

(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2014-512014
(P2014-512014A)

(43) 公表日 平成26年5月19日(2014.5.19)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/573 (2006.01)	GO 1 N 33/573	A
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	D

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 35 頁)

(21) 出願番号 特願2014-505335 (P2014-505335)
 (86) (22) 出願日 平成24年4月13日 (2012.4.13)
 (85) 翻訳文提出日 平成25年11月21日 (2013.11.21)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/033514
 (87) 国際公開番号 W02012/142409
 (87) 国際公開日 平成24年10月18日 (2012.10.18)
 (31) 優先権主張番号 61/475,936
 (32) 優先日 平成23年4月15日 (2011.4.15)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/579,007
 (32) 優先日 平成23年12月22日 (2011.12.22)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

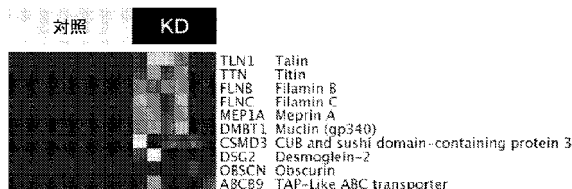
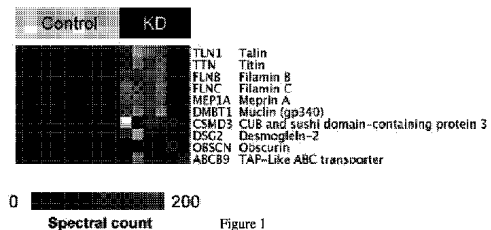
(71) 出願人 596115687
 チルドレンズ メディカル センター コ
 ーポレーション
 アメリカ合衆国マサチューセッツ州021
 15, ボストン, シャタック・ストリート
 55
 (74) 代理人 100102978
 弁理士 清水 初志
 (74) 代理人 100102118
 弁理士 春名 雅夫
 (74) 代理人 100160923
 弁理士 山口 裕孝
 (74) 代理人 100119507
 弁理士 刑部 俊

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 川崎病の診断マーカーおよび治療標的

(57) 【要約】

本発明は、川崎病を診断および治療するための組成物および方法を提供する。より具体的には、KDを有する患者のプロテオームでは、メプリンA、フィラミンB、およびフィラミンCが増大しており、これらは、KDのためのバイオマーカー（および潜在的治療標的）となる。したがって、本明細書において提供する組成物および方法を用いる、これらのバイオマーカーの検出は、対象に実施される治療法を教示することができる。



0 200
スペクトルカウント

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

対象において川崎病（KD）を診断するためのアッセイ法であって、
メブリンA、フィラミンB、およびフィラミンCから選択される少なくとも1つのバイオマーカーのレベルについて、対象から得られた生体試料を分析するステップ
を含み、

正規化タンパク質の参照レベルと比較して、該バイオマーカーのレベルの2倍以上の増加が、KDを該対象が有していることを示す、アッセイ法。

【請求項 2】

前記正規化タンパク質の参照レベルが、（a）KDを有していない個体におけるバイオマーカーのレベル、（b）前記対象試料中のハウスキーピングタンパク質のレベル、または（c）前記生体試料中の総タンパク質のレベルである、請求項1に記載のアッセイ法。

10

【請求項 3】

KDを有する対象の治療効果をモニタリングするための方法であって、

（a）第1の時点において対象から得られた生体試料から、メブリンA、フィラミンB、およびフィラミンCから成る群からの少なくとも1つのバイオマーカーのレベルを決定するステップ、

（b）該対象に対して治療を施すステップ、

（c）第2の時点において該対象から得られた試料中の、該バイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびに

20

（d）該第2の時点における該バイオマーカーのレベルを、該第1の時点における該バイオマーカーのレベルと比較するステップ

を含み、該第2の時点における該バイオマーカーのレベルの減少が、該対象に対して該治療が有効であることを示し、かつ、該第2の時点における該バイオマーカーのレベルの増加が、該対象に対して該治療が有効ではないことを示す、方法。

【請求項 4】

前記生体試料が尿または血清である、請求項1もしくは2に記載のアッセイ法、または請求項3に記載の方法。

【請求項 5】

前記バイオマーカーのレベルが、抗体に基づいた結合物質を使用して検出され、該結合物質が該バイオマーカーに特異的に結合する、請求項1もしくは2に記載のアッセイ法、または請求項3もしくは4に記載の方法。

30

【請求項 6】

KDバイオマーカーのレベルが増加した前記対象に対して、追加の治療を施すステップをさらに含む、請求項3に記載の方法。

【請求項 7】

生体試料中のKDバイオマーカーを検出するための試薬を含む、KDの検出のためのキットであって、該KDバイオマーカーが、フィラミンC、フィラミンB、またはメブリンAである、キット。

【請求項 8】

前記生体試料が尿または血清である、請求項7に記載のキット。

40

【請求項 9】

前記試薬が、フィラミンCに結合する作用物質、またはメブリンAに結合する作用物質、またはフィラミンBに結合する作用物質を含む、請求項7または8に記載のキット。

【請求項 10】

前記作用物質が抗体またはその一部である、請求項9に記載のキット。

【請求項 11】

前記試薬が、フィラミンB、フィラミンC、またはメブリンAの標準量を含む、請求項7～10のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 12】

50

前記試薬が正規化のためのタンパク質標準物質を含む、請求項 7 ~ 11 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 13】

請求項 8 に記載の作用物質に結合する第 2 の作用物質をさらに含む、請求項 9 に記載のキット。

【請求項 14】

請求項 9 に記載の抗体に結合する第 2 の作用物質をさらに含む、請求項 10 に記載のキット。

【請求項 15】

前記第 2 の作用物質が検出可能に標識される、請求項 14 に記載のキット。

10

【請求項 16】

前記検出が、検出されたバイオマーカーのレベルを測定することをさらに含む、請求項 7 ~ 15 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 17】

ELISA キットである、請求項 7 ~ 15 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 18】

少なくとも一個体の KD を診断するための方法をコンピュータ上で実施するためのソフトウェアモジュールを定義するためのコンピュータ可読の命令が記録された、固定されたコンピュータ可読記憶媒体であって、

20

(a) 少なくとも一個体から得られた生体試料に関して決定される、フィラミン B、フィラミン C、およびメブリン A から選択される少なくとも 1 つのバイオマーカーのレベルならびに正規化タンパク質のレベルを表すデータを記憶しかつ該データにアクセスするための命令と、(b) 正規化モジュールによって該少なくとも 1 つのバイオマーカーのレベルを該正規化タンパク質のレベルに正規化し、それにより、該少なくとも 1 つのバイオマーカーの正規化されたレベルを生成するための命令と、(c) 比較モジュールを使用して、該少なくとも 1 つのバイオマーカーの正規化されたレベルを、記憶装置上に記憶された参照データと比較するための命令であって、比較するステップが、読み出された内容を生成する、命令と、(d) 該少なくとも 1 つのバイオマーカーの正規化されたレベルに変化があるかどうかを表示する該読み出された内容のページを、ユーザに表示し、それにより、KD を該少なくとも一個体が有するかどうかを判定するための命令と

30

を備える、固定されたコンピュータ可読記憶媒体。

【請求項 19】

川崎病 (KD) を治療する方法であって、

正規化タンパク質の参照レベルと比較して、メブリン A、フィラミン B、およびフィラミン C から選択される少なくとも 1 つのバイオマーカーのレベルが治療前に 2 倍超増加した対象に対して、ガンマグロブリンの有効量を投与するステップを含む、方法。

【請求項 20】

川崎病 (KD) を診断するための方法であって、

メブリン A、フィラミン B、およびフィラミン C から選択される少なくとも 1 つのバイオマーカーのレベルについて、対象から得られた生体試料を分析するステップを含み、

40

正規化タンパク質の参照レベルと比較して、該バイオマーカーのレベルの 2 倍以上の増加が、KD を該対象が有していることを示す、方法。

【請求項 21】

前記生体試料が尿または血清である、請求項 20 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

連邦政府資金援助

50

本発明は、一部、国立衛生研究所によって承認された助成金番号U01 HL068285、RR 02172、U01 HL068270、U01 HL068269、U01 HL068292、U01 HL068290、U01 HL068288、U01 HL068281、およびU01 HL068279を受けて、連邦政府資金を用いて行われた。本発明において、米国連邦政府は、一定の権利を有する。

【0002】

関連出願の相互参照

本発明は、米国特許法第119条(e)に基づき、2011年4月15日に出願された米国仮特許出願第61/475,936号、および2011年12月22日に出願された米国仮特許出願第61/579,007号の利益を主張し、そのそれぞれの内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0003】

分野

本発明は、川崎病(KD)に関連付けられる診断マーカーおよび治療標的を提供する。より具体的には、KDを有する患者のプロテオームでは、メブリンA、フィラミンB、およびフィラミンCが増大しており、これらは、KDのためのバイオマーカーとなる。したがって、本明細書に提供される組成物および方法を用いるこれらのバイオマーカーの検出は、対象に実施される治療法を教示することができる。

【背景技術】

【0004】

背景

川崎病(KD)は、原因不明の全身性血管炎である。また川崎病は、先進国において後天性小児心疾患の最も一般的な原因であるが、その兆候および症状が、多くの他の小児期発熱性疾患を模倣した症状を呈するため、依然として主要な医療問題となっている。確定的な診断マーカーの欠如は、疑わしいKDの臨床評価の精度を制限し、罹患率の著しい増加をもたらす。ひいては、その分子病態の不十分な理解が、治療法の改善に必要な合理的標的の同定を遅らせる。

【発明の概要】

【0005】

概要

本実施形態は、KDの診断および治療に有用なマーカーを提供する。KDを有する患者の尿プロテオームでは、模倣する状態の患者においてはそうではないが、フィラミンおよびタリン等の細胞障害タンパク質、補体調節因子CSMD3等の免疫調節因子、免疫パターン認識受容体のムクリン(muc1in)、ならびに免疫サイトカインプロテアーゼのメブリンAが増大していた。フィラミンC、フィラミンB、およびメブリンAの著しい増加が、KDを有する患者の血清および尿の両方で検出された。現在使用される盲検症例対照研究における疾病のマーカーと比較すると、メブリンA、フィラミンB、およびフィラミンCは、優れた診断機能を示した。特に、メブリンAは、KDのマウスモデルの冠動脈病変において増大していた。すべてにおいて、尿プロテオームプロファイルは、フィラミンC、フィラミンB、およびメブリンAを含む、KDの新規分子マーカーを明らかにした。

【0006】

したがって、本発明の一態様は、それを必要とする対象におけるKDの診断およびモニタリングに対して特異的な少なくとも1つのバイオマーカーを提供する。

【0007】

本態様の一実施形態は、KDを有する患者において著しく増加している、尿中および血清バイオマーカーであるフィラミンCを提供する。

【0008】

本態様の別の実施形態は、KDを有する患者において著しく増加している、尿中および血清バイオマーカーであるメブリンAを提供する。

【0009】

10

20

30

40

50

本態様の別の実施形態は、KDを有する患者内において著しく増加している、尿中および血清バイオマーカーであるフィラミンBを提供する。

【0010】

本態様の別の実施形態は、それぞれKD患者内において増加しているバイオマーカーのパネルを提供し、KDの診断および予後における比較値を提供する。本態様の一実施形態において、KDバイオマーカーパネルは、フィラミンB、フィラミンC、またはメブリンAを含む。かかる実施形態はまた、総タンパク質または正規化タンパク質に対して特異的な作用物質を含んでもよいか、あるいは、例えば対象試料間の、または異なる時点において一対象から単離された一連の試料間の多様な比較を可能するために、量もしくは濃度に対してバイオマーカーのパネルが正規化され得る、該量もしくは該濃度を提供するように、総タンパク質もしくは正規化タンパク質の量または濃度を測定するアッセイ法が実行されてもよい。

10

【0011】

本発明の一実施形態において、尿または血清等の生体試料中に存在するKDバイオマーカーレベル（例えば、フィラミンCまたはメブリンAの量または濃度）は、試験試料またはその調整物を、抗体に基づいた作用物質等の作用物質と接触させることによって測定され、該作用物質は、少なくとも1つのKDバイオマーカーにまたはその一部に特異的に結合し、該作用物質は、バイオマーカーレベル（例えば、量または濃度）を決定するアッセイ法において使用され得るバイオマーカーと複合体を形成する。当業者に既知の任意の手段を使用して、バイオマーカーレベルを評価することができる。例えば、KDバイオマーカーレベルは、ELISA、多重ビート分析、または質量分析によって、評価されてもよい。

20

【0012】

一実施形態は、メブリンA、フィラミンB、およびフィラミンCから選択される少なくとも1つのバイオマーカーのレベルについて、対象から得られた生体試料を分析するステップを含む、対象においてKDを診断するためのアッセイ法を提供し、正規化タンパク質の参照レベルと比較して、バイオマーカーのレベルの2倍超の増加は、該対象がKDであることを示す。

【0013】

別の態様において、本発明は、KDの治療に関する治療効果を最適化する方法を提供する。したがって、本態様の一実施形態において、本方法は、(a)メブリンA、フィラミンB、またはフィラミンCを含むバイオマーカーのパネル中の少なくとも1つのバイオマーカーのレベル（例えば、量または濃度）を測定するステップ、および(b)該少なくとも1つのバイオマーカーのレベルを、該少なくとも1つのバイオマーカーの参照レベルと比較することを含み、該少なくとも1つのバイオマーカーの参照レベルに対する、試料中のメブリンA、フィラミンB、またはフィラミンCを含むバイオマーカーのパネル中の少なくとも1つのバイオマーカーのレベルの増加は、対象に対して、KDのための治療的処置を施す必要性を示す。一部の実施形態において、生体試料は尿試料である。一部の実施形態において、生体試料は血清である。

30

【0014】

本態様の別の実施形態において、本方法は、(対象から得た)生体試料を、少なくともフィラミンC、フィラミンB、またはメブリンAを含むバイオマーカーのパネル中の少なくとも1つのバイオマーカーに対して特異的な少なくとも1つの作用物質に接触させるステップ、(b)該少なくとも1つの作用物質に対して特異的なアッセイ法を使用して、該少なくとも1つのバイオマーカーの量または濃度を測定するステップ、および(c)該少なくとも1つのバイオマーカーの量または濃度を、該少なくとも1つのバイオマーカーの参照レベルと比較するステップを含み、該少なくとも1つのバイオマーカーの参照量または参照濃度に対する、該試料中のフィラミンC、フィラミンB、またはメブリンAを含むバイオマーカーのパネル中の少なくとも1つのバイオマーカーの量または濃度の増加は、該対象に対して、KDのための治療的処置を施す必要性を示す。一部の実施形態において

40

50

、生体試料は尿試料である。一部の実施形態において、生体試料は血清である。

【0015】

別の態様において、本発明は、生体試料中の少なくとも1つのKDバイオマーカー、例えば、フィラミンC、フィラミンB、メプリンAを同定、または測定する手段を含むキットを提供する。キットは、生体試料（例えば、尿試料または血清試料）を保持する容器と、尿試料または血清試料等の生体試料中の少なくとも1つのKDバイオマーカーの量の決定、濃度の決定、または存在の判定に使用するための、少なくとも1つのKDバイオマーカーと特異的に結合する抗体またはその一部等の少なくとも1つの作用物質とを含む。

【0016】

本態様の一実施形態において、キットは、少なくとも1つのKDバイオマーカーおよび固定化のための抗体またはその一部に特異的に結合する少なくとも1つの抗体またはその一部を含む。かかる一実施形態において、一抗体は固相に固定化され、少なくとも1つのバイオマーカーに対して特異的な少なくとも1つの抗体が検出可能に標識される。キットは、抗メプリンA、抗フィラミンB、もしくは抗フィラミンC抗体、またはそれらの一部を含んでもよい。

10

【0017】

別の態様は、少なくとも一個体のKDを診断するための方法をコンピュータ上で実施するためのソフトウェアモジュールを定義するためのコンピュータ可読の命令が記録された、コンピュータ可読記憶媒体に関連し、コンピュータ可読記憶媒体は、(a)少なくとも一個体から得られた生体試料に関して決定される、少なくとも1つのバイオマーカーのレベルおよび正規化タンパク質のレベルを表すデータを記憶しかつ該データにアクセスするための命令と、(b)少なくとも1つの該バイオマーカーのレベルを正規化モジュールによって正規化タンパク質の量に正規化し、それにより、該少なくとも1つのバイオマーカーの正規化されたレベルを生成するための命令と、(c)比較モジュールを使用して、該少なくとも1つのバイオマーカーの正規化されたレベルを、記憶装置上に記憶された参照データと比較するための命令であって、比較するステップが、読み出された内容を生成する、命令と、(d)該少なくとも1つのバイオマーカーの正規化されたレベルに変化があるかどうかを表示する該読み出された内容のページを、ユーザに表示し、それにより、KDを該少なくとも一個体が有するかどうかを判定するための命令とを備える。正規化タンパク質は、総タンパク質または特定のタンパク質であってもよい。一実施形態において、生体試料は尿試料である。一実施形態において、生体試料は血清である。

20

30

【0018】

また本明細書では、少なくとも一個体から得られた生体試料からデータを得るためのコンピュータシステムが記述され、該システムは、(a)生体試料を保持するための検体容器と、(b)レポーター分子情報が、(1)正規化タンパク質への作用物質の結合を表す情報、および(2)少なくとも1つのバイオマーカーへの作用物質の結合を表す情報を含む、該レポーター分子情報を判定するように構成された判定モジュールと、(c)該判定モジュールからのデータ出力を記憶するように構成された記憶装置と、(d)少なくとも1つのバイオマーカーへの作用物質の結合を表すレポーター分子情報を、正規化タンパク質への作用物質の結合を表すレポーター分子情報に正規化するように構成された、正規化モジュールと、(e)該正規化モジュールから得られたデータを該記憶装置上の参照データと比較するよう適合化され、読み出された内容を生成する、比較モジュールと、(f)該少なくとも1つのバイオマーカーの正規化されたレベルに変化があるかどうかを表示する該読み出された内容のページをユーザに表示し、それにより、KDを該少なくとも一個体が有するかどうかを判定するための表示モジュールとを備える。一実施形態において、正規化タンパク質は特定のタンパク質である。一実施形態において、正規化タンパク質は総タンパク質である。一実施形態において、生体試料は尿試料である。別の実施形態において、生体試料は血清である。

40

【図面の簡単な説明】

【0019】

50

【図1】KD患者が、KDを有していない患者、または一般に存在する尿タンパク質を有する患者とは異なる、独特の尿プロテオームを示すことを示す。KDを有さない患者と比較した、KDを有する患者において検出された上位10種のタンパク質(行)のベイズ解析の結果を示す、15個体の尿プロテオーム(列)のヒートマップ。シェーディンググラデーション(Shading gradient)は、尿タンパク質存在度に対応する、MS/MSスペクトルの数(スペクトルカウント)を表す。

【図2A-C】川崎病を有する患者は、模倣する状態の患者においてはそうではないが、著しく増加したメブリンAおよびフィラミンCの血清および尿レベルを有することを例示し、それはKDの疑いのある患者の盲検研究において、優れた診断機能を示す。図2A~2Cは、KDの疑いのある患者の盲検症例対照研究において、メブリンA、フィラミンB、およびフィラミンCの特異的なELISAを使用して測定された、尿濃度のボックスプロットであり、KD状態ではない患者(左)、および静脈内ガンマグロブリン治療を受けているKDを有する患者(IVIg、右)と比較して、KDを有する患者の著しく増加したメブリンAおよびフィラミンCの濃度(中央)を示す。 $P < 0.05$ 。水平バーは、各比較群の平均を表す。

10

【図2D】川崎病を有する患者は、模倣する状態の患者においてはそうではないが、著しく増加したメブリンAおよびフィラミンCの血清および尿レベルを有することを例示し、それはKDの疑いのある患者の盲検研究において、優れた診断機能を示す。図2Dは、共通マーカーである赤血球沈降速度(ESR、左から3番目の線)、ならびに血清C反応性タンパク質(CRP、右の線)と比較した、尿メブリンA(一番左の線)、フィラミンB(左から2番目の線)、およびフィラミンC(左から4番目の線)の受信者動作特性。受信者動作特性の曲線下面積(AUC)値、および、測定された診断マーカーに対する、その95%信頼区間(CI)。

20

【図2E-F】川崎病を有する患者は、模倣する状態の患者においてはそうではないが、著しく増加したメブリンAおよびフィラミンCの血清および尿レベルを有することを例示し、それはKDの疑いのある患者の盲検研究において、優れた診断機能を示す。図2E~2Fは、KDを模倣する状態ではない患者(左)と比較した、KDを有する患者(右)におけるメブリンA(図2E)およびフィラミンC(図2F)の特異的なELISAを使用して測定された、血清濃度のボックスプロット。 $p < 0.05$ 。

【図3】KDを有する患者の疾病活動性と関連付けられる、尿フィラミンCおよびメブリンAを示す。図3A~3Bは、診断時、治療後24~48時間後、および臨床反応の完了の1カ月後に採取された一致する検体で測定された、5人のKDを有する患者における尿メブリンA(図3A)およびフィラミンC(図3B)レベル。図3Cは、最初の症状の5.5か月後にKD再発を経験した一患者における、尿メブリンAレベル。図3Dは、初期治療法に反応した患者(左、応答者)対反復治療を必要とした患者(右、非応答者)の尿フィラミンCレベルを示す散布図。

30

【図4】メブリンAが、川崎病のマウスモデルの冠動脈病変において増大していることを示す。図4A~4Bは、対照動物(図4A)にはないが、瀕死のKD罹患動物(図4B)にある単核細胞の浸潤物(矢じり)を示す、冠状動脈のヘマトキシリンおよびエオシン染色切片の顕微鏡写真。図4C~4Dは、対照動物(図4C)にはないが、瀕死の動物(図4D)にある、冠状動脈の単核細胞浸潤物におけるメブリンAの増大を示す、冠状動脈のメブリンA免疫組織化学染色切片の顕微鏡写真。図4Eは、対照マウス(左)と比較して、瀕死のマウス(右)におけるメブリンAの血清レベルは増加している。

40

【図5】受信者動作特性(ROC)分析を使用して、併合したメブリンAおよびフィラミンCの診断機能を反映したデータを提示する。これら二重のKDバイオマーカーの使用は、KD診断において、高いレベルの感度および特異性を提供する。

【図6】図6A~6Cは、KDのマウスモデルにおけるメブリンA、フィラミンB、およびフィラミンCの血清レベルを比較するデータを示す。

【発明を実施するための形態】

【0020】

50

詳細な説明

本発明は、本明細書に記述される特定の方法、手順、および試薬等に制限されず、したがって変化し得ることを理解されるべきである。本明細書において使用される用語は、特定の実施形態を記述することのみを目的としており、本発明の範囲を制限するものではなく、それは請求項によってのみ定義される。

【0021】

本明細書および特許請求の範囲において使用される際、文脈が明確に指示しない限り、単数形は複数の参照を含み、逆もまた同様である。用語「または」は、例えば、「いずれかの」によって修飾されない限り、包括的である。操作実施例内、または別に示される場所場合以外は、本明細書で使用される構成要素もしくは反応条件の量を示す全ての数字は、用語「約」によって、すべての事例において修飾されることを理解されたい。

10

【0022】

全ての特許および他の特定された出版物は、例えば、本発明と関連して使用され得るかかる出版物において記述される方法を記述および開示する目的で、参照により明示的に本明細書に組み込まれる。これらの出版物は、本出願の出願日以前のそれらの開示に関してのみ提供される。この点のいかなる内容も、先行発明、または任意の他の理由によって、発明者らがかかる開示に先行する権利がないことを承認すると、解釈するべきではない。日付に関する記載、または、これらの文書の内容の描写のすべては、出願人が利用可能な情報に基づき、日付または、これらの文書の内容の正確性のいかなる承認も構成しない。

20

【0023】

別に定義されない限り、本明細書で使用される、すべての技術的および科学的な用語は、本発明が関連する当業者に一般的に理解される意味と同様の意味を有する。任意の既知の方法、装置、および材料が、本発明の実行、または試験において使用されてもよいが、この点における方法、装置、および材料は本明細書において記述される。本実施形態は、KDの診断および治療に有用な新規バイオマーカーを提供する。端的に言えば、高精度質量分析プロテオミクスを使用して、KDを有する患者の臨床尿検体中の、2,000個を超える独特なタンパク質を分析した。分析は、KDを有する患者の尿プロテオームでは、模倣する状態の患者においてはそうではないが、フィラミンおよびタリン等の細胞障害のマーカー、補体調節因子CSMD3等の免疫調節因子、免疫パターン認識受容体のムクリン、ならびに免疫サイトカインプロテアーゼのメブリンAが増大していることを明らかにした。合計192名の患者から成る、KDを有する患者の2つの独立コホートにおいて、フィラミンCおよびメブリンAの著しい増加が、血清および尿の両方で検出された。メブリンAおよびフィラミンCは、それぞれ0.99(0.96~1の95%信頼区間)および0.94(0.89~0.99の95%信頼区間)の受信者動作特性曲線下面積を有する、KDの疑いのある69名の患者の盲検症例対照研究において、現在使用されている疾病のマーカーと比較して優れた診断機能を示した。特に、メブリンAは、KDのマウスモデルの冠動脈病変内において増大していた。すべてにおいて、尿プロテオームプロファイルは、フィラミンCおよびメブリンAを含む、KDの新規分子マーカーを明らかにした。これらおよび他のタンパク質は、KDの疑いのある小児の臨床評価の診断精度を改善し、新規治療標的の同定をもたらし、KDの生物学的分類の発展を可能にすることができる。

30

40

【0024】

KDは、長期発熱、ならびに、口腔粘膜の炎症、非滲出性結膜炎、発疹、四肢の変化、および通常片側の頸部リンパ節腫脹を含む皮膚粘膜の炎症を示す、原因不明の全身性血管炎である。Burns et al., 118 J. Pediatr. 680 (1991)。川崎病は、アメリカおよびヨーロッパの人口において、約10,000人に1人という発症率をもつが、先進国における後天性小児心疾患の最も一般的な原因であり、その兆候および症状が、多くの他の小児期発熱性疾患を模倣した症状を呈するため、依然として主要な医療問題となっている。Baker et al., 154 J. Pediatr. 592 (2009)、Taubert et al., 119 J. Pediatr. 279 (1991)。加えて、KDの有病率はアジアで非常に高く、5歳未満の日本人の

50

子供1,000人の内2人が、川崎病を発症している。Nakamura et al., 20 J. Epidemiol. 302 (2010)。

【0025】

正確な診断の遅れが、KDの合併症による死亡率および罹患率の増加を引き起こす。Wilder et al., 26 Pediatr. Infect. Dis. J. 256 (2007)、Suda et al., 123 Circulation 1836 (2011)。特に、適時な治療を欠くと、25%もの患者が死亡の危険性、および長期の罹患率を伴う冠動脈拡張または動脈瘤を発症する可能性がある。McCrinkle et al., 116 Circulation 174 (2007)。重要なことに、本発明以前、KDの早期特定および診断のための、特徴的試験は存在しなかった。Gedalia, 9 Curr. Rheumatol. Rep. 336 (2007)、Dedeoglu and Sundel, 33 Rheum. Dis. Clin. N. Am. 555 (2007)。臨床アルゴリズムの使用は、KDの診断を改善したが、その精度は限定的なままである。Yellen et al., 125 Pediatrics e234 (2010)。KDの臨床評価の信頼性の改善の試みは、臨床的および一般的な炎症の実験用マーカーに集中していた。Lin et al., 121 J. Pediatr. 924 (1992)、Chow et al., 34 Zhonghua Min Guo Xiao Er Ke Yi Xue Hui Za Zhi 77 (1993)、Ebihara et al., 164 Eur. J. Pediatr. 427 (2005)、Peng et al., 8 Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi 208 (2006)、Suganami et al., 50 Pediatr. Int. 264 (2008)。しかしながら、伝染性のトリガーと過剰な炎症反応との間の相互作用によって引き起こされると考えられるKDの病態生理学において特異的な関連性がおそらくないため、機能は不十分であった。Rowley et al., 6 Nat. Rev. Microbiol. 394 (2008)。

10

20

【0026】

本実施形態は、発見に基づいた手法を用い、この手法はプロテオームスケール上のKD病態生理学的変化を特定した。尿は、血清と比較して、豊富であることおよび相対分析が簡潔であったため、研究された。これまでに、高精度質量分析は、局所および全身性のバイオマーカーを同定するため、ならびに、改善された疾病の診断マーカーを発見するために、十分詳細に尿プロテオームを測定した。Rai et al., 5 Proteomics 3467 (2005)、Pisitkun et al., 5 Mol. Cell Proteomics 1760 (2006)、Adachi et al., 7 Genome Biol. R80 (2006)、Woroniecki et al., 26 Am. J. Nephrol. 258 (2006)、Oetting et al., 47 Am. J. Kidney Dis. 898 (2006)、Zimmerli et al., 7 Mol. Cell Proteomics 290 (2008)、Kentsis et al., 55 Ann. Emerg. Med. 62 (2010)。

30

【0027】

本実施形態は、有望な小児コホート内で同定された、KDの検証された診断マーカーを提供する。KDの疑いのある小児から採取された尿検体の、高精度質量分析プロテオームのプロファイリングは、個々の尿プロテオームの違いを同定した。候補診断マーカーは、酵素免疫吸着法(ELISA)を使用して、KDを有する患者の2つの独立コホートの尿および血清において、検証された。次いで、これらの診断機能は、KDの疑いのある小児の、盲検プロスペクティブ研究において評価された。

40

【0028】

最初の対象研究には、発熱しており、KDの可能性が懸念される69名の対象が登録された。疫学およびKDの症状のこれまでの研究に一致して、調査母集団は主に、表1に記述する兆候および症状を呈する平均年齢3歳の男児であった。

【0029】

50

(表1) KDの疑いのある患者の呈する兆候、症状、診断

特徴	最終診断		
	KD	非KD	
合計	45	24	
性別(男性%)	78	56	
人種(%)			
白人	68	68	
アフリカ系アメリカ人	20	16	
アジア人	9	8	10
年齢(歳)	3.3±2.5	4.6±2.4	
発熱継続期間(日)	6.4±2.2	6.3±1.8	
第1の判断基準の数*	4(3-5)	2(1-4)	
結膜炎(%)	97	52	
粘膜炎(%)	91	44	
発疹(%)	91	44	
四肢の変化(%)	75	32	
リンパ節腫脹(%)	53	28	
膿尿症(%)	31	12	
末梢WBC(K細胞/mm ³)	14.6±4.4	9.8±3.7	20
Hgb(g/dl)	10.4±1.9	10.8±2.2	
血小板(K細胞/mm ³)	434.4±138.5	304.2±122.9	
Na(mmol/L)	134±3	135±2.8	
CRP(mg/dL)	11.2±7.4	7.8±7.2	
ESR(mm/時間)	79.8±26	49.8±23.5	
ALT(単位/L)	76.4±117.2	31.2±35.2	
アルブミン(g/dL)	3.4±0.4	3.7±0.4	
不完全な症状 [†] (%)	8/44(18%)		
値は、中央値(値域)として報告される基準の数を除き、必要に応じて、平均±標準偏差として報告されている。			30
*第1の判断基準：発熱5日間以上、結膜炎、口腔咽頭の所見、発疹、四肢の変化、リンパ節肥大。			
[†] 不完全な症状(説明文を参照)；Hgb、ヘモグロビン；Na、ナトリウム；CRP、C反応性タンパク質；ESR、赤血球沈降速度；ALT、アラニンアミノトランスフェラーゼ。膿尿症は、白血球10個超/強拡大視野を有するとして定義された。			

【0030】

45名の患者(65%)が、最終的にKDと診断された。すべてのKDを有する患者は、高用量アスピリンおよび静脈内ガンマグロブリンを用いた治療を受け、13名の患者(28%)は、初期の臨床反応欠如のため、反復治療を必要とした。1名の患者(2%)は、当初は治療法に反応したが、最初の症状の6カ月後に疾病が再発した。KDを伴わない24名の患者(50%)のうち12名は、表2に示すように、非特異性のウイルス症候群を有することがわかり、残りの患者は、KDを模倣した状態を呈示し得る様々な疾患を有することがわかった。

【0031】

(表2)69名の調査患者の最終診断

最終診断	患者数
川崎病	45
ウイルス症候群	12
アデノウイルス	5
腎盂腎炎	2
血清病	2
骨髄炎	1
ライム病	1
サイトメガロウイルス	1

【0032】

KDの候補診断マーカーは、研究開始時に採取され、有効性に基づいて選択された次の15個の検体の分析に基づいて同定された。6つのKD検体（3つは冠動脈拡張を有さず、3つは有する）、6つの非KD検体（2つは非特異性ウイルス症候群を有し、3つはアデノウイルスを有し、および1つは腎盂腎炎を有する）、ならびに治療に対する反応完了の1カ月後（KDの回復期）にKDを有する患者から採取された、3つの一致する検体。この分析は、これまでの研究と類似した凝集体尿プロテオームの組織および物理的原因（Kentsis et al., 3 Proteomics Clin. Appl. 1052 (2009)）、ならびに同定された2,131個の独特のタンパク質を示す。3つの比較群の分析は、KDを有する患者の尿中における190個超のタンパク質の同定をもたらしたが、KDを有していない患者、またはKDが完治した患者のいずれにおいてもそうではなかった。候補KDマーカーの存在量は、KDを有する患者において最も増大しているそれらを同定するために、分析され、相対存在度および有病率順に並べられた（図1）。同定されたマーカーは、フィラミンおよびタイチン等の、内皮細胞傷害および心筋細胞傷害に関連付けられる様々なタンパク質、ならびにDMBT1およびメブリンA等の免疫調節因子を含む。

10

20

【0033】

市販のELISAを使用して選択された候補KDマーカーは、尿中のフィラミンCおよびメブリンAレベルを分析して検証された。フィラミンCおよびメブリンAのKDの診断機能は、患者の最終診断を知らない研究者によって、患者の尿中におけるその濃度を測定することによって評価された。メブリンAおよびフィラミンC両方の尿濃度は、KDを有していない患者と比較して、KDを有する患者において著しく増加していた（それぞれ、 3.8 ng/ml に対して 21.7 の平均フィラミンC、および 12.4 ng/ml に対して 57.1 の平均メブリンA、 $p < 0.05$ 、図2A~2B）、表S2。

30

【0034】

（表S2）メブリンAおよびフィラミンCはKDを有する患者の尿中において著しく増加している

尿マーカー	非川崎病、 $n = 25$	川崎病、 $n = 44$
フィラミンC (ng/ml)	$3.8 \pm 3.4^{a,b}$	21.7 ± 18.2
メブリンA (ng/ml)	$12.4 \pm 4.4^{a,b}$	57.1 ± 20.9

表中の値は、未変換の測定値の平均±標準偏差を表し、統計比較は、対数変換測定値の分析を用いて実行された。^a川崎病群に対して $p < 0.05$ 、^b川崎病群に対して $p < 0.05$ 。

40

【0035】

年齢、性別、人種および発熱継続期間の対照は、メブリンAおよびフィラミンCの増加の統計的有意性に影響がなかった。重要なことに、尿メブリンAおよびフィラミンCはまた、4つの従来主要診断基準のうち、3つしか合致しないKDの不完全症状を有する患

50

者において、KDを有していない場合と比較して著しく増加していた（それぞれ、3.8 ng/mlに対して28.5 ng/mlの平均フィラミンC、および12.4 ng/mlに対して38.2 ng/mlの平均メブリンA、ともにp < 0.05）。

【0036】

メブリンAおよびフィラミンCの診断機能は、受信者動作特性（ROC）分析を使用して、69名の患者すべてに対して分析された。これらのマーカーのROC曲線は、現在使用されている赤血球沈降速度（ESR）およびC反応性タンパク質（CRP）等の実験用マーカーと比較して優れた診断機能を示し、メブリンAおよびフィラミンCは、それぞれ、0.99の曲線下面積値（0.96～1.0の95%信頼区間）および0.94（0.89～0.99の95%信頼区間）を有した（図2C～2D、5）。

10

【0037】

メブリンAおよびフィラミンCと、治療法に対する反応との間における関係性は、一連の検体と一致するそれらの尿濃度の測定によって評価された。これらは、一致する検体を採取し得る5名の患者において、治療法の開始前の診断時、高用量アスピリンおよび静脈内ガンマグロブリンを用いた治療の24～48時間後、および治療に対する臨床反応の完了から1カ月後に採取された。すべての対象患者において、治療に対する反応と関連付けられる尿メブリンAおよびフィラミンCレベルを研究した（一元配置分散分析p < 0.05、図3A～3B）。

【0038】

特に、尿メブリンAは、治療に対して当初は反応したが、最初の症状から5.5カ月後に疾病が再発した1名のKD患者において測定不能であった。尿メブリンAの増加の再発は、KDの再発に関連付けられた（図3C）。同様に、初期の臨床反応欠如のため、静脈内ガンマグロブリンを用いた治療の反復を必要とした患者は、発症時において、初期の治療法に反応した患者に比べて著しく高い量のフィラミンCを有した（20 ng/mlに対して平均64、p < 0.05、図3D）。

20

【0039】

これらの発見により促され、メブリンAおよびフィラミンCの検証は、患者の独立コホートまで拡大した。したがって、KDを有する患者の112の血清検体を、分析し（近年の小児心臓ネットワーク（Pediatric Heart Network）研究の一部として採取された）、当初KDを有する疑いがあったが、最終的にKDでない発熱性疾患と診断された11名の患者と比較した（図2E～2F）。ELISAを使用して、メブリンAおよびフィラミンCの両方は、KDを有する患者の血清中において非KD対照と比較して著しく増加していた（それぞれ、6.6 ng/mlに対して217の平均フィラミンC、および14.8 ng/mlに対して1,363のメブリンA、ともにp < 0.05）、表S3。

30

【0040】

（表S3）メブリンAおよびフィラミンCはKDを有する患者の血清中において著しく増加している

血清マーカー	非川崎病、n=11	川崎病、n=112
フィラミンC (ng/ml)	6.6 ± 5.8 ^{a, b}	216.6 ± 707.8
メブリンA (ng/ml)	14.8 ± 9.1 ^{a, b}	1362.8 ± 3587.1

表中の値は、未変換の測定値の平均±標準偏差を表し、統計比較は、対数変換測定値の分析を用いて実行された。^a川崎病群に対してp<0.05、^b川崎病群に対してp<0.05。

40

【0041】

メブリンAは、様々な免疫サイトカインを制御するプロテアーゼであるため、KDのい

50

くつかの特徴を再現する冠動脈炎のマウスモデルを使用して、KDの発症機序においてメブリンAが関係する可能性が研究された。Lehman et al., 48 Clin. Immunol. Immunopathol. 108 (1988)。このモデルにおいて、瀕死のマウスは、冠動脈瘤を引き起こす全身性単核細胞血管炎を発症する。特異的メブリンA抗体を使用した免疫組織化学的分析は、メブリンAが、冠動脈炎を有するマウスの血管病変において増大していたが、対照マウスではそうではなかったことを示した(図4A~4D)。同様に、循環するメブリンAのレベルは、冠動脈炎を有するマウスの血清中において、対照と比較して著しく増加していた(0.3 ng/mlに対して平均4.7、 $p < 0.05$ 、図4E)。図6も参照。

【0042】

小児の急性特発性血管炎であるKDは、迅速に診断、および治療がされなかった場合、著しい罹患率および死亡率を引き起こす。心エコー検査を併用した臨床アルゴリズムの使用は、KDの診断的評価の精度を改善した。迅速な治療とともに、これは、死亡率および冠状動脈瘤による合併症の著しい減少をもたらす。しかしながら、本発明以前、KDの診断に使用されていた臨床基準はこの状態に対して特異的ではなく、KDを有する小児の大部分が、疾病の主要な兆候のうちいくつかは欠如していたため(不完全なKD)、深刻な診断上の課題が残っていた。

【0043】

以前のいくつかの研究は、KDの可能性評価の診断精度の改善を目標に、KDのバイオマーカーを同定しようと試みた。末梢白血球数、ESRおよびCRPレベル等の急性反応物質は、臨床的に最も有用である。本明細書で確認されたとおり(図2C~2D)、これらのマーカーは、その特異性および感度に関して、不十分なままである。(Xiu-Yu et al., 24 J. Clin. Lab. Anal. 385 (2010)、Huang et al., 31 Pediatr. Cardiol. 1209 (2010))。オステオプロテゲリン、ナトリウム利尿ペプチド、および血管内皮成長因子等の改善した診断マーカーを同定しようとする近年の試みはまた、限られた改善をもたらし、これはKDを特徴付ける独特な免疫機構に対する特異性が不十分であった結果であろう。Simonini et al., 32 J. Rheumatol. 2233 (2005)、Kaneke et al., Pediatr. Cardiol., (2011)、Ebat a et al., 75 Circ. J. 1455 (2011)。

【0044】

近年発達した質量分析手法の高い精度および感度は、本明細書に記述する新規で、より正確かつ高感度な診断マーカーの発見を促進した。当初KDを有する疑いがあったが他の発熱性疾患を有すると証明された他の尿プロテオームと比較した場合のKDを有する患者の尿プロテオームは、190個を超える独特の候補KDマーカーから成るKDの分子病態生理学的プロファイルの構築を可能にした(図1)。これらの分子は、内皮および心筋傷害のマーカー(タリン、フィラミン、デスモグレイン、オプスクリン、タイチン)、白血球活性化のマーカー(AMICA1、CAECAM、CXCL12、GDF15、LAIR1)、病原体免疫認識のマーカー(DMBT1、ABCB9)、およびサイトカイン調節のマーカー(CSMD3、メブリンA)を含む。

【0045】

本明細書に提供されるとおり、いくつかの免疫調節因子分子は、KDを有する患者の尿中における固有に存在する。これらの中には、IL-1およびIL-6を含むKDの発症機序に関わっている炎症性サイトカインの活性化ならびに分解に機能する金属プロテアーゼであるメブリンAがあった。Chow et al., 1993、Herzog et al., 31 Cytokine 394 (2005)。同様に、ムクリンまたはgp340としても既知であるDMBT1は、様々な細菌およびウイルスの抗原を認識する先天性免疫スカベンジャー受容体である。Madsen et al., 16 Innate Immunol. 160 (2010)。最後に、TAPLとしても既知であるABCB9は、免疫抗原提示に機能する輸送体である。Bangerter et al., 392

10

20

30

40

50

Biol. Chem. 61 (2011)。同定されたKDマーカーの多くは、本発明者が本明細書で行ったとおりに適切に検証される場合、診断マーカーだけではなく、新規治療標的になることができる。すべてにおいて、表S1に記載された190個の新規候補KDマーカーを含む、プロテオーム・コモンズ(Proteome Commons)(proteomecommons.orgにてオンライン)にて入手可能な同定されたプロテオームは、KDの分子生理学的プロファイルを提供する。この分子プロファイルによる、患者の先天性および適応免疫応答の構成要素の相互作用は、KDを媒介する発症機序をさらに解明し得る。

【0046】

重要なことに、KDの疑いを有する患者に関するこのプロスペクティブ盲検研究は、フィラミンCおよびメブリンAが、KDを有する患者の血清中および尿中における著しく増加したが、様々な模倣する状態の患者においてはそうではなかったことを確認した(図2)。両方のマーカーは、現在臨床試験で使用されているものと比較して、優れた診断機能を示した(図2)。筋細胞中のフィラミンCの優勢発現は、フィラミンCが、KDと同時に発症する潜在的な心筋炎の高感度のおよび特異的なマーカーになることを示唆する。実際に、トロポニン等のはっきりとした心筋細胞傷害のマーカーは、臨床治療、または心エコーの心筋炎の証拠と関連付けられていない。Checchia et al., 22 *Pediatr. Cardiol.* 102 (2001)、Sato et al., *Intl. J. Cardiol.* (July 19, 2011)。加えて、完全な反応を有する患者と比較して、初期の治療法に対して反応しなかったKDを有する患者におけるフィラミンCの増加したレベルは、フィラミンCがKD活性のマーカーであることを示唆する(図3D)。

【0047】

同様に、メブリンAは、生物活性IL-1、前炎症性キーサイトカイン(Herzog et al., (2005)、多形性がKDの治療に対する耐性に関連付けられている(Weng et al., 74 *Circ. J.* 544 (2010))を含む、様々な炎症性サイトカインを制御するプロテアーゼである。このため、メブリンAは、KDの免疫機構の開始、増殖または代償の一因となり得る。メブリンAのKDの病態生理学への潜在的寄与は、KDのマウスモデルにおける冠動脈病変中のその増大(図4)およびKDを有する患者における疾病活動性との相互関係(図3)によって、強調される。

【0048】

これらの発見されたKDマーカーを患者の尿中において蓄積する機序、およびKDの病態生理学とのそれらの関連性は、本実施形態のための即時有用性を示す。加えて、最近発見された尿タンパク質マーカーは、腎性のもしくは泌尿器の疾病、または極度の脱水症を有する患者との臨床的関連を有する可能性がある。さらに広く見れば、本明細書で提示された手法は、広範囲の様々な一般のおよび稀なヒトの状態への応用を伴って、臨床診療への直接的な転換に特異的に設計されたプロテオームのプロファイリングの枠組みを促進する。例えば、Kentsis et al., 3 *Proteomics Clin. Appl.* 1052 (2009)、Kentsis, 55 *Annals Emerg. Med.* 62 (2010)を参照。

【0049】

つまり、本明細書で提示する研究は、KDの診断を改善し、その病態生理学を解明し、かつ治療法を方向付けるための、多くの潜在的手法を開放する。特に、本明細書で提供されるとおり、特異的なかつ高感度のKDのマーカーとしてのメブリンA、フィラミンB、およびフィラミンCの検証は、例えば、一般に入手可能なELISAといった、それらの臨床用途を可能にし、KDの診断の精度および適時性を改善する。加えて、本発明の記述された分子生理学的プロファイル、および検証された診断マーカーは、いまや患者の層化を改善し、治療を個別化するであろうKDの生物学的分類を可能にする。

【0050】

したがって、本発明の一態様は、それを必要とする対象におけるKDの診断およびモニ

10

20

30

40

50

タリングに対して特異的な少なくとも1つのバイオマーカーを提供する。本態様の一実施形態は、KDを有する患者において著しく増加している、尿中および血清バイオマーカーであるフィラミンCを提供する。本態様の他の実施形態は、KDを有する患者において著しく増加している、尿中および血清バイオマーカーであるメブリンAを提供する。本態様の他の実施形態は、KDを有する患者において著しく増加している、尿中および血清バイオマーカーであるフィラミンBを提供する。

【0051】

用語「個体」、「対象」、および「患者」は、区別せずに用いられ、動物、例えば、ヒト等の哺乳類を指す。用語「哺乳類」は、ヒト、非ヒト霊長類（例えば、類人猿、猿）、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ブタ、ラット、ハムスター、モルモット、およびマウスを含む。

10

【0052】

用語「試料」または「生体試料」は、対象から得られた健常または病理的な状態の生体液、組織、または細胞の試料を指す。かかる試料は、尿、全血、血清、血漿、痰、唾液、羊水、リンパ液、組織、または細針生検試料、腹水、脳脊髄液が挙げられるが、これらに限定されず、細胞溶解物、溶解細胞、細胞抽出物、および核抽出物の上清を含む。一部の実施形態において、全血試料は、血清または血漿試料へとさらに処理される。一部の実施形態において試料は、ヒト対象から採取され、代替的な実施形態では、哺乳類から採取される。試料は、必要に応じて、適切な緩衝液、または所望に応じて濃縮された緩衝液で希釈することによって、保管または保存のために前処理されてもよい。生理的pHのホスフェート、トリス等の、様々な緩衝剤のうちの1つを採用する標準緩衝水溶液の種類が、使用されてもよい。試料は、本明細書で開示されるように、アッセイ法で使用する前に使用するために、保管されてもよい。保管庫は、+4 または、例えば、-20 もしくは-80 の凍結状態であってもよい。

20

【0053】

「バイオマーカー」、「尿中バイオマーカー」または「血清バイオマーカー」は、個体中で内因的に発現された、または個体由来の生体試料中で発見もしくは隔離された、タンパク質またはポリペプチドを指す。「KDバイオマーカー」という用語は、本明細書に記載される方法と共に用いて有用なバイオマーカーの種類例として、本明細書を通して使用される。KDバイオマーカーは、メブリンA、フィラミンB、またはフィラミンCのうちの少なくとも1つを指す。例えば、メブリンA、フィラミンB、またはフィラミンCといった、KDの診断に有用なバイオマーカーのそれぞれについて、バイオマーカータンパク質の参照はまた、それらのタンパク質のドメインまたは断片、ならびにそれらの種、変異形、相同物、対立型、突然変異型および同等物を包含する。

30

【0054】

「作用物質」は、生体試料中の総タンパク質、正規化タンパク質（例えば、アクチン）、もしくは生体試料等の試料中のKDバイオマーカーのレベル、濃度、発現レベル、または活性の検出または定量化を可能にするタンパク質結合物質を指してもよい。かかる物質には、抗体（「抗体」は、エピトープ結合ペプチドまたは抗原結合ペプチド、パラトープ、機能的CDR等の抗体の一部；組み換え抗体；キメラ抗体；トリボディ（tribody）；ミディボディ（midibody）；またはそれらの誘導体、類似体、変異形、一部、もしくは断片を含む）、タンパク質結合物質、小分子、組み換えタンパク質、ペプチド、アダマー、アビマーおよびタンパク質結合誘導体、それらの一部もしくは断片が挙げられるが、これらに限定されない。「少なくとも1つのバイオマーカーに対して特異的な作用物質」という語句は、直接的あるいは間接的に、バイオマーカーのレベル、量、濃度もしくは、発現レベルの検出または定量化を可能にするバイオマーカー結合物質を指す。かかる物質には、抗体もしくはそれらの一部、タンパク質結合物質、小分子、組み換えタンパク質、ペプチド、アダマー、アビマーおよびタンパク質結合誘導体またはそれらの断片が挙げられるが、これらに限定されない。作用物質は、特異的なバイオマーカー、正規化タンパク質、もしくは総タンパク質と結合すると、「作用物質-バイオマーカー複

40

50

合体」、「作用物質-正規化タンパク質複合体」、または「作用物質-総タンパク質複合体」を形成する。

【0055】

「レポーター分子情報」は、作用物質の試料中のKDバイオマーカーへの結合、または、試料中のKDバイオマーカーとの複合体形成、すなわち、「作用物質-バイオマーカー複合体」、「作用物質-正規化タンパク質複合体」もしくは「作用物質-総タンパク質複合体」の形成を示す信号から導出されたデータを指す。信号は、KDバイオマーカー、正規化タンパク質、または総タンパク質に結合した作用物質を示す、光信号、蛍光信号、比色信号、または他の検出可能な信号などを含むことができる。

【0056】

「正規化タンパク質のレベルを超える、少なくとも1つのバイオマーカーのレベルの増加」という語句は、生体試料中に存在する正規化タンパク質のレベル、または参照レベルよりも大きい少なくとも1つのバイオマーカーのレベル（例えば、濃度または量）を指す。バイオマーカーの「増加した濃度」、「レベルの増加」、「より高いレベル」または「より高い濃度」という用語は、異なる時点での同一対象由来の試料中において、正規化タンパク質のレベルに対してもしくは参照レベルに対して統計的に有意であるバイオマーカーのレベル、または、対照もしくは参照試料中で発見されるバイオマーカーのレベルを著しく超えるバイオマーカーのレベルを指す。「正規化タンパク質の濃度を超える、少なくとも1つのバイオマーカーのレベルの増加」という語句は、生体試料中に存在する正規化タンパク質の濃度または量よりも大きい、少なくとも1つのバイオマーカーの濃度または量を指す。「より高いレベル」または「レベルの増加」は、例えば、1.2倍もしくはそれより高い、例えば、少なくとも1.8倍高い、少なくとも1.9倍高い、少なくとも2倍高い（すなわち、2倍以上の）、少なくとも3倍高い、少なくとも4倍高い等であってもよい（境界値も含む）。同様に、約0.78のAUC値は、統計的に有意であると見なされてもよい。比較の目的で、試験試料および対照試料は、同じ試料型由来であり、つまり、それらは同じ生物源（例えば、尿または血清）から得られる。対照または参照試料はまた、通常、健全な個体から得られた生体試料中で発見されるKDバイオマーカーの、同じ濃度を含有した標準試料であってもよい。代替として、対照は、KDバイオマーカーを正規化するために使用される、患者の生体試料中で発見された正規化タンパク質であってもよい。

【0057】

一実施形態において、バイオマーカーの「より高いレベル」または「レベルの増加」という用語は、参照値または正規化タンパク質と比較して、対象由来の試料における少なくとも5%の、少なくとも1つのバイオマーカーのレベルの増加を指す。バイオマーカーのレベルの増加は、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%（境界値も含む）であってもよく、参照レベル（例えば、KDを有していない個体由来の試料中の同じバイオマーカーのレベル）よりも、少なくとも1倍、少なくとも1.2倍、少なくとも1.8倍、少なくとも1.9倍、少なくとも2倍（すなわち、2倍以上）、少なくとも3倍、少なくとも5倍、少なくとも10倍、少なくとも25倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍、少なくとも1000倍以上（境界値も含む）、高い。

【0058】

別の実施形態において、少なくとも1つのバイオマーカーのレベルの減少は、参照レベルと比較して、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%であることも、または100%（すなわち、欠如）にもなることもある（境界値も含む）。一代替的实施形態では、「正規化されたレベルにお

10

20

30

40

50

ける違い」は、参照レベルと比較して、少なくとも1つのバイオマーカーのレベルにおける統計的に有意な変化（増加または減少のどちらでもよい）を指す。

【0059】

「バイオマーカーのレベルの正規化」および同様のものは、試料中のバイオマーカー（例えば、フィラミンB、フィラミンC、またはメブリンA）のレベルを表すデータ値を、試料中の総タンパク質または正規化タンパク質のレベルを表す発現データ値によって除算することによる変換を指し、それにより、正規化されたバイオマーカー値を複数の試料間で、または1つ以上の参照試料もしくは参照値と比較することを可能にする。

【0060】

「正規化タンパク質」または「正規化因子」は、異なる生体試料中の対象とするタンパク質の量の比較を可能にするために、対象とするバイオマーカーのレベルが正規化されるタンパク質を指す。一部の実施形態において、異なる生体試料は、異なる対象由来である。他の実施形態において、異なる生体試料は、同じ対象由来であるが、異なる時点の後である。概して、正規化タンパク質は、構成的に発現され、かつ、例えば、所与の疾病および非疾病状態といった、少なくとも2つの生理的状況または状態の間において別個に制御されず、該生理的状況または状態由来の試料が分析されるであろう。このため、例えば、正規化タンパク質は、例えばKDの存在および欠如において、実質的に変化しない（すなわち、15%未満、10%未満、7%未満、5%未満、4%未満、3%未満、2%未満、1%未満、またはそれより少ない（境界値も含む））。一実施形態において、正規化タンパク質は、希釈系列の予測関連性（例えば、線形回帰による予測）と比較された、試料希釈の系列上で測定されたタンパク質の相関度（例えば、分散の最低量または反復中の最低標準偏差）に基づいて選択される。例えば、希釈系列に関して評価された測定されたタンパク質レベルに対して、最高相関度を有する（例えば、同じ測定に供されたタンパク質試料中の別のタンパク質と比較した場合）正規化タンパク質が選択されてもよい。「最高相関度」は、希釈系列上の予測関連性と比較して、2未満の希釈系列上のタンパク質測定（例えば反復測定）に対する標準偏差を指す。好ましくは、標準偏差は、1.5未満、1未満、0.5未満、0.1未満、0.01未満、0.001未満またはそれより少なく（境界値も含む）、0の標準偏差（例えば、測定および予測された値が同じである）を含む。一部の実施形態において、正規化タンパク質は、「ハウスキーピング遺伝子」の生成物であり、この遺伝子は、構成的に発現されかつ基本的な維持および不可欠な細胞機能に必要なタンパク質をコードする、遺伝子である「ハウスキーピング遺伝子」の生成物である。ハウスキーピング遺伝子は、概して、細胞依存的または組織依存的に発現されず、ほとんどの場合、所与の生物における全ての細胞によって発現される。ハウスキーピング遺伝子によってコードされる正規化タンパク質の一部の例は、例えば、特にアクチン、チューブリン、GAPDHを含む。一実施形態において、ハウスキーピング遺伝子生成物は、正規化タンパク質として使用される。

【0061】

様々なアッセイフォーマットは、バイオマーカーまたは正規化タンパク質のレベルを判定するために使用され得る。アッセイフォーマットの例は、ウエスタンブロット分析、放射免疫測定（RIA）、免疫放射定量測定（IRMA）、酵素免疫吸着法（ELISA）等の化学発光免疫測定、多重ビート分析、蛍光抗体法、受身血球凝集反応、質量分析（MALDI/TOF（飛行時間）、SELDI/TOF等）、液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）、ガスクロマトグラフ質量分析（GC-MS）、高速液体クロマトグラフィー質量分析（HPLC-MS）、キャピラリー電気泳動質量分析、核磁気共鳴分光法、およびHPLCタンデム質量分析（HPLC-MS/MS）等の既知の技術を含む。免疫測定のいくつかは、化学発光免疫測定法のためのSiemens Bayer ACS 180（商標）、Chemistry Analyzer（例えば、Block Scientific, Inc., Bohemia, NYから広く入手可能である）等の適切な機器の使用によって、容易に自動化されてもよい。

【0062】

10

20

30

40

50

R I A および E L I S A は、バイオマーカーの濃度またはレベルの判定に対して、検出感度、速度、精度、および手順の自動化の可能性等の利益を提供する。概して、K a z i e t a l . , 13 J . C o l l . P h y s i c i a n s S u r g . P a k 22 (2 0 0 3)、O h k u n i e t a l . , 1289 I n t l . C o n g . S e r . 71 (2 0 0 6)、M i t c h e l l e t a l . , 5 M o l . M i c r o b i o l . 1883 (1991)、K a s h y a p e t a l . , 60 J . C l i n . I n v e s t . 171 (1977) を参照。抗体配列またはタンパク質チップもまた、採用されてもよい。例えば、米国特許出願公開第 2003 / 0013208 号、同第 2002 / 0155493 号、同第 2003 / 0017515 号、米国特許第 6,329,209 号、同第 6,365,418 号を参照。他の技術を使用して、実行者の選好に従い、本開示に基づいて、本明細書に記述される方法の実行に必要とされるように、本明細書に記述される K D バイオマーカーを検出してよい。

10

【0063】

本発明の予後の方法はまた、K D を有する患者に対する治療の適切な過程を判定するために有用である。治療の過程は、K D に対する診断後または治療後に患者に対して取られる治療手段を指す。例えば、K D の診断後、対象は、高用量アスピリンの投与、または免疫グロブリンの投与によって、治療されてもよい。

【0064】

本発明はまた、K D の検出および予後評価のための市販キットも対象とする。キットは、当業者に既知である任意の構成であってもよく、少なくとも1つのK D バイオマーカー（例えば、フィラミン B、フィラミン C、またはメブリン A）の検出または定量的ための、本明細書に記述される方法のうち1つ以上の実行に対して有用である。キットは、本明細書に記述されるもの等の試験生体試料（例えば、尿試料または血清試料）中の少なくとも1つのK D バイオマーカーを検出するためのアッセイ法の実施に対して不可欠な試薬の、すべてではないが多くを供給する点で利便性がよい。加えて、アッセイ法は、試験の結果が定量化または検証され得るように、少なくとも1つのK D バイオマーカーの所定の量等のキットに含まれる標準または複数の標準と同時に実行されてもよい。

20

【0065】

特定の実施形態において、キットは、尿の試料中の少なくとも1つのK D バイオマーカーのレベルを検出する手段を含む。キットは、少なくとも1つのK D バイオマーカー結合物質が固定化された「ディップスティック」を含んでもよく、該K D バイオマーカー結合物質はK D バイオマーカータンパク質と特異的に結合する。次に、特異的に結合されたK D バイオマーカーは、例えば、比色薬剤または放射性同位体で検出可能に標識される第2抗体を使用して、検出され得る。

30

【0066】

他の実施形態において、アッセイキットは、競合および非競合アッセイ法、放射免疫測定（R I A）、多重ビート分析、生物発光および化学発光分析、蛍光分析、サンドイッチ分析、免疫放射定量測定、ドットプロット、E L I S A を含む酵素免疫測定、マイクロタイタープレート、または、免疫細胞化学の構成要素を含有してもよい。各キットに対する、アッセイ法の範囲、感度、正確さ、信頼性、特異性、および再現性は、当業者に既知の手段によって確立されている。

40

【0067】

本発明の他の態様は、少なくとも1つのK D バイオマーカー（例えば、フィラミン B、フィラミン C、またはメブリン A）のレベルを判定することによって、K D に対する治療の効果をモニタリングまたは改善するための方法を提供する。

【0068】

したがって、本態様の一実施形態において、本方法は、(a) メブリン A、フィラミン B、またはフィラミン C を含む、バイオマーカーのパネル中の少なくとも1つのバイオマーカーのレベル（例えば、量または濃度）を測定するステップ、および (b) 該少なくとも1つのバイオマーカーのレベルを少なくとも1つのバイオマーカーの参照レベルと比較

50

するステップを含み、該参照レベルに対する、試料中の少なくとも1つのバイオマーカーのレベルの増加は、対象に対してKDのための治療的処置を施す必要性を示す。一部の実施形態において、生体試料は尿試料である。一部の実施形態において、生体試料は血清試料である。

【0069】

本態様の別の実施形態において、本方法は、対象から得られた生体試料を、メブリンA、フィラミンB、またはフィラミンCを含むバイオマーカーのパネル中の少なくとも1つのバイオマーカーに対して特異的な少なくとも1つの作用物質に接触させるステップ、(b)該少なくとも1つの作用物質に対して特異的なアッセイ法を使用して、該バイオマーカーのレベルを測定するステップ、および(c)該バイオマーカーのレベルを該バイオマーカーの参照レベルと比較するステップを含み、該バイオマーカーの参照レベルに対する該試料中の該バイオマーカーのレベルの増加は、該対象に対してKDのための治療的処置を施す必要性を示す。一部の実施形態において、生体試料は尿試料である。一部の実施形態において、生体試料は血清試料である。

10

【0070】

本態様の別の実施形態において、KDを有する対象の治療効果をモニタリングするための方法が提供され、該方法は、(a)第1の時点において対象から得られた生体試料から、メブリンA、フィラミンB、またはフィラミンCを含むバイオマーカーのパネル中の、少なくとも1つのバイオマーカーのレベル(例えば、量または濃度)を決定するステップ、(b)第2の時点において該対象から得られた試料から、該バイオマーカーのレベルを決定するステップ、および(c)該第2の時点における該バイオマーカーのレベルを、該第1の時点における該バイオマーカーのレベルと比較するステップを含み、該第2の時点における該少なくとも1つのバイオマーカーのレベルまたは濃度の減少は、該対象に対して治療が有効であることを示し、かつ、該第2の時点における該少なくとも1つのバイオマーカーのレベルまたは濃度の増加は、該対象に対して治療が有効ではないことを示す。一部の実施形態において、生体試料は尿試料である。一部の実施形態において、生体試料は血清試料である。

20

【0071】

所与のKDに対する治療の効果は、例えば、本明細書で考察された基準を使用して、熟練した臨床医によって判定され得る。治療は、例えば、高用量アスピリンの投与、または静脈内への免疫グロブリンの投与を含んでもよい。KD治療の「有効量」とは、少なくとも一部の期間において、すなわち永久的ではない場合は一時的に、KDまたはKD症状を軽減、緩和、または消散するための治療に十分な量である。

30

【0072】

したがって、本発明は、KDを個体が有するかどうかを評価するための方法を実行するためのシステム(例えば、コンピュータシステムに与えるためのコンピュータ可読媒体を備える)を提供する。したがって、別の態様は、少なくとも一個体のKDを診断するための方法をコンピュータ上で実施するためのソフトウェアモジュールを定義するためのコンピュータ可読の命令が記録された、コンピュータ可読記憶媒体に関連し、該コンピュータ可読記憶媒体は、(a)少なくとも一個体から得られた生体試料に関して決定される、少なくとも1つのバイオマーカーのレベルおよび正規化タンパク質のレベルを表すデータを記憶しかつ該データにアクセスするための命令と、(b)正規化モジュールによって、該少なくとも1つのバイオマーカーのレベルを正規化タンパク質のレベルに正規化し、それにより、該少なくとも1つのバイオマーカーの正規化されたレベルを生成するための命令と、(c)比較モジュールを使用して、該少なくとも1つのバイオマーカーの正規化されたレベルを、記憶装置上に記憶された参照データと比較するための命令であって、比較するステップが、読み出された内容を生成する、命令と、(d)該少なくとも1つのバイオマーカーの正規化されたレベルに変化があるかどうかを表示する該読み出された内容のページを、ユーザに表示し、それにより、KDを該少なくとも一個体が有するかどうかを判定するための命令とを備える。一実施形態において、正規化タンパク質は総タンパク質で

40

50

ある。一実施形態において、生体試料は尿試料である。一実施形態において、生体試料は血清である。

【0073】

代替の実施形態は、少なくとも一個体から得られた生体試料からデータを得るためのコンピュータシステムを含み、該システムは、(a)生体試料を保持するための検体容器と、(b)レポーター分子情報が、(1)正規化タンパク質への作用物質の結合を表す情報、および(2)少なくとも1つのバイオマーカーへの作用物質の結合を表す情報を含む、該レポーター分子情報を判定するように構成された判定モジュールと、(c)該判定モジュールからのデータ出力を記憶するように構成された記憶装置と、(d)少なくとも1つのバイオマーカーへの作用物質の結合を表すレポーター分子情報を正規化タンパク質への作用物質の結合を表すレポーター分子情報に正規化するように構成された、正規化モジュールと、(e)正規化モジュールから得られたデータを、該記憶装置上の参照データと比較するよう適合化され、読み出された内容を生成する、比較モジュールと、(f)該バイオマーカーの正規化されたレベルに変化があるかどうかを表示する該読み出された内容のページを、ユーザに表示し、それにより、KDを該個体が有するかどうかを判定するための表示モジュールとを備える。一実施形態において、正規化タンパク質は特定のタンパク質である。一実施形態において、正規化タンパク質は総タンパク質である。一実施形態において、生体試料は尿試料である。別の実施形態において、生体試料は血清である。

10

【0074】

本明細書に記述されるシステムおよびコンピュータ可読媒体は、慢性腎障害を個体が有するかどうかを評価する方法を実行する本発明の実施形態の実例に過ぎず、本発明の範囲を制限すると意図されない。機械のモジュール、またはコンピュータ可読媒体内で使用されるそれらは、多数の構成を想定してもよい。例えば、機能は、単一の機械上に提供されることができる、または複数の機械にわたり分散されることができる。本明細書に記述されるシステムおよびコンピュータ可読媒体の変更は可能であり、本発明の範囲内に含まれると意図される。

20

【0075】

本発明の態様および実施形態は、第1の検証されたKDに対する診断バイオマーカー、正確で迅速、および低/非侵襲性試験のための組成物、キットおよび方法、ならびに救急医療科、病院内医師、および診療所開業医のための分析的およびポイント・オブ・ケア試験を提供する。本発明の態様および実施形態は、評価の精度および適時性において好都合であり、低費用で臨床診療に広く組み込まれることから、不必要な入院、治療または処置を削減し得る。

30

【実施例】

【0076】

実施例1. 研究設計、参加者、および成果

研究は、2段階で実施された。発見段階では、冠動脈拡張を有する患者および有していない患者の両方を含むKDを有する6名の患者由来の尿試料が、当初KDの疑いがあったが、最終的にKDを模倣する発熱性疾患と診断された6名の患者由来の尿試料と比較された。発見の分析ではまた、治療の完了後および症状の消散後に、KDを有する患者から採取された3つの個体内制御検体を含んだ。検証段階では、KDの可能性があると評価されたが、最終診断の判定前の患者が登録された。血清検体は、川崎病の小児心臓ネットワーク研究の一部として採取された独立検証コホートから採取された。Newburger et al., 356 New Engl. J. Med. 663 (2007)を参照。

40

【0077】

すべての研究患者において、尿は中間採取試料として採取された。検体は、すべての分析が盲検であるように、研究番号で標識された。検体は、採取から6時間以内に-80で保管された。血清採取のための血液検体は、採取から30分以内に-80で保管された血清を用いた標準方法に従って、凝固させ、遠心分離された。

【0078】

50

研究は、3次医療の小児科病院で実施され、臨床研究のボストン小児病院委員会によって認められた。KDの可能性について評価された18歳未満の患者が、病歴および身体検査に従って、登録された。適格な患者は、少なくとも4日間の発熱を有し、かつ、4つ以上の主要なKDに対する臨床基準(Newburger et al., 110 Circulation 2747 (2004))、または、二次元心エコーによって測定された場合に近位右冠動脈もしくは左冠動脈前下行枝に対して冠動脈Z値2.5以上のいずれかを有した。加えて、3つの診断臨床基準にしか合致しないKDの不完全な症状を有する患者は、専門家の意見に基づいて登録された。患者は、既存の腫瘍性、腎性もしくは泌尿器の疾病を有するかまたは妊娠している場合、排除された。小児科救急医療師またはリウマチ医師は、7歳より上の小児に対して、介護人からの承諾書および同意を得た。

10

【0079】

最終診断は、公表されたKDに対する診断基準に従って、単独の3次医療機関の小児科のリウマチ医師によって判定された。Newburger et al., 2004。小児心臓ネットワーク研究の一部として登録された患者に対して、最終診断は、同一の基準を使用して判定された。Newburger et al., 356 New Engl. J. Med. 663 (2007)。入院していなかった患者に対して、成果は、評価の6~8週間後の用意された質問を使用した電話によって、または、患者が任意にその後の医療を受けたかどうかを確かめるカルテの検査から、確認された。KDを有していないことがわかった患者に対して、特異的な病原体が同定されない場合、臨床評価に基づいて非特異性のウイルス症候群の診断が与えられた。すべての研究された患者は、最終的な成果を受けとった。臨床および実験データは、標準化された症例報告書を使用して記録された。

20

【0080】

実施例2. 尿プロテオーム分析および免疫測定

KDの候補マーカーの発見に対して、融解された5mlの尿アリコートは、詳細に公表されているように、超遠心分離、タンパク質沈殿、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動、および逆相液体クロマトグラフィーを使用して、分割された。Kentsis et al., 3 Proteomics Clin. Appl. 1052 (2009)。個々の尿タンパク質画分を、ハイブリッド線形イオントラップ-フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析計(LTQ FT Ultra, Thermo Scientific, Waltham, MA)と接続されるナノフローHPLCシステム(Eksigent, Dublin, CA)を使用して、液体クロマトグラフィータンデム質量分析に供する。各MS/MSスペクトルに対して、200個の最も強いピークが抽出され、MASCOTの使用によって(バージョン2.1.04, Matrix Science)、ヒト国際タンパク質指数データベース(the human International Protein Index database) (バージョン3.69, <http://www.ebi.ac.uk/IPI>)に照らして精査された。同定精度の評価は、標的IPIデータベースの逆タンパク質配列から成る、デコイデータベースの精査によって実行された。Elias and Gygi, 4 Nat Methods 207 (2007)。2つ以上の独特のペプチドに基づいて同定されたタンパク質のみが、ペプチドレベルで1%未満の偽発見率で分析に含まれる。分析された個々の尿プロテオームは、プロテオーム・コモンズにおいて、広く利用可能である(<http://proteomecommons.org>)。フィラミンB、フィラミンC、およびメブリンAに加えて、表S1に示される追加のマーカーがKDの診断において使用されてもよい。

30

40

【0081】

フィラミンCおよびメブリンAの濃度は、酵素免疫吸着法を使用して測定された(USCN Life Science, Wuhan, China)。アッセイ法の最低検出限度は、それぞれ0.1ng/mlおよび0.06ng/mlであり、両方のアッセイ法に対して、10%未満の品質制御検体に対する変動係数を有する。

【0082】

50

統計分析：尿プロテオームの発見は、記述されるように (Kentsis et al., 2009)、タンパク質スペクトルカウントを計算するために合計された個々のペプチドカウントを用いて、質素にタンパク質をグループ化することによって、整理された。QSpec (Choi et al., 7 Mol. Cell Proteomics 2373 (2008)) において実施されたとおり、ベイズ統計を使用して、川崎病を有する患者由来の試料中において統計的に有意に増大していたが、非川崎病患者由来の試料、または治療完了後の川崎病を有する患者の個体内制御試料においてはそうではなかった、タンパク質を同定するために、正規化タンパク質スペクトルカウントを分析した。受信者動作特性および多変量線形回帰モデルは、標準方法 (STAT A、バージョン 10.1, Stat a Corp) を使用して計算された。すべての統計的試験は、対数変換測定値の比較を使用して両側検定した。

10

【 0 0 8 3 】

(表 S 1) 川崎病を有する患者の尿中において独特に同定されたタンパク質

IPI ID	UniProt/ SwissProt ID	HGNC シンボル	説明 [特に記載がない限りHGNCシンボルに由来する]
IPI00062003		ACAT1	acetyl-CoA acetyltransferase 1 [Acc:93]
IPI00414057		ACTA1	actin, alpha 1, skeletal muscle [HGNC Symbol;Acc:129]
IPI00759776		ACTN1	actinin, alpha 1 [Acc:163]
IPI00019884	ACTN2_HUMAN	ACTN2	actinin, alpha 2 [Acc:164]
IPI00183703		AMICA1	adhesion molecule, interacts with CXADR antigen 1 [Acc:19084]
IPI00020019	ADIPO_HUMAN	ADIPOQ	adiponectin, C1Q and collagen domain containing [Acc:13633]
IPI00029733	AK1C1_HUMAN	AKR1C1	aldo-keto reductase family 1, member C1 (dihydrodiol

20

			dehydrogenase 1; 20- α (3- α)-hydroxysteroid dehydrogenase) [Acc:384]	
IPI00293721	ARK73_HUMAN	AKR7A3	aldo-keto reductase family 7, member A3 (aflatoxin aldehyde reductase) [Acc:390]	
IPI00298622	PPBI_HUMAN	ALPI	alkaline phosphatase, intestinal [Acc:437]	
IPI00816309	ZA2G_HUMAN	AZGP1	alpha-2-glycoprotein 1, zinc-binding [Acc:910]	
IPI00042580	APOO_HUMAN	APOO	apolipoprotein O [Acc:28727]	
IPI00007068	ARP3B_HUMAN	ACTR3B	ARP3 actin-related protein 3 homolog B (yeast) [Acc:17256]	
IPI00298306	ATM_HUMAN	ATM	ataxia telangiectasia mutated [Acc:795]	
IPI00186972		AGBL5	ATP/GTP binding protein-like 5 [Acc:26147]	
IPI00302644		ATP6V1C2	ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal 42kDa, V1 subunit C2 [Acc:18264]	10
IPI00003021	AT1A2_HUMAN	ATP1A2	ATPase, Na ⁺ /K ⁺ transporting, α 2 polypeptide [Acc:800]	
IPI00293460	ABCA1_HUMAN	ABCA1	ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 1 [Acc:29]	
IPI00019906		BSG	basigin (Ok blood group) [Acc:1116]	
IPI00744685		BTD	biotinidase [Acc:1122]	
IPI00254408		BPTF	bromodomain PHD finger transcription factor [Acc:3581]	
IPI00290089	CAD17_HUMAN	CDH17	cadherin 17, LI cadherin (liver-intestine) [Acc:1756]	
IPI00020599	CALR_HUMAN	CALR	calreticulin [Acc:1455]	
IPI00026185	CAPZB_HUMAN	CAPZB	capping protein (actin filament) muscle Z-line, β [Acc:1491]	20
IPI00009823	CBPA1_HUMAN	CPA1	carboxypeptidase A1 (pancreatic) [2296]	
IPI00009826	CBPB1_HUMAN	CPB1	carboxypeptidase B1 (tissue) [Acc:2299]	
IPI00385428		CEACAM1	carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (biliary glycoprotein) [Acc:1814]	
IPI00027412	CEAM6_HUMAN	CEACAM6	carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6 (non-specific cross reacting antigen) [Acc:1818]	
IPI00658053	CATD_HUMAN	CTSD	cathepsin D [Acc:2529]	
IPI00299150	CATS_HUMAN	CTSS	cathepsin S [Acc:2545]	
IPI00385291		CD82	CD82 molecule [Acc:6210]	
IPI00477763	MRCKB_HUMAN	CDC42BPB	CDC42 binding protein kinase beta (DMPK-like) [Acc:1738]	
IPI00009619		CADM3	cell adhesion molecule 3 [Acc:17601]	30
IPI00413781		CXCL12	chemokine (C-X-C motif) ligand 12 [Acc:10672]	
IPI00014625	CLCA1_HUMAN	CLCA1	chloride channel accessory 1 [Acc:2015]	
IPI00298082	CLCA4_HUMAN	CLCA4	chloride channel accessory 4 [Acc:2018]	
IPI00307485	CEL3B_HUMAN	CELA3B	chymotrypsin-like elastase family, member 3B [Acc:15945]	
IPI00642792	CNDP2_HUMAN	CNDP2	CNDP dipeptidase 2 (metallopeptidase M20 family) [Acc:24437]	
IPI00413344	COF2_HUMAN	CFL2	cofilin 2 (muscle) [Acc:1875]	
IPI00743696	CO4A1_HUMAN	COL4A1	collagen, type IV, α 1 [Acc:2202]	
IPI00021715	CO4A5_HUMAN	COL4A5	collagen, type IV, α 5 [Acc:2207]	
IPI00329573	COCA1_HUMAN	COL12A1	collagen, type XII, α 1 [Acc:2188]	
IPI00472110	CR1L_HUMAN	CR1L	complement component (3b/4b) receptor 1-like [Acc:2335]	40
IPI00332395	CPNE9_HUMAN	CPNE9	copine family member IX [Acc:24336]	
IPI00002657	CPNE7_HUMAN	CPNE7	copine VII [Acc:2320]	
IPI00377041	CSMD3_HUMAN	CSMD3	CUB and Sushi multiple domains 3 [Acc:19291]	
IPI00249672	CUZD1_HUMAN	CUZD1	CUB and zona pellucida-like domains 1 [Acc:17937]	
IPI00216569	CYTF_HUMAN	CST7	cystatin F (leukocystatin) [Source:HGNC Symbol;Acc:2479]	
IPI00176698	CYC_HUMAN	CYCS	cytochrome c, somatic [Source:HGNC Symbol;Acc:19986]	
IPI00071824	CKAP2_HUMAN	CKAP2	cytoskeleton associated protein 2 [Acc:1990]	
IPI00376377	DHRS2_HUMAN	DHRS2	dehydrogenase/reductase (SDR family) member 2 [Acc:18349]	

IPI00418512	DMBT1_HUMAN	DMBT1	deleted in malignant brain tumors 1 [Acc:2926]	
IPI00028931	DSG2_HUMAN	DSG2	desmoglein 2 [Acc:3049]	
IPI00007249	ENPP4_HUMAN	ENPP4	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 4 (putative) [Acc:3359]	
IPI00006690	PERE_HUMAN	EPX	eosinophil peroxidase [Acc:3423]	
IPI00419721	EPMIP_HUMAN	EPM2AIP1	EPM2A (laforin) interacting protein 1 [Acc:19735]	
IPI00376221	E41L5_HUMAN	EPB41L5	erythrocyte membrane protein band 4.1 like 5 [Acc:19819]	
IPI00025491	IF4A1_HUMAN	EIF4A1	eukaryotic translation initiation factor 4A1 [Acc:3282]	
IPI00010105	IF6_HUMAN	EIF6	eukaryotic translation initiation factor 6 [Acc:6159]	
IPI00064917		FAM151A	family with sequence similarity 151, member A [Acc:25032]	10
IPI00554521	FRIH_HUMAN	FTH1	ferritin, heavy polypeptide 1 [Acc:3976]	
IPI00339224		FN1	fibronectin 1 [Acc:3778]	
IPI00289334	FLNB_HUMAN	FLNB	filamin B, β [Acc:3755]	
IPI00178352	FLNC_HUMAN	FLNC	filamin C, γ [Acc:3756]	
IPI00031708	FAAA_HUMAN	FAH	fumarylacetoacetate hydrolase (fumarylacetoacetase) [Acc:3579]	
IPI00298383		FXVD2	FXVD domain containing ion transport regulator 2 [Acc:4026]	
IPI00019383	GALK1_HUMAN	GALK1	galactokinase 1 [Acc:4118]	
IPI00441550		GLB1	galactosidase, β 1 [Acc:4298]	
IPI00098026		GGT1	gamma-glutamyltransferase 1 [Acc:4250]	20
IPI00018169	IF_HUMAN	GIF	gastric intrinsic factor (vitamin B synthesis) [Acc:4268]	
IPI00513929		GDI2	GDP dissociation inhibitor 2 [Acc:4227]	
IPI00003929	GSTA3_HUMAN	GSTA3	glutathione S-transferase α 3 [Acc:4628]	
IPI00639805		GSTM2	glutathione S-transferase μ 2 (muscle) [Acc:4634]	
IPI00795622		GAPDH	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [Acc:4141]	
IPI00470823	GP2_HUMAN	GP2	glycoprotein 2 (zymogen granule membrane) [Acc:4441]	
IPI00640867		GNAS	GNAS complex locus [Acc:4392]	
IPI00306543	GDF15_HUMAN	GDF15	growth differentiation factor 15 [Acc:30142]	
IPI00249267	H2AZ_HUMAN	H2AFZ	H2A histone family, member Z [Acc:4741]	
IPI00419884	H3C_HUMAN	H3F3C	H3 histone, family 3C [Acc:33164]	30
IPI00009931	HDHD3_HUMAN	HDHD3	haloacid dehalogenase-like hydrolase domain containing 3 [Acc:28171]	
IPI00657660		HBD	hemoglobin, δ [Acc:4829]	
IPI00641229	IGHA2_HUMAN	IGHA2	immunoglobulin heavy constant α 2 (A2m marker) [Acc:5479]	
IPI00553092		IGLV7-46	immunoglobulin lambda variable 7-46 (gene/pseudogene) [Acc:5930]	
IPI00103356		ITGB2	integrin, β 2 (complement component 3 receptor 3 & 4 subunit) [Acc:6155]	
IPI00103436	ITLN2_HUMAN	ITLN2	intelectin 2 [Acc:20599]	
IPI00011692	INVO_HUMAN	IVL	involucrin [Acc:6187]	
IPI00166646	JPH3_HUMAN	JPH3	junctophilin 3 [Acc:14203]	
IPI00001639	IMB1_HUMAN	KPNB1	karyopherin (importin) β 1 [Acc:6400]	40
IPI00216136		KHK	ketohexokinase (fructokinase) [Acc:6315]	
IPI00448751		KIAA1598	KIAA1598 [Acc:29319]	
IPI00604711	KIF1A_HUMAN	KIF1A	kinesin family member 1A [Acc:888]	
IPI00554498	LDHC_HUMAN	LDHC	lactate dehydrogenase C [Acc:6544]	
IPI00016670	LTOR1_HUMAN	LAMTOR1	late endosomal/lysosomal adaptor, MAPK & MTOR activator 1 [Acc:26068]	
IPI00009750	LEG4_HUMAN	LGALS4	lectin, galactoside-binding, soluble, 4 [Acc:6565]	
IPI00788236	LAIR1_HUMAN	LAIR1	leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1 [Acc:6477]	

IPI00017940	LMBD2_HUMAN	LMBRD2	LMBR1 domain containing 2 [Acc:25287]	
IPI00472013	1A31_HUMAN	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A [Acc:4931]	
IPI00743503	1A26_HUMAN	HLA-A	major histocompatibility complex, class I, A [Acc:4931]	
IPI00472057	1B73_HUMAN	HLA-B	major histocompatibility complex, class I, B [Acc:4932]	
IPI00015988	HLAG_HUMAN	HLA-G	major histocompatibility complex, class I, G [Acc:4964]	
IPI00013400	MMP7_HUMAN	MMP7	matrix metalloproteinase 7 (matrilysin, uterine) [Acc:7174]	
IPI00167941	MDN1_HUMAN	MDN1	MDN1, midasin homolog (yeast) [Acc:18302]	
IPI00004372	MEP1A_HUMAN	MEP1A	meprin A, α (PABA peptide hydrolase) [Acc:7015]	
IPI00178015	MEP1B_HUMAN	MEP1B	meprin A, β [Acc:7020]	
IPI00103065	MITD1_HUMAN	MITD1	MIT, microtubule interacting & transport, domain containing 1 [Acc:25207]	10
IPI00418221	M3K6_HUMAN	MAP3K6	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 6 [Acc:6858]	
IPI00027201	MUC2_HUMAN	MUC2	mucin 2, oligomeric mucus/gel-forming [Acc:7512]	
IPI00028553		MINPP1	multiple inositol-polyphosphate phosphatase 1 [Acc:7102]	
IPI00019190	MYOC_HUMAN	MYOC	myocilin, trabecular meshwork inducible glucocorticoid response [Acc:7610]	
IPI00217493	MYG_HUMAN	MB	myoglobin [Source:HGNC Symbol;Acc:6915]	
IPI00844172		MYO6	myosin VI [Acc:7605]	
IPI00023152	NALDL_HUMAN	NAALADL1	N-acetylated α -linked acidic dipeptidase-like 1 [Acc:23536]	
IPI00220059	NDUB4_HUMAN	NDUFB4	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 β subcomplex, 4, 15kDa [Acc:7699]	20
IPI00009253	SNAA_HUMAN	NAPA	N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein, α [Acc:7641]	
IPI00514877		NCSTN	nicastrin [Acc:17091]	
IPI00337541	NNTM_HUMAN	NNT	nicotinamide nucleotide transhydrogenase [Acc:7863]	
IPI00451429		NIF3L1	NIF3 NGG1 interacting factor 3-like 1 (<i>S. pombe</i>) [Acc:13390]	
IPI00017304	NOS2_HUMAN	NOS2	nitric oxide synthase 2, inducible [Acc:7873]	
IPI00290416	OLA1_HUMAN	OLA1	Obg-like ATPase 1 [Acc:28833]	
IPI00742748	OBSCN_HUMAN	OBSCN	obscurin, cytoskeletal calmodulin & titin-interacting RhoGEF [Acc:15719]	
IPI00022324	O2AG1_HUMAN	OR2AG1	olfactory receptor, family 2, subfamily AG, member 1 [Acc:15142]	30
IPI00027720	LIPP_HUMAN	PNLIP	pancreatic lipase [Acc:9155]	
IPI00016387	PCF11_HUMAN	PCF11	PCF11, cleavage and polyadenylation factor subunit, homolog (<i>S. cerevisiae</i>) [Acc:30097]	
IPI00641498	PDZ1P_HUMAN	PDZK1	PDZ domain containing 1 [Acc:8821]	
IPI00641244		PRDX1	peroxiredoxin 1 [Acc:9352]	
IPI00219568	PGK2_HUMAN	PGK2	phosphoglycerate kinase 2 [Acc:8898]	
IPI00021792	PA21B_HUMAN	PLA2G1B	phospholipase A2, group IB (pancreas) [Acc:9030]	
IPI00026962	PA2GA_HUMAN	PLA2G2A	phospholipase A2, group IIA (platelets, synovial fluid) [Source:HGNC Symbol;Acc:9031]	
IPI00432412			phospholipase inhibitor precursor [Source:RefSeq peptide;Acc:NP_001078943]	
IPI00789401	PLSI_HUMAN	PLS1	plastin 1 [Acc:9090]	40
IPI00007248	PKHA6_HUMAN	PLEKHA6	pleckstrin homology domain containing, family A member 6 [Acc:17053]	
IPI00107555		PFN2	profilin 2 [Source:HGNC Symbol;Acc:8882]	
IPI00022213	PEPC_HUMAN	PGC	progastricsin (pepsinogen C) [Acc:8890]	
IPI00792533		PGC	progastricsin (pepsinogen C) [Acc:8890]	
IPI00514208		PTGDS	prostaglandin D2 synthase 21kDa (brain) [Acc:9592]	
IPI00299571		PDIA6	protein disulfide isomerase family A, member 6 [Acc:30168]	
IPI00010466	KPCB_HUMAN	PRKCB	protein kinase C, β [Acc:9395]	
IPI00296337	PRKDC_HUMAN	PRKDC	protein kinase, DNA-activated, catalytic polypeptide	

			[Acc:9413]	
IPI00332271	PTPRS_HUMAN	PTPRS	protein tyrosine phosphatase, receptor type, S [Acc:9681]	
IPI00290350		PCDH19	protocadherin 19 [Acc:14270]	
IPI00169326	PPTC7_HUMAN	PPTC7	PTC7 protein phosphatase homolog (<i>S. cerevisiae</i>) [Acc:30695]	
IPI00293327	P2RX4_HUMAN	P2RX4	purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4 [Acc:8535]	
IPI00442204	MGAL1_HUMAN		Putative maltase-glucoamylase-like protein FLJ16351 [Source:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q6ZLN80]	
IPI00024282	RAB8B_HUMAN	RAB8B	RAB8B, member RAS oncogene family [Acc:30273]	
IPI00166044	RPTOR_HUMAN	RPTOR	regulatory associated protein of MTOR, complex 1 [Acc:30287]	10
IPI00012622	RHG20_HUMAN	ARHGAP20	Rho GTPase activating protein 20 [Acc:18357]	
IPI00152023	RNS11_HUMAN	RNASE11	ribonuclease, RNase A family, 11 (non-active) [Acc:19269]	
IPI00219153	RL22_HUMAN	RPL22	ribosomal protein L22 [Acc:10315]	
IPI00030179	RL7_HUMAN	RPL7	ribosomal protein L7 [Acc:10363]	
IPI00745789	RSSA_HUMAN	RPSA	ribosomal protein SA [Acc:6502]	
IPI00171771	RFWD2_HUMAN	RFWD2	ring finger & WD repeat domain 2 [Acc:17440]	
IPI00433279	SLFN5_HUMAN	SLFN5	schlafen family member 5 [Acc:28286]	
IPI00002606	ADSV_HUMAN	SCIN	scinderin [Acc:21695]	
IPI00030385	SBP1_HUMAN	SELENBP1	selenium binding protein 1 [Acc:10719]	
IPI00033583	SPB12_HUMAN	SERPINB12	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12 [Acc:14220]	20
IPI00307466		SERPINB3	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3 [Acc:10569]	
IPI00413451	SPB6_HUMAN	SERPINB6	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 6 [Acc:8950]	
IPI00394753	NRAM2_HUMAN	SLC11A2	solute carrier family 11 (proton-coupled divalent metal ion transporters), member 2 [Acc:10908]	
IPI00008616	S12A7_HUMAN	SLC12A7	solute carrier family 12 (potassium/chloride transporters), member 7 [Acc:10915]	
IPI00011981	S13A2_HUMAN	SLC13A2	solute carrier family 13 (sodium-dependent dicarboxylate transporter), member 2 [Acc:10917]	
IPI00020542	S22AB_HUMAN	SLC22A11	solute carrier family 22 (organic anion/urate transporter), member 11 [Acc:18120]	30
IPI00171334	S22A4_HUMAN	SLC22A4	solute carrier family 22 (organic cation/ergothioneine transporter), member 4 [Acc:10968]	
IPI00029268	SLC31_HUMAN	SLC3A1	solute carrier family 3 (cystine, dibasic & neutral amino acid transporters, activator of cystine, dibasic & neutral amino acid transport), member 1 [Acc:11025]	
IPI00024248	SC5A5_HUMAN	SLC5A5	solute carrier family 5 (sodium iodide symporter), member 5 [Acc:11040]	
IPI00760881	SC5AC_HUMAN	SLC5A12	solute carrier family 5 (sodium/glucose cotransporter), member 12 [Acc:28750]	
IPI00003527	NHRF1_HUMAN	SLC9A3R1	solute carrier family 9 (sodium/hydrogen exchanger), member 3 regulator 1 [Acc:11075]	
IPI00217882	SORT_HUMAN	SORT1	sortilin 1 [Acc:11186]	40
IPI00657938		SNX18	sorting nexin 18 [Acc:19245]	
IPI00178767	ASM3A_HUMAN	SMPDL3A	sphingomyelin phosphodiesterase, acid-like 3A [Acc:17389]	
IPI00291643	SPRY4_HUMAN	SPRYD4	SPRY domain containing 4 [Acc:27468]	
IPI00000001	STAU1_HUMAN	STAU1	staufen, RNA binding protein, homolog 1 (<i>Drosophila</i>) [Acc:11370]	
IPI00719690	SAM9L_HUMAN	SAMD9L	sterile α motif domain containing 9-like [Acc:1349]	
IPI00514755		SDF4	stromal cell derived factor 4 [Acc:24188]	
IPI00032826	ST134_HUMAN	ST13	suppression of tumorigenicity 13 (colon carcinoma) (Hsp70 interacting protein) [Acc:11343]	
IPI00335277	SYPL1_HUMAN	SYPL1	synaptophysin-like 1 [Acc:11507]	

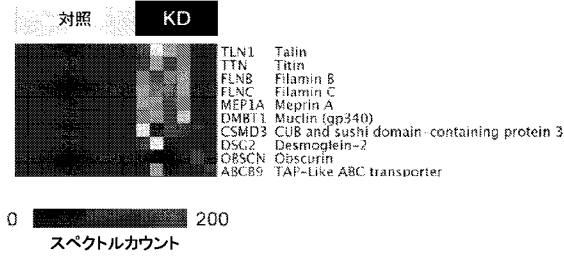
IPI00289876	STX7_HUMAN	STX7	syntaxin 7 [Acc:11442]	
IPI00642310		STXBP2	syntaxin binding protein 2 [Acc:11445]	
IPI00298994	TLN1_HUMAN	TLN1	talin 1 [Acc:11845]	
IPI00183938	TTC27_HUMAN	TTC27	tetratricopeptide repeat domain 27 [Acc:25986]	
IPI00290452	TMBI1_HUMAN	TMBIM1	transmembrane BAX inhibitor motif containing 1 [Acc:23410]	
IPI00023788	ENTK_HUMAN	TMPRSS15	transmembrane protease, serine 15 [Acc:9490]	
IPI00010252	TRI33_HUMAN	TRIM33	tripartite motif containing 33 [Acc:16290]	
IPI00018511	TBB8B_HUMAN		Tubulin β -8 chain B [Source:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:A6NNZ2]	10
IPI00179709	TBA3C_HUMAN	TUBA3C	tubulin, α 3c [Acc:12408]	
IPI00179709	TBA3C_HUMAN	TUBA3D	tubulin, α 3d [Acc:24071]	
IPI00640721	1433B_HUMAN	YWHAB	tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, β polypeptide [Acc:12849]	
IPI00011245	UBP29_HUMAN	USP29	ubiquitin specific peptidase 29 [Acc:18563]	
IPI00783859		VPS13D	vacuolar protein sorting 13 homolog D (<i>S. cerevisiae</i>) [Acc:23595]	
IPI00031655	VPS25_HUMAN	VPS25	vacuolar protein sorting 25 homolog (<i>S. cerevisiae</i>) [Acc:28122]	
IPI00423568	RASK_HUMAN	KRAS	v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog [Acc:6407]	
IPI00642108		WDR45	WD repeat domain 45 [Acc:28912]	20
IPI00550192	XPP3_HUMAN	XPNPEP3	X-prolyl aminopeptidase (aminopeptidase P) 3, putative [Acc:28052]	
IPI00014513	TYY1_HUMAN	YY1	YY1 transcription factor [Acc:12856]	
IPI00743220	ZN561_HUMAN	ZNF561	zinc finger protein 561 [Acc:28684]	

【 0 0 8 4 】

実施例 3 . 冠動脈炎のマウスモデルおよびメプリン A 免疫組織化学

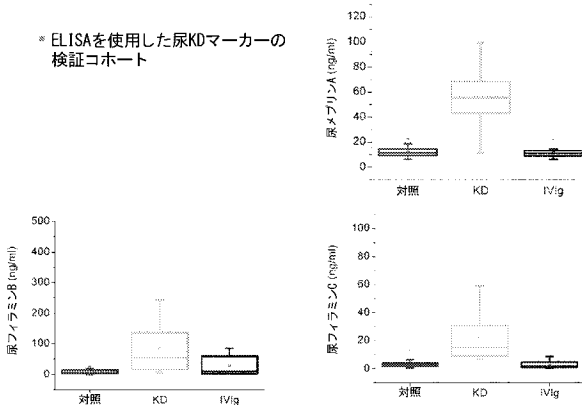
グループ B カセイ菌 (*Lactobacillus casei*) (LCWE) の細胞壁抽出物の腹腔内注射に基づいた冠動脈炎の確立されたマウスモデルが使用された。Lehman et al., 48 Clin. Immunol. Immunopathol. 108 (1988)。グループ B カセイ菌 (*L. casei*) は、成長し、細胞壁抽出物 (LCWE) は、記述されるように調整された。Schulte et al., 183 J. Immunol. 5311 (2009)。端的に言えば、6 週齢 C57/BL6 マウスは、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中の 250 μ g の LCWE または生理的食塩水単体を、注入された。14 日後には、マウスは犠牲となり、冠状動脈は、ホルマリンで安定され、ヘマトキシリンおよびエオシンで染色された連続切片 (7 μ m) で、同定された。免疫組織化学的分析のために、切片は 0.3% 過酸化水素を用いて PBS で 30 分間事前処理された。メプリン A (クローン F-20、Santa Cruz Biotech., Santa Cruz, CA) またはアイソタイプ対照抗体 (ヤギ血清、Santa Cruz Biotech.) は、PBS 中の 0.5% ウシ血清アルブミンに 1:100 で 1 時間適用された。次いで、スライドを洗浄し、ビオチン抗ヤギセイヨウワサビペルオキシダーゼ結合二次抗体 (Vector Lab, Burlingame, CA) は、1:500 で 30 分間適用され、洗浄され、ストレプトアビジン共益セイヨウワサビペルオキシダーゼ (BD Biosciences, San Diego, CA) で、1:1,000 で 30 分間染色された。免疫組織化学的染色は、SK4100 DAB キットを製造者の指示 (Vector Lab) 通りに使用して検出された。

【 図 1 】

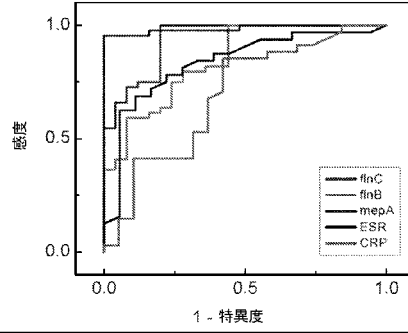


【 図 2 A - C 】

* ELISAを使用した尿KDマーカーの検証コホート

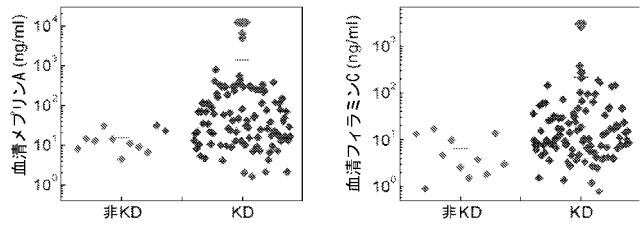


【 図 2 D 】

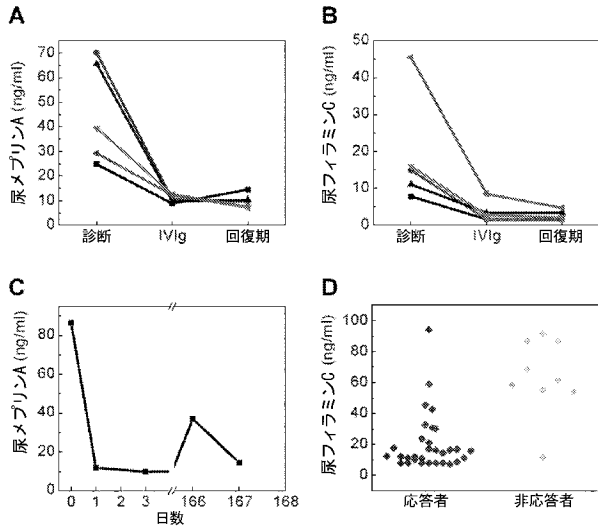


	AUC	95% LCL	95% UCL
CRP	0.69	0.55	0.84
ESR	0.84	0.71	0.96
fnB	0.85	0.76	0.94
fnC	0.94	0.89	0.98
mepA	0.99	0.96	1.0

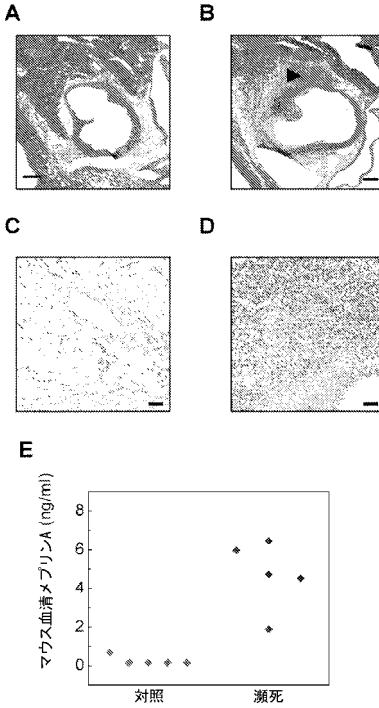
【 図 2 E - F 】



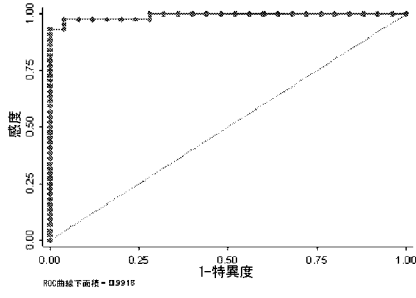
【 図 3 】



【 図 4 】

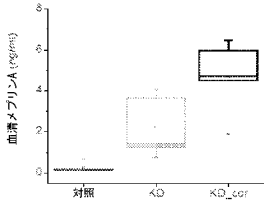


【 図 5 】



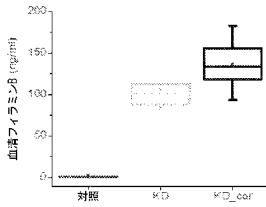
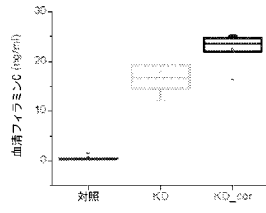
【 図 6 】

A



川崎病のマウスモデルにおける
血清MEPA、FLNB、FLNC

B.



C.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2012/033514

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, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	RYOTA EBATA ET AL: "Increased Production of Vascular Endothelial Growth Factor-D and Lymphangiogenesis in Acute Kawasaki Disease", CIRCULATION JOURNAL, vol. 75, no. 6, 1 January 2011 (2011-01-01), pages 1455-1462, XP055037569, ISSN: 1346-9843, DOI: 10.1253/circj.CJ-10-0897 whole doc, in particular abstract and p. 1460-1461.; the whole document ----- -/--	1-21
<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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 14 September 2012		Date of mailing of the international search report 04/01/2013
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 Lüdemann, Susanna

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2012/033514

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KAZUNARI KANEKO ET AL: "Prediction of the Risk of Coronary Arterial Lesions in Kawasaki Disease by Brain Natriuretic Peptide", PEDIATRIC CARDIOLOGY, SPRINGER-VERLAG, US, vol. 32, no. 8, 13 April 2011 (2011-04-13), pages 1106-1109, XP019973580, ISSN: 1432-1971, DOI: 10.1007/S00246-011-9986-8 whole doc, in particular abstract and fig.1 -----	1-21
A	MING-YII HUANG ET AL: "Acute-Phase Reactants and a Supplemental Diagnostic Aid for Kawasaki Disease", PEDIATRIC CARDIOLOGY, SPRINGER-VERLAG, US, vol. 31, no. 8, 19 October 2010 (2010-10-19), pages 1209-1213, XP019861454, ISSN: 1432-1971, DOI: 10.1007/S00246-010-9801-Y whole doc, in particular abstract and fig.1 -----	1-21
X	WO 2008/021290 A2 (HOMESTEAD CLINICAL CORP [US]; INST SYSTEMS BIOLOGY [US]; HOOD LEROY [U]) 21 February 2008 (2008-02-21) whole doc, in particular sequence with seq. id. no, 13679 and p. 224, line 2 -----	7-17
A		1-6, 18-21
X	WO 2007/003594 A1 (SOLVAY PHARM GMBH [DE]; WALTHER THOMAS [DE]) 11 January 2007 (2007-01-11) whole doc, in particular claims 11-17, p. 24, lines 7-22. -----	7-17
A		1-6, 18-21
X	SAINT-FAUST ET AL: "Syndrome de Kawasaki chez 1 nourrisson: difficultes diagnostiques et complications liees a l'age", ARCHIVES DE PEDIATRIE, ELSEVIER, PARIS, FR, vol. 14, no. 12, 8 November 2007 (2007-11-08), pages 1427-1430, XP022364180, ISSN: 0929-693X, DOI: 10.1016/J.ARCPED.2007.08.018 the whole document -----	19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2012/033514**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.:

1-21(partially)

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/ US2012/ 033514

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-21(partially)

An assay/kit for diagnosing Kawasaki disease based on meprin A as marker. Further a kit, a computer readable storage medium and a method for treating Kawasaki disease.

2. claims: 1-21(partially)

An assay/kit for diagnosing Kawasaki disease based on filamin B as marker. Further a kit, a computer readable storage medium and a method for treating Kawasaki disease.

3. claims: 1-21(partially)

An assay/kit for diagnosing Kawasaki disease based on filamin C as marker. Further a kit, a computer readable storage medium and a method for treating Kawasaki disease.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2012/033514

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008021290 A2	21-02-2008	AU 2007284651 A1 CA 2660286 A1 EP 2057465 A2 EP 2520935 A2 JP 2010500568 A US 2012087862 A1 WO 2008021290 A2	21-02-2008 21-02-2008 13-05-2009 07-11-2012 07-01-2010 12-04-2012 21-02-2008
WO 2007003594 A1	11-01-2007	NONE	

フロントページの続き

(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, MD, RU, T, J, 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, R, O, 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, H, U, 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, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN

(74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100130845
弁理士 渡邊 伸一

(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ケントシス アレックス
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ブルックライン ビーコン ストリート 1 1 1 1

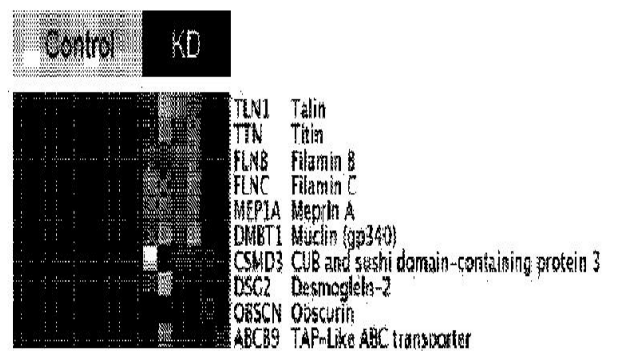
(72)発明者 キム スーザン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 オーバーンデール メルローズ ストリート 1 7 2

(72)発明者 スティーン ハンノ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ケンブリッジ プレザント ストリート 1 5 7

专利名称(译)	川崎病的诊断标志物和治疗靶点		
公开(公告)号	JP2014512014A	公开(公告)日	2014-05-19
申请号	JP2014505335	申请日	2012-04-13
[标]申请(专利权)人(译)	儿童医学中心公司		
申请(专利权)人(译)	儿童医学中心公司		
[标]发明人	ケントシスアレックス キムスーザン ステーションハンノ		
发明人	ケントシス アレックス キム スーザン ステーション ハンノ		
IPC分类号	G01N33/573 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/564 G01N33/6893 G01N2333/47 G01N2800/328 G01N2800/60		
FI分类号	G01N33/573.A G01N33/53.D		
代理人(译)	清水初衷 井上隆一 佐藤俊光 小林智彦 渡边真一 正人大关 五十嵐弘		
优先权	61/475936 2011-04-15 US 61/579007 2011-12-22 US		
其他公开文献	JP2014512014A5 JP6072768B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了用于诊断和治疗川崎病的组合物和方法。更具体地，具有KD的患者的蛋白质组富含meprin A，细丝蛋白B和细丝蛋白C，其充当KD的生物标志物（和潜在的治疗靶标）。因此，使用本文提供的组合物和方法检测这些生物标志物可以告知递送给受试者的疗法。



0 200

Spectral count

Figure 1