(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第5444363号
(P5444363)
(45)発行日　平成26年3月19日(2014.3.19)　(24)登録日　平成25年12月27日(2013.12.27)

(51)Int.Cl.　F I
G01N 33/53 (2006.01)　G01N 33/53　D
G01N 33/68 (2006.01)　G01N 33/68

請求項の数 18　(全 36 頁)

(21)出願番号　特願2011-533486(P2011-533486)
(86)(22)出願日　平成21年10月29日(2009.10.29)
(65)公表番号　特表2012-507012(P2012-507012A)
(43)公表日　平成24年3月22日(2012.3.22)
(86)国際出願番号　PCT/AU2009/001413
(87)国際公開番号　WO2010/048670
(87)国際公開日　平成22年5月6日(2010.5.6)
審査請求日　平成24年9月4日(2012.9.4)
(31)優先権主張番号　2008905617
(32)優先日　平成20年10月31日(2008.10.31)
(33)優先権主張国　オーストラリア(AU)

(73)特許権者　510029885
セントビンセンツ　ホスピタル　シドニー　リミテッド
オーストラリア国　ニューサウスウェールズ２０１０　ダーリングハースト　ヴィクトリアストリート　センターフォーイミュノロジー
(74)代理人　100107984
弁理士　廣田　雅紀
(72)発明者　ブレイト　サミュエル　ノーバート
オーストラリア国　ニューサウスウェールズ２０７２　ゴードン　カーロッタアヴェニュー３３

最終頁に続く

(54)【発明の名称】慢性腎疾患における予後判定の方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
慢性腎疾患（ＣＫＤ）試験対象の、あらゆる医学的原因に基づく死因による死亡可能性を予測する方法であって、前記対象由来の試験血液試料において上昇したＭＩＣ－１量を検出するステップを含み、前記上昇したＭＩＣ－１量が前記対象の死亡可能性の増加と関連している方法。
【請求項２】
試験血液試料における上昇したＭＩＣ－１量が、
（ｉ）前記試験血液試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び
（ii）前記ＭＩＣ－１量を、より早期の時点で同一の対象から採取した比較用血液試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較するステップ
による連続測定を用いることにより検出され、
ステップ（ｉ）において存在する前記ＭＩＣ－１量が、前記比較用血液試料（複数可）中に存在する前記ＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して上昇している、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
試験血液試料における上昇したＭＩＣ－１量が、
（ｉ）前記試験血液試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び
（ii）前記ＭＩＣ－１量を、正常対象（複数可）から採取した比較用血液試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較するステップ

による正常対象との比較により検出され、
ステップ（ｉ）において存在する前記ＭＩＣ－１量が、前記比較用血液試料（複数可）中に存在する前記ＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して上昇している、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
試験血液試料における上昇したＭＩＣ－１量が、
（ｉ）前記試験血液試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び
（ii）前記ＭＩＣ－１量を、末期腎疾患を有すると診断されている少なくとも１人の他の対象から採取した比較用血液試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較するステップ
による末期腎疾患対象との比較により検出され、
ステップ（ｉ）において存在する前記ＭＩＣ－１量が、前記比較用血液試料（複数可）中に存在する前記ＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して高いとき、前記試験対象の死亡可能性は前記少なくとも１人の他の対象と比較して高い、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
慢性腎疾患（ＣＫＤ）試験対象の、あらゆる医学的原因に基づく死因による死亡可能性を予測する方法であって、
（ｉ）前記対象由来の試験血液試料においてＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び
（ii）ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量を、前記対象の死亡可能性の増加と関連している上昇したＭＩＣ－１量であるＭＩＣ－１の基準量と比較するステップ
を含み、
ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量が前記基準量より多いか又は実質的に同等であるとき前記対象の死亡可能性が増加しており、ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量が前記基準量より少ないとき前記対象の死亡可能性が低下している方法。
【請求項６】
腎移植すべき末期腎疾患試験対象を選択する方法であって、前記対象由来の試験血液試料において上昇したＭＩＣ－１量を検出することを含み、前記上昇したＭＩＣ－１量が腎移植を行わない場合の前記対象の死亡可能性の増加と関連している方法。
【請求項７】
（ｉ）対象由来の試験血液試料においてＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び
（ii）ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量を、腎移植を行わない場合の前記対象の死亡可能性の増加と関連しているＭＩＣ－１の基準量と比較するステップ
を含み、
ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量が前記基準量より多いか又は実質的に同等であるとき、腎移植を行わない場合の前記対象の死亡可能性が増加しており、ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量が前記基準量より少ないとき、腎移植を行わない場合の前記対象の死亡可能性が低下している、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
試験血液試料における上昇したＭＩＣ－１量が、
（ｉ）前記試験血液試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び
（ii）前記ＭＩＣ－１量を、より早期の時点で同一の対象から採取した比較用血液試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較するステップ
による連続測定を用いることにより検出され、
ステップ（ｉ）において存在する前記ＭＩＣ－１量が、前記比較用血液試料（複数可）中に存在する前記ＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して上昇している、請求項６に記載の方法。
【請求項９】
試験血液試料における上昇したＭＩＣ－１量が、
（ｉ）前記試験血液試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び

（ii）前記ＭＩＣ－１量を、正常対象（複数可）から採取した比較用血液試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較するステップ
による正常対象との比較により検出され、
ステップ（ｉ）において存在する前記ＭＩＣ－１量が、前記比較用血液試料（複数可）中に存在する前記ＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して上昇している、請求項６に記載の方法。
【請求項１０】
試験血液試料における上昇したＭＩＣ－１量が、
（ｉ）前記試験血液試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び
（ii）前記ＭＩＣ－１量を、末期腎疾患を有すると診断されている少なくとも１人の他の対象から採取した比較用血液試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較するステップ
による末期腎疾患対象との比較により検出され、
ステップ（ｉ）において存在する前記ＭＩＣ－１量が、前記比較用血液試料（複数可）中に存在する前記ＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して高いとき、前記試験対象の死亡可能性は前記少なくとも１人の他の対象と比較して増加している、請求項６に記載の方法。
【請求項１１】
透析を受けている末期腎疾患試験対象を前記透析に対する忍容性について評価する方法であって、前記対象由来の試験血液試料において上昇したＭＩＣ－１量を検出することを含み、前記上昇したＭＩＣ－１量が透析に対する低い忍容性と関連している方法。
【請求項１２】
（ｉ）対象由来の試験血液試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び
（ii）ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量を、透析の開始の前又は後であるより早期の時点（複数可）での前記試験対象、又は透析に対する長期的忍容性を有する末期腎疾患対照対象（複数可）から採取した比較用血液試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較するステップであって、ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量が、前記比較用血液試料（複数可）中に存在する前記ＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して高い量であるとき、前記対象の透析に対する忍容性は低い可能性があり、ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量が、前記比較用血液試料（複数可）中に存在する前記ＭＩＣ－１量又はその量の範囲より少ないか又は実質的に同等であるとき、前記対象は透析に対する忍容性を有する可能性があるステップ、或いは
（iii）ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量を、透析に対する長期的忍容性と関連しているＭＩＣ－１の基準量と比較するステップであって、ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量が前記ＭＩＣ－１の基準量と比較して高い量であるとき、前記対象の透析に対する忍容性は低い可能性があり、ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量が前記ＭＩＣ－１の基準量より少ないか又は実質的に同等であるとき、前記対象は透析に対する忍容性を有する可能性があるステップ
を含む、請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
肥満度指数（ＢＭＩ）の低下、肥満度指数の脂肪成分（ＦＢＭＩ）の低下、主観的包括的栄養評価（ＳＧＡ）スコアの低下、体重減少の亢進、血清Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）レベルの増加、フィブリノーゲンレベルの増加、及び８－ヒドロキシデオキシグアノシン（８－ＯＨｄＧ）レベルの増加からなる群から選択される少なくとも１つの死亡率予測因子を検出するステップをさらに含み、前記死亡率予測因子（複数可）が、既定のカットオフ点にあるか、又はそれを超えている、請求項１～１２のいずれかに記載の方法。
【請求項１４】
試験血液試料が、血清である、請求項１～１３のいずれかに記載の方法。
【請求項１５】

上昇したＭＩＣ－１量が、６０００ｐｇ／ｍｌを超える血清ＭＩＣ－１レベルであるか又はそれに相当する、請求項１～１４のいずれかに記載の方法。
【請求項１６】
上昇したＭＩＣ－１量が、７０００ｐｇ／ｍｌを超える血清ＭＩＣ－１レベルであるか又はそれに相当する、請求項１～１４のいずれかに記載の方法。
【請求項１７】
上昇したＭＩＣ－１量が、１４０００ｐｇ／ｍｌを超える血清ＭＩＣ－１レベルであるか又はそれに相当する、請求項１～１４のいずれかに記載の方法。
【請求項１８】
ＭＩＣ－１が、成熟ヒトＭＩＣ－１タンパク質、Ｄ６成熟ヒトＭＩＣ－１バリアントタンパク質及び／又はそのヘテロ二量体である、請求項１～１７のいずれかに記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、罹患対象の生存を予測する方法に関する。とりわけ、本発明は、慢性腎疾患を有する対象の生存を予測する方法に関する。
【０００２】
参照による組込み
本特許出願は、以下の説明において、
－国際特許出願ＰＣＴ／豪州仮特許出願第０１／００４５６号明細書（国際公開第０１／８１９２８号パンフレット）、
－国際特許出願ＰＣＴ／豪州仮特許出願第２００５／０００５２５号明細書（国際公開第２００５／０９９７４６号パンフレット）、及び
－国際特許出願ＰＣＴ／豪州仮特許出願第２００８／００１４９８号明細書（国際公開第２００９／０４６４９５号パンフレット）
を参照する。これらの明細書のそれぞれの全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。
【背景技術】
【０００３】
マクロファージ阻害サイトカイン（ＭＩＣ，macrophage inhibitory cytokine）－１は、トランスフォーミング増殖因子－β（ＴＧＦ－β，transforming growth factor-β）スーパーファミリータンパク質である。ＭＩＣ－１は、元はマクロファージ阻害性サイトカイン－１としてクローニングされ、後に胎盤由来のトランスフォーミング増殖因子－β（ＰＴＧＦ－β，placental transforming growth factor-β）、胎盤骨形成タンパク質（ＰＬＡＢ，placental bone morphogenetic protein）、非ステロイド性抗炎症薬活性化遺伝子１（ＮＡＧ－１，non-steroidal anti-inflammatory drug-activated gene 1）、前立腺由来因子（ＰＤＦ，prostate-derived factor）及び成長発育因子－１５（ＧＤＦ－１５，growth development factor-15）として同定された（Bootcov, MR et al. MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF-beta superfamily. Proc Natl Acad Sci U S A. 94(21):11514-9 (1997)、Hromas, R et al. PLAB, a novel placental bone morphogenetic protein. Biochim Biophys Acta 1354(1): 40-44 (1997)、Lawton, LN et al., Identification of a novel member of the TGF-beta superfamily highly expressed in human placenta. Gene 203:17-26 (1997)、Yokoyama-Kobayashi, M et al. Human cDNA encoding a novel TGF-beta superfamily protein highly expressed in placenta. J Biochem 122(3):622-626 (1997)、Paralkar, VM et al. Cloning and characterization of a novel member of the transforming growth factor-beta/bone morphogenetic protein family. J Biol Chem 273 (22):13760-13767 (1998)）。他のＴＧＦ－β関連サイトカインと同様、ＭＩＣ－１は、ジスルフィド結合によるホモ二量体化を起こしている不活性な前駆体タンパク質として合成される。Ｎ末端のプロペプチドがタンパク質分解により切断されると、成熟したＭＩＣ－１がおよそ２４．５

ｋＤａの二量体タンパク質として分泌される（Bauskin, A et al. The propeptide of macrophage inhibitory cytokine (MIC-1), a TGF-beta superfamily member, acts as a quality control determinant for correctly folded MIC-1. Embo J 19:2212-2220 (2000)）。ＭＩＣ－１のアミノ酸配列は、以下に開示されている：国際公開第９９／０６４４５号パンフレット、国際公開第００／７００５１号パンフレット、国際公開第０１／８１９２８号パンフレット、国際公開第２００５／１１３５８５号パンフレット、Bottner, M et al. Characterization of the rat, mouse, and human genes of growth/differentiation factor-15/macrophage inhibiting cytokine-1 (GDF-15/MIC-1). Gene 237: 105-111 (1999b)、Bootcov, MR et al. MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF-beta superfamily. Proc Natl Acad Sci U S A. 94(21):11514-9 (1997)、Baek, SJ et al. Cyclooxygenase inhibitors regulate the expression of a TGF-beta superfamily member that has proapoptotic and antitumorigenic activities. Mol Pharmacol 59: 901-908 (2001)、Hromas, R et al. PLAB, a novel placental bone morphogenetic protein. Biochim Biophys Acta 1354(1): 40-44 (1997)、Paralkar, VM et al. Cloning and characterization of a novel member of the transforming growth factor-beta/bone morphogenetic protein family. J Biol Chem 273 (22): 13760-13767 (1998)、Morrish, DW et al. Identification by subtractive hybridization of a spectrum of novel and unexpected genes associated with in vitro differentiation of human cytotrophoblast cells. Placenta 17:431-441 (1996)及びYokoyama-Kobayashi, M et al. Human cDNA encoding a novel TGF-beta superfamily protein highly expressed in placenta. J Biochem 122(3):622-626 (1997)。一般的又は「野生型」の成熟ＭＩＣ－１ポリペプチドのアミノ酸配列を図１に示す。

【０００４】

ＭＩＣ－１は、いくつかの組織中で発現する（Moore, AG et al. The transforming growth factor-β superfamily cytokine macrophage inhibitory cytokine-1 is present in high concentrations in the serum of pregnant women. J Clin Endocrinol Metab 85(12):4781-4788 (2000)、Bottner, M et al. Expression of a novel member of the TGF-beta superfamily, growth/differentiation factor-15/macrophage-inhibiting cytokine-1 (GDF-15/MIC-1) in adult rat tissues. Cell Tissue Res 297(1):103-110 (1999a)、Fairlie, WD et al. MIC-1 is a novel TGF-beta superfamily cytokine associated with macrophage activation. J Leukoc Biol 65(1):2-5 (1999)、Bauskin, AR et al. Role of macrophage inhibitory cytokine-1 in tumourigenesis and diagnosis of cancer. Cancer Res 66(10):4983-4986 (2006)）。例えば、ヒト組織のノーザンブロットにより、腎臓、膵臓及び前立腺内には少量の、胎盤内には多量のＭＩＣ－１　ｍＲＮＡが存在することが示されている（Moore, AG et al. The transforming growth factor-β superfamily cytokine macrophage inhibitory cytokine-1 is present in high concentrations in the serum of pregnant women. J Clin Endocrinol Metab 85(12):4781-4788 (2000)、Fairlie, WD et al. MIC-1 is a novel TGF-beta superfamily cytokine associated with macrophage activation. J Leukoc Biol 65(1):2-5 (1999)）。さらに、血清ＭＩＣ－１レベルは、正常で外見上健康な対象においては、年齢と共に増加することが示されている。ＭＩＣ－１の過剰発現は、癌、とりわけ前立腺癌と関連しており（Welsh, JB et al. Large-scale delineation of secreted protein biomarkers overexpressed in cancer tissue and serum. Proc Natl Acad Sci U S A 100(6):3410-3415 (2003)）、ＭＩＣ－１の高い血清濃度は、転移性疾患の存在と関連している（Welsh, JB et al. Large-scale delineation of secreted protein biomarkers overexpressed in cancer tissue and serum. Proc Natl Acad Sci U S A 100(6):3410-3415 (2003)、Brown, DA et al. Measurement of serum levels of macrophage inhibitory cytokine 1 combined with prostate-specific antigen improves prostate cancer diagnosis. Clin Cancer Res 12:89-96 (2006)）。血清ＭＩＣ－１は、慢性の炎症性疾患においても上昇しており、伝統的なリスク因子とは独立に、アテローム硬化性事象を予測する。血清ＭＩＣ－１レベルは、慢性腎

疾患（ＣＫＤ，chronic kidney disease；Johnen，H et al. Tumor-induced anorexia and weight loss are mediated by the TGF-beta superfamily cytokine MIC-1. Nat. Med 13:1333-1340 (2007)）においても増加している。

【０００５】

ＣＫＤ（慢性腎疾患としても知られている）は、数カ月又は数年の期間にわたり５つのステージを経て腎機能が進行性に失われることを特徴とする。ＣＫＤの初期の特徴は、腎機能が緩やかに低下し明白な症状はほとんどないことであるが、この疾患は、最終的には、慢性腎機能障害（ＣＫＦ，chronic kidney failure）、慢性腎不全（ＣＲＦ，chronic renal failure）又は末期腎疾患として知られている、重篤な病的状態を特徴とし通常は何らかの形態の「腎代替療法」（例えば、透析又は腎移植）を必要とする最終ステージまで進行する恐れがある。アメリカ合衆国においては、１５５０万名を超える成人が中等度の腎機能障害を有し、４８０，０００名超が末期腎疾患のための積極的治療を受けており、毎年１００，０００名超の新しい患者が治療を開始している。２００５年には、治療を受けている患者のうち８０，０００名超が死亡した。

【０００６】

ＣＫＤ患者は、加速性アテローム性動脈硬化症（動脈血管を冒す慢性炎症性疾患）を患う傾向があり、一般集団より心血管疾患を発症しやすい。Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ，C-reactive protein）などの炎症マーカーの上昇したレベルは、末期腎疾患患者及び正常集団の両方にとって、急性の心血管事象のリスク因子であると見られている（Apple，FS et al. Multi-biomarker risk stratification of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide，high-sensitivity C-reactive protein，and cardiac troponin T and I in end-stage renal disease for all-cause death. Clin Chem 50:2279-2285 (2004)）。末期腎疾患は、食欲不振、体重減少及び悪液質を伴う。腎不全患者における栄養不良と炎症との間には繋がりがあると考えられ、この２つの状態は共存することが多い。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００７】

【特許文献１】国際公開第９９／０６４４５号パンフレット
【特許文献２】国際公開第００／７００５１号パンフレット
【特許文献３】国際公開第０１／８１９２８号パンフレット
【特許文献４】国際公開第２００５／１１３５８５号パンフレット

【非特許文献】

【０００８】

【非特許文献１】Bootcov，MR et al. MIC-1，a novel macrophage inhibitory cytokine，is a divergent member of the TGF-beta superfamily. Proc Natl Acad Sci U S A. 94(21):11514-9 (1997)
【非特許文献２】Hromas，R et al. PLAB，a novel placental bone morphogenetic protein. Biochim Biophys Acta 1354(1): 40-44 (1997)
【非特許文献３】Lawton，LN et al.，Identification of a novel member of the TGF-beta superfamily highly expressed in human placenta. Gene 203:17-26 (1997)
【非特許文献４】Yokoyama-Kobayashi，M et al. Human cDNA encoding a novel TGF-beta superfamily protein highly expressed in placenta. J Biochem 122(3):622-626 (1997)
【非特許文献５】Paralkar，VM et al. Cloning and characterization of a novel member of the transforming growth factor-beta/bone morphogenetic protein family. J Biol Chem 273 (22):13760-13767 (1998)
【非特許文献６】Bauskin，A et al. The propeptide of macrophage inhibitory cytokine (MIC-1)，a TGF-beta superfamily member，acts as a quality control determinant for correctly folded MIC-1. Embo J 19:2212-2220 (2000)
【非特許文献７】Bottner，M et al. Characterization of the rat，mouse，and human

genes of growth/differentiation factor-15/macrophage inhibiting cytokine-1 (GDF-15/MIC-1). Gene 237: 105-111 (1999b)
【非特許文献８】Baek, SJ et al. Cyclooxygenase inhibitors regulate the expression of a TGF-beta superfamily member that has proapoptotic and antitumorigenic activities. Mol Pharmacol 59: 901-908 (2001)
【非特許文献９】Morrish, DW et al. Identification by subtractive hybridization of a spectrum of novel and unexpected genes associated with in vitro differentiation of human cytotrophoblast cells. Placenta 17:431-441 (1996)
【非特許文献１０】Moore, AG et al. The transforming growth factor-β superfamily cytokine macrophage inhibitory cytokine-1 is present in high concentrations in the serum of pregnant women. J Clin Endocrinol Metab 85(12):4781-4788 (2000)
【非特許文献１１】Bottner, M et al. Expression of a novel member of the TGF-beta superfamily, growth/differentiation factor-15/macrophage-inhibiting cytokine-1 (GDF-15/MIC-1) in adult rat tissues. Cell Tissue Res 297(1):103-110 (1999a)
【非特許文献１２】Fairlie, WD et al. MIC-1 is a novel TGF-beta superfamily cytokine associated with macrophage activation. J Leukoc Biol 65(1):2-5 (1999)
【非特許文献１３】Bauskin, AR et al. Role of macrophage inhibitory cytokine-1 in tumourigenesis and diagnosis of cancer. Cancer Res 66(10):4983-4986 (2006)
【非特許文献１４】Welsh, JB et al. Large-scale delineation of secreted protein biomarkers overexpressed in cancer tissue and serum. Proc Natl Acad Sci U S A 100 (6):3410-3415 (2003)
【非特許文献１５】Brown, DA et al. Measurement of serum levels of macrophage inhibitory cytokine 1 combined with prostate-specific antigen improves prostate cancer diagnosis. Clin Cancer Res 12:89-96 (2006)
【非特許文献１６】Johnen, H et al. Tumor-induced anorexia and weight loss are mediated by the TGF-beta superfamily cytokine MIC-1. Nat. Med 13:1333-1340 (2007)
【非特許文献１７】Apple, FS et al. Multi-biomarker risk stratification of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, high-sensitivity C-reactive protein, and cardiac troponin T and I in end-stage renal disease for all-cause death. Clin Chem 50:2279-2285 (2004)

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００９】
末期腎疾患患者の中には、透析でずっと生存できる者もいるが、多くの患者は、腎移植を行わなければ死亡する可能性がある。体重減少、肥満度指数（ＢＭＩ，body mass index）の低下及び血清炎症マーカーの上昇は、死亡率予測因子と考えられる。しかし、疾患の転帰への栄養不良及び炎症の関与、並びにそれらの間を繋ぐものの性質は、明白になっていない。腎移植を行わなければ死亡する可能性があるのはどの患者であるかを判断するための信頼できる予測方法は現時点では存在せず、したがって、腎移植により生命が救われる可能性のある患者を判断することは困難である。
【００１０】
本出願人は、ＣＫＤにおけるＭＩＣ－１と栄養状態の変化との間の関係を調査し、ＭＩＣ－１レベルはＣＫＤにおける死亡予測にとって臨床的に有用であることを見出した。本出願人は、ＭＩＣ－１レベルは、腎移植すべき末期腎疾患対象を選択するための手段を有利に提供できることにも気付いた。
【課題を解決するための手段】
【００１１】
第１の態様では、本発明は、全死因死亡率から慢性腎疾患（ＣＫＤ）試験対象の死亡可能性を予測する方法であって、前記対象由来の試験身体試料において上昇したＭＩＣ－１量を検出するステップを含み、上昇したＭＩＣ－１量が対象の死亡可能性の増加と関連し

ている方法を提供する。
【００１２】
第２の態様では、本発明は、全死因死亡率からＣＫＤ試験対象の死亡可能性を予測する方法であって、
（ｉ）前記対象由来の試験身体試料においてＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び
（ii）ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量を、対象の死亡可能性の増加と関連している上昇したＭＩＣ－１量であるＭＩＣ－１の基準量と比較するステップ
を含み、
ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が該基準量より多いか又は実質的に同等であるとき対象の死亡可能性が増加しており、ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が該基準量より少ないとき対象の死亡可能性が低下している方法を提供する。
【００１３】
第３の態様では、本発明は、腎移植すべき末期腎疾患試験対象を選択する方法であって、前記対象由来の試験身体試料において上昇したＭＩＣ－１量を検出することを含み、上昇したＭＩＣ－１量が腎移植を行わない場合の対象の死亡可能性の増加と関連している方法を提供する。
【００１４】
第３の態様の方法は、好ましくは、
（ｉ）前記対象由来の試験身体試料においてＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び
（ii）ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量を、腎移植を行わない場合の対象の死亡可能性の増加と関連しているＭＩＣ－１の基準量と比較するステップ
を含み、
ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が該基準量より多いか又は実質的に同等であるとき、腎移植を行わない場合の対象の死亡可能性が増加しており、ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が該基準量より少ないとき、腎移植を行わない場合の対象の死亡可能性が低下している。
【００１５】
第４の態様では、本発明は、透析を受けている末期腎疾患試験対象を前記透析に対する忍容性について評価する方法であって、前記対象由来の試験身体試料において上昇したＭＩＣ－１量を検出することを含み、上昇したＭＩＣ－１量が透析に対する低い忍容性と関連している方法を提供する。
【００１６】
第４の態様の方法は、好ましくは、
（ｉ）前記対象由来の試験身体試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び
（ii）ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量を、
前記透析の開始の前又は後であるより早期の時点（複数可）での前記試験対象、又は
透析に対する長期的忍容性を有する末期腎疾患対照対象（複数可）
から採取した比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較するステップであって、
ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が、前記比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して高い量であるとき、対象の透析に対する忍容性は低い可能性があり、ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が、前記比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲より少ないか又は実質的に同等であるとき、対象は透析に対する忍容性を有する可能性があるステップ、或いは
（iii）ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量を、透析に対する長期的忍容性と関連しているＭＩＣ－１の基準量と比較するステップであって、
ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が、該ＭＩＣ－１の基準量と比較して高い量であるとき、対象の透析に対する忍容性は低い可能性があり、ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が、該ＭＩＣ－１の基準量より少ないか又は実質的に同等であ

るとき、対象は透析に対する忍容性を有する可能性があるステップ
を含む。
【００１７】
第５の態様では、本発明は、ＣＫＤ対象、特に末期腎疾患に罹患しているＣＫＤ対象における死亡を予防し又は死亡リスクを低下させる方法であって、前記対象の血液、血漿又は血清を処理して、前記血液、血漿又は血清中に存在するＭＩＣ－１を除去又は不活性化することを含む方法を提供する。
【図面の簡単な説明】
【００１８】
【図１】（Ａ）一般的又は「野生型」の成熟ヒトＭＩＣ－１ポリペプチドのアミノ酸配列、及び（Ｂ）Ｄ６成熟ヒトＭＩＣ－１バリアントのアミノ酸配列を示す配列表である。
【図２】透析生活が１．２～１３年のスウェーデンコホート（ｎ＝９８）の患者のカプラン－マイヤープロットを示すグラフであり、血清ＭＩＣ－１レベルが、中央値の７．４ｎｇ／ｍｌ（すなわち７４００ｐｇ／ｍｌ。丸は７４００ｐｇ／ｍｌ未満のＭＩＣ－１レベルを表し、四角は７４００ｐｇ／ｍｌ超のＭＩＣ－１レベルを表す）を超える患者は、血清ＭＩＣ－１レベルがこのレベル未満の患者より有意に死亡率が高かった（ｐ＝０．０１０５）ことを示している。
【図３】以下のカプラン－マイヤープロットである：（Ａ）打ち切り時点で３年以下の透析を完了していた米国コホートの患者（ｎ＝１４０）、この患者群のＭＩＣ－１中央値である６．３ｎｇ／ｍｌ（すなわち６３００ｐｇ／ｍｌ。丸は６３００ｐｇ／ｍｌ未満のＭＩＣ－１レベルを表し、四角は６３００ｐｇ／ｍｌ超のＭＩＣ－１レベルを表す）により層別化、これにより患者死亡率は有意に層別化された（ｐ＝０．０１２４）、（Ｂ）同じ患者群、血清ＭＩＣ－１レベルの最上位十分位である１４．２ｎｇ／ｍｌ（すなわち１４２００ｐｇ／ｍｌ。丸は１４２００ｐｇ／ｍｌ未満のＭＩＣ－１レベルを表し、四角は１４２００ｐｇ／ｍｌ超のＭＩＣ－１レベルを表す）により層別化、これにより、血清ＭＩＣ－１レベルが最上位十分位内である（１４２００ｐｇ／ｍｌを超える）患者は死亡リスクが有意に高い（ｐ＝０．００３８）ことが示された、（Ｃ）透析生活を送っている時間に関わらず、血清ＭＩＣ－１レベルが最上位十分位内である（１４．２ｎｇ／ｍｌ、すなわち１４２００ｐｇ／ｍｌを超える）患者（ｎ＝３８１）の死亡率は５０％であった（ｐ＝０．００４０）。
【発明を実施するための形態】
【００１９】
本出願人は、ＭＩＣ－１が慢性腎疾患（ＣＫＤ）における死亡率予測因子であることを見出した。
【００２０】
したがって、第１の態様では、本発明は、全死因死亡率から慢性腎疾患（ＣＫＤ）試験対象の死亡可能性を予測する方法であって、前記対象由来の試験身体試料において上昇したＭＩＣ－１量を検出することを含み、上昇したＭＩＣ－１量が該対象の死亡可能性の増加と関連している方法を提供する。
【００２１】
本明細書中で使用する場合、用語「ＭＩＣ－１」は、ＭＩＣ－１ポリペプチドの単量体、ホモ二量体及び／又はヘテロ二量体、並びにそのバリアント、サブユニット及び断片（例えば、ＭＩＣ－１の分解産物又は消化産物）を包含する。この用語により包含されるＭＩＣ－１バリアントとしては、アミノ酸の置換、欠失及び／又は付加により、図１Ａで示すアミノ酸配列とはアミノ酸１～３個分異なるアミノ酸配列を備えるポリペプチドを含み、好ましくは、図１Ａで示すアミノ酸配列を備えるポリペプチドと実質的に同等の生物活性を示す成熟ヒトＭＩＣ－１タンパク質が挙げられ（Hromas, R et al. PLAB, a novel placental bone morphogenetic protein. Biochim Biophys Acta 1354(1): 40-44 (1997)により記載されているアッセイ及び／又はKempf, T et al. Circulating concentrations of growth-differentiation factor 15 in apparently healthy elderly individuals a

nd patients with chronic heart failure as assessed by a new immunoradiometric sandwich assay. Clin Chem 53(2):284-291 (2007)により記載されている試験を用いて測定できるように）、特定の一例は、国際公開第０１／８１９２８号パンフレットに記載されている、図１Ｂで示すアミノ酸配列を有するＤ６成熟ヒトＭＩＣ－１バリアントである（その全内容は、参照により本明細書に組み込まれる）。この用語により包含されるＭＩＣ－１サブユニット及び断片としては、図１Ａ又は図１Ｂで示すアミノ酸配列を有し、当該ポリペプチドと実質的に同等の免疫活性及び／又は生物活性を示すポリペプチドのサブユニット及び断片が挙げられる。

【００２２】

好ましくは、第１の態様の方法において検出されるＭＩＣ－１は、成熟ヒトＭＩＣ－１タンパク質、Ｄ６成熟ヒトＭＩＣ－１バリアントタンパク質及び／又はそのヘテロ二量体である。

【００２３】

本明細書中で使用する場合、用語「慢性腎疾患」及び省略形「ＣＫＤ」は、数カ月又は数年の期間にわたり進行性且つ永久に腎機能が失われることを特徴とする状態を指すものと理解されたい。ＣＫＤを有する対象は、心血管疾患（アテローム性動脈硬化症及び虚血性心疾患など）、高血圧症、栄養不良、炎症性疾患及び糖尿病又はそれらの組合せなど他の医学的状態を有することが多い。ＣＫＤは、表１に記載のとおりの５つのステージを経て進行すると認識されている。このステージは、部分的には、腎臓を通過する濾過済みの液体の流速として説明できる「糸球体濾過量」（ＧＦＲ，glomerular filtration rate）を測定することにより特徴付けることができる。

【００２４】

【表１】

表１　慢性腎疾患のステージ

ステージ1	わずかに機能低下、GFR*は正常又は増加(1.73m^{2}当たり90mL/分を超える)、腎臓障害は病理的異常又は障害マーカー(血液若しくは尿の検査又は画像化試験における異常など)と定義される
ステージ2	GFRは軽度の低下(1.73m^{2}当たり60～89mL/分)、腎臓障害は病理的異常又は障害マーカー(血液若しくは尿の検査又は画像化試験における異常など)と定義される
ステージ3	GFRは中等度の低下(1.73m^{2}当たり30～59mL/分)
ステージ4	GFRは高度の低下(1.73m^{2}当たり15～29mL/分)
ステージ5 (末期腎疾患)	確定された腎不全(GFRは1.73m^{2}当たり15mL/分未満)、又は永続的な腎代替療法を受けている

【００２５】

いくつかの実施形態では、ＣＫＤ試験対象は、ステージ１のＣＫＤ、好ましくはステージ２のＣＫＤ、より好ましくはステージ３のＣＫＤ、さらにより好ましくはステージ４のＣＫＤ、最も好ましくはステージ５のＣＫＤに罹患している。

【００２６】

ほとんどの場合、対象は、最終的には腎代替療法を受けることになる。用語「腎代替療法」は、本明細書中で使用する場合、腎機能の低下を少なくとも部分的に補うことが可能なある種の介入、例えば、透析（血液透析、腹膜透析又は血液濾過など）、腎移植などを指すと理解されたい。しかし、他の療法でも腎代替療法として十分である可能性があることから、腎代替療法の種類は前述の例に限定されるべきではないことも理解されたい。さらに、腎代替療法のタイミング及び強度は対象間で異なっていてもよく、疾患の進行、及

び、個々の対象に伴う他の医学的因子、並びに、多様な施設（例えば透析病棟）での標準的な運用法によって決まることも理解されたい。例えば、ある対象は、末期腎疾患に進行する前に一時的に透析を受ける場合がある。別の例では、透析の強度は、対象間で異なる場合がある（例えば、週に２回透析を受ける対象がいる可能性もあるが、毎日透析を受ける対象がいる可能性もある）。大部分のＣＫＤ対象においては、生存するためには無期限の腎代替療法が最終的に必要となるであろう。

【００２７】

本明細書中で使用する場合、用語「無期限の腎代替療法」は、対象の生命の残りの期間には腎代替療法が必要であると通常予想される状況を指すと理解されたい。この時点で、普通、対象が末期腎疾患に罹患していると見なすことができる。

【００２８】

本明細書中で使用する場合、用語「末期腎疾患」は、表１において特徴付けられている状態であり、対象の実質的な腎機能が永久に失われている（例えば、糸球体濾過量が１．７３ｍ^{2}当たり１５ｍＬ／分未満である）か、又は対象が無期限の腎代替療法を受けている（例えば、血液透析若しくは腹膜透析などの透析）状態を指すと理解されたい。

【００２９】

本明細書中で使用する場合、用語「死亡可能性」は、健康対象又は他のＣＫＤ対象（すなわち、ＭＩＣ－１量が正常であるか又は減少しているＣＫＤ対象）の通常の生存予測と比較した場合のＣＫＤ対象の若年死の可能性を指すと理解されたい。本発明の方法のいくつかの実施形態では、ＭＩＣ－１量が上昇していれば、試験身体試料の採取から１０年間以内での対象の死亡可能性は高いと予測される。他の実施形態では、ＭＩＣ－１量が上昇していれば、試験身体試料の採取から３年間以内での対象の死亡可能性は高いと予測される。又、さらなる実施形態では、ＭＩＣ－１量が上昇していれば、試験身体試料の採取から１年間以内での対象の死亡可能性は高いと予測される。

【００３０】

用語「全死因死亡率」は、本明細書中で使用する場合、あらゆる医学的原因による対象の死因に関し、すなわち、死因は、事故又は災難以外のあらゆる原因であってもよい。したがって、対象の死因は、例えば、腎不全、心血管疾患（アテローム性動脈硬化症及び虚血性心疾患など）、高血圧症、栄養不良、炎症性疾患、糖尿病、又はそれらの合併症又はそれらの組合せであってもよい。好ましくは、死亡は、腎不全、心血管疾患及び炎症性疾患からなる群から選択される原因によるものである。

【００３１】

ＣＫＤを有する対象における死亡可能性を予測することは有利であり、その理由は、それにより、生命を救う介入が可能になると考えられるからである。例えば、死亡率の予測により、腎移植をすれば生命が救われる対象の選択又は優先順位付けが容易になると考えられる。追加的に、又は代替的に、ある特定の対象が延命を試みるには療法の変更が有効と考えられることが示唆される場合もある。例えば、対象には以下が有効である場合がある：追加的な腎代替療法（例えば、より頻回な透析）、又は、他の療法への変更、例えば、腎臓内分泌機能を模倣することを意図した療法への変更（エリトロポエチン及びビタミンＤ３の補充、並びに、カルシウム、リン酸結合剤の投与など）、又は、他の関連疾患（高血圧症、心血管疾患、糖尿病、炎症性疾患など）を制御するための療法への変更。

【００３２】

用語「試験身体試料」は、本明細書中で使用する場合、体液、分離細胞（すなわち、身体から採取し、他の身体構成要素から少なくとも部分的に分離された細胞）、組織又は臓器の試料を指す。体液の試料は、周知の手法により入手でき、組織又は臓器の試料は、例えば生検により、任意の組織又は臓器から入手できる。分離細胞は、遠心分離又は細胞分類などの分離手法により体液、組織又は臓器から入手できる。好ましくは、細胞、組織又は臓器の試料は、ＭＩＣ－１を発現又は産生する当該細胞、組織又は臓器から入手する。

【００３３】

したがって、第１の態様の方法で使用するための試験身体試料は、好ましくは、全血、

血漿、血清、バフィーコート、尿、脳脊髄液、精液、滑液、組織生検試料及び／又は臓器生検試料から選択できる。より好ましくは、試験身体試料は、全血、血漿、血清及び尿からなる群から選択される。最も好ましくは、試験身体試料は血清である。

【００３４】

試験身体試料は、ＣＫＤの過程間の多様な時点で対象から採取できる。例えば、試料は、対象の腎代替療法（例えば透析）の開始に先立ち、又は無期限の腎代替療法の開始前に対象から採取し、その後、対象が腎代替療法又は無期限の腎代替療法を受けている間の１又は２以上の時点で再度採取してもよい。

【００３５】

用語「量」は、本明細書中で使用する場合、ＭＩＣ－１の絶対量、ＭＩＣ－１の相対量又は濃度、並びに、それらに相関若しくは相当するか、又はそれらから誘導できる任意の値若しくはパラメーター、例えば、直接測定値（例えば、質量スペクトル若しくはＮＭＲスペクトルにおける強度値）又は間接測定値（例えば、ＭＩＣ－１に応答した生物学的な読取りシステムから定量した応答レベル、若しくは、特異的に結合したリガンドから得られる強度シグナル）によりＭＩＣ－１から得られる全ての特異的な物理又は化学特性に由来する強度シグナル値を含む値又はパラメーターなどを包含する。前述の量又はパラメーターに相関する値は、当業者に周知の標準的な数学的操作によって得ることもできることは理解されたい。

【００３６】

本発明の趣旨でのＭＩＣ－１の「上昇した量」と見なすことができるＭＩＣ－１量は、いくつかの因子のいずれかにより変動する場合がある：例えば、使用する特定の身体試料の種類、対象の性別（注意：男性対象は、女性対象より高い平均血清ＭＩＣ－１レベルを示す）、対象の年齢、対象の肥満度指数（ＢＭＩ）、対象の喫煙状況（注意：以前喫煙していた者は全く喫煙したことのない者に比べ高いレベルの血清ＭＩＣ－１を示す傾向があり、現在喫煙している者はさらに高いレベルの血清ＭＩＣ－１を示す傾向がある）、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）の使用の有無（注意：ＮＳＡＩＤの使用は、とりわけ男性対象において、血清ＭＩＣ－１レベルの増加と関連している可能性がある）、女性対象におけるウェスト－ヒップ比（注意：女性におけるウェスト－ヒップ比の上昇は血清ＭＩＣ－１レベルの増加と関連している）、試験身体試料採取時に対象が罹患しているＣＫＤのステージ、並びに、死亡する可能性があると予測される期間、患者がすでに腎代替療法を受けているか否か、並びに上昇したＭＩＣ－１量の検出に用いられる方法。当業者には、対象において検出される上昇したＭＩＣ－１量が大きいほど死亡可能性が高いことは理解されよう。しかし、当業者には、無期限の腎代替療法を受けている対象は、無期限の腎代替療法を受けていないＣＫＤ罹患対象より血清ＭＩＣ－１レベルが低い可能性があることも理解されるであろうが、その理由は、例えば、透析により全血、血漿及び血清の試料中のＭＩＣ－１レベルは低下する場合があるからである。

【００３７】

本発明の趣旨での上昇したＭＩＣ－１量は、例えば、約６０００ｐｇ／ｍｌを超える血清ＭＩＣ－１レベル（又は、全血若しくは血漿試料の場合は、約６０００ｐｇ／ｍｌを超える血清ＭＩＣ－１レベルに相当するレベル）；例えば、血清は全血の約５０～５５％を占めるので、全血ＭＩＣ－１レベル約３０００ｐｇ／ｍｌは、血清ＭＩＣ－１レベル約６０００ｐｇ／ｍｌにほぼ相当する）又は、好ましくは、約７０００ｐｇ／ｍｌを超える血清ＭＩＣ－１レベル（又は、全血若しくは血漿試料の場合は、約７０００ｐｇ／ｍｌを超える血清ＭＩＣ－１レベルに相当するレベル）、より好ましくは、１００００ｐｇ／ｍｌを超える血清ＭＩＣ－１レベル（又は、全血若しくは血漿試料の場合は、約１００００ｐｇ／ｍｌを超える血清ＭＩＣ－１レベルに相当するレベル）、最も好ましくは、約１４０００ｐｇ／ｍｌを超える血清ＭＩＣ－１レベル（又は、全血若しくは血漿試料の場合は、約１４０００ｐｇ／ｍｌを超える血清ＭＩＣ－１レベルに相当するレベル）など、既定の特定量を超える量により表すことができる。いくつかの実施形態では、ＭＩＣ－１レベルは、約６３００ｐｇ／ｍｌを超える、好ましくは約７４００ｐｇ／ｍｌを超える、より好

ましくは約１４２００ｐｇ／ｍｌを超える血清レベルである（又は、これに相当する）。前述の内容に関する場合、用語「約」は、記載の量の±２５％、好ましくは±２０％、より好ましくは±１０％、より好ましくは±５％、最も好ましくは記載の量の±２％の量を指すと理解されたい。

【００３８】

本発明の趣旨での上昇したＭＩＣ－１量は、連続測定により検出可能な、対象内のＭＩＣ－１量の増加によっても表すことができる。したがって、試験身体試料におけるＭＩＣ－１量は、同一対象において異なる時点で決定してもよい。例えば、試験身体試料におけるＭＩＣ－１量は、ある一定の時間間隔で検出してもよい。時間間隔は、対象の必要性によりケースバイケースベースで決定してもよく、例えば、３カ月、１年、３年、５年又は１０年であってもよいが、時間間隔は、対象が有する任意の関連する健康的及び医学的因子により調節できることは理解されたい。したがって、対象内の試験身体試料における上昇したＭＩＣ－１量は、所与の時点での試験身体試料におけるＭＩＣ－１量を、より早期の時点での同一の試験身体試料におけるＭＩＣ－１量と比較することにより検出してもよい。このようにして、任意の所与の対象内の試験身体試料中に存在するＭＩＣ－１量の増加を経時的に決定することにより、上昇したＭＩＣ－１量を検出できる。

【００３９】

したがって、試験身体試料における上昇したＭＩＣ－１量は、

（ｉ）前記試験身体試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び

（ii）前記ＭＩＣ－１量を、より早期の時点で同一の対象から採取した比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較するステップ

による連続測定を用いることにより検出してもよく、

ステップ（ｉ）において存在するＭＩＣ－１量は、前記比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して上昇している。好ましくは、対象は、より早期の時点では、ＣＫＤに罹患していなかったか、又は進行度のより低いステージのＣＫＤに罹患していた。

【００４０】

代替的又は追加的に、試験身体試料における上昇したＭＩＣ－１量は、例えば、

（ｉ）前記試験身体試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び

（ii）前記ＭＩＣ－１量を、正常対象（複数可）から採取した比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較するステップ

による正常対象との比較により検出してもよく、

ステップ（ｉ）において存在する該ＭＩＣ－１量は、前記比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して上昇している。

【００４１】

本明細書中で使用する場合、用語「正常対象」は、比較用身体試料（複数可）の採取の１０年以内に事故又は災難以外のいかなる原因からも死亡していない対象を指す。好ましくは、正常対象（複数可）は年齢がマッチしており、このとき、正常対象（複数可）は、関連する試験身体試料が採取された対象と１０歳差以内である。より好ましくは、正常対象（複数可）は、関連する試験身体試料が採取された対象と５歳差以内である。

【００４２】

或いは、試験身体試料における上昇したＭＩＣ－１量は、例えば、

（ｉ）前記試験身体試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び

（ii）前記ＭＩＣ－１量を、末期腎疾患を有すると診断されている少なくとも１人の他の対象から採取した比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較するステップ

による末期腎疾患対象との比較により検出してもよく、

ステップ（ｉ）において存在するＭＩＣ－１量が、前記比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して高いとき、試験対象の死亡可能性は該少なくとも１人の他の対象と比較して高い。当業者には、ステップ（ｉ）において存在する

ＭＩＣ－１量が、前記比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はＭＩＣ－１量の範囲と比較して減少しているとき、試験対象の死亡可能性は該少なくとも１人の他の対象と比較して低いことも理解されよう。該少なくとも１人の他の対象は、好ましくは年齢がマッチしており、関連する試験身体試料が採取された対象と１０歳差以内である。より好ましくは、該少なくとも１人の他の対象は、関連する試験身体試料が採取された対象と５歳差以内である。好ましくは、ステップ（ii）の比較は、この場合、末期腎疾患を有すると診断されている対象群の平均血清ＭＩＣ－１レベルに対して行われる。

【００４３】

当業者には、試験身体試料におけるＭＩＣ－１量は、前述の対象又はそれを含む集団のいずれかにおけるＭＩＣ－１レベルに関する情報を含むデータセットと比較してもよいことも理解されよう。

【００４４】

本発明の趣旨での上昇したＭＩＣ－１量は、ＣＫＤ対象（例えば末期腎疾患対象）の死亡可能性の増加と関連していることが公知のＭＩＣ－１の基準量との比較によって検出することもでき、このとき、基準量は、正常対象（複数可）から採取した比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して高い量である。

【００４５】

したがって、第２の態様では、本発明は、全死因死亡率からＣＫＤ試験対象の死亡可能性を予測する方法であって、

（ｉ）前記対象由来の試験身体試料においてＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び

（ii）ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量を、対象の死亡可能性の増加と関連している上昇したＭＩＣ－１量であるＭＩＣ－１の基準量と比較するステップ

を含み、

ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が該基準量より多いか又は実質的に同等であるとき対象の死亡可能性が増加しており、ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が該基準量より少ないとき対象の死亡可能性が低下している方法を提供する。

【００４６】

第２の態様の方法は、

（iii）ステップ（ii）の比較に基づいて予後を確認するステップをさらに含んでもよく、ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が該基準量より多いか又は実質的に同等であるとき対象の死亡可能性は高く、ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が該基準量より少ないとき対象の死亡可能性は低い。

【００４７】

好ましくは、第２の態様の方法において検出されるＭＩＣ－１は、成熟ヒトＭＩＣ－１タンパク質、Ｄ６成熟ヒトＭＩＣ－１バリアントタンパク質及び／又はそれらのヘテロ二量体である。上昇したＭＩＣ－１量は、前述のように第１の態様に関するものであってもよい。試験身体試料も、前述のように第１の態様に関するものであってもよいが、好ましくは、試験身体試料は、全血、血漿、血清及び尿からなる群から選択される。

【００４８】

第２の態様の方法により、ＭＩＣ－１の基準量は、試験身体試料においてＭＩＣ－１量を当該基準量と単純に比較できる予後マーカーとして使用できるようになる。しかし、そうした方法の感度及び特異性は、方法の分析的な「質」のみによっては決まらないことがあり、何が異常な結果を構成するかという定義によって決まる場合もある。すなわち、典型的には、いかなる特定のマーカーについても、疾患を有する対象と有さない対象とのマーカーレベルの分布は重なり合うことから、当該マーカーに基づく診断／予後判定試験では、完全な正確性をもって正常対象が罹患対象と間違いなく区別されることはないであろう。したがって、いくつかの実施形態では、この方法は、例えば、ＭＩＣ－１量の値対「正常」集団及び「疾患」集団における当該値の相対頻度をプロットすることにより、受信者動作特性（ＲＯＣ，receiver operating characteristic）曲線を計算することをさらに含んでもよい。その場合、このようにして計算したＲＯＣ曲線下領域は、試験身体試料

における決定されたＭＩＣ－１量により死亡可能性の正確な予測が可能になると思われる確率尺度として使用できる。加えて、ＲＯＣ曲線は、理由を問わず、決定されたＭＩＣ－１量が不正確と見なされるような場合であっても使用できるが、その理由は、結果を順位付けすることが可能である限り、ＲＯＣ曲線はやはり計算できるからである。例えば、ＣＫＤ対象から採取した身体試料に由来する決定されたＭＩＣ－１量は、程度により順位付けすることができ（例えば、１＝低、２＝正常、３＝高）、次に、この順位を、正常対象集団における結果、及び、当業者に周知の方法により作成したＲＯＣ曲線と相関させることができる（例えば、Hanley, JA and BJ McNeil. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. Radiology 143(1):29-36 (1982)）。

【００４９】

第２の態様の方法の一実施形態では、本発明は、末期腎疾患対象の死亡可能性を予測する方法を提供する。末期腎疾患に罹患している対象に関して使用すると、この方法により得られる予後診断から、腎移植を行わなければ対象は生存しない可能性があることが予想できる。

【００５０】

したがって、第３の態様では、本発明は、腎移植すべき末期腎疾患試験対象を選択する方法であって、前記対象由来の試験身体試料において、腎移植を行わない場合の該対象の死亡可能性の増加と関連している上昇したＭＩＣ－１量を検出することを含む方法を提供する。

【００５１】

一実施形態では、第３の態様の方法は、

（ｉ）前記対象由来の試験身体試料においてＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び

（ii）ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量を、腎移植を行わない場合の対象の死亡可能性の増加と関連しているＭＩＣ－１の基準量と比較するステップ

を含んでもよく、

ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が該基準量より多いか又は実質的に同等であるとき、腎移植を行わない場合の対象の死亡可能性が増加しており、ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が該基準量より少ないとき、腎移植を行わない場合の対象の死亡可能性が低下している。

【００５２】

第３の態様の方法の別の実施形態では、試験身体試料における上昇したＭＩＣ－１量は、

（ｉ）前記試験身体試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び

（ii）前記ＭＩＣ－１量を、より早期の時点で同一対象から採取した比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較するステップ

による連続測定を用いることにより検出され、

ステップ（ｉ）において存在するＭＩＣ－１量は、前記比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して上昇している。

【００５３】

第３の態様の方法のさらなる一実施形態では、試験身体試料における上昇したＭＩＣ－１量は、

（ｉ）前記試験身体試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び

（ii）前記ＭＩＣ－１量を、正常対象（複数可）から採取した比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較するステップ

による正常対象との比較により検出され、

ステップ（ｉ）において存在するＭＩＣ－１量は、前記比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量又はその量の範囲と比較して上昇している。

【００５４】

第３の態様の方法は、

（iii）ステップ（ii）の比較に基づいて腎移植すべき末期腎疾患対象を選択するステップをさらに含んでもよく、ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が該基準量より多いか又は実質的に同等であるとき、対象は腎移植すべきと選択され、ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が該基準量より少ないとき、対象は腎移植すべきと選択されない。

【００５５】

好ましくは、第３の態様の方法において検出されるＭＩＣ－１は、成熟ヒトＭＩＣ－１タンパク質、Ｄ６成熟ヒトＭＩＣ－１バリアントタンパク質及び／又はそれらのヘテロ二量体である。上昇したＭＩＣ－１量は、前述のように第１の態様に関するものであってもよく、したがって、腎移植すべき末期腎疾患試験対象を選択するために基準量（先に説明のとおり）と比較してもよく、このとき、基準量は、腎移植を行わない場合の死亡リスク増加と関連している（すなわち、試験身体試料における決定されたＭＩＣ－１量が基準量より多いか又は実質的に同等であるとき、対象は腎移植すべきと選択され、試験身体試料における決定されたＭＩＣ－１量が基準量より少ないとき、対象は腎移植すべきと選択されない可能性があるように）ことが公知である。試験身体試料は、前述のように第１の態様に関するものであってもよいが、好ましくは、試験身体試料は、全血、血漿、血清及び尿からなる群から選択される。

【００５６】

本出願人は、ＭＩＣ－１レベルは、長期の透析に耐えることができるＣＫＤ対象における方が低い傾向があることにも気付いた。

【００５７】

第４の態様では、本発明は、透析を受けている末期腎疾患試験対象を前記透析に対する忍容性について評価する方法であって、前記対象由来の試験用身体試料において上昇したＭＩＣ－１量を検出することを含み、上昇したＭＩＣ－１量が透析に対する低い忍容性と関連している方法を提供する。

【００５８】

第４の態様の方法は、好ましくは、

（ｉ）前記対象由来の試験身体試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するステップ、及び

（ii）ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量を、

前記透析の開始の前又は後である、より早期の時点（複数可）での前記試験対象、又は

透析に対する長期的忍容性を有する末期腎疾患対照対象（複数可）

から採取した比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量若しくはその量の範囲と比較するステップであって、

ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が、前記比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量若しくはその量の範囲と比較して高い量であるとき、対象の透析に対する忍容性は低い可能性があり、ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が、前記比較用身体試料（複数可）中に存在するＭＩＣ－１量若しくはその量の範囲より少ないか又は実質的に同等であるとき、対象は透析に対する忍容性を有する可能性があるステップ、或いは

（iii）ステップ（ｉ）において決定された前記ＭＩＣ－１量を、透析に対する長期的忍容性と関連しているＭＩＣ－１の基準量と比較するステップであって、

ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が、該ＭＩＣ－１の基準量と比較して高い量であるとき、対象の透析に対する忍容性は低い可能性があり、ステップ（ｉ）において決定されたＭＩＣ－１量が、該ＭＩＣ－１の基準量より少ないか又は実質的に同等であるとき、対象は透析に対する忍容性を有する可能性があるステップ

を含む。

【００５９】

好ましくは、第４の態様の方法において検出されるＭＩＣ－１は、成熟ヒトＭＩＣ－１タンパク質、Ｄ６成熟ヒトＭＩＣ－１バリアントタンパク質及び／又はそれらのヘテロ二量体である。試験身体試料は、前述のように第１の態様に関するものであってもよいが、

好ましくは、試験身体試料は、全血、血漿、血清及び尿からなる群から選択される。

【００６０】

第４の態様の方法によれば、試験身体試料におけるＭＩＣ－１量は、透析を受けている末期腎疾患対象を前記透析に対する忍容性について評価するために使用してもよく、このとき、例えば、１又は２以上の、好ましくは年齢がマッチしており、透析に対する長期的忍容性を有する末期腎疾患対象（複数可）と比較して上昇しているＭＩＣ－１量（試験身体試料中）の定量値は、透析に対する低い忍容性と関連しており；例えば、１又は２以上の、好ましくは年齢がマッチしており、透析に対する長期的忍容性を有する末期腎疾患対象（複数可）と比較して実質的に同等であるか又は減少しているＭＩＣ－１量の定量値は、透析に対する許容可能又は良好な忍容性と関連しており；透析の開始前後である、より早期の時点（複数可）で決定されたＭＩＣ－１量と比較して実質的に変化していない（すなわち安定である）か又は減少しているＭＩＣ－１量の定量値は、透析に対する許容可能又は良好な忍容性と関連している。

【００６１】

本発明の方法は、インビトロ又はエクスビボで実行できる。しかし、好ましくは、この方法は、インビトロで実行する。

【００６２】

インビトロ法の場合、試験身体試料中に存在するＭＩＣ－１量は、例えば、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ，enzyme-linked immunosorbant assay）、放射性免疫測定法（ＲＩＡ，radioimmunoassay）、又は、抗ＭＩＣ－１抗体若しくはその断片を用いた免疫組織化学（例えば、組織生検の切片試料を用いる）などのイムノアッセイを含めた任意の適当な方法により容易に決定できる。抗ＭＩＣ－１抗体及びその断片は、当業者に周知の方法のいずれかにより作製できる。しかし、例えば、ＭＩＣ－１受容体とのＭＩＣ－１の結合の検出に関する方法（例えば、国際公開第２００９／２１２９３号パンフレットにおいて開示されているような）など当業者に周知の他の方法、又は、ＭＩＣ－１と結合できる任意の他のリガンド（例えば、国際公開第２００５／９９７４６号パンフレットにおいて開示されているようなフェチュイン）を用いてＭＩＣ－１レベルを検出及び定量化することは可能である。試験身体試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するための特に適当な方法は、多様なサンドイッチ法、競合法又は他のアッセイ形式において標識分子を利用するイムノアッセイである。そのようなイムノアッセイは、ＭＩＣ－１の有無を示すシグナルを生じさせることになる。さらに、そのようなイムノアッセイにより発生するシグナルの強度は、試料中に存在するＭＩＣ－１量と直接的又は間接的に相関（例えば反比例）させることができる。試験身体試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するためのとりわけ適当な他の方法は、正確な分子量又は核磁気共鳴（ＮＭＲ，nuclear magnetic resonance）スペクトルなどＭＩＣ－１に特異的な物理又は化学特性の測定を含む方法である。したがって、そのような方法は、バイオセンサー、イムノアッセイと組み合わせた光学装置、バイオチップ、質量分析計、ＮＭＲ分析装置又はクロマトグラフィー装置などの分析装置を用いて実行してもよい。試験身体試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するための特に適当なさらなる方法としては以下が挙げられる：マイクロプレートＥＬＩＳＡベース法、完全に自動化された又はロボットによるイムノアッセイ（例えば、Elecsys（登録商標）分析装置（Roche Diagnostics Corporation社製、Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ、ＩＮ、アメリカ合衆国）の名で販売されている）、酵素的コバルト結合アッセイ（ＣＢＡ，Cobalt Binding Assay）（例えば、Roche-Hitachi分析装置（Roche Diagnostics Corporation社製）の名で販売されている）、及びラテックス凝集アッセイ（例えば、Roche-Hitachi分析装置の名で販売されている）。試験身体試料中に存在するＭＩＣ－１量を決定するためのとりわけ適当な方法の又さらなる例としては、以下を含めた方法が挙げられる：沈降法（例えば免疫沈降法）、電気化学発光法（すなわち、電気的に発生させた化学発光）、電気化学発光サンドイッチイムノアッセイ（ＥＣＬＩＡ，electrochemiluminescence sandwich immunoassay）、解離強化ランタニドフルオロイムノアッセイ（ＤＥＬＦＩＡ，dissociation-enhanced lanthanide fluoro immunoassay）、シンチレーション近接アッセイ（Ｓ

ＰＡ，scintillation proximity assay）、比濁法、比濁分析、並びに、ラテックス強化による比濁法及び比濁分析。ゲル電気泳動、ウェスタンブロッティング及び質量分析法など、当業者に周知のさらなる方法を、単独で、又は前述のような他の適当な方法と組み合わせて用いてもよい。

【００６３】

したがって、試験身体試料におけるＭＩＣ－１量の決定は、（ｉ）ＭＩＣ－１を特異的なリガンドと接触させるステップ、（ii）場合により、結合していないリガンドを除去するステップ、及び（iii）結合しているリガンドの量を測定するステップを含むことができる。結合しているリガンド（共有結合及び／又は非共有結合により結合していてもよい）は、強度シグナルを発生することになる。先に示したとおり、リガンドは、抗ＭＩＣ－１抗体又はその断片から選択してもよいが、それ以外に、例えば、ＭＩＣ－１と結合する任意の化合物（ペプチド、ポリペプチド、核酸、アプタマー（例えば、核酸又はペプチドアプタマーなど）、フェチュインなどの糖タンパク質、及び小分子）など、ＭＩＣ－１と結合できる任意の他のリガンドであってもよい。しかし、好ましくは、リガンドは以下から選択される：抗ＭＩＣ－１抗体又はその断片（ポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体並びにそれらの断片（ＭＩＣ－１と結合する能力のあるＦｖ、Ｆａｂ及びＦ（ａｂ）$_2$断片など）、及び、単鎖抗体などの組換え抗体（例えばｓｃＦＶ抗体）を包含する）並びにＭＩＣ－１受容体（例えば、国際公開第２００９／２１２９３号パンフレットにおいて開示されているようなもの）、又は、ＭＩＣ－１と結合する少なくとも１つの結合ドメインを含むその断片。そのようなリガンドを調製する方法は、当業者には周知である。

【００６４】

好ましくは、このリガンドは、ＭＩＣ－１と特異的に結合する。本明細書中で使用する場合、用語「特異的に結合する」及び文法的に同等な用語は、当該リガンドが、試験身体試料中に存在する別のペプチド、ポリペプチド又は物質と実質的に結合（すなわち、実質的に「交差反応」）すべきではないことを意味する。好ましくは、特異的に結合したＭＩＣ－１は、任意の他の関連するペプチド、ポリペプチド又は物質より少なくとも３倍高い、より好ましくは少なくとも１０倍高い、最も好ましくは少なくとも５０倍高い親和性で結合するであろう。非特異的な結合は、当該結合が、例えば、ウェスタンブロット上でのそのサイズによっても、若しくは試料中での比較的高いＭＩＣ－１存在量によっても区別及び明確に測定できるのであれば、又は、陰性対照試料若しくは正常対象対照試料の使用について制御できるのであれば、容認できる。

【００６５】

このリガンドは、該リガンドの検出及び測定を可能にする標識と共有結合又は非共有結合でカップリングすることができる。適当な標識化は、当業者に周知の直接又は間接的な方法のいずれかにより実施できる。しかし、簡潔に説明すれば、直接標識化には、標識をリガンドと直接（共有結合又は非共有結合で）カップリングすることが含まれ、間接標識化には、二次リガンドを当該リガンド（すなわち「一次リガンド」）と結合（共有結合的又は非共有結合的に）させることが含まれ、このとき、二次リガンドは、一次リガンドと特異的に結合すべきであり、適当な標識とカップリングし、及び／又は、二次リガンドと結合する三次リガンドの標的（受容体）であってもよい。二次、三次又はさらに高次のリガンドの使用は、シグナルを増加させるために用いることができる。適当な二次及びさらに高次のリガンドとしては、抗体、二次抗体及び周知のストレプトアビジン－ビオチン系（Vector Laboratories，Inc社製、Ｂｕｒｌｉｎｇａｍｅ、ＣＡ、アメリカ合衆国）を挙げることができる。リガンドは、当業者に周知の１又は２以上のタグで「タグ化」されていてもよく、こうしたタグがさらに、より高次のリガンドの標的であってもよい。適当なタグとしては、以下が挙げられる：ビオチン、ジゴキシゲニン、Ｈｉｓ－Ｔａｇ、グルタチオン－Ｓ－転移酵素、ＦＬＡＧ、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ，Green Fluorescent Protein）、ｍｙｃタグ、インフルエンザＡウイルス赤血球凝集素（ＨＡ，haemagglutinin）、マルトース結合タンパク質など。リガンドがタンパク質、ペプチド又はポリペプチドである場合、タグは、好ましくは、Ｎ末端及び／又はＣ末端に位置する。適当な標識とし

ては、適切な検出方法により検出可能な任意の標識、例えば、金粒子、ラテックスビーズ、アクリダンエステル、ルミノール、ルテニウム、酵素活性のある標識、放射性標識、磁気標識（例えば、常磁性標識及び超常磁性標識などの「磁気ビーズ」）、並びに蛍光標識などが挙げられる。酵素活性のある適当な標識としては、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ及びそれらの誘導体が挙げられる。検出を可能にする酵素活性のある標識の適当な基質としては、以下が挙げられる：ジアミノベンジジン（ＤＡＢ，di-amino-benzidine）、３，３’－５，５’－テトラメチルベンジジン、４－ニトロブルーテトラゾリウムクロリド及び５－ブロモ－４－クロロ－３－インドリルホスフェート（ＮＢＴ－ＢＣＩＰ，4-nitro blue tetrazolium chloride and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate）、Roche Diagnostics Corporation社から既製のストック溶液として販売されている）、CDP-Star（商標）（Amersham Biosciences Inc社製、Ｆａｉｒｆｉｅｌｄ、ＣＴ、アメリカ合衆国）及びＥＣＦ（商標）（Amersham Biosciences Inc社製）。適当な放射性標識としては、^{35}Ｓ、^{125}Ｉ、^{32}Ｐ、^{33}Ｐなどが挙げられる。放射性標識は、例えば、感光フィルム又はリン光体画像化装置など、当業者に周知の方法のいずれかにより検出できる。適当な蛍光標識としては、蛍光タンパク質（ＧＦＰ及びその誘導体、Ｃｙ３、Ｃｙ５、Texas Red、フルオレセイン及びAlexa色素（例えばAlexa568）など）が挙げられる。蛍光標識としての量子ドットの使用も企図される。

【００６６】

いくつかの実施形態では、試験身体試料におけるＭＩＣ－１量は、以下のように決定してもよい：（ｉ）前述のような、ＭＩＣ－１のリガンドを含む固体担体を、ＭＩＣ－１を含む前記試験身体試料と接触させること、その後、（ii）該担体と結合し始めたＭＩＣ－１量を測定すること。好ましくは、そのような実施形態では、リガンドは、核酸、ペプチド、ポリペプチド、抗体及びアプタマーからなるリガンド群から選択され、好ましくは、固定化された形態で固体担体上に設けられる。固体担体は、当業者に周知の典型的な材料のいずれかから構成されるものであってもよく、そのようなものとしては以下が挙げられる：とりわけ、市販のカラム材料、ポリスチレンビーズ、ラテックスビーズ、磁気ビーズ、コロイド金属粒子、ガラス及び／又はシリコンのチップ及び表面、ニトロセルロースの細片、膜、シート、デュラサイト（duracyte）、適当な反応トレイ（９６ウェルプレート及び他のプレートなど）のウェル及び壁、プラスチックチューブなど。そのような実施形態において使用されるリガンドは、ガラス、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル（ＰＶＣ，polyvinyl chloride）、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカーボネート、デキストラン、ナイロン、アミロース、天然セルロース及び加工セルロース、ポリアクリルアミド、アガロース並びにマグネタイトなどの適当な担体と結合させてもよい。担体の性質は、可溶性又は不溶性いずれであってもよい。固体担体へのリガンドの固定化の適当な方法は当業者には周知であり、例えば、イオン性、疎水性、共有結合性の相互作用などが挙げられる。「懸濁液アレイ」（Nolan, JP and LA Sklar. Suspension array technology: evolution of the flat-array paradigm.Trends Biotechnol. 20(1):9-12 (2002)）を使用することも企図されるが、このアレイでは、マイクロビーズ又は微小球などの担体が懸濁液中に存在し、アレイが、異なるリガンドを担持している異なるマイクロビーズ又は微小球（場合により標識されている）からなる。そのようなアレイは、例えば固相化学及び感光性の保護基に基づいて作製する方法は、当業者には周知である（例えば、米国特許第５，７４４，３０５号明細書を参照のこと）。

【００６７】

本発明の方法のいくつかの実施形態では、試験対象は、腎代替療法を必要としているであろう。腎代替療法は、先に記載のとおり、一時的又は無期限のものであってもよいことは理解されたい。

【００６８】

本出願人は、ＭＩＣ－１レベルは独立した死亡率予測因子として使用できることを見い出した。本明細書中で使用する場合、用語「死亡率予測因子」は、死亡可能性を決定する

ために対象において測定又は考慮できる医学的因子を指すと理解されたい。用語「独立した死亡率予測因子」は、本明細書中で使用する場合、任意の他の因子（同時に測定できるか否かを問わない）を考慮せずに当該因子（すなわち、ＭＩＣ－１レベル）が死亡可能性を予測できることを示すものと理解されたい。したがって、第１及び第２の態様の方法のいくつかの実施形態では、上昇したＭＩＣ－１量は、独立した死亡率予測因子として使用される。しかし、本発明によるそのような方法は、他の死亡率予測因子と共に代替的に使用してもよい。例えば、この方法は、死亡率予測因子としての、ＢＭＩ、インターロイキン－６（ＩＬ－６，interleukine-6）レベル、Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）レベル及び／又は短テロメアの長さ（De Mayer, T et al. Studying telomeres in a longitudinal population based study. Front Biosci 13:2960-2970 (2008)）と組み合わせて使用してもよい。したがって、ＢＭＩ及び／又はＣＲＰ、並びに、既定のレベル又はそれを超えるＭＩＣ－１と併せたＭＩＣ－１量の決定を用いて、ＣＫＤ対象の死亡可能性を予測してもよい。

【００６９】

本出願人は、加えて、孤発性ＣＫＤ対象における血清ＭＩＣ－１レベルは主観的包括的栄養評価（ＳＧＡ，subjective global nutritional assessment）のスコアと独立した関係を有することに気付いた。さらに、体重の調節におけるＭＩＣ－１の役割（Johnen, H et al. Tumor-induced anorexia and weight loss are mediated by the TGF-beta super family cytokine MIC-1. Nat. Med 13:1333-1340 (2007)）、及び炎症過程におけるＭＩＣ－１の顕著な関与（Brown, DA et al. Concentration in plasma of macrophage inhibitory cytokine-1 and risk of cardiovascular events in women: a nested case-control study. Lancet 359:2159-2163 (2002b)、Brown, DA et al. Serum macrophage inhibitory cytokine 1 in rheumatoid arthritis: A potential marker of erosive joint destruction. Arthritis Rheum 56:753-764 (2007)）は、他の因子が血清ＭＩＣ－１濃度と関連している可能性があることを示唆している。本出願人は、ＣＫＤ対象におけるＭＩＣ－１レベルは、ＢＭＩの脂肪成分（ＦＢＭＩ，fat component of BMI）、並びにフィブリノーゲンレベル及び８－ヒドロキシデオキシグアノシン（８－ＯＨｄＧ，８－hydroxydeoxyguanosine）レベルと独立に関連しており、このことは、血清ＭＩＣ－１が、重要且つこれまでに認識されていなかった、腎不全における炎症、酸化ストレス及び栄養低下（これらは全て、末期腎疾患における死亡率決定因子と考えられているものである）の間を繋ぐものであることを示唆していることに気付いた。

【００７０】

したがって、本発明の方法は、以下からなる群から選択される少なくとも１つの他の死亡率予測因子と共に使用してもよい：体重減少、ＢＭＩの低下、ＦＢＭＩの低下、ＳＧＡの低下、糖尿病歴、心血管疾患歴、及び血清炎症マーカーレベル（Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）レベル及びフィブリノーゲンレベルなど）並びに酸化マーカーレベル（８－ヒドロキシデオキシグアノシン（８－ＯＨｄＧ）など）の上昇。このとき、少なくとも１つの他の死亡率予測因子は、既定のカットオフ点にあるか、又はそれを超えている。死亡率を予測するための前述の死亡率予測因子のそれぞれについての適当な既定のカットオフ点は、当業者には十分理解されよう。

【００７１】

本発明の方法のいくつかの実施形態では、死亡可能性は、ハザード分析を用いて予測してもよい。例えば、死亡可能性は、パラメトリック比例ハザードモデル、セミパラメトリック比例ハザードモデル、回帰モデル又はポアソン回帰モデルを用いて予測してもよい。そのようなモデルとしては、当業者には周知であるが、コックス比例ハザードモデル、ワイブル比例ハザードモデル及びコックス回帰モデルが挙げられる。

【００７２】

第５の態様では、本発明は、ＣＫＤ対象、とりわけ、末期腎疾患に罹患しているＣＫＤ対象において死亡を予防し（すなわち遅らせ）又は死亡リスクを低下させる方法であって、前記対象の血液（例えば全血）、血漿又は血清を処理（インビボ若しくはエクスビボで

）して、前記血液、血漿又は血清中に存在するＭＩＣ－１を除去又は不活性化することを含む方法を提供する。

【００７３】

インビボでの適当な血液処理は、国際公開第２００５／０９９７４６号パンフレットに記載のものなど有効量のＭＩＣ－１阻害剤を投与することを含んでもよく、同文献の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【００７４】

エクスビボでの適当な血液処理は、

（ｉ）ＭＩＣ－１と結合させるための適当な基質を供給するステップ、

（ii）対象から取り出した血液、血漿又は血清を前記基質とエクスビボで接触させることにより処理して、該血液、血漿又は血清中に存在するＭＩＣ－１を該基質と結合させるステップ、

（iii）処理した血液、血漿又は血清を基質から分離するステップ、及びその後

（iv）処理した血液、血漿又は血清を該対象に戻すステップ

を含む方法からなっていてもよい。

【００７５】

そのような処理は国際公開第２００９／０４６４９５号パンフレットに記載されており、同文献の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【００７６】

本発明の一実施形態では、試験対象は末期腎疾患に罹患している。好ましくは、試験対象は、腎代替療法を必要としている。いくつかの実施形態では、試験対象は、１カ月～３０年にわたり腎代替療法を受けている。好ましくは、試験対象は、約１カ月～約１０年、より好ましくは約１カ月～約５年にわたり腎代替療法を受けている。さらにより好ましくは、試験対象は、約３年にわたり腎代替療法を受けている。

【００７７】

ここからは、以下の非限定的な実施例及び添付の図面により本発明を説明する。

［実施例］

【実施例１】

【００７８】

患者コホート

材料及び方法

スウェーデンの血液透析予備群患者（すなわち、透析が必要なステージに到達しているがまだそうした治療を開始していない患者）のコホート（ｎ＝９８）、及び、アメリカ合衆国のすでに血液透析を受けている患者のコホート（ｎ＝３８１）に、試験エントリー時に血清ＭＩＣ－１及びＣ反応性タンパク質（ＣＲＰ）－４レベル及びＢＭＩを測定させた。Brown, DA et al. Antibody-based approach to high-volume genotyping for MIC-1 polymorphism. BioTechniques 33:118-20, 122, 124 passim (2002a)の文献に記載の要領で血清ＣＲＰ－４（Dade Behring, Inc.社製、Ｄｅｅｒｆｉｅｌｄ、ＩＬ、アメリカ合衆国）を決定し、以下に記載の要領で血清ＭＩＣ－１を決定した。収集した人口統計的情報には、年齢、性別、心血管疾患（ＣＶＤ, cardiovascular disease）歴、糖尿病（ＤＭ, diabetes mellitus）歴、身長体重が含まれた。スウェーデン人患者においては、それ以外に、栄養、体組成及び炎症のマーカーを評価した。

【００７９】

スウェーデンコホート

スウェーデン人患者は、１９９７～２００４年の間、フッディングのKarolinska University Hospitalでの透析プログラムに登録された透析予備軍の末期腎疾患患者であった。患者は全員、進行中のプロスペクティブ試験の参加者として含まれており、この試験の一部はこれまでに記載されている（Axelsson, J et al. Are insulin-like growth factor and its binding proteins 1 and 3 clinically useful as markers of malnutrition, sarcopenia and inflammation in end-stage renal disease? Eur J Clin Nutr 60:718-72

6 (2006))。１８歳未満又は７０歳を超えていた、評価の時点で急性感染症、急性の血管炎若しくは肝疾患の臨床徴候を有していた、又は試験に参加する意志がなかった場合、患者を試験から除外した。一晩の絶食の後、静脈血試料を採取し、生化学的分析用に７０℃で保管した。２４時間尿試料（すなわち、１日かけて収集された尿試料）から、慣例的な方法を用いて、クレアチニン及び尿素のクリアランスの平均値により推定されるものとしての糸球体濾過量を計算した。血清８－ヒドロキシデオキシグアノシン（８－ＯＨｄＧ。酸化ストレスの尺度として）、血清クレアチニン及びアルブミンを測定するなど、慣例的な方法を用いて、他の生化学的分析を実施した。主観的包括的栄養評価（ＳＧＡ）（Qureshi, AR et al. Factors predicting malnutrition in haemodialysis patients: a cross-sectional study. Kidney Int 53:773-782 (1998)）により、６つの異なる構成要素が含まれる質問票を使用して栄養状態を評価した：３つの主観的評価項目は、患者により、自身の体重減少、食欲不振の頻度及び嘔吐の頻度の病歴について実施し、筋萎縮（ＭＡ，muscle atrophy）、浮腫及び皮下脂肪減少の存在に基づく３つの客観的評価項目は、評価者により実施した。ＭＡの評価付けは、側頭筋、鎖骨の突出具合、肩の輪郭（丸みを帯びている場合は栄養状態がよいことを示し、角張っている場合は栄養不良を示す）、肩甲骨の目立ち具合、肋骨の目立ち具合、及び、親指と人差し指との間の骨間の筋肉量、及び四頭筋筋肉量を検査する、特別に訓練を受けた看護師により評価した。ＭＡの徴候は、以下のとおり評点付けた：１－ＭＡの徴候なし、２－ＭＡの軽度の徴候、３－ＭＡの中等度の徴候、４－ＭＡの重度の徴候。この評価は、血液試料採取時点、又はその１週間以内のいずれかに完了した。体重（ｋｇ）／身長（ｍ）^{2}として肥満度指数（ＢＭＩ）を計算した。先に記載のように、ＤＰＸ－Ｌ装置（Lunar Corporation社製、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ、アメリカ合衆国）を用い、二重エネルギーＸ線吸収測定法（ＤＸＡ，dual energy X-ray absorptiometry）によりＢＭＩの除脂肪成分（すなわちＬＢＭＩ，lean component of BMI）を推定した（Kyle, UG et al. Body composition interpretation. Contributions of the fat-free mass index and the body fat mass index. Nutrition 19:597-604 (2003)）。先に記載のように、ＢＭＩの脂肪成分（すなわちＦＢＭＩ）を計算した（Kyle, UG et al. Body composition interpretation. Contributions of the fat-free mass index and the body fat mass index. Nutrition 19:597-604 (2003)）。Harpenden Handgrip Dynamo-meter（Yamar社製、Ｊａｃｋｓｏｎ、ＭＩ、アメリカ合衆国）を用いて、利き腕及び利き腕でない腕の両方において握力（ＨＧＳ，handgrip strength）を評価した。握力測定は３回繰り返し、最高値を記録した。患者の試験参加は、腎移植した場合に打ち切った（ｎ＝４８）。移植時点で、試験エントリー時点から移植時点まで生存したものとして患者を分類し、これを被験時間とした。

【００８０】

合衆国コホート

末期腎疾患を有する血液透析患者３８１名を募集し、これらの患者に、Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ－Ｓｔ．Ｐａｕｌ、ＭＮ中の外来患者透析病棟で、長期的な週３回の間欠的血液透析による治療を１９９８年４月から１９９９年３月までに少なくとも３０日間受けさせた。透析前の血液試料（すなわち、定期的な週３回の透析セッション前に由来する試料）を各患者から得た。試験を受けた患者は、十分な血清試料量（７０℃で凍結したもの）が追加的なバイオマーカー分析用として残っていた、以前報告された（Apple, FS et al. Predictive value of cardiac troponin I and T for subsequent death in end-stage renal disease. Circulation 106:2941-2945 (2002)）元の末期腎疾患患者のデータベースの部分群であった。患者の試験参加は、腎移植（ｎ＝１８）、血液透析中止（ｎ＝１）及び別の腎透析病棟への患者の移送（ｎ＝１６）の場合に打ち切った。

【００８１】

統計分析

結果は、特に指示しない限り、平均値±標準偏差として表し、ｐ＜０．０５は有意性を示す。連続変数及び分類変数についてそれぞれ、対応のないｔ検定及びカイ二乗分析を用いてコホートを比較した。多くの値が正規分布しなかったことから、スピアマン順位検定

によりマーカー間の相関を計算した。累積生存率の差を、さまざまなＭＩＣ－１レベルを有する患者間で比較した。試験参加は、血液採取日から死亡日までコンピューター計算し、所望の時間間隔の長さで、まず打ち切った。スウェーデン及び米国のコホートにおいては、腎移植を受けると患者を打ち切り対象として分類し、移植時点までの被験時間を計算した。加えて、別の透析施設に移送された米国患者（ｎ＝１６）を打ち切り対象として分類し、移送時点までの被験時間を計算した。コックス比例ハザードモデルを使用することにより、死亡の非調整及び調整相対リスク（ＲＲ，relative risk）及び９５％信頼区間を推定した。以前の分析において独立リスク因子と同定された変数を用いてモデルをまず当てはめた後で、調整ＲＲを推定した。生存曲線はカプラン－マイヤー法によりコンピューター計算し、ログランク統計量を用いて、リスク層別化群間で比較した。分析はStatView5.0ソフトウェア（SAS Inc社製、Ｃａｒｙ、ＮＣ、アメリカ合衆国）を用いて行った。

【００８２】

血清ＭＩＣ－１レベルの決定

ＭＩＣ－１サンドイッチＥＬＩＳＡを用い、Brownら（２００２）の文献中に記載の要領で、血清ＭＩＣ－１レベルを決定した。簡潔に言えば、サンドイッチＥＬＩＳＡは、抗原捕捉用としてマウスモノクローナル抗体（ＭＡｂ，monoclonal antibody）２６Ｇ６Ｈ６を（Brown, DA et al. Antibody-based approach to high-volume genotyping for MIC-1 polymorphism. BioTechniques 33:118-20, 122, 124 passim (2002a)、Moore, AG et al. The transforming growth factor-β superfamily cytokine macrophage inhibitory cytokine-1 is present in high concentrations in the serum of pregnant women. J Clin Endocrinol Metab 85(12):4781-4788 (2000)）、検出用としてヒツジポリクローナル抗体（ＰＡｂ，polyclonal antibody）２３３Ｂ３－Ｐを（Brown, DA et al. Antibody-based approach to high-volume genotyping for MIC-1 polymorphism. BioTechniques 33:118-20, 122, 124 passim (2002a)）用いて確立した。両抗体の至適濃度を決定してから、次いで行われる全ての試験に使用した。９６ウェルのMaxisorp ＥＬＩＳＡプレートを、コーティング緩衝液（蒸留水中の０．１ｍｏｌ／Ｌ炭酸塩、ｐＨ９．４～９．８）中で１：５に希釈されたＭＡｂ　２６Ｇ６Ｈ６上清（最終濃度は、およそ２０ｎｇ／ｍＬであった）で、４℃にて２４時間コーティングした。次に、ＥＬＩＳＡプレートを、１ウェル当たり３００μＬのリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ，phosphate buffered saline）中１％（重量／容積）ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ，bovine serum albumin）で３７℃にて２時間にわたり３回洗浄した。次に、組換えヒトＭＩＣ－１（ｒｈＭＩＣ－１，recombinant human MIC-1）標準物質、組織培養上清又は患者血清をプレートに加え（１ウェル当たり１００μＬ）、３７℃で１時間インキュベートした。プレートを３回洗浄してから、抗体希釈液（１％（重量／容積）ＢＳＡ及び０．０５％（容積／容積）Tween-20を含有するＰＢＳ）中で１：５０００に希釈したヒツジＰＡｂ　２３３Ｂ３－Ｐを１ウェル当たり１００μＬ加え、３７℃で１時間インキュベートした。次に、ＥＬＩＳＡプレートを３回洗浄し、Ａｂ　ｄｉｌ中で１：５０００に希釈したビオチン化ロバ抗ヒツジＩｇＧを１ウェル当たり１００μＬ加え、３７℃で１時間インキュベートした。プレートを４回洗浄してから、０．０１４％H_2O_2を含有する０．０５ｍｏｌ／Ｌリン酸－クエン酸緩衝液、ｐＨ５．０（Sigma社製）中のペルオキシダーゼ基質（１ｍｇ／ｍＬのｏ－フェニレンジアミンジヒドロクロリド、Sigma社製）を１ウェル当たり１００μＬ加えた。５～１５分間発色を進行させ、１ウェル当たり１００μＬの４Ｎ　H_2SO_4を加えることによりこれを終了させた。マイクロプレートリーダーにおいて４９０ｎｍで吸光度を測定した。試料中のヒトＭＩＣ－１の濃度を、ｒｈＭＩＣ－１標準曲線との比較により決定した。マイクロプレートリーダー（Pasteur Diagnostics社製）に備えられている標準曲線当てはめ用ソフトウェアを用いて標準曲線を作成した。標準曲線におけるｒｈＭＩＣ－１の濃度は、この標準物質と高度に精製された組換えＭＩＣ－１のマスター標準物質との比較に基づいて決定した。マスター標準物質のタンパク質濃度は、総アミノ酸組成のうち８つの推定値の平均により決定した。試料は全て三重反復で少なくとも２回アッセイした。結果を平均値＋／－ＳＤとして表す。

【００８３】
結果
両コホートの患者について得られた臨床特徴及び人口統計的情報を表２にまとめる。鍵となる測定値であるＢＭＩ、血清ＭＩＣ－１及びＣＲＰのレベルについては、２つの集団間で有意差はなかった（それぞれｐ＝０．５１１７、０．９６７２、０．０９０２；対応のないｔ検定）。全てのＣＫＤ患者の血清ＭＩＣ－１レベルは、正常範囲である２００～１１５０ｐｇ／ｍｌを超えていた（Brown, DA et al. MIC-1 serum level and genotype: associations with progress and prognosis of colorectal carcinoma. Clin Cancer Res 9:2642-2650 (2003)）。
【００８４】
【表２】

表２　人口統計学的及び臨床的測定値

	米国コホート	スウェーデンコホート
合計	381	98
年齢(歳)	61±16	53±13
性別		
男性	219 (57%)	58 (59%)
女性	162 (43%)	40 (41%)
糖尿病	176 (46%)	28 (30%)
心血管疾患歴及び/又は虚血性心疾患の臨床徴候	116 (30%)	29 (30%)
CRP (mg/L)	16.6±24.9	12.0±20.3
MIC-1 (pg/ml)	8345±4996	8396±3697
BMI (Kg/m2)	25.3±5.6	24.9±4.6
追跡期間(カ月)	19.4±8.5	66.4±34.9
死亡	108 (28%)	36(37%)

データは、絶対数(パーセンテージ)又は平均値(±SD)として示す。

【００８５】
９８名のスウェーデン人患者では、平均年齢は５３歳、５８名（５９％）は男性であった。患者の平均追跡期間は５．５年（範囲：１．２年～１３．２年）であり、合計３６名の死亡は、追跡期間の３１９患者・年の間に起こった。心血管疾患歴及び／又は虚血性心疾患（狭心症）の臨床徴候は２９名（３０％）の患者において存在し、２８名（３０％）は糖尿病を有しており、この数字は、アメリカ合衆国の患者のコホートにおけるより有意に少なかった（ｐ＝０．００２３、カイ二乗分析）。
【００８６】
３８１名の米国患者では、患者の平均年齢は６１歳であり、これは、スウェーデン集団より有意に高く（ｐ＜０．０００１、対応のないｔ検定）、５８％は男性であった。糖尿病、及び、冠動脈疾患（ＣＡＤ，coronary artery disease）歴は、それぞれ、４６％及び３０％の患者において見られた。透析生活を送っている年数の中央値は２．０年（範囲：０．１～２２年）であった。患者の追跡期間の平均値は１．６年（範囲：４１日～３年）であり、合計１０８名の死亡は、追跡期間の６１５患者・年の間に起こった。

【実施例２】
【００８７】
血清ＭＩＣ－１は、スウェーデンコホートにおける主観的包括的栄養評価（ＳＧＡ）に関連している
米国コホートに関するデータはこれまでに発表されており、血清ＭＩＣ－１レベルはＢＭＩと負の相関があることが示されている（Johnen, H et al. Tumor-induced anorexia and weight loss are mediated by the TGF-beta superfamily cytokine MIC-1. Nat. Med 13:1333-1340 (2007)）。血清ＭＩＣ－１レベルの上昇と関連している栄養的な変化をさらに調査するため、本出願人は、栄養情報を入手できたスウェーデン人患者のデータを分析した。
【００８８】
結果及び考察
ＳＧＡを正常（ＳＧＡ＝１、ｎ＝６９）又は異常（ＳＧＡ＞１、ｎ＝２７）に分けたが、２名の患者からはデータが入手できなかった。ＳＧＡは、Ｓ－クレアチニン（ｐ＝０．００５０）、ＢＭＩ（ｐ＝０．００５１）、握力（ｐ＝０．００１６）及び血清ＭＩＣ－１レベル（ｐ＝０．００６５）と有意に関連していた。血清ＭＩＣ－１が中央値（７４３０ｐｇ／ｍｌ）を超える患者は、異常なＳＧＡを有する傾向が有意に高かった（ｐ＝０．０００１、カイ二乗）。中央値を超える血清ＭＩＣ－１レベルは、多変量ロジスティック回帰においてＳＧＡと独立に関連していた（表３）。このモデルを、ＭＩＣ－１と関連している可能性がある因子、具体的には、年齢（Brown, DA et al. Measurement of serum levels of macrophage inhibitory cytokine 1 combined with prostate-specific antigen improves prostate cancer diagnosis. Clin Cancer Res 12:89-96 (2006)、ｐ＝０．７０２４）及びＣＲＰ－５（Brown, DA et al. Concentration in plasma of macrophage inhibitory cytokine-1 and risk of cardiovascular events in women: a nested case-control study. Lancet 359:2159-2163 (2002b)、ｐ＝０．１８４０）についてさらに調整した。ＭＩＣ－１とＳＧＡとの独立した関連の有意な低下は観察されなかった。
【００８９】
【表３】

表３　スウェーデンコホートにおけるＳＧＡについての多変量ロジスティック回帰

	β	標準誤差	P
MIC-1 (7400pg/mlを超える)	2.168	0.712	0.0006
CRP (10g/l以上)	2.140	0.014	0.0034
BMI (24.15kg/m^2を超える)	-2.163	0.127	0.0047
クレアチニン (mg/dl)	-0.006	0.002	0.0003
年齢(歳)	-0.011	0.030	0.7024

【００９０】
血清ＭＩＣ－１レベル対ＳＧＡのこの独立した関係、体重調節におけるＭＩＣ－１の役割（Johnen, H et al. Tumor-induced anorexia and weight loss are mediated by the TGF-beta superfamily cytokine MIC-1. Nat. Med 13:1333-1340 (2007)）、及び炎症過程におけるＭＩＣ－１の顕著な関与（Brown, DA et al. Concentration in plasma of macrophage inhibitory cytokine-1 and risk of cardiovascular events in women: a nested case-control study. Lancet 359:2159-2163 (2002b)、Brown, DA et al. Serum macrophage inhibitory cytokine 1 in rheumatoid arthritis: A potential marker of ero

sive joint destruction. Arthritis Rheum 56:753-764 (2007)）から、血清ＭＩＣ－１濃度と関連している可能性がある他の因子を調べる価値があるであろうということが示唆された。

【実施例３】

【００９１】

血清ＭＩＣ－１レベルは、スウェーデンコホートにおいては栄養及び炎症マーカー及び酸化障害マーカーに関連している

血清ＭＩＣ－１レベルと、循環血液中の炎症マーカー（ＣＲＰ、フィブリノーゲン）及び酸化マーカー（８ＯＨｄＧ）、筋萎縮、ＢＭＩ並びに年齢との間の関係を調べた。

【００９２】

結果及び考察

表４に示すように、血清ＭＩＣ－１レベルをスウェーデン集団における循環血液中の炎症マーカー（ＣＲＰ、フィブリノーゲン）、酸化マーカー（８－ＯＨｄＧ）のレベル及び年齢と比較したが、その理由は、これらの因子は末期腎疾患における死亡率の指標の可能性があるからである。スピアマン順位相関検定を用いた最初の単変量解析により、血清ＭＩＣ－１レベルは、年齢（ρ＝０．２５２、ｐ＝０．０１３５）、ＣＲＰ（ρ＝０．２８３、ｐ＝０．００５６）、フィブリノーゲン（ρ＝０．３４６、ｐ＝０．００１８）、８－ＯＨｄＧ（ρ＝０．３０８、ｐ＝０．００３３）及び血清アルブミン（ρ＝－０．２１１、ｐ＝０．０３８８）と関連していることが実証された。血清ＭＩＣ－１レベルと筋萎縮とは、連続変数として有意に関連はなかったが、中央値を超える血清ＭＩＣ－１間では強い傾向が観察された（ｐ＝０．０５１４）。同様に、血清ＭＩＣ－１レベルとＢＭＩとは連続変数としては関連がなかったが、中央値を超える血清ＭＩＣ－１レベルとＢＭＩとの間では強い傾向が観察された（ｐ＝０．０６１２）。さらに、血清ＭＩＣ－１が中央値を超えている患者の方が、ＢＭＩが２５ｋｇ／ｍ^{2}未満である傾向が高かった（ｐ＝０．０２５１）。変数減少ステップワイズ多変量ロジスティック回帰分析に含めると、ＢＭＩの脂肪成分（すなわちＦＢＭＩ）は依然として血清ＭＩＣ－１レベルと独立に関連しており（ｐ＝０．０００４）、フィブリノーゲンレベル（ｐ＝０．０００７）及び血清８－ＯＨｄＧレベル（ｐ＝０．０４８５）も同様であった。この分析は、最初は、調べた全ての変数を含み（表４）、血清ＭＩＣ－１と有意に関連がなかった因子を段階的に除外した。

【００９３】

こうした結果から、ＭＩＣ－１は、ＦＢＭＩ、並びにフィブリノーゲン及び８－ＯＨｄＧと独立に関連していることが示され、このことから、血清ＭＩＣ－１が、重要且つこれまでに認識されていなかった、腎不全における炎症、酸化ストレス及び栄養低下（これらは全て、末期腎疾患における死亡率決定因子と考えられているものである）の間を繋ぐものであることが示唆された。

【００９４】

【表４】

表４　スウェーデンコホートにおいて血清ＭＩＣ－１レベルと相関のある因子

	MIC-1			
変数	Rho	P	β	標準誤差
単変量解析の臨床的パラメーター				
年齢(歳)	0.266	0.0090		
GFR (mL/分)	-0.145	0.1799		
単変量解析の栄養的マーカー				
s-クレアチニン (mg/dl)	0.079	0.4488		
握力(kg)	0.001	0.9910		
BMI (kg/m^2)	-0.066	0.5164		
S-アルブミン (g/l)	-0.205	0.0405		
LBMI (kg)	0.060	0.5802		
FBMI (kg)	-0.105	0.3309		
SGA	0.275	0.0077		
単変量解析の炎症性及び酸化バイオマーカー				
CRP (mg/l)	0.301	0.0030		
フィブリノーゲン (g/l)	0.343	0.0019		
フェリチン (μg/l)	0.198	0.0545		
8-OHdG (ng/ml)	0.308	0.0062		
MIC-1と関連している因子についてのステップワイズ多変量回帰 (pg/ml)				
FBMI (kg/m^2)		0.0004	-0.334	0.109
フィブリノーゲン (g/L)		0.0007	0.774	0.264
8-OHdG (ng/ml)		0.0485	1.701	0.868 (r^2=0.235)

【実施例４】

【００９５】

血清ＭＩＣ－１は、スウェーデンコホートにおける血液透析予備群の患者の死亡率を予測する

本出願人は、血清ＭＩＣ－１レベルが血液透析患者における死亡率を予測できるかどうかを判断しようと試みた。

【００９６】

結果及び考察

９８名のスウェーデン人患者を、ＭＩＣ－１血清レベルの中央値（すなわち７４３０ｐｇ／ｍｌ）を超えるか下回るかいずれかに分類した。カプラン－マイヤー分析から、中央値を超える血清ＭＩＣ－１レベルは、死亡率の有意な増加と関連していることが示唆された（ｐ＝０．０１０５、図２）。１３年を超える観察期間の間、血清ＭＩＣ－１レベルが

中央値を超える患者の生存率は５３％であり、これに対し、血清ＭＩＣ－１レベルが中央値を下回る患者の生存率は７３％であった。

【００９７】

血清ＭＩＣ－１レベルを、年齢、性別、ＢＭＩ、ＣＲＰレベル及びＣＶＤ／ＤＭ歴及びＧＦＲを用いた多変量解析に含めたとき、血清ＭＩＣ－１レベルは最も強い独立した死亡率予測因子の１つであったが（ｐ＝０．０１８４０、多変量のコックス比例ハザード）、ＣＲＰレベル及びＢＭＩは死亡率と独立に関連していなかった（表５）。結果として、血清ＭＩＣ－１レベルは最も強い死亡率予測血清マーカーであった。

【００９８】

ＣＫＤ患者は、循環血液中の炎症マーカー及び酸化ストレスマーカーの上昇により決定されるように、著しい炎症を伴うタンパク質エネルギー栄養障害を有することが多い。酸化障害により、進行性ＣＫＤにおいて慢性炎症状態が目に見えるようになると考えられる。このコホートにおいて、血清ＭＩＣ－１は、ＢＭＩ、並びに、ＢＭＩ及びＣＲＰから独立した栄養尺度であるＳＧＡとも関連している。ＢＭＩの一成分のみ、ＦＢＭＩ、フィブリノーゲン、及び、インビボでの酸化ストレス尺度である８－ＯＨＤＧが血清ＭＩＣ－１レベルと独立に関連しており、このことから、ＭＩＣ－１が、重要且つこれまでに認識されていなかった、ＣＫＤにおける酸化ストレス、炎症、ＢＭＩ低下及び死亡率の間を繋ぐものであることが示唆される。こうした結果から、血清ＭＩＣ－１レベルは循環血液中の炎症マーカー及び酸化ストレスマーカーと有意に関連していることが示される。

【００９９】

したがって、この結果から、血清ＭＩＣ－１レベルは末期腎疾患における全死因死亡率の予測マーカーとして使用できることが示唆される。この結果が得られたので、末期腎不全における死亡率予測因子として血清ＭＩＣ－１測定値を検証するために、第２の独立コホートを分析した。

【０１００】

【表５】

表５　血液透析予備軍患者及び血液透析日常実施患者における全死因死亡率の多変量コックス比例ハザード分析

変数	調整	ハザード比	95% CI	p
スウェーデンコホート n=98				
MIC-1 pg/ml				
1	粗データ	1.1	1.0～1.2	0.0227
2	1+年齢、性別、GFR、CVD、糖尿病	1.2	1.0～1.3	0.0149
3	2+ CRP、BMI	1.2	1.0～1.3	0.0184
最終モデル				
MIC (pg/ml)		1.1	1.1～1.2	0.0184
年齢 (1歳)		1.1	1.1～1.2	<0.0001
性別 (男性)		0.5	0.2～1.3	0.1572
糖尿病 (あり)		3.1	1.2～8.0	0.0172
CVD (あり)		1.7	0.8～3.8	0.1332
GFR (1mL/分)		1.1	0.9～1.4	0.3457
CRP (1 mg/L)		1	1.0～1.0	0.635
BMI (1 kg/m2)		1	1.1～0.9	0.4524
米国コホート(n=381)				
MIC-1 pg/ml				
1	粗データ	1.1	1.0～1.1	0.0047
2	1+年齢、性別、DV、CVD、糖尿病	1	1.0～1.1	0.0402
3	2+ CRP、BMI	1	1.0～1.0	0.1117
最終モデル				
MIC (pg/ml)		1	1.0～1.0	0.1117
年齢 (1歳)		1	1.0～1.1	<0.0001
性別 (男性)		1.1	0.7～1.7	0.6867
糖尿病 (あり)		1.7	1.1～2.5	0.0149
CVD (あり)		1.1	0.8～1.1	0.5406
DV* (日)		1	1.0～1.0	0.9826
CRP (1 mg/L)		1.1	1.0～1.2	0.0006
BMI (1 kg/m2)		0.9	0.9～0.9	<0.0001

DV*　　透析年数

【実施例５】

【０１０１】

血清ＭＩＣ－１レベルは、透析の最初の３年における死亡率を予測する

本出願人は、透析を日常実施している患者における死亡率をＭＩＣ－１が予測できるかどうかを調査した。

【０１０２】

結果及び考察

予備群であるスウェーデンコホートとは対照的に、米国コホートは、血清ＭＩＣ－１測定の３０日～２２年前に透析を開始していた。血清ＭＩＣ－１レベルは透析年数（ＤＶ）

（ρ＝０．１８２、ｐ＝０．０００４）及びＢＭＩ（ρ＝－０．２２４、ｐ＜０．０００１）と有意に関連していることがわかった。しかし、ＤＶと共に含めた際、多変量の回帰分析においてＭＩＣ－１と独立に関連があったのはＢＭＩだけであった（ｐ＝０．００１９）。血清ＭＩＣ－１レベルは、血液透析を日常受けている患者における死亡率を予測した（ｐ＝０．００４７、表５）。加えて、血清ＭＩＣ－１レベルを年齢、性別、ＤＶ及びＣＶＤ／ＤＭ歴について調整すると、血清ＭＩＣ－１は、試験終了時点でも依然として、独立した死亡率予測因子であった（ｐ＝０．０４２０、表５）。ＣＲＰ及びＢＭＩについてさらに調整すると、ＭＩＣ－１の予測力は有意に低下した。スウェーデン集団について観察された結果と対照的に、日常実施のアメリカ合衆国集団におけるＭＩＣ－１レベルの中央値は、死亡率を独立に予測しなかった（データは示していない）。しかし、この日常実施コホートにおける患者からは、透析開始後に試料を採取しており、血清ＭＩＣ－１濃度が変化した可能性がある。したがって、多様な透析生活期間と併せて血清ＭＩＣ－１レベル対死亡リスクの関係を調べた。

【０１０３】

予備群であるスウェーデンの腎不全患者においては、患者にとっての相対死亡リスク（年齢、性別、ＧＦＲ及びＣＶＤ／ＤＭ歴について調整）と血清ＭＩＣ－１レベルとの関連は、透析に次ぐ最初の３年の間は有意であった（全コホートについては、ＲＲ＝１．１６、９５％ＣＩ＝１．０３～１．３８；ＤＶが１年を超える患者については、ＲＲ＝１．１６、９５％ＣＩ＝１．０３～１．３８；ＤＶが２年を超える患者については、ＲＲ＝１．０８、９５％ＣＩ＝０．９４～１．２３；ＤＶが３年を超える患者については、ＲＲ＝０．９８、９５％ＣＩ＝０．８２～１．１７；図２）。同様に、透析を日常受けている３８１名の米国患者においては、年齢、性別、ＤＶ及びＣＶＤ／ＤＭ歴について調整後の血清ＭＩＣ－１レベルは、３年以下の透析を受けていた患者における死亡率も予測した（全コホートについては、ＲＲ＝１．０４、９５％ＣＩ＝１．００～１．０７；ＤＶが１年を超える患者については、ＲＲ＝１．０４、９５％ＣＩ＝１．０１～１．０８；ＤＶが２年を超える患者については、ＲＲ＝１．０４、９５％ＣＩ＝１．０１～１．０８；ＤＶが３年を超える患者については、ＲＲ＝１．０３、９５％ＣＩ＝０．９８～１．１０）。透析予備群集団（すなわちスウェーデンコホート）及び透析を日常受けている集団（すなわち米国コホート）両方において、収集後最初の３年におけるＭＩＣ－１の予測力を考慮して、日常実施の米国コホート内の透析生活が３年間以下の患者における死亡率を予測するための血清ＭＩＣ－１レベルの有用性を次に調べた。

【実施例６】

【０１０４】

血清ＭＩＣ－１は、米国コホートの末期腎疾患における早期死亡率予測因子である

透析生活が３年間以下の患者における死亡率を血清ＭＩＣ－１レベルが予測する可能性を調べた。

【０１０５】

結果及び考察

試験終了時点で透析生活が３年間以下である米国コホートの１４９名の透析日常実施患者のうち、４６名は死亡し、血清ＭＩＣ－１レベルは多変量解析において独立した死亡率予測因子であることがわかった（ｐ＝０．０３２０、表６）。カプラン－マイヤー分析を用い、血清ＭＩＣ－１レベルが中央値（すなわち６３００ｐｇ／ｍｌ）を超える患者は最初の３年における死亡リスクが高かった（ｐ＝０．０１２４、図３Ａ）。透析予備群の患者を、３年以下の透析を受けている透析日常実施患者と比較すると、透析を受けている患者の方が血清ＭＩＣ－１の中央値が有意に低かった（すなわち、スウェーデンコホートにおける透析予備群患者については７４３０ｐｇ／ｍｌであったのに対し、米国コホートにおける透析日常実施患者については６３３０ｐｇ／ｍｌであった。ｐ＝０．０１３６）ことから、透析により血清ＭＩＣ－１レベルが低下することが示唆された。理論に拘束されることを望むものではないが、血清ＭＩＣ－１レベルが最上位十分位にある患者の方が死亡リスクが高いはずであり、このことは、透析の開始、及び、最上位十分位について層別

化した再分析結果によりそれほど影響されないであろうと推論される。血清ＭＩＣ－１レベルが最上位十分位にある（１４２００ｐｇ／ｍｌを超える）３年未満の透析を受けている患者は死亡リスクが有意に高く（ｐ＝０．００８３、図３Ｂ）、年齢、ＣＲＰ、ＢＭＩ、ＤＭ歴及びＩＨＤ歴について調整した相対死亡リスクは２．４（９５％ＣＩは１．１～５．２）であることが明らかになった。透析日常実施コホート全体を調べると、最上位十分位（全コホートについては１４２００ｐｇ／ｍｌを超える）内の患者の死亡率は５０％であり（ｐ＝０．００４８、図３Ｃ）、１４２０００ｐｇ／ｍｌを超える血清ＭＩＣ－１レベルは依然として独立した死亡率予測因子であった（ｎ＝３８１、試験エントリー時点での年齢、ＣＲＰ、ＢＭＩ、ＤＭ歴及びＩＨＤ歴、並びに透析生活期間の長さについて調整すると、ＲＲは１．９、９５％ＣＩは１．１～３．２）。

【０１０６】

したがって、血清ＭＩＣ－１レベルは追加的な死亡率予測因子であり、ＣＲＰと同等又はそれに勝る予測力を有するようであり、伝統的なマーカーとは独立している。血清ＭＩＣ－１レベルの予測力は、両コホートにおいて、透析の最初の３年の間維持された。スウェーデンの試験集団から試料採取を行ったのは腎代替療法の開始前であり、こちらの集団の方が糖尿病患者数は少なく年齢が若かったが、日常実施者集団である米国の検証コホートから試料採取を行ったのは透析の開始後であった。透析の開始が、より低い血清ＭＩＣ－１レベルと関連していたという知見により示唆されるように、これらの集団の違いは、米国コホートにおける死亡率を予測する血清ＭＩＣ－１レベルの能力に著しく影響した可能性がある。しかし、ＭＩＣ－１は、３年以下の透析を受けている透析日常実施集団における死亡率の独立したマーカーとして検証された。したがって、透析開始によってＭＩＣ－１レベルが低下しても、死亡につながる過程に及ぼすＭＩＣ－１の効果にそれほど影響はないはずである。加えて、血清ＭＩＣ－１レベルが最上位十分位にある患者は、透析生活期間に関わらず、死亡率が有意に高かった。

【０１０７】

【表６】

表６　試験終結時点で３年以下の透析を受けている透析日常実施患者における全死因死亡率の多変量コックス比例ハザード分析（ｎ＝１４９）

変数	調整	ハザード比	95% CI	p
血清MIC-1レベル(pg/ml)				
1	粗データ	1.1	1.0～1.1	0.0025
2	1+年齢、性別、CVD、糖尿病	1.1	1.1～1.1	0.0102
3	2+CRP、BMI	1.1	1.0～1.2	0.0186
最終モデル				
MIC (pg/ml)		1.1	1.0～1.2	0.0186
年齢 (1歳)		1.1	1.0～1.1	<0.0001
性別 (男性)		0.7	0.4～1.4	0.3045
糖尿病 (あり)		1.1	0.6～2.1	0.6665
CVD (あり)		1.9	0.9～3.6	0.0759
CRP (1 mg/L)		1.1	1.0～1.2	0.0372
BMI (1 kg/m2)		0.9	0.9～1.0	0.0186

【０１０８】

このようにして、予備群及び日常実施の両方の透析患者における全死因死亡率の予測マ

ーカーとしての血清ＭＩＣ－１レベルの予測的価値が実証された。加えて、ＭＩＣ－１は、ＣＫＤにおける炎症、酸化ストレス及び悪液質のメディエーターである可能性がある。ＣＫＤの発生率は着実に上昇しており、腎移植に対する需要は臓器の入手可能性を上回り続けており、このことが、移植を待つ透析患者における著しい罹病率及び死亡率につながっている。こうした患者の中で誰が長期間の透析に耐えられないと考えられるかを区別することができれば、臓器の割当てを合理化する道が開かれることは明らかである。

【０１０９】

前述の詳細な説明において本発明の方法の好ましい実施形態を説明してきたが、本発明は、開示されている実施形態に限定されるべきではなく、本発明の範囲から逸脱せずに多数の再構成、改変及び代替が可能であることは理解されよう。

【０１１０】

本明細書を通じ、単語「～を含む（comprise）」、又は「～を含む（comprises）」若しくは「～を含む（comprising）」などの変化形は、記載してある要素、整数若しくはステップ、又は要素群、整数群若しくはステップ群を包含することを意味するのであって、いかなる他の要素、整数若しくはステップ、又は要素群、整数群若しくはステップ群も除外することを意味しないことは理解されよう。

【０１１１】

本明細書中で言及した刊行物は全て、参照により本明細書に組み込まれる。本明細書中で記載してきた文書、行為、材料、器具、物品などの一切の論考は、本発明の状況を提供するためのものにすぎない。このような事柄のいずれか又は全てが、先行技術の基礎の一部を形成しており、又は、それが本出願の各請求項の優先日より前にオーストラリア若しくは他所において存在したために、本発明に関する分野における一般常識であったと認めたものであると解釈されるべきではない。

（参考文献）

Apple, FS et al. Predictive value of cardiac troponin I and T for subsequent death in end-stage renal disease. Circulation 106:2941-2945 (2002)

Apple, FS et al. Multi-biomarker risk stratification of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, high-sensitivity C-reactive protein, and cardiac troponin T and I in end-stage renal disease for all-cause death. Clin Chem 50:2279-2285 (2004)

Axelsson, J et al. Are insulin-like growth factor and its binding proteins 1 and 3 clinically useful as markers of malnutrition, sarcopenia and inflammation in end-stage renal disease? Eur J Clin Nutr 60:718-726 (2006)

Baek, SJ et al. Cyclooxygenase inhibitors regulate the expression of a TGF-beta superfamily member that has proapoptotic and antitumorigenic activities. Mol Pharmacol 59: 901-908 (2001)

Bauskin, A et al. The propeptide of macrophage inhibitory cytokine (MIC-1), a TGF-beta superfamily member, acts as a quality control determinant for correctly folded MIC-1. Embo J 19:2212-2220 (2000)

Bauskin, AR et al. Role of macrophage inhibitory cytokine-1 in tumourigenesis and diagnosis of cancer. Cancer Res 66(10):4983-4986 (2006)

Bootcov, MR et al. MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF-beta superfamily. Proc Natl Acad Sci U S A. 94(21):11514-9 (1997)

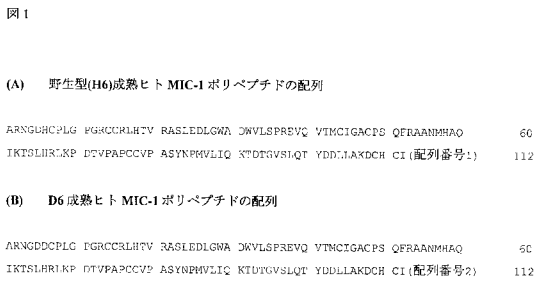
Bottner, M et al. Expression of a novel member of the TGF-beta superfamily, growth/differentiation factor-15/macrophage-inhibiting cytokine-1 (GDF-15/MIC-1) in adult rat tissues. Cell Tissue Res 297(1):103-110 (1999a)

Bottner, M et al. Characterization of the rat, mouse, and human genes of growth/differentiation factor-15/macrophage inhibiting cytokine-1 (GDF-15/MIC-1). Gene 237: 105-111 (1999b)

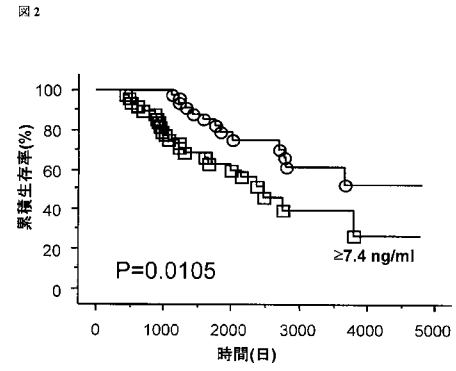
Brown, DA et al. Antibody-based approach to high-volume genotyping for MIC-1 polymorphism. BioTechniques 33:118-20, 122, 124 passim (2002a)
Brown, DA et al. Concentration in plasma of macrophage inhibitory cytokine-1 and risk of cardiovascular events in women: a nested case-control study. Lancet 359:2159-2163 (2002b)
Brown, DA et al. Serum macrophage inhibitory cytokine 1 in rheumatoid arthritis: A potential marker of erosive joint destruction. Arthritis Rheum 56:753-764 (2007)
Brown, DA et al. Measurement of serum levels of macrophage inhibitory cytokine 1 combined with prostate-specific antigen improves prostate cancer diagnosis. Clin Cancer Res 12:89-96 (2006)
Brown, DA et al. MIC-1 serum level and genotype: associations with progress and prognosis of colorectal carcinoma. Clin Cancer Res 9:2642-2650 (2003)
De Mayer, T et al. Studying telomeres in a longitudinal population based study. Front Biosci 13:2960-2970 (2008)
Fairlie, WD et al. MIC-1 is a novel TGF-beta superfamily cytokine associated with macrophage activation. J Leukoc Biol 65(1):2-5 (1999)
Hanley, JA and BJ McNeil. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. Radiology 143(1):29-36 (1982)
Hromas, R et al. PLAB, a novel placental bone morphogenetic protein. Biochim Biophys Acta 1354(1): 40-44 (1997)
Johnen, H et al. Tumor-induced anorexia and weight loss are mediated by the TGF-beta superfamily cytokine MIC-1. Nat. Med 13:1333-1340 (2007)
Kalantar-Zadeh, K and VS Balakrishnan. The kidney disease wasting: inflammation, oxidative stress, and diet-gene interaction. Hemodial Int 10:315-325 (2006)
Kempf, T et al. Circulating concentrations of growth-differentiation factor 15 in apparently healthy elderly individuals and patients with chronic heart failure as assessed by a new immunoradiometric sandwich assay. Clin Chem 53(2):284-291 (2007)
Kyle, UG et al. Body composition interpretation. Contributions of the fat-free mass index and the body fat mass index. Nutrition 19:597-604 (2003)
Lawton, LN et al., Identification of a novel member of the TGF-beta superfamily highly expressed in human placenta. Gene 203:17-26 (1997)
Moore, AG et al. The transforming growth factor-β superfamily cytokine macrophage inhibitory cytokine-1 is present in high concentrations in the serum of pregnant women. J Clin Endocrinol Metab 85(12):4781-4788 (2000)
Morrish, DW et al. Identification by subtractive hybridization of a spectrum of novel and unexpected genes associated with in vitro differentiation of human cytotrophoblast cells. Placenta 17:431-441 (1996)
Nolan, JP and LA Sklar. Suspension array technology: evolution of the flat-array paradigm.Trends Biotechnol. 20(1):9-12 (2002)
Nordfors, L et al. End-stage renal disease--not an equal opportunity disease: the role of genetic polymorphisms. J Intern Med 258:1-12 (2005)
Paralkar, VM et al. Cloning and characterization of a novel member of the transforming growth factor-beta/bone morphogenetic protein family. J Biol Chem 273 (22):13760-13767 (1998)
Qureshi, AR et al. Factors predicting malnutrition in haemodialysis patients: a cross-sectional study. Kidney Int 53:773-782 (1998)
Welsh, JB et al. Large-scale delineation of secreted protein biomarkers overexpressed in cancer tissue and serum. Proc Natl Acad Sci U S A 100(6):3410-3415 (200

3)
Yokoyama-Kobayashi, M et al. Human cDNA encoding a novel TGF-beta superfamily protein highly expressed in placenta. J Biochem 122(3):622-626 (1997)

【図１】



【図２】



【図３】

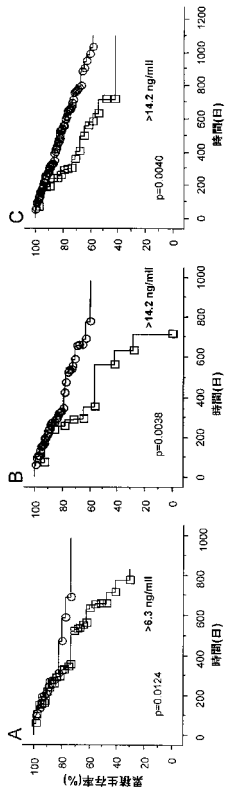


図 3

【配列表】
0005444363000001.xml

フロントページの続き

(72)発明者　ブラウン　デービッド　アレクサンダー
オーストラリア国　ニューサウスウェールズ２０６６　レーンコウブ　タンブリンベイロード１９

審査官　加々美　一恵

(56)参考文献　国際公開第２００９／０４６４９５（WO，Ａ１）
国際公開第２００９／０２１２９３（WO，Ａ１）
国際公開第２００９／１４１３５７（WO，Ａ１）
国際公開第２００７／０４７４５８（WO，Ａ１）
特表２００７－５３２５８６（ＪＰ，Ａ）
特表２０１１－５０２１０６（ＪＰ，Ａ）
特表２０１１－５２３０５１（ＪＰ，Ａ）
特表２０１１－５０１１３６（ＪＰ，Ａ）
Nature Medicine，２００７年，Vol.13，No.11，p1333-1340
Nephrol Dial Transplant，２０１２年，Vol.27，p70-75

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｇ０１Ｎ　３３／４８－３３／９８