

(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2018-536152
(P2018-536152A)

(43) 公表日 平成30年12月6日(2018.12.6)

(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 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 O 1 A	4 C O 8 4
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D	4 C O 8 6
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 C 2 0 6
A 6 1 P 25/22 (2006.01)	A 6 1 P 25/22	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 41 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-517730 (P2018-517730)
 (86) (22) 出願日 平成28年10月6日(2016.10.6)
 (85) 翻訳文提出日 平成30年4月6日(2018.4.6)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/055675
 (87) 国際公開番号 W02017/062568
 (87) 国際公開日 平成29年4月13日(2017.4.13)
 (31) 優先権主張番号 62/239,004
 (32) 優先日 平成27年10月8日(2015.10.8)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 501051125
 ザ ヘンリー エム. ジャクソン ファ
 ウンダーション フォー ザ アドヴァン
 スメント オブ ミリタリー メディシ
 インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 メリーランド州 ベセス
 ダ ロックレッジ ドライブ 6720-
 エイ スイート 100
 (74) 代理人 100107456
 弁理士 池田 成人
 (74) 代理人 100162352
 弁理士 酒巻 順一郎
 (74) 代理人 100123995
 弁理士 野田 雅一

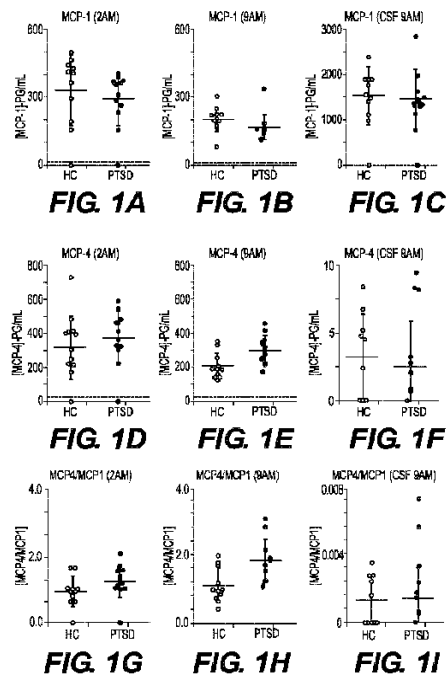
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 心的外傷後ストレス障害を診断するためのバイオマーカー

(57) 【要約】

本発明は、対象が心的外傷後ストレス障害(PTSD)を発症するリスクがあるかどうかを判断する方法に関する。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象が心的外傷後ストレス障害（PTSD）を発症するリスクがあるかどうかを判断する方法であって、

a) 前記対象から得られた少なくとも 1 つのサンプル中の単球走化性タンパク質 1（MCP-1）に対する単球走化性タンパク質 4（MCP-4）の比を求めると、

b) 前記少なくとも 1 つのサンプル中の前記 MCP-4 / MCP-1 比（MMR）を正常な MMR と比較して、前記対象の MMR が前記正常な MMR と比較して変化しているかどうかを判断することと、

を含み、前記対象の MMR の変化は、前記対象が PTSD を患うリスクが増加していることを示す、方法。

10

【請求項 2】

前記正常な MMR は、PTSD の発症前の前記対象の MMR を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記正常な MMR は、PTSD を患っていない個体の集団から形成された MMR を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記少なくとも 1 つのサンプルは、前記対象から採取した全血から得られた血漿サンプルである、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 5】

前記全血は、1 つ以上の時点において前記対象から採取される、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記全血は、約 2 a m (0 2 : 0 0) 及び / または約 9 a m (0 9 : 0 0) に前記対象から採取される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記対象は、前記対象から得られた前記少なくとも 1 つのサンプル中の前記 MMR を求める前にうつ病性障害と診断された、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記対象は、前記対象から得られた前記少なくとも 1 つのサンプル中の前記 MMR を求める前に前記うつ病性障害に対する処置を受けている、請求項 7 に記載の方法。

30

【請求項 9】

前記うつ病性障害に対する前記処置は、少なくとも 1 つの選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）を前記対象に投与することを含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記 SSRI は、シタロプラム、ダボキセチン、エスシタロプラム、フルオキセチン、フルボキサミン、インダルピン、パロキセチン、セルトラリン及びジメリジンから成る群から選択される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記対象は、うつ病性障害と診断されていない、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 12】

心的外傷後ストレス障害（PTSD）を有する疑いのある対象の PTSD を診断する方法であって、

a) 前記対象から得られたサンプル中の単球走化性タンパク質 1（MCP-1）に対する単球走化性タンパク質 4（MCP-4）の比を求めると、

b) 前記サンプル中の前記 MCP-4 / MCP-1 比（MMR）を正常な MMR と比較して、前記対象の MMR が前記正常な MMR と比較して変化しているかどうかを判断することと、

50

を含み、正常なMMRを有すると定義されたものと比較した前記対象のMMRの変化は、前記対象がPTSDを患っていることを示す、方法。

【請求項13】

前記正常なMMRは、PTSDの発症前の前記対象のMMRを含む、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

前記正常なMMRは、PTSDを患っていない個体の集団から形成されたMMRを含む、請求項12に記載の方法。

【請求項15】

前記少なくとも1つのサンプルは、前記対象から採取した全血から得られた血漿サンプルである、請求項12～14のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項16】

前記全血は、真夜中後及び正午前に前記対象から採取される、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

前記全血は、約2am(02:00)及び/または約9am(09:00)に前記対象から採取される、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

前記対象は、前記対象から得られた前記少なくとも1つのサンプル中の前記MMRを求める前にうつ病性障害と診断された、請求項12～17のいずれか1項に記載の方法。

20

【請求項19】

前記対象は、前記対象から得られた前記少なくとも1つのサンプル中の前記MMRを求める前に前記うつ病性障害に対する処置を受けている、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

前記うつ病性障害に対する前記処置は、少なくとも1つの選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)を前記対象に投与することを含む、請求項19に記載の方法。

【請求項21】

前記SSRIは、シタロプラム、ダポキセチン、エスシタロプラム、フルオキセチン、フルボキサミン、インダルピン、パロキセチン、セルトラリン及びジメリジンから成る群から選択される、請求項20に記載の方法。

30

【請求項22】

対象における心的外傷後ストレス障害(PTSD)の進行を監視する方法であって、
 a)各サンプルが異なる日に採取された対象からの少なくとも2つのサンプルを分析して、単球走化性タンパク質1(MCP-1)に対する単球走化性タンパク質4(MCP-4)の比を求めることと、
 b)経時的に前記MCP-4/MCP-1比(MMR)を比較して、前記対象のMMRが経時的に変化しているかどうかを判断することと、
 を含み、前記対象のMMRの経時的な増加は、前記対象においてPTSDが進行していることを示し、前記対象のMMRの経時的な減少または変化なしは前記対象においてPTSDが進行していないことを示す、方法。

40

【請求項23】

前記少なくとも2つのサンプルは、前記対象から採取された全血から得られた血漿サンプルである、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

前記全血は、前記サンプルが得られるそれぞれの日の真夜中後及び正午前に前記対象から採取される、請求項23に記載の方法。

【請求項25】

前記全血は、前記サンプルが得られるそれぞれの日の約2am(02:00)及び/または約9am(09:00)に前記対象から採取される、請求項23に記載の方法。

【請求項26】

50

前記対象は、前記対象の前記MMRを求める前にうつ病性障害と診断された、請求項22～25のいずれか1項に記載の方法。

【請求項27】

前記対象は、前記対象の前記MMRを求める前に前記うつ病性障害に対する処置を受けている、請求項26に記載の方法。

【請求項28】

前記うつ病性障害に対する前記処置は、少なくとも1つの選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)を前記対象に投与することを含む、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

前記SSRIは、シタロプラム、ダボキセチン、エスシタロプラム、フルオキセチン、フルボキサミン、インダルピン、パロキセチン、セルトラリン及びジメリジンから成る群から選択される、請求項28に記載の方法。

10

【請求項30】

前記対象は、うつ病性障害と診断されていない、請求項22～25のいずれか1項に記載の方法。

【請求項31】

前記対象は、PTSDに対する処置を受けている、請求項22～30のいずれか1項に記載の方法。

【請求項32】

心的外傷後ストレス障害(PTSD)を有する対象を治療する方法であって、
 a) 前記対象から得られたサンプル中の単球走化性タンパク質1(MCP-1)に対する単球走化性タンパク質4(MCP-4)の比を求めることと、
 b) 前記サンプル中の前記MCP-4/MCP-1比(MMR)を正常なMMRと比較して、前記対象のMMRが前記正常なMMRと比較して変化しているかどうかを判断することであって、正常なMMRを有すると定義されたものと比較した前記対象のMMRの変化は、前記対象がPTSDを患っていることを示す、判断することと、
 c) PTSDの前記対象にPTSDを処置するための治療計画を施すことであって、前記治療計画は、認知行動療法(CBT)、もう1つの選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)の投与、1つ以上の抗不安薬の投与及び1つ以上の抗不眠薬の投与から成る群から選択される、施すこととを含む、方法。

20

30

【請求項33】

前記正常なMMRは、PTSDの発症前の前記対象のMMRを含む、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

前記正常なMMRは、PTSDを患っていない個人の集団から形成されたMMRを含む、請求項32に記載の方法。

【請求項35】

前記少なくとも1つのサンプルは、前記対象から採取した全血から得られた血漿サンプルである、請求項32～34のいずれか1項に記載の方法。

【請求項36】

前記全血は、真夜中後及び正午前に前記対象から採取される、請求項35に記載の方法。

40

【請求項37】

前記全血は、約2am(02:00)及び/または約9am(09:00)に前記対象から採取される、請求項36に記載の方法。

【請求項38】

前記SSRIは、シタロプラム、ダボキセチン、エスシタロプラム、フルオキセチン、フルボキサミン、インダルピン、パロキセチン、セルトラリン及びジメリジンから成る群から選択される、請求項32に記載の方法。

【請求項39】

50

男性対象が心的外傷後ストレス障害（PTSD）を発症するリスクがあるかどうかを判断する方法であって、

a) 男性対象から得られた少なくとも1つのサンプル中の単球走化性タンパク質1（MCP-1）ならびに胸腺及び活性化制御ケモカイン（TARC）から成る群から選択される少なくとも1つのマーカーのレベルを求めることと、

b) 前記少なくとも1つのサンプル中の前記MCP-1またはTARCレベルを正常なMCP-1またはTARCレベルと比較して、前記男性対象のMCP-1またはTARCレベルが前記正常なMCP-1またはTARCレベルと比較して変化しているかどうかを判断することと、

を含み、前記男性対象のMCP-1またはTARCレベルの変化は、前記男性対象がPTSDを患うリスクが増加していることを示す、方法。

【請求項40】

前記マーカーはMCP-1であり、前記男性対象がPTSDを患うリスクが増加していることを示す前記MCP-1レベルの前記変化は、正常なレベルからの低下である、請求項39に記載の方法。

【請求項41】

前記マーカーはTARCであり、前記男性対象がPTSDを患うリスクが増加していることを示す前記TARCレベルの前記変化は、正常なレベルからの低下である、請求項39に記載の方法。

【請求項42】

前記少なくとも1つのサンプルは、前記対象から採取した全血から得られた血漿サンプルである、請求項39～41のいずれか1項に記載の方法。

【請求項43】

女性対象が心的外傷後ストレス障害（PTSD）を発症するリスクがあるかどうかを判断する方法であって、

a) 女性対象から得られた少なくとも1つのサンプル中の単球走化性タンパク質4（MCP-4）及び単球相互作用タンパク質1（MIP-1）から成る群から選択される少なくとも1つのマーカーのレベルを求めることと、

b) 前記少なくとも1つのサンプル中の前記MCP-4またはMIP-1レベルを正常なMCP-4またはMIP-1レベルと比較して、前記女性対象のMCP-4またはMIP-1レベルが前記正常なMCP-4またはMIP-1レベルと比較して変化しているかどうかを判断することと、

を含み、前記女性対象のMCP-4またはMIP-1レベルの変化は、前記女性対象がPTSDを患うリスクが増加していることを示す、方法。

【請求項44】

前記マーカーはMCP-4であり、前記女性対象がPTSDを患うリスクが増加していることを示す前記MCP-4レベルの前記変化は、正常なレベルを超えた増加である、請求項43に記載の方法。

【請求項45】

前記マーカーはMIP-1であり、前記女性対象がPTSDを患うリスクが増加していることを示す前記MIP-1レベルの前記変化は、正常なレベルを超えた増加である、請求項43に記載の方法。

【請求項46】

前記少なくとも1つのサンプルは、前記対象から採取した全血から得られた血漿サンプルである、請求項43～45のいずれか1項に記載の方法。

【請求項47】

単球走化性タンパク質4（MCP-4）、単球相互作用タンパク質1（MIP-1）、単球走化性タンパク質1（MCP-1）または胸腺及び活性化制御ケモカイン（TARC）のうちの少なくとも1つと特異的に結合する少なくとも1セットの抗体を含む、心的外傷後ストレス障害（PTSD）を検出または診断するためのキットであって、前記抗

10

20

30

40

50

体は固体表面上に固定される、キット。

【請求項 4 8】

前記キットは、それぞれのセットがそれぞれ M C P - 1、M C P - 4、T A R C 及び M I P - 1 と特異的に結合することができる 4 セットの抗体を含む、請求項 4 7 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

連邦政府資金による研究または開発に関する記載

本発明の開発中に実施された研究の一部は、助成金第 C D M R P - P T S D (P T O 7 4 4 1 5) 号により米国政府資金を利用した。米国政府は、本発明のある一定の権利を有する。

10

【0002】

配列表に対する言及

2015年10月8日またはその頃作成した「044508-5052-P1-Sequence Listing.txt」という名称で約8.7kbのファイルサイズのコンピュータ可読テキストファイルは、本出願に関する配列表を含み、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0003】

発明の分野

本発明は、対象が心的外傷後ストレス障害 (P T S D) を発症するリスクがあるかどうかを判断する方法に関する。

20

【背景技術】

【0004】

心的外傷後ストレス障害 (P T S D) は、心的外傷事象を体験した後に起こる精神疾患である。P T S D は急性または慢性である場合があり、何ヶ月、何年または何十年も持続する可能性のある症状の漸増及び漸減過程がある場合がある [2、3]。慢性 P T S D の患者は、視床下部下垂体副腎 (H P A) 軸の持続的な活性化によるものと解釈されている免疫系の変化と、結果として生じた交感神経副腎髄質系 (S A M) ストレスがある [4 ~ 6]、[7]。慢性 P T S D 患者と回復力のある健康な対照との間の差は、通常解消されるストレス体験に対して、S A M を介した副腎髄質からの最初は高レベルのノルエピネフリンが H P A からのコルチゾールの一時的な上昇によって最終的に低減されることである。しかしながら、いくつかの研究は、慢性 P T S D 患者の循環コルチゾールのレベルが本質的に低いことを発見した。フィードバック抑制の不全が過剰なレベルの細胞性及び炎症性サイトカイン発現に関するドライバーであると推測されてきた [8 ~ 10]。例えば、T N F - アルファ及び I L - 6 などのサイトカインは、血液脳関門を通過し、H P A 軸の刺激により免疫応答を調節することが知られている [10、11]。一貫して、P T S D 患者の血清中の I L - 1 - ベータ [12]、T N F - アルファ [13]、及び I L - 6 [14、15] が上昇していることが報告されている。さらに、P T S D 患者の脳脊髄液 (C S F) 中において I L - 6 [16] 及びノルエピネフリン [17] の両方が P T S D 患者で正常な対照よりも高いことが報告されている。従来の高コルチゾール状態から低コルチゾール/高ノルエピネフリン状態への変化も小児 P T S D 患者のコホートにおいて記録されている [16]。

30

40

【0005】

P T S D の診断を受けた患者は、大うつ病性障害 (M D D)、ならびにアルコール及び他の薬物に対する依存症などの併発状態にある場合が多い [6、19]。興味深いことに、M D D を併発している P T S D 患者の血清 I L - 6 レベルが高い [20] 一方で、M D D を併発していない P T S D 患者は正常な対照と同一の血清 I L - 6 レベルを有する [20]。さらに、すべてが背側海馬が小さく、相対的に M D D が無い民間人の慢性 P T S D 患者の N I M H コホートからの C S F の慎重に管理された研究では、副腎皮質刺激ホルモ

50

ン放出因子 (C R F)、 I L - 6、 B D N F、 I G F - 1 及びサブスタンス P の濃度が正常な対照の C S F におけるレベルと同一であった [1]。これらの結果は、サイトカインまたはケモカインが P T S D に関与していない可能性もあることを示唆しているように見える。

【発明の概要】

【 0 0 0 6 】

本発明は、対象が心的外傷後ストレス障害 (P T S D) を発症するリスクがあるかどうかを判断する方法であって、単球走化性タンパク質 1 (M C P - 1) に対する単球走化性タンパク質 4 (M C P - 4) の比を求めることと、 M C P - 4 / M C P - 1 比 (M M R) を正常な M M R と比較することを含む方法に関する。正常な比を超えた M M R の上昇は、対象が P T S D を患うリスクが増加していることを示す。

10

【 0 0 0 7 】

本発明は、対象における心的外傷後ストレス障害 (P T S D) の進行を監視する方法であって、少なくとも異なる 2 日に対象の M M R を求めることと、経時的に M M R を比較して、対象の M M R が経時的に変化しているかどうかを判断することを含む方法に関する。対象の M M R の経時的な増加は、対象において P T S D が進行していることを示す。

【 0 0 0 8 】

本発明は、対象の心的外傷後ストレス障害 (P T S D) を診断する方法であって、対象の M M R を求めることと、 M M R を正常な M M R と比較することを含む方法に関する。正常な比を超えた M M R の上昇は、対象が P T S D を有するか、または患っていることを示す。

20

【 0 0 0 9 】

本発明はまた、男性対象の P T S D を診断する方法であって、男性対象から得られた少なくとも 1 つのサンプル中の単球走化性タンパク質 1 (M C P - 1) ならびに胸腺及び活性化制御ケモカイン (T A R C) から成る群から選択される少なくとも 1 つのマーカーのレベルを求めることと、少なくとも 1 つのサンプル中の M C P - 1 または T A R C レベルを正常な M C P - 1 または T A R C レベルと比較して、男性対象の M C P - 1 または T A R C レベルが正常な M C P - 1 または T A R C レベルと比較して変化しているかどうかを判断することを含む方法に関する。男性対象の M C P - 1 または T A R C レベルの変化は、男性対象が P T S D を患うリスクが増加していることを示す。

30

【 0 0 1 0 】

本発明はまた、女性対象の P T S D を診断する方法であって、女性対象から得られた少なくとも 1 つのサンプル中の単球走化性タンパク質 4 (M C P - 4) 及び単球相互作用タンパク質 1 (M I P - 1) から成る群から選択される少なくとも 1 つのマーカーのレベルを求めることと、少なくとも 1 つのサンプル中の M C P - 4 または M I P - 1 レベルを正常な M C P - 4 または M I P - 1 レベルと比較して、女性対象の M C P - 4 または M I P - 1 レベルが正常な M C P - 4 または M I P - 1 レベルと比較して変化しているかどうかを判断することを含む方法に関する。女性対象の M C P - 4 または M I P - 1 レベルの変化は、女性対象が P T S D を患うリスクが増加していることを示す。

40

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 1 】

【図 1】図 1 (A ~ I) は、 2 A M (a) 及び 9 A M (b) における P T S D 及び健康な対照の血漿中、ならびに 9 A M における C S F (c) 中の M C P - 4、 M C P - 1 及び M C P - 4 / M C P - 1 比のドット・プロット分布を示す。(a、 b、 c) . P T S D 血漿中の M C P - 1 (単球走化性タンパク質 - 1、 C C L 2) は低い。(d、 e、 f) . P T S D 血漿中の M C P - 4 (単球走化性タンパク質 - 4、 C C L 1 3) は高い。 C S F 中の M C P - 4 のレベルは、ほとんどないくらい低く、正確に測定できない。(g、 h、 i) . 2 A M の P T S D 血漿 (約 2 0 %、 p = 0 . 0 2) 及び 9 A M の P T S D 血漿 (約 6 6 %、 p = 0 . 0 0 4) 中の M C P - 4 / M C P - 1 比は上昇している。すべての p 値は両側である。水平な点線は、検出の下限 (L L O D) である。

50

【図2】図2(A~D)は、MCP-4/MCP-1比に関する、ならびに個々にMCP-4及びMCP-1に関する概日リズムに対するPTSDの影響を示す。(a) . PTSD患者及び健康な対照におけるMCP-4/MCP-1比に関する概日リズム。点線の曲線は、各時点におけるデータの+/-2標準偏差である。(b) . MCP-4/MCP-1比に関する概日リズムデータであり、そのデータは患者毎に正規化され、高頻度の変動に対してフィルタリングされたものである。(c) . MCP-4単独に関する概日リズムデータであり、そのデータは患者毎に正規化され、高頻度の変動に対してフィルタリングされたものである。(d) . MCP-1単独に関する概日リズムデータであり、そのデータは患者毎に正規化され、高頻度の変動に対してフィルタリングされたものである。PTSDは、MCP-4/MCP-1比の両方の相及び振幅、ならびにその構成成分分析物に影響を及ぼすようである。

10

【図3】健康な対照及びPTSD患者におけるMCP-4及びMCP-1の追跡を示す。(a)健康な対照；(b)PTSD患者。

【図4】図4(A~B)は、PTSD患者及び健康な対照におけるMCP-4及びMCP-1の血漿中濃度を示す。(a)絶対濃度；(b)平均濃度。

【図5A】本発明の実施形態に関する受信者操作者曲線(ROC)に対する曲線下面積(AUC)を示す。

【図5B】本発明の実施形態に関する受信者操作者曲線(ROC)に対する曲線下面積(AUC)を示す。

【図5C】本発明の実施形態に関する受信者操作者曲線(ROC)に対する曲線下面積(AUC)を示す。

20

【図5D】本発明の実施形態に関する受信者操作者曲線(ROC)に対する曲線下面積(AUC)を示す。

【図6】さまざまなケモカインに関するROCに対するAUCを示す。

【図7A】PTSD及び対照における血漿ケモカインの概日依存性を示す。

【図7B】PTSD及び対照における血漿ケモカインの概日依存性を示す。

【図7C】PTSD及び対照における血漿ケモカインの概日依存性を示す。

【図7D】PTSD及び対照における血漿ケモカインの概日依存性を示す。

【図7E】PTSD及び対照における血漿ケモカインの概日依存性を示す。

【図7F】PTSD及び対照における血漿ケモカインの概日依存性を示す。

30

【図7G】PTSD及び対照における血漿ケモカインの概日依存性を示す。

【図7H】PTSD及び対照における血漿ケモカインの概日依存性を示す。

【図8】図8(A~D)は、PTSDの患者及び健康な対照に関するある概日期間にわたる血漿中のMCP-4/MCP-1比の分布を示す。

【図9】図9(A~D)は、PTSDの患者及び健康な対照に関するある概日期間にわたる血漿中のMIP-1の分布を示す。

【図10】図10(A~D)は、PTSDの患者及び健康な対照に関する概日期間にわたる血漿中のTARCの分布を示す。

【発明を実施するための形態】

【0012】

40

本発明は、対象が心的外傷後ストレス障害(PTSD)を発症するリスクがあるかどうかを判断する方法であって、単球走化性タンパク質1(MCP-1)に対する単球走化性タンパク質4(MCP-4)の比を求めると、MCP-4/MCP-1比(MMR)を正常なMMRと比較することを含む方法に関する。正常な比を超えたMMRの上昇は、対象がPTSDを患うリスクが増加していることを示す。

【0013】

MCP-4(CCL13)及びMCP-1(CCL2)はともに67%の配列相同性を共有し、単球に対する、ならびにそれより低い程度にリンパ球及び好塩基球に対する分子誘引物質(「ケモカイン」)として機能する。両ケモカインはまた、共通受容体としてCCR2を共有する[29、30]。Segmanら(2005年)[31]は、イスラエ

50

ルにおけるテロ攻撃の生存者の末梢血単核細胞 (P B M N) を調査した。 Y e h u d a ら (2 0 0 9) [3 2] は、ニューヨークの世界貿易センター攻撃の生存者の全血発現パターンを調査した。 N e y l a n ら (2 0 1 1) [3 3] は、 P T S D、ならびに他の併存症を有する男性及び女性の精製 C D 1 4 + 単球を調査した。 3 つすべてのケースに共通の観察結果は、遺伝子発現の抑制であった。血液採取のタイミングについては、これらの刊行物では言及されていなか、または提言されていなかった。

【 0 0 1 4 】

2 つの単球ケモカイン、 M C P - 4 (C C L 1 3) と M C P - 1 (C C L 2) の比は、 P T S D に対する時間非依存的な二変数の血漿バイオマーカーを構成する。さらに、 P T S D 患者の血漿には定量的に高い M C P - 4 / M C P - 1 比、及びその構成する個々の分析物に重なる、乱れた概日パターンが存在する。これらの結果は、 M C P - 4 / M C P - 1 比を含むバイオマーカーが、それもまた P T S D 患者を特徴づける可能性のある概日生物学における付加的な欠陥とは無関係であることを示唆する。

10

【 0 0 1 5 】

しかしながら、最近の研究は、循環単球が自律的概日時計によって駆動される内生的 M C P - 1 発現と一致する概日振動を示し、その時間依存的変動は感染または代謝ストレスとは無関係であることを示す [3 4、3 5]。ヒトでは、循環単球、 T リンパ球及び B リンパ球に関して 1 A M から 3 A M の間の時間を含む夜間のピーク血中レベルを確認することができる [3 6]。夜間の単球は、 M C P - 1 の発現を活性化する [3 4]。循環単球、 B 細胞及び T 細胞のレベルは、約 4 A M に始まり低下し始める [3 6]。同時に、 M C P - 1 の単球発現は、転写因子 C L O C K、 B M A L 1 及び E Z H 2 によってブロックされる [3 4]。健康な対照 (H C) の M C P - 1 血漿レベルもまた 2 A M から 9 A M に約 7 0 % 有意に低下する ($p = 0 . 0 0 1$) (下記表 1 及び図 1)。 P T S D 患者の場合も、 M C P - 1 レベルは低下するが、より大きな割合、約 9 0 %、より高い有意性 ($p = 2 \times 1 0^{-6}$) で低下する。このプロセスも概日パターンにおいてさらに詳細に見られる。したがって、この疾患固有の差は、 P T S D 固有の M C P - 4 / M C P - 1 バイオマーカーのより小さい分母部分をもたらす M C P - 1 に関する動力学的根拠である可能性がある。

20

【表 1】

分析物	健康な対照				PTSD患者			
	比 (CSF/血漿)	p 値	%R>2	%R<0.5	比 (CSF/血漿)	p 値	%R>2	%R<0.5
GM-CSF	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.
IFN- γ	$\uparrow 1.3 \pm 0.4$	0.406	44%	22%	$\approx 0.9 \pm 0.4$	0.890	25%	13%
IL-10	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.
IL-12 p70	~LLOD	0.857	50%	40%	~LLOD	0.703	20%	40%
IL-1 β	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.
IL-2	$\uparrow 2.4 \pm 0.6$	0.009	56%	0%	$\uparrow 2.0 \pm 0.8$	0.098	44%	22%
IL-6	$\uparrow 1.6 \pm 0.5$	0.211	38%	13%	$\uparrow 1.8 \pm 0.4$	0.020	45%	0%
IL-8	$\uparrow 20.4 \pm 5.5$	2E-06	100%	0%	$\uparrow 17.7 \pm 4.6$	1E-06	100%	0%
TNF- α	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.
エオタキシン-1	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.
エオタキシン-3	$\approx 1.1 \pm 0.1$	0.649	0%	0%	0.9 ± 0.1	0.397	0%	9%
IP-10	$\uparrow 3.6 \pm 1.1$	0.001	90%	10%	$\uparrow 2.6 \pm 1.0$	0.024	73%	9%
MCP-1	$\uparrow 9.0 \pm 1.3$	2E-07	100%	0%	$\uparrow 9.5 \pm 1.3$	4E-08	100%	0%
MCP-4	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.
MDC	$\downarrow 18.6 \pm 5.6$	1E-04	0%	100%	$\downarrow 11.6 \pm 3.1$	5E-04	0%	100%
MIP-1 β	$\uparrow 5.1 \pm 1.0$	1E-05	90%	0%	$\uparrow 3.8 \pm 0.9$	2E-04	82%	0%
TARC	$\downarrow 10.1 \pm 8.6$	0.039	0%	67%	$\downarrow 4.7 \pm 2.6$	0.038	11%	67%
血漿のMCP-1対CSFのIL-6	$\uparrow 7.5 \pm 1.9$	4E-04	100%	0%	$\uparrow 11.1 \pm 3.9$	5E-05	100%	0%

\uparrow PTSD>HC; \downarrow PTSD<HC

~LLOD: (すなわち、分析物が9 AMの血漿または9 AMのCSFのいずれかにおいて正確に算出するには少な過ぎる。
n. a. : 利用不可

【0016】

遺伝的性質または血漿MCP-4の起こりうる概日変動についてはあまり知られていない。しかしながら、MCP-4血漿レベルも、PTSD患者におけるわずか約40%の有意な低下($p = 0.01$)と比較して、健康な対照で2 AMから9 AMまでに約60%有意に低下する($P = 0.004$)。このプロセスも概日パターンにおいてさらに詳細に見られる(図2cを参照)。このように、PTSD患者は、覚醒時間が始まると、MCP-4に関してよりもMCP-1がより低下した状態で比較的低下した量のMCP-1及びMCP-4の両方を発現するようである。このように、PTSD患者におけるMCP-4/MCP-1比の上昇は、これら両方の分析物の合成速度のPTSD依存的な変化による可能性もある。

【0017】

睡眠障害は、PTSDの顕著な特徴である[21、22]。したがって、睡眠欠乏がMCP-4及びMCP-1に関する乱れた概日プロファイルの根本的原因であろう可能性もある。しかしながら、完全に機器を装着された正常な男性の総合的な研究において、Bornら(1997)[36]は、24時間の睡眠欠乏体験後、次の24時間は、単球を含む免疫細胞数、ならびにTNF、IL-1、及びIL-6レベルの概日変化の鈍化のみによって特徴づけられたことを報告した。Bornらはまた、相または多峰性の外見に変化はなかったことを報告した。したがって、血漿MCP-4及びMCP-1に関しPTSD患者に観察されるサーカディアンリズムは、疾患固有なようである。さらに、利用可能な一時点においてCSF中のサイトカイン及びケモカインのいずれにもPTSD固有の変動が観察されなかったため、本明細書中で開示されているデータは、単球または免疫細胞生物学における固有の欠陥に対するPTSDの寄与を主張することができる。この結論は、それぞれ、PBMC[31]及び全血[32]ならびにCD14+単核細胞[33]に関する上記の結果と一致する。

【0018】

脳の中核時計機構は、光への曝露及び視交差上核におけるCLOCK/BMAL1シグ

10

20

30

40

50

ナル伝達の活性化によって動く [37]。末梢の補助時計は、視床下部下垂体副腎 (H P A) 軸を介してこの中枢機構からの刺激を受け取り、正確な補助的タイミングをそれ自体の要求に適合させる。健康な対照では、概日時計プログラムは、本質的に順応性があり、例えば、代謝または日の出時間の变化に反応して可逆的に変化することができる [28]。それに反して、慢性精神神経障害は、中枢時計が常時「時間が把握できない」ような症状と関連づけられてきた [38]。しかしながら、P T S D の場合、こうした患者は、M C P - 1 及び M C P - 4 に関して位相変位した末梢時計を示し、少なくとも M C P - 4 の場合、完全に異なるパターンを示す。

【 0 0 1 9 】

例えば、図 2 c は、健康な対照の M C P - 4 レベルが 24 時間にわたり単峰性分布を有することを示す。対照的に、P T S D 患者の M C P - 4 分布における 24 時間にわたる 4 つの個別のピークの変化。M C P - 1 の場合、図 2 d は、健康な対照の M C P - 1 も、深夜の時間にピークに到達し、M C P - 4 に約 2 時間遅れる単峰性分布で分布することを示す (図 3 を参照)。しかしながら、P T S D 患者の M C P - 1 は、主な深夜のピークに約 6 時間遅れ、午後遅く及び夕刻にやや低いレベルに「追いつく」ようである。

【 0 0 2 0 】

ここで提示するデータは、C S F 中の P T S D 固有の変化が 9 A M におけるサイトカイン及びケモカインの単純なスクリーニングからはほとんど検出できないことを示す。実際、検出可能な変化は、I L - 8 の小さな減少だけであった。これらのデータは、同じ C S F サンプルのサイトカインの部分集合に関する B o n n e r (2 0 1 1) によって報告されたデータと一致している。

【 0 0 2 1 】

その一方で、9 A M の C S F と血漿との間に他の濃度勾配が存在する。濃度勾配の最も高い上昇は、I L - 8 (約 1.4 倍上昇)、M C P - 1 (約 7 倍上昇)、I P - 1 0 (約 7 倍上昇)、M I P - 1 及びエオタキシン 3 (とともに約 4 倍上昇) に関してであった。最も減少した分析物は、M C P - 4 (約 80 ~ 100 分の 1 に減少) ; エオタキシン 1 (約 1.8 分の 1 に減少) ; M D C (約 2.5 分の 1 に減少) ; T A R C (約 9 分の 1 に減少) ; 及び T N F (約 6 分の 1 に減少) であった。

【 0 0 2 2 】

本明細書中のデータに基づいて、M C P - 4 / M C P - 1 比は、P T S D に対する定量的な候補バイオマーカーを構成し、これは血液が採取できればいつでも測定可能であるという利益を有する。さらに、比ならびにその個々の構成成分、M C P - 4 及び M C P - 1 の両方に関する概日パターンの発現は、健康な対照と比較して位相変位し、多峰性である。このように、M C P - 4 / M C P - 1 比から入手できる血漿中の相対的な M C P - 4 及び M C P - 1 レベルは、P T S D に対する機能的バイオマーカーとして使用することができる。さらに、これらのデータは、M C P - 4 / M C P - 1 比が、これもまた P T S D 患者に影響を及ぼす可能性もあろう概日生物学におけるいかなる欠陥とも無関係であることを示唆する。

【 0 0 2 3 】

さらに、血漿 M C P - 4 及び M C P - 1 に関する概日リズムが P T S D 患者において乱れている。したがって、場合によっては、単球、または免疫細胞全般が関わる概日リズムの異常がこのクラスの精神病患者を苦しめる行動障害に重要な役割を果たしている可能性もあることも除外できない。

【 0 0 2 4 】

本発明はまた、男性対象の P T S D を診断する方法であって、男性対象から得られた少なくとも 1 つのサンプル中の単球走化性タンパク質 1 (M C P - 1) ならびに胸腺及び活性化制御ケモカイン (T A R C) から成る群から選択される少なくとも 1 つのマーカーのレベルを求めると、少なくとも 1 つのサンプル中の M C P - 1 または T A R C レベルを正常な M C P - 1 または T A R C レベルと比較して、男性対象の M C P - 1 または T A R C レベルが正常な M C P - 1 または T A R C レベルと比較して変化しているかどうかを

10

20

30

40

50

判断することを含む方法に関する。男性対象のMCP-1またはTARCレベルの変化は、男性対象がPTSDを患うリスクが増加していることを示す。

【0025】

MCP-1、すなわち、UniProt受託番号P13500のCCL2は、周知のC-Cモチーフケモカインであり、プロテオグリカンを通して内皮細胞につながれている。MCP-1は、99アミノ酸のタンパク質であり、残基1~23はシグナル配列である。MCP-1は、一般にCCR2及びCCR4受容体に結合する。本明細書中で使用される場合、MCP-1という用語は、特定のアミノ酸配列に限定されず、むしろ対象の血液に見出されるケモカインを意味するよう使用され、このケモカインは任意の標準的または商業的に利用可能な分析、例えば、ELISAアッセイにおいてMCP-1として容易に特徴づけられるであろう。したがって、MCP-1として、例えば、既知のMCP-1タンパク質に対して産生される抗体との結合能力が検出されるあらゆるタンパク質が、本発明の目的でMCP-1と見なされることになろう。いくつかの実施形態において、MCP-1という用語は、MCP-1タンパク質の成熟(シグナル配列を含まない完全長ポリペプチド)型を意味する。

10

【0026】

特定の実施形態において、MCP-1という用語は、配列番号：1のアミノ酸配列と少なくとも約75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一のアミノ酸配列を有するタンパク質を意味する。他の実施形態において、MCP-1という用語は、配列番号：2のアミノ酸配列と少なくとも約75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一のアミノ酸配列を有するタンパク質を意味する。

20

MKVSAAALLCL LLIAATFIPQ GLAQPDAINA PVTCCYN
FTN RKISVQRLAS YRRITSSKCP KEAVIFKTIV AKE
ICADPKQ KWVQDSMDHL DKQTQTPKT (配列番号：1)
QPDAINAPVT CCYNFTNRKI SVQRLASYRR ITSSKCP
KEA VIFKTIVAKE ICADPKQKWV QDSMDHLDKQ TQT
PKT (配列番号：2)

30

【0027】

UniProt受託番号Q92583の胸腺及び活性化制御ケモカイン(TARC、すなわちCCL17)は、周知のC-Cモチーフケモカインであり、一般に胸腺ならびに、それより低い程度で、肺、結腸及び小腸で発現する。TARCは、94アミノ酸のタンパク質であり、残基1~23がシグナル配列を構成する。これは、一般にT細胞に対する走化性因子として働き、T細胞の発生ならびに成熟T細胞の輸送にも関与する可能性がある。TARCは、一般にCCR4受容体と結合する。本明細書中で使用される場合、TARCという用語は特定のアミノ酸配列に限定されず、むしろ対象の血液に見出されるケモカインを意味するよう使用され、このケモカインは任意の標準的または商業的に利用可能な分析、例えば、ELISAアッセイにおいてTARCとして容易に特徴づけられるであろう。例えば、TARCは、完全長ペプチド鎖のアミノ酸位置5及び67に少なくとも2つの天然に存在するパリアントを有する。ただし、両パリアントは、ELISAアッセイでTARCとして検出されるため、両パリアントは本発明の目的でTARCと見なされることになろう。TARCとして、例えば、既知のTARCタンパク質に対して産生される抗体との結合能力が検出されるあらゆるタンパク質が、本発明の目的でTARCと見なされることになろう。いくつかの実施形態において、TARCという用語は、TARCタンパク質の成熟(シグナル配列を含まない完全長ポリペプチド)型を意味する。

40

【0028】

特定の実施形態において、TARCという用語は、配列番号：3のアミノ酸配列と少なくとも約75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、

50

92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一のアミノ酸配列を有するタンパク質を意味する。他の実施形態において、TARCという用語は、配列番号：4のアミノ酸配列と少なくとも約75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一のアミノ酸配列を有するタンパク質を意味する。

MAPLKMLALV TLLLGASLQH IHAARGTNVG RECCLEY
FKG AIPLRKLKTW YQTSEDCSRD AIVFVTVQGR AIC
SDPNNKR VKNVAVKYLQS LERS (配列番号：3)
ARGTNVGREC CLEYFKGAIP LRKLKTWYQT SEDCSR
AIV FVTVQGRAIC SDPNNKRVKN AVKYLQSLER S (配
列番号：4)

10

【0029】

本発明はまた、女性対象のPTSDを診断する方法であって、女性対象から得られた少なくとも1つのサンプル中の単球走化性タンパク質4 (MCP-4) 及び単球相互作用タンパク質1 (MIP-1) から成る群から選択される少なくとも1つのマーカーのレベルを求めることと、少なくとも1つのサンプル中のMCP-4またはMIP-1 レベルを正常なMCP-4またはMIP-1 レベルと比較して、女性対象のMCP-4またはMIP-1 レベルが正常なMCP-4またはMIP-1 レベルと比較して変化しているかどうかを判断することを含む方法に関する。女性対象のMCP-4またはMIP-1 レベルの変化は、女性対象がPTSDを患うリスクが増加していることを示す。

20

【0030】

単球相互作用タンパク質1 (MIP-1) はCCL4 C-Cモチーフケモカインから形成されるケモカインである。具体的には、CCL4ケモカインは、92アミノ酸のタンパク質であり、残基1~23はシグナル配列である。したがって、「成熟」CCL4タンパク質は、完全長CCL4の残基24~92のアミノ酸配列を有する69残基のタンパク質である。MIP-1 は、成熟CCL4タンパク質 (完全長CCL4の残基26~92) の残基3~69を構成するやや短い鎖にさらにプロセッシングされる。本明細書中で使用される場合、MIP-1 は、CCL4の完全長型及び成熟型、ならびに短い形態のCCL4を含んでもよい。特定の実施形態において、MIP-1 という用語は、成熟CCL4鎖及びタンパク質のより短いCCL4鎖 (成熟CCL4の残基3~69) 型のみを意味する。他の特定の実施形態において、MIP-1 という用語は、タンパク質の短い鎖 (成熟CCL4の残基3~69) 型のみを意味する。

30

【0031】

特定の実施形態において、MIP-1 という用語は、配列番号：5 (完全長型) のアミノ酸配列と少なくとも約75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一のアミノ酸配列を有するタンパク質を意味する。他の実施形態において、MIP-1 という用語は、配列番号：6 (成熟CCL4) のアミノ酸配列と少なくとも約75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一のアミノ酸配列を有するタンパク質を意味する。他の実施形態において、MIP-1 という用語は、配列番号：7 (MIP-1) のアミノ酸配列と少なくとも約75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一のアミノ酸配列を有するタンパク質を意味する。

40

MKLCVTVLSL LMLVAAFCSP ALSAPMGSDP PTACCF
YTA RKLPRNFVVD YYETSSLCSQ PAVVFQTKRS KQV
CADPSES WVQEYVYDLE LN (配列番号：5)
APMGSDPPTA CCFSYTARKL PRNFVVDYVE TSSLCSQ

50

PAV VFQTKRSKQV CADPSESWVQ EYVYDLELN (配列番号 : 6)

MGSDPPTACC FSYTARKLPR NFVVDYYETS SLCSQPA VVF QTKRSKQVCA DPSESWVQEY VYDLELN (配列番号 : 7)

【0032】

MCP-4、すなわちUniProt受託番号Q99616のCCL13は、周知のC-Cモチーフケモカインであり、小腸、胸腺、結腸、肺、気管、胃、リンパ節及び肺動脈平滑筋細胞において広く発現する。MCP-4は、98アミノ酸のタンパク質であり、残基1~16はシグナル配列である。成熟または「長い鎖の」MCP-4タンパク質(シグナル配列を含まない完全長タンパク質)は、下に示される中程度の鎖及び短い鎖として知られる2つのさらなる鎖にさらにプロセッシングまたは切断され得る。MCP-4は、一般にCCR2B及びCCR3受容体と結合し、単球、リンパ球、好塩基球及び好酸球を誘引する走化性因子である。本明細書中で使用される場合、MCP-4という用語は、特定のアミノ酸配列に限定されず、むしろ対象の血液に見られるケモカインを意味するよう使用され、このケモカインは任意の標準的または商業的に利用可能な分析、例えば、ELISAアッセイにおいてMCP-4として容易に特徴づけられるであろう。したがって、MCP-4として、例えば、既知のMCP-4タンパク質に対して産生される抗体との結合能力が検出されるあらゆるタンパク質が本発明の目的でMCP-4と見なされることになろう。特定の実施形態において、MCP-4という用語は、成熟MCP-4鎖、タンパク質の中程度のMCP-4鎖型及びより短いMCP-4鎖型のみを意味する。他の特定の実施形態において、MCP-4という用語は、タンパク質の中程度のMCP-4鎖型及びより短いMCP-4鎖型のみを意味する。別の実施形態において、MCP-4という用語は、タンパク質のより短いMCP-4鎖型のみを意味する。

10

20

【0033】

特定の実施形態において、MCP-4という用語は、配列番号：8(完全長型)のアミノ酸配列と少なくとも約75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一のアミノ酸配列を有するタンパク質を意味する。他の実施形態において、MCP-4という用語は、配列番号：9(長い鎖のMCP-4)のアミノ酸配列と少なくとも約75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一のアミノ酸配列を有するタンパク質を意味する。他の実施形態において、MCP-4という用語は、配列番号：10(中程度の鎖のMCP-4)のアミノ酸配列と少なくとも約75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一のアミノ酸配列を有するタンパク質を意味する。他の実施形態において、MCP-4という用語は、配列番号：11(短い鎖のMCP-4)のアミノ酸配列と少なくとも約75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一のアミノ酸配列を有するタンパク質を意味する。

30

40

MKVS AVL LCL LLMTAAFNPQ GLAQP DALNV PSTCCFT FSS K KISLQRLKS YVITTSRCPQ KAVIFRTKLG KEI CADPKEK WVQNYMKHLG RKAHTLKT (配列番号：8)

FNPQGLAQP DALNV PSTCCF TFSSKKISLQ RLKSYVITTS RCPQKAVIFR TKLGKEICAD PKEKWVQNYM KHLGRKAHTL KT (配列番号：9)

LAQP DALNV PSTCCFTFSSK KISLQRLKSY VITTSRCPQK AVIFRTKLGK EICADPKEKW VQNYMKHLGR KAH T L K T (配列番号：10)

50

Q P D A L N V P S T C C F T F S S K K I S L Q R L K S Y V I T T S R C P Q
 K A V I F R T K L G K E I C A D P K E K W V Q N Y M K H L G R K A H T L
 K T (配列番号：11)

【0034】

参照アミノ酸配列、例えば、配列番号：2と少なくとも、例えば、約95%「同一の」アミノ酸配列を有するポリペプチドは、アミノ酸配列が参照アミノ酸配列の各100アミノ酸当たり最大約5つの改変を含んでもよいことを除いて、ポリペプチドのアミノ酸配列が参照配列と同一であることを意味すると理解される。言い換えると、参照アミノ酸配列と少なくとも約95%同一のアミノ酸配列を有するペプチドを得るために、参照配列の最大約5%のアミノ酸残基は、除去されるか、または別のアミノ酸で置換されてもよく、あるいは参照配列の全アミノ酸のうち最大約5%のいくつかのアミノ酸が参照配列に挿入されてもよい。参照配列のこうした改変は、参照アミノ酸配列のN末端もしくはC末端位置またはこれらの末端位置の間のどこかに、参照配列のアミノ酸の間に個々に、または参照配列内の1つ以上の隣接する群にかのいずれかに生じることもある。

10

【0035】

本明細書中で使用される場合、「同一性」とは、参照ヌクレオチドまたはアミノ酸配列と比較したヌクレオチド配列またはアミノ酸配列の同一性の尺度である。一般に、配列は、最高次の一致が得られるようアライメントされる。「同一性」それ自体は当該技術分野において認識されている意味を有し、公開されている技術を使用して算出することができる。(例えば、Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York (1988); Biocomputing: Informatics And Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York (1993); Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey (1994); von Heinje, G., Sequence Analysis In Molecular Biology, Academic Press (1987); and Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York (1991)参照)。2つのポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列間の同一性を評価するためのいくつかの方法が存在するが、「同一性」という用語は、当業者によく知られている(Carillo, H. & Lipton, D., Siam J Applied Math 48:1073 (1988))。2つの配列間の同一性または類似性を求めるために一般的に利用される方法としては、Guide to Huger Computers, Martin J. Bishop, ed., Academic Press, San Diego (1994) and Carillo, H. & Lipton, D., Siam J Applied Math 48:1073 (1988)に開示されているものが挙げられるが、これらに限定されるものではない。コンピュータプログラムはまた、同一性及び類似性を算出する方法及びアルゴリズムを含む場合もある。2つの配列間の同一性及び類似性を求めるためのコンピュータプログラム方法の例としては、GC Gプログラムパッケージ(Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research 12(i):387 (1984))、BLASTP、Expasy、BLASTN、FASTA(Atschul, S. F., et al., J Molec Biol 215:403 (1990))及びFASTDBが挙げられるが、これらに限定されるものではない。同一性及び類似性を求めるための方法の例は、参照により組み込まれるMichaels, G. and Garian, R., Current Protocols in Protein Science, Vol 1, Jo

20

30

40

50

h n W i l e y & S o n s , I n c . (2 0 0 0) に述べられている。

【 0 0 3 6 】

本発明の一実施形態において、2つ以上のポリペプチド間の同一性を求めるために使用されるアルゴリズムは、BLASTPである。本発明の別の実施形態において、2つ以上のポリペプチド間の同一性を求めるために使用されるアルゴリズムは、FASTDBであり、これは、Brutlagらのアルゴリズムに基づくものである（参照により組み込まれるComp. App. Biosci. 6:237-245 (1990)）。FASTDB配列アライメントでは、クエリー配列及び参照配列はアミノ配列である。配列アライメントの結果は、一致率である。一実施形態において、一致率を算出するためのアミノ酸配列のFASTDBアライメントに使用することができるパラメータとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されるものではない：Matrix = PAM、k-tuple = 2、Mismatch Penalty = 1、Joining Penalty = 20、Randomization Group Length = 0、Cutoff Score = 1、Gap Penalty = 5、Gap Size Penalty 0.05、Window Size = 500または対象アミノ配列の長さのどちらか短い方。

10

【 0 0 3 7 】

内部の付加または欠失のためではなくN末端またはC末端の付加または欠失のためにクエリー配列よりも参照配列が短いまたは長い場合、FASTDBプログラムは一致率を算出するときに参照配列のN末端及びC末端の切断または付加を考慮しないため、手動の補正を行ってもよい。N末端またはC末端で切断されたクエリー配列に関して、参照配列に対して、一致しない/アライメントされない参照配列に対するN末端及びC末端であるクエリー配列の残基の数を、クエリー配列の合計の基準となる数に対するパーセントとして算出することによって一致率は補正される。FASTDB配列アライメントの結果は、一致/アライメントを決定する。そのアライメントのパーセンテージは、その後、特定のパラメータを使用した上記のFASTDBプログラムによって算出された一致率から差し引かれて、最終的な一致率スコアに到達する。この補正されたスコアは、アライメントがどのように互いに「対応する」か、ならびにパーセンテージ同一性を判断するために使用することができる。クエリー配列のN末端またはC末端を超えて伸びる参照配列の残基は、一致率スコアを手動で調節するために考慮されてもよい。すなわち、比較配列のN末端またはC末端と一致しない/アライメントされない残基は、一致率スコアまたはアライメントナンバリングを手動で調節するときにカウントされてもよい。

20

30

【 0 0 3 8 】

例えば、90アミノ酸残基のクエリー配列が、一致率を求めるために100残基の参照配列とアライメントされる。クエリー配列のN末端側において欠失が起こるため、FASTDBアライメントは、N末端側の最初の10残基の一致/アライメントを示さない。10の対になっていない残基は、参照配列の10%に相当するため（一致しないN末端及びC末端の残基の数/参照配列の残基の総数）、10%がFASTDBプログラムによって算出された一致率スコアから差し引かれる。残りの90残基が完全に一致した場合（100%のアライメント）、最終的な一致率は、90%（100%の整列 - 10%の一致しないオーバーハング）になることになる。別の例において、欠失が内部の欠失であることを除いて、90残基のクエリー配列が100の参照配列と比較される。この場合、対象配列のN末端またはC末端にクエリーと一致しない/アライメントされない残基がないため、FASTDBによって算出された一致率は手動で補正されない。さらに別の例では、110アミノ酸のクエリー配列が、一致率を求めるために100残基の参照配列とアライメントされる。クエリーにおける付加は、クエリー配列のN末端側に生じるため、FASTDBアライメントはN末端側の最初の10残基の一致/アライメントを示さない可能性もある。クエリー配列の残りの100アミノ酸残基が完全長の参照配列と95%の同一性を有する場合、クエリーのN末端付加は無視され、クエリーの参照配列に対する一致率が95%になることになる。

40

50

【0039】

本明細書中で使用される場合、配列アライメントに関する場合の「と対応する」及び「と対応すること」という用語は、参照タンパク質、例えば、野生型MCP-1内の挙げられた位置、及び参照タンパク質の位置とアライメントされた突然変異体または関連MCP-1のそれらの位置を意味することが意図される。したがって、対象ペプチドのアミノ酸配列が参照MCP-1、例えば、配列番号：2のアミノ酸配列とアライメントされるとき、参照配列の特定の挙げられた位置「と対応する」対象配列のアミノ酸は、必ずしも参照配列のこれらの厳密な数値的な位置ではないが参照配列、例えば、配列番号：2のこれらの位置とアライメントされるものである。配列間の対応するアミノ酸を決定するために配列をアライメントするための方法は、本明細書に記載される。したがって、本発明の実施形態は、MCP-1、MCP-4、TARC及び/またはMIP-1と対応するバイオマーカーを用いてバイオマーカーのレベル（またはそれらの比）を検出すること、または求めることを含む。

10

【0040】

本明細書中で使用される場合、対象または「試験対象」は、哺乳動物、特に、ヒトまたは非ヒト霊長類を示す。試験対象は、PTSDに対する素因の評価を必要としても、またはしなくてもよい。例えば、試験対象は、本発明の方法を適用する前にPTSDに関連づけられるであろう体験の記憶を有しても、または有していなくてもよい。別の実施形態において、試験対象は、本発明の方法を適用する前にPTSDにつながるであろう体験を有した可能性がある対象と特定されていない。

20

【0041】

本明細書中で使用される場合、PTSDは、当該技術分野において一般的に理解されたとおりに使用される。選ばれた実施形態において、対象のPTSDは、当該技術分野において理解されたとおりStructured Clinical Interview for DSM-IV (SCID)を使用して評価される。これもまた当該技術分野において理解されたとおり、PTSDの重症度は、軽度から重度に及ぶ可能性がある。本発明の選ばれた実施形態において、PTSDの重症度は、いつでも、すなわち、対象のMMRを求める前または後に評価することができる。PTSDの重症度は、以下に限定されるものではないが、Clinician-Administered PTSD scale (CAPS)などの任意の手法で評価することができる。

30

【0042】

本明細書中で使用される場合、「リスクの増加」という用語の意味は、試験対象が正常な個体と比較してPTSDを発症する、または得る確率が増加することを意味するよう使用される。リスクの増加は相対的または絶対的でもよく、質的または量的に表されてもよい。例えば、リスクの増加は、対象のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルを単純に求めることと、先行する集団調査に基づいて患者を「リスクの増加」カテゴリーに入れることと表されてもよい。あるいは、対象のリスクの増加の数値的表現は、それぞれMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルに基づいて判断されてもよい。本明細書中で使用される場合、リスクの増加の表現の例としては、オッズ、確率、オッズ比、p値、寄与リスク、相対頻度、陽性的中率、陰性適中率、及び相対的リスクが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

40

【0043】

例えば、対象のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルとPTSDを患っている可能性との間の相関性は、オッズ比(OR)によって及び相対的リスク(RR)によって判断されてもよい。P(R⁺)がリスクプロフィール(R)を有する個体のPTSDを発症する確率であり、P(R⁻)がリスクプロフィールを有さない個体のPTSDを発症する確率である場合、その結果、相対的リスクは2つの確率の比：RR = P(R⁺) / P(R⁻)である。

【0044】

しかしながら、症例対照研究では、相対的リスクの直接的な尺度は、サンプリング設計

50

のために得られない場合が多い。オッズ比は低い発生率の疾患に対する相対的リスクの近似値を考慮し、 $OR = (F^+ / (1 - F^+)) / (F^- / (1 - F^-))$ により算出することができ、 F^+ は、症例研究のリスクプロファイルの頻度であり、 F^- は、対照のリスクプロファイルの頻度である。 F^+ 及び F^- は、研究の MMR 頻度を使用して算出することができる。

【0045】

寄与リスク (AR) は、リスクの増加を表すために使用することができる。AR は、集団において MMR あるいは TARC レベル及び / または MIP - 1 レベルの特定のメンバーが原因で PTSD を呈する個体の割合を示す。AR はまた、個々のマーカーの状態の病因において及び公衆衛生に及ぼす影響に関して個々の構成成分 (特定のメンバー、例えば、MCP - 4 または MCP - 1) の役割を定量する際に重要な場合もある。AR の測定の公衆衛生への関連性は、MMR、TARC レベル及び / または MIP - 1 レベルあるいは個々の構成成分が正常と見なされる場合に防げるであろう集団における PTSD の症例の割合を推定することにある。AR は、以下のとおり求めることができ： $AR = P_E (RR - 1) / (P_E (RR - 1) + 1)$ 、この場合、AR は、MMR、TARC レベル及び / または MIP - 1 レベルに起因するリスクであり、 P_E は、全体としての集団内の MMR、TARC レベル及び / または MIP - 1 レベルに対する曝露の頻度である。RR は、相対的リスクであり、これは、研究下の MMR、TARC レベル及び / または MIP - 1 レベルが母集団において比較的低い発生率を有する場合、オッズ比に近づけることができる。

10

20

【0046】

一実施形態において、患者のリスクの増加は、関連研究から導き出される p 値から求めることができる。具体的には、特定の MMR、TARC レベル及び / または MIP - 1 レベルとの関連づけは、MMR、TARC レベル及び / または MIP - 1 レベルの PTSD との回帰推定をすることによる回帰分析を使用して行うことができる。さらに、回帰は、1 つ以上の要因に関して補正または調節されても、またはされなくてもよい。分析が調節され得る要因としては、いくつか挙げるならば年齢、性別、体重、民族、地理的位置、絶食状態、妊娠または妊娠後の状態、月経周期、対象の全身の健康状態、アルコールまたは薬物摂取、カフェインまたはニコチン摂取及び概日リズムならびに対象の遺伝子型が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

30

【0047】

リスクの増加はまた、ロジスティック回帰を使用して導き出される p 値から求めることができる。二項 (または二変数) のロジスティック回帰は、従属が二分であり、独立があらゆるタイプである場合に使用される回帰の形態である。ロジスティック回帰は、連続及び / またはカテゴリー独立に基づいて従属変数を予測するため、及び独立によって説明される従属変数の分散のパーセントを求めるため；独立の相対的重要性を順位付けするため；相互作用効果を評価するため；及び共変量の統制変数の影響を理解するために使用することができる。ロジスティック回帰は、従属の「ロジット」変数 (生じるかまたは生じない従属のオッズの自然対数) への変換後に最大尤推定法を利用する。このように、ロジスティック回帰は、特定の事象が生じる確率を推定する。こうした分析は、プログラム SAS により行われる。

40

【0048】

試験サンプルの MMR、TARC レベル及び / または MIP - 1 レベルの個々の構成成分のレベルをアッセイするための手法は当業者によく知られており、本発明は構成成分が評価される手段に限定されない。一実施形態において、MMR、TARC レベル及び / または MIP - 1 レベルの個々の構成成分のレベルは、いくつか例を挙げると、超高速液体クロマトグラフィー (UPLC) と連結した質量分析、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、及び UPLC を使用して評価される。個々の構成成分のレベルを評価するその他の方法としては、以下に限定されないが、ELISA アッセイなどの生物学的方法が挙げられる。

50

【0049】

MMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルの個々の構成成分のレベルの評価は、絶対値または相対値として表すことができ、別の構成成分、標準的な内部標準またはサンプル中にあることがわかっている別の化合物の分子に関して表されても、または表されなくてもよい。標準物質または内部標準と比較してレベルが評価される場合、標準物質は、サンプル処理前、間、または後に試験サンプルに添加されてもよい。

【0050】

対象のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルは、正常なMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルと考えられるMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルと比較される。正常な個体のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルを確立するために、個体または個体の群は、まずPTSDに関して評価され、個体または個体の群がPTSDを患っていないことを立証してもよい。立証されたら、その後、その個体または個体の群のMMRが求められ、「正常な」MMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルを確立してもよい。一実施形態において、正常なMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルは、対象がPTSDを患っていないか、またはその徴候（臨床的もしくはその他の点）を示していないと考えられるときに同じ対象から確認することができる。一実施形態において、「正常な」MMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルは、測定可能な、認知可能なまたは診断されるPTSDの発症前にサンプルが採取される同じ対象において評価される。すなわち、MMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルに対して「正常な」という用語は、PTSDの発症前の対象の基準MMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルを意味するよう使用することができる。MMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルは、その後、定期的に再評価され、対象の基準MMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルと比較されてもよい。したがって、本発明はまた、（PTSDの処置の有効性を監視することを含む）対象におけるPTSDの進行を監視する方法であって、対象のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルを少なくとも2日以上2つ以上の期間にわたって求めることを含む方法を含む。本明細書中で使用される場合、「日」は24時間の期間であり、必ずしもカレンダーの異なる日ではない。例えば、本発明の方法のいくつかの実施形態は、1年、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年もしくはさらに10年以上などの2、3、4、5、6、7、8、9、10時間またはさらにそれ以上の期間にわたって対象のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルを求めることを含むことになる。対象のPTSDを患うリスクを監視する方法は、対象のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルがPTSDの処置の間及び後に評価される実施形態も含むことになる。言い換えると、本発明はまた、処置の過程にわたって及び処置後に対象のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルを評価することによってPTSDの処置の効果を監視する方法を含む。処置は、MMRの症状または根本的原因を処置するために設計された任意の処置であってもよい。

【0051】

別の実施形態において、正常なMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルは、異なる対象または患者（分析されている対象から）からのサンプルにおいて評価され、この異なる対象はPTSDを有していないか、または有している疑いがない。さらに別の実施形態において、正常なMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルは、健康な個体の集団において評価され、その構成成分はPTSDの徴候を示さない。したがって、対象のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルは、1つの正常なサンプルから形成された正常なMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルまたは2つ以上の正常なサンプルから形成されたMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1 レベルと比較することができる。

【0052】

本発明はまた、対象における心的外傷後ストレス障害（PTSD）の進行を監視する方

10

20

30

40

50

法であって、少なくとも異なる2日の対象のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルを求めると、MMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルを経時的に比較して、対象のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルが経時的に変化しているかどうかを判断することを含む方法に関する。対象のMMR及び/またはMIP-1レベルの経時的な増加は、対象においてPTSDが進行していることを示す。対象のTARCレベルの経時的な低下は、対象においてPTSDが進行していることを示す。

【0053】

本発明はまた、対象の心的外傷後ストレス障害（PTSD）を診断する方法であって、対象のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルを求めると、そのMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルを正常なMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルと比較することを含む方法に関する。正常なMMR及び/またはMIP-1レベルを超えたMMR及び/またはMIP-1レベルの上昇は、対象がPTSDを有するか、または患っていることを示す。正常なTARCレベルを超えたTARCレベルの低下は、対象がPTSDを有するか、または患っていることを示す。

10

【0054】

本発明はまた、心的外傷後ストレス障害（PTSD）の対象を治療する方法であって、本明細書に記載の本発明の方法を使用することによって対象がPTSDを有することを判断することと、PTSDを有する対象にPTSDを処置するための治療計画を施すこととを含む方法に関する。PTSDを処置するために使用される治療計画は、以下に限定されるものではないが、認知行動療法（CBT）、もう1つの選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）の投与、1つ以上の抗不安薬の投与及び1つ以上の抗不眠薬の投与を含む。具体的には、治療の方法は、対象から得られたサンプル中のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルを求めると、サンプル中のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルを正常なMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルと比較して、対象のMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルが正常なMMR、TARCレベル及び/またはMIP-1レベルと比較して変化しているかどうかを判断することを含み、正常なMMRを有すると定義されたものと比較した対象のMMRの変化は、対象がPTSDを患っていることを示す。正常なMMR及び/またはMIP-1レベルを超えたMMR及び/またはMIP-1レベルの上昇は、対象がPTSDを有するか、または患っていることを示す。正常なTARCレベルを超えたTARCレベルの低下は、対象がPTSDを有するか、または患っていることを示す。この判断に続いて、対象は、PTSDを処置するための治療計画を施される。

20

30

【0055】

選ばれた実施形態において、PTSDを患っている対象に投与されるSSRIは、シタロプラム、ダポキセチン、エスシタロプラム、フルオキセチン、フルボキサミン、インダルピン、パロキセチン、セルトラリン及びジメリジンから成る群から選択される。

【0056】

本発明はまた、本発明の方法に使用できるキットに関する。具体的には、本発明は、PTSDを診断、監視及び/または処置するためのキットであって、固体基板に固定され、MCP-1、MCP-4、TARC及びMIP-1のうち少なくとも1つと特異的に結合する1セット以上の抗体を含むキットを提供する。特定の実施形態において、本キットは、固体基板に固定された少なくとも2セットの抗体を含み、1セットの抗体は、MCP-1に向けられ、第2のセットの抗体はMCP-4に向けられる。特定の実施形態において、本キットは、固体基板に固定された少なくとも4セットの抗体を含み、1セットの抗体はMCP-1に向けられ、第2のセットの抗体はMCP-4に向けられ、第3のセットの抗体はTARCに向けられ、第4のセットの抗体はMIP-1に向けられる。

40

【0057】

基板に固定される抗体は、標識化されていても、またはされていなくてもよい。例えば

50

、抗体は、特異的なタンパク質の結合により標識をはずすことが可能で、サンプル中のマーカーの存在がシグナルの不在によって示されるような様式で、標識化されてもよく、例えば、標識タンパク質と結合させられてもよい。さらに、基板に固定される抗体は、表面に直接または間接的に固定されてもよい。抗体などのタンパク質を固定するための方法は当該技術分野において周知であり、そのような方法は、標的タンパク質、例えば、T A R C または別の抗体を基板の表面に固定するために使用することができ、その表面上に特異的なバイオマーカーに向けられた抗体を、その後、特異的に結合させることができる。この手法では、特定のバイオマーカーに向けられた抗体が、本発明の目的で基板の表面に固定される。

【 0 0 5 8 】

本発明のキットは、対象からのサンプルを収集するための容器及び1つ以上の試薬、例えば、検量線を準備するためのM C P - 1、M C P - 4、T A R C またはM I P - 1 などの精製標的バイオマーカーを含んでも、または含まなくてもよい。本キットは、洗浄バッファー、標識試薬及び標識の存在（または不在）を検出するために使用される試薬などの付加的な試薬を含んでも、または含まなくてもよい。

【 実施例 】

【 0 0 5 9 】

実施例 1 - 方法及び材料

薬物療法を受けていない一般の慢性P T S Dの12人の外来患者（年齢中央値 歳、女性8人/男性4人）及び心的外傷を受けていない健康な11人の対象（年齢中央値29.5歳、女性5人、男性5人）を元のコホート研究から選択した。

【 0 0 6 0 】

健康な対照の対象は、年齢、性別及びB M Iに関して可能なかぎり厳密にP T S D患者と一致させるよう選択した。ここで研究したP T S D患者の部分集合において、P T S D前の心的外傷は、5人の対象で思春期前、7人の対象で成人としてであった。心的外傷にさらされてからの経過時間は、思春期前の心的外傷で 26 ± 4 年、成人の曝露で 10.1 ± 8.8 年であった。患者は、その他の点では身体的に健康で、研究前の少なくとも6ヶ月間アルコールもしくは物質乱用、または依存症に対する基準を満たさず、腰椎穿刺及び付随する静脈穿刺前の少なくとも3週間は向精神薬を与えられていなかった。ただし、P T S D患者に必要とされる薬物療法を受けていない期間は、前にフルオキセチンまたは他のS S R Iを服用した患者に対しては6週間に延長した。さらに、心的外傷の経歴があるが、後に続くP T S Dの病歴はない4人の患者（女性3人及び男性1人）が含まれた。これら後者の患者はこの研究には含まれなかったが、これらの「心的外傷対照」に関するデータは健康な対照と統計学的に異ならなかった。

【 0 0 6 1 】

S t r u c t u r e d C l i n i c a l I n t e r v i e w f o r D S M - I V (S C I D) を使用して精神医学的診断を確立した。P T S Dの重症度は、C l i n i c i a n - A d m i n i s t e r e d P T S D S c a l e (C A P S) を使用して決定した。抑うつ症状、不安症状及び全般的な症状の重症度を、それぞれ抑うつ症状尺度 (I D S)、ハミルトン不安評価尺度 (H A M A) 及び臨床全般重症度 (C G I - S) を使用して評価した。P T S Dの個人及び対照は、年齢、性別分布、人種、またはボディマスインデックス (B M I) に関して異ならないものとした。P T S Dの重症度は、 73.1 ± 10.3 のC A P Sスコアで中等度であった。うつ病症状 (I D S 16.4 ± 8.2)、不安症状 (H A M A 13.1 ± 6.8) 及び全般的な症状 (C G I - S 4 ± 1.2) の重症度も中等度であった。

【 0 0 6 2 】

血液サンプルをP T S D患者及び健康な対照患者から採取した。この研究のために、患者に留置静脈カテーテルを埋め込み、27時間にわたって1時間毎に血液を採取した。全血漿採取過程に9 A Mの時点が少なくとも2回あるものとし、2回目の9 A Mの時点からのサンプルを分析のために選択した。確実に留置カテーテルから手動で採取した血液サン

10

20

30

40

50

ブルをすぐにクエン酸ナトリウムで抗凝固処理し、遠心分離によって血漿を回収するよう注意を払った。また、確実に夜間のサンプル採取は患者の睡眠を邪魔することなく行うよう注意を払った。遠心分離の直後に、上清溶液を分けて、 -80°C で保存した。

【0063】

腰椎穿刺 (LP) は、経験を積んだ医師が 8:00 から 9:00 AM の間に行った。20ゲージの導入針を挿入し、およそ 15 cc の CSF を抜き取り、4,000 RPM で遠心分離し、 -80°C でアリコートとして凍結した。LPS は、血漿採取とは異なる日に抜き取った。

【0064】

サイトカイン及びケモカインに対する2つの多重アッセイを、SECTOR (登録商標) Imager 6000 機器 (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD) における患者及び対照血漿サンプルの分析に使用した。これらのアッセイの第1は、IL-2、IL-8、IL-12p70、IL-1、GM-CSF、IFN- γ 、IL-6、IL-10及びTNF- α を測定するための Human Proinflammatory 9 Plex Assay であった (Meso Scale カタログ番号 K15007C-4)。これらのアッセイの第2は、エオタキシン1、MIP-1 α 、エオタキシン-3、TARC、IP-10、IL-8、MCP-1 (CCL2)、MDC、及び MCP-4 (CCL13) の測定のための Human Chemokine 9 Plex Assay であった (カタログ番号 K15001C-1)。このサンプルを特定のサイトカインに対する捕捉抗体によりプレコートされたプレートに加えた。そのプレートに封をし、室温で2時間振盪した。そのプレートを PBS + 0.05% Tween-20 中で洗浄し、その後、検出抗体溶液 ($1\times$ または $1\mu\text{g/mL}$) を添加した。そのプレートに封をし、室温で2時間振盪した。その後、そのプレートを PBS + 0.05% Tween-20 中で洗浄した。読み取りバッファを2倍の濃度で添加し、プレートを SECTOR[®] 6000 Imager において読み取った。

【0065】

データポイントは、再現性のある技術的反復、標準曲線の直線部分内に存在する低い%係変動数 ($CV < 5\%$) 及び検出の下限 (LLOD) より上の値に基づいて特徴づけられた。PTSDのサンプルと正常な対照との間の差を両側t検定を使用して算出し、必要に応じて $p = 0.05$ レベルまたは平均からの2以上の標準偏差 ($SD = 2.0$) を有意とした。健康な対照のCSFからのすべての分析物に対する値は、分析のための業界標準の Meso Scale 電気化学発光 Sector 6000 プラットフォームを使用した他の人によって公開されたデータと統計学的に区別できなかった [23~26]。相対的な概日変動の分析のために、個々の患者に関する値をその個々の24時間の平均に正規化し、それぞれの患者に関する変化をパーセンテージとして算出した。そのパーセンテージを各時間に対して加えて、PTSD患者及び健康な対照患者に関する合成プロフィールを作成した。時間を血液サンプルの採取を開始した日の日の出時間に標準化した ($Z = 0$ 、ツァイトゲバー)。概日リズムは、データを余弦関数に当てはめることによってモデル化した。

【0066】

実施例2 - 結果

下記表2は、9 AMの時点においてPTSD及び健康な対照の両方の患者から採取した血漿中のサイトカイン及びケモカインの測定値を示す。MCP-4は、約43%有意に上昇した。 p 値は0.01であり、曲線下面積 (「AUC」) は0.82である。対照的に、MCP-1は約20%減少した。AUC値はこれも0.82である。したがって、MCP-1及びMCP-4データは反対の方向に層別化する。

【0067】

表2の最後の行に示されるとおり、これらの2つの反対方向の分類指標を割ることによる、MCP-4/MCP-1比はPTSD血漿で84%上昇し、9 AMに採取したPTSD血漿に対する極めて有意な候補測定規準を提供する。0.004の低い p 値及び0.8

10

20

30

40

50

4 の高い AUC 値の両方に基づいてこの差は有意である。この PTSD 固有の測定規準は、2 AM よりも 9 AM においてより高い値を有し（以下参照）、これは、シグナルが日中のものである可能性もあることを示す。

【表 2】

分析物	PTSD ¹	HC ¹	p 値 ²	比 ³	AUC ⁴
GM-CSF	~LLOD	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.
IFN- γ	~LLOD	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.
IL-10	0.79 \pm 0.24	0.69 \pm 0.32	0.21	\approx 1.15 \pm 0.60	0.69
IL-12 p70	~LLOD	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.
IL-1 β	0.08 \pm 0.02	0.18 \pm 0.04	0.01	\downarrow 2.12 \pm 0.63	0.71
IL-2	0.15 \pm 0.04	0.17 \pm 0.05	0.72	\approx 0.93 \pm 0.38	0.55
IL-6	0.47 \pm 0.04	0.77 \pm 0.16	0.15	\downarrow 1.62 \pm 0.33	0.74
IL-8	1.67 \pm 0.56	1.98 \pm 0.59	0.67	\approx 0.84 \pm 0.37	0.52
TNF- α	2.57 \pm 0.41	1.57 \pm 0.22	0.03	\uparrow 1.64 \pm 0.34	0.76
エオタキシン	503.45 \pm 37.95	496.61 \pm 37.29	0.91	\approx 1.01 \pm 0.11	0.52
エオタキシン-3	6.90 \pm 0.55	6.42 \pm 0.38	0.58	\approx 1.07 \pm 0.10	0.63
IP-10	226.06 \pm 30.53	149.66 \pm 13.37	0.04	\uparrow 1.51 \pm 0.24	0.73
MCP-1	171.11 \pm 17.01	207.10 \pm 17.49	0.14	\approx 0.83 \pm 0.11	0.82
MCP-4	298.35 \pm 27.00	208.62 \pm 23.94	0.01	\uparrow 1.43 \pm 0.20	0.77
MDC	1850.02 \pm 155.12	1680.60 \pm 167.21	0.40	\approx 1.10 \pm 0.14	0.61
MIP-1 β	65.83 \pm 8.12	55.58 \pm 4.77	0.36	\approx 1.18 \pm 0.17	0.66
TARC	85.52 \pm 13.86	67.32 \pm 10.24	0.30	\uparrow 1.27 \pm 0.28	0.70
MCP1/MCP4	0.61 \pm 0.06	1.12 \pm 0.18	4E-03	\downarrow 1.84 \pm 0.33	0.84
MCP4/MCP1	1.82 \pm 0.19	1.10 \pm 0.16	4E-03	\uparrow 1.66 \pm 0.28	0.84

10

20

【0068】

PTSD の 9 AM の血漿中のいくつかの他の個々のサイトカイン及びケモカインも、健康な対照の血漿と比較して有意に異なった。有意に異なるサイトカイン及びケモカインには、IL-1（2分の1に減少；p = 0.04；AUC = 0.71）；TNF-（約64%上昇；p = 0.03；AUC = 0.76）；及びIP-10（約50%上昇；p = 0.04；AUC = 0.73）が含まれた。それでもなお、これらの差は有意ではあったが、これらは相対的に中程度であり、受信者操作特性（ROC）から算出したAUC値も中程度であった。

30

【0069】

2 AM における PTSD 血漿中のサイトカイン及びケモカインの測定

下記表 3 は、2 AM に PTSD 及び健康な対照の両方の患者から採取した血漿中のサイトカイン及びケモカインの測定値を示す。この表は、2つの分析物、MCP-1及びMCP-4は依然として反対方向に変動し、それぞれが一覧の最も高いAUC値中にあったことを示す。PTSDの症例に関して、表3の最後の行は、健康な対照と比較してPTSD患者の血漿中のMCP-4/MCP-1比が34%上昇したことを示す。P値は、両側t検定に基づいて、0.02であり、ROC曲線は、0.75のAUCを有している。したがって、多パラメータ分析はまた、MCP-4/MCP-1比を、9 AM 及び 2 AM の両血漿サンプル中の PTSD 及び健康な対照に対する2値の候補分類指標として特定した。

40

【表 3】

分析物	PTSD ¹	HC ¹	p 値 ²	比 ³	AUC ⁴
GM-CSF	0.39 ± 0.06	0.49 ± 0.09	0.50	≒ 0.81 ± 0.18	0.63
IFN-γ	1.01 ± 0.15	1.01 ± 0.15	0.96	≒ 1.00 ± 0.30	0.56
IL-10	2.45 ± 0.64	1.76 ± 0.56	0.22	↑ 1.40 ± 0.55	0.65
IL-12 p70	1.21 ± 0.37	0.67 ± 0.15	0.46	↑ 1.82 ± 0.66	0.53
IL-1β	0.16 ± 0.03	0.22 ± 0.04	0.14	↓ 1.35 ± 0.36	0.68
IL-2	0.31 ± 0.07	0.40 ± 0.06	0.11	↓ 1.29 ± 0.34	0.78
IL-6	1.58 ± 0.31	2.09 ± 0.43	0.17	↓ 1.32 ± 0.36	0.68
IL-8	2.63 ± 0.63	2.52 ± 0.41	0.84	≒ 1.05 ± 0.30	0.57
TNF-α	4.28 ± 0.52	3.91 ± 0.61	0.41	≒ 1.10 ± 0.21	0.55
エオタキシン	529.42 ± 68.32	520.89 ± 90.82	0.71	≒ 1.02 ± 0.21	0.52
エオタキシン-β	5.54 ± 0.75	6.61 ± 1.01	0.25	≒ 0.84 ± 0.17	0.61
IP-10	287.02 ± 49.92	197.54 ± 37.37	0.07	↑ 1.45 ± 0.36	0.70
MCP-1	292.69 ± 35.35	333.08 ± 49.15	0.47	≒ 0.88 ± 0.16	0.67
MCP-4	375.52 ± 48.01	320.24 ± 59.16	0.22	≒ 1.17 ± 0.25	0.65
MDC	3807.36 ± 656.11	2962.75 ± 470.42	0.24	↑ 1.29 ± 0.29	0.61
MIP-1β	78.53 ± 10.84	93.43 ± 15.21	0.34	≒ 0.84 ± 0.17	0.61
TARC	87.96 ± 14.02	108.58 ± 19.72	0.38	≒ 0.81 ± 0.19	0.59
MCP1/MCP4	0.74 ± 0.09	1.02 ± 0.15	0.02	↓ 1.38 ± 0.25	0.74
MCP4/MCP1	1.20 ± 0.15	0.90 ± 0.14	0.02	↑ 1.34 ± 0.26	0.75

¹ 平均 ± s e m, pg/ml

² 両側 t 検定

³ ↑ PTSD > HC, ↓ PTSD < HC

⁴ ROC 曲線の曲線下面積

~ LLOD: すなわち、

分析物が血漿または CSF の

いずれかにおいて正確に算出するには少な過ぎる。

n. a. : 利用不可

【 0 0 7 0 】

表 4 は、9 AM の時点において PTSD 及び健康な対照の両方の患者から採取した CSF 中のサイトカイン及びケモカインの測定値を示す。分析物の完全なセットのうち、PTSD の CSF では IL - 8 の減少のみ有意性にアプローチすることができた。PTSD の CSF 中の IL - 8 は約 25 % 減少したが、p 値 (両側) は 0 . 06 であった。驚くべきことに、9 AM の CSF サンプル中の MCP - 4 及び MCP - 1 レベルは血漿中で見られたものと反対であり、PTSD と無関係であった。具体的には、健康な対照の CSF 中の MCP - 1 レベルは血漿よりも約 7 倍高い一方で、MCP - 4 レベルは約 100 倍低かった。さらに、CSF 中の MCP - 4 / MCP - 1 比は、2 AM または 9 AM の血漿サンプル中でのようには、PTSD 患者と健康な対照患者との間を有意に区別しなかった。

【表 4】

分析物	PTSD ¹	HC ¹	p 値 ²	比 ³	AUC ⁴
GM-CSF	~LLOD	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.
IFN-γ	~LLOD	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.
IL-10	0.79 ± 0.34	0.69 ± 0.32	0.21	≒ 1.15 ± 0.60	0.69
IL-12 p70	~LLOD	~LLOD	n.a.	n.a.	n.a.
IL-1β	0.08 ± 0.02	0.18 ± 0.04	0.04	↓ 2.12 ± 0.63	0.71
IL-2	0.15 ± 0.04	0.17 ± 0.05	0.72	≒ 0.87 ± 0.38	0.55
IL-6	0.47 ± 0.04	0.77 ± 0.16	0.13	↓ 1.62 ± 0.33	0.74
IL-8	1.67 ± 0.56	1.98 ± 0.59	0.67	≒ 0.84 ± 0.37	0.52
TNF-α	2.57 ± 0.41	1.57 ± 0.22	0.03	↑ 1.64 ± 0.54	0.76
エオタキシン	303.45 ± 37.95	496.61 ± 37.39	0.91	≒ 1.31 ± 0.31	0.52
エオタキシン-β	6.90 ± 0.55	6.42 ± 0.38	0.58	≒ 1.07 ± 0.19	0.63
IP-10	226.06 ± 30.53	149.66 ± 13.37	0.04	↑ 1.53 ± 0.24	0.73
MCP-1	171.11 ± 17.01	207.10 ± 17.49	0.14	≒ 0.83 ± 0.31	0.82
MCP-4	298.35 ± 27.00	208.62 ± 23.94	0.01	↑ 1.43 ± 0.20	0.77
MDC	1850.02 ± 155.12	1680.60 ± 167.21	0.40	≒ 1.10 ± 0.14	0.61
MIP-1β	65.85 ± 8.12	55.88 ± 4.77	0.36	≒ 1.18 ± 0.17	0.66
TARC	85.52 ± 13.86	67.32 ± 10.24	0.30	↑ 1.27 ± 0.38	0.70
MCP1/MCP4	0.61 ± 0.06	1.12 ± 0.18	4E-03	↓ 1.84 ± 0.33	0.84
MCP4/MCP1	1.82 ± 0.19	1.10 ± 0.16	4E-03	↑ 1.66 ± 0.28	0.84

¹平均 ± s e m, pg/ml

²両側 t 検定

³↑ PTSD > HC; ↓ PTSD < HC

⁴R O C 曲線の曲線下面積

~LLOD: (すなわち、分析物が血漿または CSF のいずれかにおいて正確に算出するには少な過ぎる。

n. a. : 利用不可

【 0 0 7 1 】

30

図 1 は、それぞれ、2 A M 及び 9 A M における PTSD 及び健康な対照の血漿、9 A M における CSF 中の MCP - 1 (図 1 : a、b 及び c)、MCP - 4 (図 1 : c、d 及び e) 及び MCP - 4 / MCP - 1 比 (図 1 : f、g 及び h) のドット・プロット分布を示す。2 A M (図 1 a) 及び 9 A M (図 1 b) の血漿サンプル中の MCP - 1 レベルは、健康な対照に関するレベルより低い傾向がある。

【 0 0 7 2 】

対照的に、9 A M の CSF 中 (図 1 c) の MCP - 1 レベルは、PTSD 及び健康な対照ともに類似しており、並行した 9 A M の血漿サンプル中の MCP - 1 レベルよりも約 7 倍高かった。一方、図 1 d (血漿 2 A M) 及び図 1 e (血漿 9 A M) は、PTSD の血漿中の MCP - 4 が上昇したことを示す。しかしながら、9 A M の CSF 中の MCP - 4 のレベルは、PTSD 及び健康な対照ともに類似しており (図 1 f)、いずれかのコホートからの並行した 9 A M の血漿よりも約 1 0 0 倍少ない MCP - 4 を含んでいた。PTSD の血漿中の 2 A M (図 1 g) 及び 9 A M (図 1 h) における MCP - 4 / MCP - 1 比は上昇したが、9 A M CSF 中では低かった (図 1 i)。

40

【 0 0 7 3 】

図 4 はまた、9 A M の血漿サンプルの ([MCP - 4] - [MCP - 1]) に関する差のプロットを示す。この差の統計的有意性は、比に関してと同じである (p = 0 . 0 0 4)。

【 0 0 7 4 】

図 2 a は、5 人の PTSD 及び 5 人の健康な対照からの血漿の MCP - 4 / MCP - 1

50

比に関する24時間のプロフィールを示す。このデータは、全24時間にわたって、PTSD患者に関するスケールフリーなMCP-4/MCP-1比が、健康な対照の比のおよそ2倍のままであったことを示す。したがって、比自体が実用的な測定規準を構成し、これは、血液採取が行われるいかなる時間でも算出することができる。正規化し、フィルタリングした図2bのデータは、健康な対照のMCP-4/MCP-1比が、深夜の時間に一度ピークに達することを示す。一方、PTSD患者は、健康な対照の深夜のピークと同時に起きるピーク、及び後の午前中に生じる別のピークの2つのピークを有する。

【0075】

図2cはまた、健康な対照のわずか1回と比較して、PTSD患者のMCP-4は1日をとおして4回ピークに達することを示す。さらに、PTSD患者の深夜のMCP-4ピークはピーク時間が健康な対照にほぼ3時間遅れる。同様だが固有の時間的障害もMCP-1プロフィールを特徴づけるようである。例えば、図2dは、PTSD患者及び健康な対照のMCP-1濃度には深夜のピークがあるが、PTSD患者の深夜のピークは6時間近く遅れることを示す。

10

【0076】

PTSDに対するMCP-4及びMCP-1シグナルの特異性及び有意性をさらに検証するために、7種の他のケモカインの発現の概日パターンをPTSD患者と健康な対照の間の有意性に関して全24時間にわたって試験した。これらの分析物のいくつかに関してPTSDと健康な対照との間に平均差があったが、患者間の分散は、MCP-4を除いて、試験したすべてのケモカインのレベルに実質的な部分的な一致を示す。図3は、時間単位で試験したすべてのケモカインのPTSDと健康な対照との間の差に関するp値をMCP-4/MCP-1比に対して24時間の概日時間にわたってプロットする。MCP-4及びMCP-4/MCP-1比に関するp値は、 $p = 0.01$ から 0.0001 の間の範囲である。MCP-4/MCP-1比に関する最も良い統計値は、 $Z = 0$ を3~4時間過ぎた時点(8~10AM)である。MCP-4とは対照的に、他の分析物は、 0.1 から 1.0 の間のp値が占める統計的空間に個々にまとまっていた。

20

【0077】

しかしながら、個々の概日リズム構成成分の雑音特性は、時間生物学文献においてよく知られている。代替的な解決手段は、(i)3時間毎の移動平均を作成することによって時間毎の変動をフィルタリングし(「取り除き」)、(ii)5人の個人に対する結果を平均し、(iii)全データを全24時間に関する平均に対する比率で表すことによって特定の分析物に関する概日リズムの差を比較することであった[28]。これらの方法を使用して、図7(A~H)は、MCP-4/MCP-1比に関して有意な定量的時間非依存性な差を検出できたに過ぎないが、試験したさまざまなケモカインに対して、PTSD患者に関する概日リズムが乱れていることを示す。実際に、2つの関連しないマーカーの比は、特定の疾患または状態を有する対象を特定するために有用であろうことは一般的ではない。

30

【0078】

図8Aは、女性PTSD患者対女性の健康な対照の間の平均log血漿MCP-4/MCP-1比の差を示す。PTSD女性は、どの時間においても健康な対照女性よりも大きく、その差は、概日時間にわたって各時間において有意であるか、または有意な傾向がある($p < 0.05$)。図8Bは、男性PTSD患者対男性の健康な対照の間の平均log血漿MCP-4/MCP-1比の差を示す。PTSD男性は、どの時間においても健康な対照男性よりも有意に大きい($p < 0.05$)。図8Cは、すべてのPTSD患者対すべての健康な対照の間の平均log血漿MCP-4/MCP-1比の差を示す。すべてのPTSD患者は、どの時間においてもすべての健康な対照よりも大きく、その差は有意である($p < 0.05$)。各時間における差(図8A~8C)のそれぞれに対するp値を図8Dに示す。エラーバーは、+/-SEM(平均値の標準誤差)である。

40

【0079】

図9Aは、女性PTSD患者対女性の健康な対照の間の平均log血漿MIP-1レ

50

ベルの差を示す。PTSD女性は、どの時間においても健康な対照女性よりも大きく、概日時間にわたって、各時間においてその差は有意であるか、または有意な傾向がある。($p < 0.05$)。図9Bは、男性PTSD患者対男性の健康な対照の間の平均log血漿MIP-1レベルの差を示す。PTSD男性は、どの時間においても健康な対照男性よりもやや大きい傾向にあるが、どの時間もこれらの差は、概日時間にわたって有意でない($p < 0.05$)。図9Cは、すべてのPTSD患者対すべての健康な対照の間の平均log血漿MIP-1レベルの差を示す。すべてのPTSD患者は、どの時間においてもすべての健康な対照よりも大きい傾向がある。ただし、この傾向は、女性PTSD患者のみからの寄与に基づく。図9Dは、概日時間にわたるMIP-1に関するlog血漿中濃度差の有意性を示す。赤い横線は、算術スケール上の $P = 0.05$ と同じである。男性PTSD(黒い点線);女性PTSD(黒い破線);すべてのPTSD(黒い実線)。縦軸はlog p値である。エラーバーは、 $+/-SEM$ (平均値の標準誤差)である。各時間における差のP値を図9Dに示す。

10

【0080】

図10Aは、女性PTSD患者対女性の健康な対照の間の平均log血漿TARCレベルの差を示す。どの時間のPTSD女性と健康な対照女性との間の差も有意でない($p < 0.05$)。図10Bは、男性PTSD患者の平均log血漿TARCレベルの間の差が男性の健康な対照よりも低いことを示す。概日時間にわたる各時間においてPTSD男性は、健康な対照とはおよそZ-1.2及びZにおいてのみ有意に異なる、($p < 0.05$)。図10Cは、すべてのPTSD患者対すべての健康な対照の間の平均log血漿TARCレベルの差を示す。概日時間にわたる各時間において有意差はない($p < 0.05$)。図10Dは、概日時間にわたるTARCに関するlog血漿中濃度差の有意性を示す。赤い横線は、算術スケール上の $P = 0.05$ と同じである。男性PTSD(黒い点線);女性PTSD(黒い破線);すべてのPTSD(黒い実線)。概日時間にわたるすべての時間において男性PTSD患者は、男性の健康な対照とはおよそZ-1.2及びZにおいてのみ有意に異なる、($p < 0.05$)。エラーバーは、 $+/-SEM$ (平均値の標準誤差)である。各時間における差のP値を図10Dに示す。

20

【0081】

本明細書中のすべての参考文献は参照により組み込まれる。

1. Bonne O, Gill JM, Luckenbaugh DA, Collins C, Owens MJ, et al. (2011) Corticotropin-releasing factor, interleukin-6, brain-derived neurotrophic factor, insulin-like growth factor-1, and substance P in the cerebrospinal fluid of civilians with posttraumatic stress disorder before and after treatment with paroxetine. *J Clin Psychiatry* 72: 1124-1128.
2. Association AP (2013) *Diagnostic and Statistical Manual of Mental disorders*. Washington DC: American Psychiatric Publishing.
3. <http://www.behavenet.com/capsules/disorders/ptsd.htm>.
4. Boscarino JA (2004) Posttraumatic stress disorder and physical illness: results from clinical and epidemiologic studies. *Ann N Y Acad Sci* 1032: 141-153.
5. Gill JM, Saligan L, Woods S, Page G (2009) PTSD is associated with an excess

30

40

50

- of inflammatory immune activities. *Perspect Psychiatr Care* 45: 262-277.
6. Pace TW, Heim CM (2011) A short review on the psychoneuroimmunology of posttraumatic stress disorder: from risk factors to medical comorbidities. *Brain Behav Immun* 25: 6-13.
7. Daskalakis NP, Lehrner A, Yehuda R (2013) Endocrine aspects of post-traumatic stress disorder and implications for diagnosis and treatment. *Endocrinol Metab Clin North Am* 42: 503-513. 10
8. Elenkov IJ, Iezzoni DG, Daly A, Harris AG, Chrousos GP (2005) Cytokine dysregulation, inflammation and well-being. *Neuroimmunomodulation* 12: 255-269.
9. Cunningham-Bussell AC, Root JC, Butler T, Tuescher O, Pan H, et al. (2009) Diurnal cortisol amplitude and fronto-limbic activity in response to stressful stimuli. *Psychoneuroendocrinology* 34: 694-704. 20
10. Raison CL, Miller AH (2003) When not enough is too much: the role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders. *Am J Psychiatry* 160: 1554-1565.
11. Silverman MN, Pearce BD, Biron CA, Miller AH (2005) Immune modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during viral infection. *Viral Immunol* 18: 41-78. 30
12. Spivak B, Shohat B, Mester R, Avraham S, Gil-Ad I, et al. (1997) Elevated levels of serum interleukin-1 beta in combat-related posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 42: 345-348.
13. von Kanel R, Hepp U, Kraemer B, Traber R, Keel M, et al. (2007) Evidence for low-grade systemic proinflammatory activity in patients with posttraumatic stress disorder. *J Psychiatr Res* 41: 744-752. 40
14. Maes M, Lin AH, Delmeire L, Van Gastel A, Kenis G, et al. (1999) Elevated serum interleukin-6 (IL-6) and IL-6 receptor concentrations in posttraumatic stress disorder following accidental man-made traumatic events. *Biol Psychiatry* 45: 833-839.
15. Tucker P, Jeon-Slaughter H, Pfefferb 50

- aum B, Khan Q, Davis NJ (2010) Emotional and biological stress measures in Katrina survivors relocated to Oklahoma. *Am J Disaster Med* 5: 113-125.
16. Baker DG, Ekhaton NN, Kasckow JW, Hill KK, Zoumakis E, et al. (2001) Plasma and cerebrospinal fluid interleukin-6 concentrations in posttraumatic stress disorder. *Neuroimmunomodulation* 9: 209-217.
17. Geraciotti TD, Jr., Baker DG, Ekhaton NN, West SA, Hill KK, et al. (2001) CSF norepinephrine concentrations in posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry* 158: 1227-1230. 10
18. Hoge EA, Brandstetter K, Moshier S, Pollack MH, Wong KK, et al. (2009) Broad spectrum of cytokine abnormalities in panic disorder and posttraumatic stress disorder. *Depress Anxiety* 26: 447-455.
19. Baker DG, Nievergelt CM, O'Connor DT (2012) Biomarkers of PTSD: neuropeptides and immune signaling. *Neuropharmacology* 62: 663-673. 20
20. Gill J, Luckenbaugh D, Charney D, Vythilingam M (2010) Sustained elevation of serum interleukin-6 and relative insensitivity to hydrocortisone differentiate posttraumatic stress disorder with and without depression. *Biol Psychiatry* 68: 999-1006. 30
21. Ross RJ, Ball WA, Sullivan KA, Caroff SN (1989) Sleep disturbance as the hallmark of posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry* 146: 697-707.
22. Harvey AG, Jones C, Schmidt DA (2003) Sleep and posttraumatic stress disorder: a review. *Clin Psychol Rev* 23: 377-407.
23. Pollard JR, Eidelman O, Mueller GP, Dalgard CL, Crino PB, et al. (2012) The TARC/sICAM5 Ratio in Patient Plasma is a Candidate Biomarker for Drug Resistant Epilepsy. *Front Neurol* 3: 181. 40
24. Westin K, Buchhave P, Nielsen H, Minthon L, Janciauskiene S, et al. (2012) CCL2 is associated with a faster rate of cognitive decline during early stages of Alzheimer's disease. *PLoS One* 7: e30525.
25. Wild E, Magnusson A, Lahiri N, Krus U, Orth M, et al. (2011) Abnormal periphe 50

- ral chemokine profile in Huntington's disease. *PLoS Curr* 3: Rrn1231.
26. Janelidze S, Ventorp F, Erhardt S, Hansson O, Minthon L, et al. (2013) Altered chemokine levels in the cerebrospinal fluid and plasma of suicide attempters. *Psychoneuroendocrinology* 38: 853-862.
27. Irwin DJ, McMillan CT, Toledo JB, Arnold SE, Shaw LM, et al. (2012) Comparison of cerebrospinal fluid levels of tau and Abeta 1-42 in Alzheimer disease and frontotemporal degeneration using 2 analytical platforms. *Arch Neurol* 69: 1018-1025. 10
28. Eckel-Mahan KL, Patel VR, de Mateo S, Orozco-Solis R, Ceglia NJ, et al. (2013) Reprogramming of the circadian clock by nutritional challenge. *Cell* 155: 1464-1478.
29. Garcia-Zepeda EA, Combadiere C, Rothenberg ME, Sarafi MN, Lavigne F, et al. (1996) Human monocyte chemoattractant protein (MCP)-4 is a novel CC chemokine with activities on monocytes, eosinophils, and basophils induced in allergic and nonallergic inflammation that signals through the CC chemokine receptors (CCR)-2 and -3. *J Immunol* 157: 5613-5626. 20
30. Blanpain C, Migeotte I, Lee B, Vakil J, Doranz BJ, et al. (1999) CCR5 binds multiple CC-chemokines: MCP-3 acts as a natural antagonist. *Blood* 94: 1899-1905. 30
31. Segman RH, Shefi N, Goltser-Dubner T, Friedman N, Kaminski N, et al. (2005) Peripheral blood mononuclear cell gene expression profiles identify emergent post-traumatic stress disorder among trauma survivors. *Mol Psychiatry* 10: 500-513, 425.
32. Yehuda R, Cai G, Golier JA, Sarapas C, Galea S, et al. (2009) Gene expression patterns associated with posttraumatic stress disorder following exposure to the World Trade Center attacks. *Biol Psychiatry* 66: 708-711. 40
33. Neylan TC, Sun B, Rempel H, Ross J, Lenoci M, et al. (2011) Suppressed monocyte gene expression profile in men versus women with PTSD. *Brain Behav Immun* 25: 524-531. 50

34. Nguyen KD, Fentress SJ, Qiu Y, Yun K, Cox JS, et al. (2013) Circadian gene Bmal1 regulates diurnal oscillations of Ly6C(hi) inflammatory monocytes. *Science* 341: 1483 - 1488.

35. Druzd D, Scheiermann C (2013) *Immunology*. Some monocytes got rhythm. *Science* 341: 1462 - 1464.

36. Born J, Lange T, Hansen K, Mollle M, Fehm HL (1997) Effects of sleep and circadian rhythm on human circulating immune cells. *J Immunol* 158: 4454 - 4464.

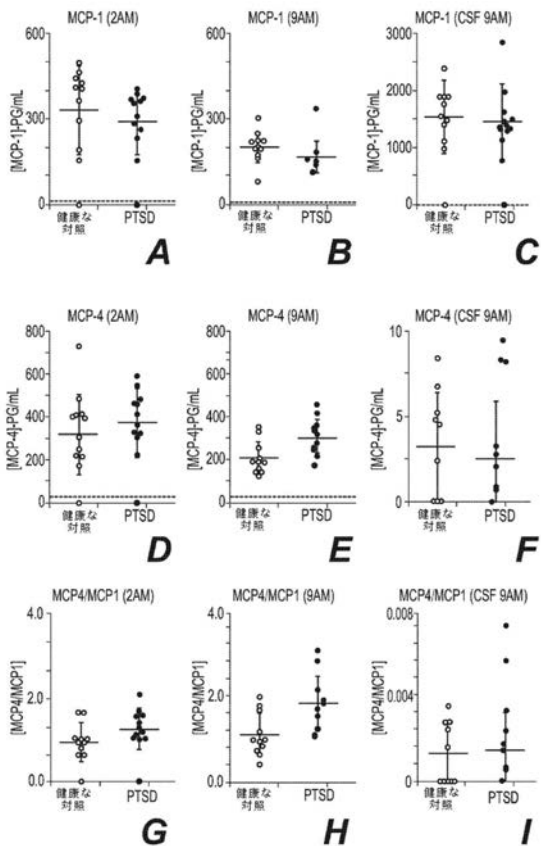
37. Grimaldi B, Nakahata Y, Sahar S, Kaluzova M, Gauthier D, et al. (2007) Chromatin remodeling and circadian control: master regulator CLOCK is an enzyme. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 72: 105 - 112.

38. Menet JS, Rosbash M (2011) When brain clocks lose track of time: cause or consequence of neuropsychiatric disorders. *Curr Opin Neurobiol* 21: 849 - 857.

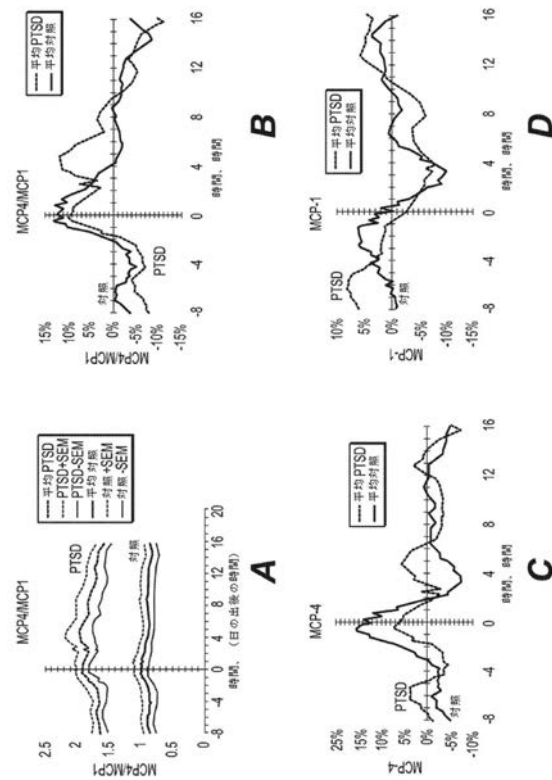
10

20

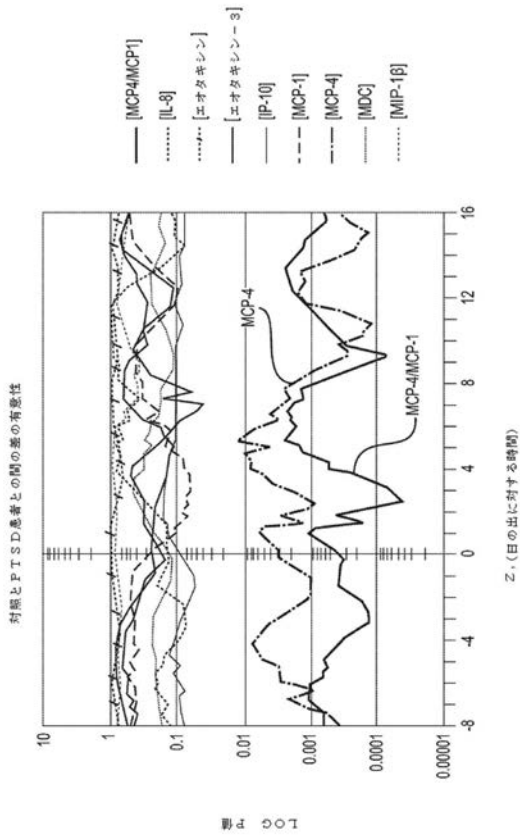
【 図 1 】



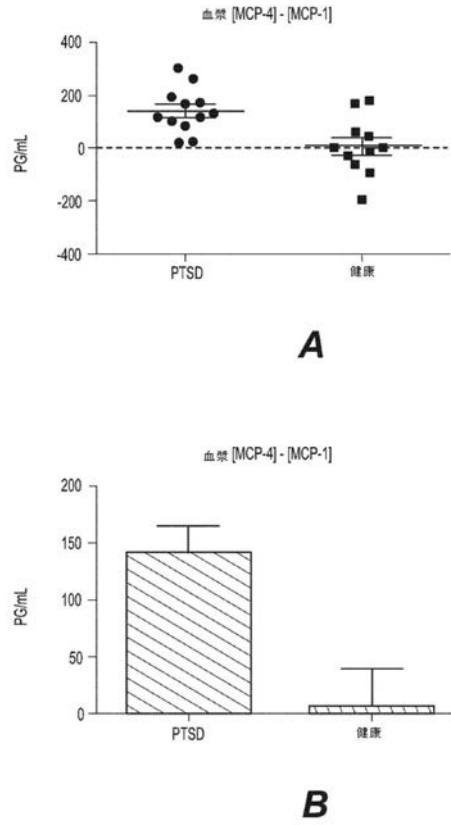
【 図 2 】



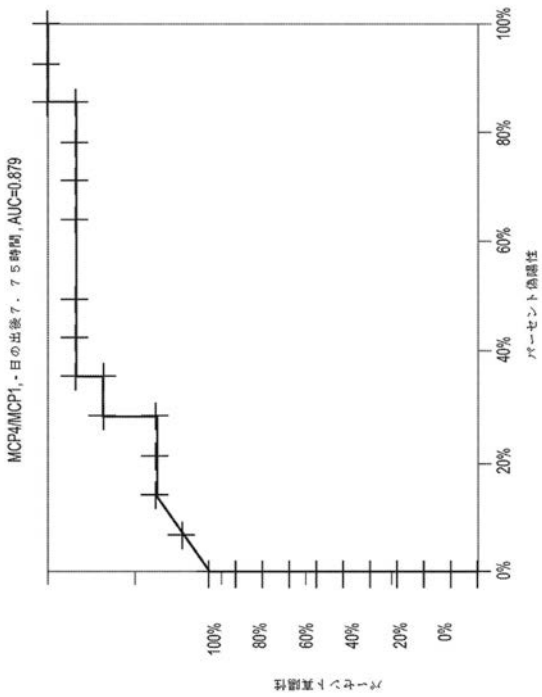
【 図 3 】



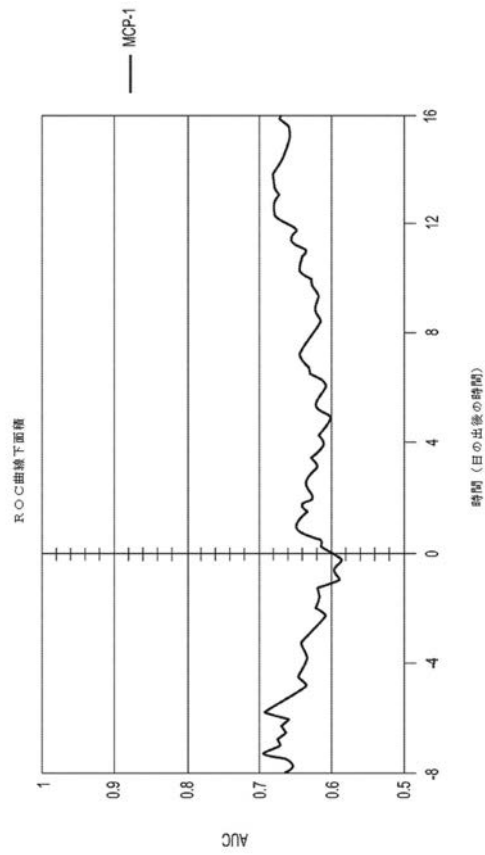
【 図 4 】



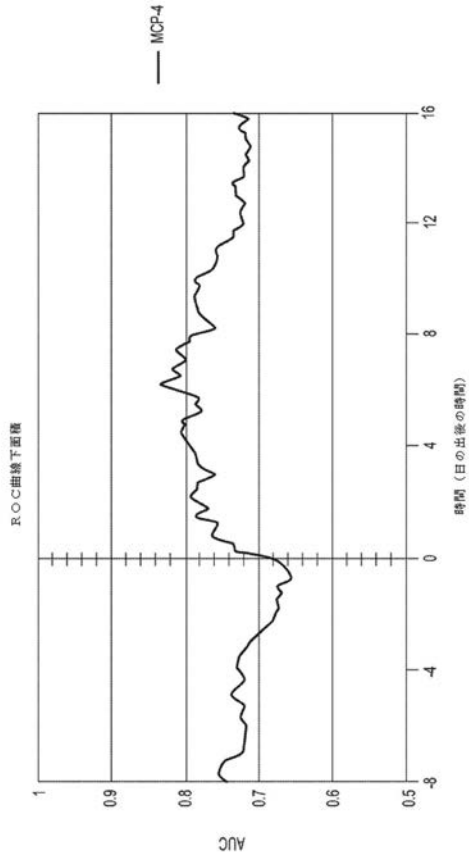
【 図 5 A 】



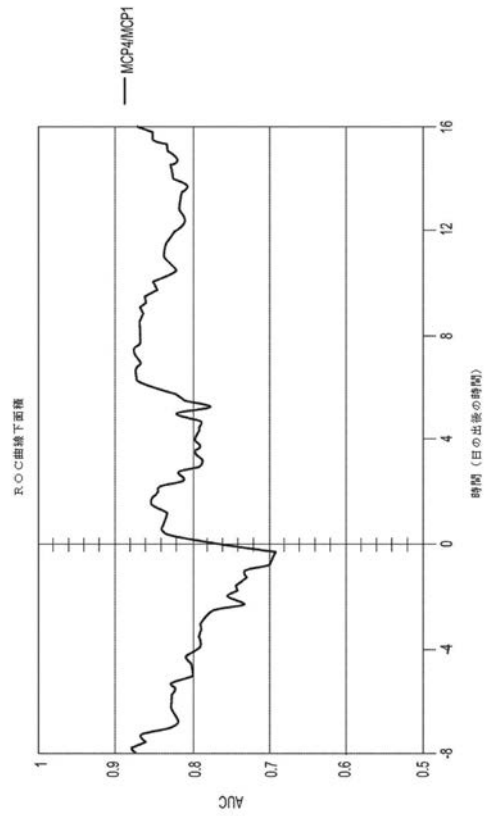
【 図 5 B 】



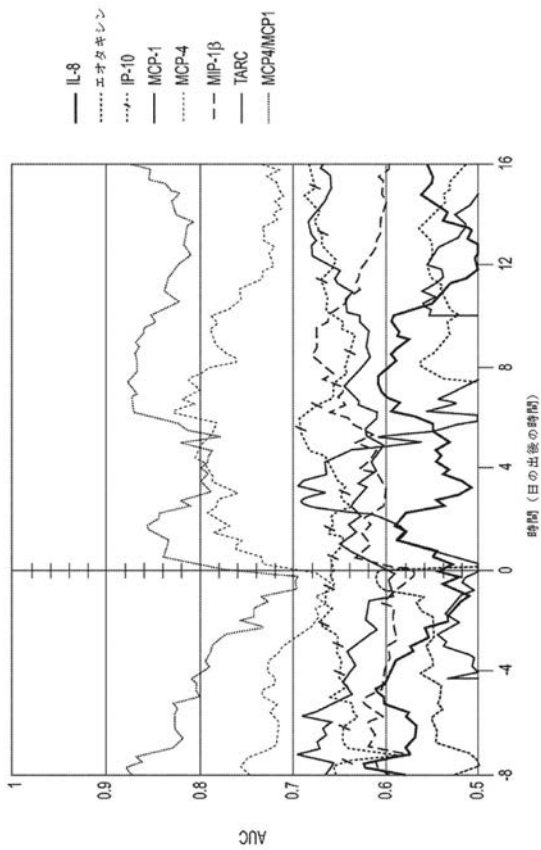
【 図 5 C 】



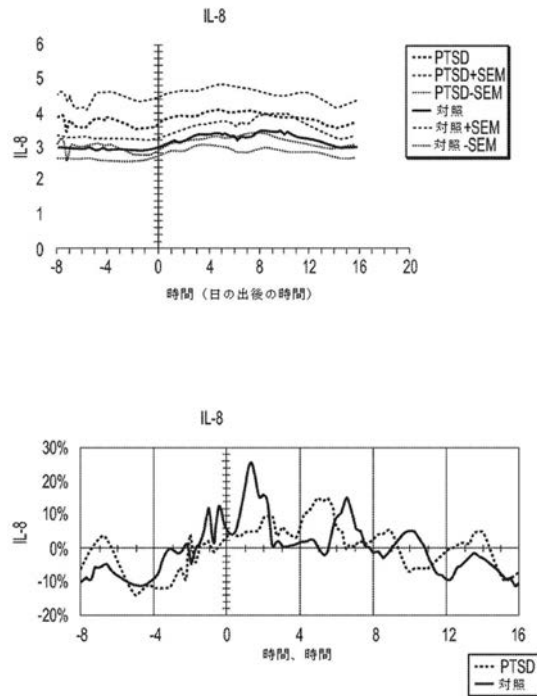
【 図 5 D 】



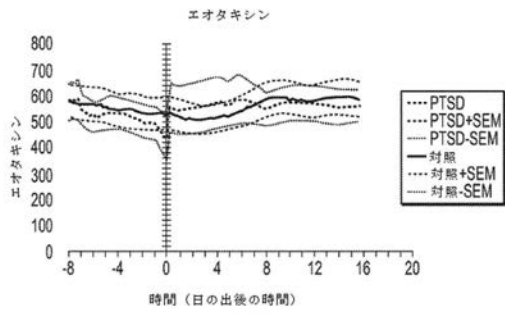
【 図 6 】



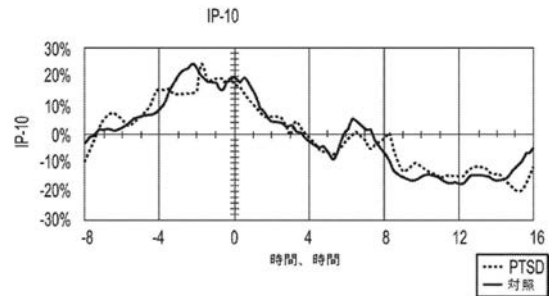
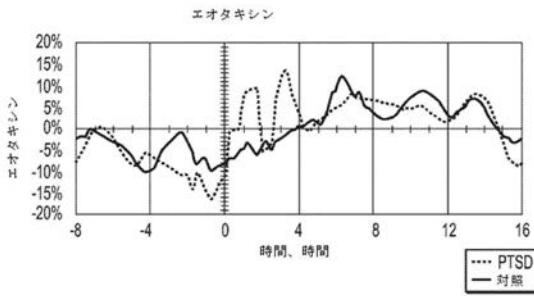
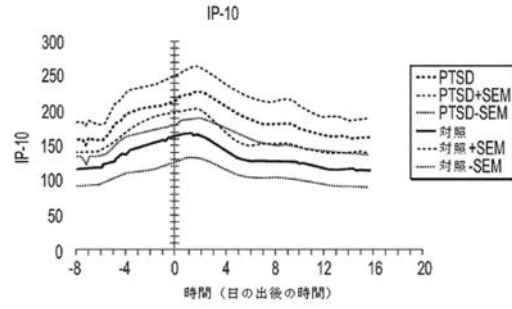
【 図 7 A 】



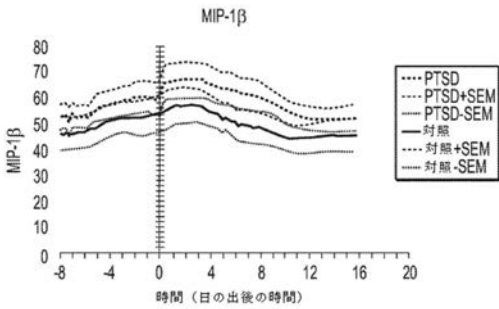
【 図 7 B 】



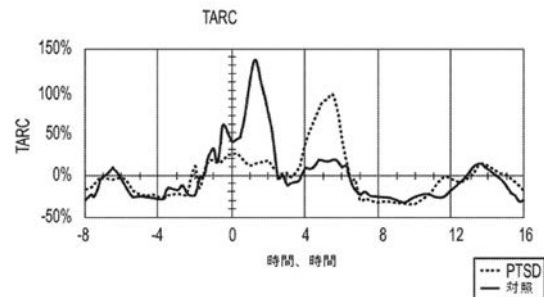
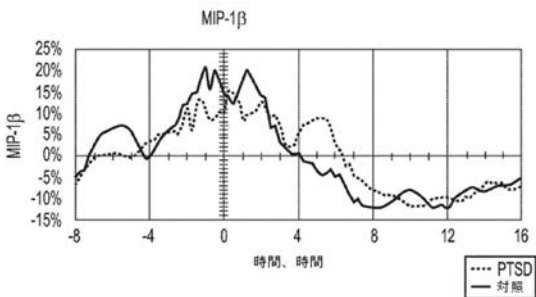
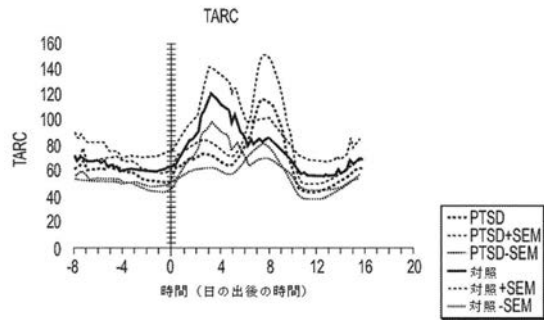
【 図 7 C 】



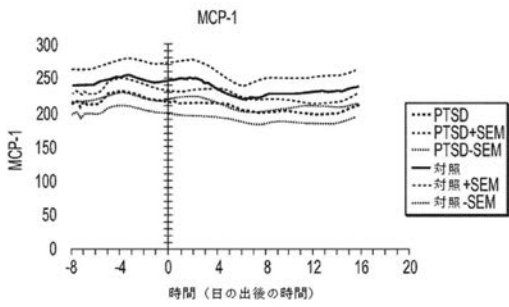
【 図 7 D 】



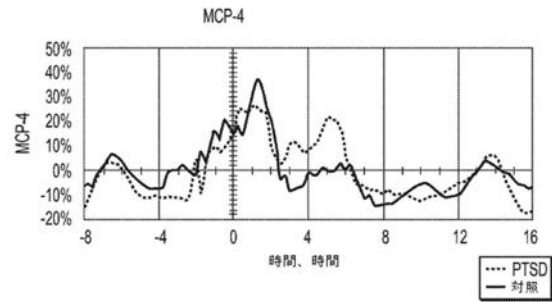
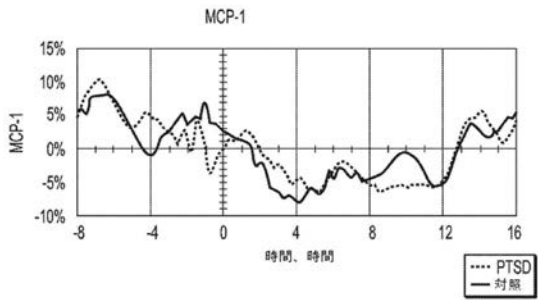
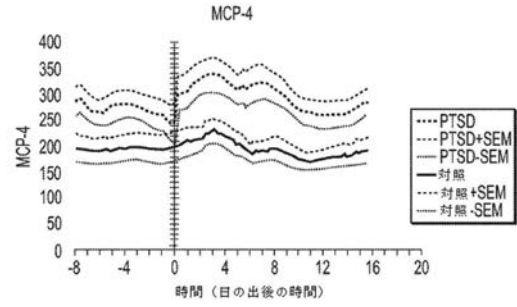
【 図 7 E 】



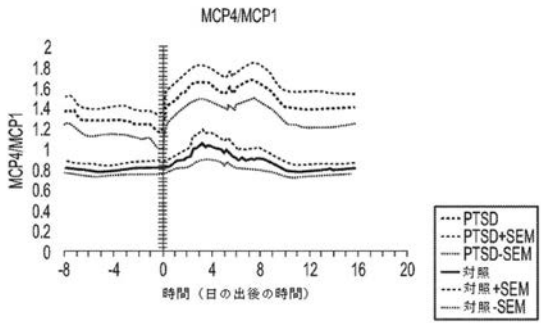
【 図 7 F 】



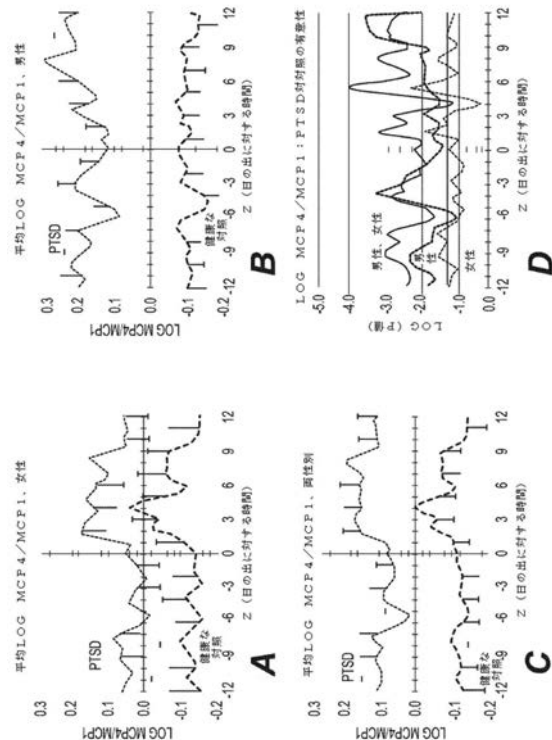
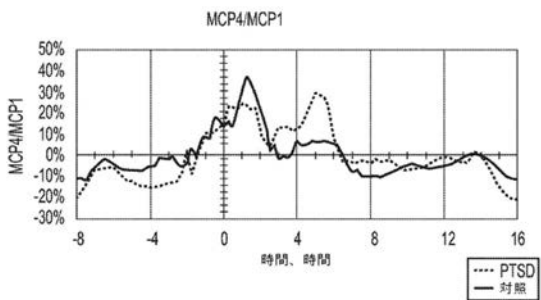
【 図 7 G 】



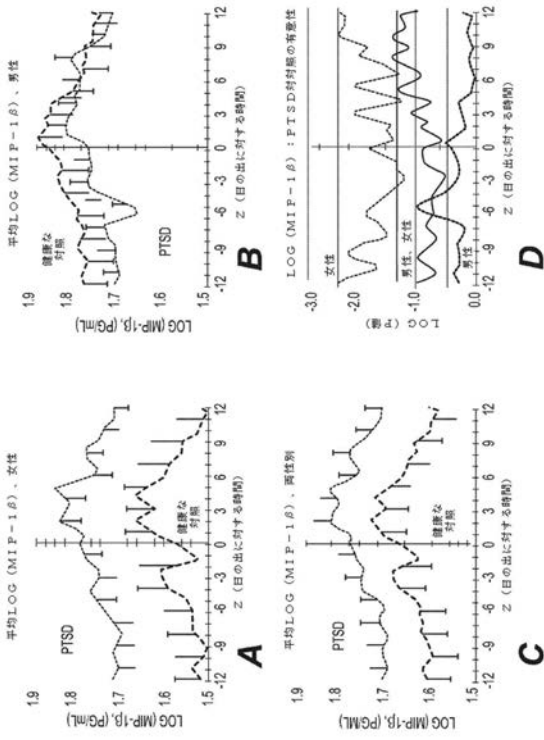
【 図 7 H 】



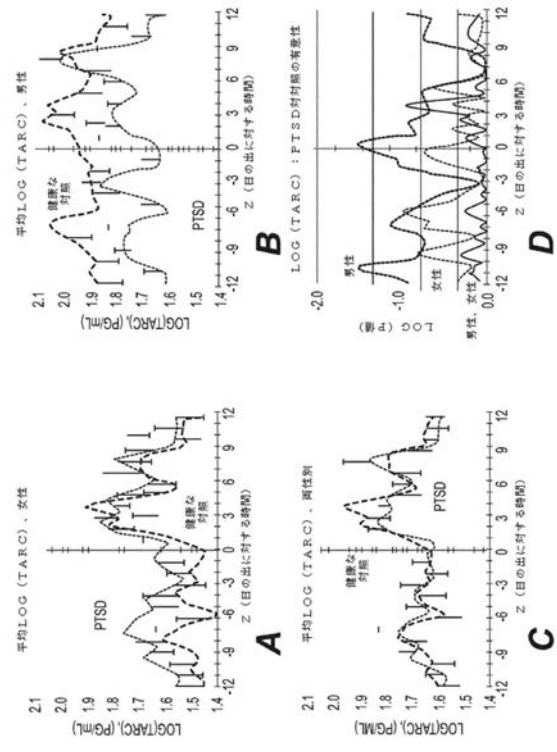
【 図 8 】



【 図 9 】



【 図 10 】



【 配列表 】

2018536152000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US18/55675

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC(8) - G01N 33/68; A61P 25/24; A61K 31/135, 31/138, 31/343 (2017.01)
 CPC - G01N 33/6893, 33/6896; A61K 31/135, 31/138, 31/343
 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
 Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 IPC: G01N 33/68; A61P 25/24; A61K 31/135, 31/138, 31/343 (2017.1); CPC: G01N 33/6893, 33/6896, 2333/00, 2333/47, 2333/52, 2333/435, 2333/521, 2333/4727, 2800/00, 2800/301; A61K 31/135, 31/138, 31/343
 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 PatSeer (US, EP, WO, JP, DE, GB, CN, FR, KR, ES, AU, IN, CA, INPADOC Data); Google, Google Scholar, EBSCO,
 Terms: sample, collection, time, disease, diagnosis, blood, circadian, rhythm, PTSD, MCP-4, MCP-1, ratio, TARC, antibody, MIP-1beta, CCL13, CCL17, CCL2, CCL4, 9, 2, am, hour, chemokine, serum, draw, take, kit, tool, supply

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X - Y	(POLLARD, H.B.) Uncovering Novel Biomarkers for Early Diagnosis of PostTraumatic Stress Disorder (PTSD); Webpage [online]. 26 February 2014 [retrieved on 24 January 2017]; Retrieved from the Internet: <URL: http://cdmmp.army.mil/phtbi/research_highlights/15pollard_highlight>; 1st - 2nd paragraph	1, 3, 4/1, 4/3, 12, 14, 15/12, 15/14, 16/15/12, 17/16/15/12, and 17/16/15/14 2, 4/2, 5/4/1-3, 6/5/4/1-3, 13, 15/13, 16/15/13, 17/16/15/13, 22-25, 26/22-25, 27/26/22-25, 28/27/26/22-25, 29/28/27/26/22-25, 30/22-25, 32-34, 35/32-34, 36/35/32-34, 37/36/35/32-34, 38, 48
X - Y	US 2014/0220019 A1 (ABBVIE, INC.) 7 August 2014; paragraphs [0105] [0352], [0423]-[0424]	47 22-25, 26/22-25, 27/26/22-25, 28/27/26/22-25, 29/28/27/26/22-25, 30/22-25, 48

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
21 February 2017 (21.02.2017)

Date of mailing of the international search report
09 MAR 2017

Name and mailing address of the ISA/US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer
Shane Thomas
PCT Helpdesk: 571-272-4300
PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US16/55675

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1. [] Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. [] Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. [X] Claims Nos.: 7-11, 18-21, and 31 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:
-***Please see supplemental page-***

- 1. [] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. [] As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. [] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. [X] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-6, 12-17, 22-30, 32-38, 47 and 48

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US16/55675

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2015/0259740 A1 (POLLARD, H) 17 September 2015; claim 7; Table 1; paragraphs paragraph [0003], [0015], [0047], [0078], [0102]	2, 4/2, 5/4/1-3, 6/5/4/1-3, 13, 15/13, 16/15/13, 17/16/15/13, 22-23, 25, 26/22-23, 26/25, 27/26/22-23, 27/26/25, 28/27/26/22-23, 28/27/26/25, 29/28/27/26/22-23, 29/28/27/26/25/32-34, 35/32-34, 38, 30/22-23, 30/25, 36/35/32-34, and 37/36/35/32-34
Y	(THERMOFISHER.COM) SAFETY DATA SHEET. Webpage [online]. 30 April 2014 [Retrieved on 25 January 2017]. Retrieved from the Internet: <URL: https://tools.thermofisher.com/content/sfs/msds/2015/RF8937_MTR-NARF_EN.pdf >; page 1, 1st paragraph	48
Y	(INVITROGEN.COM) TARC/CCL17 ABfinity™ Recombinant Rabbit Monoclonal Antibody – Purified. Webpage [online]. 10 January 2011 [Retrieved on 25 January 2017]. Retrieved from the Internet: <URL: https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/700655_rb_x_TARC_mab.pdf > page 1, 1st column	48
Y	(EBIOSCIENCE.COM) AntiHuman CCL4 (MIP1beta); Webpage [online]. 6 April 2015 [Retrieved on 25 January 2017]. Retrieved from the Internet: <URL: http://www.ebioscience.com/human-ccl4-antibody-epc-f134z31.htm >. page 1, 1st paragraph	48
P, X	WO 2016/057775 A1 (THE HENRY M. JACKSON FOUNDATION FOR THE ADVANCEMENT OF MILITARY MEDICINE, INC.) 14 April 2016; entire document	1-3, 4/1-3, 5/4/1-3, 6/5/4/1-3, 12-14, 15/12-14, 16/15/12-14, 17/16/15/12-13, 22-25, 26/22-25, 27/26/22-25, 28/27/26/22-25, 29/28/27/26/22-25, 30/22-25, 32-34, 35/32-34, 36/35/32-34, 37/36/35/32-34, 38, 47-48

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/US16/55675

-Continued from Box No. III: Observations where unity of invention is lacking-

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

Group I, Claims 1-6, 12-17, 22-30, 32-38, 47 and 48 are directed toward methods comprising a) determining the ratio of monocyte chemoattractant protein 4 (MCP-4) to monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) in a sample obtained from the subject, and b) comparing the MCP-4/MCP-1 ratio (MMR) in the sample; and a kit therefor.

Group II, Claims 39-42 are directed toward a method of determining if a male subject is at risk of developing post-traumatic stress disorder (PTSD), the method comprising a) determining levels of activation-regulated chemokine (TARC) in at least one sample obtained from a male subject.

Group III, Claims 43-46 are directed toward a method of determining if a female subject is at risk of developing post-traumatic stress disorder (PTSD), the method comprising a) determining levels of monocyte interacting protein 1B (MIP-1B) in at least one sample obtained from a female subject.

The inventions listed as Groups I-III do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the special technical features of Group I include MCP-4/MCP-1 ratio, not present in either of Groups II or III; the special technical features of Group II include TARC, not present in either of Groups I or III; the special technical features of Group III include MIP-1B, not present in either of Groups I or II.

Groups I-III share the technical features including: a method of determining if a subject is at risk of developing post-traumatic stress disorder (PTSD), the method comprising a) determining levels of at least one marker in at least one sample obtained from the subject, and b) comparing the levels in the at least one sample to normal levels to determine if the subject's levels are altered compared to the normal levels, wherein a change in the subject's levels indicative that the subject has an increased risk of suffering from PTSD. Groups I and II share the technical features including: monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1). Groups I and III share the technical features including: monocyte chemoattractant protein 4 (MCP-4).

However, these shared technical features are previously disclosed by US 2015/0259740 A1 to Pollard et al. (hereinafter "Pollard'740") in view of the document 'Cytokine and Chemokine Profiling of Plasma and CSF Identifies the MCP-4/MCP-1 Ratio as a Novel Candidate Plasma Biomarker for Chronic Post-Traumatic Stress Disorder' by Pollard et al. (hereinafter "Pollard'2013").

Pollard'740 discloses a method of determining if a subject is at risk of developing post-traumatic stress disorder (PTSD) (a method of determining if a subject is at risk of developing post-traumatic stress disorder (PTSD); paragraph [0020]), the method comprising a) determining levels of at least one marker in at least one sample obtained from the subject (the method comprising a) determining levels of at least one marker in at least one sample obtained from the subject; paragraph [0020]), and b) comparing the levels in the at least one sample to normal levels (comparing the levels in the at least one sample to normal levels; paragraph [0020]) to determine if the subject's levels are altered compared to the normal levels (to determine if the subject's levels are altered compared to the normal levels; paragraph [0020]), wherein a change in the subject's levels indicative that the subject has an increased risk of suffering from PTSD (wherein a change in the subject's levels indicative that the subject has an increased risk of suffering from PTSD; paragraph [0020]).

Pollard'740 does not disclose MCP-1 or MCP-4.

Pollard'2013 discloses wherein the ratio of MCP4/MCP1 in a sample from a subject significantly discriminates between PTSD and normal controls (wherein the ratio of MCP4/MCP1 in a sample from a subject significantly discriminates between PTSD and normal controls; page S262, first column, second paragraph).

It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time of the invention was made to have modified the disclosure of Pollard'740 to have included the markers MCP-1 and MCP-4, and the ratio thereof, as disclosed by Pollard'2013, in order to better enable the determination of the presence and/or severity of PTSD in a patient with chronic PTSD.

Since none of the special technical features of the Groups I-III inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by a combination of the Pollard'740 and Pollard'2013 references, unity of invention is lacking.

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	25/20 (2006.01)	A 6 1 P	25/20
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 P	25/18 (2006.01)	A 6 1 P	25/18
A 6 1 K	31/343 (2006.01)	A 6 1 K	31/343
A 6 1 P	25/24 (2006.01)	A 6 1 P	25/24
A 6 1 K	31/137 (2006.01)	A 6 1 K	31/137
A 6 1 K	31/138 (2006.01)	A 6 1 K	31/138
A 6 1 K	31/15 (2006.01)	A 6 1 K	31/15
A 6 1 K	31/4525 (2006.01)	A 6 1 K	31/4525
A 6 1 K	31/135 (2006.01)	A 6 1 K	31/135
A 6 1 K	31/4462 (2006.01)	A 6 1 K	31/4462

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, 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, DJ, 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, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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

(74)代理人 100148596

弁理士 山口 和弘

(72)発明者 ボラード, ハーヴィー ビー.

アメリカ合衆国, メリーランド州, ポトマック, ランプライター レーン 1 1 0 0 8

(72)発明者 ダルガード, クリフトン エル.

アメリカ合衆国, メリーランド州, チェヴィー チェース, ウィネット ロード 3 3 0 2

Fターム(参考) 2G045 AA25 CA25 CA26 DA36 FB03

4C084 AA17 NA05 ZA052 ZC412

4C086 AA01 AA02 BA06 BC17 BC21 GA02 GA07 MA01 MA04 NA05

ZA12 ZC41

4C206 AA01 AA02 FA10 FA18 FA21 FA29 HA08 KA17 MA01 MA04

NA05 ZA12

专利名称(译)	用于诊断创伤后应激障碍的生物标志物		
公开(公告)号	JP2018536152A	公开(公告)日	2018-12-06
申请号	JP2018517730	申请日	2016-10-06
[标]申请(专利权)人(译)	HENRY中号JACKSON发现的军事医学的进步		
申请(专利权)人(译)	亨利中号..杰克逊基金会军事医学公司的高级换货		
[标]发明人	ポラードハーヴィービー ダルガードクリフトンエル		
发明人	ポラード, ハーヴィー ビー. ダルガード, クリフトン エル.		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/543 G01N33/53 A61P43/00 A61P25/22 A61P25/20 A61K45/00 A61P25/18 A61K31/343 A61P25/24 A61K31/137 A61K31/138 A61K31/15 A61K31/4525 A61K31/135 A61K31/4462		
CPC分类号	A61K31/135 A61K31/138 A61K31/15 A61K31/343 A61K31/4406 A61K31/4525 A61K31/454 A61K45/06 A61P25/18 A61P25/20 A61P25/22 A61P25/24 G01N33/6893 G01N2333/521 G01N2800/30 G01N33/68 G01N33/6896		
FI分类号	G01N33/68 G01N33/543.501.A G01N33/53.D A61P43/00.111 A61P25/22 A61P25/20 A61K45/00 A61P25/18 A61K31/343 A61P25/24 A61K31/137 A61K31/138 A61K31/15 A61K31/4525 A61K31/135 A61K31/4462		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/DA36 2G045/FB03 4C084/AA17 4C084/NA05 4C084/ZA052 4C084/ZC412 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BA06 4C086/BC17 4C086/BC21 4C086/GA02 4C086/GA07 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA05 4C086/ZA12 4C086/ZC41 4C206/AA01 4C206/AA02 4C206/FA10 4C206/FA18 4C206/FA21 4C206/FA29 4C206/HA08 4C206/KA17 4C206/MA01 4C206/MA04 4C206/NA05 4C206/ZA12		
代理人(译)	池田 成人 小泉纯酒卷 山口和弘		
优先权	62/239004 2015-10-08 US		
其他公开文献	JP2018536152A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及一种确定受试者是否有发展为创伤后应激障碍 (PTSD) 的风险的方法。 [选型图]图1

