

(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2019-506620

(P2019-506620A)

(43) 公表日 平成31年3月7日(2019.3.7)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	D 4 C 0 8 4
A 6 1 P 25/08 (2006.01)	GO 1 N 33/53	P
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/08	
	A 6 1 K 45/00	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 52 頁)

(21) 出願番号 特願2018-553856 (P2018-553856)
 (86) (22) 出願日 平成29年1月4日 (2017.1.4)
 (85) 翻訳文提出日 平成30年9月3日 (2018.9.3)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2017/012094
 (87) 国際公開番号 W02017/120166
 (87) 国際公開日 平成29年7月13日 (2017.7.13)
 (31) 優先権主張番号 62/274,578
 (32) 優先日 平成28年1月4日 (2016.1.4)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/274,551
 (32) 優先日 平成28年1月4日 (2016.1.4)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 518236580
 エボゲン, インコーポレーテッド
 アメリカ合衆国カンザス州66210, ウ
 エスト・ワンハンドレッドテンス・ストリ
 ート 9393, スウィート 500, オ
 ーバーランド・パーク
 (74) 代理人 100140109
 弁理士 小野 新次郎
 (74) 代理人 100118902
 弁理士 山本 修
 (74) 代理人 100106208
 弁理士 宮前 徹
 (74) 代理人 100120112
 弁理士 中西 基晴

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 発作および癲癇の検出のためのバイオマーカーおよび方法

(57) 【要約】

癲癇性発作は診断が困難であり、そしてしばしば類似の症状を有するいくつかの状態から区別することが困難であり、そしてしたがって発作の診断は、しばしば、長時間を要し、高価で、そして信頼できないプロセスである。本発明は、発作および癲癇を同定するためのバイオマーカー、バイオマーカー濃度を測定しそして評価するためのアッセイ、バイオマーカーに基づく予測モデル、ならびにすべての臨床および医療セッティングにおいて、発作および癲癇と関連する一過性および持続性変化を検出し、評価し、そして診断するためのコンピュータシステムを提供する。本明細書で提供する診断法、キットおよび予測モデルは、患者が直ちに診断および/または治療プロトコルに進むことを可能にし、そして療法治療有効性を評価可能にするために、定量的および/または定性的評価を提供する。

Epileptic Seizures (ES)	Non-Epileptic Seizures (NES)	No Seizures (NS)
<ul style="list-style-type: none"> • Seizures in patients whose brains demonstrate a pathologic and enduring tendency to have recurrent seizures¹ • Patients who have experienced at least two unprovoked seizures at least 24 hours apart • Patients who have experienced a single unprovoked seizure and are as likely to experience additional seizures (for example, patients who have experienced a single seizure subsequent to a remote brain insult, like a stroke) • Diagnose of an unresolved epilepsy syndrome 	<ul style="list-style-type: none"> • Seizures that are secondary to a transient factor • Transient factor acting on an otherwise normal brain to temporarily lower the seizure threshold • Examples include seizures in the context of fever or alcohol withdrawal¹ 	<ul style="list-style-type: none"> • No seizure-like events, or events that mimic seizures • Explained by specific medical and psychological conditions • Examples include TIA, vertigo, panic attacks, and conversion disorder/ psychogenic spells

¹ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. Epilepsia, 55(4):475-482,2014

FIG. 1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

哺乳動物被験体において、癲癇を診断するための方法であって：

哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、可溶性 I C A M - 5 (s I C A M - 5) の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ；

哺乳動物被験体から得た前記血漿または血清試料を、T A R C の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ；

哺乳動物被験体から得た前記血漿または血清試料を、T N F - の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ；

s I C A M 5、T A R C および T N F - の濃度を正常対照濃度と比較し；そして

哺乳動物被験体において癲癇を診断する
工程を含む、前記方法。

10

【請求項 2】

哺乳動物被験体において、発作を診断するための方法であって：

哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、可溶性 I C A M - 5 (s I C A M - 5) の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ；

哺乳動物被験体から得た前記血漿または血清試料を、T A R C の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ；

哺乳動物被験体から得た前記血漿または血清試料を、T N F - の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ；

s I C A M 5、T A R C および T N F - の濃度比を正常対照濃度比と比較し；そして

哺乳動物被験体において癲癇を診断する
工程を含む、前記方法。

20

【請求項 3】

哺乳動物被験体において、癲癇を診断するための方法であって：

哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、T A R C の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ；

哺乳動物被験体から得た前記血漿または血清試料を、T N F - の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ；

T A R C および T N F - の濃度を正常対照濃度と比較し；そして

哺乳動物被験体において癲癇を診断する
工程を含む、前記方法。

30

【請求項 4】

哺乳動物被験体において、発作を診断するための方法であって：

哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、T A R C の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ；

哺乳動物被験体から得た前記血漿または血清試料を、T N F - の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ；

T A R C および T N F - の濃度比を正常対照濃度比と比較し；そして

哺乳動物被験体において癲癇を診断する
工程を含む、前記方法。

40

【請求項 5】

診断された発作事象を治療するため、プロラクチンまたは他のバイオマーカー診断試験を組み合わせて用いる、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 6】

診断された発作事象を治療するため、プロラクチンまたは他のバイオマーカー診断試験を組み合わせて用いる、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】

患者に関する定量的データを生成するためのキットであって：

患者から採取した血漿または血清試料において、可溶性 I C A M - 5 (s I C A M - 5

50

) の発現レベルを測定可能な診断試薬；

患者から採取した血漿または血清試料において、T A R C の発現レベルを測定可能な診断試薬；

患者から採取した血漿または血清試料において、T N F - の発現レベルを測定可能な診断試薬；および

s I C A M - 5、T A R C、およびT N F - の発現レベルを、正常対照の発現レベルと比較するための分析装置

を含む、前記キット。

【請求項 8】

試料をスコア付けするためのシステムであって、s I C A M 5、T A R C およびT N F - の発現レベルを比較して、正常対照から癲癇を判定する、前記システム。

10

【請求項 9】

ソフトウェアを含むコンピュータであって、前記ソフトウェアがs I C A M 5、T A R C およびT N F - の発現レベルを比較して、正常対照から癲癇を判定する、前記コンピュータ。

【請求項 10】

s I C A M - 5、T A R C、およびT N F - 、またはそれらの組み合わせの比の、正常対照と比較して変更された血漿または血清発現レベルを有する患者において、発作障害を治療する方法であって、癲癇の療法を患者に投与する工程を含む、前記方法。

【請求項 11】

患者が性別、年齢、人種およびその組み合わせからなる群より選択される特性を所持し、そして正常対照がその特性に基づいて選択される、請求項 10 に記載の方法。

20

【請求項 12】

癲癇の療法が、フェニトイン、 Fosフェニトイン、カルバマゼピン、クロバザム、クロナゼパム、ジアゼパム、ジバルプロエックス、酢酸エスリカルバゼピン、エトスクシミド、エゾガビン、フェルバメート、ガバペンチン、ラコサミド、ラモトリジン、レベチラセタム、ロラゼパム、オクスカルバゼピン、フェノバルビタール、プリミドン、チアガビン、トピラメート、バルプロ酸、ゾニサミドならびにその薬学的に許容されうる塩、プロドラッグ、および誘導体からなる群より選択される抗癲癇化合物の療法的に有効な用量である、請求項 10 に記載の方法。

30

【請求項 13】

発作障害を有する患者を治療するため、E E G を組み合わせて用いる、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 14】

発作障害を有する患者を治療するため、M R I または他の診断試験を組み合わせて用いる、請求項 10 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願に対するクロスリファレンス

40

本出願は、その全体が本明細書に援用される、2016年1月4日出願の米国仮出願第62/274,551号および2016年1月4日出願の米国仮出願第62/274,578号の恩典を請求する。

【0002】

政府の援助

本発明は、米国国立衛生研究所によって授与された助成金番号第1R43NS079029-01A1号のもとに米国政府の援助で行われた。米国政府は、本発明において特定の権利を有しうる。

【0003】

発明の分野

50

癲癇性発作は診断が困難であり、そしてしばしば類似の症状を有するいくつかの状態から区別することが困難であり、そしてしたがって発作の診断は、多くの場合、長時間を要し、高価で、そして信頼できないプロセスである。予測モデル (EvoScore™) は、癲癇を除外することによって、臨床医が患者を迅速にトリアージ可能であるようにする。予測モデルは、有効な治療を生じる可能性が最も高い診断プロトコルに、患者を直ちに進めることを可能にし、かなりの時間および費用を節約し、そして患者が不要な試験を受けるのを回避させる。

【0004】

本発明の解説は、一般的に、炎症および発作に関連するバイオマーカー、ならびに対象の試料から得られる定量的なデータセットをスコア付けすることによって生物学的状態を特徴付ける方法、ならびに本明細書に記載するような多様な他の態様に向けられる。

10

【0005】

本出願は、すべての臨床的セッティングにおける発作 (癲癇発作) および癲癇の診断および病因分類に関する血液試験に向けられる。いくつかの態様において、発作または発作を有する傾向の指標となる個々のバイオマーカーおよびバイオマーカーパネル/アレイを提供し、これには発作を検出するための方法、発作の治療の有効性を評価するための方法、発作を有する傾向または発作を生じる任意の根底にある障害の治療、および診断キットが含まれる。他の態様において、予測モデルを提供し、発作および癲癇と関連する一過性 (phasic) および持続性 (tonic) 変化を予測する定量的および定性的スコアの両方を提供する。このスコアを用いて、数値的な「定量的」、あるいは高い、中程度もしくは低い「定性的」または陽性もしくは陰性の「定性的」結果を提供することによって、一過性および持続性変化をレーティングしそして/または測定し、事象を包含し (rule in) または除外し、患者の生活の質および療法的有効性を評価することも可能である。

20

【背景技術】

【0006】

発作および癲癇は、重大な罹患率、医療コスト、そしてさらには致死率にも関連する、非常に一般的な神経学的障害である。癲癇は、偏頭痛、脳卒中およびアルツハイマー病に次ぐ、4番目に最も一般的な神経学的障害である。癲癇は、米国では230万人を超える患者、そして世界中では6500万人の患者に影響を及ぼす一般的な神経学的疾患であり、かなりの財政上の重荷を伴う。現在、癲癇は、世界人口のおよそ1%に影響を及ぼしていると概算される。癲癇で現在治療されている活性症例の患者総数は1780万であり、インド (750万)、中国 (490万)、および米国 (230万) が他の国をリードしている。癲癇ケアの財政上の重荷はかなりのものであり、主な出費は、適切な診断に必要な試験に起因する。米国における癲癇および発作は、直接および間接的コストで、176億ドルの概算年間コストを生じると概算される。発作を伴う患者にケアを提供する際の主な限界は、一過性虚血性発作、失神、睡眠障害、および心因性事象などの他の障害とは対照的に、臨床的事象を発作と同定する診断血液試験がないことである。

30

【0007】

癲癇は自発的および再発性発作によって定義され、非常に蔓延している公衆衛生上の問題である。「発作障害」としても知られる癲癇は、患者が、既知の医学的状态によって引き起こされたのではない2回の発作を起こすまで診断されない。新規症例の70%では、原因は明らかでない。非誘発性発作を一度起こした人のおよそ30~50%は、再発性発作 (癲癇) を発症する。癲癇患者の3分の1は、彼らに効く利用可能な治療がないため、制御されない発作を抱えて生活している。

40

【0008】

新規抗癲癇薬剤 (AED) を開発するために多くの研究が行われてきたが、しばしば EEG に頼る「代表的な」診断プロトコルは、一定でそして不適切なままである。患者が発作を呈していると推測される場合、事象が癲癇または別の障害によって引き起こされるかを診断するプロセスは、ほとんどの場合、長くそして高価である。患者は、通常、血液試

50

験、画像研究、EEG、および利用可能な場合ビデオEEGを含む長時間の精密検査を経る。多くの場合、診断は、他の医学的状態が「除外される」排除の1つであり；そして癲癇の確定診断は、典型的には、通常、入院癲癇監視設備において、長くそして高価な入院期間中、癲癇性発作「事象」が起きている間に、EEGがそれを記録した場合に行われる。

【0009】

保健制度との長期契約に関連する高額なコストに加えて、癲癇診断の現在の状態は、別の重大な問題を提示する：初期診断のための優れたトリアージツールがないため、他の根底にある状態のために発作と推測されるものを経験している患者は、AEDで誤って過剰にまたは過少に治療されるかいずれかとなる可能性があり、この間、その根底にある状態は実際には治療されないままである一方、望ましくない薬物副作用を経験する。したがって、患者の状態（癲癇であるかどうか）の適時診断は、重大な医学的必要性が満たされていないままである。

10

【0010】

癲癇診断方法論

癲癇の正確な診断は、臨床医が実際の発作を稀にしか観察しないことに加えて、異なって提示される、多くの異なるタイプの発作および癲癇症候群があるため、非常に困難であり、そして時間が掛かる。さらに、他の神経学的障害が発作を模倣し、これは、誤った診断、重大な潜在的に不都合な事象を伴う不適切な治療、不正確な予後、および医療資源の重大な浪費につながる。臨床的事象、例えば運動障害、例えば振戦、チック、ジスキネシア、失神発作/気絶、一過性虚血性発作(TIA)、睡眠障害/睡眠時異常行動、および身体表現性(somatiform)精神障害は、熟練臨床医によってさえ、発作と間違えられる可能性がある。発作の確定診断を与えることは、長期的な患者の健康および転帰に重要であり、こうした診断は、初期治療、続く追跡調査および監視、カウンセリングならびに援助につながるであろう。現在、発作または癲癇の確定診断を得ることは高価でそして患者に不都合であり、これは入院評価および一連の高額な試験を必要としうるためである。癲癇の診断は、何年も、非常に高額で、そしてしばしば厄介な医学的・神経学的評価に頼ってきており、これには以下が含まれる：

20

・「代表的」試験は脳波記録(EEG)である。記録中に発作が捉えられると、EEG上に、発作活性が迅速なスパイク波として現れる。脳病変、すなわち腫瘍、脳卒中は、正常な電氣的脳リズムの遅滞を引き起こしうる。EEGへの曝露は、典型的には事後アッセイとして行われるものであり、すなわち臨床事象が終了した後であり、そして実際には、正常でありうる。連続EEGは、長期のパターンを得て、そして起きている最中に発作を「捉える」ことを試みるため、病院内で行われる24時間EEGである。これは高額な入院を必要とし、そして臨床事象が入院中に起こることを確かに知る方法はない。明らかに、これは外来および救急診療部(ED)セッティングにおいて、介護人に重大なロジスティックな課題を提供し、これは大部分の患者は、事象が終わった後にEDを訪れ、そして病歴情報しか集められないためであり；単一発作の確定診断は、本質的に、不可能であり、そしてよくて経験的である。EEGは、よくて約30~50%の感度(正しく同定されている陽性の比率を測定する)および50%の特異度である。

30

40

【0011】

・最初の発作様事象を取り巻く環境を決定する病歴、事象の期間および頻度、ならびに開始の年齢。多くの場合、患者または介護者は、正確な診断に必要なレベルで詳細を提供することができない。失われる情報には、通常、開始の時間および事象の期間が含まれ、これは、介護者が居合わせていなかったか、または正確な記録を付けることに失敗したという事実による。発作様の事象は、患者、介護者、および反応者にとって衝撃的な事象であり、そこでは、最初の反応が患者のためにケアされるべきであり、タイミングまたは診断に必要な他の情報の記録を取るべきではない。

【0012】

・全血球計算(CBC)、化学代謝パネル(CMP)、および毒物学スクリーン試験を

50

含む実験室研究。これらは、「発作」自体を診断せず、その代り、神経学的機能不全を説明する手がかりを提供しうる。プロラクチンレベルの測定は信頼性がない。EEGは、いくつかのタイプの脳障害を評価するために用いられる。

【0013】

・MRIは、脳の画像およびスキャンを生成するために用いられる技術である。MRIスキャンは、個体の脳構造を調べるために使用可能である。MRIスキャンは、それ自体では、個体が癲癇を有しているかどうかを決定することはできないが、他の情報とともに考慮された場合、癲癇が発作様事象の原因であるかどうかを臨床医が決定するのを補助しうる。

【0014】

・PETスキャンは、臨床医に、体内の細胞がどのように機能しているかに関するさらなる情報を与えるため、発作様事象を引き起こす脳の部分を位置決定するために使用可能である。PETスキャンはいくつかの症例では有益であるが、これらはしばしば癲癇とは関連しない異常を示し、そして診断プロセスの一部であることはそれほど頻繁ではない。

【0015】

・腰椎穿刺は、針吸引を通じて脊髄周囲の液体を抜き取り、そして実験室で分析する処置である。これは、発作様事象の原因として、感染、例えば髄膜炎または脳炎を除外するために行われる。

【0016】

適時診断：満たされていない必要性

診断プロセスは、臨床事象が発作であると指摘されるまでに数か月を要する可能性もあり、そしてしばしば臨床的ケアは、支持的証拠に基づくが確定的証拠には基づかず、極めて経験的であり、多くの場合、過少または過剰な診断および治療を生じる。したがって、適時のそして正確な発作診断は、満たされていない医学的必要性のままである。診断プロセスが長いだけでなく、医療システムに対する重大な負荷となっており、癲癇診断方法論に関する年間額は米国のみで総額150億ドルを上回る。したがって、実質的にすべての臨床セッティングにおける癲癇の臨床的評価における重大なギャップは、脳活性における一過性および持続性変化の両方を同定する、単一または再発性事象のいずれかに使用可能な、発作に関する正確な診断血液試験である。癲癇に関する臨床的診断試験が、患者の臨床的状态を説明するために非常に有益であろう、多くの臨床的シナリオが想定可能である：1) 個体が家で卒倒した後、EDに連れてこられる；2) 個体が路上で混乱し、そしてさまよっているところを発見される；3) 入院患者が無反応性の短時間のエピソードまたは精神状態の変化を有する；4) EEG、CT、またはMRIが容易に利用可能でない第三世界の患者。行動可能な結果を伴って、臨床的事象の即時のそして確定的な説明を提供可能である単純な血液試験は、非常な診断的進歩であり、そして癲癇に向かう(「包含」)または癲癇から離れる(「除外」)さらなる研究を指示し、資源、時間、および出費を節約する。簡潔には、発作の単純な血液試験は、大きなイノベーションである。

【0017】

癲癇の正確な診断は、臨床医が発作を稀にしか観察せず、そして異なって提示される、多くの異なるタイプの発作および癲癇症候群があるため、非常に困難であり、そして時間が掛かる。癲癇の診断は、長年、患者の病歴(全血球計算および化学代謝プロファイルを含む)および脳波記録(EEG)を含む「代表的」試験に頼ってきた。これらを分析したら、臨床医はまた、磁気共鳴画像法(MRI)および利用可能な場合は連続ビデオEEG(vEEG)を実行することも可能である。さらなる診断技術には、陽電子放射断層撮影(PET)スキャンおよび腰椎穿刺(脊髄穿刺)が含まれることも可能である。代表的EEGを用いた癲癇診断の主な課題は、EEGが癲癇に関しては、25~56%の間の範囲の低い感度を有するという事実である。特異度はこれより優れているが、やはり78~98%で多様であり、これは特異度がEEGを読み取る医師の技術に依存するためである。さらに、しばしば発作障害の適切な診断に適しているが、EEGは癲癇を有する患者に関しては持続的に正常に見える可能性もある。実際、EEGは、発作を診断する際の感度を

10

20

30

40

50

最大にする試験に関する必要性を検証する、本発明者らの研究において、37～55%の感度、98～99%の特異度、98%のPPV、および64～66%のNPVを有することが示された。

【0018】

重要なことに、患者が上述のように、癲癇に関して、何ヶ月もの診断精密検査を受けている間、患者は、典型的には、あるとすればその発作を制御する薬剤を決定するため、ある期間のAED薬剤試行錯誤にさらされる。特に、AEDの副作用の負荷およびある場合には催奇性の結果を考慮した際、この不要な薬剤のコストは莫大であり、そして長期診断プロセスと組み合わせると、医療システムに対する重大な負荷となっており、癲癇診断方法論に関する年間額は米国のみで総額150億ドルを上回る。

10

【0019】

癲癇診断を合理化する努力において、発作に続いて、プロラクチンレベルが上昇していることが観察されている。発作診断のためのプロラクチン適用のさらなる臨床的評価によって、プロラクチンは、試料が発作の10～20分の間に収集された場合にのみ、利用可能な発作バイオマーカーであることが示された。さらに、プロラクチンは、原発性または続発性に生成される持続性間代性発作ならびに側頭葉起源の部分的複雑発作を含む発作のサブセットにしか適用可能でない。

【0020】

したがって、実行可能なウィンドウが短い(数分後)ことと併せて、診断感度、特異度、および正確度が不適切であるため、プロラクチンは現実的な発作バイオマーカーとは見なされず、そして今日では、臨床的セッティングで用いられることがあったとしても稀である。

20

【0021】

炎症および発作の間の関連

発作は、発作が始まる脳組織において炎症反応を誘導する。例えば、難治性癲癇患者の切除脳標本において、ロバストな炎症反応が存在する可能性があり、これには非常に重大な炎症促進性サイトカインおよびケモカイン、例えば腫瘍壊死因子アルファ(TNF)、インターロイキン8(IL-8)、インターロイキン6(IL-6)、およびインターフェロンガンマ(IFN)が含まれる。増加したレベルのTNF、IL-8、IL-6、およびIFNはまた、マウス発作モデルでも検出されてきており、脳における炎症プロセスが発作の病因に、そして慢性癲癇病巣の確立に寄与するというアイデアが強調される。これらのサイトカインの多くは、発作直後の発作患者の脳脊髄液中にも検出されている。いくつかのサイトカイン受容体サブタイプの発現もまた、ニューロンおよび星状細胞上で上方制御されており、活性化された細胞内シグナル伝達の機構が示唆され、脳におけるサイトカインのオートクリンおよびパラクリン作用が強調される。サイトカインおよび古典的神経伝達物質、例えばグルタミン酸およびGABAの間の機能的相互作用は、これらの相互作用がニューロン興奮性におけるサイトカインが仲介する確立された変化の根底にあり、したがって発作を促進する可能性を示唆する。急性発作が血液脳関門浸透性増加を誘導可能であるという明らかな証拠もまたある。この効果が、活性化されたT細胞およびマクロファージの脳組織内への通過を促進し、脳における炎症反応を促進して、そして脳特異的炎症性サイトカインおよびケモカインの末梢血内への漏洩を助長することが示されている。

30

40

【0022】

ICAM5は、もっぱら脳において発現されているニューロン性糖タンパク質であり、そしてT細胞運動性および走化性の阻害を通じて抗炎症性タンパク質として機能する。ICAM5は、ニューロンにおいて、細胞体および樹状突起に限局され、そして樹状系状仮足で濃縮され、より成熟した樹状突起では発現がより少ない。ICAM5は9つの外部免疫グロブリンドメインに続いて、膜貫通および細胞質ドメインを持つ、複雑な構造を有する。外部部分は、ベータ1およびベータ2インテグリン、ならびにマトリックスタンパク質ピトロネクチンに結合する一方、膜貫通ドメインはプレセニリンに結合し、そして細胞

50

質部分はアルファ - アクチニンおよび細胞質タンパク質の E R M ファミリーに結合する。切断され、そして遊離した際、I C A M 5 は可溶性型 (s I C A M 5) となり、そして細胞外空間および血液内に放出されうる。s I C A M 5 は神経突起伸長を強力に刺激する。免疫電子顕微鏡研究において、I C A M 5 は、錐体細胞樹状突起の後シナプス棘突起の表面膜に局在するが、海馬 C A 1 領域中の軸索末端のものには局在しないことが見出された。海馬におけるシェーファー側枝 C A 1 シナプスの長期増強 (L T P) は、抗 I C A M 5 抗体または組換え s I C A M 5 タンパク質で I C A M 5 を遮断することによって抑制された。これらの観察は、s I C A M 5 が仲介する細胞間相互作用が、L T P 発展における重要な段階として役割を持つことを示唆する。その後の研究では、s I C A M 5 が脳におけるニューロンへの白血球結合のための主要な接着分子として作用しうることが示された。1 つの小さいコホートにおいて、s I C A M 5 レベルの増加が、側頭葉癲癇患者の脳脊髄液および血清で報告され、多発性硬化症またはアルツハイマー病では変化がないことが報告された。N M D A 受容体の活性化は、メタロプロテイナーゼ (M M P) 仲介性 I C A M 5 切断を通じた樹状突起発展を促進し、そしてニューロン興奮性に寄与する。さらに、s I C A M 5 がマウス脳炎モデルの脳において、ケモカイン産生を調節する際に重要な役割を果たすことが立証された。I C A M - 5 外部ドメインは、単細胞記録を用いた A M P A ミニ励起後シナプス電流 (m E P S C) の振動数の増加を刺激することが見出されたが、振幅は増加させなかった。ピオチン化および沈殿アッセイを用いて、I C A M - 5 外部ドメインが、G l u A 1 A M P A R サブユニットの膜レベル増加を引き起こすが、G l u A 2 のレベルは増加させないことが見出されている。G l u A 1 リン酸化の I C A M - 5 関連増加が見出された。同時に、I C A M - 5 は、樹状突起数の増加を引き起こすことなく、樹状突起に沿って G l u A 1 表面染色の増加を引き起こす。これは、s I C A M - 5 がグルタミン酸作動性伝達を増加させ、そして脳ネットワーク活性変化によって影響を受けうることを示唆した。

10

20

【 0 0 2 3 】

T A R C (胸腺および活性化制御ケモカイン ; C C L 1 7) は、主に、胸腺および血液単核細胞において発現されるケモカイン (すなわち、アレルギーおよび他の炎症状態において、T および B リンパ球、単球、好中球、好酸球および好塩基球の運動に關与するサイトカイン) である。T A R C は、炎症促進性サイトカインおよびリンパ球化学誘引物質として機能し、T 細胞上の C C R 4 受容体に特異的に結合し、そして T 細胞株において走化性を誘導する。T A R C は C C R 4 に結合するため、T h 2 型ケモカインと見なされる。T A R C は、樹状細胞、内皮細胞、角化細胞および線維芽細胞を含む、多数の細胞タイプによって産生される。血清 T A R C レベルは、小児および成人に影響を及ぼす皮膚の炎症性障害であるアトピー性皮膚炎における疾患活性の有用なアッセイであることが示されてきている。実際、T A R C は炎症のための確立された全身性の抵抗器である。T A R C は、脳の脈絡叢で低レベルの発現を示すが、ニューロンまたは星状細胞による最低限の発現を有する。しかし、発作の結果としての血漿 T A R C 発現の変化に関してはほとんど知られていない。

30

【 0 0 2 4 】

T N F - は、脳卒中、アルツハイマー病、癌および自閉症を含む、ある範囲の神経学的障害に關連付けられている分泌型サイトカインである。多くの研究によって、実験癲癇モデル系ならびに C S F および血清を含むヒト試料においての両方で、T N F レベルが調べられてきている。ラットにおけるカイン酸誘導性発作は海馬における T N F - 発現を誘導する。自発性発作を有するイヌにおいて、T N F - レベルは C S F 中で上昇し、そしてマウス発作モデルにおける T N F - シグナル伝達カスケードの操作は発作を減弱することが可能である。T N F - レベルは、側頭葉癲癇を有する患者においてロバストに上昇しており、T N F - が、特に発作のセッティングにおいて、脳における炎症の広いマーカーであることが示唆される。

40

【 0 0 2 5 】

本明細書に示すように、記載する発明は、分野に欠けているものを改良する。実際、本

50

発明者らの研究において、実験モデルおよび癲癇を有するヒトの両方において、炎症および発作の間の関連に基づいて、患者血漿における最初のプロテオミクススクリーンを用いて、発作に反応した一過性および持続性変化を示すと仮定される炎症性サイトカインに関連するバイオマーカーパネルを探索した。特定の血漿タンパク質レベルの測定可能な変化が発作に関する診断血液試験を生じうると推測された。20人の癲癇患者のコホートにおいて、ベースライン（発作前）および発作24時間後（EEG記録によって、EMUにおいて立証される）、多重ELISAによって血漿試料を分析した。細胞内接着分子5の可溶性型（sICAM5またはテレンセファリン）に対する胸腺および活性制御ケモカイン（TARCまたはCC17）の比は、正常対照と比較して、発作患者において、統計的に異なることが見出された。続いて、対照個体に比較して、発作を患う患者において、血漿TNFレベルもまた統計的に有意に異なることが見出された。癲癇監視設備に入院した131人の神経学患者および30人の正常対照の別のコホートにおいて、発作前、および発作後1分から72時間を超えるまでの患者試料の両方を分析し、そして癲癇および非癲癇事象血漿試料の間を区別可能であるTNF、TARCおよびsICAM5を伴うアルゴリズムを考案した。

10

20

30

40

50

【発明の概要】

【0026】

1つの態様において、本発明には、患者由来の血漿を有効にスクリーニングして、発作後の選択されたタンパク質の測定可能な変化を同定する、血液に基づく診断試験であるEvoScoreが含まれる。炎症プロセスと関連する3つのタンパク質、TARC、sICAM5、およびTNF- α を用いて、発作の診断試験に変換可能な、関連スコアを伴う予測アルゴリズム（EvoScore予測モデルTM）を生成する。タンパク質レベルを患者人口統計特性と組み合わせるアルゴリズムは、強力な診断性能を伴って、発作および癲癇を有する患者における、一過性および持続性変化（急性および慢性）の両方の予測を示し、患者の除外ならびに発作および癲癇を有する患者の包含の両方を行い、治療時間および経過に渡って、患者をモニターする能力を伴う。EvoScoreは、すべての臨床的および医療セッティングにおいて使用可能である。

【0027】

1つの態様において、本発明には、哺乳動物被験体において、癲癇および/または発作を診断するための方法が含まれる。いくつかの態様において、方法には、哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、可溶性ICAM-5（sICAM-5）の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させる工程が含まれることも可能である。いくつかの態様において、方法には、哺乳動物被験体から得た前記血漿または血清試料を、TARCの発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させる工程が含まれることも可能である。いくつかの態様において、方法には、哺乳動物被験体から得た前記血漿または血清試料を、TNF- α の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させる工程が含まれることも可能である。いくつかの態様において、方法には、sICAM5、TARCおよびTNF- α の濃度を正常対照濃度と比較する工程が含まれることも可能である。いくつかの態様において、方法には、sICAM5、TARCおよびTNF- α の濃度比を正常対照濃度比と比較する工程が含まれることも可能である。いくつかの態様において、方法には、哺乳動物被験体において癲癇を診断する工程が含まれることも可能である。

【0028】

1つの態様において、本発明には、哺乳動物被験体において、癲癇および/または発作を診断するための方法であって、哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、TARCの発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させる工程を含むことも可能な前記方法が含まれる。いくつかの態様において、方法には、哺乳動物被験体から得た前記血漿または血清試料を、TNF- α の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させる工程が含まれることも可能である。いくつかの態様において、方法には、TARCおよびTNF- α の濃度を正常対照濃度と比較する工程が含まれることも可能である。いくつかの態様において、方法には、TARCおよびTNF- α の濃度比を正常対照濃度比と

比較する工程が含まれることも可能である。いくつかの態様において、方法には、哺乳動物被験体において癲癇を診断する工程が含まれることも可能である。

【0029】

1つの態様において、本発明には、患者に関する定量的データを生成するためのキットが含まれる。いくつかの態様において、キットには、患者から採取した血漿または血清試料において、可溶性ICAM-5 (sICAM-5) の発現レベルを測定可能な診断試薬が含まれることも可能である。いくつかの態様において、キットには、患者から採取した血漿または血清試料において、TARCの発現レベルを測定可能な診断試薬が含まれることも可能である。いくつかの態様において、キットには、患者から採取した血漿または血清試料において、TNF- α の発現レベルを測定可能な診断試薬が含まれることも可能である。いくつかの態様において、キットには、sICAM-5、TARC、およびTNF- α の発現レベルを、正常対照の発現レベルと比較するための分析装置が含まれることも可能である。

10

【0030】

1つの態様において、本発明には、試料をスコア付けするためのシステムであって、sICAM5、TARCおよびTNF- α の発現レベルを比較して、正常対照から癲癇を判定する、前記システムが含まれる。

【0031】

1つの態様において、本発明には、ソフトウェアを有するコンピュータであって、前記ソフトウェアがsICAM5、TARCおよびTNF- α の発現レベルを比較して、正常対照から癲癇を判定する、前記コンピュータが含まれる。

20

【0032】

1つの態様において、本発明には、sICAM-5、TARC、およびTNF- α 、またはそれらの組み合わせの比の、正常対照と比較して変更された血漿または血清発現レベルを有する患者において、発作障害を治療する方法であって、癲癇の療法を患者に投与する工程を含む、前記方法が含まれる。

【図面の簡単な説明】

【0033】

前述の概要、ならびに本発明の以下の詳細な説明は、付随する図と組み合わせて読んだ際によりよく理解されるであろう。

30

【図1】図1は、発作の異なるタイプに関する基準を例示する。

【図2】図2は、アルゴリズムの目的および最終的に使用可能な結果を例示する。

【図3】図3は、ロジスティック回帰による個々の事象診断(24時間)のモデリングから得られるROC曲線を例示する。

【図4】図4は、ロジスティック回帰による患者診断(24時間)のモデリングから得られるROC曲線を例示する。

【図5】図5は、ロジスティック回帰による患者診断(24時間)のモデリングから得られるROC曲線を例示する。

【図6】図6は、分類および回帰ツリーアルゴリズムを用いて、分類ツリーアルゴリズムが、対照試料から発作事象を正しく階層化する性能を例示する。

40

【図7】図7は、分類ツリー分析によって定義されるリスク群を含む多重ロジスティック回帰による個々の事象診断(24時間)のモデリングから得られるROC曲線を例示する。

【図8】図8は、分類ツリー分析によって定義されるリスク群を含む多重ロジスティック回帰による個々の事象診断(すべての時間)のモデリングから得られるROC曲線を例示する。

【図9】図9は、分類ツリー分析によって定義されるリスク群を含む多重ロジスティック回帰による患者診断(24時間)のモデリングから得られるROC曲線を例示する。

【図10】図10は、分類ツリー分析によって定義されるリスク群を含む多重ロジスティック回帰による患者診断(24時間)のモデリングから得られるROC曲線を例示する。

50

【図 1 1】図 1 1 は、分類ツリー分析によって定義されるリスク群を含む多重ロジスティック回帰による外来結果のモデリングから得られる R O C 曲線を例示する。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 3 4 】

癲癇においては、発作開始領域内で、免疫反応が生じる。いくつかの別個の組織病変タイプ、例えば結節性硬化症 (T S C) および内側側頭葉硬化症 (M T S) において、炎症促進性サイトカイン、例えば I L - 1 、 I L - 6 、 T N F - α 、 F a s 、 および F a s リガンドが活性化される。さらに、補体結合および沈着、改変された血液脳関門浸透性、ならびにマクロファージ浸潤がある。炎症は、 I L - 1 産生、 T L R 4 、 N F κ B 、 m T O R 、 および M A P K カスケードの活性化、活性化リンパ球、マイクログリアおよびマクロファージの誘引、ならびに星状細胞生理の改変を含む、非常に多様な下流効果を生じうる。さらに、抗炎症サイトカインとの相対バランスもまた調節される可能性もあり、 I L - 4 、 I L - 1 0 および I L - 1 3 のようなサイトカインレベルの変化を示す。理論によって束縛されることなく、これらの変化は、発作につながり、発作によって引き起こされる疾患プロセスの結果であり、そして / または発作の結果である可能性もある (図 1 を参照されたい) 。

10

【 0 0 3 5 】

開発される診断試験およびアルゴリズムは、そうでないものから発作を、そして正常から癲癇を区別することが可能である (図 2 を参照されたい) 。本出願は、発作に関連するマーカーに関する当該技術分野における必要性に取り組む。

20

【 0 0 3 6 】

本明細書において、略語「 A 1 A T 」および「 α 1 A T 」は、アルファ 1 - アンチトリプシンを指し、これはまた、セルピンペプチダーゼ阻害剤、クレード A (アルファ - 1 アンチプロテイナーゼ、アンチトリプシン) 、メンバー 1 としても知られる。

【 0 0 3 7 】

用語「含む (c o m p r i s i n g) 」および「含まれる (i n c l u d i n g) 」は、別に示されない限り、交換可能に用いられる。

用語「原因不明性」は、本明細書において、未知の起源の発作または癲癇を指す。

【 0 0 3 8 】

用語「一過性」は、本明細書において、即時のまたは突然の事象または発作に直接関連する血液バイオマーカーの変化を指す。血液における変化は短時間であり、そして事象後特定の期間以内に回復する。

30

【 0 0 3 9 】

用語「持続性」は、本明細書において、患者の全般的な状態に関連する血液バイオマーカーにおける持続性のまたは一定の変化を指す。レベルは、対照被験体におけるものから区別可能であり、そして患者がその状態の症候性の事象を経験しているかどうかに基づいて、顕著には変動しない。

【 0 0 4 0 】

用語「急性」は、本明細書において、即時のまたは突然の事象または発作に直接関連する血液バイオマーカーの変化を指す。血液における変化は短時間であり、そして事象後特定の期間以内に回復する。

40

【 0 0 4 1 】

用語「慢性」は、患者の全般的な状態に関連する血液バイオマーカーにおける持続性のまたは一定の変化を指す。レベルは、対照被験体におけるものから区別可能であり、そして患者がその状態の症候性の事象を経験しているかどうかに基づいて、顕著には変動しない。

【 0 0 4 2 】

用語「疾患」、「障害」、または「状態」は、本明細書において、発作につながるか、これを引き起こすか、またはこれに影響を及ぼすと認識されるかまたは診断される任意の徴候、症状、あるいは徴候または症状の組み合わせを指す。該用語には、限定されるわけ

50

ではないが、外傷、炎症および自己免疫反応、生理学的形成異常、および遺伝的欠損が含まれる。

【0043】

略語「GM-CSF」は、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子を指す。

略語「HGF」は、肝細胞増殖因子を指す。

略語「ICAM-1」は、細胞間接着分子1を指す。

【0044】

用語「発作性の」は、発作などの生理学的状態または事象を指す。

略語「指標」(または「の指標」)は、予測(傾向を含む)および検出(発作発生に近接した)の両方を含み、そして別に示さない限り、該用語を含む態様は、予測に特異的な、検出に特異的な、そして予測のための、ならびに過去または現在の事象の検出のための態様を定義し、そして含むことが意図される。用語「傾向」と組み合わせた用語、指標の使用は、単に、将来の事象に向かう傾向に対して、過去の事象の証拠を強調することが意図されるが、単に指標の使用は、別に示さない限り、傾向を含むと意図される。

10

【0045】

略語「BDNF」は、脳由来神経栄養因子を指す。

略語「MCP-1」は、ケモカイン(C-Cモチーフ)リガンド2(CCL2)としてもまた知られる、単球走化性タンパク質1、またはその変異体を指す。

【0046】

略語「MDC」は、C-Cモチーフケモカイン22(CCL-22)としてもまた知られる、マクロファージ由来サイトカイン、またはその変異体を指す。

20

略語「MIP-1」は、ケモカインC-Cモチーフリガンド4(CCL-4)としてもまた知られる、マクロファージ炎症タンパク質-1、またはその変異体を指す。

【0047】

略語「IP-10」は、インターフェロンガンマ誘導タンパク質10、小分子誘導性サイトカインB10、C-X-Cモチーフケモカイン10(CXC10)、またはその変異体を指す。

【0048】

エオタキシンは、エオタキシン-1としてもまた知られ、ケモカイン(C-Cモチーフ)リガンド11(CCL11)、またはその変異体を指す。

30

エオタキシン-3は、ケモカイン(C-Cモチーフ)リガンド26(CCL26)、またはその変異体を指す。

【0049】

用語「試料」は、本明細書において、別に示さない限り、血漿または血清試料を指す。本明細書に記載する各態様において、血漿の使用は、血漿または血清の代替物から独立の態様として意図される。本明細書に記載する各態様において、血清の使用は、血漿または血清の代替物から独立の態様として意図される。本明細書に記載する各態様において、限定されるわけではないが、脳脊髄液(CSF)、切除によって得られる組織試料、唾液、および尿を含む別の生物学的試料の使用が、試料を得るため、そして試料を分析するため、当該技術分野の慣用技術にしたがって意図される。試料を使用前に処理してもよく、例えば血液から血漿を調製し、粘性液を希釈する等してもよい。処理法は、ろ過、蒸溜、抽出、濃縮、干渉構成要素の不活性化、試薬の添加等を伴うことも可能である。

40

【0050】

用語「発作(癲癇発作)」および「癲癇」は、交換可能に用いられ、別に示さない限り、癲癇の臨床診断には、2回の誘発されない発作が必要である。用語、癲癇はまた、本出願の出願時現在で理解されるような発作の理解またはその理論によって定義されることも可能である。癲癇には、癲癇のすべての型が含まれ、そして癲癇はこれらに限定されない。

【0051】

用語「被験体」、「個体」、および「患者」は、本明細書において交換可能に用いられ

50

、別に示さない限り、試料を採取する哺乳動物を指す。該用語は、ヒトに特異的な態様を含むと意図される。被験体、個体または患者は、発作または発作が症候性である障害に罹患しているか、これらのリスクがあるか、またはこれらを有する傾向があると推測されることも可能である。該用語にはまた、食品のためにまたはペットとして飼育される家畜が含まれ、ウマ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ネコ、イヌ、および動物園動物が含まれる。治療のために典型的な被験体には、1またはそれより多い発作に感受性であるか、これを患っているか、または患ったことがあるヒトが含まれる。特に、本発明にしたがった治療に適切な被験体は、1またはそれより多い発作に感受性であるかまたはこれを患ったことがあるヒトである。

【0052】

略語「TARC」は、「胸腺および活性化制御ケモカイン」を指し、そして本明細書において、ケモカイン(C-Cモチーフ)リガンド17(CCL17)と交換可能に用いられる。

【0053】

用語「テレンセファリン」、「TLN」、「ICAM-5」および「ICAM5」は本明細書において交換可能に用いられる。

用語「傾向」、例えば「発作を有する傾向」は、事象、例えば発作が起こるかまたは再発する、合理的な医学的可能性を指すよう意図される。該用語はまた、こうした事象が、治療の前に、後に、または進行中に、起こりうる頻度も含む。

【0054】

本明細書において、用語「治療する」または「治療すること」は、任意の臨床的セッティングにおいて、特定の状態、例えば発作または発作関連障害の1またはそれより多い症状または特徴を、部分的にまたは完全に軽減するか、改善するか、寛解するか、阻害するか、防止するか、その開始を遅延させるか、その重症度を減少させるか、そして/またはその発生を減少させるために用いられる任意の方法を指す。治療は、状態に関連する病理を発展させるリスクを減少させる目的のため、状態の徴候を示さない、そして/または状態の初期徴候のみを示す被験体に投与されることも可能である。したがって、被験体の状態に応じて、本発明のいくつかの側面において、該用語は、状態を防止することを指すことも可能であり、そして開始の防止、または状態に関連する症状の防止が含まれる。該用語にはまた、状態および/または症状が重度に進行しないように、状態および/または症状を維持することも含まれる。治療は、急性または慢性方式のいずれで実行されることも可能である。該用語はまた、状態の苦痛の前に、状態またはこうした状態と関連する症状の重症度を減少させることも指す。こうした防止または苦痛の前の状態の重症度の減少は、投与時点では状態に苦しんではいない被験体への療法の投与を指す。防止にはまた、状態の再発、その頻度、あるいはこうした状態に関連する1またはそれより多い症状の再発を防止することもまた含まれる。用語「治療」および「療法的に」は、「治療する」を上定義するように、治療の行為を指す。介入の目的は、状態と闘うことであり、そしてこれには、症状または合併症の開始を防止するかまたは遅延させるか、あるいは症状または合併症を軽減するか、あるいは状態を取り除くための療法の投与が含まれる。例えば、治療は、障害と関連する症状またはその頻度(例えば発作の傾向)を改善するために用いられることも可能である。

【0055】

用語「結節性硬化症」、「結節性硬化症症候群」、ならびに略語/頭字語「TS」および「TSC」は、本明細書において、交換可能に用いられる。

略語「VCAM-1」は、血管細胞接着分子1を指す。

【0056】

略語「VEGF-A」は、血管内皮増殖因子Aを指す。

sICAM5

ICAM-5は、健康な患者に比較して、癲癇患者の血漿または血清において、示差的に分布している、ニューロン由来タンパク質である。可溶性ICAM-5(sICAM5

10

20

30

40

50

、s I C A M - 5、またはその変異体としてもまた知られる)は、炎症に反応して、メタロプロテアーゼによってI C A M - 5から切断される。予期せぬことに、改変されたs I C A M - 5発現は、健康な患者に比較して、発作患者の症例において見出されることが見出されている。s I C A M - および/または組み合わせ、s I C A M - 5 / T A R C および/またはs I C A M 5 / T N F - 比は、健康な対照から改変されている。

【0057】

1つの態様において、哺乳動物被験体の血漿または血清において、可溶性I C A M - 5 (s I C A M - 5)に結合可能なプローブを含む、ポリペプチド発現パネルまたはアレイを提供し、ここで、健康な対照に比較して、s I C A M - 5の改変された血漿または血清濃度は、発作または発作を有する傾向の指標である。

10

【0058】

線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0059】

T A R C

T A R Cもまた、健康な患者に比較して癲癇患者の血漿または血清において示差的に分布している有効なマーカーであり、そして発作患者において上昇していることが示されている。1つの態様において、T A R C および/または組み合わせ、s I C A M - 5 / T A R C および/またはT N F - / T A R C比は、健康な対照から改変されている。

20

【0060】

別の態様において、哺乳動物被験体の血漿または血清において、T A R Cに結合可能なプローブを含む、ポリペプチド発現パネルまたはアレイを提供し、ここで、健康な対照に比較して、T A R Cの改変された血漿または血清濃度は、発作または発作を有する傾向の指標である。

【0061】

線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0062】

T N F -

T N F - もまた、健康な患者に比較して癲癇患者の血漿または血清において示差的に分布している有効なマーカーであり、そして発作患者において上昇していることが示されている。1つの態様において、T N F - および/またはs I C A M - 5 / T N F - および/またはT N F - / T A R C比は、健康な対照から改変されている。

30

【0063】

別の態様において、哺乳動物被験体の血漿または血清において、T N F - に結合可能なプローブを含む、ポリペプチド発現パネルまたはアレイを提供し、ここで、健康な対照に比較して、T N F - の改変された血漿または血清濃度は、発作または発作を有する傾向の指標である。

40

【0064】

線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0065】

s I C A M 5 および T A R C

哺乳動物被験体の血漿または血清においてs I C A M - 5に結合可能なプローブ、および血清および血漿においてT A R Cに結合可能なプローブを含む、ポリペプチドまたはアレイもまた提供し、ここで、健康な対照に比較し、s I C A M - 5の血漿または血清濃度の変化ならびに/あるいはT A R Cの血漿または血清濃度の変化は、発作または発作を有

50

する傾向の指標である。

【0066】

線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0067】

s I C A M 5 および T N F -

哺乳動物被験体の血漿または血清において s I C A M - 5 に結合可能なプローブ、および血漿または血清において T N F - に結合可能なプローブを含む、ポリペプチドまたはアレイもまた提供し、ここで、（健康な対照に比較した）s I C A M - 5 の血漿または血清濃度の変化ならびに / あるいは T N F - の血漿または血清濃度の変化は、発作または発作を有する傾向の指標である。

10

【0068】

線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0069】

T A R C および T N F -

哺乳動物被験体の血漿または血清において T A R C に結合可能なプローブ、および血漿または血清において T N F - に結合可能なプローブを含む、ポリペプチドまたはアレイもまた提供し、ここで、（健康な対照に比較した）T A R C の血漿または血清濃度の変化ならびに / あるいは T N F - の血漿または血清濃度の変化は、発作または発作を有する傾向の指標である。濃度は、予測モデルにおいて、数値または対数として取り込まれてもよい。

20

【0070】

線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0071】

s I C A M 5、T A R C および T N F -

哺乳動物被験体の血漿または血清において s I C A M - 5 に結合可能なプローブ、および血漿または血清において T A R C に結合可能なプローブ、および血漿または血清において T N F - に結合可能なプローブを含む、ポリペプチドまたはアレイもまた提供し、ここで、（健康な対照に比較した）s I C A M - 5 の血漿または血清濃度の変化ならびに / あるいは T A R C の血漿または血清濃度の変化ならびに / あるいは T N F - の血漿または血清濃度の変化は、発作または発作を有する傾向の指標である。

30

【0072】

別の態様において、発作を予測するかまたは検出するための方法であって、哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、可溶性 I C A M - 5 (s I C A M - 5) の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ、そして哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、T A R C の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ、そして哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、T N F - の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させる工程を含み、個々に、組み合わせで（マーカーの任意の2つ）、または3つすべてを総合的にも、健康な被験体に比較した、s I C A M - 5 の血漿または血清濃度の変化、ならびに / あるいは T A R C の血漿または血清濃度の変化、ならびに / あるいは T N F - の血漿または血清濃度の変化が、発作または発作を有する傾向の指標である、前記方法を提供する。

40

【0073】

線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも

50

可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0074】

s I C A M 5 / T A R C 比

さらなる態様において、哺乳動物被験体の血漿または血清において s I C A M - 5 に結合可能なプローブ、および血漿または血清において T A R C に結合可能なプローブを含む、ポリペプチドまたはアレイであって、対照（健康な非癲癇 / 非発作）に比較して、試験した被験体における s I C A M - 5 の血漿または血清濃度の変化ならびに / あるいは T A R C の血漿または血清濃度の変化ならびに / あるいは s I C A M - 5 / T A R C の比の変化が健康な対照に比較して改変され、そして発作または発作を有する傾向の指標である、前記ポリペプチドまたはアレイを提供する。

10

【0075】

線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0076】

s I C A M 5 / T N F - 比

さらなる態様において、哺乳動物被験体の血漿または血清において s I C A M - 5 に結合可能なプローブ、および血漿または血清において T N F - に結合可能なプローブを含む、ポリペプチドまたはアレイであって、対照（健康な非癲癇 / 非発作）に比較して、試験した被験体における s I C A M - 5 の血漿または血清濃度の変化ならびに / あるいは T N F - の血漿または血清濃度の変化ならびに / あるいは s I C A M - 5 / T N F - の比の変化が健康な対照に比較して改変され、そして発作または発作を有する傾向の指標である、前記ポリペプチドまたはアレイを提供する。

20

【0077】

線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0078】

T A R C / T N F - 比

さらなる態様において、哺乳動物被験体の血漿または血清において T A R C に結合可能なプローブ、および血漿または血清において T N F - に結合可能なプローブを含む、ポリペプチドまたはアレイであって、対照（健康な非癲癇 / 非発作）に比較して、試験した被験体における T A R C の血漿または血清濃度の変化ならびに / あるいは T N F - の血漿または血清濃度の変化ならびに / あるいは T N F - / T A R C の比の変化が健康な対照に比較して改変され、そして発作または発作を有する傾向の指標である、前記ポリペプチドまたはアレイを提供する。

30

【0079】

線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

40

【0080】

比の組み合わせ

さらなる態様において、哺乳動物被験体の血漿または血清において s I C A M - 5 に結合可能なプローブ、および血漿または血清において T A R C に結合可能なプローブ、および血漿または血清において T N F - に結合可能なプローブを含む、ポリペプチドまたはアレイであって、対照（健康な非癲癇 / 非発作）に比較して、試験した被験体における s I C A M - 5 の血漿または血清濃度の変化ならびに / あるいは T A R C の血漿または血清濃度の変化ならびに / あるいは T N F - の血漿または血清濃度の変化ならびに / あるいは s I C A M - 5 / T A R C および / または T N F - / T A R C および / または s I C A M - 5 / T N F - の比の変化が健康な対照に比較して改変され、そして発作または発

50

作を有する傾向の指標である、前記ポリペプチドまたはアレイを提供する。比は、予測モデルにおいて、線形または対数単位として用いられてもよく、そして/または逆数として用いられてもよい。

【0081】

個々の測定値および比の組み合わせ

さらなる態様において、哺乳動物被験体の血漿または血清においてsICAM-5に結合可能なプローブ、および血漿または血清においてTARCに結合可能なプローブ、および血漿または血清においてTNF- α に結合可能なプローブを含む、ポリペプチドまたはアレイであって、対照（健康な非癲癇/非発作）と比較して、試験した被験体におけるsICAM-5の血漿または血清濃度の変化ならびに/あるいはTARCの血漿または血清濃度の変化ならびに/あるいはTNF- α の血漿または血清濃度の変化ならびに/あるいはsICAM-5/TARCおよび/またはTNF- α /TARCおよび/またはsICAM-5/TNF- α の比の変化が健康な対照と比較して改変され、そして発作または発作を有する傾向の指標である、前記ポリペプチドまたはアレイを提供する。個々の濃度および比の任意の組み合わせが使用可能である。

10

【0082】

線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

20

【0083】

患者人口統計学的特性

別の態様において、sICAM5、TARCおよびTNF- α の任意のバイオマーカー濃度ならびに/あるいはsICAM-5/TARCおよび/またはTNF- α /TARCおよび/またはsICAM5/TNF- α のバイオマーカー濃度の比の任意の組み合わせと組み合わせた際、限定されるわけではないが、年齢、性別および/または人種を含む、患者人口統計学的または患者と関連する他の特性は、正常または健康な対照と比較して、発作が起こったことがあることまたは発作を有する傾向を示しうる。

【0084】

患者人口統計学的特性と組み合わせた際、線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

30

【0085】

他のバイオマーカー

ICAM-5は、健康な患者と比較して、癲癇患者の血漿または血清において、示差的に分布している、ニューロン由来タンパク質である。可溶性ICAM-5（sICAM5、sICAM-5、またはその変異体としても知られる）は、炎症に反応して、メタロプロテアーゼによってICAM-5から切断される。予期せぬことに、改変されたsICAM-5発現は、健康な患者と比較して、発作患者の症例において見出されることが見出されている。そして/またはsICAM-5/TARCおよび/またはsICAM5/TNF- α 比は、健康な対照から改変されている。有用なさらなるマーカーには、単独または組み合わせで、IL-1、IL-2、IL-8、およびIFN- γ が含まれる。有用なさらにさらなるマーカーには、単独または組み合わせで、IL-6、IL-10、IL-12 p70、Fas、Fasリガンド、MCP-1、MDC、MIP-1、GM-CSF、MCP-4、IP-10、BDNF、エオタキシン-3、エオタキシン、TARC、TNF- α 、物質PおよびプロスタグランジンE₂、神経増殖因子（NGF）、CCL-5（RANTES）、単球走化性タンパク質（MCP-1）、単球炎症タンパク質（MIP-1）が含まれる。プローブには、単独または組み合わせで、1AT、VCAM-1、ICAM-1、HGF、およびVEGF-Aがさらに含まれてもよい。プローブにはまた、補体カスケードの1またはそれより多い構成要素、例えばC1q、C3c

40

50

およびC3dも含まれてもよい。本発明において有用でありうる、そして抗炎症反応に関する情報を提供しうる、さらにさらなるマーカーには、単独でまたは組み合わせて、IL-1受容体アンタゴニスト、IL-4、IL-10、IL-11、IL-13、白血病阻害因子、インターフェロン-アルファ、IL-6およびTGF-ファミリーメンバー(TGF-1~5)が含まれる。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0086】

TARCもまた、健康な患者に比較して癩癩患者の血漿または血清において示差的に分布している有効なマーカーであり、そして発作患者において上昇していることが示されている。TARCおよび/またはsICAM-5/TARCおよび/またはTNF-/TARC比は、健康な対照から改変されている。有用なさらなるマーカーには、単独でまたは組み合わせて、IL-1、IL-2、IL-8、およびIFN-が含まれる。有用なさらにさらなるマーカーには、単独でおよび/または組み合わせて、IL-10、IL-12p70、Fas、Fasリガンド、MCP-1、MDC、MIP-1、GM-CSF、MCP-4、IP-10、BDNF、エオタキシン-3、エオタキシン、およびTNF-が含まれる。プローブには、1AT、VCAM-1、ICAM-1、HGF、およびVEGF-Aがさらに含まれてもよい。プローブにはまた、補体カスケードの構成要素、例えばC1q、C3cおよびC3dのものも含まれてもよい。本発明において有用でありうる、そして抗炎症反応に関する情報を提供しうる、さらにさらなるマーカーには、単独でまたは組み合わせて、IL-1受容体アンタゴニスト、IL-4、IL-10、IL-11、IL-13、白血病阻害因子、インターフェロン-アルファ、IL-6およびTGF-ファミリーメンバー(TGF-1~5)が含まれる。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0087】

TNF-もまた、健康な患者に比較して癩癩患者の血漿または血清において示差的に分布している有効なマーカーであり、そして発作患者において上昇していることが示されている。TNF-および/またはsICAM-5/TNF-および/またはTNF-/TARC比は、健康な対照から改変されている。有用なさらなるマーカーには、単独でまたは組み合わせて、IL-1、IL-2、IL-8、およびIFN-が含まれる。有用なさらにさらなるマーカーには、単独でまたは組み合わせて、IL-10、IL-12p70、Fas、Fasリガンド、MCP-1、MDC、MIP-1、GM-CSF、MCP-4、IP-10、BDNF、エオタキシン-3、エオタキシン、およびTARCが含まれる。プローブには、1AT、VCAM-1、ICAM-1、HGF、およびVEGF-Aがさらに含まれてもよい。プローブにはまた、補体カスケードの構成要素、例えばC1q、C3cおよびC3dのものも含まれてもよい。本発明において有用でありうる、そして抗炎症反応に関する情報を提供しうる、さらにさらなるマーカーには、単独でまたは組み合わせて、IL-1受容体アンタゴニスト、IL-4、IL-10、IL-11、IL-13、白血病阻害因子、インターフェロン-アルファ、IL-6およびTGF-ファミリーメンバー(TGF-1~5)が含まれる。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0088】

本発明のパネルまたはアレイにはまた、IL-2、IL-6、IL-8、IL-1、およびIFN-の1つまたはそれより多くに結合可能な1またはそれより多いプローブも含まれてもよく、ここで、健康な対照に比較した1またはそれより多くの改変された血

10

20

30

40

50

漿または血清濃度は、発作または発作を有する傾向の指標である。本発明において有用でありうる、そして抗炎症反応に関する情報を提供しうる、さらにさらなるマーカーには、単独でまたは組み合わせて、IL-1受容体アンタゴニスト、IL-4、IL-10、IL-11、IL-13、白血病阻害因子、インターフェロン-アルファ、IL-6およびTGF-ファミリーメンバー(TGF-1~5)が含まれる。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0089】

さらにさらなる態様において、本明細書に記載するポリペプチド発現パネルまたはアレイには、IL-10、IL-12 p70、Fas、Fasリガンド、MCP-1、MDC、MIP-1、GM-CSF、MCP-4、IP-10、BDNF、エオタキシン-3、エオタキシン、およびTNF-に結合可能な1またはそれより多いプローブが含まれてもよく、ここで、(健康な個体に比較して)IL-10、IL-12 p70、Fas、Fasリガンド、MCP-1、MDC、MIP-1、GM-CSF、MCP-4、IP-10、BDNF、エオタキシン-3、エオタキシン、および/またはTNF-の1またはそれより多くの改変された血漿または血清濃度は、発作を有する傾向を示す。本発明において有用でありうる、そして抗炎症反応に関する情報を提供しうる、さらにさらなるマーカーには、単独でまたは組み合わせて、IL-1受容体アンタゴニスト、IL-4、IL-10、IL-11、IL-13、白血病阻害因子、インターフェロン-アルファ、IL-6およびTGF-ファミリーメンバー(TGF-1~5)が含まれる。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0090】

別の態様において、発作を予測するかまたは検出するための方法であって、哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、可溶性ICAM-5(sICAM-5)の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ、そして哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、TARCの発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ、そして哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、TNF-の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させる工程を含み、ここで健康な対照と比較したsICAM-5の血漿または血清濃度の変化、ならびに/あるいはTARCの血漿または血清濃度の変化、ならびに健康な対照と比較したTNF-の血漿または血清濃度の変化が、発作が起こったことがあることまたは発作を有する傾向を示す、前記方法を提供する。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0091】

方法にはまた、IL-2、IL-6、IL-8、IL-1 および/またはIFN-の発現レベルを測定または検出可能な1またはそれより多い診断試薬と、血漿または血清試料を接触させる工程が含まれてもよく、ここで健康な対照と比較した、IL-2、IL-6、IL-8、IL-1 およびIFN-の1またはそれより多くの改変された血漿または血清濃度は、発作を有する傾向を示す。さらにさらに、方法には、IL-10、IL-12 p70、Fas、Fasリガンド、MCP-1、MDC、MIP-1、GM-CSF、MCP-4、IP-10、BDNF、エオタキシン-3、エオタキシン、および/またはTNF-の発現レベルを測定または検出可能な1またはそれより多い診断試薬の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と、血漿または血清試料を接触させる工程が含まれてもよく、ここで、健康な個体に比較して、IL-10、IL-12 p70、Fas、Fasリガンド、MCP-1、MDC、MIP-1、GM-CSF、MCP-4、IP-10、BDNF、エオタキシン-3、エオタキシン、およびTNF-の1

またはそれより多くの改変された血漿または血清濃度は、発作が起こったことがあることまたは発作を有する傾向を示す。本発明において有用でありうる、そして抗炎症反応に関する情報を提供しうる、さらにさらなるマーカーには、単独でまたは組み合わせて、IL-1受容体アンタゴニスト、IL-4、IL-10、IL-11、IL-13、白血病阻害因子、インターフェロン-アルファ、IL-6およびTGF-ファミリーメンバー(TGF-1~5)が含まれる。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0092】

さらに別の態様において、発作または発作が症候性である障害の治療の有効性を評価するための方法であって、治療前に哺乳動物被験体から得た第一の血漿または血清試料を、可溶性ICAM-5(sICAM-5)および/またはTARCおよび/またはTNF-の発現レベルを測定または検出可能な1またはそれより多い診断試薬と接触させ、そして治療に続いて哺乳動物被験体から得た第二の血漿または血清試料を、可溶性ICAM-5(sICAM-5)および/またはTARCおよび/またはTNF-の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させる工程を含み、ここで、第一の血漿または血清試料と比較した、第二の血漿または血清試料におけるsICAM-5の改変された血漿または血清レベルおよび/またはTARCの改変されたレベル、ならびに/あるいは第三の血漿または血清試料におけるTNF-の改変されたレベルが、発作または発作が症候性である障害の治療の有効性を示す、前記方法を提供する。該方法には、IL-6、IL-8、IL-2、IL-1、IFN-、IL-10、IL-12 p70、Fas、Fasリガンド、MCP-1、MDC、MIP-1、GM-CSF、MCP-4、IP-10、BDNF、エオタキシン-3、エオタキシン、および/またはTNF-の発現レベルを測定または検出可能な1またはそれより多い診断試薬と、第一の血漿または血清試料および第二の血清または血漿試料を接触させる工程がさらに含まれてもよく、ここで、第一の血漿または血清試料と比較した、第二の血漿または血清試料におけるIL-6、IL-8、IL-2、IL-1、IFN-、IL-10、IL-12 p70、Fas、Fasリガンド、MCP-1、MDC、MIP-1、GM-CSF、MCP-4、IP-10、BDNF、エオタキシン-3、エオタキシン、および/またはTNF-の改変された濃度は、発作または発作が症候性である障害の治療の有効性を示す。本発明において有用でありうる、そして抗炎症反応に関する情報を提供しうる、さらにさらなるマーカーには、単独でまたは組み合わせて、IL-1受容体アンタゴニスト、IL-4、IL-10、IL-11、IL-13、白血病阻害因子、インターフェロン-アルファ、IL-6およびTGF-ファミリーメンバー(TGF-1~5)が含まれる。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0093】

さらにさらなる態様において、1またはそれより多い発作が炎症から生じるかどうかを判定するための方法であって、哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、可溶性ICAM-5(sICAM-5)の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ、そして/または哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、TARCの発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させる工程を含み、ここで、健康な対照と比較したsICAM-5の改変された血漿または血清濃度ならびに/あるいはTARCの改変された血漿または血清濃度が、炎症の基礎または発作の構成要素を示す、前記方法を提供する。該方法には、IL-6、IL-8、IL-2、IL-1、IFN-、IL-10、IL-12 p70、Fas、Fasリガンド、MCP-1、MDC、MIP-1、GM-CSF、MCP-4、IP-10、BDNF、エオタキシン-3、エオタキシン、および/またはTNF-の発現レベルを測定または検出可能な1またはそれより多い診

10

20

30

40

50

断試薬と、血漿または血清試料を接触させる工程がさらに含まれてもよく、ここで、血漿または血清試料における I L - 6、I L - 8、I L - 2、I L - 1、I F N -、I L - 10、I L - 12 p 70、F a s、F a s リガンド、M C P - 1、M D C、M I P - 1、G M - C S F、M C P - 4、I P - 10、B D N F、エオタキシン - 3、エオタキシン、および / または T N F - の変更された濃度は、炎症の基礎または発作の構成要素を示す。本発明において有用でありうる、そして抗炎症反応に関する情報を提供しうる、さらにさらなるマーカーには、単独でまたは組み合わせて、I L - 1 受容体アンタゴニスト、I L - 4、I L - 10、I L - 11、I L - 13、白血病阻害因子、インターフェロン - アルファ、I L - 6 および T G F - ファミリーメンバー (T G F - 1 ~ 5) が含まれる。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

10

【 0 0 9 4 】

さらに他の態様において、発作が被験体で起こる可能性があるかどうかを判定するための方法であって、哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、可溶性 I C A M - 5 (s I C A M - 5) の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ、そして / または哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、T A R C の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させる工程を含み、ここで、健康な対照と比較した s I C A M - 5 の変更された血漿または血清濃度ならびに / あるいは T A R C の変更された血漿または血清濃度が、発作を有する傾向を示す、前記方法を提供する。該方法には、I L - 6、I L - 8、I L - 2、I L - 1、I F N -、I L - 10、I L - 12 p 70、F a s、F a s リガンド、M C P - 1、M D C、M I P - 1、G M - C S F、M C P - 4、I P - 10、B D N F、エオタキシン - 3、エオタキシン、および / または T N F - の発現レベルを測定または検出可能な 1 またはそれより多い診断試薬と、血漿または血清試料を接触させる工程がさらに含まれてもよく、ここで、血漿または血清試料における I L - 6、I L - 8、I L - 2、I L - 1、I F N -、I L - 10、I L - 12 p 70、F a s、F a s リガンド、M C P - 1、M D C、M I P - 1、G M - C S F、M C P - 4、I P - 10、B D N F、エオタキシン - 3、エオタキシン、および / または T N F - の変更された濃度は、発作を有する傾向を示す。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

20

30

【 0 0 9 5 】

さらに他の態様において、発作が被験体で起こる可能性があるかどうかを判定するための方法であって、哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、可溶性 I C A M - 5 (s I C A M - 5) の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ、そして / または哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、T N F - の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させる工程を含み、ここで、健康な対照と比較した s I C A M - 5 の変更された血漿または血清濃度ならびに / あるいは T N F - の変更された血漿または血清濃度が、発作を有する傾向を示す、前記方法を提供する。該方法には、I L - 6、I L - 8、I L - 2、I L - 1、I F N -、I L - 10、I L - 12 p 70、F a s、F a s リガンド、M C P - 1、M D C、M I P - 1、G M - C S F、M C P - 4、I P - 10、B D N F、エオタキシン - 3、エオタキシン、および / または T N F - の発現レベルを測定または検出可能な 1 またはそれより多い診断試薬と、血漿または血清試料を接触させる工程がさらに含まれてもよく、ここで、血漿または血清試料における I L - 6、I L - 8、I L - 2、I L - 1、I F N -、I L - 10、I L - 12 p 70、F a s、F a s リガンド、M C P - 1、M D C、M I P - 1、G M - C S F、M C P - 4、I P - 10、B D N F、エオタキシン - 3、エオタキシン、および / または T N F - の変更された濃度は、発作を有する傾向を示す。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは

40

50

任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0096】

さらに他の態様において、発作が被験体で起こる可能性があるかどうかを判定するための方法であって、哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、TARCの発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させ、そして/または哺乳動物被験体から得た血漿または血清試料を、TNF- α の発現レベルを測定または検出可能な診断試薬と接触させる工程を含み、ここで、健康な対照と比較したTARCの改変された血漿または血清濃度ならびに/あるいはTNF- α の改変された血漿または血清濃度が、発作を有する傾向を示す、前記方法を提供する。該方法には、IL-6、IL-8、IL-2、IL-10、IFN- γ 、IL-10、IL-12 p70、Fas、Fasリガンド、MCP-1、MDC、MIP-1 α 、GM-CSF、MCP-4、IP-10、BDNF、エオタキシン-3、エオタキシン、および/またはTNF- α の発現レベルを測定または検出可能な1またはそれより多い診断試薬と、血漿または血清試料を接触させる工程がさらに含まれてもよく、ここで、血漿または血清試料におけるIL-6、IL-8、IL-2、IL-10、IFN- γ 、IL-10、IL-12 p70、Fas、Fasリガンド、MCP-1、MDC、MIP-1 α 、GM-CSF、MCP-4、IP-10、BDNF、エオタキシン-3、エオタキシン、および/またはTNF- α の改変された濃度は、発作を有する傾向を示す。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

10

20

【0097】

選択した任意のバイオマーカーに関して、線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0098】

上述のさらなる態様において、発作は側頭葉癲癇に関連することも可能である。さらなる態様において、側頭葉癲癇は、内側側頭葉硬化症(MTS)であることも可能である。他の態様において、発作は：結節性硬化症(TSC)に関連することも可能である。

30

【0099】

さらなる態様において、発作は：国際抗てんかん連盟の発作タイプの操作上の分類(Operational Classification of Seizure Types)にしたがって分類可能であり、該分類は、以下のウェブアドレス：www.ilae.org/visitors/centre/documents/ClassificationSeizureILAE-2016.pdfに位置する。

【0100】

上記のさらに他の特定のさらなる態様において、発作は、原因不明性であってもよい。さらなる態様において、発作は、病原体に対する免疫反応に関連しない。

本明細書に記載するプローブおよびプローブのパネル/アレイを含む態様を用いて、発作が起こった(または起こった可能性がある)かどうかを検出することも可能である。また、これらを用いて、さらなる発作の可能性を予測することも可能である。さらに、これらを用いて、脳傷害または頭部外傷の後に、発作が起こる可能性があるかどうかを予測することも可能である。これらはまた、発作が炎症プロセスの結果であるかどうかを同定する際にも有用である。さらに、これらを、治療が有効であるかどうかを評価する際に用いることも可能である。

40

【0101】

限定されない例として、以下のポリペプチドパネルまたはアレイが、本出願の態様である(用語、改変された、上昇した、および改変された、は、健康な被験体におけるものに対する、癲癇患者における発現レベルを指す)：

50

- ・ s I C A M - 5 ;
- ・ T A R C ;
- ・ T N F - ;
- ・ s I C A M - 5、 T A R C ;
- ・ s I C A M - 5、 T N F - ;
- ・ T A R C、 T N F - ;
- ・ s I C A M - 5、 T A R C、 T N F - 。

【 0 1 0 2 】

他のポリペプチドパネルまたはアレイが、本出願の態様であり、そしてこれには、上記およびさらに以下の1またはそれより多くが含まれることも可能である：

- ・ I L - 6、 I L - 8、 I L - 2、 I L - 1、 I F N -、 I L - 1 0、 I L - 1 2 p 7 0、 F a s、 F a s リガンド、 M C P - 1、 M D C、 M I P - 1、 G M - C S F、 M C P - 4、 I P - 1 0、 B D N F、 エオタキシン - 3、 エオタキシン；
- ・ I L - 1 受容体アンタゴニスト、 I L - 4、 I L - 1 0、 I L - 1 1、 I L - 1 3、 白血病阻害因子、 インターフェロン - アルファ、 I L - 6 および T G F - ファミリーメンバー (T G F - 1 ~ 5)。

【 0 1 0 3 】

慣用的技術によって試料を患者から得ることも可能である。これらの技術には、施設内倫理委員会 (I R B) に認可されたプロトコルによって含まれるものが含まれることも可能であり、これには血液、尿、唾液および C S F が含まれる。1つの態様において、クエン酸ナトリウムを用いて、試料を抗凝固剤処理する。さらなる態様において、試料を、例えば 5, 0 0 0 g (g = 引力)、4 で 1 5 分間遠心分離することによって、血漿を調製する。対照はまた、商業的業者から購入することも可能である。

【 0 1 0 4 】

血漿中で定量化しようとするポリペプチドのレベル (濃度) を、当該技術分野に知られる多くの方法のいずれによって得ることも可能であり、特定の手法は、本明細書の態様の限定ではない。例えば、 E L I S A、間接的 E L I S A、サンドイッチ E L I S A、競合的 E L I S A、ならびに多重およびポータブル (M & P) E L I S A が使用可能である。検出しようとする抗原 (ポリペプチドまたはマーカー) に特異的なプローブは、当該技術分野に知られる技術によって、商業的に得られうるかまたは設計可能である。 s I C A M - 5 検出のための1つの態様において、プロテイン G アフィニティ精製マウスモノクローナル抗ヒト I C A M - 5 抗体を捕捉抗体として用いる。単一および多重プローブキットが、商業的供給者、例えば M e s o S c a l e D i s c o v e r y より入手可能である。これらのキットには、本明細書の実施例に言及されるキットが含まれる。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【 0 1 0 5 】

やはり本明細書に記載するのは、哺乳動物被験体または患者において、発作または発作が症候性である障害を治療または防止する方法であって、 s I C A M - 5 の送達を含む、前記方法である。さらなる態様において、哺乳動物はヒトである。やはり提供するのは、哺乳動物被験体において、発作または発作が症候性である障害を治療または防止するための s I C A M - 5 の使用、ならびにそのための薬剤を調製する際の使用である。 I C A M - 5 が終脳ニューロンの表面上で発現される (すなわち脳に局在する) ならば、望ましくない全身性の影響を伴わずに、治療または防止が達成可能である。

【 0 1 0 6 】

治療または防止は、当業者に知られる技術によって、静脈内または脳脊髄液内 (C S F 内) を通じて、実行可能である。送達はまた、適切なキャリアーまたは賦形剤と共に、 C S F への鼻内送達によるものを含めて、任意の他の適切な手段で実行可能である。

【 0 1 0 7 】

10

20

30

40

50

他の適用

本発明のいくつかの態様において、本明細書に記載するような、血液に基づく診断試験、例えば *EvoScore* を形成するバイオマーカーおよびアルゴリズムを、発作予測；抗癲癇薬剤（AED）臨床試験適格性、終点、および有効性；EEG、MRI、ゲノミクス、遺伝学およびプロテオミクスを含む多重診断組み合わせ、コンパニオン診断；ならびに炎症に基づく療法剤および反応の潜在的な同定のために利用してもよい。いくつかの態様において、本明細書に記載する血液に基づく診断試験を用いて、事象におけるバイオマーカーレベルの絶対変化、ならびに時間に渡る患者におけるバイオマーカーの相対的变化を判定することも可能である。いくつかの態様において、薬剤でよく管理されている既知の癲癇患者における、本明細書に記載する血液に基づく診断試験におけるバイオマーカーおよびアルゴリズムを用いて、対応するスコアを調製することも可能であり、そしてユーザーは、スコアがAED反応性に相関するかどうかを判定し、そしてさらに進めて、続く発作および医学的困難のブレイクスルーを予測することも可能である。同様に、本明細書に記載する血液に基づく診断試験を用いて、新規に同定された癲癇患者におけるAED反応を予測して、療法反応を迅速に評価することも可能である。いくつかの態様において、癲癇手術後の医学的に難治性である患者において、手術の成功を予測する、本明細書に記載する血液に基づく診断試験を提供することも可能である。いくつかの態様において、本明細書に記載する血液に基づく診断試験を用いて、発作のリスクが増加しているかどうか、判定するため、例えば頭部傷害または脳卒中後、発作のリスクに関して患者を評価することも可能である。さらに、新規薬剤がより早く患者に届くことを可能にする、より迅速で、より小さい試験を生じる、よりロバスタな登録基準を確実にするため、AED臨床試験における、重要な潜在的な使用がある。いくつかの態様において、本明細書に記載する血液に基づく診断試験を、個別化薬剤診断として用いて、患者の生活の質を改善し、そして医療システムに対する負荷を減少させるため、長期にわたって、定義された間隔で、発作および癲癇の治療および追跡を可能にし、療法に対する個別化反応、有効性、管理、および将来の事象の予測を確立することも可能である。特定の態様において、本発明の前述の血液に基づく診断試験は、*EvoScore* である。

10

20

【0108】

試験法

ヒト神経学患者または正常対照から、抗凝血剤として K_2EDTA を含有するラベンダー・トップ・バキュテナー血液収集試験管（BD Biosciences）内に血液を収集した。血液収集試験管を8回反転させ、そして次いで、遠心分離する前に、4で10～15分、湿った氷上においた。血液を1000RCF、4で10分間遠心分離した。血漿上清を滅菌2ml微量試験管（Sarstedt、I型）内にアリコットし、そして-70～-80で凍結させた。

30

【0109】

ヒト血漿中のTNF- α 、TARCおよびICAM5のレベルを、Meso Scale Discovery（MSD）（メリーランド州ガイザーズバーグ）のカスタム三重プレートおよびMSD Sector Imager 2400を用いて、電気化学発光検出を用いるサンドイッチELISAで測定した。本発明者らは、MSDから、MULTI-SPOT 96ウェルCustom 4 Spotプレート（TNF- α 、TARC、ICAM5、BSA）MSD ELISAプレートならびにTNF- α およびTARCコーティング/捕捉抗体を購入した。ICAM5コーティング/捕捉抗体をR&D Systemsより購入した（MAB1950）。すべてのインキュベーション工程に関して、プレートを接着性プレートシール（Denville B1212-4S）で密封し、そしてマイクロタイタープレート振盪装置（Denville 210A #C0210）上、回転（400rpm）させながら室温（RT）でインキュベーションを行った。すべての洗浄工程で、ウェルを空にし、そして次いで、0.05% Tween-20（Fisher BP 337-500）を含むリン酸緩衝生理食塩水（PBS）（Denville CP4390-48）（PBST）175 μ Lで3回洗浄した。すべての血液産

40

50

物および混入物質を、最小最終濃度の10%ブリーチで除染した。アッセイ全体で、逆ピペティングを使用して、気泡の産生を回避した。

【0110】

試料を分析するため、カスタムプレートを4から取り除き、そして室温で30~60分間平衡化させた。未結合部位をウェルあたり150 μ lのブロッキング溶液(PBS中の10%ウシ胎児血清(FBS)(Mediatech 35-016-CV))でブロッキングし、2時間インキュベーションし、そして次いで洗浄した。

【0111】

TNF- α およびTARCタンパク質標準をMSDから購入し、そして組換えヒトICAM-5タンパク質標準をR&D Systems(1950-M5-050)から購入した。標準物質タンパク質を、PBS中の5%FBS中の25%ウマ血漿(ラベンダー・トップ試験管内容物と協調するように、K₂EDTAで調製した、Innovative Research IHR-N)中で希釈した。TNF- α およびTARCの三重標準曲線発濃度は2500pg/mlであり、ICAM5の発濃度は50,000pg/mlであり、そしてこれを1:5に希釈した。タンパク質不含2つ組ウェルセットを含めて、標準100 μ lを2つ組でプレATINGした。ヒト血漿試料を、最終濃度25%試料まで、PBS中の5%FBS中で、1:4に希釈して、そして100 μ lをプレATINGした。標準および試料を3時間インキュベーションし、そして抗体を添加する前に、プレートを洗浄した。

10

【0112】

ビオチン化抗ヒトICAM5抗体をR&D Systems(BAF1950)より購入した。ストレプトアビジン-SULFOTAGおよびSULFOTAG標識抗ヒトTNF- α およびTARC抗体をMSDより購入した。一次抗体を1:50に希釈し、そしてストレプトアビジン-SULFOTAGをPBS中の1%ウシ血清アルブミン(Fisher BP1605-100)中で1:500に希釈した。一次抗体およびストレプトアビジン-SULFOTAGを一工程で90分間インキュベーションした。MSDアッセイの特異性により、2工程インキュベーションとは対照的に、一工程検出インキュベーションが可能になる。次いで、現像し、そして読み取る前に、プレートを洗浄した。

20

【0113】

4XMSD読み取り緩衝液Tを、滅菌逆浸透H₂Oで2Xに希釈した。各ウェルに150 μ lのRT 2X読み取り緩衝液Tを添加することによってプレートを現像し、そして次いでMSD Discovery Workbench 4.0ソフトウェアとカップリングさせたMSD Sector Imager 2400上で直ちに読み取った。MSD Discovery Workbench 4.0ソフトウェアを用いて、血漿試料のタンパク質濃度を決定し、そして1:4血漿試料希釈を考慮して、pg/mlの結果を4倍した。

30

【0114】

患者登録

臨床試験を行って、発作を有する患者を診断し、そして診断の閾値を確立するために、EvoScoreを有効にそして正確に使用可能であるかどうかを決定した。すべての入院および外来被験体は、18歳またはそれ以上であり、そして認知力を持ってインフォームドコンセントを提出可能であった。18~20歳の被験体は承認を提供し、そして法的に権限を与えられた代理人が彼らの代理としてコンセントを与えた。これらの研究には、民族的または性別の限定はなく、そして選択バイアスがないことを確実にするため、すべての適格な患者を補充した。

40

【0115】

癲癇監視設備(EMU)に入院した患者は、毎朝各15mlの血液の単一試料、および発作または発作様事象後にさらに15mlの血液試料を提供するように要請された。入院被験体のEvoScore結果を、EMU滞在中の個々の事象診断すべて、およびEMU滞在中の終了時の最終的なその患者診断と比較した。

50

【0116】

外来患者は、推測される癲癇の評価のため、外来神経学クリニックの最初の受診を行った場合にのみ研究に適格であった；これらの患者はなお、癲癇または非癲癇いずれかとしてその事象の診断を有していなかった。外来被験体は、研究のため、単一の15mLの血液試料を提供し、そして研究チームは、患者が研究に参加した後、およそ6ヶ月間、診断精密検査に適切なすべての入手可能な臨床情報を収集した。6か月後、独立の神経学者チームが、関連する病歴を評価し、そして被験体を「診断し」、そしてこの診断をEvoScore結果と比較して、診断の正確度を決定した（2人の癲癇専門医間の同意が十分であった）。

【0117】

癲癇センターの予約に患者を伴った、21歳およびそれより高齢の被験体は、認知力を持ってインフォームドコンセントを提供することが可能であり、癲癇と診断されておらず、そしていかなる理由でも抗癲癇薬剤をいずれも摂取していない場合、正常対照と見なされ、そして研究に参加するために適格とされた。全体で総数401人の研究被験体が登録された。240人の外来患者、131人の入院患者、およびさらに30人の対照が、入院EMUおよび外来神経学クリニックの両方から登録された。入院および外来被験体に関しては、平均年齢は36.5歳（18～82歳の範囲）であり、そして52%が女性であった（n=209）。

【0118】

個々の事象診断（IED）および患者診断（PD）の説明

入院患者は、EMUの滞在を開始し、そして終了した。外来患者は、神経学外来クリニックから補充されたが、何人かはEMUでの滞りに戻った。EMUに滞在したすべての患者に関して、EMU報告を調べ、そして血液採取直前に観察されたいかなる神経学的事象の時間も記録した。事象の説明もまた記録し、そして神経学者は、各個々の事象を独立に診断した（個々の事象の診断）。事象を、非癲癇事象（IED0）、癲癇事象（陽性EEGを伴う）（IED1）、不確かな診断事象（IED2）、または事象記録なし（EMU滞在中にEMU報告にいかなる事象の記録もない場合）（IED3）として特徴付けた。事象診断に関する同意がない場合、EMU報告を参考にして、そしてコンセンサスに到達した。コンセンサスに到達できなかった場合、事象を不確かな診断（IED2）にレーティングした。個々の事象診断は、一過性変化の評価と見なされる。個々の事象診断はまた、事象診断とも称されうる。

【0119】

EMU報告の「癲癇診断」セクションに記録される最終全体患者診断を患者診断（PD）のため、各患者に用いた。患者は、非癲癇（PD0）、癲癇（PD1）、癲癇+他の非癲癇状態（PD2）、または不確かな診断（PD3）のいずれかの診断を受けた。患者診断は、持続性変化の評価とみなされる。

【0120】

予測モデルおよびスコア

本明細書において、「多変数モデル」または単純に「モデル」と同義に使用可能な用語「予測モデル」は、データセットを分類するための単数または複数の統計アルゴリズムを用いて開発された数学的構築物である。予測モデルは、解釈機能を提供することも可能であり；例えば1またはそれより多い統計アルゴリズムまたは方法を利用して、観察されたデータのデータセットを被験体の疾患活性または疾患状態の意味がある決定に変換することによって、予測モデルを生成することも可能である。バイオマーカーの濃度および比に基づいて、およびまたは患者の人口統計学的特性と組み合わせ、本明細書で開発するアルゴリズムは、発作事象と関連する一過性および持続性変化（急性および慢性）を同定する。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対数単位の比を用いることによって、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。

【0121】

10

20

30

40

50

以下の目的 (a) 発作を包含するかまたは除外する ; (c) いつ発作が起こるかまたは発作が起こり続けるかどうかを予測することによって、患者の生活の質を評価する ; および (c) 長期間に渡って、発作を制御する療法または療法プロトコルの能力の 1 またはそれより多くに関して、すべての臨床セッティングにおいて、予測モデルを使用可能である。

【 0 1 2 2 】

本明細書において、「スコア」は、被験体状態の変数または特性の定量的測定値を提供する、および / または被験体の状態を区別するか、差別化するかまたは別の方式で特徴付けるために選択された値または値のセットである。スコアを含む値 (単数または複数) は、例えば、被験体または臨床パラメータまたは臨床評価、あるいはその任意の組み合わせから得られる、1 またはそれより多い試料構成要素の測定量に基づくことも可能である。特定の態様において、スコアは、単一の構成要素パラメータまたは評価に由来することも可能である一方、他の態様において、スコアは、多数の構成要素、パラメータおよび / または評価に由来する。スコアは、解釈機能、例えば当該技術分野に知られる多様な統計アルゴリズムのいずれかを用いて、特定の予測モデルから得られる解釈機能に基づくかまたは由来することも可能である。「スコアの変化」は、例えば 1 つの時点から次の時点へのスコアの絶対変化、またはスコアのパーセント変化、または単位時間あたりのスコアの変化を指すことも可能である。例えば、本明細書に言及されるスコアは、本発明の血液に基づく診断試験 (例えば *EvoScore*) によって提供されることも可能である。

10

【 0 1 2 3 】

スコアを用いて、数値的に「定量的」、あるいは高い、中程度の、または低い「定性的」、あるいは陽性または陰性の「定性的」、あるいは発作および癲癇の同定における一過性および / または持続性変化の結果を伝達する他の型を提供することによって、一過性および持続性変化をレーティングおよび / または測定し、事象を包含または除外し、患者の生活の質および療法有効性を評価することも可能である。

20

【 0 1 2 4 】

予測モデルおよびスコアを、EEG および MRI を含む、現在の標準的診断技術のいずれかと組み合わせる用いて、最終的な患者診断を発展させることも可能である。予測スコアは、他の標準診断技術と組み合わせられた際、感度、特異度、陽性予測値および陰性予測値に関して、改善された正確性を付加するであろう。

30

【 0 1 2 5 】

アルゴリズムの目的、閾値および使用可能な結果

本明細書に記載する血液に基づく診断試験 (例えば *EvoScore*) に含まれるスコア付けアルゴリズムを、以下の方法論にしたがって開発した : (a) 発作かまたはそうではないかの個々の事象診断のため : 分類ツリー分析によって定義されるリスク群が含まれてもよい、分類ツリーおよび回帰分析ならびに / あるいは多重ロジスティック回帰 ; ならびに (b) 癲癇であるかまたはそうではないかの患者診断のため : 分類ツリー分析によって定義されるリスク群を含む、ロジスティック回帰および多重ロジスティック回帰。

【 0 1 2 6 】

TARC、sICAM5 および TNF - の濃度の測定可能な変化、濃度における自然対数調整濃度変化、バイオマーカーの比、および調整濃度の比の関数であるように、発作またはそうではないかの個々の事象診断、および癲癇またはそうではないかの患者診断の両方に関する *EvoScore* アルゴリズムおよび方法論を判定して、そしてこれには、年齢、性別および処方情報を含む、患者の身体特性が含まれてもよい。

40

【 0 1 2 7 】

これらの方法論および結果はすべて、診断試験の臨床的および市場的性能および正確度目的を満たすアルゴリズムを生じた。感度および真の陽性を最大限にし、そして偽陰性を最小限にし、そして正確度を最大限にし、そして正しく分類されるように、アルゴリズムの予測結果を設計する。特異度および真の陰性もまた、最小限の偽陽性で最大化可能である。

50

【 0 1 2 8 】

閾値または定量的境界は、個々の診断値を最大限にし、そしてまたは感度、特異度、ならびに陽性および陰性予測値を含む診断値の組み合わせを最適化するように設定可能である。アルゴリズムの異なる態様を用いて、アルゴリズムのゴールに応じて、異なる閾値を用いることも可能である。閾値は、最終的に、個々の試験スコアを用いて、数値的に「定量的」、あるいは高い、中程度の、または低い「定性的」、あるいは陽性または陰性の「定性的」な値を提供することによって、一過性および持続性変化をレーティングし、そして/または測定し、事象を包含するかまたは除外し、患者の生活の質および療法的有効性を評価することも可能である。閾値の最終的な選択は、性能に関して望ましいように、1 またはそれより多い診断正確度特性の最大化および/または最適化によって駆動される。

10

【 0 1 2 9 】

図 1 は、アルゴリズムの目的および最終的に使用可能な結果を定義する。

診断および療法的アプローチの組み合わせ

個々の被験体に関して最大療法利益を達成するため、任意の特定の時点で、被験体の疾患負荷を特異的に定量化し、そして評価し、疾患活性に対する治療の効果を判定し、そして将来の転帰を予測することが可能であることが重要である。本解説の態様は、急性および慢性疾患を有する被験体において、疾患活性の正確な臨床評価のための多数の血清バイオマーカーを同定する。

【 0 1 3 0 】

癲癇に関する現在の療法アプローチには、フェニトイン、フォスフェニトイン、ミダゾラム、プレガバリン、プリバラセタム、ペラメパネル、ルフィナミド、ルラシドン H C 1、カルバマゼピン、クロバザム、クロナゼパム、ジアゼパム、ジバルプロエックス、酢酸エスリカルバゼピン、エトスクセミド、エゾガビン、フェルバメート、ガバペンチン、ラコサミド、ラモトリジン、レベチラセタム、ロラゼパム、オクスカルバゼピン、フェノバルビタール、プリミドン、チアガビン、トピラメート、バルプロ酸、ゾニサミド、カンナビスに基づく薬剤、ならびにその薬学的に許容されうる塩、プロドラッグおよび誘導体からなる群より選択される抗癲癇化合物の療法的有効用量が含まれ、そしてこれらに限定されない。

20

【 0 1 3 1 】

新規療法的アプローチは、現在開発中であり、そして診断評価に適用可能であり、そして診断および療法的アプローチの組み合わせでありうる。

30

いくつかの態様において、本発明の血液に基づく診断試験（例えば E v o S c o r e）は、薬剤療法でよく管理された既知の癲癇患者を評価して、スコアが A E D 反応性に相関するかどうかを判定し、そしてさらに進めて、E v o S c o r e の変化が、続く発作および医学的困難のブレイクスルーを予測するかどうかを判定することも可能である。いくつかの態様において、本発明の血液に基づく診断試験（例えば E v o S c o r e）は、新規に同定された癲癇患者における A E D 反応を予測して、療法反応を迅速に評価することも可能である。いくつかの態様において、本発明の血液に基づく診断試験（例えば E v o S c o r e）を用いて、癲癇手術後の医学的に難治性である患者において評価して、スコアが手術の成功を予測するかどうかを判定することも可能である。いくつかの態様において、本発明の血液に基づく診断試験（例えば E v o S c o r e）を用いて、発作のリスクが増加しているかどうか、判定するため、例えば頭部傷害または脳卒中後、発作のリスクがある患者を評価することも可能である。いくつかの態様において、本発明の血液に基づく診断試験（例えば E v o S c o r e）を、個別化薬剤診断として用いて、患者の生活の質を改善し、そして医療システムに対する負荷を減少させるため、長期にわたって、定義された間隔で、発作および癲癇の治療および追跡を可能にし、療法に対する個別化反応、有効性、管理、および将来の事象の予測を確立することも可能である。

40

【 0 1 3 2 】

いくつかの態様において、本発明の血液に基づく診断試験（例えば E v o S c o r e）を、E E G、M R I および本明細書に記載する他の診断アプローチと組み合わせ用いて

50

もよい。

【0133】

他の態様において、EvoScoreのみ、または本明細書に記載するような他のバイオマーカーおよび/または他の臨床試験との組み合わせを、偏頭痛、外傷性脳傷害、脳卒中、感染および病原体に対する免疫反応、自己免疫反応、免疫反応、腫瘍ならびに炎症構成要素および/または効果を伴う神経学的疾患/徴候を含む、他の神経学的疾患/徴候において利用することも可能である。

【0134】

キット

1つの態様において、本発明は、ポリペプチド発現パネルまたはアレイを含む診断キットを提供する。キットはまた、予測的であるか、発作の切迫したリスクまたは発作の再発を判定する際に有用であるか、あるいは再発リスクを評価する際に有用でありうる。キットはまた、血液を抜き取るため、シリンジおよび/またはバイアル(vial)を含有してもよい。キットは、パネルまたはアレイのポリペプチドマーカーに対応する1またはそれより多いプローブを含有してもよい。キットはまた、化学発光、発光または同等の技術に基づくELISAプレートも含有してもよい。態様のキットの一部として、多重およびポータブル(M&P)ELISAもまた提供可能である。さらに他の適切な構成要素が当業者に知られ、そして本明細書に含まれる。キットには、診断結果を提示するためのソフトウェア、コンピュータおよび装置が含まれてもよい。

10

【0135】

本発明の他の側面は、キットのためのキットであって：(a)アッセイ、(b)使用説明書、(c)本発明の方法を実行するためのコンピュータまたはコンピュータシステム、あるいは(d)他の態様において、本発明の方法の一部を形成するアルゴリズムを含むキットを提供する。

20

【0136】

他の態様は、本解説のアッセイのいずれかを行うためのキットの形で一緒にパッケージングされる、バイオマーカー検出試薬を含む。特定の態様において、キットは、バイオマーカー核酸との相同性および/または相補性に基づく1またはそれより多いバイオマーカー核酸を特異的に同定するオリゴヌクレオチドを含む。オリゴヌクレオチド配列は、バイオマーカー核酸の断片に対応しうる。例えば、オリゴヌクレオチドは：長さ200、150、100、50、25、10、または10ヌクレオチドより短くてもよい。他の態様において、キットは、バイオマーカー核酸にコードされるタンパク質に対する抗体を含む。本解説のキットはまた、アプタマーも含んでもよい。キットは、別個の容器中に、核酸または抗体、対照配合物(陽性および/または陰性)、および/または検出可能標識を含有してもよい。場合によってスコアを生成するための使用説明書を含む、アッセイを実施するための使用説明書がキットに含まれていてもよい。アッセイは、当該技術分野に知られるようなELISAの形であってもよい。

30

【0137】

ソフトウェア、装置およびコンピュータ

こうしたタスクを実行するために操作されるソフトウェアを用いて、予測モデルを手動でまたは自動的に実行してもよい。選択したバイオマーカーの濃度の分析を手動で行ってもよいし、あるいはこうしたタスクを実行するために操作されるソフトウェアを用いて、分析を行うことも可能である。好ましい態様において、アルゴリズムは、本発明の予測法の一部を形成し、選択したバイオマーカーの濃度を分析して、診断結果またはスコアを提示する。アルゴリズムを手動で、または操作されるソフトウェアを通じて自動的に実行可能である。操作されるソフトウェアは、選択したバイオマーカーの濃度を読み取る装置の一部であることも可能であるし、または外部コンピュータの一部であることも可能である。他の態様において、前述のソフトウェアをコンピュータ上に装填する。コンピュータはまた、手動でまたは自動的にのいずれかで装置から直接得られるデータを入力する装置とインターフェース接続されている。線形または対数単位を用いて、あるいは線形または対

40

50

数単位の比を用いることによって、患者人口統計特性を伴い、そして／または伴わずに、個々の測定値を、個々にまたは任意の組み合わせで、取り込み、そして分析することも可能である。線形または対数単位の比の逆数もまた使用可能である。いくつかの態様において、コンピュータはエンドユーザーに属し、一方、他の態様において、コンピュータまたはプロセッサはキットの一部として提供される。好ましい態様において、操作されるソフトウェアは、コンピュータに (a) 装置からデータを含むファイルにアクセスさせ、そして (b) 本発明のアルゴリズムを用いて、これらのデータを分析するように指示する。他の態様において、操作されるソフトウェアは、診断結果を解釈するためのユーザーフレンドリーな形式で、結果を提示する。

【0138】

いくつかの態様において、本発明の方法およびシステムを、こうした単数または複数のコンピュータ実装プロセスを実行するため、単数または複数のコンピュータ実装プロセスとして具体化することも可能であり、そしてコンピュータプログラムまたは他の機械読み取り可能命令（本明細書において「コンピュータプログラム」）を含む持続性記憶媒体（すなわち持続性コンピュータ読み取り可能媒体）の形で具体化されてもよく、ここで、コンピュータプログラムがコンピュータまたは他のプロセッサ（本明細書において「コンピュータ」）に装填された場合、そして／またはコンピュータによって実行された場合、該コンピュータは、単数または複数のプロセスを実施するための装置となる。こうしたコンピュータプログラムを含む記憶媒体には、例えばフロッピーディスクおよびディスクレット、コンパクトディスク（CD）-ROM（書き込み可能であってもまたはなくともよい）、DVDデジタルディスク、RAMおよびROMメモリ、コンピュータハードドライブおよびバックアップドライブ、外付けハードドライブ、半導体ドライブ、「サム」ドライブ、およびコンピュータによって読み取り可能な任意の他の記憶媒体が含まれる。単数または複数のプロセスはまた、コンピュータプログラムの形で具体化可能であり、例えば記憶媒体中に保存されても、または伝送媒体、例えば導電体、光ファイバーまたは他の光伝導体を通じて伝送されるか、あるいは電磁照射によって具体化可能であり、ここで、コンピュータプログラムがコンピュータに装填されており、そして／またはコンピュータによって実行される場合、コンピュータは、単数または複数のプロセスを実施するための装置になる。単数または複数のプロセスは、汎用として、マイクロプロセッサ上に、あるいは単数または複数のプロセスを実施するように特異的に設定されたデジタルプロセッサ上に実装されてもよい。汎用マイクロプロセッサを使用する場合、コンピュータプログラムコードは、マイクロプロセッサの回路が特定の論理回路配置を生じるように設定される。コンピュータによって読み取り可能な記憶媒体には、コンピュータ自体によって、またはコンピュータの命令を読み取り、操作を制御するコンピュータにその命令を提供する、別の装置によって読み取り可能な媒体が含まれる。

【実施例】

【0139】

ここで、上記説明とともに、限定しない方式で本発明の特定の態様を例示する、以下の実施例に言及する。これらの実施例は、例示目的のためにのみ提供され、そして本明細書に含む開示は、いかなる意味でも、これらの実施例に限定されるとは見なされてはならず、むしろ、本明細書に提供する解説の結果として明らかになるあらゆる変形を含むと見なされるべきである。

【0140】

実施例1：患者の人口統計学およびバイオマーカーデータ：入院患者、外来患者、および正常な対照

入院患者、外来患者および正常対照を表1に示す。TARCおよびsICAM5を含む単独のバイオマーカー、ならびにバイオマーカーTNF / TARCおよびTNF / sICAM5の比は、正常対照および事象診断の間、正常対照および患者診断1の間、ならびに正常対照および患者診断1 & 2の間で、統計的に有意な相違 ($p < 0.05$) を有することが立証された。発作かまたはそうではないかおよび癲癇かまたはそうではないかの

10

20

30

40

50

判定のために、これらのバイオマーカーおよびバイオマーカーの比を単独でまたは組み合わせて使用することも可能である。

【 0 1 4 1 】

表 1 : 患者人口統計学および特性

【 0 1 4 2 】

【 表 1 】

変数	患者 診断 1 (N = 83)	患者 診断 1 & 2 (N = 99)	事象 診断 (N = 28)	正常 対照 (N = 29)
年齢	45.3	45.3	47.4	45.6
18-30	19.3%	19.2%	10.7%	20.7%
31-40	19.3%	20.2%	17.9%	10.3%
41-50	30.1%	28.3%	35.7%	20.7%
51+	31.3%	32.3%	35.7%	48.3%
性別				
男性	27.7%	28.3%	17.9%	31.0%
女性	72.3%	71.7%	82.1%	69.0%
実験室				
TNF アルファ	79.7	79.7	83.2	80.0
TARC	636.9	635.7	649.2	511.9
sICAM5	18,236.0	17,588.3	19,460.7	14,680.8
比				
TNF : TARC	0.126	0.127	0.130	0.159
TNF : sICAM5	0.0045	0.0046	0.0044	0.0054
TARC : sICAM5	0.0371	0.0386	0.0355	0.0346

10

20

【 0 1 4 3 】

すべての外来患者

【 0 1 4 4 】

30

【表 2】

変数	非癲癇 (N = 63)	癲癇 (N = 214)	すべて (N = 277)
年齢	44.0	37.0	38.6
18-30	28.6%	45.3%	41.5%
31-40	14.3%	16.4%	15.9%
41-50	23.8%	16.8%	18.4%
51+	33.3%	21.5%	24.2%
性別			
男性	39.7%	52.3%	49.5%
女性	60.3%	47.7%	50.5%
実験室			
TNF アルファ	113.0	115.2	114.7
TARC	707.2	800.0	778.9
sICAM5	19,723.1	21,426.6	21,039.1
TNF : TARC	0.156	0.141	0.145

10

【 0 1 4 5 】

明確な診断を有する外来患者

20

【 0 1 4 6 】

【表 3】

変数	非癲癇 (N = 8)	癲癇 (N = 127)	すべて (N = 135)
年齢	55.4	35.8	37.0
18-30	25.0%	48.8%	47.4%
31-40	12.5%	13.4%	13.3%
41-50	12.5%	16.5%	16.3%
51+	50.0%	21.3%	23.0%
性別			
男性	50.0%	53.5%	53.3%
女性	50.0%	46.5%	46.7%
実験室			
TNF アルファ	70.6	123.4	120.3
TARC	528.9	849.6	830.6
sICAM5	13,091.4	22,347.0	21,798.5
TNF : TARC	0.137	0.142	0.142

30

40

【 0 1 4 7 】

実施例 2 : ロジスティック回帰による事象診断 2 4 時間

ロジスティック回帰モデル結果を用いて、発作 / 癲癇または非事象のいずれかに事象を分類することも可能である。該データは、事象 2 4 時間以内に収集した試料を含有する。EvoScore アルゴリズムは、TARC、sICAM5 および TNF - に関する濃度の測定可能な変化、ならびに年齢および性別を含む患者の身体的特性の関数であると判定された。

【 0 1 4 8 】

EvoScore は、正常対照に対して、発作に関して、一過性のおよび測定可能な変

50

化を有する患者を比較した際、事象 24 時間以内に抜き取った血液を有する患者に関して、0.7739 ~ 0.9675 の 95% 信頼区間で、0.8707 の受信者動作特性 (ROC) AUC を示し、診断感度は 89.3% (最大であるように設計)、特異度は 75.9%、陽性予測値は 78.1%、陰性予測値は 88%、そして正確度は 82.5% (最大であるように設計) であった。結果を表 2 および図 3 に要約する。

【0149】

表 2. ロジスティック回帰による事象診断 (24 時間) の結果

【0150】

【表 4】

変数	係数	95% 信頼区間		p 値
		最低	最高	
実験室				
TNF : TARC	-35.81	-58.21	-13.41	0.002
sICAM5	0.00014	0.00002	0.00025	0.018
性別				
男性	参照			
女性	0.829	-0.720	2.379	0.294
年齢				
18-30	参照			
31-40	1.293	-1.317	3.903	0.332
41-50	0.883	-1.434	3.200	0.455
51+	-0.021	-2.306	2.264	0.986
定数	1.729	-2.553	6.011	0.429
AROC	87.07%	0.7739	0.9675	-

10

20

【0151】

【化 1】

$$\text{EvoScore} = \frac{e^{\phi}}{1 + e^{\phi}} \times 100$$

【0152】

式中

$$= 1.729 + 1.293 \times \text{年齢} 3140 + 0.883 \times \text{年齢} 4150 - 0.021 \times \text{年齢} 51 \text{ プラス} + 0.829 \times \text{女性} - 35.81 \times \text{TNF : TARC} + 0.00014 \times \text{sICAM5}$$

正しい分類最大値

【0153】

30

40

【表 5】

		患者診断	
		+	-
試験結果	+	25	7
	-	3	22

感度	89.3%
特異度	75.9%
PPV	78.1%
NPV	88.0%
正確度	82.5%

10

【 0 1 5 4 】

感度および特異度の最大合計値

20

【 0 1 5 5 】

【表 6】

		患者診断	
		+	-
試験結果	+	25	7
	-	3	22

感度	89.3%
特異度	75.9%
PPV	78.1%
NPV	88.0%
正確度	82.5%

30

40

【 0 1 5 6 】

実施例 3：患者研究：ロジスティック回帰による 72 時間以内の事象診断

多変数ロジスティック回帰モデル結果を用いて、発作 / 癲癇または非事象のいずれかに事象を分類することも可能である。該データは、事象の 72 時間以内に収集された試料を含有する。EvoScore アルゴリズムは、TARC、sICAM5 および TNF- α に関する濃度の測定可能な変化、ならびに年齢および性別を含む患者の身体的特性の関数であると判定された。

【 0 1 5 7 】

EvoScore は、正常対照に対して、発作に関して、一過性のおよび測定可能な変

50

化を有する患者を比較した際、事象 72 時間以内に抜き取った血液を有する患者に関して、0.7552 ~ 0.9353 の 95% 信頼区間で、0.8452 の ROC AUC を示し、診断感度は 84.4% (最大であるように設計)、特異度は 72.4%、陽性予測値は 82.6%、陰性予測値は 75%、そして正確度は 79.7% (最大であるように設計)であった。結果を表 3 に要約する。

【0158】

表 3. ロジスティック回帰による事象診断 (24 時間) の結果

【0159】

【表 7】

変数	係数	95% 信頼区間		p 値
		最低	最高	
実験室				
TNF : TARC	-36.01	-55.34	-16.68	0.000
sICAM5	0.00010	0.00000	0.00020	0.040
性別				
男性	参照			
女性	0.618	-0.747	1.983	0.375
年齢				
18-30	参照			
31-40	1.153	-0.868	3.173	0.264
41-50	0.209	-1.686	2.104	0.829
51+	-0.950	-2.692	0.792	0.285
定数	3.605	0.213	6.997	0.037
AROC	84.52%	0.7552	0.9353	-

10

20

【0160】

実施例 4 : ロジスティック回帰による患者診断 24 時間

ロジスティック回帰モデル結果を用いて、癲癇、癲癇に加えて他の原因および正常対照由来のデータを含め、発作 / 癲癇または正常のいずれかに患者を分類することも可能である。該データは、事象 24 時間以内に収集した試料を含有する。EvoScore アルゴリズムは、TARC、sICAM5 および TNF- α に関する濃度の測定可能な変化、ならびに年齢および性別を含む患者の身体的特性の関数であると判定された。

【0161】

EvoScore は、正常対照に対して、発作および癲癇に関して、一過性のおよび測定可能な変化を有する患者を比較した際、事象 24 時間以内に抜き取った血液を有する患者に関して、0.7456 ~ 0.9221 の 95% 信頼区間で、0.8339 の ROC AUC を示し、診断感度は 90.9% (最大であるように設計)、特異度は 69%、陽性予測値は 90.9%、陰性予測値は 69%、そして正確度は 85.9% (最大であるように設計)であった。結果を表 4 および図 4 に要約する。

40

【0162】

表 4. 多変数ロジスティック分析による患者診断 (24 時間) の結果

【0163】

【表 8】

変数	係数	95% 信頼区間		p 値
		最低	最高	
実験室				
TNF : TARC	-33.67	-49.59	-17.76	0.000
sICAM5	0.00012	0.00003	0.00022	0.009
性別				
男性	参照			
女性	0.245	-0.813	1.304	0.650
年齢				
18-30	参照			
31-40	-0.423	-2.195	1.349	0.640
41-50	-0.550	-2.165	1.066	0.505
51+	-1.126	-2.494	0.243	0.107
定数	4.503	1.710	7.295	0.002
AROC	83.39%	0.7456	0.9221	-

10

20

【 0 1 6 4 】

【 化 2 】

$$\text{EvoScore} = \frac{e^{\phi}}{1 + e^{\phi}} \times 100$$

【 0 1 6 5 】

式中

$$= 4.503 - 0.423 \times \text{年齢} 3140 - 0.55 \times \text{年齢} 4150 - 1.126 \times \text{年齢} 51 \text{ プラス} + 0.245 \times \text{女性} - 33.67 \times \text{T N F : T A R C} + 0.00012 \times \text{s I C A M 5}$$

30

正しい分類最大値

【 0 1 6 6 】

【表 9】

患者診断

		+	-
試験結果	+	92	11
	-	7	18

感度	92.9%
特異度	62.1%
PPV	89.3%
NPV	72.0%
正確度	85.9%

10

【 0 1 6 7 】

感度および特異度の最大合計値

20

【 0 1 6 8 】

【表 1 0】

患者診断

		+	-
試験結果	+	90	9
	-	9	20

感度	90.9%
特異度	69.0%
PPV	90.9%
NPV	69.0%
正確度	85.9%

30

40

【 0 1 6 9 】

実施例 5 : ロジスティック回帰による患者診断 2 4 時間

多変数ロジスティック回帰モデル結果を用いて、癲癇および正常対照由来のデータを含めて、発作 / 癲癇または正常のいずれかに患者を分類することも可能である。該データは、事象 2 4 時間以内に収集した試料を含有する。EvoScore アルゴリズムは、TARC、sICAM5 および TNF- α に関する濃度の測定可能な変化、ならびに年齢および性別を含む患者の身体的特性の関数であると判定された。

【 0 1 7 0 】

EvoScore は、正常対照に対して、発作および癲癇に関して、一過性のおよび測

50

定可能な変化を有する患者を比較した際、事象 24 時間以内に抜き取った血液を有する患者に関して、0.7754 ~ 0.9421 の 95% 信頼区間で、0.8587 の ROC AUC を示し、診断感度は 95.2% (最大であるように設計)、特異度は 62.1%、陽性予測値は 87.8%、陰性予測値は 81.8%、そして正確度は 86.6% (最大であるように設計)であった。結果を表 5 および図 5 に要約する。

【0171】

表 5 . 多変数ロジスティック分析による患者診断 (24 時間) の結果

【0172】

【表 1 1】

変数	係数	95% 信頼区間		p 値
		最低	最高	
実験室				
TNF : TARC	-42.49	-61.46	-23.52	0.000
sICAM5	0.00016	0.00005	0.00026	0.003
性別				
男性	参照			
女性	0.173	-0.982	1.327	0.770
年齢				
18-30	参照			
31-40	-0.007	-1.792	1.779	0.994
41-50	-0.164	-1.870	1.542	0.851
51+	-0.874	-2.284	0.536	0.224
定数	4.781	1.839	7.723	0.001
AROC	85.87%	0.7754	0.9421	-

10

20

【0173】

【化 3】

30

$$\text{EvoScore} = \frac{e^\phi}{1 + e^\phi} \times 100$$

【0174】

式中

$$= 4.781 - 0.007 \times \text{年齢} 3140 - 0.164 \times \text{年齢} 4150 - 0.874 \times \text{年齢} 51 \text{ プラス} + 0.173 \times \text{女性} - 42.49 \times \text{TNF : TARC} + 0.00016 \times \text{sICAM5}$$

正しい分類最大値

40

【0175】

【表 1 2】

		患者診断	
		+	-
試験結果	+	79	11
	-	4	18

感度	95.2%
特異度	62.1%
PPV	87.8%
NPV	81.8%
正確度	86.6%

【 0 1 7 6 】

感度および特異度の最大合計値

【 0 1 7 7 】

【表 1 3】

		患者診断	
		+	-
試験結果	+	69	6
	-	14	23

感度	83.1%
特異度	79.3%
PPV	92.0%
NPV	62.2%
正確度	82.1%

【 0 1 7 8 】

実施例 6：ロジスティック回帰による外来患者分析

外来患者に関しては、EvoScore サンプリングに続いて、臨床ケアデータの 6 ヶ月の再検討に基づく独立のパネルの診断を収集し、そして計算を行った。委員会に認定された 3 人の独立の癲癇専門医を雇い、EMU での診断評価を再検討して、そして発作の診断を確認した。癲癇専門医パネルは、この分析のため、ありうる癲癇またはありうる非癲癇事象の最適な推定を提供し、そしてパネルのうち 2 人のメンバーの間の合意が十分であり、そしてコンセンサスまたは合意された診断と見なされる。

【 0 1 7 9 】

本発明者らのパネルの 3 人の独立のレビュアーのうち少なくとも 2 人が診断に関して合意した外来患者に関して、EvoScore は、外来患者の 80 ~ 91 % を癲癇と正確に

10

20

30

40

50

診断し、この場合、明らかな癲癇診断が示されており；最小限のデータしかなく、そして「不確かな」癲癇または正常である外来患者を含めた、すべての外来患者に適用した際、EvoScoreは、症例の82～83%で、癲癇を診断する際のレビュアーのコンセンサスと一致した。これは、試験および予測アルゴリズムが、入院患者データと共に、すべての臨床セッティングで働くことを立証した。

【0180】

実施例7：分類ツリー分析による24時間以内の事象診断

分類および回帰ツリーアルゴリズムを用いて、患者試料および対照試料を層別化し、そして続いて、未知の起源の事象が発作または別の起源の事象であるかの予測値を提供した。情報獲得（エントロピー）または最適適合（ジニ不純度）のいずれかを用いて、分類ツリーを構築可能であった。データは、事象の24時間以内に収集された試料を含有する。

10

【0181】

0.2のジニ不純度カットオフおよび2レベルの分類ツリー深度の最大値を用いて、分類ツリーは、26の試料を発作を有した高リスク、16の試料を不確定（図中では中程度のリスクと分類）、そして18の試料を発作事象でないと正しく同定した。発作事象であると同定された26の試料のうち、84.6%が正しく分類された。対応して、18の非発作事象のうち、88.9%が正しく同定された。分類ツリーを図6に示す。

【0182】

実施例8：分類ツリー分析によって定義されたリスク群を含めた、多重ロジスティック回帰による事象診断24時間

20

分類ツリー分析によって定義されたリスク群を含む多重ロジスティック回帰モデル。発作/癲癇または非事象のいずれかとして事象を分類した結果。データは、事象24時間以内に収集された試料を含有する。EvoScoreアルゴリズムは、TARC、sICAM5およびTNF- α に関する濃度の測定可能な変化の関数であると判定された。

【0183】

EvoScoreは、正常対照に対して、発作に関して、一過性のおよび測定可能な変化を有する患者を比較した際、24時間以内に抜き取った血液を有する患者に関して、0.862～0.993の95%信頼区間で、0.9273のROC AUCを示し、診断感度は93.9%（最大であるように設計）、特異度は83.3%、陽性予測値は86.1%、陰性予測値は92.6%であった。結果を表6および図7に要約する。

30

【0184】

表6. 事象診断（24時間）の結果

【0185】

【表14】

	p 値	AUROC	95% CI
ツリーリスク群 + バイオマーカー + 相互作用		0.927	0.862, 0.993
-高リスク対低リスク	0.0195		
-中リスク対低リスク	0.1645		
-Log SICAM-5	0.2021		
-Log TARC	0.0568		
-Log TNF α	0.0369		
-TNF α /SICAM-5	0.0076		
-Log SICAM-5 * Log TNF α	0.0527		
-Log TARC * Log TNF α	0.0586		

40

【0186】

0.5の予測される確率を用いたモデル

【0187】

【表 15】

	モデルデータ		
	真の陽性	真の陰性	
予測される陽性	31	5	PPV = 86.1
予測される陰性	2	25	NPV = 92.6
	感度 = 93.9	特異度 = 83.3	

【0188】

【表 16】

モデルパラメーター	係数
切片	218.8
高リスク対低リスク	5.8459
中リスク対低リスク	2.9844
Log SICAM-5	-51.9285
Log TARC	65.8279
Log TNF α	-150.6
TNF α /SICAM-5	8207.5
Log SICAM-5 * Log TNF α	21.1553
Log TARC * Log TNF α	-15.0138

10

【0189】

【化 4】

20

$$\text{EvoScore} = 1 / (1 + e^{-\phi}) * 100$$

【0190】

式中

【0191】

【化 5】

$$\begin{aligned} \phi = & 218.8 + 5.8459 \text{ (高リスク群指標)} \\ & + 2.9844 \text{ (中程度リスク群指標)} \\ & - 51.9285 \log(\text{sICAM5}) + 65.8279 \log(\text{TARC}) - 150.6 \log(\text{TNF}\alpha) \\ & + 8207.5 \left(\frac{\text{TNF}\alpha}{\text{sICAM5}} \right) + 21.1553 (\log(\text{sICAM5}) * \log(\text{TNF}\alpha)) \\ & - 15.0138 (\log(\text{TARC}) * \log(\text{TNF}\alpha)) \end{aligned}$$

30

【0192】

実施例 9：分類ツリー分析によって定義されたリスク群を含む多重ロジスティック回帰による、すべての時点での事象診断

分類ツリー分析によって定義されたリスク群を含む多重ロジスティック回帰モデル。発作 / 癲癇または非事象のいずれかとして事象を分類した結果。該データは、事象後のすべての時点で収集された試料を含有する。EvoScore アルゴリズムは、TARC、sICAM5 および TNF- α に関する濃度の測定可能な変化の関数であると判定された。

40

【0193】

EvoScore は、正常対照に対して、発作に関して、一過性のおよび測定可能な変化を有する患者を比較した際、事象後、すべての時点で抜き取った血液を有する患者に関して、0.911 ~ 0.990 の 95% 信頼区間で、0.9500 の ROC AUC を示し、診断感度は 93.1% (最大であるように設計)、特異度は 73.3%、陽性予測値は 87.1%、陰性予測値は 84.6%、そして正確度は 86.4% (最大であるように設計) であった。結果を表 7 および図 8 に要約する。

【0194】

表 7. すべての時点の事象診断の結果

50

【 0 1 9 5 】

【 表 1 7 】

	p 値	AUROC	95% CI
ツリーリスク群 + バイオマーカー + 相互作用		0.950	0.911, 0.990
-高リスク対低リスク	0.0018		
- Log SICAM-5	0.0968		
- Log TARC	0.0105		
- Log TNFa	0.0035		
- TNFa/SICAM-5	0.0038		
- TARC/SICAM-5	0.0396		
- Log TARC * Log TNFa	0.0017		
- Log TARC * Log TNFa	0.0017		

10

【 0 1 9 6 】

0 . 5 2 の予測される確率を用いたモデル

【 0 1 9 7 】

【 表 1 8 】

		モデルデータ		
		真の陽性	真の陰性	
予測される陽性	56	8	PPV = 87.5	
予測される陰性	2	22	NPV = 91.7	
	感度 = 96.6	特異度 = 73.3		

20

【 0 1 9 8 】

【 表 1 9 】

モデルパラメーター	係数
切片	-15.0645
高リスク対低リスク	8.8955
Log SICAM-5	-53.1801
Log TARC	96.419
Log TNFa	-178.1
TNFa/SICAM-5	9758.9
TARC/SICAM-5	1405.1
Log TARC * Log TNFa	-36.6146
Log SICAM-5 * Log TNFa	37.968

30

【 0 1 9 9 】

実施例 10 : 分類ツリー分析によって定義されたリスク群を含む多重ロジスティック回帰による、24 時間での患者診断

分類ツリー分析によって定義されたリスク群を含む多重ロジスティック回帰モデル。癲癇、癲癇に加えて他の原因および正常対照由来のデータを含め、発作 / 癲癇または正常のいずれかとして患者を分類した結果。該データは、事象の 24 時間以内に収集された試料を含有する。EvoScore アルゴリズムは、TARC、sICAM5 および TNF - に関する濃度の測定可能な変化の関数であると判定された。

40

【 0 2 0 0 】

EvoScore は、正常対照に対して、発作および癲癇に関して、一過性のおよび測定可能な変化を有する患者を比較した際、事象 24 時間以内に抜き取った血液を有する患者に関して、0 . 7 7 0 ~ 0 . 9 3 3 の 9 5 % 信頼区間で、0 . 8 5 1 2 の ROC AUC を示し、診断感度は 8 6 . 4 % (最大であるように設計)、特異度は 5 6 . 7 %、陽性予測値は 8 8 %、陰性予測値は 5 3 . 1 %、そして正確度は 8 0 % (最大であるように設計)であった。結果を表 8 および図 9 に要約する。

【 0 2 0 1 】

表 8 . 患者診断 (2 4 時間) の結果

50

【 0 2 0 2 】

【 表 2 0 】

	p 値	AUROC	95% CI
ツリーリスク群 + バイオマーカー + 相互作用		0.851	0.770, 0.933
-高リスク対低リスク	0.0250		
-中リスク対低リスク	0.0298		
- Log SICAM-5	0.1113		
- Log TARC	0.0308		
- Log TNFa	0.3282		
- TNFa/SICAM-5	0.0166		
- Log SICAM-5 * Log TARC	0.0291		
- Log TARC * Log TNFa	0.0540		

10

【 0 2 0 3 】

0.7の予測される確率を用いたモデル

【 0 2 0 4 】

【 表 2 1 】

	真の陽性	真の陰性	
予測される 陽性	98	11	PPV = 89.9%
予測される 陰性	12	19	NPV = 61.3%
	感度 = 89.1%	特異度 = 63.3%	

20

【 0 2 0 5 】

【 表 2 2 】

モデルパラメーター	係数
切片	305.4
高リスク対低リスク	3.2836
中リスク対低リスク	3.157
Log SICAM-5	-47.8965
Log TARC	-74.7057
Log TNFa	23.5941
TNFa/SICAM-5	5293.4
Log SICAM-5 * Log TARC	12.0349
Log TARC * Log TNFa	-8.6031

30

【 0 2 0 6 】

実施例 1 1 : 分類ツリー分析によって定義されたリスク群を含む多重ロジスティック回帰による、24時間での患者診断

分類ツリー分析によって定義されたリスク群を含む多重ロジスティック回帰モデル。癲癇および正常対照由来のデータを含め、発作/癲癇または正常のいずれかとして患者を分類した結果。該データは、事象の24時間以内に収集された試料を含有する。EvoScoreアルゴリズムは、TARC、sICAM5およびTNF- α に関する濃度の測定可能な変化の関数であると判定された。

40

【 0 2 0 7 】

EvoScoreは、正常対照に対して、発作および癲癇に関して、一過性のおよび測定可能な変化を有する患者を比較した際、事象24時間以内に抜き取った血液を有する患者に関して、0.776~0.939の95%信頼区間で、0.8574のROC AUCを示し、診断感度は91.5% (最大であるように設計)、特異度は56.7%、陽性予測値は86.9%、陰性予測値は68%、そして正確度は83.1% (最大であるように設計)であった。結果を表9および図10に要約する。

50

【 0 2 0 8 】

表 9 . 患者診断 (2 4 時間) の結果

【 0 2 0 9 】

【 表 2 3 】

	p 値	AUROC	95% CI	
ツリーリスク群 + バイオマーカー		0.857	0.776, 0.939	
-高リスク対低リスク	0.0688			
-中リスク対低リスク	0.0054			
- Log SICAM-5	0.0105			
- Log TNFa	0.0208			10
- TARC/SICAM-5	0.0537			

【 0 2 1 0 】

0 . 6 8 の予測される確率を用いたモデル

【 0 2 1 1 】

【 表 2 4 】

		モデルデータ		
		真の陽性	真の陰性	
予測される陽性	89	13		PPV = 87.3
予測される陰性	5	17		NPV = 77.3
	感度 = 94.7	特異度 = 56.7		20

【 0 2 1 2 】

【 表 2 5 】

モデルパラメーター	係数	
切片	-42.0038	
高リスク対低リスク	1.9356	
中リスク対低リスク	3.349	
Log SICAM-5	6.2204	
Log TNFa	-5.2289	
TARC/SICAM-5	107.4	30

【 0 2 1 3 】

実施例 1 2 : 分類ツリー分析によって定義されたリスク群を含む多重ロジスティック回帰による、外来患者分析

外来患者に関しては、EvoScore サンプリングに続いて、臨床ケアデータの 6 ヶ月の再検討に基づく独立のパネルの診断を収集し、そして計算を行った。委員会に認定された 3 人の独立の癲癇専門医を雇い、EMU での診断評価を再検討して、そして発作の診断を確認した。癲癇専門医パネルは、この分析のため、ありうる癲癇またはありうる非癲癇事象の最適な概算を提供し、そしてパネルのうち 2 人のメンバーの合意が十分であり、そしてコンセンサスまたは合意された診断と見なされる。

40

【 0 2 1 4 】

3 人の独立のレビュアーのうち少なくとも 2 人のパネルが診断に関して合意した外来患者に関して、最小限のデータしかなく、そして「不確かな」癲癇または正常である外来患者を含めた、すべての外来患者に適用した際、EvoScore は、症例の 77.7% で、癲癇を診断する際のレビュアーのコンセンサスと一致した。これは、試験および予測アルゴリズムが、入院患者データと共に、すべての臨床セッティングで働くことを立証した。

【 0 2 1 5 】

実施例 1 3 : 分類ツリー分析によって定義されたリスク群を含む多重ロジスティック回帰による、外来患者モデル

50

分類ツリー分析によって定義されたリスク群を含む多重ロジスティック回帰モデル。発作 / 癲癇または正常対照のいずれかとしてコンセンサス再検討患者を分類した結果。EvoScoreアルゴリズムは、TARC、sICAM5およびTNF- α に関する濃度の測定可能な変化、ならびに年齢および性別を含む患者人口統計特性の関数であると判定された。

【0216】

EvoScoreは、正常対照に対して、発作および癲癇に関して、一過性のおよび測定可能な変化を有する患者を比較した際、抜き取った血液を有する患者に関して、0.731~0.909の95%信頼区間で、0.8200のROC AUCを示し、診断感度は86.4%（最大であるように設計）、特異度は70%、陽性予測値は92.3%、そして陰性予測値は55.3%であった。結果を表10および図11に要約する。

10

【0217】

表10. 外来患者モデル

【0218】

【表26】

	p値	AUROC	95% CI
ツリーリスク群 + バイオマーカー + 相互作用		0.820	0.731, 0.909
-高リスク対低リスク	<0.0001		
-性別	0.0601		

【0219】

20

【表27】

	モデルデータ		
	真の陽性	真の陰性	
予測される陽性	108	9	PPV = 92.3
予測される陰性	17	21	NPV = 55.3
	感度 = 86.4	特異度 = 70.0	

【0220】

【表28】

モデルパラメーター	係数
切片	-0.1197
高リスク対低リスク	2.6776
性別	-0.4726

30

【0221】

実施例14: EEGおよびEvoScore

EEGは、37%の感度、99%の特異度、98%のPPV、および66%のNPVを有することが示された。本発明者らは、EEGが発作事象を見逃し、有意な偽陰性およびこれに対応して癲癇患者の潜在的な過少治療を生じうることを見出した。本発明者らの結果は、この試験の認識される範囲を反映する(25~56%の感度および78%~98%の特異度)。EvoScoreは、EEGに対して、一過性変化を評価する際、より優れた感度および陰性予測値を示し、そしてほぼ同等の特異度および陽性予測値を示した。患者診断および治療のため、EvoScoreをEEGと組み合わせて用いてもよい。さらに、EvoScoreを本明細書に定義するような他の診断および試験アプローチと組み合わせて用いてもよい。

40

【0222】

実施例15: 技術的再現性および品質管理

1) 血漿試料の反復凍結融解は、TARC、sICAM5、およびTNF- α レベルに影響を及ぼさない

50

- 2) 同じ試料に関する試験間の再現性はほぼ100%である
- 3) 多様な血漿希釈は、相対的なTARC、sICAM5、およびTNF レベルを改変しない
- 4) 長期保存(最長1年間)は、TARC、sICAM5、およびTNF レベルを改変しない
- 5) 試験は最適には~6時間で実行可能であるが、実験室環境において、多様なワークフロー用に最適化可能である
- 6) バッチ間変動は最小限である
- 7) 全方法論は、バッチ間の一定のアッセイ技術を確実にするため、「標準操作法」に最適化されている
- ことが確認されている。

10

【0223】

実施例：要約

上記実施例に基づいて：(1) TARCおよびsICAM5を含む単独のバイオマーカー、ならびにバイオマーカーの比、TNF / TARCおよびTNF / sICAM5は、正常対照および事象診断の間、正常対照および患者診断1の間、ならびに正常対照および患者診断1 & 2の間で、統計的に有意な相違($p < 0.05$)を有することが示された。これらのバイオマーカーおよびバイオマーカーの比は、発作かまたはそうでないか、そして癲癇かまたはそうでないかの判定のために、単独でまたは組み合わせて使用可能である；(2) 24時間の時点で、Evoscoreは、発作および正常対照個体の間の相違を区別可能である(「一過性変化」)；(3) 24時間の時点で、Evoscoreは、癲癇患者および正常対照個体の間の相違を区別可能である(「持続性変化」)；(4) Evoscoreは、発作および正常対照の間の一過性変化を評価する際に、EEGと少なくとも同等であるかまたはEEGよりも優れている；(5) Evoscoreは、診断および治療評価のため、EEGおよびまたは他の試験と組み合わせて使用可能である；(6) 240人の患者の「すべての」外来患者分析において、Evoscoreは、症例の83%で、発作の患者を同定可能である；そして(7) Evoscoreは、事象から24時間より後に採取された試料に関して、発作および正常対照の間の相違(「一過性変化」)、ならびに癲癇患者および正常対照の間の相違(「持続性変化」)を区別可能であり、72時間またはそれより後にに関する潜在性も含む；そして(8) 試験は、任意の臨床または医療セッティングならびに実験室条件において実行されるようにロバストである。

20

30

【0224】

明確にするために、別個の態様の文脈で記載される本発明の特定の特徴はまた、単一の態様において、組み合わせて提供されることも可能である。逆に、簡潔にするために、単一の態様の文脈で記載される本発明の多様な特徴はまた、別個に、または任意の適切な下位組み合わせで提供されることも可能である。

【0225】

本明細書に提供する数学的係数およびアルゴリズムは例示的であり、そして典型的であり、そして例示のためにのみ提供される。本明細書に含まれる開示は、いかなる意味でも、係数およびアルゴリズムのこれらの例に限定されると見なされてはならず、むしろ、本明細書に提供する解説の結果として明らかになるあらゆる変形を含むと見なされるべきである。特に、代替係数およびアルゴリズムは、異なる臨床データの使用の結果として明らかになりうる。

40

【0226】

本発明は、特定の態様と組み合わせて記載されてきているが、当業者には、多くの代替物、修飾および変形が明らかとなるであろう。したがって、付随する請求項の精神および広い範囲内に属するすべてのこうした代替物、修飾および変形が含まれると意図される。本明細書に言及するすべての刊行物、特許および特許出願は、各々の個々の刊行物、特許および特許出願が本明細書に援用されると具体的にそして個々に示されるのと同じ度合いまで、その全体が本明細書に援用される。さらに、本出願における任意の参考文献の引用

50

または同定は、こうした参考文献が本発明に対する先行技術として利用可能であることの承認と見なされてはならない。

【 0 2 2 7 】

本明細書に列挙するいかなる文書（限定されるわけではないが、いかなる特許、特許出願、刊行物、およびウェブサイトも含む）も、その全体が本明細書に援用される。これらの開発は、特定の態様に関連して開示されてきているが、本発明の他の態様および変形が、開発の真の精神および範囲から逸脱することなく、他の当業者によって考案されることが明らかである。付随する請求項には、こうした態様およびその変形が含まれる。

【 図 1 】

<p>非発作 (NS)</p> <ul style="list-style-type: none"> 発作様事象なし、または発作を模倣する事象なし 特定の臨床的および精神的状態によって説明される 例には、T I A、めまい、パニック障害、および軽微性障害/心因性発作が含まれる
<p>非痙攣性発作 (NES)</p> <ul style="list-style-type: none"> 一過性の要因に誘発する発作 発作の閾値を一時的に低下させる、そうでなければ正常な脳に対して作用する、一過性の要因 例には、発熱またはアルゴリズム離脱の背景の発作が含まれる¹
<p>痙攣性発作 (ES)</p> <ul style="list-style-type: none"> 脳が、再発性発作を有する病理学的および/または解剖学的傾向を示す患者における発作¹ 少なくとも24時間離れて、少なくとも2回の誘発されない発作を経験している患者 単回の誘発されない発作を経験しており、そしてさらなる発作を経験する可能性が高い患者（例えば脳卒中のような遠隔脳損傷に続いて、単回痙攣性発作を経験したことがある患者） 検出されない痙攣症候群の診断

¹ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy, Epilepsia, 55(4):475-482, 2014

FIG. 1

【 図 2 】

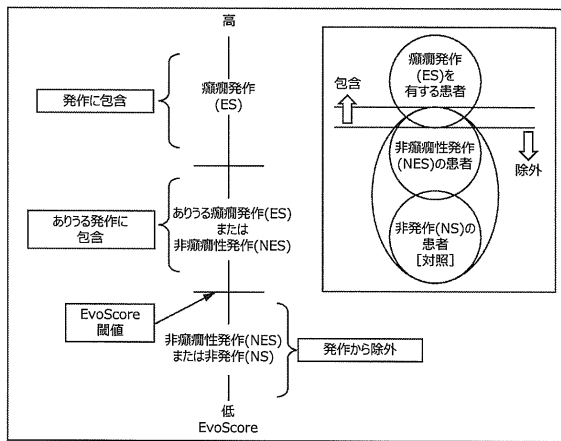


FIG. 2

【 図 3 】

IED1 24: 年齢, 性別, TNF:TARC, sICAM5

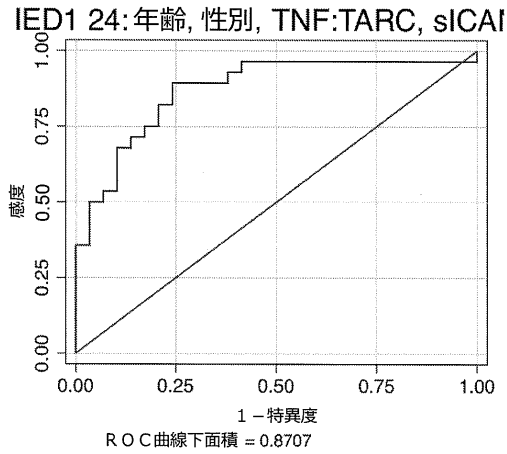


FIG. 3

【 図 4 】

PD12 24: 年齢, 性別, TNF:TARC, sICAM5

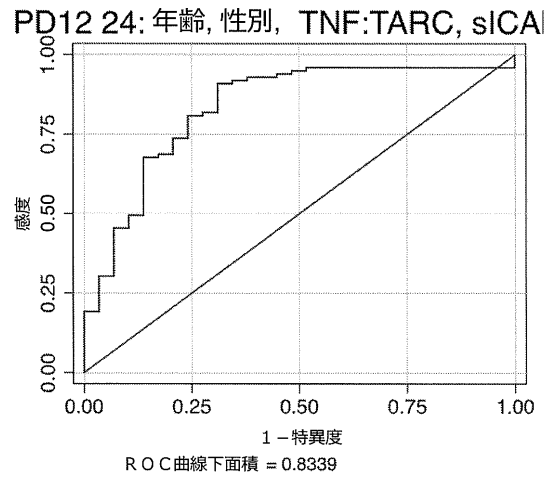


FIG. 4

【 図 5 】

PD1 24: 年齢, 性別, TNF:TARC, sICAM5

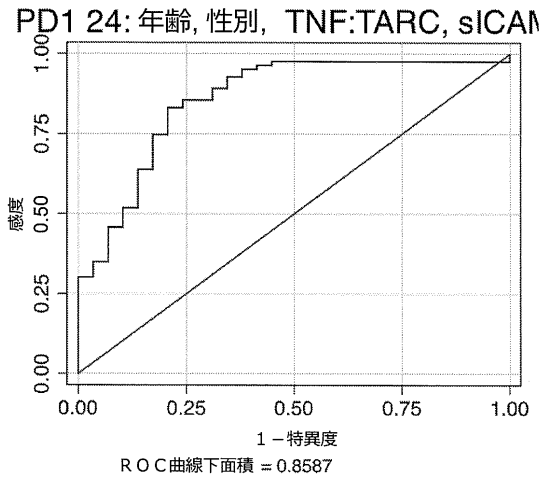


FIG. 5

【 図 6 】

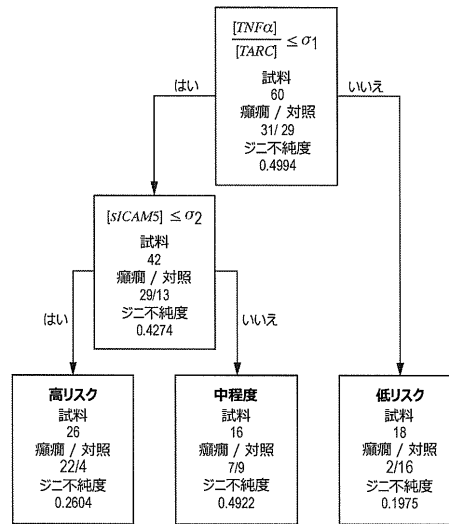


FIG. 6

【 図 7 】

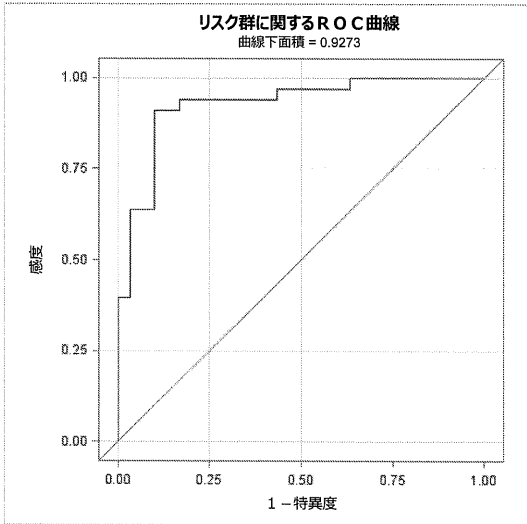


FIG. 7

【 図 8 】

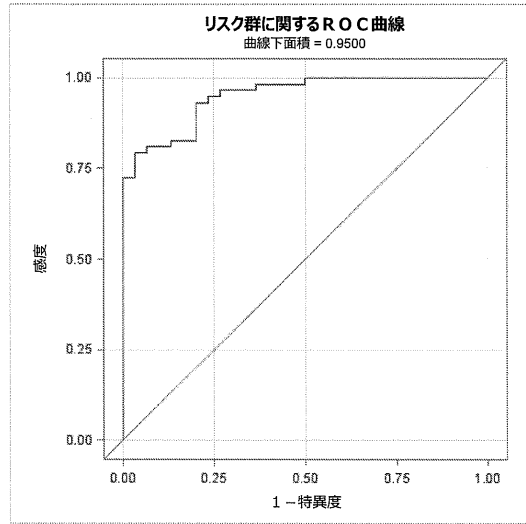


FIG. 8

【 図 9 】

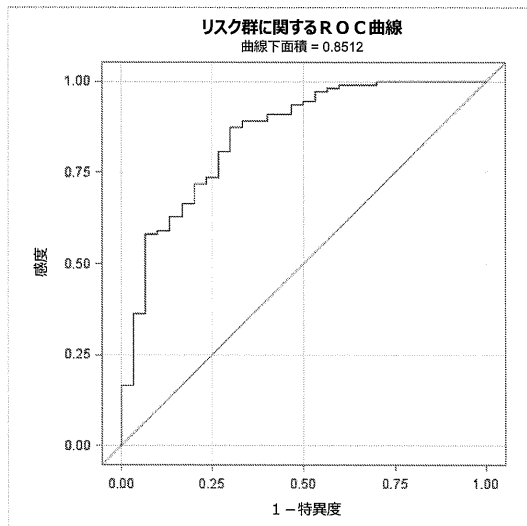


FIG. 9

【 図 10 】

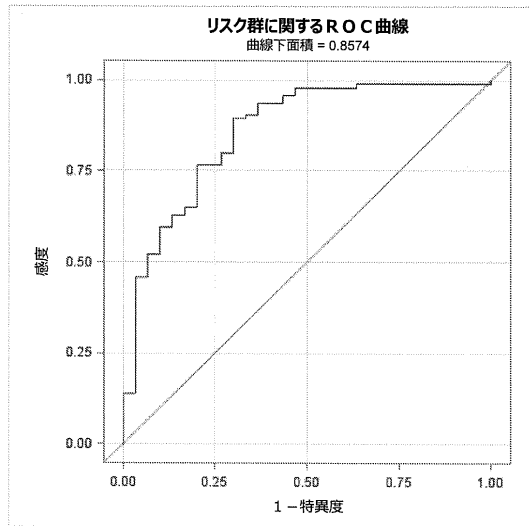


FIG. 10

【 図 1 1 】

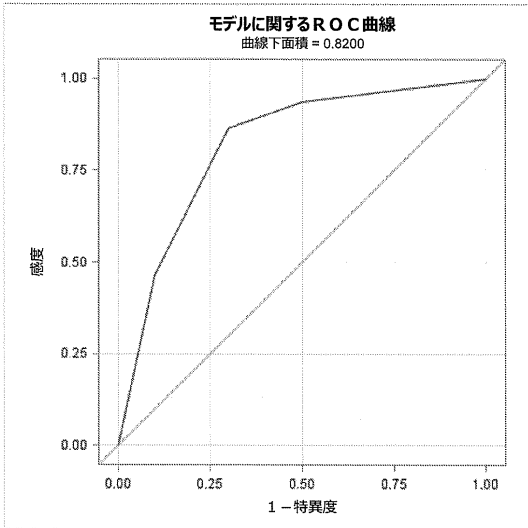


FIG. 11

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US17/12094

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - A61K 38/18, 38/19, 38/20; G01N 33/50 (2017.01) CPC - G01N 33/50, 33/5038, 33/5041; A61K 38/191, 38/1841		
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) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X -- Y	US 2013/0331329 A1 (POLLARD, JR et al.) 12 December, 2013; paragraphs [0002]-[0003], [0018], [0043]-[0046], [0081], [0090]; table 1; claim 42	1-10, 14 ----- 11-13
Y	(CHANG, CC et al.) Clinical Significance of Serological Biomarkers and Neuropsychological Performances in Patients with Temporal Lobe Epilepsy. BMC Neurology. 14 March, 2012; Vol. 12, No. 15; pages 1-10; abstract; page 3, column 1, paragraph 1; DOI: 10.1186/1471-2377-12-15.	11
Y	US 2009/0169619 A1 (GANDE, M et al.) 02 July, 2009; claim 22	12
Y	(CHOY, M et al.) A Novel, Noninvasive, Predictive Epilepsy Biomarker with Clinical Potential. The Journal of Neuroscience. 25 June, 2014; Vol. 34, No. 26; pages 8672-8684; page 8677, column 1, paragraphs 1, 3; DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4806-13.2014.	13
A	(POLLARD, JR et al.) TheTARC/sICAMS Ratio in Patient Plasma is a Candidate Biomarker for Drug Resistant Epilepsy. Frontiers in Neurology. 03 January, 2013; Vol. 3, No. 181; pages 1-8; page 2, column 2, paragraph 1; page 3, column 1, paragraphs 2, 4; page 4, column 1, paragraph 2; figure 6; tables 2-3	7-8, 10
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 27 February 2017 (27.02.2017)		Date of mailing of the international search report 23 MAR 2017
Name and mailing address of the ISA/ 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

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2013)

フロントページの続き

(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, KH, 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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

(74) 代理人 100163784

弁理士 武田 健志

(72) 発明者 ヴァラッハ, トッド

アメリカ合衆国カンザス州66210, ウェスト・ワンハンドレッドテンス・ストリート 939
3, スウィート 500, オーバーランド・パーク

(72) 発明者 クリーノ, ピーター

アメリカ合衆国カンザス州66210, ウェスト・ワンハンドレッドテンス・ストリート 939
3, スウィート 500, オーバーランド・パーク

(72) 発明者 ボラード, ジョン

アメリカ合衆国カンザス州66210, ウェスト・ワンハンドレッドテンス・ストリート 939
3, スウィート 500, オーバーランド・パーク

(72) 発明者 ブランド, エリザベス

アメリカ合衆国カンザス州66210, ウェスト・ワンハンドレッドテンス・ストリート 939
3, スウィート 500, オーバーランド・パーク

(72) 発明者 ストロマン, モーラ

アメリカ合衆国カンザス州66210, ウェスト・ワンハンドレッドテンス・ストリート 939
3, スウィート 500, オーバーランド・パーク

(72) 発明者 ホレンビーク, クリストファー

アメリカ合衆国カンザス州66210, ウェスト・ワンハンドレッドテンス・ストリート 939
3, スウィート 500, オーバーランド・パーク

(72) 発明者 セント・クレア, リッチ

アメリカ合衆国カンザス州66210, ウェスト・ワンハンドレッドテンス・ストリート 939
3, スウィート 500, オーバーランド・パーク

(72) 発明者 ポトビル, ジェフリー

アメリカ合衆国カンザス州66210, ウェスト・ワンハンドレッドテンス・ストリート 939
3, スウィート 500, オーバーランド・パーク

(72) 発明者 グレッドヒル, ジョン

アメリカ合衆国カンザス州66210, ウェスト・ワンハンドレッドテンス・ストリート 939
3, スウィート 500, オーバーランド・パーク

Fターム(参考) 4C084 AA17 NA05 ZA062

专利名称(译)	用于检测癫痫发作和癫痫的生物标志物和方法		
公开(公告)号	JP2019506620A	公开(公告)日	2019-03-07
申请号	JP2018553856	申请日	2017-01-04
发明人	ヴアラッハ, トッド クリーノ, ピーター ポラード, ジョン ブランド, エリザベス ストローマン, モーラ ホレンビーク, クリストファー セント・クレア, リッチ ボトビル, ジェフリー グレッドヒル, ジョン		
IPC分类号	G01N33/53 A61P25/08 A61K45/00		
CPC分类号	A61K31/195 A61K31/20 A61K31/27 A61K31/4015 A61K31/4166 A61K31/513 A61K31/515 A61K31/53 A61K31/55 A61K31/551 A61K31/5513 A61P25/08 G01N33/6896 G01N2800/2857		
FI分类号	G01N33/53.D G01N33/53.P A61P25/08 A61K45/00		
F-TERM分类号	4C084/AA17 4C084/NA05 4C084/ZA062		
代理人(译)	山本修 宫前彻 中西 基晴 武田健		
优先权	62/274578 2016-01-04 US 62/274551 2016-01-04 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

癫痫性癫痫发作难以诊断，并且通常难以与某些症状相似的疾病区分开，因此癫痫发作的诊断通常冗长，昂贵且不可靠。这是一个无法完成的过程。本发明涉及在所有临床和医学环境中用于鉴定癫痫发作和癫痫的生物标志物，用于测量和评估生物标志物浓度的测定法，基于生物标志物的预测模型以及癫痫发作和癫痫病。提供了一种用于检测，评估和诊断瞬时变化和持续变化的计算机系统。本文提供的诊断方法，试剂盒和预测模型允许进行定量和/或定性分析，以允许患者立即进行诊断和/或治疗方案并评估治疗效果。提供正面评价。

Epileptic Seizures (ES)	Non-Epileptic Seizures (NES)	No Seizures (NS)
<ul style="list-style-type: none"> Seizures in patients whose brains demonstrate a pathologic and enduring tendency to have recurrent seizures¹ Patients who have experienced at least two unprovoked seizures at least 24 hours apart Patients who have experienced a single unprovoked seizure and are as likely to experience additional seizures (for example, patients who have experienced a single seizure subsequent to a remote brain insult, like a stroke) Diagnose of an unresolved epilepsy syndrome 	<ul style="list-style-type: none"> Seizures that are secondary to a transient factor Transient factor acting on an otherwise normal brain to temporarily lower the seizure threshold Examples include seizures in the context of fever or alcohol withdrawal¹ 	<ul style="list-style-type: none"> No seizure-like events, or events that mimic seizures Explained by specific medical and psychological conditions Examples include TIA, vertigo, panic attacks, and conversion disorder/psychogenic spells

¹IAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. Epilepsia, 55(4):475-482,2014

FIG. 1