

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-514384
(P2020-514384A)

(43) 公表日 令和2年5月21日(2020.5.21)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 B 0 6 3
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	M 4 C 0 8 4
C 1 2 Q 1/6883 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6883	Z 4 C 0 8 5
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	4 C 0 8 6
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 50 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2019-551999 (P2019-551999)
 (86) (22) 出願日 平成30年3月23日 (2018. 3. 23)
 (85) 翻訳文提出日 令和1年11月18日 (2019. 11. 18)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2018/023986
 (87) 国際公開番号 W02018/175863
 (87) 国際公開日 平成30年9月27日 (2018. 9. 27)
 (31) 優先権主張番号 62/476, 406
 (32) 優先日 平成29年3月24日 (2017. 3. 24)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 509012625
 ジェネンテック, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス
 サンフランシスコ ディーエヌエー
 ウェイ 1
 (74) 代理人 110002077
 園田・小林特許業務法人
 (72) 発明者 タウンゼント, マイケル
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
 80, サウス サンフランシスコ, デ
 ィーエヌエー ウェイ 1, シー/オー
 ジェネンテック, インコーポレイテ
 ド

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 自己免疫及び炎症性疾患を治療する方法

(57) 【要約】

本明細書では、ループスなどの自己免疫及び/又は炎症性疾患の処置のためのバイオマーカー及び治療、並びに B T K 阻害剤を使用する方法が提供される。特に、ループスの患者選定及び予後のためのバイオマーカー、並びに治療的処置の方法、製造品及びそれらを作製するための方法、診断キット、検出方法及びそれらに関連する広告の方法が提供される。

【選択図】 図 1 A - 2

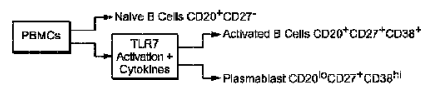


FIG. 1A-1

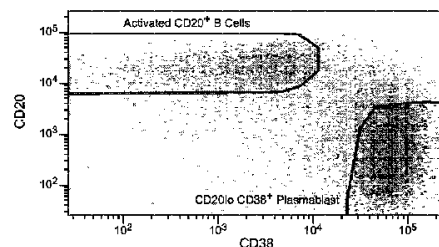


FIG. 1A-2

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

治療的有効量の B T K 阻害剤を個体に投与することを含む、自己免疫又は炎症性疾患を有する個体を治療するための方法であって、個体からの試料が、I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 からなる群より選択される増大したレベルの一又は複数のバイオマーカーを有することが発見されている、方法。

【請求項 2】

個体における自己免疫又は炎症性疾患を治療するための方法であって、
(a) 個体からの試料が、I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 からなる群より選択される増大したレベルの一又は複数のバイオマーカーを含むことを決定すること；及び
(b) 有効量の B T K 阻害剤を個体に投与し、それにより免疫学的疾患又は障害が治療されること
を含む、方法。

10

【請求項 3】

I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 からなる群より選択される一又は複数のバイオマーカーのレベルを決定すること；及びバイオマーカーのレベルに基づき医薬を選択することを含む、自己免疫又は炎症性疾患を有する個体のための治療を選択するための方法。

【請求項 4】

個体からの試料において、I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 からなる群より選択される一又は複数のバイオマーカーのレベルを決定することにより、B T K 阻害剤を含む治療の恩恵を多かれ少なかれ示す可能性のある、自己免疫又は炎症性疾患を有する個体を同定する方法であって、試料中の増大したレベルのバイオマーカーが、個体が B T K 阻害剤を含む治療の恩恵をより示しやすいことを示すか、又は、減少したレベルのバイオマーカーが、個体が B T K 阻害剤を含む治療の恩恵を示しにくいことを示す、方法。

20

【請求項 5】

B T K 阻害剤を受けるための自己免疫又は炎症性疾患を有する個体を同定するためのアッセイであって、

(a) 個体からの試料において、I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 からなる群より選択される一又は複数のバイオマーカーのレベルを決定すること；及び

(b) バイオマーカーのレベルに基づいて B T K 阻害剤の投与を推奨すること
を含む、アッセイ。

30

【請求項 6】

自己免疫又は炎症性疾患を有する個体からの試料において、I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 からなる群より選択される一又は複数のバイオマーカーのレベルを決定するための一又は複数の試薬を含む診断キットであって、増大したレベルのバイオマーカーの検出とは、個体が B T K 阻害剤で治療されるときに増大した有効性を意味し、低い又は実質的に検出不可能なレベルのバイオマーカーの検出とは、自己免疫又は炎症性疾患を有する個体が B T K 阻害剤で治療されるときに減少した有効性を意味する、診断キット。

【請求項 7】

有効量の B T K 阻害剤を個体に投与することをさらに含む、請求項 3 又は 4 に記載の方法。

40

【請求項 8】

バイオマーカーのレベルを決定することが、基準レベルに対するバイオマーカーの R N A レベルを測定することにより実施される、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法、アッセイ及び / 又はキット。

【請求項 9】

R N A レベルの測定が増幅を含む、請求項 8 に記載の方法、アッセイ及び / 又はキット。

【請求項 10】

R N A レベルの測定が定量的 P C R を含む、請求項 9 に記載の方法、アッセイ及び / 又

50

はキット。

【請求項 1 1】

RNA レベルの測定が、RNA を増幅させること及び増幅させた生成物を検出し、それにより基準レベルに対する RNA のレベルを測定することを含む、請求項 1 0 に記載の方法、アッセイ及び / 又はキット。

【請求項 1 2】

試料が血液試料である、請求項 1 から 1 1 のいずれか一項に記載の方法、アッセイ及び / 又はキット。

【請求項 1 3】

BTK 阻害剤が、抗体、結合ポリペプチド、小分子及び / 又はポリヌクレオチドである、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の方法、アッセイ及び / 又はキット。

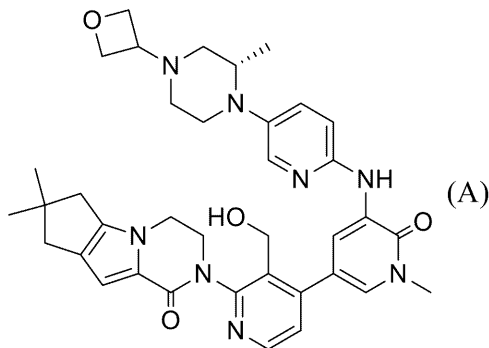
10

【請求項 1 4】

BTK 阻害剤が小分子である、請求項 1 3 に記載の方法、アッセイ及び / 又はキット。

【請求項 1 5】

小分子 BTK 阻害剤が化合物 (A) :



20

又はその薬学的に許容される塩である、請求項 1 4 に記載の方法、アッセイ及び / 又はキット。

【請求項 1 6】

自己免疫又は炎症性疾患が全身性エリテマトーデスである、請求項 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の方法、アッセイ及び / 又はキット。

30

【請求項 1 7】

自己免疫又は炎症性疾患がループス腎炎である、請求項 1 6 に記載の方法、アッセイ及び / 又はキット。

【請求項 1 8】

自己免疫又は炎症性疾患が腎外ループスである、請求項 1 6 に記載の方法、アッセイ及び / 又はキット。

【請求項 1 9】

二つのバイオマーカーが選択される、請求項 1 から 1 8 のいずれか一項に記載の方法、アッセイ及び / 又はキット。

40

【請求項 2 0】

三つのバイオマーカーが選択される、請求項 1 から 1 8 のいずれか一項に記載の方法、アッセイ及び / 又はキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本明細書では、自己免疫及び炎症性疾患の処置のためのバイオマーカー及び治療、並びに BTK 阻害剤を使用する方法が提供される。特に、自己免疫及び炎症性疾患の患者選定及び予後のためのバイオマーカー、並びに治療的処置の方法、製造品及びそれらを作製するための方法、診断キット、検出方法及びそれらに関連する広告の方法が提供される。

50

【背景技術】

【0002】

自己免疫及び炎症性疾患及び障害は、ヒトの健康にとって依然として大きな脅威である。自己免疫及び炎症性疾患の治療は著しく発展してきたが、改善された治療がいまだに求められている。多くの自己免疫及び炎症性疾患は、不均一性の証拠を呈する。例えば、全身性エリテマトーデス（SLE）は、SLE患者集団において不均一性の証拠を有する疾患である。Kennedy et al., *Lupus Sci. & Med.*, 2015; 2:e000080を参照のこと。この不均一性を考慮すると、自己免疫及び炎症性疾患（例えばSLE）を治療する新たな方法に加えて、治療結果を改善し得る診断的バイオマーカーを使用して特定の患者を同定する方法が必要である。

10

【0003】

形質芽細胞は、迅速に分裂し、短寿命の抗体分泌細胞である。形質芽細胞の増加は、若年性ループス患者の血液で同定されており、一般的にループス患者の抗体転写物の量は増加している。E. Arce et al., *J. Immunol.* 167, 2361-2369 (2001); L. Bennett et al., *J. Exp. Med.* 197, 711-723 (2003)。形質芽細胞は血液中のB細胞の少ない割合を占めているが、全血mRNAに見られる抗体転写物の大部分を担っている。

【0004】

ヒト酵素の最大のファミリーであるプロテインキナーゼは、500をはるかに上回るタンパク質を包含する。ブルトンチロシンキナーゼ（BTK）は、チロシンキナーゼのTecファミリーのメンバーであり、早期B細胞発生、並びに成熟B細胞活性化、シグナル伝達、及び生存の制御因子である。アレルギー障害及び/又は自己免疫疾患及び/又は炎症性疾患におけるBTKの役割の証拠は、BTK欠損マウスモデルにおいて確立されている。例えば、SLEの標準的なマウス前臨床モデルにおいて、BTK欠損は、疾患進行の顕著な改善をもたらすことが示されている。さらに、BTK欠損マウスは、コラーゲン誘発性関節炎の発症に対して耐性があり、ブドウ球菌属誘発性関節炎の影響を受けにくい可能性がある。多数の証拠が、自己免疫及び/又は炎症性疾患の病因におけるB細胞及び液性免疫系の役割を支持している。例えば、国際公開第2012/118750号を参照のこと。タンパク質ベースの治療法（例えばリツキサン）は、B細胞を枯渇させるために開発され、多くの自己免疫及び/又は炎症性疾患の治療へのアプローチを代表する。B細胞活性化におけるBTKの役割によって、BTKの阻害剤は、B細胞媒介性病原性活性（例えば自己抗体産生機序）の阻害剤として有用であり得る。BTKは破骨細胞、マスト細胞及び単球でも発現しており、これらの細胞の機能に重要であることが示されている。例えば、マウスのBTK欠損は、IGEを介したマスト細胞活性化障害（TNF-アルファ及び他の炎症性サイトカイン放出の顕著な減少）と関連しており、ヒトのBTK欠損は、活性化単球によるTNF-アルファ産生の大幅な減少と関連している。

20

30

【0005】

BTK活性の阻害は、アレルギー障害及び/又は自己免疫及び/又は炎症性疾患、例えば：SLE、関節リウマチ、多発性血管炎、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、重症筋無力症、アレルギー性鼻炎及び喘息の治療に有用であり得る（Di Paolo et al (2011) *Nature Chem. Biol.* 7(1):41-50; Liu et al (2011) *Jour. of Pharm. and Exper. Ther.* 338(1):154-163)。特定のBTK阻害剤が報告されている（Liu (2011) *Drug Metab. and Disposition* 39(10):1840-1849; 米国特許第7,884,108号、国際公開第2010/056875号; 米国特許第7,405,295号; 同第7,393,848号; 国際公開第2006/053121号; 米国特許第7,947,835号; 米国特許公開第2008/0139557号; 米国特許第7,838,523号; 米国特許公開第2008/0125417号; 同第2011/0118233号; 2011年8月31日提出のPCT/US2011/050034「PYRIDINONES/PYRAZINONES, METHOD OF MAKING, AND METHOD OF USE THEREOF」; 2011年8月31日提出のPCT/US2011/050013「PYRIDAZINONES, METHOD OF MAKING, AND METHOD OF USE THEREOF」; 2011年5月6日提出の米国特許出願番号第13/102,720号「PYRIDONE AND AZA-PYRID

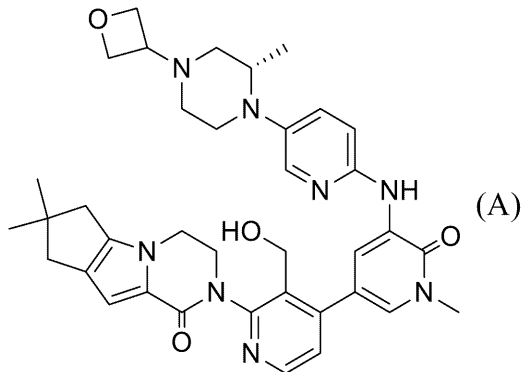
40

50

ONE COMPOUNDS AND METHODS OF USE」)。

【0006】

米国特許第8,716,274号(参照によりその全文が本明細書に援用される)は、BTKの阻害に有用なヘテロアリールピリジン及びアザ-ピリドン化合物のクラスを開示している。以下に示される化合物(A)は、特定のBTK阻害剤化合物の一つである：



10

【0007】

化合物(A)は：(S)-2-(3'-(ヒドロキシメチル)-1-メチル-5-(5-(2-メチル-4-(オキセタン-3-イル)ピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イル)アミノ)-6-オキソ-1,6-ジヒドロ-[3,4'-ビピリジン]-2'-イル)-7,7-ジメチル-2,3,4,6,7,8-ヘキサヒドロ-1H-シクロペンタ[4,5]ピロロ[1,2-a]ピラジン-1-オンである。化学構造と化学名の間に矛盾がある場合、化学構造が優勢である。

20

【0008】

特許出願及び特許公開を含む本明細書に引用されるすべての参考文献は、参照によりその全文が援用される。

【発明の概要】

【0009】

本明細書では、治療的有効量のBTK阻害剤を個体に投与することを含む、自己免疫又は炎症性疾患を有する個体を治療するための方法が提供され、ここで、個体からの試料は、IgJ、Mzb1及びTxndc5からなる群より選択される増大したレベルの一又は複数のバイオマーカーを有することが発見されている。

30

【0010】

また、本明細書では、個体における自己免疫又は炎症性疾患を治療するための方法であって、以下を含む方法も提供される。

(a) 個体からの試料が、IgJ、Mzb1及びTxndc5からなる群より選択される増大したレベルの一又は複数のバイオマーカーを含むことを決定すること；及び

(b) 有効量のBTK阻害剤を個体に投与し、それにより免疫学的疾患又は障害が治療されること

40

【0011】

また、IgJ、Mzb1及びTxndc5からなる群より選択される一又は複数のバイオマーカーのレベルを決定すること；及びバイオマーカーのレベルに基づき医薬を選択することを含む、自己免疫又は炎症性疾患を有する個体のための治療を選択するための方法が提供される。

【0012】

また、本明細書では、個体からの試料において、IgJ、Mzb1及びTxndc5からなる群より選択される一又は複数のバイオマーカーのレベルを決定することにより、BTK阻害剤を含む治療の恩恵を多かれ少なかれ示す可能性のある、自己免疫又は炎症性疾患を有する個体を同定する方法が提供され、ここで、試料中の増大したレベルのバイオマ

50

ーカーは、個体が B T K 阻害剤を含む治療の恩恵をより示しやすいことを示すか、又は、減少したレベルのバイオマーカーは、個体が B T K 阻害剤を含む治療の恩恵を示しにくいことを示す。

【 0 0 1 3 】

また、本明細書では、B T K 阻害剤を受けるために自己免疫又は炎症性疾患を有する個体を同定するためのアッセイであって、該方法が以下を含むアッセイも提供される。

(a) 個体からの試料において、I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 からなる群より選択される一又は複数のバイオマーカーのレベルを決定すること；及び

(b) バイオマーカーのレベルに基づいて B T K 阻害剤の投与を推奨すること。

【 0 0 1 4 】

また、本明細書では、自己免疫又は炎症性疾患を有する個体からの試料において、I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 からなる群より選択される一又は複数のバイオマーカーのレベルを決定するための一又は複数の試薬を含む診断キットが提供され、ここで、増大したレベルのバイオマーカーの検出とは、個体が B T K 阻害剤で治療されるときに増大した有効性を意味し、低い又は実質的に検出不可能なレベルのバイオマーカーの検出とは、自己免疫又は炎症性疾患を有する個体が B T K 阻害剤で治療されるときに減少した有効性を意味する。

【 0 0 1 5 】

本明細書で提供される方法のいくつかの実施態様では、該方法は、有効量の B T K 阻害剤を個体に投与することをさらに含む。

【 0 0 1 6 】

本明細書で提供される方法、アッセイ及び / 又はキットのいくつかの実施態様では、試料は血液試料である。

【 0 0 1 7 】

本明細書で提供される方法、アッセイ及び / 又はキットのいくつかの実施態様では、B T K 阻害剤は、抗体、結合ポリペプチド、小分子及び / 又はポリヌクレオチドである。

【 0 0 1 8 】

本明細書で提供される方法、アッセイ及び / 又はキットのいくつかの実施態様では、B T K 阻害剤は小分子である。いくつかの実施態様では、小分子 B T K 阻害剤は、化合物 (A) 又はその薬学的に許容される塩である。

【 0 0 1 9 】

本明細書で提供される方法、アッセイ及び / 又はキットのいくつかの実施態様では、自己免疫又は炎症性疾患は、全身性エリテマトーデスである。いくつかの実施態様では、自己免疫又は炎症性疾患はループス腎炎である。いくつかの実施態様では、自己免疫又は炎症性疾患は腎外ループスである。

【 0 0 2 0 】

自己免疫疾患、例えば関節リウマチ、多発性硬化症及びループスにおける B 細胞アンタゴニスト (例えば抗 C D 2 0 抗体) での治療に対する応答を予測するための生物学的マーカー及びその使用方法は以前に開示されているが、現在の形質芽細胞遺伝子シグネチャーではなく、B T K 阻害に関するものではない。国際公開第 2 0 1 2 / 1 1 8 7 5 0 号を参照のこと。その全内容は、参照により本明細書に援用される。

【 0 0 2 1 】

本明細書で提供される場合、B 細胞サブセットの転写プロファイリングは、形質芽細胞に特異的な遺伝子発現シグネチャーを同定した。このシグネチャーは、実験中の *i n v i t r o* スパイクにおける形質芽細胞の量と非常に相関している。R N A シークエンシングと組み合わせられた、S L E 患者における B 細胞サブセットの F A C S 分析を使用して、本発明の遺伝子発現シグネチャーは、全血における形質芽細胞の頻度との強力な相関を示した。形質芽細胞は血液中の B 細胞の少ない割合を占めているが、全血 m R N A に見られる抗体転写物の大部分を担っている。二つの追加の第 I I 相臨床試験コホートに拡大すると、S L E D A I 疾患活動性指標を使用して、形質芽細胞の特徴が疾患活動性と相関して

10

20

30

40

50

いることがわかった。この関連は、形質芽細胞と抗DNA抗体の存在、低レベルの補体及び白血球減少症との相関関係によって引き起こされた。形質芽細胞シグネチャーの増加は、高レベルのインターフェロン活性とも関連していた。患者の人種/民族性も、疾患の重症度とは無関係に、形質芽細胞のシグネチャーのレベルを予測していた。標準治療薬、特にミコフェノール酸は、形質芽細胞マーカー遺伝子の発現を減少させた。例えば、リツキシマブによる患者の治療は、最終的に一過性ではあるものの、形質芽細胞シグネチャー発現の著しい減少をもたらす。

【0022】

特許又は出願ファイルには、カラーで作成された少なくとも一つの図面が含まれる。カラー図面を含むこの特許又は特許出願公開のコピーは、要求及び必要な料金の支払いに応じて、特許庁により提供される。

【図面の簡単な説明】

【0023】

【図1A-1】 *in vitro*での形質芽細胞の分化及び選別法。形質芽細胞は、サイトカインIL-2、IL-6、IL-10、IL-15、IFN と共に7日間、CpGを含有する培養条件下でCD20⁺CD27⁺記憶B細胞から分化された。ナイーブB細胞(CD20⁺CD27⁻)、及びFACS選別CD20⁺CD27⁺活性化B細胞及び分化CD20^{lo}CD38⁺形質芽細胞が、遺伝子発現プロファイリングに使用された。

【図1A-2】 *in vitro*での形質芽細胞の分化及び選別法形質芽細胞は、サイトカインIL-2、IL-6、IL-10、IL-15、IFN と共に7日間、CpGを含有する培養条件下でCD20⁺CD27⁺記憶B細胞から分化された。ナイーブB細胞(CD20⁺CD27⁻)、及びFACS選別CD20⁺CD27⁺活性化B細胞及び分化CD20^{lo}CD38⁺形質芽細胞が、遺伝子発現プロファイリングに使用された。

【図1B】形質芽細胞により特異的に発現した遺伝子のヒートマップ。形質芽細胞によって0.001のFDRでナイーブB細胞及び活性化B細胞よりも少なくとも10倍高度に発現され、形質芽細胞で>5RPKMの発現レベルを有した遺伝子が同定された。値は、各遺伝子内で平均0、標準偏差1に標準化された分散安定化データを表す。

【図2A】増加する数の形質芽細胞が追加されたPBMC試料の候補形質芽細胞シグネチャー遺伝子のヒートマップ。形質芽細胞は、ヒートマップの上に黒と灰色で示されているように、2人の別々のドナーからのPBMCにスパイクされた。値は、HPRT1に対する各遺伝子の Ctを表し、平均0及び標準偏差1に標準化されている。

【図2B-1】各試料に存在する形質芽細胞の割合と比較した、HPRT1に対する形質芽細胞シグネチャー遺伝子又は三つすべての遺伝子の平均の発現レベル。点線及び破線は異なるPBMCドナーを示し、異なる記号は形質芽細胞の異なるドナーを表す。線形回帰分析を使用して、PBMCドナー及び形質芽細胞ドナーをモデルに組み込み、形質芽細胞シグネチャー又はコンポーネント遺伝子の発現を予測した。四つすべてのモデルは、統計的に非常に有意であり、 $p < 1 \times 10^{-10}$ である。モデルの予測力は、線形モデルからの r^2 として報告された。

【図2B-2】各試料に存在する形質芽細胞の割合と比較した、HPRT1に対する形質芽細胞シグネチャー遺伝子又は三つすべての遺伝子の平均の発現レベル。点線及び破線は異なるPBMCドナーを示し、異なる記号は形質芽細胞の異なるドナーを表す。線形回帰分析を使用して、PBMCドナー及び形質芽細胞ドナーをモデルに組み込み、形質芽細胞シグネチャー又はコンポーネント遺伝子の発現を予測した。四つすべてのモデルは、統計的に非常に有意であり、 $p < 1 \times 10^{-10}$ である。モデルの予測力は、線形モデルからの r^2 として報告された。

【図2B-3】各試料に存在する形質芽細胞の割合と比較した、HPRT1に対する形質芽細胞シグネチャー遺伝子又は三つすべての遺伝子の平均の発現レベル。点線及び破線は異なるPBMCドナーを示し、異なる記号は形質芽細胞の異なるドナーを表す。線形回帰分析を使用して、PBMCドナー及び形質芽細胞ドナーをモデルに組み込み、形質芽細胞シグネチャー又はコンポーネント遺伝子の発現を予測した。四つすべてのモデルは、統計

10

20

30

40

50

的に非常に有意であり、 $p < 1 \times 10^{-10}$ である。モデルの予測力は、線形モデルからの r^2 として報告された。

【図2B-4】各試料に存在する形質芽細胞の割合と比較した、HPRT1に対する形質芽細胞シグネチャー遺伝子又は三つすべての遺伝子の平均の発現レベル。点線及び破線は異なるPBMCドナーを示し、異なる記号は形質芽細胞の異なるドナーを表す。線形回帰分析を使用して、PBMCドナー及び形質芽細胞ドナーをモデルに組み込み、形質芽細胞シグネチャー又はコンポーネント遺伝子の発現を予測した。四つすべてのモデルは、統計的に非常に有意であり、 $p < 1 \times 10^{-10}$ である。モデルの予測力は、線形モデルからの r^2 として報告された。

【図2C-1】HPRT1に対する形質芽細胞遺伝子の相対的発現、又はインフルエンザワクチン接種の1週間後の健康なドナーから単位されたB細胞集団で測定された三つすべてのシグネチャー遺伝子の平均。N = ナイーブ細胞、M = 記憶B細胞、PB = 形質芽細胞。形質芽細胞は、他の集団と比較して、マーカー遺伝子の発現が最も高い。星印は、共変量としてドナーを含む線形回帰を使用して、B細胞集団間の差の統計的有意性を示す；
* = $p < 0.05$ 、** = $p < 0.01$ 、*** = $p < 0.001$ 。

10

【図2C-2】HPRT1に対する形質芽細胞遺伝子の相対的発現、又はインフルエンザワクチン接種の1週間後の健康なドナーから単位されたB細胞集団で測定された三つすべてのシグネチャー遺伝子の平均。N = ナイーブ細胞、M = 記憶B細胞、PB = 形質芽細胞。形質芽細胞は、他の集団と比較して、マーカー遺伝子の発現が最も高い。星印は、共変量としてドナーを含む線形回帰を使用して、B細胞集団間の差の統計的有意性を示す；
* = $p < 0.05$ 、** = $p < 0.01$ 、*** = $p < 0.001$ 。

20

【図2C-3】HPRT1に対する形質芽細胞遺伝子の相対的発現、又はインフルエンザワクチン接種の1週間後の健康なドナーから単位されたB細胞集団で測定された三つすべてのシグネチャー遺伝子の平均。N = ナイーブ細胞、M = 記憶B細胞、PB = 形質芽細胞。形質芽細胞は、他の集団と比較して、マーカー遺伝子の発現が最も高い。星印は、共変量としてドナーを含む線形回帰を使用して、B細胞集団間の差の統計的有意性を示す；
* = $p < 0.05$ 、** = $p < 0.01$ 、*** = $p < 0.001$ 。

【図2C-4】HPRT1に対する形質芽細胞遺伝子の相対的発現、又はインフルエンザワクチン接種の1週間後の健康なドナーから単位されたB細胞集団で測定された三つすべてのシグネチャー遺伝子の平均。N = ナイーブ細胞、M = 記憶B細胞、PB = 形質芽細胞。形質芽細胞は、他の集団と比較して、マーカー遺伝子の発現が最も高い。星印は、共変量としてドナーを含む線形回帰を使用して、B細胞集団間の差の統計的有意性を示す；
* = $p < 0.05$ 、** = $p < 0.01$ 、*** = $p < 0.001$ 。

30

【図2D-1】形質芽細胞シグネチャー及びコンポーネント遺伝子は、ループス患者の血液中のFACSによって測定される形質芽細胞の頻度と相関している。IgD⁺CD19⁺CD27⁺CD38⁺形質芽細胞は、合計96の試料について、3つの時点で43人の患者の全血細胞の割合として測定された、RNAシーケンシングデータを付随している。遺伝子発現値は、個々の遺伝子のRPKMとして、又は3遺伝子シグネチャーの幾何平均RPKMとして表される。相関係数は、スピアマンの順位法を使用して計算された。

40

【図2D-2】形質芽細胞シグネチャー及びコンポーネント遺伝子は、ループス患者の血液中のFACSによって測定される形質芽細胞の頻度と相関している。IgD⁺CD19⁺CD27⁺CD38⁺形質芽細胞は、合計96の試料について、3つの時点で43人の患者の全血細胞の割合として測定された、RNAシーケンシングデータを付随している。遺伝子発現値は、個々の遺伝子のRPKMとして、又は三つの遺伝子シグネチャーの幾何平均RPKMとして表される。相関係数は、スピアマンの順位法を使用して計算された。

【図2D-3】形質芽細胞シグネチャー及びコンポーネント遺伝子は、ループス患者の血液中のFACSによって測定される形質芽細胞の頻度と相関している。IgD⁺CD19⁺CD27⁺CD38⁺形質芽細胞は、合計96の試料について、3つの時点で43

50

人の患者の全血細胞の割合として測定された、RNAシーケンシングデータを付随している。遺伝子発現値は、個々の遺伝子のRPKMとして、又は三つの遺伝子シグネチャーの幾何平均RPKMとして表される。相関係数は、スピアマンの順位法を使用して計算された。

【図2D-4】形質芽細胞シグネチャー及びコンポーネント遺伝子は、ループス患者の血液中のFACSによって測定される形質芽細胞の頻度と相関している。IgD⁺CD19⁺CD27⁺CD38⁺形質芽細胞は、合計96の試料について、3つの時点で43人の患者の全血細胞の割合として測定された、RNAシーケンシングデータを付随している。遺伝子発現値は、個々の遺伝子のRPKMとして、又は3遺伝子シグネチャーの幾何平均RPKMとして表される。相関係数は、スピアマンの順位法を使用して計算された。

10

【図3A】形質芽細胞シグネチャーは、SLEDAIにより測定される疾患活動性と相関している。値は、HPR1に対する形質芽細胞シグネチャー遺伝子の平均発現を表す。SLEDAI及び形質芽細胞シグネチャー値は、処置開始前に回収された試料からのものである。相関係数は、スピアマンの順位法を使用して決定された。

【図3B-1】SLEDAI複合インデックスの個々の構成要素は、形質芽細胞シグネチャー遺伝子の発現の増加に関連している。線形回帰を使用して、それぞれの症候を示した患者と症候を示さなかった患者との間の統計的優位性を評価した；星印はこの試験における有意性レベルを示す： $* = p < 0.05$ 、 $** = p < 0.01$ 、 $*** = p < 0.001$ 。

20

【図3B-2】SLEDAI複合インデックスの個々の構成要素は、形質芽細胞シグネチャー遺伝子の発現の増加に関連している。線形回帰を使用して、それぞれの症候を示した患者と症候を示さなかった患者との間の統計的優位性を評価した；星印はこの試験における有意性レベルを示す： $* = p < 0.05$ 、 $** = p < 0.01$ 、 $*** = p < 0.001$ 。

【図3B-3】SLEDAI複合インデックスの個々の構成要素は、形質芽細胞シグネチャー遺伝子の発現の増加に関連している。線形回帰を使用して、それぞれの症候を示した患者と症候を示さなかった患者との間の統計的優位性を評価した；星印はこの試験における有意性レベルを示す： $* = p < 0.05$ 、 $** = p < 0.01$ 、 $*** = p < 0.001$ 。

30

【図3C-1】血清C3及びC4補体レベル並びに血清抗dsDNA抗体価は、形質芽細胞シグネチャー発現と相関している。相関係数は、スピアマンの順位法を使用して計算された。

【図3C-2】血清C3及びC4補体レベル並びに血清抗dsDNA抗体価は、形質芽細胞シグネチャー発現と相関している。相関係数は、スピアマンの順位法を使用して計算された。

【図3C-3】血清C3及びC4補体レベル並びに血清抗dsDNA抗体価は、形質芽細胞シグネチャー発現と相関している。相関係数は、スピアマンの順位法を使用して計算された。

【図3D-1】全血インターフェロンシグネチャー発現(ISM)は、形質芽細胞シグネチャー値と相関している。相関係数は、スピアマンの順位法を使用して計算された。

40

【図3D-2】全血インターフェロンシグネチャー発現(ISM)は、形質芽細胞シグネチャー値と相関している。相関係数は、スピアマンの順位法を使用して計算された。

【図4A】リツキシマブでの患者の治療は、形質芽細胞シグネチャー発現レベルを減少させる。線は、リツキシマブ治療コホート(破線)又はプラセボコホート(実線)内の平均発現レベルを示し、エラーバーは平均の標準誤差を示す。黒い矢印は、患者が薬物又はプラセボの点滴を受ける時点を示す。形質芽細胞シグネチャー遺伝子の発現は、線形混合効果モデルを使用してモデル化され、年齢、人種/民族、使用された併用薬、インターフェロン活性、SLEDAI、治療群及び時点並びにそれらの相互作用が固定効果として、患者がランダム効果として組み込んだ。赤い星印は、リツキシマブ治療群で特異的に著しく

50

異なる時点を示す： $* = p < 0.05$ 、 $** = p < 0.01$ 、 $*** = p < 0.001$ 。

【図4B】ミコフェノール酸及びリツキシマブでの治療は、形質芽細胞シグネチャー発現レベルを独立して減少させる。線は、プラセボコホート（実線）又はリツキシマブ治療コホート（破線）の平均を示し、平均の標準誤差は、エラーバーで示される。矢印は、患者がプラセボ又はリツキシマブの点滴を受ける時点を示す。発現値は、線形混合効果モデルを使用してモデル化され、年齢、インターフェロン活性及び治療群及び検査及びそれらの相互作用を組み込み、患者をランダム硬化として組み込んだ。グラフ上部の星印は、リツキシマブで治療された患者がプラセボ群を下回るベースラインから有意な減少を示した時点を示し、グラフ下部の星印は、治療にかかわらずベースラインとは異なる時点を示す： $* = p < 0.05$ 、 $** = p < 0.01$ 、 $*** = p < 0.001$ 。

10

【図4C】検出可能な抗キメラ抗体（HACA）を有した患者は、形質芽細胞マーカー遺伝子のより高い発現を有する。線は、検出可能なHACAを有したリツキシマブで治療された患者（実線）、又は検出可能なHACAを有しなかったリツキシマブで治療された患者（破線）における形質芽細胞マーカー遺伝子の平均発現を示す。

【図5A】ミコフェノール酸モフェチル（MMF）又はメトトレキサート（MTX）で治療された患者は、アザチオプリン（AZA）で治療された患者よりも低い形質芽細胞発現を示す。形質芽細胞シグネチャー値のスクリーニングは、異なる免疫抑制レジメンの患者との間で比較された。統計的有意性は、AZAを他の二つの治療のそれぞれと比較して、線形回帰を使用して試験された。星印は、治療間の有意な差異を示す： $* = p < 0.05$ 、 $** = p < 0.01$ 、 $*** = p < 0.001$ 。

20

【図5B】スクリーニングでMMF治療を受けている患者は、MMF治療を受けなかった患者よりも少ない形質芽細胞シグネチャーを有する傾向にある。p値は、スクリーニング検査時にMMFを受けた患者とMMFを受けていない患者との間の線形回帰を使用して計算された。

【図6A】EXPLOREER臨床試験コホートでは、ヨーロッパ人の祖先を有する患者は、他の民族よりも低レベルの形質芽細胞発現を有する。値は、HPRT1に対する形質芽細胞遺伝子の平均発現レベルを表す。スクリーニング検査値は、線形回帰を使用して、自己報告の人種/民族にわたって比較された。星印は、ホワイト/白人として自己報告している患者と比較した差異の有意性を示す： $* = p < 0.05$ 、 $** = p < 0.01$ 、 $*** = p < 0.001$ 。

30

【図6B】LUNAR患者は、人種/民族に基づく有意な差異を示さない。線形回帰を使用すると、民族間では有意な差異は観察されなかった。

【図6C】ROSE臨床試験コホートでは、ヨーロッパ人の祖先を有する患者は、低発現の形質芽細胞マーカーを示す。値は、形質芽細胞遺伝子の幾何平均RPKMを表す。スクリーニング検査値は、 \log_2 形質転換平均RPKMに対し、線形回帰を使用して、自己報告の人種/民族にわたって比較された。星印は、ホワイト/白人として自己報告している患者と比較した差異の有意性を示す： $* = p < 0.05$ 、 $** = p < 0.01$ 、 $*** = p < 0.001$ 。

【図7】BTK阻害剤GDC-0852によるCD40L媒介形質芽細胞分化の阻害の用量反応曲線は、用量依存方式における形質芽細胞の分化の阻害を示す。4人の健康なドナーの形質芽細胞の割合は、FACS分析を使用して決定され、各ドナーのIC50値が計算された。

40

【図8A】BTK阻害は、形質芽細胞遺伝子シグネチャーを減少させる。4人の健康なドナーからの記憶B細胞を、DMSOビヒクル又は370nM GDC-0852の存在下で上記の条件を使用して形質芽細胞に分化させた。形質芽細胞シグネチャー遺伝子の発現は、Fluidigmにより測定され、ハウスキーピング遺伝子（HPRT1）に正規化された。発現値は、ハウスキーピング遺伝子に対する相対的な転写産物量としてプロットされる。形質芽細胞シグネチャーは、三つの個々の遺伝子の相対的な量の幾何平均として計算された。

【図8B】BTK阻害は、形質芽細胞遺伝子シグネチャーを減少させる。4人の健康なド

50

ナーからの記憶B細胞を、DMSOビヒクル又は370 nM GDC-0852の存在下で上記の条件を使用して形質芽細胞に分化させた。形質芽細胞シグネチャー遺伝子の発現は、Fluidigmにより測定され、ハウスキーピング遺伝子(HPR T1)に正規化された。発現値は、ハウスキーピング遺伝子に対する相対的な転写産物量としてプロットされる。形質芽細胞シグネチャーは、三つの個々の遺伝子の相対的な量の幾何平均として計算された。

【図8C】BTK阻害は、形質芽細胞遺伝子シグネチャーを減少させる。4人の健康なドナーからの記憶B細胞を、DMSOビヒクル又は370 nM GDC-0852の存在下で上記の条件を使用して形質芽細胞に分化させた。形質芽細胞シグネチャー遺伝子の発現は、Fluidigmにより測定され、ハウスキーピング遺伝子(HPR T1)に正規化された。発現値は、ハウスキーピング遺伝子に対する相対的な転写産物量としてプロットされる。形質芽細胞シグネチャーは、三つの個々の遺伝子の相対的な量の幾何平均として計算された。

10

【図8D】BTK阻害は、形質芽細胞遺伝子シグネチャーを減少させる。4人の健康なドナーからの記憶B細胞を、DMSOビヒクル又は370 nM GDC-0852の存在下で上記の条件を使用して形質芽細胞に分化させた。形質芽細胞シグネチャー遺伝子の発現は、Fluidigmにより測定され、ハウスキーピング遺伝子(HPR T1)に正規化された。発現値は、ハウスキーピング遺伝子に対する相対的な転写産物量としてプロットされる。形質芽細胞シグネチャーは、三つの個々の遺伝子の相対的な量の幾何平均として計算された。

20

【図9】形質芽細胞遺伝子発現は、形質芽細胞の細胞数と相関している。FACS分析により決定される形質芽細胞の割合は、図8D(スピアマンロー=0.81)で決定されるように、形質芽細胞シグネチャーと相関している。白い点はDMSOの存在下で分化された試料を示し、黒い点はGDC-0852で処置された試料を表す。

【図10】BTK阻害剤GDC-0852は、用量依存方式でCpG媒介形質芽細胞の分化を阻害する。4人の健康なドナーの形質芽細胞の割合は、FACS分析を使用して決定され、各ドナーのIC50値が計算された。

【発明を実施するための形態】

【0024】

I. 定義

本明細書で互換可能に使用される「ポリヌクレオチド」又は「核酸」は、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、DNA及びRNAを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾されたヌクレオチド又は塩基、及び/又はそれらの類似体、或いはDNA若しくはRNAポリメラーゼにより、又は合成反応によりポリマー中に取り込み可能な任意の基質であり得る。ポリヌクレオチドは、修飾されたヌクレオチド、例えばメチル化ヌクレオチド及びそれらの類似体を含み得る。存在するならば、ヌクレオチド構造に対する修飾は、ポリマーの組み立ての前又は後になされ得る。ヌクレオチドの配列は非ヌクレオチド成分により中断されてもよい。ポリヌクレオチドは合成後に標識とのコンジュゲーションによるなどして更に修飾されてもよい。その他の修飾の種類は、例えば「キャップ(cap)」、天然の一又は複数のヌクレオチドの類似体での置換、ヌクレオチド間修飾、例えば非荷電結合(例:メチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホアミデート、カルバメート等)を有するもの及び荷電結合(例:ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート等)を有するもの、ペンダント部分、例えばタンパク質(例:クラーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ply-L-リジン等)を含有するもの、インターカレーター(例:アクリジン、プソラレン等)を有するもの、キレート剤(例:金属、放射性金属、ホウ素、酸化金属等)を含有するもの、アルキル化剤を含有するもの、修飾された結合(例:アルファアノマー核酸等)を有するもの、並びにポリヌクレオチド(類)の未修飾形態を含む。更に、糖類中に通常存在する任意のヒドロキシル基は、例えば、ホスホン酸基、リン酸基で置き換えられてもよく、標準的な保護基により保護されてもよく、又は更なるヌクレオチドへの更なる結合を作るように活性化されてもよ

30

40

50

く、又は固体若しくは半固体支持体にコンジュゲートされていてもよい。5'及び3'末端のOHはリン酸化され得、又はアミン若しくは1から20の炭素原子の有機キャッピング基部分で置換され得る。また他のヒドロキシル類は標準的な保護基に誘導体化されてもよい。またポリヌクレオチドは当該分野で一般的に知られているリボース又はデオキシリボース糖類の類似形態のもの、例えば2'-O-メチル-、2'-O-アリル、2'-フルオロ-又は2'-アジド-リボース、炭素環式糖の類似体、 α -アノマー糖類、エピマー糖類（例えばアラビノース）、キシロース類又はリキソース類、ピラノース糖類、フラノース糖類、セドヘプトロース類、非環式類似体、及び脱塩基性ヌクレオシド類似体（例えばメチルリボシド）も含有し得る。—又は複数のホスホジエステル結合は代替の結合基で置換され得る。こうした代替の結合基は、限定されはしないが、ホスファートがP(O)S（「チオエート」）、P(S)S（「ジチオエート」）、 $(O)NR_2$ （「アミダート」）、P(O)R、P(O)OR'、CO又はCH₂（「ホルムアセタール」）で置換される実施態様のものを含み、ここで各R又はR'は独立にHであるか、又は、場合によってエーテル（-O-）結合を含んでいてもよい置換若しくは非置換のアルキル（1-20C）、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニル又はアラルジル（araldyl）である。ポリヌクレオチド中のすべての結合が同一である必要はない。先の記述は、RNA及びDNAを含めた、本明細書で言及されるすべてのポリヌクレオチドに適用される。

10

【0025】

「オリゴヌクレオチド」は、本明細書で使用される場合、概して、長さが約250ヌクレオチド未満である（必ずしもそうではない）、短い一本鎖ポリヌクレオチドを指す。オリゴヌクレオチドは合成でもよい。用語「オリゴヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」は相互に排他的ではない。ポリヌクレオチドについての上記の説明は、等しく十分にオリゴヌクレオチドにも適用可能である。

20

【0026】

用語「プライマー」は、通常、遊離3'-OH基を提供することによって、核酸にハイブリダイズし、その後相補的な核酸を重合することができる一本鎖ポリヌクレオチドを指す。

【0027】

用語「小分子」とは、約2000ダルトン以下、好ましくは500ダルトン以下の分子量を有する任意の分子を指す。

30

【0028】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及び「宿主細胞培養物」は互換的に使用され、外因性の核酸が導入された細胞を指し、そのような細胞の子孫を含める。宿主細胞は、「形質転換体」及び「形質転換された細胞」を含み、継代の数に関係なく、それに由来する一次形質転換細胞及び子孫が含まれる。子孫は親細胞と核酸含量が完全に同一ではないかもしれないが、突然変異が含まれる場合がある。本明細書には、最初に形質転換された細胞においてスクリーニング又は選択されたものと同じ機能又は生物活性を有する変異型子孫が含まれる。

40

【0029】

本明細書で使用される用語「ベクター」は、それが連結されている別の核酸を伝播することができる核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、並びにそれが導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターを含む。ある種のベクターは、それが作動可能に連結された核酸の発現を指示することができる。このようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と言う。

【0030】

「単離された」抗体とは、その自然環境の成分から分離されたものである。いくつかの実施態様において、抗体は、例えば、電気泳動（例えば、SDS-PAGE、等電点電気泳動（IEF）、キャピラリー電気泳動）又はクロマトグラフィー（例えば、イオン交換又は逆相HPLC）により決定されるように、95%以上又は99%の純度に精製される

50

。抗体純度の評価法の総説としては、例えばFlatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)を参照のこと。

【0031】

「単離された」核酸とは、その自然環境の成分から分離された核酸分子を指す。単離された核酸は、核酸分子を通常含む細胞に含まれる核酸分子を含むが、核酸分子は、染色体外又はその自然の染色体上の位置とは異なる染色体位置に存在している。

【0032】

本明細書における用語「抗体」は最も広い意味で用いられ、種々の抗体構造を包含し、限定されるものではない、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多特異性抗体（例えば二重特異性抗体）、及び、所望の抗原結合活性を示す限り、抗体断片を含む。

10

【0033】

「阻止」抗体又は「アンタゴニスト」抗体は、結合する抗原の生物活性を阻害又は低減する抗体である。好ましい阻止抗体又はアンタゴニスト抗体は、実質的に又は完全に抗原の生物活性を阻害する。

【0034】

「親和性」は、分子（例えば、抗体）の単一結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有結合相互作用の総和の強度を指す。本明細書では、特に明記しない限り、「結合親和性」は、結合対（例えば抗体と抗原）のメンバー間の1:1の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。一般的に、分子XのそのパートナーYに対する親和性は、解離定数（ k_d ）によって表される。親和性は、本明細書に記載したものを含む、当技術分野で知られている一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための具体的な説明的且つ例示的な実施態様は、以下で説明される。

20

【0035】

「親和性成熟」抗体とは、変化を有しない親抗体と比較して、一又は複数の超可変領域（HVR）に一又は複数の変化があり、かかる変化が抗原に対する抗体の親和性の改善をもたらす抗体を指す。

【0036】

用語「検出」は、直接的及び間接的な検出を含む検出する任意の手段を含む。

【0037】

本明細書で使用される用語「バイオマーカー」は、試料中で検出することができる、例えば、予測、診断及び/又は予後の指標である。バイオマーカーは、特定の分子、病理学、組織学的及び/又は臨床的特徴により特徴づけられた疾患又は障害（例えば、がん）の特定のサブタイプの指標として機能し得る。いくつかの実施態様では、バイオマーカーは遺伝子である。バイオマーカーには、限定されないが、ポリヌクレオチド（例えば、DNA及び/又はRNA）、ポリペプチド、ポリペプチド及びポリヌクレオチド修飾物、糖、及び/又は糖脂質ベースの分子マーカーが含まれる。

30

【0038】

用語「バイオマーカーシグネチャー」、「シグネチャー」、「バイオマーカー発現シグネチャー」又は「発現シグネチャー」は、本明細書では区別せずに使用され、その発現が例えば予測、診断、及び/又は予後の指標であるバイオマーカーの一つ又は組み合わせを指す。バイオマーカーシグネチャーは、特定の分子、病理学、組織学的及び/又は臨床的特徴により特徴づけられた疾患又は障害（例えば、がん）の特定のサブタイプの指標として機能し得る。いくつかの実施態様では、バイオマーカーシグネチャーは「遺伝子シグネチャー」である。用語「遺伝子シグネチャー」は、「遺伝子発現シグネチャー」と区別せずに使用され、その発現が例えば予測、診断及び/又は予後の指標であるポリヌクレオチドの一つ又は組み合わせを指す。いくつかの実施態様では、バイオマーカーシグネチャーは「タンパク質シグネチャー」である。用語「タンパク質シグネチャー」は、「タンパク質発現シグネチャー」と区別せずに使用され、その発現が例えば予測、診断、及び/又は予後の指標であるポリペプチドの一つ又は組み合わせを指す。

40

【0039】

50

個体に対する臨床的恩恵の増加に関連するバイオマーカーの「量」又は「レベル」は、生物学的試料中で検出可能なレベルである。これらは、当業者に既知で、本明細書に開示の方法により測定され得る。評価されるバイオマーカーの発現レベル又は量は、治療に対する応答を決定するために使用することができる。

【0040】

用語「発現のレベル」又は「発現レベル」は、通常区別せずに使用され、一般的に、生物学的試料中のバイオマーカーの量を指す。「発現」は、一般的に、情報（例えば遺伝子コード及び/又はエピジェネティック）が、細胞中に存在し作用する構造に変換されるプロセスを指す。したがって、本明細書で使用される場合、「発現」とは、ポリヌクレオチドへの転写、ポリペプチドへの翻訳、又はポリヌクレオチド及び/又はポリペプチドの修飾（例えば、ポリペプチドの翻訳後修飾）を意味し得る。転写されたポリヌクレオチド、翻訳されたポリペプチド、又はポリヌクレオチド及び/又はポリペプチド修飾（例えば、ポリペプチドの翻訳後修飾）の断片もまた、選択的スプライシングにより生成された転写物、又は分解された転写物に由来するか、又は例えばタンパク質分解によるポリペプチドの翻訳後プロセッシングに由来しようが、発現したとみなされる。「発現した遺伝子」は、mRNAとしてポリヌクレオチドに転写され、ついでポリペプチドに翻訳されたもの、及びRNAに転写はされたが、ポリペプチドには翻訳されていないもの（例えば、転移RNA及びリボソームRNA）を含む。

10

【0041】

「増大した発現」、「増大した発現レベル」又は「増大したレベル」とは、疾患又は障害（例えばがん）に罹患していない個体などのコントロール又は内部コントロール（例えばハウスキーピングバイオマーカー）に対する個体のバイオマーカーの増加した発現又は増加したレベルを指す。

20

【0042】

「減少した発現」、「減少した発現レベル」又は「減少したレベル」とは、疾患又は障害（例えばがん）に罹患していない個体などのコントロール又は内部コントロール（例えばハウスキーピングバイオマーカー）に対する個体のバイオマーカーの減少した発現又は減少したレベルを指す。いくつかの実施態様では、減少した発現は、発現があまりないか、発現がまったくない。

【0043】

いくつかの実施態様では、用語「基準レベルで」とは、基準レベルと本質的に同一である個体又は患者からの試料中のバイオマーカーのレベル、又は最大1%、最大2%、最大3%、最大4%、最大5%基準レベルと異なるレベルを指す。いくつかの実施態様では、基準レベルは基準集団中のバイオマーカーの中央レベルである。いくつかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団中のマーカーの平均レベルである。いくつかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団中のマーカーの平均レベルである。

30

【0044】

特定の実施態様では、用語「基準レベルを超える」とは、基準レベルと比較して、上記の方法により決定された、少なくとも5%、10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、100%以上基準レベルを超える個体又は患者からの試料中のバイオマーカーのレベルを指す。いくつかの実施態様では、基準レベルは基準集団中の中央レベルである。いくつかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団中のマーカーの平均レベルである。

40

【0045】

特定の実施態様では、用語「基準レベルを超える」とは、基準レベルと比較して、上記の方法により決定された、少なくとも5%、10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、100%以上基準レベル未満の個体又は患者からの試料中のバイオマーカーのレベルを指す。いくつかの実施態様では、基準レベルは基準集団中の中央レベルである。いくつかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団中のマーカーの平均レベルである。いくつかの実施態様では、マ-

50

カーの基準レベルは基準集団中のマーカーの平均レベルである。

【 0 0 4 6 】

用語「ハウスキーピング遺伝子」とは、典型的に全ての細胞型に同様に存在するバイオマーカー又はバイオマーカー群（例えば、ポリヌクレオチド及び/又はポリペプチド）を指す。いくつかの実施態様では、ハウスキーピングバイオマーカーは、「ハウスキーピング遺伝子」である。本明細書では「ハウスキーピング遺伝子」とは、その活性が細胞機能の維持に不可欠であり、典型的に全ての細胞型に同様に存在するタンパク質をコードする遺伝子又は遺伝子群を指す。

【 0 0 4 7 】

「増幅」とは、本明細書で使用される場合、概して、所望の配列の複数のコピーを生成するプロセスを指す。「複数のコピー」とは、少なくとも二つのコピーを意味する。「コピー」は、鋳型配列に対して必ずしも完全な配列相補性又は同一性を意味するものではない。例えば、コピーは、デオキシイノシン等のヌクレオチド類似体、意図的な配列改変（例えば、鋳型とハイブリダイズ可能だが相補的ではない配列を含むプライマーを介して導入される配列変化）及び/又は増幅の間に発生する配列の誤りを含み得る。

10

【 0 0 4 8 】

用語「多重PCR」は、単一の反応内で二以上のDNA配列を増幅する目的で複数のプライマーセットを使用して、単一の供給源（例えば、個体）から得られた核酸上で実施される単一のPCR反応を指す。

【 0 0 4 9 】

ハイブリダイゼーション反応の「ストリンジェンシー」は、当業者であれば容易に決定することができ、通常はプローブ長、洗浄温度、及び塩濃度に基づく経験的計算である。通常、プローブが長いほど、適切なアニーリングに高い温度が必要であり、プローブが短い程温度は低くてよい。ハイブリダイゼーションは、通常、変性DNAの、相補鎖がその溶解温度未満の環境中に存在するときに再アニーリングする能力に依存する。プローブとハイブリダイズ可能配列との間の所望の相同性度が高い程、使用可能な相対温度が高くなる。結果として、相対温度が高い程反応条件のストリンジェンシーが高まる傾向があり、低い程その傾向が小さくなる。ハイブリダイゼーション反応のストリンジェンシーの更なる詳細及び説明については、Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley Interscience Publishers, (1995)を参照されたい。

20

30

【 0 0 5 0 】

本明細書に定義される「ストリンジェントな条件」又は「高ストリンジェンシー条件」は、以下のように指定される。(1) 洗浄に、低いイオン強度と高い温度、例えば、50で、0.015 Mの塩化ナトリウム/0.0015 Mのクエン酸ナトリウム/0.1%のドデシル硫酸ナトリウムを用いること；(2) ハイブリダイゼーション中に、42で、ホルムアミドのような変性剤、例えば、0.1%のウシ血清アルブミンを含む50% (v/v)のホルムアミド/0.1%のフィコール/0.1%のポリビニルピロリドン/750 mMの塩化ナトリウム、75 mMのクエン酸ナトリウムを含む50 mMのリン酸ナトリウムバッファー (pH 6.5)を用いること；又は(3) 50%のホルムアミド、5 x SSC (0.75 MのNaCl、0.075 Mのクエン酸ナトリウム)、50 mMのリン酸ナトリウム (pH 6.8)、0.1%のピロリン酸ナトリウム、5 x デンハート液、超音波分解したサケ精子DNA (50 µg/ml)、0.1%のSDS、及び10%デキストラン硫酸塩を用いた42の溶液中において一晚ハイブリダイズし、0.2 x SSC (塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム)中において42で10分間洗浄した後、55でEDTAを含有する0.1 x SSCからなる高ストリンシー洗浄を10分間行うこと。

40

【 0 0 5 1 】

「中程度にストリンジェントな条件」は、Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989によって記載されているように指定することができ、上述したものよりストリンジェンシーの低い洗浄溶液及びハイブリダイゼーション条件（例えば、温度、イオン強度、及び% SDS）の使用を含む。

50

中程度にストリンジェントな条件の例は、20%のホルムアミド、5×SSC(150mMのNaCl、15mMのクエン酸三ナトリウム)、50mMのリン酸ナトリウム(pH7.6)、5×デンハート溶液、10%の硫酸デキストラン、及び20mg/mlの変性せん断サケ精子DNAを含む溶液中において37で一晚インキュベートした後、約37~50の1×SSCでフィルタを洗浄することである。当業者であれば、プローブ長などの要因に適合させるために必要な温度、イオン強度などの調節方法を認識するであろう。

【0052】

用語「診断」は、本明細書では、分子又は病理学的状態、疾患又は病態(例えば、がん)の同定又は分類を意味するために用いられる。例えば、「診断」は、特定の種類のがんの同定を指してもよい。「診断」はまた、例えば組織病理学的な基準による、又は分子的特徴(例えば、バイオマーカー(例えば特定の遺伝子又は前記遺伝子によりコードされるタンパク質)の一又はそれらの組み合わせの発現により特徴づけられるサブタイプ)によるがんの特定のサブタイプの分類も意味し得る。

10

【0053】

用語「診断を支援する」とは、例えば疾患又は障害(例えば、がん)の症状又は病態の特定のタイプの存在又は性質に関する臨床判断を下すのに役立つ方法を指すために本明細書中で使用される。例えば、疾患又は病態(例えば、がん)の診断を支援する方法は、個体からの生物学的試料中の特定のバイオマーカーを測定することを含み得る。

【0054】

本明細書で使用される用語「試料」は、例えば、物理的、生化学的、化学的及び/又は生理学的特性に基づいて特徴付けられる及び/又は同定される細胞実体及び/又は他の分子実体を含有する、目的の対象及び/又は個体から得られるか又は由来する組成物を指す。例えば、「疾患試料」及びその変形は、特徴づけられる細胞及び/又は分子実体を含有することが予想されるか又は含有すると知られる、関係する対象から得られる任意の試料を指す。試料は、限定されないが、初代若しくは培養細胞又は細胞株、細胞上清、細胞溶解物、血小板、血清、血漿、硝子体液、リンパ液、滑液、卵胞液、精液、羊水、乳、全血、血液由来細胞、尿、脳脊髄液、唾液、痰、涙、汗、粘液、腫瘍溶解物、及び組織培養培地、組織抽出物、例えば均質化組織、腫瘍組織、細胞抽出物、並びにそれらの組み合わせを含む。

20

30

【0055】

「組織試料」又は「細胞試料」は、対象又は個体の組織から得られた類似の細胞の集合を意味する。組織試料又は細胞試料の供給源は、新鮮な、冷凍の、及び/又は保存された器官、組織試料、生検、及び/又は吸引物由来の固体組織;血液又は血漿のような何らかの血液成分;脳脊髄液、羊水、腹水、又は間質液のような体液;対象の妊娠又は発育の任意の時期に由来する細胞であり得る。組織試料は、初代若しくは培養細胞又は細胞株でもよい。任意選択的に、組織又は細胞試料は疾患組織/器官から得られる。組織試料は、本質的に組織と自然に混在しない化合物、例えば、防腐剤、抗凝血剤、緩衝剤、定着剤、栄養剤、抗生物質などを含む場合がある。

【0056】

本明細書で使用される「基準試料」、「基準細胞」、「基準組織」、「コントロール試料」、「コントロール細胞」、又は「コントロール組織」は、比較を目的として使用される試料、細胞、組織、標準、又はレベルを指す。一実施態様では、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織は、同じ対象又は個体の身体(例えば、組織又は細胞)の健常な及び/又は非疾患性の部分から得られる。例えば、健常な及び/又は非疾患性の細胞又は組織は、疾患細胞又は組織に隣接している(例えば、腫瘍に隣接する細胞又は組織)。別の実施態様では、基準試料は同じ対象又は個体の身体(例えば、組織又は細胞)の未処理組織及び/又は細胞から得られる。また別の実施態様では、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織は、対象又は個体ではない個体の身体(例えば、組織又は細胞)の、健常な及び/又は非

40

50

疾患性の部分から得られる。さらに別の実施態様では、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織は、対象又は個体ではない個体の身体の未処理組織及び/又は細胞から得られる。

【0057】

本明細書の目的のために、組織標本の「切片」は、組織標本の単一の部分又は片、例えば、組織標本から切り出した組織又は細胞の薄片を意味する。組織試料の同じ切片が形態レベル及び分子レベルの両方で分析され得るか、又はポリペプチドとポリヌクレオチドの両方に関して分析され得ることが理解されれば、組織試料の複数の切片が採取され、分析され得ることが理解される。

【0058】

「相関」又は「相関する」は、任意の方法で、第一の分析又はプロトコールの成績及び/又は結果を、第二の分析又はプロトコールの成績及び/又は結果と比較することを意味する。例えば、第二のプロトコールを行う際に第一の分析又はプロトコールの結果を用いてもよいし、及び/又は第一の分析又はプロトコールの結果を用いて、第二の分析又はプロトコールを行うかどうかを決定してもよい。ポリヌクレオチド分析又はプロトコールの実施態様に関して、特定の治療法を実施すべきかどうかを決定するためにポリヌクレオチド発現分析又はプロトコールの結果を使用してもよい。

【0059】

「個体応答」又は「応答」は、(1)ある程度の疾患進行(例えばがんの進行)の阻害(遅延及び完全停止を含む);(2)腫瘍サイズの縮小;(3)隣接する周辺器官及び/又は組織へのがん細胞浸潤の阻害(すなわち、縮小、遅延又は完全停止);(4)転移の阻害(すなわち、縮小、遅延又は完全停止);(5)疾患又は障害(例えばがん)に関連する一又は複数の症候のある程度の軽減;(6)無増悪生存の長さの増加;及び/又は(9)治療後の所与の時点での死亡率の減少を含むが、これらに限定されない、個体にとっての利益を示す任意のエンドポイントを使用して評価され得る。

【0060】

本明細書で用いられる用語「実質的に同じ」は、当業者が、二つの値の間の差異が、前記値(例えばKd値又は発現)によって測定される生物学的特性という文脈において、殆ど又は全く生物学的及び/又は統計学的有意性を持たないと考慮するために、二つの数値間の類似性が十分に高いことを指す。前記二つの値の間の差異は、基準/比較値に応じて、例えば約50%未満、約40%未満、約30%未満、約20%未満、及び/又は約10%未満である。

【0061】

本明細書で用いられる表現「実質的に異なる」は、当業者が、二つの値の間の差異が、前記値(例えばKd値)によって測定される生物学的特性という文脈において、統計学的有意性を持つと考慮するために、二つの数値間の差異が十分に大きいことを指す。前記二つの値の間の差異は、参照/比較分子の値に応じて、例えば約10%より大きい、約20%より大きい、約30%より大きい、40%より大きい、及び/又は約50%より大きい。

【0062】

本明細書で使用される場合、「標識」という語は、検出可能な化合物又は組成物を指す。標識は、典型的にポリヌクレオチドプローブ又は抗体などの試薬に直接的若しくは間接的にコンジュゲート又は縮合しており、コンジュゲート又は縮合している試薬の検出を容易にする。標識は、それ自体が検出可能(例えば放射性同位元素標識又は蛍光標識)なもの、又は酵素標識の場合、検出可能な生成物をもたらす基質化合物又は組成物の化学変成を触媒するものであってもよい。

【0063】

薬剤の「有効量」とは、所望の治療的又は予防的結果を達成するために必要な用量及び期間において有効な量を指す。

【0064】

10

20

30

40

50

物質/分子、アゴニスト又はアンタゴニストの「治療的有効量」は、個体の病状、年齢、性別及び体重、また、個体に所望の反応を引き出すための物質/分子、アゴニスト又はアンタゴニストの能力等の要因によって変わり得る。また、治療的有効量とは、物質/分子、アゴニスト又はアンタゴニストの毒性又は有害作用よりも治療的に有益な作用が上回る量である。「予防的有効量」とは、所望の予防的結果を達成するために必要な用量及び期間での、有効な量を指す。必ずではないが、通常、予防的用量は、疾病の前又は初期の段階に対象に使用されるので、予防的有効量は治療的有効量よりも少ない。

【0065】

用語「薬学的製剤」は、その中に含有される活性成分の生物学的活性が有効になることを可能にするような形態であって、製剤が投与される対象にとって許容できない毒性を有する他の成分を含まない調製物を指す。

10

【0066】

「薬学的に許容される担体」は、対象に非毒性であり、有効成分以外の薬学的製剤中の成分を指す。薬学的に許容される担体は、限定されないが、バッファー、添加剤、安定剤、又は保存剤を含む。

【0067】

本明細書で用いられる場合、「治療 (treatment)」(及び「治療する (treat)」又は「治療すること (treating)」など、その文法的変形)は、治療されている個体の自然経過を変えようと試みる臨床的介入を指し、予防のため、又は臨床病理の過程において実施されうる。治療の望ましい効果には、限定されないが、疾患の発症又は再発を予防すること、症状の緩和、疾患の直接的又は間接的な病理学的帰結の縮小、転移を予防すること、疾患の進行の速度を遅らせること、疾患状態の改善又は緩和、及び寛解又は予後の改善が含まれる。いくつかの実施態様では、抗体は、疾患の発症を遅延させるか又は疾患の進行を遅くするために使用される。

20

【0068】

本明細書において使用される用語「プロドラッグ」は、親薬物と比較して腫瘍細胞に対する細胞障害性が低く、且つ酵素的に活性化可能若しくは更に活性化親形態に変換可能な薬学的に活性な物質の前駆体若しくは誘導体形態を指す。例えば、Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" Biochemical Society Transactions, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast (1986) 及び Stella et al., "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery," Directed Drug Delivery, Borchartt et al., (ed.), pp. 247-267, Humana Press (1985)を参照のこと。本発明のプロドラッグには、限定されないが、ホスフェート含有プロドラッグ、チオホスフェート含有プロドラッグ、硫酸塩含有プロドラッグ、ペプチド含有プロドラッグ、D-アミノ酸修飾されたプロドラッグ、グリコシル化プロドラッグ、 β -ラクタム含有プロドラッグ、置換されていてもよいフェノキシアセトアミド含有プロドラッグ若しくは置換されていてもよいフェニルアセトアミド含有プロドラッグ、更に活性化細胞傷害性のない薬物に変換可能な5-フルオロサイトシン及びその他5-フルオロウリジンプロドラッグが含まれる。本発明における使用のためにプロドラッグ形態に誘導化することのできる細胞傷害性薬物の例には、限定されないが、上記のような化学療法剤が含まれる。

30

40

【0069】

「個体」又は「対象」とは、哺乳動物である。哺乳動物は、限定されるものではないが、家畜動物(例えばウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ)、霊長類(例えばヒト、及びサルなどの非ヒト霊長類)、ウサギ、及びげっ歯類(例えばマウス及びラット)を含む。特定の実施態様では、個体又は対象はヒトである。

【0070】

用語「同時に」とは、投与の少なくとも一部が時間的に重複する二つ以上の治療剤の投与を指すために本明細書で使用される。したがって、同時投与には、一又は複数の薬剤の投与が、一又は複数の他の薬剤の投与を中断した後に継続する投与計画が含まれる。

【0071】

50

「低減する又は阻害する」とは、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%又はそれ以上の全体的減少を引き起こす能力を意味する。低減する又は阻害するとは、治療する疾患の症状、転移の存在又は大きさ、又は原発腫瘍の大きさに言及することができる。

【0072】

「添付文書」という用語は、治療製品の商品包装に通例含まれる説明書を指すのに用いられ、そのような治療製品の適応症、用法、用量、投与、併用療法、使用に関する禁忌及び/又は注意事項についての情報を含む。

【0073】

「製造品」は、少なくとも一つの試薬、例えば疾患又は障害（例えばがん）の治療のための医薬又は本明細書に記載のバイオマーカーを特異的に検出するためのプローブを含む任意の製造物（例えばパッケージ又は容器）又はキットである。特定の実施態様では、製造品又はキットは、本発明の方法を実施するためのユニットとして、奨励され、流通され、又は販売される。

10

【0074】

本明細書で使用される場合、語句「～に基づく」とは、一又は複数のバイオマーカーについての情報が、治療決定、添付文書に提供される情報、又は販売/プロモーションガイドダンス等の情報提供のために使用されることを意味する。

【0075】

当業者によって理解されるように、本明細書において値又はパラメーター「について」という場合、その値又はパラメーター自体を対象とする実施態様を含む（記載する）。例えば、「Xについて」との記載には「X」の記載が含まれる。

20

【0076】

本明細書に記載される態様及び実施態様は、態様及び実施態様「からなる」及び/又は「から本質的になる」ことを含む。本明細書で使用されるように、単数形の「a」、「an」及び「the」は、特に指示がない限り、複数への言及を含む。

【0077】

II. 方法及び使用

本明細書では、形質芽細胞バイオマーカーを利用する方法が提供される。特に、BTK阻害剤及び形質芽細胞バイオマーカーを利用する方法が提供される。例えば、個体が形質芽細胞バイオマーカーの存在及び/又は増大したレベルを有することが発見された場合に治療的有効量のBTK阻害剤を個体に投与することを含む、疾患又は障害を有する個体を治療するための方法が提供される。さらに、個体における疾患又は障害を治療するための方法であって、個体からの試料が増大したレベルの形質芽細胞バイオマーカーを含むことを決定すること、及び有効量のBTK阻害剤を個体に投与することにより、疾患及び障害が治療されることを含む方法が提供される。いくつかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカーは、IgJ、Mzb1及びTxndc5からなる遺伝子シグネチャーの群より選択される。いくつかの実施態様では、IgJ、Mzb1及びTxndc5の遺伝子発現は、基準レベルに対する患者の血液中の前記遺伝子のmRNAのレベルを測定することにより決定される。ポリペプチド発現である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は、自己免疫又は炎症性疾患又は障害である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はSLEである。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はループス腎炎である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は腎外ループスである。

30

40

【0078】

個体に有効量のBTK阻害剤を提供することを含む個体における疾患又は障害を治療する方法であって、治療が、個体からの試料中の形質芽細胞バイオマーカーの存在及び/又は増大したレベルに基づく、方法が提供される。いくつかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカーは、IgJ、Mzb1及びTxndc5の一又は複数の発現である。いくつかの実施態様では、IgJ、Mzb1及びTxndc5の遺伝子発現は、基準レベルに対する患者の血液中の前記遺伝子のmRNAのレベルを測定することにより決定される。ポ

50

リペプチド発現である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は、自己免疫又は炎症性疾患又は障害である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はSLEである。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はループス腎炎である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は腎外ループスである。

【0079】

さらに、形質芽細胞バイオマーカの存在及び/又はレベルを決定すること、及びバイオマーカの存在及び/又はレベルに基づき医薬を選択することを含む、疾患又は障害を有する個体のための治療を選択するための方法が提供される。いくつかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカの増大したレベルに基づいて、医薬が選択される。いくつかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカは、I g J、M z b 1及びT x n d c 5からなる遺伝子シグネチャーの群より選択される。いくつかの実施態様では、I g J、M z b 1及びT x n d c 5の遺伝子発現は、基準レベルに対する患者の血液中の前記遺伝子のmRNAのレベルを測定することにより決定される。ポリペプチド発現である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は、自己免疫又は炎症性疾患又は障害である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はSLEである。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はループス腎炎である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は腎外ループスである。

10

【0080】

本明細書では、個体からの試料中の形質芽細胞バイオマーカの存在及び/又はレベルを決定することを含む、BTK阻害剤を含む治療による恩恵を示しやすいか又は示しにくい、疾患又は障害を有する個体を同定する方法であって、試料中の形質芽細胞バイオマーカの存在及び/又は増大したレベルが、個体がBTK阻害剤を含む治療からの恩恵をより示しやすいことを示し、又は形質芽細胞バイオマーカの不存在及び/又は減少したレベルが、個体がBTK阻害剤を含む治療からの恩恵を示しにくいことを示す、方法が提供される。いくつかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカは、I g J、M z b 1及びT x n d c 5からなる遺伝子シグネチャーの群より選択される。いくつかの実施態様では、I g J、M z b 1及びT x n d c 5の遺伝子発現は、基準レベルに対する患者の血液中の前記遺伝子のmRNAのレベルを測定することにより決定される。ポリペプチド発現である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は、自己免疫又は炎症性疾患又は障害である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はSLEである。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はループス腎炎である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は腎外ループスである。

20

30

【0081】

本明細書では、BTK阻害剤を受けるために疾患又は障害を有する個体を同定するためのアッセイであって、該方法が以下を含むアッセイも提供される。(a)個体からの試料において、形質芽細胞バイオマーカの存在及び/又はレベルを決定すること；(b)形質芽細胞バイオマーカの存在及び/又はレベルに基づいてBTK阻害剤を推奨すること。いくつかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカの増大したレベルに基づいて、BTK阻害剤が推奨される。いくつかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカは、I g J、M z b 1及びT x n d c 5からなる遺伝子シグネチャーの群より選択される。いくつかの実施態様では、I g J、M z b 1及びT x n d c 5の遺伝子発現は、基準レベルに対する患者の血液中の前記遺伝子のmRNAのレベルを測定することにより決定される。ポリペプチド発現である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は、自己免疫又は炎症性疾患又は障害である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はSLEである。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はループス腎炎である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は腎外ループスである。

40

【0082】

本明細書では、疾患又は障害を有する個体からの試料中の形質芽細胞のバイオマーカのレベルを決定するための一又は複数の試薬を含む診断キットであって、形質芽細胞バイオマーカの存在及び/又は増大したレベルの検出が、個体がBTK阻害剤で治療される時の有効性の増加を意味し、形質芽細胞バイオマーカの低レベル又は実質的に検出不

50

可能なレベルの検出が、疾患を有する個体が B T K 阻害剤で治療されるとき有効性の減少を意味する、診断キットが提供される。本明細書では、また、一緒に包装される、B T K 阻害剤を含む薬学的組成物と、B T K 阻害剤は、形質芽細胞バイオマーカの発現に基づく疾患又は障害を有する患者を治療するためのものであることを示す添付文書とを含む製造品も提供される。いくつかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカは、I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 からなる遺伝子シグネチャーの群より選択される。いくつかの実施態様では、I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 の遺伝子発現は、基準レベルに対する患者の血液中の前記遺伝子の m R N A のレベルを測定することにより決定される。ポリペプチド発現である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は、自己免疫又は炎症性疾患又は障害である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は S L E である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はループス腎炎である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は腎外ループスである。

10

【0083】

さらに、本明細書では、個体に有効量の B T K 阻害剤を投与すること、及び B T K 阻害剤での治療中（例えば基準と比較して）個体からの試料中の一又は複数の形質芽細胞バイオマーカのレベルを評価することを含む、個体における疾患又は障害を治療するための方法が提供される。また、個体に有効量の B T K 阻害剤を投与することを含む個体における疾患又は障害を治療する方法であって、治療が、（基準と比較して）個体からの試料中の一又は複数の形質芽細胞バイオマーカのレベルに基づく、方法が提供される。個体からの試料中の一又は複数の形質芽細胞バイオマーカのレベルを決定することを含む、B T K 阻害剤を含む治療に対する個体における応答性をモニターする方法であって、試料中の一又は複数の形質芽細胞バイオマーカの減少したレベル（例えば、基準と比較して）は、個体が B T K 阻害剤を含む治療に対して応答をより受けやすいことを示すか、又は一又は複数の形質芽細胞バイオマーカの増大したレベル及び / 又は前治療レベルと実質的に同じレベル（例えば、基準と比較して）は、個体が B T K 阻害剤を含む治療に対して応答を受けにくいことを示す、方法が提供される。いくつかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカは、I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 からなる遺伝子シグネチャーの群より選択される。いくつかの実施態様では、I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 の遺伝子発現は、基準レベルに対する患者の血液中の前記遺伝子の m R N A のレベルを測定することにより決定される。ポリペプチド発現である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は、自己免疫又は炎症性疾患又は障害である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は S L E である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はループス腎炎である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は腎外ループスである。

20

30

【0084】

さらに、個体からの試料中の一又は複数の形質芽細胞バイオマーカのレベルを測定することを含む、疾患又は障害を有する個体が、B T K 阻害剤を含む治療を継続すべきか又は中断すべきかを決定する方法であって、一又は複数の形質芽細胞バイオマーカの増大したレベル及び / 又は前処理レベルと実質的に同じレベル（例えば、基準と比較して）が、個体が B T K 阻害剤を含む治療を中断すべきかを決定し、且つ一又は複数の形質芽細胞バイオマーカの減少したレベル（例えば、基準と比較して）が、個体が B T K 阻害剤を含む治療を継続すべきかを決定する、方法が提供される。いくつかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカは、I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 からなる遺伝子シグネチャーの群より選択される。いくつかの実施態様では、I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 の遺伝子発現は、基準レベルに対する患者の血液中の前記遺伝子の m R N A のレベルを測定することにより決定される。ポリペプチド発現である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は、自己免疫又は炎症性疾患又は障害である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は S L E である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はループス腎炎である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は腎外ループスである。

40

【0085】

いくつかの実施態様では、該方法は、以下を含む：（a）患者からの生物学的試料中 I

50

g J、T X N D C 5 及び M Z B 1 から選択される一つ、二つ又は三つのバイオマーカーの R N A レベルを測定すること；(b) (a) で測定された R N A レベルを基準レベルと比較すること；及び(c) (a) で測定された R N A レベルが基準レベルを超える場合、B T K 阻害剤治療による恩恵を受ける可能性が高い患者を同定すること。いくつかの実施態様では、R N A は m R N A である。いくつかの実施態様では、m R N A レベルを測定することは、増幅を含む。いくつかの実施態様では、m R N A レベルを測定することは、定量 P C R を含む。いくつかの実施態様では、m R N A レベルを測定することは、m R N A を増幅させること及び増幅させた生成物を検出し、それにより m R N A のレベルを測定することを含む。いくつかの実施態様では、基準レベルは基準集団中のそれぞれのマーカーの中央レベルである。

10

【 0 0 8 6 】

いくつかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団中のマーカーの中央レベルである。上記の実施態様のいずれかでは、基準レベルは基準集団中のそれぞれのマーカーの平均レベルであり得る。いくつかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団中のマーカーの平均レベルである。非制限的な例示的な基準集団には、免疫又は炎症性疾患を有する患者、健康な個体、及び健康な個体と免疫又は炎症性疾患を有する患者とを含む群が含まれる。いくつかの実施態様では、基準集団は S L E を有する患者を含む。

【 0 0 8 7 】

いくつかの実施態様では、バイオマーカーの分析又は検出の方法は、0 . 0 5 未満である p 値を有する。いくつかの実施態様では、該方法は、8 0 % より高い特異性を有する。いくつかの実施態様では、該方法は、8 0 % より高い感受性を有する。いくつかの実施態様では、該方法は、7 0 % より高い R O C を有する。いくつかの実施態様では、該方法は、7 0 % より高い A U C を有する。いくつかの実施態様では、該方法は、7 0 % より高い陽性予測値を有する。いくつかの実施態様では、該方法は、7 0 % より高い陰性予測値を有する。いくつかの実施態様では、前記基準遺伝子発現プロファイルは、患者及び / 又は健康なボランティアの基準集団における対象からのものである。いくつかの実施態様では、比較の工程は、発現プロファイルのデジタル画像を比較すること及び発現データのデータベースを比較することの少なくとも一つを含む。

20

【 0 0 8 8 】

上記の方法のいずれかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカーは I g J である。上記の方法のいずれかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカーは M z b 1 である。上記の方法のいずれかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカーは T x n d c 5 である。上記の方法のいずれかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカーは I g J 及び M z b 1 である。上記の方法のいずれかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカーは I g J 及び T x n d c 5 である。上記の方法のいずれかの実施態様では、一又は複数の形質芽細胞バイオマーカーは T x n d c 5 及び M z b 1 である。上記の方法のいずれかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカーは I g J、M z b 1 及び T x n d c 5 である。

30

【 0 0 8 9 】

上記の実施態様のいくつかでは、試料は尿試料である。いくつかの実施態様において、試料は血液試料である。いくつかの実施態様では、生物学的試料は、血液、血清、血漿、及び末梢血単核球 (P B M C) から選択される。いくつかの実施態様では、生物学的試料は、血液、例えば全血、又は血液の細胞分画、例えば P B M C から得られる R N A である。いくつかの実施態様では、生物学的試料は血清又は血漿である。試料は、治療前、治療中又は治療後に採取され得る。試料は、S L E 又は他の免疫若しくは炎症性疾患を有する疑いのある、又は有すると診断されているため、治療を必要とする可能性が高い患者から採取され得る。あるいは、試料は、あらゆる疾患を有する疑いのない正常な個体から採取され得る。いくつかの実施態様では、R N A は、マーカーの m R N A レベルを検出又は測定する前に、上記の生物学的試料から抽出される。

40

【 0 0 9 0 】

バイオマーカーの存在及び / 又は発現レベル / 量は、D N A、m R N A、c D N A、タ

50

ンパク質、タンパク質断片及び／又は遺伝子コピー数を含むがこれらに限定されない、当該技術分野で知られる任意の適切な基準に基づいて、定性的及び／又は定量的に決定され得る。特定の実施態様では、第1の試料中のバイオマーカの存在及び／又は発現レベル／量は、第2の試料中の存在／不存在及び／又は発現レベル／量と比較して、増加する。特定の実施態様では、第1の試料中のバイオマーカの存在／不存在及び／又は発現レベル／量は、第2の試料中の存在及び／又は発現レベル／量と比較して、減少する。特定の実施態様では、第2の試料は、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織である。遺伝子の存在／不存在及び／又は発現レベル／量を決定するための追加の開示が本明細書に記載される。

【0091】

いずれかの方法のいくつかの実施態様では、増大した発現レベルとは、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織と比較して、上記の方法のような当該技術分野で知られる標準的な方法によって検出される、バイオマーカ（例えばタンパク質又は核酸（例えば遺伝子若しくはmRNA））のレベルにおける、約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%以上のいずれかの全体的な増加を指す。特定の実施態様では、増大した発現とは、試料中のバイオマーカの発現レベル／量における増加を指し、ここで、増加は、少なくとも約1.5x、1.75x、2x、3x、4x、5x、6x、7x、8x、9x、10x、25x、50x、75x、又は100xの、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織中のそれぞれのバイオマーカの発現レベル／量である。いくつかの実施態様では、増大した発現とは、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、コントロール組織、又は内部コントロール（例えばハウスキーピング遺伝子）と比較して、約1.5倍超、約1.75倍超、約2倍超、約2.25倍超、約2.5倍超、約2.75倍超、約3.0倍超、又は約3.25倍超の全体的な増加を指す。

【0092】

いずれかの方法のいくつかの実施態様では、減少した発現レベルとは、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織と比較して、上記の方法のような当該技術分野で知られる標準的な方法によって検出される、バイオマーカ（例えばタンパク質又は核酸（例えば遺伝子若しくはmRNA））のレベルにおける、約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%以上のいずれかの全体的な減少を指す。特定の実施態様では、減少した発現とは、試料中のバイオマーカの発現レベル／量における減少を指し、ここで、減少は、少なくとも約0.9x、0.8x、0.7x、0.6x、0.5x、0.4x、0.3x、0.2x、0.1x、0.05x、又は0.01xの、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織中のそれぞれのバイオマーカの発現レベル／量である。

【0093】

試料中の様々なバイオマーカの存在及び／又は発現レベル／量は、数多くの方法によって分析することができ、その多くは、当該技術分野で知られており、当業者により理解されており、限定されないが、免疫組織化学（「IHC」）、ウェスタンブロット分析、免疫沈降法、分子結合アッセイ、ELISA、ELIFA、蛍光活性化セルソーティング（「FACS」）、MassARRAY、プロテオミクス、定量的血液ベースアッセイ（例えば血清ELISA）、生化学的酵素活性アッセイ、in situハイブリダイゼーション、サザン分析、ノーザン分析、全ゲノム配列決定、定量的実時間PCR（「qRT-PCR」）及びその他増幅式検出方法を含むポリメラーゼ連鎖反応（「PCR」）、例えば、分枝DNA、SISBA、TMAなど、RNA-Seq、FISH、マイクロアレイ解析、遺伝子発現プロファイリング、及び／又は遺伝子発現の連続分析（「SAGE」）、並びにタンパク質、遺伝子、及び／又は組織アレイ分析によって実施することのできる多種多様なアッセイのいずれかを含む。遺伝子及び遺伝子産物の状態を評価するための

10

20

30

40

50

典型的なプロトコールは、例えば、Ausubel et al., eds., 1995, Current Protocols In Molecular Biologyの U n i t s 2 (ノーザンプロット法)、4 (サザンプロット法)、15 (イムノプロット法) 及び18 (PCR分析)に見られる。Rules Based Medicine 又はMeso Scale Discovery (「MSD」) から入手可能であるような多重イムノアッセイも使用され得る。

【0094】

いくつかの実施態様では、バイオマーカーの存在及び/又は発現レベル/量は、以下を含む方法を使用して決定される：(a) 試料(例えば対象のがん試料)について遺伝子発現プロファイリング、PCR(例えばrtPCR)、RNA-seq、マイクロアレイ解析、SAGE、MassARRAY技術、又はFISHを実施すること；及びb) 試料中のバイオマーカーの存在及び/又は発現レベル/量を決定すること。いくつかの実施形態では、マイクロアレイ法は、厳しい条件下で上記の遺伝子をコードする核酸分子にハイブリダイゼーションできる—又は複数の核酸分子を有するか、又は上記の遺伝子によってエンコードされたタンパク質の—又は複数に結合することができる—又は複数のポリペプチド(例えばペプチド又は抗体)を有するマイクロアレイチップの使用を含む。一実施態様では、PCR法はqRT-PCRである。一実施態様では、PCR法は多重PCRである。いくつかの実施態様では、遺伝子発現はマイクロアレイによって測定される。いくつかの実施態様では、遺伝子発現はqRT-PCRによって測定される。いくつかの実施態様では、発現は多重PCRによって測定される。

【0095】

細胞内のmRNAを評価するための方法はよく知られており、例えば、相補的DNAプローブを使用したハイブリダイゼーションアッセイ(—又は複数の遺伝子に特異的な標識リボプローブを使用したin situハイブリダイゼーション、ノーザンプロット及び関連技術等)及びさまざまな核酸増幅アッセイ(—又は複数の遺伝子に特異的な相補的プライマーを使用したRT-PCR、並びに他の増幅タイプの検出方法(分岐DNA、SISBA、TMA等)を含む)。

【0096】

哺乳動物からの試料は、ノーザン、ドットプロット又はPCR分析を使用して、mRNAについて簡便に化学分析され得る。さらに、そのような方法は、(例えば、アクチンファミリーメンバーなどの「ハウスキーピング」遺伝子の比較対照mRNA配列のレベルを同時に調べることにより)生体試料中の標的mRNAのレベルを決定することを可能にする—又は複数の工程を含み得る。任意選択的には、増幅した標的cDNAの配列が決定され得る。

【0097】

任意選択的な方法は、マイクロアレイ技術により、組織又は細胞試料中の標的mRNA等のmRNAを調べる又は検出するプロトコールを含む。核酸マイクロアレイを使用して、試験組織試料及びコントロール組織試料からの試験及びコントロールmRNA試料は、逆転写され、cDNAプローブを発生させるよう標識される。その後、プローブは、固体支持体上に固定化されている核酸のアレイにハイブリダイゼーションされる。アレイは、アレイの各メンバーの配列及び位置が分かるように構成される。例えば、その発現が抗血管新生治療の臨床的な利益の増加及び減少と相関する遺伝子の選択は、固体支持体上に配列される。特定のアレイメンバーと標識プローブのハイブリダイゼーションは、プローブが由来する試料がその遺伝子を発現することを示す。

【0098】

いくつかの実施態様によれば、存在及び/又は発現レベル/量は、上記の遺伝子のタンパク質発現レベルを観察することによって測定される。特定の実施態様では、方法は、抗体を含む生物学的試料を、バイオマーカーの結合を許容する条件下において本明細書に記載されるバイオマーカーと接触させること、及び抗体とバイオマーカーとの間に複合体が形成されたかどうかを検出することを含む。このような方法は、in vitro法又はin vivo法とすることができる。一実施態様では、抗体は、BTK阻害剤での療法

10

20

30

40

50

に適した対象を選択するために使用され、例えば、個体の選択のためのバイオマーカーである。

【0099】

特定の実施態様では、試料中のバイオマーカータンパク質の存在及び/又は発現レベル/量が、IHC及び染色プロトコルを用いて試験される。組織切片のIHC染色は、試料中のタンパク質の存在を決定又は検出する信頼性の高い方法であることが示された。方法、アッセイ及び/又はキットのいずれかの実施態様では、形質芽細胞バイオマーカーは、IgJ、Mz b 1及びTxndc 5の一又は複数から選択される。いくつかの実施態様では、IgJ、Mz b 1及び/又はTxndc 5は、免疫組織化学により検出される。いくつかの実施態様では、個体由来の試料中の形質芽細胞バイオマーカーの増大した発現は、増大したタンパク質発現であり、さらなる実施態様では、IHCを用いて決定される。一実施態様では、バイオマーカーの発現レベルは、以下を含む方法を使用して決定される：(a)抗体を用いて試料のIHC分析を実施すること；及びb)試料中のバイオマーカーの発現レベルを決定すること。いくつかの実施態様では、IHC染色強度は基準との比較において決定される。いくつかの実施態様では、基準は参照値である。いくつかの実施態様では、基準は基準試料(例えば、コントロール細胞株染色試料)である。いくつかの実施態様では、組織は腎性組織である。他の実施態様では、上記の技術は、IHCの代わりに蛍光in situハイブリダイゼーションを使用して実施される。

10

【0100】

IHCは、形態染色及び/又は蛍光in situハイブリダイゼーションといった追加的技術と組み合わせて実施されうる。IHCの二つの一般的方法、即ち直接的及び間接的アッセイが利用可能である。第1のアッセイによれば、標的抗原に対する抗体の結合が直接的に決定される。この直接的アッセイは、さらなる抗体相互作用なしで可視化することが可能な、標識された試薬、例えば蛍光性タグ又は酵素標識された一次抗体を用いる。典型的な間接的アッセイでは、非コンジュゲート一次抗体が抗原に結合し、次いで標識された二次抗体が一次抗体に結合する。二次抗体が酵素標識にコンジュゲートしている場合、抗原を可視化するために発色性又は発蛍光性基質が付加される。複数の二次抗体が一次抗体上の異なるエピトープと反応しうるため、シグナル増幅が起こる。

20

【0101】

IHCのために使用される一次及び/又は二次抗体は、典型的に、検出可能部分を用いて標識される。多数の標識が利用可能であり、それらは一般に以下のカテゴリーに分類される：(a)放射性同位体、例えば³⁵S、¹⁴C、¹²⁵I、³H、及び¹³¹I；(b)コロイド金粒子；(c)限定されないが、希土類キレート(ユーロピウムキレート)、Texas Red、ローダミン、フルオレセイン、ダンシル、リサミン、ウンベリフェロン、フィコエリトリン(phycoerythrin)、フィコシアニン、又は市販のフルオロフォア、例えばSPECTRUM ORANGE 7及びSPECTRUM GREEN 7及び/又は上記のいずれか一つ又は複数の誘導体を含む蛍光標識；(d)様々な酵素-基質標識が利用可能であり、米国特許第4,275,149号でこれらのいくつかの総説が提供されている。酵素標識の例は、ルシフェラーゼ類(例えば、ホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ；米国特許第4,737,456号)、ルシフェリン、2,3-ジヒドロフタラジンジオン類、マレートデヒドロゲナーゼ、ウレアーゼ、ホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRPO)等のペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、-ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、糖類オキシダーゼ類(例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ及びグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ)、複素環式オキシダーゼ(ウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼ等)、ラクトペルオキシダーゼ、ミクロペルオキシダーゼ等を含む。

30

40

【0102】

酵素-基質の組み合わせの例には、例えば、基質として水素ペルオキシダーゼを有するホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRPO)；発色性基質としてパラ-ニトロフェニルホスフェートを有するアルカリホスファターゼ(AP)；及び発色性基質(例えば

50

、p - ニトロフェニル - D - ガラクトシダーゼ)又は発蛍光性基質(例えば、4 - メチルウンベリフェリル - D - ガラクトシダーゼ)を有する - D - ガラクトシダーゼ (- D - Gal)が含まれる。これらの総説に関しては、米国特許第4275149号及び同第4318980号を参照されたい。

【0103】

いずれかの方法の実施態様では、形質芽細胞バイオマーカーは、診断用抗体(すなわち一次抗体)を使用して免疫組織化学によって検出される。いくつかの実施態様では、分析される組織は腎性組織である。いくつかの実施態様では、診断用抗体は、IgJ、Mz b 1又はTxndc5に特異的に結合する。いずれかの診断用抗体のいくつかの実施態様では、診断用抗体は非ヒト抗体である。いくつかの実施態様では、診断用抗体は、ラット、マウス又はウサギ抗体である。いくつかの実施態様では、診断用抗体はモノクローナル抗体である。いくつかの実施態様では、診断用抗体は直接的に標識される。

10

【0104】

代替的方法では、試料は、前記バイオマーカーに特異的な抗体と、抗体 - バイオマーカー複合体が形成されるために十分な条件下で接触し、その後前記複合体を検出し得る。バイオマーカーの存在は、複数の方法で、例えば血漿又は血清を含む多種多様の組織及び試料をアッセイするためのウェスタンブロット法及びELISA手順により検出可能である。このようなアッセイフォーマットを使用した多種多様のイムノアッセイ技術が利用可能である。例えば米国特許第4,016,043号及び同第4,424,279号を参照のこと。これらには、非競合タイプのシングルサイト及び2サイトの両方又は「サンドイッチ」アッセイと、従来競合結合アッセイとが含まれる。これらアッセイは、標的バイオマーカーに対する標識化抗体の直接的結合も含む。

20

【0105】

組織又は細胞試料中の選択されたバイオマーカーの存在及び/又は発現レベル/量は、機能アッセイ又は活性に基づくアッセイによっても試験することができる。例えば、バイオマーカーが酵素である場合、当技術分野で既知のアッセイを実施して、組織又は細胞試料中の所与の酵素活性の存在を決定又は検出することができる。

【0106】

特定の実施態様では、試料は、アッセイされるバイオマーカーの量の差及び使用される試料の品質の変動の両方、並びにアッセイの実行間の変動について正規化される。そのような正規化は、よく知られたハウスキーピング遺伝子、例えばACTBを含む特定の正規化バイオマーカーの発現を検出及び取り込むことにより達成され得る。あるいは、正規化は、化学分析された遺伝子のすべての平均若しくは中央シグナル又はその大きなサブセットに基づいてもよい(グローバル正規化アプローチ)。遺伝子ごとに、対象試料mRNA又はタンパク質の測定された正規化された量は、基準セットに見られる量と比較される。対象ごとに試験された試料当たりの各mRNA又はタンパク質の正規化された発現レベルは、基準セットで測定された発現レベルの割合として表すことができる。分析される特定の対象試料で測定される存在及び/又は現レベル/量は、この範囲内のある百分位にあり、これは、当該技術分野で周知の方法によって決定することができる。

30

【0107】

特定の実施態様では、遺伝子の相対的な発現レベルは以下の通り決定される：
 相対的発現遺伝子1試料1 = $2^{\text{exp}(\text{Ct}_{\text{ハウスキーピング遺伝子}} - \text{Ct}_{\text{遺伝子1}})}$ であり、Ctは試料で決定される。
 相対的発現遺伝子1基準RNA = $2^{\text{exp}(\text{Ct}_{\text{ハウスキーピング遺伝子}} - \text{Ct}_{\text{遺伝子1}})}$ であり、Ctは基準試料で決定される。
 正規化された相対的発現レベル1試料1 = (相対的発現遺伝子1試料1 / 相対的発現遺伝子1基準RNA) × 100である。
 Ctは閾値サイクルである。Ctは、反応内で生成された蛍光が閾値ラインを超えるサイクル数である。

40

【0108】

50

すべての実験は、様々な組織供給源（例えば、Clontech, Mountain View, CAからの基準RNA # 636538）からのRNAの包括的な混合物である参照RNAに正規化される。同一の基準RNAが各qRT-PCR実行に含まれており、異なる実験を実行する間に結果を比較することを可能にする。

【0109】

一実施態様において、試料は臨床試料である。別の実施態様では、試料は診断アッセイで用いられる。いくつかの実施態様では、試料は組織から得られる。組織生検は、代表的な組織片を得るためにしばしば使用される。あるいは、腫瘍細胞は、関係する細胞を含有すると知られているか又は考えられている組織又は流体の形態で間接的に得ることができる。遺伝子又は遺伝子産物は、組織、又は尿、痰、血清若しくは血漿等の他の身体試料から検出することができる。そのような身体試料をスクリーニングすることにより、標的遺伝子又は遺伝子産物についてそのような身体試料を試験することによって治療の進展をより容易にモニターすることができる。

10

【0110】

特定の実施態様では、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織は、単一試料、又は試験試料が得られたときとは異なる一又は複数の時点で得られる同一の対象若しくは個体からの組み合わせられた複数の試料である。例えば、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織は、試験試料が得られたときよりも早い時点で同一の対象又は個体から得られる。このような基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織は、疾患の初期診断中に基準試料が得られ、疾患が進行したときに試験試料が後に得られる場合に有用であり得る。

20

【0111】

特定の実施態様では、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織は、対象又は個体ではない一又は複数の健康な個体からの組み合わせられた多数の試料である。特定の実施態様では、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織は、対象又は個体ではない疾患又は障害を有する一又は複数の個体からの組み合わせられた多数の試料である。特定の実施態様では、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織は、正常組織からのプールRNA試料、又は対象又は個体ではない一又は複数の個体からのプール血漿若しくは血清試料である。特定の実施態様では、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織は、組織からのプールRNA試料、又は対象又は個体ではない疾患又は障害を有する一又は複数の個体からのプール血漿若しくは血清試料である。

30

【0112】

特定の実施態様では、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織は、試料細胞株である。特定の実施態様では、基準試料、基準細胞、基準組織、コントロール試料、コントロール細胞、又はコントロール組織は血液である。

【0113】

いくつかの実施態様では、試料は個体からの組織試料である。いくつかの実施態様では、組織試料は、血液又は尿試料である。いくつかの実施態様では、組織試料は血液試料である。

40

【0114】

いずれかの方法のいくつかの実施態様では、BTK阻害剤は小分子BTK阻害剤である。いくつかの実施態様では、小分子BTK阻害剤は、化合物(A)又はその薬学的に許容される塩である。

【0115】

いずれかの方法のいくつかの実施態様では、上記の実施態様のいずれかによる個体又は患者はヒトであってもよい。

50

【0116】

さらなる実施態様では、本明細書ではSLEを治療するための方法が提供される。一実施態様では、方法は、SLEを有する個体に有効量の小分子BTK阻害剤を投与することを含む。このような一実施態様では、方法は更に、個体に対し、後述するような少なくとも一の追加的な治療剤の有効量を投与することを含む。いくつかの実施態様では、個体はヒトであってもよい。

【0117】

本明細書に記載のBTK阻害剤は、単独で又は他の薬剤と組み合わせて治療に使用することができる。例えば、追加の治療薬は、抗炎症剤、免疫調節剤、化学療法剤、アポトーシス促進剤、神経栄養因子、心血管疾患を治療するための薬剤、肝疾患を治療するための薬剤、抗ウイルス剤、血液障害を治療するための薬剤、糖尿病を治療するための薬剤、及び免疫不全障害を治療するための薬剤であり得る。第二の治療剤は、NSAID抗炎症剤であってもよい。第二の治療剤は、化学療法剤であってもよい。組み合わせ医薬製剤又は投与計画の第2の化合物は、好ましくは、互いに悪影響を与えないように化合物(I)を補完する活性を有する。

10

【0118】

いくつかの実施態様では、追加の治療薬は、以下からなる群より選択される：コルチコステロイド（例えば、プレドニゾン、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン及びヒドロコルチゾン）；疾患修飾性抗リウマチ薬（*disease-modifying antih rheumatic drug*）（「DMARD」、例えば、免疫抑制又は抗炎症剤）；抗マラリア剤（例えば、ヒドロキシクロロキン及びクロロキン）；免疫抑制剤（例えば、シクロホスファミド、アザチオプリン、ミコフェノール酸モフェチル、メトトレキサート）；抗炎症剤（例えば、アスピリン、NSAID（例えば、イブプロフェン、ナプロキセン、インドメタシン、ナブメトン、セレコキシブ））；抗高血圧剤（例えば、カルシウムチャンネル遮断薬（例えば、アムロジピン、ニフェジピン）及び利尿薬（例えば、フロセミド））；スタチン（例えば、アトルバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチン、ピタバスタチン、プラバスタチン、ロスバスタチン及びシンバスタチンなど）；抗B細胞剤（例えば、抗CD20（例えば、リツキシマブ）、抗CD22）；抗Bリンパ球刺激剤（「抗BlyS」、例えば、ベリムマブ、プリシビモド）；1型インターフェロン受容体アンタゴニスト（例えば、アニフロルマブ）；T細胞調節因子（例えば、リゲリモド）；アパタセプト；抗凝固剤（例えば、ヘパリン、ワーファリン）；及びビタミンD補給剤。

20

30

【0119】

併用療法は、同時又は逐次レジメンで投与され得る。逐次的に投与される場合、その組み合わせは、二回以上の投与で投薬され得る。併用投与には、別個の製剤又は単一の薬学的製剤を使用する共投与及びいずれかの順序での連続投与が含まれ、好ましくは双方の（又はすべての）活性剤がその生物学的活性を同時に発揮する期間がある。上記の共投与される薬剤のいずれについても、好適な投与量は、現在使用されているものであり、追加の治療剤の混合作用（相乗効果）により減じられる可能性がある。

【0120】

併用療法は、一緒に使用される活性成分が、化合物を別々に使用することにより得られる効果の和を上回るように、相乗的であり得る。相乗効果は、活性成分が：（1）同時に投与又は送達されるとき；（2）交互に又は並行して投与されるとき；又は（3）他の何らかのレジメンによって、達成され得る。交互療法で送達される場合、化合物が逐次的に投与又は送達されるときに、相乗効果が達成され得る。一般に、交互療法中、各活性成分の有効用量は逐次的に、即ち連続して投与されるが、併用療法では、二つ以上の活性成分の有効用量が一緒に投与される。

40

【0121】

併用両方では、キットは（a）本開示の投与形態組成物を含む第1の容器、及び任意選択的に（b）本開示の投与形態組成物との共投与のための、そこに含有される第2の薬学的製剤を含む第2の容器を含み得る。そのような態様では、キットは、分けられた瓶又は

50

分けられたホイル小包 (p a c k e t) などの別個の組成物を含有するための容器を含むことができるが、別個の組成物は、分けられていない単一の容器の中に含有されてもよい。一般的に、キットは、個別の成分を投与するための指示書を含む。キット形態は、個々の成分を異なる投与形態 (例えば経口と非経口) で投与することが好ましいとき、異なる投与間隔で投与するとき、又は組み合わせの個々の成分の滴定が処方する医師により望まれるとき、特に有利である。

【 0 1 2 2 】

B T K 阻害剤は、経口、非経口、肺内、及び鼻腔内を含めた任意の適切な手段により投与ことができ、また、局所治療が望まれるのであれば、病巣内投与であってもよい。好ましい実施態様によれば、B T K 阻害剤は経口投与される。

10

【 0 1 2 3 】

B T K 阻害剤を含む経口投与形態は、限定されないが、B T K 阻害剤を含む錠剤若しくはカプセル又はその薬学的に許容される塩、及び一又は複数の薬学的添加剤が含まれる。いくつかの実施態様では、B T K 阻害剤を含む錠剤又はカプセルは、本明細書で提供される方法によって1日1回又は2回投与され得る。本明細書で提供される特定の実施態様では、経口投与形態は、化合物 (A) 又はその薬学的に許容される塩、及び一又は複数の薬学的に許容される添加剤を含む錠剤である。

【 0 1 2 4 】

非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内又は皮下投与が含まれる。投薬は、その投与が短期間か又は長期であるかどうかにより部分的に依存し、任意の適切な経路、例えば、静脈内又は皮下注射などの注射により行うことができる。限定されないが、様々な時点にわたる、単一回又は複数回投与、ポーラス投与、パルス注入を含む様々な投与スケジュールが本明細書で考慮される。

20

【 0 1 2 5 】

本明細書に記載のB T K 阻害剤は、医学行動規範に合致した様式で製剤化され、投薬され、投与され得る。この文脈において考慮すべき因子としては、治療される特定の疾患又は障害、治療される特定の哺乳動物、個々の患者の臨床状態、疾患又は障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与スケジュール及び医師にとって既知の他の因子が挙げられる。B T T K 阻害剤は、必要ではないが任意で、問題の疾患又は障害の予防又は治療のために現在使用されている一又は複数の薬剤とともに製剤化される。このような他の薬剤の有効量は、製剤中に存在するB T K 阻害剤の量、疾患又は障害又は治療の種類、及び上記の他の要因によって決まる。そのような他の薬剤は、一般的には本明細書に記載されているのと同じ用量及び投与経路で、又は本明細書に記載の用量の約1から99%で、又は経験的に/臨床的に妥当であると決定された任意の用量及び任意の経路で使用される。

30

【 0 1 2 6 】

I I I . B T K 阻害剤を含む治療組成物

本明細書の組成物、方法及びキットには、小分子B T K 阻害剤が提供されている。本明細書で提供される小分子B T K 阻害剤は、好ましくは、結合ポリペプチド又は抗体以外の有機分子であり、既知の方法を使用して、同定及び化学的に合成され得る。結合有機分子のサイズは、通常2000ダルトン未満、あるいは約1500、750、500、250又は200ダルトン未満であり、本明細書に記載のB T K に好ましくは特異的に結合することができるそのような有機小分子は、既知の技術を使用して、過度の実験をすることなく同定され得る。この点については、ポリペプチド標的に結合することができる分子の有機小分子ライブラリをスクリーニングするための技術が当該技術分野でよく知られていることが記述されている (例えば、P C T 出願国際公開第2000/00823号及び同第2000/39585号を参照のこと) 。結合有機小分子は、例えば、アルデヒド、ケトン、オキシム、ヒドラゾン、セミカルバゾン、カルバジド、一級アミン、二級アミン、三級アミン、N - 置換ヒドラジン、ヒドラジド、アルコール、エーテル、チオール、チオエーテル、ジスルフィド、カルボン酸、エステル、アミド、尿素、カルバメート、カーボネート、ケタール、チオケタール、アセタール、チオアセタール、アリーールハロゲン化物、

40

50

アリールスルホネート、アルキルハロゲン化物、アルキルスルホネート、芳香族化合物、複素環式化合物、アニリン、アルケン、アルキン、ジオール、アミノアルコール、オキサゾリジン、オキサゾリン、チアゾリジン、チアゾリン、エナミン、スルホンアミド、エポキシド、アジリジン、イソシアネート、スルホニルクロリド、ジアゾ化合物、酸塩化物等であり得る。

【0127】

いずれかの方法のいくつかの実施態様では、BTK阻害剤は、以下からなる群より選択される：イブルチニブ、アカラブルチニブ、スペブルチニブ、BIIB068 (Biogen)、BMS-986195 (Bristol-Myers Squibb)、BMS-986142 (Bristol-Myers Squibb)、BMS-935177 (Bristol-Myers Squibb)、M2951 (Merck KGaA)、PRN-1008 (Principia Biopharma)、HM71224/LY3337641 (Hanmi/Lilly)、ONO-4059/GS-4059 (Gilead/Ono)、AC0058 (ACEA Biosciences)、AC0025 (ACEA Biosciences)、ABBV-599 (AbbVie)、ABBV-105 (AbbVie)、PF-303 (Pfizer)、BI-BTK1 (Boehringer Ingelheim)、CC90008 (Celgene)、AS550 (Carna Biosciences)、ARQ 531 (Arqule)、AEG42766 (Aegera Therapeutics)、BGB-3111 (Beigene)、RN486 (Simcere Pharma)、HCI-1401 (LSK BioPharma/Hustman Cancer Inst.)、KBP-7536 (KBP Bioscience)、RDX002 (RedX Biopharma)、SNS-062 (Sunesis)、TAS5315 (大鵬薬品)、TAX-020 (武田)、WX486/WXFL-10230486 (WuXi AppTec/Humanwell)、及びX-022 (X-Rx Discovery)。

10

20

【0128】

いくつかの実施態様では、BTK阻害剤は、化合物(A)又はその薬学的に許容される塩である。本明細書で提供されるBTKの薬学的に許容される塩は、本明細書の方法で使用され得る。本明細書で使用される場合、用語「薬学的に許容される塩」とは、本明細書に記載の化合物に見られる特定の置換基に応じて、比較的非毒性の酸又は塩基で調製される活性化合物の塩を含むことを意味する。本発明の化合物が比較酸性の官能基を含有するとき、そのような化合物の中性形態を純粋な又は適切な不活性溶媒中の十分な量の所望の塩基と接触させることにより、塩基付加塩を得ることができる。薬学的に許容される無機塩基由来の塩の例には、アルミニウム、アンモニウム、カルシウム、銅、第二鉄、第一鉄、リチウム、マグネシウム、マンガン、亜マンガ、カリウム、ナトリウム、亜鉛等が含まれる。薬学的に許容される有機塩基由来の塩には、アルギニン、ベタイン、カフェイン、コリン、N、N'-ジベンジルエチレンジアミン、ジエチルアミン、2-ジエチルアミノエタノール、2-ジメチルアミノエタノール、エタノールアミン、エチレンジアミン、N-エチルモルホリン、N-エチルピペリジン、グルカミン、グルコサミン、ヒスチジン、ヒドラバミン、イソプロピルアミン、リジン、メチルグルカミン、モルホリン、ピペラジン、ピペリジン、ポリアミン樹脂、プロカイン、プリン、テオブロミン、トリエチルアミン、トリメチルアミン、トリプロピルアミン、トロメタミンなどの置換アミン、環状アミン、天然アミンなどを含む、一級、二級および三級アミンの塩が含まれる。本発明の化合物が比較塩基性の官能基を含有するとき、そのような化合物の中性形態を純粋な又は適切な不活性溶媒中の十分な量の所望の酸と接触させることにより、酸付加塩を得ることができる。薬学的に許容される酸付加塩の例には、塩酸、臭化水素酸、硝酸、炭酸、一水素炭酸、リン酸、一水素リン酸、二水素リン酸、硫酸、一水素硫酸、ヨウ化水素酸又は亜リン酸等のような無機酸由来のもの、並びに酢酸、プロピオン酸、イソブチル酸、マロン酸、安息香酸、コハク酸、スペリン酸、フマル酸、マンデル酸、フタル酸、ベンゼンスルホン酸、p-トリルスルホン酸、クエン酸、酒石酸、メタンスルホン酸等のような比較

30

40

50

的非毒性の有機酸由来の塩が含まれる。また、アルギン酸塩等のアミノ酸の塩、及びグルクロン酸又はガラクトリン酸等の有機酸の塩も含まれる（例えば、Berge, S. M., et al., 「Pharmaceutical Salts」, Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19を参照のこと）。本発明の特定の化合物は、化合物が塩基付加塩又は酸付加塩のいずれかに変換することを可能にする塩基性官能基と酸性官能基の両方を含有する。

【0129】

化合物の中性形態は、塩を塩基又は酸と接触させること及び従来の方法で親化合物を単離することにより、再生することができる。化合物の親形態は、極性溶媒中の溶解度等の特定の物理的特性において様々な塩形態とは異なるが、それ以外は、塩は、本発明の目的では、化合物の親形態と同等である。

10

【0130】

塩形態に加えて、本発明は、プロドラッグ形態である化合物を提供する。本明細書で使用される場合、用語「プロドラッグ」とは、生理的条件下で容易に化学変化を受け、本発明の化合物を提供する化合物を指す。さらに、プロドラッグは、*ex vivo*環境において化学的又は生化学的方法によって本発明の化合物に変換され得る。例えば、プロドラッグは、適切な酵素又は化学試薬と共に経皮パッチ容器に置かれたとき、本発明の化合物にゆっくりと変換され得る。

【0131】

本発明のプロドラッグは、アミノ酸残基、又は二以上（例えば、二、三又は四）のアミノ酸残基のポリペプチド鎖がアミド又はエステル結合を通じて、本発明の化合物の遊離アミノ、ヒドロキシ又はカルボン酸基に共有結合する化合物を含む。アミノ酸残基は、限定されないが、通常三文字の記号で表される20の天然に存在するアミノ酸を含み、また、ホスホセリン、ホスホスレオニン、ホスホチロシン、4-ヒドロキシプロリン、ヒドロキシリジン、デモシン、イソデモシン、ガンマ-カルボキシグルタメート、馬尿酸、オクタヒドロインドール-2-カルボン酸、スタチン、1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸、ペニシラミン、オルニチン、3-メチルヒスチジン、ノルバリン、ベータ-アラニン、ガンマ-アミノ酪酸、シトルリン、ホモシステイン、ホモセリン、メチル-アラニン、パラ-ベンゾイルフェニルアラニン、フェニルグリシン、プロパルギルグリシン、サルコシン、メチオニンスルホン及び*tert*-ブチルグリシンも含む。

20

【0132】

追加の種類のプロドラッグも包含される。例えば、本発明の化合物の遊離カルボキシル基は、アミド又はアルキルエステルとして誘導体化され得る。別の例として、遊離ヒドロキシ基を含む本発明の化合物は、ヒドロキシ基を、限定されないが、Fleisher, D. et al., (1996) Improved oral drug delivery: solubility limitations overcome by the use of prodrugs *Advanced Drug Delivery Reviews*, 19:115に概説されるように、リン酸エステル、ヘミスクシネート、ジメチルアミノアセテート又はホスホリルオキシメチルオキシカルボニル基等の基に変換することにより、プロドラッグとして誘導体化され得る。ヒドロキシ及びアミノ基のカルバメートプロドラッグも含まれ、ヒドロキシ基の炭酸プロドラッグ、スルホン酸エステル及び硫酸エステルも含まれる。アシル基が、限定されないが、エーテル、アミン及びカルボン酸官能基で置換されていてもよいアルキルエステルであり得るか、アシル基が上記のアミノ酸エステルである、(アシルオキシ)メチル及び(アシルオキシ)エチルエステルとしてのヒドロキシ基の誘導体化も、包含される。このタイプのプロドラッグは、*J. Med. Chem.*, (1996), 39:10に記載される。より具体的な例には、アルコール基の水素原子の、(C₁₋₆)アルカノイルオキシメチル、1-(C₁₋₆)アルカノイルオキシ)エチル、1-メチル-1-(C₁₋₆)アルカノイルオキシ)エチル、(C₁₋₆)アルコキシカルボニルオキシメチル、N-(C₁₋₆)アルコキシカルボニルアミノメチル、サクシノイル、(C₁₋₆)アルカノイル、アルファ-アミノ(C₁₋₄)アルカノイル、アリールアシル及びアルファ-アミノアシル、又はアルファ-アミノアシル-アルファ-アミノアシル(各アルファ-アミノアシル基は、独立して、天然に存在するL-アミノ酸、P(O)(OH)₂、-P(O)(O(C₁₋₆)アル

30

40

50

キル)₂又はグリコシル(炭水化物のヘミアセタール形態のヒドロキシル基の除去から得られるラジカル)から選択される)などの基での置換が含まれる。

【0133】

プロドラッグ誘導体の追加の例については、例えば、a) Design of Prodrugs, edited by H. Bundgaard, (Elsevier, 1985) and Methods in Enzymology, Vol. 42, p. 309-396、K. Widder, et al. 編(Academic Press, 1985); b) A Textbook of Drug Design and Development, Krogsgaard-Larsen及びH. Bundgaard編、Chapter 5 「Design and Application of Prodrugs」, by H. Bundgaard p. 113-191 (1991); c) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8:1-38 (1992); d) H. Bundgaard, et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77:285 (1988); 及びe) N. Kakeya, et al., Chem. Pharm. Bull., 32:692 (1984)を参照のこと。これらは参照により本明細書に具体的に援用される。

10

【0134】

本発明の特定の化合物は、非溶媒和形態、及び水和形態を含む溶媒和形態で存在し得る。概して、溶媒和形態は、非溶媒和形態と同等であり、本発明の範囲内に包含されることが意図される。本発明の特定の化合物は、多数の結晶質又は非晶質形態で存在し得る。概して、全ての物理的形態は、本発明で検討される使用について同等であり、本発明の範囲内であることが意図される。

【0135】

本発明の特定の化合物は、不斉炭素原子(光学中心)又は二重結合を有する;ラセミ体、ジアステレオマー、幾何異性体、位置異性体及び個々の異性体(例えば、別個の光学異性体)はすべて、本発明の範囲内に包含されることが意図される。

20

【0136】

I V . 薬学的製剤

B T K阻害剤の薬学的製剤が、本明細書の方法及びキットで提供される。

【0137】

いずれかの方法のいくつかの実施態様では、B T K阻害剤(例えば化合物(A)又はその薬学的に許容される塩)は、患者の体重に基づき、約0.1mg/kg/日から約100mg/kg/日、約0.5mg/kg/日から約200mg/kg/日、約1mg/kg/日から約10mg/kg/日の投与量で投与される。いくつかの実施態様では、化合物(A)又はその薬学的に許容される塩は、約10から800mgの投与量で錠剤として投与される。いくつかの実施態様では、化合物(A)は、約25から300mgの投与量で錠剤中の遊離塩基として投与される。いくつかの実施態様では、錠剤は、遊離塩基として25から300mgの化合物(A)及びフマル酸を含み、ここで、化合物(A)対フマル酸の重量比は、約1:5から約3:1;又は約1:2から約2:1;又は約1:1.5から約1.5:1である。いくつかの実施態様では、錠剤は、遊離塩基として25から300mgの化合物(A)、及びフマル酸を含み、ここで、フマル酸含有量は、約5重量%から約50重量%、約5重量%から約40重量%、約5重量%から約30重量%、約10重量%から約30重量%、約20重量%から約25重量%、約5重量%から約15重量%、又は約10重量%から約15重量%である。上記の実施態様のいくつかでは、錠剤の重量は、約100mg、約200mg、約300mg、約400mg、約500mg、約600mg、約700mg、約800mg、約900mg、又は約1000mgである。いくつかの実施態様では、錠剤は、充填剤、結合剤、崩壊剤、潤滑剤及び流動促進剤から選択される少なくとも一つの薬学的に許容される添加剤をさらに含む。いくつかの実施態様では、錠剤は、ラクトース及び微結晶性セルロースを含む。

30

40

【0138】

本開示の錠剤組成物は、限定されないが、充填剤(希釈剤)、崩壊剤、結合剤、流動促進剤及び潤滑剤から選択される一又は複数の薬学的に許容される添加剤をさらに適切に含み得る。充填剤(又は希釈剤)は、錠剤を作製する粉末状の薬剤のかさ容積を増加させるために使用され得る。崩壊剤は、摂取時に錠剤が小さな破片、理想的には個々の薬物粒子に分解することを促し、それにより薬物の急速な溶解と吸収を促進するために使用され得

50

る。結合剤は、顆粒及び錠剤が必要な機械的強度で形成され、圧縮後に錠剤と一緒に保持することができ、包装、輸送、及び通常取り扱い中に成分粉末に崩壊するのを防ぐことを確実にするために使用され得る。流動促進剤は、製造中に錠剤を作製する粉末の流動性を改善するために使用され得る。潤滑剤は、錠剤化粉末が製造中に錠剤をプレスするために使用される機器に接着しないことを確実にするため、混合及びプレス中に粉末の流れを改善するため、及び完成した錠剤が機器から取り出されるときに摩擦及び崩壊を最小限にすることを確実にするために使用され得る。

【0139】

充填剤及び結合剤は、リン酸水素カルシウム、微結晶性セルロース (Avicel (登録商標))、ラクトース、又は任意の他の適切なバルク化剤を含み得る。適切な充填剤の例には、微結晶性セルロース、例えば Avicel PH 101、Avicel PH 102、Avicel PH 200、Avicel PH 105、Avicel DG、Ceolus KG 802、Ceolus KG 1000、SMCCSO 及び Vivapur 200；ラクトース一水和物、例えば Lactose FastFlow；他の添加剤と共に加工処理された微結晶性セルロース、例えばラクトース一水和物と共に加工処理された微結晶性セルロース (Microcelac 100) 及びコロイド状二酸化ケイ素と共に加工処理された微結晶性セルロース (SMCCSO、Prosolv 50 及び Prosoolv HD 90)；イソマルツロース誘導体の混合物、例えば galenIQ；及び他の適切な充填剤とそれらの組み合わせが含まれる。充填剤は、顆粒内成分及び/又は顆粒外成分として存在し得る。いくつかの特定の態様では、本開示の錠剤組成物は、ラクトース及び微結晶性セルロースを含む。

10

20

【0140】

崩壊剤は、開示される製剤に含まれ得る。コンパクト内の顆粒を互いに分離することを促進させるため、及び遊離された顆粒の分離を維持するために含まれ得る。崩壊剤は、顆粒内成分及び/又は顆粒外成分として存在し得る。崩壊剤は、架橋ポリマー、例えば架橋ポリビニルピロリドン及び架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム又はクロスカルメロースナトリウムなどの任意の適切な崩壊剤を含み得る。いくつかの特定の態様では、崩壊剤はクロスカルメロースナトリウムである。崩壊剤含有量は、適切には、約1重量%、約1.5重量%、約2重量%、約2.5重量%、約3重量%、約3.5重量%、約4重量%、約4.5重量%又は約5重量%及びその範囲、例えば1重量%から約5重量%、又は約2重量%から約4重量%である。

30

【0141】

流動促進剤は、例えば、コロイド状二酸化ケイ素 (高度に分散したシリカ (Aerossil (登録商標)) を含む)、又は任意の他の適切な流動促進剤、例えば動物性若しくは植物性脂肪又はワックスを含み得る。いくつかの特定の態様では、流動促進剤はヒュームドシリカである。流動促進剤含有量は、適切には、0.1重量%、約0.5重量%、約1重量%、約1.5重量%、約2重量%、約2.5重量%又は約3重量%、及びその範囲、例えば約0.1重量%から約3重量%、約0.5重量%から約2重量%、約0.5重量%から約1.5重量%である。

40

【0142】

潤滑剤は、薬学的組成物中の顆粒の圧縮に使用され得る。潤滑剤は、例えば、ポリエチレングリコール (例えば約1000から約6000の分子量を有する)、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、フマル酸ステアリルナトリウム、タルク、又は任意の他の適切な潤滑剤を含み得る。いくつかの特定の態様では、潤滑剤は、ステアリン酸マグネシウム及び/又はフマル酸ステアリルナトリウムである。潤滑剤は、顆粒内成分及び/又は顆粒外成分として存在し得る。潤滑剤含有量は、適切には、約0.5重量%、約1重量%、約1.5重量%、約2重量%、約2.5重量%、約3重量%、約3.5重量%、約4重量%、約4.5重量%又は約5重量%、及びその範囲、例えば約0.5重量%から約5重量%、約1重量%から約4重量%、約1重量%から約3重量%、又は約1重量%から約2重量%である。

50

【 0 1 4 3 】

フィルムコーティング等のコーティングは、本開示の錠剤に塗布されてもよい。フィルムコーティングは、例えば、錠剤を飲み込むことを容易にするのに役立つように使用され得る。フィルムコーティングは、味及び外見を改善するためにも利用され得る。必要に応じて、フィルムコーティングは脂溶性コーティングであってもよい。フィルムコーティングは、ポリマーフィルム形成材料、例えばヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、アクリレート又はメタクリレートコポリマー、及びポリビニルアルコール - ポリエチレングリコールグラフトコポリマー、例えば *Opadry* 及び *IR* を含み得る。フィルム形成ポリマーに加えて、フィルムコーティングは、可塑剤、例えばポリエチレングリコール、界面活性剤、例えば *Tween* (登録商標) タイプ、及び任意選択的に顔料、例えば二酸化チタン又は酸化鉄をさらに含み得る。フィルムコーティングは、粘着防止剤としてタルクを含み得る。フィルムコーティングは、典型的には、投与形態の約 5 重量%未満を占める。

10

【 0 1 4 4 】

本明細書中の製剤はまた、治療される特定の適応症に必要な一を超える活性成分、好ましくは互いに悪影響を及ぼさない相補的な活性を有するものを含有してもよい。そのような活性成分は、適切には、意図する目的に有効な量の組み合わせで存在する。

【 0 1 4 5 】

活性成分は、例えばコアセルベーション技術又は界面重合法によって調製されたマイクロカプセル、例えばそれぞれヒドロキシメチルセルロースマイクロカプセル又はゼラチン - マイクロカプセル及びポリ - (メチルメタクリレート (*methyl methacrylate*)) マイクロカプセルに、コロイド薬物送達システム (例えばリポソーム、アルブミンマイクロスフィア、マイクロロエマルジョン、ナノ粒子、及びナノカプセル) に、又はマクロエマルジョンに封入することができる。そのような技術は、Remingtonの *Pharmaceutical Sciences 16th edition*, Osol, A. Ed. (1980) に開示されている。

20

【 0 1 4 6 】

徐放性製剤が調製されてもよい。徐放性製剤の好適な例は、BTK阻害剤を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、そのようなマトリクスは、成形品、例えばフィルム又はマイクロカプセルの形態である。

【 0 1 4 7 】

in vivo 投与に使用される製剤は、一般的に滅菌されている。滅菌状態は、例えば滅菌濾過膜を通して濾過により容易に達成することができる。

30

【 0 1 4 8 】

V. 製造品

別の実施態様では、上述した疾患の治療、予防、及び/又は診断に有用な材料を含有する製造品が提供される。製造品は、容器と容器上又は容器に付随するラベル又は添付文書を含む。好適な容器は、例としてボトル、バイアル、シリンジ、IV輸液バッグなどを含む。容器はガラス又はプラスチックなどの様々な材料から形成されうる。容器は、病状の治療、予防、及び/又は診断に効果的である、単独の又は別の組成物と併用の組成物を収容し、滅菌アクセスポートを有しうる (例えば、容器は皮下注射針で貫通可能なストッパーを有する静脈内溶液バッグ又はバイアルであってもよい)。該組成物中の少なくとも一の活性剤は、本明細書に記載のBTK阻害剤である。ラベル又は添付文書は、組成物が選択された状態の治療のために使用されることを示している。さらに、製造品は、(a) BTK阻害剤を含む組成物の中に収容する第1の容器; 及び (b) 更なる細胞傷害性剤又はその他の治療剤を含む組成物の中に収容する第2の容器を含み得る。

40

【 0 1 4 9 】

いくつかの実施態様では、製造品は、容器、前記容器上のラベル、及び前記容器中に含有される組成物を含み; ここで、組成物は、一又は複数の試薬 (例えば、一又は複数のバイオマーカー、又は本明細書に記載の一又は複数のバイオマーカーに対するプローブ及び/又はプライマーに結合する一次抗体 (例えば、B-9 Santa Cruz Bio

50

technology抗体)、組成物が試料中の一又は複数のバイオマーカの存在を評価するために使用され得ることを示す容器のラベル、並びに試料中の一又は複数のバイオマーカの存在を評価するための試薬を使用するための説明書を含む。製造品は、試料を調製するため及び試薬を利用するための説明書及び材料のセットをさらに含み得る。いくつかの実施態様では、製造品は、一次抗体及び二次抗体の両方のような試薬を含んでもよく、二次抗体は、標識、例えば酵素標識にコンジュゲートしている。いくつかの実施態様では、製造品は、本明細書に記載の一又は複数のバイオマーカに対する一又は複数のプローブ及び/又はプライマーをさらに含み得る。

【0150】

本実施態様における製造品は、組成物が特定の病態を治療するために使用され得ることを示す添付文書を更に含んでもよい。或いは、又は加えて、製造品は、薬学的に許容可能な緩衝液、例えば注射用静菌水(BWFI)、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー溶液及びデキストロス溶液を含む第二(又は第三)の容器を更に含んでもよい。製造品は、他のバッファー、希釈剤、フィルタ、針、及びシリンジを含めた、商業的及び使用者の観点から望ましいその他の材料をさらに含んでもよい。

10

【0151】

製造品中の他の任意の成分は、一又は複数のバッファー(例えば、ブロックバッファー、洗浄バッファー、基質バッファー等)、酵素標識によって化学的に改変される基質(例えば色素原)等の他の試薬、エピトープ回収溶液、コントロール試料(ポジティブ及び/又はネガティブコントロール)、コントロールスライド(単数及び複数)を含む。

20

【実施例】

【0152】

以下は、方法及び組成物の実施例である。上に提供された一般的な説明を前提として、他の様々な実施態様が実施され得ることが理解される。

【0153】

血液試料分析: 3遺伝子形質芽細胞シグネチャー発現アッセイ。PAXgene RNAチューブ(PreAnalytiX)中に血液を回収し; 製造業者の指示に従い(Qiagen)市販のキットを使用して、総RNAを抽出した。

バイオマーカ: IgJ、TXNDC5、MZB1。基準遺伝子: TMEM55B

【0154】

Human Genome U133 Plus 2.0アレイ(Affymetrix Inc., Santa Clara, CA)により、血液試料中の候補バイオマーカ遺伝子の発現を評価した。Asuragen Inc. (Austin, TX)により、マイクロアレイハイブリダイゼーションを実施した。ロバストマルチアレイ平均法(Robust Multi-array Averaging)(RMA)を使用して未加工のCELファイルデータを要約及び正規化し、Rand Bioconductorを使用して分析した。

30

【0155】

あるいは、Fluidigm qPCRアッセイにより血液試料中の候補バイオマーカ遺伝子を数値化した。IgJ、TXNDC5及びMZB1の平均から3遺伝子スコアを計算し、基準遺伝子TMEM55Bをして正規化した。Cobas 4800プラットフォーム(Roche Molecular Systems)上で展開されたこのアッセイを使用して、血液試料を評価した。

40

【0156】

実施例1: 形質芽細胞トランスクリプトームの特徴づけ

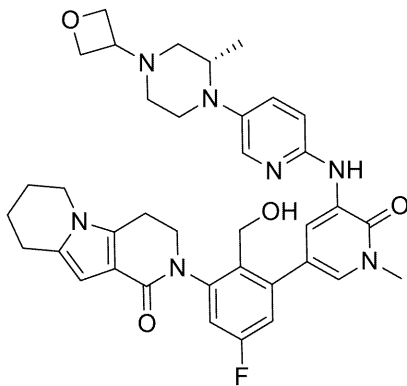
*in vitro*分化CD20⁺CD38⁺形質芽細胞、CD20⁺CD27⁺活性化B細胞及びCD20⁺CD27⁻ナイーブB細胞の転写プロファイリングを実施し、B細胞サブセット間の強力な分化発現で遺伝子を同定した(図1A-1)。0.001の偽発見率(FDR)で活性化B細胞又はナイーブB細胞のいずれかよりも形質芽細胞で>10倍高く発現した86の遺伝子を同定した。これらのデータのさらなる改良を実施して、形質芽細胞に>5nRPKMを有する遺伝子のみを含め、合計40の遺伝子を得た。これ

50

らの遺伝子の多くには、重鎖及び軽鎖セグメント、さらには免疫グロブリンタンパク質の生合成に關与する遺伝子が含まれていた。免疫グロブリン遺伝子座の一部ではないバイオマーカー候補が選択されたため、これらは候補遺伝子のリストから削除された(図1B)

【0157】

形質芽細胞の分化は、*in vitro*での形質芽細胞分化アッセイ(ヒト記憶B細胞が分化条件に置かれ、続いて、 $CD20^{low}CD38^{++}$ 形質芽細胞についてのフローサイトメトリー定量化を使用して5日後に測定された)を実施することによる、ブルトンチロシンキナーゼ(BTK)の活性により制御されたことを確認した。BTKキナーゼ活性の特異的且つ強力な阻害剤であるGDC-0852の使用は、CD40L誘導形質芽細胞分化が用量依存的に阻害された(図7)。GDC-0852は、(S)-2-(5-フルオロ-2-(ヒドロキシメチル)-3-(1-メチル-5-(5-(2-メチル-4-(オキサタン-3-yl)-1)ピペラジン-1-イル)ピリジン-2-イルアミノ)-6-オキソ-1,6-ジヒドロピリジン-3-イル)-フェニル)-3,4,6,7,8,9-ヘキサヒドロピリド[3,4-b]インドリジン-1(2H)-オンであり、その構造は以下に示す:



【0158】

選択されたバイオマーカーの候補が、高い感受性及び特異性で試料中の形質芽細胞の画分を正確に決定し得ることを確実にするために、3人のドナーに由来する*in vitro*で分化した形質芽細胞を40,000から39細胞まで段階的に2倍希釈し、2人の別々のドナーに由来する1,000,000 PBMCにした。候補形質芽細胞マーカー遺伝子の発現レベルを、Fluidigmを使用して評価し、ハウスキーピング遺伝子、HPRT1に対するCtとして報告した。線形回帰を使用してlog10形質芽細胞頻度により予測された候補遺伝子のCtをモデル化し、形質芽細胞ドナー及びPBMCドナーを共変量として使用した。候補遺伝子の大部分は、形質芽細胞の頻度と強い関連性を示し、形質芽細胞ドナー間の差は最小限であった。3遺伝子、IGJ、MZB1及びTXND C5は、特に良好に機能し、それぞれ、0.84、0.75及び0.69のr2を示した(図2B-1、2B-2、2B-3、2B-4)。3遺伝子の平均をシグネチャースコアとして取得すると、r2が0.79のシグネチャースコアが得られた。

【0159】

*in vivo*で分化した形質芽細胞の遺伝子シグネチャーを検証するために、1週間前にインフルエンザワクチンを接種された5人の健康なドナーから直接選別された形質芽細胞での発現を測定した。三つの候補バイオマーカー遺伝子の全ては、ナイーブ及び記憶B細胞の両方と比較して、形質芽細胞でより高度に発現した(図2C-1、2C-2、2C-3、2C-4)。

【0160】

実施例2:形質芽細胞マーカー遺伝子は、*in vivo*での形質芽細胞の頻度と相関している。

10

20

30

40

50

対にされたRNA配列決定データを有するROSEフェーズII臨床試験[3]のループス患者のコホートでフローサイトメトリーを使用して、全血中の形質芽細胞の頻度を測定した。選択された形質芽細胞シグネチャー遺伝子は、IgD⁻CD19⁺CD27⁺⁺CD38⁺⁺形質芽細胞の頻度との高度な相関を表すことを示した(図2D-1、2D-2、2D-3、2D-4)。IGJ、MZB1及びTXNDC5は、形質芽細胞含有量と最高の相関係数を示し、それぞれスピアマン相関係数は0.66、0.71、及び0.71である。三つのシグネチャー遺伝子の平均をシグネチャーとして取得することにより、形質芽細胞の頻度との強い相関を示す(スピアマン = 0.71)。これらの結果は、形質芽細胞の相対存在量が、選択された3遺伝子シグネチャーを使用して全血試料中で測定することができることを実証している。

10

【0161】

実施例3：形質芽細胞シグネチャーは、SLEの疾患活動性の増加と相関している。

先の研究は、形質芽細胞の頻度と、エリテマトーデスのエストロゲンの安全性-全身性エリテマトーデスの疾患活動性指数(SLEDAI)スコアによって測定された疾患重症度との間の強い相関を実証している。この相関は、静止状態の疾患を有する患者と活動性疾患を有する患者との差異により引き起こされるとみられる。EXPLOREフェーズII臨床試験[4]の中程度から重症の腎外ループスのコホート内を見ると、形質芽細胞シグネチャーは、疾患活動性と低い有意である相関を示すことが分かった(スピアマン = 0.19、p = 0.03、図3A)。この相関を引き起こすSLEDAIの項目をより詳しく見ると、特に三つのサブスコアがより高い形質芽細胞の存在量と関連していることがわかった：DNA結合、低い補体値及びリンパ球減少(図3B-1、3B-2、3B-3)。

20

【0162】

多数のループス患者のコホートにおける形質芽細胞の存在量と補体成分C3及びC4の血清濃度との間に中程度の負の相関を発見した(それぞれスピアマン = -0.34、-0.38、図3C)。これらのコホートにおける形質芽細胞含有量と抗二本鎖DNA抗体の力価との間にも中程度の相関を観察した(スピアマン = 0.39、図3C-1、3C-2、3C-3)。

【0163】

ループス患者の大部分は、インターフェロン活性の転写シグネチャーを示す[2, 5]。形質芽細胞シグネチャーは、3遺伝子シグネチャーを使用して測定されたインターフェロン活性と中程度の相関を示した(図3D-1及び3D-2; [5])。相関は、高レベルのインターフェロン活性を有する患者と形質芽細胞遺伝子が低発現である最低のインターフェロンシグネチャー患者とのサブセットにおける形質芽細胞シグネチャー発現の増大により引き起こされると見られ、その一方、高インターフェロン活性を有する患者は、低レベルと高レベルが混合した形質芽細胞遺伝子発現を示した。しかしながら、形質芽細胞シグネチャーは、インターフェロンシグネチャーと独立して、疾患重症度及び血清学的活性と相関し、赤池の情報量基準を指標とする後方モデル選択を使用して、形質芽細胞及びインターフェロンシグネチャーは、血清補体レベルを予測し、形質芽細胞シグネチャー単独で抗dsDNA抗体価及びSLEDAIを予測した。

30

40

【0164】

複合スコアとして、又は個別の疾患ドメインについての、形質芽細胞シグネチャーと、英国ループス評価グループ(BILAG)活動性指数との間に関連は見られなかった。これらのデータは、自己抗体、リンパ球減少症、低補体血症により引き起こされる血清学的疾患活動性における形質芽細胞の役割を支持する。

【0165】

実施例4：リツキシマブ治療は、形質芽細胞シグネチャーを減少させる

SLEにおけるリツキシマブの安全性及び有効性を評価するフェーズII臨床試験の中程度から重症のループス患者の二つのコホートから、形質芽細胞シグネチャー値を回収した。コホートは、ループス腎炎(LUNAR)又は腎外ループスのいずれかを有する患者

50

であった (EXPLORER) [4, 6]。年齢、人種、併用薬、インターフェロン活性、SLEDAI、診察、治療群及びそれらの相互作用の共変量を組み入れる、ランダム効果としてモデル化された患者との治療中の形質芽細胞シグネチャー値の混合効果のモデル化は、特にリツキシマブで治療された患者内の形質芽細胞シグネチャーにおける深刻な減少を同定した (図4A、4B)。この効果は、リツキシマブ注入後2週間の時点で最も顕著であり、時間の経過とともに効果が減少した。EXPLORER治療では、リツキシマブの4回目の注入の2週間後、第28週で3.48倍の最大減少が観察された ($p = 2 \times 10^{-11}$)。同様に、LUNAR治療では、最低レベルの形質芽細胞シグネチャー発現が、第28週の時点で3.31倍の減少で観察された ($p = 0.0011$)。

【0166】

EXPLORER治療では、マウス-ヒトキメラ抗体 (HACA) に対する抗体の存在について患者をモニターした。大抵のリツキシマブで治療された患者は、形質芽細胞シグネチャーの減少を示したが、抗薬物抗体を生じ続けた患者は、リツキシマブ治療後の形質芽細胞シグネチャーの減少がないことを示す (図4C)。上記と同一の線形混合効果モデルを使用して、HACAを生じ続ける患者において2.8倍高い形質芽細胞マーカー遺伝子の発現を発見した ($p = 0.0007$)。

【0167】

実施例5：ループス標準治療の治療は形質芽細胞シグネチャーを変える

以前の研究は、異なる免疫抑制剤治療と形質芽細胞関連遺伝子の発現の減少との関連を同定した [7]。EXPLORER臨床試験からのスクリーニング試料を見ると、アザチオプリンで治療された患者と比較して、ミコフェノール酸又はメトトレキサートで治療された患者においては、はるかに低い形質芽細胞シグネチャー発現が見られた (図5A)。LUNAR治療の患者において形質芽細胞シグネチャー遺伝子の発現が低下する傾向は、ベースラインでミコフェノール酸治療を受けていた患者で観察された (図5B) が、MMF治療プールには比較的少数の患者が存在した。

【0168】

実施例6：患者の人種/民族性は形質芽細胞シグネチャーレベルに影響する

バイオマーカーレベルは、患者集団間で異なることが多い。データ分析により、EXPLORER及びROSEの両方の臨床試験集団において、アフリカ系又はヒスパニック系の患者と比較して、ヨーロッパ系の患者の形質芽細胞シグネチャーのレベルが有意に低いことが明らかになった。これは、インターフェロン活性、年齢、及び疾患の重症度を説明するときには当てはまった (図6A、6B、6C)。

【0169】

実施例7：形質芽細胞の分化に対するBTK阻害の効果

形質芽細胞の分化：健康なドナーPBMCから記憶B細胞を単離した (Miltenyi記憶B細胞単離キット)。形質芽細胞の分化のために、その後、サイトカイン、IL-2 (20U/ml)、IL-10 (50ng/ml)、IL-15 (10ng/ml)、IL-6 (50ng/ml)、IFNa (10ng/ml) の存在下で 1.5×10^5 /ml の記憶B細胞を培養し、ODN2006 (TLR-9リガンド) 5ug/ml 又はCD40L (3ug/ml) のいずれかで5日間刺激した。10uMから開始する阻害剤の3倍用量漸増法を使用して、ビヒクル単独 (DMSO) 及び様々な濃度のGDC-0852の存在下で形質芽細胞の分化を実施した。フローサイトメトリーを実施して、(CD20⁻CD38⁺) 形質芽細胞の割合を列挙し、GDC-0852による阻害を評価した。

【0170】

RNAの調製：DMSO及びGDC-0852 (370nM) 処理細胞 (n=4) から5日目の培養細胞からRNAを抽出した。Qiashrredder (Qiagen, Valencia, CA) を使用してRLTバッファーで細胞を破壊し、その後、オンカラムDNase消化を含むRNeasyミニキット (Qiagen) を使用してRNAを抽出した。Nanodrop 8000 (Thermo Scientific) を使用して、合計RNAの濃度及びRNA試料

10

20

30

40

50

の完全性を決定した。Fluidigm定量RT-PCR分析のために単離されたRNAを使用した。

【0171】

QT-PCR: iScript cDNA合成キット (Biorad, Hercules, CA) を使用して、100ngの合計RNAでcDNA合成を実施した。3つの遺伝子 (ハウスキーピング遺伝子TMM55Bを含むIgf1、MZB1、TXNDC5) について遺伝子特異的前増幅を実施した (Applied Biosystems)。製造業者のプロトコールを使用したBioMark 48.48 Dynamic Arrays (Fluidigm Corporation) を使用してRT-PCRを実施した。BioMark Data Collection Softwareを使用してデータを回収し、BioMark RT-PCR Analysis Software (V.2.1.1, Fluidigm) を使用してCT値を得た。HPRT1に対する相対存在量 (dCt) を計算した: $2^{\log - (\text{平均Ct遺伝子} - \text{平均Ct HPRT1})}$ 。統計的分析のために、検出下限値を下回る値を最低記録値よりも1Ct低く設定した。

10

【0172】

Rプログラミング言語で書かれた<>又はカスタムスクリプトのいずれかを使用して、統計的分析を実施した。遺伝子発現における差異を同定するために、線形混合効果モデルを \log_2 -形質転換相対的転写産物量に適合させ、治療を固定効果とし、ドナーをランダム効果とする。DMSO試料と化合物で処理された試料との間の形質芽細胞の割合を比較するために、ウイルコクソンの順位和検定を使用した。GraphPad Prismソフトウェアを使用して、BTK阻害のIC50値を計算した。ヒト組換えインターロイキン(IL)-2、及びインターフェロン-(IFN-)をR&D systems (Minneapolis, MN) から購入し、IL-10、IL-6及びIL-15をPeprtech (Rocky Hill, NJ) から購入した。CpG (ODN2006) はInvivogen (San Deigo, CA) から購入し、CD40LはR&D systems (Minneapolis, MN) から購入した。

20

【0173】

結果: B細胞の形質芽細胞への分化は、複数の活性化刺激を通じて起こり、明確な分子変化を伴い得る。CD40、及び/又はToll様受容体(TLR)を通じたB細胞の活性化は、CD20⁺CD27⁺⁺記憶B細胞のCD20⁻CD38⁺⁺形質芽細胞への分化をもたらす。CD40L刺激を使用したT細胞媒介性応答又はToll様受容体リガンド、CpGを使用したT細胞非依存性応答のいずれかにより、形質芽細胞分化プロセスにおけるBTK阻害剤GDC-0852の効果を評価した。

30

【0174】

GDC-0852阻害CD40Lは、第5日目に20.0nM (+/- 0.002) のIC50力価で用量依存的に形質芽細胞の分化を誘導する (図7)。DMSO処理細胞及びGDC-0852処理細胞の遺伝子発現分析は、形質芽細胞シグネチャー遺伝子Igf1 (p=0.011)、MZB1 (p=0.0023)、TXNDC5 (p=0.0032) 及び複合形質芽細胞3遺伝子シグネチャー (p=0.0026) において有意な減少を示したが、ナイーブB細胞は、非常に低いレベルのシグネチャー遺伝子の発現を示した (p < 1 x 10⁻⁶) (図8)。遺伝子発現値を形質芽細胞存在量と比較すると、3遺伝子シグネチャーと形質芽細胞の割合との間に強い相関がある (スピアマンロー=0.81) (図9)。CpG媒介性の形質芽細胞の分化 (n=3) も、48nM (+/- 57) のIC50でGDC-0852により阻害された (図10)。

40

【0175】

本開示又はその好ましい実施形態の要素を説明するとき、冠詞「ある(a)」、「ある(an)」、「その(the)」、及び「前記(said)」は、一又は複数の要素があることを意味するものとする。用語「~を含む(comprising)」、「~を含む(including)」及び「~を有する(having)」とは、包括的であり、列挙された要素以外に追加の要素が存在し得ることを意味するものとする。

50

【 0 1 7 6 】

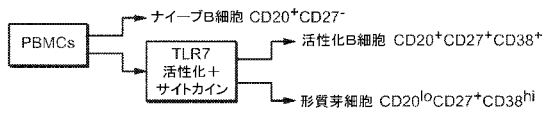
前述の発明は明確な理解のために例示及び実施例によってある程度詳細に説明されているが、説明及び実施例は、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。本明細書に引用されるすべての特許及び科学文献の開示内容は、その全体が出典明示により本明細書に援用される。

【 0 1 7 7 】

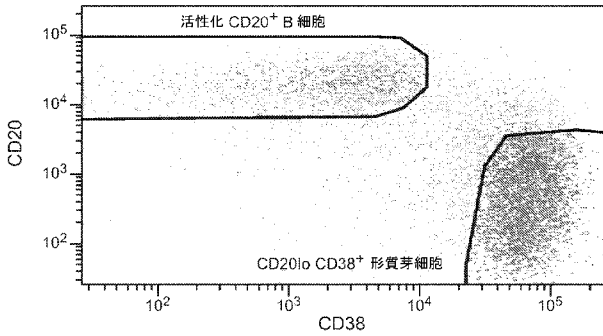
参考文献

- 1 . Arce E, Jackson DG, Gill MA, Bennett LB, Banchereau J, Pascual V. Increased frequency of pre-germinal center B cells and plasma cell precursors in the blood of children with systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 2001;167: 2361-2369. doi:10.4049/jimmunol.167.4.2361 10
- 2 . Bennett L, Palucka a K, Arce E, Cantrell V, Borvak J, Banchereau J, et al. Interferon and granulopoiesis signatures in systemic lupus erythematosus blood. *J Exp Med.* 2003;197: 711-723. doi:10.1084/jem.20021553
- 3 . Kalunian KC, Merrill JT, Maciuca R, McBride JM, Townsend MJ, Wei X, et al. A Phase II study of the efficacy and safety of rontalizumab (rhuMAb interferon-) in patients with systemic lupus erythematosus (ROSE). *Ann Rheum Dis.* 2016;75: 196-202. doi:10.1136/annrheumdis-2014-206090
- 4 . Merrill JT, NeuweltCM, Wallace DJ, Shanahan JC, Latinis KM, Oates JC, et al. Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active systemic lupus erythematosus: The randomized, double-blind, phase II/III systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial. *Arthritis Rheum.* 2010;62: 222-233. doi:10.1002/art.27233 20
- 5 . Kennedy WP, MaciucaR, Wolslegel K, Tew W, Abbas AR, Chaivorapol C, et al. Association of the interferon signature metric with serological disease manifestations but not global activity scores in multiple cohorts of patients with SLE. *Lupus Sci Med.* 2015;2: e000080. doi:10.1136/lupus-2014-000080
- 6 . Rovin BH, Furie R, LatinisK, Looney RJ, Fervenza FC, Sanchez-Guerrero J, et al. Efficacy and safety of rituximab in patients with active proliferative lupus nephritis: the Lupus Nephritis Assessment with Rituximab study. *Arthritis Rheum.* 2012;64: 1215-1226. doi:10.1002/art.34359 30
- 7 . Banchereau R, Hong S, Cantarel B, Baldwin N, Baisch J, Edens M, et al. Personalized Immunomonitoring Uncovers Molecular Networks that Stratify Lupus Patients. *Cell.* Elsevier Inc.; 2016;165: 551-565. doi:10.1016/j.cell.2016.03.008

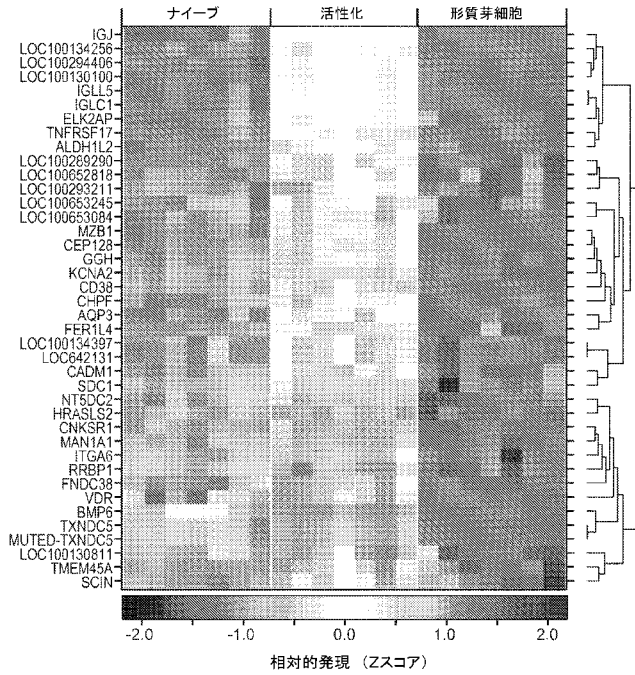
【 図 1 A - 1 】



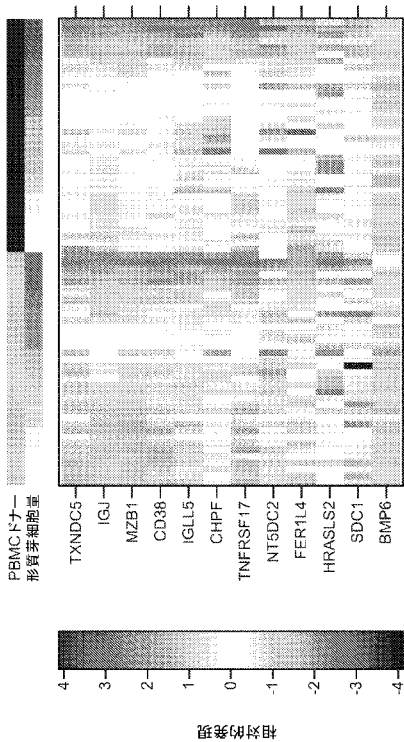
【 図 1 A - 2 】



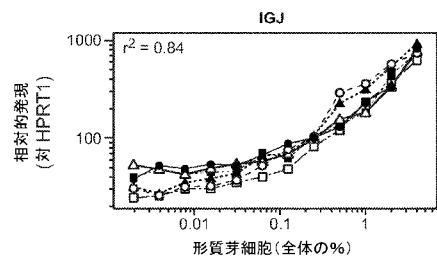
【 図 1 B 】



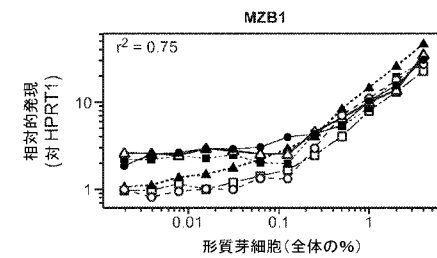
【 図 2 A 】



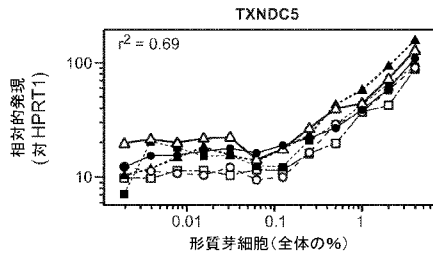
【 図 2 B - 1 】



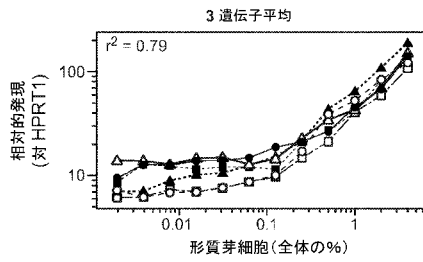
【 図 2 B - 2 】



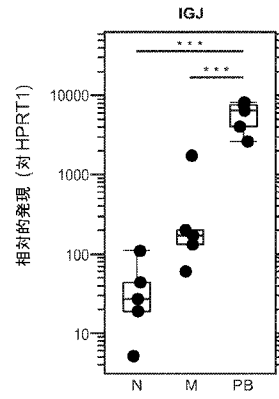
【 図 2 B - 3 】



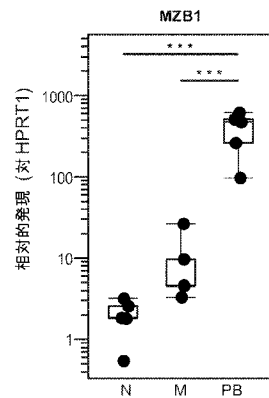
【 図 2 B - 4 】



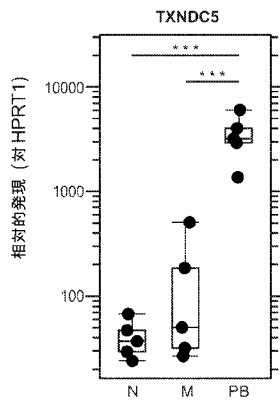
【 図 2 C - 1 】



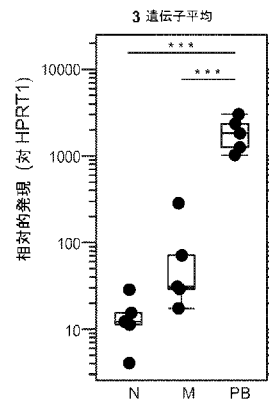
【 図 2 C - 2 】



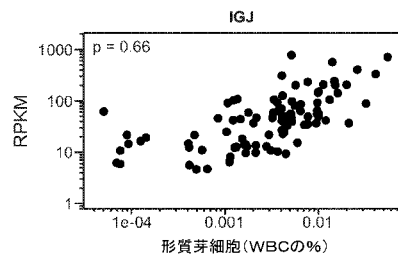
【 図 2 C - 3 】



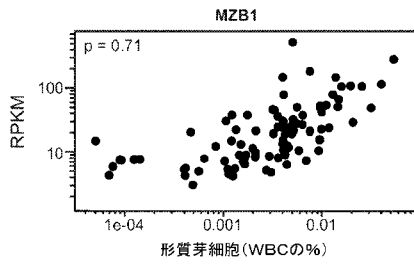
【 図 2 C - 4 】



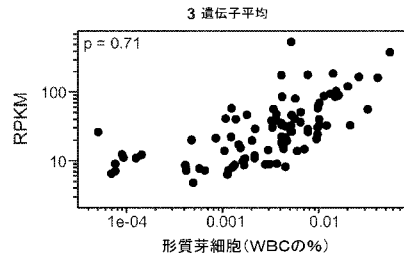
【 図 2 D - 1 】



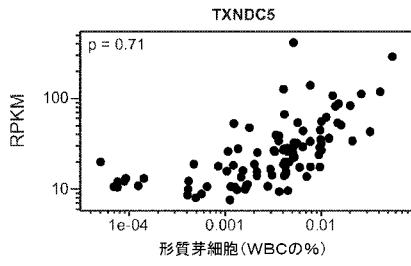
【 図 2 D - 2 】



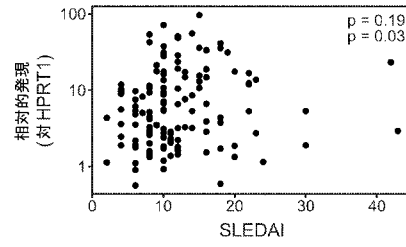
【 図 2 D - 4 】



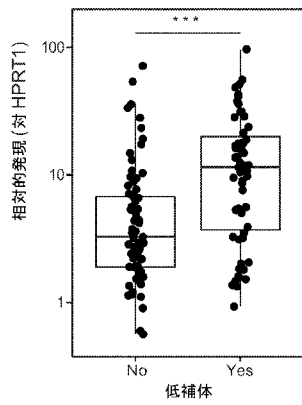
【 図 2 D - 3 】



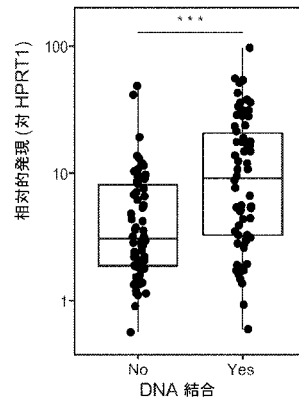
【 図 3 A 】



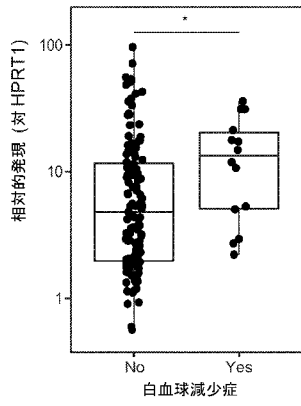
【 図 3 B - 1 】



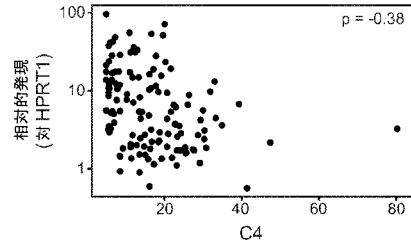
【 図 3 B - 2 】



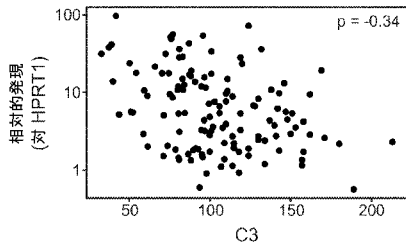
【 図 3 B - 3 】



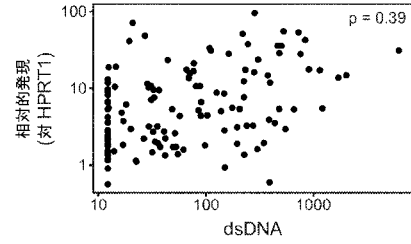
【 図 3 C - 2 】



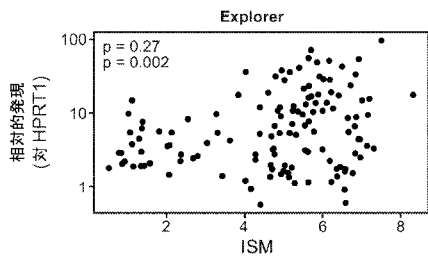
【 図 3 C - 1 】



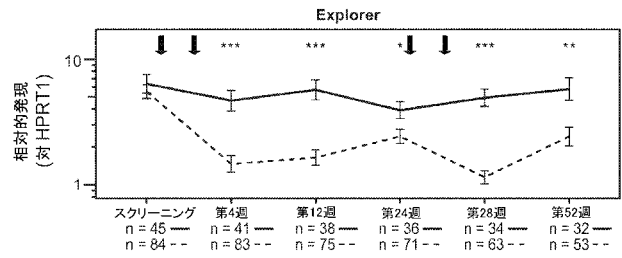
【 図 3 C - 3 】



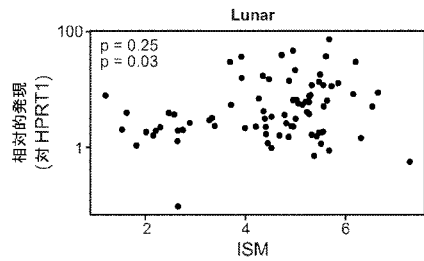
【 図 3 D - 1 】



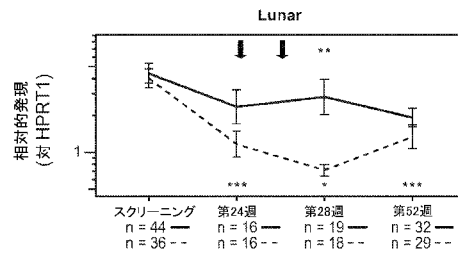
【 図 4 A 】



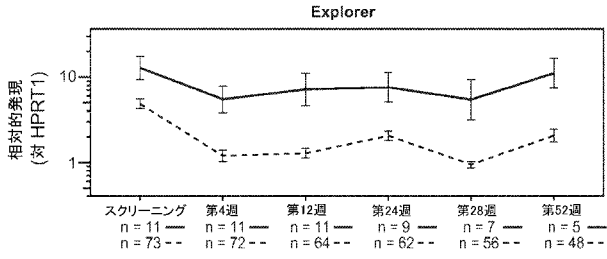
【 図 3 D - 2 】



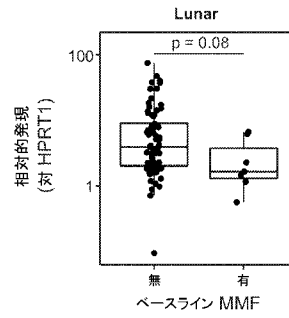
【 図 4 B 】



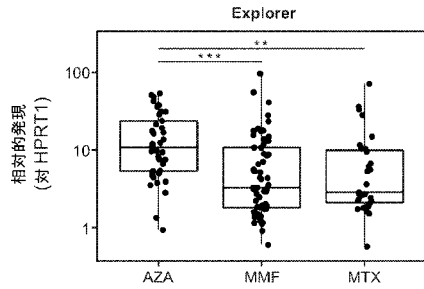
【 図 4 C 】



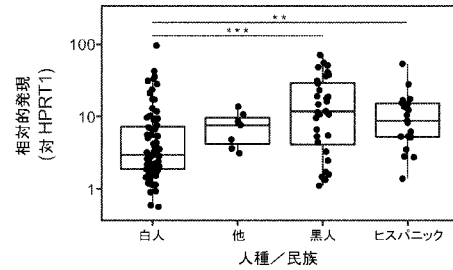
【 図 5 B 】



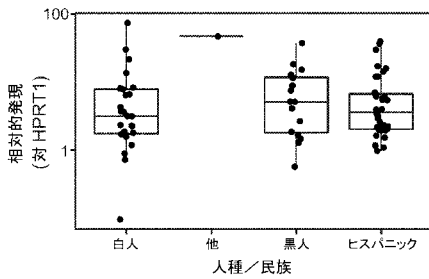
【 図 5 A 】



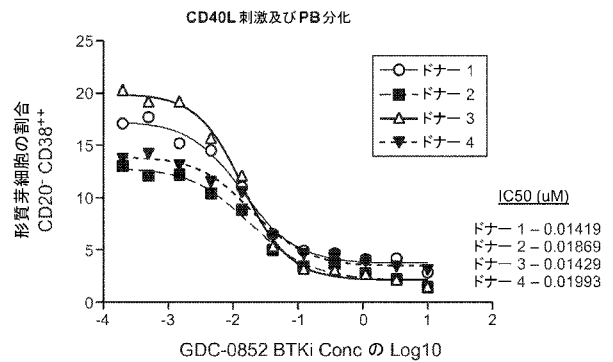
【 図 6 A 】



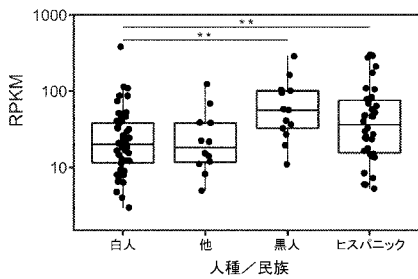
【 図 6 B 】



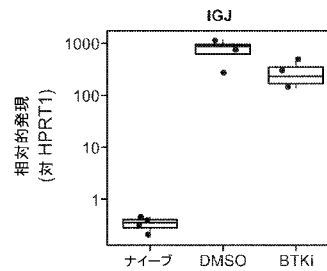
【 図 7 】



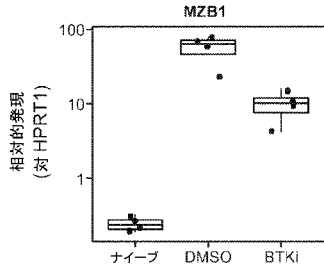
【 図 6 C 】



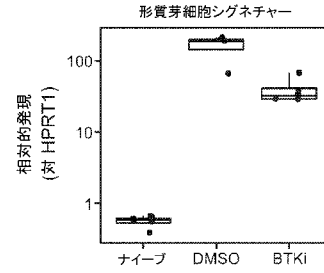
【 図 8 A 】



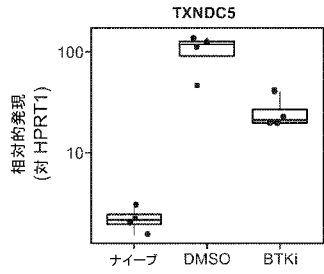
【 図 8 B 】



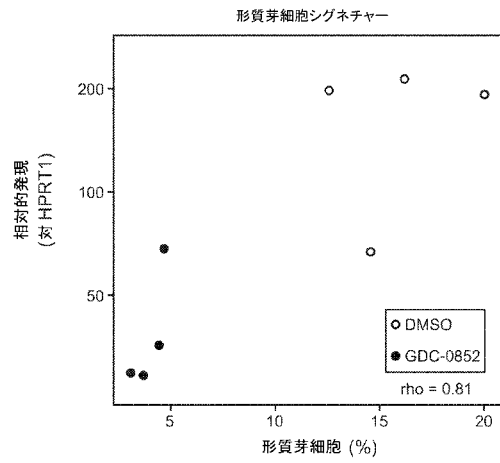
【 図 8 D 】



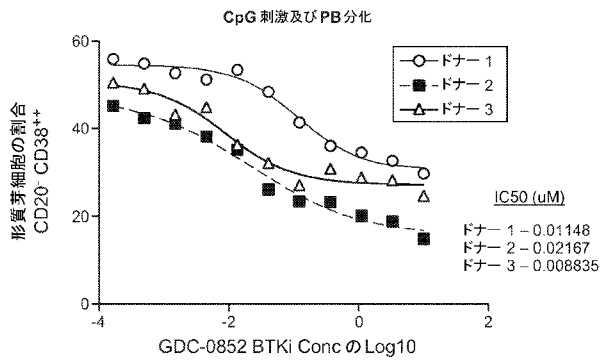
【 図 8 C 】



【 図 9 】



【 図 10 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2018/023986

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/564 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	OWCZARCZYK KASIA ET AL: "A plasmablast biomarker for nonresponse to antibody therapy to CD20 in rheumatoid arthritis", SCIENCE TRANSLATIONAL MEDI, AAAS - AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 3, no. 101, 21 September 2011 (2011-09-21), pages 111-119, XP009184413, ISSN: 1946-6242, DOI: 10.1126/SCITRANSLMED.3002432	6,8-20
A	the whole document	1-5,7
X	WO 2012/118750 A2 (GENENTECH INC [US]; HOFFMANN LA ROCHE [CH]; BEHRENS TIMOTHY W [US]; OW) 7 September 2012 (2012-09-07)	6,8-20
A	claims	1-5,7
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
24 May 2018		06/06/2018
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Hoese1, Heidi

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2018/023986

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	XIAOTIAN CHANG ET AL: "Investigating a pathogenic role for TXNDC5 in rheumatoid arthritis", ARTHRITIS RESEARCH AND THERAPY, BIOMED CENTRAL, LONDON, GB, vol. 13, no. 4, 29 July 2011 (2011-07-29), page R124, XP021109764, ISSN: 1478-6354, DOI: 10.1186/AR3429 abstract, p. 2,3, "Real-time PCR", Sandwich ELISA detecting sderum levels of TXNDC5 -----	6,8-20
X	KATIE STREICHER ET AL: "The Plasma Cell Signature in Autoimmune Disease", ARTHRITIS & RHEUMATOLOGY, vol. 66, no. 1, 30 December 2013 (2013-12-30), pages 173-184, XP055191636, ISSN: 2326-5191, DOI: 10.1002/art.38194 abstract -----	6,8-20
A		1-5,7
X	DATABASE BIOSIS [Online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; November 2011 (2011-11), HEROLD TOBIAS ET AL: "High Expression of the Endoplasmic Reticulum Protein MZBI predicts Inferior Prognosis in Chronic Lymphocytic Leukemia, Follicular Lymphoma and Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Is Associated with a Unique Gene Expression Profile", XP002781327, Database accession no. PREV201200220934 abstract -----	6,8-20

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2018/023986

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012118750 A2	07-09-2012	BR 112013021725 A2	01-11-2016
		CA 2827859 A1	07-09-2012
		CN 103502472 A	08-01-2014
		EP 2680884 A2	08-01-2014
		JP 6271254 B2	31-01-2018
		JP 2014512806 A	29-05-2014
		KR 20140022815 A	25-02-2014
		RU 2013140975 A	10-04-2015
		US 2014154247 A1	05-06-2014
		US 2016265056 A1	15-09-2016
		WO 2012118750 A2	07-09-2012

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	31/7088	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 K	31/4985	(2006.01)	A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 K	31/4985	
A 6 1 K	38/16	(2006.01)	A 6 1 P	13/12	
			A 6 1 K	38/16	2 0 0

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(72)発明者 ハックニー , ジェイソン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 , サウス サンフランシスコ , ディーエヌエー
 ウェイ 1 , シーノオー ジェネンテック , インコーポレイテッド

(72)発明者 ラマムザイ , ナンディニ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 , サウス サンフランシスコ , ディーエヌエー
 ウェイ 1 , シーノオー ジェネンテック , インコーポレイテッド

Fターム(参考) 4B063 QA18 QA19 QQ52 QR08 QR62 QS25 QS36 QX02
 4C084 AA02 AA17 BA44 DC32 MA35 MA52 MA55 MA56 MA59 MA65
 MA66 NA14 ZA811 ZA812 ZB071 ZB072 ZB081 ZB082 ZB111 ZB112
 4C085 AA13 AA14 CC05 CC22 CC23 EE01 GG02 GG03 GG04 GG06
 GG08
 4C086 AA01 AA02 CB05 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA81 ZB07 ZB08
 ZB11

专利名称(译)	治疗自身免疫和炎性疾病的方法		
公开(公告)号	JP2020514384A	公开(公告)日	2020-05-21
申请号	JP2019551999	申请日	2018-03-23
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	タウンゼントマイケル ハックニーージェイソン		
发明人	タウンゼント, マイケル ハックニー, ジェイソン ラマムザイ, ナンディニ		
IPC分类号	A61K45/00 G01N33/53 C12Q1/6883 A61P37/06 A61P29/00 A61P37/02 A61K39/395 A61K31/7088 A61K31/4985 A61P13/12 A61K38/16		
CPC分类号	G01N33/564 G01N2333/435 G01N2333/90 G01N2800/24 A61K31/4985 A61K2039/505 A61P37/00 C07K16/2887 C12Q1/6883 C12Q2600/158 G01N2800/52		
FI分类号	A61K45/00 G01N33/53.M C12Q1/6883.Z A61P37/06 A61P29/00 A61P37/02 A61K39/395.N A61K39 /395.D A61K31/7088 A61K31/4985 A61P13/12 A61K38/16.200		
F-TERM分类号	4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ52 4B063/QR08 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS36 4B063 /QX02 4C084/AA02 4C084/AA17 4C084/BA44 4C084/DC32 4C084/MA35 4C084/MA52 4C084/MA55 4C084/MA56 4C084/MA59 4C084/MA65 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA811 4C084/ZA812 4C084/ZB071 4C084/ZB072 4C084/ZB081 4C084/ZB082 4C084/ZB111 4C084/ZB112 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/CC05 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085 /GG04 4C085/GG06 4C085/GG08 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/CB05 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA81 4C086/ZB07 4C086/ZB08 4C086/ZB11		
优先权	62/476406 2017-03-24 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本文提供了用于治疗自身免疫和/或炎性疾病例如狼疮的生物标记物和疗法，以及使用BTK抑制剂的方法。特别地，提供了用于狼疮患者选择和预后的生物标记，以及治疗方法，制造物品及其制造方法，诊断试剂盒，检测方法和与其相关的广告方法。[选择图]

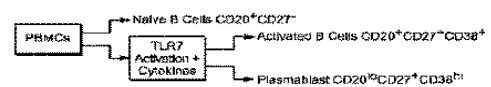


FIG. 1A-1

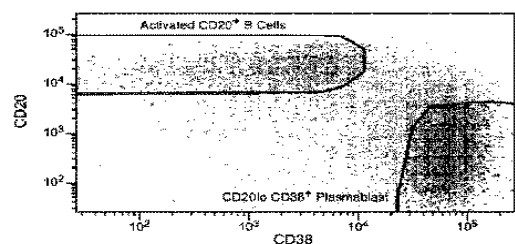


FIG. 1A-2