

(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2016-524168

(P2016-524168A)

(43) 公表日 平成28年8月12日 (2016.8.12)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68	2 G O 4 5
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	P 4 B O 6 3
GO 1 N 33/533 (2006.01)	GO 1 N 33/53	D
GO 1 N 33/532 (2006.01)	GO 1 N 33/53	X
GO 1 N 33/534 (2006.01)	GO 1 N 33/533	
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 44 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2016-525462 (P2016-525462)
 (86) (22) 出願日 平成26年7月9日 (2014.7.9)
 (85) 翻訳文提出日 平成28年3月4日 (2016.3.4)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/046015
 (87) 国際公開番号 W02015/006489
 (87) 国際公開日 平成27年1月15日 (2015.1.15)
 (31) 優先権主張番号 61/845, 121
 (32) 優先日 平成25年7月11日 (2013.7.11)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 509278081
 ユニバーシティー オブ ノース テキサ
 ス ヘルス サイエンス センター アッ
 ト フォートワース
 UNIVERSITY OF NORTH
 TEXAS HEALTH SCIEN
 CE CENTER AT FORT W
 ORTH
 アメリカ国 テキサス 76109 フォー
 トワース キャンプボウイブルバード 35
 00 オフィス オブ リサーチ アンド
 バイオテクノロジー

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 プライマリーケアセッティングにおいて神経学的疾患を検出するための血液に基づくスクリーニ
 ング

(57) 【要約】

本発明は、対象から血液被検試料を得るステップと、前記血液試料における IL - 7 及び TNF α バイオマーカーを測定するステップと、前記バイオマーカーの 1 つ又は組み合わせのレベル及び認知神経科学的スクリーニング検査を、正常血液試料における相当するバイオマーカーの 1 つ又は組み合わせのレベル及び認知神経科学的スクリーニング検査と比較するステップと、前記正常血液試料に関連した前記血液被検試料のレベルの増加が、前記対象が、神経学的疾患を有する可能性が高いことを示すと予測するステップを含む、プライマリーケアセッティング内における神経学的疾患の診断のための方法及びキットを含む。

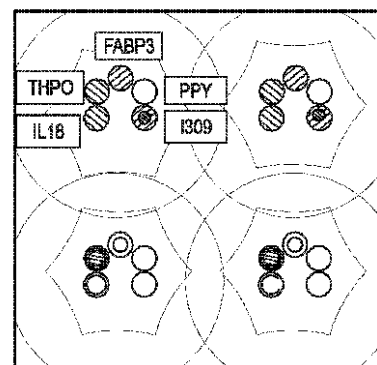


FIG. 1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

以下のステップを含む、プライマリーケアセッティング内において神経学的疾患をスクリーニングする方法。

プライマリーケアセッティングにおいて対象から血液被検試料を得るステップ；

IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び α -シヌクレインから選択される、前記血液試料における2又は3以上のバイオマーカーを測定するステップ；

前記バイオマーカーの1つ又は組み合わせのレベルを、正常血液試料における相当するバイオマーカーの1つ又は組み合わせのレベルと比較するステップ；

前記対象が神経学的疾患を有する可能性が高いことを示す、前記正常血液試料のレベルに関連した前記血液被検試料における前記2又は3以上のバイオマーカーのレベルの増加を測定するステップ；

測定された前記2つのバイオマーカーに基づき前記神経学的疾患を同定するステップ；及び

予測された前記神経学的疾患に基づき前記対象のための治療コースを選択するステップ；

【請求項 2】

バイオマーカー測定値のうち少なくとも1つが、イムノアッセイ及び酵素活性アッセイからなる群から選択される方法によって得られる、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

個体又はプライマリーケア従事者に、計算されたりスクの変化を通知するステップをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 4】

個体又はプライマリーケア従事者に、計算されたりスクの変化を通知するステップをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 5】

3、4、5、6、7、8、9、10、11、12又は13のバイオマーカーを用いて、神経学的疾患を区別する、請求項1に記載の方法。

【請求項 6】

単離された生物学的試料が、血清又は血漿である、請求項1に記載の方法。

【請求項 7】

試料が血清試料であり、プライマリーケアクリニック内における神経学的疾患の仮判定後に、このプライマリーケア提供者に、この特別な血液スクリーニングの知見に適切な特定の種類の専門医の紹介に関する情報を提供し、個体を前記神経学的疾患及びそれに従った治療の専門医に導く、請求項1に記載の方法。

【請求項 8】

神経学的疾患が、アルツハイマー病、パーキンソン病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症及び神経変性疾患から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項 9】

患者年齢及び認知神経科学的スクリーニング検査のパラメータを含むことにより、解析を緻密化するステップであって、本発明の血清に基づくマーカー、年齢及び認知神経科学的スクリーニング検査のうちの2又は3以上の組み合わせが、神経学的疾患又は障害を持たない対照対象と比較して、アルツハイマー病の判定のためのプライマリーケアセッティングにおいて少なくとも90%正確であるステップをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 10】

神経変性疾患の正確な検出及び識別のために、睡眠障害（はい／いいえ）、幻視（はい／いいえ）、精神医学的／人格変化（はい／いいえ）、年齢、認知神経科学的スクリーニ

10

20

30

40

50

ング及び2又は3以上の本発明の血清に基づくマーカーのパラメータのうちの1又は2以上を判定するステップをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項11】

様々なタンパク質の発現レベルが、蛍光検出、化学発光検出、電気化学発光検出及びパターン形成アレイ、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、抗体結合、蛍光励起分取、検出可能ビーズ分取、抗体アレイ、マイクロアレイ、酵素アレイ、受容体結合アレイ、アレル特異的プライマー伸長、標的特異的プライマー伸長、固相結合アレイ、液相結合アレイ、蛍光共鳴移動又は放射性標識化のうちの少なくとも1つによって測定される、請求項1に記載の方法。

【請求項12】

全体的精度94、95、96、97、98、99若しくは100%（感度（SN）、特異性（SP）（ $SN = 0.94$ 、 $SP = 0.83$ ））による軽度AD（CDRグローバルスコア1.0以下）、又は全体的精度91、92、93、94、95、96、97、98、99若しくは100%（ $SN = 0.97$ 、 $SP = 0.72$ ）による非常に初期のAD（CDRグローバルスコア=0.5）のうちの少なくとも1つのスクリーニングに用いられる、請求項1に記載の方法。

【請求項13】

感度よりも高い特異性を用いるプライマリーセッティングにおいてスクリーニングに用いられ、前記特異性が0.97～1.0の範囲内であり、前記感度が0.80～1.0の範囲内である、請求項1に記載の方法。

【請求項14】

以下のステップを含む、1又は2以上の神経学的疾患状態を区別するための方法。

神経学的疾患を有すると疑われる個体から単離された少なくとも1つの生物学的試料から、バイオマーカーIL-7及びTNF α を含むバイオマーカーの測定値を得るステップ；

対象の年齢及び前記対象から得られた1又は2以上の認知神経科学的スクリーニング検査（時計描画、言語流暢性、睡眠障害、幻視、行動障害、運動障害）の結果を加えるステップ；

モデルの出力から前記神経学的疾患を発症する前記個体のリスクを計算するステップであって、前記モデルへの入力、前記2つのバイオマーカーの前記測定値、前記対象の年齢及び1又は2以上の認知検査の前記結果を含み、さらに、前記モデルが、選択された個体集団の縦断的研究のデータを適合させることにより開発され、前記適合されたデータが、前記選択された個体集団における前記バイオマーカーのレベル、前記対象の年齢及び1又は2以上の認知検査の前記結果並びに神経学的疾患を含むステップ；及び

前記個体の前記計算されたリスクを、前記個体由来の少なくとも1つのより初期の試料から得られる以前に計算されたリスクと比較するステップ；

【請求項15】

バイオマーカー測定値のうち少なくとも1つが、蛍光検出、化学発光検出、電気化学発光検出及びパターン形成アレイ、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、抗体結合、蛍光励起分取、検出可能ビーズ分取、抗体アレイ、マイクロアレイ、酵素アレイ、受容体結合アレイ、アレル特異的プライマー伸長、標的特異的プライマー伸長、固相結合アレイ、液相結合アレイ、蛍光共鳴移動又は放射性標識化のうち少なくとも1つから選択される方法によって得られる、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

バイオマーカー測定のための方法のうち2又は3以上が、神経学的疾患の交差検証に用いられる、請求項14に記載の方法。

【請求項17】

個体又は医療従事者に、計算されたリスクの変化を通知するステップをさらに含む、請求項14に記載の方法。

【請求項18】

個体又は医療従事者に、計算されたリスクの変化を通知するステップをさらに含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 19】

バイオマーカーが、IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1 及び α -シヌクレインから選択される 1 又は 2 以上のバイオマーカーをさらに含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 20】

3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 又は 13 のバイオマーカーを用いて、神経学的疾患を区別する、請求項 14 に記載の方法。

10

【請求項 21】

単離された生物学的試料が、血清又は血漿である、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 22】

試料が血清試料であり、神経学的疾患の仮判定後に、個体を前記神経学的疾患の専門医に導く、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 23】

神経学的疾患が、アルツハイマー病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、パーキンソン病及び認知症から選択される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 24】

アルツハイマー病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、パーキンソン病及び認知症から選択される 1 又は 2 以上の神経学的疾患を除外するために用いられる、請求項 14 に記載の方法。

20

【請求項 25】

感度よりも高い特異性を用いるプライマリーセッティングにおけるスクリーニングに用いられ、前記特異性が 0.97 ~ 1.0 の範囲内であり、前記感度が 0.80 ~ 1.0 の範囲内である、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 26】

以下のステップを含む、臨床試験を行って、神経学的疾患の治療において有用であると考えられる候補薬物を評価する方法。

30

(a) 神経学的疾患を有すると疑われる患者から得られる 1 又は 2 以上の血液試料からの、IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1 及び α -シヌクレインから選択される 2 又は 3 以上のバイオマーカー、前記患者の年齢並びに前記患者の 1 又は 2 以上の認知神経科学的スクリーニング検査の結果を測定するステップ；

(b) 候補薬物を前記患者の第 1 のサブセットに投与し、プラセボを前記患者の第 2 のサブセットに投与するステップ；

(c) 前記候補薬物又は前記プラセボの前記投与後に、ステップ (a) を反復するステップ；及び

40

(d) 前記候補薬物が、前記第 2 のサブセットの患者において生じるいかなる低下と比較して統計的に有意に、前記 1 又は 2 以上のバイオマーカーの発現を低下させるか否かを判定するステップであって、統計的に有意な低下が、前記候補薬物が前記神経学的疾患の治療において有用であることを示す、ステップ；

【請求項 27】

所定の時間の後に、患者から 1 又は 2 以上の追加的な血液試料を得るステップと、前記 1 又は 2 以上の追加的な試料由来のバイオマーカーのレベルを比較して、疾患進行を判定するステップとをさらに含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

患者を所定の期間治療するステップと、前記所定の時間の後に、前記患者から 1 又は 2

50

以上の追加的な血液試料を得るステップと、前記 1 又は 2 以上の追加的な試料由来のバイオマーカーのレベルを比較して、疾患進行を判定するステップとをさらに含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 29】

以下のステップを含む、臨床試験のための対象を選択して、神経学的疾患の治療において有用であると考えられる候補薬物を評価する方法。

(a) 対象から得られる血液試料における IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1 及び α -シヌクレインから選択される 2 又は 3 種以上のバイオマーカー、前記患者の年齢並びに 1 又は 2 以上の認知神経科学的スクリーニング検査の結果を測定して、神経変性疾患プロファイルを判定するステップ；及び

10

(b) 前記ステップ (a) から得られる前記対象の前記神経変性疾患プロファイルの同定結果に基づき、前記対象が、臨床試験に参加するべきか否かを判定するステップであって、前記神経変性疾患プロファイル及び前記候補薬物が前記神経学的疾患の治療において有用である可能性が高い場合のみ、前記対象が選択されるステップ；

【請求項 30】

以下のステップを含む、神経学的疾患の治療の効果を評価する方法。

神経学的疾患に関して患者を治療するステップ；

神経学的疾患を有すると疑われる患者から得られる血液試料から 2 又は 3 以上のバイオマーカー、前記患者の年齢、及び前記患者の 1 又は 2 以上の認知検査の結果を測定するステップ；及び

20

前記治療が、治療していない前記第 2 のサブセットの患者又は前記患者から得られる先の試料において生じるいかなる低下と比較しても統計的に有意に、前記 1 又は 2 以上のバイオマーカーの発現を低下させるか否かを判定するステップであって、統計的に有意な低下が、前記治療が前記神経学的疾患の治療において有用であることを示すステップ；

【請求項 31】

以下のステップを含む、神経学的疾患の診断を補助する方法。

ヒト個体から血液試料を得るステップ；

前記個体の血液試料由来の IL-7 及び TNF α バイオマーカーの正規化された測定レベルを、各神経学的疾患診断バイオマーカーの参照レベルと比較するステップであって、神経学的疾患診断バイオマーカーの群が、IL-7 及び TNF α を含む、ステップ；及び

30

前記患者の年齢及び前記患者の 1 又は 2 以上の認知検査の結果を得るステップであって、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルが、神経学的疾患ではないヒト個体の 1 又は 2 以上の血液試料由来の前記神経学的疾患診断バイオマーカーの正規化された測定レベルを含み、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルを超える神経学的疾患診断バイオマーカーのレベル、前記患者の年齢、及び前記患者の 1 又は 2 以上の認知検査の結果が、前記個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示す、ステップ；

【請求項 32】

40

参照レベルと比較して上昇した血液中の IL-7 及び TNF α の発現レベルが、個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示す、請求項 31 に記載の方法。

【請求項 33】

IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1 及び α -シヌクレインから選択される 1 又は 2 以上のバイオマーカーの血液レベルを判定するステップをさらに含む、請求項 31 に記載の方法。

【請求項 34】

50

3、4、5、6、7、8、9、10、11、12又は13のバイオマーカーを用いて、神経学的疾患を区別する、請求項33に記載の方法。

【請求項35】

参照レベルと比較してより低いCRP及びIL10のレベルが、個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示す、請求項33に記載の方法。

【請求項36】

所定の時間の後に、患者から1又は2以上の追加的な血液試料を得るステップと、前記1又は2以上の追加的な試料由来の前記バイオマーカーのレベルを比較して、疾患進行を判定するステップとをさらに含む、請求項33に記載の方法。

【請求項37】

単離された血液試料が血清試料である、請求項31に記載の方法。

【請求項38】

血液試料が血清試料であり、神経学的疾患の仮判定後に、個体を前記神経学的疾患の専門医に導く、請求項31に記載の方法。

【請求項39】

神経学的疾患が、アルツハイマー病、パーキンソン病及び認知症から選択される、請求項31に記載の方法。

【請求項40】

感度よりも高い特異性を用いるプライマリーセッティングにおけるスクリーニングに用いられ、前記特異性が0.97～1.0の範囲内であり、前記感度が0.80～1.0の範囲内である、請求項31に記載の方法。

【請求項41】

ヒト個体から得られる血液試料におけるIL-7及びTNF α の発現レベルを検出するための1又は2以上の試薬と、1又は2以上の神経学的スクリーニング検査シートと、

前記個体の血液試料由来の前記IL-7及びTNF α バイオマーカーの正規化された測定レベル、前記患者の年齢及び前記患者の前記神経学的スクリーニング検査の結果を参照レベルと比較するための説明書であって、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルが、神経学的疾患ではないヒト個体の1又は2以上の血液試料由来の前記神経学的疾患診断バイオマーカーの正規化された測定レベルを含み、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルに満たない神経学的疾患診断バイオマーカーのレベルが、前記個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示し、前記検査が少なくとも90%正確である、前記説明書と

を含む、プライマリーケアセッティングにおける神経学的疾患の診断を補助するための迅速スクリーニングキット。

【請求項42】

参照レベルと比較して上昇した血液中のIL-7及びTNF α の発現レベルが、個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示す、請求項41に記載のキット。

【請求項43】

IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNF β 、ICAM1、FVI、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び α -シヌクレインから選択される発現マーカーのレベルを検出するための1又は2以上の試薬をさらに含む、請求項41に記載のキット。

【請求項44】

参照レベルと比較してより低いCRP及びIL10のレベルが、個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示す、請求項43に記載のキット。

【請求項45】

試料が血清試料であり、神経学的疾患の仮判定後に、個体を前記神経学的疾患の専門医に導く、請求項41に記載のキット。

10

20

30

40

50

【請求項 4 6】

神経学的疾患が、アルツハイマー病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、パーキンソン病及び認知症から選択される、請求項 4 1 に記載のキット。

【請求項 4 7】

様々なタンパク質の発現レベルが、核酸、タンパク質レベル又は機能的タンパク質レベルのうち少なくとも 1 つにおいて測定される、請求項 4 1 に記載のキット。

【請求項 4 8】

様々なタンパク質の発現レベルが、蛍光検出、化学発光検出、電気化学発光検出及びパターン形成アレイ、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、抗体結合、蛍光励起分取、検出可能ビーズ分取、抗体アレイ、マイクロアレイ、酵素アレイ、受容体結合アレイ、アレル特異的プライマー伸長、標的特異的プライマー伸長、固相結合アレイ、液相結合アレイ、蛍光共鳴移動又は放射性標識化のうち少なくとも 1 つによって測定される、請求項 4 1 に記載のキット。

10

【請求項 4 9】

以下のステップを含む、患者プロファイルに最もマッチする 1 又は 2 以上の神経学的疾患プロファイルを判定する方法。

(a) 適切にプログラムされたコンピュータにおいて、1 又は 2 以上の神経学的疾患を有すると疑われる患者由来の血液試料における IL-7 及び TNF α の発現レベルを、参照データベースにおける参照プロファイルと比較して、前記患者プロファイルと前記参照プロファイルのそれぞれとの間の類似性の尺度を判定するステップ；

20

(b) 適切にプログラムされたコンピュータにおいて、ステップ (a) において判定された類似性の前記尺度間の最大類似性に基づき、前記患者プロファイルに最もマッチする参照データベースにおける参照プロファイルを同定するステップ；及び

(c) ユーザー・インターフェース・デバイス、コンピュータ可読記憶媒体又はローカル若しくは遠隔コンピュータシステムに出力するステップ、或いは前記最大類似性又は前記患者プロファイルに最もマッチする前記参照データベースにおける前記参照プロファイルの前記疾患細胞試料の前記疾患を表示するステップ；。

【請求項 5 0】

IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1 及び α -シヌクレインから選択される、血液試料由来の 1 又は 2 以上のマーカーの発現レベルを判定するステップをさらに含む、請求項 4 9 に記載の方法。

30

【請求項 5 1】

3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 又は 13 のバイオマーカーを用いて、神経学的疾患を区別する、請求項 5 0 に記載の方法。

【請求項 5 2】

感度よりも高い特異性を用いるプライマリーセッティングにおけるスクリーニングに用いられ、前記特異性が 0.97 ~ 1.0 の範囲内であり、前記感度が 0.80 ~ 1.0 の範囲内である、請求項 5 0 に記載の方法。

40

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、全般的には、プライマリーケアセッティング内における神経学的疾患の間のスクリーニング、検出及び識別の分野に関し、特に、神経学的疾患患者の検出、スクリーニング及び識別のためのバイオマーカーに関する。

【背景技術】**【0002】**

本発明の範囲を限定することなく、神経学的疾患に関連するその背景について記載する。

50

【 0 0 0 3 】

病状の検出及び評価は、ヒトゲノムの配列決定及びバイオインフォマティクスツールの有効性の結果、大いに進歩した。斯かるシステムの一例は、複数の疾患及び重症度の解析のためのシステム及び方法に関する、Avinash, et al. に発行された米国特許第 8, 430, 816 号明細書に教示されている。簡潔に説明すると、この発明者らは、複数の疾患型の参照偏位 (reference deviation) マップにアクセスするための、コンピュータに実行される方法を含むデータ処理技法を教示している。参照偏位マップは、それぞれの疾患型の重症度レベルに関連付けられたマップのサブセットを含むことができ、疾患重症度スコアは、各重症度レベルに関連付けることができる。この方法は、参照偏位マップのサブセットに基づく複数の疾患型の患者重症度レベルを選択するステップも含むと言われている。また、この方法は、選択された患者重症度レベルに関連付けられた疾患重症度スコアに少なくとも部分的に基づく、組み合わせた患者疾患重症度スコアを自動的に計算するステップを含むことができ、組み合わせた患者疾患重症度スコアに少なくとも部分的に基づく報告を出力するステップを含むことができる。

10

【 0 0 0 4 】

別の斯かる発明は、Zhang に発行された、神経変性障害のバイオマーカーを対象とする米国特許第 8, 008, 025 号明細書に教示されている。簡潔に説明すると、この発明者は、脳脊髄液試料における遺伝子産物発現パターンを検出し、前記試料の遺伝子産物発現パターンを、神経変性疾患の存在又は非存在を示すことが知られた遺伝子産物発現パターンのライブラリーと比較することにより、アルツハイマー病、パーキンソン病及びレビー小体型認知症疾患等、神経変性疾患を診断するための方法を教示している。この方法は、神経変性疾患進行のモニタリング及び治療的処置の効果の評価を提供するとも言われる。対象方法を実施するためのキット、システム及びデバイスも提供される。

20

【 0 0 0 5 】

Hu によって出願された米国特許出願公開第 2013/0012403 号明細書は、自閉症スペクトラム障害を同定するための組成物及び方法を対象としている。この出願は、自閉症スペクトラム障害に関連する遺伝子に対し特異性を備える複数の異なるオリゴヌクレオチドを有するマイクロRNAチップを対象とする。この発明は、自閉症スペクトラム障害を含む神経学的及び精神医学的状态のマイクロRNAプロファイルを同定する方法、斯かる状態を治療する方法、並びに斯かる神経学的及び精神医学的状态の治療のための治療法を同定する方法を提供すると言われる。

30

【 0 0 0 6 】

さらに別の出願は、神経変性疾患を診断するための方法及びキットに関する、Schlossmacher, et al. によって出願された米国特許出願公開第 2011/0159527 号明細書である。簡潔に説明すると、この出願は、対象が、神経変性疾患を発症するか又はそうであると診断され得るか判定するための方法及び診断キットを教示していると言われている。この方法は、対象から得られる脳脊髄液 (CSF) 試料におけるアルファ - シヌクレイン及び総タンパク質の量を定量化するステップと、総タンパク質含量に対するアルファ - シヌクレインの比を計算するステップと、この CSF 試料における総タンパク質含量に対するアルファ - シヌクレインの比を、健康な神経変性疾患ではない対象から得られる CSF 試料における総タンパク質含量に対するアルファ - シヌクレインの比と比較するステップと、この比較から、この対象が神経変性疾患を発症する見込みを有するか判定するステップ又は対象における神経変性疾患の診断をするステップとを含むと言われている。総タンパク質含量に対するアルファ - シヌクレインの比の差は、対象が、神経変性疾患を発症する見込みを有する又は神経変性疾患を発症したことを示すと言われている。

40

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 0 7 】

【 特許文献 1 】 米国特許第 8, 430, 816 号明細書

【 特許文献 2 】 米国特許第 8, 008, 025 号明細書

50

【特許文献 3】米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 0 1 2 4 0 3 号明細書

【特許文献 4】米国特許出願公開第 2 0 1 1 / 0 1 5 9 5 2 7 号明細書

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

一実施形態において、本発明は、プライマリーケアセッティングにおいて対象から血液被検試料を得るステップと、IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNF α 、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び/又は α -シヌクレインから選択される、前記血液試料における2又は3以上のバイオマーカーを測定するステップと、前記バイオマーカーの1つ又は組み合わせのレベルを、正常血液試料における相当するバイオマーカーの1つ又は組み合わせのレベルと比較するステップと、前記対象が、神経学的疾患を有する可能性が高いことを示す、前記正常血液試料のレベルに関連した前記血液被検試料における前記2又は3以上のバイオマーカーのレベルの増加を測定するステップと、測定された前記2つのバイオマーカーに基づき、前記神経学的疾患を同定するステップと、予測された前記神経学的疾患に基づき、前記対象のための治療コースを選択するステップとを含む、プライマリーケアセッティング内における神経学的疾患をスクリーニングするための方法及び/又は器具を含む。一態様において、バイオマーカー測定値の少なくとも1つは、イムノアッセイ及び酵素活性アッセイからなる群から選択される方法によって得られる。別の態様において、本方法は、個体又はプライマリーケア従事者に、計算されたリスクの変化を通知するステップをさらに含む。別の態様において、本方法は、個体又はプライマリーケア従事者に、計算されたリスクの変化を通知するステップをさらに含む。別の態様において、本方法は、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12又は13のバイオマーカーを用いて、神経学的疾患の間を区別する。別の態様において、単離された生物学的試料は、血清又は血漿である。別の態様において、試料は血清試料であり、プライマリーケアクリニック内における神経学的疾患の仮判定後において、このプライマリーケア提供者に、この特定の血液スクリーニングの知見に適切な特有の種類の種類専門医の紹介に関する情報を提供し、この神経学的疾患及びそれに従った治療のために、個体を専門医に導く。別の態様において、神経学的疾患は、アルツハイマー病、パーキンソン病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症及び神経変性疾患から選択される。別の態様において、本方法は、次のパラメータ：患者年齢及び認知神経科学的スクリーニング検査を含むことにより、解析を緻密化するステップをさらに含み、2又は3以上の本出願人らの血清に基づくマーカー、年齢及び前記認知神経科学的スクリーニング検査の前記組み合わせは、神経学的疾患又は障害を持たない対照対象と比較して、アルツハイマー病の判定のためのプライマリーケアセッティングにおいて少なくとも90%正確である。別の態様において、本方法は、神経変性疾患間の正確な検出及び識別のために、次のパラメータ：睡眠障害（あり/なし）、幻視（あり/なし）、精神医学的/人格変化（あり/なし）、年齢、認知神経科学的スクリーニング及び2又は3以上の本出願人らの血清に基づくマーカーのうちの1又は2以上を判定するステップをさらに含む。別の態様において、様々なタンパク質の発現レベルは、蛍光検出、化学発光検出、電気化学発光検出及びパターン形成アレイ、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、抗体結合、蛍光励起分取、検出可能ビーズ分取、抗体アレイ、マイクロアレイ、酵素アレイ、受容体結合アレイ、アレル特異的プライマー伸長、標的特異的プライマー伸長、固相結合アレイ、液相結合アレイ、蛍光共鳴移動又は放射性標識化のうちの少なくとも1つによって測定される。別の態様において、本方法は、全体的精度94、95、96、97、98、99又は100%（感度（SN）、特異性（SP）（SN=0.94、SP=0.83））による軽度AD（CDRグローバルスコア1.0以下）又は全体的精度91、92、93、94、95、96、97、98、99又は100%（SN=0.97、SP=0.72）による非常に初期のAD（CDRグローバルスコア=0.5）のうち少なくとも1つのスクリーニングに用いられる。別の態様において、本方法は、感度よりも高い特異

10

20

30

40

50

性を用いるプライマリーセッティングにおけるスクリーニングに用いられ、前記特異性は、0.97～1.0の範囲内であり、前記感度は、0.80～1.0の範囲内である。

【0009】

本発明の別の実施形態は、1又は2以上の神経学的疾患状態の間を区別するための方法及び器具を含み、前記方法は、神経学的疾患を有すると疑われる個体から単離された少なくとも1つの生物学的試料から、バイオマーカーIL-7及びTNF α を含むバイオマーカーの測定値を得るステップと、前記対象の年齢及び前記対象から得られた1又は2以上の認知神経科学的スクリーニング検査（時計描画、言語流暢性、リスト学習、睡眠障害、幻視、行動障害、運動障害）の結果を加えるステップと、モデルの出力から、前記神経学的疾患を発症する前記個体のリスクを計算するステップであって、前記モデルへの入力が、前記2つのバイオマーカーの前記測定値、前記対象の年齢及び1又は2以上の認知検査の前記結果を含み、さらに、前記モデルが、選択された個体集団の縦断的研究のデータを適合させることにより開発されており、前記適合されたデータが、前記選択された個体集団における前記バイオマーカーのレベル、前記対象の年齢及び1又は2以上の認知検査の前記結果並びに神経学的疾患を含むステップと、前記個体の前記計算されたリスクを、前記個体由来の少なくとも1つのより初期の試料から得られる以前に計算されたリスクと比較するステップとを含む。一態様において、バイオマーカー測定値のうち少なくとも1つは、蛍光検出、化学発光検出、電気化学発光検出及びパターン形成アレイ、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、抗体結合、蛍光励起分取、検出可能ビーズ分取、抗体アレイ、マイクロアレイ、酵素アレイ、受容体結合アレイ、アレル特異的プライマー伸長、標的特異的プライマー伸長、固相結合アレイ、液相結合アレイ、蛍光共鳴移動又は放射性標識化のうち少なくとも1つから選択される方法によって得られる。別の態様において、バイオマーカー測定値のための方法のうち2又は3以上は、神経学的疾患の交差検証に用いられる。別の態様において、本方法は、個体又は医療従事者に、計算されたリスクの変化を通知するステップをさらに含む。別の態様において、本方法は、個体又は医療従事者に、計算されたリスクの変化を通知するステップをさらに含む。別の態様において、バイオマーカーは、IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び/又は α -シヌクレインから選択される1又は2以上のバイオマーカーをさらに含む。別の態様において、本方法は、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12又は13のバイオマーカーを用いて、神経学的疾患を区別する。別の態様において、単離された生物学的試料は、血清又は血漿である。別の態様において、試料は血清試料であり、神経学的疾患の仮判定後において、この神経学的疾患のために個体を専門医に導く。別の態様において、神経学的疾患は、アルツハイマー病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、パーキンソン病及び認知症から選択される。別の態様において、本方法は、アルツハイマー病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、パーキンソン病及び認知症から選択される1又は2以上の神経学的疾患の除外に用いられる。別の態様において、本方法は、感度よりも高い特異性を用いるプライマリーセッティングにおけるスクリーニングに用いられ、前記特異性は、0.97～1.0の範囲内であり、前記感度は、0.80～1.0の範囲内である。

【0010】

別の実施形態において、本発明は、(a)神経学的疾患を有すると疑われる患者から得られる1又は2以上の血液試料から、IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び/又は α -シヌクレインから選択される2又は3以上のバイオマーカー、前記患者の年齢及び前記患者の1又は2以上の認知神経科学的スクリーニング検査の結果を測定するステップと、(b)候補薬物を前記患者の第1のサブセットに投与し、プラセボを前記患者の第2のサブセットに投与するステップと、(c)前記候補薬物又は前記プラセボの

10

20

30

40

50

前記投与後に、ステップ（a）を反復するステップと、（d）前記候補薬物が、前記第2のサブセットの患者において生じるいかなる低下と比較して統計的に有意に、前記1又は2以上のバイオマーカーの発現を低下させるか否かを判定するステップであって、統計的に有意な低下が、前記候補薬物が、前記神経学的疾患の治療において有用であることを示すステップとを含む、臨床治験を行って、神経学的疾患の治療において有用であると考えられる候補薬物を評価する方法も含む。別の態様において、本方法は、所定の量の時間の後に、患者から1又は2以上の追加的な血液試料を得るステップと、前記1又は2以上の追加的な試料由来のバイオマーカーのレベルを比較して、疾患進行を判定するステップとをさらに含む。別の態様において、本方法は、所定の期間患者を治療するステップと、前記所定の量の時間の後に前記患者から1又は2以上の追加的な血液試料を得るステップと、前記1又は2以上の追加的な試料由来のバイオマーカーのレベルを比較して、疾患進行を判定するステップとをさらに含む。

10

【0011】

別の実施形態において、本発明は、（a）前記対象から得られる血液試料におけるIL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び/又は α -シヌクレインから選択される2又は3以上のバイオマーカー、前記患者の年齢及び1又は2以上の認知神経科学的スクリーニング検査の結果を測定して、神経変性疾患プロファイルを判定するステップと、（b）前記ステップ（a）から得られる前記対象の前記神経変性疾患プロファイルの同定結果に基づき、前記対象が、前記臨床治験に参加するべきか否かを判定するステップであって、前記神経変性疾患プロファイル及び前記候補薬物が、前記神経学的疾患の治療において有用である可能性が高い場合のみに、前記対象が選択されるステップとを含む、臨床治験のための対象を選択して、神経学的疾患の治療において有用であると考えられる候補薬物を評価する方法も含む。

20

【0012】

別の実施形態において、本発明は、神経学的疾患に関して患者を治療するステップと、神経学的疾患を有すると疑われる患者から得られる血液試料から2又は3以上のバイオマーカー、前記患者の年齢及び前記患者の1又は2以上の認知検査の結果を測定するステップと、前記治療が、治療していない前記第2のサブセットの患者又は前記患者から得られる先の試料において生じるいかなる低下と比較して統計的に有意に、前記1又は2以上のバイオマーカーの発現を低下させるか否かを判定するステップであって、統計的に有意な低下が、前記治療が前記神経学的疾患の治療において有用であることを示すステップとを含む、神経学的疾患の治療の効果を評価する方法も含む。

30

【0013】

別の実施形態において、本発明は、ヒト個体から血液試料を得るステップと、前記個体の血液試料由来のIL-7及びTNF α バイオマーカーの正規化された測定レベルを、各神経学的疾患診断バイオマーカーの参照レベルと比較するステップであって、神経学的疾患診断バイオマーカーの群が、IL-7及びTNF α を含むステップと、前記患者の年齢及び前記患者の1又は2以上の認知検査の結果を得るステップであって、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルが、神経学的疾患でないヒト個体の1又は2以上の血液試料由来の前記神経学的疾患診断バイオマーカーの正規化された測定レベルを含み、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルを超える神経学的疾患診断バイオマーカーのレベル、前記患者の年齢及び前記患者の1又は2以上の認知検査の結果が、前記個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示すステップとを含む、神経学的疾患の診断を補助する方法も含む。一態様において、本発明は、参照レベルと比較して上昇した血液中のIL-7及びTNF α の発現レベルが、個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示す方法も含む。別の態様において、本方法は、IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP

40

50

、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び/又は α -シヌクレインから選択される1又は2以上のバイオマーカーの血液レベルを判定するステップをさらに含む。別の態様において、本方法は、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12又は13のバイオマーカーを用いて、神経学的疾患を区別する。別の態様において、参照レベルと比較してより低いCRP及びIL10のレベルは、個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示す。別の態様において、本方法は、所定の量の時間の後に、患者から1又は2以上の追加的な血液試料を得るステップと、前記1又は2以上の追加的な試料由来のバイオマーカーのレベルを比較して、疾患進行を判定するステップとをさらに含む。別の態様において、単離された血液試料は、血清試料である。別の態様において、血液試料は血清試料であり、神経学的疾患の仮判定後において、この神経学的疾患のために個体を専門医に導く。別の態様において、神経学的疾患は、アルツハイマー病、パーキンソン病及び認知症から選択される。別の態様において、本方法は、感度よりも高い特異性を用いるプライマリーセッティングにおけるスクリーニングに用いられ、前記特異性は、0.97~1.0の範囲内であり、前記感度は、0.80~1.0の範囲内である。

【0014】

別の実施形態において、本発明は、ヒト個体から得られる血液試料におけるIL-7及びTNF α の発現レベルを検出するための1又は2以上の試薬と、1又は2以上の神経学的スクリーニング検査シートと、前記個体の血液試料由来の前記IL-7及びTNF α バイオマーカーの正規化された測定レベル、前記患者の年齢及び前記患者の神経学的スクリーニング検査の結果を参照レベルと比較するための説明書とを含む、プライマリーセッティングにおける神経学的疾患の診断を補助するための迅速スクリーニングキットも含み、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルは、神経学的疾患がないヒト個体の1又は2以上の血液試料由来の前記神経学的疾患診断バイオマーカーの正規化された測定レベルを含み、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルに満たない神経学的疾患診断バイオマーカーのレベルは、前記個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示し、前記検査は、少なくとも90%正確である。別の態様において、参照レベルと比較して上昇した血液中のIL-7及びTNF α の発現レベルは、個体が、神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示す。別の態様において、本キットは、IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び/又は α -シヌクレインから選択される発現マーカーのレベルを検出するための1又は2以上の試薬をさらに含む。別の態様において、参照レベルと比較してより低いCRP及びIL10のレベルは、個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示す。別の態様において、試料は血清試料であり、神経学的疾患の仮判定後において、この神経学的疾患のために個体を専門医に導く。別の態様において、神経学的疾患は、アルツハイマー病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、パーキンソン病及び認知症から選択される。別の態様において、様々なタンパク質の発現レベルは、核酸、タンパク質レベル又は機能的タンパク質レベルのうち少なくとも1つにおいて測定される。別の態様において、様々なタンパク質の発現レベルは、蛍光検出、化学発光検出、電気化学発光検出及びパターン形成アレイ、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、抗体結合、蛍光励起分取、検出可能ビーズ分取、抗体アレイ、マイクロアレイ、酵素アレイ、受容体結合アレイ、アレル特異的プライマー伸長、標的特異的プライマー伸長、固相結合アレイ、液相結合アレイ、蛍光共鳴移動又は放射性標識化のうち少なくとも1つによって測定される。

【0015】

別の実施形態において、本発明は、(a)適切にプログラムされたコンピュータにおいて、1又は2以上の神経学的疾患を有すると疑われる患者由来の血液試料におけるIL-7及びTNF α の発現レベルを、参照データベースにおける参照プロファイルと比較して、前記患者プロファイルと前記参照プロファイルのそれぞれとの間の類似性の尺度を判定するステップと、(b)適切にプログラムされたコンピュータにおいて、ステップ(a)

10

20

30

40

50

において判定される類似性の前記尺度間の最大類似性に基づき、前記患者プロフィールに最も良くマッチする参照データベースにおける参照プロフィールを同定するステップと、
(c) ユーザー・インターフェース・デバイス、コンピュータ可読記憶媒体又はローカル若しくは遠隔コンピュータシステムに出力するステップ、或いは前記最大類似性又は前記患者プロフィールに最も良くマッチする前記参照データベースにおける前記参照プロフィールの前記疾患細胞試料の前記疾患を表示するステップとを含む、患者プロフィールに最も良くマッチする1又は2以上の神経学的疾患プロフィールを判定する方法も含む。一態様において、本方法は、IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び/又は α -シヌクレインから選択される、血液試料から1又は2以上のマーカーの発現レベルを判定するステップをさらに含む。別の態様において、本方法は、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12又は13のバイオマーカーを用いて、神経学的疾患を区別する。別の態様において、本方法は、感度よりも高い特異性を用いるプライマリーセッティングにおけるスクリーニングに用いられ、前記特異性は、0.97~1.0の範囲内であり、前記感度は、0.80~1.0の範囲内である。

【図面の簡単な説明】

【0016】

本発明の特色及び利点のより完全な理解のために、続いて、次の添付の図面と共に本発明の詳細な説明を参照する。

【図1】2回複製した2名の対照参加者から得られるMSDプラットフォームにおいてTHPO、FABP3、PPY、IL18及びI309をアッセイする神経変性パネル1のデータを示す図である。図示されている通り、このアッセイは高度に信頼できる。

【図2】AD対正常対照(NC)のランダムフォレストリスクスコアのボックスプロットである。

【図3】血清バイオマーカープロフィールの受信者動作特性(ROC; receiver operation characteristic)プロットである。

【図4】ランダムフォレストバイオマーカーモデルから得られるジニプロットである。

【図5】血清バイオマーカープロフィールの受信者動作特性(ROC)プロットである。

【図6】神経変性疾患間の区別における相対的プロフィールの重要性を強調するグラフである。疾患状態に亘る相対的プロフィールは変動した。

【発明を実施するための形態】

【0017】

本発明の様々な実施形態の作製及び使用を詳細に後述するが、本発明が、多種多様な特異的な文脈において具体化され得る多くの適用可能な発明概念を提供することを認めるべきである。本明細書に記述されている具体的な実施形態は、単に本発明を作製及び使用する具体的な様式を説明するものであって、本発明の範囲の限界を定めるものではない。

【0018】

本発明の理解を容易にするために、多数の用語を下に定義する。本明細書に定義されている用語は、本発明に関連する分野の当業者によって一般的に理解されている意義を有する。「a」、「an」及び「the」等の用語は、単数形の実体のみを指すことを目的とせず、図解のために具体例を用いることができるその一般的クラスを含む。本明細書における用語法は、本発明の特異的な実施形態の記載に用いられるが、特許請求の範囲において概要を述べるものを除いて、その使用は、本発明の限界を定めるものではない。

【0019】

本明細書において、語句「プライマリーケアクリニック」、「プライマリーケアセッティング」、「プライマリーケア提供者」は、医療システム内における患者のためのコンタクト/相談の主要ポイントを指すよう互換的に用いられており、患者が必要とし得る専門医と連携する。

【0020】

本明細書において、語句「専門医」は、神経学、精神医学又はさらにより詳細には運動障害若しくは記憶障害等、特定の疾患を専門とする医療行為又は開業医を指す。

【0021】

本明細書において、次の略語が用いられており、これらの遺伝子の哺乳類バージョンを含むことができるが、ある特定の実施形態において、これらの遺伝子は、ヒト遺伝子である：IL7 - インターロイキン - 7、TNF α - 腫瘍壊死因子アルファ、IL5 - インターロイキン - 5、IL6 - インターロイキン - 6、CRP - C反応性タンパク質、IL10 - インターロイキン - 10、TNC - テネイシンC、ICAM1 - 細胞内接着分子1、FVII - 第VII因子、I309 - ケモカイン(C-Cモチーフ)リガンド1、TNFR1 - 腫瘍壊死因子受容体1、A2M - アルファ - 2 - ミクログロブリン、TARC - ケモカイン(C-Cモチーフ)リガンド17、エオタキシン3、VCAM1 - 血管細胞接着分子1、TPO - 甲状腺ペルオキシダーゼ、FABP3 - 脂肪酸結合タンパク質3、IL18 - インターロイキン - 18、B2M - ベータ - 2 - ミクログロブリン、SAA - 血清 アミロイドA1クラスター、PPY - 膵臓ポリペプチド、DJ1 - パーキンソンタンパク質7、 α - シヌクレイン。

10

【0022】

本明細書において、語句「神経学的疾患」は、中枢神経系の疾患又は障害を指し、その多くは、例えば、AD、パーキンソン病、軽度認知機能障害(MCI)及び認知症等、神経変性障害を含み、神経学的疾患は、多発性硬化症、ニューロパチーを含む。本発明は、初期又は完全なスクリーニングとして、パーキンソン病、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症及びダウン症候群等、他の神経変性障害からの、ADの検出及びこれを区別するための特定の使用を見出す。

20

【0023】

本明細書において、用語「アルツハイマー患者」、「AD患者」及び「ADと診断された個体」は全て、ADと診断された又はアルツハイマー病(AD)の高可能性診断を下された個体を指す。

【0024】

本明細書において、用語「パーキンソン病患者」及び「パーキンソン病と診断された個体」は全て、PDと診断された又はパーキンソン病の診断を下された個体を指す。

30

【0025】

本明細書において、用語「前頭側頭型認知症」及び「前頭側頭型認知症と診断された個体」は全て、FTDと診断された又はFTDの診断を下された個体を指す。

【0026】

本明細書において、用語「レビー小体型認知症」(DLB)及び「DLBと診断された個体」は全て、DLBと診断された又はDLBの診断を下された個体を指す。

【0027】

本明細書において、用語「ダウン症候群」(DS)及び「ダウン症候群と診断された個体」は全て、DSと診断された又はDSの診断を下された個体を指す。

【0028】

本明細書において、語句「神経学的疾患バイオマーカー」は、神経学的疾患診断バイオマーカーであるバイオマーカーを指す。

40

【0029】

本明細書において、用語「神経学的疾患バイオマーカータンパク質」は、タンパク質バイオマーカー又は機能的にタンパク質バイオマーカーのレベルにある物質のいずれかを指す。

【0030】

本明細書において、「診断を補助する」ための方法は、神経学的疾患(例えば、AD、PD、DLB、FTD、DS又はMCI)の存在又は性質に関する臨床判定をアシストする方法を指し、確定診断に関して決定的であってもそうでなくてもよい。従って、例えば

50

、神経学的疾患の診断を補助する方法は、個体由来の血液試料における 1 又は 2 以上の神経学的疾患バイオマーカの量を測定するステップを含むことができる。

【0031】

本明細書において、用語「層別化」は、神経学的疾患の特色に基づく、異なるクラス又は層への個体の選別を指す。例えば、アルツハイマー病個体の集団の層別化は、疾患重症度（例えば、軽度、中等度、進行した等）に基づく該個体の割り当てに關与する。

【0032】

本明細書において、用語「予測」は、個体が、ある特定の神経学的疾患を発症する確率が有意に増強されていることを発見することを指す。

【0033】

本明細書において、「生体液試料」は、個体から得られる多種多様な流体試料型を指し、診断又はモニターアッセイにおいて用いることができる。生体液試料は、例えば、血液、脳脊髄液（CSF）、尿及び生物学的起源の他の液体試料を含む。一般的に、試料は、試料におけるマーカーの解析に干渉しない限り、安定化試薬での処理、可溶化又はタンパク質若しくはポリヌクレオチド等のある特定の構成成分の濃縮に供される。

【0034】

本明細書において、「血液試料」は、血液、好ましくは、末梢（又は循環）血に由来する生物学的試料を指す。血液試料は、例えば、全血、血清又は血漿となり得る。ある特定の実施形態において、血清は、試料を容易に利用でき、多くの場合、他のサンプリングのために得られるため、バイオマーカの供給源として好まれ、安定的であり、必要とされる加工が少なく、よって、冷蔵機器又は電気が殆どない場所に理想的となり、容易に輸送可能であり、医療支援スタッフによって一般的に取り扱われる。

【0035】

本明細書において、「正常」個体又は「正常」個体由来の試料は、医師によって疾患、例えば、神経学的疾患ではないと評価された又は評価される個体から得られる定量的データ、定性的データ又はその両方を指す。多くの場合、「正常」個体は、評価しようとする個体の試料と、1、2、3、4、5、6、7、8、9 又は 10 歳の範囲内の同齢でもある。

【0036】

本明細書において、用語「治療」は、特定の障害の症状の軽減、寛解及び／又は安定化並びに症状の進行遅延を指す。例えば、AD の「治療」は、（1）AD の 1 又は 2 以上の症状の排除、（2）AD の 1 又は 2 以上の症状の低下、（3）AD の症状の安定化（例えば、AD のより進行したステージに進行しないこと）及び（4）AD の 1 又は 2 以上の症状の発病遅延、AD の 1 又は 2 以上の症状の進行（即ち、悪化）遅延及び（5）AD の 1 又は 2 以上の症状の進行（即ち、悪化）遅延のうちいずれか 1 又は 2 以上を含む。

【0037】

本明細書において、用語「倍数差」は、測定値及び参照値、例えば、AD バイオマーカ、パーキンソンのバイオマーカ、認知症バイオマーカ又は神経学的疾患のうち 1 若しくは 2 以上の区別を可能にする値の間の規模の差の数的表現を指す。典型的には、倍数差は、数的参照値で数的測定値を割ることによって数学的に計算される。例えば、AD バイオマーカの測定値が 20 ナノグラム／ミリリットル（ng/ml）であり、参照値が 10 ng/ml である場合、倍数差は 2（ $20 / 10 = 2$ ）である。或いは、AD バイオマーカの測定値が 10 ナノグラム／ミリリットル（ng/ml）であり、参照値が 20 ng/ml である場合、倍数差は $10 / 20$ 又は -0.50 又は -50% である。

【0038】

本明細書において、「参照値」は、絶対値、相対値、上及び／又は下限を有する値、値の範囲、平均的値、中央値、平均値又は特定の対照若しくはベースライン値と比較される値となり得る。一般に、参照値は、例えば、好ましくは、より初期の時点における、例えば、AD、パーキンソン病又は認知症等の神経学的疾患の個体由来の試料から得られる値、或いは検査されている個体以外の神経学的疾患患者又は AD、パーキンソン病若しくはは

10

20

30

40

50

認知症と診断されていない個体である「正常」個体由来の試料から得られる値等、個々の試料値に基づく。参照値は、AD患者、パーキンソン病患者、認知症患者又は正常個体由来等、多数の試料に基づくことができる、或いは検査しようとする試料を含む又は除外する試料のプールに基づくことができる。

【0039】

本明細書において、語句「所定の量の時間」は、統計的に有意な結果を生じる測定の間、時間の長さを記載するために用いられ、これは、神経学的疾患の疾患進行の場合、7日間、2週間、1カ月間、3カ月間、6カ月間、9カ月間、1年間、1年3カ月間、1年6カ月間、1年9カ月間、2年間、2年3カ月間、2年6カ月間、2年9カ月間、3、4、5、6、7、8、9又はさらには10年間及びこれらの組み合わせとなり得る。

10

【0040】

本明細書において、語句「認知神経科学的スクリーニング検査」又は「認知検査」は、認知状態又は機能障害を測定するための、当業者に公知の1又は2以上の検査を記載するために用いられ、4点時計描画検査、言語流暢性検査、トレイルメイキングテスト、リスト学習検査その他を挙げることができるがこれらに限定されない。当業者であれば、これらの検査を改変する仕方、同様の認知機能を測定する新たな検査を本発明による使用のために開発及び実行することができる仕方を認識及び理解する。

【0041】

臨床治療及び管理並びに治療及び予防治験の設計に決定的に重要であるにもかかわらず、神経変性疾患の鑑別診断は困難である (Villemagne VL, Rowe CC. Long night's journey into the day: Amyloid- β imaging in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2013;33(SUPPL. 1):S349-S359、Pyykko OT, Helisalmi S, Koivisto AM, et al. APOE4 predicts amyloid- β in cortical brain biopsy but not idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 2012;83(11):1119-1124、Benadiba M, Luurtsema G, Wichert-Ana L, Buchpiget CA, Filho GB. New molecular targets for PET and SPECT imaging in neurodegenerative diseases. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2012;34(SUPPL2):S125-S148、McKeith IG, Fairbairn AF, Bothwell RA, et al. An evaluation of the predictive validity and inter-rater reliability of clinical diagnostic criteria for senile dementia of Lewy body type. *Neurology*. 1994;44(5):872-877)。前進した評価及び治療の実行のための専門的診療所に患者を紹介するために、通常、プライマリーケア提供者からの適切な紹介が必要とされる。しかし、以前の研究は、プライマリーケアセッティングにおける神経変性疾患の評価及び管理が不十分であり (Van Den Dungen P, Van Marwijk HWM, Van Der Horst HE, et al. The accuracy of family physicians' dementia diagnoses at different stages of dementia: A systematic review. *International Journal of Geriatric Psychiatry*. 2012;27(4):342-354、Lopponen M, Raiha I, Isoaho R, Vahlberg T, Kivela S-L. Diagnosing cognitive impairment and dementia in primary health care - a more active approach is needed. *Age and Ageing*. November 1, 2003 2003;32(6):606-612、Belmin J, Min L, Roth C, Reuben D, Wenger N. Assessment and management of patients with cognitive impairment and dementia in primary care. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2012;16(5):462-467、Maeck L, Haak S, Knoblauch A, Stoppe G. Dementia diagnostics in primary care: a representative 8-year follow-up study in lower saxony, Germany. *Dementia & Geriatric Cognitive Disorders*. 2008;25(2):127-134)、不適切な薬物療法が頻繁に投与される (Fiss T, Thyrian JR, Fendrich K, Van Den Berg N, Hoffmann W. Cognitive impairment in primary ambulatory health care: Pharmacotherapy and the use of potentially inappropriate medicine. *International Journal of Geriatric Psychiatry*. 2013;28(2):173-181) ことを実証する。年齢65+患者のための外来セッティングにおける平均医師来診期間が、およそ18分間である (Lo A, Ryder K, Shorr RI. Relationship between patient age and duration of physician visit in ambulatory setting: Does one size fit all? *Journal of the American*

20

30

40

50

Geriatrics Society. 2005;53(7):1162-1167) ことを考慮すると、プライマリーケア提供者は、その老齡期患者内の神経学的疾病をスクリーニングし、その結果、専門医への適切な紹介を行うための迅速且つ対費用効果の高い方法を切実に必要とする。

【 0 0 4 2 】

プライマリーケアクリニックのセッティング内で実行することができる血液に基づくスクリーニングツールの有効性は、重大な意味を有する。臨床観点から、調査した医師の半数未満が、神経変性疾患のスクリーニングが重要であると考えていたが、一般大衆及び介護者の大多数は、斯かるスクリーニングが極めて重要であると考えていた (Bond J, Graham N, Padovani A, MacKell J, Knox S, Atkinson J. Screening for cognitive impairment, Alzheimer's disease and other dementias: Opinions of European caregivers, payors, physicians and the general public. Journal of Nutrition, Health and Aging. 2010;14(7):558-562)。その上、外来セッティングにおける高齡患者の平均医師来診は、20分間未満であり (Lo A, Ryder K, Shorr RI. Relationship between patient age and duration of physician visit in ambulatory setting: Does one size fit all? Journal of the American Geriatrics Society. 2005;53(7):1162-1167)、簡易な神経学的及び認知評価であっても、利用できる時間は著しく限定される。従って、プライマリーケア提供者は、可能な神経変性疾患の前進した臨床評価のための専門医にいずれの患者を紹介すべきか判定するための方法を切実に必要とする。神経変性疾患の診断における先進神経画像処理技法 (MRI、fMRI、DTI、PET) の有用性を実証するおびただしい量の研究が完了したが、これらは、多段階診断プロセスにおける第1のステップとして法外な費用を要する。費用及びアクセスのため、血液に基づくバイオマーカーが、神経変性疾患のリスク及び診断フローアプローチのベースラインにおける「大団の将来の高感度スクリーニングに必須である可能性が最も高いであろう」と提案された (Schneider P, Hampel H, Buerger K. Biological marker candidates of alzheimer's disease in blood, plasma, and serum. CNS Neuroscience and Therapeutics. 2009;15(4):358-374)。例えば、PETアミロイド - ベータ ($A\beta$) 走査は、アルツハイマー病の診断プロセスにおける使用のために近年FDA認可された。試験当たり\$1,000で(実際の費用の3分の1~10分の1未満)PET $A\beta$ イメージングが入手できるようになり、プライマリーケアセッティング内で年間僅か百万名の高齡者がスクリーニングされるように(年齢65+のアメリカ人が4千万名存在する)なれば、神経変性スクリーニングのための費用は、年間十億ドル(米ドル)となる。100ドル/人で血液に基づくスクリーニング機器を利用できるようになれば、費用は年間1億ドルとなる。検査した15%が陽性であり、PET $A\beta$ イメージングに進む場合(1億5千万ドル)、このスクリーニング~経過観察手順の費用節減は、年間7億5千万ドルとなり、年間スクリーニングを実際に必要とするその40分の1未満をスクリーニングする。

【 0 0 4 3 】

血液に基づくツールは、神経変性疾患のための多段階診断プロセスにおける第1のステップとしての役割を容易に適合させ、スクリーニング陽性を確証的診断及び治療開始のための専門医に紹介することができる。実際には、これは、がん、心臓病学、感染性疾患及びその他多くの医学分野のために既に利用されているプロセスである。

【 0 0 4 4 】

プライマリーケアセッティングへの専門的診療所に基づくスクリーニングの適用は、単純明快に思われるがそうではなく、下の実証される通り、前の手順はプライマリーケアセッティング内で機能しない。多段階診断プロセスにおける第1のステップとして血液に基づくスクリーニングを実行する能力は、決定的であるが、専門的診療所と比較して疾患存在の実質的により低い基準率のために非常に複雑化されており (Alzheimer's Association. 2013 Alzheimer's Disease Facts and Figures. Alzheimer's & Dementia. 2013;9(2):1-72)、このより低い基準率は、検査結果の予測精度におびただしい影響を有する。

【 0 0 4 5 】

別の実質的な前進は、本手順から得られる。特に、この手順は、臨床治験へのエントリ

ーに先立つ患者のスクリーニングに利用することもできる。A Dの予防、進行緩徐化及び／又は治療を目標とした治療試験に対する主な妨害は、疾患の検出に利用できるバイオマーカーの欠如である（Shaw LM, Korecka M, Clark CM, Lee VM, Trojanowski JQ. Biomarkers of neurodegeneration for diagnosis and monitoring therapeutics. *Nature Reviews. Drug Discovery*. 2007;6(4):295-303, Thal LJ, Kantarci K, Reiman EM, et al. The role of biomarkers in clinical trials for Alzheimer disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*. 2006;20(1):6-15）。A Dのための血液に基づくスクリーニングツールの検証は、試験エントリープロセスを緻密化することにより、斯かる試験の費用を有意に低下させることができる。イメージング診断（例えば、A β 神経画像処理）が、試験エントリーに必要とされる場合、血液検査における陽性スクリーニングのみをスクリーニングの第2段階（即ち、PET走査）に向かわせ、患者の同定及びスクリーニングのための費用を徹底的に低下させる。本発明のスクリーニングのための新たな方法は、より広い範囲の集団及び／又はクリニックセッティングからの患者のリクルートメント、スクリーニング及び／又は選択を容易にし、これにより、十分なサービスを受けていない患者集団に臨床試験に関与する機会を提供し、これは、以前に行われた試験の大部分の主な限界であった（Martin MA, Swider SM, Olinger T, et al. Recruitment of Mexican American adults for an intensive diabetes intervention trial. *Ethnicity and Disease*. 2011;21(1):7-12）。

10

【0046】

本発明者らは、初めて、次の事項を実証するデータを提供する：新規手順は、高精度で神経変性疾患の間を検出及び識別することができる。疾患確認及び治療開始のための専門医提供者への特異的な紹介を導く、プライマリーケアセッティング内における第一選択スクリーニングとしての実行に利用することができる本新規手順。

20

【0047】

方法。神経変性疾患患者。A D及び対照患者。300名のTARCC参加者（150名のA D症例、150名の対照）由来の非絶食時血清試料を解析した。その上、同じ対象群由来の200種の血漿試料（100種のA D症例及び100種の対照）を解析した。TARCCプロトコルの方法論は、他の文献に記載されている（Waring S, O'Bryant, SE, Reisch, JS, Diaz-Arrastia, R, Knebl, J, Doody, R, for the Texas Alzheimer's Research Consortium. The Texas Alzheimer's Research Consortium longitudinal research cohort: Study design and baseline characteristics. *Texas Public Health Journal*. 2008;60(3):9-13, O'Bryant SE, Hobson V, Hall JR, et al. Brain-derived neurotrophic factor levels in alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2009;17(2):337-341）。簡潔に説明すると、各参加者は、5か所の参加TARCC会場のうち1か所で、医学評価、神経心理学的検査及び採血を含む年間の標準化評価を受ける。A Dの診断は、心理測定的検査における正常限界内で行われるNINCDS-ADRDA基準（McKhann D, Drockman, D., Folstein, M. et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group. *Neurology*. 1984;34:939-944）及び対照に基づく。各会場における機関審査委員会認可を得て、全参加者に対し書面によるインフォームドコンセントを得る。

30

40

【0048】

非A D患者。ダウンの試料（Down's Samples）。カリフォルニア大学サンディエゴ校（UCSD）におけるアルツハイマー病協同的試験コアから、ダウン症候群（DS）と診断された11名の男性患者から血清試料を得た。パーキンソン病試料。パーキンソン病（PD）と診断された49名の患者（28名の男性及び21名の女性）から得た血清試料は、テキサス大学南西医療センター（UTSW）運動障害診療所から得た。レビー小体型認知症（DLB）及び前頭側頭型認知症（FTD）試料。11つのDLB及び19つのFTD試料由来の血清試料をUTSWアルツハイマー病コーディネートセンター（ADCC）から得た。

【0049】

50

血清試料収集。次の通りにT A R C C及びU T S W A D C血清試料を収集した：(1) 非絶食時血清試料を10ml tiger-topチューブに収集し、(2) 30分間室温にて垂直位置で凝血させ、(3) 収集1時間以内に10分間1300×gで遠心分離し、(4) 1.0ml アリコートの血清をクライオバイアル(cryovial)チューブに移し、(5) 各アリコートにFreezerworks(商標)バーコード標識をしっかりと貼り、(6) 貯蔵のため、アッセイにおいて用いるまで-80フリーザー内に試料を置いた。アリコート作製及び-80フリーザーにおける貯蔵に先立ち、ダウン症候群血清試料を3000rpmで10分間遠心分離した。

【0050】

血漿：(1) 10ml lavender-topチューブ内に非絶食時血液を収集し、10~12回穏やかに反転し、(2) 収集1時間以内にチューブを1300×gで10分間遠心分離し、(3) 1ml アリコートをクライオバイアルチューブに移し、(4) Freezerworks(商標)バーコード標識を貼り、(5) 貯蔵のために-80フリーザーに置く。

【0051】

ヒト血清アッセイ。Meso Scale Discovery(MSD; www.mesoscale.com)社製のSECTOR Imager 2400Aにおいて、電気化学発光(ECL)を用いたマルチプレックスバイオマーカーアッセイプラットフォームにより、全試料を2回複製してアッセイした。MSDプラットフォームは、ADを含む種々のヒト疾患に関連するバイオマーカーのアッセイに広範に用いられてきた(Bjerke M, Portelius E, Minthon L, et al. Confounding factors influencing amyloid beta concentration in cerebrospinal fluid. International Journal of Alzheimer's Disease. 2010; Kounnas MZ, Danks AM, Cheng S, et al. Modulation of γ -Secretase Reduces β -Amyloid Deposition in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. Neuron. 2010;67(5):769-780、Kuhle J, Regeniter A, Leppert D, et al. A highly sensitive electrochemiluminescence immunoassay for the neurofilament heavy chain protein. Journal of Neuroimmunology. 2010;220(1-2):114-119、Oh ES, Mielke MM, Rosenberg PB, et al. Comparison of conventional ELISA with electrochemiluminescence technology for detection of amyloid- β in plasma. Journal of Alzheimer's Disease. 2010;21(3):769-773、Alves G, Bronnick K, Aarsland D, et al. CSF amyloid- β and tau proteins, and cognitive performance, in early and untreated Parkinson's Disease: The Norwegian ParkWest study. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry. 2010;81(10):1080-1086)。ECL技術は、電気化学的に刺激されると光を放射する標識を用い、これは、多くの非常に低濃度の分析物の検出感度を改善する。ECL測定は、より高感度であり、従来のELISAよりも少ない容量を要するという十分に確立した特性を有し(Kuhle J, Regeniter A, Leppert D, et al. A highly sensitive electrochemiluminescence immunoassay for the neurofilament heavy chain protein. Journal of Neuroimmunology. 2010;220(1-2):114-119)、大部分のアッセイのための基準的手法である。アッセイされるマーカーは、以前に作製され、交差検証されたADアルゴリズムに由来し(O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A serum protein-based algorithm for the detection of Alzheimer disease. Archives of Neurology. 2010;67(9):1077-1081、O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A Blood-Based Screening Tool for Alzheimer's Disease That Spans Serum and Plasma: Findings from TARC and ADNI. PLoS ONE. 2011;6(12):e28092、O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A blood-based algorithm for the detection of Alzheimer's disease. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. 2011;32(1):55-62)、脂肪酸結合タンパク質(FABP3)、ベータ2ミクログロブリン、膵臓ポリペプチド(PPY)、sTNFR1、CRP、VCAM1、トロンボポエチン(THPO)、 α 2マクログロブリン(A2M)、エオタキシン3、腫瘍壊死因子 α 、テネイシンC、IL-5、IL6、IL7、IL10、IL18、IL309、第VII因子、TARC、SAA及びICAM1を含んだ。図1は、本発明のMSDアッセイの信頼性を図解する。

【0052】

10

20

30

40

50

統計解析。R (V 2.10) 統計ソフトウェア (R_Development_Core_Team. R: A language and environment for statistical computing. 2009; www.R-project.org.) 及び IBM SPSS19 を用いて解析を行った。カイ二乗及び t 検定を用いて、それぞれカテゴリー的変数 (APOE ε 4 アレル頻度、性別、人種、民族、心血管リスク因子の存在) 及び連続型変数 (年齢、教育、ミニメンタルステート検査 [MMSE] 及びボックススコアの臨床認知症評点和 [CDR-SB]) に関して症例対対照を比較した。Box - Cox 変換を用いてバイオマーカーデータを変換した。R パッケージランダムフォレスト (V 4.5) (Breiman L. Random forests. Machine Learning. 2001;45(1):5-32) を用いて、全ソフトウェアデフォルト設定でランダムフォレスト (RF) 予測モデルを行った。R パッケージ DiagnosisMed (V0.2.2.2) を用いて計算した R パッケージ AUC (曲線下面積) を用いて、ROC (受信者動作特性) 曲線を解析した。血清及び血漿マーカーのため訓練及び被検試料に別々に、試料をランダムに分けた。RF モデルを訓練セットにおいて作成し、続いて被検試料に適用した。ロジスティック回帰を用いて、本発明者らの以前の研究 (O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A serum protein-based algorithm for the detection of Alzheimer disease. Archives of Neurology. 2010;67(9):1077-1081、O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A Blood-Based Screening Tool for Alzheimer's Disease That Spans Serum and Plasma: Findings from TARC and ADNI. PLoS ONE. 2011;6(12):e28092、O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A blood-based algorithm for the detection of Alzheimer's disease. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. 2011;32(1):55-62、O'Bryant SE XG, Edwards M, Devous MD, Gupta V, Martins R, Zhang F, Barber RC for the Texas Alzheimer's Research Consortium. Biomarkers of Alzheimer's Disease Among Mexican Americans. Journal of Alzheimer's Disease. 2013, in press) と同様に、RF リスクスコアと人口統計データ (即ち、年齢、性別、教育及び APOE 4 存在 [あり/なし]) とを組み合わせた。AD における斯かる変数及び認知機能不全の間のリンクを実証する以前の研究 (Dickstein DL, Walsh J, Brautigam H, Stockton Jr SD, Gandy S, Hof PR. Role of vascular risk factors and vascular dysfunction in Alzheimer's disease. Mount Sinai Journal of Medicine. 2010;77(1):82-102、Piazza F, Galimberti G, Conti E, et al. Increased tissue factor pathway inhibitor and homocysteine in Alzheimer's disease. Neurobiology of Aging. 2010、Okereke OI, Selkoe DJ, Pollak MN, et al. A profile of impaired insulin degradation in relation to late-life cognitive decline: A preliminary investigation. International Journal of Geriatric Psychiatry. 2009;24(2):177-182、van Oijen M, Hofman A, Soares HD, Koudstaal PJ, Breteler MM. Plasma Abeta(1-40) and Abeta(1-42) and the risk of dementia: a prospective case-cohort study.[see comment]. Lancet Neurology. 2006;5(8):655-660) を考慮して、臨床変数を加えて、より頑強な診断アルゴリズムを作成した。アルゴリズムをさらに緻密化するために、バイオマーカーリスクスコアを、経過観察解析の際に最適診断精度を保持したマーカーの最小セットに限定した。これらの試験の第2の目標のため、全診断群のマルチ分類のためにサポートベクターマシン (SVM) 解析を利用した。解析の第1のセット (AD n = 51; NC n = 49) において利用される 100 例の AD 症例及び対照から得られるデータのランダム試料を選択し、11 例の DS、49 例の PD、19 例の FTD 及び 11 例の DLB 症例と共に 12 例の追加的な正常対照 (NC) (62 例の合計 NC) から得られる血清データと組み合わせた。5 倍交差検証により、合計した組み合わせ試料において SVM 解析を行った。SVM は、決定境界を規定する決定平面の概念に基づき、主に、異なるクラス標識の症例を分離する多次元的空間に超平面を構築することにより分類タスクを行う方法である。5 倍交差検証により SVM に基づく方法を用いて、試料組み合わせのための分類子を開発し、続いてこの分類子を適用して、試料組み合わせを予測した。

【0053】

結果。本発明者らによる以前の研究と同様に、AD 患者は、有意により高齢であり ($p < 0.001$)、より少ない年数の教育を得て ($p < 0.001$)、MMSE においてよ

10

20

30

40

50

り低くスコア化され ($p < 0.001$)、CDR-SBにおいてより高かった ($p < 0.001$) (表1を参照)。性別又は脂質異常症、糖尿病若しくは高血圧の存在の観点から群間に有意差はなかった。AD群は、APOE4保因者が有意により多かったが、NC群は、肥満 (BMI 30以上) と分類された個体が有意により多かった。

【0054】

【表1】

表1. コホートの人口統計的特徴

	AD (N=150)	対照 (N=150)	P 値
性別(男性)	35%	31%	0.46
年齢(歳)	78.0(8.2) 57-94	70.6(8.9) 52-90	<0.001
教育(年)	14.0 (3.4) 0-22	15.6(2.7) 10-23	<0.001
APOE4 存在(あり/なし)	61%	26%	<0.001
ヒスパニック民族	5%	5%	0.61
人種(非ヒスパニック系白人)	95%	97%	0.49
MMSE	19.2(6.1) 1-30	29.4(0.9) 26-30	<0.001
CDR-SB	7.8(4.4) 1-18	0.0(0.04) 0-1	<0.001
高血圧(%あり)	56%	59%	0.73
脂質異常症(%あり)	53%	56%	0.49
糖尿病(%あり)	12%	13%	0.60
肥満(%あり)	13%	24%	0.04

【0055】

ECLアッセイから得られる血清に基づくRFバイオマーカープロファイルを、被検試料に適用する場合、得られる感度 (SN) は0.90であり、特異性 (SP) は0.90であり、ROC曲線下面積 (AUC) は0.96であった (図2及び図3並びに表2を参照)。

【0056】

【表 2】

表 2: AD バイオマーカー感度及び特異性並びに受信者動作特性曲線下面積(AUC)の統計的結果

	AUC	感度 (95% CI)	特異性 (95% CI)
血清バイオマーカー単独	0.96	0.90 (0.81,0.95)	0.90 (0.82, 0.95)
臨床変数単独	0.85	0.77 (0.66, 0.85)	0.82 (0.72, 0.89)
バイオマーカー+臨床変数	0.98	0.95 (0.87, 0.98)	0.90 (0.81, 0.95)
省略されたバイオマーカー プロファイル(8 タンパク質)	0.95	0.88 (0.79, 0.94)	0.92 (0.83, 0.96)
省略されたバイオマーカー プロファイル(8 タンパク 質)+臨床変数	0.98	0.92 (0.84, 0.96)	0.94 (0.87, 0.98)
血漿バイオマーカー単独	0.76	0.65 (0.46, 0.74)	0.79 (0.69, 0.95)

10

20

【0057】

図 3 は、21つの血清バイオマーカーを用いた血清バイオマーカープロファイルのためのROCプロットを示す。血漿に基づくアルゴリズムは、それぞれ0.65、0.79及び0.76のSN、SP及びAUCという、さらにより低い精度推定値を生じた。従って、残る解析は、もっぱら血清に集中した。RFバイオマーカープロファイルによるアルゴリズムへの年齢、性別、教育及びAPOE4の包接は、SN、SP及びAUCをそれぞれ0.95、0.90及び0.98に増加させた(表2)。次に、RFを再実行して、最小数の血清バイオマーカーによる最適化されたアルゴリズムを判定した。バイオマーカープロファイル由来の上位8つのマーカーのみを用いて(図4を参照)、それぞれ0.88、0.92及び0.95のSN、SP及びAUCを得た(図5及び表2を参照)。年齢、性別、教育及びAPOE4遺伝子型を加えることにより、SN、SP及びAUCがそれぞれ0.92、0.94及び0.98に増加した。

30

【0058】

図4は、変数重要性及び差次的発現を実証する、ランダムフォレストバイオマーカーモデルから得られるジニプロットを示す。図5は、ADアルゴリズムのための上位8つのバイオマーカーのみを用いたROCプロットを示す。

【0059】

ADの血液に基づくバイオマーカープロファイルを利用して、ADを他の神経学的疾患から識別することができるか判定するためのSVMマルチ分類子解析のため、203名の参加者(AD n=51、PD n=49、DS n=11、FTD n=19、DLB n=11、NC n=62)から得られるタンパク質アッセイにおいて解析を行った。この試料の人口統計的特徴を表3に示す。

40

【0060】

【表 3】

表 3: 多変量分類のための第 2 のコホートの人口統計的特徴

	AD N=51	PD N=49	DS N=11	FTD N=19	DLB N=11	NC N=61
年齢	78.0 (9.0)	68 (9.6)	52 (2.0)	65.8(8.8)	75.6(4.5)	70 (9.0)
教育	15.0 (3.0)	--	--	14.8(3.2)	14.8(2.8)	16.2 (2.7)
性別	22 M; 29 F	28 M; 21 F	52 M	14 M; 5 F	8 M; 3F	23 M; 38 F
注記: PD 及び DS 症例の教育に関する情報は利用できない。略語:AD、アルツハイマー病。PD、パーキンソン病。DS、ダウン症候群。FTD、前頭側頭型認知症。DLB、レビー小体認知症。NC、正常対照。						

10

【0061】

図 6 は、神経変性疾患間の区別における相対的プロファイルの重要性を強調する。疾患状態に亘る相対的プロファイルは変動した。例えば、A 2 M 及び F V I I は、D L B 及び F T D において不釣合に上昇する一方、T N F α は、A D において不釣合に上昇し、P D 及び D L B において最低である一方、P P Y は、P D において最低であり、D L B において最高である。S V M に基づくアルゴリズムを用いて、全タンパク質を組み合わせるバイオマーカープロファイルを作成して、全参加者を同時に分類した。驚くべきことに、S V M の全体的精度は、100% (S N = 1.0、S P = 1.0) であり、全個体をそれぞれのカテゴリー化内に正確に分類した。

20

【0062】

コミュニティに基づくセッティングにおける血液スクリーニングの実行。「Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease」に関する作業部会による 1998 年コンセンサス・レポート (Anonymous. Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group.[see comment][erratum appears in Neurobiol Aging 1998 May-Jun;19(3):285]. Neurobiology of Aging. 1998;19(2):109-116) は、A D のための推定バイオマーカーの最低限の容認可能な性能基準に関するガイドラインを提供する。感度 (S N) 及び特異性 (S P) が、0.80 以上となり、陽性適中率 (P P V) が 80% 以上となるべきであり、90% に近い P P V が最良であると記述された。この報告は、「高い陰性適中率 [N P V] が非常に有用となるであろう」とも記述している。この助成金に関する P I 及びバイオインフォマティクスチームは、P P V 及び N P V を含む、診断精度統計学を計算する広範な経験を有する (O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A serum protein-based algorithm for the detection of Alzheimer disease. Archives of Neurology. 2010;67(9):1077-1081、O'Bryant S, Xiao, G, Barber, R, Reisch, J, Hall, J, Cullum, CM, Doody, R, Fairchild, T, Adams, P, Wilhelmsen, K, & Diaz-Arrastia, R. A blood based algorithm for the detection of Alzheimer's disease. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. 2011;32:55-62、O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A Blood-Based Screening Tool for Alzheimer's Disease That Spans Serum and Plasma: Findings from TARC and ADNI. PLoS ONE. 2011;6(12):e28092、O'Bryant SE, Xiao G, Edwards M, et al. Biomarkers of Alzheimer's disease among Mexican Americans. Journal of Alzheimer's Disease. 2013;34(4):841-849、O'Bryant SE, Lucas JA. Estimating the predictive value of the Test of Memory Malingering: An illust

30

40

50

rative example for clinicians. *Clinical Neuropsychologist*. 2006;20(3):533-540、Bauer L, O'Bryant SE, Lynch JK, McCaffrey RJ, Fisher JM. Examining the test of memory malingering trial 1 and word memory test immediate recognition as screening tools for insufficient effort. *Assessment*. 2007;14(3):215-222、Clark JH, Hobson VL, O'Bryant SE. Diagnostic accuracy of% retention scores on RBANS verbal memory subtests for the diagnosis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2010;25(4):318-326、Duff K, Humphreys Clark JD, O'Bryant SE, Mold JW, Schiffer RB, Sutker PB. Utility of the RBANS in detecting cognitive impairment associated with Alzheimer's disease: Sensitivity, specificity, and positive and negative predictive powers. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2008;23(5):603-612、Duff K, Hobson VL, Beglinger LJ, O'Bryant SE. Diagnostic accuracy of the RBANS in mild cognitive impairment: Limitations on assessing milder impairments. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2010;25(5):429-441、O'Bryant SE, Humphreys JD, Smith GE, et al. Detecting dementia with the mini-mental state examination in highly educated individuals. *Archives of Neurology*. 2008;65(7):963-967)。SN / SP 及び PPV / NPV の間の重要な差は、後者が予測精度統計学（即ち、検査に基づき患者を診断する際に、臨床医がどの程度正確であるか）であることである。PPV / NPV は、疾患存在の基準率に依存している（O'Bryant SE, Lucas JA, Willis FB, Smith GE, Graff-Radford NR, Ivnik RJ. Discrepancies between self-reported years of education and estimated reading level among elderly community-dwelling African-Americans: Analysis of the MOAANS data. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2007;22(3):327-332）。AD に関して、特殊クリニックセッティング（specialty clinic settings）における50%以上と比較して、コミュニティにおける疾患存在の基準率が、年齢65歳以上の11%である（Alzheimer's Association. 2013 Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimer's & Dementia*. 2013;9(2):1-72）ことが推定される。PPV 及び NPV は、ベイズ統計学に基づき、次に概要を述べる通りに計算される。

10

20

30

$$PPV = \frac{(SN \times BR)}{(SN \times BR) + [(1 - SP) \times RC]}$$

$$NPV = \frac{(SP \times RC)}{(SP \times RC) + [(1 - SN) \times BR]}$$

40

50

【0063】

【数1】

【0064】

PPV = 陽性適中率、SN = 感度、BR = 基準率、RC = 残る症例、NPV = 陰性適中率、SP = 特異性。8タンパク質スクリーニング又はアルゴリズムにおいて、SPを0.98に保持した場合、SNは、0.86に下落した。コミュニティ内における11%の

A D 推定基準率 (Alzheimer's Association. 2013 Alzheimer's Disease Facts and Figures. Alzheimer's & Dementia. 2013;9(2):1-72) により P P V 及び N P V 計算を適用すると、本発明のスクリーニング及び / 又はアルゴリズムは、非常に正確となり、コミュニティに基づくセッティング内で、即ち、一次ポイントオブケアにおいて用いることができる。これは、P P V が 35 % 未満であった 1998 年コンセンサス・レポートに基づき容認可能となる最低限の要件と比較される (表 4 を参照)。

【 0 0 6 5 】

【表 4】

表 4: プライマリーケアセッティングにおけるアルツハイマー病のための血液に基づくスクリーニングの診断精度		基準率=11%			
		SN	SP	PPV	NPV
本新規手順		0.86	0.98	0.84	0.98
1998 年コンセンサス・レポート最低ガイドライン (Anonymous. Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group.[see comment][erratum appears in Neurobiol Aging 1998 May-Jun;19(3):285]. Neurobiology of Aging. 1998;19(2):109-116)		0.80	0.80	0.33	0.97
本出願人らの以前の研究(O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A serum protein-based algorithm for the detection of Alzheimer disease. Archives of Neurology. 2010;67(9):1077-1081)		0.94	0.84	.42	.99
本出願人らの以前の研究(O'Bryant S, Xiao, G, Barber, R, Reisch, J, Hall, J, Cullum, CM, Doody, R, Fairchild, T, Adams, P, Wilhelmsen, K, & Diaz-Arrastia, R. A blood based algorithm for the detection of Alzheimer's disease. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. 2011;32:55-62)		0.89	0.85	0.42	0.98
本出願人らの以前の研究(O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A Blood-Based Screening Tool for Alzheimer's Disease That Spans Serum and Plasma: Findings from TARC and ADNI. PLoS ONE. 2011;6(12):e28092)		0.75	0.91	0.50	0.97
AIBL 試験(Doecke J, Laws, SM, Faux, NG, Wilson, W, Burnham, SC, Lam, CP, Mondal, A, Bedo, J, Busy, AI, Brown, B, De Ruyc, K, Ellis, KA, Fowler, C, Gupta, VB, Head, R, Macaulay, L, Pertile, K, Rowe, CC, Rembach, A, Rodrigues, M, Rumble, R, Szoek, C, Taddei, K, Taddei, T, Trounson, B, Aimes, D, Masters, CL, Martins, RN. Blood-based protein biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease. Arch Neurol. 2012;published online)		0.85	0.85	0.41	0.98
ペプトイドアプローチ(Reddy MM, Wilson R, Wilson J, et al. Identification of candidate IgG biomarkers for alzheimer's disease via combinatorial library screening. Cell. 2011;144(1):132-142)		0.94	0.94	0.66	0.99
Laske 及び同僚(Laske C LT, Stransky E, Hoffmann N, Fallgatter AJ, Dietzsch J. . Identification of a blood-based biomarker panel for classification of Alzheimer's disease. International Journal of Neuropsychopharmacology. 2011;14(9):1147-1155)		0.94	0.80	0.37	0.99
BR=基準率、SN=感度、SP=特異性、PPV=陽性適中率、NPV=陰性適中率					

10

20

30

40

【 0 0 6 6 】

本発明者らの以前の研究の知見と共に、他の研究グループによる知見も比較のために含

50

まれている。上に明確に図解されている通り、本新規手順は、おそらく、専門的診療所への紹介において容認可能な精度を有するために、プライマリーケアセッティングにおいて利用することができる唯一の手順である。プライマリーケア提供者に、専門紹介が必要であると示す際に、ペプトイドアプローチを例外として、他の試みのうち、偶然（即ち、50%）より優れたものは存在しない。

【0067】

【表5】

表 5: プライマリーケアセッティング における神経変性疾患のための血液 に基づくスクリーニングの診断精度		基準率=11%		
	SN	P	PPV	NPV
本新規手順	1.0	1.0	1.0	1.0
1998 年コンセンサス・レポート最低 ガイドライン(Anonymous. Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group.[see comment][erratum appears in Neurobiol Aging 1998 May- Jun;19(3):285]. Neurobiology of Aging. 1998;19(2):109-116)	0.80	0.80	0.33	0.97
BR=基準率、SN=感度、SP=特異性、PPV=陽性適中率、NPV=陰性適中率				

10

20

30

【0068】

本アプローチは、全体的プロファイルの使用による神経変性疾患の同定において100%である。母集団におけるこのような疾患の非常に低い有病率を考慮すると、プライマリーケア開業医によって為される専門医への適切な紹介には高い精度が必要とされる。

40

【0069】

選択認知検査と特異的バイオマーカーとの組み合わせ。本出願人らは、その近年の研究において、分子プロファイルを神経心理学的検査実行のために作成することができ、このようなプロファイルが、検査スコアにおける分散の50%以上を占めたことを実証する（O'Bryant SE GX, Barber RC, Cullum CM, Weiner M, Hall J, Edwards M, Grammas P, Wilhelmsen K, Doody R, Diaz-Arrastia R. Molecular neuropsychology: creation of test-specific blood biomarker algorithms. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. 2013, in press）。特異的な血清に基づくバイオマーカー及び選択認知検査を組み合

50

わせて、評価プロセスを緻密化し、診断精度を増加させることができることがさらに実証された。一例において、単一の、施行が容易である認知検査（この例においては、4点時計描画検査、但し、他の短く容易な検査、例えば、言語流暢性、トレイルメイキング、リスト学習その他を用いることもできる）と併せて、上位2つのマーカーのみを血清アルゴリズムから選択した（TNF α 及びIL7）。これら3項目を単一のロジスティック回帰において組み合わせると、NC（ $n = 150$ ）からの全AD（ $n = 150$ ）の区別において、92%精度が見出された（SN = 0.94、SP = 0.90）。試料が軽度AD（CDRグローバルスコア1.0以下）のみに制限された場合、94%の全体的精度（SN = 0.94、SP = 0.83）が見出された。最後に、そして重要なことに、試料は、非常に初期のAD（CDRグローバルスコア = 0.5）のみに制限されると、91%の全体的精度（SN = 0.97、SP = 0.72）をもたらした。これらの知見は、アルゴリズム全体を緻密化するための選択認知検査と特異的バイオマーカーとの組み合わせの可能性を明確に実証する。

【0070】

要約すると、本アプローチは、（1）アルツハイマー病の検出において高度に正確であり、（2）神経変性疾患間の検出及び識別において高度に正確であり、（3）多段階診断プロセスにおける第1のステップとして、プライマリーケアセッティング内で実行することができ、（4）特異的血清バイオマーカー及び選択認知神経科学的スクリーニング評価の組み合わせは、優れた精度によりスクリーニングプロセスを緻密化することができる。

【0071】

表6は、紹介のための専門医の選択、従って、プライマリーケアセンター又はポイントオブケアにおいて測定される2又は3以上のバイオマーカーのスクリーニング結果に基づく治療コースを示す。

【0072】

【表6】

プライマリーケアセッティングにおける血清スクリーニング	スクリーニング結果		専門医紹介
	アルツハイマー病	➡	記憶障害専門医
	パーキンソン病	➡	運動障害専門医
	レビー小体型認知症	➡	DLB 患者のための専門的診療所
	前頭側頭型認知症	➡	FTD 患者のための専門的診療所 及び精神医学の包接
	ダウン症候群	➡	神経発達疾患専門医及び遺伝子 検査/カウンセリング

【0073】

本明細書において記述されているいかなる実施形態を、本発明のいかなる方法、キット、試薬又は組成物に関して実行することもでき、逆もまた同じであることが企図される。さらに、本発明の組成物を用いて、本発明の方法を達成することができる。

【0074】

本明細書に記載されている特定の実施形態が、例証として示されており、本発明の限定として示されていないことが理解されよう。本発明の主な特色は、本発明の範囲から逸脱することなく、様々な実施形態において用いることができる。当業者であれば、本明細書に記載されている特異的な手順の多数の均等物を認識し、或いは単なるルーチン実験法を

用いて確かめることができる。斯かる均等物は、本発明の範囲内であると考慮され、特許請求の範囲によって網羅される。

【0075】

本明細書において言及されているあらゆる刊行物及び特許出願は、本発明が属する技術分野における当業者の技能水準を示す。あらゆる刊行物及び特許出願は、あたかも個々の刊行物又は特許出願それぞれが、ここに本明細書の一部を構成するものとしてその内容を援用すると特に且つ個々に示されているのと同じ程度まで、ここに本明細書の一部を構成するものとしてその内容を援用する。

【0076】

単語「a」又は「an」の使用は、特許請求の範囲及び／又は本明細書において用語「を含む (comprising)」と併せて用いられる場合、「1」を意味することができるが、「1又は2以上」、「少なくとも1」及び「1又は1を超える」の意義とも矛盾しない。特許請求の範囲における用語「又は」の使用は、選択肢のみを指す又は選択肢が相互排他的であると明示されない限り、「及び／又は」を意味するように用いられるが、本開示は、選択肢のみ及び「及び／又は」を指す定義を支持する。本願を通して、用語「約」は、ある値が、該値の判定に用いられるデバイス、方法の固有の誤差変動、又は試験対象間に存在する変動を含むことを示すように用いられる。

【0077】

本明細書及び特許請求の範囲において用いられている通り、単語「を含んでいる (comprising)」(並びに「を含む (comprise)」及び「を含み (comprises)」等、「を含んでいる」のいずれかの形態)、「有している」(並びに「有する」及び「有し」等、「有している」のいずれかの形態)、「含んでいる (including)」(並びに「含み (includes)」及び「含む (include)」等、「含んでいる」のいずれかの形態)又は「含有している」(並びに「含有し」及び「含有する」等、「含有している」のいずれかの形態)は、包括的又はオープンエンド型であり、追加的な列挙されていない要素又は方法ステップを除外しない。

【0078】

用語「又はこれらの組み合わせ」は、本明細書において、この用語に先行する収載されている項目のあらゆる並べ替え及び組み合わせを指す。例えば、「A、B、C又はこれらの組み合わせ」は、A、B、C、AB、AC、BC又はABCのうち少なくとも1つを含むことを目的とし、特定の文脈において順序が重要である場合、BA、CA、CB、CBA、BCA、ACB、BAC又はCABも含む。この例を続けると、BB、AAA、AB、BBC、AAAABCC、CBBA、CABABBその他等、1又は2以上の項目又は用語の反復を含有する組み合わせが明確に含まれる。当業者であれば、文脈からそれ以外のことが明らかとならない限り、典型的に、いずれかの組み合わせにおける項目又は用語の数には限界がないことを理解できよう。ある特定の実施形態において、本発明は、移行句「から本質的になる」又は「からなる」を用いることもできる方法及び組成物を含むこともできる。

【0079】

本明細書において、限定するものではないが「約」、「実質的な」又は「実質的に」等の近似値の単語は、それにより修飾される場合、必ずしも絶対的又は完全ではないと理解される条件を指すが、当業者によって、提示される通りの条件の指定が保証されるのに十分なほど近いと考慮される。記載が変動し得る程度は、設けることができる変化の大きさに依存し、当業者に依然として、修飾された特色が、修飾前の特色の要求された特徴及び能力を未だ有していると認識させることができる。先行の記述には従うが、一般に、「約」等の近似値の単語によって修飾される本明細書における数値は、記述された値から少なくとも±1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12又は15%変動し得る。

【0080】

本明細書に開示及び請求されている組成物及び／又は方法は全て、本開示を踏まえて、

過度の実験法を用いることなく作製及び実施することができる。好ましい実施形態の観点から本発明の組成物及び方法を記載してきたが、当業者であれば、本発明の概念、精神及び範囲から逸脱することなく、本明細書に記載されている組成物及び／又は方法及び方法のステップ又は一連のステップに変動を適用することができることが明らかである。当業者に明らかな斯かる類似の代用物及び改変は全て、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の精神、範囲及び概念の内にあると考慮される。

【 0 0 8 1 】

(参考文献)

1. Villemagne VL, Rowe CC. Long night's journey into the day: Amyloid- β imaging in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2013;33(SUPPL. 1):S349-S359. 10
2. Pyykko OT, Helisalmi S, Koivisto AM, et al. APOE4 predicts amyloid- β in cortical brain biopsy but not idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 2012;83(11):1119-1124.
3. Benadiba M, Luurtsema G, Wichert-Ana L, Buchpigel CA, Filho GB. New molecular targets for PET and SPECT imaging in neurodegenerative diseases. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2012;34(SUPPL2):S125-S148.
4. McKeith IG, Fairbairn AF, Bothwell RA, et al. An evaluation of the predictive validity and inter-rater reliability of clinical diagnostic criteria for senile dementia of Lewy body type. *Neurology*. 1994;44(5):872-877. 20
5. Van Den Dungen P, Van Marwijk HWM, Van Der Horst HE, et al. The accuracy of family physicians' dementia diagnoses at different stages of dementia: A systematic review. *International Journal of Geriatric Psychiatry*. 2012;27(4):342-354.
6. Lopponen M, Raiha I, Isoaho R, Vahlberg T, Kivela S-L. Diagnosing cognitive impairment and dementia in primary health care - a more active approach is needed. *Age and Ageing*. November 1, 2003 2003;32(6):606-612.
7. Belmin J, Min L, Roth C, Reuben D, Wenger N. Assessment and management of patients with cognitive impairment and dementia in primary care. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2012;16(5):462-467.
8. Maeck L, Haak S, Knoblauch A, Stoppe G. Dementia diagnostics in primary care: a representative 8-year follow-up study in lower saxony, Germany. *Dementia & Geriatric Cognitive Disorders*. 2008;25(2):127-134. 30
9. Fiss T, Thyrian JR, Fendrich K, Van Den Berg N, Hoffmann W. Cognitive impairment in primary ambulatory health care: Pharmacotherapy and the use of potentially inappropriate medicine. *International Journal of Geriatric Psychiatry*. 2013;28(2):173-181.
10. Lo A, Ryder K, Shorr RI. Relationship between patient age and duration of physician visit in ambulatory setting: Does one size fit all? *Journal of the American Geriatrics Society*. 2005;53(7):1162-1167.
11. Bond J, Graham N, Padovani A, MacKell J, Knox S, Atkinson J. Screening for cognitive impairment, Alzheimer's disease and other dementias: Opinions of European caregivers, payors, physicians and the general public. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2010;14(7):558-562. 40
12. Schneider P, Hampel H, Buerger K. Biological marker candidates of alzheimer's disease in blood, plasma, and serum. *CNS Neuroscience and Therapeutics*. 2009;15(4):358-374.
13. Alzheimer's Association. 2013 Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimer's & Dementia*. 2013;9(2):1-72.
14. Shaw LM, Korecka M, Clark CM, Lee VM, Trojanowski JQ. Biomarkers of neurodegeneration for diagnosis and monitoring therapeutics. *Nature Reviews. Drug Discov* 50

ery. 2007;6(4):295-303.

15. Thal LJ, Kantarci K, Reiman EM, et al. The role of biomarkers in clinical trials for Alzheimer disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*. 2006;20(1):6-15.
16. Martin MA, Swider SM, Olinger T, et al. Recruitment of Mexican American adults for an intensive diabetes intervention trial. *Ethnicity and Disease*. 2011;21(1):7-12.
17. O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A serum protein-based algorithm for the detection of Alzheimer disease. *Archives of Neurology*. 2010;67(9):1077-1081.
18. O'Bryant S, Xiao G, Barber R, Reisch J, Hall J, Cullum CM, Doody R, Fairchild T, Adams P, Wilhelmsen K, & Diaz-Arrastia R. A blood based algorithm for the detection of Alzheimer's disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*. 2011;32:55-62. 10
19. O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A Blood-Based Screening Tool for Alzheimer's Disease That Spans Serum and Plasma: Findings from TARC and ADNI. *PLoS ONE*. 2011;6(12):e28092.
20. O'Bryant SE, Xiao G, Edwards M, et al. Biomarkers of Alzheimer's disease among Mexican Americans. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2013;34(4):841-849.
21. Waring S, O'Bryant SE, Reisch JS, Diaz-Arrastia R, Knebl J, Doody R, for the Texas Alzheimer's Research Consortium. The Texas Alzheimer's Research Consortium longitudinal research cohort: Study design and baseline characteristics. *Texas Public Health Journal*. 2008;60(3):9-13. 20
22. O'Bryant SE, Hobson V, Hall JR, et al. Brain-derived neurotrophic factor levels in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2009;17(2):337-341.
23. McKhann D, Drockman D, Folstein M, et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group. *Neurology*. 1984;34:939-944.
24. Bjerke M, Portelius E, Minthon L, et al. Confounding factors influencing amyloid beta concentration in cerebrospinal fluid. *International Journal of Alzheimer's Disease*. 2010.
25. Kounnas MZ, Danks AM, Cheng S, et al. Modulation of γ -Secretase Reduces β -Amyloid Deposition in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Neuron*. 2010;67(5):769-780. 30
26. Kuhle J, Regeniter A, Leppert D, et al. A highly sensitive electrochemiluminescence immunoassay for the neurofilament heavy chain protein. *Journal of Neuroimmunology*. 2010;220(1-2):114-119.
27. Oh ES, Mielke MM, Rosenberg PB, et al. Comparison of conventional ELISA with electrochemiluminescence technology for detection of amyloid- β in plasma. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2010;21(3):769-773.
28. Alves G, Bronnick K, Aarsland D, et al. CSF amyloid- β and tau proteins, and cognitive performance, in early and untreated Parkinson's Disease: The Norwegian ParkWest study. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 2010;81(10):1080-1086. 40
29. O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A blood-based algorithm for the detection of Alzheimer's disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*. 2011;32(1):55-62.
30. R_Development_Core_Team. R: A language and environment for statistical computing. 2009; www.R-project.org.
31. Breiman L. Random forests. *Machine Learning*. 2001;45(1):5-32.
32. O'Bryant SE, Xiao G, Edwards M, Devous MD, Gupta V, Martins R, Zhang F, Barber RC for the Texas Alzheimer's Research Consortium. Biomarkers of Alzheimer's Disease 50

- e Among Mexican Americans. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2013, in press.
33. Dickstein DL, Walsh J, Brautigam H, Stockton Jr SD, Gandy S, Hof PR. Role of vascular risk factors and vascular dysfunction in Alzheimer's disease. *Mount Sinai Journal of Medicine*. 2010;77(1):82-102.
 34. Piazza F, Galimberti G, Conti E, et al. Increased tissue factor pathway inhibitor and homocysteine in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 2010.
 35. Okereke OI, Selkoe DJ, Pollak MN, et al. A profile of impaired insulin degradation in relation to late-life cognitive decline: A preliminary investigation. *International Journal of Geriatric Psychiatry*. 2009;24(2):177-182.
 36. van Oijen M, Hofman A, Soares HD, Koudstaal PJ, Breteler MM. Plasma Abeta(1-40) and Abeta(1-42) and the risk of dementia: a prospective case-cohort study.[see comment]. *Lancet Neurology*. 2006;5(8):655-660. 10
 37. Anonymous. Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group.[see comment][erratum appears in *Neurobiol Aging* 1998 May-Jun;19(3):285]. *Neurobiology of Aging*. 1998;19(2):109-116.
 38. O'Bryant SE, Lucas JA. Estimating the predictive value of the Test of Memory Malingering: An illustrative example for clinicians. *Clinical Neuropsychologist*. 2006;20(3):533-540. 20
 39. Bauer L, O'Bryant SE, Lynch JK, McCaffrey RJ, Fisher JM. Examining the test of memory malingering trial 1 and word memory test immediate recognition as screening tools for insufficient effort. *Assessment*. 2007;14(3):215-222.
 40. Clark JH, Hobson VL, O'Bryant SE. Diagnostic accuracy of% retention scores on RBANS verbal memory subtests for the diagnosis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2010;25(4):318-326.
 41. Duff K, Humphreys Clark JD, O'Bryant SE, Mold JW, Schiffer RB, Sutker PB. Utility of the RBANS in detecting cognitive impairment associated with Alzheimer's disease: Sensitivity, specificity, and positive and negative predictive powers. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2008;23(5):603-612. 30
 42. Duff K, Hobson VL, Beglinger LJ, O'Bryant SE. Diagnostic accuracy of the RBANS in mild cognitive impairment: Limitations on assessing milder impairments. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2010;25(5):429-441.
 43. O'Bryant SE, Humphreys JD, Smith GE, et al. Detecting dementia with the mini-mental state examination in highly educated individuals. *Archives of Neurology*. 2008;65(7):963-967.
 44. O'Bryant SE, Lucas JA, Willis FB, Smith GE, Graff-Radford NR, Ivnik RJ. Discrepancies between self-reported years of education and estimated reading level among elderly community-dwelling African-Americans: Analysis of the MOAANS data. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2007;22(3):327-332. 40
 45. Doecke J, Laws SM, Faux NG, Wilson W, Burnham SC, Lam CP, Mondal A, Bedo J, Busy AL, Brown B, De Ruyck K, Ellis KA, Fowler C, Gupta VB, Head R, Macaulay L, Pertile K, Rowe CC, Rembach A, Rodrigues M, Rumble R, Szeoke C, Taddei K, Taddei T, Trounson B, Aimes D, Masters CL, Martins RN. Blood-based protein biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease. *Arch Neurol*. 2012;published online.
 46. Reddy MM, Wilson R, Wilson J, et al. Identification of candidate IgG biomarkers for Alzheimer's disease via combinatorial library screening. *Cell*. 2011;144(1):132-142.
 47. Laske C LT, Stransky E, Hoffmann N, Fallgatter AJ, Dietzsch J. . Identificat 50

ion of a blood-based biomarker panel for classification of Alzheimer's disease. International Journal of Neuropsychopharmacology. 2011;14(9):1147-1155.

48. O'Bryant SE GX, Barber RC, Cullum CM, Weiner M, Hall J, Edwards M, Grammas P, Wilhelmsen K, Doody R, Diaz-Arrastia R. Molecular neuropsychology: creation of test-specific blood biomarker algorithms. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. 2013, in press.

【 図 1 】

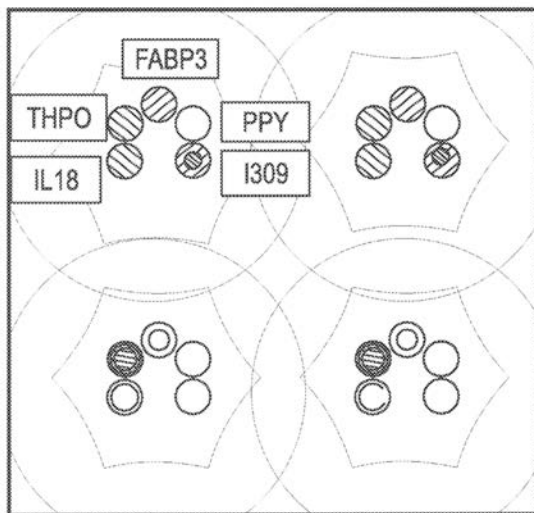


FIG. 1

【 図 2 】

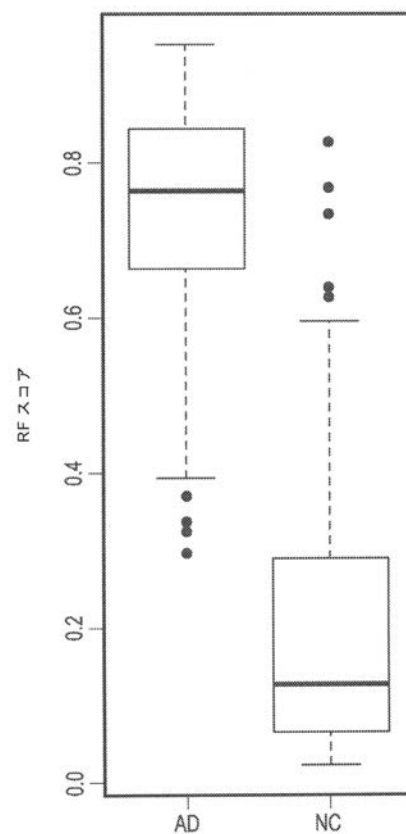


FIG. 2

【図 3】

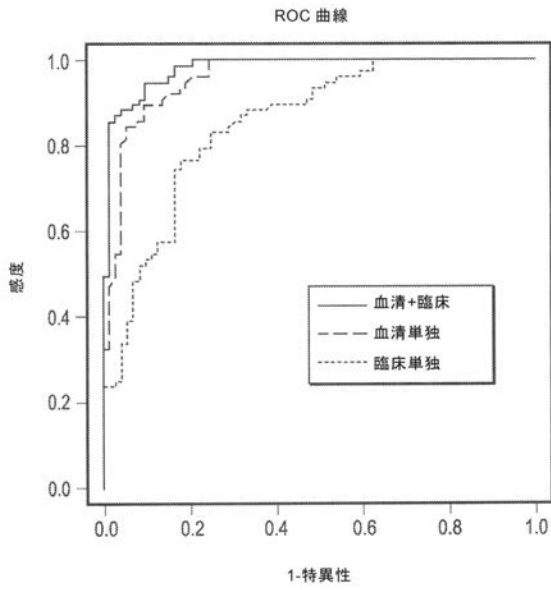


FIG. 3

【図 4】

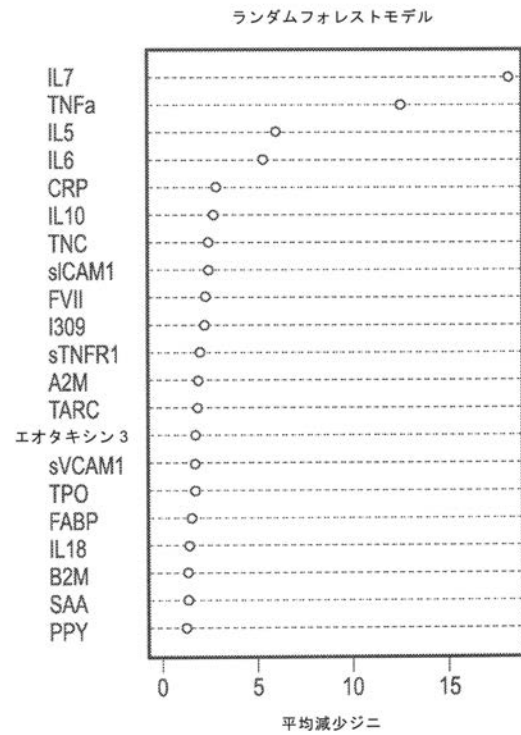


FIG. 4

【図 5】

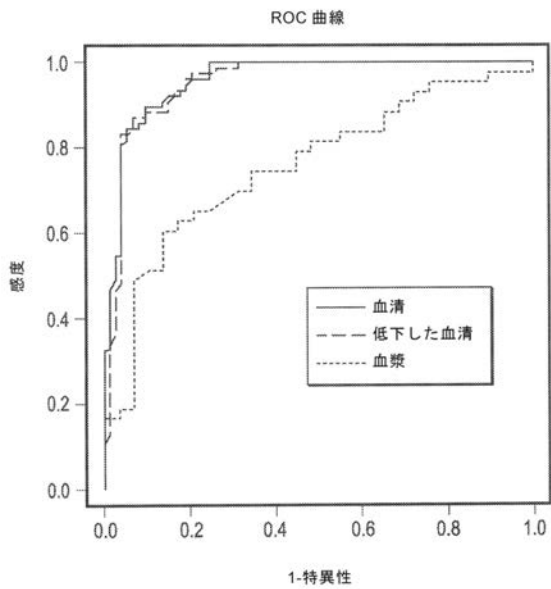


FIG. 5

【図 6】

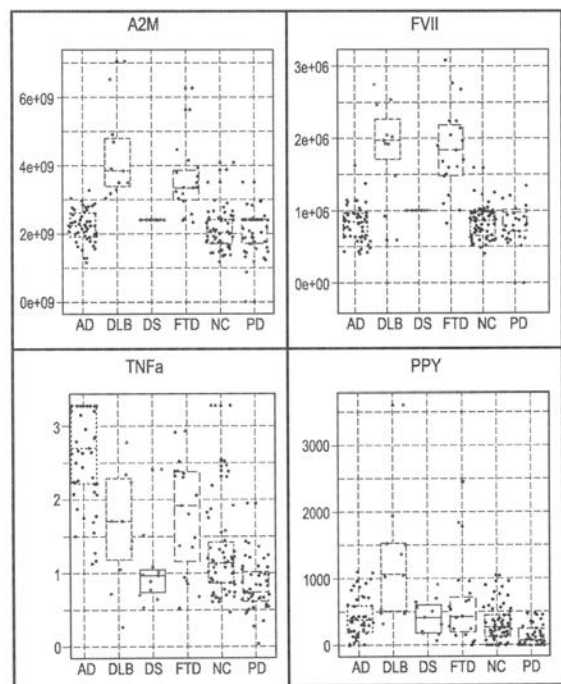


FIG. 6

【手続補正書】

【提出日】平成28年4月8日(2016.4.8)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下のステップを含む、プライマリーケアセッティング内において神経学的疾患をスクリーニングするためのデータを収集する方法。

プライマリーケアセッティングにおいて対象から得られた血液被検試料における、IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び α -シヌクレインから選択される2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、又は13のバイオマーカーを測定するステップ；

前記バイオマーカーの1つ又は組み合わせのレベルを、正常血液試料における相当するバイオマーカーの1つ又は組み合わせのレベルと比較するステップ；

前記対象が神経学的疾患を有する可能性が高いことを示す、前記正常血液試料のレベルに関連した前記血液被検試料における前記2又は3つ以上のバイオマーカーのレベルの増加を測定するステップ；

測定された前記2つのバイオマーカーに基づき前記神経学的疾患を同定するためのデータを収集するステップ；及び

予測された前記神経学的疾患に基づき前記対象のための治療コースを選択するためのデータを収集するステップ；

【請求項2】

個体又はプライマリーケア従事者に、計算されたりスクリーニングの変化を通知するためのデータを収集するステップをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

試料が血清又は血漿試料であり、プライマリーケアクリニック内における神経学的疾患の仮判定後に、このプライマリーケア提供者に、この特別な血液スクリーニングの知見に適切な特定の種類の専門医の紹介に関する情報を提供し、個体を前記神経学的疾患及びそれに従った治療の専門医に導く、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】

神経学的疾患が、アルツハイマー病、パーキンソン病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症及び神経変性疾患から選択される、請求項1～3のいずれかに記載の方法。

【請求項5】

患者年齢及び認知神経科学的スクリーニング検査のパラメータを含むことにより、解析を緻密化するステップであって、本発明の血清に基づくマーカー、年齢及び認知神経科学的スクリーニング検査のうちの2又は3以上の組み合わせが、神経学的疾患又は障害を持たない対照対象と比較して、アルツハイマー病の判定のためのプライマリーケアセッティングにおいて少なくとも90%正確であるステップ；及び

神経変性疾患の正確な検出及び識別のために、睡眠障害(はい/いいえ)、幻視(はい/いいえ)、精神医学的/人格変化(はい/いいえ)、年齢、認知神経科学的スクリーニング及び2又は3以上の本発明らの血清に基づくマーカーのパラメータのうちの1又は2以上を判定するためのデータを収集するステップ
のうち少なくとも1つをさらに含む、請求項1～4のいずれかに記載の方法。

【請求項6】

様々なタンパク質の発現レベルが、蛍光検出、化学発光検出、電気化学発光検出及びパターン形成アレイ、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、抗体結合、蛍光励起分取、検出可能ピーズ分取、抗体アレイ、マイクロアレイ、酵素アレイ、受容体結合アレイ、アレル特異的プライマー伸長、標的特異的プライマー伸長、固相結合アレイ、液相結合アレイ、蛍光共鳴移動又は放射性標識化のうちの少なくとも1種によって測定される、請求項1～5のいずれかに記載の方法。

【請求項7】

全体的精度94、95、96、97、98、99若しくは100%（感度（SN）、特異性（SP）（ $SN = 0.94$ 、 $SP = 0.83$ ））による軽度AD（CDRグローバルスコア1.0以下）、又は全体的精度91、92、93、94、95、96、97、98、99若しくは100%（ $SN = 0.97$ 、 $SP = 0.72$ ）による非常に初期のAD（CDRグローバルスコア=0.5）のうちの少なくとも1つのスクリーニングに用いられる、請求項1～6のいずれかに記載の方法。

【請求項8】

感度よりも高い特異性を用いるプライマリーセッティングにおいてスクリーニングに用いられ、前記特異性が、0.97～1.0の範囲内であり、前記感度が、0.80～1.0の範囲内である、請求項1～7のいずれかに記載の方法。

【請求項9】

以下のステップを含むものとしてさらに定義される、請求項1～8のいずれかに記載の方法。

神経学的疾患を有すると疑われる個体から単離された試料から、バイオマーカーIL-7及びTNF α を含むバイオマーカーの測定値を得るステップ；

対象の年齢及び前記対象から得られた1又は2以上の認知神経科学的スクリーニング検査（時計描画、言語流暢性、睡眠障害、幻視、行動障害、運動障害）の結果を加えるステップ；

モデルの出力から前記神経学的疾患を発症する前記個体のリスクを計算するステップであって、前記モデルへの入力が、前記2つのバイオマーカーの前記測定値、前記対象の年齢及び1又は2以上の認知検査の前記結果を含み、さらに、前記モデルが、選択された個体集団の縦断的研究のデータを適合させることにより開発され、前記適合されたデータが、前記選択された個体集団における前記バイオマーカーのレベル、前記対象の年齢及び1又は2以上の認知検査の前記結果並びに神経学的疾患を含むステップ；及び

前記個体の前記計算されたリスクを、前記個体由来の少なくとも1つのより初期の試料から得られる以前に計算されたリスクと比較するステップ；

【請求項10】

以下のステップを含む、神経学的疾患の治療において有用であると考えられる候補薬物を評価するために用いられる、請求項1～9のいずれかに記載の方法。

（a）神経学的疾患を有すると疑われる1又は2名以上の患者から得られる1又は2以上の血液試料からの、IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び α -シヌクレインから選択される2又は3つ以上のバイオマーカー、前記患者の年齢並びに前記患者の1又は2以上の認知神経科学的スクリーニング検査の結果を測定するステップであって、前記患者が、神経学的疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病又は認知症であると疑われるステップ；

（b）候補薬物が投与された前記患者の第1のサブセットから得られる1又は2以上の血液試料からの前記バイオマーカー、前記患者の年齢、及び前記患者の1又は2以上の認知神経科学的スクリーニング検査の結果と、プラセボが投与された前記患者の第2のサブセットから得られる1又は2以上の血液試料からの前記バイオマーカー、前記患者の年齢、及び前記患者の1又は2以上の認知神経科学的スクリーニング検査の結果とを測定するステップ；

(c) 前記候補薬物が、前記第2のサブセットの患者において生じるいかなる低下と比較して統計的に有意に、前記1又は2以上のバイオマーカーの発現を低下させるか否かを判定するステップであって、統計的に有意な低下が、前記候補薬物が前記神経学的疾患の治療において有用であることを示し、参照レベルと比較してより低いCRP及びIL10のレベル、又は参照レベルと比較して上昇した血液中のIL-7及びTNFアルファのレベルが、前記個体が前記神経学的疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、又は認知症を患っている可能性がより高いことを示す、ステップ；及び

(d) 治療後に前記1又は2以上の認知ステップを反復してもよいステップ；

【請求項11】

患者プロファイルに最もマッチする1又は2以上の神経学的疾患プロファイルを判定するステップをさらに含む、請求項1～10のいずれかに記載の方法であって、前記判定が以下のステップを含む、前記方法。

適切にプログラムされたコンピュータにおいて、1又は2以上の神経学的疾患を有すると疑われる患者由来の血液又は血漿試料におけるIL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1バイオマーカーの発現レベルを、参照データベースにおける参照プロファイルと比較して、前記患者プロファイルと前記参照プロファイルのそれぞれとの間の類似性の尺度を判定するステップ；

適切にプログラムされたコンピュータにおいて、ステップ(a)において判定された類似性の前記尺度間の最大類似性に基づき、前記患者プロファイルに最もマッチする参照データベースにおける参照プロファイルを同定するステップ；

ユーザー・インターフェース・デバイス、コンピュータ可読記憶媒体又はローカル若しくは遠隔コンピュータシステムに出力するステップ、或いは前記最大類似性又は前記患者プロファイルに最もマッチする前記参照データベースにおける前記参照プロファイルの前記疾患細胞試料の前記疾患を表示するステップ；及び

IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び α -シヌクレインから選択される、血液試料由来の2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12又は13のバイオマーカーの発現レベルを判定するステップであって、前記方法が、感度よりも高い特異性を用いる一次設定におけるスクリーニングに用いられ、前記特異性が0.97～1.0の範囲内であり、前記感度が0.80～1.0の範囲内である、ステップ；

【請求項12】

ヒト個体から得られる血液試料におけるIL-7及びTNF α の発現レベルを検出するための1又は2以上の試薬と、1又は2以上の神経学的スクリーニング検査シートと、IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNC、ICAM1、FVII、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び α -シヌクレインから選択される発現マーカーのレベルを検出するための、存在していてもよい1又は2以上の試薬と、

前記個体の血液試料由来の前記IL-7及びTNF α バイオマーカーの正規化された測定レベルを参照レベルと比較するための、或いは、前記患者の年齢及び前記患者の前記神経学的スクリーニング検査の結果を参照と比較するための説明書であって、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルが、神経学的疾患ではないヒト個体の1又は2以上の血液試料由来の前記神経学的疾患診断バイオマーカーの正規化された測定レベルを含み、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルに満たない神経学的疾患診断バイオマーカーのレベルが、前記個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示し、前記検査が少なくとも90%正確であり、前記参照レベルと比較して上昇した血液中のIL-7及びTNFアルファの発現レベル、又は前記参照レベルと比較してより低いCRP及びIL10のレベルのうち少なくとも1つが、前記個体が前記神経学的疾患を患

っている可能性がより高いことを示す、前記説明書と

を含む、プライマリーケアセッティングにおける神経学的疾患の診断を補助するための迅速スクリーニングキット。

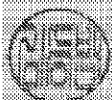
【請求項 13】

IL7、TNF α 、IL5、IL6、CRP、IL10、TNF α 、ICAM1、FVI
I、I309、TNFR1、A2M、TARC、エオタキシン3、VCAM1、TPO、
FABP、IL18、B2M、SAA、PPY、DJ1及び α -シヌクレインから選択さ
れる発現マーカーのレベルを検出するための1又は2以上の試薬をさらに含む、請求項1
2に記載のキット。

【請求項 14】

試料が血清試料であり、神経学的疾患の仮判定後に、個体を前記神経学的疾患の専門医
に導く、請求項12に記載のキット。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2014/046015
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
G01N 33/53(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i, G01N 33/573(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N 33/53; A61N 100; G01N 33/68; G01N 33/573		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: biomarker, neurological disease, serum sample		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	O'BRYANT et al., 'Biomarkers of Alzheimer's disease among Mexican Americans' Journal of Alzheimer's Disease, Vol.34, No.4, pp.841-849 (11 January 2013) See abstract; Table 2; and pages 843-845.	41-52
A	US 6819956 B2 (DIORENZO) 16 November 2004 See abstract and claims 1-4.	41-52
A	FAN et al., 'Structural and functional biomarkers of prodromal Alzheimer's disease: a high-dimensional pattern classification study' Neuroimage, Vol.41, No.2, pp.277-285 (2008) See the whole document.	41-52
A	O'BRYANT et al., 'A serum protein-based algorithm for the detection of Alzheimer disease' Archives of Neurology, Vol.67, No.9, pp.1077-1081 (2010) See Table 4.	41-52
A	SWARDFAGER et al., 'A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease' Biological Psychiatry, Vol.68, No.10, pp.930-941 (2010) See the whole document.	41-52
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 October 2014 (22.10.2014)		Date of mailing of the international search report 22 October 2014 (22.10.2014)
Name and mailing address of the ISA/KR  International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-472-7140		Authorized officer KIM, Seung Beom Telephone No. +82-42-481-3371 

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2014/046015

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.: 1-40
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 1-40 pertain to methods for treatment of the human body by therapy, as well as diagnostic methods, and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv), to search.
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:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/US2014/046015

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	O'BRYANT et al., 'Validation of a serum screen for Alzheimer's disease across assay platforms, species, and tissues' Journal of Alzheimer's Disease, Vol.42, No.4, pp.1325-1335 (01 January 2014) See the whole document.	41-52

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2014/046015

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6819956 B2	16/11/2004	AU 1999-55480 A1	28/02/2000
		CA 2339971 A1	17/02/2000
		CA 2339971 C	29/06/2004
		DE 69940814 D1	10/06/2009
		EP 1102607 A2	30/05/2001
		EP 1102607 A4	02/01/2003
		EP 1102607 B1	29/04/2009
		EP 2254462 A1	01/12/2010
		US 2002-0177882 A1	28/11/2002
		US 2003-0018367 A1	23/01/2003
		US 2005-0021103 A1	27/01/2005
		US 2005-0021104 A1	27/01/2005
		US 2005-0119703 A1	02/06/2005
		US 2005-0222626 A1	06/10/2005
		US 2005-0240242 A1	27/10/2005
		US 2006-0116736 A1	01/06/2006
		US 2006-0167498 A1	27/07/2006
		US 2006-0224191 A1	05/10/2006
		US 2007-0073355 A1	29/03/2007
		US 2007-0142862 A1	21/06/2007
		US 2007-0161919 A1	12/07/2007
		US 2007-0162085 A1	12/07/2007
		US 2007-0162086 A1	12/07/2007
		US 2007-0167991 A1	19/07/2007
		US 2007-0208212 A1	06/09/2007
		US 2008-0119900 A1	22/05/2008
		US 2009-0118780 A1	07/05/2009
		US 2009-0187230 A1	23/07/2009
		US 2009-0216286 A1	27/08/2009
		US 2009-0306739 A1	10/12/2009
		US 2010-0023089 A1	28/01/2010
		US 2010-0217348 A1	26/08/2010
		US 2010-0241183 A1	23/09/2010
		US 2010-0249859 A1	30/09/2010
		US 6366813 B1	02/04/2002
		US 7209787 B2	24/04/2007
		US 7231254 B2	12/06/2007
		US 7242984 B2	10/07/2007
		US 7277758 B2	02/10/2007
		US 7324851 B1	29/01/2008
		US 7403820 B2	22/07/2008
		US 7529582 B1	05/05/2009
		US 7599736 B2	06/10/2009
		US 7623928 B2	24/11/2009
		US 7747325 B2	29/06/2010
		US 7853329 B2	14/12/2010
		US 7930035 B2	19/04/2011
		US 7974696 B1	05/07/2011
		US 8781597 B2	15/07/2014

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2014/046015

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		WO 00-07494 A2	17/02/2000
		WO 00-07494 A3	22/06/2000
		WO 2005-051306 A2	09/06/2005
		WO 2005-051306 A3	18/05/2006
		WO 2005-067599 A2	28/07/2005
		WO 2005-067599 A3	03/08/2006
		WO 2006-017277 A2	16/02/2006
		WO 2006-017277 A3	22/06/2006
		WO 2009-064408 A1	22/05/2009

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/542 (2006.01)	G 0 1 N 33/532	B
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	G 0 1 N 33/534	
	G 0 1 N 33/542	A
	C 1 2 Q 1/68	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, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, 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, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(71)出願人 500039463
 ボード・オブ・リージエンツ, ザ・ユニバーシティ・オブ・テキサス・システム
 アメリカ合衆国、テキサス・78701、オースティン、ウエスト・セブンス・ストリート・201

(74)代理人 100107984
 弁理士 廣田 雅紀

(74)代理人 100102255
 弁理士 小澤 誠次

(74)代理人 100096482
 弁理士 東海 裕作

(74)代理人 100188352
 弁理士 松田 一弘

(74)代理人 100131093
 弁理士 堀内 真

(74)代理人 100150902
 弁理士 山内 正子

(74)代理人 100141391
 弁理士 園元 修一

(74)代理人 100198074
 弁理士 山村 昭裕

(72)発明者 オブライアント シド イー .
 アメリカ国 テキサス 76008 アレド グリーンリーフドライブ 1517

(72)発明者 バーバー ロバート シー .
 アメリカ国 テキサス 76126 ベンブルック リオグランデドライブ 1308

(72)発明者 シャオ グアンファ
 アメリカ国 テキサス 75019 コッペル ベンチウッドレーン 192

(72)発明者 ジャーマン ドウワイト
 アメリカ国 テキサス 75225 ダラス パードゥー 2917

F ターム(参考) 2G045 AA25 CA25 CA26 DA36

4B063 QA01 QA19 QQ03 QQ52 QR08 QR42 QR55 QR62 QS25 QS34
 QX01

专利名称(译)	基于血液的筛查，用于检测初级保健机构的神经系统疾病		
公开(公告)号	JP2016524168A	公开(公告)日	2016-08-12
申请号	JP2016525462	申请日	2014-07-09
[标]申请(专利权)人(译)	北得克萨斯大学健康科学中心大学沃思堡		
申请(专利权)人(译)	北得克萨斯大学健康科学中心大学沃思堡 Rijientsu董事会，德州系统的通用名称		
[标]发明人	オブライアントシドイー バーバーロバートシー シャオグアンファ ジャーマンドウワイト		
发明人	オブライアントシドイー. バーバー ロバート シー. シャオ グアンファ ジャーマン ドウワイト		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/53 G01N33/533 G01N33/532 G01N33/534 G01N33/542 C12Q1/68		
CPC分类号	G01N33/6896 G16B20/00 G16B25/00 A61B5/4088 G01N2570/00 G01N2800/28 G01N2800/2814 G01N2800/2821 G01N2800/2835 G01N2800/387		
FI分类号	G01N33/68 G01N33/53.P G01N33/53.D G01N33/53.X G01N33/533 G01N33/532.B G01N33/534 G01N33/542.A C12Q1/68.A		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/DA36 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/ /QQ52 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX01		
代理人(译)	堀内申 马萨科·亚莫 Enmoto修一		
优先权	61/845121 2013-07-11 US		
其他公开文献	JP6228302B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了从受试者获得血液测试样品的步骤，测量血液样品中的IL-7和TNF α 生物标记物的步骤，一种或多种生物标记物的组合的水平以及认知神经科学筛选测试。比较正常血样和认知神经科学筛选测试中一种或多种相应生物标志物的水平，与正常血样相关的血液测试样品水平的增加，，一种用于在初级保健环境中诊断神经系统疾病的方法和试剂盒，包括预测患有神经系统疾病的可能性增加的步骤。

