

(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2015-502917

(P2015-502917A)

(43) 公表日 平成27年1月29日 (2015.1.29)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 B 0 2 4
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53 M	4 B 0 6 3
G 0 1 N 33/543 (2006.01)	G 0 1 N 33/53 D	4 C 0 8 4
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	G 0 1 N 33/543 5 O 1 A	4 C 0 8 5
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 32 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2014-538912 (P2014-538912)
 (86) (22) 出願日 平成24年10月24日 (2012.10.24)
 (85) 翻訳文提出日 平成26年6月18日 (2014.6.18)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/061614
 (87) 国際公開番号 W02013/063062
 (87) 国際公開日 平成25年5月2日 (2013.5.2)
 (31) 優先権主張番号 61/552, 617
 (32) 優先日 平成23年10月28日 (2011.10.28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 596129215
 メルク・シャープ・アンド・ドーム・コー
 ポレーション
 Merck Sharp & Dohme
 Corp.
 アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー・オ
 7065-0907 ローウェイ、イース
 ト・リンカーン・アベニュー・126
 126 East Lincoln Av
 enue, Rahway, New Jer
 sey 07065-0907 U. S.
 A.

(74) 代理人 100114188
 弁理士 小野 誠

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 T S L P 処置のバイオマーカーとしての I L - 1 9

(57) 【要約】

本発明は、T S L P アンタゴニストによる処置のバイオマーカーとしての I L - 1 9 の使用に関する。

【選択図】図 1

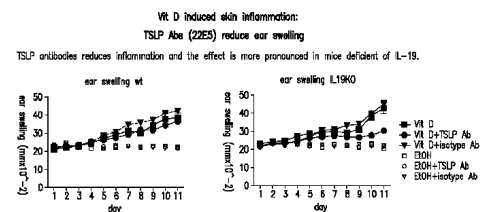


FIG.1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

必要がある被検体においてアレルギー性疾患を処置する方法であって、

前記被検体由来のサンプルにおける I L - 1 9 の発現を測定する工程、および、前記サンプル中の I L - 1 9 レベルが対照よりも高かった場合、前記被検体に治療有効量の T S L P アンタゴニストを投与する工程を含む、方法。

【請求項 2】

被検体を T S L P アンタゴニストによって処置するための方法であって、

(a) T S L P アンタゴニストの用量の投与の前に前記被検体から第 1 生物学的サンプルを得る工程；

(b) 基線生物学的サンプルにおける I L - 1 9 の発現を測定する工程；

(c) 前記被検体に T S L P アンタゴニストを投与する工程；

(d) 前記被検体から第 2 生物学的サンプルを得る工程；

(e) 前記第 2 サンプルにおける I L - 1 9 の発現を測定する工程；

(f) 前記第 2 生物学的サンプルにおける I L - 1 9 の発現を前記第 1 生物学的サンプルにおける I L - 1 9 の発現のレベルと比較し、ここで、前記第 2 生物学的サンプルにおいて I L - 1 9 レベルが第 1 生物学的サンプルと比較して低下している場合、前記被検体に治療有効量の T S L P アンタゴニストを投与する工程を含む、方法。

【請求項 3】

被検体を T S L P アンタゴニストによる処置のために選択する方法であって、

前記被検体由来のサンプルにおける I L - 1 9 の発現を測定する工程、および、前記サンプル中の I L - 1 9 レベルが対照のレベルよりも高かった場合、前記被検体に治療有効量の T S L P アンタゴニストを投与する工程を含む、方法。

【請求項 4】

T S L P アンタゴニストによる被検体の処置の進行をモニタリングするための方法であって、

(a) 前記被検体由来のサンプルにおける I L - 1 9 の発現を測定する工程、および、前記サンプル中の I L - 1 9 レベルが対照のレベルよりも高かった場合、前記被検体に治療有効量の T S L P アンタゴニストを投与する工程を含む、方法。

【請求項 5】

前記 T S L P アンタゴニストは、抗 T S L P 抗体である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記被検体は、アレルギー性疾患を罹患するヒト被検体である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記アレルギー性疾患は、アトピー性皮膚炎である、請求項 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記アレルギー性疾患は、喘息である、請求項 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記サンプルは、組織サンプルである、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記サンプルは、皮膚生検である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記サンプルは、血液サンプルである、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記サンプルは、血清である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

10

20

30

40

50

前記サンプルは、痰である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

IL - 19 の発現は、遺伝子発現分析またはイムノアッセイによって決定される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

IL - 19 の発現は、ELISA、RIA、ウェスタンブロット、発光イムノアッセイ、蛍光イムノアッセイからなる群より選択されるイムノアッセイによって決定される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

IL - 19 の発現は、ノーザンブロッティング、PCRベース、SAGE、フローサイトメトリベース、およびDNAマイクロアレイからなる群より選択される遺伝子発現分析によって決定される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

前記対照は、アレルギー性疾患を罹患していない被検体由来のサンプルからの 1 つ以上のサンプルである、いずれかの請求項 1 ~ 4 に記載の方法。

【請求項 18】

前記対照は、アレルギー性疾患を罹患しておらず、TSLPアンタゴニストによって処置されていない被検体由来のサンプルからの 1 つ以上のサンプルである、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、TSLPアンタゴニストによる処置のバイオマーカーとしてのIL - 19の使用に関する。

【背景技術】

【0002】

TSLPは、プロアロジェニックな(proallergic)表現型を有する樹状細胞媒介型CD4⁺T細胞応答を誘導する免疫サイトカインである。TSLPによって活性化された樹状細胞は、無感作T細胞を、IL - 4、IL - 5およびIL - 13を産生するTh2細胞に指向させる、アレルギー促進性(proallergic)のサイトカイン、ケモカインおよび同時刺激分子の産生によるアレルギー性炎症性Th2の誘導および維持において重要な役割を果たす。アトピー性皮膚炎(AtD)、ネザートン症候群および喘息におけるTSLPの過剰発現は、これらのアレルギー性炎症疾患の病因におけるこのサイトカインの重要な役割を示す。アレルギー性疾患の処置のためのTSLPアンタゴニストの使用は、臨床的検討中である。TSLPアンタゴニストによる処置の効能のモニタリングのための方法についての需要が、存在する。このような方法は、好ましくは、被検体の疾患状態および/またはTSLPアンタゴニストによる処置に対する応答の客観的決定を可能にする。

【0003】

「バイオマーカー」は、特定の状態の存在、進行または首尾よい処置を反映する、客観的に測定される指示薬である。バイオマーカーは、薬物開発において長く使用されており、新規な効果のあるバイオマーカーの発見および評価は、予測的な疾患モデルを改善し、薬物開発に関連する時間および費用を削減し、そして実験薬物から臨床治療薬へ変換することの成功率を上げることが期待される。さらに、バイオマーカーは、疾患発症、疾患状態における変化ならびに疾患制御における行動変容および治療薬の有効性の初期検出において価値がある。

【0004】

IL - 19は、サイトカインのIL - 10ファミリーに属し、このファミリーはまた、IL20、MDA7およびIL22も含む。IL10をプローブとして用いてESTデータベースを検索し、その後、エプスタイン・バーウイルス形質転換B細胞cDNAライブ

10

20

30

40

50

ラリーをスクリーニングすることによって、Gallagherらは、IL19をコードするcDNAを入手した。Gallagherら、Genes Immunity 1: 442 - 450、(2000年)。米国特許第7,056,681号も参照されたい。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】米国特許第7,056,681号明細書 -

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Gallagherら、Genes Immunity 1: 442 - 450、(2000年)

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明は、そのレベルがTSLPアンタゴニストによる処置に対する応答を反映するバイオマーカーとしてIL-19の使用を提供することにより、当分野におけるこれらの需要を満たす。

【課題を解決するための手段】

【0008】

1つの実施形態において、本発明は、治療剤によるTSLP遮断(すなわち、標的会合)をモニタリングする方法に関する。このような方法は、臨床試験における使用ならびに規制上の承認後の診療所における使用を見出し得る。この治療剤は、TSLPのアンタゴニストであっても、またはTSLPレセプターのアンタゴニストであっても(例えば、抗TSLPアンタゴニスト抗体であってもまたは抗TSLPRアンタゴニスト抗体であっても)よい。臨床試験において、TSLP遮断のモニタリングは、治療効果を達成するための何らかの欠陥が観察される場合、これは、治療効果に影響を及ぼす標的経路において干渉できないことではなく、TSLP経路に会合することができないことによって起こるかを否かを決定する際に有効である。診療所において、TSLP遮断の検証は、治療剤が活性であるか否か、例えば、薬物が、例えば明らかな効果または軽減の徴候を示さない被検体において、その所望の生物学的活性を保持するか否かを決定する際に有用である。

20

30

【0009】

1つの実施形態において、本発明は、TSLPアンタゴニストによって処置された哺乳動物被検体におけるTSLP遮断をモニタリングするための方法を提供し、この方法は：上記被検体由来のサンプルにおけるIL-19の発現を測定する工程を含み；ここで、対照と比較して低下したIL-19の発現は、上記被検体におけるTSLP遮断および上記被検体のTSLPアンタゴニストによる処置に対する好適性の指標であるか；または、対照と比較して変化が無いかまたはより高いIL-19の発現は、上記被検体においてTSLPアンタゴニストに対する応答におけるTSLP遮断の欠如、および上記被検体のTSLPアンタゴニストによる処置に対する好適性の欠如の指標である。

【0010】

40

1つの実施形態において、本発明は、TSLPアンタゴニストによって処置された哺乳動物被検体においてTSLP遮断をモニタリングするための方法を提供し、上記方法は：(a)上記被検体由来のサンプルにおけるIL-19の発現を測定する工程；および(b)工程(a)のIL-19の発現を対照と比較する工程を含み、ここで、対照と比較して低下したIL-19の発現は、上記被検体におけるTSLP遮断および上記被検体のTSLPアンタゴニストによる処置に対する好適性の指標であるか；または、対照と比較して変化が無いかまたはより高いIL-19の発現は、上記被検体においてTSLPアンタゴニストに対する応答におけるTSLP遮断の欠如、および上記被検体のTSLPアンタゴニストによる処置に対する好適性の欠如の指標である。

【0011】

50

別の実施形態において、本発明は、T S L Pアンタゴニストによって処置された哺乳動物被検体においてT S L P遮断をモニタリングするための方法を提供し、上記方法は：(a) T S L Pアンタゴニストの用量の投与の前に上記被検体から基線生物学的サンプルを得る工程；(b) 上記基線生物学的サンプルにおけるI L - 1 9の発現を測定する工程；(c) 上記被検体がT S L Pアンタゴニストを投与された後に、上記被検体から少なくとも1つの後続の生物学的サンプルを得る工程；(d) 上記後続のサンプルにおけるI L - 1 9の発現を測定する工程；(e) 上記後続の生物学的サンプルにおけるI L - 1 9の発現を上記基線生物学的サンプルにおけるI L - 1 9の発現のレベルと比較する工程を含み、ここで、上記後続の生物学的サンプルにおける低下したI L - 1 9の発現は、T S L P遮断を示す。

10

【 0 0 1 2 】

別の実施形態において、本発明は、T S L Pアンタゴニストによって処置された哺乳動物被検体においてT S L P遮断をモニタリングするための方法を提供し、上記方法は：(a) T S L Pアンタゴニストの用量の投与の前に上記被検体から基線生物学的サンプルを得る工程；(b) 上記基線生物学的サンプルにおけるI L - 1 9の発現を測定する工程；(c) 上記被検体にT S L Pアンタゴニストを投与する工程；(d) 上記被検体から少なくとも1つの後続の生物学的サンプルを得る工程；(e) 上記後続のサンプルにおけるI L - 1 9の発現を測定する工程；(f) 上記後続の生物学的サンプルにおけるI L - 1 9の発現を上記基線生物学的サンプルにおけるI L - 1 9の発現のレベルと比較する工程を含み、ここで、上記後続の生物学的サンプルにおける低下したI L - 1 9の発現は、T S L P遮断を示す。

20

【 0 0 1 3 】

本発明の別の態様において、I L - 1 9は、T S L Pアンタゴニストによる処置を受けている被検体において疾患進行を追跡するために使用される。この疾患は、アレルギー性疾患、例えば喘息またはアトピー性皮膚炎であってもよい。用量、投薬頻度（間隔）または他の治療パラメータは、患者が満足な結果を達成することを確実にするために、I L - 1 9の発現に少なくとも部分的に基づいて変更され得る。このような方法は、患者による徴候の主観的評価よりもむしろ、客観的に、研究室試験の結果に基づく。患者は、例えば、臨床試験の被検体であってもよく、または、認可された処置を受ける患者であってもよい。

30

【 0 0 1 4 】

本発明は、T S L Pアンタゴニストによって処置された被検体由来のサンプルにおけるI L - 1 9の発現レベルを検出するための方法を含み、上記方法は：被検体由来のサンプルにおけるI L - 1 9の発現を測定する工程を含み；ここで、対照と比較して低下したI L - 1 9の発現は、患者における有益応答の存在の指標であるか；または、対照と比較して変化が無いまたはより高いI L - 1 9の発現は、患者における有益応答の非存在の指標である。

【 0 0 1 5 】

本発明はまた、T S L Pアンタゴニストによって処置された被検体におけるT S L P遮断をモニタリングするための方法を含み、上記方法は：上記被検体由来のサンプルにおけるI L - 1 9の発現を測定する工程を含み；ここで、対照と比較して低下したI L - 1 9の発現は、上記被検体におけるT S L P遮断の指標であるか；または、対照と比較して変化が無いまたはより高いI L - 1 9の発現は、上記被検体におけるT S L Pアンタゴニストに対する応答におけるT S L P遮断の欠如の指標である。

40

【 0 0 1 6 】

1つの実施形態において、本発明は、T S L Pアンタゴニストの投与後の被検体における有益応答の有無を検出するための方法を提供し、上記方法は：(a) 上記被検体由来のサンプルにおけるI L - 1 9の発現を測定する工程；および(b) 工程(a)のI L - 1 9の発現を対照と比較する工程を含み、ここで、対照と比較して低下したI L - 1 9の発現は、患者における有益応答の存在の指標であるか；または、対照と比較して変化が無い

50

かまたはより高い I L - 19 の発現は、患者における有益応答の非存在の指標である。

【0017】

別の実施形態において、本発明は、必要とする哺乳動物被検体においてアレルギー性疾患を処置する方法を提供し、上記方法は、第1の時点でアレルギー性疾患を罹患する被検体における I L - 19 の発現を測定する工程、T S L P アнтаゴニストを投与する工程、第2の時点で I L - 19 の発現を再測定する工程、上記第1および第2の時点の結果を比較する工程、ならびに、上記比較に基づいて処置レジメンを変更する工程を含む。1つの実施形態において、上記第1の時点は、T S L P アнтаゴニストの投与の前であり、上記第2の時点は、T S L P アнтаゴニストの上記投与の後である。1つの実施形態において、上記第1の時点は、上記被検体への最初の T S L P アнтаゴニストの投与の前である。1つの実施形態において、用量（任意の1回の投与において投与される T S L P アнтаゴニスト剤の量として定義される）は、上記比較に応じて増やされるかまたは減らされる。別の実施形態において、投薬間隔（連続する投与の間の時間として定義される）は、処置の全中止を含めて、上記比較に応じて増やされるかまたは減らされる。投薬間隔は、投薬頻度と反比例する。1つの実施形態において、上記アレルギー性疾患は、アトピー性皮膚炎である。別の実施形態において、上記アレルギー性疾患は、喘息である。

10

【0018】

本発明はまた、必要がある哺乳動物被検体においてアレルギー性疾患を処置する方法を含み、上記方法は以下の工程：（a）上記被検体に有効量の T S L P アнтаゴニストを投与する工程；（b）I L - 19 の発現を対照と比較する工程；および（c）そして、サンプル中の I L - 19 レベルが対照よりも高かった場合、上記被検体に治療有効量の T S L P アнтаゴニストを投与する工程を含む。1つの実施形態において、上記アレルギー性疾患は、アトピー性皮膚炎である。別の実施形態において、上記アレルギー性疾患は、喘息である。

20

【0019】

本発明はまた、アレルギー性疾患を処置する方法を含み、上記方法は、以下の工程：必要がある被検体に有効量の T S L P アнтаゴニストを投与する工程を含み；ここで、上記被検体は、T S L P アнтаゴニストの投与前に、I L - 19 の発現について試験されており；ここで、対照に対する I L - 19 の発現レベルが、T S L P アнтаゴニストによる処置を継続するべきか、中止するべきか、または変更するべきかの決定を導く。1つの実施形態において、上記アレルギー性疾患は、アトピー性皮膚炎である。別の実施形態において、上記アレルギー性疾患は、喘息である。

30

【0020】

1つの実施形態において、本発明は、必要がある被検体においてアレルギー性疾患を処置する方法を提供し、上記方法は、以下の工程：（a）有効量の T S L P アнтаゴニストを投与する工程；（b）上記被検体由来のサンプルにおける I L - 19 の発現を測定する工程；および（c）工程（b）の I L - 19 の発現を対照と比較する工程；そして、上記サンプル中の I L - 19 レベルが対照よりも高かった場合、上記被検体に治療有効量の T S L P アнтаゴニストを投与する工程を含む。1つの実施形態において、上記アレルギー性疾患は、アトピー性皮膚炎である。別の実施形態において、上記アレルギー性疾患は、喘息である。

40

【0021】

1つの実施形態において、本発明は、必要がある被検体においてアレルギー性疾患を処置する方法を提供し、上記方法は、以下の工程：上記被検体由来のサンプルにおける I L - 19 の発現を測定する工程、および、上記サンプル中の I L - 19 レベルが対照よりも高かった場合、上記被検体に治療有効量の T S L P アнтаゴニストを投与する工程を含む。1つの実施形態において、上記アレルギー性疾患は、アトピー性皮膚炎である。別の実施形態において、上記アレルギー性疾患は、喘息である。

【0022】

本発明はまた、被検体を T S L P アнтаゴニストによって処置するための方法を含み、

50

上記方法は：（a）T S L P アntagオニストの用量の投与の前に上記被検体から第 1 生物学的サンプルを得る工程；（b）基線生物学的サンプルにおける I L - 1 9 の発現を測定する工程；（c）上記被検体に T S L P アntagオニストを投与する工程；（d）上記被検体から第 2 生物学的サンプルを得る工程；（e）上記第 2 サンプルにおける I L - 1 9 の発現を測定する工程；（f）上記第 2 生物学的サンプルにおける I L - 1 9 の発現を上記第 1 生物学的サンプルにおける I L - 1 9 の発現のレベルと比較し、ここで、上記第 2 生物学的サンプルにおいて I L - 1 9 の発現が第 1 生物学的サンプルと比較して低下している場合、上記被検体に治療有効量の T S L P アntagオニストを投与する工程を含む。

【0023】

別の態様において、本発明は、被検体、例えばアレルギー性疾患患者を、T S L P アntagオニストによる処置のために選択する方法に関する。1つの実施形態において、本発明は、被検体を T S L P アntagオニストによる処置のために選択する方法を含み、上記方法は：（a）上記被検体由来のサンプルにおける I L - 1 9 の発現を測定する工程、および、上記サンプル中の I L - 1 9 レベルが対照のレベルよりも高かった場合、上記被検体に治療有効量の T S L P アntagオニストを投与する工程を含む。1つの実施形態において、上記被検体は、アレルギー性疾患を有する。1つの実施形態において、アレルギー性疾患は、アトピー性皮膚炎である。別の実施形態において、上記アレルギー性疾患は、喘息である。

10

【0024】

別の実施形態において、本発明は、被検体を T S L P アntagオニストによる処置のために選択する方法を含み、上記方法は：（a）上記被検体由来のサンプルにおける I L - 1 9 の発現を測定する工程；および（b）被検体が T S L P アntagオニストによって処置されるべきか否かを決定する工程を含む。1つの実施形態において、上記被検体は、喘息を有する。別の実施形態において、上記被検体は、アトピー性皮膚炎を有する。上記サンプルにおける（対照と比較した）I L - 1 9 の高いレベルは、上記被検体が、T S L P アntagオニスト、例えば、抗 T S L P 抗体または抗 T S L P R 抗体による処置のための良い候補であることを示唆し得る。

20

【0025】

本発明はまた、T S L P アntagオニストによる処置の進行をモニタリングするための方法を含み、上記方法は：（a）上記被検体由来のサンプルにおける I L - 1 9 の発現を測定する工程、および、上記サンプル中の I L - 1 9 レベルが対照のレベルよりも高かった場合、上記被検体に治療有効量の T S L P アntagオニストを投与し続ける工程を含む。1つの実施形態において、上記被検体は、アレルギー性疾患を有する。1つの実施形態において、アレルギー性疾患は、アトピー性皮膚炎である。別の実施形態において、上記アレルギー性疾患は、喘息である。

30

【0026】

本発明はまた、アレルギー性疾患のためのバイオマーカーとしての I L - 1 9 の使用も提供する。1つの態様において、本発明は、アレルギー性疾患の進行または疾患状態を評価するためのバイオマーカーとしての I L - 1 9 の使用を提供する。

【0027】

本発明はまた、アトピー性皮膚炎のためのバイオマーカーとしての I L - 1 9 の使用も提供する。1つの態様において、本発明は、アトピー性皮膚炎の進行または疾患状態を評価するためのバイオマーカーとしての I L - 1 9 の使用を提供する。

40

【0028】

本発明はまた、喘息のためのバイオマーカーとしての I L - 1 9 の使用も提供する。1つの態様において、本発明は、喘息の進行または疾患状態を評価するためのバイオマーカーとしての I L - 1 9 の使用を提供する。

【0029】

種々の実施形態において、T S L P アntagオニストは、T S L P もしくは T S L P のレセプター（または T S L P レセプターの任意のサブユニット）に対して結合する抗体また

50

はその抗原結合断片である。種々の実施形態において、抗体はポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体または完全ヒト抗体である。他の実施形態において、T S L P アンタゴニストは、核酸分子、例えばアンチセンス核酸もしくは s i R N A、ターゲティング T S L P もしくはそのレセプター、またはどちらかの任意のサブユニットである。なおさらなる実施形態において、T S L P アンタゴニストは、低分子化合物である。

【 0 0 3 0 】

1 つの実施形態において、I L - 1 9 の発現は、血液（血漿または血清を含む）中で検出される。

【 0 0 3 1 】

別の実施形態において、I L - 1 9 の発現は、組織サンプル中で検出される。

【 0 0 3 2 】

別の実施形態において、I L - 1 9 の発現は、皮膚生検中で検出される。

【 0 0 3 3 】

別の実施形態において、I L - 1 9 の発現は、痰中で検出される。

【 0 0 3 4 】

いくつかの実施形態において、上記方法は、免疫学的検出手段、例えば E L I S A、免疫組織化学（I H C）、蛍光標識細胞分取（F A C S（登録商標））、ウェスタンブロットまたは他の免疫学ベースのタンパク質検出方法によるバイオマーカーのタンパク質レベルの検出を含む。他の実施形態において、バイオマーカータンパク質は、非免疫学的検出手段、例えば、質量分光手段もしくはクロマトグラフィー手段によって、検出される。なお他の実施形態において、バイオマーカーは、例えば、例えば核酸ハイブリダイゼーションベースの技術（例えば、アレイまたはチップ）または増幅ベースの技術（例えば、ポリメラーゼ連鎖反応、T a q M a n（登録商標）実時間定量的 P C R 分析）によって m R N A のレベルを検出することにより、遺伝子発現検出手段によって遺伝子発現レベルで測定される。

【 0 0 3 5 】

他の実施形態において、I L - 1 9 のレベルは、所定の参照サンプルもしくは対照（例えば、炎症性疾患（アトピー性皮膚炎もしくは喘息など）を有さない被検体由来、または T S L P アンタゴニストによる処置を受ける前の被検体由来）におけるレベルよりも、高いかまたは低いかを、特定の倍率、例えば 1 . 1 倍、1 . 2 倍、1 . 3 倍、1 . 4 倍、1 . 5 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、7 倍、1 0 倍、1 5 倍、2 0 倍、5 0 倍、1 0 0 倍以上で異なることを判定する。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 3 6 】

【図 1】図 1 は、カルシボトリオール誘導型皮膚炎症が、抗 T S L P 抗体によって処置された I L - 1 9 K O マウスにおいて低下することを示す。

【図 2】図 2 は、I L - 1 9 がカルシボトリオール処置マウスの血清において高レベルで検出されること、および抗 T S L P 抗体は、I L - 1 9 の分泌を抑制するが、I L - 2 0 の分泌を抑制しないことを示す。

【図 3】図 3 は、僅かな I L - 1 9 しか含有されていないか、または全く I L - 1 9 が含有されていないカルシボトリオールによって処置された T S L P K O マウスの血清を示す。

【図 4】図 4 は、カルシボトリオール処置マウス皮膚の血清における I L - 1 9 の阻害は、投与された抗 T S L P 抗体の用量に依存することを示す。

【図 5】図 5 は、カルシボトリオール処置マウスの血清における I L - 1 9 分泌の動態学を示し、そして抗 T S L P 抗体による I L - 1 9 の時間および用量依存的阻害を示す。

【図 6】図 6 は、カルシボトリオール処置マウス由来の皮膚の実時間 q P C R（T a q M a n）分析を示し、これは、I L - 1 9 およびそのレセプター（I L 2 0 R 1 / I L 2 0 R 2）の両方の m R N A が、カルシボトリオール処置の 4 日目に誘導されることを示す。

10

20

30

40

50

【図 7】図 7 は、T S L P を分泌するように誘導されたヒト皮膚組織培養上清中の I L - 1 9 の発現を示す。

【図 7】図 7 は、ヒト皮膚組織培養上清中の I L - 1 9 の発現に対する中性化抗 T S L P 抗体の効果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0037】

本明細書で使用される場合、添付の特許請求の範囲を含めて、「a」、「an」および「the」などの単語の単数形は、文脈が明らかにそうでないことを述べているのでなければ、その対応する複数の言及を含む。

【0038】

本明細書で引用される全ての参考文献は、個々の刊行物、データベースエントリ（例えば、GenBank 配列または Gene ID エントリ）、特許出願または特許のそれぞれが具体的かつ個別に参考によって組み込まれるよう示されているのと同程度に、参考として組み込まれる。本明細書で引用される核酸配列およびタンパク質配列についての GenBank 登録番号は、本出願の出願日のデータベースの内容をいう。これらのデータベースエントリは、その後改変され得るが、GenBank は、日付の機能として全ての以前のバージョンの配列の公式記録を維持し、このようなデータベースエントリを、特定の配列に対して明確な参照にしている。

【0039】

この参考による組み込みの宣言は、出願人により、37 C.F.R. § 1.57 (b) (1) に従い、各々および全ての個々の刊行物、データベースエントリ（例えば、GenBank 配列または Gene ID エントリ）、特許出願または特許に関することが企図され、これらのそれぞれは、これらの引用が専用的な参考による組み込みの宣言に直ちに隣接していない場合であっても、37 C.F.R. § 1.57 (b) (2) に従って明らかに特定される。専用的な参考による組み込みの宣言の包含が本明細書中の範囲内に存在する場合であっても、この全体的な参考による組み込みの宣言を多少なりとも弱めるものではない。本明細書での参考文献の引用は、この参考文献が適切な先行技術であることを承認することを企図せず、これらの刊行物または文書の内容および日付についてのいかなる承認も構成しない。

【0040】

I. 定義

「投与」および「処置」は、動物、ヒト、実験被検体、細胞、組織、器官または生体液に適用される場合、その動物、ヒト、被検体、細胞、組織、器官または生体液に対する、外来性の医薬、治療剤、診断剤または組成物の接触をいう。「投与」および「処置」は、例えば、治療方法、薬物動態学方法、診断方法、研究方法および実験方法をいってもよい。細胞の処置は、この細胞に対する試薬の接触、ならびに細胞と接触している液体に対する試薬の接触を含む。「投与」および「処置」はまた、例えば、細胞の、試薬、診断組成物、結合組成物または別の細胞による、インビトロおよびエキソビボの処置も意味する。

「処置」は、ヒト対象、獣医学対象または研究対象に適用される場合、研究用途および診断用途の、治療的処置、回避的すなわち予防的手段をいってもよい。IBD のような再発性 / 寛解型疾患について、再発を予防するか、遅延するかまたはその重症度を軽減する処置は、疾患全体を「処置する」といっても、または再発を回避的に「予防する」といってもよく、このように、処置と予防との間の区別は、困難である。本明細書で使用される場合、「処置」は、治療の開始の間に活性である IBD エピソードの徴候および症候の軽減、または持続期間もしくは重症度の軽減をいい、ここで、「予防」は、治療の開始後に始まる IBD エピソードの予防、遅延または重症度の軽減をいうが、本明細書で使用される場合、任意の所定の治療レジメンが、処置および予防の両方を構成し得る。「処置」は、ヒト対象、獣医学対象もしくは研究対象、または細胞、組織もしくは器官に適用される場合、動物被検体、細胞、組織、生理学的区画または生理学的液体との薬剤の接触を含む。

「細胞の処置」は、薬剤が、T S L P またはそのレセプターに、例えば、液体相もしくはは

10

20

30

40

50

コロイド相で接触する状況を含む。

【0041】

本明細書で使用される場合、「被検体」は、対象の特定の個体、通常は、ヒトをいう。「被検体」は、疾患もしくは障害と診断されたか、または疾患もしくは障害を有することを疑われるヒト被検体であっても、そして/または、疾患もしくは障害についての処置を受けているヒト被検体であってもよい。用語「被検体」および「患者」は、この適用において、相互交換可能に使用される。

【0042】

本明細書で使用される場合、「生物学的サンプル」は、被検体から得られる任意のサンプルを含み得、全血、血漿、血清、組織生検（例えば、肺もしくは皮膚）、痰、気管支肺胞洗浄（BAL）細胞、鼻浸出液、鼻掻き取り物（nasal scrape）または尿が挙げられるが、これらに限定されない。

【0043】

本明細書で使用される場合、IL-19の「発現」または「レベル」は、サンプル中に存在するIL-19ポリペプチドの量またはサンプル中に存在するIL-19をコードするmRNAの量に関する。

【0044】

本明細書で使用される場合、「モニタリング」は、変動するパラメータにおける変化を測定しそして/または記録することをいう。

【0045】

本明細書で使用される場合、用語「抗体」は、所望の生物学的活性を示す任意の形態の抗体をいってもよい。従って、これは、最も広い意味で使用され、具体的には、所望の生物学的活性を示す限り、モノクローナル抗体（完全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、キメラ抗体、ヒト化抗体、完全ヒト抗体、抗体断片などを含む。

【0046】

抗体断片は、Fab断片、Fab'断片、F(ab')₂断片、およびFv断片；ディアボディ；直鎖抗体；一本鎖抗体分子、例えばsc-Fv；ドメイン抗体；および抗体断片から形成された多重特異性抗体を含む。概して、抗体断片または誘導体は、その標的に対する親和性を少なくとも10%保持し、例えば、解離平衡結合定数（K_d）における10倍を超えない変化を保持する。好ましくは、抗体断片または誘導体は、少なくとも、その結合親和性の25%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%もしくは100%（以上）を保持するが、所望の生物学的効果を発揮するために十分な親和性を有する任意の結合断片が、有用である。また、特定される場合、抗体断片は、その生物学的活性を実質的に改変しない保存的アミノ酸置換を有する配列改変体を含み得ることも意図される。

【0047】

「TSLPアンタゴニスト」は、何らかの方法でTSLPの活性を阻害する分子である。いくつかの実施形態において、TSLPアンタゴニストは、TSLPレセプターを介したTSLPシグナル伝達を、例えばTSLPまたはそのレセプターに結合することによって阻害する、抗体または抗原結合断片である。他の実施形態において、TSLPアンタゴニストは、低分子またはポリヌクレオチド、例えばアンチセンス核酸もしくはsiRNAである。別の実施形態において、TSLPアンタゴニストは、可溶性TSLPレセプターまたはTSLP-IgG融合タンパク質である。

【0048】

モノクローナル抗体は、具体的に、所望の生物学的活性を示す限り、重鎖および/または軽鎖の一部が、特定の種由来の抗体における対応の配列と同一であるかもしくは相同であるか、または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属し、鎖の残部は、別の種由来の抗体における対応の配列と同一であるかもしくは相同であるか、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する、「キメラ」抗体（免疫グロブリン）、ならびにこのような抗

10

20

30

40

50

体の断片を含む。米国特許第4,816,567号; Morrisonら(1984年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855。

【0049】

「ドメイン抗体」は、重鎖の可変領域または軽鎖の可変領域のみを含む、免疫学的に機能的な免疫グロブリン断片である。いくつかの場合、2種以上の V_H 領域は、ペプチドリンカーと共有結合して、二価ドメイン抗体を作る。二価ドメイン抗体の2つの V_H 領域は、同一または異なる抗原を標的し得る。

【0050】

「二価抗体」は、2つの抗原結合部位を含む。いくつかの場合、2つの結合部位は、同じ抗原特異性を有する。しかし、二価抗体は、二重特異性であってもよい。

10

【0051】

本明細書で使用される場合、用語「単鎖Fv」もしくは「scFv」抗体は、抗体の V_H ドメインおよび V_L ドメインを含む抗体断片をいい、ここで、これらのドメインは、1つのポリペプチド鎖内に存在する。一般的に、Fvポリペプチドは、 V_H ドメインと V_L ドメインとの間のポリペプチドリンカーをさらに含み、これは、scFvが抗原結合のための所望の構造を形成することを可能にする。scFvの概説については、Pluckthun(1994年) THE PHARMACOLOGY OF MONOCLONAL ANTIBODIES、vol. 113、Rosenburg and Moore編、Springer-Verlag、New York、pp. 269-315を参照されたい。

20

【0052】

本明細書で、モノクローナル抗体はまた、ラクダ化(camelized)ードメイン抗体も含む。Muyldermansら(2001年) Trends Biochem. Sci. 26:230; Reichmannら(1999年) J. Immunol. Methods 231:25; WO94/04678; WO94/25591; 米国特許第6,005,079号を参照されたい。1つの実施形態において、本発明は、ードメイン抗体が形成されるように改変された2つの V_H ドメインを含むードメイン抗体を提供する。

【0053】

本明細書で使用される場合、用語「ディアボディ」は、2つの抗原結合部位を有する小抗体断片をいい、この断片は、同一のポリペプチド鎖において軽鎖可変ドメイン(V_L)に接続した重鎖可変ドメイン(V_H)を含む(V_H-V_L または V_L-V_H)。同じ鎖上で2つのドメインの間を対にすることが可能な短さのリンカーを用いることにより、ドメインは、別の鎖の相補的ドメインと対になることを強いられて、2つの抗原結合部位を作る。ディアボディは、例えば、EP404,097; WO93/11161; およびHolligerら(1993年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448においてより完全に記載される。操作された抗体改変体の概説については、一般に、HolligerおよびHudson(2005年) Nat. Biotechnol. 23:1126-1136を参照されたい。

30

【0054】

本明細書で使用される場合、用語「ヒト化抗体」は、非ヒト(例えば、マウス)抗体ならびにヒト抗体に由来の配列を含む抗体の形態をいう。このような抗体は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小の配列を含む。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つの、概して2つの可変ドメインの、実質的に全てを含み、ここで、これらの非ヒト免疫グロブリンに対応する超可変ループの全てまたは実質的に全て、およびFR領域の全てまたは実質的に全ては、ヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン、概して、ヒト免疫グロブリンの定常領域(Fc)の少なくとも一部を含んでもよい。接頭語「hum」、「hu」または「h」は、親げっ歯類抗体からヒト化抗体を識別するために必要な場合に、抗体クローン命名に加えられる(これらの同じ命名はまた、文脈に依存して、特定のタンパク質のヒト形態を示し得る)。げっ歯類抗体のヒト化形態は、一

40

50

般に、親げっ歯類抗体の同じCDR配列を含むが、ヒト化抗体の親和性を増大させるため、安定性を増大させるため、または他の理由で、特定のアミノ酸置換が含まれてもよい。

【0055】

抗体はまた、変更されたエフェクター機能を提供するために改変された（またはブロックされた）、Fc領域を有する抗体を含む。例えば、米国特許第5,624,821号；WO2003/086310；WO2005/120571；WO2006/0057702；Presta（2006年）Adv. Drug Delivery Rev. 58：640-656を参照されたい。このような改変は、診断および治療において有益であり得る効果を有する、免疫系の種々の反応を増大するかまたは抑制するために使用され得る。Fc領域の改変は、アミノ酸変更（置換、欠失および挿入）、グリコシル化または脱グリコシル化、および複数のFcの追加を含む。Fcに対する変更はまた、治療抗体における抗体の半減期を変え得る。より長い半減期は、より少ない頻度の投薬をもたらし得、利便性の増大および材料の使用の削減を同時にもたらし得る。Presta（2005年）J. Allergy Clin. Immunol. 116：731、734-35を参照されたい。

10

【0056】

抗体はまた、完全なエフェクター機能を提供するインタクトなFc領域を有する抗体を含み、例えば、標的細胞において補体依存性細胞障害（CDC）または抗体依存性細胞障害（ADCC）を誘導する、ヒトイソ型IgG1の抗体である。

【0057】

20

本発明の抗体はまた、細胞障害性ペイロード、例えば細胞障害性薬剤または放射性核種にコンジュゲートした抗体も含む。例示的な細胞障害性薬剤としては、リシン、ビンカルカロイド、メトトレキサート、シュードモナス外毒素、サポリン、ジフテリア毒素、シスプラチン、ドキソルビシン、アブリン毒素、ゲロニンおよびヨウシュヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質が挙げられる。本発明の抗体による免疫治療における使用のための例示的な放射性核種としては、¹²⁵I、¹³¹I、⁹⁰Y、⁶⁷Cu、²¹¹At、¹⁷⁷Lu、¹⁴³Prおよび²¹³Biが挙げられる。例えば、米国特許出願第2006/0014225号を参照されたい。

【0058】

用語「完全ヒト抗体」は、ヒト免疫グロブリンタンパク質配列のみを含む抗体をいう。完全ヒト抗体は、マウス、マウス細胞またはマウス細胞由来のハイブリドーマにおいて産生される場合、マウス炭水化物鎖を含み得る。同様に、「マウス抗体」または「ラット抗体」は、それぞれ、マウスまたはラットの免疫グロブリン配列のみを含む抗体をいう。完全ヒト抗体は、ヒトにおいて、ヒト免疫グロブリン生殖細胞系配列を有するトランスジェニック動物において、ファージディスプレイまたは他の分子生物学的方法によって、作製され得る。

30

【0059】

「有効量」は、医学的条件の症候または徴候を寛解させるかまたは予防するために十分な量を含む。このような有効量は、必ずしも、このような症候または徴候を完全に寛解させるかまたは予防しなくてもよい。有効量はまた、診断を可能にするかまたは容易にするために十分な量も意味する。特定の患者または獣医学被検体のための有効量は、処置される状態、患者の全体的健康状態、投与の方法、経路および用量ならびに副作用の重篤度などの因子に依存して変動し得る。例えば、米国特許第5,888,530号を参照されたい。有効量は、最大用量であってもよく、または重要な副作用または毒性効果を避ける用量プロトコールであってもよい。有効量は、概して、100%が正常被検体によって示される診断パラメータとして規定される場合、少なくとも5%、通常、少なくとも10%、より通常には、少なくとも20%、最も通常には、少なくとも30%、好ましくは、少なくとも40%、より好ましくは、少なくとも50%、最も好ましくは、少なくとも60%、理想的には、少なくとも70%、より理想的には、少なくとも80%、ならびに最も理想的には、少なくとも90%、診断測定値またはパラメータの改善をもたらす。例えば、

40

50

Maynardら(1996年) A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice, Interpharm Press, Boca Raton, FL; Dent(2001年) Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ., London, UKを参照されたい。

【0060】

「アレルギー性疾患」は、免疫系の過敏性障害によって引き起こされる任意の疾患をいう。これは、限定しないが、例えば、喘息、アトピー性皮膚炎、魚鱗癬早産症候群(Ichthyosis Prematurity Syndrome)、アレルギー性鼻炎、好酸球性食道炎およびネザートン症候群が挙げられる。

10

【0061】

本明細書で使用される場合、「ポリメラーゼ連鎖反応」または「PCR」は、微量な、核酸、例えばRNAおよび/またはDNAの特定の部分が、増幅される手順または技術をいい、例えば、米国特許第4,683,195号に記載される。一般的に、目的の領域の末端からの配列情報またはそれ以上が、オリゴヌクレオチドプライマーが設計可能であるように、利用可能でなければならない；これらのプライマーは、増幅されるテンプレートの反対の鎖に対し、配列において同一であるか、または類似である。2つのプライマーの5'末端ヌクレオチドは、増幅される材料の末端と一致し得る。PCRは、全ゲノムDNAおよび全細胞性RNAから転写されたcDNA、バクテリオファージまたはプラスミド配列などから、特異的RNA配列、特異的DNA配列を増幅するために使用され得る。一般的に、Mullisら(1987年) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 51:263; Erlich編(1989年) PCR TECHNOLOGY (Stockton Press, N.Y.)を参照されたい。本明細書で使用される場合、PCRは、核酸の特定の部分を増幅または作製するためのプライマーおよび核酸ポリメラーゼとして既知の核酸の使用を含む、核酸試験サンプルを増幅するための、唯一ではないが、1つの核酸ポリメラーゼ反応方法の例であると考えられる。

20

【0062】

「特異的に」または「選択的に」結合する、は、リガンド/レセプター、抗体/抗原または他の結合対に対していう場合、タンパク質の異種集団および他の生物におけるタンパク質の存在において限定的である結合反応を示す。従って、指定の条件下で、特異的リガンドは、特定のレセプターに結合し、サンプル中に存在する他のタンパク質には有意な量で結合しない。本明細書で使用される場合、抗体は、所定の配列を含むポリペプチド配列を含むポリペプチドに結合する場合に所定の配列を含むポリペプチドに特異的に結合し、このポリペプチド配列を含まないタンパク質には結合しないといえる。

30

【0063】

企図される方法の抗体、または抗体の抗原結合部位由来の結合組成物は、無関係の抗原に対する親和性よりも、少なくとも2倍大きく、好ましくは少なくとも10倍大きく、より好ましくは少なくとも20倍大きく、そして最も好ましくは少なくとも100倍大きい親和性で、その抗原に結合する。好ましい実施形態において、抗体は、例えば、スクヤチャード解析によって決定される場合、約 10^9 リットル/molより大きな親和性を有する。Munsenら(1980年) Analyt. Biochem. 107:220-239。

40

【0064】

II. 概論

本発明は、TSLP処置のためのバイオマーカー、またはアレルギー性疾患(例えば、アトピー性皮膚炎または喘息)のバイオマーカーとしての、IL-19の使用を提供する。IL-19は、IL-10サイトカインサブファミリーに属する周知のサイトカインである。ヒトにおいて、2つの異なるスプライス改変体が、同定されている(GenBank登録番号NM_153758.2およびNM_013371.3)。本明細書で使用される場合、用語「IL-19」は、IL-19のいずれかのイソ型をいう。

50

【0065】

IL-19は、いくつかの文脈においてバイオマーカーとしての使用を見出され得る。これは、アレルギー性疾患（例えば、アトピー性皮膚炎または喘息）を診断する際、または疾患の重症度について被検体をステージ分類する際に使用され得る。

【0066】

IL-19は、TSLPアンタゴニストによる処置にตอบสนองしやすい患者下位集団を選択するためのバイオマーカーとしての使用を見出され得る。本発明は、動物がTSLPアンタゴニスト抗体によって処置された場合に、IL-19レベルが非疾患レベルに戻ることを示す。従って、高いレベルのIL-19を有するアレルギーの被検体は、TSLPアンタゴニストにより非疾患レベルにバイオマーカーのレベルを戻すための治療のための候補となりやすいと考えられ得る。逆に、高いレベルのIL-19を有さないアレルギーの被検体は、TSLPアンタゴニストによる処置のための候補になりにくい場合がある。

10

【0067】

IL-19はまた、例えばTSLPアンタゴニストによる、処置を受ける被検体におけるバイオマーカーとして、TSLP経路の遮断を確認するため、処置の効力（および必要な場合治療レジメンの変更）を評価するため、および一般的に患者の進行をモニタリングするための、使用を見出され得る。結果が、所定の治療レジメンが患者における標的経路に効果的に結合していることを示し、治療効果をまだ提供できていない場合、TSLPシグナル伝達経路は、この患者において実際の有用性は比較的小さい場合がある。

【0068】

20

IL-19はまた、診療所における患者の管理におけるバイオマーカーとして、例えば、必要な場合に治療レジメンの変更を告げるための使用を見出され得る。臨床医は、IL-19のレベルをモニタリングし、TSLPアンタゴニストによる投薬を増量すべきか、減量すべきか、またはより多いもしくは少ない頻度にすべきか、現行の治療に対する患者の応答の程度に応じて決定することを助け得る。投与の頻度の低下は、時間枠が1回の投薬間隔よりも長い場合、所定の期間にわたって被検体が受ける薬物の低減した「用量」を構成し得ることに留意されたい。IL-19のレベルの測定は、標準的臨床的疾患手段（これらのうちのいくつかは、少なくとも部分的に、症候の緩和に依存する）を用い得るよりも初期の（すなわち、処置の後の早い）時点で、TSLPアンタゴニストによる処置に対して、被検体が好ましく応答することを決定し得るという利点を有する。非応答者からの応答者の初期の識別は、より初期の投薬の変更または中断を可能にする。治療レジメンの初期の変更は、処置の成功までの時間を短縮し得るか、または効果の無い薬物への不必要な曝露の危険を低減し得る（同時に、費用および副作用も低減し得る）。

30

【0069】

所定の治療レジメンの効力の評価は、患者のケアの管理のために重要であり、臨床試験の場合、潜在的な治療剤の評価に不可欠である。

【0070】

III. TSLPアンタゴニスト

アレルギー性疾患は、TSLPのアンタゴニストを用いて処置され得る。TSLPのアンタゴニストとしては、薬剤、例えば、TSLPもしくはそのレセプターに結合する抗体またはその断片が挙げられる。ヒトTSLPの配列は、例えば、GenBank登録番号CBX74361において見出される。

40

【0071】

TSLPレセプターは、TSLPR (CRLF2) および IL7R α サブユニットの2つのサブユニットからなる。Rech et al., J. Immunol., 167: 336-343 (2001年)。

【0072】

1つの実施形態において、TSLPアンタゴニストは、本発明の譲受人に譲渡された国際特許出願公開番号WO2008/076321またはWO2011/056772において開示されたヒト化抗体の重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインを含む、抗ヒトT

50

S L P 抗体である。

【 0 0 7 3 】

種々の実施形態において、本発明の T S L P アntagゴニストは、抗体の抗原結合断片、例えば本明細書で挙げた任意の T S L P アntagゴニスト抗体の断片を含む。このような断片としては、限定しないが、F a b、F a b'、F a b' - S H、F v、s c F v、F (a b')₂、ナノボディ、およびディアボディが挙げられる。

【 0 0 7 4 】

別の実施形態において、T S L P アntagゴニストは、可溶性 T S L P R レセプターである。例えば、A l - S h a m i ら、J E M 2 0 2 : 8 2 9 - 8 3 9 (2 0 0 5 年) を参照されたい。

10

【 0 0 7 5 】

別の実施形態において、T S L P アntagゴニストは、T S L P R - F c 融合タンパク質である。例えば、Z h a n g ら、C l i n . E x p . I m m u n o l . 1 6 4 : 2 5 6 - 2 6 4 (2 0 1 1 年) を参照されたい。

【 0 0 7 6 】

I V . バイオマーカーの発現レベルの決定

本明細書で記載される方法は、一般に、バイオマーカーの発現レベルを決定するために適用可能であり、I L - 1 9 の発現レベルを測定するために使用され得る。

【 0 0 7 7 】

1 つの態様において、本発明は、被検体由来のサンプルが対照のレベルと比較してバイオマーカーの増加したレベルを示すかまたは低下したレベルを示すかを決定することを含む。バイオマーカーレベルは、当分野で公知の任意の方法によって定量され得る。この方法としては、質量分析、ウェスタンブロット、I H C または E L I S A が挙げられるが、これらに限定されない。本発明のバイオマーカーのレベルを決定するための方法としては、本明細書で開示された方法およびその均等物が挙げられるが、これらに限定されない。タンパク質レベルでのバイオマーカーのレベルの決定は、遺伝子発現レベルに対し、簡便である。何故なら、タンパク質は、例えば、血漿中および糞便中のように、非侵襲的に検出され得るか、または最小の侵襲手順によって検出され得るからである。

20

【 0 0 7 8 】

1 つの実施形態において、バイオマーカータンパク質レベルは、例えば、以下のようなウェスタンブロット (イムノブロット) によって決定される。生物学的サンプルは、1 0 % ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル上で電気泳動され (S D S - P A G E)、ニトロセルロースまたはポリビニリデンフルオリド (P V D F)、何らかの他の好適な膜の上に移される (例えば、電気ブロッティングされる)。次いで、この膜は、評価されるバイオマーカータンパク質に結合する一次抗体と共にインキュベートされ、洗浄され、そして、一次抗体に結合する検出可能に標識された二次抗体と共にインキュベートされていてもよく、そして再び洗浄されていてもよい。その後、二次抗体の存在 (または、検出可能に標識されている場合は一次抗体) が、例えば、放射活性、蛍光、発光、酵素活性 (例えば、アルカリホスファターゼまたは西洋ワサビペルオキシダーゼ) または当業者に公知の他の検出技術もしくは可視化技術によって検出される。1 つの実施形態において、検出可能な標識は、オートラジオグラフを生成するために使用され、これは、スキャンされ、分析される。他の実施形態において、ゲルは、オートラジオグラフの使用なしで、直接画像化される。観察されたバイオマーカーバンド強度は、サンプル中に存在する対照タンパク質、例えばアクチンまたはチューブリンに対して正規化されていてもよい。

30

40

【 0 0 7 9 】

なお別の実施形態において、バイオマーカーレベルは、E L I S A によって決定される。1 つの実施形態であるサンドイッチ E L I S A において、目的のバイオマーカーに特異的な一次抗体 (「捕捉抗体」) を、プレート (例えば、9 6 ウェルマイクロタイタープレート) のウェル内にコートし、次いで、このプレートを、例えば、ウシ血清アルブミン (B S A) またはカゼインによってブロックする。サンプル中に存在するバイオマーカーポ

50

リペプチドが固定された抗体に結合できるように、標準またはサンプルを、ウェル中にピペットで入れる。ウェルを洗浄し、そして（二次）ビオチン化抗バイオマーカ抗体を添加する。二次抗バイオマーカ抗体は、バイオマーカが一次抗体に結合している間にも、バイオマーカに結合可能でなければならない。他の実施形態において、二次抗体は、例えば、バイオマーカがマルチマーを形成する場合、一次抗体と同じである。いくつかの実施形態において、二次抗体は、別個の、架橋反応しない抗体である。なお他の実施形態において、二次抗体は、例えば、検出されるバイオマーカがヘテロダイマー複合体として存在する場合（例えば、カルプロテクチン）、完全に別個のポリペプチド鎖に結合する。未結合のビオチン化抗体を洗い流した後、HRP-コンジュゲートしたストレプトアビジン（または何らかの機能的に同等の検出試薬）を、ウェルにピペットで入れる。あるいは、ビオチン化抗体を、ストレプトアビジン工程の必要性を取り除く、直接検出可能な標識を有する抗体と置き換えてもよい。ウェルを再び洗浄し、TMB基質溶液をウェルに添加して、結合したバイオマーカの量に比例して発色させる。停止溶液を反応物に加える（反応物の色が青から黄に代わる）、色の強度を450nmで測定する。例えば、Human IGF-BP-2 ELISA Kit from RayBiotech, Inc.; Norcross, GA, USA; および Angervola (1992年) Biochem. Biophys. Res. Comm. 189: 1177; Kratzら (1992年) Exp. Cell Res. 202: 381; および Frostら (1991年) J. Biol. Chem. 266: 18082を参照されたい。既知の濃度のバイオマーカを用いた標準曲線が、サンプル中のバイオマーカの濃度の決定のために使用され得る。

10

20

【0080】

当業者に周知の他のELISAフォーマット、例えば、マイクロタイターウェル内にバイオマーカを固定するために捕捉抗体ではなくプレートに対する直接吸着を用いるフォーマットもまた、使用され得る。サンプル中のバイオマーカが、プレートに結合するためのアッセイ溶液中に存在する標識バイオマーカ分子と競合するその能力によって検出される、競合的ELISAもまた、使用され得る。目的のサンプル中にバイオマーカポリペプチドの濃度が高いほど、標識されたバイオマーカの結合をより多く遮断するので、観察されるシグナルは低下する。

【0081】

水性サンプルが毛管作用によって表面上を流される、ラテラルフローフォーマットイムノアッセイ（イムノクロマトグラフィックアッセイ）もまた、使用され得る。この表面は、検出試薬（例えば、検出可能標識抗体）が配置された第1ゾーンおよび固定した捕捉試薬（例えば、抗体）を含む第2ゾーンを有する。捕捉試薬と検出試薬との両方は、目的のバイオマーカに特異的に結合する。第1ゾーンを横切ってサンプルが流れる際、検出試薬は可溶化され、サンプル中に存在する任意の分析物（バイオマーカ）に結合し、複合体を形成する。サンプルは流れ続けて、任意の複合体が捕捉試薬に結合し濃縮する、第2ゾーンに接触する。有色粒子が検出可能標識として使用される場合、第2ゾーンにおける粒子の濃度は、可視の有色シグナルを生じる。次いで、分析物（バイオマーカ）のレベルが、第2ゾーンのシグナルの強度によって、定性的または定量的に評価される。

30

40

【0082】

バイオマーカレベルはまた、ラジオイムノアッセイ（RIA）によっても決定され得る。RIAは、既知の量の放射活性の（例えば、 ^{131}I および ^{125}I -チロシンで標識された）分析物を、目的のサンプル由来の未標識すなわち「冷」分析物の存在下または非存在下でこの分析物に対する抗体と混合すること、および置いた標識分析物の量を測定することを含む。この場合、この分析物は、本発明のバイオマーカである。サンプル中の分析物は、標識分析物と競合し、その抗体への結合を低下する。未結合の分析物を除去し、標識結合分析物を定量する。未結合分析物は、例えば、分析物-抗体複合体の、一次抗体を指向する二次抗体によって沈殿させることにより、除去できる。別の実施形態において、分析物特異的抗体が、試験管もしくはマイクロタイターウェルの壁または何らかの

50

他の固相基板に固定化され得るので、未結合分析物は、単純に洗い流せる。

【0083】

任意の他の好適なアッセイフォーマット、例えばネフェロメトリー/比濁分析、具体的には、浮遊する不溶性の抗原（バイオマーカー）/抗体複合体によって生じる光拡散の測定を含む免疫比濁分液が、目的のバイオマーカーを検出するために使用され得る。例えば、米国特許第4,605,305号を参照されたい。他の方法としては、放射免疫拡散（RID）が挙げられ、これは、例えば、アガー/アガローススワブにおける抗原（バイオマーカー）と抗体との間の複合体の形成によって作られる沈降素の輪の観察である。例えば、米国特許第3,947,250号を参照されたい。このようなフォーマットは、一般に、臨床的アッセイによって使用される。

10

【0084】

他の実施形態において、バイオマーカーは、質量分析法によって検出されてもよい。質量分析法としては、飛行時間、磁気セクタ、クワドラポールフィルタ、イオントラップ、イオンサイクロトロン共鳴、静電セクタ分析機およびこれらの混成が挙げられる。このような実施形態において、サンプル中のバイオマーカーは、同定され得、そして、サンプル中に添加したアイソトープ標識された同一の合成ペプチドを用いて、定量され得る。1つの実施形態において、質量分析機は、レーザー脱離/イオン化質量分析機である。レーザー脱離/イオン化質量分析において、分析物は、質量分析プローブの表面上に置かれ、これは、分析物をイオン化させる。レーザー脱離質量分析機は、概して、紫外線レーザーまたは赤外線レーザーからのレーザーエネルギーを用いて、イオン光学アセンブリによる検出のために、分析物を揮発させてイオン化させる。別の質量分析実施形態において、サンプルは、クロマトグラフィー分画されていてもよく、次いでバイオマーカーは、生物親和性樹脂、例えば、抗体によって誘導体化された樹脂上に捕捉される。次いで、バイオマーカーは、樹脂から溶出され、MALDI、エレクトロスプレー、または質量分析のための別のイオン化方法によって分析される。なお別の実施形態において、サンプルは、アニオン交換樹脂上で分画されて、MALDIまたはエレクトロスプレー質量分析によって直接検出される。

20

【0085】

他の実施形態において、バイオマーカー遺伝子の遺伝子発現のレベルが、決定されてもよい。核酸レベルの遺伝子発現は、当分野で公知の任意の方法によって定量され得、これらとしては、ノーザンブロット分析、遺伝子チップ発現分析またはRT-PCR（実時間ポリメラーゼ連鎖反応）が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、Smithら（1993年）J. Clin. Endocrin. Metab. 77（5）：1294；Cohenら（1993年）J. Clin. Endocrin. Metab. 76（4）：1031；Dawczynskiら（2006年）Bone Marrow Transplant. 37：589；およびClemmonsら（1991年）J. Clin. Endocrin. Metab. 73：727を参照されたい。

30

【0086】

ノーザンブロット分析は、mRNAの検出および定量の標準的方法である。RNAは、サンプルから単離されて、アッセイされる（例えば、結腸粘膜）。RNAは、変性条件下でアガロースゲル中の電気泳動によって大きさで分離され、膜に移され、架橋され、そして標識プローブとハイブリダイズする。本発明の1つの実施形態において、ノーザンブロット分析は、ハイブリダイゼーションプローブとして、放射性標識された核酸または非同位体的に検出可能に標識された核酸を含む。本発明の1つの実施形態において、RNAサンプルを保持した膜は、非特異的バックグラウンドを低減するために、プローブハイブリダイゼーションの前に、プレハイブリダイズされる、すなわち「ブロック」される。ハイブリダイズしなかったプローブは、洗浄によって除去する。洗浄のストリンジェンシーは、当分野で周知のように調整され得る。放射性標識された（または発光）プローブが使用される場合、プロットは、オートラジオグラフィーのフィルムに、例えば、シンチラントの存在下で、曝露され得る。非同位体的プローブが使用される場合、プロットは、概して

40

50

、非同位体的検出試薬によって処理されて、フィルム曝露の前に、検出可能プローブシグナルを現像しなければならない。アッセイされる遺伝子の発現の相対レベルは、例えば、濃度測定法または目測を用いて定量され得る。観察された発現レベルは、大量に発現される対照遺伝子（例えば、ユビキチン）の発現レベルに対して正規化され得る。

【0087】

別の実施形態において、バイオマーカー発現は、遺伝子チップ（プローブアレイ）を用いて決定される。目的の生物学的サンプルが調製されて、チップにハイブリダイズされ、これは、その後、洗浄され、染色されてスキャンされる。次いで、データは、処理される。標的調製物は、試験されるサンプル由来のピオチン化標的RNAの調製を必要とし得る。標的ハイブリダイゼーション工程は、断片化した標的、プローブアレイ対照、BSAおよびニシン精子DNAを含むハイブリダイゼーションカクテルの調製を含み得る。1つの実施形態において、標的は、16時間にわたってプローブアレイにハイブリダイズされ、このプローブは洗浄され、ストレプトアビジン・フィコエリトリンコンジュゲートによって染色され、そして570nmでの光の放射についてスキャンされる。570nmで放出された光の量は、プローブアレイ上の各位置において結合した標的に比例する。市販の装置およびソフトウェアを用いたコンピューター分析が、可能である（Affymetrix、Santa Clara, CA, USA）。

【0088】

異なる実施形態において、バイオマーカー発現は、実時間PCR（RT-PCR）を用いて決定される。本発明のバイオマーカーのRT-PCRに必要なプライマーおよびプローブの設計は、本明細書で提供される配列に照らして、当分野の技術範囲内である。1つの実施形態において、当分野で周知であるように、RNAは、RNAse非含有条件下で単離され、逆転写酵素を用いてDNAに変換される。RT-PCRプローブは、DNAポリメラーゼ（例えば、Taq）の5'-3'ヌクレアーゼ活性に依存し、標的アンプリコン（バイオマーカー遺伝子）にハイブリダイズしたオリゴヌクレオチドを加水分解する。RT-PCRプローブオリゴヌクレオチドは、5'末端に付着した蛍光レポーター染料および3'末端に結合したクエンチャー部分（またはその逆）を有する。これらのプローブは、PCR産物の内部領域にハイブリダイズするように設計される。増幅の間、ポリメラーゼの5'-3'ヌクレアーゼ活性は、プローブを開裂し、クエンチャー部分から蛍光染料を切り離す。蛍光は、各サイクルにおいて、多くのプローブが開裂するほど増大する。得られた蛍光シグナルを、標準的な市販の装置における増幅の間、実時間でモニタリングする。評価されるサンプル中のバイオマーカーRNAの量が、既知の量の増幅可能なRNAを含む標準と比較することによって、決定され得る。

【0089】

バイオマーカーまたはバイオマーカー遺伝子発現は、市販のキットを用いて、または当分野で周知の供給業者から得た市販の抗バイオマーカー抗体によるカスタムアッセイを用いて、またはカスタムアッセイおよび本研究社によって惹起された抗体を用いて、検出され得る。

【0090】

当業者は、本明細書で開示された検出手段が、1つの状態から別の状態への物品の変換を生来含むことを認識する。概して、本明細書で開示される検出手段は、分析物（すなわち、検出される物質、例えばバイオマーカーポリペプチドまたはこのポリペプチドをコードするmRNA）の検出試薬（例えば、抗体または相補的核酸）との複合体に変換することを含む。例えば、ELISA、ウェスタンブロットなどの免疫学的検出手段は、バイオマーカーポリペプチドの、抗原-抗体複合体への変換を含み、この複合体形成は、検出に不可欠である。別の例において、増幅（例えば、TaqMan（登録商標））、サザン/ノーザンブロッティングおよびジーンチップベースの方法などのハイブリダイゼーションベースの検出手段は、一本鎖状態から二本鎖状態への、バイオマーカーをコードするmRNAの変換を含み、この複合体形成は、検出に不可欠である。

【0091】

本発明のいくつかの実施形態において、比較されるサンプルは、同じ被検体から得られ、従って、同程度「内部制御」される。このような実施形態において、タンパク質レベルまたは遺伝子発現レベルにおける変化を認める能力は、アッセイの生来の精度によってのみ限定され、個対個の変動性を含まない。従って、一被検体由来のサンプル間の僅かな相違は、個対個の変動性を含む類似のデータは有為でない場合であっても、統計学的に有為であり得る。

【0092】

V. データ分析

本発明のバイオマーカー（IL-19）の発現レベルは、比較されるサンプルに依存して、種々の目的のために使用され得る。この目的としては、疾患の診断、患者のステージ分類、疾患状態のモニタリング、TSLPアンタゴニストによる処置のための患者の選択、標的結合の確認、ならびに治療効力のモニタリングが挙げられるが、これらに限定されない。概して、このような方法は、目的の被検体（「被験体」）から得られるサンプルにおけるIL-19のレベルを「対照」におけるレベルと比較することを含む。本発明のバイオマーカーについて、より高いレベルは、疾患に関連するか、またはより重症な疾患状態に関連する。本明細書で使用される場合、「被検体におけるバイオマーカーのレベル」および類似の句は、被検体から得られたサンプル、例えば、皮膚、組織、血清、血液、尿、糞便などにおいて決定されたレベルをいう。

【0093】

本明細書で提供されたバイオマーカーの同定に関して、臨床医が、アレルギー性疾患を有する者と有さない者の両方の多くのヒト被検体の中で、IL-19のレベルを決定することは、当分野の技術範囲内である。このようなデータは、問題の薬物（例えば、TSLPアンタゴニスト抗体）の安全性および効力を評価する臨床試験の過程で蓄積される可能性が高い。このようなバイオマーカーデータは、多くの場合、臨床試験の経過において集められ、当分野において費やされた努力の通常レベル以下を表す。これらの基線データはまた、問題のアッセイの精度を決定する標準的な統計学的アプローチを用いる変動性について分析される。バイオマーカーレベルにおける相違、およびバイオマーカーを測定するために使用されるアッセイにおける統計学的変動性により、熟練の臨床医は、所定のサンプルにおけるバイオマーカーのレベルがTSLP遮断と一致しているか否かを判定可能である。

【0094】

本発明の広い範囲は、以下の実施例を参照して最もよく理解される。この実施例は、本発明を特定の実施形態に限定することを企図しない。

【実施例】

【0095】

実施例1

一般的方法

分子生物学における標準的方法が、記載される。Maniatisら（1982年）Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; SambrookおよびRussell（2001年）Molecular Cloning, 第3版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu（1993年）Recombinant DNA, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA。標準的方法はまた、Ausbelら（2001年）Current Protocols in Molecular Biology, Vols. 1-4, John Wiley and Sons, Inc. New York, NYにおいても見出され、これは、細菌細胞におけるクローニングおよびDNA突然変異誘発（Vol. 1）、哺乳動物細胞および酵母におけるクローニング（Vol. 2）、複合多糖およびタンパク質発現（Vol. 3）、およびバイオインフォマティク

ス (Vol . 4) を記載する。

【 0 0 9 6 】

免疫沈降、クロマトグラフィー、電気泳動、遠心分離および結晶化を含むタンパク質精製のための方法が、記載される。Coliganら(2000年)Current Protocols in Protein Science, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York。化学分析、化学的修飾、転写後修飾、融合タンパク質の産生、タンパク質の糖化が、記載される。例えば、Coliganら(2000年)Current Protocols in Protein Science, Vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., New York; Ausubelら(2001年)Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 3, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pp. 16.0.5 - 16.22.17; Sigma-Aldrich, Co. (2001年)Products for Life Science Research, St. Louis, MO; pp. 45 - 89; Amersham Pharmacia Biotech (2001年)BioDirectory, Piscataway, N. J., pp. 384 - 391を参照されたい。ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体の産生、精製および断片化が、記載される。Coliganら(2001年)Current Protocols in Immunology, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York; HarlowおよびLane(1999年)Using Antibodies, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; HarlowおよびLane、前出。リガンド/レセプター相互作用を性質決定するための標準的技術が、利用可能である。例えば、Coliganら(2001年)Current Protocols in Immunology, Vol. 4, John Wiley, Inc., New Yorkを参照されたい。

10

20

【 0 0 9 7 】

フローサイトメトリの方法は、蛍光活性化細胞選別検出システム(FACS(登録商標))を含めて、利用可能である。例えば、Owensら(1994年)Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ; Givan(2001年)Flow Cytometry, 第2版; Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro(2003年)Practical Flow Cytometry, John Wiley and Sons, Hoboken, NJを参照されたい。核酸を修飾するために好適な蛍光試薬は、核酸プライマーおよびプローブ、ポリペプチド、および抗体を含めて、例えば、診断試薬としての使用のために、利用可能である。Molecular Probes(2003年)Catalog, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; Sigma-Aldrich(2003年)Catalog, St. Louis, MO。

30

【 0 0 9 8 】

免疫系の組織学の標準的方法が、記載される。例えば、Muller-Harmelink(編)(1986年)Human Thymus: Histopathology and Pathology, Springer Verlag, New York, NY; Hiattら(2000年)Color Atlas of Histology, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA; Louisら(2002年)Basic Histology: Text and Atlas, McGraw-Hill, New York, NY。

40

【 0 0 9 9 】

統計学的分析は、市販のソフトウェアを用いて実施され得、これらとしては、JMP(登録商標)Statistical Discovery Software, SAS

50

Institute Inc., Cary, North Carolina, USA が挙げられるが、これに限定されない。

【0100】

バイオマーカーレベル（例えば、IL-19 のレベル）は、市販のキットまたは市販の抗体を用いて、以下の実施例に説明されるように決定され得る。他に示されない限り、市販のキット（例えば、ELISA キット）は、実質的に、製造業者に示唆されるように使用される。あるいは、ELISA および他の免疫学的アッセイは、市販の抗体を使用して展開されてもよく、または、抗体は、好適な抗体が市販されていないバイオマーカーに対して惹起されてもよい。バイオマーカー遺伝子発現は、市販のプロブもしくはプライマーを用いてモニタリングされてもよく、またはこのようなプロブもしくはプライマーは、本明細書で開示される核酸配列（配列表におけるもの、または登録番号として開示され、参考として組み込まれるもの）をベースにカスタム合成されてもよい。

10

【0101】

実施例 2

カルシボトリオール誘導型皮膚炎症は、抗 TSLP 抗体によって処置された IL-19 ノックアウトマウスにおいて軽減される

前に示された通り、TSLP は、カルシボトリオール（Vit D3 アナログ）の皮膚への投与後のケラチノサイトにおいて誘導され、アトピー性皮膚炎（AD）に相当する疾患をもたらす。Li M. ら、Proc. Natl. Acad. Sci. 103: 11736 (2006 年); Li M. ら、J. Invest. Dermatol. 129: 498 (2009 年) を参照されたい。

20

【0102】

IL-19 が AD の進行において役割を果たすか否かを決定するために、カルシボトリオール誘導型皮膚炎症を、野生型マウス（C57BL/6）および IL-19 ノックアウト（IL19 KO）マウスにおいて比較した。マウスの群に、単回用量の中性化 TSLP 抗体またはイソ型対照（40 mpk の 22E5（ラット抗マウス TSLP）または 5G5（ラット IgG2a イソ型対照抗体））を、カルシボトリオール処理を行う 1 日前に与えた。カルシボトリオールを、毎日与え、耳の膨張を、炎症の測定値として評価した。この研究において使用される抗 TSLP 抗体（22E5）は、標準的手順を用いて自ら開発したラット抗マウス TSLP 抗体（IgG2a/κ）であった。

30

【0103】

図 1 に示されるように、IL19 KO マウスは、wt マウスと比較して、耳の膨張の軽減を示した。TSLP mAb によって処置された動物もまた、wt マウスと比較して膨張における軽減を示したが、耳の膨張における最も大きな軽減は、やはり TSLP 抗体を受けた IL19 KO マウスにおいて見られた（図 1、右側パネル）。

【0104】

材料および方法

マウス

C57BL/6 および Balb/c マウス（6～8 週齢）を、Jackson Labs（Bar Harbour, ME）から購入した。IL-19 KO マウスを、以前に記載されたように作製し（Chan J. R. ら、J. Exp. Med. 203: 2577 (2003 年)）そしてさらに C57BL/6 バックグラウンドに対し 10 世代にわたって戻し交配した。全ての実験を、制度上のガイドラインに沿って、IACUC 承認プロトコルの下で実施した。

40

【0105】

ビタミン D 誘導型皮膚炎症

ビタミン D アナログカルシボトリオール（Tocris, Ellisville, MO）を、エタノール中に溶解し、終濃度 2 nmol/耳で、両側の耳に毎日投与した。対照動物は、エタノールのみを与えた。耳の膨張を、技術者用圧力計（Peacock, Japan）を用いて毎日測定し、そして血液を、4 日目および 8 日目に採集した。この血液

50

を、10,000rpmで5分間にわたって遠心分離して血清を分離し、これをELISAによって分析するまで-80℃で凍結させた。カルシポトリオール投与を、8日目(Balb/cマウス)または11日目(C57BL/6マウス)に停止し、耳を回収して、病理学的評価のために10%ホルマリン中で保存するか、またはmRNA抽出のために液体窒素中で直接凍らせた。

【0106】

実施例3

IL-19血清レベルは、TSLPの非存在下で低下する

実施例2において記載された動物由来の血清を、カルシポトリオール処理の4日目および8日目において採集し、特異的ELISAによって評価した。IL-19を、カルシポトリオール処理マウスの血清において高レベルで検出した。興味深いことに、TSLP抗体で処置されたマウスは、対照群と比較して、IL-19血清レベルにおいて有為な低下を示した(図2)。さらに、IL-19と同じファミリーのサイトカインでありIL-19と同じレセプター複合体に結合するIL-20は、同じ低下を示さなかった。実際に、IL-20の血清レベルは、異なる処置群の間で同じであり、このことは、IL-20は、TSLPとは独立して調節されることを示唆した。

10

【0107】

IL-19はまた、TSLP-R KOマウス由来の血清においても測定された。TSLP-R KOマウス(Balb/cバックグラウンド)を、Dr. W. Leonard, NIH, Bethesda, MDから得た(Al-Shami A.ら、J. Exp. Med. 200:159-168(2004年))。図3は、TSLPR KOマウスが、40mpkの中性化TSLP抗体(IC8、標準的手順を使用して自ら作製したラットIgG1抗マウスTSLP中性化抗体)で処置したカルシポトリオール処理マウスよりもなお低いIL-19の血清レベルを有したことを示す。カルシポトリオールで処理されたがイソ型対照(自ら作製し25D2と名付けたラットIgG1対照抗体)を与えられたマウスは、IL-19のレベルにおいて低下を示さない。エタノールおよびイソ型対照(25D2)で処理された対照群は、何ら炎症を示さず、従って、低いレベルのIL-19であった。「希釈剤」とラベルされたレーンは、抗体処方緩衝液(20mM 酢酸Na、7%ショ糖、pH5.5)中の0.1mg/mlの低過酸化剤Tween 20からなる対照を示す。

20

30

【0108】

マウスの群に、カルシポトリオール処理の1日前に、中性化TSLP抗体(22E5)の単回注射を、種々の用量(0.1mpk~120mpk)で与え、血清IL-19レベルを評価した。図4は、遮断TSLP Abの濃度の増大におけるIL-19の明らかな阻害を示すが、イソ型対照mAb(5G5)で処理されたマウスからの血清は、カルシポトリオール処理対照マウスと類似のIL-19レベルを有した。図4は、カルシポトリオール処理マウスの血清におけるIL-19の遮断TSLP Abによる阻害は、用量依存的事であることを示す。

【0109】

TSLPの血清レベルは、カルシポトリオール処理の4日目にピークを迎え、そしてゆっくりと下がる。IL-19とTSLPとの間の相互関係をさらに決定するために、用量および動態学研究を、増大した用量のTSLP Ab(0.1mpk~4mpkの22E5)を用い、および30分、3時間、1日から9日目まで毎日の異なる時点で血清を採集して、実施した。図5に示されるように、TSLPの非存在下では、僅かなIL-19しか血清中に分泌されない。しかし、TSLP濃度が4日目にそのピークに達すると、IL-19分泌が誘導され、さらに9日目まで増大する。同様に、処理マウスの耳皮膚におけるmRNAレベルは、IL-19と同じ傾向を示し、およびそのレセプターIL-20R1/IL-20R2はカルシポトリオール処理後4日目において誘導される。図6。

40

【0110】

材料および方法

50

E L I S A

マウスIL - 19についてのE L I S Aを、プレート(Nunc, Maxi-Sorp Rochester, NY)を100 μ l PBS中1 μ g/mlのラット抗マウスIL - 19 mAb(1155, IgG2a, 自ら作製)で室温で一晩コーティングすることによって実施した。1時間にわたって1% BSAでブロッキングした後、プレートを洗浄し、マウスIL - 19(R&D Systems, Minneapolis, MN)を標準として用いた。血清サンプルを、PBS 0.05% Tween-20中に希釈し、プレートを、2時間にわたって室温にてシェーカー上でさらにインキュベートした。洗浄後、ポリクローナルヤギ抗マウスIL - 19ビオチン(eBioScience, San Diego, CA)を、PBS-Tween中で1 μ g/mlにて添加した。プレートを、さらに2時間インキュベートし、洗浄し、そしてextravidin-ペルオキシダーゼ(Sigma, St. Louis, MO)を、500倍希釈にて添加した。30分間のインキュベーション後、プレートを洗浄し、TMB基質(Kirkegaard & Perry, Gaithersburg, MD)を加えた。反応を、1Mリン酸を用いて停止し、吸光度を、Vmaxプレートリーダー(Molecular Devices, Sunnyvale, CA)を用いて450~570nmにて読み取り、データを、SoftMax Proソフトウェアを用いて分析した。マウスIL - 20、マウスTSLPおよびヒトIL - 19を検出するE L I S Aを、R&D Systemsからのキットを用いて評価した。E L I S Aを、製造業者の指示に従って実施した。

10

20

【0111】

mRNA抽出および実時間定量的PCR

RNA抽出を、標準的技術を用いて実施し、そして遺伝子発現を、 $\Delta - \Delta C t$ 方法を用いて計算した。(ユビキチン-Ct目的の遺伝子についての平均サイクル閾値) $\times 10^4$ を使用して、値を正規化した。

【0112】

実施例4

カニクイザル皮膚における皮膚病変はIL - 19を含む

IL - 19は、マウス以外の種においても検出され得るか否かを決定するために、カニクイザル由来の皮膚を試験した。これらのサルは、チリダニによって引き起こされる喘息における研究の一部であり(Ayanoglu G.ら、Eur. Respir. J. 37:541(2011年))、研究の過程の後期の間には、同時にアトピー性皮膚炎皮膚病変の発症も見出された。試験した遺伝子の他に、36の遺伝子(IL - 19を含む)を、少なくとも1つの病変において情報制御した(データ示さず)。次いで、カニクイザル病変皮膚由来のmRNAを、カルシポトリオール処理マウス耳から単離されたmRNAと比較した。IL - 19を含む数個の遺伝子が、両種において誘導されることが見出された。

30

【0113】

材料および方法

カニクイザル皮膚

皮膚サンプルを、チリダニ(HDM)誘導型喘息における研究(Ayanoglu G.ら、Eur. Respir. J. 37:541(2011年))に参加しているカニクイザルであるマカクから得た。(2年を超える)経時的に、この動物は、アトピー性皮膚炎に似た同時の病変を発症した。病変生検をとり、即時に液体窒素中で冷凍した。サンプルを、-80で、処理まで保存し、TaqmanによるmRNA発現について分析した。

40

【0114】

実施例5

ヒト組織培養物におけるIL - 19

ヒトサンプルにおいてIL - 19を評価するために、形成手術を受けた患者由来の皮膚を、2~3mm³の小片に切り、培地のみ、またはTSLPの最適な分泌を促進することが示されているサイトカイン混合物(IL - 4、IL - 13、TNF - α)含有培地の中

50

で、Millicell組織培養インサート（組織培養物）上に置いた。種々の時点で上清を回収し、特異的ELISAを用いて分析した。図7に示されるように、IL-19は、これらの上清から、培養の48時間と72時間との間で、IL-19濃度において閾値のほぼ3倍近くの増大が容易に検出可能であった。データは、これらの培養物におけるIL-19の時間依存的誘導を明らかにする。

【0115】

次の工程において、増大する濃度（5 ng/ml ~ 20 µg/ml）の中性化TSLP抗体を、サイトカイン混合物を含有する培養物に添加し、種々の時点で上清を収集した。図8は、より高い濃度のTSLP抗体（1 µg/mlを超える）が、これらの皮膚培養物中で、IL-19のレベルを有意に低下させたことを示す。

10

【0116】

材料および方法

ヒト皮膚および組織培養物

ヒト皮膚を、Stanford Hospitalにおいて形成手術（腹壁形成）を受ける承諾を得たドナーから得た。皮膚サンプルを、メス刃を用いて2 ~ 3 mm³の薄片に切り、0.4 µm Millicell培養インサート（Millipore, Billerica, MA）上に置いた。皮膚組織片を、抗生物質、2 mM L-グルタミンおよび10%ウシ胎仔血清を補足したRPMI 1640中、培地のみの中、またはIL-4（20 ng/ml）、IL-13（100 ng/ml）およびTNF-α（100 ng/ml）を補足した培地中で、培養した。組織を、空気-液体間期において保存した。上清を、示された時点で回収し、特異的ELISAを用いて解析するまで凍結し続けた。いくつかの研究において、TSLP抗体（クローン23B12、ヒト化IgG1、自ら作製したロット87ACV）またはイソ型対照抗体（Xolair, humanized IgG1, ロット76ABW, Genentech, South San Francisco, CA）を、サイトカインと共に加えた。

20

【0117】

実施例6

アトピーパッチ試験を受ける患者におけるIL-19およびTSLPの発現

アトピー性皮膚炎患者を、プロトコールに含め、ここで、病変皮膚および非病変皮膚の生検を得、そして生検読み出しによるアトピーパッチ試験（APT）を実施した。各生検を、2つの部分に分けた：1つを包埋して免疫組織化学のために使用し、そして他方を凍結して、遺伝子発現分析のために用いた。アトピー性皮膚炎患者は、上皮においてIgEを保有するランゲルハンス細胞を有するので、非病変皮膚におけるアレルゲンの適用（APT）は、アレルゲン適用の場所において、48 ~ 72時間以内に、概して、巨視的に視認可能な湿疹性の反応を誘発する。この反応は、炎症細胞、主にTh2型の細胞の流入により、顕微鏡によって性質決定される。湿疹性の反応は、72 ~ 96時間後に自然に消える。

30

【0118】

表1は、この研究に組み込まれた10人の患者由来の、qPCRによって決定されるIL-19 mRNA発現データを示す。患者1、2、3、4、9および10において、IL-19 mRNA発現を、病変皮膚由来の生検およびAPT試験に曝された皮膚由来の生検において、有意に情報制御した。さらに、TSLPは、同じ生検において、免疫組織化学によって検出可能であった（データは示さず）。患者5、6、7および8は、APT試験に対する非応答者であると考えられ、24時間目に採取したその生検は、IL-19の高いレベルを示さない。興味深いことに、これらの患者（5、6、7および8）の同じ生検において、これらの生検サンプル中で、TSLPの発現は、免疫組織化学によって検出されなかった。

40

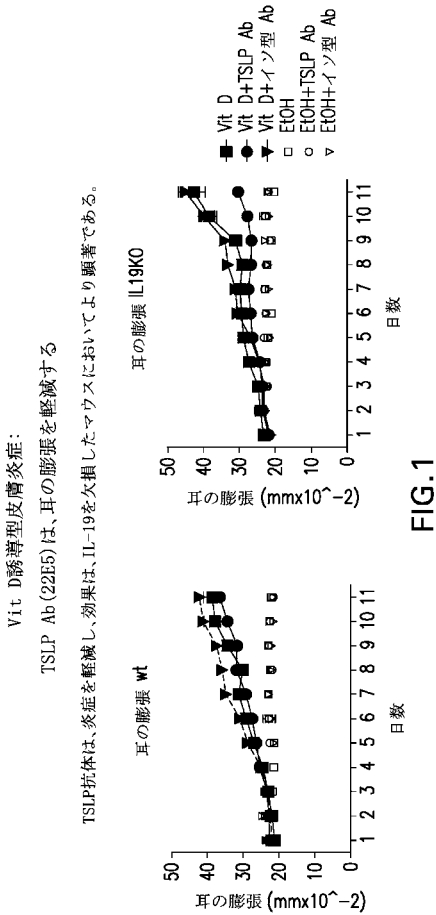
【0119】

【表 1】

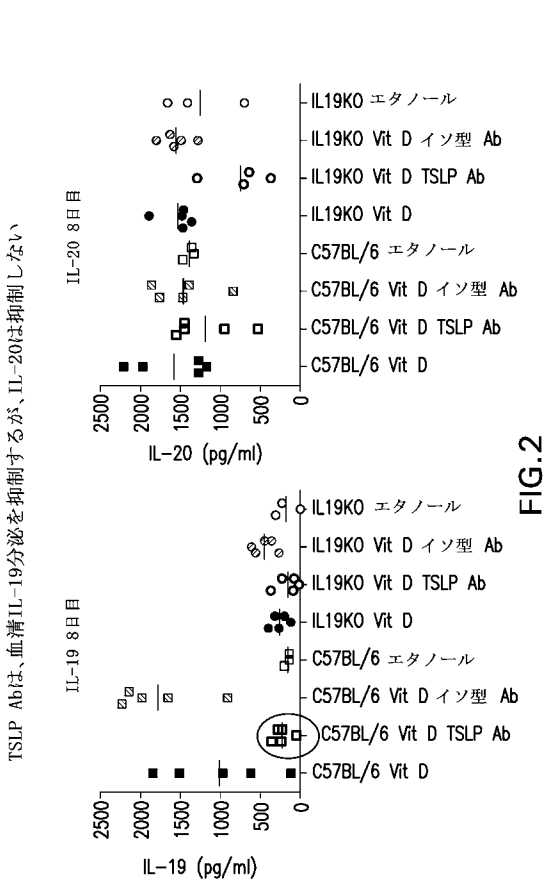
	非病変	病変	24 時間	48 時間
Pt1	-2.400	-2.63	2.16	2.85
Pt2	-2.200	-0.64	1.75	3.07
Pt3	-2.390	1.80	2.98	3.00
Pt4	-2.280	2.67	2.30	3.55
Pt5	-2.350	0.62	-2.24	2.21
Pt6	-2.320	-2.47	-2.35	1.95
Pt7	-2.300	-2.48	-2.21	0.71
Pt8	-2.340	2.63	-2.28	-2.44
Pt9	0.460	0.97	3.49	2.72
Pt10	-2.570	2.43	2.86	1.62

10

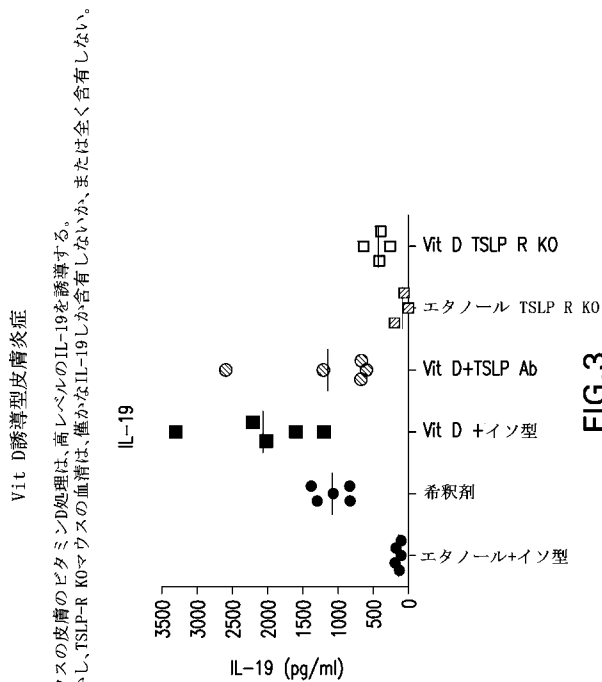
【図 1】



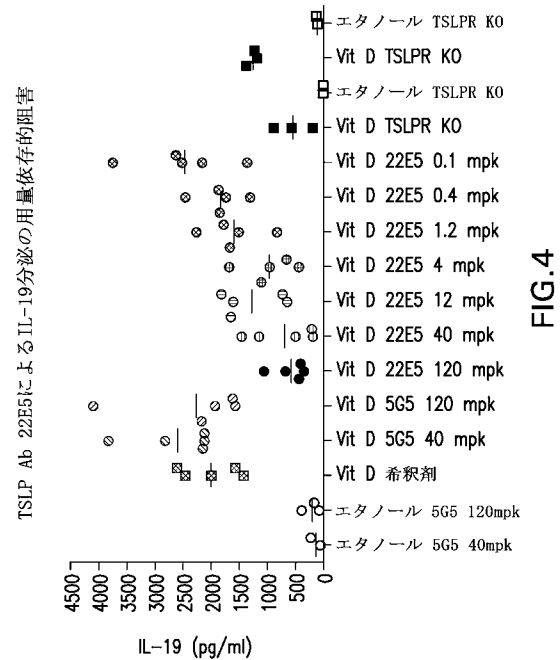
【図 2】



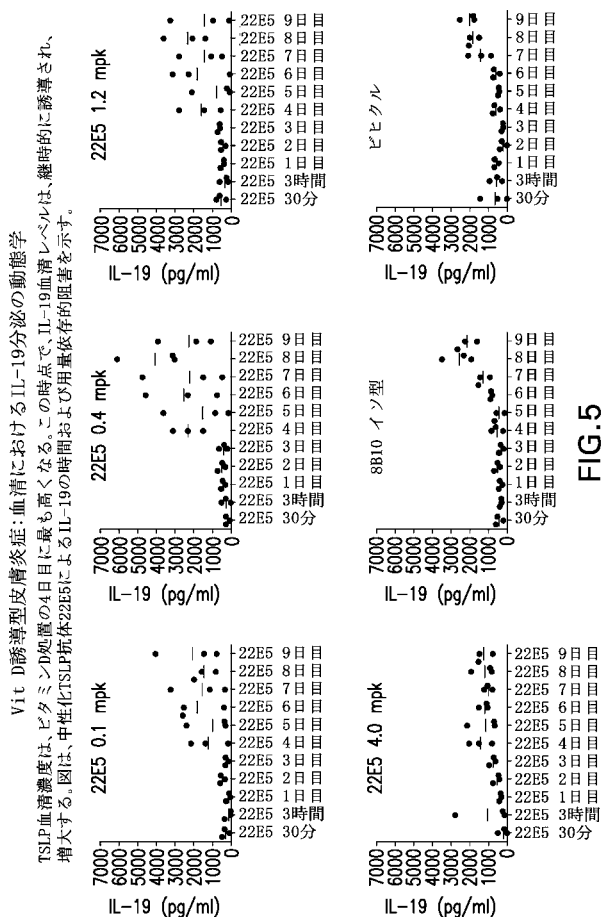
【図 3】



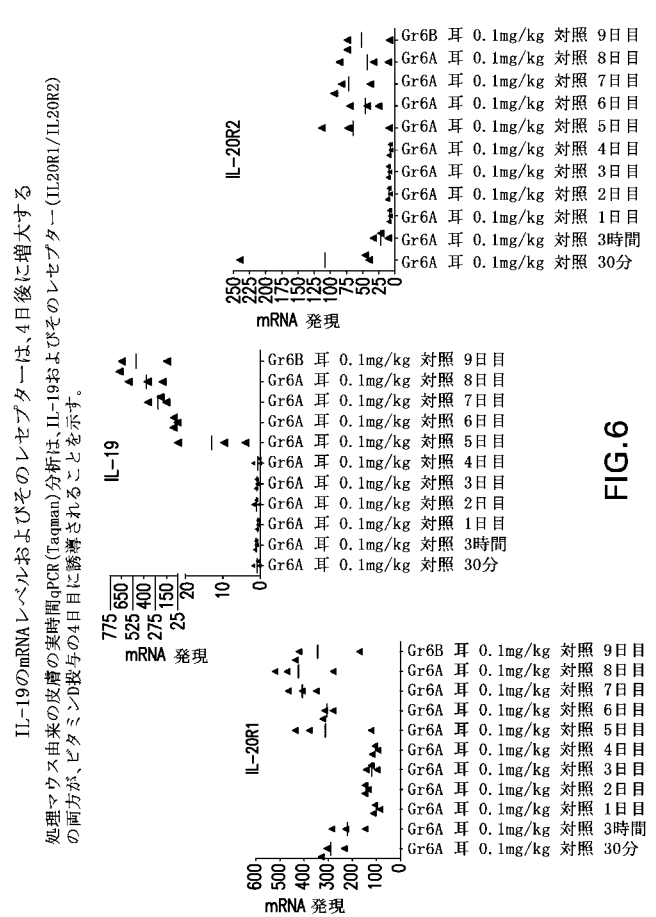
【図 4】



【図 5】



【図 6】



【 図 7 】

ヒト皮膚組織培養上清における高濃度のIL-19

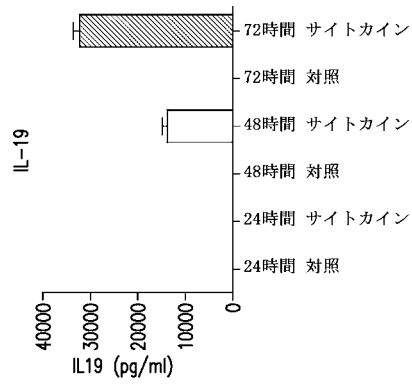


FIG.7

【 図 8 】

ヒト皮膚組織培養上清: 中性化抗TSLP Abの効果

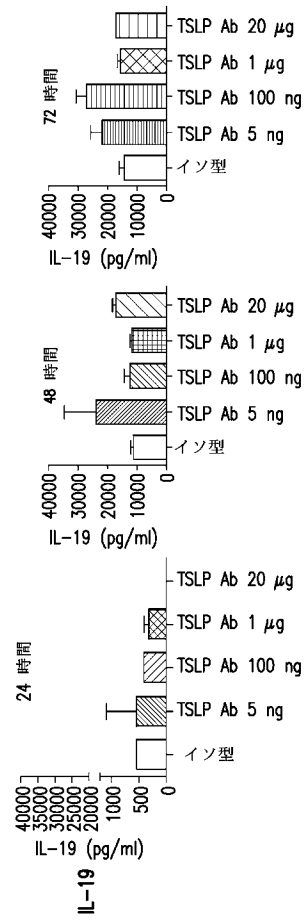


FIG.8

【国際調査報告】

61400510783



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.
PCT/US 12/61614

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

 IPC(8) - A61K 39/395; C12Q 1/68; G01N 33/53 (2013.01)
USPC - 424/130.1; 435/6.12; 435/6.17; 435/7.1

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

 IPC(8) - A61K 39/395; C12Q 1/68; G01N 33/53; C12N 5/02 (2013.01)
USPC - 424/130.1; 435/6.12; 435/6.17; 435/7.1; 435/375

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

 IPC(8) - A61K 39/395; C12Q 1/68; G01N 33/53; C12N 5/02 (2013.01) - see keyword below
USPC - 424/130.1; 435/6.12; 435/6.17; 435/7.1; 435/375 - see keyword below

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

PubWEST(USPT,PGPB,EPAB,JPAB); PatBase; Medline; Google: TSLP, antagonist, thymic stromal lymphopoietin, TSLP, hTSLP, antibody, anti-TSLP anti-IL50, antagonist, inflammation, allergic, atopic Dermatitis, AtD, asthma, IL-19, TH2, cytokine, IL-4, IL-13, diagnosis, sample, tissue, skin lesion, skin biopsy, treating, monitor, selecting, progress, pro

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2010/0136003 A1 (DE WAAL MALEFYT et al.) 03 June 2010 (03.06.2010), para [0019], [0024], [0030], [0039], [0042], [0047], [0054], [0057], [0059], [0063], [0064], [0079], [0080], [0082], [0088], [0090], [0091], [0093], and [0109]	1, 3-4, 5-7/(1,3-4), 9-10/(1,3-4), 14-15/(1,3-4), 17-18/(1,3-4),
Y	HUANG et al. Potentiation of IL-19 expression in airway epithelia by IL-17A and IL-4/IL-13: Important implications in asthma. J Allergy Clin Immunol. 2008, Vol. 121(6), p. 1415-21, 1421.e1-3. Abstract; pg 1415, col 2, last para; pg 1416, col 1, last para; pg 1417, Fig 1 and Fig 2; and pg 1419, col 2, middle para	1, 3-4, 5-7/(1,3-4), 9-10/(1,3-4), 14-15/(1,3-4), 17-18/(1,3-4),
A	US 2004/0166521 A1 (BOYD et al.) 26 August 2004 (26.08.2004), para [0182]	1, 3-4, 5-7, 9-10, 14-15, and 17-18/(1,3-4), as above, applying to below
A	NGUYEN et al. TSLP directly impairs pulmonary Treg function: association with aberrant tolerogenic immunity in asthmatic airway. Allergy Asthma Clin Immunol. 2010, Vol. 6(1):4. PDF file: pg 1-11. Entire documentation, especially Abstract	1, 3-4, 5-7, 9-10, 14-15, and 17-18/(1,3-4)
A	BOEHME et al. A small molecule CRTH2 antagonist inhibits FITC-induced allergic cutaneous inflammation. Int Immunol. 2009, Vol. 21(1), p. 81-93. Entire documentation, especially Abstract	1, 3-4, 5-7, 9-10, 14-15, and 17-18/(1,3-4)
A	US 2010/0096687 A1 (WATSON et al.) 22 April 2010 (22.04.2010), Abstract, para [0002], [0005], [0027], [0036], [0105], [0110], [0164], and [0168]	1, 3-4, 5-7, 9-10, 14-15, and 17-18/(1,3-4)
A	US 2009/0186022 A1 (BARDROFF et al.) 23 July 2009 (23.07.2009), Abstract, para [0001], [0003], [0010], [0015], [0020], and [0021]	1, 3-4, 5-7, 9-10, 14-15, and 17-18/(1,3-4)

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

* 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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 February 2013 (11.02.2013)

Date of mailing of the international search report

05 MAR 2013

Name and mailing address of the ISA/US

 Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-3201

Authorized officer:

Lee W. Young

 PCT Helpdesk: 571-272-4300
PCT OSP: 571-272-7774

01.9.2014

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/61614

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:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I-: claims 1, 3-18, drawn to a method of treating allergic disease in a subject in need thereof, a method for selecting a subject from treatment with a TSLP antagonist, or a method for monitoring progress of treatment of a subject with a TSLP antagonist, comprising measuring expression of IL-19 in a sample from said subject and, if IL-19 levels in the sample are higher than a control, administering a therapeutically effective amount of a TSLP antagonist to the subject, as indicated in claims 1 and 3-4, respectively. The first named invention (claims 1, 3-7, 9-10, 14-15, 17-18) is limited to wherein the allergic disease is atopic dermatitis, wherein the sample is tissue sample, or is a skin biopsy; and wherein expression of IL-19 is determined by an immunoassay selected from the group consisting of ELISA, RIA, Western blot, luminescent immunoassay, fluorescent immunoassay. ****Continued in the extra 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 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, 3-4, 5-7/(1,3-4), 9-10/(1,3-4), 14-15/(1,3-4), 17-18/(1,3-4), limited to wherein the allergic disease is atopic dermatitis, wherein the sample is tissue sample, or is a skin biopsy; and wherein expression of IL-19 is determined by an immunoassay selected from the group consisting of ELISA, RIA, Western blot, luminescent immunoassay, fluorescent immunoassay

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/US 12/61614

Continuation of:
Box No III (unity of invention is lacking)

(Continuation of Group I+) Applicant is invited to elect (an) additional feature(s), including: 1) wherein the allergic disease is asthma and wherein the sample is a blood sample or the sample is serum (claims 8, 11-12); 2) wherein the sample is sputum (claim 13); or/and 3) wherein expression of IL-19 is determined by gene expression analysis, wherein said gene expression analysis is selected from the group consisting of Northern blotting, PCR-based, SAGE, flow cytometry-based, and DNA microarray (claim 16), to be searched by paying an additional fee for each election of a subgroup of (an) additional special feature(s). Further provided are exemplary elections: I) if 1) wherein the allergic disease is asthma and wherein the sample is a blood sample or the sample is serum (claims 8, 11-12) is elected, claims 8, 11-12 will be searched by paying an additional fee; II) if 2) wherein the sample is sputum (claim 13) is elected, claim 13 will be searched by paying an additional fee; III) if 3) wherein expression of IL-19 is determined by gene expression analysis, wherein said gene expression analysis is selected from the group consisting of Northern blotting, PCR-based, SAGE, flow cytometry-based, and DNA microarray (claim 16) is elected, claim 16 will be searched by paying additional fee; and IV) if both features grouped in 1) and 2) are elected, claims 8 and 11-13 will be searched by paying 2X additional fees.

Group II, claims 2, 5-16, drawn to a method for treating a subject with a TSLP antagonist comprising: a) obtaining a first biological sample from the subject prior to administering a dose of a TSLP antagonist; b) measuring the expression of IL-19 in the baseline biological sample; c) administering the TSLP antagonist to the subject; d) obtaining from the subject a second biological sample; e) measuring the expression of IL-19 in the second sample; f) comparing the expression of IL-19 in the second biological sample with the expression of IL-19 in the first biological sample, and, if IL-19 levels are reduced in the second biological sample as compared to the first biological sample, administering a therapeutically effective amount of a TSLP antagonist to the subject.

The inventions listed as Groups I+ and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Group I+ does not include the inventive concept of a) obtaining a first biological sample from the subject prior to administering a dose of a TSLP antagonist; d) obtaining from the subject a second biological sample; e) measuring the expression of IL-19 in the second sample; f) comparing the expression of IL-19 in the second biological sample with the expression of IL-19 in the first biological sample, as required by Group II.

Group II does not include the inventive concept of comprising measuring expression of IL-19 in a sample from said subject and, if IL-19 levels in the sample are higher than a control, administering a therapeutically effective amount of a TSLP antagonist to the subject, as required by Group I+.

Furthermore, among Group I+, atopic dermatitis grouped in to the first invention of Group I+ (claims 1, 3-7, 9-10, 14-15, and 17-18) is pathologically different from asthma grouped in the first subgroup of additional features (claims 8, 11-12); and further tissue sample or skin biopsy (claims 8-9) in the first invention of Group I+ are structurally different from blood or serum (claims 11-12), or sputum (claim 13) samples, each requires a different method for obtaining; and furthermore, determining expression of IL-19 by an immunoassay (claim 15) and by gene expression analysis (claim 16), each requires using (a) different reagent(s) and technology for detection.

The inventions of Groups I+ through II share the technical feature of measuring expression of IL-19 in a sample from said subject and, and administering a therapeutically effective amount of a TSLP antagonist to the subject. Group I+ further shares the technical feature of treating allergic disease in a subject in need thereof comprising measuring expression of IL-19 in a sample from said subject and, if IL-19 levels in the sample are higher than a control, administering a therapeutically effective amount of a TSLP antagonist to the subject. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art as being obvious over US 2010/0136003 A1 to DE WAAL MALEFYT et al. (hereinafter 'Malefyt'), in view of an article entitled 'Potentiation of IL-19 expression in airway epithelia by IL-17A and IL-4/IL-13: Important Implications in asthma' by HUANG et al. (hereinafter 'Huang'), J Allergy Clin Immunol. 2008, Vol. 121(6), p. 1415-21, 1421.e1-3) as follows:

*****Continued in the next extra sheet*****

4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/61614

Continuation of:

The previous extra sheet - Box No III (unity of invention is lacking)

Malefyt discloses a method of treating allergic disease in a subject in need thereof (para [0042] - 'the treatment of several immune disorders and condition, e.g., allergic inflammation ... asthma ... psoriasis, and atopic dermatitis'; para [0064] - 'using parameters or factors known ... to affect treatment or predicted to affect treatment. ... Important diagnostic measures include those of ... level of inflammatory cytokines produced') comprising

--- measuring expression of cytokines associated with TSLP expression in a sample from said subject (para [0090] - 'hTSLP/IL-50 ... expression was associated with Th2-type allergic inflammation in vivo, hTSLP/IL-50 protein expression was analyzed in skin lesions, including atopic dermatitis (a TH2 mediated allergic disease), ... high expression of hTSLP/IL-50 was found in keratinocytes of acute (4 patients) and chronic atopic dermatitis (6 patients), wherein 'hTSLP' is human 'TSLP'; para [0019] - 'Thymic stromal lymphopoietin (hTSLP/IL-50) ... of human TSLP'; para [0039] - 'human CD4^{sup} + T cells activated by hTSLP/IL-50 stimulated-DCs produce IL-4, ... IL-13, ? high levels of IL-4, IL-5, IL-13 ... produced by hTSLP/IL-50 stimulated-DC activated T cells, may represent the real allergic inflammatory cytokines underlying the pathophysiology of atopic dermatitis or asthma'; para [0064] - 'using parameters or factors known ... to affect treatment. ... Important diagnostic measures include those of symptoms of ... level of inflammatory cytokines produced') and, ---if the levels of cytokines associated with TSLP expression in the sample are higher than a control (para [0082] - 'skin keratinocytes activated ... by IL-4, IL-13 ... appear to express higher hTSLP/IL-50 ... when compared with medium only controls'; para [0090] - 'hTSLP/IL-50 was not detectable in normal skin, ... high expression of hTSLP/IL-50 was found in ... chronic atopic dermatitis'; para [0039] - 'high levels of IL-4, IL-5, IL-13 ... produced by hTSLP/IL-50 stimulated-DC activated T cells, may represent the real allergic inflammatory cytokines underlying the pathophysiology of atopic dermatitis'; para [0064] - 'using parameters or factors known ... to affect treatment or predicted to affect treatment. ... measures include those of ... level of inflammatory cytokines produced')

--- administering a therapeutically effective amount of a TSLP antagonist to the subject (para [0024] - 'the immune disorder is an inflammatory condition and the administration comprises an effective amount of an antagonist of TSLP/IL-50; para [0059] - 'direct administration of the ... antagonist ... Antagonism may be effected, e.g., by antisense treatment, antibodies'; para [0042] - 'the treatment of several immune disorders and condition, e.g., allergic inflammation, ... asthma, ... psoriasis, and atopic dermatitis'; [0091] - 'hTSLP/IL-50 expression by keratinocytes of atopic dermatitis contribute directly to ... prime allergen-specific TH2 responses'; para [0082] - 'skin keratinocytes activated ... by IL-4, IL-13 ... appear to express higher hTSLP/IL-50 ... when compared with medium only controls').

Malefyt further discloses wherein the cytokines comprise TH2 cytokines IL-4 and IL-13 (para [0080] - 'TSLP/IL-50 stimulated-DCs induce naive CD4 T cells to produce the highest levels of TH2 cytokines IL-4, IL-5 and IL-13'; [0091] - 'concurrent appearance of many DC-LAMP^{sup} + DCs within the dermis. ... hTSLP/IL-50 expression by keratinocytes of atopic dermatitis contribute directly to ... prime allergen-specific TH2 responses').

Malefyt does not specifically teach wherein the cytokines comprise IL-19. Huang discloses a significantly increased IL-19 expression level is associated with increased expression of two TH2 cytokines IL-4 and IL-13 in patients having an allergic disorder (Abstract - 'significantly higher IL-19 expression in airway epithelia of asthmatic patients than in epithelia of patients with other diseases. ... the upregulation of IL-19 expression in cultures by two TH2 cytokines, IL-4 and IL-13'; pg 1419, col 2, middle para - 'IL-13, a TH2 cytokine, can strongly induce IL-19 mRNA, the uniqueness of epithelia-derived IL-19 in allergic diseases and suggests important roles for IL-13 ... in IL-19 regulation... IL-19 is induced by ... TH2 cytokines, mainly IL-13, to further potentiate a TH2-dominant response in a positive feedback manner in the context of allergic airway diseases, such as asthma', determined by assays including immunoblotting (pg 1416, col 1, last para - 'Immunohistochemistry, immunoblotting, and ELISAs Tracheal tissue sections underwent immunostaining with anti-IL-19 antibody'; pg 1417, Fig 1 and Fig 2). Although Huang does not specifically teach the association of IL-19 expression with TSLP expression, one of ordinary skill in the art at the time the invention was made would have known to expect such association based on the combination of Huang and Malefyt, because Huang discloses a significantly increased IL-19 expression level is associated with increased TH2 cytokine IL-4 and IL-13 expression in allergic disorders (see quotations above), and Malefyt discloses increased TH2 cytokine IL-4 and IL-13 expression in allergic disorder is associated with an increased expression of TSLP (see quotations above; para [0039], [0080], [0090], [0091]).

It would have been obvious to one of ordinary skill in the art at the time the invention was made to combine the teachings of Malefyt and Huang, to obtain a method of treating allergic disease in a subject in need thereof comprising measuring expression of cytokines associated with TSLP expression in a sample from said subject and, if the levels of cytokines associated with TSLP expression in the sample are higher than a control, administering a therapeutically effective amount of a TSLP antagonist to the subject, based on the teaching of Malefyt, and further wherein the cytokines associated with TSLP expression is IL-19, based on the combination of Huang and Malefyt, in order to include measuring expression of cytokines associated with TH2 cytokines expression for facilitating choosing therapeutic agents for treating different allergic disorders with expected success. Without a shared special technical feature, the inventions lack unity with one another.

Groups I+II therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Note:

1) Claims 7 and 8 are objected as it is unclear which claim(s) they are dependent upon by using the limitation of "The method of anyone of claims 6". For the purposes of this ISR, the limitation of "The method of anyone of claims 6" in each claim is assumed to be read as "The method of claim 6".

2) Claims 17 and 18 are objected to as partially lacking a proper antecedent basis for "the control" limitation. For the purposes of this ISR, each of claims 17 and 18 is assumed to be only dependent upon any one of claims 1 and 3-4.

フロントページの続き

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P 17/04 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/04	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 1	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	
	A 6 1 K 39/395 U	
	C 1 2 N 15/00 A	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, T M), 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, R S, 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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, 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, PA, 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

(74)代理人 100119253
弁理士 金山 賢教

(74)代理人 100124855
弁理士 坪倉 道明

(74)代理人 100129713
弁理士 重森 一輝

(74)代理人 100137213
弁理士 安藤 健司

(74)代理人 100146318
弁理士 岩瀬 吉和

(74)代理人 100127812
弁護士 城山 康文

(72)発明者 ビヨーク, ピア
アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4 0 2 5、メンロ・パーク、ローブル・アベニュー・6 6 5
、ナンバー・シー

F ターム(参考) 4B024 AA11 BA26 CA20 HA12
4B063 QA01 QA19 QR62 QS25 QS32 QX02
4C084 AA17 NA14 ZA591 ZA592 ZA891 ZA892 ZC421 ZC422
4C085 AA13 AA14 AA16 BB17 CC23 EE01

专利名称(译)	IL-19作为TSLP治疗的生物标志物		
公开(公告)号	JP2015502917A	公开(公告)日	2015-01-29
申请号	JP2014538912	申请日	2012-10-24
[标]申请(专利权)人(译)	默沙东CORP.		
申请(专利权)人(译)	默克公司和夏普公司巨蛋		
[标]发明人	ビヨークピア		
发明人	ビヨーク,ピア		
IPC分类号	A61K45/00 G01N33/53 G01N33/543 C12Q1/68 A61P37/08 A61P11/06 A61P17/04 A61P43/00 A61K39/395 C12N15/09		
CPC分类号	A61P11/06 A61P17/04 A61P37/08 A61P43/00 G01N33/6869 G01N2800/202 G01N2800/52 C07K16/24 C07K2317/76 G01N2800/122		
FI分类号	A61K45/00 G01N33/53.M G01N33/53.D G01N33/543.501.A C12Q1/68.A A61P37/08 A61P11/06 A61P17/04 A61P43/00.101 A61K39/395.D A61K39/395.U C12N15/00.A		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/BA26 4B024/CA20 4B024/HA12 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS32 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZA591 4C084/ZA592 4C084/ZA891 4C084/ZA892 4C084/ZC421 4C084/ZC422 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB17 4C085/CC23 4C085/EE01		
代理人(译)	小野 诚 金山 贤教 安藤健二		
优先权	61/552617 2011-10-28 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及IL-19作为用TSLP拮抗剂治疗的生物标志物的用途。

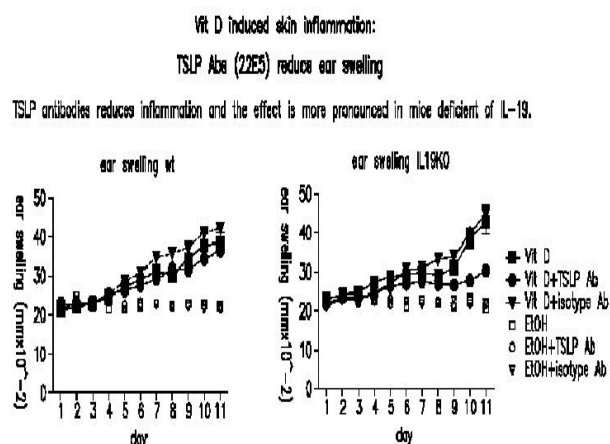


FIG.1