

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6420475号
(P6420475)

(45) 発行日 平成30年11月7日(2018.11.7)

(24) 登録日 平成30年10月19日(2018.10.19)

(51) Int.Cl.		F I			
GO 1 N 33/53	(2006.01)	GO 1 N	33/53	S	
C 1 2 Q 1/68	(2018.01)	C 1 2 Q	1/68	Z N A A	
C 1 2 N 15/09	(2006.01)	C 1 2 N	15/00	A	
CO 7 K 16/18	(2006.01)	CO 7 K	16/18		

請求項の数 5 (全 16 頁)

(21) 出願番号	特願2017-522176 (P2017-522176)	(73) 特許権者	515054778
(86) (22) 出願日	平成27年10月27日(2015.10.27)		インジェ ユニバーシティ インダストリー アカデミック コーポレーション ファウンデーション
(65) 公表番号	特表2017-533431 (P2017-533431A)		大韓民国 キョンサンナムード キムヘーシ インジェーロ 197
(43) 公表日	平成29年11月9日(2017.11.9)	(74) 代理人	100124431
(86) 国際出願番号	PCT/KR2015/011391		弁理士 田中 順也
(87) 国際公開番号	W02016/068584	(74) 代理人	100174160
(87) 国際公開日	平成28年5月6日(2016.5.6)		弁理士 水谷 馨也
審査請求日	平成29年4月25日(2017.4.25)	(74) 代理人	100175651
(31) 優先権主張番号	10-2014-0147771		弁理士 迫田 恭子
(32) 優先日	平成26年10月28日(2014.10.28)		
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細気管支炎後の喘息の診断のためのマーカーおよびその用途

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

細気管支炎以後の喘息または喘鳴の診断に必要な情報を提供するために、細気管支炎3ヶ月～5ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)のレベルを測定する方法であって、

前記細気管支炎がメタニューモウイルスによって誘発された場合、細気管支炎3ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)のレベルが50ng/ml以上のとき、再発性喘鳴の陽性予測値(positive predictive value、PPV)は70%、陰性予測値(negative predictive value、NPV)は82%、感度(sensitivity)は75%および特異度(specificity)は70%の値を有し、

前記細気管支炎がマイコプラズマによって誘発された場合、細気管支炎5ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)のレベルが60ng/ml以上のとき、再発性喘鳴の陽性予測値(positive predictive value、PPV)は63%、陰性予測値(negative predictive value、NPV)は77%、感度(sensitivity)は78%および特異度(specificity)は68%の値を有し、

RSV細気管支炎の自然なプロセスでEDNレベルが100ng/ml以上の場合、その後2回以上再発性喘息または喘鳴が現れる確率が75%であり、

メタニューモウイルスによる細気管支炎の自然なプロセスでEDNレベルが80ng/

m l 以上の場合、その後 3 回以上再発性喘息または喘鳴が現れる確率が 8 0 % であり、マイコプラズマの自然なプロセスで E D N レベルが 1 3 0 n g / m l 以上の場合、その後 3 回以上再発性喘息または喘鳴が現れる確率が 8 3 % であることを特徴とする、方法。

【請求項 2】

前記 E D N のレベルは、血清または喀痰中の E D N の濃度であることを特徴とする、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記方法は、生後 1 ヶ月 ~ 2 4 ヶ月の乳幼児の血清中 E D N レベルを測定することを特徴とする、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

細気管支炎以後の喘息または喘鳴の診断に必要な情報を提供するために、細気管支炎 3 ヶ月 ~ 5 ヶ月目の好酸球由来神経毒 (e o s i n o p h i l - d e r i v e d n e u r o t o x i n 、 E D N) のレベルを測定する方法であって、

前記 E D N のレベルは、血清または喀痰中の E D N の濃度であり、

喀痰試料を使用する場合、前記細気管支炎がマイコプラズマによって誘発された場合、細気管支炎 4 ヶ月目の好酸球由来神経毒 (e o s i n o p h i l - d e r i v e d n e u r o t o x i n 、 E D N) のレベルが 7 0 n g / m l 以上のとき、再発性喘鳴の陽性予測値 (p o s i t i v e p r e d i c t i v e v a l u e 、 P P V) は 7 3 % 、陰性予測値 (n e g a t i v e p r e d i c t i v e v a l u e 、 N P V) は 8 7 % 、感度 (s e n s i t i v i t y) は 7 8 % および特異度 (s p e c i f i c i t y) は 7 0 % の値を有することを特徴とする、方法。

【請求項 5】

喀痰試料を使用して分析する場合には、7 歳 ~ 1 0 歳の児童期の喀痰中 E D N レベルを測定することを特徴とする、請求項 2 又は 4 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、細気管支炎後の喘息の診断のためのマーカーであって、好酸球由来神経毒 (e o s i n o p h i l - d e r i v e d n e u r o t o x i n 、 E D N) の用途に関する。

【背景技術】

【0002】

細気管支炎は、呼吸器の中で最も小さい枝である細気管支に発生する感染性疾患で、最近では細気管支炎と呼ばれている。呼吸器は鼻から始まり、上部気管支を経て、徐々にさらに小さな気管支に木の枝のように分枝されて肺胞まで達している。肺胞のすぐ上部の最も小さな気管支分枝を細気管支といい、細気管支は直接肺胞に空気を伝達する役割をし、肺胞はこれを受けて血液に酸素の供給をする。

【0003】

気管支に発生する細気管支炎は、主にウイルス感染が原因で発生し、ウイルスは気管支の炎症反応を起こし、気管支粘膜が腫れて分泌物が多くなり、これにより、狭い細気管支の閉塞現象が発生して肺胞への酸素供給に障害を誘発し、結局は全身的な低酸素症の状態になる。

【0004】

細気管支炎 (b r o n c h i o l i t i s) は、下気道感染によって末梢気道の炎症性閉塞として発生する疾患で、主に 2 歳以前の乳児に発生する。細気管支炎の主な症状は咳や喘鳴であり、ウイルス感染が原因とされるが、呼吸器合胞体ウイルス (r e s p i r a t o r y s y n c y t i a l v i r u s 、 R S V) が最も一般的な原因であり、その他パラインフルエンザウイルス、インフルエンザウイルス、ライノウイルス、アデノウイルス、麻疹ウイルス、マイコプラズマも原因になりうる。

【0005】

10

20

30

40

50

特に呼吸器合胞体ウイルス (respiratory syncytial virus、RSV) は、児童において下部気道疾患を引き起こす最も一般的な原因ウイルスで、全世界的に毎年10月頃から翌年4月頃の間、少なくとも12週間以上続けて流行を起こす。RSVによる感染は、非常に頻繁に発生して50%程度の児童が生後1歳以内に感染して3歳に至ればほぼすべての児童が経験することが報告されたことがある。

【0006】

また、RSV感染による症状は、児童の年齢によって多様であり、児童では通常、軽い上気道感染症の症状を示すが、2歳以下の乳児では重度の下部気道疾患を起こす場合が多く、乳児で発生する急性細気管支炎と肺炎の50-90%がRSVによって発生する。

【0007】

RSVによる急性細気管支炎は、乳児で最も重要な呼吸不全の原因の一つであり、死亡率は0.5~1.5%程度と低いものの、未熟児、神経筋肉系疾患、慢性呼吸器疾患、先天性心疾患などを持っていたり、免疫機能が低下した状態にある高危険群患者においては、はるかに高い死亡率を示す。自然な感染によって得られた免疫力は不十分であり、実際にRSV感染を患った後に1~2年以内に再感染が起こる場合が多い。

【0008】

一方、乳幼児期においてRSV感染後の再発性喘鳴の発生と関連があるということは、いくつかの疫学研究で証明された。アレルギー疾患の遺伝的素因と先天性気管支過敏性が細気管支炎後の喘鳴と喘息発生に関与することが知られており、RSV感染自体がアレルギー炎症反応とアレルギー感作の頻度を高め、喘息を起こすという研究結果もある。特にいくつかの研究では、最初の1年以内に重症のRSV細気管支炎を患う児童で、それ以後、再発性喘鳴およびアレルギー感作が起こる可能性が高いとした。

【0009】

乳児で最初に現れる症状は、主に鼻づまり、鼻水などである。以後1-3日にかけて感染が下部気道に進行しながら咳が始まるが、急性喉頭炎、気管支炎、細気管支炎、肺炎、またはこれらの複合された様々な症状が現れることになる。その後、症状が激しくなり、10日程度持続した後、徐々に回復する。発熱はひどくない場合がほとんどであり、最高体温が38度程度であり、熱がないこともあるが、RSVに感染した非常に小さな幼児では、生命を脅かす無呼吸症を発症しうる。

【0010】

RSVによる細気管支炎は、気管支過敏性を誘発し、多くの乳児期の反復的な喘鳴あるいは喘息などに発展する。これらの反復的な喘鳴の原因として最初の感染時の重症度、アトピー所見、環境要素などが関与することがあるが、まだその原因が確実にわかっていない。

【0011】

特に、乳幼児の呼吸器感染を治療・予防するために、RSVによる細気管支炎後2-3年間、反復的な喘鳴を起こす場合を予測することができれば、それ以後の喘鳴の診断と治療にかなり役立つだろう。

【0012】

これにより、本発明者らは、細気管支炎にかかった乳児を対象に、喘息、喘鳴、呼吸困難、咳などの症状の程度を好酸球由来神経毒 (eosinophil-derived neurotoxin、EDN) の発現の程度との相関関係を調査することにより、特定の時点でEDNのレベルを測定する場合、細気管支炎の後、再発される喘鳴の発作か否かを高精度に予測することができることを確認することにより、本発明を完成した。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0013】

本発明の目的は、細気管支炎以後の喘息または喘鳴の診断に必要な情報を提供するために、細気管支炎3ヶ月~5ヶ月目の好酸球由来神経毒 (eosinophil-derived neurotoxin、EDN) のレベルを測定する方法を提供することである

10

20

30

40

50

。

【0014】

本発明の他の目的は、細気管支炎3ヶ月～5ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)の濃度を測定する製剤を含む、細気管支炎以後の再発性喘息または喘鳴(recurrent wheezing)診断用キットを提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0015】

本発明は、前記課題を解決するために、

本発明は、細気管支炎以後の喘息または喘鳴の診断に必要な情報を提供するために、細気管支炎3ヶ月～5ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)のレベルを測定する方法を提供する。

10

【0016】

本発明の一実施例において、前記EDNのレベルは血清または喀痰中のEDNの濃度でありうる。

【0017】

本発明の一実施例において、前記細気管支炎は、呼吸器合胞体ウイルス(respiratory syncytial virus、RSV)、メタニューモウイルス、アデノウイルス、パラインフルエンザウイルス、インフルエンザウイルス、ライノウイルス、アデノウイルス、麻疹ウイルス、およびマイコプラズマからなる群から選択される有害菌の感染により誘発されうる。

20

【0018】

本発明の一実施例において、前記細気管支炎が呼吸器合胞体ウイルス(respiratory syncytial virus、RSV)による感染により誘発された場合、RSV細気管支炎4ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)のレベルが45ng/ml以上のとき、再発性喘鳴の陽性予測値(positive predictive value、PPV)は65%、陰性予測値(negative predictive value、NPV)は80%、感度(sensitivity)は70%および特異度(specificity)は72%の値を有しうる。

30

【0019】

本発明の一実施例において、前記細気管支炎がメタニューモウイルスによって誘発された場合、細気管支炎3ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)のレベルが50ng/ml以上のとき、再発性喘鳴の陽性予測値(positive predictive value、PPV)は70%、陰性予測値(negative predictive value、NPV)は82%、感度(sensitivity)は75%および特異度(specificity)は70%の値を有しうる。

【0020】

本発明の一実施例において、前記細気管支炎がマイコプラズマによって誘発された場合、細気管支炎5ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)のレベルが60ng/ml以上のとき、再発性喘鳴の陽性予測値(positive predictive value、PPV)は63%、陰性予測値(negative predictive value、NPV)は77%、感度(sensitivity)は78%および特異度(specificity)は68%の値を有しうる。

40

【0021】

本発明の一実施例において、前記方法は、生後1ヶ月～24ヶ月の乳幼児の血清中EDNレベルを測定するものでありうる。

【0022】

50

本発明の一実施例において、RSV細気管支炎の自然なプロセスでEDNレベルが100 ng/ml以上の場合、その後2回以上再発性喘息または喘鳴が現れる確率が75%であり、メタニューモウイルスによる細気管支炎の自然なプロセスでEDNレベルが80 ng/ml以上の場合、その後3回以上再発性喘息または喘鳴が現れる確率が80%であり、マイコプラズマの自然なプロセスでEDNレベルが130 ng/ml以上の場合、その後3回以上再発性喘息または喘鳴が現れる確率が83%でありうる。

【0023】

本発明の一実施例において、喀痰試料を使用する場合、前記細気管支炎がマイコプラズマによって誘発された場合、細気管支炎4ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)のレベルが70 ng/ml以上のとき、再発性喘息の陽性予測値(positive predictive value、PPV)は73%、陰性予測値(negative predictive value、NPV)は87%、感度(sensitivity)は78%および特異度(specificity)は70%の値を有しうる。

10

【0024】

本発明の一実施例において、喀痰試料を使用して分析する場合には、7歳~10歳の児童期の喀痰中EDNレベルを測定することができる。

【0025】

また、本発明は、細気管支炎3ヶ月~5ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)の濃度を測定する製剤を含む、細気管支炎以後の再発性喘息または喘鳴(recurrent wheezing)診断用キットを提供する。

20

【0026】

本発明の一実施例において、前記製剤は、EDNに特異的に結合することができるプライマー、プローブまたは抗体でありうる。

【発明の効果】

【0027】

本発明は、好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)レベルと細気管支炎後の再発性喘息または喘鳴の有意な相関関係を分析することにより、EDNを細気管支炎を患った乳幼児および児童における喘息または喘鳴の再発に対する予後予測および検証用マーカーとして用いることができ、細気管支炎の原因細菌の種類によるEDNレベルを客観化させることで、より効果的かつ正確な診断を介して再発性喘息または喘鳴を治療し、持続的に管理することができる予防薬および治療薬の開発などに有用に適用することができる。

30

【発明を実施するための形態】

【0028】

本発明で使用される用語の定義は、以下の通りである。

【0029】

「診断」は、病理状態の存在または特徴を確認することを意味する。本発明の目的上、診断は、細気管支炎以後の喘鳴および喘息の再発および進行するか否かを確認することである。

40

【0030】

「診断用マーカー、診断するためのマーカーまたは診断マーカー(diagnosis marker)」とは、本発明による疾患の発症対象細胞を正常細胞と区分して診断することができる物質で、正常細胞に比べて疾患細胞で増加様相を見せるポリペプチドまたは核酸(例えば、mRNAなど)、脂質、糖脂質、糖タンパク質、糖(単糖類、二糖類、多糖類など)のような有機生体分子などを含む。

【0031】

「予後(Prognosis)」とは、病気の経過と結果の予測を意味するもので、本発明では、細気管支炎以後の喘鳴、喘息の再発(Recurrence)および進行(p

50

regression)を予測することを含む。これにより、喘息または喘鳴(wheezing)の再発および進行を正確に予測することができる指標が非常に重要であり、組織の分化度と病期のような臨床的指標を補完しながら治療の反応を予測することができる因子が必要であるが、本発明では、好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)が、このような指標の機能をするので、再発性喘鳴の予後因子として利用できることを究明した。

【0032】

「対象」または「患者」は、ヒト、牛、犬、モルモット、ウサギ、ニワトリ、昆虫などを含み、治療を要する任意の単一個体を意味する。また、任意の病気の臨床所見を見せない臨床研究試験に参加した任意の対象または疫学研究に参加した対象または対照群として使用された対象が対象に含まれる。

10

【0033】

「組織または細胞サンプル」は、対象または患者の組織から得た類似の細胞の集合体を意味する。組織または細胞サンプルの供給源は、新鮮な凍結されたおよび/または保存された臓器または組織サンプルまたは生検または吸引物からの固形組織；血液または任意の血液構成成分；喀痰；尿；対象の妊娠または発生の任意の時点の細胞でありうる。

【0034】

「標識」または「ラベル」は、直接または間接的に試薬の検出を容易にする化合物または組成物を意味する。標識は、それ自体が検出されうるか(例えば、放射性同位元素標識または蛍光標識)、酵素標識の場合に、検出可能な基質化合物または組成物の化学的変形を触媒することができる。

20

【0035】

「有効量」は、有益なまたは望ましい臨床的または生化学的結果に影響を与える適切な量である。有効量は、一回またはそれ以上投与することができる。本発明の目的のために、阻害剤化合物の有効量は、疾患状態の進行を一時的に緩和、改善、安定化、回復、速度を低下または遅延させるのに適切な量である。もし、受惠動物が組成物の投与に耐えることができ、または、組成物のその動物への投与が適切な場合であれば、組成物は「薬学的にまたは生理学的に許容可能であること」を示す。投与された量が生理学的に重要な場合には、前記製剤は、「治療学的に有効量」で投与されたと言えることができる。前記製剤の存在が受益患者の生理学的に検出可能な変化をもたらした場合は、前記製剤は、生理学的に意味がある。

30

【0036】

「治療」は、有益な、または望ましい臨床的結果を得るためのアクセスを意味する。本発明の目的のために、有益な、または望ましい臨床的結果は、非限定的に、症状の緩和、疾患の範囲の減少、疾患の状態の安定化(すなわち、悪化しない)、疾患の進行の遅延または速度の減少、疾患の状態の改善または一時的緩和および軽減(部分的または全体的に)、検出可能かまたは検出されないかを含む。また、「治療」は、治療を受けなかったときに予想される生存率と比較して生存率を伸ばすことを意味しうる。治療は、治療学的治療および予防的または予防措置方法のすべてを指す。前記治療は、予防される障害だけでなく、既に発生した障害において要する治療を含む。疾患を「緩和(Palliating)」することは、治療をしない場合と比べて、疾患の状態の範囲および/または望ましくない臨床的兆候が減少したり、および/または進行の時間的推移(time course)が遅くなるまたは長くなることを意味する。

40

【0037】

「約」というのは参照量、レベル、値、数、頻度、パーセント、寸法、サイズ、量、重量または長さに対して約30、25、20、25、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1%程度に変化する量、レベル、値、数、頻度、パーセント、寸法、サイズ、量、重量または長さを意味する。

【0038】

本明細書を通じて、文脈で特に必要としなければ、「含む」および「含んでいる」とい

50

言葉は、提示されたステップまたは要素、またはステップまたは要素の群を含むが、任意の他のステップまたは要素、またはステップまたは要素の群が排除されないことを内包するものと理解すべきである。

【0039】

以下、本発明について具体的に説明する。

【0040】

本発明で診断しようとすることは、喘息や喘鳴(wheezing)の再発、特に病原性ウイルスによる細気管支炎後に再発される喘息または喘鳴に関することである。

【0041】

3歳以前の乳幼児で喘鳴の再発はよく見られる問題であり、乳児期にはアレルギー疾患による喘鳴の頻度は少ない反面、ウイルスによる呼吸器感染が喘息と喘鳴の重要な原因となる。呼吸器感染を誘発する病原性因子として呼吸器合胞体ウイルス(respiratory syncytial virus、RSV)、メタニューモウイルス、アデノウイルス、パラインフルエンザウイルス、インフルエンザウイルス、ライノウイルス、アデノウイルス、麻疹ウイルス、マイコプラズマなどがある。

【0042】

特に、本発明では、細気管支炎を誘発する特定のウイルスに対する細気管支炎発生後、喘息または喘鳴が再発されるか否かと疾患の重症度を予測することができるマーカーおよび方法を提供するという点に特徴があり、また、好酸球脱顆粒化(eosinophil degranulation)が再発性喘鳴と相関関係があることを最初に究明し、好酸球脱顆粒化の産物であるEDN(eosinophil-derived neurotoxin)を再発喘息または喘鳴の予後診断に活用できることを発見した。

【0043】

具体的には、本発明の一実施例では、細気管支炎の誘発原因菌のうち、RSV(respiratory syncytial virus)、マイコプラズマ、およびメタニューモウイルスに感染して細気管支炎を患った後、喘息または喘鳴が再発した患者の生物学的試料を収集した後、試料に含有された好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)のレベルを分析して、細気管支炎の発生後に再発する喘息または喘鳴との関連を分析した。

【0044】

診断マーカーの用途および診断キット

したがって、本発明は、一観点から、好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)の細気管支炎後の再発性喘息または喘鳴(recurrent wheezing)の予後診断マーカーとしての用途に関するものである。

【0045】

特に、細気管支炎後のEDNレベルの確認を介して再発性喘息または喘鳴の予後を診断することが非常に重要である。このとき、前記予後は再発(Recurrence)および進行(progression)のステップをすべて含む。

【0046】

喘鳴(wheezing)は、気道が狭くなって、息を吐くときゼイゼイまたはガラガラという呼吸音が現れることで、呼吸困難を起こす炎症性気道閉鎖性疾患である喘息でもよく現れるところ、本発明における喘鳴は、このような咳、呼吸困難などの症状だけでなく、このような症状を含む疾患を含む概念として使用されている。

【0047】

喘息は、肺の中にある気管支が非常に敏感になった状態で、時折気管支が狭くなって息切れしてガラガラする息音が聞こえながらひどく咳をする症状を現わす疾患である。

【0048】

一方、有意性のある診断マーカーの選択と適用は、診断結果の信頼度を決定付ける。有意性のある診断マーカーとは、診断して得られた結果が正確で妥当性(validity

10

20

30

40

50

)が高く、繰り返しの測定時にも一貫性のある結果を示すように、信頼度 (r e l i a b i l i t y) の高いマーカーを意味する。本発明の再発性喘息または喘鳴の予後診断マーカーは、喘鳴または喘息の再発とともに直接的または間接的な要因で発現が変化する繰り返しの実験にも同じ結果を示し、発現レベルの差が対照群と比較するとき非常に大きく、誤った結果を下す確率がほとんどない信頼度の高いマーカーである。

【 0 0 4 9 】

したがって、本発明の有意性のある診断マーカー E D N のレベルを測定して得られた結果をもとに診断された結果は、妥当に信頼することができる。

【 0 0 5 0 】

特に、本発明の E D N のレベルは、好ましくは、細気管支炎後 3 ヶ月 ~ 5 ヶ月目の E D N レベルを測定することができる。

10

【 0 0 5 1 】

さらに、本発明では、細気管支炎を誘発する有害原因ウイルス、細菌、微生物などに対して、各誘発原因菌に対する E D N レベルを定量的に測定および分析することにより、特定の原因菌による細気管支炎以後の喘息または喘鳴の再発可能性を予測することができる。

【 0 0 5 2 】

前記「 E D N レベルの測定」とは、血清または喀痰を含む生物学的試料などから好酸球由来神経毒 (e o s i n o p h i l - d e r i v e d n e u r o t o x i n 、 E D N) の濃度を測定することをいい、生物学的試料としては、 E D N の濃度を測定することができるものとして尿、血液、唾液、喀痰などを使用することができるが、好ましくは、血清または喀痰を使用する。前記 E D N の濃度は、公知の方法を利用して、当業者が適切に測定することができるが、好ましくは、 E D N に特異的なプライマー、プローブまたは抗体を使用して測定することができる。

20

【 0 0 5 3 】

本発明で、前記 E D N は、配列番号 1 のアミノ酸配列からなるものでありえ、 E D N タンパク質は、配列番号 2 の塩基配列で暗号化されている。

【 0 0 5 4 】

本発明では、細気管支炎 3 ヶ月 ~ 5 ヶ月目の好酸球由来神経毒 (e o s i n o p h i l - d e r i v e d n e u r o t o x i n 、 E D N) のレベルを測定した結果を利用して、細気管支炎以後の喘息または喘鳴に対する再発および疾患の状態を診断することができる特徴がある。

30

【 0 0 5 5 】

また、前記方法は、細気管支炎の患者から分離された生物学的試料から好酸球由来神経毒 (e o s i n o p h i l - d e r i v e d n e u r o t o x i n 、 E D N) レベルを測定するステップ; および前記 E D N レベルを正常対照群試料の該当 E D N レベルと比較するステップを含むことができる。

【 0 0 5 6 】

このとき、 E D N のレベル測定は、細気管支炎 3 ヶ月 ~ 5 ヶ月目に測定することが望ましい。

40

【 0 0 5 7 】

また、 E D N のレベルを測定する前に、患者の細気管支炎の原因菌が呼吸器合胞体ウイルス (r e s p i r a t o r y s y n c y t i a l v i r u s 、 R S V) 、メタニューモウイルス、アデノウイルス、パラインフルエンザウイルス、インフルエンザウイルス、ライノウイルス、アデノウイルス、麻疹ウイルスまたはマイコプラズマによるものか確認するステップをあらかじめ経るのが良い。

【 0 0 5 8 】

本発明の一実施例によれば、細気管支炎が呼吸器合胞体ウイルス (r e s p i r a t o r y s y n c y t i a l v i r u s 、 R S V) による感染で誘発された場合、 R S V 細気管支炎 4 ヶ月目の好酸球由来神経毒 (e o s i n o p h i l - d e r i v e d n e

50

urotoxin、EDN)のレベルが45ng/ml以上のとき、再発性喘鳴の陽性予測値(positive predictive value、PPV)は65%、陰性予測値(negative predictive value、NPV)は80%、感度(sensitivity)は70%および特異度(specificity)は72%の値を有するという事実を確認し、さらにRSV細気管支炎の自然なプロセスでEDNレベルが100ng/ml以上の場合、その後2回以上再発性喘息または喘鳴が現れる確率が75%であることを確認することができた。

【0059】

また、細気管支炎がメタニューモウイルスによって誘発された場合、細気管支炎3ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)のレベルが50ng/ml以上のとき、再発性喘鳴の陽性予測値(positive predictive value、PPV)は70%、陰性予測値(negative predictive value、NPV)は82%、感度(sensitivity)は75%および特異度(specificity)は70%の値を有することを確認することができ、さらにメタニューモウイルスによる細気管支炎の自然なプロセスでEDNレベルが80ng/ml以上の場合、その後3回以上再発性喘息または喘鳴が現れる確率が80%であることを確認することができた。

【0060】

また、細気管支炎がマイコプラズマによって誘発された場合、細気管支炎5ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)のレベルが60ng/ml以上のとき、再発性喘鳴の陽性予測値(positive predictive value、PPV)は63%、陰性予測値(negative predictive value、NPV)は77%、感度(sensitivity)は78%および特異度(specificity)は68%の値を有することがわかり、さらにマイコプラズマの自然なプロセスでEDNレベルが130ng/ml以上の場合、その後3回以上再発性喘息または喘鳴が現れる確率が83%であることを確認することができた。

【0061】

したがってこのように測定され、分析されたEDNのそれぞれの定量的数値は、細気管支炎誘発の特定の原因菌により喘息または喘鳴の再発可能性および重症度を予測および診断するための客観的な情報として使用することができる。

【0062】

前記記述された数値範囲は、血清を試料として分析した結果であるのに対し、喀痰を試料とする場合にも、定量的な結果を基にした客観的診断の範囲を提供することができる。

【0063】

つまり、本発明の一実施例によれば、喀痰試料を使用する場合、前記細気管支炎がマイコプラズマによって誘発された場合、細気管支炎4ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinophil-derived neurotoxin、EDN)のレベルが70ng/ml以上のとき、再発性喘鳴の陽性予測値(positive predictive value、PPV)は73%、陰性予測値(negative predictive value、NPV)は87%、感度(sensitivity)は78%および特異度(specificity)は70%の値を有することがわかり、さらにマイコプラズマの自然なプロセスでEDNレベルが130ng/ml以上の場合、その後3回以上再発性喘息または喘鳴が現れる確率が83%であることを確認することができた。

【0064】

本発明で提供される診断方法において、前記患者は、生後1ヶ月~24ヶ月の乳幼児の血清中EDNレベルを測定することができ、喀痰を試料とする場合には、7歳~10歳の児童期の喀痰中EDNレベルを測定することができる。

【0065】

さらに、本発明は、細気管支炎3ヶ月~5ヶ月目の好酸球由来神経毒(eosinop

10

20

30

40

50

hil-derived neurotoxin、EDN)の濃度を測定する製剤を含む、細気管支炎以後の再発性喘息または喘鳴(recurrent wheezing)診断用組成物を提供することができ、前記組成物を含む診断用キットを提供することができる。

【0066】

前記キットは、細気管支炎3ヶ月～5ヶ月目のEDN濃度を分析して、細気管支炎以後の再発性喘息または喘鳴の予後を判断するのに使用することができる。このため、前記キットは、EDN濃度を測定することができるように設計される。本発明のキットは、選択的に、EDN濃度の分析に必要な試薬、因子、組成物などを含むことができる。

【0067】

具体的には、本発明のキットが、もしPCR増幅のプロセスに適用される場合、本発明のキットは、選択的に、PCR増幅に必要な試薬、例えば、緩衝液、DNAポリメラーゼ[例えば、Thermus aquaticus(Taq)、Thermus thermophilus(Tth)、Thermus filiformis、Thermis flavus、Thermococcus litoralisまたはPyrococcus furiosus(Pfu)から得た熱安定性DNAポリメラーゼ]、DNAポリメラーゼ補因子およびdNTPsを含むことができる。

【0068】

また、本発明のキットが免疫酵素療法を利用する場合、本発明のキットは、EDNに特異的な抗体およびその容易な検出のための蛍光マーカールとともに抗体反応のための試薬などを含むことができる。

【0069】

本発明のキットは、前記した試薬の成分を含む多数の別途のパッケージングまたはコンパートメントで製作することができる。好ましくは、前記診断キットは、分析方法に適した一種類またはそれ以上の他の構成成分組成物、溶液または装置をさらに含んで構成される。一具体例として、本発明のキットは、サンプルを入れる区画されたキャリア手段、EDN濃度を検出する手段が含まれた容器を含む1つ以上の容器を含むことができる。

【0070】

このように、本発明では、細気管支炎患者から好酸球の顆粒化現象が起こることを利用して、その産物であるEDNの濃度を測定することにより、特に好ましくは、細気管支炎3ヶ月～5ヶ月のEDN濃度を測定することにより、再発性喘息または喘息の予後を判断することができることを確認し、これを活用して、再発性喘息または喘息の診断および治療剤を開発または研究できることを示唆する。

【実施例】

【0071】

以下、実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明する。これらの実施例は、ひたすら本発明を例示するためのものであって、本発明の範囲がこれらの実施例により制限されるものと解釈されないことは、当業界で通常の知識を有する者にとって自明である。Kim et al(2010)の文献を参照して実験を行った。

【0072】

実験方法

1～24ヶ月の乳幼児のうちRSV(respiratory syncytial virus)、マイコプラズマ、およびメタニューモウイルスに対して最初の発作を起こした100人の各患者を対象とするが、任意的、二重盲検法(double-blind)、プラセボ(偽薬)-調整、並行群(parallel group)に分け、1～24ヶ月の乳幼児からは分析のための試料として血清を使用した。

【0073】

また、分析試料として喀痰を使用する場合には、7～10歳の児童のうち、RSV(respiratory syncytial virus)、マイコプラズマ、およびメタニューモウイルスに対して最初の発作を起こした100人の各患者を対象に、前記の乳

10

20

30

40

50

幼児と同じ群にグルーピングして分析を行った。

【0074】

喘息の症状または抗喘息治療の病歴を持つ細気管支炎の患者は除き、細気管支炎以前に喘鳴があった子供たちも除いた。36週の妊娠前に生まれ、慢性疾患を患っている場合も除いた。ワクチン接種をきちんとした1~24ヶ月の50人の正常な子供を対照群として登録した。彼らはアレルギー疾患、喘息または空気を介してのどのような感染もなかった。

【0075】

一方、細気管支炎の重症度の評価は、以前に公知された症状スコアリングシステムを基礎にして行われた(Parkin et al. 1996)：呼吸率(respiratory rate)、喘鳴(wheezing)、退縮(retraction)、呼吸困難(dyspnea)および吸気対呼気の比率(inspiratory-to-expiratory ratio)の項目を0、1、2の範囲に分けて、最終的なスコアは、最大値10に要約した。そして、ウイルス感染を間接免疫蛍光法によって非咽頭吸引でウイルス性抗原によって確認した。すべての乳幼児は、入院中に β_2 -アゴニストを用いた通常の治療を受けたが、副腎皮質ステロイドの処方を受けなかった。

【0076】

12週間、以下のようなグループを対象に、一日に一度、夜に4mgを投与した。Merck & Co., Inc. からプラセボ(偽薬)として不活性、経口類似グラニュールを提供された。ブラインディング(blinding)のアクティブおよびプラセボグラニュールを薬剤科からコンピュータ生成された任意的割り当てスケジュールにより提供された。すべての実験および患者を全体の実験期間中にブラインド状態に維持した。 β_2 -アゴニスト以外処方された追加の喘息の治療は行われなかった。

【0077】

病歴、物理的検討および日常的な血液テストが全体の患者に対して行われ、症状スコアを記録した。フォロー(追跡)-アップデートを12ヶ月間、1ヶ月ごとに収集し(つまり、0、1、2、3、4・・・12月)、喘鳴または喘息に対する2週間ごとの電話または医師の訪問を通じて喘息の薬物治療に対する調査を行った。

【0078】

このとき、実験群および対照群の患者の親の同意および病院の倫理委員会の承認を受けた。

【0079】

[分析対象グループ]

(1) montelukast oral granules [RSV-Montelukast (RSV-MONT)グループ] 処理群およびマッチングプラセボ [RSV-Placebos (RSV-PLC)グループ] 処理群

(2) メタニューモウイルス治療剤処理群 [メタニューモウイルス-Montelukast oral granules)グループ] およびマッチング、プラセボ処理群

(3) マイコプラズマ治療剤 [マイコプラズマ-クラリスロマイシングループ] 処理群およびマッチングプラセボ処理群

【0080】

血清および喀痰の収集と分析

まず、各実験群および対照群から血清を収集し、血清中のEDNレベルをプロトコル(MBL, Woburn, MA)の説明書に基づいてELISAによって測定し、結果をng/mlで表示した。このようなELISA < 0.62 ng/mlの最小検出の限界、> 300 ng/mlの最大検出限界、およびECPと交差反応なしに、ヒトEDNを検出した。すべての分析は2回ずつ実行し、平均値で統計学的分析に用いられた。

【0081】

また、喀痰の収集は、すべての実験群および対照群を対象にDeVilbiss UltraNeb 99 ultrasonic nebulizerを利用して製造した3

10

20

30

40

50

%の高張液食塩水の煙霧を吸引させて喀痰を誘導し、このとき、唾液や後鼻濡の汚染を防止するために生理食塩水で口をすすぎ、鼻をかんだ後、3%の高張液食塩水の煙霧を吸入させた後、消毒された容器に2分ごとに喀痰排出を試みるようにして喀痰を収集し、喀痰中EDNの測定は、EDNに対する抗体を使用した免疫測定法を用いて測定した。

【0082】

統計学的分析

すべてのデータは、処理コードによりグルーピングされて、細気管支炎後、好酸球脱顆粒(eosinophil degranulation)が喘鳴と関連しているか否かを1次結果として決定づけた。喘鳴(wheezing)または喘息の再発のマーカーとして、各測定の瞬間のEDNレベルを調査した。

10

【0083】

3グループの差異を表すデータのスクリーニングは、Kruskal-Wallis testを用いて行い、有意な差異点を確認されたとき、Mann-Whitney U testを用いて、個別のグループを比較して、好酸球脱顆粒化のマーカーおよび他のパラメータの測定に使用した。Spearman相関係数を計算して値間の相関関係を評価した。P-valueが0.05以下のとき、統計学的に有意なもののみとした。

【0084】

実施例1：EDNと再発性喘息/喘鳴との相関関係を確認

実験に使用された患者情報は、以下の通りである。特に乳幼児の生後1~24ヶ月に該当する発病原因菌による細気管支炎の発病乳幼児を以下のようにグルーピングして、これら患者および正常対照群から前記記述されたように、血清および喀痰を収集して相関関係を分析した。

20

【0085】

<1>(RSV-MONT、RSV-PLC、対照群それぞれ)：

- n：71, 79, 28

- 年齢の範囲(血清試料の分析対象)1-23ヶ月、1-23ヶ月、1-23ヶ月

- 年齢の範囲(喀痰試料の分析対象)：7~10歳、7~10歳、7~10歳

- 性別M：F：54：25、46：25、12：16

- アトピー性遺伝(atopic heredity)%：18.5、16.2、0.

30

0

- 血中好酸球mm³、平均(範囲)：190(11-809)、168(39-900)、91(49-334)

- 症状スコア、1-10、平均(範囲)：6.1(4-9)、5.9(4-9)、n/a

<2>(メタニューモウイルス-治療剤処理群、メタニューモウイルス-プラセボ群、対照群それぞれ)：

- n：70, 80, 27

- 年齢の範囲：1-23ヶ月、1-23ヶ月、1-23ヶ月

- 年齢の範囲(喀痰試料の分析対象)：7~10歳、7~10歳、7~10歳

- 性別M：F：55：27、44：26、11：18

- アトピー性遺伝(atopic heredity)%：18.0、15.2、0.

40

0

- 血中好酸球mm³、平均(範囲)：190(11-809)、168(39-900)、91(49-334)

- 症状スコア、1-10、平均(範囲)：6.1(4-9)、5.9(4-9)、n/a

<3>(マイコプラズマ(M.pneumoniae)-治療剤処理群、マイコプラズマ-プラセボ群、対照群それぞれ)：

- n：68, 78, 27

50

- 年齢の範囲：1 - 22ヶ月、1 - 24ヶ月、1 - 21ヶ月
- 年齢の範囲（喀痰試料の分析対象）：7～10歳、7～10歳、7～10歳
- 性別 M：F：53：24、40：26、13：14
- アトピー性遺伝（atopic heredity）%：18.0、15.2、0.0
- 血中好酸球 mm³、平均（範囲）：190（11 - 809）、168（39 - 900）、91（49 - 334）
- 症状スコア、1 - 10、平均（範囲）：6.1（4 - 9）、5.9（4 - 9）、n/a

【0086】

10

ここで、前記治療剤処理群は疾病群であり、プラセボ処理群は安定期群であり、対照群は疾病にかかっていない健康な正常群をいう。

【0087】

また、具体的に、ベースライン、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月から12ヶ月まで毎月、血清 EDN レベルおよび喘息と喘鳴との間の相関関係を調査した。

【0088】

<結果 1 - 1 >

血清 EDN 分析を介して RSV - PLC グループ ($r = 0.70$ 、 $P < 0.0001$) および RSV - MONT グループ ($r = 0.52$ 、 $P < 0.0001$) においては、12ヶ月、喘鳴の発作の全体回数と4ヶ月（治療の最後）における血清 EDN レベルが有意的に相関関係があり、一方、12ヶ月目の全体喘鳴発作の数と4ヶ月未満の2ヶ月、3ヶ月および4ヶ月を超えた5～12ヶ月目の EDN レベルの間には、有意な相関関係が現れなかった。

20

【0089】

また、上昇された EDN レベルのカットオフ (cut-off) として 45 ng/ml の ($\text{median} + 2 \text{SD}$) を用いて、12ヶ月の間に累積される再発喘鳴に対する4ヶ月目の EDN レベルの陽性予測値 (positive predictive value、PPV) は65%であり、陰性予測値 (negative predictive value、NPV) は80%、感度 (sensitivity) は70%そして特異度 (specificity) は72%であった。

30

【0090】

また、RSV - PLC グループ (RSV 細気管支炎の自然なプロセス) では、EDN が 100 ng/ml 以上の場合、その後2回以上再発性喘鳴が現れる確率は75%であることが示された。つまり、EDN が 100 ng/ml 以上の場合、2回以上喘鳴が発生した確率が75%であることが分かった。

【0091】

興味深いことに、RSV - PLC グループ (すなわち、RSV 細気管支炎の自然なプロセス) での最初の全体好酸球は、12ヶ月目 (spearman $r = 0.4044$ 、 $P = 0.0059$) 喘鳴の発作の累積的な数と関連があったのに対し、RSV - MONT グループ (spearman $r = 0.4 - 0.05470$ 、 $P = 0.6553$) で、このような2値の間には、相関関係がなかった。

40

【0092】

その結果、血清 EDN 分析を介して RSV - PLC グループ ($r = 0.70$ 、 $P < 0.0001$) および RSV - MONT グループ ($r = 0.52$ 、 $P < 0.0001$) では12ヶ月、喘鳴の発作の全体回数と4ヶ月（治療の最後）での血清 EDN レベルは有意的に相関関係があり、一方、12ヶ月目、全体喘鳴の発作の数と4ヶ月未満の2ヶ月、3ヶ月および4ヶ月を超えた5～12ヶ月目の EDN レベルの間には、有意な相関関係が現れなかった。

【0093】

また、上昇された EDN レベルのカットオフ (cut-off) として 45 ng/ml

50

の (median + 2SD) を用いて、12ヶ月の間に累積される再発喘鳴に対する4ヶ月目のEDNレベルの陽性予測値 (positive predictive value、PPV) は65%であり、陰性予測値 (negative predictive value、NPV) は80%、感度 (sensitivity) は70%そして特異度 (specificity) は72%であった。

【0094】

また、RSV-PLCグループ (RSV細気管支炎の自然なプロセス) では、EDNが100ng/ml以上の場合、その後2回以上再発性喘鳴が現れる確率は75%であることが示された。即ち、EDNが100ng/ml以上の場合、2回以上喘鳴が発生した確率が75%であることが分かった。

10

【0095】

興味深いことに、RSV-PLCグループ (すなわち、RSV細気管支炎の自然なプロセス) での最初の全体好酸球は、12ヶ月目 (spearman $r = 0.4044$ 、 $P = 0.0059$) 喘鳴の発作の累積的な数と関連があったのに対し、RSV-MONTグループ (spearman $r = 0.4 - 0.05470$ 、 $P = 0.6553$) で、このような2値の間には相関関係がなかった。

【0096】

<結果1-2>

血清EDN分析を介してメタニューモウイルス治療剤処理群 ($r = 0.50$ 、 $P < 0.0001$ 、メタニューモウイルスプラセボ処理群 ($r = 0.68$ 、 $P < 0.0001$) では12ヶ月、喘息および喘鳴の発作の全体回数と3ヶ月 (治療の最後) での血清EDNレベルが有意的に相関関係があり、一方、12ヶ月目の全体喘鳴の発作の数と3ヶ月未満の2ヶ月、1ヶ月および3ヶ月を超えた4~12ヶ月目のEDNレベルの間には、有意な相関関係が現れなかった。

20

【0097】

また、上昇されたEDNレベルのカットオフ (cut-off) として50ng/mlの (median + 2SD) を用いて、12ヶ月の間に累積される再発喘鳴に対する3ヶ月目のEDNレベルの陽性予測値 (positive predictive value、PPV) は70%であり、陰性予測値 (negative predictive value、NPV) は82%、感度 (sensitivity) は75%そして特異度 (specificity) は70%であった。

30

【0098】

また、メタニューモウイルスによる細気管支炎の自然なプロセスでEDNが80ng/ml以上の場合、その後3回以上再発性喘息および喘鳴が現れる確率は80%であることが示された。つまり、EDNが80ng/ml以上の場合、3回以上喘息および喘鳴が発生した確率が80%であることが分かった。

【0099】

<結果1-3>

血清EDN分析を介してマイコプラズマ治療剤処理群 ($r = 0.50$ 、 $P < 0.0001$)、マイコプラズマプラセボ処理群 ($r = 0.68$ 、 $P < 0.0001$) では12ヶ月、喘息および喘鳴の発作の全体回数と5ヶ月 (治療の最後) での血清EDNレベルは有意的に相関関係があり、一方、12ヶ月目の全体喘鳴の発作の数と5ヶ月未満の1~4ヶ月および5ヶ月を超えた6~12ヶ月目のEDNレベルの間には、有意な相関関係が現れなかった。

40

【0100】

また、上昇されたEDNレベルのカットオフ (cut-off) として60ng/mlの (median + 2SD) を用いて、12ヶ月の間に累積される再発喘鳴に対する5ヶ月目のEDNレベルの陽性予測値 (positive predictive value、PPV) は63%であり、陰性予測値 (negative predictive value、NPV) は77%、感度 (sensitivity) は78%そして特異

50

度 (s p e c i f i c i t y) は 6 8 % で あ っ た。

【 0 1 0 1 】

また、マイコプラズマによる細気管支炎の自然なプロセスで E D N が 1 3 0 n g / m l 以上の場合、その後 3 回以上再発性喘息および喘鳴が現れる確率は 8 3 % であることが示された。つまり、E D N が 1 3 0 n g / m l 以上の場合、3 回以上喘息および喘鳴が発生した確率が 8 3 % であることが分かった。

【 0 1 0 2 】

< 結果 1 - 4 >

前記の結果 < 1 - 3 > の内容が実験群と対照群の血清を対象に分析した結果であれば、本内容は、喀痰試料を対象に分析した結果を示したものであって、マイコプラズマによる感染で細気管支炎が誘発された児童を対象に分析を行った。

10

【 0 1 0 3 】

上述のように、7 歳 ~ 1 0 歳の児童を対象に分析した結果、上昇された E D N レベルのカットオフ (c u t - o f f) と して 7 0 n g / m l (m e d i a n + 2 S D) を 用 いて、1 2 ヶ月の間に累積される再発喘鳴に対する 4 ヶ月目の E D N レベルの陽性予測値 (p o s i t i v e p r e d i c t i v e v a l u e 、 P P V) は 7 3 % であり、陰性予測値 (n e g a t i v e p r e d i c t i v e v a l u e 、 N P V) は 8 7 % 、感度 (s e n s i t i v i t y) は 7 8 % そして特異度 (s p e c i f i c i t y) は 7 0 % で あ っ た。

【 0 1 0 4 】

20

マイコプラズマによる細気管支炎の自然なプロセスで E D N が 8 0 n g / m l 以上の場合、その後 3 回以上再発性喘息および喘鳴が現れる確率は 8 8 % であることが示された。つまり、E D N が 8 0 n g / m l 以上の場合、3 回以上喘息および喘鳴が発生した確率が 8 8 % であることが分かった。

【 0 1 0 5 】

特に定義されない限り、本願で使用されるすべての技術的および科学的用語は、本発明が属する分野の当業者が通常理解するのと同じ意味を持つ。本願に記述されたものと類似または等価の任意の方法および材料が本発明をテストするための実行において使用される。

【 配列表 】

30

0006420475000001.app

フロントページの続き

(72)発明者 キム チャン - ケウン

大韓民国, 103 - 1501 ギョンギ - ド 12141, ナムヤンジュ - シ, チョンマサン - ロ
65

審査官 海野 佳子

(56)参考文献 国際公開第03/000286(WO, A1)

国際公開第2008/144850(WO, A1)

Chang-Keun Kim, Eosinophil-Derived Neurotoxin: A Novel Biomarker for Diagnosis and Monitoring of Asthma, Korean Journal of Pediatrics, 2013年, Vol.56, No.1, PP.8-12

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/48 - 33/98

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAPLUS/MEDLINE/BIOSIS(STN)

专利名称(译)	用于诊断细支气管炎后哮喘的标志物及其用途		
公开(公告)号	JP6420475B2	公开(公告)日	2018-11-07
申请号	JP2017522176	申请日	2015-10-27
[标]申请(专利权)人(译)	仁济大学校产学协力团		
申请(专利权)人(译)	因斯大学工业学合作基金会		
当前申请(专利权)人(译)	因斯大学工业学合作基金会		
[标]发明人	キムチャンケウン		
发明人	キム チャン-ケウン		
IPC分类号	G01N33/53 C12Q1/68 C12N15/09 C07K16/18		
CPC分类号	C12Q1/68 G01N33/569		
FI分类号	G01N33/53.S C12Q1/68.ZNA.A C12N15/00.A C07K16/18		
代理人(译)	田中纯弥		
优先权	1020140147771 2014-10-28 KR		
其他公开文献	JP2017533431A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及一种细支气管炎，嗜酸性粒细胞衍生神经毒素（嗜酸性粒细胞衍生神经毒素，EDN）电平之后反复喘息或哮喘的诊断和分析细支气管炎后反复喘息或哮喘之间的相关性使用EDN标记物诊断细支气管炎后反复发作的喘息或哮喘。

(19) 日本国特許庁(JP)	(12) 特許公報(B2)	(11) 特許番号 特許第6420475号 (P6420475)
(45) 発行日 平成30年11月7日(2018.11.7)	(24) 登録日 平成30年10月19日(2018.10.19)	
(51) Int. Cl.	F I	
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 S	
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	
C O 7 K 16/18 (2006.01)	C O 7 K 16/18	
請求項の数 5 (全 16 頁)		
(21) 出願番号 特願2017-522176(P2017-522176)	(73) 特許権者 515054778	
(22) 出願日 平成27年10月27日(2015.10.27)	インジェ ユニバーシティ インダストリー アカデミック コーポレーション ファウンデーション	
(31) 優先権主張番号 10-2014-0147771	大韓民国 キョンサンナムード キムヘーシ インジェーロ 197	
(32) 優先日 平成26年10月28日(2014.10.28)	(74) 代理人 100124431	
(33) 優先権主張国 韓国(KR)	弁理士 田中 順也	
	(74) 代理人 100174160	
	弁理士 水谷 馨也	
	(74) 代理人 100175651	
	弁理士 迫田 恭子	
最終頁に続く		
(54) 【発明の名称】 細気管支炎後の喘息の診断のためのマーカーおよびその用途		