

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-500700
(P2016-500700A)

(43) 公表日 平成28年1月14日(2016.1.14)

(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	4 C 0 8 4
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/16	4 C 0 8 5
A 6 1 P 31/20 (2006.01)	A 6 1 P 31/20	4 H 0 4 5
A 6 1 P 31/14 (2006.01)	A 6 1 P 31/14	
A 6 1 P 31/18 (2006.01)	A 6 1 P 31/18	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 102 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-539951 (P2015-539951)
 (86) (22) 出願日 平成25年10月30日 (2013.10.30)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年6月8日 (2015.6.8)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2013/067591
 (87) 国際公開番号 W02014/070939
 (87) 国際公開日 平成26年5月8日 (2014.5.8)
 (31) 優先権主張番号 61/720, 350
 (32) 優先日 平成24年10月30日 (2012.10.30)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/724, 858
 (32) 優先日 平成24年11月9日 (2012.11.9)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 500029420
 ギリアード サイエンス、 インコー
 ポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 944
 04, フォスター シティ, レイクサイ
 ド ドライブ 333
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 リシルオキシダーゼ様2 (LOXL2) に関する治療および診断方法

(57) 【要約】

リシルオキシダーゼ様2 (LOXL2) に結合し、それを阻害し、かつ/またはそれを検出する作用物質を使用した、線維症と関連する疾患およびがんを含めた疾患に対する治療、診断、および予後判定方法、ならびにそのような方法で使用するための作用物質、組成物、キット、アッセイ系、およびデバイスが提供される。いくつかの実施形態において、疾患または状態は、肝臓の疾患または状態、たとえば、線維症と関連する肝臓の疾患または状態である。

Inhibition of LOXL2 in a CCl₄ mouse model of liver fibrosis

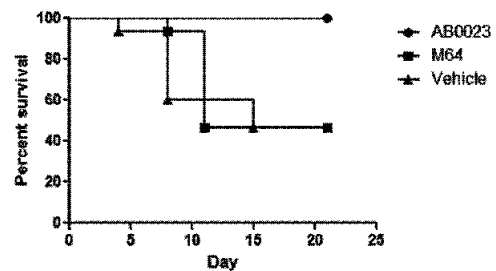


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

肝臓の疾患または状態を有する被験体に、L O X L 2 に結合し、かつ/またはそれを阻害する作用物質を投与し、それにより、該疾患または状態を処置するまたは好転させるステップを含む方法。

【請求項 2】

前記疾患または状態が、線維症と関連する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記肝臓の疾患または状態が、N A S H (非アルコール性脂肪性肝炎)、P S C (原発性硬化性胆管炎)、硬変、門脈圧亢進症、P B C (原発性胆汁性肝硬変)、自己免疫性肝炎、アルコール性硬変、アルファ 1 アンチトリプシン欠損症、遺伝性ヘモクロマトーシス、ウィルソン病、B 型肝炎ウイルス (H B V)、C 型肝炎ウイルス (H C V)、および H I V 関連脂肪性肝炎からなる群から選択される、請求項 1 または 2 に記載の方法。

10

【請求項 4】

前記作用物質が、L O X L 2 に特異的に結合する抗体である、請求項 1 から 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】

前記抗体が、L O X L 2 との結合について、配列番号 8 の重鎖可変領域配列および/または配列番号 9 の軽鎖可変領域配列を有する抗体と競合する、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記抗体が、配列番号 6、8、10、11、12 に記載されている配列に対して少なくとも 75% の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および/または配列番号 7、9、13、もしくは 14 の配列に対して少なくとも 75% の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む、請求項 4 または 5 に記載の方法。

20

【請求項 7】

前記抗体が、配列番号 8 に記載されている重鎖可変領域配列の重鎖 C D R および/または配列番号 9 に記載されている軽鎖可変領域配列の軽鎖 C D R を含む、請求項 4 から 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 8】

前記作用物質を、10 mg / kg または 20 mg / kg もしくは約 10 mg / kg または 20 mg / kg あるいは少なくとも 10 mg / kg または 20 mg / kg もしくは約 10 mg / kg または 20 mg / kg あるいは約 10 ~ 20 mg / kg の用量で投与する、請求項 1 から 7 のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 9】

前記作用物質を、少なくとも 200 mg または 700 mg もしくは約 200 mg または 700 mg あるいは 200 mg または 700 mg もしくは約 200 mg または 700 mg あるいは約 200 ~ 700 mg の用量で投与する、請求項 1 から 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 10】

前記作用物質を、少なくとも 75 mg または 125 mg もしくは約 75 mg または 125 mg あるいは 75 mg または 125 mg もしくは約 75 mg または 125 mg あるいは 75 ~ 125 mg もしくは約 75 ~ 125 mg の用量で投与する、請求項 1 から 7 のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 11】

前記作用物質を静脈内または皮下に投与する、請求項 1 から 10 のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

前記被験体の生存を増加または延長させる、架橋線維化の増加を低下させるもしくは予防する、アルファ平滑筋アクチン (S M A) レベルの増加を低下させるもしくは予防する、星細胞活性化の増加を低下させるもしくは予防する、かつ/またはアラニンアミノト

50

ランスフェラーゼ (ALT) もしくはアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、もしくはガンマグルトアミノトランスフェラーゼ (GGT) の増加を低下させるもしくは予防する、請求項 1 から 11 のいずれかに記載の方法。

【請求項 13】

ALT、AST、GGT、または ALT / AST 比を、基準値上限 (ULN) 未満まで、または基準値上限 (ULN) の 2 倍未満、5 倍未満、もしくは 10 倍未満まで低下させる、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

疾患または状態を検出、予測、またはモニターするための方法であって、

a) 個体から得られる液体サンプルを、リシロキシダーゼ様 2 (LOXL2) に特異的な抗体と接触させるステップと、

b) 該液体サンプルに存在する LOXL2 との該抗体の結合を検出し、それにより、該液体サンプルにおける LOXL2 のレベルを検出するステップと

を含み、

LOXL2 の該検出レベルにより、該個体における該疾患または状態の存在または非存在、または該個体が該疾患または状態のための処置に対して応答する確度が示される方法。

【請求項 15】

前記疾患または状態が、肺線維症、肝線維症、腎線維症、心臓線維症、または骨髄線維症、硬変、慢性ウイルス性肝炎、C 型肝炎ウイルス (HCV)、B 型肝炎ウイルス (HBV)、または非代償性肝疾患である、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記疾患または状態が、特発性肺線維症 (IPF)、NASH (非アルコール性脂肪性肝炎)、PSC (原発性硬化性胆管炎)、硬変、門脈圧亢進症、PBC (原発性胆汁性肝硬変)、自己免疫性肝炎、アルコール性硬変、アルファ 1 アンチトリプシン欠損症、遺伝性ヘモクロマトーシス、ウィルソン病、B 型肝炎ウイルス (HBV)、C 型肝炎ウイルス (HCV)、および HIV 関連脂肪性肝炎である、請求項 14 または 15 に記載の方法。

【請求項 17】

LOXL2 の前記検出レベルが約 700 pg/mL を超える、請求項 14 から 16 のいずれかに記載の方法。

【請求項 18】

LOXL2 の前記検出レベルが約 800 pg/mL を超える、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 19】

LOXL2 の前記検出レベルが LOXL2 の閾値レベルよりも高いことを決定し、それにより、前記個体における前記疾患または状態についての転帰、エンドポイント、またはイベントの確度を決定するステップをさらに含む、請求項 14 から 18 のいずれかに記載の方法。

【請求項 20】

前記抗体が、配列番号 6、8、10、11、12 に記載されている配列に対して少なくとも 75% の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および / または配列番号 7、9、13、もしくは 14 の配列に対して少なくとも 75% の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む、請求項 14 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

本願は、2012 年 11 月 9 日に提出された米国仮特許出願第 61/724,858 号、および 2012 年 10 月 30 日に提出された米国仮特許出願第 61/720,350 号の利益を主張し、この米国仮特許出願の全体の内容は、本明細書中に参考として援用され

10

20

30

40

50

る。

【0002】

配列表に関する記述

本出願に付随する配列表は、紙コピーの代わりにテキスト形式で提供され、これによって参照により本明細書に組み込まれる。配列表を含むテキストファイルの名称はG I L E - 0 7 7 _ 0 3 W O _ S T 2 5 . t x tである。テキストファイルは66KBであり、2013年10月30日に作成されたものであり、E F S - W e bを介して電子的に提出されている。

【0003】

技術分野

本開示は、いくつかの態様において、リシルオキシダーゼ様2 (L O X L 2) の阻害剤であり、かつ/またはそれに結合する作用物質を使用した、肝疾患などの線維症と関連する疾患を含めた疾患の処置およびその症状の好転、ならびに当該疾患に対する診断および予後判定方法に関する。

【背景技術】

【0004】

リシルオキシダーゼ様2 (L O X L 2) は、種々の線維症性の疾患および状態ならびに腫瘍において誘導される細胞外マトリックスのタンパク質である。L O X L 2 は、活性化された線維芽細胞、疾患と関連する平滑筋細胞、内皮細胞、および上皮から分泌される。肝疾患および線維症と関連する肺疾患を含めた、線維症性の疾患および状態ならびにL O 20

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

本開示は、いくつかの態様において、疾患および状態の検出、診断および処置方法、ならびにそのような方法において使用するための組成物、作用物質、デバイス、キット、およびアッセイ系に関する。

【0006】

肝臓の疾患または状態、線維症性の疾患または状態、たとえば、線維症性肝疾患などの疾患または状態の1つ以上の症状を処置するまたは好転させるための方法が提供される。そのような方法は、一般に、L O X L 2 に結合し、かつ/またはそれを阻害する作用物質を肝臓の疾患または状態を有する被験体に投与し、それにより、疾患または状態を処置するまたは好転させることによって実行される。

【0007】

いくつかの実施形態において、疾患または状態は、肝臓の疾患または状態、たとえば、線維症と関連する肝臓の疾患または状態である。いくつかの態様において、疾患または状態は、C型肝炎ウイルス (H C V) 、 N A S H (非アルコール性脂肪性肝炎) 、 P S C (原発性硬化性胆管炎) 、 硬変、肝線維症、門脈圧亢進症からなる群から選択される。いくつかの態様において、疾患または状態は、P B C (原発性胆汁性肝硬変) 、 自己免疫性肝炎、アルコール性硬変、アルファ1アンチトリプシン欠損症、遺伝性ヘモクロマトーシス、ウィルソン病、B型肝炎ウイルス (H B V) 、 およびH I V 関連脂肪性肝炎からなる群から選択される。いくつかの態様において、肝臓の疾患または状態は、H C V またはH B V などのウイルス性肝炎である。いくつかの態様において、肝疾患は代償性 (c o m p e n s t a t e d) 肝疾患である。他の態様において、肝疾患は、腹水症、食道静脈瘤、脳障害、および/または黄疸と関連する肝疾患などの非代償性 (d e c o m p e n s t a t e d) 肝疾患である。

【0008】

いくつかの実施形態において、作用物質は、L O X L 2 に特異的に結合する抗体である。いくつかの態様において、抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの態様において、抗体は、抗体断片、たとえば、F v 、 s c F v 、 F a b 、 F a b ' F (a b ') 2 ま

10

20

30

40

50

たはFab₂断片である。いくつかの態様において、抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの態様において、作用物質は、LOXL2の阻害剤、たとえば、非競合的阻害剤である。いくつかの態様において、作用物質は、LOXL2のSRCR3-4ドメイン内のエピトープに結合するなど、LOXL2の触媒ドメイン外に結合する。

【0009】

いくつかの実施形態において、抗体は、LOXL2との結合について、配列番号8の重鎖可変領域配列および/もしくは配列番号9の軽鎖可変領域配列を有し、かつ/またはそのような配列のCDRを1つ以上有する抗体と競合する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号6、8、10、11、12に記載されている配列に対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の同一性または約75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および/または配列番号7、9、13、もしくは14の配列に対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号8に記載されている配列に対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の同一性または約75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、および配列番号9の配列に対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の同一性または約75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号8に記載されている重鎖可変領域配列の重鎖CDRおよび/または配列番号9に記載されている軽鎖可変領域配列の軽鎖CDRを含む。いくつかの態様において、そのようなCDRはCDR3を含む、またはCDR1、CDR2、および/もしくはCDR3、たとえば、そのような重鎖配列および軽鎖配列のCDR1、CDR2、および/もしくはCDR3を含む。

【0010】

いくつかの実施形態において、作用物質を、10mg/kgまたは20mg/kgもしくは約10mg/kgまたは20mg/kgあるいは少なくとも10mg/kgまたは20mg/kgもしくは約10mg/kgまたは20mg/kgあるいは約10~20mg/kgの用量で投与する、作用物質を、少なくとも200mgまたは700mgもしくは約200mgまたは700mgあるいは200mgまたは700mgもしくは約200mgまたは700mgあるいは約200~700mgの用量で投与する、作用物質を、少なくとも75mgまたは125mgもしくは約75mgまたは125mgあるいは75mgまたは125mgもしくは約75mgまたは125mgあるいは75~125mgまたは約75~125mgの用量で投与する。他の実施形態において、作用物質を、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、35mg/kg、40mg/kg、45mg/kg、50mg/kg、55mg/kg、60mg/kg、65mg/kg、70mg/kg、80mg/kg、90mg/kg、100mg/kg、125mg/kg、150mg/kg、175mg/kg、200mg/kg、225mg/kg、250mg/kg、275mg/kg、300mg/kg、325mg/kg、350mg/kg、375mg/kg、400mg/kg、425mg/kg、450mg/kg、475mg/kg、または500mg/kgもしくは約10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、35mg/kg、40mg/kg、45mg/kg、50mg/kg、55mg/kg、60mg/kg、65mg/kg、70mg/kg、80mg/kg、90mg/kg、100mg/kg、125mg/kg、150mg/kg、175mg/kg、200mg/kg、225mg/kg、250mg/kg、275mg/kg、300mg/kg、325mg/kg、350mg/kg、375mg/kg、400mg/kg、425mg/kg

、450 mg / kg、475 mg / kg、または500 mg / kgあるいは少なくとも10 mg / kg、15 mg / kg、20 mg / kg、25 mg / kg、30 mg / kg、35 mg / kg、40 mg / kg、45 mg / kg、50 mg / kg、55 mg / kg、60 mg / kg、65 mg / kg、70 mg / kg、80 mg / kg、90 mg / kg、100 mg / kg、125 mg / kg、150 mg / kg、175 mg / kg、200 mg / kg、225 mg / kg、250 mg / kg、275 mg / kg、300 mg / kg、325 mg / kg、350 mg / kg、375 mg / kg、400 mg / kg、425 mg / kg、450 mg / kg、475 mg / kg、または500 mg / kgもしくは約10 mg / kg、15 mg / kg、20 mg / kg、25 mg / kg、30 mg / kg、35 mg / kg、40 mg / kg、45 mg / kg、50 mg / kg、55 mg / kg、60 mg / kg、65 mg / kg、70 mg / kg、80 mg / kg、90 mg / kg、100 mg / kg、125 mg / kg、150 mg / kg、175 mg / kg、200 mg / kg、225 mg / kg、250 mg / kg、275 mg / kg、300 mg / kg、325 mg / kg、350 mg / kg、375 mg / kg、400 mg / kg、425 mg / kg、450 mg / kg、475 mg / kg、または500 mg / kgの用量で投与する。そのような実施形態のいくつかの態様において、作用物質を、静脈内に、たとえば、注入によって投与する (administered)。そのような実施形態のいくつかの態様において、作用物質を皮下に投与する。そのような実施形態のいくつかの態様において、作用物質を毎週または隔週投与する。別の実施形態において、作用物質を1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間毎に投与する。さらに別の実施形態において、作用物質を1か月、2か月、3か月、4か月、5か月、6か月、7か月、8か月、9か月、または10か月の期間にわたって複数回投与する。

いくつかの実施形態において、方法により、被験体の生存が増加するまたは延長され、架橋線維化の増加が低下するまたは予防され、アルファ平滑筋アクチン (SMA) レベルの増加が低下するまたは予防され、星細胞活性化の増加が低下するまたは予防され、かつ/またはアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) またはアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) の増加が低下するまたは予防される。いくつかの実施形態において、方法は、架橋線維化、アルファ平滑筋アクチン (SMA) レベル、星細胞活性化、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、ガンマグルトアミノトランスフェラーゼ (GGT)、ならびに/または、炎症および/もしくは壊死、たとえば、病気のまたは線維症性の組織、たとえば、肝臓の炎症および/または壊死を評価するステップをさらに含む。いくつかの態様において、方法は、そのようなパラメータが減少すること、または処置していない場合もしくは処置前のパラメータの測定値と比較してパラメータの増加が予防されることを決定するステップを含む。いくつかの場合において、方法により、ALT、AST、GGT、またはALT / AST比が、基準値上限 (the upper limit or normal) (ULN) 未満まで、または基準値上限 (the upper limit of normal) (ULN) の2倍未満、5倍未満、もしくは10倍未満まで低下する。いくつかの場合において、方法により、たとえば、線維症性または病気の組織における炎症および/または壊死が低下する。

【0011】

いくつかの態様において、方法は、LOXL2 遺伝子産物、たとえば、タンパク質またはmRNAのレベルを検出するステップなどの、検出またはモニタリングステップをさらに含む。いくつかの態様において、そのような検出およびモニタリングステップにより、処置の効力が示される。

【0012】

リシルオキシダーゼ様2 (LOXL2)、たとえば、LOXL2 ポリペプチドを検出する方法、および診断、予後判定、予測、および治療方法におけるそれらの使用も提供される。たとえば、LOXL2を検出および/または定量化するためのアッセイ、たとえば、個体における循環リシルオキシダーゼ様2 (LOXL2) ポリペプチドを検出および/ま

10

20

30

40

50

たは定量化するためのアッセイが提供される。診断、予後判定、および予測適用におけるそのようなアッセイの方法および使用、ならびにそれに使用するためのアッセイデバイスおよびキットも提供される。

【0013】

個体におけるLOXL2、典型的に循環LOXL2を検出するための方法が、提供される。提供される方法の中には、検出、診断、予測、モニタリング、および予後判定方法がある。いくつかの実施例において、方法が、個体から得られるサンプル、一般に液体サンプルを、LOXL2に対して特異的な抗体と接触させ、かつサンプルに存在するポリペプチド、たとえばLOXL2ポリペプチドへの抗体の結合を検出することによって実行される。いくつかの実施例において、アッセイが、300、250、200、175 pg/ml、もしくはそれ未満までの、液体サンプルにおけるLOXL2を検出するまたはわずか300、250、200、175 pg/ml、たとえば、わずか約150 pg/ml ~ 約175 pg/ml、約125 pg/ml ~ 約150 pg/ml、約100 pg/ml ~ 約125 pg/ml、約75 pg/ml ~ 約100 pg/ml、約50 pg/ml ~ 約75 pg/ml、もしくは約40 pg/ml ~ 約50 pg/mlの濃度の、サンプルにおけるLOXL2を検出する。

10

【0014】

いくつかの実施例において、検出されるLOXL2レベルが、疾患または状態の存在または非存在を示す。いくつかの実施例において、それが、個体がその疾患のための特定の処置に対して応答する確度(likelihood)を示すまたは処置の効力を示す。方法が予後判定方法であるなどのいくつかの実施例において、LOXL2の検出レベルが、疾患または状態についての転帰、イベント、またはエンドポイントの確度を示す。いくつかの態様において、疾患または状態が、循環LOXL2または循環LOXL2の上昇によって特徴付けられるまたはそれと関連する。いくつかの態様において、個体が、疾患または状態を有し、いくつかの態様において、個体が、疾患または状態を有することが疑われる。いくつかの態様において、方法が、個体が疾患または状態を有するかもしくは有していないか、特定の処置に対して応答する可能性があるかもしくはないか、または特定の転帰もしくはイベントを有する可能性があるかもしくはないかまたは処置が有効であったかもしくはなかったかを決定することをさらに含む。

20

【0015】

いくつかの実施例において、個体が、疾患または状態に対する処置を受けており、処置前レベルなどの初期の時点で決定されたレベルよりも低いLOXL2の検出レベルが、処置の効力を示す。

30

【0016】

サンプルは、典型的に、血液などの液体サンプル、血清もしくは血漿などの血液画分、尿、唾液、痰、または気管支肺胞洗浄液である。

【0017】

いくつかの実施例において、抗体が、検出可能な標識を含み、例示的な標識は、化学発光剤、微粒子標識、比色剤(colorimetric agent)、エネルギー伝達剤、酵素、蛍光剤、および放射性同位体を含む。いくつかの実施例において、サンプルに存在するLOXL2が、液体サンプルを、LOXL2に対して特異的な第2の抗体と接触させることによって、不溶性支持体に対して固定され、第2の抗体-LOXL2複合体を形成する。一実施例において、第2の抗体が、不溶性支持体に対して固定される。他の実施例において、第2の抗体-LOXL2複合体が、サンプルを抗体と接触させる前に形成される。固定された抗体は、ポリクローナルであってもモノクローナルであってもよい。いくつかの実施例において、LOXL2が、LOXL2酵素活性のアロステリック阻害剤などの、LOXL2の酵素活性を阻害する作用物質(agent)、たとえば、SRCR3-4ドメイン内のエピトープに結合するものなどの抗LOXL2モノクローナル抗体に結合する場合に、抗体が、LOXL2に結合する。

40

【0018】

50

提供される方法および実施形態に関連する使用のための例示的な抗LOXL2抗体は、たとえば、AB0023、AB0024、配列番号8において記載される可変領域配列のCDR1、CDR2、および/もしくはCDR3または全配列を有する重鎖ならびに配列番号9において記載される可変領域配列のCDR1、CDR2、および/もしくはCDR3または全配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体などの、配列番号6、8、10、11、もしくは12において記載されるまたは配列番号6、8、10、11、もしくは12に対して75%以上、80%以上、90%以上、95%以上、もしくは99%以上の同一性を有するまたは配列番号6、8、10、11、もしくは12において記載される可変領域配列のCDR1、CDR2、および/もしくはCDR3を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を有するならびに/または配列番号7、9、13、もしくは14において記載されるまたは配列番号7に対して75%以上、80%以上、90%以上、95%以上、もしくは99%以上の同一性を有するまたは配列番号7、9、13、もしくは14において記載される可変領域配列のCDR1、CDR2、および/もしくはCDR3を有するアミノ酸配列を有する可変軽鎖領域を有する抗体を含む。

10

20

30

40

50

【0019】

いくつかの実施例において、方法が、検出レベルを正常コントロール値と比較するステップをさらに含み、正常コントロール値よりも高い検出レベルが、疾患または状態の存在、個体が疾患もしくは状態に対する処置に応答する確度、または病的転帰の確度を示す。たとえば、いくつかの実施例において、方法が、循環LOXL2の病的レベルを検出する。そのような方法は、検出レベルを、正常コントロール値または他の参照値と比較するステップを含むことができ、正常コントロール値または参照値よりも高い検出レベルが、病態を示す。

【0020】

個体が、循環リシルオキシダーゼ様2(LOXL2)の上昇によって特徴付けられるまたはそれと関連する疾患または状態を有するかどうかを決定する、そのような疾患もしくは状態を診断する、またはそのような疾患もしくは状態に関する予測決定もしくは予後判定の決定をなすための方法もまた、提供される。実施例において、そのような方法が、たとえば、上記に記載されるものなどの、本明細書において提供されるアッセイおよび方法に従って、個体由来のサンプル、たとえば液体サンプルにおけるLOXL2のレベルを検出することによって実行される。典型的に、正常コントロールレベル、参照レベルよりも高いまたはいくつかの場合において、ベースラインよりも高いLOXL2のレベルは、個体が、循環LOXL2の上昇によって特徴付けられる疾患を有することを示すまたは特定の転帰の確度もしくは個体が特定の疾患処置に対して応答する確度を予測するなどの、疾患もしくは状態についての予後判定情報もしくは予測情報を示す。

【0021】

提供される方法のいくつかの態様において、疾患または状態が、線維症またはがんまたはそれと関連する疾患である。例として、肺線維症(特発性肺線維症(IPF)など)、肝線維症、腎線維症、心線維症(cardiac fibrosis)、骨髄線維症、硬変、慢性ウイルス性肝炎、C型肝炎ウイルス(HCV)、およびB型肝炎ウイルス(HBV)を含む。いくつかの態様において、疾患または状態が、特発性肺線維症(IPF)である。一態様において、疾患または状態は肝線維症である。ある特定の態様において、疾患または状態は、C型肝炎ウイルス(HCV)感染症または慢性C型肝炎ウイルス感染症である。他の態様において、疾患または状態は、B型肝炎ウイルス(HBV)感染症または慢性B型肝炎ウイルス(CHB)感染症である。さらに他の態様において、疾患または状態は非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)である。いくつかの他の態様において、疾患または状態は原発性胆汁性肝硬変(PBC)である。

【0022】

方法は、個体を、肺機能検査、心機能検査、および肝機能検査を含むことができる1つ以上のさらなる診断試験にかけるステップをさらに含むことができる。

【0023】

線維症性疾患を有する個体が線維症性疾患に対する処置への有益な臨床応答を示す確度および/または個体が硬変などの特定の疾患転帰に関して増悪もしくは後退を示す確度を決定するための方法も提供される。そのような方法は、上記に記載される方法によってなどの、たとえば、個体から得られる液体サンプルにおいて、リシルオキシダーゼ様2 (LOXL2) の循環レベルを決定するステップを含むことができる。一態様において、正常コントロールレベルよりも高いLOXL2の循環レベルが、個体が線維症性疾患に対する処置への有益な臨床応答を示す確度が増加していることを示す。いくつかの実施例において、報告が、決定された確度に基づいて生成される。いくつかの実施例において、方法が、線維症性疾患について個体を処置するステップをさらに含む。いくつかの実施例において、個体が、METAVIR F1もしくはF2肝線維症などの活動性線維症性疾患および/またはMETAVIR F4肝線維症などの進行期線維症性疾患を有する。

10

【0024】

個体におけるリシルオキシダーゼ様2 (LOXL2) の上昇によって特徴付けられる疾患に対する処置の効力を決定するための方法もまた、提供される。いくつかの実施例において、そのような方法が、上記および本明細書において記載される検出方法に従って、疾患に対する処置を受けている個体におけるある時点の循環LOXL2レベルを決定することによって実行される。典型的に、個体から、処置前レベルなどの初期の時点で得られるレベルよりも低い、サンプルにおける循環LOXL2のレベルが、処置の効力を示す。その代わりに、サンプルにおける循環LOXL2のレベルは、最初に増加し、その後、身体によるクリアランスが後続してもよい。

20

【0025】

提供される方法の中には、特発性肺線維症 (IPF) についての予測および予後判定方法もまた、存在する。いくつかの実施例において、そのような方法が、個体からサンプルを得、かつ本明細書において記載される方法の使用などの、サンプルにおけるLOXL2のレベルを検出することによって実行される。一般に、LOXL2のレベルは、個体におけるIPF疾患転帰またはイベントの確度を示す。肝線維症に対する予測および予後判定方法も提供される。いくつかの実施例において、そのような方法は、本明細書に記載の方法を使用してなどで、個体からサンプルを得、かつサンプルにおけるLOXL2のレベルを検出することによって実行される。一般に、LOXL2のレベルにより、個体における肝線維症の転帰またはイベント (たとえば、線維症の増悪、後退、進行期) の確度が示される。

30

【0026】

これらおよびその他の提供される方法は、検出レベルをLOXL2の正常コントロールレベルと比較するステップも含んでよく、LOXL2レベルが正常コントロールレベルと比較して上昇していることにより、個体においてIPF疾患転帰またはイベントが出現する確度の増加が示される。提供される方法のいくつかの実施形態において、閾値ベースラインレベルよりも高いLOXL2のレベルは被験体における負の転帰または死亡率と相関する。したがって、いくつかの実施形態において、方法は、サンプルにおけるLOXL2レベルが閾値レベルを上回るか下回るか、および/またはサンプルが低レベルのLOXL2を含有するか高レベルのLOXL2を含有するかを決定するステップを含む。一実施例において、サンプルにおける閾値LOXL2レベルは、1ミリリットル (mL) 当たり少なくとも800ピコグラム (pg)、少なくとも700 pg/mL、少なくとも750 pg/mL、少なくとも700~800 pg/mL、少なくとも600 pg/mL、少なくとも400 pg/mL、または少なくとも200 pg/mLである。別の実施例において、サンプルにおける閾値LOXL2レベルは少なくとも440 pg/mLである。一実施例において、方法により、個体におけるIPF疾患転帰の確度が正常コントロールLOXL2レベルまたはベースラインと同等のLOXL2レベルを有する被験体と比較して少なくとも2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、または7倍に増加していることが示される。一実施例において、LOXL2レベルが閾値レベル以上、たとえば、700以上、710以上、720以上、730以上、740以上、750以上、760以上、770以上、780

40

50

以上、790以上、800以上、もしくは約700以上、710以上、720以上、730以上、740以上、750以上、760以上、770以上、780以上、790以上、800以上、または700～800であることにより、個体におけるIPF疾患転帰の確度が正常コントロールLOXL2レベルまたはベースラインと同等のLOXL2レベルを有する被験体と比較して少なくとも2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、または7倍に増加していることが示される。

【0027】

いくつかの実施形態において、LOXL2の検出レベルは、約700 pg/mLを超える、約700～約800 pg/mLを超える (greater than between about 700 and between about 800 pg/mL)、約700～約800 pg/mLである、または約800 pg/mLを超える。

10

【0028】

提供される方法によって予測され得る転帰およびイベントとしては、これらに限定されないが、生存、硬変、その増悪または後退、線維症のさらに進行期への増悪、非代償性肝疾患への増悪、AST、ALT、炎症、壊死、処置の効力、感染症の抑制、慢性疾患または進行疾患、たとえば線維症への増悪、線維症性のステージ、あらゆる原因からの死亡率、呼吸器系の入院、または肺機能の無条件の減少)、肺機能低下、呼吸器系の入院、移植なしの生存、死、および処置への応答性、および/または1つ以上の症状の好転が挙げられる。

20

【0029】

方法によって検出することまたは確度を決定することができる症状としては、たとえば、本明細書の方法のいずれかによって決定される線維症性のステージまたはスコア、硬変、非代償性肝疾患、炎症、AST、ALTなどの酵素のレベル、壊死、肺機能または肝機能の程度、生存、入院、および移植なしの生存が挙げられる。

【0030】

いくつかの実施形態において、レベル、たとえば、検出されたLOXL2の閾値レベルにより、そのような疾患もしくは状態の症状または転帰の確度またはそのような疾患もしくは状態の症状または転帰の存在もしくは非存在が決定または予測される。

【0031】

IPF疾患転帰およびイベントの中には、IPF疾患増悪(あらゆる原因からの死亡率として定義されるもの、呼吸器系の入院、または肺機能の無条件の減少(categorical decrease)など)、肺機能低下、呼吸器系の入院、移植なしの生存、死、および処置への応答性がある。いくつかの場合において、上記方法により、個体におけるIPFと関連する転帰、イベント、もしくはエンドポイントまたはその確度を予測する。いくつかの場合において、上記方法により、個体臨床分子死亡率指数(Personal Clinical and Molecular Mortality index)(PCMI)もしくはMMP7、ICAM1、IL8、VCAM1、およびS100A12などの1つ以上の他のバイオマーカーのレベルに基づくなどの、他の方法もしくはアッセイによって、そのようなアウトプット、エンドポイント、もしくは確度について「陰性である」と見なされた(または他のそのような方法もしくはアッセイが、その転帰、イベント、エンドポイント、もしくは確度を検出しないもしくは検出することができない)個体におけるその転帰、エンドポイント、または確度を予測する。

30

40

【0032】

予測または予後判定IPF方法は、予測努力肺活量(FVC)のパーセント、予測一酸化炭素拡散能(DL_c)のパーセント、6分間の歩行距離(6MWD)、平均肺動脈圧(mPAP)、最低安静時酸素飽和度(lowest resting oxygen saturation)(SpO₂)、複合生理学指数(composite physiologic index)(CPI)、セントジョージ呼吸器質問票スコア(St. George's Respiratory Questionnaire score)(SGRQ)、および遷移呼吸困難指数(Transition Dyspnea

50

Index) (TDI) スコア、処置への応答性、およびIPF疾患のバイオマーカーからなる群から選択される、個体におけるIPF疾患重症度または機能的ステータスの量 (measure) を検出するステップをさらに含むことができる。いくつかの実施例において、方法が、予測モデルを使用して、LOXL2レベルおよび/または疾患重症度もしくは機能的ステータスの量を分析するステップをさらに含む。

【0033】

IPF処置への個体の応答をモニターするまたは個体が処置に応答する確度を決定するための方法もまた、提供される。一実施例において、そのような方法が、IPFに対する処置を受けている個体からサンプルを得、かつサンプルにおけるLOXL2のレベルを検出することによって実行される。典型的に、LOXL2のレベルは、処置への個体の応答性または個体が処置に応答する確度を示す。

10

【0034】

いくつかの場合において、方法は、さらに、個体においてIPF処置を開始する、変更する、または中止するステップを含む。いくつかの実施例において、処置が、LOXL2のレベルもしくは相対的なレベルまたは予後判定情報もしくは予測情報などの、方法によって決定される情報に基づいて開始される、変更される、または中止される。いくつかの実施例において、処置が、LOXL2レベルの決定前に開始される。

【0035】

個体から得られる液体生物学的サンプルにおけるリシルオキシダーゼ様2 (LOXL2) ポリペプチドのレベルを決定するのに使用するためのなどの、提供される方法において使用するためのアッセイデバイスおよびキットもまた、提供される。一実施形態において、そのようなデバイスが、軸流路を定めるマトリックスを含み、マトリックスが、i) 流動サンプルを受け入れる流路の上流の端にサンプル受け入れゾーン、ii) 流路内に、かつサンプル受け入れゾーンの下流に位置する1つ以上の試験ゾーンであって、1つ以上の試験ゾーンのそれぞれがLOXL2に特異的な抗体を含み、LOXL2に特異的な抗体のそれぞれが、液体サンプルに存在するLOXL2ポリペプチドに結合し、抗LOXL2抗体/LOXL2複合体を形成することができる、1つ以上の試験ゾーン、およびiii) 流路内に、かつサンプル受け入れゾーンの下流に位置する1つ以上のコントロールゾーンを含む。

20

【0036】

1つ以上のコントロールゾーンは、2つの試験ゾーンが存在する場合、試験ゾーンの間位置することができる。試験ゾーンおよびコントロールゾーンは、任意のコントロールゾーンの上流に位置する試験ゾーンから始まる流路内に交互の様式 (alternating format) で位置することができる。一実施例において、1つ以上の抗LOXL2抗体が、試験ゾーン中のマトリックスに固定される。

30

【0037】

いくつかの実施例において、デバイスが、LOXL2に特異的な抗体に対して特異的な標識抗体を含む標識ゾーンをさらに含む。一般に、標識抗体は、抗LOXL2抗体/LOXL2複合体に存在する抗LOXL2抗体に結合し、標識抗LOXL2抗体/LOXL2を形成することができ、標識抗体は、液体サンプルの存在下で移動可能 (mobilizable) である。標識抗体は、化学発光剤、微粒子標識、比色剤、エネルギー伝達剤、酵素、蛍光剤、および放射性同位体の中から選択される標識構成成分を含むことができる。

40

【0038】

デバイスについてのいくつかの実施例において、マトリックスが、支持体および必要に応じてカバーを含むハウジング内に位置し、ハウジングが、適用開口部 (application aperture) および1つ以上の観察窓 (observation port) を含有する。提供されるデバイスの中には、試験ストリップおよびディップスティックアッセイデバイスがある。

【0039】

50

個体から得られる生物学的サンプルにおけるリシルオキシダーゼ様 2 (LOXL2) ポリペプチドのレベルを決定するための、提供されるキットの中には、LOXL2 に対して特異的な第 1 の抗体および LOXL2 に対して特異的な第 2 の抗体を含むものがある。キットはまた、標準曲線を生成するのに使用される精製 LOXL2 を含むことができる。一実施例において、キットにおける抗体の少なくとも 1 つが、化学発光剤、微粒子標識、比色剤、エネルギー伝達剤、酵素、蛍光剤、および放射性同位体などの、検出可能な標識を含む。

【図面の簡単な説明】

【0040】

【図 1】図 1 は、肝線維症の CCl₄ マウスモデルにおける阻害性抗 LOXL2 抗体 (AB0023) の投与の効果を示す図である。

10

【0041】

【図 2】図 2 は、処置前アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) が上昇している肝疾患の被験体における、抗 LOXL2 抗体 (AB0024) を投与した後、示されている時点での ALT レベルを示す図である (「ベースライン」= 処置前)。

【0042】

【図 3】図 3 は、処置前 ALT が上昇している肝疾患の被験体における、抗 LOXL2 抗体 (AB0024) を投与した後、示されている時点でのアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) レベルを示す図である (「ベースライン」= 処置前)。

【0043】

【図 4】図 4 は、処置前 ALT が上昇している肝疾患の被験体における、抗 LOXL2 抗体 AB0024 を用いた 4 週間の処置の前 (「ベースライン」)、抗 LOXL2 抗体 AB0024 を用いた 4 週間の処置の後 (「処置の終了時」)、および 4 週間の処置期間の終了時から始まる 6 週間の経過観察期間の終了時の平均 ALT (左側の棒) および平均 AST (右側の棒) レベルを示す図である。

20

【0044】

【図 5】図 5 は、肝疾患の被験体 10 人の来診によるベースラインおよび抗 LOXL2 抗体 AB0024 を 4 週間投与した後の種々の示されている時点での平均 ALT、平均 AST、および平均ガンマグルトアミルトランスフェラーゼ (GGT) レベルを示す図である。

【0045】

【図 6】図 6 は、処置前 AST / ALT レベルが高い被験体における、ベースライン、処置の終了時、および経過観察期間の終了時の平均 ALT (左側の棒) および平均 AST (右側の棒) レベルを示す図である。処置の終了時の AST 対ベースラインの AST について $p = 0.02$ 。

30

【0046】

【図 7】図 7 は、生の ECL (電気化学発光) カウントを Y 軸上にプロットし、LOXL2 濃度 (nM/L) を X 軸上にプロットした、LOXL2 イムノアッセイについての標準キャリブレーション曲線を示す図である。精製した組換え完全長 LOXL2 タンパク質を、プールした正常ヒト血清に添加し、その後、血清中で段階希釈し、キャリブレーション曲線を生成した。データポイントはそれぞれ、3 つの反復ウェルの平均値を示し、4 つの独立したプレートについての曲線を示す。

40

【0047】

【図 8】図 8 は、特発性肺線維症の患者由来の血清サンプルにおける LOXL2 レベルを示す図である。

【0048】

【図 9 A】図 9 は、実施例 5 B において記載されるように、ベースライン LOXL2 レベル (図 9 A における非変換 LOXL2 レベルおよび図 9 B における \log_{10} X 変換 LOXL2 レベルによる) と特発性肺線維症 (IPF) 重症度および機能的ステータスのベースライン量 (baseline measure) との間の相関を実証する散布図マトリックスを示す図である。それぞれのパネルにおいて、第 1 の行および列の x および y 軸は

50

、それぞれ、ベースライン L O X L 2 レベルを示し、第 2 の行および列の x および y 軸は、それぞれ、ベースライン予測努力肺活量 (F V C) を示し、第 3 の行および列の x および y 軸は、それぞれ、予測一酸化炭素拡散能 (D L c o) のベースラインパーセントを示し、第 4 の行および列の x および y 軸は、それぞれ、ベースラインの 6 分間の歩行距離 (6 M W D) を示し、第 5 の行および列の x および y 軸は、それぞれ、ベースライン複合生理学指数 (C P I) を示し、第 6 の行および列の x および y 軸は、それぞれ、ベースラインセントジョージ呼吸器質問票スコアを示し、第 7 の行および列の x および y 軸は、それぞれ、ベースライン遷移呼吸困難指数スコアを示す。 L O X L 2 と I P F 重症度のベースライン量およびパフォーマンスステータスとの間の相関は、パネル (a) および (b) の上部の列の暗い色のボックス内で強調する。

10

【図 9 B】図 9 は、実施例 5 B において記載されるように、ベースライン L O X L 2 レベル (図 9 A における非変換 L O X L 2 レベルおよび図 9 B における \log_{10} X 変換 L O X L 2 レベルによる) と特発性肺線維症 (I P F) 重症度および機能的ステータスのベースライン量 (b a s e l i n e m e a s u r e) との間の相関を実証する散布図マトリックスを示す図である。それぞれのパネルにおいて、第 1 の行および列の x および y 軸は、それぞれ、ベースライン L O X L 2 レベルを示し、第 2 の行および列の x および y 軸は、それぞれ、ベースライン予測努力肺活量 (F V C) を示し、第 3 の行および列の x および y 軸は、それぞれ、予測一酸化炭素拡散能 (D L c o) のベースラインパーセントを示し、第 4 の行および列の x および y 軸は、それぞれ、ベースラインの 6 分間の歩行距離 (6 M W D) を示し、第 5 の行および列の x および y 軸は、それぞれ、ベースライン複合生理学指数 (C P I) を示し、第 6 の行および列の x および y 軸は、それぞれ、ベースラインセントジョージ呼吸器質問票スコアを示し、第 7 の行および列の x および y 軸は、それぞれ、ベースライン遷移呼吸困難指数スコアを示す。 L O X L 2 と I P F 重症度のベースライン量およびパフォーマンスステータスとの間の相関は、パネル (a) および (b) の上部の列の暗い色のボックス内で強調する。

20

【 0 0 4 9 】

【図 1 0 A】図 1 0 は、疾患増悪 (P F S) (図 1 0 A) ならびにその構成成分：肺機能低下 (図 1 0 B) 、呼吸器系の入院 (図 1 0 C) 、および死 (図 1 0 D) に対して、低い (800 pg/ml) および高い ($> 800 \text{ pg/ml}$) L O X L 2 レベルを比較する K a p l a n M e i e r 曲線を示す図である。それぞれのパネルにおいて、上部の、より黒い線は、低い (800 pg/ml) ベースライン血清 L O X L 2 レベルを有する患者を示し、下部の、より明るい線は、高い ($> 800 \text{ pg/ml}$) ベースライン L O X L 2 レベルを有する患者を示す。患者はすべて、アンプリセンタンにより処置した。 y 軸はそれぞれ、所定のイベントを伴わない患者のパーセントを示し (0 、 2 5 、 5 0 、 7 5 、 および 1 0 0 を軸に沿ってマークする) 、 X 軸はそれぞれ、日における時間を示す (0 、 1 0 0 、 2 0 0 、 3 0 0 、 4 0 0 、 5 0 0 、 6 0 0 、 7 0 0 、 および 8 0 0 日を軸に沿ってマークする) 。

30

【図 1 0 B】図 1 0 は、疾患増悪 (P F S) (図 1 0 A) ならびにその構成成分：肺機能低下 (図 1 0 B) 、呼吸器系の入院 (図 1 0 C) 、および死 (図 1 0 D) に対して、低い (800 pg/ml) および高い ($> 800 \text{ pg/ml}$) L O X L 2 レベルを比較する K a p l a n M e i e r 曲線を示す図である。それぞれのパネルにおいて、上部の、より黒い線は、低い (800 pg/ml) ベースライン血清 L O X L 2 レベルを有する患者を示し、下部の、より明るい線は、高い ($> 800 \text{ pg/ml}$) ベースライン L O X L 2 レベルを有する患者を示す。患者はすべて、アンプリセンタンにより処置した。 y 軸はそれぞれ、所定のイベントを伴わない患者のパーセントを示し (0 、 2 5 、 5 0 、 7 5 、 および 1 0 0 を軸に沿ってマークする) 、 X 軸はそれぞれ、日における時間を示す (0 、 1 0 0 、 2 0 0 、 3 0 0 、 4 0 0 、 5 0 0 、 6 0 0 、 7 0 0 、 および 8 0 0 日を軸に沿ってマークする) 。

40

【図 1 0 C】図 1 0 は、疾患増悪 (P F S) (図 1 0 A) ならびにその構成成分：肺機能低下 (図 1 0 B) 、呼吸器系の入院 (図 1 0 C) 、および死 (図 1 0 D) に対して、低い

50

(800 pg / ml) および高い (> 800 pg / ml) LOXL2 レベルを比較する Kaplan Meier 曲線を示す図である。それぞれのパネルにおいて、上部の、より黒い線は、低い (800 pg / ml) ベースライン血清 LOXL2 レベルを有する患者を示し、下部の、より明るい線は、高い (> 800 pg / ml) ベースライン LOXL2 レベルを有する患者を示す。患者はすべて、アンプリセンタンにより処置した。y 軸はそれぞれ、所定のイベントを伴わない患者のパーセントを示し (0、25、50、75、および 100 を軸に沿ってマークする)、X 軸はそれぞれ、日における時間を示す (0、100、200、300、400、500、600、700、および 800 日を軸に沿ってマークする)。

【図 10 D】図 10 は、疾患増悪 (PFS) (図 10 A) ならびにその構成成分：肺機能低下 (図 10 B)、呼吸器系の入院 (図 10 C)、および死 (図 10 D) に対して、低い (800 pg / ml) および高い (> 800 pg / ml) LOXL2 レベルを比較する Kaplan Meier 曲線を示す図である。それぞれのパネルにおいて、上部の、より黒い線は、低い (800 pg / ml) ベースライン血清 LOXL2 レベルを有する患者を示し、下部の、より明るい線は、高い (> 800 pg / ml) ベースライン LOXL2 レベルを有する患者を示す。患者はすべて、アンプリセンタンにより処置した。y 軸はそれぞれ、所定のイベントを伴わない患者のパーセントを示し (0、25、50、75、および 100 を軸に沿ってマークする)、X 軸はそれぞれ、日における時間を示す (0、100、200、300、400、500、600、700、および 800 日を軸に沿ってマークする)。

10

20

【0050】

【図 11 A】図 11 は、ARTEMIS - IPF 被験体 (図 11 A : プラセボおよびアンプリセンタン処置の被験体の組み合わせ ; 図 11 B : アンプリセンタンのみ) ならびに GAP コホート被験体におけるベースライン LOXL2 分布の比較を示す図である。

【図 11 B】図 11 は、ARTEMIS - IPF 被験体 (図 11 A : プラセボおよびアンプリセンタン処置の被験体の組み合わせ ; 図 11 B : アンプリセンタンのみ) ならびに GAP コホート被験体におけるベースライン LOXL2 分布の比較を示す図である。

【0051】

【図 12 A】図 12 A は、GAP コホート研究におけるベースラインの 6 か月 (左上のパネル)、12 か月 (右上のパネル)、18 か月 (左下のパネル)、および 24 か月 (右下のパネル) 後の、低い血清 LOXL2 レベル (上の線、440 pg / ml) 対高い (下の線、> 440 pg / ml) 血清 LOXL2 レベルに従う、すべての原因による死亡率についての Kaplan Meier 曲線を示す図である。図 12 B は、ARTEMIS - IPF 研究におけるベースラインの 6 か月 (左上のパネル)、12 か月 (右上のパネル)、18 か月 (左下のパネル)、および 24 か月 (右下のパネル) 後の、低い血清 LOXL2 レベル (上の線、800 pg / ml) 対高い (下の線、> 800 pg / ml) 血清 LOXL2 レベルに従う、すべての原因による死亡率についての Kaplan Meier 曲線を示す図である。

30

【図 12 B】図 12 A は、GAP コホート研究におけるベースラインの 6 か月 (左上のパネル)、12 か月 (右上のパネル)、18 か月 (左下のパネル)、および 24 か月 (右下のパネル) 後の、低い血清 LOXL2 レベル (上の線、440 pg / ml) 対高い (下の線、> 440 pg / ml) 血清 LOXL2 レベルに従う、すべての原因による死亡率についての Kaplan Meier 曲線を示す図である。図 12 B は、ARTEMIS - IPF 研究におけるベースラインの 6 か月 (左上のパネル)、12 か月 (右上のパネル)、18 か月 (左下のパネル)、および 24 か月 (右下のパネル) 後の、低い血清 LOXL2 レベル (上の線、800 pg / ml) 対高い (下の線、> 800 pg / ml) 血清 LOXL2 レベルに従う、すべての原因による死亡率についての Kaplan Meier 曲線を示す図である。

40

【0052】

【図 13】図 13 A は、血清 LOXL2 レベルが低い (下の線、800 pg / mL) A

50

R T E M I S - I P F 研究の被験体と、血清 L O X L 2 レベルが高い（上の線、 > 800 pg / mL）A R T E M I S - I P F 研究の被験体における疾患の増悪（D P（肺機能（L F）の低下（F V C が 10 % 減少かつ D L c o が 5 % 減少または D L c o が 15 % 減少かつ F V C が 5 % 減少）、呼吸器系の入院（R H）および死亡率）を含む）についての曲線を示す図である。図 1 3 B は、血清 L O X L 2 レベルが低い（下の線、 700 pg / mL）G A P コホートの被験体と、血清 L O X L 2 レベルが高い（上の線、 > 700 pg / mL）G A P コホートの被験体における死亡率についての曲線を示す図である。

【0053】

【図 1 4】図 1 4 は、被験体の様々な群についての平均血清 L O X L 2 レベル（pg / mL）を示す図である。図 1 4 A は、ベースラインおよび 2 4 0 週目のサンプルについての平均血清 L O X L 2 レベルを示す（対応する被験体の I s h a k 線維症スコア（0、1、2、3、4、5、6、左～右）に従って群分けした合計 1 6 2 のサンプル（それぞれの 8 1 人の被験体について、1 回のベースラインおよび 1 回の 2 4 0 週目）。L O Q = 定量化のレベル。図 1 4 B は、ベースラインおよび 2 4 0 週目の、所定の I s h a k ステージ（0、1、2、3、4、5、6、左～右）を有する被験体についてのベースラインおよび 2 4 0 週目の平均血清 L O X L 2 レベルを示す。図 1 4 C は、1～3 および 4～6 の対応する I s h a k ステージを有する患者についての L O X L 2 のベースライン、2 4 0 週目、および全体的な血清レベルを示す。

10

【0054】

【図 1 5】図 1 5 は、所定のレベルの血清 L O X L 2（pg / mL）を有することが決定された、それぞれの所定の I s h a k ステージ（1、2、3、4、5、6（個々のバー、左～右）を有する、本研究における被験体のパーセンテージを示す。L O D = 検出限界；L O Q = 定量化の限界。示すカテゴリーはそれぞれ、その前のカテゴリーの上限値からの範囲であった（*extended from the upper limit of the previous category*）、たとえば $1500 = 1001 \sim 1500$ pg / mL。

20

【0055】

【図 1 6 - 1】図 1 6 は、個々の C H B 被験体についてのベースラインおよび処置後の 2 4 0 週目の血清 L O X L 2 レベル（pg / mL）を示す図である。図 1 6 A：持続性の硬変を有する被験体（ $n = 16$ ）；図 1 6 B：2 4 0 週目までに硬変の逆転を有する被験体（ $n = 42$ ）；図 1 6 C：2 4 0 週目までに線維症のステージ（I s h a k）における変化を経験しなかった非硬変被験体；図 1 6 D：研究の過程にわたって硬変までの進行を経験した被験体；および図 1 6 E：線維症における 2 ステージ（I s h a k スコア）以上の低下を伴う非硬変被験体。L O Q（定量化の限界）= 440 pg / mL、L O D（検出限界）= 180 pg / mL。

30

【図 1 6 - 2】図 1 6 は、個々の C H B 被験体についてのベースラインおよび処置後の 2 4 0 週目の血清 L O X L 2 レベル（pg / mL）を示す図である。図 1 6 A：持続性の硬変を有する被験体（ $n = 16$ ）；図 1 6 B：2 4 0 週目までに硬変の逆転を有する被験体（ $n = 42$ ）；図 1 6 C：2 4 0 週目までに線維症のステージ（I s h a k）における変化を経験しなかった非硬変被験体；図 1 6 D：研究の過程にわたって硬変までの進行を経験した被験体；および図 1 6 E：線維症における 2 ステージ（I s h a k スコア）以上の低下を伴う非硬変被験体。L O Q（定量化の限界）= 440 pg / mL、L O D（検出限界）= 180 pg / mL。

40

【0056】

【図 1 7】図 1 7 は、所定のベースライン血清 L O X L 2 レベル（ < 1500 、 > 1500 、 $1500 \sim 3000$ 、 < 3000 、および > 3000 pg / mL）を有する、2 4 0 週目に、組織学的改善を示した硬変 C H B 被験体（「Y」）のパーセンテージならびに同じ所定のベースライン血清 L O X L 2 レベルを有する、2 4 0 週目に組織学的改善を有しないことが決定された硬変被験体（「N」）のパーセンテージを示す図である。

【0057】

50

【図18】図18は、ベースライン、処置の1年後、および処置の5年後における、様々なIshak線維症スコア（下から上に1～6）を有するCHB被験体のパーセンテージを示す図である。

【0058】

【図19】図19は、240週間の処置期間にわたるCHB被験体におけるsLOXL2レベルの平均値（四角）および中央値（三角形）を示す図である。点線はこの研究における定量化の限界を示す。

【0059】

【図20】図20は、CHB被験体についての、ベースラインIshak線維症スコアに従ったベースラインsLOXL2レベルを示す図である。図20Aは、示されている線維症スコアの被験体についての個々のレベルを示す。図20Bは、ピニングしたIshak線維症スコアについてのデータを示す。

10

【0060】

【図21】図21は、代償性肝疾患のCHB被験体におけるsLOXL2レベルと非代償性肝疾患のCHB被験体におけるsLOXL2レベルを示す図である。

【0061】

【図22】図22は種々のMELDスコアを有する非代償性CHB被験体におけるsLOXL2レベルを示す図である。

【0062】

【図23】図23は、PSCの患者由来の肝臓外植片（図23A）およびPBCの患者由来の肝臓外植片（図23B）、ならびにMdr2^{-/-}マウス由来の肝組織（図23C）および胆管結紮（BDL）に供したマウス（外科手術後7日目）由来の肝組織（図23D）の免疫組織化学的（IHC）染色の結果を示す図である。

20

【0063】

【図24】図24は、胆汁うっ滞性肝疾患の動物モデルの肝組織における相対的なLOXL2 mRNA発現を示す図である。図24Aは、野生型マウス由来の肝組織と、Mdr2^{-/-}マウス由来の肝組織において測定された相対的なLOXL2 mRNAレベルを示す。図24Bは、ニセ外科手術または胆管結紮（BDL（外科手術後3日目および7日目））に供したマウス由来の肝組織において測定された相対的なLOXL2 mRNAレベルを示す。

30

【0064】

【図25】図25は、ヒトLOXL2のアミノ酸配列（配列番号1）を示す図である。

【0065】

【図26】図26は、慢性C型肝炎ウイルス（HCV）感染症の患者87人についての、LOXL2血清中濃度対Ishak線維症スコアを示す図である。

【0066】

【図27】図27は、肝線維症と診断された患者由来の血清サンプルにおけるLOXL2レベル（pg/ml）を示す図である。

【0067】

【図28】図28は、慢性HCV感染症の患者由来の肝組織の免疫組織化学的（IHC）染色によって決定されたヒト線維症性肝組織におけるLOXL2の発現を示す図である。左側のパネルでは（5×対物レンズ拡大率）、黒色の矢印は、門脈領域および門脈路への線維性の拡大のエリアを示す。白色の矢印は、肝小葉の周囲の短い線維性隔壁のエリアを示す。右側のパネル（40×対物レンズ拡大率）は、類洞周囲腔内の、肝細胞（H）との境界面の線維性隔壁（S）（矢印）において、および肝実質内の筋線維芽細胞（矢印）において観察されたLOXL2免疫反応性を示す。

40

【0068】

【図29】図29は、ピニングしたベースラインIshak線維症スコアおよび時間によるLOXL2血清レベルを示す図である。各パネルは、示されている時点についての、Ishak線維症スコアに従って群分けした2つの患者群（それぞれ1～3および5～6）

50

についてのLOXL2濃度 (pg/mL) を示す。LOXL2濃度がプロット範囲外であった3つの外れ値 (LOXL2濃度 = 5529 pg/mL、6621 pg/mL、8845 pg/mL) は全て、Ishak線維症スコアが5である同じ被験体に由来した。

【0069】

【図30】図30は、Ishak線維症スコアに従って群分けした2つの患者群 (それぞれ1~3および5~6) についての4週目~30週目にわたるLOXL2血清中濃度の中央値として算出された被験体内のLOXL2血清レベルの中央値を示す図である。被験体内の変動係数の平均は22%であった。

【0070】

【図31】図31は、95%信頼区間を用いた、ビンニングしたベースラインIshak線維症スコアによる経時的 (週) なLOXL2血清中濃度の中央値 (pg/mL) を示す図である。研究生検の間の25~28週間にわたってIshak線維症スコアが2以上変化した被験体は1人のみであった。

10

【0071】

【図32】図32は、示されているIshakスコア (1~6) を有する被験体についての、被験体内のLOXL2のレベルの中央値対ヒアルロン酸 (HA) のレベルの中央値 (上のパネル) および被験体内のLOXL2のレベルの中央値対組織メタロプロテアーゼ阻害物質1 (TIMP1) のレベルの中央値 (下のパネル) を示す図である。被験体内の発現の中央値は4週目~30週目にわたる発現の中央値として算出した。局所重み付けした散布図平滑化を使用して曲線を構築した。

20

【0072】

【図33-1】図33Aは、AB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスから得た異なるコラーゲン画分の総ヒドロキシプロリンのレベルを示す図である。図33Bは、12週目にAB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスから得た、肝臓コラーゲンを示す総ヒドロキシプロリン (hydroxyproline) のレベルを示す図である。図33Cは、回復期の6週目および12週目にAB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスから得た、相対的な肝臓コラーゲンを示す総ヒドロキシプロリンのレベルを示す図である。図33Dは、回復期にAB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスにおけるコラーゲンゲル収縮アッセイを示す図である。図33Aは、AB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスから得た異なるコラーゲン画分の総ヒドロキシプロリンのレベルを示す図である。図33Bは、12週目にAB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスから得た、肝臓コラーゲンを示す総ヒドロキシプロリンのレベルを示す図である。図33Cは、回復期の6週目および12週目にAB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスから得た、相対的な肝臓コラーゲンを示す総ヒドロキシプロリンのレベルを示す図である。図33Dは、回復期にAB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスにおけるコラーゲンゲル収縮アッセイを示す図である。

30

【0073】

【図33-2】図33Aは、AB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスから得た異なるコラーゲン画分の総ヒドロキシプロリンのレベルを示す図である。図33Bは、12週目にAB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスから得た、肝臓コラーゲンを示す総ヒドロキシプロリン (hydroxyproline) のレベルを示す図である。図33Cは、回復期の6週目および12週目にAB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスから得た、相対的な肝臓コラーゲンを示す総ヒドロキシプロリンのレベルを示す図である。図33Dは、回復期にAB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスにおけるコラーゲンゲル収縮アッセイを示す図である。図33Aは、AB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスから得た異なるコラーゲン画分の総ヒドロキシプロリンのレベルを示す図である。図33Bは、12週目にAB0

40

50

023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスから得た、肝臓コラーゲンを示す総ヒドロキシプロリンのレベルを示す図である。図33Cは、回復期の6週目および12週目にAB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスから得た、相対的な肝臓コラーゲンを示す総ヒドロキシプロリンのレベルを示す図である。図33Dは、回復期にAB0023、M64、BAPN、またはビヒクルを投与したTAAマウスにおけるコラーゲンゲル収縮アッセイを示す図である。

【0074】

【図34-1】図34Aは、パーセントコラーゲンエリア（PCA）の変化を示す図である。集団全体について、平均PCAはベースラインにおいて7.1%、48週目において5.3%および240週目において3.9%であった。図34Bは、硬変被験体におけるPCAの変化を示す図である。平均PCAは持続性の硬変を伴う硬変被験体において、組織学的後退を伴う硬変被験体におけるものよりも有意に高かった。後退群では、経時的なPCAの低下も比例して大きかった。

10

【図34-2】図34Aは、パーセントコラーゲンエリア（PCA）の変化を示す図である。集団全体について、平均PCAはベースラインにおいて7.1%、48週目において5.3%および240週目において3.9%であった。図34Bは、硬変被験体におけるPCAの変化を示す図である。平均PCAは持続性の硬変を伴う硬変被験体において、組織学的後退を伴う硬変被験体におけるものよりも有意に高かった。後退群では、経時的なPCAの低下も比例して大きかった。

【発明を実施するための形態】

20

【0075】

I. 定義

別段定義されていなければ、本明細書で使用される技術分野の用語、表示法および他の科学用語または用語法は全て、本発明が関係する当業者に一般に理解される意味を有するものとする。いくつかの場合において、一般に理解される意味を有する用語は、明確にするためおよび/または即時参照のために本明細書で定義されており、そのような定義が本明細書に含まれることは、必ずしも当技術分野において一般に理解されているものに対する実質的な差異を示すと解釈されるべきではない。本明細書において記載または参照されている技法および手順の多くは、当業者により十分に理解され、たとえば、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2nd. edition (1989年) Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、N.Y.に記載の広範に利用される分子クローニング方法体系などの従来の方法体系を使用して一般に利用される。適切な場合、市販のキットおよび試薬の使用を伴う手順は、一般に、別段断りのない限り、製造者により定義されたプロトコールおよび/またはパラメータに従って実行される。

30

【0076】

本明細書において商品名が使用される場合、その商品名への言及は、文脈により特に示されない限り、製品の製剤、ジェネリック薬、および商品名の製品の活性医薬成分（複数可）も指す。

40

【0077】

「抗体」という用語は、明白に他の指示がなければ、最も広範な意味で使用され、モノクローナル抗体（全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、ナノボディ、ダイアボディ（diabody）、多特異性抗体（たとえば、二重特異性抗体）、ならびに、所望の生物活性を示す限りは、これらに限定されないが、Fv、scFv、Fab、Fab'F(ab')₂およびFab₂を含めた抗体断片を具体的に包含する。「ヒト抗体」という用語は、可能性のある非ヒトCDR領域以外はヒト起源の配列を含有する抗体を指し、免疫グロブリン分子の完全な構造が存在することを意味するものではなく、単に、抗体がヒトにおける最小の免疫原性効果を有する（すなわち、それ自体に対する抗体の産生を誘導しない）ことを意味する。

50

【0078】

「抗体断片」とは、全長抗体の一部、たとえば、全長抗体の抗原結合性領域または可変領域を含む。そのような抗体断片は、本明細書では、「機能性断片」または「抗原結合性断片」と称される場合もある。抗体断片の例としては、Fab、Fab'、F(ab')₂、およびFv断片；ダイアボディ；直鎖抗体（Zapataら（1995年）Protein Eng. 8巻（10号）：1057～1062頁）；単鎖抗体分子；および抗体断片から形成される多特異性抗体が挙げられる。抗体をパインによって消化することにより、「Fab」断片と称され、それぞれが単一の抗原結合性部位を有する2つの同一の抗原結合性断片と、残りの、容易に結晶化できることが名称に反映されている「Fc」断片とが生じる。ペプシン処理により、2つの抗原結合性部位（antigen combining site）を有し、依然として抗原を架橋することができるF(ab')₂断片が生じる。

10

【0079】

「Fv」は、完全な抗原認識部位および抗原結合性部位を含有する最小の抗体断片である。この領域は、密接に非共有結合で会合した重鎖可変ドメイン1つと軽鎖可変ドメイン1つの二量体からなる。この立体配置にあると、各可変ドメインの3つの相補性決定領域（CDR）が相互作用して、V_H-V_L二量体の表面上に抗原結合性部位が規定される。集合的に、6つのCDRにより、抗体に抗原結合性の特異性が付与される。しかし、単一の可変ドメイン（または抗原に特異的な6つのCDRのうちのみを含む単離されたV_H領域もしくはV_L領域）であっても、一般にはFv断片全体よりも親和性が低くはあ

20

【0080】

「Fab」断片は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域に加えて、軽鎖の定常ドメインおよび重鎖の第1の定常ドメイン（CH₁）も含有する。Fab断片は、最初に、抗体をパインによって消化した後に観察された。Fab'断片とFab断片は、F(ab')断片は重鎖CH₁ドメインのカルボキシ末端に抗体ヒンジ領域由来の1つ以上のシステインを含めたいくつかの追加的な残基を含有するという点で異なる。F(ab')₂断片は、ヒンジ領域の近くでジスルフィド結合によってつながった2つのFab断片を含有し、最初に、抗体をペプシンによって消化した後に観察された。Fab'-SHとは、本明細書では、定常ドメインのシステイン残基（複数可）が遊離のチオール基を有するFab'断片についての名称である。抗体断片の他の化学的カップリングも公知である。

30

【0081】

任意の脊椎動物種由来の抗体（免疫グロブリン）の「軽鎖」を、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパおよびラムダと称される2つの明白に異なる種類のうちの一方に割り付けることができる。免疫グロブリンは、それらの重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、5つの主要なクラス：IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMに割り付けることができ、これらのいくつかは、サブクラス（アイソタイプ）、たとえば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、およびIgA2にさらに分けることができる。

【0082】

「単鎖Fv」または「sFv」または「scFv」抗体断片は、抗体のV_HドメインおよびV_Lドメインを含み、これらのドメインは、単一のポリペプチド鎖に存在する。いくつかの実施形態において、Fvポリペプチドは、V_HドメインとV_Lドメインの間にポリペプチドリンカーをさらに含み、それにより、sFvが抗原と結合するための所望の構造を形成することが可能になる。sFvの概説については、Pluckthun、The Pharmacology of Monoclonal Antibodies、113巻（RosenburgおよびMoore編）Springer-Verlag、New York、269～315頁（1994年）を参照されたい。

40

【0083】

「ダイアボディ」という用語は、抗原結合性部位を2つ有する小さな抗体断片を指し、

50

その断片は、同じポリペプチド鎖内に軽鎖可変ドメイン (V_L) に接続した重鎖可変ドメイン (V_H) ($V_H - V_L$) を含む。同じ鎖上の2つのドメイン間での対合が可能になるには短すぎるリンカーを使用することによって、それらのドメインは、強制的に別の鎖の相補的なドメインと対合することになり、それにより、2つの抗原結合性部位が創出される。ダイアボディについては、たとえば、EP 404, 097; WO 93/11161、および Hollinger ら (1993年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90巻: 6444~6448頁にさらに記載されている。

【0084】

「単離された」抗体とは、その天然の環境の構成成分から同定および分離および/または回収された抗体である。その天然の環境の構成成分は、酵素、ホルモン、および他のタンパク質性の溶質または非タンパク質性の溶質を含み得る。いくつかの実施形態において、単離された抗体を、(1) Lowry法によって決定して95重量%超の抗体、たとえば、99重量%超まで、(2) たとえば、スピニングカップシークエネーターを使用することによってN末端もしくは内部のアミノ酸配列の少なくとも15残基を得るために十分な程度まで、またはクーマシーブルーもしくは銀染色による検出を伴う還元条件もしくは非還元条件の下でのゲル電気泳動(たとえば、SDS-PAGE)による均一性まで、精製する。組換え細胞内の *in situ* 抗体は、その抗体の天然の環境の少なくとも1つの構成成分が存在しないので、「単離された抗体」という用語に含まれる。ある特定の実施形態において、単離された抗体を、少なくとも1つの精製ステップによって調製する。

10

【0085】

本明細書において使用される場合、「免疫反応性」とは、アミノ酸残基の配列(「結合部位」または「エピトープ」)に特異的な抗体またはその断片を指し、他のペプチド/タンパク質に対して交差反応性であるにもかかわらず、ヒトへの投与に使用するために製剤化するレベルで毒性ではない。「エピトープ」とは、抗体またはその抗原結合性断片との結合性相互作用を形成することができる抗原の部分の部分を指す。エピトープは、直鎖ペプチド配列(すなわち、「連続的」)であってもよく、連続していないアミノ酸配列(すなわち、「立体構造の」または「不連続な」)で構成されてもよい。「優先的に結合する」という用語は、結合剤が結合部位に、それが無関係のアミノ酸配列を結合するよりも大きな親和性で結合することを意味する。

20

【0086】

「相補性決定領域」および「CDR」という用語は、抗原特異性および結合親和性を付与する抗体可変領域内の連続していないアミノ酸の配列を指すことが当技術分野で公知である。一般に、重鎖可変領域に3つのCDR(CDRH1、CDRH2、CDRH3)および軽鎖可変領域に3つのCDR(CDRL1、CDRL2、CDRL3)が存在する。

30

【0087】

所与のCDRの正確なアミノ酸配列の境界は、Kabata ら (1991年)、「Sequences of Proteins of Immunological Interest」、第5版、Public Health Service、National Institutes of Health、Bethesda、MD(「Kabata numbering scheme」)、Al-Lazikani ら、(1997年) JMB 273巻、927~948頁(「Chothia numbering scheme」)、MacCallum ら、J. Mol. Biol. 262巻: 732~745頁(1996年)、「Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography」、J. Mol. Biol. 262巻、732~745頁(「Contact numbering scheme」)、Lefranc MP ら、「IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains」、Dev Comp Immunol、2003年1月; 27巻(1号): 55~77頁(「IMGT」numbe

40

50

ring scheme)、ならびにHonegger AおよびPlueckthun A、「Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool」、J Mol Biol、2001年6月8日；309巻(3号)：657～70頁、(A H o numbering scheme)に記載されているものを含めた、いくつかの周知のスキームのいずれかを使用して容易に決定することができる。

【0088】

所与のCDRの境界は、同定のために使用するスキームに応じて変動し得る。たとえば、Kabatスキームは構造的なアラインメントに基づき、Chothiaスキームは構造的な情報に基づく。KabatスキームとChothiaスキームのどちらについても番号付けは最も一般的な抗体領域の配列の長さに基づき、挿入文字、たとえば、「30a」によって適応させた挿入および一部の抗体に現れる欠失が伴う。この2つのスキームでは、ある特定の挿入および欠失(「インデル」)を異なる位置に置き、それにより示差的な番号付けがもたらされる。Contactスキームは、複雑な結晶構造の分析に基づき、Chothia番号付けスキームと多くの点で類似している。以下の表1には、Kabatスキーム、Chothiaスキーム、およびContactスキームのそれぞれによって同定されたCDRL1、CDRL2、CDRL3およびCDRH1、CDRH2、CDRH3の位置が列挙されている。CDR-H1については、残基の番号付けはKabat番号付けスキームとChothia番号付けスキームの両方を使用して列挙されている。

10

20

【表1】

表1 異なる番号付けスキームによるCDRの位置

CDR	Kabat	Chothia	Contact
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L30--L36
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L46--L55
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L96
CDR-H1 (Kabat番号付け ¹)	H31--H35B	H26--H32..34	H30--H35B
CDR-H1 (Chothia番号付け ²)	H31--H35	H26--H32	H30--H35
CDR-H2	H50--H65	H52--H56	H47--H58
CDR-H3	H95--H102	H95--H102	H93--H101

30

【0089】

したがって、別段の指定がない限り、所与の抗体またはその領域、例えば可変領域の「CDR」および「相補性決定領域」という用語ならびに該抗体またはその領域の個々のCDR(たとえば、CDRH1、CDRH2)は、本明細書の上記の公知のスキームのいずれかによって定義される相補性決定領域を包含するものと理解されるべきである。いくつかの実例において、Kabat法、Chothia法、またはContact法によって定義されるCDRなどの特定のCDRまたは複数のCDRを同定するためのスキームが明記されている。他の場合において、CDRの特定のアミノ酸配列が示されている。

40

【0090】

本明細書において使用される場合、「処置する(treat)」または「処置(treatment)」とは、本明細書に記載の疾患または障害に関連する1つ以上の症状の発生を停止もしくは延期させること、または追加的な症状を予防すること、または症状の根

50

源的な代謝的原因を好転させるもしくは予防することを意味する。したがって、この用語は、疾患もしくは症状を有する、またはそのような疾患もしくは症状が発生する潜在性がある哺乳動物被験体に有益な結果が付与されていることを示す。応答は、被験体が、これらに限定されないが、生存の延長、または腫瘍の増悪、腫瘍の成長、転移、浸潤、または血管新生、または他の症状の低下などの、疾患、状態、もしくは疾病の部分的もしくは完全な緩和、または該疾患、状態、もしくは疾病の1つ以上のサインもしくは症状の低下を経験したときに実現される。

【0091】

本明細書において使用される場合、「好転する」または「好転」とは、制御されていないまたは望ましくない症状を含めた、本明細書に記載の疾患または障害に関連する1つ以上の症状の低下を意味する。したがって、この用語は、疾患または症状を有する哺乳動物被験体の臨床的状态の改善、たとえば、症状の重症度の低下を示す。応答の好転は、被験体が、これらに限定されないが、生存の延長、または腫瘍の増悪、腫瘍の成長、転移、浸潤、または血管新生、または他の症状の低下などの、疾患、状態もしくは疾病の1つ以上のサインもしくは症状の部分的な緩和、または低下を経験したときに実現される。

10

【0092】

本明細書において使用される場合、別段の指定がない限り、「治療有効量」または「有効量」という用語は、被験体に投与した場合に（単独で、または明記され得る別の治療剤と組み合わせでのいずれかで）、疾患の状態もしくは疾患の増悪を予防もしくは好転するため、または症状の好転、たとえば、関連する医学的状态の処置、治癒、予防もしくは好転、もしくはそのような状態の処置、治癒、予防もしくは好転の速度の増大をもたらすために有効である作用物質または化合物または組成物の量を指す。単独で投与される個々の活性成分に適用する場合、治療有効用量とは、その成分単独を指す。組合せに適用する場合、治療有効用量とは、組み合わせで逐次的に投与するかまたは同時に投与するかにかかわらず、処置効果を生じる活性成分を組み合わせた量を指す。

20

【0093】

本明細書において使用される場合、「被験体」という用語は、哺乳動物被験体を意味する。例示的な被験体としては、これらに限定されないが、ヒト、サル、イヌ、ネコ、マウス、ラット、ウシ、ウマ、ヤギおよびヒツジが挙げられる。いくつかの実施形態において、被験体は、がん、炎症性疾患もしくは状態、または自己免疫疾患もしくは状態を有し、下記の通り本発明の作用物質を用いて処置することができる。

30

【0094】

本明細書において使用される場合、用語「生物学的サンプル」は、検出、診断、予後判定、またはモニタリングアッセイにおいて使用することができる、個体から得られる様々なサンプルタイプを指すことができる。液体生物学的サンプルは、たとえば血液、血液画分（たとえば血清もしくは血漿）、尿、唾液、気管支肺胞洗浄液、痰、または脳脊髄液を含むことができる。定義はまた、タンパク質などのある種の構成成分についての試薬による処理、可溶化、または富化によってなどの、それらを手に入れた後に任意の方法で操作されたサンプルをも含む。

【0095】

本明細書において使用される「軸流」は、1つ以上の試験ゾーンおよび/またはコントロールゾーンを含む、特定のマトリックスまたは物質を通る横方向の、垂直方向の、または横断する流れを指す。特定のデバイス、アッセイ、または方法において企図される流れのタイプは、デバイスの構造に従って変更される。理論によって拘束されないが、横方向の、垂直方向の、または横断する流れは、特定のマトリックスの一方の端または側（上流または近位の端）上の流動接触のポイントからこの接触の下流の（または遠位の）エリアまでの、流動サンプルの流れを指してもよい。下流のエリアは、流動接触のポイントからマトリックスの同じ側または反対側にあってもよい。たとえば、本発明のある実施形態の垂直方向のフローデバイスにおいて、軸流は、第1のメンバーから、それを通して（上部から下部に）、第2のメンバーまで、また、そこから吸収剤媒体まで垂直に進んでもよい

40

50

。さらなる例として、また、当業者らによって十分に理解されるように、たとえばディップスティックとして配置された垂直方向のフローデバイスにおいて、流動サンプルは、文字通りに、デバイスの上の方に流れてもよく、しかしながら、その場合には、デバイスに対する流動サンプルの第1の接触のポイントは、それにもかかわらず、上流の（すなわち近位の）端と考えられ、フローの終結のポイントは、下流の（すなわち遠位の）端と考えられる。

【0096】

本明細書において使用される場合、用語「上流の」および「下流の」は、軸流との関連において、本開示の代表的なデバイスとの流動サンプルの接触後の、流動サンプルフローの方向を指し、正常動作条件下で、流動サンプルフロー方向は、上流位置から下流位置に流れる。たとえば、流動サンプルがサンプル受け入れゾーンと最初に接触すると、その後、流動サンプルは、標識ゾーンなどを通して下流に流れる。

10

【0097】

値の範囲が提供される場合、文脈が別段明確に指示しない限り、その範囲の上限値および下限値の間の、下限値の単位の10分の1までのそれぞれの介在値ならびにその明示される範囲における任意の他の明示される値または介在値が、包含されることが理解されたい。これらのより小さな範囲の上限値および下限値は、そのより小さな範囲に独立して含まれてもよく、これらもまた、明示される範囲においてあらゆる明確に除かれる限界値を条件として、包含される。明示される範囲が、一方または両方の限界値を含む場合、それらの含まれる限界値のいずれかまたは両方を除く範囲もまた、含まれる。

20

【0098】

本明細書および添付の特許請求の範囲において使用される単数形「a（1つの）」、「an（1つの）」、および「the（その）」は、文脈により明確に別段の指示がなされない限り、複数の指示対象を含むことに留意しなければならない。したがって、たとえば、「a（1つの）LOXL2特異的抗体」への言及は、複数のそのような抗体を含む場合があり、「the（その）LOXL2ポリペプチド」への言及は、1つ以上のLOXL2ポリペプチドおよび当業者に公知のその等価物への言及を含む場合があるなどである。

【0099】

明確にするために別々の実施形態の文脈において記載される本発明のある特徴はまた、単一の実施形態において組み合わせ提供されてもよいことが十分に理解されたい。逆に、簡潔にするために単一の実施形態の文脈において記載される様々な提供される特徴はまた、別々にまたは任意の適した下位の組み合わせで提供されてもよい。提供される実施形態の組み合わせはすべて、本開示によって明確に包含され、あたかも、それぞれのおよび全ての組み合わせが個々にかつ明示的に開示されるかのようにまさに本明細書において開示される。さらに、様々な実施形態およびそのエレメントの下位の組み合わせもまたすべて、本開示によって明確に包含され、あたかも、それぞれのおよび全てのそのような下位の組み合わせが個々にかつ明示的に本明細書において開示されるかのようにまさに本明細書において開示される。

30

II. 方法

【0100】

LOXL2は、I型コラーゲンの架橋を促進し、また、種々の病因および器官の線維症における線維形成の中核となる調節因子である。Mehal WZ、Iredale J、& Friedman SL、「Expressway to the core of fibrosis」、Nat Med. 2011年、17巻：552～553頁を参照されたい。

40

【0101】

モノクローナル抗体、たとえばAB0024を使用したLOXL2のアロステリック阻害は、肝線維症および肺（lung）（肺（pulmonary））線維症のモデルを含めた種々の疾患モデルにおける線維症の阻害において効果的である。LOXL2の阻害により、TGFシグナル伝達およびいくつかの重要な線維症促進性（pro-fibro

50

tic)メディエーター(たとえば、TGF-1、CTGF、エンドセリン、CXCL12)が下方制御される。LOXL2の循環レベルは線維症性のステージと相関する。LOXL2は、線維症性疾患における中核となる経路標的である。Mehal WZ、Iredale J、& Friedman SL、「Expressway to the core of fibrosis」、*Nat Med.* 2011年、17巻:552~553頁。

【0102】

リシルオキシダーゼ様2(LOXL2)は、線維症性ヒト肝組織において発現され、そこでコラーゲンおよび他のマトリックス構成成分の架橋を行い、その結果、堅さの増加、病理的な線維芽細胞の活性化およびマトリックスリモデリングおよび線維形成の動的プロセスが生じる。Barry-Hamilton V、Spangler R、Marshall Dら、「Allosteric inhibition of lysyl oxidase-like-2 impedes the development of a pathologic microenvironment」、*Nat Med.* 2010年、16巻:1009~1017頁。LOXL2は、硬化性胆管炎のマウスモデルに加えて、C型肝炎感染症、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)、アルコール性脂肪性肝炎(AFH)、ウィルソン病(Vadasz Z、Kessler O、Akiri Gら、「Abnormal deposition of collagen around hepatocytes in Wilson's disease is associated with hepatocyte specific expression of lysyl oxidase and lysyl oxidase like protein-2」、*J Hepatology.* 2005年、43巻:499~507頁)、および原発性胆汁性肝硬変を含めた多様な病因のヒト疾患に由来する線維症性肝組織において発現される。Nakken KE、Nygard S、Haaland Tら、「Multiple inflammatory-、tissue remodelling- and fibrosis genes are differentially transcribed in the livers of Abcb4 (-/-) mice harbouring chronic cholangitis」、*Scand J Gastroent.* 2007年、42巻:1245~1255頁。

【0103】

肝実質におけるコラーゲンの緩やかな蓄積は、慢性肝疾患の最終的な共通の経路である。線維症のこの進行性の蓄積は、最終的に、肝臓の硬変および末期肝疾患につながり得る。LOXL2は、コラーゲン原線維の架橋を触媒し、線維形成の中核となる調節タンパク質である。LOXL2発現は、病気の肝組織において増加する。

【0104】

健康な成人組織においてLOXL2発現はほとんどなく、正常な(たとえば非疾患)状態下で、循環LOXL2の量は、低い、または検出不可能である。ある疾患状態下で、循環LOXL2は、上昇する。たとえば、LOXL2は、慢性C型肝炎患者においてなど、慢性肝疾患の患者の血清において上昇し得、より進行型の線維症を有する患者においてレベルがより高い。循環LOXL2の検出は、したがって、個体が、循環LOXL2レベルの上昇をもたらす疾患を有するかどうかを決定するのに有用である。そのような疾患は、線維症およびがんを含む。

【0105】

循環LOXL2のレベルが、線維症のステージと相関することが分かった。循環LOXL2のレベルにより、線維症を有する個体に対して線維症に対する処置が適用可能であるかどうかに関して、指標(indication)を提供することができ、また、疾患転帰または処置への応答性などの、特定のエンドポイント、転帰、またはイベントの確度などの、疾患に関する他の予後判定および予測情報を提供することができることもまた、分かった。本開示は、個体が、線維症性疾患に対する処置に応答する確度および/またはそ

のような転帰、エンドポイント、もしくはイベントの確度を決定するための方法を提供する。

【0106】

HCV感染症を有する患者の処置の決定は、ますます、肝生検ではなく非侵襲性の血清試験に基づくものとなってきた。しかしながら、血清試験は、完全には最適ではなかった。Castera, L., 「Invasive and non-invasive methods for the assessment of fibrosis and disease progression in chronic liver disease,」 Best Pract Res Clin Gastroent. 2011.25:291-303を参照されたい。

10

【0107】

いくつかの実施形態において、LOXL2と関連する治療および診断方法が提供される。たとえば、個体が循環LOXL2レベルの上昇と関連する疾患を有するかどうかを決定するための検出、診断、予後判定、および予測方法が提供される。循環LOXL2の検出を他の診断方法で追跡し、診断を確認することまたは個体が特定の疾患を有する可能性を排除することができる。したがって、いくつかの実施形態において、本開示は、LOXL2、一般に、個体における循環リシルオキシダーゼ様2 (LOXL2) ポリペプチドを検出し、かつ/または定量化するためのアッセイを提供する。アッセイは、たとえば、同様に提供される診断および予後判定適用において有用である。

【0108】

線維症性の疾患または状態、たとえば、肝疾患または他のLOXL2と関連する疾患または状態などの疾患または状態の1つ以上の症状を処置し、かつ/または好転させるための方法も提供される。一般に、方法は、リシルオキシダーゼ様2 (LOXL2) を阻害し、かつ/またはそれに結合する作用物質を投与することによって実行される。

20

III. 作用物質

【0109】

提供される方法は、一般に、1つ以上の作用物質、たとえば、LOXL2に特異的に結合し、それを検出し、かつ/またはそれを阻害する作用物質を使用して実行される。そのような作用物質としては、たとえば、抗体断片を含めたLOXL2に特異的に結合する抗体、小分子阻害剤、siRNA、shRNA、およびアンチセンスポリヌクレオチドを挙げることができる。いくつかの態様において、作用物質、たとえば、抗体は、たとえば、LOXL2の非競合的阻害剤、不競合的阻害剤、または競合的阻害剤である。いくつかの実例において、作用物質は、LOXL2ポリペプチドの酵素活性を阻害する。LOXL2の酵素活性を阻害する作用物質としては、LOXL2酵素活性のアロステリック阻害剤が挙げられる。

30

A. 抗体

【0110】

したがって、いくつかの実施形態において、作用物質は、抗体断片、ポリクローナル抗体、およびモノクローナル抗体を含めた、LOXL2タンパク質に特異的に結合する抗体である。提供される方法において使用するための抗体の中には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、ナノボディ、ダイアボディ、多特異性抗体 (たとえば、二重特異性抗体)、および抗原結合性抗体断片がある。

40

【0111】

いくつかの態様において、抗体はLOXL2ポリペプチドに特異的に結合し、たとえば、特異的な結合とは、親和性が少なくとも約 10^{-7} M、少なくとも約 10^{-8} M、少なくとも約 10^{-9} M、少なくとも約 10^{-10} M、少なくとも約 10^{-11} M、または少なくとも約 10^{-12} M、または 10^{-12} M超である結合を指す。いくつかの態様において、非特異的な結合とは、親和性が約 10^{-7} M未満である結合、たとえば、親和性が 10^{-6} M、 10^{-5} M、 10^{-4} Mなどである結合を指す。

【0112】

50

LOXL2 特異的抗体の非限定的な例としては、米国特許公開第 2009/0104201 号、同第 2009/0053224 号、同第 2012/0087917 号、同第 2011/0200606 号、および国際特許出願公開第 WO2011/097513 号、同第 WO2009/017833 号、および同第 WO2009/035791 号に開示されている LOXL2 特異的抗体が挙げられる。

【0113】

いくつかの態様において、抗体は、LOXL2 の触媒ドメイン外のエピトープに特異的に結合する LOXL2 の非競合的阻害剤および/またはアロステリック阻害剤である。ある特定の態様において、抗体は、LOXL2 内のエピトープに特異的に結合する LOXL2 の非競合的阻害剤および/またはアロステリック阻害剤である。ある特定の態様において、抗体は、LOXL2 の SRCR3 - 4 ドメイン内、たとえば、配列番号 19 (VRLRGGAYIGEGRVEVLKNGEWGTVCDKDWLVSASVVCRELGFSGAKEAVTGSRLGQGIGPIHLNEIQCTGNEKSIIDCKFNAESQGCNHEEDAGVRCNLRNLNGGRNPYEGRVEVLVERNGLVWGMVCGQNWGIVEAMVVCRQLGLGFASNAFQETWYWHGDVNSNKVVMMSGVKCSGTELSLAHCRHDGEDVACPQGGVQYGAGVACS) と記載される配列を有する領域内の LOXL2 のエピトープに特異的に結合する非競合的阻害剤である。非限定的な例としては、AB0023 および AB0024 が挙げられる。別の態様において、抗体は、LOXL2 の触媒ドメイン外のエピトープに特異的に結合する競合的または不競合的な LOXL2 の阻害剤である。ある特定の他の態様において、抗体は、LOXL2 触媒ドメインのエピトープに特異的に結合する競合的または不競合的な阻害剤である。他の態様において、抗体は、LOXL2 内のエピトープに特異的に結合する競合的な LOXL2 の阻害剤である。

10

20

【0114】

たとえば、いくつかの実施形態において、抗体は、AB0023 の可変重鎖領域を有する抗体である：

【化 1】

MEWSRVFIFLLSVTAGVHSQVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYAFTYYLIEWVKQ
RPGQGLEWIGVINPGSGGTNYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSDDSAVYFCA
RNWMNFDYWGGTTLTVSS

30

(配列番号 6 ; CDR1、CDR2、および CDR3 の配列に下線が引かれている)。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 6 に対して 75% 以上、80% 以上、90% 以上、95% 以上、または 99% 以上の同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 6 に記載されている可変領域配列の CDR1、CDR2、および/または CDR3 を有する重鎖可変領域を有する。

【0115】

いくつかの実施形態において、抗体は、AB0023 の可変軽鎖領域を有する抗体である：

40

【化 2】

MRCLAEFLGLLVLWIPGAIGDIVMTQAAPSVSVTPGESVSISCRSSKSLLSNGNTYLYW
FLQRPQSPQFLIYRMSNLAGVDPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEY
PYTFGGGKLEIK

(配列番号 7、CDR1、CDR2、および CDR3 の配列に下線が引かれている)。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 7 に対して 75% 以上、80% 以上、90% 以上、95% 以上、または 99% 以上の同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変

50

領域を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号7に記載されている可変領域配列のCDR1、CDR2、および/またはCDR3を有する軽鎖可変領域を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号6に記載されている可変領域配列のCDR1、CDR2、および/またはCDR3を有する重鎖可変領域と、配列番号7に記載されている可変領域配列のCDR1、CDR2、および/またはCDR3を有する軽鎖可変領域とを有する。いくつかの実施形態において、抗体は、AB0023、ならびに/または、配列番号6の重鎖および/もしくは配列番号7の軽鎖を有する抗体と結合について競合する。

【0116】

いくつかの実施形態において、抗体は、AB0024と称される抗体、そのような抗体と結合について競合するもしくは同じエピトープに結合する抗体、および/またはそのような抗体の重鎖可変領域もしくは軽鎖可変領域を有するもしくはAB0024のCDR(CDR1、CDR2、およびCDR3)を有する重鎖を有し、かつ/もしくはAB0024のCDR(CDR1、CDR2、およびCDR3)を有する軽鎖を有する抗体などの抗体のヒト化バージョンである。

【0117】

たとえば、一実施形態において、抗体は、AB0024の可変重鎖領域を有する抗体である：

【化3】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTYYLIEWVRQAPGQGLEWIGVINPGSGGT

NYNEKFKGRATITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYFCARNWMNFDYWGQGTITVTVS

S

(配列番号8、CDR1、CDR2、およびCDR3の配列に下線が引かれている)。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号8に対して75%以上、80%以上、90%以上、95%以上、または99%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号8に記載されている可変領域配列のCDR1、CDR2、および/またはCDR3を有する重鎖可変領域を有する。

【0118】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号8、配列番号10(QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTYYLIEWVKQAPGQGLEWIGVINPGSGGTNYNEKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDSAVYFCARNWMNFDYWGQGTITVTVSS)、配列番号11(QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCKASGYAFTYYLIEWVRQAPGQGLEWIGVINPGSGGTNYNEKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYFCARNWMNFDYWGQGTITVTVSS)、または配列番号12(QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCKASGYAFTYYLIEWVRQAPGQGLEWIGVINPGSGGTNYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARNWMNFDYWGQGTITVTVSS)に記載のアミノ酸配列、もしくは配列番号8、10、11、もしくは12に対して75%以上、80%以上、90%以上、95%以上、もしくは99%以上の相同性を有するアミノ酸を有する重鎖可変領域、および/または配列番号9、配列番号13(DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSKSLLSHNGNTYLYWFLQKPGQSPQFLIYRMSNLAGVSPDRFSGSGSGTAFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPYTFGGGTKVEIK)、または配列番号14(DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSKSLLSHNGNTYLYWYLQKPGQSPQFLIYRMSNLAGVSPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPYTFGGGTKVEIK)に記載のアミノ酸

配列、もしくは配列番号 9、13、もしくは 14 に対して 75% 以上、80% 以上、90% 以上、95% 以上、もしくは 99% 以上の相同性を有するアミノ酸を有する軽鎖可変領域を有する。

【0119】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 22 に対して 75% 以上、80% 以上、90% 以上、95% 以上、もしくは 99% 以上の同一性を有するアミノ酸配列を有する、または配列番号 22 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含有する。いくつかの態様において、軽鎖は、配列番号 20 に対して 75% 以上、80% 以上、90% 以上、95% 以上、もしくは 99% 以上の同一性を有するアミノ酸配列を有する、または配列番号 20 のアミノ酸配列を有する。

10

【0120】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 26 に対して 75% 以上、80% 以上、90% 以上、95% 以上、もしくは 99% 以上の同一性を有するアミノ酸配列を有する、または配列番号 26 のアミノ酸配列を有する重鎖を含有する。いくつかの態様において、軽鎖は、配列番号 24 に対して 75% 以上、80% 以上、90% 以上、95% 以上、もしくは 99% 以上の同一性を有するアミノ酸配列を有する、または配列番号 24 のアミノ酸配列を有する。たとえば、いくつかの場合において、抗体は、配列番号 22 に対して同一性を有する軽鎖および配列番号 26 に対して同一性を有する重鎖を有する。いくつかの場合において、抗体は、配列番号 20 に対して同一性を有する軽鎖および配列番号 24 に対して同一性を有する重鎖を有する。

20

【0121】

いくつかの態様において、軽鎖は、配列番号 21 または配列番号 23 によりコードされるアミノ酸配列を含有する。いくつかの態様において、重鎖は、配列番号 25 または 27 によりコードされるアミノ酸配列を含有する。

【0122】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 28 または 29 のアミノ酸配列を含有する（または配列番号 28 または 29 のアミノ酸配列に対して 75% 以上、80% 以上、90% 以上、95% 以上、または 99% 以上の同一性を有する）。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 30 として記載のアミノ酸配列に対して 75% 以上、80% 以上、90% 以上、95% 以上、または 99% 以上の同一性を有するまたは配列番号 30 として記載のアミノ酸配列を含有する定常領域を含有する。

30

【0123】

いくつかの実施形態において、抗体は、A B 0 0 2 4 の可変軽鎖領域を有する抗体である：

【化 4】

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSKSLHNSGNTYLYWFLQKPGQSPQFLIYRMSNLA
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPYTFGGGTKVEIK

（配列番号 9、CDR 1、CDR 2、および CDR 3 の配列に下線が引かれている）。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 9 に対して 75% 以上、80% 以上、90% 以上、95% 以上、または 99% 以上の相同性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 9 に記載されている可変領域配列の CDR 1、CDR 2、および / または CDR 3 を有する軽鎖可変領域を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 8 に記載されている可変領域配列の CDR 1、CDR 2、および / または CDR 3 を有する重鎖可変領域と、配列番号 9 に記載されている可変領域配列の CDR 1、CDR 2、および / または CDR 3 を有する軽鎖可変領域とを有する。いくつかの態様において、抗体は、配列番号 20 または 22 を含有する軽鎖および配列番号 24 または 26 を含有する重鎖を有する。

40

【0124】

50

作用物質がLOXL2酵素活性を阻害するかどうかは、任意の知られているアッセイを使用して決定することができる。たとえば、LOXL2酵素活性についてのアッセイは、基質としてジアミノペンタン(DAP)を使用してまたは基質としてコラーゲンを使用して実行することができる。両方のアッセイにおいて、LOXL2の酵素活性は、過酸化水素(基質の脱アミノに際してLOXL2によって遊離される)の生成を、Amplex(登録商標)Red(Invitrogen、Carlsbad、CA)のレゾルフィン(蛍光産物)へのホースラディッシュペルオキシダーゼ触媒による変換と共役するアッセイを使用して測定することができる。

【0125】

いくつかの実施形態において、適した抗LOXL2抗体が、LOXL2ポリペプチドの酵素活性を阻害する。他の実施形態において、適した抗LOXL2抗体が、LOXL2ポリペプチドの酵素活性を阻害しない。

10

【0126】

したがって、提供される方法および実施形態と関連して使用するための抗LOXL2抗体の例としては、たとえば、AB0023、AB0024、配列番号6、8、10、11、もしくは12に記載のアミノ酸配列を有する、または配列番号6、8、10、11、もしくは12に対して75%以上、80%以上、90%以上、95%以上、もしくは99%以上の相同性を有する、または配列番号6、8、10、11、もしくは12に記載されている可変領域配列のCDR1、CDR2、および/もしくはCDR3を有する重鎖可変領域を有し、かつ/または配列番号7、9、13、もしくは14に記載のアミノ酸配列を有する、または配列番号7に対して75%以上、80%以上、90%以上、95%以上、もしくは99%以上の相同性を有する、または配列番号7、9、13、または14に記載されている可変領域配列のCDR1、CDR2、および/もしくはCDR3を有する可変軽鎖領域を有する抗体、たとえば、配列番号8に記載されている可変領域配列のCDR1、CDR2、および/もしくはCDR3または配列全体を有する重鎖と、配列番号9に記載されている可変領域配列のCDR1、CDR2、および/もしくはCDR3または配列全体を有する軽鎖可変領域を有する抗体などが挙げられる。

20

【0127】

いくつかの実施形態において、抗体は、LOXL2 SRCR1ドメイン内、LOXL2 SRCR2ドメイン内、LOXL2 SRCR3ドメイン内、LOXL2 SRCR4ドメイン内、および/またはLOXL2触媒ドメイン内のエピトープを特異的に結合する。いくつかの場合において、抗体は、たとえば、SRCR1-2、SRCR3-4、および触媒ドメインを含む、シグナル配列を有さない全長LOXL2ポリペプチドに結合する。いくつかの実例において、抗体は、SRCR3-4ドメインおよび触媒ドメインのみを含む、成熟LOXL2ポリペプチド(すなわち、シグナル配列を有さず、SRCR1-2を有さない)に結合する。他の実例において、抗体は、N末端LOXL2断片に結合し、N末端LOXL2断片はSRCR1-2ドメインを含み、SRCR3-4または触媒ドメインを含まない。

30

【0128】

いくつかの実例において、適切な抗体は、LOXL2触媒ドメイン内のエピトープを特異的に結合し、たとえば、配列番号2、3、4、または5のアミノ酸配列を含む触媒ドメインに結合する抗体である。いくつかの実例において、適切な抗体(たとえば、ポリクローナル抗体)は、1つ、2つ、3つ、またはそれより多いLOXL2ドメイン内の複数のエピトープを特異的に結合する。

40

【0129】

いくつかの実施形態において、抗体は、SRCR3-リンカー-SRCR4領域(「SRCR3-4」)、たとえば、配列番号1のアミノ酸325~544に対して、アミノ酸325~547に対して、アミノ酸303~544に対して、またはアミノ酸303~547に対して少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むSRCR

50

3 - 4 領域内のエピトープ ; リンカー - S R C R 3 - リンカー - S R C R 4 - リンカー 領域内のエピトープ、たとえば、配列番号 1 のアミノ酸 3 0 3 ~ 5 4 4、アミノ酸 3 0 3 ~ 5 4 5、アミノ酸 3 0 3 ~ 5 4 6、またはアミノ酸 3 0 3 ~ 5 4 7 に対して少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列内のエピトープ ; S R C R 3 - リンカー - S R C R 4 - リンカー 領域内のエピトープ、たとえば、配列番号 1 のアミノ酸 3 2 5 ~ 5 4 4、アミノ酸 3 2 5 ~ 5 4 5、アミノ酸 3 2 5 ~ 5 4 6、またはアミノ酸 3 2 5 ~ 5 4 7 に対して少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列内のエピトープ ; 配列番号 1 のアミノ酸 3 2 5 ~ 4 2 5 に対して、アミノ酸 3 0 3 ~ 4 2 5 に対して、アミノ酸 3 0 3 ~ 4 3 4 に対して、またはアミノ酸 3 2 5 ~ 4 3 4 に対して少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む S R C R 3 領域などの S R C R 3 領域内の (S R C R 4 内ではない) エピトープ ; リンカー - S R C R 3 領域内のエピトープ、たとえば、配列番号 1 のアミノ酸 3 0 3 ~ 4 2 5 に対して少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列内のエピトープ ; S R C R 3 - リンカー 領域内のエピトープ、たとえば、配列番号 1 のアミノ酸 3 2 5 ~ 4 3 4 に対して少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列内のエピトープ ; リンカー - S R C R 3 - リンカー 領域内のエピトープ、たとえば、配列番号 1 のアミノ酸 3 0 3 ~ 4 3 4 に対して少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列内のエピトープ ; リンカー - S R C R 4 - リンカー 領域内のエピトープ、たとえば、配列番号 1 のアミノ酸 4 2 6 ~ 5 4 4、アミノ酸 4 2 6 ~ 5 4 5、アミノ酸 4 2 6 ~ 5 4 6、またはアミノ酸 4 2 6 ~ 5 4 7 に対して少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列内のエピトープ ; 配列番号 1 のアミノ酸 4 3 5 ~ 5 4 4、アミノ酸 4 3 5 ~ 5 4 5、アミノ酸 4 3 5 ~ 5 4 6、またはアミノ酸 4 3 5 ~ 5 4 7 に対して少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む S R C R 4 領域などの S R C R 4 領域内の (S R C R 3 内ではない) エピトープ ; 配列番号 1 に示されているアミノ酸配列のアミノ酸 5 8 ~ 3 0 2、またはアミノ酸 5 8 ~ 3 2 4 に対して少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む S R C R 1 - 2 領域などの S R C R 1 - リンカー - S R C R 2 領域 (「 S R C R 1 - 2 」) 内のエピトープ ; 配列番号 1 に示されているアミノ酸配列のアミノ酸 5 8 ~ 3 2 4 に対して少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列内のエピトープ ; 配列番号 1 に示されているアミノ酸配列のアミノ酸 5 8 ~ 1 5 9 に対して少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む S R C R 1 領域などの S R C R 1 領域内の (S R C R 2 内ではない) エピトープ ; 配列番号 1 に示されているアミノ酸配列のアミノ酸 5 8 ~ 1 8 7 に対して少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む S R C R 1 - リンカー 領域などの S R C R 1 - リンカー 領域内のエピトープ ; または、S R C R 1 領域内の (S R C 2 内ではない) エピトープであって、S R C R 2 領域が配列番号 1 に示されているアミノ酸配列のアミノ酸 1 8 8 ~ 3 0 2 に対して少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または 1 0 0 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得るエピトープに特異的に結合する。ある特定の態様において、抗体は、ヒト L O X L 2 の S R C R 3 - リンカー - S R C R 4 領域内、たと

えば、配列番号15 (VWGMVCGQNWGIVEA)、配列番号17 (VEAMVVCRLGLGFA)、または配列番号18 (GFASNAFQETWYWHG)に記載されている配列を有する領域内のエピトープに特異的に結合する。

【0130】

他の非限定的な例としては、LOXL2触媒ドメイン内のエピトープに特異的に結合するモノクローナル抗体AB0030 (RPDS1-M20) (たとえば、US2009/0053224を参照されたい。そこでは抗体AB0030はproBM20に対応する)、RPDS-1M1、RPDS-1M3、RPDS-1M8、RPDS-1M9、RPDS-1M11、RPDS-1M15、RPDS-1M17、RPDS-1M19、RPDS-1M20 (AB0030)、RPDS-1M22、RPDS-1M24、RPDS-1M25、RPDS-1M27、RPDS-1M28、RPDS-1M29、RPDS-1M30、RPDS-1M31、RPDS-1M32、RPDS-2M1、RPDS-2M2、RPDS-2M3、RPDS-2M4、RPDS-2M5、RPDS-2M6、RPDS-2M7、RPDS-2M8、RPDS-2M9、RPDS-2M10、RPDS-2M11、RPDS-2M12、RPDS-2M13、RPDS-2M14、RPDS-2M15、RPDS-2M16、RPDS-2M17、RPDS-2M18、およびRPDS-2M19が挙げられる。国際特許出願公開第WO2011/097513号ならびに、モノクローナル抗体RPDS-1M1、RPDS-1M3、RPDS-1M8、RPDS-1M9、RPDS-1M11、RPDS-1M15、RPDS-1M17、RPDS-1M19、RPDS-1M20 (AB0030)、RPDS-1M22、RPDS-1M24、RPDS-1M25、RPDS-1M27、RPDS-1M28、RPDS-1M29、RPDS-1M30、RPDS-1M31、RPDS-1M32、RPDS-2M1、RPDS-2M2、RPDS-2M3、RPDS-2M4、RPDS-2M5、RPDS-2M6、RPDS-2M7、RPDS-2M8、RPDS-2M9、RPDS-2M10、RPDS-2M11、RPDS-2M12、RPDS-2M13、RPDS-2M14、RPDS-2M15、RPDS-2M16、RPDS-2M17、RPDS-2M18、およびRPDS-2M19、たとえば、LOXL2の触媒ドメイン内に結合するモノクローナル抗体を参照されたい。いくつかの実施形態において、抗体は以下の表に列挙されている抗体および/またはそのような抗体と結合について競合する抗体を含む。

【数1】

寄託された材料	寄託日	受託番号
RPDS1-M20 (AB0030)	2010年3月26日	050210-04
RPDS-1M19	2010年3月26日	050210-02
RPDS-1M21	2010年3月26日	050210-03
RPDS-1M27	2010年3月26日	050210-01
RPDS1-M31	2010年3月26日	260310-01
RPDS-2M2	2010年3月26日	260310-02
RPDS-2M4	2010年3月26日	260310-03

【0131】

いくつかの実施形態において、LOXL2特異的抗体は、LOXL2ポリペプチド以外の他のリシルオキシダーゼ様ポリペプチドのいずれにも実質的に結合せず、たとえば、LOXL2特異的抗体は、LOXL1ポリペプチド、LOXL3ポリペプチド、もしくはLOXL4ポリペプチド、またはリシルオキシダーゼ (LOX) ポリペプチドには実質的に結合しない。

【0132】

いくつかの実施形態において、抗体は、LOXL2がLOXL2の酵素活性を阻害する作用物質に結合している場合にLOXL2に特異的に結合する。LOXL2の酵素活性を阻害する作用物質としては、LOXL2酵素活性のアロステリック阻害剤が挙げられる。いくつかの場合において、アロステリック阻害剤は、抗LOXL2モノクローナル抗体、たとえば、LOXL2の「SRCR3-4」ドメイン内のエピトープを結合する抗LOXL2モノクローナル抗体である。LOXL2の酵素活性を阻害し、SRCR3-4ドメイン内のエピトープを結合するモノクローナル抗体の非限定的な例は、AB0023およびAB0024である；たとえば、US2009/0053224を参照されたい。いくつかの実施形態において、適切な抗LOXL2抗体は、a) SRCR3-4内のエピトープを特異的に結合し、また、ii) AB0023抗体および/またはAB0024抗体とSRCR3-4内のエピトープとの結合について競合しない。

10

【0133】

いくつかの実施形態において、LOXL2特異的抗体は、LOXL2ポリペプチドが液体生物学的サンプル中に存在する場合に結合に利用可能なエピトープ（複数可）を結合し、たとえば、LOXL2特異的抗体が結合したエピトープ（複数可）は表面で利用可能であり、かつ/または液体生物学的サンプル中に存在し得る1つ以上の非LOXL2タンパク質によって遮蔽されていない。

【0134】

いくつかの場合において、抗LOXL2抗体は検出可能な標識を含む。適切な検出可能な標識としては、これらに限定されないが、磁気ビーズ（たとえば、Dynabeads（商標））、蛍光色素（たとえば、フルオレセインイソチシアネート、テキサスレッド、ローダミン、緑色蛍光タンパク質、赤色蛍光タンパク質、黄色蛍光タンパク質など）、放射標識（たとえば、³H、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C、または³²P）、酵素（たとえば、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ルシフェラーゼ、および酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）において一般に使用される他の酵素）、ならびにコロイド金または色ガラスまたはプラスチック（たとえば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックスなど）ビーズなどの比色標識が挙げられる。

20

【0135】

抗LOXL2抗体が検出可能な標識を含むいくつかの態様において、抗LOXL2抗体は、標識によって生成されるシグナル（たとえば、抗LOXL2抗体に結合した酵素の生成物として生成される発色団、発光団など；標識によって直接生成されるシグナルなど）を検出することによって検出することができる。いくつかの場合において、抗LOXL2抗体は検出可能な標識を含まないが、検出可能な標識を含む二次抗体を使用して検出することができる。適切な二次抗体としては、抗LOXL2抗体の定常領域ドメイン（複数可）内のエピトープ（複数可）に特異的なモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体が挙げられる。二次抗体は、これらに限定されないが、磁気ビーズ（たとえば、Dynabeads（商標））、蛍光色素（たとえば、フルオレセインイソチシアネート、テキサスレッド、ローダミン、緑色蛍光タンパク質、赤色蛍光タンパク質、黄色蛍光タンパク質など）、放射標識（たとえば、³H、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C、または³²P）、酵素（たとえば、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ルシフェラーゼ、および酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）において一般に使用される他の酵素）、ならびにコロイド金または色ガラスまたはプラスチック（たとえば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックスなど）ビーズなどの比色標識を含めた、種々の検出可能な標識のいずれかを含んでよい。Mesoscale DiscoveryのSULFO-TAG（商標）標識も、検出可能な標識として使用するために適している。SULFO-TAG（商標）標識は、ルテニウム（II）トリス-ピピリジン-（4-メチルスルホン）N-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）-エステルと第一級アミン（たとえば、リシンの側鎖）の反応によってポリペプチド（たとえば、二次抗体）に結合させることができるルテニウム（II）トリス-ピピリダール（bipyridal）タグである。

30

40

【0136】

50

いくつかの実例において、たとえば、提供される検出またはアッセイ方法において使用するための抗LOXL2抗体は、不溶性支持体に固定される。適切な不溶性支持体は、これらに限定されないが、ポリビニルジフルオリド(PVDF)、セルロース、ニトロセルロース、ナイロン、ガラス、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリプロピレン、二酸化ケイ素、ポリエチレン、ポリカーボネート、デキストラン、アミロース、天然セルロースおよび変性セルロース、ポリアクリルアミド、ポリアクリルアミドゲルに包埋したシリカ、アガロース、斑糲岩、磁鉄鉱などを含めた種々の材料を含んでよい。不溶性支持体は、さまざまな様式(たとえば、寸法、形状)、たとえば、試験ストリップに使用されるものなどのシート;ディップスティックアッセイ様式;マルチウェルプレート(たとえば、ELISAにおいて使用されるものなど)などのいずれかであってよい。

10

IV. 被験体

【0137】

いくつかの実施形態において、提供される方法は、たとえば、特定の疾患または状態を有する被験体、それを有する疑いがある被験体、その診断を受けた被験体、および/またはそれに対する処置を受けているもしくは受けていた被験体に作用物質を投与することによって実行される。いくつかの実施形態において、方法は、そのような被験体から得られるサンプルを使用して実行される。疾患および状態の中には、がん、線維症、線維症性の疾患および状態、肝疾患、ならびにLOXL2と関連する疾患および状態がある。被験体の中には、疾患または状態を有するがまだその診断を受けていない被験体、および疾患または状態に対する処置を現在受けているまたは以前に受けていた被験体が存在する。

20

A. 線維症

【0138】

いくつかの実施形態において、疾患または状態は、線維症または線維症性の疾患または状態、たとえば、肝線維症、腎線維症、肺線維症、骨髄線維症、心臓線維症、または他のタイプの線維症である。いくつかの場合において、疾患または状態は線維増生と関連する。線維症は、たとえば、肉体的な傷害、炎症、感染、毒素への曝露、および他の原因に起因し得る、損傷を受けた組織における、たとえば、創傷治癒プロセスの一部として起こり得る線維組織の異常な蓄積を含み得る。線維症の例としては、皮膚の瘢痕形成、ケロイド、肝線維症、肺線維症(たとえば、珪肺症、石綿肺)、腎線維症(糖尿病性腎症を含む)、強皮症、および糸球体硬化症が挙げられる。

30

1. 肝疾患および肝線維症

【0139】

いくつかの実施形態において、疾患または状態は、線維症性の肝臓の疾患または状態または肝線維症、たとえば、基礎肝疾患にかかわらずあらゆる肝線維症などの肝臓の疾患または状態である。肝(Liver)(肝(hepatic))線維症および線維症と関連する肝疾患は、これらに限定されないが、C型肝炎ウイルス(HCV)、NAFLD(非アルコール性脂肪性肝炎)、PSC(原発性硬化性胆管炎)、硬変、肝線維症、および門脈圧亢進症を含み、PBC(原発性胆汁性肝硬変)、自己免疫性肝炎、アルコール性硬変、アルファ1アンチトリプシン欠損症、遺伝性ヘモクロマトーシス、ウイルソン病、B型肝炎ウイルス(HBV)、およびHIV関連脂肪性肝炎硬変(steatohepatitis)、および関連する状態、たとえば、慢性ウイルス性肝炎、非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)、アルコール性脂肪性肝炎(ASH)、非アルコール性脂肪性肝炎(NAFLD)、原発性胆汁性肝硬変(PBC)、胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、および自己免疫性肝炎も含んでよい。ある特定の実施形態において、疾患または状態は、非アルコール性脂肪性肝炎(NAFLD)、原発性胆汁性肝硬変(PBC)、または原発性硬化性胆管炎(PSC)である。いくつかの実施形態において、疾患または状態は、急性または慢性のウイルス性の肝臓の疾患または状態である。例示的な疾患および状態の中には、C型肝炎ウイルス(HCV)感染症またはB型肝炎ウイルス(HBV)感染症関連の肝損傷を伴うまたは伴わないHCV、HBVがある。したがって、提供される方法の中には、ウイルス性肝炎などの肝疾患を有する患者における抗線維症療法のため

40

50

の方法がある。いくつかの態様において、肝疾患は代償性肝疾患である。他の態様において、肝疾患は、腹水症、食道静脈瘤、脳障害、および/または黄疸と関連する肝疾患などの非代償性肝疾患である。

【0140】

肝線維症は、多数の肝疾患の病態に関係づけられ、慢性肝傷害に対する創傷治癒応答の一部として、ヘモクロマトーシス、ウィルソン病、アルコール依存症、住血吸虫症、ウイルス性肝炎、胆管閉塞症、毒素への曝露、および代謝障害の合併症として起こり得る。肝線維症は、正常な肝臓におけるものと定性的に区別することができる細胞外マトリックスの蓄積によって特徴付けられる。検査を受けずにいると、肝線維症は硬変（被包小結節が存在することによって定義される）、肝不全、および死に増悪する。寄生生物およびウイルス感染（たとえば、B型肝炎ウイルス（HBV）、HCV、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、住血吸虫症）またはアルコール消費による長期ストレスを含めた原因からの肝臓に対する慢性傷害の結果、一般には、おそらく損傷を受けたエリアを封入し、残りの肝組織を損傷から保護するための肝臓のリモデリングが生じる（LiおよびFriedman、*Gastroenterol. Hepatol.* 14巻：618～633頁、1999年）。肝線維症の結果、総コラーゲン含量の3～10倍の増加および低密度基底膜の高密度マトリックスによる置き換えを含めた細胞外マトリックスの変化が生じ、それにより、肝細胞、肝星細胞および内皮細胞の代謝機能および合成機能が損なわれる（Girogescu、M.、*Non-invasive Biochemical Markers of Liver Fibrosis*、*J. Gastrointest. Liver Dis.*、15巻（2号）：149～159頁（2006年））。

10

20

【0141】

肝実質におけるコラーゲンの緩やかな蓄積は、慢性肝疾患の最終的な共通の経路である。線維症のこの増悪性の蓄積は、最終的に肝臓の硬変および末期肝疾患につながり得る。病気の肝組織ではLOXL2発現が増加する。

【0142】

肝線維症に対する処置戦略としては、基礎をなす原因（たとえば、毒素または感染因子）の除去、炎症の抑制（たとえば、コルチコステロイド、IL-1受容体アンタゴニスト、または他の作用物質を使用する）、星細胞活性化の下方制御（たとえば、ガンマインターフェロンまたは抗酸化剤を使用する）、マトリックス分解の促進、または星細胞アポトーシスの促進が挙げられる。LiおよびFriedman（*Gastroenterol. Hepatol.* 14巻：618～633頁、1999年）。ただ単に炎症を抑制することとは対照的に、基礎をなす生化学的プロセスに対処する処置が必要とされている。提供される方法の複数の実施形態がこの必要性に対処する。

30

a. 肝線維症スコアリングおよびステージング

【0143】

肝線維症の程度および重症度の定量的評価を提供する、多くの標準化されたスコアリングシステムが存在する。これらは、METAVIR、Knodell、Scheuer、Ludwig、およびIshakスコアリングシステムを含む。肝線維症を有する個体は、METAVIR、Knodell、Scheuer、Ludwig、およびIshakスコアリングシステムのいずれかに基づく、肝線維症の任意の程度または重症度を有する個体を含む。

40

【0144】

METAVIRスコアリングシステムは、線維症（門脈線維症（portal fibrosis）、小葉中心性線維症（centrilobular fibrosis）、および硬変）；壊死（巣状および小葉壊死（piecemeal and lobular necrosis）、好酸性退縮（acidophilic retraction）、ならびに気球状変性）；炎症（門脈路（portal tract）炎症、門脈リンパ様集合体（portal lymphoid aggregate）、および門脈炎症の分布）；胆管変化；ならびにKnodell指数（門脈周囲の壊死、小葉壊死、門脈炎

50

症、線維症、および全体的な疾患活性のスコア)を含む、肝生検の様々な特徴の分析に基づく。METAVIRシステムにおけるそれぞれのステージの定義は、以下のとおりである：スコア：0、線維症なし；スコア：1、門脈路の放射状の拡大(stellate enlargement)があるが、隔壁形成なし；スコア：2、まれに隔壁形成を伴う門脈路の拡大；スコア：3、硬変を伴わない多数の隔壁；およびスコア：4、硬変。

【0145】

組織学的活性指数(Histology Activity Index)とも呼ばれるKnodel1のスコアリングシステムは、4つのカテゴリーの組織学的特徴におけるスコアに基づいて検体を分類する：I.門脈周囲のおよび/または架橋状壊死；II.小葉内の変性および巣状壊死；III.門脈炎症；ならびにIV.線維症。Knodel1ステージングシステムにおいて、スコアは、以下のとおりである：スコア：0、線維症なし；スコア：1、軽度の線維症(線維性の門脈の拡大)；スコア：2、中程度の線維症；スコア：3、重度の線維症(架橋線維化)；およびスコア：4、硬変。スコアが高いほど、肝組織損傷がより重症である。Knodel1(1981年)Hepatol. 1巻：431頁。Knodel1 RG、Conrad ME、Ishak KG. Development of chronic liver disease after acute non-A, non-B, post transfusion hepatitis. Gastroenterology 1977年；72巻：902~909頁を参照されたい。いくつかの実施形態において、スコアリングは、Knodel1壊死性炎症性指数全体、および/またはKnodel1炎症スコアおよび/または壊死スコアなどのその個々の構成成分を分析することを含む。

10

20

【0146】

Scheuerスコアリングシステムにおいて、スコアは、以下のとおりである：スコア：0、線維症なし；スコア：1、線維症性門脈路の拡大；スコア：2、門脈周囲または門脈間の(portal-portal)隔壁があるが、無傷の構造；スコア：3、構造に変形があるが、明らかな硬変がない線維症；スコア：4、ほぼ確実なまたは確実な硬変。Scheuer(1991)J. Hepatol. 13:372。

【0147】

Ishakスコアリングシステムは、Ishak(1995)J. Hepatol. 22:696-699において記載される。ステージ0、線維症なし；ステージ1、短い線維性隔壁を伴うまたは伴わないいくつかの門脈エリアの線維性の拡大；ステージ2、短い線維性隔壁を伴うまたは伴わないほとんどの門脈エリアの線維性の拡大；ステージ3、時々、門脈から門脈への(portal to portal)(P-P)架橋を伴うほとんどの門脈エリアの線維性の拡大；ステージ4、(P-P)および門脈から中心部への(portal-central)(P-C)著しい架橋を伴う門脈エリアの線維性の拡大；ステージ5、時々、結節を伴う著しい架橋(P-Pおよび/またはP-C)(不完全な硬変)；ステージ6、ほぼ確実なまたは確実な硬変。

30

【0148】

いくつかの態様において、肝疾患または線維症を、末期肝疾患モデル(Model for End-stage Liver Disease)(MELD)スコアを決定することによって評価する。いくつかの態様において、方法により、個体が特定のMELDスコアを有するまたは少なくとも特定のMELDスコアを有することを、または、個体が特定のMELDスコアを有するまたは少なくとも特定のMELDスコアを有する確度を予測または決定する。

40

【0149】

いくつかの態様において、肝疾患が代償性肝疾患であるか非代償性肝疾患であるかを決定する。たとえば、非代償性肝疾患は、腹水症、食道静脈瘤、脳障害、および/または黄疸と関連し得る。

2.腎線維症

【0150】

50

いくつかの実施形態において、疾患または状態は、腎線維症であるまたはそれと関連する。肝線維症のように、腎線維症は、様々な疾患および腎臓に対する傷害から結果として生じ得る。そのような疾患および傷害の例は、慢性腎疾患、メタボリックシンドローム、膀胱尿管逆流、尿細管間質性腎線維症 (tubulointerstitial renal fibrosis)、糖尿病 (糖尿病性腎症を含む)、ならびに巣状分節状系球体硬化症および膜性系球体腎炎、膜性増殖性GNを含むが、これらに限定されない、結果として生ずる系球体腎炎 (GN) を含む。

【0151】

メタボリックシンドロームは、インスリン抵抗性ならびに中心性または内臓肥満および高血圧などの、糖尿病性の特徴を含む異常状態のクラスターであることが認識されるようになった。ほぼすべての場合において、グルコースの調節異常は、サイトカイン放出の刺激および細胞外マトリックス沈着のアップレギュレーションをもたらす。慢性腎疾患、糖尿病、メタボリックシンドローム、および系球体腎炎の一因となるさらなる要因は、高脂血症、高血圧、およびタンパク尿を含み、これらはすべて、腎臓に対するさらなる損傷をもたらし、細胞外マトリックス沈着をさらに刺激する。したがって、原発性の原因に関係なく、腎臓に対する傷害は、腎線維症および腎機能の相伴う損失をもたらし得る (Schena, F. および Gesualdo, L., Pathogenic Mechanisms of Diabetic Nephropathy, *J. Am. Soc. Nephrol.*, 16: S30-33 (2005); Whaley-Connell, A. および Sower, J. R., Chronic Kidney Disease and the Cardiometabolic Syndrome, *J. Clin. Hypert.*, 8(8): 546-48 (2006))。

3. 肺線維症

【0152】

いくつかの実施形態において、疾患または状態は、肺線維症であるまたはそれと関連する。肺の線維症は、多くの症候群および疾患を含む。例示的な疾患は、特発性肺線維症 (IPF)、特発性間質性肺炎、および急性呼吸促迫症候群 (ARDS) を含む。肺線維症はまた、特発性線維化肺炎、慢性線維化間質性肺炎 (chronic fibrosing interstitial pneumonia)、間質性肺疾患 (ILD)、およびびまん性実質性肺疾患 (DPLD) をも含むが、これらに限定されない。

【0153】

上記の疾患を含む、ほとんどの肺線維症の病因は、十分に理解されておらず、しかしながら、すべて、炎症細胞の流入および引き続くコラーゲンに富む細胞外マトリックスの合成および沈着の増大によって特徴付けられる (Chuaら、*Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 33: 9-13 (2005); Tzortzakisら、*J. Histochem. & Cytochem.*, 54(6): 693-700 (2006); Armstrongら、*Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 160: 1910-1915 (1999))。

【0154】

IPFは、肺組織の炎症および最終的に線維症によって特徴付けられるが、これらの2つの症状を分離することができる。IPFの原因は、知られておらず、それは、自己免疫障害からまたは感染症の結果として生じ得る。IPFの症状は、疾患が進行すると主な症状になる呼吸困難 (すなわち息切れ)、および乾性咳嗽を含む。死は、低酸素血症、右心不全、心臓発作、肺塞栓症、卒中、または肺感染症から結果として生じ得、これらはすべて、その疾患によって引き起こされ得る。

4. 骨髄線維症

【0155】

いくつかの実施形態において、疾患または状態は、骨髄線維症であるまたはそれと関連する。原発性骨髄線維症における発病のプロセスは、原発性巨核球増量クローン性骨髄増殖 (primary megakaryocyte-weighted clonal

10

20

30

40

50

myeloproliferation) ならびに骨髄線維症、骨硬化症、新脈管形成、および髄外造血を含む、腫瘍随伴性の間質反応を含む。骨髄反応は、線維性コラーゲンなどの細胞外マトリックスタンパク質の過剰沈着、低細胞性、骨髄線維芽細胞の活性化および動員、過度のサイトカインおよび増殖因子産生、ならびに造血能力の低下をもたらす他の変化を含む。二次性骨髄線維症は、真性赤血球増加症または本態性血小板増加症から結果として生じ得る。

B. がん

【0156】

いくつかの実施形態において、疾患または状態は、がんまたは腫瘍であるまたはそれと関連する。したがって、いくつかの実施形態において、被験体は腫瘍患者 (oncology patient) である。そのような疾患および状態およびがんとしては、癌腫、肉腫、良性腫瘍、原発腫瘍、腫瘍転移、固形腫瘍、非固形腫瘍、血液腫瘍、白血病およびリンパ腫、ならびに原発性腫瘍および転移性腫瘍が挙げられる。

10

【0157】

癌腫としては、これらに限定されないが、食道癌、肝細胞癌、基底細胞癌 (皮膚がんの形態)、扁平上皮癌 (さまざまな組織)、移行細胞癌を含めた膀胱癌 (膀胱の悪性新生物)、気管支原性癌、結腸癌、結腸直腸癌、胃癌、肺の小細胞癌および非小細胞癌を含めた肺癌、副腎皮質癌、甲状腺癌、膵癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、腺癌、汗腺癌、脂腺癌、乳頭癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、腎細胞癌、非浸潤性乳管癌または胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎児性癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、子宮癌、精巣癌、骨原性癌腫 (osteogenic carcinoma)、上皮癌、および上咽頭癌などが挙げられる。

20

【0158】

肉腫としては、これらに限定されないが、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、脊索腫、骨原性肉腫、骨肉腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング肉腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、および他の軟部組織肉腫が挙げられる。

【0159】

固形腫瘍としては、これらに限定されないが、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、希突起神経膠腫、髄膜腫 (meningioma)、黒色腫、神経芽細胞腫、および網膜芽細胞腫が挙げられる。

30

【0160】

白血病としては、これらに限定されないが、a) 慢性骨髄増殖性症候群 (多分化能造血幹細胞の新生物疾患)、b) 急性骨髄性白血病 (多分化能造血幹細胞または限られた系列への潜在性を有する造血細胞の腫瘍性形質転換; c) B細胞 CLL、T細胞 CLL 前リンパ球性白血病、およびヘアリー細胞白血病を含めた慢性リンパ球性白血病 (CLL; 免疫学的に未成熟であり機能的に無能な小リンパ球のクローン増殖); ならびに d) 急性リンパ芽球性白血病 (リンパ芽球の蓄積によって特徴付けられる) が挙げられる。リンパ腫としては、これらに限定されないが、B細胞リンパ腫 (たとえば、バーキットリンパ腫); ホジキンリンパ腫などが挙げられる。

40

【0161】

良性腫瘍としては、たとえば、血管腫、肝細胞腺腫、海綿状血管腫、限局性結節性過形成、聴神経腫、神経線維腫、胆管腺腫、胆管嚢胞腺腫 (bile duct cystanoma)、線維腫、脂肪腫、平滑筋腫、中皮腫、奇形腫、粘液腫、結節性再生性過形成、トラコーマおよび化膿性肉芽腫が挙げられる。

【0162】

原発性腫瘍および転移性腫瘍としては、たとえば、肺がん (これらに限定されないが、肺腺癌、扁平上皮癌、大細胞癌、細気管支肺胞癌、非小細胞癌、小細胞癌、中皮腫を含めた); 乳がん (これらに限定されないが、腺管癌、小葉癌、炎症性乳がん、明細胞癌、粘液癌を含めた); 結腸直腸がん (これらに限定されないが、結腸がん、直腸がんを含めた

50

); 肛門がん; 膵がん(これらに限定されないが、膵臓腺癌、膵島細胞癌、神経内分泌腫瘍を含めた); 前立腺がん; 卵巣癌(これらに限定されないが、漿液性腫瘍、類内膜腫瘍および粘液性嚢胞腺癌を含めた上皮性卵巣癌または表層上皮性・間質性腫瘍、性索間質性腫瘍を含めた); 肝臓・胆管癌(これらに限定されないが、肝細胞癌、胆管癌、血管腫を含めた); 食道癌(これらに限定されないが、食道腺癌および扁平上皮癌を含めた); 非ホジキンリンパ腫; 膀胱癌; 子宮の癌腫(これらに限定されないが、子宮内膜腺癌、子宮乳頭状漿液性癌(uterine papillary serous carcinoma)、子宮明細胞癌(uterine clear-cell carcinoma)、子宮肉腫および平滑筋肉腫、ミューラー管混合腫瘍を含めた); 神経膠腫、神経膠芽腫、髄芽腫、および他の脳の腫瘍; 腎がん(これらに限定されないが、腎細胞癌、明細胞癌、ウィルムス腫瘍を含めた); 頭頸部がん(これらに限定されないが、扁平上皮癌を含めた); 胃がん(これらに限定されないが、胃腺癌、消化管間質性腫瘍を含めた); 多発性骨髄腫; 睾丸がん; 胚細胞性腫瘍; 神経内分泌腫瘍; 子宮頸がん; 胃腸管、乳房、および他の器官のカルチノイド; ならびに印環細胞癌が挙げられる。

10

V. 治療方法

【0163】

提供される方法の中には、本明細書に記載の疾患または状態、たとえば、線維症性の疾患または状態、たとえば、肝疾患などの疾患または状態の1つ以上の症状を処置し、かつ/または好転させるための方法がある。一般に、方法は、リシルオキシダーゼ様2(LOXL2)を阻害し、かつ/またそれに結合する作用物質を投与することによって実行される。疾患および状態の中には、線維症性の疾患および状態ならびに線維症と関連する疾患および状態がある。そのような疾患および状態としては、たとえば、肝線維症(liver fibrosis)(肝線維症(hepatic fibrosis))および線維症性肝疾患、たとえば、ウイルス性肝炎など、たとえば、慢性ウイルス性肝炎、B型肝炎ウイルス(HBV)およびC型肝炎ウイルス(HCV)、およびHIV関連脂肪性肝炎硬変および関連する状態、たとえば、慢性ウイルス性肝炎、特発性肺線維症(IPF)などの肺線維症(lung or pulmonary fibrosis)、腎線維症、心臓線維症、骨髄線維症、ならびに、膵臓腺癌および結腸直腸腺癌などのがんを挙げることができる。肝臓の線維症性の疾患または状態の他の例は、NASH(非アルコール性脂肪性肝炎)、PSC(原発性硬化性胆管炎)、硬変、門脈圧亢進症、PBC(原発性胆汁性肝硬変)、自己免疫性肝炎、アルコール性硬変、アルファ1アンチトリプシン欠損症、遺伝性ヘモクロマトーシス、ウイルソン病、非アルコール性脂肪肝疾患(NAFLD)、およびアルコール性脂肪性肝炎(andalcoholic steatohepatitis)(ASH)である。ある特定の実施形態において、疾患または状態は、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)、原発性胆汁性肝硬変(PBC)、または原発性硬化性胆管炎(PSC)である。いくつかの実施形態において、疾患または状態は、METAVIR F1肝線維症またはMETAVIR F2肝線維症、初期肝線維症(たとえば、METAVIR F1またはMETAVIR F2)などの活動性線維症性疾患、および/またはMETAVIR F4肝線維症などの進行期線維症性疾患である。

20

30

A. LOXL2に結合し、それを検出し、かつ/またはそれを阻害する作用物質

40

【0164】

一般に、方法は、本明細書に記載のLOXL2ポリペプチドなどのLOXL2の阻害剤であり、かつ/またはそれに結合し、かつ/またはそれを検出する作用物質を使用して実行される。いくつかの態様において、LOXL2は、全長またはプロセシングされた形態(タンパク質分解性の(protolytic)プロセシングまたは切断によって生じる)、プロ酵素形態または成熟形態、分泌形態、および/または活性形態である。他のリシルオキシダーゼとしては、LOXL1、LOXL3、およびLOXL4が挙げられる。いくつかの実施形態において、作用物質は、活性なLOXとLOXL2をどちらも阻害し、かつ/またはどちらにも結合する。他の実施形態において、作用物質は、LOXまたはLOXLの1つの形態に対して特異的であり、たとえば、別のリシルオキシダーゼまたは

50

リシルオキシダーゼ様タンパク質には実質的に結合しないまたはそれを実質的に阻害しないLOXL2の阻害剤または結合剤などである。

【0165】

作用物質としては、たとえば、抗体断片を含めたLOXL2に特異的に結合する抗体、小分子阻害剤、siRNA、shRNA、およびアンチセンスポリヌクレオチドが挙げられる。いくつかの態様において、作用物質、たとえば、抗体は、たとえばLOXL2の非競合的阻害剤である。いくつかの実例において、作用物質はLOXL2ポリペプチドの酵素活性を阻害する。LOXL2の酵素活性を阻害する作用物質としては、LOXL2酵素活性のアロステリック阻害剤が挙げられる。

【0166】

したがって、いくつかの実施形態において、LOXL2阻害剤および/または結合剤は、抗体断片およびモノクローナル抗体を含めた本明細書に記載の任意の抗体などの、LOXL2タンパク質を特異的に結合する抗体である。

【0167】

必要であれば、処置のために、方法は、追加的な療法をさらに含み得る。たとえば、いくつかの実施形態において、方法は、被験体を、抗ウイルス剤、たとえば、HCVまたはHBV感染症または他の肝炎ウイルス感染症を処置するために適した作用物質などの別の治療剤を用いて処置するステップをさらに含む。たとえば、HCV感染症を、インターフェロン-アルファ(IFN- α)、ピラミジン、リバビリン、レボピリン(levovirin)、HCV NS3阻害剤、HCV NS5B阻害剤、または前述のものの1つ以上の組合せを用いて処置することができる。

B. 投与量および投与

【0168】

一般に、作用物質は、治療有効量、たとえば、特定の疾患または状態の処置をもたらすための量、たとえば、その症状の低下または排除をもたらすための量、および/またはLOXL2、たとえば、LOXL2活性を阻害するために有効な量で投与される。いくつかの実施例において、作用物質は、処置していない場合と比較して生存を増加または延長させるため、架橋線維化の増加を低下させるまたは予防するため、アルファ平滑筋アクチン(SMA)レベルの増加を低下させるまたは予防するため、ならびに/または星細胞活性化の増加を低下させるまたは予防するため、線維症を低下させるため、ならびに/または病気のまたは線維症性の組織における炎症および/もしくは壊死を低下させるために有効な量で投与される。いくつかの実施例において、作用物質は、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)またはアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)の増加を低下させるまたは予防するため、ならびに/または、たとえば、ALT/AST比またはAST/ALT比を低下させるため、たとえば、そのようなパラメータを基準値上限(ULN)未満まで、または基準値上限(ULN)の2倍未満、5倍未満、もしくは10倍未満まで低下させるために有効な量で投与される。

【0169】

選択される投与量レジメンは種々の因子に左右され、その因子としては、抗体の活性、投与経路、投与時間、利用される特定の化合物の排泄速度、処置の持続時間、他の薬物、使用する特定の組成物と組み合わせて使用する化合物および/または材料、処置される患者の年齢、性別、体重、状態、全体的な健康および以前の病歴、ならびに医学の分野で周知の同様の因子を挙げることができる。

【0170】

当技術分野における通常の技術を有する臨床医は、必要な医薬組成物の有効量(ED50)を容易に決定し、処方することができる。たとえば、医師または獣医師は、医薬組成物に利用する本発明の化合物の用量を、所望の治療効果を実現するために必要なレベルよりも低いレベルで開始し、投与量を所望の効果が実現されるまで徐々に上昇させることができる。

【0171】

いくつかの態様において、作用物質、たとえば抗体は、用量当たり体重1kg当たり1ng～体重1kg当たり20mg、たとえば、体重1kg当たり0.1mg～体重1kg当たり10mg、たとえば、体重1kg当たり0.5mg～体重1kg当たり5mg、および/または毎分体重1キログラム当たり1μg～10mgの用量で投与される。いくつかの実施例において、投与量は、10または20mg/kgもしくはは約10または20mg/kgあるいは少なくとも10または20mg/kgもしくはは約10または20mg/kg、あるいは最大で10または20mg/kgもしくはは約10または20mg/kg、たとえば、隔週で、10または20mg/kg、IVもしくはは約10または20mg/kg、IVあるいは少なくとも10または20mg/kg、IVもしくはは約10または20mg/kg、IV、あるいは最大で10または20mg/kg、IVもしくはは約10または20mg/kg、IVである。いくつかの実施例において、投与量は、200mgもしくはは約200mg、たとえば、200mg、IVもしくはは約200mg、IV、700mgもしくはは約700mg、たとえば、700mg、IV(隔週)もしくはは約700mg、IV(隔週)、200mgもしくはは約200mg～700mgまたは1000mgもしくはは約700mgまたは1000mg、たとえば、IV、隔週である。他の実施例において、投与量は、75mg、125mgもしくはは約75mg、125mg、または75mg～125mgもしくはは約75mg～125mg、たとえば、75mg、125mg、皮下(SC)もしくはは約75mg、125mg、皮下(SC)である。別の実施例において、投与量は、IVまたはSCにより投与される1mg、5mg、10mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg、80mg、85mg、90mg、95mg、100mg、125mg、150mg、175mg、200mg、225mg、250mg、275mg、300mg、325mg、350mg、375mg、400mg、425mg、450mg、475mg、または500mgもしくはは約1mg、5mg、10mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg、80mg、85mg、90mg、95mg、100mg、125mg、150mg、175mg、200mg、225mg、250mg、275mg、300mg、325mg、350mg、375mg、400mg、425mg、450mg、475mg、または500mgである。作用物質は、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間毎に、IVまたはSCのいずれかによって投与される。同様に、作用物質は、IVまたはSCのいずれかにより、1か月、2か月、3か月、4か月、5か月、6か月、7か月、8か月、9か月、10か月、11か月、12か月、15か月、18か月、20か月、24か月、30か月、または36か月の期間にわたって投与される。

10

20

30

【0172】

いくつかの場合において、処置方法は、抗体またはそれを含有する組成物の非経口投与、たとえば、静脈内投与、動脈内投与、筋肉内投与、もしくは皮下投与、または経口投与を含む。抗体は、局所的に投与することもできる。

C. 組成物、デバイス、システム、およびキット

【0173】

本明細書では、LOX/LOXLの阻害剤を線維症の部位に局所的に送達するための組成物、デバイス、システム、およびキットも提供される。カテーテルおよびステントなどの医療デバイスを使用して、局所的に送達することができ、したがって、そのようなLOX/LOXLの阻害剤の全身送達に関連する毒性または他の副作用の危険性を実質的に低下させることができる。

40

【0174】

たとえば、方法と関連して使用するための医薬組成物、たとえば、作用物質、たとえば本明細書に記載の抗体のいずれかを含有する医薬組成物が提供される。組成物は、任意の適切な経路によって局所的にまたは全身的に投与するために適したものであってよい。

D. 検出およびモニタリング方法

50

【0175】

いくつかの態様において、治療方法は、L O X L 2 遺伝子産物（たとえば、m R N A、タンパク質）および/または線維症関連遺伝子の産物を検出するためのものなどの診断、検出、および/または予後判定ステップを含む。そのような方法は、たとえば、処置の効果をモニターするために、たとえば、提供される治療方法と併せて実施することができる。

【0176】

たとえば、いくつかの実施形態において、処置方法は、効力または活性をモニターするためならびに/または、対象の疾患もしくは状態のL O X L 2 および/もしくは他のマーカーを含めたマーカーの存在、非存在、レベル、および/もしくは発現を検出または測定するためのものを含めた、処置をモニターするためのステップを含む。いくつかの実施例において、方法は、肝内のL O X L 2 発現、たとえば、m R N A もしくはタンパク質の発現を評価するステップを含み、かつ/または他の線維症関連遺伝子の処置前のレベルに対する処置後のレベルを評価する。

10

【0177】

いくつかの態様において、方法により、疾患または状態を有する個体が、L O X L 2 阻害剤または結合剤を用いた処置などの処置に対する有益な臨床応答を示す確度を決定し、かつ/または処置の効力を評価する。そのような方法は、たとえば、個体から得られる液体サンプルにおけるリシルオキシダーゼ様2 (L O X L 2) の循環レベルを決定するステップを含んでよい。一態様において、L O X L 2 の循環レベルが正常コントロールレベルよりも高いことにより、個体の疾患または状態に対する処置への有益な臨床応答を示す確度が増加していることが示される。いくつかの実施例において、決定された確度に基づいて報告を生成する。いくつかの実施例において、方法は、疾患または状態に対して個体を処置するステップ、または処置を改変もしくは中止するステップをさらに含む。いくつかの実施形態において、方法は、特定のエンドポイント、転帰、またはイベント、たとえば、疾患転帰または処置への応答性の確度などの疾患または状態に関する予測的な情報を提供する。

20

【0178】

いくつかの実施例において、方法は、個体を、肝機能のマーカー、たとえば、血清タンパク質（たとえば、アルブミン、凝固因子、アルカリホスファターゼ、アミノトランスフェラーゼ（たとえば、アラントランスアミナーゼ、アスパラギン酸トランスアミナーゼ）、5'-ヌクレオシダーゼ、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼなど）などのタンパク質の合成、ビリルビンの合成、コレステロールの合成、および胆汁酸の合成；これらに限定されないが、炭水化物代謝、アミノ酸およびアンモニア代謝、ホルモン代謝、ならびに脂質代謝を含めた肝臓代謝機能；外因性の薬剤の解毒；内蔵および門脈の血行力学を含む血行力学機能について評価するステップを含む。一実施例において、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ (A L T) のレベルは、標準のアッセイを使用して測定される。いくつかの実施例において、約45国際単位未満、約50未満、約55未満、約60未満、約61未満、約62未満、約63未満、約64未満、または約65未満のA L T レベルは、正常と考えられる。A L T レベルの上昇により、肝機能が損なわれていることが示され得る。機能的肝予備力の定量的試験も、肝機能の評価のために使用することができ、そのような試験としては、たとえば、インドシアニンググリーンクリアランス (I C G)、ガラクトース排泄能 (G E C)、アミノピリン呼吸検査 (A B T)、アンチピリンクリアランス、モノエチルグリシン-キシリジド (M E G - X) クリアランス、およびカフェインクリアランスが挙げられる。

30

40

V. 検出、診断、予後判定、および予測方法

【0179】

提供される方法の中には、検出、診断、予後判定、および予測方法がある。いくつかの実施形態において、そのような方法は、個体（たとえば、本明細書に記載の被験体）における、および/または、そのような個体から得られるサンプルなどのサンプルにおけるL

50

OXL2、たとえば、LOXL2ポリペプチドの検出および/または定量化を含む。いくつかの態様において、LOXL2は循環LOXL2である。したがって、いくつかの態様において、循環LOXL2の検出および/または定量化についてのアッセイが提供される。

【0180】

いくつかの実施形態において、サンプル、たとえば、試験される個体から得られる液体サンプルにおけるLOXL2を検出する。液体サンプルは、血液または血漿もしくは血清などの血液画分であってもよく、他の液体サンプルであってもよい。

【0181】

いくつかの実施形態において、提供される方法およびアッセイは、慢性HCV感染症またはHBV感染症の患者におけるものなどの肝線維症の程度の非侵襲的な代理測定に有用である。

A. LOXL2ポリペプチド

【0182】

「LOXL2ポリペプチド」とは、図25に示されているアミノ酸配列の約100アミノ酸(aa)~約200aa、約200aa~約300aa、約300aa~約400aa、約400aa~約500aa、約500aa~約600aa、約600aa~約700aa、または約700aa~774aaの連続したひと続きに対して少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドを指す。「LOXL2」とは、図25に示されているヒトLOXL2アミノ酸配列、およびその天然に存在するパリアント(多型)も指す。

【0183】

図25にはヒトLOXL2のアミノ酸配列が示されており、4つのスカベンジャー受容体システインリッチ(SRCR)ドメインが示されている。LOXL2ポリペプチドは、全長ポリペプチドであっても成熟(切断型;プロセシング型)LOXL2ポリペプチドであってもよい。予測されるシグナル切断は、Ala25とGln26の間である。プレプロペプチドからのシグナルペプチドの切断により、LOXL2プロペプチドが生じる。LOXL2プロペプチドはSRCR2とSRCR3の間(たとえば、図25に示されている配列のアミノ酸301からアミノ酸326の間)で切断され、SRCR3、SRCR4、およびリシロキシダーゼ(触媒)ドメインを含むLOXL2ポリペプチドが残る。

【0184】

LOXL2ポリペプチドは酵素的に活性であり得る。たとえば、LOXL2ポリペプチドにより、リシンおよびヒドロキシリシン残基の - アミノ基の酸化的脱アミノ化を触媒し、ペプチジルリシンからペプチジル - - アミノアジピン酸 - - セミアルデヒド(アリシン)への変換ならびに化学量論的な量のアンモニアおよび過酸化水素の放出がもたらされ得る。この反応は、ほとんどの場合、細胞外、たとえばコラーゲンおよびエラスチンのリシン残基で起こる。

【0185】

いくつかの場合において、対象のLOXL2アッセイを使用して検出されるLOXL2ポリペプチドは、たとえば、SRCR1-2、SRCR3-4、および触媒ドメインを含む、シグナル配列を有さない全長LOXL2ポリペプチドである。いくつかの実例において、対象のLOXL2アッセイを使用して検出されるLOXL2ポリペプチドは、SRCR3-4ドメインおよび触媒ドメインのみを含む成熟LOXL2ポリペプチド(すなわち、シグナル配列を有さず、SRCR1-2を有さない)である。成熟LOXL2ポリペプチド(SRCR3-4および触媒ドメイン;シグナル配列およびSRCR1-2ドメインを有さない)を検出する代わりに、またはそれに加えて、対象のLOXL2アッセイにより、N末端LOXL2断片を検出することができ、そのN末端LOXL2断片はSRCR1-2ドメインを含み、SRCR3-4または触媒ドメインを含まない。

B. サンプル

【0186】

いくつかの実施形態において、方法は、生物学的サンプル、たとえば液体生物学的サンプルなどのサンプルに対して実施される。そのようなサンプルとしては、これらに限定されないが、全血；これらに限定されないが、血清および血漿を含めた適切な血液画分（「血液製剤」とも称される）；唾液；尿；気管支肺胞洗浄液；脳脊髄液；痰などが挙げられる。生物学的サンプルは、新鮮な血液または保存血（たとえば、血液バンクにおいて）または血液画分であってよい。生物学的サンプルは、本開示のアッセイのために特別に得られる液体サンプルであってもよく、別の目的のために得られ、本開示のアッセイのためにサブサンプリングすることができる液体サンプルであってもよい。

【0187】

一実施例として、生物学的サンプルは全血であってよい。全血は、標準の臨床的手順を使用して被験体から得ることができる。別の実施形態において、生物学的サンプルは血漿である。血漿は、全血サンプルから、抗凝固処理した血液を遠心分離することによって得ることができる。そのようなプロセスにより、白色細胞構成成分のパフィコートおよび血漿の上清がもたらされる。別の実施形態において、生物学的サンプルは血清である。

【0188】

必要な場合、サンプルを、適切な緩衝溶液中に希釈すること、ヘパリン処理すること、所望であれば濃縮すること、または、これらに限定されないが、超遠心分離、高速タンパク質液体クロマトグラフィー（FPLC）による分画、もしくは沈殿を含めた任意の数の方法によって分画することによって前処理することができる。サンプルを、たとえば、免疫親和性法によって分画して、1つ以上の非LOXL2タンパク質または他の非LOXL2構成成分をサンプルから除去することができる。たとえば、抗アルブミン抗体を使用してアルブミンをサンプルから除去することができる。たとえば、リン酸塩、トリスなどの種々の緩衝剤の1つを利用するいくつかの標準の緩衝水溶液のいずれをも生理的pHで使用することができる。

C. 作用物質

【0189】

方法は、一般に、本明細書に記載の任意の抗体を含めた抗LOXL2抗体などのLOXL2に結合し、かつ/またはそれを検出する作用物質を使用して実施される。いくつかの実施形態において、方法では、LOXL2に特異的な抗体を使用して、液体サンプル中のLOXL2を固定および/または検出する。抗体は、本明細書に記載の抗体のいずれであってもよい。

D. アッセイ様式

【0190】

いくつかの態様において、個体における循環LOXL2を検出するための対象のアッセイは、a) 個体から得られる液体サンプルをLOXL2に特異的な抗体と接触させるステップ；およびb) 液体サンプルに存在するLOXL2への抗体の結合を検出するステップを伴う。適切なアッセイ方法としては、酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）、ラジオイムノアッセイ（RIA）、免疫沈降アッセイ、ラテラルフローアッセイまたはアキシアルフローアッセイ、質量分析などが挙げられる。

【0191】

いくつかの実施形態において、対象のアッセイ方法により、液体サンプル中のLOXL2を、175 pg/ml以下まで検出することができ、たとえば、対象のアッセイ方法により、液体サンプル中のLOXL2を、約150 pg/ml～約175 pg/mlまで、約125 pg/ml～約150 pg/mlまで、約100 pg/ml～約125 pg/mlまで、約75 pg/ml～約100 pg/mlまで、約50 pg/ml～約75 pg/mlまで、または約40 pg/ml～約50 pg/mlまで検出することができる。たとえば、対象のアッセイ方法により、液体サンプル中にLOXL2が10 ng/ml未満の濃度、たとえば、約10 ng/ml～約5 ng/ml、約5 ng/ml～約1 ng/ml、約1 ng/ml～約500 pg/ml、約500 pg/ml～約400 pg/ml、約

10

20

30

40

50

400 pg/ml ~ 約300 pg/ml、約300 pg/ml ~ 約200 pg/ml、約200 pg/ml ~ 約175 pg/ml、約200 pg/ml ~ 約150 pg/ml、約150 pg/ml ~ 約100 pg/ml、約100 pg/ml ~ 約75 pg/ml、約75 pg/ml ~ 約50 pg/ml、または約50 pg/ml ~ 約40 pg/mlの濃度で存在する場合に、液体サンプル中のLOXL2を検出することができる。いくつかの場合において、対象のアッセイ方法により、液体サンプル中にLOXL2が約175 pg/ml ~ 約5 ng/mlの濃度範囲で（または、5 ng/ml超）存在する場合に、液体サンプル中のLOXL2が検出される。いくつかの場合において、対象のアッセイ方法により、液体サンプル中にLOXL2が約40 pg/ml ~ 約5 ng/mlの濃度範囲で（または、5 ng/ml超）存在する場合に、液体サンプル中のLOXL2が検出される。いくつかの場合において、対象のアッセイ方法により、液体サンプル中のLOXL2が平均バックグラウンド+ 2.5 × SD（バックグラウンドの標準偏差）の検出限界まで検出される。

10

【0192】

いくつかの場合において、対象のアッセイ方法は、2つのLOXL2特異的抗体の使用を伴う。2つのLOXL2特異的抗体は両方がモノクローナル抗体であってもよく、2つのLOXL2特異的抗体はポリクローナル抗体とモノクローナル抗体であってもよく、いくつかの他のそのような組合せであってもよい。

【0193】

たとえば、第1のLOXL2特異的抗体を液体サンプルと接触させると、第1のLOXL2特異的抗体が液体サンプルに存在するLOXL2と複合体を形成する。第1のLOXL2特異的抗体を不溶性支持体上に固定することができ、したがって、第1のLOXL2特異的抗体/LOXL2複合体が不溶性支持体上に固定される。あるいは、第1のLOXL2特異的抗体が溶液中に存在してよく、第1のLOXL2特異的抗体/LOXL2複合体は不溶性であってもよく、したがって、第1のLOXL2特異的抗体/LOXL2複合体が免疫沈降する。第1のLOXL2特異的抗体/LOXL2複合体は、第2のLOXL2特異的抗体を使用して検出することができる。いくつかの場合において、第1のLOXL2特異的抗体はポリクローナル抗体であり、第2のLOXL2特異的抗体はモノクローナル抗体である。

20

【0194】

いくつかの実施形態において、対象のアッセイ方法は、個体から得られる液体サンプルを固定されたLOXL2特異的抗体と接触させるステップを伴い、固定されたLOXL2特異的抗体は不溶性支持体に固定される。サンプル中に存在するあらゆるLOXL2が固定されたLOXL2特異的抗体に結合し、固定された抗LOXL2/LOXL2複合体が形成される。固定された抗LOXL2/LOXL2複合体は、第2の（固定されていない）LOXL2特異的抗体を使用して検出することができる。第2のLOXL2特異的抗体は、検出可能に標識されていてもよく、検出可能に標識した二次抗体を使用して検出することもできる。

30

【0195】

したがって、いくつかの実施形態において、個体における循環LOXL2を検出する対象の方法は、a) 個体から得られる液体サンプルを第1のLOXL2に特異的な抗体と接触させ、したがって第1の抗体とLOXL2が複合体を形成するステップ、b) LOXL2 - 第1の抗体複合体を第2のLOXL2に特異的な抗体と接触させるステップ、およびc) 第2の抗体とLOXL2 - 第1の抗体複合体の結合を検出するステップを伴う。

40

【0196】

不溶性支持体は、マルチウェルプレートの1つ以上のウェル、試験ストリップ、ディップスティック様式などであってもよい。上記のアッセイ様式のいずれにおいても、1つ以上の洗浄ステップを行って、結合していない構成成分を除去することができる。

【0197】

本開示のアッセイ方法により、個体における病理学的なLOXL2の循環レベルを検出

50

することができる。たとえば、対象のアッセイ方法は、a) 個体から得られる液体サンプルを L O X L 2 に特異的な抗体と接触させるステップ、b) 液体サンプルに存在する L O X L 2 への抗体の結合を検出するステップ、および c) 検出レベルを正常コントロール値と比較するステップを伴ってよい。検出レベルが正常コントロール値よりも高いことにより、病態（たとえば、がんまたは線維症）が示される。

E. コントロール値

【0198】

いくつかの実施形態において、試験被験体から得られるサンプルにおける L O X L 2 のレベル（複数可）を正常コントロール値（複数可）または正常コントロール値の範囲と比較する。コントロール値は、コントロール集団、たとえば、ヒト被験体の一般集団または選抜集団から得られる比較可能なサンプル（たとえば、血液、血漿もしくは血清サンプル、または他の液体生物学的サンプル）における L O X L 2 のレベルに基づくものであってよい。たとえば、選抜集団は、明らかに健康な被験体、たとえば、以前に、線維症やがんのいかなるサインも症状も有したことがない個体で構成され得る。明らかに健康な個体は、一般に、別段疾患の症状も示さない。言い換えれば、そのような個体は、医学の専門家によって検査された場合、健康であり、疾患の症状がないものとして特徴付けられることになる。

10

【0199】

コントロール値は、様々な形態を取ることができる。コントロール値は、中央値または平均値などの単一のカットオフ値とすることができる。正常コントロール値は正常コントロール範囲とすることができる。

20

【0200】

いくつかの場合において、コントロールである基準値は、対象のアッセイ方法の検出限界未満であり、たとえば、基準値は、約 175 pg/ml 未満、約 150 pg/ml 未満、約 100 pg/ml 未満、約 75 pg/ml 未満、約 50 pg/ml 未満、または約 40 pg/ml 未満であり得る。

F. 試験被験体

【0201】

上記の通り、いくつかの実施形態において、サンプル、たとえば、個体（たとえば、被験体）から得られる液体サンプルを、対象の L O X L 2 アッセイを使用して試験する。個体、たとえば、方法で試験するために適した被験体は、疾患または状態を有するとまだ診断されていないが、医師に症状および/または愁訴を示す個体（たとえば診断されていない障害または疾患を有する個体）；疾患または状態（たとえば、がん、線維症、慢性 C 型肝炎ウイルス（HCV）などの HCV 感染症、または慢性 B 型肝炎ウイルス（HBV）（CHB）などの HBV 感染症、または本明細書に記載の他の疾患または状態）と診断された個体；疾患または状態を有する疑いがあるが、疾患または状態を有するとまだ診断されていない個体；明らかに健康であり、慣用のスクリーニングを受けている個体、ならびに疾患または状態に対する処置を受けている個体などの、本明細書に記載の被験体のいずれも含む。

30

【0202】

いくつかの態様において、対象の L O X L 2 アッセイを使用して試験するための被験体は、良性腫瘍を有する個体、原発腫瘍を有する個体、腫瘍転移を有する個体、および非固形腫瘍型のがんを有する個体を含めた、がんを有すると診断された個体を含む。対象の L O X L 2 アッセイを使用して試験するために適した個体は、がんを有するが、がんを有するとまだ診断されていない個体を含む。したがって、対象の L O X L 2 アッセイを使用して試験するために適した個体は、癌腫、肉腫、白血病、およびリンパ腫を含めた多種多様ながんを有する個体を含む。

40

【0203】

いくつかの場合において、腫瘍患者は、がんに対する処置を現在受けている患者である。いくつかの実例において、処置は、L O X L 2 ポリペプチドの酵素活性を阻害する作用

50

物質を投与することを含む。LOXL2の酵素活性を阻害する作用物質としては、LOXL2酵素活性のアロステリック阻害剤が挙げられる。いくつかの場合において、アロステリック阻害剤は、抗LOXL2モノクローナル抗体、たとえば、LOXL2の「SRCR3-4」ドメイン内のエピトープを結合する抗LOXL2モノクローナル抗体である。LOXL2の酵素活性を阻害し、SRCR3-4ドメイン内のエピトープを結合するモノクローナル抗体の非限定的な例は、AB0023およびAB0024である；たとえば、US2009/0053224を参照されたい。

【0204】

いくつかの態様において、対象のアッセイ方法を使用して試験するために適した個体は、上皮細胞の上皮間葉転換(EMT)が起こっている個体を含む。対象のアッセイ方法を使用して試験するために適した個体は、線維増生および線維芽細胞の活性化(腫瘍および線維症性疾患の病理的な微小環境の生成に関する因子であると考えられる)が起こっている個体を含む。そのような個体は、前がん細胞を有し得、かつ/またはがん発達の初期であり得る。

10

【0205】

いくつかの態様において、対象のLOXL2アッセイ方法を使用して試験するために適した個体は、線維症(線維症性疾患)、たとえば、肝線維症、腎線維症、肺線維症、骨髄線維症、心臓線維症、または他のタイプの線維症を有すると診断された個体を含む。対象のLOXL2アッセイ方法を使用して試験するために適した個体は、線維症性疾患(たとえば、肝線維症、腎線維症、肺線維症、骨髄線維症、心臓線維症、または他の種類の線維症)を有するが、線維症性疾患を有するとまだ診断されていない個体を含む。

20

【0206】

いくつかの場合において、適した試験被験体は線維症の進行型の形態を有するが、線維症に対する処置レジメンによる処置になお適し得る。たとえば、適した試験被験体は、活動性(末期ではない)線維症を有する被験体を含む。いくつかの場合において、適した試験被験体は、線維症を有し、急速な疾患増悪を経験することが予測され得る被験体である。

【0207】

いくつかの場合において、対象のLOXL2アッセイを使用して試験されるべき個体は、線維症性疾患に対する処置を現在受けている個体である。いくつかの実例において、処置は、LOXL2ポリペプチドの酵素活性を阻害する作用物質を投与することを含む。LOXL2の酵素活性を阻害する作用物質としては、LOXL2酵素活性のアロステリック阻害剤が挙げられる。いくつかの場合において、アロステリック阻害剤は、抗LOXL2モノクローナル抗体、たとえば、LOXL2の「SRCR3-4」ドメイン内のエピトープを結合する抗LOXL2モノクローナル抗体である。LOXL2の酵素活性を阻害し、SRCR3-4ドメイン内のエピトープを結合するモノクローナル抗体の非限定的な例は、AB0023およびAB0024である；たとえば、US2009/0053224を参照されたい。

30

【0208】

いくつかの場合において、対象のLOXL2アッセイを使用して試験されるべき個体は、IPFに対する処置を現在受けている個体である。他の場合において、対象のLOXL1アッセイを使用して試験されるべき個体は、肝線維症に対する処置を現在受けている個体である。いくつかの実例において、処置は、LOXL2ポリペプチドの酵素活性を阻害する作用物質を投与することを含む。LOXL2の酵素活性を阻害する作用物質としては、LOXL2酵素活性のアロステリック阻害剤が挙げられる。いくつかの場合において、アロステリック阻害剤は、抗LOXL2モノクローナル抗体、たとえば、LOXL2の「SRCR3-4」ドメイン内のエピトープを結合する抗LOXL2モノクローナル抗体である。LOXL2の酵素活性を阻害し、SRCR3-4ドメイン内のエピトープを結合するモノクローナル抗体の非限定的な例は、AB0023およびAB0024である；たとえば、US2009/0053224を参照されたい。

40

50

【0209】

いくつかの場合において、対象のLOXL2アッセイを使用して試験されるべき個体は、現在、線維症性疾患に対するまたはがんに対する処置を受けている個体である。いくつかの実例において、処置は、LOXL2ポリペプチドの酵素活性を阻害する作用物質の投与を含む。LOXL2酵素活性を阻害する作用物質は、LOXL2酵素活性のアロステリック阻害剤を含む。いくつかの場合において、アロステリック阻害剤は、抗LOXL2モノクローナル抗体、たとえば、LOXL2のSRCR3-4ドメイン内のエピトープに結合する、抗LOXL2モノクローナル抗体である。LOXL2酵素活性を阻害し、SRCR3-4ドメイン内のエピトープに結合するモノクローナル抗体の非限定的な例は、AB0023およびAB0024である；たとえば、米国特許出願公開第2009/0053224号明細書を参照されたい。

10

G. 診断方法

【0210】

循環性LOXL2の上昇などのLOXL2のレベルの上昇と関連するまたはそれによって特徴付けられる疾患および状態を含む、LOXL2と関連する疾患および状態に対する、様々な診断方法がとりわけ提供される。たとえば、個体が循環LOXL2の上昇によって特徴付けられる疾患を有するかどうかを決定するための方法が、提供される。そのような疾患または状態の活性または重症度を評価するための方法もまた、提供される。診断方法は、一般に、上記に記載されるように、対象のLOXL2アッセイ方法を使用して、個体における循環LOXL2のレベルを検出するステップを含む。循環LOXL2の上昇によって特徴付けられる疾患は、がんおよび線維症を含む。

20

【0211】

所定のサンプルにおけるLOXL2のレベルは、濃度によって、重量、または本明細書において記載される検出アッセイの他の読み取り値によって表現されてもよい。一態様において、正常コントロールレベルまたは他の参照レベルよりも高い循環LOXL2のレベルが、個体が循環LOXL2の上昇によって特徴付けられる疾患を有することを示す。たとえば、正常コントロールレベルまたは他の参照レベルよりも、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%高い、または50%超高い循環LOXL2のレベルは、個体が循環LOXL2の上昇によって特徴付けられる疾患を有することを示すことができる。他の実施例として、約40pg/mlよりも高い、約50pg/mlよりも高い、約75pg/mlよりも高い、約100pg/mlよりも高い、約150pg/mlよりも高い、約175pg/mlよりも高い、約200pg/mlよりも高い、約250pg/mlよりも高い、約300pg/mlよりも高い、約350pg/mlよりも高い、約400pg/mlよりも高い、約450pg/mlよりも高い、約500pg/mlよりも高い、約550pg/mlよりも高い、約600pg/mlよりも高い、約650pg/mlよりも高い、約700pg/mlよりも高い、約750pg/mlよりも高い、または約800pg/mlよりも高い、または700pg/mlもしくは約700pg/ml~800pg/mlもしくは約800pg/mlよりも高い、循環LOXL2のレベルは、個体が、循環LOXL2の上昇によって特徴付けられる疾患を有することを示すことができる、および/または活動性疾患または特定の活性レベルを示すことによってなどの、疾患または状態についての予後判定情報もしくは予測情報を示すことができる。したがって、いくつかの実施形態において、方法は、LOXL2の循環レベルが、40pg/mlもしくは約40pg/mlよりも高い、50pg/mlもしくは約50pg/mlよりも高い、約75pg/mlよりも高い、100pg/mlもしくは約100pg/mlよりも高い、150pg/mlもしくは約150pg/mlよりも高い、175pg/mlもしくは約175pg/mlよりも高い、200pg/mlもしくは約200pg/mlよりも高い、250pg/mlもしくは約250pg/mlよりも高い、300pg/mlもしくは約300pg/mlよりも高い、350pg/mlもしくは約350pg/mlよりも高い、400pg/mlもしくは約400pg/mlよりも高い、450pg/mlもしくは

30

40

50

は約450 pg/mlよりも高い、500 pg/mlもしくは約500 pg/mlよりも高い、550 pg/mlもしくは約550 pg/mlよりも高い、600 pg/mlもしくは約600 pg/mlよりも高い、650 pg/mlもしくは約650 pg/mlよりも高い、700 pg/mlもしくは約700 pg/mlよりも高い、750 pg/mlもしくは約750 pg/mlよりも高い、800 pg/mlもしくは約800 pg/mlよりも高い、または700 pg/mlもしくは約700 pg/mlから800 pg/mlもしくは約800 pg/mlの間を超える量などの量以上であるかどうかまたはそうであることを決定するステップを含む。他の実施形態において、方法は、LOXL2の循環レベルが、約100 pg/ml、約200 pg/ml、約300 pg/ml、約400 pg/ml、約500 pg/ml、約600 pg/ml、約700 pg/ml、約800 pg/ml、約900 pg/ml、約1000 pg/ml、約1100 pg/ml、約1200 pg/ml、約1300 pg/ml、約1400 pg/ml、約1500 pg/ml、約1600 pg/ml、約1700 pg/ml、約1800 pg/ml、約1900 pg/ml、約2000 pg/ml、約2100 pg/ml、約2200 pg/ml、約2300 pg/ml、約2400 pg/ml、約2500 pg/ml、約2600 pg/ml、約2700 pg/ml、約2800 pg/ml、約2900 pg/ml、約3000 pg/ml、約3100 pg/ml、約3200 pg/ml、約3300 pg/ml、約3400 pg/ml、約3500 pg/ml、約3600 pg/ml、約3700 pg/ml、約3800 pg/ml、約3900 pg/ml、または約4000 pg/mlのレベルである、それよりも高い、またはそれよりも低いかどうか、またはそうであることを決定するステップを含む。いくつかの場合において、レベルにより、被験体における活動性の線維形成、線維症ステージ、線維症の増悪または後退、硬変の増悪または後退、代償性もしくは非代償性のステージが示される。本明細書において使用される場合、LOXL2に関する「正常コントロールレベル」および「参照レベル」という用語は、サンプル、たとえば試験サンプルにおけるLOXL2レベルが比較されるLOXL2のレベルを指す。一実施形態において、LOXL2の循環レベルが3000 pg/ml以上であることにより、被験体が、硬変の後退を有する可能性が低いことが示される。他の実施形態において、LOXL2の循環レベルが1500 pg/ml以下であると、硬変の後退を有する可能性がより高い。

10

20

30

40

50

【0212】

一実施例において、正常コントロールレベルまたは参照レベルが、被験体の疾患または状態、たとえばLOXL2関連疾患または状態を有していない個体などの健康な個体由来のサンプルにおいて一般に観察されるレベルである。他の実施例において、それが、それほど活動性でない疾患、比較的よりよい予後判定、または生存もしくは処置への応答性などの、特定の転帰、エンドポイント、もしくはイベントと関連するより好都合な可能性(chance)を有する個体などの、LOXL2関連疾患または状態を有する個体において観察されるレベルである。たとえば、参照レベルまたは正常コントロールレベルは、好ましい転帰、エンドポイント、またはイベントを最終的に示した個体由来のサンプルにおける、ベースラインレベルなどの、特定の時点で観察されるレベルであってもよい。他の実施例において、正常コントロールレベルまたは参照レベルが、アッセイされているサンプルと比較した、異なる時点で、同じ個体から採取されるサンプルにおいて観察されるレベル、例えば、処置前のベースラインレベルまたは疾患増悪における、より初期のレベルもしくは疾患が検出される前のレベルである。他の実施例において、正常レベルまたは参照レベルが、あらかじめ決定された濃度のLOXL2を有するように調製されたサンプルにおけるレベルなどの標準的なレベルまたは単純にあらかじめ決定されたレベルである。本明細書において使用される場合、「ベースライン」は、処置前のまたは疾患増悪をモニタリングする研究の開始前の時点などの、特定のイベントまたは期間前の時点での量、レベル、または特定の変数の測定値(measurement)を指す。したがって、一態様において、LOXL2の参照レベルまたは正常コントロールレベルが、同じ個体または他の個体由来のベースラインレベルなどのベースラインレベルである。

【0213】

1. コントロール値

試験被験体から得られる液体サンプルにおけるLOXL2のレベルは、正常コントロール値（複数可）または正常コントロール値の範囲と比較することができる。コントロール値は、コントロール集団、たとえば一般集団またはヒト被験体の選抜集団から得られる、比較可能なサンプル（たとえば血液、血漿、血清サンプル、または他の液体生物学的サンプル）におけるLOXL2のレベルに基づくものとして行うことができる。たとえば、選抜集団は、明らかに健康な被験体（たとえば、以前に、線維症やがんのいかなるサインや症状をも有したことがない個体）から構成され得る。明らかに健康な個体はまた、一般に、別段疾患の症状を示さない。言い換えれば、そのような個体は、医学の専門家によって検査された場合、健康で、疾患の症状がないものとして特徴付けられることになる。その代わりに、評価される値は、平均値（average value）、平均値（mean value）、もしくは中央値などの他の参照値または特定の疾患もしくは状態を有する被験体の集団について観察される値と比較されてもよい。たとえば、そのような参照値は、その後、たとえば、参照値が得られた全部の患者コホートと比較して、より活動性疾患を有することが決定される、特定の個体について評価されるレベルに対する比較において使用されてもよい。

10

【0214】

コントロール値は、様々な形態を取ることができる。コントロール値は、中央値または平均値などの単一のカットオフ値とすることができる。正常コントロール値は、正常コントロール範囲とすることができる。

20

【0215】

2. 試験されるべき個体

試験被験体は、上記に列挙される被験体を含む。対象のアッセイを使用して試験するのに適した個体は、これまで疾患を有すると診断されていないが、医師に症状および/または愁訴を示す個体（たとえば診断されていない障害または疾患を有する個体）；がんと診断された個体；がんを有することが疑われているが、これまでがんを有すると診断されていない個体；明らかに健康であり、慣用のスクリーニングを受けている個体；線維症を有すると診断された個体；線維症を有することが疑われているが、これまで線維症を有すると診断されていない個体；C型肝炎ウイルス（HCV）またはB型肝炎ウイルス（HBV）感染症を有すると診断された（および必要に応じて、また、HCV感染症またはHBV感染症関連の肝損傷を有すると診断された）個体；ならびにがんまたは線維症性疾患に対する処置を受けている個体を含むが、これらに限定されない。

30

【0216】

いくつかの場合において、試験されるべき個体は、診断されていない障害または疾患を有する個体、たとえば、症状および/または愁訴を示す個体である。対象の診断方法は、そのような個体が線維症性疾患またはがんを有し得るかどうかを決定するために使用することができる。対象の診断方法は鑑別診断の一部とすることができ、いくつかの場合において、たとえば、診断を確認するまたは除外するために、1つ以上の診断試験と共に使用することができる。

40

【0217】

3. 報告の生成

対象の診断方法は、個体が線維症性疾患またはがんを有する可能性があるかどうかに関して指標を提供する報告を生成するステップを含むことができる。そのような報告は、さらなる評価に関する勧告、治療剤による処置に関する勧告などのような情報を含むことができる。

【0218】

対象の報告は、1) サービスプロバイダ情報；2) 患者データ；3) LOXL2のレベルに関するデータ；4) 追跡調査評価についての勧告；5) 治療剤による処置；および6) 他の特徴のうち1つ以上をさらに含むことができる。

50

【0219】

4. さらなる評価

LOXL2のレベルの検出に基づいておよび/または報告に基づいて(上記に記載されるように)、医師または他の資格のある医療関係者は、試験被験体(患者)についてのさらなる評価が必要とされるかどうかを決定することができる。さらなる評価は、たとえば、肺機能試験(たとえば肺線維症が疑われる場合);肝機能検査(たとえば肝線維症が疑われる場合);およびがんについての様々な試験を含むことができ、これらの試験は、疑われるがんのタイプに依存して変更されてもよい。

【0220】

一実施例として、個体ががんを有することが疑われる場合、がんについての様々な試験のいずれかを実行することができ、そのような試験は、たとえば、がん性細胞の存在についての組織生検の組織化学的分析;腫瘍関連抗原の存在についての試験;などを含む。

10

【0221】

他の実施例として、個体が肺線維症性障害(pulmonary fibrotic disorder)を有することが疑われる場合、個体は、肺線維症性障害の症状について評価することができる。肺線維症性障害の症状は、体重の減少、肺重量の増加、肺線維症、異常な肺構造(たとえば「蜂巢」肺)、Ashcroftスコアの増加、肺のコラーゲンレベル増加、CD45⁺/コラーゲン⁺細胞の数の増加、肺胞細胞増殖および拡大、ならびに気管支肺胞洗浄(BAL)液における白血球数の増加を含むが、これらに限定されない。症状はまた、たとえば、以下の分子のうちの1つ以上の肺レベルの増加を含むことができる:LOXL2、 α -平滑筋アクチン(α -SMA)、形質転換増殖因子-1(TGF-1)、間質由来因子-1(SDF-1)(たとえばSDF-1)、エンドセリン-1(ET-1)、およびリン酸化SMAD2。

20

【0222】

さらなる実施例として、個体が肝線維症を有することが疑われる場合、個体は、肝機能のマーカーについて評価することができる。肝機能は、血清タンパク質などのタンパク質の合成(たとえばアルブミン、凝固因子、アルカリホスファターゼ、アミノトランスフェラーゼ(たとえばアラントランスアミナーゼ、アスパラギン酸トランスアミナーゼ)、5'-ヌクレオシダーゼ、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼなど)、ビリルビンの合成、コレステロールの合成、および胆汁酸の合成;炭水化物代謝、アミノ酸およびアンモニア代謝、ホルモン代謝、ならびに脂質代謝を含むが、これらに限定されない肝臓代謝機能;外因性の薬剤の解毒;内臓および門脈の血行力学を含む血行力学機能;などを含むが、これらに限定されない。たとえば、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)のレベルは、標準的なアッセイを使用して測定される。一般に、約45国際単位未満のALTレベルは、正常と考えられる。ALTレベルの上昇は、損なわれた肝機能を示すことができる。機能的肝予備力の定量的試験もまた、肝機能の評価するために使用することができ、そのような試験は、たとえば、インドシアニングリーンクリアランス(ICG)、ガラクトース排泄能(galactose elimination capacity)(GEC)、アミノピリン呼吸検査(aminopyrine breath test)(ABT)、アンチピリンクリアランス、モノエチルグリシン-キシリジド(MEG-X)クリアランス、およびカフェインクリアランスを含む。腹水症、食道静脈瘤、脳障害、および/または黄疸の存在により、非代償性肝疾患が示され得る。

30

40

【0223】

5. 療法

LOXL2のレベルの検出に基づいておよび/または報告に基づいて(上記に記載されるように)、医師または他の資格のある医療関係者は、適切な治療剤による処置が、たとえば、線維症性疾患を処置するため、がんを処置するためなどに勧められるかどうかを決定することができる。

【0224】

たとえば、LOXL2の循環レベルおよび必要に応じてさらなる評価(たとえば組織生

50

検の組織化学的分析)に基づいて、早期のがんを有することが決定された個体は、がん化学療法薬レジメンを始めることができるおよび/または放射線療法により処置することができるおよび/またはがんの外科的な除去を受けることができる。

【0225】

がん化学療法剤(「化学療法剤」)は、細胞傷害性薬剤および細胞増殖抑制性薬剤を含む。化学療法剤は、形質転換状態から分化状態への逆転などの、細胞に対して他の効果を有するものまたは細胞複製を阻害するものを含んでいてもよい。たとえば、知られている細胞傷害性薬物の例は、Goodmanら、「The Pharmacological Basis of Therapeutics,」第6版, A. B. Gilmanら編/Macmillan Publishing Co. New York, 1980において列挙される。これらは、パクリタキセルおよびドセタキセルなどのタキサン;メクロレタミン、メルファラン、ウラシルマスタード、およびクロラムブシルなどのナイトロジェン;チオテパなどのエチレンイミン誘導体;ブスルファンなどのスルホン酸アルキル;ロムスチン、セムスチン、およびストレプトゾシンなどのニトロソ尿素;ダカルバジンなどのトリアゼン;メトトレキサートなどの葉酸アナログ;フルオロウラシル、シタラピン、およびアザリピンなどのピリミジンアナログ;メルカプトプリンおよびチオグアニンなどのプリンアナログ;ビンブラスチンおよびビンクリスチンなどのビンカアルカロイド;ダクチノマイシン、ダウノルピシン、ドキシソルピシン、およびマイトマイシンなどの抗生物質;シスプラチンなどの白金配位錯体(platinum coordination complex)などの金属錯体;ヒドロキシ尿素などの置換尿素;プロカルバジンなどのメチルヒドラジン誘導体;ミトタンなどの副腎皮質抑制薬;副腎皮質ステロイド(adrenocorticosteroid)(プレドニゾン)、プロゲステロン(カプロン酸ヒドロキシプロゲステロン、酢酸ヒドロキシプロゲステロン、および酢酸メゲストロール)、エストロゲン(ジエチルスチルベストロールおよびエチニルエストラジオール)、ならびにアンドロゲン(プロピオン酸テストステロンおよびフルオキシメステロン)などの、ホルモンならびにアンタゴニストを含む。

10

20

【0226】

他の実施例として、たとえば、LOXL2の循環レベルおよび必要に応じてさらなる評価(たとえば肺機能試験)に基づいて、IPFを有することが決定された個体は、IPFに対する薬物処置および/またはIPFに対する他の処置により処置することができる。IPFに対する一次処置は、医薬であり、IPFの処置に使用される最も一般的な薬剤は、コルチコステロイド(たとえばプレドニゾン)、ペニシラミン、ならびに様々な抗新生物薬(anti-neoplastic)(たとえばシクロホスファミド、アザチオプリン(azathioprine)、クロラムブシル、ビンクリスチン、およびコルヒチン)である。他の処置は、酸素投与および極端な場合は、肺移植を含む。

30

【0227】

さらなる実施例として、LOXL2の循環レベルおよび必要に応じてさらなる評価(たとえば、肝機能検査;HCV、HBVによる感染症についての試験など)に基づいて、肝線維症を有することが決定された個体は、たとえば抗ウイルス剤、たとえば、HCVもしくはHBV感染症または他の肝炎ウイルス感染症を処置するのに適した作用物質により処置することができる。たとえば、HCV感染症は、インターフェロン-アルファ(IFN- α)、ピラミジン(viramidine)、リバビリン、レボピリン(levovirin)、HCV NS3阻害剤、HCV NS5B阻害剤、または前述のものの1つ以上の組み合わせにより処置することができる。

40

【0228】

H. 処置の効力をモニターするための方法

本開示は、循環LOXL2の上昇によって特徴付けられる疾患などのLOXL2関連疾患または状態に対する処置の効力をモニターするための方法であって、方法が、一般に、対象のLOXL2アッセイを使用して、ある時点の、個体における循環LOXL2レベルを決定するステップを含む方法を提供する。一態様において、個体から初期の時点で得ら

50

れるレベルよりも低い、サンプルにおける L O X L 2 のレベルにより、処置の効力が示される。他の態様において、コントロールまたは参照サンプルと比較して、より低いレベルにより、処置の効力が示される。他の態様において、L O X L 2 のレベル、たとえば高レベルの L O X L 2 が、L O X L 2 標的療法による処置などの処置に対して個体が好都合に応答することを示す。

【0229】

たとえば、循環 L O X L 2 レベルは、個体において、第 1 の時点および第 2 の時点で決定され、第 2 の時点が、第 1 の時点よりも後である。第 1 の時点は、処置の開始前とすることができ、第 2 の時点は、処置の間（たとえば処置レジメンが始まった後）とすることができる。第 1 の時点は、処置の間とすることができ、第 2 の時点は、処置の間のより後の時間とすることができ、第 2 の時点は、第 1 の時点の約 1 時間～約 1 年間後とすることができる、たとえば、第 2 の時点は、第 1 の時点の約 1 時間～約 2 時間後、約 2 時間～約 4 時間後、約 4 時間～約 8 時間後、約 8 時間～約 16 時間後、約 16 時間～約 24 時間後、約 24 時間～約 36 時間後、約 36 時間～約 72 時間後、約 72 時間～約 4 日後、約 4 日～約 1 週間後、約 1 週間～約 2 週間後、約 2 週間～約 1 ヶ月後、約 1 ヶ月～約 3 ヶ月後、約 3 ヶ月～約 6 ヶ月後、約 6 ヶ月～約 1 年後、または 1 年を超える後とすることができる。

10

【0230】

したがって、たとえば、いくつかの実施形態において、循環 L O X L 2 の上昇によって特徴付けられる疾患に対する処置の効力を決定する対象の方法は、a) 第 1 の時点で個体における L O X L 2 の循環レベルを決定するステップ（第 1 の時点で個体から得られる液体サンプルにおける L O X L 2 のレベルを決定することによって）、b) 第 2 の時点で個体における L O X L 2 の循環レベルを決定するステップ（第 2 の時点で個体から得られる液体サンプルにおける L O X L 2 のレベルを決定することによって）、ならびに第 1 および第 2 の時点からの L O X L 2 のレベルを比較するステップを含む。

20

【0231】

第 2 の時点での循環 L O X L 2 レベルが、第 1 の時点での循環 L O X L 2 レベルよりも低い場合、循環 L O X L 2 の上昇によって特徴付けられる疾患に対する処置が有効であったことが結論付けられてもよく、これらの場合において、処置レジメンを継続する勧告がなされてもよい。第 2 の時点での循環 L O X L 2 レベルが、第 1 の時点での循環 L O X L 2 レベルよりも高い場合、循環 L O X L 2 の上昇によって特徴付けられる疾患に対する処置が有効ではなかったことが結論付けられてもよく、これらの場合において、処置レジメンを中止する、処置レジメンにおいて使用される薬剤の用量を増加させる、投薬の頻度を増加させる、または代わりとなる処置レジメンを施す勧告がなされてもよい。第 2 の時点での循環 L O X L 2 レベルが、第 1 の時点での循環 L O X L 2 レベルと有意に異なる場合、循環 L O X L 2 の上昇によって特徴付けられる疾患に対する処置が有効ではなかったことがまたは処置レジメンを変更するべきであると結論付けられてもよく、これらの場合において、処置レジメンを中止する、処置レジメンにおいて使用される薬剤の用量を増加させる、投薬の頻度を増加させる、または代わりとなる処置レジメンを施す勧告がなされてもよい。

30

40

【0232】

いくつかの実施形態において、動物モデルを使用して、循環 L O X L 2 の上昇によって特徴付けられる疾患などの L O X L 2 と関連する疾患および状態に対する処置（たとえば、その効力）および/または他の効果を評価するための方法が提供される。いくつかの態様において、疾患または状態は、P S C または P B C などの胆汁うっ滞性肝疾患である。いくつかのそのような態様において、動物モデルは、M d r 2^{-/-} マウスまたは胆管結紮（B D L）マウスである。いくつかの実施形態において、方法は、動物モデルに処置を施すステップおよび処置の効力または他の転帰を評価するステップを含む。一実施例では、評価するステップは、たとえば本明細書に記載の検出方法を使用して、動物由来のサンプルにおける L O X L 2 レベルを測定することを含む。

50

1. 試験被験体

【0233】

処置の効力をモニターするための対象の方法は、たとえば、がんと診断され、がんに対する処置を受けている個体；線維症を有すると診断され、線維症に対する処置を受けている個体；IPFを有すると診断され、IPFに対する処置を受けている個体；NASHを有すると診断され、NASHに対する処置を受けている個体；PBCを有すると診断され、PBCに対する処置を受けている個体；肝線維症を有すると診断され、肝線維症に対する処置を受けている個体；HCVまたはHBV感染症を有すると診断され、HCVまたはHBV感染症に対する処置を受けている個体；HCVまたはHBV感染症と関連する肝損傷を有すると診断され、HCVまたはHBV感染症および/または肝損傷に対する処置を受けている個体などを含む種々の個体のいずれを試験するためにも使用することができる。これらの被験体は、処置を必要とする被験体または診断を必要とする被験体と称することができる。

10

【0234】

いくつかの場合において、対象のLOXL2アッセイを使用して試験されるべき個体は、現在、がんに対する処置を受けている個体である。がん化学療法は、様々な細胞傷害性薬物のいずれかとするすることができる。そのような細胞傷害性薬物は、バクリタキセルおよびドセタキセルなどのタキサン；メクロレタミン、メルファラン、ウラシルマスタード、およびクロラムブシルなどのナイトロジェン；チオテバなどのエチレンイミン誘導体；ブスルファンなどのスルホン酸アルキル；ロムスチン、セムスチン、およびストレプトゾシンなどのニトロソ尿素；ダカルバジンなどのトリアゼン；メトトレキサートなどの葉酸アナログ；フルオロウラシル、シタラビン、およびアザリビンなどのピリミジンアナログ；メルカプトプリンおよびチオグアニンなどのプリンアナログ；ピンラスチンおよびピンクリスチンなどのピンカルカロイド；ダクチノマイシン、ダウノルピシン、ドキシソルピシン、およびマイトマイシンなどの抗生物質；シスプラチンなどの白金配位錯体などの金属錯体；ヒドロキシ尿素などの置換尿素；プロカルバジンなどのメチルヒドラジン誘導体；ミトタンなどの副腎皮質抑制薬；副腎皮質ステロイド（プレドニゾン）、プロゲステロン（カプロン酸ヒドロキシプロゲステロン、酢酸ヒドロキシプロゲステロン、および酢酸メゲストロール）、エストロゲン（ジエチルスチルベストロールおよびエチニルエストラジオール）、ならびにアンドロゲン（プロピオン酸テストステロンおよびフルオキシメステロン）などの、ホルモンならびにアンタゴニストを含む。

20

30

【0235】

いくつかの実例において、がん処置は、LOXL2ポリペプチドの酵素活性を阻害する作用物質の投与を含む。LOXL2酵素活性を阻害する作用物質は、LOXL2酵素活性のアロステリック阻害剤を含む。いくつかの場合において、アロステリック阻害剤は、抗LOXL2モノクローナル抗体、たとえば、LOXL2の「SRCR3-4」ドメイン内のエピトープに結合する、抗LOXL2モノクローナル抗体である。LOXL2酵素活性を阻害し、SRCR3-4ドメイン内のエピトープに結合するモノクローナル抗体の非限定的な例は、AB0023およびAB0024である；たとえば、米国特許出願公開第2009/0053224号明細書を参照されたい。

40

【0236】

他の実施例として、肝線維症に対する処置を受けているまたは肝線維症をもたらし得る疾患に対する処置を受けている個体は、対象の方法を使用して試験するのに適している。実施例として、HCV感染症に対する処置を受けている個体は、対象の方法を使用して試験するのに適している。たとえば、HCV感染症は、IFN-、ピラミジン、リバビリン、レボピリン、HCV NS3阻害剤、HCV NS5B阻害剤、または前述のもの1つ以上の組み合わせにより処置することができる。

【0237】

他の実施例として、IPFに対する処置を受けている個体は、対象の方法を使用して試験するのに適している。IPFを処置するのに一般に使用される薬剤は、たとえば、コル

50

チコステロイド（たとえばプレドニゾン）、ペニシラミン、ならびに様々な抗新生物薬（たとえばシクロホスファミド、アザチオプリン、クロラムブシル、ビンクリスチン、およびコルヒチン）である。

【0238】

2. コントロール値

試験被験体から得られる液体サンプルにおけるLOXL2のレベルは、正常コントロール値（複数可）もしくは正常コントロール値の範囲または本明細書において記載される他の参照値と比較することができる。コントロール値は、コントロール集団、たとえば一般集団またはヒト被験体の選抜集団から得られる、比較可能なサンプル（たとえば血液、血漿、血清サンプル、または他の液体生物学的サンプル）におけるLOXL2のレベルに基づくものとして行うことができる。たとえば、選抜集団は、明らかに健康な被験体、たとえば、以前に、線維症やがんのいかなるサインや症状をも有したことがない個体）から構成され得る。明らかに健康な個体はまた、一般に、別段疾患の症状を示さない。言い換えれば、そのような個体は、医学の専門家によって検査された場合、健康で、疾患の症状がないものとして特徴付けられることになる。

10

【0239】

コントロール値は、様々な形態を取ることができる。コントロール値は、中央値または平均値などの単一のカットオフ値とすることができる。正常コントロール値は、正常コントロール範囲とすることができる。いくつかの場合において、コントロールの基準値は、対象のアッセイ方法の検出限界未満、たとえば、約175pg/ml未満、約150pg/ml未満、約125pg/ml未満、約100pg/ml未満、約75pg/ml未満、約50pg/ml未満、または約40pg/ml未満である。

20

【0240】

I. 予後判定方法

様々な予後判定および予測方法もまた、提供される。たとえば、本開示は、線維症性疾患を有する個体が線維症性疾患に対する処置への有益な臨床応答を示す確度を決定することを提供する。他の実施例において、方法は、特定の疾患アウトプットもしくはエンドポイントまたは処置への応答性についての確度または危険性を決定する。方法は、一般に、対象のLOXL2アッセイを使用して、個体から得られる液体サンプルにおいてなどの、LOXL2の循環レベルを検出するステップを含む。一態様において、正常コントロールレベルまたは他の参照レベルよりも高いLOXL2のレベルが、個体が線維症性疾患に対する処置への有益な臨床応答を示す、確度の増加を有することを示す。他の態様において、比較的低いレベルが、特定の疾患転帰もしくはエンドポイントを生じることの、比較的より低い確度もしくは危険性または他の予後判定情報を示す。同様に、比較的高いLOXL2レベルは、特定の疾患もしくは状態のアウトプットを生じるまたは特定のエンドポイントに到達する危険性または確度の増加などの、より不良な予後判定を示すことができる。上記に記載されるように、線維症性疾患は、肺線維症、肝線維症、心線維症、および骨髄線維症を含む。いくつかの場合において、たとえば、被験体が線維症性疾患に対する処置への有益な臨床応答を示す可能性があるということを循環LOXL2レベルが示す場合、さらなる対象の方法は、線維症性疾患について個体を処置するステップを含む。

30

40

【0241】

対象のアッセイ方法を使用して試験するのに適した個体は、線維症、たとえば肝線維症、腎線維症、肺線維症、骨髄線維症、心線維症、または他のタイプの線維症を有すると診断された個体を含む。肝線維症は、硬変ならびに慢性ウイルス性肝炎（たとえばHCVまたはHBV感染症から結果として生じる）、NAFLD、ASH、NASH、胆汁うっ滞性肝疾患、原発性胆汁性肝硬変（PBC）、胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、および自己免疫性肝炎などの関連する状態を含むが、これらに限定されない。腎線維症は、様々な疾患および傷害から結果として生じ得、そのような疾患および傷害の例は、慢性腎疾患、メタボリックシンドローム、膀胱尿管逆流、尿細管間質性腎線維症、糖尿病（糖尿病性腎症を含む）、ならびに巣状分節状糸球体硬化症および膜性糸球体腎炎、膜性増殖性GN

50

を含むが、これらに限定されない、結果として生ずる糸球体腎炎（GN）を含む。肺の線維症は、多くの症候群および疾患を含み、例示的な疾患は、IPF、特発性間質性肺炎、およびARDSを含む。肺線維症はまた、特発性線維化肺胞炎、慢性線維化間質性肺炎、ILD、およびDPLDをも含むが、これらに限定されない。いくつかの態様において、肝疾患は代償性肝疾患である。他の態様において、肝疾患は、腹水症、食道静脈瘤、脳障害、および/または黄疸と関連する肝疾患などの非代償性肝疾患である。

【0242】

いくつかの場合において、適した試験被験体は、線維症の進行型の形態を有するが、線維症に対する処置レジメンによる処置になお適し得る。たとえば、適した試験被験体は、活動性（末期ではない）線維症を有する被験体を含む。いくつかの場合において、適した試験被験体は、線維症を有し、急速な疾患増悪を経験することを予想し得る被験体である。例として、個体は、肝線維症の進行期、たとえばMETAVIR F4を有していてもよく、METAVIR F4線維症および陽性LOXL2（たとえば、対象のLOXL2アッセイを使用して決定するときに、液体サンプルにおけるLOXL2の正常レベルよりも高い）を有する個体は、なお、線維症に対する処置のための候補であり得る。陰性LOXL2（たとえば、対象のLOXL2アッセイを使用して決定するときに、液体サンプルにおけるLOXL2の正常レベル）を有するMETAVIR F4肝線維症患者は、線維症に対する処置のための候補と考えなくてもよい。他の実施例として、初期の肝線維症（たとえばMETAVIR F1またはF2）を有する、LOXL2が上昇した（たとえば、対象のLOXL2アッセイを使用して決定するときに、液体サンプルにおけるLOXL2の正常レベルよりも高い）個体は、線維症に対する処置のための候補と考えることができる。

10

20

【0243】

いくつかの態様において、方法により、個体が線維症の進行期、硬変、予後不良、非代償性肝疾患、炎症、壊死を有することもしくはその確度、および/または処置に対して応答することもしくはその確度が示される。

【0244】

1. コントロール値

試験被験体から得られる液体サンプルにおけるLOXL2のレベルは、正常コントロール値（複数可）または正常コントロール値の範囲と比較することができる。コントロール値は、コントロール集団、たとえば一般集団またはヒト被験体の選抜集団から得られる、比較可能なサンプル（たとえば血液、血漿、血清サンプル、または他の液体生物学的サンプル）中のLOXL2のレベルに基づくものとして行うことができる。たとえば、選抜集団は、明らかに健康な被験体、たとえば、以前に、線維症のいかなるサインも症状も有したことがない個体）から構成され得る。明らかに健康な個体はまた、一般に、別段疾患の症状を示さない。言い換えれば、そのような個体は、医学の専門家によって検査された場合、健康で、疾患の症状がないものとして特徴付けられることになる。

30

【0245】

コントロール値は、様々な形態を取ることができる。コントロール値は、中央値または平均値などの単一のカットオフ値とすることができる。正常コントロール値は、正常コントロール範囲とすることができる。いくつかの場合において、コントロールの基準値は、対象のアッセイ方法の検出限界未満、たとえば、約175 pg/ml未満、約150 pg/ml未満、約125 pg/ml未満、約100 pg/ml未満、約75 pg/ml未満、約50 pg/ml未満、または約40 pg/ml未満である。

40

【0246】

2. 報告の生成

患者が線維症性疾患に対する処置への有益な臨床応答を示す確度は、LOXL2の循環レベルを決定することによって評価される。線維症性疾患に対する処置への有益な臨床応答を示す患者の確度は、報告において提供される。その報告は、患者の応答の確度に関する情報をさらに含み得る。たとえば、対象の方法は、被験体の応答の確度についての評価

50

の結果を提供する報告を生成するまたはアウトプットするステップをさらに含むことができ、この報告を、電子的媒体（たとえばコンピュータモニター上での電子的な表示）の形態でまたは有形媒体（たとえば紙もしくは他の有形媒体に印刷された報告）の形態で提供することができる。

【0247】

本明細書において記載される「報告」は、対象の確度についての評価およびその結果に関する、関心のある情報を提供する報告エレメントを含む、電子的なまたは有形の文書である。対象の報告は、線維症性疾患を有する患者が、線維症性疾患に対する処置への有益な臨床応答を示す確度に関して、少なくとも1つの、確度についての評価、たとえば指標を含む。対象の報告は、完全にまたは部分的に電子的に生成することができる。対象の報告は、1) 試験施設に関する情報；2) サービスプロバイダ情報；3) 患者データ；4) サンプルデータ；5) a) 指標；b) 検査データ、たとえば循環LOXL2レベルを含む様々な情報を含むことができる説明的な報告 (interpretive report)；および6) 他の特徴のうち1つ以上をさらに含むことができる。

10

【0248】

3. 予後判定および予測IPF方法

いくつかの実施形態において、特発性肺線維症 (IPF) についての診断方法、予後判定方法、および予測方法が、提供される。本明細書における実施例において示されるように、LOXL2の発現の増加は、正常コントロールサンプルと比較して、IPF患者の血清において検出され、加えて、循環LOXL2レベルの増加は、活動性IPF表現型および様々な疾患転帰の危険性の増加を示す。より高いLOXL2発現はまた、IPF患者の肺組織においても検出される。したがって、IPF疾患活性または活動性IPF表現型のマーカーなどのIPF疾患のマーカーとしてLOXL2を使用する方法が、提供される。したがって、提供される方法のいくつかの実施形態において、LOXL2が、IPFについての診断、予後判定、および/または予測マーカーとして使用される。一態様において、LOXL2レベルが、特定の疾患転帰または処置への応答性の確度などの、線維形成および/または様々なIPFステージ、重症度、もしくは転帰を評価するために使用される。

20

【0249】

他の態様において、LOXL2レベルが、活動性疾患または疾患活性のレベルを示す。他の態様において、コントロールサンプルまたは他の参照サンプルと比較してより高いLOXL2レベル、典型的に、血清レベルが、特定の疾患転帰を生じるまたは特定の期間に特定の疾患転帰を生じる危険性を示す。他の態様において、LOXL2レベルが、患者が特定の処置に応答するまたはLOXL2阻害剤による処置もしくは他の処置などの進行中の処置への応答性に関する情報を示す確度を示す。したがって、いくつかの実施形態において、方法が、予測または検出されるLOXL2レベルに基づいて、疾患処置アプローチを開始する、中止する、または変更するステップをさらに含む。

30

【0250】

方法を使用して評価するまたは予測する例示的な疾患転帰は、IPF疾患増悪（以下のうちの1つとして定義される複合エンドポイント：あらゆる原因由来の死亡率）、不良な無増悪生存期間 (PFS)、呼吸器系の入院、肺機能における減少、たとえば肺機能の無条件の減少（これは、一酸化炭素拡散能 (DLCO) における5%の減少を伴う、努力肺活量 (FVC) における10%の減少またはFVCにおける5%の減少を伴うDLCOにおける15%の減少として定義されてもよい）、および死を含む。

40

【0251】

方法は、一般に、患者サンプルを得るステップおよび/またはサンプルにおけるLOXL2レベルを決定するステップ（たとえば、本明細書において記載される方法を使用して）ならびにこのおよび他の情報に基づいて、様々な統計分析を実行するステップを含む。一実施例において、患者またはサンプルが、高いまたは低いレベルのLOXL2、たとえば、低いまたは高い循環もしくは血清LOXL2レベルを有するかどうか決定される。

50

この情報は、たとえば、サンプルの集合体などの、所定の集団における、決定されたLOXL2レベルの分布に基づいて、LOXL2レベルを二種類に分け、LOXL2の「低」および「高」レベルについてのカットオフポイントを指定することによって決定することができる。たとえば、高レベルのLOXL2は、1ミリリットル(mL)の血清当たり800ピコグラム(pg)よりも高いまたは約800ピコグラムのLOXL2などの、所定のサンプルにおける、少なくとも特定の濃度のまたは特定の濃度を超えるレベルと見なすことができる。その代わりに、高いLOXL2血清レベルは、集団内のサンプルについてのレベルの分布に基づいてまたはコントロールまたは参照サンプルと比較した特定の倍数変化に基づいて定義されてもよい。

【0252】

いくつかの態様において、方法は、疾患重症度または機能的ステータスのマーカー、たとえば、予測努力肺活量(FVC)のパーセント、予測一酸化炭素拡散能(DL_c)のパーセント、6分間の歩行距離(6MWD)、平均肺動脈圧(mPAP)、最低安静時酸素飽和度(SpO₂)、複合生理学指数(CPI)、セントジョージ呼吸器質問票スコア(SGRQ)、および遷移呼吸困難指数(TDI)スコアなどの、IPF重症度を反映するものなどの、IPFのベースライン量、処置への応答性、ならびに/または疾患もしくは疾患重症度の他のバイオマーカーなどの、他の測定値に関連してLOXL2レベルを決定することによって実行される。したがって、予測モデルおよび方法のいくつかの態様において、LOXL2が、疾患重症度もしくは機能的ステータスおよび/または他のバイオマーカーの量と統合される、IPF疾患転帰のバイオマーカーである。

J. 診断方法、予後判定方法、および予測方法についての統計分析

【0253】

いくつかの実施例において、統計分析は、LOXL2レベルおよび他の測定量(determinations)に基づいて実行される。一実施例において、LOXL2のレベルが、たとえば、LOXL2の非変換またはlog₁₀x変換レベルを評価するために標準的なヒストグラムを使用して評価される。統計分析は、平均値、たとえば、個々のサンプルおよび/または患者についてのLOXL2発現レベルおよび/またはベースライン変数についての幾何平均または中央値などの、様々な値を決定することならびに様々なサンプルまたは状態の間の標準偏差および倍数変化を計算することならびにたとえば、ベースライン変数およびLOXL2発現レベルの分布を比較するために使用されてもよいstudentのt検定などの、多くのよく知られている検定のいずれかを使用して、発現レベルおよび/または他の変数を比較することを含むことができる。

【0254】

いくつかの態様において、Pearsonの相関(PC)が、LOXL2発現レベルおよび本明細書において記載されるようなベースラインIPF変数(複数可)などの他の変数の間のなどの、値のペアの間の直線関係(相関)を評価するために使用される(たとえばPC係数を計算することによって)。そのような分析は、個々のペアの変数(実施例9において示されるように、個々のマトリックスのx-およびy-軸上にプロットされる)についてのPC係数を計算することによって、発現パターンにおける分布を直線的に分離するために使用することができる。

【0255】

1. 予測モデリング

いくつかの実施形態において、予測方法が、統計分析のさらなる使用ならびに予測モデルおよびシステムの使用をさらに含む。いくつかの態様において、そのようなモデルおよびシステムが、LOXL2レベルならびに典型的に、疾患重症度を示す変数および他のバイオマーカーなどの他の情報に基づいて、疾患転帰、エンドポイント、応答性、および/またはイベントを予測するために使用される。たとえば、生存モデルは、LOXL2レベルならびに他の共変数(covariate)および1つ以上のイベント、エンドポイント、または疾患転帰、たとえばIPF転帰(複数可)などの転帰ならびに1つ以上の処置への応答性の間の関係を調査するために使用されてもよく、そのようなモデルは、特定の

10

20

30

40

50

患者が、イベント、エンドポイント、もしくは転帰を有する確度またはそのような転帰が、特定の時間内に起こる確度を予測するために使用されてもよい。

【0256】

そのような一実施例において、Cox比例ハザードモデリング、たとえばステップワイズCox比例ハザードモデリングが、LOXL2レベル（ならびに必要に応じて、本明細書において記載されるベースラインIPF変数などの他の共変数および他の疾患バイオマーカーなどの、疾患転帰と関連し得る他の変数）ならびにIPF転帰などの転帰の間の関係を調査するために実行される。よく知られている統計的方法を使用して、ハザード比（HR）が、計算され、共変数、たとえばLOXL2レベルおよび被験体の転帰、エンドポイント、またはイベントの間の関係を示す。したがって、いくつかの態様において、提供される方法が、LOXL2レベルおよび他の共変数についての値に基づいて、個々の患者における、転帰、エンドポイント、および/またはイベント、たとえばIPF疾患転帰を予測するためにそのようなモデルを使用するステップを含む。一実施例において、モデルが、LOXL2レベル（たとえば「高い」LOXL2レベルの存在もしくは非存在）、6MWD、および/またはCPIを含む。

10

【0257】

そのようなモデリングにおいて使用されるIPF転帰、イベント、およびエンドポイントは、IPF疾患増悪、肺機能低下、呼吸器系の入院、および死などの、IPF臨床試験または処置レジメンにおいて典型的に特定される任意のエンドポイントなどの、疾患増悪または重症度を示すエンドポイントまたはイベントを含む。いくつかの態様において、疾患増悪が、以下のうちの1つとして定められる複合エンドポイントを示す：あらゆる原因由来の死亡率、呼吸器系の入院、または一酸化炭素の肺拡散能（DL_c）における5%の減少を伴う、努力肺活量（FVC）における10%の減少もしくはFVCにおける5%の減少を伴うDL_cにおける15%の減少として定義される肺機能の無条件の減少。肺機能エンドポイントは、肺機能検査を使用して決定されてもよい。いくつかの実施例において、少なくとも2つの試験が使用され、少なくとも4週間の間隔で、行われる。他の例示的なエンドポイントは、すべての原因の死亡率、移植なしの生存、および死である。転帰は、そのようなエンドポイントに到達する前に経過する時間として定めることができる。

20

【0258】

受診者動作特性（ROC）曲線は、システムの感度対特異度を評価するために使用されてもよい。曲線下面積（AUC）は、よく知られている方法を使用して計算される。

30

【0259】

予測モデルのいくつかの実施例において、LOXL2が、たとえば、特定の閾値量、たとえば0.05未満のP値に基づいて、たとえば、95%信頼区間などの特定の信頼区間（CI）および信頼レベルで、疾患増悪などの、1つ以上の転帰またはイベントと有意に関連する。ハザード比は、高いLOXL2レベルなどの、所定の共変数について、特定の転帰の危険性における倍数変化を決定するために使用されてもよい。いくつかの態様において、所定のLOXL2レベルが、疾患増悪、入院、肺機能における減少、または本明細書において記載される他の転帰などの、特定の転帰の発生における、少なくとも2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、または7倍の危険性と関連する、たとえば、統計的に有意に関連する。危険性における倍数変化は、たとえば、LOXL2のレベルが上昇していない被験体または「低い」LOXL2レベルを有する被験体などの、正常な被験体に対する比較の点から表現することができる。一実施例において、LOXL2レベル、たとえば「高い」LOXL2レベルが、6MWDおよびCPIなどの他の共変数がモデルに含まれる場合、転帰、たとえば疾患増悪と統計的に有意に関連する。

40

K. キットおよびアッセイデバイス

【0260】

本開示は、循環LOXL2についての対象のアッセイを実行するためなどの、検出、診断、予後判定、および予測方法を実行するためのキットおよびアッセイデバイスを提供す

50

る。

【0261】

いくつかの実施形態において、対象のキットが、a) LOXL2 に対して特異的な第1の抗体；およびb) LOXL2 に対して特異的な第2の抗体を含む。いくつかの場合において、第1の抗体が、ポリクローナルLOXL2 - 特異的抗体であり、第2の抗体が、モノクローナルLOXL2 - 特異的抗体である。他の場合において、第1の抗体が、モノクローナルLOXL2 - 特異的抗体であり、第2の抗体が、モノクローナルLOXL2 - 特異的抗体である。他の場合において、第1の抗体が、ポリクローナルLOXL2 - 特異的抗体であり、第2の抗体が、ポリクローナルLOXL2 - 特異的抗体である。第1の抗体および/または第2の抗体が、いくつかの場合において、検出可能な標識を含む。いくつかの場合において、第1の抗体も第2の抗体も、検出可能な標識を含まない。

10

【0262】

第1の抗体が、いくつかの実施形態において、不溶性支持体に固定される。その代わりに、不溶性支持体は、キットと共に提供され、ユーザは、不溶性支持体上への第1の抗体の固定を行なう。したがって、いくつかの場合において、対象のキットが、a) LOXL2 に対して特異的な第1の抗体；b) LOXL2 に対して特異的な第2の抗体；およびc) 不溶性支持体を含む。不溶性支持体は、上記に記載されるように、様々な物質および様式のいずれかにおいて提供することができる。たとえば、いくつかの実例において、不溶性支持体が、プラスチックマルチウェルプレート、試験ストリップ、またはディップスティックである。

20

【0263】

上記に述べられるように、いくつかの実例において、第1の抗体も第2の抗体も、検出可能な標識を含まない。これらの場合において、検出可能な標識を含み、第2の抗体に結合する第3の抗体が、提供されてもよく、そのような抗体は、一般に、二次抗体と呼ばれる。検出可能な標識は、たとえば化学発光剤、微粒子標識、比色剤、エネルギー伝達剤、酵素、蛍光剤、または放射性同位体とすることができる。したがって、いくつかの実施形態において、対象のキットが、a) LOXL2 に対して特異的な第1の抗体；b) LOXL2 に対して特異的な第2の抗体；およびc) 第3の抗体を含み、第3の抗体が、検出可能な標識を含み、第2の抗体に結合する。いくつかの場合において、対象のキットが、a) LOXL2 に対して特異的な第1の抗体；b) LOXL2 に対して特異的な第2の抗体；c) 第3の抗体であって、検出可能な標識を含み、第2の抗体に結合する第3の抗体；ならびにd) 不溶性支持体を含む。不溶性支持体は、上記に記載されるように、様々な物質および様式のいずれかにおいて提供することができる。たとえば、いくつかの実例において、不溶性支持体が、プラスチックマルチウェルプレート、試験ストリップ、またはディップスティックである。

30

【0264】

対象のキットは、標準曲線を生成するのに使用するための精製LOXL2をさらに含むことができる。

【0265】

対象のキットは、1つ以上のさらなる構成成分、たとえばバッファー；プロテアーゼ阻害剤；検出可能な標識；洗浄試薬；ブロッキング剤などをさらに含むことができる。キットの様々な構成成分は、別々の容器に存在してもよいまたはある適合性の構成成分は、所望されるように、単一の容器中にあらかじめ組み合わされていてもよい。

40

【0266】

上記の構成成分に加えて、対象のキットは、対象の方法を実施するためにキットの構成成分を使用するための指示を含むことができる。対象の方法を実施するための指示は、一般に、適した記録媒体に記録される。たとえば、指示は、紙またはプラスチックなどの基板に印刷されてもよい。そのため、指示は、添付文書としてキット中に、キットまたはその構成成分の容器の標識に（すなわち、パッケージまたはサブパッケージと関連する）、などに存在してもよい。他の実施形態において、指示は、適したコンピュータ読み取り可

50

能な記憶媒体、たとえば、コンパクトディスクの読み出し専用メモリ（CD-ROM）、デジタル多用途ディスク（DVD）、ディスクなど存在する電子的記憶データファイルとして存在する。さらに他の実施形態において、実際の指示が、キットに存在しないが、たとえばインターネットを介して遠隔の供給源から指示を得るための手段が、提供される。この実施形態の例は、指示を調べることができるおよび/または指示をダウンロードすることができるウェブアドレスを含むキットである。指示と同様に、指示を得るためのこの手段は、適した基板に記録される。

【0267】

1. アッセイデバイス

本開示は、個体から得られる液体生物学的サンプルにおけるLOXL2の検出において使用するためのアッセイデバイスをさらに提供する。デバイスは、軸流路を定めるマトリックスを含むことができる。

10

【0268】

マトリックスは、i) 液体サンプルを受け入れる流路の上流の端にサンプル受け入れゾーン；ii) 流路内に、かつサンプル受け入れゾーンの下流に位置する1つ以上の試験ゾーンであって、1つ以上の試験ゾーンのそれぞれが、試験ゾーンのそれぞれにおいて固定されたLOXL2に特異的な抗体を含み、固定された抗LOXL2/LOXL2複合体を形成する、1つ以上の試験ゾーン；およびiii) 流路内に、かつサンプル受け入れゾーンの下流に位置する1つ以上のコントロールゾーンであって、1つ以上のコントロールゾーンが、陽性および/または陰性コントロールを含むことができる、1つ以上のコントロールゾーンを含むことができる。試験ゾーンおよびコントロールゾーンは、任意のコントロールゾーンの上流に位置する試験ゾーンから始まる流路内に交互の様式で位置することができる。

20

【0269】

マトリックスは、i) 液体サンプルを受け入れる流路の上流の端にサンプル受け入れゾーン；ii) 流路内に、かつサンプル受け入れゾーンの下流に位置する1つ以上の試験ゾーンであって、1つ以上の試験ゾーンのそれぞれが、LOXL2に特異的な抗体を含み、抗LOXL2/LOXL2複合体を形成する、1つ以上の試験ゾーン；およびiii) 流路内に、かつサンプル受け入れゾーンの下流に位置する1つ以上のコントロールゾーンであって、1つ以上のコントロールゾーンが、陽性および/または陰性コントロールを含むことができる、1つ以上のコントロールゾーンを含むことができる。試験ゾーンおよびコントロールゾーンは、任意のコントロールゾーンの上流に位置する試験ゾーンから始まる流路内に交互の様式で位置することができる。いくつかの実施形態において、LOXL2に対して特異的な抗体が、固定されず、抗LOXL2抗体が、サンプル中に存在する任意のLOXL2に結合する場合、抗LOXL2抗体/LOXL2複合体が、移動可能である。たとえば、第1の試験ゾーンにおいて形成される抗LOXL2抗体/LOXL2複合体は、それが、固定された抗LOXL2抗体を含む第2の試験ゾーンに入るように、移動性を持たせることができ、抗LOXL2抗体/LOXL2複合体が、固定された抗LOXL2抗体に結合し、固定された抗LOXL2抗体/LOXL2複合体を形成する。

30

【0270】

そのようなアッセイデバイスを使用する際に、いくつかの実施形態において、LOXL2に対して特異的な標識抗体が、液体サンプルが、デバイスのサンプル受け入れゾーンに適用される前に、液体サンプルと最初に混合することができ、そのような混合が、標識抗体/LOXL2複合体をもたらす。これらの実施形態において、標識抗体/LOXL2複合体を含む液体サンプルが、アッセイデバイスのサンプル受け入れゾーンに適用される。液体サンプルが試験ゾーンに到達するまで、液体サンプルは、デバイスに沿って流れる。試験ゾーンに存在する抗体は、標識抗体/LOXL2複合体に存在するLOXL2に結合し、その後、検出することができる。

40

【0271】

アッセイデバイスは、LOXL2に対して特異的な標識抗体を含む標識ゾーンをさらに

50

含むことができ、標識抗体が、固定された L O X L 2 / 抗 L O X L 2 抗体複合体に存在する L O X L 2 に結合することができ、標識 L O X L 2 / 抗 L O X L 2 抗体複合体を形成し、標識抗体が、液体サンプルの存在下で移動可能である。そのようなアッセイデバイスを使用する際に、L O X L 2 を含む得る液体サンプルは、デバイスのサンプル受け入れゾーンに適用され、標識ゾーンに存在する抗 L O X L 2 抗体は、L O X L 2 に結合し、標識抗体 / L O X L 2 複合体を形成し、これは、標識抗体のように、移動可能であり、液体サンプルが試験ゾーンに到達するまで、標識抗体 / L O X L 2 複合体は、デバイスに沿って (a l o n e t h e d e v i c e) 流れる。試験ゾーンに存在する抗 L O X L 2 抗体は、標識抗体 / L O X L 2 複合体に存在する L O X L 2 に結合し、その後、検出することができる。

10

【0272】

その代わりに、アッセイデバイスは、抗 L O X L 2 抗体に対して特異的な標識抗体を含む標識ゾーンを含むことができ、標識抗体が、試験ゾーン（複数可）において形成される任意の抗 L O X L 2 抗体 / L O X L 2 複合体に結合する。いくつかの場合において、標識抗体が、移動可能である。

【0273】

標識抗体は、化学発光剤、微粒子標識、比色剤、エネルギー伝達剤、酵素、蛍光剤、または放射性同位体などの標識を含むことができる。

【0274】

コントロールゾーンは、陽性コントロールゾーンおよび陰性コントロールゾーンを含む。

20

【0275】

マトリックスは、一般に、不溶性支持体であり、適した不溶性支持体が、ポリビニルジフルオリド (P V D F)、セルロース、ニトロセルロース、ナイロンなどを含むが、これらに限定されない。マトリックスは、可撓性とすることができる、または比較的不可撓性とすることができる。マトリックスは、支持体および必要に応じてカバーを含むハウジング内に位置し、ハウジングが、適用開口部および1つ以上の観察窓を含有する。アッセイデバイスは、様々な様式、たとえば試験ストリップ、ディップスティックなどのいずれかとするすることができる。

【0276】

本発明の種々の態様は、以下の実施例によりさらに記載および例示され、その実施例はいずれも本発明の範囲を限定するものではない。

30

【実施例】

【0277】

以下の実施例は、本発明者らが本発明と見なすものの範囲を限定するように意図されず、それらは、下記の実験が、実行したすべてのまたはわずかな実験であるということを示すようにも意図されない。使用される数（たとえば量、温度など）に関して正確度を確実にするための努力がなされたが、いくらかの実験誤差および偏差については、説明されるはずである。別段示されない限り、一部は、重量による一部とし、分子量は、平均分子量とし、温度は、摂氏度とし、圧力は、大気圧またはその付近とする。標準的な略語、たとえば、b p、塩基対（複数可）；k b、キロベース（複数可）；p l、ピコリットル（複数可）；s または s e c、秒（複数可）；m i n、分（複数可）；h または h r、時間（複数可）；a a、アミノ酸（複数可）；k b、キロベース（複数可）；b p、塩基対（複数可）；n t、ヌクレオチド（複数可）；i . m .、筋肉内（筋肉内に）；i . p .、腹腔内（腹腔内に）；s . c .、皮下（皮下に）が、使用されてもよい。

40

（実施例1）

肝線維症のマウスモデルにおける抗 L O X L 2 抗体の投与

A . 肝線維症の四塩化炭素マウスモデル

【0278】

B A L B / C マウスにおいて四塩化炭素 (C C l ₄) を使用して線維症を誘導した。マ

50

ウス抗LOXL2抗体(AB0023)を動物に30mg/kgの用量で週2回、3週間にわたって投与した。コントロールマウスは、CC1₄のみ(ビヒクル)またはニセ抗体(M64)を受けた。図1に示されている通り、抗LOXL2抗体AB0023を受けたマウスでは、コントロールマウスと比較して生存利益が示された。さらに、肝組織の免疫組織化学的検査により、抗LOXL2抗体を投与したマウスでは、架橋線維化の有意な低下(ビヒクルに対して $p = 0.01$) (シリウスレッド染色による評価)ならびにLOXL2およびアルファ平滑筋アクチンの減少(SMA; 星細胞活性化の低下が実証される)(ビヒクルに対して $p = 0.008$)を示したことが実証された。Barry - Hamilton Vら Nat Med 2010年; 16巻: 1009 ~ 17頁を参照されたい。

10

【0279】

同じ線維症モデルを使用して、マウスに30mg/kgのBAPN(LOX阻害剤)またはビヒクルを6週間にわたって投与した。8週間後、処置したマウスでは、ビヒクルで処置したマウスと比較してコラーゲン架橋および正味のコラーゲン沈着の低下が示された(データ示さず)。

B. 線維症のTTAマウスモデル

【0280】

異なるモデルでは、C57B/6マウスにおいて、チオアセトアミド(TAA)を週に3回、12週間にわたって注射することによって肝線維症を誘導した。6週目に肝線維症が観察され、12週間の研究期間を通して進行し続けた。LOXL2は正常な肝臓では検出されなかったが、肝線維症を示すマウスでは検出された。また、LOXL2のレベルは肝線維症が進行するにつれて上昇した。6週目から12週目まで、マウスに週2回、抗LOXL2抗体AB0023(30mg/kg)、抗LOX抗体M64抗体(30mg/kg)、BAPN(100mg/kg)、またはビヒクルを投与した。

20

【0281】

処置の6週間後に、マウスを肝臓におけるコラーゲン含量および結合組織染色について検査した。M64またはビヒクルで処置したマウスと比較して、AB0023で処置したマウスでは、正味のコラーゲン減少の約20%の低下(図33Aおよび図33B)および架橋線維化の減弱(データ示さず)が示された。

【0282】

別の研究では、マウスを、TAAで6週間にわたって処置し、その後、6週目から18週目まで、AB0023(30mg/kg)、M64(30mg/kg)、BAPN(100mg/kg)またはビヒクルで処置した。10週目に、マウスは肝線維症からの回復を示す。また、AB0023で処置したマウスは、BAPNまたはビヒクルで処置したマウスと比較して早い回復を示した(図33C)。AB0023で処置したマウスでは、他のLOX阻害剤と比較して、*in vitro*において肝星細胞によるコラーゲンゲル収縮の用量依存的な方法での低下も示された(図33D)。

30

(実施例2)

肝疾患を有するヒト被験体への抗LOXL2抗体の投与

【0283】

年齢が18歳から60歳の間であり、肝線維症を有し、Metavir線維症ステージが1から3の間であるヒト被験体の群に抗LOXL2抗体を投与した。被験体はそれぞれ、BMIが36kg/m²未満であり、非代償性肝疾患、肝疾患(種々の病因)の病歴がなく、クレアチニンレベルが2.0mg/dL未満であり、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)/アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)比が基準値上限(ULN)の10倍未満であり、全般的に健康状態が良好であった。処置時にウイルス性肝炎を有する被験体は排除した。全てのMetavir線維症スコアを同じ肝臓病理学者が評価した。

40

被験体10人のコホート

【0284】

50

そのような被験体 10 人の群には、男性 9 人と女性 1 人が含まれた。10 人のうち 9 人が慢性 C 型肝炎感染症を有し、そのうち 4 人が HIV 共感染を有し、その他の人は非アルコール性脂肪性肝炎および HIV を有した。被験体 10 人の平均年齢は 53 歳 (36 ~ 60 歳) であり、平均体重は 81.4 kg (64.5 ~ 98.9 kg) であり、平均 Metavir 線維症ステージは 2.1 (ステージ 1 が 3 人、ステージ 2 が 3 人、ステージ 3 が 4 人) であった。

【0285】

抗 LOXL2 抗体 (AB0024、LOXL2 に特異的に結合するヒト化 IgG4 モノクローナル抗体) を各被験体に、10 mg/kg (平均用量は注入当たり 806.5 mg (630 ~ 953 mg)) の用量で静脈内注入により投与し、注入は 1 時間にわたり、4 週間の期間にわたって 2 週間ごとに合計 3 回の注入を行った。その後、被験体を 6 週間にわたってモニタリングした。被験体は、スクリーニング時に肝生検を受け、1 回目の注入の前および処置期間の最後に肝 FNAC を受けた。被験体 10 人全員が、注入や投薬の中断をすることなく、早期終了することなく、および用量低下をすることなく、3 回注入のレジメンを順調に完了した。

10

【0286】

死、重篤な有害事象 (SAE)、および投薬の中止に至る有害事象は報告されなかった。9 人の被験体において報告された全部で 28 の有害事象のうち、グレード 3 または 4 のものはなかった。最も頻繁に報告された有害事象は腹痛 (5 人の被験体、50%; 処置とは明らかに無関係、FNA 手順と関連する可能性がある)、疲労 (2 人の被験体、20%)、筋骨格痛 (2 人の被験体、20%)、および頭痛 (2 人の被験体それぞれ) であった。被験体 1 人につき以下のそれぞれを報告した: 悪心、嘔吐、唾液腺肥大、胸痛、インフルエンザ様疾病、疼痛、唾液腺炎、体重増加、関節痛、感覚鈍麻、失神寸前状態 (pre-syncope)、精巣上体嚢胞、精巣上体炎、咳、および皮疹。検査異常は認められなかった。

20

肝酵素、ALT

【0287】

療法で肝酵素の悪化を経験した被験体はいなかった。薬物適用と関連するトランスアミナーゼ増加は観察されなかった。被験体 10 人のうち 6 人で処置前に (ベースラインレベル) アミノトランスフェラーゼレベルの上昇 (ALT > ULN (上限 (U/L) 63)) が示された。これらの 6 人の被験体のうちの 5 人において、処置の終わりまでに ALT の低下が示され、2 回目の注入後に減退し、全員において、経過観察期間中に ALT のベースラインレベルに向かうわずかな増加が示された (図 2)。これらの被験体では処置後に AST (41 U/L) レベルも同様に改善された (図 3)。これらの被験体では、処置後に平均 22% の ALT の低下が示された (図 4)。ALT、AST、およびガンマグルタミルトランスフェラーゼ (GGT) の被験体 10 人全員の平均値は処置に従って減少し、処置後にベースラインレベルに戻った (図 5)。図 6 には、処置前 AST/ALT レベルが上昇していた被験体における、ベースライン、処置の終了時、および経過観察期間の終了時の平均 ALT レベルおよび平均 AST レベルが示されている。処置の終了時の AST 対ベースラインの AST について $p = 0.02$ 。

30

40

【0288】

したがって、この研究では、ウイルス性肝炎と関連する肝線維症を有する被験体において、最大 953 mg IV (10 mg/kg) の用量で、隔週、4 週間にわたって抗 LOXL2 抗体を投与することは、安全であり、忍容性が良好であった。処置前アミノトランスフェラーゼレベルが上昇していた被験体において、抗 LOXL2 抗体を投与することにより、トランスアミナーゼが有意に減少した。

s LOXL2 および炎症

【0289】

抗 LOXL2 処置により肝酵素が減少したことにより、LOXL2 に関して、線維症におけるその役割に加えて、肝臓の炎症における機能的役割が示唆される。さらに、単変量

50

解析においてKnodel 1壊死性炎症性指数全体がLOXL2と関連することが見いだされた ($p = 0.001$)。Knodel 1壊死性炎症性指数の個々の構成成分の中で、Knodel 1炎症スコアと壊死スコアはどちらも血清LOXL2レベルと有意に相関した (単変量解析において、どちらについても $p = 0.02$)。表2には、この研究における被験体についての多変量回帰分析の結果が示されている。

【表2】

表2 多変量回帰分析

	回帰係数	p値
\log_{10} AST	0.830	0.0047
Ishak線維症スコア	0.061	0.0393
\log_{10} ALT	-0.442	0.0654
遺伝子型 ¹	0.043	0.6751
性別	0.038	0.7032
人種 ²	-0.030	0.7873
年齢	0.001	0.7962
Knodel NS	0.001	0.9721

1=D対その他;2=白人対その他

追加的な被験体

【0290】

AB0024を3mg/kg ($n = 4$)、10mg/kg ($n = 4$)、または20mg/kg ($n = 4$)で2週間ごとに3回注入した、またはAB0024を125mg ($n = 15$)または200mg ($n = 15$)で2週間ごとに7回注入したIPF被験体において同様の安全性の結果が観察された。別の研究では、健康な被験体にAB0024を125mg/kgで皮下投与 ($n = 18$)またはIV投与 ($n = 18$)によって単回投薬した。重症の有害作用は検出されなかった。別の研究では、被験体に、抗LOXL2抗体 (たとえば、AB0024)を700mg、IVで隔週、6か月にわたって投与する。別の研究では、肝線維症の被験体にAB0024を200mgもしくは700mg、IV、または75mgもしくは125mg、皮下(SC)の固定用量で投与する。

(実施例3)

ヒト血清または血漿サンプル中のLOXL2を検出するためのイムノアッセイ

材料および方法

抗体

【0291】

ウサギポリクローナル抗体(「ウサギA」)は、組換え精製完全長LOXL2タンパク質に対して産生される。この抗体は、LOXL2のすべてのドメインにおける複数のエピトープを認識する。マウスモノクローナル抗体、AB0030は、LOXL2の触媒ドメインに結合し、完全長LOXL2タンパク質および成熟LOXL2タンパク質(SRCR2およびSRCR3のドメインの間で切断される)の両方を認識する。

MSDプラットフォームでのLOXL2イムノアッセイ

【0292】

MesoScale Discovery (MSD) (cat # L15XA-3)からの標準的なシングルスポット非コーティング電極プレートを、リン酸緩衝食塩水(PBS)で調合した3μg/mlウサギ抗ヒトLOXL2ポリクローナル抗体の30μl容量の溶液により、4で一晚、コーティングした。コーティングの後に、プレートのウェルは、PBS中5%(w/v)Blocker A (MSD cat # R93AA-1)の

溶液の添加によってブロッキングした。ブロッキングステップの後に、プレートは、自動化プレート洗浄機を使用して、0.05% Tween-20非イオン性界面活性剤を含有するPBSで3回洗浄した。試験されるべきヒトサンプル（血清または血漿）は、それらをPBSで1:4（血清1の割合にPBS3の割合）に希釈することによって別々に調製した。その後、サンプルを、プレートのそれぞれのウェルに添加した。サンプルは、室温で、2~3時間、回転振盪しながら（300~600rpm）インキュベートした。サンプル結合の後に、プレートは、自動化プレート洗浄機を使用して、0.05% Tween-20界面活性剤を含有するPBSで3回、再度洗浄した。

【0293】

PBS中の2%（w/v）Blocker A中1μg/ml AB0030（一次抗体）の溶液を、それぞれのウェルに添加し、プレートは、その後、室温で、1時間、回転振盪しながら（300~600rpm）インキュベートした。AB0030結合の後に、プレートは、自動化プレート洗浄機を使用して、0.05% Tween-20界面活性剤を含有するPBSで3回、再度洗浄した。

10

【0294】

二次抗体は、SulfoTag色素（MSD cat#R32AC-5）にコンジュゲートされたヤギ抗マウス-IgG分子であった。PBS中の2%（w/v）Blocker A中1μg/ml二次抗体の溶液を、それぞれのウェルに添加し、プレートは、室温で、1時間、回転振盪しながら（300~600rpm）インキュベートした。二次抗体結合の後に、プレートは、自動化プレート洗浄機を使用して、0.05% Tween-20界面活性剤を含有するPBSで3回洗浄した。

20

【0295】

界面活性剤ありの1xRead Buffer T（MSD cat#R92TC-2）を、それぞれのウェルに添加し、その後、MSD SectorImager 2400機器でプレートを即時、測定した。

【0296】

正常な健康なドナーからプールしたヒト血清または血漿に既知濃度で添加した精製組換えヒトLOXL2タンパク質（R&D Systems）から構成される同じアッセイプレートについてのキャリブレーション曲線に対する比較によって、試験ヒトサンプルに、LOXL2の相対的な定量的値を与えた。キャリブレーション曲線フィッティングおよび未知サンプル補間（interpolation）は、標準的な技術を使用して実行した。

30

標準的な様式を使用するLOXL2イムノアッセイ

【0297】

Costar 3922高結合マルチウェルプレートを使用した。ウサギポリクローナル抗体（Ab）（ウサギ「A」）は、CB2コーティングバッファー（Immunochemical Technologies CB2（6248））で0.625μg/mlまで希釈した。希釈ポリクローナルAbを、50μl/ウェルの容量でプレートのウェルに添加し、プレートを4で一晩保った。ポリクローナル抗体によりウェルをコーティングした後に、ウェルは、室温（RT）で、1~3時間、200μl/ウェルのBB1ブロッキング溶液（Immunochemical Technologies 製品#640）によりブロッキングした。ブロッキングの後に、プレートは、ウェル当たり200μlのPBS-T（0.05% Tween-20を含有するPBS）を使用して、3回洗浄した。

40

【0298】

25μl HiSpec希釈剤（AbD Serotec BUF049B）を、それぞれのウェルに添加した。等容量の試験血清を、その後、それぞれのウェルに添加し、プレートを2時間、室温で保った。血清サンプルを結合させた後に、プレートを3回洗浄した。

【0299】

一次抗体（AB0030）を、PBS-T+0.5%ウシ血清アルブミン（BSA）で

50

5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ まで希釈し、50 μl の希釈した一次抗体を、それぞれのウェルに添加した。プレートは、1時間、室温で保ち、その後、PBS-Tにより3回洗浄した。二次抗体（ホースラディッシュペルオキシダーゼ（HRP）結合体化ヤギ抗マウス抗体、Jackson ImmunoResearch、0.8 mg/ml ）を、PBS-T+0.5% BSAで1:10,000に希釈した。50 μl の希釈した二次抗体を、それぞれのウェルに添加した。プレートは、1時間、室温で保ち、その後、PBS-Tにより3回洗浄した。

（実施例4）

ヒト血清マトリックスにおけるLOXL2イムノアッセイについてのキャリブレーション標準物質

【0300】

実施例3において記載されるLOXL2イムノアッセイ（Mesoscale Discoveryプラットフォームで展開したサンドイッチイムノアッセイ）を使用すると、LOXL2は、健康な個体由来の血清において検出されなかった。キャリブレーション曲線を生成するために、精製した組換え完全長LOXL2タンパク質を、プールした正常ヒト血清に添加し、その後、血清で段階希釈を行なった。

結果

【0301】

結果を図7に示す。データポイントはそれぞれ、3つの反復ウェルの平均値を示し、4つの独立したプレートについての曲線を示す。

【0302】

表3は、ヒト血清マトリックスにおけるキャリブレーション標準物質の特徴を示す。表3において、検出の下限値（LLOD）は、ブランクウェルの平均値+2.5*標準偏差（stdev）であり（生の値、外挿）、定量の下限値（LLOQ）は、生の測定値に対して相対誤差<30%および変動係数<30%である、最低濃度のキャリブレーション標準物質（the lowest calibrator standard）である。アッセイ内およびアッセイ間の精度は、実試料（incurred sample）を使用して決定した。

【表3】

表3 LOXL2イムノアッセイ:ヒト血清マトリックスにおけるキャリブレーション標準物質の

特徴

アッセイの特徴	結果
正確度(相対誤差)	<15%
アッセイ内精度	3.5%
アッセイ間精度	15.5%
凍結/解凍サイクル後の回収率	1サイクルで70%、2サイクル以上で >70%
検出の下限値(LLOD)	150~200 pg/ml
定量の下限値(LLOQ)	180~550 pg/ml
定量の上限値(ULOQ)	決定されず

（実施例5）

特発性肺線維症（IPF）の患者における血清LOXL2（sLOXL2）レベル
A：IPF患者におけるsLOXL2

【0303】

特発性肺線維症 (I P F) と診断された患者 15 人由来の血清サンプルを L O X L 2 について試験した。図 8 に結果が示されている。個々の患者の識別番号が示されている。試験された患者 15 人のうち 10 人が陽性であり、他の 5 人は、検出限界未満であり、「検出されず」と報告されている。年齢を合わせた正常な被験体も試験し、全員が血清 L O X L 2 について陰性 (「検出されず」 ; 検出限界未満) であった。

B : I P F 患者における L O X L 2 ベースラインレベル

1 . A R T E M I S - I P F 患者

【 0 3 0 4 】

血清サンプルは、 A R T E M I S - I P F 治験に参加している被験体から収集した。ランダム化、二重盲検、プラセボコントロール、イベントドリブン試験 (e v e n t - d r i v e n t r i a l) 。被験体は、 E T _A 受容体の選択的なアンタゴニストであるアンプリセンタンまたはプラセボを受けるように 2 : 1 の比にランダム化した。この研究は、あまりにも早く終結し、 6 6 0 人の被験体が登録された。

10

【 0 3 0 5 】

I P F 重症度および機能的ステータスを反映するベースライン変数を収集した。ベースライン変数は、予測努力肺活量 (F V C) のパーセント、予測一酸化炭素拡散能 (D L _c) のパーセント、6 分間の歩行距離 (6 M W D) 、平均肺動脈圧 (m P A P) 、最低安静時酸素飽和度 (S p O ₂) 、複合生理学指数 (C P I) 、セントジョージ呼吸器質問票スコア (S G R Q) 、および遷移呼吸困難指数 (T D I) スコアを含んだ。 m P A P は、右心カテーテル法を介して得、これは、ベースラインにあるすべての研究被験体について必要とされた。 C P I は、患者の胸のコンピュータ断層撮影スキャンで認められた線維症の程度を評価するための、 F V C 、努力呼気一秒量 (F E V ₁) 、および D L _c を組み込む検証された多次元のモデルであった。プライマリーエンドポイントは、 I P F 疾患増悪までの時間とし、複合エンドポイントは、以下のうちの 1 つとして定義した : あらゆる原因由来の死亡率、呼吸器系の入院、または一酸化炭素の拡散能 (D L _c) における 5 % の減少を伴う、努力肺活量 (F V C) における 1 0 % の減少もしくは F V C における 5 % の減少を伴う D L _c における 1 5 % の減少として定義される、肺機能の無条件の減少。肺機能エンドポイントは、少なくとも 4 週間の間隔で行った 2 つの肺機能検査によって確認した。

20

【 0 3 0 6 】

L O X L 2 のベースラインレベルは、実施例 3 において記載される抗 L O X L 2 抗体を使用し、 M e s o S c a l e D i s c o v e r y プラットフォームで展開したイムノアッセイを使用して、三連で定量化した。

30

【 0 3 0 7 】

標準的なヒストグラムは、非変換および \log_{10} X 変換 L O X L 2 ベースラインレベルを評価するために使用した。 S t u d e n t の t 検定は、ベースライン変数の分布を比較するために使用した。 P e a r s o n の相関係数は、 L O X L 2 ベースラインレベルおよびベースライン変数の間の関係を検査するために使用した。ステップワイズ C o x 比例ハザードモデリングは、 L O X L 2 ベースラインレベルおよび I P F 転帰の間の関係を検査するために使用した。受診者動作曲線は、曲線下面積を推定するために使用した。

40

結果

【 0 3 0 8 】

処置を意図したコホートにおける 6 9 人の被験体由来の血清サンプルが、分析に利用可能であった。血清サンプルが利用可能でなかった A R T E M I S - I P F からの 4 2 3 人の被験体と比較して、 I P F 重症度または機能的ステータスのベースライン量において統計的有意差はなかった (表 4) 。しかしながら、 6 9 人の被験体の中で、アンプリセンタンおよびプラセボ処置群と比較すると、 I P F 重症度および機能的ステータスのベースライン量において統計的有意差があった (表 5) 。アンプリセンタン群における被験体は、より低いベースライン D L _c (p = 0 . 0 3 5) 、より低いベースライン 6 M W D (p = 0 . 0 0 4) 、より高いベースライン m P A P (p = 0 . 0 1 6) 、より高いベースラ

50

インCPI ($p = 0.05$)、およびより高いベースラインSGRQ ($p = 0.011$)を有した。平均ベースラインLOXL2レベルは、アンブリセタン被験体についてより高かった ($p = 0.026$)。

【0309】

LOXL2ベースラインレベルの分布の分析は、約88 pg/ml未満のLOXL2レベルを有する8人の被験体、約88~約440 pg/mlのLOXL2レベルを有する34人の被験体、および約440 pg/mlを超えるLOXL2レベルを有する28人の被験体を示した。LOXL2レベル中央値は、約147 pg/ml~約770 pg/mlの四分位数間範囲を有する約325 pg/mlであり、最小値が約18 pg/mlであり、最大値が約5,400 pg/mlであった。

10

【0310】

Pearsonの相関係数に基づいて、相関は、LOXL2ベースラインレベルとIPF重症度および機能的ステータスのこれらのベースライン量との間で弱かった。図9は、LOXL2ベースラインレベルとFVC、DLCO、6MWD、CPI、SGRQ、およびTDIとの間の関係を示す散布図マトリックスを示す。LOXL2とベースライン重症度量との間の相関は、パネル(a)および(b)の上部の列の黒いボックス内で強調した。LOXL2と個々のベースライン重症度量との間の相関係数は、以下のとおりであった： -0.21 (FCV)、 -0.11 (DLCO)、 0.03 (6MWD)、 0.10 (mPAP)、 -0.07 (SpO₂)、 0.14 (CPI)、 0.06 (SGRQ)、および -0.05 (TDI)。LOXL2ベースラインレベルのLog₁₀X変換により分布が正規化されたが、LOXL2とIPF重症度および機能的ステータスのベースライン量との間の相関は、弱いままであった(図9b)。

20

【0311】

大多数のベースラインLOXL2レベルが約800 pg/ml未満であったことを考慮して、LOXL2ベースラインレベルを、残りの分析について、800 pg/ml(「低い」)対>800 pg/ml(「高い」)として二種類に分けた。約440 pg/mlを超えるLOXL2ベースラインレベルを有する28人の被験体のうち、12人が、約440~800 pg/mlの低いLOXL2ベースラインレベルを有し、低い群に群分けされ、16人が、800 pg/mlを超えるLOXL2ベースラインレベルを有し、高い群に群分けされた。

30

【0312】

「高い」および「低い」LOXL2ベースラインレベルの群の間の疾患増悪の比較を図10に示す。プラセボ群において「高い」LOXL2ベースライン系(baseline line)を有する患者が2人しかいなかった(どちらもいかなるイベントも有しなかった)、図10は、アンブリセタン群における「低い」および「高い」LOXL2ベースラインレベルのみを比較する。結果は、高いLOXL2ベースラインレベルが、より多くの疾患増悪イベントと関連すること(図10a)、ならびに、高いLOXL2ベースラインレベルが、より多くの肺機能低下イベントと(図10b)、より多くの呼吸器系の入院と(図10c)、およびより多くの死と(図10d)関連することを示した。

40

【0313】

さらに、表6において示されるように、Cox比例ハザードモデリングは、高いLOXL2ベースラインレベルの存在が、疾患増悪についての危険性における5倍の増加(ハザード比[HR]4.95、95%信頼区間[CI]1.52~16.18、 $p = 0.008$)、肺機能低下についての危険性における7倍の増加(HR 7.36、95%CI 1.16~46.74、 $p = 0.034$)、および呼吸器系の入院についての危険性における5倍の増加(HR 4.85、95%CI 1.09~21.68、 $p = 0.039$)と関連したことを示した。これらの統計モデルはすべて、処置割り付けならびにベースライン6MWDおよびCPIスコアについて調整した(adjusted)。高いベースラインLOXL2レベルは、死についての危険性における有意な増加と有意に関連しなかった(HR 1.59、95%CI 0.24~10.53、 $p = 0.633$)。

50

【 0 3 1 4 】

サンプルはまた、MMP7、ICAM1、IL8、VCAM1、およびS100A12のレベルについても分析した。これらのタンパク質のどれも、処置転帰と有意に関連しなかった。結果は、高いベースラインLOXL2レベルが、死ではなくIPF疾患増悪についての危険性における5～7倍の増加と関連したことを示した。

【表4】

表4 ARTEMIS-IPFにおける血清の利用可能性に応じたベースラインのIPF重症

度および機能的ステータスの比較

IPF重症度のベースライン量	血清なし N=423	血清 N=69	P値
平均%FVC(SD)	69 (14)	70 (12)	0.649
平均%DLCO(SD)	43 (14)	42 (11)	0.487
平均6MWD m(SD)	416 (120)	399 (116)	0.256
平均PAP mmHg(SD)	20 (7)	20 (6)	0.920
平均最低SpO ₂ %(SD)	88 (6)	88 (6)	0.825
平均CPI(SD)	52 (11)	53 (9)	0.784
平均SGRQ(SD)	39 (20)	38 (18)	0.605
平均TDI(SD)	7 (2)	8 (2)	0.588

10

20

【表5】

表5 ベースラインの血清が入手可能な被験体の中でのARTEMIS-IPFにおける処置割

り付けに応じたベースラインのIPF重症度および機能的ステータスの比較

IPF重症度のベースライン量	アンブリセンタン N=49	プラセボ N=20	P値
平均%FVC(SD)	68 (12)	73 (12)	0.128
平均%DLCO(SD)	40 (11)	47 (9)	0.035
平均6MWD m(SD)	373 (109)	461 (110)	0.004
平均PAP mmHg(SD)	22 (6)	18 (5)	0.016
平均最低SpO ₂ %(SD)	87 (6)	87 (5)	0.166
平均CPI(SD)	54 (9)	49 (8)	0.050
平均SGRQ(SD)	42 (19)	29 (15)	0.011
平均TDI(SD)	7 (2)	8 (2)	0.083
平均LOXL2(SD)	903 (1172)	295 (288)	0.026

30

40

【表 6】

表6 IPF患者におけるベースラインのLOXL2のレベルおよびそれと研究エンドポイントとの関係

エンドポイント	イベントの数		高LOXL2についてのハザード比(95%CI)	P値
	低LOXL2	高LOXL2		
疾患の増悪	10	8	4.95 (1.52-16.18)	0.008
肺機能低下	5	4	7.36 (1.16-46.74)	0.034
呼吸器系の入院	6	6	4.85 (1.09-21.68)	0.039
死	5	4	1.59 (0.24-10.53)	0.633

2. GAPコホートIPF患者

【0315】

血清LOXL2レベルは、第2臨床IPF前向き追跡調査研究における被験体において評価し、これにより、他の肺の病気についての病歴を有しなかった111人のIPF被験体（GAPコホートと見なされる）における疾患増悪を評価した。GAPコホート被験体はすべて、ATS/ERSガイドラインに従ってIPFと診断され、55歳を超える、明確な病因を伴わない患者において、外科的な肺生検または胸膜下の蜂巢変化、牽引性気管支拡張症（*traction bronchiectasis*）、および最小肺胞充満（*minimal alveolar filling*）のX線撮影所見によって確認された。肺機能試験は、予測された40～70%の努力肺活量を明らかにした。被験体は、臨床施設の継続している医療および追跡調査をすべて受けることができた。

【0316】

最初の訪問時に、参加者はそれぞれ、採血、肺機能試験、6分間の歩行試験（6MWT）、心エコー図、およびCTスキャンならびに患者がどのように感じているかを測定するようにデザインされたいくつかの質問表を受けた。3～8か月の間隔での追跡調査訪問時に、血液サンプルを収集し、PFT、質問表、および6MWTを繰り返した。FVC、FEV1、およびDLCOの中央値は、それぞれ、 $65.7 \pm 17.5\%$ 、 $76.8 \pm 18.7\%$ 、および $47.3 \pm 17.9\%$ の予測値であった。

【0317】

ARTEMIS-IPF被験体について上記に記載されるように、LOXL2のベースライン血清レベルを定量化した。標準的なヒストグラムは、自然対数の形式でLOXL2ベースライン血清レベルを評価するために使用した。180pg/mlのLLODおよび440pg/mlのLLOQが、実験的に決定された。

【0318】

GAPコホートについてのLOXL2レベルは、回帰法を使用して、自然対数変換した後ARTEMIS-IPFデータに対して標準化した。結果を図11に示す。

【0319】

すべての原因による死亡までの時間を評価し、肺移植は、死イベントと見なした（ほとんどの肺移植患者は死亡した）。分類木と回帰木（*classification and regression trees*）（CART）方法を、ベースライン血清LOXL2レベルの二分化のための最適な閾値またはカットオフポイントを選択するための、不偏のアプローチとして適用した。GAPコホートにおいて、 $\log(\text{LOXL2})$ が唯一の変数であった場合、CART分析は、カットオフポイントとして440pg/ml（自然対数目盛で6.08）を選択した。

【0320】

10

20

30

40

50

表 7 は、G A P コホートにおける被験体についてのベースラインおよび人口統計学的特徴を示し、表 7 は、このコホートにおける様々なベースライン値の間の相関を示す。

【表 7】

表 7 GAP コホートのベースラインおよび人口統計学的特徴

変数	N	平均値(Std)	中央値(最小値、最大値)
性別	M:74 (67%) F: 37 (33%)		
年齢(歳)	111	67 (9.3)	67 (3, 84)
予測 FVC%	73	66 (18)	64 (34, 113)
予測 FEV ₁ %	73	77 (19)	74 (37, 129)
予測 DLCO%	73	48 (18)	46 (14, 109)
CPI	73	52 (13)	52 (12, 78)
6 分間の歩行距離	17	912 (420)	890 (100, 1555)
LOXL2	111	1495 (2307)	717 (90, 15708)
LOG (LOXL2)	111	7 (1)	7 (5, 10)
LOG (LOXL2) *	111	6 (1)	6 (5, 9)

*回帰方法によって正規化されたLOXL2

10

20

30

40

【表 8】

表8 ベースラインの変数間の相関

	年齢	予測FVC%	予測FEV1%	予測DLCO%	CPI
Log LOXL2	-0.7	-0.03	-0.06	-0.28	-0.24
年齢		0.07	0.23	0.02	0.05
予測FVC%			0.93	0.38	-0.61
予測FEV1%				0.47	-0.60
予測DLCO%					-0.95

50

【0321】

二種類に分けられたLOXL2レベルとすべての原因による死亡率との間の相関は、ベースラインの6(6)か月、12(12)か月、18(18)か月、および24(24)か月後に、Cox比例ハザードモデリングおよびKaplan-Meier生存プロットを使用して評価した。ベースラインLOXL2レベルと入院および肺機能低下との間の相関は、データが入手可能でなかったため、評価されなかった。

【0322】

ベースラインLOXL2レベルの分布の分析は、ARTEMIS-IPFコホートについて観察されたものと同様に、より低い領域(the lower spectrum)

50

に向かって非対称の分布を示した。ベースラインLOXL2レベル中央値は、716.5 pg/mL (四分位数間範囲358.3 pg/mL、1446.6 pg/mL)であった。相関は、LOXL2と、ベースラインの人口統計およびIPF重症度についてのベースラインの臨床指標との間で弱かった (相関係数は、年齢について - 0.07、FVC - 0.03、DLCO - 0.28)。疾患重症度のさらなる臨床指標は、さらなる分析に入手可能ではなかった。

【0323】

結果は、閾値440 pg/mLのベースライン血清LOXL2レベルが、すべての原因による死亡率についての危険性と相関していたことを示した。血清における440 pg/mLよりも高いベースラインLOXL2レベルの存在は、ベースラインの12、18、および24か月後のより多くの死と関連した (図12AおよびB)。

10

【0324】

多変量Cox比例ハザードモデリング (共変数は年齢および性別を含んだ) は、440 pg/mLよりも高いベースラインLOXL2レベルの存在が、ベースラインの12、18、および24か月後の死についての危険性における2.3倍の増加と関連することを示唆した (表9および表10を参照されたい)。

【表9】

表9 GAPコホートにおける、ベースラインのLOXL2レベルが低い(≤440pg/mL)被験体と、高い(>440pg/mL)被験体についてのベースラインの6か月後、12か月後、18か月後、および24か月後のイベント率およびハザード比

20

ベースラインからの時間	イベント率		ハザード比* (95% CI)	P値
	低LOXL2	高LOXL2		
6か月	5/52 (10%)	10/59 (17%)	1.76 (0.60, 5.22)	0.3051
12か月	10/52 (19%)	23/59 (39%)	2.27 (1.05, 6.98)	0.0319
18か月	12/52 (23%)	26/59 (44%)	2.22 (1.12, 4.43)	0.0231
24か月	14/52 (27%)	30/59 (51%)	2.31 (1.22, 4.37)	0.0105

30

*モデルは共変数として年齢および性別を含む

【表 10】

表10 ベースラインのLOXL2レベルが低い($\leq 440\text{pg/ml}$)被験体と、高い($>440\text{pg/ml}$)被験体
 についてのベースラインの6か月後、12か月後、18か月後、および24か月後のイベント率およ
 びハザード比

ベースラインからの 時間	イベント率		ハザード比(95%CI)	P値
	低LOXL2	高LOXL2		
6か月	2/36 (6%)	3/13 (23%)	5.08 (0.85, 30.47)	0.0756
12か月	5/36 (14%)	3/13 (23%)	1.90 (0.45, 7.99)	0.3796
18か月	5/36 (14%)	3/13 (23%)	1.90 (0.45, 7.99)	0.3796
24か月	5/36 (14%)	4/13 (31%)	2.11(0.54, 8.24)	0.2846

10

【0325】

20

被験体のサブセットについて、さらなる血清サンプルを前向きに収集した。研究の期間にわたって、2(2)つのサンプルを60人の被験体から収集し、3(3)つのサンプルを42人の被験体から収集し、4(4)つのサンプルを31人の被験体から収集し、5(5)つのサンプルを17人の被験体から収集し、6(6)つのサンプルを12人の被験体から収集し、7(7)つのサンプルを7(7)人の被験体から収集し、8(8)つのサンプルを2(2)人の被験体から収集した。サンプルのどれも、急性増悪と関連して収集されなかった。

【0326】

血清LOXL2レベルとすべての原因による死亡率との間の関係性を評価するために、時間依存性の連続変数としてサンプルのそれぞれにおけるLOXL2レベルを組み込む多変量コックス比例ハザードモデリング(年齢および性別を含む共変数あり)を使用した。経時的に測定した血清LOXL2レベルは、死亡率についての危険性と関連した($p = 0.003$)。GAPコホートにおいて、本研究の間の任意の時間に採取した血清LOXL2レベルにおけるそれぞれの2.7倍の増加について、死亡率についての危険性は、1.63倍、増加した(95%信頼区間1.19~2.25)。

30

【0327】

表11は、ベースライン後の様々な時間での血清LOXL2レベルによる多変量解析の結果を示す。

【表 1 1】

表11 ベースラインの6か月後、12か月後、18か月後および24か月後における、低血清LOXL2レベル (<440pg/mL)と、高血清LOXL2レベル(>440pg/mL)に従った多変量解析

応答変数	モデル項目	ハザード比(95%CI)	p値
死亡までの時間、6か月	Log LOXL2(≦または>6.08)	1.8 (0.6, 5.2)	0.305
	性別	*0.5 (0.1 1.8)	0.299
	年齢(連続的)	1.0 (1.0, 1.1)	0.931
死亡までの時間、12か月	Log LOXL2(≦または>6.08)	2.3 (1.1, 7.0)	0.032
	性別	*0.4 (0.2, 0.9)	0.037
	年齢(連続的)	1.0 (1.0, 1.0)	0.647
死亡までの時間、18か月	Log LOXL2(≦または>6.08)	2.2 (1.1, 4.4)	0.023
	性別	*0.5 (0.2, 1.0)	0.052
	年齢(連続的)	1.0 (1.0, 1.0)	0.848
死亡までの時間、24か月	Log LOXL2(≦または>6.08)	2.3 (1.2, 4.4)	0.011
	性別	*0.4 (0.2, 1.0)	0.026
	年齢(連続的)	1.0 (1.0, 1.0)	0.808

*ハザード比は女性の患者に有利である

【0328】

GAPコホートの結果は、上記に記載されるARTEMIS-IPF研究のものに類似していた。両方の研究は、閾値レベルよりも高いベースライン血清LOXL2レベルがIPF患者において負の転帰の危険性の増加と関連することを示した。

C: IPF患者における血清LOXL2レベル

【0329】

ARTEMIS-IPF治験(上記)に参加した被験体67人およびGAPコホート(上記)の被験体104人からの血清および臨床データを解析した。血清LOXL2(sLOXL2)レベルを実施例3に記載の通りLOXL2 ELISAによって定量化した。肺機能(LF)の低下(FVCの10%の減少およびDL_cの5%の減少またはDL_cの15%の減少およびFVCの5%の減少)、呼吸器系の入院(RH)ならびに死亡率を含めた疾患の増悪(DP)が、ARTEMIS-IPF被験体についての主要エンドポイントとしての機能を果たした。呼吸器系の入院(RH)を伴わない疾患の増悪(DP)をGAPコホートについての主要エンドポイントとして使用した。各研究において、分類木と回帰木(CART)方法を使用して、sLOXL2レベルの二分化のための最適な閾値を選択した。

【0330】

GAP被験体では、この研究で評価したARTEMIS-IPF被験体と比較して高いsLOXL2レベルが測定された(それぞれ、中央値324 pg/mL(四分位数間範囲[IQR]147、770)および716 pg/mL(IQR358、1447))。どちらのコホートにおいても、sLOXL2はベースラインのFVCおよびDL_cとほんの弱く相関したが(r範囲-0.25~0.05)、sLOXL2レベルはIPF転帰と有意に関連した。sLOXL2レベルの二分化のためのCARTにより決定された閾値は、ARTEMIS-IPF被験体については800 pg/mLであり、GAP被験体については700 pg/mLであった。

【0331】

10

20

30

40

50

ARTEMIS - IPFでは、sLOXL2が高いこと (> 800 pg/mL) はDPの危険性がより高いことと関連した (HR 5.4、95%信頼区間 [CI] 1.7 ~ 17.7、p = 0.005)。図13Aを参照されたい。この効果は、主に、肺機能低下 (HR 7.6、95% CI 1.2 ~ 48.3、p = 0.031) およびRH (HR 5.4、95% CI 1.2 ~ 24.0、p = 0.029) によって駆動され、死亡の危険性がより高い傾向があった (HR 1.9、95% CI 0.3 ~ 12.4、p = 0.517)。

【0332】

ベースラインのスパイロメトリデータを有するGAP患者 (n = 70) の中で、sLOXL2レベルが高いこと (> 700 pg/mL) は、登録の24か月後のDPイベントがより多いことと関連した (HR 1.8、95% CI 1.0 ~ 3.1、p = 0.045)。全てのGAP患者を含めた場合、sLOXL2レベルが高いことは、登録の24か月後の死亡率の危険性がより高いことと関連した (HR 2.2、95% CI 1.1 ~ 4.2、p = 0.019)。図13Bを参照されたい。これらの結果により、血清LOXL2レベルをIPF疾患転帰についての予後判定バイオマーカーとして使用することができることが実証される。

(実施例6)

慢性B型肝炎 (CHB) の患者における血清LOXL2レベル

A. CHB被験体におけるsLOXL2レベル

【0333】

血清LOXL2レベルは、300mgテノホビルジソプロキシル fumarate (TDF) による処置の前におよび処置の240週間後の両方で、慢性B型肝炎 (CHB) および肝線維症を有する被験体において評価した。肝生検は、TDFによる処置の前におよび処置の240週間後に、CHBを有する348人のヒト被験体から採取した。生検は、線維症の評価のためにIshakスケールを使用して病理学者らによってスコア化した。本研究において、被験体の96.3%が、肝線維症における改善を示したまたは進行なしを示した。生検で証明される硬変を有する、本研究を始めた96人の被験体のうち、74%が、処置の240週間後に硬変の後退を有した。

【0334】

血清LOXL2レベルを、線維症スコアにおける改善を示したいく人かの被験体を含む、348人の被験体のうち81人について、ベースラインの時点および240週目にELISAによって遡及的に評価した。処置後の240週目に、これらの81人の被験体のうちの42人は、硬変後退を有し、16人は、持続性の硬変を有し、2人は、処置の経過にわたって硬変に進行し、18人は、線維症における変化を伴わない非硬変被験体であり、3人は、Ishakによって測定されるように、線維症における少なくとも2ポイントの低下を伴う非硬変被験体であった。

【0335】

ベースライン血清LOXL2レベルは、81人のCHB被験体のうちの91%においておよび硬変被験体の97%において上昇した。下記に示されるように、硬変を有する患者 (Ishakスコア5または6) は、それほど重度ではない肝線維症を有する患者と比較して、ベースラインにおけるLOXL2血清レベル中央値が上昇していた。この観察は、慢性C型肝炎感染症を有する患者において観察されたLOXL2血清レベルに類似している。さらに、組織学研究は、LOXL2タンパク質が活発な線維形成の部位で集中していることを示した (データ示さず)。これらの結果は、硬変を有する患者がなお肝臓における活発な線維形成を受けていることを示唆する。さらに、240週間の処置の経過にわたって、ベースライン硬変を有する60人の患者の72%は、後退または彼らのIshak線維症スコアの改善を示した。さらに、これらの患者は、ベースラインと比較して、240週目に、より低い血清LOXL2レベル中央値を有した。結果は、全体的な線維症および線維形成の両方が抗ウイルス処置によって低下したことを示唆する。

【0336】

図14Aは、血清LOXL2レベル (pg/mL) が線維症スコアと相関したことを示

10

20

30

40

50

し、図14Bおよび14Cは、血清ベースラインLOXL2レベル(pg/mL)が、ベースラインIshak線維症スコアと相関したことを示す。処置後の240週間の時点で、血清LOXL2レベル平均値は低下しており、Ishak線維症スコアともはや相関していなかった。表12もまた参照されたい。

【表12】

表12 ベースラインおよび処置開始の240週目後における、Ishakステージと比較した平均血清LOXL2レベル

	N	ベースライン	N	240週目
全ての被験体(平均LOXL2(pg/mL))	81	2678.6	81	748.9
Ishakステージ0~3(平均LOXL2(pg/mL))	18	510.2	56	746.8
Ishakステージ4~6(平均LOXL2(pg/mL))	63	3298.2	25	753.5

10

【0337】

図15において示されるように、1~3のベースラインIshakステージを有する被験体はすべて、1500pg/mL未満の血清LOXL2レベルを有し、4~6のベースラインIshakステージを有する被験体の49%は、1500pg/mLを超える血清LOXL2レベルを有した。

20

【0338】

81人の被験体のうちの79%は、血清LOXL2レベルにおける低下を経験した。被験体の11%(それぞれ定量限界未満のベースラインレベルを有する)は、LOXL2レベルにおける変化を有しなかった。

【0339】

図16は、以下の群における個々の被験体についてのベースラインおよび240週目の血清LOXL2レベル(pg/mL)を示す：240週目に持続性の硬変を有する被験体(n=16、図16A)；240週目までに硬変の逆転を有する被験体(n=42、図16B)；週間240週目までに線維症性のステージ(Ishak)における変化を経験しなかった非硬変被験体(n=18、図16C)；本研究の過程にわたって硬変までの進行を経験した被験体(図16D)；および240週目までに線維症における2ステージ以上の低下を有する非硬変被験体(図16E)。

30

【0340】

表13は、240週目に持続性の硬変を有する被験体、240週目に硬変の逆転を有する被験体、および本研究の過程にわたって線維症性の変化における変化を経験しなかった非硬変被験体(「非硬変、なし」)におけるベースラインおよび240週目の血清LOXL2レベル(pg/mL)を比較する。

【表 1 3】

表 13 異なる CHB 被験体群における血清 LOXL2 レベルの変化

	持続性の硬変(n=16)		硬変の逆転(n=42)		非硬変、変化なし(n=18)	
	ベースライン	240 週目	ベースライン	240 週目	ベースライン	240 週目
平均値	9124.1	603.8	1355.0	922.6	798.4	436.8
中央値	1863	LOQ	1073	< LOQ	< LOQ	< LOQ
< LoQ	2 (13%)	8 (50%)	4 (10%)	29 (69%)	10 (56%)	14 (78%)
< LoD	1 (6%)	2 (13%)	1 (2%)	13 (31%)	4 (22%)	8 (44%)
< 1000	5 (31%)	14 (88%)	20 (48%)	35 (83%)	13 (72%)	15 (83%)
> 3000	5 (31%)	0 (0%)	2 (5%)	3 (7%)	1 (6%)	0 (0%)
減少		14 (88%)		37 (88%)		9 (50%)
増加		0 (0%)		5 (12%)		2 (11%)

10

20

【0341】

表 1 3 において示されるように、硬変被験体のうちの 8 8 % が、LOXL2 レベルが低下した。さらに、ベースライン血清 LOXL2 レベルは、2 4 0 週目に持続性の硬変を有した被験体において最も高いということが決定された。

【0342】

図 1 7 は、所定のベースライン血清 LOXL2 レベル (< 1 5 0 0、> 1 5 0 0、1 5 0 0 ~ 3 0 0 0、< 3 0 0 0、および > 3 0 0 0 p g / m l) を有する、2 4 0 週目に、組織学的改善を有することが決定された硬変被験体(「Y」)のパーセンテージならびに同じ所定のベースライン血清 LOXL2 レベルを有する、2 4 0 週目に組織学的改善を有しないことが決定された硬変被験体(「N」)のパーセンテージを示す。示されるように、1 5 0 0 p g / m l 未満のベースライン血清 LOXL2 レベルを有する硬変被験体は、8 8 % の率の後退 (r e g r e s s i o n) を有した。1 5 0 0 p g / m l ~ 3 0 0 0 p g / m l のベースライン血清 LOXL2 レベルを有する硬変被験体は、7 0 % の率の後退を有していたが、3 0 0 0 p g / m l を超えるベースライン血清レベルを有する硬変被験体は、わずか 2 9 % の率の後退しか有しなかった。したがって、硬変患者の間で、1 5 0 0 p g / m l 未満のベースライン血清 LOXL2 レベルは、8 8 % の後退の確度と関連したが、3 0 0 0 p g / m l を超えるベースライン血清 LOXL2 レベルは、2 9 % の後退の確度と関連した。

30

40

【0343】

ベースライン血清 LOXL2 レベルは、ベースライン線維症ステージよりも 2 4 0 週目の I s h a k 線維症ステージとより関連した。これは、高い血清 LOXL2 レベルが、活発な線維形成を反映したことを示唆する。

【0344】

この研究の結果は、血清 LOXL2 レベルが、CHB を有する患者において上昇し、最高の線維症を有する患者において最も高いことを実証し、血清 LOXL2 と線維症スコアとの間の全般的な相関を実証した。血清 LOXL2 レベルは、活動性疾患および活発な線維形成を反映した(たとえば、より高いベースラインレベルが 2 4 0 週目の、より高い線

50

維症ステージと関連したことを考慮して)。基礎をなすCHBの処置は、ほとんどの患者においてLOXL2の低下をもたらし、このことは、線維形成のダウンレギュレーションを示唆した。臨床的にうまくいっていた不変の線維症スコアを有する患者においてでさえ、5年後に血清LOXL2が減少した。結果は、活動性疾患のマーカーとしての血清LOXL2レベルを実証し、かつ高いLOXL2が後退の欠如を予測するということを実証する。

B. CHB被験体におけるsLOXL2レベル

【0345】

CHBに感染している被験体641人を、300mgのフマル酸テノホビルジソプロキシル(TDF)/アデホビルを用いて1年にわたって処置し、オープンラベルTDFで最大5年まで継続した。これらの被験体のうち344人に、ベースライン(処置前)ならびに処置開始の48週間後および240週間後に肝生検を実施した。線維症を評価するために病理学者らがIshakスケールを使用して生検をスコア化した。合計96人の被験体(28%)がベースラインにおいて硬変を有した(Ishakスコア5)。74%は、処置の240週間後にはもはや組織学的硬変を有さなかった(Ishakスコア<5)。図18を参照されたい。

10

1. 代償性CHB被験体88人におけるsLOXL2レベル

【0346】

進行型線維症/硬変症を優先して、被験体348人のうち88人について血清LOXL2レベルをELISAによって遡及的に評価した。88人の被験体は、70%(80人)が男性であり、64%(73人)が白人であり、14%(16人)がアジア系、8%(9人)がアフリカ系米国人/黒人であり、240週目に、これらの88人の被験体のうち42人は硬変の後退を有し、22人は持続性の硬変を有し、3人は処置の経過にわたって硬変に増悪し、18人は線維症における変化を伴わない非硬変被験体(研究時増悪)であり、3人は、Ishakにより測定されるように、線維症における少なくとも2ポイントの低下を伴う非硬変被験体であった。

20

【0347】

血清LOXL2(sLOXL2)はベースラインにおいて被験体全体の92%および硬変被験体の97%で検出可能であった。ウイルス抑制により、sLOXL2レベルが低下した。図19を参照されたい。

30

【0348】

ベースラインsLOXL2レベルは、より進行型の線維症の被験体においてより高かった。図20を参照されたい。ピニングしたIshak線維症スコアがF0~F3およびF4~F6である被験体の平均LOXL2レベルは、それぞれ698pg/mLおよび1,629pg/mLであった($P < 0.0001$ 、ウィルコクソン-マン・ホイットニー)。これらの結果により、sLOXL2レベルを使用して、疾患のステージをモニターすることができることが実証される。この研究において、sLOXL2の変化によって240週間にわたる線維症ステージの変化は予測されなかった。ベースラインsLOXL2レベルは、持続性の硬変を有する被験体(1,999pg/mL)において、硬変の後退を示した被験体(1,334pg/mL)と比較して高く、 $p = 0.13$ であった。

40

2. 非代償性CHB被験体81人におけるsLOXL2レベル

【0349】

サンプルの第2のセットを非代償性肝疾患のCHB被験体81人から取得した。表14には、これらの81人の被験体についての人口統計学的情報が上で考察した88人の被験体と比較して示されている。

【表 1 4】

表14 人口統計学的情報

研究集団	代償性	非代償性
N	88	81
男性(%)	70 (80)	69 (85)
平均年齢(歳)	44	51
白人(%)	64 (73)	38 (47)
アジア系(%)	14 (16)	39 (48)
アフリカ系米国人/黒人(%)	8 (9)	2 (2)
平均BMI	26.5	27.0
HBeAg 陽性 (%)	36 (41)	29 (36)
ベースラインにおける硬変(%)	64 (73)	81 (100)
240週目における硬変(%)	25 (28)	NA

10

20

【0350】

平均血清レベルは、非代償性被験体 81 人について、代償性被験体 88 人 (1,418 pg/mL) と比較して高く (2,396 pg/mL)、 $p = 0.002$ (ウィルコクソン順位和検定) であった。図 2 1。さらに、非代償性疾患の被験体 81 人の中で、平均 sLOXL2 レベルは、末期肝疾患モデル (Model for End-stage Liver Disease) (MELD) スコアが高い被験体の方が高かった。図 2 2。

30

以下の表 1 5 には、様々な程度の代償性疾患および非代償性疾患を含めた、種々の程度の疾患の重症度を有する CHB 被験体についての平均 sLOXL2 レベルが列挙されている。

【表 1 5】

表15 疾患の重症度による平均sLOXL2

疾患の重症度	代償性			非代償性肝硬変
	Ishakステージ 0~3	ベースラインの 硬変、240週目ま でに後退を伴う	ベースラインお よび240週にお ける硬変	
平均sLOXL2 (pg/mL)	698	1,334	1,999	2,396

40

【0351】

結果により、sLOXL2 レベルは、より重症の疾患および/またはより進行型の線維症を有する患者においてより高いことが実証され、これにより、sLOXL2 の検出の、CHB に対する予後判定および診断マーカーとしての使用が実証される。

C. パーセントコラーゲンエリア (PCA)

50

【0352】

ベースライン、48週目、および240週目に取得した研究集団全体由来の組織サンプルからPCAを決定した。平均PCAは、集団全体について、ベースラインにおいて7.1%であり、48週目に5.3%であり、240週目に3.9%であった(図34A)。

【0353】

持続性の硬変を有する被験体および硬変の組織学的後退を示した被験体においてPCAを決定した。平均PCAは、持続性の硬変を有する被験体において組織学的後退を伴う被験体よりも高かった。後退群では、経時的なPCAの低下も比例して大きかった(図34B)。

(実施例7)

原発性硬化性胆管炎(PSC)におけるLOXL2レベル、原発性胆汁性肝硬変(PBC)におけるLOXL2レベル、および胆汁うっ滞性肝疾患の動物モデルにおけるLOXL2レベル

【0354】

ヒト原発性硬化性胆管炎(PSC)被験体由来のサンプルおよび原発性胆汁性肝硬変(PBC)被験体由来のサンプルにおいて、ならびに胆汁うっ滞性肝疾患のマウスモデルにおいてLOXL2発現を評価した。

【0355】

PSCの患者由来の肝臓外植片、PBCの患者由来の肝臓外植片、および非疾患肝組織由来の生検を免疫組織化学的検査(IHC)および免疫蛍光法(IF)によって評価した。ヒトPSC肝(図23A)およびPBC肝(図23B)の病気の領域においてLOXL2タンパク質が大量に発現されることが検出された。

【0356】

疾患の増悪の種々のステージにあるMdr2^{-/-}由来の肝組織および胆管結紮(BDL)マウス由来の肝組織に対してIHC、IF、およびqRT-PCRを実施し、野生型(WT)マウスおよびニセ外科手術に供したマウスをコントロールとして使用した。非疾患コントロールと比較して、Mdr2^{-/-}マウス(図23C)とBDLマウス(図23D、外科手術の7日後)のどちらにおいてもLOXL2タンパク質が誘導された。同様に、Mdr2^{-/-}マウス(図24A)およびBDLマウスでは、外科手術の3日後および7日後にmRNAが誘導された(図24B)。ヒト組織と動物モデル組織のどちらにおいても、LOXL2は線維症の領域に存在し、線維性コラーゲン沈着の広がりと共に共局在化し、タマネギ皮様(onion skin-type)線維症および線維症性隔壁と明白に関連する。LOXL2発現は、小管増殖の非線維症性領域ならびに門脈血管の内皮細胞においても観察された。

【0357】

増悪性線維症および早期発症型門脈圧亢進症の増加を伴うPSCのマウスモデルを、線維症にかかりやすいバックグラウンド(BALB/c)にMdr2変異を戻し交配することによって生成した。Mdr2^{-/-}マウスでは、架橋線維化、自然に発生した小管周囲のタマネギ皮様線維症性病変および著しい小管反応、ならびに肝臓における高レベルのコラーゲン沈着のサインを伴う肝線維症の増悪の増加が示された(図x A - 33Cを使用)。Mdr2^{-/-}BALB/cでは、コントロールマウスと比較して早発性の重症の門脈圧亢進症も示された(データ示さず)。免疫組織化学的分析により、LOXL2は健康な肝臓には存在しないが、Mdr2^{-/-}BALB/cマウスでは小管周囲の線維症性エリアにおいて誘導されることが示された(データ示さず)。4週齢のMdr2^{-/-}BALB/cマウスにAB0023(30mg/kg)、M64(30mg/kg)、またはBAPN(100mg/kg)を週2回投与した(群当たりn=10)。処置の4週間後に、AB0023で処置したマウスでは、肝臓コラーゲン沈着の減少:M64で処置したマウス(p=0.0032)およびBAPNで処置したマウス(p=0.0012)と比較して、それぞれ約31%および34%の減少が示された。また、AB0023で処置したマウスでは、プロコラーゲン、TGFβ1、TGFβ2、およびMMP-2などの線維

10

20

30

40

50

形成促進性 (p r o f i b r o g e n i c) 遺伝子の発現が減少した (データ示さず) 。

【 0 3 5 8 】

C 5 7 B 1 6 マウスにおいて、3, 5 - ジエトキシカルボニル - 1, 4 - ジヒドロコリジン (D D C) を 4 週間にわたって与えることによって胆管線維症のマウスモデルを誘導した。D D C を与えることにより、著しい小管反応およびタマネギ皮様管周囲線維症を伴う胆管炎が引き起こされた。マウスを、A B 0 0 2 3 (3 0 m g / k g)、M 6 4 (3 0 m g / k g)、または B A P N (1 0 0 m g / k g) を用いて、腹腔内 (i . p .) 注射によって週 2 回、4 週間にわたって処置した。A B 0 0 2 3 を投与した、D D C を与えたマウスでは、ビヒクル処置と比較して肝臓コラーゲン含量の 3 9 % の減少 (p = 0 . 0 1 5 1) が示された。また、免疫組織化学的分析により、A B 0 0 2 3 で処置したマウスが、ビヒクルで処置したマウスおよび M 6 4 で処置したマウスと比較して管周囲のエリアにおいて少ないコラーゲン原線維を示したことが示された (データ示さず) 。

10

【 0 3 5 9 】

L O X L 2 のタンパク質レベルおよび他の候補疾患マーカーを、P S C 患者および健康なコントロールの独立したセットから抜き取った血漿の E L I S A によって測定した。L O X L 2 タンパク質は、大多数の P S C 患者由来の血漿において検出され、大多数の健康なドナーでは検出されず、フィッシャーの直接検定で p 値は 0 . 0 0 5 未満であった。

【 0 3 6 0 】

結果により、P S C 肝臓外植片および P B C 肝臓外植片において L O X L 2 発現が誘導されること、ならびに P S C 患者において血漿 L O X L 2 レベルが有意に上昇することが実証される。結果により、胆汁うっ滞性疾患の病因における L O X L 2 の機能的役割が示され、L O X L 2 が胆汁うっ滞性疾患の診断マーカーであることが確認される。結果により、M d r 2^{-/-} マウスおよび B D L マウスの肝臓における L O X L 2 発現の誘導およびパターンが、P S C のヒト被験体および P B C のヒト被験体由来の肝臓と比較して同様であることがさらに実証される。いくつかの実施形態において、そのような動物モデルを使用して、P S C および P B C などの胆汁うっ滞性肝疾患に対する処置の効力 (たとえば、抗 L O X L 2 処置) を評価する。

20

(実施例 8)

H C V および他の肝疾患における L O X L 2 の検出

A . 慢性 C 型肝炎ウイルス (H C V) 感染症の患者における肝線維症を推定するための血清 L O X L 2 測定

30

【 0 3 6 1 】

免疫組織化学的検査 (I H C) によって線維症性肝組織を分析することにより、L O X L 2 発現が線維芽細胞、新脈管構造、炎症細胞および肝細胞で構成される線維形成の境界面に局在化することが明らかになり、これにより、L O X L 2 が活動性の線維形成性疾患と関連することが示唆される。血清 L O X L 2 と線維症性肝疾患の関係をさらに探究するために、実施例 3 に記載の L O X L 2 特異的 E L I S A を使用した。慢性 H C V 感染症の患者 8 7 人から、血清サンプルを肝生検と一緒に収集した。L O X L 2 の血清レベル、ならびに確立されたバイオマーカーであるヒアルロン酸 (H A) および組織メタロプロテアーゼ阻害物質 1 (T I M P 1) の血清レベルをイムノアッセイによって測定し、各生検について、I s h a k スコアリングシステムを使用して肝線維症の組織学的ステージを評価した。別途、3 0 人超の健康なドナー由来の血清サンプルも収集し、血清 L O X L 2 レベルについて評価した。血清バイオマーカーと線維症スコアの相関を、A N O V A 検定、ならびに線維症スコアによってビンゲしたサンプルについてのマン・ホイットニーの U 検定を使用して試験した。

40

結果

【 0 3 6 2 】

結果が図 2 6 および図 2 7 に示されている。L O X L 2 タンパク質は、慢性 H C V 感染症の患者の 8 3 % の血清において検出されたが、正常な健康なドナーのいずれに由来する血清においても検出されなかった。H A、T I M P 1、および L O X L 2 の血清レベルと

50

線維症のステージとの間には正の相関があった。血清結果は、IHC分析と一致し、活動性の線維症のエリアではLOXL2タンパク質のレベルが高く、それに対して感染していないまたは健康な個体由来のサンプルにおけるレベルは低いまたは検出不可能であることが明らかになった。

B. 慢性HCV感染症の患者由来の肝組織、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)1の患者由来の肝組織、およびアルコール性脂肪性肝炎(ASH)の患者由来の肝組織におけるLOXL2発現

【0363】

免疫組織化学的(IHC)染色により、慢性HCV感染症を有する患者由来の肝組織におけるLOXL2発現が実証された。スナップ凍結したヒト組織サンプルをCureline(Burlingame, CA)およびAsterand(Detroit, MI)から入手し、連続切片を抗LOXL2で染色した。

結果

【0364】

慢性HCV感染症の患者から得られる切片からの結果が図28に示されており、それにより、この患者の肝組織におけるLOXL2タンパク質の発現が示されている。図28の左側のパネル(5×対物レンズ拡大率)では、黒色の矢印は門脈領域および門脈路への線維性の拡大のエリアを示す。白色の矢印は肝小葉の周囲の短い線維性隔壁のエリアを示す。図28の右側のパネル(40×対物レンズ拡大率)には、類洞周囲腔内の、肝細胞(H)との境界面の線維性隔壁(S)(矢印)において、および肝実質内の筋線維芽細胞(矢印)において観察されたLOXL2免疫反応性が示されている。結果により、この研究では、慢性HCV感染症の患者の肝組織においてLOXL2が発現したこと、および、発現が、提供されるアッセイの複数の実施形態によって測定可能であることが示されている。別のIHC研究では、NASH、HCV関連線維症、およびASHにおいては活動性の疾患境界面の肝組織にLOXL2発現が強力に局在化するが、健康な肝臓には局在化しない(データ示さず)。

C. 軽度～中程度の肝線維症を有する被験体と比較した、肝硬変を有する被験体における血清LOXL2レベルの上昇

【0365】

患者の血清サンプルを、臨床治験のプラセボ群(arm)に登録された慢性C型肝炎感染症の成人26人から収集した。被験体をIshak線維症スコアによって群分けした(1～3:軽度～中程度の線維症;5～6:硬変)。被験体の人口統計学的特徴が表16に示されている。

10

20

30

【表 16】

表16 HCV被験体の人口統計学的特徴

特徴	Ishakスコア		全て(n=26)		
	1~3 (n=14)	5~6 (n=12)			
年齢*	53 (50.5, 56.0)	55 (47.8, 55.0)	53.5 (49.3, 55.8)		
性別					
男性	9 (64.3%)	9 (75.0%)	18 (69.2%)		
女性	5 (35.7%)	3 (25.0%)	8 (30.8%)		
人種					
白人	11 (78.6%)	10 (83.3%)	21 (80.8%)		
黒人	3 (21.4%)	2 (16.7%)	5 (19.2%)		
ベースラインIshak線維症スコア(n)					
F1	F2	F3	F4	F5	F6
3	6	5	0	7	5

*中央値および四分位数間範囲(25%,75%)が報告されている

【0366】

血清サンプルを研究ベースラインに対して6つの時点：4週目、8週目、16週目、24週目、26週目、および30週目で取得した。対の肝生検（スクリーニングおよび24週目）を中心的な病理学者らが盲検式で評価した。Mann's M、Palmer R、Flisiak Eら、J Hepatology. 2011年、54巻、補遺1：S55～S56頁を参照されたい。血清LOXL2を、実施例3に記載のLOXL2イムノアッセイ（Mesoscale Discoveryプラットフォームで展開されるサンドイッチイムノアッセイ）を使用して測定した。

【0367】

統計解析のために、被験体をIshak線維症スコアによって群分けした（1～3：軽度～中程度の線維症；5～6：硬変）。本研究では、ベースラインIshak線維症スコアが4である被験体は観察されなかった。アッセイの定量の下限値（LLOQ）未満の検出可能なLOXL2を有する血清サンプルをLLOQに設定した。バイオマーカーレベルの差異を説明的にグラフで要約した。群あたり観察されたサンプルサイズによる交換を伴うサンプル収集を使用した中央値の10,000ブートストラップによって95%信頼区間（CI）を構築した。P値は、ある時点の中で群を比較する場合にはウィルコクソン順位和検定を使用して算出し、全ての時点にわたって群を比較する場合には被験体内の変量効果を用いた反復測定線形モデルによって算出した。

結果

【0368】

図29には、ピニングしたベースラインIshak線維症スコアおよび時間によるLOXL2血清レベルが示されている。各パネルには、示された時点（4週目、8週目、16週目、24週目、26週目、30週目）について、Ishak線維症スコアに従って群分けした2つの患者群（それぞれ1～3および5～6）についてのLOXL2濃度（pg/mL）が示されている。LOXL2濃度がプロット範囲外であった3つの外れ値（LOXL2濃度 = 5529、6621、8845 pg/mL）は全て、Ishak線維症スコアが5である同じ被験体に由来した。

【0369】

図30には、Ishak線維症スコアに従って群分けした2つの患者群（それぞれ1～

10

20

30

40

50

3 および 5 ~ 6) について、4 週目 ~ 30 週目にわたる LOXL2 血清中濃度の中央値として算出された被験体内の LOXL2 血清レベルの中央値が示されている。被験体内の変動係数の平均は 22 % であった。

【0370】

図 3 1 には、95 % 信頼区間を用いた、ピニングしたベースライン Ishak 線維症スコアによる経時的な (週) LOXL2 血清中濃度の中央値 (pg/ml) が示されている。研究生検の間の 25 ~ 28 週間にわたって Ishak 線維症スコアが 2 以上変化した被験体は 1 人のみであった。

【0371】

表 1 7 には、各時点についての LOXL2 濃度の中央値 (pg/ml) が示されており、p 値は軽度 ~ 中程度の肝線維症を有する被験体と比較した、肝硬変を有する被験体における上昇の統計的有意性を示す。

【表 1 7】

表17 ピニングした線維症スコアに応じたLOXL2血清レベルの統計的有意性

時点	LOXL2濃度の中央値(pg/ml)		P値
	Ishak F1-F3	Ishak F5-F6	
4週目	641	1684	0.0149
8週目	786	1700	0.0091
16週目	814	1457	0.0407
24週目	881	1616	0.0596
26週目	865	1763	0.0716
30週目	711	1118	0.5890
全体	810	1591	0.0275

【0372】

これらの結果により、提供されるイムノアッセイの実施形態により、LOXL2 タンパク質の血清中濃度を測定できることが確認される。結果により、この研究では、肝硬変を有する被験体において、軽度 ~ 中程度の肝線維症を有する被験体と比較して血清 LOXL2 タンパク質レベルが有意に上昇したこと、およびその上昇が、提供されるアッセイの複数の実施形態を使用して血清において測定可能であることも実証される。

D . 血清 LOXL2 レベルは慢性 HCV 感染症の被験体における血清ヒアルロン酸レベル 血清 TIMP 1 レベルと相関した

【0373】

イムノアッセイおよび統計解析を上記の C の一部として行った。さらに、ヒアルロン酸 (HA) および TIMP 1 を、市販のイムノアッセイキットを使用して測定した。バイオマーカー (LOXL2 および HA または TIMP 1) 間の関連性を、スピアマン順位相関を使用して評価した。

結果

【0374】

図 3 2 には、示されている Ishak スコア (1 ~ 6) を有する被験体についての、被験体内の LOXL2 のレベルの中央値対ヒアルロン酸 (HA) のレベルの中央値 (上のパネル) および被験体内の LOXL2 のレベルの中央値対組織メタロプロテアーゼ阻害物質 1 (TIMP 1) のレベルの中央値 (下のパネル) が示されている。被験体内の発現の中央値は 4 週目 ~ 30 週目にわたる発現の中央値として算出した。局所重み付けした散布図平滑化を使用して曲線を構築した。

【0375】

これらの結果により、この研究では、提供されるイムノアッセイのある実施形態を使用して測定される通り、血清LOXL2レベルが血清HAレベルおよび血清TIMP1レベルと相関したことが実証される。

(実施例9)

腫瘍患者における血清LOXL2

【0376】

がんに対して抗LOXL2 (AB0024) 抗体を用いた処置を受けているがん患者8人を試験した。患者の識別(「Pt ID」); がん診断; 抗LOXL2抗体の用量レベル; 増悪までの時間; および、元の原発腫瘍または関連するサンプルから単離した固定組織のサンプル(約5 μmの切片)における免疫組織化学的検査によって検査したLOXL2発現が以下の表18に提供される。

10

【表18】

表18

Pt ID	診断	用量レベル(mpk)	増悪までの時間	LOXL2発現
001	腎細胞	1	44日	血管
002	結腸直腸	1	安定(約7か月)	陽性線維形成性
003	子宮内膜ミューラ 一管混合型	1	57日	最小;非線維形成性
004	乳房	3	38日	最小;斑状
005	結腸直腸	3	56日	陽性線維形成性
006	黒色腫	3	42日	陽性
007	結腸SC	10	57日	
008	前立腺	10	30日	陽性線維形成性
009	卵巣/乳房	10	51日	弱い、非線維形成性

20

30

【0377】

血液サンプルを、抗LOXL2処置開始の1日目(サンプルを抗LOXL2処置前に取得); ならびに抗LOXL2処置の開始後29日目および57日目に得た。

結果

【0378】

LOXL2は、入手可能な全ての時点において、患者8人中8人の血漿および患者8人中5人の血清サンプルで検出された。AB0024の投与によってLOXL2シグナルは明瞭になることも遮蔽されることもなかった。

【0379】

本発明が、その特定の実施形態に関して記載されてきたが、様々な変化がなされてもよく、本発明の真の精神および範囲から逸脱することなく、等価物が代わりに用いられてもよいことが、当業者によって理解されるはずである。さらに、本発明の目的、精神、および範囲に、特定の状況、物質、材料の組成、プロセス、プロセスステップ(複数可)を適応させるために多くの変更がなされてもよい。そのような変更はすべて、本明細書に添付される特許請求の範囲内にあることが意図される。

40

【 図 1 】

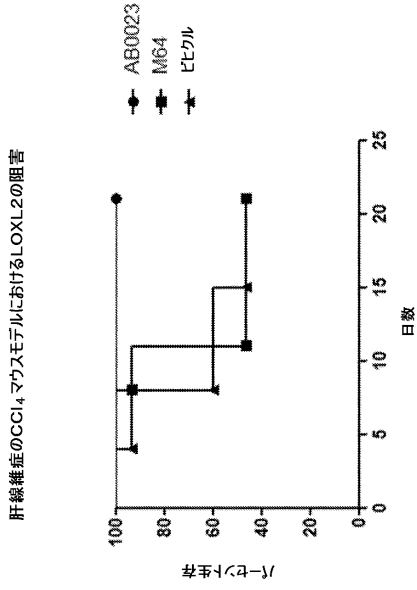


FIG. 1

【 図 2 】

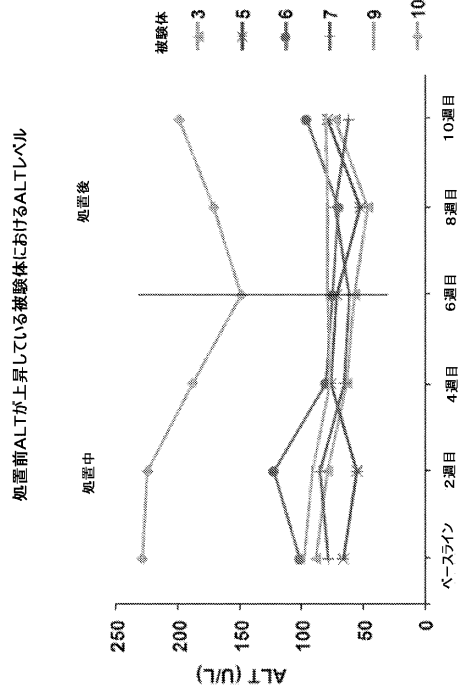


FIG. 2

【 図 3 】

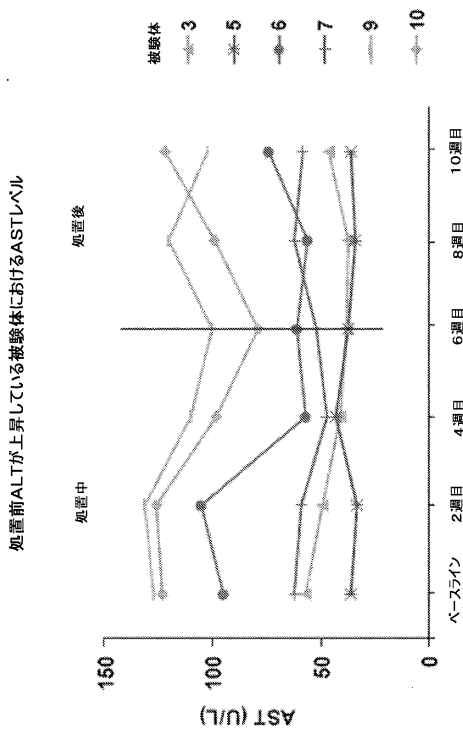


FIG. 3

【 図 4 】

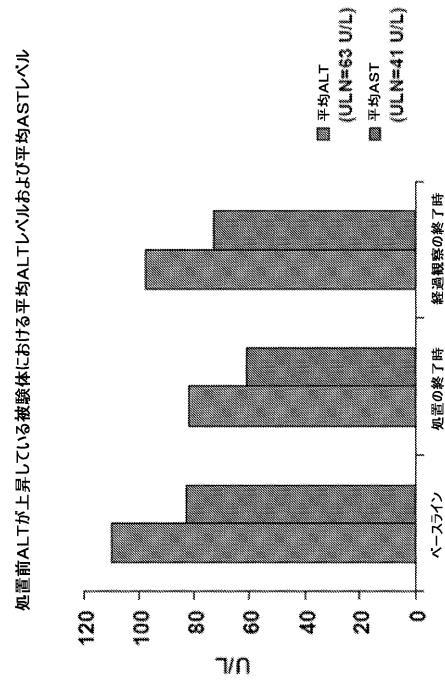


FIG. 4

【 図 5 】

被験体10人全員についての来院による平均ALT、平均AST、および平均GGT

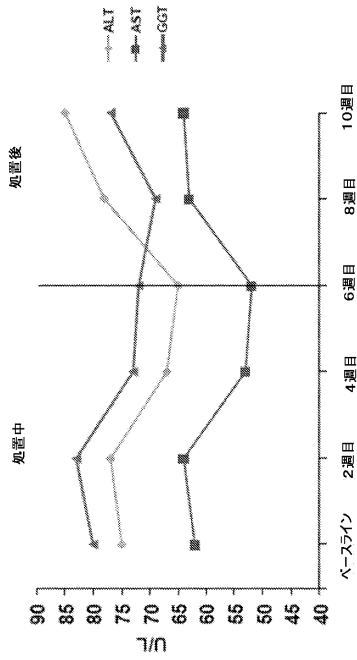


FIG. 5

【 図 6 】

ベースライン、処置 (RX) の終了時、および経過観察 (FU) の終了時の平均ALTレベルおよび平均ASTレベル

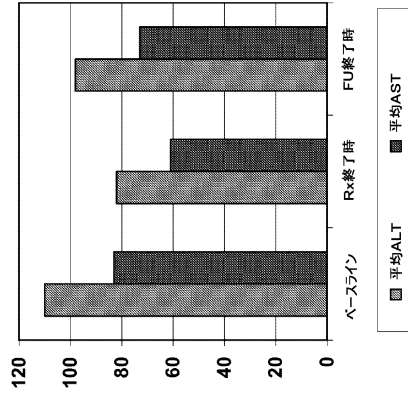


FIG. 6

【 図 7 】

LOXL2イムノアッセイについての標準キャリブレーション曲線

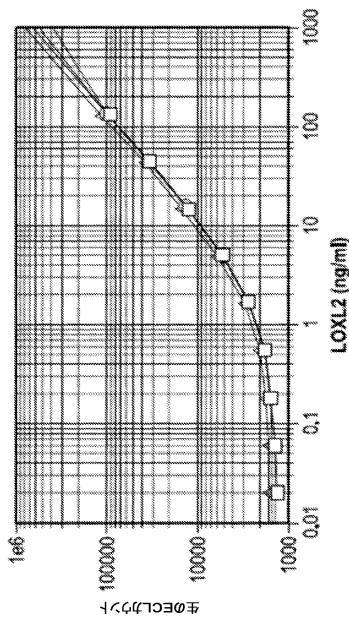


FIG. 7

【 図 8 】

ヒンクしたベースラインのIshak線維症スコアおよび時間によるLOXL2血清レベル

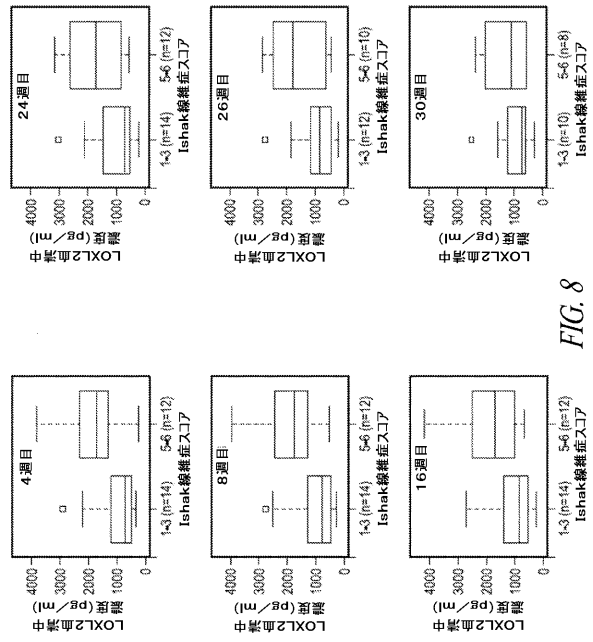


FIG. 8

【 図 9 A 】

ベースラインLOXL2レベルとPF重症度および機能的ステータスのベースライン量との間の相関

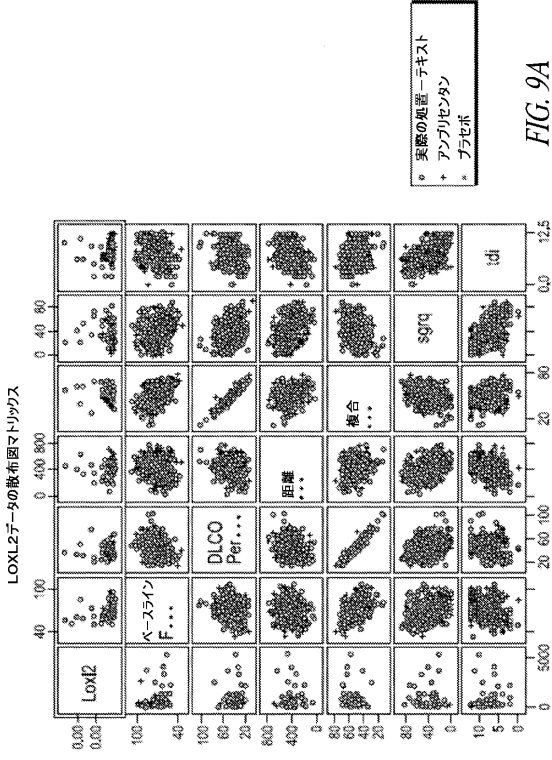


FIG. 9A

【 図 9 B 】

ベースラインLOXL2レベルとPF重症度および機能的ステータスのベースライン量との間の相関

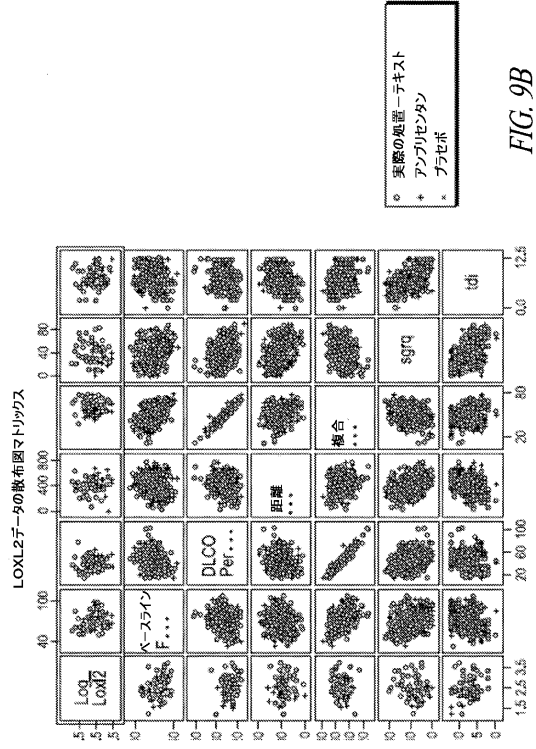


FIG. 9B

【 図 10 A 】

疾患増悪 (PFS) ならびにその構成成分: 肺機能低下、呼吸器系の入院、および死に対して、低いおよび高いLOXL2レベルを比較するKaplan-Meier曲線

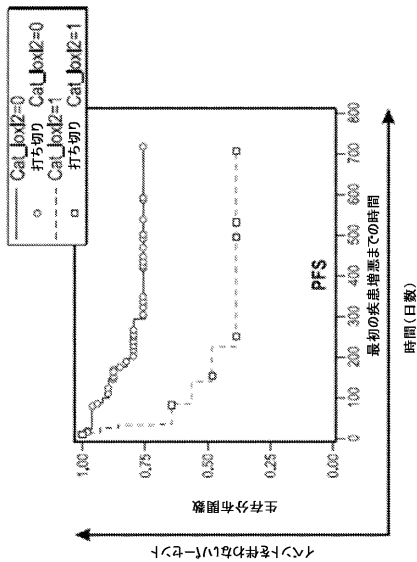


FIG. 10A

【 図 10 B 】

疾患増悪 (PFS) ならびにその構成成分: 肺機能低下、呼吸器系の入院、および死に対して、低いおよび高いLOXL2レベルを比較するKaplan-Meier曲線

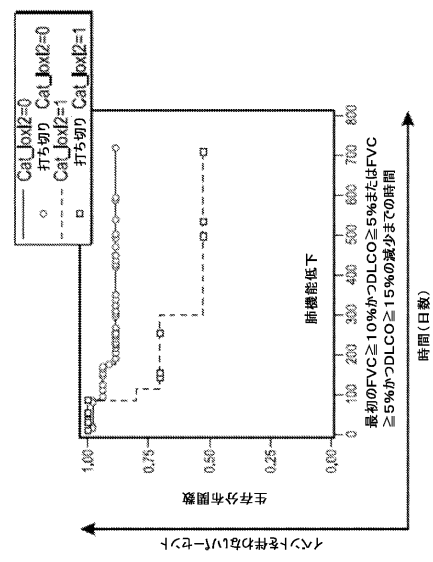
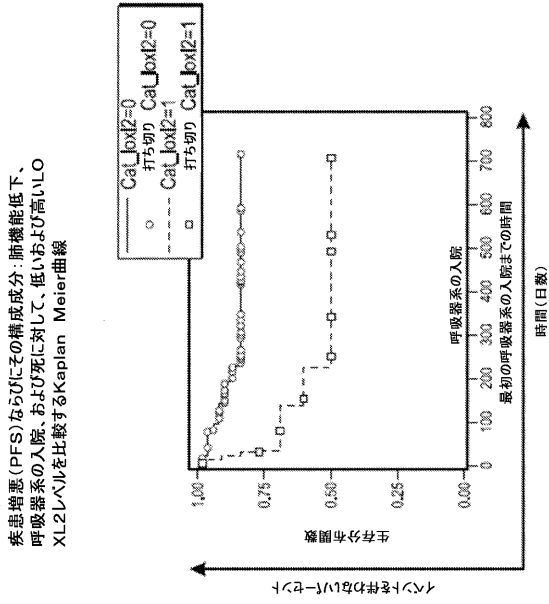
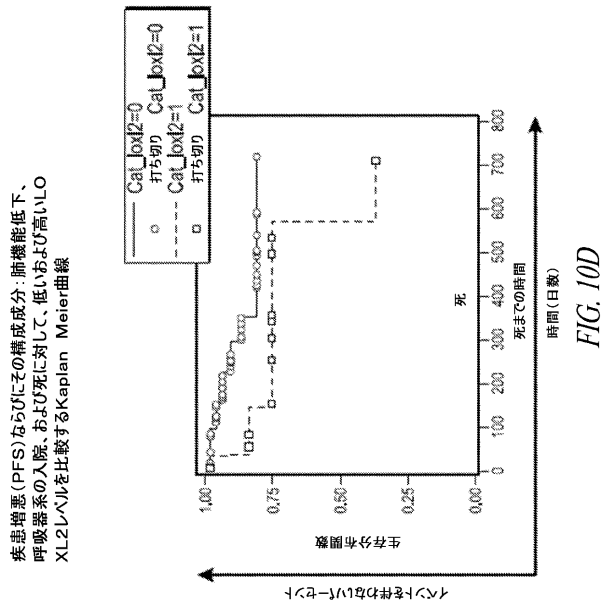


FIG. 10B

【 図 1 0 C 】

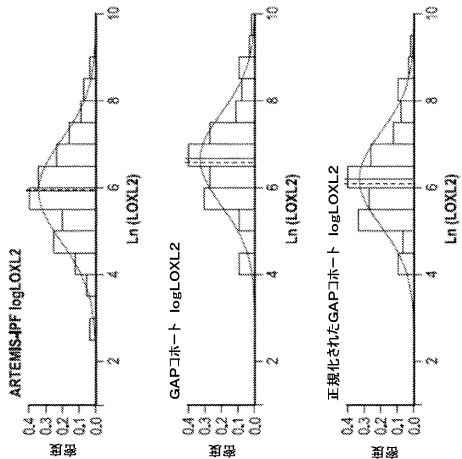


【 図 1 0 D 】



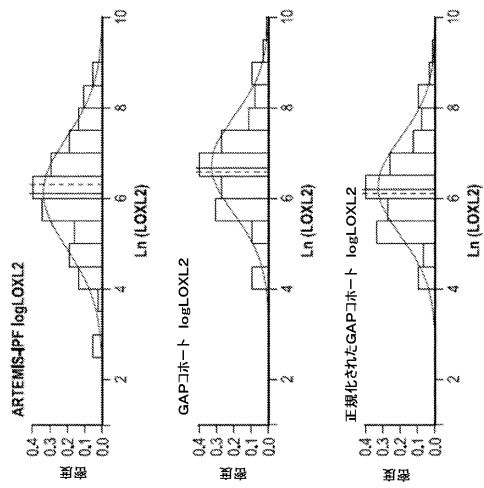
【 図 1 1 A 】

ARTEMIS-IPF 被験体 (プラセボおよびアンプリセンタン処置の被験体の組み合わせ) ならびに GAP コホート被験体における ベースライン LOXL2 分布の比較



【 図 1 1 B 】

ARTEMIS-IPF 被験体 (アンプリセンタン処置の被験体) および GAP コホート被験体における ベースライン LOXL2 分布の比較



【 図 1 2 A 】

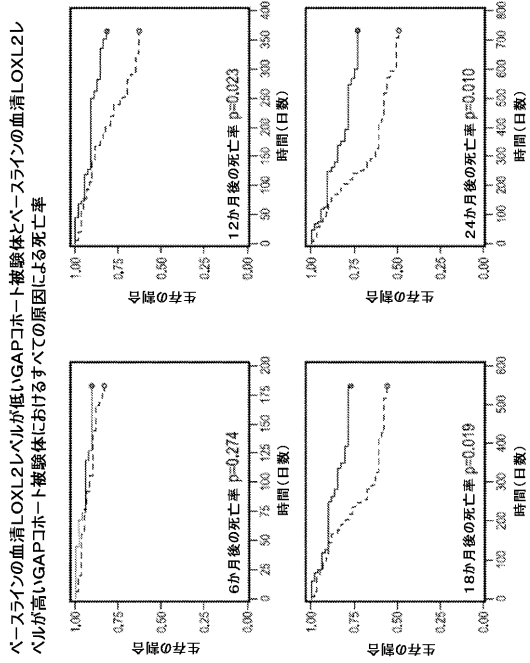


FIG. 12A

【 図 1 2 B 】

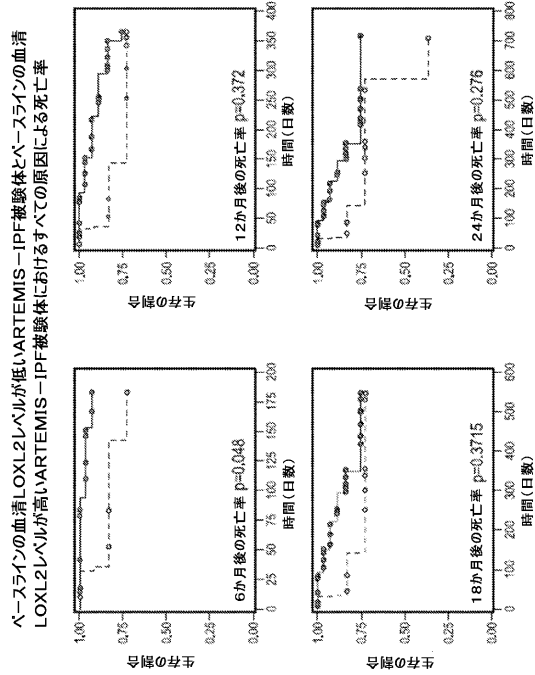


FIG. 12B

【 図 1 3 】

血清LOXL2レベルが低いARTEMIS-IPFの被験体と、血清LOXL2レベルが高いARTEMIS-IPFの被験体、および血清LOXL2レベルが低いGAPコホートの被験体と、血清LOXL2レベルが高いGAPコホートの被験体における疾患増悪および死亡率

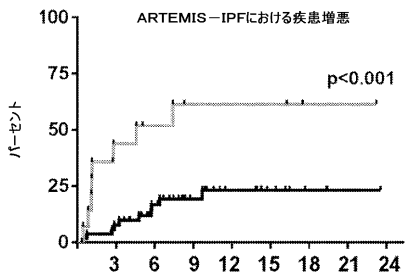


FIG. 13A

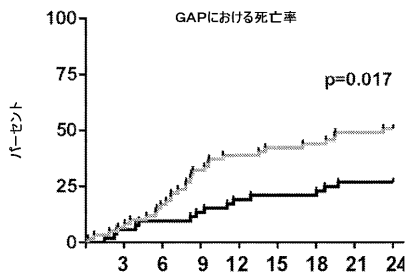


FIG. 13B

【 図 1 4 】

Ishak線維症ステージによって群分けされたCHB被験体における血清LOXL2レベル

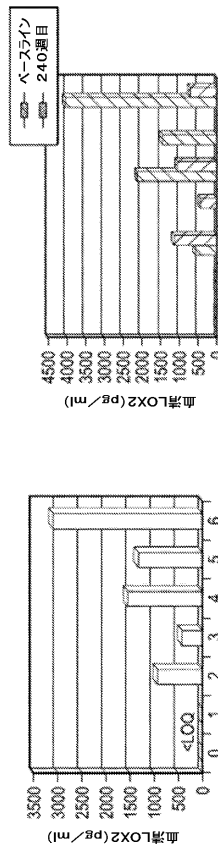


FIG. 14B

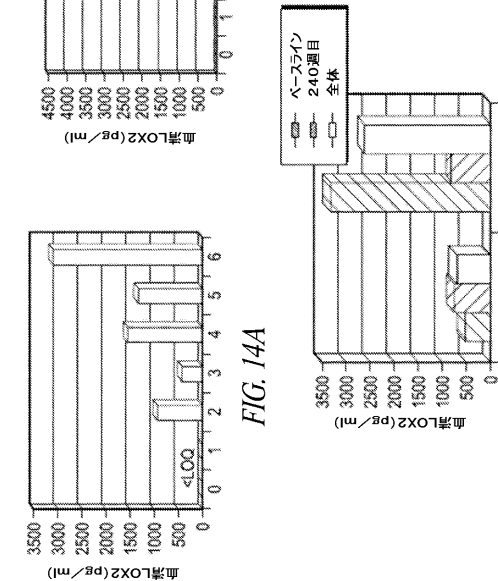


FIG. 14A

FIG. 14C

【 図 1 5 】

ベースラインIshakステージによる種々のLOXL2カテゴリーにおける被験体のパーセント

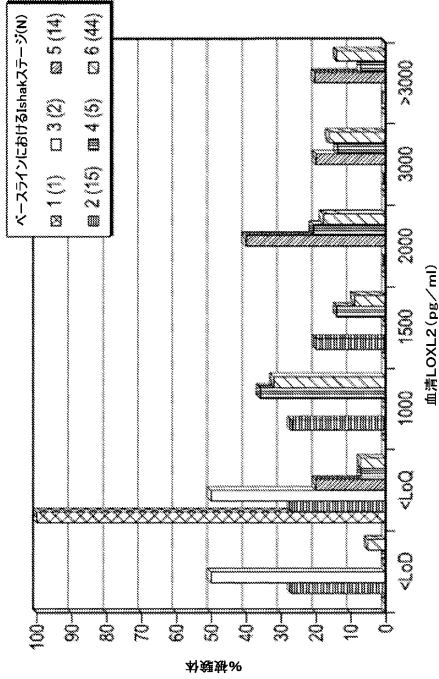


FIG. 15

【 図 1 6 - 2 】

CHB被験体におけるベースライン(BL)および240週目(WK240)の血清LOXL2レベル

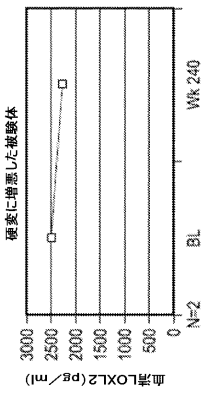


FIG. 16D

線維症におけるLOXL2の低下を伴う非腫瘍被験体

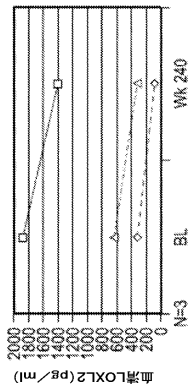


FIG. 16E

組織学的改善の予測因子としてのベースラインLOXL2

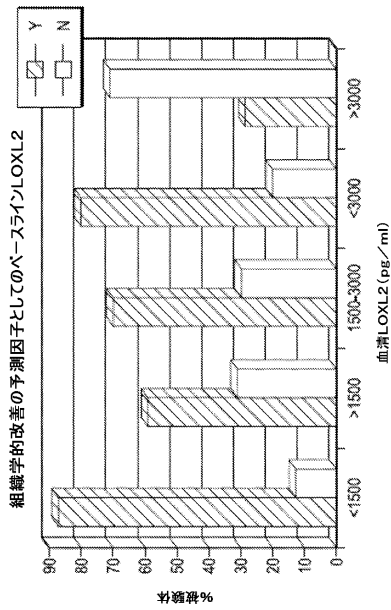


FIG. 17

【 図 1 6 - 1 】

CHB被験体におけるベースライン(BL)および240週目(WK240)の血清LOXL2レベル

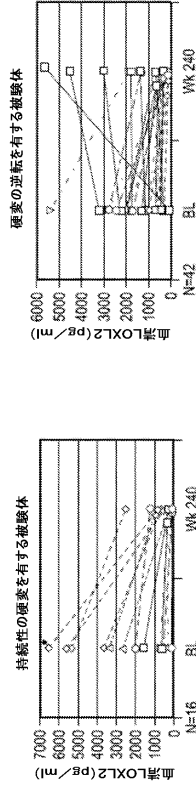


FIG. 16A

FIG. 16B

非腫瘍被験体; 線維症ステージにおける変化なし

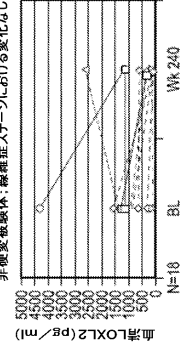


FIG. 16C

【 図 18 】

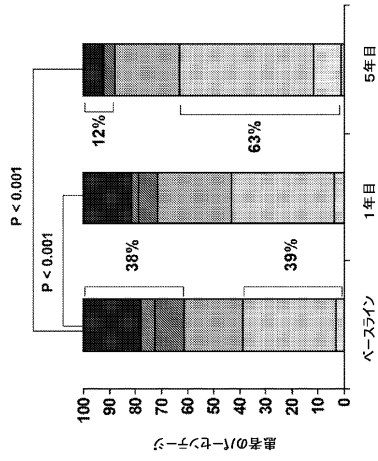


FIG. 18

【 図 19 】

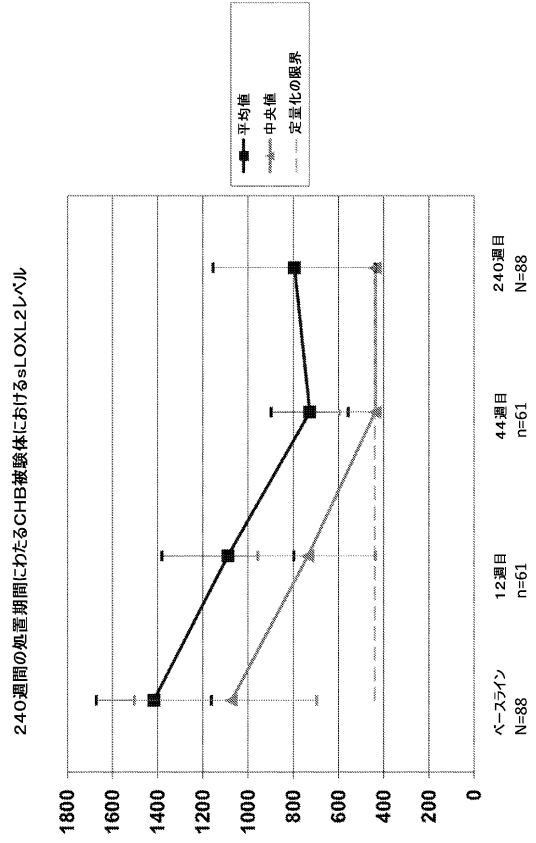


FIG. 19

【 図 20 】

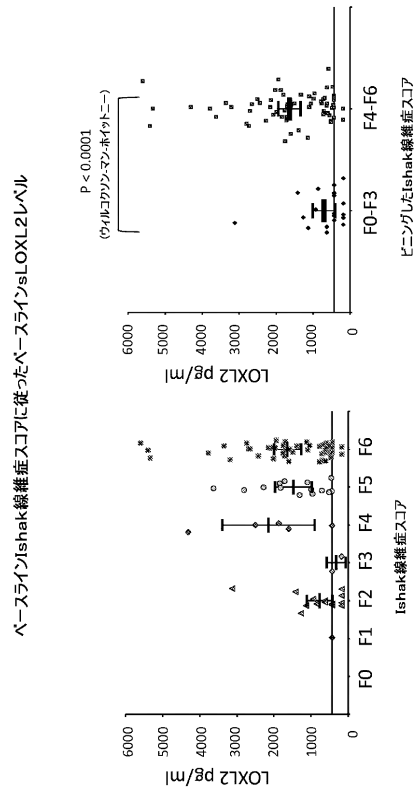


FIG. 20A

FIG. 20B

【 図 21 】

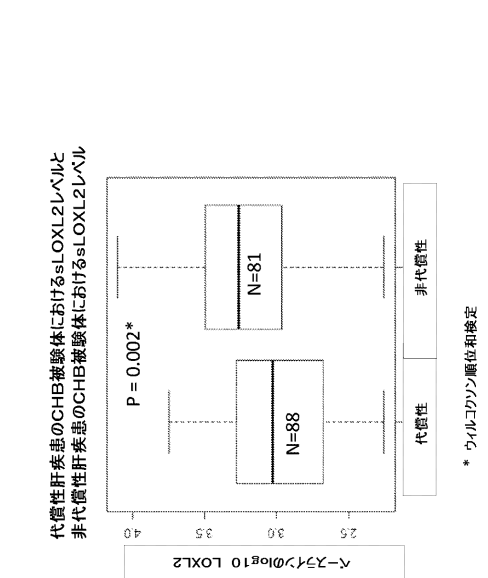


FIG. 21

* ウィルコクソン順位検定

【 図 2 2 】

種々のMELDスコアを有するCHB被験体におけるsLOXL2レベル

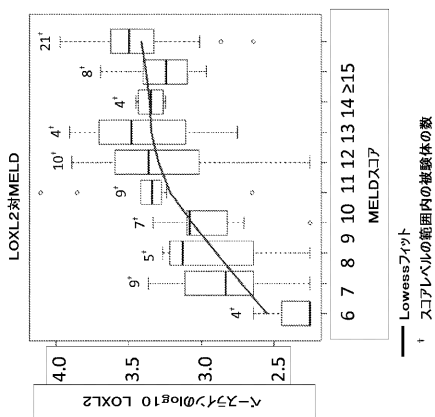


FIG. 22

【 図 2 4 】

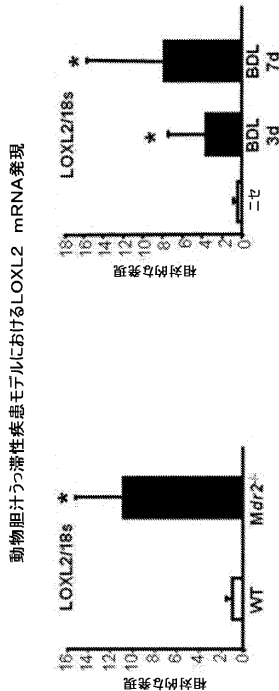


FIG. 24B

FIG. 24A

【 図 2 5 】

LOXL2F417

MERELCSHLG SCLAMLALLS PLSLAQYDSW RHYEYFQOP APEYHQPOAP ANVAKIQIRL 60
 シゲルボチド
 AGQRKHSEGG RVEVYYDGGW GYVDDDFSI HAHVQREEL GYVEAKSWTA SSSYGGKGGP 120
 IWLDNLHCTG NEATLAACIS NGWGYTICKH TEDYGVWCSQ KRIPOGKFDN SLINQIENLN 180
 IQVEDIIRA ILSTYRRRIP YMEGYVEVKE GKWKQLODK HWTAKNSRVV COMFGPQGER 240
 TYWFKVYKMF ASRRKQRYMP FSNCTGTEA HISSCKLGPQ VSLDPMNVT CENGLPAVVS 300
 SRCR2
 CYPGVFSPD GPSRFRKAYK PEQPNRLRG GAVIGGRVVE VLKNGEWGTV CDDKWDIVSA 360
 SYVCERFQFG SAKAVTGSR LGGIGIGIHL NFKLCTGNEX SLIDCKFNAE SGCNHFEDA 420
 SRCR3
 GVRGNTPANG LQKLRINGG RNPYEGRAVEV LVERNGLVW GNVCQGANWI VEAMVVCROL 480
 GLGFASNAFO ETWYWHGQDVV SNKYVMSGVK CSGTELLIAH CRHGEDVAC FGGGYQIGAG 540
 SRCR4
 VACSETAPDL VINAEMVQOT TYLEDRPFEM LQCAMENCL SASAACTEPT TQYRLLRFS 600
 輪環F417
 SOLINNGQSD FRPKNRSHAW IWHDCRHHYH SNEVFTIYDL LNINGTKVAE GHKASEFCLED 660
 TECEGLQKN YEGANEQDQG LIMGSDMAYR HDIDCOMIDI TDYPCDZLF OVMINENEVY 720
 ASESYSNNIM KCRSEYDGR IMMNCILGG SESEETEKE EHFESGLLNQQLSQQ 774

配列番号1

FIG. 25

【 図 2 6 】

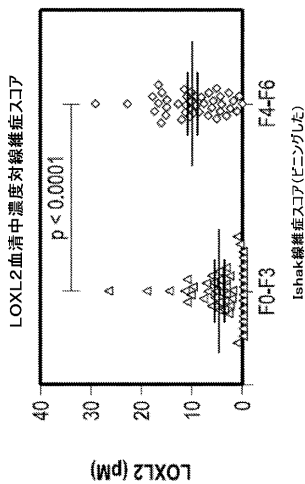


FIG. 26

【 図 27 】

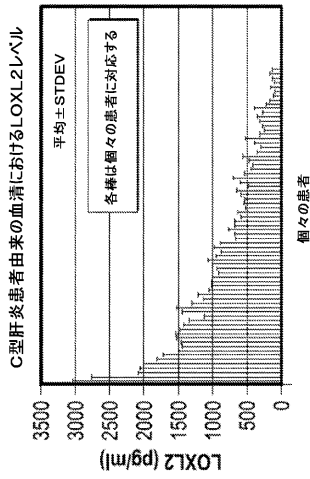


FIG. 27

【 図 29 】

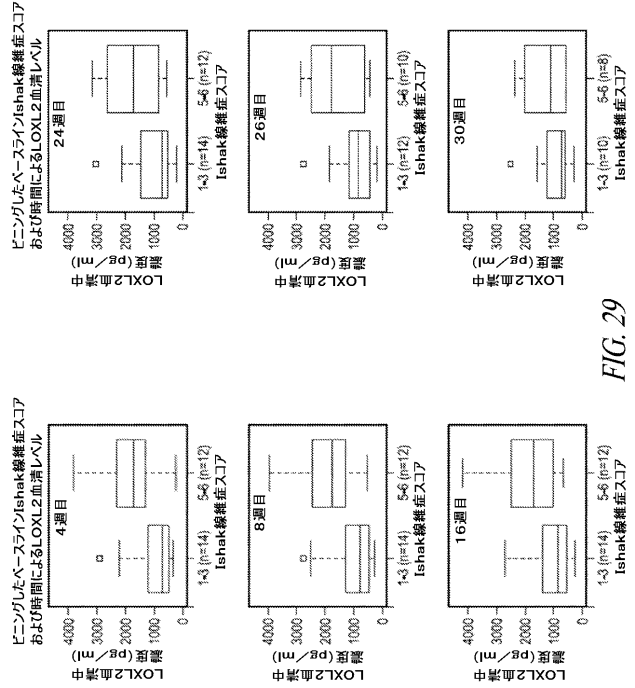


FIG. 29

【 図 30 】

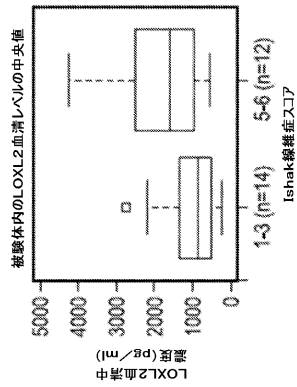


FIG. 30

【 図 31 】

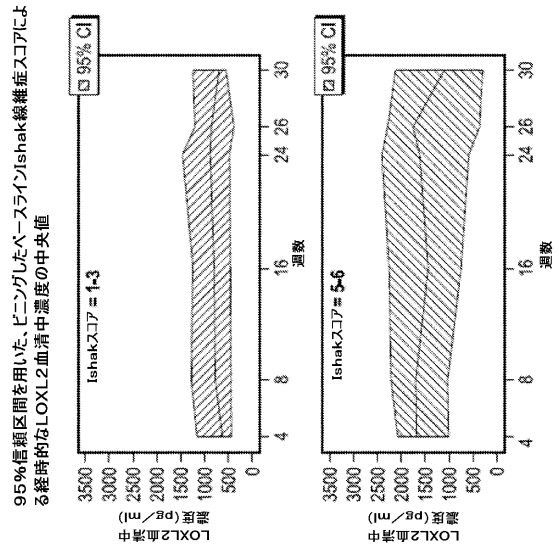


FIG. 31

【 図 3 2 】

被験体内のLOXL2レベルの中央値対HAレベルの中央値および被験体内のLOXL2レベルの中央値対TIMP1レベルの中央値

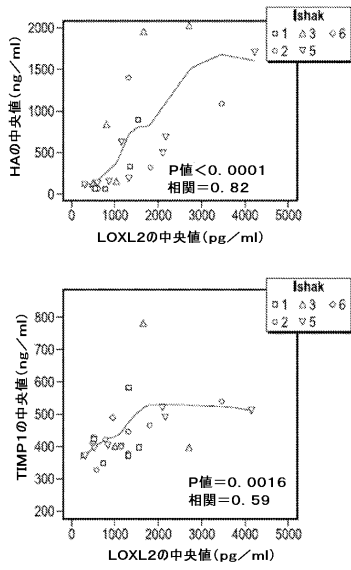


FIG. 32

【 図 3 3 - 1 】

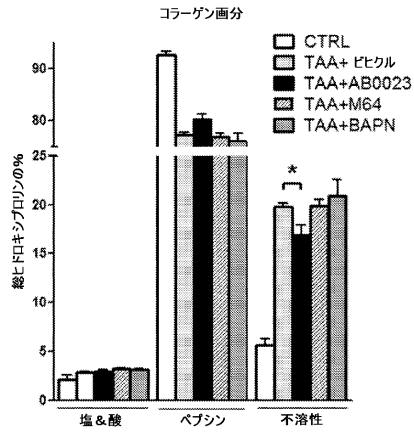


FIG. 33A

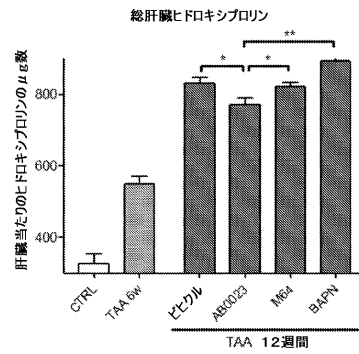


FIG. 33B

【 図 3 3 - 2 】

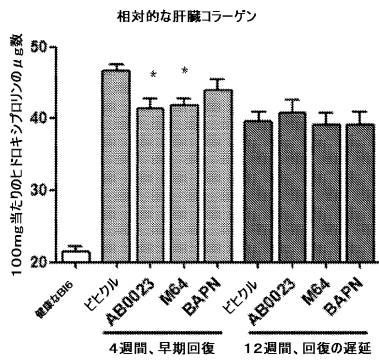


FIG. 33C

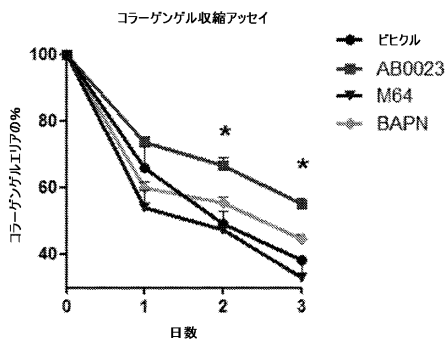


FIG. 33D

【 図 3 4 - 1 】

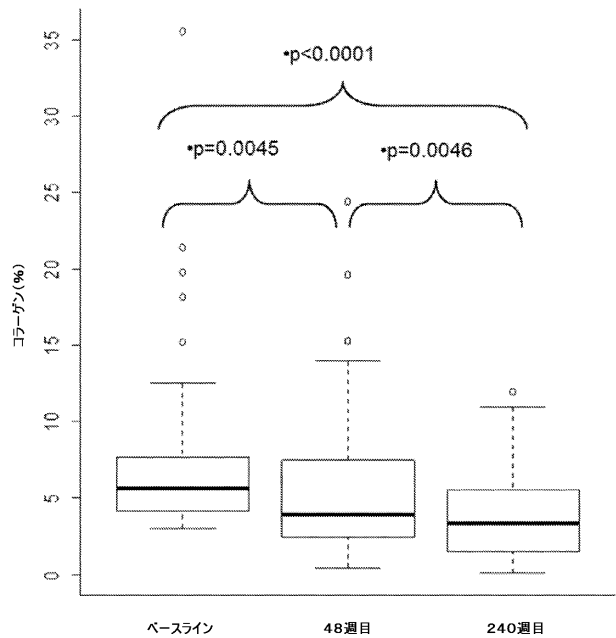


FIG. 34A

【 図 3 4 - 2 】

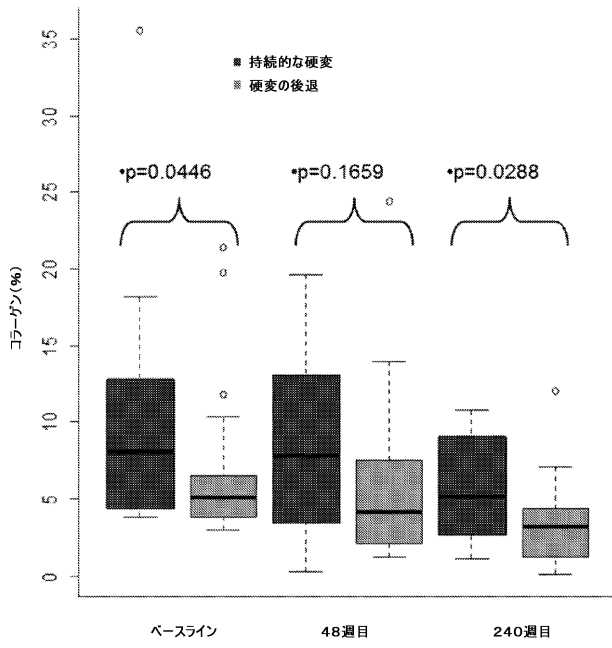


FIG. 34B

【 図 2 3 】

胆汁うっ滞性肝疾患におけるLOXL2タンパク質発現

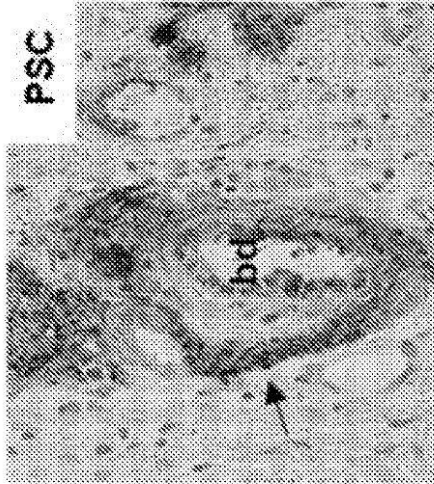


FIG. 23A

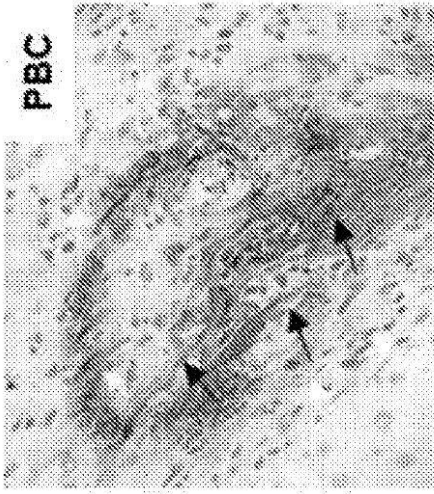


FIG. 23B

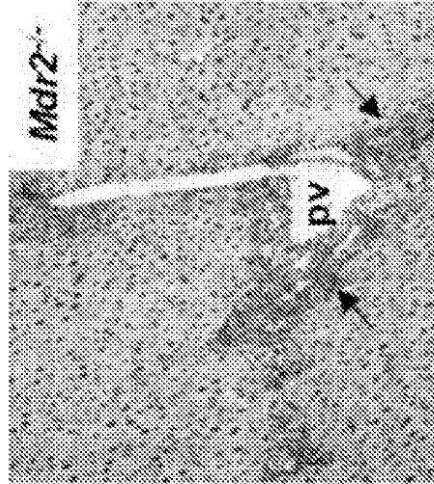


FIG. 23C

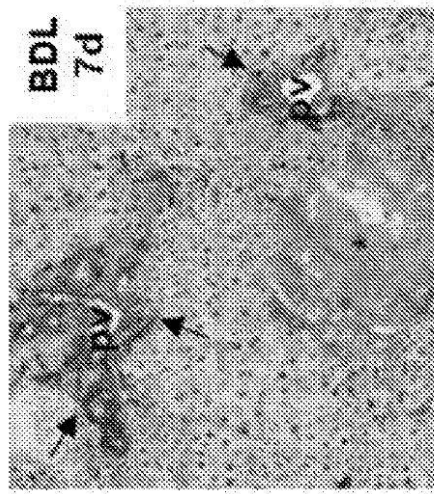


FIG. 23D

【 図 2 8 】

ヒト線維症肝組織におけるLOXL2の発現

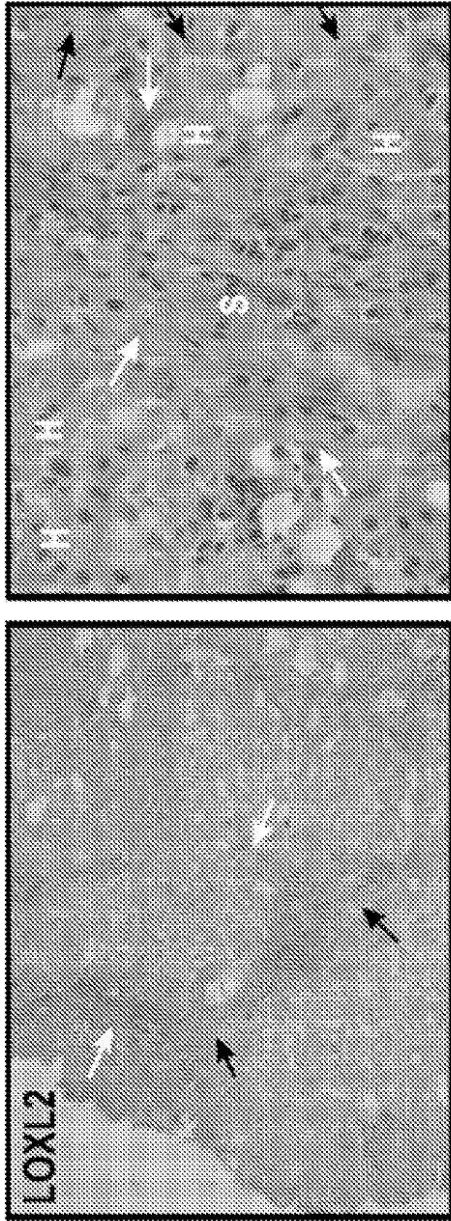


FIG. 28

【 配 列 表 】

2016500700000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2013/067591

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/40 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	H. M. RODRIGUEZ ET AL: "Modulation of Lysyl Oxidase-like 2 Enzymatic Activity by an Allosteric Antibody Inhibitor", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 285, no. 27, 3 May 2010 (2010-05-03), pages 20964-20974, XP055044717, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M109.094136 see last par. of the article -----	3,9,10, 13,17, 18,20
X	WO 2011/022710 A1 (ARRESTO BIOSCIENCES INC [US]; SMITH VICTORIA [US]; VAN VLASSELAER PETE) 24 February 2011 (2011-02-24) figure 6; example 19 ----- -/--	1,2,4-7, 12
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
18 December 2013		03/01/2014
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Vadot, Pierre

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2013/067591

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2011/022670 A1 (ARRESTO BIOSCIENCES INC [US]; MARSHALL DEREK [US]; SMITH VICTORIA [US]) 24 February 2011 (2011-02-24)	1,2,4-8, 11,12
Y	example 1	3,9,10, 13

X	WO 2009/017833 A2 (ARRESTO BIOSCIENCES [US]; SMITH VICTORIA [US]; OGG SCOTT [US]; VAN VLA) 5 February 2009 (2009-02-05) cited in the application page 27, line 7 - line 18; figures 3,5,14,44; example 15	14-20

X	VADASZ ET AL: "Abnormal deposition of collagen around hepatocytes in Wilson's disease is associated with hepatocyte specific expression of lysyl oxidase and lysyl oxidase like protein-2", JOURNAL OF HEPATOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 43, no. 3, 1 September 2005 (2005-09-01), pages 499-507, XP005005882, ISSN: 0168-8278	14-16,19
Y	abstract	17,18,20

X,P	WO 2012/167181 A1 (GILEAD BIOLOGICS INC [US]; SMITH VICTORIA [US]; ADAMKEWICZ JOANNE I [U]) 6 December 2012 (2012-12-06) claims; examples	14-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2013/067591

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date		
WO 2011022710 A1	24-02-2011	AU 2010284001 A1	22-03-2012		
		CA 2771630 A1	24-02-2011		
		CN 102711821 A	03-10-2012		
		EP 2467162 A1	27-06-2012		
		JP 2013502437 A	24-01-2013		
		KR 20120054076 A	29-05-2012		
		RU 2012110587 A	27-09-2013		
		US 2011076272 A1	31-03-2011		
		WO 2011022710 A1	24-02-2011		
		WO 2011022670 A1	24-02-2011	US 2011044907 A1	24-02-2011
WO 2011022670 A1	24-02-2011				
WO 2009017833 A2	05-02-2009	AU 2008282739 A1	05-02-2009		
		AU 2008299784 A1	19-03-2009		
		CA 2693208 A1	05-02-2009		
		CA 2693310 A1	19-03-2009		
		CN 101835490 A	15-09-2010		
		CN 101842114 A	22-09-2010		
		DK 2182981 T3	02-04-2013		
		EP 2182981 A2	12-05-2010		
		EP 2185198 A1	19-05-2010		
		EP 2537529 A1	26-12-2012		
		EP 2543389 A2	09-01-2013		
		ES 2402334 T3	30-04-2013		
		HK 1143736 A1	05-07-2013		
		HR P20130287 T1	31-05-2013		
		JP 5312459 B2	09-10-2013		
		JP 2010535205 A	18-11-2010		
		JP 2010535219 A	18-11-2010		
		JP 2013231035 A	14-11-2013		
		PT 2182981 E	18-04-2013		
		US 2009053224 A1	26-02-2009		
		US 2009104201 A1	23-04-2009		
		US 2013095101 A1	18-04-2013		
		US 2013324705 A1	05-12-2013		
		WO 2009017833 A2	05-02-2009		
		WO 2009035791 A1	19-03-2009		
		WO 2012167181 A1	06-12-2012	AU 2012261883 A1	02-05-2013
				TW 201319572 A	16-05-2013
US 2012309020 A1	06-12-2012				
UY 34115 A	03-01-2013				
WO 2012167181 A1	06-12-2012				

フロントページの続き

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
	C 0 7 K 16/18	Z N A

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

- (72) 発明者 ボーンスタイン, ジェフリー ディー.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, レイクサイド ドライ
ブ 3 3 3, ギリアード サイエンスーズ, インコーポレイテッド 気付
- (72) 発明者 アダムケウィックス, ジョアン アイ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, レイクサイド ドライ
ブ 3 3 3, ギリアード サイエンスーズ, インコーポレイテッド 気付
- (72) 発明者 スミス, ビクトリア
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, レイクサイド ドライ
ブ 3 3 3, ギリアード サイエンスーズ, インコーポレイテッド 気付
- (72) 発明者 ライマン, スーザン ケイ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, レイクサイド ドライ
ブ 3 3 3, ギリアード サイエンスーズ, インコーポレイテッド 気付
- (72) 発明者 チエン, ジェイソン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, レイクサイド ドライ
ブ 3 3 3, ギリアード サイエンスーズ, インコーポレイテッド 気付
- (72) 発明者 リ, シャオミン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, レイクサイド ドライ
ブ 3 3 3, ギリアード サイエンスーズ, インコーポレイテッド 気付
- (72) 発明者 シャオ, リーシン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, レイクサイド ドライ
ブ 3 3 3, ギリアード サイエンスーズ, インコーポレイテッド 気付

F ターム(参考) 4C084 AA17 MA16 MA66 NA14 ZA752 ZB332 ZC552
4C085 AA13 AA14 BB31 BB41 BB43 BB44 CC22 CC23 DD62 EE01
GG01 GG02 GG04
4H045 AA11 AA30 BA10 CA40 DA76 EA27

专利名称(译)	赖氨酰氧化酶2的处理和诊断方法 (LOXL 2)		
公开(公告)号	JP2016500700A	公开(公告)日	2016-01-14
申请号	JP2015539951	申请日	2013-10-30
[标]申请(专利权)人(译)	吉利德科学公司		
申请(专利权)人(译)	吉利德科学公司		
[标]发明人	ボーンスタインジェフリーデー アダムケウィックスジョアンアイ スミスビクトリア ライマンズーザンケイ チエンジェイソン リシャオミン シャオリーシン		
发明人	ボーンスタイン, ジェフリー デー, アダムケウィックス, ジョアン アイ, スミス, ビクトリア ライマン, スーザン ケイ, チエン, ジェイソン リ, シャオミン シャオ, リーシン		
IPC分类号	A61K45/00 A61P1/16 A61P31/20 A61P31/14 A61P31/18 A61K39/395 G01N33/53 C07K16/18		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P1/16 C07K16/40 G01N33/573 G01N2333/90638 G01N2800/085 G01N2800/52 G01N2800/7052		
FI分类号	A61K45/00 A61P1/16 A61P31/20 A61P31/14 A61P31/18 A61K39/395.D A61K39/395.N G01N33/53.D C07K16/18.ZNA		
F-TERM分类号	4C084/AA17 4C084/MA16 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA752 4C084/ZB332 4C084/ZC552 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB31 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/BB44 4C085/CC22 4C085 /CC23 4C085/DD62 4C085/EE01 4C085/GG01 4C085/GG02 4C085/GG04 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA27		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	61/720350 2012-10-30 US 61/724858 2012-11-09 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

与纤维化和包括癌症在内的疾病有关的疾病的诊断，诊断和预后使用结合，抑制和/或抑制赖氨酰氧化酶样2 (LOXL2) 方法等等提供了用于该方法的试剂，组合物，试剂盒，分析系统和装置。在一些实施方案中，所述疾病或病症是肝病或病症，例如肝病或与纤维化相关的病症。

(21) 出願番号	特願2015-539951 (P2015-539951)	(71) 出願人	500029420
(86) (22) 出願日	平成25年10月30日 (2013.10.30)		ギリアード サイエンス、 インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成27年6月8日 (2015.6.8)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 94404、フォスター シティ、 レイクサイドドライブ 333
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/067591		
(87) 国際公開番号	W02014/070939		
(87) 国際公開日	平成26年5月8日 (2014.5.8)	(74) 代理人	100078282
(31) 優先権主張番号	61/720,350		弁理士 山本 秀策
(32) 優先日	平成24年10月30日 (2012.10.30)	(74) 代理人	100113413
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 森下 夏樹
(31) 優先権主張番号	61/724,858		
(32) 優先日	平成24年11月9日 (2012.11.9)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く