

(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2012-53034

(P2012-53034A)

(43) 公開日 平成24年3月15日(2012.3.15)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO1N 33/53 (2006.01)	GO1N 33/53 D	4C085
A61K 39/395 (2006.01)	A61K 39/395 D	

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 11 頁)

(21) 出願番号	特願2011-163840 (P2011-163840)	(71) 出願人	503196776
(22) 出願日	平成23年7月27日 (2011.7.27)		株式会社ベルセウスプロテオミクス
(31) 優先権主張番号	特願2010-176845 (P2010-176845)		東京都目黒区駒場四丁目7番6号 パークビル
(32) 優先日	平成22年8月6日 (2010.8.6)	(71) 出願人	510215455
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		医療法人財団白十字会
			長崎県佐世保市大和町15番地
特許法第30条第1項適用申請有り (1) 2010年2月8日 九州リウマチ学会事務局「第39回九州リウマチ学会プログラム抄録集」に発表 (2) 2010年3月7日 一般社団法人日本リウマチ学会「第39回九州リウマチ学会」に発表 (3) 2010年3月19日 一般社団法人日本リウマチ学会「第54回日本リウマチ学会総会・学術集会プログラム抄録集」に発表 (4) 2010年4月24日 一般社団法人日本リウマチ学会総会・学術集会に発表		(74) 代理人	110000084
			特許業務法人アルガ特許事務所
		(74) 代理人	100077562
			弁理士 高野 登志雄
		(74) 代理人	100096736
			弁理士 中嶋 俊夫
		(74) 代理人	100117156
			弁理士 村田 正樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 炎症状態の検出方法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 IL-6 阻害薬による治療を受けている患者における炎症状態を正確に判定又は診断する方法を提供する。

【解決手段】 IL-6 阻害薬投与を受けている患者由来の試料中の PTX3 濃度を測定することを特徴とする IL-6 阻害薬投与を受けている患者における炎症状態の検出方法である。PTX3 濃度は炎症症状が改善している場合は低値を示し、炎症症状が悪化した場合や感染症に罹患した場合には明確な上昇を示すことから炎症状態を判定する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

IL - 6 阻害薬投与を受けている患者由来の試料中の PTX 3 濃度を測定することを特徴とする IL - 6 阻害薬投与を受けている患者における炎症状態の検出方法。

【請求項 2】

前記炎症状態が、IL - 6 阻害薬の対象疾患の炎症状態又は感染症による炎症状態である請求項 1 記載の検出方法。

【請求項 3】

前記 PTX 3 濃度及び、IL - 6 阻害薬投与を受けている患者由来の試料中の CRP 濃度を組み合わせて検出する請求項 1 又は 2 記載の検出方法。

10

【請求項 4】

試料が、血液、血漿又は血清である請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項記載の検出方法。

【請求項 5】

PTX 3 濃度の測定が、抗 PTX 3 抗体を用いて試料中の PTX 3 濃度を測定する免疫学的測定である請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載の検出方法。

【請求項 6】

免疫学的測定が、ELISA である請求項 5 記載の検出方法。

【請求項 7】

抗 PTX 3 抗体を含有する、IL - 6 阻害薬投与を受けている患者の炎症状態診断薬。

【発明の詳細な説明】

20

【技術分野】

【0001】

本発明は、IL - 6 阻害薬投与を受けている患者における炎症状態の検出方法に関する。

【背景技術】

【0002】

PTX 3 は、Pentraxin、Pentaxin、TSG - 14、MPTX 3 と呼ばれ、インターロイキン 1 (IL - 1) 刺激を受けたヒト臍帯内皮細胞に発現しているものとして発見されたペントラキシン (Pentraxin) ファミリーに属する分泌タンパク質である (非特許文献 1)。

30

ペントラキシンファミリーは Long Pentraxin と Short Pentraxin に大別される。炎症性タンパクとして知られている C reactive protein (CRP) や serum amyloid P component (SAP) は Short Pentraxin に属し、構造の点で非常に類似している (非特許文献 2)。CRP は特に炎症マーカーとして広く使用されている。

【0003】

関節リウマチ患者では、CRP 値の変動は関節リウマチによる炎症を反映するのみならず、感染症等による炎症状態を反映して上昇する。近年、関節リウマチ等の画期的な治療薬として IL - 6 の作用を阻害する働きを持つ抗 IL - 6 受容体抗体であるトシリズマブが上市された。CRP は炎症時に産生される IL - 6 により正の調節を受けて肝臓で合成され血中に分泌される。したがって、トシリズマブ投与患者では CRP の合成経路がトシリズマブにより阻害されるため CRP が産生されず、CRP を炎症マーカーとして使用することができないことが問題となっている。また、トシリズマブは IL - 6 の作用を抑えるという作用機序から、発熱などの症状や血中 CRP 濃度の上昇をマスクしてしまうという性質を持つ。その結果、トシリズマブ投与患者は感染症に罹患や憎悪し易く、患者自身や医師が感染症の罹患に気づかないままに重篤な状態に陥ることが重大な問題となっている。トシリズマブ投与患者の炎症状態を知るためには、CRP や白血球数のわずかな変動や微細な症状の観察に頼らざるをえず、トシリズマブ投与患者においても使用可能な炎症マーカーが求められている。

40

【0004】

50

他方、CRPと類似する構造を持つPTX3もまたCRPと同様に炎症マーカーとなることが知られている（非特許文献3）。関節リウマチについては、関節リウマチ患者の滑液で正常コントロールと比較してPTX3タンパク質の発現が高いこと、関節リウマチ患者より採取した滑膜組織にはPTX3タンパク質が強く発現していることが報告されている（非特許文献4）。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】Arthritis and Rheumatism,44/12(2841-50),2001

【非特許文献2】Breviario et al.: J. Biol. Chem., 267(31), 22190-7 (1992)

10

【非特許文献3】Bottazzi et al.:J.Leucoc.Biol.,79(5),909-12,(2006)

【非特許文献4】Luchetti et al.: Clin Exp Immunol.,119:196-202(2000)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

本発明の課題は、IL-6阻害薬による治療を受けている患者における炎症状態を正確に判定又は診断する方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0007】

そこで本発明者は、IL-6阻害薬投与を受けている患者の炎症状態を正確に把握すべく、CRP濃度に加えてPTX3濃度を測定し、それらの血中濃度と、炎症状態、例えば炎症性疾患の炎症症状の改善又は増化、感染症による炎症の発生等との相関性を検討したところ、CRP濃度は炎症症状の悪化、感染症の発生にもかかわらず低値となるにもかかわらず、PTX3濃度は炎症症状が改善している場合は低値を示し、炎症症状が悪化した場合や感染症に罹患した場合には明確な上昇を示すことから、PTX3濃度はIL-6阻害薬投与患者における炎症状態を正確に把握するためのマーカーとして有用であることを見出し、本発明を完成した。

20

【0008】

すなわち、本発明は、IL-6阻害薬投与を受けている患者由来の試料中のPTX3濃度を測定することを特徴とするIL-6阻害薬投与を受けている患者における炎症状態の検出方法を提供するものである。

30

また、本発明は、前記炎症状態が、IL-6阻害薬の対象疾患の炎症状態又は感染症による炎症状態である上記の検出方法を提供するものである。

また、本発明は、前記PTX3濃度及び、IL-6阻害薬投与を受けている炎症性疾患患者由来の試料中のCRP濃度を組み合わせて検出する上記の検出方法を提供するものである。

また、本発明は、抗PTX3抗体を含有する、IL-6阻害薬投与を受けている患者の炎症状態診断薬を提供するものである。

【発明の効果】

【0009】

本発明によれば、従来IL-6阻害薬による治療を受けている患者特有の問題、すなわち発熱などの炎症症状の悪化、感染症の発生を発見できないという問題を、的確に発見でき、IL-6阻害薬投与に加えて、適切な治療が可能となる。

40

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】トシリズマブ治療を受けている関節リウマチ患者26症例のDAS28-ESR値の平均値の推移を示す図である。

【図2】トシリズマブ治療を受けている関節リウマチ患者26症例の血中CRP濃度及び血中PTX3濃度の推移を示す図である。「ベースライン」は、治療開始前のCRP濃度の数値を示す。

50

【図3】トシリズマブ治療中に感染症に罹患した患者のDAS28 - ESR値、血中CRP濃度、及び血中PTX3濃度の推移を示す図である。

【図4】トシリズマブ治療中に感染症に罹患した患者のDAS28 - ESR値、血中CRP濃度、及び血中PTX3濃度の推移を示す図である。

【図5】トシリズマブ治療中に関節疼痛、腫脹の憎悪が認められた患者のDAS28 - ESR、血中CRP濃度及び血中PTX3濃度の推移を示す図である。

【図6】実施例3の患者のPTX3 / CRP比の推移を示す図である。

【図7】実施例4の患者のPTX3 / CRP比の推移を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0011】

10

本発明は、IL-6阻害薬投与を受けている患者における炎症状態を診断するものである。ここでIL-6阻害薬は、IL-6の生物学的活性を抑制する薬剤をいう。例えば、IL-6、IL-6受容体またはgp130（gp130は分子量約130kDの糖タンパク質であり、IL-6受容体と会合して細胞内にシグナルを伝達するタンパク質である）の作用を阻害する薬剤であるが、IL-6の生物学的活性を抑制する薬剤であればこれらの例に限られない。具体的には、抗IL-6抗体、抗IL-6受容体抗体、抗gp130抗体、またはIL-6、IL-6受容体若しくはgp130を阻害するペプチド、タンパク質若しくは低分子化合物を例示することができる。抗IL-6抗体としてCNT0328、抗IL-6受容体拮抗薬としてトシリズマブが挙げられる。このうち、抗IL-6受容体抗体が好ましく、特にトシリズマブが好ましい。IL-6阻害薬は、望ましくないIL-6の増加を伴う疾患の治療に用いることができる。関節リウマチ、若年性特発性関節炎、キャスルマン病、クローン病、潰瘍性大腸炎、心臓粘液腫、骨髄腫、成人スチル病、多発性軟骨炎、高安動脈炎、反応性関節炎、RS3PE症候群で治療例が存在する。本発明は、IL-6阻害薬治療の適用疾患に限らず、IL-6阻害薬投与患者を対象とすることができるが、関節リウマチ患者を対象とするのが特に好ましい。また、IL-6阻害薬投与患者のうち、IL-6阻害薬の効果が現れCRP値が、炎症状態を判断するための基準値以下に低下した患者を対象とするのが好ましい。

20

【0012】

本発明においては、前記患者由来の試料中のPTX3濃度を測定する。試料は、PTX3タンパク質が含まれる可能性のある試料であれば特に制限されないが、ヒトから採取された試料が好ましい。試料の具体的な例としては、例えば、血液、血漿、血管外液、脳脊髄液、滑液、胸膜液、血清、リンパ液、唾液、尿などを挙げることができるが、好ましいのは血液、血清、血漿である。

30

【0013】

本発明において測定するPTX3は、特に限定されず、全長PTX3でも、その断片でもよい。

試料に含まれるPTX3タンパク質の検出方法は特に限定されないが、抗PTX3抗体を用いた免疫学的方法により検出することが好ましい。免疫学的方法としては、例えば、ラジオイムノアッセイ、エンザイムイムノアッセイ、蛍光イムノアッセイ、発光イムノアッセイ、免疫沈降法、免疫比濁法、ウエスタンブロット、免疫染色、免疫拡散法などを挙げることができるが、好ましくはエンザイムイムノアッセイであり、特に好ましいのは酵素結合免疫吸着定量法（enzyme-linked immunosorbent assay：ELISA）（例えば、sandwich ELISA）である。ELISAなどの上述した免疫学的方法は当業者に公知の方法により行うことが可能である。

40

【0014】

抗PTX3抗体を用いた一般的な検出方法としては、例えば、抗PTX3抗体を支持体に固定し、ここに被検試料を加え、インキュベーションを行い抗PTX3抗体とPTX3タンパク質を結合させた後に洗浄して、抗PTX3抗体を介して支持体に結合したPTX3タンパク質を検出することにより、被検試料中のPTX3タンパク質の検出を行う方法を挙げることができる。

50

【0015】

本発明において用いられる支持体としては、例えば、アガロース、セルロースなどの不溶性の多糖類、シリコン樹脂、ポリスチレン樹脂、ポリアクリルアミド樹脂、ナイロン樹脂、ポリカーボネイト樹脂などの合成樹脂や、ガラスなどの不溶性の支持体を挙げることができる。これらの支持体は、ビーズやプレートなどの形状で用いることが可能である。ビーズの場合、これらが充填されたカラムなどを用いることができる。プレートの場合、マルチウェルプレート（96穴マルチウェルプレート等）、やバイオセンサーチップなどを用いることができる。抗PTX3抗体と支持体との結合は、化学結合や物理的な吸着などの通常用いられる方法により結合することができる。これらの支持体はすべて市販のものを用いることができる。

10

【0016】

抗PTX3抗体とPTX3タンパク質との結合は、通常、緩衝液中で行われる。緩衝液としては、例えば、リン酸緩衝液、Tris緩衝液、クエン酸緩衝液、ホウ酸塩緩衝液、炭酸塩緩衝液、などが使用される。また、インキュベーションの条件としては、すでによく用いられている条件、例えば、4～室温にて1時間～24時間のインキュベーションが行われる。インキュベート後の洗浄は、PTX3タンパク質と抗PTX3抗体の結合を妨げないものであれば何でもよく、例えば、Tween20等の界面活性剤を含む緩衝液などが使用される。

【0017】

本発明のPTX3タンパク質測定方法においては、PTX3タンパク質を検出したい被検試料の他に、コントロール試料を設置してもよい。コントロール試料としては、PTX3タンパク質を含まない陰性コントロール試料やPTX3タンパク質を含む陽性コントロール試料などがある。この場合、PTX3タンパク質を含まない陰性コントロール試料で得られた結果、PTX3タンパク質を含む陽性コントロール試料で得られた結果と比較することにより、被検試料中のPTX3タンパク質を検出することが可能である。また、濃度を段階的に変化させた一連のコントロール試料を調製し、各コントロール試料に対する検出結果を数値として得て、標準曲線を作成し、被検試料の数値から標準曲線に基づいて、被検試料に含まれるPTX3タンパク質を定量的に検出することも可能である。

20

【0018】

抗PTX3抗体を介して支持体に結合したPTX3タンパク質の測定の好ましい態様として、標識物質で標識された抗PTX3抗体を用いる方法を挙げることができる。

30

【0019】

例えば、支持体に固定された抗PTX3抗体に被検試料を接触させ、洗浄後に、PTX3タンパク質を特異的に認識する標識抗体を用いて検出する。

【0020】

抗PTX3抗体の標識は通常知られている方法により行うことが可能である。標識物質としては、蛍光色素、酵素、補酵素、化学発光物質、放射性物質などの当業者に公知の標識物質を用いることが可能であり、具体的な例としては、ラジオアイソトープ（ ^{32}P 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^3H 、 ^{131}I など）、フルオレセイン、ローダミン、ダンシルクロリド、ウンベリフェロン、ルシフェラーゼ、ペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、ホースラディッシュパーオキシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、サッカリドオキシダーゼ、マイクロペルオキシダーゼ、ピオチンなどを挙げることができる。標識物質としてピオチンを用いる場合には、ピオチン標識抗体を添加後に、アルカリホスファターゼなどの酵素を結合させたアビジンをさらに添加することが好ましい。標識物質と抗PTX3抗体との結合には、グルタルアルデヒド法、マレイミド法、ピリジルジスルフィド法、過ヨウ素酸法、などの公知の方法を用いることができる。

40

【0021】

具体的には、抗PTX3抗体を含む溶液をプレートなどの支持体に加え、抗PTX3抗体を支持体に固定する。プレートを洗浄後、タンパク質の非特異的な結合を防ぐため、例

50

例えば B S A、ゼラチン、アルブミンなどでブロッキングする。再び洗浄し、被検試料をプレートに加える。インキュベートの後、洗浄し、標識抗 P T X 3 抗体を加える。適度なインキュベーションの後、プレートを洗浄し、プレートに残った標識抗 P T X 3 抗体を検出する。検出は当業者に公知の方法により行うことができ、例えば、放射性物質による標識の場合には液体シンチレーションや R I A 法により検出することができる。酵素による標識の場合には基質を加え、基質の酵素的変化、例えば発色を吸光度計により検出することができる。基質の具体的な例としては、2, 2 - アジノビス (3 - エチルベンゾチアゾリン - 6 - スルホン酸) ジアンモニウム塩 (A B T S)、1, 2 - フェニレンジアミン (オルソ - フェニレンジアミン)、3, 3', 5, 5' - テトラメチルベンジジン (T M E) などを挙げるができる。蛍光物質の場合には蛍光光度計により検出することができる。

10

【 0 0 2 2 】

P T X 3 タンパク質測定方法の特に好ましい態様として、ビオチンで標識された抗 P T X 3 抗体およびアビジンを用いる方法を挙げるができる。

【 0 0 2 3 】

具体的には、抗 P T X 3 抗体を含む溶液をプレートなどの支持体に加え、抗 P T X 3 抗体を固定する。プレートを洗浄後、タンパク質の非特異的な結合を防ぐため、例えば B S A などブロッキングする。再び洗浄し、被検試料をプレートに加える。インキュベートの後、洗浄し、ビオチン標識抗 P T X 3 抗体を加える。適度なインキュベーションの後、プレートを洗浄し、アルカリホスファターゼ、ペルオキシダーゼなどの酵素と結合したアビジンを加える。インキュベーション後、プレートを洗浄し、アビジンに結合している酵素に対応した基質を加え、基質の酵素的変化などを指標に P T X 3 タンパク質を検出する。

20

【 0 0 2 4 】

P T X 3 タンパク質測定方法の他の態様として、P T X 3 タンパク質を特異的に認識する一次抗体を一種類以上、および該一次抗体を特異的に認識する二次抗体を一種類以上用いる方法を挙げるができる。

【 0 0 2 5 】

例えば、支持体に固定された一種類以上の抗 P T X 3 抗体に被検試料を接触させ、インキュベーションした後、洗浄し、洗浄後に結合している P T X 3 タンパク質を、一次抗 P T X 3 抗体および該一次抗体を特異的に認識する一種類以上の二次抗体により検出する。この場合、二次抗体は好ましくは標識物質により標識されている。

30

【 0 0 2 6 】

P T X 3 タンパク質の測定方法の他の態様としては、凝集反応を利用した検出方法を挙げるができる。該方法においては、抗 P T X 3 抗体を感作した担体を用いて P T X 3 を検出することができる。抗体を感作する担体としては、不溶性で、非特異的な反応を起こさず、かつ安定である限り、いかなる担体を使用してもよい。例えば、ラテックス粒子、ベントナイト、コロジオン、カオリン、固定羊赤血球等を使用することができるが、ラテックス粒子を使用するのが好ましい。ラテックス粒子としては、例えば、ポリスチレンラテックス粒子、スチレン - ブタジエン共重合体ラテックス粒子、ポリビニルトルエンラテックス粒子等を使用することができるが、ポリスチレンラテックス粒子を使用するのが好ましい。感作した粒子を試料と混合し、一定時間攪拌する。試料中に抗 P T X 3 抗体が高濃度で含まれるほど粒子の凝集度が大きくなるので、凝集を肉眼でみることにより P T X 3 を検出することができる。また、凝集による濁度を分光光度計等により測定することによっても検出することが可能である。

40

【 0 0 2 7 】

P T X 3 タンパク質の測定方法の他の態様としては、例えば、表面プラズモン共鳴現象を利用したバイオセンサーを用いた方法を挙げるができる。表面プラズモン共鳴現象を利用したバイオセンサーはタンパク質 - タンパク質間の相互作用を微量のタンパク質を用いてかつ標識することなく、表面プラズモン共鳴シグナルとしてリアルタイムに観察す

50

ることが可能である。例えば、B I A c o r e (P h a r m a c i a 製) 等のバイオセンサーを用いることにより P T X 3 タンパク質と抗 P T X 3 抗体の結合を検出することが可能である。具体的には、抗 P T X 3 抗体を固定化したセンサーチップに、被検試料を接触させ、抗 P T X 3 抗体に結合する P T X 3 タンパク質を共鳴シグナルの変化として検出することができる。

【 0 0 2 8 】

本発明の測定方法は、種々の自動検査装置を用いて自動化することもでき、一度に大量の試料について検査を行うことも可能である。

【 0 0 2 9 】

本発明は、I L - 6 阻害薬投与を受けている患者の炎症状態診断薬の提供をも目的とするが、該診断薬は少なくとも抗 P T X 3 抗体を含む。ここで診断薬には、キットも含まれる。該診断薬が E L I S A 法に基づく場合は、抗体を固相化する担体を含んでいてもよく、抗体があらかじめ担体に結合していてもよい。該診断薬がラテックス等の担体を用いた凝集法に基づく場合は抗体が吸着した担体を含んでいてもよい。また、該診断薬は、適宜、ブロッキング溶液、反応溶液、反応停止液、試料を処理するための試薬等を含んでいてもよい。

【 0 0 3 0 】

I L - 6 阻害薬投与を受けている炎症性疾患患者由来の試料中の P T X 3 濃度は、当該患者の炎症状態を正確に反映している。すなわち、I L - 6 阻害薬投与により炎症が抑制されている場合は、P T X 3 濃度は低値を示すが、症状が悪化（例えば、発熱、疼痛、腫脹の悪化）した場合は上昇し、また感染症により炎症が生じている場合も上昇する。これに対し、炎症マーカーとして広く用いられている C R P 濃度は、I L - 6 阻害薬投与により低下し、症状が悪化しても感染症が生じてても低値を示す。

このように前記患者の P T X 3 濃度は、炎症状態を正確に反映するので、健常者の P T X 3 濃度又は炎症性疾患患者が I L - 6 阻害薬投与により炎症が抑制された状態の P T X 3 濃度の比べて P T X 3 濃度が高い場合には、当該患者は炎症が生じていると診断することができる。このような P T X 3 濃度が高くなっているか否かは、予め準備しておいた健常者の P T X 3 濃度又は I L - 6 阻害薬投与により炎症が抑制された状態の P T X 3 濃度との統計学的な差があるか否かにより判定できる。ここで、炎症が生じている場合には、前記のように炎症症状の悪化、感染症による炎症の発生が含まれる。

また、個々の患者の経時的な P T X 3 値の推移を観察することによっても I L - 6 阻害剤の投与を受けている患者の炎症状態を判定することが可能である。例えば、ある時期の P T X 3 濃度に比べて、次の測定時期の P T X 3 濃度が高ければ、炎症が増悪したと判断することができる。

【 0 0 3 1 】

また、前記患者の C R P 濃度は、I L - 6 阻害薬投与により速やかに低下し、その後の炎症発生にもかかわらず上昇しない。従って、P T X 3 濃度と C R P 濃度を組み合わせることにより、I L - 6 阻害薬投与患者の炎症状態を診断することができる。例えば P T X 3 / C R P 比を測定すれば、当該患者の炎症状態を効率良く診断することができる。I L - 6 阻害薬の投与を受けていない患者では、炎症状態の存在により P T X 3、C R P の両方が上昇するため、P T X 3 / C R P 比は炎症状態の程度に依存して大きな変動を示さない。しかし、I L - 6 阻害薬の投与を受けている患者では、P T X 3 / C R P 比は炎症状態の存在により顕著に上昇する。I L - 6 阻害薬の投与を受けている患者の P T X 3 (n g / m L) / C R P (m g / d L) 比が、100 以上であれば炎症状態の存在が疑われる。P T X 3 / C R P 比の炎症状態の判定のための基準値は、90 から 160 に設定するのが好ましく、特に好ましくは 95 から 140、さらに好ましくは 100 から 120 である。ここで、P T X 3 / C R P 比の算出に使用する数値は P T X 3 は n g / m L、C R P は m g / d L 単位を使用した。他の単位を使用する場合には前記基準値と換算することが可能である。なお、使用した測定系の C R P 値が 0 であった場合には、その測定系の最低検出感度の数値を C R P 値として代入することにより P T X 3 / C R P 比を算出するこ

10

20

30

40

50

とができる。

また、個々の患者の経時的なPTX3 / CRP比の推移を観察することによってもIL-6阻害薬の投与を受けている患者の炎症状態を判定することが可能である。例えば、ある時期のPTX3 / CRPに比べて、次の測定時期のPTX3 / CRP比が大きければ、炎症が増悪したと判断することができる。

【0032】

なおCRP濃度は、公知の方法によって測定できる。ELISA法、免疫比濁法、ラテックス凝集法等を用いた測定キットが市販されている。

【実施例】

【0033】

10

実施例 1

<対象>

関節リウマチ患者26名を対象とした。トシリズマブ8mg/kgを4週間間隔で点滴静脈注射により投与し、4週間毎に最大60週間の観察を行った。患者背景は表1の通りである。

トシリズマブ投与開始前及びトシリズマブの投与の際に、DAS28-ESRスコア、CRP及びPTX3値の測定を行った。1回目の投与時に1回目の測定、4週間後の2回目の投与時に2回目の測定、というように最大60週間まで(15回)測定を行った。血清CRP値は、エルピアエースCRP-LII(三菱化学メディエンス社製)、血漿PTX3値は加EDTA血漿を用いてPTX3-ELISAキット(ペルセウスプロテオミクス社製)により測定した。また、感染症が疑われたときには白血球数(WBC)を測定した。なお、PTX3-ELISAキットは、WO 2005/080981の実施例8と同様にして得られたものである。

20

【0034】

【表1】

全症例(n=26)	
年齢(歳)	56.9±13.7
性別(女性/男性)	23/3
罹病期間(年)	13.8±10.7
Stage(n)	I:0, II:3, III:4, IV:19
Class(n)	1:0, 2:23, 3:3, 4:0
圧痛関節痛(個:28関節)	15.2±7.9
腫脹関節痛(個:28関節)	4.8±3.2
全般VAS(mm)	48.0±19.5
ESR(mm/時)	61.8±35.9
CRP(mg/dl)	1.99±2.19
DAS28-ESR	5.97±1.41
DMARDs併用(n)	23例(88.5%) MTX:12(7.5±1.2mg/週) SASP:1 LFM:5 TAC:3
ステロイド併用(n)	14例(53.8%)(6.3±2.9mg/日)

30

40

【0035】

DAS28-ESRスコアは次の通りに算出した。

(1) 疼痛・圧痛関節(Ritchie関節指数)(T28)

(2) 腫脹関節数(S28)

50

(3) 患者の全般健康状態 (VAS 100 mmによる)

(4) 赤沈値 (ESR)、単位: mm/時

【0036】

(1) ~ (4) を次の計算式にあてはめて DAS28 - ESR スコアを算出した。

【0037】

【数1】

$$\text{DAS28-ESR} = 0.555 \times \sqrt{(T28)} + 0.284 \times \sqrt{(S28)} + 0.7 \times \text{LN}(\text{ESR}) + 0.0142 \times (\text{VAS})$$

【0038】

10

(1) (2) は28箇所の関節について評価した結果を用いるが、当該28関節及びVASの評価を含むDAS28 - ESRの具体的算出方法については当業者に公知の方法により行うことができる (Prevoo MLL, et al: Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum38:44-48, 1995)。

【0039】

実施例2

<全症例の結果>

26症例のDAS - ESR値の平均値の推移を図1、CRP値又はPTX3値の平均値の推移を図2に示した。CRP値はトシリズマブ投与開始4週間後より、治療開始前のCRP値に対して有意な低下を示した。PTX3値はトシリズマブ投与開始4週以降に治療開始前のCRP値に対して有意な低下を示した (図2)。

20

【0040】

実施例3

<感染症とCRP値、PTX3値>

トシリズマブ治療中に感染症に罹患した患者2名のDAS28 - ESR、CRP値、PTX3値の推移を図3 (症例2) 及び図4 (症例28) に示す。感染症の診断は、病歴、患者の主訴及び観察される症状、理学所見、画像診断等に基づいて医師により行われた。

感染症罹患時に、一般的に炎症マーカーとして用いられるCRP値は上昇しなかった。また、白血球数 (WBC、個/μL) は顕著な上昇を示さなかった。しかし、PTX3値は、感染症の臨床症状の発現に伴い上昇が認められた。

30

【0041】

実施例4

<関節疼痛・腫脹の増悪とPTX3>

トシリズマブ治療中に関節疼痛・腫脹の増悪が認められた患者1名のDAS28 - ESR、CRP値、PTX3値の推移を図5に示す (症例27)。関節疼痛・腫脹は医師により理学所見として有無が判断された。CRP値、DAS28 - ESRが関節疼痛・腫脹の増悪に伴いほとんど変動しなかったのに対して、PTX3値は鋭敏に上昇した。

40

【0042】

実施例5

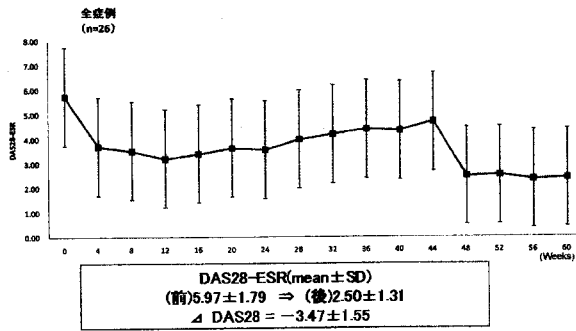
<PTX3/CRP比と炎症症状>

実施例3に記載の患者2名のPTX3/CRP比を求め、その推移を図6、実施例4に記載の患者1名のPTX3/CRP比の推移を図7に示した。PTX3濃度はng/mL単位、CRP濃度はmg/dL単位での数値をPTX3/CRP比の算出に使用した。また、CRPの測定値が0であった場合には、CRP濃度を使用した測定系の最低検出感度である0.1mg/mLと擬制して計算を行った。

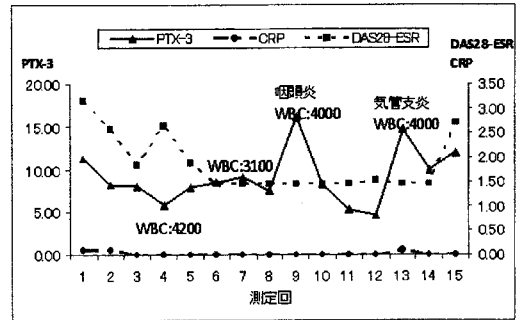
その結果、感染症および関節リウマチの増悪による炎症の発生時 (図6、7に矢印で示す) にPTX3/CRP比が上昇することが明らかになった。PTX3/CRP比が概ね100以上になった場合には、何らかの炎症状態の発生が疑うことができる。

50

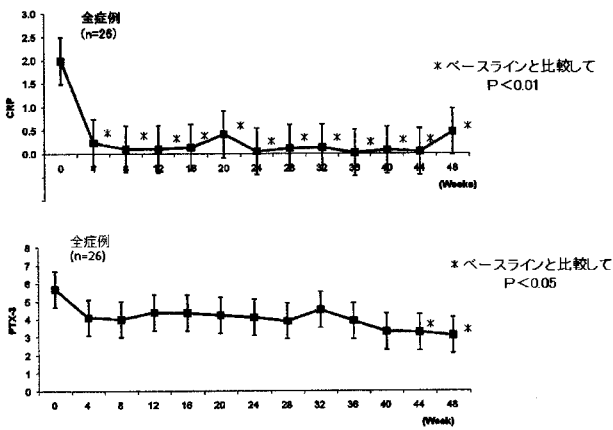
【 図 1 】



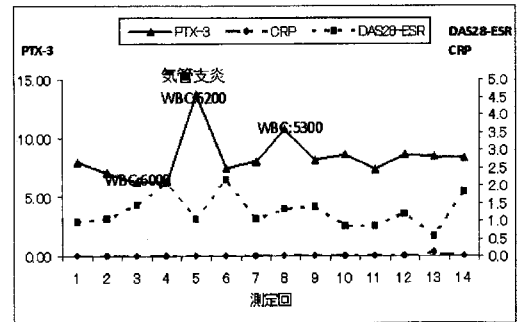
【 図 3 】



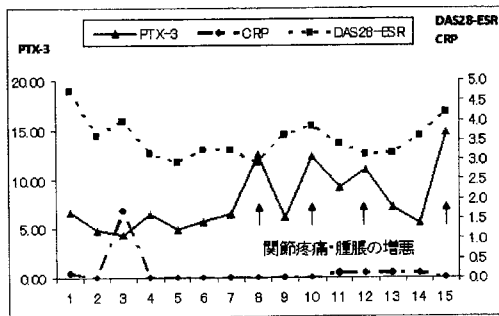
【 図 2 】



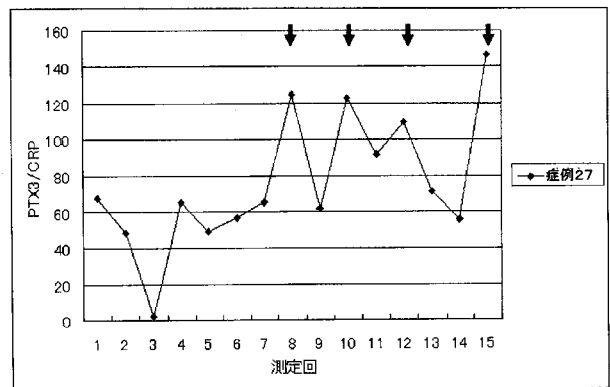
【 図 4 】



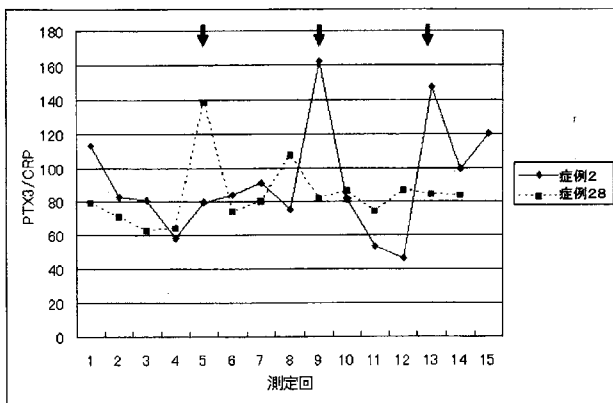
【 図 5 】



【 図 7 】



【 図 6 】



フロントページの続き

- (74)代理人 100111028
弁理士 山本 博人
- (72)発明者 植木 幸孝
長崎県佐世保市大和町 1 5 番地 医療法人財団白十字会 佐世保中央病院内
- (72)発明者 升田 喜士
東京都目黒区駒場 4 - 7 - 6 株式会社ペルセウスプロテオミクス内
- (72)発明者 宮本 恭子
東京都目黒区駒場 4 - 7 - 6 株式会社ペルセウスプロテオミクス内
- (72)発明者 宮澤 ちひろ
東京都目黒区駒場 4 - 7 - 6 株式会社ペルセウスプロテオミクス内
- (72)発明者 須藤 幸夫
東京都目黒区駒場 4 - 7 - 6 株式会社ペルセウスプロテオミクス内
- F ターム(参考) 4C085 AA13 AA19 BB11 EE01

专利名称(译)	检测炎症的方法		
公开(公告)号	JP2012053034A	公开(公告)日	2012-03-15
申请号	JP2011163840	申请日	2011-07-27
[标]申请(专利权)人(译)	株式会社英仙蛋白质科学		
申请(专利权)人(译)	英仙座蛋白质组学公司 医疗法人基金会Hakujujikai		
[标]发明人	植木幸孝 升田喜士 宫本恭子 宫澤ちひろ 須藤幸夫		
发明人	植木 幸孝 升田 喜士 宫本 恭子 宫澤 ちひろ 須藤 幸夫		
IPC分类号	G01N33/53 A61K39/395		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N2333/4737 G01N2800/102		
FI分类号	G01N33/53.D A61K39/395.D		
F-TERM分类号	4C085/AA13 4C085/AA19 4C085/BB11 4C085/EE01		
代理人(译)	村田正树		
优先权	2010176845 2010-08-06 JP		
其他公开文献	JP5887082B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种用于准确确定或诊断接受IL-6抑制剂治疗的患者的炎症状况的方法。一种用于在接受IL-6抑制剂的患者中检测炎症状况的方法，该方法包括测量源自接受IL-6抑制剂的患者的样品中PTX3的浓度。当炎症症状改善时，PTX3浓度显示较低的值，而当炎症症状恶化或发生传染病时，PTX3浓度则明显增加。[选择图]无

【图7】

