

(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2017-518494

(P2017-518494A)

(43) 公表日 平成29年7月6日(2017.7.6)

(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 P	4 B 0 6 3
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 C 0 8 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	
A 6 1 P 11/02 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 45 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-568016 (P2016-568016)	(71) 出願人	500203709 アムジェン インコーポレイテッド アメリカ合衆国 カリフォルニア 913 20, サウザンド オークス, ワン アムジェン センター ドライブ
(86) (22) 出願日	平成27年5月15日 (2015.5.15)	(74) 代理人	100140109 弁理士 小野 新次郎
(85) 翻訳文提出日	平成29年1月16日 (2017.1.16)	(74) 代理人	100075270 弁理士 小林 泰
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/030940	(74) 代理人	100101373 弁理士 竹内 茂雄
(87) 国際公開番号	W02015/175861	(74) 代理人	100118902 弁理士 山本 修
(87) 国際公開日	平成27年11月19日 (2015.11.19)	(74) 代理人	100107386 弁理士 泉谷 玲子
(31) 優先権主張番号	61/994,430		
(32) 優先日	平成26年5月16日 (2014.5.16)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 TH1 及び TH2 細胞集団を検出するためのアッセイ

(57) 【要約】

本開示は、免疫構成要素を有する疾患または障害に罹患した対象において、Tヘルパー細胞またはCTL亜集団を検出するための方法に関する。本方法はまた、治療方向または有害方向へのTヘルパー細胞及びCTLの偏在を検出することによって、疾患または障害の治療の有効性を判定するために有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

患者からの試料中の T ヘルパー 2 (T h 2) 細胞及び T ヘルパー 1 (T h 1) 細胞の比率を検出するための方法であって、 T h 2 特異的サイトカイン及び T h 1 特異的サイトカインのレベルを測定することを含み、前記方法が、

a) 前記試料を、

i) 2 つ以上の T h 2 サイトカインに結合する 2 つ以上の特異的結合剤であって、前記 T h 2 特異的サイトカインに対する前記 2 つ以上の特異的結合剤が、第 1 のフルオロフォアで標識される、2 つ以上の特異的結合剤、及び

i i) T h 1 サイトカインに結合する少なくとも 1 つの特異的結合剤であって、前記 T h 1 サイトカインに対する前記特異的結合剤が、前記第 1 のフルオロフォアとは異なる第 2 のフルオロフォアで標識される、少なくとも 1 つの特異的結合剤、と接触させることと

b) 前記試料中の前記第 1 及び第 2 のフルオロフォアのレベルを測定し、検出された T h 1 特異的及び T h 2 特異的フルオロフォアの前記レベルに基づいて、前記細胞を T h 1 または T h 2 細胞として指定することと、

c) 試料中の T h 2 細胞対 T h 1 細胞の前記比率を判定することと、を含む、前記方法

【請求項 2】

前記試料中の T h 1 細胞、 T h 2 細胞、及び T h 1 7 細胞の前記比率を判定することを更に含み、

a) 前記試料を、

i i i) T h 1 7 サイトカインに結合する少なくとも 1 つの特異的結合剤であって、前記 T h 1 7 サイトカインに対する前記特異的結合剤が、前記第 1 のフルオロフォアとは異なる第 2 のフルオロフォアで標識されるか、または第 3 のフルオロフォアで標識される、少なくとも 1 つの特異的結合剤と接触させることと、

b) 前記試料中の前記第 1 及び第 2 のフルオロフォアのレベルを測定し、検出された T h 1 特異的、 T h 2 特異的、及び T h 1 7 特異的フルオロフォアの前記レベルに基づいて、前記細胞を T h 1、 T h 2、または T h 1 7 細胞として指定することと、

c) 試料中の T h 1 細胞対 T h 2 細胞対 T h 1 7 細胞の前記比率を判定することと、を含む、請求項 1 に記載の前記方法。

【請求項 3】

患者からの試料中の T ヘルパー 1 (T h 1) 細胞及び T ヘルパー 1 7 (T h 1 7) 細胞の比率を検出するための方法であって、 T h 1 特異的サイトカイン及び T h 1 7 特異的サイトカインのレベルを測定することを含み、前記方法が、

a) 前記試料を、

i) 2 つ以上の T h 1 7 サイトカインに結合する 2 つ以上の特異的結合剤であって、前記 T h 1 7 特異的サイトカインに対する前記 2 つ以上の特異的結合剤が、第 1 のフルオロフォアで標識される、2 つ以上の特異的結合剤、及び

i i) T h 1 サイトカインに結合する少なくとも 1 つの特異的結合剤であって、前記 T h 1 サイトカインに対する前記特異的結合剤が、前記第 1 のフルオロフォアとは異なる第 2 のフルオロフォアで標識される、少なくとも 1 つの特異的結合剤、と接触させることと

b) 前記試料中の前記第 1 及び第 2 のフルオロフォアのレベルを測定し、検出された T h 1 特異的及び T h 1 7 特異的フルオロフォアの前記レベルに基づいて、前記細胞を T h 1 または T h 1 7 細胞として指定することと、

c) 試料中の T h 1 細胞対 T h 1 7 細胞の前記比率を判定することと、を含む、前記方法。

【請求項 4】

患者からの試料中の T ヘルパー 2 (T h 2) 細胞及び T ヘルパー 1 7 (T h 1 7) 細胞

の比率を検出するための方法であって、Th 2 特異的サイトカイン及びTh 1 7 特異的サイトカインのレベルを測定することを含み、前記方法が、

a) 前記試料を、

i) 2 つ以上のTh 2 サイトカインに結合する2 つ以上の特異的結合剤であって、前記Th 2 特異的サイトカインに対する前記2 つ以上の特異的結合剤が、第1のフルオロフォアで標識される、2 つ以上の特異的結合剤、及び

ii) Th 1 7 サイトカインに結合する少なくとも1 つの特異的結合剤であって、前記Th 1 7 サイトカインに対する前記特異的結合剤が、前記第1のフルオロフォアとは異なる第2のフルオロフォアで標識される、少なくとも1 つの特異的結合剤、と接触させることと、

b) 前記試料中の前記第1及び第2のフルオロフォアのレベルを測定し、検出されたTh 2 特異的及びTh 1 7 特異的フルオロフォアの前記レベルに基づいて、前記細胞をTh 2 またはTh 1 7 細胞として指定することと、

c) 試料中のTh 2 細胞対Th 1 7 細胞の前記比率を判定することと、を含む、前記方法。

10

【請求項5】

前記Th 2 サイトカインが、IL - 4、IL - 5、及びIL - 13 からなる群から選択される、先行請求項のいずれかに記載の前記方法。

【請求項6】

前記Th 1 サイトカインが、インターフェロンガンマ (IFN - g)、腫瘍壊死因子アルファ (TNF - a)、及びIL - 2 からなる群から選択される、先行請求項のいずれかに記載の前記方法。

20

【請求項7】

前記Th 1 7 サイトカインが、IL - 17 A、IL - 17 F、IFN - g、及びIL - 22 からなる群から選択される、先行請求項のいずれかに記載の前記方法。

【請求項8】

前記特異的結合剤が、Th 1 特異的、Th 2 特異的、またはTh 1 7 特異的サイトカインに特異的な抗体である、先行請求項のいずれかに記載の前記方法。

【請求項9】

前記患者が、喘息、アレルギー性副鼻腔炎、アレルギー性結膜炎、アトピー性皮膚炎、線維性疾患、全身性エリテマトーデス (SLE)、多発性硬化症、及び癌からなる群から選択される疾患または障害を患う、先行請求項のいずれかに記載の前記方法。

30

【請求項10】

前記試料が、治療剤での治療前及び/または後に得られる、先行請求項のいずれかに記載の前記方法。

【請求項11】

前記治療剤が抗TSLP抗体である、先行請求項のいずれかに記載の前記方法。

【請求項12】

前記第1のフルオロフォアがフィコエリトリン (PE) であり、前記第2のフルオロフォアがフルオレセインイソチシアネート (FITC) である、先行請求項のいずれかに記載の前記方法。

40

【請求項13】

前記試料が、前記患者からの全血、末梢血単核球、脳脊髄液、気管支肺胞上皮洗浄液、鼻洗浄液、誘発喀痰、または生検である、請求項1に記載の前記方法。

【請求項14】

前記サイトカインが、細胞内で接触させられる、先行請求項のいずれかに記載の前記方法。

【請求項15】

治療剤での治療に対して応答性である喘息患者の亜集団を識別するための方法であって、患者試料中のTヘルパー2 (Th 2) 細胞及びTヘルパー1 (Th 1) 細胞のベースラ

50

イン比率、または前記治療剤の投与後の前記比率の変化を測定することを含み、前記方法が、

a) 前記試料を、

i) 2つ以上のTh2特異的サイトカインに結合する2つ以上の特異的結合剤であって、前記Th2特異的サイトカインに対する前記2つ以上の特異的結合剤が、第1のフルオロフォアで標識される、2つ以上の特異的結合剤、及び

ii) Th1特異的サイトカインに結合する少なくとも1つの特異的結合剤であって、前記Th1特異的サイトカインに対する前記特異的結合剤が、前記第1のフルオロフォアとは異なる第2のフルオロフォアで標識される、少なくとも1つの特異的結合剤、と接触させることと、

b) 前記試料中の前記第1及び第2のフルオロフォアのレベルを測定し、検出されたTh2特異的及びTh1特異的フルオロフォアの前記レベルに基づいて、前記細胞をTh1またはTh2細胞として指定することと、

c) 検出されたTh2特異的サイトカイン及びTh1特異的サイトカインの前記レベルに基づいて、試料中のTh2細胞対Th1細胞の前記比率を判定することであって、Th2細胞/Th1細胞の前記比率が減少する場合、前記患者が前記治療剤に対して応答性であると識別される、判定することと、

d) 前記患者が前記治療剤に対して非応答性であると判定される場合、前記治療剤での治療を変更すること、または前記患者が前記治療剤での治療に対して応答性であると判定される場合、治療剤の用量を維持することと、を含む、前記方法。

【請求項16】

前記治療剤が抗TSLP抗体である、請求項15に記載の前記方法。

【請求項17】

前記試料を得る前に、前記治療剤が、1週間、2週間、3週間、4週間、6週間、2ヶ月間、3ヶ月間、またはそれを超えて投与される、請求項15に記載の前記方法。

【請求項18】

Th2細胞/Th1細胞の前記比率が、20%、30%、40%、50%、60%、またはそれを超えて減少する場合、前記患者が、治療に対して応答性であると識別される、請求項15に記載の前記方法。

【請求項19】

前記患者が治療に対して応答性であると識別されるTh2/Th1比率が、約0.1以下である、請求項15に記載の前記方法。

【請求項20】

免疫不全の治療において、抗TSLP剤の用量レジメンを変更する方法であって、請求項1または2に記載の前記方法を使用して、試料中のTh2細胞/Th1細胞、及び/またはTh17細胞の比率を判定し、Th2細胞/Th1細胞、及び/またはTh17細胞の前記比率が治療中に変化する場合、抗TSLP抗体の前記用量を変更することを含み、Th2細胞/Th1細胞の前記比率が安定しているか、または増加し、Th2プロファイルに向かう偏在を示す場合、治療剤の前記用量が増加され、

Th2細胞/Th1細胞の前記比率が減少し、Th2プロファイルの低減を示す場合、治療剤の前記用量が減少される、前記方法。

【請求項21】

前記免疫不全が、喘息、アレルギー性副鼻腔炎、アレルギー性結膜炎、アトピー性皮膚炎、及び線維性疾患からなる群から選択される、請求項20に記載の前記方法。

【請求項22】

喘息治療剤の用量レジメンを変更する方法であって、請求項1または2に記載の前記方法を使用して、試料中のTh2細胞/Th1細胞、及び/またはTh17細胞の比率を判定し、Th2細胞/Th1細胞、及び/またはTh17細胞の前記比率が治療中に変化する場合、喘息治療剤の前記用量を変更することを含み、

Th2細胞/Th1細胞の前記比率が安定しているか、または増加し、Th2プロファ

10

20

30

40

50

イルに向かう偏在を示す場合、治療剤の前記用量が増加され、

Th2細胞/Th1細胞の前記比率が減少し、Th2プロファイルの低減を示す場合、治療剤の前記用量が減少される、前記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、免疫構成要素を有する疾患または障害に罹患した対象において、Tヘルパー(Th)細胞及び多機能細胞傷害性T細胞(CTL)亜集団を検出するための方法に関する。本方法はまた、治療方向または有害方向へのTヘルパー細胞またはCTL細胞の偏在を検出することによって、疾患または障害の治療の有効性を判定するために有用である。

10

【背景技術】

【0002】

T細胞サブセットとしては、ヘルパーT細胞(CD4+)及び細胞傷害性T細胞(CD8+CTL)が挙げられる。CD4+ヘルパーT細胞は、一般にいくつかの異なる亜型に分類することができる。一般に分けられる集団としては、免疫関連疾患及び障害の媒介において異なる役割を果たすことが見出されているTヘルパー1(Th1)細胞及びTヘルパー2(Th2)細胞が挙げられる。Th1細胞及びTh2細胞は、それらのサイトカイン発現プロファイルに基づいて区別することができる。Th1細胞は、典型的にインターフェロン-ガンマ(IFN- γ 、IFN- γ)、リンホトキシン(LT)を発現し、インターロイキン-2(IL-2)及び腫瘍壊死因子-アルファ(TNF- α 、TNF- α)も分泌し得る(Zhu et al., Annu Rev Immunol. 28: 445-489, 2010)。Th2細胞は、IL-4、IL-5、及びIL-13の産生を特徴とし、IFN- γ またはリンホトキシンは分泌しない。いくつかのTh2細胞は、TNF- α 及びIL-9を産生することが見出されている(Zhu、上記)。Th17細胞もまた、近年Tヘルパー細胞の異なるサブセットであると判断されている。Th17細胞は、IL-17A、IL-17F、及びIL-22サイトカインを分泌し、IL-21もまた産生する。Th1細胞対Th2細胞、及びTh17細胞の比率の調節不全は、自己免疫疾患、アレルギー反応、及び癌を含む特定の疾患状態と関連付けられている。サイトカイン産生によって識別され得る2つの追加のCD4+T細胞サブセットとしては、Treg(IL-10)細胞及び濾胞性ヘルパーT細胞(Tfh)(IL-21)が挙げられる。

20

30

【0003】

多機能CD8+CTLは、多機能性が(例えば、IFN- γ 、TNF- α 、及び/またはIL-2)を含む複数のサイトカインの産生として定義される、細胞内病原体及び腫瘍からの保護を提供する重要なエフェクター細胞である。癌対象において、これらの多機能T細胞の応答は抑圧されることが示されている。いくつかの新しい治療(例えば、抗CTLA4、抗PD1)は、CTLの逆機能抑制が示されており、TVEC(タリモジーン・ラハーパーレブベック)との組み合わせにより、有意義な抗腫瘍応答に寄与し得る活性化された機能性CTLの数の増加が更に期待できる。追加のT細胞サブセットとしては、ナチュラルキラーT細胞(NKT)及びガンマデルタT細胞(gdT)が挙げられる。

40

【0004】

インビボでのT細胞レベルの判定、及びこれらの細胞によって産生されるサイトカインのレベルの判定は、困難であり得る。実験室技術における近年の進歩は、ELISA、ELISPOT、及び(細胞内サイトカイン染色アッセイを含む)フローサイトメトリーアッセイを含む、Tヘルパー亜型及びサイトカインレベルを判定するためのいくつかの方法を提供している。方法論の進展にも関わらず、疾患または障害を有する患者において、特定のT細胞亜型及びサイトカインプロファイルを識別することは依然として困難であるが、これは、所与の患者試料におけるこれらの特定の細胞型及びサイトカインのレベルが、低レベル~検出不能レベルであり得るためである。

【0005】

50

ある細胞型を識別し、別の細胞型から分別するための一般的な技術は、例えば、蛍光標示式細胞分取器（FACS）における、標識色素を使用するフローサイトメトリーである。フローサイトメトリーを実行する方法は、例えば、米国特許第8,389,291号、米国特許第7,932,503号、米国特許第7,012,689号、及び米国特許第6,287,791号に論じられる。

【0006】

サイトカインに加えて、細胞の表面マーカーの組み合わせもまた、サブセットによってT細胞を（例えば、Th2細胞はCRTH2を発現する）、またはFACSによって活性化状態を（例えば、活性化CTLはHLA-DRを発現する）分類するために使用され得る。

10

【0007】

以前の研究は、刺激に応答するTヘルパー細胞プロファイルを分析するための実験を行っている。国際特許出願第WO1997/026883号は、リバビリン（登録商標）を有するまたは有しない、PMA/イオノマイシンでインビトロ刺激されたPBM C上のみでの、IL-2の細胞内サイトカイン染色を記載する。提供された結果は、インビトロデータに基づく推定上の薬理学的効果を記載する。

【0008】

米国特許第6,039,969号は、主に分泌されたサイトカイン結果に基づいて、薬物イミキモドを含む化合物のクラスが、Th2から離れるように免疫応答を偏在させ得ることを実証する動物モデルデータを記載する。ヒト臨床データ及び細胞内サイトカイン染色は開示されなかった。

20

【0009】

米国特許出願第2001/0006789号は、抗原特異的T細胞を識別するために使用される方法を記載する。抗原特異的T細胞に対する薬理学的効果の測定は実証されない。

【0010】

国際特許出願第WO2000/024245号は、NFATp及び/またはNFAT4を標的化して、Th2細胞を調節するための方法を記載する。同第WO2002/089832号は、Th1/Th2比率を偏在させるためのサイトカイン+SDF-1αの組み合わせに関する。培養された臍帯血T細胞を使用する、IFN-g及びIL-4に特異的な細胞内サイトカイン染色を含むインビトロデータが提示される。ヒト臨床データの実証は含まれない。

30

【0011】

Loreira (J Immunol 171:4320-28, 2003) は、Th1特異的サイトカインIFN-g、TNF-a、及びIL-2のレベルが、フローサイトメトリー分析によって単一試料中で測定される方法を使用する、CMV特異的及びHIV特異的CD4+及びCD8+T細胞の分析を記載する。Th1サイトカインは、そのそれぞれが同一のフルオロフォアで標識されるサイトカイン特異性抗体を使用して検出される。この方法は、Th1細胞対Th2細胞の比率は判定しない。

【0012】

Ludvikssonら (J Immunol 160:3602-3609, 1998) は、ウェゲナー肉芽腫症と、IL-10による不均衡なTh1細胞サイトカインパターン及び反転を呈するHLA-DR+CD4+細胞との関連性を記載する。Wangら (Int Immun 21:1065-1077, 2009) は、メラノーマ環境において、PD1遮断がCTLの機能抑制を反転させることを実証する。Sfanosら (Clin Cancer Res 14:3254-3261, 2008) は、前立腺癌におけるTh17及びTregサブセットに対する腫瘍浸潤リンパ球の偏在を実証する。

40

【0013】

本開示は、免疫構成要素を有する疾患または障害を有する対象において、Tヘルパー細胞またはCTL細胞の集団を識別し、区別するための方法を対象とする。本技術は、治療

50

剤での治療の前後に実行されて、治療を受ける患者の治療レジメンを改善し得る。

【発明の概要】

【0014】

本開示は、疾患もしくは障害を有するか、または治療レジメン後の対象において、T細胞サブセット集団の変化を測定するための方法を提供する。本方法は、治療レジメンの有効性を判定し、患者のための最適な治療レジメンの設計を支援するために有用である。

【0015】

本開示は、患者からの試料中のTヘルパー2 (Th2) 細胞及びTヘルパー1 (Th1) 細胞の比率を検出するための方法であって、Th2特異的及びTh1特異的サイトカインのレベルを測定することを含み、本方法は、a) 試料を、i) 2つ以上のTh2サイトカインに結合する2つ以上の特異的結合剤であって、Th2特異的サイトカインに対する2つ以上の特異的結合剤が、第1のフルオロフォアで標識される、2つ以上の特異的結合剤、及びii) Th1サイトカインに結合する少なくとも1つの特異的結合剤であって、Th1サイトカインに対する特異的結合剤が、第1のフルオロフォアとは異なる第2のフルオロフォアで標識される、少なくとも1つの特異的結合剤、と接触させることと、b) 試料中の第1及び第2のフルオロフォアのレベルを測定し、検出されたTh1特異的及びTh2特異的フルオロフォアのレベルに基づいて、細胞をTh1またはTh2細胞として指定することと、c) 試料中のTh2細胞対Th1細胞の比率を判定することと、を含む、方法を提供する。

10

【0016】

様々な実施形態において、本方法は、試料中のTh1細胞、Th2細胞、及びTh17細胞の比率を判定することを更に含み、a) 試料を、iii) Th17サイトカインに結合する少なくとも1つの特異的結合剤であって、Th17サイトカインに対する特異的結合剤が、第1のフルオロフォアとは異なる第2のフルオロフォアで標識されるか、または第3のフルオロフォアで標識される、少なくとも1つの特異的結合剤と接触させることと、b) 試料中の第1及び第2 (及び/または第3) のフルオロフォアのレベルを測定し、検出されたTh1特異的、Th2特異的、またはTh17特異的フルオロフォアのレベルに基づいて、細胞をTh1、Th2、またはTh17細胞として指定することと、c) 試料中のTh1細胞対Th2細胞対Th17細胞の比率を判定することと、を含む。

20

【0017】

様々な実施形態において、本開示は、患者からの試料中のTヘルパー1 (Th1) 細胞及びTヘルパー17 (Th17) 細胞の比率を検出するための方法であって、Th1特異的及びTh17特異的サイトカインのレベルを測定することを含み、本方法は、a) 試料を、i) 2つ以上のTh17サイトカインに結合する2つ以上の特異的結合剤であって、Th17特異的サイトカインに対する2つ以上の特異的結合剤が、第1のフルオロフォアで標識される、2つ以上の特異的結合剤、及びii) Th1サイトカインに結合する少なくとも1つの特異的結合剤であって、Th1サイトカインに対する特異的結合剤が、第1のフルオロフォアとは異なる第2のフルオロフォアで標識される、少なくとも1つの特異的結合剤、と接触させることと、b) 試料中の第1及び第2のフルオロフォアのレベルを測定し、検出されたTh1特異的及びTh17特異的フルオロフォアのレベルに基づいて、細胞をTh1またはTh17細胞として指定することと、c) 試料中のTh1細胞対Th17細胞の比率を判定することと、を含む、方法を提供する。

30

40

【0018】

様々な実施形態において、本開示は、患者からの試料中のTヘルパー2 (Th2) 細胞及びTヘルパー17 (Th17) 細胞の比率を検出するための方法であって、Th2特異的及びTh17特異的サイトカインのレベルを測定することを含み、本方法は、a) 試料を、i) 2つ以上のTh2サイトカインに結合する2つ以上の特異的結合剤であって、Th2特異的サイトカインに対する2つ以上の特異的結合剤が、第1のフルオロフォアで標識される、2つ以上の特異的結合剤、及びii) Th17サイトカインに結合する少なくとも1つの特異的結合剤であって、Th17サイトカインに対する特異的結合剤が、第1

50

のフルオロフォアとは異なる第2のフルオロフォアで標識される、少なくとも1つの特異的結合剤、と接触させることと、b) 試料中の第1及び第2のフルオロフォアのレベルを測定し、検出されたTh2特異的及びTh17特異的フルオロフォアのレベルに基づいて、細胞をTh2またはTh17細胞として指定することと、c) 試料中のTh2細胞対Th17細胞の比率を判定することと、を含む、方法を提供する。

【0019】

特定の実施形態において、Th1細胞対Th2細胞の比率が本方法を使用して計算され、この比率が治療有効性及び患者のための治療レジメンの潜在的な変更を判定するために使用されることもまた企図される。同様に、本明細書に記載される方法について、逆の比率(例えば、Th17/Th1、Th17/Th2、またはTh1、Th2、及びTh17の任意の組み合わせ比率)が判定され得、判定された細胞の比率に基づいて治療判定もまた行われ得ることが特に企図される。

10

【0020】

様々な実施形態において、Th2サイトカインは、IL-4、IL-5、及びIL-13からなる群から選択される。様々な実施形態において、Th1サイトカインは、インターフェロンガンマ(IFN-g)、腫瘍壊死因子アルファ(TNF-a)、及びIL-2からなる群から選択される。

【0021】

様々な実施形態において、Th17サイトカインは、IL-17A、IL-17F、IFN-g、及びIL-22からなる群から選択される。

20

様々な実施形態において、特異的結合剤は、Th1特異的、Th2特異的、またはTh17特異的サイトカインに特異的な抗体である。

【0022】

様々な実施形態において、本方法は、本方法によって検出されたT細胞サブセットの比率を鑑みて、治療剤を投与するか、治療剤の用量レジメンを変更するか、または治療剤の用量レジメンを維持するステップを更に含み、特定の比率の検出は、与えられるべき治療レジメンを示す。

【0023】

様々な実施形態において、患者は、喘息、アレルギー性副鼻腔炎、アレルギー性結膜炎、アトピー性皮膚炎、線維性疾患、全身性エリテマトーデス(SLE)、多発性硬化症、及び癌からなる群から選択される疾患または障害を患う。本方法において企図される追加の障害は、発明を実施するための形態においてより詳細に論じられる。

30

【0024】

様々な実施形態において、試料は、治療剤での治療前及び/または後に得られる。特定の実施形態において、試料は、患者からの全血、末梢血単核球、脳脊髄液、気管支肺胞上皮洗浄液、鼻洗浄液、誘発喀痰、または生検である。

【0025】

様々な実施形態において、治療剤は抗TSLP抗体である。

様々な実施形態において、第1のフルオロフォアはフィコエリトリン(PE)であり、第2のフルオロフォアはフルオレセインイソチオシアネート(FITC)である。本方法における使用が企図される更なるフルオロフォアとしては、Alexa Fluor(登録商標)350、Alexa Fluor(登録商標)405、Alexa Fluor(登録商標)430、Alexa Fluor(登録商標)488、Alexa Fluor(登録商標)514、Alexa Fluor(登録商標)532、Alexa Fluor(登録商標)546、Alexa Fluor(登録商標)555、Alexa Fluor(登録商標)568、Alexa Fluor(登録商標)594、Alexa Fluor(登録商標)610、Alexa Fluor(登録商標)633、Alexa Fluor(登録商標)635、Alexa Fluor(登録商標)647、Alexa Fluor(登録商標)660、Alexa Fluor(登録商標)680、Alexa Fluor(登録商標)700、BODIPY FL、BODIPY

40

50

630/650、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、ECD、FITC、FluorX（登録商標）、Cascade（登録商標）Blue、Pacific Blue（登録商標）、Pacific Green（登録商標）、Pacific Orange（登録商標）、eFluor（登録商標）450、eFluor（登録商標）605NC、eFluor（登録商標）625NC、eFluor（登録商標）650NC、eFluor（登録商標）660、eFluor（登録商標）710、Brilliant Violet（商標）（BV）フルオロフォアBV421、BV510、BV570、BV605、BV650、BD Horizon（商標）V450、BD Horizon（商標）V500、Texas Red、ローダミン、シアニン、フィコエリトリン（PE）、フィコシアニン、アロフィコシアニン（APC）、
- フタルアルデヒド、フルオレサミン、Oregon Green（登録商標）488、PE-APC、PE-Cy5、PerCP、PE-TR、ローダミングリーン、及びロードルグリーン、ならびにこれらのタンデム型色素が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0026】

一実施形態において、サイトカインは、細胞内で特異的結合剤と接触させられる。特定の実施形態において、サイトカインは、細胞外で特異的結合剤と接触させられる。特定の実施形態において、サイトカインは、細胞からインピトロで分泌されるか、またはにおいて流体試料中で検出可能である。

【0027】

様々な実施形態において、本開示は、治療剤での治療に対して応答性である喘息患者の亜集団を識別するための方法であって、患者試料中のTヘルパー2（Th2）細胞及びTヘルパー1（Th1）細胞のベースライン比率、または治療剤の投与後の比率の変化を測定することを含み、本方法は、a）試料を、i）2つ以上のTh2サイトカインに結合する2つ以上の特異的結合剤であって、Th2特異的サイトカインに対する2つ以上の特異的結合剤が、第1のフルオロフォアで標識される、2つ以上の特異的結合剤、及びii）Th1サイトカインに結合する少なくとも1つの特異的結合剤であって、Th1サイトカインに対する特異的結合剤が、第1のフルオロフォアとは異なる第2のフルオロフォアで標識される、少なくとも1つの特異的結合剤、と接触させることと、b）試料中の第1及び第2のフルオロフォアのレベルを測定し、検出されたTh2特異的及びTh1特異的フルオロフォアのレベルに基づいて、細胞をTh1またはTh2細胞として指定することと、c）検出されたTh2特異的サイトカイン及びTh1特異的サイトカインのレベルに基づいて、試料中のTh2細胞対Th1細胞の比率を判定することであって、Th2細胞/Th1細胞の比率が減少する場合、患者が治療剤に対して応答性であると識別される、判定することと、d）患者が治療剤に対して非応答性であると判定される場合、治療剤での治療を変更すること、または患者が治療剤での治療に対して応答性であると判定される場合、治療剤の用量を維持することと、を含む、方法を提供する。様々な実施形態において、喘息患者におけるTh17細胞対Th1細胞及びTh2細胞の比率は、本明細書に記載されるように測定される。

20

30

【0028】

様々な実施形態において、前記試料を得る前に、治療剤は、1週間、2週間、3週間、4週間、6週間、2ヶ月間、3ヶ月間、またはそれを超えて投与される。本方法によって企図される追加の投薬レジメンは、発明を実施するための形態においてより詳細に論じられる。

40

【0029】

様々な実施形態において、治療剤は、抗TSLP抗体または抗TSLP受容体抗体である。

様々な実施形態において、喘息患者は、軽度、中等度、または重度の喘息を含むアトピー性喘息を有する。特定の実施形態において、喘息患者におけるTh2/Th1比率はTh2表現型に向かって偏在し、この偏在は、Th2パスウェイを標的化する治療剤での治

50

療の候補として患者を識別し得る。様々な実施形態において、Th2細胞/Th1細胞の比率が約0.2以上である場合、患者はTh2標的化治療の候補であり得る。

【0030】

一実施形態において、Th2細胞/Th1細胞の比率が、20%、30%、40%、50%、60%、またはそれを超えて減少する場合、喘息患者は、治療に対して応答性であるとして識別される。応答性の程度は、治療前または治療中の特定の時点で得られたベースライン値と比較されることが企図される。一実施形態において、患者が治療に対して応答性であると識別されるTh2/Th1比率は、約0.1以下である。

【0031】

様々な実施形態において、本開示は、免疫不全の治療において、抗TSLP剤の用量レジメンを変更する方法であって、本明細書に記載される方法を使用して、試料中のTh2細胞/Th1細胞、及び/またはTh17細胞の比率を判定し、Th2細胞/Th1細胞、及び/またはTh17細胞の比率が治療中に変化する場合、抗TSLP抗体の用量を変更することを含み、Th2細胞/Th1細胞の比率が安定しているか、または増加し、Th2プロファイルに向かう偏在（すなわち、Th2細胞の割合の増加及び/またはTh1細胞の割合の減少）を示す場合、治療剤の用量が増加され、Th2細胞/Th1細胞の比率が減少し、Th2プロファイルの低減（すなわち、Th2細胞の割合の減少及び/またはTh1細胞の割合の増加）を示す場合、治療剤の用量が減少される、方法を提供する。

10

【0032】

様々な実施形態において、抗TSLPまたは抗TSLP受容体剤によって治療される免疫不全は、アトピー性疾患または障害である。アトピー性疾患または障害の例としては、喘息、アレルギー性副鼻腔炎、アレルギー性結膜炎、及びアトピー性皮膚炎が挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、免疫不全は線維性疾患である。

20

【0033】

様々な実施形態において、喘息治療剤の用量レジメンを変更する方法であって、本明細書に記載される方法を使用して、試料中のTh2細胞/Th1細胞、及び/またはTh17細胞の比率を判定し、Th2細胞/Th1細胞、及び/またはTh17細胞の比率が治療中に変化する場合、喘息治療剤の用量を変更することを含み、Th2細胞/Th1細胞の比率が安定しているか、または増加し、Th2プロファイルに向かう偏在を示す場合、治療剤の用量が増加され、Th2細胞/Th1細胞の比率が減少し、Th2プロファイルの低減を示す場合、治療剤の用量が減少される、方法が本明細書に企図される。

30

【0034】

特定の実施形態において、高い割合のTh17細胞が検出される場合、本方法は、IL-17活性またはIL-17パスウェイを阻害する治療剤を投与することを更に含む。

CD8+CTLを検出する方法もまた、企図される。本開示は、多機能CTLなどのCTLのサブセットを検出するための方法であって、a)試料を、1つ以上の多機能CTLサイトカインに結合する1つ以上の特異的結合剤であって、多機能CTLサイトカインに対する1つ以上の特異的結合剤が、第1のフルオロフォア及び/または第2のフルオロフォア及び/または第3のフルオロフォアで標識される、1つ以上の特異的結合剤と接触させることと、b)試料中の第1及び第2及び/または第3のフルオロフォアのレベルを測定し、検出された特異的フルオロフォアのレベルに基づいて、細胞を多機能CTL細胞として指定することと、c)試料中の他のT細胞（例えば、試料中のTh、Treg、NK T、またはgdT）に対する多機能CTLの比率を判定することと、を含む、方法を提供する。

40

【0035】

様々な実施形態において、多機能CTLサイトカインは、IFN-g、IL-17、TNF-a、及びIL-2からなる群から選択される。

様々な実施形態において、細胞表面マーカーは、T細胞亜集団の識別のために使用される。例示的な細胞表面マーカーとしては、Th2細胞に対するST2、CRTH2、及びCCR4、Th1細胞に対するCXCR3、ならびに/またはTh17細胞に対するCC

50

R 6 が挙げられるが、これらに限定されない。T細胞亜集団はまた、PD 1、CTLA 4、CD 40 L、ICOS、OX 40、41 BB、TIM - 3、GITR、HLA - DR、ならびにTh 1、Th 2、及びTh 17細胞のKi 67を含む、活性化状態を示すバイオマーカーに基づいて区別される。

【0036】

上記に加えて、本発明は、追加の一態様として、上記の特定の段落により定義される変形形態よりも、いかようにも範囲がより狭義の本発明の全ての実施形態を含む。例えば、1つの属として記載される本発明の特定の態様、1つの属の全ての構成員が個々に、本発明の一態様であることが理解されるべきである。また、1つの属として記載されるか、または1つの属の構成員を選択する態様は、その属の2つ以上の構成員の組み合わせを包含することが理解されるべきである。出願者（複数可）は、本明細書に記載される本発明の全範囲を発明したものの、出願者は、他者の先行技術において記載される主題の特許を取得することは意図しない。したがって、ある段落の範囲内の法定先行技術が、特許事務所または他の主体もしくは個人によって出願者（複数可）の気付くところとなる場合、出願者（複数可）は、該当する特許法の下、補正権を行使して、そのような法定先行技術または法定先行技術の明白な変形形態をそのような段落の範囲から特に除外するように、そのような段落の主題を再定義する権利を留保する。そのような補正された段落によって定義される本発明の変形形態もまた、本発明の態様として意図される。

10

【図面の簡単な説明】

【0037】

【図1】図1は、FEV₁のアレルゲン誘発低下割合（%）を図示する。スクリーニング、42日目、及び84日目でのFEV₁の割合（%）-時間曲線が提示されるデータは平均±SEMとして示される。プラセボと比較して、AMG 157治療は、42及び84日目でFEV₁の遅発型アレルゲン誘発低下を有意に減弱し、42及び84日目でFEV₁の即時型アレルゲン誘発低下を減弱した。FEV₁は1秒間の強制呼気量を意味し、*はプラセボと比較したp < 0.05のAMG 157を意味する。

20

【図2】図2は、アレルゲン誘発気道反応における、治療差異の推定（AMG 157引くプラセボ）を示す。平均予想はANCOVAに基づいた。AUCは曲線下面積を意味し、EARは即時型喘息反応を意味し、FEV₁は1秒間の強制呼気量を意味し、FEV₁-時間AUCは時間調整FEV₁の曲線下面積を意味し、%FEV₁-時間AUCはFEV₁の低下割合（%）曲線下の時間調整面積の曲線下面積を意味し、LARは遅発型喘息反応を意味し、FEV₁の最大%低下はFEV₁の最大低下割合（%）を意味し、メタコリンPC 20はFEV₁の20%の低下を引き起こすメタコリンの誘発濃度を意味する。* P 0.05。

30

【図3】図3A～3Cは、末梢血好酸球及び喀痰好酸球、ならびに呼息一酸化窒素濃度の変化を示す。末梢血好酸球（図3A）、喀痰好酸球（図3B）、及び呼息一酸化窒素濃度（図3C）を、-15日目の投薬前ベースラインから85日目まで測定した。データを平均±SEMとして示す。FeNOは呼息一酸化窒素濃度を意味し、赤い矢印は投薬を意味し、黒い矢印はアレルゲン吸入負荷を意味し、*はプラセボと比較したp < 0.05のAMG 157を意味する。

40

【図4】図4は、抗TSLP治療を受ける喘息患者における、Th 2表現型から離れる薬理的偏在を意味する。

【図5】図5A - 5Bは、PMA / イオノマイシンで刺激されていない（図5A）及び刺激されている（図5B）ときにSCL E患者から採取された細胞のサイトカインプロファイルを示す。

【発明を実施するための形態】

【0038】

Th 2細胞は、アレルギー性喘息の確立及び進行の一因として強く意味付けられる。臨床試験設定において、治療標的を遮断することがTh 2細胞またはTh 2 / Th 1比率の変化につながるかどうかを理解することは、有用な探索目的であり得る。更に、ベースラ

50

インでの極性化ヘルパーT細胞の相対的な割合は、患者を最適な治療とマッチさせる助けになり得る。同様に、癌設定において、Thサブセット（特にTh1、Th17、及びTreg）のレベルならびにCTLの機能性は、治療レジメンを識別し、最適化するための有用な測定基準であり得る。本開示は、PMA及びイオノマイシンでの幅広い刺激を使用して開発したTヘルパー細胞及びCTLの変化を測定し、その後、細胞内サイトカイン染色してThサイトカイン応答を分析するためのアッセイを記載する。IL-4、IL-5、及びIL-13を使用するTh2サイトカイン染色の組み合わせ方法と、各サイトカインを別々に染色する交替方法とを比較した後、Th2細胞の検出を改善するための組み合わせ方法を開発した。

【0039】

定義

別段述べない限り、明細書及び特許請求の範囲を含む本出願において使用される以下の用語は、以下に与えられる定義を有する。

【0040】

明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、別段文脈が明らかに指示しない限り、不定冠詞「a」及び「an」、ならびに定冠詞「the」は、複数形ならびに単数形の参照対象を含む。

【0041】

別段定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術的用途及び科学的用語は、本開示が属する当業者によって一般に理解されるものと同じの意味を有する。以下の参考文献は、当業者に、本開示で使用される用語のうちの多くの一般的な定義を提供する、Singleton et al., DICTIONARY OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY (2d Ed., 1994)、THE CAMBRIDGE DICTIONARY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY (Walker Ed., 1988)、THE GLOSSARY OF GENETICS, 5th Ed., R. Rieger et al. (Eds.), Springer Verlag (1991)、及びHale & Marham, THE HARPER COLLINS DICTIONARY OF BIOLOGY (1991)を含むが、これらに限定されない。

【0042】

「about」または「approximately」という用語は、当業者によって判定される特定の値について許容される誤差を意味し、この誤差は、一部にはその値がどのように測定または判定されるかに依存する。特定の実施形態において、「about」または「approximately」は、1、2、3、または4の標準偏差を意味する。特定の実施形態において、「about」または「approximately」という用語は、所与の値または範囲の30%、25%、20%、15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、または0.05%以内を意味する。「about」または「approximately」という用語が、2つ以上の一連の数値における第1の数値に先行する場合、「about」または「approximately」という用語は、その一連の数値の1つ1つに適用されることが理解される。

【0043】

本明細書で使用される場合、「cytokine」という用語は、細胞間の相互作用及び通信に対して、または免疫細胞増殖及び分化などの細胞の挙動に対して特異的効果を有する細胞によって放出される、1つ以上の小(5~20kD)タンパク質を指す。免疫系におけるサイトカインの機能としては、循環する白血球及びリンパ球の、免疫遭遇の部位への流入の促進と、B細胞、T細胞、末梢血単核球(PBMC)、及び他の免疫細胞の発達及び増殖の刺激と、抗菌活性の提供とが挙げられる。例示的な免疫サイトカインとしては、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-9、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-17A、IL-17F、I

10

20

30

40

50

L - 18、IL - 21、IL - 22、インターフェロン（IFNアルファ、ベータ、及びガンマを含む）、腫瘍壊死因子（TNFアルファ、ベータを含む）、トランスフォーミング増殖因子（TGFアルファ、ベータを含む）、顆粒球コロニー刺激因子（GCSF）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GMCSF）、ならびに胸腺間質性リンパ球新生因子（TSLP）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0044】

「Th helper (Th) 1 cytokine」または「Th 1 - specific cytokine」は、Th 1 T細胞によって発現される（細胞内で、及び/または分泌される）サイトカインを指し、IFN - g、TNF - a、IL - 12、及びいくつかの集団において、IL - 2が挙げられる。「Th 2 cytokine」または「Th 2 - specific cytokine」は、Th 2 T細胞によって発現される（細胞内で、及び/または分泌される）サイトカインを指し、IL - 4、IL - 5、IL - 13、IL - 10、及び特定の集団において、IL - 2が挙げられる。「Th 17 cytokine」または「Th 17 - specific cytokine」は、Th 17 T細胞によって発現される（細胞内で、及び/または分泌される）サイトカインを指し、IL - 17A、IL - 17F、IL - 22、及びIL - 21が挙げられる。Th 17細胞の特定の集団は、本明細書に列挙されるTh 17サイトカインに加えてIFN - g及び/またはIL - 2を発現する。多機能CTLサイトカインとしては、IFN - g、TNF - a、IL - 2、及びIL - 17が挙げられる。

10

【0045】

「fluorophore」という用語は、所与の波長の光エネルギーを許容（励起）し、より長い波長でそれを再放射（放射）する小分子色素またはタンパク質を指す。本方法において、フルオロフォアは抗体または酵素基質などの特異的結合剤に結合され、特定の形態において、色素の励起を引き起こすレーザーに標識された物質を通過させることによって検出される。本方法において有用である例示的なフルオロフォアとしては、Alexa Fluor（登録商標）350、Alexa Fluor（登録商標）405、Alexa Fluor（登録商標）430、Alexa Fluor（登録商標）488、Alexa Fluor（登録商標）514、Alexa Fluor（登録商標）532、Alexa Fluor（登録商標）546、Alexa Fluor（登録商標）555、Alexa Fluor（登録商標）568、Alexa Fluor（登録商標）594、Alexa Fluor（登録商標）610、Alexa Fluor（登録商標）633、Alexa Fluor（登録商標）635、Alexa Fluor（登録商標）647、Alexa Fluor（登録商標）660、Alexa Fluor（登録商標）680、Alexa Fluor（登録商標）700、BODIPY FL、BODIPY 630/650、Cy2、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、ECD、FITC、Fluor X（登録商標）、Cascade（登録商標）Blue、Pacific Blue（登録商標）、Pacific Green（登録商標）、Pacific Orange（登録商標）、eFluor（登録商標）450、eFluor（登録商標）605NC、eFluor（登録商標）625NC、eFluor（登録商標）650NC、eFluor（登録商標）660、eFluor（登録商標）710、Brilliant Violet（商標）（BV）フルオロフォアBV421、BV510、BV570、BV605、BV650、BD Horizon（商標）V450、BD Horizon（商標）V500、Texas Red、ローダミン、シアニン、フィコエリトリン（PE）、フィコシアニン、アロフィコシアニン（APC）、o - フタルアルデヒド、フルオレサミン、Oregon Green（登録商標）488、PE - APC、PE - Cy5、PerCP、PE - TR、ローダミングリーン、及びロードルグリーン、ならびにこれらのタンデム型色素が挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

40

【0046】

「first fluorophore」及び「second fluorophor

50

e」という用語は、本開示の方法において有用なフルオロフォアを指し、本方法において異なる波長で放射し、重複しないフルオロフォアの使用を指定するために使用される。例えば、「first fluorophore」は、本方法において1つ以上の特異的結合を標識するのに使用され、第1の波長で光を放射する1つ以上のフルオロフォアを指し、第1の波長範囲内で重複するスペクトル放射プロファイルを有する2つの異なるフルオロフォアの使用を含む。「second fluorophore」は、フルオロフォア（複数可）の波長放射が第1のフルオロフォア（複数可）の放射波長と重複しない、本方法において使用される1つ以上のフルオロフォアを指す。第3の波長または一般的な波長範囲で光を放射するが、第1のフルオロフォアとも第2のフルオロフォアともスペクトル的に重複しない、1つ以上の色素を含む「第3のフルオロフォア（third fluorophore）」または更なる後続フルオロフォアを使用して本方法を実行することもまた可能である。重複するスペクトルプロファイルを有するフルオロフォアの例としては、FITC及びAlexa Fluor 488；APC、eFluor（登録商標）660、及びAlexa Fluor（登録商標）647；PE及びPE-Cy5；Alexa Fluor（登録商標）555及びCy3；Alexa Fluor（登録商標）647及びCy5；ならびに重複する放射スペクトルにあると判定される他のものが挙げられる。当業者は、フルオロフォアの放射スペクトルを記載する一般に入手可能な資料を使用して、フルオロフォアが重複するスペクトルを有するかを判定することができる。

10

【0047】

「specifically binds」という用語は、「antigen specific（抗原特異的）」であり、「selective binding agent（選択的結合剤）」、「specific binding agent（特異的結合剤）」、「antigen target（抗原標的）」、「specific for（に特異的）」であるか、または、抗原と「immunoreactive（免疫反応性）」であり、類似する配列の他の抗原よりも大きな親和性で標的抗原に結合する抗体またはポリペプチドを指す。薬剤は、例えば、表面抗原（例えば、T細胞受容体、CD3）、及びサイトカイン（例えば、TSLP、IL-4、IL-5、IL-13、IL-17、IFN-g、TNF-a）などの、免疫細胞型の識別において有用な標的タンパク質に特異的に結合することが本明細書に企図される。

20

【0048】

「antibody」という用語は、最も幅広い意味で使用され、完全組立抗体、四量体抗体、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）、抗原に結合し得る抗体フラグメント（例えば、Fab、F(ab)₂、Fv、一本鎖抗体、ダイアボディ）、及びそれらが所望される生物活性を呈する限り、上記を含む組み換えペプチドを含む。「immunoglobulin」または「tetrameric antibody」は、それぞれが可変領域及び定常領域を含む、2つの重鎖及び2つの軽鎖からなる四量体糖タンパク質である。抗原結合部分は、組み換えDNA技術によって、または完全な抗体の酵素もしくは化学開裂によって産生され得る。抗体フラグメントまたは抗原結合部分としては、とりわけ、Fab、Fab₂、F(ab)₂、Fv、ドメイン抗体（dAb）、相補性決定領域（CDR）フラグメント、CDR移植抗体、一本鎖抗体（scFv）、一本鎖抗体フラグメント、キメラ抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、線状抗体；キレート化組み換え抗体、トライボディもしくはバイボディ、イントラボディ、ナノボディ、小モジュラー免疫医薬品（SMIP）、抗原結合ドメイン免疫グロブリン融合タンパク質、ラクダ化抗体、VHH含有抗体、またはこれらの変異形もしくは誘導体、及び抗体が所望される生物活性を保持する限り、1、2、3、4、5、または6個のCDR配列などの、ポリペプチドに特異性抗原結合を与えるのに十分な免疫グロブリンの少なくとも一部分を含有するポリペプチドが挙げられる。

30

40

【0049】

「Monoclonal antibody」は、実質的に均一な抗体の集団から得ら

50

れる抗体を指し、すなわち、少量で存在し得る可能性のある天然に存在する変異を除いて、集団を構成する個々の抗体は同一である。

【0050】

「sample」または「biological sample」という用語は、本方法における使用のために対象から得られる検体を指し、尿、全血、血漿、血清、唾液、組織生検、インビトロ刺激を有する脳脊髄液末梢血単核球、インビトロ刺激を有しない末梢血単核球、インビトロ刺激を有する腸リンパ組織、インビトロ刺激を有しない腸リンパ組織、腸洗浄液、気管支肺胞上皮洗浄液、鼻洗浄液、及び誘発喀痰を含む。

【0051】

「fibroproliferative disease」または「fibrotic disease or disorder」は、1つ以上の組織における線維症に關与する病態を指す。本明細書で使用される場合、「fibrosis」は、器官または組織の正常な構成物としてではなく、修復または反応過程としての線維性組織の形成を指す。

10

【0052】

線維性疾患としては、全身性または局所性強皮症、ケロイド及び肥厚性瘢痕、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、肺炎症及び肺線維症、間質性肺炎、特発性肺線維症、肝硬変症、B型またはC型慢性肝炎感染症の結果としての線維症、放射線誘発線維症、創傷治癒から生じる線維症、腎疾患、瘢痕組織から生じる心疾患、黄斑変性などの眼疾患、ならびに網膜症及び硝子体網膜症が挙げられるが、これらに限定されない。追加の線維性疾患としては、化学療法薬から生じる線維症、放射線誘発線維症、ならびに外傷及び熱傷が挙げられる。

20

【0053】

「treat」、「treating」、及び「treatment」という用語は、一時的または永久的のいずれか、部分的または完全のいずれかで、臨床症状、事象の徴候または進行、本明細書に記載される炎症性障害と関連付けられる疾患または病態を除去、低減、抑制、または寛解させることを指す。関連分野において認識されるように、治療剤として用いられる薬物は、所与の疾患状態の重症度を低減し得るが、有用な治療剤と見なされるのに、疾患の全ての徴候を消失させる必要はない。同様に、予防的に与えられる治療は、実行可能な予防剤を構成するのに、病態の発症の予防において完全に有効である必要はない。（例えば、その症状の数または重症度を低減することによって、もしくは別の治療の有効性を増加させることによって、もしくは別の有益な効果を産生することによって）疾患の影響を単に低減すること、または対象において疾患が発生または悪化する可能性を低減することは、十分である。本発明の一実施形態は、特定の障害の重症度を反映する指標のベースラインを超える、持続した改善を誘発するのに十分な量及び時間、患者に治療剤を投与することを含む治療の有効性を判定するための方法を対象とする。

30

【0054】

「therapeutically effective amount」という用語は、疾患または障害と関連付けられる疾患の症状もしくは徴候を寛解または軽減させるのに有効である治療剤の量を指す。

40

【0055】

特異的結合剤

それらの標的抗原、例えば、表面分子及びサイトカインなどに結合する抗体及び抗体フラグメントなどの特異的結合剤は、本発明の方法において有用である。一実施形態において、特異的結合剤は抗体である。抗体は、単一特異性ポリクローナル、モノクローナル(MAb)、組み換え、キメラ、補性決定領域(CDR)移植などのヒト化、ヒト、一本鎖、及び/または二重特異性、ならびにこれらのフラグメント、変異形、もしくは誘導体を含む、ポリクローナルであっても良い。抗体フラグメントとしては、対象となるポリペプチドのエピトープに結合する抗体の部分が挙げられる。そのようなフラグメントの例としては、全長抗体の酵素開裂によって生成されるFabフラグメント及びF(ab)フラ

50

グメントが挙げられる。他の結合フラグメントとしては、抗体可変領域をコードする核酸配列を含有する組み換えプラスミドの発現などの、組み換えDNA技術によって生成されるものが挙げられる。

【0056】

モノクローナル抗体は、治療剤または診断剤としての使用のために修飾され得る。一実施形態は、重鎖(H)及び/もしくは軽鎖(L)の一部が、特定の種に由来するか、または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一であるか、あるいは相同である一方で、鎖(複数可)の残部が、別の種に由来するか、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一であるか、あるいは相同である、「キメラ」抗体である。それらが所望される生物活性を呈する限り、そのような抗体のフラグメントもまた含まれる。米国特許第4,816,567号、Morrisson et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. 81:6851-55を参照されたい。

10

【0057】

別の実施形態において、モノクローナル抗体は「ヒト化」抗体である。非ヒト抗体をヒト化するための方法は、当該技術分野において周知である。米国特許第5,585,089号及び同第5,693,762号を参照されたい。一般に、ヒト化抗体は、非ヒトである供給源からその中に導入された1つ以上のアミノ酸残渣を有する。ヒト化は、例えば、当該技術分野において記載される方法(Jones et al., 1986, Nature 321:522-25、Riechmann et al., 1998, Nature 332:323-27、Verhoeyen et al., 1988, Science 239:1534-36)を使用して、げっ歯類相補性決定領域の少なくとも一部分を、ヒト抗体の対応する領域と置換することによって実行され得る。

20

【0058】

対象となる抗原に結合するヒト抗体もまた、本発明によって網羅される。内在性免疫グロブリン産生の不在下で、ヒト抗体のレパートリーを産生することのできる遺伝子導入動物(例えば、マウス)を使用して、そのような抗体は、任意で担体に共役されたポリペプチド抗原(すなわち、少なくとも6個の近接アミノ酸を有する)による免疫化によって産生される。例えば、Jakobovits et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. 90:2551-55、Jakobovits et al., 1993, Nature 362:255-58、Bruggemann et al., 1993, Year in Immuno. 7:33を参照されたい。PCT出願第PCT/US96/05928号及び同第PCT/US93/06926号もまた参照されたい。追加の方法は、米国特許第5,545,807号、PCT出願第PCT/US91/245号及び同第PCT/GB89/01207号、ならびに欧州特許第546073B1号及び同第546073A1号に記載される。ヒト抗体はまた、本明細書に記載されるように、宿主細胞中での組み換えDNAの発現によって、またはハイブリドーマ細胞中での発現によって産生され得る。

30

【0059】

ヒト抗体はまた、ファージディスプレイライブラリから産生され得る(Hoogenboom et al., 1991, J. Mol. Biol. 227:381、Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222:581)。これらの過程は、糸状バクテリオファージの表面上での抗体レパートリーのディスプレイを通じた免疫選択、及び選択された抗原へのそれらの結合による後続するファージの選択を模倣する。1つのそのような技術は、PCT出願第PCT/US98/17364号に記載され、これは、そのようなアプローチを使用する、MPL受容体及びmsk受容体のための高親和性、機能性アゴニスト抗体の単離を記載する。

40

【0060】

キメラ抗体、CDR移植抗体、及びヒト化抗体は、典型的に組み換え法によって産生される。抗体をコードする核酸は、本明細書に記載される材料及び手順を使用して宿主細胞

50

中に導入され、発現される。好ましい一実施形態において、抗体は、CHO細胞などの哺乳類宿主細胞中で産生される。モノクローナル（例えば、ヒト）抗体は、本明細書に記載されるように、宿主細胞中の組み換えDNAの発現によって、またはハイブリドーマ細胞中の発現によって産生され得る。

【0061】

T細胞集団を検出するために有用なサイトカインに結合する特異的結合剤が本明細書で企図され、IL-4、IL-5、IL-13、IFN-g、TNF-a、IL-2、IL-17A、IL-17F、IL-22、及びIL-10に特異的な結合剤を含むが、これらに限定されない。

【0062】

細胞表面マーカーに結合する特異的結合剤が、T細胞亜集団の識別における使用のために企図される。例示的な細胞表面マーカーとしては、Th2細胞に対するST2、CRTH2、及びCCR4、Th1細胞に対するCXCR3、ならびに/またはTh17細胞に対するCCR6が挙げられるが、これらに限定されない。T細胞亜集団はまた、PD1、CTLA4、CD40L、ICOS、OX40、41BB、TIM-3、GITR、HLA-DR、ならびにTh1、Th2、及びTh17細胞のKi67を含む、活性化状態を示すバイオマーカーに基づいて区別され得る。

【0063】

治療剤

本明細書に記載される方法は、治療剤との併用において有用である。特に好ましい治療剤としては、サイトカインをアンタゴニズするか、または患者におけるTヘルパー細胞またはCTL比率を変更する受容体に結合する抗体が挙げられる。例としては、TSLP、TSLP受容体、IL-25、IL-17A、IL-17-B、IL-17C、IL-17D、IL-17E（IL-25としても知られる）、IL-17-F、IL-17RA、IL-17-RB、IL-17RC、IL-17RD、IL-17RE、IL-33、ST2、IL-4、IL-13、IL4/13R、IL-5、IL-5R、TNF、TNF-R、IL-6、IL-6R、IL-10、IL-10R、IL-12p35、IL-12p40、IL-18、IL-18R、IL-22、IL-23/p19、TGF-b、IL-2、IFN-g、IFN-a、IL-1、IL-1R、IL-9、IL-36、及びGM-CSFに対する抗体が挙げられるが、これらに限定されない。CCL17、CCL22、CCL20、及びIP-10などを含むが、これらに限定されない、Th細胞またはCTLの走化性因子であるケモカインもまた企図される。

【0064】

特定の実施形態において使用され得る抗TSLP抗体の例としては、米国特許第7,982,016号、米国公開特許出願第20090186022号、及び米国特許第8,232,372号に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。抗TSLP受容体抗体の例としては、米国特許第8,101,182号に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。特に好ましい実施形態において、抗TSLP抗体は、米国特許第7,982,016号内でA5として指定される抗体である。

【0065】

特定の実施形態において使用され得る抗IL-17RA抗体の例としては、米国特許第7,767,206号、米国特許第7,786,234号、米国特許第7,939,070号、米国特許第7,833,527号、同第8,435,518号、米国特許第8,545,842号、及び米国公開特許出願第20130022621号に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、Recommended International Nonproprietary Names: List 67 (WHO Drug Information, Vol. 26, No. 1, 2012; World Health Organization)に記載される抗IL-17RA抗体プロダクトの使用もまた好適である。特定の実施形態において使用され得る抗IL-17A抗体の例としては、Recommended International

10

20

30

40

50

l Nonproprietary Names : List 69 (WHO Drug Information Vol. 27, No. 1, 2013; World Health Organization) に記載されるペラキズマブ、Proposed International Nonproprietary Names : List 102 (WHO Drug Information, Vol. 23, No. 4, 2009; World Health Organization) に記載されるセクキヌマブ、Proposed International Nonproprietary Names : List 105 (WHO Drug Information, Vol. 25, No. 2, 2011; World Health Organization) に記載されるイキセキズマブ、Recommended International Nonproprietary Names : List 70 (WHO Drug Information, Vol. 27, No. 3, 2013; World Health Organization) に記載されるチルダキズマブ (tildakizumab) が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0066】

特定の実施形態において使用され得る抗ST2抗体の例としては、WO2013173761に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。特に好ましいのは、WO2013173761においてAb1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7、Ab8、Ab9、Ab10、Ab11、Ab30、Ab32、及びAb33として記載される抗体である。

20

【0067】

本質的にいかなる抗体も、本明細書に記載される方法に組み込まれ得ることが企図される。例示的な抗体（及びそれらが特異的に結合する抗原）としては、米国特許第7,947,809号及び米国特許出願公開第20090041784号（グルカゴン受容体）；米国特許第7,939,070号、米国特許第7,833,527号、米国特許第7,767,206号、及び米国特許第7,786,284号（IL-17受容体A）；米国特許第7,872,106号及び米国特許第7,592,429号（スクレロスチン）；米国特許第7,871,611号、米国特許第7,815,907号、米国特許第7,037,498号、米国特許第7,700,742号、及び米国特許出願公開第20100255538号（IGF-1受容体）；米国特許第7,868,140号（B7RP1）；米国特許第7,807,159号及び米国特許出願公開第20110091455号（ミオスタチン）；米国特許第7,736,644号、米国特許第7,628,986号、米国特許第7,524,496号、及び米国特許出願公開第20100111979号（上皮増殖因子受容体の欠失変異体）；米国特許第7,728,110号（SARSコロナウイルス）；米国特許第7,718,776号及び米国特許出願公開第20100209435号（OPGL）；米国特許第7,658,924号及び米国特許第7,521,053号（アンジオポエチン-2）；米国特許第7,601,818号、米国特許第7,795,413号、米国特許出願公開第20090155274号、米国特許出願公開第20110040076号（NGF）；米国特許第7,579,186号（TGF- β 1型受容体）；米国特許第7,541,438号（結合組織増殖因子）；米国特許第7,438,910号（IL1-R1）；米国特許第7,423,128号（プロパージン）；米国特許第7,411,057号、米国特許第7,824,679号、米国特許第7,109,003号、米国特許第6,682,736号、米国特許第7,132,281号、及び米国特許第7,807,797号（CTLA-4）；米国特許第7,084,257号、米国特許第7,790,859号、米国特許第7,335,743号、米国特許第7,084,257号、及び米国特許出願公開第20110045537号（インターフェロン- γ ）；米国特許第7,932,372号（MAdCAM）；米国特許第7,906,625号、米国特許出願公開第20080292639号、及び米国特許出願公開第20110044986号（アミロイド）；米国特許第7,815,907号及び米国特許第7700742号（インスリン様増殖因子I）；米国特許第7,566,772号及び米

30

40

50

国特許第7964193号(インターロイキン-1);米国特許第7,563,442号、米国特許第7,288,251号、米国特許第7338660号、米国特許第7,626,012号、米国特許第7,618,633号、及び米国特許出願公開第20100098694号(CD40);米国特許第7,498,420号(c-Met);米国特許第7,326,414号、米国特許第7,592,430号、及び米国特許第7,728,113号(M-CSF);米国特許第6,924,360号、米国特許第7,067,131号、及び米国特許第7,090,844号(MUC18);米国特許第6,235,883号、米国特許第7,807,798号、及び米国特許出願公開第20100305307号(上皮増殖因子受容体);米国特許第6,716,587号、米国特許第7,872,113号、米国特許第7465450号、米国特許第7,186,809号、
 米国特許第7,317,090、及び米国特許第7638606号(インターロイキン-4受容体);米国特許出願公開第20110135657号(BETA-KLOTHO);米国特許第7,887,799及び米国特許第7,879,323号(線維芽細胞増殖因子様ポリペプチド);米国特許第7,867,494号(IGF);米国特許出願公開第20100254975号(アルファ-4BETA-7);米国特許出願公開第20100197005号及び米国特許第7537762号(アクチビン受容体様キナーゼ-1);米国特許第7,585,500号及び米国特許出願公開第20100047253号(IL-13);米国特許出願公開第20090263383号及び米国特許第7,449,555号(CD148);米国特許出願公開第20090234106号(アクチビンA);米国特許出願公開第20090226447号(アンジオポエチン-1及びアン
 ジオポエチン-2);米国特許出願公開第20090191212号(アンジオポエチン-2);米国特許出願公開第20090155164号(C-FMS);米国特許第7,537,762号(アクチビン受容体様キナーゼ-1);米国特許第7,371,381号(ガラニン);米国特許出願公開第20070196376号(インスリン様増殖因子);米国特許第7,267,960号及び米国特許第7,741,115号(LDCAM);US7265212(CD45RB);米国特許第7,709,611号、米国特許出願公開第20060127393号、及び米国特許出願公開第20100040619号(DKK1);米国特許第7,807,795号、米国特許出願公開第20030103978号、及び米国特許第7,923,008号(オステオプロテゲリン);米国特許出願公開第20090208489号(OV064);米国特許出願公開第200802
 86284号(PSMA);米国特許第7,888,482号、米国特許出願公開第20110165171号、及び米国特許出願公開第20110059063号(PAR2);米国特許出願公開第20110150888号(HEPCIDIN);米国特許第7,939,640号(B7L-1);米国特許第7,915,391号(c-Kit);米国特許第7,807,796号、米国特許第7,193,058号、及び米国特許第7,427,669号(ULBP);米国特許第7,786,271号、米国特許第7,304,144号、及び米国特許出願公開第20090238823号(TSLP);米国特許第7,767,793号(SIGIRR);米国特許第7,705,130号(HER-3);米国特許第7,704,501号(アタキシン-1様ポリペプチド);米国特許第7,695,948号及び米国特許第7,199,224号(TNF-変換酵素);
 米国特許出願公開第20090234106号(アクチビンA);米国特許出願公開第20090214559号及び米国特許第7,438,910号(IL1-R1);米国特許第7,579,186号(TGF- β 1型受容体);米国特許第7,569,387号(TNF受容体様分子);米国特許第7,541,438号(結合組織増殖因子);米国特許第7,521,048号(TRAIL受容体-2);米国特許第6,319,499号、米国特許第7,081,523号、及び米国特許出願公開第20080182976号(エリスロポエチン受容体);米国特許出願公開第20080166352号及び米国特許第7,435,796号(B7RP1);米国特許第7,423,128号(プロパージン);米国特許第7,422,742号及び米国特許第7,141,653号(インターロイキン-5);米国特許第6,740,522号及び米国特許第7,411,0

10

20

30

40

50

50号(RANKL);米国特許第7,378,091号(炭酸脱水酵素IX(CAIX)腫瘍抗原);米国特許第7,318,925号及び米国特許第7,288,253号(副甲状腺ホルモン);米国特許第7,285,269号(TNF);米国特許第6,692,740号及び米国特許第7,270,817号(ACPL);米国特許第7,202,343号(単球走化性タンパク質-1);米国特許第7,144,731(SCF);米国特許第6,355,779号及び米国特許第7,138,500(4-1BB);米国特許第7,135,174号(PDGF D);米国特許第6,630,143号及び米国特許第7,045,128号(Flt-3リガンド);米国特許第6,849,450号(メタロプロテアーゼ阻害剤);米国特許第6596852号(LERK-5);米国特許第6,232,447号(LERK-6);米国特許第6,500,429号(脳由来神経栄養因子);米国特許第6,184,359号(上皮由来T細胞因子);米国特許第6,143,874号(神経栄養因子NNT-1);米国特許出願公開第20110027287号(プロタンパク質転換酵素サブチリシンケキシン型9(PCSK9));米国特許出願公開第20110014201号(IL-18受容体);ならびに米国特許出願公開第20090155164(C-FMS)に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。上記の特許及び公開特許出願の全体が、抗体ポリペプチド、核酸をコードする抗体、宿主細胞、ベクター、抗体を作製する方法、医薬組成物、及び抗体のそれぞれの標的と関連付けられる疾患を治療する方法のそれらの開示の目的上、参照によって本明細書に組み込まれる。

10

20

【0068】

治療指標

本発明の方法は、免疫構成要素、すなわち、疾患もしくは障害の発症または進行において免疫細胞の関与を有する幅広い疾患もしくは障害を有する対象において、Th1細胞、Th2細胞、及びTh17細胞などのT細胞サブセットを検出するために有用である。

【0069】

喘息：喘息は気道の慢性的な炎症性障害である。毎年、喘息は、米国において推定110万人の外来患者来院、160万人の救急治療室来院、44万4千人の入院(Defrances et al, 2008)(<http://www.cdc.gov/nchs/data/nhsr/nhsr005.pdf>から入手可能)、及び3,500人の死亡を占める。感受性個人において、喘息性炎症は、喘鳴、息切れ、胸部絞扼感、及び咳の再発性エピソードを引き起こす。喘息の病因は、複数要因であり、遺伝的環境機序¹、²の両方によって影響されるが、環境アレルゲンが重要な原因であると考えられている。²、³ほとんどの原因は、人がアレルゲンに対して過敏性(アトピー)になるときに生じる。アトピーは、Th2細胞、Th2サイトカイン発現、及びIgE産生の増加を特徴とする。米国において約1000万人の患者が、アレルギー誘発性喘息を有すると考えられている。利用可能な治療の選択肢にも関わらず、喘息は主要な健康問題であり続けている。世界中で現在約3億人が喘息に罹患し、2020年までに4億人が喘息を罹患すると予想されている(Partridge, Eur Resp Rev. 16:67-72, 2007)。

30

40

【0070】

アトピー性喘息患者によるアレルゲン吸入は、可逆性気流閉塞、気道過敏症、ならびに好酸球性及び好塩基球性気道炎症を含む、喘息の徴候のうちのいくつかを誘発する。アレルゲン吸入負荷は、多くの種において喘息の主要なモデルとなっている(Bates et al., Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 297(3):L401-10, 2009; Diamant et al., J Allergy Clin Immunol. 132(5):1045-1055, 2013)。

【0071】

ステロイド治療に対して屈折する異なる喘息亜型が識別されている。好酸球は、Th2型CD4+T細胞によって特徴的に媒介されるアレルギー性喘息において、重要な炎症

50

性細胞である。好中球性気道炎症は、重度の喘息においてコルチコステロイド治療と関連付けられ、Th1 - またはTh17 - 型T細胞によって媒介され得る (Mishra et al. Dis. Model. Mech. 6 : 877 - 888 , 2013)。

【0072】

胸腺間質性リンパ球新生因子 (T S L P) は、炎症促進性の刺激に応答して産生され、主に樹状細胞 (Gilliet , J Exp Med . 197 : 1059 - 1067 , 2003、Soumelis , Nat Immunol . 3 : 673 - 680 , 2002、Reche , J Immunol . 167 : 336 - 343 2001)、マスト細胞 (Allakhverdi , J Exp Med . 204 : 253 - 258 , 2007)、及びCD34 + 前駆細胞に対するその活性を通してアレルギー性炎症応答を駆り立てる、上皮細胞由来のサイトカインである。⁹ T S L P は、インターロイキン (I L) - 7 受容体アルファ (I L - 7 R) 鎖及び共通鎖様受容体 (T S L P R) からなるヘテロ二量体受容体を通して信号伝達する (Pandey , Nat Immunol . 1 : 59 - 64 , 2000、Park , J Exp Med . 192 : 659 - 669 , 2000)。

10

【0073】

ヒト T S L P mRNA レベル¹⁰、¹¹ 及びタンパク質レベル¹¹ は、対照と比較して喘息個人の気道において増加し、この発現の大きさは疾患の重症度に相関する。¹⁰

近年の研究は、ヒト T S L P 座位における一塩基多型と、喘息、アトピー性喘息、及び気道過敏症からの保護との関連性を実証しており、これは、T S L P 遺伝子発現の分化制御が疾患感受性に影響を与え得ることを示唆する。¹、¹²、¹³ これらのデータは、T S L P を標的化することが、喘息に関与する複数の生物学的パスウェイを阻害し得ることを示唆する。

20

【0074】

線維性疾患：線維症は、任意の特定の組織における正常な沈着を超える線維芽細胞蓄積及びコラーゲン沈着を特徴とする。線維芽細胞は、身体中の結合組織中に分散する結合組織細胞である。線維芽細胞は、I型及び/またはIII型コラーゲンを含有する軟質細胞外マトリクスを分泌する。組織への外傷に応答して、近くの線維芽細胞は、創傷内へと移動し、増殖し、大量のコラーゲン性細胞外マトリクスを産生する。コラーゲンは、細胞外マトリクス及び結合組織、軟骨、ならびに骨の主要な構成要素であるグリシン及びプロリンに富んだ線維性タンパク質である。コラーゲン分子は、縄様ヘリックスにおいて互いの周りに巻き付いたアルファ鎖と呼ばれる三本鎖ヘリックス構造である。コラーゲンは、いくつかの形態または型で存在し、これらのうち、最も一般的なI型は皮膚、腱、及び骨に見られ、III型は皮膚、血管、及び内臓に見られる。

30

【0075】

線維性疾患としては、全身性または局所性強皮症、ケロイド及び肥厚性瘢痕、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、肺炎症及び肺線維症、間質性肺炎、特発性肺線維症、肝硬変症、B型またはC型慢性肝炎感染症の結果としての線維症、放射線誘発線維症、創傷治癒から生じる線維症、腎疾患、瘢痕組織から生じる心疾患、黄斑変性などの眼疾患、ならびに網膜症及び硝子体網膜症が挙げられるが、これらに限定されない。追加の線維性疾患としては、化学療法薬から生じる線維症、放射線誘発線維症、ならびに外傷及び熱傷が挙げられる。

40

【0076】

強皮症：強皮症は、皮膚または他の器官における、線維芽細胞による新しいコラーゲンの過剰産生によって引き起こされる、皮膚の肥厚及び硬化を特徴とする線維性疾患である。強皮症は、局所性または全身性疾患として発生し得る。全身性強皮症は、いくつかの器官に影響を与え得る。全身性硬化症は、皮膚の肥厚及び下層組織 (特に手及び顔の下層組織) への癒着を有する、ヒアリン化及び肥厚化したコラーゲン線維性組織の形成を特徴とする。この疾患はまた、蠕動の損失及び食道の粘膜下線維症による嚥下障害、肺線維症による呼吸困難、心筋線維症、及び腎血管変化を特徴とし得る。(Stedman's Medical Dictionary , 26 . sup . th Edition , Will

50

iams & Wilkins, 1995))。肺線維症は、強皮症患者の30～70%に影響を与え、しばしば拘束性肺疾患をもたらす (Atamas et al. Cytokine and Growth Factor Rev 14: 537 - 550 (2003))。特発性肺線維症は、慢性、進行性、かつ通常致死性の肺障害であり、慢性炎症性過程の結果であると考えられる (Kelly et al., Curr Pharma Design 9: 39 - 49 (2003))。

【0077】

ループス：全身性エリテマトーデス (SLE) は、腎臓、皮膚、及び関節を含む複数の器官における血管に対する反復性外傷によって引き起こされる、自己免疫疾患である。米国において、500,000人以上がSLEに罹患すると推定される。SLEを有する患者において、T細胞とB細胞との間の不完全な相互作用は、細胞核を攻撃する自己抗体の産生をもたらす。これらは、抗二本鎖DNA及び抗Sm抗体を含む。リン脂質に結合する自己抗体はまた、SLE患者の約半数において見出され、血管損傷及び低血球数の原因となる。免疫複合体は、SLE患者の腎臓、血管、及び関節に蓄積し、炎症及び組織損傷を引き起こす。Th2細胞が自己抗体の過剰産生の一因となると仮定されている。

10

【0078】

ループスはまた、亜急性皮膚エリテマトーデス (SCLE) を含む。自己抗体が役割を果たす他の障害としては、シェーグレン症候群及び免疫血小板減少性紫斑病 (ITP) が挙げられる。

20

【0079】

癌：近年の研究は、多くの癌が、疾患の進行及び腫瘍細胞の死滅に寄与する免疫構成要素を有することを示している。特定の癌は、Th1またはTh2表現型に向かう偏在と関連付けられている。Th1様細胞は、典型的に細胞媒介免疫の促進、細胞傷害性応答の惹起に参与し、一般に宿主の重要な抗癌機序の1つであると考えられている。Th1サイトカインIFN-gが、インビボでの抗腫瘍活性を促進し得ることが示されている (Ikeda et al., Cytokine Growth Factor Rev. 13: 95 - 109, 2002))。Itoら (Anticancer Research 25: 2027 - 2031, 2005) は、非小細胞肺癌腫患者において、II期またはIII期癌において、低い末梢血Th1/Th2比率を有する対象が、高いTh1/Th2比率を有する対象よりも有意に良好な予後を有したことを記載する。Daiら (J Immunother. 36(4): 248 - 57, 2013) は、マウスモデルにおける卵巣腫瘍及びメラノーマ腫瘍の排除が、Th2環境から細胞傷害性Th1環境への変化と関連付けられることを実証した。更に、Th17細胞は、特定の研究において腫瘍細胞に対して細胞傷害性であることが示されているが、他の研究において好ましくない結果の指標ともなり得る (Muranski et al., Blood 121: 2402 - 2414, 2013))。本明細書の方法は、治療前後で癌において偏在するTh集団を識別するため、及び癌治療剤の投与を変更して、Th1集団を、対象における腫瘍の退行を促進する集団へと偏在させるために有用である。

30

【0080】

本明細書に企図される例示的な癌としては、副腎皮質癌、AIDS関連癌、AIDS関連リンパ腫、肛門癌、肛門直腸癌、肛門管癌、虫垂癌、小児小脳星細胞腫、小児大脳星細胞腫、基底細胞癌腫、皮膚癌 (非メラノーマ)、胆道癌、肝外胆管癌、肝内胆管癌、膀胱癌 (bladder cancer)、膀胱癌 (urinary bladder cancer)、骨及び関節癌、骨肉腫及び悪性線維性組織球腫、脳癌、脳腫瘍、脳幹神経膠腫、小脳星細胞腫、大脳星細胞腫/悪性神経膠腫、上衣腫、髄芽細胞腫、テント上原始神経外胚葉腫瘍、視覚路及び視床下部膠腫、乳癌、気管支腺腫/カルチノイド、カルチノイド腫瘍、胃腸、神経系癌、神経系リンパ腫、中枢神経系癌、中枢神経系リンパ腫、子宮頸癌、小児癌、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄増殖性障害、結腸癌、結腸直腸癌、皮膚T細胞リンパ腫、リンパ系腫瘍、菌状息肉腫、セザリー症候群、子宮内膜癌、食道癌、頭蓋外細胞腫瘍、性腺外胚細胞腫瘍、肝外胆管癌、眼 (eye) 癌、眼内

40

50

メラノーマ、網膜芽細胞腫、胆嚢癌、胃癌 (gastric cancer 及び stomach cancer)、胃腸カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍 (GIST)、胚細胞腫瘍、卵巣胚細胞腫瘍、妊娠性絨毛腫瘍膠腫、頭頸部癌、肝細胞 (肝臓) 癌、ホジキンリンパ腫、下咽頭癌、眼内メラノーマ、眼癌 (ocular cancer)、島細胞腫瘍 (膵島)、カポジ肉腫、腎臓癌 (kidney cancer)、腎臓癌 (renal cancer)、腎臓癌 (kidney cancer)、喉頭癌、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、有毛細胞性白血病、口唇及び口腔癌、肝臓癌、肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、AIDS 関連リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、ワルデンストアームマクログロブリン血症 (Waldenström macroglobulinemia)、髄芽腫、メラノーマ、眼内 (眼) メラノーマ、メルケル細胞癌腫、悪性中皮腫、中皮腫、転移性扁平上皮性頸部癌、口癌 (mouth cancer)、舌癌、多発性内分泌腫瘍症候群、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄異形成 / 骨髄増殖性疾患、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、慢性骨髄増殖性障害、鼻咽頭癌、神経芽細胞腫、口腔癌 (oral cancer)、口腔癌 (oral cavity cancer)、口腔咽頭癌、卵巣癌、卵巣上皮癌、卵巣低悪性度腫瘍、膵臓癌、島細胞膵臓癌、副鼻腔及び鼻腔癌、副甲状腺癌、陰茎癌、咽頭癌、褐色細胞腫、松果体芽細胞腫及びテント上原始神経外胚葉腫瘍、下垂体部腫瘍、形質細胞腫瘍 / 多発性骨髄腫、胸膜肺芽腫、前立腺癌、直腸癌、腎盂及び尿管、移行上皮癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺癌、ユーイング肉腫腫瘍ファミリー、カポジ肉腫、軟部組織肉腫、子宮癌、子宮肉腫、皮膚癌 (非メラノーマ)、皮膚癌 (メラノーマ)、メルケル細胞皮膚癌腫、小腸癌、軟部組織肉腫、扁平上皮細胞癌腫、胃癌 (gastric cancer 及び stomach cancer)、テント上原始神経外胚葉腫瘍、精巣癌、咽喉癌、胸腺腫、胸腺腫及び胸腺癌、甲状腺癌、腎盂及び尿管ならびに他の泌尿器の移行上皮癌、妊娠性絨毛腫瘍、尿道癌、子宮内膜性子宮癌、子宮肉腫、子宮体癌、膣癌、外陰癌、ならびにウィルムス腫瘍が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、腫瘍は、乳癌、メラノーマ、前立腺癌、膵臓癌、頭頸部癌、肺癌、非小細胞肺癌腫、腎臓癌、結腸直腸癌、結腸癌、卵巣癌、肝臓癌、及び胃癌からなる群から選択される癌と関連付けられる。いくつかの実施形態において、癌は膵臓癌である。

10

20

30

40

【0081】

本明細書の方法によって企図される追加の疾患、障害、または病態としては、炎症、自己免疫疾患、軟骨炎症、線維性疾患及び / または骨分解、関節炎、リウマチ性関節炎、若年性関節炎、若年性リウマチ性関節炎、小関節若年性リウマチ性関節炎、多関節型若年性リウマチ性関節炎、全身型若年性リウマチ性関節炎、若年性強直性脊椎炎、若年性腸炎性関節炎、若年性反応性関節炎、若年性ライター症候群、SEA 症候群 (血清陰性、腱附着部症、関節症症候群)、若年性皮膚筋炎、若年性乾癬性関節炎、若年性強皮症、若年性全身性エリテマトーデス、若年性脈管炎、小関節リウマチ性関節炎、多関節型リウマチ性関節炎、全身型リウマチ性関節炎、強直性脊椎炎、腸炎性関節炎、反応性関節炎、ライター症候群、SEA 症候群 (血清陰性、腱附着部症、関節症症候群)、皮膚筋炎、乾癬性関節炎、強皮症、全身性エリテマトーデス、脈管炎、筋炎、多発性筋炎、皮膚筋炎、骨関節炎、結節性多発性動脈炎、ウェゲナー肉芽腫症、動脈炎、リウマチ性多発性筋痛 (poly myalgia rheumatica)、サルコイドーシス、強皮症、硬化症、原発性胆汁性硬化症、硬化性胆管炎、シェーグレン症候群、乾癬、尋常性乾癬、滴状乾癬、逆乾癬 (Inverse psoriasis)、膿疱性乾癬、乾癬性紅皮症、皮膚炎、アトピー性皮膚炎、アテローム性動脈硬化症、スチル病、全身性エリテマトーデス (SLE)、多発性硬化症、重症筋無力症、炎症性腸疾患 (IBD)、クローン病、潰瘍性大腸炎、セリアック病、多発性硬化症 (MS)、喘息、COPD、ギラン・バレー病、I 型真性糖尿病、グレーブス病、アジソン病、レイノー現象、自己免疫肝炎、及びGVHDなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【0082】

50

標識

いくつかの実施形態において、抗体物質は、その検出を促進するために標識される。「標識」、「検出可能な標識」、または「検出可能な部分」は、分光学的、光化学的、生化学的、免疫化学的、化学的、または他の物理的手段によって検出可能な組成物である。例えば、本開示における使用のために好適な標識としては、放射性標識（例えば、 ^{32}P ）、フルオロフォア（例えば、フルオレセイン）、高電子密度試薬、酵素（例えば、ELISAにおいて一般的に使用されるもの）、ビオチン、ジゴキシゲニン、またはハプテン、ならびに、例えば、ハプテンもしくはペプチド内に放射標識を組み込むことによって検出可能となり得るか、あるいはハプテンもしくはペプチドに特異的に反応する抗体を検出するのに使用されるタンパクが挙げられる。

10

【0083】

標識の例としては、本明細書に記載される蛍光色素、放射標識（例えば、 ^3H 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、または ^{32}P ）、酵素（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、及びELISAにおいて一般的に使用される他のもの）、ならびにコロイド金、色ガラス、プラスチックビーズ（例えば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックスなど）などの比色標識が挙げられるが、これらに限定されない。

【0084】

標識は、当該技術分野において周知の方法に従って、アッセイの所望される構成要素に直接的または間接的に結合され得る。好ましくは、一実施形態において、標識は、本明細書に従う活性剤の共役のためのイソシアネート試薬を使用してバイオポリマーに共有結合される。本開示の一態様において、本開示の二機能性イソシアネート試薬は、バイオポリマーに標識を共役させて、活性剤が結合しない標識バイオポリマー共役体を形成するために使用され得る。標識バイオポリマー共役体は、本開示に従う標識された共役体の合成のための中間体として使用されてもよく、またはバイオポリマー共役体を検出するために使用されても良い。上記に示すように、標識の選択は必要とされる感受性、アッセイの所望される構成要素との共役の容易さ、安定性要求、利用可能な計測手段、及び処分設備によって、幅広い標識が使用され得る。非放射性標識は、しばしば間接的な手段で結合される。一般に、リガンド分子（例えば、ビオチン）は分子に共有結合される。その後、リガンドは、本質的に検出可能であるか、検出可能な酵素、蛍光化合物、または化学発光化合物などの信号系に共有結合されるかのいずれかである、別の分子（例えば、ストレプトアビジン）分子に結合する。

20

30

【0085】

本開示の化合物はまた、例えば、酵素またはフルオロフォアとの共役によって、信号生成化合物に直接共役され得る。標識としての使用のために好適な酵素としては、加水分解酵素、特にホスファターゼ、エステラーゼ、グリコシダーゼ、またはオキシダーゼ（oxidase）、特にペルオキシダーゼが挙げられるが、これらに限定されない。標識としての使用のために好適な蛍光化合物、すなわち、フルオロフォアとしては、フルオレセイン及びその誘導体、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロンなどが挙げられるが、これらに限定されない。好適なフルオロフォアの更なる例としては、エオシン、TRITC-アミン、キニーネ、フルオレセインW、アクリジンイエロー、リサミンローダミン、Bスルホニルクロライドエリスロセイン、ルテニウム（トリス、ピピリジニウム）、Texas Red、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド、フラビンアデニンジヌクレオチドなどが挙げられるが、これらに限定されない。標識としての使用のために好適な化学発光化合物としては、ルシフェリン及び2,3-ジヒドロフタラジンジオン、例えば、ルミノールが挙げられるが、これらに限定されない。本開示の方法において使用され得る様々な標識化または信号発生系の概説については、米国特許第4,391,904号を参照されたい。

40

【0086】

方法

本開示は、治療剤での治療の文脈において、Th1/Th2/Th17/Th22細胞

50

などのT細胞集団及び/またはCTLサブセットにおける細胞信号伝達変化の測定を可能にする全血刺激法を提供する。例えば、本開示は、抗TSLP中和抗体で治療される喘息患者において、Th2プロファイルから離れる偏在を実証する。更に、ベースラインでのサイトカイン発現プロファイルの判定は、治療を受ける患者の亜集団を特性評価し、患者に対する治療剤投与のレベルを調整するために有用である。このアッセイは、多発性炎症疾患の臨床試験において、T細胞サブセットを評価するために有用である。この特異的適用は、ヒト臨床試験において以前に実証されていない。

【0087】

本明細書の方法は、患者からの試料中のTh2細胞及びTh1細胞の比率を検出することであって、Th2特異的及びTh1特異的サイトカインのレベルを測定することを含み、本方法は、a)試料を、i)2つ以上のTh2サイトカインに結合する2つ以上の特異的結合剤であって、Th2特異的サイトカインに対する2つ以上の特異的結合剤が、第1のフルオロフォアで標識される、2つ以上の特異的結合剤、及びii)Th1サイトカインに結合する少なくとも1つの特異的結合剤であって、Th1サイトカインに対する特異的結合剤が、第1のフルオロフォアとは異なる第2のフルオロフォアで標識される、少なくとも1つの特異的結合剤、と接触させることと、b)試料中の第1及び第2のフルオロフォアのレベルを測定し、検出されたTh1特異的及びTh2特異的フルオロフォアのレベルに基づいて、細胞をTh1またはTh2細胞として指定することと、c)試料中のTh2細胞対Th1細胞の比率を判定することと、を含む、検出することを提供する。本方法は、任意でTh17細胞の比率を判定するために実行され、Th17サイトカインは、本明細書に記載される第3のフルオロフォアで標識される。

10

20

【0088】

本方法はまた、Th1細胞/Th17細胞及びTh2細胞/Th17細胞の比率を判定するためにも適合される。逆の比率、すなわち、本明細書に述べられる比率の分子及び分母の反転が、上記の方法を使用して計算されることもまた企図される。

【0089】

様々な実施形態において、Th2サイトカインは、IL-4、IL-5、及びIL-13からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、Th1サイトカインは、インターフェロンガンマ(IFN-g)、腫瘍壊死因子アルファ(TNF-a)、及びIL-2からなる群から選択される。様々な実施形態において、Th17サイトカインは、IL-17A、IL-17F、IFN-g、及びIL-22からなる群から選択される。様々な実施形態において、特異的結合剤は、Th1特異的、Th2特異的、またはTh17特異的サイトカインに特異的な抗体である。

30

【0090】

CD8+CTLを検出する方法もまた、企図される。本開示は、多機能CTLなどのCTLのサブセットを検出するための方法であって、a)試料を、1つ以上の多機能CTLサイトカインに結合する1つ以上の特異的結合剤であって、多機能CTLサイトカインに対する1つ以上の特異的結合剤が、第1のフルオロフォア及び/または第2のフルオロフォア及び/または第3のフルオロフォアで標識される、1つ以上の特異的結合剤と接触させることと、b)試料中の第1及び第2及び/または第3のフルオロフォアのレベルを測定し、検出された特異的フルオロフォアのレベルに基づいて、細胞を多機能CTL細胞として指定することと、c)試料中の他のT細胞(例えば、試料中のTh、Treg、NK T、またはgdT)に対する多機能CTLの比率を判定することと、を含む、方法を提供する。

40

【0091】

様々な実施形態において、多機能CTLサイトカインは、IFN-g、IL-17、TNF-a、及びIL-2からなる群から選択される。

一実施形態において、サイトカインは、細胞内で接触させられる。細胞内での接触は、フローサイトメトリーのための細胞内染色の当該技術分野において記載されるプロトコルに従って実行される(例えば、Warrington et al., Arthriti

50

s Res Ther. 8(4):R136, 2006、Ito et al., Anticancer Research 25:2027-2031, 2005を参照されたい)。簡潔に述べると、細胞は試料から得られ、例えば、固定透過処理緩衝剤を使用して、固定、透過処理される。その後、細胞は、サイトカインなどの標的抗原に結合する特異的結合剤によって細胞に接触する。細胞は、実施例に記載されるように、任意で、固定前にPMA/イオノマイシンまたは別の刺激剤を使用してインビトロ刺激される。

【0092】

いくつかの実施形態において、サイトカインは、細胞外で接触させられる。特定の実施形態において、サイトカインは、細胞からインビトロで分泌されるか、またはにおいて流体試料中で検出可能である。その後、試料流体は、対象となるサイトカインに結合する特異的結合剤と接触させられ、サイトカインのレベルが判定され得、サイトカインのレベルは、対象試料における特定のTh1、Th2、もしくはTh17表現型またはCTL集団に対する偏在を予測する。細胞がインビトロ刺激される場合、流体中に排出されるサイトカインが測定され得る。

10

【0093】

試料は、治療剤の投与の前後の様々な時点で得られることが企図される。治療剤の投与と同時に試料を得ることは、薬剤がそれらの治療効果を発揮する期間中に重複が存在する限り、薬剤が試料を得ると同時に投与されることを必要としない。同時または段階的タイミングが企図される。

【0094】

特定の実施形態において、Th1細胞、Th2細胞、T17細胞またはCTLの相対数(割合(%))は、治療剤の投与の前後の様々な時点で比較される。特定の実施形態において、治療剤の投与は、対象から収集された試料中に存在するTh2細胞の相対数の減少を引き起こす。

20

【0095】

薬剤が分析のための試料を得ると同時に投与されることが企図され、同時にとは試料を得る前後30分以内に薬剤が与えられることを指す。

別の態様において、治療剤は試料を得る前に投与される。投与前とは、試料を得る1週間前から、最大で試料を得る30分前の範囲以内の薬剤の投与を意味する。薬剤が、試料を得ることに後続して投与されることが更に企図される。後続投与は、治療の30分後から、最大で治療剤投与の1週間後までの投与を記載することが意味される。

30

【0096】

特定の実施形態において、試料を得る前に、治療剤は、1週間、2週間、3週間、4週間、6週間、2ヶ月間、3ヶ月間、またはそれを超えて投与される。

様々な実施形態において、喘息患者はアトピー性喘息または軽度の喘息を有する。特定の実施形態において、Th2/Th1比率は、Th2表現型に向かって偏在し、この偏在は、Th2パスウェイを標的化する治療剤での治療の候補として患者を識別し得る。様々な実施形態において、Th2細胞/Th1細胞の比率が約0.2以上である場合、患者はTh2標的化治療の候補であり得る。

【0097】

特定の実施形態において、Th2細胞/Th1細胞の比率が、20%、30%、40%、50%、60%、またはそれを超えて減少する場合、患者は、喘息治療に対して応答性であるとして識別される。様々な実施形態において、Th2細胞/Th1細胞の比率は、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、もしくは90%、または20~40%、40~60%、60~80%、もしくは50~90%の範囲内で減少する。一実施形態において、患者が治療に対して応答性であると識別されるTh2/Th1比率は、約0.1以下である。

40

【0098】

様々な実施形態において、本開示は、免疫不全の治療において、抗TSLP剤の用量レジメンを変更する方法であって、試料中のTh2細胞/Th1細胞、及び/またはTh1

50

7細胞の比率を判定し、Th2細胞/Th1細胞、及び/またはTh17細胞の比率が治療中に変化する場合、抗TSLP抗体の用量を変更することを含み、Th2細胞/Th1細胞の比率が安定しているか、または増加し、Th2プロファイルに向かう偏在（すなわち、Th2細胞の割合の増加及び/またはTh1細胞の割合の減少）を示す場合、治療剤の用量が増加され、Th2細胞/Th1細胞の比率が減少し、Th2プロファイルの低減（すなわち、Th2細胞の割合の減少及び/またはTh1細胞の割合の増加）を示す場合、治療剤の用量が減少される、方法を提供する。特定の実施形態において、用量レジメンは変更されない。むしろ、用量レジメンは本アッセイの結果として継続される。

【0099】

一実施形態において、本方法は、フローサイトメトリーによるTh1細胞、Th2細胞、及びTh17細胞の7色細胞内サイトカインアッセイ、ならびに全血中のTh17細胞表面マーカー及びメモリーT細胞サブセットのための6色免疫表現型検査パネルのための検証プロトコルを提供する。特定の実施形態において、Th2サイトカイン産生細胞の割合（%）は、1～5%の範囲である。刺激されていない試料が、0.16%のバックグラウンドレベルを示した一方で、染色を遮断するための標識されていない検出抗体での事前インキュベーションは、0.5%の下限を示唆することが見出された。縦方向サンプリング及び単離CRTH2+細胞を使用するスパイク回収実験は、アッセイが経時的なTh2細胞の変化を検出するのに十分に感受性であることを示唆する。

10

【0100】

一実施形態において、アッセイは、ヒト末梢血試料中の特定の細胞集団からのサイトカイン産生（特に、IL-2、IL-4-5-13、IL-17A、IL-22、IFN- γ 、TNF- α ）を測定するための全血フローサイトメトリー法である。この方法は、喘息対象における吸入アレルゲン負荷試験での、Th2特異的細胞内サイトカイン産生の低減及びTSLP特異性抗体によるTh2/Th1比率の変化を実証するために使用された。記載されるアッセイは、抗TSLP抗体などの抗炎症治療のための、ならびに広くは免疫関連障害のための薬力学的活性、用量選択、及び患者階層化を実証することにおいて有用性を有する。

20

【0101】

本方法はまた、Th2特異的サイトカインから離れるか、またはそれに向かう偏在が、例えば、抗TSLP抗体を使用する治療の有効性における役割を果たすかどうかを判定するためにも有用である。本方法は、治療される患者においてIL-4、IL-5、またはIL-13のレベルが変化するかどうか、及び治療利益を最大化するために治療剤投与がどのように変化され得るかを判定し得る。

30

【0102】

投与及び投薬

一態様において、本開示の方法は、任意で薬学的に許容される担体または賦形剤において、治療剤を投与するステップを含む。特定の実施形態において、薬学的組成物は、無菌組成物である。

【0103】

投与は、治療剤を哺乳類対象に直接的または間接的に導入するための任意の医学的に許容される手段を使用して実行され、これには、注入、経口摂取、鼻腔内、局所的、経皮、非経口、吸入噴霧、腔内、または直腸内投与が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書で使用される場合、非経口という用語は、皮下、静脈内、筋肉内、及び嚢内注入、ならびにカテーテルまたは輸注技術を含む。皮内、乳房内、腹腔内、髄腔内、球後、肺内、及びまたは特定の部位での外科的植め込みによる投与もまた、企図される。

40

【0104】

一実施形態において、投与は、全身的に、あるいはその部位への直接注入による、または製剤を内部に送達し得る持続的送達もしくは持続的放出機序を介した治療を必要とする癌、線維症、もしくは罹患した組織の部位で実行される。例えば、生分解性マイクロスフェアもしくはカプセル、または組成物の持続的送達が可能他の生分解性ポリマー構成（例

50

えば、可溶性ポリペプチド、抗体、もしくは小分子)が、癌、線維症、もしくは罹患した組織もしくは器官の近く、またはその部位に植め込まれる、本開示の製剤中に含まれ得る。

【0105】

治療組成物はまた、複数の部位で患者に送達され得る。複数投与は、同時に与えられても、またはある期間にわたって投与されても良い。特定の場合、治療組成物の継続的流動を提供することが有益である。追加の治療は、期間に基づいて、例えば、毎時、毎日、毎週、2週間に1回、3週間に1回、毎月、またはより長い間隔で与えられ得る。

【0106】

本開示において、本明細書に記載される第2の薬剤(抗炎症剤、化学療法剤、または線維症の治療に有用な薬剤が挙げられるが、これらに限定されない)と併用される抗体組成物などの、複数の薬剤の投与もまた企図される。

10

【0107】

所与の投与量における抗体などの治療剤の量は、治療が与えられる個体の大きさ及び治療される障害の特徴に従って変動し得る。例示的な治療において、約1mg/日、5mg/日、10mg/日、20mg/日、50mg/日、75mg/日、100mg/日、150mg/日、200mg/日、250mg/日、500mg/日、または1000mg/日を投与することが必要であり得る。これらの濃度は、単回剤形として、または複数用量として投与され得る。まず動物モデルにおける、及びその後の臨床試験における標準用量応答研究は、特定の疾患状態及び患者集団に対する最適な投与量を明らかにする。

20

【0108】

従来の治療剤が本開示の治療剤との組み合わせで投与される場合、投薬は修正されても良いことは明らかであろう。

キット

追加の一態様として、本開示は、本開示の方法を実行するためのそれらの使用を促進する様式でパッケージ化された1つ以上の化合物または組成物を含むキットを含む。一実施形態において、そのようなキットは、本明細書に記載される化合物または組成物(例えば、単体で特異的結合剤を含む組成物、または標識もしくはフルオロフォアに付加された特異的結合剤を含む組成物)を含み、これは、容器に付加される、あるいはパッケージ内に含まれる、本方法を実行する上での化合物または組成物の使用を記載するラベルとともに、密封瓶または管などの容器中にパッケージ化される。好ましくは、化合物または組成物は、単位剤形中にパッケージ化される。

30

【0109】

本開示の追加の態様及び詳細は、限定的ではなく、例示的であることが意図される以下の実施例から明らかになるであろう。

【実施例】

【0110】

実施例1

材料及び方法

試験参加者

40

適格な参加者は、陽性皮膚穿刺試験によって確認された軽度の安定したアトピー性喘息、予測の70%以上の1秒間の強制呼気量(FEV₁)(FEV₁)、及び気道過敏症を有する、18~60歳までの年齢の非喫煙者の男性及び女性であった。参加者は、彼らの喘息に影響を与える花粉の季節外で試験され、他の肺疾患を有しなかった。一切の喘息制御剤治療は許可されず、1週間に2回未満使用される、救命治療としての短時間作用性₂アゴニストの吸入が許容された。全ての他の喘息薬物療法は、登録の少なくとも4週前に中断された。喘息の悪化、6週間以内の救急科への呼吸器関連の来院、AMG157の以前の使用、またはAMG157賦形剤に対する既知の感受性については、参加者を除外した。

【0111】

50

試験設計及び監視

この概念証明、無作為化、二重盲検、プラセボ対照試験を、カナダにおける5つの施設において実行した。双方向音声応答システムによって参加者を無作為に1:1に割り当て、試験日1日目、29日目、及び57日目に、1時間の静脈内輸注によって700mgのAMG157またはプラセボを受けさせた。-15、-14、及び-13日目、41、42、43、83、84、及び85日目にアレルゲン及びメタコリン吸入負荷を実行した。-15、-13、1、41、43、83、及び85日目に分画呼気一酸化窒素(FENO)レベルを測定し、-15、-14、-13、1、41、42、43、83、84、及び85日目に誘発喀痰を測定し、-15、1、29、43、57、85、113、及び169日目に血液試料を測定した。一次エンドポイントは、FEV₁における最大低下割合(%)及びFEV₁における時間調整低下割合(%)の曲線下面積(AUC)(%FEV₁-時間AUC)として表現された後、アレルゲン負荷後3~7時間の間に測定された遅発性喘息反応(LAR)であった。二次エンドポイントは、最小FEV₁及び時間調整最小FEV₁のAUC(FEV₁-時間AUC)によって測定されたLAR、アレルゲン負荷後0~2時間の間に測定された即時型喘息反応(EAR)、ならびにAMG157の安全性、副作用プロファイル及び免疫原性であった。探索エンドポイントは、喀痰及び血中好酸球、FENO、Th2サイトカイン、Th2/Th1細胞比率及び血中全IgE、ならびにメタコリンPC₂₀を含んだ。安全性評価は、有害事象の発生率及び重症度、心電図の変化、実験室プロファイル、生命徴候、ならびに抗AMG157抗体の存在を含んだ。

10

20

【0112】

試験プロトコルは各参加施設における施設内研究倫理委員会によって承認され、全ての参加者は書面でのインフォームドコンセントを提供した。

実験室手順

吸入するアレルゲンは、皮膚穿刺試験の結果を使用して選択された。アレルゲン吸入負荷を、記載するように実行した。¹⁴-14日目のスクリーニング負荷中、アレルゲンの10分後でのFEV₁における20%以上の低下が到達されるまで、2~3mLの溶液を充填したWrightネブライザー(Roxon, Quebec)からの換気呼吸によって、倍加する濃度のアレルゲンを2分間かけて吸入させた。その後、規則的な間隔で7時間、FEV₁を測定した。EAR(0~2時間)エンドポイント及びLAR(3~7時間)エンドポイントを計算した。アレルゲン用量の選択及びメタコリン負荷を、記載するように実行した。¹⁵白血球、全IgE、及びサイトカインについて静脈血をサンプリングし、標準的な方法を使用して、誘発喀痰から気道好酸球をサンプリングした。¹⁶FENO測定は、American Thoracic Societyのガイドラインに従った。¹⁷

30

統計学的分析

30人(1治療群当たり15人)の参加者の試料の大きさを、1治療群当たり15人の参加者が、AMG157プラセボのLAR減弱効果を区別するのに十分な検出力を提供することを示唆する以前の研究^{18~20}からの経験的証拠に基づいて、選択した。各エンドポイントのための分析集団は、少なくとも1用量のAMG157またはプラセボを受けた、無作為化された全ての参加者からの全ての入手可能なデータを含み、受けた初期治療に従ってデータを分析した。独立変数としての治療及び来院、治療/来院相互作用項、及びモデル共変数としての対応する事前用量測定を含む反復測定分散分析(ANCOVA)を使用して、EAR及びLARを分析した。平均治療差異、対応する95%信頼区間(CI)、及び両側P値を各来院毎に推定し、報告した。反復測定ANCOVA(Supplemental Appendix)を使用して、探索エンドポイントを分析した。要約データを平均±SEMとして報告し、対数正規分布するエンドポイントを幾何平均(95%CI)として提示する一方で、カテゴリーデータを数(%)として提示する。

40

【0113】

結果

試験集団

50

合計 31 人の参加者を無作為化し、16 人を AMG 157 に、15 人をプラセボに割り当てた。全ての参加者が、無作為化スケジュールに従って少なくとも 1 用量の試験薬を受けた。約 18 ヶ月間、試験を実行した。28 人の参加者 (90%) が全介入期間を終了し、27 人 (87%) が試験を終了した。試験を終了しなかった 4 人の参加者のうち 3 人が追跡不能 (プラセボが 2 人、AMG 157 が 1 人) であり、1 人の参加者が喘息の悪化のために 34 日目で中止した (AMG 157)。各群 1 人の参加者が 84 日目のアレルゲン負荷を終了せず、1 人の参加者が LAR 測定前に 84 日目のアレルゲン負荷を中止した (AMG 157)。2 つの群において、人口統計及び吸入アレルゲンは類似し、2 つの群の間で測定されたベースライン変数のうちのいずれにおいても有意な差異は存在しなかった。

10

【0114】

エンドポイント

AMG 157 治療は、42 及び 84 日目で、4 つのアレルゲン負荷エンドポイントのそれぞれにおいて、プラセボと比較して LAR 及び EAR の両方を部分的に減弱した (図 1、図 2)。統計学的に有意な AMG 157 に関連付けられる減弱は、最後の注入の追加の利益なしで、42 日目の LAR 最小 FEV₁ 及び FEV₁ 時間調整 AUC_{3-7 時間} について、ならびに 84 日目の FEV₁ における LAR 最大低下割合 (%) 及び最小 FEV₁ について達成された。遅発型反応中の FEV₁ における最大減少割合 (%) は、42 日目にはプラセボ群よりも AMG - 157 群において 34.0% 小さく (P = 0.09)、84 日目には 45.9% (11.7% 対 21.6% の減少) 小さかった (P = 0.02)。AMG - 157 群の患者は、プラセボ群の患者と比較して、遅発型反応中、42 日目には最小 FEV₁ において有意な増加 (P = 0.01)、及び時間調整最小 FEV₁ の AUC において有意な増加 (P = 0.02) を有し、84 日目には最小 FEV₁ (P = 0.01) を有した。更に、即時型反応中、42 日目には、プラセボ群よりも AMG - 157 群において、FEV₁ の時間調整減少割合 (%) の AUC は有意に小さく、時間調整最小 FEV₁ の AUC は有意に大きく (両方の比較について P = 0.03)、84 日目には、FEV₁ の時間調整減少割合 (%) の AUC は有意に小さかった (P = 0.030) (図 1 及び 2)。

20

【0115】

平均ベースライン血中好酸球数は、AMG 157 について、-15 日目で 296.5 ± 40.2 × 10⁶ / L から 29 日目で 121.9 ± 14.7 × 10⁶ / L へと減少し、プラセボについて、-15 日目で 281.1 ± 57.3 × 10⁶ / L から 29 日目で 224.1 ± 36.5 × 10⁶ / L へと減少した。(図 3A)。血中好酸球数は 43 及び 85 日目でアレルゲン後に増加したが、そのレベルは、プラセボと比較して、AMG 157 治療について有意により低かった (全体的な治療効果 P = 0.004)。

30

【0116】

AMG 157 治療は、アレルゲン負荷の前後で喀痰好酸球を減少させた。平均事前アレルゲン喀痰好酸球レベルは、-15 日目で 4.1 ± 2.3% から 83 日目で 0.4 ± 0.1% へと低減した。プラセボと比較して、AMG 157 は、試験の過程にわたって事前アレルゲン喀痰好酸球レベルを有意に低減させ (全体的な治療効果 P = 0.015) (図 3B)、負荷の 24 時間後のアレルゲン誘発変化を有意に減弱した (全体的な治療効果 P = 0.004)。

40

【0117】

FE_{NO} は、ベースライン条件下では、両方の治療群において上昇した。プラセボと比較して、AMG 157 治療は、試験全体を通して FE_{NO} を有意に減少させ (全体的な治療効果 P = 0.002)、負荷の 24 時間後のアレルゲン誘発変化を有意に減弱した (全体的な治療効果 P = 0.02) (図 3C)。

【0118】

AMG 157 での治療は、41 及び 83 日目に測定される事前アレルゲン FEV₁ 値を有意には変化させなかった。83 及び 85 日目には、プラセボと比較して、AMG 157

50

についてメタコリンPC₂₀の有意な増加が存在した ($p < 0.05$)。メタコリンPC₂₀のアレルゲン誘発変化 (41~43日目及び83~85日目)は、AMG157治療について数値的に低く、プラセボと比較して、AMG157についてそれぞれ0.76及び0.49の倍加する用量で増加したが、この差異はプラセボと比較して統計学的に有意ではなかった (図2)。HumanMAP (登録商標) v. 2.0パネルにおいて、全IgEまたは定量化可能血清マーカーに対するAMG157の影響は存在しなかった。インターロイキン4、5、及び13、ならびにTNFレベルは、試料の95%未満において、定量化レベル未満であった。

【0119】

治療される患者からの試料において、幾何平均Th2/Th1比率 (95%信頼間隔) を測定した。AMG157での治療は、数値的にはTh2/Th1細胞比率と関連付けられたが、プラセボよりも統計学的に低くはなかった (ANOVAのp値は、治療の主要効果について0.058、時間相互作用による治療について0.367であった)。Th2/Th1比率の減少は、主にTh2細胞の減少によって駆り立てられた。ヘパリンナトリウムバキュテナー中に血液試料を収集し、収集後24時間以内に実験室手順を開始した。サイトカイン産生細胞のサブセットを分類するために、まず、タンパク質輸送阻害剤プレフェルジンAの存在下、ホルボール12-ミスチン酸13-酢酸 (PMA) 及びイオノマイシンによって全血を活性化させた。具体的には、10uLの白血球活性化カクテル (LAC, BD Biosciences, San Jose, CA) を500uLのRPMIと混合し、その後、15mLの管 (BD Falcon) 中、1-1で全血と組み合わせ 20
合わせた。アッセイの確立中、(滴定PMA/イオノマイシンと比較して) LAC刺激レベルがEC90を超えることが見出されたため、LAC刺激レベルを選択した。RPMI中、プレフェルジンA (BD Golgi Stop) の単独存在下で同様にインキュベートした試料アリコートを含めた。37 で4時間インキュベーションし、18 で一晩保持した後、表面及び細胞内染色手順を実行した。

【0120】

細胞内サイトカイン分析は、IFN- (BD、クローン25723.11FITC)、及びIL-4 (BD、クローン3010.211PE) と、IL-5 (BD、クローンJES1-39D10PE) と、IL-13 (BDクローン、JES10-5A2PE) との組み合わせ分析を含んだ。検証されたBD FACSCanto IIフローサイトメーター上で蛍光データを取得し、標準化されたテンプレートを使用して、FCS Expressソフトウェア (De Novo, Los Angeles CA) において分析を実行した。Th1細胞を、IFN- は発現するが、IL-4、IL-5、またはIL-13は発現しないCD3⁺CD8⁻T細胞として識別し、Th2細胞を、IL-4、IL-5、またはIL-13は発現するが、IFN- は発現しないCD3⁺CD8⁻T細胞として識別した。重要なエンドポイントは、AMG157治療前後のTh2細胞対Th1細胞の比率であった。

【0121】

変数因子としての対象とともに、用量後試験来院、治療群、及び来院と治療との間の相互作用を含む、ベースライン調整混合効果モデルにおける対数変換の後、Th1、Th2の割合 (%) 及びTh2細胞/Th1細胞の比率を分析した。ベースライン値を共変数として含めた。41及び83日目のみが、AMG157暴露を有する時点での潜在的なTh2/Th1比率変化を試験するための統計学的分析に考慮された。ANOVAを使用して、治療群が全ての来院 (用量項) にわたって、または任意の所与の時点 (来院/治療相互作用項) で平均されたとき、治療群が異なるかどうかを評価した。図における信頼区間は、推定される平均の数について調整している (Dunn-Sidak)。* プラセボと比較して、 $P < 0.05$ 。

【0122】

循環するTh2/Th1細胞比率は、プラセボと比較して、AMG157治療によって低減し、低減は41日目には29% ($P = 0.016$)、83日目には23% ($P = 0.$

10

20

30

40

50

47)であった(表1)。

【0123】

【表1】

表1 Th2/Th1細胞比率:細胞内サイトカインアッセイ

日	プラセボ	AMG157	治療差異推定	95%信頼区間
41日目	0.093	0.066	0.713	(0.55, 0.93)
83日目	0.084	0.073	0.866	(0.58, 1.30)

【0124】

安全性

AMG157による治療は、測定された実験室値、温度、血圧、脈拍、または呼吸の変化とは関連付けられなかった。プラセボ治療には12の有害事象が、及びAMG157には15の有害事象が存在した。重篤有害事象または死亡は存在しなかった。1人のプラセボ治療参加者が抗AMG157抗体に対して陽性反応を示し、AMG157治療参加者には抗AMG157抗体に対して陽性反応を示した者はいなかった。

【0125】

考察

この試験は、モノクローナル抗体AMG157による治療が、安定したアレルギー性喘息参加者において、全身性及び気道炎症のマーカーとともに、アレルゲン誘発性気管支収縮(EAR及びLAR)のほとんどの測定を減弱することを実証した。そのようなものとして、データの重みは、マウスモデルにおいてアレルゲン誘発気道反応を誘発することにおける、文書化TSLPの役割と一貫する。²¹ AMG157はまた、試験期間を通して、気道炎症(FENO及び嗜酸球)の指標ならびに全身性炎症(循環する好酸球)を含む、ベースライン評価において測定された炎症変数の全てを低減した。好酸球の変化が、アレルゲン誘発性気管支収縮の減弱の原因となるのかどうかは未知である。この概念証明試験は、TSLPが、アレルギー性喘息を有する患者において、アレルゲン誘発気道反応においてだけでなく、持続性気道炎症を引き起こすことにおいてもまた中枢的なサイトカインであることを示唆する。

【0126】

TSLPは、マウスモデルにおいて、アレルギー性炎症の「マスタースイッチ」として識別されている。²² 健康な個体からの上皮細胞に対して、喘息患者からの上皮細胞においてより高いレベルのTSLPが産生され¹¹、TSLP遺伝子における多型は、小児アレルギー性喘息及び成人アレルギー性喘息の両方と関連付けられている。¹³、²³ TSLPは、ヒト主要組織適合抗原複合体I及びII、ならびに骨髄樹状細胞上でのCD40、CD80、及びCD86などの同時刺激分子の発現を強く誘発した。⁶ TSLPの誘発は、アレルゲン誘発性遅発型皮膚反応中、樹状細胞の皮膚内への浸潤に先行した。²⁴ TSLPはまた、ヒトマスト細胞Th2サイトカイン産生を誘発し得る。⁸ TSLPは更に、ウイルス媒介過程において役割を果たし得る。²⁵

TSLPは、アレルギー性喘息患者において、インターロイキン-5及びインターロイキン-13を含む炎症促進性のサイトカインの産生により、気道樹状細胞の活性化及びTh2細胞の数の増加を通して、気道及び血中好酸球増加症を引き起こすと考えられる。²¹ TSLPはまた、マスト細胞⁸、CD34⁺前駆細胞⁹、及び最も近年では2型自然リンパ球系細胞からのインターロイキン-5及びインターロイキン-13の産生に影響を与えることが示されている。²⁶ インターロイキン-5の阻害は、アレルゲン誘発気道好酸球増加症を予防する²⁷ことが以前に示されており、この仮定を裏付ける。他の気道上皮由来のサイトカイン、特にインターロイキン-25及びインターロイキン-33はまた、マウスモデルにおけるアレルゲン誘発気道炎症に関係付けられている²⁸が、現在の所、それらをヒトにおけるアレルギー性喘息に関係付ける直接的な証拠は存在しない。

【0127】

10

20

30

40

50

疫学的証拠は、小児喘息の病理生物学において、環境アレルゲンに対する重要な役割を裏付ける。²⁹ アレルギー性喘息患者によるアレルゲン吸入は、可逆性気流閉塞、気道過敏症、³⁰ ならびに好酸球性及び好塩基球性気道炎症を含む喘息の多くの徴候をもたらす。³¹ アレルゲン吸入負荷は、アレルギー性喘息の機序の試験及び潜在的な新しい治療の評価のための貴重な臨床モデルとなっている。²⁰、³² しかしながら、アレルゲン吸入は、アレルゲンに対して非アレルギー性であるか、アレルゲンに対して暴露されていない多くの喘息患者において、喘息の発症もしくは持続の原因とはならない。したがって、これらの患者における持続性気道炎症におけるTSLPの重要性は、現在の試験からは外挿され得ない。しかしながら、アレルギー性喘息参加者におけるアレルゲン誘発気道反応の薬理的減弱は、非アレルギー性対象においてすら、以前に有効な喘息治療と関連付けられている。⁵

10

気道マスト細胞及び好塩基球からのヒスタミン及びシステイニルロイコトリエンは、EAR及びLARの主要部分に寄与する。³³、³⁴ LARはまた、炎症性細胞、特に好塩基球及び好酸球のアレルゲン誘発流入によって引き起こされる。³¹、³³ したがって、AMG157は、マスト細胞活性化及び炎症性細胞動員の両方に対する作用を通して、これらの反応を減弱する可能性がある。

【0128】

安全性の理由から、及び吸入コルチコステロイドまたはロイコトリエン受容体拮抗剤などの維持治療によるアレルゲン誘発気道反応の潜在的な修正を避けるため、定期的な維持喘息治療を受けておらず、ほぼ正常なベースライン肺機能を有する、安定したアレルギー性喘息患者においてこの試験を実行した。この患者集団を評価する他の研究のように、²⁰、³²、³³ 参加者は、試験への登録時点で、増加したFENO及び喀痰好酸球増加症とともに、気道炎症の証拠を有した。これらの安定した喘息患者において持続性気道炎症を引き起こす機序は未知である。何人かは、チリダニなどの遍在性のアレルゲンに定期的に暴露され得るが、これは研究された参加者のうちの半数未満を占めた(図2)。また、参加者はほぼ正常なベースラインFEV₁値を有したため、ベースラインFEV₁の改善を観察することは可能ではなかった。

20

【0129】

全ての現在利用可能な喘息治療は、アレルゲン誘発気道反応の構成要素を減弱する。しかしながら、吸入コルチコステロイドのみが、FENO及び好酸球のベースライン気道レベル³⁵、ならびにこれらのパラメータにおけるアレルゲン誘発増加を減弱する。³⁶ この試験は、TSLPの標的化が、ベースラインFENOならびに血中及び気道好酸球増加症を低減し得ることを示す。重度の難治性喘息を有する何人かの患者は、高用量の吸入及び経口コルチコステロイドによる治療にも関わらず、持続性気道好酸球増加症を有する。Th2サイトカイン、つまりインターロイキン-5、インターロイキン-13、及びインターロイキン-4の標的化は、重度の喘息パラメータを改善している。重度の難治性喘息を有する患者におけるインターロイキン-5の標的化は、喘息増悪を低減し、経口コルチコステロイドの維持用量の低減を可能にした。³⁷、³⁸ これらの研究は、持続性気道好酸球増加症が、重度の難治性喘息を有する何人かの患者にとって重度な機序であることを示唆する。インターロイキン-13を対象とした抗体は、「Th2表現型」を有する喘息患者において、循環するペリオスチンのレベルの上昇によって示される様に、肺機能を改善することが示されている。³⁹ 更に、インターロイキン-4受容体及びインターロイキン-13受容体の共有の構成要素であるインターロイキン-4受容体-₂を対象とした抗体は、喘息制御を悪化させることなく、吸入コルチコステロイドと長時間作用性₂アゴニストとの組み合わせによる維持治療の除去を可能にした。⁴⁰ これらの炎症促進性のサイトカインのそれぞれの産生は、上皮細胞TSLP産生及び樹状細胞活性化の結果(下流)であり得、これは、TSLPの標的化がまた、これらの患者集団において利益を提供し得ることを示唆する。しかしながら、この潜在的な利益を評価するためには、更なる臨床研究が必要とされるであろう。

30

40

【0130】

50

要約すると、AMG157による12週間の治療は、アレルギー性喘息参加者において、ベースラインF_EN_Oならびに血中及び喀痰好酸球を低減した。この治療はまた、これらの炎症性パラメータにおけるアレルゲン誘発変化、ならびにEAR及びLARを減弱した。これらの結果は、不良に制御された喘息を有する患者における、AMG157の作用の機序及び臨床利益の調査についての更なる研究を裏付ける。

【0131】

実施例2

実施例1におけるTh2/Th1比率を判定するために、細胞内サイトカイン染色を実行して、Th1サイトカイン、つまりIFN-g、TNF-a、及び/またはIL-2を発現する細胞と比較して、IL-4、IL-5、及びIL-13などのTh2サイトカインを発現する細胞の比率を判定する方法論を使用した。

10

【0132】

Th2関連サイトカインの検出を最大化するために、フィコエリトリン(PE)フルオロフォアで標識した抗サイトカイン抗体を使用して、IL4、IL-5、及びIL-13サイトカインのそれぞれを検出した。これらのサイトカインの個々の測定及び集団的測定を、Th1細胞を示す同一の細胞集団におけるIFN-gのレベルと比較した。

【0133】

サイトカイン産生細胞の割合(%)を、表2に提示する。

【0134】

【表2】

20

表2

パネル	プロファイル	平均	標準偏差	中央値	最小	最大
パネル1	IL-4-5-13+(IFN-g-)	3.4	0.5	3.6	2.7	4.0
	IFN-g+(IL-4-5-13-)	32.1	11.5	28.6	21.6	46.3
	IL-17A+(IL-4-5-13-)	3.6	0.7	3.5	2.7	4.6
	IL-2+(IL-4-5-13-)	54.0	9.4	56.1	41.7	65.6
パネル2	IL-4+(IFN-g-)	4.9	0.6	4.8	4.0	5.9
	IL-5+(IFN-g-)	1.8	1.4	1.5	0.7	4.5
	IL-13+(IFN-g-)	2.3	0.3	2.2	2.0	2.7
	IFN-g+(IL-13-)	30.6	10.2	17.7	17.7	42.3

30

【0135】

この表は6人のドナーの結果であり、細胞の平均、最大、及び最小数を提供する。このアッセイにおいて、Thは、示されたサイトカイン(複数可)を発現するCD3+CD8-リンパ球の割合(%)として定義される。

【0136】

相対絶対T細胞数が並行して判定される場合、このデータは細胞の数としても表現され得る。特定の実施形態において、正規化のために、参照カウントビーズを使用して細胞数を判定する。

40

【0137】

パネル1の増加した信号対ノイズ比率(S/N)は、Th2細胞の検出のために、IL-4-5-13の組み合わせ測定を使用する利点を示唆する。IL-4、IL-5、及びIL-13の大部分は、同一の細胞によって発現され、これはIL-5及びIL-13について特に当てはまる。分析の結果を、表3に提示する。結果はまた、図4に図解的に提示され、治療される患者においてTh2から離れる偏在を示す。

【0138】

【表 3】

表3

パネル	プロファイル	平均	標準偏差	中央値	最小	最大
パネル1	IL-4-5-13+(IFN-g-)	13.0	4.2	11.6	8.3	19.8
	IFN-g+(IL-4-5-13-)	177.9	79.3	169.2	100.0	285.7
	IL-17A+(IL-4-5-13-)	38.8	8.6	41.8	21.5	44.5
	IL-2+(IL-4-5-13-)	41.7	8.9	40.3	32.3	54.3
パネル2	IL-4S/N(IFN-g-)	6.3	1.3	6.0	5.1	8.6
	IL-5S/N(IFN-g-)	5.3	0.4	5.	5.0	6.1
	IL-13S/N(IFN-g-)	8.1	2.1	2	6.6	12.1
	IFN-g+(IL-13-)	152.9	47.4	7.2	89.2	217.6

10

【0139】

実施例 3

20

本方法を使用して、乾癬患者及び亜急性皮膚エリテマトーデス（SCL E）患者からの試料を評価し、Th17細胞に対する影響を探した。SCL E試料は、刺激されていない対照が高レベルのIFN-g及びTNF-aを示し、このアッセイが、異なる型のループス関連疾患を患う患者のための治療を導くための診断的ツールとして有用で有り得ることを示唆したという意味において、特有であった（図5）。

【0140】

上記の例示的な実施例で説明される本発明における多数の修正形態及び変形形態が、当業者に着想されることが予想される。したがって、添付の特許請求の範囲に示される限定のみが、本発明に課されるべきである。

【0141】

30

本出願に引用される全ての出版物及び特許文書の全体が、あたかも個々の各出版物及び特許文書の内容が本明細書に組み込まれているかのように、同じ程度で、参照によって本明細書に組み込まれる。

【0142】

[参照文献]

1. Ferreira MA, Matheson MC, Tang CS, et al. Genome-wide association analysis identifies 11 risk variants associated with the asthma with hay fever phenotype. J Allergy Clin Immunol 2013.

40

【0143】

2. Boulet LP, Cartier A, Thomson NC, Roberts RS, Dolovich J, Hargreave FE. Asthma and increases in nonallergic bronchial responsiveness from seasonal pollen exposure. J Allergy Clin Immunol 1983; 71: 399-406.

【0144】

3. Green RM, Custovic A, Sanderson G, Hunter J, Johnston SL, Woodcock A. Synergism between allergens and viruses and risk of h

50

ospital admission with asthma: case - control study. *BMJ* 2002; 324: 763.

【0145】

4. Inman MD, Ellis R, Wattie J, Denburg JA, O'Byrne PM. Allergen-induced increase in airway responsiveness, airway eosinophilia, and bone-marrow eosinophil progenitors in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 21: 473 - 9.

【0146】

5. Diamant Z, Gauvreau GM, Cockcroft DW, et al. Inhaled allergen bronchoprovocation tests. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 1045 - 55.

【0147】

6. Soumelis V, Reche PA, Kanzler H, et al. Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nat Immunol* 2002; 3: 673 - 80.

【0148】

7. Reche PA, Soumelis V, Gorman DM, et al. Human thymic stromal lymphopoietin preferentially stimulates myeloid cells. *J Immunol* 2001; 167: 336 - 43.

【0149】

8. Allakhverdi Z, Comeau MR, Jessup HK, et al. Thymic stromal lymphopoietin is released by human epithelial cells in response to microbes, trauma, or inflammation and potently activates mast cells. *J Exp Med* 2007; 204: 253 - 8.

【0150】

9. Allakhverdi Z, Comeau MR, Smith DE, et al. CD34+hemopoietic progenitor cells are potent effectors of allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 472 - 8.

【0151】

10. Ying S, O'Connor B, Ratoff J, et al. Thymic stromal lymphopoietin expression is increased in asthmatic airways and correlates with expression of Th2-attracting chemokines and disease severity. *J Immunol* 2005; 174: 8183 - 90.

【0152】

11. Ying S, O'Connor B, Ratoff J, et al. Expression and cellular provenance of thymic stromal lymphopoietin and chemokines in patients with severe asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Immunol* 2008; 181: 2790 - 8.

10

20

30

40

50

【0153】

12. He JQ, Hallstrand TS, Knight D, et al. A thymic stromal lymphopoietin gene variant is associated with asthma and airway hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 222 - 9。

【0154】

13. Harada M, Hirota T, Jodo AI, et al. Thymic stromal lymphopoietin gene promoter polymorphisms are associated with susceptibility to bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011; 44: 787 - 93。

10

【0155】

14. O'Byrne PM, Dolovich J, Hargreave FE. Late asthmatic responses. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136: 740 - 51。

【0156】

15. Cockcroft DW, Murdock KY, Kirby J, Hargreave F. Prediction of airway responsiveness to allergen from skin sensitivity to allergen and airway responsiveness to histamine. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 264 - 70。

20

【0157】

16. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, et al. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 308 - 17。

30

【0158】

17. American Thoracic S, European Respiratory S. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 912 - 30。

【0159】

18. Inman MD, Watson R, Cockcroft DW, Wong BJ, Hargreave FE, O'Byrne PM. Reproducibility of allergen-induced early and late asthmatic responses. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95: 1191 - 5。

40

【0160】

19. Gauvreau GM, Watson RM, Rerencich TJ, Bawick E, Inman MD, O'Byrne PM. Repeatability of allergen-induced airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 66 - 71。

【0161】

50

20. Gauvreau GM, Boulet LP, Cockcroft DW, et al. Effects of interleukin-13 blockade on allergen-induced airway responses in mild atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183: 1007-14.

【0162】

21. Zhou B, Comeau MR, De Smedt T, et al. Thymic stromal lymphopoietin as a key initiator of allergic airway inflammation in mice. *Nat Immunol* 2005; 6: 1047-53.

10

【0163】

22. Liu YJ. Thymic stromal lymphopoietin: master switch for allergic inflammation. *J Exp Med* 2006; 203: 269-73.

【0164】

23. Bunyavanich S, Melen E, Wilk JB, et al. Thymic stromal lymphopoietin (TSLP) is associated with allergic rhinitis in children with asthma. *Clin Mol Allergy* 2011; 9: 1

20

【0165】

24. Corrigan CJ, Jayaratnam A, Wang Y, et al. Early production of thymic stromal lymphopoietin precedes infiltration of dendritic cells expressing its receptor in allergen-induced late phase cutaneous responses in atopic subjects. *Allergy* 2009; 64: 1014-22.

【0166】

25. Kato A, Favoreto S, Jr., Avila PC, Schlimmer RP. TLR3- and Th2 cytokine-dependent production of thymic stromal lymphopoietin in human airway epithelial cells. *J Immunol* 2007; 179: 1080-7.

30

【0167】

26. Mjosberg J, Bernink J, Golebski K, et al. The transcription factor GATA3 is essential for the function of human type 2 innate lymphoid cells. *Immunity* 2012; 37: 649-59.

40

【0168】

27. Leckie MJ, ten Brinke A, Khan J, et al. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 2000; 356: 2144-8.

【0169】

28. Gavala ML, Bashir H, Gern JE. Virus/allergen interactions in asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 2013; 13: 298-307.

50

【0170】

29. Sears MR, Burrows B, Flannery EM, Herbi-
son GP, Holdaway MD. Atopy in childhood. I.
Gender and allergen related risks for de-
velopment of hay fever and asthma. Clin Exp
Allergy 1993; 23: 941-8。

【0171】

30. Gauvreau GM, Watson RM, O'Byrne PM. Kin-
etics of allergen-induced airway eosinop-
hilic cytokine production and airway inf-
lamination. Am J Respir Crit Care Med 1999;
160: 640-7。

10

【0172】

31. Gauvreau GM, Lee JM, Watson RM, Irani A
M, Schwartz LB, O'Byrne PM. Increased numbe-
rs of both airway basophils and mast cel-
ls in sputum after allergen inhalation c-
hallenge of atopic asthmatics. Am J Respi-
r Crit Care Med 2000; 161: 1473-8。

【0173】

32. Gauvreau GM, Boulet LP, Cockcroft DW, e-
t al. OX40L blockade and allergen-induced
airway responses in subjects with mild
asthma. Clin Exp Allergy 2014; 44: 29-37。

20

【0174】

33. Davis BE, Illamperuma C, Gauvreau GM, e-
t al. Single-dose desloratadine and monte-
lukast and allergen-induced late airway
responses. Eur Respir J 2009; 33: 1302-8。

【0175】

34. Parameswaran K, Liang H, Fanat A, Watso-
n R, Snider DP, O'Byrne PM. Role for cystei-
nyl leukotrienes in allergen-induced cha-
nge in circulating dendritic cell number
in asthma. J Allergy Clin Immunol 2004; 11
4: 73-9。

30

【0176】

35. Nolte H, Pavord I, Backer V, et al. Dose-
dependent anti-inflammatory effect of i-
nhaled mometasone furoate/formoterol in
subjects with asthma. Respir Med 2013; 107:
656-64。

40

【0177】

36. Dahlen B, Lantz AS, Ihre E, et al. Effec-
t of formoterol with or without budesoni-
de in repeated low-dose allergen challen-
ge. Eur Respir J 2009; 33: 747-53。

【0178】

37. Nair P, Pizzichini MM, Kjarsgaard M, et
al. Mepolizumab for prednisone-dependent

50

asthma with sputum eosinophilia. N Engl J Med 2009; 360: 985 - 93.

【0179】

38. Haldar P, Brightling CE, Hargadon B, et al. Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. N Engl J Med 2009; 360: 973 - 84.

【0180】

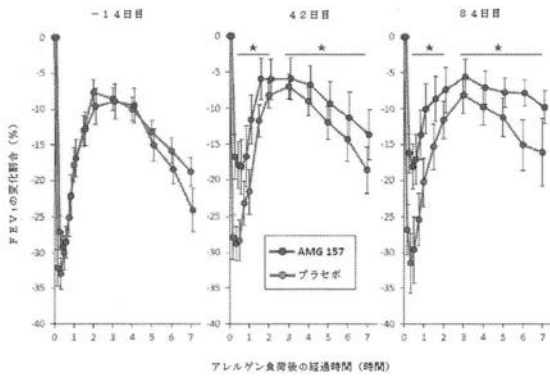
39. Corren J, Lemanske RF, Hanania NA, et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. N Engl J Med 2011; 365: 1088 - 98.

【0181】

40. Wenzel S, Ford L, Pearlman D, et al. Dupilumab in persistent asthma with elevated eosinophil levels. N Engl J Med 2013; 368: 2455 - 66.

10

【図1】

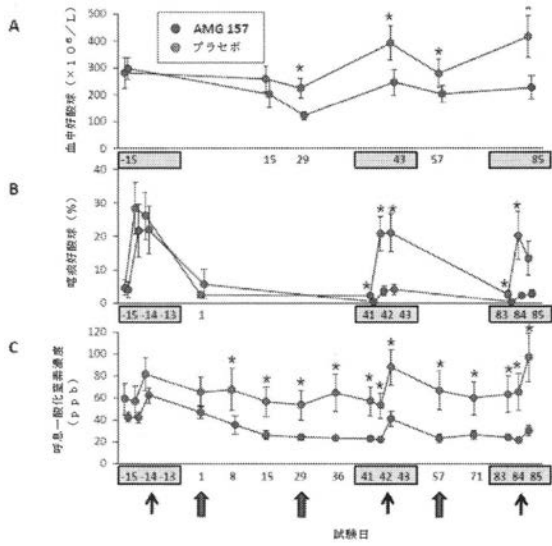


【図2】

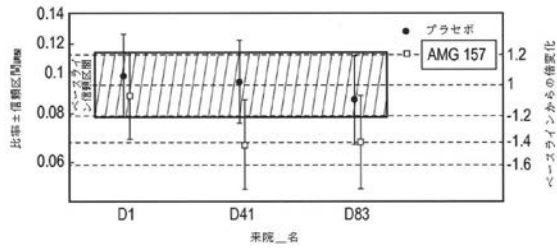
アレルギー性喘息気道炎症における治療効果

反応	日	測定単位	プラセボ	AMG 157	治療効果推定	95%信頼区間	P値
LAR	42	最大%低下FEV ₁	-22.53	-14.88	7.65	(-1.30, 16.60)	0.09
		%FEV ₁ -時間 AUC _{0-7h}	12.75	8.40	-4.35	(-9.80, 1.10)	0.11
		最小FEV ₁ (L)	2.60	3.01	0.41*	(0.12, 0.70)	0.01
	84	FEV ₁ -時間 AUC _{0-7h}	2.94	3.19	0.24*	(0.04, 0.45)	0.02
		最大%低下FEV ₁	-21.58	-11.67	9.91*	(1.59, 18.23)	0.02
		%FEV ₁ -時間 AUC _{0-7h}	12.34	7.68	-4.66	(-9.71, 0.39)	0.07
EAR	42	最小FEV ₁ (L)	2.63	3.05	0.42*	(0.11, 0.72)	0.01
		FEV ₁ -時間 AUC _{0-7h}	2.96	3.15	0.18	(-0.07, 0.44)	0.15
		最大%低下FEV ₁	-31.83	-23.26	8.57*	(0.01, 17.13)	0.05
	84	%FEV ₁ -時間 AUC _{0-7h}	17.73	11.65	-6.08*	(-11.56, -0.60)	0.03
		最小FEV ₁ (L)	2.30	2.64	0.33*	(0.01, 0.68)	0.05
		FEV ₁ -時間 AUC _{0-7h}	2.77	3.05	0.28*	(0.03, 0.53)	0.03
メタコリン FCo	43-41	Loe2FC20デルタ (ng/ml)	-0.90	-1.14	0.76	(-0.04, 1.50)	0.06
	85-83	Loe2FC20デルタ (ng/ml)	-0.69	-1.19	0.49	(-0.30, 1.28)	0.21

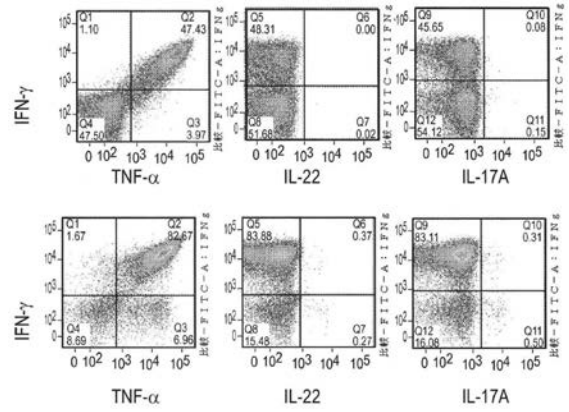
【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2015/030940

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/533 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, WPI Data, EMBASE, BIOSIS, MEDLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SØREN BREGENHOLTANT ET AL: "Increased intracellular Th1 cytokines in scid mice with inflammatory bowel disease", EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 28, no. 1, 1 January 1998 (1998-01-01), pages 379-389, XP055199603, ISSN: 0014-2980, DOI: 10.1002/(SICI)1521-4141(199801)28:01<379::AID-IMMU379>3.0.CO;2-X page 386, paragraph 3 -----	1-22
A	WO 2004/019764 A2 (FINCH UNIVERSITY OF HEALTH SCI [US]) 11 March 2004 (2004-03-11) page 19, line 11 - line 15; claims 212-257 ----- -/--	1-22
<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
9 July 2015		21/07/2015
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 Moreno de Vega, C

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/030940

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>ITOI K ET AL: "Relationship between diabetic macular edema and peripheral Th1/Th2 balance", OPHTHALMOLOGICA, KARGER, BASEL, CH, vol. 222, no. 4, 1 August 2008 (2008-08-01), pages 249-253, XP009185128, ISSN: 0030-3755 [retrieved on 2008-05-09] abstract page 250, right-hand column, paragraph 1 - paragraph 2</p> <p>-----</p>	1-22
A	<p>WO 2008/076321 A1 (SCHERING CORP [US]; PRESTA LEONARD G [US]; DE WAAL MALEFYT RENE [US]) 26 June 2008 (2008-06-26) claims 1-33</p> <p>-----</p>	1-22
A	<p>WO 2010/065929 A2 (MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY [US]; LOVE CHRISTOPHER J [US]; HAN QING) 10 June 2010 (2010-06-10) page 3, paragraph 3 - page 4, paragraph 2; examples 1,2</p> <p>-----</p>	1-22
A	<p>MASAYUKI KITAJIMA ET AL: "TSLP enhances the function of helper type 2 cells", EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 41, no. 7, 7 July 2011 (2011-07-07), pages 1862-1871, XP055199744, ISSN: 0014-2980, DOI: 10.1002/eji.201041195 the whole document</p> <p>-----</p>	1-22
A	<p>G. TOLDI ET AL: "Peripheral Th1/Th2/Th17/regulatory T-cell balance in asthmatic pregnancy", INTERNATIONAL IMMUNOLOGY, vol. 23, no. 11, 20 September 2011 (2011-09-20), pages 669-677, XP055199680, ISSN: 0953-8178, DOI: 10.1093/intimm/dxr074 abstract page 671, left-hand column</p> <p>-----</p>	1-22
A	<p>GENICHI TOJO ET AL: "Comparison of Interleukin-17- Producing Cells in Different Clinical Types of Alopecia Areata", DERMATOLOGY, vol. 227, no. 1, 1 January 2013 (2013-01-01), pages 78-82, XP55199636, ISSN: 1018-8665, DOI: 10.1159/000353159 abstract</p> <p>-----</p>	1-22

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2015/030940

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004019764 A2	11-03-2004	AU 2003268295 A1	19-03-2004
		US 2004105858 A1	03-06-2004
		WO 2004019764 A2	11-03-2004
WO 2008076321 A1	26-06-2008	AR 064333 A1	01-04-2009
		AU 2007334499 A1	26-06-2008
		BR PI0720271 A2	28-01-2014
		CA 2671538 A1	26-06-2008
		CN 101605814 A	16-12-2009
		EP 2129690 A1	09-12-2009
		EP 2628752 A1	21-08-2013
		JP 5059119 B2	24-10-2012
		JP 2010512746 A	30-04-2010
		JP 2013031441 A	14-02-2013
		KR 20090088950 A	20-08-2009
		US 2010166766 A1	01-07-2010
		US 2013004503 A1	03-01-2013
		US 2013004508 A1	03-01-2013
		US 2014141011 A1	22-05-2014
		WO 2008076321 A1	26-06-2008
WO 2010065929 A2	10-06-2010	AU 2009322105 A1	30-06-2011
		CA 2745437 A1	10-06-2010
		CN 102308213 A	04-01-2012
		EP 2370814 A2	05-10-2011
		JP 5675638 B2	25-02-2015
		JP 2012511155 A	17-05-2012
		KR 20110101184 A	15-09-2011
		RU 2011126990 A	10-01-2013
		SG 171927 A1	28-07-2011
		US 2012015824 A1	19-01-2012
		WO 2010065929 A2	10-06-2010

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 27/02	(2006.01)	A 6 1 P 11/02	
A 6 1 P 17/04	(2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 17/04	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00	
		A 6 1 P 35/00	

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

- (72) 発明者 ゴースキー, ケヴィン
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 1 3 2 0, ニューベリー・パーク, サン・ニコラス・コート 3 9 5 5
- (72) 発明者 パーンズ, ジェーン・アール
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 1 3 0 1, アゴウラ・ヒルズ, ミドル・クレスト・ドライブ 5 8 3 2
- (72) 発明者 ビグラー, ジャネット
アメリカ合衆国ワシントン州 9 8 1 1 5, シアトル, ノースイースト・ナインティセカンド 3 2 0 0
- (72) 発明者 ボエディグハイマー, マイケル・ジェイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 1 3 2 0, ニューベリー・パーク, ホロウェイ・コート 3 1 9 2
- (72) 発明者 ウェルチャー, アンドリュー・エイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 3 0 0 1, ベンチュラ, チャーチ・ストリート 1 1 7 5
- F ターム(参考) 4B063 QA01 QA19 QQ08 QR48 QR66 QS33 QS36 QX02
4C085 AA13 AA14 DD62 DD63 EE01 GG01

专利名称(译)	用于检测TH1和TH2细胞群的分析		
公开(公告)号	JP2017518494A	公开(公告)日	2017-07-06
申请号	JP2016568016	申请日	2015-05-15
[标]申请(专利权)人(译)	安姆根有限公司		
申请(专利权)人(译)	安进公司		
[标]发明人	ゴースキーケヴィン パーンズジェーンアール ビグラージャネット ポエディグハイマーマイケルジェイ ウエルチャーアンドリュウエイ		
发明人	ゴースキー,ケヴィン パーンズ,ジェーン・アール ビグラ,ジャネット ポエディグハイマー,マイケル・ジェイ ウエルチャー,アンドリュウ・エイ		
IPC分类号	G01N33/53 C12Q1/02 A61K39/395 A61P11/06 A61P11/02 A61P27/02 A61P17/04 A61P25/00 A61P35/00		
CPC分类号	A61P11/02 A61P11/06 A61P17/04 A61P25/00 A61P27/02 A61P35/00 G01N33/533 G01N2333/4715 G01N33/505 G01N33/582 G01N2333/525 G01N2333/5406 G01N2333/5409 G01N2333/5437 G01N2333/55 G01N2333/57 G01N2800/52		
FI分类号	G01N33/53.P C12Q1/02 A61K39/395.D A61K39/395.N A61P11/06 A61P11/02 A61P27/02 A61P17/04 A61P25/00 A61P35/00		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QR48 4B063/QR66 4B063/QS33 4B063/QS36 4B063/QX02 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/DD62 4C085/DD63 4C085/EE01 4C085/GG01		
代理人(译)	小林 泰 竹内茂雄 山本修		
优先权	61/994430 2014-05-16 US		
其他公开文献	JP6671298B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本公开涉及用于检测患有具有免疫组分的疾病或病症的受试者中的T辅助细胞或CTL亚群的方法。该方法还可用于通过治疗或有害方向上检测T辅助细胞和CTL的遍在蛋白化来确定疾病或病症的治疗效果。

(5) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
GO1N 33/53 (2006.01)	GO1N 33/53 P	4B083
C12Q 1/02 (2006.01)	C12Q 1/02	4C085
A61K 39/395 (2006.01)	A61K 39/395 D	
A61P 11/06 (2006.01)	A61K 39/395 N	
A61P 11/02 (2006.01)	A61P 11/06	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 45 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-568016 (P2016-568016)	(71) 出願人	500203709
(86) (22) 出願日	平成27年5月15日 (2015.5.15)		
(85) 翻訳文提出日	平成29年1月16日 (2017.1.16)	アムジェン インコーポレイテッド	
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/030940	アメリカ合衆国 カリフォルニア 913	
(87) 国際公開番号	W02015/175861	20, サウザンド オークス, ワン	
(87) 国際公開日	平成27年11月19日 (2015.11.19)	アムジェン センター ドライブ	
(31) 優先権主張番号	61/994,430	(74) 代理人	弁理士 小野 新次郎
(32) 優先日	平成26年5月16日 (2014.5.16)		弁理士 小林 泰
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100075270
			弁理士 小林 泰
		(74) 代理人	100101373
			弁理士 竹内 茂雄
		(74) 代理人	100118902
			弁理士 山本 修
		(74) 代理人	100107386
			弁理士 泉谷 玲子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 TH1 及びTH2細胞集団を検出するためのアッセイ