

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-511008

(P2015-511008A)

(43) 公表日 平成27年4月13日(2015.4.13)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68	2GO45
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 545A	4BO63
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/543 587	4HO45
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	GO 1 N 33/543 597	
C O 7 K 17/08 (2006.01)	GO 1 N 33/53 N	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 22 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-560440 (P2014-560440)  
 (86) (22) 出願日 平成25年3月6日 (2013.3.6)  
 (85) 翻訳文提出日 平成26年10月28日 (2014.10.28)  
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2013/050540  
 (87) 国際公開番号 W02013/132245  
 (87) 国際公開日 平成25年9月12日 (2013.9.12)  
 (31) 優先権主張番号 1203938.4  
 (32) 優先日 平成24年3月6日 (2012.3.6)  
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 514212652  
 ザ バインディング サイト グループ  
 リミテッド  
 イギリス国, ウェスト ミッドランズ ビ  
 ー15 1 キューティール, バーミンガム,  
 エッジバーストン, カルソープ ロード 8  
 (74) 代理人 100099759  
 弁理士 青木 篤  
 (74) 代理人 100077517  
 弁理士 石田 敬  
 (74) 代理人 100087871  
 弁理士 福本 積  
 (74) 代理人 100087413  
 弁理士 古賀 哲次

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 形質細胞関連疾患を特性決定するための方法

(57) 【要約】

本発明は、患者における形質細胞関連疾患の特性決定をするための方法であって、(i) 患者から少なくとも1つのサンプルを提供し；(i i) サンプルにおいて、2又はそれ以上の(a) 遊離軽鎖(FLC)比；(b) 重鎖クラスと結合する 軽鎖：同じクラスの重鎖と結合する 軽鎖の比(HLC : HLC 比)；(c) サンプル中のFLCの総量、及び(d) 重鎖クラスと結合する 軽鎖 + 同じクラスの重鎖と結合する 軽鎖の総量(総HLC)；を決定し；(i i i) (a)、(b)、(c) 及び/若しくは(d)からの各比又は量を規定値と比較し、そして各比又は量にスコアを割り当て、そして(i v) 形質細胞関連疾患を特性決定するためにスコアを用いることを含む、方法を提供する。本発明の方法を実施するために構成された装置もまた、提供する。本発明はまた、任意で混合される、(i) 抗 FLC 特異的及び抗 FLC 特異的抗体、並びに(i i) 抗重鎖クラス特異的及び抗 重鎖クラス特異的抗体又はこれらの断片の組み合わせを含む、キットを提供する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

患者における形質細胞関連疾患の特性決定をするための方法であって、

( i ) 患者から少なくとも 1 つのサンプルを提供し；

( i i ) サンプルにおいて、2 又はそれ以上の

( a ) : 遊離軽鎖 ( F L C ) 比；

( b ) 重鎖クラスと結合する 軽鎖 : 同じクラスの重鎖と結合する 軽鎖の比 ( H L C : H L C 比 ) ；

( c ) サンプル中の F L C の総量、及び

( d ) 重鎖クラスと結合する 軽鎖 + 同じクラスの重鎖と結合する 軽鎖の総量 ( 総 H L C ) ；  
を決定し；

( i i i ) ( a )、( b )、( c ) 及び / 又は ( d ) からの各比又は量を規定値と比較し、そして各比又は量にスコアを割り当て；そして

( i v ) 形質細胞関連疾患を特性決定するためにスコアを用いること  
を含む、方法。

## 【請求項 2】

前記 F L C : 比及び H L C : 比が、決定される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

請求項 1 又は 2 に記載の方法を含む、コンピュータに実施される、方法。

## 【請求項 4】

工程 ( i i i ) が、コンピュータにより実施される、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

## 【請求項 5】

前記スコアが、形質細胞疾患の種類を示す、及び / 又は形質細胞疾患の特性決定のための信頼水準を示す、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記 : 遊離軽鎖比が決定され、そして F L C : についての正常範囲と比較される、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記 F L C : 比が正常範囲を上回る、あるいは下回る場合、前記 F L C : にスコアが与えられる、請求項 6 に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記 F L C : 比が正常範囲内である場合、サンプル中の F L C の総量が決定され、そして量についてスコアが与えられる、請求項 6 又は 7 に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記 F L C : 比が正常範囲内である場合、正常範囲を上回る F L C 又は F L C レベルが、更なる調査を要求することを示唆する、請求項 6 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 10】

H L C : H L C 比が決定され、そしてその重鎖クラスについての H L C : H L C の正常範囲と比較される、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 11】

前記 H L C : H L C 比が正常範囲を上回る、あるいは下回る場合、前記 H L C : H L C にスコアが与えられる、請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 12】

前記 H L C : H L C 比が正常範囲内である場合、総 H L C + H L C 量が決定され、そしてスコアが与えられる、請求項 10 又は 11 に記載の方法。

## 【請求項 13】

前記 H L C : H L C 比が正常範囲内である場合、正常範囲を上回る H L C 又は H L C レベルが、更なる調査を要求することを示唆する、請求項 10 ~ 12 のいずれか一

項に記載の方法。

【請求項 14】

H L C : H L C 比及び / 又は総 H L C が、サブクラス特異的である、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

サンプル中の F L C の量が、クローン性スコア又は F L C の産生若しくは抑制の指標を産み出すために、F L C の量と比較される、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

サンプル中の H L C の量が、クローン性スコア又は F L C の産生若しくは抑制の指標を産み出すために、H L C の量と比較される、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 17】

: F L C 比、H L C : H L C 比、総 F L C 及び / 又は総 H L C が、免疫吸着アッセイにより決定される、請求項 1 ~ 16 に記載の方法。

【請求項 18】

抗 F L C 特異的、抗 F L C 特異的、抗 重鎖クラス特異的、及び / 若しくは抗 重鎖クラス特異的抗体又はこれらの特異的な断片の使用を含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記アッセイが、サンドイッチアッセイ、例えば E L I S A アッセイである、あるいは抗体と F L C 又は H L C との結合が、比濁計、濁度計、フローサイトメーター及び / 又は Luminex (商標) ビーズを用いて決定される、請求項 17 又は 18 に記載の方法。

20

【請求項 20】

請求項 1 ~ 19 に記載の方法を実施するために構成された、コンピュータプロセッサ及びメモリを含む、装置

【請求項 21】

: F L C 比、H L C : H L C 比及び任意で総 F L C 及び / 又は総 H L C を測定するための検出器を含む、請求項 20 に記載の装置。

【請求項 22】

任意で混合される、( i ) 抗 F L C 特異的及び抗 F L C 特異的抗体又はこれらの断片、並びに ( i i ) 抗 重鎖クラス特異的及び抗 重鎖クラス特異的抗体又はこれらの断片の組み合わせを含む、キット。

30

【請求項 23】

サンプル中の総 F L C を決定するための、更なる抗体又はこれの断片を追加で含む、請求項 22 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、患者において形質細胞疾患を特性決定するための方法、並びに前記方法を実施するための装置及びキットに関する。

40

【背景技術】

【0002】

出願人は、患者におけるモノクローナル高ガンマグロブリン血症の広い範囲について評価する方法として、長年、遊離軽鎖を研究している。かかる遊離軽鎖の診断における使用は、著書「Serum FreeLight Chain Analysis, Sixth Edition (2008) A.R. Bradwell, ISBN 9780704427969」に詳細に記載される。患者におけるポリクローナル抗体の減少した又は増加した産生が存在するポリクローナル異常も知られている。

【0003】

抗体は、重鎖及び軽鎖を含む。これらは、通常、二倍対称性 (two-fold symmetry) を有し、2つの同一の重鎖及び2つの同一の軽鎖からなり、それぞれ可変領域ドメイン及び

50

定常領域ドメインを含む。各軽鎖/重鎖対の可変ドメインは、結合して抗原結合部位を形成し、両者の鎖は抗体分子の抗原結合特異性に寄与する。軽鎖は及びの二種類からなり、任意の所定の抗体分子は、いずれかの軽鎖を有し、両方を有さない。ヒトにおいて生産される分子のおおよそ2倍の分子が存在するが、これはいくつかの哺乳動物において異なる。通常、軽鎖は、重鎖に結合する。しかしながら、いくつかの結合しない「遊離軽鎖」(FLC)が個人の血清又は尿中において検出可能である。遊離軽鎖は、軽鎖の重鎖との結合により通常隠れている遊離軽鎖の表面に対する抗体の上昇により特異的に同定され得る。遊離軽鎖において、この表面は曝露され、これを免疫学的に検出することが可能である。又は遊離軽鎖の検出のための市販のキットとしては、例えば、The Binding Site Limited, Birmingham, United Kingdomにより製造される、「Freelite(商標)」が挙げられる。出願人は、これまでに、遊離、遊離の量、及び/又は遊離/遊離比の測定が、患者におけるモノクローナル高ガンマグロブリン血症の検出を可能にすることを明らかにしている。これは、例えば、無傷の免疫グロブリン多発性骨髄腫(MM)、軽鎖MM、非分泌性MM、ALアミロイド症、軽鎖沈着症、くすぶり型(smouldering)MM、形質細胞腫及びMGUS(意義不明のモノクローナル高ガンマグロブリン血症)の診断の助けとして用いられている。FLCの検出はまた、他のB細胞悪液質の診断、及び実際に代替として、一般的なモノクローナル高ガンマグロブリン血症の診断のための尿中のベンスジョーンズタンパク質分析を助けるために用いられている。

10

#### 【0004】

従来、又は軽鎖のうち一方の増加は、探されている。例えば、多発性骨髄腫(MM)は、悪性形質細胞のモノクローナル増殖に起因し、単一種類の免疫グロブリンを産生する単一種類の細胞の増加をもたらす。これは、個人において観察される、又はのいずれかの遊離軽鎖の量の増加をもたらす。この濃度の増加は、決定されてもよく、通常、遊離対遊離の比は決定され、通常範囲と比較される。これは、モノクローナル疾患の診断を助ける。さらに、遊離軽鎖アッセイはまた、患者の疾患の治療後のために用いられてもよい。例えば、ALアミロイド症の治療後の患者の予後診断が行なわれてもよい。

20

#### 【0005】

Katzmann et al (Clin. Chem. (2002); 48(9): 1437-1944)は、モノクローナル高ガンマグロブリン血症の診断における、遊離及び遊離免疫グロブリンについての血清参照間隔及び診断範囲を議論する。21~90歳の年齢の個人を免疫アッセイにより研究し、そして免疫固定により得られる結果と比較し、B細胞悪液質に罹患する個人におけるモノクローナル遊離軽鎖の検出のための免疫アッセイを最適化する。及びFLCの量及び/比は記録され、B細胞悪液質の検出のために決定される参照間隔を可能にする。

30

#### 【0006】

出願人はまた、これまでに、個人が一見したところ健康な対象である場合でさえ、FLCについてのアッセイが個人の長期生存を予測するために用いることができることを明らかにした(国際公開第2011/021041号)。彼らは、総FLC濃度が、統計学的に有意に、長期生存に関連していることを発見した。さらに、この関連は、存在する長期生存予後診断マーカー、例えばコレステロール、クレアチニン、システインC及びC反応性タンパク質についての関連と同様である、あるいはそれよりも優れているように見える。総FLC測定のためのアッセイは、文献に開示される。総FLCを測定するアッセイは、商標「Combylite」の下で、The Binding Site, Birmingham, United Kingdomから入手することができる。

40

#### 【0007】

重鎖クラス-軽鎖タイプ結合特異的(HLC)免疫グロブリン、軽鎖クラス結合特異的(HLC)免疫グロブリン、例えばIgA、IgA、IgG、IgG、IgM又はIgMの測定はまた、モノクローナル高ガンマグロブリン血症の特性決定に役立つことが発見されている。重鎖クラス-軽鎖タイプ特異的抗体及びこれの使用は、国際公開第2006/079816号に開示されている。かかる抗体は、商標「Hevylite」の下で、The Binding Site, Birmingham, United Kingdomから入手することができる。

50

## 【 0 0 0 8 】

1 超の特異的な抗体の産生が増加又は減少している、ポリクローナル異常に関連する疾患は、一般的に知られている。例えば、これは、抗体産生の一般的な増加、あるいは存在する2つの別々の腫瘍起源からの2又はそれ以上のモノクローナル抗体により特性決定され得る。慢性感染症、自己免疫疾患及び多くの腫瘍は、ポリクローナル免疫グロブリンの増加を引き起す。皮膚、肺、及び消化管疾患は、I g A 濃度の増加を引き起す傾向があるのに対し、全身感染症は、特にI g G 以外の全ての免疫グロブリンを増加させる。

## 【 0 0 0 9 】

血清タンパク質電気泳動 (S P E) は、血清タンパク質が分離された後のアガロース電気泳動ゲルを走査すること (scanning) を含み、前記ゲルは、染色される。免疫固定電気泳動 (I F E) は、可視の沈殿バンドを生じさせるために、電気泳動用ゲル内のタンパク質と結合する抗体を用いて血清タンパク質の存在を検出する。係る方法に関連する多数の限定が存在する。2001年から、血清F L Cアッセイは、血清中の遊離又は遊離軽鎖 (F L C) を同定するために用いられている。F L C、S P E 及び / 又はI F E アッセイの組み合わせの使用は、国際ガイドラインにおいて推奨されている。各試験の別々の結果は、別々に解釈され、一緒に組み合わせられた結果は、互いにサポートしても、しなくてもよい (例えば、Dispenzieri A. et. al, Leukaemia 23-2 (2009), 215-24を参照のこと)。

10

## 【 0 0 1 0 】

最近になって、Hevylite (商標) 抗体を用いたH L Cアッセイが、出願人により開発されている。かかるH L Cアッセイは、さもなければS P E により測定され得る腫瘍からの関連するモノクローナルタンパク質と、測定される反対の軽鎖に結合する同一の重鎖クラスの関連しないポリクローナルレベルとの比の定量を可能にする。この比は、血清中のモノクローナルタンパク質の種類及び濃度の決定のために、S P E 及びI F E の代わりに用いることができる。

20

## 【 発明の概要 】

## 【 発明が解決しようとする課題 】

## 【 0 0 1 1 】

利用可能である様々なアッセイからの結果の解釈は、困難で有り、幾らかの技能及び専門知識を要求する。出願人らは、任意で、総F L C 及び / 又は総H L C とともに、F L C 及びH L C の結果は重み付けられ、モノクローナル高ガンマグロブリン血症の同定のためのスコアを生み出すことができることを明らかにしている。これは、異常の指標を示すためのみならず、指標の信頼度を示すために用いることができる。1又は複数の結果における分析エラーは、より容易に同定することができる。これは、モノクローナル高ガンマグロブリン血症における識別及び信頼度を可能にすることが予測され、そして前記識別は、

30

a) モノクローナルタンパク質産生 (この無傷の免疫グロブリン、遊離軽鎖又は両者の実際の産生である)。非関連免疫グロブリンの関連するポリクローナル抑制を含む、又は含まない。

b) 非モノクローナル産生を含むポリクローナル産生の上昇 - 高ガンマグロブリン血症

c) 非モノクローナル産生を含むポリクローナル産生の抑制 - 低ガンマグロブリン血症

d) 非モノクローナル産生を含む正常のポリクローナル産生

e) 重鎖のクラスに結合するカップ軽鎖又はラムダ軽鎖の産生、及び / 又はモノクローナルタンパク質産生を含まない軽鎖又はラムダ軽鎖の産生である。

40

## 【 課題を解決するための手段 】

## 【 0 0 1 2 】

本発明は、患者における形質細胞関連疾患の特性決定をするための方法であって、

( i ) 患者から少なくとも1つのサンプルを提供し ;

( i i ) サンプルにおいて、2又はそれ以上の

( a ) : 遊離軽鎖 ( F L C ) 比 ;

50

(b) 重鎖クラスと結合する 軽鎖：同じクラスの重鎖と結合する 軽鎖の比 (H L C : H L C 比)；

(c) サンプル中の F L C の総量、及び

(d) 重鎖クラスと結合する 軽鎖 + 同じクラスの重鎖と結合する 軽鎖の総量 (総 H L C)；

を決定し；

(i i i) (a)、(b)、(c) 及び / 若しくは (d) からの各比又は量を規定値と比較し、そして各比又は量にスコアを割り当て、そして

(i v) 形質細胞関連疾患を特性決定するためのスコアを用いること  
を含む、方法を提供する。

10

【発明を実施するための形態】

【0013】

異常な F L C : 比又は H L C : H L C 比、上昇したクローナル濃度、及び非関連の免疫グロブリンの抑制の指標は、例えば、モノクローナル形質細胞関連疾患の存在の確実性の高いレベルを与える。

【0014】

典型的に、 : F L C 比及び H L C : H L C 比が、決定される。

【0015】

サンプル中の総 F L C 及び総 H L C の決定は、スコアを提供するために用いられてもよい。

20

【0016】

正常範囲内の F L C : 比を有するカップ F L C 又はラムダ F L C の上昇したレベルは、潜在的な異常性を強調し、更なる調査を必要とする。同様に、正常範囲内の H L C : H L C 比を有する上昇した H L C 又は H L C はまた、潜在的な異常性を強調し、更なる調査を必要とする。

【0017】

前記サンプルは、尿サンプルでもよいが、血清、血液又は血漿が好ましい。

【0018】

スコア付けシステムは、形質細胞関連疾患の特性決定を可能にし、特性決定の簡便化を助け、熟練していない従事者により実行されるアッセイを可能にし、そして決定される結果における信頼度を可能にする。

30

【0019】

前記形質細胞関連疾患は、モノクローナル免疫グロブリン異常症でもよい。これは、B細胞関連疾患、例えば骨髄腫（例えば無傷の免疫グロブリン骨髄腫、軽鎖骨髄腫、非分泌性骨髄腫）、M G U S、A L アミロイド症、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、ホジキンリンパ腫、濾胞中心細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病、マントル細胞リンパ腫、プレB細胞性白血病、又は急性リンパ芽球性白血病でもよい。

【0020】

前記形質細胞関連疾患は、ポリクローナル関連疾患、例えば高ガンマグロブリン血症又は低ガンマグロブリン血症でもよい。

40

【0021】

前記方法は、コンピュータにより実施されてもよく、例えば工程 (i i i) は、実施されてもよい。前記スコアは、アウトプット、例えばコンピュータディスプレイ上に表示されてもよい。あるいは、前記スコアは、疾患の種類 of 適当な診断のアウトプットを生ずるために用いられてもよい。

【0022】

1 又はそれ以上のサンプルは、実質的に同時に患者から採取されてもよい。前記量は、単一のサンプル又は別々のサンプルに関して評価されてもよい。

【0023】

前記スコアは、形質細胞疾患の種類を示すのに用いられてもよく、そして / あるいは形

50

質細胞疾患の特性決定のための信頼水準を含んでもよい。

【0024】

例えば、高い又は中程度のFLCκ比は、カッパモノクローナル免疫グロブリン異常症を示す。しかしながら、モノクローナル産生の低い信頼性は、低い異常なFLCκ比がそれ自身に関して同定されることを指し示す。重鎖クラスの1つ(例えば、IgAκ:IgAλ)についてのHLC比が異常な比を示す場合、前記比及び軽鎖タイプについて、これはモノクローナル産生の発見を裏付ける。

【0025】

特定のクラスについての総FLCκ及び/又は総HLCの合計は、免疫グロブリン産生の異常なレベル、又は、例えば、1又はそれ以上の免疫グロブリンのクラス、例えばIgM又はIgAの抑制を示すために用いることができる。

10

【0026】

典型的には、FLCκ比は決定され、FLCκ比についての正常範囲と比較される。正常範囲は、評価される集団に応じて、典型的に0.26~1.65である、一見して健康な個人についてのFLCκ比の典型的な範囲でもよい。

【0027】

FLCκ比が、その正常範囲を上回る又は下回る場合、スコアが与えられてもよい。スコアは、クローン性の同定について、例えば、高い、中程度、若しくは低い; 1、2、3若しくは4; 又は+、++、+++若しくは++++でもよい。「正常な比」はまた、例えばゼロとしてスコア付けされてもよい。規定範囲を上回る比、例えば1.65超は、カッパモノクローン性を示し、カッパ値は、例えば、高い、中程度、若しくは低い; 又は大変高いについて4、やや高いについて3、低いについて2、正常範囲を単に上回るに1のスコアが与えられる。前記比が正常範囲(例えば0.26未満)は、モノクローン性を示し、同様の方法において再びスコア付けがされ得る。

20

【0028】

例えば、以下の比は、結果をスコア付けするために用いられてもよい。

【0029】

【表1】

30

表1

FLCκ比	スコア	結果
>50	高い	FLCκ高い
20-50	中程度	FLCκ中程度
1.65-20	低い	FLCκ低い
0.19-0.26	低い	FLCλ低い
0.1-0.19	中程度	FLCλ中程度
<0.1	高い	FLCλ高い

40

【0030】

あるいは、スコア付けシステム、例えば1~4又は+~++++が用いられてもよい。

【0031】

FLCκ比が正常である場合、その後、FLCκ(κ+λ)の総量が決定され、そして増加した又は減少したポリクローナルFLCκ産生を示すためにスコア付けされる。正常な総FLCκは、典型的に血清中において27mg/mlである。再び、高い、中程度、低い; -4~+4(+4が非常に高い総FLCκを示し、-4が非常に低い産生を示す)、又は- - - -、- - -、- -、-、0(正常)、+、++、+++、++++のスコアが、用いられてもよい。例えば:

50

## 【 0 0 3 2 】

F L C 若しくは H L C の産生若しくは抑制のクローン性スコア又は指標を生み出すために、サンプル中の F L C の量は、サンプル中の F L C の量と比較されてもよい（あるいは H L C の量が H L C の量と比較される）。典型的に、産生又は抑制レベルは、正常な F L C 又は H L C 比について示される。

## 【 0 0 3 3 】

## 【表 2】

表 2  
異常な FLC 比について

FLC の量 (mg/L)	他の FLC の量 (mg/L)	クローン性スコア
FLC $\kappa > 19.4$	$\lambda < 5.71$ $5.71 < \lambda < 26.3$ $\lambda > 26.3$	+++ $\kappa$ ++ $\kappa$ +FLC
FLC $\lambda > 26.3$	$\kappa < 3.3$ $3.3 < \kappa < 19.4$	+++ $\lambda$ ++ $\lambda$

10

20

## 【 0 0 3 4 】

正常な比（例えば、0.26 ~ 1.65）を、分解することができる。

## 【 0 0 3 5 】

例えば F L C + F L C > 45.7 mg / L - F L C 産生  
F L C + F L C < 9.01 mg / L - F L C 抑制

## 【 0 0 3 6 】

## 【表 3】

表 3

総 FLC (mg/L 血清)	スコア	結果
>100	高い	高いポリクローナル産生
50-100	中程度	中程度のポリクローナル産生
27-50	低い	低いポリクローナル産生
27-15	低い	低い抑制
15-5	中程度	中程度の抑制
<5	高い	高い抑制

30

40

## 【 0 0 3 7 】

あるいは、総 F L C 産生は、3つのバンド、高い産生、正常、又は抑制産生に分けることができる。

## 【 0 0 3 8 】

特定の重鎖クラスに結合する 軽鎖タイプ：同一の重鎖クラスに結合する 軽鎖の比、（H L C : ）比は、その重鎖クラスについて正常範囲と比較されてもよい。重鎖クラスは、I g A、I g M、I g D 又は I g E でもよい。より典型的には、これらとして I g G、I g A 又は I g M は、かかる疾患に関連している可能性がある。1 又はそれ以上の前

50

記クラスを、評価してもよい。したがって、前記比は、 $I g A : I g A$ 、 $I g G : I g G$ 、 $I g M : I g M$ 、 $I g D : I g D$  及び/又は  $I g E : I g E$  でもよい。

【0039】

典型的な正常な比は、

$I g G : I g G$  0.98 ~ 2.75

$I g A : I g A$  0.80 ~ 2.04

$I g M : I g$  0.96 ~ 2.30

である。

【0040】

これらのHLC比は、FLCと同様の方法においてスコア付されてもよい。

【0041】

HLC : HLC 比が正常範囲内である場合、そのクラス (HLC + HLC) についての総HLCが決定及びスコア付けされ、そして重鎖クラス産生の上昇又は抑制の指標を与える。即ち、例えば  $I g G : I g G$  (同一のクラス) がその後決定される。

【0042】

FLC : FLC 及び HLC : HLC が正常範囲内である場合、FLC 若しくは FLC 及び/又は HLC 若しくは HLC の上昇したレベルは、疾患を指し示し、そして更なる検査を要求することを強調する。上昇は、正常範囲を上回るレベルにより定義されてもよい。典型的な正常範囲は、

FLC 3.3 ~ 19.4

FLC 5.71 ~ 26.3

IgG 4.03 ~ 9.78

IgG 1.97 ~ 5.71

IgA 0.48 ~ 2.82

Ig 0.36 ~ 1.98

IgM 0.29 ~ 1.82

Ig 0.17 ~ 0.94

である。

【0043】

代わりに、あるいは加えて、HLC : HLC 比は、サブクラス特異的でもよい。これは、より特異的なデータを与える。IgGは、例えば4つのサブクラス (IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4) を有する。IgAは、2つのサブクラス (IgA1及びIgA2) を有する。したがって、HLC比は、例えば  $I g G 2 : I g G 2$  比でもよい。

【0044】

典型的なスコア付けシステムの例は以下である。

【0045】

10

20

30

## 【表 4】

表 4

重鎖クラス	HLC $\kappa$ : HLC $\lambda$	スコア	結果	
G	>30	高い	IgG $\kappa$ 高い	10
	10-30	中程度	IgG $\kappa$ 中程度	
	2.75-10	低い	IgG $\kappa$ 低い	
	0.98-0.75	低い	IgG $\lambda$ 低い	
	0.75-0.3	中程度	IgG $\lambda$ 中程度	
	<0.3	高い	IgG $\lambda$ 高い	
A	>60	高い	IgA $\kappa$ 高い	20
	15-60	中程度	IgA $\kappa$ 中程度	
	2.04-15	低い	IgA $\kappa$ 低い	
	0.8-0.7	低い	IgA $\lambda$ 低い	
	0.7-0.5	中程度	IgA $\lambda$ 中程度	
	<0.5	高い	IgA $\lambda$ 高い	
M	>30	高い	IgM $\kappa$ 高い	20
	10-30	中程度	IgM $\kappa$ 中程度	
	2.30-10	低い	IgM $\kappa$ 低い	
	0.96-0.7	低い	IgM $\lambda$ 低い	
	0.7-0.2	中程度	IgM $\lambda$ 中程度	
	<0.2	高い	IgM $\lambda$ 高い	

【0046】

ポリクローン性は、同様にスコア付されてもよい。

【0047】

## 【表5】

表5

重鎖クラス	総HLC (g/L 血清)	スコア	結果	
G	>26	高い	高いポリクローナルIgG	10
	19-26	中程度	中程度のポリクローナルIgG	
	9-19	低い	低いポリクローナルIgG	
	9-6	低い	低い抑制されたIgG	
	6-3	中程度	中程度の抑制されたIgG	
	<3	高い	高い抑制されたIgG	
A	>16	高い	高いポリクローナルIgA	20
	5-16	中程度	中程度のポリクローナルIgA	
	2-5	低い	低いポリクローナルIgA	
	2 (normal)			
	2.0-0.8	低い	低い抑制されたIgA	
	0.8-0.3	中程度	中程度の抑制されたIgA	
<0.3	高い	高い抑制されたIgA		
M	>7	高い	高いポリクローナルIgM	30
	3-7	中程度	中程度のポリクローナルIgM	
	1.5-3	低い	低いポリクローナルIgM	
	3 (normal)			
	1.5-0.4	低い	低い抑制されたIgM	
	0.4-0.2	中程度	中程度の抑制されたIgM	
<0.2	高い	高い抑制されたIgM		

## 【0048】

再び、「ゼロ」のスコアは、正常な比について与えられてもよい。抑制及び産生は、3つのバンド、高い産生、正常、及び抑制として表示されてもよい。

## 【0049】

クローン性は、IgGについてFLC比と同様の方法においてスコア付けされてもよく、実際、他の重鎖について同様である。

## 【0050】

【表6】

表6

重鎖クラス	比	HLCの量 (g/L)	他のHLCの量 (g/L)	スコア	
G	異常	IgGκ > 9.78	IgGλ < 1.97	+++ IgGκ	10
		IgGλ > 5.71	1.97 < IgGλ < 5.71 IgGλ > 5.71 IgGκ < 4.03 4.03 < IgGκ < 9.78	++ IgGκ + IgG +++ IgGλ ++ IgGλ	
	正常 (0.98-2.75)	IgGκ + IgGλ > 15.49 IgGκ + IgGλ < 6		産生 抑制	
A	異常	IgAκ > 2.82	IgAλ < 0.36	+++ IgAκ	20
		IgAλ > 1.98	0.36 < IgAλ < 1.98 IgAλ > 1.98 IgAκ < 0.48 0.48 < IgAκ < 2.82	++ IgAκ + IgA +++ IgAλ ++ IgAλ	
	正常 (0.8-2.04)	IgAκ + IgAλ > 4.8 IgAκ + IgAλ < 0.84		産生 抑制	
M	異常	IgMκ > 1.82	IgMλ < 0.17	+++ IgMκ	30
		IgMλ > 0.94	0.17 < IgMλ < 0.94 IgMλ > 0.94 IgMκ < 0.29 0.29 < IgMκ < 1.82	++ IgMκ + IgM +++ IgMλ ++ IgMλ	
	正常 (0.96-2.30)	IgMκ + IgMλ > 2.74 IgMκ + IgMλ < 0.46		産生 抑制	

## 【0051】

例えば、いくつかのポリクローナルM抑制を有する中程度のIg、及びIgGに関する分析的エラー（低い重み付け及び不一致）は、IgG低い、Ig中程度、IgM合計として中程度の抑制として表され得る。

40

## 【0052】

FLCの結果（：FLC及び/又は総FLC）は、エラー又は一致の面積を同定するために、HLCの結果（HLC：HLC及び/又は総HLC）と比較され得る。

## 【0053】

高いFLCを有するIgAラムダ、ポリクローナル的に抑制されたIgM、及びIgGに関する分析エラーは、

：FLC高い、IgA高い、IgG低い、IgM合計として低い抑制として表され得る。

## 【0054】

上述のスコア付の代替の方法は、以下のように用いることができる。

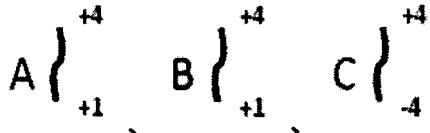
50

【 0 0 5 5 】

例えば、F L C ( ) 結果の実行は、クローン性カッパ [ A ] 又はラムダ [ B ] 又はポリクローナル異常 [ C ] を示す。[ A ] 又は [ B ] は、1 ~ 4 ( +、++、+++ 又は +++) のレベルに関してスコア付され得る。[ C ] は、抑制又は上昇であり得、- 4 ~ + 4 ( - - -、- -、-、0、+、++、+++、又は++++ ) の測定に関してスコア付され得る。これは、F L C 結果が以下の1つであることを意味する。

【 0 0 5 6 】

【 数 1 】



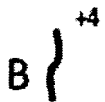
10

【 0 0 5 7 】

例えば強力な F L C ラムダ結果、F L C 測定 ( ) は、

【 0 0 5 8 】

【 数 2 】



20

である。

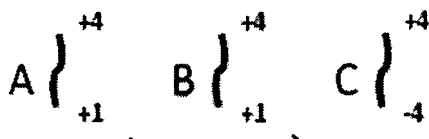
【 0 0 5 9 】

G ( )、A ( ) 又は M ( μ ) についての H L C 結果は、同様の方法において表され得、これらは、クローン性 (カッパ [ A ] 又はラムダ [ B ] 又はポリクローナル異常 [ C ] ) を示す。再び、クローン性 [ A ] 又は [ B ] は、1 ~ 4 ( +、++、+++ 又は +++) のレベルに関してスコア付され得、そして [ C ] についての抑制又は上昇が生じ得、そして - 4 ~ + 4 ( - - - -、- - -、- -、-、0、+、++、+++、又は++++ ) の測定に関してスコア付され得る。

30

【 0 0 6 0 】

【 数 3 】



40

【 0 0 6 1 】

例えば、いくつかのポリクローナル M 抑制を有する中程度の I g ラムダ、及び I g G カッパに関する分析的エラー ( 低い重み付け及び不一致 ) は、下記のように表され得る。

【 0 0 6 2 】

【数4】

$$\gamma \left( A \right)_{+1}, \alpha \left( B \right)^{+2}, \mu \left( C \right)_{-2}$$

【0063】

10

FLC結果( )は、HLC G( )、A( )及びM(μ)結果と組み合わせられ得る。高いラムダFLCレベルを有するIgAラムダ、ポリクローナル的に抑制されたIgM結果、及びIgGに関する分析エラーの例は、下記のように表され得る。

【0064】

【数5】

$$\beta \left( B \right)^{+4}, \gamma \left( A \right)_{+1}, \alpha \left( B \right)^{+2}, \mu \left( C \right)_{-2}$$

20

【0065】

クローン同一性は、FLC( )結果とHLC( )、又はμ)結果との一致により示され、この場合、及びである。及びは、これがラムダサンプルであることを示し、の不一致は、結果がエラーであることを示し、そして前記μ結果は、ポリクローナル抑制が存在するというさらなる情報を提供する。

【0066】

アルゴリズムからの第二の結果は、結果における信頼度であり、これは、一致の項目から計算することができる。

30

【0067】

【数6】

$$\beta \left( B \right)^{+4} \alpha \left( B \right)^{+2} \left\{ \begin{matrix} +2 \\ + \end{matrix} \right\}^{+4} = 8$$

又は

40

【0068】

サンプル中のFLC及びHLCの測定は、当該技術分野において一般的に知られている方法を用いて決定されてもよい。

【0069】

又はFLCに特異的な抗体、又は抗体の断片は、一般的に知られており、商標名Freelite(商標)の下で市販されている。

【0070】

重鎖クラス-軽鎖タイプ特異的抗体(例えば抗IgA抗体)はまた、一般的に、当該技術分野において知られており(WO2006/079816を参照のこと)、The Bind

50

ing Site, Birmingham, UKから商標名Hevylite (商標)の下で市販されている。あるいは、重鎖と結合する軽鎖は、例えば、W O 2 0 0 6 / 0 7 9 8 1 6に記載されるような、抗軽鎖タイプ抗体及び抗重鎖クラス抗体を用いたサンドイッチアッセイにより決定され得る。

#### 【 0 0 7 1 】

典型的に、F L C又はH L C、例えば : F L C比、総F L C、H L C : H L C及び/又は総H L Cは、免疫アッセイ、例えばE L I S Aアッセイにより、あるいは蛍光標識されたビーズ、例えばLuminix (商標)ビーズを用いることにより決定される。

#### 【 0 0 7 2 】

E L I S Aは、例えば、特定の抗原を検出するために抗体を用いる。アッセイに用いられる1又はそれ以上の抗体は、基質を検出可能な検出物に変換することが可能な酵素により標識されてもよい。かかる酵素としては、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、及び当該技術分野で知られている他の酵素が挙げられる。あるいは、他の検出可能なタグ又は標識は、酵素の代わりに、あるいは酵素と一緒に用いられてもよい。これらとしては、放射性同位体、当該技術分野において知られる幅広い範囲の着色及び蛍光標識、例えばフルオロセイン、アレクサフルオロ、オレゴングリーン、B O D I P Y、ローダミンレッド、カスケードブルー、マリーナブルー、パシフィックブルー、カスケードイエロー、ゴールド;及びコンジュゲート、例えばビオチン(例えばInvitrogen Ltd, United Kingdomから入手可能)が挙げられる。染料ゾル、金属ゾル、化学発光標識、又は着色ラテックスが用いられてもよい。1又はそれ以上のこれらの標識は、本明細書に記載の様々な発明に従ってE L I S Aアッセイ、あるいは他のアッセイ、本明細書に記載される標識された抗体又はキットにおいて用いられてもよい。

10

20

#### 【 0 0 7 3 】

E L I S A型アッセイの構築は、それ自身、当該技術分野においてよく知られている。例えば、F L Cに特異的な「結合抗体」は、基板上に固定化される。前記「結合抗体」は、当該技術分野においてよく知られている方法により、基板上に固定化されてもよい。サンプル中のF L Cは、F L C又はH L Cと結合する「結合抗体」により、「結合抗体」を介して基板と結合する。

#### 【 0 0 7 4 】

未結合の免疫グロブリンは、洗い流されてもよい。

30

#### 【 0 0 7 5 】

E L I S Aアッセイにおいて、結合した免疫グロブリンの存在を、結合抗体よりも目的のF L Cの異なる部分に特異的な、標識された「検出抗体」を用いることにより決定してもよい。

#### 【 0 0 7 6 】

フローサイトメトリーは、目的のF L C又はH L Cの結合を検出するために用いられてもよい。この技術は、当該技術分野、例えばセルソーティングの分野においてよく知られている。しかしながら、これは、標識された粒子、例えばビーズを検出するために、そしてこれらのサイズを測定するために用いることができる。多数の教科書が、フローサイトメトリーを記載する(例えばPractical Flow Cytometry, 3 Ed. (1994), H. Shapiro, Alan R. Liss, New York, and Flow Cytometry, First Principles (2<sup>nd</sup> Ed.) 2001, A.L. Given, Wiley Liss)。

40

#### 【 0 0 7 7 】

1つの結合抗体、例えば、F L Cに特異的な抗体は、ビーズ、例えばポリスチレン又はラテックスビーズと結合する。前記ビーズは、サンプル及び第二の検出抗体と混合される。検出抗体は、好ましくは、検出可能な標識で標識され、これは、F L Cと結合し、サンプル中において検出される。これは、評価されるF L Cが存在する場合、標識されたビーズをもたらす。

#### 【 0 0 7 8 】

本明細書に記載される他の検出物に特異的な他の抗体はまた、これらの検出物の検出を

50

可能にするために用いられてもよい。

【0079】

標識されたビーズは、従って、フローサイトメトリーを介して検出されてもよい。様々なビーズ、例えば様々な蛍光標識は、例えば抗遊離 及び抗遊離 抗体について用いられてもよい。本明細書に記載される他の検出物に特異的な他の抗体はまた、これらの検出物の検出を可能にするために、本明細書に記載されるこの又は他のアッセイを用いてもよい。これは、同時に決定されるそれぞれの種類の F L C 結合の量、又は決定される他の検出物の存在を可能にする。

【0080】

あるいは、又は追加で、様々なサイズのビーズは、様々な抗体、例えば様々なマーカー 特異的抗体について用いられてもよい。フローサイトメトリーは、様々なサイズのビーズを識別することができ、従って、サンプル中のそれぞれの F L C 及び他の検出物の量を迅速に決定することができる。

10

【0081】

代替の方法は、例えば、蛍光標識ビーズ、例えば市販されているLuminex (商標) ビーズと結合する抗体を使用する。様々なビーズが様々な抗体とともに用いられる。様々なビーズは、様々な蛍光混合物で標識され、従って、蛍光波長により決定される様々な検出物を可能にする。Luminexビーズは、Luminex Corporaion, Austin, Texas, United States of Americaから入手することができる。

【0082】

好ましくは、用いられるアッセイは、比濁法又は濁度法である。

20

【0083】

本発明の方法を実行するために構成された装置はまた、提供される。これらは、前記方法を実行するために構成されるコンピュータプロセッサ及びメモリを含んでもよい。これらは、前記スコア及び / 又は結果を表示するためのアウトプット、例えばディスプレイスクリーンを含んでもよい。

【0084】

前記装置は、 : F L C 比、 H L C : H L C 比及び任意で総 F L C 及び / 又は総 H L C を測定するための検出器を含んでもよい。

【0085】

前記装置は、フローサイトメーター、比濁計又は濁度計でもよい。

30

【0086】

キットは、  
 ( i ) 抗 F L C 特異的及び抗 F L C 特異的抗体、及び  
 ( i i ) 抗 重鎖クラス特異的及び抗 重鎖クラス特異的抗体又はこれらの断片  
 を含む。

【0087】

前記キットは、サンプル中の総 F L C 及び / 又は H L C を測定するための抗体又は断片をさらに含んでもよい。

【0088】

かかる検出抗体又は断片は、例えば、それぞれの異なる検出抗体について異なる染料又は標識を用いたマルチプレックスキットにおいて一緒に混合されてもよい。標識は、例えば異なるLuminex (商標) ビーズでもよい。

40

【0089】

適用は、実施例のみによって記載されてもよい。

【0090】

: F L C 比、総 F L C、 H L C : H L C 比及び / 又は総 H L C は、当該技術分野において一般的に知られている技術を用いて行なわれる。

【0091】

典型的に、Freelite (商標) キット、Hevylite (商標) キット及びCombylite (商標)

50

キット (The Binding Site Ltd, Birmingham, UKから入手可能) は、患者からの血清のサンプルを測定するために、製造者の使用説明書に従って、用いられる。

【 0 0 9 2 】

結果は、例えば、上記の表 1 ~ 6 に示され、上記に記載されるようにスコア付けされる。

【 0 0 9 3 】

下記の表 7 は、出願人らにより予め見出された患者のタイプに基づいて、予測され得るいくつかの結果の解釈を示す。

【 0 0 9 4 】

【表 7】

表 7

FLC結果	HLC結果			解釈
	HLC IgG	HLC IgA	HLC IgM	
FLCλ-中程度	IgGλ-中程度	正常なIgA比- 中程度の抑制	IgMλ-中程度	IgGλ, IgMλ, IgMλ, FLCλ
FLCλ-高い	正常なIgG比- 高い抑制	正常なIgA比- 高い抑制	IgMλ-中程度	FLCλ, IgMλ
FLCκ-高い	正常なIgG比- 中程度の抑制	正常なIgA比- 高い抑制	IgMκ-低い	FLCκ, IgMκ
正常なFLC比- 中程度の抑制	正常なIgG比- 中程度の抑制	IgAλ-低い	正常なIgM比- 低い抑制	IgAλ
正常なFLC比- 高い抑制	IgGλ-低い	IgAλ-中程度	正常なIgM比- 高い抑制	IgAλ
FLCκ-低い	正常なIgG比- 中程度の抑制	正常なIgA比- 低い抑制	正常なIgM比- 低い抑制	FLCκ
正常なFLC比- 低い抑制	正常なIgG比- 中程度の抑制	正常なIgA比- 低い抑制	正常なIgM比- 高い抑制	全身性ポリクロー ナル抑制を有する 非クローナル
FLCλ-低い	正常なIgG比- 低い抑制	正常なIgA比- 低い抑制	正常なIgM比- 中程度の抑制	FLCλ
FLCκ-低い	正常なIgG比- 低い抑制	正常なIgA比- 低い抑制	正常なIgM比- 高い抑制	FLCκ
正常なFLC比- 低い抑制	正常なIgG比- 低いポリクロー ナル産生	正常なIgA比- 低い抑制	正常なIgM比- 高い抑制	非クローナル
正常なFLC比- 低い抑制	正常なIgG比- 高い抑制	IgAλ-中程度	IgMλ-低い	IgAλ
正常なFLC比- 低いポリクロー ナル産生	正常なIgG比- 低いポリクロー ナル産生	正常なIgA比- 低い抑制	IgMλ-低い	IgMλ
正常なFLC比- 低いポリクロー ナル産生	正常なIgG比- 低いポリクロー ナル産生	正常なIgA比- 低いポリクロー ナル産生	正常なIgM比- 低い抑制	非クローナル
正常なFLC比- 中程度のポリク ローナル産生	正常なIgG比- 低いポリクロー ナル産生	正常なIgA比- 低いポリクロー ナル産生	IgMκ-低い	IgMκ
正常なFLC比- 中程度の抑制	正常なIgG比- 中程度の抑制	正常なIgA比- 中程度の抑制	正常なIgM比- 高い抑制	全身性ポリクロー ナルを有する 非クローナル
FLCκ-低い	正常なIgG比- 中程度の抑制	正常なIgA比- 低い抑制	正常なIgM比- 低い抑制	FLCκ

10

20

30

40

【0095】

非クローン性は、更なる調査が必要とされてもよいことを示す。

【0096】

本発明のアルゴリズムの使用の実証

50

方法：ロイヤルウォルヴァーハンプトン病院（Royal Wolverhampton Hospital）に来院した1515人の患者を分析した。SPE及びIFEは、SEBIA Hydrasys 2を用いて行い、FLC及びHLCアッセイは、比濁分析により行ない、そして結果を、本明細書に記載されるアルゴリズムを用いて分析し、

- (1) FLC及びHLC比；
- (2) アイソタイプマッチ抑制のレベル；
- (3) 全身性免疫グロブリン抑制のレベル；及び
- (4) FLC及びHLC産生

を組み込む。

前記アルゴリズムに由来する結果及び既往歴の（historic）SPE及びIFEゲルを、患者の臨床診断と比較した。

#### 【0097】

結果：診察時において、156 / 1515（10%）のサンプルが異常なSPEを有し；101 / 156はIFEにより陽性であった。52人 / 101のIFE陽性患者は、血液疾患が確認され、

- 14人 多発性骨髄腫（MM）、
- 3人 ワルデンシュトレームマクログロブリン血症（WM）、
- 1人 IgMクリオグロブリン血症、
- 3人 慢性リンパ性白血病（CLL）、
- 3人 リンパ腫、
- 1人 形質細胞腫
- 1人 シェーグレン症候、及び
- 26人 意義不明のモノクローナル免疫グロブリン異常症（MGUS）

を含んだ。

#### 【0098】

診察時において、175人 / 1515人（11%）のサンプルを、FLC / HLCアルゴリズムにより、FLC及び / 又はHLC異常を有するとして同定した。FLC / HLCアルゴリズムは、SPE / IFEにより同定される全ての52人の患者、並びに

- 1人 アミロイド症、
- 1人 無症候性MM、
- 6人 CLL、
- 1人 小リンパ球性白血病、
- 2人 リンパ腫、及び
- 15人 軽鎖MGUS患者

を含む、SPE / IFEにより検出されない更なる26人の患者を含む、血液疾患をする78人の患者を同定した。

#### 【0099】

結論：FLC及びHLCアッセイに基づくアルゴリズムは、血液疾患を検出するためのより感度の高い方法を提供し、SPE及びsIFEのスクリーニングパネルにより見落とされる26人の患者を同定した。

10

20

30

40

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2013/050540

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Alison Levoguer: "Freelite update and Hevylite unpublished data : clinical applications for multiple myeloma", 8 February 2012 (2012-02-08), XP055066267, Retrieved from the Internet: URL:http://szpiczak.org/lang/aktualnosci/s potkania/rok_2012/pdf/relacja_12_02_06/al freelite_update_and_hevylite_unpublished_d ata_for_poland_february_2012.pdf [retrieved on 2013-06-11] the whole document page 45 - page 49 page 64 - page 66 ----- -/--	1-23
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
12 June 2013	27/06/2013	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  Gall-Truchot, A	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2013/050540
---

X(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HEINZ LUDWIG ET AL: "Provide Prognostic Information, Allow Creation of a Prognostic Model and Identify Clonal Changes (clonal tiding) Through the Course of Multiple Myeloma (MM).", 53RD ANNUAL MEETING AND EXPOSITION OF THE AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY (ASH), 30 December 2011 (2011-12-30), XP055066336, the whole document especially 1 and 4 -----	1-23
X	HARI PARAMESWARAN ET AL: "2877 Immunoglobulin Free Light Chain (FLC) and Heavy Chain/Light Chain (HLC) Assays - Comparison with Electrophoretic Responses in Multiple Myeloma (MM)", 53RD ANNUAL MEETING AND EXPOSITION OF THE AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY (ASH), 30 December 2011 (2011-12-30), XP055066327, the whole document especially 2 -----	1-23
X	XAVIER LELEU ET AL: "Novel M-Component Based Biomarkers in Waldenström's Macroglobulinemia", CLINICAL LYMPHOMA, MYELOMA & LEUKEMIA, vol. 11, no. 1, 1 February 2011 (2011-02-01), pages 164-167, XP055066493, ISSN: 2152-2650, DOI: 10.3816/CLML.2011.n.039 the whole document abstract page 167, left-hand column, paragraph 2 -----	1-23
X	A LEGG ET AL: "Serum free light chain and Hevylite analyses in the diagnosis, monitoring and prognosis of B cell disorders", KLINICKA BIOCHEMIE A METABOLISMUS, vol. 18, no. 2, 1 January 2010 (2010-01-01), pages 56-61, XP055066507, the whole document abstract page 59, right-hand column, paragraph 4 -----	1-23

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
C 0 7 K 16/18	(2006.01)	C 1 2 Q	1/02	
		C 0 7 K	17/08	
		C 0 7 K	16/18	

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

(74) 代理人 100117019  
弁理士 渡辺 陽一

(74) 代理人 100150810  
弁理士 武居 良太郎

(74) 代理人 100195486  
弁理士 千野 櫻子

(72) 発明者 スティーブン ハーディング  
イギリス国, ウェスト ミッドランズ ビー 1 5 1 キューティアー, バーミンガム, エッジバーストン, カルソープ ロード 8

(72) 発明者 リチャード ヒューズ  
イギリス国, ウェスト ミッドランズ ビー 1 5 1 キューティアー, バーミンガム, エッジバーストン, カルソープ ロード 8

(72) 発明者 ヒュー カー - スミス  
イギリス国, ウェスト ミッドランズ ビー 1 5 1 キューティアー, バーミンガム

F ターム (参考) 2G045 AA25 DA37 FA13 FA37 GC10 GC11 JA01  
4B063 QA19 QQ08 QQ79 QR48 QS33 QS35 QX01 QX02  
4H045 AA30 BA10 DA76 EA50 FA82

专利名称(译)	表征浆细胞相关疾病的方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP2015511008A</a>	公开(公告)日	2015-04-13
申请号	JP2014560440	申请日	2013-03-06
[标]申请(专利权)人(译)	结合点集团有限公司		
申请(专利权)人(译)	结合位点组Rimitido		
[标]发明人	スティーブンハーディング リチャードヒューズ ヒューカースミス		
发明人	スティーブン ハーディング リチャード ヒューズ ヒュー カー-スミス		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/543 G01N33/53 C12Q1/02 C07K17/08 C07K16/18		
CPC分类号	G01N33/6857 G01N2800/22 G16H50/30		
FI分类号	G01N33/68 G01N33/543.545.A G01N33/543.587 G01N33/543.597 G01N33/53.N C12Q1/02 C07K17/08 C07K16/18		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/DA37 2G045/FA13 2G045/FA37 2G045/GC10 2G045/GC11 2G045/JA01 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QQ79 4B063/QR48 4B063/QS33 4B063/QS35 4B063/QX01 4B063/QX02 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/DA76 4H045/EA50 4H045/FA82		
代理人(译)	青木 笃 石田 敬 渡边洋一 武井良太郎		
优先权	2012003938 2012-03-06 GB		
其他公开文献	JP6240099B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

**摘要(译)**  
 本发明提供了用于表征患者中浆细胞相关疾病的方法，包括：(i) 提供来自患者的至少一种样品；(ii) 在样品中确定两种或更多种；(a)  $\kappa$  :  $\lambda$  自由轻链 ( FLC ) 比率；(b) 与一类重链结合的 $\kappa$ 轻链的比例： $\lambda$ 轻链结合相同类别的重链 ( HLC $\kappa$  : HLC $\lambda$ 比率 )；(c) 样品中FLC的总量以及 (d) 与重链类别结合的 $\kappa$ 轻链加与结合相同重链类别的 $\lambda$ 轻链 ( 总HLC ) 的总量；(iii) 将 (a) (b) , (c) 和/或 (d) 中的每个比率或数量与预定值进行比较并为每个数量或比率指定一个分数;和 (iv) 使用分数来表征浆细胞相关疾病。还提供了被配置为执行本发明的方法的设备。本发明还提供了一种试剂盒，其组合包含 (i) 抗-FLC特异性和抗-FLC特异性抗体或其片段和 (ii) 抗- $\kappa$ 重链类特异性和抗- $\lambda$ 重链类特异性抗体或其片段，任选混合在一起。

重鎖クラス	総HLC (g/L 血清)	スコア	結果
G	>26	高い	高いポリクローナルIgG
	19-26	中程度	中程度のポリクローナルIgG
	9-19	低い	低いポリクローナルIgG
	9-6	低い	低い抑制されたIgG
	6-3	中程度	中程度の抑制されたIgG
	<3	高い	高い抑制されたIgG
A	>16	高い	高いポリクローナルIgA
	5-16	中程度	中程度のポリクローナルIgA
	2-5	低い	低いポリクローナルIgA
	2 (normal)	低い	低い抑制されたIgA
	2.0-0.8	低い	低い抑制されたIgA
M	0.8-0.3	中程度	中程度の抑制されたIgA
	<0.3	高い	高い抑制されたIgA
	>7	高い	高いポリクローナルIgM
	3-7	中程度	中程度のポリクローナルIgM
	1.5-3	低い	低いポリクローナルIgM
3 (normal)	1.5-0.4	低い	低い抑制されたIgM
	0.4-0.2	中程度	中程度の抑制されたIgM
	<0.2	高い	高い抑制されたIgM