

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2018-118965

(P2018-118965A)

(43) 公開日 平成30年8月2日(2018.8.2)

| (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 | 2 G 0 4 5 |
| G 0 1 N 33/53 (2006.01) | G 0 1 N 33/53 | Q 4 B 0 6 3 |
| G 0 1 N 33/50 (2006.01) | G 0 1 N 33/50 | Z 4 C 0 8 4 |
| G 0 1 N 33/15 (2006.01) | G 0 1 N 33/15 | Z 4 C 0 8 5 |
| A 6 1 P 43/00 (2006.01) | A 6 1 P 43/00 | 1 1 1 4 H 0 4 5 |

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 45 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-7549 (P2018-7549)
 (22) 出願日 平成30年1月19日 (2018.1.19)
 (31) 優先権主張番号 特願2017-9010 (P2017-9010)
 (32) 優先日 平成29年1月20日 (2017.1.20)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

(出願人による申告) 平成27年度、国立研究開発法人日本医療研究開発機構、創薬基盤推進研究事業「アジュバント安全性評価データベースの構築研究」委託研究開発、産業技術力強化法第19条の適用を受ける特許出願

(71) 出願人 500282368
 中西 憲司
 兵庫県宝塚市中山桜台7丁目7-7
 (74) 代理人 110000338
 特許業務法人HARAKENZO WORLD PATENT & TRADEMARK
 (72) 発明者 中西 憲司
 兵庫県西宮市武庫川町1番1号 兵庫医科大学内
 (72) 発明者 足立 匠
 兵庫県西宮市武庫川町1番1号 兵庫医科大学内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 I L - 3 3 の発現制御剤、アジュバント、アレルギー炎症検出用バイオマーカー、アレルギー炎症を診断するためのデータの取得方法、アレルギー疾患患者の鑑別方法、I L - 3 3 の発現誘導

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 I L - 3 3 の発現を正または負に制御する薬剤の提供。

【解決手段】 Putative hydrolase RBBP9、PGE1、PGE2、EP2、EP4、EP2アゴニスト、EP4アゴニスト、COX-2、COX-2活性化剤、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H等から選択される有効成分を含有する薬剤。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、EP2アゴニスト、EP4アゴニスト、COX-2、COX-2活性化剤、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、Bola-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つ；若しくは、これらの発現ベクター；または、

10

20

抗Putative hydrolase RBBP9抗体、抗PGE₁抗体、抗PGE₂抗体、抗EP2抗体、抗EP4抗体、EP2アンタゴニスト、EP4アンタゴニスト、抗COX-2抗体、COX-2阻害剤、抗Centrosomal protein of 170kDa抗体、抗Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3抗体、抗Tight junction protein ZO-2抗体、抗Guanylate kinase抗体、抗Myotubularin-related protein 10抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4H抗体、抗UMP-CMP kinase抗体、抗Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2抗体、抗Protein S100-A13抗体、抗Rho GDP-dissociation inhibitor 2抗体、抗Selenoprotein M、Protein S100-A11抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4B抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1抗体、抗Transgelin-2抗体、抗THO complex subunit 4抗体、抗Keratin type I cytoskeletal 19抗体、抗Keratin type II cytoskeletal 75抗体、抗Microtubule-associated protein RP/EB family member 3抗体、抗Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2抗体、抗CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1抗体、抗Adenylate kinase isoenzyme 1抗体、抗Ubiquitin-like protein 3抗体、抗Calcium-regulated heat stable protein 1抗体、抗Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1抗体、抗Glia maturation factor beta抗体、抗Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2抗体、抗Phosphatidylethanolamine-binding protein 1抗体、抵抗Annexin A4抗体、抗Afadin抗体、抗Retinol-binding protein 1抗体、抗D-dopachrome decarboxylase抗体、抗Apolipoprotein M抗体、および、抗Bola-like protein 1抗体からなる群より選択される少なくとも1つ、を有効成分として含有していることを特徴とするIL-33の発現制御剤。

30

40

【請求項 2】

Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、EP2アゴニスト、EP4アゴニスト、COX-2、COX-2活性化剤、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、

50

Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、Bola-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つ；若しくは、これらの発現ベクター、を有効成分として含有していることを特徴とするアジュバント。

10

【請求項3】

Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、Bola-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAからなる、アレルギー炎症検出用バイオマーカー。

20

【請求項4】

Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、Bola-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAの発現を検出する工程を有する、アレルギー炎症を診断するためのデータの取得方法。

30

40

【請求項5】

Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of

50

170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAの発現を検出する工程を有する、アレルギー疾患患者の鑑別方法。

10

【請求項6】

採取された細胞に、被検物質を接触させる工程と、

上記細胞における、Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAの発現を検出する工程と、を有する、IL-33の発現誘導因子のスクリーニング方法。

20

30

【請求項7】

採取された細胞に、被検薬剤を接触させる工程と、

上記細胞における、Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear

40

50

lear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAの発現を検出する工程と、を有する、被検薬剤の有効性および副作用の評価方法。

【請求項8】

(A) Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、EP2アゴニスト、EP4アゴニスト、COX-2、COX-2活性化剤、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つ；若しくは、これらの発現ベクター；または、

(B) 抗Putative hydrolase RBBP9抗体、抗PGE₁抗体、抗PGE₂抗体、抗EP2抗体、抗EP4抗体、EP2アンタゴニスト、EP4アンタゴニスト、抗COX-2抗体、COX-2阻害剤、抗Centrosomal protein of 170kDa抗体、抗Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3抗体、抗Tight junction protein ZO-2抗体、抗Guanylate kinase抗体、抗Myotubularin-related protein 10抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4H抗体、抗UMP-CMP kinase抗体、抗Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2抗体、抗Protein S100-A13抗体、抗Rho GDP-dissociation inhibitor 2抗体、抗Selenoprotein M、Protein S100-A11抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4B抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1抗体、抗Transgelin-2抗体、抗THO complex subunit 4抗体、抗Keratin type I cytoskeletal 19抗体、抗Keratin type II cytoskeletal 75抗体、抗Microtubule-associated protein RP/EB family member 3抗体、抗Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2抗体、抗CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1抗体、抗Adenylate kinase isoenzyme 1抗体、抗Ubiquitin-like protein 3抗体、抗Calcium-regulated heat stable protein 1抗体、抗Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1抗体、抗Glia maturation factor beta抗体、抗Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2抗体、抗Phosphatidylethanolamine-binding protein 1抗体、抵抗Annexin A4抗体、抗Afadin抗体、抗Retinol-binding protein 1抗体、抗D-dopachrome decarboxylase抗体、抗Apolipoprotein M抗体、および、抗BoLA-like protein 1抗体からなる群より選択される少なくとも1つ、を有効成分として含有し、

(A)の有効成分を含有している場合には、炎症性腸疾患用、クローン病用、臓器特異

10

20

30

40

50

性自己免疫疾患用、関節リウマチ用、全身性エリテマトーデス用、多発性筋炎用、全身性自己免疫疾患用、または、感染症による組織損傷用として用いられ、

(B)の有効成分を含有している場合には、アトピー性皮膚炎用として用いられる、治療剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、IL-33の発現制御剤、アジュバント、アレルギー炎症検出用バイオマーカー、アレルギー炎症を診断するためのデータの取得方法、アレルギー疾患患者の鑑別方法、IL-33の発現誘導因子のスクリーニング方法、被検薬剤の有効性および副作用の評価方法、並びに、治療剤に関する。

10

【背景技術】

【0002】

IL-33は、上皮細胞などの核内に活性型分子として蓄えられているタンパク質であって、上皮細胞などが傷害を受けると当該上皮細胞の外へ放出されるタンパク質である。

【0003】

上皮細胞の外へ放出されたIL-33は、Th2細胞、ILC2細胞(グループ2自然リンパ球)、肥満細胞、好塩基球および好酸球などを刺激して、これらの細胞におけるIL-4、IL-5およびIL-13などの生産を誘導する。それ故に、IL-33は、アレルギー炎症の誘導因子として機能する(例えば、特許文献1参照)。

20

【0004】

アレルギー炎症は、動物にとって好ましくない影響を及ぼすことがある反面、動物における生体防御機構の1つとしても機能する。例えば、動物が腸管寄生虫に感染すると、好酸球性肺炎を発症する。肺に浸潤した好酸球は肺の寄生虫を排除するので、好酸球性肺炎は、動物における生体防御機構として機能する。

【0005】

それ故に、アレルギー炎症に関わるIL-33の活性を制御する方法の開発に、注目が集まっている(例えば、特許文献2、3、4および5参照)。

【0006】

一方、IL-33は、IL-33受容体を発現する制御性T細胞を活性化できるので、様々な組織の炎症(例えば、炎症性腸疾患)を抑制することができる。さらに、IL-33は、インフルエンザ等の感染が原因で傷害された組織(例えば、肺組織)の修復や再生にも関与する。従って、IL-33は、感染症に伴う組織の修復因子として利用することも可能である。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【特許文献1】特表2013-544075 (2013年12月12日公開)

【特許文献2】特表2016-515130 (2016年5月26日公開)

【特許文献3】特表2007-523089 (2007年8月16日公開)

【特許文献4】US2012/0207752A1 (2012年8月16日公開)

【特許文献5】US2010/0260770A1 (2010年10月14日公開)

40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

生体内におけるIL-33の発現制御機構については、現在、不明な点が多く残されている。当該発現制御機構に関する理解が深まれば、IL-33の活性を制御する方法の開発が飛躍的に進むものと期待される。

【0009】

本発明の一態様は、IL-33の発現を正または負に制御するための技術(新たに見出

50

されたIL-33の発現誘導因子の場合は、例えば、アレルギー炎症検出用バイオマーカーにもなる)、当該発現誘導因子の量的変動を指標とした様々な技術(例えば、アレルギー炎症を診断するためのデータの取得方法、IL-33の発現誘導因子のスクリーニング方法、アレルギー疾患患者の鑑別方法、並びに、被検薬剤の有効性および副作用の評価方法などを含む)、および、様々な疾患用の治療剤、特に組織の炎症抑制と組織の修復を可能とする治療剤を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0010】

上記の課題を解決するために、本発明の一態様に係るIL-33の発現制御剤は、Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、EP2アゴニスト、EP4アゴニスト、COX-2、COX-2活性化剤、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つ；若しくは、これらの発現ベクター；または、抗Putative hydrolase RBBP9抗体、抗PGE₁抗体、抗PGE₂抗体、抗EP2抗体、抗EP4抗体、EP2アンタゴニスト、EP4アンタゴニスト、抗COX-2抗体、COX-2阻害剤、抗Centrosomal protein of 170kDa抗体、抗Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3抗体、抗Tight junction protein ZO-2抗体、抗Guanylate kinase抗体、抗Myotubularin-related protein 10抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4H抗体、抗UMP-CMP kinase抗体、抗Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2抗体、抗Protein S100-A13抗体、抗Rho GDP-dissociation inhibitor 2抗体、抗Selenoprotein M、Protein S100-A11抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4B抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1抗体、抗Transgelin-2抗体、抗THO complex subunit 4抗体、抗Keratin type I cytoskeletal 19抗体、抗Keratin type II cytoskeletal 75抗体、抗Microtubule-associated protein RP/EB family member 3抗体、抗Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2抗体、抗CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1抗体、抗Adenylate kinase isoenzyme 1抗体、抗Ubiquitin-like protein 3抗体、抗Calcium-regulated heat stable protein 1抗体、抗Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1抗体、抗Glia maturation factor beta抗体、抗Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2抗体、抗Phosphatidylethanolamine-binding protein 1抗体、抵抗Annexin A4抗体、抗Afadin抗体、抗Retinol-binding protein 1抗体、抗D-dopachrome decarboxylase抗体、抗Apolipoprotein M抗体、および、抗BoLA-like protein 1抗体からなる群より選択される少なくとも1つ、を有効成分として含有していることを特徴としている。

【0011】

上記の課題を解決するために、本発明の一態様に係るアジュバントは、Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、EP2アゴニスト、EP4アゴニスト、COX-2、COX-2活性

10

20

30

40

50

化剤、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つ；若しくは、これらの発現ベクター、を有効成分として含有していることを特徴としている。

10

【0012】

上記の課題を解決するために、本発明の一態様に係るアレルギー炎症検出用バイオマーカーは、Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAからなる、ことを特徴としている。

20

30

【0013】

上記の課題を解決するために、本発明の一態様に係るアレルギー炎症を診断するためのデータの取得方法は、Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like prot

40

50

ein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAの発現を検出する工程を有する、ことを特徴としている。

【0014】

上記の課題を解決するために、本発明の一態様に係るアレルギー疾患患者の鑑別方法は、Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAの発現を検出する工程を有する、ことを特徴としている。

【0015】

上記の課題を解決するために、本発明の一態様に係るIL-33の発現誘導因子のスクリーニング方法は、採取された細胞に、被検物質を接触させる工程と、上記細胞における、Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAの発現を検出する工程と、を有する、ことを特徴としている。

【0016】

上記の課題を解決するために、本発明の一態様に係る被検薬剤の有効性および副作用の

10

20

30

40

50

評価方法は、採取された細胞に、被検薬剤を接触させる工程と、上記細胞における、Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoIA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAの発現を検出する工程と、を有する、ことを特徴としている。

10

【0017】

20

上記の課題を解決するために、本発明の一態様に係る治療剤は、(A) Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、EP2アゴニスト、EP4アゴニスト、COX-2、COX-2活性化剤、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoIA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つ；若しくは、これらの発現ベクター；または、

30

(B) 抗Putative hydrolase RBBP9抗体、抗PGE₁抗体、抗PGE₂抗体、抗EP2抗体、抗EP4抗体、EP2アンタゴニスト、EP4アンタゴニスト、抗COX-2抗体、COX-2阻害剤、抗Centrosomal protein of 170kDa抗体、抗Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3抗体、抗Tight junction protein ZO-2抗体、抗Guanylate kinase抗体、抗Myotubularin-related protein 10抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4H抗体、抗UMP-CMP kinase抗体、抗Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2抗体、抗Protein S100-A13抗体、抗Rho GDP-dissociation inhibitor 2抗体、抗Selenoprotein M、Protein S100-A11抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4B抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1抗体、抗Transgelin-2抗体、抗THO complex subunit 4抗体、抗Keratin type I cytoskeletal 19抗体、抗Keratin type II cytoskeletal 75抗体、抗Microtubule-associated protein RP/EB family member 3抗体、抗Epidermal growth factor rec

40

50

eptor kinase substrate 8-like protein 2抗体、抗CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1抗体、抗Adenylate kinase isoenzyme 1抗体、抗Ubiquitin-like protein 3抗体、抗Calcium-regulated heat stable protein 1抗体、抗Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1抗体、抗Glia maturation factor beta抗体、抗Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2抗体、抗Phosphatidylethanolamine-binding protein 1抗体、抵抗Annexin A4抗体、抗Afadin抗体、抗Retinol-binding protein 1抗体、抗D-dopachrome decarboxylase抗体、抗Apolipoprotein M抗体、および、抗Bola-like protein 1抗体からなる群より選択される少なくとも1つ、を有効成分として含有し、(A)の有効成分を含有している場合には、炎症性腸疾患用、クローン病用、臓器特異性自己免疫疾患用、関節リウマチ用、全身性エリテマトーデス用、多発性筋炎用、全身性自己免疫疾患用、または、感染症による組織損傷用として用いられ、(B)の有効成分を含有している場合には、アトピー性皮膚炎用として用いられる、ことを特徴としている。

10

【発明の効果】

【0018】

本発明の一態様によれば、IL-33の発現を制御することができる。

【0019】

本発明に一態様によれば、IL-33の発現を制御することによって、生体防御機構を制御することができる。

20

【0020】

本発明に一態様によれば、IL-33の発現を制御することによって、アレルギー炎症の症状を制御することができる。

【0021】

本発明の一態様によれば、(i)新たに見出されたIL-33の発現誘導因子に基づくアレルギー炎症検出用バイオマーカー、および、(ii)当該発現誘導因子の量的変動を指標とした様々な技術(例えば、アレルギー炎症を診断するためのデータの取得方法、IL-33の発現誘導因子のスクリーニング方法、アレルギー疾患患者の鑑別方法、並びに、被検薬剤の有効性および副作用の評価方法などを含む)を提供することができる。

30

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】(A)は、実施例において、免疫染色法にて染色されたIL-33の像であり、(B)は、実施例において、定量的PCR法にて定量されたIL-33のグラフである。

【図2】(A)は、実施例において、肺組織抽出液を用いた刺激によって、核内にIL-33を発現する肺線維芽細胞の数が增加することを示す像であり、(B)は、肺組織抽出液を用いた刺激によって、肺線維芽細胞におけるIL-33の産生量が増加することを示すグラフである。

【図3】(A)および(B)は、実施例において、様々な処理を施した肺組織抽出液に残存するIL-33の発現誘導活性を示すグラフである。

【図4】実施例における、IL-33の発現誘導因子の精製方法の概略を示すフローチャートである。

40

【図5】実施例における、ゲル濾過によって得られた各画分に存在するIL-33の発現誘導活性を示す図である。

【図6】(A)および(B)は、実施例における、疎水性相互作用クロマトグラフィーによって得られた各画分に存在する、タンパク質およびIL-33の発現誘導活性を示す図である。

【図7】(A)および(B)は、実施例における、陰イオン交換クロマトグラフィーによって得られた各画分に存在する、タンパク質およびIL-33の発現誘導活性を示す図である。

【図8】実施例において、iTRAQ法によるプロテオミクス解析によって見出されたタ

50

ンパク質を示す図である。

【図 9】実施例において、iTRAQ 法によるプロテオミクス解析によって見出されたタンパク質を示す図である。

【図 10】(A) は、実施例において、融合タンパク質が有する IL-33 の発現誘導活性を示す図であり、(B) は、実施例において、融合タンパク質の発現を確認した図である。

【図 11】(A) および (B) は、実施例において、リコンビナントタンパク質が有する IL-33 の発現誘導活性を示す図である。

【図 12】実施例において、抗体が有する IL-33 の発現抑制活性を示す図である。

【図 13】実施例において、肺組織で発現されている RBBP9 を示す像である。

【図 14】(A) は、実施例において、肺組織抽出液および腎組織抽出液のゲル濾過分画 (71-80) で発現されている RBBP9 を示す像であり、(B) は、実施例において、肺組織抽出液および腎組織抽出液のゲル濾過分画 (71-80) に存在する IL-33 の誘導活性を示す図であり、(C) は、実施例において、様々な組織にて発現している RBBP9 を示す図である。

【図 15】(A) および (B) は、実施例において、アジュバント効果を示すグラフである。

【図 16】(A) および (B) は、実施例において、アジュバント効果を示すグラフである。

【図 17】(a) ~ (h) は、IL-33 の発現制御機構の解析結果を示す図である。

【図 18】(a) ~ (d) は、IL-33 の発現制御機構の解析結果を示す図である。

【図 19】(a) ~ (f) は、IL-33 の発現制御機構の解析結果を示す図であり、より具体的に、(d) ~ (f) は、RBBP9 のアジュバント効果を示す図である。

【図 20】(a) ~ (e) は、IL-33 の発現制御機構の解析結果を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0023】

本発明の一実施形態について以下に説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。本発明は、以下に説明する各構成に限定されるものではなく、特許請求の範囲に示した範囲で種々の変更が可能であり、異なる実施形態や実施例にそれぞれ開示された技術的手段を適宜組み合わせ得られる実施形態や実施例についても本発明の技術的範囲に含まれる。また、本明細書中に記載された学術文献および特許文献の全てが、本明細書中において参考文献として援用される。また、本明細書中に数値 A および B に関して「A ~ B」と記載した場合には、「A 以上 B 以下」を意図する。

【0024】

〔1. アレルギー炎症検出用バイオマーカー〕

本実施の形態のバイオマーカーは、IL-33 の発現を誘導するものであり、IL-33 の発現が誘導されると、アレルギー炎症（例えば、自然型アレルギーによる炎症）が誘導される。それ故に、本実施の形態のバイオマーカーは、アレルギー炎症検出用バイオマーカーであるが、IL-33 検出用バイオマーカーでもあり得る。

【0025】

本実施形態のバイオマーカーの発現を検出することによって、アレルギー炎症の発生の有無を知ることができる。例えば、アレルギー炎症が発生していないヒトに由来するサンプル A 中に存在するバイオマーカーの量と、被験者に由来するサンプル B 中に存在するバイオマーカーの量とが略同じであれば、当該被験者ではアレルギー炎症が発生していないことが判る。一方、アレルギー炎症が発生していないヒトに由来するサンプル A 中に存在するバイオマーカーの量に比べて、被験者に由来するサンプル B 中に存在するバイオマーカーの量が多ければ、当該被験者ではアレルギー炎症が発生していることが判る。

【0026】

アレルギー炎症を引き起こすアレルゲンとしては、寄生虫、微生物、ウイルス、花粉、キチン、水酸化アルミニウム、PM_{2.5} および大気中に含まれる汚染物質（例えば、微

10

20

30

40

50

粒子状物質)などを挙げることができるが、これらのアレルゲンに限定されない。

【0027】

より具体的に、本実施の形態のバイオマーカーは、(i) Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、T HO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、A fadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、Bola-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質、若しくは、(ii)当該タンパク質をコードしているmRNAからなるものである。

10

20

【0028】

本実施の形態のバイオマーカーは、(i)に記載のタンパク質の全長であってもよく、(i)に記載のタンパク質の部分長であってもよく、(ii)に記載のmRNAの全長であってもよく、(ii)に記載のmRNAの部分長であってもよい。

【0029】

上記(i)に記載のタンパク質、および、上記(ii)に記載のmRNAの具体例としては、例えば、公知のデータベースなどに記載のものを挙げることができる。また、上記(i)に記載のタンパク質、および、上記(ii)に記載のmRNAが由来する生物種は、特に限定されない。

30

【0030】

以下に、ヒトタンパク質に関して、データベースに登録された番号を列挙する。

【0031】

【表 1】

| ヒトタンパク質 | Accession Number |
|---|------------------|
| Putative hydrolase RBBP9 (retinoblastoma-binding protein 9) | NP_006597.2 |
| Centrosomal protein of 170kDa | NP_001035863.1 |
| Cathepsin S | NP_001186668.1 |
| NADH-cytochrome b5 reductase 3 | NP_000389.1 |
| Tight junction protein ZO-2 | NP_004808.2 |
| Guanylate kinase | NP_000849.1 |
| Myotubularin-related protein 10 | NP_060232.2 |
| Eukaryotic translation initiation factor 4H | NP_071496.1 |
| UMP-CMP kinase | NP_057392.1 |
| Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2 | NP_003341.1 |
| Protein S100-A13 | NP_001019381.1 |
| Rho GDP-dissociation inhibitor 2 | NP_001166.3 |
| Selenoprotein M | NP_536355.1 |
| Protein S100-A11 | NP_005611.1 |
| Eukaryotic translation initiation factor 4B | NP_001317583.1 |
| Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 | NP_002127.1 |
| Transgelin-2 | NP_001264152.1 |
| THO complex subunit 4 | NP_005773.3 |
| Keratin type I cytoskeletal 19 | NP_002267.2 |
| Keratin type II cytoskeletal 75 | NP_004684.2 |
| Microtubule-associated protein RP/EB family member 3 | NP_001289979.1 |
| Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2 | NP_073609.2 |
| CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1 | NP_001104571.1 |
| Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1 | NP_002128.1 |
| Adenylate kinase isoenzyme 1 | NP_000467.1 |
| Ubiquitin-like protein 3 | NP_009037.1 |
| Calcium-regulated heat stable protein 1 | NP_001035941.1 |
| Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1 | NP_057490.2 |
| Glia maturation factor beta | NP_004115.1 |

10

20

30

40

【 0 0 3 2 】

【表 2】

| ヒトタンパク質 | Accession Number |
|--|------------------|
| Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase | NP_004291.1 |
| Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2 | NP_001070910.1 |
| Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 | NP_002558.1 |
| Annexin A4、Afadin | NP_001144.1 |
| Retinol-binding protein 1 | NP_001124464.1 |
| D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M | NP_001243098.1 |
| Bola-like protein 1 | NP_001307954.1 |
| PGE ₁ (prostaglandin E ₁) | NP_004869.1 |
| PGE ₂ (prostaglandin E ₂) | NP_004869.1 |
| EP2 (E-prostanoid 2) | NP_000947.2 |
| EP4 (E-prostanoid 4) | NP_000949.1 |
| COX-2 (cyclooxygenase-2) | NP_000954.1 |

10

【 0 0 3 3 】

以下に、ヒト mRNA に関して、データベースに登録された番号を列挙する。

20

【 0 0 3 4 】

【表 3】

| ヒト mRNA | Accession Number | |
|---|------------------|----|
| Putative hydrolase RBBP9 (retinoblastoma-binding protein 9) | NM_006606.2 | |
| Centrosomal protein of 170kDa | NM_001042404.1 | |
| Cathepsin S | NM_001199739.1 | |
| NADH-cytochrome b5 reductase 3 | NM_000398.6 | |
| Tight junction protein ZO-2 | NM_004817.3 | 10 |
| Guanylate kinase | NM_000858.5 | |
| Myotubularin-related protein 10 | NM_017762.2 | |
| Eukaryotic translation initiation factor 4H | NM_022170.1 | |
| UMP-CMP kinase | NM_016308.2 | |
| Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2 | NM_003350.2 | |
| Protein S100-A13 | NM_001024210.1 | |
| Rho GDP-dissociation inhibitor 2 | NM_001175.6 | |
| Selenoprotein M | NM_080430.2 | 20 |
| Protein S100-A11 | NM_005620.1 | |
| Eukaryotic translation initiation factor 4B | NM_001330654.1 | |
| Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 | NM_002136.3 | |
| Transgelin-2 | NM_001277223.1 | |
| THO complex subunit 4 | NM_005782.3 | |
| Keratin type I cytoskeletal 19 | NM_002276.4 | |
| Keratin type II cytoskeletal 75 | NM_004693.2 | |
| Microtubule-associated protein RP/EB family member 3 | NM_001303050.1 | |
| Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2 | NM_022772.3 | 30 |
| CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1 | NM_001111101.1 | |
| Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1 | NM_002137.3 | |
| Adenylate kinase isoenzyme 1 | NM_000476.2 | |
| Ubiquitin-like protein 3 | NM_007106.3 | |
| Calcium-regulated heat stable protein 1 | NM_001042476.2 | |
| Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1 | NM_016406.3 | |
| Glia maturation factor beta | NM_004124.2 | 40 |

【 0 0 3 5 】

【表 4】

| ヒト mRNA | Accession Number |
|--|------------------|
| Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase | NM_004300.3 |
| Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2 | NM_001077442.1 |
| Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 | NM_002567.3 |
| Annexin A4、Afadin | NM_001153.4 |
| Retinol-binding protein 1 | NM_001130992.1 |
| D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M | NM_001256169.1 |
| BOLA-like protein 1 | NM_001321025.1 |
| PGE ₁ (prostaglandin E1) | NM_004878.4 |
| PGE ₂ (prostaglandin E2) | NM_004878.4 |
| EP2 (E-prostanoid 2) | NM_000956.3 |
| EP4 (E-prostanoid 4) | NM_000958.2 |
| COX-2 (cyclooxygenase-2) | NM_000963.3 |

10

【0036】

20

上記 (i) に記載の各タンパク質は、例えば、以下の (a) ~ (c) の何れかのポリペプチドであり得る：

(a) ヒトタンパク質に対応するアミノ酸配列からなるポリペプチド；

(b) ヒトタンパク質に対応するアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、IL - 33 の発現誘導活性を有するポリペプチド；

(c) ヒトタンパク質に対応するアミノ酸配列と 90 % 以上、好ましくは 91 % 以上、より好ましくは 92 % 以上、より好ましくは 93 % 以上、より好ましくは 94 % 以上、より好ましくは 95 % 以上、より好ましくは 96 % 以上、より好ましくは 97 % 以上、より好ましくは 98 % 以上、最も好ましくは 98 % 以上の同一性を有するポリペプチドからなり、かつ、IL - 33 の発現誘導活性を有するポリペプチド。

30

【0037】

上記 (ii) に記載の各 mRNA は、例えば、以下の (d) ~ (g) の何れかのポリヌクレオチドであり得る：

(d) ヒト mRNA に対応する塩基配列からなるポリヌクレオチド；

(e) ヒト mRNA に対応する塩基配列において、1 若しくは数個の塩基が欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなり、かつ、IL - 33 の発現誘導活性を有するポリヌクレオチド；

(f) ヒト mRNA に対応する塩基配列と 90 % 以上、好ましくは 91 % 以上、より好ましくは 92 % 以上、より好ましくは 93 % 以上、より好ましくは 94 % 以上、より好ましくは 95 % 以上、より好ましくは 96 % 以上、より好ましくは 97 % 以上、より好ましくは 98 % 以上、最も好ましくは 98 % 以上の同一性を有するポリヌクレオチドからなり、かつ、IL - 33 の発現誘導活性を有するポリヌクレオチド。

40

(g) ヒト mRNA に対応する塩基配列からなるポリヌクレオチドと相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジентな条件でハイブリダイズし、かつ、IL - 33 の発現誘導活性を有するポリヌクレオチド；

本明細書における「1 若しくは数個のアミノ酸 (または、塩基) が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸 (または塩基) 」では、欠失、置換若しくは付加が生じる位置は特に限定されない。

【0038】

50

また、「1若しくは数個のアミノ酸（または塩基）」が意図するアミノ酸（または塩基）の数は特に限定されないが、20個以内、19個以内、18個以内、17個以内、16個以内、15個以内、14個以内、13個以内、12個以内、11個以内、10個以内、9個以内、8個以内、7個以内、6個以内、5個以内、4個以内、3個以内、2個以内、または、1個のアミノ酸（または塩基）であり得る。

【0039】

アミノ酸配列および塩基配列の相同性および同一性は、BLASTN（核酸レベル）やBLASTX（アミノ酸レベル）のプログラム(Altschul et al. J. Mol. Biol., 215: 403-410, 1990)を利用して決定することができる。該プログラムは、KarlinおよびAltschulによるアルゴリズムBLAST (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:2264-2268, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 5873-5877, 1993)に基づいている。BLASTNによって塩基配列を解析する場合には、パラメーターは例えばscore = 100、wordlength = 12とする。また、BLASTXによってアミノ酸配列を解析する場合には、パラメーターは例えばscore = 50、wordlength = 3とする。また、Gapped BLASTプログラムを用いて、アミノ酸配列を解析する場合は、Altschulら (Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402, 1997)に記載されているように行うことができる。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合には、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。これらの解析方法の具体的な手法は公知である。比較対象の塩基配列またはアミノ酸配列を最適な状態にアラインメントするために、付加または欠失（例えば、ギャップ等）を許容してもよい。

10

【0040】

本明細書中で使用される場合、用語「ストリンジェントな条件」は、いわゆる塩基配列に特異的な2本鎖のポリヌクレオチドが形成され、非特異的な2本鎖のポリヌクレオチドが形成されない条件をいう。換言すれば、相同性が高い核酸同士、例えば完全にマッチしたハイブリッドの融解温度（ T_m 値）から15℃、好ましくは10℃、更に好ましくは5℃低い温度までの範囲の温度でハイブリダイズする条件ともいえる。

20

【0041】

例えば、一例を示すと、0.25M Na_2HPO_4 、pH7.2、7% SDS、1mM EDTA、1×デンハルト溶液からなる緩衝液中で温度が60～68℃、好ましくは65℃、さらに好ましくは68℃の条件下で16～24時間ハイブリダイズさせ、さらに20mM Na_2HPO_4 、pH7.2、1% SDS、1mM EDTAからなる緩衝液中で温度が60～68℃、好ましくは65℃、さらに好ましくは68℃の条件下で15分間の洗浄を2回行う条件を挙げることができる。

30

【0042】

他の例としては、25%ホルムアミド、より厳しい条件では50%ホルムアミド、4×SSC（塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム）、50mM Hepes pH7.0、10×デンハルト溶液、20μg/mL変性サケ精子DNAを含むハイブリダイゼーション溶液中、42℃で一晩プレハイブリダイゼーションを行った後、標識したプローブを添加し、42℃で一晩保温することによりハイブリダイゼーションを行う。その後の洗浄における洗浄液および温度条件は、「1×SSC、0.1% SDS、37℃」程度で、より厳しい条件としては「0.5×SSC、0.1% SDS、42℃」程度で、さらに厳しい条件としては「0.2×SSC、0.1% SDS、65℃」程度で実施することができる。このようにハイブリダイゼーションの洗浄の条件が厳しくなるほど、特異性の高いハイブリダイズとなる。ただし、上記SSC、SDSおよび温度の条件の組み合わせは例示であり、当業者であれば、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーを決定する上記若しくは他の要素（例えば、プローブ濃度、プローブの長さ、ハイブリダイゼーション反応時間等）を適宜組み合わせることにより、上記と同様のストリンジェンシーを実現することが可能である。このことは、例えば、Sambrookら、Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 3rd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory (2001)等に記載されている。

40

【0043】

「IL-33の発現誘導活性を有するポリペプチド」であるか否かは、例えば、マウス

50

初代培養肺線維芽細胞に所望のポリペプチドを作用させて、当該マウス初代培養肺線維芽細胞が I L - 3 3 の発現を誘導するか否かを、ウェスタンブロット法または R T - P C R 法にて確認することによって判定することができる。マウス初代培養肺線維芽細胞が I L - 3 3 の発現を誘導すれば、当該ポリペプチドは「I L - 3 3 の発現誘導活性を有するポリペプチド」である、と判定することができる。

【 0 0 4 4 】

一方、「I L - 3 3 の発現誘導活性を有するポリヌクレオチド」であるか否かは、例えば、マウス初代培養肺線維芽細胞に所望のポリヌクレオチドの翻訳産物を作用させて、当該マウス初代培養肺線維芽細胞が I L - 3 3 の発現を誘導するか否かを、ウェスタンブロット法または R T - P C R 法にて確認することによって判定することができる。マウス初代培養肺線維芽細胞が I L - 3 3 の発現を誘導すれば、当該ポリヌクレオチドは「I L - 3 3 の発現誘導活性を有するポリヌクレオチド」である、と判定することができる。

10

【 0 0 4 5 】

アレルギー炎症検出用バイオマーカーの発現を検出する具体的な方法は、特に限定されず、周知のタンパク質検出方法（例えば、ウェスタンブロット法、免疫染色法、アレイ法、ショットガン法、および、i T R A Q 法など）、および、周知の m R N A 検出方法（例えば、R T - P C R 法、アレイ法、i n s i t u ハイブリダイゼーション法、および、ノザンブロット法など）を用いることができる。

【 0 0 4 6 】

例えば、本実施の形態のアレルギー炎症検出用バイオマーカーが、タンパク質である場合には、当該タンパク質に対する抗体が固定化されたアレイを用いて、アレルギー炎症検出用バイオマーカーの発現を検出すればよい。当該アレイ上に固定化されている抗体の種類は、限定されないが、別々の抗原を認識する抗体が、1種類以上、好ましくは3種類以上、より好ましくは5種類以上、最も好ましくは10種類以上であることが好ましい。当該抗体の具体的な構成は、特に限定されず、例えば、後述する〔3〕の欄で説明する抗体を用いることができる。

20

【 0 0 4 7 】

例えば、本実施の形態のアレルギー炎症検出用バイオマーカーが、m R N A である場合には、当該 m R N A に相補的なプライマーが固定化されたアレイを用いて、アレルギー炎症検出用バイオマーカーの発現を検出すればよい。当該アレイ上に固定化されているプライマーの種類は、限定されないが、別々の c D N A を増幅するプライマーが、1種類以上、好ましくは3種類以上、より好ましくは5種類以上、最も好ましくは10種類以上であることが好ましい。当該プライマーの具体的な構成は、特に限定されず、公知の方法にしたがって適宜設計すればよい。

30

【 0 0 4 8 】

なお、上述したアレイ（アレルギー炎症検出用アレイ）も発明の一態様として包含される。

【 0 0 4 9 】

〔 2 . アレルギー炎症を診断するためのデータの取得方法 〕

本実施の形態のアレルギー炎症を診断するためのデータの取得方法は、Putative hydro lase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type I I cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Ade

40

50

nylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BclA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAの発現を検出する工程を有している。

【0050】

つまり、本実施の形態のアレルギー炎症を診断するためのデータの取得方法は、上述したアレルギー炎症検出用バイオマーカの発現を検出する工程を有している。

10

【0051】

アレルギー炎症検出用バイオマーカの具体的な構成については既に説明したので、ここでは、その説明を省略する。

【0052】

本実施形態のバイオマーカの発現を検出することによって、アレルギー炎症の発生の有無を知ることができる。例えば、アレルギー炎症が発生していないヒトに由来するサンプルA中に存在するバイオマーカの量と、被験者に由来するサンプルB中に存在するバイオマーカの量とが略同じであれば、当該被験者ではアレルギー炎症が発生していないことが判る。一方、アレルギー炎症が発生していないヒトに由来するサンプルA中に存在するバイオマーカの量に比べて、被験者に由来するサンプルB中に存在するバイオマーカの量が多ければ、当該被験者ではアレルギー炎症が発生していることが判る。

20

【0053】

アレルギー炎症検出用バイオマーカの発現を検出する対象としては、採取された細胞、非ヒト動物（例えば、イヌ、ネコ、ヒツジ、ヤギ、マウス、ラット、ウサギ、ウシ、ウマ、ブタなどの哺乳動物）、および、ヒトなどを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0054】

アレルギー炎症検出用バイオマーカの発現を検出する具体的な方法は、特に限定されず、周知のタンパク質検出方法（例えば、ウェスタンブロット法、免疫染色法、ショットガン法、および、iTRAQ法など）、および、周知のmRNA検出方法（例えば、RT-PCR法、in situハイブリダイゼーション法、および、ノザンブロット法など）を用いることができる。

30

【0055】

例えば、本実施の形態のアレルギー炎症検出用バイオマーカが、タンパク質である場合には、当該タンパク質に対する抗体が固定化されたアレイを用いて、アレルギー炎症検出用バイオマーカの発現を検出すればよい。当該アレイ上に固定化されている抗体の種類は、限定されないが、別々の抗原を認識する抗体が、1種類以上、好ましくは3種類以上、より好ましくは5種類以上、最も好ましくは10種類以上であることが好ましい。当該抗体の具体的な構成は、特に限定されず、例えば、後述する〔3〕の欄で説明する抗体を用いることができる。

40

【0056】

例えば、本実施の形態のアレルギー炎症検出用バイオマーカが、mRNAである場合には、当該mRNAに相補的なプライマーが固定化されたアレイを用いて、アレルギー炎症検出用バイオマーカの発現を検出すればよい。当該アレイ上に固定化されているプライマーの種類は、限定されないが、別々のcDNAを増幅するプライマーが、1種類以上、好ましくは3種類以上、より好ましくは5種類以上、最も好ましくは10種類以上であることが好ましい。当該プライマーの具体的な構成は、特に限定されず、公知の方法にしたがって適宜設計すればよい。

【0057】

50

なお、上述したアレイ（アレルギー炎症検出用アレイ）も発明の一態様として包含される。

【 0 0 5 8 】

〔 3 . アレルギー疾患患者の鑑別方法 〕

本実施の形態のアレルギー疾患患者の鑑別方法は、Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、Bola-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAの発現を検出する工程を有している。

10

20

【 0 0 5 9 】

つまり、本実施の形態のアレルギー疾患患者の鑑別方法は、上述したアレルギー炎症検出用バイオマーカーの発現を検出する工程を有している。

【 0 0 6 0 】

アレルギー炎症検出用バイオマーカーの具体的な構成については既に説明したので、ここでは、その説明を省略する。

【 0 0 6 1 】

バイオマーカーの発現を検出することによって、アレルギー疾患を患っているか否かを鑑別することができる。例えば、アレルギー疾患を患っていないヒトに由来するサンプルA中に存在するバイオマーカーの量と、被験者に由来するサンプルB中に存在するバイオマーカーの量とが略同じであれば、当該被験者はアレルギー疾患を患っていないことが判る。一方、アレルギー炎症を患っていないヒトに由来するサンプルA中に存在するバイオマーカーの量に比べて、被験者に由来するサンプルB中に存在するバイオマーカーの量が多ければ、当該被験者はアレルギー疾患を患っていることが判る。

30

【 0 0 6 2 】

アレルギー炎症検出用バイオマーカーの発現を検出する対象としては、採取された細胞、非ヒト動物（例えば、イヌ、ネコ、ヒツジ、ヤギ、マウス、ラット、ウサギ、ウシ、ウマ、ブタなどの哺乳動物）、および、ヒトなどを挙げることができるが、これらに限定されない。

40

【 0 0 6 3 】

アレルギー炎症検出用バイオマーカーの発現を検出する具体的な方法は、特に限定されず、周知のタンパク質検出方法（例えば、ウェスタンブロット法、免疫染色法、ショットガン法、および、iTRAQ法など）、および、周知のmRNA検出方法（例えば、RT-PCR法、in situハイブリダイゼーション法、および、ノザンブロット法など）を用いることができる。

【 0 0 6 4 】

〔 4 . IL - 33 の発現誘導因子のスクリーニング方法 〕

本実施の形態のIL - 33 の発現誘導因子のスクリーニング方法は、

50

採取された細胞（例えば、採取された、肺細胞（例えば、肺線維芽細胞）または腎細胞など）に、被検物質を接触させる工程と、

上記細胞における、Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoIA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAの発現を検出する工程と、を有している。

10

20

【0065】

つまり、本実施の形態のIL-33の発現誘導因子のスクリーニング方法は、採取された細胞（例えば、採取された、肺細胞（例えば、肺線維芽細胞）または腎細胞など）に、被検物質を接触させる工程と、当該細胞におけるアレルギー炎症検出用バイオマーカの発現を検出する工程を有している。

【0066】

バイオマーカの発現を検出することによって、被検物質がIL-33の発現誘導因子であるか否かを知ることができる。例えば、被検物質を接触させない細胞におけるバイオマーカの発現量に比べて、被検物質を接触させた細胞におけるバイオマーカの発現量が多ければ、当該被検物質がIL-33の発現誘導因子であることが判る。

30

【0067】

採取された細胞に被検物質を接触させる具体的な方法は、特に限定されない。例えば、細胞に、被検物質を1ng/mL～100mg/mL、好ましくは1ng/mL～10mg/mL、より好ましくは1ng/mL～1mg/mLの濃度にて含む培地を接触させればよい。

【0068】

アレルギー炎症検出用バイオマーカの発現を検出する具体的な方法は、特に限定されず、周知のタンパク質検出方法（例えば、ウェスタンブロット法、免疫染色法、ショットガン法、および、iTRAQ法など）、および、周知のmRNA検出方法（例えば、RT-PCR法、in situハイブリダイゼーション法、および、ノザンブロット法など）を用いることができる。

40

【0069】

〔5. 被検薬剤の有効性および副作用の評価方法〕

本実施の形態の被検薬剤の有効性および副作用の評価方法は、

採取された細胞（例えば、被検薬剤の投与対象に由来する細胞（例えば、被検薬剤の投与対象に由来する、肺細胞（例えば、肺線維芽細胞）または腎細胞など））に、被検薬剤を接触させる工程と、

上記細胞における、Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、COX-2、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryoti

50

c translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つのタンパク質；若しくは当該タンパク質をコードしているmRNAの発現を検出する工程と、を有している。

10

【0070】

つまり、本実施の形態の被検薬剤の有効性および副作用の評価方法は、採取された細胞（例えば、被検薬剤の投与対象に由来する細胞（例えば、被検薬剤の投与対象に由来する、肺細胞（例えば、肺線維芽細胞）または腎細胞など））に、被検薬剤を接触させる工程と、当該細胞におけるアレルギー炎症検出用バイオマーカーの発現を検出する工程を有している。

20

【0071】

バイオマーカーの発現を検出することによって、被検薬剤の有効性、および、被検薬剤がアレルギー炎症を引き起こす副作用を有しているか否かを知ることができる。例えば、被検薬剤を接触させない細胞におけるバイオマーカーの発現量に比べて、被検薬剤を接触させた細胞におけるバイオマーカーの発現量が多ければ、当該被検薬剤がアレルギー炎症を引き起こす副作用を有していることが判る。一方、被検薬剤を接触させない細胞におけるバイオマーカーの発現量に比べて、被検薬剤を接触させた細胞におけるバイオマーカーの発現量が少なければ、当該被検薬剤がアレルギー炎症を鎮静化させる作用を有していることが判る。

30

【0072】

採取された細胞に被検薬剤を接触させる具体的な方法は、特に限定されない。例えば、細胞に、被検薬剤を1ng/mL～100mg/mL、好ましくは1ng/mL～10mg/mL、より好ましくは1ng/mL～1mg/mLの濃度にて含む培地を接触させればよい。

【0073】

アレルギー炎症検出用バイオマーカーの発現を検出する具体的な方法は、特に限定されず、周知のタンパク質検出方法（例えば、ウェスタンブロット法、免疫染色法、ショットガン法、および、iTRAQ法など）、および、周知のmRNA検出方法（例えば、RT-PCR法、in situハイブリダイゼーション法、および、ノザンブロット法など）を用いることができる。

40

【0074】

〔6.IL-33の発現制御剤、および、治療剤〕

本実施の形態のIL-33の発現制御剤は、

(A) Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、EP2アゴニスト（例えば、t prostinil、misoprostol、butaprost、および、carbacyclin）、EP4アゴニスト（例えば、L902688、misoprostol、cicaprost、および、enprostil）、COX-2活性化剤（例えば、LPS、IL-1）、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquiti

50

n-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つ；若しくは、これらの発現ベクター；または、

(B) 抗Putative hydrolase RBBP9抗体、抗PGE₁抗体、抗PGE₂抗体、抗EP2抗体、抗EP4抗体、EP2アンタゴニスト（例えば、PF04418948、TG4-155、TG7-171、TG6-129、および、AH6809）、EP4アンタゴニスト（例えば、ONO-AE3-208、MF 498、MK-2894、ER819762、および、grapiprant）、抗COX-2抗体、COX-2阻害剤（例えば、インドメタシン、benzquinamide、diclofenac、celecoxib、および、resveratrol）、抗Centrosomal protein of 170kDa抗体、抗Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3抗体、抗Tight junction protein ZO-2抗体、抗Guanylate kinase抗体、抗Myotubularin-related protein 10抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4H抗体、抗UMP-CMP kinase抗体、抗Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2抗体、抗Protein S100-A13抗体、抗Rho GDP-dissociation inhibitor 2抗体、抗Selenoprotein M、Protein S100-A11抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4B抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1抗体、抗Transgelin-2抗体、抗THO complex subunit 4抗体、抗Keratin type I cytoskeletal 19抗体、抗Keratin type II cytoskeletal 75抗体、抗Microtubule-associated protein RP/EB family member 3抗体、抗Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2抗体、抗CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1抗体、抗Adenylate kinase isoenzyme 1抗体、抗Ubiquitin-like protein 3抗体、抗Calcium-regulated heat stable protein 1抗体、抗Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1抗体、抗Glia maturation factor beta抗体、抗Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2抗体、抗Phosphatidylethanolamine-binding protein 1抗体、抵抗Annexin A4抗体、抗Afadin抗体、抗Retinol-binding protein 1抗体、抗D-dopachrome decarboxylase抗体、抗Apolipoprotein M抗体、および、抗BoLA-like protein 1抗体からなる群より選択される少なくとも1つ、を有効成分として含有していることを特徴としている。

【0075】

上記(A)に記載の物質およびこれらの発現ベクターは、IL-33の発現を誘導するものであり、IL-33の発現が誘導されると、アレルギー炎症が誘導される。それ故に、本実施の形態のIL-33の発現制御剤が、(A)に記載の物質またはこれらの発現ベクターを有効成分として含有している場合には、本実施の形態のIL-33の発現制御剤は、IL-33の発現誘導剤またはアレルギー炎症誘導剤であり得る。

【0076】

IL-33の発現誘導剤は、IL-33受容体を発現する制御性T細胞を活性化できる。それ故に、IL-33の発現誘導剤は、炎症性腸疾患、クローン病、臓器特異性自己免疫疾患、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、多発性筋炎、全身性自己免疫疾患、および、感染症（例えば、インフルエンザ等）によって傷害された組織損傷の治療に用いられ得る。つまり、本実施の形態のIL-33の発現制御剤が、(A)に記載の物質または

これらの発現ベクターを有効成分として含有している場合には、本実施の形態の I L - 3 3 の発現制御剤は、炎症性腸疾患の治療剤、クローン病の治療剤、臓器特異性自己免疫疾患の治療剤、関節リウマチの治療剤、全身性エリテマトーデスの治療剤、多発性筋炎の治療剤、または、全身性自己免疫疾患の治療剤であり得る。さらに、I L - 3 3 は、組織の炎症抑制作用と、組織の修復作用とを有するので、インフルエンザ等の感染が原因で傷害された組織（例えば、肺組織）の修復や再生にも関与する。即ち、本実施の形態の I L - 3 3 の発現制御剤は、感染症に伴う組織損傷の修復剤として利用できる。

【 0 0 7 7 】

一方、上記（ B ）に記載の抗体（例えば、中和抗体）、アンタゴニストおよび阻害剤は、I L - 3 3 の発現を抑制するものであり、I L - 3 3 の発現が抑制されると、アレルギー炎症が抑制される。それ故に、本実施の形態の I L - 3 3 の発現制御剤が、（ B ）に記載の物質を有効成分として含有している場合には、本実施の形態の I L - 3 3 の発現制御剤は、I L - 3 3 の発現抑制剤またはアレルギー炎症抑制用の治療剤（例えば、アトピー性皮膚炎抑制用の治療剤）であり得る。

10

【 0 0 7 8 】

つまり、I L - 3 3 の発現誘導剤の別の態様は、（ A ）Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、EP2アゴニスト、EP4アゴニスト、COX-2、COX-2活性化剤、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つ；若しくは、これらの発現ベクター；または、（ B ）抗Putative hydrolase RBBP9抗体、抗PGE₁抗体、抗PGE₂抗体、抗EP2抗体、抗EP4抗体、EP2アンタゴニスト、EP4アンタゴニスト、抗COX-2抗体、COX-2阻害剤、抗Centrosomal protein of 170kDa抗体、抗Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3抗体、抗Tight junction protein ZO-2抗体、抗Guanylate kinase抗体、抗Myotubularin-related protein 10抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4H抗体、抗UMP-CMP kinase抗体、抗Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2抗体、抗Protein S100-A13抗体、抗Rho GDP-dissociation inhibitor 2抗体、抗Selenoprotein M、Protein S100-A11抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4B抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1抗体、抗Transgelin-2抗体、抗THO complex subunit 4抗体、抗Keratin type I cytoskeletal 19抗体、抗Keratin type II cytoskeletal 75抗体、抗Microtubule-associated protein RP/EB family member 3抗体、抗Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2抗体、抗CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1抗体、抗Adenylate kinase isoenzyme 1抗体、抗Ubiquitin-like protein 3抗体、抗Calcium-regulated heat stable protein 1抗体、抗Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1抗体、抗Glia maturation factor beta抗体、抗Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2抗体、抗Phosphatidyleth

20

30

40

50

anolamine-binding protein 1抗体、抵抗Annexin A4抗体、抗Afadin抗体、抗Retinol-binding protein 1抗体、抗D-dopachrome decarboxylase抗体、抗Apolipoprotein M抗体、および、抗Bola-like protein 1抗体からなる群より選択される少なくとも1つ、を有効成分として含有し、(A)の有効成分を含有している場合には、炎症性腸疾患用、クローン病用、臓器特異性自己免疫疾患用、関節リウマチ用、全身性エリテマトーデス用、多発性筋炎用、全身性自己免疫疾患用、または、感染症による組織損傷用として用いられ、(B)の有効成分を含有している場合には、アトピー性皮膚炎用として用いられる、治療剤、である。

【0079】

上記(A)に記載の発現ベクターは、例えば、上記(A)に記載のタンパク質のcDNAが発現可能に挿入されているものである。ベクターの具体的な例としては、特に限定されず、例えば、プラスミド、ウイルスベクター(例えば、ヘルペスウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、および、レトロウイルスベクター)、または、ウイルス粒子を挙げるができる。当該ベクターに挿入されるプロモーターの具体的な例としては、特に限定されず、上述したベクターに応じて適宜選択すればよい。

10

【0080】

上記(B)に記載の抗体の抗体は、ポリクローナル抗体であってもよいし、モノクローナル抗体であってもよい。また、上記(B)に記載の抗体の抗体は、あらゆるタイプのイムノグロブリンであり得、具体的には、IgG、IgM、IgA、IgDまたはIgEであり得る。また、上記(B)に記載の抗体の抗体は、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメントまたはFcフラグメントであってもよい。

20

【0081】

上記(B)に記載の抗体の抗体は、種々の公知の方法(例えば、Harlowら、「Antibodies: A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York (1988)」、岩崎ら、「単クローン抗体 ハイブリドーマとELISA、講談社(1991)」)に従って作製され得る。また、上記(B)に記載の抗体の抗体は、市販の抗体であってもよい。

【0082】

モノクローナル抗体は、当該分野において周知の方法(例えば、ハイブリドーマ法(Kohler, G. およびMilstein, C., Nature 256, 495-497 (1975))、トリオーマ法、ヒトB細胞ハイブリドーマ法(Kozbor, Immunology Today 4, 72 (1983))およびEBV-ハイブリドーマ法(Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R Liss, Inc., 77-96 (1985))などを参照)を用いて作製され得る。

30

【0083】

Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメントおよびFcフラグメントは、パパイン(Fabフラグメントを生じる)、または、ペプシン(F(ab')₂フラグメントを生じる)のような酵素を用いて抗体を切断することによって、作製され得る。

40

【0084】

上記(B)に記載の抗体の抗体は、中和抗体であることが好ましい。上記(B)に記載の抗体の抗体がポリクローナル抗体である場合には、ポリクローナル抗体に含まれる多様な抗体のうち、一部の抗体が中和活性であればよい。なお、本明細書において「中和抗体」とは、抗原タンパク質の機能のうち、IL-33の発現誘導活性を低下させる抗体を意図する。

【0085】

抗体が中和抗体であるか否かは、例えば、マウス初代培養肺線維芽細胞に、(1)所望の抗原のみ、または、(2)所望の抗原および当該抗原に対する抗体を作用させて、当該マウス初代培養肺線維芽細胞がIL-33の発現を誘導するか否かを、ウェスタンブロッ

50

ト法またはRT-PCR法にて確認することによって判定することができる。上記(1)にて誘導されるマウス初代培養肺線維芽細胞におけるIL-33の発現が、上記(2)によって抑制(例えば、9/10以下、好ましくは8/10以下、より好ましくは7/10以下、より好ましくは6/10以下、より好ましくは5/10以下、より好ましくは4/10以下、より好ましくは3/10以下、より好ましくは2/10以下、最も好ましくは1/10以下に抑制)されれば、当該抗体が、「中和抗体」であると判定することができる。

【0086】

また、EP2アゴニスト、EP4アゴニスト、COX-2活性化剤、EP2アンタゴニスト、EP4アンタゴニスト、および、COX-2阻害剤としては、特に限定されず、適宜、市販のもの等を用いることができる。

10

【0087】

本実施の形態のIL-33の発現制御剤における有効成分の量は、特に限定されず、例えば、発現制御剤に対して、0.001重量%~100重量%であってもよく、0.01重量%~100重量%であってもよく、0.1重量%~100重量%であってもよく、0.1重量%~95重量%であってもよく、0.1重量%~90重量%であってもよく、0.1重量%~80重量%であってもよく、0.1重量%~70重量%であってもよく、0.1重量%~60重量%であってもよく、0.1重量%~50重量%であってもよく、0.1重量%~40重量%であってもよく、0.1重量%~30重量%であってもよく、0.1重量%~20重量%であってもよく、0.1重量%~10重量%であってもよい。

20

【0088】

本実施の形態のIL-33の発現制御剤は、有効成分以外の成分(薬学的に受容可能なキャリア)を含んでいてもよい。有効成分以外の成分としては、本実施の形態のIL-33の発現制御剤が固形製剤である場合には、賦形剤、滑沢剤、結合剤および崩壊剤を挙げることができ、実施の形態のIL-33の発現制御剤が液状製剤である場合には、溶剤、溶解補助剤、懸濁剤、等張化剤、緩衝剤および無痛化剤を挙げることができる。その他、有効成分以外の成分として、防腐剤、抗酸化剤および安定化剤も挙げることができる。

【0089】

上記「賦形剤」としては、例えば、乳糖、白糖、D-マンニトール、キシリトール、ソルビトール、エリスリトール、デンプンおよび結晶セルロースを挙げることが、これらに限定されない。

30

【0090】

上記「滑沢剤」としては、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ワックス、タルクおよびコロイドシリカを挙げることが、これらに限定されない。

【0091】

上記「結合剤」としては、例えば、デンプン、メチルセルロース、結晶セルロース、白糖、D-マンニトール、トレハロース、デキストリン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよびポリビニルピロリドンを挙げることが、これらに限定されない。

【0092】

上記「崩壊剤」としては、例えば、デンプン、カルボキシメチルセルロース、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルメロースナトリウムおよびカルボキシメチルスターチナトリウムを挙げることが、これらに限定されない。

40

【0093】

上記「溶剤」としては、例えば、注射用水、アルコール、プロピレングリコール、マクロゴール、ゴマ油、トウモロコシ油およびトリカプリリンを挙げることが、これらに限定されない。

【0094】

上記「溶解補助剤」としては、例えば、ポリエチレングリコール、プロピレングリコー

50

ル、D - マンニトール、トレハロース、安息香酸ベンジル、エタノール、トリスアミノメタン、コレステロール、トリエタノールアミン、炭酸ナトリウムおよびクエン酸ナトリウムを挙げることが、これらに限定されない。

【0095】

上記「懸濁剤」としては、例えば、界面活性剤（例えば、ステアリルトリエタノールアミン、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリルアミノプロピオン酸、レシチン、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、モノステアリン酸グリセリン）および親水性高分子（例えば、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース）を挙げることが、これらに限定されない。

10

【0096】

上記「等張化剤」としては、例えば、塩化ナトリウム、グリセリンおよびD - マンニトールを挙げることが、これらに限定されない。

【0097】

上記「緩衝剤」としては、例えば、リン酸塩、酢酸塩、炭酸塩およびクエン酸塩を挙げることが、これらに限定されない。

【0098】

上記「無痛化剤」としては、例えば、ベンジルアルコールを挙げることが、これに限定されない。

【0099】

上記「防腐剤」としては、例えば、パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェネチルアルコール、デヒドロ酢酸およびソルビン酸を挙げることが、これらに限定されない。

20

【0100】

上記「抗酸化剤」としては、例えば、亜硫酸塩およびアスコルビン酸を挙げることが、これらに限定されない。

【0101】

上記「安定化剤」としては、製薬分野において通常用いられるものであればよく、特に限定されない。

【0102】

本実施の形態のIL - 33の発現制御剤における有効成分以外の成分の量は、特に限定されず、例えば、発現制御剤に対して、0重量% ~ 99.999重量%であってもよく、0重量% ~ 99.99重量%であってもよく、0重量% ~ 99.9重量%であってもよく、5重量% ~ 99.9重量%であってもよく、10重量% ~ 99.9重量%であってもよく、20重量% ~ 99.9重量%であってもよく、30重量% ~ 99.9重量%であってもよく、40重量% ~ 99.9重量%であってもよく、50重量% ~ 99.9重量%であってもよく、60重量% ~ 99.9重量%であってもよく、70重量% ~ 99.9重量%であってもよく、80重量% ~ 99.9重量%であってもよく、90重量% ~ 99.9重量%であってもよい。

30

【0103】

本実施の形態のIL - 33の発現制御剤の投与方法は、特に限定されず、経口的に投与されてもよいし、非経口的に、静脈内、直腸内、腹腔内、筋肉内、鼻内または皮下に投与されてもよい。

40

【0104】

本実施の形態のIL - 33の発現制御剤は、製剤分野における一般的な方法によって製造することができる。

【0105】

{7. アジュバント}

本実施の形態のアジュバントは、Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、EP2アゴニスト、EP4アゴニスト、COX-2、COX-2活性化剤、Centrosomal protein of 170kD

50

a、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Gliamaturational factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoLA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも一つ；若しくは、これらの発現ベクター、を有効成分として含有していることを特徴としている。

10

【0106】

EP2アゴニスト、EP4アゴニスト、COX-2活性化剤、EP2アンタゴニスト、EP4アンタゴニスト、および、COX-2阻害剤の具体例としては、〔6.IL-33の発現制御剤、および、治療剤〕の欄に挙げたものを用いることができる。

20

【0107】

本実施の形態のアジュバントは、上記物質およびこれらの発現ベクター以外に、キチン、水酸化アルミニウム、尿酸、Derp1、パバインの少なくとも一つ以上を有効成分として含んでいてもよいし、上記物質およびこれらの発現ベクターの代わりに、キチン、水酸化アルミニウム、尿酸、Derp1、パバインの少なくとも一つ以上を有効成分として含んでいてもよい。

【0108】

上記物質、これらの発現ベクター、キチンおよび水酸化アルミニウムは、IL-33の発現を誘導し、IL-33は、ILC2（グループ2自然リンパ球）および好酸球を誘導および活性化する。それ故に、本実施の形態のアジュバントであれば、ILC2（グループ2自然リンパ球）および好酸球を誘導および活性化することができる。

30

【0109】

上記物質、および、これらの発現ベクターについては既に説明したので、ここでは、その説明を省略する。

【0110】

本実施の形態のアジュバントにおける有効成分の量は、特に限定されず、例えば、アジュバントに対して、0.001重量%～100重量%であってもよく、0.01重量%～100重量%であってもよく、0.1重量%～100重量%であってもよく、0.1重量%～95重量%であってもよく、0.1重量%～90重量%であってもよく、0.1重量%～80重量%であってもよく、0.1重量%～70重量%であってもよく、0.1重量%～60重量%であってもよく、0.1重量%～50重量%であってもよく、0.1重量%～40重量%であってもよく、0.1重量%～30重量%であってもよく、0.1重量%～20重量%であってもよく、0.1重量%～10重量%であってもよい。

40

【0111】

本実施の形態のアジュバントは、有効成分以外の成分を含んでいてもよい。有効成分以外の成分としては、抗サイトカイン抗体、抗サイトカイン受容体抗体、抗病原体成分（TLRリガンドを含む）抗体および抗TLR抗体を挙げることができる。本実施の形態のアジュバントが、これらの成分のうちサイトカイン作用阻害剤および/または病原体作用阻害剤を含んでいれば、IL-33の発現を特異的に誘導するという有利な効果を奏する。

50

【 0 1 1 2 】

本実施の形態のアジュバントにおける有効成分以外の成分の量は、特に限定されず、例えば、発現制御剤に対して、0重量%～99.999重量%であってもよく、0重量%～99.99重量%であってもよく、0重量%～99.9重量%であってもよく、5重量%～99.9重量%であってもよく、10重量%～99.9重量%であってもよく、20重量%～99.9重量%であってもよく、30重量%～99.9重量%であってもよく、40重量%～99.9重量%であってもよく、50重量%～99.9重量%であってもよく、60重量%～99.9重量%であってもよく、70重量%～99.9重量%であってもよく、80重量%～99.9重量%であってもよく、90重量%～99.9重量%であってもよい。

10

【 0 1 1 3 】

〔 8 . I L - 3 3 の発現制御方法 〕

本実施の形態の I L - 3 3 の発現制御方法は、

(A) Putative hydrolase RBBP9、PGE₁、PGE₂、EP2、EP4、EP2アゴニスト、EP4アゴニスト、COX-2、COX-2活性化剤、Centrosomal protein of 170kDa、Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3、Tight junction protein ZO-2、Guanylate kinase、Myotubularin-related protein 10、Eukaryotic translation initiation factor 4H、UMP-CMP kinase、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2、Protein S100-A13、Rho GDP-dissociation inhibitor 2、Selenoprotein M、Protein S100-A11、Eukaryotic translation initiation factor 4B、Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1、Transgelin-2、THO complex subunit 4、Keratin type I cytoskeletal 19、Keratin type II cytoskeletal 75、Microtubule-associated protein RP/EB family member 3、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2、CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1、Adenylate kinase isoenzyme 1、Ubiquitin-like protein 3、Calcium-regulated heat stable protein 1、Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1、Glia maturation factor beta、Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase、Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2、Phosphatidylethanolamine-binding protein 1、Annexin A4、Afadin、Retinol-binding protein 1、D-dopachrome decarboxylase、Apolipoprotein M、および、BoIA-like protein 1からなる群より選択される少なくとも1つ；若しくは、これらの発現ベクター；または、

20

30

(B) 抗Putative hydrolase RBBP9抗体、抗PGE₁抗体、抗PGE₂抗体、抗EP2抗体、抗EP4抗体、EP2アンタゴニスト、EP4アンタゴニスト、抗COX-2抗体、COX-2阻害剤、抗Centrosomal protein of 170kDa抗体、抗Cathepsin S、NADH-cytochrome b5 reductase 3抗体、抗Tight junction protein ZO-2抗体、抗Guanylate kinase抗体、抗Myotubularin-related protein 10抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4H抗体、抗UMP-CMP kinase抗体、抗Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2抗体、抗Protein S100-A13抗体、抗Rho GDP-dissociation inhibitor 2抗体、抗Selenoprotein M、Protein S100-A11抗体、抗Eukaryotic translation initiation factor 4B抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1抗体、抗Transgelin-2抗体、抗THO complex subunit 4抗体、抗Keratin type I cytoskeletal 19抗体、抗Keratin type II cytoskeletal 75抗体、抗Microtubule-associated protein RP/EB family member 3抗体、抗Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2抗体、抗CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1抗体、抗Adenylate kinase isoenzyme 1抗体、抗Ubiquitin-like protein 3抗体、抗Calcium-regulated heat stable protein 1抗体、抗Ubiquitin-fold modifier-conjugating enzyme 1抗体、抗Glia maturation factor beta抗体、抗Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase抗体、抗Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2抗体、抗Phosphatidylethanolamine-binding protein 1抗体、抵抗Annexin A4抗体、抗Afadin抗体、抗Retinol-binding protein 1抗体、抗D-dopachrome decarboxylase抗体、抗Apolipoprotein

40

50

M抗体、および、抗BoLA-like protein 1抗体からなる群より選択される少なくとも1つ、を投与する工程を有している。

【0114】

EP2アゴニスト、EP4アゴニスト、COX-2活性化剤、EP2アンタゴニスト、EP4アンタゴニスト、および、COX-2阻害剤の具体例としては、〔6. IL-33の発現制御剤、および、治療剤〕の欄に挙げたものを用いることができる。

【0115】

上記(A)に記載の物質およびこれらの発現ベクターは、IL-33の発現を誘導するものであり、IL-33の発現が誘導されると、アレルギー炎症が誘導される。それ故に、上記(A)に記載のタンパク質または当該タンパク質の発現ベクターを投与する場合には、本実施の形態のIL-33の発現制御方法は、IL-33の発現誘導方法またはアレルギー炎症誘導方法であり得る。

10

【0116】

一方、上記(B)に記載の抗体(例えば、中和抗体)、アンタゴニストおよび阻害剤は、IL-33の発現を抑制するものであり、IL-33の発現が抑制されると、アレルギー炎症が抑制される。それ故に、上記(B)に記載の抗体を投与する場合には、本実施の形態のIL-33の発現制御方法は、IL-33の発現抑制方法またはアレルギー炎症抑制方法であり得る。

【0117】

上記(A)および(B)に記載の物質を投与する対象は、特に限定されず、採取された細胞、非ヒト動物(例えば、イヌ、ネコ、ヒツジ、ヤギ、マウス、ラット、ウサギ、ウシ、ウマ、ブタなどの哺乳動物)、および、ヒトなどを挙げることができるが、これらに限定されない。

20

【実施例】

【0118】

<1. 肺組織の抽出液の調製>

経皮的に感染した腸管寄生性蠕虫は、肺に移動する。そして感染後5日頃に肺組織内で出血が起こる。これは、寄生虫の侵入による物理的組織傷害が原因と考えられる。この頃からIL-33を発現する2型肺胞上皮細胞の数が増え始め、それに伴いILC2の数が増加するようになる。さらに、IL-33で刺激されたILC2が、IL-5とIL-13とを産生するため、好酸球の浸潤が顕著になってくる。

30

【0119】

そこで、肺組織の傷害が原因でIL-33の誘導因子が産生されるとの推測のもとに、IL-33誘導因子の精製を目指した。

【0120】

具体的には、「50%硫酸沈殿」「Sephadex G-100」「Phenyl sepharose」「Preparative SDS」「陰イオン交換カラム」の順番で、正常なマウス肺の成分を分離し、肺組織抽出液を得た。

【0121】

<2. 肺組織抽出液の経鼻投与によるIL-33の発現誘導>

C57BL/6マウスを二群に分け、一群に50 μ lのPBS(phosphate-buffered saline)を投与し、他の一群に<1>にて得られた肺組織抽出液(50mg-タンパク質/mlに調整したもの)50 μ lを、経鼻的に投与した。

40

【0122】

肺組織抽出液を投与後、経時的にマウスを頸椎脱臼により安楽死させて、当該マウスから肺を摘出した。摘出した肺におけるIL-33の発現を、免疫染色法(図1の(A)参照)、または、定量的PCR法(図1の(B)参照)によって測定した。

【0123】

図1の(A)および(B)に示すように、肺組織抽出液を経鼻的にマウスへ投与すると、IL-33を発現する2型肺胞上皮細胞の数が増加することが明らかになった。

50

【 0 1 2 4 】

< 3 . 肺組織抽出液のマウス初代培養肺線維芽細胞における I L - 3 3 の発現誘導 >

本実施例では、< 1 > にて得られた肺組織抽出液がマウス初代培養肺線維芽細胞に作用して I L - 3 3 の発現を誘導することを示す。

【 0 1 2 5 】

具体的に、図 2 の (A) は、肺組織抽出液を用いた刺激によって、核内に I L - 3 3 を発現する肺線維芽細胞の数が增加することを示し、図 2 の (B) は、肺組織抽出液を用いた刺激によって、肺線維芽細胞における I L - 3 3 の産生量が増加することを示している。

【 0 1 2 6 】

尚、マウス初代培養肺線維芽細胞は、8 週齢の正常 C 5 7 B L / 6 マウス (W T) または I L - 3 3 K O マウスの肺から作製した。以下、マウス初代培養肺線維芽細胞の作製法について説明する。

【 0 1 2 7 】

頸椎脱臼によって安楽死させたマウスの肺を取り出し、c o l l a g e n a s e を 4 0 0 U / m l 含有している R P M I 1 6 4 0 培地中で、3 7 ° C、1 時間、当該肺を消化した。次に、パスツールピペットを用いて肺由来の細胞を単離し、当該細胞を細胞培養用ディッシュにて 1 0 日間培養した。

【 0 1 2 8 】

トリプシン - E D T A を用いて、細胞培養用ディッシュから細胞をはがし、 1.0×10^4 / w e l l の細胞濃度にてスライドチャンバーに、または、 7.5×10^3 / w e l l の細胞濃度にて 9 6 w e l l プレートに当該細胞を播き、2 ~ 3 日後に、当該細胞をアッセイに使用した。

【 0 1 2 9 】

スライドチャンバー内または 9 6 w e l l プレート内の培養上清中に、< 1 > にて得られた肺組織抽出液、または、P B S を加えて 6 時間培養した。

【 0 1 3 0 】

スライドチャンバー上の細胞を P B S で洗浄し、4 %ホルマリン含有 P B S を用いて 3 0 分間固定し、洗浄した後、ウサギ抗マウス I L - 3 3 ポリクローナル抗体、抗ウサギ I g G ビオチン結合ヤギ抗体、アビジン - F I T C、および、D A P I (4',6-diamidino-2-phenylindole) を用いて染色した (図 2 の (A) 参照)。

【 0 1 3 1 】

9 6 w e l l プレート上の細胞を P B S で洗浄した後、凍結融解を 2 回繰り返し、1 5 0 0 0 r p m で遠心し、上清中の I L - 3 3 濃度を E L I S A 法にて測定した (図 2 の (B) 参照)。

【 0 1 3 2 】

< 4 . I L - 3 3 の発現誘導因子の特性 >

上記 < 1 > にて得られた肺組織抽出液に対して、(i) 加熱処理 (肺組織抽出液を 5 6 ° C にて 3 0 分間加熱した)、(i i) タンパク分解酵素処理 (2 0 m M T r i s - H C l に懸濁させた肺組織抽出液に P r o t e i n a s e K - a g a r o s e ビーズを加え、3 7 ° C にて 3 時間反応させた後、当該懸濁液を 1 3 0 0 0 r p m で遠心し、上清を回収した)、または、(i i i) D N A 分解酵素処理 (肺組織抽出液に D N A s e 1 5 0 μ g を加え、3 7 ° C にて 4 5 分間反応させた) を行った。

【 0 1 3 3 】

中皮細胞株 M e T - 5 A を 1.0×10^5 / w e l l (1 2 w e l l プレート) にて 2 4 時間前培養した後、培養用の培地を、1 0 % F C S を含有している R P M I 1 6 4 0 培地に換え、中皮細胞株 M e T - 5 A に対して、(i) ~ (i i i) の各々の処理を施した肺組織抽出液 (1 0 m g 相当) を加えた。6 時間後、I L - 3 3 の発現を定量 P C R にて評価した。

【 0 1 3 4 】

10

20

30

40

50

図3の(A)および(B)に示すように、(i)および(ii)の処理を施した肺組織抽出液は、IL-33の発現誘導活性が有意にて低下していた。このことから、肺組織抽出液中に存在するIL-33の発現誘導因子は、タンパク質であることが明らかになった。

【0135】

<5. IL-33の発現誘導因子の精製方法>

上記<4>にて存在が確認されたIL-33の発現誘導因子を精製した。精製方法の概略を図4に示す。

【0136】

<6. ゲル濾過によって得られた画分に関する検討>

図4に示す精製方法に関して、ゲル濾過までの工程について説明する。

【0137】

まず、正常マウス肺のホモジェネートを、110,000gにて1時間、超遠心分離して、上清(肺組織抽出液)を回収した。

【0138】

回収した上清について、飽和度50%の硫酸アンモニウムを用いてタンパク質を沈殿させた。

【0139】

沈殿したタンパク質をPBSに再懸濁し、当該懸濁液を、ポアサイズ15~50(MWCO:14000)のセルロースチューブを用いて4で18時間、PBSに対して透析した。

【0140】

透析後の懸濁液を、0.45μmのフィルターを通した後、Sephadex G-100を用いたゲル濾過クロマトグラフィーに供した。

【0141】

ゲル濾過クロマトグラフィーにて得られた各画分を限外濾過(Amicon Ultra4)した後、当該画分をマウス初代培養肺線維芽細胞の培養上清に加えた。6時間培養した後、肺線維芽細胞のIL-33の発現を定量PCRにて評価した。

【0142】

図5に示すように、10~30kDaのタンパク質を含む画分に、IL-33の発現誘導因子が存在することが明らかになった。

【0143】

<7. 疎水性相互作用クロマトグラフィーによって得られた画分に関する検討>

図4に示す精製方法に関して、疎水性相互作用クロマトグラフィーの工程について説明する。

【0144】

ゲル濾過によって得られた10~30kDaのタンパク質を含む分画(#70~80)をさらに限外濾過し、バッファの置換(Start buffer)を行った。

【0145】

10~30kDaのタンパク質を含む分画をPhenyl sepharose column HP(疎水性相互作用クロマトグラフィーカラム)にインジェクトした。Starting bufferとしては、Na₂HPO₄ 50mMおよび(NH₄)₂SO₄ 1Mを含む水溶液を用い、Elution bufferとしては、Na₂HPO₄ 50mMを含む水溶液を用いた。UV280nmで溶出物をモニタリングしながら、各画分を回収した。それぞれの画分を限外濾過した後、当該画分を、マウス初代培養肺線維芽細胞の培養上清に加えた。6時間培養した後、肺線維芽細胞のIL-33の発現を定量PCRにて評価した。

【0146】

図6の(A)および(B)に示すように、「5」の画分に、IL-33の発現誘導因子が存在することが明らかになった。

10

20

30

40

50

【0147】

< 8 . 陰イオン交換クロマトグラフィーによって得られた画分に関する検討 >

図4に示す精製方法に関して、陰イオン交換クロマトグラフィーの工程について説明する。

【0148】

疎水性相互作用クロマトグラフィーによって得られた、IL-33の発現誘導活性が高い「5」の画分を限外濾過し、バッファの置換(20mM Tris-HCl pH 8.0)を行った。

「5」の画分をMono Q(陰イオン交換クロマトグラフィー)カラムにインジェクトした。Starting bufferとしては、20mM Tris-HCl pH 8.0を用い、Elution bufferとしては、NaCl 1Mを含む水溶液を用いた。UV 280nmで溶出物をモニタリングしながら、各画分を回収した。それぞれの画分を限外濾過した後、当該画分を、マウス初代培養肺線維芽細胞の培養上清に加えた。6時間培養した後、肺線維芽細胞のIL-33の発現を定量PCRにて評価した。

10

【0149】

図7の(A)および(B)に示すように、「2」および「3」の画分に、IL-33の発現誘導因子が存在することが明らかになった。

【0150】

< 9 . iTRAQ法によるプロテオミクス解析 >

陰イオン交換クロマトグラフィーによって得られた、IL-33の発現誘導活性が低い「#1」の画分、IL-33の発現誘導活性が高い「#2」の画分、IL-33の発現誘導活性が中程度である「#3」の画分の各々を限外濾過し、バッファの置換(PBS)を行った。

20

【0151】

各画分について、脱塩および精製を行った後、BCA法によってタンパク質を定量し、各々10μgのタンパク質をiTRAQ(isobaric tags for relative and absolute quantitation)法によるプロテオミクス解析に供した。なお、iTRAQ法は、周知の方法にしたがって行った。

【0152】

各々のサンプルを還元、システインブロック、および、トリプシン処理し、その後、遠心分離によって濃縮した。iTRAQ試薬(株式会社Applied Biosystems製)を用いて、各々のサンプルをラベルした。

30

【0153】

ラベルしたサンプルを一つにまとめ、C18(ODS)カラムを用いて脱塩を行った。LC/MS/MSでタンデム質量分析を行い、網羅的な比較定量解析を行った。なお、IL-33の発現誘導活性が低い「#1」の画分をリファレンスとして用いた。

【0154】

iTRAQ法によるプロテオミクス解析の結果、図8および図9に示すタンパク質を見出すことに成功した。

【0155】

< 10 . IL-33の発現誘導活性に関する試験(融合タンパク質) >

HEK-293細胞を 5.0×10^4 /well(24wellプレート)にて前培養し、24時間後、市販のトランスフェクション試薬を用いて、HEK-293細胞にFLAGタグ融合タンパク質(RBBP9-FLAG、UB2v1-FLAG)の発現プラスミドを導入した。なお、「RBBP9-FLAG」は、Putative hydrolase RBBP9とFLAGタグとの融合タンパク質であり、「UB2v1-FLAG」は、Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 1とFLAGタグとの融合タンパク質である。

40

【0156】

抗FLAGマウスモノクローナル抗体、または、抗マウスRBBP9ウサギポリクローナル抗体を用いたウェスタンブロッティング法にしたがって、融合タンパク質の発現を確

50

認した(図10の(B)参照)。

【0157】

発現プラスミドが導入されたHEK-293細胞を凍結融解して溶解物を作製し、当該溶解物をマウス初代培養肺線維芽細胞の培養上清に加えた。マウス初代培養肺線維芽細胞を6時間培養した後、マウス初代培養肺線維芽細胞のIL-33の発現を定量PCRにて評価した。

【0158】

図10の(A)に示すように、「RBBP9-FLAG」を過剰発現させたHEK-293細胞から得られる溶解物は、マウス初代培養肺線維芽細胞に作用してIL-33の発現を誘導することが明らかになった。

10

【0159】

<11. IL-33の発現誘導活性に関する試験(リコンビナントタンパク質)>

マウス初代培養肺線維芽細胞の培養上清にリコンビナントタンパク質(ヒトBLVRB(株式会社R&D Systems製)、ヒトRBBP9(株式会社Abcam製))を加えた。マウス初代培養肺線維芽細胞を6時間培養した後、マウス初代培養肺線維芽細胞のIL-33の発現を定量PCRにて評価した(図11の(A)参照)。

【0160】

8週齢のC57BL/6のナীবマウスに、リコンビナントタンパク質(ヒトRBBP9)を4 μ g/匹で、または、PBS(コントロール群)をマウスに経鼻投与した。6時間後、マウスを頸椎脱臼により安楽死させ、肺を取り出し、IL-33のmRNAの発現を定量PCRで用いて評価した(図11の(B)参照)。

20

【0161】

図11の(A)に示すように、ヒトRBBP9は、*in vitro*において、マウス初代培養肺線維芽細胞を刺激してIL-33の発現を誘導することが明らかになった。また、図11の(B)に示すように、ヒトRBBP9は、*in vivo*において、経鼻投与によって肺におけるIL-33の発現を誘導することが明らかになった。

【0162】

<12. IL-33の発現誘導活性に関する試験(抗体)>

上記<6>にて説明した、ゲル濾過によって得られた10~30kDaのタンパク質を含む画分と、抗マウスBLVRB抗体または抗マウスRBBP9抗体を含むPBS-1%BSAとを混合した。当該混合物に、更に、Protein A結合 Sepharose beadsを加えた。

30

【0163】

上記混合物を10000rpmにて遠心分離し、上清を回収し、当該上清をマウス初代培養肺線維芽細胞の培養上清に加えた。当該マウス初代培養肺線維芽細胞を6時間培養した後、マウス初代培養肺線維芽細胞のIL-33の発現を定量PCRにて評価した。

【0164】

図12に示すように、抗RBBP9抗体は、IL-33の発現誘導を抑制することが明らかになった。

【0165】

40

<13. 肺組織におけるRBBP9の発現>

8週齢のC57BL/6のナীবマウスを頸椎脱臼により安楽死させ、肺を取り出し、凍結切片にした。凍結切片を、抗マウスRBBP9ウサギポリクローナル抗体、抗ウサギIgGビオチン結合ヤギ抗体、アビジン-FITC、抗マウスPodoplanin Cy5結合シリアンハムスター抗体、および、DAPIを用いて染色した。

【0166】

図13に示すように、RBBP9は、定常状態の肺組織で発現されていることが明らかになった。

【0167】

<14. 腎組織におけるRBBP9の発現>

50

正常マウス肺、および、正常マウス腎臓の抽出液を、110,000gにて1時間超遠心し、上清を回収した。飽和度50%の硫酸アンモニウムを用いて、回収した上清中のタンパク質を沈殿させた。沈殿したタンパク質をPBSに再懸濁し、ポアサイズ15~50(MWCO:14000)のセルコースチューブを用いて4で18時間透析し、懸濁液の溶液をPBSに置換した。透析後の懸濁液を、0.45 μ mのフィルターを通した後、Sephadex G-100ゲル濾過クロマトグラフィーに供した。

【0168】

肺に由来する10~30kDaのタンパク質を含む複数の画分(#70~80)を混ぜ合わせて、1つの画分とした。また、腎臓に由来する10~30kDaのタンパク質を含む複数の画分(#70~80)を混ぜ合わせて、1つの画分とした。これらの画分を、限外ろ過した後、マウス初代培養肺線維芽細胞の培養上清に加えた。マウス初代培養肺線維芽細胞を6時間培養した後、マウス初代培養肺線維芽細胞のIL-33の発現を定量PCRにて評価した(図14の(B)参照)。また、抗マウスRBBP9ウサギポリクローナル抗体を用いて、これらの画分中のRBBP9をウェスタンブロットにより検出した(図14の(A)参照)。

【0169】

図14に示すように、RBBP9は、腎組織でも発現されていることが明らかになった。

【0170】

C57BL/6野生型マウスの様々な組織中のRBBP9をウェスタンブロットにより検出した。図14の(C)に示すように、C57BL/6野生型マウスでは、様々な組織にてRBBP9が発現していた。

【0171】

<15. アジュバント効果>

一群3匹のC57BL/6マウスの腹腔内に水酸化アルミニウム10mgを投与した後、経時的に細胞が多数付着した水酸化アルミニウムを回収した。水酸化アルミニウムと共に回収した細胞からmRNAを得、RBBP9のmRNA発現とIL-33のmRNA発現とを定量PCR法にて評価した。

【0172】

図15に示すように、IL-33とRBBP9とは、腹腔内に投与した水酸化アルミニウムの近傍に集積した細胞内で誘導されることが明らかになった。

【0173】

同様の試験を再度繰り返し、試験結果の信頼性を確認した。つまり、

一群3匹のC57BL/6マウスの腹腔内に水酸化アルミニウム10mgを投与した後、経時的に細胞が多数付着した水酸化アルミニウムを回収した。水酸化アルミニウムと共に回収した細胞からmRNAを得、RBBP9のmRNA発現とIL-33のmRNA発現とを定量PCR法にて評価した。

【0174】

図16に示すように、IL-33とRBBP9とは、腹腔内に投与した水酸化アルミニウムの近傍に集積した細胞内で誘導されることが明らかになった。

【0175】

<16. IL-33の発現制御機構に関する解析-1>

マウス初代培養肺線維芽細胞を、50 μ g/mLの肺抽出物、または、10 μ g/mLのヒトRBBP9を用いて刺激した。刺激してから6時間後に、周知のq-PCR法にしたがって、COX-2(Ptgs2)、および、PGE₂ synthase 1(Ptges1)のmRNAの発現量を調べた。図17の(a)に示すように、ネガティブコントロール(図中None)と比較して、肺抽出物(図中IL-33IF)およびヒトRBBP9は、COX-2、および、PGE₂の発現を誘導した。

【0176】

マウス線維芽細胞を、50 μ g/mLの肺抽出物を用いて刺激した。刺激してから6時

10

20

30

40

50

間後に、周知のELISA法にしたがって、マウス線維芽細胞から放出されるPGE₂の量を調べた。図17の(b)に示すように、ネガティブコントロールと比較して、肺抽出物は、PGE₂の発現を誘導した。

【0177】

マウス線維芽細胞を、5 μMのPGE₂を用いて刺激した。刺激してから6時間後に、周知のq-PCR法にしたがって、IL-33のmRNAの発現量を調べた。図17の(c)に示すように、ネガティブコントロールと比較して、PGE₂は、IL-33の発現を誘導した。

【0178】

マウス線維芽細胞を、所定の濃度のインドメタシンによって処理し、当該処理から1時間後に、マウス線維芽細胞を、50 μg/mLの肺抽出物を用いて刺激した。刺激してから7時間後に、周知のELISA法にしたがって、培養液中のPGE₂の量を調べ、かつ、周知のq-PCR法にしたがって、マウス線維芽細胞中のIL-33のmRNAの発現量を調べた。図17の(d)および(e)に示すように、インドメタシンによって、培養液中のPGE₂の量、および、マウス線維芽細胞中のIL-33のmRNAの発現量が減少することが明らかになった。

10

【0179】

本発明者が確認したところ、マウス線維芽細胞は、PGE₂受容体である、EP2およびEP4を発現していた(図示せず)。そこで、これらの受容体のアンタゴニストに関して試験を行った。なお、EP2のアンタゴニスト(図中aEP2)としては、PF04418948を用い、EP4のアンタゴニスト(図中aEP4)としては、ONO-AE3-208を用いた。

20

【0180】

マウス線維芽細胞を、1 μMのアンタゴニストによって処理し、当該処理から1時間後に、マウス線維芽細胞を、50 μg/mLの肺抽出物を用いて刺激した。刺激してから7時間後に、周知のq-PCR法にしたがって、マウス線維芽細胞中のIL-33のmRNAの発現量を調べた。図17の(f)に示すように、アンタゴニストによって、肺抽出物によるIL-33のmRNAの発現量の増加が、抑制された。

【0181】

マウス線維芽細胞を、1 μMのアンタゴニストによって処理し、当該処理から1時間後に、マウス線維芽細胞を、10 μg/mLのヒトRBBP9、または、100 ng/mLのIL-1を用いて刺激した。刺激してから7時間後に、周知のq-PCR法にしたがって、マウス線維芽細胞中のIL-33のmRNAの発現量を調べた。図17の(g)に示すように、アンタゴニストによって、ヒトRBBP9およびIL-1によるIL-33のmRNAの発現量の増加が、抑制された。

30

【0182】

C57BL/6野生型マウス(n=6)に対して、ヒトRBBP9(5 μg/50 μL/マウス)、または、PBSを、鼻腔内投与した。鼻腔内投与してから6時間後に、各マウスから、肺を採取した。周知のq-PCR法にしたがって、肺中のIL-33、COX-2(Ptgs2)、および、PGE₂ synthase 1(Ptges1)のmRNAの発現量を調べた。図17の(h)に示すように、ヒトRBBP9の鼻腔内投与によって、肺中のIL-33、COX-2(Ptgs2)、および、PGE₂ synthase 1(Ptges1)のmRNAの発現量が増加した。

40

【0183】

<17. IL-33の発現制御機構に関する解析 - 2 >

マウス初代培養肺線維芽細胞、および、ヒト線維芽細胞の各々を、所定の濃度のインドメタシンによって処理し、当該処理から1時間後に、各細胞を、10 μg/mLのヒトRBBP9を用いて刺激した。刺激してから7時間後に、周知のq-PCR法にしたがって、各細胞中のIL-33のmRNAの発現量を調べた。図18の(a)に示すように、インドメタシンによって、マウス初代培養肺線維芽細胞中のIL-33のmRNAの発現量が減少すること、および、図18の(b)に示すように、インドメタシンによって、ヒト線維芽細胞中のIL-33のmRNAの発現量が減少することが明らかになった。

【0184】

50

野生型マウス、および、Myd88^{-/-}マウスに由来するマウス肺線維芽細胞の各々を、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の組み換えRBBP9を用いて、6時間刺激した。その後、周知のq-PCR法にしたがって、各細胞中のIL-33のmRNAの発現量、および、IL-6のmRNAの発現量を調べた。図18の(c)および(d)に示すように、RBBP9は、Myd88非依存的にIL-33のmRNAの発現量を制御することが明らかになった。一方、RBBP9は、Myd88依存的にIL-6のmRNAの発現を制御することが明らかとなった。

【0185】

<18. IL-33の発現制御機構に関する解析 - 3 >

C57BL/6野生型マウス(n=3)に対して、Th2アジュバントである水酸化アルミニウムを、10mg/マウスにて、腹腔内投与した。腹腔内投与してから1日後、3日後、および、7日後の各々にて、腹腔内の水酸化アルミニウム粒子の周辺に集まった細胞群を回収した。その後、周知のq-PCR法にしたがって、細胞群中における、IL-33のmRNAの発現量、および、RBBP9のmRNAの発現量を調べた。図19の(a)に示すように、水酸化アルミニウムの腹腔内投与によって、RBBP9、および、IL-33のmRNAの発現量が増加した。

10

【0186】

C57BL/6野生型マウス(n=5)に対して、Th2アジュバントである水酸化アルミニウムを、10mg/マウスにて、腹腔内投与した。腹腔内投与してから6時間後または7日後に、腹腔内の水酸化アルミニウム粒子の周辺に集まった細胞群を回収した。当該細胞群をコラゲナーゼにて処理した後、MACS isolation kitを用いて、細胞群をCD45⁻細胞群、および、CD45⁺細胞群に分離した。その後、周知のq-PCR法にしたがって、CD45⁻細胞群、および、CD45⁺細胞群中における、IL-33のmRNAの発現量、および、RBBP9のmRNAの発現量を調べた。図19の(b)に示すように、水酸化アルミニウムの腹腔内投与によって、特にCD45⁻細胞群において、RBBP9、および、IL-33のmRNAの発現量が増加した。

20

【0187】

C57BL/6野生型マウス(n=3)に対して、Th2アジュバントである水酸化アルミニウムを、10mg/マウスにて、腹腔内投与した。その後、当該マウスに対して、5日間にわたって毎日、1日あたり5 μM のインドメタシンを0.2mL、または、1日あたりPBSを0.2mL、腹腔内投与した。最後の腹腔内投与の翌日に、腹腔内の水酸化アルミニウム粒子の周辺に集まった細胞群を回収した。その後、周知のq-PCR法にしたがって、細胞群中における、IL-33のmRNAの発現量を調べた。図19の(c)に示すように、インドメタシンの腹腔内投与によって、水酸化アルミニウムの投与によるIL-33のmRNAの発現量の増加が、抑制された。

30

【0188】

C57BL/6野生型マウス(n=5)に対して、組み換えRBBP9、または、PBSを腹腔内投与した。当該マウスの血清を所定のタイミング(pre:腹腔内投与の1日前、d8:腹腔内投与の8日後、d12:腹腔内投与の12日後)にて回収し、周知のELISA法にしたがって、血清内のIgGの濃度、および、投与から12日後における腹腔内のIL-33の濃度を調べた。図19の(d)に示すように、組み換えRBBP9の腹腔内投与によって、血清内のIgGの濃度が増加した。また、図19の(e)に示すように、組み換えRBBP9の腹腔内投与によって、腹腔内のIL-33の濃度が増加した。

40

【0189】

C57BL/6野生型マウス(n=4-5)に対して、OVA(ovalbumin)のみ、または、OVAと組み換えRBBP9との混合物、を腹腔内投与した。腹腔内投与してから7日後に、各マウスに対して、OVAのみを、再度、腹腔内投与した。再度の腹腔内投与から7日後に、各マウスの血清を回収し、周知のELISA法にしたがって、OVA特異的なIgG1の濃度を調べた。図19の(f)に示すように、組み換えRBBP9の腹腔内投与によって、OVA特異的なIgG1の濃度が増加した。

【0190】

50

< 19 . I L - 33 の発現制御機構に関する解析 - 4 >

マウスに、*S. venezuelensis*を感染させた。感染させてから、1日後、7日後および10日後の各々において、周知のq-PCR法にしたがって、当該マウスの肺組織におけるIL-33のmRNAの発現量、および、RBBP9のmRNAの発現量を調べた。図20の(a)に示すように、*S. venezuelensis*の感染は、RBBP9のmRNAの発現量を変化させることなく、IL-33のmRNAの発現量を増加させた。

【0191】

マウスに対して、Th2アジュバントである水酸化アルミニウムを、10mg/マウスにて腹腔内投与した。腹腔内投与してから7日後に、腹腔内の水酸化アルミニウム粒子の周辺に集まった細胞群を回収した。当該細胞群を、更に、CD45⁻細胞群、および、CD45⁺細胞群に分離した。分離された細胞群を、図20(b)から、CD45⁻細胞群(培養皿に付着性を示す)では、まず水酸化アルミニウムの腹腔内投与によってRBBP9の発現量が増加し、次いでPGE₂の生産が誘導され、最後にIL-33の生産が誘導される、と考えられる。

10

【0192】

Il1r1^{-/-}マウス由来の肺線維芽細胞を、肺抽出物(50μg/mL)、または、水酸化アルミニウム粒子の周辺に集まった細胞群の抽出物(50μg/mL)を用いて、6時間刺激した。周知のq-PCR法にしたがって、当該肺線維芽細胞におけるIL-33のmRNAの発現量を調べた。図20の(c)に示すように、上記抽出物は、共に、肺線維芽細胞におけるIL-33のmRNAの発現量を増加させた。

【0193】

Il1r1^{-/-}マウス由来の肺線維芽細胞を、インドメタシンを用いて1時間処理した。その後、当該肺線維芽細胞を、水酸化アルミニウム粒子の周辺に集まった細胞群の抽出物(50μg/mL)を用いて、6時間刺激した。周知のq-PCR法にしたがって、当該肺線維芽細胞におけるIL-33のmRNAの発現量を調べた。図20の(d)に示すように、インドメタシンによって、IL-33のmRNAの発現量の増加が抑制された。

20

【0194】

マウスに対して、Th2アジュバントである水酸化アルミニウムを、10mg/マウスにて腹腔内投与した。腹腔内投与してから7日後に、水酸化アルミニウム粒子の周辺に集まった細胞群の抽出物中におけるPGE₂の濃度を、周知のELISA法にしたがって調べた。図20の(e)に示すように、抽出物中にPGE₂が存在していることを確認することができた。

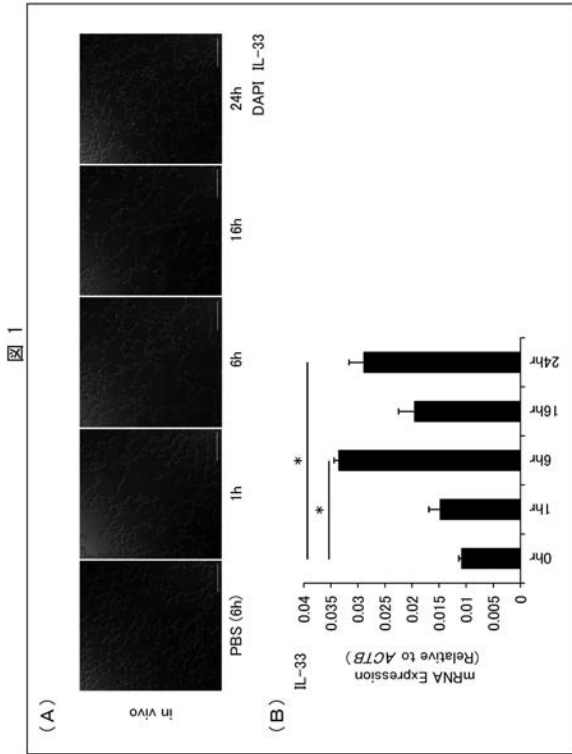
30

【産業上の利用可能性】

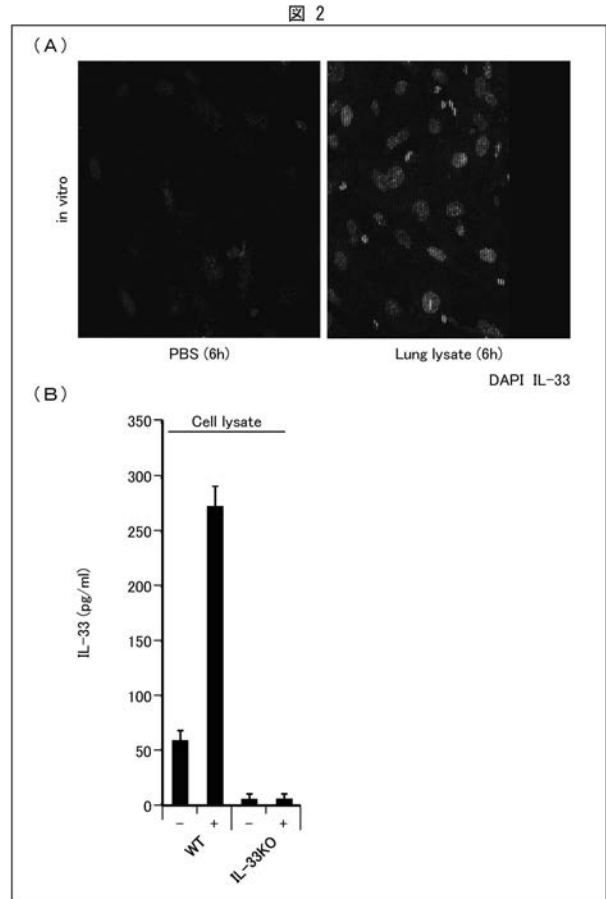
【0195】

本発明は、アレルギー炎症を診断および/または治療する分野に広く利用することができる。

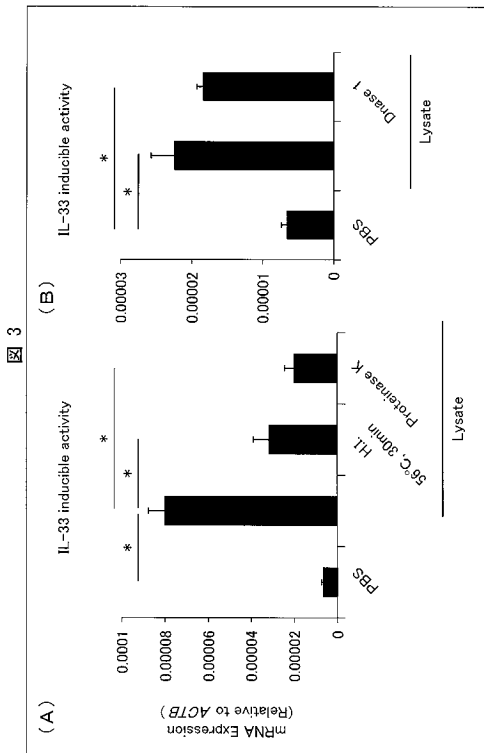
【 図 1 】



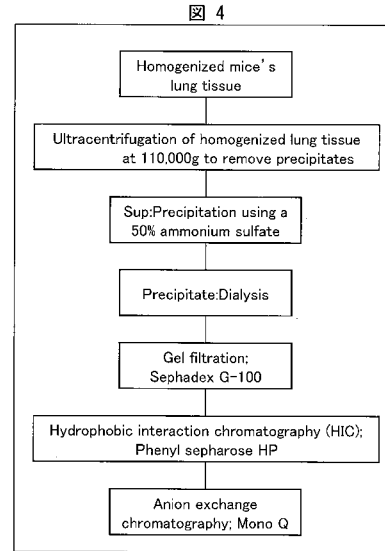
【 図 2 】



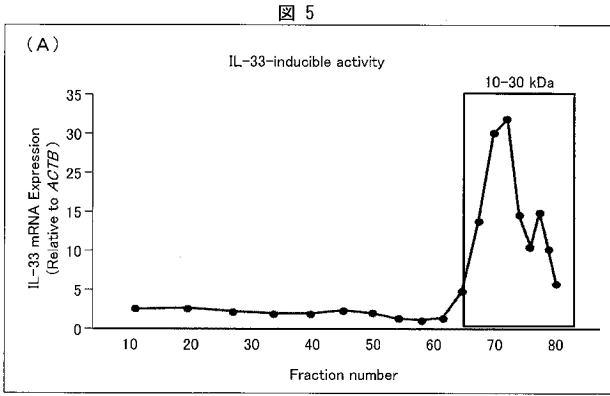
【 図 3 】



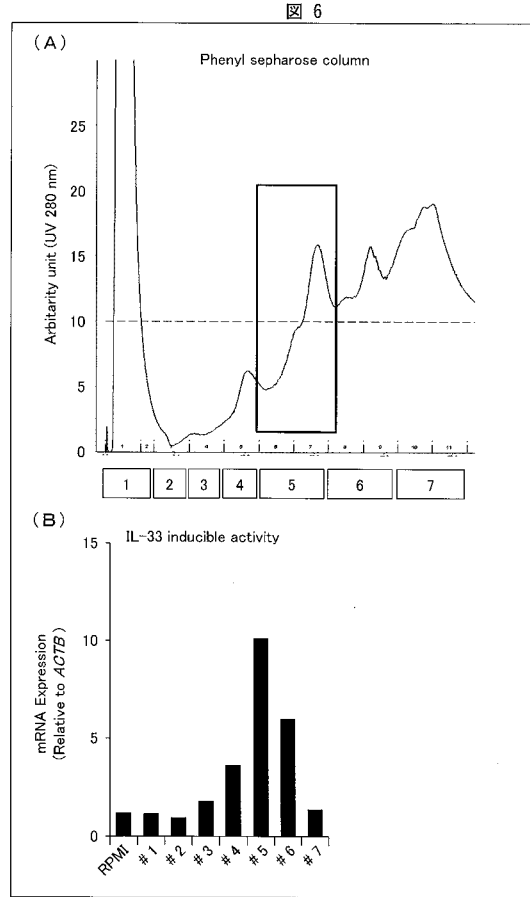
【 図 4 】



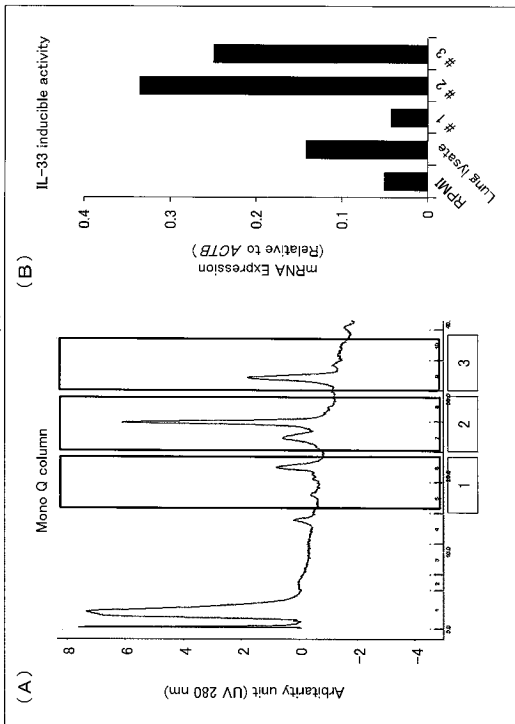
【 5 】



【 6 】



【 7 】



【 8 】

Figure 8: A table listing protein identification results. The table has columns for '1st', '2nd', 'score', 'MonoQ12 / MonoQ13', 'MonoQ12 / MonoQ11', 'M.W.', and 'pI'. The table lists various protein entries with their corresponding scores and identification metrics.

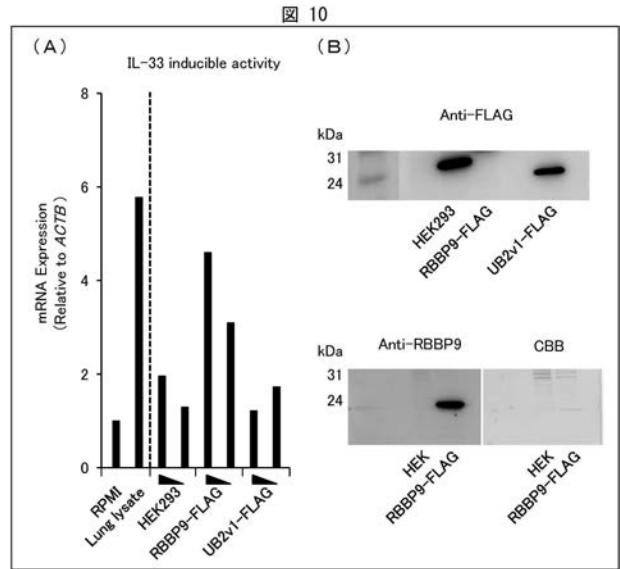
| 1st | 2nd | score | MonoQ12 / MonoQ13 | MonoQ12 / MonoQ11 | M.W. | pI |
|------------------|------------------|--------|-------------------|-------------------|------|------|
| Intervenorin-1 | Intervenorin-1 | 14.456 | 11.938 | 20.0 | 84.4 | 5.27 |
| Intervenorin-2 | Intervenorin-2 | 13.273 | 10.244 | 17.5 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-3 | Intervenorin-3 | 12.726 | 10.244 | 17.5 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-4 | Intervenorin-4 | 11.118 | 9.222 | 15.2 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-5 | Intervenorin-5 | 10.996 | 8.222 | 14.4 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-6 | Intervenorin-6 | 9.791 | 7.279 | 12.4 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-7 | Intervenorin-7 | 8.986 | 6.222 | 11.2 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-8 | Intervenorin-8 | 7.971 | 5.279 | 10.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-9 | Intervenorin-9 | 6.966 | 4.222 | 8.8 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-10 | Intervenorin-10 | 5.961 | 3.279 | 7.6 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-11 | Intervenorin-11 | 4.956 | 2.222 | 6.4 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-12 | Intervenorin-12 | 3.951 | 1.279 | 5.2 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-13 | Intervenorin-13 | 2.946 | 0.222 | 4.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-14 | Intervenorin-14 | 1.941 | 0.279 | 2.8 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-15 | Intervenorin-15 | 0.936 | 0.222 | 1.6 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-16 | Intervenorin-16 | 0.931 | 0.279 | 0.4 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-17 | Intervenorin-17 | 0.926 | 0.222 | 0.2 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-18 | Intervenorin-18 | 0.921 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-19 | Intervenorin-19 | 0.916 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-20 | Intervenorin-20 | 0.911 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-21 | Intervenorin-21 | 0.906 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-22 | Intervenorin-22 | 0.901 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-23 | Intervenorin-23 | 0.896 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-24 | Intervenorin-24 | 0.891 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-25 | Intervenorin-25 | 0.886 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-26 | Intervenorin-26 | 0.881 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-27 | Intervenorin-27 | 0.876 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-28 | Intervenorin-28 | 0.871 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-29 | Intervenorin-29 | 0.866 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-30 | Intervenorin-30 | 0.861 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-31 | Intervenorin-31 | 0.856 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-32 | Intervenorin-32 | 0.851 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-33 | Intervenorin-33 | 0.846 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-34 | Intervenorin-34 | 0.841 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-35 | Intervenorin-35 | 0.836 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-36 | Intervenorin-36 | 0.831 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-37 | Intervenorin-37 | 0.826 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-38 | Intervenorin-38 | 0.821 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-39 | Intervenorin-39 | 0.816 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-40 | Intervenorin-40 | 0.811 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-41 | Intervenorin-41 | 0.806 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-42 | Intervenorin-42 | 0.801 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-43 | Intervenorin-43 | 0.796 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-44 | Intervenorin-44 | 0.791 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-45 | Intervenorin-45 | 0.786 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-46 | Intervenorin-46 | 0.781 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-47 | Intervenorin-47 | 0.776 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-48 | Intervenorin-48 | 0.771 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-49 | Intervenorin-49 | 0.766 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-50 | Intervenorin-50 | 0.761 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-51 | Intervenorin-51 | 0.756 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-52 | Intervenorin-52 | 0.751 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-53 | Intervenorin-53 | 0.746 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-54 | Intervenorin-54 | 0.741 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-55 | Intervenorin-55 | 0.736 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-56 | Intervenorin-56 | 0.731 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-57 | Intervenorin-57 | 0.726 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-58 | Intervenorin-58 | 0.721 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-59 | Intervenorin-59 | 0.716 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-60 | Intervenorin-60 | 0.711 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-61 | Intervenorin-61 | 0.706 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-62 | Intervenorin-62 | 0.701 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-63 | Intervenorin-63 | 0.696 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-64 | Intervenorin-64 | 0.691 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-65 | Intervenorin-65 | 0.686 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-66 | Intervenorin-66 | 0.681 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-67 | Intervenorin-67 | 0.676 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-68 | Intervenorin-68 | 0.671 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-69 | Intervenorin-69 | 0.666 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-70 | Intervenorin-70 | 0.661 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-71 | Intervenorin-71 | 0.656 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-72 | Intervenorin-72 | 0.651 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-73 | Intervenorin-73 | 0.646 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-74 | Intervenorin-74 | 0.641 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-75 | Intervenorin-75 | 0.636 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-76 | Intervenorin-76 | 0.631 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-77 | Intervenorin-77 | 0.626 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-78 | Intervenorin-78 | 0.621 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-79 | Intervenorin-79 | 0.616 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-80 | Intervenorin-80 | 0.611 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-81 | Intervenorin-81 | 0.606 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-82 | Intervenorin-82 | 0.601 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-83 | Intervenorin-83 | 0.596 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-84 | Intervenorin-84 | 0.591 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-85 | Intervenorin-85 | 0.586 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-86 | Intervenorin-86 | 0.581 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-87 | Intervenorin-87 | 0.576 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-88 | Intervenorin-88 | 0.571 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-89 | Intervenorin-89 | 0.566 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-90 | Intervenorin-90 | 0.561 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-91 | Intervenorin-91 | 0.556 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-92 | Intervenorin-92 | 0.551 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-93 | Intervenorin-93 | 0.546 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-94 | Intervenorin-94 | 0.541 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-95 | Intervenorin-95 | 0.536 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-96 | Intervenorin-96 | 0.531 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-97 | Intervenorin-97 | 0.526 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-98 | Intervenorin-98 | 0.521 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-99 | Intervenorin-99 | 0.516 | 0.222 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |
| Intervenorin-100 | Intervenorin-100 | 0.511 | 0.279 | 0.0 | 84.4 | 5.28 |

【 9 】

| 1st | #2/#1 | score | #3/#1 |
|--|--------|--------|-------|
| Putative hydrolase RBBP9 [RBBP9_MOUSE] | 24.448 | 11.828 | |
| Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 1 [UBZV1_MOUSE] | 19.876 | 8.922 | |
| Guanylate kinase [KGUA_MOUSE] | 10.056 | 6.588 | |
| Eukaryotic translation initiation factor 4H [IF4H_MOUSE] | 8.788 | 8.232 | |
| UMP-CMP kinase [KCY_MOUSE] | 7.971 | 7.276 | |
| Flavin reductase (NADPH) [BLVRB_MOUSE] | 7.772 | 2.137 | |
| Protein S100-A11 [S100A_MOUSE] | 7.286 | 3.438 | |
| Rho GDP-dissociation inhibitor 2 [GDIR2_MOUSE] | 5.998 | 2.782 | |
| Protein S100-A11 [S100A_MOUSE] | 5.231 | 3.387 | |
| 2nd | #2/#1 | | |
| Retinol-binding protein 1 [RET1_MOUSE] | 72.060 | | |
| Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 [PEBP1_MOUSE] | 24.904 | | |
| D-dopa:chrome decarboxylase [DOPD_MOUSE] | 23.594 | | |
| Putative hydrolase RBBP9 [RBBP9_MOUSE] | 10.385 | | |
| Apolipoprotein M [APOM_MOUSE] | 10.311 | | |
| Transgelin-2 [TAGL2_MOUSE] | 5.756 | | |
| Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 1 [UBZV1_MOUSE] | 4.289 | | |
| BoA-like protein 1 [BOA1_MOUSE] | 3.549 | | |
| Flavin reductase (NADPH) [BLVRB_MOUSE] | 2.822 | | |

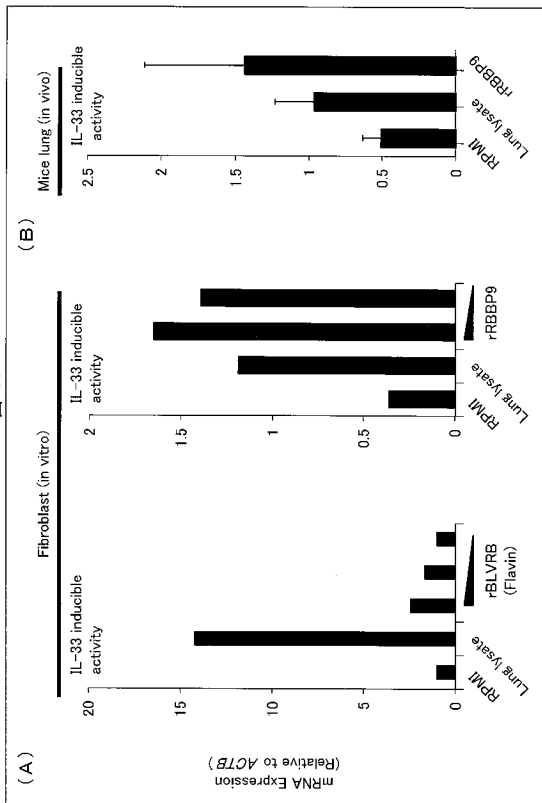
9

【 10 】



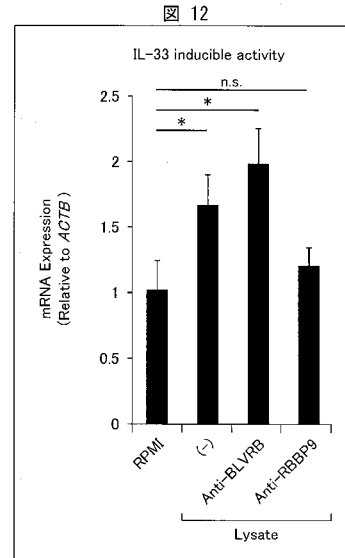
10

【 11 】



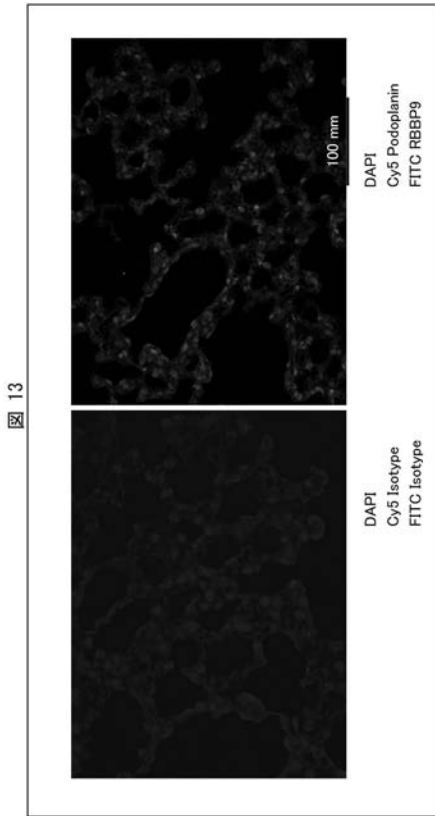
11

【 12 】

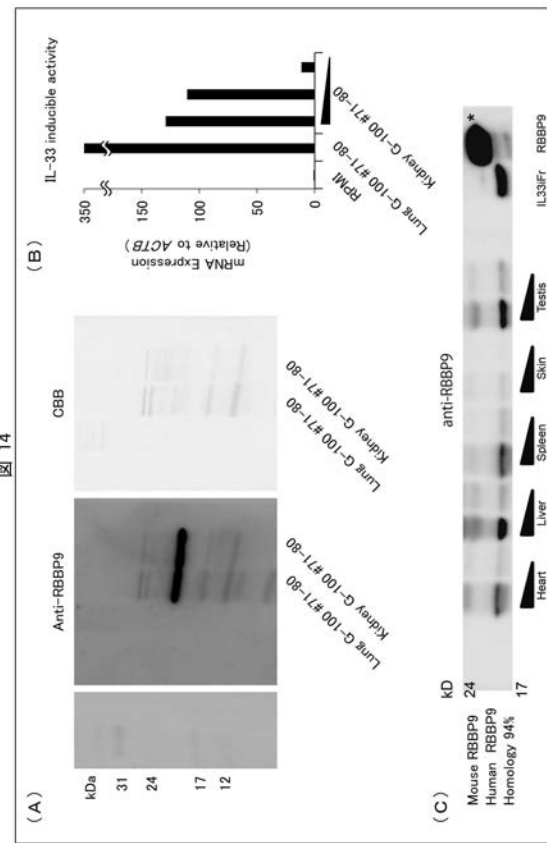


12

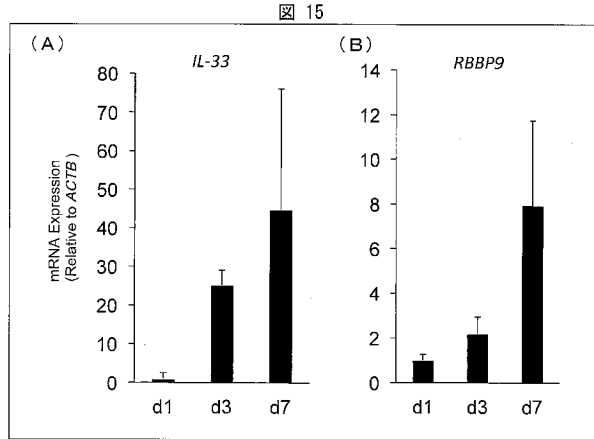
【 1 3 】



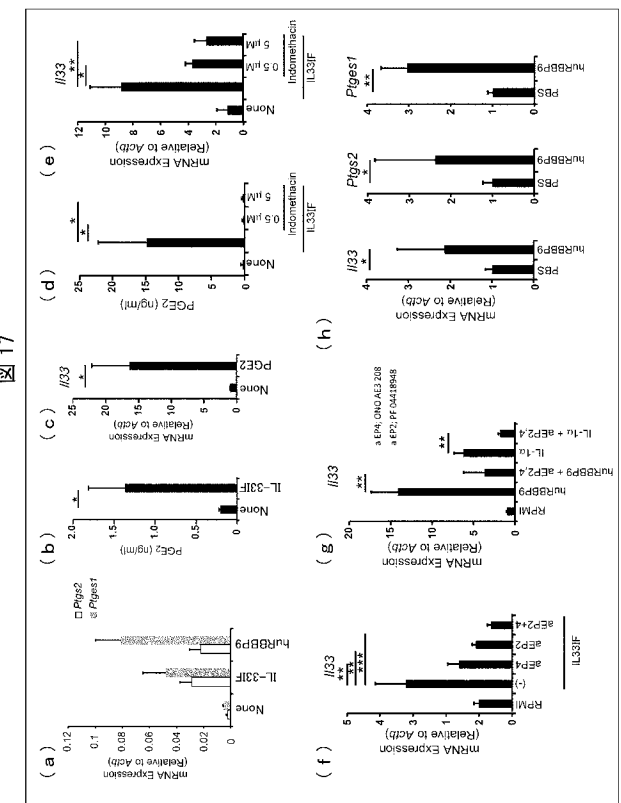
【 1 4 】



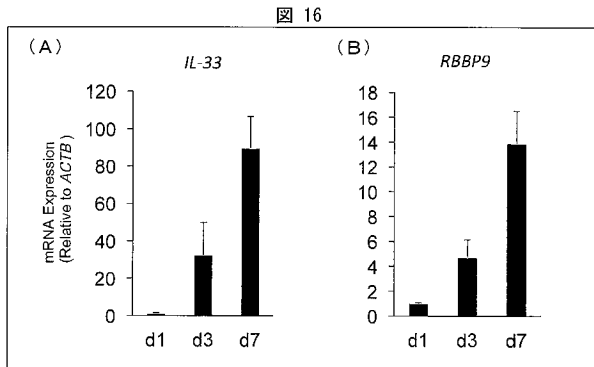
【 1 5 】



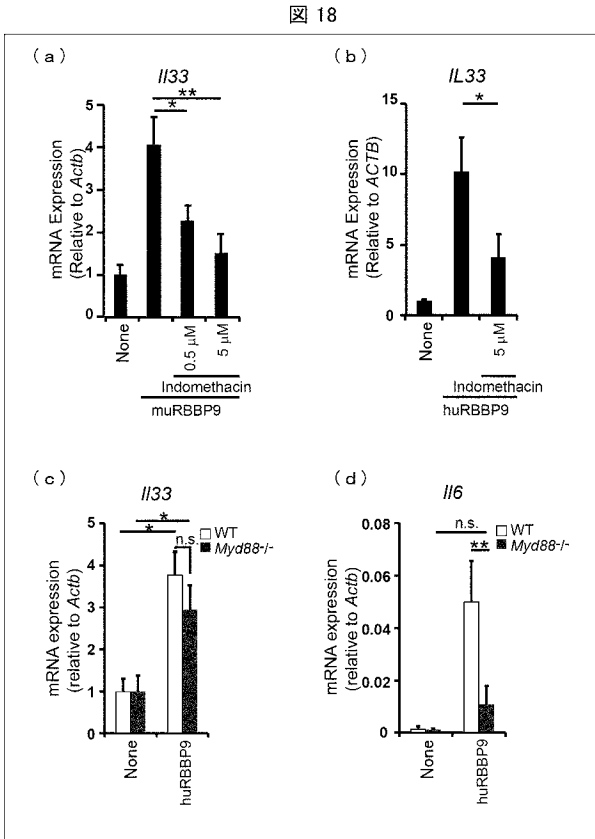
【 1 7 】



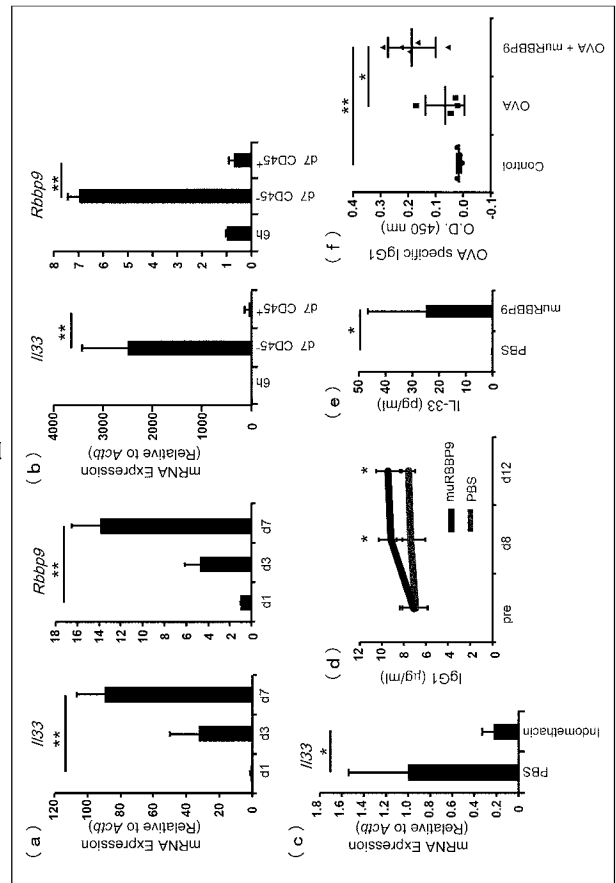
【 1 6 】



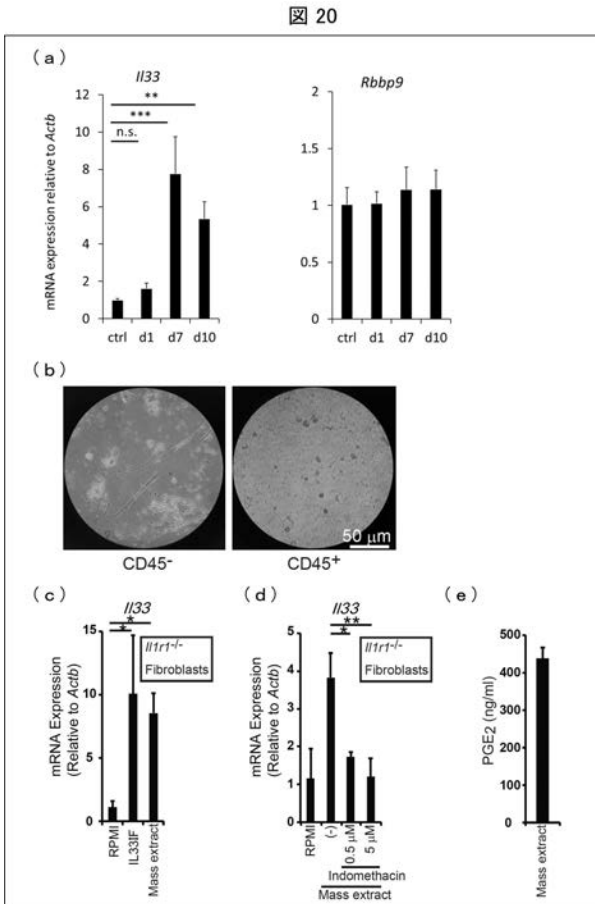
【 18 】



【 19 】



【 20 】



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 P | 1/04 (2006.01) | A 6 1 P | 1/04 | |
| A 6 1 P | 17/00 (2006.01) | A 6 1 P | 17/00 | |
| A 6 1 P | 19/02 (2006.01) | A 6 1 P | 19/02 | |
| A 6 1 P | 21/00 (2006.01) | A 6 1 P | 21/00 | |
| A 6 1 P | 29/00 (2006.01) | A 6 1 P | 29/00 | 1 0 1 |
| A 6 1 P | 31/00 (2006.01) | A 6 1 P | 31/00 | |
| A 6 1 P | 37/02 (2006.01) | A 6 1 P | 37/02 | |
| A 6 1 P | 37/08 (2006.01) | A 6 1 P | 37/08 | |
| A 6 1 K | 39/395 (2006.01) | A 6 1 K | 39/395 | D |
| C 1 2 N | 15/09 (2006.01) | A 6 1 K | 39/395 | N |
| C 1 2 Q | 1/68 (2018.01) | C 1 2 N | 15/00 | A |
| C 0 7 K | 16/18 (2006.01) | C 1 2 Q | 1/68 | A |
| | | C 0 7 K | 16/18 | |

(72)発明者 安田 好文
兵庫県西宮市武庫川町 1 番 1 号 兵庫医科大学内

(72)発明者 善本 知広
兵庫県西宮市武庫川町 1 番 1 号 兵庫医科大学内

F ターム(参考) 2G045 AA25 AA40 CB01 DA77
4B063 QA01 QA19 QQ03 QQ08 QQ53 QR08 QR32 QR36 QR55 QR62
QS25 QS34 QX02
4C084 AA17 NA14 ZA661 ZA662 ZA891 ZA892 ZA941 ZA942 ZB051 ZB052
ZB081 ZB082 ZB131 ZB132 ZB311 ZB312
4C085 AA13 BB17
4H045 AA30 BA10 BA41 DA76 EA22 FA74

(54)【発明の名称】 I L - 3 3 の発現制御剤、アジュバント、アレルギー炎症検出用バイオマーカー、アレルギー炎症を診断するためのデータの取得方法、アレルギー疾患患者の鑑別方法、 I L - 3 3 の発現誘導因子のスクリーニング方法、被検薬剤の有効性および副作用の評価方法、並びに、治療剤

| | | | |
|-------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 用于IL-33的表达控制剂，佐剂，用于检测过敏性炎症的生物标志物，用于获取用于诊断过敏性炎症的数据的方法，用于鉴别过敏性疾病患者的方法，用于筛选IL-33的表达诱导因子的方法，用于评估治疗剂的有效性和副作用 | | |
| 公开(公告)号 | JP2018118965A | 公开(公告)日 | 2018-08-02 |
| 申请号 | JP2018007549 | 申请日 | 2018-01-19 |
| 申请(专利权)人(译) | 中西健治 | | |
| [标]发明人 | 中西憲司 足立匠 安田好文 善本知広 | | |
| 发明人 | 中西 憲司 足立 匠 安田 好文 善本 知広 | | |
| IPC分类号 | A61K45/00 G01N33/53 G01N33/50 G01N33/15 A61P43/00 A61P1/04 A61P17/00 A61P19/02 A61P21/00 A61P29/00 A61P31/00 A61P37/02 A61P37/08 A61K39/395 C12N15/09 C12Q1/68 C07K16/18 | | |
| FI分类号 | A61K45/00 G01N33/53.Q G01N33/50.Z G01N33/15.Z A61P43/00.111 A61P1/04 A61P17/00 A61P19/02 A61P21/00 A61P29/00.101 A61P31/00 A61P37/02 A61P37/08 A61K39/395.D A61K39/395.N C12N15/00.A C12Q1/68.A C07K16/18 | | |
| F-TERM分类号 | 2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/CB01 2G045/DA77 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ53 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR36 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZA661 4C084/ZA662 4C084/ZA891 4C084/ZA892 4C084/ZA941 4C084/ZA942 4C084/ZB051 4C084/ZB052 4C084/ZB081 4C084/ZB082 4C084/ZB131 4C084/ZB132 4C084/ZB311 4C084/ZB312 4C085/AA13 4C085/BB17 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/DA76 4H045/EA22 4H045/FA74 | | |
| 优先权 | 2017009010 2017-01-20 JP | | |
| 外部链接 | Espacenet | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--|---|---|--------------------------|---------------|-------------|--------------------------|---------------|-----------|--------------------------|---------------|-------------|--------------------------|---------------|-------------|--------------------------|---------------|
| 摘要(译) | (19) 日本国特許庁 (JP) | (12) 公開特許公報 (A) | (11) 特許出願公開番号 特願2018-118965 (P2018-118965A) 平成30年8月2日 (2018. 8. 2) | | | | | | | | | | | | | | |
| | (43) 公開日 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 要解决的问题：提供一种正面或负面控制IL-33表达的药物。溶液：推定的水解酶RBBP 9，PGE 1，PGE 2，EP 2，EP 4，EP 2激动剂，EP 4激动剂，COX - 2，COX - 2激活剂，170 kDa的中心体蛋白，组织蛋白酶S，NADH - 细胞色素b 5还原酶3，紧密连接蛋白质ZO-2，鸟苷酸激酶，肌管蛋白相关蛋白10，真核翻译起始因子4H等。【选择图】无 | (5) Int. Cl. F I | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | <table border="1"> <tr> <td>A 6 1 K 45/00 (2006. 01)</td> <td>A 6 1 K 45/00</td> <td>テーマコード (参考)</td> </tr> <tr> <td>G O 1 N 33/53 (2006. 01)</td> <td>G O 1 N 33/53</td> <td>2 G 0 4 5</td> </tr> <tr> <td>G O 1 N 33/50 (2006. 01)</td> <td>G O 1 N 33/50</td> <td>Q 4 B 0 6 3</td> </tr> <tr> <td>G O 1 N 33/15 (2006. 01)</td> <td>G O 1 N 33/15</td> <td>Z 4 C 0 8 4</td> </tr> <tr> <td>A 6 1 P 43/00 (2006. 01)</td> <td>A 6 1 P 43/00</td> <td>I 1 1 4 H 0 4 5</td> </tr> </table> | | | A 6 1 K 45/00 (2006. 01) | A 6 1 K 45/00 | テーマコード (参考) | G O 1 N 33/53 (2006. 01) | G O 1 N 33/53 | 2 G 0 4 5 | G O 1 N 33/50 (2006. 01) | G O 1 N 33/50 | Q 4 B 0 6 3 | G O 1 N 33/15 (2006. 01) | G O 1 N 33/15 | Z 4 C 0 8 4 | A 6 1 P 43/00 (2006. 01) | A 6 1 P 43/00 |
| A 6 1 K 45/00 (2006. 01) | A 6 1 K 45/00 | テーマコード (参考) | | | | | | | | | | | | | | | |
| G O 1 N 33/53 (2006. 01) | G O 1 N 33/53 | 2 G 0 4 5 | | | | | | | | | | | | | | | |
| G O 1 N 33/50 (2006. 01) | G O 1 N 33/50 | Q 4 B 0 6 3 | | | | | | | | | | | | | | | |
| G O 1 N 33/15 (2006. 01) | G O 1 N 33/15 | Z 4 C 0 8 4 | | | | | | | | | | | | | | | |
| A 6 1 P 43/00 (2006. 01) | A 6 1 P 43/00 | I 1 1 4 H 0 4 5 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | (2) 出願番号 特願2018-7549 (P2018-7549) | (7) 出願人 500282368 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | (2) 出願日 平成30年1月19日 (2018. 1. 19) | (7) 出願人 中西 憲司 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | (3) 優先権主張番号 特願2017-9010 (P2017-9010) | (7) 代理人 110000338 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | (3) 優先日 平成29年1月20日 (2017. 1. 20) | (7) 代理人 特許業務法人HARAKENZO WORLD PATENT & TRADE MARK | | | | | | | | | | | | | | | |
| | (3) 優先権主張国 日本国 (JP) | (7) 代理人 中西 憲司 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | (出願人による申告) 平成27年度、国立研究開発法人日本医療研究開発機構、創薬基盤推進研究事業「アジュバント安全性評価データベースの構築研究」委託研究開発、産業技術力強化法第19条の適用を受ける特許出願 | (7) 代理人 兵庫県西宮市武庫川町1番1号 兵庫医科大学内 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | (7) 代理人 足立 匠 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | (7) 代理人 兵庫県西宮市武庫川町1番1号 兵庫医科大学内 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 最終頁に続く | | | | | | | | | | | | | | | |
| | (5) 【発明の名称】 IL-33の発現制御剤、アジュバント、アレルギー炎症検出用バイオマーカー、アレルギー炎症を診断するためのデータの取得方法、アレルギー疾患患者の鑑別方法、IL-33の発現誘導 | | | | | | | | | | | | | | | | |