

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2015-222271

(P2015-222271A)

(43) 公開日 平成27年12月10日(2015.12.10)

(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	
	GO 1 N 33/53 N	

審査請求 有 請求項の数 12 O L 外国語出願 (全 47 頁)

(21) 出願番号	特願2015-157281 (P2015-157281)	(71) 出願人	501391733
(22) 出願日	平成27年8月7日 (2015.8.7)		バイオヒット・ユルキネン・オサケユキテュ
(62) 分割の表示	特願2013-232023 (P2013-232023)		ア
	の分割		B I O H I T O Y J
原出願日	平成20年10月27日 (2008.10.27)		フィンランド、エフイーエン-00880
(31) 優先権主張番号	61/000,601		ヘルシンキ、ライッパティエ1番
(32) 優先日	平成19年10月26日 (2007.10.26)	(74) 代理人	100101454
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 山田 卓二
		(74) 代理人	100062144
			弁理士 青山 稜
		(74) 代理人	100106518
			弁理士 松谷 道子
		(74) 代理人	100138911
			弁理士 櫻井 陽子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 自己免疫疾患および萎縮性胃炎と関連する胃癌を診断するための方法および製品

(57) 【要約】

【課題】 本発明は、自己免疫疾患を示す症状および/またはバイオマーカーを有するヒトを萎縮性胃炎の存在について検査するための方法を提供する。

【解決手段】 症候性または無症候性の自己免疫疾患を有するヒトを検査するため、さらに、萎縮性胃炎を示す症状および/またはバイオマーカーを有するヒトを検査するために、1) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、ガストリン - 17 およびヘリコバクター・ピロリ抗体、2) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、ガストリン - 17、3) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、ヘリコバクター・ピロリ抗体、4) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、および 5) ペプシノーゲン I を含むバイオマーカーの群から選択される少なくとも1つのバイオマーカーを提供する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

自己免疫疾患を示す症状および/またはバイオマーカーを有するヒトを検査する方法であって、

- 該ヒトから生物学的サンプルを入手すること；
 - 1) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、ガストリン - 17 およびヘリコバクター・ピロリ抗体、2) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、ガストリン - 17、3) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、ヘリコバクター・ピロリ抗体、4) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、および、5) ペプシノーゲン I を含むバイオマーカーの群から選択される少なくとも 1 つのバイオマーカーを、該生物学的サンプルから定量的に測定し、得られる値をカットオフ値または基準範囲と比較することを含む、方法。

10

【請求項 2】

該サンプル中のペプシノーゲン I 濃度が下限に近いか、または、基準範囲またはカットオフ値を下回り、かつ、PGI / PGI I 比が下限に近いか、または、基準範囲またはカットオフ値を下回り、かつ、ガストリン - 17 濃度が上限に近いか、または、基準範囲を上回り、これらの値が萎縮性胃炎を示すものである、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 3】

ペプシノーゲン I 値の基準範囲が $30 - 160 \mu\text{g} / \text{l}$ であり、ペプシノーゲン II の基準範囲が $3 - 20 \mu\text{g} / \text{l}$ であり、PGI / PGI I 比が 3 または 3 未満であり、ガストリン - 17 S (刺激時) 値の基準範囲が $5 - 30 \text{pmol} / \text{l}$ であり、ガストリン - 17 B (絶食時) の基準範囲が $2 - 10 \text{pmol} / \text{l}$ であり、HPAB の基準範囲が $0 - 30 \text{EIU}$ である、請求項 1 または請求項 2 に記載の方法。

20

【請求項 4】

典型的なバイオマーカーのカットオフ値が、ペプシノーゲン I $30 \mu\text{g} / \text{l}$ 、PGI / PGI I 比 3、ガストリン - 17 S (刺激時) 値 $5 \text{pmol} / \text{l}$ 、ガストリン - 17 B (絶食時) $2 \text{pmol} / \text{l}$ および HPAB 30EIU を含む群から選択される、請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 5】

萎縮性胃炎を示す症状および/またはバイオマーカーを有するヒトを検査する方法であって、そのヒトを 1 つまたは複数の自己免疫疾患を示す症状および/またはバイオマーカーの存在について検査することを含む、方法。

【請求項 6】

生物学的サンプルが、血液、血清または血漿サンプルである、請求項 1 ないし請求項 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

自己免疫疾患が、例えば、急性散在性脳脊髄炎、アジソン病、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群、1 型糖尿病、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本病、特発性血小板減少性紫斑病、エリテマトーデス、多発性硬化症、重症筋無力症、天疱瘡、関節リウマチ、シェーグレン症候群および側頭動脈炎を含む完全に自己免疫的原因の疾患、および、例えば、再生不良性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性卵巣炎、小児脂肪便症、クローン病、妊娠性類天疱瘡、川崎病、眼球クローヌス・ミオクローヌス運動失調、視神経炎、オールド甲状腺炎、悪性貧血、原発性胆汁性肝硬変、ライター症候群、高安動脈炎、温式自己免疫性溶血性貧血およびウェゲナー肉芽腫症などの完全または部分的に自己免疫的原因の疾患を含む群から選択される、請求項 1 ないし請求項 6 のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 8】

自己免疫疾患を示す症状および/またはバイオマーカーを有するヒトを、萎縮性胃炎の

50

存在について検査するための；かつ/または、
萎縮性胃炎を示す症状および/またはバイオマーカーを有するヒトを、1つまたは複数の自己免疫疾患の存在について検査するための、

1) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、ガストリン - 17 およびヘリコバクター・ピロリ抗体、2) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、ガストリン - 17、3) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、ヘリコバクター・ピロリ抗体、4) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、および、5) ペプシノーゲン I を含むバイオマーカーの群から選択される、バイオマーカー。

【請求項 9】

- 1つまたは複数の自己免疫疾患の1つまたは複数のバイオマーカー、および、
- 1) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、ガストリン - 17 およびヘリコバクター・ピロリ抗体、2) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、ガストリン - 17、3) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、ヘリコバクター・ピロリ抗体、4) ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン II、ペプシノーゲン I / II 比、および、5) ペプシノーゲン I を含むバイオマーカーの群から選択される、1つまたは複数のバイオマーカーを含む、生物学的サンプルを研究するためのバイオマーカーの組合せ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、自己免疫疾患および/または萎縮性胃炎を示す症状および/またはバイオマーカーを有するヒトを検査するための方法および製品に関する。

【背景技術】

【0002】

殆どの自己免疫疾患の患者は、胃粘膜の萎縮性胃炎のリスクが高く、それは、胃癌およびいくつかの他の疾患、例えば、ビタミン B 12、亜鉛、鉄およびカルシウムの欠乏に関する疾患、および、付随するヘリコバクター・ピロリ (H.ピロリ) 感染の高いリスクを伴う。

【0003】

萎縮性胃炎は、身体の内臓を冒す慢性胃炎である。それは、組織学的には、腺細胞の喪失並びに腸型の上皮および線維組織による置き換えを伴う胃粘膜の慢性的炎症を特徴とする。臨床的には、それは、低酸症または無酸症および内因子の喪失を特徴とし、悪性貧血をもたらす。現在使用されている悪性貧血の免疫学的バイオマーカーは、胃壁細胞に対する自己抗体 (AGPA)、壁細胞抗原 H, K - ATP アーゼに対する自己抗体および内因子に対する自己抗体の存在である。胃炎および H.ピロリ感染を有する患者の約 65% のみが、AGPA 陽性である。通常の対象は、AGPA の発生率において、2 ないし 8% の加齢に伴う上昇を示す。それ故に、AGPA は、萎縮性胃炎および胃癌などの関連リスク、および、関連する潜在的自己免疫疾患の診断に十分なほど、高感度かつ特異的ではない。

【0004】

自己免疫疾患の原因は、依然として不明である：豊かさに起因する疾患の例であるか、または、それに誘発されると考えられるものもある。例えば、関節炎と肥満は関連すると知られており、世界保健機関は、関節炎は先進国で最も一般的であると述べている。殆どの自己免疫疾患は、恐らく、複数の事情、例えば、感染により誘発される遺伝的素因などの結果である。完全に自己免疫的原因の疾患には、急性散在性脳脊髄炎、アジソン病、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群、1 型糖尿病、グッドパスチャー症候群、グレイブス病、ギラン・バレー症候群、橋本病、特発性血小板減少性紫斑病、エリテマトーデス、多発性硬化症、重症筋無力症、天疱瘡、関節リウマチ、シェーグレン症候群および側頭動脈炎が含まれる。完全または部分的に自己免疫的原因の疾患は、例えば、再生不良性貧血、

10

20

30

40

50

自己免疫性肝炎、自己免疫性卵巣炎 (autoimmune oophororsis)、小児脂肪便症、クローン病、妊娠性類天疱瘡 (gestational pemphicoid)、川崎病、眼球クローンズ・ミオクローンズ運動失調、視神経炎、オールド (Ord) 甲状腺炎、悪性貧血、原発性胆汁性肝硬変、ライター症候群、高安動脈炎、温式自己免疫性溶血性貧血およびウエゲナー (Wegener) 肉芽腫症である。

【0005】

これらの自己免疫疾患の殆どは、胃癌およびいくつかの他の疾患、例えば、ヘリコバクター・ピロリおよびビタミンB12、亜鉛、鉄およびカルシウムの欠乏に関連する疾患などの高いリスクを伴う胃粘膜の萎縮性胃炎と共に存在し得る。

【0006】

従って、症候性または無症候性の自己免疫疾患を有する人々における萎縮性胃炎を明らかにするための、信頼できる診断および検診の方法に対する要望がある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明の目的は、少なくともいくつかの先行技術の問題を解決することである。特に、症候性または無症候性の自己免疫疾患を有するヒトを検査する方法を提供することが、本発明の目的である。さらに、萎縮性胃炎を示す症状および/またはバイオマーカーを有するヒトを検査する方法を提供することが、本発明の目的である。これらの方法で使用するための製品を提供することも、本発明の目的である。

【課題を解決するための手段】

【0008】

従って、本発明の1つの目的は、自己免疫疾患を示す症状および/またはバイオマーカーを有するヒトの検査方法を提供することである。より具体的には、本発明の目的は、自己免疫疾患を示す症状および/またはバイオマーカーを有するヒトを、萎縮性胃炎の存在について検査するための方法を提供することである。この方法は、少なくとも1つの萎縮性胃炎を示すバイオマーカーの測定を含む。好ましくは、バイオマーカーは、1) ペプシノーゲンI、ペプシノーゲンII、ペプシノーゲンI/II比、ガストリン-17およびヘリコバクター・ピロリ抗体、2) ペプシノーゲンI、ペプシノーゲンII、ペプシノーゲンI/II比、ガストリン-17、3) ペプシノーゲンI、ペプシノーゲンII、ペプシノーゲンI/II比、ヘリコバクター・ピロリ抗体、4) ペプシノーゲンI、ペプシノーゲンII、ペプシノーゲンI/II比、および5) ペプシノーゲンIを含むバイオマーカーの群から選択される。

【0009】

本発明の他の目的は、萎縮性胃炎を示す症状および/またはバイオマーカーを有するヒトを、1つまたは複数の自己免疫疾患の存在について検査する方法を提供することである。この方法は、1つまたは複数の自己免疫疾患を示す症状および/またはバイオマーカーの存在について、そのヒトを検査することを含む。

【0010】

本発明はまた、1つまたは複数の自己免疫疾患の1つまたは複数のバイオマーカーおよび萎縮性胃炎を示す1つまたは複数のバイオマーカーを含む生物学的サンプルを調査するための、バイオマーカーの組合せを提供する。萎縮性胃炎を示すバイオマーカーは、好ましくは、1) ペプシノーゲンI、ペプシノーゲンII、ペプシノーゲンI/II比、ガストリン-17およびヘリコバクター・ピロリ抗体、2) ペプシノーゲンI、ペプシノーゲンII、ペプシノーゲンI/II比、ガストリン-17、3) ペプシノーゲンI、ペプシノーゲンII、ペプシノーゲンI/II比、ヘリコバクター・ピロリ抗体、4) ペプシノーゲンI、ペプシノーゲンII、ペプシノーゲンI/II比、および5) ペプシノーゲンIを含むバイオマーカーの群から選択される。

【0011】

加えて、萎縮性胃炎を明らかにするバイオマーカーの組合せ(パネル)は、1つの自己

10

20

30

40

50

免疫疾患または複数の自己免疫疾患のバイオマーカーでもあり得る。

【 0 0 1 2 】

パネル全体を、過去の自己免疫状態が未詳の患者に対して：または、自己免疫疾患を有すると分かっているが、他の自己免疫症状および萎縮性胃炎について調べるべき患者において、使用し得る。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 1 3 】

本発明による方法は、主に、請求項 1 に記載のものを特徴とする。

本発明によるバイオマーカーは、主に、請求項 8 に記載のものを特徴とし、バイオマーカーの組合せは、主に、請求項 9 に記載のものを特徴とする。

10

【 0 0 1 4 】

GastroPanel (登録商標) および GastroView (商標) の革新的技術 (innovation)。オーストラリアの医師である Barry J. Marshall および J. Robin Warren は、ヘリコバクター・ピロリの発見、および、胃炎および消化性潰瘍疾患におけるこの新しい細菌の役割の解明で、ノーベル賞を受賞した (1、2)。GastroPanel (登録商標) の革新的技術は、開業医がこれらの重大な知見から以前よりも良好に利益を得ることを可能にする (3 - 5)。これらの 2 つの発見は、一体となって、安全、倫理的かつ費用対効果の高い、根拠に基づく予防的な医療の発展を促進する。

【 0 0 1 5 】

H.ピロリが胃炎の原因として発見されて、フィンランドの胃炎研究グループ (Max Siurala および Pentti Sipponen 教授および共同研究者) の 70 年代から 80 年代の慢性胃炎および萎縮性胃炎に関する発表は、Marshall および Warren 教授が、感染および胃炎が潰瘍性疾患および胃癌の発症と関連があると認識するのを助けた。このフィンランドの医師の研究成果のみならず、Fransesco DiMario 教授が率いるイタリアの研究グループも、H.ピロリの胃粘膜に対する有害作用の理解に関連があり、GastroPanel (登録商標) 検査の土台をなしている (6 - 13)。

20

【 0 0 1 6 】

従って、GastroPanel (登録商標) 検査は、フィンランドの慢性胃炎および関連する胃の疾患に対する研究の伝統、Michael Samloff 教授との共同研究 (11)、そして、Osmo Suovaniemi 教授の革新的技術を基礎とし、それは、世界的にマイクロプレート分析に影響を与え、70 年代から非常に広範かつ成功裏に利用されてきた。彼の革新的技術は、とりわけ、信頼できる安全な非放射性のマイクロタイター免疫アッセイの迅速かつ広範な発展ももたらし、GastroPanel (登録商標) ELISA-試験はそれを基礎とする (14)。

30

【 0 0 1 7 】

GastroPanel (登録商標) バイオマーカー。胃内視鏡検査および生検標本検査による比較研究に基づき、GastroPanel (登録商標) の革新的技術のバイオマーカー試験、ペプシノーゲン I および II (PGI、PGII)、ガストリン - 17 (G - 17) および H.ピロリの IgA & IgG 抗体は、診断パネルを形成するように、互いに補足し合うことが確認された。H.ピロリ IgA & IgG 抗体は、H.ピロリ感染のマーカーであり；PGI のレベルおよび比 PGI / PGII は、胃体の粘膜 (corpus mucosa) の機能および構造のマーカーであり；そして、G - 17 のレベル (これは、通常、絶食時の血液サンプルで測定される) は、幽門洞の粘膜 (antrum mucosa) の機能および構造のマーカーである。GastroSoft コンピュータープログラムは、GastroPanel (登録商標) の結果の解釈に使用される。完全な利益を得るために、GastroPanel (登録商標) バイオマーカー (PGI、PGII；G - 17 および H.ピロリ IgA & IgG 抗体) を、同じ血液 (血漿) サンプルからパネルとしてアッセイし、場合により GastroSoft を適用して結果の解釈を補助することに留意することが重要である (3)。GastroPanel (登録商標) 検査は、安全、倫理的かつ費用対効果の高い、胃腸障害、H.ピロリ感染および萎縮性胃炎並びに関連するリスクの診断および検診を意図する (12 - 23)。これらのリスクには、胃癌、消化性潰瘍疾患およびビタミン B12、鉄、亜鉛およびカルシウムの欠乏が含まれる。GastroPanel

40

50

(登録商標)は、また、胃食道逆流症(GERD)およびその合併症、例えばびらん性食道炎およびバレット食道(それらは、食道癌を導き得る)の発症の評価を助ける。Gastro Panel(登録商標)は、萎縮性胃炎の診断および萎縮性胃炎の原因の指摘に適する。PGI、PGI/PGIIおよびG-17レベルに基づいて萎縮性胃炎と診断された患者がH.ピロリ感染を有さないか、または有したことがないならば(H.ピロリIgA & IgG抗体試験および患者の病歴)、萎縮性胃炎は、自己免疫疾患に起因する可能性が非常に高い。

【0018】

GastroView(商標)バイオマーカー。H.ピロリ感染のアッセイ単独では、胃の粘膜の萎縮性胃炎を診断せず、加えて、いくつかのH.ピロリ試験は信頼できない(表参照)ことが知られている。GastroView(商標)検査(H.ピロリIgA & IgG抗体およびPGIおよびPGII)は、H.ピロリ感染および血清または血漿中のPGIおよびPGIIの濃度の信頼できる診断を提供する(4、5)。これは、胃の粘膜全体の機能および構造の情報を提供するには十分ではない。これは、PGIレベルおよびPGI/PGII比は、胃体部の萎縮性胃炎を解明するのみで、胃噴門のものは解明しないからである。しかしながら、絶食していない血液(血漿)サンプルからの24時間のGastroView(商標)検査の正常な結果は、胃の粘膜が健康である(H.ピロリ感染も萎縮性胃炎もない)と解明するのに十分である。結果が正常ではなかったら、それは、絶食時の血液(血漿または血清)サンプルのGastroPanel(登録商標)検査による確認およびさらなる検査への強い指示である。

10

20

【0019】

萎縮性胃炎は殆どの場合で遠位の胃から始まり(幽門洞およびその角部(angulus))、そこから胃体部へ上向きに拡大し得るので、GastroPanel(登録商標)検査による幽門洞の粘膜の機能および構造の評価は極めて重要である。低いG-17およびH.ピロリIgA & IgG抗体は、幽門洞の萎縮性胃炎のバイオマーカーである。H.ピロリ感染および低いG-17を有する患者は、萎縮性の幽門洞の胃炎を有し、かつ/または、高い酸の産出および消化性潰瘍疾患の高いリスクを特徴とする、いわゆる前庭部優位胃炎(antral predominant gastritis)を有する。これらの患者は、幽門洞の前癌性病変または早期癌のリスクが高いため、胃内視鏡検査および生検サンプル検査を受けるべきである。そのような患者は、GERDおよびその合併症が起こるリスクも高いことがある。

30

【0020】

幽門洞萎縮および高い酸分泌。GastroPanel(登録商標)試験は、通常、絶食時の血漿サンプルで行う(24)。H.ピロリ感染および低いG-17を有する患者が侵入性の胃内視鏡検査を受けることを望まない場合、幽門洞の萎縮性胃炎は、絶食時のGastroPanel(登録商標)検査に加えて、血漿中のタンパク質に刺激されるG-17の濃度を分析することにより確認または除外できる。幽門洞萎縮の場合、G-17の絶食時レベルはG細胞の不在のため低く、タンパク質の刺激はG-17レベルを高められない。胃酸がG-17の分泌を阻害し、高い胃内酸性度のみがある場合、タンパク質の刺激は、明確にG-17の血漿レベルを高める(幽門洞のG細胞集団は正常である)。従って、幽門洞の萎縮性胃炎の患者を、その低い絶食時G-17濃度が専ら高い酸分泌による患者と区別することが可能である。幽門洞が萎縮していないならば、タンパク質の刺激は、血中のG-17レベルを5,0 pmol/lを超えるまで高める。タンパク質に刺激されるG-17濃度が5.0 pmol/lより低く、患者がH.ピロリ感染を有するならば、患者が幽門洞の粘膜の萎縮性胃炎を有する可能性が非常に高い。

40

【0021】

低いG-17、幽門洞萎縮と高い酸分泌の関係は、幽門洞と胃体部の周知の生理的フィードバックメカニズムにより説明される。H.ピロリ感染がなく、2.0 pmol/lより低い絶食時G-17値を有し、タンパク質刺激の後にG-17レベルの上昇がある患者は、重篤な胃食道逆流症(GERD)の合併症(びらん性食道炎およびバレット食道)のリスクにあり得る。このリスクは、絶食時G-17レベルが1.0 pmol/l以下である

50

場合、有意に可能性が高い。これらの患者では、P G I は、正常であるかまたは高い（19）。

【0022】

G - 17 の検出およびその後の幽門洞の萎縮性胃炎の早期診断は、胃の幽門洞の胃癌の重大なリスクにある患者を発見する可能性を提供し、消化性潰瘍疾患の特定のリスクにある対象を区別するための手段を与える。胃体部に限定される萎縮性胃炎（低い P G I および低い P G I / P G I I）の診断を、高い G - 17 により確認することも重要である。これは、P G I の欠如および結果的な酸分泌の欠如が G - 17 産生および分泌の増加をもたらす、胃体部と幽門洞との間の生理的フィードバックメカニズムに起因する。他方では、低い P G I（および/または、低い P G I / P G I I 比）を伴う低い血漿 G - 17 レベルは、最高の胃癌のリスクにある患者；即ち、拡大した重篤な萎縮性胃炎を幽門洞と胃体部の両方に有する患者を区別できる。これらの事実および下記のいくつかの他の事実は、P G I および P G I I と、G - 17 および H.ピロリ I g A & I g G 抗体の有効な組合せ（GastroPanel（登録商標）の革新的技術）の使用が、いかに極めて重要であるかを立証する。

10

【0023】

ガストリン - 17 並びに胃癌および消化性潰瘍疾患のリスク。中程度または重度の幽門洞の萎縮性胃炎（低い G - 17 および H.ピロリ I g A & I g G 抗体）を有するヒトは、健康なヒトよりも 18 倍高い胃癌のリスクを有する。中程度または重度の胃体部の萎縮性胃炎（低い P G I および/または低い P G I / P G I I および高い G - 17）を有するヒトは、健康なヒトよりも 5 倍「だけ」高い胃癌のリスクを有する。胃体と幽門洞の両方が中程度または重度の萎縮性胃炎を有するならば、癌のリスクは 90 倍高い（10）。この情報は、とりわけ、胃癌のリスクのために G - 17 を試験することが、いかに極めて重要（安全、倫理的かつ費用対効果の高い；常法による（lege artis））であるかを認識するのを助ける。

20

【0024】

G - 17 は、また、消化性潰瘍疾患のリスクのバイオマーカーでもある。出血性消化性潰瘍は、消化性潰瘍疾患の重度の合併症であり、N S A I D 薬物療法の使用によりますます、フィンランド（人口 520 万人）で 200 - 300 人/年の命を奪っている。比較のために、約 400 - 600 人が、年間に進行した胃癌により死亡している。消化性潰瘍疾患のリスクにある人々の GastroPanel（登録商標）による正確な診断は、不必要な合併症から、そして死からさえ、人々を救うであろう。加えて、フィンランドにおける 45 歳を超える人々の GastroPanel（登録商標）による検診は、胃癌による不必要な死亡から、年間に 250 - 300 人を救うであろうと考えられる（患者は、治療可能な段階で発見され得る）（11）。

30

【0025】

無症候性の G E R D および N E R D 対 E R D。GastroPanel（登録商標）検査は、G E R D の合併症のリスクにある無症候性の患者（G E R D 患者の約 3 分の 1）も同定し、G E R D 患者の診断の精度を改善する。胸やけの症状がある G E R D 患者の中で、G - 17 を含む GastroPanel（登録商標）バイオマーカーのレベルが正常であれば、N E R D（非びらん性逆流症）の可能性が高い。一方、低い G - 17 レベル（< 1 p m o l / l）を除いて GastroPanel（登録商標）が正常であれば、E R D（びらん性逆流症）の可能性が高い。P G I レベルは、高い（165 μ g / l を超える）ことも高くないこともある。E R D は、深刻な疾患であり、有効なプロトンポンプ阻害剤（P P I）治療を必要とする。いくつかの場合では、E R D は、パレット食道に、そして、食道癌にさえ、発展し得る。何人かの著者は、N E R D と E R D の鑑別診断への GastroPanel（登録商標）の促進を開始した（Gut 2006; 55 suppl VA 267）。

40

【0026】

P P I 薬物療法の前の GastroPanel（登録商標）検査。患者が萎縮性胃炎および低酸症または無酸症の胃を有さないことを保証するために、GastroPanel（登録商標）検査は、P

50

PPI薬物療法に先立つ使用に適用可能であり、有用である。加えて、PPI処置は、胃癌および出血性消化性潰瘍などの深刻な疾患の症状を緩和でき、従って隠蔽し、それにより、適切な診断と処置を遅らせ得る。

【0027】

胃体部の萎縮およびPPIによる低酸症。胃体部の萎縮およびPPIにより引き起こされる低酸症は、また、ヒトに、口腔または下部腸管由来の微生物による胃でのコロニー形成を起こしやすくする。最もバランスのとれた食事の一部を形成する炭水化物の消費時に、コロニー化した口内細菌は、胃内での発酵により、発癌性のアセトアルデヒドの産生を誘起できる。胃の低酸症は、胃癌のリスクの増加と強く関連する(26-27)。萎縮性胃炎および長期のPPI療法による腸のカルシウム吸収の減少は、例えば、骨粗鬆症および股関節骨折のリスクの素因となる(28)。加えて、萎縮性胃炎および胃部分切除などの低酸症状態は、鉄欠乏性貧血の原因であると昔から知られている(29)。

10

【0028】

ビタミンB12の欠乏。未診断の萎縮性胃炎は、しばしば、ビタミンB12欠乏を導き、それは、高齢者の10%までを冒していると思われる(18)。ビタミンB12欠乏は、認知症、うつ病および末梢神経障害の発症と関連すると考えられている。全ての組織および細胞で、それは、アテローム性動脈硬化症、心発作および卒中の独立のリスク要因であると考えられているホモシステインの濃度を高める。ビタミンB12欠乏およびその原因は、早期に検出および処置されれば可逆性であるが、残念なことに、これは稀にしか起こらないことである。

20

【0029】

GastroPanel(登録商標)の要旨。GastroPanel(登録商標)が胃の粘膜が健康であると示すとき、胃腸障害の症状は、しばしば、胃の粘膜と関連のない機能的胃腸障害または他の疾患により引き起こされている。GastroPanel(登録商標)は、真に胃内視鏡検査を必要とする患者を、緊急には必要としない患者と区別するために使用できる。かくして、限られた内視鏡検査の物資を、より重要な目的のために節約し、合理化することが可能である。50%ほどの胃腸障害の症状は、特に高齢者において、結腸起源のものであり得る。

【0030】

加えて、萎縮性胃炎および関連するリスク(胃癌、消化性潰瘍疾患およびビタミンB12、鉄、亜鉛およびカルシウムの欠乏)の患者は、しばしば無症候性であることを考慮することにより、45歳を超える全人口のGastroPanel(登録商標)検診は、胃内視鏡検査を必要とする個体を発見するのに役立つであろう。これは、現状と比較して必要とされる胃内視鏡検査の総数を殆どまたは全く有意に変化させずに実施し得るが、早期検出および深刻な疾患の処置の有意な改善をもたらすであろう。H.ピロリおよび萎縮性胃炎の診断に加えて、GastroPanel(登録商標)の結果は、患者のPPI処置への適合性および必要性、並びに、GERDの合併症のリスクを評価するのに使用できる。

30

【0031】

H.ピロリ¹³C-尿素呼気試験および便中抗原試験のGastroPanel(登録商標)による置き換え。上記の事実は、たとえ現行の「試験および処置」戦略に含まれていても、胃腸障害とH.ピロリの患者を¹³C-尿素呼気試験または便中抗原試験により試験すべきではない理由を強調する。それらは、H.ピロリ感染を検出するだけで他のものは検出せず、継続中のH.ピロリ検出の正確な診断においてさえ、信頼できないものである(表および戦略1-5参照)。¹³C-尿素呼気試験および便中抗原試験は、患者が萎縮性胃炎；MALTリンパ腫；または出血性消化性潰瘍疾患を有する場合、または、患者が現在抗生物質またはPPIを受容している場合、40-50%の偽陰性の結果を与える(30-36)。これらは、信頼できるH.ピロリ検出および処置が特に重要であろう場合である。H.ピロリIgA&IgG抗体試験の組合せには、これらのタイプの偽陰性の結果がない。

40

【0032】

加えて、H.ピロリ検出のために、GastroPanel(登録商標)検査のH.ピロリIgA&

50

I g G 抗体試験の組合せを使用する別の理由がある (37、38) : 「ほぼ全ての感染個体 (> 90 %) は、H.ピロリ - 特異的 I g G 抗体を示す。これらの個体の殆ど (約 70 %) は、I g A 抗体も示す。感染個体の約 7 % は I g A 抗体陽性であるが、I g G 抗体陰性である ; この異常応答の理由は、不明なままである。」

【 0033 】

Pasechnikov 教授らは、彼自身の研究および科学文献を参照して、以下の結論を下す (16) : 「文献データおよび我々の研究結果の分析により、以下のように結論付けることが可能である。即ち、「試験および処置」戦略の深刻な医学的および倫理的問題は、¹³C - 尿素呼気試験または便中抗原試験を GastroPanel (登録商標) 検査で置き換えることにより、簡単かつ経済的に正すことができる。Talley ら (2004) は、スウェーデンおよび米国などの多くの国で、「試験および処置」戦略のみでは十分ではないと考えられると指摘している (39)。「試験および処置」戦略の H.ピロリ試験は、萎縮性胃炎および関連するリスク、例えば胃癌および前癌性病変を発見せず、それらは、胃内視鏡検査および生検標本検査により確認すべきであり、成功裏に処置されるであろう。結論として、GastroPanel (登録商標) と胃内視鏡検査および生検標本検査は、前癌性病変および早期段階の胃癌の患者を明らかにし、従って、胃癌による不必要な死亡から人々を救う。」 (表および戦略 1 - 5 参照)。

10

【 0034 】

GastroPanel (登録商標) は、医療過誤およびその結果を回避するのを助ける。¹³C - 尿素呼気試験または便中抗原試験の使用は、正しい診断と処置を遅らせ、例えば、誤診された胃癌および出血性消化性潰瘍により、医療過誤および不必要な死亡さえ導き得る。加えて、不正確であり、かつ誤りを導きさえする試験の使用は、保健医療、社会保障、保険会社、雇用主および患者自身に、不必要なコストを負わせる。GastroPanel (登録商標) 検査が利用可能である現在、胃腸障害、H.ピロリ感染および関連するリスク (胃癌、消化性潰瘍疾患およびビタミン B 12、鉄、亜鉛、およびカルシウムの欠乏) を伴う萎縮性胃炎の患者の診断および処置において、旧式の試験 (¹³C - 尿素呼気試験または便中抗原試験) を断念するのが合理的かつ倫理的である。

20

【 0035 】

オピニオンリーダー、研究室および医師は、利用可能である最良の可能な検査および処置を推奨し、与え、使用するという、議論の余地のない権威と責任を有する。今日、正確かつ総合的な、安全かつ倫理的な胃の粘膜の検査において、利用可能な選択肢は 2 つしかない。これらは、: 1) 胃内視鏡検査および生検サンプルの組織学的検査、および、2) GastroPanel (登録商標) 検査である。

30

【 0036 】

特に、内視鏡検査の物資が不十分である場合、GastroPanel (登録商標) 検査は、プライマリケアおよび集団検診に特に好ましい。GastroPanel (登録商標) と胃内視鏡検査を比較すると、少数の生検標本から、常に正確な診断が成されるわけではない。萎縮性胃炎の患者では、血清学的検査陽性 (H.ピロリ I g A & I g G 抗体) の結果は、陰性の ¹³C - 尿素呼気試験および組織学的結果にも拘わらず、継続中の H.ピロリ感染を示し得る (33 - 36)。加えて、2人の病理学者の組織学的診断は異なり得る。組織学の品質は、胃腸科医と病理学者の経験と能力に強く依存する。

40

【 0037 】

GastroPanel (登録商標) は、血中で測定されるバイオマーカーが、検査を行う個人に關係なく、胃の粘膜の機能と構造についての客観的情報を与えるので、そのような問題を伴わない。これらのバイオマーカーに警告すべき変化があれば、GastroPanel (登録商標) 検査に続き、注意深い胃内視鏡検査を行わなければならない。そのような場合、GastroPanel (登録商標) により提供される情報は非常に役に立つ (22、40)。GastroPanel (登録商標) 検査は、不必要な胃内視鏡検査を防止し、稀少な内視鏡の物資の使用を適切に、特に結腸直腸癌の検診に向けさせるのを助ける。胃の粘膜が健康であると見出された 50 歳以上の胃腸障害の患者は、胃の疼痛および障害のほぼ半数は結腸に関連し得るので

50

、結腸内視鏡検査を受けるべきである。

【0038】

医療において、良好な診断は適切な処置と連動することが明らかである。実業界および食品医薬品局（FDA）の取締者は、ますます、診断の開発と新薬の同時開発を支援することにより、この理解を製品開発に組み込んでいる。この新しい開発および GastroPanel（登録商標）診断と、GERDのPPI処置との、および、H.ピロリ感染の抗生物質およびPPI処置との組合せは、安全、倫理的かつ費用対効果の高い、根拠に基づく予防医療を促進するであろう。

【0039】

GastroPanel（登録商標）検査は、GERDのPPI処置のコストの償還の前に、権威者により必要とされるべきである。加えて、GastroPanel（登録商標）検査、または、専門的に実施される胃内視鏡検査および生検標本検査（胃内視鏡検査）による、関連リスクを伴うH.ピロリ感染の信頼できる診断は、H.ピロリ根絶処置のコスト償還の基礎であるべきである。

10

【0040】

安全、倫理的かつ費用対効果の高い、根拠に基づく予防医療の開発に対するこの手引きおよび貢献は、実質的に保健医療のコストを低減し、疾患を予防し、福祉を促進し、例えば胃癌および出血性消化性潰瘍による不必要な死亡を救済しさえするであろう。

【0041】

胃内視鏡検査は、胃腸障害、萎縮性胃炎および胃癌（これは、世界中で2番目に多い癌関連死の原因である）の安全な検診および診断に用いられる唯一の方法であった。萎縮性胃炎および胃癌のリスクをGastroPanel（登録商標）試験で評価した後、研究者たちは、血清ペプシノーゲン、ガストリン-17およびヘリコバクター・ピロリ抗体は、胃腸障害、萎縮性胃炎および胃癌の検診に効果的に用いることができると結論付けた（11、13-16、21-23、41、42）。

20

【0042】

萎縮性胃炎および関連リスク（胃癌、消化性潰瘍疾患、ビタミンB12、鉄、亜鉛およびカルシウムの欠乏）の検診は、現在、45歳以上のヒトのケアの標準であると考えられている。その省略は、頻繁に、50歳以上のヒトの結腸直腸癌検診の省略の場合に考えられてきた、医療過誤による訴訟の原因となろう（43）。

30

【0043】

医療過誤を回避し、人々を例えば胃癌による不必要な死亡から救うために、「試験および処置」戦略の深刻な医療的および倫理的問題を、その¹³C-尿素呼気試験または便中抗原試験をGastroPanel（登録商標）検査で置き換えることにより、簡単かつ経済的に正すべきである（16）。

【0044】

表。GastroPanel（登録商標）検査および「試験および処置」戦略の¹³C-尿素呼気試験または便中抗原試験により提供されるデータのまとめ。GastroSoftプログラムは、患者のレポートを供給する。GastroSoftにより作成されるレポートは、GastroPanel（登録商標）検査の結果を、胃内視鏡検査および生検検査の結果を比較する臨床研究に基づく（www.biohit.com/gastrosoft）。

40

【0045】

「試験および処置」戦略の深刻な医療的および倫理的問題は、その¹³C-尿素呼気試験または便中抗原試験を、GastroView（商標）24時間検査（www.gastroview.com, www.gastroprofile.com）またはGastroPanel（登録商標）検査（www.gastropanel.net, [www.biohit.com / Diagnostics / Literature](http://www.biohit.com/Diagnostics/Literature)）で置き換えることにより、簡単かつ経済的に正すことができる。

【0046】

【表 1】

GastroPanel (登録商標)	GastroSoft 報告の状態:	¹³ C-尿素呼気試験ま たは便中抗原試験の 報告:
下記項目の診断		
機能的胃腸障害と臓器の胃腸障害の対比 GastroPanel (登録商標) が胃の粘膜が健康であると 示す場合、胃腸障害の愁訴は、しばしば機能的胃 腸障害または胃の粘膜と関係のない他の疾患に より引き起こされる	有り	無し
H.ピロリ感染 (胃炎)	有り	信頼できない (1)
萎縮性胃炎 (損傷があり、重度の機能不全である 、胃体部または幽門洞または両方の胃の粘膜)	有り	無し
(萎縮性胃炎による) リスク		
(幽門洞および/または胃体部の) 胃癌	有り (2)	無し
ビタミンB12欠乏 (胃体部)	有り	無し
カルシウム、亜鉛および鉄の欠乏 (胃体部)	有り (7)	無し
消化性潰瘍疾患 (幽門洞)	有り (3)	無し
GERDの合併症のリスク		
食道炎およびバレット食道	有り (4)	無し
必要であれば、下記項目を推奨する		
胃内視鏡検査および生検検査	有り	無し
H.ピロリ感染の処置	有り (8)	信頼できない (1)
ビタミンB12およびホモシステインの測定	有り	無し
カルシウムおよび鉄の測定	有り	無し
下記項目を監視するための追跡検査		
萎縮性胃炎の発生率	有り (5)	無し
H.ピロリ感染の治癒	有り	信頼できない (1)
萎縮性胃炎の治癒	有り	無し

【 0 0 4 7 】

(1) ¹³C-尿素呼気および便中抗原試験は、患者が a) 萎縮性胃炎および関連するリスク、b) MALTリンパ腫、または c) 出血性消化性潰瘍疾患を有する場合、または、d) 患者が現在抗生物質または PPI (プロトンポンプ阻害剤) を受容している場合に、40 - 50% の偽陰性の結果を与える。GastroPanel (登録商標) H.ピロリ I g A & I g G 抗体試験の組合せでは、これらのタイプの偽陰性の結果はない。

(2) 胃体部、幽門洞または両方に萎縮性胃炎がないと、胃癌のリスクは非常に低い。しかし、組織学的に観察可能な萎縮性胃炎を伴わない H.ピロリ感染が、胃癌および消化性潰瘍疾患を伴う場合がある。

(3) 胃体部萎縮のある消化性潰瘍疾患はない (酸がなければ、潰瘍はない)。幽門洞萎縮がないと、消化性潰瘍疾患のリスクは非常に低い。

(4) 低いガストリン - 17 (1,0 pmol / l 未満) を伴う正常 (30 - 160 μg / l) または高いペプシノーゲン I および / またはペプシノーゲン I とペプシノーゲン I

10

20

30

40

50

Iの比は、高い酸（HCl）の産出および胃食道逆流症（GERD）の合併症のリスクを示し得る。

（5）H.ピロリに関連する萎縮性胃炎の発生率を監視するとき、患者は、適切な時間に、標的化された安全な処置を受けることができる。かくして、薬物療法の必要性および薬物療法の費用および有害作用を低減できる。患者が消化性潰瘍疾患（胃潰瘍または十二指腸潰瘍）と診断されたことがある場合、H.ピロリ感染を処置しなければならない（6）。それは、患者が萎縮性胃炎を有する場合にも処置すべきである。患者および医師は、他の理由でも、例えば、患者の近親血縁者が胃癌と診断されたことがある場合にも、根絶処置に同意し得る。

（6）報道発表：2005年ノーベル生理学または医学賞、2005年10月3日、Barry Marshall および J. Robin Warren に共同で、彼らの「細菌ヘリコバクター・ピロリおよび胃炎および消化性潰瘍疾患におけるその役割」の発見に対して：-「ヘリコバクター・ピロリを健康な保菌者からも根絶するための抗生物質の無差別使用は、これらの重要な薬物に対する菌耐性の過酷な問題を導くであろう。従って、ヘリコバクター・ピロリに対する処置は、実証された胃潰瘍または十二指腸潰瘍の疾患のない患者においては限定的に使用されるべきである。」<http://nobelprize.org/medicine/laureates/2005/press.html>

（7）食物由来のカルシウムの適切な吸収は、萎縮性胃炎および長期のPPI治療において損なわれる正常な酸分泌を必要とする。その後、カルシウムは腸で正常に吸収されず、対象は、骨粗鬆症および股関節骨折のリスクにある。萎縮性胃炎および胃部分切除などの低酸状態は、鉄欠乏性貧血の原因であると昔から知られている。

（8）処置2ヶ月後の10 - 15 $\mu\text{g}/\text{l}$ 未満のペプシノーゲンIIレベルは、H.ピロリの根絶が成功したことを示す。高いレベルのペプシノーゲンII（10 $\mu\text{g}/\text{l}$ を超える）は、非ステロイド性抗炎症剤（例えば、アスピリン）または強いアルコールの使用に起因する活発なH.ピロリ胃炎または炎症を示す。Dig. Liver Dis. 2005 Jul; 37(7):501-8. Epub 2005 Apr 18.

【0048】

胃癌リスクの評価における GastroPanel（登録商標）の使用の結論。G-17の検出およびその後の幽門洞の萎縮性胃炎の早期診断は、胃の幽門洞における胃癌の重大なリスクにある患者を発見する可能性をもたらし、消化性潰瘍疾患の特定のリスクにある対象を区別する手段を与える。胃の胃体部に限定された萎縮性胃炎の診断（低いPGIおよび低いPGI/PGII）を、高いG-17により確認することも重要である。これは、PGIの欠如および結果的な酸分泌の欠如がG-17産生および分泌の増加をもたらす、胃体部と幽門洞との間の生理的フィードバックメカニズムに起因する。他方では、低いPGI（および/または、低いPGI/PGII比）を伴う低い血漿G-17レベルは、最高の胃癌のリスクにある患者；即ち、拡大した重篤な萎縮性胃炎を幽門洞と胃体部の両方に有する患者を区別できる。これらの事実および下記のいくつかの他の事実は、PGIおよびPGIIと、G-17およびH.ピロリIgA & IgG抗体との、有効な組合せ（GastroPanel（登録商標）の革新的技術）の使用がいかに極めて重要であるかを立証する。

【0049】

自己抗体試験と組み合わせた GastroPanel（登録商標）および GastroView（商標）に例として含まれる試験。壁細胞および/または内因子に対する自己抗体および任意の他の自己免疫疾患に対する抗体または任意の他のバイオマーカーなどの追加的試験と共に/その後/その前に GastroPanel（登録商標）を実施するとき、これらの試験（GastroPanel（登録商標）および自己免疫バイオマーカーまたは自己免疫バイオマーカーパネルによる）は、自己免疫の場合に相互の結果の確証として役立ち、状態のさらなる特徴解析のための戦略を決定して最良の処置スキームを選択するのを助ける。ヘリコバクター・ピロリの診断が有る場合または無い場合で、PGI、PGIIおよびガストリン-17バイオマーカーと、任意の自己免疫疾患の1つのバイオマーカーまたは複数のバイオマーカーとの、バイオマーカーの組合せ（パネル）は、胃癌または前癌性病変または早期癌のリスクを明らかにする。加えて、これらの組合せ（パネル）は、自己免疫疾患を明らかにし、または

10

20

30

40

50

、例えば、自己免疫疾患において、無症候性および手術不能の胃癌さえも含むそれらのリスクを明らかにし得る。

【0050】

自己免疫性甲状腺疾患を有する萎縮性胃炎患者の検診のための GastroPanel (登録商標) の有用性

胃体部に限定される萎縮性胃炎は、自己免疫性甲状腺炎並びに他の自己免疫過程と関連すると思われる。逆に、自己免疫性甲状腺炎を有する患者は、胃体部の萎縮性胃炎に冒されていると思われ、次いで、胃の新生物のリスクにあると思われる。61人のグレーブス病または橋本病の患者群において胃の粘膜の状態を GastroPanel (登録商標) で調査することを目的とする研究は、患者の約20パーセントが胃体部の萎縮性胃炎を示唆する血清学的なパターンを示すことを立証した。患者の18%に萎縮があり、25%に胃炎があり、57%は正常であった。萎縮を有する患者において： $PGI < 25 \mu g / L$ 、 $G - 17 > 15 pmol / L$ 。胃炎を有する患者： $PGII > 10 \mu g / L$ 、 $IgG - Hp > 42 U / L$ 。正常な患者： $25 < PGI < 100 \mu g / L$ 、 $PGII < 10 \mu g / L$ 、 $2.5 < G - 17 > 7.5 pmol / L$ 、 $IgG - Hp < 44 U / L$ 。一般的な集団と比較すると、非常に高い割合が胃体の萎縮性胃炎を有した。生検を用いる上部GI内視鏡検査は、低いPGIレベルを有する患者の90%において、萎縮性胃炎の診断を確認した。これらの結果は、自己免疫性甲状腺炎を有する全患者での GastroPanel (登録商標) による検診の動機となる。

【0051】

参考文献

(1) <http://nobelprize.org/medicine/laureates/2005/press.html>

(2) http://www.yourhealthbase.com/database/ulcer_drugs.htm

(3) <http://www.gastropanel.net>

(4) <http://www.gastroview.com>

(5) <http://www.gastroprofile.com>

(6) Borch K, Axelsson K, Halgreen H, Damkjaer Nielsen M, Ledin T, Szesci PB. The ratio of Pepsinogen A to Pepsinogen C: A sensitive Test for Atrophic Gastritis. *Scan J Gastroenterol* 1989; 24: 870-876.

(7) Dinis-Ribeiro M, da Costa-Pereira A, Lopes C, Barbosa J, Guilherme M, Moreira-Dias L, Lomba-Viana H, Silva R, Abreu N, Lomba-Viana R. Validity of Serum Pepsinogen I/II Ratio for the Diagnosis of Gastric Epithelial Dysplasia and Intestinal Metaplasia during the Follow-Up of Patients at Risk for Intestinal-Type Gastric Adenocarcinoma. *Neoplasia* 2004; 6(5);449-456.

(8) Germana B, Di Mario F, Cavallaro LG, Moussa AM, Lecis P, Liatoupolou S, Compato G, Carloni C, Bertiato G, Battiestel M, Papa N, Aragona G, Cavestro GM, Iori V, Merli R, Bertolini S, Caruana P, Franze A. Clinical usefulness of serum pepsinogens I and II, gastrin-17 and anti-Helicobacter pylori antibodies in the management of dyspeptic patients in primary care. *Digestive and Liver Disease* 2005; 3:501-8.

(9) Karnes WE, Samloff IM, Siurala M, Kekki M, Sipponen P, Kim SWR, Walsh JH. Positive Serum Antibody and Negative Tissue Staining for Helicobacter pylori in Subjects with Atrophic Body Gastritis. *Gastroenterology* 1992;101;167-174.

(10) Sipponen P, Graham DY. Importance of atrophic gastritis in diagnostics and prevention of gastric cancer: application of plasma biomarkers. *Scand. J. Gastroenterol.* 2007;42 (1);2-10.

【0052】

(11) Varis K, Sipponen P, Laxen F, Samloff M, Huttunen JK, Taylor PR, Heinonen O P, Albanes D, Sande N, Virtamo J, Haerkoenen M & the Helsinki Gastritis Study Group. Implications of Serum Pepsinogen I in Early Endoscopic Diagnosis of Gastric

10

20

30

40

50

Cancer and Dysplasia. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35;950-956.

(12) Di Mario F, Franze A, Cavallaro LG. Non-Invasive Diagnosis for Gastric Diseases. *One Global Medicine s.r.l* 2004; 1-48, www.biohit.com / Literature / Diagnostics; 2004 Books

(13) DiMario F, Cavallaro LG, Liatopoulou A, et al. Accuracy of "serological gastric biopsy" in a cohort dyspeptic patients, Poster presentation at the DDW 2005, May 15-18, in Chigago, IL, USA

(14) <http://www.google.com> / search: "Osmo Suovaniemi vertical measurement principle" and "the King of Patents Osmo Suovaniemi in Finland 2002"

(15) Nurgalieva Z, El-Zimaity H, Graham D, et al. Gastric atrophy in North America: Histology vs. Non-invasive testing, Poster presentation at the DDW 2005, May 15-18, in Chigago, IL, USA

(16) Pasechnikov VD, Chukov SZ, Kotelevets SM, et al. Invasive and non-invasive diagnosis of Helicobacter pylori-associated atrophic gastritis: A comparative study, *Scand J Gastroenterol* 2005; 40;297-301

(17) Sipponen P, Ranta P, Helske T, et al. Serum Levels of Amidated Gastrin-17 and Pepsinogen I in Atrophic Gastritis: An Observation Case-Control Study, *Scand J Gastroenterol* 2002 (7);785 -

(18) Sipponen P, Laxen F, Huotari K, et al. Prevalence of Low Vitamin B12 and High Homocysteine in Serum in an Elderly Male Population: Association with Atrophic Gastritis and Helicobacter pylori infection, *Scand J Gastroenterol* 2003; 12;1209 - 14

(19) Sipponen P, Vauhkonen M, Helske T, et al. Patients with Barrett's esophagus show low circulating levels of gastrin-17, *World J Gastroenterol* 2005;11(38);5988-5992

(20) Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al. Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer, *N Eng J Med* 2001; 345;784-789

【 0 0 5 3 】

(21) Varis K, Sipponen P, Laxen F et al. the Helsinki Gastritis Study Group, Implications of serum pepsinogen I in early endoscopic diagnosis of gastric cancer and dysplasia, *Scand J Gastroenterol* 2000; 9; 950-956

(22) Vaeaenaenen H, Vauhkonen M, Helske T, et al Non-Endoscopic Diagnosis of Atrophic Gastritis with a Blood Test. Correlation between Gastric Histology and Serum Levels of Gastrin-17 and Pepsinogen I. A Multicenter Study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15; 885-891

(23) Zagari RM, Nicolini G, Casanova S, et al Diagnosis of atrophic gastritis in the general population based upon a combination of three non invasive tests, *Gut* 2002; 51 (suppl 11);A39.

(24) <http://www.biohit.com> / Diagnostics / Service Laboratory

(25) Vaekevaainen, S., Tillonen, J., Agarwal, D., Srivastava, N. & Salaspuro, M. : High salivary acetaldehyde after a moderate dose of alcohol in ALDH2-deficient subjects: strong evidence for the local carcinogenic action of acetaldehyde. *Alcohol.Clin.Exp.Res.* 2000; 25; 873-877

(26) Vaekevaainen, S., Tillonen, J., Salaspuro, M., Jousimies-Somer, H., Nuutinen, H., Faerkkilae, M. Hypochlorhydria induced by a proton pump inhibitor leads to intragastric microbial production of acetaldehyde from ethanol. *Aliment. Pharmacol. Ther* 2000; 14;1511-1518

(27) Vaekevaainen, S., Mentula, S., Nuutinen, H., Salmela, K., Jousimies-Somer, H., Faerkkilae, M. & Salaspuro, M. et al. Ethanol-derived microbial production of carcinogenic acetaldehyde in achlorhydric atrophic gastritis. *Scand.J.Gastroe*

10

20

30

40

50

terol 2002; 37: 648-655

(28) Yang YX, Lewis JD, Epstein S, et al. Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. *JAMA* 2006; 296:2947-53

(29) Sharma VR, Brannon MA, Carlross EA. *South Med J.* 2004 Sep; 97(9); 887 - 9

(30) Gatta L, Perna F, Ricci C, et al. Effect of proton pump inhibitors and antacid therapy on ¹³C urea breath test and stool test for *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2004;99:823-829

【 0 0 5 4 】

(31) Graham KS, Graham DY. Contemporary Diagnosis and Management of *H. pylori* - Associated Gastrointestinal Diseases, Published by Handbooks in Health Care Co, Newtown, Pennsylvania, USA, 2002

(32) Graham DY, Opekun AR, Hammoud F, Yamaoka Y, Reddy R, Osato MS, El-Zimaity HM. Studies regarding the mechanism of false negative urea breath tests with proton pump inhibitors. *Am J Gastroenterol.* 2003;98:1005-9.

(33) Kokkola A, Rautelin H, Puolakkainen P, et al. Positive result in serology indicates active *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic gastritis. *J Clin Microbiol* 1998; 36 (6);1808-10.

(34) Kokkola A, Rautelin H, Puolakkainen P et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori*-infection in Patients with Atrophic Gastritis: Comparison of Histology, ¹³C Urea Breath Test, and serology. *Scand J Gastroenterol* 2000; 25;138-141

(35) Kokkola A., Rautelin H, Puolakkainen P, Sipponen P, Faerkkilae M, Kosunen T U. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Patients with Atrophic Gastritis: Comparison of Histology, ¹³C Urea Breath Test, and serology. *Scand J Gastroenterol* 2000;25;138-141.

(36) Kokkola A, Rautelin H, Puolakkainen P, Sipponen P, Faerkkilae M, Haapiainen R, Kosunen TU. Positive result in serology indicates active *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic gastritis. *J Clin Microbiol.* 1998; 36 (6) 1808 -10

(37) Kosunen TU. Antibody titers in *Helicobacter pylori* infection: implications in the follow-up of antimicrobial therapy. *Ann Med* 1995; 27:605-607

(38) Jaskowski TD, et al. Immunoglobulin A antibodies to *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1997; 35;2999-3000.

(39) Talley NJ, Vakil N, Delaney G, et al. Management issues in dyspepsia: current consensus and controversies. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39 (10);913-918

(40) Rugge M, Correa P, Dixon MF. et al. Gastric mucosal atrophy: interobserver consistency using new criteria for classification and grading. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16;1-12

【 0 0 5 5 】

(41) Shiotani A, Hiroyasu I, Noriya U, Kumamoto M, Nakae Y, Ishiguro S, Tatsuta M and Graham D. Early Detection and Diagnosis. Histologic and serum risk markers for noncardia early gastric cancer, *Int J Cancer* 2005;115 (3) 463-46

(42) Cao Q, Hua Z and Xiao SD. Screening of atrophic gastritis and gastric cancer by serum pepsinogen, gastrin-17 and *Helicobacter pylori* antibodies. *Journal of Digestive Diseases* 2007;8; 15-22.

(43) Winawer SJ. New colorectal cancer screening guidelines, *BMJ* 2003; 327;196-197.

(44) Toh B et al. Pernicious Anemia. *N Eng J Med*, 1997; 337: 1441-1448.

(45) Toh B et al. Pernicious Anemia. Autoimmunity, 2004;37:357-361.

(46) Mardh E et al. Diagnosis of gastritis by means of a combination of serological analyses. *Clin Chim Acta* 2002;320:17-27.

10

20

30

40

50

- (47) Carmel R et al. Prevalence of undiagnosed pernicious anemia in the elderly. *Arch Intern Med*; 1996;156:1097-1100.
- (48) Chuang JS et al. Diagnostic ELISA for parietal cell autoantibody using tomato lectin-purified gastric H⁺/K⁺-ATPase (proton pump). *Autoimmunity* 1992;2:1-7.
- (49) Goldkorn I et al. Gastric parietal cell antigens of 60-90, 92, and 100-120 kDa associated with autoimmune gastritis and pernicious anemia. Role of N-glycans in the structure and antigenicity of the 60-90-kDa component. *J Biol Chem*.1989;264:18768-74.

【 0 0 5 6 】

- (50) Basso N et al. Antigastric autoantibodies in *Helicobacter pylori* infection: role in gastric mucosal inflammation. *Int J Clin Lab Res* 2000;30:173-178. 10
- (51) Ching-Chu L et al. Implications of anti-parietal cell antibodies and anti-*Helicobacter pylori* antibodies in histological gastritis and patient outcome. *World J Gastroenterol* 2005;11:4715-4720
- (52) Baxter AG et al. Genetic control of susceptibility to autoimmune gastritis. *International Reviews of Immunology*, 24: 55-62, 2005.
- (53) Uibo R. Contribution of epidemiological studies to gastritis immunology. *Int Rev Immunol*.2005;24:31-54.
- (54) Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control, National Institutes of Health [HHS Pub. No. (CDC) 93-8395], 1993. 20
- (55) Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 1997 Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 20:1183-1197
- (56) Eisenbarth GS. 1986 Type 1 diabetes mellitus: a chronic autoimmune disease. *N Engl J Med* 314:1360 -1368.
- (57) Cahill Jr GF, McDevitt HO. 1981 Insulin-dependent diabetes mellitus: the initial lesion. *N Engl J Med*. 304:1454 -1465.
- (58) Drell DW, Notkins AL. 1987 Multiple immunological abnormalities in patients with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 30:132-143.
- (59) Gepts W. 1965 Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes*. 14:619-633. 30

【 0 0 5 7 】

- (60) Botazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D. 1974 Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet*. 2:1279 -1282.
- (61) Lernmark A, Freedman ZR, Hofmann C, et al. 1978 Islet-cell-surface antibodies in juvenile diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 299:375-380.
- (62) Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K, Tatpati O, Raghu PK, et al. 1983 Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. *Science*. 222:1337-1339. 40
- (63) Baekkeskov S, Aanstoot HJ, Christgau S, et al. 1990 Identification of the 64 kD autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* 374:151-156.
- (64) Gorus FK, Goubert P, Semakula C, et al. 1997 IA-2 autoantibodies complement GAD-65 autoantibodies in new-onset IDDM patients can help predict impending diabetes in their siblings. *Diabetologia* 40:95-99.
- (65) Neufeld M, Maclaren NK, Riley WJ, et al. 1980 Islet cell and other organ specific antibodies in U.S. Caucasians and Blacks with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 29:589 -592.
- (66) Landin-Olsson M, Karlsson FA, Lernmark A, Sundkvist G, Diabetes Incidence S 50

tudy in Sweden Group 1992 Islet cell and thyrogastric antibodies in 633 consecutive 15- to 34-yr-old patients in the Diabetes Incidence Study in Sweden. *Diabetes* 41:1022-1027.

(67) Bottazzo GF, Cudworth AG, Moul DJ, Doniach D, Festenstein H. 1978 Evidence for a primary autoimmune type of diabetes mellitus (type 1b). *Br Med J*. 2:1253-1255.

(68) Betterle C, Zanette F, Pedini B, et al. 1984 Clinical and subclinical organ-specific autoimmune manifestations in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients and their first-degree relatives. *Diabetologia*. 26:431- 436.

(69) Riley WJ, Winer A, Goldstein D. 1983 Coincident presence of thyro-gastric autoimmunity at onset of type 1 (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia*. 24:418-421.

【 0 0 5 8 】

(70) Irvine WJ, Scarth L, Clarke BF, Cullen DR. 1970 Thyroid and gastric autoimmunity in patients with diabetes mellitus. *Lancet*. 2:163-168.

(71) Riley WJ, Toskes PP, Maclaren NK, Silverstein J. 1982 Predictive value of gastric parietal cell autoantibodies as a marker for gastric and hematologic abnormalities associated with insulin dependent diabetes. *Diabetes*. 31:1051-1055.

(72) Markson JL, Moore JM. 1962 "Autoimmunity" in pernicious anemia and iron deficiency anemia. *Lancet*. 2:1240.

(73) Ungar B, Stocks AE, Whittingham S, Martin FIR, Mackay IR. 1968 Intrinsic factor antibody, parietal-cell antibody, and latent pernicious anaemia in diabetes mellitus. *Lancet*. 2:415- 417.

(74) Shearman DJC, Delamore JW, Gardner DL. 1966 Gastric function and structure in iron deficiency anemia. *Lancet*. 1:845- 848.

(75) Kokkonen J. 1980 Parietal cell antibodies and gastric secretion in children with diabetes mellitus. *Acta Paediatr Scand*. 69:485- 489.

(76) De Block C, Van Gaal L, De Leeuw I. 1997 Iron deficiency anaemia is associated with gastric autoimmunity in insulin-independent diabetic patients (IDDM) [Abstract]. *Diabetologia*. 40(Suppl 1):A592.

(77) Neufeld M, Maclaren NK, Blizzard RM. 1981 Two types of autoimmune Addison's disease associated with different polyglandular autoimmune (PGA) syndromes. *Medicine*. 60:355-362.

(78) Karlsson FA, Burman P, Loeoef L, Olsson M, Scheynius A, Mardh S. 1987 Enzyme-linked immunosorbent assay of H1/K1-ATPase, the parietal cell antigen. *Clin Exp Immunol*. 70:604-610.

(79) Van Rood JJ, Van Leeuwen A, Ploem JS. 1976 Simultaneous detection of two cell populations by two-colour fluorescence and application to the recognition of B cell determinants. *Nature*. 262:795-797.

(80) Bodmer JG, Marsh SGE, Parham P, Erlich HA, Albert E, Bodmer WF, et al. 1990 Nomenclature for factors of the HLA system, 1989. *Hum Immunol*. 28:326 -342.

【 0 0 5 9 】

(81) Selam JL, Clot J, Andary M, Mirouze J. 1979 Circulating lymphocyte subpopulations in juvenile insulin-dependent diabetes. Correction of abnormalities by adequate blood glucose control. *Diabetologia*. 16:35- 40.

(82) Vanderkam SG, De Leeuw IH. 1992 Insuline dependente diabetes mellitus in associatie met auto-immuun geïnduceerde thyreoiditis en gastritis. *Tijdschr Geneeskunde*. 48:925-928.

(83) Gorsuch AN, Dean BM, Bottazzo GF, Lister J, Cudworth AG. 1980 Evidence that type 1 diabetes and thyrogastric autoimmunity have different genetic determinants

10

20

30

40

50

ts. *Br Med J.* 280:145-147.

(84) Sachs G, Hersey SJ. 1991 The gastric parietal cell, its clinical relevance in the management of acid related diseases. Oxford: Oxford Clinical Communications; 23-32.

(85) Burman P, Mardh S, Norberg L, Karlsson FA. 1989 Parietal cell antibodies in pernicious anemia inhibit H⁺/K⁺-adenosine triphosphatase, the proton pump of the stomach. *Gastroenterology.* 96:1434 -1438.

(86) Song YH, Ma JY, Mardh S, et al. 1994 Localization of a pernicious anemia autoantibody epitope on the α -subunit of the human H,K-adenosine triphosphate. *Scand J Gastroenterol.* 29:122-127.

(87) Lam SK, Sircus W. 1976 A comparison of the acid and gastrin secretory responses to hypoglycaemia and meals in duodenal ulcer with and without acid hypersecretion to pentagastrin. *Digestion.* 14:1-11.

(88) Markiewicz K, Lukin M. 1976 Influence of hyperglycaemia on maximal acid secretion in healthy subjects. *Digestion.* 14:188 -191.

(89) Deprez P, Calam J. 1993 Nouveaux mecanismes d'hypergastrinemie en rapport avec la gastrite atrophique auto-immune et l'infection a *Helicobacter pylori*. *Acta Gastroenterol Belg.* 56:245-250.

(90) Ma JY, Borch K, Sjostrand E, Janzon L, Mardh S. 1994 Positive correlation between H,K-adenosine triphosphatase autoantibodies and *Helicobacter pylori* antibodies in patients with pernicious anemia. *Scand J Gastroenterol.* 29:961-965.

【 0 0 6 0 】

(91) Negrini R., Savio A., Graffeo M., Rolfi F, Ghielmi S. 1993 Auto-antibodies and gastric *Helicobacter pylori* infection: does auto-immunity affect progression to atrophic gastritis? *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 5(Suppl 2):S27-S29.

(92) Uibo R, Vorobjova T, Metskula K, Kisand K, Wadstrom T, Kivik T. 1995 Association of *Helicobacter pylori* and gastric autoimmunity: a populationbased study. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 11:65- 68.

(93) Doniach D, Roitt IM. 1964 An evaluation of gastric and thyroid autoimmunity in relation to hematologic disorders. *Semin Hematol.* 1:313-343.

(94) Karlsson FA, Burman P, Loeoef L, Mardh S. 1988 Major parietal cell antigen in autoimmune gastritis with pernicious anemia is the acid-producing H⁺,K⁺-adenosine triphosphatase of the stomach. *J Clin Invest.* 81:475- 479.

(95) Davidson RJL, Atrah HI, Sewell HF. 1989 Longitudinal study of circulating gastric antibodies in pernicious anaemia. *J Clin Pathol.* 42:1092-1095.

(96) Kaplan LM, Graeme-Cook FM. 1997 Case record of the Massachusetts general hospital: a 39 year-old woman with pernicious anemia and a gastric mass. *N Engl J Med.* 336:861- 867.

(97) Irvine WJ. 1975 The association of atrophic gastritis and autoimmune thyroid disease. *Clin Endocrinol Metab.* 4:351-377.

(98) Dallman PR. 1982 Manifestations of iron deficiency. *Semin Hematol.* 19:19 -30.

(99) Cook JD. 1982 Clinical evaluation of iron deficiency. *Semin Hematol.* 19:6 -18.

(100) Toh BH, Van Driel IR, Gleeson PA. 1997 Mechanisms of disease: pernicious anemia. *N Engl J Med.* 337:1441-1448.

【 0 0 6 1 】

(101) Brinton LA, Gridley G, Hrubec Z, Hoover R, Fraumeni Jr JF. 1989 Cancer risk following pernicious anaemia. *Br J Cancer.* 59:810-813.

(102) Pokorny G et al. Types of atrophic gastritis in patients with Sjogren's s

10

20

30

40

50

ndrome. Annals of the Rheumatic Diseases 1991; 50: 97-100)

(103) Maury CPJ et al. Atrophic gastritis in sjogren's syndrome. Morphologic, biochemical, and immunologic findings. Arthritis and Rheumatism 2005; 28(4): 388-394).

(104) Ishikawa N et al. Helicobacter pylori infection in rheumatoid arthritis: effect of drugs on prevalence and correlation with gastroduodenal lesions. Rheumatology 2002; 41: 72-77.

(105) Salonen EM et al. Anti-telomere antibodies in systemic lupus erythematosus (SLE): a comparison with five antinuclear antibody assays in 430 patients with SLE and other rheumatic diseases. Ann Rheum Disease 2004; 63(19): 1250-1254.

(106) Wallace DJ et al. Anti-telomere antibodies in systemic lupus erythematosus: a new ELISA test for anti-DNA with potential pathogenic implications.

【手続補正書】

【提出日】平成27年9月2日(2015.9.2)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

1型糖尿病の症状を有すると診断されたヒトにおいてヘリコバクター・ピロリ感染および/または萎縮性胃炎の存在を検査する方法であって、下記ステップを含んでなる方法：

a) 1型糖尿病の症状を有すると診断されたヒトから生物学的サンプルを入手する；

b) 非侵襲試験により前記生物学的サンプルから複数のバイオマーカーを定量的に測定する；ここで、前記複数のバイオマーカーは、ペプシノーゲンI、ペプシノーゲンII、ペプシノーゲンI/II比、ガストリン-17およびヘリコバクター・ピロリ抗体を含み、ペプシノーゲンI、ペプシノーゲンIIおよびガストリン-17は抗体を用いて測定される；

c) 得られた値をカットオフ値または基準範囲と比較する；および

d) 前記比較に基づいて、前記1型糖尿病の症状を有すると診断されたヒトにおけるヘリコバクター・ピロリ感染および/または萎縮性胃炎の存在を判定する。

【請求項2】

前記サンプル中のペプシノーゲンI濃度が基準範囲の下限に近いか、または、基準範囲またはカットオフ値を下回るとき、前記ヒトが胃体部萎縮性胃炎を有すると診断される、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

ペプシノーゲンIの基準範囲が30 - 160 $\mu\text{g/l}$ であり、ペプシノーゲンIIの基準範囲が3 - 20 $\mu\text{g/l}$ であり、ペプシノーゲンI/II比の基準範囲が3または3未満であり、ガストリン-17S(刺激時)値の基準範囲が5 - 30 pmol/l であり、ガストリン-17B(絶食時)の基準範囲が2 - 10 pmol/l であり、ヘリコバクター・ピロリ抗体の基準範囲が0 - 30 EIUである、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

典型的なバイオマーカーのカットオフ値が、ペプシノーゲンI 30 $\mu\text{g/l}$ 、ペプシノーゲンI/II比3、ガストリン-17S(刺激時) 5 pmol/l 、ガストリン-17B(絶食時) 2 pmol/l およびヘリコバクター・ピロリ抗体 30 EIUである、請求項1~3のいずれかに記載の方法。

【請求項5】

生物学的サンプルが、血液、血清または血漿サンプルである、請求項1~4のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

ヘリコバクター・ピロリ抗体が、I g G 抗体および I g A 抗体から選択される、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

ガストリン - 17 のレベルが、ペプシノーゲン I およびペプシノーゲン I I のレベルとは別に測定される、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 8】

前記サンプルにおいて、ペプシノーゲン I 濃度が基準範囲の下限に近いが、または、基準範囲またはカットオフ値を下回り、ペプシノーゲン I / I I 比が基準範囲の下限に近いが、または、基準範囲またはカットオフ値を下回り、ガストリン - 17 濃度が基準範囲の上限に近いが、または、基準範囲を上回るとき、前記ヒトが胃体部萎縮性胃炎を有すると診断される、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

ヘリコバクター・ピロリ感染および/または萎縮性胃炎を有するヒトにおいて 1 型糖尿病の存在を検査する方法であって、下記ステップを含んでなる方法：

a) ヒトから生物学的サンプルを入手する；

b) 非侵襲試験により前記生物学的サンプルから複数のバイオマーカーを定量的に測定する；ここで、前記複数のバイオマーカーは、ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン I I、ペプシノーゲン I / I I 比、ガストリン - 17 およびヘリコバクター・ピロリ抗体を含み、ペプシノーゲン I、ペプシノーゲン I I およびガストリン - 17 は抗体を用いて測定される；

c) 得られた値をカットオフ値または基準範囲と比較し、該比較に基づいて、前記ヒトにおけるヘリコバクター・ピロリ感染および/または萎縮性胃炎の存在を判定する；

d) 前記ヒトがヘリコバクター・ピロリ感染および/または萎縮性胃炎を有すると判定された場合、該ヒトにおいて 1 型糖尿病を示す症状の存在を検査する；および

e) 前記ヒトが 1 型糖尿病を示す症状を有する場合、該ヒトが 1 型糖尿病を有すると判定する。

【請求項 10】

生物学的サンプルが、血液、血清または血漿サンプルである、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

ヘリコバクター・ピロリ抗体が、I g G 抗体および I g A 抗体から選択される、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【請求項 12】

ガストリン - 17 のレベルが、ペプシノーゲン I およびペプシノーゲン I I のレベルとは別に測定される、請求項 9 ~ 11 のいずれかに記載の方法。

フロントページの続き

(72)発明者 オスモ・スオヴァニエミ
フィンランド、エフィー - 00570ヘルシンキ、クロポルク6番

【 外国語明細書 】

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

METHODS AND PRODUCTS FOR DIAGNOSING AUTOIMMUNE DISEASES AND GASTRIC CANCER LINKED WITH ATROPHIC GASTRITIS

The present invention relates to methods and products for examining a person having the
5 symptoms and/or biomarkers indicating an autoimmune disease and/or atrophic gastritis.

Patients with most autoimmune diseases are at increased risk of atrophic gastritis of the
stomach mucosa, which carries with it an increased risk of stomach cancer and some other
diseases, such as the diseases related to the deficiency of vitamin B12, zinc, iron and calcium,
10 and an accompanying *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection.

Atrophic gastritis is a chronic gastritis that affects the corporal mucosa. It is characterized
histologically by chronic inflammation of the gastric mucosa with loss of glandular cells and
replacement by intestinal-type epithelium and fibrous tissue. Clinically, it is characterized by
15 hypo- or achlorhydria and loss of intrinsic factor resulting in pernicious anemia. The
immunological biomarker of pernicious anemia that is currently used is the presence of
autoantibodies to gastric parietal cells (AGPA), parietal cell antigen H,K-ATPase and intrinsic
factor. Only about 65% of patients with gastritis and *H. pylori* infection are AGPA positive.
Normal subjects exhibit an age related increase in the incidence of AGPA from 2 to 8%.
20 Consequently, AGPA is not sensitive and specific enough for the diagnosis of atrophic
gastritis and related risks, such as gastric cancer, and related possible autoimmune diseases.

The causes of autoimmune diseases are still obscure: Some are thought to be either examples
of, or precipitated by, diseases caused by affluence. For example, arthritis and obesity are
25 known to be related, and the World Health Organisation states that arthritis is most common in
developed countries. Most autoimmune diseases are probably the result of multiple
circumstances, for example, a genetic predisposition triggered by an infection. Diseases with a
complete autoimmune etiology include acute disseminated encephalomyelitis, Addison's
disease, ankylosing spondylitis, antiphospholipid antibody syndrome, diabetes mellitus type 1,
30 Goodpasture's syndrome, Graves' disease, Guillain-Barre syndrome, Hashimoto's disease,
idiopathic thrombocytopenic purpura, lupus erythematosus, multiple sclerosis, myasthenia
gravis, pemphigus, rheumatoid arthritis, Sjögren's syndrome and temporal arteritis. Diseases

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

2

with a complete or partial autoimmune etiology are, for example, aplastic anemia, autoimmune hepatitis, autoimmune oophorosi, celiac disease, Crohn's disease, gestational pemphigoid, Kawasaki's disease, Opsoclonus myoclonus syndrome, optic neuritis, Ord's thyroiditis, pernicious anemia, primary biliary cirrhosis, Reiter's syndrome, Takayasu's arteritis, warm autoimmune hemolytic anemia and Wegener's granulomatosis.

Most of these autoimmune diseases may present with atrophic gastritis of the stomach mucosa with a high risk of stomach cancer and some other diseases, such as *Helicobacter pylori* and the diseases related to the deficiency of vitamin B12, zinc, iron and calcium.

Consequently, there is need for a reliable diagnosis and screening method for revealing atrophic gastritis in people with symptomatic or asymptomatic autoimmune disease.

An aim of the present invention is to solve at least some problems of the prior art. In particular, it is an aim of the present invention to provide a method for examining a person having symptomatic or asymptomatic autoimmune disease. Furthermore, it is an aim of the present invention to provide method for examining a person having the symptoms and/or biomarkers indicating atrophic gastritis. It is also an aim of the present invention to provide products for use in these methods.

One object of the present invention is thus to provide a method for examining a person having the symptoms and/or biomarkers indicating an autoimmune disease. More specifically, an object of the present invention is to provide a method for examining a person having the symptoms and/or biomarkers indicating an autoimmune disease for the presence of atrophic gastritis. The method comprises the measuring of at least one of the biomarkers indicating atrophic gastritis. Preferably, the biomarkers are selected from the groups of biomarkers comprising 1) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, gastrin-17 and *Helicobacter pylori* antibodies, 2) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, gastrin-17, 3) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio *Helicobacter pylori* antibodies, 4) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, and 5) pepsinogen I.

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

3

Another object of the present is to provide a method for examining a person having the symptoms and/or biomarkers indicating atrophic gastritis for the presence of one or several autoimmune diseases. The method comprises that the person is examined for the presence of the symptoms and/or biomarkers indicative of one or several autoimmune diseases.

5

The invention provides also a combination of biomarkers for studying a biological sample comprising one or several biomarkers of one or several autoimmune diseases, and one or several biomarkers indicative of atrophic gastritis. The biomarkers indicative for atrophic gastritis are preferably selected from the groups of biomarkers comprising 1) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, gastrin-17 and *Helicobacter pylori* antibodies, 2) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, gastrin-17, 3) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, *Helicobacter pylori* antibodies, 4) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, and 5) pepsinogen I.

In addition, the biomarker combination (the panel), which reveals atrophic gastritis, may also be a biomarker for one autoimmune disease or several autoimmune diseases.

The whole panel could be used on patients with previously unknown autoimmune status; or in patients, who are known to have autoimmune disease, but in whom biomarkers for other autoimmune conditions as well as atrophic gastritis should be checked.

The method according to the invention is mainly characterized in that, what is stated in claim 1.

The biomarker according to the invention is mainly characterized in that, what is stated in claim 8 and a combination of biomarkers is mainly characterized in that, what is stated in claim 9.

25 **GastroPanel® and GastroView™ innovation.** Australian doctors Barry J. Marshall and J. Robin Warren received the Nobel Prize for the discovery of *Helicobacter pylori*, and for elucidation of the role of this novel bacterium in gastritis and peptic ulcer diseases (1,2). The GastroPanel® innovation allows practising physicians to benefit from these significant

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

4

findings better than before (3-5). These two discoveries together promote the development of safe, ethical and cost effective evidence-based and preventative medicine.

5 With *H. pylori* discovered as a cause of gastritis, publications of the Finnish Gastritis Research Group, Professors Max Siurala and Pentti Sipponen, and co-workers, on chronic gastritis and atrophic gastritis from the 70's and 80's helped Professors Marshall and Warren to realize that the infection and gastritis are connected to development of ulcer diseases and stomach cancer. This research work of the Finnish physicians, but also the Italian research group headed by Professor Fransesco DiMario, has links to the
10 understanding of the injurious effect of *H. pylori* on gastric mucosa, and forms the backbone of the GastroPanel® examination (6-13).

Consequently, the GastroPanel® examination is based on the Finnish research tradition into chronic gastritis and associated gastric diseases on co-work with Professor Michael Samloff
15 (11) and on Professor Osmo Suovaniemi's innovations, which have affected to the microplate analyses worldwide and have been utilized quite extensively and successfully since the 70's. His innovations also resulted, among other things, in the rapid and massive development of reliable and safe non-radioactive microplate immunoassays, on which the GastroPanel® ELISA-tests are based (14).

20 **GastroPanel® biomarkers.** Based on the comparative studies by the gastroscopy and biopsy specimen examinations, the biomarker tests of the GastroPanel® innovation, pepsinogen I and II (PGI, PGII), gastrin-17 (G-17) and *H. pylori* IgA&IgG antibodies, have been validated to complement each other so as to form a diagnostic panel. *H. pylori* IgA &
25 IgG antibodies are a marker of *H. pylori* infection; the level of PGI and the ratio PGI/PGII are markers of the function and structure of corpus mucosa; and the level of G-17, which is usually measured in a fasting blood sample, is a marker the function and structure of antrum mucosa. The GastroSoft computer program is used in interpretation of the GastroPanel® results. To obtain full benefit it is important to note that the GastroPanel®
30 biomarkers (PG I, PG II; G-17 and *H. pylori* IgA & IgG antibodies) are assayed from the same blood (plasma) sample as a panel, with the optional application of GastroSoft to aid interpretation of the results (3). GastroPanel® examination is intended for safe, ethical and

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

5

cost effective diagnosis and screening of dyspepsia, *H. pylori* infection and atrophic gastritis and related risks (12-23). These risks include gastric cancer, peptic ulcer disease and the deficiency of vitamin B12, iron, zinc and calcium. GastroPanel® also aids in the assessment of the development of gastroesophageal reflux disease (GERD) and its complications, such as erosive esophagitis and Barrett's esophagus, which may lead to esophageal cancer. GastroPanel® is suitable for diagnosis of atrophic gastritis as well as for indication of the cause of atrophic gastritis. If the patient diagnosed with atrophic gastritis based on PGI, PGI/PGII and G-17 levels does not have, and has not had, *H. pylori* infection (*H. pylori* IgA & IgG antibody test and patient history), atrophic gastritis is very likely caused by autoimmune disease.

GastroView™ biomarkers. It is known that the assay of *H. pylori* infection alone does not diagnose atrophic gastritis of the stomach mucosa, and, in addition, some *H. pylori* tests are not reliable (see Table). The GastroView™ examination (*H. pylori* IgA&IgG antibodies and PG I and PGII) provides a reliable diagnosis of *H. pylori* infection and the concentration of PG I and PG II in serum or plasma (4,5). This is not sufficient to provide information on the function and structure of the whole stomach mucosa. This is because the PG I level and PGI / PG II ratio only reveal atrophic gastritis of the gastric corpus, not that of the gastric antrum. However, the normal results of the round-the-clock GastroView™ examination from a non-fasting blood (plasma) sample are sufficient to reveal that the stomach mucosa is healthy (not *H. pylori* infection nor atrophic gastritis). If the results are not normal, it is a strong indication for the confirmation and further examination by the GastroPanel® examination from a fasting blood (plasma or serum) sample.

The assessment of the function and structure of antrum mucosa by the GastroPanel® examination is extremely important because atrophic gastritis starts in most cases from the distal stomach (the antrum and its angulus), from which it may extend upwards to the corpus. Low G-17 and *H. pylori* IgA&IgG antibodies are biomarkers of atrophic gastritis of the antrum. The patients with *H. pylori* infection and low G-17 either have atrophic antral gastritis, and/or so called antral predominant gastritis characterized by high acid output and high risk of peptic ulcer disease. These patients should undergo gastroscopy and biopsy sample examinations due to an increased risk of the precancerous lesions or early cancer in the

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

6

antrum. Such patients may also be at increased risk of the occurrence of GERD and its complications.

Antrum atrophy and high acid secretion. GastroPanel® tests are usually done on a fasting plasma sample (24). If a patient with *H. pylori* infection and low G-17 does not want to have invasive gastroscopy, atrophic gastritis of the antrum can be confirmed or excluded by assaying the concentration of protein-stimulated G-17 in plasma in addition to a fasting GastroPanel® examination. In case of antrum atrophy, the fasting level of G-17 is low due to the absence of the G-cells and the protein stimulation cannot increase the G-17 level. Gastric acid in turn inhibits the secretion of G-17, and in cases with high intragastric acidity alone, protein stimulation clearly raises the plasma level of G-17 (the G cell population in antrum is normal). It is thus possible to distinguish the patients with atrophic gastritis in the antrum from those whose low fasting concentration of G-17 is entirely due to high acid secretion. If the antrum is not atrophied, protein stimulation increases the level of G-17 in the blood to over 5.0 pmol/l. If the protein-stimulated G-17 concentration is less than 5.0 pmol/l and the patient has a *H. pylori* infection, it is very likely that the patient has atrophic gastritis of the antrum mucosa.

The relation between low G-17, antrum atrophy and high acid secretion is explained by the well known physiological feedback mechanism between antrum and corpus. Patients without *H. pylori* infection and with G-17 fasting values of less than 2.0 pmol/l, who have increased G-17 levels following protein stimulation, may be at risk of the severe complications (erosive esophagitis and Barrett's esophagus) of gastroesophageal reflux disease (GERD). This risk is significantly more likely if the fasting level of G-17 is 1.0 pmol/l or lower. PGI is normal or high in these patients (19).

The detection of G-17 and subsequent early diagnosis of atrophic gastritis of the antrum provides possibilities to find patients at significant risk for gastric cancer in the gastric antrum, and offers tools to delineate subjects at particular risk for peptic ulcer diseases. It is also important that the diagnosis of atrophic gastritis, limited to gastric corpus (low PGI and low PGI/PGII), is confirmed by the high G-17. This is due to the physiological feedback mechanism between the corpus and antrum, where lack of PGI and the consequent lack of acid

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

7

secretion results in increase of G-17 production and secretion. On the other hand, low plasma level of G-17 with low PGI (and/or low PGI/PGII ratio) enable to delineate patients at highest risk for gastric cancer; i.e., those with extended and severe atrophic gastritis in both antrum and corpus. These and some other facts below demonstrate how extremely important is the use of the validated combination of PGI I and PGI II with G-17 and *H. pylori* IgA&IgG antibodies (The GastroPanel® innovation).

Gastrin-17 and the risk of gastric cancer and peptic ulcer disease. A person with moderate or severe atrophic gastritis in the antrum (low G-17 and *H. pylori* IgA&IgG antibodies) has an 18 times higher risk for stomach cancer than a healthy person. A person with moderate or severe atrophic gastritis in the corpus (low PGI I and/or low PGI I / PGI II and high G-17) has “only” 5 times higher risk to have stomach cancer than a healthy person. If both the corpus and antrum have moderate or severe atrophic gastritis, the risk of cancer is 90 times higher (10). This information, among other things, helps to realize how extremely important (safe, ethical and cost effective; *lege artis*) it is to test G-17 due to the risk of gastric cancer.

G-17 is also a biomarker for the risk of peptic ulcer disease. Bleeding peptic ulcers, which are severe complications of peptic ulcer disease and increasingly due to the use of NSAID medication, are killing 200 – 300 people / year in Finland (the population 5,2 million). To compare, some 400-600 people die annually from advanced gastric cancer. Proper diagnosis of people at risk of peptic ulcer disease by GastroPanel® would save people from unnecessary complications, and even from death. In addition, it is conceivable that screening of people at age over 45 in Finland with GastroPanel® would save 250 – 300 people annually from unnecessary death due to gastric cancer (patients could be found at a curable stage) (11).

Asymptomatic GERD and NERD vs. ERD. GastroPanel® examination also identifies asymptomatic patients (approx. one third of GERD patients) who are at risk of GERD’s complications, and improves the accuracy of diagnostics in GERD patients. Among GERD patients with heartburn symptoms, NERD (non-erosive reflux disease) is likely if the levels of GastroPanel® biomarkers, including G-17, are normal. ERD (erosive reflux disease) in turn is likely if GastroPanel® is normal except for low G-17 level (< 1 pmol/l). PGI I level may or may not be high (over 165 µg/l). ERD is a serious disease and requires effective proton pump inhibitor (PPI) therapy. In some cases, ERD may develop into Barrett’s esophagus and even to

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

8

esophageal cancer. Some authors have started to promote GastroPanel® for the differential diagnosis of NERD and ERD (Gut 2006; 55 suppl VA 267).

GastroPanel® examination before PPI medication. GastroPanel® examination is applicable and useful to be used prior to the PPI medication, to ensure that the patient does not have atrophic gastritis and hypochlorhydric or even achlorhydric stomach. In addition, PPI treatment can alleviate, and therefore mask, symptoms of serious diseases such as gastric cancer and bleeding peptic ulcer, and may thereby delay the proper diagnosis and treatment.

Hypochlorhydria due to corpus atrophy and PPIs. Hypochlorhydria caused by corpus atrophy and PPIs also makes the person susceptible to the colonization of the stomach with microbes from oral cavity or from lower gut. In consumption of carbohydrates, which form part of most balanced meals, the colonized oral bacteria can elicit the production of carcinogenic acetaldehyde by fermentation in the stomach. Hypochlorhydria of the stomach is associated with a strongly increased risk of gastric cancer (26-27). The decreased intestinal absorption of calcium due to atrophic gastritis and long-term PPI therapy predisposed to a risk for, e.g., osteoporosis and hip fractures (28). In addition, hypochlorhydric states, such as atrophic gastritis and partial gastrectomy, have long been known to be causes of iron deficiency anemia (29).

Deficiency of vitamin B12. Undiagnosed atrophic gastritis often leads to vitamin B12 deficiency, which appears to affect up to 10% of the elderly population (18). Vitamin B12 deficiency is considered to be associated with development of dementia, depression and peripheral neuropathies. In all tissues and cells, it increases in the concentrations of homocysteine that is considered an independent risk factor for atherosclerosis, heart attacks and strokes. Vitamin B12 deficiency and its causes are reversible if detected and treated early, but, unfortunately, this is rarely the case.

GastroPanel® Summary. When GastroPanel® indicates the gastric mucosa is healthy, the dyspepsia symptoms are often caused by functional dyspepsia or another disease not involving the gastric mucosa. GastroPanel® can be used to differentiate the patients who really need gastroscopy from those who do not need it urgently. In this way it is possible to save and

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

9

rationalize limited endoscopy resources for more important purposes. As much as 50% of dyspepsia symptoms may be of colon origin, especially in elderly population.

In addition, by considering that patients with atrophic gastritis and related risks (gastric cancer, peptic ulcer disease and the deficiency of vitamin B12, iron, zinc and calcium) are often asymptomatic, GastroPanel® screening of the whole population over 45 years of age would help to find the individuals who require gastroscopy. This may be carried out with little or no significant change in total number of gastroscopies needed compared to the current situation, but it would result in a significant improvement in the early detection and treatment of serious disease. In addition to diagnosing *H. pylori* and atrophic gastritis, GastroPanel® results can be used in assessment the patient's suitability and need for PPI treatment and the risk of complications of GERD.

Replacement of *H. pylori* ¹³C- urea breath test and stool antigen test with GastroPanel®.

The above presented facts emphasize why dyspepsia and *H. pylori* patients should not be tested by the ¹³C- urea breath test or stool antigen test, even though they are included in the current "test and treat" strategy. They only detect *H. pylori* infection but nothing else, and can be unreliable even in the proper diagnosis of the on-going *H. pylori* detection (see Table and Strategies 1 - 5). The ¹³C- urea breath test and stool antigen test give 40 - 50 % false negative results if the patient has atrophic gastritis; MALT lymphoma; or bleeding peptic ulcer disease; or if the patient has currently received antibiotics or PPIs (30-36). These are cases where the reliable *H. pylori* detection and treatment would be especially important. *H. pylori* IgA & IgG antibody test combination does not have these types of false negative results.

In addition, there is another reason for using the *H. pylori* IgA & IgG antibody test combination of GastroPanel® examination for *H. pylori* detection (37,38): "Nearly all infected individuals (>90%) exhibit *H. pylori*-specific IgG antibodies. Most (approximately 70%) of these individuals also exhibit IgA antibodies. Approximately 7% of infected individuals are positive for IgA antibodies but negative for IgG antibodies; the reason for this aberrant response remains unclear."

By referring to his own studies and the scientific literature Professor Pascechnikov et al conclude the following (16): "The analysis of the literature data and results of our own

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

10

research allow us to conclude that the serious medical and ethical problems of the “test and treat” strategy can be corrected simply and economically by replacing its ¹³C- urea breath – or stool antigen test by the GastroPanel® examination. Talley et al. (2004) indicate that in many countries, such as Sweden and the US, the “test and treat” strategy alone is not considered sufficient (39). The *H. pylori* tests of the “test and treat” strategy does not find atrophic gastritis and related risks, such as gastric cancer and precancerous lesions, which should be confirmed by gastroscopy and biopsy specimen examination and would be successfully treated. Consequently, GastroPanel® & gastroscopy and biopsy specimen examinations reveal patients with precancerous lesions and early stage gastric cancers, and, therefore, save people from unnecessary deaths because of gastric cancer.” (see Table and Strategies 1-5).

GastroPanel® helps to avoid malpractice and its consequences. The use of ¹³C- urea breath test or stool antigen test delays correct diagnoses and treatments and may lead to malpractice and even unnecessary deaths due to, for example, misdiagnosed gastric cancer and bleeding peptic ulcers. In addition, the use of inaccurate and even misleading tests causes unnecessary costs for healthcare, social security, insurance companies, employers, and for patients themselves. Now, when the GastroPanel® examination is available, it is reasonable and ethical to give up the old tests (¹³C- urea breath test or stool antigen test) in the diagnosis and treatment of the patients with dyspepsia, *H. pylori* infection and atrophic gastritis with related risks (gastric cancer, peptic ulcer disease and the deficiency of vitamin B12, iron, zinc and calcium).

Opinion leaders, laboratories and doctors have an unquestionable authority and responsibility to recommend, offer and use the best possible examination and treatments that are available. Today, there are only two available options in proper and comprehensive, safe and ethical examination of the stomach mucosa. These are : 1) gastroscopy and histological examination of biopsy samples and 2) GastroPanel® examination.

GastroPanel® examination is particularly preferred in primary care and health screening especially if the endoscopic resources are insufficient. When comparing GastroPanel® and gastroscopy, accurate diagnosis cannot always be made from a few biopsy specimens. In patients with atrophic gastritis, positive serology (*H. pylori* IgA&IgG antibodies) results may

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

11

indicate an ongoing *H. pylori* infection in spite of negative ¹³C- urea breath test and histology results (33-36). In addition, the histological diagnoses of two pathologists may diverge. The quality of histology is strongly dependent on experience and competence of the gastroenterologist and pathologist.

5

GastroPanel® is not associated with such problems since the biomarkers determined in blood give objective information on the function and structure of the stomach mucosa irrespective of the person examining them. If there are alarming changes in these biomarkers, the GastroPanel® examination must be followed by a careful gastroscopy. In such a case, the information provided by GastroPanel® is very helpful (22, 40). The GastroPanel® examination prevents unnecessary gastroscopies and helps target the use of sparse endoscopic resources appropriately, particularly for the screening of colorectal cancer. The dyspeptic patients age 50 or over, whose stomach mucosa is found to be healthy, should be referred for a colonoscopy, as almost half of stomach pains and disorders may be colon-related.

15

In medicine, it is obvious that good diagnostics go hand-in-hand with proper treatment. The business world as well as Food and Drug Administration (FDA) regulators are increasingly building this understanding into product development by supporting co-development of new drugs with development of diagnostics. This new development and the combination of the GastroPanel® diagnostics with the PPI treatment of GERD as well as with the antibiotics and PPI treatment of *H. pylori* infection would promote the safe, ethical and cost effective evidence based and preventative medicine.

GastroPanel® examination should be required by the authorities before the reimbursement of the costs of any PPI treatment of GERD. In addition, a reliable diagnosis of *H. pylori* infection with related risks made by the GastroPanel® examination or professionally performed gastroscopy and biopsy specimen examination (gastroscopy) should be the basis for the reimbursement of the costs of the *H. pylori* eradication treatment.

30 This guidance and contribution, for the development of the safe, ethical and cost effective evidence based and preventative medicine, will substantially reduce the costs of health care as

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

12

well as prevent diseases, promote wellbeing and even save unnecessary deaths, for example, due to gastric cancer and bleeding peptic ulcers.

5 Gastroscopy has been the only method employed for the safe screening and diagnosis of dyspepsia, atrophic gastritis and gastric cancer, which is the second most common cause of cancer-related deaths worldwide. After evaluating the risk of atrophic gastritis and gastric cancer with GastroPanel® tests, researchers have concluded that serum pepsinogens, gastrin-17 and *Helicobacter pylori* antibodies can be employed effectually to screen for dyspepsia, atrophic gastritis and gastric cancer (11,13-16,21-23,41,42).

10

Screening of atrophic gastritis and related risks (gastric cancer, peptic ulcer disease, the deficiency of vitamin B 12, iron, zinc and calcium) is now considered the standard of care for persons age 45 and older. Its omission might be a frequent source of litigations due to malpractice, what it has been considered to be in a case of the omission of colorectal cancer screening for persons age 50 or over (43).

15

In order to avoid malpractice and save people from, e.g., unnecessary deaths because of gastric cancer the serious medical and ethical problems of the "test and treat" strategy should be corrected simply and economically by replacing its ¹³C- urea breath test or stool antigen test by the GastroPanel® examination (16).

20

Table. Summary of the data provided by the GastroPanel® examination and the ¹³C- urea breath – or stool antigen test of the "test and treat" strategy. The GastroSoft program supplies a patient report. The reports produced by GastroSoft are based on clinical studies comparing the results of GastroPanel® examinations with results from gastroscopy and biopsy examinations (www.biohit.com/gastrosoft).

25 The serious medical and ethical problems of the "test and treat" strategy can be corrected simply and economically by replacing its ¹³C- urea breath test or stool antigen test by the GastroView™ round-the-clock examination (www.gastroview.com, www.gastroprofile.com) or GastroPanel® examination (www.gastropanel.net , www.biohit.com/Diagnostics/Literature).

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

13

	The GastroSoft report states:	¹³ C - urea breath test or Stool antigen test report:
GastroPanel®		
The diagnosis for		
Functional vs. organic dyspepsia.	YES	NO
When GastroPanel® indicates the gastric mucosa is healthy, the dyspepsia complaints are often caused by functional dyspepsia or another disease not involving the gastric mucosa		
<i>H. pylori</i> infection (gastritis)	YES	NOT RELIABLE (1)
Atrophic gastritis (damaged and severely dysfunctional gastric mucosa of the corpus or antrum or both)	YES	NO
The risks (due to atrophic gastritis) of		
Gastric cancer (in antrum and / or corpus)	YES (2)	NO
Vitamin B12 deficiency (corpus)	YES	NO
Calcium, zinc and iron deficiency (corpus)	YES (7)	NO
Peptic ulcer disease (antrum)	YES (3)	NO
The risks of the complications of GERD		
Esophagitis and Barrett's esophagus	YES (4)	NO
If necessary, a recommendation for		
Gastrosocopy and biopsy examination	YES	NO
Treatment of <i>H. pylori</i> infection	YES (8)	NOT RELIABLE (1)
Determination of vitamin B12 and homocysteine	YES	NO
Determination of calcium and iron	YES	NO
Follow-up examination to monitor the incidence of atrophic gastritis	YES (5)	NO
the healing of the <i>H. pylori</i> infection	YES	NOT RELIABLE (1)
the healing of atrophic gastritis	YES	NO

(1) The ¹³C- urea breath - and stool antigen tests give 40 – 50 % false negative results if the patient has a) atrophic gastritis and related risks, b) MALT lymphoma or c) bleeding peptic ulcer disease or d) if the patient is currently receiving antibiotics or PPIs (proton pump inhibitors). The GastroPanel® *H. pylori* IgA & IgG antibody test combination does not have these types of false negative results.

(2) The risk of gastric cancer is very low without atrophic gastritis in corpus, antrum or both. But in some cases, a *H. pylori* infection without histologically observable atrophic gastritis may be associated with gastric cancer and peptic ulcer disease.

(3) No peptic ulcer disease with corpus atrophy (no acid, no ulcer). The risk of peptic ulcer disease is very low without antrum atrophy.

(4) Normal (30 – 160 µg/l) or high pepsinogen I and / or pepsinogen I and pepsinogen II ratio in association with low gastrin-17 (below 1,0 pmol/l) may indicate high acid (HCl) output and risks for the complications of gastroesophageal reflux disease (GERD).

5

10

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

14

- 5 (5) When the incidence of *H. pylori* -related atrophic gastritis is monitored, the patient can be offered targeted, safe treatment at the right time. The need for medication and the costs and adverse effects of medication can thus be reduced. If the patient has been diagnosed with peptic ulcer disease (gastric or duodenal ulcer), the *H. pylori* infection has to be treated (6). It should also be treated if the patient has atrophic gastritis. The patient and the doctor may also agree on eradication treatment for other reasons for example when the patient's close relatives have been diagnosed with gastric cancer.
- 10 (6) Press Release: The 2005 Nobel Prize in Physiology or Medicine, 3 October 2005 jointly to Barry Marshall and J. Robin Warren for their discovery of "the bacterium *Helicobacter pylori* and its role in gastritis and peptic ulcer disease": - "An indiscriminate use of antibiotics to eradicate *Helicobacter pylori* also from healthy carriers would lead to severe problems with bacterial resistance against these important drugs. Therefore, treatment against *Helicobacter pylori* should be used restrictively in patients without documented gastric or duodenal ulcer disease." <http://nobelprize.org/medicine/laureates/2005/press.html>
- (7) Adequate absorption of dietary calcium requires normal acid secretion that is impaired in atrophic gastritis and in long term PPI therapy. Subsequently, calcium is not absorbed normally in the gut, and the subjects are at risk for osteoporosis and hip fracture. Hypochlorhydric states such as atrophic gastritis and partial gastrectomy have long been known to cause iron deficiency anemia.
- 15 (8) Pepsinogen II level below 10 - 15 µg/l two months after the treatment indicates that the *H. pylori* eradication is succeeded. Increased level of pepsinogen II (over 10 µg/l) indicates active *H. pylori* gastritis or inflammation due to the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (e.g. aspirin) or strong alcohol. Dig. Liver Dis. 2005 Jul; 37(7):501-8. Epub 2005 Apr 18.

Conclusions on the use of GastroPanel® in the evaluation of gastric cancer risk. The detection of G-17 and subsequent early diagnosis of atrophic gastritis of the antrum provides possibilities to find patients at significant risk for gastric cancer in the gastric antrum, and offers tools to delineate subjects at particular risk for peptic ulcer diseases. It is also important that the diagnosis of atrophic gastritis, limited to gastric corpus (low PGI and low PG I / PG II), is confirmed by the high G-17. This is due to the physiological feedback mechanism between the corpus and antrum, where lack of PGI and the consequent lack of acid secretion results in increase of G-17 production and secretion. On the other hand, low plasma level of G-17 with low PGI (and/or low PGI/PGII ratio) enable to delineate patients at highest risk for gastric cancer; i.e., those with extended and severe atrophic gastritis in both antrum and corpus. These and some other facts below demonstrate how extremely important is the use of the validated combination of PG I and PG II with G-17 and *H. pylori* IgA&IgG antibodies (The GastroPanel® innovation).

30 **Tests comprised for example in GastroPanel® and GastroView™ combined with autoantibody tests.** When performing GastroPanel® together/after/before with additional tests, such as autoantibodies to the parietal cells and/ or intrinsic factor as well as antibodies or any other biomarkers to any other autoimmune diseases, these tests (GastroPanel® and an autoimmune biomarker or with an autoimmune biomarker panel) serve as confirmation of each others' results in case of autoimmunity, and help decide a strategy for further

35

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

15

characterization of the condition to select the best treatment scheme. The biomarker combination (the panel), with or without the diagnosis of *Helicobacter pylori*, of the PGI, PG II and gastrin-17 biomarkers with one biomarker or several biomarkers of the any autoimmune disease reveals the risk of stomach cancer or precancerous lesions or early cancer. In addition, these combinations (panels) reveals autoimmune diseases or their risks including even asymptomatic and inoperable gastric cancer could be revealed, for example, in autoimmune disease.

10 **Usefulness of GastroPanel® for screening of atrophic gastritis patients with autoimmune thyroid diseases**

Corpus restricted atrophic gastritis seems to be associated with autoimmune thyroiditis as well as other autoimmunity processes. Conversely, patients with autoimmune thyroiditis seems to be affected by corpus atrophic gastritis and, in turn, be at risk of gastric neoplasms. A work aimed to explore gastric mucosa status with GastroPanel® in a cohort of 61 patients with Graves or Hashimoto diseases, demonstrated that about twenty percent of the patients presented a serological pattern suggestive of corpus atrophic gastritis. Of the patients 18% had atrophy, 25 % had gastritis and 57 % were normal. In patients having atrophy: PGI <25µg/L, G-17>15 pmol/L. Patients having gastritis: PGII>10 µg/L, IgG-Hp>42 U/L. Normal patients: 25<PGI>100 µg/L, PGII<10µg/L, 2.5 < G-17>7.5 pmol/L, IgG-Hp<44 U/L. A very high percentage had corpus atrophic gastritis, if compared to the general population. Upper GI endoscopy with biopsies confirmed in 90% of the patients with low PGI levels the diagnosis of atrophic gastritis. These results suggest to screen with GastroPanel® with all patients with autoimmune thyroiditis.

25 **References**

- (1) <http://nobelprize.org/medicine/laureates/2005/press.html>
- (2) http://www.yourhealthbase.com/database/ulcer_drugs.htm
- (3) <http://www.gastropanel.net>
- (4) <http://www.gastroview.com>
- 30 (5) <http://www.gastroprofile.com>

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

17

- (18) Sipponen P, Laxen F, Huotari K, et al. Prevalence of Low Vitamin B12 and High Homocysteine in Serum in an Elderly Male Population: Association with Atrophic Gastritis and *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 2003; 12:1209 – 14
- (19) Sipponen P, Vauhkonen M, Helske T, et al. Patients with Barrett's esophagus show low circulating levels of gastrin-17. *World J Gastroenterol* 2005;11(38):5988-5992
- 5 (20) Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Eng J Med* 2001; 345:784-789
- (21) Varis K, Sipponen P, Laxen F et al. the Helsinki Gastritis Study Group. Implications of serum pepsinogen I in early endoscopic diagnosis of gastric cancer and dysplasia. *Scand J Gastroenterol* 10 2000; 9: 950-956
- (22) Väänänen H, Vauhkonen M, Helske T, et al Non-Endoscopic Diagnosis of Atrophic Gastritis with a Blood Test. Correlation between Gastric Histology and Serum Levels of Gastrin-17 and Pepsinogen I. A Multicenter Study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 885-891
- (23) Zagari RM, Nicolini G, Casanova S, et al Diagnosis of atrophic gastritis in the general 15 population based upon a combination of three non invasive tests. *Gut* 2002; 51 (suppl 11):A39.
- (24) <http://www.biohit.com/Diagnostics/ServiceLaboratory>
- (25) Väkeväinen, S., Tillonen, J., Agarwal, D., Srivastava, N. & Salaspuro, M.: High salivary acetaldehyde after a moderate dose of alcohol in ALDH2-deficient subjects: strong evidence for the local carcinogenic action of acetaldehyde. *Alcohol.Clin.Exp.Res.* 2000; 25; 873-877
- 20 (26) Väkeväinen, S., Tillonen, J., Salaspuro, M., Jousimies-Somer, H., Nuutinen, H., Färkkilä, M..Hypochlorhydria induced by a proton pump inhibitor leads to intragastric microbial production of acetaldehyde from ethanol. *Aliment. Pharmacol.Ther* 2000; 14:1511-1518
- (27) Väkeväinen, S., Mentula, S., Nuutinen, H., Salmela, K., Jousimies-Somer, H., Färkkilä, M. & Salaspuro, M. et al. Ethanol-derived microbial production of carcinogenic acetaldehyde in 25 achlorhydric atrophic gastritis. *Scand.J.Gastroenterol* 2002; 37: 648-655
- (28) Yang YX, Lewis JD, Epstein S, et al. Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. *JAMA* 2006; 296:2947-53
- (29) Sharma VR, Brannon MA, Carlross EA. *South Med J.* 2004 Sep; 97(9): 887 – 9
- (30) Gatta L, Perna F, Ricci C, et al. Effect of proton pump inhibitors and antacid therapy on ¹³C 30 urea breath test and stool test for *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2004;99:823-829
- (31) Graham KS, Graham DY. Contemporary Diagnosis and Management of *H. pylori* – Associated Gastrointestinal Diseases. Published by Handbooks in Health Care Co. Newtown, Pennsylvania, USA, 2002

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

18

- (32) Graham DY, Opckun AR, Hammoud F, Yamaoka Y, Reddy R, Osato MS, El-Zimaity HM. Studies regarding the mechanism of false negative urea breath tests with proton pump inhibitors. *Am J Gastroenterol*. 2003;98;1005-9.
- (33) Kokkola A, Rautelin H, Puolakkainen P, et al. Positive result in serology indicates active *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic gastritis. *J Clin Microbiol* 1998; 36
5 (6);1808-10.
- (34) Kokkola A, Rautelin H, Puolakkainen P et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori*-infection in Patients with Atrophic Gastritis: Comparison of Histology, ¹³C Urea Breath Test, and serology. *Scand J Gastroenterol* 2000; 25;138-141
- 10 (35) Kokkola A., Rautelin H, Puolakkainen P, Sipponen P, Färkkilä M, Kosunen TU. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Patients with Atrophic Gastritis: Comparison of Histology, ¹³C Urea Breath Test, and serology. *Scand J Gastroenterol* 2000;25:138-141.
- (36) Kokkola A, Rautelin H, Puolakkainen P, Sipponen P, Färkkilä M, Haapiainen R, Kosunen TU. Positive result in serology indicates active *Helicobacter pylori* infection in patients with
15 atrophic gastritis. *J Clin Microbiol*. 1998; 36 (6) 1808 -10
- (37) Kosunen TU. Antibody titers in *Helicobacter pylori* infection: implications in the follow-up of antimicrobial therapy. *Ann Med* 1995; 27:605-607
- (38) Jaskowski TD, et al. Immunoglobulin A antibodies to *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1997; 35:2999-3000.
- 20 (39) Talley NJ, Vakil N, Delaney G, et al. Management issues in dyspepsia: current consensus and controversies. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39 (10);913-918
- (40) Ruggie M, Correa P, Dixon MF, et al. Gastric mucosal atrophy: interobserver consistency using new criteria for classification and grading. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16;1-12
- (41) Shiotani A, Hiroyasu I, Noriya U, Kumamoto M, Nakae Y, Ishiguro S, Tatsuta M and Graham
25 D. Early Detection and Diagnosis. Histologic and serum risk markers for noncardia early gastric cancer. *Int J Cancer* 2005;115 (3) 463-46
- (42) Cao Q, Hua Z and Xiao SD. Screening of atrophic gastritis and gastric cancer by serum pepsinogen, gastrin-17 and *Helicobacter pylori* antibodies. *Journal of Digestive Diseases* 2007;8; 15-22.
- 30 (43) Winawer SJ. New colorectal cancer screening guidelines, *BMJ* 2003; 327;196-197.
- (44) Toh B et al. Pernicious Anemia. *N Eng J Med*, 1997; 337: 1441-1448.
- (45) Toh B et al. Pernicious Anemia. Autoimmunity, 2004;37:357-361.
- (46) Mardh E et al. Diagnosis of gastritis by means of a combination of serological analyses. *Clin Chim Acta* 2002;320:17-27.

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

19

- (47) Carmel R et al. Prevalence of undiagnosed pernicious anemia in the elderly. *Arch Intern Med*; 1996;156:1097-1100.
- (48) Chuang JS et al. Diagnostic ELISA for parietal cell autoantibody using tomato lectin-purified gastric H+/K+-ATPase (proton pump). *Autoimmunity* 1992;2:1-7.
- 5 (49) Goldkorn I et al. Gastric parietal cell antigens of 60-90, 92, and 100-120 kDa associated with autoimmune gastritis and pernicious anemia. Role of N-glycans in the structure and antigenicity of the 60-90-kDa component. *J Biol Chem*.1989;264:18768-74.
- (50) Basso N et al. Antigastric autoantibodies in *Helicobacter pylori* infection: role in gastric mucosal inflammation. *Int J Clin Lab Res* 2000;30:173-178.
- 10 (51) Ching-Chu L et al. Implications of anti-parietal cell antibodies and anti-*Helicobacter pylori* antibodies in histological gastritis and patient outcome *World J Gastroenterol* 2005;11:4715-4720
- (52) Baxter AG et al. Genetic control of susceptibility to autoimmune gastritis. *International Reviews of Immunology*, 24: 55-62, 2005.
- (53) Uibo R. Contribution of epidemiological studies to gastritis immunology. *Int Rev*
15 *Immunol*.2005;24:31-54.
- (54) Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control, National Institutes of Health [NIHS Pub. No. (CDC) 93-8395]. 1993.
- (55) Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 1997 Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*.
20 20:1183-1197
- (56) Eisenbarth GS. 1986 Type 1 diabetes mellitus: a chronic autoimmune disease. *N Engl J Med* 314:1360-1368.
- (57) Cahill Jr GF, McDevitt HO. 1981 Insulin-dependent diabetes mellitus: the initial lesion. *N Engl J Med*. 304:1454-1465.
- 25 (58) Drell DW, Notkins AL. 1987 Multiple immunological abnormalities in patients with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 30:132-143.
- (59) Gepts W. 1965 Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes*. 14:619-633.
- (60) Botazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D. 1974 Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet*. 2:1279-1282.
- 30 (61) Lernmark A, Freedman ZR, Hofmann C, et al. 1978 Islet-cell-surface antibodies in juvenile diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 299:375-380.
- (62) Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K, Tatpati O, Raghu PK, et al. 1983 Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. *Science*. 222:1337-1339.

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

20

- (63) Backkeskov S, Aanstoot HJ, Christgau S, et al. 1990 Identification of the 64 kD autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* 374:151–156.
- (64) Gorus FK, Goubert P, Semakula C, et al. 1997 IA-2 autoantibodies complement GAD-65 autoantibodies in new-onset IDDM patients can help predict impending diabetes in their siblings. *Diabetologia* 40:95–99.
- 5 (65) Neufeld M, Maclaren NK, Riley WJ, et al. 1980 Islet cell and other organspecific antibodies in U.S. Caucasians and Blacks with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 29:589–592.
- (66) Landin-Olsson M, Karlsson FA, Lernmark A, Sundkvist G. Diabetes Incidence Study in Sweden Group 1992 Islet cell and thyrogastric antibodies in 633 consecutive 15- to 34-yr-old patients in the Diabetes Incidence Study in Sweden. *Diabetes* 41:1022–1027.
- 10 (67) Bottazzo GF, Cudworth AG, Moul DJ, Doniach D, Festenstein H. 1978 Evidence for a primary autoimmune type of diabetes mellitus (type 1b). *Br Med J*. 2:1253–1255.
- (68) Betterle C, Zanette F, Pedini B, et al. 1984 Clinical and subclinical organspecific autoimmune manifestations in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients and their first-degree relatives. *Diabetologia*. 26:431–436.
- 15 (69) Riley WJ, Winer A, Goldstein D. 1983 Coincident presence of thyro-gastric autoimmunity at onset of type 1 (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia*. 24:418–421.
- (70) Irvine WJ, Scarth I., Clarke BF, Cullen DR. 1970 Thyroid and gastric autoimmunity in patients with diabetes mellitus. *Lancet*. 2:163–168.
- 20 (71) Riley WJ, Toskes PP, Maclaren NK, Silverstein J. 1982 Predictive value of gastric parietal cell autoantibodies as a marker for gastric and hematologic abnormalities associated with insulin dependent diabetes. *Diabetes*. 31:1051–1055.
- (72) Markson JL, Moore JM. 1962 “Autoimmunity” in pernicious anemia and iron deficiency anemia. *Lancet*. 2:1240.
- 25 (73) Ungar B, Stocks AE, Whittingham S, Martin FIR, Mackay IR. 1968 Intrinsicfactor antibody, parietal-cell antibody, and latent pernicious anaemia in diabetes mellitus. *Lancet*. 2:415–417.
- (74) Shearman DJC, Delamore JW, Gardner DL. 1966 Gastric function and structure in iron deficiency anemia. *Lancet*. 1:845–848.
- 30 (75) Kokkonen J. 1980 Parietal cell antibodies and gastric secretion in children with diabetes mellitus. *Acta Paediatr Scand*. 69:485–489.
- (76) De Block C, Van Gaal L, De Leeuw I. 1997 Iron deficiency anaemia is associated with gastric autoimmunity in insulindependent diabetic patients (IDDM) [Abstract]. *Diabetologia*. 40(Suppl 1):A592.

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

21

- (77) Neufeld M, Maclaren NK, Blizzard RM. 1981 Two types of autoimmune Addison's disease associated with different polyglandular autoimmune (PGA) syndromes. *Medicine*. 60:355-362.
- (78) Karlsson FA, Burman P, Lofgren L, Olsson M, Scheynius A, Mardh S. 1987 Enzyme-linked immunosorbent assay of H1/K1-ATPase, the parietal cell antigen. *Clin Exp Immunol*. 70:604-610.
- 5 (79) Van Rood JJ, Van Leeuwen A, Ploem JS. 1976 Simultaneous detection of two cell populations by two-colour fluorescence and application to the recognition of B cell determinants. *Nature*. 262:795-797.
- (80) Bodmer JG, Marsh SGE, Parham P, Lirlich HA, Albert J, Bodmer WF, et al. 1990 Nomenclature for factors of the HLA system, 1989. *Hum Immunol*. 28:326-342.
- 10 (81) Selam JL, Clot J, Andary M, Mirouze J. 1979 Circulating lymphocyte subpopulations in juvenile insulin-dependent diabetes. Correction of abnormalities by adequate blood glucose control. *Diabetologia*. 16:35-40.
- (82) Vanderkam SG, De Leeuw IH. 1992 Insuline dependente diabetes mellitus in associatie met auto-immuun geïnduceerde thyroïditis en gastritis. *Tijdschr Geneeskunde*. 48:925-928.
- 15 (83) Gorsuch AN, Dean BM, Bottazzo GF, Lister J, Cudworth AG. 1980 Evidence that type I diabetes and thyrogastric autoimmunity have different genetic determinants. *Br Med J*. 280:145-147.
- (84) Sachs G, Hersey SJ. 1991 The gastric parietal cell, its clinical relevance in the management of acid related diseases. Oxford: Oxford Clinical Communications; 23-32.
- 20 (85) Burman P, Mardh S, Norberg L, Karlsson FA. 1989 Parietal cell antibodies in pernicious anemia inhibit H1/K1-adenosine triphosphatase, the proton pump of the stomach. *Gastroenterology*. 96:1434-1438.
- (86) Song YH, Ma JY, Mardh S, et al. 1994 Localization of a pernicious anemia autoantibody epitope on the α -subunit of the human H,K-adenosine triphosphate. *Scand J Gastroenterol*. 29:122-127.
- 25 (87) Lam SK, Circus W. 1976 A comparison of the acid and gastrin secretory responses to hypoglycaemia and meals in duodenal ulcer with and without acid hypersecretion to pentagastrin. *Digestion*. 14:1-11.
- (88) Markievicz K, Lukin M. 1976 Influence of hyperglycaemia on maximal acid secretion in healthy subjects. *Digestion*. 14:188-191.
- 30 (89) Deprez P, Calam J. 1993 Nouveaux mécanismes d'hypergastrinémie en rapport avec la gastrite atrophique auto-immune et l'infection à *Helicobacter pylori*. *Acta Gastroenterol Belg*. 56:245-250.

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

22

- (90) Ma JY, Borch K, Sjöstrand E, Janzon L, Mardh S. 1994 Positive correlation between H,K-adenosine triphosphatase autoantibodies and *Helicobacter pylori* antibodies in patients with pernicious anemia. *Scand J Gastroenterol.* 29:961–965.
- (91) Negrini R., Savio A., Graffeo M., Rolli F, Ghicini S. 1993 Auto-antibodies and gastric
5 *Helicobacter pylori* infection: does auto-immunity affect progression to atrophic gastritis? *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 5(Suppl 2):S27–S29.
- (92) Uibo R, Vorobjova T, Meckula K, Kisand K, Wadstrom T, Kivik T. 1995 Association of *Helicobacter pylori* and gastric autoimmunity: a populationbased study. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 11:65–68.
- 10 (93) Doniach D, Roitt IM. 1964 An evaluation of gastric and thyroid autoimmunity in relation to hematologic disorders. *Semin Hematol.* 1:313–343.
- (94) Karlsson FA, Burman P, Lof L, Mardh S. 1988 Major parietal cell antigen in autoimmune gastritis with pernicious anemia is the acid-producing H1,K1-adenosine triphosphatase of the stomach. *J Clin Invest.* 81:475–479.
- 15 (95) Davidson RJL, Atrah HI, Sewell HH. 1989 Longitudinal study of circulating gastric antibodies in pernicious anaemia. *J Clin Pathol.* 42:1092–1095.
- (96) Kaplan LM, Graeme-Cook FM. 1997 Case record of the Massachusetts general hospital: a 39 year-old woman with pernicious anemia and a gastric mass. *N Engl J Med.* 336:861–867.
- (97) Irvine WJ. 1975 The association of atrophic gastritis and autoimmune thyroid disease. *Clin*
20 *Endocrinol Metab.* 4:351–377.
- (98) Dallman PR. 1982 Manifestations of iron deficiency. *Semin Hematol.* 19:19–30.
- (99) Cook JD. 1982 Clinical evaluation of iron deficiency. *Semin Hematol.* 19:6–18.
- (100) Tob BH, Van Driel IR, Gleeson PA. 1997 Mechanisms of disease: pernicious anemia. *N Engl J*
25 *Med.* 337:1441–1448.
- (101) Brinton LA, Gridley G, Hrubec Z, Hoover R, Fraumeni Jr JF. 1989 Cancer risk following pernicious anaemia. *Br J Cancer.* 59:810–813.
- (102) Pokorny G et al. Types of atrophic gastritis in patients with Sjögren's syndrome. *Annals of the*
30 *Rheumatic Diseases* 1991; 50: 97-100)
- (103) Maury CPJ et al. Atrophic gastritis in sjögren's syndrome. Morphologic, biochemical, and immunologic findings. *Arthritis and Rheumatism* 2005; 28(4): 388-394).
- (104) Ishikawa N et al. *Helicobacter pylori* infection in rheumatoid arthritis: effect of drugs on prevalence and correlation with gastroduodenal lesions. *Rheumatology* 2002; 41: 72-77.

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

23

- (105) Salonen EM et al. Anti-telomere antibodies in systemic lupus erythematosus (SLE): a comparison with five antinuclear antibody assays in 430 patients with SLE and other rheumatic diseases. *Ann Rheum Disease* 2004; 63(19): 1250-1254.
- (106) Wallace DJ et al. Anti-telomere antibodies in systemic lupus erythematosus: a new
5 ELISA test for anti-DNA with potential pathogenic implications.

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

24

Claims

- 5 I. A method for examining a person having the symptoms and/or biomarkers indicating an autoimmune disease, said method comprising
- obtaining a biological sample from the person;
 - quantitatively measuring at least one of the biomarkers selected from the groups of biomarkers comprising 1) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, gastrin-17 and Helicobacter pylori antibodies, 2) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, gastrin-17, 3) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio Helicobacter pylori antibodies, 4) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, and 5) pepsinogen I from said biological sample, and comparing the value obtained to the cut-off values or reference ranges.
- 15
2. The method according to claim 1, wherein the pepsinogen I concentration in said sample is close to the lower limit or below the reference range or cut-off value and PGI/PGII ratio is close to the lower limit or below the reference range or cut-off value and gastrin-17 concentration is close to the upper limit or above the reference range, said values being indicative for atrophic gastritis.
- 20
3. The method according to claim 1 or 2, wherein the reference range for pepsinogen I value is 30 – 160 µg/l, for pepsinogen II 3 – 20 µg/l, for PGI/PGII ratio 3 or below 3, for Gastrin-17S (stimulated) value 5 – 30 pmol/l, for Gastrin-17B (fast) 2 – 10 pmol/l and the reference range for HPAB 0 – 30 EIU.
- 25
4. The method according to any one of claims 1 to 3, wherein typical cut-off values for the biomarkers are selected from the group comprising: pepsinogen I 30 µg/l, PGI/PGII ratio 3, Gastrin-17S (stimulated) value 5 pmol/l, Gastrin-17B (fast) 2 pmol/l and HPAB 30 EIU.
- 30

WO 2009/053537

PCT/FI2008/050602

25

5. A method for examining a person having the symptoms and/or biomarkers indicating atrophic gastritis, said method comprising that the person is examined for the presence of the symptoms and/or biomarkers indicative of one or several autoimmune diseases.
- 5
6. The method according to any one of claims 1 to 5, wherein the biological sample is blood, serum or plasma sample.
7. The method according to any one of claims 1 to 6, wherein the autoimmune disease is selected from the group comprising diseases with a complete autoimmune etiology including, for example, acute disseminated encephalomyelitis, Addison's disease, ankylosing spondylitis, antiphospholipid antibody syndrome, diabetes mellitus type 1, Goodpasture's syndrome, Graves' disease, Guillain-Barre syndrome, Hashimoto's disease, idiopathic thrombocytopenic purpura, lupus erythematosus, multiple sclerosis, myasthenia gravis, pemphigus, rheumatoid arthritis, Sjögren's syndrome and temporal arteritis and diseases with a complete or partial autoimmune etiology, for example, aplastic anemia, autoimmune hepatitis, autoimmune oophorosi, celiac disease, Crohn's disease, gestational pemphicoid, Kawasaki's disease, Opsoclonus myoclonus syndrome, optic neuritis, Ord's thyroiditis, pernicious anemia, primary biliary cirrhosis, Reiter's syndrome, Takauasu's arteritis, warm autoimmune hemolytic anemia and Wegener's granulomatosis.
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30
8. A biomarker selected from the groups of biomarkers comprising 1) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, gastrin-17 and Helicobacter pylori antibodies, 2) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, gastrin-17, 3) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio Helicobacter pylori antibodies, 4) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, and 5) pepsinogen I, for examining a person having the symptoms and/or biomarker indicating an autoimmune disease for the presence of atrophic gastritis; and/or for examining a person having the symptoms and/or biomarker indicating atrophic gastritis for the presence of one or several autoimmune disease(s).

WO 2009/053537

PCT/JP2008/050602

26

9. A combination of biomarkers for studying a biological sample comprising
- one or several biomarkers of one or several autoimmune diseases, and
 - one or several biomarkers selected from the groups of biomarkers
- 5 comprising 1) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, gastrin-17 and Helicobacter pylori antibodies, 2) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, gastrin-17, 3) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, Helicobacter pylori antibodies, 4) pepsinogen I, pepsinogen II, pepsinogen I/II ratio, and 5) pepsinogen I

10

15

(57) Abstract: The present invention relates to a method for examining a person having the symptoms and/or biomarker indicating an autoimmune disease for the presence of atrophic gastritis. The biomarker combination, which diagnoses atrophic gastritis, acts also as a part of a biomarker panel that helps diagnosis and assessment of autoimmune disease as well. The invention relates also to products used in these methods.

专利名称(译)	用于诊断与萎缩性胃炎相关的自身免疫疾病和胃癌的方法和产品		
公开(公告)号	JP2015222271A	公开(公告)日	2015-12-10
申请号	JP2015157281	申请日	2015-08-07
[标]申请(专利权)人(译)	拜奥希特公司		
申请(专利权)人(译)	Biohitto-Yurukinen-Osaakeyukiteyua		
[标]发明人	オスモスオヴァニエミ		
发明人	オスモスオヴァニエミ		
IPC分类号	G01N33/53		
FI分类号	G01N33/53.D G01N33/53.N		
代理人(译)	山田卓司 櫻井洋子		
优先权	61/000601 2007-10-26 US		
外部链接	Espacenet		

<p>摘要(译)</p> <p>本发明提供了一种用于检测具有指示自身免疫性疾病的症状和/或生物标志的人萎缩性胃炎的存在的方法。 解决方案：为了检查患有症状或无症状的自身免疫性疾病的人，并进一步检查患有表现出萎缩性胃炎的症状和/或生物标志物的人，1) 胃蛋白酶原I和胃蛋白酶原。 II，胃蛋白酶原I / II比例，胃泌素17和幽门螺杆菌抗体，2) 胃蛋白酶原I，胃蛋白酶原II，胃蛋白酶原I / II比例，胃泌素17、3) 胃蛋白酶原I，胃蛋白酶原II，胃蛋白酶原I / II比例，幽门螺杆菌 提供选自生物标志物的至少一种生物标志物，包括幽门螺杆菌抗体，4) 胃蛋白酶原I，胃蛋白酶原II，胃蛋白酶原I / II比例和5) 胃蛋白酶原I。 [选择图]无</p>	<p>(21) 出願番号 特願2015-157281 (P2015-157281)</p> <p>(22) 出願日 平成27年8月7日 (2015.8.7)</p> <p>(62) 分割の表示 特願2013-232023 (P2013-232023) の分割</p> <p>原出願日 平成20年10月27日 (2008.10.27)</p> <p>(31) 優先権主張番号 61/000,601</p> <p>(32) 優先日 平成19年10月26日 (2007.10.26)</p> <p>(33) 優先権主張国 米国 (US)</p>	<p>(71) 出願人 501391733 ビオヒット・ユルキネン・オサケユキテ ア BIOHIT OYJ フィンランド、エフイーエン-00880 ヘルシンキ、ライッパティエ1番</p> <p>(74) 代理人 100101454 弁理士 山田 卓二</p> <p>(74) 代理人 100062144 弁理士 青山 傑</p> <p>(74) 代理人 100106518 弁理士 松谷 道子</p> <p>(74) 代理人 100138911 弁理士 櫻井 陽子</p>