(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7002037号
(P7002037)

(45)発行日　令和4年2月4日(2022.2.4)

(24)登録日　令和4年1月4日(2022.1.4)

(51)国際特許分類		FI		
C12Q	*1/686(2018.01)*	C12Q	1/686	Z
C12Q	*1/6844(2018.01)*	C12Q	1/6844	Z
C12Q	*1/6813(2018.01)*	C12Q	1/6813	Z
A61P	*31/12 (2006.01)*	A61P	31/12	
A61P	*31/04 (2006.01)*	A61P	31/04	

請求項の数　29　（全79頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-568212(P2017-568212)
(86)(22)出願日　平成28年6月30日(2016.6.30)
(65)公表番号　特表2018-523998(P2018-523998A)
(43)公表日　平成30年8月30日(2018.8.30)
(86)国際出願番号　PCT/US2016/040437
(87)国際公開番号　WO2017/004390
(87)国際公開日　平成29年1月5日(2017.1.5)
審査請求日　令和1年6月25日(2019.6.25)
(31)優先権主張番号　62/187,683
(32)優先日　平成27年7月1日(2015.7.1)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/257,406
(32)優先日　平成27年11月19日(2015.11.19)
最終頁に続く

(73)特許権者　500093122
デューク・ユニヴァーシティ
アメリカ合衆国ノースカロライナ州２７７０５，ダーラム，アーウィン ロード２８１２， スイート ３０６
(74)代理人　100099623
弁理士　奥山 尚一
(74)代理人　100107319
弁理士　松島 鉄男
(74)代理人　100125380
弁理士　中村 綾子
(74)代理人　100142996
弁理士　森本 聡二
(72)発明者　ツァリク，エフレイム・エル
アメリカ合衆国ノースカロライナ州２７
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　急性呼吸器感染症を診断および処置するための方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

プラットフォームについての急性呼吸器病分類子を作製するための方法であって、前記分類子が、前記プラットフォームについての細菌性ＡＲＩ分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子を含み、前記方法が、

（ａ）細菌性急性呼吸器感染症を患っていることがわかっている複数の対象から得た生物学的試料を準備するステップ、

（ｂ）ウイルス性急性呼吸器感染症を患っていることがわかっている複数の対象から得た生物学的試料を準備するステップ、

（ｃ）非感染性疾病を患っていることがわかっている複数の対象から得た生物学的試料を準備するステップ、

（ｄ）ステップ（ａ）、（ｂ）、および（ｃ）からの前記生物学的試料のそれぞれにおいて複数の遺伝子（例えば、全ての発現した遺伝子もしくはトランスクリプトーム、またはその部分集合）の遺伝子発現レベルを前記プラットフォームにおいて測定するステップ、

（ｅ）ステップ（ｄ）において得られた遺伝子発現レベルを正規化して、正規化遺伝子発現値を生じるステップ、ならびに

（ｆ）前記正規化遺伝子発現値に基づいて前記プラットフォームについての細菌性ＡＲＩ分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子を作製するステップ

を含み、それにより、前記プラットフォームについての前記急性呼吸器病分類子を作製する方法。

【請求項２】
前記測定ステップが、前記試料から細胞を精製するステップ、前記試料の細胞を破壊するステップ、および前記試料からＲＮＡを単離するステップのうちの１つまたは複数を含み、またはそれらに先行される、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記測定ステップが、半定量的ＰＣＲおよび／または核酸プローブハイブリダイゼーションを含む、請求項１または請求項２に記載の方法。
【請求項４】
前記プラットフォームが、アレイプラットフォーム、サーマルサイクラープラットフォーム（例えば、多重化および／またはリアルタイムＰＣＲプラットフォーム）、ハイブリダイゼーションおよびマルチシグナルコード化（例えば、蛍光）検出器プラットフォーム、核酸質量分析プラットフォーム、核酸シーケンシングプラットフォーム、またはそれらの組合せを含む、請求項１または請求項２に記載の方法。
【請求項５】
前記作製ステップが、前記プラットフォームについての前記細菌性ＡＲＩ分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子を提供するために
（ｉ）各正規化遺伝子発現値についての重みを割り当て、各遺伝子についての重みおよび発現値を分類子（例えば、線形回帰分類子）方程式へ入力し、前記複数の対象のそれぞれについての結果に対してスコアを決定するステップ、その後
（ｉｉ）前記複数の対にわたって各結果についての分類の精度を決定するステップ、および、その後
（ｉｉｉ）分類の精度が最適化されるまで重みを調整するステップ
を繰り返して含み、非ゼロ重みを有する遺伝子がそれぞれの分類子に含まれる、請求項１に記載の方法。
【請求項６】
前記分類子が線形回帰分類子であり、前記作製ステップが、前記分類子のスコアを確率へ変換することを含む、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
前記ＡＲＩ分類子を、少なくとも２つの関連した臨床的属性を含む既知のデータセットに対して検証するステップをさらに含む、請求項１～６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８】
前記細菌性ＡＲＩ分類子が、表１Ａから表１Ｄ、表５Ａから表５Ｑ、表１０Ａから表１０Ｆ、表１１、および／または表１４Ａから１４Ｊにおいてウイルス性ＡＲＩ分類子の一部として列挙された遺伝子（例えば、前記遺伝子と相同なオリゴヌクレオチドプローブで、測定可能）のうちの５個、１０個、２０個、３０個、または５０個から８０個、１００個、１５０個、または２００個までの発現レベルを含む、請求項１～７のいずれか1項に記載の方法。
【請求項９】
前記ウイルス性ＡＲＩ分類子が、表１Ａから表１Ｄ、表５Ａから表５Ｑ、表１０Ａから表１０Ｆ、表１１、および／または表１４Ａから１４Ｊにおいてウイルス性ＡＲＩ分類子の一部として列挙された遺伝子（例えば、前記遺伝子と相同なオリゴヌクレオチドプローブで、測定可能）のうちの５個、１０個、２０個、３０個、または５０個から８０個、１００個、１５０個、または２００個までの発現レベルを含む、請求項１～８のいずれか1項に記載の方法。
【請求項１０】
前記非感染性疾病分類子が、表１Ａから表１Ｄ、表５Ａから表５Ｑ、表１０Ａから表１０Ｆ、表１１、および／または表１４Ａから１４Ｊにおいて非感染性疾病分類子の一部として列挙された遺伝子（例えば、前記遺伝子と相同なオリゴヌクレオチドプローブで、測定可能）のうちの５個、１０個、２０個、３０個、または５０個から８０個、１００個、１５０個、または２００個までの発現レベルを含む、請求項１～９のいずれか1項に記載の

方法。
【請求項１１】
細菌性、ウイルス性、および／または非感染性から選択される急性呼吸器病の病因を、それを患っており、またはそれのリスクがある対象において決定するための方法であって、
（ａ）前記対象から得た生物学的試料を準備するステップ、
（ｂ）前記生物学的試料における定義済みの遺伝子セットの遺伝子発現レベルをプラットフォーム上で測定するステップ
（ｃ）前記遺伝子発現レベルを正規化して、正規化遺伝子発現値を生じるステップ
（ｄ）細菌性急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子から選択される１つまたは複数の急性呼吸器病分類子へ前記正規化遺伝子発現値を入力するステップであって、前記分類子が、プラットフォームについての前記定義済みの遺伝子セットの遺伝子のそれぞれについての定義済み重み付け値を含み、前記細菌性急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子が、請求項１～７のいずれか１項に記載の方法によって得られる、ステップ、ならびに
（ｅ）前記正規化遺伝子発現値および前記分類子に基づいて細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性疾病の１つまたは複数についての病因確率を計算するステップ
を含み、それにより、前記対象における前記急性呼吸器病が細菌起源か、ウイルス起源か、非感染性起源か、またはそれらのいくつかの組合せかを決定する方法。
【請求項１２】
（ｆ）前記確率を、定義済みの閾値、カットオフ値、または感染の見込みを示す値の範囲（例えば、信頼区間）と比較するステップ
をさらに含む、請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
前記対象が急性呼吸器病症状を患っている、請求項１１または請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
前記対象が、細菌感染またはウイルス感染を有するのではないかと疑われる、請求項１１～１３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１５】
前記試料が細菌性ＡＲＩの見込みを示さない場合には、ウイルス分類子および／または非感染分類子のみを用いてステップ（ｄ）および（ｅ）を繰り返して、前記対象における急性呼吸器病がウイルス起源か、非感染性起源か、またはその組合せかを決定するステップをさらに含む、請求項１１～１４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１６】
前記試料がウイルス性ＡＲＩの見込みを示さない場合には、細菌分類子および／または非感染分類子のみを用いてステップ（ｄ）および（ｅ）を繰り返して、前記対象における急性呼吸器病が細菌起源か、非感染性起源か、またはその組合せかを決定するステップをさらに含む、請求項１１～１４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１７】
前記試料が非感染性疾病の見込みを示さない場合には、細菌分類子および／またはウイルス分類子のみを用いてステップ（ｄ）および（ｅ）を繰り返して、前記対象における急性呼吸器病が細菌起源か、ウイルス起源か、またはその組合せかを決定するステップをさらに含む、請求項１１～１４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１８】
前記急性呼吸器病の前記病因の確率を示すスコアを前記対象に割り当てる報告を作成するステップをさらに含む、請求項１１～１７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１９】
前記定義済みの遺伝子セットが３０個から２００個までの遺伝子を含む、請求項１１～１８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２０】

前記定義済みの遺伝子セットが、表１Ａから表１Ｄ、表５Ａから表５Ｑ、表１０Ａから表１０Ｆ、表１１、および／または表１４Ａから１４Ｊに列挙された３０個から２００個までの遺伝子を含む、請求項１１～１９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２１】
前記生物学的試料が、末梢血、痰、鼻咽頭スワブ、鼻咽頭洗浄液、気管支肺胞洗浄液、気管内吸引物、およびそれらの組合せからなる群から選択される、請求項１１～２０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２２】
前記生物学的試料が末梢血試料である、請求項１１～２０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２３】
細菌性、ウイルス性、および／または非感染性から選択される急性呼吸器病を患っており、またはそのリスクがある対象においてワクチンまたは薬物に対する応答をモニターする方法であって、前記対象の宿主応答を決定するステップを含み、前記決定ステップが請求項１１～２２のいずれか１項に記載の方法によって行われる、方法。
【請求項２４】
薬物が抗細菌薬または抗ウイルス薬である、請求項２３に記載の方法。
【請求項２５】
細菌性、ウイルス性、および／または非感染性から選択される対象における急性呼吸器病の病因を決定するためのシステムであって、
少なくとも１つのプロセッサ；
前記対象由来の生物学的試料を受けるように構成された試料入力回路；
前記少なくとも１つのプロセッサに連結され、かつ前記生物学的試料の遺伝子発現レベルを決定するように構成された試料分析回路；
前記少なくとも１つのプロセッサに連結された入力／出力回路；
前記少なくとも１つのプロセッサに連結され、かつデータ、パラメータ、および／または分類子を記憶するように構成された記憶回路；ならびに
前記プロセッサに連結され、かつ前記少なくとも１つのプロセッサにより実行された時、前記少なくとも１つのプロセッサに動作を実施させる、メモリ中に具現されたコンピュータ可読プログラムコードを含むメモリ
を含み、前記動作が、
前記生物学的試料における定義済みの遺伝子セットの遺伝子発現レベルの測定を、前記試料分析回路を介して制御／実施すること；
前記遺伝子発現レベルを正規化して、正規化遺伝子発現値を生じること；
前記定義済みの遺伝子セットの遺伝子のそれぞれについての定義済みの重み付け値を含む細菌性急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子を前記記憶回路から取り出すこと；
前記細菌性急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）分類子、前記ウイルス性ＡＲＩ分類子、および前記非感染性疾病分類子から選択される１つまたは複数の急性呼吸器病分類子へ前記正規化遺伝子発現値を入力すること；
前記分類子に基づいた、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性疾病の１つまたは複数についての病因確率を計算すること；ならびに
前記対象における前記急性呼吸器病が細菌起源か、ウイルス起源か、非感染性起源か、またはそれらのいくつかの組合せかの決定の出力を、前記入力／出力回路を介して制御すること
を含む、システム。
【請求項２６】
前記システムが、遺伝子発現の定量的または半定量的検出を前記ＡＲＩの前記病因の累積スコアまたは確率へ変換するためのコンピュータ可読コードを含む、請求項２５に記載のシステム。
【請求項２７】

前記システムがアレイプラットフォーム、サーマルサイクラープラットフォーム（例えば、多重化および／またはリアルタイムＰＣＲプラットフォーム）、ハイブリダイゼーションおよびマルチシグナルコード化（例えば、蛍光）検出器プラットフォーム、核酸質量分析プラットフォーム、核酸シーケンシングプラットフォーム、またはそれらの組合せを含む、請求項２５または請求項２６に記載のシステム。

【請求項２８】

前記定義済みの遺伝子セットが３０個から２００個までの遺伝子を含む、請求項２５～２７のいずれか１項に記載のシステム。

【請求項２９】

前記定義済みの遺伝子セットが、表１Ａから表１Ｄ、表５Ａから表５Ｑ、表１０Ａから表１０Ｆ、表１１、および／または表１４Ａから１４Ｊに列挙された３０個から２００個までの遺伝子を含む、請求項２５～２７のいずれか１項に記載のシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願

この出願は、２０１５年７月１日に出願された米国仮特許出願第６２／１８７，６８３号および２０１５年１１月１９日に出願された米国仮特許出願第６２／２５７，４０６号の恩恵を主張し、それらの米国仮特許出願の開示は、引用することにより本明細書の一部をなすものとする。

【０００２】

連邦政府の財政的支援の説明

この発明は、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ（ＮＩＨ）により授与された連邦助成金番号Ｕ０１ＡＩ０６６５６９、Ｐ２０ＲＲ０１６４８０、およびＨＨＳＮ２６６２００４０００６４Ｃ、ならびにＤｅｆｅｎｓｅ Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｐｒｏｊｅｃｔｓ Ａｇｅｎｃｙ（ＤＡＲＰＡ）により授与された連邦助成金番号Ｎ６６００１－０７－Ｃ－２０２４およびＮ６６００１－０９－Ｃ－２０８２による政府援助でなされた。米国政府はこの発明に対する一定の権利を有する。

【背景技術】

【０００３】

急性呼吸器感染症は、救急治療の情況でよく見られ、世界中でかなりの死亡率、罹患率、および経済的損失を生じている。気道感染症または急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）は、２０１１年において、いかなる他の原因よりも多い、世界中で３２０万人の死亡をもたらし、および１億６４００万年の障害調整生命年が失われた（Ｗｏｒｌｄ Ｈｅａｌｔｈ Ｏｒｇａｎｉｚａｔｉｏｎ．，２０１３ａ，２０１３ｂ）。２０１２年において、世界中での死因の第４位は、下気道感染症であり、支持療法があまり利用できない低・中所得国において、下気道感染症は、死因の第１位である（ＷＨＯ ｆａｃｔｓｈｅｅｔ，ａｃｃｅｓｓｅｄ Ａｕｇｕｓｔ ２２，２０１４）。これらの疾病はまた、先進国においても問題である。米国において、２０１０年、Ｃｅｎｔｅｒｓ ｆｏｒ Ｄｉｓｅａｓｅ Ｃｏｎｔｒｏｌ（ＣＤＣ）は、肺炎およびインフルエンザのみで、米国人口において１００，０００人あたり１５．１人の死亡をもたらしたと決定した。高齢者および５歳未満の子どもは特に、ＡＲＩによる予後不良になりやすい。例えば、２０１０年において、肺炎は、５歳以下の子どもにおいて世界中で全死亡の１８．３％（すなわち、ほとんど１４０万人の死亡）を占めた。

【０００４】

肺炎および他の下気道感染症は、主としてウイルス、細菌、またはより少ない頻度で真菌である多くの異なる病原体のせいであり得る。ウイルス病原体の中で、インフルエンザは、罹患した個体の数、季節によって異なる重症度、ならびにはるかにより高い罹患率および死亡率をもたらす新しい菌株（例えば、鳥インフルエンザ）についての絶えず存在する心配に基づいて、最も悪名高いものの一つである。しかしながら、ウイルス病原体の中で

、インフルエンザは、重大なヒト疾患を引き起こす、数あるもののうちの１つに過ぎない。呼吸器多核体ウイルス（ＲＳＶ）は、冬の間の先進国における子どもの入院の原因の第１位である。２００５年の５歳未満の子どもにおいて、世界中でＲＳＶ感染症の約３３００万の新しい症例が報告されており、３４０万が入院するほどの重症であった。このウイルス感染症だけで、毎年、６６，０００～１９９，０００人の子どもが命を失うと見積もられる。そして、米国だけで、６５歳を超える集団において、毎年、約１０，０００件の死がＲＳＶ感染症に関連づけられる。既知のウイルス病原体に加えて、新規および新興の感染症は、いつでも現れ得、数日間または数週間内で全世界的に広がることを歴史は示している。最近の例には、ＳＡＲＳコロナウイルスが含まれ、それは、２００３～２００４年に出現した時、１０％の死亡率を示した。つい最近には、中東呼吸器症候群（ＭＥＲＳ）コロナウイルスが、中東において今にも爆発しそうな状態を継続し、それによる死亡率は３０％となっている。これらの感染症のどちらも呼吸器症状を示し、最初は、いかなる他のＡＲＩとも区別不能であり得る。

【０００５】

ウイルス感染は、ＡＲＩの大部分を引き起こすが、細菌性病因もまた、特に下気道感染症の関連において、顕著である。細菌性ＡＲＩの具体的な原因は、地理的に、および臨床状況により異なるが、それらには、肺炎レンサ球菌（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ）、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）、インフルエンザ菌（Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｉｎｆｌｕｅｎｚａｅ）、肺炎クラミジア（Ｃｈｌａｍｙｄｉａ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ）、マイコプラズマ肺炎（Ｍｙｃｏｐｌａｓｍａ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ）、肺炎桿菌（Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ）、大腸菌（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ）、および緑膿菌（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ）が含まれる。これらの病原体の同定は、培養中のそれらの増殖を頼りにし、典型的には、数日間を要し、かつ感染性物質の検出についての感度に限界がある。試験するのに十分な試料を得ることは困難である：市中肺炎を有する１６６９人の患者の研究において、たった１４％の患者だけが、陽性培養を生じる「良質」痰試料を提供することができた（Ｇａｒｃｉａ－Ｖａｚｑｕｅｚ ｅｔ ａｌ．，２００４）。臨床医はこれらの試験の限界に気付いているために不安に駆られ、その結果として、抗細菌治療が、細菌感染のいかなる確認もなしに頻繁に処方される。

【０００６】

ＡＲＩの病因を迅速に診断することができることは、個々の患者についての処置の最適化、大流行を同定しかつ追跡する疫学的サーベイランス、および抗菌耐性の上昇気流を食い止めるための抗菌剤の適切な使用の指導という複数のレベルで広範囲に及ぶ社会的重要性をもつ、緊急の世界的問題である。早期かつ適切な抗菌治療が重篤な感染症を有する患者において予後を改善することは十分確立されている。これは、一部分、抗菌治療の過剰利用に押しやる。急性呼吸器病を有する外来患者の最高７３％が抗生物質を処方され、それは、この設定において成人に処方される全抗生物質のおよそ４０％を占める。しかしながら、これらの患者のほんの少数のみが抗細菌処置を必要とすると推定されている（Ｃａｎｔｒｅｌｌ ｅｔ ａｌ．２００３，Ｃｌｉｎ．Ｔｈｅｒ．Ｊａｎ；２４（１）：１７０－８２）。同様の傾向は、救急科において観察される。ウイルス病原体の存在が微生物学的に確認されていたとしても、同時の細菌感染の可能性を排除するものではない。結果として、抗細菌剤が、しばしば、「万が一に備えて」処方される。このスパイラルに陥る経験主義は、抗菌耐性の上昇気流に寄与し（Ｇｏｕｌｄ，２００９；Ｋｉｍ ＆ Ｇａｌｌｉｓ，１９８９）、それ自体、より高い死亡率、入院期間、およびヘルスケアの費用を伴う（Ｃｏｓｇｒｏｖｅ ２００６，Ｃｌｉｎ．Ｉｎｆｅｃｔ．Ｄｉｓ．，Ｊａｎ １５；４２ Ｓｕｐｐｌ ２：Ｓ８２－９）。加えて、抗生物質の不適切な使用は、薬物に関係した有害作用および他の合併症、例えば、クロストリジウム・ディフィシル（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｄｉｆｆｉｃｉｌｅ）関連下痢をもたらし得る（Ｚａａｓ ｅｔ ａｌ．，２０１４）。

【０００７】

急性呼吸器感染症は、感染によって引き起こされない疾病を含む多くの異なる疾病に共通している非特異的症状（例えば、発熱または咳）により特徴づけられることが多い。ＡＲＩについての既存の診断法は、多くの点で不十分である。通常の微生物学的試験は、乏しい感度および特異度、遅いターンアラウンドタイムにより、または試験の複雑さにより制限されている（Ｚａａｓ ｅｔ ａｌ．２０１４，Ｔｒｅｎｄｓ Ｍｏｌ Ｍｅｄ ２０（１０）：５７９－８８）。特定のウイルス病原体を検出する現在の試験、例えば、多重ＰＣＲに基づいたアッセイの１つの限界は、緊急性または汎発性ウイルス株を検出できないことである。インフルエンザパンデミックは、集団が自然抵抗力をもたない新しいウイルスが広がった時に起こる。インフルエンザパンデミックは、壊滅的になる場合が多い。例えば、１９１８～１９１９年、スペイン風邪では、世界の人口の約２０％～４０％を冒し、約５千万人の人が死亡した；１９５７～１９５８年、アジア風邪は、約２００万人の人が死亡した；１９６８～１９６９年、香港風邪は約１００万人の人が死亡した；そして、２００９～２０１０年、およそ４３００万～８９００万人の人が豚インフルエンザに罹り、８，８７０～１８，３００件の関連死を生じたとＣｅｎｔｅｒｓ ｆｏｒ Ｄｉｓｅａｓｅ Ｃｏｎｔｒｏｌは見積もっている。これらの新しい菌株の出現は、それらを検出するように設計されていない既存の診断法にとっての難題となっている。感染の確認が、数日間、必要とし、かつ州保健衛生局またはＣＤＣなどの専門化した試験センターで行われただけだった２００９年のインフルエンザパンデミック中、これは特に明らかであった（Ｋｕｍａｒ ＆ Ｈｅｎｒｉｃｋｓｏｎ ２０１２，Ｃｌｉｎ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ Ｒｅｖ ２５（２）：３４４－６１）。西アフリカにおけるエボラウイルス疾患の大流行は、現在、同じような難題を突きつけている。さらに、感染性疾患の将来的な大流行が避けられないため、この問題に直面し続けるだろう公算が大きい。

【０００８】

特定のウイルスまたは細菌についての試験のパラダイムを用いる診断法のさらなる限界は、病原性微生物が検出され得る場合でさえも、これは、患者の症状が、その検出された病原体によるものであるという証明ではないということである。微生物は、コロニー形成として知られた、個体の正常な細菌叢の一部として存在し得、またはそれは、試験された試料（例えば、鼻腔スワブまたは洗浄液）の夾雑により検出され得る。ウイルスおよび細菌を検出するものを含む最近承認された多重ＰＣＲアッセイは、高感度を提供するが、これらの試験は、ウイルスの無症状性保因と真の感染を区別しない。例えば、ＡＲＩにおいて、特に子どもにおいては、高率の無症状性ウイルス排出がある（Ｊａｎｓｅｎ ｅｔ ａｌ．２０１１，Ｊ Ｃｌｉｎ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ ４９（７）：２６３１－２６３６）。同様に、１つの病原体が検出されたとしても、疾病は、利用可能な、または実施できる試験がなかった第２の病原体による可能性がある。

【０００９】

報告では、ウイルス性ＡＲＩを健康な対照から区別する宿主遺伝子発現プロファイルが記載されている（Ｈｕａｎｇ ｅｔ ａｌ．２０１１ ＰＬｏＳ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ７（８）：ｅ１００２２３４；Ｍｅｊｉａｓ ｅｔ ａｌ．，２０１３；Ｔｈａｃｈ ｅｔ ａｌ．２００５ Ｇｅｎｅｓ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ６：５８８－５９５；Ｗｏｏｄｓ ｅｔ ａｌ．，２０１３；Ａ．Ｋ．Ｚａａｓ ｅｔ ａｌ．，２０１３；Ａ．Ｋ．Ｚａａｓ ｅｔ ａｌ．，２００９）。しかしながら、これらの中のほとんどが、健康に対するウイルス感染または健康に対する細菌感染の検出より、より臨床的に意味ある区別である、細菌性ＡＲＩからのウイルス性ＡＲＩの区別を行わない（Ｈｕ，Ｙｕ，Ｃｒｏｓｂｙ，＆ Ｓｔｏｒｃｈ，２０１３；Ｐａｒｎｅｌｌ ｅｔ ａｌ．，２０１２；Ｒａｍｉｌｏ ｅｔ ａｌ．，２００７）。

【００１０】

このように、現在の診断方法は、細菌感染およびウイルス感染、ならびに非感染性原因から生じる症状の間を区別する能力、または細菌とウイルスの同時感染を同定する能力には限界がある。

【発明の概要】

【００１１】
本開示は、一つには、呼吸器症状の病因の決定のための現行方法の限界の多くを克服する分子診断試験を提供する。その試験は、共発現した遺伝子またはシグネチャのパターンを測定および分析することにより感染性物質に対する宿主の応答を検出する。これらの遺伝子発現シグネチャは、急性呼吸器感染症と一致している症状を示すヒトもしくは動物、または（例えば、流行性または地域性疾患の大流行中）急性呼吸器感染症を発症するリスクがある（例えば、前駆症状性）ヒトもしくは動物における血液試料において測定され得る。本明細書に教示されているような宿主応答の測定は、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性病因の間を区別し、細菌とウイルスの同時感染から生じるＡＲＩも検出し得る。

【００１２】
この多成分試験は、前例のない精度および臨床適応性を以て機能し、ヘルスケア提供者が宿主（対象または患者）の応答を用いて、感染性物質の性質を病原体クラスのレベルまで確実に決定し、またはそれらだけでは特異的ではない症状を示す個々の患者において症状の感染性原因を排除することを可能にする。いくつかの実施形態において、その結果は、呼吸器ウイルスまたは細菌の種について感知しない（すなわち、ウイルスと細菌とを区別するが、ウイルスまたは細菌の特定の属間または種間を区別しない）。これは、特定の病原体に対するプローブまたは試薬を含み、それゆえに、それらの特定の病原体のみを検出することに限定される現行の試験に優る利点を提供する。

【００１３】
本開示の一態様は、対象における急性呼吸器症状が、細菌起源か、ウイルス起源か、または非感染性起源かを決定するための方法であって、（ａ）対象から生物学的試料を得るステップ、（ｂ）生物学的試料から対象の遺伝子発現プロファイルを、シグネチャと呼ばれる定義済みの遺伝子セットの発現レベルを評価することにより決定するステップ、（ｃ）前記測定を行うために用いられたテクノロジー（すなわち、プラットフォーム）について遺伝子発現レベルを正規化して、正規化値を生じるステップ、（ｄ）各シグネチャにおける遺伝子のそれぞれについての定義済みの重み付け値（係数）を有する細菌分類子、ウイルス分類子、および／または非感染性疾病分類子へ前記正規化値を入力するステップ、（ｅ）前記分類子の出力を定義済み閾値、カットオフ値、または感染の見込みを示す値の範囲と比較するステップ、ならびに（ｆ）前記出力を用いて、前記試料を提供した患者が細菌起源、ウイルス起源の感染を有するか、または非感染性疾病、もしくはこれらの状態のいくつかの組合せを有するかを決定するステップを含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる方法を提供する。

【００１４】
本開示の別の態様は、対象における急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）が、細菌起源か、ウイルス起源か、または非感染性起源かを決定するための方法であって、（ａ）対象から生物学的試料を得るステップ、（ｂ）生物学的試料から対象の遺伝子発現プロファイルを、定義済みの遺伝子セットの発現レベルを評価することにより決定するステップ、（ｃ）前記測定を行うために用いられたテクノロジー（すなわち、プラットフォーム）について遺伝子発現レベルを正規化して、正規化値を生じるステップ、（ｄ）各シグネチャにおける遺伝子のそれぞれについての定義済みの重み付け値を有する分類子へ前記正規化値を入力するステップ、（ｅ）前記分類子の出力を定義済み閾値、カットオフ値、または感染の見込みを示す値の範囲と比較するステップ、（ｆ）前記試料が細菌に対して陰性である場合には、ウイルス分類子および非感染性分類子だけを用いて、ステップ（ｄ）を繰り返すステップ、ならびに（ｇ）前記試料をウイルス性病因または非感染性疾病であると分類するステップを含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる方法を提供する。

【００１５】
本開示の別の態様は、対象における急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）が、細菌起源か、ウイルス起源か、または非感染性起源かを決定するための方法であって、（ａ）対象から生物学的試料を得るステップ、（ｂ）生物学的試料から対象の遺伝子発現プロファイルを、定義

済みの遺伝子セットの発現レベルを評価することにより決定するステップ、（ｃ）前記測定を行うために用いられたテクノロジー（すなわち、プラットフォーム）について遺伝子発現レベルを正規化して、正規化値を生じるステップ、（ｄ）各シグネチャにおける遺伝子のそれぞれについての定義済みの重み付け値を有する分類子へ前記正規化値を入力するステップ、（ｅ）前記分類子の出力を定義済み閾値、カットオフ値、または感染の見込みを示す値の範囲と比較するステップ、（ｆ）前記試料がウイルスに対して陰性である場合には、細菌分類子および非感染性分類子だけを用いて、ステップ（ｄ）を繰り返すステップ、ならびに（ｇ）前記試料を細菌性病因または非感染性疾病であると分類するステップを含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる方法を提供する。

【００１６】

本開示の別の態様は、対象における急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）が、細菌起源か、ウイルス起源か、または非感染性起源かを決定するための方法であって、（ａ）対象から生物学的試料を得るステップ、（ｂ）生物学的試料から対象の遺伝子発現プロファイルを、定義済みの遺伝子セットの発現レベルを評価することにより決定するステップ、（ｃ）前記測定を行うために用いられたテクノロジー（すなわち、プラットフォーム）について遺伝子発現レベルを正規化して、正規化値を生じるステップ、（ｄ）各シグネチャにおける遺伝子のそれぞれについての定義済みの重み付け値を有する分類子へ前記正規化値を入力するステップ、（ｅ）前記分類子の出力を定義済み閾値、カットオフ値、または感染の見込みを示す値の範囲と比較するステップ、（ｆ）前記試料が非感染性疾病に対して陰性である場合には、ウイルス分類子および細菌分類子だけを用いて、ステップ（ｄ）を繰り返すステップ、ならびに（ｇ）前記試料をウイルス性病因または細菌性病因であると分類するステップを含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる方法を提供する。

【００１７】

本開示のさらに別の態様は、対象において病因が不明である急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）を処置する方法であって、（ａ）対象から生物学的試料を得るステップ、（ｂ）生物学的試料から対象の遺伝子発現プロファイルを、定義済みの遺伝子セット（例えば、１つ、２つ、もしくは３つ、またはそれ超のシグネチャ）の発現レベルを評価することにより決定するステップ、（ｃ）前記測定を行うために用いられたテクノロジー（すなわち、プラットフォーム）について遺伝子発現レベルを正規化して、正規化値を生じるステップ、（ｄ）各シグネチャにおける遺伝子のそれぞれについての定義済みの重み付け値を有する細菌分類子、ウイルス分類子、および非感染性疾病分類子へ前記正規化値を入力するステップ、（ｅ）前記分類子の出力を定義済み閾値、カットオフ値、または感染の見込みを示す値の範囲と比較するステップ、（ｆ）前記試料を、細菌性病因、ウイルス性病因、または非感染性疾病であると分類するステップ、ならびに（ｇ）ステップ（ｅ）によって同定されているように適切な処置レジメンを前記対象へ施すステップを含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる方法を提供する。いくつかの実施形態において、ステップ（ｇ）は、ＡＲＩの病因が細菌であると決定された場合、抗細菌治療を施すことを含む。他の実施形態において、ステップ（ｇ）は、ＡＲＩの病因がウイルスであると決定された場合、抗ウイルス治療を施すことを含む。

【００１８】

別の態様は、細菌性、ウイルス性、および／または非感染性から選択される急性呼吸器病を患っており、またはそのリスクがある対象においてワクチンまたは薬物に対する応答をモニターする方法であって、前記対象の宿主応答を決定するステップを含み、前記決定ステップが、本明細書に教示されているような方法により行われる、方法である。いくつかの実施形態において、前記薬物は抗細菌薬または抗ウイルス薬である。

【００１９】

前記態様のいくつかの実施形態において、前記方法は、ＡＲＩの病因の確率を示すスコアを対象に割り当てる報告を作成するステップをさらに含む。

【００２０】

細菌性、ウイルス性、および／または非感染性から選択される対象における急性呼吸器病

の病因を決定するためのシステムであって、少なくとも１つのプロセッサ；対象由来の生物学的試料を受けるように構成された試料入力回路；前記少なくとも１つのプロセッサに連結され、かつ前記生物学的試料の遺伝子発現レベルを決定するように構成された試料分析回路；前記少なくとも１つのプロセッサに連結された入力／出力回路；前記少なくとも１つのプロセッサに連結され、かつデータ、パラメータ、および／または分類子を記憶するように構成された記憶回路；ならびに、前記プロセッサに連結され、かつ前記少なくとも１つのプロセッサにより実行された時、前記少なくとも１つのプロセッサに動作を実施させる、メモリ中に具現されたコンピュータ可読プログラムコードを含むメモリのうち（それらの組合せを含む）の１つまたは複数を含み、前記動作が、前記生物学的試料における定義済みの遺伝子セット（すなわち、シグネチャ）の遺伝子発現レベルの測定を、前記試料分析回路を介して制御／実施すること；前記遺伝子発現レベルを正規化して、正規化遺伝子発現値を生じること；定義済みの遺伝子セットの遺伝子のそれぞれについての定義済みの重み付け値（すなわち、係数）を含む細菌性急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子を前記記憶回路から取り出すこと；細菌性急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子から選択される１つまたは複数の急性呼吸器病分類子へ前記正規化遺伝子発現値を入力すること；前記分類子に基づいた、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性疾病の１つまたは複数についての病因確率を計算すること；ならびに、前記対象における急性呼吸器病が細菌起源か、ウイルス起源か、非感染性起源か、またはそれらのいくつかの組合せかの決定の出力を、前記入力／出力回路を介して制御することを含む、システムがさらに提供される。

【００２１】

いくつかの実施形態において、システムは、遺伝子発現の定量的または半定量的検出をＡＲＩの病因の累積スコアまたは確率へ変換するコンピュータ可読コードを含む。

【００２２】

いくつかの実施形態において、システムは、アレイプラットフォーム、サーマルサイクラープラットフォーム（例えば、多重化および／またはリアルタイムＰＣＲプラットフォーム）、ハイブリダイゼーションおよびマルチシグナルコード化（例えば、蛍光）検出器プラットフォーム、核酸質量分析プラットフォーム、核酸シーケンシングプラットフォーム、またはそれらの組合せを含む。

【００２３】

前記態様のいくつかの実施形態において、定義済みの遺伝子セットは、少なくとも３個の遺伝子シグネチャを含む。

【００２４】

前記態様のいくつかの実施形態において、生物学的試料は、末梢血、痰、鼻咽頭スワブ、鼻咽頭洗浄液、気管支肺胞洗浄液、気管内吸引物、およびそれらの組合せからなる群から選択される試料を含む。

【００２５】

前記態様のいくつかの実施形態において、細菌分類子は、表１Ａから表１Ｄ、表５Ａから表５Ｑ、表１０Ａから表１０Ｆ、表１１、および／または表１４Ａから１４Ｊにおいて細菌分類子の一部として列挙された遺伝子（例えば、前記遺伝子または遺伝子転写産物と相同なオリゴヌクレオチドプローブで、測定可能）のうちの５個、１０個、２０個、３０個、または５０個から８０個、１００個、１５０個、または２００個までの発現レベルを含む。いくつかの実施形態において、ウイルス分類子は、表１Ａから表１Ｄ、表５Ａから表５Ｑ、表１０Ａから表１０Ｆ、表１１、および／または表１４Ａから１４ＪにおいてウイルスＡ分類子の一部として列挙された遺伝子（例えば、前記遺伝子または遺伝子転写産物と相同なオリゴヌクレオチドプローブで、測定可能）のうちの５個、１０個、２０個、３０個、または５０個から８０個、１００個、１５０個、または２００個までの発現レベルを含む。いくつかの実施形態において、非感染性疾病分類子は、表１Ａから表１Ｄ、表５Ａから表５Ｑ、表１０Ａから表１０Ｆ、表１１、および／または表１４Ａから１４Ｊにおい

て非感染性疾病分類子の一部として列挙された遺伝子（例えば、前記遺伝子または遺伝子転写産物と相同なオリゴヌクレオチドプローブで、測定可能）のうちの５個、１０個、２０個、３０個、または５０個から８０個、１００個、１５０個、または２００個までの発現レベルを含む。

【００２６】

（ａ）生物学的試料からｍＲＮＡを抽出するための手段；（ｂ）表１Ａから表１Ｄ、表５Ａから表５Ｑ、表１０Ａから表１０Ｆ、表１１、および／または表１４Ａから１４Ｊからの５個、１０個、２０個、３０個、または５０個から８０個、１００個、１５０個、または２００個までの遺伝子からの転写産物と相同な領域を有する複数の合成オリゴヌクレオチドからなる１つまたは複数のアレイを作製するための手段；ならびに（ｃ）使用説明書を含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる、対象における急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）の病因を決定するためのキットもまた提供される。

【００２７】

本開示の別の態様は、急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）分類子を評価するためにキットを使用する方法であって、（ａ）表１Ａから表１Ｄ、表５Ａから表５Ｑ、表１０Ａから表１０Ｆ、表１１、および／または表１４Ａから１４Ｊからの５個、１０個、２０個、３０個、または５０個から８０個、１００個、１５０個、または２００個までの遺伝子と相同な領域を有する複数の合成オリゴヌクレオチドからなる１つまたは複数のアレイを作製するステップ；（ｂ）正規化遺伝子と相同な領域を有するオリゴヌクレオチドを前記アレイに加えるステップ；（ｃ）急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）を患っている対象から生物学的試料を得るステップ；（ｄ）前記試料からＲＮＡを単離して、トランスクリプトームを作製するステップ；（ｅ）（例えば、遺伝子発現のレベルと比例した蛍光または電流を測定することなどにより）前記アレイ上の前記トランスクリプトームを測定するステップ；（ｆ）前記トランスクリプトームの測定値を正規化遺伝子に対して正規化し、分類子を実行するために正規化測定値をコンピュータへ電子的に転送するステップ；（ｇ）報告を作成するステップ、および任意で、（ｈ）前記結果に基づいた適切な処置を施すステップを含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる方法を提供する。

【００２８】

いくつかの実施形態において、方法は、少なくとも２つの関連した臨床的属性を含む既知のデータセットに対してＡＲＩ分類子を外部検証するステップをさらに含む。いくつかの実施形態において、データセットは、ＧＳＥ６２６９、ＧＳＥ４２０２６、ＧＳＥ４０３９６、ＧＳＥ２０３４６、ＧＳＥ４２８３４、およびそれらの組合せからなる群から選択される。

【００２９】

本開示のさらに別の態様は、本明細書に開示および例証されている全てを提供する。

【００３０】

不明の病因の対象での急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）についての処置の方法における、本明細書に教示されているようなＡＲＩ分類子の使用もまた提供される。

【００３１】

本開示の前述の態様および他の特徴は、本明細書において、添付の図面に関連して示された以下の記載で説明される。

【図面の簡単な説明】

【００３２】

【図１】本開示のいくつかの実施形態に従って分類子を得る方法（訓練１０）を示す概略図であり、各分類子は、正規化遺伝子発現レベルの全部または部分集合の加重和で構成される。この加重和は、特に閾値または信頼区間と比較した場合の、決定（分類）を可能にする確率を定義する。訓練により得られる各分類子についての正確な遺伝子の組合せ、それらの重み、および閾値は、特定のプラットフォームに特有である。分類子（またはより的確には、それの成分、すなわち、重みおよび閾値または信頼区間（値））がデータベースになる。非ゼロの値を有する重みが、分類子によって用いられる遺伝子の部分集合を決

定する。遺伝子発現値をマッチさせる特定されたプラットフォーム内で全ての３つの分類子（細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性ＡＲＩ）を得るように繰り返す。
【図２】本開示のいくつかの実施形態に従って分類子を作製し、および／または用いることの例を示す図である。
【図３】本開示のいくつかの実施形態に従って分類子を用いる、対象が患っている急性呼吸器症状の病因の分類２０の方法を示す概略図である。
【図４】本開示のいくつかの実施形態に従って対象におけるＡＲＩの病因を決定するために二次分類を用いることについての決定パターンを示す概略図である。
【図５】実施例１に提示された訓練方法例の図である。細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病を包含する患者のコホートを用いて、各状態の分類子を開発した。この統合ＡＲＩ分類子を、一個抜き交差検証を用いて検証し、細菌感染対ウイルス感染の３つの公表された分類子と比較した。統合ＡＲＩ分類子をまた、６つの公的に利用可能なデータセットにおいて外部検証した。一実験において、健康なボランティアが訓練セットに含まれ、「非感染」対照としてそれらの適性を決定した。全てのその後の実験を、この健康な対象コホートを用いずに実施した。
【図６】実施例１に提示された訓練方法例に従っての、３つの分類子（細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性疾病）の一個抜き交差検証の結果を示すグラフである。各患者は、細菌性ＡＲＩ（三角形）、ウイルス性ＡＲＩ（円形）、および非感染性疾病（四角形）を有する確率を割り当てられている。細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病を有すると臨床的に判定された患者は、それぞれ、上部、中央、および下部のパネルにおいて提示されている。全体的な分類精度は８７％であった。
【図７】疾病を患っているが感染していない対照よりむしろ、非感染対照としての健康な成人の評価を示すグラフである。この図は、対照としての、疾病を患っているが感染していない対象の使用の予想外の優越性を実証している。
【図８】有病率の関数としてのＡ）細菌性ＡＲＩ分類およびＢ）ウイルス性ＡＲＩ分類についての陽性的中率および陰性的中率を示す図である。
【図９】細菌性ＡＲＩ分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子における重複を表すベン図である。細菌性ＡＲＩ分類子において７１個の遺伝子、ウイルス性ＡＲＩ分類子において３３個の遺伝子、および非感染性疾病分類子において２６個の遺伝子がある。一個の遺伝子が、細菌性ＡＲＩ分類子とウイルス性ＡＲＩ分類子との間で重複している。５個の遺伝子が、細菌性ＡＲＩ分類子と非感染性疾病分類子との間で重複している。４個の遺伝子がウイルス性ＡＲＩ分類子と非感染性疾病分類子との間で重複している。
【図１０】細菌性病原体およびウイルス性病原体の同定による同時感染を有する患者における分類子性能を示すグラフである。細菌性ＡＲＩ分類子およびウイルス性ＡＲＩ分類子を、細菌感染（ｎ＝２２）またはウイルス感染（ｎ＝７１）を有する対象（ＧＳＥ６０２４４）において訓練した。この同じデータセットはまた、細菌／ウイルス同時感染を有する２５人の対象を含んだ。図に示されているように、細菌分類子予測およびウイルス分類子予測を同じスケールに対して正規化した。各対象は、細菌性ＡＲＩ宿主応答の確率およびウイルス性ＡＲＩ宿主応答の確率である、２つの確率を受け取る。０．５以上の確率スコアは陽性とみなされた。対象１～６は、細菌性宿主応答を有する。対象７～９は、真の同時感染を示し得る細菌性宿主応答とウイルス性宿主応答の両方を有する。対象１０～２３はウイルス性宿主応答を有する。対象２４～２５は細菌性宿主応答もウイルス性宿主応答も有しない。
【図１１】プラットフォームにおいて用いられ得る分類システムおよび／またはコンピュータプログラム製造物のブロック図である。分類システムおよび／またはコンピュータプログラム製造物１１００は、１つもしくは複数のオペレーティングシステムおよび／または１つもしくは複数のアプリケーションが走る、１つまたは複数の中央処理装置（ＣＰＵ）を含むプロセッササブシステム１１４０を含み得る。１つのプロセッサ１１４０が示されているが、電気的に相互接続されているか、または切り離されているかのいずれかであ

り得る複数のプロセッサ１１４０が存在し得ることは理解されているだろう。プロセッサ１１４０は、本明細書に記載された動作および方法の少なくとも一部を実施するためにメモリ１１５０などのメモリ装置からコンピュータプログラムコードを実行するように構成される。記憶回路１１７０は、シグネチャ、重み、閾値などの分類システム１１００によって用いられるデータ／パラメータ／分類子へのアクセスを提供するデータベースを記憶し得る。入力／出力回路１１６０は、ディスプレイならびに／または、キーボード、タッチスクリーン、および／もしくはポインティングデバイスなどのユーザー入力装置を含み得る。入力／出力回路１１６０に付属した装置は、分類システム１１００のユーザーにより情報をプロセッサ１１４０へ提供するために用いられ得る。入力／出力回路１１６０に付属した装置は、ネットワークコントローラまたは通信コントローラ、入力装置（キーボード、マウス、タッチスクリーンなど）、および出力装置（プリンターまたはディスプレイ）を含み得る。任意のアップデート回路１１８０は、メモリ１１５０および／または記憶回路１１７０に記憶されるプロセッサ１１４０によって実行されるコードのアップデートなどの分類システム１１００のアップデートを提供するためのインターフェイスとして含まれ得る。アップデート回路１１８０を介して提供されるアップデートはまた、シグネチャ、重み、閾値などの分類システム１１００についての情報を維持するデータベースおよび／または他のデータ記憶フォーマットに関連した記憶回路１１７０の部分のアップデートを含み得る。試料入力回路１１１０は、分類システム１１００が、分析されるべき生物学的試料を受けるためのインターフェイスを提供する。試料処理回路１１２０は、生物学的試料を自動分析のために調製するために、分類システム１１００内で生物学的試料をさらに処理し得る。

【発明を実施するための形態】

【００３３】

本開示の原理の理解を促進することを目的として、今、好ましい実施形態が参照され、それを記載するために特殊言語が用いられる。そうとは言え、本開示の範囲の限定がそれらにより意図されるわけではなく、本明細書に例証されているような本開示のそのような変化およびさらなる改変が、当業者に通常、思い浮かぶように、企図されることは理解されるだろう。

【００３４】

冠詞「１つの（ａ）」および「１つの（ａｎ）」は、その冠詞の文法的対象の１つまたは１つより多いもの（すなわち、少なくとも１つ）を指すように本明細書で用いられる。例として、「１つの要素」は、少なくとも１つの要素を意味し、１つより多い要素を含み得る。

【００３５】

他に規定がない限り、本明細書で用いられる全ての技術的用語は、当業者により一般的に理解されているのと同じ意味をもつ。

【００３６】

本開示は、急性呼吸器感染症を引き起こす病原体曝露に応答した、血液中の遺伝子、タンパク質、および代謝産物発現の変化が、高度の精度で、対象におけるＡＲＩの病因を同定し、かつ特徴づけるために用いられ得ることを提供する。

【００３７】

定義

本明細書で用いられる場合、用語「急性呼吸器感染症」または「ＡＲＩ」は、しばしば細菌性またはウイルス性病原体による、上気道または下気道の感染と一致した症状および／または身体的所見（例えば、咳、喘鳴、発熱、咽喉痛、うっ血などの症状；心拍数の上昇、呼吸数の上昇、異常な白血球数、低い動脈血二酸化炭素分圧（ＰａＣＯ$_2$）などの身体的所見）を示し、かつ数時間～数日間にわたって症状の急速な進行によって特徴づけられる感染症または疾病を指す。ＡＲＩは、主に、上気道（ＵＲＩ）、下気道（ＬＲＩ）、またはその２つの組合せについてであり得る。ＡＲＩは、気道の範囲を超える感染の広がりにより、または免疫応答により誘導されたコラテラルダメージにより全身作用を生じ得る

。前者の例は、血流へ広がっている黄色ブドウ球菌肺炎を含み、心内膜炎（心臓弁の感染）、化膿性関節炎（関節感染）、または骨髄炎（骨感染）を含む感染の二次部位を生じ得る。後者の例は、急性呼吸促迫症候群および呼吸不全をもたらすインフルエンザ肺炎を含む。

【００３８】

本明細書で用いられる場合、用語「シグネチャ」は、特定の組合せが、特定された生物学的状態の存在または非存在を表す、１セットの生物学的分析物および前記分析物の測定可能な量を指す。これらのシグネチャは、既知の状態を有する（例えば、確認された呼吸器細菌感染、呼吸器ウイルス感染を有する、または非感染性疾病を患っている）複数の対象において発見されており、関心対象となる１つまたは複数のカテゴリーまたは結果を（個々に、または合同で）識別する。生物学的マーカーとしても知られたこれらの測定可能な分析物は、遺伝子発現レベル、タンパク質もしくはペプチドレベル、または代謝産物レベルであり得る（しかし、それらに限定されない）。Ｃｏｕｒｃｈｅｓｎｅらの米国特許公開第２０１５／０２２７６８１号；Ｅｄｅｎらの米国特許公開第２０１６／０１５３９９３号もまた参照。

【００３９】

本明細書に開示されているようないくつかの実施形態において、「シグネチャ」は、発現レベルが、本明細書に教示されているような分類子へ取り込まれた場合、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病などの状態を識別する、遺伝子の特定の組合せである。例えば、下記の表１Ａから表１Ｄ、表５Ａから表５Ｑ、表１０Ａから表１０Ｆ、表１１、および表１４Ａから１４Ｊを参照。いくつかの実施形態において、シグネチャは、呼吸器ウイルスもしくは細菌の種について感知しない（すなわち、ウイルスと細菌とを区別するが、それは、ウイルスまたは細菌の特定の属間または種間を区別しない）、および／または非感染性疾病の特定の原因について感知しない。

【００４０】

本明細書で用いられる場合、用語「分類子（classifier）」および「予測子（predictor）」は交換可能に用いられ、カテゴリーへ割り当てることを目的として、所定の観察結果または個々の患者についてスコアを生じるように、シグネチャの値（例えば、定義された遺伝子セットについての遺伝子発現レベル）および各シグネチャ成分についての決定済みの係数（または重み）を用いる数学関数を指す。分類子は、線形および／または確率的であり得る。スコアが、一連の係数により重み付けられたシグネチャ値の合計の関数である場合には、分類子は線形である。さらに、シグネチャ値の関数が確率を生じる場合には、分類子は確率的であり、０から１．０の間（または０％から１００％の間）の値が、それぞれ、対象または観察結果が特定のカテゴリーに属し、または特定の結果を生じだろう見込みを数量化する。プロビット回帰分析およびロジスティック回帰分析は、確率を生じさせるために、それぞれ、プロビット関数およびロジスティックリンク関数を用いる確率的線形分類子の例である。

【００４１】

本明細書で教示されているような分類子は、「訓練」として知られた手順によって得ることができ、その手順は、既知のカテゴリーメンバーシップ（例えば、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および／または非感染性疾病）に関する観察結果を含有するデータセットを用いる。図１参照。具体的には、訓練は、最適なシグネチャに加えて、所定のシグネチャの各成分（例えば、遺伝子発現レベル成分）についての最適な係数（すなわち、重み）を見出すことを目指し、最適な結果は、最高の達成可能な分類精度によって決定される。

【００４２】

「分類」は、急性呼吸器症状を患っており、またはそれらのリスクがある対象を１つまたは複数のカテゴリーまたは結果（例えば、患者が病原体に感染している、または感染していない、別のカテゴリー化は、患者がウイルスに感染し、および／または細菌に感染していることであり得る）に割り当てる方法を指す。図３参照。場合によっては、対象は、１つより多いカテゴリーに分類され得る（例えば、細菌とウイルスの同時感染の場合）。結

果またはカテゴリーは、分類子によって提供されたスコアの値によって決定され、その値は、カットオフ値または閾値、信頼水準または限界と比較され得る。他のシナリオにおいて、特定のカテゴリーに属する確率が示され得る（例えば、分類子が確率を報告する場合）。

【００４３】

本明細書で用いられる場合、遺伝子発現レベルと共に用いられる時の用語「示す（ｉｎｄｉｃａｔｉｖｅ）」とは、遺伝子発現レベルが、代替の生物学的状態（例えば、細菌性ＡＲＩまたはウイルス性ＡＲＩ）または対照における発現レベルと比較して、上方制御もしくは下方制御され、変更され、または変化していることを意味する。タンパク質レベルと共に用いられる時の用語「示す」は、タンパク質レベルが、標準タンパク質レベルまたは代替の生物学的状態におけるレベルと比較して、高く、もしくは低く、増加もしくは減少し、変更され、または変化していることを意味する。

【００４４】

用語「対象」および「患者」は、交換可能に用いられ、検査、研究、または処置されることになっている任意の動物を指す。本開示が任意の特定の型の対象に限定されることは意図されない。本発明のいくつかの実施形態において、ヒトは好ましい対象であるが、他の実施形態においては、非ヒト動物が好ましい対象であり、それには、マウス、サル、クロアシイタチ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ニワトリ、シチメンチョウ、イヌ、ネコ、ウマ、および爬虫類が含まれるが、それらに限定されない。ある特定の実施形態において、対象は、ＡＲＩを患っており、またはＡＲＩ様症状を示している。

【００４５】

本明細書で用いられる場合、「プラットフォーム」または「テクノロジー」は、本開示に従って、シグネチャ、例えば、遺伝子発現レベルを測定するために用いられ得る機器（例えば、器械および関連部品、コンピュータ、本明細書に教示されているような１つまたは複数のデータベースを含むコンピュータ可読媒体、試薬など）を指す。プラットフォームの例には、アレイプラットフォーム、サーマルサイクラープラットフォーム（例えば、多重化および／またはリアルタイムＰＣＲプラットフォーム）、核酸シーケンシングプラットフォーム、ハイブリダイゼーションおよびマルチシグナルコード化（例えば、蛍光）検出器プラットフォームなど、核酸質量分析プラットフォーム、磁気共鳴プラットフォーム、およびそれらの組合せが含まれるが、それらに限定されない。

【００４６】

いくつかの実施形態において、プラットフォームは、遺伝子発現レベルを半定量的に測定するように構成され、すなわち、別個または絶対的な発現において測定するのではなく、発現レベルは、推定値として、および／またはお互い、もしくは特定されたマーカー（例えば、別の「標準」または「参照」遺伝子の発現）と比べて測定される。

【００４７】

いくつかの実施形態において、半定量的測定には、シグネチャ内の遺伝子の推定または相対的発現レベルを提供するために、特定されたｍＲＮＡを示すシグナルが検出されるまでＰＣＲサイクルを実施し、検出まで必要とされるＰＣＲサイクルの数を用いる「リアルタイムＰＣＲ」が含まれる。

【００４８】

リアルタイムＰＣＲプラットフォームには、例えば、ＴａｑＭａｎ（登録商標）低密度アレイ（ＴＬＤＡ）が含まれ、そのＴＬＤＡにおいて、試料が、リアルタイムＰＣＲが実施されるウェルのコレクションを有するアレイカード上で、多重化逆転写、続いてリアルタイムＰＣＲを受ける。Ｋｏｄａｎｉ ｅｔ ａｌ．２０１１，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．４９（６）：２１７５－２１８２参照。リアルタイムＰＣＲプラットフォームにはまた、例えば、Ｂｉｏｃａｒｔｉｓ Ｉｄｙｌｌａ（商標）の試料調製から結果までのテクノロジーが含まれ、そのテクノロジーにおいて、細胞が溶解され、ＤＮＡ／ＲＮＡが抽出され、リアルタイムＰＣＲが実施され、結果が検出される。

【００４９】

磁気共鳴プラットフォームには、例えば、Ｔ２　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）Ｔ２磁気共鳴（Ｔ２ＭＲ（登録商標））テクノロジーが含まれ、そのテクノロジーにおいて、分子標的が、生物学的試料において、精製の必要性なしに同定され得る。

【００５０】

用語「アレイ」、「マイクロアレイ」、および「マイクロアレイ」は交換可能であり、支持体上に提示されたヌクレオチド配列のコレクションの配置を指す。任意の型のアレイが、本明細書に提供された方法において利用することができる。例えば、アレイは、スライドガラスなどの固体支持体（固相アレイ）、またはニトロセルロース膜などの半流動性支持体上にあり得る。アレイはまた、ビーズ上に提示され得、すなわち、ビーズアレイであり得る。これらのビーズは、典型的には、微視的であり、例えば、ポリスチレンで作製され得る。アレイはまた、ナノ粒子上に提示され得、そのナノ粒子は、例えば、特に金であるが、銀、パラジウム、またはプラチナでも作製され得る。例えば、金ナノ粒子プローブテクノロジーを用いるＮａｎｏｓｐｈｅｒｅ　Ｖｅｒｉｇｅｎｅ（登録商標）システムを参照。磁気ナノ粒子もまた用いられ得る。他の例には、核磁気共鳴マイクロコイルが含まれる。ヌクレオチド配列は、ＤＮＡ、ＲＮＡ、またはそれらの任意の順列（ｐｅｒｍｕｔａｔｉｏｎ）（例えば、ロックド核酸（ＬＮＡ）などのヌクレオチド類似体など）であり得る。いくつかの実施形態において、ヌクレオチド配列は、ゲノムＤＮＡよりむしろスプライスされた、または成熟ＲＮＡ種の遺伝子発現を検出するためにエクソン／イントロン境界に及ぶ。ヌクレオチド配列はまた、遺伝子由来の部分配列、プライマー、全遺伝子配列、非コード配列、コード配列、公表された配列、既知の配列、または新規の配列であり得る。アレイは、追加として、タンパク質または代謝産物を特異的に結合する、抗体、ペプチド、タンパク質、組織、細胞、化学物質、糖質などの他の化合物を含み得る。

【００５１】

アレイプラットフォームには、例えば、上記で言及されたＴａｑＭａｎ（登録商標）低密度アレイ（ＴＬＤＡ）、およびＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘ（登録商標）マイクロアレイプラットフォームが含まれる。

【００５２】

ハイブリダイゼーションおよびマルチシグナルコード化検出器プラットフォームには、例えば、ＮａｎｏＳｔｒｉｎｇ　ｎＣｏｕｎｔｅｒ（登録商標）テクノロジー（（例えば、関心対象となる遺伝子発現転写産物に対応する）標的特異的プローブに付着した色コード化バーコードのハイブリダイゼーションが検出される）、およびＬｕｍｉｎｅｘ（登録商標）ｘＭＡＰ（登録商標）テクノロジー（マイクロスフェアビーズが、色コード化され、かつ検出用の標的（例えば、遺伝子発現転写産物）特異的プローブでコーティングされている）、およびＩｌｌｕｍｉｎａ（登録商標）ＢｅａｄＡｒｒａｙ（マイクロビーズが光ファイバー束または平面シリカスライド上へ集められ、かつ検出用の標的（例えば、遺伝子発現転写産物）特異的プローブでコーティングされている）が含まれる。

【００５３】

核酸質量分析プラットフォームには、例えば、Ｉｂｉｓ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｐｌｅｘ－ＩＤ（登録商標）検出器が含まれ、その検出器において、ＤＮＡ質量分析法が、質量プロファイルを用いて増幅ＤＮＡを検出するのに用いられている。

【００５４】

サーマルサイクラープラットフォームには、例えば、ＦｉｌｍＡｒｒａｙ（登録商標）多重ＰＣＲシステム（未処理の試料から核酸を抽出および精製し、ネステッド多重ＰＣＲを実施する）、およびＲａｉｎＤｒｏｐデジタルＰＣＲシステム（マイクロ流体チップを用いる液滴に基づいたＰＣＲプラットフォームである）が含まれる。

【００５５】

用語「コンピュータ可読媒体」は、情報（例えば、データおよび命令）を記憶し、コンピュータプロセッサへ供給するための任意のデバイスまたはシステムを指す。コンピュータ可読媒体の例には、ＤＶＤ、ＣＤ、ハードディスクドライブ、磁気テープ、ならびにネットワーク上でのストリーミングメディアおよびアプリケーション（例えば、スマートフォ

ンおよびタブレットに見出されるもの）のためのサーバーが含まれるが、それらに限定されない。様々な実施形態において、データ構造および方法を含む本発明の態様は、コンピュータ可読媒体に記憶され得る。プロセシングおよびデータもまた、多数のデバイス型で実行され得、そのデバイス型には、デスクトップおよびラップトップコンピュータ、タブレット、スマートフォンなどが含まれるが、それらに限定されない。

【００５６】

本明細書で用いられる場合、用語「生物学的試料」は、本明細書に提供された方法において用いることができる遺伝物質を含有する、対象から採取され得る任意の試料を含む。例えば、生物学的試料は、末梢血試料を含み得る。用語「末梢血試料」は、循環系において循環する血液、または身体のその系から採取された血液の試料を指す。他の試料は、上気道から採取されたものを含み得、それには、痰、鼻咽頭スワブ、および鼻咽頭洗浄液が含まれるが、それらに限定されない。生物学的試料はまた、下気道から採取された試料を含み得、それには、気管支肺胞洗浄液および気管内吸引物が含まれるが、それらに限定されない。生物学的試料はまた、それらの任意の組合せを含み得る。

【００５７】

用語「遺伝物質」は、生物体の細胞の核またはミトコンドリアにおける遺伝情報を保存するために用いられる物質を指す。遺伝物質の例には、二本鎖および一本鎖ＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ＲＮＡ、およびｍＲＮＡが含まれるが、それらに限定されない。

【００５８】

用語「複数の核酸オリゴマー」は、ＤＮＡまたはＲＮＡであり得る、２つ以上の核酸オリゴマーを指す。

【００５９】

本明細書で用いられる場合、用語「処置する」、「処置」、および「処置すること」は、１つまたは複数の治療の施与に起因する、疾患または障害または１つもしくは複数の症状の重症度、持続期間、および／または進行の低下または改善を指す。そのような用語は、ウイルスもしくは細菌の複製の低下、またはウイルスもしくは細菌の対象における他の器官もしくは組織への、もしくは他の対象への伝播の低下を指す。処置はまた、アレルギー処置、喘息処置などの非感染性疾病に起因するＡＲＩについての治療を含み得る。

【００６０】

用語「有効量」は、対象において生理学的効果を発揮するのに十分である治療剤の量を指す。用語「応答性」は、対象における遺伝子の遺伝子発現レベルの、前記対象がウイルスもしくは細菌に感染し、または非感染性疾病を患っていることに応答した、ウイルス、細菌に感染しておらず、もしくは非感染性疾病を患っていない対象、または対照の対象における前記遺伝子の遺伝子発現レベルとの比較における変化を指す。

【００６１】

用語「適切な処置レジメン」は、特定の疾患または障害を処置するのに必要とされるケアの標準を指す。そのようなレジメンが、疾患状態において治癒的効果を生じる能力がある治療剤を対象に投与する行為を必要とする場合が多い。例えば、菌血症を有する対象を処置するための治療剤は、抗生物質であり、それには、ペニシリン、セファロスポリン、フルオロキノロン、テトラサイクリン、マクロライド、およびアミノグリコシドが含まれるが、それらに限定されない。ウイルス性呼吸器感染症を有する対象を処置するための治療剤には、オセルタミビル、ＲＮＡｉ抗ウイルス剤、吸入リバビリン、モノクローナル抗体レスピガム、ザナミビル、およびノイラミニダーゼブロッキング剤が含まれるが、それらに限定されない。本発明は、まだ利用できない抗ウイルス剤または抗生物質での処置を決定するための本発明の方法の使用を企図する。適切な処置レジメンにはまた、非感染性疾病に起因するＡＲＩについての処置が含まれ、その処置は、例えば、非限定的に、抗ヒスタミン剤、うっ血除去薬、抗コリン性点鼻薬、ロイコトリエン阻害剤、マスト細胞阻害剤、ステロイド性点鼻薬などの投与を含むアレルギー処置；および、非限定的に、吸入コルチコステロイド、ロイコトリエン修飾薬、長時間作用性β作動薬、混合吸入器（例えば、フルチカゾン－サルメテロール；ブデソニド－ホルモテロール；モメタゾン－ホルモテロ

ールなど）、テオフィリン、短時間作用性β作動薬、イプラトロピウム、経口および静脈内コルチコステロイド、オマリズマブなどを含む喘息処置などである。

【００６２】

そのようなレジメンは、疾患状態に関連した症状の低下を生じる能力がある治療剤を対象に投与する行為を必要とする場合が多い。そのような治療剤の例には、ＮＳＡＩＤＳ、アセトアミノフェン、抗ヒスタミン剤、β作動薬、鎮咳剤、または疾患過程に付随した症状を低下させる他の薬物が含まれるが、それらに限定されない。

【００６３】

分類子を作製する方法（訓練）

本開示は、対象における急性呼吸器病の病因を決定する方法に用いられる分類子を作製する方法（訓練１０とも呼ばれる）を提供する。対象におけるＡＲＩの病因を高度の精度で同定し、かつ特徴づけるために用いることができる、遺伝子発現に基づいた分類子が開発されている。

【００６４】

このゆえに、図１に示されているように、本開示の一態様は、急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）分類子を作製する方法であって、（ｉ）細菌性、ウイルス性、または非感染性急性呼吸器感染症を患っている複数の対象から生物学的試料（例えば、末梢血試料）を得るステップ１００；（ｉｉ）任意で、前記試料からＲＮＡ（例えば、トランスクリプトームを作製するための全ＲＮＡ）を単離するステップ（１０５、図１に示されず）；（ｉｉｉ）複数の遺伝子（すなわち、前記ＲＮＡにおいて発現した遺伝子の一部または全部）の遺伝子発現レベルを測定するステップ１１０；（ｉｖ）前記遺伝子発現レベルを正規化するステップ１２０；および（ｖ）前記結果に基づいて、細菌性ＡＲＩ分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、または非感染性疾病分類子を作製するステップ１３０を含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる方法を提供する。

【００６５】

いくつかの実施形態において、試料は、収集後精製されない。いくつかの実施形態において、試料は、細胞の溶解の前または後に、外来性材料を除去するために精製され得る。いくつかの実施形態において、試料は、細胞溶解および細胞材料の取り出し、核酸の単離、ならびに／またはグロビンもしくはリボソームＲＮＡなどの大量の転写産物の低減を以て精製される。

【００６６】

いくつかの実施形態において、遺伝子発現レベルを測定することは、前記トランスクリプトームを用いて１つまたは複数のマイクロアレイを作製するステップ；複数のプライマーを用いて前記トランスクリプトームを測定するステップ；バッチ差を分析し、補正するステップを含み得る。

【００６７】

いくつかの実施形態において、方法は、作製された分類子についての最終遺伝子標的リスト、関連した重み（Ｗｎ）、および閾値を１つまたは複数のデータベースへアップロードするステップ１４０をさらに含む。

【００６８】

前記分類子を作製する例は図２に詳述されている。図２に示されているように、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病を包含する患者のコホートからの生物学的試料は、各状態（すなわち、細菌性急性呼吸器感染症、ウイルス性急性呼吸器感染症、または非感染性原因の疾病）についての遺伝子発現に基づいた分類子を開発するために用いられる。具体的には、細菌性ＡＲＩ分類子は、ウイルス性ＡＲＩかまたは非感染性疾病のいずれかに対して細菌性ＡＲＩを有するものを確実に同定するために獲得される。ウイルス性ＡＲＩ分類子は、細菌性ＡＲＩまたは非感染性疾病（ＮＩ）に対してウイルス性ＡＲＩを有するものを確実に同定するために獲得される。非感染性疾病分類子は、細菌性およびウイルス性ＡＲＩ分類子特異度を向上させるために作製される。次に、細菌性ＡＲＩ分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子についてのシグネチャが（例

えば、スパースロジスティック回帰モデルを適用することにより）作製される。
【００６９】
その後、これらの３つの分類子は、必要に応じて、最大メンバーシップ確率がクラスラベルを指定する一対多スキームに従うことにより「ＡＲＩ分類子」と名付けられた単一の分類子へ統合され得る。図５もまた参照。統合ＡＲＩ分類子は、いくつかの実施形態において、それが導かれた同じ集団における一個抜き交差検証を用いて検証され得、および／または、いくつかの実施形態において、既知の病因の疾病を患っている対象由来の試料の公的に利用可能なヒト遺伝子発現データセットを用いて検証され得る。例えば、検証は、公的に利用可能なヒト遺伝子発現データセット（例えば、ＧＳＥ６２６９、ＧＳＥ４２０２６、ＧＳＥ４０３９６、ＧＳＥ２０３４６、および／またはＧＳＥ４２８３４）を用いて実施され得、そのデータセットは、それらが少なくとも２つの臨床群（細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病）を含むという条件で選択されている。
【００７０】
分類子は、既知の病因の疾病、すなわち、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病を患っている対象由来の試料の標準セットにおいて検証され得る。
【００７１】
本明細書に記載された訓練のための方法論は、当業者により、異なる遺伝子発現検出（例えば、ｍＲＮＡ検出および定量化）プラットフォームへ容易に書き換えられ得る。
【００７２】
本開示の方法およびアッセイは、遺伝子発現に基づいて、例えば、ＲＮＡの直接的測定、誘導された材料（例えば、ｃＤＮＡ）の測定、およびＲＮＡ産物（例えば、コード化タンパク質またはペプチド）の測定を通してであり得る。遺伝子発現を抽出およびスクリーニングする任意の方法が用いられ得、本開示の範囲内である。
【００７３】
いくつかの実施形態において、測定は、試料におけるｍＲＮＡの検出および定量化（例えば、半定量化）を含む。いくつかの実施形態において、遺伝子発現レベルは、１つまたは複数の標準遺伝子レベルに対して調整される（「正規化」）。当技術分野において知られているように、正規化は、（例えば、発現した遺伝子の）量または相対的量を与えるプラットフォームに固有の技術的変動性を除去するために行われる。
【００７４】
いくつかの実施形態において、ｍＲＮＡの検出および定量化は、まず、逆転写および／または増幅ステップ、例えば、定量的ＲＴ－ＰＣＲなどのＲＴ－ＰＣＲを含み得る。いくつかの実施形態において、検出および定量化は、生物学的試料に存在し、またはそれから精製された非増幅ｍＲＮＡ分子に基づき得る。ＲＮＡ分子の直接的検出および測定は、典型的には、相補性プライマーおよび／または標識プローブとのハイブリダイゼーションを含む。そのような方法には、伝統的なノーザンブロッティングおよび表面増強ラマン分光法（ＳＥＲＳ）（それは、遺伝子特異的プローブを有するプラズモン活性金属構造の表面に曝された試料にレーザーを照射し、それが散乱させるにつれての光周波数の変化を測定することを含む）が含まれる。
【００７５】
同様に、ｃＤＮＡなどのＲＮＡ誘導体の検出は、典型的には、相補性プライマーおよび／または標識プローブとのハイブリダイゼーションを含む。これには、高密度オリゴヌクレオチドプローブアレイ（例えば、固体マクロアレイおよびビーズアレイ）または関連したプローブ－ハイブリダイゼーション方法、ならびに特定のＲＮＡ分子の相対的および絶対的定量化のためのリアルタイム、デジタル、およびエンドポイントＰＣＲ方法を含むポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）に基づいた増幅および検出が含まれ得る。
【００７６】
追加として、シーケンシングに基づいた方法が、ＲＮＡまたはＲＮＡ由来材料レベルを検出および定量化するために用いることができる。ＲＮＡに適用される場合、シーケンシング方法は、ＲＮＡｓｅｑと呼ばれ、試料由来のＲＮＡ分子に関する定性的情報（試料中の

ＲＮＡ、またはそれの同族ｃＤＮＡの配列または存在／非存在）と定量的情報（コピー数）の両方を提供する。例えば、Ｗａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．　２００９　Ｎａｔ．　Ｒｅｖ．　Ｇｅｎｅｔ．　１０（１）：５７－６３参照。別の配列に基づいた方法である、遺伝子発現の連続分析（ＳＡＧＥ）は、ＲＮＡ分子の発現レベルを測定するための代理としてｃＤＮＡ「タグ」を用いる。

【００７７】

さらに、ｍＲＮＡ検出および定量化のための専売のプラットフォームの使用もまた、本開示の方法を履行するために用いられ得る。これらの例は、ＣＥＬＬＵＬＡＲ　ＲＥＳＥＡＲＣＨ，ＩＮＣ．により開発されたＭｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｉｎｄｅｘｉｎｇ（商標）に組み入れられているＰｉｘｅｌ（商標）システム、ＮａｎｏＳｔｒｉｎｇ（登録商標）Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　ｎＣｏｕｎｔｅｒ遺伝子発現システム；Ｉｌｌｕｍｉｎａ社のｍＲＮＡ－Ｓｅｑ、Ｔａｇ－Ｐｒｏｆｉｌｉｎｇ、ＢｅａｄＡｒｒａｙ（商標）テクノロジー、およびＶｅｒａＣｏｄｅ、ＰｒｉｍｅｒａＤｘ社のＩＣＥＰｌｅｘシステム、ならびにＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘのＱｕａｎｔｉＧｅｎｅ　２．０多重アッセイである。

【００７８】

例として、対象由来の全血からのＲＮＡは、ＰＡＸｇｅｎｅ（商標）ＲＮＡチューブ（ＰｒｅＡｎａｌｙｔｉＸ、Ｖａｌｅｎｃｉａ、Ｃａｌｉｆ．）などのＲＮＡ保存試薬を用いて収集することができる。ＲＮＡは、標準ＰＡＸｇｅｎｅ（商標）またはＶｅｒｓａｇｅｎｅ（商標）（Ｇｅｎｔｒａ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ、Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ、Ｍｉｎｎ．）ＲＮＡ抽出プロトコールを用いて抽出することができる。Ｖｅｒｓａｇｅｎｅ（商標）キットは、ＰＡＸｇｅｎｅ（商標）ＲＮＡチューブからより多い収量のより高い品質のＲＮＡを生じる。ＲＮＡ抽出後、全血グロビン低減のためにＧＬＯＢＩＮＣＩｅａｒ（商標）（Ａｍｂｉｏｎ、Ａｕｓｔｉｎ、Ｔｅｘ．）を用いることができる。（この方法は、グロビンｍＲＮＡを結合するためにビーズ－オリゴヌクレオチド構築物を用い、本発明者らの実験において、本発明者らは、グロビンｍＲＮＡの９０％より多くを除去することができる。）テクノロジーによって、大量かつ関心対象外の転写産物の除去は、マイクロアレイプラットフォームに関してなど、アッセイの感度を増加させ得る。

【００７９】

ＲＮＡの品質は、いくつかの手段により評価することができる。例えば、ＲＮＡ品質は、抽出後すぐに、Ａｇｉｌｅｎｔ　２１００　Ｂｉｏａｎａｌｙｚｅｒを用いて評価することができる。この分析は、ＲＮＡ品質の定量的測定値としてＲＮＡ完全性数（ＲＮＡ　Ｉｎｔｅｇｒｉｔｙ　Ｎｕｍｂｅｒ）（ＲＩＮ）を提供する。また、グロビン低減後、試料は、グロビン低減標準と比較することができる。加えて、スケーリング因子およびバックグラウンドは、マイクロアレイとのハイブリダイゼーション後に評価することができる。

【００８０】

リアルタイムＰＣＲは、全血試料から遺伝子発現を迅速に同定するために用いられ得る。例えば、単離されたＲＮＡは、逆転写され、その後、増幅され、生じるｄｓＤＮＡの間に挿入される非特異的蛍光色素、またはプローブのそれの相補性ＤＮＡ標的とのハイブリダイゼーション後のみ検出を可能にする蛍光レポーターで標識された配列特異的ＤＮＡプローブを用いてリアルタイムで検出され得る。

【００８１】

このゆえに、本明細書に開示された方法に従ってプラットフォームにより用いられ得るｍＲＮＡ定量化および検出の多くの方法があることは理解されているはずである。

【００８２】

発現レベルは、典型的には、当業者により日常的に実践される方法を用いて、特定のプラットフォームに応じて、検出および定量化後、正規化される。

【００８３】

プラットフォームに適切な、ｍＲＮＡ検出および定量化、ならびにマッチド正規化の方法論に関して、それは単に、訓練方法のために注意深く選択され、かつ判定された患者試料を用いるかどうかである。例えば、下に記載されたコホートは、プラットフォームについ

ての分類子において３つのシグネチャにおける遺伝子と共に用いられ得る適切な重み付け値（係数）を導くために用いられた。これらの対象－試料はまた、異なるｍＲＮＡ検出および定量化プラットフォームを用いて実行される試験についての係数およびカットオフを導くために用いることができた。

【００８４】

いくつかの実施形態において、分類子の個々のカテゴリー（すなわち、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、非感染性疾病）は、様々なそのようなそれの原因を包括するコホートから形成される。例えば、細菌性ＡＲＩ分類子は、複数の細菌の属および／または種からの細菌感染を有するコホートから得られ、ウイルス性ＡＲＩ分類子は、複数のウイルスの属および／または種からのウイルス感染を有するコホートから得られ、非感染性疾病分類子は、複数の非感染性原因による非感染性疾病を有するコホートから得られる。例えば、表９Ａ、９Ｂ参照。このようにして、得られたそれぞれの分類子は、根底にある細菌、ウイルス、および非感染性の原因について感知しない。いくつかの実施形態において、コホートにおける非感染性病因を有する対象の一部または全部は、呼吸器感染症と一致した症状を有する。

【００８５】

いくつかの実施形態において、シグネチャは、選択された患者試料セットを用いる訓練過程中に表現型を分離するそれらの能力によるモデルによって遺伝子セットが同定される、スパース線形分類として知られた、教師ありの統計的アプローチを用いて得ることができる。訓練の結果は、その３つの比較のための遺伝子シグネチャおよび分類係数である。シグネチャおよび係数が合わせて、分類子または予測子を提供する。訓練はまた、閾値またはカットオフ値を確立するために用いられ得る。閾値またはカットオフ値は、試験性能、例えば、試験感度および特異度を変化させるために調整することができる。例えば、細菌性ＡＲＩについての閾値は、必要に応じて、細菌感染についての試験の感度を増加させるために意図的に下げられ得る。

【００８６】

いくつかの実施形態において、分類子作製は、（ｉ）それぞれの正規化遺伝子発現値についての重みを割り当て、各遺伝子についての重みおよび発現値を分類子（例えば、線形回帰分類子）方程式へ入力し、複数の対象のそれぞれについての結果に対してスコアを決定するステップ、その後、（ｉｉ）複数の対象にわたって各結果についての分類の精度を決定するステップ、および、その後、（ｉｉｉ）分類の精度が最適化されるまで重みを調整するステップを、繰り返して含む。非ゼロ重みを有する遺伝子がそれぞれの分類子に含まれる。

【００８７】

いくつかの実施形態において、分類子は、線形回帰分類子であり、前記作製は、リンク関数を用いて前記分類子のスコアを確率へ変換するステップを含む。当技術分野において知られているように、リンク関数は、モデルの標的／出力（例えば、細菌感染の確率）と線形モデルの系統的成分（この場合、予測子を含む説明変数の組合せ）の間のリンクを特定する。それは、どのように、応答の期待値が説明変数の線形予測子に関連しているかを示す。

【００８８】

分類の方法

本開示は、患者が有する呼吸器病が、細菌感染よるのか、ウイルス感染によるのか、または非感染性原因によるのかを決定するための方法をさらに提供する。この決定を行うための方法は、本明細書に教示されているように得られた分類子の使用に頼る。その方法は、ａ）定義済みの遺伝子セット（すなわち、その３つのシグネチャの１つまたは複数について）の発現レベルを測定するステップ；ｂ）前記測定を行うために用いられたテクノロジーについて遺伝子発現レベルを正規化するステップ；ｃ）それらの値を取り出し、それらを、各シグネチャにおける遺伝子のそれぞれについての定義済みの重み付け値（係数）を有する細菌分類子、ウイルス分類子、および／または非感染性疾病分類子（すなわち、予

測子）へ入力するステップ；ｄ）定義済みの閾値、カットオフ値、感染の見込みを示す信頼区間または値の範囲と分類子の出力を比較するステップ；および任意で、ｅ）分類子の結果を一緒に報告するステップを含み得る。

【００８９】

そのような方法の単純な概観は図３に提供されている。この表示において、３つの遺伝子シグネチャのそれぞれが、異なるＡＲＩ病因（細菌性またはウイルス性）、または感染していないが疾病の状態（ＮＩ）に対する患者の宿主応答の情報を与える。これらのシグネチャは、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または感染していないが疾病の状態である３つの臨床状態のうちの１つに応答して、一貫し、かつ協調した発現レベルの増加または減少を生じる遺伝子転写産物の群である。これらのシグネチャは、注意深く判定された、関心対象となる状態を有する患者試料群を用いて、導かれる（訓練１０）。

【００９０】

図３に関して、患者から生物学的試料（例えば、血液試料）を得た後、いくつかの実施形態において、ｍＲＮＡが抽出される。ｍＲＮＡ（または各ｍＲＮＡの確定した領域）が、シグネチャにおける遺伝子の全部または部分集合について定量化される。定量化に用いられる機器に依存して、ｍＲＮＡは、最初に試料から精製されなければならない場合がある。

【００９１】

シグネチャは、臨床状態の反映であり、その他の２つの可能性の少なくとも１つと比べて定義される。例えば、細菌性ＡＲＩシグネチャは、細菌性ＡＲＩを有する患者と細菌性ＡＲＩをもたない患者（ウイルス性ＡＲＩ、またはこの適用に属する場合、非感染性疾病を有する患者を含む）を区別する１群のバイオマーカー（本明細書では、遺伝子ｍＲＮＡ転写産物により表される）として同定される。ウイルス性ＡＲＩシグネチャは、ウイルス性ＡＲＩを有する患者とウイルス性ＡＲＩをもたない患者（細菌性ＡＲＩか非感染性疾病のいずれかを有する患者を含む）を区別する１群のバイオマーカーにより定義される。非感染性疾病シグネチャは、非感染性病因を有する患者を、細菌性またはウイルス性のいずれかのＡＲＩを有する患者に対して区別する１群のバイオマーカーにより定義される。

【００９２】

シグネチャの各遺伝子（例えば、表１０Ａから表１０Ｆの第１列）の正規化発現レベルは、分類子に用いられる説明的または独立的な変数または特徴である。例として、分類子は、プロビット回帰式としての一般形を有し得る：

Ｐ（ｈａｖｉｎｇ条件）＝Φ（β１Ｘ１＋β２Ｘ２＋　…＋βｄＸｄ）（式１）

式中、条件は細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病である；Φ（．）はプロビット（またはロジスティックなど）リンク関数である；｛β１，β２，…，βｄ｝は、訓練中に得られる係数（例えば、表１０Ａから表１０Ｆからの第２列、第３列、および第４列）である（係数はまた、本明細書で「重み」として｛ｗ１，ｗ２，…，ｗｄ｝と表され得る）；｛Ｘ１，Ｘ２，…，Ｘｄ｝は、シグネチャの正規化遺伝子発現レベルである；ならびに、ｄはシグネチャのサイズ（すなわち、遺伝子の数）である。

【００９３】

当業者により理解されているように、各説明変数についての係数の値は、プロビット回帰モデルに用いられる遺伝子または遺伝子の部分集合の発現を測定するために用いられるテクノロジープラットフォームごとに変化する。例えば、Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ　Ｕ１３３Ａ２．０マイクロアレイにより測定される遺伝子発現について、分類子アルゴリズムにおける特徴のそれぞれについての係数は表１０Ａから表１０Ｆに示されている。

【００９４】

各分類子の感度、特異度、および全体的な精度は、受信者動作特性（ＲＯＣ）曲線を用いて、分類についての閾値を変化させることにより最適化され得る。

【００９５】

本開示の別の態様は、対象における急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）が細菌起源か、ウイルス起源か、または非感染性起源かを決定するための方法であって、ａ）対象から生物学的試料を得るステップ、（ｂ）生物学的試料から対象の遺伝子発現プロファイルを、定義済み

の遺伝子セットの発現レベル（すなわち、３つのシグネチャ）を評価することにより決定するステップ、ｃ）前記測定を行うために用いられたテクノロジーについて遺伝子発現レベルを正規化して、正規化値を生じるステップ、ｄ）前記正規化値を、各シグネチャにおける遺伝子のそれぞれについての定義済みの重み付け値（係数）を有する細菌分類子、ウイルス分類子、および非感染性疾病分類子（すなわち、予測子）へ入力するステップ、ｅ）前記分類子の出力を定義済み閾値、カットオフ値、または感染の見込みを示す値の範囲と比較するステップ、ならびにｅ）前記試料を細菌性病因、ウイルス性病因、または非感染性疾病であると分類するステップを含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる方法を提供する。いくつかの実施形態において、方法は、ＡＲＩの病因の確率を示すスコアを患者に割り当てる報告を作成するステップをさらに含む。

【００９６】

訓練中、訓練試料セットを用いて開発される分類子は、新しい個体を診断する（「分類」）ための予測を目的として適用される。各対象または患者について、生物学的試料が採取され、訓練中に見出されたシグネチャにより特定された遺伝子のそれぞれの、試料における正規化発現レベル（すなわち、相対的ｍＲＮＡ発現量）が、分類子についての入力である。分類子はまた、各遺伝子について訓練中に発見された重み付け係数を用いる。出力として、分類子は、３つの確率値を計算するために用いられる。各確率値は、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性疾病である３つの考えられる臨床状態の見込みを決定するために用いられ得る。

【００９７】

いくつかの実施形態において、分類子のそれぞれの結果、すなわち、新しい対象または患者が細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病を有する確率が報告される。最終的な形において、対応する係数を有する３つのシグネチャが、個々の患者に適用されて、３つの確率値、すなわち、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性疾病を有する確率を得る。いくつかの実施形態において、これらの値は、分類がなされる信頼度を示す参照範囲と比べて報告され得る。いくつかの実施形態において、分類子の出力は、閾値と比較されて、例えば、分類子スコアまたは確率が、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病の１つまたは複数の存在を示す閾値を超える場合、「陽性」と報告し得る。分類子スコアまたは確率が、閾値に達することができない場合には、その結果は、そのそれぞれの条件について「陰性」と報告される。任意で、細菌性およびウイルス性ＡＲＩについての値だけが報告され、その報告は、疾病を患っているが、感染していないことの見込みに関しては言及しない。

【００９８】

１つのプラットフォームで得られた分類子が別のプラットフォームで最適な性能を示さない可能性があることは留意されるべきである。これは、プローブの乱交雑、またはプラットフォームに特有の他の技術的問題のせいであり得る。したがって、１つのプラットフォームからの本明細書に教示されているようなシグネチャを別のプラットフォームに適応させるための方法もまた本明細書に記載される。

【００９９】

例えば、Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘプラットフォームから得られたシグネチャは、前記シグネチャにおける遺伝子および／またはＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘプラットフォームについての前記シグネチャにおける遺伝子と相関した代わりの遺伝子について、対応するＴＬＤＡプローブの使用により、ＴＬＤＡプラットフォームに適応され得る。表１は、Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘプローブおよびそれらが測定する遺伝子、加えて、技術的理由のためにＴＬＤＡプラットフォーム上で良く機能し得ないか、または同族ＴＬＤＡプローブが存在しないＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘプローブを置き換えるためかのいずれかで遺伝子プローブについての置き換えとして導入される「置き換え遺伝子」のリストを示す。これらの置き換えは、高度に相関した遺伝子を示し得、または同じ遺伝子転写産物における異なる位置と結合するプローブであり得る。汎ウイルス遺伝子プローブなどの追加の遺伝子が含まれ得る。表１に示された重みは、マイクロアレイプラットフォーム上で実行された分類子について計算さ

れた重みである。推定されていない重みは、表において「ＮＡ」により示される（下記の実施例４は、これらの分類子のＴＬＤＡプラットフォームへの完成した書き換えを提供する）。ＴＬＤＡについての参照プローブ（すなわち、正規化遺伝子、例えば、ＴＲＡＰ１、ＰＰＩＢ、ＧＡＰＤＨ、および１８Ｓ）もまた、重みおよびＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘプローブセットＩＤ（これらは分類子の部分ではない）についての列において「ＮＡ」と示される。必ずしもＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘプローブセットに対応するとは限らない追加の遺伝子プローブもまた、ＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘプローブセットＩＤ列において「ＮＡ」と示される。

【０１００】

【表１Ａ】

TLDAプラットフォーム列についての予備的な遺伝子リストは以下の通りである:
列1: AffymetrixプローブセットID - これは、Affy発見分析において同定されたプローブセットであった(主なプローブセット)。
列2、3、4: Affymetrix重みからの、3つの分類子への各プローブセットの寄与についての推定係数(重み)
列 5: 遺伝子名

AFFX プローブセット	細菌	ウイルス	NI	遺伝子
216867_s_at	0.0534745	0	0	PDGFA
203313_s_at	1.09463	0	0	TGIF1
NA	NA	NA	NA	TRAP1
NA	NA	NA	NA	PPIB
202720_at	0	0.0787402	0	TES
210657_s_at	NA	NA	NA	SEPT4
NA	NA	NA	NA	EPHB3
NA	NA	NA	NA	SYDE1
202864_s_at	0	0.100019	0	SP100
213633_at	1.01336	0	0	SH3BP1
NA	NA	NA	NA	18S
NA	NA	NA	NA	18S
NA	NA	NA	NA	GIT2
205153_s_at	0.132886	0	0	CD40
202709_at	0.427849	0	0	FMOD
202973_x_at	0.112081	0	0	FAM13A
204415_at	NA	NA	NA	IFI6
202509_s_at	0	0	0.416714	TNFAIP2
200042_at	0	0.0389975	0	RTCB
206371_at	0.0439022	0	0	FOLR3
212914_at	0	0	0.0099678	CBX7
215804_at	1.94364	0	0	EPHA1
215268_at	0.0381782	0	0	KIAA0754
203153_at	NA	NA	NA	IFIT1
217502_at	NA	NA	NA	IFIT2
205569_at	NA	NA	NA	LAMP3
218943_s_at	NA	NA	NA	DDX58
NA	NA	NA	NA	GAPDH
213300_at	0.578303	0	0	ATG2A
200663_at	0.176027	0	0	CD63
216303_s_at	0.31126	0	0	MTMR1
NA	NA	NA	NA	ICAM2
NA	NA	NA	NA	EXOSC4
208702_x_at	0	0	0.0426262	APLP2
NA	NA	NA	NA	18S
NA	NA	NA	NA	18S
NA	NA	NA	NA	FPGS
217408_at	0	1.089	0.0690681	MRPS18B
206918_s_at	1.00926	0	0	CPNE1
208029_s_at	0.020511	0	0.394049	LAPTM4B
203153_at	0.133743	0	0	IFIT1
NA	NA	NA	NA	DECR1
200986_at	NA	NA	NA	SERPING1
214097_at	0.211804	0.576801	0	RPS21
204392_at	0	0.129465	0	CAMK1
219382_at	0.866643	0	0	SERTAD3
205048_s_at	0.0114514	0	0	PSPH
205552_s_at	NA	NA	NA	OAS1
219684_at	NA	NA	NA	RTP4
221491_x_at	0.651431	0	0	HLA-DRB3

【表１Ｂ】

AFFX プローブセット	細菌	ウイルス	NI	遺伝子
NA	NA	NA	NA	TRAP1
NA	NA	NA	NA	PPIB
216571_at	0.878426	0	0	SMPD1
215606_s_at	0.479765	0	0	ERC1
44673_at	0.0307987	0	0	SIGLEC1
222059_at	0	0.112261	0	ZNF335
NA	NA	NA	NA	MRC2
209031_at	0	0	0.237916	CADM1
209919_x_at	0.613197	0	0	GGT1
214085_x_at	0.367611	0	0	GLIPR1
NA	NA	NA	NA	ELF4
200947_s_at	1.78944	0	0	GLUD1
206676_at	0	0	0.0774651	CEACAM8
NA	NA	NA	NA	IFNGR2
207718_x_at	0.0392962	0	0	CYP2A7
220308_at	0	0.0345586	0	CCDC19
205200_at	0.87833	0	0	CLEC3B
202284_s_at	0.356457	0	0	CDKN1A
213223_at	0.686657	0	0	RPL28
205312_at	0	0	0.394304	SPI1
212035_s_at	2.0241	0	1.3618	EXOC7
218306_s_at	0	0	0.784894	HERC1
205008_s_at	0	0.223868	0	CIB2
219777_at	0	0.25509	0	GIMAP6
218812_s_at	0.967987	0	0	ORAI2
NA	NA	NA	NA	GAPDH
208736_at	0	0.582264	0.0862941	ARPC3
203455_s_at	0	0	0.0805395	SAT1
208545_x_at	0.265408	0	0	TAF4
NA	NA	NA	NA	TLDC1
202509_s_at	NA	NA	NA	TNFAIP2
205098_at	0.116414	0	0	CCR1
222154_s_at	NA	NA	NA	SPATS2L
201188_s_at	0.606326	0	0	ITPR3
NA	NA	NA	NA	FPGS
205483_s_at	NA	NA	NA	ISG15
205965_at	0.02668	0	0	BATF
220059_at	0.86817	0	0	STAP1
214955_at	0.100645	0	0	TMPRSS6
NA	NA	NA	NA	DECR1
218595_s_at	0	0	0.422722	HEATR1
221874_at	0.40581	0	0.017015	KIAA1324
205001_s_at	0	0.067117	0	DDX3Y
219211_at	NA	NA	NA	USP18
209605_at	0.499338	0	0	TST
212708_at	0.0325637	0	0	MSL1
203392_s_at	0	0.0139199	0	CTBP1
202688_at	0	0.0050837	0	TNFSF10
NA	NA	NA	NA	TRAP1
NA	NA	NA	NA	PPIB
203979_at	0.00999102	0	0.301178	CYP27A1
204490_s_at	0.00732794	0	0	CD44
206207_at	0.0852924	0	0	CLC
216289_at	0	0.00074607	0	GPR144
201949_x_at	0	0	0.034093	CAPZB
NA	NA	NA	NA	EXOG
216473_x_at	0	0.0769736	0	DUX4
212900_at	0.0573273	0	0	SEC24A
204439_at	NA	NA	NA	IFI44L
212162_at	0	0.0102331	0	KIDINS220

【表１Ｃ】

AFFX プローブセット	細菌	ウイルス	NI	遺伝子
209511_at	0	0.031194	0	POLR2F
214175_x_at	0	0	0.266628	PDLIM4
219863_at	NA	NA	NA	HERC5
206896_s_at	0.482822	0	0	GNG7
208886_at	0.149103	0	0	H1FO
212697_at	0	0	1.02451	FAM134C
NA	NA	NA	NA	FNBP4
202672_s_at	NA	NA	NA	ATF3
201341_at	0.109677	0	0	ENC1
210797_s_at	0	0.188667	0	OASL
206647_at	0.0650386	0	0	HBZ
215848_at	0	0.326241	0	SCAPER
213573_at	0	0	0.50859	KPNB1
NA	NA	NA	NA	GAPDH
NA	NA	NA	NA	POLR1C
214582_at	0	0	0.0377349	PDE3B
218700_s_at	0	0.00086067	0	RAB7L1
203045_at	0.850903	0	0	NINJ1
NA	NA	NA	NA	ZER1
206133_at	NA	NA	NA	XAF1
213797_at	NA	NA	NA	RSAD2
219437_s_at	0	0.405445	0.217428	ANKRD11
NA	NA	NA	NA	FPGS
212947_at	0.286979	0	0	SLC9A8
NA	NA	NA	NA	SOX4
202145_at	0	0.166043	0	LY6E
213633_at	1.01336	0	0	SH3BP1
NA	NA	NA	NA	DECR1
210724_at	0	0	0.482166	EMR3
220122_at	0.399475	0	0	MCTP1
218400_at	NA	NA	NA	OAS3
201659_s_at	0.110991	0	0	ARL1
214326_x_at	0.698109	0	0.261075	JUND
NA	NA	NA	NA	MRPS31
217717_s_at	0.638943	0	0	YWHAB
218095_s_at	0.00541128	0.613773	0	TMEM165
NA	NA	NA	NA	TRAP1
NA	NA	NA	NA	PPIB
219066_at	0	0.221446	0	PPCDC
214022_s_at	0	0	0.0380438	IFITM1
214453_s_at	NA	NA	NA	IFI44
215342_s_at	0.0497241	0	0	RABGAP1L
204545_at	0.342478	0	0	PEX6
220935_s_at	0.170358	0	0	CDK5RAP2
201802_at	0.00859629	0	0	SLC29A1
202086_at	NA	NA	NA	MX1
209360_s_at	0.319632	0	0	RUNX1
NA	NA	NA	NA	LY75-CD302
203275_at	0	0.118256	0	IRF2
NA	NA	NA	NA	MYL10
203882_at	0	0.0776936	0	IRF9
206934_at	0.151959	0	0	SIRPB1
207860_at	0.376517	0	0	NCR1
207194_s_at	0.3162	0	0	ICAM4
209396_s_at	0	0	0.0355749	CHI3L1
204750_s_at	0.537475	0	0	DSC2
207840_at	0	0.118889	0	CD160
202411_at	0.0522361	0	0	IFI27
215184_at	0	0.0650331	0	DAPK2
202005_at	0.680527	0	0	ST14

【表１Ｄ】

AFFX プローブセット	細菌	ウイルス	NI	遺伝子
214800_x_at	0	0.103261	0	BTF3
NA	NA	NA	NA	GAPDH
207075_at	0.0627344	0	0	NLRP3
206026_s_at	NA	NA	NA	TNFAIP6
219523_s_at	0	0	0.07715	TENM3
217593_at	0.0747507	0	0	ZSCAN18
204747_at	NA	NA	NA	IFIT3
212657_s_at	0	0	0.254507	IL1RN
204972_at	NA	NA	NA	OAS2
207606_s_at	0.299775	0	0	ARHGAP12
NA	NA	NA	NA	FPGS
205033_s_at	0	0.0878603	0	DEFA3
219143_s_at	0.415444	0	0	RPP25
208601_s_at	0.270581	0	0	TUBB1
216713_at	0.510039	0	0	KRIT1
NA	NA	NA	NA	DECR1
214617_at	0.261957	0	0	PRF1
201055_s_at	0	0	1.25363	HNRNPAO
219055_at	0.0852367	0	0	SRBD1
219130_at	0	0.150771	0	TRMT13
202644_s_at	0.340624	0	0	TNFAIP3
205164_at	0.46638	0	0	GCAT

【０１０１】

ＴＬＤＡプラットフォームについてのこのシグネチャ例のさらなる考察は、下記の実施例３および４に提供されている。

【０１０２】

ＡＲＩの病因を決定するこの方法は、他の試験と組み合わせられ得る。例えば、患者がウイルス性ＡＲＩを有すると決定された場合には、フォローアップ試験は、インフルエンザＡまたはＢを直接的に検出することができるかどうか、またはそのような感染を示す宿主応答を検出することができるかどうかを決定することであり得る。同様に、細菌性ＡＲＩの結果へのフォローアップ試験は、グラム陽性またはグラム陰性細菌を直接的に検出することができるかどうか、またはそのような感染を示す宿主応答を検出できるかどうかを決定することであり得る。いくつかの実施形態において、分類子を用いて感染のクラスを決定するための、およびまた、病原体特異的プローブまたは検出方法を用いて特定の病原体について試験するための同時的試験が実施され得る。例えば、Ｅｌｅｙらの米国特許公開第２０１５／０２８４７８０号（活動性結核を検出するための方法）；Ｔｓａｌｉｋらの米国特許公開第２０１４／０３２３３９１号（細菌感染の分類のための方法）を参照。

【０１０３】

対象におけるＡＲＩの二次分類を決定する方法

本開示はまた、二次分類スキームを用いて対象を分類する方法を提供する。したがって、本発明の別の態様は、対象における急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）が、細菌起源か、ウイルス起源か、または非感染性起源かを決定するための方法であって、（ａ）対象から生物学的試料を得るステップ、（ｂ）生物学的試料から対象の遺伝子発現プロファイルを、定義済みの遺伝子セット（すなわち、３つのシグネチャ）の発現レベルを評価することにより決定するステップ、（ｃ）前記測定を行うために用いられたテクノロジーについて、必要に応じて、遺伝子発現レベルを正規化して、正規化値を生じるステップ、（ｄ）各シグネチャにおける遺伝子のそれぞれについての定義済みの重み付け値（係数）を有する分類子（すなわち、予測子）へ前記正規化値を入力するステップ、（ｅ）前記分類子の出力を、定義済みの閾値、カットオフ値、または感染の見込みを示す値の範囲と比較するステップ、（ｆ）前記試料が細菌に対して陰性である場合には、ウイルス分類子および非感染性分類子だけを用いて、ステップ（ｄ）を繰り返すステップ、ならびに（ｇ）前記試料をウイルス性病因または非感染性疾病であると分類するステップを含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる方法を提供する。

【０１０４】
本開示の別の態様は、対象における急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）が、細菌起源か、ウイルス起源か、または非感染性起源かを決定するための方法であって、（ａ）対象から生物学的試料を得るステップ、（ｂ）生物学的試料から対象の遺伝子発現プロファイルを、定義済みの遺伝子セット（すなわち、３つのシグネチャ）の発現レベルを評価することにより決定するステップ、（ｃ）前記測定を行うために用いられたテクノロジーについて、遺伝子発現レベルを正規化して、正規化値を生じるステップ、（ｄ）各シグネチャにおける遺伝子のそれぞれについての定義済みの重み付け値（係数）を有する分類子（すなわち、予測子）へ前記正規化値を入力するステップ、（ｅ）前記分類子の出力を、定義済みの閾値、カットオフ値、または感染の見込みを示す値の範囲と比較するステップ、（ｆ）前記試料がウイルスに対して陰性である場合には、細菌分類子および非感染性分類子だけを用いて、ステップ（ｄ）を繰り返すステップ、ならびに（ｇ）前記試料を細菌性病因または非感染性疾病であると分類するステップを含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる方法を提供する。
【０１０５】
本開示のさらに別の態様は、対象における急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）が、細菌起源か、ウイルス起源か、または非感染性起源かを決定するための方法であって、（ａ）対象から生物学的試料を得るステップ、（ｂ）生物学的試料から対象の遺伝子発現プロファイルを、定義済みの遺伝子セット（すなわち、３つのシグネチャ）の発現レベルを評価することにより決定するステップ、（ｃ）前記測定を行うために用いられたテクノロジーについて、遺伝子発現レベルを正規化して、正規化値を生じるステップ、（ｄ）各シグネチャにおける遺伝子のそれぞれについての定義済みの重み付け値（係数）を有する分類子（すなわち、予測子）へ前記正規化値を入力するステップ、（ｅ）前記分類子の出力を、定義済みの閾値、カットオフ値、または感染の見込みを示す値の範囲と比較するステップ、（ｆ）前記試料が非感染性疾病に対して陰性である場合には、ウイルス分類子および細菌分類子だけを用いて、ステップ（ｄ）を繰り返すステップ、ならびに（ｇ）前記試料をウイルス性病因または細菌性病因であると分類するステップを含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる方法を提供する。
【０１０６】
いくつかの実施形態において、方法は、ＡＲＩの病因の確率を示すスコアを患者に割り当てる報告を作成するステップをさらに含む。
【０１０７】
二次分類スキームを用いて患者の状態を分類することは、図４に示されている。この例において、細菌性ＡＲＩ分類子は、細菌性ＡＲＩを有する患者を、細菌性ＡＲＩを有しない患者（代わりに、ウイルス性ＡＲＩまたは非感染性病因であり得る）から区別する。その後、二次分類を、非細菌性ＡＲＩを有する患者に課して、ウイルス性ＡＲＩと非感染性疾病との間をさらに識別することができる。一次および二次分類の同じ過程はまた、ウイルス性ＡＲＩ分類子に適用することができ、その場合、ウイルス感染を有しないと決定された患者が、その後、細菌性ＡＲＩまたは非感染性病因を有すると二次的に分類される。同様に、非感染性疾病分類子を一次試験として適用することにより、患者がそのような非感染性疾病を有するか、または代わりに感染性原因の症状を有するかが決定される。二次分類ステップは、その感染性が細菌性病原体によるか、またはウイルス性病原体によるかを決定する。
【０１０８】
前記３つの一次分類および３つの二次分類からの結果は、当業者により様々な技術によって合計されて（例えば、総和、数、または平均）、提供者についての実用的な報告を作成することができる。いくつかの実施形態において、この二次レベルの分類に用いられる遺伝子は、表５Ａから表５Ｑに提示された遺伝子の一部または全部であり得る。
【０１０９】
そのような例において、上記の３つの分類子（細菌分類子、ウイルス分類子、および非感

染性疾病分類子）は、第１レベルの分類を実施するために用いられる。その後、非細菌性感染を有する患者について、二次分類子が、ウイルス性ＡＲＩを、非感染性疾病を有するものから区別するように定義される（図４、左パネル）。同様に、非ウイルス性感染を有する患者について、ウイルス性を非感染性疾病から区別するための新しい分類子が用いられ（図４、中央パネル）、第１ステップにおいて非感染性疾病を有するとは分類されていない患者について、ウイルス性ＡＲＩと細菌性ＡＲＩを区別するための新しい分類子が用いられる（図４、右パネル）。

【０１１０】

この２段方法において、９つの確率が生じ得、それらの確率は、いくつかの方法で統合され得る。それぞれが、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性疾病の確率を有する３つの予測セットを調和させる方法として、２つのストラテジーが本明細書に記載されている。例えば、最高の予測平均確率：細菌性ＡＲＩについての全ての予測確率の平均値が求められ、ウイルス性ＡＲＩの全ての予測確率も、および非感染性疾病の全ての予測確率も同様である。最も高い平均確率が診断を表す。

【０１１１】

最多の予測数：各条件の予測確率を平均する代わりに、その患者試料について特定の診断（すなわち、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病）が予測される回数が係数される。最良のシナリオは、３つの分類スキームが同じ回答を示す（例えば、スキーム１について細菌性ＡＲＩ、スキーム２について細菌性ＡＲＩ、およびスキーム３について細菌性ＡＲＩ）場合である。最悪の場合は、各スキームが異なる診断を指定し、３方式同点を生じることである。

【０１１２】

前に記載された患者試料の訓練セットを用いた、段１分離の結果は、例えば、表２（列に提示された臨床的分類；行に提示された診断試験予測）に提示されたものと同様であり得た。

【０１１３】

【表２】

	細菌	ウイルス	ni	数		
細菌	82.8	12.8	4.2	58	9	3
ウイルス	3.4	90.4	6.0	4	104	7
ni	9.0	4.5	86.3	8	4	76

【０１１４】

最高の予測平均確率ストラテジーを用いる段２分類後、結果は表３（列に提示された臨床的分類；行に提示された診断試験予測）と同様であり得る。

【０１１５】

【表３】

- 平均(最高値ではなく、予測値の平均):

	細菌	ウイルス	ni	数		
細菌	82.8	11.4	5.7	58	8	4
ウイルス	1.7	91.3	6.9	2	105	8
ni	7.9	7.9	84.0	7	7	74

【０１１６】

最多の予測数ストラテジーを用いる段２分類後、結果は表４（列に提示された臨床的分類；行に提示された診断試験予測）に類似し得る。

【０１１７】

【表４】

最高値(最高予測値、その後、投票を計数、同点は７つ):

	細菌	ウイルス	ni		数	
細菌	84.2	11.4	4.2	59	8	3
ウイルス	4.3	89.5	6.0	5	103	7
ni	11.3	7.9	80.6	10	7	71

【０１１８】

例えば、上記のように、および／または表５Ａから表５Ｑに要約されているように、分類を達成することができる。表５Ａから表５Ｑは、異なる診断質問に解答する３つの別々の分類ストラテジーにおける遺伝子メンバーシップを要約する。３つの複雑な分類子を集合的に含む合計２７０個のプローブがある。第１は、下記の実施例１に提示されたものと同じであるＢＶＳ（細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、ＳＩＲＳ）と呼ばれる。これらのプローブは、表１０Ａから表１０Ｆに提示されたものと同じであり、表１０Ａから表１０Ｆは、分類に用いられるプローブ／遺伝子重みを提供する。それらはまた、表１１に提示された遺伝子にも対応する。

【０１１９】

第２は、２層または２段として２Ｌと呼ばれる。これは、図４に提示された階層的スキームである。

【０１２０】

第３は、ＢＶＳと類似するが、（同様に実施例１に記載された）健康な対照の集団もまた含む、１段分類スキーム、ＢＶＳＨである。この群は、非感染について不十分な対照であることが示されているが、健康からの識別が臨床的に重要であり得る使用事例がある。例えば、これは、回復期と相関するシグネチャの連続的測定を含み得る。それはまた、感染性物質に曝されており、無症状性に対する前駆症状性である患者を識別するために用いられ得る。ＢＶＳＨスキームにおいて、訓練コホートにおいて４つの群、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、ＳＩＲＳ（非感染性疾病）を有する群、および健康な群が表される。これらの４つの群は、各クラスを全ての他の可能性から区別する４つの別々のシグネチャを作製するために用いられる。

【０１２１】

表５Ａから表５Ｑ凡例：

プローブ＝ＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘプローブＩＤ

ＢＶＳ＝細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性疾病（呼吸器症状を有する）を有する患者において訓練された３つの分類子モデル。１は、このプローブがこの３つの分類子モデルに含まれることを表す。０は、そのプローブがこの分類スキームにおいて存在しないことを表す。

ＢＶＳ－ＢＯ＝ＢＶＳ分類スキームの一部として細菌性ＡＲＩ分類子に含まれる遺伝子またはプローブ。この分類子は、細菌性ＡＲＩを有する患者を他の病因（ウイルス性ＡＲＩまたは１０）から特異的に識別する。

ＢＶＳ－ＶＯ＝この列が、ウイルス性ＡＲＩ分類子に含まれる遺伝子を同定することを除いて、ＢＶＳ－ＢＯについてと同様。この分類子はウイルス性ＡＲＩを有する患者を他の病因（細菌性ＡＲＩまたは非感染性疾病）から特異的に識別する。

ＢＶＳ－ＳＯ＝この列が、非感染性疾病分類子に含まれる遺伝子を同定することを除いて、ＢＶＳ－ＢＯまたはＢＶＳ－ＶＯについてと同様。この分類子は非感染性疾病を有する患者を他の病因（細菌性またはウイルス性ＡＲＩ）から特異的に識別する。

２Ｌは、２段の階層的分類スキームを指す。この列における１は、特定されたプローブまたは遺伝子がその分類タスクに含まれたことを示す。この２段分類スキームはそれ自体、３つの別個の段階的なタスクで構成される。１段目は、一対他を適用し、一は細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病であり得る。所定の対象が、「他」カテゴリーに入る場合には、残りの可能性の間を区別する２段目の分類が起こる。２Ｌ－ＳＯは、

所定の対象が非感染性疾病を有するかどうかに関して決定するモデルについての１段目、その後、可能性として細菌性ＡＲＩとウイルス性ＡＲＩとの間を識別するＳＬ－ＢＶが続く。これらの列における１は、その遺伝子またはプローブがその特定された分類モデルに含まれることを示す。２Ｌ－ＢＯおよび２Ｌ－ＶＳは、別の２段分類スキームを構成する。２Ｌ－ＶＯおよび２Ｌ－ＳＢは、２段分類スキームにおける第３のモデルを含む。
最後に、ＢＶＳＨは、訓練コホートに健康な個体を含み、したがって、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病と比較した健康な状態についての分類子を含む１レベル分類スキームを指す。濃い灰色のＢＶＳＨ列は、この分類スキームに含まれる任意の遺伝子またはプローブを同定する。このスキームはそれ自体、これらの列において「１」で示されたそれらのそれぞれのプローブ／遺伝子組成を有するＢＶＳＨ－ＢＯ、ＢＶＳＨ－ＶＯ、ＢＶＳＨ－ＳＯ、およびＢＶＳＨ－ＨＯで構成される。

【０１２２】

表５Ａから表５Ｑは、必要とされるタスクに従って構築されるウイルス分類子、細菌分類子、および非感染性疾病分類子についての遺伝子セットのメンバーの使用の概要を提供する。「１」は、分類子におけるその遺伝子のメンバーシップを示す。

【０１２３】

【表５Ａ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
200042_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	HSPC117	NM_014306	22 番染色体オープンリーディングフレーム 28
200073_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	HNRPD	NM_031369; NM_001003810; NM_031370; NM_002138	ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 D(AU リッチエレメント RNA 結合タンパク質 1、37kDa)
200602_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	APP	NM_000484; NM_201414; NM_001136131; NM_201413; NM_001136130; NM_001136016; NM_001136129	アミロイドβ(A4)前駆体タンパク質
200663_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	CD63	NM_001780; NM_001040034	CD63 分子
200709_at	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	FKBP1A	NM_000801; NM_054014	FK506 結合タンパク質 1A、12kDa
200947_s_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	GLUD1	NM_005271	グルタミン酸デヒドロゲナーゼ 1
201055_s_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	HNRPA0	NM_006805	ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 A0
201162_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	IGFBP7	NM_001553	インスリン様成長因子結合タンパク質 7
201166_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	PUM1	NM_014676; NM_001020658	プミリオホモログ 1(ショウジョウバエ)
201188_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	ITPR3	NM_002224	イノシトール 1,4,5-三リン酸受容体、3 型
201341_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	ENC1	NM_003633	外胚葉神経皮質(BTB 様ドメインを含む)
201369_s_at	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	ZFP36L2	NM_006887	ジンクフィンガータンパク質 36、C3H 型様 2
201392_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	IGF2R	NM_000876	インスリン様成長因子 2 受容体
201454_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	NPEPPS	NM_006310; XM_001725441; XM_001725426	仮定的タンパク質 FLJ11822;アミノペプチダーゼピューロマイシン感受性
201464_x_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	JUN	NM_002228	jun 癌遺伝子
201601_x_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	IFITM1	NM_003641	インターフェロン誘導性膜貫通タンパク質 1(9～27)

【表５Ｂ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
201651_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	PACSIN2	NM_007229	ニューロン 2 におけるプロテインキナーゼ C およびカゼインキナーゼ基質
201659_s_at	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	ARL1	NM_001177	ADP リボシル化因子様 1
201802_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	SLC29A1	NM_001078176; NM_001078177; NM_001078175; NM_004955; NM_001078174	溶質輸送体ファミリー29(ヌクレオシドトランスポーター)、メンバー1
201890_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	RRM2	NM_001034; NM_001165931	リボヌクレオチドリダクターゼ M2 ポリペプチド
201949_x_at	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	CAPZB	NM_004930	キャッピングタンパク質(アクチンフィラメント)筋肉 Z 線、β
201952_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	ALCAM	XM_001720217; NM_001627	仮定的タンパク質 LOC100133690;活性化白血球細胞接着分子
201972_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	ATP6V1A	NM_001690	ATP アーゼ、H+輸送性、リソソーム 70kDa、V1 サブユニット A
201992_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	KIF5B	NM_004521	キネシンファミリーメンバー5B
202005_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	ST14	NM_021978	腫瘍原性の抑制 14(結腸癌)
202083_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	SEC14L1	NM_001143998; NM_001039573; NM_001144001; NM_001143999; NM_003003	SEC14 様 1(S.セレビシエ(S.cerevisiae));SEC14 様 1 偽遺伝子
202090_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	UQCR	NM_006830	ユビキノール・チトクロム c レダクターゼ、6.4kDa サブユニット
202145_at	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	LY6E	NM_002346; NM_001127213	リンパ球抗原 6 複合体、遺伝子座 E
202160_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	CREBBP	NM_004380; NM_001079846	CREB 結合タンパク質
202266_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	TTRAP	NM_016614	TRAF および TNF 受容体関連タンパク質
202284_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	CDKN1A	NM_078467; NM_000389	サイクリン依存性キナーゼインヒビター 1A(p21、Cip1)
202411_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	IFI27	NM_005532; NM_001130080	インターフェロン、α-誘導性タンパク質 27
202505_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	SNRPB2	NM_003092; NM_198220	核小体低分子リボ核タンパク質ポリペプチド B''

【表５Ｃ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
202509_s_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	TNFAIP2	NM_006291	腫瘍壊死因子、α-誘導性タンパク質 2
202579_x_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	HMGN4	NM_006353	高移動度ヌクレオソーム結合ドメイン 4
202589_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	TYMS	NM_001071	チミジル酸シンテターゼ
202617_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	MECP2	NM_001110792; NM_004992	メチル CpG 結合タンパク質 2(レット症候群)
202644_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	TNFAIP3	NM_006290	腫瘍壊死因子、α-誘導性タンパク質 3
202679_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	NPC1	NM_000271	ニーマン・ピック病、C1 型
202688_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	TNFSF10	NM_003810	腫瘍壊死因子(リガンド)スーパーファミリー、メンバー10
202709_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	FMOD	NM_002023	フィブロモジュリン
202720_at	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	TES	NM_152829; NM_015641	精巣由来転写産物(3 つの LIM ドメイン)
202748_at	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	GBP2	NM_004120	グアニル酸結合タンパク質 2、インターフェロン誘導性
202864_s_at	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	SP100	NM_003113; NM_001080391	SP100 核内抗原
202973_x_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	FAM13A1	NM_014883; NM_001015045	配列類似性を有するファミリー13、メンバー A
203023_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	HSPC111	NM_016391	NOP16 核小体タンパク質ホモログ(酵母)
203045_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	NINJ1	NM_004148	ニンジュリン 1
203153_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	IFIT1	NM_001548	テトラトリコペプチドリピートを有するインターフェロン誘導性タンパク質 1
203275_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	IRF2	NM_002199	インターフェロン制御因子 2
203290_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	HLA-DQA1	NM_002122; XM_001719804; XM_001129369; XM_001722105	hCG2042724 に類似した;HLA クラス II 組織適合抗原に類似した、DQ(1)α鎖前駆体(DC-4α鎖);主要組織適合抗原複合体、クラス II、DQ α1
203313_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	TGIF	NM_173211; NM_173210; NM_003244; NM_174886; NM_173209; NM_173208; NM_173207; NM_170695	TGFB 誘導性因子ホメオボックス 1

【表５Ｄ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
203392_s_at	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	CTBP1	NM_001328; NM_001012614	C 末端結合タンパク質 1
203414_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	MMD	NM_012329	単球からマクロファージへの分化関連
203455_s_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	SAT	NM_002970	スペルミジン/スペルミン N1-アセチルトランスフェラーゼ 1
203570_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	LOXL1	NM_005576	リジルオキシダーゼ様 1
203615_x_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	SULT1A1	NM_177529; NM_177530; NM_177534; NM_001055; NM_177536	スルホトランスフェラーゼファミリー、細胞質、1A、フェノール優先性、メンバー1
203633_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	CPT1A	NM_001876; NM_001031847	カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 1A(肝臓)
203717_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	DPP4	NM_001935	ジペプチジルペプチダーゼ 4
203882_at	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	ISGF3G	NM_006084	インターフェロン制御因子 9
203940_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	VASH1	NM_014909	バソヒビン 1
203979_at	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	CYP27A1	NM_000784	チトクロム P450、ファミリー27、サブファミリーA、ポリペプチド 1
204069_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	MEIS1	NM_002398	Meis ホメオボックス 1
204392_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	CAMK1	NM_003656	カルシウム/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ I
204490_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	CD44	NM_000610; NM_001001389; NM_001001390; NM_001001391; NM_001001392	CD44 分子(インド人血液型)
204545_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	PEX6	NM_000287	ペルオキシソーム生合成因子 6
204592_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	DLG4	NM_001365; NM_001128827	discs,large homolog 4(ショウジョウバエ)
204647_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	HOMER3	NM_001145724; NM_004838; NM_001145722; NM_001145721	ホーマーホモログ 3(ショウジョウバエ)
204724_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	COL9A3	NM_001853	コラーゲン、IX 型、α3
204750_s_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	DSC2	NM_004949; NM_024422	デスモコリン 2

【表５Ｅ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
204853_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ORC2L	NM_006190	複製開始点認識複合体、サブユニット 2 様(酵母)
204858_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	ECGF1	NM_001953; NM_001113755; NM_001113756	チミジンホスホリラーゼ
204981_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	SLC22A18	NM_002555; NM_183233	溶質輸送体ファミリー22、メンバー18
205001_s_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	DDX3Y	NM_001122665; NM_004660	DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド 3、Y 連鎖
205008_s_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	CIB2	NM_006383	カルシウムおよびインテグリン結合ファミリーメンバー2
205033_s_at	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	DEFA1 /// DEFA3	NM_004084; NM_001042500	デフェンシン、α1
205048_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	PSPH	NM_004577	ホスホセリンホスファターゼ様;ホスホセリンホスファターゼ
205053_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	PRIM1	NM_000946	プライマーゼ、DNA、ポリペプチド 1(49kDa)
205098_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	CCR1	NM_001295	ケモカイン(C-C モチーフ)受容体 1
205153_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	CD40	NM_152854; NM_001250	CD40 分子、TNF 受容体スーパーファミリーメンバー5
205164_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	GCAT	NM_014291; NM_001171690	グリシン C-アセチルトランスフェラーゼ(2-アミノ-3-ケト酪酸コエンザイム A リガーゼ)
205200_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	CLEC3B	NM_003278	C 型レクチンドメインファミリー3、メンバーB
205312_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	SPI1	NM_001080547; NM_003120	脾フォーカス形成ウイルス(SFFV)プロウイルス組込み癌遺伝子 spi1
205376_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	INPP4B	NM_003866; NM_001101669	イノシトールポリリン酸-4-ホスファターゼ、II 型、105kDa
205382_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	DF	NM_001928	補体因子 D(アジプシン)
205826_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	MYOM2	NM_003970	ミオメシン(M タンパク質)2,165kDa
206005_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	C6orf84	NM_014895	KIAA1009
206035_at	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	REL	NM_002908	v-rel 細網内皮症ウイルス癌遺伝子ホモログ(トリ)
206082_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0		NM_006674	HLA 複合体 P5
206207_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	CLC	NM_001828	シャルコー・ライデン結晶タンパク質
206214_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	PLA2G7	NM_005084; NM_001168357	ホスホリパーゼ A2、VII 群(血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ、プラズマ)

【表５Ｆ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
206371_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	FOLR3	NM_000804	葉酸受容体 3(γ)
206508_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	TNFSF7	NM_001252	CD70 分子
206558_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	SIM2	NM_009586; NM_005069	single-minded ホモログ 2(ショウジョウバエ)
206647_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	HBZ	NM_005332	ヘモグロビン、ζ
206676_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	CEACAM8	NM_001816	癌胎児抗原関連細胞接着分子 8
206734_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	JRKL	NM_003772	jerky ホモログ様(マウス)
206896_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	GNG7	NM_052847	グアニンヌクレオチド結合タンパク質(G タンパク質)、γ7
206918_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	CPNE1	NM_152929; NM_152928; NM_152927; NM_003915; NM_152931; NM_152930; NM_006047; NM_152925; NM_152926; NM_152838	RNA 結合モチーフタンパク質 12;コピン I
206934_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	SIRPB1	NM_001135844; NM_006065; NM_001083910	シグナル制御タンパク質β1
207008_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	IL8RB	NM_001168298; NM_001557	インターロイキン 8 受容体、β
207075_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	CIAS1	NM_004895; NM_001079821; NM_001127462; NM_001127461; NM_183395	NLR ファミリー、パイリンドメイン含有 3
207194_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	ICAM4	NM_022377; NM_001544; NM_001039132	細胞間接着分子 4(Landsteiner-Wiener 血液型)
207244_x_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	CYP2A6	NM_000762	チトクロム P450、ファミリー2、サブファミリーA、ポリペプチド 6
207306_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	TCF15	NM_004609	転写因子 15(ベーシック・ヘリックス・ループ・ヘリックス)
207436_x_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	KIAA0894		不明確(未決定)

【表５Ｇ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
207536_s_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	TNFRSF9	NM_001561	腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー、メンバー9
207606_s_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	ARHGAP12	NM_018287	Rho GTP アーゼ活性化タンパク質 12
207718_x_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	CYP2A6 /// CYP2A7 /// CYP2A7P1 /// CYP2A13	NM_000764; NM_030589	チトクロム P450、ファミリー2、サブファミリーA、ポリペプチド 7
207721_x_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	HINT1	NM_005340	ヒスチジン三つ組ヌクレオチド結合タンパク質 1
207808_s_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	PROS1	NM_000313	プロテイン S(α)
207840_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	CD160	NM_007053	CD160 分子
207860_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	NCR1	NM_001145457; NM_001145458; NM_004829	天然細胞傷害誘発受容体 1
207983_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	STAG2	NM_006603; NM_001042749; NM_001042751; NM_001042750	間質抗原 2
208029_s_at	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	LAPTM4B	NM_018407	リソソームタンパク質膜貫通 4β
208241_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	NRG1	NM_001160001; NM_001159995; NM_001160007; NM_001160008; NM_001159996; NM_001159999; NM_001160002; NM_001160004; NM_004495; NM_001160005; NM_013964; NM_013960; NM_013962; NM_013961; NM_013959; NM_013958; NM_013957; NM_013956	ニューレギュリン 1

【表５Ｈ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
208501_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	GFI1B	NM_001135031, NM_004188	成長因子非依存性 1B 転写抑制因子
208545_x_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	TAF4	NM_003185	TAF4 RNA ポリメラーゼ II、TATA ボックス結合タンパク質(TBP)関連因子、135kDa
208601_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	TUBB1	NM_030773	チューブリン、β1
208702_x_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	APLP2	NM_001642; NM_001142277; NM_001142278; NM_001142276	アミロイドβ(A4)前駆体様タンパク質 2
208710_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	AP3D1	NM_003938; NM_001077523	アダプター関連タンパク質複合体 3、δ1 サブユニット
208736_at	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	ARPC3	NM_005719	アクチン関連タンパク質 2/3 複合体サブユニット 3 に類似した;仮定的 LOC729841;アクチン関連タンパク質 2/3 複合体、サブユニット 3、21kDa
208743_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	YWHAB	NM_139323; NM_003404	チロシン 3 モノオキシゲナーゼ/トリプトファン 5-モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質、βポリペプチド
208782_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	FSTL1	NM_007085	フォリスタチン様 1
208886_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	H1F0	NM_005318	H1 ヒストンファミリー、メンバー0
208974_x_at	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	KPNB1	NM_002265	カリオフェリン(インポーチン)β1
209031_at	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	IGSF4	NM_014333; NM_001098517	細胞接着分子 1
209218_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	SQLE	NM_003129	スクアレンエポキシダーゼ
209360_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	RUNX1	NM_001122607; NM_001001890; NM_001754	runt 関連転写因子 1
209396_s_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	CHI3L1	NM_001276	キチナーゼ 3 様 1(軟骨糖タンパク質 39)
209422_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	PHF20	NM_016436	PHD フィンガータンパク質 20
209511_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	POLR2F	NM_021974	ポリメラーゼ(RNA)II(DNA 依存性)ポリペプチド F
209605_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	TST	NM_003312	チオ硫酸サルファトランスフェラーゼ(ロダネーゼ)
209691_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	DOK4	NM_018110	ドッキングタンパク質 4
209906_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C3AR1	NM_004054	補体成分 3a 受容体 1

【表５Ｉ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
209919_x_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	GGT1	XM_001129425; NM_013430; NM_001032365; NM_005265; NM_001032364; XM_001129377	γ-グルタミルトランスフェラーゼ軽鎖 3;γ-グルタミルトランスフェラーゼ 4 偽遺伝子;γ-グルタミルトランスフェラーゼ 2;γ-グルタミルトランスフェラーゼ 1;γ-グルタミルトランスフェラーゼ軽鎖 5 偽遺伝子
210164_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	GZMB	NM_004131	グランザイム B(グランザイム 2、細胞傷害性 T リンパ球関連セリンエステラーゼ 1)
210172_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	SF1	NM_004630; NM_201995; NM_201997; NM_201998	スプライシング因子 1
210240_s_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	CDKN2D	NM_001800; NM_079421	サイクリン依存性キナーゼインヒビター 2D(p19、CDK4 を阻害する)
210365_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	RUNX1	NM_001122607; NM_001001890; NM_001754	runt 関連転写因子 1
210499_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	PQBP1	NM_005710; NM_001032384; NM_001032383; NM_001167989; NM_001167990; NM_144495; NM_001167992; NM_001032381; NM_001032382	ポリグルタミン結合タンパク質 1
210724_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	EMR3	NM_032571	egf 様モジュール含有、ムチン様、ホルモン受容体様 3
210797_s_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	OASL	NM_198213; NM_003733	2'-5'-オリゴアデニル酸シンテターゼ様
210846_x_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	TRIM14	NM_033219; NM_033220; NM_014788; NM_033221	三者間モチーフ含有 14
211137_s_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ATP2C1	NM_014382; NM_001001486; NM_001001487; NM_001001485	ATP アーゼ、Ca++輸送、2C 型、メンバー1

【表５Ｊ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
211792_s_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	CDKN2C	NM_001262; NM_078626	サイクリン依存性キナーゼインヒビター 2C(p18、CDK4 を阻害する)
211878_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1		XM_001718220	免疫グロブリン重鎖定常γ1(G1m マーカー);免疫グロブリン重鎖定常μ;免疫グロブリン重鎖可変 3～7;免疫グロブリン重鎖定常γ3(G3m マーカー);免疫グロブリン重鎖可変 3～11(遺伝子/偽遺伝子);免疫グロブリン重鎖可変 4～31;免疫グロブリン重鎖遺伝子座
211966_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	COL4A2	NM_001846	コラーゲン、IV 型、α2
212035_s_at	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	EXOC7	NM_001145298; NM_001145299; NM_015219; NM_001145297; NM_001145296; NM_001013839	エクソシスト複合体成分 7
212036_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	PNN	NM_002687	ピニン、デスモソーム関連タンパク質
212118_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	RFP	NM_006510	三者間モチーフ含有 27
212162_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	KIDINS220	NM_020738	キナーゼ D 相互作用基質、220kDa
212574_x_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	C19orf6	NM_033420; NM_001033026	19 番染色体オープンリーディングフレーム 6
212590_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	RRAS2	XM_001726427; NM_012250; XM_001726471; NM_001102669; XM_001726315	関連 RAS ウイルス(r-ras)癌遺伝子ホモログ 2;関連 RAS ウイルス(r-ras)癌遺伝子ホモログ 2 と類似した
212655_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	ZCCHC14	NM_015144	ジンクフィンガー、CCHC ドメイン含有 14
212657_s_at	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	IL1RN	NM_000577; NM_173841; NM_173842; NM_173843	インターロイキン 1 受容体アンタゴニスト
212659_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	IL1RN	NM_000577; NM_173841; NM_173842; NM_173843	インターロイキン 1 受容体アンタゴニスト
212676_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	NF1	NM_000267; NM_001042492; NM_001128147	ニューロフィブロミン 1

【表５Ｋ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
212697_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	LOC162427	NM_178126	配列類似性を有するファミリー134、メンバーC
212708_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	LOC339287	NM_001012241	雄特異的致死 1 ホモログ(ショウジョウバエ)
212810_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	SLC1A4	NM_003038; NM_001135581	溶質輸送体ファミリー1(グルタミン酸/中性アミノ酸トランスポーター)、メンバー4
212816_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	CBS	NM_000071	シスタチオニンβシンターゼ
212914_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	CBX7	NM_175709	クロモボックスホモログ 7
212947_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	SLC9A8	NM_015266	溶質輸送体ファミリー9(Na/H 交換輸送体)、メンバー8
213223_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	RPL28	NM_001136134; NM_000991; NM_001136137; NM_001136135; NM_001136136	リボソームタンパク質 L28
213300_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	KIAA0404	NM_015104	ATG2 オートファジー関連 2 ホモログ A(S.セレビシエ)
213422_s_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	MXRA8	NM_032348	マトリックスリモデリング関連 8
213573_at	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	KPNB1	NM_002265	カリオフェリン(インポーチン)β1
213633_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	SH3BP1	NM_018957	SH3 ドメイン結合タンパク質 1
213700_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	PKM2	NM_002654; NM_182471; NM_182470; XM_001719890	ピルビン酸キナーゼに類似した、アイソザイム M1/M2(ピルビン酸キナーゼ筋肉アイソザイム)(細胞質甲状腺ホルモン結合タンパク質)(CTHBP)(THBP1);ピルビン酸キナーゼ、筋肉
213831_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	HLA-DQA1	NM_002122; XM_001719804; XM_001129369; XM_001722105	hCG2042724 に類似した;HLA クラス II 組織適合抗原、DQ(1)α鎖前駆体(DC-4α鎖);主要組織適合抗原複合体、クラス II、DQα1
213907_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	EEF1E1	NM_004280; NM_001135650	真核細胞翻訳伸長因子 1ε1
214085_x_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	GLIPR1	NM_006851	GLI 病原性関連 1
214097_at	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	RPS21	NM_001024	リボソームタンパク質 S21
214175_x_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	PDLIM4	NM_003687; NM_001131027	PDZ および LIM ドメイン 4
214321_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	NOV	NM_002514	腎芽細胞腫過剰発現遺伝子
214326_x_at	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	JUND	NM_005354	jun D 癌原遺伝子

【表５Ｌ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
214511_x_at	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	FCGR1A /// LOC440607	NM_001017986; NM_001004340	IgG の Fc 断片、高親和性 Ib、受容体(CD64)
214582_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	PDE3B	NM_000922	ホスホジエステラーゼ 3B、cGMP 抑制性
214617_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	PRF1	NM_005041; NM_001083116	パーフォリン 1(ポア形成タンパク質)
214800_x_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	BTF3 /// LOC345829	NM_001037637; NM_001207	塩基性転写因子 3;塩基性転写因子 3 様 1 偽遺伝子
214955_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	TMPRSS6	NM_153609	膜貫通プロテアーゼ、セリン 6
215012_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	ZNF451	NM_001031623; NM_015555	ジンクフィンガータンパク質 451
215088_s_at	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	SDHC	NM_003001; NM_001035513; NM_001035511; NM_001035512	コハク酸デヒドロゲナーゼ複合体、サブユニット C、内在性膜タンパク質、15kDa
215184_at	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	DAPK2	NM_014326	死関連プロテインキナーゼ 2
215268_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	KIAA0754	NM_015038	仮定的 LOC643314
215606_s_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	RAB6IP2	NM_178040; NM_015064; NM_178037; NM_178038; NM_178039	ELKS/RAB6 相互作用/CAST ファミリーメンバー1
215630_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0		NM_015150	ラフトリン、脂質ラフトリンカー1
215696_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	KIAA0310	NM_014866	SEC16 ホモログ A(S.セレビシエ)
215804_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	EPHA1	NM_005232	EPH 受容体 A1
215848_at	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	ZNF291	NM_001145923; NM_020843	ER における S 期サイクリン A 関連タンパク質
216289_at	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0		XM_002347085; XM_002342934; XM_002346195; NM_001161808	G タンパク質共役型受容体 144
216303_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	MTMR1	NM_003828	ミオチュブラリン関連タンパク質 1

【表５Ｍ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
216473_x_at	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	DUX4 /// LOC399839 /// LOC401650 /// LOC440013 /// LOC440014 /// LOC440015 /// LOC440016 /// LOC440017 /// LOC441056	XM_927996; XM_001720078; XM_001722088; NM_001164467; XM_928023; XM_495858; XM_941455; NM_001127386; XM_001720082; XM_001720798; XM_496731; NM_001127387; XM_495854; XM_495855; NM_001127388; NM_033178; NM_001127389; XM_001724713	二重ホメオボックス 4 様;二重ホメオボックス 4c に類似した;二重ホメオボックス 4 に類似した;二重ホメオボックス 4
216571_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0		NM_000543; NM_001007593	スフィンゴミエリンホスホジエステラーゼ 1、酸リソソーム
216676_x_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	KIR3DL3	NM_153443	キラー細胞免疫グロブリン様受容体、3 ドメイン、長い細胞質側末端、3
216713_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	KRIT1	NM_194454; NM_001013406; NM_004912; NM_194456; NM_194455	KRIT1、アンキリンリピート含有
216748_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	PYHIN1	NM_198928; NM_152501; NM_198930; NM_198929	パイリンおよび HIN ドメインファミリー、メンバー1
216867_s_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	PDGFA	NM_033023; NM_002607	血小板由来成長因子 α ポリペプチド
216950_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	FCGR1A	NM_000566	IgG の Fc 断片、高親和性 Ic、受容体(CD64);IgG の Fc 断片、高親和性 Ia、受容体(CD64)
217143_s_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	TRA@ /// TRD@		不明確(未決定)

【表５Ｎ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
217408_at	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	MRPS18B	NM_014046	ミトコンドリアリボソームタンパク質 S18B
217497_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	ECGF1	NM_001953; NM_001113755; NM_001113756	チミジンホスホリラーゼ
217593_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	ZNF447	NM_001145542; NM_001145543; NM_001145544; NM_023926	ジンクフィンガーおよび SCAN ドメイン含有 18
217717_s_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	YWHAB	NM_139323; NM_003404	チロシン 3 モノオキシゲナーゼ/トリプトファン 5-モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質、βポリペプチド
218010_x_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	C20orf149	NM_024299	膵前駆細胞分化増殖因子ホモログ(ゼブラフィッシュ)
218040_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	PRPF38B	NM_018061	PRP38 プレ mRNA プロセシング因子 38(酵母)ドメイン含有 B
218060_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	FLJ13154	NM_024598	16 番染色体オープンリーディングフレーム 57
218095_s_at	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	TPARL	NM_018475	膜貫通タンパク質 165
218135_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	PTX1	NM_016570	ERGIC およびゴルジ 2
218306_s_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	HERC1	NM_003922	hect(E6-AP(UBE3A)カルボキシル末端と相同である)ドメインおよび RCC1(CHC1)様ドメイン(RLD)1
218510_x_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	FLJ20152	NM_001034850; NM_019000	配列類似性を有するファミリー134、メンバーB
218523_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	LHPP	NM_022126; NM_001167880	ホスホリジンホスホヒスチジン無機ピロリン酸ホスファターゼ
218595_s_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	HEATR1	NM_018072	HEAT リピート含有 1
218637_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	IMPACT	NM_018439	Impact ホモログ(マウス)
218700_s_at	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	RAB7L1	NM_001135664; NM_001135663; NM_001135662; NM_003929	RAB7、メンバーRAS 癌遺伝子ファミリー様 1
218812_s_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	C7orf19	NM_032831; NM_001126340	ORAI カルシウム放出活性化カルシウムモジュレータ 2
218818_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	FHL3	NM_004468	four and a half LIM domains 3

【表５Ｏ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
218946_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	HIRIP5	NM_001002755; NM_001002756; NM_001002757; NM_015700	NFU1 鉄イオウクラスタースキャフォールドホモログ(S.セレビシエ)
218999_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	FLJ11000	NM_018295	膜貫通タンパク質 140
219055_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	FLJ10379	NM_018079	S1 RNA 結合ドメイン 1
219066_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	PPCDC	NM_021823	ホスホパントテノイルシステインデカルボキシラーゼ
219124_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	C8orf41	NM_001102401; NM_025115	8 番染色体オープンリーディングフレーム 41
219130_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	FLJ10287	NM_019083	コイルドコイルドメイン含有 76
219143_s_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	RPP25	NM_017793	リボヌクレアーゼ P/MRP 25kDa サブユニット
219269_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	FLJ21616	NM_001135726; NM_024567	ホメオボックス含有 1
219382_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	SERTAD3	NM_013368; NM_203344	SERTA ドメイン含有 3
219437_s_at	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	ANKRD11	XM_001720760; NM_013275; XM_001721661; XM_001721649	アンキリンリピートドメイン 11;仮定的タンパク質 LOC100128265
219523_s_at	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	ODZ3	NM_001080477	odz、odd Oz/ten-m ホモログ 3(ショウジョウバエ)
219577_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	ABCA7	NM_019112	ATP 結合カセット、サブファミリー A(ABC1)、メンバー7
219599_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	PRO1843	NM_001417	真核細胞翻訳開始因子 4H に類似した;真核細胞翻訳開始因子 4B
219629_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	C22orf8	NM_017911; NM_001104595	配列類似性を有するファミリー118、メンバーA
219669_at	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	CD177	NM_020406	CD177 分子
219693_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	AGPAT4	NM_020133	1-アシルグリセロール-3-リン酸 O-アシルトランスフェラーゼ 4(リゾホスファチジン酸アシルトランスフェラーゼ、δ)
219745_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	C10orf77	NM_024789	膜貫通タンパク質 180
219762_s_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	RPL36	NM_033643; NM_015414	リボソームタンパク質 L36;リボソームタンパク質 L36 偽遺伝子 14

【表５Ｐ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
219763_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	DENND1A	NM_020946; NM_024820	DENN/MADD ドメイン含有 1A
219777_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	GIMAP6	NM_024711	GTP アーゼ、IMAP ファミリーメンバー6
219872_at	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	DKFZp434L142	NM_001031700; NM_016613; NM_001128424	4 番染色体オープンリーディングフレーム 18
219966_x_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	BANP	NM_017869; NM_079837	BTG3 関連核タンパク質
219999_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	MAN2A2	NM_006122	マンノシダーゼ、α、クラス 2A、メンバー2
220036_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	LMBR1L	NM_018113	limb 領域 1 ホモログ(マウス)様
220059_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	BRDG1	NM_012108	シグナル伝達アダプターファミリーメンバー 1
220122_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	MCTP1	NM_024717; NM_001002796	マルチプル C2 ドメイン、膜貫通 1
220308_at	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	CCDC19	NM_012337	コイルドコイルドメイン含有 19
220319_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	MYLIP	NM_013262	ミオシン制御軽鎖相互作用タンパク質
220646_s_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	KLRF1	NM_016523	キラー細胞レクチン様受容体サブファミリー F、メンバー1
220765_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	LIMS2	NM_017980; NM_001161404; NM_001161403; NM_001136037	LIM および老化細胞抗原様ドメイン 2
220935_s_at	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	CDK5RAP2	NM_018249; NM_001011649	CDK5 制御サブユニット関連タンパク質 2
221032_s_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	TMPRSS5	NM_030770	膜貫通プロテアーゼ、セリン 5
221142_s_at	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	PECR	NM_018441	ペルオキシソームトランス-2-エノイル-CoA レダクターゼ
221211_s_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	C21orf7	NM_020152	21 番染色体オープンリーディングフレーム 7
221491_x_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	HLA-DRB1 /// HLA-DRB3 /// HLA-DRB4	XM_002346768; NM_022555; XM_002346769	主要組織適合抗原複合体、クラス II、DR β 3
221874_at	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	KIAA1324	NM_020775	KIAA1324
221964_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	TULP3	NM_001160408; NM_003324	tubby 様タンパク質 3
222059_at	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	ZNF335	NM_022095	ジンクフィンガータンパク質 335
222186_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	ZA20D3	NM_019006	ジンクフィンガー、AN1 型ドメイン 6

【表５Ｑ】

Affymetrix プローブ ID	BVS	BVS -BO	BVS -VO	BVS -SO	2L	2L-SO	2L-BV	2L-BO	2L-VS	2L-VO	2L-SB	BVSH	BVSH -BO	BVSH -VO	BVSH -SO	BVSH -HO	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
222297_x_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	RPL18		リボソームタンパク質 L18
222330_at	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	PDE3B	NM_000922	ホスホジエステラーゼ 3B、cGMP 抑制性
320_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	PEX6	NM_000287	ペルオキシソーム生合成因子 6
44673_at	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	SN	NM_023068	シアル酸結合 Ig 様レクチン 1、シアロアドヘシン
49329_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	KLHL22	NM_032775	kelch 様 22(ショウジョウバエ)
49452_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	ACACB	NM_001093	アセチルコエンザイム A カルボキシラーゼ β
215185_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	LOC441468		
AFFX-HUMGAPDH/M33197_M_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	GAPDH		
206512_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	U2AF1L1		不明確(未決定)
211781_x_at	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
216635_at	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0			
216943_at	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0			
217079_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0			
220352_x_at	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0			

【０１２４】

ＡＲＩを有する対象を処置する方法

本開示の別の態様は、対象において病因が不明である急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）を処置する方法であって、（ａ）対象から生物学的試料を得るステップ、（ｂ）生物学的試料から対象の遺伝子発現プロファイルを、定義済みの遺伝子セット（例えば、１つ、２つ、もしくは３つ、またはそれ超のシグネチャ）の発現レベルを評価することにより決定するステップ、（ｃ）前記測定を行うために用いられるテクノロジーについて、必要に応じて、遺伝子発現レベルを正規化して、正規化値を生じるステップ、（ｄ）各シグネチャにおける遺伝子のそれぞれについての定義済みの重み付け値（係数）を有する細菌分類子、ウイルス分類子、および非感染性疾病分類子（すなわち、予測子）へ前記正規化値を入力するステップ、（ｅ）前記分類子の出力を、定義済みの閾値、カットオフ値、または感染の見込みを示す値の範囲と比較するステップ、（ｆ）前記試料を、細菌性病因、ウイルス性病因、または非感染性疾病であると分類するステップ、ならびに（ｇ）ステップ（ｆ）によって同定されているように適切な処置レジメンを前記対象へ施すステップを含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる方法を提供する。

【０１２５】

いくつかの実施形態において、ステップ（ｇ）は、ＡＲＩの病因が細菌性であると決定される場合、抗細菌治療を施すことを含む。他の実施形態において、ステップ（ｇ）は、ＡＲＩの病因がウイルス性であると決定される場合、抗ウイルス治療を施すことを含む。

【０１２６】

対象のＡＲＩの病因が決定された後、彼女は、処置、例えば、ＡＲＩがウイルス性であると決定された場合には抗ウイルス治療を受け得、および／または彼女は、感染の経過の間、彼女の家に隔離され得る。あるいは、ＡＲＩが細菌性であると決定された場合には、細菌治療レジメンが施され得る（例えば、抗生物質の投与）。非感染性疾病として分類された対象は、帰宅させられ得、またはさらなる診断および処置（例えば、アレルギー、喘息など）のために診察され得る。

【０１２７】

しかしながら、検査室は、ＡＲＩの病因を同定すること、および適切な処置の施与を目的として、分類子の遺伝子発現レベルを医師に伝え得ることが企図されるため、末梢血試料を実施した人は、比較を行う必要はない。追加として、医師は、患者を診察した後、末梢血試料を採取し、その試料を分類子についてアッセイし、代理業者に患者の病因学的状態を医師に報告するように、代理業者に命令することが企図される。医師はＡＲＩの病因を得るとすぐに、医師は、適切な処置および／または隔離を命令することができる。

【０１２８】

本明細書に提供された方法は、患者を正しく処置し、抗生物質の不適切な使用を減らすために疾病の病因を診断するために効果的に用いることができる。さらに、本明細書に提供された方法は、様々な他の用途を有し、その用途には、（１）病原体に曝されており、かつ今にも起こりそうだが、症候性ではない疾病を有する個体を検出するための宿主に基づいた試験（例えば、集団を通しての疾患の自然伝播のシナリオにおいて、しかし、バイオテロリズムの場合においても）、（２）臨床試験設定においてか、または免疫の集団モニタリングのためのいずれかで、ワクチンまたは薬物に対する応答をモニターするための宿主に基づいた試験、（３）配置前の、差し迫った疾病についてのスクリーニングのための宿主に基づいた試験（例えば、軍隊配置、またはクルーズ船への乗船などの民間人のシナリオにおいて）、および（４）家畜のＡＲＩ（例えば、鳥インフルエンザおよび他のパンデミックの可能性があるウイルス）についてのスクリーニングのための宿主に基づいた試験が含まれるが、それらに限定されない。

【０１２９】

本開示の別の態様は、（ａ）生物学的試料を抽出するための手段；（ｂ）本明細書に教示されているような１群の遺伝子転写産物と相同な領域を有する複数の合成オリゴヌクレオチドからなる１つまたは複数のアレイを作製するための手段；ならびに（ｃ）使用説明書を含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる、対象における急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）の病因を決定するためのキットを提供する。

【０１３０】

本開示のさらに別の態様は、急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）分類子を評価するためにキットを使用する方法であって、（ａ）本明細書に教示されているような１群の遺伝子転写産物と相同な領域を有する複数の合成オリゴヌクレオチドからなる１つまたは複数のアレイを作製するステップ；（ｂ）正規化遺伝子と相同な領域を有するオリゴヌクレオチドを前記アレイに加えるステップ；（ｃ）急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）を患っている対象から生物学的試料を得るステップ；（ｄ）前記試料からＲＮＡを単離して、トランスクリプトームを作製するステップ；（ｅ）前記アレイ上の前記トランスクリプトームを測定するステップ；（ｆ）前記トランスクリプトームの測定値を正規化遺伝子に対して正規化し、分類子アルゴリズムを実行するために正規化測定値をコンピュータへ電子的に転送するステップ；（ｇ）報告を作成するステップ、および任意で、（ｈ）前記結果に基づいた適切な処置を施すステップを含み、それらからなり、またはそれらから本質的になる方法を提供する。

【０１３１】

分類システム

図１１に関して、分類システムおよび／またはコンピュータプログラム製造物１１００は、本明細書に記載された様々な実施形態に従って、プラットフォームにおいて、またはそれにより、用いられ得る。分類システムおよび／またはコンピュータプログラム製造物１１００は、ソフトウェア、ファームウェア、および／またはハードウェアの任意の適切な組合せを用いてデータを受け取り、転送し、処理し、および記憶するように動作可能であり、かつスタンドアロンであり得、ならびに／またはインターネットとして知られたグローバル通信ネットワークの全部もしくは一部を含む、任意の通常の公共および／もしくは民間の、実および／もしくは仮想の、有線および／もしくは無線のネットワークにより相互接続され得る、１つまたは複数の企業、アプリケーション、パーソナル、普及、および／または埋め込み型のコンピュータシステムとして具現され得、様々な型の有形的表現の、非一過性コンピュータ可読媒体を含み得る。

【０１３２】

図１１に示されているように、分類システム１１００は、１つもしくは複数のオペレーティングシステムおよび／または１つもしくは複数のアプリケーションが走る１つまたは複数の中央処理装置（ＣＰＵ）を含むプロセッササブシステム１１４０を含み得る。１つのプロセッサ１１４０が示されているが、複数のプロセッサ１１４０が存在し得、それらは、電気的に相互接続されているか、または独立しているかのいずれかであり得ることは、理解されているだろう。プロセッサ１１４０は、メモリ１１５０などのメモリ装置からコンピュータプログラムコードを実行して、本明細書に記載された動作および方法の少なくとも一部を実施するように構成され、任意の通常の、または特殊目的のプロセッサであり得、そのプロセッサには、デジタル信号プロセッサ（ＤＳＰ）、フィールドプログラマブルゲートアレイ（ＦＰＧＡ）、特殊用途向け集積回路（ＡＳＩＣ）、およびマルチコアプロセッサが含まれるが、それらに限定されない。

【０１３３】

メモリサブシステム１１５０は、ランダムアクセスメモリ（ＲＡＭ）、リードオンリーメモリ（ＲＯＭ）、消去可能プログラマブルリードオンリーメモリ（ＥＰＲＯＭ）もしくはフラッシュメモリ、および／または任意の他の固体メモリ装置などのメモリ装置の階層を含み得る。

【０１３４】

記憶回路１１７０もまた提供され得、それには、例えば、携帯用コンピュータディスケット、ハードディスク、携帯用コンパクトディスクリードオンリーメモリ（ＣＤＲＯＭ）、光学式記憶装置、磁気記憶装置、および／または任意の他の種類のディスクもしくはテープに基づいた記憶サブシステムが含まれ得る。記憶回路１１７０は、分類システム１１００についてのデータ／パラメータ／分類子の不揮発性記憶を提供し得る。記憶回路１１７０は、ディスクドライブおよび／またはネットワーク記憶コンポーネントを含み得る。記憶回路１１７０は、プロセッサ１１４０により、実行され得るコードおよび／またはアクセスされ得るデータを記憶するために用いられ得る。いくつかの実施形態において、記憶回路１１７０は、シグネチャ、重み、閾値などの分類システム１１１０に用いられるデータ／パラメータ／分類子へのアクセスを提供するデータベースを記憶し得る。１つまたは複数のコンピュータ可読媒体の任意の組合せが、記憶回路１１７０によって利用され得る。コンピュータ可読媒体は、コンピュータ可読信号媒体またはコンピュータ可読記憶媒体であり得る。コンピュータ可読記憶媒体は、例えば、電子、磁気、光学、電磁気、赤外線、または半導体のシステム、機器、もしくは装置、または前述の任意の適切な組合せであり得るが、それらに限定されない。コンピュータ可読記憶媒体のより具体的な例（包括的ではないリスト）には、携帯用コンピュータディスケット、ハードディスク、ランダムアクセスメモリ（ＲＡＭ）、リードオンリーメモリ（ＲＯＭ）、消去可能プログラマブルリードオンリーメモリ（ＥＰＲＯＭまたはフラッシュメモリ）、携帯用コンパクトディスクリードオンリーメモリ（ＣＤ－ＲＯＭ）、光学式記憶装置、磁気記憶装置、または前述の任意の適切な組合せが含まれる。本明細書で用いられる場合、コンピュータ可読記憶媒体は、命令実行システム、機器、または装置により、またはそれらと接続して、使用される

プログラムを含有または記憶することができる任意の有形的表現媒体であり得る。
【０１３５】
入力／出力回路１１６０には、ディスプレイ、ならびに／またはキーボード、タッチスクリーン、および／もしくはポインティングデバイスなどのユーザー入力装置が含まれ得る。入力／出力回路１１６０に付属した装置は、分類システム１１００のユーザーによりプロセッサ１１４０へ情報を供給するために用いられ得る。入力／出力回路１１６０に付属した装置には、ネットワーキングまたは通信制御装置、入力装置（キーボード、マウス、タッチスクリーンなど）、および出力装置（プリンターまたはディスプレイ）が含まれ得る。入力／出力回路１１６０はまた、ディスプレイおよび／またはプリンターなどの装置へのインターフェイスを提供し得、分類システム１１００の動作の結果が、分類システム１１００のユーザーへ提供されるようにそれらの装置へ伝達され得る。
【０１３６】
任意のアップデート回路１１８０は、分類システム１１００のアップデートを提供するためのインターフェイスとして含まれ得る。アップデートは、メモリ１１５０および／または記憶回路１１７０に記憶されている、プロセッサ１１４０により実行されるコードのアップデートを含み得る。アップデート回路１１８０を介して提供されるアップデートはまた、シグネチャ、重み、閾値などの分類システム１１００についての情報を維持するデータベースおよび／または他のデータ記憶形式に関連した記憶回路１１７０の部分のアップデートを含み得る。
【０１３７】
分類システム１１００の試料入力回路１１１０は、上文に記載されているようなプラットフォームが、分析されるべき生物学的試料を受けるためのインターフェイスを提供し得る。試料入力回路１１１０は、分類システム１１００へユーザーによって供給される生物学的試料を受け、かつ処理されるべき分類システム１１００および／またはプラットフォーム内の生物学的試料を輸送する、機械要素および電気素子を含み得る。試料入力回路１１１０は、試料および／または試験注文書の同定のためのバーコード付与容器を同定するバーコードリーダーを含み得る。試料処理回路１１２０は、自動分析のために生物学的試料を調製するために、分類システム１１００および／またはプラットフォーム内の生物学的試料をさらに処理し得る。試料分析回路１１３０は、処理された生物学的試料を自動的に分析し得る。試料分析回路１１３０は、分類システム１１００に供給された生物学的試料に関して、例えば、定義済みの遺伝子セットの遺伝子発現レベルを測定するのに用いられ得る。試料分析回路１１３０はまた、遺伝子発現レベルを正規化することにより正規化遺伝子発現値を生じ得る。試料分析回路１１３０は、記憶回路１１７０から、細菌性急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子を取り出し得、これらの分類子は、定義済みの遺伝子セットの遺伝子それぞれについての定義済み重み付け値（すなわち、係数）を含む。試料分析回路１１３０は、細菌性急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子から選択された１つまたは複数の急性呼吸器病分類子へ正規化遺伝子発現値を入力し得る。試料分析回路１１３０は、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性疾病の１つまたは複数についての病因確率を前記分類子に基づいて計算し、対象における急性呼吸器病が細菌起源か、ウイルス起源か、非感染性起源か、またはそれらのいくつかの組合せかの決定の出力を、入力／出力回路１１６０を介して制御し得る。
【０１３８】
試料入力回路１１１０、試料処理回路１１２０、試料分析回路１１３０、入力／出力回路１１６０、記憶回路１１７０、および／またはアップデート回路１１８０は、少なくとも部分的に分類システム１１００の１つまたは複数のプロセッサ１１４０の制御下で実行し得る。本明細書に用いられる場合、プロセッサ１１４０の「制御下」で実行するとは、試料入力回路１１１０、試料処理回路１１２０、試料分析回路１１３０、入力／出力回路１１６０、記憶回路１１７０、および／またはアップデート回路１１８０により実施される動作が、少なくとも部分的に、プロセッサ１１４０により実行および／または命令され得

るが、それらのコンポーネントの動作の少なくとも一部が、独立して電気的または機械的に自動化されることを排除しないことを意味する。プロセッサ１１４０は、コンピュータプログラムコードの実行によって、本明細書に記載されているように分類システム１１００の動作を制御し得る。

【０１３９】

本開示の態様について動作を行うためのコンピュータプログラムコードは、オブジェクト指向プログラム言語、例えば、Ｊａｖａ（登録商標）、Ｓｃａｌａ、Ｓｍａｌｌｔａｌｋ、Ｅｉｆｆｅｌ、ＪＡＤＥ、Ｅｍｅｒａｌｄ、Ｃ＋＋、Ｃ＃、ＶＢ．ＮＥＴ、Ｐｙｔｈｏｎなど、従来の手続き型プログラミング言語、例えば、「Ｃ」プログラミング言語、Ｖｉｓｕａｌ Ｂａｓｉｃ、Ｆｏｒｔｒａｎ ２００３、Ｐｅｒｌ、ＣＯＢＯＬ ２００２、ＰＨＰ、ＡＢＡＰ、ダイナミックプログラミング言語、例えば、Ｐｙｔｈｏｎ、Ｒｕｂｙ ａｎｄ Ｇｒｏｏｖｙ、または他のプログラミング言語を含む、１つまたは複数のプログラミング言語の任意の組合せで書かれ得る。プログラムコードは、完全に分類システム１１００上で、一部分は分類システム１１００上で、スタンドアロンソフトウェアパッケージとして、一部分は分類システム１１００上で、かつ一部はリモートコンピュータ上で、または完全にリモートコンピュータもしくはサーバー上で、実行され得る。後者の状況において、リモートコンピュータは、ローカルエリアネットワーク（ＬＡＮ）もしくは広域ネットワーク（ＷＡＮ）を含む任意の型のネットワークを通して分類システム１１００に接続され得、またはその接続は、（例えば、インターネットサービスプロバイダを用いるインターネットを通して）外部コンピュータへ、もしくはクラウドコンピュータ環境において行われ得、もしくはＳｏｆｔｗａｒｅ ａｓ ａ Ｓｅｒｖｉｃｅ（ＳａａＳ）などのサービスとして提供され得る。

【０１４０】

いくつかの実施形態において、システムは、遺伝子発現の定量的または半定量的検出を、ＡＲＩの病因の累積スコアまたは確率へ変換することができるコンピュータ可読コードを含む。

【０１４１】

いくつかの実施形態において、システムは、ユーザーが、試験されるべき生物学的試料を単に挿入するだけで、その後しばらくして（好ましくは、わずかな時間、例えば、３０分間もしくは４５分間、または１時間、２時間、もしくは３時間、最高８時間、１２時間、２４時間、もしくは４８時間まで）、システムからの結果出力を受けることができるように、コンポーネントが統合された、試料調製から結果までのシステムである。

【０１４２】

本発明が、その適用において、以下の説明に示された、または以下の図面に示された、構築の詳細またはコンポーネントの配置に限定されないことは理解されるべきである。本発明は、他の実施形態が可能であり、かつ様々な様式で実施または実行することができる。

【０１４３】

本明細書における値の範囲の列挙は、本明細書において他に指示がない限り、その範囲内に入るそれぞれ別個の値を個々に言及する、簡潔な方法としての役割を果たすことを単に意図するものであり、各別個の値は、あたかもそれが本明細書に個々に列挙されているかのように、本明細書へ組み入れられている。本明細書に記載された全ての方法は、本明細書において他に指示がなく、または別なふうに文脈によって明らかに否定されない限り、任意の適切な順序で実施することができる。本明細書に提供されたありとあらゆる例、または例示的な言葉（例えば、「などの（ｓｕｃｈ ａｓ）」）の使用は、本発明をより良く明らかにすることを単に意図するものであり、別なふうに主張されない限り、本発明の範囲への限定を提示するものではない。本明細書におけるいかなる言葉も、任意の主張されていない要素を本発明の実施に必須として示すものとして解釈されるべきではない。

【０１４４】

本明細書に列挙されたいかなる数の範囲も、下限値から上限値までの全ての値を含むことも理解されている。例えば、濃度範囲が、１％～５０％と述べられている場合には、２％

～４０％、１０％～３０％、または１％～３％などの値が、この明細書において明白に数え上げられることが意図される。これらは、具体的に意図されるものの例に過ぎず、最低値から最高値の間（それらの値を含む）の数値の全ての可能な組合せが、この出願において明白に述べられているとみなされるべきである。

【０１４５】

以下の実施例は、例証となるのみであり、範囲を限定することを意図するものではない。

【実施例】

【０１４６】

［実施例１］

宿主遺伝子発現分類子は急性呼吸器病の病因を診断する

細菌性またはウイルス性病原体による急性呼吸器感染症は、病院にかかる最も多く見られる理由の一つである。現在の病原体に基づいた診断アプローチは、信頼性がなく、または時宜にかなったものではなく、したがって、ほとんどの患者は、不適切な抗生物質を受けている。宿主応答バイオマーカーは、抗菌剤使用を指図するための代替の診断アプローチを提供する。

【０１４７】

本発明者らは、救急治療設定において宿主遺伝子発現パターンが疾病の感染性原因を非感染性原因から識別するかどうかを問うた。急性呼吸器感染症を有する者の中で、本発明者らは、感染性疾病が、ウイルス性病原体によるのかまたは細菌性病原体によるのかを決定した。

【０１４８】

発見の根拠となった試料は、４つの三次医療病院救急科および学生保健医療施設において行われた観察的コホート研究から引き出された。４４人の健康な対照および市中発症急性呼吸器感染症または非感染性疾病を有する２７３人の患者を、疑わしい敗血症を有する患者のより大きいコホート（ＣＡＰＳＯＤ研究）から選択した。平均年齢は４５歳であり、参加者の４５％が男性であった。さらなる人口学的情報は、参照により本明細書に組み入れられているＴｓａｌｉｋら、（２０１６） Ｓｃｉ Ｔｒａｎｓｌ Ｍｅｄ ９（３２２）：１－９の表１に見出され得る。

【０１４９】

臨床表現型を、手作業のカルテ審査により判定した。呼吸器ウイルス病原体についての日常的な微生物学的試験および多重ＰＣＲを実施した。末梢全血遺伝子発現を、マイクロアレイを用いて測定した。スパースロジスティック回帰を用いて、細菌性対ウイルス性対非感染性疾病の分類子を開発した。３２８人の個体を含む、５つの独立的に導き出されたデータセットを、検証のために用いた。

【０１５０】

遺伝子発現に基づいた分類子を、細菌性急性呼吸器感染症（７１個のプローブ）、ウイルス性急性呼吸器感染症（３３個のプローブ）、または非感染性病因（２６個のプローブ）について開発した。２７３人の患者にその３つの分類子を適用し、クラス割当を最高の予測確率によって決定した。全体的な精度は８７％（２３８／２７３が臨床判定と一致した）であり、それは、プロカルシトニン（７８％、ｐ＜０．０３）、および細菌性対ウイルス感染症の３つの公表された分類子（７８～８３％）より正確であった。本明細書で開発された分類子は、５つの公的に利用可能なデータセットにおいて外部検証された（ＡＵＣ０．９０～０．９９）。本発明者らは、宿主遺伝子発現に基づいた試験の分類精度を、細菌性もしくはウイルス性急性呼吸器感染症または非感染性疾病を含む、プロカルシトニンおよび臨床的に判定された診断と比較した。

【０１５１】

感染に対する宿主の末梢血遺伝子発現応答は、すでに使用されている診断に補完的な診断ストラテジーを提供する８。このストラテジーは、ウイルス性ＡＲＩ８～１３および細菌性ＡＲＩ１１，１４に対する宿主応答を特徴づけることに成功している。これらの進歩にも関わらず、患者のケアの設定におけるそれらの診断としての使用が、いくつかの問題に

よって妨げられている。宿主に基づいた分子シグネチャの開発において重要な考慮すべき問題は、それらが、意図された使用集団において開発されることである１５。しかしながら、ほとんど全ての公表された遺伝子発現に基づいたＡＲＩ分類子は、対照として健康な個体を使用し、かつ小さい、または均一の集団に焦点を合わせており、したがって、患者が区別されていない症状を示す救急治療設定において用いるのに最適化されていない。さらに、遺伝子発現分類子を同定するために用いられる統計的方法は、クラスタリング、一変量試験、または経路関連に基づいて重複性遺伝子を含む場合が多い。これらのストラテジーは、関連した生態を同定するが、診断能を最大限に引き出していない。本明細書に例示されているような代替法は、関連していない経路からの遺伝子を組み合わせて、より情報を与える分類子を作製することである。

【０１５２】

方法

分類子誘導コホート

研究は、関連する機関審査委員会により承認され、ヘルシンキ宣言に従った。全ての被験者またはそれらの法的に認可された代表者は書面によるインフォームドコンセントを提供した。

【０１５３】

市中肺炎および敗血症アウトカム診断研究（臨床試験識別番号ＮＣＴ００２５８８６９）の一環として、Ｄｕｋｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｃｅｎｔｅｒ（ＤＵＭＣ；Ｄｕｒｈａｍ、ＮＣ）の救急科、Ｄｕｒｈａｍ ＶＡ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｃｅｎｔｅｒ（ＤＶＡＭＣ；Ｄｕｒｈａｍ、ＮＣ）、またはＨｅｎｒｙ Ｆｏｒｄ Ｈｏｓｐｉｔａｌ（Ｄｅｔｒｏｉｔ、ＭＩ）において、市中発症の疑いのある感染症を有する患者を登録した１６～１９。市中肺炎および敗血症研究の一環として、ＵＮＣヘルスケア救急科（ＵＮＣ；Ｃｈａｐｅｌ Ｈｉｌｌ、ＮＣ）を通して、追加の患者を登録した。既知または疑いのある感染症を有する場合、および２つ以上の全身性炎症反応症候群（ＳＩＲＳ）診断基準を示す場合には、患者は適格であった２０。ＡＲＩ症例は、救急医学科（ＳＷＧ、ＥＢＱ）または感染疾患（ＥＬＴ）の医師によって判定される場合の上気道または下気道症状を有する患者を含んだ。判定は、登録から少なくとも２８日後で、かつ以前に公表された診断基準を用いた任意の遺伝子発現に基づいたカテゴリー化の前に、実施された遡及的な手作業でのカルテ審査に基づいた１７。これらの判定を裏付けるために用いられた情報の全体は、それらの評価時点において臨床医には入手できなかったであろう。咽頭炎を有する４人および肺炎を有する６６人を含む、微生物学的に確認された細菌性ＡＲＩを有する７０人の患者が同定された。微生物学的病因は、血液または呼吸器試料の通常の培養、尿中抗原試験（連鎖球菌またはレジオネラ）を用いて、または血清学的試験（マイコプラズマ）で決定された。ウイルス性ＡＲＩを有する患者（ｎ＝１１５）は、ウイルス性病因の同定および適合する症状に基づいて確認された。加えて、同じ判定方法を用いての確定のウイルス性ＡＲＩを有する、ＤＡＲＰＡ健康疾患予測研究の一環としてのＤｕｋｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙにおける４８人の学生が含まれた。ウイルス性病因同定について臨床試験は、ＲｅｓＰｌｅｘ ＩＩ ｖ２．０ウイルスＰＣＲ多重アッセイ（Ｑｉａｇｅｎ；Ｈｉｌｄｅｎ、Ｇｅｒｍａｎｙ）により補強された。このパネルは、インフルエンザＡ型およびＢ型、アデノウイルス（Ｂ、Ｅ）、パラインフルエンザ１～４型、呼吸器多核体ウイルスＡ型およびＢ型、ヒトメタニューモウイルス、ヒトライノウイルス、コロナウイルス（２２９Ｅ、ＯＣ４３、ＮＬ６３、ＨＫＵ１）、コクサッキー／エコーウイルス、およびボカウイルスを検出する。判定で、登録された患者の一部が、非感染性疾病を有すると決定された（ｎ＝８８）（表９Ａ、９Ｂ）。代わりの診断が確立され、かつ任意の日常的に指示される微生物学的試験の結果が感染性病因を支持できなかった場合のみ、「非感染性疾病」の決定がなされた。最後に、症状がない健康なボランティアの中から健康な対照（ｎ＝４４；中央値年齢３０歳；範囲２３～５９歳）が、アスピリンの血小板機能への効果に関する研究の一環として登録され、遺伝子発現分析を、アスピリン曝露前の時点において実施した２１。

【０１５４】
プロカルシトニン測定
研究中の異なる時期に濃度を測定し、結果として、有効性に基づいて、異なるプラットフォームを利用した。いくつかの血清測定を、Ｒｏｃｈｅ Ｅｌｅｃｓｙｓ ２０１０アナライザ（Ｒｏｃｈｅ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ、Ｌａｖａｌ、Ｃａｎａｄａ）において電気化学発光イムノアッセイにより行った。追加の血清測定を、ｍｉｎｉＶＩＤＡＳイムノアッセイ（ｂｉｏＭｅｒｉｅｕｘ、Ｄｕｒｈａｍ ＮＣ、ＵＳＡ）を用いて行った。血清が入手できない場合、Ｂ・Ｒ・Ａ・Ｈ・Ｍ・Ｓ ＰＣＴ感受性ＫＲＹＰＴＯＲ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｐｏｒｔａｇｅ ＭＩ、ＵＳＡ）を用いる免疫蛍光により血漿－ＥＤＴＡにおいてＰｈａｄｉａ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ＲｅｆｅｒｅｎｃｅＬａｂｏｒａｔｏｒｙによって測定が行われた。いくつかのペアの血清と血漿試料について反復試験を実施し、濃度における等価が明らかにされた。したがって、全てのプロカルシトニン測定を、試験プラットフォームを問わず、等価的に処理した。
【０１５５】
マイクロアレイ作製
最初の臨床所見において、患者を登録し、試料を分析のために収集した。判定を上記のように実施した後、明らかな臨床表現型を有する３１７人の対象を、遺伝子発現分析のために選択した。全ＲＮＡを、ＰＡＸｇｅｎｅ血液ＲＮＡキット（Ｑｉａｇｅｎ、Ｖａｌｅｎｃｉａ、ＣＡ）を用いて製造会社のプロトコールに従い、ヒト血液から抽出した。ＲＮＡの量および品質を、それぞれ、Ｎａｎｏｄｒｏｐ分光計（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｗａｌｔｈａｍ、ＭＡ）およびＡｇｉｌｅｎｔ ２１００バイオアナライザ（Ａｇｉｌｅｎｔ、Ｓａｎｔａ Ｃｌａｒａ、ＣＡ）を用いて評価した。マイクロアレイをＲＭＡ正規化した。ハイブリダイゼーションおよびデータ収集を、Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ Ａｎａｌｙｓｉｓ（Ｄｕｒｈａｍ、ＮＣ）において、ＧｅｎｅＣｈｉｐヒトゲノムＵ１３３Ａ ２．０アレイ（Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ、Ｓａｎｔａ Ｃｌａｒａ、ＣＡ）を用いて、Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ技術マニュアルに従い、実施した。
【０１５６】
統計的分析
３１７人の対象（２７３人の疾病患者および４４人の健康なボランティア）のトランスクリプトームを、７個の重複試料と共に、２つのマイクロアレイバッチにおいて測定した（ＧＳＥ６３９９０）。探索的主成分分析および階層的クラスタ分析により、実質的なバッチ差が明らかにされた。これらを、ベイジアン固定効果モデルを用いて、プローブに関する平均バッチ効果をまず、推定し、かつ除去することにより補正した。次に、本発明者らは、７個の重複試料を用いて、ロバスト線形回帰モデルをＨｕｂｅｒ損失関数にフィッティングさせ、それを用いて、残りの発現値を調整した。
【０１５７】
スパースロジスティック回帰などのスパース分類方法は、過剰フィッティングリスクを低下させながら、同時に分類および変数選択を実施する２１。したがって、一変量検定またはスパース因子モデルなどの別個の遺伝子選択ストラテジーは不必要である。ここで、スパースロジスティック回帰モデルを、バッチ補正後、最大分散を有するプローブの４０％を用いて二項タスクのそれぞれへ別々にフィッティングさせた２２。具体的には、本発明者らは、入れ子式交差検証と共に二項尤度を有するＬａｓｓｏ正則化された一般化線形モデルを用いて、正則化パラメータについて選択した。コードは、Ｇｌｍｎｅｔツールボックスを用いてＭａｔｌａｂで書かれた。これは、細菌性ＡＲＩ分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子を生み出した。各二項分類子がクラスメンバーシップ確率（例えば、細菌性ＡＲＩ分類子の場合における、ウイルス性か非感染性のいずれかに対する細菌性の確率）を推定するとの条件で、本発明者らは、最大のメンバーシップ確率がクラスラベルを割り当てる一対多スキームに従うことにより、その３つの分類子を（ＡＲＩ分類子と名付けられた）単一の決定モデルへ統合することができる２１。分類能測定基準は、二項結果についての受信者動作特性曲線下面積（ＡＵＣ）および三項結果につい

ての混同行列を含んだ２３。
【０１５８】
検証
ＡＲＩ分類子を、それが導かれた同じ集団において、一個抜き交差検証を用いて検証した。３２８人の個体からの公的に入手可能なヒト遺伝子発現データセット（ＧＳＥ６２６９、ＧＳＥ４２０２６、ＧＳＥ４０３９６、ＧＳＥ２０３４６、およびＧＳＥ４２８３４）を用いて、独立した外部検証を行った。データセットは、それらが少なくとも２つの臨床群（細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病）を含んだ場合に選択された。異なるマイクロアレイプラットフォームにわたってプローブを整合させるために、各ＡＲＩ分類子プローブを、遺伝子記号に変換し、それらを用いて、対応する標的マイクロアレイプローブを同定した。
【０１５９】
結果
細菌性ＡＲＩ分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子
臨床状態間を区別する宿主遺伝子発現に基づいた分類子を作製することにおいて、全ての関連した臨床表現型が、モデル訓練過程中に表されるべきである。これは、特異度を付与し、モデルがこれらの含まれた臨床群に適用されることを可能にするが、モデル訓練に存在しなかった臨床表現型への適用は可能にならない１５。ＡＲＩ診断についての標的集団は、ウイルス性病因および細菌性病因を有する患者を含むだけでなく、別の可能性　－　細菌性ＡＲＩもウイルス性ＡＲＩも有さない患者からも区別しなければならない。歴史的にみて、健康な個体は、感染していない対照群としての役割を果たしてきた。しかしながら、これは、類似した臨床症状を示し得る非感染性疾病を有する患者がどのように分類されるかという点を考慮できておらず、診断ミスの潜在源となる。本発明者らの知る限りでは、ＡＲＩ遺伝子発現に基づいた分類子が、それの導出において疾病の感染していない対照を含むものはない。したがって、本発明者らは、市中発症のウイルス性ＡＲＩ（ｎ＝１１５）、細菌性ＡＲＩ（ｎ＝７０）、または非感染性疾病（ｎ＝８８）を有する、最初の臨床所見時点における大きい不均一な患者集団を登録した（表９Ａ、９Ｂ）。本発明者らはまた、ＡＲＩ分類子開発のための最も適切な対照集団を定義するために健康な成人対照コホート（ｎ＝４４）を含めた。
【０１６０】
本発明者らは、まず、対照として健康な個体を用いて導かれた遺伝子発現分類子が、非感染性疾病を有する患者を正確に分類できるかどうかを決定した。細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩを有する患者、および健康な対照からのアレイデータを用いて、これらの条件についての遺伝子発現分類子を作製した。一個抜き交差検証により、９０％の総合精度として、細菌性ＡＲＩ（ＡＵＣ　０．９６）、ウイルス性ＡＲＩ（ＡＵＣ　０．９５）、および健康（ＡＵＣ　１．０）対象間の非常に精度の高い識別が明らかにされた（図７）。しかしながら、分類子が、疾病を患っているが感染していない（ｉｌｌ－ｕｎｉｎｆｅｃｔｅｄ）患者に適用された場合、４８／８８が細菌性、３５／８８がウイルス性、および５／８８が健康と同定された。これは、健康な個体が、バイオマーカー発見過程において非感染性疾病を有する患者の代用とはならないことを浮かび上がらせた。
【０１６１】
結果的に、本発明者らは、健康な対照よりむしろ非感染性疾病の対照を用いて、ＡＲＩ分類子を再び導き出した。具体的には、これらの３つの群からのアレイデータを用いて、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性疾病に対する宿主応答の３つの遺伝子発現分類子を作製した（図５）。具体的には、細菌性ＡＲＩ分類子は、ウイルス性ＡＲＩまたは非感染性疾病のいずれに対しても細菌性ＡＲＩを有する者を明白に同定する仕事が課された。ウイルス性ＡＲＩ分類子は、細菌性ＡＲＩまたは非感染性疾病に対してウイルス性ＡＲＩを有する者を明白に同定する仕事が課された。非感染性疾病分類子は、全てのそのような症例の十分な表示を必要とする全ての非感染性疾病を明白に同定するという意図では作製されなかった。

【０１６２】
むしろ、それは、代替カテゴリーとして作製され、それゆえに、細菌性ＡＲＩもウイルス性ＡＲＩも有しない患者が割り当てられ得る。さらに本発明者らは、健康な人々はそのような分類タスクの標的である可能性は低いことから、そのような疾病を患っているが感染していない患者が、より臨床的に関連した対照であると仮定した。
【０１６３】
線形サポートベクターマシン、教師有り因子モデル、スパース多項ロジスティック回帰、エラスティックネット（ｅｌａｓｔｉｃ　ｎｅｔ）、Ｋ近傍法、およびランダムフォレストである、６つの総計的ストラテジーを利用して、これらの遺伝子発現分類子を作製した。全ては同じように機能したが、スパースロジスティック回帰は最も少ない数の分類子遺伝子を必要とし、わずかな差で、他のストラテジーより機能が優れていた（データ未呈示）。本発明者らはまた、３つの別個の二項分類子を作製したストラテジーを、所定の対象を３つの臨床カテゴリーの１つに同時に割り当てる単一の多項分類子と比較した。この後者のアプローチは、より多くの遺伝子を必要とし、かつ精度がより低かった。結果的に、本発明者らは、スパースロジスティック回帰モデルを適用して、７１個、３３個、および２６個のプローブシグネチャをそれぞれ含有する、細菌性ＡＲＩ分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子を定義した。プローブおよび分類子重みは表１０Ａから１０Ｆに示されている。
【０１６４】
臨床意思決定は、まれに二項からなり、複数の診断可能性の同時的区別を必要とする。本発明者らは、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性疾病の確率を割り当てるために一個抜き交差検証を用いて、まとめてＡＲＩ分類子と定義された、全ての３つの分類子を適用した（図６）。これらの条件は、相互排他的ではない。例えば、細菌性ＡＲＩの存在によって、同時的なウイルス性ＡＲＩまたは非感染性疾患が妨げられることはない。さらに、割り当てられた確率は、患者の遺伝子発現応答が、その条件の正準シグネチャにマッチする程度を表す。各シグネチャは、その他のものとは無関係に、意図的に機能するため、確率は、１つに合計することは予定されない。分類を単純化するために、最も高い予測確率が、クラス割当を決定した。全体的な分類精度は、８７％（２３８／２７３が、判定された表現型と一致した）であった。
【０１６５】
細菌性ＡＲＩは、５８／７０（８３％）の患者において同定され、細菌感染を有しない１７９／１９１（９４％）を除外した。ウイルス性ＡＲＩは、９０％（１０４／１１５）で同定され、症例の９２％（１４５／１５８）で除外した。非感染性疾病分類子を用いて、感染は、症例の８６％（７６／８８）で除外された。有病率が、感染型、患者特性、または場所を含む多数の理由によって異なり得ることを考慮して、全ての３つの分類子の陽性的中率および陰性的中率について感度分析を実施した（図８）。細菌分類とウイルス分類の両方について、的中率は、ＡＲＩについて典型的に見出されるものを含む広範な有病率推定にわたって高水準に留まった。
【０１６６】
何らかの年齢の効果があるかどうかを決定するために、本発明者らは、分類スキームにおける変数としてそれを含めた。これは、結果として２つの追加の正分類を生じたが、これはおそらく、ウイルス性ＡＲＩコホートにおける若い人々が大きな比率を占めていたためである。しかしながら、本発明者らは、年齢による、正しく分類された対象と間違って分類された対象の統計的に有意な差を観察しなかった（ウィルコクソン順位和ｐ＝０．１７）。
【０１６７】
本発明者らは、この性能を、細菌感染に特異的な広く用いられているバイオマーカーであるプロカルシトニンと比較した。プロカルシトニン濃度を、試料が入手可能である２３８人の対象について決定し、このサブグループについてＡＲＩ分類子性能と比較した。０．２５μｇ／Ｌより高いプロカルシトニン濃度は、患者を、細菌性ＡＲＩを有すると割り当

て、一方、０．２５μｇ／Ｌ以下の値は、患者を、ウイルス性ＡＲＩか非感染性疾病のいずれかであり得る非細菌性と割り当てた。プロカルシトニンは、ＡＲＩ分類子を用いての２０４／２３８（８６％）と比較して、２３８人の患者のうち１８６人（７８％）を正しく分類した（ｐ＝０．０３）。しかしながら、その２つのストラテジーについての精度は、分類タスクによって異なった。例えば、ウイルス性ＡＲＩを細菌性ＡＲＩから識別することにおいて性能は類似した。プロカルシトニンは、ＡＲＩ分類子についての１４０／１５５と比較して、１３６／１５５（ＡＵＣ　０．８９）を正しく分類した（イェーツ補正を有するマクネマーの検定を用いて、ｐ値＝０．６５）。しかしながら、ＡＲＩ分類子は、細菌性ＡＲＩを非感染性疾病から識別すること［１０５／１２４対７９／１２４（ＡＵＣ　０．７２）；ｐ値＜０．００１］、ならびに細菌性ＡＲＩをウイルス性および非感染性病因を含む全ての他の病因から識別すること［２１５／２３８対１８６／２３８（ＡＵＣ　０．８２）；ｐ値＝０．０２］において、プロカルシトニンより有意に優れていた。

【０１６８】

本発明者らは次に、ＡＲＩ分類子を、細菌感染対ウイルス感染の３つの公表された遺伝子発現分類子（それぞれは、感染していない疾病対照を含まずに導かれた）と比較した。これらは、インフルエンザまたは細菌性敗血症を有する子どもから導かれた３５プローブの分類子（Ｒａｍｉｌｏ）１１；熱性ウイルス性疾病または細菌感染を有する子どもから導かれた３３プローブの分類子（Ｈｕ）１４；および市中肺炎またはインフルエンザを有する成人ＩＣＵ患者から導かれた２９プローブの分類子（Ｐａｒｎｅｌｌ）１２を含んだ。本発明者らは、ウイルス性または細菌感染を有する患者のみを用いて作製された分類子が、疾病を患っているが、感染していない患者を含む臨床的に関連した集団に適用された場合、うまく機能しないだろうと仮説を立てた。具体的には、細菌感染もウイルス感染ももたない個体に関して示すと、以前に公表された分類子は、その個体を第３の別のカテゴリーに正確に割り当てることができないだろう。したがって、本発明者らは、導かれた分類子、加えて公表された分類子を本発明者らの２７３人の患者コホートに適用した。細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性疾病の間の識別は、その導かれたＡＲＩ分類子に関してより優れていた（イェーツ補正を有するマクネマーの検定、Ｒａｍｉｌｏに対してｐ＝０．００２；Ｐａｒｎｅｌｌに対してｐ＝０．０００１；およびＨｕに対してｐ＝０．０８）（表７）２４，２５。これは、ＡＲＩの場合、非感染性疾病を含むはずである、意図された使用集団を代表するコホートにおいて遺伝子発現分類子を導くことの重要性を浮き彫りにしている１５。

【０１６９】

不一致の分類

ＡＲＩ分類子性能をより良く理解するために、本発明者らは、３５個の不一致の症例を個々に再検討した。９個の判定された細菌感染はウイルス性と分類され、３個が非感染性疾病と分類された。４個のウイルス感染は細菌性と分類され、７個が非感染性と分類された。８個の非感染性症例は、細菌性と分類され、４個がウイルス性と分類された。本発明者らは、不一致の症例の間での一貫したパターンを観察しなかったが、顕著な例が、典型的ではない細菌感染に含まれた。血清学的変換に基づいたＭ．ニューモニエを有する１人の患者、およびレジオネラ肺炎を有する３人の患者のうちの１人は、ウイルス性ＡＲＩと分類された。自己免疫疾患または炎症性疾患による非感染性疾病を有する６人の患者のうち、スチル病を有すると判定された１人のみが、細菌感染を有すると分類された。参照により本明細書に組み入れられている、Ｔｓａｌｉｋら、（２０１６）　Ｓｃｉ　Ｔｒａｎｓｌ　Ｍｅｄ　９（３２２）：１－９のｅＴａｂｌｅ　３もまた参照されたい。

【０１７０】

外部検証

高次元の遺伝子発現データから分類子を作製することは、過剰フィッティングを生じ得る。したがって、本発明者らは、５つの入手可能なデータセット（ＧＳＥ６２６９、ＧＳＥ４２０２６、ＧＳＥ４０３９６、ＧＳＥ２０３４６、およびＧＳＥ４２８３４）において代表される３２８人の個体からの遺伝子発現データを用いてインシリコでＡＲＩ分類子を

検証した。これらは、それらが、年齢、地域的分布、および疾病重症度の点で異なる、少なくとも２つの関連した臨床群を含むことから選択された（表８）。ＡＲＩ分類子を、細菌性ＡＲＩおよびウイルス性ＡＲＩを有する４つのデータセットへ適用すると、ＡＵＣは、０．９０～０．９９の範囲であった。最後に、ＧＳＥ４２８３４は細菌性肺炎（ｎ＝１９）、肺癌（ｎ＝１６）、およびサルコイドーシス（ｎ＝６８）を有する患者を含んだ。全体的な分類精度は、０．９９のＡＵＣに対応する９６％（９９／１０３）であった。ＧＳＥ４２８３４は、処置前および処置後の細菌性肺炎を有する５人の対象を含んだ。５個全てが、細菌感染の処置依存性消散を示した。参照により本明細書に組み入れられている、Ｔｓａｌｉｋら、（２０１６） Ｓｃｉ Ｔｒａｎｓｌ Ｍｅｄ ９（３２２）：１－９のｅＦｉｇｕｒｅｓ ３－８もまた参照されたい。

【０１７１】

生物学的経路

分類子を生じたスパースロジスティック回帰モデルは、追加の診断価値がない場合には、所定の経路からの遺伝子の選択を不利にする。結果的に、通常の遺伝子エンリッチメント経路分析は、実施するのに適切ではない。さらに、そのような通常の遺伝子エンリッチメント分析が記載されている９，１２，１４，２８，２９。代わりに、全ての分類子遺伝子について文献レビューを実施した（表１１）。細菌分類子、ウイルス分類子、および非感染性疾病分類子の間での重複は、図９に示されている。

【０１７２】

ウイルス分類子は、インターフェロン応答、Ｔ細胞シグナル伝達、およびＲＮＡプロセシングなどの既知の抗ウイルス応答カテゴリーを含んだ。ウイルス分類子は、核輸送に関与し、ウイルス性タンパク質およびゲノムの輸送のためにウイルスにより選出される、ＫＰＮＢ１などのＲＮＡプロセシング経路を最もよく表している２６，２７。それの下方制御は、それが宿主応答において抗ウイルスの役割を果たし得ることを示唆している。

【０１７３】

細菌分類子は、最も幅広い細胞過程、特に、細胞周期制御、細胞増殖、および分化を包含した。細菌分類子は、Ｔ細胞、Ｂ細胞、およびＮＫ細胞シグナル伝達において重要な遺伝子を含んだ。細菌分類子に固有なのは、敗血症関連代謝摂動と一致した、酸化ストレス、ならびに脂肪酸およびアミノ酸代謝に関与する遺伝子であった２８。

【０１７４】

臨床適応性の概要

本発明者らは、宿主遺伝子発現変化が、原因病原体クラスに非常に特異的であり、かつ呼吸器病の一般的な病因を識別するために用いられ得ることを決定した。これは、不適切な抗生物質使用および新たに生じる抗生物質耐性を食い止めるための新規な診断プラットフォームとして遺伝子発現分類子を開発し、利用する機会を生み出す。スパースロジスティック回帰を用いて、本発明者らは、急性呼吸器症状を有する患者において細菌性病因とウイルス性病因を正確に区別する宿主遺伝子発現プロファイルを開発した（外部検証ＡＵＣ０．９０～０．９９）。非感染性疾病対照群を用いてＡＲＩ分類子を導くことは、幅広い有病率推定にわたって高い陰性的中率をもたらした。

【０１７５】

気道感染症は、２０１１年において、いかなる他の原因よりも多い、世界中で３２０万人の死亡をもたらし、１億６４００万年の障害調整生命年が失われた１，２。症例の大部分がウイルス性病因であるにも関わらず、急性呼吸器感染症（ＡＲＩ）を有する米国における外来患者の７３％が抗生物質を処方され、この設定において処方された全抗生物質の４１％を占める３，４。ウイルス病原体が微生物学的に確認されている場合でさえも、これは、同時の細菌感染の可能性を排除するものではなく、「万が一に備えて」の抗菌剤の処方につながる。この経験主義が、抗菌耐性を生じさせ５，６、それは、国家安全保障の優先事項として認識されている７。この実施例に提供された有望な測定規準法は、処置を最適化し、かつ抗生物質耐性の出現を軽減する臨床的にすぐに実施できる結果を与える機会をもたらす。

【０１７６】
いくつかの研究は、ＡＲＩについての宿主応答診断を開発することにおいて注目すべき取り組みとなった。これは、呼吸器ウイルス８，１０～１２，１４、ＩＣＵ集団における細菌性病因１２，３０、および結核３１～３３に対する応答を含む。典型的には、これらは、健康な状態と比較しての宿主応答プロファイルを定義し、宿主生態の価値ある洞察を提供する１６，３４，３５。しかしながら、これらの遺伝子リストは、診断適用に関して準最適であるが、それは、その診断の構成要素である遺伝子発現プロファイルが、試験が適用されるだろう集団を代表していないからである１５。健康な個体は、急性呼吸器の疾病を示しておらず、したがって、彼らは、本明細書で報告された宿主応答診断開発から排除される。

【０１７７】
細菌感染およびウイルス感染を有する患者を含むことは、これらの２つの状態の間の区別を可能にするが、非感染性疾病を分類する方法に取り組んでいない。患者が、症状を共有し得る感染性病因および非感染性病因を示すため、この表現型を含むことは重要である。すなわち、症状は、医師に、高度の診断確実性を提供しない可能性がある。ＡＲＩ症状についての３つの最も可能性が高い状態を含むことの必要性を独自によく理解している本アプローチは、そのような試験が最も窮乏している区別されていない臨床集団へ適用することができる。

【０１７８】
生じた少数の不一致の分類は、分類の誤りかまたは臨床表現型検査の誤りかのいずれかから生じた可能性がある。臨床表現型検査の誤りは、現在の微生物学的診断の限界により原因病原体を同定することができないことから生じ得る。あるいは、いくつかの非感染性疾患過程が、まだ発見されていない機構により、実際、感染関連であり得る。不一致の症例は、病原体型、症候群、または患者特性などの統一変数により明確には説明されなかった。それゆえに、本明細書に提示された遺伝子発現分類子は、患者特異的変数（例えば、処置、併存症、疾病の期間）、試験特異的変数（例えば、試料処理、アッセイ条件、ＲＮＡ品質および収量）、またはまだ今のところ同定されていない変数を含む他の因子によって影響を及ぼされる可能性がある。

【０１７９】
［実施例２］
細菌性病原体およびウイルス性病原体の同定により定義された同時感染を有する患者における分類能
年齢が分類精度に有意には影響を及ぼさないことを決定したことに加えて、本発明者らは、疾病の重症度またはＳＩＲＳの病因が分類に影響するかどうかを評価した。ウイルス性ＡＲＩを有する患者は、より低い入院率によって証明されているように、あまり疾病を患わない傾向があった。様々なコホートにおいて、入院を、疾患重症度のマーカーとして用い、それの分類能への影響を評価した。この試験により、差がないことが明らかにされた（フィッシャー直接検定　１のｐ値）。加えて、ＳＩＲＳ対照コホートは、呼吸器病因を有する対象と非呼吸器病因を有する対象の両方を含んだ。本発明者らは、呼吸器ＳＩＲＳを有する対象対非呼吸器ＳＩＲＳを有する対象において分類が異なるかどうかを評価し、それは異ならないことを決定した（フィッシャー直接検定　０．１３０５のｐ値）。

【０１８０】
ＡＲＩを有する幾人かの患者は、しばしば同時感染と呼ばれる、細菌性病原体とウイルス性病原体の両方が同定される。しかしながら、宿主がそのような状況においてどのように応答するかは明らかではない。疾病は、患者の臨床経過における異なる時点において、細菌、ウイルス、両方、またはどちらでもないものにより操縦され得る。したがって、本発明者らは、細菌性ＡＲＩ分類子およびウイルス性ＡＲＩ分類子が、細菌とウイルスの同時感染を含む集団においてどのように機能するかを決定した。ＧＳＥ６０２４４は、細菌性肺炎（ｎ＝２２）、ウイルス性気道感染症（ｎ＝７１）、および細菌性／ウイルス性同時同定（ｎ＝２５）を含んだ。同時同定群は、細菌性またはウイルス性疾患の見込みに関す

るさらなる下位カテゴリー化を行うことなく、細菌性とウイルス性の両方の病原体の存在により定義された。本発明者らは、細菌またはウイルス感染を有するＧＳＥ６０２４４における対象において分類子を訓練し、その後、同時同定を有する対象において検証した（図１０）。宿主応答は、０．５の確率閾値を上回る陽性とみなされた。本発明者らは、全ての４つの可能なカテゴリーを観察した。２５人の対象のうちの６人は、陽性細菌性シグネチャを有し、１４／２５はウイルス性応答を有し、３／２５は陽性細菌性およびウイルス性シグネチャを有し、２／２５はいずれも示さなかった。

【０１８１】

医師が直面する重要な臨床決定は、抗細菌剤を処方するかどうかである。より単純な診断ストラテジーは、細菌性ＡＲＩ分類子からの結果に従っての細菌性ＡＲＩの確率へのみ焦点を合わせ得る。しかしながら、ウイルス性または非感染性の別の可能性についての情報を提供することは価値がある。例えば、代替診断の確率が高いと、細菌性ＡＲＩの確率が低い患者において抗細菌剤を差し控えることに関しより大きな自信を持つことができる。さらに、完全な診断報告は、単一の分類子が見逃すだろう同時発生的疾病を同定することができる。本発明者らは、細菌とウイルスの同時同定を含む集団において検証した場合、これを観察した。これらの患者は、より一般的には、「同時感染した」と呼ばれる。感染を生じるために、病原体、宿主、およびその２つの間での不適応な相互作用が存在しているに違いない。細菌性病原体およびウイルス性病原体を単に同定することは、同時感染を含意するべきではない。本発明者らは、細菌／ウイルスの同時同定の証拠を有する試験された２５人の対象における真の感染状態を知ることができないが、宿主応答分類子は、複数の宿主応答状態の存在を示唆している。図１０は、感染状態の情報を与える図であり、ＡＲＩの病因を診断するために臨床医によって用いられ得る。

【０１８２】

参考文献

【表６Ａ】

1. Organization. WH. Global health estimates summary tables: Deaths by cause, age and sex. 2013. Accessed May 14, 2014.
2. Organization. WH. Global Health Estimates Summary Tables: DALYs by cause, age and sex. 2013. Accessed May 14, 2014.
3. Shapiro et al. Antibiotic prescribing for adults in ambulatory care in the USA, 2007-09. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(1):234-240.
4. Lee et al. Outpatient antibiotic prescribing in the United States: 2000 to 2010. *BMC Medicine.* 2014;12:96.
5. Gould. Antibiotic resistance: the perfect storm. *Int J Antimicrob Ag.* 2009;34, Supplement 3(0):S2-S5.
6. Kim and Gallis. Observations on spiraling empiricism: its causes, allure, and perils, with particular reference to antibiotic therapy. *Am J Med.* 1989;87(2):201-206.
7. Obama B. Executive Order - Combating Antibiotic-Resistant Bacteria. In: House TW, ed: Office of the Press Secretary; 2014.
8. Zaas et al. Gene expression signatures diagnose influenza and other symptomatic respiratory viral infections in humans. *Cell host & microbe.* 2009;6(3):207-217.
9. Woods et al. A Host Transcriptional Signature for Presymptomatic Detection of Infection in Humans Exposed to Influenza H1N1 or H3N2. *PLoS ONE.* 2013;8(1):e52198.
10. Mejias et al. Whole Blood Gene Expression Profiles to Assess Pathogenesis and Disease Severity in Infants with Respiratory Syncytial Virus Infection. *PLoS medicine.* 2013;10(11):e1001549.
11. Ramilo et al. Gene expression patterns in blood leukocytes discriminate patients with acute infections. *Blood.* 2007;109(5):2066-2077.
12. Parnell et al. A distinct influenza infection signature in the blood transcriptome of patients who presented with severe community acquired pneumonia. *Crit Care.* 2012;16(4):R157.
13. Zaas et al. A host-based RT-PCR gene expression signature to identify acute respiratory viral infection. *Sci trans med.* 2013;5(203):203ra126.
14. Hu et al. Gene expression profiles in febrile children with defined viral and bacterial infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013.

【表６Ｂ】

15. Lytkin et al. Expanding the understanding of biases in development of clinical-grade molecular signatures: a case study in acute respiratory viral infections. *PLoS One.* 2011;6(6):e20662.
16. Ahn et al. Gene expression-based classifiers identify Staphylococcus aureus infection in mice and humans. *PLoS One.* 2013;8(1):e48979.
17. Glickman et al. Disease progression in hemodynamically stable patients presenting to the emergency department with sepsis. *Acad Emerg Med.* 2010;17(4):383-390.
18. Tsalik et al. Discriminative value of inflammatory biomarkers for suspected sepsis. *J Emerg Med.* 2012;43(1):97-106.
19. Tsalik et al. Multiplex PCR to diagnose bloodstream infections in patients admitted from the emergency department with sepsis. *J Clin Microbiol.* 2010;48(1):26-33.
20. Bone et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest.* 1992;101(6):1644-1655.
21. Bishop. *Pattern Recognition and Machine Learning (Information Science and Statistics).* Springer-Verlag New York, Inc.; 2006.
22. Friedman et al. Regularization Paths for Generalized Linear Models via Coordinate Descent. *J. Stat. Softw.* 2010;33(1):1-22.
23. Fawcett. An introduction to ROC analysis. *Pattern Recognition Letters.* 2006;27(8):861-874.
24. McNemar. Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. *Psychometrika.* 1947;12(2):153-157.
25. Yates. Contingency Tables Involving Small Numbers and the χ2 Test. *Supplement to the Journal of the Royal Statistical Society.* 1934;1(2):217-235.
26. Bukrinsky et al. Active nuclear import of human immunodeficiency virus type 1 preintegration complexes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(14):6580-6584.
27. Ghildyalet al. Nuclear import of the respiratory syncytial virus matrix protein is mediated by importin beta1 independent of importin alpha. *Biochemistry.* 2005;44(38):12887-12895.
28. Langley et al. An Integrated Clinico-Metabolomic Model Improves Prediction of Death in Sepsis. *Sci Trans Med.* 2013;5(195):195ra195.

【表６Ｃ】

29. Schappert and Rechisteiner. Ambulatory medical care utilization estimates for 2007. In: Stat VH, ed. Vol 132011.

30. Severino et al. Patterns of Gene Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells and Outcomes from Patients with Sepsis Secondary to Community Acquired Pneumonia. *PLoS ONE.* 2014;9(3):e91886.

31. Anderson et al. Diagnosis of Childhood Tuberculosis and Host RNA Expression in Africa. *N Engl J Med.* 2014;370(18):1712-1723.

32. Berry et al. An interferon-inducible neutrophil-driven blood transcriptional signature in human tuberculosis. *Nature.* 2010;466(7309):973-977.

33. Kaforou et al. Detection of tuberculosis in HIV-infected and -uninfected African adults using whole blood RNA expression signatures: a case-control study. *PLoS medicine.* 2013;10(10):e1001538.

34. Banchereau et al. Host immune transcriptional profiles reflect the variability in clinical disease manifestations in patients with Staphylococcus aureus infections. *PLoS One.* 2012;7(4):e34390.

35. Herberg et al. Transcriptomic Profiling in Childhood H1N1/09 Influenza Reveals Reduced Expression of Protein Synthesis Genes. *J Infect Dis.* 2013;208(10):1664-1668.

36. Bloom et al. Transcriptional blood signatures distinguish pulmonary tuberculosis, pulmonary sarcoidosis, pneumonias and lung cancers. *PLoS One.* 2013;8(8):e70630.

【０１８３】

【表７】

導かれた ARI 分類子の性能特性。細菌性 ARI 分類子、ウイルス性 ARI 分類子、および非感染性疾病分類子の組合せを、細菌性 ARI(n=70)、ウイルス性 ARI(n=115)、または非感染性疾病(NI、n=88)の集団において一個抜き交差検証を用いて検証した。3 つの公表された細菌対ウイルスの分類子を同定し、コンパレータ（comparators）としてこの同じ集団に適用した。データは数(%)として表されている。網掛けのセルは正しい分類を示す。

		臨床的割当			
		細菌	ウイルス	NI	
Ramilo ら	細菌	54 (77.1)	4 (3.5)	12 (13.6)	分類子によって予測された割当
	ウイルス	6 (8.6)	101 (87.8)	12 (13.6)	
	非感染性疾病	12 (14.3)	12 (8.7)	64 (72.7)	
Hu ら	細菌	53 (75.7)	4 (3.5)	9 (10.2)	
	ウイルス	9 (12.9)	104 (90.4)	9 (10.2)	
	非感染性疾病	8 (11.4)	7 (6.1)	70 (79.5)	
Parnell ら	細菌	51 (72.8)	8 (7.0)	11 (12.5)	
	ウイルス	13 (18.6)	94 (81.7)	10 (11.4)	
	非感染性疾病	6 (8.6)	13 (11.3)	67 (76.1)	
導かれた ARI 分類子	細菌	58 (82.8)	4 (3.4)	8 (9.0)	
	ウイルス	9 (12.8)	104 (90.4)	4 (4.5)	
	非感染性疾病	3 (4.2)	7 (6.0)	76 (86.3)	

【０１８４】

【表８】

ARI 分類子(統合された細菌性 ARI 分類子、ウイルス性 ARI 分類子、および非感染性分類子)の外部検証。5 つの遺伝子発現オムニバスデータセットを、ウイルス性 ARI、細菌性 ARI、非感染性疾病(NI)である関連した臨床群のうちの少なくとも 2 つの包含に基づいて同定した。

			臨床的割当			
			細菌	ウイルス	NI	AUC
GSE6269: インフルエンザ A 型または細菌感染を有する入院中の子ども	分類子によって予測された割当	細菌	84	1		0.95
		ウイルス	2	26		
GSE42026: インフルエンザ H1N1/09、RSV、または細菌感染を有する入院中の子ども		細菌	15	3		0.90
		ウイルス	6	35		
GSE40396: アデノウイルス、HHV-6、エンテロウイルス、または細菌感染を有する子ども		細菌	7	1		0.93
		ウイルス	3	32		
GSE20346: 細菌性肺炎またはインフルエンザ A を有する入院中の成人		細菌	26	0		0.99
		ウイルス	1	18		
GSE42834: 細菌性肺炎、肺癌、またはサルコイドーシスを有する成人		細菌	18		3	0.99
		SIRS	1		81	

【０１８５】

【表９Ａ】

ウイルス性 ARI、細菌性 ARI、および非感染性疾病を有する対象についての疾病の病因学的原因

	対象の数
コホート全体	273
全てのウイルス性 ARI	115
コロナウイルス	7
コクサッキー/エコーウイルス	3
サイトメガロウイルス	1
エンテロウイルス	20
ヒトメタニューモウイルス	9
インフルエンザ、型未定	7
インフルエンザ A 型、亜型未定	6
インフルエンザ A 型、2009 H1N1	37
パラインフルエンザ	1
多微生物性(コロナウイルス、ライノウイルス、コクサッキー/エコーウイルス)	1
ライノウイルス	19
呼吸器多核体ウイルス	6
全ての細菌性 ARI	70
バチルス種 [a]	1
ボルデテラ・ブロンキセプチカ	1
エンテロバクター・アエロゲネス	1
大腸菌	1
ヘモフィルス・インフルエンザ	3
レジオネラ種	3
マイコプラズマ・ニューモニエ	1
パスツレラ・ムルトシダ	1
多微生物性	11
パントエア種;凝固酵素陰性スタフィロコッカス	1
シュードモナス・エルギノーサ;アルカリゲネス・キシロソキシダンス	1
シュードモナス・エルギノーサ;セラチア・マルセセンス	1
スタフィロコッカス・アウレウス;ヘモフィルス・インフルエンザエ	2
スタフィロコッカス・アウレウス;プロテウス・ミラビリス	1
スタフィロコッカス・アウレウス;ビリダンス群ストレプトコッカス;大腸菌	1
ストレプトコッカス・ニューモニエ;ヘモフィルス種	1
ストレプトコッカス・ニューモニエ;スタフィロコッカス・アウレウス	3
プロテウス・ミラビリス	1
シュードモナス・エルギノーサ	4
スタフィロコッカス・アウレウス	7
ストレプトコッカス・ニューモニエ	30
ストレプトコッカス・ピオゲネス	4
ビリダンス群ストレプトコッカス	1
全ての非感染性疾病	88
急性腎不全;血液量減少症	1
アルコール中毒;脊髄狭窄症;高血糖症	1
不整脈	2
喘息	1
AV 移植偽動脈炎および血栓	1
血管原性浮腫を有する脳転移	1
脳血管障害	1
胸痛	2
コカイン中毒	1
うっ血性心不全	13
うっ血性心不全;アミオダロン毒性	1
うっ血性心不全;不整脈	1
慢性閉塞性肺疾患	5
原因不明器質化肺炎	1
肺気腫	1
消化管出血	3
脚における血腫	1

【表９Ｂ】

	対象の数
ヘモクロマトーシス;腹痛および腹膜透析	1
血胸	1
ヘロイン過剰服用	1
高血糖症	2
高血圧緊急症	3
肺水腫を有する高血圧緊急症	1
血液量減少症	2
梗塞性子宮筋腫	1
肺癌;冠動脈疾患	1
肺癌;喀血	1
ミトコンドリア病;アシドーシス	1
心筋梗塞	2
心筋梗塞;血液量減少症	1
腎結石症	2
膵炎	4
術後声帯麻痺	1
妊娠悪阻;アレルギー性鼻炎	1
肺水腫	2
肺水腫;高血圧緊急症	1
肺塞栓症	5
肺塞栓症;心筋梗塞	1
肺塞栓症;肺動脈高血圧	1
肺線維症	2
肺腫瘤	1
反応性関節炎	1
横紋筋融解症	1
横紋筋融解;血液量減少性ショック	1
重症大動脈弁狭窄	1
小腸閉塞	1
スチル病	1
肺動脈高血圧;うっ血性心不全	1
全身性エリテマトーデス	1
気管気管支軟化症	1
一過性虚血発作	1
潰瘍性大腸炎	1
尿道閉塞	1

[a] この患者は、病因学的作用物質として同定されたバチルス種での細菌性ARIを有すると判定された。本発明者らは、その臨床歴が他の点では細菌性肺炎と一致していたが、バチルス種が、正しい微生物学的病因ではないことを後で認識した。この誤りはモデル導出後に同定されたため、本発明者らはその対象を全てのその後の分析に含めた。

【０１８６】

【表１０Ａ】

細菌性 ARI 分類子、ウイルス性 ARI 分類子、および非感染性疾病分類子について選択されたプローブ。プローブ名は、Affymetrix プローブ ID として提示されている。各プローブについての値は、特定された分類子における各プローブの重みを表す。

Affymetrix プローブ ID	細菌性 ARI 分類子	ウイルス性 ARI 分類子	非感染性疾病分類子	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
200042_at	0	0.038998	0	HSPC117	NM_014306	22 番染色体オープンリーディングフレーム 28
200947_s_at	1.78944	0	0	GLUD1	NM_005271	グルタミン酸デヒドロゲナーゼ 1
201055_s_at	0	0	1.25363	HNRPA0	NM_006805	ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 A0
201188_s_at	0.606326	0	0	ITPR3	NM_002224	イノシトール 1,4,5-三リン酸受容体、3 型
201341_at	0.109677	0	0	ENC1	NM_003633	外胚葉神経皮質(BTB 様ドメインを含む)
202005_at	-0.68053	0	0	ST14	NM_021978	腫瘍原性の抑制 14(結腸癌)
202145_at	0	0.166043	0	LY6E	NM_002346; NM_001127213	リンパ球抗原 6 複合体、遺伝子座 E
202284_s_at	-0.35646	0	0	CDKN1A	NM_078467; NM_000389	サイクリン依存性キナーゼインヒビター1A(p21、Cip1)
202411_at	-0.05224	0	0	IFI27	NM_005532; NM_001130080	インターフェロン、α-誘導性タンパク質 27
202509_s_at	0	0	0.416714	TNFAIP2	NM_006291	腫瘍壊死因子、α-誘導性タンパク質 2
202644_s_at	0.340624	0	0	TNFAIP3	NM_006290	腫瘍壊死因子、α-誘導性タンパク質 3
202688_at	0	0.005084	0	TNFSF10	NM_003810	腫瘍壊死因子(リガンド)スーパーファミリー、メンバー10
202709_at	0.427849	0	0	FMOD	NM_002023	フィブロモジュリン
202720_at	0	0.07874	0	TES	NM_152829; NM_015641	精巣由来転写産物(3 つの LIM ドメイン)
202864_s_at	0	0.02937	0	SP100	NM_003113; NM_001080391	SP100 核内抗原
202973_x_at	-0.11208	0	0	FAM13A1	NM_014883; NM_001015045	配列類似性を有するファミリー13、メンバーA
203045_at	-0.8509	0	0	NINJ1	NM_004148	ニンジュリン 1
203153_at	-0.13374	0	0	IFIT1	NM_001548	テトラトリコペプチドリピートを有するインターフェロン誘導性タンパク質 1
203275_at	0	0.074576	0	IRF2	NM_002199	インターフェロン制御因子 2
203313_s_at	-1.09463	0	0	TGIF	NM_173211; NM_173210; NM_003244; NM_174886; NM_173209; NM_173208; NM_173207; NM_170695	TGFB 誘導性因子ホメオボックス 1
203392_s_at	0	-0.01392	0	CTBP1	NM_001328; NM_001012614	C 末端結合タンパク質 1
203455_s_at	0	0	-0.0805395	SAT	NM_002970	スペルミジン/スペルミン N1-アセチルトランスフェラーゼ 1
203882_at	0	0.034534	0	ISGF3G	NM_006084	インターフェロン制御因子 9

【表１０Ｂ】

Affymetrix プローブ ID	細菌性 ARI 分類子	ウイルス性 ARI 分類子	非感染性疾病分類子	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
203979_at	-0.00999	0	0.301178	CYP27A1	NM_000784	チトクローム P450、ファミリー27、サブファミリーA、ポリペプチド 1
204392_at	0	0.111394	0	CAMK1	NM_003656	カルシウム/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ I
204490_s_at	0.007328	0	0	CD44	NM_000610; NM_001001389; NM_001001390; NM_001001391; NM_001001392	CD44 分子(インド人血液型)
204545_at	0.342478	0	0	PEX6	NM_000287	ペルオキシソーム生合成因子 6
204750_s_at	0.537475	0	0	DSC2	NM_004949; NM_024422	デスモコリン 2
205001_s_at	0	-0.06712	0	DDX3Y	NM_001122665; NM_004660	DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド 3、Y 連鎖
205008_s_at	0	0.223868	0	CIB2	NM_006383	カルシウムおよびインテグリン結合ファミリーメンバー2
205033_s_at	0	-0.08786	0	DEFA1 /// DEFA3	NM_004084; NM_001042500	デフェンシン、α1
205048_s_at	-0.01145	0	0	PSPH	NM_004577	ホスホセリンホスファターゼ様;ホスホセリンホスファターゼ
205098_at	-0.11641	0	0	CCR1	NM_001295	ケモカイン(C-C モチーフ)受容体 1
205153_s_at	0.132886	0	0	CD40	NM_152854; NM_001250	CD40 分子、TNF 受容体スーパーファミリーメンバー5
205164_at	0.46638	0	0	GCAT	NM_014291; NM_001171690	グリシン C-アセチルトランスフェラーゼ(2-アミノ-3-ケト酪酸コエンザイム A リガーゼ)
205200_at	0.87833	0	0	CLEC3B	NM_003278	C 型レクチンドメインファミリー3、メンバーB
205312_at	0	0	-0.394304	SPI1	NM_001080547; NM_003120	脾フォーカス形成ウイルス(SFFV)プロウイルス組込み癌遺伝子 spi1
206207_at	-0.08529	0	0	CLC	NM_001828	シャルコー・ライデン結晶タンパク質
206371_at	0.043902	0	0	FOLR3	NM_000804	葉酸受容体 3(γ)
206647_at	0.065039	0	0	HBZ	NM_005332	ヘモグロビン、ζ
206676_at	0	0	0.0774651	CEACAM8	NM_001816	癌胎児抗原関連細胞接着分子 8
206896_s_at	0.482822	0	0	GNG7	NM_052847	グアニンヌクレオチド結合タンパク質(G タンパク質)、γ7
206918_s_at	1.00926	0	0	CPNE1	NM_152929; NM_152928; NM_152927; NM_003915; NM_152931; NM_152930; NM_006047; NM_152925; NM_152926; NM_152838	RNA 結合モチーフタンパク質 12;コピン I
206934_at	0.151959	0	0	SIRPB1	NM_001135844; NM_006065; NM_001083910	シグナル制御タンパク質β1

【表１０Ｃ】

Affymetrix プローブ ID	細菌性 ARI 分類子	ウイルス性 ARI 分類子	非感染性疾病分類子	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
207075_at	-0.06273	0	0	CIAS1	NM_004895; NM_001079821; NM_001127462; NM_001127461; NM_183395	NLR ファミリー、パイリンドメイン含有 3
207194_s_at	0.3162	0	0	ICAM4	NM_022377; NM_001544; NM_001039132	細胞間接着分子 4(Landsteiner-Wiener 血液型)
207244_x_at	1.30636	0	0	CYP2A6	NM_000762	チトクロム P450、ファミリー2、サブファミリーA、ポリペプチド 6
207606_s_at	0.299775	0	0	ARHGAP12	NM_018287	Rho GTP アーゼ活性化タンパク質 12
207718_x_at	0.039296	0	0	CYP2A6 /// CYP2A7 /// CYP2A7P1 /// CYP2A13	NM_000764; NM_030589	チトクロム P450、ファミリー2、サブファミリーA、ポリペプチド 7
207840_at	0	0.118889	0	CD160	NM_007053	CD160 分子
207860_at	0.376517	0	0	NCR1	NM_001145457; NM_001145458; NM_004829	天然細胞傷害誘発受容体 1
208029_s_at	-0.02051	0	0.394049	LAPTM4B	NM_018407	リソソームタンパク質膜貫通 4 β
208545_x_at	0.265408	0	0	TAF4	NM_003185	TAF4 RNA ポリメラーゼ II、TATA ボックス結合タンパク質(TBP)関連因子、135kDa
208601_s_at	-0.27058	0	0	TUBB1	NM_030773	チューブリン、β1
208702_x_at	0	0	0.0426262	APLP2	NM_001642; NM_001142277; NM_001142278; NM_001142276	アミロイドβ(A4)前駆体様タンパク質 2
208736_at	0	0.582264	-0.0862941	ARPC3	NM_005719	アクチン関連タンパク質 2/3 複合体サブユニット 3 に類似した;仮定的 LOC729841;アクチン関連タンパク質 2/3 複合体、サブユニット 3、21kDa
208886_at	0.149103	0	0	H1F0	NM_005318	H1 ヒストンファミリー、メンバー0
208974_x_at	0	0.742946	0	KPNB1	NM_002265	カリオフェリン(インポーチン)β1
209031_at	0	0	0.237916	IGSF4	NM_014333; NM_001098517	細胞接着分子 1
209360_s_at	0.303561	0	0	RUNX1	NM_001122607; NM_001001890; NM_001754	runt 関連転写因子 1
209396_s_at	0	0	0.0355749	CHI3L1	NM_001276	キチナーゼ 3 様 1(軟骨糖タンパク質 39)
209511_at	0	-0.03119	0	POLR2F	NM_021974	ポリメラーゼ(RNA)II(DNA 依存性)ポリペプチド F
209605_at	-0.49934	0	0	TST	NM_003312	チオ硫酸サルファトランスフェラーゼ(ロダネーゼ)
209919_x_at	0.613197	0	0	GGT1	XM_001129425; NM_013430; NM_001032365; NM_005265; NM_001032364; XM_001129377	γ-グルタミルトランスフェラーゼ軽鎖 3;γ-グルタミルトランスフェラーゼ 4 偽遺伝子;γ-グルタミルトランスフェラーゼ 2;γ-グルタミルトランスフェラーゼ 1;γ-グルタミルトランスフェラーゼ軽鎖 5 偽遺伝子
210365_at	0.576935	0	0	RUNX1	NM_001122607; NM_001001890; NM_001754	runt 関連転写因子 1

【表１０Ｄ】

Affymetrix プローブ ID	細菌性 ARI 分類子	ウイルス性 ARI 分類子	非感染性疾病分類子	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
210724_at	0	0	0.482166	EMR3	NM_032571	egf 様モジュール含有、ムチン様、ホルモン受容体様 3
210797_s_at	0	0.185097	0	OASL	NM_198213; NM_003733	2'-5'-オリゴアデニル酸シンテターゼ様
212035_s_at	2.0241	0	-1.26034	EXOC7	NM_001145298; NM_001145299; NM_015219; NM_001145297; NM_001145296; NM_001013839	エクソシスト複合体成分 7
212162_at	0	-0.01023	0	KIDINS220	NM_020738	キナーゼ D 相互作用基質、220kDa
212657_s_at	0	0	-0.254507	IL1RN	NM_000577; NM_173841; NM_173842; NM_173843	インターロイキン 1 受容体アンタゴニスト
212697_at	0	0	-1.02451	LOC162427	NM_178126	配列類似性を有するファミリー134、メンバーC
212708_at	0.032564	0	0	LOC339287	NM_001012241	雄特異的致死 1 ホモログ(ショウジョウバエ)
212914_at	0	0	0.0099678	CBX7	NM_175709	クロモボックスホモログ 7
212947_at	0.286979	0	0	SLC9A8	NM_015266	溶質輸送体ファミリー9(Na/H 交換輸送体)、メンバー8
213223_at	0.686657	0	0	RPL28	NM_001136134; NM_000991; NM_001136137; NM_001136135; NM_001136136	リボソームタンパク質 L28
213300_at	-0.5783	0	0	KIAA0404	NM_015104	ATG2 オートファジー関連 2 ホモログ A(S.セレビシエ)
213573_at	0	0	-0.497655	KPNB1	NM_002265	カリオフェリン(インポーチン)β1
213633_at	-1.01336	0	0	SH3BP1	NM_018957	SH3 ドメイン結合タンパク質 1
214085_x_at	-0.36761	0	0	GLIPR1	NM_006851	GLI 病原性関連 1
214097_at	0.00915	-0.5768	0	RPS21	NM_001024	リボソームタンパク質 S21
214175_x_at	0	0	-0.266628	PDLIM4	NM_003687; NM_001131027	PDZ および LIM ドメイン 4
214326_x_at	-0.69811	0	0.261075	JUND	NM_005354	jun D 癌原遺伝子
214582_at	0	0	0.0377349	PDE3B	NM_000922	ホスホジエステラーゼ 3B、cGMP 抑制性
214617_at	-0.26196	0	0	PRF1	NM_005041; NM_001083116	パーフォリン 1(ポア形成タンパク質)
214800_x_at	0	0.103261	0	BTF3 /// LOC345829	NM_001037637; NM_001207	塩基性転写因子 3;塩基性転写因子 3 様 1 偽遺伝子
214955_at	-0.10065	0	0	TMPRSS6	NM_153609	膜貫通プロテアーゼ、セリン 6
215184_at	0	-0.06503	0	DAPK2	NM_014326	死関連プロテインキナーゼ 2
215268_at	0.038178	0	0	KIAA0754	NM_015038	仮定的 LOC643314
215606_s_at	0.479765	0	0	RAB6IP2	NM_178040; NM_015064; NM_178037; NM_178038; NM_178039	ELKS/RAB6 相互作用/CAST ファミリーメンバー1
215804_at	1.94364	0	0	EPHA1	NM_005232	EPH 受容体 A1
215848_at	0	0.326241	0	ZNF291	NM_001145923; NM_020843	ER における S 期サイクリン A 関連タンパク質
216289_at	0	-0.00075	0		XM_002347085; XM_002342934; XM_002346195; NM_001161808	G タンパク質共役型受容体 144

【表１０Ｅ】

Affymetrix プローブ ID	細菌性 ARI 分類子	ウイルス性 ARI 分類子	非感染性疾病分類子	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
216303_s_at	0.31126	0	0	MTMR1	NM_003828	ミオチュブラリン関連タンパク質 1
216473_x_at	0	-0.0343	0	DUX4 /// LOC399839 /// LOC401650 /// LOC440013 /// LOC440014 /// LOC440015 /// LOC440016 /// LOC440017 /// LOC441056	XM_927996; XM_001720078; XM_001722088; NM_001164467; XM_928023; XM_495858; XM_941455; NM_001127386; XM_001720082; XM_001720798; XM_496731; NM_001127387; XM_495854; XM_495855; NM_001127388; NM_033178; NM_001127389; XM_001724713	二重ホメオボックス 4 様;二重ホメオボックス 4c に類似した;二重ホメオボックス 4 に類似した;二重ホメオボックス 4
216713_at	0.510039	0	0	KRIT1	NM_194454; NM_001013406; NM_004912; NM_194456; NM_194455	KRIT1、アンキリンリピート含有
216867_s_at	-0.05347	0	0	PDGFA	NM_033023; NM_002607	血小板由来成長因子 α ポリペプチド
217143_s_at	-0.3891	0	0	TRA@ /// TRD@		不明確(未決定)
217408_at	0	1.07798	-0.0690681	MRPS18B	NM_014046	ミトコンドリアリボソームタンパク質 S18B
217593_at	-0.07475	0	0	ZNF447	NM_001145542; NM_001145543; NM_001145544; NM_023926	ジンクフィンガーおよび SCAN ドメイン含有 18
217717_s_at	0.638943	0	0	YWHAB	NM_139323; NM_003404	チロシン 3 モノオキシゲナーゼ/トリプトファン 5-モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質、β ポリペプチド
218095_s_at	0	-0.61377	0	TPARL	NM_018475	膜貫通タンパク質 165
218306_s_at	0	0	0.784894	HERC1	NM_003922	hect(E6-AP(UBE3A)カルボキシル末端と相同である)ドメインおよび RCC1(CHC1)様ドメイン(RLD)1
218595_s_at	0	0	-0.411708	HEATR1	NM_018072	HEAT リピート含有 1
218812_s_at	-0.96799	0	0	C7orf19	NM_032831; NM_001126340	ORAI カルシウム放出活性化カルシウムモジュレータ 2
219055_at	-0.08524	0	0	FLJ10379	NM_018079	S1 RNA 結合ドメイン 1
219066_at	0	0.221446	0	PPCDC	NM_021823	ホスホパントテノイルシステインデカルボキシラーゼ
219130_at	0	-0.15077	0	FLJ10287	NM_019083	コイルドコイルドメイン含有 76
219382_at	0.866643	0	0	SERTAD3	NM_013368; NM_203344	SERTA ドメイン含有 3
219437_s_at	0	-0.40545	0.198273	ANKRD11	XM_001720760; NM_013275; XM_001721661; XM_001721649	アンキリンリピートドメイン 11;仮定的タンパク質 LOC100128265
219523_s_at	0	0	-0.0236667	ODZ3	NM_001080477	odz、odd Oz/ten-m ホモログ 3(ショウジョウバエ)
219777_at	0	0.25509	0	GIMAP6	NM_024711	GTP アーゼ、IMAP ファミリーメンバー6
220059_at	-0.86817	0	0	BRDG1	NM_012108	シグナル伝達アダプターファミリーメンバー1
220122_at	0.399475	0	0	MCTP1	NM_024717; NM_001002796	マルチプル C2 ドメイン、膜貫通 1

【表１０Ｆ】

Affymetrix プローブ ID	細菌性 ARI 分類子	ウイルス性 ARI 分類子	非感染性疾病分類子	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
220308_at	0	-0.03456	0	CCDC19	NM_012337	コイルドコイルドメイン含有 19
221491_x_at	-0.65143	0	0	HLA-DRB1 /// HLA-DRB3 /// HLA-DRB4	XM_002346768; NM_022555; XM_002346769	主要組織適合抗原複合体、クラス II、DR β 3
221874_at	-0.40581	0	0.017015	KIAA1324	NM_020775	KIAA1324
222059_at	0	-0.11226	0	ZNF335	NM_022095	ジンクフィンガータンパク質 335
44673_at	-0.0308	0	0	SN	NM_023068	シアル酸結合 Ig 様レクチン 1、シアロアドヘシン
216571_at	0.878426	0	0		NM_000543; NM_001007593	スフィンゴミエリンホスホジエステラーゼ 1、酸リソソーム
216943_at	-0.91643	0	0			
207436_x_at	0	0.243737	0	KIAA0894		不明確(未決定)

【０１８７】

【表１１】

生物学的過程によりグループ化された、細菌性 ARI 分類子、ウイルス性 ARI 分類子、および非感染性疾病(NI)分類子における遺伝子。遺伝子アクセッション番号は表 10A から 10F に提供されている。

生物学的過程	細菌	ウイルス	NI
細胞周期制御	JUND* (-), NINJ1, IFI27, CDKN1A, C7orf19, SERTAD3	ZNF291	JUND* (+)
細胞増殖の制御	YWHAB, PDGFA		APLP2
発生/分化	GLIPR1, RUNX1, ST14, TGIF , EPHA1	CTBP1	SP1, CEACAM8, ODZ3
RNA 転写、プロセシング	FLJ10379, RPS21* (+), RPL28, TAF4, RPP25	DDX3Y, POLR2F, RPS21* (-), BTF3, MRPS18B* (+), HSPC117, FLJ10287	HEATR1, MRPS18B* (-)
核輸送における役割		KPNB1	KPNB1
細胞および膜トラフィッキングにおける役割	RAB6IP2, SH3BP1, EXOC7* (+), LAPTM4B, CPNE1, GNG7, TPARL, KIAA1324	TPARL	EXOC7* (-), HERC1, LAPTM4B, KIAA1324, APLP2
細胞構造/接着	TMPRSS6, TUBB1, ARHGAP12, ICAM4, DSC2, FMOD	TES, ARPC3* (+), KIDINS220	PDLIM4, IGSF4, PDE3B, ARPC3* (-), CHI3L1
細胞ストレス応答における役割	KIAA1324, KRIT1, ENC1		CBX7, APLP2, KIAA1324
オートファジーにおける役割	LAPTM4B* (-), KIAA1324* (-)		KIAA1324* (+), LAPTM4B* (+)
アポトーシスにおける役割	KRIT1, GLIPR1, CIAS1	DAPK2, TNFSF10	
一般的な炎症応答	TNFA1P3, FMOD, ITPR3, CIAS1, GNG7, CLC, IFI27, CCR1	TNFSF10	HNRPA0, EMR3, IL1RN, TNFAIP2, CHI3L1
インターフェロン応答	IFIT1	SP100, IRF2, OASL, ISGF3G	
細胞傷害性応答	PRF1	DefA1/3	
毒素応答	P450 gene cluster, CYP2A6, ENC1, GGT1, TST		
T 細胞シグナル伝達	TRA/D@, CD44	Ly6E, CAMK1, CD160	
B 細胞シグナル伝達	BRDG1, HLA-DRB1/3/4, CD40		
NK 細胞応答	NCR1	CD160	
リン脂質およびカルシウムシグナル伝達	MTMR1, CPNE1, PSPH, ITPR3, CLC, MCTP1		
脂肪酸代謝	PEX6, GLUD1		
コレステロール代謝	CYP27A1* (-)		CYP27A1* (+)
アミノ酸代謝	GLUD1, PSPH, GCAT		

* 1 つより多い分類子に列挙された遺伝子。そのような重複遺伝子が発現の異なる方向を有する場合、増加した発現は、(+)によって表示され、減少した発現は(-)によって表示されている。

【０１８８】

［実施例３］

ＴＬＤＡプラットフォームにおいて企図された細菌／ウイルス／ＳＩＲＳアッセイ

本発明者らは、３８４ウェルのＴａｑＭａｎ低密度アレイ（ＴＬＤＡ、Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）プラットフォームにおけるカスタムの多分析物定量的リアルタイムＰＣＲ（ＲＴ－ＰＣＲ）アッセイを開発しようとしている。ＴＬＤＡカードは、データ正規化のための複数の内在性対照ＲＮＡ標的（プライマー／プローブセット）と共に、各ウェルにおいて分類子における遺伝子ｍＲＮＡ転写産物に特異的な１つまたは複数のＴａｑＭａｎプライマー／プローブセットを用いて製造される。各患者試料について、精製された全ＲＮＡは、ｃＤＮＡへ逆転写され、マスターウェルへロードされ、マイクロ流体チャネルを通しての遠心分離により各アッセイウェルへ分配される。ＴａｑＭａｎ加水分解

プローブは、増幅ラウンドごとの相補性標的配列とのハイブリダイゼーション中に二重標識プローブを切断し、その結果として、蛍光シグナル発生を生じる、５’から３’へのエキソヌクレアーゼ活性に依存する。この様式において、「リアルタイム」での蓄積されたＰＣＲ産物の定量的検出が可能である。指数関数的増幅および検出の間、蛍光シグナルが検出閾値を超える時点のＰＣＲサイクルの数が、ＲＴ－ＰＣＲ計器についての市販のソフトウェアにより決定される場合の閾値サイクル（Ｃｔ）または定量化サイクル（Ｃｑ）である。遺伝子発現を定量化するために、標的ＲＮＡについてのＣｔが、内在性正規化ＲＮＡ（または複数の正規化ＲＮＡの相乗平均）のＣｔから引き算され、それにより、試料内の各ＲＮＡ標的についてのδＣｔ値が与えられ、それは、入力試料ＲＮＡまたはｃＤＮＡの量または品質の変動について正規化された標的ＲＮＡの相対的発現を示す。

【０１８９】

定量化された遺伝子シグネチャについてのデータは、その後、コンピュータを用い、上記のプロビット分類子（方程式１）に従って処理され、ここに再生される。シグネチャの各遺伝子の正規化遺伝子発現レベルは、分類子に用いられる説明変数または独立変数または特徴量であり、この実施例において、分類子の一般的な型は、以下のプロビット回帰式である：

Ｐ（ｈａｖｉｎｇ条件）＝Φ（β１Ｘ１＋β２Ｘ２＋…＋βｄＸｄ）（方程式１）

式中、条件は、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病であり；Φ（．）はプロビットリンク関数であり；｛β１，β２，…，βｄ｝は訓練中に得られた係数であり；｛Ｘ１，Ｘ２，…，Ｘｄ｝はシグネチャの正規化遺伝子発現値であり；ｄはシグネチャのサイズ（遺伝子の数）である。各説明変数についての係数の値は、プロビット回帰モデルに用いられる遺伝子または遺伝子の部分集合の発現を測定するために用いられるテクノロジープラットフォームに特異的である。コンピュータプログラムは、スコアまたは確率を計算し、そのスコアを閾値と比較する。各分類子の感度、特異度、および全体的な精度は、受信者動作特性（ＲＯＣ）曲線を用いて分類についての閾値を変化させることにより最適化される。

【０１９０】

Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘプラットフォームからのシグネチャ（Ａｆｆｙシグネチャ）および他の供給源からのシグネチャに基づいたＴＬＤＡプラットフォームについての遺伝子の予備リストが下記の表１２に提供されている。それぞれの分類子についてのＴＬＤＡプラットフォームについて適切な重みは、その後、下記の実施例４に記載されているように決定された。

【０１９１】

【表１２Ａ】

TLDA プラットフォームについての分類子の開発のための遺伝子の予備リスト

オリジナルの Affy ID	代替の Affy ID	グループ	細菌	ｳｲﾙｽ	非感染性	遺伝子	TLDA アッセイ識別名
219437_s_at	212332_at	Affy シグネチャ	-	-	-	ANKRD11	Hs00331872_s1
208702_x_at	201642_at	Affy シグネチャ	-	-	-	APLP2	Hs00155778_m1
207606_s_at	212633_at	Affy シグネチャ	-	-	-	ARHGAP12	Hs00367895_m1
201659_s_at	209444_at	Affy シグネチャ	-	-	-	ARL1	Hs01029870_m1
208736_at	201132_at	Affy シグネチャ	-	-	-	ARPC3	Hs00855185_g1
205965_at	218695_at	Affy シグネチャ	-	-	-	BATF	Hs00232390_m1
214800_x_at	209876_at	Affy シグネチャ	-	-	-	BTF3	Hs00852566_g1
209031_at	209340_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CADM1	Hs00296064_s1
204392_at	214054_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CAMK1	Hs00269334_m1
201949_x_at	37012_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CAPZB	Hs00191827_m1
207840_at	213830_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CD160	Hs00199894_m1
200663_at	203234_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CD63	Hs00156390_m1
220935_s_at	219271_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CDK5RAP2	Hs01001427_m1
206676_at	207269_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CEACAM8	Hs00266198_m1
209396_s_at	209395_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CHI3L1	Hs01072230_g1
205008_s_at	58900_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CIB2	Hs00197280_m1
205200_at	206034_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CLEC3B	Hs00162844_m1
203979_at	49111_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CYP27A1	Hs01017992_g1
207244_x_at	209280_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CYP2A13	Hs00711162_s1
215184_at	217521_at	Affy シグネチャ	-	-	-	DAPK2	Hs00204888_m1
205001_s_at	214131_at	Affy シグネチャ	-	-	-	DDX3Y	Hs00965254_gH
205033_s_at	207269_at	Affy シグネチャ	-	-	-	DEFA3	Hs00414018_m1
204750_s_at	205418_at	Affy シグネチャ	-	-	-	DSC2	Hs00951428_m1
216473_x_at	221660_at	Affy シグネチャ	-	-	-	DUX4	Hs03037970_g1
210724_at	220246_at	Affy シグネチャ	-	-	-	EMR3	Hs01128745_m1
215804_at	206903_at	Affy シグネチャ	-	-	-	EPHA1	Hs00975876_g1
212035_s_at	200935_at	Affy シグネチャ	-	-	-	EXOC7	Hs01117053_m1
212697_at	46665_at	Affy シグネチャ	-	-	-	FAM134C	Hs00738661_m1
209919_x_at	218695_at	Affy シグネチャ	-	-	-	GGT1	Hs00980756_m1
219777_at	202963_at	Affy シグネチャ	-	-	-	GIMAP6	Hs00226776_m1
200947_s_at	202126_at	Affy シグネチャ	-	-	-	GLUD1	Hs03989560_s1
218595_s_at	217103_at	Affy シグネチャ	-	-	-	HEATR1	Hs00985319_m1
218306_s_at	212232_at	Affy シグネチャ	-	-	-	HERC1	Hs01032528_m1
221491_x_at	203290_at	Affy シグネチャ	-	-	-	HLA-DRB3	Hs00734212_m1
201055_s_at	37012_at	Affy シグネチャ	-	-	-	HNRNPA0	Hs00246543_s1
203153_at	219863_at	Affy シグネチャ	-	-	-	IFIT1	Hs01911452_s1
214022_s_at	35254_at	Affy シグネチャ	-	-	-	IFITM1	Hs00705137_s1
212657_s_at	202837_at	Affy シグネチャ	-	-	-	IL1RN	Hs00893626_m1
203275_at	213038_at	Affy シグネチャ	-	-	-	IRF2	Hs01082884_m1
203882_at	201649_at	Affy シグネチャ	-	-	-	IRF9	Hs00196051_m1
215268_at	200837_at	Affy シグネチャ	-	-	-	KIAA0754	Hs03055204_s1
221874_at	203063_at	Affy シグネチャ	-	-	-	KIAA1324	Hs00381767_m1
213573_at	31845_at	Affy シグネチャ	-	-	-	KPNB1	Hs00158514_m1
208029_s_at	212573_at	Affy シグネチャ	-	-	-	LAPTM4B	Hs00363282_m1
202145_at	204972_at	Affy シグネチャ	-	-	-	LY6E	Hs03045111_g1
220122_at	218323_at	Affy シグネチャ	-	-	-	MCTP1	Hs01115711_m1
217408_at	212846_at	Affy シグネチャ	-	-	-	MRPS18B	Hs00204096_m1
207860_at	212318_at	Affy シグネチャ	-	-	-	NCR1	Hs00950814_g1
203045_at	213038_at	Affy シグネチャ	-	-	-	NINJ1	Hs00982607_m1
210797_s_at	205660_at	Affy シグネチャ	-	-	-	OASL	Hs00984390_m1
214175_x_at	204600_at	Affy シグネチャ	-	-	-	PDGFA	Hs00184792_m1
219066_at	217497_at	Affy シグネチャ	-	-	-	PPCDC	Hs00222418_m1
214617_at	212070_at	Affy シグネチャ	-	-	-	PRF1	Hs00169473_m1
218700_s_at	203816_at	Affy シグネチャ	-	-	-	RAB7L1	Hs00187510_m1
215342_s_at	218695_at	Affy シグネチャ	-	-	-	RABGAP1L	Hs02567906_s1
219143_s_at	204683_at	Affy シグネチャ	-	-	-	RPP25	Hs00706565_s1
214097_at	201094_at	Affy シグネチャ	-	-	-	RPS21	Hs00963477_g1
210365_at	222307_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SAT1	Hs00971739_g1

【表１２Ｂ】

215848_at	81811_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SCAPER	Hs02569575_s1
212900_at	204496_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SEC24A	Hs00378456_m1
44673_at	219211_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SIGLEC1	Hs00988063_m1
201802_at	206361_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SLC29A1	Hs01085704_g1
202864_s_at	202863_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SP100	Hs00162109_m1
205312_at	205707_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SPI1	Hs00231368_m1
202005_at	205418_at	Affy シグネチャ	-	-	-	ST14	Hs04330394_g1
220059_at	202478_at	Affy シグネチャ	-	-	-	STAP1	Hs01038134_m1
219523_s_at	206903_at	Affy シグネチャ	-	-	-	TENM3	Hs01111787_m1
202720_at	201344_at	Affy シグネチャ	-	-	-	TES	Hs00210319_m1
203313_s_at	212232_at	Affy シグネチャ	-	-	-	TGIF1	Hs00820148_g1
218095_s_at	219157_at	Affy シグネチャ	-	-	-	TMEM165	Hs00218461_m1
202509_s_at	212603_at	Affy シグネチャ	-	-	-	TNFAIP2	Hs00196800_m1
219130_at	200685_at	Affy シグネチャ	-	-	-	TRMT13	Hs00219487_m1
208601_s_at	205127_at	Affy シグネチャ	-	-	-	TUBB1	Hs00258236_m1
217717_s_at	205037_at	Affy シグネチャ	-	-	-	YWHAB	Hs00793604_m1
217593_at	222141_at	Affy シグネチャ	-	-	-	ZSCAN18	Hs00225073_m1
213300_at	219014_at	Affy シグネチャ	-	-	-	ATG2A	Hs00390076_m1
212914_at	211938_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CBX7	Hs00545603_m1
220308_at	202452_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CCDC19	Hs01099244_m1
205098_at	213361_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CCR1	Hs00928897_s1
205153_s_at	215346_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CD40	Hs01002913_g1
204490_s_at	205026_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CD44	Hs00153304_m1
202284_s_at	213324_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CDKN1A	Hs00355782_m1
206207_at	206361_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CLC	Hs01055743_m1
206918_s_at	200964_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CPNE1	Hs00537765_m1
203392_s_at	222265_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CTBP1	Hs00972289_g1
207718_x_at	44702_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CYP2A6	Hs00711162_s1
207718_x_at	44702_at	Affy シグネチャ	-	-	-	CYP2A7	Hs00711162_s1
201341_at	209717_at	Affy シグネチャ	-	-	-	ENC1	Hs00171580_m1
215606_s_at	211999_at	Affy シグネチャ	-	-	-	ERC1	Hs00327390_s1
202973_x_at	201417_at	Affy シグネチャ	-	-	-	FAM13A	Hs01040170_m1
202709_at	222265_at	Affy シグネチャ	-	-	-	FMOD	Hs00157619_m1
206371_at	205844_at	Affy シグネチャ	-	-	-	FOLR3	Hs01549264_m1
205164_at	209391_at	Affy シグネチャ	-	-	-	GCAT	Hs00606568_gH
214085_x_at	203799_at	Affy シグネチャ	-	-	-	GLIPR1	Hs00199268_m1
206896_s_at	206126_at	Affy シグネチャ	-	-	-	GNG7	Hs00192999_m1
216289_at	206338_at	Affy シグネチャ	-	-	-	GPR144	Hs01369282_m1
208886_at	213096_at	Affy シグネチャ	-	-	-	H1F0	Hs00961932_s1
206647_at	40850_at	Affy シグネチャ	-	-	-	HBZ	Hs00744391_s1
207194_s_at	218225_at	Affy シグネチャ	-	-	-	ICAM4	Hs00169941_m1
202411_at	213797_at	Affy シグネチャ	-	-	-	IFI27	Hs01086373_g1
201188_s_at	213958_at	Affy シグネチャ	-	-	-	ITPR3	Hs00609948_m1
212162_at	210148_at	Affy シグネチャ	-	-	-	KIDINS220	Hs01057000_m1
216713_at	213049_at	Affy シグネチャ	-	-	-	KRIT1	Hs01090981_m1
212708_at	202897_at	Affy シグネチャ	-	-	-	MSL1	Hs00290567_s1
216303_s_at	222265_at	Affy シグネチャ	-	-	-	MTMR1	Hs01021250_m1
207075_at	203906_at	Affy シグネチャ	-	-	-	NLRP3	Hs00366465_m1
214582_at	222317_at	Affy シグネチャ	-	-	-	ORAI2	Hs01057217_m1
216867_s_at	202909_at	Affy シグネチャ	-	-	-	PDE3B	Hs00236997_m1
204545_at	320_at	Affy シグネチャ	-	-	-	PDLIM4	Hs00165457_m1
209511_at	218333_at	Affy シグネチャ	-	-	-	POLR1C	Hs00191646_m1
209511_at	218333_at	Affy シグネチャ	-	-	-	POLR2F	Hs00222679_m1
213633_at	204632_at	Affy シグネチャ	-	-	-	PSG4	Hs00978711_m1
213633_at	204632_at	Affy シグネチャ	-	-	-	PSG4	Hs01652476_m1
205048_s_at	203303_at	Affy シグネチャ	-	-	-	PSPH	Hs00190154_m1
213223_at	210607_at	Affy シグネチャ	-	-	-	RPL28	Hs00357189_g1
200042_at	212247_at	Affy シグネチャ	-	-	-	RTCB	Hs00204783_m1
209360_s_at	203916_at	Affy シグネチャ	-	-	-	RUNX1	Hs00231079_m1
219382_at	209575_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SERTAD3	Hs00705989_s1
213633_at	204632_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SH3BP1	Hs00978711_m1
213633_at	204632_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SH3BP1	Hs01652476_m1
206934_at	202545_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SIRPB1	Hs01092173_m1
212947_at	220404_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SLC9A8	Hs00905708_m1

【表１２Ｃ】

216571_at	202396_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SMPD1	Hs01086851_m1
219055_at	219439_at	Affy シグネチャ	-	-	-	SRBD1	Hs01005222_m1
208545_x_at	204600_at	Affy シグネチャ	-	-	-	TAF4	Hs01122669_m1
214955_at	217162_at	Affy シグネチャ	-	-	-	TMPRSS6	Hs00541789_s1
202644_s_at	55692_at	Affy シグネチャ	-	-	-	TNFAIP3	Hs01568119_m1
202688_at	219684_at	Affy シグネチャ	-	-	-	TNFSF10	Hs00234356_m1
209605_at	212897_at	Affy シグネチャ	-	-	-	TST	Hs04187383_m1
222059_at	216076_at	Affy シグネチャ	-	-	-	ZNF335	Hs00223060_m1
202509_s_at	NA	InTxAlternate	-	-	-	TNFAIP2	Hs00969305_m1
202672_s_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	ATF3	Hs00910173_m1
218943_s_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	DDX58	Hs01061436_m1
219863_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	HERC5	Hs01061821_m1
214059_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	IFI44	Hs00951349_m1
204439_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	IFI44L	Hs00915294_g1
204415_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	IFI6	Hs00242571_m1
203153_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	IFIT1	Hs03027069_s1
217502_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	IFIT2	Hs01922738_s1
204747_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	IFIT3	Hs01922752_s1
205483_s_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	ISG15	Hs01921425_s1
205569_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	LAMP3	Hs00180880_m1
202145_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	LY6E	Hs03045111_g1
202086_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	MX1	Hs00182073_m1
205552_s_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	OAS1	Hs00973637_m1
202869_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	OAS2	Hs00973637_m1
218400_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	OAS3	Hs00934282_g1
205660_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	OASL	Hs00984390_m1
213797_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	RSAD2	Hs00369813_m1
219684_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	RTP4	Hs00223342_m1
210657_s_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	SEPT4	Hs00910209_g1
200986_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	SERPING1	Hs00934330_m1
222154_s_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	SPATS2L	Hs01016364_m1
206026_s_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	TNFAIP6	Hs01113602_m1
219211_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	USP18	Hs00276441_m1
206133_at	NA	汎ウイルスアレイ	-	-	-	XAF1	Hs01550142_m1
NA	NA	参照	-	-	-	FPGS	Hs00191956_m1
NA	NA	参照	-	-	-	PPIB	Hs00168719_m1
NA	NA	参照	-	-	-	TRAP1	Hs00972326_m1
NA	NA	参照	-	-	-	DECR1	Hs00154728_m1
NA	NA	参照	-	-	-	GAPDH	Hs99999905_m1
NA	NA	参照	-	-	-	18S	Hs99999901_s1
NA	203799_at	置き換え	-	-	-	CD302	Hs00208436_m1
NA	31845_at	置き換え	-	-	-	ELF4	Hs01086126_m1
NA	204600_at	置き換え	-	-	-	EPHB3	Hs01082563_g1
NA	206903_at	置き換え	-	-	-	EXOG	Hs01035290_m1
NA	218695_at	置き換え	-	-	-	EXOSC4	Hs00363401_g1
NA	212232_at	置き換え	-	-	-	FNBP4	Hs01553131_m1
NA	209876_at	置き換え	-	-	-	GIT2	Hs00331902_s1
NA	204683_at	置き換え	-	-	-	ICAM2	Hs01015796_m1
NA	201642_at	置き換え	-	-	-	IFNGR2	Hs00985251_m1
NA	203799_at	置き換え	-	-	-	LY75-CD302	Hs00208436_m1
NA	209280_at	置き換え	-	-	-	MRC2	Hs00195862_m1
NA	212603_at	置き換え	-	-	-	MRPS31	Hs00960912_m1
NA	221660_at	置き換え	-	-	-	MYL10	Hs00540809_m1
NA	203290_at	置き換え	-	-	-	PEX6	Hs00165457_m1
NA	201417_at	置き換え	-	-	-	SOX4	Hs00268388_s1
NA	44702_at	置き換え	-	-	-	SYDE1	Hs00973080_m1
NA	222261_at	置き換え	-	-	-	TLDC1	Hs00297285_m1
NA	202452_at	置き換え	-	-	-	ZER1	Hs01115240_m1

【０１９２】

［実施例４］

ＴＬＤＡプラットフォームにおいて企図された、ＲＴ－ｑＰＣＲにより測定される遺伝子発現を用いた細菌／ウイルス／ＳＩＲＳ分類

宿主応答－ＡＲＩ（ＨＲ－ＡＲＩ）試験を構成する３つのシグネチャの遺伝子を、ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ（Ｗａｌｔｈａｍ、ＭＡ）社製のカスタムＴａｑＭａｎ（登録商標）低密度アレイカードへ移行した。これらの遺伝子シグネチャの発現を、３８４ウェルＴａｑＭａｎ低密度アレイ（ＴＬＤＡ；Ｔｈｅｒｍｏ－Ｆｉｓｈｅｒ）プラットフォームにおいてカスタムの多分析物定量的リアルタイムＰＣＲ（ＲＴ－ｑＰ

ＣＲ）アッセイを用いて測定した。ＴＬＤＡカードは、ＲＮＡロード量について正規化するために、およびプレート間の変動性について調節するために用いられる複数の内在性対照ＲＮＡ標的（ＴＲＡＰ１、ＰＰＩＢ、ＧＡＰＤＨ、ＦＰＧＳ、ＤＥＣＲ１、および１８Ｓ）と共に、ウェルあたり１つまたは複数のＴａｑＭａｎプライマー／プローブセットを用いて設計および製造され、それぞれのプライマー／プローブセットが、ＡＲＩシグネチャにおける特異的なＲＮＡ転写産物を表す。実際には、正規化手順のための試料にわたって最小の変動係数を有する（利用可能な５つのうちの）２つの参照遺伝子を選択し、３３％より大きい欠測値（定量限界より下）を有するプライマー／プローブセットを捨てた。（もしあれば）残りの欠測値を１＋ｍａｘ（Ｃｑ）（ＣｑはＲＴ－ｑＰＣＲについての定量サイクルである）に設定する。その後、正規化発現値を、任意の所定のプライマー／プローブセットについての観察されたＣｑ値を引いた選択された参照の平均として計算した。Ｈｅｌｌｅｍａｎｓら、（２００７） Ｇｅｎｏｍｅ Ｂｉｏｌ ２００７；８（２）：Ｒ１９参照。

【０１９３】

試料あたり合計１７４個の固有のプライマー／プローブセットをアッセイした。これらのプライマー／プローブのうち、１４４個のプライマー／プローブセットは、３つのＡＲＩ遺伝子シグネチャの１３２個の前に記載されたＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘ（マイクロアレイ）プローブを表す遺伝子標的（すなわち、細菌遺伝子発現シグネチャ、ウイルス遺伝子発現シグネチャ、および非感染性遺伝子発現シグネチャにおける遺伝子）を測定し、６個のプローブセットは、参照遺伝子用であり、本発明者らは、追加として、以前に発見された汎ウイルス遺伝子シグネチャからの２４個のプローブセットをアッセイした。米国特許第８，８２１，８７６号；Ｚａａｓら、Ｃｅｌｌ Ｈｏｓｔ Ｍｉｃｒｏｂｅ （２００９）６（３）：２０７－２１７参照。さらに、「置き換え」遺伝子用のいくつかのプライマー／プローブセット（これらの遺伝子発現は、Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘシグネチャからのいくつかの遺伝子の発現と相関している）を訓練のために加えた。いくつかの遺伝子は置き換えられているが、それは、ＴＬＤＡプローブを用いて実施された場合、これらの遺伝子についてのＲＴ－ｑＰＣＲアッセイがうまく機能しなかったからである。

【０１９４】

各試料について、全ＲＮＡをＰＡＸｇｅｎｅ血液ＲＮＡチューブ（ＰｒｅＡｎａｌｙｔｉｘ）から精製し、Ｓｕｐｅｒｓｃｒｉｐｔ ＶＩＬＯ ｃＤＮＡ合成キット（Ｔｈｅｒｍｏ－Ｆｉｓｈｅｒ）を用いて、製造会社の推奨されたプロトコールに従ってｃＤＮＡへ逆転写した。マスターウェルあたり各試料についての標準量のｃＤＮＡをロードし、マイクロ流体チャネルを通しての遠心分離を介して、各ＴａｑＭａｎアッセイウェルへ分配した。ＴａｑＭａｎ加水分解プローブは、増幅ラウンドごとの相補性標的配列とのハイブリダイゼーション中に二重標識プローブを切断し、その結果として、蛍光シグナル発生を生じる、５’から３’へのエキソヌクレアーゼ活性に依存する。蛍光の定量的検出は、「リアルタイム」で、蓄積されたＰＣＲ産物を示す。指数関数的増幅および検出の間、蛍光シグナルが検出閾値を超える時点のＰＣＲサイクルの数が、ＲＴ－ＰＣＲ計器についての市販のソフトウェアにより決定される場合の閾値サイクル（Ｃｔ）または定量化サイクル（Ｃｑ）である。

【０１９５】

試料／コホート選択：

ＩＲＢ承認されたプロトコールの下、本発明者らは、急性呼吸器病を有する救急科を受診した患者を登録した（下記表１３参照）。このコホートにおける患者は、参照により本明細書に組み入れられているＴｓａｌｉｋら、（２０１６） Ｓｃｉ Ｔｒａｎｓｌ Ｍｅｄ ９（３２２）：１－９の表１に報告された患者の部分集合である。これらの患者についての臨床および他の試験データの遡及的な臨床的判定により、細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病である３つの割当のうちの１つが導かれる。

【０１９６】

【表１３】

登録されたコホートについての人口学的情報

コホート	対象の数[a]	性 (M/F)	平均年齢、年(範囲)[b]	民族性 (B/W/O)	入院	試料の数(ウイルス/細菌/非感染性疾病)
登録された導出コホート	317	122/151	45 (6-88)	135/116/22	61%	115/70/88
ウイルス	115	44/71	45 (6-88)	40/59/16	21%	
細菌	70	35/35	49 (14-88)	46/22/2	94%	
非感染性疾病[c]	88	43/45	49 (14-88)	49/35/4	88%	
健康	44	23/21	30 (20-59)	8/27/6[d]	0%	

[a] 各検証コホートから(入手可能な場合)、ウイルス性、細菌性、または非感染性疾病を有する対象のみが含まれた。

[b] 平均年齢を入手できず、または計算できなかった場合、データは、成人かまたは小児のいずれかとして提示されている。

[c] 非感染性疾病は、体温<36℃または>38℃;心拍数 1 分あたり>90;呼吸数 1 分あたり>20 呼吸または動脈 CO_2 分圧<32mmHg;および白血球数<4000 もしくは>12,000 細胞/mm^3 または>10%杆状核好中球の 4 つの特徴のうちの少なくとも 2 つを含む、SIRS 判定基準の存在により定義された。

[d] 3 人の対象は民族性を報告しなかった。

M、男性。F、女性。B、黒人。W、白人。O、その他/不明。GSE 番号は NCBI 遺伝子発現オムニバスデータセットを指す。N/A、公表されたデータに基づいての入手が不可能。

【０１９７】

データ分析方法：

データ前処理段階中、本発明者らは、試料およびプレートにわたる最小の変動係数を有する（利用可能な５つのうちの）少なくとも２つの参照遺伝子標的の部分集合を選択する。本発明者らは、３３％より多い欠測値を有する標的（定量限界より下の１７個の標的）を、これらの値が任意の特定のクラス、例えば、細菌性ＡＲＩにおいて大きな比率を占める場合のみ、捨てた。次に、本発明者らは、残りの欠測値を１＋ｍａｘ（Ｃｑ）に設定し、その後、前に選択された参照組合せを用いて全標的について発現値を正規化した。特に、本発明者らは、正規化発現値を、任意の所定の標的のＣｑ値を引いた選択された参照（ＤＥＣＲ１およびＰＰＩＢ）の平均として計算した。

【０１９８】

いったんデータが正規化されたならば、本発明者らは、スパースロジスティック回帰モデルをそのデータにフィッティングさせることにより分類モデルを構築するように進める（Ｆｒｉｅｄｍａｎら、（２０１０）Ｊ．Ｓｔａｔ．Ｓｏｆｔｗ．３３，１－２２）。このモデルは、対象が特定のクラスに属する確率を、正規化遺伝子標的の加重和として推定する。具体的には、本発明者らは、ｐ（対象がクラスに属する）＝σ（ｗ１ｘ１＋…＋ｗｐｘｐ）と書き、式中、σはロジスティック関数であり、ｗ１，…，ｗｐはフィッティング手順中に推定された分類重みであり、ｘ１，…，ｘｐは正規化発現値を含有するｐ個の遺伝子標的を表す。

【０１９９】

アレイに基づいた分類子と同様に、本発明者らは、（１）細菌性ＡＲＩ対ウイルス性ＡＲＩおよび非感染性疾病；（２）ウイルス性ＡＲＩ対細菌性ＡＲＩおよび非感染性疾病；ならびに（３）非感染性疾病対細菌性およびウイルス性ＡＲＩの３つの二項分類子を構築する。その３つの分類子をフィッティングした後、本発明者らは、ｐ（細菌性ＡＲＩ）、ｐ（ウイルス性ＡＲＩ）、およびｐ（非感染性疾病）についての推定値を得る。分類子のそれぞれについての閾値は、対称費用関数を用いて受信者動作特性（ＲＯＣ）曲線から選択される（予想される感度および特異度はほぼ等しい）（Ｆａｗｃｅｔｔ（２００６）Ｐａｔｔｅｒｎ Ｒｅｃｏｇｎ Ｌｅｔｔ ２７：８６１－８７４）。結果として、対象は、ｐ（細菌性ＡＲＩ）＞ｔｂ（ｔｂは細菌性ＡＲＩ分類子の閾値である）ならば、細菌性Ａ

ＲＩと予測される。同様に、本発明者らは、ウイルス性ＡＲＩ分類子および非感染性疾病分類子についての閾値、それぞれ、t_vおよびt_nを選択する。必要に応じて、最も可能性が高い条件、すなわち、最も大きい確率を有する条件（具体的には、本発明者らはａｒｇｍａｘ｛ｐ（細菌性ＡＲＩ），ｐ（ウイルス性ＡＲＩ），ｐ（非感染性疾病）｝と書く）を選択することにより統合予測を行うことができる。

【０２００】

結果：

マイクロアレイにより発見されたゲノム分類子のＴＬＤＡプラットフォームへの最初の変換中、本発明者らは、マイクロアレイによってもアッセイされている３２個の試料をアッセイした。このグループは、ＡＲＩ分類子を構成する遺伝子転写産物のＴＬＤＡに基づいたＲＴ－ｑＰＣＲ測定が、遺伝子転写産物のマイクロアレイに基づいた測定について得られた結果を再現し、したがって、患者を細菌性ＡＲＩもしくはウイルス性ＡＲＩを有すると分類し、または非感染性疾病を有すると分類するための妥当な方法論であることを確認する役割を果たす。本発明者らは、ＴＬＤＡプラットフォームとマイクロアレイプラットフォームの両方において試験された３２個の試料から、それらの対応する分類子を用いて評価された場合、８４．４％の一致があり、それは、３２人の対象のうちの２７人が、マイクロアレイに基づいた分類モデルとＴＬＤＡに基づいた分類モデルの両方において同じ統合予測を示したことを意味することがわかった。

【０２０１】

マイクロアレイに基づいた分類とＴＬＤＡに基づいた分類との間の一致を実証した後、本発明者らは、ＡＲＩ状態の臨床判定を有したが、前に特徴づけられた遺伝子発現パターンを示さない患者からの追加の６３個の試料を、ＴＬＤＡに基づいた分類を用いて試験した。したがって、合計で９５個の試料が、ＴＬＤＡに基づいた分類試験を用いて評価された。９５個の試料からのこのデータセットにより、ＴＬＤＡに基づいたＲＴ－ｑＰＣＲプラットフォームがどのように新しい患者を分類するかを、参照標準として臨床判定のみを用いて評価することが可能になった。この実験において、本発明者らは、７７／９５個の正しく分類された試料に対応する８１．１％の全体的な精度を観察した。より具体的には、そのモデルは、それぞれ、８０％（３０個のうち２４個が正しい）、７７．４％（３１個のうち２４個が正しい）、および８５．３％（３４個のうち２９個が正しい）の細菌性ＡＲＩ精度、ウイルス性ＡＲＩ精度、および非感染性疾病精度を生じた。個々の分類子の性能に関して、本発明者らは、細菌性ＡＲＩ分類子、ウイルス性ＡＲＩ分類子、および非感染性疾病分類子、それぞれについて、０．９２、０．８６、および０．９１のＲＯＣ曲線下面積を観察した。本発明者らが分類子のいずれについても検証データセットを用いてカウントせず、それでもなお、本発明者らが分類能（精度およびＲＯＣ曲線下面積）の不偏推定値を欲するならば、本発明者らは、一個抜き交差検証された性能測定規準法を報告している。

【０２０２】

分類子のそれぞれ（細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、および非感染性疾病）についての重みおよび閾値は、下に示された表１４Ａから１４Ｊに示されている。この表は、１７４個の遺伝子標的の代わりに１５１個の遺伝子標的を列挙していることに留意されたい。それは、上で記載されているように、参照遺伝子が前処理段階において除去され、欠測値があった１７個の標的も同様に除去されたからである。これらの１７個の標的もまた、前処理段階中に除去された。

【０２０３】

汎ウイルスシグネチャ遺伝子が除去された場合には、ＡＵＣ、精度、および一致の値のパーセントにわたってせいぜい５％のわずかな性能の減少が見られる。

【０２０４】

要約：

複合宿主応答ＡＲＩ分類子は、ウイルス性ＡＲＩに対する細菌性ＡＲＩ、非感染性疾病に対する細菌性ＡＲＩの診断である遺伝子発現シグネチャ、および数学的分類フレームワー

クで構成される。数学的分類子は、対象が細菌性ＡＲＩ、ウイルス性ＡＲＩ、または非感染性疾病を有することの３つの別々の確率を提供する。各場合において、カットオフまたは閾値が特定され得、その閾値より上の値が、患者がその状態を有すると決定する。加えて、閾値を改変して、試験の感度および特異度を変化させ得る。

【０２０５】

これらの遺伝子発現レベルの測定は、様々な技術的プラットフォームにおいて起こり得る。ここで、本発明者らは、ＴＬＤＡに基づいたＲＴ－ｑＰＣＲプラットフォームを用いたこれらのシグネチャの測定を記載する。さらに、ＡＲＩ病因確率を決定する数学的フレームワークは、転写産物測定方法を順応させるためのプラットフォーム特異的訓練（すなわち、プラットフォーム特異的重み、ｗ１，　…，ｗｐを確立すること）によりプラットフォームに適応する。類似した直接的方法論が、遺伝子シグネチャを他の遺伝子発現プラットフォームへ変換し、その後、関連した分類子を訓練するように実施することができる。この実施例はまた、ＡＲＩの病因のＴＬＤＡに基づいた分類とマイクロアレイに基づいた分類との間の優れた一致を実証している。最後に、本発明者らは、急性呼吸器病を有する新しい患者を診断するためのＴＬＤＡに基づいたＲＴ－ｑＰＣＲプラットフォームおよび関連した数学的分類子の使用を示す。

【０２０６】

【表１４Ａ】

細菌分類子、ウイルス分類子、および非感染性疾病分類子についての遺伝子、TLDA プローブ/プライマー、および分類子重み

TLDA アッセイ ID	細菌	ウイルス	非感染性	グループ	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
Hs00153304_m1	0.44206	-0.19499	0		CD44	NM_000610.3; NM_001202555.1; NM_001001392.1; NM_001202556.1; NM_001001391.1; NM_001001390.1; NM_001001389.1	hCG1811182 Celera アノテーション;CD44分子(インド人血液型)
Hs00155778_m1	0	0	0		APLP2	NM_001142278.1; NM_001142277.1; NM_001142276.1; NR_024515.1; NR_024516.1; NM_001642.2; NM_001243299.1	hCG2032871 Celera アノテーション;アミロイドβ(A4)前駆体様タンパク質2
Hs00156390_m1	0.07707	-0.15022	0		CD63	NM_001780.5; NM_001267698.1; NM_001257389.1; NM_001257390.1; NM_001257391.1	CD63分子;hCG20743 Celera アノテーション
Hs00158514_m1	0	0	0		KPNB1	NM_002265.5	hCG1773668 Celera アノテーション;カリオフェリン(インポーチン)β1
Hs00162109_m1	0	0.012558	0		SP100	NM_003113.3; NM_001080391.1; NM_001206702.1; NM_001206703.1; NM_001206701.1; NM_001206704.1	SP100核内抗原;hCG34336 Celera アノテーション
Hs00165457_m1	0.14396	-0.00784	0		PEX6	NM_000287.3	ペルオキシソーム生合成因子6;hCG17647 Celera アノテーション
Hs00169473_m1	0	-0.04883	0.135154		PRF1	NM_005041.4; NM_001083116.1	hCG22817 Celera アノテーション;パーフォリン1(ポア形成タンパク質)
Hs00169941_m1	0	-0.33225	0		ICAM4	NM_001544.4; NM_022377.3	細胞間接着分子4(Landsteiner-Wiener 血液型);hCG28480 Celera アノテーション
Hs00171580_m1	0	-0.04133	0		ENC1	NM_001256575.1; NM_001256576.1; NM_003633.3; NM_001256574.1	hCG37104 Celera アノテーション;外胚葉神経皮質1(BTB ドメインを含む)
Hs00187510_m1	0.38204	-0.19399	-0.242396		RAB7L1	NM_001135662.1; NM_003929.2	hCG19156 Celera アノテーション;RAB7、メンバーRAS 癌遺伝子ファミリー様1
Hs00190154_m1	0.0726	0	-0.128456		PSPH	NM_004577.3	ホスホセリンホスファターゼ;hCG1811513 Celera アノテーション

【表１４Ｂ】

TLDA アッセイ ID	細菌	ウイルス	非感染性	グループ	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
Hs00191827_m1	0	0	0		CAPZB	NM_001282162.1; NM_004930.4	キャッピングタンパク質(アクチンフィラメント)筋肉 Z 線、β;hCG41078 Celera アノテーション
Hs00192999_m1	0.08266	0	-0.127277		GNG7	NM_052847.2	グアニンヌクレオチド結合タンパク質(G タンパク質)、γ 7;hCG20107 Celera アノテーション
Hs00196051_m1	0.05	-0.4723	0		IRF9	NM_006084.4	インターフェロン制御因子9;hCG40171 Celera アノテーション
Hs00196800_m1	0	0	0		TNFAIP2	NM_006291.2	腫瘍壊死因子、α-誘導性タンパク質2;hCG22889 Celera アノテーション
Hs00197280_m1	-0.14204	0.089619	0.147283		CIB2	NM_006383.3; NM_001271888.1	カルシウムおよびインテグリン結合ファミリーメンバー 2;hCG38933 Celera アノテーション
Hs00199268_m1	0	-0.10536	0.38895		GLIPR1	NM_006851.2	hCG26513 Celera アノテーション;GLI 病原性関連1
Hs00199894_m1	0	-0.10571	0.02064		CD160	NR_103845.1; NM_007053.3	hCG1762288 Celera アノテーション;CD160分子
Hs00204096_m1	0	0	0		MRPS18B	NM_014046.3	hCG2039591 Celera アノテーション;ミトコンドリアリボソームタンパク質 S18B
Hs00204783_m1	-0.12369	0.330219	0		RTCB	NM_014306.4	RNA 2',3'-環状リン酸および5'-OH リガーゼ;hCG41412 Celera アノテーション
Hs00204888_m1	0	0	0		DAPK2	NM_014326.3	死関連プロテインキナーゼ2;hCG32392 Celera アノテーション
Hs00210319_m1	0	0.061489	0		TES	NM_015641.3; NM_152829.2	精巣由来転写産物(3つの LIM ドメイン);hCG39086 Celera アノテーション
Hs00218461_m1	0.18667	0	-0.125865		TMEM165	NR_073070.1; NM_018475.4	hCG20603 Celera アノテーション;膜貫通タンパク質165
Hs00219487_m1	0.32643	0	-0.350154		TRMT13	NM_019083.2	hCG31836 Celera アノテーション;tRNA メチルトランスフェラーゼ13ホモログ(S.セレビシエ)
Hs00222418_m1	-0.08795	0.254466	0		PPCDC	NM_021823.3	ホスホパントテノイルシステインデカルボキシラーゼ;hCG21917 Celera アノテーション
Hs00222679_m1	0	0.072372	0		POLR2F; LOC100131530	NM_021974.3	ポリメラーゼ(RNA)II(DNA 依存性)ポリペプチド F;hCG41858 Celera アノテーション;未同定 LOC100131530
Hs00223060_m1	0	-0.12877	0.034889		ZNF335	NM_022095.3	ジンクフィンガータンパク質335;hCG40026 Celera アノテーション
Hs00225073_m1	0	0.661155	-0.183337		ZSCAN18	NM_001145544.1; NM_001145543.1; NM_023926.4; NM_001145542.1	hCG201365 Celera アノテーション;ジンクフィンガーおよび SCAN ドメイン含有18
Hs00226776_m1	0	0.198622	-0.254653		GIMAP6	NM_001244072.1; NM_001244071.1; NM_024711.5	hCG1655100 Celera アノテーション;GTP アーゼ、IMAP ファミリーメンバー6

【表１４Ｃ】

TLDA アッセイ ID	細菌	ウイルス	非感染性	グループ	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
Hs00231079_m1	0.0787	0	-0.089259		RUNX1	NM_001001890.2; NM_001754.4	runt 関連転写因子1;hCG2007747 Celera アノテーション
Hs00231368_m1	0.30434	0	-0.130472		SPI1	NM_001080547.1; NM_003120.2	脾フォーカス形成ウイルス(SFFV)プロウイルス組込み癌遺伝子;hCG25181 Celera アノテーション
Hs00232390_m1	0.22771	-0.39445	0		BATF	NM_006399.3	hCG22346 Celera アノテーション;塩基性ロイシンジッパー転写因子、ATF 様
Hs00234356_m1	0	0	-0.005804		TNFSF10	NR_033994.1; NM_003810.3	腫瘍壊死因子(リガンド)スーパーファミリー、メンバー10;hCG20249 Celera アノテーション
Hs00246543_s1	0	0.096747	0		HNRNPA0	NM_006805.3	hCG1639951 Celera アノテーション;ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 A0
Hs00258236_m1	0	0.067758	-0.014686		TUBB1	NM_030773.3	チューブリン、β1クラス VI;hCG28550 Celera アノテーション
Hs00259863_m1	-0.03861	0.156335	0		ORAI2	NM_001126340.2; NM_001271818.1; NM_032831.3	hCG1736771 Celera アノテーション;ORAI カルシウム放出活性化カルシウムモジュレータ2
Hs00266198_m1	-0.03709	0.174789	0		CEACAM8	NM_001816.3	癌胎児抗原関連細胞接着分子8;hCG21882 Celera アノテーション
Hs00269334_m1	0	0.11804	-0.054795		CAMK1	NM_003656.4	カルシウム/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ I;hCG21548 Celera アノテーション
Hs00290567_s1	0.10454	-0.57285	0		MSL1	NM_001012241.1	hCG31740 Celera アノテーション;雄特異的致死1ホモログ(ショウジョウバエ)
Hs00296064_s1	-0.11096	0.162636	0		CADM1	NM_014333.3; NM_001098517.1	細胞接着分子1
Hs00327390_s1	-0.27728	0.219012	0.023246		ERC1	NM_178040.2; NR_027949.1; NR_027946.1; NR_027948.1; NM_178039.2	ELKS/RAB6相互作用/CAST ファミリーメンバー1
Hs00331872_s1	0	-0.04877	0		ANKRD11	NM_013275.5; NM_001256182.1; NM_001256183.1	hCG1980824 Celera アノテーション;アンキリンリピートドメイン11
Hs00355782_m1	0	0	0		CDKN1A	NM_001220778.1; NM_001220777.1; NM_000389.4; NM_078467.2	サイクリン依存性キナーゼインヒビター1A(p21、Cip1);hCG15367 Celera アノテーション
Hs00357189_g1	0	0	0		RPL28	NM_001136137.1; NM_000991.4; NM_001136134.1; NM_001136135.1; NM_001136136.1	リボソームタンパク質 L28;hCG38234 Celera アノテーション
Hs00363282_m1	0	-0.39826	0.298323		LAPTM4B	NM_018407.4	リソソームタンパク質膜貫通4β;hCG2008559 Celera アノテーション

【表１４Ｄ】

TLDA アッセイ ID	細菌	ウイルス	非感染性	グループ	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
Hs00366465_m1	0	0	0		NLRP3	NM_001127461.2; NM_001079821.2; NM_001243133.1; NM_004895.4; NM_001127462.2; NM_183395.2	NLR ファミリー、パイリンドメイン含有3;hCG1982559 Celera アノテーション
Hs00367895_m1	0	0	0		ARHGAP12	NM_001270698.1; NM_001270697.1; NM_018287.6; NM_001270699.1; NM_001270696.1; NM_001270695.1	Rho GTP アーゼ活性化タンパク質12;hCG2017264 Celera アノテーション
Hs00378456_m1	0	0	0		SEC24A	NM_021982.2; NM_001252231.1	SEC24ファミリー、メンバーA(S.セレビシエ);hCG1981418 Celera アノテーション
Hs00381767_m1	-0.08167	-0.02155	0.251085		KIAA1324	NR_049774.1; NM_020775.4; NM_001267049.1; NM_001267048.1	hCG1997600 Celera アノテーション;KIAA1324
Hs00390076_m1	-0.4019	0	0.306895		ATG2A	NM_015104.2	hCG2039982 Celera アノテーション;オートファジー関連2A
Hs00414018_m1	0	0	0		DEFA3; DEFA1; DEFA1B	NM_004084.3; NM_005217.3; NM_001042500.1	デフェンシン、α3、好中球特異性;デフェンシン、α1;デフェンシン、α1B
Hs00537765_m1	0.12016	0	-0.311567		CPNE1	NM_001198863.1; NM_152926.2; NR_037188.1; NM_152927.2; NM_152925.2; NM_152928.2; NM_003915.5	コピン I;hCG38213 Celera アノテーション
Hs00541789_s1	0	0	0		TMPRSS6	NM_153609.2	hCG2011224 Celera アノテーション;膜貫通プロテアーゼ、セリン6
Hs00545603_m1	-0.15652	0	0.157219		CBX7	NM_175709.3	クロモボックスホモログ7;hCG41710 Celera アノテーション
Hs00606568_gH	0	0.024977	0		GCAT	NM_014291.3; NM_001171690.1	hCG41842 Celera アノテーション;グリシン C-アセチルトランスフェラーゼ
Hs00609948_m1	-0.1261	0	0.132035		ITPR3	NM_002224.3	hCG40301 Celera アノテーション;イノシトール1,4,5-三リン酸受容体、3型
Hs00705137_s1	0	0.190805	-0.207955		IFITM1	NM_003641.3	インターフェロン誘導性膜貫通タンパク質1;hCG1741134 Celera アノテーション
Hs00705989_s1	0	0.264586	-0.237834		SERTAD3	NM_203344.2; NM_013368.3	SERTA ドメイン含有3;hCG201413 Celera アノテーション
Hs00706565_s1	0	0.247956	-0.127891		RPP25	NM_017793.2	リボヌクレアーゼ P/MRP 25kDa サブユニット;hCG1643228 Celera アノテーション
Hs00711162_s1	-0.01602	0.105815	0		CYP2A13; CYP2A7; CYP2A6	NM_000764.2; NM_030589.2; NM_000766.4; NM_000762.5	チトクロム P450、ファミリー2、サブファミリーA、ポリペプチド13;チトクロム P450、ファミリー2、サブファミリーA、ポリペプチド7;チトクロム P450、ファミリー2、サブファミリーA、ポリペプチド6;hCG2039740 Celera アノテーション;hCG1780445 Celera アノテーション

【表１４Ｅ】

TLDA アッセイ ID	細菌	ウイルス	非感染性	グループ	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
Hs00734212_m1	0.03633	-0.10881	0		HLA-DRB3; HLA-DRB1	NM_022555.3	hCG2001518 Celera アノテーション;主要組織適合抗原複合体、クラス II、DR β3;主要組織適合抗原複合体、クラス II、DR β1
Hs00738661_m1	-0.2813	0	0.255274		FAM134C	NR_026697.1; NM_178126.3	配列類似性を有するファミリー134、メンバー C;hCG2043027 Celera アノテーション
Hs00793604_m1	0	0	-0.392469		YWHAB	NM_003404.4; NM_139323.3	hCG38378 Celera アノテーション;チロシン3モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質、βポリペプチド
Hs00820148_g1	0	0	0.082524		TGIF1	NM_173207.2; NM_003244.3; NM_001278682.1; NM_170695.3; NM_001278686.1; NM_001278684.1; NM_173210.2; NM_173209.2; NM_173208.2; NM_174886.2; NM_173211.1	TGFB 誘導性因子ホメオボックス1;hCG1994498 Celera アノテーション
Hs00852566_g1	0	0	0.090784		BTF3	NM_001207.4; NM_001037637.1	hCG37844 Celera アノテーション;塩基性転写因子3
Hs00855185_g1	0.22884	-0.16129	0		ARPC3	NM_001278556.1; NM_005719.2	hCG1787850 Celera アノテーション;hCG1730237 Celera アノテーション;アクチン関連タンパク質2/3複合体、サブユニット3、21kDa
Hs00893626_m1	0	0	-0.131321		IL1RN	NM_000577.4; NM_173841.2; NM_173842.2; NM_173843.2	hCG1733963 Celera アノテーション;インターロイキン1受容体アンタゴニスト
Hs00905708_m1	0	0	0		SLC9A8	NM_001260491.1; NR_048537.1; NR_048538.1; NR_048539.1; NR_048540.1; NM_015266.2	溶質輸送体ファミリー9、サブファミリーA(NHE8;カチオン/プロトンアンチポーター8)、メンバー8;hCG37890 Celera アノテーション
Hs00928897_s1	0	0	0		CCR1	NM_001295.2	hCG15324 Celera アノテーション;ケモカイン(C-C モチーフ)受容体1
Hs00950814_g1	0	0	0.035502		NCR1	NM_001145457.2; NM_001242356.2; NM_004829.6	hCG19670 Celera アノテーション;天然細胞傷害誘発受容体1
Hs00951428_m1	0	0.113402	0		DSC2	NM_024422.3; NM_004949.3	hCG24896 Celera アノテーション;デスモコリン2
Hs00961932_s1	0	0	0		H1F0	NM_005318.3	hCG1641126 Celera アノテーション;H1ヒストンファミリー、メンバー0
Hs00963477_g1	0	-0.00884	0		RPS21	NM_001024.3	hCG41768 Celera アノテーション;リボソームタンパク質 S21
Hs00971739_g1	0	0.128754	0		SAT1	NR_027783.1; NM_002970.2	hCG17885 Celera アノテーション;スペルミジン/スペルミン N1-アセチルトランスフェラーゼ1
Hs00972289_g1	-0.36317	0.301793	0.148178		CTBP1	NM_001012614.1; NM_001328.2	hCG1981976 Celera アノテーション;C 末端結合タンパク質1
Hs00978711_m1	0	-0.19534	0.079881		SH3BP1	NM_018957.3	hCG41861 Celera アノテーション;SH3ドメイン結合タンパク質1

【表１４Ｆ】

TLDA アッセイ ID	細菌	ウイルス	非感染性	グループ	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
Hs00980756_m1	0	-0.27613	0.042497		GGT1	NM_001032364.2; NM_001032365.2; NM_005265.2; NM_013430.2	γ-グルタミルトランスフェラーゼ1;hCG2010666 Celera アノテーション
Hs00982607_m1	0	0	0		NINJ1	NM_004148.3	ニンジュリン1;hCG18015 Celera アノテーション
Hs00984390_m1	0	0.074028	-0.022201		OASL	NM_198213.2; NM_003733.3	hCG27362 Celera アノテーション;2'-5'-オリゴアデニル酸シンテターゼ様
Hs00985319_m1	-0.01147	0.079048	0		HEATR1	NM_018072.5	HEAT リピート含有1;hCG25461 Celera アノテーション
Hs00988063_m1	-0.08452	0.168519	0		SIGLEC1	NM_023068.3	hCG39260 Celera アノテーション;シアル酸結合 Ig 様レクチン1、シアロアドヘシン
Hs01001427_m1	0.04332	-0.60556	0		CDK5RAP2	NR_073558.1; NR_073554.1; NR_073555.1; NR_073556.1; NM_001272039.1; NR_073557.1; NM_001011649.2; NM_018249.5	hCG27455 Celera アノテーション;CDK5制御サブユニット関連タンパク質2
Hs01002913_g1	0	0	0		CD40	NM_152854.2; NM_001250.4	hCG40016 Celera アノテーション;CD40分子、TNF 受容体スーパーファミリーメンバー5
Hs01005222_m1	0	0.326033	0		SRBD1	NM_018079.4	S1 RNA 結合ドメイン1;hCG1987258 Celera アノテーション
Hs01017992_g1	0	0	0.179899		CYP27A1	NM_000784.3	hCG15569 Celera アノテーション;チトクロム P450、ファミリー27、サブファミリーA、ポリペプチド1
Hs01021250_m1	0.01799	0.196899	-0.140181		MTMR1	NM_003828.2	hCG1640369 Celera アノテーション;ミオチュブラリン関連タンパク質1
Hs01029870_m1	0	-0.58215	0.22929		ARL1	NM_001177.4	hCG1782029 Celera アノテーション;ADP リボシル化因子様1
Hs01032528_m1	0	-0.36595	0.410577		HERC1	NM_003922.3	hCG1818283 Celera アノテーション;HECT および RLD ドメイン含有 E3ユビキチン・タンパク質リガーゼファミリーメンバー1
Hs01038134_m1	-0.13717	0.004773	0.049685		STAP1	NM_012108.2	シグナル伝達アダプターファミリーメンバー1;hCG40344 Celera アノテーション
Hs01040170_m1	0.04344	-0.17845	-0.052769		FAM13A	NM_014883.3; NM_001265578.1; NM_001015045.2; NM_001265580.1; NM_001265579.1	hCG39059 Celera アノテーション;配列類似性を有するファミリー13、メンバーA
Hs01055743_m1	-0.30697	0	0.257693		CLC	NM_001828.5	hCG43348 Celera アノテーション;シャルコー・ライデン結晶ガレクチン
Hs01057000_m1	0	-0.68353	0.082116		KIDINS220	NM_020738.2	hCG23067 Celera アノテーション;キナーゼ D 相互作用基質、220kDa
Hs01057217_m1	-0.45125	0.327746	0.070281		PDE3B	NM_000922.3	ホスホジエステラーゼ3B、cGMP 抑制性;hCG23682 Celera アノテーション

【表１４Ｇ】

TLDA アッセイ ID	細菌	ウイルス	非感染性	グループ	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
Hs01072230_g1	0	-0.00364	0.169878		CHI3L1	NM_001276.2	キチナーゼ3様1(軟骨糖タンパク質39);hCG24326 Celera アノテーション
Hs01082884_m1	0.29147	-0.1223	0		IRF2	NM_002199.3	hCG16244 Celera アノテーション;インターフェロン制御因子2
Hs01085704_g1	0	0	0		SLC29A1	NM_001078174.1; NM_004955.2; NM_001078177.1; NM_001078176.2; NM_001078175.2	hCG19000 Celera アノテーション;溶質輸送体ファミリー29(受動拡散型ヌクレオシドトランスポーター)、メンバー1
Hs01086373_g1	-0.11199	0.274551	-0.063877		IFI27	NM_005532.3; NM_001130080.1	インターフェロン、α-誘導性タンパク質27;hCG22330 Celera アノテーション
Hs01086851_m1	0.37999	-0.28298	0		SMPD1	NM_001007593.2; NM_000543.4	スフィンゴミエリンホスホジエステラーゼ1、酸リソソーム;hCG24080 Celera アノテーション
Hs01090981_m1	0	0	0		KRIT1	NM_194456.1; NM_194454.1; NM_004912.3; NM_001013406.1; NM_194455.1	hCG1812017 Celera アノテーション;KRIT1、アンキリンリピート含有
Hs01092173_m1	0.09825	0	0		SIRPB1	NM_001083910.2; NM_006065.3	シグナル制御タンパク質β1;hCG39419 Celera アノテーション
Hs01099244_m1	0.01588	-0.22063	0.055484		CCDC19	NM_012337.2	hCG39740 Celera アノテーション;コイルドコイルドメイン含有19
Hs01115711_m1	0.2568	0	-0.127859		MCTP1	NM_001002796.2; NM_024717.4	マルチプル C2ドメイン、膜貫通1;hCG1811111 Celera アノテーション
Hs01117053_m1	0	0	0		EXOC7	NR_028133.1	エクソシスト複合体成分7;hCG40887 Celera アノテーション
Hs01122669_m1	0	-0.03893	0.066177		TAF4	NM_003185.3	hCG41771 Celera アノテーション;TAF4 RNA ポリメラーゼ II、TATA ボックス結合タンパク質(TBP)関連因子、135kDa
Hs01128745_m1	0	0.031228	0		EMR3	NM_032571.3	hCG95683 Celera アノテーション;egf 様モジュール含有、ムチン様、ホルモン受容体様3
Hs01549264_m1	0.02825	-0.12496	0			NM_000804.2	hCG1640300 Celera アノテーション;葉酸受容体3(γ)
Hs01568119_m1	0	0.181259	-0.076525		TNFAIP3	NM_001270508.1; NM_006290.3; NM_001270507.1	hCG16787 Celera アノテーション;腫瘍壊死因子、α-誘導性タンパク質3
Hs01911452_s1	0	0	0		IFIT1	NM_001548.4; NM_001270928.1; NM_001270927.1; NM_001270930.1; NM_001270929.1	hCG24571 Celera アノテーション;テトラトリコペプチドリピート1を有するインターフェロン誘導性タンパク質1
Hs02567906_s1	-0.22881	0.019641	0		RABGAP1L	NM_001243763.1; NM_014857.4; NM_001035230.2	hCG2024869 Celera アノテーション;RAB GTP アーゼ活性化タンパク質1様
Hs02569575_s1	0	0	-0.12916		SCAPER	NM_001145923.1; NM_020843.2	hCG40799 Celera アノテーション;ER における S 期サイクリン A 関連タンパク質

【表１４Ｈ】

TLDA アッセイ ID	細菌	ウイルス	非感染性	グループ	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
Hs03037970_g1	0	0	0		DUX4L7; DUX4L5; DUX4L6; DUX4L2; DUX2; DUX4; LOC100653046; DUX4L; DUX4L4; DUX4L3	NM_001278056.1; NM_001164467.2; NR_038191.1; NM_001177376.2; NM_012147.4; NM_001127389.2; NM_001127388.2; NM_001127387.2; NM_033178.4; NM_001127386.2	二重ホメオボックス4様7;二重ホメオボックス4様5;二重ホメオボックス2;二重ホメオボックス4様2;二重ホメオボックス4様6;二重ホメオボックス4;二重ホメオボックスタンパク質4様;二重ホメオボックス4様;二重ホメオボックス4様4;二重ホメオボックス4様3
Hs03045111_g1	-0.02913	0.054676	0		LY6E	NM_002346.2; NM_001127213.1	hCG1765592 Celera アノテーション;リンパ球抗原6複合体、遺伝子座 E
Hs03055204_s1	0	0	0		KIAA0754	NM_015038.1	KIAA0754
Hs03989560_s1	-0.28689	0.169135	0.040358		GLUD1	NM_005271.3	グルタミン酸デヒドロゲナーゼ1
Hs04187383_m1	0	0	0		TST	NM_003312.5; NM_001270483.1	チオ硫酸サルファトランスフェラーゼ(ロダネーゼ);hCG41451 Celera アノテーション
Hs00969305_m1	0	-0.50526	0	InTxAlternate	TNFAIP2	NM_006291.2	腫瘍壊死因子、α-誘導性タンパク質2;hCG22889 Celera アノテーション
Hs00180880_m1	0	0	0	汎ウイルス	LAMP3	NM_014398.3	リソソーム関連膜タンパク質3;hCG16067 Celera アノテーション
Hs00182073_m1	0	0.043305	0	汎ウイルス	MX1	NM_002462.3; NM_001144925.1; NM_001178046.1	ミクソウイルス(インフルエンザウイルス)耐性1;インターフェロン誘導性タンパク質 p78(マウス);hCG401239 Celera アノテーション
Hs00213443_m1	0	0.009468	-0.051318	汎ウイルス	OAS2	NM_016817.2	2'-5'-オリゴアデニル酸シンテターゼ2、69/71kDa;hCG38536 Celera アノテーション
Hs00223342_m1	0	0	0	汎ウイルス	RTP4	NM_022147.2	hCG1653633 Celera アノテーション;受容体(化学受容性)トランスポータータンパク質4
Hs00242571_m1	0	0	-0.078103	汎ウイルス	IFI6	NM_022873.2; NM_002038.3; NM_022872.2	インターフェロン、α-誘導性タンパク質6;hCG1727099 Celera アノテーション
Hs00276441_m1	0	0.033981	-0.048548	汎ウイルス	USP18	NM_017414.3	ユビキチン特異的ペプチダーゼ18;hCG21533 Celera アノテーション
Hs00369813_m1	-0.02854	0	0	汎ウイルス	RSAD2	NM_080657.4	hCG23898 Celera アノテーション;ラジカル S-アデノシルメチオニンドメイン含有2
Hs00910173_m1	0	0.065635	-0.003951	汎ウイルス	ATF3	NM_001030287.3; NM_001206484.2; NM_001206488.2; NM_001674.3	hCG37734 Celera アノテーション;活性化転写因子3

【表１４Ｉ】

TLDA アッセイ ID	細菌	ウイルス	非感染性	グループ	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
Hs00910209_g1	-0.00172	0.07212	0	汎ウイルス	SEP4	NM_080416.2; NM_004574.3; NM_001256822.1; NM_080415.2; NM_001256782.1; NR_037155.1; NM_001198713.1	セプチン4;hCG30696 Celera アノテーション
Hs00915294_g1	0	0	0	汎ウイルス	IFI44L	NM_006820.2	hCG24062 Celera アノテーション;インターフェロン誘導性タンパク質44様
Hs00934282_g1	0	0	0	汎ウイルス	OAS3	NM_006187.2	2'-5'-オリゴアデニル酸シンテターゼ3、100kDa;hCG40370 Celera アノテーション
Hs00934330_m1	0	0.065027	0	汎ウイルス	SERPING1	NM_000062.2; NM_001032295.1	セルピンペプチダーゼインヒビター、クレイド G(C1インヒビター)、メンバー1;hCG39766 Celera アノテーション
Hs00951349_m1	0	0	0	汎ウイルス	IFI44	NM_006417.4	インターフェロン誘導性タンパク質44;hCG24065 Celera アノテーション
Hs00973637_m1	0	0	-0.060351	汎ウイルス	OAS1	NM_001032409.1; NM_016816.2; NM_002534.2	2'-5'-オリゴアデニル酸シンテターゼ1、40/46kDa;hCG40366 Celera アノテーション
Hs01016364_m1	0	0	0	汎ウイルス	SPATS2L	NM_001100422.1; NM_015535.2; NM_001100424.1; NM_001100423.1	精子形成関連、セリンリッチ2様;hCG1811464 Celera アノテーション
Hs01061436_m1	0	0.01828	-0.042268	汎ウイルス	DDX58	NM_014314.3	DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)ボックスポリペプチド58;hCG1811781 Celera アノテーション
Hs01061821_m1	0	0	0	汎ウイルス	HERC5	NM_016323.3	HECT および RLD ドメイン含有 E3ユビキチン・タンパク質リガーゼ5;hCG1813153 Celera アノテーション
Hs01113602_m1	0.05847	0	-0.206842	汎ウイルス	TNFAIP6	NM_007115.3	hCG41965 Celera アノテーション;腫瘍壊死因子、α-誘導性タンパク質6
Hs01550142_m1	0	-0.06086	0	汎ウイルス	XAF1	NR_046398.1; NM_199139.2; NM_017523.3; NR_046396.1; NR_046397.1	hCG1777063 Celera アノテーション;XIAP 関連因子1
Hs01921425_s1	0	0.018167	-0.032153	汎ウイルス	ISG15	NM_005101.3	ISG15ユビキチン様モディファイヤー;hCG1771418 Celera アノテーション
Hs01922738_s1	-0.0409	0.185197	-0.007029	汎ウイルス	IFIT2	NM_001547.4	テトラトリコペプチドリピートを有するインターフェロン誘導性タンパク質2;hCG1643352 Celera アノテーション
Hs01922752_s1	0	0	0	汎ウイルス	IFIT3	NM_001549.4; NM_001031683.2	hCG24570 Celera アノテーション;テトラトリコペプチドリピートを有するインターフェロン誘導性タンパク質3
Hs03027069_s1	-0.00733	0	0	汎ウイルス	IFIT1	NM_001548.4; NM_001270928.1; NM_001270927.1; NM_001270930.1; NM_001270929.1	テトラトリコペプチドリピートを有するインターフェロン誘導性タンパク質1;hCG24571 Celera アノテーション
Hs00191646_m1	0	0	0	置き換え	POLR1C	NM_203290.2	ポリメラーゼ(RNA)I ポリペプチド C、30kDa;hCG18995 Celera アノテーション

【表１４Ｊ】

TLDA アッセイ ID	細菌	ウイルス	非感染性	グループ	遺伝子記号	参照配列 ID	遺伝子名
Hs00208436_m1	0	0.013116	0	置き換え	CD302; LY75-CD302	NM_014880.4; NM_001198763.1; NM_001198760.1; NM_001198759.1	CD302分子;hCG40834 Celera アノテーション;LY75-CD302リードスルー
Hs00297285_m1	0	-0.46905	0	置き換え	TLDC1	NM_020947.3	TBC/LysM 関連ドメイン含有1;hCG39793 Celera アノテーション
Hs00331902_s1	0	-0.45598	0.236611	置き換え	GIT2	NM_057170.3; NM_014776.3; NM_001135213.1; NM_001135214.1; NM_057169.3	hCG38510 Celera アノテーション;G タンパク質共役型受容体キナーゼ相互作用性 ArfGAP 2
Hs00363401_g1	0	0	-0.077823	置き換え	EXOSC4	NM_019037.2	hCG1747868 Celera アノテーション;エキソソーム成分4
Hs00960912_m1	0	0.26766	0	置き換え	MRPS31	NM_005830.3	ミトコンドリアリボソームタンパク質 S31;hCG32763 Celera アノテーション
Hs00985251_m1	0.10711	-0.17404	0	置き換え	IFNGR2	NM_005534.3	インターフェロンγ受容体2(インターフェロンγトランスデューサー1);hCG401179 Celera アノテーション
Hs01015796_m1	0	0.189857	0	置き換え	ICAM2	NM_001099786.1; NM_001099787.1; NM_001099788.1; NM_001099789.1; NM_000873.3	細胞間接着分子2;hCG41817 Celera アノテーション
Hs01035290_m1	-0.05606	0.248968	0	置き換え	EXOG	NM_005107.3; NM_001145464.1	エンド/エキソヌクレアーゼ(5'-3');エンドヌクレアーゼ G 様;hCG40337 Celera アノテーション
Hs01086126_m1	0	0	0	置き換え	ELF4	NM_001421.3; NM_001127197.1	E74様因子4(ets ドメイン転写因子);hCG21000 Celera アノテーション
Hs01115240_m1	0	-0.79464	0.589673	置き換え	ZER1	NM_006336.3	zyg-11関連;細胞周期制御因子;hCG1788209 Celera アノテーション
Hs01553131_m1	0	-0.26139	0.697495	置き換え	FNBP4	NM_015308.2	ホルミン結合タンパク質4;hCG25190 Celera アノテーション

【０２０７】

この明細書で言及されたいかなる特許または刊行物も当業者のレベルを示す。これらの特許および刊行物は、あたかも各個々の刊行物が参照により組み入れられていることを具体的かつ個々に示されているかのように、同じ程度で参照により本明細書に組み入れられている。矛盾する場合、定義を含む本明細書が支配する。

【０２０８】

本発明を、対象物を実行し、かつ言及された目的および利点、加えてそれに固有のものを得るように十分適応させることは、当業者は容易に認識しているだろう。本明細書に記載された本開示は、現在、好ましい実施形態を表し、例示的であり、かつ本発明の範囲への限定として意図するものではない。その変化および他の使用が、当業者に思い浮かぶだろうし、それらは、特許請求の範囲によって定義されているような本発明の精神の内に包含される。

【図面】

【図１】

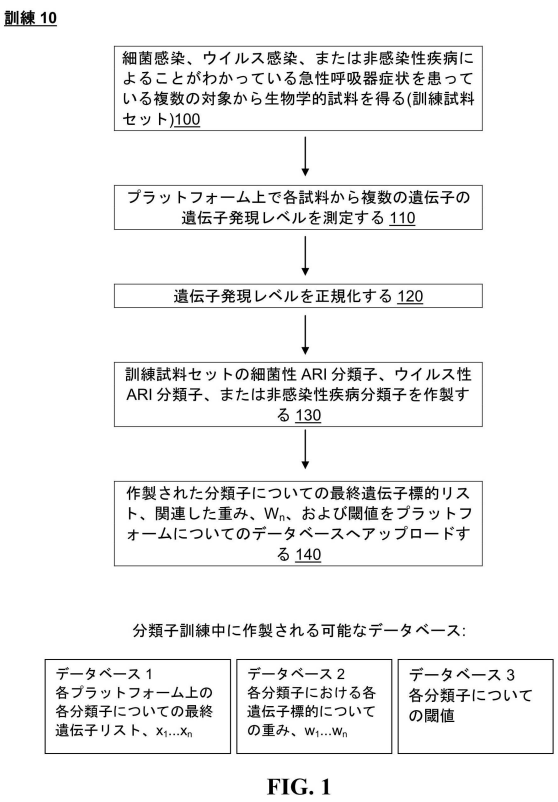

FIG. 1

【図２】

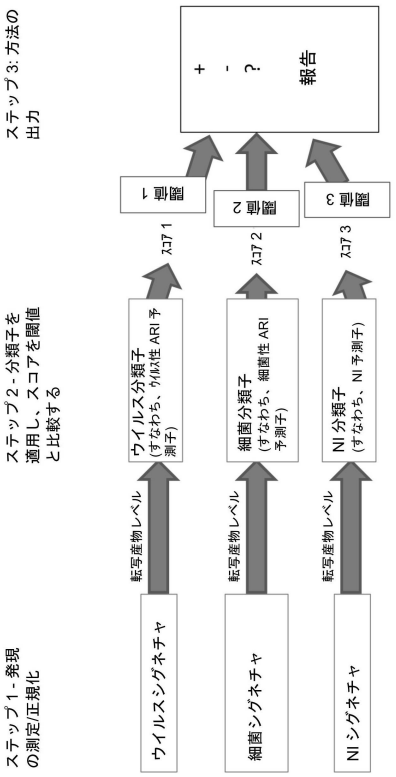

FIG. 2

【図３】

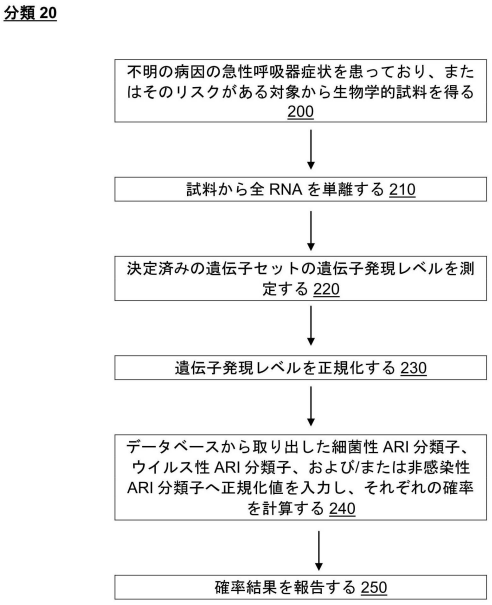

FIG. 3

【図４】

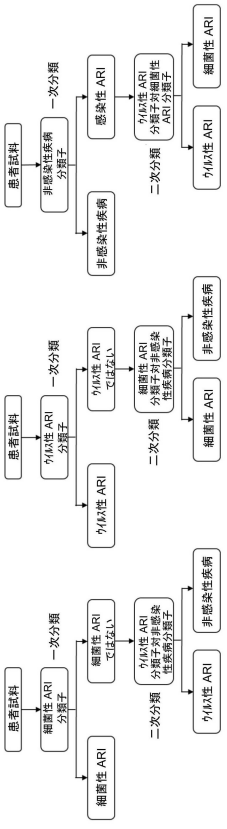

FIG. 4

【図５】

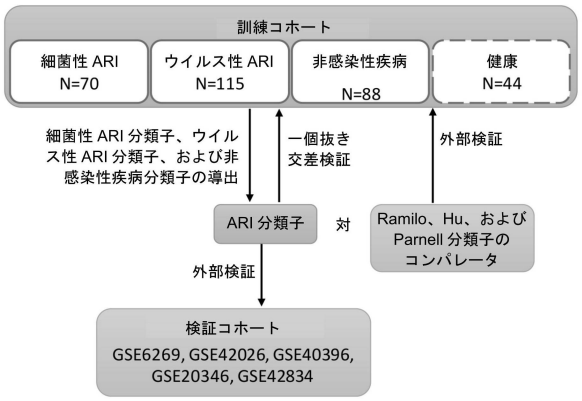

FIG. 5

【図６】

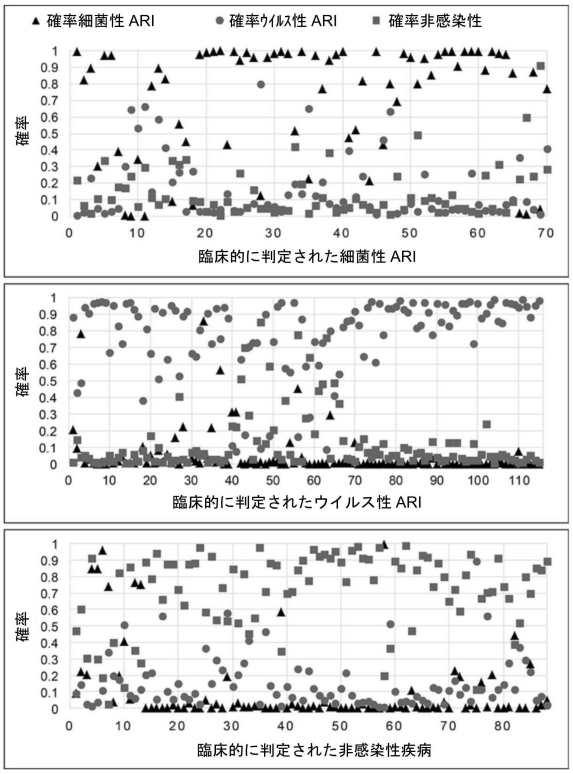

FIG. 6

【図７】

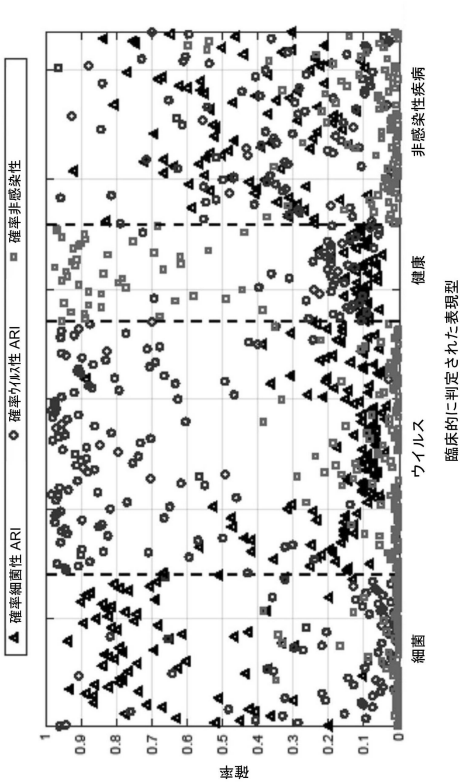

FIG. 7

【図８】

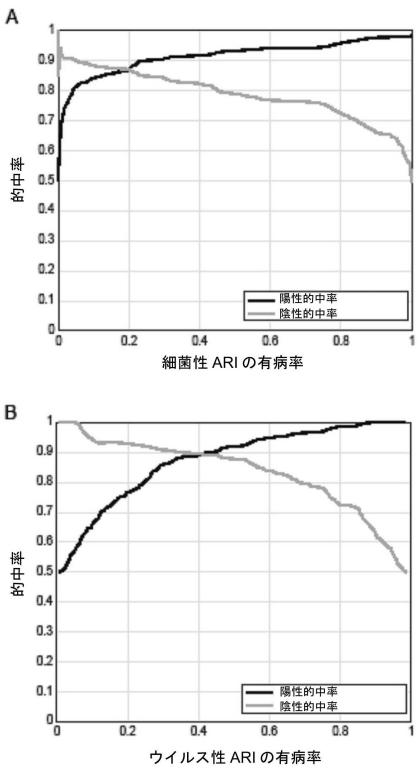

FIG. 8

【図９】

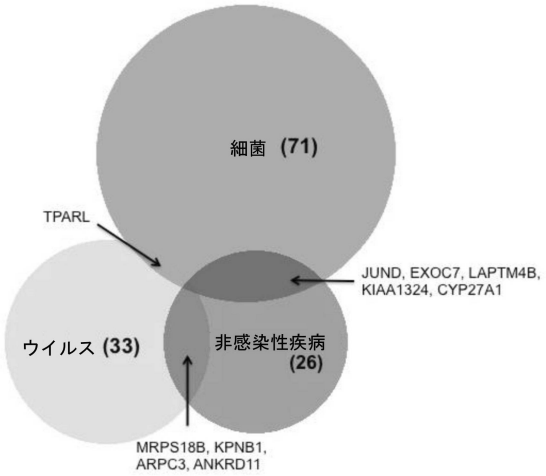

FIG. 9

【図１０】

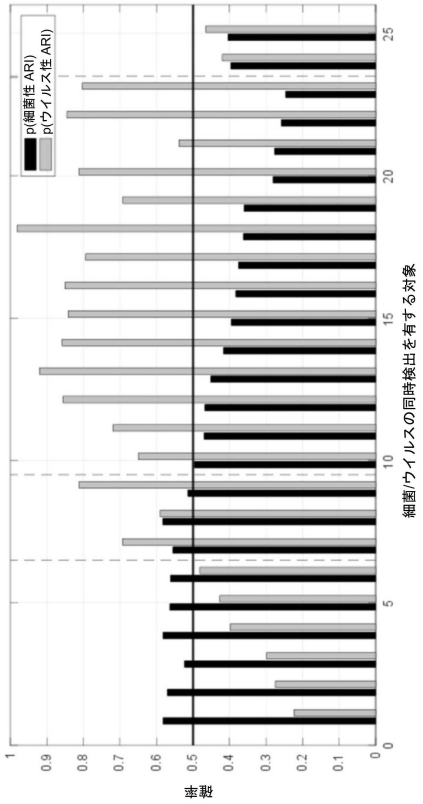

FIG. 10

【図１１】

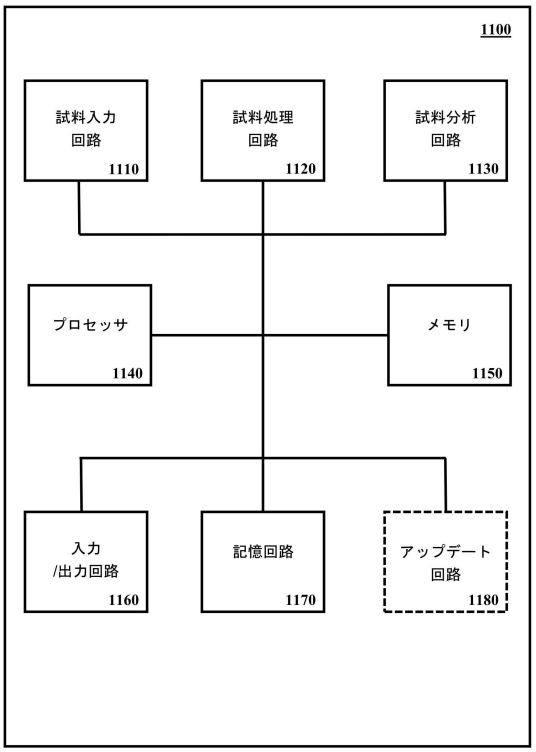

FIG. 11

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI		
A61P	*11/00*	*(2006.01)*	A61P	11/00	
A61P	*37/04*	*(2006.01)*	A61P	37/04	
A61K	*39/00*	*(2006.01)*	A61K	39/00	A
A61K	*45/00*	*(2006.01)*	A61K	45/00	
C12M	*1/34*	*(2006.01)*	C12M	1/34	B
C12N	*15/09*	*(2006.01)*	C12N	15/09	Z ZNA

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

前置審査

５１９，ケアリー，クリークベリー・コート １０３
(72)発明者 エナオ・ヒラルド，リカルド
アメリカ合衆国ノースカロライナ州２７７０５，ダーラム，セッジフィールド・ストリート １２０９Ｂ
(72)発明者 バーク，トーマス・ダブリュー
アメリカ合衆国ノースカロライナ州２７７１３，ダーラム，アプトン・コート １０
(72)発明者 ギンズバーグ，ジェフリー・エス
アメリカ合衆国ノースカロライナ州２７７０５，ダーラム，トゥウィン・マウンテン・ロード １０６
(72)発明者 ウッズ，クリストファー・ダブリュー
アメリカ合衆国ノースカロライナ州２７７０７，ダーラム，ウェスト・フォレスト・ヒルズ・ブールヴァード １０２４
(72)発明者 マクレイン，ミカ・ティー
アメリカ合衆国ノースカロライナ州２７７０７，ダーラム，アイヴィ・メドウ・レイン ６００－３Ｆ

審査官 原 大樹

(56)参考文献 Parnell et al.，Critical Care，2012年，Vol.16, R157
Octavio Ramilo et al.，Immunobiology，2007年，Vol.109, No.5，p.2066-2077

(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｑ
Ｃ１２Ｎ
Ｃ１２Ｍ
Ａ６１Ｋ
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ／ＷＰＩＤＳ（ＳＴＮ）
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）