

(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2019-527227

(P2019-527227A)

(43) 公表日 令和1年9月26日 (2019.9.26)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	Z N A 2 G O 4 5
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53	M 4 B O 6 3
G O 1 N 33/573 (2006.01)	G O 1 N 33/53	D 4 C O 7 6
G O 1 N 33/88 (2006.01)	G O 1 N 33/53	P 4 C O 8 4
G O 1 N 33/92 (2006.01)	G O 1 N 33/53	N 4 C O 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 84 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2019-503479 (P2019-503479)	(71) 出願人	519018705
(86) (22) 出願日	平成29年7月18日 (2017.7.18)		アレト ディスカバリーズ インコーポ レイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成31年3月14日 (2019.3.14)		アメリカ合衆国 O 2 4 9 3 マサチュー セッツ ウェストン ディックソン レー ン 2 2
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/042596		
(87) 国際公開番号	W02018/017569	(74) 代理人	110000796
(87) 国際公開日	平成30年1月25日 (2018.1.25)		特許業務法人三枝国際特許事務所
(31) 優先権主張番号	62/364, 103	(72) 発明者	カーウィー ジャック ビー. サード
(32) 優先日	平成28年7月19日 (2016.7.19)		アメリカ合衆国 O 2 4 9 3 マサチュー セッツ ウェストン ディックソン レー ン 2 2
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 マスト細胞活性関連障害の検出および処置のためのバイオマーカー

(57) 【要約】

本発明により、マスト細胞活性関連の疾患、障害および／または病的状態の効率的で正しい特性評価のためのバイオマーカーを提供する。特に、本発明により、マスト細胞活性関連の疾患、障害および／または病的状態において発現されるバイオマーカーを提供する。該バイオマーカーは、単独または組合せでの使用で、マスト細胞活性関連の疾患、障害および／または病的状態のより正しくてロバストな特性評価を可能にし、その診断および処置のより正確な決定、特に、より正確なM Sの再発の発生の予測をもたらし得る。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

処置を必要とする被験体のマスト細胞活性関連障害を処置する方法であって、マスト細胞活性バイオマーカーの存在が被験体由来の試料中において検出された後に、マスト細胞活性インヒビターを前記被験体に投与することを含む、方法。

【請求項 2】

前記被験体が、前記マスト細胞活性関連障害に苦しんでいるか、または前記障害に易罹患性であると診断される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記マスト細胞活性インヒビターが、1 種類以上の T 細胞活性化因子と競合するか、または前記因子を阻害する T 細胞受容体リガンドであるか、または前記リガンドを含むものである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記マスト細胞活性インヒビターが、マスト細胞接着インヒビターであるか、または前記インヒビターを含むものである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記マスト細胞活性インヒビターが、マスト細胞の脱顆粒産物のインヒビターであるか、または前記インヒビターを含むものである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記マスト細胞活性インヒビターが、B 細胞活性インヒビターであるか、または前記インヒビターを含むものである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記マスト細胞活性インヒビターが、シトクロム P 4 5 0 ファミリーにおける変異を修正する遺伝子療法剤であるか、または前記遺伝子療法剤を含むものである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記試料が、全血、血漿、血清、尿、脳脊髄液およびリンパ液からなる群より選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

処置を必要とする被験体のマスト細胞活性関連障害を処置する方法であって、コンドロイチン、メチルスルホニルメタン (MSM)、グルコサミン、H₁ 受容体拮抗薬、H₂ 受容体拮抗薬およびその組合せからなる群より選択される第 1 の薬剤；ならびに選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI)、ノルエピネフリンードパミン再取り込み阻害薬 (NDRI) およびその組合せからなる群より選択される第 2 の薬剤のうちの一方または両方を、マスト細胞活性バイオマーカーの存在が前記被験体由来の試料中において検出されているならば前記被験体に、前記被験体が併用での前記第 1 および第 2 の薬剤で処置されるように投与することを含む方法。

【請求項 10】

前記第 1 の薬剤と前記第 2 の薬剤が同時に投与されるか、または逐次投与される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

処置を必要とする被験体のマスト細胞活性関連障害を処置する方法であって、被験体に、マスト細胞活性バイオマーカーの存在が検出されるように、およびマスト細胞活性インヒビターが送達されるように適合させたナノボット薬剤を、前記バイオマーカーが検出されている場合に前記マスト細胞活性インヒビターが投与されるように投与することを含む方法。

【請求項 12】

被験体をMSの再発が起こりやすいと診断する方法であって、

前記被験体または前記被験体由来の試料中において、マスト細胞活性バイオマーカの存在、レベルおよび／または位置を検出すること；

検出された前記マスト細胞活性バイオマーカに基づいて、MSの再発が起こるのを予測すること；ならびに

前記MSの再発を処置するためにマスト細胞活性インヒビターを投与することを含む方法。

【請求項13】

前記検出する工程が、前記被験体または試料を分子造影剤と接触させてマスト細胞の脱顆粒を可視化することを含む、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

前記試料が、全血、血漿、血清、尿、脳脊髄液およびリンパ液からなる群より選択される、請求項12に記載の方法。

【請求項15】

マスト細胞活性関連障害のマスト細胞活性バイオマーカを調べる方法であって、

前記マスト細胞活性関連障害に苦しんでいるか、または前記障害に易罹患性である被験体の試料中において1種類以上のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を調べる工程；

前記1種類以上のマスト細胞活性因子の測定された存在、レベルおよび／または位置と前記マスト細胞活性関連障害の発生率、重症度または治療応答との相関性を検出し、それにより、前記発生率、重症度または治療応答のマスト細胞活性バイオマーカの前記測定された存在、レベルおよび／または位置を確立する工程を含む方法。

【請求項16】

前記相関させる測定された存在、レベルおよび／または位置が、各々が異なるマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を表す複数のデータ点を含む、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

前記データ点の少なくとも1つが、特定のマスト細胞活性因子の確立された閾値と比べたレベルを表す、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

前記前記マスト細胞活性関連障害の発生率、重症度または治療応答が、マスト細胞活性、マスト細胞の増殖、マスト細胞の遊走、免疫細胞の局在性、サイトカインの放出、脂質由来代謝産物の放出、顆粒関連代謝産物の放出、水分補給、炎症およびその組合せの存在、レベルおよび／または位置と相関している、請求項15に記載の方法。

【請求項19】

前記マスト細胞活性関連障害がMSである、請求項15に記載の方法。

【請求項20】

前記MSの発生率、重症度または治療応答が、マスト細胞活性、マスト細胞の増殖、マスト細胞の遊走、免疫細胞の局在性、サイトカインの放出、脂質由来代謝産物の放出、顆粒関連代謝産物の放出、水分補給、炎症およびその組合せの存在、レベルおよび／または位置と相関している、請求項19に記載の方法。

【請求項21】

前記被験体がマスト細胞活性関連障害のマウスモデルである、請求項15に記載の方法。

【請求項22】

前記調べる工程が、前記マウスモデルの組織内のT細胞活性化因子、B細胞活性化因子および／またはマスト細胞脱顆粒因子を可視化することを含む、請求項15に記載の方法。

【請求項23】

前記試料が、全血、血漿、血清、尿、脳脊髄液およびリンパ液からなる群より選択され

10

20

30

40

50

る、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 24】

マスト細胞活性関連障害のマスト細胞活性バイオマーカーを検出する方法であって、
ヒト患者から試料を採取すること、

前記試料中において、前記マスト細胞活性関連障害のマスト細胞活性バイオマーカーであると判定された 1 種類以上のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を検出すること。

【請求項 25】

前記方法が、前記 1 種類以上のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を、参照の 1 種類以上のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置と比較する工程をさらに含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記試料が、全血、血漿、血清、尿、脳脊髄液およびリンパ液からなる群より選択される、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 27】

マスト細胞活性関連障害または多発性硬化症（MS）の処置に有用な薬剤を同定する方法

であって、

候補薬剤を準備する工程；

前記薬剤を、マスト細胞活性の安定化、マスト細胞の増殖阻害、マスト細胞の遊走阻害、サイトカイン放出の阻害、脂質由来代謝産物の放出の阻害、顆粒関連代謝産物の放出の阻害、水分補給の向上、炎症の低減およびその組合せからなる群より選択される活性の存在、レベルおよび／または位置について評価する工程を含む方法。

【請求項 28】

前記マスト細胞活性バイオマーカーおよび／または前記マスト細胞活性因子が、サイトカイン、顆粒内貯蔵顆粒関連代謝産物、脂質由来代謝産物、クロモグラニン A、免疫グロブリン、核酸およびその組合せからなる群より選択される、請求項 1～27 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 29】

前記サイトカインが、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-17、IL-33、TNF- α 、TGF- β 、GM-CSF、MIP-1 α 、MIP-1 β 、INF γ 、好酸球走化性因子およびその組合せからなる群より選択される、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記顆粒内貯蔵顆粒関連メディエータが、ヒスタミン、N-メチルヒスタミン、プロテオグリカン、中性プロテアーゼおよびその組合せからなる群より選択される、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 31】

前記プロテオグリカンがヘパリンおよび／またはコンドロイチン硫酸である、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

前記中性プロテアーゼが、トリプターゼ、チマーゼ、カルボキシペプチダーゼ、カテプシン G およびその組合せからなる群より選択される、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 33】

前記脂質由来代謝産物がプロスタグランジン、トロンボキサンおよび／またはロイコトリエンである、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 34】

前記ロイコトリエンがロイコトリエン E₄、ロイコトリエン B₄ および／またはロイコトリエン C₄ である、請求項 33 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 35】

前記プロスタグランジンがプロスタグランジン D_2 、プロスタグランジン E_2 、 11β -PGF $_{2\alpha}$ および／または tetranor-PGDM である、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 36】

前記免疫グロブリンが IgE である、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 37】

前記核酸が RNA である、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 38】

前記 RNA がメッセンジャー RNA である、請求項 37 に記載の方法。

10

【請求項 39】

前記 RNA が発現アレイを用いて測定される、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 40】

被験体において MS 易罹患性バイオマーカーを測定するためのキットであって、

1 種類以上の特定のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を測定するための薬剤を備えており、前記 1 種類以上の特定のマスト細胞活性因子が、MS 易罹患性についてのマスト細胞活性バイオマーカーとして設定されているキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

20

(関連出願の相互参照)

本出願は、2016 年 7 月 19 日に出願された米国特許仮出願第 62/364,103 号の 35 U.S.C. 119(e) に基づく恩典を主張するものであり、この仮出願の開示内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

(配列表)

本出願は配列表を含み、配列表は ASCII 形式で電子形式により提出されており、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。前記の ASCII コピーは、2017 年 7 月 17 日に作成されたものであり、名称は 2012423-0003__SL.txt であり、サイズは 8,299 バイトである。

30

【背景技術】

【0003】

(背景)

製薬業界では、特定の疾患事象もしくは治療転帰と相関する、および／または特定の疾患事象もしくは治療転帰について予測的もしくは予後判定的なバイオマーカーの同定の顕著な必要性が認識されている。実際、米食品医薬品局のバイオマーカークオリフィケーショングループ (Biomarker Qualification Group) は、最近、Global Online Biomarker Database (GOBIO M) に対してライセンスを拡張し、現在、バイオマーカーが検出された集団に対する投与のための治療レジメンを広く承認している。

40

【0004】

また、製薬業界では、多くの場合、特定の疾患、障害または病的状態のバイオマーカーの確立により、該疾患、障害および／または病的状態のための適切な治療アプローチが規定され得ることもさらに認識されている。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

(発明の概要)

本開示は、マスト細胞およびまたはマスト細胞代謝産物が、多発性硬化症 (MS) および／または他の炎症性の疾患、障害および／または病的状態、特に、他の神経炎症性の疾

50

患、障害および／または病的状態のイニシエーション、発症、維持および／または再発において重要な役割を果たし得るという見識を包含している。とりわけ、本開示により、マスト細胞代謝産物が、中枢神経系（CNS）部位におけるT細胞および／またはマスト細胞の局在性の向上に寄与しているかもしれないという見識を提供する。なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、本開示により、本明細書に記載のマスト細胞代謝産物が、例えば血液脳関門（BBB）および／またはリンパ管の透過性（少なくとも免疫細胞に関して）を増大またモジュレートすることによるBBBおよび／またはリンパ管の免疫細胞（例えば、T細胞、マスト細胞）の通過の増大（これにより、とりわけ、CNS内への免疫細胞（例えば、T細胞、マスト細胞）の流入が可能になる）、1つ以上の特定のCNS部位（例えば、髄鞘、BBBの基底膜）への免疫細胞（例えば、T細胞、マスト細胞）の標的化などのうちの1つ以上に寄与しているかもしれないことを提案する。

10

【0006】

一部の実施形態では、本開示により、MSおよび／または別の炎症性の疾患、障害および／または病的状態のイニシエーション、発症、維持および／または再発に関与していることがこれまでわかっていなかった生物学的経路を規定する。

【0007】

とりわけ、本開示により、MSおよび／または1種類以上の他の脱髄性、自己免疫性または炎症性の疾患、障害および／または病的状態に関連している1種類以上の有用なバイオマーカーを規定する。例えば、一部の実施形態では、本開示により、神経炎症の1種類以上のバイオマーカーを規定する。本開示により、有用なバイオマーカーを同定するためのこれまでの研究における、かかる取り組みでは典型的には間違った生物学的経路、事象および／またはタイミングに着目していたことによる問題の原因を特定する。本開示により、MSおよび／または1種類以上の他の炎症性の疾患、障害および／または病的状態に対するマスト細胞活性および／または脱顆粒と関連しているある特定の事象の関連性および重要性を教示し、かかる事象のバイオマーカーを規定する技術を提供する。

20

【0008】

一部の実施形態では、本開示により、神経炎症性の疾患、障害および／または病的状態の発症および／または再発の1種類以上の早期バイオマーカーを同定する技術を提供する。

【0009】

一部の実施形態では、本明細書に記載のバイオマーカーがマスト細胞の活性（例えば、活性化および／または脱顆粒）のマーカーである。一部の実施形態では、本明細書に記載のバイオマーカーが、マスト細胞代謝産物またはマスト細胞活性因子、例えば、サイトカイン、顆粒内貯蔵（*preformed*）顆粒関連代謝産物、脂質由来代謝産物、クロモグラニンA、免疫グロブリン（例えば、IgE）、核酸（例えば、RNAまたはmRNA）およびその組合せのレベルおよび／または活性であるか、または該レベルおよび／または活性を含むものである。一部の実施形態では、サイトカインがIL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-17、IL-33、TNF- α 、TGF- β 、GM-CSF、MIP-1 α 、MIP-1 β 、INF γ 、好酸球走化性因子またはその組合せである。一部の実施形態では、顆粒内貯蔵顆粒関連メディエータがヒスタミン、N-メチルヒスタミン、プロテオグリカン、中性プロテアーゼまたはその組合せである。一部の実施形態では、プロテオグリカンがヘパリンおよび／またはコンドロイチン硫酸である。一部の実施形態では、中性プロテアーゼがトリプターゼ、チマーゼ、カルボキシペプチダーゼおよび／またはカテプシンGである。一部の実施形態では、脂質由来代謝産物がプロスタグランジン、トロンボキサンおよび／またはロイコトリエンである。一部の実施形態では、ロイコトリエンがロイコトリエンE₄、ロイコトリエンB₄および／またはロイコトリエンC₄である。一部の実施形態では、プロスタグランジンとしては、限定されないが、プロスタグランジンD₂、プロスタグランジンE₂、11 β -PGF_{2 α} 、tetranor-PGDMおよび／またはこれらの他の代謝産物が挙げられる。

30

40

50

【0010】

一態様では、本開示により、マスト細胞活性バイオマーカの存在が被験体由来の試料中において検出された後に、マスト細胞活性インヒビターを該被験体に投与することを含む、処置を必要とする被験体のマスト細胞活性関連障害を処置する方法を提供する。一部の実施形態では、被験体が、マスト細胞活性関連障害に苦しんでいるか、または該障害に易罹患性であると診断される。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターが、1種類以上のT細胞活性化因子と競合するか、または該因子を阻害するT細胞受容体リガンド、マスト細胞接着インヒビター、マスト細胞の脱顆粒産物のインヒビター、B細胞活性インヒビター、トランスグラニュレーション (transgranulation) のインヒビターおよび／またはシトクロムP450ファミリーにおける変異を修正する遺伝子療法剤であるか、または該リガンド、該インヒビターもしくは該遺伝子療法剤を含むものである。一部の実施形態では、試料が、全血、血漿、血清、尿、脳脊髄液およびリンパ液からなる群より選択される。

10

【0011】

一態様では、本開示により、コンドロイチン、メチルスルホニルメタン (MSM)、グルコサミン、H₁受容体拮抗薬、H₂受容体拮抗薬、およびその組合せからなる群より選択される第1の薬剤；ならびに選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI)、ノルエピネフリンードパミン再取り込み阻害薬 (NDRI) およびその組合せからなる群より選択される第2の薬剤のうちの一方または両方を、マスト細胞活性バイオマーカの存在が被験体由来の試料中において検出されているならば該被験体に、該被験体が併用での第1および第2の薬剤で処置されるように投与することを含む、処置を必要とする被験体のマスト細胞活性関連障害を処置する方法を提供する。一部の実施形態では、第1の薬剤と第2の薬剤が同時に投与されるか、または逐次投与される。

20

【0012】

一態様では、本開示により、被験体に、マスト細胞活性バイオマーカの存在が検出されるように、およびマスト細胞活性インヒビターが送達されるように適合させたナノボット薬剤を、該バイオマーカが検出されている場合に該マスト細胞活性インヒビターが投与されるように投与することを含む、処置を必要とする被験体のマスト細胞活性関連障害を処置する方法を提供する。

【0013】

一態様では、本開示により、被験体または被験体由来の試料中において、マスト細胞活性バイオマーカの存在、レベルおよび／または位置を検出すること；検出された該マスト細胞活性バイオマーカに基づいて、MSの再発が起こるのを予測すること；ならびにMSの再発を処置するためにマスト細胞活性インヒビターを投与することを含む、被験体をMSの再発が起こりやすいと診断する方法を提供する。一部の実施形態では、検出する工程が、該被験体または試料を分子造影剤と接触させてマスト細胞の脱顆粒を可視化することを含む。一部の実施形態では、試料が全血、血漿、血清、尿、脳脊髄液またはリンパ液である。

30

【0014】

一態様では、本開示により、マスト細胞活性関連障害に苦しんでいるか、または該障害に易罹患性である被験体の試料中において1種類以上のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を調べること；該1種類以上のマスト細胞活性因子の測定された存在、レベルおよび／または位置と該マスト細胞活性関連障害の発生率、重症度または治療応答との相関性を検出し、それにより、該測定された存在、レベルおよび／または位置を該発生率、重症度または治療応答のマスト細胞活性バイオマーカとして確立することを含む、マスト細胞活性関連障害のマスト細胞活性バイオマーカを調べる方法を提供する。一部の実施形態では、相関させる測定された存在、レベルおよび／または位置が、各々が異なるマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を表す複数のデータ点を含む。一部の実施形態では、該データ点の少なくとも1つが、特定のマスト細胞活性因子の確立された閾値と比べたレベルを表す。一部の実施形態では、該マスト細胞活性関連障

40

50

害の発生率、重症度または治療応答が、マスト細胞活性、マスト細胞の増殖、マスト細胞の遊走、サイトカインの放出、脂質由来代謝産物の放出、顆粒関連代謝産物の放出、水分補給、炎症およびその組合せの存在、レベルおよび／または位置と相関している。

【0015】

一部の実施形態では、マスト細胞活性関連障害がMSである。一部の実施形態では、MSの発生率、重症度または治療応答が、マスト細胞活性、マスト細胞の増殖、マスト細胞の遊走、サイトカインの放出、脂質由来代謝産物の放出、顆粒関連代謝産物の放出、水分補給、炎症およびその組合せの存在、レベルおよび／または位置と相関している。一部の実施形態では、マスト細胞活性関連障害の重症度が、プロスタグランジンD₂およびまたはヒスタミンの存在および／またはレベルと相関している。

10

【0016】

一部の実施形態では、該調べる工程が、マウスモデルの組織内のT細胞活性化因子、B細胞活性化因子および／またはマスト細胞脱顆粒因子を可視化することを含む。

【0017】

一態様では、本開示により、ヒト患者から試料を採取すること、ならびに該試料中において、マスト細胞活性関連障害のマスト細胞活性バイオマーカーであると判定された1種類以上のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を検出することを含む、マスト細胞活性関連障害のマスト細胞活性バイオマーカーを検出する方法を提供する。一実施形態では、該方法が、該1種類以上のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を、参照の1種類以上のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置と比較する工程を含む。一実施形態では、試料が、全血、血漿、血清、尿、脳脊髄液およびリンパ液からなる群より選択される。

20

【0018】

本発明の一部の実施形態では、個体にマスト細胞活性関連障害（例えば、自己免疫障害、MS）の発症の素因を与える遺伝子マーカー（例えば、アレルバリエント）を同定する方法を提供する。本発明の一部の実施形態では、マスト細胞活性関連障害（例えば、自己免疫障害、MS）を予防または処置するための該遺伝子マーカー（例えば、アレルバリエント）の修飾を含む、処置方法を提供する。

【0019】

一態様では、本開示により、候補薬剤、ならびに該薬剤を、マスト細胞活性の安定化、マスト細胞の増殖阻害、マスト細胞の遊走阻害、サイトカイン放出の阻害、脂質由来代謝産物の放出の阻害、顆粒関連代謝産物の放出の阻害、水分補給の向上、および／または炎症の低減などの活性の存在、レベルおよび／または位置について評価することを含む、マスト細胞活性関連障害またはMSの処置に有用な薬剤を同定する方法を提供する。

30

【0020】

一態様では、本開示により、1種類以上の特定のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を測定するための薬剤を備えており、該1種類以上の特定のマスト細胞活性因子が、MS易罹患性についてのマスト細胞活性バイオマーカーとして設定されているものである、被験体においてMS易罹患性バイオマーカーを測定するためのキットを提供する。

40

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】図1は、免疫処置後9～13日目の平均臨床EAEスコアを示す例示的なデータを示す。

【0022】

【図2】図2は、免疫処置後0日目～12日目の最初の体重のパーセンテージとしての体重の変化を示す例示的なデータを示す。

【0023】

【図3】図3Aおよび3Bは、無処置およびEAEのマウスの尿および血清中のヒスタミン／N-メチルヒスタミンレベルを示す例示的なデータを示す。

50

【0024】

【図4】図4Aおよび4Bは、無処置およびEAEのマウスの尿および血清中のPGDMレベルを示す例示的なデータを示す。

【0025】

【図5】図5は、無処置マウスおよび養子細胞移植によって誘導したEAEを有するマウスの尿および血清中のヒスタミン／N-メチルヒスタミンレベルを示す例示的なデータを示す。

【0026】

【図6】図6は、無処置マウスおよび養子細胞移植によって誘導したEAEを有するマウスの尿および血清中のPGDMレベルを示す例示的なデータを示す。

10

【0027】

(定義)

活性化剤：本明細書で用いる場合、用語「活性化剤」は、その存在またはレベルが、該薬剤なしで（または異なるレベルの該薬剤で）観察されるものと比べて高い標的レベルまたは標的活性と相関する薬剤をいう。一部の実施形態では、活性化剤が、その存在またはレベルが、特定の参照レベルまたは活性（例えば、既知の活性化剤、例えば陽性対照の存在下などの適切な参照条件下で観察されるもの）と同等または該参照レベルまたは活性より高い標的レベルまたは標的活性と相関するものである。

【0028】

投与：本明細書で用いる場合、用語「投与」は、被験体または系への組成物の投与をいう。当業者は、適切な状況において被験体、例えばヒトへの投与のために使用され得るさまざまな経路を承知しているであろう。例えば、一部の実施形態では、投与は経眼、経口、非経口、経表面などであり得る。一部の特定の実施形態では、投与は気管支経由（例えば、気管支への点滴により）、口腔内、皮膚経由（これは、例えば、真皮への経表面、皮内、皮膚間（interdermal）、経皮などのうちの1つ以上であり得るか、または該1つ以上を含むものであり得る）、経腸、動脈内、皮内、胃内、髄内、筋肉内、鼻腔内、腹腔内、髄腔内、静脈内、脳室内、特定の器官内（例えば、肝内）、系粘膜、鼻経由、経口、経直腸、皮下、舌下、経表面、気管経由（例えば、気管内点滴により）、経膈、硝子体経由などであり得る。一部の実施形態では、投与は、間欠的である投薬（例えば、複数の用量を時間をあけて）および／または定期的（例えば、個々の用量を一般的な期間をあけて）投薬を伴うものであり得る。一部の実施形態では、投与は、少なくとも選択された期間での連続投薬（例えば、灌流）を伴うものであり得る。

20

30

【0029】

薬剤：本明細書で用いる場合、用語「薬剤」は、任意の化学薬品クラスの化合物または実体、例えば、ポリペプチド、核酸、糖、脂質、小分子、金属、またはその組合せもしくは複合体などをいう。適切な状況では、文脈から当業者には明らかであろうが、この用語は、細胞もしくは生物体、またはその画分、抽出物もしくは成分であるか、またはこれらを含むものである実体をいうために使用される場合があり得る。択一的または付加的に、文脈から明らかとなろうが、この用語は、自然界にみられる、および／または自然界から得られるという理由で天然産物をいうために使用される場合があり得る。一部の 경우에는、この場合も、文脈から明らかであろうが、この用語は、人の手作業によって設計、改変操作および／または作製されたものである、および／または自然界にはみられないという理由で人造である1種類以上の実体をいうために使用される場合があり得る。一部の実施形態では、薬剤が、単離された形態または純粋な形態で使用され得；一部の実施形態では、薬剤が、粗製形態で使用され得る。一部の実施形態では、潜在的薬剤が、例えば、スクリーニングされ得る集合体またはライブラリーとして準備され、その中から活性薬剤が同定または特性評価され得る。一部の 경우에는、用語「薬剤」は、ポリマーであるか、またはポリマーを含むものである化合物または実体をいう場合もあり得；一部の 경우에는、該用語は、1つ以上のポリマー部分を含む化合物または実体をいう場合もあり得る。一部の実施形態では、用語「薬剤」は、ポリマーではない、および／またはなんらポリマーおよ

40

50

び／または1つ以上の特定のポリマー部分が実質的にない化合物または実体をいう場合もあり得る。一部の実施形態では、該用語は、なんらポリマー部分がないか、または実質的にない化合物または実体をいう場合もあり得る。

【0030】

軽快：本明細書で用いる場合、用語「軽快」は、状態の抑制、低減もしくは緩和、または被験体の状態の改善をいう。軽快としては、疾患、障害および／または病的状態（例えば、マスト細胞活性関連障害）の完全な回復または完全な抑制が挙げられるが、これを求めるものではない。

【0031】

拮抗薬：本明細書で用いる場合、用語「拮抗薬」は、その存在、レベル、度合い、型または形態が、別の薬剤（すなわち、阻害対象の薬剤、または標的）のレベルまたは活性の低下と相関する薬剤条件または事象をいう。一般に、拮抗薬は、該当する阻害活性を示す任意の化学薬品クラスの薬剤、例えば、小分子、ポリペプチド、核酸、炭水化物、脂質、金属および／または任意の他の実体などであり得るか、またはこれらを含むものであり得る。一部の実施形態では、拮抗薬が直接的であり得（この場合、これは、その標的に対して直接、影響を及ぼす）；一部の実施形態では、拮抗薬が間接的であり得る（この場合、これは、その標的との結合以外によって；例えば、標的の調節因子と、該標的のレベルまたは活性が改変されるように相互作用することによって影響を及ぼす）。

【0032】

抗体：本明細書で用いる場合、用語「抗体」は、特定の標的抗原に対する特異的結合を付与するのに十分な古典的免疫グロブリン配列エレメントを含むポリペプチドをいう。当該技術分野で知られているように、天然に生じるインタクトな抗体は、互いに関連して一般的に「Y字形」構造と称されるものになっている2つの同一の重鎖ポリペプチド（各々、約50 kD）と2つの同一の軽鎖ポリペプチド（各々、約25 kD）で構成されたおよそ150 kDの四量体の薬剤である。各重鎖は、少なくとも4つのドメイン（各々、約110 アミノ酸長）ーアミノ末端の可変（VH）ドメイン（Y字構造の先端に位置する）、続いて、3つの定常ドメイン：CH1、CH2、およびカルボキシ末端のCH3（Y字部の幹の基部に位置する）で構成されている。「スイッチ」として知られる短鎖領域によって重鎖の可変領域と定常領域が接続されている。「ヒンジ」により、CH2およびCH3ドメインが抗体の残部に接続されている。このヒンジ領域内の2つのジスルフィド結合によって2つの重鎖ポリペプチドが相互に接続されてインタクトな抗体となっている。各軽鎖は、2つのドメインーアミノ末端の可変（VL）ドメイン、続いてカルボキシ末端の定常（CL）ドメイン（別の「スイッチ」によって互いに隔離されている）で構成されている。四量体のインタクトな抗体は、2つの重鎖ー軽鎖二量体で構成されており、この場合、重鎖と軽鎖は互いに1つのジスルフィド結合によって連結されており；他の2つのジスルフィド結合によって重鎖ヒンジ領域が互いに、該二量体が互いに接続され、四量体が形成されるように接続されている。また、天然に生じる抗体は、典型的にはCH2ドメインに糖鎖付加されている。天然抗体の各ドメインは、圧縮された逆平行βバレル（barrel）の状態に互いに密集した2つのβシート（例えば、3ー、4ーまたは5ーストランドシート）で形成された「免疫グロブリンフォールド」を特徴とする構造を有する。各可変ドメインは、「相補性決定領域」として知られる3つの超可変ループ（CDR1、CDR2およびCDR3）ならびにいくぶん変化の少ない4つの「フレームワーク」領域（FR1、FR2、FR3およびFR4）を含む。天然抗体がフォールディングされている場合、FR領域は、該ドメインの構造的枠組みをもたらすβシートを形成し、重鎖と軽鎖の両方のCDRループ領域が3次元空間内で一体となり、その結果、Y字構造の先端に位置する単一の超可変抗原結合部位が作出される。天然に存在する抗体のFc領域は、補体系のエレメントに、また、エフェクター細胞上、例えば、細胞傷害性を媒介するエフェクター細胞上などの受容体に結合する。当該技術分野で知られているように、Fc受容体に対するFc領域の親和性および／または他の結合属性は、糖鎖付加または他の修飾によってモジュレートされ得る。一部の実施形態では、本発明に従って作製および／または使用され

10

20

30

40

50

る抗体は、糖鎖付加されたFcドメイン、例えば、修飾または改変操作されたかかる糖鎖付加を有するFcドメインを含むものである。本発明の解釈上、一部の特定の実施形態では、天然抗体にみられる十分な免疫グロブリンドメイン配列を含む任意のポリペプチドまたはポリペプチド複合体が、かかるポリペプチドが天然に生じるもの（例えば、抗原に対して反応する生物体によって生成されるもの）であれ、組換え操作、化学合成、または他の人工的な系もしくは方法論によって作製されたものであれ、「抗体」と称され得る、および／または「抗体」として使用され得る。一部の実施形態では、抗体がポリクローナルであり；一部の実施形態では、抗体がモノクローナルである。一部の実施形態では、抗体が、マウス、ウサギ、霊長類またはヒト抗体に特徴的な定常領域配列を有するものである。一部の実施形態では、抗体配列エレメントがヒト化型、霊長類化型、キメラなどであり、これは当該技術分野で知られている。さらに、用語「抗体」は、本明細書で用いる場合、適切な実施形態において（特に記載のない限り、または文脈から明らかでない限り）、抗体の構造的および機能的特徴を択一的な提示において使用するための任意の当該技術分野で知られた、または開発された構築物または形式を示す場合があり得る。例えば、実施形態、本発明に従って使用される抗体は、限定されないが、インタクトなIgG、IgEおよびIgM、二重特異性または多重特異性抗体（例えば、Zybodies（登録商標）など）、単鎖Fv、ポリペプチド-Fc融合体、Fab、ラクダ抗体、マスクド（masked）抗体（例えば、Probodies（登録商標））、Small Modular Immunopharmaceuticals（「SMIPTM」）、一本鎖またはタンデムダイアボディ（TandAb（登録商標））、VHH、Anticalins（登録商標）、Nanobodies（登録商標）、ミニボディ、BiTE（登録商標）、アンキリンリピートタンパク質またはDARPIN（登録商標）、Avimers（登録商標）、DART、TCR様抗体、Adnectins（登録商標）、Affilins（登録商標）、Trans-bodies（登録商標）、Affibodies（登録商標）、TrimerX（登録商標）、MicroProteins、Fynomers（登録商標）、Centyrins（登録商標）、ならびにKALBITOR（登録商標）から選択される形式である。一部の実施形態では、抗体が、天然に生じたものであれば有するであろう共有結合的修飾（例えば、グリカンの結合）がないものであり得る。一部の実施形態では、抗体が、共有結合的修飾（例えば、グリカン、有効負荷物〔例えば、検出可能な部分、治療性部分、触媒性部分など〕、または他の懸垂基〔例えば、ポリーエチレングリコールなど〕の結合）を含むものであり得る。

【0033】

抗原提示細胞：本明細書で用いる場合、用語「抗原提示細胞」または「APC」は、抗原を有しており、これをT細胞に提示する細胞をいう。例示的な抗原細胞としては、樹状細胞、マクロファージ、マスト細胞および一部の特定の活性型上皮細胞が挙げられる。

【0034】

およそ：本明細書で用いる場合、用語「およそ」または「約」は、対象の1つ以上の値に適用され得、記載の基準値と同様の値をいう。一部の特定の実施形態では、用語「およそ」または「約」は、特に記載のない限り、あるいは文脈から明白でない限り、記載の基準値のいずれかの方向（大きい側または小さい側）の25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、ならびにそれ未満以内に含まれる範囲の値をいう（かかる数値が可能な値の100%を超えるであろう場合を除く）。

【0035】

～と関連している：本明細書で用いる場合、用語「～と関連している」は、2つ以上の事象または実体が、一方の存在、レベルおよび／または形態がその他のものと相関している場合をいう。例えば、特定の実体（例えば、ポリペプチド、遺伝子指標、代謝産物、微生物など）は、その存在、レベルおよび／または形態が特定の疾患、障害または病的状態の発生率および／または易罹患性と相関している場合（例えば、該当する集団において）、該疾患、障害または病的状態と関連しているとみなす。一部の実施形態では、2つ以上

の実体は、これらが互いに物理的に近接した状態となる、および／または物理的に近接した状態のままであるように直接または間接的に相互作用する場合、互いに物理的に「関連している」。一部の実施形態では、互いに物理的に関連している2つ以上の実体が互いに共有結合しており；一部の実施形態では、互いに物理的に関連している2つ以上の実体が互いに共有結合しているのではなく、例えば、水素結合、ファン・デル・ワールス相互作用、疎水性相互作用、磁気およびその組合せによって非共有結合している。

【0036】

結合剤：本明細書で用いる場合、用語「結合剤」は、本明細書に記載の対象の標的に結合する任意の実体をいう。多くの実施形態において、対象の結合剤は、その標的を特定の相互作用の状況において他の潜在的結合パートナーと識別するという点で、その標的と特異的に結合するものである。一般に、結合剤は、任意の化学薬品クラスの実体（例えば、ポリマー、非ポリマー、小分子、ポリペプチド、炭水化物、脂質、核酸など）であり得るか、または該実体を含むものであり得る。一部の実施形態では、結合剤が単一の化学的実体である。一部の実施形態では、結合剤が、該当する条件下で非共有結合性の相互作用によって互いに関連している2つ以上の個別の化学的実体の複合体である。例えば、当業者には、一部の実施形態では、結合剤が、「一般」結合部分（例えば、ビオチン／アビジン／ストレプトアビジンおよび／またはクラス特異的抗体のうちの1つ）と、該一般結合（*b i d i n g*）部分のパートナーに連結された「特異的」結合部分（例えば、特定の分子標的を有する抗体またはアプタマー）とを含むものであり得ることが認識されよう。一部の実施形態では、かかるアプローチにより、同じ一般結合部分パートナーを有する異なる特異的結合部分の結合による複数の結合剤のモジュール式アセンブリが可能となり得る。一部の実施形態では、結合剤がポリペプチド（例えば、抗体もしくは抗体断片など）であるか、または該ポリペプチドを含むものである。一部の実施形態では、結合剤が小分子であるか、または小分子を含むものである。一部の実施形態では、結合剤が核酸であるか、または核酸を含むものである。一部の実施形態では、結合剤がアプタマーである。一部の実施形態では、結合剤がポリマーであり；一部の実施形態では、結合剤がポリマーではない。一部の実施形態では、結合剤が、ポリマー部分がないという点で非ポリマー型である。一部の実施形態では、結合剤が炭水化物であるか、または炭水化物を含むものである。一部の実施形態では、結合剤がレクチンであるか、またはレクチンを含むものである。一部の実施形態では、結合剤がペプチド模倣物であるか、またはペプチド模倣物を含むものである。一部の実施形態では、結合剤が足場タンパク質であるか、または足場タンパク質を含むものである。一部の実施形態では、結合剤がミメオトープ（*m i m e o t o p e*）であるか、またはミメオトープを含むものである。一部の実施形態では、結合剤がステーブルドペプチドであるか、またはステーブルドペプチドを含むものである。一部の特定の実施形態では、結合剤が核酸（例えばDNAもしくはRNA）であるか、または該核酸を含むものである。

【0037】

生物学的に活性な：本明細書で用いる場合、用語「生物学的に活性な」とは、対象の薬剤または実体によって得られる観察可能な生物学的効果または生物学的結果をいう。例えば、一部の実施形態では、特異的結合相互作用が生物学的活性である。一部の実施形態では、生物学的経路または事象のモジュレーション（例えば、誘導、向上または阻害）が生物学的活性である。一部の実施形態では、生物学的活性の存在または程度が、対象の生物学的経路または生物学的事象によって生成する直接的または間接的な産物の検出によって評価される。

【0038】

バイオマーカー：本明細書で用いる場合、用語「バイオマーカー」は、その存在、レベルまたは形態が対象の特定の生物学的事象または生物学的状態と相関しており、そのため、該事象または状態の「マーカー」であるときみなされる実体をいう。少ないが例を挙げると、一部の実施形態では、バイオマーカーが、特定の疾患状態のマーカーまたは特定の疾患、障害および／または病的状態が発症、発生あるいは再発し得る尤度のマーカーであり

得るか、または該マーカーを含むものであり得る。一部の実施形態では、バイオマーカーが、特定の疾患もしくは治療転帰またはその尤度のマーカーであり得るか、または該マーカーを含むものであり得る。したがって、一部の実施形態では、バイオマーカーが、対象の該当する生物学的事象または生物学的状态の予測用であり、一部の実施形態では、バイオマーカーが予後判定用であり、一部の実施形態では、バイオマーカーが診断用である。バイオマーカーは任意の化学薬品クラスの実体であり得る。例えば、一部の実施形態では、バイオマーカーが核酸、ポリペプチド、脂質、炭水化物、小分子、無機剤（例えば、金属もしくはイオン）あるいはその組合せであり得るか、またはこれらを含むものであり得る。一部の実施形態では、バイオマーカーが細胞表面マーカーである。一部の実施形態では、バイオマーカーが細胞内に存在する。一部の実施形態では、バイオマーカーが細胞外で見出される（例えば、細胞外、例えば、血液、尿、涙液、唾液、脳脊髄液などの体液中に分泌されるか、または別の様式で生成するか、もしくは存在する）ものである。

10

【0039】

がん：本明細書で用いる場合、用語「がん」、「悪性腫瘍」、「新生物」、「腫瘍」および「癌」は、相対的に異常な、制御不能な、および／または自律的な増殖を示し、そのため、細胞の増殖制御の有意な喪失を特徴とする異常な増殖表現型を示す細胞をいう。一部の実施形態では、腫瘍は、前癌状態（例えば、良性）、悪性、前転移性、転移性および／または非転移性である細胞であり得るか、または該細胞を含むものであり得る。本開示により、具体的には、本教示が具体的に該当し得る特定のがんが確認される。一部の実施形態では、該当するがんが充実性腫瘍を特徴とするものであり得る。一部の実施形態では、該当するがんが血液系腫瘍を特徴とするものであり得る。一般に、当該技術分野で知られている色々な型のがんの例としては、例えば、造血器がん、例えば白血病、リンパ腫（ホジキンおよび非ホジキン）、骨髄腫および骨髄増殖性障害；肉腫、黒色腫、腺腫、充実性組織の癌、口、咽喉、喉頭および肺の扁平上皮癌、肝臓がん、泌尿生殖器科のがん、例えば前立腺、子宮頸部、膀胱、子宮および子宮内膜のがんならびに腎細胞癌、骨のがん、膵がん、皮膚がん、皮膚または眼内の黒色腫、内分泌系のがん、甲状腺のがん、副甲状腺のがん、頭頸部がん、乳がん、胃腸のがんならびに神経系のがん、良性の病変、例えば乳頭腫などが挙げられる。

20

【0040】

担体：本明細書で用いる場合、「担体」は、該組成物とともに一緒に投与される希釈剤、佐剤、賦形剤またはビヒクルをいう。例示的な一部の実施形態では、担体としては、滅菌された液状物、例えば水および油など、例えば、石油、動物、植物または合成起源の油、例えば、ピーナッツ油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油などが挙げられ得る。一部の実施形態では、担体は1種類以上の固形成分であるか、または該固形成分を含むものである。

30

【0041】

併用療法：本明細書で用いる場合、用語「併用療法」は、被験体が2種類以上の治療レジメン（例えば、2種類以上の治療用薬剤）に同時に曝露されている状況をいう。一部の実施形態では、該2種類以上のレジメンが同時に投与され得；一部の実施形態では、かかるレジメンが逐次投与され得（例えば、第1のレジメンのすべての「用量」が、第2のレジメンの任意の用量の投与前に投与される）；一部の実施形態では、かかる薬剤が、重複する投薬レジメンで投与される。一部の実施形態では、併用療法の「投与」は、1種類以上の薬剤またはモダリティを、その他の薬剤またはモダリティを受けている被験体に併用で投与することを伴うものであり得る。明瞭性重視のため、併用療法は、個々の薬剤を一緒に単一の組成物で（またはさらには必ずしも同時に）投与することを要するものではないが、一部の実施形態では、2種類以上の薬剤またはその活性部分が一緒に合剤組成物で、またはさらには合剤化合物で（例えば、単一の化学複合体または共有結合した実体の一部として）投与される場合もあり得る。

40

【0042】

検出実体：本明細書で用いる場合、用語「検出実体」は、検出可能である任意の元素、分子、官能基、化合物、断片または部分をいう。一部の実施形態では、検出実体が単独で

50

準備または使用される。一部の実施形態では、検出実体が、別の薬剤と関連させて（例えば、接合させて）準備および／または使用される。検出実体の例としては、限定されないが：種々のリガンド、放射性核種（例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{18}F 、 ^{19}F 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{135}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{64}Cu 、 ^{187}Re 、 ^{111}In 、 ^{90}Y 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{177}Lu 、 ^{89}Zr など）、蛍光色素（具体的な例示的蛍光色素については、下記参照）、化学発光剤（例えば、アクリジナム（*acridinum*）エステル、安定化ジオキセタンなど）、生物発光剤、スペクトル分割可能な無機蛍光性半導体ナノ結晶（すなわち、量子ドット）、金属ナノ粒子（例えば、金、銀、銅、白金など）ナノクラスター、常磁性金属イオン、酵素（酵素の具体例については、下記参照）、比色標識（例えば、色素、金コロイドなど）、ビオチン、ジオキシゲニン（*dioxigenin*）、ハプテン、および抗血清またはモノクローナル抗体が入手可能なタンパク質が挙げられる。

10

【0043】

測定する／調べる：本明細書に記載の多くの方法論は「測定する／調べる」工程を含むものである。当業者には、本明細書を読むと、かかる「測定する／調べる」ことは、当業者に利用可能な任意のさまざまな手法、例えば、本明細書において明示した具体的な手法などが使用され得、その使用によって行われ得ることが認識されよう。一部の実施形態では、測定する／調べるのが物理的試料の操作を伴うものである。一部の実施形態では、測定する／調べるのが、データまたは情報の考察および／または操作、例えば、関連する解析を行うために適合させたコンピュータまたは他の処理装置の使用を伴うものである。一部の実施形態では、測定する／調べるのが、関連する情報および／または資料を供給元から受け取ることを伴うものである。一部の実施形態では、測定する／調べるのが、試料または実体の1つ以上の特徴を同等の参照と比較することを伴うものである。

20

【0044】

診断用情報：本明細書で用いる場合、用語「診断用情報」または「診断における使用のための情報」は、患者が疾患、障害および／または病的状態を有するかどうかを調べることに有用な情報、ならびに／あるいは疾患、障害および／または病的状態を、表現型カテゴリーあるいは疾患、障害および／または病的状態の予後に関して、あるいは疾患、障害および／または病的状態の処置（処置一般もしくはは任意の特定の処置のいずれか）に対する応答の見込みに関して重要性を有する任意のカテゴリーに分類することにおいて有用な情報をいう。同様に、「診断」は、被験体において発現している任意の型の診断用情報の提供、例えば、限定されないが、被験体が疾患、障害および／または病的状態を有する、またはこれらが発症する可能性が高いかどうか、被験体に現れる疾患、障害および／または病的状態の状態、病期または特徴、腫瘍の性質または分類に関する情報、予後に関する情報および／または適切な処置の選択に有用な情報の提供をいう。処置の選択としては、特定の治療用薬剤または他の処置モダリティ（例えば、手術、放射線など）の選択、治療を保留するのか、実施するのかに関する選択、投薬レジメンに関する選択（例えば、特定の治療用薬剤または併用での治療用薬剤の1回以上の用量の頻度またはレベル）などが挙げられ得る。

30

【0045】

投薬形態、単位投薬形態または単位用量：本明細書で用いる場合、用語「投薬形態」、「単位投薬形態」または「単位用量」は、単回用量として、および／または物理的に個別の単位の医薬組成物で投与される量をいう。多くの実施形態において、単位用量には所定量の活性薬剤が含有される。一部の実施形態では、単位用量に、該薬剤の全単回用量が含有される。一部の実施形態では、全単回用量をもたらすために1回より多くの単位用量が投与される。一部の実施形態では、意図した効果をもたらすために、多数回の単位用量の投与が必要とされるか、または必要とされることが予測される。単位用量は、例えば、所定量の1種類以上の治療用薬剤を含むある体積の液状物（例えば、許容され得る担体）、固形形態の所定量の1種類以上の治療用薬剤、所定量の1種類以上の治療用薬剤を含む徐放製剤または薬物送達デバイスなどであり得る。単位用量は、治療用薬剤（1種類または複数種）に加えて任意のさまざまな成分を含む製剤中に存在させ得ることは認識されよう

40

50

。例えば、許容され得る担体（例えば、薬学的に許容され得る担体）、希釈剤、安定剤、バッファー、保存料などが、後述するとおりに含められ得る。当業者には、多くの実施形態において、特定の治療用薬剤の適切な全日投薬量が、単位用量の一部を含んでいても、複数の単位用量を含んでいてもよく、例えば、担当医師により正しい医学的判断の範囲内で決定され得ることは認識されよう。一部の実施形態では、任意の具体的な被験体または生物体に対する具体的な有効用量レベルは、さまざまな要素、例えば、処置対象の障害および障害の重症度；使用される具体的な活性化合物の活性；使用される具体的な組成物；被験体の年齢、体重、一般健康状態、性別および食生活；投与期間、および使用される具体的な活性化合物の排出速度；処置の持続期間；使用される具体的な化合物（1種類または複数種）と併用して、または同時に使用される薬物および／またはさらなる治療、ならびに医療技術分野でよく知られた同様の要素に依存し得る。

10

【0046】

投薬レジメン：本明細書で用いる場合、用語「投薬レジメン」は、被験体に、典型的には時間間隔をあけて個々に投与される一組の単位用量（典型的には1回より多い）をいう。一部の実施形態では、所与の治療用薬剤は、1回以上の用量を伴うものであり得る推奨投薬レジメンを有する。一部の実施形態では、投薬レジメンが、各々を他の用量と時間をあける複数の用量を含むものである。一部の実施形態では、個々の用量を互いに同じ長さの期間あけ；一部の実施形態では、投薬レジメンが、複数の用量と、個々の用量を隔てる少なくとも2つの異なる期間を含むものである。一部の実施形態では、投薬レジメンにおけるすべての用量が同じ量の単位用量である。一部の実施形態では、投薬レジメンにおける色々な用量が異なる量である。一部の実施形態では、投薬レジメンが、第1の量の用量の第1の用量、続いて、第1の量の用量と異なる第2の量の用量の1回以上のさらなる用量を含むものである。一部の実施形態では、投薬レジメンが、第1の量の用量の第1の用量、続いて、第1の量の用量と同じ第2の量の用量の1回以上のさらなる用量を含むものである。一部の実施形態では、投薬レジメンが、該当する集団において投与した場合に所望の転帰または有益な転帰と相関している（すなわち、治療投薬レジメンである）。

20

【0047】

賦形剤：本明細書で用いる場合、用語「賦形剤」は、例えば、所望の粘稠度または安定化効果を得るため、または所望の粘稠度または安定化効果に寄与するために医薬組成物中に含められ得る非治療用薬剤をいう。好適な医薬用賦形剤としては、例えば、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、胡粉、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、グリセロールモノステアレート、タルク、塩化ナトリウム、脱脂粉乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどが挙げられる。

30

【0048】

発現：本明細書で用いる場合、用語「発現」は、以下の事象：（1）DNA配列からのRNA鋳型（例えば、メッセンジャーRNA）の生成（例えば、転写による）；（2）RNA転写物のプロセッシング（例えば、スプライシング、編集、5'キャップの形成および／または3'末端の形成による）；（3）RNAのポリペプチドもしくはタンパク質への翻訳；および／または（4）ポリペプチドもしくはタンパク質の翻訳後修飾のうちの1つ以上を示す核酸配列をいう。

40

【0049】

事象：本明細書で用いる場合、用語「事象」はマスト細胞活性をいう。一部の実施形態では、事象が、組織または器官におけるマスト細胞の局在性または遊走に反映され得る。一部の実施形態では、事象が、他の細胞型との相互作用の度合いまたは型に反映され得る。一部の実施形態では、相互作用がトランスグラニュレーションであり得る。一部の実施形態では、事象が、1種類以上の特定のタンパク質またはマスト細胞部位との相互作用の度合いまたは型に反映され得る。

【0050】

遺伝子：本明細書で用いる場合、用語「遺伝子」は、産物（例えば、RNA産物、例えばメッセンジャーRNA、および／またはポリペプチド産物）をコードしている染色体内

50

のDNA配列をいう。一部の実施形態では、遺伝子が、コード配列（すなわち、特定の産物をコードしている配列）を含むものであり；一部の実施形態では、遺伝子が非コード配列を含むものである。一部の特定の実施形態では、遺伝子が、コード（例えば、エキソン）と非コード（例えば、イントロン）配列の両方を含むものであり得る。一部の実施形態では、遺伝子が、例えば、遺伝子発現の1つ以上の態様（例えば、細胞型特異的発現、誘導性発現など）を制御し得るか、または影響を及ぼし得る1種類以上の調節エレメントを含むものであり得る。

【0051】

遺伝子産物または発現産物：本明細書で用いる場合、用語「遺伝子産物」または「発現産物」は、遺伝子から転写されたRNA（プロセッシング前および／またはプロセッシング後）あるいは遺伝子から転写されたRNAによりコードされたポリペプチド（修飾前および／または修飾後）をいう。

10

【0052】

改善する、増大する（“increase”）または低下する（“reduce”）：本明細書で用いる場合、用語「改善する」、「増大する」もしくは「低下する」またはその文法的相当語句は、ベースライン測定値、例えば、本明細書に記載の処置の開始前の同じ個体における測定値、または本明細書に記載の処置なしの対照個体（もしくは複数の対照個体）における測定値と比較した値をいう。一部の実施形態では、「対照個体」が、処置対象の個体と同じ形態の疾患または傷害に罹患している個体である。

【0053】

インヒビター：本明細書で用いる場合、用語「インヒビター」は、その存在、レベル、度合い、型または形態が、別の薬剤（すなわち、阻害対象の薬剤、または標的）のレベルまたは活性の低下と相関する薬剤、条件または事象をいう。一般に、インヒビターは、任意の化学薬品クラスの薬剤、例えば、小分子、ポリペプチド、核酸、炭水化物、脂質、金属および／または任意の他の実体など、該当する阻害活性を示す条件または事象であり得るか、またはこれらを含むものであり得る。一部の実施形態では、インヒビターが直接的であり得（この場合、これは、例えば標的に結合することによって、その標的に対して直接、影響を及ぼす）；一部の実施形態では、インヒビターが間接的であり得る（この場合、これは、標的のレベルおよび／または活性が低下するように該標的の調節因子と相互作用すること、および／または別の様式で調節因子を改変することによって影響を及ぼす）。

20

30

【0054】

キット：本明細書で用いる場合、用語「キット」は、物質を送達するための任意の送達系をいう。反応アッセイの状況において、かかる送達系は、反応試薬（例えば、適切な容器内にオリゴヌクレオチド、酵素など）の保存、輸送もしくは送達および／またはある位置から別の位置へのための支持材（例えば、緩衝材、アッセイを行うための書面の使用説明書など）を可能にする系を含むものである。例えば、キットは、該当する反応試薬および／または支持材を内包する1つ以上の囲い（例えば、箱）を含むものである。本明細書で用いる場合、用語「細分型（fragmented）キット」は、各々が全キット構成要素の従属部分（supportion）を内包している2つ以上の別々の容器を備えている送達系をいう。該容器は、意図されたレシピエントに、一緒に、または別々に送達されるものであり得る。例えば、第1の容器に、アッセイにおける使用のための酵素が内包され得、一方、第2の容器にオリゴヌクレオチドが内包される。用語「細分型キット」は、米連邦食品医薬品化粧品法のセクション520（e）に規定されたAnalyte Specific Reagent（ASR）を含むキットを包含していることを意図するが、これに限定されない。実際、各々が全キット構成要素の従属部分を内包している2つ以上の別々の容器を備えた任意の送達系が用語「細分型キット」に包含される。対照的に、「一体型（combined）キット」は、反応アッセイのすべての成分を単一の容器内に（例えば、単一の箱型ハウジング内に所望の各成分を）内包している送達系をいう。用語「キット」は細分型キットと一体型キットの両方を包含している。

40

50

【0055】

マスト細胞活性因子：本明細書で用いる場合、用語「マスト細胞活性因子」は、その存在、レベルまたは位置がマスト細胞活性と相関する薬剤をいう。一部の実施形態では、マスト細胞活性因子がマスト細胞によって産生されるものである（例えば、マスト細胞代謝産物であり得る）。一部のかかる実施形態では、マスト細胞活性因子が、その位置（例えば、顆粒内であるか、放出されたものであるか）がマスト細胞活性と相関しているマスト細胞代謝産物であり得；択一的または付加的に、一部のかかる実施形態では、マスト細胞活性因子が、その産生が、マスト細胞活性との関連において誘発されるか、または高まるマスト細胞代謝産物であり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性因子がマスト細胞によって産生されるものではなく、その存在、レベルまたは位置がマスト細胞活性と相関する薬剤である。当業者は、マスト細胞活性因子である種々の薬剤を熟知しており；それぞれのかかる薬剤は本明細書の表1に含まれている。

10

【0056】

マスト細胞代謝産物：本明細書で用いる場合、用語「マスト細胞代謝産物」は、マスト細胞によって産生され、典型的には放出される化学物質化合物をいう。一部の実施形態では、マスト細胞代謝産物が、マスト細胞内の顆粒中に貯蔵され、脱顆粒によって放出される。択一的または付加的に、一部の実施形態では、マスト細胞代謝産物が、マスト細胞が活性化されると合成されるものである。当業者は、マスト細胞代謝産物である種々の薬剤を熟知しており；それぞれのかかる薬剤は本明細書の表1に含まれている。

20

【0057】

マスト細胞部位：本明細書で用いる場合、用語「マスト細胞部位」は、マスト細胞が存在しているか、または新たに存在するようになった体内の部位をいう。一部の実施形態では、マスト細胞部位が骨髄、末梢血、結合組織、CNS（例えば、脳、脊髄、髄膜）、粘膜、リンパ管である。

【0058】

モジュレータ：本明細書で用いる場合、用語「モジュレータ」は、対象の活性が観察されている系内におけるその存在またはレベルが、モジュレータが存在しないこと以外の点では同等の条件下で観察されるものと比べて、該活性のレベルおよび／または性質の変化と相関する実体をいう。一部の実施形態では、モジュレータが、その存在下において、モジュレータが存在しないこと以外の点では同等の条件下で観察されるものと比べて、活性が高まるという点でアクチベータである。一部の実施形態では、モジュレータが、その存在下において、該モジュレータが存在しないこと以外の点では同等の条件と比べて活性が低下するという点で拮抗薬またはインヒビターである。一部の実施形態では、モジュレータが、その活性が対象の標的実体と直接相互作用する。一部の実施形態では、モジュレータが、その活性が対象の標的実体と間接的に（すなわち、該標的実体が相互作用する中間の薬剤と直接）相互作用する。一部の実施形態では、モジュレータが、対象の標的実体のレベルに影響を及ぼす；択一的または付加的に、一部の実施形態では、モジュレータが、標的実体のレベルに影響を及ぼすことなく対象の標的実体の活性に影響を及ぼす。一部の実施形態では、モジュレータが、観察された活性の差が観察されたレベルの差で完全に説明されないか、または観察されたレベルの差と釣り合わないように、対象の標的実体のレベルと活性の両方に影響を及ぼす。

30

40

【0059】

患者：本明細書で用いる場合、用語「患者」は、提供する本組成物が、例えば、実験、診断、予防、美容および／または治療の目的で投与される、または投与され得る任意の生物体をいう。典型的な患者としては、動物（例えば、哺乳動物、例えばマウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類および／またはヒト）が挙げられる。一部の実施形態では、患者がヒトである。一部の実施形態では、患者が、1つ以上の障害または病的状態に苦しんでいるか、または1つ以上の障害または病的状態に易罹患性である患者である。一部の実施形態では、患者が、障害および／または病的状態の1つ以上の症状を示している患者である。一部の実施形態では、患者が、1つ以上の障害または病的状態であると診断された患者

50

である。一部の実施形態では、1つ以上の障害または病的状態が、がん、もしくは1つ以上の腫瘍の存在であるか、またはがん、もしくは1つ以上の腫瘍の存在を含むものである。一部の実施形態では、患者が、疾患、障害または病的状態の診断および／または処置のための特定の治療を受けているか、または該治療を受けた患者である。一部の実施形態では、患者が被験体である。

【0060】

医薬組成物：本明細書で用いる場合、用語「医薬組成物」は、活性薬剤が1種類以上の薬学的に許容され得る担体と一緒に製剤化された組成物をいう。一部の実施形態では、活性薬剤を、該当する集団に投与した場合に所定の治療効果が得られることの統計学的に有意な確率を示す治療レジメンでの投与のために適切な量の単位用量で存在させる。一部の
10 実施形態では、医薬組成物が、固形形態または液状形態での投与のために、例えば、以下：経口投与（例えば、水剤（水性もしくは非水性の液剤もしくは懸濁剤）、錠剤、例えば、口腔内、舌下および全身性吸収を目的としたもの、ボラス、散剤、顆粒剤、舌への適用のためのペースト剤）；非経口投与（例えば、皮下、筋肉内、静脈内もしくは硬膜外注射により、例えば、滅菌された液剤もしくは懸濁剤あるいは徐放製剤として）；経表面適用（例えば、皮膚、肺もしくは口腔に適用されるクリーム剤、軟膏もしくは制御放出パッチもしくはスプレー剤として）；腔内もしくは直腸内（例えば、ペッサリー、クリーム剤もしくはフォーム剤として）；舌下；経眼；経皮；または経鼻、経肺、ならびに他の粘膜表面へのために適合させたものの投与のために特別に製剤化されたものであり得る。

【0061】

薬学的に許容され得る：本明細書で用いる場合、用語「薬学的に許容され得る」とは、本明細書に開示の組成物を製剤化するために使用される担体、希釈剤または賦形剤に適用している場合、該担体、希釈剤または賦形剤が、該組成物のその他の成分と適合性でなければならず、そのレシピエントに対して有害であってはならないことを意味する。

【0062】

薬学的に許容され得る担体：本明細書で用いる場合、用語「薬学的に許容され得る担体」は、主題の化合物の担持またはある器官もしくは身体部分から別の器官もしくは身体部分への輸送に関与する薬学的に許容され得る物質、組成物またはビヒクル、例えば、液状または固形の増量剤、希釈剤、賦形剤、または溶媒封入材料をいう。各担体は、製剤のその他の成分と適合性であり、患者に対して有害でないという意味で「許容され得る」ものでなければならない。薬学的に許容され得る担体としての機能を果たし得る物質の一例としては：糖類、例えば、ラクトース、グルコースおよびスクロース；デンプン、例えば、コーンスターチおよびイモデンプン；セルロースおよびその誘導体、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよび酢酸セルロース；粉末化トラガカント；麦芽；ゼラチン；タルク；賦形剤、例えば、ココアバターおよび坐剤用ワックス；油、例えば、ピーナッツ油、綿実油、ベニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油およびダイズ油；グリコール、例えば、プロピレングリコール；ポリオール、例えば、グリセリン、ソルビトール、マンニトールおよびポリエチレングリコール；エステル、例えば、オレイン酸エチルおよびラウリン酸エチル；寒天；緩衝剤、例えば、水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウム；アルギン酸；バイロジェンフリー水；等張性生理食塩水；リン
30 ゲル液；エチルアルコール；pH緩衝液；ポリエステル、ポリカーボネートおよび／またはポリ無水物；ならびに医薬製剤に使用される他の無毒性の適合性の物質が挙げられる。

【0063】

生理学的条件：本明細書で用いる場合、用語「生理学的条件」は、細胞または生物体が生存する、および／または再生する条件をいう。一部の実施形態では、この用語は、生物体または細胞の系にとって天然の状態であり得る外部環境または内部環境の条件を示す。一部の実施形態では、生理学的条件が、ヒトまたは非ヒト動物の体内において存在する条件、特に、外科処置の部位および／または該部内において存在する条件である。生理学的条件としては典型的には、例えば、20～40℃の温度範囲、1気圧、6～8のpH、1～20mMのグルコース濃度、大気中の酸素濃度、および地球上でみられる重力が挙げら
40 50

れる。一部の実施形態では、実験室における条件が生理学的条件に操作および／または維持される。一部の実施形態では、生理学的条件が生物体においてみられるものである。

【0064】

予防：本明細書で用いる場合、用語「予防」は、特定の疾患、障害および／または病的状態の1つ以上の症状の発現の遅延および／または頻度および／または重症度の低減をいう。一部の実施形態では、予防が集団ベースで、特定の疾患、障害および／または病的状態の1つ以上の症状の発症、頻度、および／または強度の統計学的に有意な低減が該疾患、障害および／または病的状態に易罹患性である集団において観察された場合、薬剤が該疾患、障害および／または病的状態を「予防する」とみなされるように評価される。予防は、疾患、障害および／または病的状態の発現が所定の期間、遅延されている場合、完全であるとみなされ得る。

10

【0065】

参照：本明細書で用いる場合、用語「参照」は、比較を行う対象の基準または対照をいう。例えば、一部の実施形態では、対象の薬剤、動物、個体、集団、試料、配列または値が参照または対照の薬剤、動物、個体、集団、試料、配列または値と比較される。一部の実施形態では、参照または対照が、対象の試験または測定と実質的に同時に試験および／または測定される。一部の実施形態では、参照または対照が、任意選択で有形的表現媒体に具体化された、既存の参照または対照である。典型的には、当業者には理解され得ようが、参照または対照は、評価されものと同等の条件または状況下で測定または特性評価される。当業者には、考えられ得る具体的な参照もしくは対照の信用および／または該参照もしくは対照との比較を正当化するのに十分な類似性が存在する場合は認識されよう。

20

【0066】

試料：本明細書で用いる場合、用語「試料」は、対象の本明細書に記載の生物学的供給源（例えば、組織または生物体または細胞培養物）から採取された、または該供給源に由来する生物学的試料をいう。一部の実施形態では、対象の供給源は、生物体、例えば動物またはヒトを構成しているものである。一部の実施形態では、生物学的試料が生体組織もしくは生体液であるか、または生体組織もしくは生体液を含むものである。一部の実施形態では、生物学的試料は、骨髓；血液；血液細胞；血漿；血清；腹水（ascites）；組織もしくは細針穿刺生検試料；細胞含有体液；遊離の浮遊核酸；痰；唾液；尿；脳脊髄液、腹水（peritoneal fluid）；胸膜液；便；リンパ；婦人科系体液；皮膚スワブ；膣スワブ；口腔スワブ；鼻スワブ；洗浄液（“washing”または“lavage”）、例えば管内洗浄液または気管支肺胞洗浄液；吸引物；剥離物；骨髓検体；組織生検検体；外科処置の検体；便、他の体液、分泌物および／または排泄物；および／またはこれらに由来する細胞などであり得るか、あるいはこれらを含むものであり得る。一部の実施形態では、生物学的試料が、個体から採取された細胞であるか、または該細胞を含むものである。一部の実施形態では、採取された細胞が、試料を採取した個体に由来する細胞であるか、または該細胞を含むものである。一部の実施形態では、試料が、対象の供給源から直接、任意の適切な手段によって採取された「一次試料」である。例えば、一部の実施形態では、一次生物学的試料が、生検（例えば、細針穿刺吸引または組織生検）、手術、体液（例えば、血液、リンパ、便など）の採取などからなる群より選択される方法によって採取されたものである。一部の実施形態では、文脈から明らかであろうが、用語「試料」は、一次試料の加工処理によって（例えば、該試料の1種類以上の成分の除去および／または該試料への1種類以上の薬剤の添加によって）得られる調製物をいう。例えば、半透過性膜を用いた濾過。かかる「加工処理試料」は、例えば、試料から抽出された核酸もしくはタンパク質、あるいは一次試料を例えばmRNAの増幅または逆転写、特定の成分の単離および／または精製などの手法に供することにより得られた核酸もしくはタンパク質を含むものであり得る。

30

40

【0067】

被験体：本明細書で用いる場合、用語「被験体」は、生物体、典型的には哺乳動物（例えば、ヒト、一部の実施形態では、出生前のヒト形態を含む）をいう。一部の実施形態で

50

は、被験体が、該当する疾患、障害および／または病的状態に苦しんでいる被験体である。一部の実施形態では、被験体が、疾患、障害または病的状態に易罹患性の被験体である。一部の実施形態では、被験体が、疾患、障害および／または病的状態の1つ以上の症状または特徴を示している被験体である。一部の実施形態では、被験体が、疾患、障害または病的状態のなんらの症状または特徴も示していない被験体である。一部の実施形態では、被験体が、疾患、障害もしくは病的状態の易罹患性に特徴的な1つ以上の特徴、または疾患、障害もしくは病的状態のリスクを有する被験体である。一部の実施形態では、被験体が患者である。一部の実施形態では、被験体が、診断および／または治療がなされている、および／またはなされた個体である。

【0068】

実質的に：本明細書で用いる場合、用語「実質的に」は、対象の特徴または特性を完全な、またはほぼ完全な程度または度合いで示しているという定性的状態をいう。生物学の技術分野の当業者には、生物学および化学的現象が稀に（あるとしたら）、終了するまで進む、および／または完結するまで進行する、あるいは絶対的な結果をもたらす、または無効にすることが理解されよう。したがって、用語「実質的に」は本明細書において、多くの生物学および化学的現象に内在する完結性の潜在的欠如を表現するために用いている。

【0069】

～に易罹患性である：本明細書で用いる場合、疾患、障害または病的状態（例えば、マスト細胞活性関連障害）「に易罹患性である」個体は、疾患、障害または病的状態を発症するリスクがある。一部の実施形態では、疾患、障害または病的状態に易罹患性である個体は、該疾患、障害または病的状態のなんらの症状も示していない。一部の実施形態では、疾患、障害または病的状態に易罹患性である個体は、該疾患、障害、および／または病的状態を有すると診断されている。一部の実施形態では、疾患、障害または病的状態に易罹患性である個体は、該疾患、障害または病的状態の発症と関連している条件に曝露されたことがある個体である。一部の実施形態では、疾患、障害、および／または病的状態を発症するリスクが集団ベースのリスクである（例えば、該疾患、障害または病的状態に苦しんでいる個体の家族構成員）。

【0070】

症状が低減される：本明細書で用いる場合、用語「症状が低減される」とは、特定の疾患、障害および／または病的状態の1つ以上の症状の大きさ（例えば、強度、重症度など）および／または頻度が低減される場合をいう。明瞭性重視のため、特定の症状の発現の遅延は、該症状の頻度の低減の一形態とみなす。

【0071】

治療有効量：本明細書で用いる場合、用語「治療有効量」は、その投与で所望の効果がもたらされる量をいう。一部の実施形態では、この用語は、疾患、障害、および／または病的状態に苦しんでいるか、あるいは疾患、障害、および／または病的状態に易罹患性である集団に治療投薬レジメンに従って投与した場合、該疾患、障害、および／または病的状態が処置されるのに十分な量を示す。一部の実施形態では、治療有効量は、該疾患、障害、および／または病的状態の1つ以上の症状の発生率および／または重症度を低減させるもの、および／または該症状の発現を遅延させるものである。当業者には、用語「治療有効量」が、実際に特定の個体において成功裡の処置がもたらされることを要するものではないことが認識されよう。どちらかという、治療有効量は、かかる処置を必要とする患者に投与した場合、有意な数の被験体において特定の所望の薬理学的応答がもたらされる量であり得る。一部の実施形態では、治療有効量に対する言及は、1種類以上の具体的な組織（例えば、疾患、障害および／または病的状態に罹患している組織）あるいは体液（例えば、血液、唾液、血清、汗、涙液、尿など）において測定される量に対する言及であり得る。当業者には、一部の実施形態において治療有効量の特定の薬剤または治療薬が単回用量で製剤化および／または投与されることが認識されよう。一部の実施形態では、治療有効薬剤が複数の用量で、例えば投薬レジメンの一部として製剤化および／または

10

20

30

40

50

投与され得る。

【0072】

処置：本明細書で用いる場合、用語「処置（“treatment”）（また、“treat（処置する）”または“treating（処置すること）”）」は、特定の疾患、障害、および／または病的状態の1つ以上の症状、特徴および／または原因の発現を一部または完全に緩和する、軽快する、軽減（relieve）する、抑止する、遅延させる、その重症度を低減させる、および／またはその発生率を低減させる治療薬の任意の投与をいう。一部の実施形態では、かかる処置は、該当する疾患、障害および／または病的状態の徴候を示していない被験体のもの、および／または該疾患、障害、および／または病的状態の初期の徴候のみを示している被験体のものであり得る。択一的または付加的に、かかる処置は、該当する疾患、障害および／または病的状態の1つ以上の確立された徴候を示す被験体のものであり得る。一部の実施形態では、処置は、該当する疾患、障害、および／または病的状態に苦しんでいると診断された被験体のものであり得る。一部の実施形態では、処置は、該当する疾患、障害、および／または病的状態の高い発症リスクと統計学的に相関している1つ以上の易罹患性要素を有することがわかっている被験体のものであり得る。

10

【0073】

（発明の詳細な説明）

（マスト細胞活性関連障害）

本発明は、マスト細胞活性が多く of 疾患の病態に関与しているという見識を包含している。したがって、本開示では、マスト細胞活性関連の疾患、障害および／または病的状態を、マスト細胞活性が病態（例えば、徴候、症状、発現、重症度、進行、再発）において役割を果たしている障害と定義する。一部の実施形態では、マスト細胞活性関連障害がマスト細胞活性化障害である。一部の実施形態では、マスト細胞活性として脱顆粒が挙げられ得る。脱顆粒は、細胞内部にみられる分泌小胞（例えば、顆粒）から分子（例えば、代謝産物）が放出される細胞過程である。

20

【0074】

とりわけ、本開示により、マスト細胞活性および／または脱顆粒によって望ましくない、および／または損傷性の事象が誘発および／または促進され得ることを教示し、さらに、具体的には、一部の特定の態様のマスト細胞活性および／または脱顆粒が、本明細書に記載の一部の特定の炎症性の疾患、障害および／または病的状態の特徴と関連している、および／または該特徴を担っている可能性があることを文書化する。とりわけ、本開示は、一部の特定の態様のマスト細胞活性および／または脱顆粒が、MSの特徴、例えば、MSの再発の起こりやすさ、MSの重症度と関連している、および／または該特徴を担っている可能性がある、および／または1種類以上の他の炎症性の疾患、障害および／または病的状態（例えば、特に、1種類以上の神経炎症性の疾患、障害および／または病的状態）の特徴を担っている可能性があることを文書化する。したがって、本開示では、「望ましくない」マスト細胞活性および／または脱顆粒を説明し、一部の特定の特徴および／またはそのマーカーを規定する（すなわち、マスト細胞活性バイオマーカーを規定する）。

30

【0075】

一部の実施形態では、マスト細胞活性が、マスト細胞活性因子のレベルおよび／または位置の変化に反映され得る。一部の実施形態では、レベルの変化が、合成の増加および分解の減少のうちの一方または両方を伴うものであり得る。一部の実施形態では、位置の変化が、細胞からの放出（例えば、マスト細胞から、例えば脱顆粒によるマスト細胞代謝産物の放出）を伴うものであり得る。一部の実施形態では、位置の変化が、存在（例えば、マスト細胞部位における、例えば、マスト細胞またはマスト細胞以外の細胞によって放出されたマスト細胞活性因子の）の増加を伴うものであり得る。

40

【0076】

一部の実施形態では、マスト細胞活性の測定が、マスト細胞活性因子の遺伝子産物（すなわち、マスト細胞活性因子をコードしている遺伝子の産物）のレベルを検出することを

50

伴うものであり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性因子の遺伝子産物がRNAであるか、またはRNAを含むものであり；一部の実施形態では、マスト細胞活性因子の遺伝子産物がポリペプチドであるか、またはポリペプチドを含むものである。

【0077】

一部の実施形態では、マスト細胞活性因子の遺伝子産物のレベルが生物学的試料中におけるものである。一部の実施形態では、生物学的試料が全血、血漿、血清、尿、脳脊髄液（CSF）およびリンパ液である。

【0078】

一部の実施形態では、マスト細胞活性因子の遺伝子産物のレベルの検出が、マスト細胞活性因子の遺伝子産物が検出されるか検出されないかを調べる（すなわち、該遺伝子産物の存在を検出すること）を伴うものである。一部の実施形態では、マスト細胞活性因子の遺伝子産物のレベルの検出が、該産物のレベルを測定すること（例えば、定量すること）を伴うものである。

【0079】

一部の実施形態では、マスト細胞活性が、組織または器官内（例えば、CNS内の）におけるマスト細胞の局在性または遊走に反映され得る。一部の実施形態では、マスト細胞の局在性または遊走の検出が、当該技術分野で知られた手法、例えば、インビトロおよびインビボでのイメージング手法および免疫組織化学検査を伴うものであり得る。

【0080】

一部の実施形態では、マスト細胞活性が、他の細胞型、例えば、T細胞、B細胞、マクロファージ、樹状細胞、リンパ球、好中球、単球、好塩基球、好酸球、神経細胞、星状細胞、小グリア細胞、周皮細胞および／または内皮細胞（血液脳関門の）との相互作用の度合いまたは型に反映され得る。一部の実施形態では、かかる相互作用がトランスグラニュレーションであり得るか、またはトランスグラニュレーションを含むものであり得る。一部の実施形態では、トランスグラニュレーションとしては、例えば、非マスト細胞とのマスト細胞の結合および／または会合および／または直接、非マスト細胞内への1種類以上のマスト細胞代謝産物の放出が挙げられる。一部の実施形態では、非マスト細胞がT細胞または神経細胞である。一部の実施形態では、他の細胞型とのマスト細胞の相互作用の検出が、インビトロおよびインビボでのイメージング手法および免疫組織化学検査を伴うものであり得る。

【0081】

一部の実施形態では、マスト細胞活性が1種類以上の特定のタンパク質または部位との相互作用の度合いまたは型に反映され（be reflected）；一部の実施形態では、かかるタンパク質または部位が、例えば、ミエリンもしくはBBBの基底膜であり得るか、またはミエリンもしくはBBBの基底膜を含むものであり得る。一部の実施形態では、1種類以上のタンパク質または部位とのマスト細胞の相互作用の検出が、インビトロおよびインビボでのイメージング手法および免疫組織化学検査を伴うものであり得る。

【0082】

（がん）

とりわけ、本開示により、マスト細胞活性が、がんの1つ以上の特徴と関連している、および／または該特徴に特徴的である可能性があることを教示する。したがって、本開示の一部の実施形態によれば、がんはマスト細胞活性関連障害であるとみなされ得る。

【0083】

一部の実施形態では、本開示によるマスト細胞活性関連障害であり得るがんが、膀胱がん、乳がん、カルチノイド、結腸がん、直腸がん、膠芽腫、肝臓がん、肺がん、非小細胞肺がん、慢性リンパ性白血病、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、悪性黒色腫、多発性骨髄腫、神経芽腫、卵巣がん、膵がん、前立腺がん、腎細胞癌、咽喉がんおよび子宮がんであり得るか、またはこれらを含むものであり得る。

【0084】

一部の実施形態では、本開示により、マスト細胞活性および／または脱顆粒ががんの病

10

20

30

40

50

態（例えば、徴候、症状、発現、重症度、進行、再発）において役割を果たしていることを教示する。マスト細胞は、腫瘍学的疾患において血管構造の成長、透過性および転移の媒介によって役割を果たしている可能性がある（Ammendola et al., Organ der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhamatologie (2016) 43:109-113; Conti et al., Ann. Clin. Lab. Sci. (2007) 37:315-322）。

【0085】

一部の実施形態では、本開示により、本明細書に記載のマスト細胞バイオマーカーが、がんの有用なバイオマーカーであり得ることを教示する。例えば、一部の実施形態において本開示によれば、がん、がんの発症リスク、治療介入に対する応答、がん進行の尤度および／またはがんの重症度の指標として使用され得るかかるマスト細胞バイオマーカーが測定および／または検出される。

【0086】

（炎症性障害）

本開示により、マスト細胞活性が、炎症性の疾患、障害および／または病的状態の1つ以上の特徴と関連している、および／または該特徴に特徴的である可能性があることを示す。したがって、本開示の一部の実施形態によれば、炎症性障害はマスト細胞活性関連障害であるとみなされ得る。

【0087】

一部の実施形態では、本開示によるマスト細胞活性関連障害であり得る炎症性障害が、神経炎症性障害、例えばMS、アルツハイマー病およびパーキンソン病であり得るか、またはこれらを含むものであり得る。神経炎症性障害は、CNS、例えば脳および脊髄の慢性炎症を特徴とするものであり、例えば、自己免疫反応、加齢、感染性因子（例えば、細菌、ウイルス）および／または外傷によるものであり得る。CNSの急性の炎症性エピソードの際は、CNS内の小グリア細胞が活性化され、神経の傷害または損傷の源に応答する。

【0088】

なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、典型的には、強固な接合部によって互いに接合された内皮細胞、厚い基底膜、周皮細胞および星状細胞で構成されたBBBによって、末梢血からCNSの細胞外液中への分子、例えば免疫細胞の通過が制限される。しかしながら、経時的に炎症が慢性となるためBBBが障害され得、循環中の免疫細胞がCNSに通過して神経細胞、グリア細胞（小グリア、星状細胞）および内皮細胞と直接、相互作用できるようになるようになる。

【0089】

一部の実施形態では、本開示により、マスト細胞代謝産物が、とりわけCNS内への免疫細胞（例えば、T細胞、マスト細胞）の流入を可能にする、血液脳関門のモジュレーションまたは透過性の向上に寄与しているかもしれないという見識を提供する。一部の実施形態では、本開示により、CNS内への免疫細胞（例えば、T細胞、マスト細胞）の流入がCNS内のリンパ管経由であることを示す。一部の実施形態では、本開示により、マスト細胞代謝産物がリンパ管のモジュレーションまたは透過性の向上に寄与しているかもしれないことを示す。

【0090】

一部の実施形態では、本開示により、該リンパ管の透過性の向上によってCNS内、特に、神経細胞または神経細胞付近におけるT細胞および／またはマスト細胞の局在性がもたらされることを示す。一部の実施形態では、本開示により、BBBの透過性の向上によってCNS内、特に、神経細胞または神経細胞付近におけるT細胞および／またはマスト細胞の局在性がもたらされることを示す。一部の実施形態では、本開示により、CNS内への免疫細胞の流入によって神経炎症性および／または神経変性性の疾患、障害および／または病的状態のイニシエーション、増悪または再発がもたらされるという見識を提供

する。一実施形態では、再発がMSの再発である。

【0091】

一部の実施形態では、CNSに進入する免疫細胞として、B細胞、T細胞、マクロファージ、血漿細胞およびマスト細胞が挙げられ得る。一部の実施形態では、かかる細胞は、さらなるサイトカイン放出およびBBBを通過するさらなる免疫細胞の動員によって炎症を永続化させる。一部の実施形態では、慢性神経炎症応答によって、最終的に脱髄、プラークの形成、神経原線維変化の形成などを特徴とする神経変性に至る。CNSの慢性炎症は典型的には、神経変性性疾患、例えばMS、アルツハイマー病およびパーキンソン病と関連している。

【0092】

一部の実施形態では、本開示により、本明細書に記載のマスト細胞バイオマーカーが炎症性疾患の有用なバイオマーカーであり得ることを教示する。例えば、一部の実施形態では、本開示によれば、炎症性障害、炎症性障害の発症リスク、治療介入に対する応答、炎症性障害進行の尤度および／または炎症性障害の重症度の指標として使用され得るかかるマスト細胞バイオマーカーが測定および／または検出される。

【0093】

(多発性硬化症)

とりわけ、本開示により、マスト細胞活性がMSの1つ以上の特徴と関連している、および／または該特徴に特徴的である可能性があることを教示する。したがって、本開示の一部の実施形態によれば、MSはマスト細胞活性関連障害であるとみなされ得る。

【0094】

MSは、CNSを冒し、さまざまな症状、例えば疲労感、歩行困難、体のしびれ感またはうずき、筋衰弱、めまい(“dizziness”、“vertigo”)、疼痛、筋肉の痙縮および視力の問題を特徴とする自己免疫障害である。米国では400,000人を超える人がこの障害に罹患している。MSでは、CNSの神経線維の周りを囲むミエリンおよび神経線維自体が損傷され、脳、脊髄および末梢間の神経伝達の破壊がもたらされる。損傷の重症度および位置は患者間で異なるため症状はさまざまである。

【0095】

かなりの証拠により、MSは最初は免疫イニシエーション型障害であり、これがCNSにおいて二次的脱髄および軸索損傷をもたらしことが示されている。MSは、疾患の最初の10~15年以内での、CNSに進入する炎症性細胞の波によって引き起こされる再発または発作を特徴とする。この期間の後、多くの患者に、おそらくCNS内の固有の中心となる炎症性および神経変性性の機構によるものである「二次進行」と称される低速進行性の悪化が起こる。MS処置の全体としての目的は、再発または発作を予防すること、および二次進行の発現を遅滞または予防することである。

【0096】

MSの4つの異なる型または過程：単一の臨床症状を呈している段階(clinically isolated syndrome)(CIS)、再発寛解型MS(RRMS)、一次進行型MS(PPMS)、および二次進行型MS(SPMS)が確認されている。CISは、神経症状を伴うCNS炎症および脱髄の初回エピソードを特徴とする。初回エピソードは12時間までも持続することがあり得、続いて、さらなるエピソードおよびMS発症が起こる場合も起こらない場合もあり得る。RRMSは最も一般的な型のMSであり、神経系において新たな、または高まった重症度が観察されるエピソードまたは発作を特徴とする。このエピソードまたは発作の際、新たな病変部がMRIにおいて観察される場合があり得る。次の発作が起こるまでに(すなわち、寛解期間中)、症状は完全に消退する場合もあり得、持続して永久的になる場合もあり得る。RRMSとは異なり、PPMSを有する患者では、神経機能の悪化および寛解期間がない身体障害の累積が起こる。疾患が進行するにつれて、患者には、活動性疾患(すなわち、偶発的再発)、非活動性疾患、症状の悪化および身体障害を伴うか、または進行がない進行性疾患が起こり得る。最後に、SPMSは、PPMSで観察されるものと同様の神経機能の進行性の悪化がみられ

10

20

30

40

50

るが再発寛解型MSの初期過程が続いて起こる疾患過程を示す。SPMSでは、偶発的再発ならびに不安定期間がみられる場合があり得る。

【0097】

MSの原因は十分にわかっていないが、少なくともいくつかの要素、例えば：免疫学的、環境的、感染的および／または遺伝的要素の相互作用によるものであると考えられている。200を超えるMS易罹患性遺伝子が同定されており、MSは遺伝的に易罹患性の宿主の方がより多くみられることを示すが、環境的要素が寄与しており、潜在的に相互作用して疾患発現を引き起こすという証拠がかなりある。同要素の多く、例えば、ビタミンDレベルおよび喫煙が再発のイニシエーションに関係しており、炎症性細胞の活性化およびCNS内への遊走の波のイニシエーションにおける一般的な病理生理を示す。なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、この過程においてカギとなる工程は、中枢神経系内への免疫細胞、特に活性化T細胞の移行(transmigration)である。活性化T細胞はCNSに血管を通して進入し、ミエリンを直接攻撃し、軸索を損傷させる因子(例えば、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子など)を分泌し、炎症に寄与するさらなる免疫細胞(例えば、骨髄系細胞、マクロファージなど)を動員する。MSにおけるT細胞活性化の病因は十分に理解されていない。当該技術分野において、MS患者におけるT細胞活性化の病因、T細胞活性化のバイオマーカー、MSの再発のバイオマーカーおよびMSの重症度を予測するためのバイオマーカーを調べる必要性が存在している。

10

【0098】

一部の実施形態では、本開示により、本明細書に記載のマスト細胞バイオマーカーがMSの有用なバイオマーカーであり得ることを教示する。例えば、一部の実施形態において本開示によれば、MS、MSの発症リスク、治療介入に対する応答、MS進行の尤度および／またはMSの重症度および／またはMSの再発の起こりやすさの指標として使用され得るかかるマスト細胞バイオマーカーが測定および／または検出される。

20

【0099】

(MSおよびアレルギー)

上記の証拠により、環境アレルギーによって引き起こされるマスト細胞の脱顆粒がMSを誘発しているのかもしれないという仮定が導かれ得る。2つの研究によってこの関係が調べられた。195例の成人MSの症例と対照の症例対照研究により、気道のアレルギーおよび食物アレルギーとMSリスクとの間に逆相関が示された。皮膚アレルギーとの関係は示されなかった(Sahraian et al., Clin. Neurol. Neurosurg. (2013) 115:2099-2102)。同様に、小児MS患者の症例対照研究では、小児対照被験体と比べて環境アレルギー(20.4%対12.8%, $p=0.013$)および食物アレルギー(9.4%対5.2%, $p=0.05$)の逆相関が示された。抗生物質に対するアレルギー(3.3%対5.9%, $p=0.161$)またはアレルギー反応の発生率(29.7%対27.7%, $p=0.591$)に統計学的有意差は観察されなかった(Neiderer et al., Neurology (2016) April 16, 2016, P1.380)。

30

【0100】

さらなる研究により、環境アレルギーを有する患者および有しない患者において再発率が調べられた(Diaz-Cruz et al., Neurology (2016) April 176, 2016, P2.187)。なんらかの食物アレルギーが報告されている患者は、アレルギーが一切ない患者より高い調整後再発率(ARR)を有した(0.1893対0.2398; Wald $p=0.048$)。環境群($p=0.1255$)または薬物群($p=0.4339$)をアレルギーが一切ない群と比較した場合、ARRに有意差はみられなかったが、これらの群では再発率が高い傾向がみとめられた。

40

【0101】

(アルツハイマー病)

とりわけ、本開示により、マスト細胞活性が、アルツハイマー病(AD)の1つ以上の特徴と関連している、および／または該特徴に特徴的である可能性があることを教示する

50

。したがって、本開示の一部の実施形態によれば、ADはマスト細胞活性関連障害であるとみなされ得る。

【0102】

アミロイドβ (Aβ) ペプチド25～35は、パネキシン1ヘミチャネル依存性機構によって、培養マスト細胞の急速な脱顆粒を引き起こす (Harachia, et al., J. Neurosci. (2015) 35:9526-9538)。AD動物モデルでは、Aβペプチド25～35は、コネクシン43およびパネキシン1ヘミチャネル依存性マスト細胞の色素取込みとヒスタミン放出の両方を促進させ、この疾患の病因におけるマスト細胞の役割が示唆される。マシチニブ (Masitinib) は、マスト細胞の生存、遊走および活性を有効に阻害する選択的経口チロシンキナーゼ阻害薬である。マシチニブを用いたADのフェーズII試験では、AD患者の認知機能低下の遅滞において、ある程度の有益性が示された (Piette et al., Alzheimers Res. Ther. (2011) 3:16)。

10

【0103】

一部の実施形態では、本開示により、本明細書に記載のマスト細胞バイオマーカーがADの有用なバイオマーカーであり得ることを教示する。例えば、一部の実施形態において本開示によれば、AD、ADの発症リスク、治療介入に対する応答、AD進行の尤度および／またはADの重症度の指標として使用され得るかかマスト細胞バイオマーカーが測定および／または検出される。

20

【0104】

(片頭痛)

とりわけ、本開示により、マスト細胞活性が、片頭痛の1つ以上の特徴と関連している、および／または該特徴に特徴的である可能性があることを教示する。したがって、本開示の一部の実施形態によれば、片頭痛はマスト細胞活性関連障害であるとみなされ得る。

【0105】

なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、硬膜内に存在するマスト細胞は、髄膜血管内での痛み侵害受容器の誘発においてカギとなる役割を果たしていると言われている。セロトニン、プロスタサイクリン (PGI₂)、ならびに程度は低いヒスタミンおよびトリプターゼは、硬膜内マスト細胞が髄膜侵害受容器の活性化を促進させるメディエーターとしての機能を果たしている可能性が高い (Levy et al., Curr. Pain Headache Rep. (2009) 13:237-240; Zhang, et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. (2007) 322:806-812)。下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド38 (PACAP38) は、片頭痛の誘導、およびマスト細胞の脱顆粒の誘発と関連している (Baun et al., Cephalagia (2012) 32:337-345)。興味深いことに、動物モデルでは、雌における硬膜内マスト細胞密度が発情周期中において変動し、全般的に雄より高いことが示されており、マスト細胞のエストロゲン誘導性の活性化または遊走に対する役割を強調している (Boes et al., Cephalalgia (2012) 32:924-931)。

30

【0106】

一部の実施形態では、本開示により、本明細書に記載のマスト細胞バイオマーカーが片頭痛の有用なバイオマーカーであり得ることを教示する。例えば、一部の実施形態において本開示によれば、片頭痛、片頭痛の発症リスク、治療介入に対する応答、片頭痛進行の尤度および／または片頭痛の重症度の指標として使用され得るかかマスト細胞バイオマーカーが測定および／または検出される。

40

【0107】

(自己免疫性および自己免疫関連の障害)

とりわけ、本開示により、マスト細胞活性が、自己免疫性および自己免疫関連の疾患、障害および／または病的状態の1つ以上の特徴と関連している、および／または該特徴に特徴的である可能性があることを教示する。したがって、本開示の一部の実施形態によれ

50

ば、自己免疫性および自己免疫関連の疾患、障害および／または病的状態はマスト細胞活性関連障害であるとみなされ得る。

【0108】

一部の実施形態では、本開示によるマスト細胞活性関連障害であり得る自己免疫性および自己免疫関連の疾患、障害および／または病的状態が、例えば、急性散在性脳脊髄炎、急性出血性白質脳炎、アジソン病、無ガンマグロブリン血症、円形脱毛症、筋萎縮性側索硬化症、強直性脊椎炎、抗GBM/TBM腎炎、抗m a g i g m末梢神経障害、抗リン脂質症候群、抗合成酵素症候群、喘息、アトピー性アレルギー、アトピー性皮膚炎、自己免疫性再生不良性貧血、自己免疫性心筋症、自己免疫性腸疾患、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患、自己免疫性リンパ増殖性症候群、自己免疫性脾炎、自己免疫性末梢神経障害、自己免疫性多内分泌腺症候群、自己免疫性プロゲステロン皮膚炎、自己免疫性血小板減少性紫斑病、自己免疫性蕁麻疹様、自己免疫性ブドウ膜炎、B a l l o病/B a l l o同心円硬化症、ベーチェット症候群、バージャー病、ビッカーstaff型脳炎、ブラウ症候群、水疱性類天疱瘡、キャスルマン病、セリアック病、シャルコー・マリー・トゥース症候群、慢性疲労症候群(C F S)、慢性炎症性脱髄性多発性神経障害、慢性再発性多発性骨髄炎、クローン病、過敏性腸症候群、チャグ・ストラウス症候群、癩痕性類天疱瘡、コーガン症候群、寒冷凝集素症、補体第2成分欠損症、頭部動脈炎、C R E S T症候群、クッシング症候群、皮膚白血球破碎性血管炎、デゴス病、ダーカム病、疱疹状皮膚炎、皮膚筋炎、1型糖尿病、びまん性皮膚全身性硬化症、円板状紅斑性狼瘡、ドレスラー症候群、湿疹、腱付着部炎関連関節炎、好酸球性筋膜炎、好酸球性胃腸炎、後天性表皮水疱症、結節性紅斑、本態性混合型クリオグロブリン血症、エバンス症候群、進行性骨化性線維異形成症、線維筋肉痛、線維化性肺肺炎(f i b r o s i n g a v e o l i t i s)、胃炎、胃腸の類天疱瘡、巨細胞性動脈炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、ギラン・バレー症候群(G B S)、溶血性貧血、ヘーリー・ヘーリー病、橋本脳炎、橋本甲状腺炎、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病、妊娠性疱疹、H I V、低ガンマグロブリン血、特発性炎症性脱髄性疾患、特発性肺線維症、特発性血小板減少性紫斑病、I g A腎症、封入体筋炎、炎症性脱髄性多発性神経障害、間質性膀胱炎、若年性特発性関節炎、若年性関節リウマチ、川崎病、ランバート・イートン筋無力症候群、白血球破碎性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、線状I g A病(L A D)、ルー・ゲーリッグ病、ルポイド肝炎、紅斑性狼瘡、ライム病、マジード症候群、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎、ミラー・フィッシャー症候群、混合性結合組織病、モルフェア、ムッカ・ハーベルマン病、M S、筋痛性脳脊髄炎、重症筋無力症、筋炎、視神経脊髄炎(デビック病としても知られている)、ニューロミオトニア、眼型癩痕性類天疱瘡、オブソクローヌス/ミオクローヌス症候群、O r d甲状腺炎、パーキンソン病、回帰性リウマチ、連鎖球菌感染性小児自己免疫性神経精神障害(P A N D A S)、腫瘍随伴性小脳変性症、発作性夜間血色素尿症、パリー・ロンバーク症候群、扁平部炎、パーソネージ・ターナー症候群、天疱瘡、尋常性天疱瘡、静脈周囲脳脊髄炎、悪性貧血、P O E M S症候群、結節性多発性動脈炎、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、進行性炎症性神経障害、乾癬、乾癬性関節炎、赤芽球癆、壊疽性膿皮症、ラスムッセン脳炎、レイノー現象、ライター症候群、再発性多発性軟骨炎、下肢静止不能症候群、後腹膜線維化症、関節リウマチ、リウマチ熱、サルコイドーシス、シュミット症候群、シュニッツラー症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、脊椎関節症、スティッフパーソン症候群、スティル病、亜急性細菌性心内膜炎、スザック症候群、スウィート症候群、シデナム舞踏病、交感性眼炎、高安動脈炎、側頭動脈炎(巨細胞性動脈炎としても知られている)、トローザ・ハント症候群、横断性脊髄炎、潰瘍性大腸炎、未分化結合組織病、分類不能型脊椎関節症および血管炎 白斑であり得るか、またはこれらを含むものであり得る。

【0109】

一部の実施形態では、本開示により、本明細書に記載のマスト細胞バイオマーカーが自己免疫性および自己免疫関連の疾患、障害および／または病的状態の有用なバイオマーカー

10

20

30

40

50

一であり得ることを教示する。例えば、一部の実施形態において本開示によれば、かかるマスト細胞バイオマーカーが、自己免疫性および自己免疫関連の疾患、障害および／または病的状態、自己免疫性および自己免疫関連の疾患、障害および／または病的状態の発症リスク、治療介入に対する応答、自己免疫性および自己免疫関連の疾患、障害および／または病的状態進行の尤度および／または自己免疫性および自己免疫関連の疾患、障害および／または病的状態の重症度の指標として使用され得、測定および／または検出される。

【0110】

(卒中)

一部の実施形態では、マスト細胞活性関連障害として卒中が挙げられる。マスト細胞欠損マウスは、卒中後3日目、顆粒球およびマクロファージ集団(CD11b high CD45 high細胞)中において対応する野生型マウスより少ない細胞を示す(Aracet al., Am. J. Pathol. (2014) 184:2493-2504)。マスト細胞欠損マウスの髄膜内にマスト細胞を生着させると、野生型マウスで観察されるものと同じ表現型が復活する。顆粒球およびマクロファージ集団の増加は、卒中の規模と重症度が大きいことと関連している。さらに、IL-6産生マスト細胞をノックアウトすると、より軽度な卒中表現型が復活する。

【0111】

(マスト細胞)

マスト細胞("mast cell"あるいは"mastocyte")は、前駆細胞として血液中を循環し、末梢組織において成熟する骨髓球系由来の顆粒球である。マスト細胞は、好塩基球と近縁であり、骨髓中では、CD34細胞と称される共通の前駆細胞である。マスト細胞発生のための主要な増殖因子は幹細胞因子(SCF)(c-kitのリガンドとしても知られている)であり、これはマスト細胞の表面上に発現される。マスト細胞は、顆粒内貯蔵炎症性代謝産物(例えば、プロスタグランジン、ロイコトリエン、ヒスタミンおよびサイトカイン)を含む豊富な細胞内顆粒を特徴とする。他の単球とは異なり、マスト細胞は数週間から数ヶ月間、生存し、分化後もある程度の増殖潜在能を有する(Galliet al., Annu. Rev. Immunol. (2005), 23:749-786)。

【0112】

マスト細胞は、ほとんどの組織内、例えば結合組織、脳および脊髄内に存在しており、血管、リンパ系および神経の周囲に局在している。脳内では、マスト細胞は、内臓感覚機能もしくは神経内分泌機能を媒介する領域内(例えば、下垂体柄、松果腺、視床および視床下部)、または血液脳関門もしくは血液脳脊髄液関門(例えば、最後野(postrema)、脈絡叢、髄膜)に存在している。該細胞は、免疫応答の開始および伝播に高度に関連している外部環境とのインターフェースである組織内(例えば、皮膚、消化器系の粘膜、肺系の粘膜、尿生殖路、結膜)に一般的にみられる(Bischoff et al., Nat. Rev. Immunol. (2007) 7:93-104)。

【0113】

マスト細胞は、炎症過程、例えば過敏症およびアレルギー反応において、該細胞が刺激されてマスト細胞代謝産物(その多くが炎症のメディエータである)を放出する脱顆粒によって役割を果たしている。一部の実施形態では、マスト細胞代謝産物が、顆粒内貯蔵顆粒関連代謝産物または脂質由来代謝産物とカテゴライズされるものであり得る。一部の実施形態では、顆粒内貯蔵顆粒関連代謝産物として、例えば、セリンプロテアーゼ(例えば、トリプターゼ、チマーゼ、カルボキシペプチダーゼA3、カテプシンG)、ヒスタミン、プロテオグリカン(例えば、ヘパリン、コンドロイチン硫酸)、サイトカイン(例えば、インターロイキン(例えば、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8)、TNF- α 、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、マクロファージ炎症性タンパク質 α (MIP-1 α)、マクロファージ炎症性タンパク質 β (MIP-1 β)、インターフェロン- γ (INF- γ)および増殖因子(例えば、血管内皮増殖因子A)が挙げられる。一部の実施形態では、脂質由来代謝産物とし

て、例えば、トロンボキサン、プロスタグランジン（例えば、プロスタグランジン D_2 、プロスタグランジン E_2 ）、ロイコトリエン（例えば、ロイコトリエン C_4 ）、血小板活性化因子）が挙げられる。

【0114】

マスト細胞の刺激により、免疫モジュレータ、例えばチマーゼ、 $TNF-\alpha$ 、 $CXCL2$ 、プロテアーゼおよび $IL-1\beta$ をコードしている遺伝子の発現がもたらされる。マスト細胞は、偽足によるトランスグラニュレーションによって、顆粒内貯蔵顆粒を免疫系および神経系の隣接細胞に移動させることができる（Wilhelm et al., Eur. J. Neurosocio. (2005) 22: 2238-2248）。

【0115】

マスト細胞活性および／または脱顆粒の刺激は、免疫グロブリンの結合などのいくつかの機構によって起こる。一部の実施形態では、マスト細胞が IgE の Fc 領域の高親和性受容体を発現する。アレルギー反応時、 IgE （これはマスト細胞に結合する）が、マスト細胞の脱顆粒を引き起こすアレルゲンに結合する。一部の実施形態では、マスト細胞が、他の受容体、例えば、 IgG 、サイトカイン、補体、神経ペプチド、ホルモンおよび熱ショックタンパク質に結合するものによって活性化される。一部の実施形態では、脱顆粒および結果として起こる活性マスト細胞の活性代謝産物の周辺組織内への流出によって、とりわけ、血管の透過性の亢進、リンパ管の透過性の亢進、平滑筋の収縮および粘液産生の増大がもたらされる。

【0116】

マスト細胞は、差次的活性、例えばマスト細胞代謝産物の差次的放出を可能にする受容体を発現する。例えば、マスト細胞は、サイトカイン、ケモカイン、補体第3a成分、補体第C5a成分および病原体関連分子パターン（PAMP）の受容体を発現する（Costanza et al., Int. J. Mol. Sci. (2012) 13: 15107-15125）。一部の実施形態では、マスト細胞は、マスト細胞活性関連障害の病因に重要なマスト細胞活性を刺激するリガンドに結合する。一部の実施形態では、マスト細胞活性が脱顆粒およびマスト細胞代謝産物の放出である。一部の実施形態では、マスト細胞代謝産物が血液脳関門の透過性を高めるものである。一部の実施形態では、マスト細胞代謝産物が、T細胞を活性化してミエリンを分解させるものである。一部の実施形態では、マスト細胞代謝産物がリンパ管の透過性を高めるものである。一部の実施形態では、リンパ管の透過性の亢進によってCNS内、特に、神経細胞の髄鞘またはその付近へのT細胞および／またはマスト細胞の局在がもたらされる。アレルギーおよびアナフィラキシーにおいてカギとなる役割を果たすことに加えて、マスト細胞は、創傷治癒、血管新生、免疫寛容、病原体に対する防御およびBBB機能にも関与している。

【0117】

一部の実施形態では、本開示により、マスト細胞活性が、CNS部位におけるT細胞および／またはマスト細胞の局在性の向上に寄与している可能性があるという見識を提供する。一部の実施形態では、CNS部位におけるT細胞および／またはマスト細胞の局在性の向上が、例えば、CNS内に存在する血管の透過性の亢進による血液脳関門の透過性の向上に起因しており、これにより、とりわけCNS内への免疫細胞（例えば、T細胞、マスト細胞）の流入が可能になる。一部の実施形態では、本開示により、活性化されるマスト細胞が髄膜内に存在するマスト細胞であるという見識を提供する。一部の実施形態では、本開示により、活性化されるマスト細胞が軟膜および硬膜（dura matter）内に存在するマスト細胞であるという見識を提供する。

【0118】

マスト細胞は、抗原提示細胞としての機能を果たしてクラスIおよびクラスII MHC分子を発現することによって、T細胞を活性化させることによって、B細胞の増殖および活性化を向上させることによってならびにアイソタイプスイッチを刺激することによって免疫応答に影響を及ぼすことができる（Russi et al., Clin. Immunol. (2016), 印刷中）。

【0119】

(マスト細胞およびMS)

一部の実施形態では、本開示により、MSおよび／または別の炎症性の疾患、障害および／または病的状態（例えば、神経炎症性の疾患、障害および／または病的状態）のイニシエーション、発症、維持および／または再発に関与していることがこれまでわかっていなかった生物学的経路を規定する。一部の実施形態では、MSおよび／または別の炎症性の疾患、障害および／または病的状態のイニシエーション、発症、維持および／または再発に関与していることがこれまでわかっていなかった生物学的経路が、マスト細胞活性による、または該活性を介するBBB透過性の調節（例えば、亢進、低減またはモジュレーション）である。一部の実施形態では、MSおよび／または別の炎症性の疾患、障害および／または病的状態のイニシエーション、発症、維持および／または再発に関与していることがこれまでわかっていなかった生物学的経路が、マスト細胞活性による、または該活性を介する免疫細胞（例えば、T細胞、マスト細胞）局在性の調節（例えば、増加、減少またはモジュレーション）である。特定の実施形態では、T細胞がマスト細胞活性により、または該活性を介してCNSに局在する。

10

【0120】

マスト細胞は脳および脊髄に存在しており、血管、リンパ系および神経の周囲に局在している。脳内では、マスト細胞は、内臓感覚機能もしくは神経内分泌機能を媒介する領域内または血液脳関門もしくは血液脳脊髄液関門（例えば、最後野、脈絡叢、髄膜の硬膜層）に存在している。一部の実施形態では、髄膜内に存在しているマスト細胞集団が血液脳関門の透過性の調節において役割を果たしている可能性がある。最近の見出されたことは、脳の髄膜層内の硬膜洞に隣接したリンパ系の存在である（Louveau et al., Nature (2015) 523:337-341）。この構造物は、リンパ系の内皮細胞のすべての分子ホールマークを発現しており、脳脊髄液由来の液と免疫細胞の両方を担持できることが示されており、深頸リンパ節に接続している。マスト細胞は、このようなリンパ管に隣接して存在していることが報告されており、T細胞などの他の免疫細胞の動員および教育のガイダンスにおいてカギとなる役割を果たしている可能性がある（Louveau et al., Trends Immunol. (2015) 36:569-577）。

20

【0121】

慢性ならびに再発性の多発性硬化症（すなわち、実験的自己免疫性脳脊髄炎即ちEAE）の動物モデルでの試験では、マスト細胞欠損マウスが有意に低い疾患重症度を示すが再発寛解型過程を保持しており、これは、マスト細胞の選択的再構成によって逆転されることが示されている（Picconese et al., Lab. Invest. (2011) 91:627-641; Sayed, et al., J. Immunol. (2011) 186:3234-3298; Secor et al., J. Exp. Med. (2000) 191:813-822）。つい最近の研究を含むこのような試験のほとんどが、EAEはマスト細胞の非存在下で進行する場合がありますが疾患重症度は低下し得ることを示唆している（Sayed, et al., J. Immunol. (2011) 186:8234-3298; Bennett et al., J. Immunol. (2009) 182:5507-5514）。研究により、髄膜内マスト細胞は誘導の数時間以内に活性化され、チマーゼ、TNF- α 、CXCL2、プロテアーゼおよびIL-1 β をコードしている遺伝子の発現をもたらすことが示されている（Christy et al., J. Autoimmun. (2013) 42:50-61）。さらに、MSにおけるマスト細胞の脱顆粒の証拠があり、高レベルのトリプターゼおよびヒスタミン（この2つの化合物は脱顆粒が起こるとマスト細胞によって放出される）がMS患者のCSF中にみられる場合があります（Ibrahim et al., J. Neuroimmunol. (1996) 70:131-138; Rozniacki et al., Ann. Neurol. (1995) 37:63-66）。マスト細胞、ならびにヒスタミン1受容体、トリプターゼおよびFc ϵ RI α をコードしている遺伝子高発現が、MSを有

30

40

50

する患者の白質内プラークに示されている (Lock et al., Nat. Med. (2002) 8:500-508)。

【0122】

(MS免疫細胞に対するマスト細胞の副次的効果)

一部の実施形態では、マスト細胞が、他のCNS免疫細胞集団に対して効果を有する場合があり得る。ある試験では、マスト細胞によるIL-1 β 発現によってT細胞によるGM-CSF発現 (これはT細胞の脳炎誘発性に必須である) が促進されることが示された (Russi et al., Clin. Immunol. (2016) 印刷中)。小膠細胞は進行性疾患の病因に関与している。マスト細胞は、PAR-2-MAPK-NF- κ Bシグナル伝達経路によって小膠細胞の活性化および炎症促進性代謝産物の放出を誘導することが示されている (Zhang et al., Cell Physiol. Biochem. (2012) 29:931-940)。つい最近、マスト細胞の活性化における副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (CRH) によるストレス応答の役割が仮定されている (Esposito et al., Brain Res. (2001) 888:117-127; Esposito et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. (2002) 303:1061-1066)。

【0123】

(MS病変部におけるマスト細胞)

多発性硬化症の患者での試験により、MS脳病変部内、例えば血管周囲浸潤物中にマストおよびマスト細胞転写物が同定された (Toms et al., J. Neuroimmunol. (1990) 30:169-177; Olsson, Acta Neurol. Scand. (1974) 50:611-618; Ibrahim et al., J. Neuroimmunol. (1996) 70:131-138; Couturier et al., J. Neuroimmunol. (2008) 195:176-185)。MS患者から収集した脳脊髄液では、マスト細胞によって産生されるタンパク質分解酵素であるトリプターゼが高値レベルで示され (Rozniecki et al., Ann. Neurol. (1995) 37:63-66)、マスト細胞の産生物がMSに関与しているのかもしれないことが示唆された。

【0124】

なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、本開示により、マスト細胞活性または本明細書に記載の因子が、循環系および／またはリンパ系からの免疫細胞 (例えば、T細胞、マスト細胞) の通過または移行の増大のうちの1つ以上に寄与しているかもしれないことを提案する。一部の実施形態では、循環系および／またはリンパ系からの免疫細胞 (例えば、T細胞、マスト細胞) の通過の増大は、血管および／またはリンパ管の透過性 (少なくとも免疫細胞に関して) のモジュレーションによってもたらされ、これにより、とりわけ、CNS内への免疫細胞 (例えば、T細胞、マスト細胞) の流入および1つ以上の特定のCNS部位 (例えば、髄鞘、BBBの基底膜、リンパ管) への免疫細胞 (例えば、T細胞、マスト細胞) の標的化が可能になる。一部の実施形態では、マスト細胞活性として、脱顆粒、トランスグラニュレーション、マスト細胞活性因子のレベルおよび／または位置の変化、マスト細胞活性因子の遺伝子産物レベルの検出、組織または器官におけるマスト細胞の局在性または遊走、他の細胞型との相互作用の度合いまたは型、1種類以上の特定のタンパク質 (例えば、ミエリン) または部位 (例えば、BBBの基底膜) との相互作用の度合いまたは型のうちのいずれか1つ、またはその組合せが挙げられ得る。

【0125】

一実施形態では、他の細胞型との相互作用が脳炎誘発性T細胞の活性化である。一部の実施形態では、硬膜層内のマスト細胞活性が、脳炎誘発性T細胞の活性化によるMSの再発のイニシエーションおよび／または伝播に寄与するものである。

【0126】

(マスト細胞およびリンパ系)

CNSは免疫特権部位であり、健常実質内には末梢免疫細胞はみられない。しかしなが

ら、C N Sの境界部（例えば、髄膜内層部）には大量数の免疫細胞が含まれている。C N Sに流入する髄膜のリンパ系が最近見出されたことにより、髄膜免疫が深頸リンパ節との直接的な接続によって末梢と相互作用することは確実である。

【0127】

髄膜免疫は、健康および疾患の状態の脳機能において主要な役割を果たしている。M S、E A Eのマウスモデルでは、髄膜は神経炎症の調節において中心的な役割を有する。証拠により、炎症過程は髄膜で始まり、末梢免疫細胞（例えば、T細胞）が髄膜血管から管外遊出することが示唆されている。本発明の前までは、免疫細胞（例えば、T細胞）が活性化されて軟膜に浸透し、脳実質の攻撃が進行することが可能になる機構は認識されていなかった。

10

【0128】

本開示は、髄膜内にみられるマスト細胞および／またはマスト細胞代謝産物が髄膜の免疫細胞（例えば、T細胞）の表現型を改変してC N S実質、特にミエリンの攻撃能に影響を及ぼすという見識を包含している。一部の実施形態では、マスト細胞が、脱顆粒および免疫過程の誘発によって髄膜のT細胞の表現型を改変し得る。本開示では、マスト細胞活性によって活性化された免疫細胞が特有の活性化バイオマーカーを発現すると認識している。一部の実施形態では、免疫細胞が活性化T細胞である。

【0129】

一部の実施形態では、本開示により、M Sおよび／または別の炎症性の疾患、障害および／または病的状態のイニシエーション、発症、維持および／または再発に参与していることがこれまでわかっていなかった生物学的経路を規定する。一部の実施形態では、M Sおよび／または別の炎症性の疾患、障害および／または病的状態のイニシエーション、発症、維持および／または再発に参与していることがこれまでわかっていなかった生物学的経路が、マスト細胞活性因子によるC N S部位におけるT細胞の局在性の向上に対する寄与である。なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、本開示により、マスト細胞活性または本明細書に記載の因子が、例えばリンパ管の透過性（少なくとも免疫細胞に関して）の亢進によるリンパ系からの免疫細胞（例えば、T細胞、マスト細胞）の通過の増大（これにより、とりわけC N S内への免疫細胞（例えば、T細胞、マスト細胞）の流入が可能になる）、および1つ以上の特定のC N S部位（例えば、髄鞘、B B Bの基底膜）への免疫細胞（例えば、T細胞、マスト細胞）の標的化のうちの1つ以上に参与しているかもしれないことを提案する。一部の実施形態では、マスト細胞活性としては、脱顆粒、トランスグラニュレーション、マスト細胞活性因子のレベルおよび／または位置の変化、マスト細胞活性因子の遺伝子産物レベルの検出、組織または器官におけるマスト細胞の局在性または遊走、他の細胞型との相互作用の度合いまたは型、1種類以上の特定のタンパク質（例えば、ミエリン）または部位（例えば、B B Bの基底膜）との相互作用の度合いまたは型のうちのいずれか1つ、またはその組合せが挙げられ得る。一部の実施形態では、脱顆粒が髄膜の硬膜層内で起こる。一実施形態では、他の細胞型との相互作用が脳炎誘発性T細胞の活性化である。一部の実施形態では、硬膜層内のマスト細胞の脱顆粒が脳炎誘発性T細胞の活性化によるM Sの再発のイニシエーションおよび／または伝播に参与する。

20

30

40

【0130】

（マスト細胞活性関連障害のバイオマーカー）

とりわけ、本開示により、マスト細胞活性関連障害の1種類以上のバイオマーカーを規定する。すなわち、本開示により、マスト細胞活性バイオマーカーを規定し、本明細書に記載の一部の特定の疾患、障害および／または病的状態とのその関連性を確立する。上記のように、一部の実施形態では、マスト細胞バイオマーカーは、脱顆粒、トランスグラニュレーション、マスト細胞代謝産物、マスト細胞活性因子、マスト細胞活性因子のレベルおよび／または位置の変化、組織、器官またはマスト細胞活性部位内におけるマスト細胞の局在性または遊走、マスト細胞と他の細胞型間の相互作用の度合いまたは型、マスト細胞と特定のタンパク質またはマスト細胞活性部位間の相互作用の度合いまたは型などのう

50

ちの1種類以上であり得るか、または該1種類以上を含むものであり得る。本開示により、有用なバイオマーカーを同定するためのこれまでの研究における、かかる取り組みでは典型的には間違った生物学的経路、事象および／またはタイミングに着目していたことによる問題の原因を特定する。本開示により、MSおよび／または1種類以上の他の炎症性の疾患、障害および／または病的状態に対するマスト細胞活性および／または脱顆粒と関連しているある特定の事象の関連性および重要性を教示し、かかる事象のバイオマーカーを規定する技術を提供する。

【0131】

特定の実施形態では、本開示により、MSの再発の起こりやすさと相関する1種類以上のバイオマーカーを規定する。規定されたら、かかるバイオマーカーは、患者由来の試料中の1種類以上のマスト細胞活性因子またはバイオマーカーを検出することによってMS患者の再発リスクを評価する方法において使用され得る。択一的または付加的に、かかるバイオマーカーは、MS患者における再発の重症度を評価または予測するのに有用であり得る。

【0132】

一部の実施形態では、バイオマーカーが、その存在、レベル、位置または形態が対象の特定の生物学的事象または生物学的状態と相関しており、そのため、該事象または状態（例えば、マスト細胞活性関連障害）の「マーカー」であるともみなされる実体もしくは事象であり得るか、または実体もしくは事象を含むものであり得る。一部の実施形態では、バイオマーカーが、指標または疾患、疾患の発症リスク、キャリア状態、治療介入に対する応答、疾患進行の尤度および／または疾患の重症度として使用され得る。バイオマーカーは、1種類のマーカー（例えば、代謝産物、マスト細胞代謝産物）を含むものであってもよく、1種類より多くのマーカー（例えば、複数のマーカー）を含むものであってもよい。一部の実施形態では、バイオマーカーが、マーカーの存在および／または非存在を含むものである。一部の実施形態では、バイオマーカーが、マーカーレベルを含むものである。一部の実施形態では、バイオマーカーが、複数のマーカー、複数のマーカーの具体的なレベルまたはその組合せの存在および／または非存在を含むものである。一部の実施形態では、バイオマーカーが、バイオマーカーのプロフィールまたはパターンであり得る。典型的には、好適なバイオマーカーは、指標として客観的に測定され、評価され得るという特徴を有するものである。一部の実施形態では、バイオマーカーがマスト細胞活性バイオマーカーであり得る。一部の実施形態では、バイオマーカーがマスト細胞活性因子であり得る。

【0133】

バイオマーカーは、異なる群におけるバイオマーカーの発現レベルの平均または中央値が統計学的に有意であると計算される場合、該異なる表現型状態間で差次的に存在し得る。統計学的有意性の一般的な検定としては、とりわけ、t-検定、ANOVA、クラスカル・ワリス、ウイルクソン、マン・ホイットニー、オッズ比、線形判別分析、2次判別分析およびK-最近傍法が挙げられる。バイオマーカーは、単独または組合せで、被験体が、ある表現型状態に属するのか、または別のものに属するのかの相対的リスクの尺度をもたらす。したがって、これは、疾患（診断）、薬物（セラノスティクス）の治療有効性および薬物毒性のバイオマーカーとして有用である。例えば、マスト細胞活性関連障害の好適なバイオマーカーは、マスト細胞活性関連障害を有する患者と健常個体間で差次的に発現されるものである。

【0134】

一部の実施形態では、「差次的発現プロファイリング」は、マスト細胞活性関連障害のバイオマーカーを同定するために使用され得る。本明細書で用いる場合、用語「差次的発現プロファイリング」は、遺伝子、タンパク質または脂質由来代謝産物の発現のレベルまたはパターンを、2つ以上の試料（例えば、マスト細胞活性関連障害を有する患者から採取した試料と健常対照個体から採取した試料（対比））において比較する方法をいう。典型的には、遺伝子、タンパク質または脂質由来代謝産物は、2つの試料間の発現のレベル

またはパターンの差（例えば、増大または低減）が統計学的に有意である（すなわち、差が不規則変動によって引き起こされたものでない）場合、差次的に発現されている。一部の実施形態では、遺伝子、脂質由来代謝産物またはタンパク質は、2つの試料（例えば、生物学的試料と参照または対照試料）間の発現レベルの差が、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、1倍、1.2倍、1.5倍、1.75倍、2倍、2.25倍、2.5倍、2.75倍、3倍、4倍、5倍、10倍または100倍より大きい場合、差次的に発現されている。

【0135】

本発明によるマスト細胞活性関連障害の例示的なマスト細胞活性因子を表1に示す。一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーが、マスト細胞の活性（例えば、活性化、脱顆粒、遊走、結合など）のマスト細胞活性因子もしくはマーカーであり得るか、または該活性因子もしくはマーカーを含むものであり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーが、マスト細胞活性関連障害の診断またはマスト細胞活性関連障害が発症するかもしれない尤度のマスト細胞活性因子であり得るか、または該活性因子を含むものであり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーが、特定の型のマスト細胞活性関連障害、例えばがん、炎症性障害、神経炎症性障害または自己免疫障害のマスト細胞活性因子であり得るか、または該活性因子を含むものであり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーが、治療転帰またはその尤度のマスト細胞活性因子であり得るか、または該活性因子を含むものであり得る。したがって、一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーが、マスト細胞活性関連障害の発症の予測的マスト細胞活性因子であり得るか、または該活性因子を含むものであり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーが、マスト細胞活性関連障害の予後判定的マスト細胞活性因子であり得るか、または該活性因子を含むものであり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーが、マスト細胞活性関連障害の重症度またはマスト細胞活性関連障害の再発を予測するために使用され得るマスト細胞活性因子を含むものであり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーが、MSの再発を予測するために使用され得るマスト細胞活性因子を含むものであり得る。

【0136】

一部の実施形態では、本明細書に記載の個々のマスト細胞活性因子またはマスト細胞活性バイオマーカーが使用され得る。一部の実施形態では、表1から選択される少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19種類またはそれ以上のマスト細胞活性因子が、パネルとしての組合せで使用され得る。

【0137】

一部の実施形態では、本明細書に記載の本発明のマスト細胞活性バイオマーカーが、1種類以上のさらなるマーカーとともに、特に、マスト細胞活性関連障害と関連していることがわかっているマーカーとともに使用され得る。一部の実施形態では、本明細書に記載のマスト細胞活性バイオマーカーが、1種類以上のさらなるマーカーとともに、特に、神経炎症性障害、特にMSと関連していることがわかっているマーカーとともに使用され得る。一部の実施形態では、1種類以上のさらなるバイオマーカーとして、臨床所見、MRI所見および／または誘発電位試験が挙げられる。

【0138】

マスト細胞活性バイオマーカーまたはマスト細胞活性因子は任意の化学薬品クラスの実体であり得る。例えば、一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーまたは因子が、核酸、ポリペプチド、脂質、炭水化物、小分子、無機剤（例えば、金属もしくはイオン）あるいはその組合せであり得るか、またはこれらを含むものであり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーまたは因子が、表1に示すセリンプロテアーゼ、プロテオグリカン、サイトカイン、増殖因子、ケモカイン、核酸、免疫グロブリンまたは脂質由来のマスト細胞代謝産物であり得るか、またはこれらを含むものであり得る。

【0139】

一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーまたは因子が、細胞表面マーカー、例えばT細胞上に存在している細胞表面マーカーであり得るか、または該細胞表面マーカーを含むものであり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーまたは因子が、B細胞、マクロファージ、神経細胞、星状細胞、小グリア細胞、周皮細胞および／または内皮細胞（血液脳関門の）上に存在している細胞表面マーカーであり得るか、または該細胞表面マーカーを含むものであり得る。一部の実施形態では、細胞表面マーカーが受容体である。一部の実施形態では、細胞表面マーカーがクラス I およびクラス II MHC 分子である。

【0140】

一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーまたは因子が細胞内に存在する。一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーまたは因子が、顆粒内貯蔵顆粒内に存在しているマスト細胞代謝産物であり得るか、または該マスト細胞代謝産物を含むものであり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーまたは因子が、脂質由来のマスト細胞代謝産物であり得るか、または該代謝産物を含むものであり得る。

【0141】

一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーまたは因子が、核酸、例えばRNAまたはメッセンジャーRNA（mRNA）であり得るか、または該核酸を含むものであり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性または活性化時に発現されるメッセンジャーRNAのプロフィールが特定のマスト細胞活性関連障害と相関している。一部の実施形態では、マスト細胞活性または活性化時に発現されるメッセンジャーRNAのプロフィールが特定のマスト細胞活性関連障害の診断に有用である。一部の実施形態では、メッセンジャーRNAが、マスト細胞のマスト細胞代謝産物をコードしている1つ以上の遺伝子から発現され得るものである。一部の実施形態では、メッセンジャーRNAが、c-kit（CD117またはマスト／幹細胞増殖因子受容体としても知られている）をコードしている遺伝子から発現され得るものである。一部の実施形態では、メッセンジャーRNAが、P450酵素ファミリーの構成員をコードしている遺伝子から発現され得るものであり、例えば、メッセンジャーRNAは、CYP21A2（配列番号：1）をコードしている遺伝子から発現され得るものである。

【0142】

一部の実施形態では、バイオマーカーが、マスト細胞活性関連障害と関連している遺伝子のアレルバリエーション、例えば、P450ファミリー（例えば、CYP21A2）の遺伝子構成員のアレルバリエーションであり得る。一部の実施形態では、アレルバリエーションが、単一のヌクレオチドを変化させて発現タンパク質内のアミノ酸の変化をもたらす点変異であり得る。一部の実施形態では、単一ヌクレオチド変化が、発現タンパク質においてアミノ酸が変化しないという点でサイレントである。一部の実施形態では、単一ヌクレオチド変化がmRNAスプライシングの変化をもたらすものである。一部の実施形態では、アレルバリエーションが、例えば、小規模の挿入もしくは欠失、遺伝子変換、大規模の挿入または重複であり得る。本発明の一部の実施形態では、個体にマスト細胞活性関連障害の発症（例えば、自己免疫性、MS）の素因を与える遺伝子マーカー（例えば、アレルバリエーション）を同定する方法を提供する。本発明の一部の実施形態では、マスト細胞活性関連障害（例えば、自己免疫性、MS）を予防または処置するための該遺伝子マーカー（例えば、アレルバリエーション）の修飾を含む、処置方法を提供する。

【0143】

一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーまたは因子が、細胞外で見出される（例えば、細胞外に分泌されるか、または別の様式で生成するか、もしくは存在する）ものである。一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーまたは因子が、顆粒内貯蔵顆粒関連代謝産物もしくは脂質由来代謝産物であり得るか、または該代謝産物を含むものであり得る。一部の実施形態では、顆粒内貯蔵顆粒関連代謝産物が、例えば、セリンプロテアーゼであり得るか、またはセリンプロテアーゼを含むものであり得る。一部の実施形態では、セリンプロテアーゼが、例えば、トリプターゼ、チマーゼもしくはカルボキ

10

20

30

40

50

シペプチダーゼであり得るか、またはこれらを含むものであり得る。一部の実施形態では、顆粒内貯蔵顆粒関連代謝産物が、例えば、プロテオグリカンであり得るか、またはプロテオグリカンを含むものであり得る。一部の実施形態では、プロテオグリカンは、ヘパリンもしくはコンドロイチン硫酸であり得るか、またはこれらを含むものであり得る。一部の実施形態では、顆粒内貯蔵顆粒関連代謝産物が、ヒスタミンであり得るか、またはヒスタミンを含むものであり得る。一部の実施形態では、顆粒内貯蔵顆粒関連代謝産物が、サイトカインであり得るか、またはサイトカインを含むものであり得る。一部の実施形態では、サイトカインは、例えば、インターロイキン、 $TNF-\alpha$ 、 $GM-CSF$ 、 $MIP-1\alpha$ 、 $MIP-1\beta$ および $INF-\gamma$ であり得るか、またはこれらを含むものであり得る。一部の実施形態では、インターロイキンが、 $IL-1$ 、 $IL-2$ 、 $IL-3$ 、 $IL-4$ 、 $IL-5$ 、 $IL-6$ 、 $IL-8$ であり得るか、またはこれらを含むものであり得る。一部の実施形態では、顆粒内貯蔵顆粒関連代謝産物が、増殖因子であり得るか、または増殖因子を含むものであり得る。一部の実施形態では、増殖因子は、血管内皮増殖因子Aであり得るか、または血管内皮増殖因子Aを含むものであり得る。

10

【0144】

一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーまたは因子が、脂質由来代謝産物であり得るか、または脂質由来代謝産物を含むものであり得る。一部の実施形態では、脂質由来代謝産物が、例えば、トロンボキサン、プロスタグランジン、ロイコトリエンおよび／または血小板活性化因子であり得る。一部の実施形態では、プロスタグランジンが、プロスタグランジン D_2 、プロスタグランジン E_2 および／または $11-\beta$ -プロスタグランジン $F_2-\alpha$ であり得る。一部の実施形態では、ロイコトリエンがロイコトリエンC4であり得る。

20

【0145】

一部の実施形態では、マスト細胞活性バイオマーカーまたは因子が、マスト細胞から直接放出されるバイオマーカーの代謝産物を含むものであり得る。該代謝産物は、尿中に存在するもの、例えば、N-メチルヒスタミンであり得る。

【表 1 - 1】

表 1. 例示的なマスト細胞活性バイオマーカーまたは因子

ヒスタミン	
N-メチルヒスタミン	
クロモグラニン A	
サイトカイン	
インターロイキン-1 (IL-1)	
インターロイキン-2 (IL-2)	10
インターロイキン-3 (IL-3)	
インターロイキン-4 (IL-4)	
インターロイキン-5 (IL-5)	
インターロイキン-6 (IL-6)	
インターロイキン-8 (IL-8)	
インターロイキン-10 (IL-10)	
インターロイキン-17 (IL-17)	20
インターロイキン-33 (IL-33)	
TNF- α	
TGF- β	
顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)	
マクロファージ炎症性タンパク質 α (MIP-1 α)	
マクロファージ炎症性タンパク質 β (MIP-1 β)	30
インターフェロン- γ (INF γ)	
好酸球走化性因子	
ケモカイン	
CC-ケモカイン-リガンド 2	
増殖因子	
血管内皮増殖因子 A (VEGFA)	
神経成長因子 (NGF)	40
プロテオグリカン	
ヘパリン	
コンドロイチン硫酸	
中性プロテアーゼ	
トリプターゼ	
チマーゼ	

【表 1 - 2】

カルボキシペプチダーゼ A 3
カテプシン G
プロスタグランジン
プロスタグランジン D ₂ (PGD ₂)
プロスタグランジン E ₂ (PGE ₂)
11- β -プロスタグランジン F ₂ - α (11 β -PGF ₂ α)
TETRA-NOR-プロスタグランジン D ₂ 代謝産物 (TETRA-NOR-PGDM)
ロイコトリエン
ロイコトリエン E ₄
ロイコトリエン B ₄
ロイコトリエン C ₄
免疫グロブリン
免疫グロブリン E (IGE)
トロンボキサン
核酸

10

20

【0146】

(バイオマーカーの判定)

一部の実施形態では、本開示により、マスト細胞活性関連の疾患、障害および／または病的状態の有用なバイオマーカーの同定または測定のための方法またはシステムを提供する。さまざまな方法が、マスト細胞活性関連障害のバイオマーカーを判定するために使用され得る。一部の実施形態では、該方法が、マスト細胞活性関連障害に苦しんでいるか、または該障害に易罹患性である被験体の試料中において1種類以上のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を調べる工程を含むものであり得る。一部の実施形態では、被験体が、マスト細胞活性関連障害と新たに診断された被験体であり得る。一部の実施形態では、被験体が、該障害の急性エピソードに苦しんでいる被験体であり得るか、または該障害の慢性期である被験体であり得る。一部の実施形態では、被験体が、該障害の再発寛解型過程に苦しんでいる被験体であり得る。一部の実施形態では、被験体が、CIS、RRMS、PPMSまたはSPMSに苦しんでいる被験体であり得る。一部の実施形態では、本開示により、疾患の特定の病期または重症度の1種類以上の因子またはバイオマーカーを同定するためのシステムを提供する。一部の実施形態では、試料が全血、血漿、血清、尿、脳脊髄液またはリンパ液である。

30

40

【0147】

一部の実施形態では、提供する方法は、該1種類以上のマスト細胞活性因子の測定された存在、レベルおよび／または位置と、マスト細胞活性関連障害の発生率、重症度または治療応答と間の相関性を検出すること、ならびに該発生率、重症度または治療応答のマスト細胞活性バイオマーカーの該測定された存在、レベルおよび／または位置を確立することを含むものであり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性関連障害の発生率、重症度または治療応答が、マスト細胞活性、マスト細胞の増殖、マスト細胞の遊走、サイトカインの放出、脂質由来代謝産物の放出、顆粒関連代謝産物の放出、水分補給、炎症およびその組合せの存在、レベルおよび／または位置と相関している。一部の実施形態では、マ

50

スト細胞活性関連障害がMSであり、MSの発生率、重症度または治療応答が、マスト細胞活性、マスト細胞の増殖、マスト細胞の遊走、サイトカインの放出、脂質由来代謝産物の放出、顆粒関連代謝産物の放出、水分補給、炎症およびその組合せの存在、レベルおよび／または位置と相関している。

【0148】

一部の実施形態では、相関させる測定された存在、レベルおよび／または位置が、各々が異なるマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を表す複数のデータ点を含む。一部の実施形態では、該複数のデータ点が少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも50または少なくとも100個である。一部の実施形態では、異なるマスト細胞活性因子が、表1から選択される少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20種類のマスト細胞活性因子を含むものであり得る。

10

【0149】

一部の実施形態では、少なくとも1つのデータ点が、特定のマスト細胞活性因子の確立された閾値と比したレベルを表す。一部の実施形態では、特定のマスト細胞活性因子が、表1から選択されるマスト細胞活性因子である。一部の実施形態では、確立された閾値が、参照または対照試料において測定された閾値である。一部の実施形態では、参照試料が健常被験体（例えば、マスト細胞活性関連障害に苦しんでいない被験体）に由来するものである。一部の実施形態では、参照試料が健常被験体群に由来するものである。一部の実施形態では、参照試料が、マスト細胞活性関連障害に苦しんでいるが該障害の発現前である被験体に由来するものである。一部の実施形態では、参照試料が既存の参照である。一部の実施形態では、該データ点の少なくとも1つが、特定のマスト細胞活性因子について、確立された閾値より20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、1倍、1.2倍、1.5倍、1.75倍、2倍、2.25倍、2.5倍、2.75倍、3倍、4倍、5倍、10倍または100倍超高いか、または低いレベルを表す。

20

【0150】

一部の実施形態では、マスト細胞活性関連障害のマウスモデルが、マスト細胞活性バイオマーカーを判定するために使用され得る。一部の実施形態では、マウスモデルが、MS、炎症性障害（例えば、神経炎症性障害）がんまたは自己免疫性疾患のモデルである。一部の実施形態では、自己免疫性疾患のマウスモデルが非肥満糖尿病（NOD）マウス（1型糖尿病およびシェーグレン症候群のモデル）、（NZB x NZW）F1，MRL/lpr（全身性エリテマトーデスのモデル）、SJLマウスの実験的自己免疫性脳炎（MSのモデル）、DBA/1マウスのコラーゲン誘導関節炎（関節リウマチ）、Bcl-2導入遺伝子マウス（全身性エリテマトーデスのモデル）ならびにApc^{-/-}マウス（全身性エリテマトーデスのモデル）である。一部の実施形態では、マウスの組織（例えば、脳、脊髄、神経、肺、筋肉、肝臓、腎臓）または体液（血液、リンパ系組織、CNS、尿）を収集して分析し、マスト細胞活性因子またはマスト細胞活性バイオマーカーを判定する。一部の実施形態では、因子またはバイオマーカーは、マウスから採取した組織内または体液中のT細胞活性化因子、B細胞活性化因子および／またはマスト細胞脱顆粒因子を可視化することによって判定される。

30

40

【0151】

（バイオマーカーの検出）

一部の実施形態では、本開示により、有用なバイオマーカーを検出、測定および／または特性評価するためのシステムおよび／または方法を提供する。さまざまな方法が、生物学的試料中のバイオマーカーレベルを測定するために使用され得る。典型的には、バイオマーカーの発現または活性のレベルを示す任意の特徴が、本発明を実施するために使用され得る。一部の実施形態では、試料中のバイオマーカーのタンパク質発現レベルが測定さ

50

れる。一部の実施形態では、脂質由来のマスト細胞代謝産物の発現レベルが測定される。一部の実施形態では、試料中のバイオマーカの核酸発現レベルが測定される。一部の実施形態では、ヒスタミンレベルが測定される。一部の実施形態では、本発明により、マスト細胞活性関連障害のマスト細胞活性バイオマーカを検出する方法を提供する。一部の実施形態では、该方法が、ヒト患者から試料を採取すること、ならびに該試料中において、マスト細胞活性関連障害のマスト細胞活性バイオマーカであると判定された1種類以上のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を検出することを含む。一部の実施形態では、该方法が、該1種類以上のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を、マスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置と比較する工程を含む。

10

【0152】

(生物学的試料)

本発明の方法は、1種類以上の本発明のバイオマーカをアッセイすることが可能な任意の型の生物学的試料に適用され得る。好適な生物学的試料の例としては、限定されないが、脳脊髄液(CSF)、リンパ液、細胞、組織、全血、口腔洗浄液、血漿、血清、尿、便、唾液、臍帯血、絨毛膜試料、絨毛膜試料培養物、羊水、羊水培養物、経頸管洗浄液が挙げられる。本発明に適した生物学的試料は、被験体から収集された新鮮試料または凍結試料であってもよく、診断、処置および／または転帰の履歴について既知のアーカイブ試料であってもよい。生物学的試料は、任意の侵襲的または非侵襲的手段によって、例えば、被験体からCSFもしくは血液を採取すること、または細針穿刺吸引もしくは針生検を使用すること、または外科的生検などによって収集され得る。

20

【0153】

一部の特定の実施形態では、生物学的試料は、試料の限定的な加工処理なし、または該加工処理を伴って使用され得る。例えば、タンパク質バイオマーカは生物学的試料から調製され得る。一部の実施形態では、タンパク質抽出物が全タンパク質含有量を含む。一部の実施形態では、膜タンパク質、核タンパク質および細胞質タンパク質のうちの1種類以上を含むタンパク質抽出物が調製され得る。例えば、細胞質タンパク質としては、マスト細胞の顆粒内貯蔵顆粒内に存在しているタンパク質が挙げられ得る。タンパク質の抽出方法は当該技術分野でよく知られている(例えば、“Protein Methods”, D. M. Bollag et al., 第2版, 1996, Wiley-Liss; “Protein Purification Methods: A Practical Approach”, E. L. Harris and S. Angal (編), 1989; “Protein Purification Techniques: A Practical Approach”, S. Roe, 第2版, 2001, Oxford University Press; “Principles and Reactions of Protein Extraction, Purification, and Characterization”, H. Ahmed, 2005, CRC Press: Boca Raton, FL 参照)。数多くの色々な多用途のキットが、体液および組織からタンパク質を抽出するために使用され得、例えば、BioRad Laboratories (Hercules, CA)、BD Biosciences Clontech (Mountain View, CA)、Chemicon International, Inc. (Temecula, CA)、Calbiochem (San Diego, CA)、Pierce Biotechnology (Rockford, IL)、および Invitrogen Corp. (Carlsbad, CA) から市販されている。これらのキットにはすべて、従うべきプロトコルが詳細に記載されたユーザーガイドが通常、含まれている。感度、加工処理時間およびコストはキットごとに異なり得る。当業者は、特定の状況に最も適切なキット(1種類または複数種)を容易に選択することができよう。タンパク質抽出物が得られたら、好ましくは、タンパク質マーカのシグナルが定量されることを可能にするために抽出物のタンパク質濃度が、対照試料のものと同じである値に対して標準化される。かかる標準化は、測光的もしくは

30

40

50

分光測定的方法またはゲル電気泳動を用いて行われ得る。

【0154】

一部の実施形態では、核酸が生物学的試料から抽出され得る。例えば、RNAが解析前の試料から抽出され得る。一部の実施形態では、抽出される該RNAがCYP21A2遺伝子から発現されるmRNAである。一部の実施形態では、抽出されるRNAがc-kit遺伝子から発現されるmRNAである。RNAの抽出方法は当該技術分野でよく知られている（例えば、J. Sambrook et al., “Molecular Cloning: A Laboratory Manual”, 1989, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, NY参照）。体液または組織からのRNAの単離方法のほとんどは、RNaseを速やかに有効に不活化させるためのタンパク質変性剤の存在下での組織の破壊に基づくものである。単離された全RNAは次いで、タンパク質夾雑物からさらに精製され、選択的エタノール沈殿、フェノール／クロロホルム抽出の後、イソプロパノール沈殿または塩化セシウム、塩化リチウムもしくはトリフルオロ酢酸セシウム勾配遠心分離によって濃縮され得る。また、体液または組織からRNA（すなわち、全RNAまたはmRNA）を抽出するためのキットも入手可能であり、例えば、Ambion, Inc. (Austin, TX)、Amersham Biosciences (Piscataway, NJ)、BD Biosciences Clontech (Palo Alto, CA)、BioRad Laboratories (Hercules, CA)、GIBCO BRL (Gaithersburg, MD)、およびQiagen, Inc. (Valencia, CA) から市販されている。

【0155】

一部の特定の実施形態では、抽出後、mRNAを増幅し、cDNAに転写し、次いで、これが、適切なRNAポリメラーゼによる複数回の転写のための鋳型として使用され得る。増幅方法は当該技術分野でよく知られている（例えば、A. R. Kimmel and S. L. Berger, Methods Enzymol. 1987, 152: 307-316; J. Sambrook et al., “Molecular Cloning: A Laboratory Manual”, 1989, 第2版, Cold Spring Harbour Laboratory Press: New York; “Short Protocols in Molecular Biology”, F. M. Ausubel (編), 2002, 第5版, John Wiley & Sons; 米国特許第4, 683, 195号; 同第4, 683, 202号および同第4, 800, 159号参照）。逆転写反応は、非特異的プライマー、例えば、アンカー型オリゴdTプライマーもしくはランダム配列プライマーを用いて、またはモニタリング対象の各プローブのRNAに相補的な標的特異的プライマーを用いて、または耐熱性DNAポリメラーゼ（例えば、トリ骨髄芽球症ウイルス逆転写酵素もしくはモロニーマウス白血病ウイルス逆転写酵素）を用いて行われ得る。

【0156】

一部の実施形態では、脂質由来バイオマーカーが生物学的試料から調製され得る。一部の実施形態では、脂質抽出物が全脂質含有量を含む。一部の実施形態では、膜脂質、核脂質および細胞質脂質のうちの1種類以上を含む脂質抽出物が調製され得る。例えば、細胞質脂質としては、マスト細胞の顆粒内貯蔵顆粒内に存在している脂質由来代謝産物が挙げられ得る。

【0157】

（検出方法）

（タンパク質バイオマーカーの測定）

生物学的試料中のタンパク質バイオマーカーの発現レベルの測定または検出は、任意の適切な方法によって行われ得る（例えば、E. Harlow and A. Lane, “Antibodies: A Laboratory Manual”, 1988, Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring

Harbor, NY 参照)。

【0158】

一般に、タンパク質発現レベルは、被験体から採取した生物学的試料を1種類以上のタンパク質バイオマーカーの結合剤と接触させ；該試料中において、該結合剤に結合している1種類以上のタンパク質バイオマーカーのレベルを検出し；該試料中の1種類以上のタンパク質バイオマーカーの該レベルを対照試料中の対応するタンパク質バイオマーカーのレベルと比較することにより測定される。本明細書で用いる場合、用語「結合剤」は、本発明のタンパク質バイオマーカーに特異的に結合する実体、例えばポリペプチドまたは抗体をいう。実体は、あるポリペプチドと検出可能なレベルで反応／相互作用するが無関連の配列または異なるポリペプチド配列を含むペプチドとは検出可能に反応／相互作用しない場合、該ポリペプチドに「特異的に結合する」。

10

【0159】

一部の特定の実施形態では、好適な結合剤は、ペプチド成分、RNA分子またはポリペプチド（例えば、タンパク質マーカーのポリペプチド配列、そのペプチドバリエーション、もしくはかかる配列の非ペプチド模倣物を含むポリペプチド）を有する、または有しないリボソームである。

【0160】

他の実施形態では、好適な結合剤が、本明細書に記載のタンパク質バイオマーカーに特異的な抗体（例えば、表1に列記したいずれかのタンパク質バイオマーカーに特異的な抗体）である。一部の実施形態では、好適な抗体が、特定の形態のタンパク質バイオマーカー、例えば、サイトカインタンパク質（例えば、IL-1、INF- γ ）に特異的に結合し得るものである。本発明の方法における使用のための好適な抗体としては、モノクローナルおよびポリクローナル抗体、免疫学的に活性な断片（例えば、Fabまたは(Fab)₂断片）、抗体重鎖、ヒト化抗体、抗体軽鎖、ならびにキメラ抗体が挙げられる。抗体、例えばモノクローナルおよびポリクローナル抗体、断片ならびにキメラは当該技術分野で知られた方法を用いて調製され得る（例えば、R. G. Mage and E. Lamoyi, in "Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications", 1987, Marcel Dekker, Inc.: New York, pp. 79-97; G. Kohler and C. Milstein, Nature, 1975, 256: 495-497; D. Kozbor et al., J. Immunol. Methods, 1985, 81: 31-42; および R. J. Cote et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 1983, 80: 2026-203; R. A. Lerner, Nature, 1982, 299: 593-596; A. C. Nairn et al., Nature, 1982, 299: 734-736; A. J. Czernik et al., Methods Enzymol. 1991, 201: 264-283; A. J. Czernik et al., Neuromethods: Regulatory Protein Modification: Techniques & Protocols, 1997, 30: 219-250; A. J. Czernik et al., Neuroprotocols, 1995, 6: 56-61; H. Zhang et al., J. Biol. Chem. 2002, 277: 39379-39387; S. L. Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 1984, 81: 6851-6855; M. S. Neuberger et al., Nature, 1984, 312: 604-608; S. Takeda et al., Nature, 1985, 314: 452-454 参照）。本発明の方法において使用される抗体を、当該技術分野でよく知られた方法によって精製してもよい（例えば、S. A. Minden, "Monoclonal Antibody Purification", 1996, IBC Biomedical Library Series: Southbridge, MA 参照）。例えば、抗体は、タンパク質マーカーまたはその断片が結合されるカラムに通すことによってアフィニティ精製され得る。結合された抗体は次いでカラムから、高い塩濃度

20

30

40

50

を有するバッファーを用いて溶出され得る。

【0161】

調製する代わりに、本発明の方法において使用される抗体を、科学系のまたは市販の供給元（例えば、Cayman Chemical）から入手してもよい

【0162】

標識された結合剤。一部の特定の実施形態では、結合剤が、検出可能な部分で直接または間接的に標識される。検出可能な薬剤の役割は、結合剤がタンパク質マーカー（またはそのアナログもしくは断片）に結合することによって形成された複合体の可視化を可能にすることにより、診断方法の検出工程を容易にすることである。好ましくは、検出可能な薬剤は、これが、測定が可能であり、かつその強度が解析対象の試料中に存在しているタンパク質マーカーの量と関連している（好ましくは比例する）シグナルを生成するように選択される。生物学的分子、例えばポリペプチドおよび抗体を標識するための方法は当該技術分野でよく知られている（例えば、“Affinity Techniques. Enzyme Purification: Part B”, Methods in Enzymol., 1974, Vol. 34, W. B. Jakoby and M. Wilneck (編), Academic Press: New York, NY; and M. Wilchek and E. A. Bayer, Anal. Biochem., 1988, 171: 1-32 参照）。

【0163】

多種多様な任意の検出可能な薬剤が本発明の実施に使用され得る。好適な検出可能な薬剤としては、限定されないが：種々のリガンド、放射性核種、蛍光色素、化学発光剤、マイクロ粒子（例えば、量子ドット、ナノ結晶、リン光体など）、酵素（例えば、ELISAに使用されるもの、すなわち、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼなど）、比色標識、磁気標識、ならびにビオチン、ジオキシゲニンまたは他のハプテンおよび抗血清もしくはモノクローナル抗体が入手可能なタンパク質が挙げられる。一部の実施形態では、タンパク質であるマスト細胞活性バイオマーカーが、被験体または試料を分子造影剤と接触させてマスト細胞の脱顆粒を可視化することによって検出される。

【0164】

一部の特定の実施形態では、結合剤（例えば、抗体）が、担体または支持体（例えば、ビーズ、磁気粒子、ラテックス粒子、マイクロタイタープレートのウェル、キュベット、もしくは他の反応槽）上に固定化され得る。好適な担体または支持体材の例としては、アガロース、セルロース、ニトロセルロース、デキストラン、セファデックス、セファロース、リポソーム、カルボキシメチルセルロース、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、ガブロ、濾紙、マグネタイト、イオン交換樹脂、プラスチックフィルム、プラスチックチューブ、ガラス、ポリアミン-メチルビニルエーテル-マレイン酸コポリマー、アミノ酸コポリマー、エチレン-マレイン酸コポリマー、ナイロン、シルクなどが挙げられる。結合剤は、第1の結合剤に特異的な第2の結合剤を用いて間接的に固定化され得る（例えば、タンパク質マーカーに特異的なマウス抗体が、担体または支持体上にコートされたヒツジ抗マウス IgG Fc 断片特異的抗体を用いて固定化され得る）。

【0165】

生物学的試料中におけるタンパク質発現レベルはイムノアッセイを用いて測定され得る。かかるアッセイの例は、時間分解蛍光イムノアッセイ（TR-FIA）、ラジオイムノアッセイ、エンザイムイムノアッセイ（例えば、ELISA）、免疫蛍光免疫沈降、ラテックス凝集、血球凝集、ウェスタンブロット、および組織化学的検査であり、これらは当該技術分野でよく知られた慣用的な方法である。当業者には認識されるように、イムノアッセイは競合的であっても非競合的であってもよい。結合剤がタンパク質マーカーと結合することによって形成された複合体が生成するシグナルの検出および定量的方法は、アッセイの性質および検出可能な部分（例えば、蛍光性部分）の性質に依存する。

【0166】

あるいはまた、タンパク質バイオマーカーの発現レベルは、タンパク質の検出のための質量分析ベースの方法またはイメージング（例えば、標識リガンドの使用など）ベースの当該技術分野で知られた方法を用いて測定され得る。他の好適な方法としては、2D-ゲル電気泳動、プロテオミクスベースの方法が挙げられる。プロテオミクスは、試料中におけるタンパク質発現の総体的変化を研究するものであり、以下の工程：（１）試料中の個々のタンパク質の電気泳動（1-D PAGE）による分離、（２）ゲルから回収された個々のタンパク質の同定（例えば、質量分析またはN末端シーケンシングにより）、および（３）バイオインフォマティクスを用いたデータの解析を含むものであり得る。

【0167】

（核酸バイオマーカーの測定）

生物学的試料中の核酸の発現レベルの測定または検出は、任意の適切な方法によって、例えば限定されないが、ハイブリダイゼーション（例えば、サザンまたはノザン解析）、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）（例えば、米国特許第4,683,195号；同第4,683,202号および同第6,040,166号；“PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications”, Innis et al.（編）, 1990, Academic Press: New York 参照）、逆転写酵素PCR（RT-PCR）、アンカー型PCR、競合的PCR（例えば、米国特許第5,747,251号参照）、rapid amplification of cDNA ends（RACE）（例えば、“Gene Cloning and Analysis: Current Innovations”, 1997, pp. 99-115 参照）；リガーゼ連鎖反応（LCR）（例えば、欧州特許第01320308号参照）、ワンサイドPCR（Ohara et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 1989, 86: 5673-5677）、インサイチュハイブリダイゼーション、Taqmanベースのアッセイ（Holland et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 1991, 88: 7276-7280）、差次的ディスプレイ（例えば、Liang et al., Nucl. Acid. Res., 1993, 21: 3269-3275 参照）ならびに他のRNAフィンガープリンティング手法、核酸配列ベースの増幅（NASBA）および他の転写ベースの増幅システム（例えば、米国特許第5,409,818号および同第5,554,527号参照）、Q β レプリカーゼ、鎖置換増幅（SDA）、修復連鎖反応（RCR）、ヌクレアーゼプロテクションアッセイ、サブトラクションベースの方法、Rapid-ScanTMなどによって行われ得る。

【0168】

生物学的試料中のポリヌクレオチド配列の検出における使用のための核酸プローブを、当該技術分野で知られた慣用的な方法を用いて構築してもよい。好適なプローブは、バイオマーカーをコードしている核酸領域に由来する少なくとも5個連続するアミノ酸をコードしている核酸配列をベースにしたものであり得、好ましくは約15～約50個のヌクレオチドを含むものであり得る。核酸プローブは、結合剤の場合、上記のように検出可能な部分で標識され得る。核酸プローブと検出可能な部分間の結合は共有結合性であっても非共有結合性であってもよい。検出可能な部分は、核酸プローブに直接結合させてもよく、リンカーを介して間接的に結合させてもよい（E. S. Mansfield et al., Mol. Cell. Probes, 1995, 9: 145-156）。核酸分子を標識するための方法は当該技術分野でよく知られている（標識プロトコル、標識検出手法および当該技術分野の最近の進展の概説については、例えば、L. J. Kricka, Ann. Clin. Biochem. 2002, 39: 114-129；R. P. van Gijlswijk et al., Expert Rev. Mol. Diagn. 2001, 1: 81-91；およびS. Joos et al., J. Biotechnol. 1994, 35: 135-153を参照のこと）。

【0169】

核酸プローブは、バイオマーカーをコードしているポリヌクレオチドを検出するための

ハイブリダイゼーション手法において使用され得る。この手法は一般的に、被験体から採取した生物学的試料中の核酸分子を核酸プローブと、該核酸プローブと該核酸分子内の相補的配列との間で特異的ハイブリダイゼーションが起こるような条件下で接触させてインキュベートすることを伴うものである。典型的には、ストリンジェントハイブリダイゼーション条件が使用される。一部の実施形態では、「ストリンジェントハイブリダイゼーション条件」は、以下：50%ホルムアミド、5×SSC、50mM NaH₂PO₄、pH 6.8、0.5% SDS、0.1mg/mLの超音波処理したサケ精子DNA、および5×デンハルト溶液中、42℃で一晩のハイブリダイゼーション；45℃で2×SSC、0.1% SDSでの洗浄；ならびに45℃で0.2×SSC、0.1% SDSでの洗浄と少なくとも同程度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件をいう。一部の実施形態では、ストリンジェントハイブリダイゼーション条件は、連続20個のヌクレオチド鎖において2個より多くの塩基が異なる2つの核酸のハイブリダイゼーションは許容しないものであるのがよい。インキュベーション後、非ハイブリダイズ核酸を除去し、プローブにハイブリダイズした核酸の存在および量を検出し、定量する。

10

【0170】

バイオマーカーをコードしているポリヌクレオチド配列を含む核酸分子の検出は、増幅方法、例えばPCR（例えば、RT-PCR）を用いた特定のポリヌクレオチド配列の増幅、続いて、当該技術分野で知られた手法を用いた増幅分子の解析を伴うものであり得る。好適なプライマーは、当業者によって常套的に設計され得る。アッセイ条件下でのハイブリダイゼーションを最大限にするため、本発明の方法で使用されるプライマーとプローブは一般的に、バイオマーカーをコードしている核酸部分と少なくとも60%、好ましくは少なくとも75%、より好ましくは少なくとも90%の同一性を有する。

20

【0171】

本明細書に記載のハイブリダイゼーション手法および増幅手法は、本明細書に記載の本発明のバイオマーカーをコードしているポリヌクレオチド配列を含む核酸分子の発現の定性的および定量的態様をアッセイするために使用され得る。

【0172】

あるいはまた、各バイオマーカーをコードしている核酸に由来するオリゴヌクレオチドまたはより長鎖の断片が、マイクロアレイにおける標的として使用され得る。いくつかの異なるアレイ構成およびその作製方法が当業者に知られている（例えば、米国特許第5, 445, 934号；同第5, 532, 128号；同第5, 556, 752号；同第5, 242, 974号；同第5, 384, 261号；同第5, 405, 783号；同第5, 412, 087号；同第5, 424, 186号；同第5, 429, 807号；同第5, 436, 327号；同第5, 472, 672号；同第5, 527, 681号；同第5, 529, 756号；同第5, 545, 531号；同第5, 554, 501号；同第5, 561, 071号；同第5, 571, 639号；同第5, 593, 839号；同第5, 599, 695号；同第5, 624, 711号；同第5, 658, 734号；および同第5, 700, 637号参照）。マイクロアレイ技術では、定常状態レベルの大量数のポリヌクレオチド配列を同時に測定することが可能である。現在広く使用されているマイクロアレイとしては、cDNAアレイおよびオリゴヌクレオチドアレイが挙げられる。マイクロアレイを用いた解析は一般的に、マイクロアレイ上の既知の位置に固定化された核酸プローブにハイブリダイズする試料に由来するcDNA配列を検出するために使用される標識プローブから受けるシグナルの強度の測定に基づいたものである（例えば、米国特許第6, 004, 755号；同第6, 218, 114号；同第6, 218, 122号；および同第6, 271, 002号参照）。アレイベースの遺伝子発現方法は当該技術分野で知られており、数多くの科学刊行物ならびに特許（例えば、M. Schena et al., Science, 1995, 270: 467-470; M. Schena et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1996, 93: 10614-10619; J. J. Chen et al., Genomics, 1998, 51: 313-324; 米国特許第5, 143, 854号；同第5, 445, 934号；同第5, 807, 522

30

40

50

号；同第5，837，832号；同第6，040，138号；同第6，045，996号；同第6，284，460号；および同第6，607，885号参照）に報告されている。

【0173】

（脂質由来バイオマーカーの測定）

脂質由来バイオマーカーは、当業者に知られた方法、例えば限定されないが：質量分析（MS）、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、アイソクラティックHPLC、勾配HPLC、順相クロマトグラフィー、逆相HPLC、サイズ排除クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、キャピラリー電気泳動、マイクロフルイディクス、クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー（GC）、薄層クロマトグラフィー（TLC）、固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィー（IMAC）、アフィニティークロマトグラフィー、イムノアッセイ、および／または比色アッセイを用いる方法によって容易に単離および／または定量され得る。一部の実施形態では、本発明の方法において、脂質由来バイオマーカーの存在を調べるためにMSが使用される。一部の実施形態では、本発明の方法において、脂質由来バイオマーカーの存在を調べるためにイムノアッセイが使用される。一実施形態では、本発明の方法において、バイオマーカーレベルを測定するためにMSが使用される。一実施形態では、本発明の方法において、バイオマーカーレベルを測定するためにイムノアッセイが使用される。一部の実施形態では、脂質由来マスト細胞活性バイオマーカーが、被験体または試料を分子造影剤と接触させてマスト細胞の脱顆粒を可視化することによって検出される。

【0174】

（ヒスタミンの測定）

ヒスタミンおよびその代謝産物、例えば、N-メチルヒスタミンは、当業者に知られた方法、例えば限定されないが：その細胞外における存在、レベルおよび／または位置を測定する蛍光定量的手法および比色手法の使用を用いる方法によって容易に単離および／または定量され得る。ヒスタミンおよびその代謝産物は、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、薄層クロマトグラフィー（TLC）、蛍光定量的ガラス繊維ベースのヒスタミン法を用いて、またはラジオイムノアッセイによって検出および定量され得る（G r a n d e r u s e t a l . , A g e n t s A c t i o n s (1 9 8 4) 1 4 : 3 4 1 - 3 4 5 ; A n d e r s s o n e t a l . , J . A l l e r g y C l i n . I m m u n o l . (1 9 9 0) 8 6 : 8 1 5 - 8 2 0)。一部の実施形態では、ヒスタミンが、被験体または試料を分子造影剤と接触させてマスト細胞の脱顆粒を可視化することによって検出される。

【0175】

（アレルバリエントの解析方法）

本発明の方法は、アレル変異がマスト細胞活性関連障害の存在、易罹患性または重症度と相関しているかどうかを調べるために、アレル変異について遺伝子を解析する方法を含む。

【0176】

遺伝子またはポリヌクレオチドの供給源は典型的には、ゲノムDNAおよび／またはRNAを含む生物学的試料である。解析用のDNAまたはRNAを得るために生物学的試料を処理してもよい。

【0177】

ポリヌクレオチドの解析方法は当該技術分野で広く知られており、一部の態様において、ポリヌクレオチドの増幅によって増幅されたポリヌクレオチド、好ましくは例えば、対象の遺伝子（例えば、CYP21A2）のエキソンに対応する増幅されたヌクレオチドを形成し、増幅された該ポリヌクレオチドを検出することが挙げられる。好ましくは、ヌクレオチドをPCRによって増幅させる。PCRによってポリヌクレオチドを増幅させるための条件は、使用されるプライマーのヌクレオチド配列に応じて異なり、かかる条件を決定するための方法は当該技術分野において常套的である。

【0178】

種々の型の増幅手法、例えば、アレルト異的PCR、低温PCR、高温PCR、逆転写酵素PCRなどが知られており、常套的に使用されている。これらおよび他の増幅手法は当該技術分野で知られており、常套的に使用されている。配列番号：1の開示に鑑みて、当業者は、使用すべき増幅手法を、CYP21A2ポリヌクレオチドにおける変異の同定に容易に適合させることができよう。

【0179】

増幅後、増幅されたポリヌクレオチドのサイズが、例えばゲル電気泳動によって測定され、比較され得る。増幅されたポリヌクレオチドは、染色すること（例えば、臭化エチジウムで）または当業者に知られた適切な標識、例えば放射性および非放射性標識で標識することによって可視化され得る。典型的な放射性標識としては ^{32}P が挙げられる。非放射性標識としては、例えば、リガンド、例えばビオチンもしくはジゴキシゲニンならびに酵素、例えばホスファターゼもしくはペルオキシダーゼ、または種々の化学発光体、例えばルシフェリン、またはフルオレセインおよびその誘導体などの蛍光化合物が挙げられる。任意選択で、増幅されたポリヌクレオチドのヌクレオチド配列が決定され得る。

【0180】

変異またはアレルバリエントを含むポリヌクレオチドを解析するための方法の別の態様では、ポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドプローブが使用される。本明細書で用いる場合、「ハイブリダイズする（“hybridizes”，“hybridizing”および“ハイブリダイゼーション（“hybridization”）」は、プローブが標的ポリヌクレオチドと標準的な条件下で非共有結合的相互作用を構成することを意味する。標準的なハイブリダイズ条件とは、プローブが標的ポリヌクレオチドとハイブリダイズすることが可能な条件である。プローブおよび標的ポリヌクレオチドに対するかかる条件は、当該技術分野でよく知られた手法を用いて容易に決定され、例えば、Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual; Cold Spring Harbor Laboratory: New York (1989)を参照のこと。

【0181】

本発明のこの態様の一実施形態では、該方法は、被験体のゲノムDNAを制限エンドヌクレアーゼで消化させてポリヌクレオチドを得、該ポリヌクレオチドをハイブリダイズ条件下で検出可能標識プローブとプローブ結合させることを含む。エンドヌクレアーゼでのゲノムDNAの消化は当該技術分野において常套的であり、数多くのエンドヌクレアーゼが知られている。典型的には、消化によって生じたポリヌクレオチドは、例えばゲル電気泳動によって分画し、変性させて一本鎖ポリヌクレオチドを得、次いで、ハイブリダイズ条件下でプローブに曝露する。次いで、該ポリヌクレオチドにハイブリダイズしたプローブを検出し、ハイブリダイズしたポリヌクレオチドのサイズが次いで測定され得る。変異の有無は、検出されたポリヌクレオチドの概算分子量によって推断され得る。変異の存在は、その人がリスクを有するかまたはリスクがあることを示し、変異の非存在は、その人にリスクがないことを示す。

【0182】

ポリヌクレオチドを解析するための他の方法を使用してもよい。例としては、限定されないが、リガーゼ媒介型検出手法、蛍光インサイチュハイブリダイゼーション、直接DNAシーケンシング、PFGE解析、サザンまたはノザンブロッティング、一本鎖高次構造解析（SSCA）、RNAseプロテクションアッセイ、アレルト異的オリゴヌクレオチド、ドットプロット解析、変性勾配ゲル電気泳動、RFLP、PCR-SSCPおよび次世代シーケンシングが挙げられる。

【0183】

（参照との比較）

本発明の一部の実施形態では、マスト細胞活性因子および／またはバイオマーカー（例えば、表1から選択されるバイオマーカー）の存在または発現レベルが、測定対象の生物

10

20

30

40

50

学的試料について測定されたら（上記のようにして）、存在および／または発現レベルが1種類以上の参照または対照試料の存在および／または発現レベルと比較され得る。一部の実施形態では、本発明の方法による存在および／または発現レベルの比較は、好ましくは、得られた存在および／または発現レベルを、アッセイ対象の試料の量の差および使用される試料の品質の差（例えば、抽出されたタンパク質もしくは脂質由来代謝産物の量、または試験対象のmRNAの量および品質）の両方について補正した後に行われる。一部の実施形態では、補正は、当該技術分野でよく知られている色々な方法を用いて行われ得る。例えば、試料のタンパク質濃度が、試料を解析する前に、測光的もしくは分光測定的方法またはゲル電気泳動を用いて標準化され得る。一部の実施形態では、試料の脂質由来代謝産物濃度が、内部標準（これは試料に、その解析前に添加される）を用いて標準化され得る。一部の実施形態では、核酸分子を含む試料が、同じ試料中の参照遺伝子（例えば、ハウスキーピング遺伝子）に対してレベルを正規化することによって補正され得る。択一的または付加的に、正規化は、アッセイしたすべての遺伝子またはその大型サブセットのシグナルの平均または中央値（例えば、RT-PCRの場合のCt）に基づいたものであってもよい（グローバル正規化アプローチ）。

一部の実施形態では、参照または対照試料が健常被験体（例えば、マスト細胞活性関連障害に苦しんでいない被験体）に由来するものである。一部の実施形態では、参照試料が健常被験体群に由来するものである。一部の実施形態では、参照試料が、マスト細胞活性関連障害に苦しんでいるが該障害の発現前である被験体に由来するものである。一部の実施形態では、参照試料が既存の試料である。一部の実施形態では、生物学的試料中のマスト細胞活性因子および／またはバイオマーカーのレベルが、参照試料中のマスト細胞活性マーカーまたはバイオマーカーのレベルより約20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、1倍、1.2倍、1.5倍、1.75倍、2倍、2.25倍、2.5倍、2.75倍、3倍、4倍、5倍、10倍、50倍、100倍または500倍超高いか、または低いレベルを表す。一部の実施形態では、生物学的試料中のマスト細胞活性因子および／またはバイオマーカーのレベルが、参照試料中のマスト細胞活性マーカーまたはバイオマーカーのレベルより約20%～約98%、約20%～約90%、約20%～約80%、約20%～約70%、約20%～約60%、約20%～約50%、約30%～約98%、約30%～約30%、約30%～約80%、約30%～約70%、約30%～約60%、約30%～約50%、約40%～約98%、約40%～約90%、約40%～約80%、約40%～約70%、約40%～約60%または約40%～約50%高いか、または低いレベルである。一部の実施形態では、生物学的試料中のマスト細胞活性因子および／またはバイオマーカーのレベルが、参照試料中のマスト細胞活性マーカーまたはバイオマーカーのレベルより約2倍～約500倍、2倍～約100倍、2倍～約50倍、2倍～約10倍または2倍～約5倍高いか、または低いレベルである。

【0184】

（マスト細胞活性関連障害の処置方法）

本開示は、マスト細胞活性関連障害（例えば、MS、MSの再発の起こりやすさ、自己免疫障害、神経炎症性障害、がん）と関連している因子およびバイオマーカーの測定が、本明細書に記載のマスト細胞活性関連の疾患、障害および／または病的状態のための特定の治療薬の同定および／または投与に有用であるという見識を包含している。例えば、特定の疾患、障害および／または病的状態がマスト細胞活性関連の疾患、障害および／または病的状態であること、および／またはその存在、レベルおよび／または位置が本明細書に記載のマスト細胞活性バイオマーカーと相関している1つ以上の特徴を特徴とすることがわかっているか、または確定されていると、当業者は、該疾患、障害および／または病的状態を処置するために投与され得る該当するマスト細胞活性を標的化する治療モダリティに気付くであろう。

【0185】

とりわけ、本開示により、マスト細胞活性バイオマーカーが被験体由来の試料中に検出

されている場合に該被験体にマスト細胞阻害療法薬を投与することを含む、処置方法を提供する。一部の実施形態では、マスト細胞阻害療法薬が、該疾患、障害および／または病的状態の処置のための１種類以上の他の治療薬と併用して投与される。

【0186】

特定の実施形態では、本開示により、マスト細胞活性バイオマーカーの存在が被験体由来の試料中において検出されている場合に、例えば、本明細書に記載のマスト細胞阻害療法薬の投与（例えば、マスト細胞活性インヒビターの投与）によって該被験体のMS、MSの再発および／または別の神経炎症性の疾患、障害および／または病的状態を処置する組成物および／または方法を提供する。一部の実施形態では、被験体が、マスト細胞活性関連障害に苦しんでいるか、または該障害に易罹患性であると診断された被験体である。一部の実施形態では、本開示により、本明細書に記載のマスト細胞活性インヒビターでの処置に対して感受性の患者集団（１つまたは複数）を規定する。一部の実施形態では、本開示により、規定されたかかる患者集団（１つまたは複数）に対する治療薬の投与による処置方法を提供する。

【0187】

なんら特定の理論に拘束されることを望まないが、マスト細胞活性インヒビターには、マスト細胞活性関連の疾患、障害および／または病的状態の処置に治療上有効な種々のクラスの分子が包含され得る。例えば、マスト細胞活性インヒビターとしては、１種類以上のT細胞活性化性障害と競合するか、または該障害を阻害するT細胞受容体リガンドが挙げられ得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターがマスト細胞接着インヒビター、マスト細胞の脱顆粒産物のインヒビターおよび／またはB細胞活性化インヒビターであるか、または該インヒビターを含むものである。一部の実施形態では、マスト細胞の脱顆粒産物のインヒビターが、EAEの進行および重症度ならびに視床内でのマスト細胞の脱顆粒を抑止することが示されているヒスタミン受容体-1拮抗薬であるヒドロキシジンである（Dimitriadou et al., Int. J. Immunopharmacol. (2000) 22: 673-684）。20名のMS患者でのヒドロキシジンの小規模の非盲検試験では神経系の安定性または改善が示された（Logothetis et al., Int. J. Immunopath. Pharmacol. (2005) 18: 771-778）。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターが、シトクロムP450ファミリーにおける変異、特に、CYP21A2遺伝子におけるアレル変異を修正する遺伝子療法剤であるか、または該遺伝子療法剤を含むものである。

【0188】

一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターが、マスト細胞の生存、遊走および／または活性のインヒビターである。例えば、マシチニブは、マスト細胞の生存、遊走および活性を有効に阻害する選択的経口チロシンキナーゼ阻害薬であり、35名の進行性MSの患者のフェーズII試験で、ある程度の有効性が示されている（Vermersch et al., BMC Neurol. (2012) 12: 36）。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターが、自己免疫性疾患の病因に関与している複数のシグナル伝達経路を消失させることにより、例えば、炎症性促進性サイトカインIFN- γ 、TNF- α 、IL-1 β およびIL-17ならびにMMPの分泌を阻害することにより、リンパ球、マクロファージ、マスト細胞および樹状細胞において抗増殖活性および免疫調節効果を奏するチロシンキナーゼ阻害薬であるイマチニブ（すなわち、グリーベック（Gleevec））である。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターがMS疾患修飾処置薬（DMT）であり、例えば、ナタリズマブはマスト細胞に影響を及ぼし得るものであり（Kritas et al., Int. J. Immunopathol. Pharmacol. (2014) 27: 331-335）、フマル酸ジメチルはインビトロでマスト細胞のアポトーシスを誘導する（Forster et al., Exp. Dermatol. (2013) 22: 719-724）。

【0189】

当業者には、適切な製剤、適応症および投薬レジメンは典型的には、米国の政府の規制

当局、例えば米食品医薬品局によって分析され、承認されているものであることが認識されよう。多くの実施形態において、マスト細胞活性インヒビターは、かかる承認されたプロトコルに従って本発明に従って投与される。しかしながら、本開示により、マスト細胞活性インヒビターが望ましく投与され得る具体的な患者を同定、特性評価および／または選択するためのある特定の技術を提供する。一部の実施形態では、本開示によって示す見識は、所与のマスト細胞活性インヒビターを、本明細書に記載のとおり（例えば、マスト細胞活性因子および／またはバイオマーカーを発現していると）認定された個体と他の個体の両方を含む集団の試験に基づいて推奨または承認されたものと比べて、多い頻度および／または多い個々の用量で投薬することを可能にするものである（例えば、望ましくない効果の起こりやすさおよび／または発生率もしくは強度が低いため）。一部の実施形態では、本開示によって示す見識は、所与のマスト細胞活性インヒビターを、本明細書に記載のとおり（例えば、マスト細胞活性因子および／またはバイオマーカーを発現していると）認定された個体と他の個体の両方を含む集団の試験に基づいて推奨または承認されたものと比べて、少ない頻度および／または少ない個々の用量で投薬することを可能にするものである（例えば、応答性が高いため）。

10

【0190】

一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターが、生理学的に許容され得る担体または賦形剤も含む医薬組成物で投与される。一部の実施形態では、医薬組成物が滅菌されている。多くの実施形態において、医薬組成物は特定の投与様式用に製剤化される。

【0191】

好適な薬学的に許容され得る担体としては、限定されないが、水、塩溶液（例えば、NaCl）、生理食塩水、緩衝生理食塩水、アルコール、グリセロール、エタノール、アラビアガム、植物油、ベンジルアルコール、ポリエチレングリコール、ゼラチン、炭水化物、例えばラクトース、アミロースまたはデンプン、糖類、例えばマンニトール、スクロースなど、デキストロース、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ酸、粘性パラフィン、香油、脂肪酸エステル、ヒドロキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドンなど、ならびにその組合せが挙げられる。医薬調製物に、所望により、活性化化合物と有害な反応を行わないか、またはその活性に干渉しない1種類以上の補助薬剤（例えば、滑沢剤、保存料、安定剤、湿潤剤、乳化剤、浸透圧に影響を及ぼす塩、バッファー、着色物質、着香物質および／または芳香物質など）を含めてもよい。一部の実施形態では、静脈内投与に適した水溶性担体が使用される。

20

30

【0192】

一部の実施形態では、医薬組成物または医薬には、所望により、ある量の（典型的には少量）の湿潤剤もしくは乳化剤、および／またはpH緩衝剤が含有され得る。一部の実施形態では、医薬組成物が、液状の液剤、懸濁剤、乳剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、徐放製剤または散剤であり得る。一部の実施形態では、医薬組成物が、従来の結合剤および担体、例えばトリグリセリドを用いて坐剤として製剤化され得る。経口製剤には、標準的な担体、例えば医薬等級のマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどが含められ得る。

40

【0193】

一部の実施形態では、医薬組成物が、常套的な手順に従って人に対する投与に適合させた医薬組成物として製剤化され得る。例えば、一部の実施形態では、静脈内投与のための組成物は典型的には、滅菌された等張性水性バッファー中の液剤である。また、必要な場合は、組成物に、可溶化剤および注射部位の痛みを和らげるための局所麻酔薬も含められ得る。一般的に、諸成分は別々に、または一緒に混合して単位投薬形態のいずれかで、例えば、凍結乾燥させた乾燥粉末または水分なしの濃縮物として、密閉密封容器にて、例えば、活性薬剤の量が表示されたアンプルまたは袋にて供給される。組成物が輸注によって投与される場合、これは、滅菌された医薬等級水、生理食塩水またはデキストロース／水が入った輸液ボトルで施薬され得る。組成物が注射によって投与される場合、滅菌された

50

注射用水または生理食塩水のアンプルが、成分が投与前に混合され得るように提供され得る。

【0194】

一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターが中性形態で製剤化され得る。一部の実施形態では、塩形態で製剤化され得る。薬学的に許容され得る塩としては、遊離アミノ基と形成されるもの、例えば、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸などから誘導されるもの、および遊離カルボキシル基と形成されるもの、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウム、水酸化第二鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどから誘導されるものが挙げられる。

10

【0195】

本発明に従う使用のための医薬組成物は任意の適切な経路によって投与され得る。一部の実施形態では、医薬組成物が静脈内投与される。一部の実施形態では、医薬組成物が皮下投与される。一部の実施形態では、医薬組成物が、標的組織、例えば、心臓もしくは筋肉（例えば、筋肉内）、または神経系（例えば、脳内への直接注射；脳室内；髄腔内）への直接投与によって投与される。択一的または付加的に、一部の実施形態では、医薬組成物が、非経口、経皮または経粘膜（例えば、経口もしくは経鼻）で投与される。所望により、1つより多くの経路が並行して使用され得る。本発明の一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターが被験体にナノボットによって送達される。例えば、被験体のマスト細胞活性関連障害を処置する方法は、マスト細胞活性バイオマーカーの存在が検出されるように、およびマスト細胞活性インヒビターが送達されるように適合させたナノボット薬剤を、該バイオマーカーが検出されている場合に該マスト細胞活性インヒビターが投与されるように投与することを含むものである。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターがマスト細胞活性をモジュレートするものであり、ナノボット薬剤によって、マスト細胞の脱顆粒または活性化の前、その最中、またはその後に送達される。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターが、脱顆粒中または脱顆粒後に放出されるマスト細胞代謝産物を中和するものであり、ナノボット薬剤によって送達される。一部の実施形態では、マスト細胞活性モジュレータが、マスト細胞代謝産物の中和剤の送達とともに、該送達の前に、または該送達の後に送達される。

20

【0196】

マスト細胞活性インヒビター（またはマスト細胞活性インヒビターを含む組成物もしくは医薬は、マスト細胞活性バイオマーカーの存在が該被験体由来の試料中において検出されている場合に、単独で、または他のマスト細胞活性インヒビターとともに投与され得る。用語「～とともに」は、第1のマスト細胞活性インヒビターが別のマスト細胞活性インヒビターの前、ほぼ同時、またはその後に投与されることを示す。例えば、第1のマスト細胞活性インヒビターを、1種類以上の異なるマスト細胞活性インヒビターを含む組成物中に混合し、それにより並存的に投与してもよく；あるいはまた、該薬剤を、混合なしで並存的に投与してもよい（例えば、第2のマスト細胞活性インヒビターも投与される静脈ラインへの該薬剤の「抱き合わせ」送達によって、またはその逆）。別の例では、マスト細胞活性インヒビターが、第2のマスト細胞活性インヒビターの投与と別々である（例えば、混合状態でない）が、短い時間枠内で（例えば、24時間以内）に投与され得る。

30

40

【0197】

本発明の一部の実施形態では、第1の薬剤が、コンドロイチン、メチルスルホニルメタン（MSM）、グルコサミン、H₁受容体拮抗薬、H₂受容体拮抗薬およびその組合せからなる群より選択される。一部の実施形態では、第2の薬剤が、選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）、ノルエピネフリンードパミン再取り込み阻害薬（NDR I）およびその組合せからなる群より選択される。

【0198】

一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターで処置される被験体に、1種類以上の免疫抑制薬が投与される。一部の実施形態では、1種類以上の免疫抑制薬が、望ましく

50

ない自己免疫応答（例えば、全腸炎、肝炎、皮膚炎（例えば、中毒性表皮壊死症）、神経障害および／または内分泌障害）、例えば甲状腺機能低下症を低減、抑止または予防するために投与される。例示的な免疫抑制薬としては、ステロイド、抗体、免疫グロブリン融合タンパク質などが挙げられる。一部の実施形態では、免疫抑制薬がB細胞活性を阻害するもの（例えば、リツキシマブ）である。一部の実施形態では、免疫抑制薬がデコイポリペプチド抗原である。

【0199】

一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビター（またはマスト細胞活性インヒビターを含む組成物もしくは医薬）が、治療有効量で（例えば、該当する集団に投与した場合、例えば、マスト細胞活性関連障害と関連している症状が軽快すること、マスト細胞活性関連障害の発現が抑制もしくは遅延されること、および／またはマスト細胞活性関連障害の症状の重症度もしくは頻度が低減されること、MSの再発が予測、予防もしくは処置されることにより、マスト細胞活性関連障害が処置されるのに充分であることが示されている量の投薬量で、および／またはこれらのことが示されている投薬量レジメンに従って）投与される。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターでの処置後、長期間の臨床的有益性が観察される。当業者には、所与の患者におけるマスト細胞活性関連障害の処置に治療上有効な用量は、少なくともある程度、マスト細胞活性関連障害の性質および程度に依存するものであり得、標準的な臨床手法によって決定され得ることが認識されよう。一部の実施形態では、至適投薬量範囲の特定を補助するために1種類以上のインビトロまたはインビボアッセイが任意選択で使用され得る。一部の実施形態では、所与の個体の処置において使用すべき具体的な用量は、投与経路、マスト細胞活性関連障害の程度および／または患者の状況に鑑みた担当医の判断で該当すると思われる1つ以上の他の要素に依存し得る。一部の実施形態では、有効用量は、インビトロまたは動物モデル試験系で作成した用量応答曲線から外挿され得る（例えば、米保健社会福祉省、食品医薬品局、医薬品評価センターによる“Guidance for Industry: Estimating Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers”, Pharmacology and Toxicology, July 2005に記載のとおり。

【0200】

一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターの治療有効量が、例えば、約0.01mg/kgより多い、約0.05mg/kgより多い、約0.1mg/kgより多い、約0.5mg/kgより多い、約1.0mg/kgより多い、約1.5mg/kgより多い、約2.0mg/kgより多い、約2.5mg/kgより多い、約5.0mg/kgより多い、約7.5mg/kgより多い、約10mg/kgより多い、約12.5mg/kgより多い、約15mg/kgより多い、約17.5mg/kgより多い、約20mg/kgより多い、約22.5mg/kgより多い、または約25mg/kg体重より多いものであり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターの治療有効量が、約0.01~25mg/kg、約0.01~20mg/kg、約0.01~15mg/kg、約0.01~10mg/kg、約0.01~7.5mg/kg、約0.01~5mg/kg、約0.01~4mg/kg、約0.01~3mg/kg、約0.01~2mg/kg、約0.01~1.5mg/kg、約0.01~1.0mg/kg、約0.01~0.5mg/kg、約0.01~0.1mg/kg、約1~20mg/kg、約4~20mg/kg、約5~15mg/kg、約5~10mg/kg体重であり得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターの治療有効量が約0.01mg/kg、約0.05mg/kg、約0.1mg/kg、約0.2mg/kg、約0.3mg/kg、約0.4mg/kg、約0.5mg/kg、約0.6mg/kg、約0.7mg/kg、約0.8mg/kg、約0.9mg/kg、約1.0mg/kg、約1.1mg/kg、約1.2mg/kg、約1.3mg/kg、約1.4mg/kg、約1.5mg/kg、約1.6mg/kg、約1.7mg/kg、約1.8mg/kg、約1.9mg/kg、約2.0mg

／k g、約 2.5 m g／k g、約 3.0 m g／k g、約 4.0 m g／k g、約 5.0 m g／k g、約 6.0 m g／k g、約 7.0 m g／k g、約 8.0 m g／k g、約 9.0 m g／k g、約 10.0 m g／k g、約 11.0 m g／k g、約 12.0 m g／k g、約 13.0 m g／k g、約 14.0 m g／k g、約 15.0 m g／k g、約 16.0 m g／k g、約 17.0 m g／k g、約 18.0 m g／k g、約 19.0 m g／k g、約 20.0 m g／k g、体重、またはそれ以上である。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターの治療有効量が約 30 m g／k g 以下、約 20 m g／k g 以下、約 15 m g／k g 以下、約 10 m g／k g 以下、約 7.5 m g／k g 以下、約 5 m g／k g 以下、約 4 m g／k g 以下、約 3 m g／k g 以下、約 2 m g／k g 以下、もしくは約 1 m g／k g 体重以下であるか、またはそれより少ない。

10

【0201】

一部の実施形態では、特定の個体に投与される用量は、個体のニーズに応じて経時的に変更される（例えば、増やす、または減らす）。

【0202】

また別の例では、負荷用量（例えば、高い初期用量）の治療用組成物が処置過程の開始時に投与され得、その後、低い維持用量（例えば、低い後続用量）の該治療用組成物が投与され得る。

【0203】

負荷用量および維持用量の量、間隔および処置持続期間は、任意の利用可能な方法、例えば、本明細書に例示したものおよび当該技術分野で知られているものによって決定され得ることは認識されよう。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターの負荷用量の量が約 0.01～1 m g／k g、約 0.01～5 m g／k g、約 0.01～10 m g／k g、約 0.1～10 m g／k g、約 0.1～20 m g／k g、約 0.1～25 m g／k g、約 0.1～30 m g／k g、約 0.1～5 m g／k g、約 0.1～2 m g／k g、約 0.1～1 m g／k g、または約 0.1～0.5 m g／k g 体重である。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターの維持用量の量が約 0～10 m g／k g、約 0～5 m g／k g、約 0～2 m g／k g、約 0～1 m g／k g、約 0～0.5 m g／k g、約 0～0.4 m g／k g、約 0～0.3 m g／k g、約 0～0.2 m g／k g、約 0～0.1 m g／k g 体重である。一部の実施形態では、負荷用量のマスト細胞活性インヒビターが個体に、所与の期間（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 ヶ月、もしくはそれ以上）の一定間隔および／または所与の回数の用量（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30 回もしくはそれ以上の用量）で投与され、その後、維持投薬が行われる。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターの維持用量が、0～2 m g／k g、約 0～1.5 m g／k g、約 0～1.0 m g／k g、約 0～0.75 m g／k g、約 0～0.5 m g／k g、約 0～0.4 m g／k g、約 0～0.3 m g／k g、約 0～0.2 m g／k g、または約 0～0.1 m g／k g 体重の範囲である。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターの維持用量が約 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8、または 2.0 m g／k g 体重である。一部の実施形態では、維持用量のマスト細胞活性インヒビターが、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 ヶ月間またはそれ以上、投与される。一部の実施形態では、維持投薬が、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 年間またはそれ以上、行われる。一部の実施形態では、維持投薬が無期限に（例えば、一生）行われる。

20

30

40

【0204】

マスト細胞活性インヒビターの治療有効量は、1 回限りの用量として投与してもよく、マスト細胞活性関連障害性質および程度に応じて、ならびに現状に基づいて間隔をあけて投与してもよい。「間隔」をあける投与は、本明細書で用いる場合、治療有効量が定期的に（1 回限りの用量と区別して）投与されることを示す。間隔は、標準的な臨床手法によって決定され得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性インヒビターが、隔月、毎月、

50

月2回、3週毎、2週毎、毎週、週2回、週3回または毎日投与される。一人の個体に対する投与間隔は、固定間隔である必要はなく、個体のニーズおよび回復速度に応じて経時的に変更され得る。

【0205】

本明細書で用いる場合、用語「隔月」は2ヶ月に1回（すなわち、2ヶ月毎に1回）の投与を意味し；用語「毎月」は月1回の投与を意味し；用語「3週毎（“tr i w e e k l y”）」は3週間に1回（すなわち、3週間毎に1回）の投与を意味し；用語「2週毎（“b i w e e k l y”）」は2週間に1回（すなわち、2週間毎に1回）の投与を意味し；用語「毎週」は週1回の投与を意味し；用語「毎日」は1日1回の投与を意味する。

【0206】

本発明は、さらに、本明細書に記載のマスト細胞活性インヒビターを、マスト細胞活性関連障害の処置のための組成物の投与のための使用説明が示された表示を有する容器内（例えば、バイアル、ボトル、静脈内投与バッグ、シリンジ内など）に含む医薬組成物に関する。

【0207】

（マスト細胞活性関連障害の診断方法）

発現プロファイルがマスト細胞活性関連障害と相関する1種類以上のマスト細胞活性因子および／またはバイオマーカーにより、該障害が診断され得る、該障害の色々な病期が識別され得る、該障害の重症度が判断され得る、および／または該障害を発症するリスクが評価され得ることが想定される。したがって、一部の実施形態では、本発明により、本明細書に記載のバイオマーカーの発現レベルを測定するため、被験体がマスト細胞活性関連障害を有するか、マスト細胞活性関連障害を発症するリスクがあるかどうかを調べるため、またはマスト細胞活性関連障害の重症度を調べるために、マスト細胞活性関連障害を有することが疑われる被験体から採取した生物学的試料を解析するための方法を提供する。一部の実施形態では、本発明により、被験体をMSの再発が起こりやすいと診断する方法であって、被験体、または被験体由来の試料中において、検出されたマスト細胞活性バイオマーカーの存在、レベルおよび／または位置、ならびに検出された該マスト細胞活性バイオマーカーに基づいて、MSの再発が起こるのを予測することを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本明細書に記載のマスト細胞活性インヒビターがMSの再発を処置するために投与されるものである。

【0208】

典型的には、かかる方法において、被験体から採取した生物学的試料で調べた、または測定したバイオマーカーのレベルを1種類以上の対照レベルと比較する。該バイオマーカーの種々の対照レベルが使用され得る。例えば、好適な対照レベルは、マスト細胞活性関連障害を有していない対照被験体での該1種類以上のバイオマーカーのレベルを示すものであり得る。かかる対照レベルは、1例以上の健常対照被験体から採取した対照試料において、対応する1種類以上のマスト細胞活性因子および／またはバイオマーカーを同じ条件下で同時に測定することにより得たものであり得る。好適な対照試料は、1例の健常対照個体から得たものであってもよく、複数の健常対照個体由来のプールしたものであってもよい。一部の実施形態では、健常個体における因子またはバイオマーカーのレベルを示す対照レベルが有意な数の個体から測定され得、平均（“a v e r a g e”または“m e a n”）を得る。典型的には、健常対照個体は同等の年齢または他の発育状態の個体である。一部の実施形態では、因子またはバイオマーカーの好適な対照レベルが、既存対照（すなわち、以前に行われた試験もしくはアッセイの、または既に知られている量もしくは結果）とも称される既存のデータに基づいた参照数値である。一部の実施形態では、対照レベルが印刷された、または別の方法で保存された記録であるか、または該記録を含むものである。一部の実施形態では、適切な対照レベルと比べたときの該1種類以上のバイオマーカーの統計学的有意性を伴う高値レベルが、被験体がマスト細胞活性関連障害を有するか、マスト細胞活性関連障害を発症するリスクがあることを示す。一部の実施形態では、適切な対照レベルと比べたときの該1種類以上のバイオマーカーの統計学的有意性を伴う

10

20

30

40

50

低値レベルが、被験体がマスト細胞活性関連障害を有するか、またはマスト細胞活性関連障害を発症するリスクがあることを示す。種々の統計学的手法および解析方法が、バイオマーカーが統計学的有意性を伴って（すなわち、差が不規則変動によって引き起こされたものでない）高値レベルを有するのか低値レベルを有するのかを調べるために使用され得る。例示的な統計学的手法および方法としては、限定されないが、線形判別分析および2次判別分析解析、k-最近傍法が挙げられる。一部の実施形態では、因子またはバイオマーカーは、生物学的試料中で測定された該因子またはバイオマーカーのレベルが対照レベルと比べて20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、1倍、1.2倍、1.5倍、1.75倍、2倍、2.25倍、2.5倍、2.75倍または3倍超高い場合、高値レベルを有する。一部の実施形態では、因子またはバイオマーカーは、生物学的試料中で測定された該因子またはバイオマーカーのレベルが対照レベルと比べて10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%または95%超低い場合、低値レベルを有する。

10

【0209】

一部の実施形態では、マスト細胞活性関連障害に苦しんでいる対照被験体における対応する1種類以上の因子またはバイオマーカーのレベルを示す対照レベルが使用され得る。かかる対照レベルは、対照個体から採取した対照試料または複数の対照個体由来のプールした対照試料において、対応する1種類以上の因子またはバイオマーカーを同じ条件下で同時に測定することにより測定され得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性関連障害に苦しんでいる個体における因子またはバイオマーカーのレベルを示す対照レベルが有意な数の個体から測定され得、平均（“average”または“mean”）を得る。典型的には、好適な対照個体は、同じ型のマスト細胞活性関連障害に苦しんでおり、実質的に同じ疾患および発育状態（例えば、同じ年齢で同様の疾患症状）の個体である。一部の実施形態では、好適な対照レベルは、マスト細胞活性関連障害を有するか、マスト細胞活性関連障害を発症するリスクがあるか、またはマスト細胞活性関連障害のキャリアである被験体と相関している既存のデータ（すなわち、以前に行われた試験もしくはアッセイの、または既に知られている量もしくは結果）に基づいて確立された閾値数値であり得る。このような実施形態において、適切な対照レベルと比べたときの生物学的試料において測定された該1種類以上の因子またはバイオマーカーの統計学的許容誤差の範囲内の実質的に同様のレベルまたは統計学的有意性を伴う高値もしくは低値レベルは、被験体がマスト細胞活性関連障害を有するか、またはマスト細胞活性関連障害を発症するリスクがあることを示す。種々の統計学的方法および手法、例えば本明細書に記載のものが、統計学的許容誤差および統計学的有意性を求めるために使用され得る。一部の実施形態では、因子またはバイオマーカーは、生物学的試料中で測定された該因子またはバイオマーカーのレベルが対照レベルと比べて20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、1倍、1.2倍、1.5倍、1.75倍、2倍、2.25倍、2.5倍、2.75倍または3倍超高い場合、高値レベルを有する。一部の実施形態では、該因子またはバイオマーカーは、生物学的試料中で測定された該因子またはバイオマーカーのレベルが対照レベルと比べて10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%または95%、1倍、1.2倍、1.5倍、1.75倍、2倍、2.25倍、2.5倍、2.75倍または3倍超低い場合、低値レベルを有する。

20

30

40

【0210】

一部の実施形態では、生物学的試料中の1種類以上の因子またはバイオマーカーの高値または低値レベルが、マスト細胞活性関連障害の重症度を調べるために使用され得る。一部の実施形態では、マスト細胞活性関連障害の重症度がMSの重症度である。一部の実施形態では、該障害の重症度および／または病期を調べるために高値または低値レベルの1種類以上のバイオマーカーが定量される。

【0211】

（マスト細胞活性関連障害の処置に有用な薬剤の同定のための方法）

本発明により、とりわけ、マスト細胞活性関連の疾患、障害および／または病的状態の

50

処置に有用な薬剤を同定するための方法を提供する。そのため、本発明に従って同定された薬剤は、マスト細胞活性関連障害、例えばMSの処置に有用であり得る。該方法は、本明細書に開示している任意のマスト細胞活性に対してかかる薬剤を試験すること、ならびにマスト細胞活性関連の疾患、障害および／または病的状態に対してかかる薬剤によってもたらされる防御の度合いを確認することを伴うものである。一部の実施形態では、本発明により、候補薬剤を：脱顆粒、トランスグラニュレーション、マスト細胞活性因子のレベルおよび／または位置、マスト細胞活性因子の遺伝子産物のレベル、組織または器官におけるマスト細胞の局在性または遊走、他の細胞型との相互作用の度合いまたは型、1種類以上の特定のタンパク質（例えば、ミエリン）または部位（例えば、BBBの基底膜）との相互作用の度合いまたは型およびその組合せのモジュレーションについて評価することが想定される。

10

【0212】

マスト細胞活性の安定化。例えば、該薬剤は、該障害が処置されるようにマスト活性を正常な生理学的状態に戻すことによってマスト細胞活性を安定化させ得るものである。一部の実施形態では、候補薬剤が、マスト細胞の増殖を阻害する能力、マスト細胞の遊走を阻害する能力、サイトカインの放出を阻害する能力、脂質由来代謝産物の放出を阻害する能力、顆粒関連代謝産物の放出を阻害する能力、被験体の水分補給を向上させる能力、炎症を低減させる能力およびその組合せについて評価され得る。該薬剤は、任意のこのような活性についてインビトロまたはインビボで、例えば、マスト細胞活性関連障害のマウスモデルにおいて試験され得る。

20

【0213】

一部の実施形態では、候補薬剤をマスト細胞活性の存在、レベルおよび／または位置について評価することが、候補薬剤でのマスト細胞活性の存在、レベルおよび／または位置を対照薬剤でのマスト細胞活性の存在、レベルおよび／または位置と比較することにより行われる。対照薬剤は、例えば、リン酸緩衝生理食塩水、プラセボ、水、ビヒクル、担体であり得る。一部の実施形態では、候補薬剤でのマスト細胞活性レベルが対照薬剤でのマスト細胞活性レベルより20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、1倍、1.2倍、1.5倍、1.75倍、2倍、2.25倍、2.5倍、2.75倍、3倍、4倍、5倍、10倍または100倍超高いか、または低い。したがって、請求項に記載の方法は、マスト細胞関連の疾患、障害および／または病的状態が処置され得る薬剤の同定に有用である。

30

【0214】

（キット）

一部の実施形態では、本開示により、本明細書に記載のバイオマーカーを測定および検出するためのキットを提供する。一部の実施形態では、キットが、被験体においてマスト細胞活性関連障害のバイオマーカーを測定するのに有用である。一部の実施形態では、キットが、1種類以上の特定のマスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を測定するための薬剤を備えている。一部の実施形態では、1種類以上の特定のマスト細胞活性因子が、マスト細胞活性関連障害、例えばMS易罹患性のマスト細胞活性バイオマーカーに寄与することが測定されているものである。

40

【0215】

本発明により、本発明に従って本発明の方法を実施するのに有用な種々の試薬および物質を備えたキットを提供する。本明細書に記載の診断および処置の手順は、診断検査機関、実験検査機関または担当医によって行われ得る。本発明により、このような色々な設定において使用され得るキットを提供する。

【0216】

例えば、因子およびバイオマーカーを測定するため、因子およびバイオマーカーのレベル（例えば、タンパク質、脂質、ヒスタミンまたは核酸のレベル）を測定するため、マスト細胞活性関連障害を診断するため、亜型を同定するため、障害の重症度、病期を特性評価するため、および／または被験体における処置応答を本発明の方法に従ってモニタリ

50

グするための物質および試薬と一緒にキットに一体化され得る。一部の特定の実施形態では、本発明のキットが、1種類以上の因子またはバイオマーカー（例えば、表1から選択されるもの）のタンパク質レベル、脂質レベル、ヒスタミンレベルまたは核酸発現レベルを特異的に検出する少なくとも1種類以上の試薬、およびキットを本発明の方法に従って使用するための使用説明書を備えたものである。

【0217】

各キットは好ましくは、手順を特異的にする試薬を備えたものであり得る。したがって、タンパク質マーカー（またはそのアナログもしくは断片）を検出／定量するためには、該タンパク質の発現レベルを特異的に検出する試薬は、該タンパク質マーカー（またはそのアナログもしくは断片）に特異的に結合する抗体であり得る。バイオマーカーをコードしているポリヌクレオチド配列を含む核酸分子を検出／定量するためには、発現レベルを特異的に検出する試薬は、該ポリヌクレオチド配列に相補的な核酸プローブ（例えば、cDNAまたはオリゴヌクレオチド）であり得る。核酸プローブを基材表面上（例えば、ビーズ、マイクロアレイなど）に固定化してもよく、しなくてもよい。

【0218】

本発明によるキットまたは他の製造物品は、種々の試薬を保持するための1つ以上の容器を含むものであり得る。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ（例えば、プレフィルドシリンジ）、アンプルが挙げられる。容器は、さまざまな材質、例えばガラスまたはプラスチックで形成されたものであり得る。

【0219】

一部の実施形態では、本発明のキットに、本明細書に記載の参照レベルを測定するための適切な参照レベルまたは参照試料が含まれ得る。一部の実施形態では、本発明のキットに、該キットを本発明の1つ以上の方法に従って使用するための使用説明書が含まれ得、被験体から採取した生物学的試料を加工処理するため、および／または試験を行うための使用説明書、結果を解釈するための使用説明書ならびに医薬品または生物製剤の製造、使用または販売を規制する政府機関（例えば、FDA）によって定められた書式の通知書が備えられ得る。

【0220】

本発明は、以下の実施例を参照することによって、より十分に理解されよう。しかしながら、本実施例は、本発明の範囲を限定するものであると解釈されるべきでない。列記した文献はすべて、参照により組み込まれる。

【実施例】

【0221】

（実例）

（実施例1）

実施例1：EAEにおけるT細胞との硬膜内マスト細胞の相互作用

この実施例は、実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）動物モデルにおけるT細胞との硬膜内マスト細胞の相互作用の探究を示す。マスト細胞を有する、および有しないマウスの流入領域深頸リンパ節に由来するT細胞のトランスクリプトミクス指標（*transcriptomic signature*）を、誘導型マスト細胞の脱顆粒に供したマウス由来のT細胞のトランスクリプトミクス指標と比較する。また、この実施例は、種々のマウス群間でのB細胞および単球のプロフィールの比較も示す。

【0222】

EAEを、野生型（*Mog 35-55* EAEモデルを使用）およびマスト細胞欠損マウス（*sash/sash*）において誘導する。2つのさらなる実験群を（1）マスト細胞を再構成し、観察される効果がマスト細胞によるものであり、マスト細胞機能不全に至る変異の副作用によるものでないことを確実にしたマスト細胞欠損マウス（*sash/sash*）；および（2）マスト細胞の脱顆粒を引き起こす化合物で局所処置した（CSF）野生型マウスとする。

【0223】

T細胞、B細胞および単球をこの4つの実験群の5つの組織区画から単離する。区画には：髄膜の空間、髄膜のリンパ管、実質、深頸リンパ節および血液を含める。細胞を4つの時間点：i) 免疫処置後7日目（臨床徴候前）、ii) 免疫処置後10～12日目（最初の臨床徴候の出現）、iii) 免疫処置後18～20日目（臨床徴候のピーク）、およびiv) 免疫処置後30日後（臨床スコアがその最低水準で安定化する）で単離する。。

【0224】

細胞を、4つの処置群の各々の少なくとも18匹のマウスから単離する。6匹のマウスの細胞および組織を1つの試料にプールし（すなわち、各器官について各条件の3つの試料）、ディープRNAシーケンシングによって分析する。RNAシーケンシング試験のデータを分析し、マスト細胞に曝露されていない細胞（すなわち、マスト細胞欠損マウス由来のT細胞）と比べたときの正常または脱顆粒マスト細胞に曝露されたT細胞の機能の差を特定する。T細胞上に特有のバイオマーカーが同定される。

【0225】

並行して、ディープRNAシーケンシングを、MS患者から採取した血液試料から単離したT細胞から抽出したRNAにおいて行う。ヒトT細胞およびマウスT細胞の解析の結果を比較し、同様のマーカー、または病原性について予測的なマーカーセットの発現を評価する。

【0226】

（実施例2）

実施例2：ヒトMS末梢T細胞および誘導型マスト細胞脱顆粒を有するマウス由来のT細胞のトランスクリプトミクス指標の比較

この実施例は、ヒトMS末梢T細胞におけるRNAシーケンシング由来のトランスクリプトミクス指標と実施例1のマウス試験で得られたものとの比較を示す。

【0227】

CLIMB試験（Comprehensive Longitudinal Investigations in MS）に登録された2つのMS患者群に由来する血液試料を解析する。これらの群には、1) 初期のMSを有する患者：疾患の発現から1年以内のMS患者から採取した試料（n=10）および2) 再発を有する患者：再発前の7日以内にMS患者から採取した試料（n=10）を含める。第1の実験群（初期のMS）の対照群は年齢および性別をマッチングさせた健常対照（n=10）である。第2の実験群（再発MS）の対照群は寛解時の同じ患者である。

【0228】

T細胞を末梢血単核細胞（PBMC）から、MACs Bead分離を用いて単離する。T細胞をPBMCから分取し、次いで、さらに分取し、CD45およびCCR7抗体ならびにフローサイトメトリーを用いてナイーブ、エフェクター、セントラルおよびエフェクターメモリー細胞集団を単離する。T細胞の転写プロファイルを、RNA-seqおよびバリエーションコーリングを用いて得る。転写プロファイルを、実施例1のマウス試験で得られたプロファイルと比較する。

【0229】

また、B細胞および単球もPBMCから単離する。B細胞および単球の転写プロファイルを、RNA-seqおよびバリエーションコーリングを用いて得る。転写プロファイルを、実施例1のマウス試験で得られたプロファイルと比較する。

【0230】

（実施例3）

実施例3：ホルモンによるマスト細胞活性およびT細胞の脳炎誘発性誘導のインビトロトリガーの評価

この実施例は、ホルモンがマスト細胞の脱顆粒の誘発を増強し、T細胞の脳炎誘発性表現型二次的に増強することを示す。特に、マスト細胞の脱顆粒およびT細胞の脳炎誘発性誘導に対する性ホルモンおよびストレスホルモンの効果を、RNA-Seqトランスクリプトミクスプロファイルの解析によって示す。

10

20

30

40

50

【0231】

コルチゾール刺激マスト細胞をT細胞とともにインキュベートする。このT細胞を収集し、RNAを抽出する。このRNAをRNA-Seqによって分析し、プロファイルをナイーブT細胞と比較する。エストラジオール刺激マスト細胞をT細胞とともにインキュベートする。このT細胞を収集し、RNAを抽出する。このRNAをRNA-Seqによって分析し、プロファイルをナイーブT細胞と比較する。プロゲステロン刺激マスト細胞をT細胞とともにインキュベートする。このT細胞を収集し、RNAを抽出する。このRNAをRNA-Seqによって分析し、プロファイルをナイーブT細胞と比較する。

【0232】

(実施例4)

10

実施例4：マスト細胞活性化因子および脱顆粒因子はMSの再発時に増加する。

この実施例は、マスト細胞活性化因子および脱顆粒因子がMSの再発時に増加しており、寛解期間と比べて増加していることを示す。

【0233】

RRMSを有する成人患者を、急性MSの再発時にマスト細胞活性化因子および脱顆粒因子の増加がみられるかどうかを調べるための試験に登録する。組み入れ基準には：1) RRMSがMcDonald基準を満たすこと、2) 年齢が18～40歳、3) CLIMB試験への登録、4) 試験担当医によって確認された再発発現の7日以内、5) 再発前の30日以内にステロイド処置なし、6) 許容され得る基本型DMT：INF、GA、タイサブリ、ギレンヤ (Gilenya) を含める。合計30例の被験体を試験する。

20

【0234】

寛解期間の試料を再発試料の3～6ヶ月後に収集する。ステロイド処置前の30日以内の試料は収集しない。患者には、再発期間中と同じ基本型DMTを投与する。

【0235】

急性再発の7日以内に、患者にステロイドの静脈内輸注を提示し、血液および尿試料を採取する。3～6ヶ月後、第2の血液および24時間尿試料を採取する。また、健常対照個体由来の血液および尿試料も採取する。CSF試料を採取する。

【0236】

血清を血液から単離し、サイトカイン (IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-17、IL-33、TNF- α 、好酸球走化性因子)、トリプターゼ、チマーゼ、ヒスタミン、ヘパリン、クロモグラニンA、ロイコトリエンE₄、プロスタグランジン (プロスタグランジンE₂、プロスタグランジンD₂、11 β -PGF_{2 α} 、tetranor-PGDMおよび他のプロスタグランジン代謝産物)、CRH、コルチゾールならびにIgEについて試験する。メタボロミクスプロファイリングを血清試料に対して行い、この試料中にみられる完全なセットの小分子代謝産物 (例えば、代謝中間体、ホルモンおよび他のシグナル伝達分子、ならびに二次代謝産物) を調べる。

30

【0237】

RNAを全血試料から単離し、RNAシーケンシングを行う。試料を、マスト細胞活性化マーカー転写物、例えば (include) CD117 (これはマスト/幹細胞増殖因子受容体またはc-Kitとしても知られている) について評価する。CSF試料をPGE-2、ロイコトリエン、CSF細胞内転写物についてメタボロミクスプロファイリングによって分析する。プロスタグランジンE₂、ロイコトリエン、11- β -プロスタグランジンF_{2 α} およびN-メチルヒスタミンのレベルを尿試料において測定する。メタボロミクスプロファイリングを尿試料に対して行い、この試料中にみられる完全なセットの小分子代謝産物 (例えば、代謝中間体、ホルモンおよび他のシグナル伝達分子、ならびに二次代謝産物) を調べる。

40

【0238】

健常対照、再発時のMS患者および寛解時のMS患者から採取した血液、尿およびCSF試料中に存在するバイオマーカーのレベルを比較する。

【0239】

50

(実施例 5)

実施例 5：MS 再発の重症度との関連におけるマスト細胞活性および脱顆粒のトリガーの評価

この実施例は、マスト細胞の脱顆粒の度合いが MS 再発の重症度と関連していることを示す。

【0240】

MS 再発の重症度は患者の担当医が評価する。再発からの回復も患者の担当医が評価する。実施例 4 で測定した血液および尿中のマスト細胞活性因子レベルを再発および回復時の臨床所見と関連させる。

【0241】

(実施例 6)

実施例 6：マスト細胞誘導型 T 細胞活性トランスクリプトームの検証

この実施例は、先の実施例で同定されたトランスクリプトームと BBB およびリンパ管構造における遺伝子発現との関連を示す。CRISP R-Cas9 系ならびに動物ノックアウトモデルが使用される。

【0242】

(実施例 7)

実施例 7：MS の RNA-seq トランスクリプトミクス指標に関連している遺伝子マーカー

この実施例は、MS の RNA-seq トランスクリプトーム指標に関連している遺伝子マーカーを示す。MS 患者および健常対照（対比）におけるマスト細胞関連アレルバリエント（例えば、CYP21A2）の存在を、全ゲノムシーケンシングを用いて示す。

【0243】

(実施例 8)

実施例 8：がんのマスト細胞活性因子およびバイオマーカー

この実施例は、がんのマスト細胞活性因子およびバイオマーカーの同定を示す。

【0244】

がん患者由来の腫瘍試料およびマッチング正常組織試料を採取する。以下の型のがん：乳がん膀胱がん、乳がん、カルチノイド、結腸がん、直腸がん、膠芽腫、肝臓がん、肺がん、非小細胞肺がん、慢性リンパ性白血病、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、悪性黒色腫、多発性骨髄腫、神経芽腫、卵巣がん、膵がん、前立腺がん、腎細胞癌、咽喉がんおよび子宮がん由来の試料を試験する。RNA、DNA および表 1 に記名したマスト細胞活性因子を腫瘍試料および正常組織試料から抽出する。RNA を RNA-Seq によって分析し、腫瘍試料とマッチング正常組織試料のトランスクリプトームプロファイルを比較し、関連するバイオマーカーを同定する。DNA は、全エクソームシーケンシングにより、特異的バリエント、例えば、P450 酵素ファミリー（例えば、CYP21A2）の遺伝子のアレルバリエントについて分析する。腫瘍試料とマッチング正常組織試料で得られた結果を比較し、関連するバイオマーカーを同定する。マスト細胞活性因子の存在、レベルおよび／または位置を腫瘍試料およびマッチング正常組織試料中において調べる。腫瘍試料とマッチング正常組織試料で得られた結果を比較し、関連するバイオマーカーを同定する。

【0245】

(実施例 9)

実施例 9：SJL マウスにおける実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）試験

この実施例は、多発性硬化症のマウスモデルにおけるマスト細胞活性因子およびバイオマーカーの検出を示す。

【0246】

能動免疫処置により EAE を発症しているマウスの尿および血清中の PGD₂ の代謝産物である PGDM ならびにヒスタミンおよび／または N-メチルヒスタミンの存在を測定した。EAE は、SJL マウスのミエリンプロテオリピドタンパク質（PLP）₁₃₉-

10

20

30

40

50

151 / 完全フロイントアジュバント (CFA) 免疫処置によって誘導した。

【表2】

表2. 試験デザイン

モデル	
記	S J L マウスにおける E A E
動物の系統 (1 匹または複数) および性別 (1 匹または複数)	S J L マウス, 雌
0 日目	免疫処置日
試験の長さ	16 日間 (0 日目から 15 日目まで)
動物および群	
動物の総数	23
動物の供給元	The Jackson Laboratory (ブリーダー)
試験開始 (0 日目) 時の年齢	8 ~ 9 週齢
群の数	1
群サイズ	23 匹の動物 (表3のとおり)
群割り付け日 (1 または複数)	0 日目
読み出し情報	
スコアリング開始	免疫処置後 9 日目
スコアリング終了	15 日目
スコアリング頻度	毎日
重量測定開始	0 日目
重量測定終了	試験終了時
重量測定頻度	3 回 / 週 (月曜日, 水曜日, 金曜日)
組織の収集および解析	3 匹のマウス (表3のとおり) から毎日、尿、血清、脳、 脊髄、頸部リンパ節を収集

【0247】

(E A E 誘導)

試験開始前の 4 週間、マウスを試験施設に馴化させた。E A E をすべてのマウスにおいて、PLP₁₃₉₋₁₅₁ / CFA での免疫処置によって誘導した。具体的には、マウスの背中の 4 つの部位に、Hook Kit PLP₁₃₉₋₁₅₁ / CFA Emulsion, カタログ番号 EK-0120 (Hook Laboratories, Lawrence MA) の PLP₁₃₉₋₁₅₁ を含有する乳剤を皮下注射した。2 つの注射部位は上背の首ラインのおよそ 1 cm 尾側であった。さらに 2 つの部位は、下背の尻尾の根元のおよそ 2 cm 頭側であった。注射量は各部位で 0.05 mL であった。

【0248】

23 匹すべてのマウスを 1 つの群にした。マウスを麻痺 (E A E) の徴候について毎日スコアリングした (免疫処置後 9 日目から開始)。マウスを、以下の表 3 のスケジュールに従って致死させた。

【表 3】

表 3. 致死スケジュール

致死	動物数
4 日目	3
5 日目	3
6 日目	3
7 日目	3
8 日目	3
9 日目	3
1 3 日目	5

10

【0 2 4 9】

4、5、6、7、8および9日目の各日に、3匹のマウスを致死させ、以下に表4に記載のとおり組織を収集した。EAEの発病を11日目と予測し、したがって、マウスは、9日目までEAEの徴候なしであると予測した。残りの5匹のマウスをEAE発現（13日目）の初日または2日目に致死させた。

20

【0 2 5 0】

（組織の収集）

以下の組織および体液を、各マウスから致死時に、表4に示すとおりに収集した。また、4匹の無処置マウス（すなわち、EAE誘導なし）からも尿および血清を収集し、ベースライン対照とした。

- ・尿
- ・血清
- ・OCT中で凍結させた頸部リンパ節（2）
- ・脳，OCT中で凍結
- ・4%ホルマリン中で24時間、固定し、次いでOCT中で凍結させた脊髄

30

【表 4】

表 4. 被検査物の収集

ケージ 番号	マウス 番号	マウス I D 番号	免疫処置後 3 日目の尿収集	免疫処置後 収集/致死の日	尿	血液 (血清)	脳 (全体)	頸部 リンパ節	脊髄
1	1	1-1		4	+	+	+	+	+
	2	1-2		4		+	+	+	+
	3	1-3		4		+	+	+	+
	4	1-4		5	+	+	+	+	+
	5	1-5		6	+	+	+	+	+
	6	1-6		13	+	+			
2	1	2-1		8	+	+	+	+	+
	2	2-2		13	+	+			
	3	2-3	+	8	+	+	+	+	+
	4	2-4		13	+	+			
	5	2-5	+	13	+	+			
	6	2-6	+						
3	1	3-1	+	5	+	+	+	+	+
	2	3-2	+	5	+	+	+	+	+
	3	3-3	+	7	+	+	+	+	+
	4	3-4		9	+	+	+	+	+
	5	3-5	+	8	+	+	+	+	+
	6	3-6		9	+	+	+	+	+
4	1	4-1	+	6	+	+	+	+	+
	2	4-2	+	7	+	+	+	+	+
	3	4-3	+	7	+	+	+	+	+
	4	4-4	+	6	+	+	+	+	+
	5	4-5		9	+	+	+	+	+

【0251】

(体液(尿および血清)の分析)

N-メチルヒスタミンおよび/またはヒスタミン(Enzo, ENZ-KIT140)について、比色ELISAを尿および血清の各試料に対して行った。ELISA法は0.03ng/mLまで高感度であった。全サンプルサイズが小さいため、各試料を一連で試験した。

【0252】

tetranor-PGDM(プロスタグランジンD₂の代謝産物)(Cayman, カタログ番号501001)について、競合的ELISAを尿および血清の各試料に対して行った。tetranor-PGDMは、PGD₂の主要代謝産物であり、ヒトおよびマウスの尿中にみられる。ELISA法ではtetranor-PGDMを安定な誘導体tetranor-PGJMに変換させ、これが定量され得る。この方法により6.4~4,000pgのtetranor-PGDM/mLが検出される。

【0253】

(読み出し情報)

マウスをEAEについて9日目から試験終了まで毎日スコアリングし、体重を3回/週で測定した(月曜日、水曜日および金曜日)(0日目から開始)。試験最終日を15日目

とした。スコアリングは盲検的に、各マウスの処置および先のスコアどちらについても知らされていない人が行った。読み出し情報は、0～5段階で0.5きざみの単位のEAEスコアおよび体重の変化とした（表5）。

【表5－1】

表5. EAEスコアリング

スコア	臨床観察結果
0.0	非免疫処置マウスと比べて明白な運動機能の変化なし。 尻尾の根元を持ってつまみ上げると、尻尾はピンと張っており、まっすぐになる。後肢は通常、大きく広がっている。マウスが歩いているとき、歩行または頭の傾斜はみとめられない。
0.5	尻尾の先端がだらりとしている。 尻尾の根元を持ってつまみ上げると、尻尾は先端以外、ピンと張っている。尻尾に筋肉の緊張が感じられるが、尻尾は動き続けている。
1.0	だらりとした尻尾。 尻尾の根元を持ってつまみ上げると、まっすぐになるのではなく、尻尾全体がファイナー（f i n e r）の上に垂れる。後肢は通常、大きく広がっている。尻尾の動きの徴候は観察されない。
1.5	だらりとした尻尾および後肢の障害。 尻尾の根元を持ってつまみ上げると、尻尾全体が指の上に垂れる。マウスを金網台上に落とすと、一貫して少なくとも一方の後肢を踏み外す。歩行はごくわずかによろよろしている。
2.0	だらりとした尻尾および後肢の衰弱。 尻尾の根元を持ってつまみ上げると、脚は大きく広がらずに、一緒に近づいた状態になる。マウスの歩行を観察すると、はっきりと明らかによろよろ歩行である。一方の足はつま先の引きずりを有する場合があるが、他方の脚は明らかな動きの障害を有しない。 または マウスはスコア0.0であるようにみえるが、歩行を観察した場合、明白な頭の傾斜の徴候がみられる。バランスが悪い。
2.5	だらりとした尻尾および後肢の引きずり。 どちらの後肢もいくらかの動きを有するが、どちらも足を引きずっている（マウスは後足でつまずく）。 または 一方の脚に動きがない／一方の脚を完全に引きずっているが、他方の脚は動く。 または つまみ上げたとき、EAEの重症度は軽度にみえる（スコア0.0～1.5の場合のように）が、強い頭の傾斜がみられ、このためマウスは時々倒れる。

10

20

30

40

【表 5 - 2】

3. 0	だらりとした尻尾および後肢の完全な麻痺（最も多くみられる）. または だらりとした尻尾およびほぼ後肢の完全な麻痺. 一方もしくは両方の後肢はバタバタさせることができるが、どちらの後肢も後臀部の前方に動かすことができない. または だらりとした尻尾, 一方の前肢および一方の後肢に麻痺を伴う. または 以下のすべて: ☐ 重度の頭の傾斜, ☐ ケージの端に沿ってのみ歩行, ☐ ケージ壁を押す, ☐ 尻尾の根元を持ってつまみ上げると回転する.	10
3. 5	だらりとした尻尾および後肢の完全な麻痺. さらに:	
	マウスはケージ内を動き回るが、横向きに寝かせると、起き上がることができない. 後肢は体の片側に一緒になる. または マウスはケージ内を動き回るが、後ろ四半部がパンケーキのように平らになり、マウスの前四半部がこぶに見える.	20
4. 0	だらりとした尻尾、後肢の完全麻痺および前肢の部分麻痺. マウスがケージ内を動き回るのは最小限であるが、警戒と摂食はみられる. マウススコア 4. 0 が 2 日間の後は、しばしば、安楽死が推奨される. しかしながら、毎日、皮下輸液を行うと、ほとんどの C 5 7 B L / 6 マウスは 3. 5 または 3. 0 に回復し得るが、S J L マウスは、疾患ピーク時にスコア 4. 0 に達している場合であっても完全に回復し得る. 重度の麻痺のためマウスを安楽死させる場合、残りの実験で、このマウスに対してスコア 5. 0 を記入する.	
4. 5	後肢の完全麻痺および前肢の部分麻痺、ケージ内を動き回らない. マウスは警戒しない. マウスの動きは前肢で最小限である. マウスは触るとかろうじて応答する. 安楽死が推奨される. 重度の麻痺のためマウスを安楽死させる場合、残りの実験で、このマウスに対してスコア 5. 0 を記入する.	30
5. 0	マウスは自然にケージ内を転がる（安楽死が推奨される）. または マウスは麻痺のため死んでいるのがみつかると. または 重度の麻痺のためマウスを安楽死させる.	40

【0 2 5 4】

(結果)

E A E スコアを、試験の 1 3 日目に致死させた 5 匹のマウスにおいて測定した (表 6)。
5 匹のうち 4 匹のマウスが免疫処置後 1 3 日目までに E A E の有意な徴候を発現した (図 1)。

【表 6】

表 6. E A E スコア

ケージ 番号	マウス 番号	日 目	9	1 0	1 1	1 2	1 3	M M S	平均の 発病日	E A E の 発生率	発病時 のスコ ア	最終ス コア
		マウス I D 番号										
1	1	1-1										
	2	1-2										
	3	1-3										
	4	1-4										
	5	1-5										
	6	1-6	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0	3. 5	3. 5	1 3		3. 5	3. 5
2	1	2-1										
	2	2-2	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0	3. 0	3. 0	1 3		3. 0	3. 0
	3	2-3										
	4	2-4	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0	3. 5	3. 5	1 3		3. 5	3. 5
	5	2-5	0. 0	0. 0	0. 0	1. 5	3. 5	3. 5	1 2		1. 5	3. 5
	6	2-6	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0	0. 0				0. 0
3	1	3-1										
	2	3-2										
	3	3-3										
	4	3-4										
	5	3-5										
	6	3-6										
4	1	4-1										
	2	4-2										
	3	4-3										
	4	4-4										
	5	4-5										
		平均	0. 0 0	0. 0 0	0. 0 0	0. 3 0	2. 7 0	2. 7 0	1 2. 8	1 7. 4%	2. 8 8	2. 7 0
		標準偏差	0. 0 0	0. 0 0	0. 0 0	0. 6 7	1. 5 2	1. 5 2	0. 5		0. 9 5	1. 5 2
		S E M	0. 0 0	0. 0 0	0. 0 0	0. 3 0	0. 6 8	0. 6 8	0. 3			

【0 2 5 5】

マウスの体重を、試験の 0、4、5、7、10 および 12 日目に測定し（表 7）、試験の 0 日目の体重に対する体重のパーセントを求めた（表 8 および図 2）。

10

20

30

【表 7】

表 7. 体重

		日 目	0	0	0	4	5	7	1 0	1 2
ケージ 番号	マウス番号	マウス I D 番号								
1	1	1 - 1	19. 8	19. 6	19. 7	20. 6				
	2	1 - 2	19. 9	19. 8	19. 9	20. 6				
	3	1 - 3	18. 6	18. 4	18. 5	18. 1				
	4	1 - 4	19. 3	19. 3	19. 3	20. 5	21. 1			
	5	1 - 5	18. 4	18. 2	18. 3	18. 5	18. 8			
	6	1 - 6	21. 0	21. 2	21. 1	21. 2	21. 6	22. 0	21. 6	19. 4
2	1	2 - 1	18. 6	18. 5	18. 6	19. 8	20. 2	20. 2		
	2	2 - 2	18. 9	18. 8	18. 9	20. 2	20. 4	20. 3	21. 0	20. 4
	3	2 - 3	18. 9	18. 7	18. 8	19. 5	19. 6	19. 9		
	4	2 - 4	19. 5	19. 5	19. 5	19. 7	20. 4	21. 3	22. 1	20. 2
	5	2 - 5	23. 1	23. 0	23. 1	23. 6	23. 5	23. 2	21. 6	18. 7
	6	2 - 6	18. 0	17. 7	17. 9	17. 7	18. 7	19. 0	20. 7	20. 6
3	1	3 - 1	19. 0	18. 8	18. 9	19. 0	18. 3			
	2	3 - 2	18. 8	18. 6	18. 7	17. 5	18. 4			
	3	3 - 3	19. 7	19. 6	19. 7	20. 7	21. 7	21. 4		
	4	3 - 4	22. 3	22. 3	22. 3	21. 8	21. 7	21. 8		
	5	3 - 5	18. 9	18. 7	18. 8	18. 9	18. 8	19. 5		
	6	3 - 6	19. 8	19. 7	19. 8	19. 5	19. 8	19. 8		
4	1	4 - 1	17. 8	17. 7	17. 8	18. 1	18. 4			
	2	4 - 2	21. 8	21. 7	21. 8	22. 7	21. 9	21. 4		
	3	4 - 3	20. 3	20. 1	20. 2	19. 5	19. 5	19. 4		
	4	4 - 4	20. 9	20. 8	20. 9	21. 6	21. 7			
	5	4 - 5	17. 5	17. 4	17. 5	18. 1	18. 4	18. 5		
		平均			19. 5	19. 9	20. 1	20. 6	21. 4	19. 9
		標準偏差			1. 5	1. 6	1. 5	1. 3	0. 6	0. 8
		S E M			0. 3	0. 3	0. 3	0. 4	0. 2	0. 4

10

20

30

【表 8】

表 8. 体重のパーセント

ケージ 番号	マウス 番号	日目	0	4	5	7	10	12	最終 体重%
		マウス I D 番号							
1	1	1-1	100.0%	104.6%					104.6%
	2	1-2	100.0%	103.8%					103.8%
	3	1-3	100.0%	97.8%					97.8%
	4	1-4	100.0%	106.2%	109.3%				109.3%
	5	1-5	100.0%	101.1%	102.7%				102.7%
	6	1-6	100.0%	100.5%	102.4%	104.3%	102.4%	91.9%	91.9%
2	1	2-1	100.0%	106.7%	108.9%	108.9%			108.9%
	2	2-2	100.0%	107.2%	108.2%	107.7%	111.4%	108.2%	108.2%
	3	2-3	100.0%	103.7%	104.3%	105.9%			105.9%
	4	2-4	100.0%	101.0%	104.6%	109.2%	113.3%	103.6%	103.6%
	5	2-5	100.0%	102.4%	102.0%	100.7%	93.7%	81.1%	81.1%
	6	2-6	100.0%	99.2%	104.8%	106.4%	116.0%	115.4%	115.4%
3	1	3-1	100.0%	100.5%	96.8%				96.8%
	2	3-2	100.0%	93.6%	98.4%				98.4%
	3	3-3	100.0%	105.3%	110.4%	108.9%			108.9%
	4	3-4	100.0%	97.8%	97.3%	97.8%			97.8%
	5	3-5	100.0%	100.5%	100.0%	103.7%			103.7%
	6	3-6	100.0%	98.7%	100.3%	100.3%			100.3%
4	1	4-1	100.0%	102.0%	103.7%				103.7%
	2	4-2	100.0%	104.4%	100.7%	98.4%			98.4%
	3	4-3	100.0%	96.5%	96.5%	96.0%			96.0%
	4	4-4	100.0%	103.6%	104.1%				104.1%
	5	4-5	100.0%	103.7%	105.4%	106.0%			106.0%
		平均	100.0%	101.8%	103.0%	103.9%	107.4%	100.1%	102.1%
		標準 偏差	0.0%	3.5%	4.2%	4.5%	9.2%	13.6%	7.0%
		S E M	0.0%	0.7%	0.9%	1.2%	4.1%	6.1%	1.5%

10

20

30

【0256】

尿は無処置マウスおよびE A Eマウスから、免疫処置後3、4、5、6、7、8、9および13日目に採取した。血清は無処置マウスおよびE A Eマウスから、免疫処置後4、5、6、7、8、9および13日目に採取した。尿および血清中のヒスタミンを、上記のE L I S A法を用いて測定した（図3 Aおよび3 B）。個々のマウスのデータを表9に示す。

【表 9 - 1】

表 9 . ヒスタミン値

		ヒスタミン n g / m L	
	試料	尿	血清
群	マウス I D		
無処置	N 1	3 7 . 2	3 4 . 3
	N 2	1 3 . 9	3 5 . 0
	N 3	3 7 . 2	3 0 . 6
	N 4	3 4 . 0	3 2 . 0
平均		3 0 . 6	3 3 . 0
標準偏差		1 1 . 2	2 . 0
S E M		5 . 6	1 . 0
3 日 目	2 - 3	8 6 . 9	採取せず
	2 - 5	4 9 . 9	採取せず
	2 - 6	6 8 . 4	採取せず
	3 - 1	7 3 . 2	採取せず
	3 - 2	5 8 . 4	採取せず
	3 - 3	5 9 . 7	採取せず
	3 - 5	6 5 . 4	採取せず
	4 - 1	5 7 . 1	採取せず
	4 - 2	5 4 . 5	採取せず
	4 - 3	7 3 . 2	採取せず
	4 - 4	5 3 . 3	採取せず
平均		6 3 . 6	
標準偏差		1 1 . 0	
S E M		3 . 3	
t - 検 定 *		0 . 0 0 0 2	
4 日 目	1 - 1	5 1 . 1	3 5 . 8
	1 - 2	採取せず	3 4 . 3
	1 - 3	採取せず	3 5 . 8
平均		5 1 . 1	3 5 . 3
標準偏差			0 . 9
S E M			0 . 5
t - 検 定 *			0 . 1 2 8 8
5 日 目	1 - 4	6 2 . 5	3 7 . 5
	3 - 1	5 1 . 1	4 0 . 1
	3 - 2	4 7 . 7	4 1 . 1
平均		5 3 . 7	3 9 . 6
標準偏差		7 . 7	1 . 8
S E M		4 . 5	1 . 1
t - 検 定 *		0 . 0 2 8 7	0 . 0 0 7 1
6 日 目	1 - 5	3 3 . 2	3 8 . 4
	4 - 1	2 1 . 1	2 8 . 6
	4 - 4	2 2 . 6	3 6 . 7
平均		2 5 . 6	3 4 . 6
標準偏差		6 . 6	5 . 2
S E M		3 . 8	3 . 0
t - 検 定 *		0 . 5 3 3 7	0 . 5 9 5 1

10

20

30

40

【表 9 - 2】

7 日 目	3 - 3	3 6 . 4	4 0 . 1
	4 - 2	4 0 . 7	3 7 . 5
	4 - 3	2 4 . 4	3 8 . 4
平均		3 3 . 8	3 8 . 7
標準偏差		8 . 4	1 . 3
S E M		4 . 9	0 . 8
t - 検 定 *		0 . 6 9 2 0	0 . 0 0 8 8
8 日 目	2 - 1	3 8 . 0	3 7 . 5
	2 - 3	4 9 . 9	3 0 . 6
	3 - 5	9 7 . 3	3 6 . 7
平均		6 1 . 7	3 4 . 9
標準偏差		3 1 . 4	3 . 8
S E M		1 8 . 1	2 . 2
t - 検 定 *		0 . 1 1 8 3	0 . 4 1 2 0
9 日 目	3 - 4	1 9 . 0	4 6 . 0
	3 - 6	1 2 . 4	3 4 . 3
	4 - 5	3 9 . 8	3 8 . 4
平均		2 3 . 7	3 9 . 6
標準偏差		1 4 . 3	5 . 9
S E M		8 . 3	3 . 4
t - 検 定 *		0 . 5 0 8 3	0 . 0 8 7 8
1 3 日 目	1 - 6	7 7 . 8	3 0 . 6
	2 - 2	1 8 . 2	2 9 . 2
	2 - 4	2 9 . 9	3 3 . 5
	2 - 5	2 3 . 3	3 9 . 2
平均		3 7 . 3	3 3 . 1
標準偏差		2 7 . 4	4 . 4
S E M		1 3 . 7	2 . 2
t - 検 定 *		0 . 6 6 5 1	0 . 9 5 3 4

* 無処置群に対する E A E 群の t - 検定による比較 ($p < 0 . 0 5$ を有意とみなした)

【 0 2 5 7 】

無処置マウスでのレベルと比べて尿中ヒスタミン／N-メチルヒスタミンレベルの有意な増大が 3 日目と 5 日目に検出された。無処置マウスでのレベルと比べて血清中ヒスタミンレベルの有意な増大が 5 日目と 7 日目に検出された。

【 0 2 5 8 】

尿および血清中の P G D M を、上記の E L I S A 法を用いて測定した (図 4 A および 4 B) 。個々のマウスのデータを表 1 0 に示す。

10

20

30

【表 10 - 1】

表 10 . P G D M 値

		P G D M n g / m L	
	試料	尿	血清
群	マウス I D		
無処置	N 1	8 . 6 2 2	0 . 1 4 8
	N 2	9 . 5 6 8	0 . 1 0 4
	N 3	8 . 6 2 2	0 . 0 5 0
	N 4	8 . 9 8 9	0 . 1 6 4
	平均	8 . 9 5 0	0 . 1 1 7
	標準偏差	0 . 4 4 7	0 . 0 5 1
	S E M	0 . 2	0 . 0
3 日 目	2 - 3	2 6 . 5 4 4	採取せず
	2 - 5	1 0 . 3 9 9	採取せず
	2 - 6	1 4 . 3 5 2	採取せず
	3 - 1	1 6 . 2 6 1	採取せず
	3 - 2	1 4 . 9 6 2	採取せず
	3 - 3	1 3 . 4 8 3	採取せず
	3 - 5	1 4 . 3 5 2	採取せず
	4 - 1	1 5 . 9 2 6	採取せず
	4 - 2	1 5 . 5 9 8	採取せず
	4 - 3	1 5 . 9 2 6	採取せず
	4 - 4	1 5 . 5 9 8	採取せず
	平均	1 5 . 7 6 4	
	標準偏差	3 . 9 3 9	
	S E M	1 . 1 8 8	
	t - 検 定 *	0 . 0 0 5 0	
4 日 目	1 - 1	1 0 . 1 8 5	0 . 2 7 1
	1 - 2	採取せず ^a	0 . 9 0 5
	1 - 3	採取せず ^a	0 . 4 1 0
	平均	1 0 . 1 8 5	0 . 5 2 9
	標準偏差		0 . 3 3 3
	S E M		0 . 1 9 2
	t - 検 定 *		0 . 0 5 3 4
5 日 目	1 - 4	1 5 . 5 9 8	0 . 2 9 4
	3 - 1	1 0 . 3 9 9	0 . 3 4 7
	3 - 2	9 . 5 6 8	0 . 3 2 0
	平均	1 1 . 8 5 5	0 . 3 2 0
	標準偏差	3 . 2 6 8	0 . 0 2 7
	S E M	1 . 8 8 7	0 . 0 1 5
	t - 検 定 *	0 . 1 2 9 3	0 . 0 0 1 6
6 日 目	1 - 5	1 0 . 1 8 5	0 . 3 7 8
	4 - 1	7 . 9 3 4	0 . 7 2 0
	4 - 4	8 . 8 0 4	0 . 6 0 9
	平均	8 . 9 7 4	0 . 5 6 9
	標準偏差	1 . 1 3 5	0 . 1 7 4
	S E M	0 . 6 5 5	0 . 1 0 1
	t - 検 定 *	0 . 9 7 0 2	0 . 0 0 3 9

10

20

30

40

【表 10-2】

7 日目	3-3	8.989	0.410
	4-2	9.371	0.300
	4-3	4.987	0.394
平均		7.782	0.368
標準偏差		2.428	0.059
S E M		1.402	0.034
t-検定*		0.3759	0.0018
8 日目	2-1	9.371	0.810
	2-3	9.371	0.609
	3-5	23.920	0.635
平均		14.221	0.685
標準偏差		8.400	0.109
S E M		4.850	0.063
t-検定*		0.2515	0.0002
9 日目	3-4	4.784	0.224
	3-6	4.311	0.622
	4-5	9.568	0.475
平均		6.221	0.440
標準偏差		2.908	0.201
S E M		1.679	0.116
t-検定*		0.1145	0.0245
13 日目	1-6	17.245	0.055
	2-2	4.402	0.064
	2-4	3.575	0.092
	2-5	4.222	0.190
平均		7.361	0.100
標準偏差		6.599	0.062
S E M		3.299	0.031
t-検定*		0.6478	0.6983

10

20

30

*無処置群に対する E A E 群の t-検定による比較 (p < 0.05 を有意とみなした)。

【0259】

無処置マウスでのレベルと比べて尿中 P G D M レベルの有意な増大が 3 日目に検出された。無処置マウスでのレベルと比べて血清中 P G D M レベルの有意な増大が 5 ~ 9 日目に検出された。

【0260】

これらのデータは、ヒスタミン（およびその代謝産物 N-メチルヒスタミン）、ならびに P G D₂（およびその代謝産物 t e t r a n o r - P G D M）がマスト細胞活性関連障害、例えば M S のマスト細胞活性バイオマーカーであることを示す。マスト細胞活性関連障害に苦しんでいるか、または該障害に易罹患性である被験体の試料（例えば、尿または血清）中の該 1 種類以上のマスト細胞活性因子、例えばヒスタミンおよび P G D₂ の存在、レベルおよび／または位置を調べることにより、マスト細胞活性関連障害の存在、発生率、重症度または治療応答が判断され得る。

40

【0261】

（実施例 10）

実施例 10：C 5 7 B L / 6 マウスにおける実験的自己免疫性脳脊髄炎（E A E）試験

この実施例は、多発性硬化症のマウスモデルにおけるマスト細胞活性因子およびバイオマーカーの検出を示す。

【0262】

養子細胞移植の結果として E A E を発症しているマウスの尿および血清中の P G D₂ の

50

代謝産物である P G D M ならびにヒスタミンおよび／または N-メチルヒスタミンの存在を測定した。この E A E モデルでは、免疫処置はドナーマウスにおいてのみ行う。十分に脳炎誘発性の細胞をレシピエントマウスに移植し、E A E を誘導した（E A E のエフェクター期）。

【表 1 1】

表 1 1 . 試験デザイン

モデル	
記	C 5 7 B L / 6 マウスにおける E A E
動物の系統（1 匹または複数） および性別（1 匹または複数）	C 5 7 B L / 6 マウス，雌
0 日目	細胞移植日
試験の長さ	1 6 日間（0 日目から 1 5 日目まで）
動物および群	
動物の総数	3
動物の供給元	The Jackson Laboratory (ブリーダー)
試験開始（0 日目）時の年齢	8 ～ 9 週齢
群の数	1
群サイズ	3 匹の動物
群割り付け日（1 または複数）	0 日目
読み出し情報	
スコアリング開始	免疫処置後 6 日目
スコアリング終了	1 5 日目
スコアリング頻度	毎日
重量測定開始	0 日目
重量測定終了	試験終了時
重量測定頻度	3 回／週（月曜日，水曜日，金曜日）
組織の収集および解析	3 匹のマウスから尿、血清、脳、脊髄、頸部リンパ節を収集

10

20

30

40

【0 2 6 3】

（E A E 誘導）

E A E の養子移植モデルでは、雌 C 5 7 B L / 6 ドナーマウスを免疫処置し、脳炎誘発性 T 細胞の供給源として使用した。ドナーマウスがミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質（M O G）_{3 5 - 5 5} / C F A 乳剤に対して免疫応答を発現したら（通常、免疫処置後 1 1 日目）致死させ、脾臓を回収した。脾臓細胞を M O G _{3 5 - 5 5} の存在下で培養して脳炎誘発性 T 細胞を活性化させ、次いで、これを雌 C 5 7 B L / 6 レシピエントマウスに移植して E A E を誘導した。細胞移植した日を試験の 0 日目とみなした。E A E の発病は通常、細胞移植の 6 ～ 9 日後である。

【0 2 6 4】

50

3匹のマウスを1つの群にした。マウスを麻痺（E A E）の徴候について毎日スコアリングした（免疫処置後6日目から開始）。マウスを、細胞移植後15日目に致死させた。

【0265】

（組織の収集）

以下の体液を各マウスから致死時に、表12に示すとおりに収集した。マウス1～4には細胞移植を行わず、無処置対照として使用した。

- ・尿
- ・血清

【表12】

表12. 被検査物の収集

ケージ 番号	マウス 番号	マウス I D 番号	細胞移植後の 収集日	尿	血液（血清）
1	1	1 - 1	1	+	+
	2	1 - 2	1	+	+
	3	1 - 3	1	+	+
	4	1 - 4	1	+	+

【0266】

（体液（尿および血清）の分析）

N-メチルヒスタミンおよび／またはヒスタミン（Enzo, ENZ-KIT140）について比色ELISAを尿および血清の各試料に対して行った。ELISA法は0.03 ng/mLまで高感度であった。全サンプルサイズが小さいため、各試料を一連で試験した。

【0267】

tetranor-PGDM（プロスタグランジンD₂の代謝産物）（Cayman, カタログ番号501001）について、競合的ELISAを尿および血清の各試料に対して行った。tetranor-PGDMは、PGD₂の主要代謝産物であり、ヒトおよびマウスの尿中にみられる。ELISA法ではtetranor-PGDMを安定な誘導体tetranor-PGJMに変換させ、これが定量され得る。この方法により6.4～4,000 pgのtetranor-PGDM/mLが検出される。

【0268】

（結果）

尿および血清を無処置およびE A Eのマウスから細胞移植後15日目に採取した。ヒスタミン／N-メチルヒスタミンおよびPGDMは実施例9に記載のようにして測定した（図5および6）。個々のマウスのヒスタミンデータを表13に示す。

10

20

30

【表 1 3】

表 1 3. ヒスタミン値

	試料	ヒスタミン n g / m L	
		尿	血清
群	マウス I D		
養子移植	A 1	9 1 . 2	3 2 . 7
	A 2	3 1 . 0	3 5 . 0
	A 3	3 5 . 6	2 9 . 2
平均		5 2 . 6	3 2 . 3
標準偏差		3 3 . 5	2 . 9
S E M		1 9 . 3	1 . 7
t - 検定 *		0 . 2 6 3 4	0 . 7 4 6 7
無処置 B 6	N 1 B 6	2 7 . 1	3 5 . 0

* 無処置群に対する E A E 群の t - 検定による比較 ($p < 0 . 0 5$ を有意とみなした) .

【 0 2 6 9 】

個々のマウスの P G D M データを表 1 4 に示す。

【表 1 4】

表 1 4. P G D M 値

	試料	P G D M n g / m L	
		尿	血清
群	マウス I D		
養子移植	A 1	1 6 . 8 9 0	0 . 1 3 1
	A 2	9 . 9 7 5	0 . 1 3 3
	A 3	6 . 5 7 8	0 . 1 4 5
平均		1 1 . 1 4 8	0 . 1 3 6
標準偏差		5 . 2 5 5	0 . 0 0 8
S E M		3 . 0 3 4	0 . 0 0 4
t - 検定		0 . 4 2 8 6	0 . 5 4 5 2
無処置 B 6	N 1 B 6	9 . 3 7 1	0 . 3 0 7

* 無処置群に対する E A E 群の t - 検定による比較 ($p < 0 . 0 5$ を有意とみなした) .

【 0 2 7 0 】

これらのデータは、ヒスタミン（およびその代謝産物 N - メチルヒスタミン）、ならびに P G D ₂（およびその代謝産物 t e t r a n o r - P G D M）が、マスト細胞活性関連障害、例えば M S のマスト細胞活性バイオマーカーであることを示す。マスト細胞活性関連障害に苦しんでいるか、または該障害に易罹患性である被験体の試料（例えば、尿または血清）中の該 1 種類以上のマスト細胞活性因子、例えばヒスタミンおよび P G D ₂ の存在、レベルおよび／または位置を調べることにより、マスト細胞活性関連障害の存在、発生率、重症度または治療応答が判断され得る。

【 0 2 7 1 】

（均等物）

当業者には、常套的な範囲内の実験手法を用いて、本明細書に記載の発明の実施形態の多くの均等物が認識され、または確認することができよう。本発明の範囲が上記の説明に限定されることが意図されるのではなく、以下の特許請求の範囲に示されるとおりである。

（配列表）

CYP21A2 シトクロム P450 ファミリー 21 サブファミリー A 構成員 2 遺伝子 [ホモサピエンス (ヒト)] X58906.1 (配列番号: 1)

【数 1-1】

```

1  tggggctctt gagctataag tggcacctca gggccctgac gggcgtcttg ccatgctgct
61  cctgggcctg ctgctgctgc tgcccctgct ggctggcgcc cgctgctgt ggaactggtg
121 gaagctccgg agcctccacc tcccgcctct tgcccggggt ttcttgcaact tgctgcagcc
181 cgacctccca atctatctgc ttggcctgac tcagaaattc gggcccatct acaggctcca
241 ccttgggctg caaggtgaga ggctgatctc gctctggccc tcaccatagg agggggcgga
301 ggtgacggag agggtcctct ctccgctgac gctgcttttg ctgtctccca gatgtggtgg
361 tgctgaactc caagaggacc attgaggaag ccatgggtcaa aaagtgggca gactttgctg
421 gcagacctga gccacttacc tgtaagggct gggggcattt tttctttctt aaaaaattt
481 ttttttaaga gatgggttct tgctatgctg cccaggctgg tcttaaattc ctagtctcaa
541 atgatcctcc cacctcagcc tcaagtgtga gccacctttg gggcatcccc aatccaggtc
601 cctggaagct cttggggggg catatctggg ggggagaaag caggggttgg ggaggccgaa
661 gaaggtcagg cctcagctg ccttcacag ttcccaccct ccagcccca cctcctcctg
721 cagacaagct ggtgtctagg aactaccggt acctgtcctt gggagactac tcctgctct
781 ggaaagccca caagaagctc acccgctcag cctgctgctt gggcatccgt gactccatgg
841 agccagtggg ggagcagctg acccaggagt tctgtgaggt aaggctgggc tcctgaggcc
901 acctcgggtc agcctcgctt ctcacagtag ccccgccctt gccgctgca cagcggcctg
961 ctgaactcac actgtttctc cacagcgcat gagagcccag cccggcaccc ctgtggccat
1021 tgaggaggaa ttctctctcc tcacctgcag catcatctgt tacctacct tcggagacaa
1081 gatcaagggt cctcacagcc cctcaggccc acccccagcc cctccctgag cctctccttg
1141 tcctgaactg aaagtactcc ctccctttct ggcaggacga caacttaatg cctgcctatt
1201 acaaattgat ccaggagggt ttaaaaacct ggagccactg gtccatccaa attgtggacg
1261 tgattccctt tctcagggtg aggacctgga gcctagacac ccctgggttg taggggagag
1321 gctggggtgg agggagaggc tccttcccac agctgcattc tcatgcttcc tgccgcagtt
1381 cttccccaat ccaggctctc ggaggctgaa gcaggccata gagaagaggg atcacatcgt
1441 ggagatgcag ctgaggcagc acaagggtgg gactgtacgt ggacggcctc ccctcgcccc

```

10

20

30

【数 1 - 2】

1501 acagccagtg atgctaccgg cctcagcatt gctatgaggc gggttctttt gcatacccca
 1561 gttatgggcc tgttgccact ctgtactcct ctccccaggc cagccgctca gcccgtcct
 1621 ttcaccctct gcaggagagc ctctgtggcag gccagtggag ggacatgatg gactacatgc
 1681 tccaaggggt ggcgagccg agcatggaag agggctctgg acagctcctg gaagggcacg
 1741 tgcacatggc tgcagtggac ctctgatcg gtggcactga gaccacagca aacacctct
 1801 cctgggcccgt ggtttttttg cttcaccacc ctgaggtgcg tcctggggac aagcaaaagg
 1861 ctcttccca gcaacctggc cagggcgggtg ggcacctca ctcagctctg agcactgtgc
 1921 ggctggggct gtgcttgcc caccggcact caggctcact gggttgctga gggagcggct
 1981 ggaggctggg cagctgtggg ctgctggggc aggactccac ccgatcattc cccagattca
 2041 gcagcgactg caggaggagc tagaccacga actgggccct ggtgcctcca gctcccggt
 2101 cccctacaag gaccatgcac ggctgccctt gctcaatgcc accatcgccg aggtgctgcg
 2161 cctgcggccc gttgtgccct tagccttgcc ccaccgcacc acacggccca gcaggtgact
 2221 cccgagggtt ggggatgagt gaggaaagcc cgagcccagg gaggtcctgg ccagcctcta
 2281 actccagccc ccttcagcat ctccggctac gacatccctg agggcacagt catcattccg
 2341 aacctccaag gcgcccacct ggatgagacg gtctgggaga ggccacatga gttctggcct
 2401 ggtatgtggg ggccgggggc ctgccgtcaa aatgtggtgg aggctggtcc ccgctgccgc
 2461 tgaacgcctc cccaccacc tgtccaccgc cccgcagatc gcttctgga gccaggcaag
 2521 aactccagag ctctggcctt cggctgcggt gcccgctgt gcctgggcga gccgctggcg
 2581 cgcctggagc tcttcgtggt gctgaccga ctgctgcagg ccttcacgct gctgtcctcc

 2641 ggggacgcc tgcctccct gcagcccctg cccactgca gtgtcctcct caagatgcag
 2701 cctttccaag tgcggctgca gccccggggg atggggggcc acagcccggg ccagagccag
 2761 tgatggggca g

10

20

C Y P 2 1 A 2 タンパク質配列 P 0 8 6 8 6 (C P 2 1 A _ H U M A N) (配列番号 : 2)

【数 2】

10	20	30	40	50
MLLLGLLLLP	LLAGARLLWN	WWKLRSLLHP	PLAPGFLHLL	QPDLPPIYLLG
60	70	80	90	100
LTQKFGPIYR	LHLGLQDVVV	LNSKRTIEEA	MVKKWADFAG	RPEPLTYKLV
110	120	130	140	150
SKNYPDLSLG	DYSLLWKAHK	KLTRSALLLG	IRDSMEPVVE	QLTQEFCECM
160	170	180	190	200
RAQPGTPVAI	EEEFSLLTCS	IICYLTFGDK	IKDDNLMPAY	YKCIQEVLT
210	220	230	240	250
WSHWSIQIVD	VIPFLRFFPN	PGLRRLKQAI	EKRDHIVEMQ	LRQHKESLVA
260	270	280	290	300
GQWRDMMDYM	LQGVAQPSME	EGSGQLLEGH	VHMAAVDLLI	GGTETTANTL
310	320	330	340	350
SWAVVFLHH	PEIQQRLQEE	LDHELPGGAS	SSRVPYKDRA	RLPLLNTATIA
360	370	380	390	400
EVLRLRPVVP	LALPHRTTRP	SSISGYDIPE	GTVIIPNLQG	AHLDETVWER
410	420	430	440	450
PHEFWPDRFL	EPGKNSRALA	FGCGARVCLG	EPLARLELFV	VLTRLQLAFT
460	470	480	490	
LLPSGDALPS	LQPLPHCSVI	LKMQPFQVRL	QPRGMGAHSP	GQNQ

10

20

【図 1】

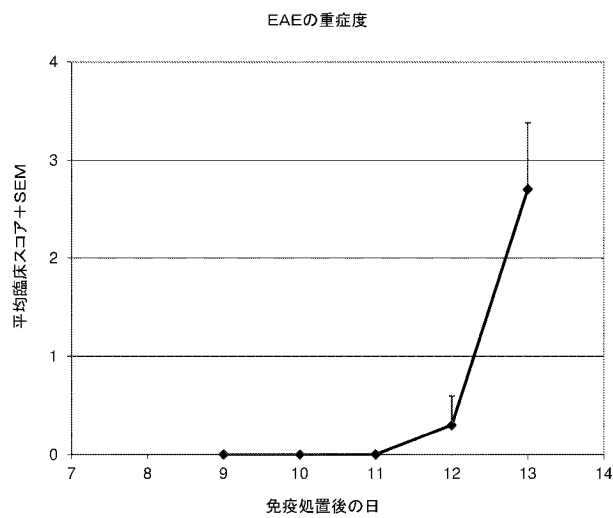


Figure 1

【図 2】

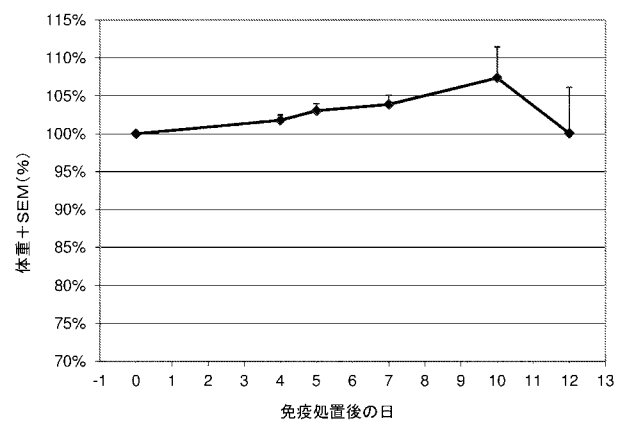


Figure 2

【図 3】

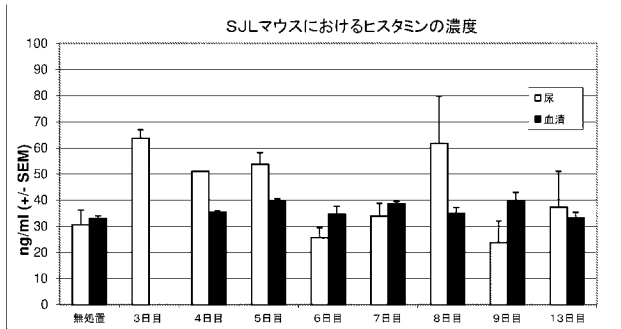


Figure 3A

【図 4】

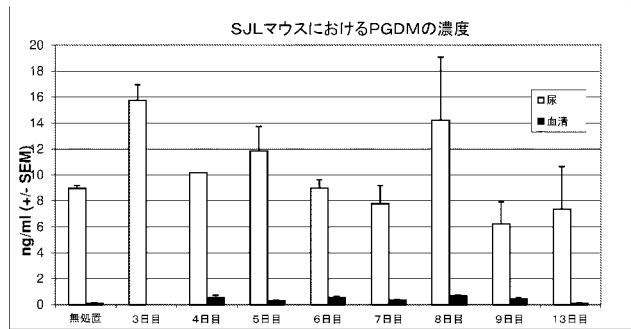


Figure 4A

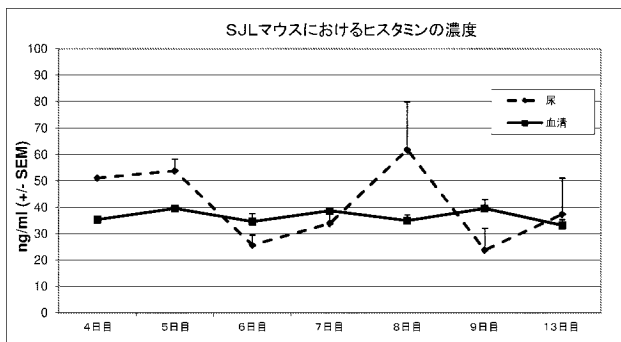


Figure 3B

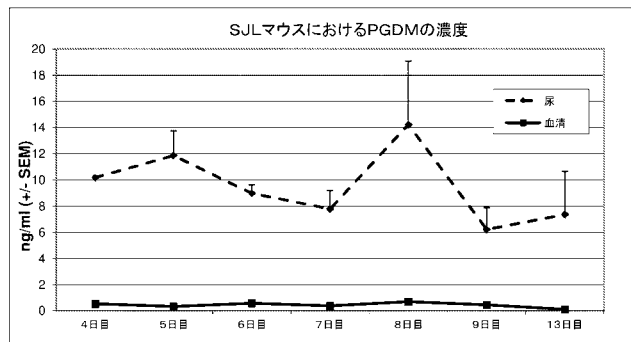


Figure 4B

【図 5】

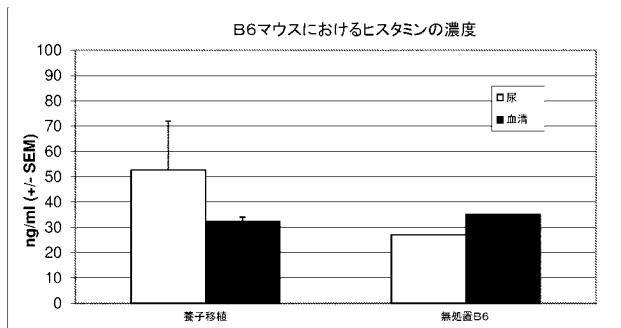


Figure 5

【図 6】

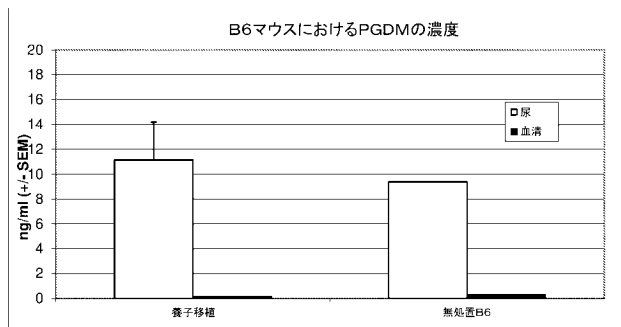


Figure 6

【配列表】

2019527227000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 17/42596

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - C07K 14/47, A61K 39/00, G01N 33/53, G01N 33/564 (2017.01) CPC - G01N 33/564, G01N 2800/285, G01N 2333/54, G01N 2800/50		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History Document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History Document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History Document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X ----- Y	US 2013/0337453 A1 (THEOHARIDES et al.) 19 December 2013 (19.12.2013); para [0004], [0006], [0007], [0008], [0013], [0021], [0040], [0063], [0066], [0084]	1-2, 5, 8, (28-30, 32-33, 37-38)/(1-2, 5, 8)
Y	WO 1992/006706 A1 (LEZDEY et al.) 30 April 1992 (30.04.1992); Page 5, para 2	3-4, 6-7, 9-11, (28-30, 32-33, 37-38)/(3-4, 6-7, 9-11), 31, 34-38, 39
Y	WO 1999/006706 A1 (LEZDEY et al.) 30 April 1992 (30.04.1992); Page 5, para 2	3, (28-39)/3
Y	WO 2015/179737 A2 (KOLTAN PHARMACEUTICALS, INC) 26 November 2015 (26.11.2015); [0057]	4, (28-39)/4
Y	US 2008/0032989 A1 (ROBINSON et al.) 7 February 2008 (07.02.2008); abstract	6, (28-39)/6
Y	WO 2013/148366 A1 (DUKE UNIVERSITY) 3 October 2013 (03.10.2013); para [0007]	7, (28-39)/7
Y	US 2003/0232100 A1 (THEOHARIDES) 18 December 2003 (18.12.2003); Abstract, para [0002], [0027]	9-10, (28-30, 32-39)/(9-10), 31
Y	US 2008/0241264 A1 (SOLOMON) 2 October 2008 (02.10.2008); para [0060]	11, (28-39)/11
Y	US 2006/0269556 A1 (NOCKA) 30 November 2006 (30.11.2006); para [0006]	34-36
Y	WO 2009/085234 A2 (SIGNAL PHARMACEUTICALS, INC) 9 July 2009 (09.07.2009); para [00145]	39
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ 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 12 October 2017		Date of mailing of the international search report 21 NOV 2017
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 17/42596

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

Group I: Claims 1-11 and 28-39 (in part), directed to treating a mast cell activity-associated disorder in a subject in need of treatment.

Group II: Claims 12-26, 28-39 (in part), and 40, directed to a method of diagnosing a subject as susceptible to MS (multiple sclerosis) relapse comprising determining the presence, level and/or location a mast cell activity biomarker, and a kit thereof.

Group III: Claims 27 and 28-39 (in part), directed to a method of identifying an agent useful in the treatment of a mast cell activity-associated disorder.

*****Continued in Supplemental Box*****

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Claims 1-11 and 28-39 (in part)

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 17/42596

Continuation of Box No. III (Observations where unity of invention is lacking):

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

Special Technical Features

Groups II and III do not require a method of treating a mast cell activity-associated disorder with one or more mast cell activity inhibitor, as required by group I.

Groups I and III do not require a method of diagnosing or determining a mast cell activity-associated disorder such as MS by determining presence, level and/or location of one or more mast cell activity factors, as required by group II.

Group I and II do not require a method of identifying an agent useful in the treatment of a mast cell activity-associated disorder, as required by group III.

Common Technical Features

The common technical feature shared by Groups I-III is an agent that is useful for treating mast cell activity disorder. The common technical feature shared by Groups I-II is a method for detecting mast cell activity biomarkers. However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is anticipated by reference US 2013/0337453 A1 to Theoharides et al. (hereinafter "Theoharides"). Theoharides discloses samples having mast cell activity biomarkers for diagnosis and treatment of mast cell related disorders (para [0006] "we found that human mast cell degranulation leads to extracellular release of mitochondrial components including mitochondrial DNA (mtDNA) and ATP without causing cell death. Second, we found that extracellular mitochondrial components can stimulate mast cell degranulation and generate immune actions in a variety of tissues that could lead to effects including inflammation.", para [0007] "Extracellular presence of mtDNA is normally absent except for cell death. Accordingly, a first aspect of the present invention relates to diagnosing various diseases through the detection of extracellular mitochondrial components associated with a disease process in a patient while confirm the lack of cell death. ... The method includes the steps of detecting the presence of at least one extracellular mitochondrial component in a biological sample obtained from a patient as a mitochondria-specific marker or biomarker indicative of said disease, and confirming the absence of an indicia of cell apoptosis or necrosis in the same biological sample. In some cases, the presence of such component, especially when above a preselected threshold or at an elevated level, serves to indicate abnormal immune activities underlying the disease", para [0008] "Various diseases can be diagnosed using methods and devices provided by the present invention. These diseases include autoimmune diseases such as ... multiple sclerosis", para [0013] "A second aspect of the present invention relates to treatment of various autoimmune, chronic inflammatory and/or neurodegenerative diseases, including those described hereinabove through inhibition of extracellularly released mitochondrial components.").

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

Groups I through III therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I			テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)	G 0 1 N	33/573	A	4 C 2 0 6
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	G 0 1 N	33/88		
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	G 0 1 N	33/92	Z	
A 6 1 K 31/726 (2006.01)	G 0 1 N	33/53	S	
A 6 1 K 31/10 (2006.01)	C 1 2 Q	1/68		
A 6 1 K 31/7008 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5	
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K	48/00		
A 6 1 K 9/51 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	
	A 6 1 K	31/726		
	A 6 1 K	31/10		
	A 6 1 K	31/7008		
	A 6 1 K	45/06		
	A 6 1 K	9/51		

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

Fターム(参考) 2G045 AA25 CA25 CA26 CB03 CB30 DA14 DA17 DA34 DA36 DA37
 DA59 DA60 DA71 FB01 FB02 FB03
 4B063 QA01 QA19 QQ02 QQ52 QS40
 4C076 AA65 CC50 FF68 FF70
 4C084 AA13 AA17 AA19 AA20 MA11 NA13 ZB21 ZC75
 4C086 AA01 AA02 EA02 EA26 MA01 MA02 MA04 MA11 NA13 ZB21
 ZC75
 4C206 AA01 AA02 JA19 MA01 MA02 MA04 MA31 NA13 ZB07

专利名称(译)	用于检测和治疗肥大细胞活性相关疾病的生物标志物		
公开(公告)号	JP2019527227A	公开(公告)日	2019-09-26
申请号	JP2019503479	申请日	2017-07-18
发明人	カーウィー ジャック ビー. サード		
IPC分类号	A61K45/00 G01N33/53 G01N33/573 G01N33/88 G01N33/92 C12Q1/68 A61P43/00 A61K48/00 A61K31/726 A61K31/10 A61K31/7008 A61K45/06 A61K9/51		
CPC分类号	A61K31/10 A61K31/7008 A61K31/737 A61K45/06 A61P25/28 G01N33/564 G01N2800/285 G01N2800/52 G01N2800/54 A61K2300/00 G01N2800/60		
FI分类号	A61K45/00.ZNA G01N33/53.M G01N33/53.D G01N33/53.P G01N33/53.N G01N33/573.A G01N33/88 G01N33/92.Z G01N33/53.S C12Q1/68 A61P43/00.105 A61K48/00 A61P43/00.121 A61K31/726 A61K31/10 A61K31/7008 A61K45/06 A61K9/51		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB03 2G045/CB30 2G045/DA14 2G045/DA17 2G045/DA34 2G045/DA36 2G045/DA37 2G045/DA59 2G045/DA60 2G045/DA71 2G045/FB01 2G045/FB02 2G045/FB03 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ52 4B063/QS40 4C076/AA65 4C076/CC50 4C076/FF68 4C076/FF70 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/AA19 4C084/AA20 4C084/MA11 4C084/NA13 4C084/ZB21 4C084/ZC75 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA02 4C086/EA26 4C086/MA01 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/MA11 4C086/NA13 4C086/ZB21 4C086/ZC75 4C206/AA01 4C206/AA02 4C206/JA19 4C206/MA01 4C206/MA02 4C206/MA04 4C206/MA31 4C206/NA13 4C206/ZB07		
优先权	62/364103 2016-07-19 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了用于与肥大细胞活性有关的疾病，病症和/或病理状况的有效和准确表征的生物标记。特别地，本发明提供了在肥大细胞活性相关疾病，病症和/或病理状况中表达的生物标记。当单独或组合使用生物标志物时，可以更正确，更可靠地表征与肥大细胞活动相关的疾病，病症和/或病理状况，并能更准确地确定其诊断和治疗，可能导致更准确地预测MS复发的发生。

(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2019-527227 (P2019-527227A) 令和1年9月26日 (2019. 9. 26)
(43) 公表日			
(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)	
A 6 1 K 45/00 (2006. 01)	A 6 1 K 45/00	Z N A	2 G 0 4 5
G 0 1 N 33/53 (2006. 01)	G 0 1 N 33/53	M	4 B 0 6 3
G 0 1 N 33/573 (2006. 01)	G 0 1 N 33/53	D	4 C 0 7 6
G 0 1 N 33/88 (2006. 01)	G 0 1 N 33/53	P	4 C 0 8 4
G 0 1 N 33/92 (2006. 01)	G 0 1 N 33/53	N	4 C 0 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求		(全 84 頁) 最終頁に続く	
(21) 出願番号	特願2019-503479 (P2019-503479)	(71) 出 願 人	519018705
(86) (22) 出 願 日	平成29年7月18日 (2017. 7. 18)	アレト ディスカバリーズ インコーポ	
(85) 翻訳文提出日	平成31年3月14日 (2019. 3. 14)	レイテッド	
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/042596	アメリカ合衆国	0 2 4 9 3
(87) 国際公開番号	W02018/017569	セッツ ウェストン ディックソン レー	
(87) 国際公開日	平成30年1月25日 (2018. 1. 25)	ン 2 2	
(31) 優先権主張番号	62/364, 103	(74) 代理人	110000796
(32) 優先日	平成28年7月19日 (2016. 7. 19)	特許業務法人三枝国際特許事務所	
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	カーウィー ジャック ビー. サード	
		アメリカ合衆国	0 2 4 9 3
		セッツ ウェストン ディックソン レー	
		ン 2 2	
(54) 【発明の名称】 マスト細胞活性関連障害の検出および処置のためのバイオマーカー			
最終頁に続く			