

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2016-10346

(P2016-10346A)

(43) 公開日 平成28年1月21日(2016.1.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12Q 1/68 (2006.01)	C12Q 1/68	A 2G045
G01N 33/50 (2006.01)	G01N 33/50	P 4B024
A61K 31/7088 (2006.01)	A61K 31/7088	4B063
A61K 48/00 (2006.01)	A61K 48/00	4C084
A61P 37/02 (2006.01)	A61P 37/02	4C086

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 32 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-133367 (P2014-133367)
 (22) 出願日 平成26年6月27日 (2014. 6. 27)

(71) 出願人 504173471
 国立大学法人北海道大学
 北海道札幌市北区北8条西5丁目
 (74) 代理人 100113332
 弁理士 一入 章夫
 (74) 代理人 100160037
 弁理士 金子 真紀
 (72) 発明者 北村 秀光
 北海道札幌市北区北8条西5丁目 国立大
 学法人北海道大学内
 (72) 発明者 武富 紹信
 北海道札幌市北区北8条西5丁目 国立大
 学法人北海道大学内

最終頁に続く

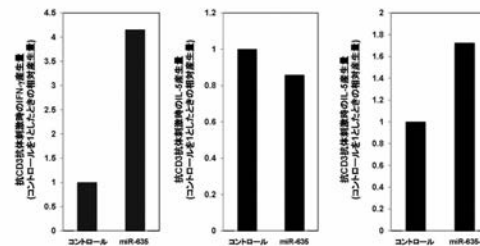
(54) 【発明の名称】 免疫体質又は免疫応答型を判定するためのバイオマーカー及び免疫応答型制御剤

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 患者の免疫体質を予測することのできるバイオマーカーとなり得るマイクロRNA、患者の免疫応答の型を判定することのできるバイオマーカーとなり得るマイクロRNA、及び患者に投与することでその免疫応答を制御することのできるマイクロRNAの提供。

【解決手段】 特定のマイクロRNAである、被験者の免疫体質の判定方法に用いるための又は被験者の免疫応答の型の判定方法に用いるためのバイオマーカー、これらバイオマーカーを用いて被験者の免疫体質又は被験者の免疫応答の型を判定する方法並びに免疫応答の型の判定方法に用いるためのマイクロRNAを有効成分とする免疫応答型制御剤。患者の免疫体質を予め判定することによって、又は免疫治療を実行中の患者の免疫応答を判定することによって、感染症やがんワクチン治療の効果を予測することができる他、広く免疫関連疾患の予防、改善、治療が可能となる。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項1】

表1及び表2に示されるID及びアクセッション番号で特定されるマイクロRNAよりなる群から選択される1種以上のマイクロRNAである、被験者の免疫体質の判定に用いるためのバイオマーカー。

【表1】

ID	アクセッション番号	基準 相対的 発現量
hsa-miR-635	MIMAT0003305	6.3
hsa-miR-4705	MIMAT0019805	6.7
hsa-miR-892c-3p	MIMAT0025858	4.9
hsa-miR-452-5p	MIMAT0001635	5.5
hsa-miR-224-3p	MIMAT0009198	6.7
hsa-miR-4709-5p	MIMAT0019811	3.9
hsa-miR-4448	MIMAT0018967	157.5
hsa-miR-3678-3p	MIMAT0018103	25.0
hsa-miR-4457	MIMAT0018979	6.2
hsa-miR-7157-5p	MIMAT0028224	12.4
hsa-miR-3529-5p	MIMAT0019828	4.4
hsa-miR-5694	MIMAT0022487	4.4
hsa-miR-873-3p	MIMAT0022717	59.5
hsa-miR-24-2-5p	MIMAT0004497	3.5
hsa-miR-301b	MIMAT0004958	4.2
hsa-miR-4468	MIMAT0018995	3.7
hsa-miR-548w	MIMAT0015060	5.3
hsa-miR-7843-3p	MIMAT0030412	5.3
hsa-miR-6864-5p	MIMAT0027628	4.5
hsa-miR-4724-3p	MIMAT0019842	3.6
hsa-miR-208b-5p	MIMAT0026722	3.7
hsa-miR-4672	MIMAT0019754	13.1
hsa-miR-513a-5p	MIMAT0002877	66.8
hsa-miR-4318	MIMAT0016869	6.1
hsa-miR-548e-5p	MIMAT0026736	3.5
hsa-miR-4299	MIMAT0016851	66.8
hsa-miR-7156-3p	MIMAT0028223	4.1
hsa-miR-4719	MIMAT0019832	5.1
hsa-miR-4453	MIMAT0018975	3.9
hsa-miR-4435	MIMAT0018951	60.1
hsa-miR-4752	MIMAT0019889	5.3
hsa-miR-3614-3p	MIMAT0017993	3.8
hsa-miR-744-5p	MIMAT0004945	619.1
hsa-miR-611	MIMAT0003279	5.0
hsa-miR-1288-5p	MIMAT0026743	4.4
hsa-miR-3199	MIMAT0015084	6.4
hsa-miR-4494	MIMAT0019029	4.6
hsa-miR-23a-5p	MIMAT0004496	58.1
hsa-miR-5003-5p	MIMAT0021025	4.1
hsa-miR-554	MIMAT0003217	6.3
hsa-miR-6068	MIMAT0023693	119.7
hsa-miR-6132	MIMAT0024616	1063.7

ID	アクセッション番号	基準 相対的 発現量
hsa-miR-552-3p	MIMAT0003215	5.3
hsa-miR-494-3p	MIMAT0002816	55.5
hsa-miR-8068	MIMAT0030995	4.6
hsa-miR-4285	MIMAT0016913	14.0
hsa-miR-4688	MIMAT0019777	1065.2
hsa-miR-4772-3p	MIMAT0019927	7.3
hsa-miR-202-3p	MIMAT0002811	6.6
hsa-miR-193b-5p	MIMAT0004767	89.3
hsa-miR-3146	MIMAT0015018	4.4
hsa-miR-572	MIMAT0003237	136.4
hsa-miR-6835-3p	MIMAT0027571	5.0
hsa-miR-340-3p	MIMAT0000750	9.2
hsa-miR-153-5p	MIMAT0026480	5.2
hsa-miR-660-5p	MIMAT0003338	7.9
hsa-miR-5100	MIMAT0022259	4351.5
hsa-miR-8078	MIMAT0031005	66.5
hsa-miR-30c-2-3p	MIMAT0004550	21.1
hsa-miR-7641	MIMAT0029782	905.1
hsa-miR-6501-3p	MIMAT0025459	12.8
hsa-miR-4524b-3p	MIMAT0022256	5.7
hsa-miR-1287-5p	MIMAT0005878	6.1
hsa-miR-155-3p	MIMAT0004658	5.2
hsa-miR-601	MIMAT0003269	5.1
hsa-miR-4303	MIMAT0016856	5.1
hsa-miR-4467	MIMAT0018994	4388.7
hsa-miR-6758-3p	MIMAT0027417	11.1
hsa-miR-4444	MIMAT0018962	4.8
hsa-miR-4638-5p	MIMAT0019695	480.8
hsa-miR-4776-5p	MIMAT0019932	27.7
hsa-miR-6809-5p	MIMAT0027518	19.2
hsa-miR-6770-5p	MIMAT0027440	7.2
hsa-miR-7854-3p	MIMAT0030429	21.6
hsa-miR-6511a-5p	MIMAT0025478	208.3
hsa-miR-1295b-5p	MIMAT0022293	4.9
hsa-miR-5001-5p	MIMAT0021021	834.9
hsa-miR-624-3p	MIMAT0004807	5.4
hsa-miR-381-5p	MIMAT0022862	6.2
hsa-miR-6715b-5p	MIMAT0025842	9.8
hsa-miR-6777-5p	MIMAT0027454	403.8
hsa-miR-125b-1-3p	MIMAT0004592	55.7

10

20

30

40

【表 2】

ID	アッセイ番号	基準 相対的 発現量
hsa-miR-4650-5p	MIMAT0019713	6.6
hsa-miR-4423-3p	MIMAT0018936	5.4
hsa-miR-20b-3p	MIMAT0004752	11.4
hsa-miR-5094	MIMAT0021086	10.4
hsa-miR-450a-2-3p	MIMAT0031074	6.5
hsa-miR-3120-5p	MIMAT0019198	20.0
hsa-miR-150-5p	MIMAT0000451	68.1
hsa-miR-122-5p	MIMAT0000421	52.1
hsa-miR-382-3p	MIMAT0022697	9.0
hsa-miR-548k	MIMAT0005882	7.0
hsa-miR-3648	MIMAT0018068	20974.1
hsa-miR-218-2-3p	MIMAT0004566	4.1
hsa-miR-6071	MIMAT0023696	24.3
hsa-miR-642b-3p	MIMAT0018444	1426.4
hsa-miR-4730	MIMAT0019852	4921.9
hsa-miR-3158-5p	MIMAT0019211	93.0
hsa-miR-146b-5p	MIMAT0002809	9.4
hsa-miR-1973	MIMAT0009448	26.5
hsa-miR-1203	MIMAT0005866	183.0
hsa-miR-505-3p	MIMAT0002876	6.8
hsa-miR-215-5p	MIMAT0000272	8.2

10

20

【請求項 2】

被験者の免疫体質を判定する方法であって、

1) 被験者から採取された試料における、請求項 1 に規定される表 1 及び / 又は表 2 に示されるマイクロ RNA の少なくとも一種以上を含む複数のマイクロ RNA の発現量を測定する工程、

2) 前記マイクロ RNA の発現量から前記表 1 及び / 又は表 2 に示されるマイクロ RNA の少なくとも一種以上の相対的発現量を算出する工程、及び

3) 2) で算出された前記表 1 に示されるマイクロ RNA の相対的発現量が前記表 1 に示されるそれぞれの基準相対的発現量以上であるときは被験者の免疫体質を T h 1 型であると判定し、又は 2) で算出された前記表 2 に示されるマイクロ RNA の相対的発現量が前記表 2 に示されるそれぞれの基準相対的発現量以上であるときは被験者の免疫体質を T h 2 型であると判定する工程

30

を含む、前記判定方法。

【請求項 3】

相対的発現量がグローバルノーマライゼーション法によって算出される、請求項 2 に記載の判定方法。

【請求項 4】

表 3 ~ 表 6 に示されるマイクロ RNA よりなる群から選択される 1 種以上のマイクロ RNA である、被験者の免疫応答の型の判定に用いるためのバイオマーカー。

40

【表 3】

ID	アクセッション番号
hsa-miR-4650-5p	MIMAT0019713
hsa-miR-5011-5p	MIMAT0021045
hsa-miR-942-5p	MIMAT0004985
hsa-miR-4423-3p	MIMAT0018936
hsa-miR-4325	MIMAT0016887
hsa-miR-5000-3p	MIMAT0021020
hsa-miR-5003-3p	MIMAT0021026
hsa-miR-7975	MIMAT0031178
hsa-miR-8086	MIMAT0031013
hsa-miR-518e-3p	MIMAT0002861
hsa-miR-1270	MIMAT0005924
hsa-miR-3064-3p	MIMAT0019865
hsa-miR-6502-5p	MIMAT0025460
hsa-miR-4639-3p	MIMAT0019698

【表4】

ID	アクション番号	ID	アクション番号	ID	アクション番号
hsa-miR-132-3p	MIMAT0000426	hsa-miR-5091	MIMAT0021083	hsa-miR-6838-5p	MIMAT0027578
hsa-miR-4457	MIMAT0018979	hsa-miR-34a-5p	MIMAT0000255	hsa-miR-1266-5p	MIMAT0005920
hsa-miR-30c-2-3p	MIMAT0004550	hsa-miR-892a	MIMAT0004907	hsa-miR-654-5p	MIMAT0003330
hsa-miR-224-3p	MIMAT0009198	hsa-miR-21-3p	MIMAT0004494	hsa-miR-4747-5p	MIMAT0019882
hsa-miR-4779	MIMAT0019938	hsa-miR-520a-3p	MIMAT0002834	hsa-miR-4512	MIMAT0019049
hsa-miR-222-5p	MIMAT0004569	hsa-miR-3934-3p	MIMAT0022975	hsa-miR-885-5p	MIMAT0004947
hsa-miR-449c-3p	MIMAT0013771	hsa-miR-550a-3p	MIMAT0003257	hsa-miR-3141	MIMAT0015010
hsa-miR-452-5p	MIMAT0001635	hsa-miR-129-1-3p	MIMAT0004548	hsa-miR-5698	MIMAT0022491
hsa-miR-541-3p	MIMAT0004920	hsa-miR-4267	MIMAT0016893	hsa-miR-198	MIMAT0000228
hsa-miR-4772-3p	MIMAT0019927	hsa-miR-6770-5p	MIMAT0027440	hsa-miR-4443	MIMAT0018961
hsa-miR-539-5p	MIMAT0003163	hsa-miR-4514	MIMAT0019051	hsa-miR-1273c	MIMAT0015017
hsa-miR-4441	MIMAT0018959	hsa-miR-6734-3p	MIMAT0027370	hsa-miR-3126-3p	MIMAT0015377
hsa-miR-4537	MIMAT0019080	hsa-miR-6728-5p	MIMAT0027357	hsa-miR-378i	MIMAT0019074
hsa-miR-6767-5p	MIMAT0027434	hsa-miR-551b-3p	MIMAT0003233	hsa-miR-6799-5p	MIMAT0027498
hsa-miR-513b-5p	MIMAT0005788	hsa-miR-23a-5p	MIMAT0004496	hsa-miR-6728-3p	MIMAT0027358
hsa-miR-657	MIMAT0003335	hsa-miR-4303	MIMAT0016856	hsa-miR-193a-5p	MIMAT0004614
hsa-miR-3685	MIMAT0018113	hsa-miR-558	MIMAT0003222	hsa-miR-4448	MIMAT0018967
hsa-miR-6847-5p	MIMAT0027594	hsa-miR-605-5p	MIMAT0003273	hsa-miR-92b-5p	MIMAT0004792
hsa-miR-339-3p	MIMAT0004702	hsa-miR-122-5p	MIMAT0000421	hsa-miR-378b	MIMAT0014999
hsa-miR-5681b	MIMAT0022480	hsa-miR-4784	MIMAT0019948	hsa-miR-4688	MIMAT0019777
hsa-miR-517a-3p	MIMAT0002852	hsa-miR-3150b-3p	MIMAT0018194	hsa-miR-4428	MIMAT0018943
hsa-miR-517b-3p	MIMAT0002857	hsa-miR-188-3p	MIMAT0004613	hsa-miR-3164	MIMAT0015038
hsa-miR-432-3p	MIMAT0002815	hsa-miR-6831-5p	MIMAT0027562	hsa-miR-769-3p	MIMAT0003887
hsa-miR-4733-5p	MIMAT0019857	hsa-miR-4676-5p	MIMAT0019758	hsa-miR-4260	MIMAT0016881
hsa-miR-4283	MIMAT0016914	hsa-miR-4292	MIMAT0016919	hsa-miR-4435	MIMAT0018951
hsa-miR-381-5p	MIMAT0022862	hsa-miR-551b-5p	MIMAT0004794	hsa-miR-7973	MIMAT0031176
hsa-miR-6513-3p	MIMAT0025483	hsa-miR-148a-3p	MIMAT0000243	hsa-miR-432-5p	MIMAT0002814
hsa-miR-4451	MIMAT0018973	hsa-miR-30e-3p	MIMAT0000693	hsa-miR-1273d	MIMAT0015090
hsa-miR-6864-5p	MIMAT0027628	hsa-miR-3154	MIMAT0015028	hsa-miR-4445-3p	MIMAT0018964
hsa-miR-6822-3p	MIMAT0027545	hsa-miR-7848-3p	MIMAT0030423	hsa-miR-3173-3p	MIMAT0015048
hsa-miR-510-5p	MIMAT0002882	hsa-miR-7154-5p	MIMAT0028218	hsa-miR-601	MIMAT0003269
hsa-miR-186-3p	MIMAT0004612	hsa-miR-202-3p	MIMAT0002811	hsa-miR-7113-5p	MIMAT0028123
hsa-miR-4494	MIMAT0019029	hsa-miR-764	MIMAT0010367	hsa-miR-33a-3p	MIMAT0004506
hsa-miR-6823-5p	MIMAT0027546	hsa-miR-5696	MIMAT0022489	hsa-miR-6761-5p	MIMAT0027422
hsa-miR-554	MIMAT0003217	hsa-miR-744-3p	MIMAT0004946	hsa-miR-1236-5p	MIMAT0022945
hsa-miR-4752	MIMAT0019889	hsa-miR-575	MIMAT0003240	hsa-miR-3065-3p	MIMAT0015378
hsa-miR-3192-5p	MIMAT0015076	hsa-miR-1468-5p	MIMAT0006789	hsa-miR-519d-3p	MIMAT0002853
hsa-miR-2681-5p	MIMAT0013515	hsa-miR-208b-5p	MIMAT0026722	hsa-miR-548c-5p	MIMAT0004806
hsa-miR-181a-2-3p	MIMAT0004558	hsa-miR-6833-5p	MIMAT0027566	hsa-miR-548o-5p	MIMAT0022738
hsa-miR-6718-5p	MIMAT0025849	hsa-miR-572	MIMAT0003237	hsa-miR-548am-5p	MIMAT0022740
hsa-miR-6774-3p	MIMAT0027449	hsa-miR-4518	MIMAT0019055	hsa-miR-205-5p	MIMAT0000266
hsa-miR-3202	MIMAT0015089	hsa-miR-4481	MIMAT0019015	hsa-miR-27a-3p	MIMAT0000084
hsa-miR-340-3p	MIMAT0000750	hsa-miR-4753-5p	MIMAT0019890	hsa-miR-23c	MIMAT0018000
hsa-miR-147a	MIMAT0000251	hsa-miR-1321	MIMAT0005952	hsa-miR-6133	MIMAT0024617
hsa-miR-541-5p	MIMAT0004919	hsa-miR-4648	MIMAT0019710	hsa-miR-3922-5p	MIMAT0019227
hsa-miR-660-5p	MIMAT0003338	hsa-miR-3622a-5p	MIMAT0018003	hsa-miR-302c-5p	MIMAT0000716
hsa-miR-5093	MIMAT0021085	hsa-miR-7158-3p	MIMAT0028227	hsa-miR-151b	MIMAT0010214
hsa-miR-4529-5p	MIMAT0019236	hsa-miR-4534	MIMAT0019073	hsa-miR-4672	MIMAT0019754
hsa-miR-2909	MIMAT0013863	hsa-miR-216b-3p	MIMAT0026721	hsa-miR-300	MIMAT0004903
hsa-miR-632	MIMAT0003302	hsa-miR-6809-5p	MIMAT0027518	hsa-miR-584-3p	MIMAT0022708
hsa-miR-5584-3p	MIMAT0022284	hsa-miR-4737	MIMAT0019863	hsa-miR-195-3p	MIMAT0004615
hsa-miR-30a-3p	MIMAT0000088	hsa-miR-6734-5p	MIMAT0027369	hsa-miR-497-5p	MIMAT0002820
hsa-miR-6832-3p	MIMAT0027565	hsa-miR-921	MIMAT0004971	hsa-miR-615-5p	MIMAT0004804
hsa-miR-4318	MIMAT0016869	hsa-miR-6816-3p	MIMAT0027533	hsa-miR-4638-5p	MIMAT0019695
hsa-miR-3127-5p	MIMAT0014990	hsa-miR-16-1-3p	MIMAT0004489	hsa-miR-3529-5p	MIMAT0019828
hsa-miR-552-3p	MIMAT0003215	hsa-miR-3189-3p	MIMAT0015071	hsa-miR-765	MIMAT0003945

10

20

30

40

【表 5】

ID	アクセッション番号
hsa-miR-2467-5p	MIMAT0019952
hsa-miR-4727-3p	MIMAT0019848
hsa-miR-6502-5p	MIMAT0025460
hsa-miR-7844-5p	MIMAT0030419
hsa-miR-548l	MIMAT0005889
hsa-miR-5047	MIMAT0020541
hsa-miR-4742-5p	MIMAT0019872
hsa-miR-4735-3p	MIMAT0019861
hsa-miR-4671-5p	MIMAT0019752
hsa-miR-4299	MIMAT0016851
hsa-miR-548as-5p	MIMAT0022267
hsa-miR-6516-3p	MIMAT0030418
hsa-miR-4647	MIMAT0019709
hsa-miR-513a-5p	MIMAT0002877
hsa-miR-761	MIMAT0010364
hsa-miR-125b-1-3p	MIMAT0004592
hsa-miR-4670-5p	MIMAT0019750
hsa-miR-5087	MIMAT0021079
hsa-miR-4503	MIMAT0019039
hsa-miR-944	MIMAT0004987
hsa-miR-125a-3p	MIMAT0004602
hsa-miR-4777-3p	MIMAT0019935
hsa-miR-552-5p	MIMAT0026615
hsa-miR-548ag	MIMAT0018969
hsa-miR-4468	MIMAT0018995
hsa-miR-5191	MIMAT0021122
hsa-miR-4444	MIMAT0018962
hsa-miR-8066	MIMAT0030993
hsa-miR-520b	MIMAT0002843
hsa-miR-6130	MIMAT0024614
hsa-miR-6501-3p	MIMAT0025459
hsa-miR-1288-5p	MIMAT0026743
hsa-miR-5694	MIMAT0022487
hsa-miR-4448	MIMAT0018967
hsa-miR-645	MIMAT0003315
hsa-miR-548ai	MIMAT0018989
hsa-miR-570-5p	MIMAT0022707

ID	アクセッション番号
hsa-miR-744-5p	MIMAT0004945
hsa-miR-548j-5p	MIMAT0005875
hsa-miR-629-5p	MIMAT0004810
hsa-miR-383-3p	MIMAT0026485
hsa-miR-5011-5p	MIMAT0021045
hsa-miR-643	MIMAT0003313
hsa-miR-3182	MIMAT0015062
hsa-miR-548w	MIMAT0015060
hsa-miR-3929	MIMAT0018206
hsa-miR-4461	MIMAT0018983
hsa-miR-7160-3p	MIMAT0028231
hsa-miR-4467	MIMAT0018994
hsa-miR-4285	MIMAT0016913
hsa-miR-6132	MIMAT0024616
hsa-miR-6506-5p	MIMAT0025468
hsa-miR-219a-2-3p	MIMAT0004675
hsa-miR-5100	MIMAT0022259
hsa-miR-3199	MIMAT0015084
hsa-miR-8070	MIMAT0030997
hsa-miR-3200-5p	MIMAT0017392
hsa-miR-6773-5p	MIMAT0027446
hsa-miR-4502	MIMAT0019038
hsa-miR-4672	MIMAT0019754
hsa-miR-5589-3p	MIMAT0022298
hsa-miR-7162-5p	MIMAT0028234
hsa-miR-572	MIMAT0003237
hsa-miR-936	MIMAT0004979
hsa-miR-4684-5p	MIMAT0019769
hsa-miR-124-5p	MIMAT0004591
hsa-miR-193b-5p	MIMAT0004767

10

20

30

【表 6】

ID	アクション番号
hsa-miR-20b-3p	MIMAT0004752
hsa-miR-4456	MIMAT0018978
hsa-miR-4650-5p	MIMAT0019713
hsa-miR-4423-3p	MIMAT0018936
hsa-miR-6822-3p	MIMAT0027545
hsa-miR-3120-5p	MIMAT0019198
hsa-miR-3648	MIMAT0018068
hsa-miR-122-5p	MIMAT0000421
hsa-let-7f-5p	MIMAT0000067
hsa-miR-3158-5p	MIMAT0019211
hsa-miR-3922-3p	MIMAT0018197
hsa-miR-150-5p	MIMAT0000451
hsa-miR-6071	MIMAT0023696
hsa-miR-567	MIMAT0003231
hsa-miR-135a-3p	MIMAT0004595
hsa-miR-550a-5p	MIMAT0004800
hsa-miR-382-3p	MIMAT0022697
hsa-miR-4251	MIMAT0016883
hsa-miR-130b-5p	MIMAT0004680
hsa-miR-3150b-3p	MIMAT0018194
hsa-miR-28-5p	MIMAT0000085
hsa-miR-1288-3p	MIMAT0005942
hsa-miR-432-5p	MIMAT0002814
hsa-miR-642b-3p	MIMAT0018444
hsa-miR-7107-3p	MIMAT0028112
hsa-miR-92a-2-5p	MIMAT0004508
hsa-miR-1973	MIMAT0009448
hsa-miR-26a-5p	MIMAT0000082
hsa-miR-4730	MIMAT0019852
hsa-miR-671-5p	MIMAT0003880
hsa-miR-5094	MIMAT0021086
hsa-miR-4676-3p	MIMAT0019759
hsa-miR-6807-5p	MIMAT0027514
hsa-miR-146b-5p	MIMAT0002809
hsa-miR-6774-3p	MIMAT0027449
hsa-miR-505-3p	MIMAT0002876
hsa-miR-4301	MIMAT0016850
hsa-miR-5681b	MIMAT0022480

ID	アクション番号
hsa-miR-7856-5p	MIMAT0030431
hsa-miR-29c-3p	MIMAT0000681
hsa-miR-1286	MIMAT0005877
hsa-miR-3144-3p	MIMAT0015015
hsa-miR-501-5p	MIMAT0002872
hsa-miR-642a-3p	MIMAT0020924
hsa-miR-8080	MIMAT0031007
hsa-miR-4451	MIMAT0018973
hsa-miR-7-1-3p	MIMAT0004553
hsa-miR-339-3p	MIMAT0004702
hsa-miR-557	MIMAT0003221
hsa-miR-132-3p	MIMAT0000426
hsa-miR-4495	MIMAT0019030
hsa-let-7g-5p	MIMAT0000414
hsa-miR-6767-5p	MIMAT0027434
hsa-miR-6814-3p	MIMAT0027529
hsa-miR-509-3p	MIMAT0002881
hsa-miR-3909	MIMAT0018183
hsa-miR-550a-3p	MIMAT0003257
hsa-miR-4642	MIMAT0019702
hsa-miR-2681-5p	MIMAT0013515
hsa-miR-6513-3p	MIMAT0025483
hsa-miR-4740-3p	MIMAT0019870
hsa-miR-126-3p	MIMAT0000445
hsa-miR-216b-3p	MIMAT0026721
hsa-miR-622	MIMAT0003291
hsa-miR-6504-3p	MIMAT0025465
hsa-miR-4537	MIMAT0019080
hsa-miR-30e-5p	MIMAT0000692
hsa-miR-125b-5p	MIMAT0000423
hsa-miR-374c-3p	MIMAT0022735
hsa-miR-4673	MIMAT0019755
hsa-miR-34a-5p	MIMAT0000255
hsa-miR-519b-3p	MIMAT0002837

10

20

30

【請求項 5】

被験者の免疫応答の型を判定する方法であって、

1) 免疫治療開始前及び開始後においてそれぞれ被験者から採取された試料における、請求項 4 に規定される表 3、表 4、表 5 及び / 又は表 6 に示されるマイクロ RNA よりなる群から選択される少なくとも 1 種以上のマイクロ RNA の発現量を測定する工程、並びに
2) 1) の治療開始後の発現量が、前記表 3 に示されるマイクロ RNA については治療開始前の発現量の 2 倍以上であるとき及び / 若しくは前記表 4 に示されるマイクロ RNA については治療開始前の発現量の 1 / 2 以下であるときは被験者の免疫応答の型を Th 1 型であると判定し、又は前記表 5 に示されるマイクロ RNA については治療開始前の発現量の 2 倍以上であるとき及び / 若しくは前記表 6 に示されるマイクロ RNA については治療開始前の発現量の 1 / 2 以下であるときは被験者の免疫応答の型を Th 2 型であると判定する工程

40

を含む、前記判定方法。

【請求項 6】

マイクロ RNA の発現量がグローバルノーマライゼーション法によって算出される相対的発現量である、請求項 5 に記載の判定方法。

50

【請求項 7】

請求項 1 に規定される表 1 及び表 2 並びに請求項 4 に規定される表 3 ~ 表 6 に示されるマイクロ RNA、前記マイクロ RNA と相補的なマイクロ RNA、前記マイクロ RNA 及び前記相補的なマイクロ RNA に対する阻害性核酸並びにそれらの機能的等価物よりなる群から選択される少なくとも一種以上の核酸を有効成分とする、免疫応答型制御剤。

【請求項 8】

請求項 7 に記載の免疫応答型制御剤を含有する医薬。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、生体特にヒトの免疫応答の型を予測又は確認することのできるバイオマーカーとして利用可能なマイクロ RNA、これらバイオマーカーを用いた免疫体質又は免疫応答型の判定方法及び前記マイクロ RNA を有効成分とする免疫応答型制御剤に関する。

【背景技術】

【0002】

がんの標準治療法は、化学療法、放射線治療及び外科的切除であるが、がん治療のオプションとしてがんワクチンによる免疫治療が提唱され、実用化に向けた研究が盛んに行われている。

20

【0003】

これまで、がんの免疫治療によって生命予後の延長といった一定の効果は散見されている。しかしながら、ワクチン投与後に誘導された抗腫瘍免疫応答が臨床効果に直接結び付かない症例や、ワクチンの頻回投与による抗腫瘍免疫応答の疲弊が生じた症例も認められており、当初期待された腫瘍の完全退縮のような治療効果は限定的である。そのため、がん免疫治療は、標準的ながん治療法に至っているとは言いがたい状況にある。

【0004】

がん免疫治療の効果が限定的であることの要因の一つとして、がん患者体内での免疫機能の低下を含む抗腫瘍免疫の不良が考えられている。例えば、がん微小環境下で産生誘導される IL - 6 が樹状細胞の機能抑制をもたらしていることが指摘されている（非特許文献 1）。IL - 6 は、樹状細胞に作用することで、MHC クラス II 分子及び CD 8 6 の発現を抑制して抗原提示能を低下させると共に、ナイーブ T 細胞からのエフェクター T 細胞であるヘルパー T 細胞への分化誘導能を有する IL - 1 2 の産生も抑制するためである。

30

【0005】

また、免疫治療によってがんを縮退させるためには、キラー T 細胞の誘導などを含む Th 1 型の免疫応答が持続して惹起されることが重要である。しかし、免疫治療に利用可能な腫瘍抗原は数多く提唱されている一方で、個々の患者において果たして Th 1 型の免疫応答が惹起され得るかどうかを予見する有効な手段は、未だ見いだされていない。同様に、免疫治療を継続していく過程で、Th 1 型の免疫応答が適切に惹起されているかどうか

40

【0006】

このように、優れた効果を奏するがん免疫治療の開発には、治療前及び治療過程における、がん患者の免疫応答を予測し又は評価する標準化されたモニタリング法の開発や、臨床効果を予見し得る新規バイオマーカーの探索と同定が求められている。

【0007】

一方、様々な疾患に関連して、特異的な塩基配列を有する微小な RNA（マイクロ RNA、以下、miR と表す）が注目されている。miR は 20 ~ 25 塩基からなる短い一本鎖 RNA であり、これと相補的な配列を持つ mRNA と相互作用することによって遺伝子発現及び転写調節に関与することが知られている。また最近では、血清中にも miR が安

50

定的に存在していることが明らかになり、各種がんの悪性度、患者の生命予後の予測に加え、HIV感染、HCV感染、関節リウマチ、薬物性肝障害、心筋梗塞や脳梗塞のバイオマーカー又は診断薬としてのmiRの利用に関する研究開発が試みられている。

【0008】

しかし、免疫治療の開始前において、患者が免疫治療を受けたときにその免疫応答がTh1型Th2型のいずれになり易いかという免疫体質を予測することのできるバイオマーカーとしてのmiRは依然として報告されていない。また、免疫治療を受けている患者の免疫応答がTh1型であるかTh2型であるかを判定することのできるバイオマーカーとしてのmiRも、依然として報告されていない。さらに、患者の免疫応答の型を制御することができるmiR又はその機能を阻害し得る核酸も報告されていない。

10

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0009】

【非特許文献1】Naritaら、J Immunol .、2013年、第190巻、第812-820ページ

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明は、患者の免疫体質を予測することのできるバイオマーカーとなり得るmiR、患者の免疫応答の型を判定することのできるバイオマーカーとなり得るmiR、及び患者に投与することでその免疫応答の型を制御することのできるmiRを提供することを目的とするものである。

20

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明者らは、免疫治療を受けることによってTh1型又はTh2型の免疫応答を呈するに至った患者の血清中におけるmiRの発現量を測定した結果、特定のmiRの発現パターン又はその変化を確認することで、事前に患者の免疫体質を予測し、また治療経過における免疫応答の型を簡便に判定することができること、さらにこれらmiRを用いることで免疫応答を制御することができることを見だし、下記の各発明を完成させた。

【0012】

30

(1)表1及び表2に示されるID及びアクセッション番号で特定されるmiRである、被験者の免疫体質の判定に用いるためのバイオマーカー。

【0013】

【表 1】

ID	アセクション番号	基準 相対的 発現量
hsa-miR-635	MIMAT0003305	6.3
hsa-miR-4705	MIMAT0019805	6.7
hsa-miR-892c-3p	MIMAT0025858	4.9
hsa-miR-452-5p	MIMAT0001635	5.5
hsa-miR-224-3p	MIMAT0009198	6.7
hsa-miR-4709-5p	MIMAT0019811	3.9
hsa-miR-4448	MIMAT0018967	157.5
hsa-miR-3678-3p	MIMAT0018103	25.0
hsa-miR-4457	MIMAT0018979	6.2
hsa-miR-7157-5p	MIMAT0028224	12.4
hsa-miR-3529-5p	MIMAT0019828	4.4
hsa-miR-5694	MIMAT0022487	4.4
hsa-miR-873-3p	MIMAT0022717	59.5
hsa-miR-24-2-5p	MIMAT0004497	3.5
hsa-miR-301b	MIMAT0004958	4.2
hsa-miR-4468	MIMAT0018995	3.7
hsa-miR-548w	MIMAT0015060	5.3
hsa-miR-7843-3p	MIMAT0030412	5.3
hsa-miR-6864-5p	MIMAT0027628	4.5
hsa-miR-4724-3p	MIMAT0019842	3.6
hsa-miR-208b-5p	MIMAT0026722	3.7
hsa-miR-4672	MIMAT0019754	13.1
hsa-miR-513a-5p	MIMAT0002877	66.8
hsa-miR-4318	MIMAT0016869	6.1
hsa-miR-548e-5p	MIMAT0026736	3.5
hsa-miR-4299	MIMAT0016851	66.8
hsa-miR-7156-3p	MIMAT0028223	4.1
hsa-miR-4719	MIMAT0019832	5.1
hsa-miR-4453	MIMAT0018975	3.9
hsa-miR-4435	MIMAT0018951	60.1
hsa-miR-4752	MIMAT0019889	5.3
hsa-miR-3614-3p	MIMAT0017993	3.8
hsa-miR-744-5p	MIMAT0004945	619.1
hsa-miR-611	MIMAT0003279	5.0
hsa-miR-1288-5p	MIMAT0026743	4.4
hsa-miR-3199	MIMAT0015084	6.4
hsa-miR-4494	MIMAT0019029	4.6
hsa-miR-23a-5p	MIMAT0004496	58.1
hsa-miR-5003-5p	MIMAT0021025	4.1
hsa-miR-554	MIMAT0003217	6.3
hsa-miR-6068	MIMAT0023693	119.7
hsa-miR-6132	MIMAT0024616	1063.7

ID	アセクション番号	基準 相対的 発現量
hsa-miR-552-3p	MIMAT0003215	5.3
hsa-miR-494-3p	MIMAT0002816	55.5
hsa-miR-8068	MIMAT0030995	4.6
hsa-miR-4285	MIMAT0016913	14.0
hsa-miR-4688	MIMAT0019777	1065.2
hsa-miR-4772-3p	MIMAT0019927	7.3
hsa-miR-202-3p	MIMAT0002811	6.6
hsa-miR-193b-5p	MIMAT0004767	89.3
hsa-miR-3146	MIMAT0015018	4.4
hsa-miR-572	MIMAT0003237	136.4
hsa-miR-6835-3p	MIMAT0027571	5.0
hsa-miR-340-3p	MIMAT0000750	9.2
hsa-miR-153-5p	MIMAT0026480	5.2
hsa-miR-660-5p	MIMAT0003338	7.9
hsa-miR-5100	MIMAT0022259	4351.5
hsa-miR-8078	MIMAT0031005	66.5
hsa-miR-30c-2-3p	MIMAT0004550	21.1
hsa-miR-7641	MIMAT0029782	905.1
hsa-miR-6501-3p	MIMAT0025459	12.8
hsa-miR-4524b-3p	MIMAT0022256	5.7
hsa-miR-1287-5p	MIMAT0005878	6.1
hsa-miR-155-3p	MIMAT0004658	5.2
hsa-miR-601	MIMAT0003269	5.1
hsa-miR-4303	MIMAT0016856	5.1
hsa-miR-4467	MIMAT0018994	4388.7
hsa-miR-6758-3p	MIMAT0027417	11.1
hsa-miR-4444	MIMAT0018962	4.8
hsa-miR-4638-5p	MIMAT0019695	480.8
hsa-miR-4776-5p	MIMAT0019932	27.7
hsa-miR-6809-5p	MIMAT0027518	19.2
hsa-miR-6770-5p	MIMAT0027440	7.2
hsa-miR-7854-3p	MIMAT0030429	21.6
hsa-miR-6511a-5p	MIMAT0025478	208.3
hsa-miR-1295b-5p	MIMAT0022293	4.9
hsa-miR-5001-5p	MIMAT0021021	834.9
hsa-miR-624-3p	MIMAT0004807	5.4
hsa-miR-381-5p	MIMAT0022862	6.2
hsa-miR-6715b-5p	MIMAT0025842	9.8
hsa-miR-6777-5p	MIMAT0027454	403.8
hsa-miR-125b-1-3p	MIMAT0004592	55.7

10

20

30

【 0 0 1 4 】

【表 2】

ID	アッセイ番号	基準 相対的 発現量
hsa-miR-4650-5p	MIMAT0019713	6.6
hsa-miR-4423-3p	MIMAT0018936	5.4
hsa-miR-20b-3p	MIMAT0004752	11.4
hsa-miR-5094	MIMAT0021086	10.4
hsa-miR-450a-2-3p	MIMAT0031074	6.5
hsa-miR-3120-5p	MIMAT0019198	20.0
hsa-miR-150-5p	MIMAT0000451	68.1
hsa-miR-122-5p	MIMAT0000421	52.1
hsa-miR-382-3p	MIMAT0022697	9.0
hsa-miR-548k	MIMAT0005882	7.0
hsa-miR-3648	MIMAT0018068	20974.1
hsa-miR-218-2-3p	MIMAT0004566	4.1
hsa-miR-6071	MIMAT0023696	24.3
hsa-miR-642b-3p	MIMAT0018444	1426.4
hsa-miR-4730	MIMAT0019852	4921.9
hsa-miR-3158-5p	MIMAT0019211	93.0
hsa-miR-146b-5p	MIMAT0002809	9.4
hsa-miR-1973	MIMAT0009448	26.5
hsa-miR-1203	MIMAT0005866	183.0
hsa-miR-505-3p	MIMAT0002876	6.8
hsa-miR-215-5p	MIMAT0000272	8.2

10

20

【 0 0 1 5 】

(2) 被験者の免疫体質を判定する方法であって、

- 1) 被験者から採取された試料における、(1) に規定される表 1 及び / 又は表 2 に示される m i R の少なくとも一種以上を含む複数の m i R の発現量を測定する工程、
- 2) 前記 m i R の発現量から前記表 1 及び / 又は表 2 に示される m i R の少なくとも一種以上の相対的発現量を算出する工程、及び

3) 2) で算出された前記表 1 に示される m i R の相対的発現量が前記表 1 に示されるそれぞれの基準相対的発現量以上であるときは被験者の免疫体質を T h 1 型であると判定し、又は 2) で算出された前記表 2 に示される m i R の相対的発現量が前記表 2 に示されるそれぞれの基準相対的発現量以上であるときは被験者の免疫体質を T h 2 型であると判定する工程

30

を含む、前記判定方法。

(3) 相対的発現量がグローバルノーマライゼーション法によって算出される、(2) に記載の判定方法。

(4) 表 3 ~ 表 6 に示される m i R よりなる群から選択される 1 種以上の m i R である、被験者の免疫応答の型の判定に用いるためのバイオマーカー。

【 0 0 1 6 】

【表 3】

ID	アクセッション番号	変動比
hsa-miR-4650-5p	MIMAT0019713	9.65
hsa-miR-5011-5p	MIMAT0021045	3.61
hsa-miR-942-5p	MIMAT0004985	3.52
hsa-miR-4423-3p	MIMAT0018936	2.95
hsa-miR-4325	MIMAT0016887	2.75
hsa-miR-5000-3p	MIMAT0021020	2.70
hsa-miR-5003-3p	MIMAT0021026	2.50
hsa-miR-7975	MIMAT0031178	2.42
hsa-miR-8086	MIMAT0031013	2.41
hsa-miR-518e-3p	MIMAT0002861	2.34
hsa-miR-1270	MIMAT0005924	2.32
hsa-miR-3064-3p	MIMAT0019865	2.29
hsa-miR-6502-5p	MIMAT0025460	2.14
hsa-miR-4639-3p	MIMAT0019698	2.13

【 0 0 1 7 】

【表4】

ID	アッセション番号	変動比	ID	アッセション番号	変動比	ID	アッセション番号	変動比
hsa-miR-132-3p	MIMAT0000426	0.14	hsa-miR-5091	MIMAT0021083	0.39	hsa-miR-6838-5p	MIMAT0027578	0.46
hsa-miR-4457	MIMAT0018979	0.21	hsa-miR-34a-5p	MIMAT0000255	0.40	hsa-miR-1266-5p	MIMAT0005920	0.46
hsa-miR-30c-2-3p	MIMAT0004550	0.21	hsa-miR-892a	MIMAT0004907	0.40	hsa-miR-654-5p	MIMAT0003330	0.46
hsa-miR-224-3p	MIMAT0009198	0.24	hsa-miR-21-3p	MIMAT0004494	0.40	hsa-miR-4747-5p	MIMAT0019882	0.47
hsa-miR-4779	MIMAT0019938	0.26	hsa-miR-520a-3p	MIMAT0002834	0.40	hsa-miR-4512	MIMAT0019049	0.47
hsa-miR-222-5p	MIMAT0004569	0.26	hsa-miR-3934-3p	MIMAT0022975	0.40	hsa-miR-885-5p	MIMAT0004947	0.47
hsa-miR-449c-3p	MIMAT0013771	0.26	hsa-miR-550a-3p	MIMAT0003257	0.40	hsa-miR-3141	MIMAT0015010	0.47
hsa-miR-452-5p	MIMAT0001635	0.27	hsa-miR-129-1-3p	MIMAT0004548	0.40	hsa-miR-5698	MIMAT0022491	0.47
hsa-miR-541-3p	MIMAT0004920	0.27	hsa-miR-4267	MIMAT0016893	0.41	hsa-miR-198	MIMAT0000228	0.47
hsa-miR-4772-3p	MIMAT0019927	0.29	hsa-miR-6770-5p	MIMAT0027440	0.41	hsa-miR-4443	MIMAT0018961	0.47
hsa-miR-539-5p	MIMAT0003163	0.29	hsa-miR-4514	MIMAT0019051	0.41	hsa-miR-1273c	MIMAT0015017	0.47
hsa-miR-4441	MIMAT0018959	0.29	hsa-miR-6734-3p	MIMAT0027370	0.41	hsa-miR-3126-3p	MIMAT0015377	0.47
hsa-miR-4537	MIMAT0019080	0.29	hsa-miR-6728-5p	MIMAT0027357	0.41	hsa-miR-378i	MIMAT0019074	0.47
hsa-miR-6767-5p	MIMAT0027434	0.30	hsa-miR-551b-3p	MIMAT0003233	0.41	hsa-miR-6799-5p	MIMAT0027498	0.47
hsa-miR-513b-5p	MIMAT0005788	0.31	hsa-miR-23a-5p	MIMAT0004496	0.41	hsa-miR-6728-3p	MIMAT0027358	0.47
hsa-miR-657	MIMAT0003335	0.31	hsa-miR-4303	MIMAT0016856	0.41	hsa-miR-193a-5p	MIMAT0004614	0.47
hsa-miR-3685	MIMAT0018113	0.32	hsa-miR-558	MIMAT0003222	0.41	hsa-miR-4448	MIMAT0018967	0.48
hsa-miR-6847-5p	MIMAT0027594	0.32	hsa-miR-605-5p	MIMAT0003273	0.42	hsa-miR-92b-5p	MIMAT0004792	0.48
hsa-miR-339-3p	MIMAT0004702	0.32	hsa-miR-122-5p	MIMAT0000421	0.42	hsa-miR-378b	MIMAT0014999	0.48
hsa-miR-5681b	MIMAT0022480	0.33	hsa-miR-4784	MIMAT0019948	0.42	hsa-miR-4688	MIMAT0019777	0.48
hsa-miR-517a-3p	MIMAT0002852	0.33	hsa-miR-3150b-3p	MIMAT0018194	0.42	hsa-miR-4428	MIMAT0018943	0.48
hsa-miR-517b-3p	MIMAT0002857	0.33	hsa-miR-188-3p	MIMAT0004613	0.42	hsa-miR-3164	MIMAT0015038	0.48
hsa-miR-432-3p	MIMAT0002815	0.33	hsa-miR-6831-5p	MIMAT0027562	0.42	hsa-miR-769-3p	MIMAT0003887	0.48
hsa-miR-4733-5p	MIMAT0019857	0.33	hsa-miR-4676-5p	MIMAT0019758	0.42	hsa-miR-4260	MIMAT0016881	0.48
hsa-miR-4283	MIMAT0016914	0.33	hsa-miR-764	MIMAT0016919	0.42	hsa-miR-4435	MIMAT0018951	0.48
hsa-miR-381-5p	MIMAT0022862	0.33	hsa-miR-551b-5p	MIMAT0004794	0.42	hsa-miR-7973	MIMAT0031176	0.48
hsa-miR-6513-3p	MIMAT0025483	0.33	hsa-miR-148a-3p	MIMAT0000243	0.42	hsa-miR-432-5p	MIMAT0002814	0.48
hsa-miR-4451	MIMAT0018973	0.34	hsa-miR-30e-3p	MIMAT0000693	0.43	hsa-miR-1273d	MIMAT0015090	0.48
hsa-miR-6864-5p	MIMAT0027628	0.34	hsa-miR-3154	MIMAT0015028	0.43	hsa-miR-4445-3p	MIMAT0018964	0.48
hsa-miR-6822-3p	MIMAT0027545	0.34	hsa-miR-7848-3p	MIMAT0030423	0.43	hsa-miR-3173-3p	MIMAT0015048	0.48
hsa-miR-510-5p	MIMAT0002882	0.34	hsa-miR-7154-5p	MIMAT0028218	0.43	hsa-miR-601	MIMAT0003269	0.49
hsa-miR-186-3p	MIMAT0004612	0.35	hsa-miR-202-3p	MIMAT0002811	0.43	hsa-miR-7113-5p	MIMAT0028123	0.49
hsa-miR-4494	MIMAT0019029	0.35	hsa-miR-764	MIMAT0010367	0.43	hsa-miR-33a-3p	MIMAT0004506	0.49
hsa-miR-6823-5p	MIMAT0027546	0.35	hsa-miR-5696	MIMAT0022489	0.43	hsa-miR-6761-5p	MIMAT0027422	0.49
hsa-miR-554	MIMAT0003217	0.36	hsa-miR-744-3p	MIMAT0004946	0.43	hsa-miR-1236-5p	MIMAT0022945	0.49
hsa-miR-4752	MIMAT0019889	0.36	hsa-miR-575	MIMAT0003240	0.43	hsa-miR-3065-3p	MIMAT0015378	0.49
hsa-miR-3192-5p	MIMAT0015076	0.36	hsa-miR-1468-5p	MIMAT0006789	0.44	hsa-miR-519d-3p	MIMAT0002853	0.49
hsa-miR-2681-5p	MIMAT0013515	0.36	hsa-miR-208b-5p	MIMAT0026722	0.44	hsa-miR-548c-5p	MIMAT0004806	0.49
hsa-miR-181a-2-3p	MIMAT0004558	0.37	hsa-miR-6833-5p	MIMAT0027566	0.44	hsa-miR-548o-5p	MIMAT0022738	0.49
hsa-miR-6718-5p	MIMAT0025849	0.37	hsa-miR-572	MIMAT0003237	0.44	hsa-miR-548am-5p	MIMAT0022740	0.49
hsa-miR-6774-3p	MIMAT0027449	0.37	hsa-miR-4518	MIMAT0019055	0.44	hsa-miR-205-5p	MIMAT0000266	0.49
hsa-miR-3202	MIMAT0015089	0.38	hsa-miR-4481	MIMAT0019015	0.44	hsa-miR-27a-3p	MIMAT0000084	0.49
hsa-miR-340-3p	MIMAT0000750	0.38	hsa-miR-4753-5p	MIMAT0019890	0.44	hsa-miR-23c	MIMAT0018000	0.49
hsa-miR-147a	MIMAT0000251	0.38	hsa-miR-1321	MIMAT0005952	0.44	hsa-miR-6133	MIMAT0024617	0.49
hsa-miR-541-5p	MIMAT0004919	0.38	hsa-miR-4648	MIMAT0019710	0.44	hsa-miR-3922-5p	MIMAT0019227	0.49
hsa-miR-660-5p	MIMAT0003338	0.38	hsa-miR-3622a-5p	MIMAT0018003	0.44	hsa-miR-302c-5p	MIMAT0000716	0.49
hsa-miR-5093	MIMAT0021085	0.38	hsa-miR-7158-3p	MIMAT0028227	0.44	hsa-miR-151b	MIMAT0010214	0.50
hsa-miR-4529-5p	MIMAT0019236	0.38	hsa-miR-4534	MIMAT0019073	0.45	hsa-miR-4672	MIMAT0019754	0.50
hsa-miR-2909	MIMAT0013863	0.38	hsa-miR-216b-3p	MIMAT0026721	0.45	hsa-miR-300	MIMAT0004903	0.50
hsa-miR-632	MIMAT0003302	0.39	hsa-miR-6809-5p	MIMAT0027518	0.45	hsa-miR-584-3p	MIMAT0022708	0.50
hsa-miR-5584-3p	MIMAT0022284	0.39	hsa-miR-4737	MIMAT0019863	0.45	hsa-miR-195-3p	MIMAT0004615	0.50
hsa-miR-30a-3p	MIMAT0000088	0.39	hsa-miR-6734-5p	MIMAT0027369	0.45	hsa-miR-497-5p	MIMAT0002820	0.50
hsa-miR-6832-3p	MIMAT0027565	0.39	hsa-miR-921	MIMAT0004971	0.46	hsa-miR-615-5p	MIMAT0004804	0.50
hsa-miR-4318	MIMAT0016869	0.39	hsa-miR-6816-3p	MIMAT0027533	0.46	hsa-miR-4638-5p	MIMAT0019695	0.50
hsa-miR-3127-5p	MIMAT0014990	0.39	hsa-miR-16-1-3p	MIMAT0004489	0.46	hsa-miR-3529-5p	MIMAT0019828	0.50
hsa-miR-552-3p	MIMAT0003215	0.39	hsa-miR-3189-3p	MIMAT0015071	0.46	hsa-miR-765	MIMAT0003945	0.50

10

20

30

40

【表5】

ID	アクセッション番号	変動比
hsa-miR-2467-5p	MIMAT0019952	15.18
hsa-miR-4727-3p	MIMAT0019848	6.48
hsa-miR-6502-5p	MIMAT0025460	5.66
hsa-miR-7844-5p	MIMAT0030419	4.56
hsa-miR-548l	MIMAT0005889	4.48
hsa-miR-5047	MIMAT0020541	4.43
hsa-miR-4742-5p	MIMAT0019872	4.31
hsa-miR-4735-3p	MIMAT0019861	4.24
hsa-miR-4671-5p	MIMAT0019752	3.95
hsa-miR-4299	MIMAT0016851	3.68
hsa-miR-548as-5p	MIMAT0022267	3.63
hsa-miR-6516-3p	MIMAT0030418	3.61
hsa-miR-4647	MIMAT0019709	3.59
hsa-miR-513a-5p	MIMAT0002877	3.56
hsa-miR-761	MIMAT0010364	3.52
hsa-miR-125b-1-3p	MIMAT0004592	3.48
hsa-miR-4670-5p	MIMAT0019750	3.45
hsa-miR-5087	MIMAT0021079	3.44
hsa-miR-4503	MIMAT0019039	3.39
hsa-miR-944	MIMAT0004987	3.24
hsa-miR-125a-3p	MIMAT0004602	3.20
hsa-miR-4777-3p	MIMAT0019935	3.16
hsa-miR-552-5p	MIMAT0026615	3.12
hsa-miR-548ag	MIMAT0018969	3.11
hsa-miR-4468	MIMAT0018995	3.09
hsa-miR-5191	MIMAT0021122	3.03
hsa-miR-4444	MIMAT0018962	3.01
hsa-miR-8066	MIMAT0030993	2.93
hsa-miR-520b	MIMAT0002843	2.88
hsa-miR-6130	MIMAT0024614	2.84
hsa-miR-6501-3p	MIMAT0025459	2.69
hsa-miR-1288-5p	MIMAT0026743	2.59
hsa-miR-5694	MIMAT0022487	2.59
hsa-miR-4448	MIMAT0018967	2.57
hsa-miR-645	MIMAT0003315	2.54
hsa-miR-548ai	MIMAT0018989	2.53
hsa-miR-570-5p	MIMAT0022707	2.53

ID	アクセッション番号	変動比
hsa-miR-744-5p	MIMAT0004945	2.48
hsa-miR-548j-5p	MIMAT0005875	2.47
hsa-miR-629-5p	MIMAT0004810	2.42
hsa-miR-383-3p	MIMAT0026485	2.41
hsa-miR-5011-5p	MIMAT0021045	2.41
hsa-miR-643	MIMAT0003313	2.40
hsa-miR-3182	MIMAT0015062	2.38
hsa-miR-548w	MIMAT0015060	2.34
hsa-miR-3929	MIMAT0018206	2.27
hsa-miR-4461	MIMAT0018983	2.21
hsa-miR-7160-3p	MIMAT0028231	2.19
hsa-miR-4467	MIMAT0018994	2.18
hsa-miR-4285	MIMAT0016913	2.16
hsa-miR-6132	MIMAT0024616	2.15
hsa-miR-6506-5p	MIMAT0025468	2.13
hsa-miR-219a-2-3p	MIMAT0004675	2.12
hsa-miR-5100	MIMAT0022259	2.12
hsa-miR-3199	MIMAT0015084	2.11
hsa-miR-8070	MIMAT0030997	2.10
hsa-miR-3200-5p	MIMAT0017392	2.07
hsa-miR-6773-5p	MIMAT0027446	2.06
hsa-miR-4502	MIMAT0019038	2.05
hsa-miR-4672	MIMAT0019754	2.05
hsa-miR-5589-3p	MIMAT0022298	2.04
hsa-miR-7162-5p	MIMAT0028234	2.04
hsa-miR-572	MIMAT0003237	2.03
hsa-miR-936	MIMAT0004979	2.02
hsa-miR-4684-5p	MIMAT0019769	2.02
hsa-miR-124-5p	MIMAT0004591	2.01
hsa-miR-193b-5p	MIMAT0004767	2.01

10

20

30

【 0 0 1 9 】

【表 6】

ID	アクション番号	変動比
hsa-miR-20b-3p	MIMAT0004752	0.07
hsa-miR-4456	MIMAT0018978	0.11
hsa-miR-4650-5p	MIMAT0019713	0.13
hsa-miR-4423-3p	MIMAT0018936	0.17
hsa-miR-6822-3p	MIMAT0027545	0.18
hsa-miR-3120-5p	MIMAT0019198	0.20
hsa-miR-3648	MIMAT0018068	0.21
hsa-miR-122-5p	MIMAT0000421	0.22
hsa-let-7f-5p	MIMAT0000067	0.24
hsa-miR-3158-5p	MIMAT0019211	0.28
hsa-miR-3922-3p	MIMAT0018197	0.28
hsa-miR-150-5p	MIMAT0000451	0.29
hsa-miR-6071	MIMAT0023696	0.30
hsa-miR-567	MIMAT0003231	0.31
hsa-miR-135a-3p	MIMAT0004595	0.31
hsa-miR-550a-5p	MIMAT0004800	0.31
hsa-miR-382-3p	MIMAT0022697	0.33
hsa-miR-4251	MIMAT0016883	0.34
hsa-miR-130b-5p	MIMAT0004680	0.35
hsa-miR-3150b-3p	MIMAT0018194	0.35
hsa-miR-28-5p	MIMAT0000085	0.36
hsa-miR-1288-3p	MIMAT0005942	0.37
hsa-miR-432-5p	MIMAT0002814	0.38
hsa-miR-642b-3p	MIMAT0018444	0.38
hsa-miR-7107-3p	MIMAT0028112	0.39
hsa-miR-92a-2-5p	MIMAT0004508	0.39
hsa-miR-1973	MIMAT0009448	0.39
hsa-miR-26a-5p	MIMAT0000082	0.40
hsa-miR-4730	MIMAT0019852	0.40
hsa-miR-671-5p	MIMAT0003880	0.41
hsa-miR-5094	MIMAT0021086	0.41
hsa-miR-4676-3p	MIMAT0019759	0.41
hsa-miR-6807-5p	MIMAT0027514	0.42
hsa-miR-146b-5p	MIMAT0002809	0.42
hsa-miR-6774-3p	MIMAT0027449	0.42
hsa-miR-505-3p	MIMAT0002876	0.42
hsa-miR-4301	MIMAT0016850	0.42
hsa-miR-5681b	MIMAT0022480	0.42

ID	アクション番号	変動比
hsa-miR-7856-5p	MIMAT0030431	0.43
hsa-miR-29c-3p	MIMAT0000681	0.43
hsa-miR-1286	MIMAT0005877	0.43
hsa-miR-3144-3p	MIMAT0015015	0.44
hsa-miR-501-5p	MIMAT0002872	0.44
hsa-miR-642a-3p	MIMAT0020924	0.44
hsa-miR-8080	MIMAT0031007	0.44
hsa-miR-4451	MIMAT0018973	0.44
hsa-miR-7-1-3p	MIMAT0004553	0.44
hsa-miR-339-3p	MIMAT0004702	0.45
hsa-miR-557	MIMAT0003221	0.45
hsa-miR-132-3p	MIMAT0000426	0.45
hsa-miR-4495	MIMAT0019030	0.45
hsa-let-7g-5p	MIMAT0000414	0.45
hsa-miR-6767-5p	MIMAT0027434	0.45
hsa-miR-6814-3p	MIMAT0027529	0.46
hsa-miR-509-3p	MIMAT0002881	0.46
hsa-miR-3909	MIMAT0018183	0.47
hsa-miR-550a-3p	MIMAT0003257	0.47
hsa-miR-4642	MIMAT0019702	0.47
hsa-miR-2681-5p	MIMAT0013515	0.47
hsa-miR-6513-3p	MIMAT0025483	0.47
hsa-miR-4740-3p	MIMAT0019870	0.48
hsa-miR-126-3p	MIMAT0000445	0.48
hsa-miR-216b-3p	MIMAT0026721	0.48
hsa-miR-622	MIMAT0003291	0.48
hsa-miR-6504-3p	MIMAT0025465	0.49
hsa-miR-4537	MIMAT0019080	0.49
hsa-miR-30e-5p	MIMAT0000692	0.49
hsa-miR-125b-5p	MIMAT0000423	0.49
hsa-miR-374c-3p	MIMAT0022735	0.49
hsa-miR-4673	MIMAT0019755	0.49
hsa-miR-34a-5p	MIMAT0000255	0.50
hsa-miR-519b-3p	MIMAT0002837	0.50

10

20

30

【 0 0 2 0 】

(5) 被験者の免疫応答の型を判定する方法であって、

1) 免疫治療開始前及び開始後においてそれぞれ被験者から採取された試料における、(4) に規定される表 3、表 4、表 5 及び / 又は表 6 に示される m i R よりなる群から選択される少なくとも 1 種以上の m i R の発現量を測定する工程、並びに

2) 1) の治療開始後の発現量が、前記表 3 に示される m i R については治療開始前の発現量の 2 倍以上であるとき及び / 若しくは前記表 4 に示される m i R については治療開始前の発現量の 1 / 2 以下であるときは被験者の免疫応答の型を T h 1 型であると判定し、又は前記表 5 に示される m i R については治療開始前の発現量の 2 倍以上であるとき及び / 若しくは前記表 6 に示される m i R については治療開始前の発現量の 1 / 2 以下であるときは被験者の免疫応答の型を T h 2 型であると判定する工程を含む、前記判定方法。

40

(6) m i R の発現量がグローバルノーマライゼーション法によって算出される相対的発現量である、(5) に記載の判定方法。

(7) (1) に規定される表 1 及び表 2 並びに (4) に規定される表 3 ~ 表 6 に示される m i R、前記 m i R と相補的な m i R、前記 m i R 及び前記相補的な m i R に対する阻害性核酸並びにそれらの機能的等価物よりなる群から選択される少なくとも一種以上の核酸

50

を有効成分とする、免疫応答型制御剤。

(8)(7)に記載の免疫応答型制御剤を含有する医薬。

【発明の効果】

【0021】

本発明によれば、患者の免疫体質を予め判定することによって、又は免疫治療を受けている患者の免疫応答の型を判定することによって、感染症やがんワクチン治療の効果を予測することができる他、免疫治療の実施によるアナフィラキシーショックや自己免疫応答などの副作用を回避することが可能となる。また、患者の免疫体質が明らかになることで、食物アレルギー応答などの回避も可能となる。さらには、本発明で特定されるmiR、これに対する阻害性核酸又はそれらの機能的等価物を医薬として利用することにより、患者の免疫応答型を制御することができ、広く免疫関連疾患の予防、改善、治療が可能となる。

10

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】ヒト末梢血細胞に対する、hsa-miR-635のIFN- 産生促進能(左のグラフ)及びIL-5産生抑制能(中のグラフ)並びにその阻害性核酸であるmiR-635-IのIL-5産生促進能(右のグラフ)を表したグラフである。

【図2】ヒト末梢血細胞に対する、hsa-miR-224-3pのIFN- 産生促進能(左のグラフ)及びその阻害性核酸であるmiR-224-3p-IのIL-5産生促進能(右のグラフ)を表したグラフである。

20

【図3】ヒト末梢血細胞に対する、hsa-miR-224-5pのIFN- 産生促進能(左のグラフ)及びIL-5産生抑制能(中のグラフ)並びにその阻害性核酸であるmiR-224-5p-IのIL-5産生促進能(右のグラフ)を表したグラフである。

【図4】ヒト末梢血細胞に対する、hsa-miR-4709-3pのIFN- 産生促進能(左のグラフ)及びhsa-miR-4709-5pに対する阻害性核酸であるhsa-miR-4709-5p-IのIL-5産生促進能(右のグラフ)を表したグラフである。

【図5】ヒト末梢血細胞に対する、hsa-miR-4650-5pのIL-5産生促進能(左のグラフ)並びにその阻害性核酸であるhsa-miR-4650-5p-IのIFN- 産生促進能(中のグラフ)及びIL-5産生抑制能(右のグラフ)を表したグラフである。

30

【図6】ヒト末梢血細胞に対する、hsa-miR-4650-3pのIL-5産生促進能(左のグラフ)並びにその阻害性核酸であるhsa-miR-4650-3p-IのIFN- 産生促進能(中のグラフ)及びIL-5産生抑制能(右のグラフ)を表したグラフである。

【図7】ヒト末梢血細胞に対する、hsa-miR-20b-5pのIL-5産生促進能(左のグラフ)及びその阻害性核酸であるhsa-miR-20b-5p-IのIFN- 産生促進能(右のグラフ)を表したグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0023】

本明細書を通じ、miRのID及びアクセション番号は、miRの配列情報等を集めたデータベースであるmiRBase(<http://www.mirbase.org/>)に定められたものを使用しており、各miRの塩基配列も前記データベースに全て登録されている。

40

【0024】

本発明にいう免疫応答の型とはTh1型又はTh2型の免疫応答をいい、またTh1型又はTh2型の免疫応答とは、生体特にヒト患者が抗原刺激を受けたときに、Th1細胞が免疫応答において優位な状態となること又はTh2細胞が免疫応答において優位な状態となることをそれぞれ意味する。また免疫体質とは、生体特にヒト患者が抗原刺激を受けたときにTh1型又はTh2型のどちらの免疫応答を示すかに関する、生体特にヒトの性

50

質ないし傾向を意味する。

【0025】

本明細書にいう相対的発現量とは、DNAマイクロアレイを用いて測定されるmiRの発現量を比較解析方法によって補正した値を意味する。かかる方法としては、グローバルノーマライゼーション法、quantile法、lowess法、75percentile法などを挙げることができる。これらの方法は、いかなる検体であっても複数の遺伝子の発現データを一塊とし、遺伝子発現データ群としてとらえた場合には、発現量に差がないという原理を前提とするものである。本明細書においては、DNAマイクロアレイ上に搭載した全遺伝子の発現量の中央値を求め、この中央値が25になるように補正するグローバルノーマライゼーション法（例えば特開2014-007995号公報など）で算出された相対的発現量を採用して説明する。

10

【0026】

本発明における複数のmiRとは、上記の相対的発現量を算出することが可能な程度の数のmiRを意味し、具体的には前記試料に含まれるmiRの一部又は全部、好ましくはマイクロアレイ法によってmiRの網羅的検出又は解析を行うためのDNAチップに固定されている核酸とハイブリダイズし得る、試料に含まれるmiRの一部又は全部である。

【0027】

被験者から採取された試料としては、本発明のバイオマーカーであるmiRを含む試料であればいずれでもよいが、好ましくは血液及びリンパ液であり、血液から調製される血清又は血漿がより好ましい。

20

【0028】

本発明の第一の態様は、表1及び表2に示されるID及びアクセス番号で特定されるmiRよりなる群から選択される1種以上のmiRである、被験者の免疫体質の判定に用いるためのバイオマーカーに関する。以下、表1及び表2に示されるmiRを免疫体質判定用バイオマーカーと表す。

【0029】

また本発明は、上記第一の態様に関連して、表1及び/又は表2に示される免疫体質判定用バイオマーカーを利用した、被験者の免疫体質を判定する方法であって、

- 1) 被験者から採取された試料における、表1及び/又は表2に示されるmiRの少なくとも一種以上を含む複数のmiRの発現量を測定する工程、
 - 2) 前記miRの発現量から表1及び/又は表2に示されるmiRの少なくとも一種以上の相対的発現量を算出する工程、及び
 - 3) 2)で算出された表1に示されるmiRの相対的発現量が表1に示されるそれぞれの基準相対的発現量以上であるときは被験者の免疫体質をTh1型であると判定し、又は2)で算出された表2に示されるmiRの相対的発現量が表2に示されるそれぞれの基準相対的発現量以上であるときは被験者の免疫体質をTh2型であると判定する工程
- を含む、前記判定方法を提供する。

30

【0030】

本発明者らは、がんワクチン投与を伴うがん免疫治療を受けた進行又は再発大腸がん患者について、治療開始前と開始後、具体的にはがんワクチンの投与直前とがんワクチンを一定間隔で繰り返し投与した後の2回にわたって血液を採取し、DNAマイクロアレイ技術を用いて血清中に含まれるmiRの発現量を網羅的に解析した。また、治療開始後の各患者におけるインターフェロン(IFN)-及びインターロイキン(IL)-4の発現量を測定することで、免疫治療を受けた後の患者の免疫応答の型を調べた。これらの結果から、免疫治療を受けることでTh1型の免疫応答又はTh2型の免疫応答を示した患者群それぞれに、特定のmiRの発現量の特徴的な変動パターンが確認された。

40

【0031】

表1は、上記免疫治療開始前の血清において、免疫治療を受けることでTh1型の免疫応答を示した患者群に関して、Th2型の免疫応答を示した患者群と比較して2倍以上の相対的発現量を示したmiRと治療開始前の血清中におけるその相対的発現量を示す。こ

50

の相対的発現量が、本態様の方法における基準相対的発現量として用いられる。

【0032】

表1に示されるmiRは、被験者の免疫体質を判定するための、特にその被験者の免疫体質がTh1型の免疫応答を示すものであると判定するための免疫体質判定用バイオマーカーとして利用することができる。具体的には、ある被験者に関して、免疫治療開始前の血清における表1に示されるmiRの少なくとも1種以上の相対的発現量を測定し、その値が表1に示される基準相対的発現量以上であるときは、その被験者は免疫治療を受けることによってTh1型の免疫応答を示す免疫体質を有する、と判定することができる。本発明は、かかる免疫体質の判定方法も提供する。

【0033】

表2は、上記免疫治療開始前の血清において、免疫治療を受けることでTh2型の免疫応答を示した患者群に関して、Th1型の免疫応答を示した患者群と比較して2倍以上の発現量を示したmiRと治療開始前の血清中における相対的発現量を示す。この相対的発現量が、本態様の方法における基準相対的発現量として用いられる。

【0034】

表2に示されるmiRは、被験者の免疫体質を判定するための、特にその被験者の免疫体質がTh2型の免疫応答を示すものであると判定するための免疫体質判定用バイオマーカーとして利用することができる。具体的には、ある被験者に関して、免疫治療開始前の血清における表2に示されるmiRの少なくとも1種以上の相対的発現量を測定し、その値が表2に示される基準相対的発現量以上であるときは、その被験者は免疫治療を受けることによってTh2型の免疫応答を示す免疫体質を有する、と判定することができる。本発明は、かかる免疫体質の判定方法も提供する。

【0035】

表1及び表2に示される免疫体質判定用バイオマーカーであるmiRはいずれか一種を利用してよいが、複数のmiRを利用することが好ましい。同様に、本態様の判定方法は、表1及び表2に示される免疫体質判定用バイオマーカーであるmiRのいずれか1種の相対的発現量を基に行ってもよいが、好ましくは複数のmiRの相対的発現量を基に、より好ましくはより多数のmiRの相対的発現量を基に判定することが好ましい。さらに好ましくは、表1に示されるmiR及び表2に示されるmiRのいずれについても相対的発現量を測定し、Th1型Th2型双方の視点から免疫体質を判定することが好ましい。このように、複数又は多数のmiRを対象とすることで、本発明の方法による判定の信頼性は向上する。ただし、複数のmiRを対象とした場合、必ずしも全てのmiRの相対的発現量が考慮されることは必要とはされない。

【0036】

本態様の免疫体質の判定方法により、免疫治療を実行する前に被験者の免疫体質を判定することが可能となる。これにより、治療効果が期待でき、免疫治療を受けるべき患者の判断根拠と成り得るとともに、副作用又は治療効果の観点から免疫治療を回避すべき患者を予め選別することができ、免疫治療の実施による副作用を回避することができる他、免疫治療以外の適切な治療方法を効率的に選択することが可能になる。

【0037】

本発明の第二の態様は、表3～表6に示されるmiRよりなる群から選択される1種以上のmiRである、被験者の免疫応答の型の判定に用いるためのバイオマーカーを提供する。以下、本態様のバイオマーカーを免疫応答型判定用バイオマーカーと表す。

【0038】

また、本発明は上記第二の態様に関連して、表3～表6に示される免疫応答型判定用バイオマーカーを利用した被験者の免疫応答の型を判定する方法であって、

1) 免疫治療開始前及び開始後においてそれぞれ被験者から採取された試料における、表3、表4、表5及び/又は表6に示されるmiRよりなる群から選択される少なくとも1種以上のmiRの発現量を測定する工程、並びに

2) 1)の治療開始後の発現量が、表3に示されるmiRについては治療開始前の発現量

10

20

30

40

50

の2倍以上であるとき及び/若しくは表4に示されるmiRについては治療開始前の発現量の1/2以下であるときは被験者の免疫応答の型をTh1型であると判定し、又は表5に示されるmiRについては治療開始前の発現量の2倍以上であるとき及び/若しくは表6に示されるmiRについては治療開始前の発現量の1/2以下であるときは被験者の免疫応答の型をTh2型であると判定する工程を含む、前記判定方法を提供する。

【0039】

表3は、免疫治療を受けることでTh1型の免疫応答を示した患者群に関して、治療開始前の血清における発現量と比較して治療開始後の血清における発現量が2倍以上に上昇したmiRと、DNAマイクロアレイを用いて測定した発現量からグローバルノーマライゼーション法によって算出した相対的発現量を基にしたそれぞれの変動比を示す。

10

【0040】

表3に示されるmiRは、被験者の免疫応答の型を判定するための、特にその被験者がTh1型の免疫応答を示しているとして判定するための免疫応答型判定用バイオマーカーとして利用することができる。具体的には、ある被験者に免疫治療を行ったときに、治療開始前後の血清における表3に示されるmiRの発現量を測定してその変動比が2倍以上となっているときは、当該被験者はTh1型の免疫応答を示しているとして判定することができる。本発明は、かかる免疫応答型の判定方法も提供する。

【0041】

一方、表4は、免疫治療を受けることでTh1型の免疫応答を示した患者群に関して、治療開始前の血清における相対的発現量と比較して治療開始後の血清における相対的発現量が1/2以下に減少したmiRと、DNAマイクロアレイを用いて測定した発現量からグローバルノーマライゼーション法によって算出した相対的発現量を基にしたそれぞれの変動比を示す。

20

【0042】

表4に示されるmiRは、被験者の免疫応答の型を判定するための、特にその被験者がTh1型の免疫応答を示しているとして判定するための免疫応答型判定用バイオマーカーとして利用することができる。具体的には、ある被験者に免疫治療を行ったときに、治療開始前後の血清における表4に示されるmiRの発現量を測定してその変動比が1/2以下となっているときは、当該被験者はTh1型の免疫応答を示しているとして判定することができる。

30

【0043】

表5は、免疫治療を受けることでTh2型の免疫応答を示した患者群に関して、治療開始前の血清における発現量と比較して治療開始後の血清における発現量が2倍以上に上昇したmiRと、DNAマイクロアレイを用いて測定した発現量からグローバルノーマライゼーション法によって算出した相対的発現量を基にしたそれぞれの変動比を示す。

【0044】

表5に示されるmiRは、被験者の免疫応答の型を判定するための、特にその被験者がTh2型の免疫応答を示しているとして判定するための免疫応答型判定用バイオマーカーとして利用することができる。具体的には、ある被験者に免疫治療を行ったときに、治療開始前後の血清における表5に示されるmiRの発現量を測定してその変動比が2倍以上となっているときは、当該被験者はTh2型の免疫応答を示しているとして判定することができる。

40

【0045】

一方、表6は、免疫治療を受けることでTh2型の免疫応答を示した患者群に関して、治療開始前の血清における発現量と比較して治療開始後の血清における発現量が1/2以下に減少したmiRと、DNAマイクロアレイを用いて測定した発現量からグローバルノーマライゼーション法によって算出した相対的発現量を基にしたそれぞれの変動比を示す。

【0046】

50

表 6 に示される m i R は、被験者の免疫応答の型を判定するための、特にその被験者が T h 2 型の免疫応答を示していると判定するための免疫応答型判定用バイオマーカーとして利用することができる。具体的には、ある被験者に免疫治療を行ったときに、治療開始前後の血清における表 6 に示される m i R の発現量を測定してその変動比が 1 / 2 以下となっているときは、当該被験者は T h 2 型の免疫応答を示していると判定することができる。

【 0 0 4 7 】

なお、m i R の発現量は R T - P C R その他の方法で測定してもよいが、表に示される m i R と相補的に結合し得る核酸を含むいわゆる D N A マイクロアレイ用チップを用いて測定した発現量であることが好ましく、特にグローバルノーマライゼーション法によって算出される相対的発現量であることが好ましい。

10

【 0 0 4 8 】

表 3 ~ 表 6 に示される免疫応答型判定用バイオマーカーである m i R はいずれか一種を利用してよいが、複数の m i R を利用することが好ましい。同様に、本態様の判定方法は、表 3 ~ 表 6 に示される免疫応答型判定用バイオマーカーである m i R のいずれか 1 種の発現量を基に行ってもよいが、好ましくは複数の m i R の発現量を基に、より好ましくはより多数の m i R の発現量を基に判定することが好ましい。さらに好ましくは、表 3 又は表 4 及び表 5 又は表 6 に示される m i R のいずれについても相対的発現量を測定し、T h 1 型 T h 2 型双方の視点から免疫応答の型を判定することが好ましい。このように、複数又は多数の m i R を対象とすることで、本発明における判定の信頼性はより向上する。ただし、複数の m i R を測定対象とした場合、必ずしも全ての m i R の発現量が考慮されることは必要とはされない。

20

【 0 0 4 9 】

本態様の判定方法により、免疫治療を実行する過程において被験者の免疫応答をモニタリングすることが可能となる。これにより、被験者における治療効果の確認を追跡することができ、免疫治療の継続又は中止の判断根拠の一つとすることができる。

【 0 0 5 0 】

本発明はさらに、表 1 ~ 表 6 に示される m i R、前記 m i R と相補的な m i R、前記 m i R 及び前記相補的な m i R に対する阻害性核酸並びにそれらの機能的等価物よりなる群から選択される少なくとも一種以上の核酸を有効成分とする、免疫応答型制御剤を提供する。

30

【 0 0 5 1 】

前記表 1 ~ 表 6 に示される m i R は、生体特にヒトが抗原刺激を受けたときに示される T h 1 型又は T h 2 型免疫応答に関与する様々な遺伝子をターゲットとして、それらの機能発現を制御していると考えられる。かかるターゲット遺伝子は、それぞれの型の免疫応答を誘導、促進若しくは亢進したりする、又は阻害若しくは抑制したりするなどの様々な機能が想定される。

【 0 0 5 2 】

したがって、前記表 1 ~ 表 6 に示される m i R を適切に選択することによって、ヒトの免疫応答を T h 1 型に若しくは T h 2 型に誘導、促進若しくは亢進したり、又は T h 1 型の若しくは T h 2 型の免疫応答を阻害若しくは抑制したりすることができる。本発明にいう免疫応答の型の制御とは、免疫応答を T h 1 型に若しくは T h 2 型に誘導、促進若しくは亢進したり、又は T h 1 型の若しくは T h 2 型の免疫応答を阻害若しくは抑制したりすることを意味する。

40

【 0 0 5 3 】

本発明の免疫応答型制御剤の効果は、生体に m i R を直接投与して各免疫応答が誘導される又は抑制されることを本発明の判定方法を用いて確認してもよく、また例えば末梢血単核球 (P B M C) に免疫応答型制御剤である m i R を導入して、T h 1 型免疫応答の指標である I F N - γ 又は T h 2 型免疫応答の指標である I L - 5 の発現が P B M C において誘導、促進、若しくは亢進される又は阻害若しくは抑制されることをもって確認しても

50

よい。

【0054】

また、i) 前記miRと相補的なmiR、すなわちmiRの塩基配列と相補的な塩基配列からなるmiR、ii) 適当な発現プロモーターの支配下に置かれることで表1～表6に示されるmiRと同じ塩基配列からなるRNAを転写誘導することのできる核酸、並びにiii) 表1～表6に示されるmiRの機能を阻害することのできる阻害性核酸、例えば表1～表6に示されるmiRの塩基配列を基に適宜設計することができる塩基配列を有することで表1～表6に示されるmiRの機能を実質的に阻害することができる核酸、表1～表6に示されるmiRの塩基配列を認識してその機能を阻害することができるsiRNA若しくはshRNAなどのRNA干渉誘導性核酸、又は適当な発現プロモーターの支配下に置かれることで表1～表6に示されるmiRの機能を実質的に阻害するRNA若しくはRNA干渉誘導性核酸であるRNAを転写誘導することのできる核酸なども、本発明における免疫応答型制御剤として利用することができるものと期待される。miRとこれに相補的なmiRは、例えばmiR-4709-5pとmiR-4709-3pなどのように、miRのIDにおいて5p及び3pと表記されて区別される関係にある。

10

【0055】

阻害性核酸を設計及び生産する手法は当業者に広く知られている他、このような設計から生産を受託により行う会社等も多数存在する。例えばこのような受託生産は、SIGMA-ALDRICH (<http://www.sigmaaldrich.com/life-science/functional-genomics-and-rnai/mirna/microrna-mimics.html>)、QIAGEN (<http://www.qiagen.com/products/catalog/assay-technologies/mirna/miscript-mirna-mimics>)、Applied Bioscience (<https://products.appliedbiosystems.com/ab/en/US/adirect/ab?cmd=catNavigate2&catID=602400>)などが行っている。このような受託先に本明細書に記載の各表中のID又はアクセッション番号から特定される塩基配列を提供すれば、阻害性核酸を入手することができる。

20

【0056】

さらに、表1～表6に示されるmiRを含む上記核酸の塩基配列の一部が修飾されてヌクレアーゼによる分解に対する安定性が高められた核酸も、本発明における免疫応答型制御剤に包含される。ヌクレアーゼによる分解に対する安定性を向上させるための修飾としては、2'-O-メチル化、2'-F化、4'-チオ化などを挙げることができる。

30

【0057】

また、表1～表6に示されるmiRを含むRNA中のリボヌクレオチドの一部が、対応するデオキシリボヌクレオチド又はヌクレオチド類似体に置き換えられたキメラRNAもまた、本発明における免疫応答型制御剤に包含される。ヌクレオチド類似体としては、例えば、5位修飾ウリジン又はシチジン、例えば5-(2-アミノ)プロピルウリジン、5-プロモウリジンなど；8位修飾アデノシン又はグアノシン、例えば8-プロモグアノシンなど；デアザヌクレオチド、例えば7-デアザ-アデノシンなど；O-又はN-アルキル化ヌクレオチド、例えばN6-メチルアデノシンなどを挙げることができる。

40

【0058】

本発明では、適当な発現プロモーターの支配下に置かれることで表1～表6に示されるmiRと同じ塩基配列からなるRNAを転写誘導することのできる核酸、表1～表6に示されるmiRの塩基配列の一部が修飾されてヌクレアーゼによる分解に対する安定性が高められた核酸及びこれらのキメラRNAを、表1～表6に示されるmiRと機能的に等価な核酸又はmiRの機能的等価物と表すこととする。

【0059】

同様に、適当な発現プロモーターの支配下に置かれることで表1～表6に示されるmiRに対する阻害性核酸と同じ塩基配列からなるRNAを転写誘導することのできる核酸、

50

表 1 ~ 表 6 に示される mi R に対する阻害性核酸の塩基配列の一部が修飾されてヌクレアーゼによる分解に対する安定性が高められた核酸及びこれらのキメラ RNA を、表 1 ~ 表 6 に示される mi R に対する阻害性核酸と機能的に等価な核酸又は阻害性核酸の機能的等価物と表すこととする。

【 0 0 6 0 】

後の実施例に示すように、Th 1 型の免疫応答を示す免疫体質を有する被験者において優位に相対的発現量が高い mi R である h s a - m i R - 6 3 5 及び h s a - m i R - 2 2 4 - 3 p、h s a - m i R - 2 2 4 - 3 p に相補的な h s a - m i R - 2 2 4 - 5 p、並びに同じく相対的発現量が高い h s a - m i R - 4 7 0 9 - 5 p に相補的な h s a - m i R - 4 7 0 9 - 3 p は、抗 CD 3 抗体による刺激（抗原刺激）を受けたヒト P B M C からの I F N - の産生を促進する効果を有している。すなわち、h s a - m i R - 6 3 5、h s a - m i R - 2 2 4 - 5 p、h s a - m i R - 2 2 4 - 3 p 及び h s a - m i R - 4 7 0 9 - 3 p は、上記 P B M C に対して I F N - 産生促進能を有し、Th 1 型免疫応答を誘導又は亢進する免疫応答型制御剤として利用可能である。

10

【 0 0 6 1 】

特に h s a - m i R - 6 3 5 及び h s a - m i R - 2 2 4 - 5 p は、上記 P B M C からの I L - 5 の産生を抑制する機能を有しており、Th 2 型免疫応答を抑制する免疫応答型制御剤としても利用可能である。

【 0 0 6 2 】

一方で、h s a - m i R - 4 7 0 9 - 5 p に対する阻害性核酸（h s a - m i R - 4 7 0 9 - 5 p - I）、h s a - m i R - 6 3 5 に対する阻害性核酸（h s a - m i R - 6 3 5 - I）、h s a - m i R - 2 2 4 - 5 p に対する阻害性核酸（h s a - m i R - 2 2 4 - 5 p - I）、及び h s a - m i R - 2 2 4 - 3 p に対する阻害性核酸（h s a - m i R - 2 2 4 - 3 p - I）は、上記 P B M C からの I L - 5 の産生を促進する効果を有しており、Th 2 型免疫応答を誘導又は亢進する免疫応答型制御剤として利用可能である。

20

【 0 0 6 3 】

また、Th 2 型の免疫応答を示す免疫体質を有する被験者において優位に相対的発現量が高い mi R である h s a - m i R - 4 6 5 0 - 5 p、h s a - m i R - 4 6 5 0 - 5 p に相補的な h s a - m i R - 4 6 5 0 - 3 p、及び同じく相対的発現量が高い h s a - m i R - 2 0 b - 3 p と相補的な h s a - m i R - 2 0 b - 5 p は、上記 P B M C からの I L - 5 の産生を促進する効果を有している。すなわち、h s a - m i R - 4 6 5 0 - 5 p、h s a - m i R - 4 6 5 0 - 3 p 及び h s a - m i R - 2 0 b - 5 p は I L - 5 産生促進能を有し、Th 2 型免疫応答を誘導又は亢進する免疫応答型制御剤として利用可能である。

30

【 0 0 6 4 】

一方で、h s a - m i R - 4 6 5 0 - 5 p に対する阻害性核酸（h s a - m i R - 4 6 5 0 - 5 p - I）及び h s a - m i R - 4 6 5 0 - 3 p に対する阻害性核酸（h s a - m i R - 4 6 5 0 - 3 p - I）は上記 P B M C からの I F N - の産生を促進する効果及び I L - 5 の産生を抑制する効果を有しており、Th 1 型免疫応答を誘導又は亢進する又は Th 2 免疫応答を抑制する免疫応答型制御剤として利用可能である。さらに h s a - m i R - 2 0 b - 5 p に対する阻害性核酸（h s a - m i R - 2 0 b - 5 p - I）は、上記 P B M C からの I F N - の産生を促進する機能を有しており、Th 1 型免疫応答を誘導又は亢進する免疫応答型制御剤として利用可能である。

40

【 0 0 6 5 】

本発明の免疫応答型制御剤である核酸は、化学合成技術を利用して人工的に合成することができる。核酸の化学合成方法、また非天然型の塩基の合成手法又はこれを含む核酸の合成手法としては、当業者に知られ又は周知である方法を採用することができる。またいわゆる DNA シンセサイザーなどの機器を用いることで、本発明の免疫応答型制御剤を製造してもよい。

【 0 0 6 6 】

50

本発明の免疫応答型制御剤である核酸は、生体に直接投与されてもよい。また、生体から分離された免疫細胞、典型的には造血幹細胞、T細胞や樹状細胞などに適当な方法によって導入されてもよい。また、本発明の免疫応答型制御剤である核酸は、そのまま造血幹細胞、T細胞や樹状細胞などに導入されてもよく、又はこれらの細胞内で適切に所望のRNAが誘導されるように機能的に組み込まれた発現ベクターの形態で免疫担当細胞に導入されてもよい。

【0067】

発現ベクターは、転写発現を調節する任意の機能性塩基配列、例えばPol IIIプロモーターなどのプロモーター配列、オペレーター配列、エンハンサーなどをさらに含んでもよい。これらの機能性塩基配列は、上記核酸と機能的に連結され得る。本発明の核酸を含む発現ベクターなどの核酸構築物もまた、本発明の範囲内にある。なお、本発明において2以上の核酸を用いる場合、これらの核酸は単一の発現ベクターに組み込んでよく、2以上のベクターに別々に組み込んでよく、

10

【0068】

本発明の核酸は、任意の既知の細胞導入手法、例えばリン酸カルシウム法、リポフェクション法、超音波導入法、エレクトロポレーション法、パーティクルガン法、ウイルスベクター（例えば、アデノウイルスベクター又はレトロウイルスベクターなど）を利用する方法、又はマイクロインジェクション法などを用いることによって、造血幹細胞、T細胞や樹状細胞内に導入され得る。

【0069】

発現ベクターの構築及びその造血幹細胞、T細胞や樹状細胞などへの導入を行う遺伝子工学的な方法としては、当業者に公知又は周知の手法、例えばSambrookらによる「Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2nd edition」（1989年、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、N.Y.）その他の、当分野の教科書又はハンドブックに記載され、当業者に広く利用されている手法を挙げることができる。また市販のキットや試薬を使用するときは、当該キットや試薬の製造者が定めたプロトコル及び/又はパラメータに従うことが好ましい。

20

【0070】

本発明はまた、哺乳動物の免疫応答を制御する方法を提供し、具体的には、哺乳動物に有効量の本発明の免疫応答型制御剤を投与して哺乳動物の免疫応答を制御する方法を含む。

30

【0071】

本明細書中で用いられる「哺乳動物」の例としてはヒト、ウシ、ウマ、イヌ及びネコ等を挙げることができるが、本発明の方法は特にヒトを対象とする。

【0072】

本明細書中で用いられる「有効量」とは、哺乳動物の免疫応答を制御するのに効果的な免疫応答型制御剤の量を意味する。かかる有効量は疾患の種類、症状の重症度、患者その他の医学的要因によって適宜調節される。

【0073】

本発明の治療方法の好ましい実施形態の一つは、Th1型の免疫応答を誘導又は亢進することのできる本発明の免疫応答型制御剤の存在下で培養したヒトのがん患者由来の造血幹細胞、T細胞や樹状細胞などを当該がん患者に投与して、がん細胞に対するその患者の免疫応答をTh1型とする方法である。かかる造血幹細胞、T細胞や樹状細胞などの培養は適当ながん抗原又はがんワクチンを含む培地を用いて行われることが好ましい。また、同様の方法によって、細菌、真菌、ウイルスその他の外来生物による感染症に対する患者の免疫応答を活性化させることも可能である。

40

【0074】

本発明の治療方法の好ましい別の実施形態の一つは、Th1型の免疫応答を抑制する又は阻害することのできる本発明の免疫応答型制御剤をヒト患者に投与して、その患者にお

50

ける肝炎、自己免疫疾患を治療する方法である。本実施形態の治療方法の対象となる疾患としては、リュウマチ、全身性エリテマトーデス（SLE）、多発性硬化症、移植病、クローン病、潰瘍性大腸炎、シェーグレン症候群等の自己免疫疾患を挙げることができる。

【0075】

本発明の治療方法のさらなる実施形態の一つは、Th2型の免疫応答を誘導又は亢進することのできる本発明の免疫応答型制御剤をヒト患者に投与して、寄生虫その他の外来生物による感染症を治療する方法である。

【0076】

本発明の治療方法のさらなる好ましい実施形態の一つは、Th2型の免疫応答を抑制する又は阻害することのできる本発明の免疫応答型制御剤をヒト患者に投与して、その患者におけるアレルギー疾患又は自己免疫疾患を治療する方法である。本実施形態の治療方法の対象となる疾患としては、花粉症、アトピー、重症薬疹などのアレルギー疾患を挙げることができる。

【0077】

本発明の免疫応答型制御剤は、薬学的に許容される賦形剤、担体その他の成分と共に医薬組成物を形成し又は製剤化して使用することが好ましい。特に、核酸製剤の調製に好適な賦形剤等の利用が好ましい。かかる医薬組成物又は製剤の形態にある免疫応答型制御剤も、本発明の免疫応答型制御剤の一態様である。

【0078】

薬学的に許容される成分は当業者において周知であり、当業者が通常の実施能力の範囲内で、例えば第十六改正日本薬局方その他の規格書に記載された成分から製剤の形態に応じて適宜選択して使用することができる。また、RNA干渉誘導性核酸などを含む製剤で利用されている各種の成分を利用することが好ましい。治療対象となる疾患に応じて、本発明の免疫応答型制御剤とその他の医薬とを併用して使用してもよい。

【0079】

本発明の免疫応答型制御剤を含む医薬組成物は、通常、注射剤、点滴剤などの非経口製剤の形態で用いられる。非経口製剤に用いることができる担体としては、例えば、生理食塩水や、ブドウ糖、D-ソルビトールなどを含む等張液といった、製剤において通常用いられる水性担体が挙げられる。本発明の免疫応答型制御剤を含む医薬組成物はさらに、薬学的に許容される緩衝剤、安定剤、保存剤その他の成分を含んでもよい。

【0080】

また、本発明の免疫応答型制御剤を含む医薬組成物は、高分子ミセル、リポソーム、エマルジョン、マイクロスフェア及びナノスフェアなどの適切なDDSに封入及び/又は固定することもできる。

【0081】

本発明の免疫応答型制御剤を含む医薬組成物の投与方法は、特に制限されないが、非経口製剤である場合は、例えば血管内投与（好ましくは静脈内投与）、腹腔内投与、腸管内投与、腫瘍内又はその近傍への局所投与などを挙げることができる。好ましい態様の一つにおいて、本発明の免疫応答型制御剤を含む医薬組成物は、静脈内投与又は腫瘍内若しくはその近傍への局所投与により対象に投与される。

【0082】

ウイルスベクターを利用して哺乳動物の体内で本発明の核酸の発現を誘導する場合、その用量範囲は、例えば、ヒト対象1人あたり、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^{14}$ 、好ましくは $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^{12}$ 、より好ましくは $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^{11}$ 、最も好ましくは $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^{10}$ のプラーク形成単位（p.f.u.）であることができる。

【0083】

以下、非限定的な実施例によって本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は、本明細書に記載の特定の方法論、プロトコル、細胞株、動物種及び属、コンストラクト並びに試薬に限定されるものではなく、これらは適宜変更することができるものであることは当業者に容易に理解されるものである。

10

20

30

40

50

【実施例】

【0084】

<実施例1>

1) 血清の調製

国際特許公開WO2009/123188号パンフレットに記載のサーバイピンヘルパーペプチドを用いたがんワクチン免疫療法の第I相臨床試験において、所定の試験プロトコルに従って前記ペプチドを大腸がん患者に投与した。治療期間1におけるペプチドワクチンの投与は初回投与、初回投与から14日後、28日後及び42日後の計4回行った。初回投与前と各回投与後14日目に患者から採血して、それぞれ常法に従って血清を調製した。また、採血された血液中の末梢血リンパ球から調製した非付着性細胞(2×10^6 個/ウェル)と別途IL-4とGM-CSFで誘導した樹状細胞(1×10^5 個/ウェル)とをワクチンペプチド($5 \mu\text{M}$)で2回、1週間ごとに刺激をして、2週間培養し、2週間後の段階で、誘導されたTリンパ球(5×10^4 個/ウェル)と樹状細胞は(5×10^3 個/ウェル)をワクチンペプチド($2 \mu\text{M}$)で再刺激した際に、培養上清中にペプチド特異的反応により産生されたIL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-12、IL-17、TNF- α 、GM-CSF及びIFN- γ をそれぞれ測定した。サイトカイン測定からIFN- γ がIL-4に比して高産生されたTh1免疫応答を示した患者5名を選択し、それらの血清を一つに纏めて混合した。同様にIFN- γ の産生に対してIL-4の産生が比較的高値のTh2免疫応答を示した患者5名分の血清を一つに纏めて混合した。尚、Th1免疫応答を示した患者5名においては、上記方法で測定されたIFN- γ 濃度は、いずれも約3890pg/mL以上であった。一方、Th2免疫応答を示した患者5名においては、上記ペプチドワクチン4回投与後のIL-4濃度は、上記方法で測定した場合、いずれも約173pg/mL以上であった。

10

20

【0085】

2) マイクロアレイ解析

1)のTh1型の免疫応答を示した患者の血清及びTh2型の免疫応答を示した患者の血清に対して、東レ株式会社に委託して「miRNA Oligo chip」を用いたマイクロアレイ解析を行い、検出されたmiRごとの相対的発現量をグローバルノーマライゼーション法によって算出した。

30

【0086】

3) 免疫体質判定用バイオマーカーの特定

上記マイクロアレイの解析結果から、免疫治療開始前の血清において、免疫治療を受けることでTh1型の免疫応答を示した患者群に関して、Th2型の免疫応答を示した患者群と比較して2倍以上の相対的発現量を示したmiRと治療開始前の血清中におけるその相対的発現量を表1に示した。

【0087】

上記マイクロアレイの解析結果から、免疫治療開始前の血清において、免疫治療を受けることでTh2型の免疫応答を示した患者群に関して、Th1型の免疫応答を示した患者群と比較して2倍以上の相対的発現量を示したmiRと治療開始前の血清中におけるその相対的発現量を表2に示した。

40

【0088】

4) 免疫応答型判定用バイオマーカーの特定

上記マイクロアレイの解析結果から、免疫治療を受けることでTh1型の免疫応答を示した患者群に関して、治療開始前の血清における相対的発現量と比較して4回目投与後の血清における相対的発現量が2倍以上に上昇したmiRと、DNAマイクロアレイを用いて測定した発現量からグローバルノーマライゼーション法によって算出した相対的発現量を基にしたそれぞれの変動比を表3に示した。

【0089】

上記マイクロアレイの解析結果から、免疫治療を受けることでTh1型の免疫応答を示した患者群に関して、治療開始前の血清における相対的発現量と比較して4回目投与後の

50

血清における相対的発現量が1/2以下に減少したmiRと、DNAマイクロアレイを用いて測定した発現量からグローバルノーマライゼーション法によって算出した相対的発現量を基にしたそれぞれの変動比を表4に示した。

【0090】

上記マイクロアレイの解析結果から、免疫治療を受けることでTh2型の免疫応答を示した患者群に関して、治療開始前の血清における相対的発現量と比較して4回目投与後の血清における相対的発現量が2倍以上に上昇したmiRと、DNAマイクロアレイを用いて測定した発現量からグローバルノーマライゼーション法によって算出した相対的発現量を基にしたそれぞれの変動比を表5に示した。

【0091】

上記マイクロアレイの解析結果から、免疫治療を受けることでTh2型の免疫応答を示した患者群に関して、治療開始前の血清における相対的発現量と比較して4回目投与後の血清における相対的発現量が1/2以下に減少したmiRと、DNAマイクロアレイを用いて測定した発現量からグローバルノーマライゼーション法によって算出した相対的発現量を基にしたそれぞれの変動比を表6に示した。

【0092】

<実施例2>

表1に示されるmiRすなわちTh1型の免疫応答を示す免疫体質を有する被験者において優位に相対的発現量が高いmiRであるhsa-miR-635及びhsa-miR-224-3p、hsa-miR-224-3pに相補的なhsa-miR-224-5p、及びそれらに対する阻害性核酸であるhsa-miR-635-I及びhsa-miR-224-3p-I、hsa-miR-224-5p-I、さらにTh1型の免疫応答を示す免疫体質を有する被験者において優位に相対的発現量が高いhsa-miR-4709-5pに相補的なhsa-miR-4709-3p、及びhsa-miR-4709-5pに対する阻害性核酸であるhsa-miR-4709-5p-Iを化学合成した。

【0093】

健常ヒト末梢血から常法によって回収したPBMC(1×10⁵個/ウェル)に、lipofectamine(登録商標)(Life Technologies)を用いて、製造者のプロトコルに従って上記miR及び阻害性核酸各30pmol/ウェルをそれぞれ加えた。24時間後に抗CD2抗体、抗CD3抗体及び抗CD28抗体を含むT Cell Activation/Expansion Kit(Milteny Biotec)を用いて抗原刺激をPBMCに与えた。刺激から24時間又は48時間後に培養上清を回収し、human IFN-γ BD OptEIA set及びhuman IL-5 BD OptEIA set(いずれもBD Bioscience pharmingen)を用いて、IFN-γ 及びIL-5のELISAによる定量を行った。その結果を図1~図4に示す。

【0094】

図1~4に示されるように、hsa-miR-635、hsa-miR-224-3p、hsa-miR-224-5p及びhsa-miR-4709-3pは、抗原刺激を受けたPBMCに対してIFN-γ 産生促進能を有することが確認された。また、hsa-miR-635及びmiR-224-5pは、上記PBMCからのIL-5の産生を抑制する機能を有していることが確認された。

【0095】

一方、hsa-miR-635-I、hsa-miR-224-3p-I、hsa-miR-224-5p-I及びhsa-miR-4709-5p-Iは、上記PBMCからのIL-5の産生を促進する効果を有していることが確認された。

【0096】

<実施例3>

表2に示されるmiRすなわちTh2型の免疫応答を示す免疫体質を有する被験者において優位に相対的発現量が高いmiRであるhsa-miR-4650-5p、hsa-

10

20

30

40

50

miR-4650-5pに相補的なhsa-miR-4650-3p、及びこれらに対する阻害性核酸であるhsa-miR-4650-5p-I、hsa-miR-4650-3p-I、さらにTh2型の免疫応答を示す免疫体質を有する被験者において優位に相対的発現量が高いhsa-miR-20b-3pに相補的なhsa-miR-20b-5p及びこれに対する阻害性核酸であるhsa-miR-20b-5p-Iを化学合成し、実施例1と同様にPBMCに導入し、IFN-及びIL-5を定量した。その結果を図5～図7に示す。

【0097】

図5～図7に示されるように、hsa-miR-4650-5p、hsa-miR-4650-3p及びmiR-20b-5pは、抗原刺激を受けたPBMCに対してIL-5産生促進能を有することが確認された。

10

【0098】

一方、hsa-miR-4650-5p-I、hsa-miR-4650-3p-I、及びhsa-miR-20b-5p-Iは、上記PBMCからのIFN-の産生を促進する効果を有していることが確認された。さらにhsa-miR-4650-5p-I及びhsa-miR-4650-3p-Iは、上記PBMCからのIL-5産生を抑制する機能を有することが確認された。

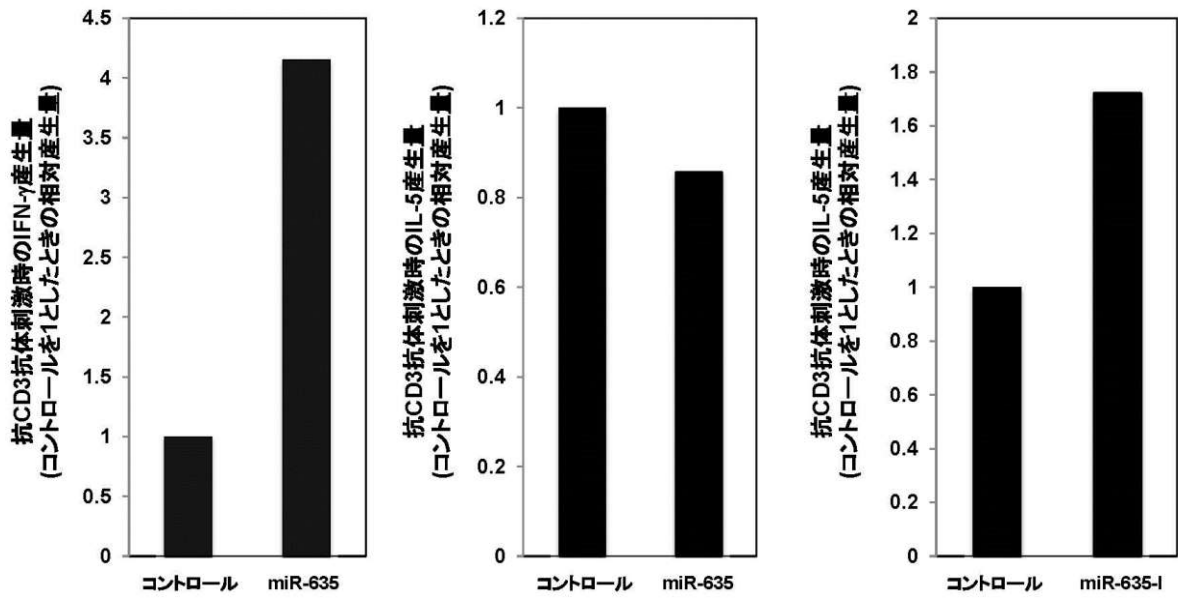
【産業上の利用可能性】

【0099】

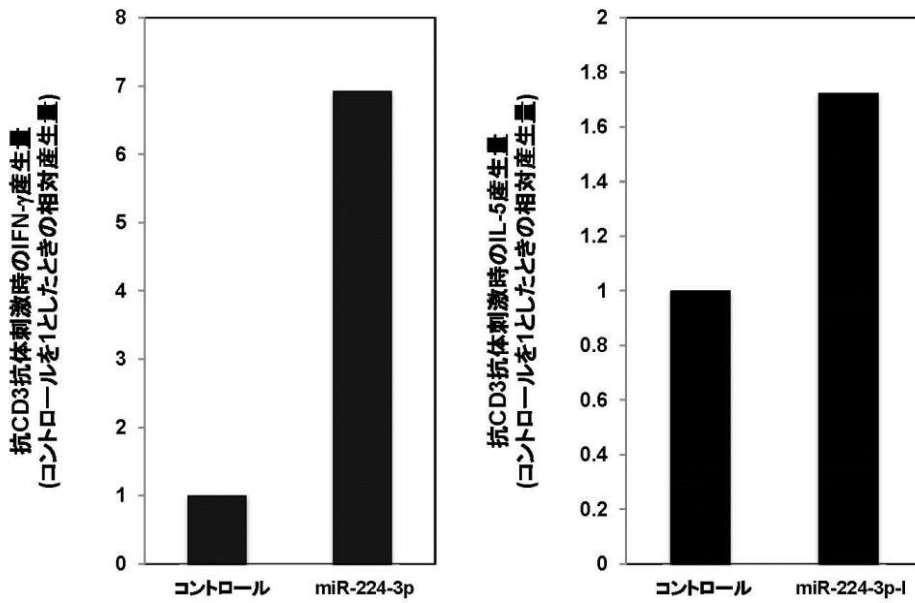
本発明のバイオマーカーを用いることで、患者の免疫体質の予測又は免疫治療を実行中の患者の免疫応答の型の判定が可能となり、感染症やがんワクチン治療の効果の予測に用いるコンパニオン診断薬として有用である。また、免疫治療の実施によるアナフィラキシーショックや自己免疫応答などの副作用の回避、食物アレルギー応答などの回避などを行うことも可能となる。さらに、本発明で特定されるmiR、これに対する阻害性核酸又はそれらの機能的等価物を免疫応答型制御剤として利用することができる。このように、本発明のバイオマーカー、判定方法及び免疫応答型制御剤は、免疫関連疾患の予防、改善、治療分野において有用である。

20

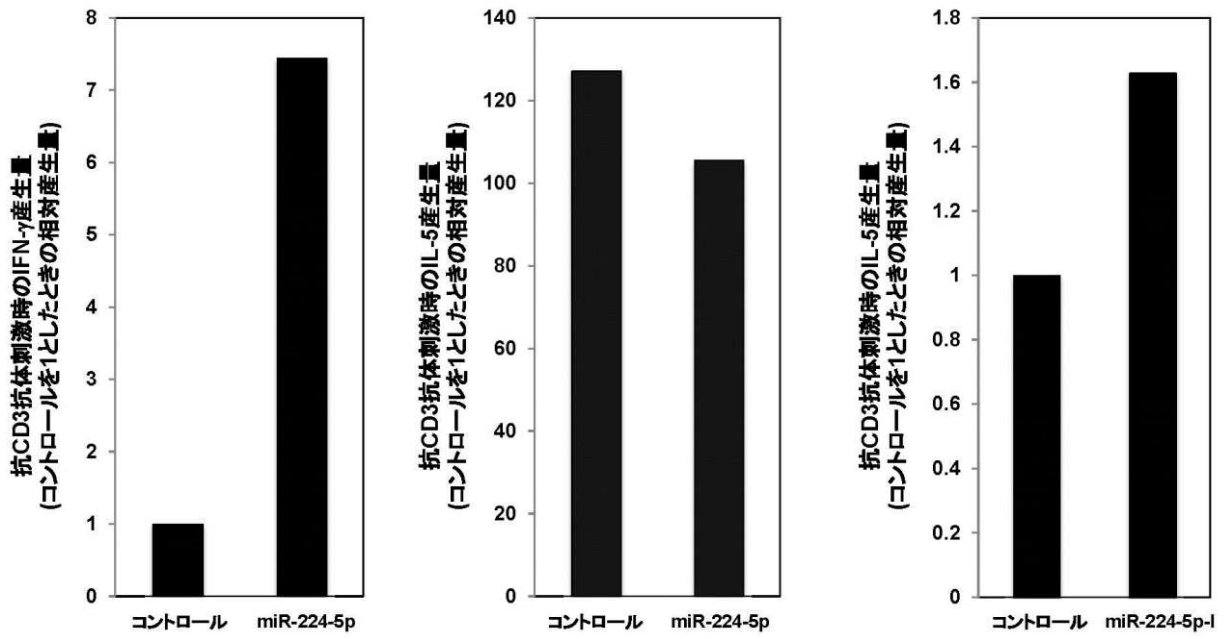
【 図 1 】



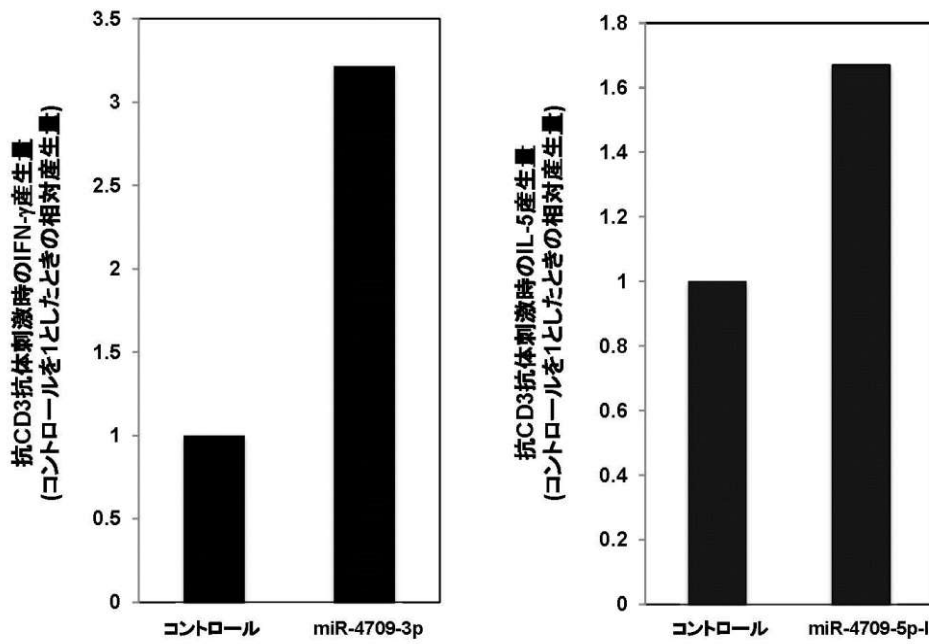
【 図 2 】



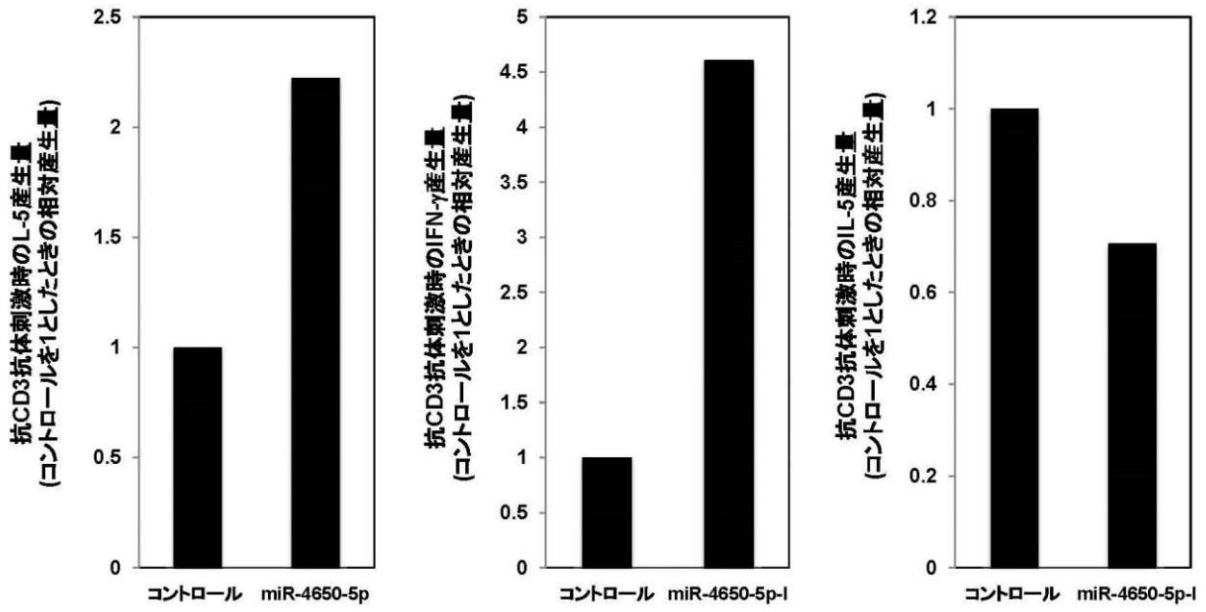
【 図 3 】



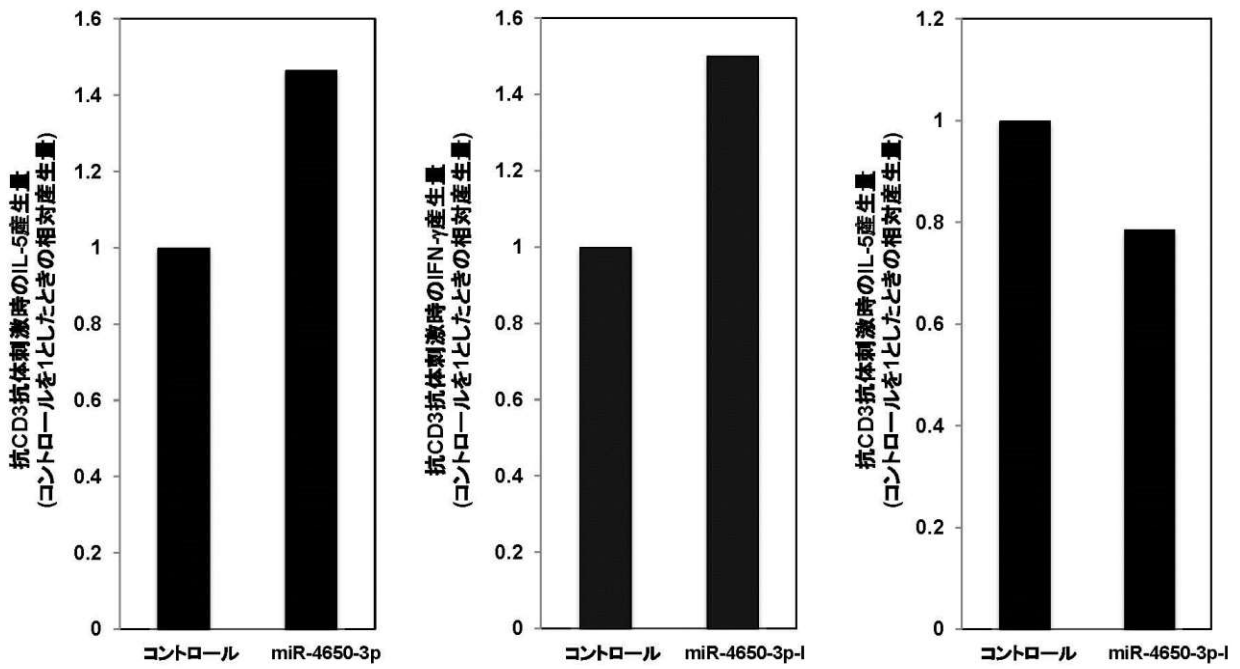
【 図 4 】



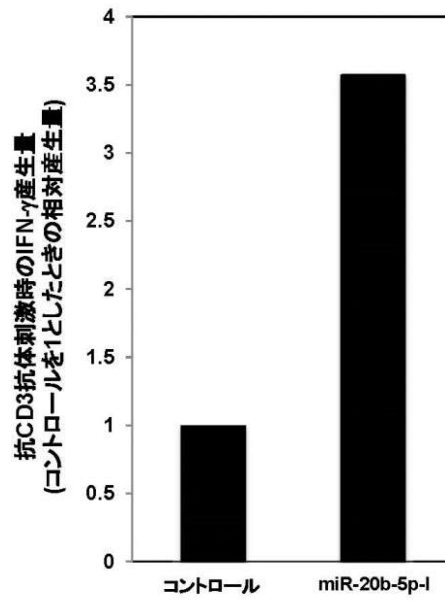
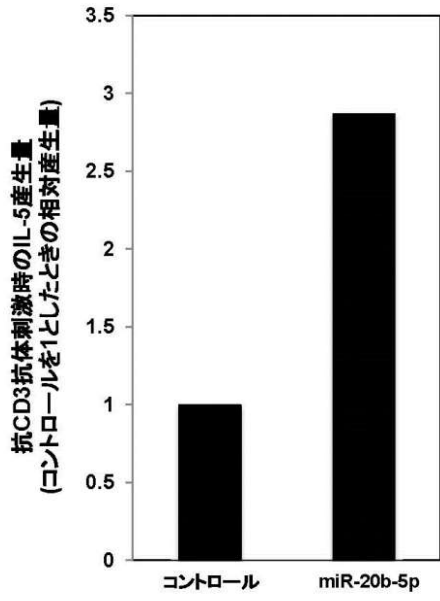
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



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 35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
C 1 2 N 15/09	(2006.01)	C 1 2 N	15/00	F
G 0 1 N 33/53	(2006.01)	G 0 1 N	33/53	M

(72)発明者 大野 陽介
北海道札幌市北区北 8 条西 5 丁目 国立大学法人北海道大学内

(72)発明者 大竹 淳矢
北海道札幌市北区北 8 条西 5 丁目 国立大学法人北海道大学内

(72)発明者 寺田 聖
北海道札幌市北区北 8 条西 5 丁目 国立大学法人北海道大学内

F ターム(参考) 2G045 AA25 DA14

4B024 AA01 AA11 CA01 CA11 HA08 HA11 HA17

4B063 QA01 QQ52 QQ53 QR32 QS25

4C084 AA13 NA14 ZB071 ZB072 ZB261 ZB262

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZB07 ZB26

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2016010346A5	公开(公告)日	2018-02-22
申请号	JP2014133367	申请日	2014-06-27
[标]申请(专利权)人(译)	国立大学法人北海道大学		
申请(专利权)人(译)	国立大学法人北海道大学		
[标]发明人	北村秀光 武富紹信 大野陽介 大竹淳矢 寺田聖		
发明人	北村 秀光 武富 紹信 大野 陽介 大竹 淳矢 寺田 聖		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/50 A61K31/7088 A61K48/00 A61P37/02 A61P35/00 C12N15/09 G01N33/53		
FI分类号	C12Q1/68.A G01N33/50.P A61K31/7088 A61K48/00 A61P37/02 A61P35/00 C12N15/00.F G01N33/53.M		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/DA14 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/CA01 4B024/CA11 4B024/HA08 4B024/HA11 4B024/HA17 4B063/QA01 4B063/QQ52 4B063/QQ53 4B063/QR32 4B063/QS25 4C084/AA13 4C084/NA14 4C084/ZB071 4C084/ZB072 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZB07 4C086/ZB26		
代理人(译)	金子真希		
其他公开文献	JP6566612B2 JP2016010346A		

摘要(译)

微RNA可作为能够预测患者的免疫构成的生物标志物，所述微小RNA，其可以是生物标志物，其可以确定患者的免疫应答的类型，和通过向患者施用所述免疫应答提供可以控制的microRNA。这是一个特别的微RNA，在类型确定方法中使用的或在确定受试者的免疫结构的方法中使用的受试者的免疫应答的生物标志，受试者中的免疫结构或使用这些生物标志物一种免疫应答型调节剂，其包含微RNA作为活性成分，用于确定受试者免疫应答类型的方法和判断免疫应答类型的方法。通过初步确定患者的免疫系统或通过确定接受免疫治疗的患者的免疫反应，可以预测感染性疾病和癌症疫苗的治疗效果，预防，改善和治疗成为可能。点域1