

(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2020-519895

(P2020-519895A)

(43) 公表日 令和2年7月2日(2020.7.2)

(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	N 4 H O 4 5
GO 1 N 33/548 (2006.01)	GO 1 N 33/548	Z
CO 7 K 14/47 (2006.01)	CO 7 K 14/47	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 49 頁)

(21) 出願番号	特願2019-562415 (P2019-562415)	(71) 出願人	518138871 ローワン・ユニバーシティ アメリカ合衆国、ニュージャージー州 O 8028、グラスボロ、マリカ ヒル ロ ード 201
(86) (22) 出願日	平成30年5月10日 (2018.5.10)	(74) 代理人	100102978 弁理士 清水 初志
(85) 翻訳文提出日	令和1年12月18日 (2019.12.18)	(74) 代理人	100102118 弁理士 春名 雅夫
(86) 国際出願番号	PCT/US2018/032130	(74) 代理人	100160923 弁理士 山口 裕孝
(87) 国際公開番号	W02018/209126	(74) 代理人	100119507 弁理士 刑部 俊
(87) 国際公開日	平成30年11月15日 (2018.11.15)	(74) 代理人	100142929 弁理士 井上 隆一
(31) 優先権主張番号	62/504,130		
(32) 優先日	平成29年5月10日 (2017.5.10)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 多発性硬化症の進行を検出する、サブタイプ分類する、および/または評価するための、診断用バイオマーカー

(57) 【要約】

高い全体精度で、多発性硬化症 (MS) を検出するため、ならびに再発寛解型 (RRMS) と二次性進行型 (SPMS) のMSサブタイプを区別するための方法、組成物およびキットを開示する。また、MS全般、RRMSおよびSPMSの診断のため、ならびにMSを発症するリスクがある対象の認定のため、および患者特異的MS自己抗体バイオマーカープロフィールの作成のための、自己抗体抗原およびバイオマーカーも提供する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

以下の段階を含む、対象において多発性硬化症（MS）の診断用自己抗体を検出するための方法：

（a）該対象由来の免疫グロブリン含有生体試料と、1種または複数種の自己抗原を含む系とを、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させて反応混合物を形成させる段階であって、該1種または複数種の自己抗原が、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1を含む、段階；ならびに

（b）該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出する段階であって、自己抗体とその対応する自己抗原との間の免疫複合体の形成が、該生体試料中の該自己抗体の存在を示す、段階。

10

【請求項 2】

以下の段階を含む、対象についての対象特異的MS特異的自己抗体プロフィールを生成する方法：

（a）該対象由来の免疫グロブリン含有生体試料と、1種または複数種の自己抗原を含む系とを、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させて反応混合物を形成させる段階であって、該1種または複数種の自己抗原が、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1を含む、段階；

20

（b）該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出する段階であって、自己抗体とその対応する自己抗原との間の免疫複合体の形成が、該試料中の該自己抗体の存在を示す、段階；ならびに

（c）該生体試料中に存在する自己抗体の対象特異的MS特異的自己抗体プロフィールを生成する段階。

【請求項 3】

前記1種または複数種の自己抗原が、NM_020317.2、NM_001008737.1、NM_004912.3、BC01419.1、NM_002642.1、PV4202およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類をさらに含む、請求項1～2のいずれか一項記載の方法。

【請求項 4】

前記1種または複数種の自己抗原が、BC001419.1およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類をさらに含む、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

30

【請求項 5】

前記対象が、ヒトである、請求項1～4のいずれか一項記載の方法。

【請求項 6】

前記生体試料が、全血、血漿、血清、脳脊髄液、唾液および痰からなる群より選択される、請求項1～5のいずれか一項記載の方法。

【請求項 7】

前記生体試料が、全血である、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

【請求項 8】

少なくとも1つの自己抗原が、固体基板に結合されている、請求項1～7のいずれか一項記載の方法。

40

【請求項 9】

前記自己抗原の各々が、固体基板に結合されており、アレイの形態である、請求項1～8のいずれか一項記載の方法。

【請求項 10】

前記アレイが、マイクロアレイである、請求項9記載の方法。

【請求項 11】

前記固体基板が、ニトロセルロースコートスライドガラスである、請求項8～10のいずれか一項記載の方法。

50

【請求項 1 2】

前記免疫複合体が、イムノアッセイを用いて検出される、請求項1～11のいずれか一項記載の方法。

【請求項 1 3】

前記イムノアッセイが、競合アッセイ、直接イムノアッセイ、間接イムノアッセイ、免疫沈降、イムノプロットイングおよび/またはサンドイッチイムノアッセイを含む、請求項12記載の方法。

【請求項 1 4】

前記対象が、MSに対する治療剤の投与を受けるように、および/またはMSに対する治療的介入を受けるように助言される、請求項1～13のいずれか一項記載の方法。

10

【請求項 1 5】

前記対象に、MSを処置するための治療剤を投与する、および/またはMSを処置するための治療的介入を施す段階をさらに含む、請求項1～14のいずれか一項記載の方法。

【請求項 1 6】

以下の段階：

(a) 対象由来の免疫グロブリン含有生体試料と、再発寛解型MS (RRMS) 特異的自己抗原および/または二次性進行型 (SPMS) 特異的自己抗原を含む系とを、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させて反応混合物を形成させる段階であって、該RRMS特異的自己抗原が、NM_152729.2、BC024289.1、BC020233.1、BC030813.1、NM_144606.1およびNM_145253.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含み、該SPMS特異的自己抗原が、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2、BC010467.1、NM_005409.3、BC048299.1、NM_022788.2、NP_000556.1およびBC093661.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む、段階；

20

(b) 該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出する段階であって、自己抗体とその対応する自己抗原との間の免疫複合体の形成が、該試料中の該自己抗体の存在を示す、段階を含む、対象のMSをサブタイプ分類する方法であって、

該反応混合物中の少なくとも1種類のRRMS特異的免疫複合体の存在が、RRMSサブタイプを示し、

該反応混合物中の少なくとも1種類のSPMS特異的免疫複合体の存在が、SPMSサブタイプを示す、方法。

30

【請求項 1 7】

以下の段階：

(a) 対象由来の免疫グロブリン含有生体試料と、再発寛解型MS (RRMS) 特異的自己抗原および/または二次性進行型 (SPMS) 特異的自己抗原を含む系とを、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させて反応混合物を形成させる段階であって、該RRMS特異的自己抗原が、NM_152729.2、BC024289.1、BC020233.1、BC030813.1、NM_144606.1およびNM_145253.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含み、該SPMS特異的自己抗原が、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2、BC010467.1、NM_005409.3、BC048299.1、NM_022788.2、NP_000556.1およびBC093661.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む、段階；

40

(b) 該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出する段階であって、自己抗体と、対応する自己抗原との間の免疫複合体の形成が、該試料中の該自己抗体の存在を示す、段階を含む、それを必要とする対象において、MSの病態進行を同定する方法であって、

該反応混合物中の少なくとも1種類のRRMS特異的免疫複合体の存在が、RRMSサブタイプを示し、

該反応混合物中の少なくとも1種類のSPMS特異的免疫複合体の存在が、SPMSサブタイプを示す、

50

方法。

【請求項 18】

以下の段階：

(a) 対象由来の免疫グロブリン含有生体試料と、再発寛解型MS (RRMS) 特異的自己抗原を含む系とを、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させる段階であって、該RRMS特異的自己抗原が、NM_152729.2、BC024289.1、BC020233.1、BC030813.1、NM_144606.1およびNM_145253.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む、段階；

(b) 該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出する段階であって、自己抗体とその対応する自己抗原との間の免疫複合体の形成が、該試料中の該自己抗体の存在を示す、段階を含む、RRMSに罹患するリスクがある対象を認定する方法であって、

該反応混合物中の少なくとも1種類のRRMS特異的免疫複合体の存在が、RRMSに罹患するリスクまたはRRMSを発症するリスクを該対象が有することを示す、

【請求項 19】

以下の段階：

(a) 対象由来の免疫グロブリン含有生体試料と、1種または複数種の二次性進行型 (SPMS) 特異的自己抗原を含む系とを、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させて反応混合物を形成させる段階であって、該1種または複数種のSPMS特異的自己抗原が、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2、BC010467.1、NM_005409.3、BC048299.1、NM_022788.2、NP_000556.1およびBC093661.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む、段階；

(b) 該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出する段階であって、自己抗体とその対応する自己抗原との間の免疫複合体の形成が、該試料中の該自己抗体の存在を示す、段階を含む、SPMSに罹患するリスクがある対象を認定する方法であって、

該反応混合物中の少なくとも1種類のSPMS特異的免疫複合体の存在が、SPMSに罹患するリスクまたはSPMSを発症するリスクを該対象が有することを示す、

【請求項 20】

前記RRMS特異的自己抗原が、NM_152729.2、BC024289.1およびBC020233.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む、請求項16～18のいずれか一項記載の方法。

【請求項 21】

前記RRMS特異的自己抗原が、NM_005151.2、NM_004987.3、NM_003141.2およびNP_002167.1からなる群より選択される少なくとも1種類をさらに含む、請求項16～18および20のいずれか一項記載の方法。

【請求項 22】

前記1種または複数種のSPMS特異的自己抗原が、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2およびNP_000556.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む、請求項16～17および19のいずれか一項記載の方法。

【請求項 23】

前記対象がヒトである、請求項16～22のいずれか一項記載の方法。

【請求項 24】

前記生体試料が、全血、血漿、血清、脳脊髄液、唾液および痰からなる群より選択される、請求項16～23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 25】

前記生体試料が、全血である、請求項16～24のいずれか一項記載の方法。

【請求項 26】

少なくとも1つの自己抗原が、固体基板に結合されている、請求項16～25のいずれか一

10

20

30

40

50

項記載の方法。

【請求項 27】

前記自己抗原の各々が、固体基板に結合されており、アレイの形態である、請求項16～26のいずれか一項記載の方法。

【請求項 28】

前記アレイが、マイクロアレイである、請求項27記載の方法。

【請求項 29】

前記固体基板が、ニトロセルロースコートスライドガラスである、請求項26～28のいずれか一項記載の方法。

【請求項 30】

前記免疫複合体が、イムノアッセイを用いて検出される、請求項16～29のいずれか一項記載の方法。

【請求項 31】

前記イムノアッセイが、競合アッセイ、直接イムノアッセイ、間接イムノアッセイ、免疫沈降、イムノプロットングおよび/またはサンドイッチイムノアッセイを含む、請求項30記載の方法。

【請求項 32】

前記対象が、MSに対する治療剤の投与を受けるように、および/またはMSに対する治療的介入を受けるように助言される、請求項16～31のいずれか一項記載の方法。

【請求項 33】

前記対象に、MSを処置するための治療剤を投与する、および/またはMSを処置するための治療的介入を施す段階をさらに含む、請求項16～32のいずれか一項記載の方法。

【請求項 34】

以下を備えた、MS診断用バイオマーカーを検出するためのキット：

(a) 固体基板と、該固体基板上に固定化された1種または複数種の自己抗原とを備えているアレイであって、該アレイ内の該1種または複数種の自己抗原が、BC099907.1、NM_201998.1、BC028006.1、NM_020317.2、NM_003636.1、BC003065.1、NM_001008737.1、XM_003960444.1、BC029796.1、NM_152716.1、XM_379114.1、BC022258.1、BC002733.2、NM_004912.3、BC001419.1、NM_002642.1、PV4202、PV4337、XM_378514.1、XM_086879.4、BC015514.1、NM_005151.2、BC016380.1、BC032451.1、NM_175907.3、BC073782.1、NM_004987.3、BC022362.1、NM_004302、NM_003141.2、NM_005522.3、NM_016011.2、NM_005734.1、NM_004329、NP_002167.1、BC014991.1、NM_004527.2、BC014271.2、XM_378660.1、NM_020467.2、BC033792.1、NM_007255.1、BC017054.1、NM_180699.1、NM_172159.2、NM_199183.1、BC002448.2、NM_005435.2、BC006105.1およびNM_005371.2である第1の自己抗原群より選択される少なくとも1種類を含む、アレイ；

(b) 対象由来の免疫グロブリン含有生体試料中の自己抗体であるMS診断用バイオマーカーに(a)の固定化された該自己抗原が結合することによって形成される免疫複合体の検出のための、アッセイ試薬；ならびに

(c) 該第1の自己抗原群からの少なくとも1種類の免疫複合体の形成が検出されたら、該対象におけるMSの診断を示す、包装表示。

【請求項 35】

前記アレイ内の前記1種または複数種の自己抗原が、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1を含む、請求項34記載のキット。

【請求項 36】

前記アレイ内の前記1種または複数種の自己抗原が、NM_020317.2、NM_001008737.1、NM_004912.3、BC001419.1、NM_002642.1、PV4202およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類をさらに含む、請求項34～35のいずれか一項記載のキット。

【請求項 37】

前記アレイ内の前記1種または複数種の自己抗原が、BC001419.1およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類をさらに含む、請求項34～36のいずれか一項記載

10

20

30

40

50

のキット。

【請求項 38】

前記アレイ内の自己抗原が、前記第1の自己抗原群から選択される前記少なくとも1種類だけである、請求項34～37のいずれか一項記載のキット。

【請求項 39】

前記アレイ内の自己抗原が、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1だけである、請求項34～38のいずれか一項記載のキット。

【請求項 40】

前記アレイ内の自己抗原が、BC099907.1、NM_201998.1、BC028006.1、ならびにNM_020317.2、NM_001008737.1、NM_004912.3、BC001419.1、NM_002642.1、PV4202およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類だけである、請求項34～38のいずれか一項記載のキット。 10

【請求項 41】

前記アレイ内の自己抗原が、BC099907.1、NM_201998.1、BC028006.1、ならびにBC001419.1およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類だけである、請求項34～38のいずれか一項記載のキット。

【請求項 42】

前記包装表示に、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1の3種類すべてについて免疫複合体が検出された場合、前記対象が今後1～10年以内にMSを発症するリスクが約90%であることが示されている、請求項34～41のいずれか一項記載のキット。 20

【請求項 43】

前記アレイが、規則的なマイクロアレイである、請求項34～42のいずれか一項記載のキット。

【請求項 44】

前記固体基板が、ニトロセルロースコートスライドガラスである、請求項34～43のいずれか一項記載のキット。

【請求項 45】

以下を備えた、MS診断用バイオマーカーを検出するためのキット：

(a) 固体基板と、該固体基板上に固定化された1種または複数種の自己抗原とを備えているアレイであって、該アレイ内の該1種または複数種の自己抗原が、以下の群： 30

NM_152729.2、BC024289.1、BC020233.1、BC030813.1、NM_144606.1およびNM_145253.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含むRRMS特異的自己抗原群、ならびに

NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2、BC010467.1、NM_005409.3、BC048299.1、NM_022788.2、NP_000556.1およびBC093661.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含むSPMS特異的自己抗原群

から選択される少なくとも1種類を含む、アレイ；

(b) 対象由来の免疫グロブリン含有生体試料中の自己抗体であるMS診断用バイオマーカーに(a)の固定化された該自己抗原が結合することによって形成される免疫複合体の検出のための、アッセイ試薬；ならびに

(c) 該RRMS特異的自己抗原群からの少なくとも1種類の免疫複合体の形成が検出されたら、該対象におけるRRMSの診断を示す、および/または該SPMS特異的自己抗原群からの少なくとも1種類の免疫複合体の形成が検出されたら、該対象におけるSPMSの診断を示す、包装表示。 40

【請求項 46】

前記RRMS特異的自己抗原が、NM_152729.2、BC024289.1およびBC020233.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む、請求項45記載のキット。

【請求項 47】

前記RRMS特異的自己抗原が、NM_005151.2、NM_004987.3、NM_003141.2およびNP_002167.1からなる群より選択される少なくとも1種類をさらに含む、請求項45～46のいずれか一項記載のキット。 50

【請求項 4 8】

前記SPMS特異的自己抗原が、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2およびNP_000556.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む、請求項45記載のキット。

【請求項 4 9】

前記アレイ内の自己抗原が、前記RRMS特異的自己抗原群および前記SPMS特異的自己抗原群から選択される前記少なくとも1種類だけである、請求項45～48のいずれか一項記載のキット。

【請求項 5 0】

前記アレイ内の自己抗原が、

(i) NM_152729.2、BC024289.1、BC020233.1、BC030813.1、NM_144606.1およびNM_145253.1からなる群より選択される少なくとも1種類；

(ii) NM_152729.2、BC024289.1およびBC020233.1からなる群より選択される少なくとも1種類；

(iii) NM_005151.2、NM_004987.3、NM_003141.2およびNP_002167.1からなる群より選択される少なくとも1種類；

(iv) NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2、BC010467.1、NM_005409.3、BC048299.1、NM_022788.2、NP_000556.1およびBC093661.1からなる群より選択される少なくとも1種類；

(v) NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2およびNP_000556.1からなる群より選択される少なくとも1種類；

(vi) (i)～(v)の任意の組合せ

からなる群より選択されるものだけである、請求項45～49のいずれか一項記載のキット。

【請求項 5 1】

前記アレイが、規則的なマイクロアレイである、請求項45～50のいずれか一項記載のキット。

【請求項 5 2】

前記基板が、ニトロセルロースコートスライドガラスである、請求項45～51のいずれか一項記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2017年5月10日に出願された米国特許仮出願第62/504,130号の35 U.S.C. § 119(e)に基づく優先権を主張するものであり、この仮出願は参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【背景技術】

【0002】

発明の背景

多発性硬化症(MS)は、主に中枢神経系(CNS)の白質が冒される神経炎症性の自己免疫疾患である。最新の推計では、米国において現在、250,000～350,000人が、MSに罹患していると示されている。多くの自己免疫性の病状の場合と同様、MSの罹患は女性に偏っており、その診断は男性1人に対して女性3人の割合である。この性差の理由は不明であるが、ホルモン、遺伝子または環境の違いの影響であると推測されている。従来、MSは病理学的に、時間的および空間的に離れて発生する皮質下白質内の病変を特徴とし、適正なニューロンの発火のために軸索を覆っているミエリン鞘に生じる微視的な構造欠陥を伴う。脱髄は、一般的には脳の白質内、例えば視神経および脊髄で起こるが、後に灰白質内の病変も含むように進行し、これは磁気共鳴画像(MRI)で容易に視認される。一般的な症状としては下肢筋力の低下、知覚障害および視力の変化が挙げられ、疾患が進行するにつれて後に認知機能の低下が観察される。

10

20

30

40

50

【0003】

現在、MSの診断には、患者の全病歴、白質内の病変を検出するための画像診断、例えばMRI、誘発電位試験を用いた電気生理学的検査、および/または高値の免疫グロブリン種の存在を検出するための脳脊髄液（CSF）解析が必要とされる。一部の患者では症状を正確に診断して処置することにある程度成功しているが、他の患者では疾患症状および日和見性の病状が進行的に悪化してしまう。

【0004】

したがって、当技術分野では、対象におけるMSの進行を検出する、サブタイプ分類する、および/または評価するための方法および組成物の必要性が存在している。かかる方法および組成物により、MSの検出可能な身体症状を有し得るまたは有さない対象の迅速な評価が可能となるはずである。本発明により、このような必要性が満たされる。

10

【発明の概要】

【0005】

発明の簡単な概要

本発明により、対象において多発性硬化症（MS）の診断用自己抗体を検出するための方法を提供する。さらに本発明により、対象についての対象特異的MS特異的自己抗体プロフィールを生成する方法を提供する。さらに本発明により、MS診断用バイオマーカーを検出するためのキットを提供する。さらに本発明により、対象のMSをサブタイプ分類する方法を提供する。さらに本発明により、それを必要とする対象において、MSの病態進行を同定する方法を提供する。さらに本発明は、RRMSに罹患するリスクがある対象を認定する方法を含む。さらに本発明は、SPMSに罹患するリスクがある対象を認定する方法を含む。

20

【0006】

一部の特定の態様では、該方法は、該対象由来の免疫グロブリン含有生体試料と、1種または複数種の自己抗原を含む系とを、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させて反応混合物を形成させることを含む。他の態様では、該1種または複数種の自己抗原は、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1を含む。さらに他の態様では、該方法は、該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出することを含み、ここで、自己抗体と、その対応する自己抗原との間の免疫複合体の形成は、該生体試料中の該自己抗体の存在を示す。さらに他の態様では、該方法は、該生体試料中に存在する自己抗体の対象特異的MS特異的自己抗体プロフィールを生成することを含む。

30

【0007】

一部の特定の態様では、該1種または複数種の自己抗原は、NM_020317.2、NM_001008737.1、NM_004912.3、BC001419.1、NM_002642.1、PV4202およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類をさらに含む。

【0008】

一部の特定の態様では、該1種または複数種の自己抗原は、BC001419.1およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類をさらに含む。

【0009】

一部の特定の態様では、対象はヒトである。

40

【0010】

一部の特定の態様では、生体試料は、全血、血漿、血清、脳脊髄液、唾液および痰からなる群より選択される。他の態様では、生体試料は全血である。

【0011】

一部の特定の態様では、少なくとも1つの自己抗原は固体基板に結合されている。他の態様では、該自己抗原の各々は固体基板に結合されており、アレイの形態である。さらに他の態様では、アレイはマイクロアレイである。さらに他の態様では、固体基板はニトロセルロースコートスライドガラスである。

【0012】

一部の特定の態様では、免疫複合体はイムノアッセイを用いて検出される。他の態様で

50

は、イムノアッセイは、競合アッセイ、直接イムノアッセイ、間接イムノアッセイ、免疫沈降、イムノプロットイングおよび/またはサンドイッチイムノアッセイを含む。

【0013】

一部の特定の態様では、対象は、MSに対する治療剤の投与を受けるように、および/またはMSに対する治療的介入を受けるように助言される。他の態様では、該方法は、該対象に、MSを処置するための治療剤を投与するおよび/またはMSを処置するための治療的介入を施すことをさらに含む。

【0014】

一部の特定の態様では、本方法は、該対象由来の免疫グロブリン含有生体試料と、1種または複数種の再発寛解型MS (RRMS) 特異的自己抗原および/または1種または複数種の二次性進行型 (SPMS) 特異的自己抗原を含む系とを、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させて反応混合物を形成させることを含む。他の態様では、該1種または複数種のRRMS特異的自己抗原は、NM_152729.2、BC024289.1、BC020233.1、BC030813.1、NM_144606.1およびNM_145253.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のSPMS特異的自己抗原は、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2、BC010467.1、NM_005409.3、BC048299.1、NM_022788.2、NP_000556.1およびBC093661.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む。さらに他の態様では、該方法は、該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出することを含み、ここで、自己抗体とその対応する自己抗原との間の免疫複合体の形成は、該試料中の該自己抗体の存在を示す。さらに他の態様では、該反応混合物中の少なくとも1種類のRRMS特異的免疫複合体の存在は、RRMSサブタイプを示す。さらに他の態様では、該反応混合物中の少なくとも1種類のSPMS特異的免疫複合体の存在は、SPMSサブタイプを示す。さらに他の態様では、該反応混合物中の少なくとも1種類のRRMS特異的免疫複合体の存在は、RRMSに罹患するリスクまたはRRMSを発症するリスクを該対象が有することを示す。さらに他の態様では、該反応混合物中の少なくとも1種類のSPMS特異的免疫複合体の存在は、SPMSに罹患するリスクまたはSPMSを発症するリスクを該対象が有することを示す。

【0015】

一部の特定の態様では、該1種または複数種のRRMS特異的自己抗原は、NM_152729.2、BC024289.1およびBC020233.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む。

【0016】

一部の特定の態様では、該1種または複数種のRRMS特異的自己抗原は、NM_005151.2、NM_004987.3、NM_003141.2およびNP_002167.1からなる群より選択される少なくとも1種類をさらに含む。

【0017】

一部の特定の態様では、該1種または複数種のSPMS特異的自己抗原は、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2およびNP_000556.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む。

【0018】

一部の特定の態様では、対象はヒトである。他の態様では、生体試料は、全血、血漿、血清、脳脊髄液、唾液および痰からなる群より選択される。さらに他の態様では、生体試料は全血である。

【0019】

一部の特定の態様では、少なくとも1つの自己抗原は固体基板に結合されている。他の態様では、該自己抗原の各々は基板に結合されており、アレイの形態である。さらに他の態様では、アレイはマイクロアレイである。さらに他の態様では、基板はニトロセルロースコートスライドガラスである。

【0020】

一部の特定の態様では、免疫複合体がイムノアッセイを用いて検出される。他の態様で

は、イムノアッセイが、競合アッセイ、直接イムノアッセイ、間接イムノアッセイ、免疫沈降、イムノプロットイングおよび/またはサンドイッチイムノアッセイを含む。

【 0 0 2 1 】

一部の特定の態様では、対象は、MSに対する治療剤の投与を受けるように、および/またはMSに対する治療的介入を受けるように助言される。他の態様では、該方法は、該対象に、MSを処置するための治療剤を投与するおよび/またはMSを処置するための治療的介入を施すことをさらに含む。

【 0 0 2 2 】

一部の特定の態様では、キットは、固体基板と、該基板上に固定化された1種または複数種の自己抗原とを備えているアレイを備えており、ここで、該アレイ内の該1種または複数種の自己抗原は、BC099907.1、NM_201998.1、BC028006.1、NM_020317.2、NM_003636.1、BC003065.1、NM_001008737.1、XM_003960444.1、BC029796.1、NM_152716.1、XM_379114.1、BC022258.1、BC002733.2、NM_004912.3、BC001419.1、NM_002642.1、PV4202、PV4337、XM_378514.1、XM_086879.4、BC015514.1、NM_005151.2、BC016380.1、BC032451.1、NM_175907.3、BC073782.1、NM_004987.3、BC022362.1、NM_004302、NM_003141.2、NM_005522.3、NM_016011.2、NM_005734.1、NM_004329、NP_002167.1、BC014991.1、NM_004527.2、BC014271.2、XM_378660.1、NM_020467.2、BC033792.1、NM_007255.1、BC017054.1、NM_180699.1、NM_172159.2、NM_199183.1、BC002448.2、NM_005435.2、BC006105.1およびNM_005371.2からなる第1の自己抗原群より選択される少なくとも1種類を含む。他の態様では、該アレイ内の該1種または複数種の自己抗原は、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1を含む。さらに他の態様では、該アレイ内の該1種または複数種の自己抗原は、NM_020317.2、NM_001008737.1、NM_004912.3、BC001419.1、NM_002642.1、PV4202およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類をさらに含む。さらに他の態様では、該アレイ内の該1種または複数種の自己抗原は、BC001419.1およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類をさらに含む。さらに他の態様では、該アレイ内の自己抗原は、第1の自己抗原群から選択される該少なくとも1種類だけである。さらに他の態様では、該アレイ内の自己抗原は、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1だけである。さらに他の態様では、該アレイ内の自己抗原は、BC099907.1、NM_201998.1、BC028006.1、ならびにNM_020317.2、NM_001008737.1、NM_004912.3、BC001419.1、NM_002642.1、PV4202およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類だけである。さらに他の態様では、該アレイ内の自己抗原は、BC099907.1、NM_201998.1、BC028006.1、ならびにBC001419.1およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類だけである。

【 0 0 2 3 】

一部の特定の態様では、キットは、固体基板と、該基板上に固定化された1種または複数種の自己抗原とを備えているアレイを備えており、ここで、該アレイ内の該1種または複数種の自己抗原は、NM_152729.2、BC024289.1、BC020233.1、BC030813.1、NM_144606.1およびNM_145253.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含むRRMS特異的自己抗原群、ならびにNP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2、BC010467.1、NM_005409.3、BC048299.1、NM_022788.2、NP_000556.1およびBC093661.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含むSPMS特異的自己抗原群から選択される少なくとも1種類を含む。他の態様では、RRMS特異的自己抗原は、NM_152729.2、BC024289.1およびBC020233.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のRRMS特異的自己抗原は、NM_005151.2、NM_004987.3、NM_003141.2およびNP_002167.1からなる群より選択される少なくとも1種類をさらに含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のSPMS特異的自己抗原は、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2およびNP_000556.1からなる群より選択される少なくとも1種類を含む。さらに他の態様では、該アレイ内の自己抗原は、該RRMS特異的自己抗原群および該SPMS特異的自己抗原群から選択される該少なくとも1種類だけである。

【 0 0 2 4 】

一部の特定の態様では、該アレイ内の自己抗原は、NM_152729.2、BC024289.1、BC02023

10

20

30

40

50

3.1、BC030813.1、NM_144606.1およびNM_145253.1からなる群より選択される少なくとも1種類だけである。他の態様では、該アレイ内の自己抗原は、NM_152729.2、BC024289.1およびBC020233.1からなる群より選択される少なくとも1種類だけである。さらに他の態様では、該アレイ内の自己抗原は、NM_005151.2、NM_004987.3、NM_003141.2およびNP_002167.1からなる群より選択される少なくとも1種類だけである。さらに他の態様では、該アレイ内の自己抗原は、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2、BC010467.1、NM_005409.3、BC048299.1、NM_022788.2、NP_000556.1およびBC093661.1からなる群より選択される少なくとも1種類だけである。さらに他の態様では、該アレイ内の自己抗原は、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2およびNP_000556.1からなる群より選択される少なくとも1種類だけである。さらに他の態様では、該アレイ内の自己抗原は、以下のもの：(a) NM_152729.2、BC024289.1、BC020233.1、BC030813.1、NM_144606.1およびNM_145253.1からなる群より選択される少なくとも1種類；(b) NM_152729.2、BC024289.1およびBC020233.1からなる群より選択される少なくとも1種類；(c) NM_005151.2、NM_004987.3、NM_003141.2およびNP_002167.1からなる群より選択される少なくとも1種類；(d) NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2、BC010467.1、NM_005409.3、BC048299.1、NM_022788.2、NP_000556.1およびBC093661.1からなる群より選択される少なくとも1種類；ならびに(e) NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2およびNP_000556.1からなる群より選択される少なくとも1種類のうちの1種類またはその任意の組合せだけである。

10

20

【0025】

一部の特定の態様では、キットは、免疫複合体の検出のためのアッセイ試薬を備えており、該免疫複合体は、本発明において企図される固定化された自己抗原が、対象由来の免疫グロブリン含有生体試料中の自己抗体である該MS診断用バイオマーカに結合することによって形成される。

【0026】

一部の特定の態様では、キットは、第1の自己抗原群のうちの少なくとも1種類の免疫複合体の形成が検出されたら、対象におけるMSの診断を示す、包装表示を備えている。他の態様では、キットは、RRMS特異的自己抗原群のうちの少なくとも1種類の免疫複合体の形成が検出されたら、対象におけるRRMSの診断を示す、包装表示を備えている。さらに他の態様では、キットは、SPMS特異的自己抗原群のうちの少なくとも1種類の免疫複合体の形成が検出されたら、対象におけるSPMSの診断を示す、包装表示を備えている。

30

【0027】

一部の特定の態様では、包装表示には、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1の3種類すべてについて免疫複合体が検出された場合、対象が今後1~10年以内にMSを発症するリスクは約90%であると示されている。

【0028】

一部の特定の態様では、アレイは、規則的なマイクロアレイである。他の態様では、基板は、ニトロセルロースコートスライドガラスである。

【図面の簡単な説明】

【0029】

本発明の具体的な態様の以下の詳細な説明は、添付の図面と併せて読むと、よりよく理解されよう。本発明の実例を示す目的で、例示的な態様を図面に示している。しかしながら、本発明は、図面に示された態様の厳密な配置および手段に限定されないことを理解されたい。

40

【図1】MSの検出のためのバイオマーカ解析および自己抗体バイオマーカの診断有用性の受信者動作特性(ROC)曲線の評価を示すグラフである。自己抗体バイオマーカのROCの評価はテスト事例集合対象の混合MSの検出に関して行った。50種類のMS特異的バイオマーカのパネル(実線)または3種類のMS特異的バイオマーカのパネル(点線)を用いたMS(n=25)と年齢・性別適合対照(n=15)との比較により、これらのバイオマーカパネルを使用するとMSが高い全体精度で検出され得ることが示される。斜めの点線は無判

50

別線を表す。50種類および3種類のバイオマーカーのパネルのROC AUC、感度および特異性の値を図5にみられる表に示す。

【図2】MSのサブタイプ分類および病態進行のためのバイオマーカー解析および自己抗体バイオマーカーの診断有用性の受信者動作特性（ROC）曲線の評価を示すグラフである。50種類のRRMS（点線）特異的バイオマーカーまたはSPMS（実線）特異的バイオマーカーのパネルを用いた再発寛解型MS（RRMS）対象のテスト事例集合（n=15）と二次性進行型MS対象のテスト事例集合（n=10）との比較により、これらのバイオマーカーを使用すると、この2つの異なるMS進行段階が正確に区別されることが示される。

【図3】サンプルの個体群統計を示す表である。各疾患群および対照群の個体数（n）、年齢、年齢範囲、性別および人種を示す。

【図4】50種類の混合MSバイオマーカーのパネルおよび3種類の混合MSバイオマーカーのパネルとRFを用いた診断結果を示す表である。診断成績を、RFを用いて評価した。テスト事例集合サンプルを使用すると、RFにより、MS対象（n=25）が、年齢適合/性別適合対照ならびに乳がんを有する対象と、高い全体精度で成功裡に区別された。選定されたバイオマーカーの使用では、RFにより、MS対象を、初期PDを有する対象と正確に区別することができなかった。

【図5】上位50種類および上位3種類の枯渇混合MSバイオマーカーの診断有用性のROC曲線の評価を示す表である。ROC曲線の解析（テスト事例集合対象のみ）は、MS対象を、年齢適合対照ならびに初期PDおよび乳がんと区別するための、上位50種類および上位3種類の枯渇バイオマーカーの診断有用性を示す。95%信頼における曲線下面積（AUC）の値を、ROC曲線の出力データにより得られた感度および特異性の値とともに示す。

【発明を実施するための形態】

【0030】

発明の詳細な説明

一局面において、本発明は、多発性硬化症（MS）の検出および/または進行の評価に有用な自己抗体バイオマーカーの同定に関する。

【0031】

一局面において、本発明により、ある特定のMS関連自己抗体バイオマーカーの検出を、かかる検出を必要とする対象において行うための方法を提供する。一部の特定の態様では、該方法は、該対象から免疫グロブリン含有生体試料を採取することを含む。他の態様では、該方法は、該生体試料中で、特異的自己抗原に結合して対応する免疫複合体を形成する自己抗体の有無を判定することを含み、ここで、該自己抗体と該自己抗原との間の免疫複合体の形成は、該試料中の該自己抗体の存在を示す。さらに他の態様では、生体試料中の該免疫複合体の有無は、対象において進行中のMS病態の存在を同定するため、および/または対象を、初期のMSを有しており、MSの症状を発現するリスクがあると認定するため、および/または対象におけるMSの具体的な臨床経過を同定するために使用され得る。

【0032】

別の局面において、本発明により、MS診断用自己抗体の検出を、それを必要とする対象において行うための方法を提供する。一部の特定の態様では、該方法は、該対象から免疫グロブリン含有生体試料を採取することを含む。他の態様では、該方法は、該生体試料と、1種または複数種の自己抗原を含む系とを、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させて反応混合物を形成させることを含む。さらに他の態様では、該1種または複数種の自己抗原は、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1を含む。さらに他の態様では、該1種または複数種の自己抗原は、NM_020317.2、NM_001008737.1、NM_004912.3、BC001419.1、NM_002642.1、PV4202およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1、2、3、4、5、6または7種類をさらに含む。さらに他の態様では、該1種または複数種の自己抗原は、BC001419.1およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類または2種類をさらに含む。さらに他の態様では、該方法は、該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出することを含み、ここで、自己抗体と、対応する

10

20

30

40

50

自己抗原との間の免疫複合体の形成は、該試料中の該自己抗体の存在を示す。

【 0 0 3 3 】

さらに別の局面において、本発明により、対象特異的MS特異的自己抗体プロフィールを生成する方法を提供する。一部の特定の態様では、該方法は、該対象から免疫グロブリン含有生体試料を採取することを含む。他の態様では、該方法は、該生体試料と、1種または複数種の自己抗原を含む系とを、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させて反応混合物を形成させることを含む。さらに他の態様では、該1種または複数種の自己抗原は、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1を含む。さらに他の態様では、該1種または複数種の自己抗原は、NM_020317.2、NM_001008737.1、NM_004912.3、BC001419.1、NM_002642.1、PV4202およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1、2、3、4、5、6または7種類をさらに含む。さらに他の態様では、該1種または複数種の自己抗原が、BC001419.1およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1種類または2種類をさらに含む。さらに他の態様では、該方法は、該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出することを含み、ここで、自己抗体と、対応する自己抗原との間の免疫複合体の形成は、該試料中の該自己抗体の存在を示す。さらに他の態様では、該方法は、該試料中に存在する自己抗体の対象特異的MS特異的自己抗体プロフィールを生成することを含む。

10

【 0 0 3 4 】

さらに別の局面において、本発明により、MSのサブタイプ分類を、それを必要とする対象において行う方法を提供する。一部の特定の態様では、該方法は、該対象から免疫グロブリン含有生体試料を採取することを含む。他の態様では、該方法は、該生体試料と、1種または複数種の再発寛解型MS (RRMS) 特異的自己抗原および/または1種または複数種の二次性進行型 (SPMS) 特異的自己抗原を含む系とを、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させて反応混合物を形成させることを含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のRRMS特異的自己抗原は、NM_152729.2、BC024289.1、BC020233.1、BC030813.1、NM_144606.1およびNM_145253.1からなる群より選択される少なくとも1、2、3、4、5または6種類を含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のRRMS特異的自己抗原は、NM_152729.2、BC024289.1およびBC020233.1からなる群より選択される少なくとも1、2または3種類を含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のRRMS特異的抗原は、NM_005151.2、NM_004987.3、NM_003141.2およびNP_002167.1からなる群より選択される少なくとも1、2、3または4種類をさらに含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のSPMS特異的自己抗原は、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2、BC010467.1、NM_005409.3、BC048299.1、NM_022788.2、NP_000556.1およびBC093661.1からなる群より選択される少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9または10種類を含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のSPMS特異的自己抗原は、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2およびNP_000556.1からなる群より選択される少なくとも1、2、3、4または5種類を含む。さらに他の態様では、該方法は、該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出することを含み、ここで、自己抗体と、対応する自己抗原との間の免疫複合体の形成は、該試料中の該自己抗体の存在を示す。さらに他の態様では、該反応混合物中の少なくとも1種類のRRMS特異的免疫複合体の存在は、RRMSサブタイプを示す。さらに他の態様では、該反応混合物中の少なくとも1種類のSPMS特異的免疫複合体の存在は、SPMSサブタイプを示す。

20

30

40

【 0 0 3 5 】

さらに別の局面において、本発明により、それを必要とする対象において、あるサブタイプから別のサブタイプへのMSの病態進行を同定する方法を提供する。一部の特定の態様では、該方法は、該対象から免疫グロブリン含有生体試料を採取することを含む。他の態様では、該方法は、該生体試料と、1種または複数種の再発寛解型MS (RRMS) 特異的自己抗原および/または1種または複数種の二次性進行型 (SPMS) 特異的自己抗原を含む系とを

50

、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させて反応混合物を形成させることを含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のRRMS特異的自己抗原は、NM_152729.2、BC024289.1、BC020233.1、BC030813.1、NM_144606.1およびNM_145253.1からなる群より選択される少なくとも1、2、3、4、5または6種類を含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のRRMS特異的自己抗原は、NM_152729.2、BC024289.1およびBC020233.1からなる群より選択される少なくとも1、2または3種類を含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のRRMS特異的自己抗原は、NM_005151.2、NM_004987.3、NM_003141.2およびNP_002167.1からなる群より選択される少なくとも1、2、3または4種類をさらに含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のSPMS特異的自己抗原は、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2、BC010467.1、NM_005409.3、BC048299.1、NM_022788.2、NP_000556.1およびBC093661.1のうちの少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9または10種類を含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のSPMS特異的自己抗原は、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2およびNP_000556.1からなる群より選択される少なくとも1、2、3、4または5種類を含む。さらに他の態様では、該方法は、該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出することを含み、ここで、自己抗体と、対応する自己抗原との間の免疫複合体の形成は、該試料中の該自己抗体の存在を示す。さらに他の態様では、該反応混合物中の少なくとも1種類のRRMS特異的免疫複合体の存在は、RRMSサブタイプを示す。さらに他の態様では、該反応混合物中の少なくとも1種類のSPMS特異的免疫複合体の存在は、SPMSサブタイプを示す。

10

20

【0036】

さらに別の局面において、本発明により、RRMSに罹患するリスクがある対象を認定する方法を提供する。一部の特定の態様では、該方法は、該対象から免疫グロブリン含有生体試料を採取することを含む。他の態様では、該方法は、該生体試料と、1種または複数種の再発寛解型MS（RRMS）特異的自己抗原を含む系とを、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させることを含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のRRMS特異的自己抗原は、NM_152729.2、BC024289.1、BC020233.1、BC030813.1、NM_144606.1およびNM_145253.1からなる群より選択される少なくとも1、2、3、4、5または6種類を含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のRRMS特異的自己抗原は、NM_152729.2、BC024289.1およびBC020233.1からなる群より選択される少なくとも1、2または3種類を含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のRRMS特異的自己抗原は、NM_005151.2、NM_004987.3、NM_003141.2およびNP_002167.1からなる群より選択される少なくとも1、2、3または4種類をさらに含む。さらに他の態様では、該方法は、該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出することを含み、ここで、自己抗体と、対応する自己抗原との間の免疫複合体の形成は、該試料中の該自己抗体の存在を示す。さらに他の態様では、該混合物中の少なくとも1種類のRRMS特異的免疫複合体の存在は、該対象がRRMSに罹患するリスクまたはRRMSを発症するリスクを有することを示す。

30

【0037】

さらに別の局面において、本発明により、SPMSに罹患するリスクがある対象を認定する方法を提供する。一部の特定の態様では、該方法は、該対象から免疫グロブリン含有生体試料を採取することを含む。他の態様では、該方法は、該生体試料と、1種または複数種の二次性進行型（SPMS）特異的自己抗原を含む系とを、該自己抗原に対応する自己抗体が該試料中に存在しているならば反応混合物中で各自己抗原とその対応する自己抗体との間の免疫複合体の形成が可能な条件下で接触させて反応混合物を形成させることを含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のSPMS特異的自己抗原は、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2、BC010467.1、NM_005409.3、BC048299.1、NM_022788.2、NP_000556.1およびBC093661.1からなる群より選択される少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9または10種類を含む。さらに他の態様では、該1種または複数種のSPMS特異的自己抗原は、NP_002497.2、NP_001001547.1、NM_004493.1、NM_018464.2およびNP_000556

40

50

.1からなる群より選択される少なくとも1、2、3、4または5種類を含む。さらに他の態様では、該方法は、該反応混合物中の免疫複合体の有無を検出することを含み、ここで、自己抗体とその対応する自己抗原との間の免疫複合体の形成は、該試料中の該自己抗体の存在を示す。さらに他の態様では、該反応混合物中の少なくとも1種類のSPMS特異的免疫複合体の存在は、該対象がSPMSに罹患するリスクまたはSPMSを発症するリスクを有することを示す。

【0038】

さらに別の局面において、本発明により、MS診断用バイオマーカーを検出するためのキットを提供する。一部の特定の態様では、キットは、BC099907.1、NM_201998.1、BC028006.1、NM_020317.2、NM_003636.1、BC003065.1、NM_001008737.1、XM_003960444.1、BC029796.1、NM_152716.1、XM_379114.1、BC022258.1、BC002733.2、NM_004912.3、BC001419.1、NM_002642.1、PV4202、PV4337、XM_378514.1、XM_086879.4、BC015514.1、NM_005151.2、BC016380.1、BC032451.1、NM_175907.3、BC073782.1、NM_004987.3、BC022362.1、NM_004302、NM_003141.2、NM_005522.3、NM_016011.2、NM_005734.1、NM_004329、NP_002167.1、BC014991.1、NM_004527.2、BC014271.2、XM_378660.1、NM_020467.2、BC033792.1、NM_007255.1、BC017054.1、NM_180699.1、NM_172159.2、NM_199183.1、BC002448.2、NM_005435.2、BC006105.1およびNM_005371.2からなる群より選択される少なくとも1種類~50種類の自己抗原を備えている。さらに他の態様では、キットは、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1からなる群より選択される少なくとも1、2または3種類の自己抗原を備えている。さらに他の態様では、キットは、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1からなる群のうちの1つずつ、2つずつまたは3つずつ (each one, two, or three) を備えている。さらに他の態様では、キットは、NM_020317.2、NM_001008737.1、NM_004912.3、BC001419.1、NM_002642.1、PV4202およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1、2、3、4、5、6または7種類をさらに含む。他の態様では、キットは、該キットの少なくとも1つの自己抗原が対象由来の免疫グロブリン含有生体試料中のMS診断用自己抗体と結合することによって形成される少なくとも1種類の免疫複合体を検出するためのアッセイ試薬を備えている。さらに他の態様では、キットは、該キットの少なくとも1種類の抗原と、該免疫グロブリン含有生体試料から得たMS診断用自己抗体バイオマーカーとの間の少なくとも1種類の免疫複合体の形成が検出されたら、対象におけるMSの診断を示す、包装表示を備えている。さらに他の態様では、BC099907.1、NM_201998.1およびBC028006.1の各々について免疫複合体の形成が検出された場合、対象が今後1~10年以内にMSを発症するリスクは約90%である。さらに他の態様では、該少なくとも1種類の抗原は、基板上に固定化されている。さらに他の態様では、BC099907.1、NM_201998.1、BC028006.1の各々、ならびにNM_020317.2、NM_001008737.1、NM_004912.3、BC001419.1、NM_002642.1、PV4202およびNM_016011.2からなる群より選択される少なくとも1、2、3、4、5、6または7種類について免疫複合体の形成が検出された場合、対象はMSと診断される。

【0039】

一部の特定の態様では、対象はヒトである。他の態様では、生体試料は、全血、血漿、血清、脳脊髄液、唾液および痰からなる群より選択される。さらに他の態様では、生体試料は全血である。抗原は、基板、好ましくはニトロセルロースコートスライドガラスに結合され得、アレイ、好ましくはマイクロアレイの形態であり得る。

【0040】

発明の詳細な説明
定義

本明細書で用いる場合、以下の各用語は、このセクションのその用語に関連する意味を有する。

【0041】

特に定義していない限り、本明細書で用いる科学技術用語はすべて、概して、本発明が属する技術分野の当業者に一般的に理解されているものと同じ意味を有する。一般的に、本明細書で用いている用語体系ならびに細胞培養、分子遺伝学および免疫学における実験

室の手順は当技術分野で周知のものであり、一般的に使用されている。

【0042】

本明細書で用いる場合、冠詞「a」および「an」は、該冠詞の文法上の対象物が1つであるか、または1つより多い（すなわち、少なくとも1つである）ことを示す。一例として、「要素（an element）」は、1つの要素または1つより多くの要素を意味する。

【0043】

用語「異常な」は、生物体、組織、細胞またはその構成要素との関連において用いる場合、該生物体、組織、細胞またはその構成要素が、観測可能または検出可能な少なくとも1つの特徴（例えば、年齢、処置、日時など）において、それぞれの「正常な」（予測される）特徴を示す生物体、組織、細胞またはその構成要素と異なっていることをいう。ある細胞型または組織型について正常な、または予測される特徴が、異なる細胞型または組織型では異常であるということがあり得よう。

10

【0044】

本明細書で用いる場合、用語「約」は当業者によって理解され、使用される状況によって、ある程度変動する。本明細書で用いる場合、測定可能な値、例えば量、濃度、時間の長さなどに言及しているとき、用語「約」は、明記された値からの $\pm 20\%$ または $\pm 10\%$ 、より好ましくは $\pm 5\%$ 、さらにより好ましくは $\pm 1\%$ 、なおより好ましくは $\pm 0.1\%$ の変動を包含していることを意図し、それは、かかる変動が、本開示の方法を行うのに妥当だからである。

【0045】

「改変」または「変化」により増減を意図する。改変は、少なくとも約1%、2%、3%、4%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、90%もしくは100%またはその任意の分数もしくは倍数であり得る。

20

【0046】

本明細書で用いる場合、「動物」は、例えば哺乳動物および鳥類を含むカテゴリーの生きている脊椎動物多細胞生物体をいう。

【0047】

本明細書で用いる場合、「抗体」は、タンパク質またはその断片のエピトープに特異的に結合する少なくとも免疫グロブリンの軽鎖または重鎖の可変領域を含むポリペプチドリガンドをいう。抗体は、各々が、重鎖可変（VH）領域および軽鎖可変（VL）領域と称される、可変領域を有する重鎖および軽鎖を含むものであり得る。VH領域とVL領域は一体で、その抗体によって認識される抗原との結合を担う。このようなものとしては、インタクトな免疫グロブリンならびに当技術分野で周知のその変異体および一部分、例えばFab'断片、F(ab)'2断片、単鎖Fvタンパク質（「scFv」）およびジスルフィド安定化Fvタンパク質（「dsFv」）が挙げられる。scFvタンパク質は、免疫グロブリンの軽鎖可変領域と免疫グロブリンの重鎖可変領域がリンカーによって結合されている融合タンパク質であり、一方、dsFvでは、その鎖が、鎖同士の会合が安定化されるようにジスルフィド結合を導入するために変異されている。また、この用語は、組換え形態、例えばキメラ抗体（例えば、ヒト化マウス抗体）、ヘテロコンジュゲート抗体（例えば、二重特異性抗体）も包含している。また、Pierce Catalog and Handbook, 1994-1995 (Pierce Chemical Co., Rockford, IL); Kuby, Immunology, 3rd Ed., W.H. Freeman & Co., New York, 1997も参照のこと。さまざまなイムノアッセイ形式が、特定のタンパク質と特異的に免疫反応性の抗体を選択するのに適している。例えば、固相ELISAイムノアッセイは、タンパク質と特異的に免疫反応性のモノクローナル抗体を選択するために常套的に使用されている。また、免疫沈降またはイムノプロットングアッセイも利用可能である。特異的免疫反応性を調べるために使用され得るイムノアッセイ形式および条件の説明については、Harlow & Lane, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New York (1988)を参照のこと。

30

40

【0048】

「抗体重鎖」は、本明細書で用いる場合、天然に存在するコンホメーションのすべての抗体分子に存在する2つの型のポリペプチド鎖のうちの大きい方をいう。

50

【0049】

「抗体軽鎖」は、本明細書で用いる場合、天然に存在するコンホメーションのすべての抗体分子に存在する2つの型のポリペプチド鎖のうちの小さい方をいい、および軽鎖は主要な2つの抗体軽鎖アイソタイプをいう。

【0050】

用語「抗原」または「Ag」は、本明細書で用いる場合、免疫系の受容体に結合して免疫応答を誘発する分子と定義する。この免疫応答は、抗体産生もしくは特定の免疫学的有能細胞の活性化のいずれか、または両方を伴い得る。当業者には、事実上すべてのタンパク質またはペプチドを含む任意の高分子が抗原となり得ることが理解されよう。さらに、抗原は組換えDNAまたはゲノムDNAに由来するものであり得る。したがって、当業者には、該用語が本明細書で用いられる際、免疫応答を誘起するタンパク質をコードしているヌクレオチド配列またはヌクレオチド部分配列を含む任意のDNAが「抗原」をコードしていることが理解されよう。さらに、当業者には、抗原は、完全長のヌクレオチド配列の遺伝子に単独でコードされている必要はないことが理解されよう。本発明は非限定的に1つより多くの遺伝子のヌクレオチド部分配列の使用を包含していること、およびこのようなヌクレオチド配列は、所望の免疫応答を誘起させるために種々の組合せで配列されることはすぐにわかるであろう。さらに、当業者には、抗原が「遺伝子」にコードされている必要は全くないことが理解されよう。抗原は合成して作製され得るか、生体試料から得られ得ることはすぐにわかるであろう。かかる生体試料としては非限定的に、組織試料、腫瘍試料、細胞または生体液が挙げられ得る。用語「タンパク質抗原」は、本明細書で用いる場合、タンパク質抗原およびペプチド抗原を包含している。

10

20

【0051】

用語「アプリケーション」は、該用語を本明細書で用いる場合、本発明の組成物を対象に投与するための任意のデバイス、例えば非限定的に、皮下注射器、ピペット、イオン導入デバイス、パッチなどを意味する。

【0052】

本明細書で用いる場合、用語「自己抗体」は、個体自身の組織または細胞の抗原性成分に対して反応し得る抗体をいう（例えば、該抗体は「自己」抗原を認識して結合する）。

【0053】

本明細書で用いる場合、「結合する」とは、2つ以上の分子間の特異的相互作用、例えば抗体と抗原（例えば、抗原に対する抗体）の結合をいう。一部の特定の態様では、特異的結合が解離定数（Kd）によって同定される。他の態様では、結合親和性が、Frankel et al., 1979, Mol. Immunol. 16:101-106に記載のスキャッチャード法の変形法によって算出される。他の態様では、結合親和性が抗原/抗体の解離速度によって測定される。さらに他の態様では、高い結合親和性は競合ラジオイムノアッセイ（RIA）によって測定される。いくつかの例では、高い結合親和性が少なくとも約 1×10^{-8} Mである。他の態様では、高い結合親和性が少なくとも約 1.5×10^{-8} 、少なくとも約 2.0×10^{-8} 、少なくとも約 2.5×10^{-8} 、少なくとも約 3.0×10^{-8} 、少なくとも約 3.5×10^{-8} 、少なくとも約 4.0×10^{-8} 、少なくとも約 4.5×10^{-8} 、または少なくとも約 5.0×10^{-8} Mである。一例では、本開示の抗体が該抗原に対して少なくとも10 nMの結合親和性を有する。

30

40

【0054】

「生体試料」または「試料」は、本明細書で用いる場合、個体から単離された生物学的材料を意味する。生体試料は、所望のバイオマーカーを検出するのに適した任意の生物学的材料を含有するものであり得、個体から採取した細胞性材料および/または非細胞性材料が包含され得る。生体試料は任意の生体組織または生体液のものであり得る。多くの場合、試料は、患者由来の試料である「臨床試料」である。典型的な臨床試料としては、非限定的に、体液試料、例えば滑液、痰、血液、尿、血漿、血清、汗、粘液、唾液、リンパ液、気管支吸引液、腹水、脳脊髄液および胸膜液、ならびに組織試料、例えば血球（例えば、白血球）、組織試料または細針生検試料および膿瘍またはその中の細胞が挙げられる。また、生体試料としては、組織検査目的のために採取された組織の切片、例えば凍結切

50

片またはホルマリン固定切片も挙げられ得る。本発明の一部の特定の態様では、免疫グロブリン含有生体試料が血清、全血、CSF、唾液または痰である。血液試料は、当技術分野で公知の方法、例えば静脈穿刺またはフィンガースティック (finger stick) によって採取され得る。CSFは、当技術分野で公知の方法、例えば腰椎穿刺によって採取され得る。血液から血清を得るためには、血液試料を入手し、すべての細胞と血小板がペレット化されるのに十分な速度で遠心分離し、得られた上清みから解析対象の血清を抜き出す。痰試料および唾液試料は当技術分野で公知の方法によって収集され得る。生体試料を、アッセイの実施前に適当なバッファーで希釈してもよい。一部の特定の態様では、生体試料が血清または全血である。

【0055】

「バイオマーカー」または「マーカー」は、本明細書で用いる場合、一般的に、疾患と関連している核酸分子、臨床指標、タンパク質、抗体または他の被検物質をいう。一部の特定の態様では、マーカーは、疾患（例えば、MS）を有するか、またはその発症リスクがある対象から採取された生体試料中に、参照と比べて示差的に存在している。マーカーは、試料中に存在しているバイオマーカーの平均または中央値レベルが参照において存在するレベルと統計学的に異なっている場合、示差的に存在している。参照レベルは、例えば、きれいな、または汚染されていない供給源から採取された環境試料において存在するレベルであり得る。参照レベルは、例えば、健常対照対象から採取された試料において存在するレベル、またはもっと前の時点、すなわち処置前の対象自身から得られたレベルであり得る。統計学的有意性の一般的な検定法としては、とりわけ、t-検定、ANOVA、クラスカル・ウォリス、ウィルコクソン、マン・ホイットニーおよびオッズ比が挙げられる。バイオマーカーは、単独または組合せで、対象が関心対象の表現型状態に属する相対的尤度の尺度をもたらす。対象の試料中の本発明のマーカーの示差的存在は、対象が疾患（例えば、MS）を有する、もしくはその発症リスクがあると特徴付けすることにおいて、対象の予後判定するため、治療有効性を評価するため、または処置レジメンを選択するために有用であり得る。

【0056】

本明細書で用いる場合、「バイオセンサー」は、試料中の被検物質の検出のための分析デバイスである。バイオセンサーは、特定の被検物質を認識して捕捉し得る認識要素、および被検物質の有無を検出可能な信号に伝える変換部を含み得る。

【0057】

本明細書で用いる場合、用語「含む (comprising)」、「含む (including)」、「含む (containing)」および「を特徴とする」は互換的、包含的、非限定的であり、記載されていないさらなる要素または方法工程を排除しない。本明細書における用語「含む」の記載はいずれも、特に組成物の成分の記載において、またはデバイスの要素の記載において、記載の成分または要素から本質的になる組成物および方法、ならびに記載の成分または要素からなる組成物および方法を包含していると理解されたい。本明細書で用いる場合、用語「からなる」は、請求項の構成要素に明記されていない要素、工程または成分はいずれも排除する。本明細書で用いる場合、用語「から本質的になる」は、請求項の基本的な特徴および新規な特徴に実質的に影響しない物質または工程を排除しない。

【0058】

本明細書で用いる場合、用語「接触させる」とは、液相中および固相中で、例えば試料を抗体と接触させること、例えば関心対象の自己抗体を含む試料を接触させることを包含している。

【0059】

用語「対照レベル」は、本明細書で用いる場合、試験対象の病状を有していない対象由来の試料におけるバイオマーカーレベルを意味する。また、用語「対照レベル」は本明細書において、試験対象の病状を有していない一例より多くの対象から採取した試料中の内在性バイオマーカーの平均レベルを意味していると解釈されたい。したがって、本明細書で用いる場合、用語「内在性バイオマーカー」は、対照試料、例えば対照個体/正常個体/

10

20

30

40

50

健常個体において天然に存在しているレベルのバイオマーカーに関する。また、用語「対照レベル」は本明細書において、試験対象の病状を有していない仮想対象群の試料で企図され得るかかかるバイオマーカーレベルの計算によって得られる参照バイオマーカーレベルを意味していると解釈されたい。したがって、一部の特定の態様では、対照レベルが、試験レベルを測定する対象のバイオマーカーのレベルである。対照バイオマーカーレベルを、試験試料と比較され得る比較値として使用してもよい。

【0060】

本明細書で用いる場合、1種もしくは複数種のバイオマーカーに関する用語「データ」、または用語「バイオマーカーデータ」は一般的に、試料中のバイオマーカー産物 (product) の絶対および/または相対存在度 (レベル) を反映するデータをいう。本明細書で用いる場合、1種または複数種のバイオマーカーに関する用語「データセット」は、参照対象集団におけるバイオマーカーパネルの1種または複数種のバイオマーカー産物の各々のレベルである一群のデータをいう。データセットは、本発明の式/分類器を得るために使用され得る。一態様によれば、データセットは、参照集団の各個体のパネルの各バイオマーカー産物のデータを含んでいる必要はない。例えば、「データセット」は、式に当てはめるデータセットとの関連において用いる場合、1つまたは複数の参照集団の各個体についての各バイオマーカー産物のレベルであるデータを示し得るが、理解され得るように、該1つまたは複数の参照集団の各々の99%、95%、90%、85%、80%、75%、70%以下の個体についての各バイオマーカーのレベルであるデータを示す場合もあり得、それでもやはり、式に当てはめる目的に有用であり得る。

10

20

【0061】

「検出可能な部分」は、関心対象の分子に連結させた場合、後者を分光学的、光化学的、生化学的、免疫化学的または化学的手段によって検出可能にする組成物を意味する。例えば、有用な標識としては、放射性同位体、磁気ビーズ、金属ビーズ、コロイド粒子、蛍光色素、高電子密度試薬、酵素 (例えば、ELISAに一般的に使用されるもののような)、ビオチン、ジゴキシゲニンまたはハプテンが挙げられる。

【0062】

本明細書で用いる場合、用語「調べる/測定する (determining)」、「評価する」、「アッセイする」、「測定する (measuring)」および「検出する」とは定量的測定および定性的測定の両方をいい、そのため、用語「調べる/測定する (determining)」は本明細書において、「アッセイする」、「測定する (measuring)」などと互換的に用いている。定量的測定を意図している場合、被検物質などの「量を調べる/測定する (determining an amount)」という語句を使用している。定性的および/または定量的測定を意図している場合、被検物質の「レベルを調べる/測定する (determining a level)」または被検物質を「検出する」という語句を使用している。

30

40

【0063】

「疾患」は、動物の健康状態であって、該動物が恒常性維持することができず、疾患が寛解しなければ該動物の健康は悪化し続けるというものをいう。対照的に、動物における「障害」は、該動物は恒常性を維持できる健康状態であるが、障害がない場合に予想される得るものより良好でない健康状態である。未処置で放置しても、障害は、必ずしも該動物の健康状態のさらなる低下を引き起こすとは限らない。

【0064】

用語「有効量」または「治療有効量」は本明細書において互換的に用いており、特定の生物学的成果を得るために有効な本明細書に記載の化合物、製剤、材料または組成物の量をいう。かかる成果としては、非限定的に、当技術分野において適当な任意の手段によって判定される疾患または病状の処置が挙げられ得る。

【0065】

「イムノアッセイ」は、試料、例えば生体試料中の物質の存在または濃度を、抗体のその対応抗原との反応、例えば抗体のタンパク質に対する特異的結合を用いて測定する生化学的試験をいう。存在する抗原および/または抗体の存在または量の両方を測定してもよ

50

く、または調べてもよい。抗原量の測定は、さまざまな方法によって行われ得る。最も一般的なものの1つは、抗原または抗体のいずれかを検出可能な標識で標識することである。

【0066】

「個体」、「患者」または「対象」は、これらの用語を本明細書において互換的に用いている場合、任意の動物種の構成員、例えば非限定的に、鳥類、ヒトおよび他の霊長類、ならびに他の哺乳動物、例えば商業的に重要な哺乳動物、例えばウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ネコおよびイヌを包含している。好ましくは、対象はヒトである。

【0067】

本明細書で用いる場合、用語「使用説明資料」は、本発明の組成物および方法の有用性を伝えるために使用され得る出版物、記録、図表または任意の他の表現媒体を包含している。一部の場合では、使用説明資料は、本発明の組成物の調製および/または使用に有用なキットの一部であり得る。キットの使用説明資料は、例えば、本発明の組成物が収容された容器に貼付され得るか、あるいは該組成物が収容された容器と一緒に出荷され得る。あるいはまた、使用説明資料を、レシピエントが該使用説明資料と該組成物を共同的に使用することを意図して、該容器とは別に出荷してもよい。例えば、使用説明資料は、キットの使用のためもの；または本発明の化合物もしくは組成物の使用のための使用説明である。

10

【0068】

用語「単離された」、「精製された」または「生物学的に純粋な」とは、材料が、天然状態で見出される際に通常付随している成分がいろいろな度合で無含有状態であることをいう。「単離する」とは、本来の供給源または環境からある度合で分離されていることを表す。「精製する」とは、単離より高い分離度合を表す。「精製された」または「生物学的に純粋な」タンパク質は、任意の不純物が該タンパク質の生物学的特性に実質的に影響しないように、または他の有害な帰結を引き起こさないように十分に他の材料が無含有状態である。すなわち、本発明の核酸またはペプチドは、組換えDNA手法によって産生させた場合では細胞性材料、ウイルス性材料もしくは培養培地が、または化学合成した場合には化学物質の前駆体もしくは他の化学薬品が実質的に無含有状態であるならば精製されている。純度および均一性は典型的には、分析化学手法、例えば、ポリアクリルアミドゲル電気泳動または高速液体クロマトグラフィーを用いて測定される。用語「精製された」とは、核酸またはタンパク質が電気泳動ゲルにおいて本質的に1つのバンドをもたらすことを表し得る。修飾、例えばリン酸化またはグリコシル化に供され得るタンパク質では、いろいろな修飾によっていろいろな単離タンパク質が生じ得、これらは別々に精製され得る。

20

30

【0069】

本明細書で用いる場合、「標識」は、別の分子、例えば抗体またはタンパク質に直接または間接的にコンジュゲートさせて該分子の検出を容易にするための検出可能な化合物または組成物である。標識の非限定的な具体例としては、蛍光タグ、酵素の結合（例えば、ホースラディッシュペルオキシダーゼ）、放射性同位体（例えば、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{125}I 、 ^3H 同位体など）および粒子、例えば金コロイドが挙げられる。一部の例では、タンパク質、例えば真菌と関連しているタンパク質が、放射性同位体、例えば ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{125}I 、 ^3H 同位体で標識される。一部の例では、該タンパク質に特異的に結合する抗体が標識される。標識方法および種々の目的に適切な標識の選択における手引きは、例えば、Sambrook, et al., 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York, 1989; Ausubel, et al., 1998, In Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, 1998; Harlow & Lane, 1988, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New Yorkに論考されている。かかる標識の使用が教示されている特許としては、米国特許第3,817,837号、同第3,850,752号、同第3,939,350号、同第3,996,345号、同第4,277,437号、同第4,275,149号および同第4,366,241号が挙げられ、これらはすべて、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。かかる標識の検出方法は当業者に周知であ

40

50

る。したがって、例えば、放射性標識は、写真用フィルムまたはシンチレーションカウンターを用いて検出され得；蛍光マーカーは、放射光を検出するための光検出器を用いて検出され得る。酵素標識は典型的には、該酵素に基質を供給し、該基質に対する該酵素の作用によって生成される反応生成物を検出することによって検出され、熱量測定標識は、発色した標識を単に可視化することによって検出される。シグナル検出および強度データ処理のための方法および装置は、例えば、米国特許第5,143,854号、同第5,547,839号、同第5,578,832号、同第5,631,734号、同第5,800,992号、同第5,834,758号；同第5,856,092号、同第5,902,723号、同第5,936,324号、同第5,981,956号、同第6,025,601号、同第6,090,555号、同第6,141,096号、同第6,185,030号、同第6,201,639号；同第6,218,803号；および同第6,225,625号、米国特許出願第10/389,194号、同第60/493,495号ならびにPCT出願PCT/US99/06097 (WO99/47964として公開)に開示されており、これらはすべて、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

10

【0070】

用語「哺乳動物」はヒトおよび非ヒト哺乳動物の両方を包含している。

【0071】

「マーカープロフィール」は、2種類以上のマーカー（例えば、抗原および/または自己抗体）のシグナル、レベル、発現または発現レベルの特徴量を意味する。

【0072】

用語「マイクロアレイ」は、基板上に固定化された核酸、タンパク質、抗原および/または抗体プローブの集合体を意味する。「DNAマイクロアレイ」（または「DNAチップ（1つもしくは複数）」）、「RNAマイクロアレイ」、「タンパク質マイクロアレイ」および「抗体アレイ」は、当技術分野で認知されているあらゆる固体支持体、ならびに核酸、タンパク質、抗原および/または抗体分子を固体支持体に固定させるため、または固体支持体上での核酸および抗体の合成のための当技術分野で認知されているあらゆる方法を包含している。一部の特定のアレイは典型的には、基板の表面上に異なる既知の位置に結合されている複数の異なる核酸、タンパク質、抗原および/または抗体プローブを含む。このようなアレイは、「マイクロアレイ」または口語的には「チップ」とも記載され、当技術分野で、例えば、米国特許第5,143,854号、同第5,445,934号、同第5,744,305号、同第5,677,195号、同第5,800,992号、同第6,040,193号、同第5,424,186号およびFodor et al., 1991, Science, 251:767-777に一般的に説明されており、これらは各々、参照によりその全体があらゆる目的のために組み入れられる。アレイは、大量の生物学的材料を、ハイスループットスクリーニング小型化多重並行処理/検出法 (miniaturized, multiplexed and parallel processing and detection method) を用いて評価するために使用され得る。アレイは一般的に、さまざまな手法、例えば機械的合成法またはフォトリソグラフィ法と固相合成法の組合せが組み込まれた光指向性合成法を用いて作製され得る。機械的合成法を用いたこのようなアレイの合成のための手法は、例えば、米国特許第5,384,261号および同第6,040,193号に記載されており、これらはすべて、参照によりその全体があらゆる目的のために本明細書に組み入れられる。平面的なアレイ表面が好ましいが、アレイは、事実上あらゆる形状の表面上またはさらには多様な表面上に製作され得る。アレイは、ビーズ、ゲル、ポリマー表面およびファイバー、例えば光ファイバー、ガラスまたは任意の他の適切な基板の抗原、核酸または抗体であり得る。参照によりその全体があらゆる目的のために本明細書に組み入れられる、米国特許第5,770,358号、同第5,789,162号、同第5,708,153号、同第6,040,193号および同第5,800,992号を参照のこと。アレイは、診断的使用が可能となるような様式でパッケージ化され得るか、または包括的デバイスにすることもできる；例えば、米国特許第5,856,174号および同第5,922,591号、これらはすべて、参照によりその全体があらゆる目的のために組み入れられる。アレイは、例えば、Affymetrix (Santa Clara, Calif.) およびApplied Biosystems (Foster City, Calif.) から市販されており、さまざまな目的、例えば、ジェノタイピング、診断、変異解析、マーカー発現、ならびにさまざまな真核生物体および原核生物体の遺伝子発現モニタリングに対するものである。固体支持体上のプローブの数は、個々のフィーチャーのサイズを変えることによ

20

30

40

50

って変更され得る。一部の特定の態様ではフィーチャーサイズが 20×25 平方マイクロンであり、他の態様ではフィーチャーが例えば 8×8 、 5×5 または $3 \times 3 \mu\text{m}^2$ であり、約2,600,000、6,600,000または18,000,000個のプロープフィーチャーとなる。

【0073】

「モノクローナル抗体」は、単クローンのBリンパ球によって、または1つの抗体の軽鎖遺伝子と重鎖遺伝子でトランスフェクトされた細胞によって産生される抗体である。モノクローナル抗体は、当業者に公知の方法によって、例えば、ミエローマ細胞と免疫脾臓細胞との融合によりハイブリッド抗体形成細胞を作製することによって産生させる。このような融合細胞およびその子孫は「ハイブリドーマ」と称される。モノクローナル抗体はヒト化モノクローナル抗体を包含している。

10

【0074】

「参照」は比較の基準を意味する。当業者には明らかなように、適切な参照は、ある要素の効果を調べるために該要素が変更されている。一部の特定の態様では、試料中に存在している標的核酸分子のレベルが、きれいな、または汚染されていない試料中に存在している標的核酸分子のレベルと比較され得る。例えば、試料中に存在している標的核酸分子のレベルは、対応する健全な細胞もしくは組織内または罹病細胞もしくは組織（例えば、疾患、障害もしくは病状を有する対象に由来する細胞もしくは組織）内に存在している標的核酸分子のレベルと比較され得る。

【0075】

本明細書で用いる場合、用語「試料」は、生物学的試料、例えば任意の組織、細胞、体液、または生物体に由来する他の材料を包含している。

20

【0076】

用語「固体支持体」、「支持体」および「基板」は、本明細書で用いる場合、互換的に用いており、硬質または半硬質の表面（1つまたは複数）を有する物質または物質群をいう。一部の特定の態様では、固体支持体の少なくとも1つの表面が実質的に平坦であるが、一部の特定の態様では、異なる化合物の合成領域を、例えばウェル、隆起領域、ピン、エッチングによるトレンチなどで物理的に隔離することが望ましい。他の態様によれば、固体支持体（1つまたは複数）は、ペース、レジン、ゲル、マイクロスフェア、マイクロプレート、または他の幾何構成の形態である。参照によりその全体があらゆる目的のために本明細書に組み入れられる、米国特許第5,744,305号を参照のこと。

30

【0077】

用語「特異的に結合する」は、本明細書で用いる場合、分子、例えば抗体または小分子が別の分子またはフィーチャーを認識してこれに結合するが、試料中の他の分子またはフィーチャーには実質的に認識または結合しないことを意味する。

【0078】

用語「合成抗体」は、本明細書で用いる場合、組換えDNA技術を用いて生成させた抗体、例えば、本明細書に記載のバクテリオファージによって発現させた抗体などを意味する。また、この用語は、該当する抗体をコードしているDNA分子を合成することによって得られたその抗体であって、DNA分子は抗体タンパク質を発現するものである抗体、または該当する抗体を指定するアミノ酸配列も意味しており、ここで、該DNAまたはアミノ酸配列は、DNAまたはアミノ酸配列の当技術分野で利用可能であり周知の合成技術を用いて得られたものであると解釈されたい。

40

【0079】

本明細書で用いる場合、「治療剤」は、健康を回復または維持することによって、例えば疾患もしくは生理学的障害に伴う症状を緩和すること、または疾患の進行もしくは発症を遅延させること（例えば、予防すること）によっていくらかの治療効果を示す物質をいう。一部の場では、治療剤は、化学的剤もしくは薬学的剤またはプロドラッグである。治療剤は、本発明において企図される疾患に伴う1つまたは複数の徴候または症状または検査所見を予防または抑止する剤であり得る。一部の特定の態様では、治療剤が、静注用コルチコステロイド、例えばメチルプレドニゾン、インターフェロン-1a、インター

50

フェロン -1b、グラチラマー酢酸塩、ミトキサントロン、ナタリズマブ、フィンゴリモド、テリフルノミド、フマル酸ジメチル、アレムツズマブ、リツキシマブおよび/またはオクレリズマブを含む。

【0080】

用語「治療的介入」は、本明細書で用いる場合、患者に起こった症状が緩和されるようにデザインされた患者の処置を意味する。この用語は外科的介入を包含していると解釈されたい。一部の特定の態様では、治療的介入が、栄養素補充および食事療法、ビタミンD、リラクゼーション手法、例えばヨガ、漢方薬（医療用大麻を含む）、高気圧酸素治療、鉤虫の自己感染、リフレクソロジー、鍼治療ならびにマインドフルネスを含む。

【0081】

「治療有効量」または「有効量」または「治療有効用量」は、疾患の発症もしくは進展が抑止もしくは予防されるのに十分な、疾患の表面上の症状が処置されるのに十分な、または疾患の消退が引き起こされるのに十分な量または用量である。また、治療有効量または治療有効用量は、疾患によって引き起こされる症状が軽減され得る量または用量であるとみなされる場合もあり得る。治療有効量は、処置対象の対象および疾患の病状、例えば、対象の体重および年齢、疾患の病状の重症度、投与様式などに応じて異なり得、これらは当業者が容易に判断できよう。

【0082】

本明細書で用いる場合、用語「処置」および「処置する」とは、有益な結果または所望の結果、例えば非限定的に、治療有益性および/または予防有益性を得るためのアプローチをいう。治療有益性は、基礎にある処置対象の障害の根絶または寛解を意味する。また、治療有益性は、患者がまだ基礎にある障害に罹患しているかもしれないにもかかわらず患者に改善が観察されるような、基礎にある障害に伴う生理学的症状のうちの1つまたは複数の根絶または寛解を伴って得られるものである。予防有益性のためには、該組成物は、特定の疾患を発症するリスクがある患者に、または疾患の診断がなされていないかもしれないにもかかわらず、この疾患の生理学的症状のうちの1つもしくは複数報告されている患者に投与され得る。

【0083】

この開示全体を通して、本発明の種々の局面を範囲形式で提示している場合があり得る。範囲形式での記載は、便宜および簡潔さのためにすぎず、本発明の範囲に対する柔軟性のない制限であると解釈されるべきでないことを理解されたい。したがって、範囲の記載は、考えられ得るすべての下位範囲および該範囲内の個々の数値ならびに、適切な場合は、該範囲内の整数値の分数が具体的に開示されているとみなされたい。例えば、1~6などの範囲の記載は、下位範囲、例えば1~3、1~4、1~5、2~4、2~6、3~6など、ならびに該範囲内の個々の数、例えば1、2、2.7、3、4、5、5.3および6が具体的に開示されているとみなされたい。これは、範囲の幅に関係なく適用される。

【0084】

開示内容

MSは自己免疫性の性質であるので、患者をその疾患のできるだけ早期の段階で認定および診断しようと試みるための研究の多くは、免疫系の特定の成分に注目したものである。例えば、ミエリン表面タンパク質、例えばミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質、ミエリン塩基性タンパク質、ミエリンプロテオリピドタンパク質およびミエリン関連糖タンパク質を標的とする自己抗体は、MSとの付随的関連または相関的関連のいずれかが実証されているが、これまでのところ、これら自己抗体には正確な診断用バイオマーカーとしての有用性に欠けている。関心が高まっている他の自己抗体の標的はグリカンであり、該抗体としては、抗GAGA4または抗グルコース抗体、ならびに他の細胞表面イオンチャネルタンパク質様KIR4.1が挙げられる。潜在的バイオマーカー候補がたくさんあるにもかかわらず、今のところまだ、MSを正確に診断できるか、またはその進行をモニタリングできる決定的な生体液検査法がない。

【0085】

10

20

30

40

50

一局面において、本発明は、MSを有する個体を診断するために使用され得る自己抗体の特定に関する。かかる診断には、この疾患の最も多くみられる2つの臨床経過である再発寛解型MS (RRMS) または二次性進行型MS (SPMS) のいずれかのサブタイプに罹患しているMS対象の血清が使用され得る。全MS患者のほぼ80%が最初にRRMSと診断され、その疾患の経過において、60%超がSPMSに移行する。

【0086】

合わせて全診断症例の大多数を構成する、最も多くみられる2つのMSサブタイプであるRRMSまたはSPMSのいずれかと診断された51名の混合MS患者を含む合計112例の対象の血清を解析した。本明細書において実証しているように、血液由来の自己抗体バイオマーカパネルを使用すると、MSを有する患者が、適切な年齢・性別適合対照対象と、95.0%の全体精度で区別され得る。また、RRMSまたはSPMSに対してサブタイプ特異的なさらなる自己抗体バイオマーカパネルも特定し、このようなパネルの各々の使用により各MSサブタイプが成功裡に区別されることが実証された。RRMS特異的自己抗体バイオマーカを使用すると、RRMS患者をSPMS患者と100.0%の精度で区別することが可能であった。同様に、SPMS特異的自己抗体バイオマーカは、SPMS患者をRRMS患者と92.0%の精度で区別することができた。換言すると、サブタイプ特異的自己抗体バイオマーカパネルとその対応する診断ロジックにより、同じ疾患の2つの相違する段階である2つの臨床的に重要なMSサブタイプであるRRMSとSPMSとを成功裡に区別することができた。このような比較は、自己抗体バイオマーカパネルによってMSの臨床経過が有効に逐次病期分類される可能性、ならびにサブタイプ間の移行点が予測される可能性を示す。また、MS対象は、同等の精度で、疾患対照群として使用した乳がんを有する対象、非神経変性疾患を有する対象と容易に区別された。

10

20

【0087】

本明細書において実証しているように、ヒトタンパク質マイクロアレイは、進行中のMS疾患の強力な診断指標またはバイオマーカとしての機能を果たす血液ベースの自己抗体の発見のための正確で信頼性のあるプラットフォームを提供する。MSおよび他の疾患の診断に対するこの斬新なアプローチの強みは、現在理解されているような、進行中の病態に応答して生じる組織デブリの排除による全身の恒常性の維持における自己抗体の役割にある。本バイオマーカ発見ストラテジーは、疾患群において健常対照対象と比べて示差的に発現している自己抗体を特定することに着目した。このアプローチを使用すると、これら疾患の両方の早期の段階を診断および病期分類することが可能であるだけでなく、該疾患を他の密接に関連した神経系疾患と高い全体精度で区別することも可能である。

30

【0088】

MS患者を適合対照と区別するために本明細書において使用した自己抗体バイオマーカパネル(表1)は、多種多様な構成タンパク質を含むが、先に記載の関心対象である対象の同定はなされていない。特定されたバイオマーカとしては、とりわけ、デヒドロゲナーゼ、調節タンパク質、電位依存性カリウムチャネルサブユニット、キナーゼおよび転写因子が挙げられる。なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、現在入手可能な知識に基づくと、選定されたこれらのバイオマーカの提案される機能の一例としては、神経細胞の分化、神経シグナルの調節、自然免疫過程、細胞運動、RNA修飾、転写/翻訳の調節および糖脂質の生合成が挙げられる。MS分野における多大な研究努力はこれまで、該疾患のバイオマーカである特定のミエリン成分に対する自己抗体に集中していたが、これまでのところの結果は残念なものである。本開示により、潜在的バイオマーカである他のタンパク質に対するさまざまな抗体を含めることにシフトさせることが、正確なMS診断および分類に重要であることを実証する。

40

【0089】

アルツハイマー病およびパーキンソン病の診断および病期分類に有用性を有する血液ベースの自己抗体バイオマーカの発見および試験を詳細に示すこれまでの研究において、選定された最も有用なバイオマーカは、対照よりも罹病対象で高力価を示す自己抗体であることが観察された。なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、このパターン

50

は、このような自己抗体が、病変領域から生じたデブリに応答して産生されて血中に入り、これがかかるデブリの血液からの排除における自己抗体の機能を示唆しているという考え方と一致した。かかるバイオマーカーは、処置中の患者における担当医師による疾患モニタリングにおいて、または臨床試験における疾患モニタリングにおいて、有用であろう。この場合、有益な効果は、病変領域からのデブリ生成の低減ならびにその排除を担う自己抗体の力価の対応する低下と一致するであろう。全く対照的に、MSに関する本開示では、低力価を有するか、または力価が枯渇した自己抗体が、疾患診断のための、最も感度がよく、正確で、したがって有用な、バイオマーカーであることがわかったことを示す。なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、これは、MS病態と関連している領域内の利用可能な標的に対する特定の自己抗体の結合が、その選択的枯渇を推進しており、また、MSにおける原因的役割を果たしていることを示す。

10

【0090】

脳反応性自己抗体はヒト血液中に遍在し、血液脳関門が損なわれた状況下では、かかる自己抗体が再度脳間質に到達し、神経細胞およびグリアの表面上に露出した標的に結合し得る。実際、アルツハイマー病を有する患者の脳内において、ADの病理学的変化、例えば神経細胞内 β -アミロイド沈着に対して特に脆弱性を示す同じ神経細胞は、免疫グロブリンG陽性が高い細胞でもある。なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、血液脳関門破壊の状況下での神経細胞表面に対する慢性的なIgG結合は、おそらくADの病理学的変化の一因であり、罹病脳内へのアミロイド沈着を助長し得る。この場合も、なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、同じタイプの機構が、おそらくMS患者においても作用している可能性があり、この場合、自己抗体がそのランビエ絞輪のミエリン鞘または軸索の膜上の標的に一過的または慢性的に到達することが、罹病領域における神経インパルスの伝達の鈍化またはブロックに寄与している。自己抗体が神経細胞の標的に到達する間隔を早める因子は、非限定的な一例において、血液脳関門の透過性の一過性の亢進を伴い得る。

20

【0091】

一局面では、本発明において、少量しか生体液（例えば、血液）を使用せず、比較的非侵襲性であり、かつ画像診断、例えばMRIに非依存性である、MSに対する診断アプローチを記載する。別の局面では、本発明により、特有の病理学的疾患経過を有する臨床的に相違する2つのサブタイプであるRRMSとSPMSを区別するための別個の自己抗体バイオマーカーパネルを提供する。この場合も、なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、この知見は、自己抗体プロフィールが疾患の進行とともに変化することがあり得、各疾患および疾患病期がその独自の固有の自己抗体のシグネチャーまたはプロフィールを有するという仮説をサポートする。自己抗体プロフィールが、疾患関連細胞および組織デブリ生成、または血液脳関門の障害の結果として新たに利用可能になった標的への脳反応性自己抗体の初期結合に応答性であり、これらを反映しているならば、この情報は、患者が、ある病期から次の病期に進行するか否か、または進行したか否か、例えばRRMSからSPMSへの移行を、どのプロフィール変化が示し得るかを判断するのに有用であり得る。

30

【0092】

本開示は、MSを検出して異なる臨床MSサブタイプを区別するため、ならびに精度は低下するがMS対象を密接に関連した神経変性障害である初期PDを有する対象と区別するために使用され得る自己抗体バイオマーカーを使用する本開示の診断ストラテジーを対象とする。

40

【0093】

したがって、本開示は、MSおよびその2つのサブタイプの一般的な診断のための、高感度で特異的な試験を対象とする。MSは、広範な症状、臨床像および自然経過を表し、したがって、真に非均一な患者集団（多くの場合、直接的診断が困難であり得る諸病状）を包含する。該疾患の経過および進行は、早期の正確な診断、その後の処置介入に依存性である。患者は、疾患経過中でより早期でより正確な診断およびモニタリングの恩恵を被ることは間違いなく。本開示に基づき、充分に開発された容易に利用可能な低価格の診断ツ-

50

ルが入手可能になり、MSの研究および処置の分野の進歩が可能になる。本開示の診断用血液検査は、MSによって誘発された臨床的に単一の徴候 (clinically isolated syndrome) が起こっている患者と、他の原因による患者とを区別するのに有用である。また、かかる診断法は、医師が、MSのさらなる同定試験を試すように患者を適切に導くことを可能にするスクリーニングツールとしての有用性を有する。また、本診断ストラテジーは、臨床試験への患者の早期登録を検証するためにも適用可能であり得るとともに、特定の処置レジメンに対する患者の奏功を、MS関連バイオマーカーのその後の消失を記録することによってモニタリングするための手段として有用であり得る。したがって、かかる診断ツールにより、医師が、患者が処置中の状態のまま疾患の進行をモニタリングすることが可能となり得る。処置が奏功しているならば、先の試験結果と比べてバイオマーカーは減少し、検出不能となり、それにより、処置が奏功し疾患が緩和しているという生化学的同定が得られる。また、これは、近い将来のMSの再発または悪化状態/疾患の進行ならびにMS臨床的サブタイプ間の移行の予後指標としても使用され得る。

10

【0094】

自己抗体のアッセイ:

自己抗体をアッセイするための方法は、本明細書において記載されており、当業者に公知である。例えば、イムノアッセイは、生体試料中の自己抗体を検出および解析するために使用され得る。本明細書で用いる場合、用語「イムノアッセイ」は、抗体を抗原の検出に使用するかまたは抗原を抗体の検出に使用して免疫複合体を形成させる任意の方法に関して使用される。

20

【0095】

本明細書に記載の抗原は、当技術分野で認められている名称ならびにデータベース識別番号によって特定される。データベース識別番号は、米国立バイオテクノロジー情報センター (NCBI) の公衆に利用可能なタンパク質データベースを参照し、これは当業者に周知であり、利用可能である。

【0096】

一連のイムノアッセイ形式、例えば非限定的に、競合アッセイ、直接イムノアッセイ、間接イムノアッセイおよび「サンドイッチイムノアッセイ」がこの定義に包含されることが企図される。しかしながら、本発明がいずれかの特定の形式に限定されることは意図していない。他の形式、例えばラジオイムノアッセイ (RIA)、免疫蛍光アッセイ (IFA)、ならびに他のアッセイ形式、例えば非限定的に、ELISA、RIAおよび/またはIFAのバリエーションの方法も本発明の方法に有用であることが企図される。また、イムノアッセイには免疫沈降および/またはイムノプロットティングも包含される。

30

【0097】

免疫複合体の検出のためのアッセイは定量的または定性的であり得る。一部の特定の態様では、該アッセイにおいて固相または基板、例えばマイクロタイタープレートもしくはマイクロアッセイプレート、スライド、磁気ビーズ、非磁気ビーズ、カラム、マトリックス、膜またはシートが使用され、これに自己抗原が直接または間接的に結合され、また、該固相または基板は、合成材料、例えばポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリアミド、または他の合成ポリマー、天然高分子、例えばセルロース、誘導体化天然高分子、例えば酢酸セルロースもしくはニトロセルロース、およびガラス、例えばガラス繊維で構成されたものであり得る。基板は、その表面上に固定化された複数の個々にアドレス指定可能な自己抗原を含み得る。この個々にアドレス指定可能な自己抗原が表面上に固定化されてアレイが形成され得る。基板は、適当な形状で、例えばフィルム、シートもしくはプレートで使用され得るか、または適切な不活性担体、例えば紙、ガラス、プラスチックフィルムもしくは布にコートもしくは接合もしくは積層してもよい。他の態様では、基板はスライドまたはビーズである。

40

【0098】

一局面において、本発明の方法は、本発明において企図される自己抗体を検出するためにサンドイッチアッセイを使用することを含む。本明細書に記載のアッセイおよびペプチ

50

ドは、本明細書に記載の任意のタンパク質/ペプチド/バイオマーカー、そのアイソフォーム、その翻訳後修飾形態、または前述のものの任意の組合せに適用可能である。サンドイッチアッセイは一般的に、2種類の結合物質、例えば、各々が検出および/または定量対象のタンパク質（1種類または複数種）の異なる部分またはエピトープに結合し得る抗体の使用を伴う。サンドイッチアッセイにおいて、被検物質は典型的には、固体支持体上に固定化された第1の結合物質によって結合され、その後、第2の結合物質が該被検物質に結合し、したがって不溶性の複合体が形成される。例えば、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、米国特許第4,376,110号を参照のこと。あるいはまた、サンドイッチアッセイを溶液中で行ってもよく、均一系アッセイとも称され得る。例えば、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、米国特許第7,413,862号を参照のこと。

10

【0099】

一部の特定の態様では、第1の結合物質を含む捕捉プローブが、1つまたは複数の自己抗体に結合されたMS関連抗原に特異的に結合し得、次に、第2の結合物質を含む検出プローブが該自己抗体に結合する。したがって、この具体例では、(1) 捕捉プローブ、(2) 疾患関連抗原、(3) 自己抗体および(4) 検出プローブの間で、4つの部分を有する複合体が形成される。他の態様では、第1の結合物質と第2の結合物質の位置を逆にし、固体支持体に結合された捕捉プローブが自己抗体に特異的に結合し得、検出プローブがMS関連抗原に特異的に結合し得るようにする。

【0100】

非限定的な一例では、適切な捕捉プローブを固体表面上に固定化し、試験対象の試料（例えば、ヒト血清）を該捕捉プローブと接触させる。例えば、タンパク質に共有結合または非共有結合する改質ガラス基板が疾患関連抗原との結合のために使用され得る。非特異的結合を最小限にするために該基板を適当なブロッキング剤で処理してもよい。自己抗体が該試料中に存在しているならば、該自己抗体と捕捉プローブとの間の複合体が形成される。次いで、ヒト免疫グロブリン(Ig)のエピトープが存在しているならば、それを特異的に認識する検出プローブを添加する。抗ヒト免疫グロブリン検出プローブは、ヒト抗体のFc領域に対して指向され、捕捉抗体種に対する交差反応性が可能な限り小さいものであり得る。

20

【0101】

別の非限定的な一例では、対象由来の試料を、疾患関連抗原に結合し得る抗体を含む捕捉プローブと接触させる。また、この試料を、抗ヒトIg抗体を含む検出プローブとも接触させる。複合体の有無および/または量が検出され得、ここで、該複合体の有無は自己抗体の有無を示す。

30

【0102】

次いで、免疫複合体は、当技術分野で周知の方法、例えば標識に基づく検出およびラベルフリー検出を用いて検出または定量的に測定され得る。インジケータ試薬としては、発色剤、触媒、例えば酵素コンジュゲート、蛍光化合物、例えばフルオレセインおよびローダミン、化学発光化合物、例えばジオキセタン、アクリジニウム、フェナントリジニウム、ルテニウムおよびルミノール、放射性元素、直接観察(direct visual)標識、ならびに補因子、阻害薬および磁気粒子が挙げられる。酵素コンジュゲートの例としては、アルカリホスファターゼ(AP)、ホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRP)およびβ-ガラクトシダーゼが挙げられる。例えば、シグナル生成化合物を含むインジケータ試薬にカップリングさせた二次抗体を使用することができる。二次抗体は抗ヒトIgG抗体であり得る。複合体の検出は、熱量測定性、化学発光性または蛍光性の生成物を生成させる酵素の基質を添加することによって行われ得る。あるいはまた、複合体の存在は、検出可能な標識、例えば適切な酵素で標識したマーカータンパク質の添加によって調べることができる。この場合、測定される酵素活性の量は、形成される複合体の量に反比例し、試料中の抗原の存在を調べるための参照として陰性対照が必要とされる。複合体を検出するための別の方法では、放射性同位体で標識された抗体または抗原が使用され、その後、放射能の測定が行われ得る。

40

50

【0103】

例示的な一部の特定の態様では、蛍光標識および検出方法を用いて免疫複合体を検出する。関連する解析ソフトウェアを有する市販のスライドスキャナー（例えば、Genepix 4000Bスライドスキャナー（Molecular Devices, Inc.））が使用され得る。他の態様では、免疫複合体が、蛍光標識された（例えば、Alexa-Fluor（Invitrogen））抗ヒト抗体でプロービングされ、各タンパク質スポットにおける蛍光の強度がマイクロアレイスキャナーを用いて測定される。市販のソフトウェア（例えば、GenePix Pro 5.0ソフトウェア（Axon instruments））を使用し、スキャナーによって得られたデジタル画像から、個々のフィーチャーのピクセル強度の正味中央値を抽出してもよい。データを、同じアレイの異なる領域内の複数の同一の対照スポットの中央値を比較することによって正規化してもよい。

10

【0104】

ラベルフリー検出法としては、表面プラズモン共鳴、カーボンナノチューブおよびナノワイヤならびに干渉分光法が挙げられる。標識に基づく検出法およびラベルフリー検出法は、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、Ray, et al., 2010, Proteomics 10:731-748により当技術分野で公知である。検出は、当技術分野で公知であり使用される標識に適切なスキャン法、および関連する解析ソフトウェアによって行われ得る。

【0105】

試料は、捕捉プローブの前、後または同時に、検出プローブと接触させ得る。一態様では、試料を最初に検出プローブと接触させ、その結果、試料中に存在する自己抗体が検出プローブに結合して標的-被検物質複合体が形成される。次いで、この混合物を、捕捉プローブが結合されている基板と接触させ、その結果、標的-被検物質複合体が基板上の捕捉プローブに結合する。別の態様では、試料を最初に該基板と接触させ、その結果、試料中に存在している標的-被検物質複合体が捕捉プローブに結合し、次いで、捕捉プローブに結合された標的-被検物質複合体を検出プローブと接触させ、その結果、自己抗体が検出プローブに結合する。別の態様では、試料、検出プローブおよび基板上の捕捉プローブを同時に接触させる。

20

【0106】

さらに本発明により、市販用のキットを提供する。一部の特定の態様では、キットは、本発明において企図される少なくとも1種類の抗原を備え得る。キットは、本発明において企図される任意の抗原を作出し、本発明において企図される自己抗体を検出するなどのプロセスの全工程に必要な備品、溶液および/または使用説明書を備え得る。さらに、キットは、対応する自己抗体の検出における使用のための、本発明において企図される抗原（1種類または複数種）、そのアイソフォーム、その翻訳後修飾形態をさらに備え得る。

30

【0107】

マイクロアレイ:

本発明の一部の特定の局面では、試料をマイクロアレイによって解析する。本発明の抗原は、マイクロアレイのアレイ要素として有用である。マイクロアレイは一般的に、固体基板を備えており、概ね平面的な表面を有し、これに捕捉試薬（吸着剤または親和性試薬とも称される）が結合される。多くの場合、バイオチップの表面は複数のアドレス指定可能な場所を備えており、それには各々、捕捉試薬が結合されている。

40

【0108】

本発明のマイクロアレイは、本明細書に記載の任意の自己抗原またはMS診断用バイオマーカーによって認識される1つもしくは複数のエピトープを含むそのポリペプチドもしくはペプチド断片、またはMS診断用バイオマーカーによって認識されるエピトープペプチド模倣物を備え得る。ペプチド模倣物としては、例えばD-ペプチド、ペプトイドおよびペプチドが挙げられる。

【0109】

アレイ要素は、各要素が基板上の指定の場所に存在するような規則的な様式で組織化される。有用な基板素材としては、紙、ナイロンまたは他の素材で構成された膜、フィルター、チップ、スライドガラス、および他の固体支持体が挙げられる。アレイ要素の規則的

50

な配列により、結合/認識のパターンおよび強度を、特定の遺伝子またはタンパク質（例えば、自己抗体）の発現レベルとして解釈することが可能になる。核酸マイクロアレイを作製するための方法は当業者に公知であり、例えば、参照によりその全体が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第5,837,832号、Lockhart, et al., 1996, Nat. Biotech. 14:1675-1680、およびSchena, et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. 93:10614-10619に記載されている。核酸、ペプチドおよび他の高分子配列の高密度アレイを最小限の合成工程数で形成する方法は公知である。抗原アレイは、固体基板上で、さまざまな方法、例えば非限定的に、光指向性化学的カップリングおよび機械的指向性カップリングによって合成され得る。参照によりその全体が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許出願第10/658,879号、同第60/417,190号、同第09/381,480号および同第60/409,396号、ならびに米国特許第5,861,242号、同第6,027,880号、同第5,837,832号および同第6,723,503号を参照のこと。

10

【0110】

タンパク質マイクロアレイは当技術分野で公知であり、例えば、Hall, et al., 2007, Mech Ageing Dev 128:161-167およびStoevesandt, et al., 2009, Expert Rev Proteomics 6:145-157に概説されており、これらの開示内容は参照により本明細書に組み入れられる。マイクロアレイは、精製された自己抗原を基板上、例えば処理済顕微鏡スライド上に、接触式スポットターまたは非接触式マイクロアレイヤーを用いて固定化することにより調製され得る。また、マイクロアレイは、インサイチュ無細胞合成によって、対応するDNAアレイから直接作製することもできる。一部の特定の態様では、自己抗原が支持体または基板上、例えば化学的誘導体化ガラス上にコートまたはスポットされる。

20

【0111】

自己抗原を支持体または基板に結合させるための方法は当技術分野で公知であり、共有結合性相互作用および非共有結合性相互作用が挙げられる。例えば、適用するタンパク質をヒドロゲルなどの多孔質表面に拡散させることにより、ヒドロゲル構造内への非修飾タンパク質の非共有結合が可能である。共有結合性カップリング法は、安定な連結をもたらし、一連のタンパク質に適用され得る。タンパク質に対するタグ（例えば、ヘキサヒスチジン/Ni-NTAまたはビオチン/アビジン）および基板表面用に固定化したパートナー試薬を使用する生物学的捕捉法は安定な連結をもたらし、特異的で再現性のある配向性で該タンパク質が結合される。

30

【0112】

ほとんどの適用では、結合の後に行われる洗浄工程もまた、ストリンジェンシーがさまざまである。洗浄ストリンジェンシー条件は塩濃度と温度によって規定され得る。上記のように、洗浄ストリンジェンシーは、塩濃度を低下させること、または温度を上げることによって高めることができる。洗浄工程のストリンジェントな温度条件としては通常、少なくとも約25℃、より好ましくは少なくとも約42℃、さらにより好ましくは少なくとも約68℃の温度が挙げられる。このような条件のさらなるパリエーションは当業者に容易に明らかである。マイクロアレイはバイオチップであってもよく、スライドガラス、ビーズまたは紙上のものであってもよい。

40

【0113】

自己抗原：

本発明では、本明細書に記載の自己抗原、あるいはMS診断用バイオマーカーによって認識される1つもしくは複数のエピトープを含むそのポリペプチドもしくはペプチド断片、またはMS診断用バイオマーカーによって認識されるエピトープペプチド模倣物が企図される。ペプチド模倣物としては、例えばD-ペプチド、ペプトイドおよびL-ペプチドが挙げられる。自己抗原は、天然の供給源から精製されたものであってもよく、当技術分野で公知の方法によって組換えまたは合成により作製されたものであってもよく、融合タンパク質の形態であってもよい。自己抗原をインビトロで無細胞翻訳系を用いて生成させてもよい。一部の特定の態様では、自己抗原を、正しいフォールディングと機能を確実にするために哺乳動物または昆虫の発現系で生成させ得る。このような方法はすべて、ハイスルー

50

プット産生のために自動化され得る。

【0114】

アレイ上にスポットする自己抗原の外部生成および精製のための好適な方法としては、細菌内（例えば、Venkataram, et al., 2008, *Biochem.* 47:6590-6601に開示のような）、酵母内（例えば、Li, et al., 2007, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 142:105-124に開示のような）、昆虫細胞内（例えば、Altman, et al., 1999, *Glycoconj. J.* 16:109-123に開示のような）、および哺乳動物細胞内（例えば、Spampinato, et al., 2007, *Curr. Drug Targets* 8:137-146に開示のような）での発現が挙げられる。

【0115】

インサイチュ（「オンチップ」）タンパク質生成のための好適な方法は、例えば、Ramachandran, et al., 2006, *Methods Mol. Biol.* 2328:1-14、およびHe, et al., 2008, *Curr. Opin. Biotechnol.* 19:4-9に開示されている。 10

【0116】

また、タンパク質を平行でアレイ表面上に同時に発現させて固定化する他の方法も当技術分野で公知であり、本発明に従って使用され得る。例えば、Protein In Situ Arrays (PISA) 法 (He, et al., 2001, *Nucleic Acids Res.* 29:e73) では、タンパク質がDNAから直接、溶液中または固定化状態のいずれかで作製され、タグ配列の認識によって作製される際にアレイ表面に結合状態になる。タンパク質は平行で、無細胞系、一般的にはウサギ網状赤血球または大腸菌 (*E. coli*) S30を用いてインビトロでカップリング型の転写および翻訳を行うことで発現させる。この方法では、タンパク質発現が、タグに結合し得る固定化剤を事前にコートした表面上で行われる。したがって、各タンパク質は、翻訳された後、隣接する表面に同時に特異的に固定された状態になり、一方、その他の材料はその後、洗い流され得る。マイクロアレイは、直接スライドガラス上で、DNAを無細胞ライセート系と混合した後、スポットすること、または最初にDNAをスポットした後、発現系をスポットする多重スポット手法 (MIST) のいずれかによって作製される。 20

【0117】

Nucleic Acid Programmable Protein Array (NAPPA) (Ramachandran, et al., 2004, *Science* 305:86-90) として公知の系では、固定化した（溶液中ではなく）DNA鋳型での転写および翻訳により、DNAアレイをタンパク質アレイに変換させることが可能である。この方法では、GST融合体として該タンパク質をコードしているビオチン化cDNAプラスミドをアビジンコートスライド上に、捕捉実体としての機能を果たす抗GST抗体と一緒にプリンティングする。次いで、このcDNAアレイをウサギ網状赤血球ライセートで覆って該タンパク質を発現させると、該タンパク質は、各DNAスポットに隣接した該抗体によってトラップされた状態になり、それにより該タンパク質はcDNAと同じレイアウトで固定化された状態になる。この技術により、固定化されたタンパク質がDNAおよび捕捉剤と一緒に存在するタンパク質アレイが作製される。 30

【0118】

タンパク質アレイを作製するための別の好適な方法はDNA Array to Protein Array (DAPA) 法である。このインサイチュタンパク質アレイ化方法では、固定化DNAアレイが、「純粋な」タンパク質アレイを該DNAとは別個の表面上に作製するための鋳型として使用され、また、同じDNA鋳型から多コピーのタンパク質アレイを作製することができる (He, et al., 2008, *Nature Methods*, 5:175-7)。無細胞タンパク質合成が2つの表面（例えば、スライドガラス）間に保持された膜内で行われ、一方の表面にはDNA分子がアレイ化され、他方の表面には翻訳されたタンパク質を捕捉するための特異的試薬が担持される。タグ化された個々のタンパク質が平行でアレイ化DNAから合成され、隙間全体に拡散し、その後、反対側の表面上のタグ捕捉試薬との相互作用によって固定化されてタンパク質アレイが形成される。DNAの位置と量を正確に反映した離散スポットが作製される。該DNAの再利用によって該タンパク質アレイの複製コピーが得られ得る。 40

【0119】

アレイの製法としては、ロボット型接触式プリンティング、インクジェット式、圧電 50

式スポッティングおよびフォトリソグラフィが挙げられる。例えば、外的に作製して精製した本発明の精製自己抗原は、マイクロアレイ基板上に、フレキシブルタンパク質マイクロアレイインクジェットプリンティングシステム（例えば、ArrayJet, Roslin, Scotland, UK）を用いてスポットされ、高品質のタンパク質マイクロアレイ作製がもたらされ得る。自己抗原の厳密な行と列が、結合されている血清診断用バイオマーカの存在と量の両方を表す検出可能なスポットに変換され得る。

【0120】

マイクロアレイの作製は好ましくは、自己抗原の3次元形状が維持されるように設計された市販のプリンティングバッファを用いて行われる。一部の特定の態様では、マイクロアレイ用の基板はニトロセルロースコートスライドガラスである。

10

【0121】

バイオセンサー：

一部の特定の態様では、本発明のバイオマーカはバイオセンサーを用いて、例えば、電流測定的、電気化学的、電位測定的、導電測定的、インピーダンス、磁氣的、光学的、音響的または熱的変換部を有するセンサーシステムで検出される。

【0122】

一般的に、バイオセンサーは、タンパク質、核酸、抗体などを含み得、特定のバイオマーカに結合する、バイオセンサー認識要素と、分子シグナル（すなわち、認識要素に対するバイオマーカの結合）を、定量、表示および解析され得る電気信号またはデジタル信号に変換させる変換部とを含む。また、バイオセンサーは、該信号をユーザーフレンドリーな結果表示に変換するリーダーデバイスも含み得る。例示的なバイオセンサーを構成する潜在的構成要素の例は、Bohunicky et al., 2011, Nanotechnology Science and Applications 4:1-10に記載されており、これは参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

20

【0123】

バイオセンサーには、物理的、化学的または生物学的検出系が組み込まれ得る。一部の特定の態様では、バイオセンサーが、例えば、核酸ベース、例えばオリゴヌクレオチドプロンプもしくはアプタマーベース、またはタンパク質ベース、例えば酵素、結合タンパク質、受容体タンパク質、輸送タンパク質もしくは抗体ベースの生物学的認識系を有するセンサーである。他の態様では、生物学的認識系が本明細書に記載の従来イムノアッセイを構成し得る。さらに他の態様では、認識要素（例えば、タンパク質、核酸、抗体など）は非標識であり得、該要素に対するバイオマーカの結合は直接観察され、変換部によって信号に変換される。バイオセンサーは、容量の測定もしくは分配のためのマイクロ流路手段、毛細管流動、重力、動電力によって混合を引き起こし、インキュベーションをもたらすハウジング（housing）試薬または流体を移動させるための他の手段を含み得る。

30

【0124】

バイオセンサーでのバイオマーカの検出のための方法には、免疫学的、電氣的、熱的、磁氣的、光学的（例えば、ホログラム）または音響的技術が使用される。かかるバイオセンサーを使用すると、標的バイオマーカを、生体試料中にみられる予想濃度で検出することが可能である。

40

【0125】

バイオセンサーには、バイオマーカの検出のための本明細書に記載の検出法および検出系が組み込まれ得る。バイオセンサーには、電氣的（例えば、電流測定的、電位測定的、導電測定的もしくはインピーダンス検出系）、熱量測定的（例えば、熱的）、磁氣的、光学的（例えば、ホログラム、ルミネセンス、蛍光、比色定量）、または質量変化（例えば、圧電的、音波）技術が使用され得る。本発明によるバイオセンサーでは、1、2、3種類またはそれ以上のバイオマーカのレベルが：直接的、間接的またはカップリングさせた酵素的、分光測光的、蛍光定量的、発光測定的、分光分析的、偏光測定的およびクロマトグラフィ手法から選択される1種または複数種の方法によって検出され得る。一部の特定のバイオセンサーは1種または複数種の酵素を含み、該酵素は、直接あるいは媒介物

50

質を介して、または結合タンパク質、受容体タンパク質もしくは輸送タンパク質を用いて間接的に電氣的、光学的、音響的、磁気または熱的変換部にカップリングさせて使用される。かかるバイオセンサーを使用すると、標的バイオマーカールレベルを、生体試料中にみられる予想濃度で検出することが可能である。

【0126】

一部の特定の態様では、本発明のバイオマーカは、「スマート」ホログラムまたは高周波音響システムベースの技術が組み込まれたバイオセンサーを用いて検出され得、かかる系は「バーコード」またはアレイ構成に特に適している。スマートホログラムセンサー (Smart Holograms Ltd, Cambridge, UK) では、ホログラフィー画像が、バイオマーカと特異的に反応するように増感させたポリマー薄膜内に保存される。露光されると、バイオマーカは該ポリマーと反応し、ホログラムによって示される画像の変化をもたらす。試験結果の読み出し情報は、画像の光学的明るさ、像、色および/または位置の変化であり得る。定性的および半定量的用途では、センサーホログラムは目で読み取ることができ、したがって検出備品の必要性が除かれる。単純なカラーセンサーは、定量的測定値が必要とされる場合に信号を読み取るために使用され得る。試料の不透明度または色はセンサーの動作を妨げない。このセンサー形式により、いくつかの物質の同時検出のための多重化が可能になる。いろいろな要件を満たすために可逆的および不可逆的センサーが設計され得、関心対象の特定のバイオマーカの連続モニタリングが実現可能である。

10

【0127】

本発明のバイオマーカを検出するためのバイオセンサーとしては、音響式、表面プラズモン共鳴、ホログラフィー式および/または微細加工型センサーが挙げられ得る。インプリント型認識要素、薄膜トランジスタ技術、磁気音響的共鳴デバイスおよび他の新規な音響電氣的な系が、本発明のバイオマーカの検出のためのバイオセンサーに使用され得る。

20

【0128】

好適には、本発明のバイオマーカの検出のためのバイオセンサーはカップリングされる、すなわち、生体分子認識が試料中のバイオマーカの存在の検出または定量を信号に変換させるための適切な手段と合わされる。バイオセンサーは、例えば、病棟内、外来診療部門、手術室、家、屋外および職場における「代替地 (alternate site)」診断試験用に適合され得る。

30

【0129】

本発明ではさらに、自己抗原データベースおよび非一時的コンピュータ可読媒体に保存されたソフトウェアアルゴリズムを有するコンピューティングシステムが企図される。一部の特定の態様では、コンピューティングシステムは、本開示に記載のような、対象由来の生体試料中の自己抗原と自己抗体との間の免疫複合体の形成 (または形成なし) に基づいて対象がMSまたはそのサブタイプを発症するリスクが同定されるレポートが得られるように構成される。当技術分野における一般知識に基づき、コンピュータシステムの当業者であれば、自己抗原と自己抗体との間の免疫複合体が形成されたかどうかの結果が受け取れるように適正に構成されたコンピューティングシステムをどのようにして同定し、該免疫複合体が実際に形成された場合、対象がMSまたはそのサブタイプを発症するリスクを有する、または該リスクがあるとどのようにして判定するかがわかるであろう。

40

【0130】

MSならびにMSのRRMSおよびSPMSサブタイプの処置:

本発明の一面は、患者の処置レジメンをカスタマイズすることにより患者の処置転帰を改善する方法を含む。MSの再発性形態および進行性形態の両方の処置および管理のための承認された免疫抑制薬物がいくつかある。疾患修飾処置薬 (DMT) は、再発が起こった再発寛解型および進行型のMS患者に対して最も一般的に処方される薬物であり、種々の免疫抑制機構により疾患活性を低下させること、増悪の重症度を低下させること、ならびに進行を遅らせることが意図される。DMTとしては、疾患経過が初期の患者に最適なファーストライン処置薬とみなされている、インターフェロン、および他の治療薬、例えば、一

50

一般的に、安全性の懸念からセカンド-およびサード-ライン処置薬として残される、モノクローナル抗体などの薬物が挙げられる。ファーストライン薬物を受けている状態で該薬物が奏功しないか、または疾患に対して有意な飛躍的進歩が起こらない患者は、具体的な疾患経過のよりよい管理のためにセカンド-およびサード-ラインDMTが処方され得る。重度の増悪の場合、再発持続期間を短くする目的で、免疫系を抑制するために短期間高用量コルチコステロイドが使用される。

【0131】

上記のMS処置薬に加えて、多くの患者には、該疾患に付随する個々の症状、例えば痛み、疲労感、鬱ならびに腸および膀胱の機能不全を処置するための他の薬物もまた使用される。進行を遅らせて再発の頻度と重症度を低減させることを企図するためには患者の疾患経過においてファーストライン処置薬をできるだけ早期に開始することが極めて重要であるため、MSが該疾患の最初期に診断されることが最高に重要である。現在、MSの診断および検出のための確定的な単一の試験はない。患者は多くの場合、医師が他の疾患の可能性を除外できるように、神経系の検査、高額な画像診断および侵襲的処置、例えば髄液採取を伴う一連の試験を受ける。MSの検出および診断のための自己抗体バイオマーカーを使用する簡単な診断用血液検査の実施は、画像診断に非依存性であり、腰椎穿刺などの侵襲的処置の必要性がなくなる。さらに、高感度の血液検査により、早期検出の可能性だけでなく、臨床的サブタイプであるRRMSとSPMSとの区別の可能性も確立される。これにより、ファーストラインおよびそれ以降の処置薬ならびに特定の治療薬に対する患者の奏功のモニタリングに関して、患者の疾患経過のより厳密な管理が可能となる。

10

20

【0132】

(表1) 上位50種類の枯渇マーカー

上位50種類の枯渇混合MSバイオマーカーの説明。

データベースID	説明
BC099907.1	一般的な転写因子II-1
NM_201998.1	スプライシング因子1
BC028006.1	誘導性T細胞共刺激因子(ICOS)
NM_020317.2	第1染色体オープンリーディングフレーム63 (C1orf63)
NM_003636.1	カリウム電位依存性チャネル, シェーカー関連サブファミリー, β 構成員2 (KCNAB2), 転写物変異体1
BC003065.1	細胞分裂プロテインキナーゼ2
NM_001008737.1	仮想 LOC401052 (LOC401052)
XM_003960444.1	仮想タンパク質 MGC21881 (MGC21881), mRNA
BC029796.1	仮想タンパク質 BC014011 (LOC116349)
NM_152716.1	FLJ36874タンパク質 (FLJ36874)
XM_379114.1	仮想タンパク質 LOC150577 (LOC150577)
BC022258.1	フォン・ヴィレブランド因子(VWF)
BC002733.2	第1染色体オープンリーディングフレーム77 (C1orf77)
NM_004912.3	KRIT1, アンキリンリピート含有 (KRIT1), 転写物変異体2
BC001419.1	ミトコンドリアトランス-2-エノイル-CoAレダクターゼ (MECR)
NM_002642.1	ホスファチジルイノシトール4-アセチルグルコサミントランスフェラーゼサブユニットC
PV4202	NIMA (never in mitosis遺伝子a) 関連キナーゼ1 (NEK1)
PV4337	LIMドメインキナーゼ1
XM_378514.1	予測: ホモ・サピエンス仮想タンパク質 LOC283663 (LOC283663), mRNA
XM_086879.4	予測: ホモ・サピエンス仮想 LOC150371 (LOC150371)
BC015514.1	組織因子経路阻害薬 (リポタンパク質関連凝固阻害薬) (TFPI)
NM_005151.2	ユビキチン特異的ペプチダーゼ14 (tRNA-グアニントランスグリ コシラーゼ) (USP14), 転写物変異体1
BC016380.1	cDNAクローンMGC:27376 IMAGE:4688477, 完全長コード配列
BC032451.1	cDNAクローンMGC:40426 IMAGE:5178085, 完全長コード配列
NM_175907.3	亜鉛結合性アルコールデヒドロゲナーゼ, ドメイン含有2 (ZADH2)
BC073782.1	cDNAクローンMGC:88796 IMAGE:6295732, 完全長コード配列

10

20

30

NM_004987.3	LIMおよび老化細胞抗原様含有ドメインタンパク質1
BC022362.1	cDNA クローンMGC:23888 IMAGE:4704496, 完全長コード配列
NM_004302	アクチビンR1b組換えヒトタンパク質
NM_003141.2	3要素モチーフ含有21 (TRIM21)
NM_005522.3	ホメオボックスA1 (HOXA1), 転写物変異体1
NM_016011.2	トランス-2-エノイル-CoAレダクターゼ, ミトコンドリア
NM_005734.1	ホメオドメイン相互作用性プロテインキナーゼ3 (HIPK3), 転写物変異体1
NM_004329	BMPRI1A 組換えヒトタンパク質
NP_002167.1	インターフェロン β /IFN- β /IFNBタンパク質
BC014991.1	N-メチルプリン-DNAグリコシラーゼ (MPG)
NM_004527.2	間葉ホメオボックス1 (MEOX1), 転写物変異体1
BC014271.2	エンドグリン (オスラー・ランデュ・ウェーバー症候群1)(ENG)
XM_378660.1	予測: ホモ・サピエンス仮想 LOC400584 (LOC400584)
NM_020467.2	膜貫通型低分子グリコシル化タンパク質 (LOC57228), 転写物変異体2
BC033792.1	腫瘍タンパク質D52様3 (TPD52L3)
NM_007255.1	キシロシルタンパク質 β 1, 4-ガラクトシルトランスフェラーゼ, ポリペプチド7 (ガラクトシルトランスフェラーゼI)(B4GALT7)
BC017054.1	メチレンテトラヒドロ葉酸デヒドロゲナーゼ (NADP+依存性) 2, メテニルテトラヒドロ葉酸シクロヒドロラーゼ (MTHFD2)
NM_180699.1	核内低分子リボ核タンパク質 35kDa (U11/U12) (SNRNP35), 転写物変異体 3, mRNA
NM_172159.2	カリウム電位依存性チャネル, シェーカー関連サブファミリー, β 構成員1 (KCNAB1), 転写物変異体3
NM_199183.1	推定精巢セリンプロテアーゼ5
BC002448.2	アクチン結合LIMタンパク質1 (ABLIM1)
NM_005435.2	Rhoグアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) 5 (ARHGEF5)
BC006105.1	第6染色体オープンリーディングフレーム 134 (C6orf134)
NM_005371.2	メチルトランスフェラーゼ様1 (METTL1), 転写物変異体1

10

20

30

【 0 1 3 3 】

(表2) RFのみ上位50種類の枯渇マーカー

RFのみ上位50種類の枯渇MSバイオマーカーの説明。

データベースID	説明
NM_201998.1	スプライシング因子1
NM_020317.2	第1染色体オープンリーディングフレーム 63 (C1orf63)
NM_016011.2	トランス-2-エノイル-CoAレダクターゼ, ミトコンドリア
NM_004912.3	KRIT1, アンキリンリピート含有 (KRIT1), 転写物変異体2
BC028006.1	誘導性T細胞共刺激因子 (ICOS)
NM_002642.1	ホスファチジルイノシトールN-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼサブユニットC
XM_379114.1	仮想タンパク質 LOC150577 (LOC150577)
BC099907.1	一般的な転写因子II-1
NM_004987.3	LIMおよび老化細胞抗原様含有ドメインタンパク質1
BC089041.1	グアニンヌクレオチド結合タンパク質サブユニット α -11

40

NM_001008737.1	仮想 LOC401052 (LOC401052)	
BC001419.1	ミトコンドリアトランス-2-エノイル-CoAレダクターゼ (MECR)	
NM_003636.1	カリウム電位依存性チャネル, シェーカー関連サブファミリー, β 構成員2 (KCNA2), 転写物変異体1	
BC022258.1	フォン・ヴィレブランド因子 (VWF)	
BC014271.2	エンドグリン (オスラー・ランデュ・ウェーバー症候群1)(ENG)	
BC014991.1	N-メチルプリン-DNAグリコシラーゼ (MPG)	
NM_180699.1	核内低分子リボ核タンパク質 35kDa (U11/U12) (SNRNP35), 転写物変異体 3, mRNA	
NM_172159.2	カリウム電位依存性チャネル, シェーカー関連サブファミリー, β 構成員1 (KCNA1), 転写物変異体3	10
BC022362.1	cDNA クローン MGC:23888 IMAGE:4704496, 完全長コード配列	
BC003376.1	ELAV (胚性致死, 視覚異常, ショウジョウバエ) 様1 (Hu抗原R) (ELAVL1)	
NM_018698.3	核輸送因子2様核外移行因子2 (NXT2)	
NM_005435.2	Rho グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) 5 (ARHGEF5)	
BC002733.2	第1染色体オープンリーディングフレーム 77 (C1orf77)	
XM_086879.4	予測: ホモ・サピエンス仮想 LOC150371 (LOC150371)	
XM_003960444.1	仮想タンパク質 MGC21881 (MGC21881), mRNA	
NM_031954.2	カリウムチャネル四量体化ドメイン含有10 (KCTD10)	20
NM_004302	アクチビンR1b組換えヒトタンパク質	
BC002448.2	アクチン結合LIMタンパク質1 (ABLIM1)	
BC066948.1	ユビキチンコンジュゲート酵素 E2 S	
PV4337	LIMドメインキナーゼ1	
BC029796.1	仮想タンパク質 BC014011 (LOC116349)	
XM_378514.1	予測: ホモ・サピエンス仮想タンパク質 LOC283663 (LOC283663), mRNA	
NM_000148.2	フコシルトランスフェラーゼ1 (ガラクトシド2- α -L-フコシルトランスフェラーゼ, H血液群) (FUT1)	
NM_175907.3	亜鉛結合性アルコールデヒドロゲナーゼ, ドメイン含有2 (ZADH2)	30
NM_004527.2	間葉ホメオボックス1 (MEOX1), 転写物変異体1	
BC033792.1	腫瘍タンパク質D52様3 (TPD52L3)	
NM_003141.2	3要素モチーフ含有21 (TRIM21)	
BC029054.1	PDZ ドメイン含有 7 (PDZD7)	
BC003065.1	細胞分裂プロテインキナーゼ2	
NM_152716.1	FLJ36874 タンパク質 (FLJ36874)	
NM_002147.2	ホメオボックス B5 (HOXB5)	
BC032451.1	cDNA クローン MGC:40426 IMAGE:5178085, 完全長コード配列	
BC016380.1	cDNA クローン MGC:27376 IMAGE:4688477, 完全長コード配列	40
NM_005678.3	SNRPN上流リーディングフレーム (SNURF), 転写物変異体1	
PV4202	NIMA (never in mitosis遺伝子a) 関連キナーゼ1 (NEK1)	
BC017054.1	メチレンテトラヒドロ葉酸デヒドロゲナーゼ (NADP+依存性) 2, メテニルテトラヒドロ葉酸シクロヒドロラーゼ (MTHFD2)	
NM_201403.1	MOB1, Mps One Binderキナーゼ活性化因子様2C (酵母) (MOBK12C), 転写物変異体2	
NP_002167.1	インターフェロン β /IFN- β /IFNBタンパク質	
BC036884.1	ジンクフィンガータンパク質 (ZNF462)	
NM_005371.2	メチルトランスフェラーゼ様1 (METTL1), 転写物変異体1	

(表3) 上位50種類の発現RRMSマーカー
 上位50種類の発現RRMSバイオマーカーの説明。

データベースID	説明
NM_152729.2	5'-ヌクレオチダーゼドメイン含有1 (NT5DC1)
NM_005151.2	ユビキチン特異的ペプチダーゼ14 (tRNA-グアニントランスグリコシラーゼ) (USP14), 転写物変異体1
BC016380.1	cDNAクローン MGC:27376 IMAGE:4688477, 完全長コード配列
BC024289.1	インターフェロン、 α -誘導性タンパク質6 (IFI6)
BC032451.1	cDNAクローン MGC:40426 IMAGE:5178085, 完全長コード配列
NP_001954.2	EGF / 上皮成長因子タンパク質
NM_175907.3	亜鉛結合性アルコールデヒドロゲナーゼ, ドメイン含有2 (ZADH2)
BC020233.1	cDNAクローン MGC:31936 IMAGE:4765518, 完全長コード配列
BC073782.1	cDNAクローン MGC:88796 IMAGE:6295732, 完全長コード配列
NP_001018016.1	ムチン-1/MUC-1タンパク質 (Fcタグ)
NP_000868.1	IL1R1 / CD121aタンパク質
NM_004987.3	LIMおよび老化細胞抗原様含有ドメインタンパク質1
BC022362.1	cDNAクローン MGC:23888 IMAGE:4704496, 完全長コード配列
NM_004302	アクチビンR1b組換えヒトタンパク質
NP_061113.1	TREM1タンパク質
NM_003141.2	3要素モチーフ含有21 (TRIM21)
BC030813.1	cDNAクローン MGC:22645 IMAGE:4700961, 完全長コード配列
BC030984.1	cDNAクローン MGC:32654 IMAGE:4701898, 完全長コード配列
NP_005009.2	PD1 / PDCD1タンパク質
FGF2_Recombinant	FGF2組換えヒトタンパク質
NM_004329	BMPR1A組換えヒトタンパク質
NP_002167.1	インターフェロン β /IFN- β /IFNBタンパク質
NM_182756.1	speedyホモログA (ショウジョウバエ) (SPDYA), 転写物変異体2
NM_144606.1	フォリクリン (FLCN), 転写物変異体2
BC014991.1	N-メチルプリン-DNAグリコシラーゼ (MPG)
NP_061947.1	DLL4タンパク質
PV3314	分裂促進因子活性化プロテインキナーゼ1; 野生型または点変異型の状態に関する詳細情報についてはカタログ番号を参照のこと
NM_012289.2	Kelch様ECH関連タンパク質1
NP_003833.3	TNFRSF10B / TRAILR2 / CD262タンパク質
BC014271.2	エンドグリン (オスラー・ランデュ・ウェーバー症候群1)(ENG)
NM_013246.1	カルジオトロフィン様サイトカイン因子1 (CLCF1)
BC064612.1	骨髄系/リンパ系または混合系統白血病 (trithoraxホモログ, ショウジョウバエ); 転座 (translocated to), 6 (MLLT6)

10

20

30

NP_001233.1	CD27 / TNFRSF7 タンパク質
NM_003798.1	α -カチュリン (catulin)
NM_145253.1	LOC124402 (LOC124402), mRNA
NM_172238.1	転写因子AP-2 δ (活性化エンハンサー結合タンパク質2 δ) (TFAP2D), mRNA
P01566	インターフェロン α 10/IFNA10タンパク質
BC026101.2	nudE核分布 (nuclear distribution) 遺伝子Eホモログ (A. ニデュランス (A. nidulans)) 様1 (NDEL1)
NP_004084.1	EphrinB2 / EFNB2 タンパク質
NM_012325.1	微小管関連タンパク質, RP/EBファミリー, 構成員1 (MAPRE1)
NP_001019799.1	NRP1 /ニューロピリン-1タンパク質
NM_020317.2	第1染色体オープンリーディングフレーム 63 (C1orf63)
NM_014481.2	APEXヌクレアーゼ (脱プリン/脱ピリミジン部位エンドヌクレアーゼ) 2 (APEX2), ミトコンドリアタンパク質コード核遺伝子
NM_172160.1	カリウム電位依存性チャネル, シェーカー関連サブファミリー, β 構成員1 (KCNA1), 転写物変異体1
BC011600.1	cDNAクローン IMAGE:3050953, **** 注意:キメラクローン ****
NP_068576.1	ACE2 / ACEH タンパク質
BC032347.1	第8染色体オープンリーディングフレーム 59 (C8orf59)
NM_201433.1	増殖停止特異的7 (GAS7), 転写物変異体c, mRNA
NM_004078.1	システインおよびグリシンリッチタンパク質1 (CSRP1)
BC028006.1	誘導性T細胞共刺激因子 (ICOS)

10

20

30

40

【 0 1 3 5 】

(表4) 上位50種類の発現SPMSマーカー

上位50種類の発現SPMSバイオマーカーの説明。

データベースID	説明
NP_002497.2	B-NGF / β -NGFタンパク質 (天然)
NP_001001547.1	CD36 / SCARB3 タンパク質 (Hisタグ)
NM_004493.1	ヒドロキステロイド (17- β) デヒドロゲナーゼ10 (HSD17B10), ミトコンドリアタンパク質コード核遺伝子, 転写物変異体1
NM_018464.2	CDGSH 鉄硫黄ドメイン1 (CISD1)
BC010467.1	cDNAクローン MGC:17410 IMAGE:4156035, 完全長コード配列
NM_002399.2	Meisホモオボックス2 (MEIS2), 転写物変異体f
BC066340.1	リソソーム関連細胞小器官複合体1サブユニット1の生物発生
NM_004596.1	核内低分子リボ核タンパク質ポリペプチドA (SNRPA)
NM_016401.2	第11染色体オープンリーディングフレーム73 (C11orf73)
NM_005409.3	C-X-Cモチーフケモカイン11
BC026039.1	ミトコンドリアGTPase 1ホモログ (出芽酵母 (S. cerevisiae))(MTG1)
NM_003887.1	発生および分化促進因子2
BC009873.1	cDNAクローン IMAGE:3946787, 部分コード配列
NM_138819.1	配列類似性を有するファミリー122C (FAM122C)
NM_005307.1	Gタンパク質共役型受容体キナーゼ4
NM_144647.1	カルシフォシン様タンパク質

NM_004202.1	サイモシン β -4, Y-染色体	
NM_182772.1	CAMP応答性エレメントモジュレータ (CREM), 転写物変異体16, mRNA	
NM_001130.5	分裂のアミノ末端エンハンサー	
BC016789.1	グリシン-N-アシルトランスフェラーゼ様2 (GLYATL2)	
IGFBP6_Recombinant	IGFBP6 組換えヒトタンパク質	
BC048299.1	精子形成関連, セリンリッチ2 (SPATS2)	
BC104469.1	外側緻密線維タンパク質3様タンパク質2	
NM_007006.1	nudix (ヌクレオシドニリン酸類縁体 (linked moiety) X) 型モチーフ21 (NUDT21)	10
NM_022788.2	プリン受容体P2Y, Gタンパク質共役型, 12 (P2RY12), 転写物変異体1	
NP_000556.1	IL6R / CD126タンパク質 (Hisタグ)	
NM_181270.1	CKLF様 MARVEL膜貫通ドメイン含有タンパク質1	
NM_201403.1	MOB1, Mps One Binderキナーゼ活性化因子様2C (酵母) (MOBKL2C), 転写物変異体2	
NM_015399.1	乳がん転移抑制因子1 (BRMS1), 転写物変異体1	
XM_379668.2	予測: ホモ・サピエンス仮想タンパク質 LOC286208 (LOC286208), mRNA.	
BC042428.1	コラーゲン, XXIII型, α 1 (COL23A1)	20
BC017440.1	輸送タンパク質粒子複合体2様 (TRAPPC2L)	
NM_181349.1	SMAD特異的E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1 (SMURF1), 転写物変異体2	
BC035143.1	Tigger転移性因子由来タンパク質1	
BC007412.1	第14染色体オープンリーディングフレーム 153 (C14orf153)	
NM_139280.1	ORM1様3 (出芽酵母) (ORMDL3)	
NM_181640.1	ケモカイン様因子 (CKLF), 転写物変異体2, mRNA	
BC009650.1	PDS5, 接着維持の調節因子, ホモログA (出芽酵母) (SCC-112)	
NM_025187.2	第16染色体オープンリーディングフレーム 70 (C16orf70)	30
NM_003512.3	ヒストンH2A 1-C型	
NM_015698.2	Gパッチ (patch) ドメインおよびKOWモチーフ (GPKOW)	
BC017180.2	ブドウ球菌属ヌクレアーゼドメイン含有タンパク質1	
NM_001136.2	進行グリコシル化最終産物特異的受容体 (AGER), 転写物変異体1	
NM_207013.1	転写伸長因子B (SIII), ポリペプチド2 (18kDa, エロンギンB) (TCEB2), 転写物変異体2	
BC007340.1	ビスチン	
BC093661.1	性質不明の推定タンパク質 C14orf177	
NM_031473.1	鞭毛内輸送タンパク質81ホモログ	
BC033195.1	キラー細胞免疫グロブリン様受容体, 3つのドメイン, X1 (KIR3DX1)	40
BC014475.1	バキュロウイルスIAPリピート含有7 (livin) (BIRC7)	
NM_133640.3	RNAポリメラーゼII転写サブユニット22のメディエータ	

【 0 1 3 6 】

当業者は、常套的な範囲内の実験手法を用いて、本明細書に記載した具体的な手順、態様、請求項および実施例の多くの等価物を認識し、または同定することができよう。かかる等価物は、本発明の範囲内であるとみなし、添付の特許請求の範囲に包含される。例えば、当技術分野で認知されている代替法により常套的な範囲内の実験手法を用いて反応条件および/またはアッセイ条件を修正することは本出願の範囲内であることは理解されよ

う。

【0137】

本明細書において値および範囲が示されている場合は常に、このような値および範囲に包含されるすべての値および範囲が本発明の範囲に包含されていることを意図しているとして理解されたい。さらに、このような範囲内に含まれるすべての値ならびに値の範囲の上下限値もまた本出願により企図される。

【0138】

以下の実施例により本発明の諸局面の実例をさらに示す。しかしながら、この実施例は、本明細書に示した本発明の教示または開示をなんら限定するものではない。

【実施例】

【0139】

次に、本発明を以下の実施例を参照しながら説明する。本実施例は実例を示す目的で示しているにすぎず、本発明は本実施例に限定されるのではなく、本明細書に示した教示の結果、明らかとなるあらゆる変形例を包含している。

【0140】

材料

特に記載のない限り、実験で使用した材料は、市販の供給元から入手したか、または当技術分野で公知の方法によって得、さらなる精製をせずに使用した。

【0141】

試験集団

31例の再発寛解型多発性硬化症 (RRMS) および20例の二次性進行型多発性硬化症 (SPMS) の血清試料をBioServe Biotechnologies, Ltd. (Beltsville, MD) から入手した。15例の初期PD試料をParkinson's Study Group (Boston, MA) から入手し、15例のステージ3~4の乳がん試料をBioServe Biotechnologies, Ltd. から入手した。健常対照試料をさまざまな供給元から入手し、それにはAnalytical Biological Systems, Inc. (Wilmington, DE) からの2例、BioServe Biotechnologies, Ltd. からの28例およびAsterand, Inc. (Detroit, MI) からの一例が含まれた。試料はすべて、標準的な手順を用いて取り扱い、使用時まで-80で保存し、冷凍庫条件は、Sensaphone 1400 (Phonetics, Inc., Aston, PA) を用いてモニタリングした。試験集団の個体群統計的特徴を、図3にみられる表に示す。

【0142】

ヒトタンパク質マイクロアレイ

ヒト血清中で自己抗体を同定するため、各々が9,486種類の固有ヒトタンパク質抗原を含有しているInvitrogen社のProtoArray v5.1 Human Proteinマイクロアレイを使用した (カタログ番号PAH0525020, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)。タンパク質はすべて、GST融合タンパク質として昆虫細胞内で発現され、天然条件下で精製され、二連でニトロセルロースコートスライドガラス上にスポットされた。アレイを、市販の調製試薬を用いて製造業者の使用説明書に従って血清でプロービングし、スキャンした。マイクロアレイスライドをブロックし (Blocking Buffer, カタログ番号PA055, Invitrogen)、次いで、各々を、洗浄バッファー中で1:500に希釈した血清とともにインキュベートした。洗浄後、アレイを、AlexaFluor 647 (カタログ番号A-21445, Invitrogen) にコンジュゲートさせた抗ヒトIgG (H+L) でプロービングした。次いで、アレイを洗浄し、乾燥させ、速やかにGenePix 4000B Fluorescence Scanner (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) でスキャンした。

【0143】

マイクロアレイのデータ解析

Genepix Pro解析ソフトウェアを用いてGenepix Array Listをマイクロアレイ画像と合わせる (align) ことによって蛍光データを取得した。得られたGenepix結果のファイルを解析のためにInvitrogen社のProspector (登録商標) 5.2に読み込んだ。次いで、Prospector (登録商標) のImmune Response Biomarker Profiling (IRBP) ツールボックス内の「群の特徴量」および「2群間の比較」のフィーチャーにより、比較対象の2群間の差次的自己抗体発現のM-統計解析を可能にした。陽性ヒットを、ストリンジентなバイオマーカ

10

20

30

40

50

ー選定が可能であり、かつ偽陽性数を最小限にするZ値 > 0.4 および最小シグナル強度1500 RFUによって調べた。自己抗体を、MS群と対照群との間での保有数 (prevalence) の差によって降順にソートし、MS群において最も示差的に発現している上位50種類の自己抗体を潜在的MS診断用バイオマーカーとして選出し、さらに試験した。さらに、自己抗体を、対照群とMS群との間の保有数の差によって降順にソートすることにより、2回目のバイオマーカー選定を行った。このとき、対照群の最も示差的に発現している50種類の自己抗体 (MS群におけるこのような血液由来の自己抗体の選択的枯渇を反映していると推定される) もまた潜在的診断用バイオマーカーとして選出し、試験した。データはすべてMIAMEに準拠しており、マイクロアレイからの未加工データはMIAMEに準拠したデータベース (GEO) に受託番号 (GSE95718) で寄託した。

10

【0144】

年齢および性別が適合した症例と対照とが両事例集合に含まれるように、対象をテスト事例集合と訓練事例集合とに無作為に分けた。訓練事例集合は、候補タンパク質バイオマーカーを、その予測力によってランク付けするため、および診断ロジックを確立するために使用した。MS群の初期訓練事例集合は26例のMSサンプルおよび16例の対照サンプルからなつた; 残りのサンプルは独立したテスト事例集合にまわされ、25例のMS対象と15例の対照対象が含まれた。訓練事例集合、テスト事例集合および両方併合事例集合における選定されたバイオマーカーの予測判別精度を、Rのランダムフォレスト (RF; v 4.6-10) によりデフォルト設定 (Breiman, Random Forests. Machine Learning. 2001; 45: 5-32) を用いて試験した。選定されたバイオマーカーはRFモデルアルゴリズムを用いて試験し、判別精度を混同行列で、および誤判別をアウト・オブ・バッグ (out-of-bag) (OOB) エラースコアとして報告する。診断試験の有用性を評価するために広く使用されている、受信者動作特性 (ROC) 曲線を、R (3.02) パッケージROCR (v 1.0-5) とpROC (v 1.7.3) を用いて作成した。自己抗体バイオマーカーパネル構成員の最適数の決定値に基づき、このようなバイオマーカーおよびその関連する訓練事例集合ロジックを用いて最終モデルを構築し、独立したテスト事例集合対象サンプルでさらに試験した。

20

【0145】

上記に概要を示した同じ訓練事例集合・テスト事例集合ストラテジーを使用し、さらなる回のバイオマーカー発見を、保有数の差ではなくRFのみを用いて行い、潜在的バイオマーカーを選定した。ProspectorによるM-統計解析後、データをRFの「変数重要度」機能を用いて解析した。この機能は、各決定木について、また、並べ換えた個々の各バイオマーカーについて報告されたOOBエラースコアの予測精度である。この2つの値の差をすべての木において平均し、標準誤差によって正規化した。正規化した変数重要度スコアに基づいて、対照と比べてMS群において最も示差的に枯渇している50種類のバイオマーカーを潜在的診断用バイオマーカーとして選出し、上記に報告したその診断値についてさらに解析した。

30

【0146】

選択した本発明の結果を本明細書に実例として示す。

【0147】

実施例1. MSの診断用自己抗体バイオマーカーパネルの選定

40

混合型サブタイプのMS患者集団の試料中でMS病態の存在を検出し得る自己抗体パネルを以下のとおりに特定した。最も多くみられる2つのMSサブタイプである再発寛解型MS (RRMS) または二次性進行型MS (SPMS) のいずれかの臨床診断を有する51名のMS患者の血清試料、および31例の年齢・性別適合対照試料を、訓練事例集合 (16例のRRMS、10例のSPMSおよび16例の対照) またはテスト事例集合 (15例のRRMS、10例のSPMSおよび15例の対照) のいずれかに無作為に分け、各々には、ほぼ等しい割合で両方のMSサブタイプを含めた。訓練事例集合およびテスト事例集合の血清を、9,486種類のタンパク質標的を含む市販のヒトタンパク質マイクロアレイのプロービングに使用した。訓練事例集合のMS対象と対照対象の自己抗体プロフィールを、Prospector (登録商標) マイクロアレイ解析ソフトウェアを用いて比較し、これにより、訓練事例集合では、対照群と比べてMS群において保有数が

50

有意に ($P < .05$) 高い54種類の自己抗体が潜在的診断用バイオマーカーとして特定された。このリストから、MS群において最も示差的に発現している上位50種類の自己抗体を作業用の診断用バイオマーカーパネルとして選出した。

【0148】

実施例2. 訓練事例集合およびテスト事例集合の解析による示差的発現MSバイオマーカーの検証

MS訓練事例集合で選出された最も示差的に発現している50種類の自己抗体バイオマーカーをその予測精度について、ランダムフォレスト (RF) を用いて評価した。選択した50種類のバイオマーカーをRFにおいて使用すると、訓練事例集合においてMS対象が年齢・性別適合対照対象と区別され ($n=42$; 26例のMS、16例の対照)、5回の反復実行に基づく予測精度は平均72.4%であった。この50種類のバイオマーカーの判別可能性を、RF訓練事例集合ロジックを用いて評価し、バイオマーカー選定に役割を果たさない独立したサンプル群であるテスト事例集合対象のMSを判別した。RFによりテスト事例集合対象のMSおよび対照の平均82.5%が正しく判別され ($n=40$; 25例のMS、15例の対照)、この場合も5回の反復実行の平均に基づいている。

10

【0149】

実施例3. 試料で選択的に枯渇されている有用なMSバイオマーカーの選定および検証

上記のバイオマーカー選定は、血中の自己抗体バイオマーカーの産生および発現の増大に基づくものであった。なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、このようなバイオマーカーは、MSに関連する細胞や組織のデブリ生成に応答して発現されると推測される。MSは自己免疫成分を有することが周知であるため、疾患の発症と進行が、血中に通常存在している自己抗体の選択的枯渇と関連しているかもしれない可能性を調べた。

20

【0150】

これを調べるため、本明細書のどこかに記載の訓練事例集合の試料でProspector (登録商標) によって得られた自己抗体プロフィール発現データを調べた。対照群と比べてMS群において保有数が有意に ($P < .05$) 低い合計3,076種類の自己抗体が特定された。このリストから、MS群において最も示差的に枯渇している50種類の自己抗体を新たな作業用の診断用バイオマーカーパネルとして選出した。訓練事例集合で選出されたこの新たな枯渇MS自己抗体バイオマーカーパネルを有意な予測因子としてRFを用いて再検証した。訓練事例集合のMS対象 ($n=42$; 26例のMS、16例の対照) は、平均95.8%の予測精度で対照と区別された。さらに、RFにより、テスト事例集合対象のMSおよび対照の95.0%が正しく判別された ($n=40$; 25例のMS、15例の対照)。最後に、訓練事例集合とテスト事例集合の両方のサンプルを合わせ、訓練事例集合ロジックを使用すると、RFにより、MSが対照と、96.8%の全体精度で成功裡に区別された。上記の訓練事例集合およびテスト事例集合の比較はすべて、5回の反復実行の平均の結果に基づいている。テスト事例集合対象におけるMSの検出のための枯渇MSバイオマーカーの全般的有用性のROC曲線の解析により、優れた判別精度を示す0.94の曲線下面積 (AUC) が示された (図1)。

30

【0151】

テスト事例集合対象を評価するために使用した50種類の枯渇MSバイオマーカーの診断感度、特異性、ならびに陽性的中率および陰性的中率 (PPVおよびNPV) を図4~5にみられる表に示す。本開示において行い、本明細書に記載した後続の試験および比較は、特に記載のない限り、本明細書に記載し、表1に示した枯渇自己抗体バイオマーカーパネルの使用を示す。

40

【0152】

実施例4. 訓練事例集合とテスト事例集合とを交換すると、同等の診断精度を有する同様のバイオマーカーパネルが得られる

MS病態の検出のためのバイオマーカーとしての枯渇自己抗体の有用性を別個のセットの患者サンプルでさらに実証し、同定するため、2回目のMSバイオマーカー発見を以下のおりに行った。訓練事例集合およびテスト事例集合に使用した対象を交換し、この2回目の枯渇MSバイオマーカーの具体物と診断成績を1回目を選出されたものと比較した。2回目

50

のバイオマーカーと1回目で選出されたものとの間に60%の重複がみられた。この新たな50種類の2回目のバイオマーカーのパネルを使用すると、RFで、テスト事例集合対象のMSおよび対照の99.0%超を正しく判別することができた（感度=100.0%;特異性=93.8%;PPV=96.3%;NPV=100.0%;ROC AUC=1）。

【0153】

実施例5. 2つのバイオマーカー選定ストラテジー:RF 対 保有数の差を用いた、MSバイオマーカーパネルの検証

RFのみを用いたさらなる不偏MSバイオマーカー選定法もまた行った。方法のセクションに記載のように、Prospector（登録商標）による保有数の差に基づいてバイオマーカーをランク付けするのではなく、潜在的MSバイオマーカーを独立して選出するためにRFを使用した。50種類のRF選定バイオマーカーのパネルを使用すると、RFで、テスト事例集合対象のMSおよび対照を、5回の反復実行において平均92.5%の全体精度で正しく判別することができ、したがって、上記の保有数の差により得られた両方のパネルと同等の精度であった。RF選定バイオマーカーの50種類中38種類（76%）が、実施例3に記載の示差的枯渇バイオマーカーと重複していた。

10

【0154】

実施例6. MSの正確な検出には50種類より少ない自己抗体バイオマーカーで充分である

最良の診断精度を得るために必要とされる自己抗体バイオマーカーの最小数を調べるため、50種類の枯渇MSバイオマーカーをまず、相対的重要度の降順にソートし、次いで、全体診断精度が有意に低下し始めるまでリストの下から順に削除した。このアプローチを使用すると、3種類のバイオマーカー（表1に列挙した上位3種類のバイオマーカー）のパネルが、テスト事例集合対象において有効診断精度を維持するために必要とされる最小数であると判断され、MS対象を年齢・性別適合対照と区別する全体精度は92.5%であることが示された（感度=96.0%;特異性=86.7%;ROC AUC=0.95）（図1;図4~5にみられる表）。

20

【0155】

実施例7. 選定された枯渇バイオマーカーの、MSに対する疾患特異性

セクション3.3に記載された枯渇バイオマーカーの選定されたパネルの、MSの検出に対する疾患特異性を、このようなバイオマーカーがMS対象を他の神経系疾患および非神経系疾患を有する対象と成功裡に区別し得るかどうかを調べる目的で評価した。選定されたバイオマーカーが単に非特異的疾患を検出する可能性を排除するため、テスト事例集合対象の同じ25例のMS血清を、ステージ3~4の乳がんを有する15例の対象および初期のパーキンソン病（PD）を有する15例の対象から採取された血清と比較した。当初の50種類のバイオマーカーのパネルを使用すると、MS血清は、乳がん血清と100.0%の全体精度で容易に区別された（感度=100.0%;特異性=100.0%;ROC AUC=1）（図4および5にみられる表）。対照的に、MS対象は、初期PD対象とは正確に区別され得ず、結果は40.0%の全体精度を示した（感度=48.0%;特異性=26.7.3%;ROC AUC=0.72）。MSを初期PDと区別できないことは、疾患病態、したがって自己抗体バイオマーカーの重複の可能性を示しているのかもしれない、これがこの区別を困難にしているのかもしれない。

30

【0156】

実施例8. MSのサブタイプ分類:個々の自己抗体バイオマーカーパネルは再発寛解型MSを二次性進行型MSと区別できる

MSの異なるサブタイプを区別するための自己抗体バイオマーカーの使用を以下のとおりに評価した。MS患者の大多数は最初にRRMSと診断されるが、このような患者の有意な割合が、原因不明だが最終的にSPMSに進行する。MS疾患の進行のこの局面に対処するため、さらに2回のバイオマーカー発見を行い、サブタイプ特異的発現バイオマーカーパネルを作成した。

40

【0157】

RRMS（n=31）およびSPMS（n=20）の試料を、上記のものと同じストラテジーを用いて訓練事例集合（n=26;16例のRRMS、10例のSPMS）とテスト事例集合（n=25;15例のRRMS、10例のSPMS）に分けた。各MSサブタイプにおいて、他方と比べて最も示差的に発現している上

50

位50種類の自己抗体バイオマーカーを選定し、上記の方法を用いて有意性を検証した；表3～4を参照のこと。RRMS特異的バイオマーカーおよび訓練事例集合で得られたRFロジックを使用すると、RRMS血清はSPMS血清と、訓練事例集合およびテスト事例集合のどちらの比較でも100%の全体精度で容易に区別された。同様に、SPMS特異的バイオマーカーおよび訓練事例集合で得られたRFロジックを使用すると、SPMS血清はRRMS血清と、訓練事例集合では96.2%、およびテスト事例集合では92.0%の全体精度で容易に区別された。これらの比較のROC曲線の解析結果を図2に示す。このような結果により、RRMSとSPMSは同じ疾患の異なる病期であり、共通するバイオマーカーを有することが予測されるが、本明細書において選定されたサブタイプ特異的自己抗体バイオマーカーパネルは、その対応する診断ロジックと一緒に、異なるMS進行段階の病態を区別できたことが同定される。

10

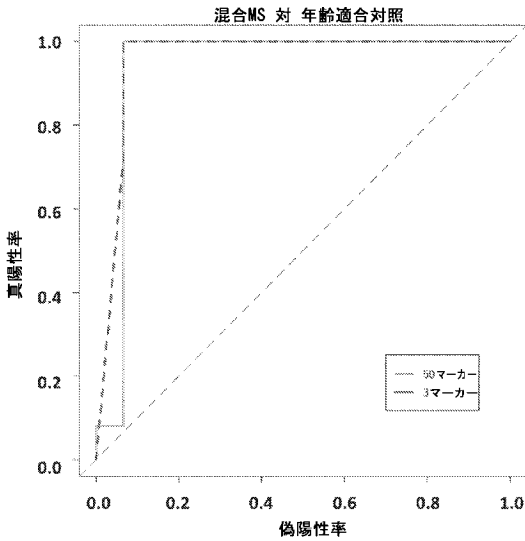
【0158】

本明細書において挙げた特許、特許出願および刊行物のそれぞれの開示内容は、参照により本明細書にその全体が本明細書に組み入れられる。

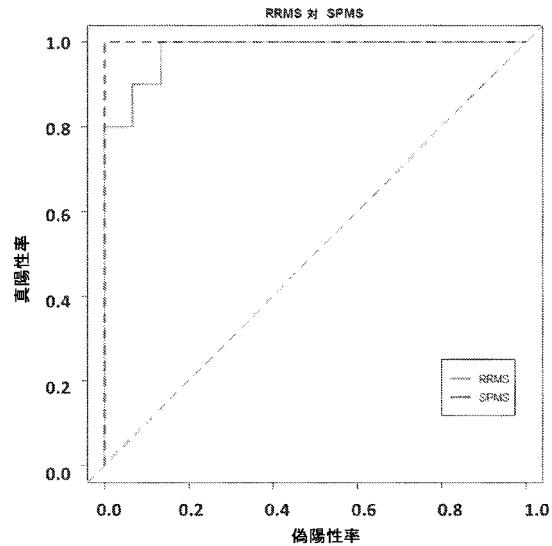
【0159】

本発明を、具体的な態様を参照しながら開示したが、本発明の他の態様および変形例が、当業者により本発明の真の趣旨および範囲から逸脱することなく考案され得ることは明らかであろう。添付の特許請求の範囲は、かかるすべての態様および同等の変形例を包含していると解釈されるべきであることを意図している。

【図1】



【図2】



【図3】

群	n	年齢		性別	人種
		(歳)	(範囲)	(女性の%)	(白人の%)
多発性硬化症	51	48.8 ± 10.7	25-67	75	96
-再発寛解型	31	45.8 ± 11.1	25-67	81	94
-二次性進行型	20	53.5 ± 8.0	36-67	65	100
対照	31	53.7 ± 13.4	30-79	81	100
初期のパーキンソン病	15	63.5 ± 6.8	51-73	80	100
乳がん	15	52.3 ± 6.6	45-63	100	87

【 図 4 】

MS (n=25) と対比	50 マーカー			3 マーカー		
	年齢 適合 対照	初期の PD	乳がん	年齢 適合 対照	初期の PD	乳がん
n	15	15	15	15	15	15
感度	100.0	48.0	100.0	100.0	76.0	100.0
特異性	86.7	26.7	100.0	86.7	6.7	100.0
PPV	92.6	52.2	100.0	92.6	57.6	100.0
NPV	100.0	23.5	100.0	100.0	14.3	100.0
全体精度%	95.0	40.0	100.0	95.0	50.0	100.0
全体エラー%	5.0	60.0	0.0	5.0	50.0	0.0

【 図 5 】

MS (n=25) と対比	50 マーカー			3 マーカー		
	AUC (95% CI)	感度 (95% CI)	特異性 (95% CI)	AUC (95% CI)	感度 (95% CI)	特異性 (95% CI)
年齢適合対照 (n=15)	0.94 (0.82, 1)	1 (1, 1)	0.93 (0.80, 1)	0.96 (0.87, 1)	0.96 (0.88, 1)	0.93 (0.80, 1)
初期PD (n=15)	0.72 (0.56, 0.88)	0.80 (0.64, 0.96)	0.60 (0.33, 0.87)	0.61 (0.44, 0.78)	0.48 (0.32, 0.68)	0.87 (0.67, 1)
乳がん (n=15)	1	1	1	1	1	1

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 18/32130
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - G01N 33/50, G01N 33/53 (2018.01) CPC - G01N 33/6654, G01N 2800/285, G01N 2800/28, G01N 33/6893		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History Document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History Document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History Document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2013/0157868 A1 (NAGELE) 20 June 2013 (20.06.2013) abstract; Table2; para [0015], [0024]-[0026], [0029], [0031], [0035], [0037], [0048], [0062], [0064].	1-2 and 34-35
A	RIEDHAMMER et al. Antigen presentation, autoantigens, and immune regulation in multiple sclerosis and other autoimmune diseases. Front. Immunol, 17 June 2015, vol6, page 322 (pp 1-23). Especially abstract, p 8-9	1-2 and 34-35
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 01 September 2018		Date of mailing of the international search report 13 SEP 2018
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 18/32130

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

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

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.: 4-15, 21-33, 37-44 and 49-52
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

----please see continuation on next supplemental sheet----

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-2 and 34-35; limited to the antigen BC099907.1

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 18/32130

Continued from:

Box No. III Observations where unity of invention is lacking

Group I+: Claims 1-3, 16-20, 22, 34-36 and 45-48 directed to methods and kits for detecting Multiple Sclerosis (MS) diagnostic autoantibodies by the presence of an immunocomplex in an immunoglobulin-containing biological sample from the subject by contacting said sample with one or more autoantigens. The method will be searched to the extent that autoantibodies detect the autoantigen BC099907.1. It is believed that claims 1-2 and 34-35, limited to detecting autoantibodies to the antigen BC099907.1 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that the detected autoantibody in a patient sample encompasses. Additional methods for detecting MS diagnostic autoantibodies to other autoantigen(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected autoantigen(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "*" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be a method and kit for identifying the pathological progression of MS in a subject, and thus subtyping MS by contacting an immunoglobulin-containing biological sample from the subject with relapsing-remitting MS (RRMS)-specific autoantigen and a secondary progressive (SPMS)-specific autoantigen by detecting the presence of an immunocomplex in an immunoglobulin-containing biological sample from the subject, wherein the one or more RRMS or SPMS autoantigens detected by patient autoantibodies encompass NM_152729.2 (RRMS) and NP 00249 7.2 (SPMS) (claims 16-20 and 45-46).

Another exemplary election would be a method and kit for detecting Multiple Sclerosis (MS) diagnostic autoantibodies by the presence of an immunocomplex formed with the autoantigens NM_201998.1 and NM_020317.2 in an immunoglobulin-containing biological sample contacted with said autoantigens (claims 1-3 and 34-36).

The inventions listed as Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features

The technical feature of each of the inventions listed as Group I+ is the specific reactivity of MS-diagnostic autoantibodies in patient samples to autoantigens recited therein. Each invention of Group I+ requires autoantibodies specific to one or more autoantigens not required by any of the other inventions.

Common Technical Features

The inventions of Group I+ share the technical feature of methods and kits for detecting Multiple Sclerosis (MS) diagnostic autoantibodies in a subject, the method comprising:

- (a) contacting an immunoglobulin-containing biological sample from the subject with a system comprising autoantigen(s) to form a reaction mixture, under conditions that allow for formation in the reaction mixture of an immunocomplex between each autoantigen and its corresponding autoantibody, if its corresponding autoantibody is present in the sample,
- (b) detecting presence or absence of immunocomplexes in the reaction mixture, wherein formation of an immunocomplex between an autoantibody and its corresponding autoantigen indicates presence of the autoantibody in the sample.

However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is anticipated by US 2013/0157868 A1 to Nagels.

Nagels teaches a method of generating a subject-specific MS-specific autoantibody profile for a subject (abstract - "methods, compositions, and kits for the detection of neurodegenerative disease specific autoantibodies for the diagnosis of neurodegenerative diseases and risk for developing neurodegenerative diseases, and for the generation of patient-specific neurodegenerative disease diagnostic autoantibody profiles"; para [0026] - "In a preferred embodiment, the neurodegenerative disease is...multiple sclerosis"), the method comprising:

- (a) contacting an immunoglobulin-containing biological sample from the subject with a system comprising one or more autoantigens to form a reaction mixture, under conditions that allow for formation in the reaction mixture of an immunocomplex between each autoantigen and its corresponding autoantibody, if its corresponding autoantibody is present in the sample (para [0024] - "obtaining an immunoglobulin-containing biological sample from the subject, performing an assay to determine the presence or absence of one or more ... diagnostic autoantibodies in the biological sample"; para [0029] - "the assay used to determine the presence or absence of one or more neurodegenerative disease diagnostic autoantibodies in the biological sample is performed by contacting the biological sample with one or more autoantigens ... under conditions that allow an immunocomplex of the autoantigen and the autoantibody to form, and detecting the presence of the immunocomplex"), wherein the one or more autoantigens comprise [for example] BC099907.1 (para [0064] - "the substrate and microarrays may contain, as the autoantigen ... Table 2" pg 21, Table 2 lists the autoantigen, BC099907.1 - general transcription factor II-I);

- (b) detecting presence or absence of immunocomplexes in the reaction mixture, wherein formation of an immunocomplex between an autoantibody and its corresponding autoantigen indicates presence of the autoantibody in the sample (para [0035] - "Assays and conditions for the detection of immunocomplexes ... The assays may be quantitative or qualitative. In one preferred embodiment, the assay utilizes a solid phase or substrate to which the autoantigens are directly or indirectly attached...The substrate preferably comprises a plurality of individually addressable autoantigens immobilized on the surface. The individually addressable autoantigens are preferably immobilized on the surface to form an array"; para [0048] - "Detection of immunocomplexes is indicative of the presence of neurodegenerative disease diagnostic autoantibodies in the biological sample, and thus a positive diagnosis of neurodegenerative disease").

As the technical feature was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the inventions.

Group I+ therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share the same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(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

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889

弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ナーゲル ロバート ジー .

アメリカ合衆国 08012 ニュージャージー州 ターナーズビル インディアン パーチ ロード 17

Fターム(参考) 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 DA86 EA50

专利名称(译)	诊断性生物标志物,用于检测,分型和/或评估多发性硬化症的进展		
公开(公告)号	JP2020519895A	公开(公告)日	2020-07-02
申请号	JP2019562415	申请日	2018-05-10
发明人	ナーゲル ロバート ジー.		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/548 C07K14/47		
CPC分类号	G01N33/543 G01N33/564 G01N2800/285 G01N2800/50 G01N2800/56 G01N33/50		
FI分类号	G01N33/53.N G01N33/548.Z C07K14/47		
F-TERM分类号	4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/DA86 4H045/EA50		
代理人(译)	清水初衷 井上隆一 佐藤俊光 小林智彦 正人大关 五十嵐弘		
优先权	62/504130 2017-05-10 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

公开了用于检测多发性硬化症(MS)并以高的总体准确性区分复发缓解(RRMS)和继发进行性(SPMS)MS亚型的方法,组合物和试剂盒。去做。它还提供了自身抗体抗原和生物标志物,用于诊断一般的MS,RRMS和SPMS,以及鉴定有发展MS风险的受试者以及创建患者特异性MS自身抗体生物标志物。提供。

(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2020-519895 (P2020-519895A) 令和2年7月2日(2020.7.2)
(51) Int. Cl.	FI	テーマコード(参考) 4H045
G01N 33/53 (2006.01)	G01N 33/53	N
G01N 33/548 (2006.01)	G01N 33/548	Z
C07K 14/47 (2006.01)	C07K 14/47	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 49 頁)		
(21) 出願番号	特願2019-562415 (P2019-562415)	(71) 出願人
(86) (22) 出願日	平成30年5月10日(2018.5.10)	ローワン・ユニバーシティ
(85) 翻訳文提出日	令和1年12月18日(2019.12.18)	アメリカ合衆国、ニュージャージー州
(86) 国際出願番号	PCT/US2018/032130	8028、グラスボロ、マリカ ヒル
(87) 国際公開番号	W02018/209126	ード 201
(87) 国際公開日	平成30年11月15日(2018.11.15)	(74) 代理人
(31) 優先権主張番号	62/504,130	弁理士 清水 初志
(32) 優先日	平成29年5月10日(2017.5.10)	(74) 代理人
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	弁理士 春名 雅夫
		(74) 代理人
		弁理士 山口 裕孝
		(74) 代理人
		弁理士 100119507
		弁理士 刑部 俊
		(74) 代理人
		弁理士 100142929
		弁理士 井上 隆一
最終頁に続く		

(54) 【発明の名称】 多发性硬化症の進行を検出する、サブタイプ分類する、および/または評価するための、診断用バイオマーカー