 9 C - 9 E 】

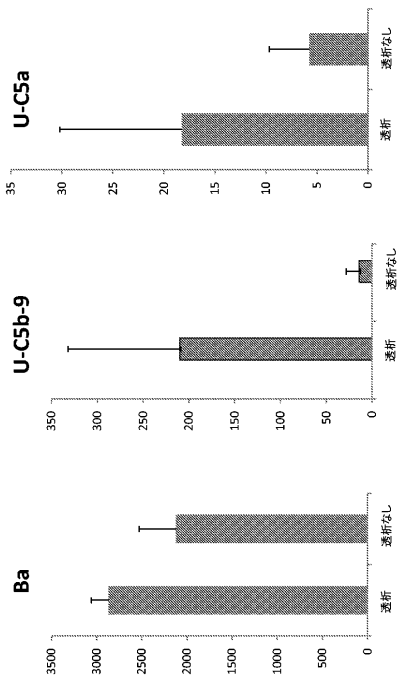


Fig. 9E

Fig. 9D

Fig. 9C

【 図 1 0 A 】

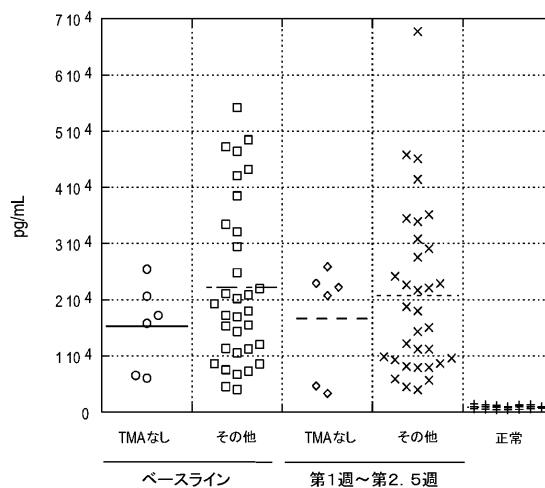
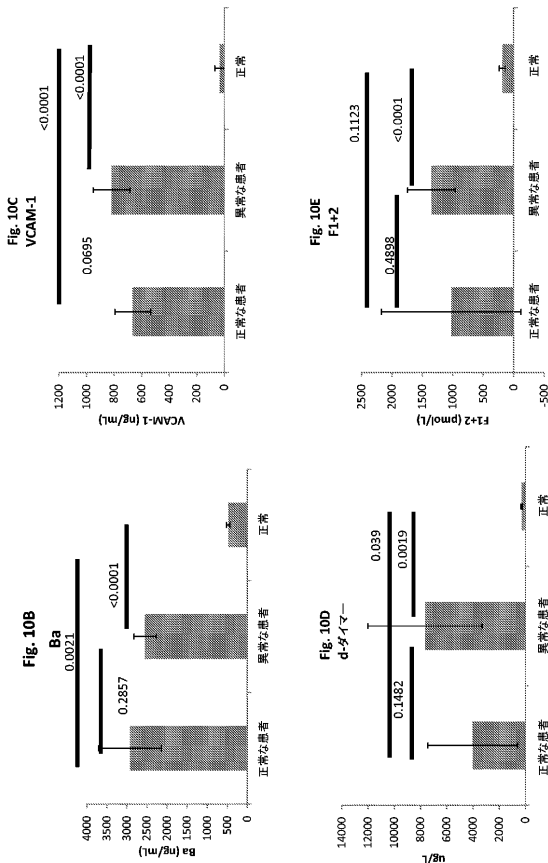
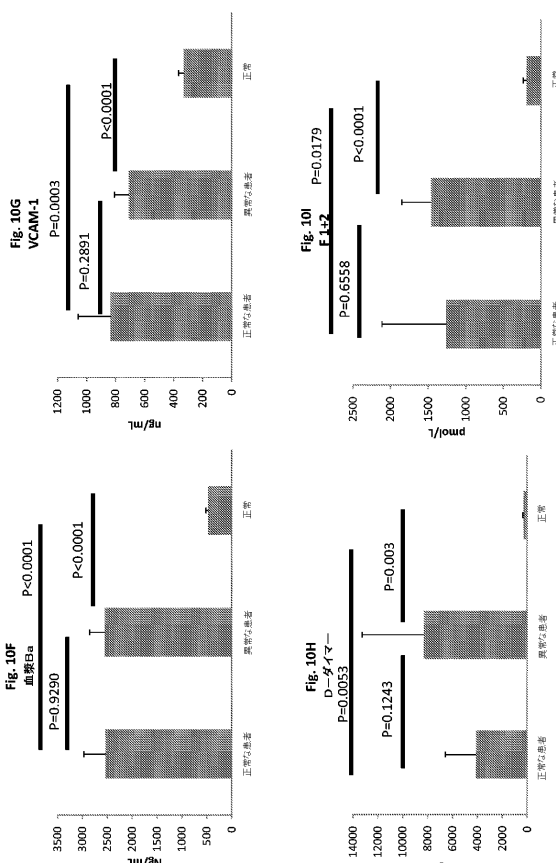


Fig. 10A

【 図 1 0 B - 1 0 E 】



【 図 1 0 F - 1 0 I 】



【 図 1 1 】

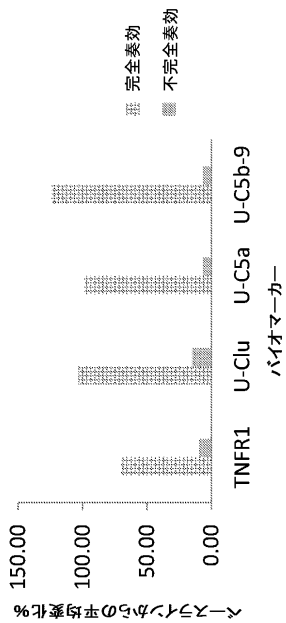


Fig. 11

【 図 1 2 】

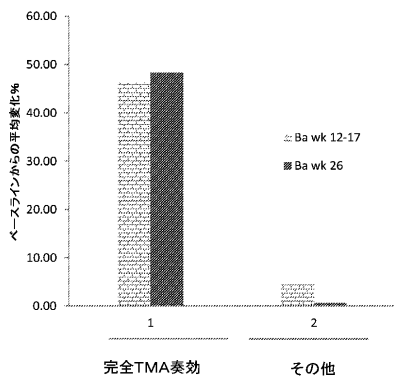


Fig. 12

【 図 1 3 】

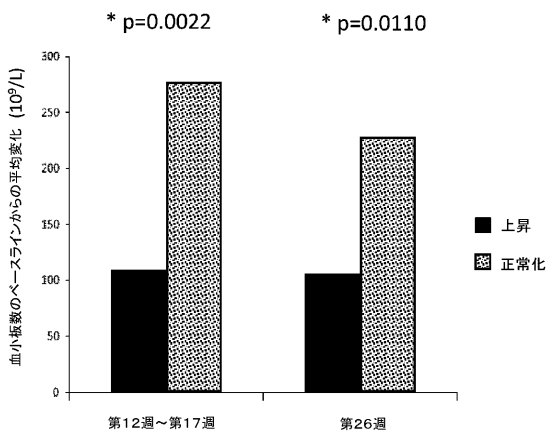


Fig. 13

【 図 1 4 A - 1 4 D 】

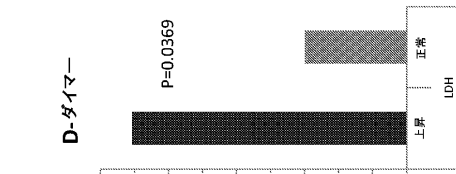


Fig. 14D

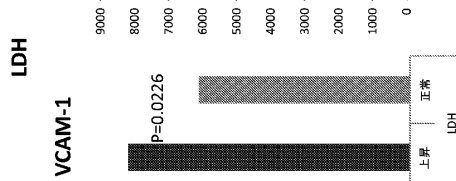


Fig. 14C

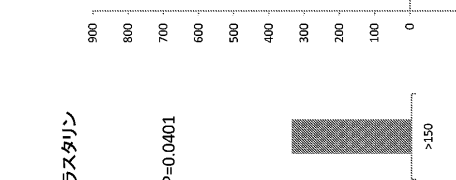


Fig. 14B



Fig. 14A

【 図 1 5 】

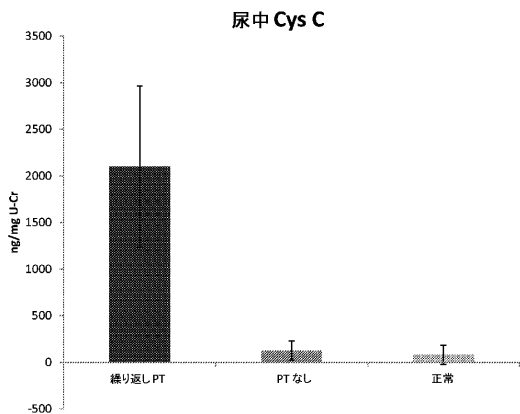


Fig. 15

【 図 1 6 】

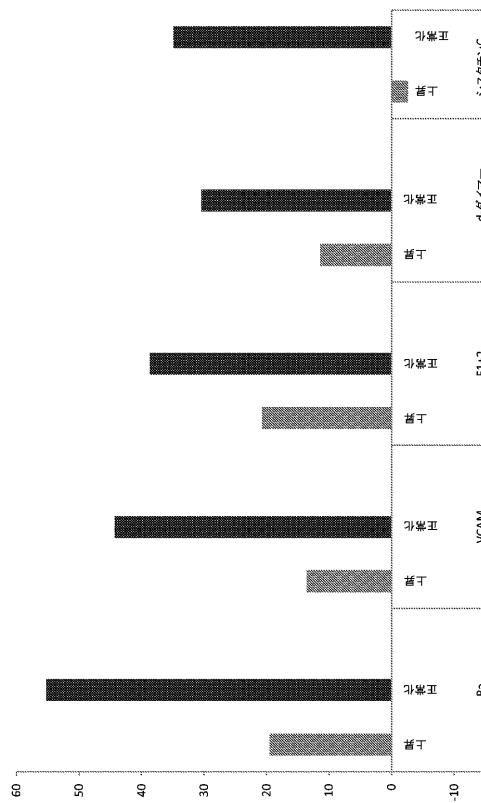


Fig. 16

【 図 1 7 A - E 】

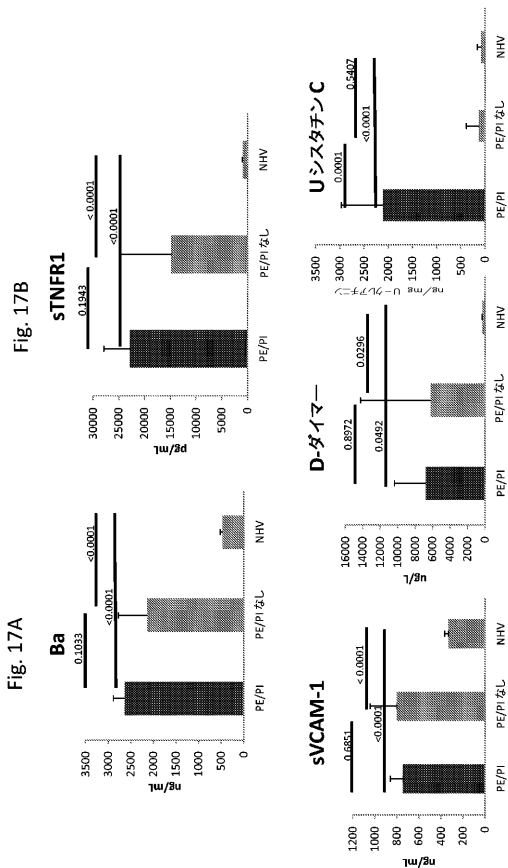


Fig. 17A

Fig. 17B

Fig. 17C

Fig. 17D

Fig. 17E

【 図 1 8 A - E 】

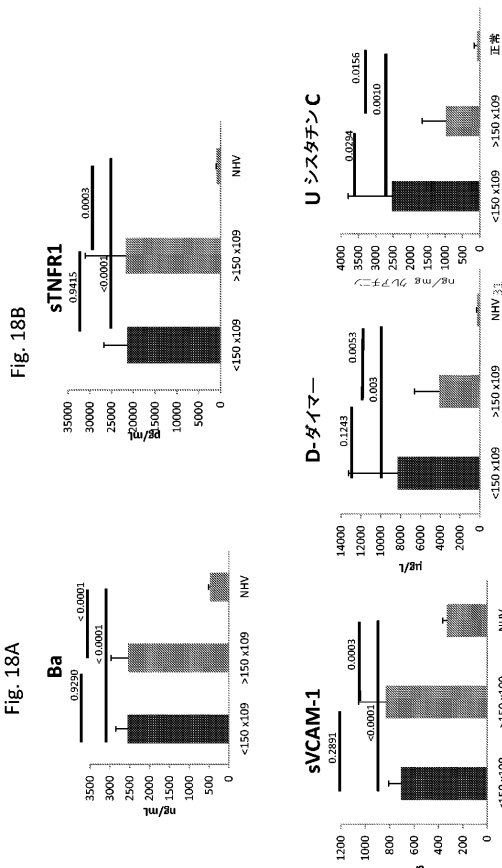


Fig. 18A

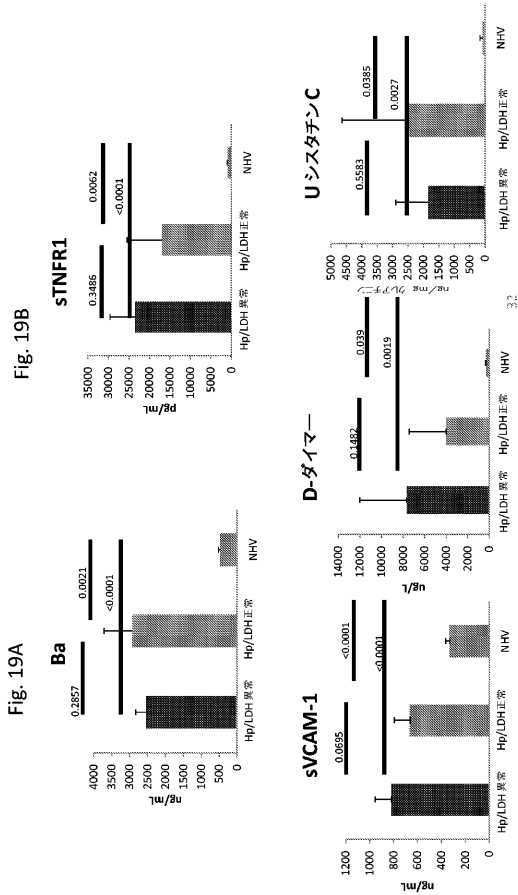
Fig. 18B

Fig. 18C

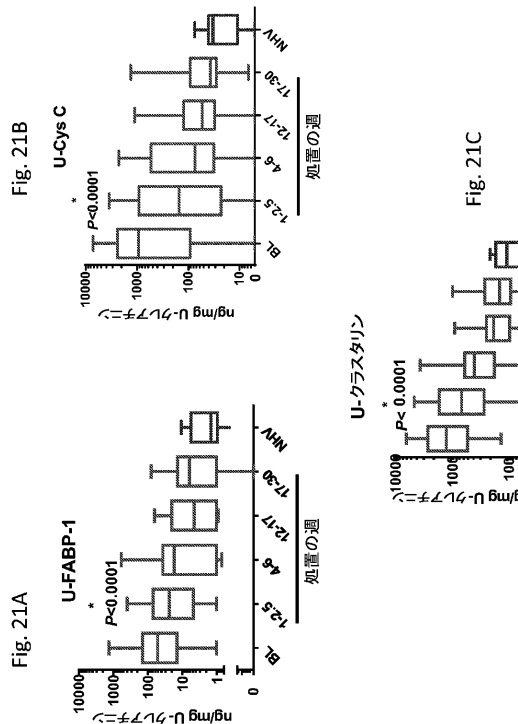
Fig. 18D

Fig. 18E

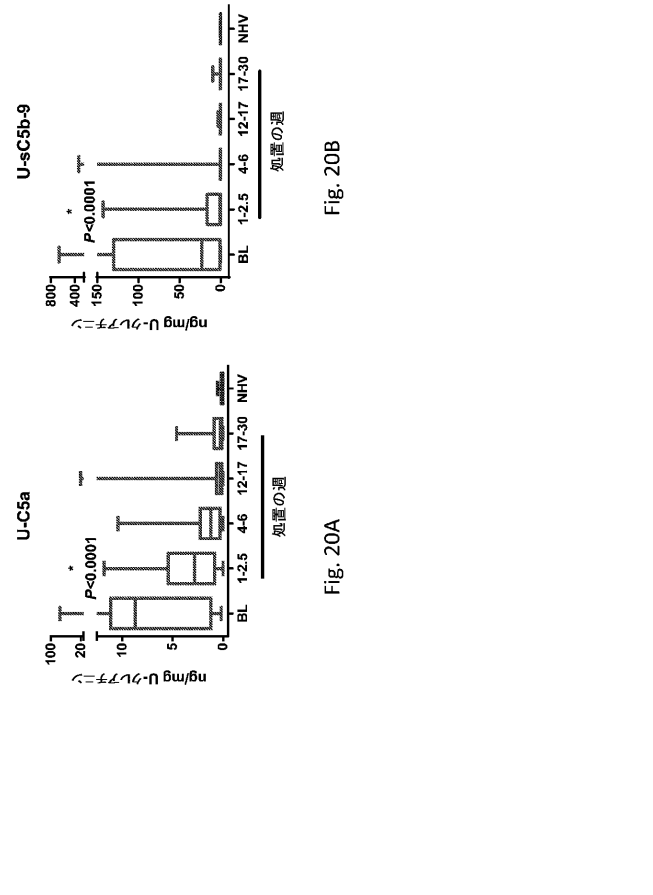
【 図 19 A - E 】



【 図 20 A - B 】



【 図 21 A - C 】



【 図 22 】

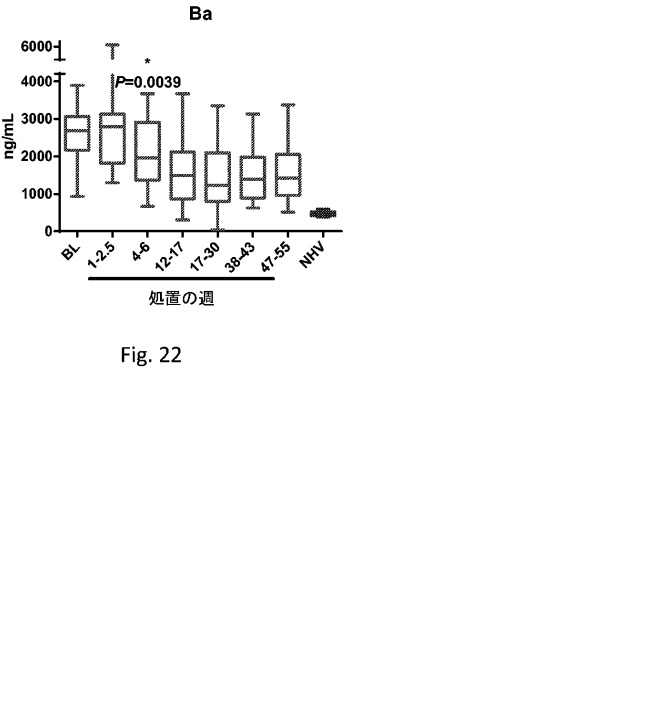


Fig. 19A

Fig. 19B

Fig. 19C

Fig. 19D

Fig. 19E

Fig. 20A

Fig. 20B

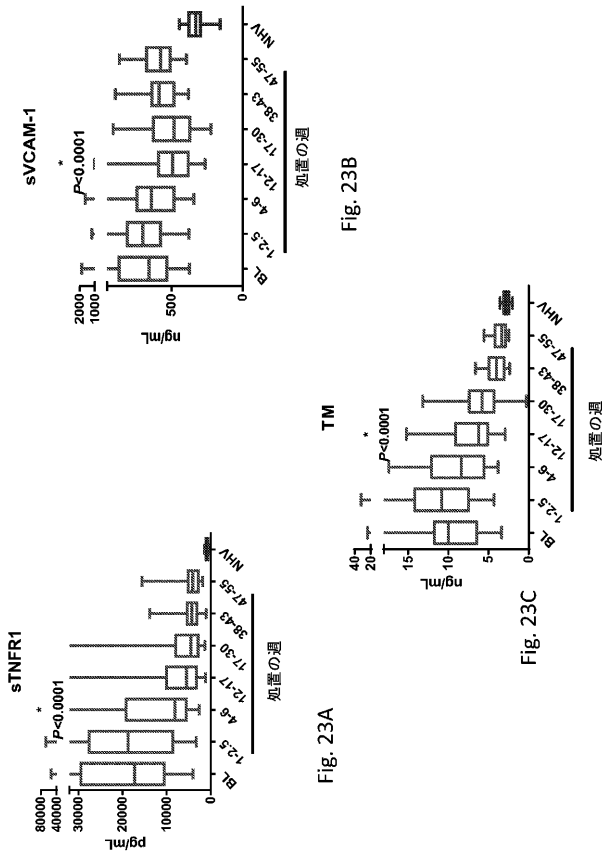
Fig. 21A

Fig. 21B

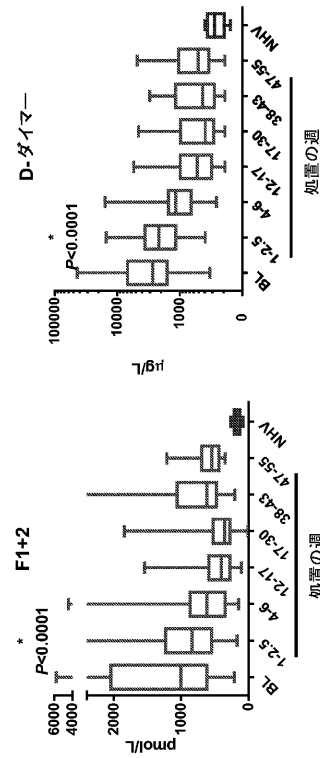
Fig. 21C

Fig. 22

【 図 2 3 A - C 】



【 図 2 4 A - B 】



【 配 列 表 】

2016528235000001.app

【 手 続 補 正 書 】

【 提 出 日 】 平 成 28 年 3 月 14 日 (2016.3.14)

【 手 続 補 正 1 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 特 許 請 求 の 範 囲

【 補 正 対 象 項 目 名 】 全 文

【 補 正 方 法 】 変 更

【 補 正 の 内 容 】

【 特 許 請 求 の 範 囲 】

【 請 求 項 1 】

非 典 型 溶 血 性 尿 毒 症 症 候 群 ( a H U S ) を 処 置 す る た め の 組 成 物 で あ っ て 、 該 組 成 物 は 、 補 体 C 5 の 阻 害 剤 を 含 み 、 こ こ で 、

a H U S を 有 す る か 、 a H U S を 有 す る 疑 い が あ る か 、 ま た は a H U S を 発 症 す る リ ス ク が あ る 被 験 体 か ら 得 た 生 体 液 中 の 少 な く と も 2 種 の a H U S 関 連 バ イ オ マ ー カ ー タ ン パ ク 質 の 濃 度 は 、 上 昇 し て い る と 決 定 さ れ て お り 、 該 a H U S 関 連 バ イ オ マ ー カ ー タ ン パ ク 質 が 、 T N F R 1 、 な ら び に M C P - 1 、 I F N - 、 I L - 6 、 補 体 成 分 B 因 子 の タ ン パ ク 質 分 解 断 片 、 可 溶 性 C 5 b 9 ( s C 5 b 9 ) 、 プ ロ ト ロ ン ビ ン 断 片 F 1 + 2 、 d - ダ イ マ ー 、 ト ロ ン ボ モ ジ ュ リ ン 、 V C A M - 1 、 フ ォ ン ・ ヴ ィ ル ブ ラ ン ド 因 子 ( v W F ) 、 補 体 成 分 C 5 a 、 2 ミ ク ロ グ ロ ブ リ ン ( 2 M ) 、 ク ラ ス タ リ ン 、 シ ス タ チ ン C 、 N A G 、 T I M P - 1 、 N G A L 、 脂 肪 酸 結 合 タ ン パ ク 質 1 ( F A B P - 1 ) 、 ア ル ブ ミ ン 、 C X C L 9 、 K I M - 1 、 お よ び C C L 5 、 可 溶 性 C D 4 0 リ ガ ン ド ( s C D 4 0 L ) 、 I C A M - 1 、 I L - 1 ベ ー タ 、 I L - 1 2 p 7 0 、 I L - 8 、 お よ び 血 管 内 皮 細 胞 増 殖 因 子 ( V E G F ) か ら 選 択 さ れ る 少 な く と も 1 種 の 他 の a H U S 関 連 バ イ オ マ ー カ ー タ ン パ ク 質 で あ り 、 そ し て

該組成物は、該少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を、該補体C5の阻害剤を用いた処置前の該被験体から得た同じ種類の対照生体液の試料中で測定された濃度と比較して低下させるために十分な量および頻度で該被験体に投与されるものであることを特徴とする、組成物。

【請求項2】

前記被験体が、

(a) 前記補体C5の阻害剤を用いた処置の直前の3ヶ月以内に透析を少なくとも1回受けている；または

(b) 最初の急性aHUS発現が生じている被験体である、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度の低下が前記補体C5の阻害剤の最初の投与後2週間または2ヶ月以内に起こる、請求項1または2に記載の組成物。

【請求項4】

補体C5の阻害剤を用いた処置に対する被験体の応答性をモニターするための組成物であって、該組成物は、該被験体から得た生体液中の少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質のバイオマーカーレベルを測定するための材料または試薬を含み、該少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度が決定されることを特徴とし、ここで、

(a) 該aHUS関連バイオマーカータンパク質が、TNFR1、ならびにMCP-1、IFN-、IL-6、補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、プロトンピン断片F1+2、D-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、アルブミン、CXCL9、KIM-1、およびCCL5、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、ICAM-1、IL-1、IL-12p70、IL-8、および血管内皮細胞増殖因子(VEGF)から選択される少なくとも1種の他のaHUS関連バイオマーカータンパク質であり；

(b) 該被験体が、aHUSを有するか、aHUSを有する疑いがあるか、またはaHUSを発症するリスクがあり；

(c) 該被験体が、補体C5の阻害剤を用いた処置を受けていたまたは受けており；そして

(d) 該被験体が、該補体C5の阻害剤を用いた処置の前に該被験体から得た同じ種類の対照生体液の試料中で測定された濃度と比較して低下した濃度の該少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質を有する、組成物。

【請求項5】

前記被験体が、補体阻害剤を用いた処置を長期にわたって受けている、請求項1から4のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項6】

前記阻害剤が

(i) 場合によってMB12/22、MB12/22-RGD、ARC187、ARC1905、SSL7、およびOmCIからなる群から選択される、小分子、ポリペプチド、ポリペプチド類似体、ペプチド模倣体、またはアプタマー；

(ii) 場合によってヒト化抗体、組換え抗体、ダイアボディ、キメラ化またはキメラ抗体、モノクローナル抗体、脱免疫化抗体、完全ヒト抗体、単鎖抗体、Fv断片、Fd断片、Fab断片、Fab'断片、およびF(ab')<sub>2</sub>断片から選択される、抗体または抗体の抗原結合性断片；あるいは

(iii) 抗体エクシズマブもしくはエクシズマブのパリアント、またはその抗原結合性断片パキセリズマブなどの、補体成分C5に結合し、C5が切断されて断片C5aおよ

び C 5 b になるのを阻害する、抗体またはその抗原結合性断片である、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

被験体を、非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S ) を有するかまたは a H U S を発症するリスクがあると診断するための組成物であって、該組成物は、被験体から得た生体液中の少なくとも 2 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質のバイオマーカーレベルを測定するための材料または試薬を含み、該少なくとも 2 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度が決定されることを特徴とし、該 a H U S 関連バイオマーカータンパク質が、 T N F R 1、ならびに補体成分 B 因子のタンパク質分解断片、可溶性 C 5 b 9 ( s C 5 b 9 )、トロンボモジュリン、 V C A M - 1、フォン・ヴィルブランド因子 ( v W F )、可溶性 C D 4 0 リガンド ( s C D 4 0 L )、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、 M C P - 1、 I F N - 、 I C A M - 1、 I L - 1 ベータ、 I L - 1 2 p 7 0、補体成分 C 5 a、 2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シスタチン C、 N A G、 T I M P - 1、 N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、 C X C L 9、 K I M - 1、 I L - 1 8、血管内皮細胞増殖因子 ( V E G F )、 I L - 6、アルブミン、 I L - 8、および C C L 5 から選択される少なくとも 1 種の他の a H U S 関連バイオマーカータンパク質であり、

該少なくとも 2 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度が、同じ種類の対照生体液の試料中で測定された該 a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度と比較して上昇していることは、該被験体が a H U S を有するかまたは a H U S を発症するリスクがあることを示す、組成物。

【請求項 8】

前記少なくとも 1 種の他の a H U S 関連バイオマーカータンパク質が、 B 因子のタンパク質分解断片、可溶性 V C A M - 1 ( s V C A M - 1 )、トロンボモジュリン、 D - ダイマーおよびシスタチン - C から選択される、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 9】

前記少なくとも 2 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質が、酵素結合免疫吸着アッセイ ( E L I S A ) またはラジオイムノアッセイ ( R I A ) などのイムノアッセイを用いて測定される、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 10】

前記生体液が血液、血漿もしくは血清などの血液画分、または尿である、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 11】

前記血液画分が血清である、請求項 10 に記載の組成物。

【請求項 12】

( i ) 少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度が、 2 つまたはそれ超の種類の生体液において測定される；あるいは

( i i ) 前記少なくとも 2 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質のうちの第 1 のタンパク質の濃度が 1 種類の生体液中で測定され、該少なくとも 2 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質のうちの第 2 のタンパク質の濃度が第 2 の種類の生体液中で測定される、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 13】

( i ) 前記被験体の血清中の C X C L 9、 I F N - 、 M C P - 1、 C C L 5、 s C D 4 0 L、または s T N F R 1 の濃度が決定される；

( i i ) 前記被験体の尿中の 2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シスタチン C、 N A G、 T I M P - 1、 N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、 C X C L 9、アルブミン、および K I M - 1 のうちの少なくとも 1 種の濃度が決定される；

( i i i ) 前記被験体の血漿中の N G A L、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片、可

溶性 C 5 b 9 ( s C 5 b 9 )、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、トロンボモジュリン、またはフォン・ヴィルブランド因子 ( v W F ) の濃度が決定される ; ならびに / あるいは

( i v ) 該被験体から得た血漿中の B a の濃度が決定される、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 4】

s T N F R 1 の正常対照濃度が 2 0 0 0 p g / m L 未満である、請求項 1 から 1 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 5】

前記生体試料中の s T N F R 1 の濃度が

( i ) s T N F R 1 の正常対照濃度よりも少なくとも 2 倍高いとき ; または

( i i ) 少なくとも 1 0 , 0 0 0 p g / m L であるとき

に該生体試料中の s T N F R 1 の濃度が上昇しているとみなされる、請求項 1 から 1 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 6】

a H U S の診断において使用するためのアレイまたは診断用キットであって、

( A ) 該アレイは、複数の結合作用物質を含み、該複数の結合作用物質のそれぞれが該アレイ上に独特のアドレスを有し、該アレイが 5 0 0 以下の独特のアドレスを含み、該複数の結合作用物質のそれぞれが異なる生物学的分析物タンパク質に結合し、該アレイが、4 種またはそれ超のタンパク質に結合する結合作用物質を含む ; または

( B ) 該診断用キットは、( a ) アッセイプレートおよび ( b ) それぞれが異なる生物学的分析物に結合することが可能である少なくとも 3 種の結合作用物質を含み、場合によっては該結合作用物質は、抗体またはその抗原結合性断片であり、該分析物が、タンパク質であり、該タンパク質が、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片、可溶性 C 5 b 9 ( s C 5 b 9 )、トロンボモジュリン、V C A M - 1、フォン・ヴィルブランド因子 ( v W F )、可溶性 C D 4 0 リガンド ( s C D 4 0 L )、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、M C P - 1、T N F R 1、I F N - 、I C A M - 1、I L - 1 ベータ、I L - 1 2 p 7 0、補体成分 C 5 a、 $\alpha$  2 ミクログロブリン (  $\alpha$  2 M )、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、C X C L 9、K I M - 1、I L - 1 8、血管内皮細胞増殖因子 ( V E G F )、I L - 6、アルブミン、I L - 8 および C C L 5 から選択され、該タンパク質のうちの 1 種は T N F R 1 である、アレイまたは診断用キット。

【請求項 1 7】

( i ) 前記アレイがタンパク質チップである ;

( i i ) 該アレイの各アドレスがアッセイプレートのウェルである ;

( i i i ) 該アレイが少なくとも 1 0 種の前記分析物タンパク質に結合する抗体を含む ; または

( i v ) 前記結合作用物質が抗体またはその抗原結合性断片である、請求項 1 6 に記載のアレイまたは診断用キット。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 2 1

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 2 1】

本開示の他の特徴および利点、例えば、被験体における補体関連障害を処置するための方法は、以下の記載、実施例から、および特許請求の範囲から明らかである。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される :

( 項目 1 )

補体の阻害剤を用いた処置に対する被験体の応答性をモニターするための方法であって

、該被験体から得た生体液中の少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定するステップであって、該aHUS関連バイオマーカータンパク質が、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN- $\gamma$ 、IL-6、補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、補体成分C5a、 $\alpha_2$ ミクログロブリン( $\alpha_2$ M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、アルブミン、CXCL9、KIM-1、およびCCL5からなる群から選択されるステップを含み、

該被験体が、aHUSを有するか、aHUSを有する疑いがあるか、またはaHUSを発症するリスクがあり、該被験体が、補体の阻害剤を用いた処置を受けていたまたは受けており、(a)CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN- $\gamma$ 、IL-6、補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、補体成分C5a、 $\alpha_2$ ミクログロブリン( $\alpha_2$ M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、アルブミン、CXCL9、およびKIM-1のうちの少なくとも1種の濃度が、該阻害剤を用いた処置の前に該被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下すること、または(b)CCL5の濃度が、該阻害剤を用いた処置の前に該被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して上昇することにより、該被験体が該阻害剤を用いた処置に応答することが示される、方法。

(項目2)

前記少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質を、イムノアッセイを使用して測定する、項目1に記載の方法。

(項目3)

前記イムノアッセイが酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)またはラジオイムノアッセイ(RIA)である、項目2に記載の方法。

(項目4)

前記被験体がヒトである、項目1から3のいずれか一項に記載の方法。

(項目5)

少なくとも5種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、項目1から3のいずれか一項に記載の方法。

(項目6)

少なくとも10種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、項目1から3のいずれか一項に記載の方法。

(項目7)

前記生体液が血液である、項目1から6のいずれか一項に記載の方法。

(項目8)

前記生体液が血液画分である、項目1から6のいずれか一項に記載の方法。

(項目9)

前記血液画分が血漿または血清である、項目8に記載の方法。

(項目10)

前記生体液が尿である、項目1から6のいずれか一項に記載の方法。

(項目11)

2つまたはそれ超の種類生体液において少なくとも1種のaHUS関連バイオマーカーの濃度を測定する、項目1から10のいずれか一項に記載の方法。

(項目12)

前記少なくとも2種のaHUSバイオマーカータンパク質のうちの第1のタンパク質の濃度を1種類の前記生体液において測定し、該少なくとも2種のaHUSバイオマーカータンパク質のうちの第2のタンパク質の濃度を第2の種類生体液において測定する、項目1から10のいずれか一項に記載の方法。

(項目13)

B a、s C 5 b - 9、およびC 5 aからなる群のうちの少なくとも2種の濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目14)

B aおよびs C 5 b 9の一方または両方の濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目15)

C 5 aおよびC 5 b 9の一方または両方の濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目16)

2 M、クラスタリン、シスタチンC、アルブミン、TIMP - 1、NGAL、およびFABP - 1からなる群のうちの少なくとも2種のメンバーの濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目17)

CXCL10、CXCL9、MCP - 1、TNFR1、VEGF、IL - 6、およびIFN からなる群のうちの少なくとも2種の濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目18)

D - ダイマーおよびF 1 + 2の一方または両方の濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目19)

s CD 4 0 L、プロトンピン断片F 1 + 2、およびD - ダイマーからなる群のうちの少なくとも2種のメンバーの濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目20)

トロンボモジュリン、VCAM - 1、またはvWFの濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目21)

TNFR1の濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目22)

IFN - 、CXCL10、CXCL9、TNFR1、VCAM - 1、MCP - 1、VEGF、CCL5、およびIL - 6からなる群のうちの少なくとも2種のメンバーの濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目23)

IFN - 、CXCL10、CXCL9、TNFR1、VCAM - 1、MCP - 1、VEGF、およびIL - 6からなる群から選択される少なくとも1種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目24)

2ミクログロブリン( 2 M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP - 1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP - 1)、CXCL10、CXCL9、アルブミン、およびKIM - 1からなる群から選択される少なくとも1種のaHUS関連バイオマーカーの濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目25)

CXCL10、CXCL9、MCP - 1、TNFR1、VEGF、IL - 6、CCL5、IFN - 、IL - 8、およびICAM - 1からなる群から選択される少なくとも1種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項に記載の方法。

(項目26)

前記被験体の血清中のCXCL9、CXCL10、IFN - 、MCP - 1、CCL5、s CD 4 0 L、またはs TNFR1の濃度を決定する、項目1から12のいずれか一項

に記載の方法。

(項目 27)

前記被験体の尿中の 2 ミクログロブリン ( 2 M )、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 )、C X C L 1 0、C X C L 9、アルブミン、および K I M - 1 からなる群から選択される少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカーの濃度を決定する、項目 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 28)

前記被験体の血漿中の N G A L、補体成分 B 因子のタンパク質分解断片、可溶性 C 5 b 9 ( s C 5 b 9 )、プロトロンビン断片 F 1 + 2、D - ダイマー、トロンボモジュリン、またはフォン・ウィルブランド因子 ( v W F ) の濃度を決定する、項目 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 29)

B a の濃度を決定する、項目 1 から 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 30)

前記被験体から得た血漿中の B a の濃度を決定する、項目 2 9 に記載の方法。

(項目 31)

前記被験体が、補体阻害剤を用いた処置を長期にわたって受けている、項目 1 から 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 32)

前記阻害剤が小分子、ポリペプチド、ポリペプチド類似体、ペプチド模倣体、またはアプタマーである、項目 1 から 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 33)

前記阻害剤が抗体または抗体の抗原結合性断片である、項目 3 2 に記載の方法。

(項目 34)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、ヒト化抗体、組換え抗体、ダイアボディ、キメラ化またはキメラ抗体、モノクローナル抗体、脱免疫化抗体、完全ヒト抗体、単鎖抗体、F v 断片、F d 断片、F a b 断片、F a b ' 断片、および F ( a b ' )<sub>2</sub> 断片からなる群から選択される、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 35)

前記抗体またはその抗原結合性断片が補体成分 C 5 に結合し、C 5 が切断されて断片 C 5 a および C 5 b になるのを阻害する、項目 3 3 または 3 4 に記載の方法。

(項目 36)

前記抗体がエクリズマブである、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 37)

前記抗原結合性断片がパキセリズマブである、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 38)

前記阻害剤が、M B 1 2 / 2 2、M B 1 2 / 2 2 - R G D、A R C 1 8 7、A R C 1 9 0 5、S S L 7、および O m C I からなる群から選択される、項目 3 2 に記載の方法。

(項目 39)

前記被験体がヒトであり、前記抗体を該ヒトに以下の投薬スケジュール：( i ) エクリズマブ少なくとも 9 0 0 m g を毎週、2 週間またはそれ超の週間にわたって；および ( i i ) ( i ) の後に、エクリズマブ少なくとも 1 2 0 0 m g を少なくとも 1 2 日毎、の下で投与する、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 40)

前記被験体の体重が 4 0 k g 超であるかまたは 4 0 k g に等しい、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 41)

前記抗体を前記被験体に少なくとも 7 週間にわたって以下のスケジュール：少なくとも 8 0 0 m g の該抗体を週あたり 1 回、4 週間連続して；

少なくとも 800 mg の該抗体を第 5 週の間に 1 回；および  
少なくとも 800 mg の該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目 40 に記載の方法。

(項目 42)

前記抗体を前記被験体に少なくとも 7 週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも 900 mg の該抗体を週あたり 1 回、4 週間連続して；  
少なくとも 1200 mg の該抗体を第 5 週の間に 1 回；および  
少なくとも 1200 mg の該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目 40 に記載の方法。

(項目 43)

前記被験体の体重が 40 kg 未満であるが、30 kg 超であるかまたは 30 kg に等しい、項目 35 に記載の方法。

(項目 44)

前記抗体を前記患者に少なくとも 5 週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも 500 mg の該抗体を週あたり 1 回、2 週間連続して；  
少なくとも 700 mg の該抗体を第 3 週の間に 1 回；および  
少なくとも 700 mg の該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目 43 に記載の方法。

(項目 45)

前記抗体を前記被験体に少なくとも 5 週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも 600 mg の該抗体を週あたり 1 回、2 週間連続して；  
少なくとも 900 mg の該抗体を第 3 週の間に 1 回；および  
少なくとも 900 mg の該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目 43 に記載の方法。

(項目 46)

前記被験体の体重が 30 kg 未満であるが、20 kg 超であるかまたは 20 kg に等しい、項目 35 に記載の方法。

(項目 47)

前記抗体を前記被験体に少なくとも 5 週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも 500 mg の該抗体を週あたり 1 回、2 週間連続して；  
少なくとも 500 mg の該抗体を第 3 週の間に 1 回；および  
少なくとも 500 mg の該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目 46 に記載の方法。

(項目 48)

前記抗体を前記被験体に少なくとも 5 週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも 600 mg の該抗体を週あたり 1 回、2 週間連続して；  
少なくとも 600 mg の該抗体を第 3 週の間に 1 回；および  
少なくとも 600 mg の該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目 46 に記載の方法。

(項目 49)

前記被験体の体重が 20 kg 未満であるが、10 kg 超であるかまたは 10 kg に等しい、項目 35 に記載の方法。

(項目 50)

前記抗体を前記被験体に少なくとも 4 週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも 500 mg の該抗体を週に 1 回、1 週間にわたって；  
少なくとも 200 mg の該抗体を第 2 週の間に 1 回；および  
少なくとも 200 mg の該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目 49 に記載の方法。

(項目 51)

前記抗体を前記被験体に少なくとも 4 週間にわたって以下のスケジュール：

少なくとも600mgの該抗体を週に1回、1週間にわたって；  
 少なくとも300mgの該抗体を第2週の間1回；および  
 少なくとも300mgの該抗体をその後、隔週で、  
 の下で投与する、項目49に記載の方法。

(項目52)

前記被験体の体重が10kg未満であるが、5kg超であるかまたは5kgに等しい、  
 項目35に記載の方法。

(項目53)

前記抗体を前記被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
 少なくとも200mgの該抗体を週あたり1回、1週間にわたって；  
 少なくとも200mgの該抗体を第2週の間1回；および  
 少なくとも200mgの該抗体をその後、3週間毎に1回、  
 の下で投与する、項目52に記載の方法。

(項目54)

前記抗体を前記被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
 少なくとも300mgの該抗体を週あたり1回、1週間にわたって；  
 少なくとも300mgの該抗体を第2週の間1回；および  
 少なくとも300mgの該抗体をその後、3週間毎に、  
 の下で投与する、項目52に記載の方法。

(項目55)

非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)を、少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の生理的変化を誘導するために十分な様式で補体阻害剤を使用して処置するための方法であって、

(a)被験体から得た生体液中の少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定するステップであって、該aHUS関連バイオマーカータンパク質が、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、IL-6、補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、プロトロンビン断片F1+2、d-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、アルブミン、CXCL9、KIM-1、およびCCL5からなる群から選択されるステップ、および

(b)aHUSを有するか、aHUSを有する疑いがあるか、またはaHUSを発症するリスクがある被験体に、補体の阻害剤を、2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の少なくともそれぞれの生理的変化を引き起こすために十分な量および頻度で投与するステップであって、該生理的変化が、(a)CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、IL-6、補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、プロトロンビン断片F1+2、d-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、アルブミン、CXCL9、またはKIM-1のうちの少なくとも1種の濃度が、該阻害剤を用いた処置の前に該被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下すること、および(b)CCL5の、該被験体から得た生体液中の濃度が、該阻害剤を用いた処置の前に該被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して上昇することからなる群から選択されるステップを含む方法。

(項目56)

前記少なくとも2種の生理的変化が起こったかどうかを決定するステップをさらに含む、項目55に記載の方法。

(項目57)

トロンボモジュリン、VCAM-1、およびvWFからなる群から選択される少なくとも

も 1 種のメンバーの濃度が低下する、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

(項目 5 8)

B a および s C 5 b 9 のそれぞれの濃度が低下する、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法

。

(項目 5 9)

C 5 a および s C 5 b 9 のそれぞれの濃度が低下する、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

(項目 6 0)

2 M、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、F A B P - 1 からなる群から選択される 2 種のメンバーの少なくともそれぞれの濃度が低下する、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

(項目 6 1)

2 ミクログロブリン ( 2 M)、クラスタリン、シスタチン C、N A G、T I M P - 1、N G A L、脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1)、C X C L 1 0、C X C L 9、アルブミン、および K I M - 1 のそれぞれの濃度が低下する、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

(項目 6 2)

トロンボモジュリン、V C A M - 1、および v W F のそれぞれの濃度が低下する、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

(項目 6 3)

プロトロンビン断片 F 1 + 2 および D - ダイマーの少なくともそれぞれの濃度が低下する、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

(項目 6 4)

トロンボモジュリン、V C A M - 1、および v W F のそれぞれの濃度が低下する、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

(項目 6 5)

C X C L 1 0、M C P - 1、および T N F R 1 のそれぞれの濃度が低下する、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

(項目 6 6)

I F N - および V C A M - 1 のうちの少なくとも 1 種の濃度が低下する、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

(項目 6 7)

C 5 a、C 5 b - 9、F 1 + 2、D - ダイマー、シスタチン C、または T I M P - 1 のうちの 1 種または複数種の濃度が前記補体の阻害剤を用いた処置の開始後少なくとも第 1 週 ~ 第 2 . 5 週までに低下する、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

(項目 6 8)

B a、T N F R 1、クラスタリン、または N G A L のうちの 1 種または複数種の濃度が前記阻害剤を用いた処置の開始後少なくとも第 4 週 ~ 第 6 週までに低下する、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

(項目 6 9)

V C A M - 1、F A B P - 1、または 2 M のうちの 1 種または複数種の濃度が前記阻害剤を用いた処置の開始後少なくとも第 1 2 週 ~ 第 1 7 週までに低下する、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

(項目 7 0)

補体成分 C 5 の阻害剤を、前記ヒトに、前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの 3 種またはそれ超のそれぞれの生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与する、項目 5 5 から 6 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7 1)

前記補体成分 C 5 の阻害剤を、前記被験体に、前記 a H U S 関連バイオマーカーのうちの少なくとも 5 種それぞれの生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与

する、項目55から69のいずれか一項に記載の方法。

(項目72)

前記補体成分C5の阻害剤を、前記被験体に、前記aHUS関連バイオマーカーのうちの少なくとも10種それぞれの生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与する、項目55から69のいずれか一項に記載の方法。

(項目73)

前記補体成分C5の阻害剤を、前記被験体に、前記aHUS関連バイオマーカーのうちの15種またはそれ超のそれぞれの生理的变化に影響を及ぼすために十分な量および頻度で投与する、項目55から69のいずれか一項に記載の方法。

(項目74)

CC L5以外の前記aHUS関連バイオマーカーのうちの少なくとも1種の濃度が前記阻害剤の投与後に少なくとも10%低下する、項目55または56に記載の方法。

(項目75)

CC L5以外の前記aHUS関連バイオマーカーのうちの少なくとも1種の濃度が前記阻害剤の投与後に少なくとも20%低下する、項目55または56に記載の方法。

(項目76)

CC L5以外の前記aHUS関連バイオマーカーのうちの少なくとも1種の濃度が前記阻害剤の投与後に少なくとも30%低下する、項目55または56に記載の方法。

(項目77)

CC L5以外の前記aHUS関連バイオマーカーのうちの少なくとも1種の濃度が前記阻害剤の投与後に少なくとも40%低下する、項目55または56に記載の方法。

(項目78)

CC L5以外の前記aHUS関連バイオマーカーのうちの少なくとも1種の濃度が前記阻害剤の投与後に少なくとも50%低下する、項目55または56に記載の方法。

(項目79)

CC L5以外の前記aHUS関連バイオマーカーのうちの少なくとも1種の濃度が前記阻害剤の投与後に少なくとも60%低下する、項目55または56に記載の方法。

(項目80)

前記aHUS関連バイオマーカーのうちの少なくとも1種の濃度が前記阻害剤の投与後に正常化する、項目55または56に記載の方法。

(項目81)

前記aHUS関連バイオマーカーのうちの少なくとも2種それぞれの濃度が前記阻害剤の投与後に正常化する、項目55または56に記載の方法。

(項目82)

前記aHUS関連バイオマーカーのうちの少なくとも3種それぞれの濃度が前記阻害剤の投与後に正常化する、項目55または56に記載の方法。

(項目83)

2マイクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、CXCL10、CXCL9、およびKIM-1からなる群から選択されるバイオマーカーが正常化する、項目82に記載の方法。

(項目84)

前記被験体が、前記阻害剤を用いた処置の直前の3ヶ月以内に透析を少なくとも1回受けている、項目55から83のいずれか一項に記載の方法。

(項目85)

同じ種類の生体液の試料中の正常な濃度と比較して、TNFR1、Ba、トロンボモジュリン断片F1+2、およびsC5b9からなる群から選択される少なくとも1種のメンバーの濃度が前記補体の阻害剤の投与前には上昇している、項目84に記載の方法。

(項目86)

同じ種類の生体液の試料中の正常な濃度と比較して、2M、sC5b9、C5a、シ

スタチンC、クラスタリン、TIMP-1、およびNGALのうちの1種または複数種の尿濃度が前記補体の阻害剤の投与前には上昇している、項目84に記載の方法。

(項目87)

前記被験体が、最初の急性aHUS発現を経験している被験体である、項目55から83のいずれか一項に記載の方法。

(項目88)

前記被験体が、aHUSを有さない健康な被験体と比較して、D-ダイマーの上昇およびFABP-1の上昇の一方または両方を有する、項目87に記載の方法。

(項目89)

少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質のそれぞれの前記生理的变化が前記阻害剤の最初の投与後2週間以内に起こる、項目55または56に記載の方法。

(項目90)

少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質のそれぞれの前記生理的变化が前記阻害剤の長期にわたる投与を開始してから2ヶ月以内に起こる、項目55または56に記載の方法。

(項目91)

前記被験体が、補体阻害剤を用いた処置を長期にわたって受けている、項目55から90のいずれか一項に記載の方法。

(項目92)

前記阻害剤が小分子、ポリペプチド、ポリペプチド類似体、ペプチド模倣体、またはアプタマーである、項目55から91のいずれか一項に記載の方法。

(項目93)

前記阻害剤が抗体または抗体の抗原結合性断片である、項目92に記載の方法。

(項目94)

前記抗体またはその抗原結合性断片が、ヒト化抗体、組換え抗体、ダイアボディ、キメラ化またはキメラ抗体、モノクローナル抗体、脱免疫化抗体、完全ヒト抗体、単鎖抗体、Fv断片、Fd断片、Fab断片、Fab'断片、およびF(ab')<sub>2</sub>断片からなる群から選択される、項目93に記載の方法。

(項目95)

前記抗体またはその抗原結合性断片が補体成分C5に結合し、C5が切断されて断片C5aおよびC5bになるのを阻害する、項目93または94に記載の方法。

(項目96)

前記抗体がエクリズマブである、項目95に記載の方法。

(項目97)

前記抗原結合性断片がパキセリズマブである、項目95に記載の方法。

(項目98)

前記阻害剤が、MB12/22、MB12/22-RGD、ARC187、ARC1905、SSL7、およびOmCIからなる群から選択される、項目92に記載の方法。

(項目99)

前記被験体がヒトであり、前記抗体を該ヒトに以下の投薬スケジュール：(i)エクリズマブ少なくとも900mgを毎週、2週間またはそれ超の週間にわたって；および(ii)(i)の後に、エクリズマブ少なくとも1200mgを少なくとも12日毎に、の下で投与する、項目95に記載の方法。

(項目100)

前記被験体の体重が40kg超であるかまたは40kgに等しい、項目95に記載の方法。

(項目101)

前記抗体を前記被験体に少なくとも7週間にわたって以下のスケジュール：

少なくとも800mgの該抗体を週あたり1回、4週間連続して；

少なくとも800mgの該抗体を第5週の間1回；および

少なくとも800mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目100に記載の方法。

(項目102)

前記抗体を前記被験体に少なくとも7週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも900mgの該抗体を週あたり1回、4週間連続して；  
少なくとも1200mgの該抗体を第5週の間1回；および  
少なくとも1200mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目100に記載の方法。

(項目103)

前記被験体の体重が40kg未満であるが、30kg超であるかまたは30kgに等しい、項目95に記載の方法。

(項目104)

前記抗体を前記患者に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも500mgの該抗体を週あたり1回、2週間連続して；  
少なくとも700mgの該抗体を第3週の間1回；および  
少なくとも700mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目43に記載の方法。

(項目105)

前記抗体を前記被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも600mgの該抗体を週あたり1回、2週間連続して；  
少なくとも900mgの該抗体を第3週の間1回；および  
少なくとも900mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目103に記載の方法。

(項目106)

前記被験体の体重が30kg未満であるが、20kg超であるかまたは20kgに等しい、項目95に記載の方法。

(項目107)

前記抗体を前記被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも500mgの該抗体を週あたり1回、2週間連続して；  
少なくとも500mgの該抗体を第3週の間1回；および  
少なくとも500mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目106に記載の方法。

(項目108)

前記抗体を前記被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも600mgの該抗体を週あたり1回、2週間連続して；  
少なくとも600mgの該抗体を第3週の間1回；および  
少なくとも600mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目106に記載の方法。

(項目109)

前記被験体の体重が20kg未満であるが、10kg超であるかまたは10kgに等しい、項目95に記載の方法。

(項目110)

前記抗体を前記被験体に少なくとも4週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも500mgの該抗体を週に1回、1週間にわたって；  
少なくとも200mgの該抗体を第2週の間1回；および  
少なくとも200mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目109に記載の方法。

(項目111)

前記抗体を前記被験体に少なくとも4週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも600mgの該抗体を週に1回、1週間にわたって；

少なくとも300mgの該抗体を第2週の間に1回；および  
少なくとも300mgの該抗体をその後、隔週で、  
の下で投与する、項目109に記載の方法。

(項目112)

前記被験体の体重が10kg未満であるが、5kg超であるかまたは5kgに等しい、  
項目105に記載の方法。

(項目113)

前記抗体を前記被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも200mgの該抗体を週あたり1回、1週間にわたって；  
少なくとも200mgの該抗体を第2週の間に1回；および  
少なくとも200mgの該抗体をその後、3週間毎に1回、  
の下で投与する、項目112に記載の方法。

(項目114)

前記抗体を前記被験体に少なくとも5週間にわたって以下のスケジュール：  
少なくとも300mgの該抗体を週あたり1回、1週間にわたって；  
少なくとも300mgの該抗体を第2週の間に1回；および  
少なくとも300mgの該抗体をその後、3週間毎に、  
の下で投与する、項目112に記載の方法。

(項目115)

複数の結合作用物質を含むアレイであって、該複数の結合作用物質のそれぞれが該アレイ上に独特のアドレスを有し、該アレイが500以下の独特のアドレスを含み、該複数の結合作用物質のそれぞれが異なる生物学的分析物タンパク質に結合し、該アレイが、表1に記載されている4種またはそれ超のタンパク質に結合する結合作用物質を含む、アレイ

(項目116)

前記結合作用物質が、補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、ICAM-1、IL-1ベータ、IL-12 p70、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、IL-6、アルブミン、IL-8、およびCCCL5からなる群から選択される4種またはそれ超のタンパク質に結合する、項目115に記載のアレイ。

(項目117)

タンパク質チップである、項目115または116に記載のアレイ。

(項目118)

前記アレイの各アドレスがアッセイプレートのウェルである、項目115または116に記載のアレイ。

(項目119)

少なくとも10種の前記分析物タンパク質に結合する抗体を含む、項目115から118のいずれか一項に記載のアレイ。

(項目120)

少なくとも20種の前記分析物タンパク質に結合する抗体を含む、項目115から118のいずれか一項に記載のアレイ。

(項目121)

200以下の独特のアドレスを含む、項目115から120のいずれか一項に記載のアレイ。

(項目122)

100以下の独特のアドレスを含む、項目115から120のいずれか一項に記載のアレイ。

レイ。

(項目123)

50以下の独特のアドレスを含む、項目115から120のいずれか一項に記載のレイ。

(項目124)

20以下の独特のアドレスを含む、項目115から120のいずれか一項に記載のレイ。

(項目125)

前記結合作用物質が抗体またはその抗原結合性断片である、項目115から124のいずれか一項に記載のレイ。

(項目126)

項目115から125のいずれか一項に記載のレイを含む診断用キット。

(項目127)

(a)アッセイプレートおよび(b)それぞれが異なる生物学的分析物に結合することが可能である少なくとも3種の結合作用物質を含む診断用キットであって、該分析物が、表1に記載されているaHUS関連バイオマーカータンパク質から選択される、診断用キット。

(項目128)

前記分析物が、補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、ICAM-1、IL-1ベータ、IL-12 p70、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、IL-6、アルブミン、IL-8、およびCCL5からなる群から選択される、項目127に記載の診断用キット。

(項目129)

前記結合作用物質が抗体またはその抗原結合性断片である、項目127または128に記載の診断用キット。

(項目130)

被験体を、非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)を有するかまたはaHUSを発症するリスクがあると診断するための方法であって、被験体から得た生体液中の少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定するステップであって、該aHUS関連バイオマーカータンパク質が、補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、ICAM-1、IL-1ベータ、IL-12 p70、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、IL-6、アルブミン、IL-8、およびCCL5からなる群から選択されるステップを含み、

補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN-、ICAM-1、IL-1ベータ、IL-12 p70、補体成分C5a、2ミクログロブリン(2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、IL-6、アルブミン

、 I L - 8、および C C L 5 のうちの少なくとも 1 種の濃度が、同じ種類の正常対照生体液中の濃度と比較して上昇していることにより、該被験体が a H U S を有するかまたは a H U S を発症するリスクがあることが示される、方法。

( 項目 1 3 1 )

少なくとも 5 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、項目 1 3 0 に記載の方法。

( 項目 1 3 2 )

少なくとも 1 0 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、項目 1 3 0 に記載の方法。

( 項目 1 3 3 )

前記生体液が血液である、項目 1 3 0 から 1 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 1 3 4 )

前記生体液が血液画分である、項目 1 3 0 から 1 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 1 3 5 )

前記血液画分が血漿または血清である、項目 1 3 4 に記載の方法。

( 項目 1 3 6 )

前記生体液が尿である、項目 1 3 0 から 1 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 1 3 7 )

2 つまたはそれ超の種類の生体液において少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカーの濃度を決定する、項目 1 3 0 から 1 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 1 3 8 )

1 種類の生体液中の少なくとも 2 種の前記 a H U S バイオマーカータンパク質のうちの第 1 のタンパク質の濃度を決定し、第 2 の種類の体液中の少なくとも 2 種の該 a H U S バイオマーカータンパク質のうちの第 2 のタンパク質の濃度を決定する、項目 1 3 0 から 1 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 1 3 9 )

被験体が最初の急性非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S ) 発現を経験しているかどうかを決定するための方法であって、該被験体由来の生体液中の D - ダイマーの濃度および脂肪酸結合タンパク質 1 ( F A B P - 1 ) の濃度の一方または両方を決定するステップを含み、 i ) 該 D - ダイマー濃度が同じ種類の正常対照生体液中の D - ダイマーの濃度と比較して上昇していること、 i i ) 該 F A B P - 1 濃度が同じ種類の正常対照生体液中の F A B P - 1 の濃度と比較して上昇していること、または i i i ) i と i i の両方により、該被験体が最初の急性 a H U S 発現を経験していることが示される、方法。

( 項目 1 4 0 )

前記被験体がヒトである、項目 1 3 9 に記載の方法。

( 項目 1 4 1 )

前記被験体から得た血漿の試料中の D - ダイマーの濃度を測定する、項目 1 3 9 または 1 4 0 に記載の方法。

( 項目 1 4 2 )

前記被験体から得た尿の試料中の F A B P - 1 の濃度を測定する、項目 1 3 9 または 1 4 0 に記載の方法。

( 項目 1 4 3 )

非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S ) を処置するための方法であって、 a H U S を有するか、 a H U S を有する疑いがあるか、または a H U S を発症するリスクがある被験体に、治療有効量の補体の阻害剤および治療有効量の： ( i ) 抗凝固剤、 ( i i ) 線維素溶解剤； ( i i i ) 抗炎症剤；または ( i v ) I L - 6、 I L - 8、 C X C L - 9、 I L - 1 8、または V E G F の阻害剤を投与するステップを含む方法。

( 項目 1 4 4 )

前記被験体がヒトである、項目 1 4 3 に記載の方法。

( 項目 1 4 5 )

前記補体の阻害剤が抗C5抗体またはそのC5結合性断片である、項目143または144に記載の方法。

(項目146)

前記抗C5抗体がエクリズマブである、項目145に記載の方法。

(項目147)

所定の投薬スケジュールの下で補体阻害剤を用いた処置を受けたaHUS患者が、(i)異なる補体阻害剤を用いた処置または(ii)同じ補体阻害剤を用いた異なる投薬スケジュールの下で用いた処置を必要とするかどうかを決定するための方法であって、

(A)該aHUS患者が該所定の投薬スケジュールの下で該補体阻害剤を用いた処置に応答するかどうかを決定するステップであって、該被験体から得た生体液中の少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度および活性の一方または両方を決定することを含み、該aHUS関連バイオマーカータンパク質が、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN- $\gamma$ 、IL-6、補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、プロトロンビン断片F1+2、d-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、補体成分C5a、 $\alpha$ 2ミクログロブリン( $\alpha$ 2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、アルブミン、CXCL9、KIM-1、およびCCL5からなる群から選択され、

(a)CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN- $\gamma$ 、IL-6、補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、プロトロンビン断片F1+2、d-ダイマー、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、補体成分C5a、 $\alpha$ 2ミクログロブリン( $\alpha$ 2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、アルブミン、CXCL9、およびKIM-1のうちの少なくとも1種の濃度が、該阻害剤を用いた処置の前に該被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して低下すること、または(b)CCL5の濃度が、該阻害剤を用いた処置の前に該被験体から得た同じ種類の生体液の試料中の濃度と比較して上昇することにより、該被験体が該阻害剤を用いた処置に応答することが示されるステップ、ならびに

(B)該患者が該補体阻害剤を用いた処置に応答しない場合、該患者に、異なる補体阻害剤を投与するか、または同じ該補体阻害剤を該所定の投薬スケジュールと比較して高用量または高頻度の投薬スケジュールで投与するステップを含む方法。

(項目148)

被験体における少なくとも1種の非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)関連バイオマーカータンパク質の濃度および活性レベルの一方または両方を評価するための方法であって、該被験体から得た生体液において、該生体液中の少なくとも2種のaHUS関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定するステップであって、該aHUS関連バイオマーカータンパク質が、補体成分B因子のタンパク質分解断片、可溶性C5b9(sC5b9)、トロンボモジュリン、VCAM-1、フォン・ウィルブランド因子(vWF)、可溶性CD40リガンド(sCD40L)、プロトロンビン断片F1+2、D-ダイマー、CXCL10、MCP-1、TNFR1、IFN- $\gamma$ 、ICAM-1、IL-1 $\beta$ 、IL-12p70、補体成分C5a、 $\alpha$ 2ミクログロブリン( $\alpha$ 2M)、クラスタリン、シスタチンC、NAG、TIMP-1、NGAL、脂肪酸結合タンパク質1(FABP-1)、CXCL9、KIM-1、IL-18、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、IL-6、アルブミン、IL-8、およびCCL5からなる群から選択されるステップを含む方法。

(項目149)

前記B因子のタンパク質分解断片が断片Baである、項目1から114、項目130から138、および項目147のいずれか一項に記載の方法。

(項目150)

前記 B 因子のタンパク質分解断片が断片 B a である、項目 1 1 5 から 1 2 5 のいずれか一項に記載のレイ。

(項目 1 5 1)

前記 B 因子のタンパク質分解断片が断片 B a である、項目 1 2 6 から 1 2 9 のいずれか一項に記載の診断用キット。

(項目 1 5 2)

患者を、非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S ) を有すると診断するための方法であつて、

( i ) a H U S を有する疑いがあるまたは a H U S を発症するリスクがある患者から得た生体試料において、B 因子のタンパク質分解断片、C 5 a、可溶性 C 5 b - 9 ( s C 5 b - 9 )、可溶性 T N F R 1 ( s T N F R 1 )、可溶性 V C A M - 1 ( s V C A M - 1 )、トロンボモジュリン、プロトロンビン断片 1 および 2 ( F 1 + 2 )、D - ダイマー、クラスタリン、T I M P - 1、F A B P - 1、ベータ 2 ミクログロブリン ( b 2 m )、およびシスタチン - C からなる群から選択される少なくとも 2 種の a H U S 関連バイオマーカーのそれぞれの濃度を測定するステップ、ならびに

( i i ) a H U S 関連バイオマーカーのうち少なくとも 2 種の濃度が同じ少なくとも 2 種のバイオマーカーの正常対照濃度と比較して上昇している場合に、患者が a H U S を有すると診断するステップ

を含む方法。

(項目 1 5 3)

少なくとも 2 種の前記 a H U S 関連バイオマーカータンパク質を、イムノアッセイを使用して測定する、項目 1 5 2 に記載の方法。

(項目 1 5 4)

前記イムノアッセイが酵素結合免疫吸着アッセイ ( E L I S A ) またはラジオイムノアッセイ ( R I A ) である、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 5 5)

少なくとも 3 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、項目 1 5 2 から 1 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 5 6)

少なくとも 5 種の a H U S 関連バイオマーカータンパク質の濃度を決定する、項目 1 5 2 から 1 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 5 7)

前記生体液が血液である、項目 1 5 2 から 1 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 5 8)

前記生体液が血液画分である、項目 1 5 2 から 1 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 5 9)

前記血液画分が血漿または血清である、項目 1 5 8 に記載の方法。

(項目 1 6 0)

前記生体液が尿である、項目 1 5 2 から 1 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 6 1)

2 つまたはそれ超の種類の生体液において少なくとも 1 種の a H U S 関連バイオマーカーの濃度を測定する、項目 1 5 2 から 1 6 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 6 2)

少なくとも 2 種の前記 a H U S バイオマーカータンパク質のうち第 1 のタンパク質の濃度を 1 種類の生体液において測定し、少なくとも 2 種の該 a H U S バイオマーカータンパク質のうち第 2 のタンパク質の濃度を第 2 の種類の体液において測定する、項目 1 5 2 から 1 6 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 6 3)

前記 B 因子のタンパク質分解断片の濃度を測定する、項目 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目164)

前記B因子のタンパク質分解断片が断片Baである、項目163に記載の方法。

(項目165)

前記生体試料が血漿試料である、項目164に記載の方法。

(項目166)

Baの正常対照濃度が1000ng/mL未満である、項目165に記載の方法。

(項目167)

Baの正常対照濃度が600ng/mL未満である、項目165に記載の方法。

(項目168)

Baの正常対照濃度が300ng/mLから600ng/mLの間である、項目165に記載の方法。

(項目169)

前記生体試料中のBaの濃度がBaの正常対照濃度よりも少なくとも2倍高いときに該生体試料中のBaの濃度が上昇しているとみなされる、項目164から168のいずれか一項に記載の方法。

(項目170)

前記生体試料中のBaの濃度がBaの正常対照濃度よりも少なくとも5倍高いときに該生体試料中のBaの濃度が上昇しているとみなされる、項目164から168のいずれか一項に記載の方法。

(項目171)

前記生体試料中のBaの濃度が少なくとも1500ng/mLであるときに該生体試料中のBaの濃度が上昇しているとみなされる、項目164から168のいずれか一項に記載の方法。

(項目172)

前記生体試料中のBaの濃度が少なくとも2500ng/mLであるときに該生体試料中のBaの濃度が上昇しているとみなされる、項目164から168のいずれか一項に記載の方法。

(項目173)

C5aの濃度を測定する、項目152から162のいずれか一項に記載の方法。

(項目174)

前記生体試料が尿試料である、項目173に記載の方法。

(項目175)

C5aの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり2ng未満である、項目174に記載の方法。

(項目176)

C5aの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり1ng未満である、項目174に記載の方法。

(項目177)

C5aの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり0ngから0.7ngの間である、項目174に記載の方法。

(項目178)

前記生体試料中のC5aの濃度がC5aの正常対照濃度よりも少なくとも2倍高いときに該生体試料中のC5aの濃度が上昇しているとみなされる、項目173から177のいずれか一項に記載の方法。

(項目179)

前記生体試料中のC5aの濃度がC5aの正常対照濃度よりも少なくとも10倍高いときに該生体試料中のC5aの濃度が上昇しているとみなされる、項目173から177のいずれか一項に記載の方法。

(項目180)

前記生体試料中のC5aの濃度がC5aの正常対照濃度よりも少なくとも40倍高いと

きに該生体試料中の C 5 a の濃度が上昇しているとみなされる、項目 1 7 3 から 1 7 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 1)

前記生体試料中の C 5 a の濃度が尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 5 n g であるときに該生体試料中の C 5 a の濃度が上昇しているとみなされる、項目 1 7 4 から 1 7 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 2)

前記生体試料中の C 5 a の濃度が尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 9 n g であるときに該生体試料中の C 5 a の濃度が上昇しているとみなされる、項目 1 7 4 から 1 7 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 3)

s C 5 b - 9 の濃度を測定する、項目 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 4)

前記生体試料が尿試料である、項目 1 8 3 に記載の方法。

(項目 1 8 5)

s C 5 b - 9 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 2 n g 未満である、項目 1 8 4 に記載の方法。

(項目 1 8 6)

s C 5 b - 9 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 1 n g 未満である、項目 1 8 4 に記載の方法。

(項目 1 8 7)

s C 5 b - 9 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 0 n g から 0 . 6 n g の間である、項目 1 8 4 に記載の方法。

(項目 1 8 8)

前記生体試料中の s C 5 b - 9 の濃度が s C 5 b - 9 の正常対照濃度よりも少なくとも 1 0 倍高いときに該生体試料中の s C 5 b - 9 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 1 8 3 から 1 8 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8 9)

前記生体試料中の s C 5 b - 9 の濃度が s C 5 b - 9 の正常対照濃度よりも少なくとも 5 0 倍高いときに該生体試料中の s C 5 b - 9 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 1 8 3 から 1 8 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 9 0)

前記生体試料中の s C 5 b - 9 の濃度が s C 5 b - 9 の正常対照濃度よりも少なくとも 1 0 0 倍高いときに該生体試料中の s C 5 b - 9 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 1 8 3 から 1 8 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 9 1)

前記生体試料中の s C 5 b - 9 の濃度が尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 2 0 n g であるときに該生体試料中の s C 5 b - 9 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 1 8 4 から 1 8 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 9 2)

前記生体試料中の s C 5 b - 9 の濃度が尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 3 0 n g であるときに該生体試料中の s C 5 b - 9 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 1 8 4 から 1 8 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 9 3)

s T N F R 1 の濃度を測定する、項目 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 9 4)

前記生体試料が血清試料である、項目 1 9 3 に記載の方法。

(項目 1 9 5)

s T N F R 1 の正常対照濃度が 2 0 0 0 p g / m L 未満である、項目 1 9 4 に記載の方法。

(項目196)

sTNFR1の正常対照濃度が1500 pg/mL未満である、項目194に記載の方法。

(項目197)

sTNFR1の正常対照濃度が400 pg/mLから1500 pg/mLの間である、項目194に記載の方法。

(項目198)

前記生体試料中のsTNFR1の濃度がsTNFR1の正常対照濃度よりも少なくとも2倍高いときに該生体試料中のsTNFR1の濃度が上昇しているとみなされる、項目193から197のいずれか一項に記載の方法。

(項目199)

前記生体試料中のsTNFR1の濃度がsTNFR1の正常対照濃度よりも少なくとも5倍高いときに該生体試料中のsTNFR1の濃度が上昇しているとみなされる、項目193から197のいずれか一項に記載の方法。

(項目200)

前記生体試料中のsTNFR1の濃度がsTNFR1の正常対照濃度よりも少なくとも15倍高いときに該生体試料中のsTNFR1の濃度が上昇しているとみなされる、項目193から197のいずれか一項に記載の方法。

(項目201)

前記生体試料中のsTNFR1の濃度が少なくとも10,000 pg/mLであるときに該生体試料中のsTNFR1の濃度が上昇しているとみなされる、項目194から197のいずれか一項に記載の方法。

(項目202)

前記生体試料中のsTNFR1の濃度が少なくとも15,000 pg/mLであるときに該生体試料中のsTNFR1の濃度が上昇しているとみなされる、項目194から197のいずれか一項に記載の方法。

(項目203)

sVCAM-1の濃度を測定する、項目152から162のいずれか一項に記載の方法。

(項目204)

前記生体試料が血清試料である、項目203に記載の方法。

(項目205)

sVCAM-1の正常対照濃度が500 ng/mL未満である、項目204に記載の方法。

(項目206)

sVCAM-1の正常対照濃度が300 ng/mL未満である、項目204に記載の方法。

(項目207)

sVCAM-1の正常対照濃度が100 ng/mLから500 ng/mLの間である、項目204に記載の方法。

(項目208)

前記生体試料中のsVCAM-1の濃度がsVCAM-1の正常対照濃度よりも少なくとも10%高いときに該生体試料中のsVCAM-1の濃度が上昇しているとみなされる、項目203から207のいずれか一項に記載の方法。

(項目209)

前記生体試料中のsVCAM-1の濃度がsVCAM-1の正常対照濃度よりも少なくとも30%高いときに該生体試料中のsVCAM-1の濃度が上昇しているとみなされる、項目203から207のいずれか一項に記載の方法。

(項目210)

前記生体試料中のsVCAM-1の濃度がsVCAM-1の正常対照濃度よりも少なく

とも50%高いときに該生体試料中のsVCAM-1の濃度が上昇しているとみなされる、項目203から207のいずれか一項に記載の方法。

(項目211)

前記生体試料中のsVCAM-1の濃度が少なくとも600ng/mLであるときに該生体試料中のsVCAM-1の濃度が上昇しているとみなされる、項目204から207のいずれか一項に記載の方法。

(項目212)

前記生体試料中のsVCAM-1の濃度が少なくとも650ng/mLであるときに該生体試料中のsVCAM-1の濃度が上昇しているとみなされる、項目204から207のいずれか一項に記載の方法。

(項目213)

トロンボモジュリンの濃度を測定する、項目152から162のいずれか一項に記載の方法。

(項目214)

前記生体試料が血漿試料である、項目213に記載の方法。

(項目215)

トロンボモジュリンの正常対照濃度が5ng/mL未満である、項目214に記載の方法。

(項目216)

トロンボモジュリンの正常対照濃度が3ng/mL未満である、項目214に記載の方法。

(項目217)

トロンボモジュリンの正常対照濃度が2ng/mLから6ng/mLの間である、項目214に記載の方法。

(項目218)

前記生体試料中のトロンボモジュリンの濃度がトロンボモジュリンの正常対照濃度よりも少なくとも10%高いときに該生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる、項目213から217のいずれか一項に記載の方法。

(項目219)

前記生体試料中のトロンボモジュリンの濃度がトロンボモジュリンの正常対照濃度よりも少なくとも30%高いときに該生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる、項目213から217のいずれか一項に記載の方法。

(項目220)

前記生体試料中のトロンボモジュリンの濃度がトロンボモジュリンの正常対照濃度よりも少なくとも50%高いときに該生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる、項目213から217のいずれか一項に記載の方法。

(項目221)

前記生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が少なくとも8ng/mLであるときに該生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる、項目214から217のいずれか一項に記載の方法。

(項目222)

前記生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が少なくとも10ng/mLであるときに該生体試料中のトロンボモジュリンの濃度が上昇しているとみなされる、項目214から217のいずれか一項に記載の方法。

(項目223)

F1+2の濃度を測定する、項目152から162のいずれか一項に記載の方法。

(項目224)

前記生体試料が血漿試料である、項目223に記載の方法。

(項目225)

F1+2の正常対照濃度が400pmol/L未満である、項目224に記載の方法。

(項目 2 2 6)

F 1 + 2 の正常対照濃度が 3 0 0 p m o l / L 未満である、項目 2 2 4 に記載の方法。

(項目 2 2 7)

F 1 + 2 の正常対照濃度が 5 0 p m o l / L から 4 0 0 p m o l / L の間である、項目 2 2 4 に記載の方法。

(項目 2 2 8)

前記生体試料中の F 1 + 2 の濃度が F 1 + 2 の正常対照濃度よりも少なくとも 3 0 % 高いときに該生体試料中の F 1 + 2 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 2 3 から 2 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 2 9)

前記生体試料中の F 1 + 2 の濃度が F 1 + 2 の正常対照濃度よりも少なくとも 5 0 % 高いときに該生体試料中の F 1 + 2 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 2 3 から 2 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 3 0)

前記生体試料中の F 1 + 2 の濃度が F 1 + 2 の正常対照濃度よりも少なくとも 1 0 0 % 高いときに該生体試料中の F 1 + 2 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 2 3 から 2 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 3 1)

前記生体試料中の F 1 + 2 の濃度が少なくとも 9 0 0 p m o l / L であるときに該生体試料中の F 1 + 2 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 2 4 から 2 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 3 2)

前記生体試料中の F 1 + 2 の濃度が少なくとも 1 0 0 0 p m o l / L であるときに該生体試料中の F 1 + 2 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 2 4 から 2 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 3 3)

D - ダイマーの濃度を測定する、項目 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 3 4)

前記生体試料が血漿試料である、項目 2 3 3 に記載の方法。

(項目 2 3 5)

D - ダイマーの正常対照濃度が 5 0 0 μ g / L 未満である、項目 2 3 4 に記載の方法。

(項目 2 3 6)

D - ダイマーの正常対照濃度が 4 0 0 μ g / L 未満である、項目 2 3 4 に記載の方法。

(項目 2 3 7)

D - ダイマーの正常対照濃度が 1 0 0 μ g / L から 5 0 0 μ g / L の間である、項目 2 3 4 に記載の方法。

(項目 2 3 8)

前記生体試料中の D - ダイマーの濃度が D - ダイマーの正常対照濃度よりも少なくとも 2 倍高いときに該生体試料中の D - ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 3 3 から 2 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 3 9)

前記生体試料中の D - ダイマーの濃度が D - ダイマーの正常対照濃度よりも少なくとも 5 倍高いときに該生体試料中の D - ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 3 3 から 2 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 4 0)

前記生体試料中の D - ダイマーの濃度が D - ダイマーの正常対照濃度よりも少なくとも 1 0 倍高いときに該生体試料中の D - ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 3 3 から 2 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 4 1)

前記生体試料中の D - ダイマーの濃度が少なくとも 1 5 0 0 μ g / L であるときに該生

体試料中の D - ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 3 4 から 2 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 4 2)

前記生体試料中の D - ダイマーの濃度が少なくとも 2 5 0 0  $\mu$  g / L であるときに該生体試料中の D - ダイマーの濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 3 4 から 2 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 4 3)

クラスタリンの濃度を測定する、項目 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 4 4)

前記生体試料が尿試料である、項目 2 4 3 に記載の方法。

(項目 2 4 5)

クラスタリンの正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 5 0 0 n g 未満である、項目 2 4 4 に記載の方法。

(項目 2 4 6)

クラスタリンの正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 4 0 0 n g 未満である、項目 2 4 4 に記載の方法。

(項目 2 4 7)

クラスタリンの正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 0 n g から 5 0 0 n g の間である、項目 2 4 4 に記載の方法。

(項目 2 4 8)

前記生体試料中のクラスタリンの濃度がクラスタリンの正常対照濃度よりも少なくとも 2 倍高いときに該生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 4 3 から 2 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 4 9)

前記生体試料中のクラスタリンの濃度がクラスタリンの正常対照濃度よりも少なくとも 5 倍高いときに該生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 4 3 から 2 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 5 0)

前記生体試料中のクラスタリンの濃度がクラスタリンの正常対照濃度よりも少なくとも 1 0 倍高いときに該生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 4 3 から 2 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 5 1)

前記生体試料中のクラスタリンの濃度が尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 9 0 0 n g であるときに該生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 4 4 から 2 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 5 2)

前記生体試料中のクラスタリンの濃度が尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 1 2 0 0 n g であるときに該生体試料中のクラスタリンの濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 4 4 から 2 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 5 3)

T I M P - 1 の濃度を測定する、項目 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 5 4)

前記生体試料が血漿試料である、項目 2 5 3 に記載の方法。

(項目 2 5 5)

T I M P - 1 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 1 0 n g 未満である、項目 2 5 4 に記載の方法。

(項目 2 5 6)

T I M P - 1 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 5 n g 未満である、項目 2 5 4 に記載の方法。

(項目 2 5 7)

T I M P - 1 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 0 n g から 1 0 n g の間である、項目 2 5 4 に記載の方法。

(項目 2 5 8)

前記生体試料中の T I M P - 1 の濃度が T I M P - 1 の正常対照濃度よりも少なくとも 2 倍高いときに該生体試料中の T I M P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 5 3 から 2 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 5 9)

前記生体試料中の T I M P - 1 の濃度が T I M P - 1 の正常対照濃度よりも少なくとも 1 0 倍高いときに該生体試料中の T I M P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 5 3 から 2 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 6 0)

前記生体試料中の T I M P - 1 の濃度が T I M P - 1 の正常対照濃度よりも少なくとも 2 0 倍高いときに該生体試料中の T I M P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 5 3 から 2 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 6 1)

前記生体試料中の T I M P - 1 の濃度が尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 1 5 n g であるときに該生体試料中の T I M P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 5 4 から 2 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 6 2)

前記生体試料中の T I M P - 1 の濃度が尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 2 0 n g であるときに該生体試料中の T I M P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 5 4 から 2 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 6 3)

F A B P - 1 の濃度を測定する、項目 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 6 4)

前記生体試料が血漿試料である、項目 2 6 3 に記載の方法。

(項目 2 6 5)

F A B P - 1 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 2 0 n g 未満である、項目 2 6 4 に記載の方法。

(項目 2 6 6)

F A B P - 1 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 1 5 n g 未満である、項目 2 6 4 に記載の方法。

(項目 2 6 7)

F A B P - 1 の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 0 n g から 2 0 n g の間である、項目 2 6 4 に記載の方法。

(項目 2 6 8)

前記生体試料中の F A B P - 1 の濃度が F A B P - 1 の正常対照濃度よりも少なくとも 2 倍高いときに該生体試料中の F A B P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 6 3 から 2 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 6 9)

前記生体試料中の F A B P - 1 の濃度が F A B P - 1 の正常対照濃度よりも少なくとも 1 0 倍高いときに該生体試料中の F A B P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 6 3 から 2 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 7 0)

前記生体試料中の F A B P - 1 の濃度が F A B P - 1 の正常対照濃度よりも少なくとも 2 0 倍高いときに該生体試料中の F A B P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 6 3 から 2 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 7 1)

前記生体試料中の F A B P - 1 の濃度が尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 4 0 n g であるときに該生体試料中の F A B P - 1 の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2

64から267のいずれか一項に記載の方法。

(項目272)

前記生体試料中のFABP-1の濃度が尿中クレアチニンmgあたり少なくとも50ngであるときに該生体試料中のFABP-1の濃度が上昇しているとみなされる、項目264から267のいずれか一項に記載の方法。

(項目273)

2mの濃度を測定する、項目152から162のいずれか一項に記載の方法。

(項目274)

前記生体試料が血漿試料である、項目273に記載の方法。

(項目275)

2mの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり5μg未満である、項目274に記載の方法。

(項目276)

2mの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり3μg未満である、項目274に記載の方法。

(項目277)

2mの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり0μgから5μgの間である、項目274に記載の方法。

(項目278)

前記生体試料中の2mの濃度が2mの正常対照濃度よりも少なくとも2倍高いときに該生体試料中の2mの濃度が上昇しているとみなされる、項目273から277のいずれか一項に記載の方法。

(項目279)

前記生体試料中の2mの濃度が2mの正常対照濃度よりも少なくとも10倍高いときに該生体試料中の2mの濃度が上昇しているとみなされる、項目273から277のいずれか一項に記載の方法。

(項目280)

前記生体試料中の2mの濃度が2mの正常対照濃度よりも少なくとも20倍高いときに該生体試料中の2mの濃度が上昇しているとみなされる、項目273から277のいずれか一項に記載の方法。

(項目281)

前記生体試料中の2mの濃度が尿中クレアチニンmgあたり少なくとも15μgであるときに該生体試料中の2mの濃度が上昇しているとみなされる、項目274から277のいずれか一項に記載の方法。

(項目282)

前記生体試料中の2mの濃度が尿中クレアチニンmgあたり少なくとも20μgであるときに該生体試料中の2mの濃度が上昇しているとみなされる、項目274から277のいずれか一項に記載の方法。

(項目283)

シスタチン-Cの濃度を測定する、項目152から162のいずれか一項に記載の方法

。

(項目284)

前記生体試料が血漿試料である、項目283に記載の方法。

(項目285)

シスタチン-Cの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり400ng未満である、項目284に記載の方法。

(項目286)

シスタチン-Cの正常対照濃度が尿中クレアチニンmgあたり300ng未満である、項目284に記載の方法。

(項目287)

シスタチン - C の正常対照濃度が尿中クレアチニン m g あたり 0 n g から 4 0 0 n g の間である、項目 2 8 4 に記載の方法。

(項目 2 8 8)

前記生体試料中のシスタチン - C の濃度がシスタチン - C の正常対照濃度よりも少なくとも 2 倍高いときに該生体試料中のシスタチン - C の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 8 3 から 2 8 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 8 9)

前記生体試料中のシスタチン - C の濃度がシスタチン - C の正常対照濃度よりも少なくとも 1 0 倍高いときに該生体試料中のシスタチン - C の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 8 3 から 2 8 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 9 0)

前記生体試料中のシスタチン - C の濃度がシスタチン - C の正常対照濃度よりも少なくとも 2 0 倍高いときに該生体試料中のシスタチン - C の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 8 3 から 2 8 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 9 1)

前記生体試料中のシスタチン - C の濃度が尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 9 0 0 n g であるときに該生体試料中のシスタチン - C の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 8 4 から 2 8 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 9 2)

前記生体試料中のシスタチン - C の濃度が尿中クレアチニン m g あたり少なくとも 1 2 0 0 n g であるときに該生体試料中のシスタチン - C の濃度が上昇しているとみなされる、項目 2 8 4 から 2 8 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 9 3)

B 因子のタンパク質分解断片、C 5 a および s C 5 b - 9 のうちの 2 種またはそれ超の濃度を測定する、項目 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 9 4)

C 5 a および s C 5 b - 9 の濃度を測定する、項目 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 9 5)

s V C A M - 1 およびトロノボモジュリンの濃度を測定する、項目 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 9 6)

F 1 + 2 および D - ダイマーの濃度を測定する、項目 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 9 7)

クラスタリン、T I M P - 1、2 m、F A B P - 1、およびシスタチン - C のうちの 2 種またはそれ超の濃度を測定する、項目 1 5 2 から 1 6 2 のいずれか一項に記載の方法

。

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2014/049957
---

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, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MARCUS WEITZ ET AL: "Prophylactic eculizumab prior to kidney transplantation for atypical hemolytic uremic syndrome", PEDIATRIC NEPHROLOGY ; JOURNAL OF THE INTERNATIONAL PEDIATRIC NEPHROLOGY, vol. 26, no. 8, 10 May 2011 (2011-05-10), pages 1325-1329, XP019918958, ASSOCIATION, SPRINGER, BERLIN, DE ISSN: 1432-198X, DOI: 10.1007/S00467-011-1879-9 abstract; p. 1226; fig.1 ----- -/--	1-297
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier 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 "G" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 5 February 2015		Date of mailing of the international search report 25/02/2015
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 Hohwy, Morten

8

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2014/049957
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	DATABASE BIOSIS [Online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; November 2013 (2013-11), COFIELL ROXANNE ET AL: "Biomarkers Of Complement and Endothelial Activation, Inflammation, Thrombosis and Renal Injury In Patients (pts) With aHUS Treated With Eculizumab (ECU)", XP002730702, Database accession no. PREV201400361221 the whole document	1-297
Y	----- CARLA M NESTER ET AL: "Atypical hemolytic uremic syndrome: what is it, how is it diagnosed, and how is it treated?", HEMATOLOGY / THE EDUCATION PROGRAM OF THE AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY. AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY. EDUCATION PROGRAM, vol. 2012, 8 December 2012 (2012-12-08), pages 617-625, XP055144729, United States abstract; fig. 3	1-297
Y	----- JULIEN ZUBER ET AL: "Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies", NATURE REVIEWS NEPHROLOGY, vol. 8, no. 11, 2 October 2012 (2012-10-02), pages 643-657, XP055144872, ISSN: 1759-5061, DOI: 10.1038/nrneph.2012.214 abstract; fig. 1	1-297
X	----- RAJEEV MEHLA ET AL: "Programming of neurotoxic cofactor CXCL-10 in HIV-1-associated dementia: abrogation of CXCL-10-induced neuro-glial toxicity in vitro by PKC activator", JOURNAL OF NEUROINFLAMMATION, vol. 9, no. 1, 18 October 2012 (2012-10-18), page 239, XP021136932, BIOMED CENTRAL LTD., LONDON, GB ISSN: 1742-2094, DOI: 10.1186/1742-2094-9-239 p. 241, col. 2 ----- -/--	115-118, 126-129, 148

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2014/049957
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>YOSHIHIRO OKAMOTO ET AL: "DETERMINATION OF SOLUBLE TUMOR NECROSIS FACTOR-[alpha] RECEPTOR TYPE I (TNFRI) AND II (TNFRII) IN THE URINE OF HEALTHY JAPANESE SUBJECTS", JOURNAL OF IMMUNOASSAY AND IMMUNOCHEMISTRY, vol. 32, no. 2, 10 March 2011 (2011-03-10), pages 145-155, XP055163899, ISSN: 1532-1819, DOI: 10.1080/15321819.2010.545161 abstract; table 2; fig. 3 -----</p>	1-297
Y	<p>WO 2011/137395 A1 (ROTHER RUSSELL P [US]; SHERIDAN DOUGLAS L [US]; TAMBURINI PAUL P [US];) 3 November 2011 (2011-11-03) abstract; p. 3, par.3; examples 1-18 -----</p>	1-297
Y	<p>E. G. DE JORGE ET AL: "Gain-of-function mutations in complement factor B are associated with atypical hemolytic uremic syndrome", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 104, no. 1, 2 January 2007 (2007-01-02), pages 240-245, XP055162429, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.0603420103 p. 241, col. 1, par. 2; fig. 6c -----</p>	1-297
Y	<p>KAPLAN B S ET AL: "Eculizumab treatment of atypical hemolytic uremic syndrome", EXPERT OPINION ON ORPHAN DRUGS, vol. 1, no. 2, 1 January 2013 (2013-01-01), pages 167-176, XP009182041, INFORMA HEALTHCARE, UK ISSN: 2167-8707, DOI: 10.1517/21678707.2013.750579 abstract; p. 169, col. 2, par. 2 -----</p>	1-297
Y	<p>KAVITA S. HODGKINS ET AL: "Clinical Grand Rounds: Atypical Hemolytic Uremic Syndrome", AMERICAN JOURNAL OF NEPHROLOGY, vol. 35, no. 5, 1 January 2012 (2012-01-01), pages 394-400, XP055162670, ISSN: 0250-8095, DOI: 10.1159/000337954 abstract; p. 399, col. 1, par. 2 -----</p>	1-297
	-/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2014/049957
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>ANDERS KRARUP ET AL: "Simultaneous Activation of Complement and Coagulation by MBL-Associated Serine Protease 2", PLOS ONE, vol. 2, no. 7, E623, 1 January 2007 (2007-01-01), pages 1-8, XP055065799, ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/journal.pone.0000623 abstract; fig. 1</p> <p>-----</p>	1-297
X,P	<p>ROXANNE COFIELL ET AL: "ECULIZUMAB REDUCES TERMINAL COMPLEMENT (TC) AND COMPLEMENT ALTERNATIVE PATHWAY (CAP) ACTIVATION, INFLAMMATION, ENDOTHELIAL DAMAGE, THROMBOSIS AND RENAL INJURY IN ATYPICAL HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME (AHUS) PATIENTS", NEPHROLOGY DIALYSIS TRANSPLANTATION, PROCEEDINGS FROM 51ST CONGRESS OF THE EUROPEAN-RENAL-ASSOCIATION(ERA)/EUROPEAN-DIALYSIS-AND-TRANSPLANT-ASSOCIATION, 31 May 2014 (2014-05-31), XP055162837, the whole document</p> <p>-----</p>	1-297
X,P	<p>ROXANNE COFIELL ET AL: "Biomarkers Of Complement and Endothelial Activation, Inflammation, Thrombosis and Renal Injury In Patients (pts) With aHUS Treated With Eculizumab (ECU)", BLOOD, vol. 122, 15 November 2013 (2013-11-15), page 2184, XP055162977, the whole document</p> <p>-----</p>	1-297
Y	<p>MODDE FRIEDRICH ET AL: "Comprehensive analysis of glomerular mRNA expression of pro- and antithrombotic genes in atypical haemolytic-uremic syndrome (aHUS)", VIRCHOWS ARCHIV, vol. 462, no. 4, 9 March 2013 (2013-03-09), pages 455-464, XP035373008, SPRINGER INTERNATIONAL, BERLIN, DE ISSN: 0945-6317, DOI: 10.1007/S00428-013-1386-4 [retrieved on 2013-03-09] abstract; table 2</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-297

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2014/049957
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	<p>FAAS S J ET AL: "REDUCTION OF BIOMARKERS RELATED TO THROMBOTIC MICROANGIOPATHY IN PATIENTS WITH AHUS TREATED WITH ECULIZUMAB", HAEMATOLOGICA, vol. 99, no. Suppl. 1, June 2014 (2014-06) , pages 473-474, XP002734794, &amp; 19TH CONGRESS OF THE EUROPEAN-HEMATOLOGY-ASSOCIATION; MILAN, ITALY; JUNE 12 -15, 2014 ISSN: 0390-6078 the whole document -----</p>	1-297

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2014/049957**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:  
1-297(partially)
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ US2014/ 049957

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-297(partially)

A method for monitoring, diagnosing, and treating a subject suffering from atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) and associated kits, wherein the methods and kits involve the use of at least two aHUS associated biomarkers comprising CXCL10.

---

2-24. claims: 1-297(partially)

A method for monitoring, diagnosing, and treating a subject suffering from atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) and associated kits, wherein the methods and kits involve the use of at least two aHUS associated biomarkers comprising the n'th biomarker listed in claim 1, wherein n corresponds to the n'th invention (MCP-1 for invention 2, TNFR1 for invention 3 and so forth).

---

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No  
PCT/US2014/049957

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011137395 A1	03-11-2011	AU 2011245117 A1	22-11-2012
		CA 2797856 A1	03-11-2011
		CN 103201289 A	10-07-2013
		CO 6660465 A2	30-04-2013
		EA 201291147 A1	30-08-2013
		EP 2563813 A1	06-03-2013
		EP 2824111 A2	14-01-2015
		JP 2013526861 A	27-06-2013
		KR 20130062287 A	12-06-2013
		SG 185383 A1	28-12-2012
		US 2013224187 A1	29-08-2013
		WO 2011137395 A1	03-11-2011
-----			

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	G 0 1 N 33/53 R	4 H 0 4 5
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/7105	
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	
C 0 7 K 14/47 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	
	A 6 1 P 13/12	
	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
	C 1 2 M 1/00 Z N A A	
	C 0 7 K 14/47	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, 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, TZ, UA, UG, US

(72) 発明者 コフィール, ロクサンヌ  
 アメリカ合衆国 コネチカット 0 6 0 3 3, グラストンベリー, ニードルツリー レーン  
 8 3

(72) 発明者 ククレジャ, アンジリ  
 アメリカ合衆国 コネチカット 0 6 8 2 4, フェアフィールド, メモリー レーン 3 0

(72) 発明者 ベダード, クリステイン エー.  
 アメリカ合衆国 コネチカット 0 6 4 1 0 - 1 7 3 1, チェシャー, ウォルフ ヒル コー  
 ト 7 3

(72) 発明者 ヤン, ヤン  
 アメリカ合衆国 コネチカット 0 6 4 1 0, チェシャー, ノース ポンド ロード 1 8

F ターム(参考) 2G045 AA40 CA25 CA26 CB03 DA36 FB03  
 4B029 AA07 AA08 BB15 CC08 FA01 FA12 GA03  
 4C084 AA02 AA17 BA03 NA14 ZA812 ZC412  
 4C085 AA13 AA14 AA16 AA33 BB41 BB43 CC23  
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA81 ZC41  
 4H045 BA10 CA40 EA20 EA50

专利名称(译)	非典型溶血性尿毒症综合征的生物标志物蛋白		
公开(公告)号	<a href="#">JP2016528235A</a>	公开(公告)日	2016-09-15
申请号	JP2016533403	申请日	2014-08-06
申请(专利权)人(译)	Alexion公司制药公司		
[标]发明人	マックナイトスーザンファース コフィールロクサンヌ ククレジャアンジリ ベダードクリスティンエー ヤンヤン		
发明人	マックナイト, スーザン ファース コフィール, ロクサンヌ ククレジャ, アンジリ ベダード, クリスティン エー. ヤン, ヤン		
IPC分类号	A61K45/00 G01N33/68 G01N33/53 A61K38/00 A61K31/7105 A61K39/395 A61P13/12 A61P43/00 C12M1/00 C07K14/47		
CPC分类号	A61K2039/505 C07K16/18 C07K2317/21 C07K2317/24 C07K2317/54 C07K2317/55 C07K2317/622 C07K2317/626 C07K2317/76 G01N33/6863 G01N33/6893 G01N2333/4716 G01N2333/485 G01N2333 /522 G01N2333/5412 G01N2333/5421 G01N2333/5434 G01N2333/545 G01N2333/57 G01N2333 /70503 G01N2333/70525 G01N2333/70539 G01N2333/7151 G01N2333/745 G01N2333/7452 G01N2333/75 G01N2333/775 G01N2333/8139 G01N2333/8146 G01N2333/974 G01N2800/226 G01N2800/347 G01N2800/50 G01N2800/52 A61P13/12 A61P43/00		
FI分类号	A61K45/00 G01N33/68 G01N33/53.D G01N33/53.L G01N33/53.P G01N33/53.R A61K37/02 A61K31 /7105 A61K39/395.D A61K39/395.N A61P13/12 A61P43/00.111 C12M1/00.ZNA.A C07K14/47		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB03 2G045/DA36 2G045/FB03 4B029/AA07 4B029 /AA08 4B029/BB15 4B029/CC08 4B029/FA01 4B029/FA12 4B029/GA03 4C084/AA02 4C084/AA17 4C084/BA03 4C084/NA14 4C084/ZA812 4C084/ZC412 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085 /AA33 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/CC23 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA81 4C086/ZC41 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/EA20 4H045 /EA50		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	61/863299 2013-08-07 US 61/913180 2013-12-06 US		
其他公开文献	JP6211701B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本公开内容，在该浓度或活性水平的变化提供了非典型溶血性尿毒症综合征（AHU）对或补抑制剂与治疗用空调机组的一个含义相关的临床生物标志物蛋白。还提供了用于调查在生物流体中的生物标志物蛋白的一种或多种的浓度和/或活性的组合物和方法。评估开发空气处理机组，用于诊断空气处理机组的风险，因为一个主题的组合物和方法，特别是，以确定是否空气处理机组的第一次经历急性症状空气处理机组，进展或减轻进行监控，和/或有用以优化这种治疗以监测反应以补充抑制剂治疗是的。

表1.

バイオマーカー	略語	供給源の組織			NCBI参照 配列番号*
		血清	血漿	尿	
炎症/血小板または内皮活性化のマーカー					
ケモカイン(C-X-Cモチーフ) リガンド9	CXCL9	X			NP_002407.1
ケモカイン(C-X-Cモチーフ) リガンド10	CXCL10	X			NP_001556.2