

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6348699号  
(P6348699)

(45) 発行日 平成30年6月27日 (2018.6.27)

(24) 登録日 平成30年6月8日 (2018.6.8)

(51) Int.Cl.	F I
<b>G O 1 N 33/53 (2006.01)</b>	G O 1 N 33/53 Z N A P
<b>C 1 2 Q 1/6827 (2018.01)</b>	G O 1 N 33/53 Z N A M
<b>C O 7 K 16/24 (2006.01)</b>	C 1 2 Q 1/6827
<b>C 1 2 N 15/24 (2006.01)</b>	C O 7 K 16/24
<b>A 6 1 P 1/16 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/24

請求項の数 6 (全 23 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-228369 (P2013-228369)	(73) 特許権者	514059552
(22) 出願日	平成25年11月1日 (2013.11.1)		溝上 雅史
(65) 公開番号	特開2015-87355 (P2015-87355A)		千葉県市川市国府台1-7-1 国立研究
(43) 公開日	平成27年5月7日 (2015.5.7)		開発法人 国立国際医療研究センター肝炎
審査請求日	平成28年10月21日 (2016.10.21)		・免疫研究センター内
		(73) 特許権者	515097719
			杉山 真也
			千葉県市川市国府台1-7-1 国立研究
			開発法人国立国際医療研究センター肝炎・
			免疫研究センター内
		(74) 代理人	100090251
			弁理士 森田 憲一
		(74) 代理人	100139594
			弁理士 山口 健次郎

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 インターフェロン治療効果予測方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

IL-28B 特異的免疫学的測定法によって、C型肝炎ウイルス感染患者由来の血液の IL-28B 濃度を測定する工程、及び

IL-28B 濃度が閾値濃度以下又は閾値濃度未満の場合にインターフェロン治療が有効である可能性が高いとの情報を提供する工程、を含む、インターフェロン治療効果予測補助方法。

【請求項2】

C型肝炎ウイルス感染患者の遺伝子多型 rs8099917 を測定する工程、及び C型肝炎ウイルス感染患者の遺伝子多型 rs8099917 がTG又はGGであり、且つ IL-28B 濃度が閾値濃度以下又は閾値濃度未満の場合、インターフェロン治療が有効である可能性が高いとの情報を提供する工程、を更に含む、

請求項1に記載のインターフェロン治療効果予測補助方法。

【請求項3】

C型肝炎ウイルス感染患者の遺伝子多型 rs8099917 がTTであり、且つ IL-28B 濃度が閾値濃度以上又は閾値濃度を越えた場合、インターフェロン治療が有効である可能性が高いとの情報を提供する工程を更に含む、請求項2に記載のインターフェロン治療効果予測補助方法。

【請求項4】

前記閾値濃度が、10 pg/mL ~ 15 pg/mL のいずれかの濃度である、請求項1

～ 3 のいずれか一項に記載のインターフェロン治療効果予測補助方法。

【請求項 5】

配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなるメジャー I L - 2 8 B 及び配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなるマイナー I L - 2 8 B に結合し、配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる I L - 2 8 A に結合せず、そして配列番号 4 ~ 2 3 で表されるアミノ酸配列からなるペプチド断片に結合しない、抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片；及び

配列番号 4 4 で表されるオリゴヌクレオチドの第 5 5 1 番の遺伝子多型 r s 8 0 9 9 9 1 7 の T 又は G を含むオリゴヌクレオチド又はその相補鎖に結合することができる、C 型肝炎患者の経過予測用オリゴヌクレオチドプローブ及びノ又は配列番号 4 4 で表されるオリゴヌクレオチドの第 5 5 1 番の遺伝子多型 r s 8 0 9 9 9 1 7 を含む二本鎖 DNA 断片を増幅することのできる、フォワードプライマー及びリバースプライマーからなる C 型肝炎患者の経過予測用プライマーセットを含む

インターフェロン治療効果予測キット。

【請求項 6】

配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなるメジャー I L - 2 8 B に結合し、配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなるマイナー I L - 2 8 B 及び配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる I L - 2 8 A に結合せず、そして配列番号 4 ~ 2 3 で表されるアミノ酸配列からなるペプチド断片に結合しない、抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片；及び

配列番号 4 4 で表されるオリゴヌクレオチドの第 5 5 1 番の遺伝子多型 r s 8 0 9 9 9 1 7 の T 又は G を含むオリゴヌクレオチド又はその相補鎖に結合することができる、C 型肝炎患者の経過予測用オリゴヌクレオチドプローブ及びノ又は配列番号 4 4 で表されるオリゴヌクレオチドの第 5 5 1 番の遺伝子多型 r s 8 0 9 9 9 1 7 を含む二本鎖 DNA 断片を増幅することのできる、フォワードプライマー及びリバースプライマーからなる C 型肝炎患者の経過予測用プライマーセットを含む、

インターフェロン治療効果予測キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、インターフェロン治療効果予測方法に関する。本発明によれば、インターフェロンの治療効果を的確に予測することができる。特に、遺伝子多型 r s 8 0 9 9 9 1 7 のアレルの組み合わせが [ T / G ] 又は [ G / G ] の薬剤の治療効果が低い患者群において、高い治療効果が得られる C 型肝炎ウイルス感染患者を正確に予測することができる。

【背景技術】

【0002】

C 型肝炎ウイルス（以下、H C V と称することがある）は、血液伝搬性のウイルスであり、H C V 感染が起こると急性の経過で治癒するものが 2 0 ~ 3 0 % であり、7 0 ~ 8 0 % は持続感染へ移行する。H C V による持続感染の多くは慢性肝炎となり、治療を行わない場合、その大部分が肝硬変、そして肝癌へと進行する（非特許文献 1）。

この C 型慢性肝炎の治療法として、1 9 9 2 年にインターフェロン（以下、I F N と称することがある）による治療が開始された。しかしながら、I F N の効果は H C V の遺伝子型により異なり、遺伝子型 1 b、且つ高ウイルス量の難治性 C 型慢性肝炎では、著効（SVR sustained virological response）率は、非常に低かった。その後、I F N 及びリバビリンの併用投与が認可され、更に 2 0 0 4 年から遺伝子型 1 b 且つ高ウイルス量の難治性 C 型慢性肝炎に P E G 化 I F N 及びリバビリンの併用投与が保険適用になり、著効率は大きく向上していった。

【0003】

最近、田中らにより I L - 2 8 B（I F N - 3）の近傍に複数の S N P が存在し、そ

10

20

30

40

50

のアリルの違いによって、PEG化IFN及びリバビリンの併用投与の治療効果が異なり（非特許文献2）、それによってPEG化IFN及びリバビリンの併用投与の治療効果を予測することが可能であった。しかしながら、その治療効果の予測は十分なものではなかった。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】特開2013-136530号公報

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】「ヘパトロジー・リサーチ (Hepatology Research)」(日本)2010年、第40巻、p.449-460

【非特許文献2】「ネイチャー・ジェネティクス (nature genetics)」(英国)2009年、第41巻、p.1105-1109

【非特許文献3】「ヘパトロジー・リサーチ (Hepatology Research)」(日本)2012年、第42巻、p.1089-1099

【非特許文献4】「ジャーナル・オブ・ガストロエンテロロジー (Journal of Gastroenterology)」(日本)2013年、4月17日オンラインパブリッシュ (<http://link.springer.com/article/10.1007/s00535-013-0814-1>)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

一方、前記IL-28Bは、IFN-ファミリーであるIL-28Aと、96%のアミノ酸の相同性を有しており、IL-28Bを特異的に測定する免疫学的測定法が存在していなかったが、最近、このIL-28B(IFN-3)を特異的に、且つ高感度に測定することのできる、IL-28B特異的免疫学的測定方法が開発された(特許文献1及び非特許文献3)。村田らは、インターフェロン治療を受けるC型肝炎ウイルス感染患者のリンパ球をTLR7アゴニストで刺激し、その上清中のIL-28Bを前記IL-28B特異的免疫学的測定方法を用いて測定した。その結果、IL-28B(IFN-3)産生の高いC型肝炎ウイルス感染患者が、PEG化IFN及びリバビリンの併用投与の治療効果が高いことを見出した(非特許文献4)。しかしながら、この方法は時間が掛かる上に煩雑で高度な技術が必要で、臨床現場に普及させるには不向きであった。

【0007】

C型肝炎ウイルス感染患者のIFNによる治療は、多額の治療費が必要である。また、IFNによる治療は、発熱及び頭痛などの軽度なものから、間質性肺炎及び神経症状などの重度な副作用が見られることがある。従って、治療効果の予測が可能であれば、治療効果が得られにくいグループについては、副作用が見られた時点で、早期に中止を判断することが可能であり、無用な副作用への対応や高額な治療費を抑えることが可能である。

従って、本発明の目的は、C型肝炎ウイルス感染患者における薬剤の治療効果を、従来の予測方法と比較して、より精確に予測することのできる薬剤の治療効果予測方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者は、C型肝炎ウイルス感染患者における薬剤の治療効果予測方法について、鋭意研究した結果、驚くべきことに、C型肝炎ウイルス感染患者由来の血液のIL-28B濃度を測定し、IL-28B濃度の測定値により治療効果を予測することが可能であることを見出した。具体的には、血液中のIL-28B濃度が低いC型肝炎ウイルス感染患者は、IFNの治療効果が高いことを見出した。

本発明は、こうした知見に基づくものである。

従って、本発明は、

10

20

30

40

50

[ 1 ] I L - 2 8 B 特異的免疫学的測定法によって、C型肝炎ウイルス感染患者由来の血液の I L - 2 8 B 濃度を測定する工程を含み、I L - 2 8 B 濃度の測定値によりインターフェロン治療効果を予測することを特徴とする、インターフェロン治療効果予測方法、

[ 2 ] 前記 I L - 2 8 B 濃度が閾値濃度以下又は閾値濃度未満の場合にインターフェロン治療が有効である可能性が高いと予測する、[ 1 ] に記載のインターフェロン治療効果予測方法、

[ 3 ] C型肝炎ウイルス感染患者の遺伝子多型 r s 8 0 9 9 9 1 7 と、I L - 2 8 B 濃度とを組み合わせ、インターフェロン治療効果を予測することを特徴とする、[ 1 ] 又は [ 2 ] に記載のインターフェロン治療効果予測方法、

[ 4 ] C型肝炎ウイルス感染患者の遺伝子多型 r s 8 0 9 9 9 1 7 が T G 又は G G であり、且つ I L - 2 8 B 濃度が閾値濃度以下又は閾値濃度未満の場合、インターフェロン治療が有効である可能性が高いと予測する [ 3 ] に記載のインターフェロン治療効果予測方法、

[ 5 ] 前記測定された I L - 2 8 B 濃度が閾値濃度以上又は閾値濃度を越えた C 型肝炎ウイルス感染患者の遺伝子多型 r s 8 0 9 9 9 1 7 を決定する工程を含む、[ 3 ] 又は [ 4 ] に記載のインターフェロン治療効果予測方法、

[ 6 ] 前記閾値濃度が、1 0 p g / m L ~ 1 5 p g / m L のいずれかの濃度である、[ 2 ] ~ [ 5 ] のいずれかに記載のインターフェロン治療効果予測方法、

[ 7 ] 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなるメジャー I L - 2 8 B 及び配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなるマイナー I L - 2 8 B に結合し、配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる I L - 2 8 A に結合せず、そして配列番号 4 ~ 2 3 で表されるアミノ酸配列からなるペプチド断片に結合しない、抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片の、血液の I L - 2 8 B を測定することによるインターフェロン治療効果予測キットの製造のための使用、

[ 8 ] 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなるメジャー I L - 2 8 B に結合し、配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなるマイナー I L - 2 8 B 及び配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる I L - 2 8 A に結合せず、そして配列番号 4 ~ 2 3 で表されるアミノ酸配列からなるペプチド断片に結合しない、抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片の、血液の I L - 2 8 B を測定することによるインターフェロン治療効果予測キットの製造のための使用、

[ 9 ] 前記 I F N 治療効果予測方法によって、治療効果を予測された C 型肝炎ウイルス感染患者に対して、I F N を投与する工程を含む、C 型肝炎治療方法、

[ 1 0 ] 前記 I L - 2 8 B 特異的免疫学的測定法が、

( A ) ( 1 ) 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなるメジャー I L - 2 8 B 及び配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなるマイナー I L - 2 8 B に結合し、配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる I L - 2 8 A に結合せず、そして配列番号 4 ~ 2 3 で表されるアミノ酸配列からなるペプチド断片に結合しない、抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体又はその抗原結合性断片；( 2 ) 配列番号 2 5 で表されるアミノ酸配列における 3 1 番 ~ 3 5 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、5 0 番 ~ 6 6 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、9 9 番 ~ 1 1 3 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む重鎖可変領域ドメイン、並びに配列番号 2 7 で表されるアミノ酸配列における 2 4 番 ~ 3 8 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、5 4 番 ~ 6 0 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、9 3 番 ~ 1 0 1 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む軽鎖可変領域ドメインを有する請のモノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片；( 3 ) 配列番号 2 9 で表されるアミノ酸配列における 3 1 番 ~ 3 5 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、5 0 番 ~ 6 6 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、9 9 番 ~ 1 0 9 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む重鎖可変領域ドメイン、並びに配列番号 3 1 で表されるアミノ酸配列における 2 4 番 ~ 3 8 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、5 4 番

10

20

30

40

50

～ 60 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、93 番～ 101 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む軽鎖可変領域ドメインを有するモノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片；又は(4)前記(1)～(3)のいずれかに記載のモノクローナル抗体が結合するエピトープに結合するモノクローナル抗体又はその抗原結合性断片を、IL-28B を含む可能性のある被検試料と接触させる工程、並びに

(B) IL-28B に結合する第二抗体と被検試料とを接触させる工程を含む、[1]～[6]のいずれかに記載のインターフェロン治療効果予測方法、  
[11]前記IL-28B 特異的免疫学的測定法が、

(A) (1) 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなるメジャー IL-28B に結合し、配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなるマイナー IL-28B 及び配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる IL-28A に結合せず、そして配列番号 4～23 で表されるアミノ酸配列からなるペプチド断片に結合しない、抗 IL-28B モノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片；(2) 配列番号 33 で表されるアミノ酸配列における 31 番～35 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、50 番～66 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、99 番～106 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む重鎖可変領域ドメイン、並びに配列番号 35 で表されるアミノ酸配列における 24 番～38 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、54 番～60 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、93 番～101 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む軽鎖可変領域ドメイン；(3) 配列番号 37 で表されるアミノ酸配列における 31 番～35 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、50 番～66 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、99 番～106 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む重鎖可変領域ドメイン、並びに配列番号 39 で表されるアミノ酸配列における 24 番～38 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、54 番～60 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、93 番～101 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む軽鎖可変領域ドメインを有する請求項 4 に記載のモノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片；又は(4)配列番号 41 で表されるアミノ酸配列における 31 番～35 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、50 番～66 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、99 番～106 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む重鎖可変領域ドメイン、並びに配列番号 43 で表されるアミノ酸配列における 24 番～38 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、54 番～60 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、93 番～101 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む軽鎖可変領域ドメインを有する請求項 4 に記載のモノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片；又は(5)前記(1)～(4)のいずれかに記載のモノクローナル抗体が結合するエピトープに結合するモノクローナル抗体又はその抗原結合性断片を、IL-28B を含む可能性のある被検試料と接触させる工程、並びに

(B) IL-28B に結合する第二抗体と被検試料とを接触させる工程を含む、[1]～[6]のいずれかに記載のインターフェロン治療効果予測方法、  
に関する。

#### 【発明の効果】

#### 【0009】

本発明のインターフェロン治療効果予測方法によれば、C型肝炎ウイルス感染患者に対するインターフェロンなどの薬剤の治療効果を予測することができる。具体的には、血液中の IL-28B 濃度が低い C型肝炎ウイルス感染患者は、IFN の治療効果が高いため、それらの患者に対して、IFN の治療を推奨することができる。

更に、遺伝子多型 rs8099917 が [T/G] (以下、単に「TG」と称することがある) 又は [G/G] (以下、単に「GG」と称することがある) の C型肝炎ウイルス感染患者において、血液中の IL-28B 濃度が低い C型肝炎ウイルス感染患者は、IF

10

20

30

40

50

Nの治療効果が高く、血液中のIL-28B濃度が高いC型肝炎ウイルス感染患者は、IFNの治療効果が低い。従来、遺伝子多型rs8099917が[T/G]又は[G/G]のC型肝炎ウイルス感染患者においては、インターフェロン治療に対して、80%程度の患者が、ウイルスが一旦検出感度以下になるVirological response(以下、VRと称することがある)であり、そして20%程度の患者が、ウイルスが継続的に検出されるNon virological response(以下、NVRと称することがある)であった。ここで、C型肝炎ウイルス感染患者のVR又はNVRを正確に予測することはできなかったが、本発明によりC型肝炎ウイルス感染患者がインターフェロン治療に対して、VRであるか、又はNVRであるかを正確に予測することが可能となった。

従って、遺伝子多型rs8099917と、血液中のIL-28B濃度とを組み合わせ、以下のようにインターフェロン治療の方針を決定することができる。まず、IFN治療を行う予定のC型肝炎ウイルス感染患者において、血液中のIL-28B濃度を測定し、IL-28B濃度が低いC型肝炎ウイルス感染患者は、IFNの治療効果が高いため、IFNの治療を行うことを決定する。次に、血液中のIL-28B濃度が高く、且つ遺伝子多型rs8099917が[T/G]又は[G/G]のC型肝炎ウイルス感染患者は、IFNの治療効果が低いため、IFN治療を推奨しない。一方、IL-28B濃度が高いC型肝炎ウイルス感染患者で、かつ遺伝子多型rs8099917が[T/T](以下、単に「TT」と称することがある)のC型肝炎ウイルス感染患者のうち、HCV RNA量が多い患者ではIFNの治療効果が有効な可能性が低いため、IFNの治療は推奨しない。

IL-28B特異的免疫学的測定法は、遺伝子多型rs8099917の測定方法と比較して費用が安価である。従って、IL-28B特異的免疫学的測定法を先に行うことによって、遺伝子多型rs8099917を実施する必要がある患者数を減らすことが可能である。すなわち、IFN治療の効果予測のための検査費用を減少させることが可能であり、更に正確なIFN治療の効果予測ができる。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0010】

【図1】メジャーIL-28B、マイナーIL-28B(K74R)、及びIL-28Aタンパク質のアミノ酸配列を比較した図である。

【図2】遺伝子多型rs8099917のTT又はnon-TT(TG又はGG)別に、血液中のIL-28B濃度と、Sustained virological response(SVR)、Transient virological response(TVR)及びNon virological response(NVR)との関連を示したグラフである。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0011】

#### 《インターフェロン治療効果予測方法》

本発明のインターフェロン治療効果予測方法は、IL-28B特異的免疫学的測定法によって、C型肝炎ウイルス感染患者由来の血液のIL-28B濃度を測定する工程を含み、IL-28B濃度の測定値によりインターフェロン治療効果を予測するものである。

#### 【0012】

#### (IL-28B特異的免疫学的測定法)

本発明のインターフェロン治療効果予測方法に用いるIL-28B特異的免疫学的測定法は、IL-28Bを特異的に測定することのできるものであれば、特に限定されるものではない。

ここで、IL-28Bは、IFN-ファミリーであるIL-28Aと、96%のアミノ酸の相同性を有している。従って、IL-28Bに結合する抗体のほとんどが、IL-28Aにも結合し、IL-28Aに結合する抗体のほとんどが、IL-28Bにも結合する。従って、従来のIL-28B免疫学的測定法は、IL-28Bを特異的に測定するものではなく、IL-28B及びIL-28Aを測定していた。

本発明のインターフェロン治療効果予測方法に用いるIL-28B特異的免疫学的測定法は、IL-28Aを実質的に測定せず、IL-28Bを特異的に測定するものである。

10

20

30

40

50

そして、IL - 28 Aを実質的に測定せず、IL - 28 Bを特異的に測定することによって、インターフェロン治療効果を予測することが可能である。IL - 28 Aを測定するIL - 28 B免疫学的測定法によって得られた測定値によっては、インターフェロン治療効果を予測することはできない。

本明細書において、「IL - 28 Aを実質的に測定しない」とは、IL - 28 B特異的免疫学的測定法によってIL - 28 Aを測定した場合、IL - 28 Bの1 / 10以下の濃度と測定されることを意味するが、好ましくは1 / 20以下であり、より好ましくは1 / 50以下であり、更に好ましくは1 / 100以下である。IL - 28 Bの1 / 10以下の濃度と測定されることによって、インターフェロン治療効果の予測に、実質的な影響を与えないからである。

10

#### 【0013】

IL - 28 Bをコードする遺伝子は、翻訳領域の221番目にSNPを有しており、メジャーアレルがAであり、マイナーアレルがGである。そしてメジャーアレルから翻訳されるメジャーIL - 28 Bの74番目のアミノ酸はリジン(K)であり、マイナーアレルから翻訳されるマイナーIL - 28 Bの74番目のアミノ酸はアルギニン(R)である(図1)。本発明に用いるIL - 28 B特異的免疫学的測定法は、メジャーIL - 28 B及びマイナーIL - 28 Bを測定することのできるIL - 28 B特異的免疫学的測定法が好ましいが、メジャーIL - 28 Bのみを測定するIL - 28 B特異的免疫学的測定法を用いることもできる。なお、本明細書において、メジャーIL - 28 Bのリジン(K)からマイナーIL - 28 Bのアルギニン(R)への置換を「K74R」置換と称することがある。

20

#### 【0014】

本発明のインターフェロン治療効果予測方法に用いるIL - 28 B特異的免疫学的測定法は、治療効果を判定する閾値以下の検出感度を有していれば、特に限定されるものではない。治療効果を判定する閾値以下の検出感度を有することにより、インターフェロン治療効果の予測を的確に行うことができる。なお、本明細書において、「治療効果を判定する閾値以下の検出感度」とは、治療効果を判定する閾値以下のIL - 28 Bの濃度を測定することができることを意味する。

従って、前記検出感度は、治療効果を判定する閾値によって変動してもよい。しかしながら、IL - 28 Bの組換えタンパク質をスタンダード(標準品)として用いた場合、タンパク質濃度として、10 pg / mL ~ 15 pg / mLの間のいずれか1つの特定の濃度以下の検出感度であることが好ましい。従って、前記検出感度として、例えば15 pg / mL以下、14 pg / mL以下、13 pg / mL以下、12.9 pg / mL以下、12 pg / mL以下、11 pg / mL以下、又は10 pg / mL以下の検出感度を挙げることができる。

30

#### 【0015】

前記治療効果を判定する閾値は、インターフェロン治療効果を予測できる限りにおいて、特に限定されるものではないが、管理された臨床試験で決定することが好ましい。

例えば、閾値は、遺伝子多型rs8099917がnon-TT(TG又はGG)のC型肝炎ウイルス感染患者において、NVRの患者と、VR(SVR及びTVR)の患者とを完全に区別できる値が最も好ましい。しかし、分析したNVRの患者及びVR(SVR及びTVR)の患者の母集団が増加することによって、NVRの患者とVR(SVR及びTVR)の患者との間の測定値が、オーバーラップした場合は、100%のVR(SVR及びTVR)の患者が治療効果が有効の可能性が高いと判断される値を閾値として選択することが好ましいが、オーバーラップした範囲の任意の値を閾値とすることも可能である。具体的には、IL - 28 Bの組換えタンパク質をスタンダード(標準品)として用いた場合、タンパク質濃度として、10 pg / mL ~ 15 pg / mLの間のいずれか1つの特定の濃度を閾値として規定することが可能であり、例えば15 pg / mL、14 pg / mL、13 pg / mL、12.9 pg / mL、12 pg / mL、11 pg / mL、又は10 pg / mLを閾値として規定することができる。

40

50

## 【0016】

本発明のインターフェロン治療効果予測方法において、IL-28Bが測定される検体は、C型肝炎ウイルス感染患者の血液である。すなわち、C型肝炎ウイルス感染患者由来の血液中のIL-28Bが測定される。本明細書において血液とは、特に限定されるものではないが、例えば全血、血清、又は血漿を含む。また、測定される血液は、toll-like受容体アゴニスト（例えば、R-837）によって刺激されていないものが好ましい。R-837によって刺激された血液を用いた場合、本発明によるインターフェロン治療効果予測ができないと考えられる。

また、本発明のインターフェロン治療効果予測方法の対象となるC型肝炎ウイルス感染患者は、C型肝炎ウイルスが感染している患者である限りにおいて、特に限定されるものではないが、インターフェロン治療を行う予定の患者であることが好ましい。

10

## 【0017】

本発明のインターフェロン治療効果予測方法におけるIL-28B測定値の値は、前記の治療効果を判定する閾値を決定できる限りにおいて、特に限定されるものではなく、例えばタンパク質量、又はユニット数などで示すことができるが、標準化されたタンパク質量で示すことが好ましい。例えば、組換えタンパク質をスタンダードとして調製し、標準曲線を作成し、それによって測定された血液中のIL-28Bの濃度を計算することができる。

## 【0018】

(抗体)

本発明のインターフェロン治療効果予測方法において用いる抗体は、IL-28Bに結合する抗体である限りにおいて限定されるものではないが、少なくとも1つの抗体は、IL-28Bに結合し、IL-28Aに結合しないモノクローナル抗体を用いることが好ましい。

20

前記モノクローナル抗体として、以下の抗IL-28Bモノクローナル抗体(A)及び抗IL-28Bモノクローナル抗体(B)を挙げることができる。

## 【0019】

(抗IL-28Bモノクローナル抗体(A))

抗IL-28Bモノクローナル抗体(A)は、配列番号1で表されるアミノ酸配列からなるメジャーIL-28B及び配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるマイナーIL-28Bに結合し、配列番号3で表されるアミノ酸配列からなるIL-28Aに結合せず、そして配列番号4~23で表されるアミノ酸配列からなるペプチド断片に結合しない、抗IL-28Bモノクローナル抗体である。また、抗IL-28Bモノクローナル抗体(A)の抗原結合性断片も、同じように用いることができる。

30

## 【0020】

本明細書において「IL-28Aに結合しない」とは、抗体として使用する場合に、IL-28Aへの結合が、実質的に影響しないレベルの結合であることを意味する。より具体的には、メジャーIL-28Bの結合に対してIL-28Aへの結合が1/100以下、好ましくは1/300以下、より好ましくは1/500以下、最も好ましくは1/1000以下であることを意味する。また、「メジャーIL-28Bの結合に対してIL-28Aへの結合が1/100以下」であるとは、メジャーIL-28B又はIL-28Aを固相化したELISAにおいて、同じOD値を得られるモノクローナル抗体の濃度がIL-28Aに対する方が100倍以上高いことを意味する。

40

## 【0021】

本発明の抗IL-28Bモノクローナル抗体(A)の結合するエピトープ(以下、エピトープ(A)と称する)は、メジャーIL-28B及びマイナーIL-28Bに存在し、IL-28Aに存在しないエピトープであり、またメジャーIL-28Bのアミノ酸配列(配列番号1)を基に合成した、10アミノ酸ずつオーバーラップする20アミノ酸の合成ポリペプチド(配列番号4~23)には存在しないエピトープである。すなわち、エピトープ(A)は、メジャーIL-28B及びマイナーIL-28Bに存在し、IL-28

50

Aに存在しない不連続エピトープ（立体構造エピトープ）である。

【0022】

抗IL-28Bモノクローナル抗体（A）としては、免疫原としてIL-28Bの26～200番のアミノ酸配列の組み換えタンパク質（以下、rIL-28B（26-200）と称することがある）を用いて得られたTA2613、及びTA2664を挙げることができる。TA2613及びTA2664はエピトープ競合試験によって、rIL-28B（26-200）への結合が、お互いにほぼ完全に阻害された。従って、モノクローナル抗体TA2613及びTA2664は同じ不連続エピトープを認識しているモノクローナル抗体である。

【0023】

（TA2613のCDR）

本発明のTA2613の重鎖可変領域ドメインは、好ましくは配列番号25で表されるアミノ酸配列における31番～35番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域1のポリペプチド（SYGMS）、50番～66番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域2のポリペプチド（TITGGGSYTYYPDGVKG）、99番～113番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域3のポリペプチド（RGDYGSNYLYWYFDV）を含む重鎖可変領域ドメインであり、最も好ましくは、配列番号25で表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域ドメインのポリペプチドである。また、軽鎖可変領域ドメインは、好ましくは、配列番号27で表されるアミノ酸配列における24番～38番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域1のポリペプチド（RASKSVSTSGYSYMH）、54番～60番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域2のポリペプチド（LVSNLES）、93番～101番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域3のポリペプチド（QHIRELTRS）を含む軽鎖可変領域ドメインであり、最も好ましくは、配列番号27で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域ドメインのポリペプチドである。

【0024】

（TA2664のCDR）

本発明のTA2664の重鎖可変領域ドメインは、好ましくは配列番号29で表されるアミノ酸配列における31番～35番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域1のポリペプチド（DYMY）、50番～66番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域2のポリペプチド（YISNGGGSTNYPDTVKG）、99番～109番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域3のポリペプチド（PSLLRSAWFAY）を含む重鎖可変領域ドメインであり、最も好ましくは、配列番号29で表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域ドメインのポリペプチドである。また、軽鎖可変領域ドメインは、好ましくは、配列番号31で表されるアミノ酸配列における24番～38番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域1のポリペプチド（RASKSVSTSGYSYMH）、54番～60番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域2のポリペプチド（LVSNLES）、93番～101番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域3のポリペプチド（QHIRELTRS）を含む軽鎖可変領域ドメインであり、最も好ましくは、配列番号31で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域ドメインのポリペプチドである。

【0025】

（エピトープ（A）に結合するモノクローナル抗体）

本発明の抗IL-28Bモノクローナル抗体（A）は、前記エピトープ（A）に結合するモノクローナル抗体を含む。エピトープ（A）に結合するモノクローナル抗体は、配列番号1で表されるアミノ酸配列からなるメジャーIL-28B及び配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるマイナーIL-28Bに結合し、配列番号3で表されるアミノ酸配列からなるIL-28Aに結合せず、そして配列番号4～23で表されるアミノ酸配列からなるペプチド断片に結合しない、抗IL-28Bモノクローナル抗体であり、前記TA2613又はTA2664と同じ性質を有している。前記エピトープ（A）に結合するため、TA2613又はTA2664と同一、又は相同性の高いCDRを有していることが好ましい。また、エピトープ（A）に結合することができるか否かは、TA2613又はTA2664のCDRを有する抗体を用い、実施例に記載のエピトープ競合試験によって、決定することが可能である。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 2 6 】

( 抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体 ( B ) )

本発明の抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体 ( B ) は、配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなるメジャー I L - 2 8 B に結合し、配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなるマイナー I L - 2 8 B 及び配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる I L - 2 8 A に結合せず、そして配列番号 8 ~ 2 6 で表されるアミノ酸配列からなるペプチド断片に結合しない、抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体である。また、抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体 ( B ) の抗原結合性断片も、抗体と同じように用いることができる。

## 【 0 0 2 7 】

本明細書において「マイナー I L - 2 8 B に結合しない」とは、抗体として使用する場合に、マイナー I L - 2 8 B への結合が、実質的に影響しないレベルの結合であることを意味する。より具体的には、メジャー I L - 2 8 B の結合に対してマイナー I L - 2 8 B への結合が 1 / 1 0 0 以下、好ましくは 1 / 3 0 0 以下、より好ましくは 1 / 5 0 0 以下、最も好ましくは 1 / 1 0 0 0 以下であることを意味する。また、「メジャー I L - 2 8 B の結合に対してマイナー I L - 2 8 B への結合が 1 / 1 0 0 以下」であるとは、例えば実施例に示すように、メジャー I L - 2 8 B 又はマイナー I L - 2 8 B を固相化した E L I S A において、同じ O D 値を得られるモノクローナル抗体の濃度がマイナー I L - 2 8 B の方が 1 0 0 倍以上高いことを意味する。

## 【 0 0 2 8 】

( エピトープ B )

本発明の抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体 ( B ) の結合するエピトープ ( 以下、エピトープ ( B ) と称する ) は、メジャー I L - 2 8 B に存在し、I L - 2 8 A 及びマイナー I L - 2 8 B に存在しないエピトープであり、またメジャー I L - 2 8 B のアミノ酸配列 ( 配列番号 1 ) を基に合成した、1 0 アミノ酸ずつオーバーラップする 2 0 アミノ酸の合成ポリペプチド ( 配列番号 4 ~ 2 3 ) には存在しないエピトープである。すなわち、エピトープ ( B ) は、メジャー I L - 2 8 B に存在し、I L - 2 8 A 及びマイナー I L - 2 8 B に存在しない不連続エピトープ ( 立体構造エピトープ ) である。

## 【 0 0 2 9 】

抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体 ( B ) としては、免疫原としてシグナルペプチドを含まない r I L - 2 8 B ( 2 6 - 2 0 0 ) を用いて得られた T A 2 6 0 1、T A 2 6 0 2、及び T A 2 6 0 3 を挙げるができる。T A 2 6 0 1、T A 2 6 0 2、及び T A 2 6 0 3 は実施例のエピトープ競合試験によって、r I L - 2 8 B ( 2 6 - 2 0 0 ) への結合が、お互いにほぼ完全に阻害された。従って、モノクローナル抗体 T A 2 6 0 1、T A 2 6 0 2、及び T A 2 6 0 3 は同じ不連続エピトープを認識しているモノクローナル抗体である。

## 【 0 0 3 0 】

更に、抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体 ( A ) と抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体 ( B ) とは、エピトープ競合試験において、部分的に結合が阻害された。従って、エピトープ ( A ) とエピトープ ( B ) とは、関連する位置に存在していると考えられる。

## 【 0 0 3 1 】

( T A 2 6 0 1 の C D R )

本発明の T A 2 6 0 1 の重鎖可変領域ドメインは、好ましくは配列番号 3 3 で表されるアミノ酸配列における 3 1 番 ~ 3 5 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド ( DTYIH )、5 0 番 ~ 6 6 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド ( RIDPANGNTKYDPKFQG )、9 9 番 ~ 1 0 6 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 3 のポリペプチド ( YGYDYFDY ) を含む重鎖可変領域ドメインであり、最も好ましくは、配列番号 3 3 で表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域ドメインのポリペプチドである。また、軽鎖可変領域ドメインは、好ましくは、配列番号 3 5 で表されるアミノ酸配列における 2 4 番 ~ 3 8 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド ( RASKSVSTSGYSYMH )、5 4 番 ~ 6 0 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド

10

20

30

40

50

(LVSNLES)、93番～101番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域3のポリペプチド(QHIRELTRS)を含む軽鎖可変領域ドメインであり、最も好ましくは、配列番号35で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域ドメインのポリペプチドである。

【0032】

(TA2602のCDR)

本発明のTA2602の重鎖可変領域ドメインは、好ましくは配列番号37で表されるアミノ酸配列における31番～35番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域1のポリペプチド(DTYIH)、50番～66番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域2のポリペプチド(RIDPANGNTKYDPKFQG)、99番～106番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域3のポリペプチド(YGYDYFDY)を含む重鎖可変領域ドメインであり、最も好ましくは、配列番号37で表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域ドメインのポリペプチドである。また、軽鎖可変領域ドメインは、好ましくは、配列番号39で表されるアミノ酸配列における24番～38番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域1のポリペプチド(RASKSVSTSGYSYMH)、54番～60番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域2のポリペプチド(LVSNLES)、93番～101番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域3のポリペプチド(QHIRELTRS)を含む軽鎖可変領域ドメインであり、最も好ましくは、配列番号39で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域ドメインのポリペプチドである。

10

【0033】

(TA2603のCDR)

本発明のTA2603の重鎖可変領域ドメインは、好ましくは配列番号41で表されるアミノ酸配列における31番～35番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域1のポリペプチド(DTYIH)、50番～66番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域2のポリペプチド(RIDPANGNIKYDPKFQG)、99番～106番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域3のポリペプチド(YGYDYFDY)を含む重鎖可変領域ドメインであり、最も好ましくは、配列番号41で表されるアミノ酸配列からなる重鎖可変領域ドメインのポリペプチドである。また、軽鎖可変領域ドメインは、好ましくは、配列番号43で表されるアミノ酸配列における24番～38番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域1のポリペプチド(RASKSVSTSGYSYMH)、54番～60番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域2のポリペプチド(LVSNLES)、93番～101番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域3のポリペプチド(QHIRELTRS)を含む軽鎖可変領域ドメインであり、最も好ましくは、配列番号43で表されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域ドメインのポリペプチドである。

20

30

【0034】

(エピトープ(B)に結合するモノクローナル抗体)

本発明の抗IL-28Bモノクローナル抗体(B)は、前記エピトープ(B)に結合するモノクローナル抗体を含む。エピトープ(B)に結合するモノクローナル抗体は、配列番号1で表されるアミノ酸配列からなるメジャーIL-28B及び配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるマイナーIL-28Bに結合し、配列番号3で表されるアミノ酸配列からなるIL-28Aに結合せず、そして配列番号4～23で表されるアミノ酸配列からなるペプチド断片に結合しない、抗IL-28Bモノクローナル抗体であり、前記TA2601、TA2602、又はTA2603と同じ性質を有している。前記エピトープ(B)に結合するため、TA2601、TA2602、又はTA2603と同一、又は相同性の高いCDRを有していることが好ましい。

40

また、エピトープ(A)に結合することができるか否かは、TA2601、TA2602、及びTA2603のCDRを有する抗体を用い、実施例に記載のエピトープ競合試験によって、決定することが可能である。

本発明のエピトープ(B)に結合するモノクローナル抗体は、前記メジャー及びマイナーIL-28B特異的分析方法(B)に用いることができる。

【0035】

(IL-28B特異的免疫学的測定法の実施態様)

本発明に用いるIL-28B特異的免疫学的測定法は、前記のようにIL-28Bを特

50

異的に測定することのできるものであれば、特に限定されるものではなく、例えば酵素免疫測定法、ラテックス凝集免疫測定法、化学発光免疫測定法、又は放射免疫測定法を挙げることができるが、２種類以上の抗体を用いるサンドイッチ式の酵素免疫測定法、又は化学発光免疫測定法が好ましい。また、前記のようにメジャーIL-28B及びマイナーIL-28Bを測定できる免疫学的測定法でもよく、メジャーIL-28Bのみを特異的に測定できる免疫学的測定法でもよい。具体的な実施態様の例を以下に記載する。

【0036】

IL-28B特異的免疫学的測定法として、(A)前記抗IL-28Bモノクローナル抗体(A)又はその抗原結合性断片を、IL-28Bを含む可能性のある被検試料と接触させる工程；を含むことを特徴とする、メジャー及びマイナーIL-28B分析方法(IL-28B分析方法(A))、及び(B)前記抗IL-28Bモノクローナル抗体(B)又はその抗原結合性断片を、IL-28Bを含む可能性のある被検試料と接触させる工程；を含むことを特徴とする、メジャーIL-28B分析方法(IL-28B分析方法(B))を挙げることができる。

10

【0037】

前記IL-28B分析方法(A)は、前記抗IL-28Bモノクローナル抗体(A)を用いることが好ましい。IL-28B分析方法(A)は、限定されるものではないが、好ましくは(1)前記抗IL-28Bモノクローナル抗体(A)又はその抗原結合性断片を、IL-28Bを含む可能性のある被検試料と接触させる工程；及び(2)IL-28Bに結合する第二抗体と被検試料とを接触させる工程；を含む。

20

IL-28B分析方法(A)において、第二抗体は、IL-28Bに結合するものであれば限定されないが、好ましくは配列番号1で表されるアミノ酸配列からなるメジャーIL-28B、配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるマイナーIL-28B、及び配列番号3で表されるアミノ酸配列からなるIL-28Aに結合する、モノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片が好ましい。

【0038】

前記IL-28B分析方法(B)は、前記抗IL-28Bモノクローナル抗体(B)を用いることが好ましい。IL-28B分析方法(B)は、限定されるものではないが、好ましくは、(1)前記抗IL-28Bモノクローナル抗体(B)又はその抗原結合性断片を、IL-28Bを含む可能性のある被検試料と接触させる工程；及び(2)IL-28Bに結合する第二抗体と被検試料とを接触させる工程；を含む。

30

IL-28B分析方法(B)において、第二抗体は、IL-28Bに結合するものであれば限定されないが、好ましくは第二抗体が、(1)前記抗IL-28Bモノクローナル抗体(A)又はその抗原結合性断片であるか、又は(2)配列番号1で表されるアミノ酸配列からなるメジャーIL-28B、配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるマイナーIL-28B、及び配列番号3で表されるアミノ酸配列からなるIL-28Aに結合する、モノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片が好ましい。

【0039】

(IL-28B濃度による治療効果予測)

本発明のIL-28B特異的免疫学的測定法においては、C型肝炎ウイルス感染患者の血液中のIL-28B濃度の測定値によりインターフェロン治療効果を予測する。具体的には、血液中のIL-28B濃度が低い患者は、インターフェロン治療が有効である可能性が高いことを予測することができる。より好ましくは、IL-28B濃度が閾値濃度以下又は閾値濃度未満の場合にインターフェロン治療が有効である可能性が高いと予測する。図2に示すように、遺伝子多型rs8099917がTTであっても、non-TT(TG及びGG)であっても、IL-28B濃度が閾値濃度以下又は閾値濃度未満の場合、Virological response(VR)であると予測することが可能である。本発明者らが、調べた限りにおいては、IL-28B濃度が閾値濃度を越えたC型肝炎ウイルス感染患者は、Non virological response(NVR)であったからである。

40

【0040】

50

閾値は、前記のように管理された臨床試験で決定することが好ましい。

例えば、閾値は、遺伝子多型  $rs8099917$  が  $non-TT$  ( $TG$  又は  $GG$ ) の  $C$  型肝炎ウイルス感染患者において、 $NVR$  の患者と、 $VR$  ( $SVR$  及び  $TVR$ ) の患者とを完全に区別できる値が最も好ましい。

#### 【0041】

本発明の治療効果予測方法により、治療効果の判定が可能なインターフェロンは、 $HCV$  の治療に用いられるインターフェロンであれば、特に限定されることはなく、例えば、インターフェロン - 、 $PEG$  化インターフェロン - 、インターフェロン - 、又はインターフェロン - を挙げることができる。更に、本発明におけるインターフェロン治療には、インターフェロンの単独投与（例えば、インターフェロン - 単独投与、インターフェロン 単独投与、 $PEG$  化インターフェロン - 単独投与又はインターフェロン 単独投与）のみでなく、インターフェロンと他の薬剤の2剤投与（例えば、 $PEG$  化インターフェロン - 及びリバピリンの2剤投与）、インターフェロンと他の2つの薬剤の3剤投与（例えば、 $PEG$  化インターフェロン - 、リバピリン及びプロテアーゼ阻害剤の3剤投与）、インターフェロンと他の3つの薬剤の4剤投与（例えば、 $PEG$  化インターフェロン - 、リバピリン、プロテアーゼ阻害剤、及び  $RNA$  ポリメラーゼ阻害剤の4剤投与）を挙げることができる。他の薬剤としては、リバピリン、プロテアーゼ阻害剤（例えば、テラプレビル (Telaprevir)、シルプレビル (Ciluprevir)、ボセプレビル (Boceprevir)、 $TMC435350$ 、 $R7227/ITMN-191$ 、 $MK-7009$ 、 $BI201335$ 、ナルラプレビル (Narlaprevir)、 $BMS-650032$ 、 $PHX1766$ 、又は  $ACH-1625$ )、 $RNA$  ポリメラーゼ阻害剤（例えば、パロピシタピン (Valopicitabine)、 $R7128$ 、 $R1626$ 、 $PSI-7851$ 、 $IDX184$ 、 $BILB-1941$ 、 $BI207127$ 、 $MK-3281$ 、フィリブビル (Filibuvir)、 $VCH759$ 、 $VCH916$ 、 $VCH222$ 、 $ANA598$ 、 $HCV-796$ 、 $GS-9190$ 、 $GS-9190$ 、又は  $ABT-333$ )、 $NS5A$  阻害剤（例えば、 $BMS-790052$ )、 $Debio025$ 、 $NIM811$ 、 $SCY-635$ 、ニタゾキサニド (Nitazoxanide)、セルゴシビル (Celgosivir) 又はそれらの2つ以上の組み合わせの薬剤を挙げることができる。

#### 【0042】

(遺伝子多型  $rs8099917$ )

遺伝子多型  $rs8099917$  は、ヒトの遺伝子の第19番染色体の  $IL28B$  ( $IFN-3$ ) 遺伝子の5'上流  $7kb$  付近に存在している。日本人における  $rs8099917$  のマイナーアレルである  $G$  の頻度は約  $9.3\%$  である。従って、マイナーアレルのホモ接合である [ $G/G$ ] の頻度は約  $0.9\%$ 、メジャーアレルのホモ接合である [ $T/T$ ] の頻度は約  $82.2\%$ 、マイナーアレル及びメジャーアレルのヘテロ接合である [ $T/G$ ] の頻度は約  $16.9\%$  である。

$C$  型肝炎ウイルス感染患者において、遺伝子多型  $rs8099917$  が [ $T/T$ ] の場合、 $PEG$  化  $IFN$  及びリバピリンの併用投与に対して、 $80\%$  の著効率 ( $SVR$ ) を示す。一方、マイナーアレルを含む [ $T/G$ ] 及び [ $G/G$ ] の場合、 $20\%$  程度の著効率 ( $SVR$ ) である。

#### 【0043】

(遺伝子多型  $rs8099917$  と連鎖不平衡にある遺伝子多型)

本発明の薬剤の治療効果予測方法において用いることのできる遺伝子多型は、遺伝子多型  $rs8099917$  に限らず、遺伝子多型  $rs8099917$  と連鎖不平衡にある遺伝子多型を用いることができる。本明細書において、「連鎖不平衡にある」とは、例えば遺伝子多型  $rs8099917$  に対して  $R2$  が  $0.8$  以上の遺伝子多型を意味し、 $0.85$  以上の遺伝子多型が好ましく、 $0.9$  以上の遺伝子多型がより好ましい。または、「連鎖不平衡にある」とは、例えば遺伝子多型  $rs8099917$  に対して  $D'$  が  $0.8$  以上の遺伝子多型を意味し、 $0.85$  以上の遺伝子多型が好ましく、 $0.9$  以上の遺伝子多型がより好ましい。

10

20

30

40

50

遺伝子多型 rs8099917 と連鎖不平衡にある遺伝子多型は、遺伝子多型 rs8099917 と同じように、治療効果予測方法に用いることができ、例えば Haploview ソフトウェアを用いて、公知の方法により探索することができる。

#### 【0044】

(遺伝子多型の分析方法)

遺伝子多型 rs8099917 の分析方法としては、特に限定されるものではないが、一塩基の変異 (SNP) を分析することのできる方法が好ましい。一塩基の変異 (SNP) を分析することのできる方法としては、ダイレクトシーケンス法、PCR-RELP 法、TaqMan 法、DigiTag 法、DigiTag2 法、シングルヌクレオチドプライマー伸長法、Snapshot 法、ASP-PCR 法、PCR-SSO 法、PCR-SSP 法、PCR-SSCP 法、DNAチップ若しくは DNA マイクロアレイを用いた核酸ハイブリダイゼーション法、インベーター法、MALDI-TOF/MS 法、モレキュラー・ビーコン法、RCA 法、UCAN 法、対立遺伝子特異的 PCR、ミニシーケンシング、パイロシーケンシング、ARMS 法、対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチド (ASO) 分析、又は変性/温度勾配ゲル電気泳動 (DGGE/TGGE) を挙げることができる。

10

#### 【0045】

前記遺伝子多型の分析方法として DigiTag2 法、MGB プローブを用いた TaqMan 法、インベーター法及びマイクロサテライト多型解析法について記載する。

DigiTag2 法は、解析対象となる SNP 毎に SNP 特異的な common probe と、アリル特異的な query probe を用いて、一度に複数か所の SNP について遺伝子型を決定することのできるマルチプレックス SNP タイピング法である。SNP 特異的な common probe は、SNP の位置に隣接して下流に存在する 3' 側プローブであり、アリル特異的な query probe は、SNP を 3' 末端に含む上流に存在する 5' 側プローブである。

20

query probe は、SNP 毎にアリルに対応した 2 種類を用意する。query probe の 3' 末端に対応する SNP の遺伝子型に応じて、それと相補的な塩基を持つ query probe だけが、3' 側に隣接して存在する common probe と結合することができる。更に、検出のために各 query probe の 5' 末端にはアリルに対応して 2 種類の query tag が連結されており、また common probe の 3' 末端には SNP ごとに異なる common tag が連結されている。検出は、common probe に連結された common tag と相補的な塩基配列を持つオリゴ DNA を固定した DNA チップを用いて検出を行う。

30

#### 【0046】

MGB プローブを用いた TaqMan 法は、フォワードプライマー及びリバースプライマーからなるプライマーセットと、5' 末端をレポーター色素 (FAM) 及び MGB (MGB (Minor Groove Binder) でラベルし、3' 末端をクエンチャー色素 (Eclipse Dark Quencher) で修飾した MGB プローブとを PCR の反応系に加えることにより行うことができる。このような MGB プローブを用いた TaqMan 自体は周知であり、そのためのキット及び装置も市販されているので、SNP の領域に MGB プローブを設定することにより、市販のキット及び装置を用いて実施することができる。

40

#### 【0047】

前記フォワードプライマー及びリバースプライマー、並びに MGB プローブは、遺伝子多型 rs8099917 のそれぞれのアリルの塩基配列に基づいて作成することができる。具体的には、遺伝子多型 rs8099917 のフォワードプライマー及びリバースプライマー、並びにプローブは、配列番号 44 で表される遺伝子多型 rs8099917 を含む DNA の塩基配列から、作製することができる。具体的にはプライマーは、rs8099917 のアレルである「T」又は「G」を挟むように、任意の位置に設定することが可能であり、また、プローブは rs8099917 のアレルである「T」又は「G」を含む領域に設定することができる。例えば MGB プローブは、遺伝子多型 rs8099917

50

のメジャーアレルT又はマイナーアレルGを含むDNAの塩基配列領域に設定することが可能である。

【0048】

インベーター法は、3'側には標的DNAに特異的な塩基配列を有し変異部位の塩基の5'側に標的DNAと相補性のない配列(フラップ)を有するアレルプローブ;標的DNAの変異部位の3'側に特異的な相補配列を有するプローブ(インベータープローブ);及び5'側がヘアピン構造をとり得る配列を有し、ヘアピン構造を形成した際に5'末端の塩基と対をなす塩基から3'側に連続する配列がアレルプローブのフラップと相補的な配列であるFRETプローブとを用いる方法である。

具体的には、標的DNA、アレルプローブおよびインベータープローブを反応させると、それらの相補結合した変異部位にインベータープローブの3'末端が侵入する。この変異部位の構造を認識する酵素(cleavase)を用いてアレルプローブの一本鎖部分(すなわち、フラップ部分)が切り出される。切り出されたフラップはFRETプローブと相補的に結合し、フラップの変異部位がFRETプローブのヘアピン構造に侵入する。この構造を、更にcleavaseが認識して切断することにより、FRETプローブの末端標識された蛍光色素が遊離し、クエンチャーの影響を受けなくなるために、蛍光が検出される。なお、通常、標的DNAはSNPを含む領域をフォワードプライマーとリバースプライマーを用いたPCRにより増幅しておくことが好ましい。

【0049】

例えば、rs8099917のSNPタイピングにおいて、前記アレルプローブ、及びインベータープローブは、rs8099917のアレルである「T」又は「G」を含む配列に基づいて、設定することができる。また、PCRのためのフォワードプライマー及びリバースプライマーは、rs8099917のアレルである「T」又は「G」を挟むように、任意の位置に設定することが可能である。具体的には、アレルプローブとして、メジャーアレル「T」を検出するProbe1:5'-atgacgtggcagacAATTGCTCACAGAAAGGA-3'(配列番号45)、又はマイナーアレル「G」を検出するProbe2:5'-cgcgccgagggCATTGCTCACAGAAAGGA-3'(配列番号46)を挙げることができ、インベータープローブとして、Invader:5'-GCTACCAAACTGTATACAGCATGGTTCCAATTGGGTGA-3'(配列番号47)を挙げることができる。更に、PCRのためのフォワードプライマー及びリバースプライマーとして、InvaderF:5'-TCATCCCTCATCCCACTTCTGGAAACA-3'(配列番号48)及びInvaderR:5'-CGGGCCATCTGTTTCTCTGGCTG-3'(配列番号49)を挙げることができる。

【0050】

(遺伝子多型及びIL-28B濃度による治療効果予測)

本発明のインターフェロン治療効果予測方法においては、遺伝子多型rs8099917と、C型肝炎ウイルス感染患者由来の血液のIL28B濃度とを組み合わせ、インターフェロンの治療効果の予測をすることができる。

遺伝子多型rs8099917の遺伝子型と、C型肝炎ウイルス感染患者由来の血液のIL-28B濃度の測定工程との組み合わせは、限定されるものではなく、例えば、既に遺伝子型の決定されたC型肝炎ウイルス感染患者由来の血液のIL-28B濃度を測定してもよく、遺伝子型の決定工程を、IL-28B濃度測定工程の前、又は後に行ってもよい。

【0051】

遺伝子多型rs8099917と、IL-28B濃度とを組み合わせる予測方法は、例えば以下のように行うことができる。

C型肝炎ウイルス感染患者の遺伝子多型rs8099917がTG又はGGであり、且つIL-28B濃度が閾値濃度以下又は閾値濃度未満の場合、インターフェロン治療が有効である可能性が高いと予測することができる。一方、C型肝炎ウイルス感染患者の遺伝

10

20

30

40

50

子多型 rs8099917 が TG 又は GG であり、且つ IL - 28B 濃度が閾値濃度以上又は閾値濃度を越えた場合、インターフェロン治療が無効である可能性が高いと予測することができる。IL - 28B 濃度の測定は、既に遺伝子多型 rs8099917 が決定された C 型肝炎ウイルス感染患者の検体を用いてもよい。また、IL - 28B 濃度の測定工程の、前後に遺伝子多型 rs8099917 を決定する工程を行ってもよい。遺伝子多型 rs8099917 が TG 又は GG である場合の、IL - 28B 濃度の測定値と組み合わせた治療予測の正確性は非常に高いものであるが、この場合、すべての C 型肝炎ウイルス感染患者について遺伝子多型 rs8099917 を決定することが好ましい。

#### 【0052】

更に、遺伝子多型 rs8099917 と、IL - 28B 濃度とを組み合わせる予測方法として、次のようなステップで行うこともできる。

まず、C 型肝炎ウイルス感染患者由来の血液の IL - 28B 濃度を測定する。そして、IL - 28B 濃度が閾値以上の C 型肝炎ウイルス感染患者について、遺伝子多型 rs8099917 の決定を行う。この場合、最初の IL - 28B 濃度の測定によって、IL - 28B 濃度が閾値濃度以下又は閾値濃度未満の患者には、インターフェロン治療が有効であることを予測できる。従って、これらの患者には、インターフェロン治療を推奨する。一方、IL - 28B 濃度が閾値濃度以上又は閾値濃度を越える患者については、遺伝子多型 rs8099917 を決定する。そして、遺伝子多型 rs8099917 が TG 又は GG の患者は、インターフェロン治療が無効である可能性が高いと予測できる。また、遺伝子多型 rs8099917 が TT の患者は、インターフェロン治療が有効である可能性が高い。従って、これらの患者には、インターフェロン治療を推奨する。

このようなステップで、インターフェロン治療効果予測を行った場合、IL - 28B が閾値濃度以下又は閾値濃度未満の C 型肝炎ウイルス感染患者（約 60%）は、インターフェロンの治療が有効であるため、遺伝子多型 rs8099917 の決定を行わなくてもよい。従って、遺伝子型検査費用の削減の効果が得られる。

#### 【0053】

本発明のインターフェロン治療効果予測方法は、ヒトの生体由来の血液を分離し、それを用いて *in vitro* で、IL - 28B の濃度を測定することによって行われるものである。

本発明のインターフェロン治療効果予測方法は、インターフェロンの治療効果を予測する場合の、インターフェロン治療効果予測の補助方法として用いることができる。また、本発明のインターフェロン治療効果予測方法を用いて、インターフェロン治療の方針を決定することができる。すなわち、本発明のインターフェロン治療効果予測方法は、インターフェロン治療の方針決定方法として用いることができる。

#### 【0054】

##### 《抗体の使用》

前記抗 IL - 28B モノクローナル抗体 (A) 又は抗 IL - 28B モノクローナル抗体 (B) は、インターフェロン治療効果予測キットの製造に用いることができる。これらのモノクローナル抗体を用いたインターフェロン治療効果予測キットにより、本発明のインターフェロン治療効果予測方法を実施することが可能である。

#### 【0055】

具体的には、抗 IL - 28B モノクローナル抗体 (A) の使用に関しては、以下の態様を挙げることができる。

すなわち、本発明は、

[1] 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなるメジャー IL - 28B 及び配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなるマイナー IL - 28B に結合し、配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる IL - 28A に結合せず、そして配列番号 4 ~ 23 で表されるアミノ酸配列からなるペプチド断片に結合しない、抗 IL - 28B モノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片の、血液の IL - 28B を測定することによるインターフェロン治療効果予測キットの製造のための使用；

10

20

30

40

50

[ 2 ] ( 1 ) 配列番号 2 5 で表されるアミノ酸配列における 3 1 番 ~ 3 5 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、5 0 番 ~ 6 6 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、9 9 番 ~ 1 1 3 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む重鎖可変領域ドメイン、並びに配列番号 2 7 で表されるアミノ酸配列における 2 4 番 ~ 3 8 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、5 4 番 ~ 6 0 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、9 3 番 ~ 1 0 1 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む軽鎖可変領域ドメイン；又は

( 2 ) 配列番号 2 9 で表されるアミノ酸配列における 3 1 番 ~ 3 5 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、5 0 番 ~ 6 6 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、9 9 番 ~ 1 0 9 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む重鎖可変領域ドメイン、並びに配列番号 3 1 で表されるアミノ酸配列における 2 4 番 ~ 3 8 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、5 4 番 ~ 6 0 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、9 3 番 ~ 1 0 1 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む軽鎖可変領域ドメインを有する [ 1 ] に記載のモノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片の、血液の I L - 2 8 B を測定することによるインターフェロン治療効果予測キットの製造のための使用；又は

[ 3 ] [ 2 ] に記載のモノクローナル抗体が結合するエピトープに結合する、[ 1 ] に記載の、モノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片の、血液の I L - 2 8 B を測定することによるインターフェロン治療効果予測キットの製造のための使用、に関する。

#### 【 0 0 5 6 】

更に、抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体 ( B ) の使用に関しては、以下の態様を挙げることができる。

すなわち、本発明は、

[ 4 ] 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなるメジャー I L - 2 8 B に結合し、配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなるマイナー I L - 2 8 B 及び配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる I L - 2 8 A に結合せず、そして配列番号 4 ~ 2 3 で表されるアミノ酸配列からなるペプチド断片に結合しない、抗 I L - 2 8 B モノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片の、血液の I L - 2 8 B を測定することによるインターフェロン治療効果予測キットの製造のための使用；

[ 5 ] ( 1 ) 配列番号 3 3 で表されるアミノ酸配列における 3 1 番 ~ 3 5 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、5 0 番 ~ 6 6 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、9 9 番 ~ 1 0 6 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む重鎖可変領域ドメイン、並びに配列番号 3 5 で表されるアミノ酸配列における 2 4 番 ~ 3 8 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、5 4 番 ~ 6 0 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、9 3 番 ~ 1 0 1 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む軽鎖可変領域ドメイン；

( 2 ) 配列番号 3 7 で表されるアミノ酸配列における 3 1 番 ~ 3 5 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、5 0 番 ~ 6 6 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、9 9 番 ~ 1 0 6 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む重鎖可変領域ドメイン、並びに配列番号 3 9 で表されるアミノ酸配列における 2 4 番 ~ 3 8 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、5 4 番 ~ 6 0 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、9 3 番 ~ 1 0 1 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む軽鎖可変領域ドメイン；又は

( 3 ) 配列番号 4 1 で表されるアミノ酸配列における 3 1 番 ~ 3 5 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、5 0 番 ~ 6 6 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決

10

20

30

40

50

定領域 2 のポリペプチド、99 番～106 番のアミノ酸からなる重鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む重鎖可変領域ドメイン、並びに配列番号 43 で表されるアミノ酸配列における 24 番～38 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 1 のポリペプチド、54 番～60 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 2 のポリペプチド、93 番～101 番のアミノ酸からなる軽鎖相補性決定領域 3 のポリペプチドを含む軽鎖可変領域ドメインを有する [4] に記載のモノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片の、血液の IL - 28 B を測定することによるインターフェロン治療効果予測キットの製造のための使用； [6] [5] に記載のモノクローナル抗体が結合するエピトープに結合する、[4] に記載の、モノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片の、血液の IL - 28 B を測定することによるインターフェロン治療効果予測キットの製造のための使用、  
10  
に関する。

【0057】

《インターフェロン治療効果予測用 IL - 28 B 測定キット》

インターフェロン治療効果予測用 IL - 28 B 測定キットは、IL - 28 B 特異的抗体を含む限りにおいて、特に限定されるものではないが、好ましくは前記抗 IL - 28 B モノクローナル抗体 (A) 又は抗 IL - 28 B モノクローナル抗体 (B) を含むものである。インターフェロン治療効果予測用 IL - 28 B 測定キットにより、本発明のインターフェロン治療効果予測方法を実施することが可能である。

【0058】

具体的には、インターフェロン治療効果予測用 IL - 28 B 測定キットに関しては、抗 IL - 28 B モノクローナル抗体 (A) を含むものとして、以下の態様を挙げることができる。  
20

本発明のインターフェロン治療効果予測用 IL - 28 B 測定キットは、(a) 抗 IL - 28 B モノクローナル抗体 (A) 又はその抗原結合性断片、及び (b) IL - 28 B に結合する第二抗体を含む。IL - 28 B に結合する第二抗体としては、限定されるものではないが、(b) 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなるメジャー IL - 28 B、配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなるマイナー IL - 28 B、及び配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる IL - 28 A に結合する、モノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片、を挙げることができる。

【0059】

更に、インターフェロン治療効果予測用 IL - 28 B 測定キットに関しては、抗 IL - 28 B モノクローナル抗体 (B) を含むものとして、以下の態様を挙げることができる。  
30

本発明のインターフェロン治療効果予測用 IL - 28 B 測定キットは、(a) 前記 IL - 28 B モノクローナル抗体 (B)、又はその抗原結合性断片、及び (b) IL - 28 B に結合する第二抗体を含む。IL - 28 B に結合する第二抗体としては、限定されるものではないが、(b) 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列からなるメジャー IL - 28 B、配列番号 2 で表されるアミノ酸配列からなるマイナー IL - 28 B、及び配列番号 3 で表されるアミノ酸配列からなる IL - 28 A に結合する、モノクローナル抗体、又はその抗原結合性断片、を挙げることができる。

【0060】

更に、本発明は、(a) 抗 IL - 28 B モノクローナル抗体 (A) 又はその抗原結合性断片、及び (b) IL - 28 B に結合する第二抗体、又はその抗原結合性断片、を含む、血液の IL 28 B を測定するインターフェロン治療効果予測用 IL - 28 B 測定キットの使用に関する。  
40

また、本発明は、(a) 抗 IL - 28 B モノクローナル抗体 (B) 又はその抗原結合性断片、及び (b) IL - 28 B に結合する第二抗体、又はその抗原結合性断片、を含む、血液の IL 28 B を測定するインターフェロン治療効果予測用 IL - 28 B 測定キットの使用に関する。

本発明の血液の IL 28 B を測定するインターフェロン治療効果予測キットの使用によって、インターフェロン治療効果を的確に予測することができる。  
50

## 【 0 0 6 1 】

## 《インターフェロン治療予測用遺伝子タイピングキット》

本発明のインターフェロン治療予測用遺伝子タイピングキットは、(1)配列番号44で表されるオリゴヌクレオチドの第551番の遺伝子多型rs8099917のT又はGを含むオリゴヌクレオチド又はその相補鎖に結合することができる、C型肝炎患者の経過予測用オリゴヌクレオチドプローブ及び/又は配列番号44で表されるオリゴヌクレオチドの第551番の遺伝子多型rs8099917を含む二本鎖DNA断片を増幅することのできる、フォワードプライマー及びリバースプライマーからなるC型肝炎患者の経過予測用プライマーセットを含む。

なお、配列番号44で表される塩基配列においては、遺伝子多型rs8099917のメジャーアレルT及びマイナーアレルGは、T又はGを意味する「K」で表されている。

10

## 【 0 0 6 2 】

本発明のインターフェロン治療予測用遺伝子タイピングキットは、前記インターフェロン治療予測方法に用いるものことができるものである。すなわち、本発明のインターフェロン治療予測用遺伝子タイピングキットは、例えば、ダイレクトシーケンス法、PCR-RELP法、TaqMan法、DigitaTag法、DigitaTag2法、シングルヌクレオチドプライマー伸長法、Snapshot法、ASP-PCR法、PCR-SSO法、PCR-SSP法、PCR-SSCP)法、DNAチップ若しくはDNAマイクロアレイを用いた核酸ハイブリダイゼーション法、インベーター法、MALDI-TOF/MS法、モレキュラー・ビーコン法、RCA法、UCAN法、対立遺伝子特異的PCR、ミニシーケンシング、パイロシーケンシング、ARMS法、対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチド(ASO)分析、変性/温度勾配ゲル電気泳動(DGGE/TGGE)用、STR(Short Tandem Repeat)法、SLP(Single Locus Probe)法、又はマイクロサテライト多型解析法のキットである。

20

## 【 0 0 6 3 】

本発明のインターフェロン治療効果予測用IL-28B測定キット、及びインターフェロン治療予測用遺伝子タイピングキットを用いて、インターフェロン治療効果予測が可能である。従って、本発明は、インターフェロン治療効果予測用IL-28B測定キット、及びインターフェロン治療予測用遺伝子タイピングキットの使用に関する。

更に、インターフェロン治療効果予測用IL-28B測定キット、及びインターフェロン治療予測用遺伝子タイピングキットは、インターフェロンの治療効果予測マーカーとして使用することができる。

30

## 【 0 0 6 4 】

## 《C型肝炎ウイルス感染患者の治療方法》

本発明のインターフェロン治療効果予測方法の後に、インターフェロン治療を行うことができる。すなわち、C型肝炎ウイルス感染患者の治療方法として、前記インターフェロン治療予測方法に加えて、インターフェロン治療工程を含むことができる。

治療に用いるインターフェロンは、特に限定されるものではなく、インターフェロン-、PEG化インターフェロン-、インターフェロン、又はインターフェロンを挙げることができる。更に、本発明におけるインターフェロン治療には、インターフェロンの単独投与(例えば、インターフェロン-単独投与、インターフェロン単独投与、PEG化インターフェロン-単独投与又はインターフェロン単独投与)のみでなく、インターフェロンと他の薬剤の2剤投与(例えば、PEG化インターフェロン-及びリバビリンの2剤投与)、インターフェロンと他の2つの薬剤の3剤投与(例えば、PEG化インターフェロン-、リバビリン及びプロテアーゼ阻害剤の3剤投与)、インターフェロンと他の3つの薬剤の4剤投与(例えば、PEG化インターフェロン-、リバビリン、プロテアーゼ阻害剤、及びRNAポリメラーゼ阻害剤の4剤投与)を挙げることができる。他の薬剤としては、リバビリン、プロテアーゼ阻害剤(例えば、テラプレビル(Telaprevir)、シルプレビル(Ciluprevir)、ボセプレビル(Boceprevir)、TMC435350、R7227/ITMN-191、MK-7009、BI201335、ナルラプレ

40

50

ビル (Narlaprevir)、BMS - 650032、PHX1766、又はACH - 1625)、RNAポリメラーゼ阻害剤 (例えば、バロピシタピン (Valopicitabine)、R7128、R1626、PSI - 7851、IDX184、BILB 1941、BI207127、MK - 3281、フィリブビル (Filibuvir)、VCH759、VCH916、VCH222、ANA598、HCV - 796、GS - 9190、GS - 9190、又はABT - 333)、NS5A阻害剤 (例えば、BMS - 790052)、Debio025、NIM811、SCY - 635、ニタゾキサニド (Nitazoxanide)、セルゴシビル (Celigosivir) 又はそれらの2つ以上の組み合わせの薬剤を挙げることができる。

#### 【0065】

インターフェロン治療のプロトコールは、特に限定されるものではないが、例えばペグインターフェロン及びリバビリン併用療法として、以下の投与プロトコールを挙げることができる。Peg - IFN - 2a (180 µg) 又は Peg - IFN - 2b (体重換算量) を週1回、皮下注射により投与、及びリバビリン (体重換算量) の1日2回の内服を48週行う。HCV RNAの検出を行い、HCV RNAが検出感度以下になるのが遅い場合 (投与開始より12週間以降) は、全投与期間を72週間に延長することもある。

#### 【実施例】

#### 【0066】

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

#### 【0067】

#### 《実施例1》

本実施例では、C型肝炎ウイルス感染患者150名の血清中のIL - 28B濃度の測定を行った。

モノクローナル抗体TA2650を終濃度が2 µg / mLになるように150 mM NaClを含む10 mM HEPES緩衝液 (pH 7.4: 以下、HBS緩衝液と称する) で希釈し、96ウェルマイクロプレート (ヌンク社製) 1ウェルにつき100 µLずつ分注した。4で一晚静置後、HBS緩衝液400 µLを用いて2回洗浄し、0.1% カゼイン - Naを含むHBS緩衝液 (以下、ブロッキング液と称する)、400 µLを添加し、更に室温で30分静置した。

ブロッキング液除去後、0.05% Tween 20を含むHBS緩衝液 (以下、洗浄液と称する) 400 µLを用いて2回洗浄した。0.1% カゼイン - Na、1% マウス血清、1% BSA、及び0.05% Tween 20を含むHBS緩衝液 (以下、希釈バッファーと称する) 50 µLに、C型肝炎ウイルス感染患者血清を50 µLずつウェルに加え、室温で1時間、攪拌しながら反応させた。洗浄液400 µLで3回洗浄し、更にアルカリフォスファターゼ (AP) 標識したモノクローナル抗体TA2664 Fab' フラグメントを、希釈バッファーで30 ng / mLに希釈し、100 µLずつ、各ウェルに添加し、室温で1時間攪拌しながら反応させた。反応後、前記洗浄液400 µLで5回洗浄し、基質 (CDP-star with Sappire II) 溶液50 µLを加え、室温、暗所で、20分間反応させた後、発光をSpectraMaxプレートリーダーで測定した。

スタンダードとして、リコンビナントIL - 28Bを使用して、標準曲線を作成し、その標準曲線から血清中のIL - 28Bの濃度を計算した。

#### 【0068】

#### 《実施例2》

本実施例では、C型肝炎ウイルス感染患者150名について、rs8099917のSNPタイピングを行った。

rs8099917のSNPタイピングは、インベダー法によって行った。フォワードプライマー Invader F: 5' - TCATCCCTCATCCCACTTCTGG AACA - 3' (配列番号48)、及び Invader R: 5' - CGGGCCATCTGTTTCCTGCTG - 3' (配列番号49) を用いてPCRを行った。メジャーアレ

10

20

30

40

50

ル「T」を検出するProbe 1: 5' - atgacgtggcagacAAATTGCTCACAGAAAGGA - 3' (配列番号45)、又はマイナーアレル「G」を検出するProbe 2: 5' - cgcgcaggcATTGCTCACAGAAAGGA - 3' (配列番号46)を挙げることができ、インベータープローブとして、Invader: 5' - GCTACCAAACTGTATACAGCATGGTTCCAATTTGGGTGAt - 3' (配列番号47)を用い、メーカーのプロトコールに従ってインベーター法によりSNPを解析した。

#### 【0069】

##### 《実施例3》

本実施例では、C型肝炎ウイルス感染患者150名について、PEGインターフェロン及びバビリンの併用投与の治療を行った。投与プロトコールは以下のとおりである。

Peg-IFN-2a (180 µg)又はPeg-IFN-2b (体重換算量)を週1回、皮下注射により48週間投与した。並行して、リバビリン (体重換算量)の1日2回の内服を48週継続した。HCV RNAの検出を行い、HCV RNAが検出感度以下になるのが遅い場合 (投与開始より12週間以降)は、全投与期間を72週間に延長することがあった。

治療終了24週間において、HCV-RNAが陰性化した患者をSVR (Sustained virological response)、治療中に一旦HCV-RNAが検出感度以下になるが、治療中又は治療終了後に採用添加する患者をTVR (Transient virological response)、及び治療中及び治療後にHCV-RNAが検出される患者をNVR (Non virological response)と判定した。

#### 【0070】

前記実施例1~3の結果を図2にまとめた。治療効果判定の閾値は、12.9 pg/mLとした。遺伝子型non-TT (TG及びGG)の患者においては、VR (SVR及びTVR)と、NVRの患者を治療効果判定の閾値によって、2つの群に分けることが可能であった。

また、12.9 pg/mL以下のIL-28B濃度のC型肝炎ウイルス感染患者は、VR (SVR及びTVR)であった。従って、IL-28Bの濃度が12.9 pg/mL以下のC型肝炎ウイルス感染患者に、インターフェロン治療を推奨することが可能である。また、IL-28Bの濃度が12.9 pg/mL以上の患者は、VR及びNVRの患者が存在するが、IL-28Bの濃度が12.9 pg/mL以上であり、且つ遺伝子型non-TT (TG及びGG)の患者は、インターフェロンの治療が有効でないため、インターフェロン治療を推奨しない方が好ましいと考えられる。

#### 【産業上の利用可能性】

#### 【0071】

本発明のインターフェロン治療効果予測方法は、C型肝炎ウイルス感染患者のインターフェロン治療効果を予測することができ、その予測は、遺伝子型による予測と比較して、正確である。従って、インターフェロンによる治療費の削減効果が期待できる。また、遺伝子多型rs8099917との組み合わせにより、インターフェロン治療の方針を的確に決定することが可能であり、検査費用の削減効果も期待できる。



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K 38/21	(2006.01)	A 6 1 P 1/16
A 6 1 P 31/14	(2006.01)	A 6 1 K 38/21
C 1 2 P 21/08	(2006.01)	A 6 1 P 31/14
		C 1 2 P 21/08

特許法第30条第2項適用 HEPATOLOGY, Vol.58, No.4(SUPPL), AASLD THE LIVER MEETING 2013(2013年10月1日発行)の第278A頁に発表、ウェブサイト<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.v58.S1/issuetoc>に2013年10月1日に掲載、ウェブサイト<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.26727/pdf>に2013年10月1日に掲載

(74)代理人 100185915

弁理士 長山 弘典

(74)代理人 100194973

弁理士 尾崎 祐朗

(72)発明者 溝上 雅史

千葉県市川市国府台1-7-1 独立行政法人国立国際医療研究センター肝炎・免疫研究センター内

(72)発明者 杉山 真也

千葉県市川市国府台1-7-1 独立行政法人国立国際医療研究センター肝炎・免疫研究センター内

(72)発明者 村田 一素

千葉県市川市国府台1-7-1 独立行政法人国立国際医療研究センター肝炎・免疫研究センター内

(72)発明者 木村 達治

東京都文京区後楽1丁目1番10号 株式会社特殊免疫研究所内

(72)発明者 内藤 成子

東京都文京区後楽1丁目1番10号 株式会社特殊免疫研究所内

審査官 西浦 昌哉

(56)参考文献 特表2012-529885(JP,A)

特開2012-153664(JP,A)

特開2013-070660(JP,A)

TANAKA, Y. et al., Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon- and ribavirin therapy for chronic hepatitis C, nature genetics, Nature America, Inc., 2009年 9月13日, Vol.41/No.10, pp.1105-1109

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/48-33/98

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

专利名称(译)	干扰素治疗效果的预测方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP6348699B2</a>	公开(公告)日	2018-06-27
申请号	JP2013228369	申请日	2013-11-01
[标]申请(专利权)人(译)	株式会社特殊免疫研究所		
申请(专利权)人(译)	国立国际医疗研究中心 株式会社特殊免疫研究所		
当前申请(专利权)人(译)	型槽志 杉山晋也		
[标]发明人	溝上雅史 杉山真也 村田一素 木村達治 内藤成子		
发明人	溝上 雅史 杉山 真也 村田 一素 木村 達治 内藤 成子		
IPC分类号	G01N33/53 C12Q1/6827 C07K16/24 C12N15/24 A61P1/16 A61K38/21 A61P31/14 C12P21/08		
FI分类号	G01N33/53.ZNA.P G01N33/53.ZNA.M C12Q1/6827 C07K16/24 C12N15/24 A61P1/16 A61K38/21 A61P31/14 C12P21/08 A61K37/66.Z C12N15/00.C C12N15/09.200 C12N15/12 C12N15/13 C12Q1/68.A C12Q1/6853.Z C12Q1/6883.Z G01N33/53.MZN.A G01N33/53.PZN.A G01N33/68		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CA25 2G045/DA36 2G045/FB03 4B024/AA14 4B024/BA44 4B024/GA01 4B024/HA15 4B063/QA13 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ47 4B063/QQ79 4B063/QR32 4B063/QR48 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QS02 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QX01 4B064/AG27 4B064/CA20 4B064/DA15 4C084/AA02 4C084/BA44 4C084/DA21 4C084/MA66 4C084/NA05 4C084/ZA752 4C084/ZB332 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA53 4H045/FA71		
代理人(译)	森田健一 山口健次郎		
其他公开文献	JP2015087355A JP2015087355A5		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

发明内容发明要解决的问题本发明的目的在于提供与现有的预测方法相比，能够更准确地预测丙型肝炎病毒感染患者的药物的治疗效果的药物的治疗效果的预测方法。一个目的是通过IL-28B具体的免疫测定来实现，包括：通过IL-28B浓度的测定测定由干扰素的丙型肝炎病毒感染的患者血液中的IL-28B浓度的步骤一种干涉仪，其特征在于预测治疗效果可以通过预测治疗效果的方法来解决。

(45) 発行日 平成30年6月27日 (2018. 6. 27)

(24) 登録日 平成30年6月8日 (2018. 6. 8)

(51) Int. Cl.

<b>GO1N</b> 33/53 (2006.01)	<b>F I</b>	<b>GO1N</b> 33/53	<b>Z N A P</b>
<b>C12Q</b> 1/6827 (2018.01)		<b>GO1N</b> 33/53	<b>Z N A M</b>
<b>CO7K</b> 16/24 (2006.01)		<b>C12Q</b> 1/6827	
<b>C12N</b> 15/24 (2006.01)		<b>CO7K</b> 16/24	
<b>A61P</b> 1/16 (2006.01)		<b>C12N</b> 15/24	

請求項の数 6 (全 23 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-228369 (P2013-228369)  
 (22) 出願日 平成25年11月1日 (2013. 11. 1)  
 (65) 公開番号 特開2015-87355 (P2015-87355A)  
 (43) 公開日 平成27年5月7日 (2015. 5. 7)  
 審査請求日 平成28年10月21日 (2016. 10. 21)

(73) 特許権者 514059552  
 溝上 雅史  
 千葉県市川市国府台1-7-1 国立研究  
 開発法人 国立国際医療研究センター 肝炎・  
 免疫研究センター内  
 (73) 特許権者 515097719  
 杉山 真也  
 千葉県市川市国府台1-7-1 国立研究  
 開発法人 国立国際医療研究センター 肝炎・  
 免疫研究センター内  
 (74) 代理人 100090251  
 弁理士 森田 意一  
 (74) 代理人 100139594  
 弁理士 山口 健次郎

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 インターフェロン治療効果予測方法