

(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2013-530682

(P2013-530682A)

(43) 公表日 平成25年8月1日(2013.8.1)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C 1 2 Q 1/68 (2006.01)</b>	C 1 2 Q 1/68	A 4 B 0 6 3
<b>G O 1 N 33/53 (2006.01)</b>	G O 1 N 33/53	K 4 C 0 8 1
<b>A 6 1 L 27/00 (2006.01)</b>	A 6 1 L 27/00	V
	A 6 1 L 27/00	Y
	A 6 1 L 27/00	W

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 30 頁)

(21) 出願番号 特願2013-506599 (P2013-506599)  
 (86) (22) 出願日 平成23年4月21日 (2011.4.21)  
 (85) 翻訳文提出日 平成24年12月21日 (2012.12.21)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2011/056393  
 (87) 国際公開番号 W02011/134879  
 (87) 国際公開日 平成23年11月3日 (2011.11.3)  
 (31) 優先権主張番号 P201030604  
 (32) 優先日 平成22年4月27日 (2010.4.27)  
 (33) 優先権主張国 スペイン (ES)

(71) 出願人 512274953  
 フンダシオ オスピタル ウニベルシタリ  
 バル デブロン-インスティテュート  
 デ レセルカ  
 スペイン国 エー-08035 バルセロ  
 ナ, パセッチ バル デブロン 119  
 -129  
 (74) 代理人 100109726  
 弁理士 園田 吉隆  
 (74) 代理人 100101199  
 弁理士 小林 義教

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生体インプラントに関する有害作用を生じる易罹患性を検出する方法

## (57) 【要約】

身体に移植された非金属製生体インプラントに関係した有害作用を生じる個体の遺伝的素因のインビトロ分析方法である。該方法は、個体からの生体試料中において、主要組織適合複合体の抗原が存在するかどうかを判定することを含む。測定を実施するためのキットの使用及び遺伝子マーカーとしての該抗原の使用もまた開示される。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

身体に移植された非金属製生体インプラントに関係した有害作用を生じる個体の遺伝的素因のインビトロ分析方法であって、前記個体からの生体試料中に存在する主要組織適合複合体の抗原を測定することを含む方法。

## 【請求項 2】

上記個体からの生体試料中において、主要組織適合複合体の抗原 H L A - B \* 0 8 及び / 又は H L A - D R B 1 \* 0 3 の存在を測定することを含み、上記抗原の少なくとも一つの存在が上記有害作用を生じる遺伝的素因の指標である、請求項 1 に記載のインビトロ方法。

10

## 【請求項 3】

2 つの抗原 H L A - B \* 0 8 及び H L A - D R B 1 \* 0 3 の存在を測定することを含み、2 つの抗原の存在が上記有害作用を生じる遺伝的素因の指標である、請求項 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

抗原 H L A - B \* 0 8 及び / 又は H L A - D R B 1 \* 0 3 の存在の測定が、H L A - B \* 0 8 の対立遺伝子及び / 又は H L A - D R B 1 \* 0 3 の対立遺伝子 ; 又は上記抗原をコード化する遺伝子との連鎖不均衡の任意の変化のジェノタイプングによって実施される請求項 2 から 3 の何れかに記載の方法。

## 【請求項 5】

抗原 H L A - B \* 0 8 の対立遺伝子が、H L A - B \* 0 8 0 1 0 1、H L A - B \* 0 8 0 1 0 2、H L A - B \* 0 8 0 1 0 3、H L A - B \* 0 8 0 1 0 4、H L A - B \* 0 8 0 1 0 5、H L A - B \* 0 8 0 1 0 6、H L A - B \* 0 8 0 1 0 7、H L A - B \* 0 8 0 1 0 8、H L A - B \* 0 8 0 1 0 9、H L A - B \* 0 8 0 1 1 0、H L A - B \* 0 8 0 2、H L A - B \* 0 8 0 3、H L A - B \* 0 8 0 4、H L A - B \* 0 8 0 5、H L A - B \* 0 8 0 6、H L A - B \* 0 8 0 7、H L A - B \* 0 8 0 8 N、H L A - B \* 0 8 0 9、H L A - B \* 0 8 1 0、H L A - B \* 0 8 1 1、H L A - B \* 0 8 1 2 0 1、H L A - B \* 0 8 1 2 0 2、H L A - B \* 0 8 1 2 0 3、H L A - B \* 0 8 1 3、H L A - B \* 0 8 1 4、H L A - B \* 0 8 1 5、H L A - B \* 0 8 1 6、H L A - B \* 0 8 1 7、H L A - B \* 0 8 1 8、H L A - B \* 0 8 1 9 N、H L A - B \* 0 8 2 0、H L A - B \* 0 8 2 1、H L A - B \* 0 8 2 2、H L A - B \* 0 8 2 3、H L A - B \* 0 8 2 4、H L A - B \* 0 8 2 5、H L A - B \* 0 8 2 6、H L A - B \* 0 8 2 7、H L A - B \* 0 8 2 8、H L A - B \* 0 8 2 9、H L A - B \* 0 8 3 0 N、H L A - B \* 0 8 3 1、H L A - B \* 0 8 3 2、H L A - B \* 0 8 3 3、H L A - B \* 0 8 3 4、H L A - B \* 0 8 3 5、H L A - B \* 0 8 3 6、H L A - B \* 0 8 3 7、H L A - B \* 0 8 3 8、H L A - B \* 0 8 3 9、H L A - B \* 0 8 4 0、H L A - B \* 0 8 4 1、H L A - B \* 0 8 4 2、H L A - B \* 0 8 4 3、H L A - B \* 0 8 4 4、H L A - B \* 0 8 4 5、H L A - B \* 0 8 4 6、H L A - B \* 0 8 4 7、H L A - B \* 0 8 4 8、H L A - B \* 0 8 4 9、H L A - B \* 0 8 5 0、H L A - B \* 0 8 5 1、H L A - B \* 0 8 5 2、H L A - B \* 0 8 5 3、H L A - B \* 0 8 5 4、H L A - B \* 0 8 5 5、H L A - B \* 0 8 5 6、H L A - B \* 0 8 5 7、H L A - B \* 0 8 5 8、H L A - B \* 0 8 5 9、H L A - B \* 0 8 6 0、及び H L A - B \* 0 8 6 1 からなる群から選択される請求項 4 に記載の方法。

20

30

40

## 【請求項 6】

抗原 H L A - D R B 1 \* 0 3 の対立遺伝子が、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 1 0 1 0 1、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 1 0 1 0 2、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 1 0 2、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 1 0 3、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 1 0 4、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 1 0 5、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 1 0 6、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 1 0 7、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 1 0 8、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 2 0 1、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 2 0 2、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 3、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 4、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 5 0 1、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 5 0 2、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 5 0 3、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 6、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 7、H L A - D R B 1 \* 0 3 0 8、H L A - D R B 1

50

\*0309、HLA-DRB1\*0310、HLA-DRB1\*031101、HLA-DRB1\*031102、HLA-DRB1\*0312、HLA-DRB1\*031301、HLA-DRB1\*031302、HLA-DRB1\*0314、HLA-DRB1\*0315、HLA-DRB1\*0316、HLA-DRB1\*0317、HLA-DRB1\*0318、HLA-DRB1\*0319、HLA-DRB1\*0320、HLA-DRB1\*0321、HLA-DRB1\*0322、HLA-DRB1\*0323、HLA-DRB1\*0324、HLA-DRB1\*0325、HLA-DRB1\*0326、HLA-DRB1\*0327、HLA-DRB1\*0328、HLA-DRB1\*0329、HLA-DRB1\*0330、HLA-DRB1\*0331、HLA-DRB1\*0332、HLA-DRB1\*0333、HLA-DRB1\*0334、HLA-DRB1\*0335、HLA-DRB1\*0336、HLA-DRB1\*0337、HLA-DRB1\*0338、HLA-DRB1\*0339、HLA-DRB1\*0340、HLA-DRB1\*0341、HLA-DRB1\*0342、HLA-DRB1\*0343、HLA-DRB1\*0344、HLA-DRB1\*0345、HLA-DRB1\*0346、HLA-DRB1\*0347、HLA-DRB1\*0348、HLA-DRB1\*0349、HLA-DRB1\*0350、HLA-DRB1\*0351、及びHLA-DRB1\*0352からなる群から選択される請求項4に記載の方法。

10

**【請求項7】**

ジェノタイピングがプライマー特異的PCRマルチプレックスによる増幅と続く検出によって実施される請求項4から6の何れかに記載の方法。

20

**【請求項8】**

生体試料が血液試料である請求項1から7の何れかに記載の方法。

**【請求項9】**

身体内に移植された非金属製生体インプラントがポリマー材料である請求項1から8の何れかに記載の方法。

**【請求項10】**

ポリマー材料が、コラーゲン、ポリL乳酸、ポリアクリルアミド、ポリアルキルイミド、ヒアルロン酸、ポリテトラフルオロエチレンメタクリレート、シリコン及びその混合物から選択される請求項9に記載の方法。

**【請求項11】**

身体に移植された非金属製材料に関連する有害作用が、移植拒絶、皮下脂肪萎縮、肉芽腫性疾患、結節炎症、硬結、血管性浮腫、サルコイドーシス、全身性炎症性免疫媒介疾患、皮膚サルコイドーシス、肺炎、ヒトアジュバント病及び上記有害作用の一を越えるものからなる群から選択される請求項1から10の何れかに記載の方法。

30

**【請求項12】**

請求項1から11の何れかに記載の方法を実施するためのキットの使用であって、該キットが、主要組織適合複合体抗原を測定するための十分な手段；又は主要組織適合複合体の対立遺伝子をジェノタイピングするための手段を含む使用。

**【請求項13】**

キットが、主要組織適合複合体抗原HLA-B\*08及び/又はHLA-DRB1\*03の存在を測定するための十分な手段を含む、請求項12に記載のキットの使用。

40

**【請求項14】**

キットが、HLA-B\*08の対立遺伝子及び/又はHLA-DRB1\*03の対立遺伝子、又は上記抗原をコード化する遺伝子との連鎖不均衡の任意の変化をジェノタイピングするための十分な手段を含む、請求項12に記載のキットの使用。

**【請求項15】**

身体内に移植された非金属製生体インプラントに関連した有害作用を生じる個体の遺伝的素因の分析マーカーとしての、抗原HLA-B\*08及び/又は抗原HLA-DRB1\*03の使用。

**【発明の詳細な説明】**

50

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、医薬の分野、つまり主として美的理由（美容又は治療）のために体内に適用され又は挿入される生体インプラントから派生する有害作用の分野に関する。本発明は、健康維持の分野に枠組みされ、上記生体インプラントから派生する深刻な副作用のリスクを分析するツールを提供する。

## 【背景技術】

## 【0002】

増え続ける多くの人々がその加齢皮膚のため又は純粹に美的及び美容的適応のために医療的解決を求めている。病理的な状態のために生体インプラントの使用に向かう人々もいる。生体インプラントは、損傷した組織に置き換えるためにヒトの体内に外科的に移植される生体材料として定義される。生体インプラントなる用語は、ある種のインプラントを定義するもので、一般的には非金属製インプラントに関連している。上記生体インプラントの一般的な応用分野は、整形外科的（特に顎顔面）再構成プロステシス、豊胸術プロステシス、心臓プロステシス（Chitra心臓弁のような人工心臓弁）、皮膚及び角膜を含む。今日広く使用されている生体インプラントの一種はポリマー又はセラミックインプラントであり、それらの一例はインプラントフィラー又は皮膚（真皮）又は皮下（真皮下）のマイクロプロステシス（microprotheses）である。

10

## 【0003】

現在、医師は、非永久的、永久的、可逆的又は非可逆的材料を含む多くの異なったタイプの皮膚及び皮下フィラーを使用しう。皮膚及び皮下フィラーは、皺、表情線、リポジストロフィー及び個人が主に顔において修正することを望み得又は必要とし得るその他の特徴（traits）を修正するために注入される材料である。これらの化合物は、異なった原因により皮膚組織に作り出される孔又は溝に充填するために使用される。異なった分類のフィラーが、その由来と長寿命（期間）に従って、提案されている。現在、世界的に使用されている殆どのフィラーは、アクリルアミド（ポリアクリルアミド及びポリアクリルイミド化合物）、ヒアルロン酸化合物、ポリ酪酸、ポリメチルメタクリレート化合物、カルシウムハイドロキシアパタイト、コラーゲン、ポリテトラフルオロエチレン及びシリコン油である。製造業者及び様々な刊行物はフィラーが非毒性で非免疫原性であり、合併症は非常に希であると主張しているが、使用される全ての化合物で望まれない副作用が生じる。これら副作用の幾つかは晩発性の副作用であり、これは多くの場合上記フィラー又は生体インプラントの使用に関係しているかは困難である。皮膚又は皮下フィラーの注入に関連した有害な副作用は深刻な副作用の場合があり、慢性的肉芽腫状態を生じ、希に自己免疫疾患を生じる。よって、使用されるフィラーの通常のカテゴリには二つの概念が欠けている：長期安全性及び副作用の可逆性（reversibility）である。

20

30

## 【0004】

皮膚フィラー材料を注入すると、正常な異物タイプの反応（いわゆる「安定肉芽腫」）が生じる。不幸にも、ある人々では、これらの安定肉芽腫が持続的で炎症性の有害な肉芽腫、肉芽腫性疾患、又は希であるが自己免疫疾患に発達する。しばしば、望まれない副作用は小さな外傷中又は感染後に現れる。自身の及びあらゆる個体に特異的な）遺伝的背景がこれらの有害反応の発生において重要な役割を果たしているに違いないと仮定されるが、その正確な原因は尚も未知であり、予想をすることができない。この事実はこれらの種類の生体インプラントの使用に益々多くの人々が向かうため、真の欠点である。

40

## 【0005】

皮膚フィラーに関連した中間型又は遅延型有害作用を呈する患者のなかで、その殆どが、主として結合組織疾患に関連した局所的又は領域性副作用を報告している。注目すべきは、幾ばくかの患者が全身性炎症性免疫媒介疾患、例えば強皮症又は強皮症様疾患、多発性筋炎、シェーグレン症候群、皮膚サルコイドーシス、肉芽腫性疾患、間質性肺炎及びヒトアジュバント病を呈することである。

## 【0006】

50

個体が皮膚及び皮下フィラーに関係した中間型又は遅延型（晩発性）有害作用を呈する易罹患性であるかを検出するこれまでの一つのアプローチ法は、前腕皮膚に皮内的に0.1 mlのフィラーを注入し、何らかの反応があるかを可視化することからなる。しかしながら、ある反応が現れるまでの経過時間が通常5 - 8週間である。加えて、生検試験（provum）では、皮膚が傷つく。更に、保健機関はこの手法に同意していない。よって、患者がインプラントフィラーに有害反応するかを検出する他の方法が必要である。

【0007】

ヒト白血球抗原系（HLA）はヒト主要組織適合複合体（MHC）の名称である。これは、ヒトにおける免疫系機能に関連する多数の遺伝子を含むsuperlocusである。これらの遺伝子の全てがヒトにおける第6番染色体の短腕の4 Mbセグメントにクラスター化している。HLA領域は、二つの異なった細胞サブセットに抗原を提示するHLAクラスI（HLA-A, B, Cw）及びクラスII（HLA-DR, DQ, DP）に分類される構造的に相同的なタンパク質をコードする6つの主要座を含む。

10

【0008】

クラスI分子は二つのポリペプチド鎖及び2-ミクログロブリンからなる。二つの鎖は2-ミクログロブリン及び3ドメインの相互作用を介して非共有的に結合している。鎖のみ多形性であり、HLA遺伝子によってコードされる一方、2-ミクログロブリンサブユニットは多形性ではなく、2ミクログロブリン遺伝子によってコードされる。3ドメインは細胞膜にまたがり、T細胞の膜貫通糖タンパク質CD8コレセプターと相互作用する。1及び2ドメインは折りたたまれてペプチドが結合するための溝を形成する。MHCクラスI分子は8-10アミノ酸長であるペプチドに結合する。

20

【0009】

HLA-B遺伝子座の場合、多形性は主にエクソン2及び3に位置している。これまで、この遺伝子座の何百もの対立遺伝子変異体が知られており、これは、この遺伝子座がHLA遺伝子座のうち最も多形性であることを意味している。HLA-B遺伝子座の対立遺伝子変異はクラスI分子内における推定移植片の選択において最も重要である。対立遺伝子変異体の各々には特定の数（例えばHLA-B\*08）が与えられる。密接に関連した対立遺伝子は合わせて分類される；例えば、少なくとも54の非常に類似した対立遺伝子はHLA-B\*08のサブタイプである。これらのサブタイプはHLA-B\*080101からHLA-B\*0854と命名される。HLA-B遺伝子は多くの異なった正常な変異を有しており、各人の免疫系が広範囲の異物侵入体に反応することを可能にしている。

30

【0010】

クラスII分子は、非多形性鎖と多形性鎖からなるヘテロ二量体糖タンパク質である。クラスIIHLA（又はMHC）分子は、マクロファージ、B細胞、活性型T細胞、及びCD4細胞表面糖タンパク質を発現するT細胞への抗原提示に関与した他の細胞型の細胞表面に発現する。DP、DQ及びDR遺伝子はMHCの別個の領域に位置している。DR領域において、単一のDRA遺伝子座は非多形性DR鎖をコードするが、DRB1からDRB9と称される9つの異なったDRB遺伝子座は多形性DR鎖をコードする。しかしながら、同定されたDRB対立遺伝子の数は連続的に増加している。

40

【0011】

HLA-DRB1遺伝子座の場合、この遺伝子座の異なった対立遺伝子は、DRB1\*01、DRB1\*02、DRB1\*03等と呼ばれ、これらの対立遺伝子は全て合わせてこの明細書において「対立遺伝子群」と呼ばれるものを形成する。更に、数種の遺伝子配列は特定のDRB1対立遺伝子下でグループ化される。よって、対立遺伝子DRB1\*03はDRB1\*0301、DRB1\*0302、DRB1\*031101、DRB1\*031102等と命名される異なった配列を有しうる。

【0012】

ヒト白血球抗原（HLA）系をコードする遺伝子はヒトにおける最も変わりやすい遺伝子であり、各変異体は異なったペプチドセットに結合する分子をコードする。これらの遺伝子は特定の個人の全ての細胞において同じであるが、ヒトによって異なる。

50

## 【0013】

H L Aの個体間の対立遺伝子変動性は深く研究されており、臓器移植拒絶を避けるための試験の遂行を可能にする幾つかの遺伝子マーカーが発見されているが、体内に移植された材料に関する有害作用を生じる個体の遺伝的素因を相関させる非代表的データはほんの僅か存在するだけである。

## 【0014】

幾つかの研究はH L A ( M H C )、特にクラスI及びクラスII抗原、の異なったハプロタイプと多くの全身性自己免疫又は肉芽腫性疾患を関連させようとしている。よって、文献Di Lorenzo等, "Morphea after Silicone Gel Breast Implantation for Cosmetic Reasons in an HLA-B<sub>8</sub>, DR3-Positive Woman, Int. Arch Allergy Immunol 1997, vol. 112, pp. 93-95では、著者は、シリコンゲル乳房移植後の限局性強皮症の単一のH L A - B \* 0 8 , D R 3 陽性患者を開示している。著者は、遺伝的背景があることと、上述のハプロタイプが、シリコン生体インプラントによって懐柔されうる自己免疫応答に關与していることを示唆している。更に、著者は、データがハプロタイプと観察された効果の間の明確な関連性をサポートしておらず、更なる研究が必要とされると考えている。実際、本例は、シリコンインプラントが有害な作用、つまり自己免疫反応を生じると思われる少数例の一つであり、統計的な有意性をこれに与えることはできない。

10

## 【0015】

フィラーとして使用されるシリコンは重合化されたシロキサンからなるゲルである。1960年以降、広く使用されているが、その使用から生じる二次的作用は、例えば有機生体インプラント、つまりコラーゲン、ポリL酪酸、ポリアクリルアミド、ポリアクリルイミド、ヒアルロン酸、ポリテトラフルオロエチレン、メタクリレートインプラント並びにカルシウムヒドロキシアパタイトのマイクロスフィアから形成された無機生体インプラントの使用に伴うもののような、他のフィラーが生体インプラントとして使用された場合に観察されるものよりも事例のタイプ及び数において低い。これらの材料は全て異なった構造的特徴を有しており、よってインプラントの拒絶又は全ての生体インプラントに対して有害な副作用を生じることに対する遺伝的素因を相関させることを可能にする共通のパターンを見出すことが望ましい。

20

## 【発明の概要】

## 【0016】

本発明者は、おそらく、素因のある宿主において、異なった過敏性又はI V型免疫媒介疾患を生じる可能性は多様で反復性の抗原曝露に関連しうると考えて、例えば皮膚又は皮下フィラーのような材料、つまり生体インプラントの移植後に、重篤な有害副作用(有害作用)を呈した患者の遺伝子型を広く試験した。

30

## 【0017】

本発明は、第一の態様では、身体に移植された非金属製生体インプラントに関係した有害作用を生じる個体の遺伝的素因のインビトロ分析方法であって、前記個体からの生体試料中において、存在する主要組織適合複合体の抗原を測定することを含む方法を提供する。

## 【0018】

本発明は、第二の態様では、体内に移植された非金属生体インプラント(非金属インプラント材料とも称する)に関連した有害作用を生じる個体の遺伝的素因のインビトロ分析方法であって、上記個体からの生物学的試料において次の主要組織適合複合体抗原: H L A - B \* 0 8 及びH L A - D R B 1 \* 0 3 の少なくとも一つが存在するかを測定することを含む方法を提供する。上記抗原の少なくとも一つの存在が、生体材料に関係した上記有害作用を生じる遺伝的素因の指標である。

40

## 【0019】

本発明の方法は、体内への、非金属材料、つまり皮膚又は皮下フィラーのような生体インプラントの移植前に、個人及び医師が全ての要因を考慮することを可能にするので、従来技術の未解決の欠点に対するゴールとなる。よって、本発明の方法は、個体に生体イン

50

プラントが適用されるとき有害な副作用を個体が生じる可能性を無害のこととして、先に検出するための有用なアッセイである。

【0020】

第三の態様では、本発明は、上述の方法、つまり体内に移植された非金属生体インプラントに関連した有害作用を個体が生じる遺伝的素因の分析方法を実施するためのキットの使用であって、該キットが主要組織適合複合体抗原を測定するのに十分な手段；又は主要組織適合複合体の対立遺伝子をジェノタイピングする手段を含む使用を提供する。

【0021】

本発明の第四の態様は、上述の方法を実施するためのキットの使用であり、該キットは主要組織適合複合体の抗原HLA-B\*08及び/又はHLA-DRB1\*03の存在を測定するための十分な手段を含む使用である。

10

【0022】

本発明の他の態様は、上述の方法を実施するためのキットの使用であり、該キットは、HLA-B\*08の対立遺伝子及び/又はHLA-DRB1\*03の対立遺伝子、又は上記抗原をコードする遺伝子との連鎖不均衡の任意の変化をジェノタイピングするための十分な手段を含む使用である。

【0023】

更に、また体内に移植された非金属生体インプラントに関連した有害作用を生じる個体の遺伝的素因の分析用マーカーとしての抗原HLA-B\*08及び/又は抗原HLA-DRB1\*03の使用が本発明の態様である。

20

【発明を実施するための形態】

【0024】

理解のために次の定義を与える：

「有害作用」及び「有害な副作用」なる用語はこの明細書において同義語として使用され、それらは医薬又は外科手術のような他の治療介入から生じる任意の害のある及び/又は望まれない作用を意味する。有害作用は主要な又は治療効果に対して二次的であると判断される場合、「副作用」と称されうる。

【0025】

「ジェノタイピング」及び「タイピング」なる用語はこの明細書において同義語として使用され、それらは、一を越える遺伝子型の組み合わせが同じ臨床症状を生じうる状況で特に有用な、個体によって遺伝で受け継がれた特定の対立遺伝子を明らかにする任意の試験を意味する。本明細書において、「遺伝子座 (locus)」なる用語は各HLA遺伝子によって占有される位置 (例えばHLAのB遺伝子座) を意味する。DR抗原に対する「遺伝子座 (loci)」 (遺伝子座の複数) はDRA及びDRB1-9を含む。

30

【0026】

「対立遺伝子」なる用語は、遺伝子配列が異なり、遺伝的特性 (表現型) に観察可能な差異を生じる遺伝子の二以上の別の形態の一つを意味し、それらは染色体上の同じ場所に見出される。

【0027】

「連鎖」は、同じ染色体上のその位置のために一緒に受け継がれる遺伝子、対立遺伝子、遺伝子座又は遺伝子マーカーの傾向を記述する。それらは、同じ染色体上で物理的に連結している二つの遺伝子、対立遺伝子、遺伝子座又は遺伝子マーカーの間の組換えパーセントによって測定されうる。

40

【0028】

この明細書の意味において、遺伝子の「変化 (alteration)」は野生型と考えられるヌクレオチド配列中における任意の構造的変化を意味する。変化の例は、一塩基多型、一又は複数のヌクレオチドの欠失、挿入、置換又は重複、及びヌクレオチド上の化学的修飾 (例えばメチル化) を含む。

【0029】

「連鎖不均衡 (LD)」又は「対立遺伝子関連 (allelic association)」は、集団に

50

において任意の特定の対立遺伝子頻度に対して偶然に期待されるものより頻繁な、近くの染色体位置の特定の対立遺伝子、又は遺伝子マーカーとの特定の対立遺伝子又は遺伝子マーカーの優先的な関連を意味する。例えば、遺伝子座 X が等しい頻度で生じる対立遺伝子 a 及び b を有しており、関連した遺伝子座 Y が等しい頻度で生じる対立遺伝子 c 及び d を有している場合、個体の集団において 0.25 の頻度でハプロタイプ a c が生じることが予想される。a c がより頻繁に生じるならば、対立遺伝子 a 及び c は連鎖不平衡にあると考えられる。連鎖不平衡は、対立遺伝子のある種の組み合わせの天然の選択から、又は対立遺伝子があまりに最近に集団に導入され関連対立遺伝子間と平衡に達しなかった（ランダム関連）ために生じる場合がある。

【0030】

「ハプロタイプ」は同じ染色体上に併せて伝えられる複数遺伝子座の対立遺伝子の組み合わせである。ハプロタイプは、与えられた遺伝子座セット間で生じた組換え事象の数に応じて僅か一つの遺伝子座又は染色体全体を意味しうる。

【0031】

「遺伝的素因の分析」なる用語は、そのヒトの本来の遺伝的チャージのため特定の表現型を生じる個体の可能性を判定することを包含する。本発明の場合、該用語は各個体の遺伝的寄与のために生体インプラントに関連した有害な副作用を生じる可能性の測定を定義する。

【0032】

「遺伝子マーカー」又は「マーカー」は、細胞、個体又は種を同定するために使用することができる染色体上に既知の位置を持つ遺伝子又は DNA 配列である。それは、観察されうる、ゲノム座における変異又は変化のために生じうる変異として記述することができる。遺伝子マーカーは、短 DNA 配列、例えば単一の塩基対変化（一塩基多型 SNP）を囲む配列、又は長いもの、例えばミニサテライト、転座、又は塩基対反復でありうる。

【0033】

「生体インプラント」、「非金属生体インプラント」及び「体内に移植された非金属材料」なる用語はこの明細書において同義語として使用される。インプラントは、金属インプラント（例えばチタン大腿）、セラミックインプラント（例えばハイドロキシアパタイト）、ポリマーインプラント（例えばポリアルキルイミド）又は生物学的インプラント（例えばボツリヌス毒素）として分類されうる。この明細書において、非金属インプラントに言及する場合、セラミックインプラント、ポリマー材料インプラント又は生物学的インプラントを包含することが意図される。セラミックは無機非金属材料と考えられる。「ポリマー材料」が使用される場合、あらゆる天然の又は生物学的ポリマー材料、例えばコラーゲン；並びに合成ポリマー材料、例えばポリアルキルイミドインプラントが包含される。インプラントは、例えば乳房シリコンインプラントのように組織の大きな部分を置き換え又はその部分として作用するために広い領域に適用されうる。他のインプラントは狭い領域に適用される。狭い領域に適用される場合、上記インプラントの殆どは、皮膚又は皮下フィラーとしても知られているフィラーとも呼ばれる。フィラーの例はコラーゲン、ポリ L 酪酸、ポリアクリルアミド、ポリアルキルイミド、ヒアルロン酸、ポリテトラフルオロエチレン及びメタクリレートである。他の広く使用されるフィラーはカルシウムハイドロキシアパタイトである。

【0034】

非金属インプラント（生体インプラント）の応用の一般的領域は、整形外科（特に顎顔面）の再構成プロステーシス、豊胸術プロステーシス、心臓プロステーシス（Chitra 心臓弁のような人工心臓弁）、皮膚及び角膜を含む。

【0035】

上に示したように、本発明の方法は、個体からの生物学的試料が少なくとも主要組織適合複合体の HLA-B\*08 抗原か、又は少なくとも主要組織適合複合体の HLA-DRB1\*03 抗原を含むかどうかを測定することを含み、ここで、抗原の少なくとも一つの存在が有害作用を生じる遺伝的素因の指標である。

10

20

30

40

50

## 【0036】

抗原の一つの存在の測定は、幾つかの技術を使用して実施することができる。よって、抗原の一つが試料中に存在しているかどうかを判定する方法は、抗原（タンパク質）HLA-B\*08及びHLA-DRB1\*03のエピトープに対する特異的抗体を用いたイムノアッセイによる。以下に広く開示される他の技術は、上記抗原をコード化するDNA又はRNAの検出に基づく、つまり、あるならばHLA-B\*08及び/又はHLA-DRB1\*03をコード化する対立遺伝子の存在を検出することによる。興味ある対立遺伝子の存在の検出が、増幅され、ついで特異的プローブによって検出される、ゲノム又はコード化DNAを使用して実施することができる。一般論として、該技術は、試料からのゲノム又は転写内容物、主としてDNAの単離と、特異的プローブによって更に検出される興味ある遺伝子座の続く増幅を含む。遺伝子座が最終的に同定され、パターンと相関付けられる。プライマープールとプローブに応じてDNA法は低分解能法又は高分解能法として分類される。高分解能法は対立遺伝子の群の特定の対立遺伝子に関する情報を与える。つまり、それらは特定の配列又は対立遺伝子サブタイプ、例えばHLA-DRB1\*0322、HLA-DRB1\*0323、HLA-B\*0838、HLA-B\*0839についての情報を与える。低分解能法は試料中にHLA-B\*08及び/又は抗原HLA-DRB1\*03の対立遺伝子が存在するかどうかを判定することを可能にする。

10

## 【0037】

よって、好ましい実施態様では、本方法は、抗原HLA-B\*08及び/又はHLA-DRB1\*03の存在を、個体の試料に含まれるHLA-B\*08の対立遺伝子及び/又はHLA-DRB1\*03の対立遺伝子；又は上記抗原をコード化する遺伝子との連鎖不均衡の任意の変化のジェノタイピングによって判定することを含む。対立遺伝子のジェノタイピングは、それに特異的なDNA配列の決定である。主要組織適合複合体のHLA-B\*08抗原をコードする少なくとも一つの対立遺伝子又は主要組織適合複合体のHLA-DRB1\*03抗原をコードする少なくとも一つの対立遺伝子の検出は、体内に移植された非金属材料に関連した有害作用を生じる遺伝的素因の指標である。

20

## 【0038】

好ましい実施態様では、本方法は、ジェノタイピングを行って、上記個体からの生物学的試料が主要組織適合複合体の抗原HLA-B\*08の少なくとも一つの対立遺伝子及び主要組織適合複合体の抗原HLA-DRB1\*03の少なくとも一つの対立遺伝子を同時に含むかどうかを測定し、ついで、体内に移植された非金属材料に関連した有害作用を生じる遺伝的素因の指標であるハプロタイプを定義することを含む。

30

## 【0039】

個体は好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトである。にもかかわらず、HLA系又は一般論としてはヒト主要組織適合複合体（MHC）は殆どの脊椎動物においてその等価な遺伝子セットを有している。下挙がって、高い割合の相同性を共有する異なった種間の遺伝子配列はおそらくは同じ観測作用を生じる。

## 【0040】

より好ましい実施態様では、本方法は、HLA-B\*080101（HLA00146）、HLA-B\*080102（HLA02219）、HLA-B\*080103（HLA02400）、HLA-B\*080104（HLA02853）、HLA-B\*080105（HLA03034）、HLA-B\*080106（HLA03449）、HLA-B\*080107（HLA03939）、HLA-B\*080108（HLA04210）、HLA-B\*080109（HLA04221）、HLA-B\*080110（HLA04504）、HLA-B\*0802（HLA00147）、HLA-B\*0803（HLA00148）、HLA-B\*0804（HLA00149）、HLA-B\*0805（HLA00150）、HLA-B\*0806（HLA00151）、HLA-B\*0807（HLA00974）、HLA-B\*0808N（HLA00975）、HLA-B\*0809（HLA00976）、HLA-B\*0810（HLA01082）、HLA-B\*0811（HLA01193）、HLA-B\*081201（HLA01230）、HLA-B\*0

40

50

81202 (HLA03935)、HLA-B\*081203 (HLA04186)、HLA-B\*0813 (HLA01352)、HLA-B\*0814 (HLA01418)、HLA-B\*0815 (HLA01535)、HLA-B\*0816 (HLA01641)、HLA-B\*0817 (HLA01654)、HLA-B\*0818 (HLA01701)、HLA-B\*0819N (HLA01717)、HLA-B\*0820 (HLA01752)、HLA-B\*0821 (HLA01772)、HLA-B\*0822 (HLA01917)、HLA-B\*0823 (HLA02132)、HLA-B\*0824 (HLA02142)、HLA-B\*0825 (HLA02252)、HLA-B\*0826 (HLA02308)、HLA-B\*0827 (HLA02406)、HLA-B\*0828 (HLA02490)、HLA-B\*0829 (HLA02496)、HLA-B\*0830N (HLA02591)、HLA-B\*0831 (HLA02762)、HLA-B\*0832 (HLA02771)、HLA-B\*0833 (HLA02849)、HLA-B\*0834 (HLA03091)、HLA-B\*0835 (HLA03164)、HLA-B\*0836 (HLA03265)、HLA-B\*0837 (HLA03450)、HLA-B\*0838 (HLA03481)、HLA-B\*0839 (HLA03663)、HLA-B\*0840 (HLA03648)、HLA-B\*0841 (HLA03902)、HLA-B\*0842 (HLA03941)、HLA-B\*0843 (HLA04081)、HLA-B\*0844 (HLA04188)、HLA-B\*0845 (HLA04230)、HLA-B\*0846 (HLA04234)、HLA-B\*0847 (HLA04240)、HLA-B\*0848 (HLA04438)、HLA-B\*0849 (HLA04442)、HLA-B\*0850 (HLA04499)、HLA-B\*0851 (HLA04507)、HLA-B\*0852 (HLA04515)、HLA-B\*0853 (HLA04516)、HLA-B\*0854 (HLA04520)、HLA-B\*0855 (HLA04708)、HLA-B\*0856 (HLA04720)、HLA-B\*0857 (HLA04722)、HLA-B\*0858 (HLA04753)、HLA-B\*0859 (HLA04788)、HLA-B\*0860 (HLA04816)、HLA-B\*0861 (HLA04860) からなる群から選択される抗原HLA-B\*08の対立遺伝子の存在を判定することを含む。

10

20

30

40

50

【0041】

他の好ましい実施態様では、本方法は、HLA-DRB1\*03010101 (HLA00671)、HLA-DRB1\*03010102 (HLA03483)、HLA-DRB1\*030102 (HLA00672)、HLA-DRB1\*030103 (HLA00672)、HLA-DRB1\*030104 (HLA02830)、HLA-DRB1\*030105 (HLA02955)、HLA-DRB1\*030106 (HLA03061)、HLA-DRB1\*030107 (HLA03855)、HLA-DRB1\*030108 (HLA04577)、HLA-DRB1\*030109 (HLA04691)、HLA-DRB1\*030201 (HLA00673)、HLA-DRB1\*030202 (HLA00674)、HLA-DRB1\*0303 (HLA00675)、HLA-DRB1\*0304 (HLA00676)、HLA-DRB1\*030501 (HLA00677)、HLA-DRB1\*030502 (HLA01428)、HLA-DRB1\*030503 (HLA03765)、HLA-DRB1\*0306 (HLA00678)、HLA-DRB1\*0307 (HLA00679)、HLA-DRB1\*0308 (HLA00680)、HLA-DRB1\*0309 (HLA00681)、HLA-DRB1\*0310 (HLA00682)、HLA-DRB1\*031101 (HLA00683)、HLA-DRB1\*031102 (HLA04406)、HLA-DRB1\*0312 (HLA00684)、HLA-DRB1\*031301 (HLA01007)、HLA-DRB1\*031302 (HLA03684)、HLA-DRB1\*0314 (HLA01008)、HLA-DRB1\*0315 (HLA01087)、HLA-DRB1\*0316 (HLA01152)、HLA-DRB1\*0317 (HLA01153)、HLA-DRB1\*0318 (HLA01349)、HLA-DRB1\*0319 (HLA01432)

、HLA - DRB1\*0320 (HLA01455)、HLA - DRB1\*0321 (HLA01501)、HLA - DRB1\*0322 (HLA01557)、HLA - DRB1\*0323 (HLA01614)、HLA - DRB1\*0324 (HLA01687)、HLA - DRB1\*0325 (HLA01692)、HLA - DRB1\*0326 (HLA01868)、HLA - DRB1\*0327 (HLA01930)、HLA - DRB1\*0328 (HLA01933)、HLA - DRB1\*0329 (HLA02420)、HLA - DRB1\*0330 (HLA02603)、HLA - DRB1\*0331 (HLA02606)、HLA - DRB1\*0332 (HLA02827)、HLA - DRB1\*0333 (HLA02870)、HLA - DRB1\*0334 (HLA02886)、HLA - DRB1\*0335 (HLA02902)、HLA - DRB1\*0336 (HLA02996)、HLA - DRB1\*0337 (HLA03059)、HLA - DRB1\*0338 (HLA03067)、HLA - DRB1\*0339 (HLA03075)、HLA - DRB1\*0340 (HLA03370)、HLA - DRB1\*0341 (HLA03641)、HLA - DRB1\*0342 (HLA03749)、HLA - DRB1\*0343 (HLA03836)、HLA - DRB1\*0344 (HLA03842)、HLA - DRB1\*0345 (HLA03843)、HLA - DRB1\*0346 (HLA03844)、HLA - DRB1\*0347 (HLA03859)、HLA - DRB1\*0348 (HLA03869)、HLA - DRB1\*0349 (HLA04355)、HLA - DRB1\*0350 (HLA04386)、HLA - DRB1\*0351 (HLA04411)、及びHLA - DRB1\*0352 (HLA04634)からなる群から選択される抗原HLA - DRB1\*03の対立遺伝子の存在を判定することを含む。

#### 【0042】

上で特定されたHLA - B\*08及びHLA - DRB1\*03の対立遺伝子は世界保健機関(WHO)HLA系因子に対する命名委員会によって承認された公式の配列(2010年4月1日版)である。全ての対立遺伝子の括弧内の標記(HLAxxxxx)は、EMBL/GenBank/DBJデータベースのIMGT/HLAデータベースに列挙され、各対立遺伝子を定義する配列の受託番号(IMGT/HLA受託番号)を意味する。

#### 【0043】

好ましい実施態様では、ジェノタイピングはプライマー特異的マルチプレックスポリメラーゼ連鎖反応(PCRマルチプレックス)による増幅と続く検出によって実施される。

#### 【0044】

より好ましい実施態様では、ジェノタイピングは、配列特異的オリゴヌクレオチドを用いたPCR(PCR-SSO)によって実施される。

#### 【0045】

ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法によるHLAジェノタイピングは臨床診療で広く使用されている血清学的方法の代替手段になった。最も一般的に使用されるPCR系タイピング法は配列特異的プライマーを用いるPCR(PCR-SSP)及び配列特異的オリゴヌクレオチドを用いるPCR(PCR-SSO)である。PCR-SSO法では、膜が調製され(そこにHLA遺伝子特異的プライマーによって増幅されたDNAが固定される)、HLAの各タイプに対する特異的オリゴヌクレオチドプローブがタイピングのためにハイブリダイズされる。PCR-SSOによるHLAジェノタイピングの一例は、Luminex(登録商標)(Lifecodes Molecular Diagnostics)を用いて使用されるLifecodes HLA-SSOタイピングで実施される商業的手順である。

#### 【0046】

試料のゲノム内容物を分析するために使用される技術の殆どは、分析される個体の細胞のDNAを用いる。しかし、RNAもまた使用できる。

#### 【0047】

あるいは、上で明らかにしたように、本発明の方法は興味ある対立遺伝子によってコードされるタンパク質の存在を検出することにより実施することができる。この種の検出は特異的抗体を用いて主になされる。抗体を用いた検出は、個体が体内に移植された非金属

材料に関係した有害作用を生じる遺伝的素因の分析に対して既に有用である抗原 H L A - B \* 0 8 及び / 又は抗原 H L A - D R B 1 \* 0 3 が試料中に存在しているかどうかを判定することを可能にする。

【 0 0 4 8 】

分析される D N A、R N A 又はタンパク質は任意の種類 of 生物学的試料から任意の既知の方法を使用して調製することができるが、好ましいものは、全血又は臍帯血からの血液試料である。他の適した生物学的試料は血液含浸カード ( ステインカード )、バツカルスワブ、及び尿を含む。

分析される試料の収集と調製方法の一例は Q I A A m p ( 登録商標 ) ( Qiagen ) 法である。

10

【 0 0 4 9 】

本発明の方法は、体内に移植された非金属材料に関係した有害作用を個体が生じる遺伝的素因の分析を可能にし、該材料は好ましくは例えばコラーゲン、ポリ L 酪酸、ポリアクリルアミド、ポリアルキルイミド、ヒアルロン酸、ポリテトラフルオロエチレン及びメタクリレートのような広く使用されているもので、有機化学構造を有する。他のポリマー材料インプラントはシリコン油 ( 又は医療用シリコン ) である。

【 0 0 5 0 】

該方法が有害作用を個体が生じる遺伝的素因の適切な分析をまたもたらす他の材料は無機材料ハイドロキシアパタイトであり、好ましくは ( ミクロスフィアの形態で広く使用される ) カルシウムハイドロキシアパタイトである。カルシウムハイドロキシアパタイトはセラミックインプラントの一種である。

20

【 0 0 5 1 】

体内への移植に上述の非金属材料の少なくとも二種の混合物をまた用いることができる。本発明は一を越える材料が移植される場合に有害作用を生じる遺伝的素因を分析する方法をまた提供する。

【 0 0 5 2 】

生体インプラントが所定の個体に適用される場合に幾つかの有害な副作用が生じると思われるが、本発明の方法は、ある場合には慢性的進行を伴う重篤な副作用であるいわゆる晩発性有害作用を避けるのに特に有用である。従って、本発明の方法は、個体が有害な副作用を呈する易罹患性を前もって ( 移植の前に ) 検出することを可能にし、よって非常に興味深い。更に、該方法は従来技術の間隙を満たすと同時に、直ぐにはならなかったがおそらくは後でゆっくりと深刻で重大な病理状態になる仮想症例を最小にすることを可能にする。

30

【 0 0 5 3 】

体内に移植された非金属材料に関連した有害作用の幾つかは、移植拒絶、皮下脂肪萎縮、肉芽腫性疾患、結節炎症、硬結、血管性浮腫、サルコイドーシス、全身性炎症性免疫媒介疾患、皮膚サルコイドーシス、肺炎、ヒトアジュバント病及び上記有害作用の一を越えるものからなる群から選択される。

【 0 0 5 4 】

体内に移植された非金属材料に関連した有害作用の幾つかは、好ましくは、移植拒絶 ; アンチプロテアーゼ薬 ( 例えばエイズ患者に投与される抗レトロウイルス療法 ) を含む高負荷抗レトロウイルス療法に関連した皮下脂肪萎縮 ; 異なった原因から由来する肉芽腫を含む遅発型肉芽腫反応 ; サルコイドーシス ; 血管炎 ( nodulosis ) ; 皮膚硬結 ; 膿瘍及び偽性膿瘍 ; 線維症 ; 血管性浮腫 ; 過敏症 ; 間質性肺炎 ; 肝炎 ; 強皮症 ; 又は炎症性突発性ミオパチーで、その殆どが免疫媒介疾患に入れられるものから選択される。これらの有害作用は全て抗原 H L A - B \* 0 8 の少なくとも一つの対立遺伝子及び / 又は抗原 H L A - D R B 1 \* 0 3 の少なくとも一つの対立遺伝子の存在によって定まるハプロタイプの試料における判定と相関している。

40

【 0 0 5 5 】

他の好ましい実施態様では、抗原 H L A - B \* 0 8 及び / 又は抗原 H L A - D R B 1 \* 0

50

3は、体内に移植された非金属材料に関係した有害作用を生じる個体の遺伝的素因の分析のためのマーカーとして用いられる。

【0056】

上で明らかにしたように、マーカーの判定は、好ましくは、ジェノタイピングと抗原HLA-B\*08の少なくとも一つの対立遺伝子及び/又は抗原HLA-DRB1\*03の少なくとも一つの対立遺伝子の存在によって定まるハプロタイプの判定によって実施される。

【0057】

本発明の方法を実施するための十分な(適切な)手段が併せて提供される場合、体内に移植された材料に関係した有害作用を生じる個体の遺伝的素因の分析に有用なキットが得られる。該キットは、配列特異的オリゴヌクレオチドを用いたPCR(PCR-SSO)を実施するための手段を含み得、よって、対応するアプ리콘(増幅DNA領域)を得るためにHLA-B\*08及びHLA-DRB1\*03をコード化する対立遺伝子の特異的に増幅させるためのプライマー;アプ리콘の単離及び検出のためのプローブ;及びパターンのような得られた結果を解釈するための手段を含む。

【0058】

同じようにして、本発明の方法は、HLA-B\*08の少なくとも一つの対立遺伝子及び/又はHLA-DRB1\*03の一つの対立遺伝子の存在を判定するための十分な(適切な)手段を含む任意の他の既知のキットを使用して実施される。これらのキットは、HLA-B\*08の対立遺伝子及び/又はHLA-DRB1\*03の対立遺伝子、又は上記抗原をコードする遺伝子との連鎖不均衡の任意の変化をジェノタイピングするための手段を含む。

【0059】

あるいは、本発明の方法において使用されるキットは、タンパク質、つまりHLA-B\*08抗原及び/又はHLA-DRB1\*03抗原の存在を判定するための十分な(適切な)手段を含みうる。十分な手段は、抗体・抗原複合体の検出を可能にする抗原のための任意の特異的抗体及び化合物(二次抗体、蛍光又は放射性同位元素マーカー等)を含む。

【0060】

明細書及び特許請求の範囲を通して、「含む(comprise)」なる語句及び該語句の変形語は、他の技術的特徴、添加物、成分、又は工程を排除することを意図するものではない。本発明の更なる目的、効果及び特徴は明細書を調べれば当業者には明らかになるであろうしあるいは発明の実施によって知得されうる。次の実施例は例示のために提供するもので、本発明を限定することは意図していない。更に、本発明はここに記載した特定の好ましい実施態様のあらゆる可能な組み合わせを範囲に含む。

【実施例】

【0061】

この発明は、部分的には非金属材料の移植後の有害な副作用を生じる素因に対する新規な易罹患性遺伝子座の発見と特徴付けに基づいている。上記遺伝子座はHLA-B\*08のもの又はHLA-DRB1\*03のもの、又はハプロタイプHLA-B\*08及びHLA-DRB1\*03、並びに上記遺伝子座の遺伝子から由来するタンパク質(セロタイプ)である。

【0062】

実施例A)分析した集団(n=245)の試料調製及び結果

245名の患者及びコントロールのHLA-B及びDRB1対立遺伝子の低分解能ジェノタイピングを、Luminexマイクロビーズ技術(Lifecodes HLA-SSOタイピングキット, Luminex(登録商標)と共に使用, 参照及びバージョンLC775IVD.11(02/09), Tepnel Lifecodes Molecular Diagnostics - Stamford製)を使用する)配列特異的オリゴヌクレオチドプローブ(SSOP)によって実施した。以下の表1に例証されるように、ある個体は、有機又は無機化学的性質の皮膚又は皮下フィラーのような生体インプラント

10

20

30

40

50

の注入から生じる有害作用を有していた。

【0063】

LIFECODES HLA-SSOタイピング手順は標識された一本鎖PCRアンプリコンをSSOプローブにハイブリダイズさせることに基づく。プローブは、対立遺伝子に独特の増幅DNA内の配列又は対立遺伝子の一群に相同でありうる。プローブはアンプリコンに存在していてもしていなくともよい相補領域にハイブリダイズする。遺伝子座の全ての対立遺伝子に存在する配列に相同なコンセンサスプローブをまた用いることができ、増幅及びハイブリダイゼーション工程の成功を示す指標となる。LIFECODES HLA-SSOタイピング手順では、プローブは、Luminex機器（登録商標）において使用されるように適合化されたLuminex Microspheres（登録商標）に取り付けられている。マイクロシアの各集団は独特の色によって区別されるので、マイクロシアの幾つかの集団が混合され、併せて分析される。この技術は、PCR産物の相対量を定量するために使用することもできるので有利であり、全ての試料（個々のHLA表現型の判定に至る。

10

【0064】

A.1. DNA抽出：

DNAは患者及びコントロールの血液試料から抽出した；またこれをQIA Amp（登録商標）（Qiagen, S.A.）法を使用して調製した。単離したDNAはヌクレアーゼ非含有水中10mMのTRIS, pH 8.0 - 9.0に保存した。DNAの最終濃度は10 - 200 ng /  $\mu$ lであった。

20

【0065】

A.2. DNA増幅（PCR）：

DNA増幅のための反応成分及び量は次の通りであった：

- プライマーミックス（LIFECODESマスターミックス）；15  $\mu$ l
- ゲノムDNA；200 ngまで
- 組換えTaqポリメラーゼ；0.5  $\mu$ l（2.5 U）
- ヌクレアーゼ非含有水（Tepnel Lifecodes）；50  $\mu$ lの最終

体積まで。

【0066】

プライマーミックスはバッファーと増幅を実施するためのdNTP（デオキシヌクレオチド）を含む。

30

増幅のためのサーマルサイクラー条件は次の通りであった：

- 95 で5分、
- 次の工程の1サイクル：30秒95 ; 45秒60 ; 45秒72、
- 次の工程の8サイクル：30秒95 ; 45秒63 ; 45秒72、及び
- 72、15分で32サイクル。

増幅はサーマルサイクラー（PCR）96ウェルプレート（Costar（登録商標）、No. 6509）で実施した。

【0067】

A.3. プローブハイブリダイゼーション及び試料分析。

40

あらゆる遺伝子座特異的PCR産物の5  $\mu$ lのアリコート、プローブミックス（LIFECODES HLAプローブミックス）の15  $\mu$ lのアリコートと一緒にサーマルサイクラー96ウェルプレート（Costar（登録商標）、No. 6509）に加えた。プレートをMicroseal（登録商標）フィルムでシールした。試料を、以下のインキュベーション条件に従ってハイブリダイズさせた。

- 97 で5分；47 で30分；56 で10分。

【0068】

一度ハイブリダイゼーションを実施したところで、ストレプトアビジン-フィコエリトリンの1：200希釈液の170  $\mu$ l溶液を各ウェルに加えた。ついで、結果の解釈に必要とされるソフトウェアを含むLuminex機器に試料を移し、つまり、あらゆる試料

50

のプローブヒットパターンをキットと共に提供されるプローブヒットテーブルと比較した。

【 0 0 6 9 】

次の表 1 は、上で明らかにしたようにして分析されたあらゆる試料のジェノタイピングを示しており、生体インプラントの適用に関係した有害作用の存在とあらゆるハプロタイプを相関させる。「生体インプラント」の欄は、あらゆる試料に適用された生体インプラント又は生体インプラント混合物に関する。「観察及び/又は有害作用」の欄は観察される病理状態及び幾つかのメディカルアノテーションに関係する。試料は非金属材料が移植された個体であった。「Y」は有り ( y e s ) を意味する；「N」はなし ( N O ) を意味する；「NI」は小結節炎症を意味する；H L A - B \* ( 1 ) は前駆体 ( 1 ) から受け継がれた H L A - B タイプの対立遺伝子である；H L A - B \* ( 2 ) は前駆体 ( 2 ) から受け継がれた H L A - B タイプの対立遺伝子である；H L A - D R B 1 \* ( 1 ) は前駆体 ( 1 ) から受け継がれた H L A - D R B 1 \* タイプの対立遺伝子である；H L A - D R B 1 \* ( 2 ) は前駆体 ( 2 ) から受け継がれた H L A - D R B 1 \* タイプの対立遺伝子である。

【 0 0 7 0 】

【表 1】

表 1：各個人の HLA-B 及び HLA-DRB1 の二つの対立遺伝子の有害作用の発症との関連

試料	HLA-B* (1)	HLA-B* (2)	HLA-DRB1* (1)	HLA-DRB1* (2)	有害作用の存在	観察及び／又は有害作用	生体インプラント
197	07	50	03	07	N		シリコーン / Restylane® (ヒアルロン酸) / 金繊維
31	07	35	04	15	N		シリコーン
174	07	44	04	07	N		Restylane® (ヒアルロン酸)
205	07	52	07	15	N		シリコーン
206	07	52	07	15	N		シリコーン
146	07	18	11	15	N		ヒアルロン酸
109	08	14	01		N		シリコーン
57	08	51	03	04	N		ヒアルロン酸
147	08	40	03	04	N		Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル) / Radiesse® (カルシウムハイドロキシアパタイト)
38	08	15	04	11	N		シリコーン / New Fill® (ポリ酪酸)
172	08	44	07		N		ヒアルロン酸
186	08	14	13	16	N		ヒアルロン酸
44	13	44	01	13	N		シリコーン / 金繊維 / Happy lift® (ポリジオキサノン-ポリ酪酸-カプロラク톤-X 共重合体)
170	15	35	01		N		シリコーン
204	15		01	13	N		Goretex® (PTFE-ポリテトラフルオロエチレン) / シリコーン / Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル) / ヒアルロン酸
226	15	44	03	04	N		Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル)

10

20

30

40

試料	HLA-B* (1)	HLA-B* (2)	HLA-DRB1* (1)	HLA-DRB1* (2)	有害作用の存在	観察及び/又は有害作用	生体インプラント
62	15	40	04	13	N		Restylane® (ヒアルロン酸)
21	15	45	04	12	N		シリコーン
33	15	49	11	13	N		シリコーン / Restylane® (ヒアルロン酸)
149	18	35	01	11	N		Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル) / Radiese® (カルシウムハイドロキシapatite)
181	18	53	03	13	N		Bioacamid® (ポリアルギルイミド)
233	18	49	03	11	N		ヒアルロン酸
150	18	49	11		N		コラーゲン / Dermalive® (ヒアルロン酸, アクリル酸ヒドロゲル) / Hylaform® (ヒアルロン酸)
138	27	44	01	15	N		Bioacamid® (ポリアルギルイミド) / Sculptra® (ポリL酪酸)
25	35	51	01	12	N		Bioacamid® (ポリアルギルイミド) / Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル)
202	35	44	03	13	N		シリコーン
23	35	51	03	07	N		シリコーン / Restylane® (ヒアルロン酸)
65	35	58	04	13	N		シリコーン
232	35	41	04	13	N		シリコーン
37	35	44	07	11	N		Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル)
143	35	51	07		N		シリコーン / 金 繊維 Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル)

試料	HLA-B* (1)	HLA-B* (2)	HLA-DRB1* (1)	HLA-DRB1* (2)	有害作用の存在	観察及び／又は有害作用	生体インプラント
180	35	44	11		N		シリコーン
159	38	45	01	04	N		シリコーン
139	38	51	11	13	N		Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル)
58	39	41	13	14	N		Bioalcamid® (ポリアルキルイミド)
179	40	44	07	11	N		Restylane® (ヒアルロン酸)
105	44	56	01	07	N		Achyal® (ヒアルロン酸) / シリコーン / Restylane® (ヒアルロン酸)
24	44	50	01	11	N		シリコーン
127	44		07	09	N		Restylane® (ヒアルロン酸) / Achyal® (ヒアルロン酸)
160	44		07		N		シリコーン
196	45		07	15	N		シリコーン
79	49	51	04	10	N		コラーゲン / Dermaive® (ヒアルロン酸, メタクリレート) / New Fill® (ポリ酪酸) / ヒアルロン酸
98	49	50	04	15	N		Restylane® (ヒアルロン酸)
141	49	50	13		N		Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル)
207	51	67	01	03	N		Radiesse® (カルシウムハイドロキシアパタイト)
194	07	14	01	15	Y	肉芽腫	ポリ酪酸
236	07	53	01	15	Y		シリコーン
134	07	44	04	11	Y	低反応性	Bioalcamid® (ポリアルキルイミド)

試料	HLA-B* (1)	HLA-B* (2)	HLA-DRB1* (1)	HLA-DRB1* (2)	有害作用の存在	観察及び/又は有害作用	生体インプラント
135	08	37	01	14	Y	結節炎症 (NI).	ヒアルロン酸
241	08	13	01	03	Y	肉芽腫	Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル)
4	08	39	03		Y	血管炎	Restylane® (ヒアルロン酸)
10	08	44	03	15	Y	残効性結節炎症	Dermalive® (ヒアルロン酸, Mメタクリレート)
157	08	57	03	07	Y	結節炎症	Restylane® (ヒアルロン酸)
168	08	44	03	15	Y	結節炎症/皮膚硬結	Artecoll® (ポリメチルメタクリレート, コラーゲン)/シリコーン
171	08	44	03	07	Y	活動性肉芽腫	Bioalcamid® (ポリアルキルイミド)
220	08	14	03		Y	コルチコイド治療が続けられるが重篤な肉芽腫	Bioalcamid® (ポリアルキルイミド)
1	08	14	03	15	Y	乾燥症候群/肉芽腫/血管浮腫	Bioalcamid® (ポリアルキルイミド)
223	08	27	03	08	Y	NI/偽性膿瘍	Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル)
240	08	14	03	07	Y	NI (軽い)	Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル)
238	13	35	04	13	Y	コルチコイド治療が続けられるが肉芽腫	Bioalcamid® (ポリアルキルイミド)
234	13	44	07		Y	硬結/血管浮腫	シリコーン
13	13	49	13	16	Y	12年前のシリコーンに対して反応なし	Dermalive® (ヒアルロン酸, アクリル酸ヒドロゲル)
11	14	44	07	12	Y		Bioalcamid® (ポリアルキルイミド)/コラーゲン
235	15	44	01	09	Y		シリコーン
239	15	44	04	11	Y		シリコーン

試料	HLA-B* (1)	HLA-B* (2)	HLA-DRB1* (1)	HLA-DRB1* (2)	有害作用の存在	観察及び/又は有害作用	生体インプラント
163	15	51	07	11	Y	NI	シリコーン
208	15	18	11	15	Y	2回目の移植後に急性の顔の反応	Sculptra® (ポリ L 酪酸)
222	15	41	13		Y	肉芽腫/硬結	ヒアルロン酸
101	18		03		Y	肉芽腫/硬結	Bioalcamid® (ポリアルキルイミド)
209	18	40	03	04	Y	外科的切除が必要	Dermalive® (ヒアルロン酸, Methacrylatel)
244	18	51	03	04	Y	外科的切除が必要	Bioalcamid® (ポリアルキルイミド)
111	18	52	11	13	Y		シリコーン
68	35	51	01	04	Y	再発性サルコイドーシス (弛張)	Dermalive® (ヒアルロン酸, メタクリレート)/ポリ酪酸
41	35	39	04		Y	急性の反応	シリコーン
169	35	39	04		Y	変動活動性	シリコーン
5	35	44	07		Y	残効性	Bioalcamid® (ポリアルキルイミド)
219	35	44	07	09	Y	NI	Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル)
162	35	44	13		Y	NI	シリコーン
2	38	44	11	13	Y	後退	Dermalive® (ヒアルロン酸, メタクリレート)
158	38	44	11	13	Y	NI 及びびそう痒	シリコーン
242	38	39	14		Y		シリコーン
28	39	40	03	16	Y	肉芽腫後退	Dermalive® (ヒアルロン酸, メタクリレート)
43	40	44	07	12	Y	サイレント肉芽腫	Bioalcamid® (ポリアルキルイミド)

試料	HLA-B* (1)	HLA-B* (2)	HLA-DRB1* (1)	HLA-DRB1* (2)	有害作用の存在	観察及び/又は有害作用	生体インプラント
136	40	44	11	14	Y		Outline Ultra® (ヒアルロン酸)
137	44		01	07	Y		シリコーン
100	44	52	03	11	Y		Restylane® (ヒアルロン酸)
36	44	51	04	07	Y	肉芽腫	Bioalcamid® (ポリアルキルイミド) / Aquamid® (ポリアクリルアミドゲル) / Evolence® (コラーゲン)
140	44	51	12	14	Y	非活動性外傷後肉芽腫	シリコーン
70	44	52	13	14	Y	NI	Dermalive® (ヒアルロン酸, メタクリレート)
40	49	55	04		Y	乳房プロステシス 10 年後 / (NI/硬結)	メタクリレート
8	51		01	04	Y	後退	シリコーン
245	51	57	04	15	Y	肉芽腫	Bioalcamid® (ポリアルキルイミド)

10

20

30

40

50

表 1 から、本発明の予想試験又は方法を使用して、生体インプラント、つまり皮膚及び皮下ファイラーに関係した晩発性有害作用及び幾らかの即時性有害作用を、生体材料の移植を選択し晩発性有害作用を示した個体の 30 - 40 % において防止することができることが推定される。換言すれば、有害作用を生じる可能性は、抗原 H L A - B \* 0 8 及び / 又は H L A - D R B 1 \* 0 3 の一つの少なくとも一つの対立遺伝子を含む個体においてより大きい。

【 0 0 7 2 】

より具体的には、生体インプラントに関係した晩発性有害作用は、H L A - B \* 0 8 の一対立遺伝子と H L A - D R B 1 \* 0 3 の一対立遺伝子の同時の存在 (ハプロタイプ H L A - B \* 0 8 / H L A - D R B 1 \* 0 3 ) によって定まるハプロタイプを含む個体において 6 0 0 倍である。抗原の一対立遺伝子を呈するときの相対リスク ( r r ) 対ハプロタイプ H L A - B \* 0 8 / H L A - D R B 1 \* 0 3 を呈するときの相対リスクは 1 対 5 . 9 ( r r = 1 対 r r = 5 . 9 ) である。

10

【 0 0 7 3 】

表 1 の全てのデータを、95 % の信頼区間でフィッシャー直接検定 ( 2 t a i l ) を使用して統計的に解析した。ハプロタイプ H L A - B \* 0 8 / H L A - D R B 1 \* 0 3 を含む試料は、5 . 8 1 のオッズ比の値を明らかにし、フィッシャー直接検定は 0 . 0 2 より低かった。

【 0 0 7 4 】

従って、ハプロタイプ H L A - B \* 0 8 / H L A - D R B 1 \* 0 3 の存在は生体インプラントに関係した有害作用を生じる大きなリスクを意味するが、H L A - B \* 0 8 の少なくとも一つの単一对立遺伝子又は H L A - D R B 1 \* 0 3 の少なくとも一つの単一对立遺伝子の存在は、表 1 のデータに従って、またリスク因子として考慮されなければならない。

20

【 0 0 7 5 】

表 1 から、H L A - B \* 0 8 及び H L A - D R B 1 \* 0 3 のものとは異なったハプロタイプに相関する幾つかの晩発性有害作用が生じることがまた抽出されうる。これらの症例は、本発明の方法では検出することができず、更なる研究が必要とされる。

【 0 0 7 6 】

更に詳細な形では、表 1 は検出される有害な副作用を示す。遅延型肉芽腫性反応は、コラーゲン、シリコン、ポリ L 酪酸、ポリアクリルアミド、ポリアルキルイミド、ヒアルロン酸、ポリテトラフルオロエチレン ( Gore-Tex ( 登録商標 ) ) 及びメタクリレートインプラントに関係していた。同じタイプの有害反応は、メタクリレート-コラーゲン ( Artecoll ( 登録商標 ) ) 又はエチルメタクリレート-ヒアルロン酸 ( Dermalive ( 登録商標 ) ) の組み合わせの使用で記述されている。ポリアルキルイミドに対する幾つかの異なった晩発性有害反応がまた報告されている。ヒアルロン酸 ( HA-AH, Dermalive ( 登録商標 ) ) 、メタクリレート-コラーゲン ( Artecoll ( 登録商標 ) ) 、ポリ酪酸 ( New-Fill ( 登録商標 ) ) 、シリコン及びポリアクリルアミド ( Aquamid ( 登録商標 ) ) に関係した異なった特定の組織の肉芽腫さえ記載されている。ヒトにおいて免疫媒介性の有害作用を誘発する生体インプラントの能力は生体インプラントの異なった化学組成及び個体の生物学的特徴に関係している場合がある。全ての生体インプラントは、インビトロで、マクロファージ活性化に基づく一次免疫媒介異物タイプ応答と T 細胞応答の可能な誘導を誘発しうる。理論では、肉芽腫に関して、生体インプラント粒子の回りの網目コラーゲン繊維の徐々の発生はそれに対する炎症反応の減少と一致するように思われる。しかし、いわゆる安定な肉芽腫が、皮膚又は皮下ファイラーのような生体インプラントに対する進行性の異常な肉芽腫性応答になりうる。しばしば、望まれない作用が小さい外傷中又は感染後に現れる。自身及び特定の遺伝的背景がこれらの有害な反応の発生に重要な役割を担っているに違いないとの仮説が成り立つ。

30

40

【 0 0 7 7 】

実施例 B ) 臨床例

アトピー前駆症状及び推定薬剤過敏症を呈し、顔の皺を改善するために外科医による処

50

置を望んでいた60歳の患者を、本発明の方法によって最初に分析した。患者がインプラント（皮下フィラー）拒絶又は有害な副作用の発生を被りやすいかどうかを判定することが意図された。選択されたフィラーはヒアルロン酸である。古典的な分析（ANAs, CH50, C4, タンパク像の測定）を実施した後、またHLA-B及びHLA-DRB1遺伝子座のハプロタイプを実験的に試験した後（Lifecodes HLA-SSOタイプングキット, Lumindex（登録商標）と共に使用, LC775 IVD. 11 (02/09), Tepnel Lifecodes Molecular Diagnostics - Stamford製）、患者が次のハプロタイプ：HLA-B\*08及びHLA-DRB1\*03を呈することを判定した。外科医はヒアルロン酸フィラーを注入することを拒絶したので、顔の皺とりのみを進めた。

10

**【0078】**

## 実施例C)他の臨床例

C1. 45歳の患者は、ヒアルロン酸及びメタクリレートからなる顔のインプラント（フィラー注入）から18ヶ月後の顔の結節、皮膚の病巣及び乾燥症候群の発症のために治療を求めていた。血液検査は、高ガンマグロブリン血症、高レベルの急性期反応物質、並びに高い値のアングiotenシン変換酵素を明らかにした。パッカルスワブからのHLA-B及びHLA-DRB1遺伝子座のハプロタイプを実験的に試験した後、患者が次のハプロタイプHLA-B\*08及びHLA-DRB1\*03を呈していたことが測定された（Lifecodes HLA-SSOタイプングキット, Lumindex（登録商標）と共に使用, LC775 IVD. 11 (02/09), Tepnel Lifecodes Molecular Diagnostics - Stamford製）。患者には新しい生体インプラント（フィラー注入）を使用した場合に有害作用を生じる高いリスクを十分に告知した。

20

**【0079】**

C2. 生体インプラントに関係した晩発性有害作用の推定リスクを判定するために皮膚科専門医から導かれた患者を分析した。患者はコラーゲンとメタクリレートの移植後に前に顔に反応を生じたようであった。血液からHLA-B及びHLA-DRB1遺伝子座のハプロタイプを、実施例Bにおいてなされたようにして実験的に検査した後、患者が次のハプロタイプ：HLA-B\*08及びHLA-DRB1\*03を呈することを測定した。患者には新しい生体インプラント（フィラー）を使用した場合に有害作用を生じる高いリスクを十分に告知した。また外科医はフィラーの注入を告知し悪い評価をした。しかし、患者はヒアルロン酸フィラーの注入に応じた他の専門医に相談をした。フィラーの注入から3ヶ月後に顔の一回目及び二回目に治療された領域に深刻な炎症の発生が観察された。

30

**【0080】**

本発明者が知る限りでは、体内に移植された材料に関係した有害作用を個体が発症する遺伝的素因を相関付ける有意な統計的データはこれまで報告されていない。これは、生体インプラントを市販している会社がインプラントから生じるリスクについて黙秘していたためであり得；又は単に有害作用の殆どが晩発性の有害作用であり、数年前の生体材料の移植と即座に相関させることが困難であるためである。

**【0081】**

全ての試験された個体（患者又はコントロール）において生体インプラントに対する反応性抗体は検出されなかった点は強調される。よって、観察された炎症反応及び免疫疾患は自己免疫反応パターンのためではない。同じように、フィラーのような異なった生体インプラントに対する特定の自己抗体は現在の試料では検出されなかった。また、生体インプラントに関係する有害な副作用の場合に観察された生検は自己免疫疾患において観察されたものと全く異なっている。通常、これらの生検で観察される病理組織学的パターンはIV型過敏症反応（Gell及びCoombsの分類）に特徴的である。よって、B細胞よりもT細胞の関与が裏付けられる。しかしながら、炎症が慢性状態に発展すると、血管炎、多発性筋炎、シェーグレン症候群等のような自己免疫疾患を発生させ又は「目覚めさせ」うる。これらの重篤な疾患は、生体インプラント（非金属材料インプラント）を受容することが

40

50

薦められている個体で本発明の方法が実施されると、避けることができる。

【 0 0 8 2 】

本発明の方法は、ハプロタイプ又はHLA系の幾つかの対立遺伝子の存在、又は対立遺伝子によってコードされるタンパク質（抗原）の存在を、生体材料の移植後に有害作用を生じるリスクと関連させる最初の有意な統計的アッセイから生じる。幸運にも生体インプラントに関係した有害作用の罹患率は低いが、上記有害作用の発症は実に重篤な場合がある。よって、本発明の方法は、美容処理の本来の狙いとは反対に深刻な有害作用の発生に至りうる外科的又は美容的処置を可能にするため、重要である。

【 0 0 8 3 】

本発明は、体内に移植された材料、つまり皮膚及び皮下フィラーに由来する（晩発性又は即時性）有害作用を生じる個体の易罹患性又は素因に特定のハプロタイプを連関させる有意な統計的データを初めて提供する。

10

【 0 0 8 4 】

出願中に引用した文献

- Di Lorenzo等, "Morphea after Silicone Gel Breast Implantation for Cosmetic Reasons in an HLA-B\*57:01, DR3-Positive Woman, Int. Arch Allergy Immunol 1997, vol. 112, pp. 93-95.

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/EP2011/056393**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.:
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 SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2011/056393

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. G01N33/569 G01N33/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> 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 practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, INSPEC, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GIMBEL H V ET AL: "Adverse response to phakic IOLs possibly related to human leukocyte antigen", CLINICAL & SURGICAL OPHTHALMOLOGY, MEDIACONCEPT, MONTREAL, CA, vol. 24, no. 12, 1 January 2006 (2006-01-01), pages 490-492, XP008138241, ISSN: 1705-4842	1,12
A	the whole document In particular: Introduction; discussion, last three paragraphs. ----- -/--	2-5, 7-11, 13-15
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input 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 document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
9 August 2011		18/08/2011
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  C.F. Angioni

2

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2011/056393

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TRENTAM D E: "Adverse reactions to bovine collagen implants. Additional evidence for immune response gene control of collagen reactivity in humans", ARCHIVES OF DERMATOLOGY, AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION, US, vol. 122, no. 6, 1 June 1986 (1986-06-01), pages 643-644, XP008138242, ISSN: 0003-987X, DOI: DOI:10.1001/ARCHDERM.122.6.643	1,12
A	the whole document	2-5, 7-11, 13-15
X	----- MEIER LOTHAR G ET AL: "Development of polyarthrititis after insertion of silicone breast implants followed by remission after implant removal in 2 HLA-identical sisters bearing rheumatoid arthritis susceptibility genes", JOURNAL OF RHEUMATOLOGY, JOURNAL OF RHEUMATOLOGY PUBLISHING COMPANY, CA, vol. 24, no. 9, 1 January 1997 (1997-01-01), pages 1838-1841, XP008138244, ISSN: 0315-162X	1,12
A	the whole document In particular: Abstract; Discussion.	2-5, 7-11, 13-15
X	----- SELVA-O'CALLAGHAN A ET AL: "Silicone gel filled breast implants and dermatomyositis", CLINICAL AND EXPERIMENTAL RHEUMATOLOGY, PACINI, PISA, IT, vol. 22, no. 3, 1 May 2004 (2004-05-01), page 376, XP008138243, ISSN: 0392-856X	1,12
A	the whole document In particular: last paragraph.	2-5, 7-11, 13-15
	----- -/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2011/056393

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>DI LORENZO GABRIELE ET AL: "Morphea after silicone gel breast implantation for cosmetic reasons in an HLA-B8,DR3-positive woman", INTERNATIONAL ARCHIVES OF ALLERGY AND IMMUNOLOGY, KARGER AG, CH, vol. 112, no. 1, 1 January 1997 (1997-01-01), pages 93-95, XP008138237, ISSN: 1018-2438, DOI: DOI:10.1159/000237437 cited in the application the whole document In particular: Abstract; Discussion, last paragraph.</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-5,7-15
A	<p>LAPPE ET AL: "Silicone-reactive disorder: A new autoimmune disease caused by immunostimulation and superantigens", MEDICAL HYPOTHESES, EDEN PRESS, PENRITH, US, vol. 41, no. 4, 1 October 1993 (1993-10-01), pages 348-352, XP023026349, ISSN: 0306-9877, DOI: DOI:10.1016/0306-9877(93)90081-Z [retrieved on 1993-10-01] the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-5,7-15
A	<p>WILSON S E ET AL: "Graft failure after penetrating keratoplasty", SURVEY OF OPHTHALMOLOGY, SURVEY OF OPHTHALMOLOGY INC, XX, vol. 34, no. 5, 1 March 1990 (1990-03-01), pages 325-356, XP026344899, ISSN: 0039-6257 [retrieved on 1990-03-01] the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-5,7-15
A	<p>BRAUN ET AL: "112-P: Report of a new HLA-DRB1*03 allele escaping detection by high-resolution sequence-specific priming and sequence-based typing", HUMAN IMMUNOLOGY, NEW YORK, NY, US, vol. 68, no. 1, 22 September 2007 (2007-09-22), page 571, XP022265093, ISSN: 0198-8859, DOI: 10.1016/J.HUMIMM.2007.08.135 the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-15

International Application No. PCT/ EP2011/ 056393

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 5(completely); 1-4, 7-15(partially)

An in vitro method and kit for the analysis of the genetic predisposition of an individual to develop adverse effects related to non-metallic bioimplants, wherein the MHC antigen to be detected is HLA-B\*08.

---

2. claims: 6(completely); 1-4, 7-15(partially)

An in vitro method and kit for the analysis of the genetic predisposition of an individual to develop adverse effects related to non-metallic bioimplants, wherein the MHC antigen to be detected is HLA-DRB1\*03.

---

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, 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, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 シュワルツ ナバーロ, シモン  
 スペイン国 エー - 0 8 0 3 5 パルセロナ, パセッチ パル デブロン 1 1 9 - 1 2 9,  
 インスティテュート デ レセルカ オスピタル ウニベルシタリ パル デブロン, セーイー  
 ベーイーエメ - ナノメディシン

(72)発明者 アリホタス レイグ, ハウメ  
 スペイン国 エー - 0 8 0 3 5 パルセロナ, パセッチ パル デブロン 1 1 9 - 1 2 9,  
 オスピタル ウニベルシタリ パル デブロン, フンダシオ プリバーダ インスティテュート  
 デ レセルカ

Fターム(参考) 4B063 QA01 QA13 QA18 QA19 QQ02 QQ03 QQ08 QQ42 QQ52 QR32  
 QR35 QR41 QR48 QR55 QR62 QS25 QS32 QX01  
 4C081 AB11 BA15 BA17 CA101 CA171 CA271 CD081 CD121

