

(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2016-524697

(P2016-524697A)

(43) 公表日 平成28年8月18日(2016.8.18)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 Z N A P	4 B O 6 3
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	GO 1 N 33/53 K	4 C O 8 4
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	
A 6 1 P 37/00 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 45 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2016-511700 (P2016-511700)
 (86) (22) 出願日 平成26年5月2日 (2014.5.2)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年12月25日 (2015.12.25)
 (86) 国際出願番号 PCT/NL2014/050282
 (87) 国際公開番号 W02014/178715
 (87) 国際公開日 平成26年11月6日 (2014.11.6)
 (31) 優先権主張番号 13166244.7
 (32) 優先日 平成25年5月2日 (2013.5.2)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 515300930
 スティッチング カソリーケ ウニベルシ
 テイト
 S T I C H T I N G K A T H O L I E K
 E U N I V E R S I T E I T
 オランダ国, エヌエル-6525 ジー
 エー ネイメーヘン, ケア オブ ゲー
 ルト フローテプライン-サイト 10
 (74) 代理人 100107456
 弁理士 池田 成人
 (74) 代理人 100162352
 弁理士 酒巻 順一郎
 (74) 代理人 100123995
 弁理士 野田 雅一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 個人化医療

(57) 【要約】

本発明は、対象における炎症促進性サイトカイン及び/又はB細胞の阻害剤の有効性を評価するための方法、及び前記阻害剤の有効性が十分であると決定されたという条件で、前記対象を前記阻害剤で治療するための方法に関する。

【選択図】 図8

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状に罹っていると疑われる対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための方法であって、前記炎症促進性サイトカインが、IL - 1、IL - 6、IL - 17、IL - 23、IL - 12、TNF、IL - 5 及び IFN からなる群から選択され、前記方法が、

(a) 前記対象から試料を採取するステップと、

(b 1) 前記試料を、前記試料における炎症促進性サイトカインの産生を誘発することができる化合物と接触させるステップと、

(b 2) 前記試料を、前記試料における前記炎症促進性サイトカインの前記阻害剤と接触させるステップと、

(c) ステップ (b 1) 及び (b 2) の終わりに前記試料における前記炎症促進性サイトカインの発現レベルを決定するステップと、

(d) ステップ (b 1) の終わりに前記炎症促進性サイトカインの検出可能な発現レベル又は発現レベルの増加が検出され、ステップ (b 2) の終わりに前記炎症促進性サイトカインの発現レベルの検出可能な減少が検出された場合、前記炎症促進性サイトカインの前記阻害剤の有効性を十分であると評価するステップと

を含む方法。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の、対象における B 細胞の阻害剤の有効性を評価するための方法であって、

(a) 前記対象から試料を採取するステップと、

(b 1) 前記試料を、前記試料における B 細胞の産生を誘発することができる化合物と接触させるステップと、

(b 2) 前記試料を、前記試料における前記 B 細胞の前記阻害剤と接触させるステップと、

(c) ステップ (b 1) 及び (b 2) の終わりに前記試料における B 細胞の数を決定するステップと、

(d) ステップ (b 1) の終わりに前記 B 細胞の検出可能な数又は数の増加が検出され、ステップ (b 2) の終わりに前記 B 細胞の数の検出可能な減少が検出された場合、前記阻害剤の有効性を十分であると評価するステップと

を含む、好ましくは請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

以下の自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状に及び/又は以下の炎症促進性サイトカインに及び/又は以下の B 細胞マーカーに適用される、請求項 1 又は 2 に記載の方法：

i . RA 及び/又は炎症促進性サイトカインが TNF、IL - 1、IL - 6、IL - 12、IL - 17 及び IL - 23 からなる群から選択される及び/又は B 細胞マーカーが CD 20 及び/又は CD 19 である、

ii . 別の RA 様疾患及び/又は炎症促進性サイトカインが TNF である、

iii . 潰瘍性大腸炎及び/又は炎症促進性サイトカインが TNF である、

iv . クロウン病及び/又は炎症促進性サイトカインが TNF、IL - 1、IL - 12、IL - 17 及び IL - 23 からなる群から選択される、

v . 乾癬及び/又は炎症促進性サイトカインが TNF、IL - 12、IL - 17 及び IL - 23 からなる群から選択される、

vi . MS 及び/又は炎症促進性サイトカインが IL - 1 及び IL - 17 からなる群から選択される及び/又は細胞マーカーが CD 20 及び/又は CD 19 である、

vii . 喘息及び/又は炎症促進性サイトカインが IL - 5 及び IFN からなる群から選択される、

viii . 敗血症及び/又は炎症促進性サイトカインが IL - 1 及び IFN からなる

10

20

30

40

50

群から選択される、

i x . 痛風及び / 又は炎症促進性サイトカインが I L - 1 である、

x . ライム病及び / 又は炎症促進性サイトカインが I L - 1 及び I L - 1 7 からなる群から選択される、

x i . 2 型糖尿病及び / 又は炎症促進性サイトカインが T N F 及び I L - 1 からなる群から選択される。

【請求項 4】

ステップ (b 1) における前記試料における炎症促進性サイトカインの産生を誘発することができる化合物が、前記自己免疫性及び / 若しくは炎症性疾患又は症状に特異的である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 5】

前記炎症促進性サイトカインの発現レベルが、前記炎症促進性サイトカインの量を直接的に定量化することによって及び / 又は前記炎症促進性サイトカインをコードする前記ヌクレオチド配列の量を定量化することによって間接的に決定される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

ステップ (b 1) の後のステップ (d) において評価された前記炎症促進性サイトカインの発現レベルが少なくとも 2 0 % 増加し、ステップ (b 2) の後のステップ (d) において評価された前記炎症促進性サイトカインの発現レベルが少なくとも 1 0 % 減少した場合、炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性が前記十分である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 7】

試料が、対象から採取された流体である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

流体が、血液又は脊髄液から選択される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

流体が、血液であり、P B M C を含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 1 0】

自己免疫性及び / 若しくは炎症性症状又は疾患に罹っていると疑われる対象を治療するための方法であって、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項において定義した対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するステップと、その後前記阻害剤の有効性が申し分ない場合、前記対象を前記阻害剤で治療するステップとを含む方法。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、診断学及び治療学の分野に関する。本発明は、炎症促進性サイトカインの阻害剤及び / 又は B 細胞の阻害剤の有効性を評価し、それによって自己免疫性及び / 若しくは炎症性疾患並びに / 又は症状を有すると疑われる対象のための最良の可能な治療法を選択するための方法を提供する。

40

【背景技術】

【0 0 0 2】

クローン病及び潰瘍性大腸炎は、腸管の粘膜における調節不全の炎症性反応が病変形成における主要な役割を果たす、炎症性腸疾患 (I B D) である。生理学的条件下では、炎症促進性サイトカイン (例えば T N F 又は I L - 1) と抗炎症性サイトカイン (例えば I L - 1 0 又は T G F) 間のバランスがある。インターロイキン - 1 は、生得的な免疫系の最も重要な炎症促進性メディエーターの 1 つであり、I B D の病変形成におけるその役割は、広範に明らかにされた (1) 。

【0 0 0 3】

自食作用は、I L - 1 の分泌を調節する主要なプロセスの 1 つであり (2) 、自食作

50

用遺伝子多形性（例えば A T G 1 6 L 1、I R G M）は、クローン病と関連していることが示された（3）。最近、本発明者らは、T 3 0 0 A A T G 1 6 L 1 多形性が I L - 1 産生を強く調節し、リスク変異体がサイトカインの増加した合成及び放出と関連していることを実証した（4）。I L - 1 の産生は、インフラマソームと称される細胞内タンパク質プラットフォームによって高度に調節される（5、6）。I L - 1 産生に関連しているインフラマソームは、プロ - I L - 1 の細胞内切断に関して活性化された場合、決定的な酵素であるプロカスパーゼ - 1 を含有する（7）。本発明者らは、特異的なカスパーゼ - 1 阻害剤が I L - 1 のプロセッシング及び放出を遮断することができ、したがって I B D における炎症性プロセスに及ぼす有利な効果を有することができるかどうかを評価した。加えて、本発明者らは、カスパーゼ - 1 阻害剤が、一方で I L - 1 の高産生能力を有する個体において、及び他方で T 3 0 0 A A T G 1 6 L 1 多形性を有する個体においてより効果的であるかどうかを調査した。

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

驚くべきことに、本発明者らは、サイトカインを産生する内在性の能力がスクリーニングした対象において異なっており、抗炎症剤の効果がサイトカイン産生に依存することに注目した。それは、前記サイトカインの高、中及び低産生者を区別することができるであろうことを明らかにする。前記サイトカインに関する高産生者は、別のサイトカインに関する高、中又は低産生者であり得る。これらの結果は、サイトカイン産生の個々のプロファイルと同定し、それによって（自己）炎症性疾患を有する個々の患者を、高及び低サイトカイン産生者での患者の層別化に基づいて、いくつかの抗炎症性生物学的療法に対する不十分な応答者と、別の生物学的療法に対する良好な応答者に層別化することが可能であるという考えにつながる。この層別化は、現在使用されている生物学的療法に基づく全ての治療法に適用可能であることが予想される。患者の層別化は、成功的ではなさそうであり、潜在的な重大な副作用を有する治療法を与えられるであろう患者と、かかる個人化手法の実質的な経費節約の態様により、医療制度との両方に非常に重要であり得る。

20

【課題を解決するための手段】

【0005】

評価方法

30

第1の方法：炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価すること

第1の態様では、本発明は、対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための方法であって、

(a) 前記対象から試料を採取するステップと、

(b1) 前記試料を、前記試料における炎症促進性サイトカインの産生を誘発することができる化合物と接触させるステップと、

(b2) 前記試料を、前記試料における前記炎症促進性サイトカインの前記阻害剤と接触させるステップと、

(c) ステップ(b1)及び(b2)の終わりに前記試料における前記炎症促進性サイトカインのプロファイル又は発現レベルを決定するステップと、

40

(d) ステップ(b1)の終わりに前記炎症促進性サイトカインの検出可能なプロファイル若しくは発現レベル又はプロファイル若しくは発現レベルの増加が検出され、ステップ(b2)の終わりに前記炎症促進性サイトカインのプロファイル又は発現レベルの検出可能な減少が検出された場合、前記阻害剤の有効性を十分であると評価するステップを含む方法に関する。

【0006】

炎症促進性サイトカインは、全身性炎症を促進することができるサイトカインである。炎症促進性サイトカインは、本明細書で定義した炎症性及び/若しくは自己免疫性疾患又は症状に好ましくは関与している、又はこれと関連している、又はこれの結果である。炎症促進性サイトカインは、I L - 1、T N F 又は I F N、I L - 6、I L - 1 2、

50

IL - 17、IL - 23、IL - 5 からなる群から好ましくは選択される。IL - 1 は、好ましい炎症促進性サイトカインである。IL - 1 は、クローン病に關与していることが既知である。

【0007】

かかる炎症促進性サイトカインの阻害剤は、前記炎症促進性サイトカインの産生を阻害することができる及び/又は前記炎症促進性サイトカインの発現レベルを減少させることができる及び/又は前記炎症促進性サイトカインの活性を減少させることができる及び/又は前記サイトカインの受容体を阻害することができる及び/又はその受容体への前記サイトカインの結合に關して競合することができる化合物とすることができる。かかる阻害剤は、前記サイトカイン受容体の鎖を阻害することができる及び/又はその受容体の1つの鎖を標的とすることによって、その受容体への前記サイトカインの結合に關して競合することができる。かかる阻害剤は、本明細書で後ほど定義した対象又は前記対象の試料におけるこの阻害及び/又は減少を示すことができる。IL - 6の阻害剤は、IL - 6Rの阻害剤とすることができる。IL - 6Rの阻害剤は、好ましくはIL - 6Rの1つの鎖の阻害剤、より好ましくはIL - 6Rのアルファ鎖の阻害剤である。IL - 17の阻害剤は、IL - 17A又はIL - 17Fの阻害剤とすることができる。IL - 12の阻害剤は、IL - 12P40の阻害剤とすることができる。炎症促進性サイトカインの好ましい阻害剤を、表2において同定する。

10

【0008】

炎症促進性サイトカインのいくつかの阻害剤は、既に知られており、開発されており、炎症性及び/若しくは自己免疫性疾患又は症状を治療する、遅延させる、治癒させる、防止するために今なお開発中のものもある。好ましい炎症性及び/若しくは自己免疫性疾患又は症状の例は、炎症性腸疾患 (IBD)、関節リウマチ (RA)、他のRA様疾患、クローン病、多発性硬化症 (MS)、乾癬、化膿性汗腺炎、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、サルコイドーシス、痛風、ウェゲナー病 (Wegener Disease)、2型糖尿病、アテローム性動脈硬化症、ライム病、敗血症、喘息、潰瘍性大腸炎、強直性脊椎炎を含む。他のRA様疾患は、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎又は若年性関節炎を含む。好ましい炎症性及び/若しくは自己免疫性疾患又は症状を、表1において同定する。

20

【0009】

炎症促進性サイトカインの阻害剤の例は、IL - 1 に対して産生されたヒトモノクローナル抗体であるNovartis製のイラリス (Ilaris) (すなわちカナキマブ)、Abbott製のTNF の阻害剤であるヒュミラ (Humira) (すなわちアダリムマブ) 又はWyeth/Pfizer製のTNF の別の阻害剤であるエンブレル (Enbrel) (すなわちエタネルセプト)、又はRoche製のIL - 6Rの阻害剤であるトシリズマブのような、炎症促進性サイトカインに対して産生された阻害抗体を含む。カスパーゼ1阻害剤VRT (Vertex) のような炎症促進性サイトカインを阻害する小分子 (又はペプチド模倣物)。阻害抗体又はペプチド模倣物をどのように産出するのかに關して、より多くの情報を、後の節で提供する。カスパーゼ1阻害剤VRTは、IL - 1 の産生を阻害することが既知であり、前記カスパーゼ1阻害剤は、実験部分で説明するクローン病の治療において既に使用されている。トシリズマブは、クローン及びRAの治療において既に使用されている。エンブレルは、RA、強直性脊椎炎、及び乾癬性関節炎の治療において既に使用されている。

30

40

【0010】

第2の方法：B細胞の阻害剤の有効性を評価すること

別の態様では、本発明は、対象におけるB細胞の阻害剤の有効性を評価するための方法であって、

(a) 前記対象から試料を採取するステップと、

(b1) 前記試料を、前記試料におけるB細胞の産生を誘発することができる化合物と接触させるステップと、

(b2) 前記試料を、前記試料における前記B細胞の前記阻害剤と接触させるステップと

50

、
(c)ステップ(b1)及び(b2)の終わりに前記試料におけるB細胞の数を決定するステップと、

(d)ステップ(b1)の終わりに前記B細胞の検出可能な数又は数の増加が検出され、ステップ(b2)の終わりに前記B細胞の数の検出可能な減少が検出された場合、前記阻害剤の有効性を十分であると評価するステップとを含む方法に関する。

【0011】

炎症促進性サイトカインのように、B細胞は、全身性炎症を促進することができ得る。B細胞は、本明細書で定義した炎症性及び/若しくは自己免疫性疾患又は症状に関与し得る、又はこれと関連し得る、又はこれの結果であり得る。B細胞は、当業者に既知の技法によりB細胞特異的マーカーの存在を評価することによって、試料において同定することができる。マーカーが細胞表面で発現される場合、好ましい技法は、前記マーカーの細胞外ドメイン(の部分)を認識する特異的抗体を使用したFACS(蛍光標示式細胞分取)分析である。好ましいB細胞特異的マーカーは、CD20又はCD19である。かかるFACS分析において使用されるCD20に対する好ましい市販の入手可能な抗体は、Millipore製のクローン2H7であるAnti-CD20である。

10

【0012】

B細胞マーカーが、試料中に存在するB細胞の数を評価するために、本発明において使用されることは、当業者には明らかである。B細胞マーカーは、本明細書で同定したB細胞の阻害剤の標的でもある。

20

【0013】

かかるB細胞の阻害剤は、前記B細胞の産生を阻害することができる及び/又は前記B細胞の数を減少させることができる及び/又は前記B細胞の活性を減少させることができる化合物とすることができる。B細胞の阻害剤は、B細胞を除去する/捕獲する/不活化することができる及び/又はかかるB細胞によって産生される抗体を除去する/捕獲する/不活化することができる化合物と考えることもできる。B細胞の活性は、IL-6又はIL-10のような炎症促進性サイトカインの産生とすることができるか、又はヘルパーT細胞(Th17)などの他の細胞による炎症促進性サイトカインの産生を促進することとすることができる。Th17は、炎症促進性サイトカインとしてのIL-17を産生することができることが既知である。

30

【0014】

B細胞のいくつかの阻害剤は、既に知られており、開発されており、炎症性及び/若しくは自己免疫性疾患又は症状を治療する、遅延させる、治癒させる、防止するために今なお開発中のものもある。B細胞の好ましい阻害剤は、より好ましくは表2において同定した、CD20の阻害剤：リツキシマブ(Roche、CH)、オファツムマブ(GSK、UK)、ベルツズマブ(Takeda、JP)又はオクレリズマブ(Roche CH)である。B細胞の別の好ましい阻害剤は、CD19の阻害剤である。好ましい阻害剤又はCD19は、GBR 401(Glenmark pharmaceuticals、CH)である。

40

【0015】

好ましい炎症性及び/若しくは自己免疫性疾患又は症状の例は、本明細書で既に定義した。B細胞が関与し得る、又は関連し得る、又はかかる疾患又は症状の結果であり得るより好ましい炎症性及び/若しくは自己免疫性疾患又は症状は、関節リウマチ(RA)及び多発性硬化症(MS)を含む。好ましい炎症性及び/若しくは自己免疫性疾患又は症状を、表1において同定する。

【0016】

好ましい実施形態では、第1の方法(すなわち炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するもの)及び第2の方法(すなわちB細胞の阻害剤の有効性を評価するもの)を、同じ対象に適用する。以下に、第1の方法の各特徴を、さらに定義する。別段の指示

50

がない場合、第1の方法の各特徴は、第2の方法に適用される。

【0017】

したがって、本発明は、対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための及び/又はB細胞の阻害剤の有効性を評価するための方法であって、

(a) 前記対象から試料を採取するステップと、

(b1) 前記試料を、前記試料における炎症促進性サイトカインの産生を誘発することができる化合物と接触させる及び/又は前記試料を、前記試料におけるB細胞の産生を誘発することができる化合物と接触させるステップと、

(b2) 前記試料を、前記試料における前記炎症促進性サイトカインの前記阻害剤と接触させる及び/又は前記試料を、前記試料における前記B細胞の前記阻害剤と接触させるステップと、

(c) ステップ(b1)及び(b2)の終わりに前記炎症促進性サイトカインのプロファイル又は発現レベルを決定する及び/又は前記試料におけるB細胞の数を決定するステップと、

ステップ(d)：

(d1) ステップ(b1)の終わりに前記炎症促進性サイトカインの検出可能なプロファイル若しくは発現レベル又はプロファイル若しくは発現レベルの増加が検出され、ステップ(b2)の終わりに前記炎症促進性サイトカインのプロファイル又は発現レベルの検出可能な減少が検出された場合、前記炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を十分であると評価するステップ及び/又は

(d2) ステップ(b1)の終わりに前記B細胞の検出可能な数又は数の増加が検出され、ステップ(b2)の終わりに前記B細胞の数の検出可能な減少が検出された場合、前記B細胞の阻害剤の有効性を十分であると評価するステップと

を含む方法に関する。

【0018】

【表1】

表1. サイトカイン/B細胞関与に基づく炎症性疾患の層別化。

サイトカイン	標的	RA	他のRA様疾患	潰瘍性大腸炎	クローン病	乾癬	MS	喘息	敗血症	痛風	ライム病	2型糖尿病
TNF□		X	X	X	X	X						X
IL-1□		X			X		X		X	X	X	X
IL-5								X				
IL-6	IL-6R	X										
IL-12	IL-12 p40	X			X	X						
IL-17	IL-17 A	X			X	X	X				X	
IL-17	IL-17 F					X	X					
IL-23		X			X	X						
IFN□								X	X			
B細胞	CD20	X					X					
	CD19	X					X					

【表 2】

表2:炎症促進性サイトカイン又はB細胞の既知の阻害剤

TNF α 阻害剤	エンブレル(Amgen and Whyett, USA);ヒュミラ(Abbott, USA); インフリキシマブ(Centocor pharmaceuticals(Johnson&Johnson) 、USA);ゴリムマブ(MSD)
IL-1 β 阻害剤	アナキンラ(IL-1Ra)(Sobi, SE);イラリス(抗IL-1b)(Novartis, CH)
IL-5阻害剤	メポリズマブ(GSK, UK)
IL-6R阻害剤	トシリズマブ(Roche, CH)
IL-12p40阻害剤	ウステキヌマブ(Janssen-Cilag, BE)
IL-17A阻害剤	ブロダルマブ(Amgen, USA);イキセキズマブ(;Lilly(Eli), USA)セク キヌマブ(Novartis, CH)
IL-23阻害剤	ウステキヌマブ(Janssen-Cilag, BE)
IFN γ □	イムキン(Boehringer Ingelheim, DE)
B細胞(CD20)	リツキシマブ(Roche, CH)、オフアツムマブ(GSK, UK)、ベルツ ズマブ(Takeda, JP)又はオクレリズマブ(Roche CH)
B細胞(CD19)	GBR 401 (Glenmark Pharmaceuticals, CH).

10

【図面の簡単な説明】

【0019】

20

【図1】IL-1 産生に及ぼすカスパーゼ-1阻害剤(VRT)の効果を示す図である。ヒトPBMCを、いくつかのPRRアゴニストに24hの間曝露して、IL-1 産生を刺激した。PRRリガンドに加えて、PBMCを、カスパーゼ-1阻害剤の存在下でPRRリガンドで刺激した(左上のパネル)。50人の対象のPBMCを、これらの実験に含んだ。別個のパネルでは、カスパーゼ-1阻害剤を有する又は有さない種々のPRRアゴニストを示す。IL-1 は、ELISAによって決定した。

【図2】ATG16L1遺伝子型に依存するカスパーゼ-1阻害剤(VRT)の効果を示す図である。50人の対象を、ATG16L1遺伝子型に関して遺伝子型を同定し、その後IL-1 産生を、遺伝子型毎に発現させた。MDP、LPS並びにMDP及びLPSの組合せの、3つの異なるPRRリガンドを示した。IL-1 は、ELISAによって決定した。左パネル;各対象のIL-1 産生を示す。右パネル;ボックスプロットを示す。

30

【図3】LPS-及びMDP-誘発IL-1 産生に依存するカスパーゼ-1阻害剤(VRT)の効果を示す図である。LPS又はMDPでの刺激後の高(>2000pg/ml)、中(1000~2000pg/ml)及び低(<1000pg/ml)IL-1 産生者での対象の層別化。ビヒクル対照と比較したカスパーゼ-1阻害の効果を、阻害百分率で対象の各群において示す。

【図4】健常な個体におけるTNF 産生を示す図である。104の個体からのPBMCを、標準的なプロトコールに従って単離した。TNF 産生能力を、10ng/ml E.コリLPS又は10⁶HKカンジダ/mlへの24hの曝露によって決定した。その後TNF を、ELISAを使用して測定した。

40

【図5】LPS-及びカンジダ-誘発TNF 産生の相関を示す図である。104の対象からのPBMCをE.コリLPS又はHKカンジダ・アルピカンス(Candida albicans)で刺激した。TNF 産生能力を、10ng/mlエシェリキア・コリLPS又は10⁶HKカンジダ・アルピカンス/mlへの24hの曝露によって決定した。その後TNF を、ELISAによって決定した。図は、全ての対象がLPSとカンジダの両方に関して高TNF 産生者であることを示すわけではないことを示した。

【図6】クローン患者の層別化を示す図である。23人のIBD患者から、PBMCを単離し、E.コリLPS(10ng/ml)又はPam3cys/MDP(10ug/ml及び10ug/ml)で24hの間刺激した。その後TNF を、ELISAによって決

50

定した。MDP (ムラミル - ジ - ペプチド) は、細胞内NOD2受容体によって認識されることになるので、これは、疾患特異的刺激と考えられる。

【図7】2人のRA患者からのPBMCを、IgG対照 (IvIg) 又は3つの異なるTNF阻害剤で30分間刺激した。その後 10^6 HKカンジダ/mlを加えた。24h後、IL-1産生を、ELISAによって測定した。抗TNFを、抗TNF療法後にRA患者に存在することになる用量である、 $4\mu\text{g/ml}$ の用量で試験した。3つ全てのTNF遮断薬がIL-1産生を低下させたことに注目されたい。TNFがカンジダ曝露によって引き出されたPBMCによるIL-1産生に寄与することは既知である。

【図8】188人の痛風患者のPBMCを、培地 (RPMI 1640) Pam3cys、又はMSU/C16.0で24hの間刺激した。その後、IL-1を、ELISAを使用して測定した。ここで、MSU/C16.0 (痛風特異的) がIL-1の強力な誘発因子であることが分かる。

【図9】MS患者の層別化を示す図である。4人のMS患者並びに4人の年齢及び性別が一致した健常対照から単離したPBMCを、7日間、RPMI、カンジダ・アルピカンス ($1 \cdot 10^6 / \text{ml}$)、MOGペプチド ($10\mu\text{g/ml}$)、抗CD3/CD28 ($1\mu\text{g/ml} : 0.1\mu\text{g/ml}$) 及びMOG/抗CD3/28の組合せ ($10\mu\text{g/ml}$ 及び $1\mu\text{g/ml} : 0.1\mu\text{g/ml}$) で刺激した。図9のaは、健常対照と比較した場合、MS患者のIL-17A産生がMOG/抗CD3/28への曝露後に強く上方制御されたことを示した。図9のbは、対照と比較した場合、PBMCによるIL-22産生がカンジダ・アルピカンス及びMOG/抗CD3/28への曝露後にMS患者において上昇すること示した。興味深いことに、MOG/抗CD3/28刺激後のIL-22産生は、強く上方制御される。カンジダ・アルピカンス誘発IFN-gはわずかに高いけれども、大きな違いはMS患者と健常対照間のIFN-産生において注目されなかった (図9のc)。

【発明を実施するための形態】

【0020】

本発明の方法 (すなわち第1及び/又は第2の方法) は、対象を所与の自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患並びに/又は症状に関して治療する前に行うことができる。かかる治療が開始したやいなや、本発明の方法を行うことも本発明によって包含される。かかる場合では、現在の治療法 (すなわち第1の方法における炎症促進性サイトカインの阻害剤及び第2の方法におけるB細胞の阻害剤) の有効性を、他の可能な治療法の1つ (すなわち第1の方法における炎症促進性サイトカインの他の阻害剤及び第2の方法におけるB細胞の阻害剤) と比較することができる。本発明の方法が、他の治療法の有効性が現在の治療法の1つよりも優れていると予想されることを示す場合、前記対象に行われる治療の型を改変することができ、最良の有効性を有する阻害剤を選択することができる。

【0021】

本発明の文脈では、対象は、ヒト又は動物とすることができる。方法 (すなわち第1及び/又は第2の方法) を、対象に必要な頻度適用することができる。対象がヒトである場合、対象は、例えばその人の遺伝的バックグラウンドにより、自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状を有する又は発症する高いリスクを有すると疑われる人としてすることができる。

【0022】

したがって、好ましい実施形態では、本発明は、自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状に罹っていると疑われる対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための方法であって、前記炎症促進性サイトカインが、IL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及びIFNからなる群から選択され、前記方法が、

(a) 前記対象から試料を採取するステップと、

(b1) 前記試料を、前記試料における炎症促進性サイトカインの産生を誘発することができる化合物と接触させるステップと、

10

20

30

40

50

(b2) 前記試料を、前記試料における前記炎症促進性サイトカインの前記阻害剤と接触させるステップと、

(c) ステップ(b1)及び(b2)の終わりに前記試料における前記炎症促進性サイトカインのプロファイル又は発現レベルを決定するステップと、

(d) ステップ(b1)の終わりに前記炎症促進性サイトカインの検出可能な発現レベル又は発現レベルの増加が検出され、ステップ(b2)の終わりに前記炎症促進性サイトカインの発現レベルの検出可能な減少が検出された場合、前記炎症促進性サイトカインの前記阻害剤の有効性を十分であると評価するステップとを含む方法を提供する。

【0023】

表1は、いくつかの自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患並びに/又は症状並びに前記疾患及び/又は症状に關与することが既知である主要な炎症促進性サイトカインの概要を提供する。表1は、B細胞が關与する又は役割を果たすと疑われる、いくつかの自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患並びに/又は症状の概要も提供する。表2は、いくつかの炎症促進性サイトカインの既知の阻害剤のいくつかの概要を示す。表2は、B細胞のいくつかの既知の阻害剤の概要も提供する。

【0024】

一実施形態では、本明細書で先に定義した本発明の方法(すなわち好ましくは自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状に罹っていると疑われる対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価する及び/又はB細胞阻害剤の有効性を評価するための)は、

自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状が、RA(関節リウマチ)である及び/又は

炎症促進性サイトカインが、TNF、IL-1、IL-6、IL-12、IL-17及びIL-23からなる群から選択される及び/又は

B細胞阻害剤によって標的とされるB細胞マーカーが、CD20又はCD19であるようなものである。

【0025】

炎症促進性サイトカインがIL-12である場合、IL-12の阻害剤は、IL-12 p40の阻害剤であることが好ましい。かかる好ましい阻害剤は、ウステキヌマブ(Janssen-Cilag、BE)である。

【0026】

炎症促進性サイトカインがIL-17である場合、IL-17の阻害剤は、IL-17Aの阻害剤であることが好ましい。IL-17Aの好ましい阻害剤は、プロダルマブ(Amgen、USA);イキセキズマブ(;Lilly(Eli)、USA)又はセクキヌマブ(Novartis、CH)である。

【0027】

炎症促進性サイトカインがIL-23である場合、IL-23の阻害剤は、ウステキヌマブ(Janssen-Cilag、BE)であることが好ましい。

【0028】

炎症促進性サイトカインがCD20である場合、CD20の阻害剤は、リツキシマブ(Roche、CH)であることが好ましい。

【0029】

炎症促進性サイトカインがIL-6である場合、IL-6の阻害剤は、トシリズマブ(Roche、CH)であることが好ましい。

【0030】

炎症促進性サイトカインがIL-1である場合、IL-1の阻害剤は、アナキンラ(IL-1R)(Sobi、SE);イラリス(抗IL-1b)(Novartis、CH)であることが好ましい。

【0031】

10

20

30

40

50

炎症促進性サイトカインがTNFである場合、TNFの阻害剤は、エンブレル（Embril）（Amgen and Whyett, USA）；ヒュミラ（Abbott, USA）；インフリキシマブ（Centocor pharmaceuticals（Johnson & Johnson）、USA）；ゴリムマブ（MSD）であることが好ましい。

【0032】

好ましいCD20阻害剤は、リツキシマブ（Roche, CH）、オファツムマブ（GSK, UK）、ベルツズマブ（Takeda, JP）又はオクレリズマブ（Roche CH）である。B細胞の別の好ましい阻害剤は、CD19の阻害剤である。好ましい阻害剤又はCD19は、GBR 401（Glenmark pharmaceuticals, CH）である。

10

【0033】

別の実施形態では、本明細書で先に定義した本発明の方法（すなわち好ましくは自己免疫性及び／若しくは炎症性疾患又は症状に罹っていると疑われる対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための）は、

自己免疫性及び／若しくは炎症性疾患又は症状が、別のRA様疾患である及び／又は炎症促進性サイトカインが、TNFである
ようなものである。

【0034】

炎症促進性サイトカインがTNFである場合、TNFの阻害剤は、エンブレル（Amgen and Whyett, USA）；ヒュミラ（Abbott, USA）；インフリキシマブ（Centocor pharmaceuticals（Johnson & Johnson）、USA）；ゴリムマブ（MSD）であることが好ましい。

20

【0035】

別の実施形態では、本明細書で先に定義した本発明の方法（すなわち好ましくは自己免疫性及び／若しくは炎症性疾患又は症状に罹っていると疑われる対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための）は、

自己免疫性及び／若しくは炎症性疾患又は症状が、潰瘍性大腸炎である及び／又は炎症促進性サイトカインが、TNFである
ようなものである。

30

【0036】

炎症促進性サイトカインがTNFである場合、TNFの阻害剤は、エンブレル（Amgen and Whyett, USA）；ヒュミラ（Abbott, USA）；インフリキシマブ（Centocor pharmaceuticals（Johnson & Johnson）、USA）；ゴリムマブ（MSD）であることが好ましい。

【0037】

別の実施形態では、本明細書で先に定義した本発明の方法（すなわち好ましくは自己免疫性及び／若しくは炎症性疾患又は症状に罹っていると疑われる対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための）は、

自己免疫性及び／若しくは炎症性疾患又は症状が、クローン病である及び／又は炎症促進性サイトカインが、TNF、IL-1、IL-12、IL-17及びIL-23からなる群から選択される
ようなものである。

40

【0038】

炎症促進性サイトカインがIL-12である場合、IL-12の好ましい阻害剤は、IL-12 p40の阻害剤であることが好ましい。IL-12 p40の好ましい阻害剤は、ウステキヌマブ（Janssen-Cilag, BE）である。

【0039】

炎症促進性サイトカインがIL-17である場合、IL-17の好ましい阻害剤は、IL-17Aの阻害剤であることが好ましい。IL-17Aの好ましい阻害剤は、プロダル

50

マブ (Amgen, USA); イキセキズマブ (; Lilly (Eli), USA) 又は
セクキヌマブ (Novartis, CH) である。

【0040】

炎症促進性サイトカインが IL - 23 である場合、IL - 23 の阻害剤は、ウステキヌ
マブ (Janssen - Cilag, BE) であることが好ましい。

【0041】

炎症促進性サイトカインが IL - 1 である場合、IL - 1 の阻害剤は、アナキンラ
(IL - 1R) (Sobi, SE); イラリス (抗 IL - 1b) (Novartis, CH) であることが好ましい。

【0042】

炎症促進性サイトカインが TNF である場合、TNF の阻害剤は、エンブレル (A
mgen and Whyett, USA); ヒュミラ (Abbott, USA); イン
フリキシマブ (Centocor pharmaceuticals (Johnson &
Johnson), USA); ゴリムマブ (MSD) であることが好ましい。

10

【0043】

一実施形態では、本明細書で先に定義した本発明の方法 (すなわち好ましくは自己免疫
性及び / 若しくは炎症性疾患又は症状に罹っていると疑われる対象における炎症促進性サ
イトカインの阻害剤の有効性を評価するための) は、

自己免疫性及び / 若しくは炎症性疾患又は症状が、乾癬である及び / 又は

炎症促進性サイトカインが、TNF、IL - 12、IL - 17 及び IL - 23 からな
る群から選択される
ようなものである。

20

【0044】

炎症促進性サイトカインが IL - 12 である場合、IL - 12 の好ましい阻害剤は、I
L - 12 p 40 の阻害剤であることが好ましい。IL - 12 p 40 の好ましい阻害剤は、
ウステキヌマブ (Janssen - Cilag, BE) である。

【0045】

炎症促進性サイトカインが IL - 17 である場合、IL - 17 の好ましい阻害剤は、I
L - 17 A の阻害剤であることが好ましい。IL - 17 A の好ましい阻害剤は、プロダル
マブ (Amgen, USA); イキセキズマブ (; Lilly (Eli), USA) 又は
セクキヌマブ (Novartis, CH) である。

30

【0046】

炎症促進性サイトカインが IL - 23 である場合、IL - 23 の阻害剤は、ウステキヌ
マブ (Janssen - Cilag, BE) であることが好ましい。

【0047】

炎症促進性サイトカインが TNF である場合、TNF の阻害剤は、エンブレル (A
mgen and Whyett, USA); ヒュミラ (Abbott, USA); イン
フリキシマブ (Centocor pharmaceuticals (Johnson &
Johnson), USA); ゴリムマブ (MSD) であることが好ましい。

40

【0048】

別の実施形態では、本明細書で先に定義した本発明の方法 (すなわち好ましくは自己免
疫性及び / 若しくは炎症性疾患又は症状に罹っていると疑われる対象における炎症促進性
サイトカインの阻害剤の有効性を評価する及び / 又は B 細胞阻害剤の有効性を評価するた
めの) は、

自己免疫性及び / 若しくは炎症性疾患又は症状が、MS (多発性硬化症) である及び /
又は

炎症促進性サイトカインが、IL - 1、及び IL - 17 からなる群から選択される及
び / 又は

B 細胞阻害剤によって標的とされる B 細胞マーカーが、CD 20 又は CD 19 である
ようなものである。

50

【0049】

炎症促進性サイトカインがIL-17である場合、IL-17の好ましい阻害剤は、IL-17Aの阻害剤又はIL-17Fの阻害剤であることが好ましい。IL-17Aの好ましい阻害剤は、プロダルマブ(Amgen、USA)；イクセキズマブ(Lilly(Elil)、USA)又はセクキヌマブ(Novartis、CH)である。

【0050】

炎症促進性サイトカインがCD20である場合、CD20の阻害剤は、リツキシマブ(Roche、CH)であることが好ましい。

【0051】

炎症促進性サイトカインがIL-1である場合、IL-1の阻害剤は、アナキンラ(IL-1R)(Sobi、SE)；イラリス(抗IL-1b)(Novartis、CH)であることが好ましい。

10

【0052】

好ましいCD20阻害剤は、リツキシマブ(Roche、CH)、オフアツムマブ(GSK、UK)、ベルツズマブ(Takeda、JP)又はオクレリズマブ(Roche CH)である。B細胞の別の好ましい阻害剤は、CD19の阻害剤である。好ましい阻害剤又はCD19は、GBR 401(Glenmark pharmaceuticals、CH)である。

【0053】

別の実施形態では、本明細書で先に定義した本発明の方法(すなわち好ましくは自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状に罹っていると疑われる対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための)は、

20

自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状が、喘息である及び/又は炎症促進性サイトカインが、IL-5及びIFN からなる群から選択されるようなものである。

【0054】

炎症促進性サイトカインがIL-5である場合、IL-5の阻害剤は、メボリズマブ(GSK、UK)であることが好ましい。

【0055】

炎症促進性サイトカインがIFNである場合、IFNの阻害剤は、イムキン(Immukine)(Boehringer Ingelheim、DE)であることが好ましい。

30

【0056】

別の実施形態では、本明細書で先に定義した本発明の方法(すなわち好ましくは自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状に罹っていると疑われる対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための)は、

自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状が、敗血症である及び/又は炎症促進性サイトカインが、IL-1及びIFN からなる群から選択されるようなものである。

【0057】

炎症促進性サイトカインがIL-1である場合、IL-1の阻害剤は、アナキンラ(IL-1R)(Sobi、SE)；イラリス(抗IL-1)(Novartis、CH)であることが好ましい。

40

【0058】

炎症促進性サイトカインがIFNである場合、IFNの阻害剤は、イムキン(Boehringer Ingelheim、DE)であることが好ましい。

【0059】

別の実施形態では、本明細書で先に定義した本発明の方法(すなわち好ましくは自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状に罹っていると疑われる対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための)は、

50

自己免疫性及び／若しくは炎症性疾患又は症状が、痛風である及び／又は炎症促進性サイトカインが、IL-1 であるようなものである。

【0060】

炎症促進性サイトカインがIL-1 である場合、IL-1 の阻害剤は、アナキンラ (IL-1R) (Sobi、SE) ; イラリス (抗IL-1) (Novartis、CH) であることが好ましい。

【0061】

別の実施形態では、本明細書で先に定義した本発明の方法 (すなわち好ましくは自己免疫性及び／若しくは炎症性疾患又は症状に罹っていると疑われる対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための) は、

自己免疫性及び／若しくは炎症性疾患又は症状が、ライム病である及び／又は炎症促進性サイトカインが、IL-1 及びIL-17 からなる群から選択されるようなものである。

【0062】

炎症促進性サイトカインがIL-17 である場合、IL-17 の好ましい阻害剤は、IL-17A の阻害剤であることが好ましい。IL-17A の好ましい阻害剤は、プロダルマブ (Amgen、USA) ; イキセキズマブ (; Lilly (Eli)、USA) 又はセクキヌマブ (Novartis、CH) である。

【0063】

炎症促進性サイトカインがIL-1 である場合、IL-1 の阻害剤は、アナキンラ (IL-1R) (Sobi、SE) ; イラリス (抗IL-1b) (Novartis、CH) であることが好ましい。

【0064】

別の実施形態では、本明細書で先に定義した本発明の方法 (すなわち好ましくは自己免疫性及び／若しくは炎症性疾患又は症状に罹っていると疑われる対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための) は、

自己免疫性及び／若しくは炎症性疾患又は症状が、2型糖尿病である及び／又は炎症促進性サイトカインが、TNF 及びIL-1 からなる群から選択されるようなものである。

【0065】

炎症促進性サイトカインがIL-1 である場合、IL-1 の阻害剤は、アナキンラ (IL-1R) (Sobi、SE) ; イラリス (抗IL-1b) (Novartis、CH) であることが好ましい。

【0066】

炎症促進性サイトカインがTNF である場合、TNF の阻害剤は、エンブレル (Amgen and Whyett、USA) ; ヒュミラ (Abbott、USA) ; インフリキシマブ (Centocor pharmaceuticals (Johnson & Johnson)、USA) ; ゴリムマブ (MSD) であることが好ましい。

【0067】

したがって、好ましい方法は、以下の自己免疫性及び／若しくは炎症性疾患又は症状に及び／又は以下の炎症促進性サイトカインに及び／又は以下のB細胞マーカーに適用される：

i . RA 及び／又は炎症促進性サイトカインがTNF 、IL-1 、IL-6、IL-12、IL-17 及びIL-23 からなる群から選択される及び／又はB細胞マーカーがCD20 及び／又はCD19 である、

ii . 別のRA様疾患及び／又は炎症促進性サイトカインがTNF である、

iii . 潰瘍性大腸炎及び／又は炎症促進性サイトカインがTNF である、

iv . クローン病及び／又は炎症促進性サイトカインがTNF 、IL-1 、IL-12、IL-17 及びIL-23 からなる群から選択される、

10

20

30

40

50

v . 乾癬及び / 又は炎症促進性サイトカインが T N F 、 I L - 1 2 、 I L - 1 7 及び I L - 2 3 からなる群から選択される、

v i . M S 及び / 又は炎症促進性サイトカインが I L - 1 及び I L - 1 7 からなる群から選択される及び / 又は B 細胞マーカーが C D 2 0 及び / 又は C D 1 9 である、

v i i . 喘息及び / 又は炎症促進性サイトカインが I L - 5 及び I F N からなる群から選択される、

v i i i . 敗血症及び / 又は炎症促進性サイトカインが I L - 1 及び I F N からなる群から選択される、

i x . 痛風及び / 又は炎症促進性サイトカインが I L - 1 である、

x . ライム病及び / 又は炎症促進性サイトカインが I L - 1 及び I L - 1 7 からなる群から選択される、

x i . 2 型糖尿病及び / 又は炎症促進性サイトカインが T N F 及び I L - 1 からなる群から選択される。

【 0 0 6 8 】

第 1 及び第 2 の方法 (すなわち炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価すること及び B 細胞の阻害剤の有効性を評価すること) のステップ (a) では、前記対象からの試料を採取する。したがって、本発明の方法は、 *i n - v i t r o* 若しくは *e x - v i v o* 方法及び / 又は非観血法である。試料は、対象から採取された流体を好ましくは含む又はこれからなる。流体は、尿、血液、脊髄液、唾液、精液、又は肺胞洗浄液を含む又はこれらからなる又はこれらに由来する又はこれらから選択されることがより好ましい。好ましい流体は、血液である、血液を含む、血液からなる、又は血液に由来する。血液は、全血として使用することができる、又はさらに使用する前に希釈又は精製することができる。希釈は、培養培地又は緩衝液における 1 : 4 、 1 : 5 又は 1 : 6 とすることができる。試料は、細胞を含むことができる。好ましい試料は、血液細胞 (すなわち B 細胞及び / 又は T 細胞及び / 又は B 細胞前駆体及び / 又は T 細胞前駆体) を含む。好ましい細胞は、 P B M C (末梢血単核球) を含む。好ましい試料は、流体を含み、血液をより好ましくは含む、 P B M C をさらにより好ましくは含む。試料の独自性に依存して、試料を培養することができる。例えば試料が P B M C を含む場合、試料を当業者に既知の適した化合物で補充した適した培地において培養することができる。 P B M C を、実験部分において説明したように培養することが好ましい。

【 0 0 6 9 】

第 1 の方法 (すなわち炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための) のステップ a) の又はステップ a) において採取された好ましい試料は、炎症促進性サイトカインを含まない又は本明細書で後で説明するように評価された (すなわち R T P C R 又は E L I S A) その検出可能な量を含まない。

【 0 0 7 0 】

第 2 の方法 (すなわち B 細胞の阻害剤の有効性を評価するための) のステップ a) の又はステップ a) において採取された好ましい試料は、 B 細胞を含まない又は本明細書で説明するように評価された (B 細胞マーカーを使用した F A C S 分析) その検出可能な数を含まない。特異的な B 細胞マーカーは、本明細書で既に同定されている (C D 1 9 又は C D 2 0) 。かかる F A C S 分析において使用される C D 2 0 に対する好ましい市販の入手可能な抗体は、 M i l l i p o r e 製のクローン 2 H 7 である A n t i - C D 2 0 である。

【 0 0 7 1 】

第 1 及び第 2 の方法のそれぞれが本明細書で同定された試料の異なる型を使用することは、本発明によって包含される。しかしながら、試料の同じ型を、各方法において使用することができる。

【 0 0 7 2 】

第 1 の方法 (すなわち炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価すること) のステップ (b 1) では、ステップ (a) において採取された前記試料を、前記試料における

10

20

30

40

50

炎症促進性サイトカインの産生を誘発することができる化合物と接触させる。本発明の文脈では、炎症促進性サイトカインの産生を誘発することができる化合物を、前記サイトカインの産生を増加させることができる化合物と置き換えることができる。炎症促進性サイトカインの産生を誘発することができる任意の既知の化合物を使用することができる。例えば、LPS、MDP、LPS/MDP、Pam3cys/MDP、ポリI:C、フラゲリン又はHK E.コリ(E. Coli)は、IL-1の産生を誘発する又は増加させることが既知である(8)。

【0073】

好ましい実施形態では、炎症促進性サイトカインの産生を誘発するために使用する化合物は、所与の自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状に特異的である。前記化合物は、疾患した細胞又は疾患した対象の細胞に存在する受容体に結合することができることが好ましい。疾患に特異的でない化合物が使用される方法と比較して、かかる化合物の使用が本発明の方法の感受性及び/又は特異性及び/又は予測性を改善することが実証された(特に実施例7の図5を参照されたい)。

10

【0074】

炎症性腸疾患(IBD)又はクローン病に関して、かかる好ましい化合物は、MDP(ムラミルジペプチド(Invivogen USA))である。8~12 µg/mlのMDPを使用することが好ましい。より好ましくは10 µg/ml。MDPは、よく知られているNOD2リガンドであり、疾患特異的であると考えられる(実施例3を参照されたい)。

20

【0075】

MSに関して、かかる好ましい化合物は、抗CD3/CD28と組み合わせたミエリン塩基性タンパク質又はMOGペプチドである(実施例7を参照されたい)。好ましい抗CD3及び好ましい抗CD28は、MACS miltenyi biotec(Germany)製である。抗CD3及び抗CD28は、少なくとも0.8、0.9、1、1.1、1.2 µg/mlの濃度でそれぞれ使用する。これらの抗体のそれぞれに関する好ましい濃度は、1 µg/mlである。MOGペプチドは、以下のアミノ酸配列を有する: Met-Glu-Val-Gly-Trp-Tyr-Arg-Ser-Pro-Phe-Ser-Arg-Val-Val-His-Leu-Tyr-Arg-Asn-Gly-Lys。MOGペプチドは、Tocris Biosciences、Cat No. 2568)から購入される。

30

【0076】

痛風に関して、かかる好ましい化合物は、尿酸ナトリウム(MSU)結晶及び脂肪酸(C16.0)(実施例6を参照されたい)である。MSU/C16.0は、(280 µg/ml、180 µM C16.0)から(290 µg/ml、190 µM C16.0)(300 µg/ml、200 µM C16.0)(310 µg/ml、210 µM C16.0)にわたる濃度で使用することが好ましい。C16.0は、Sigma Aldrich(USA)から購入される。MSUは、当業者に既知の技法を使用して調製する。

【0077】

ライム病に関して、かかる化合物は、ボレリア抗原又はボレリア細胞全体又はその部分又はそのライセートとすることができる又はこれらを含むことができる。

40

【0078】

敗血症に関して、かかる化合物は、細菌及び/若しくは真菌抗原又は細菌及び/若しくは真菌細胞全体又はその部分又はそのライセートとすることができる又はこれらを含むことができる。

【0079】

喘息に関して、かかる化合物は、キチン及び/又はアスペルギルス抗原とすることができる。喘息に関して、かかる化合物は、アスペルギルス抗原及び/又はアスペルギルス細胞全体又はその部分又はそのライセートを含むことができる。

【0080】

50

第2の方法(すなわちB細胞の阻害剤の有効性を評価すること)のステップ(b1)では、ステップ(a)において採取された前記試料を、前記試料におけるB細胞の産生を誘発することができる化合物と接触させる。本発明の文脈では、B細胞の産生を誘発することができる化合物を、B細胞の数を増加させることができる化合物及び/又はかかるB細胞の活性を増加させる又は活性化することができる化合物と置き換えることができる。B細胞の産生を誘発する又は増加させることができる任意の既知の化合物を使用することができる。例えば、B細胞の産生を誘発する又は増加させることが既知の化合物は、IL-5、IL-6又はIL-7を含む。

【0081】

好ましい実施形態では、B細胞の産生を誘発するために使用する化合物は、所与の自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状に特異的である。前記化合物は、疾患した細胞又は疾患した対象の細胞に存在する受容体に結合することができることが好ましい。

【0082】

第1及び第2の方法(すなわち炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価すること及びB細胞の阻害剤の有効性を評価すること)における(b1)接触ステップは、1、2、3、4、5、6、7、8、12、24、30、48、60、70、80、90、93、96、100、110時間以上の持続時間を有することができる。接触は、4~96時間、又は20~50時間、又は24時間、又は48時間の持続時間を有することが好ましい。この接触ステップは、RPMI 1640などの培養培地における培養ステップとすることができる。

【0083】

第1及び第2の方法(すなわち炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価すること及びB細胞の阻害剤の有効性を評価すること)のステップ(b2)では、ステップ(a)において採取された前記試料を、前記炎症促進性サイトカインの阻害剤(及び/又は第2の方法に関してB細胞の阻害剤)と接触させる。前記炎症促進性サイトカインの前記阻害剤の独自性は、本明細書で既に定義した。前記B細胞の阻害剤の独自性は、本明細書で既に定義した。ステップ(b1)におけるように、接触は、1、2、3、4、5、6、7、8、12、24、30、48、60、70、80、90、93、96、100、110時間以上の持続時間を有することができる。接触は、4~96時間、又は20~50時間、又は24時間、又は48時間の持続時間を有することが好ましい。この接触ステップは、RPMI 1640などの培養培地における培養ステップとすることができる。通常、ステップ(a)の試料は、少なくとも2つの部分、3つの部分、4つの部分に分けられ、これらの部分のそれぞれにおいて、ステップ(b1)及び(b2)を行う。ステップ(b1)及び(b2)を、順次又は同時に、好ましくは順次行うことができる。第1及び第2の方法が順次又は同時に行われる場合、(a)の試料を、4つの部分に分けることができる:これらの部分の2つに適用される第1の方法、残りの2つの部分における第2の方法。試料の異なる型が第1対第2の方法に使用される場合、各試料を各方法のステップ(b1)及び(b2)を行うための2つのみに分けることができることも本発明によって包含される。

【0084】

第1の方法(すなわち炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価すること)のステップ(c)では、前記炎症促進性サイトカインのプロファイル又は発現レベルは、ステップ(b1)及び(b2)の終わりに前記試料において決定される。

【0085】

本発明の文脈では、「プロファイル」、「発現プロファイル」又は「発現のプロファイル」という表現は、「発現レベル」又は「産生レベル」又は「活性レベル」と置き換えることができる。したがって、炎症促進性サイトカインのプロファイルは、その産生(コード核酸及び/又はタンパク質レベル)レベル及び/又はその活性レベルを表すことができる。

【0086】

前記炎症促進性サイトカインのプロファイル又は発現レベルの評価は、タンパク質発現レベル（前記タンパク質の量を定量化すること）及び／又は活性レベル（前記タンパク質の活性を定量化すること）で直接的に及び／又は前記炎症促進性サイトカインをコードするヌクレオチド配列の量を定量化することによって間接的に実現することができる。当業者は、試験する対象又は種に依存して、炎症促進性サイトカインの複数のアイソフォームを単離することが可能であることを理解することになる。

【0087】

第2の方法（すなわちB細胞の阻害剤の有効性を評価すること）のステップ（c）では、前記B細胞の数は、ステップ（b1）及び（b2）の終わりに前記試料において決定される。

10

【0088】

B細胞の数は、前記細胞の活性も表すことができる。

【0089】

B細胞の数は、細胞レベル（前記細胞の量を定量化すること）及び／又は活性レベル（前記細胞の活性を定量化すること）で直接的に評価することができる。当業者は、B細胞の数又は活性を評価する方法を知っている。B細胞の数は、本明細書で前に説明したFACS技法を使用して評価することができる。B細胞の活性は、炎症促進性サイトカイン（例えばIL-6）の産生とすることができる又は他の細胞、例えばヘルパーT細胞（Th17）による炎症促進性サイトカインの産生の促進とすることができる。IL-6のような炎症促進性サイトカインの産生の評価は、第1の方法の文脈で本明細書で説明した。したがって、第2の方法の実施形態では、炎症促進性サイトカインのプロファイル又は発現レベルは、ステップ（b1）及び（b2）の終わりに前記試料において決定される。このプロファイル又は発現レベルは、第1の方法に関して本明細書に記載したものと同一方法で評価する。ヘルパーT細胞17の数は、FACS分析を使用してB細胞として又はサイトカインフロー表現型検査（cytokine flow phenotyping）によって評価することができる。サイトカインフロー表現型検査は、前記細胞におけるマーカーの細胞内発現を評価することを可能にする。Th17細胞のマーカーの例は、IL-17A、IL-17F、IL-21、IL-22、CD4を含む。これらのマーカーの存在を評価するために使用される化合物の例は、

20

IL-17Aに関して：eBio64DEC17 FITC

30

IL-17Fに関して：SHLR17 PE

IL-21に関して：eBio3A3-N2 Alexa Fluor（登録商標）647

IL-22に関して：22URTI PerCP-eFluor（登録商標）710

CD4に関して：RPA-T4 eFluor（登録商標）450

を含む。

全てe-Biosciences、USA製である。

【0090】

IL-1 をコードする好ましいヌクレオチド酸配列は、配列番号1を含む又はこれからなる。好ましい相当するIL-1 アミノ酸配列は、配列番号2を含む又はこれからなる。

40

【0091】

IL-6 をコードする好ましいヌクレオチド酸配列は、配列番号3を含む又はこれからなる。好ましい相当するIL-6 アミノ酸配列は、配列番号4を含む又はこれからなる。

【0092】

IL-17 をコードする好ましいヌクレオチド酸配列は、配列番号5を含む又はこれからなる。好ましい相当するIL-17 アミノ酸配列は、配列番号6を含む又はこれからなる。

【0093】

IL-23 をコードする好ましいヌクレオチド酸配列は、配列番号7を含む又はこれか

50

らなる。好ましい相当する I L - 2 3 アミノ酸配列は、配列番号 8 を含む又はこれからなる。

【 0 0 9 4 】

T N F をコードする好ましいヌクレオチド酸配列は、配列番号 9 を含む又はこれからなる。好ましい相当する T N F アミノ酸配列は、配列番号 1 0 を含む又はこれからなる。

【 0 0 9 5 】

I F N をコードする好ましいヌクレオチド酸配列は、配列番号 1 1 を含む又はこれからなる。好ましい相当する I F N アミノ酸配列は、配列番号 1 2 を含む又はこれからなる。

10

【 0 0 9 6 】

I L - 1 2 をコードする好ましいヌクレオチド酸配列は、配列番号 2 5 を含む又はこれからなる。好ましい相当する I L - 1 2 アミノ酸配列は、配列番号 2 6 を含む又はこれからなる。

【 0 0 9 7 】

I L - 5 をコードする好ましいヌクレオチド酸配列は、配列番号 2 9 を含む又はこれからなる。好ましい相当する I L - 5 アミノ酸配列は、配列番号 3 0 を含む又はこれからなる。

【 0 0 9 8 】

好ましい実施形態では、炎症促進性サイトカインは、I L - 1 を含む又はこれからなる。I L - 1 は、

20

配列番号 2 との少なくとも 6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、又は 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列によって表される及び / 又は

配列番号 1 との少なくとも 6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、又は 1 0 0 % の同一性を有するヌクレオチド酸配列によってコードされることがより好ましい。

【 0 0 9 9 】

別の好ましい実施形態では、I L - 1 をコードするヌクレオチド酸配列は、

配列番号 1 との少なくとも 6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、又は 1 0 0 % の同一性を有する及び / 又は

30

配列番号 2 によってコードされるアミノ酸配列との少なくとも 6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、又は 1 0 0 % の同一性を有する I L - 1 のアミノ酸配列をコードする。

【 0 1 0 0 】

好ましい実施形態では、炎症促進性サイトカインは、I L - 6 を含む又はこれからなる。I L - 6 は、

配列番号 4 との少なくとも 6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、又は 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列によって表される及び / 又は

配列番号 3 との少なくとも 6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、又は 1 0 0 % の同一性を有するヌクレオチド酸配列によってコードされることがより好ましい。

40

【 0 1 0 1 】

別の好ましい実施形態では、I L - 6 をコードするヌクレオチド酸配列は、

配列番号 3 との少なくとも 6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、又は 1 0 0 % の同一性を有する及び / 又は

配列番号 4 によってコードされるアミノ酸配列との少なくとも 6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、又は 1 0 0 % の同一性を有する I L - 6 のアミノ酸配列をコードする。

【 0 1 0 2 】

好ましい実施形態では、炎症促進性サイトカインは、I L - 1 7 を含む又はこれからなる。

50

る。IL - 17 は、

配列番号6との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するアミノ酸配列によって表される及び/又は

配列番号5との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するヌクレオチド酸配列によってコードされることがより好ましい。

【0103】

別の好ましい実施形態では、IL - 17 をコードするヌクレオチド酸配列は、

配列番号5との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有する及び/又は

配列番号6によってコードされるアミノ酸配列との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するIL - 17 のアミノ酸配列をコードする。

【0104】

好ましい実施形態では、炎症促進性サイトカインは、IL - 23 を含む又はこれからなる。IL - 23 は、

配列番号8との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するアミノ酸配列によって表される及び/又は

配列番号7との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するヌクレオチド酸配列によってコードされることがより好ましい。

【0105】

別の好ましい実施形態では、IL - 23 をコードするヌクレオチド酸配列は、

配列番号7との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有する及び/又は

配列番号8によってコードされるアミノ酸配列との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するIL - 23 のアミノ酸配列をコードする。

【0106】

好ましい実施形態では、炎症促進性サイトカインは、TNF を含む又はこれからなる。TNF は、

配列番号10との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するアミノ酸配列によって表される及び/又は

配列番号9との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するヌクレオチド酸配列によってコードされることがより好ましい。

【0107】

別の好ましい実施形態では、TNF をコードするヌクレオチド酸配列は、

配列番号9との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有する及び/又は

配列番号10によってコードされるアミノ酸配列との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するTNF のアミノ酸配列をコードする。

【0108】

好ましい実施形態では、炎症促進性サイトカインは、IFN を含む又はこれからなる。IFN は、

配列番号12との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するアミノ酸配列によって表される及び/又は

配列番号11との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するヌクレオチド酸配列によってコードされる

10

20

30

40

50

ことがより好ましい。

【0109】

別の好ましい実施形態では、IFN をコードするヌクレオチド酸配列は、配列番号11との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有する及び/又は

配列番号12によってコードされるアミノ酸配列との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するIFN のアミノ酸配列をコードする。

【0110】

好ましい実施形態では、炎症促進性サイトカインは、IL-12を含む又はこれからなる。IL-12は、

配列番号26との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を含むアミノ酸配列によって表される及び/又は

配列番号25との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するヌクレオチド酸配列によってコードされることがより好ましい。

【0111】

別の好ましい実施形態では、IL-12をコードするヌクレオチド酸配列は、

配列番号25との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有する及び/又は

配列番号26によってコードされるアミノ酸配列との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するIL-12のアミノ酸配列をコードする。

【0112】

好ましい実施形態では、炎症促進性サイトカインは、IL-5を含む又はこれからなる。IL-5は、

配列番号30との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を含むアミノ酸配列によって表される及び/又は

配列番号29との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するヌクレオチド酸配列によってコードされることがより好ましい。

【0113】

別の好ましい実施形態では、IL-12をコードするヌクレオチド酸配列は、

配列番号29との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有する及び/又は

配列番号30によってコードされるアミノ酸配列との少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、又は100%の同一性を有するIL-12のアミノ酸配列をコードする。

【0114】

同一性は、本明細書で後で定義する。炎症促進性サイトカイン（好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び/又はIFN- γ ）をコードするヌクレオチド配列の量の定量化は、（リアルタイム）PCR、アレイ又はノーザン分析などの古典的な分子生物学技法を使用して好ましくは行う。この実施形態では、本明細書に記載の前記炎症促進性サイトカイン（好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び/又はIFN- γ ）をコードするヌクレオチド配列は、メッセンジャーRNA（mRNA）を意味する。代わりに、別の好ましい実施形態によれば、方法では、前記炎症促進性サイトカイン（好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び/又はIFN- γ ）の発現レベルは、前記炎症促進性サイトカイン（好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び/

10

20

30

40

50

又はIFN-)の量を定量化することによって、直接的に決定される。ポリペプチド量を定量化することは、任意の既知の技法によって行うことができる。ポリペプチド量は、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び/又はIFN-)に特異的に結合する分子を使用して定量化することが好ましい。好ましい結合性分子は、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び/又はIFN-)を認識するために特異的に産生された抗体、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び/又はIFN-)に特異的に結合することが既知である任意の他の分子から選択される。かかる抗体は、ウエスタンブロット法、又はラテックスビーズを使用したELISA(酵素結合免疫吸着検定法)若しくはFACS(蛍光標示式細胞分取法)などの当業者に既知の任意のイムノアッセイにおいて使用される。抗体の調製は、当業者に既知である。IL-1のような炎症促進性サイトカインの存在は、実験データにおいて行ったように評価するのが好ましい。抗体を調製するために使用方法の簡潔な説明は、本明細書で後で提供する。本発明の文脈では、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び/又はIFN-)に結合することが既知の任意の他の分子は、核酸、例えばDNA調節領域、ポリペプチド、代謝産物、基質、調節エレメント、構造的成分、シャペロン(輸送)分子、ペプチド模倣体、非ペプチド模倣体、又はリガンドの任意の他の型とすることができる。ペプチド模倣体は、本明細書で後で定義する。前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び/又はIFN-)に結合することが既知である分子の例は、IL-1受容体、IL-6受容体、IL-17受容体、IL-23受容体、TNF受容体及び/又はIFN-受容体、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び/又はIFN-)に向けられた抗体などの前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び/又はIFN-)の受容体を含む。第2の結合性分子への前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び/又はIFN-)の結合は、当業者に既知の任意の標準的な方法によって検出することができる。適した方法は、アフィニティークロマトグラフィー共電気泳動(affinity chromatography coelectrophoresis)(ACE)アッセイ及びELISAを含む。当業者は、前記炎症促進性サイトカインをコードする核酸配列及び/又は相当するポリペプチド(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び/又はIFN-)の定量化の代わりに又はこれと組み合わせて、特定のアッセイを使用した、相当するポリペプチドの基質又は相当するポリペプチドの機能若しくは活性と関連していることが既知の任意の化合物の定量化又は相当するポリペプチドの機能若しくは活性の定量化が本発明の方法の範囲内に包含されることを理解することになる。例えば、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び/又はIFN-)又は前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び/又はIFN-)に結合することができる分子による標的遺伝子のトランス活性化は、例えば、標的遺伝子のプロモーターがレポーター遺伝子、例えば、P-ガラクトシダーゼ又はルシフェラーゼに連結している一過性のトランスフェクションアッセイにおいて、決定する及び定量化することができる。かかる評価は、in vitro又はin vivo又はex vivoで行うことができる。

【0115】

炎症促進性サイトカインをコードするヌクレオチド配列の検出のための好ましいプライマーを、以下に提供する。

10

20

30

40

50

【 0 1 1 6 】

IL - 1 PCRに使用する好ましいプライマーは、
 順方向プライマー C A G C T A C G A A T C T C C G A C C A C (配列番号 1 3) ; 及
 び
 逆方向プライマー G G C A G G G A A C C A G C A T C T T C (配列番号 1 4)
 であると同定される。

【 0 1 1 7 】

IL - 6 PCRに使用する好ましいプライマーは、
 順方向プライマー A A T T C G G T A C A T C C T C G A C G G (配列番号 1 5) ; 及
 び
 逆方向プライマー G G T T G T T T T C T G C C A G T G C C T (配列番号 1 6)
 であると同定される。

【 0 1 1 8 】

IL - 17 PCRに使用する好ましいプライマーは、
 順方向プライマー T C C C A C G A A A T C C A G G A T G C (配列番号 1 7) ; 及び
 逆方向プライマー G G A T G T T C A G G T T G A C C A T C A C (配列番号 1 8)
 であると同定される。

【 0 1 1 9 】

IL - 23 PCRに使用する好ましいプライマーは、
 順方向プライマー C T C A G G G A C A A C A G T C A G T T C (配列番号 1 9) ; 及
 び
 逆方向プライマー A C A G G G C T A T C A G G G A G C A - (配列番号 2 0)
 であると同定される。

【 0 1 2 0 】

TNF PCRに使用する好ましいプライマーは、
 順方向プライマー T G G C C C A G G C A G T C A G A (配列番号 2 1) ; 及び
 逆方向プライマー G G T T T G C T A C A A C A T G G G C T A C A (配列番号 2 2)
 であると同定される。

【 0 1 2 1 】

IFN PCRに使用する好ましいプライマーは、
 順方向プライマー T C G G T A A C T G A C T T G A A T G T C C A (配列番号 2 3)
 ; 及び
 逆方向プライマー T C C T T T T T C G C T T C C C T G T T T T (配列番号 2 4)
 であると同定される。

【 0 1 2 2 】

IL - 12 PCRに使用する好ましいプライマーは、
 順方向プライマー C C T T G C A C T T C T G A A G A G A T T G A (配列番号 2 7)
 ; 及び
 逆方向プライマー A C A G G G C C A T C A T A A A G A G G T (配列番号 2 8)
 であると同定される。

【 0 1 2 3 】

IL - 5 PCRに使用する好ましいプライマーは、
 順方向プライマー C C T T G C A C T T C T G A A G A G A T T G A (配列番号 3 1)
 ; 及び
 逆方向プライマー A C A G G G C C A T C A T A A A G A G G T (配列番号 3 2)
 であると同定される。

【 0 1 2 4 】

任意選択で、本発明の第 1 の方法では、ステップ (c) において決定された炎症促進性
 サイトカインのプロファイル又は発現レベルを、前記発現レベル又はプロファイルに関す
 る基準値と比較することができ、基準値は、好ましくは対照試料における前記発現レベル

10

20

30

40

50

又はプロファイルに関する平均値である。

【0125】

本発明の文脈では、前記炎症促進性サイトカインのプロファイル又は発現レベルに関する「基準値」は、好ましくは対照試料における前記発現レベル又はプロファイルに関する平均値である。

【0126】

同じことが第2の方法にも当てはまり、ここでB細胞の数が基準、好ましくは対照試料に関するB細胞の数と比較される。本発明の文脈では、B細胞の数に関する「基準値」は、好ましくは対照試料におけるB細胞の平均数である。

【0127】

好ましい対照試料の2つの型は、本明細書で後で定義する：ステップ(b1)に関するもの及びステップ(b2)に関するもの。

【0128】

第1の方法(すなわち炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための)の好ましい実施形態では、接触ステップ(b1)及び/又は(b2)の終わりに、上清を遠心分離によって単離し、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-12、IL-23、IL-5、TNF及び/又はIFN-)のタンパク質を既知の方法を使用して当業者によって決定する。遠心分離は、1200rpmで4とすることができる。代わりに、ステップ(b1)及び/又は(b2)の終わりに界面活性剤を試料に加えることができる。トリトンX0.1%などのいくつかの界面活性剤が使用される。界面活性剤を加えることは、遠心分離ステップが必要ではないことが予想されるので、魅力的である。細胞ライセートとも称される、前記界面活性剤を含む試料における前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-12、IL-23、IL-5、TNF及び/又はIFN-)の発現レベルを決定することができる。

【0129】

第2の方法(すなわちB細胞の阻害剤の有効性を評価するための)の好ましい実施形態では、接触ステップ(b1)及び/又は(b2)の終わりに、B細胞を、本明細書で先に定義した特異的なB細胞マーカーを使用することによって単離する。

【0130】

第1又は第2の方法のステップ(d)では、前記阻害剤の有効性を評価する。

【0131】

第1の方法では、ステップ(b1)の終わりに前記炎症促進性サイトカインの検出可能な発現レベル又は発現レベルの増加が検出され、ステップ(b2)の終わりに前記炎症促進性サイトカインの発現レベルの検出可能な減少が検出された場合、前記炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性は、十分であると好ましくは言われる。

【0132】

第2の方法では、ステップ(b1)の終わりに前記B細胞の検出可能な数又は数の増加が検出され、ステップ(b2)の終わりに前記B細胞の数の検出可能な減少が検出された場合、前記B細胞の阻害剤の有効性は、十分であると好ましくは言われる。

【0133】

第1の方法(すなわち炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための)のステップ(b1)の後のステップ(d)では、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び/又はIFN-)及び/又はそれらの相当するヌクレオチド配列(又は前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び/又はIFN-)の定常症状レベル)の検出可能な発現レベル若しくはプロファイル又は発現レベルの増加又はその生物学的活性におけるその任意の検出可能な活性若しくは検出可能な変化)は、対照における前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、

10

20

30

40

50

TNF 及び/又はIFN-)及び/又は相当するヌクレオチド配列(又は相当するコードされた炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び/又はIFN-)の定常状態レベル)の発現プロファイルと比較して、前に定義した方法を使用して評価する。好ましい対照は、同じ対象からの同様の試料であり、前記対照試料は、炎症促進性サイトカインの産生を誘発することができる化合物と接触していない。通常、前記対照では、炎症促進性サイトカインの発現レベルは、低い又は検出不可能である。好ましい実施形態によれば、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び/又はIFN-)の活性の検出又は増加又は変化は、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び/又はIFN-)をコードする遺伝子/ヌクレオチド配列に関する特定のmRNAアッセイを使用して、定量化する。

10

【0134】

前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び/又はIFN-)をコードするヌクレオチド配列の発現レベルの増加は、PCRを使用した前記ヌクレオチド配列の発現レベルの少なくとも5%の増加を意味することが好ましい。

【0135】

ヌクレオチド配列の発現レベルの増加は、少なくとも10%、さらにより好ましくは少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも90%、少なくとも150%以上の増加を意味することがより好ましい。

20

【0136】

炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び/又はIFN-)の低い又は検出不可能なプロファイル又は発現レベルは、前記Tリンパ球増殖因子(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び/又はIFN-)をコードするヌクレオチド配列の発現レベルがPCRを使用して検出可能ではない、又はCt値が35以上であることを好ましくは意味する。

【0137】

前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び/又はIFN-)の発現レベルの増加は、ウエスタンブロット法を使用した及び/又はELISA又は適したアッセイを使用した、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び/又はIFN-)の発現レベルの少なくとも5%の増加を意味することが好ましい。前記ポリペプチドの発現レベルの増加は、少なくとも10%、さらにより好ましくは少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも90%、少なくとも150%以上の増加を意味することがより好ましい。

30

【0138】

前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び/又はIFN-)の活性の増加は、適したアッセイを使用した、ポリペプチド活性の少なくとも5%の増加を意味することが好ましい。ポリペプチド活性の増加は、少なくとも10%、さらにより好ましくは少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも90%、少なくとも150%以上の増加を意味することがより好ましい。

40

【0139】

第1の方法(すなわち炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するための)のステップ(b2)の後のステップ(d)では、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF 及び

50

／又はIFN-)及び／又はそれらの相当するヌクレオチド配列(又は前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び／又はIFN-)の定常状態レベル)の発現レベルの検出可能な減少又はその生物学的活性におけるその任意の検出可能な活性又は検出可能な変化)は、対照における前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び／又はIFN-)及び／又は相当するヌクレオチド配列(又は相当するコードされた炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び／又はIFN-)の定常状態レベル)の発現プロファイル又はレベルと比較して、前に定義した方法を使用して評価する。好ましい対照は、同じ対象からの同様の試料であり、前記対照試料は、前記炎症促進性サイトカインの阻害剤と接触していない。好ましい実施形態によれば、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び／又はIFN-)の発現レベルの減少又は活性の変化は、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び／又はIFN-)をコードする遺伝子／ヌクレオチド配列に関する特定のmRNAアッセイを使用して、定量化する。

10

【0140】

前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び／又はIFN-)をコードするヌクレオチド配列の発現レベルの減少は、PCRを使用した前記ヌクレオチド配列の発現レベルの少なくとも5%の減少を意味することが好ましい。

20

【0141】

ヌクレオチド配列の発現レベルの減少は、少なくとも10%、さらにより好ましくは少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも90%、少なくとも150%以上の減少を意味することがより好ましい。

【0142】

前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び／又はIFN-)の発現レベルの減少は、ウエスタンブロット法を使用した及び／又はELISA又は適したアッセイを使用した、前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び／又はIFN-)の発現レベルの少なくとも5%の減少を意味することが好ましい。前記ポリペプチドの発現レベルの減少は、少なくとも10%、さらにより好ましくは少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも90%、少なくとも150%以上の減少を意味することがより好ましい。

30

【0143】

前記炎症促進性サイトカイン(好ましくはIL-1、IL-6、IL-17、IL-23、IL-12、IL-5、TNF及び／又はIFN-)の活性の減少は、適したアッセイを使用した、ポリペプチド活性の少なくとも5%の減少を意味することが好ましい。ポリペプチド活性の減少は、少なくとも10%、さらにより好ましくは少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも90%、少なくとも150%以上の減少を意味することがより好ましい。

40

【0144】

好ましい方法では、ステップ(b1)の後のステップ(d)において評価された前記炎症促進性サイトカインの発現レベルが増加し、ステップ(b2)の後のステップ(d)において評価された前記炎症促進性サイトカインの発現レベルが減少した場合、炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性は、前記十分である。

【0145】

50

より好ましい方法では、ステップ (b 1) の後のステップ (d) において評価された前記炎症促進性サイトカインの発現レベルが少なくとも 20 %、30 %、40 %、50 % 減少し、ステップ (b 2) の後のステップ (d) において評価された前記炎症促進性サイトカインの発現レベルが少なくとも 10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 % 減少した場合、炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性は、前記十分である。この増加及び減少は、好ましくは本明細書で先に記載した E L I S A を使用して評価する。

【 0 1 4 6 】

ステップ (b 1) の後のステップ (d) において評価された増加が少なくとも 30 % であり、ステップ (b 2) の後のステップ (d) において評価された減少が少なくとも 30 % であることがさらにより好ましい。

10

【 0 1 4 7 】

ステップ (b 1) の後のステップ (d) において評価された増加が少なくとも 40 % であり、ステップ (b 2) の後のステップ (d) において評価された減少が少なくとも 40 % であることがさらにより好ましい。

【 0 1 4 8 】

ステップ (b 1) の後のステップ (d) において評価された増加が少なくとも 50 % であり、ステップ (b 2) の後のステップ (d) において評価された減少が少なくとも 50 % であることがさらにより好ましい。

【 0 1 4 9 】

第 2 の方法 (すなわち B 細胞の阻害剤の有効性を評価するための) のステップ (b 1) の後のステップ (d) では、前記 B 細胞の検出可能な数又は検出された数の増加 (又はその生物学的活性におけるその任意の検出可能な活性又は検出可能な変化) は、対照における B 細胞と比較して、先に定義した方法を使用して評価する。好ましい対照は、同じ対照からの同様の試料であり、前記対照試料は、B 細胞の産生を誘発することができる化合物と接触していない。通常、前記対照では、B 細胞の数は、低い又は検出不可能である。好ましい実施形態によれば、B 細胞は、本明細書で先に説明した F A C S 又は P C R を使用して検出する。代わりに、B 細胞の活性の増加又は変化は、I L - 6 又は I L - 1 0 のような炎症促進性サイトカインの産生とすることができる又はヘルパー T 細胞 (T h 1 7) などの他の細胞による炎症促進性サイトカインの産生を促進することとすることができる。T h 1 7 は、炎症促進性サイトカインとしての I L - 1 7 を産生することができることが既知である。

20

30

【 0 1 5 0 】

B 細胞の数の増加は、より好ましくは F A C S 又は P C R を使用した、B 細胞の数の少なくとも 5 % の増加を意味することが好ましい。

【 0 1 5 1 】

B 細胞の数の増加は、少なくとも 10 %、さらにより好ましくは少なくとも 20 %、少なくとも 30 %、少なくとも 40 %、少なくとも 50 %、少なくとも 70 %、少なくとも 90 %、少なくとも 150 % 以上の増加を意味することがより好ましい。

【 0 1 5 2 】

B 細胞の低い又は検出不可能な数は、P C R を使用して B 細胞が検出されない、又は C t 値が 35 以上であることを好ましくは意味する。

40

【 0 1 5 3 】

B 細胞の活性の増加は、適したアッセイを使用した、活性の少なくとも 5 % の増加を意味することが好ましい。前記活性の増加は、少なくとも 10 %、さらにより好ましくは少なくとも 20 %、少なくとも 30 %、少なくとも 40 %、少なくとも 50 %、少なくとも 70 %、少なくとも 90 %、少なくとも 150 % 以上の増加を意味することがより好ましい。この文脈におけるより好ましい活性は、ヘルパー T 細胞 17 を経由した I L - 6、I L - 1 0 の産生又は I L - 1 7 の産生である。

【 0 1 5 4 】

50

代わりに、B細胞の活性の増加は、より好ましくはFACS又はPCRを使用した、Th17細胞の数の少なくとも5%の増加を意味する。

【0155】

Th17細胞の数の増加は、少なくとも10%、さらにより好ましくは少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも90%、少なくとも150%以上の増加を意味することがより好ましい。

【0156】

第2の方法(すなわちB細胞の阻害剤の有効性を評価するための)のステップ(b2)の後のステップ(d)では、検出された前記B細胞の数及び/又はその任意の検出可能な活性の検出可能な減少又はその生物学的活性における検出可能な変化)は、対照におけるB細胞の数及び/又は相当する活性と比較して、先に定義した方法を使用して評価する。好ましい対照は、同じ対象からの同様の試料であり、前記対照試料は、前記B細胞の阻害剤と接触していない。好ましい実施形態によれば、B細胞の数の減少又は前記B細胞の活性の変化は、本明細書で先に同定したように定量化する。

10

【0157】

B細胞の数の減少は、FACSを使用した、前記ヌクレオチド配列の発現レベルの少なくとも5%の減少を意味することが好ましい。

【0158】

B細胞の数の減少は、少なくとも10%、さらにより好ましくは少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも90%、少なくとも150%以上の減少を意味することがより好ましい。

20

【0159】

前記B細胞の活性の減少は、適したアッセイを使用した、前記活性の少なくとも5%の減少を意味することが好ましい。前記活性の減少は、少なくとも10%、さらにより好ましくは少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも90%、少なくとも150%以上の減少を意味することがより好ましい。

【0160】

この文脈におけるより好ましい活性は、ヘルパーT細胞17を經由したIL-6、IL-10の産生又はIL-17の産生である。

30

【0161】

代わりに、B細胞の活性の減少は、より好ましくはFACS又はPCRを使用した、Th17細胞の数の少なくとも5%の減少を意味する。

【0162】

Th17細胞の数の減少は、少なくとも10%、さらにより好ましくは少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも90%、少なくとも150%以上の減少を意味することがより好ましい。

【0163】

好ましい第2の方法では、ステップ(b1)の後のステップ(d)において評価されたB細胞の数が増加し、ステップ(b2)の後のステップ(d)において評価されたB細胞の数が減少した場合、B細胞の阻害剤の有効性は、前記十分である。

40

【0164】

より好ましい第2の方法では、ステップ(b1)の後のステップ(d)において評価されたB細胞の数が少なくとも20%、30%、40%、50%増加し、ステップ(b2)の後のステップ(d)において評価されたB細胞の数が少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%減少した場合、B細胞の阻害剤の有効性は、前記十分である。この増加及び減少は、好ましくは本明細書で先に記載したFACS又はPCRを使用して評価する。

【0165】

ステップ(b1)の後のステップ(d)において評価された増加が少なくとも30%で

50

あり、ステップ (b 2) の後のステップ (d) において評価された減少が少なくとも 3 0 % であることがさらにより好ましい。

【 0 1 6 6 】

ステップ (b 1) の後のステップ (d) において評価された増加が少なくとも 4 0 % であり、ステップ (b 2) の後のステップ (d) において評価された減少が少なくとも 4 0 % であることがさらにより好ましい。

【 0 1 6 7 】

ステップ (b 1) の後のステップ (d) において評価された増加が少なくとも 5 0 % であり、ステップ (b 2) の後のステップ (d) において評価された減少が少なくとも 5 0 % であることがさらにより好ましい。

【 0 1 6 8 】

別の好ましい第 2 の方法では、ステップ (b 1) の後のステップ (d) において評価された B 細胞の活性が増加し、ステップ (b 2) の後のステップ (d) において評価された B 細胞の活性が減少した場合、B 細胞の阻害剤の有効性は、前記十分である。

【 0 1 6 9 】

より好ましい第 2 の方法では、ステップ (b 1) の後のステップ (d) において評価された B 細胞の活性が少なくとも 2 0 %、3 0 %、4 0 %、5 0 % 増加し、ステップ (b 2) の後のステップ (d) において評価された B 細胞の活性が少なくとも 1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 % 減少した場合、B 細胞の阻害剤の有効性は、前記十分である。この増加及び減少は、好ましくは本明細書で先に記載した F A C S 又は P C R 又は E L I S A を使用して評価する。

【 0 1 7 0 】

ステップ (b 1) の後のステップ (d) において評価された増加が少なくとも 3 0 % であり、ステップ (b 2) の後のステップ (d) において評価された減少が少なくとも 3 0 % であることがさらにより好ましい。

【 0 1 7 1 】

ステップ (b 1) の後のステップ (d) において評価された増加が少なくとも 4 0 % であり、ステップ (b 2) の後のステップ (d) において評価された減少が少なくとも 4 0 % であることがさらにより好ましい。

【 0 1 7 2 】

ステップ (b 1) の後のステップ (d) において評価された増加が少なくとも 5 0 % であり、ステップ (b 2) の後のステップ (d) において評価された減少が少なくとも 5 0 % であることがさらにより好ましい。

【 0 1 7 3 】

炎症性及び / 若しくは自己免疫性症状又は疾患を有すると疑われる対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価する及び / 又は B 細胞の阻害剤の有効性を評価するためのこの手法は、現在使用されている生物学的療法に基づく全ての治療法に適用可能であり得る。この手法は、成功的ではなさそうであり、潜在的な重大な副作用を有する治療法を与えられるであろう患者と、かかる個人化手法の実質的な経費節約の態様により、医療制度との両方に非常に重要であり得る。

【 0 1 7 4 】

治療のための方法

さらなる態様では、本発明は、自己免疫性及び / 若しくは炎症性症状又は疾患に罹っていると疑われる対象を治療するための方法であって、本明細書で先に定義した対象における炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価するステップ及び / 又は B 細胞の阻害剤の有効性を評価するステップと、その後前記阻害剤の有効性が申し分ない場合、前記対象を前記阻害剤で治療するステップとを含む方法に関する。

【 0 1 7 5 】

炎症促進性サイトカインの阻害剤の有効性を評価する及び / 又は B 細胞の阻害剤の有効性を評価する方法は、本発明の第 1 の態様専用の節において広範に説明した。

10

20

30

40

50

【0176】

自己免疫性及び/若しくは炎症性疾患又は症状に対する治療法は、本明細書で先に言及した炎症促進性サイトカインの阻害剤の1つ及び/又はB細胞の阻害剤の1つの長期投与とすることができる。

【0177】

かかる治療法は、治療の少なくとも1週間、1ヶ月、6ヶ月後に、前記対象の症状又はパラメータを治癒させる又は慢性的に抑制する又は緩和することが意図されている。かかるパラメータは、本明細書で先に定義した炎症促進性サイトカイン及び/又はB細胞の数の発現レベル又はプロファイルである。かかる発現レベル又はプロファイルは、治療の開始時に前記対象において測定された値よりも低い値に向かって標準化することができる。この文脈では、「よりも低い」は、5%低い、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又は100%以上低いことを意味することができる。

10

【0178】

配列同一性

「配列同一性」は、配列を比較することによって決定される、2つ以上のアミノ酸（ポリペプチド又はタンパク質）配列又は2つ以上の核酸（ポリヌクレオチド）配列間の関係として本明細書で定義される。2つのアミノ酸又は2つの核酸配列間の同一性は、本明細書で同定された配列番号全体又はその部分内でそれらの同一性を評価することによって好ましくは定義される。その部分は、配列番号の長さの少なくとも50%、又は少なくとも60%、又は少なくとも70%、又は少なくとも80%、又は少なくとも90%を意味することができる。

20

【0179】

当技術分野では、「同一性」も、場合によっては、かかる配列の紐間のマッチによって決定される、アミノ酸又は核酸配列間の配列関連性の程度を意味する。2つのアミノ酸配列間の「類似性」は、1つのポリペプチドのアミノ酸配列及びその保存アミノ酸置換を第2のポリペプチドの配列と比較することによって決定される。「同一性」及び「類似性」は、(Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heine, G., Academic Press, 1987; 及び Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; 及び Carillo, H., and Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48:1073 (1988) において報告されているものを含むがこれらに限定されない、既知の方法によって容易に計算することができる。

30

40

【0180】

同一性を決定するための好ましい方法は、試験する配列間の最も大きいマッチを示すように設計されている。同一性及び類似性を決定するための方法は、公的に入手可能なコンピュータプログラムで成文化されている。2つの配列間の同一性及び類似性を決定するための好ましいコンピュータプログラム方法は、例えばGCGプログラムパッケージ(Devereux, J.ら、Nucleic Acids Research 12(1):387(1984))、BestFit、BLASTP、BLASTN、及びFASTA(Altschul, S.F.ら、J. Mol. Biol. 215:403-410(1990))を含む。BLAST Xプログラムは、NCBI及び他の供給源から公

50

的に入手可能である (BLAST Manual, Altschul, S.ら、NCBI NLM NIH Bethesda, MD 20894; Altschul, S.ら、J. Mol. Biol. 215: 403 - 410 (1990)。よく知られている Smith Waterman アルゴリズムも、同一性を決定するために使用することができる。

【0181】

ポリペプチド配列比較に関する好ましいパラメーターは、以下のものを含む：アルゴリズム：Needleman and Wunsch、J. Mol. Biol. 48: 443 - 453 (1970)；比較マトリックス：Hentikoff and Hentikoff、Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89: 10915 - 10919 (1992)からのBLOSSUM62；ギャップペナルティ：12；及びギャップ長さペナルティ：4。これらのパラメーターで有用なプログラムは、ウィスコンシン州マディソンにあるGenetics Computer Groupから「Ogap」プログラムとして公的に入手可能である。上記のパラメーターは、アミノ酸比較に関するデフォルトパラメーター（末端ギャップに関するペナルティなし）である。

10

【0182】

核酸比較に関する好ましいパラメーターは、以下のものを含む：アルゴリズム：Needleman and Wunsch、J. Mol. Biol. 48: 443 - 453 (1970)；比較マトリックス：マッチ = +10、ミスマッチ = 0；ギャップペナルティ：50；ギャップ長さペナルティ：3。ウィスコンシン州マディソンにあるGenetics Computer Groupからギャッププログラムとして入手可能。核酸比較に関するデフォルトパラメーターを上記で提供した。

20

【0183】

任意選択で、アミノ酸類似性の程度を決定することにおいて、当業者は、当業者には明らかであろうように、いわゆる「保存的」アミノ酸置換も考慮に入れることができる。保存的アミノ酸置換は、同様の側鎖を有する残基の互換性を表す。例えば、脂肪族側鎖を有するアミノ酸の群は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、及びイソロイシンであり；脂肪族 - ヒドロキシル側鎖を有するアミノ酸の群は、セリン及びトレオニンであり；アミド含有側鎖を有するアミノ酸の群は、アスパラギン及びグルタミンであり；芳香族側鎖を有するアミノ酸の群は、フェニルアラニン、チロシン、及びトリプトファンであり；塩基性側鎖を有するアミノ酸の群は、リシン、アルギニン、及びヒスチジンであり；硫黄含有側鎖を有するアミノ酸の群は、システイン及びメチオニンである。好ましい保存的アミノ酸置換群は、バリン - ロイシン - イソロイシン、フェニルアラニン - チロシン、リシン - アルギニン、アラニン - バリン、及びアスパラギン - グルタミンである。本明細書で開示したアミノ酸配列の置換変異体は、開示した配列における少なくとも1つの残基が除去され、異なる残基がその場所に挿入されたものである。アミノ酸変化は、保存的であることが好ましい。自然発生のアミノ酸のそれぞれに関する好ましい保存的置換は、以下の通りである：AlaからSer；ArgからLys；AsnからGln又はHis；AspからGlu；CysからSer又はAla；GlnからAsn；GluからAsp；GlyからPro；HisからAsn又はGln；IleからLeu又はVal；LeuからIle又はVal；LysからArg、Gln又はGlu；MetからLeu又はIle；PheからMet、Leu又はTyr；SerからThr；ThrからSer；TrpからTyr；TyrからTrp又はPhe；及びValからIle又はLeu。

30

40

抗体

【0184】

本発明のいくつかの態様は、炎症促進性サイトカインに特異的に結合する抗体又は抗体断片の使用に関する。かかるポリペプチドに特異的に結合する抗体又は抗体断片を産出するための方法は、例えばHarlow and Lane (1988、Antibodies: A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、NY

50

）及び国際公開第91/19818号パンフレット；国際公開第91/18989号パンフレット；国際公開第92/01047号パンフレット；国際公開第92/06204号パンフレット；国際公開第92/18619号パンフレット；及び米国特許第6,420,113号及びそこで引用された参考文献において報告されている。本明細書では、「特異的な結合」という用語は、低及び高親和性の特異的結合の両方を含む。特異的結合は、例えば、少なくとも約 10^{-4} MのKdを有する低親和性抗体又は抗体断片によって、示すことができる。特異的結合は、高親和性抗体又は抗体断片、例えば、少なくとも約 10^{-7} M、少なくとも約 10^{-8} M、少なくとも約 10^{-9} M、少なくとも約 10^{-10} MのKdを有する又は少なくとも約 10^{-11} M又は 10^{-12} M以上のKdを有することができる抗体又は抗体断片によっても示すことができる。

10

ペプチド模倣物

【0185】

本明細書で定義した炎症促進性サイトカイン又はその受容体ポリペプチドに特異的に結合し、本明細書で定義した本発明の方法（炎症促進性サイトカインの発現レベルを評価するための）に適用することができるペプチド様分子（ペプチド模倣物と称される）又は非ペプチド分子は、例えば参照により本明細書に組み込まれている米国特許第6,180,084号において詳細に報告されている、それ自体当技術分野で既知の方法を使用して同定することができる。かかる方法は、例えば、ペプチド模倣物、ペプチド、DNA又はcDNA発現ライブラリー、コンビナトリアルケミストリー及び、特に有用な、ファージディスプレイライブラリーのライブラリーをスクリーニングすることを含む。これらのライブラリーを、ライブラリーを実質的に精製された炎症促進性サイトカイン、その断片又はその構造的類似体と接触させることによって、炎症促進性サイトカインのかかるペプチド模倣物を求めてスクリーニングすることができる。

20

一般

【0186】

本文書及びその特許請求の範囲では、「含む（to comprise）」という動詞及びその活用は、その語句に続く項目が含まれるが、特に言及されていない項目が除外されないことを意味するその非限定的な意味で使用される。加えて、「からなる（to consist）」という動詞は、本明細書で定義した方法が特に同定したものに加えて追加のステップ（複数可）を含むことができることを意味する「から本質的になる（to consist essentially of）」と置き換えることができ、前記追加のステップ（複数可）は、本発明のユニークな特徴を改変しない。加えて、不定冠詞「a（1つ）」又は「an（1つ）」によるエレメントへの参照は、状況が1つ及び1つのみのエレメントがあることをはっきりと要求しない限り、1つを超えるエレメントが存在する可能性を排除しない。したがって、不定冠詞「a（1つ）」又は「an（1つ）」は、「少なくとも1つ（at least one）」を通常意味する。

30

【0187】

本明細書で引用した全ての特許及び参考文献は、参照によりその全体がここに組み込まれている。以下の例は、例示的目的のみに提供し、決して本発明の範囲を限定することを意図していない。

40

【実施例】

【0188】

実施例 1

材料及び方法

ヒト末梢血単核球の単離及びin-vitroサイトカイン産生。静脈血を、健常なボランティア又はCGDを有する患者の肘脈から10ml EDTA管（Monoject、Covidien、Mansfield、Massachusetts、USA）中に取り出した。単核細胞画分を、Ficoll-Paque（Pharmacia Biotech、Pittsburgh、Pennsylvania、USA）上でのパイロジェンを含まない生理食塩水で1：1に希釈した血液の密度遠心分離によって採取した。細

50

胞を、生理食塩水において2回洗浄し、ゲンタマイシン10mg/ml、L-グルタミン10mM及びピルビン酸10mMで補充した培養培地(RPMI; Invitrogen、Carlsbad、California、USA)に懸濁した。細胞を、コールターカウンター(Coulter Electronics、Brea、California、USA)において計数し、数を 5×10^6 細胞/mlに調整した。

【0189】

100 μ l体積中の合計 5×10^5 の単核細胞を丸底96ウェルプレート(Greiner、Monroe、North Carolina、USA)に加え、100 μ lの培養培地(負の対照)、又はLPS(10ng/ml、Sigma、MO、USA)、Pam3Cys(10 μ g/ml、EMC Microcollections、Tubingen、Germany)、フラゲリン(TLR5リガンド)、MDP(10 μ g/ml、Sigma、MO、USA)でインキュベートした。24時間後、上清を採取し、アッセイされるまで-20で保管した。50人の健常ドナーの群からのPBMCを、明確に定義されたパターン認識受容体(PRR)リガンドのパネルで刺激した。ドナー血液をSanquin血液銀行、Nijmegen、The Netherlandsから得た。IL-1を、市販のELISAキット(R&D Systems、MN、USA)を使用して、24時間のインキュベーション後に測定した。

【0190】

ATG16L1 Thr300Ala多形性に関する遺伝子型同定。DNAを、製造業者のプロトコールに従って、単離キットPuregene(Gentra Systems、MN、USA)を使用することによって、全血から単離した。ATG16L1 Thr300Ala多形性の存在に関する遺伝子型同定を、7300 ABIリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応システム(Applied Biosystems、CA、USA)上でTaqMan塩基多形(SNP)アッセイC__9095577__20を適用することによって行った。

【0191】

結果

初代ヒト細胞におけるEx-vivo研究。IL-1産生を減少させるカスパーゼ-1阻害剤の能力を、対象において比較した。50人の健常な血液ドナーの群からのPBMCを、腸内炎症に関連しているパターン認識受容体リガンド(例えばLPS-TLR4リガンド、Pam3Cys-TLR2リガンド、フラゲリン-TLR5リガンド、MDP-NOD2リガンド、及びこれらのリガンドのいくつかの組合せ)の明確に定義されたセットで刺激した。図1のaは、LPS、Pam3cys及びMDPがヒトPBMCによるIL-1産生の強い誘発因子であることを示した。フラゲリン(TLR5リガンド)は、IL-1産生の弱い誘発因子であることが見出された。LPS又はPam3cysをMDPと組み合わせた場合、IL-1産生の強い上方制御が注目された(図1のa)。熱殺菌されたE.コリは、おそらく微生物全体に存在する複数のTLR/NLRリガンドにより、IL-1の強力な誘発因子であることが明らかになった。

【0192】

カスパーゼ-1阻害剤(VRT)は、精製TLRリガンド、ペプチドグリカンのムラミルジペプチド成分(NOD2アゴニスト)、及びエシェリキア・コリなどのグラム陰性腸内細菌全体を含めた、刺激の多数のアレイによって、IL-1刺激に及ぼす著しい阻害効果を示した(図1)。MDPは、IL-1の弱い誘発因子であるけれども、カスパーゼ-1阻害は、それでもIL-1産生を有意に($p < 0.03$)低下させた。興味深いことに、IL-1産生がLPS、LPS/MDP、Pam3cys/MDP又はHKE.コリによって強く上昇された場合、カスパーゼ-1阻害剤(VRT)によるIL-1産生の阻害は、より明白であった(図1)。

【0193】

ATG16L1遺伝子型に依存した、カスパーゼ-1阻害剤の効果。増強されたIL-1産生が非機能性の自食作用機構に関連していたという事実により、カスパーゼ-1阻

10

20

30

40

50

材料及び方法

健常な個体の層別化。104の個体のPBM Cを、実施例1に記載したように単離した。100 μ l体積中の合計 5×10^5 の単核細胞を丸底96ウェルプレート(Greiner、Monroe、North Carolina、USA)に加え、100 μ lの培養培地(負の対照)、又はLPS(10ng/ml、Sigma、MO、USA)、又はHKカンジダ・アルビカンス(10^6 /ml)でインキュベートした。24時間後、上清を採取し、アッセイされるまで-20で保管した。TNFを、市販のELISAキット(R&D Systems、MN、USA)を使用して、24時間のインキュベーション後に測定した。

【0200】

結果

各個体のTNF産生を評価した。TNFを産生する内在性の能力に基づいて、健常な個体を、低、中及び高TNF産生者として分類した(図4を参照されたい)。PBM CをLPSに曝露した後、多数の37の個体を低TNF産生者、40を中産生者、27を高産生者として分類した(図4のa)。各カテゴリーの平均TNF産生は、それぞれ、363ng/ml、1120pg/ml及び1838pg/mlであった。図4のbは、熱殺菌した(HK)カンジダ・アルビカンスへの24hの曝露後のヒトPBM CのTNF産生を示した。個体を、LPS刺激に関するものと同様の群に分類した。各カテゴリーの平均TNF α 産生は、それぞれ、10.182ng/ml、19.761pg/ml及び29.524pg/mlであった。

【0201】

対象が、刺激に依存せずにTNFの高濃度を常に産生するかどうかを調べるために、LPS及びカンジダ・アルビカンス誘発TNF産生を関連づけた。図5は、Rが、LPS又はHKカンジダ・アルビカンスへの曝露後に全ての対象が高TNFを産生するわけではないことを示す0.5111であったことを示した。

【0202】

考察

多数の個体を使用して、各対象を、TNF産生に基づいて、低、中及び高産生者に層別化することができることが明らかになった。興味深いことに、カンジダ・アルビカンス又はLPSへの曝露後に、個体が常に高TNFを産生するわけではないと考えられ得る。

【0203】

実施例3

材料及び方法

クローンの患者の層別化。クローン病を有する24人の患者を、それらのサイトカインプロファイル(TNF)に関してスクリーニングした。PBM Cを、実施例1に記載したように単離した。PBM Cを、疾患関連刺激LPS(10ng/ml)、Pam3cys(10 μ g/ml)、ムラミルジペプチド(MDP)(10 μ g/ml)及びPam3cys/MDPに曝露した。MDPは、よく知られているNOD2リガンドであり、疾患特異的と考えられる。

【0204】

結果

LPS曝露時にTNFを産生する能力に基づいて、IBD患者を低(250pg/ml未満)、中(>250と<500pg/mlの間)及び高(>500pg/ml)TNF産生者として分類した。図6のaは、LPSへの曝露後のPBM CのTNF産生を示した。TNFの濃度に依存して、IBD患者を低、中及び高TNF産生者として分類した。図6のbは、Pam3Cys/MDPへの曝露後のPBM CのTNF産生を示した。LPSに関するのと同様に、IBD患者を3つの群に分けた。低(250pg/ml未満)、中(>250と<500pg/mlの間)及び高(>500pg/ml)。

。

10

20

30

40

50

【0205】

考察

多数の個々のIBD患者を使用して、各対象が異なる濃度のTNFを産生し、それによって低、中及び高産生者に層別化されることが明らかになった。LPSは、TLR4のみを活性化すると仮定されている一方、MDP/Pam3Cysは、TLR2及びNOD2経路の両方を活性化すると考えられている。TLR2及びNOD2経路は、強い相乗作用を示した。両方の経路は、疾患に関連している。

【0206】

興味深いことに、疾患関連トリガーPam3Cys/MDPを、IBD患者の層別化に使用することができる。RA患者に関して見られるように、LPSへの曝露後の個体のTNF産生は、Pam3Cys刺激後のTNF産生と強く関連していない。

10

【0207】

実施例4

材料及び方法

RA患者の層別化。RA患者を、生物学的製剤での治療を開始する前に、基本的なサイトカインプロファイルに関してスクリーニングした。PBMCを、実施例1に示したように単離した。PBMCを、LPS、Pam3Cys、及びカンジダ・アルビカンスを含めた刺激の幅で刺激した。加えて、いくつかの生物学的製剤(4µg/mlの全てSanquin、The Netherlands、IgIV(Nanogam)製のヒュミラ、エタネルセプト又はゴリムマブ)を培養系に加えて、ex-vivoサイトカイン産生に及ぼす特定の生物学的製剤の効果を調査した。RA患者からのPBMCを、IgG対照(IvIg)又は上記で同定した3つの異なるTNF阻害剤で30分間インキュベートした。その後10⁶HKカンジダ/mlを加えた。24h後、IL-1産生をELISAによって測定した。抗TNFを、抗TNF療法後にRA患者に存在することになる用量である、4µg/mlの用量で試験した。

20

【0208】

結果

図7に示したように、RA患者からのPBMCを、それらのIL-1の産生に基づいて層別化する。3つのTNF遮断薬全てがIL-1産生を低下させたことに注目されたい。TNFがカンジダ・アルビカンス曝露によって引き出されたPBMCによるIL-1産生に寄与することは、既知である。

30

【0209】

考察

TNFは、TNF産生に基づいて、HKカンジダ・アルビカンスでの刺激後の免疫細胞によるIL-1産生に寄与する。TNFを中和する戦略を使用することによって、ex-vivo産生TNFの生物活性が調節される。興味深いことに、最初の結果は、試験した抗TNFモダリティーの中和能力に違いがあることを示した。

【0210】

実施例5

材料及び方法

MS患者の層別化。PBMCを、実施例1に記載したように単離した。MS患者及び年齢/性別対照からのPBMCを、カンジダ・アルビカンス(1.10⁶/ml)、抗CD3/CD28(1µg/ml、0.1µg/ml)、MOG(MS関連ペプチド、10µg/ml)及びMOG/抗CD3/CD28の組合せに7日間曝露した。サイトカインを、7日後に測定した。IL-17A、IL-22及びIFN-を、ELISAによって測定した。

40

【0211】

結果

図9は、MS患者から単離されたPBMCが、カンジダ・アルビカンスでの刺激後に、対照と比較してより多くのIL-17Aを産生することを示した。PBMCをMOGペプ

50

チド又は抗CD3/CD28単独に曝露した場合、増強されたIL-17Aが注目された。しかしながら、抗CD3/CD28及びMOGペプチドへの曝露後、MS患者は、強く増強されたIL-17A濃度を産生する。IL-17Aと一致して、IL-22(Th17関連サイトカイン)の濃度は、抗CD3/CD28/MOGペプチドに曝露した場合、MS患者からのPBMCにおいて増強されることが明らかになった。興味深いことに、IFN産生は、MOGペプチド、抗CD3/CD28又はこれらの2つの刺激の組合せに曝露した場合、MS患者及び健常な個体からのPBMC間で同様であった。

考察

【0212】

結果は、MS患者のPBMCが疾患特異的刺戟(MOGペプチド及び抗CD3/CD28/MOGペプチド)に対して明らかに異なって応答することを示した。PBMCによるIL-17及びIL-22産生を、IFN-と対照的に、MS患者の層別化に使用することができる。

10

【0213】

実施例6

材料及び方法

痛風患者の層別化。188人の痛風患者を、それらの内在性のサイトカイン産生能力に関して分析した。痛風はIL-1疾患であるため、PBMCのIL-1産生を疾患特異的刺戟(尿酸ナトリウム(MSU)結晶及び脂肪酸(C16.0))への曝露後に決定した。MSUを、当業者に既知の技法に従って、本発明者らの実験室で調製した。C16.0をSigma Aldrich(USA)から購入した。PBMCをMSU/C16.0(300µg/ml、200µM C16.0)又はPam3cys(10µg/ml)に24hの間曝露した。その後IL-1をELISAによって決定した。

20

【0214】

結果

図9に示したように、痛風患者からのPBMCを、MSU/C16.0への曝露後のこれらのIL-1の産生に基づいて層別化した。MSU及びC16.0(パルミチン酸)の組合せがIL-1の産生に必須であることが示された。(10)。MSU単独は、IL-1の放出を刺激せず、C16.0も刺激しない。非常に興味深いことに、MSU/C16.0の相乗作用は、ヒトPBMCによるTNFの産生に関して見出されなかった。合計で、188人の痛風患者の群を、低(<350pg/ml)、中(>350<2000pg/ml)及び高(>2000pg/ml)IL-1産生者に層別化した。PBMCのPam3cys曝露後に、IL-1産生を痛風患者の分類に使用した場合、Pam3cys誘発IL-1産生がMSU/C16.0産生と関連していなかったことが明らかになる。この後者は、MSU/C16.0を層別化のための痛風患者に関する疾患特異的刺戟として使用することができることを示した。

30

【0215】

考察

結果は、痛風患者のPBMCが疾患特異的刺戟(MSU/C16.0)に対して明らかに異なって応答することを示した。以前示されたように(9)、痛風に関与している古典的なサイトカインであるIL-1の濃度が痛風患者において増強された。PBMCによるIL-1の産生を、痛風患者の層別化に使用することができる。

40

【0216】

実施例7

図5は、図4のa及びbのデータから作成する。104人の対象からのPBMCをE.コリLPS又はHKカンジダ・アルピカンスで刺激した。TNF産生能力を、10ng/ml E.コリLPS又は10⁶HKカンジダ・アルピカンス/mlへの24hの曝露によって決定した。その後TNFをELISAによって決定した。図は、全ての対象がLPSとカンジダの両方に関して高TNF産生者であることを示すわけではないことを示した。

50

【 0 2 1 7 】

相関を Graphpad ソフトウェアによって計算し、図に示す。図 5 から、サイトカイン応答が、カンジダと比較して LPS と異なると考えることができる。これは、TLR 4 及びデクチン - 1 / MR - 1 の経路が各個体において異なることを意味している。

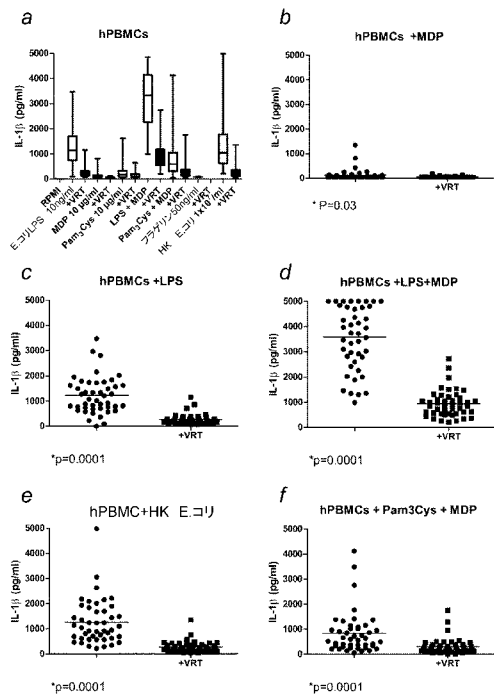
【 0 2 1 8 】

[参考文献]

1. Siegmund B. Targeted therapies in inflammatory bowel disease. *Dig Dis.* 2009;27(4):465-9.
2. Saitoh T, Fujita N, Jang MH, Uematsu S, Yang BG, Satoh T, Omori H, Noda T, Yamamoto N, Komatsu M, Tanaka K, Kawai T, Tsujimura T, Takeuchi O, Yoshimori T, Akira S. Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1 β production. *Nature* 2009;456:264-8. 10
3. Van Limbergen J, Wilson DC, Satsangi J. The genetics of Crohn's disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2009;10:89-116
4. Plantinga TS, Crisanto O, Oosting M, van de Veerdonk FL, de Jong DJ, Philpott DJ, van der Meer JW, Girardin SE, Joosten LA, Netea MG. Crohn's disease-associated ATG16L1 polymorphism modulates pro-inflammatory cytokine responses selectively upon activation of NOD2. *Gut.* 2011;60:1229-35.
5. Agostini L, Martinon F, Burns K, McDermott MF, Hawkins PN, Tschopp J. NALP3 forms an IL-1 β -processing inflammasome with increased activity in Muckle-Wells autoimmune inflammatory disorder. *Immunity.* 2004;20:319-25. 20
6. Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of pro-IL-1 β . *Mol Cell.* 2002;10(2):417-26.
7. Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:519-50.
8. Timmermans K. Blueprint of signaling interactions between Pattern Recognition Receptors: Implications for the design of new Vaccine adjuvants. *Clinical and Vaccine Immunology.* 2013;20: 427-432.
9. Mylona EE, Mouktaroudi M, Crisanto TO, Makri S, Pistiki A, Georgitsi M, Savva A, Netea MG, van der Meer JW, Giamarellos-Bourboulis EJ, Joosten LA. Enhanced interleukin-1 production of PBMCs from patients with gout after stimulation with Toll-like receptor-2 ligands and urate crystals. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(4):R158. 30
10. Joosten LA, Netea MG, Mylona E, Koenders MI, Malireddi RK, Oosting M, Stienstra R, van de Veerdonk FL, Stalenhoef AF, Giamarellos-Bourboulis EJ, Kanneganti TD, van der Meer JW. Engagement of fatty acids with Toll-like receptor 2 drives interleukin-1 production via the ASC/caspase 1 pathway in monosodium urate monohydrate crystal-induced gouty arthritis. *Arthritis Rheum.* 2010 Nov;62(11):3237-48.

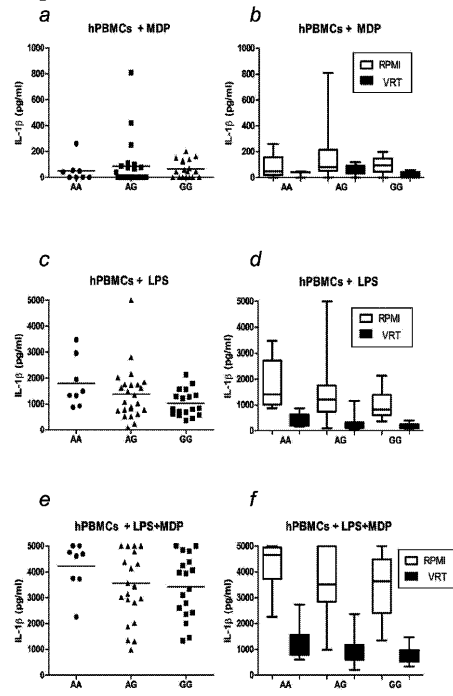
【 図 1 】

Fig. 1



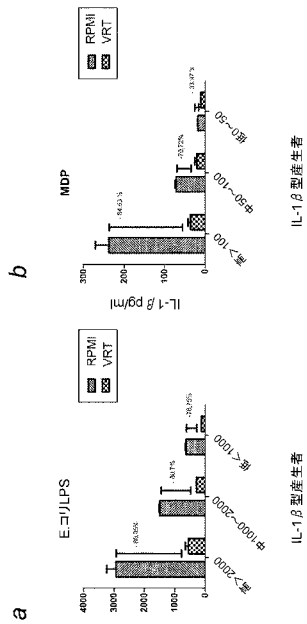
【 図 2 】

Fig. 2



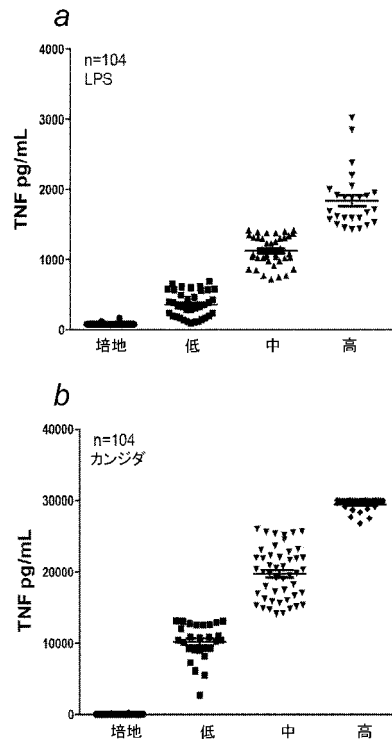
【 図 3 】

Fig. 3

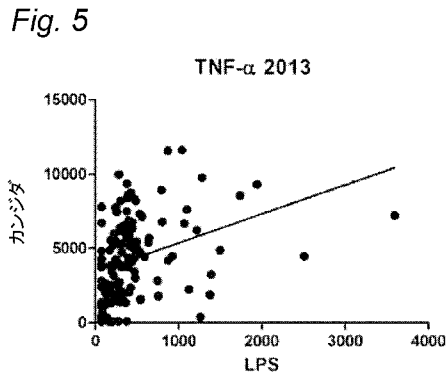


【 図 4 】

Fig. 4

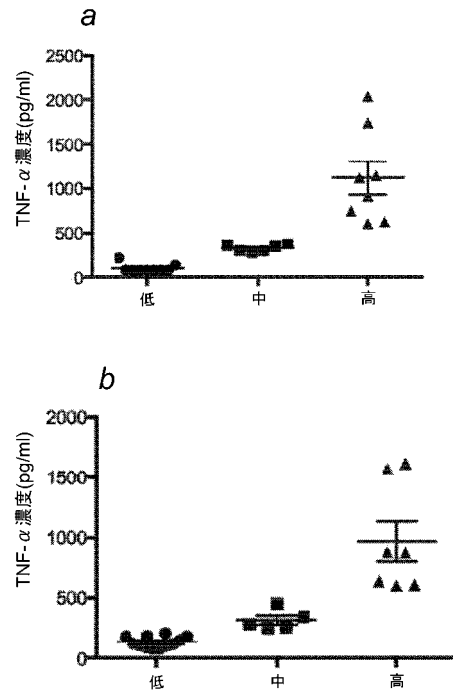


【 図 5 】

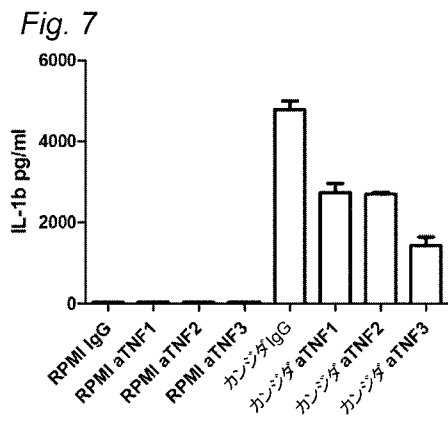


【 図 6 】

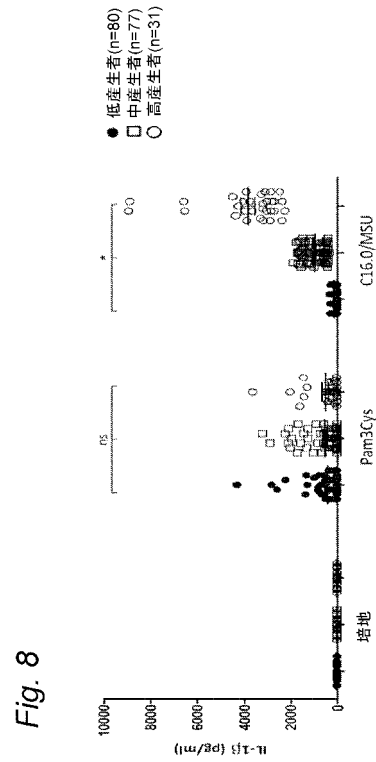
Fig. 6



【 図 7 】



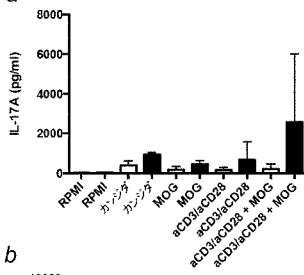
【 図 8 】



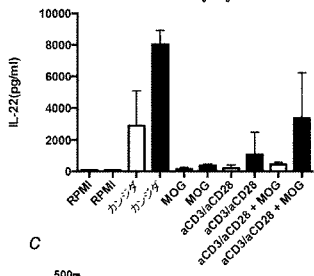
【 図 9 】

Fig. 9

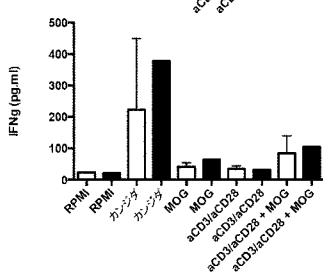
a



b



c



【 配列表 】

2016524697000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/NL2014/050282

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, COMPENDEX, INSPEC, FSTA		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2004/197304 A1 (CHEN KER-SANG [US] ET AL) 7 October 2004 (2004-10-07) claims 1-21 paragraphs [0039] - [0041], [0045], [0058] - [0062]	1-10
X	----- KOJI SONO ET AL: "Factors associated with the loss of response to infliximab in patients with Crohn's disease", CYTOKINE, vol. 59, no. 2, 25 May 2012 (2012-05-25), pages 410-416, XP055077084, ISSN: 1043-4666, DOI: 10.1016/j.cyto.2012.04.026	10
A	abstract page 411, column 1, paragraph 3 - column 2, paragraph 1; figure 2b; table 2 ----- -/--	1-9
<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
5 September 2014		15/09/2014
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 van der Kooij, M

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/NL2014/050282

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LAIFENFELD DAPHNA ET AL: "Early patient stratification and predictive biomarkers in drug discovery and development: a case study of ulcerative colitis anti-TNF therapy.", ADVANCES IN EXPERIMENTAL MEDICINE AND BIOLOGY 2012, vol. 736, 2012, pages 645-653, XP008164534, ISSN: 0065-2598	10
A	figure 38.3 4. Case-study; page 650 - page 652 -----	1-9
X	POPA C ET AL: "Cytokine production of stimulated whole blood cultures in rheumatoid arthritis patients receiving short-term infliximab therapy", CYTOKINE, ACADEMIC PRESS LTD, PHILADELPHIA, PA, US, vol. 30, no. 2, 21 April 2005 (2005-04-21) , pages 72-77, XP004813133, ISSN: 1043-4666, DOI: 10.1016/J.CYTO.2004.12.012	10
A	5. Materials and Methods on page 76; figure 1 -----	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/NL2014/050282

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2004197304 A1	07-10-2004	CA 2521136 A1	21-10-2004
		CN 1764838 A	26-04-2006
		EP 1608965 A2	28-12-2005
		ES 2435848 T3	23-12-2013
		JP 2006521537 A	21-09-2006
		MX PA05010634 A	12-12-2005
		US 2004197304 A1	07-10-2004
		US 2004228837 A1	18-11-2004
		US 2011152117 A1	23-06-2011
		US 2013217600 A1	22-08-2013
		WO 2004090539 A2	21-10-2004

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01) A 6 1 P 29/00
 A 6 1 K 45/00

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, T M), 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, R S, 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, H R, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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

(74)代理人 100148596

弁理士 山口 和弘

(72)発明者 ヨーステン, レオナルドゥス アントニウス ベルナルドゥス
 オランダ国, エヌエル - 6 6 4 1 エルエム プーニゲン, クライドンク 3

(72)発明者 ネテア, ミハイ ゲオルゲ
 オランダ国, エヌエル - 6 5 2 5 ピーエー ネイメーヘン, フフスラグ 2 7

(72)発明者 ヴァン ダー ミーア, ヨハネス ウィレム マーティン
 オランダ国, エヌエル - 6 5 2 2 ビーエス ネイメーヘン, ベルグ エン ダルセヴェグ
 1 0 6

Fターム(参考) 4B063 QA01 QA05 QA13 QQ03 QQ08 QQ42 QQ53 QQ79 QR36 QR48
 QR55 QR62 QR72 QR77 QS25 QS33 QS34 QS36 QX01 QX02
 4C084 AA17 NA14 ZB071 ZB111 ZC022

专利名称(译)	个性化医疗		
公开(公告)号	JP2016524697A	公开(公告)日	2016-08-18
申请号	JP2016511700	申请日	2014-05-02
[标]申请(专利权)人(译)	拼接卡索雷基海胆铃指定 天主教大学基金会		
申请(专利权)人(译)	拼接Kasorike Uniberushiteito		
[标]发明人	ヨーステンレオナルドゥスアントニウスベルナルドゥス ネテアミハイゲオルゲ ヴァンダーミーアヨハネスウィレムマーティン		
发明人	ヨーステン, レオナルドゥス アントニウス ベルナルドゥス ネテア, ミハイ ゲオルゲ ヴァン ダー ミーア, ヨハネス ウィレム マーティン		
IPC分类号	G01N33/53 C12Q1/02 C12Q1/68 A61P37/00 A61P29/00 A61K45/00		
CPC分类号	A61P29/00 A61P37/00 G01N33/6863 G01N2333/545 G01N2800/065 G01N2800/52 Y02A50/57 A61K38/00 A61K38/05 C07K14/70578 C07K16/241 C07K2317/31 C07K2317/76 C07K2319/30 G01N33 /564 G01N33/6866 G01N33/6869 G01N33/6893 G01N33/6896 G01N2800/102 G01N2800/107 G01N2800/285		
FI分类号	G01N33/53.ZNA.P G01N33/53.K C12Q1/02 C12Q1/68.A A61P37/00 A61P29/00 A61K45/00		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA13 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063 /QQ79 4B063/QR36 4B063/QR48 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QS25 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX01 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084 /ZB071 4C084/ZB111 4C084/ZC022		
代理人(译)	池田 成人 小泉纯酒卷 山口和弘		
优先权	2013166244 2013-05-02 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供评估受试者中促炎细胞因子和/或B细胞抑制剂功效的方法，以及确定抑制剂功效的方法，用于用所述抑制剂治疗的方法。点域8

サイトカイン	標的	R A	他のRA様疾患	潰瘍性腸炎	クローン病	乾癬	MS	喘息	敗血症	痛風	ライム病	2型糖尿病
TNF		X	X	X	X	X						X
IL-1		X			X		X		X	X	X	X
IL-5								X				
IL-6	IL-6R	X										
IL-12	IL-12 p40	X			X	X						
IL-17	IL-17 A	X			X	X	X				X	
IL-17	IL-17 F					X	X					
IL-23		X			X	X						
IFN								X	X			
B細胞	CD20	X					X					
	CD19	X					X					