

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-506069

(P2017-506069A)

(43) 公表日 平成29年3月2日(2017.3.2)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C12Q 1/68 (2006.01)</b>	C12Q 1/68 Z N A A	2 G O 4 5
<b>C12M 1/34 (2006.01)</b>	C12M 1/34 F	4 B O 2 9
<b>C12M 1/26 (2006.01)</b>	C12M 1/34 Z	4 B O 6 3
<b>GO1N 33/68 (2006.01)</b>	C12M 1/26	
<b>GO1N 33/50 (2006.01)</b>	GO1N 33/68	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 49 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-549344 (P2016-549344)  
 (86) (22) 出願日 平成27年1月29日 (2015.1.29)  
 (85) 翻訳文提出日 平成28年7月29日 (2016.7.29)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2015/051783  
 (87) 国際公開番号 W02015/117881  
 (87) 国際公開日 平成27年8月13日 (2015.8.13)  
 (31) 優先権主張番号 1402036.6  
 (32) 優先日 平成26年2月6日 (2014.2.6)  
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 506260386  
 ノベル バイオケア サーヴィシズ ア  
 ーゲー  
 スイス, シーエイチー8302 クロー  
 テン, バルズ ツィマーマン-シュトラ  
 ッセ 7  
 (74) 代理人 100103816  
 弁理士 風早 信昭  
 (74) 代理人 100120927  
 弁理士 浅野 典子  
 (72) 発明者 ホール, ヤン  
 スウェーデン, エス-416 80 ゴ  
 ーセンバーク, ロセンダルスガタン 1  
 2

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 病気の状態の決定方法

(57) 【要約】

本発明は、インプラント周縁の病気の状態を決定する方法に関し、エキスピボ試料において、パネルを形成する一群のマーカーのうちの一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル又はそれらの比率を定量する(ただし、前記一つ以上の調節されたマーカーは、プラスミノゲン系及び/又は炎症及び/又はタンパク質分解活性に関連する);及び工程 a) で得られた発現レベルを、参照値と比較することによって、インプラント周縁の病気の状態を決定する工程を含むことを特徴とする。本発明はまた、本発明の方法を実施するためのキットに関する。

【選択図】 図 1

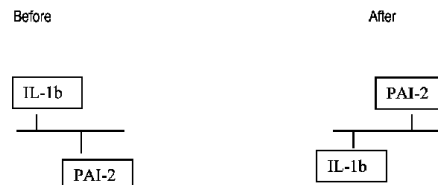


Figure 1

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

インプラント周縁の病気の状態を決定する方法であって、以下の工程を含むことを特徴とする方法：

a) エクスピボ試料において、t P A , I L - 4 , I L - 6 , I L - 1 0 , I L - 1 2 , I L 1 8 , T I M P - 1 及び P A I - 2 からなる群から選択される一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率を定量するか、及び / 又は t P A 及び t P A / P A I - 2 ; P A I - 2 及び t P A / P A I - 2 ; t P A , P A I - 2 及び t P A / P A I - 2 ; I L - 1 及び I L - 8 ; I L - 8 及び P A I - 2 ; I L - 6 , T I M P - 1 及び P A I - 2 ; t P A 及び P A I - 2 ; I L - 1 , I L - 8 及び I L - 6 ; I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 及び T I M P - 1 ; I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 , T I M P - 1 及び t P A ; I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 , T I M P - 1 及び P A I - 2 ; I L - 1 , I L - 8 , P A I - 2 及び t P A ; I L - 1 , I L - 8 , 及び P A I - 2 ; I L - 1 , I L - 8 及び t P A ; I L - 1 , I L - 8 及び t P A / P A I - 2 ; I L - 1 , I L - 8 , T I M P - 1 及び P A I - 2 ; I L - 1 , I L - 8 , T I M P - 1 及び t P A ; I L - 1 及び P A I - 2 のマーカーの組み合わせのうちの一つ以上の発現レベルを定量する工程；及び

b) 工程 a) で得られた発現レベルを、一つ以上の参照発現レベルと比較することによって、インプラント周縁の病気の状態を決定する工程。

## 【請求項 2】

前記一つ以上の調節されたマーカーが、t P A 及び P A I - 2 からなる群から選択されるか、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率であることを特徴とする、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベルが、t P A と P A I - 2 の間の比率であることを特徴とする、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

前記マーカーが、t P A であることを特徴とする、請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 5】

前記一つ以上の調節されたマーカーが、I L - 6 , T I M P - 1 、及び P A I - 2 からなる群から選択されるか、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率であることを特徴とする、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 6】

エクスピボ試料が、体液又は組織であることを特徴とする、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 7】

前記体液が、口腔液、及び / 又は血液、及び / 又は血清、及び / 又は血漿、及び / 又は唾液であることを特徴とする、請求項 6 に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記体液が、インプラント周縁間隙液であることを特徴とする、請求項 6 又は 7 に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記組織が、骨、及び / 又は結合組織、及び / 又は粘膜であることを特徴とする、請求項 6 に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記組織が、骨、及び / 又はインプラント支持組織、及び / 又はインプラントに隣接する骨、及び / 又は歯に隣接する骨であることを特徴とする、請求項 6 又は 9 に記載の方法。

## 【請求項 11】

10

20

30

40

50

工程 b ) の一つ以上の参照発現レベルが、異なる時点で同一の源から採取されたエクスピボ試料からの前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率であり、前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率のアップレギュレーション又はダウンレギュレーションが、インプラント周縁の病気の状態の指標であることを特徴とする、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

工程 b ) の一つ以上の参照発現レベルが、インプラント周縁の炎症の履歴を示す源から採取されたエクスピボ試料からの前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率であり、前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率のアップレギュレーション又はダウンレギュレーションが、インプラント周縁の病気の状態の指標であることを特徴とする、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 13】

前記定量が、核酸の定量によって行なわれることを特徴とする、請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の方法。

【請求項 14】

前記定量が、qPCR、及び/又はノーザンブロットによって行なわれることを特徴とする、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記定量が、タンパク質の定量によって行なわれることを特徴とする、請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 16】

前記定量が、免疫アッセイ、及び/又は ELISA、及び/又は放射線免疫アッセイ、及び/又は磁気免疫アッセイ、及び/又は蛍光免疫アッセイ、及び/又は免疫沈降、及び/又は表面プラスモン共鳴、及び/又は免疫組織化学、及び/又はウエスタンブロット、及び/又はこれらの任意の組み合わせによって行なわれることを特徴とする、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

試料が、一つ以上のインプラントを有する患者から得られることを特徴とする、請求項 1 ~ 16 のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 18】

インプラントが、骨固定インプラントであることを特徴とする、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

インプラントが、歯科用インプラント、及び/又は股関節インプラント、及び/又は膝関節インプラント、又はそれらの組み合わせであることを特徴とする、請求項 17 又は 18 に記載の方法。

【請求項 20】

工程 a ) で得られた一つ以上の調節されたマーカーの発現レベルに関する情報をデータキャリアに保管するか、及び/又は工程 b ) で得られたインプラント周縁の病気の状態に関する情報をデータキャリアに保管する工程をさらに含むことを特徴とする、請求項 1 ~ 19 のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 21】

請求項 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法を実行するためのキット。

【請求項 22】

キットが、試料採集装置をさらに含むことを特徴とする、請求項 21 に記載のキット。

【請求項 23】

試料採集装置が、滅菌ペーパーポイント、及び/又は注射器、及び/又は生検装置であることを特徴とする、請求項 22 に記載のキット。

50

## 【請求項 2 4】

キットが、試料を保存するための保存媒地をさらに含むことを特徴とする、請求項 2 1 ~ 2 3 のいずれかに記載のキット。

## 【請求項 2 5】

キットが、試料を中央検査室に送付するための箱をさらに含むことを特徴とする、請求項 2 1 ~ 2 4 のいずれかに記載のキット。

## 【請求項 2 6】

キットが、IL - 4 , IL - 6 , IL - 1 0 , IL - 1 2 , IL 1 8 , TIMP - 1 , tPA 及び PAI - 2 からなる群から選択される一つ以上のマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率を定量するために必要な要素をさらに含むか、又は、IL - 1 及び IL - 8 ; IL - 8 及び PAI - 2 ; IL - 6 , TIMP - 1 及び PAI - 2 ; tPA 及び PAI - 2 ; IL - 1 , IL - 8 及び IL - 6 ; IL - 1 , IL - 8 , IL - 6 及び TIMP - 1 ; IL - 1 , IL - 8 , IL - 6 , TIMP - 1 及び tPA ; IL - 1 , IL - 8 , IL - 6 , TIMP - 1 及び PAI - 2 ; IL - 1 , IL - 8 , PAI - 2 及び tPA ; IL - 1 , IL - 8 , 及び PAI - 2 ; IL - 1 , IL - 8 及び tPA ; IL - 1 , IL - 8 及び tPA / PAI - 2 ; IL - 1 , IL - 8 , TIMP - 1 及び PAI - 2 ; IL - 1 , IL - 8 , TIMP - 1 及び tPA のマーカーの組み合わせの発現レベルを定量するために必要な要素をさらに含むか、又は、tPA / PAI - 2 のマーカーの発現レベルの比率を定量するために必要な要素をさらに含むことを特徴とする、請求項 2 1 ~ 2 5 のいずれかに記載のキット。

10

20

## 【請求項 2 7】

前記マーカーが tPA であることを特徴とする、請求項 2 6 に記載のキット。

## 【請求項 2 8】

キットが、データキャリアをさらに含むことを特徴とする、請求項 2 1 ~ 2 7 のいずれかに記載のキット。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、歯周病及びインプラント周縁 (peri-implant) の病気の状態を診断するための方法に関する。

30

## 【背景技術】

## 【0002】

毎年、多数の歯科用インプラントリハビリテーション法が実行されている。インプラント治療が成功する大多数の場合とは対照的に、特定の数の患者は、インプラント周縁の病気を発展させる。我々は、インプラント周縁の病気の二つの状態を区別する。一つは、粘膜炎であり、これは軟組織の炎症を含む。もう一つは、インプラント周縁の炎症 (peri-implantitis) であり、これは、炎症に加えてインプラント支持骨の骨量減少を含む。粘膜炎及びインプラント周縁の炎症は、インプラント周縁の組織の状態ともみなされることができる。両方の状態は、タンパク質分解活性を示しうるが、異なる度合いにある。いくつかの場合では、機械的創面切除及び 3 % 過酸化水素での洗浄を伴う非手術的治療が、十分に効果的な治療であるかもしれない。持続するインプラント周縁の病気の場合には、表面創面切除と組み合わせられた切除手術がしばしば実行される。病気のインプラント部位における骨欠陥 (例えば、骨ピーク) の手術的矯正によって、ポケットの深さは、減少されることができ、口腔衛生を容易にする軟組織形態を与える。しかし、患者の中には、治療に十分良好に反応せず、良好なプラーク制御及びインプラント周縁の粘膜の最小の炎症の代わりに、化膿及び進行性の骨量減少を含む徴候がいくつかの場合には再発しうる。かかる逆戻りの理由は、わかっていない。インプラント周縁の病気の病理学への理解の向上、及びさらに初期の検出及び介入を可能にするさらに敏感な診断ツールの開発に対する要望が間近になっている。これにより、感受性の患者におけるインプラント治療の予測可能性を増大させる。さらに、骨量減少の徴候を示すインプラントの生存率を増大

40

50

させるため、病気の進行の初期段階における臨床介入が望ましい。これは、病気の状態の初期の確立を要求し、従って、さらに敏感な技術が必要とされる。

【0003】

インプラント周縁の病気の診断は、骨量減少の放射線写真の証拠と組み合わせられた臨床測定に一般的に基づいている。インプラント周縁の炎症は、しばしば、ポケットの形成及び深化、インプラント周縁の上皮封止の破壊、プロービングでの出血（B o P）、化膿、及び進行性の骨量減少に臨床的に解釈される。これらの診断方法は、しばしば、インプラント支持組織における広範囲の病的変化の指標として、インプラント周縁の病気の診断のために組み合わせられて使用される。かかる診断方法の限定された感度及び/又は特異性は、病的変化の初期検出を困難にする。

10

【0004】

インプラント周縁の病気のための潜在的な予後及び診断ツールとしてのブランク試料における歯肉溝滲出液中の遺伝子マーカーの分析を使用することの有効性は、多数の著者によって様々な結果を伴って研究されている。

【0005】

しばしば研究されているマーカーは、インターロイキン - 1（IL - 1）であり、これは、免疫制御、炎症、及び結合組織の代謝を含むいくつかの生物学的過程に関与するプロ炎症性サイトカインである。IL - 1 は、骨吸収を刺激し、骨形成を阻害する（Panagakos et al, Int J Oral Maxillofac Implants 1996, 11: 794 - 799）。IL - 1 は、マクロファージによって主に生産されるが、好中球性の顆粒球を含む他の細胞によっても生産される。いくつかの研究によれば、インプラント周縁の病気の徴候を示すインプラントの周りの間隙液中のIL - 1 の存在が示されている。有意に上昇したレベルが、健康な部位と比べて（Panagakos et al, Int J Oral Maxillofac Implants 1996, 11: 794 - 799; Kao et al, Int J Oral Maxillofac Implants 1995, 10: 696 - 701; Murata et al, Clin Oral Imp Res 2002, 13: 637 - 643）、及びインプラント周縁の粘膜炎の部位と比べて（Murata et al, Clin Oral Imp Res 2002, 13: 637 - 643）、インプラント周縁の炎症について報告されており、インプラント周縁の炎症の初期の徴候を有する患者と進行した徴候を有する患者とを比べたときにも報告されている。しかし、Hultinら（Clin Oral Imp Res 2002, 13: 349 - 358）は、インプラント周縁の炎症と健康な部位との間にIL - 1 の発現に差がないという矛盾する結果を示した。

20

30

【0006】

インターロイキン - 8（IL - 8）は、プロ炎症性マーカーであり、好中球のための化学走化因子である。それは、歯周病（Nassar et al, Infection and Immunity 2002, 268 - 276; Goutoudi et al, Int J Dent 2012; 2012: 362905）及びインプラント周縁の炎症（Petkovic et al, Int J Oral Maxillofac Surg 2010, 39(5): 478 - 85）における微生物侵入に対する生来の免疫応答の制御に関与する。Nowzariら（Clin Implant Dent Relat Res 2008, 10(3): 166 - 173）は、健康な対象におけるインプラント及び歯の周りのサイトカインの存在を研究し、歯と比べてインプラントの周りでIL - 8の2倍の増大を見出している。

40

【0007】

インターロイキン - 6（IL - 6）は、造血、炎症、免疫応答、及び骨ホメオスタシスを制御するために様々な細胞によって生産される多機能性サイトカインである（Yoshitake et al, J Biol Chem 2008, 283: 11535 - 11540）。インプラント周縁の病気を有する対象からの唾液試料中のIL - 6のレベ

50

ルは、Liskmannら(Int J Oral Maxillofac Implants 2006, 21(4):543-50)の研究において、健康な対象からの唾液試料と比べて有意に上昇した。Konttinenら(Int J Periodontics restorative Dent 2006, 26:135-141)は、健康なインプラント部位と比べてインプラント周縁の炎症を有する失敗インプラントにおいて、統計的に高いレベルのIL-6を測定した。

【0008】

マトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)は、損傷した組織からのコラーゲンの分解及び除去に關与するタンパク質分解酵素である。MMPは、リポ多糖及びサイトカインなどの刺激への応答において、炎症部位に存在する細胞によって分泌される(Aboyoussef et al., Int J Oral Maxillofac Implants 1998, 13:689-696)。コラゲナーゼ及びゼラチナーゼは、MMPスーパーファミリーの二つのサブファミリーである。Kiveläe-Rajamaekiら(Clin Oral Impl Res 2003, 14:158-165)の発見によれば、MMP-8(コラゲナーゼ-2)の増大したレベルは、炎症性のインプラント周縁の病気の活性相と関連しているかもしれない。MMP-9(ゼラチナーゼB)の発現も研究されている。Maら(Clin Oral Impl Res 2003, 14:709-713)は、MMP-9と骨レベルの間の関連を示したが、Aboyoussefら(Int J Oral Maxillofac Implants 1998, 13:689-696)は、健康な部位とインプラント周縁の炎症の部位の間に有意差があることを示すことができなかった。

10

20

【0009】

MMPとマトリックスメタロプロテイナーゼの組織阻害剤(TIMP)の間のアンバランスは、細胞外マトリックス、基底膜、及び歯槽骨の分解を引き起こし、従って、歯周病を引き起こすと考えられている(Sorsa et al, Oral Diseases 2004, 10:311-318)。唾液中のMMP-8, TIMP-1、及び特にそれらの比率が、進行した歯周病の検出における潜在的な候補であることが示唆されている(Gursoy et al, Clin Periodontol 2010, 37:487-493)。

【0010】

プラスミノーゲン系は、生理学的及び病理学的な組織再モデル化における細胞外タンパク質分解において、中心的な重要性を有する(Collen, Thromb Haemost 1999, 82:259-270)。プラスミンは、多くの細胞外タンパク質を分解することができかつ潜在的なコラゲナーゼ及び他のメタロプロテイナーゼを活性化することができる広範囲に活性なプロテアーゼである。(Werb et al., New Eng J Med 1977, 296:1017-1023; Matrisian, Bioessays 1992, 14:455-463)。プラスミンは、非コラーゲン性ECMタンパク質を開裂することによって細胞外マトリックス(ECM)に対して直接作用し、及び様々な結合組織タンパク質に対する特異性で、他の酵素の全範囲のプロフォーム、特にマトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)のプロフォームを活性化することによって間接的に作用する。プラスミノーゲン系と他の組織分解系との間の相互作用を通して、プラスミノーゲンは、重要な主要なタンパク質分解の潜在的能力を示し、その活性化の厳密な制御は、組織の一体性を維持するために重要である。プラスミンは、プラスミノーゲンアクチベーター(二つのタイプのセリンプロテアーゼが同定されている:ウロキナーゼ型、u-PA及び組織型、t-PA)によって、その不活性な前駆体プラスミノーゲンから形成される。プラスミノーゲンアクチベーターは、プラスミノーゲンアクチベーターのインヒビター(PAI-1及びPAI-2)によって、生物分子1:1共有結合複合体の形成を通して特異的に阻害される。tPA及びPAI-2のレベルは、健康な部位からの歯肉溝滲出液よりも炎症部位からの歯肉溝滲出液において高いことが示されている(Kinnby, Biol Chem 2002, 383:85-92)。比較的増大し

30

40

50

たレベルのPAI-2は、妊娠及び歯周病における組織保護機能に関連している(Kinnby et al, J Periodont Res 1996, 31:271-277; Olofsson et al, J Periodont Res 2002, 37:60-65)。

【0011】

インプラント周縁の病気のための様々な治療代替案が提案されている。非手術的治療(例えば、接近手術なしでの創面切除)は、インプラント周縁の粘膜炎の場合には成功するだろうが、インプラント周縁の炎症を示す部位についてはそれほど効果的でないように見える(Renvert et al, J Clin Periodontol 2008, 35(Suppl 8):305-315)。臨床データによれば、全身抗生物質との組み合わせでの表面脱汚染を含む開放創面切除などの手術治療は、インプラント周縁の炎症の障害にとっては有効な治療選択肢でありうる(Claaffey et al, J Clin Periodontol 2008, 35(Suppl 8):316-332)。しかし、現在に至るまで、一般的な治療法は存在せず、進行したインプラント周縁の炎症は、治療するのが困難である。

10

【0012】

インプラントの稜領域の周りの周縁骨は、通常、インプラントの健康状態の重要な指標である。稜骨のレベルは、最初のインプラント手術の時点でのインプラントの稜位置から測定されることができる。骨量減少を評価する最も一般的な方法は、放射線写真評価による方法である。従って、骨レベルは、放射線写真上で測定されることができ、固定物と、インプラントに対して中位及び遠位の周縁骨の稜に対するその隣接点との間の接合点からの距離として定義されることができる(Ahlqvist et al, Int J Oral Maxillofac Implants 1990, 5(2):155-163)。もちろん従来放射線写真は、インプラント本体の周りの骨量減少の中位又は遠位の側面をモニターするにすぎない(Misch et al, Implant Dentistry 2008, 17(1):5-15)。進行中の骨量減少についての明確な情報の欠如は、インプラント周縁の病気の不要な又は不正確な治療を生じうる。インプラント周縁の骨レベルは、通常、診断時に撮影された放射線写真から決定される。骨レベルは、正常な骨レベルと比較され、より早い時点で撮影された一つ以上の放射線写真が、骨量減少を評価するために使用される。しかし、放射線写真は、骨の状況の静止画像を与える。従って、骨の脱石化の証拠は、進行中の病気の活性を必ずしも意味しない。これは、歯周病の骨レベルについても当てはまる。歯周病の進行についてのデータは、連続的な過程を示さず、代わりに、活性のバースト(悪化)、寛解、及び不活性な期間を示す(Hall et al, Eur J Oral Implantol 2011, 4(4):371-382)。それに加えて、放射線写真の限定された感度は、いくつかの病気に関与する病理学的な骨分解過程の極めて初期の段階の検出をほとんど可能にしない。さらに、全ての放射線写真の検査は、適切で再現性のある投影技術を使用して行なわれることが重要である。放射線写真に対して行なわれる測定の精度は、低く、特に、小さな平均骨量減少に関するときはそうである。このことは、これらの解釈に含まれる困難性を示唆する。さらに、骨量減少速度は、長い期間内、通常は一年間かけてのみ測定されることができ(Ahlqvist et al, Int J Oral Maxillofac Implants 1990, 5(2):155-163)、患者を頻りに放射線にさらすことを必要とする。従って、インプラント周縁の炎症及び歯周病の患者における進行中の骨分解の確立は、個別化された患者治療の精度を増大させるための必要条件であるように見える。特許出願GB1302257.9を参照されたい。本明細書に開示される本発明は、インプラント周縁の病気の状態を確立するための異なるアプローチを目指している。

20

30

40

【発明の概要】

【0013】

進行中の骨量減少についての明瞭な情報の欠如は、骨に影響を与える病気の不必要な、又は不正確な治療をもたらすおそれがあるので、個別化された患者治療及び病気の予後の

50

精度を増大させるために、インプラント周縁の組織の状態を迅速にかつ正確に確立することが極めて望ましい。放射線写真の限定された感度は、治療が患者に与えられた直後の治療効率の確立をほとんど可能にしない。得られた放射線写真は、試験時の周縁骨レベルについての情報を提供するが、進行中の骨分解の明瞭な確立を提供しない。さらに、従来の放射線写真を使用した周縁骨レベル変化の測定についての定量限界は、0.47mmであると以前に見積もられている (Ahlgqvist et al, Int J Oral Maxillofac Implants 1990, 5(2): 155-163)。従って、骨に影響を与える病気を有する患者におけるインプラント周縁の病気の状態の迅速な確立は、患者の診断及び治療の精度を増大させるための必要条件である。これは、患者を頻繁に放射線にさらすことも回避する。

10

## 【0014】

従って、本発明は、インプラント周縁の病気の状態を決定する方法であって、以下の工程を含むことを特徴とする方法を提供する：

a) エクスピボ試料において、tPA, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, TIMP-1及びPAI-2からなる群から選択される一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率を定量するか、及び/又はtPA及びtPA/PAI-2; PAI-2及びtPA/PAI-2; tPA, PAI-2及びtPA/PAI-2; IL-1及びIL-8; IL-8及びPAI-2; IL-6, TIMP-1及びPAI-2; tPA及びPAI-2; IL-1, IL-8及びIL-6; IL-1, IL-8, IL-6及びTIMP-1; IL-1, IL-8, IL-6, TIMP-1及びtPA; IL-1, IL-8, IL-6, TIMP-1及びPAI-2; IL-1, IL-8, PAI-2及びtPA; IL-1, IL-8, 及びPAI-2; IL-1, IL-8及びtPA; IL-1, IL-8及びtPA/PAI-2; IL-1, IL-8, TIMP-1及びPAI-2; IL-1, IL-8, TIMP-1及びtPA; IL-1及びPAI-2のマーカーの組み合わせのうちの一つ以上の発現レベルを定量する工程；及び

20

b) 工程a)で得られた発現レベルを、一つ以上の参照発現レベルと比較することによって、インプラント周縁の病気の状態を決定する工程。

## 【0015】

さらに、本発明は、本発明の方法を実行するためのキットを提供する。

30

## 【0016】

用語及び略号

cDNA	相補的DNA	
Cq	定量サイクル	
DNA	デオキシリボ核酸	
ECM	細胞外マトリックス	
ELISA	酵素結合免疫吸着アッセイ	
GAPDH	グリセルアルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼ	
GCF	歯肉溝滲出液	
HPRT1	ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ	40
IL	インターロイキン	
MC	粘膜炎	
MMPs	マトリックスメタロプロテイナーゼ	
mRNA	メッセンジャーRNA	
PAI-2	プラスミノゲンアクチベーターインヒビタータイプ2(セルピンB2)	
PI	インプラント周縁の炎症	
PICF	インプラント周縁間隙液	
qPCR	定量的ポリメラーゼ連鎖反応	
RNA	リボ核酸	
SEQ	配列	50

T I M P s	マトリックスメタロプロテイナーゼの組織インヒビター
t P A	組織プラスミノゲンアクチベーター
U B C	ユビキチン C
u P A	ウロキナーゼプラスミノゲンアクチベーター
Y W H A Z	チロシン 3 / トリプトファン 5 - モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質、 ゼータポリペプチド

【図面の簡単な説明】

【0017】

図1～7中で言及される発現レベルは、対象のインプラント周縁間隙液（P I C F）から採取された試料において測定された。

10

【0018】

【図1】得られた I L - 1 値の発現レベルは、治療前後にインプラント周縁の炎症を有する対象から採取された試料における P A I - 2 の発現レベルと比べられる（両方の場合において、正規化された発現）。I L - 1 の発現レベルは、有意に低く、P A I - 2 の発現レベルは、治療後も同様に留まっている。このことは、治療が効果を有し、対象のインプラント周縁の組織は健康であることを示す。

【0019】

【図2】得られた I L - 8 値の発現レベルは、治療前後にインプラント周縁の炎症を有する対象から採取された試料における P A I - 2 の発現レベルと比べられる。I L - 8 及び P A I - 2 の発現レベルは、治療後に変化せず、インプラント周縁の状態は、変化しなかった。

20

【0020】

【図3】I L - 6、T I M P - 1 及び P A I - 2 の発現レベルは、インプラント周縁の炎症と比べて粘膜炎を有する対象において、反対方向に調節されている（正規化された発現）。

【0021】

【図4】t P A の発現レベルは、インプラント周縁の炎症と比べて粘膜炎を有する対象において、反対方向に調節されている（正規化された発現）。

【0022】

【図5】t P A についての正規化された C q 値の関数としての、粘膜炎と比べたインプラント周縁の炎症の確率。

30

【0023】

【図6】I L - 1 についての正規化された C q 値の関数としての、健康なインプラント周縁の状態と比べたインプラント周縁の炎症の確率。

【0024】

【図7】t P A についての正規化された C q 値の関数としての、健康なインプラント周縁の状態と比べた粘膜炎の確率。

【0025】

【図8】得られた I L - 8 値の発現レベルは、治療前後にインプラント周縁の炎症を有する対象から採取された試料における t P A の発現レベルと比べられる。I L - 8 及び t P A の発現レベルは、治療後に変化せず、インプラント周縁の状態は、変化しなかった。

40

【発明を実施するための形態】

【0026】

詳細な記述は、本発明の個別の特徴の特定の及び / 又は好ましい変形例を開示する。本発明は、本発明の二つ以上の特徴について記述された二つ以上の特定の及び / 又は好ましい変形例を組み合わせることによって作成された特に好ましい実施形態としても考えられる。本発明は、インプラント周縁の病気の状態を決定する方法を提供する。前記方法は、a) エクスピボ試料において、パネルを形成する一群のマーカーのうちの一つ以上の（調節された）マーカーの発現レベル又はそれらの比率を定量する（ただし、前記一つ以上の調節されたマーカーは、プラスミノゲン系、炎症及び / 又はタンパク質分解活性に関連

50

する) ; 及び b ) 工程 a ) で得られた発現レベルを、参照値 ( 参照発現レベル ) と比較することによって、インプラント周縁の病気の状態を決定する工程。

【 0 0 2 7 】

バイオマーカー ( 以下、マーカーと称する ) は、客観的に測定されて、正常な生物学的過程、病気の過程、及び治療介入への薬理学的応答の指標として評価される物質として定義されることができる。バイオマーカーは、健康状態、病気の発症、治療応答、及びその結果をモニターするために使用されることができる分子である ( Z i a e t a l . , B i o l o g y a n d m e d i c i n e 2 0 1 1 , 3 ( 2 ) : 4 5 - 5 2 ) 。

【 0 0 2 8 】

プラスミノゲン系、炎症及び / 又はタンパク質分解活性に関連するマーカー又はその組み合わせ又はその比率は、特に限定されず、 I L - 1 及び / 又は I L - 1 0 、及び / 又は I L - 8 、及び / 又は I L - 6 、及び / 又は M M P - 8 、及び / 又は M M P - 2 、及び / 又は M M P - 9 、及び / 又は T I M P - 1 、及び / 又は t P A 、及び / 又は P A I - 2 のうちの一つ以上、又はそれらの組み合わせであることができる。好ましくは、 I L - 1 , I L - 8 , T I M P - 1 及び P A I - 2 である。また、好ましくは、 I L - 1 , I L - 4 , I L - 8 , t P A 及び P A I - 2 である。また、好ましくは、 t P A 及び P A I - 2 である。また、好ましくは、比率 t P A / P A I - 2 であり、 t P A が好ましい。本発明の好ましいマーカーは、以下のアクセッション番号によって同定されることができる ( バイオテクノロジー情報のための国立センター、 N C B I ) :

- インターロイキン - 1 ( I L - 1 ) N M \_ 0 0 0 5 7 6 . 2
- インターロイキン - 8 ( I L - 8 ) : N M \_ 0 0 0 5 8 4 . 3
- インターロイキン - 1 0 ( I L - 1 0 ) : N M \_ 0 0 0 5 7 2 . 2
- インターロイキン - 4 ( I L - 4 ) : M 2 3 4 4 2 .
- マトリックスメタロプロテイナーゼの組織インヒビター ( T I M P - 1 ) : N M \_ 0 0 3 2 5 4 . 2
- プラスミノゲンアクチベーターインヒビタータイプ 2 ( セルピン B 2 ) ( P A I - 2 ) : N M \_ 0 0 1 1 4 3 8 1 8 . 1
- 組織プラスミノゲンアクチベーター ( t P A ) : A Y 2 2 1 1 0 1

【 0 0 2 9 】

例えば、前記一つ以上の ( 調節された ) マーカーは、 t P A , I L - 1 , I L - 4 , I L - 6 , I L - 8 , I L - 1 0 , I L - 1 2 , I L 1 8 , M M P - 2 , M M P - 8 , M M P - 9 , T I M P - 1 及び P A I - 2 からなる群から選択されるか、又はそれらの任意の組み合わせであるか、又はそれらの任意の比率である。好ましくは、前記一つ以上の ( 調節された ) マーカーは、 t P A , I L - 1 , P A I - 2 及び I L - 8 からなる群から選択される。好ましくは、前記調節されたマーカーは、 t P A である。

【 0 0 3 0 】

好ましくは、前記マーカーの組み合わせは、以下のものである :

- |                                |                                  |    |
|--------------------------------|----------------------------------|----|
| tPA及びtPA/PAI-2                 | PAI-2及びtPA/PAI-2                 |    |
| tPA, PAI-2及びtPA/PAI-2          | IL-1β及びIL-8                      |    |
| IL-8及びPAI-2                    | IL-8及びtPA                        | 40 |
| IL-6, TIMP-1及びPAI-2            | tPA及びPAI-2                       |    |
| tPA及びIL-1β                     | tPA及びTIMP-1                      |    |
| IL-1β, IL-8及びIL-6              | IL-1β, IL-8, IL-6及びTIMP-1        |    |
| IL-1β, IL-8, IL-6, TIMP-1及びtPA | IL-1β, IL-8, IL-6, TIMP-1及びPAI-2 |    |
| IL-1β, IL-8, PAI-2及びtPA        | IL-1β, IL-8, 及びPAI-2             |    |
| IL-1β, IL-8及びtPA               | IL-1β, IL-8及びtPA/PAI-2           |    |
| IL-1β, IL-8, TIMP-1及びPAI-2     | IL-1β, IL-8, TIMP-1及びtPA         |    |
| IL-1β及びPAI-2                   |                                  |    |

10

20

30

40

50

## 【0031】

前記マーカーの比率は、例えば、 $tPA / PAI - 2$  及び / 又は  $IL - 1 / PAI - 2$  であることができる。

## 【0032】

好ましくは、前記マーカーの比率は、以下のものである：

-  $tPA / PAI - 2$

## 【0033】

上記比率によって与えられる情報は、逆の比率（例えば、 $PAI - 2 / tPA$ ）の計算からも得られることができる。

## 【0034】

例えば、本発明の方法は、インプラント周縁の病気の状態を決定する方法であって、以下の工程を含むことを特徴とする方法である：

a) エクスピボ試料において、 $tPA$ 、 $IL - 1$ 、 $IL - 4$ 、 $IL - 6$ 、 $IL - 8$ 、 $IL - 10$ 、 $IL - 12$ 、 $IL - 18$ 、 $TIMP - 1$  及び  $PAI - 2$  からなる群から選択される一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率を定量する工程；及び

b) 工程 a) で得られた発現レベルを、一つ以上の参照発現レベルと比較することによって、インプラント周縁の病気の状態を決定する工程。

## 【0035】

例えば、前記一つ以上の調節されたマーカーは、 $tPA$  である。例えば、前記一つ以上の調節されたマーカー又はその比率は、 $tPA / PAI - 2$  である。

## 【0036】

例えば、前記一つ以上の調節されたマーカーは、 $IL - 1$  及び  $IL - 8$  からなる群から選択されるか、又はそれらの任意の組み合わせであるか、又はそれらの任意の比率である。例えば、前記一つ以上の調節されたマーカーは、 $IL - 1$  及び  $IL - 8$  からなる。

## 【0037】

例えば、前記一つ以上の調節されたマーカーは、 $IL - 8$  及び  $PAI - 2$  及び / 又は  $IL - 8$  及び  $tPA$  からなる群から選択されるか、又はそれらの任意の組み合わせであるか、又はそれらの任意の比率である。例えば、前記一つ以上の調節されたマーカーは、 $IL - 8$  及び  $PAI - 2$  からなる。例えば、前記一つ以上の調節されたマーカーは、 $IL - 8$  及び  $tPA$  からなる。

## 【0038】

好ましくは、本発明の方法は、インプラント周縁の病気の状態を決定する方法であって、以下の工程を含むことを特徴とする方法である：

a) エクスピボ試料において、 $tPA$ 、 $IL - 4$ 、 $IL - 6$ 、 $IL - 10$ 、 $IL - 12$ 、 $IL - 18$ 、 $TIMP - 1$  及び  $PAI - 2$  からなる群から選択される一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率を定量する工程；及び

b) 工程 a) で得られた発現レベルを、一つ以上の参照発現レベルと比較することによって、インプラント周縁の病気の状態を決定する工程。

## 【0039】

例えば、前記一つ以上の調節されたマーカーは、 $IL - 6$ 、 $TIMP - 1$  及び  $PAI - 2$  からなる群から選択されるか、又はそれらの任意の組み合わせであるか、又はそれらの任意の比率である。例えば、前記一つ以上の調節されたマーカーは、 $IL - 6$ 、 $TIMP - 1$  及び  $PAI - 2$  からなる。

## 【0040】

好ましくは、前記一つ以上の調節されたマーカーは、 $tPA$  及び  $PAI - 2$  からなる群から選択されるか、又はそれらの任意の組み合わせであるか、又はそれらの任意の比率である。

## 【0041】

10

20

30

40

50

好ましくは、前記一つ以上の調節されたマーカーは、t P A 及び P A I - 2 からなる。

【0042】

好ましくは、前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベルは、t P A と P A I - 2 の間の比率 ( t P A / P A I - 2 ) である。

【0043】

好ましくは、前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベルは、t P A である。即ち、方法は、工程 a ) において t P A の発現レベルを定量することを含む。

【0044】

所望により、本発明の方法は、工程 a ) で得られた一つ以上の調節されたマーカーの発現レベルに関する情報をデータキャリア (例えば、電子的データキャリア) に保管するか、及び/又は工程 b ) で得られたインプラント周縁の病気の状態に関する情報をデータキャリア (例えば、電子的データキャリア) に保管する工程をさらに含む。

10

【0045】

本発明者は、プラスミノゲン系、炎症及びタンパク質分解活性に関連する一つ以上のマーカーの発現レベル、又はこれらのうちの二つ以上のものの間の比率が、インプラント周縁の病気の状態に関連することを示している。これは、粘膜炎及び/又はインプラント周縁の炎症の迅速で高感度の決定を可能にする。このことは、本発明より前には、行なわれることができなかつた。マーカーは、骨に影響を与える状態の存在又は非存在の指標でありうる。さらに、インプラント周縁の病気の状態は、患者が特定の治療を受けるべきであるということを示すことができる。

20

【0046】

粘膜炎及び/又はインプラント周縁の炎症は、インプラント周縁の組織の状態としても言及されることができる。

【0047】

本発明は、インプラント周縁の病気の状態の迅速な確立のための方法を提供し、患者が不要な放射線に暴露されることを防止し、診断、好適な治療の選択、及び/又はインプラントの予後の推定のための価値ある情報を臨床医に提供する。

【0048】

例えば、本発明は、粘膜炎やインプラント周縁の炎症などのインプラント周縁の病気の診断のための方法を提供する。例えば、本発明は、粘膜炎やインプラント周縁の炎症などのインプラント周縁の組織の状態の診断のための方法を提供する。

30

【0049】

例えば、本発明は、粘膜炎やインプラント周縁の炎症などのインプラント周縁の病気の予後を決定するための方法を提供する。例えば、本発明は、粘膜炎やインプラント周縁の炎症などのインプラント周縁の組織の状態の予後を決定するための方法を提供する。

【0050】

本発明の文脈では、インプラント周縁の病気の状態は、進行する骨量減少の測定を使用することなしに粘膜炎又はインプラント周縁の炎症であるとして規定されることができる。換言すれば、病気の状態は、プラスミノゲン系に関連する一つ以上のマーカーの発現レベル及び/又は一つ以上の炎症及び/又はタンパク質分解活性マーカーの発現レベルの差として規定されることができる。歯科用インプラントの特定の場合には、もし I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 及び T I M P - 1 マーカーのうちの一つ以上が、インプラント周縁の炎症の場合における同じマーカーと比べてダウンレギュレートされており、及び/又はもし P A I - 2 が、インプラント周縁の炎症の場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、病気の状態は、粘膜炎であるとして規定されることができる。歯科用インプラントの特定の場合には、もし I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 及び T I M P - 1 マーカーのうちの一つ以上が、インプラント周縁の炎症の場合における同じマーカーと比べてダウンレギュレートされており、及び/又はもし P A I - 2 が、インプラント周縁の炎症の場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、粘膜炎であるとして規定されることができる。

40

50

## 【 0 0 5 1 】

歯科用インプラントの特定の場合には、もし I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 及び T I M P - 1 マーカーのうちの一つ以上が、インプラント周縁の炎症の場合における同じマーカーと比べてダウンレギュレートされており、及び / 又はもし t P A が、インプラント周縁の炎症の場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、病気の状態は、粘膜炎であるとして規定されることができる。歯科用インプラントの特定の場合には、もし I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 及び T I M P - 1 マーカーのうちの一つ以上が、インプラント周縁の炎症の場合における同じマーカーと比べてダウンレギュレートされており、及び / 又はもし t P A が、インプラント周縁の炎症の場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、粘膜炎であるとして規定されることができる。

10

## 【 0 0 5 2 】

歯科用インプラントの特定の場合には、もしマーカー I L - 6 が粘膜炎及び / 又は健康な場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、病気の状態は、インプラント周縁の炎症であるとして規定されることができる。歯科用インプラントの特定の場合には、もしマーカー I L - 6 が粘膜炎及び / 又は健康な場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、インプラント周縁の炎症であるとして規定されることができる。

## 【 0 0 5 3 】

歯科用インプラントの特定の場合には、もしマーカー t P A がインプラント周縁の炎症の場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、病気の状態は、粘膜炎であるとして規定されることができる。歯科用インプラントの特定の場合には、もしマーカー t P A がインプラント周縁の炎症の場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、粘膜炎であるとして規定されることができる。

20

## 【 0 0 5 4 】

歯科用インプラントの特定の場合には、もし I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 及び T I M P - 1 マーカーのうちの一つ以上が、粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされており、及び / 又はもし P A I - 2 が、粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてダウンレギュレートされているなら、病気の状態は、インプラント周縁の炎症であるとして規定されることができる。歯科用インプラントの特定の場合には、もし I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 及び T I M P - 1 マーカーのうちの一つ以上が、粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされており、及び / 又はもし P A I - 2 が、粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてダウンレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、インプラント周縁の炎症であるとして規定されることができる。

30

## 【 0 0 5 5 】

歯科用インプラントの特定の場合には、もし I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 及び T I M P - 1 マーカーのうちの一つ以上が、粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされており、及び / 又はもし t P A が、粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてダウンレギュレートされているなら、病気の状態は、インプラント周縁の炎症であるとして規定されることができる。歯科用インプラントの特定の場合には、もし I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 及び T I M P - 1 マーカーのうちの一つ以上が、粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされており、及び / 又はもし t P A が、粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてダウンレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、インプラント周縁の炎症であるとして規定されることができる。

40

## 【 0 0 5 6 】

歯科用インプラントの特定の場合には、もし I L - 1 及び I L - 8 マーカーが、粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされており、及び / 又はもし

50

t P A 及び P A I - 2 が、粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてダウンレギュレートされているなら、病気の状態は、インプラント周縁の炎症であるとして規定されることができる。歯科用インプラントの特定の場合には、もし I L - 1 及び I L - 8 マーカーが、粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてアップレギュレートされており、及び / 又はもし t P A 及び P A I - 2 が、粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてダウンレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、インプラント周縁の炎症であるとして規定されることができる。

【 0 0 5 7 】

歯科用インプラントの特定の場合には、もしマーカー t P A が粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてダウンレギュレートされているなら、病気の状態は、インプラント周縁の炎症であるとして規定されることができる。歯科用インプラントの特定の場合には、もしマーカー t P A が粘膜炎の場合における同じマーカーと比べてダウンレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、インプラント周縁の炎症であるとして規定されることができる。

10

【 0 0 5 8 】

歯科用インプラントの特定の場合には、もし I L - 1 及び I L - 8 マーカーのうちの一つ以上が、健康な組織における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、診断されることができる。例えば、もし I L - 1 及び I L - 8 マーカーが、健康な組織における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、診断されることができる。

20

【 0 0 5 9 】

歯科用インプラントの特定の場合には、もし I L - 1 及び I L - 8 マーカーのうちの一つ以上が、健康な組織における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、インプラント周縁の炎症であるとして規定されることができる。例えば、もし I L - 1 及び I L - 8 マーカーが、健康な組織における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、インプラント周縁の炎症であるとして規定されることができる。

【 0 0 6 0 】

歯科用インプラントの特定の場合には、もしマーカー t P A が、健康な組織における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、粘膜炎の状態は、診断されることができる。歯科用インプラントの特定の場合には、もしマーカー t P A が、健康な組織における同じマーカーと比べてアップレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、粘膜炎であるとして規定されることができる。

30

【 0 0 6 1 】

歯科用インプラントの特定の場合には、もしマーカー t P A / P A I - 2 の比率が、健康な組織及び / 又はインプラント周縁の炎症の場合における同じマーカーの比率と比べてダウンレギュレートされているなら、インプラント周縁の組織の状態は、粘膜炎であるとして規定されることができる。歯科用インプラントの特定の場合には、もしマーカー t P A / P A I - 2 の比率が、健康な組織及び / 又はインプラント周縁の炎症の場合における同じマーカーの比率と比べてダウンレギュレートされているなら、粘膜炎の状態は、診断されることができる。

40

【 0 0 6 2 】

t P A 及び / 又は P A I - 2 などのプラスミノゲン系のためのマーカー、及び / 又はそれらの組み合わせ、及び / 又はそれらの比率は、粘膜炎とインプラント周縁の炎症とを区別するために、及び / 又はインプラント周縁の炎症及び / 又は粘膜炎などのインプラント周縁の組織の状態を診断するために使用されることができる。

【 0 0 6 3 】

I L - 4 及び / 又は I L - 1 及び / 又は I L - 8 及び / 又は I L - 1 0 及び / 又は I L - 1 2 及び / 又は I L 1 8 などの炎症についてのマーカー、及び / 又はそれらの組み合わせ、及び / 又はそれらの比率は、粘膜炎とインプラント周縁の炎症とを区別するために

50

、及び／又はインプラント周縁の炎症及び／又は粘膜炎などのインプラント周縁の組織の状態を診断するために使用されることができる。

【0064】

TIMP-1などのタンパク質分解活性インヒビターについてのマーカーは、粘膜炎とインプラント周縁の炎症とを区別するために、及び／又はインプラント周縁の炎症及び／又は粘膜炎などのインプラント周縁の組織の状態を診断するために使用されることができる。

【0065】

エキスビポ試料は、体液又は組織であることが好ましい。体液は、口腔液、及び／又は血液、及び／又は血清、及び／又は血漿、及び／又は脳脊髄液、及び／又は滑液、及び／又は腹膜液、及び／又は唾液であることができ、好ましくは歯肉溝滲出液であり、より好ましくは、インプラント周縁間隙液である。

10

【0066】

組織は、骨、及び／又は骨に隣接する組織、及び／又は結合組織、及び／または骨髄、及び／又は軟骨、及び／又は歯肉、及び／又は粘膜、及び／又はインプラント支持組織、及び／又はインプラントに隣接する骨、及び／又は歯に隣接する骨であることができる。

【0067】

好ましくは、エキスビポ試料は、体液であり、好ましくは、口腔液であり、好ましくは、歯肉溝滲出液であり、より好ましくは、インプラント周縁間隙液である。

【0068】

エキスビポ試料（そこから炎症及び／又はタンパク質分解活性についてのマーカーが測定される）は、対象の体液又は組織から得られることができる。好ましくは、エキスビポ試料は、滅菌ペーパーポイント（paper point）などの一つ以上の滅菌吸収体を、インプラント周縁の溝／ポケットの基部に挿入して、その場で少なくとも60秒間放置することによって得られる。好ましくは、三つ以上の滅菌ペーパーポイントが溝／ポケット中に挿入される。

20

【0069】

好ましくは、インプラント周縁の病気の状態についてのさらに正確な情報を得るために、二種、三種、四種、五種、六種、又はそれ以上のマーカーの発現レベル、又はそれらの比率が測定される。

30

【0070】

例えば、インプラント周縁の病気の状態についての情報を得るために、tPAの発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の病気の状態についての情報を得るために、PAI-2の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の病気の状態についての情報を得るために、tPA/PAI-2の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の病気の状態についてのさらに正確な情報を得るために、IL-1及びIL-8の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の病気の状態についての情報を得るために、IL-1、IL-8及びPAI-2の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の病気の状態についての情報を得るために、IL-1、IL-8及びtPAの発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の病気の状態についての情報を得るために、IL-1、IL-8及びtPA/PAI-2の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の病気の状態についての情報を得るために、IL-1、IL-8、tPA及びPAI-2の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の病気の状態についての情報を得るために、tPA及びtPA/PAI-2、及び／又はPAI-2及びtPA/PAI-2及び／又はtPA、PAI-2及びtPA/PAI-2の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の病気の状態についての情報を得るために、tPA及びIL-8、及び／又はPAI-2及びIL-8の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の病気の状態についての情報を得るために、IL-1及びPAI-2の発現レベルが測定される。

40

【0071】

50

例えば、インプラント周縁の状態についての情報を得るために、t P Aの発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の状態についての情報を得るために、P A I - 2の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の状態についての情報を得るために、t P A / P A I - 2の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の状態についてのさらに正確な情報を得るために、I L - 1 及びI L - 8の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の状態についての情報を得るために、I L - 1 , I L - 8 及びP A I - 2の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の状態についての情報を得るために、I L - 1 , I L - 8 及びt P Aの発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の状態についての情報を得るために、I L - 1 , I L - 8 及びt P A / P A I - 2の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の状態についての情報を得るために、I L - 1 , I L - 8 , t P A 及びP A I - 2の発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の状態についての情報を得るために、t P A、及び / 又はt P A 及びt P A / P A I - 2、及び / 又はP A I - 2 及びt P A / P A I - 2 及び / 又はt P A 及び / 又はP A I - 2 及びt P A / P A I - 2 及び / 又はI L - 8 及びt P Aの発現レベルが測定される。例えば、インプラント周縁の状態についての情報を得るために、t P A 及びI L - 8、及び / 又はP A I - 2 及びI L - 8の発現レベルが測定される。

10

#### 【0072】

エキスビオ試料中の炎症及び / 又はタンパク質分解の活性に関連する一種以上のマーカーの発現レベル又はその比率を定量する方法は、特に限定されず、核酸（例えばm R N A）を定量する方法、及び / 又はタンパク質を定量する方法（例えばR T - q P C R（以下、q P C Rと称する））、及び / 又はノーザンブロット、及び / 又は免疫アッセイ、及び / 又はE L I S A、及び / 又は放射線免疫アッセイ、及び / 又は磁気免疫アッセイ、及び / 又は蛍光免疫アッセイ、及び / 又は免疫沈降、及び / 又は表面プラスモン共鳴、及び / 又はウエスタンブロット、及び / 又は免疫組織化学、及び / 又はこれらの任意の組み合わせから選択されることができる。定量のための好ましい方法は、q P C Rである。実験手順は、通常、試料処理工程（即ち、抽出）を含む。

20

#### 【0073】

一種以上のマーカーの発現レベル又はその比率の定量は、一種以上の参照遺伝子によって正規化されることができる。正規化は、参照遺伝子の発現レベルに対する関心のある遺伝子の発現レベルの比率を報告することを含む。参照遺伝子は、無料で入手できるN o r m F i n d e r 17プログラムを使用して選択されることができる。好ましくは、参照遺伝子は、安定に発現されるものであり、それらの豊富さが試料中の合計量（q P C Rの場合は、m R N Aの合計量）との強い相関を示すものである。より好ましくは、参照遺伝子は、G A P D H , Y W H A Z , U B C、及び / 又はH P R T - 1 から選択され、これらの中でもY W H A Z 及びU B C が好ましい。

30

#### 【0074】

本発明の参照遺伝子は、以下のアクセッション番号によって同定されることができる。

Y W H A Z（参照遺伝子）：NM\_\_001135702.1

U B C（参照遺伝子）：NM\_\_001135702.1

40

#### 【0075】

本発明の文脈では、マーカーの発現レベルは、( i ) 濃度、又は( i i ) マーカーについて特異的な検出シグナル、又は( i i i ) 数学的変換による、( i ) 及び / 又は( i i ) に関連する値を意味することができる。

#### 【0076】

本発明の方法では、インプラント周縁の病気の状態（又はインプラント周縁の組織の状態）は、工程 a ) で得られた発現レベルを、一つ以上の参照発現レベル（参照値とも称する）と比較することによって決定されることができる。

#### 【0077】

一つ以上の参照発現レベルは、異なる時点で同一の源から採取されたエキスビオ試料か

50

らの前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率であることができる。

【0078】

一つ以上の参照発現レベルは、インプラント周縁の炎症の履歴を示す源から採取されたエキスビボ試料からの前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率であることができる。

【0079】

一つ以上の参照発現レベルは、粘膜炎の履歴を示す源から採取されたエキスビボ試料からの前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率であることができる。

10

【0080】

一つ以上の参照発現レベルは、健康な組織の履歴を示す源から採取されたエキスビボ試料からの前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率であることができる。

【0081】

qPCRの場合、相対的な遺伝子発現レベルは、各アッセイに対して Cq法 (Livak et al., Methods 2001, 25:402-408) を使用して、そして各遺伝子の遺伝子発現を参照遺伝子によって正規化することによって計算されることが好ましい。参照遺伝子は、例えば、無料で入手できる NormFinder 17 プログラム (www.mdl.dk/publicationsnormfinder.htm, October 2010) を使用して選択されることができる。正規化された遺伝子発現は、各対象について、対数変換の後で以下の式を使用して計算されることができる: 遺伝子 g の正規化された発現 =  $(Cq(n) - Cq(g))$ 。式中、 $Cq(g)$  は、遺伝子 g についての増幅サイクル数であり、 $Cq(n)$  は、対象から採集された試料についての正規化因子 (選択された参照遺伝子についての増幅サイクルの平均数) である。

20

【0082】

qPCRの場合、プラスミノゲン系、炎症及び/又はタンパク質分解の活性に関連する一種以上のマーカーの発現レベル又はその比率は、対応するアンプリコンの定量によっても定量されることができる。アンプリコンは、天然の又は人工の増幅又は複製事象の源及び/又は生成物である一片のDNA又はRNAとして定義されることができる。本発明の場合、炎症及びタンパク質分解の活性に関連する一種以上のマーカーの発現レベル又はその比率の定量のための好ましいアンプリコンは、以下のものである:

30

インターロイキン - 1 (IL - 1) : 配列番号 1

インターロイキン - 6 (IL - 6) : 配列番号 2

マトリックスメタロプロテイナーゼ - 8 (MMP 8) : 配列番号 3

インターロイキン - 8 (IL 8) : 配列番号 8

マトリックスメタロプロテイナーゼの組織インヒビター (TIMP - 1) : 配列番号 1

0

組織プラスミノゲンアクチベーター (tPA) : 配列番号 11

プラスミノゲンアクチベーターインヒビタータイプ 2 (セルピン B 2) (PAI - 2) : 配列番号 12

40

YWHAZ (参照遺伝子) : 配列番号 14

UBC (参照遺伝子) : 配列番号 15

【0083】

本発明の方法は、骨に影響を与える状態の存在又は非存在、好ましくは、骨包囲インプラント及び/又は歯に影響を与える状態の存在又は非存在を示すために使用されることができる。より好ましくは、前記状態は、インプラント周縁の病気、及び/又は歯周病であり、これらの中でも、インプラント周縁の病気が好ましい。

【0084】

インプラント周縁の病気 (骨分解の存在下でのインプラント周縁の炎症とも称される)

50

は、支持骨の減少を生じる、インプラントの周りの組織に機能的に影響を与える炎症過程として定義される (Becker et al, Int J Oral Maxillofac Implants 1990, 5: 31 - 38)。粘膜炎は、軟組織の炎症、膨張、プロービングに対する出血、及びある場合には化膿としてしばしば言及されるが、骨量減少の徴候は有さない。

【0085】

本発明の方法は、インプラント又は歯の予後の評価のためにも使用されることができる。

【0086】

本発明者らは、プラスミノゲン系、炎症及びタンパク質分解の活性に関連する特定のマーカーの発現レベル、又は二種以上のマーカーの間の比率、又はこれらの組み合わせとインプラント周縁の病気及び/又はインプラント周縁の組織の状態との間の関連について研究し、骨の影響を与える病気のための診断因子としてそれらを使用することを可能にした。従って、本発明によれば、骨に影響を与える病気、好ましくは骨包囲インプラント及び/又は歯に影響を与える病気を有するかどうかについて、個別の患者を診断することができる。

10

【0087】

例えば、本発明の方法によって、個々の患者は、粘膜炎及び/又はインプラント周縁の炎症を有するか又は有していないかについて診断されることができる。本発明者らは、インプラント治療を受けている患者から得られたインプラント周縁間隙液中のプラスミノゲン系、炎症及びタンパク質分解の活性に関連する特定のマーカーの発現レベル又は二種以上のマーカーの間の比率が、インプラント周縁の病気に関連することを示した。この方法は、インプラント周縁の病気の状態の迅速な診断及び適切な治療の選択を提供する。

20

【0088】

本発明者らは、インプラント治療を受けている患者から得られたインプラント周縁間隙液中のプラスミノゲン系、炎症及びタンパク質分解の活性に関連する特定のマーカーの発現レベル又は二種以上のマーカーの間の比率が、インプラント周縁の組織の状態に関連することを示した。この方法は、インプラント周縁の組織の状態の迅速な診断及び適切な治療の選択を提供する。

【0089】

従って、患者を放射線にさらすことは不要であり、臨床医は、治療を選択して患者の予後を確立するために、放射線写真によって評価される測定可能レベルの骨分解が進行するまで待つ必要がない。

30

【0090】

インプラント周縁の病気及び/又はインプラント周縁の組織の状態が測定されるエクスピボ試料は、骨に影響を与える病気、好ましくは骨包囲インプラント及び/又は歯に影響を与える病気を有していることができるか又は有していないことができる患者から得られることができる。好ましい患者は、一つ以上のインプラントを有する患者である。

【0091】

好ましくは、患者は、インプラント支持組織に影響を与える病気、及び/又は骨支持インプラントに影響を与える病気、及び/又は歯の周りの組織に影響を与える病気(例えば、インプラント周縁の炎症、及び/又は粘膜炎、及び/又は歯周病、及び/又は歯肉炎)、又はこれらの組み合わせを有するか、及び/又は有する可能性がある。より好ましくは、前記患者は、インプラント周縁の病気を有するか、及び/又は有する可能性がある。例えば、患者は、粘膜炎を有するか、及び/又は有する可能性がある。例えば、患者は、インプラント周縁の炎症を有するか、及び/又は有する可能性がある。

40

【0092】

患者のエクスピボ試料中のプラスミノゲン系及び/又は炎症及び/又はタンパク質分解についてのマーカー、例えば IL - 1 , IL - 8 , T I M P - 1 , P A I - 2 及び/又は t P A の発現レベルは、q P C R によって定量されることができる。

50

## 【0093】

どのようにして三つの前記マーカー（IL - 1 , IL - 8 , T I M P - 1）のうちの一つ以上が P A I - 2 に対して調節されるかの決定は、もし患者が粘膜炎又はインプラント周縁の炎症を有するのなら、確立されるだろう。どのようにして三つの前記マーカー（IL - 1 , IL - 8 , T I M P - 1）のうちの一つ以上が t P A に対して調節されるかの決定は、もし患者が粘膜炎又はインプラント周縁の炎症を有するのなら、確立されるだろう。患者は、彼 / 彼女自身のコントロール（参照発現レベル（参照値））であることができる。別の例では、同じマーカーが、別の患者又は他の患者の健康なインプラント部位、及び / 又は粘膜炎を有する部位、及び / 又はインプラント周縁の炎症を有する部位から採取された同じマーカーの発現レベルと比較される。好ましくは、この情報は、適切な治療及び / 又は病気の予後の指標である。

10

## 【0094】

健康な P I C F 及び / 又はインプラント周縁の組織からの同じマーカーの発現レベルと比較した P A I - 2 のアップレギュレーション及び IL - 1 及び / 又は IL - 8 及び / 又は T I M P - 1 の同様の発現レベルは、ケア口腔衛生（care oral hygiene）治療の標準を含む治療及び維持プログラムの指標であることができる。

## 【0095】

健康な P I C F 及び / 又はインプラント周縁の組織からの同じマーカーの発現レベルと比較した t P A のアップレギュレーション及び IL - 1 及び / 又は T I M P - 1 及び / 又は IL - 8 の同様の発現レベルは、ケア口腔衛生（care oral hygiene）治療の標準を含む治療及び維持プログラムの指標であることができる。

20

## 【0096】

健康な P I C F 及び / 又はインプラント周縁の組織からの同じマーカーの発現レベルと比較した IL - 1 及び / 又は IL - 8 及び / 又は T I M P - 1 のアップレギュレーション及び P A I - 2 の同様の発現レベルは、ケア口腔衛生治療の標準を含む治療及び維持プログラム、及び数ヶ月以内の引き続いての（臨床医 / 歯科医への）訪問の指標であることができる。

## 【0097】

健康な P I C F 及び / 又はインプラント周縁の組織からの同じマーカーの発現レベルと比較した IL - 1 及び / 又は T I M P - 1 及び / 又は IL - 8 のアップレギュレーション及び t P A の同様の発現レベルは、ケア口腔衛生治療の標準を含む治療及び維持プログラム、及び数ヶ月以内の引き続いての（臨床医 / 歯科医への）訪問の指標であることができる。

30

## 【0098】

もし IL - 1 及び / 又は IL - 8 及び / 又は T I M P - 1 のアップレギュレーションが、最初の訪問の後も又は引き続いての訪問の後も持続するのなら、それは手術治療の指標であることができる。

## 【0099】

もし健康な P I C F 及び / 又はインプラント周縁の組織からの同じマーカーの発現レベルと比較した P A I - 2 及び / 又は t P A の同様のレベル及び IL - 1 及び / 又は IL - 8 及び / 又は T I M P - 1 のアップレギュレーションが、（臨床医又は歯科医への）最初の訪問の後も又は引き続いての訪問の後も持続するのなら、それは手術治療の指標であることができる。

40

## 【0100】

もし P A I - 2 の発現レベルが、健康なインプラント周縁の組織からの参照と比較して IL - 1 及び / 又は IL - 8 及び / 又は T I M P - 1 と異ならないのなら、それは口腔衛生のための標準プログラムの指標であることができる。

## 【0101】

もし t P A 及び / 又は IL - 1 及び / 又は T I M P - 1 及び / 又は IL - 8 の発現レベルが、健康な P I C F 及び / 又はインプラント周縁の組織からの同じマーカーの発現レ

50

ベルと同様であるなら、それは口腔衛生のための標準プログラムの指標であることができる。

【0102】

もし t P A / P A I - 2 の発現レベルが、健康な P I C F 及び / 又はインプラント周縁の組織からの同じマーカーの発現レベルと比較してダウンレギュレーションされているなら、それは粘膜炎の指標であることができ、従って口腔衛生のための標準プログラムの指標であることができる。t P A / P A I - 2 の持続するダウンレギュレーション及び I L - 1 及び / 又は I L - 8 の持続するアップレギュレーションは、インプラント周縁の炎症の指標であることができ、手術治療の必要性の指標であることができる。

【0103】

もしインプラント周縁の組織が赤味及び炎症の徴候を示すのなら、臨床医（歯科医）は、粘膜炎の最初の指標を有することができる。しかし、これらの指標は、患者の状態（粘膜炎）の証明として十分ではない。本発明の方法を使用すれば、もし t P A 及び / 又は P A I - 2 の発現レベルが、健康な P I C F 及び / 又はインプラント周縁の組織からの同じマーカーの発現レベルと比較してアップレギュレーションされ、及び / 又は t P A / P A I - 2 の発現レベルが、健康な P I C F 及び / 又はインプラント周縁の組織からの同じマーカーの発現レベルと比較してダウンレギュレーションされているなら、臨床医（歯科医）は、粘膜炎の指標の情報を与えられ、従って、口腔衛生のための標準プログラムに従うように患者に推奨する。

【0104】

もしインプラント周縁の組織が赤味、炎症及び化膿の徴候を示すのなら、臨床医（歯科医）は、インプラント周縁の炎症の最初の指標を有することができる。しかし、これらの指標は、患者の状態（インプラント周縁の炎症）の証明として十分ではない。本発明の方法を使用すれば、もし t P A 及び / 又は P A I - 2 及び / 又は t P A / P A I - 2 の発現レベルが、健康な P I C F 及び / 又はインプラント周縁の組織からの同じマーカーの発現レベルと比較して同様である（即ち、それらの発現レベルが異ならない）のなら、臨床医（歯科医）は、インプラント周縁の炎症の指標の情報を与えられ、従って、ケア口腔衛生治療の標準を含む治療及び維持プログラムに従うように、そして数週間以内に引き続いて訪問するように患者に推奨する。

【0105】

もし赤味、膨張及び化膿が持続するなら、臨床医（歯科医）は、インプラント周縁の炎症の最初の指標を有することができる。しかし、これらの指標は、患者の状態（インプラント周縁の炎症）の証明として十分ではない。本発明の方法を使用すれば、もし t P A 及び / 又は P A I - 2 及び / 又は t P A / P A I - 2 の発現レベルが、健康な P I C F 及び / 又はインプラント周縁の組織からの同じマーカーの発現レベルと比較して同様である（即ち、それらの発現レベルが異ならない）のなら、臨床医（歯科医）は、インプラント周縁の炎症の指標及び手術治療の必要性の情報を与えられる。

【0106】

用語「ヒト対象」、「対象」、及び「患者」は、本願では相互に交換可能に使用される。用語「状態」、及び「病気」は、本願では相互に交換可能に使用される。

【0107】

さらに、本発明は、本発明の方法を実行するためのキットを提供する。特定の治療の指標である炎症性マーカー及び / 又はプラスミノゲン系、タンパク質分解活性についてのマーカー（例えば、t P A , I L - 1 , I L - 6 , I L - 8 , I L - 4 , I L - 10 , I L - 12 , I L 18 , T I M P - 1 及び P A I - 2、又はそれらの任意の組み合わせ又はそれらの任意の比率）の発現レベルは、このキットを使用して与えられることができる。このキットの助けによって、患者から採取された試料中のプラスミノゲン系及び / 又は炎症及び / 又はタンパク質分解の活性についてのマーカーの値が比較されることができる。本発明のキットは、試料採集装置を含むことができる。試料採集装置は、限定されず、体液又は組織などの試料を採集するための装置である。好ましくは、試料採集装置は、

10

20

30

40

50

インプラント周縁間隙液の試料を採集するために使用される。試料採集装置は、滅菌ペーパーポイントなどの吸収体、及び/又は注射器、及び/又は生検装置であることができる。好ましくは、試料採集装置は滅菌吸収体であり、より好ましくは、滅菌ペーパーポイントである。

【0108】

本発明のキットは、試料を保存するための保存媒地をさらに含むことができる。保存媒地の目的は、生物学的試料を保存することであり、下流の分析のために試料の一体性及び生存性を維持するように処方されたいかなる媒地であることもできる。好ましくは、保存媒地は、RNAアーゼの阻害剤を含むことができる。より好ましくは、保存媒地は、RNA Later 保存媒地 (Qiagen, Hilden, ドイツ) である。

10

【0109】

本発明のキットは、本発明の方法を実行するための指示書をさらに含むことができる。

【0110】

本発明のキットは、試料を中央検査室に送付するための箱をさらに含むことができる。中央検査室では、プラスミノゲン系及び/又は炎症及び/又はタンパク質分解の活性に関連する一種以上のマーカーの発現レベル又はこれらの組み合わせが、健康なインプラント部位及び/又は粘膜炎を有する部位及び/又はインプラント周縁の炎症を有する部位から採取された試料中の同じマーカーの発現と比較されることができる。発現レベル値の比較は、中央検査室で実行されることができる。

20

【0111】

代替的に、本発明のキットは、上述したようなプラスミノゲン系、炎症及び/又はタンパク質分解の活性に関連する一種以上のマーカーの発現レベル又はこれらの組み合わせ又はこれらの比率 (例えば、上述したような tPA, IL-1, IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, IL-12, IL18, MMP-2, MMP-8, MMP-9, TIMP-1 及び PAI-2、又はそれらの任意の組み合わせ又はそれらの任意の比率) を定量するために必要な要素をさらに含むことができる。この場合、キットは、プラスミノゲン系、炎症及び/又はタンパク質分解の活性に関連する一種以上のマーカー又はこれらの組み合わせを特異的に認識する少なくとも一つの基質及び少なくとも一つの検出可能なラベルを含むことができる。例えば、キットは、PAI-2 の発現レベルを、試料採取部位での IL-1, IL-8 及び/又は TIMP-1 のうちの一つ以上と比較するために必要な要素をさらに含むことができる。

30

【0112】

好ましくは、キットは、以下のマーカー及び/又はそれらの組み合わせ及び/又はそれらの比率の発現レベルを定量するために必要な要素を含む：

	IL-1 $\beta$	
tPA		
PAI-2	IL-6	
IL-4	IL-8	
IL-10	IL-12	
IL18	MMP-2	
MMP-8	MMP-9	
TIMP-1	IL-1 $\beta$ , IL-8 及び IL-6	
tPA 及び tPA/PAI-2	IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-6 及び TIMP-1	10
PAI-2 及び tPA/PAI-2	IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-6, TIMP-1 及び tPA	
tPA, PAI-2 及び tPA/PAI-2	IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-6, TIMP-1 及び PAI-2	
IL-1 $\beta$ 及び IL-8	IL-1 $\beta$ , IL-8, PAI-2 及び tPA	
IL-8 及び PAI-2	IL-1 $\beta$ , IL-8, 及び PAI-2	
IL-8 及び tPA	IL-1 $\beta$ , IL-8 及び tPA	
IL-6, TIMP-1 及び PAI-2	IL-1 $\beta$ , IL-8 及び tPA/PAI-2	
tPA 及び PAI-2	IL-1 $\beta$ , IL-8, TIMP-1 及び PAI-2	
tPA 及び IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ , IL-8, TIMP-1 及び tPA	
tPA 及び TIMP-1	tPA/PAI-2	20
IL-1 $\beta$ /PAI-2		

## 【 0 1 1 3 】

例えば、キットは、tPAの発現レベルを、試料採取部位でのIL-1、IL-8及び/又はTIMP-1のうちの一つ以上と比較するために必要な要素をさらに含むことができる。

## 【 0 1 1 4 】

例えば、キットは、tPA及び/又はPAI-2の発現レベルを、試料採取部位でのtPA/PAI-2の発現レベルと比較するために必要な要素をさらに含むことができる。

## 【 0 1 1 5 】

例えば、キットは、比率tPA/PAI-2の発現レベルを定量するために必要な要素をさらに含むことができる。例えば、キットは、比率PAI-2/tPAの発現レベルを定量するために必要な要素をさらに含むことができる。

## 【 0 1 1 6 】

これらの場合、患者は、キットを使用して自宅で試料を採取して比較を行なうことができる。

## 【 0 1 1 7 】

定量がmRNAの定量によって実行される場合、前記キットは、プラスミノーゲン系、炎症及び/又はタンパク質分解の活性に関連する一種以上のマーカーを検出して定量するために、一つ以上のプライマー配列も含むことができる。

## 【 0 1 1 8 】

定量がタンパク質の定量によって実行される場合、前記キットは、プラスミノーゲン系、炎症及び/又はタンパク質分解の活性に関連する一種以上のマーカーを検出して定量するために、一つ以上の基質も含むことができる。好ましい基質は、抗体であり、この抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、又はこれらのフラグメントであることができる。キットは、一次抗体、二次抗体、及び標識化された抗体をさらに含むことができる。

## 【 0 1 1 9 】

これらの場合、キットは、発現レベルの値を内挿して骨量減少速度を決定するために、骨吸収/再モデル化についてのマーカーに関連する一つ以上の検量線も含むことができる

。バイオマーカーを使用した骨量減少速度の定量のためのキットは、同じ発明者によって、特許出願 G B 1 3 0 2 2 5 7 . 9 中に以前に記載されている。

【 0 1 2 0 】

キットは、本発明の実施形態のいずれかの方法において使用されることが好ましいが、キットの用途は、特に限定されない。

【 0 1 2 1 】

所望により、キットは、（例えば本発明の方法の工程 a）で得られた）一つ以上の調節されたマーカーの発現レベルに関する情報を保管するための、及び/又は（例えば本発明の方法の工程 b）で得られた）インプラント周縁の病気の状態に関する情報を保管するための電子的データキャリアなどのデータキャリアを含むことができる。

10

【 0 1 2 2 】

本明細書中で使用される表現「一つ以上の (one or more)」は、1及び1以上のいかなる数の個別化された列挙（例えば、2, 3, 4, 5, 6 など）も含む。本明細書中で使用される表現「一つより大きい (more than one)」又は「いくつかの (several)」は、1より大きいいかなる数の個別化された列挙（例えば、2, 3, 4, 5, 6 など）も含む。

【 0 1 2 3 】

他に明記されない限り、用語「含む (comprising)」は、本明細書中では、「含む」によって導入されたリストの部材に加えて、さらなる部材が所望により存在していてもよいということを示すために使用される。しかし、本発明の特定の実施形態として、用語「含む」が、さらなる部材が存在する可能性を包含しないことも想定される。つまり、この実施形態のために、「含む」は「からなる (consisting of)」の意味を有するものとして理解されるべきであることも想定される。

20

【実施例】

【 0 1 2 4 】

実施例 1：検量線  
対象

これは、非無作為の、片側ブラインド (blinded) の (試料分析者)、制御された臨床実験的研究であり、スウェーデンの Goeteborg 大学の地方論理委員会によって承認された (Dnr: 652-10)。この研究は、健康なインプラント部位を有する 25 人の対象、インプラント周縁の粘膜炎の部位を有する 25 人の対象、及びインプラント周縁の炎症の明らかな臨床的徴候を有する 25 人の対象を含んでいた。研究は、単一の評価時点に限定された。研究参加者は、スウェーデンの Goeteborg の Bränemark Clinic での計画されたインプラント維持セッションに参加した、歯科用インプラントで以前にリハビリされた対象から選択された。各対象は、研究に関連する手順が実行される前に、インフォームドコンセントのプロセスに参加し、インフォームドコンセント書類 (ICF) に日付を入れて署名した。対象 1 人あたり一つのインプラント部位が評価され、選択された部位は、以下に記述される基準に基づいて、健康な (HI) 部位、粘膜炎 (MC) の部位、又はインプラント周縁の炎症 (PI) の部位として分類された。インプラント周縁間隙液 (PICF) は、インプラント部位あたり三つのプールされたペーパーポイントを使用してインプラント部位から採集された。試料分析及び統計に  
関与する全ての人は、対象の身元を知らされず、試料分析に関与する人は、試料の種類 (HI, MC 又は PI) を知らされなかった。遺伝子マーカーの発現の分析は、独立した試験検査室 (Tata BioCenter, Goeteborg, スウェーデン) によって実行された。

30

40

【 0 1 2 5 】

算入 / 除外基準

本研究に参加するために、各対象は、表 1 に与えられる一般基準 1 ~ 5 のそれぞれを満たしていた。HI, MC 又は PI 群のいずれかに含めるために、対象は、表 2, 3, 4 にそれぞれ与えられる算入基準を満たしている必要があった。全ての三つの群についての除

50

外基準は、表 5 に与えられている。対象の健康状態及び治療（例えば、抗炎症治療、骨粗しょう症、糖尿病、未制御の上皮小体機能亢進症、コルチコイド、及び骨同化治療、悪性腫瘍の病歴、タバコ及び / 又は他のニコチン含有製品の使用）は、除外基準ではなかったが、かかる状態、治療、及び使用は、症例報告書（CRF）に記録された。抗生物質治療を除く、対象の登録の 30 日前より後に受け取られた全ての正規の処方薬物、及び / 又は他の正規の治療は、許可され、CRF に記録された。研究登録の 3 ヶ月前より後の抗生物質治療は、禁止された。

【0126】

対象の年齢、性別、口腔の健康状態、M o m b e l l i の改変された出血指数（m B I）、改変されたプラーク指数（m P I）、インプラント周縁のポケットの深さ（P I P D）、附着した粘膜の高さ、及び化膿の存在も、全ての対象について CRF に記録され、定量された。

10

【0127】

両群における対象の登録は、有資格基準を満たした対象について、引き続いて行なわれた。算入期間は、約 1 年であり、全ての三つの群の対象は、全期間にわたって登録された。

【0128】

無作為化は、適用可能でなかった。臨床試験及び P I C F 試料採集を行なう臨床研究者は、研究パラメータを知らされていた。試料分析に關与する全ての他の人は、対象の身元を知らされなかった。P I C F 試料の q P C R 分析の実行に關与する人は、試料の種類（H I, M C 又は P I）を知らされなかった。統計分析の実行に關与する人は、研究集団を知らされていた。

20

【0129】

健康な群からの一人の対象は、抗生物質の使用のため、スクリーニングの失敗として報告され、新しい対象と置換された。全てのインプラントは、1985 年～2010 年の間に配置された。対象の主要な特徴は、表 8 に記載されている。機能の平均時間は、H I, M C 及び P I 群について、それぞれ 14 年、13 年及び 14 年であった。H I, M C 及び P I 群の対象のうち 19 人（76%）、16 人（64%）及び 15 人（60%）はそれぞれ、機械加工された表面を有するインプラント（B r a n e m a r k S y s t e m（登録商標）インプラント）を与えられた。H I, M C 及び P I 群の対象のうち 11 人（44%）、9 人（36%）及び 8 人（32%）はそれぞれ、陽極酸化された表面を有するインプラント（B r a n e m a r k S y s t e m（登録商標）インプラント）を与えられた。H I 群の 5 人対象、及び M C 及び P I 群のそれぞれの 1 人対象は、両方のタイプの表面を持つインプラントを有していた。M C 群の 1 人対象及び P I 群の 3 人対象は、規定できない表面を持つインプラントを有していた。

30

【0130】

インプラントは、上顎及び下顎の両方から選択され、インプラントの配置及びインプラントのタイプ（即ち、デザイン、長さ、幅、表面）についての明らかな相違は、3つの群の間に観察されなかった。歯科状態及び補綴構造物についての臨床上的相違も、群間で観察されなかった。

40

【0131】

骨量減少、及び骨量減少速度、及び平均的な M o m b e l l i の改変された出血指数（m B I）及びプラーク指数（m P I）は、有資格基準を満たしていた。インプラント周縁の炎症の群における対象についての骨量減少及び骨量減少速度、インプラント周縁のポケットの深さ（P I P D）、附着した粘膜の平均高さ、及び化膿を示す対象の数は、表 8 に与えられている。データは、P I C F 試料採取部位に言及している。H I 群の全ての対象は、健康な粘膜を示したが、M C 及び P I 群の対象は、中間の状態の粘膜の健康を示した。M C 群における 7 人対象（28%）は、試験部位で化膿を示した。P I P D は、P I 群対 M C 群における対象について（ $p < 0.0001$ ）、P I 群対 H I 群における対象について（ $p < 0.0001$ ）、及び M C 群対 H I 群における対象について（ $p < 0.00$

50

01) 有意に異なっていた。

#### 【0132】

一般的な健康状態のデータは、MC及びPI群における多くの対象が、HI群と比較して中間の健康状態を有することを示した。対象は、健康状態において大きな相違を示し、そこでは、研究集団中の1人又は2人の対象のみが、リウマチ性関節炎などの特定の状態を示し、何人かの対象は、心臓病などの同じ状態を示した。一つ以上の群において研究群当たり3人以上の対象において示された健康状態は、表8に与えられている。健康な群における対象は、粘膜炎の群における対象 ( $p < 0.0001$ ) 及びインプラント周縁の炎症の群における対象 ( $p < 0.0001$ ) と比較して、有意に良好な口腔衛生を有していた。喫煙は、健康な群においては、粘膜炎の群における対象 ( $p = 0.0046$ ) 及びインプラント周縁の炎症の群における対象 ( $p = 0.0001$ ) と比較して、有意に一般的でなかった。歯周病及びインプラント周縁の炎症の履歴は、健康な群では、粘膜炎の群における対象 ( $p = 0.025$ ) 及びインプラント周縁の炎症の群における対象 ( $p < 0.0001$ ) と比較して、有意に少なかった。インプラント周縁の炎症の履歴は、インプラント周縁の炎症の群では、粘膜炎の群と比較して有意に一般的であった ( $p = 0.0023$ )。

10

#### 【0133】

##### 試料採集

PICF試料採集は、以下のようにして行なわれた。三つの滅菌ペーパーポイント (Roekel, Coltene, ドイツ) は、インプラント周縁の溝/ポケットの基部に挿入され、選択されたインプラント部位について少なくとも60秒間その場に放置された。三つのペーパーポイントは、RNALater保存媒地 (Qiagen, Hilden, ドイツ) を含む一つの2mlプラスチックチューブ (マイクロチューブ、2ml, Sartstedt, Numbrecht, ドイツ) に直ちに移された。即ち、三つの試料がプールされた。チューブを取り扱うときは、清潔な手袋が常に使用された。ペーパーポイントは、保存媒地中に完全に浸漬された。プールされた試料は、試料採集日に、常温でBranemark Clinicから、遺伝子マーカーの分析のために地方の検査室に移送された。

20

#### 【0134】

##### 試料の取り扱い及び分析

qPCR試料の分析は、TATAAバイオセンターAB (Goeteborg, スウェーデン) で、Hallら (Eur J Oral Implant 2011, 4(4): 371-382) によって以前に記述された標準手順に従って行なわれた。手短に述べると、ペーパーポイントに付着した細胞からのRNAは、TATAAバイオセンターで抽出された。次に、細胞は、Qiagen RNeasy Micro kit (Qiagen AB, Solna, スウェーデン) を製造者の指示に従って使用して精製された。キット中に含まれる担持RNAは、抽出中のRNAの損失を最小限にするために使用された。RNAは、BioRad iScript cDNA合成キット (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, California, 米国) を製造者の指示に従って、5µlのRNAを使用してcDNAに変換された。cDNAは、50µlのUltraPure水 (Invitrogen Corp., Carlsbad, California, 米国) 中に希釈された。次に、試料の定量的ポリメラーゼ連鎖反応 (qPCR) 分析が行なわれた。分析された生化学的マーカーは、表6に示される。Perfecta SYBR Green Supermix (Quanta Biosciences, Gaithersburg, Maryland, 米国)、及び2µlのcDNAテンプレート、及び0.4µMのフォワード及びリバースプライマーが、qPCRに使用された。各cDNA試料は、二連で定量された。以下の温度プロトコールが使用された：酵素活性化を98°Cで3分間、その後、95°Cで20秒間、60°Cで20秒間、及び72°Cで20秒間を45サイクル。蛍光検出は、最後の温度サイクル中にFAM/SYBRチャンネルで行なわれた。実験は、LightCycler 480システム

30

40

50

(Roche, Penzberg, ドイツ)で行なわれた。増幅後、解離/融解曲線が、特定の生成物が生成されたことを確認するために作成された。相対的遺伝子発現レベルは、Cq法(Livak et al., Methods 2001, 25:402-408)を使用して、各アッセイについて90%の効率を使用して、及び各遺伝子の遺伝子発現を、自由に利用できるNormFinder17プログラムを使用して選択された二つの参照遺伝子(UBC及びYWHAZ)によって正規化することによって計算された。二つの遺伝子は、四つの遺伝子GAPDH, YWHAZ; UBC, HPRT-1をプログラム中で実行した後に選択された。四つの正規化遺伝子の選択は、我々の以前の実施可能性研究(Hall et al., Eur J Oral Implantol 2011, 4(4):371-382)からの結果に基づいていた。そこでは、九つの参照遺伝子が調査され、ペーパーポイントを使用したPICF試料採集が使用された。主要な基準は、参照遺伝子の発現における変動は、HI, MC及びPI群内及び群間で最小であるべきであるということであった。

10

## 【0135】

定量限界(LOQ)は、Cqについて、全ての遺伝子について、分光光度計によって定量された精製PCR生成物に基づいて決定された。各点において4連で5点の標準曲線が全てのアッセイについて作成され、 $10 \sim 10^6$ コピー数/ $\mu\text{l}$ の濃度で10倍希釈シリーズで実行された。決定されたLOQ値より上の全てのデータは、分析から省略された。この手順は、データ分散を減少させ、データ分布を狭くし、これにより三つの対象群間の遺伝子発現の有意差の観察の可能性を増大させた。

20

## 【0136】

qPCR分析が試料マトリックス(例えば化膿の存在)によって阻害されたかどうかを調査するために、PI群からの14個の試料が、RNAスパイク(#RS12JG, TATAAバイオセンターAB)の既知の濃度でスパイク(spike)され、同じ濃度でスパイクされた水試料と比べられた。一つの試料が、PI群の14人の対象から、化膿を示す一つのインプラント部位から滅菌吸引針で採集された。吸引針での試料採集部位は、ペーパーポイントでの試料採集部位と同じではなかったが、類似していた。吸引針(Metal Suction Tip,  $0.7 \times 70 \text{ mm}$  22G, Mediplast, Malmoe, スウェーデン)は、選択された部位のインプラント周縁の溝/ポケットの基部に挿入された。試料を含む針は、プラスチック製注射器(1ml, BD Plastipak, Mediplast, Malmoe, スウェーデン)から直ちに除去され、やさしく折り曲げられ、一つの4.5mlプラスチック凍結チューブ(Nunc CryoTube Vials, Fisher Scientific, Goeteborg, スウェーデン)中に入れられた。チューブの蓋は閉められ、チューブは、液体窒素で魔法瓶中で-196で凍結され、阻害分析のために検査室(TATAAバイオセンター)に直ちに移送された。吸引針及びプラスチック製チューブを取り扱うときは、清潔な手袋が常に使用された。

30

## 【0137】

純粋なスパイクでの抽出と、試料マトリックス+スパイクでの抽出の間で、有意差は観察されることができなかった。14個の試験された試料の全てについて、純粋なスパイクとマトリックス+スパイクとの間の差は、 $Cq < 0.3$ であり、これは、遺伝子発現における25%未満の差に相当し、試料マトリックスが逆転写又はqPCR反応を阻害しなかったことを示す。加えて、二次分析は、PI群において0.5mm/年未満の骨量減少速度を有する対象からの試料がHI及びMC対象と比較されたときに、TRAP及びCatKの平均発現に有意差がないことを示した。

40

## 【0138】

各群におけるプラスミノゲン系、炎症及び骨吸収についての遺伝子マーカーの発現は、表9に与えられている。TRAP及びCatKの発現は、いかなる群においても有意に異ならなかった。

## 【0139】

50

## 実施例 2 ~ 9 についての統計方法

三つの研究群間の遺伝子マーカー発現レベルの差は、分散分析 (ANOVA) を使用して評価された。データ分析において、対数データ変換が行なわれ、独立した試料間の差について 95% の信頼区間が使用された。

## 【0140】

正規化された遺伝子発現は、各対象について、対数変換の後で以下の式を使用して計算された：遺伝子  $g$  の正規化された発現 =  $(Cq(n) - Cq(g))$ 。式中、 $Cq(g)$  は、遺伝子  $g$  についての増幅サイクル数であり、 $Cq(n)$  は、対象から採集された試料についての正規化因子 (選択された参照遺伝子についての増幅サイクルの平均数) である。分散分析は、HI, MC 及び PI 群において、正規化された遺伝子発現を使用して行なわれた。

10

## 【0141】

もし HI, MC 及び PI 群間の可能な差の調査が二つの遺伝子マーカーのみを含むのなら、0.05 未満の  $p$  値が統計的に有意であるとみなされるだろう。しかし、研究は、LOQ 分析中にいくつかのマーカーが除外された後に八つの遺伝子マーカーを含んでいたため、集団有意性についての Bonferroni 修正が使用され、0.0063 未満の  $p$  値が統計的に有意であるとみなされた。

## 【0142】

各対象について計算された正規化された遺伝子発現は、同じ対象について同じ時点での放射線写真によって与えられる骨量減少についての情報と相関された。放射線写真検査技術は、当該技術分野では周知であり、Ahlgvistら (Int J Oral Maxillofac Implants 1990, 5(2): 155-163) に記載されるようにして行なわれることができる。骨レベルは、放射線写真上で測定されることができ、固定物と、インプラントに対して中位及び遠位の周縁骨の稜に対するその隣接点との間の接合点からの距離として定義される。

20

## 【0143】

## 実施例 10 及び 11 についての統計方法

遺伝子マーカーは、連続変数として処理され、平均、標準偏差 (SD)、中央値、最小値、及び最大値として示された。二つの群の間の比較のために、Fisher の正確な試験が二分変数について使用された。相関分析は、Spearman の相関ランク試験を使用して行なわれた。3つの群間で異なる対をなす遺伝子マーカーを同定するために、単一変数ロジスティック回帰分析が行なわれた。独立した遺伝子マーカーを選択するために、単一変数  $p < 0.15$  を有する全てのマーカーは、段階的多数回帰分析に含められた。ロジスティック回帰分析からの結果は、未調整のままでは与えられ、95% の信頼区間及び  $p$  値で Odds Ratio (確率比、OR) で調整された。OR は、所定のマーカーについての遺伝子発現における一単位の増加についての P 群に属する確率の変化である。独立した遺伝子マーカーの関数としての P 群に属する確率は、ロジスティック回帰から計算され、グラフに与えられる。対になったインプラント周縁の組織の状態 (PI, MC, HI) を区別するために選択されたマーカーを使用するための適合度として、ROC 曲線が決定された。ROC 曲線の下側の面積は、インプラント周縁の炎症を有する無作為に選択された対象が、インプラント周縁の炎症を有さない無作為に選択された対象と比較して、選択されたマーカーのアップ又はダウンレギュレーションを有することになる確率である。もし ROC 曲線の下側の面積が 0.5 であるなら、それは、所定のマーカーが、インプラント周縁の炎症と、研究された他の二つのインプラント周縁の組織の状態 (HI, MC) とを区別するために使用されることができないということの意味する。もし ROC 曲線の下側の面積が 1 であるなら、それは、所定のマーカーが、PI, MC 及び HI 状態を完全に区別するために使用されることができるとを意味し、感度 = 1.0 であり、特異性 = 1.0 であることを意味する。tPA と比率 tPA / PAI - 2 の間の極めて強い負の相関 ( $r_s = -0.97$ ,  $p < 0.0001$ ) のため、この比率は、単一変数ロジスティック分析中にのみ含められ、多数ロジスティック分析中には含められなかった。

30

40

50

## 【 0 1 4 4 】

無料で入手可能なプログラム Normfinder 3.0 が、データの正規化のための最良の参照遺伝子を同定するために使用された。計算の結果、同等の重みを有する二つの遺伝子の組み合わせ Y W H A Z と U B C が、データの正規化のために選択された。なぜなら、両方の遺伝子の平均が使用されたときに H I , M C 及び P I 群内及びこれらの群間で参照遺伝子発現の変動が最小であったからである。正規化された遺伝子発現は、各対象について、対数変換の後で以下の式を使用して計算された：遺伝子  $g$  の正規化された発現 =  $(Cq(n) - Cq(g))$ 。式中、 $Cq(g)$  は、遺伝子  $g$  についての増幅サイクル数であり、 $Cq(n) = (Cq(Y W H A Z) + Cq(U B C)) / 2$  は、対象から採集された試料についての正規化因子である。統計分析は、H I , M C 及び P I 群において、正規化された遺伝子発現を使用して行なわれた。

10

## 【 0 1 4 5 】

表 1

一般的な算入基準
研究に参加することに対するインフォームドコンセントを与えられた
18才以上
上顎及び／又は下顎において歯科用インプラントでリハビリされた。インプラントは、一年以上機能しているべきである。
歯周ペーパーポイント及び吸引針を使用したPICFの採取を可能にする状態
機能において、少なくとも一年後の二つの異なる時点で撮像された三つのインプラントの少なくとも二つの評価可能な放射線写真が利用可能でなければならない。最も最近の放射線写真は、三ヶ月以上古いものであってはならない。

20

## 【 0 1 4 6 】

表 2

HI群における対象についての算入基準
いかなるインプラントの周りにも、病理学的骨量の減少の放射線写真での証拠がない(インプラント装着の最初の年における1.5mmを超えない骨量減少速度、及びその後の年の0.2mmを超えない骨量減少速度)
いかなるインプラントの周りにも炎症の徴候がなく、かつ表面プローピングに対する出血がないか又は限定された出血しかない(変更された出血指数mBI=0又は1)
いかなるインプラントにおいても触診時に化膿がない

30

## 【 0 1 4 7 】

表 3

MC群における対象についての算入基準
いかなるインプラントの周りの部位においても、病理学的骨量の減少の放射線写真での証拠がない(インプラント装着の最初の年における1.5mmを超えない骨量減少速度、及びその後の年の0.2mmを超えない骨量減少速度)
少なくとも三つのインプラントの周りでの表面プローピングに対する出血(変更された出血指数mBI = 2又は3)
表面プローピングに対して出血を示すインプラントの周りのインプラント周縁粘膜の赤味及び膨張

40

## 【 0 1 4 8 】

表 4

PI 群における対象についての算入基準
病理学的骨量減少の明白な徴候を示す放射線写真を有する少なくとも三つのインプラント部位
少なくとも三つのインプラントの周りでの表面プロービングに対する出血(改変された出血指数 mBI = 2 又は 3)
放射線写真での骨量減少及び表面プロービングに対する出血を示すインプラントの周りの触診時の化膿

【 0 1 4 9 】

10

表 5

除外基準
研究に参加することに対するインフォームドコンセントを与えることができない
研究算入の3ヶ月前より後の抗生物質治療の履歴
選択されたインプラント部位のいずれかにおいて、増強手順が行なわれているか又は行なわれた。
関心のある顎においてインプラントによって支持されたオーバーデンチャーを有する

【 0 1 5 0 】

20

表 6. 分析された遺伝子マーカー

#	遺伝子マーカー	配列番号	略号	主要な生物学的過程
1	インターロイキン-1 $\beta$	13	IL-1b (IL-1 $\beta$ )	炎症
2	インターロイキン-8	4	IL-8	炎症
3	マトリックスメタロプロテイナーゼ-1の組織インヒビター	5	TIMP-1	タンパク質分解活性のインヒビター
4	プラスミノゲンアクチベーターインヒビター-2	6	PAI-2	タンパク質分解活性のインヒビター
5	インターロイキン6	2	IL-6	骨分解
6	チロシン3/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質、ゼータポリペプチド	14	YWHAZ	正規化遺伝子
7	ユビキチンC	15	UBC	正規化遺伝子

30

【 0 1 5 1 】

表 7. 軟組織の状態

	HI 群	MC 群	PI 群
PIPD (mm)	2.1 (SD=0.7)	3.1 (SD=0.9)	5.5 (SD=2.3)
付着した粘膜の高さ (mm)	1.3 (SD=1.0)	1.4 (SD=1.1)	1.3 (SD 1.2)
化膿(対象の数)	0	7	25

40

【 0 1 5 2 】

表 8. 研究された三つの群についての対象の状態

	インプラント周縁の炎症の群 (PI) (n=25)	粘膜炎の群 (MC) (n=25)	健康な群 (HI) (n=25)
平均年齢	68 (12) 44 (50;89)	71 (9) 39 (55;95)	72 (15) 33 (29;95)
性別	17 F (68%) 8 M (32%)	6 F (24%) 19 M (76%)	15 F (60%) 10 M (40%)
インプラント: 機能している平均時間	14 (7) 17 (4;25)	13 (7) 13 (2;26)	14 (7) 13 (1;24)
PIPD (mm)	5.5 (2.3) 5 (3;10.5) P vs M; p<0.0001 P vs H; p<0.0001	3.1 (0.9) 3 (2;5) M vs H; p<0.0001	2.1 (0.7) 2 (1;4)
qPCR試料採取部位での平均周縁骨量減少速度	5.1 mm (2.3 mm); 4.4 (1.2;10.5) 及び 0.7 mm/年 (1.1); 0.5 (0;3.3)	インプラント装着の最初の年における 1.5mmを超えない骨量減少速度、及びその後の年の 0.2mmを超えない骨量減少速度	インプラント装着の最初の年における 1.5mmを超えない骨量減少速度、及びその後の年の 0.2mmを超えない骨量減少速度
歯周病の病歴	11 (44%) P vs H; p=0.025	9 (36%)	3 (12%)
インプラント周縁の炎症の病歴	14 (45%) PI vs MC; p=0.0023 PI vs HI; p<0.0001	3 (12%)	0
喫煙者	14 (45%) PI vs HI; p=0.0001	10 (40%) MC vs HI; p=0.0046	1 (4%)
劣った口腔衛生	12 (48%) PI vs HI; p<0.0001	13 (52%) MC vs HI; p<0.0001	0
高血圧	8 (32%)	8 (32%)	7 (28%)
心臓血管病	6 (24%)	6 (24%)	4 (16%)
高コレステロール	4 (16%)	2 (8%)	2 (8%)
アレルギー	5 (20%)	4 (16%)	4 (16%)
報告された平均 (SD) / 中央値 (最小値; 最大値) 及び p < 0.05			

10

20

30

40

表 9. インプラント周縁の炎症を有する対象、粘膜炎を有する対象、及び健康な対象からの試料における遺伝子発現(「実施例2～9についての統計方法」の欄に記載されたような、正規化されたCq値の対数変換;nは対象の数である)

変数	インプラント周縁の炎症 (n=25)	粘膜炎 (n=25)	健康 (n=25)
IL1β	3.99 (0.67) 4.11 (1.63; 4.91) n=20	2.84 (1.31) 2.84 (-0.37; 4.70) n=23	3.09 (1.15) 3.41 (0.06; 4.69) n=25
IL-8	4.70 (0.98) 4.65 (2.25; 6.24) n=20	3.53 (1.38) 3.37 (0.49; 6.14) n=23	3.86 (1.35) 4.02 (0.80; 6.15) n=25
PAI-2	-4.20 (1.17) -4.02 (-6.26; -1.61) n=19	-3.16 (0.90) -3.15 (-4.71; -1.38) n=22	-3.65 (1.09) -3.62 (-6.27; -1.73) n=24
tPA	-2.47 (2.69) -3.06 (-7.08; 3.21) n=16	0.339 (1.799) 1.080 (-3.905; 2.973) n=18	-1.40 (2.06) -1.03 (-6.26; 1.37) n=20
TRAP	-7.26 (2.11) -7.80 (-9.49; -2.14) n=14	-7.02 (0.81) -7.13 (-8.68; -5.96) n=11	-6.87 (1.37) -6.66 (-8.63; -4.21) n=15
CatK	-5.64 (1.86) -6.14 (-7.92; -0.75) n=17	-5.52 (1.52) -5.84 (-7.50; -2.85) n=17	-5.29 (1.92) -5.37 (-8.02; -1.58) n=18
tPA/PAI-2	0.520 (0.752) 0.628 (-1.332; 1.944) n=16	-0.137 (0.670) -0.387 (-1.024; 1.356) n=17	0.412 (0.664) 0.250 (-0.352; 2.658) n=20
連続変数について、平均(SD)/中央値(最小値;最大値)/nが示されている			

10

20

30

40

50

## 【 0 1 5 4 】

## 実施例 2

IL - 1 及び PAI - 2 の発現レベルは、インプラント周縁の炎症のための治療を受けた患者から得られたインプラント周縁間隙液において定量される。IL - 1 及び PAI - 2 の発現レベルは、実施例 1 に記載されたように、qPCRによって定量される。次に、得られた IL - 1 の値は、同じ患者から採取された同じ試料における治療前後の PAI - 2 の発現レベルと比較される。図 1 参照。IL - 1 の発現レベルと PAI - 2 の発現レベルは治療によって逆転されたので、治療は効果を有した。

## 【 0 1 5 5 】

## 実施例 3

IL - 8 及び PAI - 2 の発現レベルは、インプラント周縁の炎症のための治療を受けた患者から得られたインプラント周縁間隙液において定量される。IL - 8 及び PAI - 2 の発現レベルは、実施例 1 に記載されたように、qPCRによって定量される。IL - 8 の発現レベルと PAI - 2 の発現レベルは治療によって逆転されなかったので、治療は効果を有さなかった。図 2 参照。

## 【 0 1 5 6 】

## 実施例 4

IL - 6 , TIMP - 1 及び PAI - 2 の発現レベルは、インプラント周縁の炎症のための治療を受けた患者から得られたインプラント周縁間隙液において定量される。IL - 6 , TIMP - 1 及び PAI - 2 の発現レベルは、実施例 1 に記載されたように、qPCRによって定量される。IL - 6 の発現レベルと、TIMP - 1 の発現レベルと、PAI - 2 の発現レベルは治療によって逆転されたので、治療は効果を有した。図 3 参照。

【 0 1 5 7 】

実施例 5

t P A の発現レベルは、粘膜炎のための治療を受けた患者から得られたインプラント周縁間隙液において定量される。t P A の発現レベルは、実施例 1 に記載されたように、q P C R によって定量される。t P A の発現レベルは約 3 倍減少されたので、治療は効果を有した。図 4 参照。

【 0 1 5 8 】

実施例 6

実施例 2 , 4 及び 5 の一つ以上において、臨床医は、対象にケア口腔衛生治療の標準プログラムを与えることができる。引き続いての訪問は、数ヶ月内又は一年以内に予定されること  
10

【 0 1 5 9 】

実施例 7

実施例 3 において、臨床医は、治療は効果を有さなかったと結論付け、対象に追加の口腔衛生治療を与え、数ヶ月以内の引き続いての訪問を予定する。もし 2 回目の引き続いての訪問においてマーカーが変化していなかったなら、臨床医は、その部位の手術治療を行なうことを決定することができる。

【 0 1 6 0 】

実施例 8

実施例 2 , 4 及び 5 の一つ以上において、対象は、インプラント周縁の炎症（即ち、インプラント周縁の炎症、膨張、赤味、化膿、及び病的なクレーター形状の周縁骨量減少）の明らかな徴候を示す。しかし、マーカーは、非手術治療によって変化しており、臨床医は、手術治療は不要であると結論付け、対象に追加の口腔衛生治療、維持プロトコールを与え、数ヶ月以内の引き続いての訪問を予定する。  
20

【 0 1 6 1 】

実施例 9

別の実施例では、炎症及びプロービングに対する出血を示す対象から採集された試料は、I L - 1 と P A I - 2 の間の比率が 2 未満であることを示す。臨床医は、タンパク質分解の活性は極めて低く、有意でないと結論付け、対象にケア口腔衛生プログラムの標準  
30

【 0 1 6 2 】

実施例 1 ~ 9 の対象を放射線にさらすことは必要ではなく、臨床医は、インプラント周縁の病気の状態を決定するために、骨分解が実施例において放射線写真によって評価される測定可能なレベルに進行するまで待つ必要はなかった。

【 0 1 6 3 】

実施例 1 0

P I 群と M C 群を区別するための単一変数ロジスティック回帰からの有意なマーカーは、I L - 1 の高い値 (  $p = 0 . 0 0 6 5$  )、I L - 8 の高い値 (  $p = 0 . 0 0 8 2$  )、P A I - 2 の低い値 (  $p = 0 . 0 0 8 9$  )、及び t P A の低い値 (  $p = 0 . 0 0 5 4$  ) であった。9 5 % の信頼区間及び R O C 曲線の下側の面積 ( A U C ) での確率比について表  
40

【 0 1 6 4 】

表 10. 健康な対象からの試料と比較した粘膜炎及びインプラント周縁の炎症を有する対象からの試料に対する例示的変数、及び粘膜炎を有する対象からの試料と比較したインプラント周縁の炎症を有する対象からの試料に対する例示的変数

変数	粘膜炎対健康			インプラント周縁の炎症対健康			インプラント周縁の炎症対粘膜炎		
	OR (95%CI) 群	p-値	AUC	OR (95%CI) 群	p-値	AUC	OR (95%CI) 群	p-値	AUC
IL1-β	0.84 (0.52-1.35)	0.48	0.55	4.19 (1.32-13.32)	0.015	0.81	3.48 (1.42-8.52)	0.0065	0.78
IL-8	0.83 (0.54-1.28)	0.40	0.59	1.93 (1.04-3.55)	0.036	0.68	2.31 (1.24-4.30)	0.0082	0.74
PAI-2	1.67 (0.88-3.16)	0.11	0.62	0.64 (0.36-1.13)	0.13	0.64	0.37 (0.17-0.78)	0.0089	0.76
tPA	1.70 (1.08-2.68)	0.021	0.74	0.82 (0.61-1.10)	0.18	0.63	0.59 (0.41-0.86)	0.0054	0.81
TRAP	0.89 (0.44-1.78)	0.73	0.56	0.87 (0.56-1.35)	0.54	0.60	0.91 (0.56-1.49)	0.71	0.64
CatK	0.92 (0.62-1.37)	0.69	0.51	0.90 (0.63-1.30)	0.58	0.56	0.96 (0.64-1.44)	0.84	0.55
tPA/PAI-2	0.22 (0.06-0.86)	0.029	0.73	1.26 (0.48-3.31)	0.64	0.61	3.79 (1.21-11.89)	0.022	0.76

全ての試験は単一変数ロジスティック回帰で行なわれた

10

20

30

40

50

## 【 0 1 6 5 】

インプラント周縁の炎症を有する対象と H I 群の対象を区別するための単一変数ロジスティック回帰からの有意なマーカーは、IL - 1 の高い値 ( p = 0 . 0 1 5 ) 及び IL - 8 の高い値 ( p = 0 . 0 3 6 ) であった。表 1 0 参照。IL - 1 が段階的分析中に入れられた後、他のマーカーはモデル中に入れられなかった。ROC 曲線の下側の面積 ( AUC ) は 0 . 8 1 であった。増大する IL - 1 の関数としての H I 群と比較した P I 群に属する確率は、図 6 に与えられている。

## 【 0 1 6 6 】

M C 群と H I 群を区別するための単一変数ロジスティック回帰からの有意なマーカーは、t P A の高い値 ( p = 0 . 0 2 1 ) であった。表 1 0 参照。増大する t P A の関数としての H I 群と比較した M C 群に属する確率は、図 7 に与えられている。

## 【 0 1 6 7 】

比率 t P A / P A I - 2 は、H I 群 ( p = 0 . 0 2 9 ) 及び P I 群 ( p = 0 . 0 2 2 ) と比較して M C 群において有意に低かった。表 1 0 参照。t P A / P A I - 2 の比率は、t P A に対して極めて強い負の相関を有していた ( r s = - 0 . 9 7 、 p < 0 . 0 0 0 1 ) 。

## 【 0 1 6 8 】

M C 群と比較して P I 群の対象からの試料では、IL - 1 及び IL - 8 はアップレギュレーションされており、t P A 及び P A I - 2 はダウンレギュレーションされていた。H I 群と比較して M C 群の対象からの試料では、t P A はアップレギュレーションされていた。H I 群及び P I 群と比較して M C 群の対象からの試料では、t P A / P A I - 2 の比率は有意にダウンレギュレーションされていた。

## 【 0 1 6 9 】

これらのデータは、粘膜炎及びインプラント周縁の炎症は、タンパク質分解の活性に対する宿主の炎症性応答によって分けられる二つの異なる状態であることを示唆する。インプラントには生体膜が常に存在し、宿主の炎症性応答が常に存在し、これは、健康な対象

及び粘膜炎を有する対象では、組織の分解と修復の間でバランスを取られているが、インプラント周縁の炎症を有する対象では、組織の破壊に向かってバランスが病理学的にシフトされている。この研究からの結果は、プラスミノゲン系がかかるバランスにおいて重要な役割を果たしていることを示す。

#### 【0170】

インプラント周縁の炎症の履歴を除いては、対象の健康状態は、粘膜炎及びインプラント周縁の炎症を有する対象の炎症及びプラスミノゲン系の応答に影響を与えるように見えなかった。表8参照。従って、インプラント周縁の炎症の履歴を除いては、対象の健康状態は、この研究における粘膜炎とインプラント周縁の炎症の間の相違に寄与しなかった。

10

#### 【0171】

貧弱な口腔衛生及び改変されたブラーク指数は、MC群の対象及びPI群の対象について同様であった。従って、粘膜炎及びインプラント周縁の炎症の治療の成功は、部位から除去された生体膜の品質に依存しておらず、むしろ、生体膜内の微生物活性の除去又は阻害に依存することができる。

#### 【0172】

感染した部位における生体膜の除去、及び所望により骨増強手順に加えて、インプラント周縁の炎症の手術的治療は、ポケットを除去して口腔衛生手段を増強することを目的とする。その結果は、いくらか予測不可能であり、我々の経験に基づけば、しばしばではないが、プロービングによる出血であり、膿の存在が短期間の後に出現しうる。これが連続的に活性な軟組織分解及び骨吸収の発現であって、さらなる手術を必要とするのか、又はこれが進行中の有意な組織分解及び骨吸収に相関していない感染及び炎症であるのかを知ることは価値のあることである。もし病気の段階が、感染を有するが進行中の有意な組織分解及び骨吸収を有さない相にあるのなら、手術的介入の使用に疑義を唱えることが合理的であるかもしれない。たぶん、これは歯周病の患者の治療とは対照的である。歯周病の患者の治療の場合、一般的な結果は、予測可能で成功し、この病気が様々な相の活性を示すという事実気付くことは、臨床上の取り扱いを変化させない。

20

#### 【0173】

さらに、インプラント周縁の炎症のための治療の効果を迅速に評価することができることは価値のあることであるだろう。放射線写真は、0.5mmより大きい骨レベルの変化を評価するために使用されることができる(Ahlqvist J, Borg K, Gunne J, Nilsson H, Olsson M, Astrand P. Osseointegrated implants in edentulous jaws: a 2-year longitudinal study. Int J Oral Maxillofac Implants 1990; 5(2): 155-163)ので、骨量減少がかかるレベルに到達するには長い時間期間が要求されるだろう。もし放射線写真に依存せずに粘膜炎及びインプラント周縁の炎症の明確な診断が確立されることができのなら、それは、インプラント周縁の病気の状態及び治療の効果の迅速な評価のための強力なツールを構成することができる。

30

#### 【0174】

この研究における粘膜炎を有する対象及びインプラント周縁の炎症を有する対象についての様々な遺伝子パネルは、プラスミノゲン系及び炎症についてのマーカーが、進行中の組織及び骨分解の迅速な確立のためのかかる強力なツールを提供することができるということを示唆する。ROC曲線の下側の面積は、MI群の対象と比較してPI群の対象では、tPAについて0.81であった。従って、インプラント周縁の炎症を有する、無作為に選択された対象が、粘膜炎を有する、無作為に選択された対象と比較してtPAの低い値を有する確率は81%であった(表10参照)。tPAのアプレギュレーションは、我々の研究では、粘膜炎の強力な予測因子であった。

40

#### 【0175】

結論

50

PI群における対象の試料採取部位では、化膿の存在は、qPCR分析を阻害せず、骨吸収マーカーを発現する細胞の移動についてのバリアは、存在しないように見えた。マーカーIL-1及びIL-8は、MC群と比較してPI群において有意に高く、tPA及びPAI-2は、MC群と比較してPI群において有意に低かった。tPAは、最も強力なマーカーであり、骨量減少速度とは無関係に、粘膜炎とインプラント周縁の炎症を区別するために使用されることができた。これらの結果は、粘膜炎を有する対象における炎症したインプラント部位において、プラスミノゲン系は、十分にアップレギュレーションされており、炎症の解消及び治癒を可能にするが、インプラント周縁の炎症を有する対象においては、かかるアップレギュレーションは、不十分であり、損なわれた治癒及び延長された炎症を生じることを示唆した。

10

【0176】

**実施例 1 1**

IL-8及びtPAの発現レベルは、インプラント周縁の炎症のための治療を受けた患者から得られたインプラント周縁間隙液において定量される。IL-8及びtPAの発現レベルは、実施例1に記載されたように、qPCRによって定量される。IL-8の発現レベルとtPAの発現レベルは治療によって逆転されなかったため、治療は効果を有さなかった。図8参照。

【0177】

配列表 (アンプリコン関連の配列、プライマー配列の開示: MIQE ガイドライン、Bustin *et al.*, Clin Chem, 2011 16295 の分類)

20

インターロイキン-1ベータ (IL-1β): 配列番号 1	インターロイキン-6 (IL-6): 配列番号 2
マトリックスメタロプロテイナーゼ-8 (MMP8) 配列番号 3	酒石酸塩抵抗性酸ホスファターゼ (TRAP): 配列番号 4
カテプシン K: 配列番号 5	オステオプロテゲリン (OPG): 配列番号 6
NF-κB リガンドの受容体アクチベーター (RANKL): 配列番号 7	インターロイキン-8 (IL-8): 配列番号 8
ヒトの dickkopf 1 ホモログ (アフリカツメガエル) (DKK1): 配列番号 9	マトリックスメタロプロテイナーゼの組織インヒビター (TIMP-1): 配列番号 10
組織プラスミノゲンアクチベーター (tPA): 配列番号 11	プラスミノゲンアクチベーターインヒビタータイプ 2 (セルピン B2) (PAI-2): 配列番号 12
オステオカルシン (PMF1 又は OC): 配列番号 13	YWHAZ (参照遺伝子): 配列番号 14
UBC (参照遺伝子): 配列番号 15	

30

**配列番号1**

遺伝子: インターロイキン-1ベータ(IL-1b/IL-β)

アクセッション番号: NM\_000576.2

**アンプリコン関連の配列:**

ctccaggagc ccagctatga actccttctc cacaagcgcc ttcgggtccag ttgccttctc  
 cctggggctg ctcttggtgt tgcctgctgc cttcctgccc ccagtacccc caggagaaga  
 ttccaaagat gtagccgccc cacacagaca gccactcacc tcttcagaac gaattgacaa

**配列番号2**

遺伝子: インターロイキン-6(IL-6)

アクセッション番号: NM\_000600.3

**アンプリコン関連の配列:**

attcaatgag gagacttgcc tgggtgaaaat catcactggt cttttggagt ttgaggtata  
 cctagagtac ctccagaaca gatttgagag tagtgaggaa caagccagag ctgtgcagat  
 gagtacaana gtctgatcc agttcctgca gaaaaaggca aagaatctag atgcaataac  
 cacccctgac ccaaccacaa atgccagcct gctgacgaag

10

**配列番号3**

遺伝子: マトリックスメタロプロテイナーゼ-8(MMP8)

アクセッション番号: NM\_002424.2

**アンプリコン関連の配列:**

ggtgacaatt ctccatttga tggaccaaat ggaatccttg ctcatgcctt tcagccaggc  
 caaggtattg gaggagatgc tcattttgat gccgaagaaa catggacca cactccgca  
 aattacaact tgtttcttgt tgcctgctcat gaatttggcc attccttggg gctcgctcac  
 tcctctgacc ctggtgcctt gatgtatccc aactatgctt tcagggaaac cagcaactac  
 tcactccctc

20

**配列番号8**

遺伝子: インターロイキン-8(IL-8)

アクセッション番号: NM\_000584.3

**アンプリコン関連の配列:**

ggcacaaaact ttcagagaca gcagagcaca caagcttcta ggacaagagc caggaagaaa  
 ccaccggaag gaaccatctc actgtgtgta aacatgactt ccaagctggc cgtggctctc  
 ttggcagcct tcctgatttc tgcagctctg tgtgaagggtg cagttttgcc aaggagtgct  
 aaagaactta gatgtcagtg cataaagaca tactccaac ctttccacc caaatttatc

30

**配列番号10**遺伝子: **マトリックスメタロプロテイナーゼの組織インヒビター (TIMP-1)**アクセッション番号: **NM\_003254.2****アンプリコン関連の配列:**

gagagacacc agagaaccca ccatggcccc ctttgagccc ctggcttctg gcatcctggt  
 gttgctgtgg ctgatagccc ccagcagggc ctgcacctgt gtcccccccc acccacagac  
 ggcttctctgca aattccgacc tcgtcatcag ggccaagttc gtggggacac cagaagtcaa  
 ccagaccacc ttataaccagc

**配列番号11**遺伝子: **組織プラスミノーゲンアクチベーター (iPA)**アクセッション番号: **NM\_000930.3****アンプリコン関連の配列:**

acttaaagga ggccggagct gtggggagct cagagctgag atcctacagg agtccagggc  
 tggagagaaa acctctgcga ggaaagggaa ggagcaagcc gtgaatttaa gggacgctgt  
 gaagcaatca tggatgcaat gaagagaggg ctctgctgtg tgctgctgct gtgtggagca  
 gtcttcgttt cgcaccagcca ggaaatccat gcccgattca gaagaggagc

**配列番号12**遺伝子: **プラスミノーゲンアクチベーターインヒビタータイプ2 (セルピンB2) (PAI-2)**アクセッション番号: **NM\_001143818.1****アンプリコン関連の配列:**

gccccaccca gaacctcttc ctctccccc atgagcatctc gtccaccatg gccatggtot  
 acatgggctc caggggcagc accgaagacc agatggccaa ggtgcttcag ttaaatgaag  
 tgggagccaa tgcagttacc cccatgactc cagagaactt taccagctgt gggttcatgc

**配列番号14**遺伝子: **YWHAZ (参照遺伝子)**アクセッション番号: **NM\_001135702.1****アンプリコン関連の配列:**

aatcttctct cagttgctta taaaaatggt gtaggagccc gtaggtcacc ttggagggtc  
 gtctcaagta ttgaacaaaa gacggaaggt gctgagaaaa aacagcagat ggctcgagaa  
 tacagagaga aaattgagac ggagctaaga gatctctgca atgatgtact gtctcttttg  
 gaaaagttct tgatccccc tgcttcacaa gcagagagca aagtcttcta tttgaaaatg  
 aaaggagatt actaccgtta cttggctgag gttgccgctg gtgatgacaa gaaagggatt  
 gtcgatcagt cacaacaagc ataccaagaa gcttttgaaa tcagcaaaaa ggaaatgcaa  
 ccaacacatc ctatcagact gggctctggcc cttaacttct ctgtgttcta ttatgagatt

**配列番号15**遺伝子: **UBC (参照遺伝子)**アクセッション番号: **NM\_001135702.1****アンプリコン関連の配列:**

ttggagggtc gtctcaagta ttgaacaaaa gacggaaggt gctgagaaaa aacagcagat  
 ggctcgagaa tacagagaga aaattgagac ggagctaaga gatctctgca atgatgtact  
 gtctcttttg gaaaagttct tgatccccc tgcttcacaa gcagagagca aagtcttcta  
 tttgaaaatg aaaggagatt actaccgtta cttggctgag gttgccgctg gtgatgacaa  
 gaaagggatt gtcgatcagt cacaacaagc ataccaagaa gcttttgaaa tcagcaaaaa  
 ggaaatgcaa ccaacacatc ctatcagact gggctctggcc cttaacttct

**【 0 1 7 8 】****本発明の項目**

1. インプラント周縁の病気又は歯周病の状態を決定する方法であって、以下の工程を含むことを特徴とする方法:

a) エクスピボ試料において、パネルを形成する一群のマーカーのうちの一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル又はそれらの比率を定量する(ただし、前記一つ以上の調

10

20

30

40

50

節されたマーカーは、プラスミノゲン系、炎症及び/又はタンパク質分解活性に関連する) ; 及び

b) 工程 a) で得られた発現レベルを、参照値と比較することによって、インプラント周縁の病気の状態を決定する工程。

2. 前記パネルが、タンパク質分解酵素のインヒビターの群から選択されるマーカーを含むことを特徴とする、項目 1 に記載の方法。

3. 前記マーカーが、IL - 1 , IL - 4 , IL - 6 , IL - 8 , IL - 12 , IL 18 , MMP - 8 , MMP - 9 , TIMP - 1 , tPA , PAI - 2 又はそれらの任意の組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする、項目 1 又は 2 に記載の方法。

4. 前記パネルが、少なくとも IL - 1 , IL - 4 , IL - 8 , IL - 12 , TIMP - 1 , PAI - 2、又はそれらの任意の組み合わせを含むことを特徴とする、項目 1 に記載の方法。

5. エクスピボ試料が、体液又は組織であることを特徴とする、項目 1 ~ 4 のいずれかに記載の方法。

6. 前記体液が、口腔液、及び/又は血液、及び/又は血清、及び/又は血漿、及び/又は唾液であることを特徴とする、項目 5 に記載の方法。

7. 前記体液が、歯肉溝滲出液であることを特徴とする、項目 5 又は 6 に記載の方法。

8. 前記体液が、インプラント周縁間隙液であることを特徴とする、項目 5 ~ 7 のいずれかに記載の方法。

9. 前記組織が、骨、及び/又は結合組織、及び/又は粘膜であることを特徴とする、項目 5 に記載の方法。

10. 前記組織が、骨、及び/又はインプラント支持組織、及び/又はインプラントに隣接する骨、及び/又は歯に隣接する骨であることを特徴とする、項目 5 又は 9 に記載の方法。

11. マーカーが前記パネルにおいてアップ又はダウンレギュレーションされたかどうかを分析するために、異なる時点で同一の源から採取されたエクスピボ試料からの参照値を使用する工程を含むことを特徴とする、項目 1 ~ 10 のいずれかに記載の方法。

12. マーカーが前記パネルにおいてアップ又はダウンレギュレーションされたかどうかを分析するために、歯周病の履歴を示すマーカーを有する参照値を使用する工程を含むことを特徴とする、項目 1 ~ 10 のいずれかに記載の方法。

13. マーカーが前記パネルにおいてアップ又はダウンレギュレーションされたかどうかを分析するために、インプラント周縁の炎症の履歴を示すマーカーを有する参照値を使用する工程を含むことを特徴とする、項目 1 ~ 10 のいずれかに記載の方法。

14. 前記定量が、核酸の定量によって行なわれることを特徴とする、項目 1 ~ 13 のいずれかに記載の方法。

15. 前記定量が、qPCR, 及び/又はノーザンブロットによって行なわれることを特徴とする、項目 14 に記載の方法。

16. 前記定量が、タンパク質の定量によって行なわれることを特徴とする、項目 1 ~ 13 のいずれかに記載の方法。

17. 前記定量が、免疫アッセイ、及び/又は ELISA、及び/又は放射線免疫アッセイ、及び/又は磁気免疫アッセイ、及び/又は蛍光免疫アッセイ、及び/又は免疫沈降、及び/又は表面プラスモン共鳴、及び/又は免疫組織化学、及び/又はウエスタンブロット、及び/又はこれらの任意の組み合わせによって行なわれることを特徴とする、項目 16 に記載の方法。

18. 決定された発現レベルが、骨に影響を与える状態の存在又は非存在の指標であることを特徴とする、項目 1 ~ 17 のいずれかに記載の方法。

19. 決定された発現レベルが、粘膜、歯肉、骨支持インプラント及び/又は歯に影響を与える状態の存在又は非存在の指標であることを特徴とする、項目 1 ~ 18 のいずれかに記載の方法。

20. 試料が、一つ以上のインプラントを有する患者から得られることを特徴とする、項

10

20

30

40

50

目 1 ~ 19 のいずれかに記載の方法。

21 . インプラントが、骨固定インプラントであることを特徴とする、項目 20 に記載の方法。

22 . インプラントが、歯科用インプラント、及び / 又は股関節インプラント、及び / 又は膝関節インプラント、又はそれらの組み合わせであることを特徴とする、項目 20 又は 21 に記載の方法。

23 . 項目 1 ~ 22 のいずれかに記載の方法を実行するためのキット。

24 . キットが、試料採集装置をさらに含むことを特徴とする、項目 23 に記載のキット。

25 . 試料採集装置が、滅菌ペーパーポイント、及び / 又は注射器、及び / 又は生検装置であることを特徴とする、項目 24 に記載のキット。

26 . キットが、試料を保存するための保存媒地をさらに含むことを特徴とする、項目 23 ~ 25 のいずれかに記載のキット。

27 . キットが、試料を中央検査室に送付するための箱をさらに含むことを特徴とする、項目 23 ~ 26 のいずれかに記載のキット。

28 . キットが、炎症及び / 又はタンパク質分解の活性、又はそれらの任意の組み合わせに関連する一つ以上のマーカーの発現レベルを定量するために必要な要素をさらに含むことを特徴とする、項目 23 ~ 27 のいずれかに記載のキット。

【 図 1 】

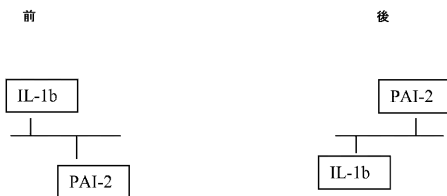


Figure 1

【 図 2 】



Figure 2

【 図 3 】



Figure 3

【 図 4 】



Figure 4

【 図 5 】

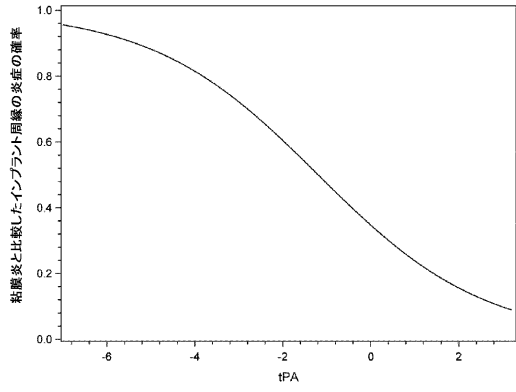


Figure 5

【 図 6 】

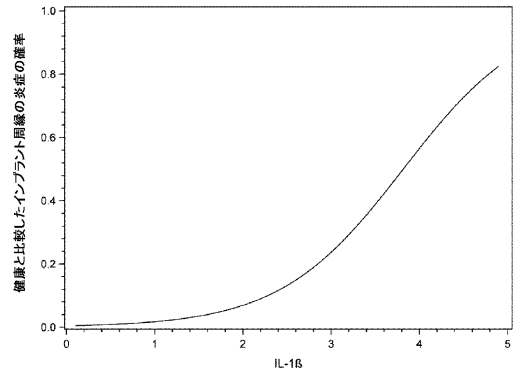


Figure 6

【 図 7 】

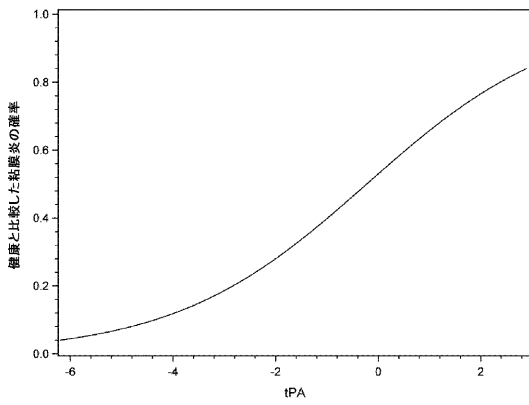


Figure 7

【 図 8 】



Figure 8

## 【配列表】

2017506069000001.app

## 【手続補正書】

【提出日】平成28年8月9日(2016.8.9)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

インプラント周縁の病気の状態を決定する方法であって、以下の工程を含むことを特徴とする方法：

a) エクスピボ試料において、tPA、IL-4、IL-6、IL-10、IL-12、IL-18、TIMP-1及びPAI-2からなる群から選択される一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率を定量するか、及び/又はtPA及びtPA/PAI-2；PAI-2及びtPA/PAI-2；tPA、PAI-2及びtPA/PAI-2；tPA及びIL-1；tPA及びTIMP-1；IL-1及びIL-8；IL-8及びPAI-2；IL-6、TIMP-1及びPAI-2；tPA及びPAI-2；IL-1、IL-8及びIL-6；IL-1、IL-8、IL-6及びTIMP-1；IL-1、IL-8、IL-6、TIMP-1及びtPA；IL-1、IL-8、IL-6、TIMP-1及びPAI-2；IL-1、IL-8、PAI-2及びtPA；IL-1、IL-8、及びPAI-2；IL-1、IL-8及びtPA；IL-1、IL-8及びtPA/PAI-2；IL-1、IL-8、TIMP-1及びPAI-2；IL-1、IL-8、TIMP-1及びtPA；tPA/PAI-2；PAI-2/tPA；IL-1及びPAI-2のマーカーの組み合わせのうちの一つ以上の発現レベルを定量する工程；及び

b) 工程a)で得られた発現レベルを、一つ以上の参照発現レベルと比較することによって、インプラント周縁の病気の状態を決定する工程。

【請求項2】

前記一つ以上の調節されたマーカーが、tPA及びPAI-2からなる群から選択されるか、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率であることを特徴とする、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベルが、tPAとPAI-2の間の比率であることを特徴とする、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】

前記マーカーが、tPAであることを特徴とする、請求項1～3のいずれかに記載の方法。

【請求項5】

前記一つ以上の調節されたマーカーが、IL-6、TIMP-1、及びPAI-2からなる群から選択されるか、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率であることを特徴とする、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

エクスピボ試料が、体液又は組織であることを特徴とする、請求項1～5のいずれかに記載の方法。

【請求項7】

前記体液が、口腔液、及び/又は血液、及び/又は血清、及び/又は血漿、及び/又は唾液であることを特徴とする、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記体液が、インプラント周縁間隙液であることを特徴とする、請求項 6 又は 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記組織が、骨、及び / 又は結合組織、及び / 又は粘膜であることを特徴とする、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 10】

前記組織が、骨、及び / 又はインプラント支持組織、及び / 又はインプラントに隣接する骨、及び / 又は歯に隣接する骨であることを特徴とする、請求項 6 又は 9 に記載の方法。

【請求項 11】

工程 b) の一つ以上の参照発現レベルが、異なる時点で同一の源から採取されたエクスピボ試料からの前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率であり、前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率のアップレギュレーション又はダウンレギュレーションが、インプラント周縁の病気の状態の指標であることを特徴とする、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

工程 b) の一つ以上の参照発現レベルが、インプラント周縁の炎症の履歴を示す源から採取されたエクスピボ試料からの前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率であり、前記一つ以上の調節されたマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率のアップレギュレーション又はダウンレギュレーションが、インプラント周縁の病気の状態の指標であることを特徴とする、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の方法。

【請求項 13】

前記定量が、核酸の定量によって行なわれることを特徴とする、請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の方法。

【請求項 14】

前記定量が、qPCR, 及び / 又はノーザンプロットによって行なわれることを特徴とする、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記定量が、タンパク質の定量によって行なわれることを特徴とする、請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の方法。

【請求項 16】

前記定量が、免疫アッセイ、及び / 又は ELISA、及び / 又は放射線免疫アッセイ、及び / 又は磁気免疫アッセイ、及び / 又は蛍光免疫アッセイ、及び / 又は免疫沈降、及び / 又は表面プラズモン共鳴、及び / 又は免疫組織化学、及び / 又はウエスタンプロット、及び / 又はこれらの任意の組み合わせによって行なわれることを特徴とする、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

試料が、一つ以上のインプラントを有する患者から得られることを特徴とする、請求項 1 ~ 16 のいずれかに記載の方法。

【請求項 18】

インプラントが、骨固定インプラントであることを特徴とする、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

インプラントが、歯科用インプラント、及び / 又は股関節インプラント、及び / 又は膝関節インプラント、又はそれらの組み合わせであることを特徴とする、請求項 17 又は 18 に記載の方法。

【請求項 20】

工程 a) で得られた一つ以上の調節されたマーカーの発現レベルに関する情報をデータ

キャリアに保管するか、及び/又は工程 b) で得られたインプラント周縁の病気の状態に関する情報をデータキャリアに保管する工程をさらに含むことを特徴とする、請求項 1 ~ 19 のいずれかに記載の方法。

【請求項 21】

請求項 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法を実行するためのキット。

【請求項 22】

キットが、試料採集装置をさらに含むことを特徴とする、請求項 21 に記載のキット。

【請求項 23】

試料採集装置が、滅菌ペーパーポイント、及び/又は注射器、及び/又は生検装置であることを特徴とする、請求項 22 に記載のキット。

【請求項 24】

キットが、試料を保存するための保存媒地をさらに含むことを特徴とする、請求項 21 ~ 23 のいずれかに記載のキット。

【請求項 25】

キットが、試料を中央検査室に送付するための箱をさらに含むことを特徴とする、請求項 21 ~ 24 のいずれかに記載のキット。

【請求項 26】

キットが、IL - 4 , IL - 6 , IL - 10 , IL - 12 , IL 18 , T I M P - 1 , t P A 及び P A I - 2 からなる群から選択される一つ以上のマーカーの発現レベル、又はそれらの任意の組み合わせ、又はそれらの任意の比率を定量するために必要な要素をさらに含むか、又は、t P A 及び t P A / P A I - 2 ; P A I - 2 及び t P A / P A I - 2 ; t P A , P A I - 2 及び t P A / P A I - 2 ; t P A 及び I L - 1 ; t P A 及び T I M P - 1 ; I L - 1 及び I L - 8 ; I L - 8 及び P A I - 2 ; I L - 6 , T I M P - 1 及び P A I - 2 ; t P A 及び P A I - 2 ; I L - 1 , I L - 8 及び I L - 6 ; I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 及び T I M P - 1 ; I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 , T I M P - 1 及び t P A ; I L - 1 , I L - 8 , I L - 6 , T I M P - 1 及び P A I - 2 ; I L - 1 , I L - 8 , P A I - 2 及び t P A ; I L - 1 , I L - 8 , 及び P A I - 2 ; I L - 1 , I L - 8 及び t P A ; I L - 1 , I L - 8 及び t P A / P A I - 2 ; I L - 1 , I L - 8 , T I M P - 1 及び P A I - 2 ; I L - 1 , I L - 8 , T I M P - 1 及び t P A ; t P A / P A I - 2 ; P A I - 2 / t P A ; I L - 1 及び P A I - 2 のマーカーの組み合わせの発現レベルを定量するために必要な要素をさらに含むか、又は、t P A / P A I - 2 のマーカーの発現レベルの比率を定量するために必要な要素をさらに含むことを特徴とする、請求項 21 ~ 25 のいずれかに記載のキット。

【請求項 27】

前記マーカーが t P A であることを特徴とする、請求項 26 に記載のキット。

【請求項 28】

キットが、データキャリアをさらに含むことを特徴とする、請求項 21 ~ 27 のいずれかに記載のキット。

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/EP2015/051783**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.:  
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:

see additional 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 an 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.:  
3, 4, 27(completely); 1, 2, 5-26, 28(partially)

**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/EP2015/051783

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. C12Q1/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A A X A	WO 2009/018342 A1 (UNIV MICHIGAN [US]; BRAUN THOMAS [US]; GIANNOBILE WILLIAM V [US]; HERR) 5 February 2009 (2009-02-05) abstract; claims 1,12,21 ----- RU 2 319 453 C1 (TLUSTENKO VALENTINA PETROVNA [RU]) 20 March 2008 (2008-03-20) abstract ----- US 6 143 506 A (GOLUB LORNE M [US] ET AL) 7 November 2000 (2000-11-07) abstract; claim 1 ----- ----- -/--	21-25,28  1-20,26, 27  1-28  21-25,28  1-20,26, 27
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier application or patent but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
14 July 2015		21/07/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Celler, Jakob

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/051783

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE MEDLINE [Online] US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; April 2013 (2013-04), CASADO PRISCILA LADEIRA ET AL: "Interleukins 1[beta] and 10 expressions in the periimplant crevicular fluid from patients with untreated periimplant disease.", XP055184833, Database accession no. NLM23459153	21-25,28
A	abstract page 145, column 1 & CASADO PRISCILA LADEIRA ET AL: "Interleukins 1[beta] and 10 expressions in the periimplant crevicular fluid from patients with untreated periimplant disease.", IMPLANT DENTISTRY APR 2013, vol. 22, no. 2, April 2013 (2013-04), pages 143-150, ISSN: 1538-2982	1-20,26, 27
X	----- US 2011/192239 A1 (SELINFREUND RICHARD H [US] ET AL) 11 August 2011 (2011-08-11)	21-28
A	abstract paragraph [0079] paragraph [0162]	1-20
X	----- WO 2011/057143 A1 (UNIV COLORADO REGENTS [US]; GRUNZKE MINDY [US]; GOLDENBERG NEIL [US];) 12 May 2011 (2011-05-12)	21-28
A	abstract; claims 29,33	1-20
X,P	----- WO 2014/122279 A1 (NOBEL BIO CARE SERVICES AG [CH]) 14 August 2014 (2014-08-14) abstract; claims 1,4,5,8,22-25,27 -----	1-28



International Application No. PCT/ EP2015/ 051783

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 3, 4, 27(completely); 1, 2, 5-26, 28(partially)

Subject matter of above claims as characterised by the marker tPA only.

---

- 2-8. claims: 1, 2, 5-26, 28(all partially)

Subject matter of the above claims as characterised by each of the 7 out of 8 markers listed in claim 1, starting with IL-4 and ending with PAI-2, respectively.

---

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
<b>G 0 1 N 33/53 (2006.01)</b>	G 0 1 N 33/50	P
<b>G 0 1 N 33/536 (2006.01)</b>	G 0 1 N 33/53	D
<b>G 0 1 N 33/543 (2006.01)</b>	G 0 1 N 33/53	Y
	G 0 1 N 33/536	B
	G 0 1 N 33/536	D
	G 0 1 N 33/543	5 4 1 A

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

Fターム(参考) 2G045 AA25 CA25 CA26 CB07 DA14 DA36  
 4B029 AA07 AA09 BB15 BB17 BB20 FA12 HA01  
 4B063 QA19 QQ03 QQ08 QQ53 QQ79 QR36 QR48 QR56 QR62 QR72  
 QR77 QS25 QS33 QS34 QX02

专利名称(译)	如何确定疾病状态		
公开(公告)号	<a href="#">JP2017506069A</a>	公开(公告)日	2017-03-02
申请号	JP2016549344	申请日	2015-01-29
[标]申请(专利权)人(译)	诺贝尔生物服务公司		
申请(专利权)人(译)	Novell公司Biocare公司Savishiizu AG		
[标]发明人	ホールヤン		
发明人	ホール, ヤン		
IPC分类号	C12Q1/68 C12M1/34 C12M1/26 G01N33/68 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/536 G01N33/543		
CPC分类号	C12Q1/6883 C12Q2600/158 G01N33/6893 G01N2800/18 G01N2800/245 G01N2800/56		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A C12M1/34.F C12M1/34.Z C12M1/26 G01N33/68 G01N33/50.P G01N33/53.D G01N33/53.Y G01N33/536.B G01N33/536.D G01N33/543.541.A		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB07 2G045/DA14 2G045/DA36 4B029/AA07 4B029/AA09 4B029/BB15 4B029/BB17 4B029/BB20 4B029/FA12 4B029/HA01 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ53 4B063/QQ79 4B063/QR36 4B063/QR48 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QS25 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QX02		
代理人(译)	Kazehaya信明 浅野纪子		
优先权	2014002036 2014-02-06 GB		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明涉及确定离体样品中植入物边缘的疾病状态的方法，对形成一组的一组标志物中一种或多种调节标志物的表达水平或其比率进行定量。一种或多种调节的标志物与纤溶酶原系统和/或炎症和/或蛋白水解活性有关；并且通过将步骤a)中获得的表达水平与参考值进行比较。并且包括确定植入物外围的疾病状态的步骤。本发明还涉及用于实施本发明方法的试剂盒。[选型图]图1

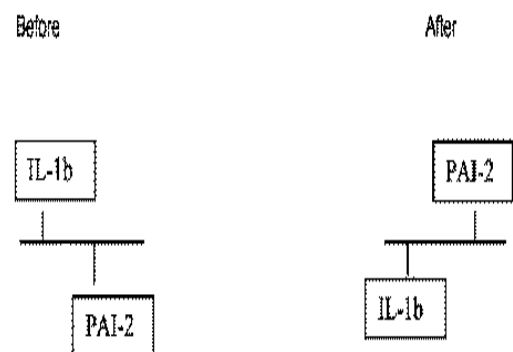


Figure 1