

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-514459

(P2017-514459A)

(43) 公表日 平成29年6月8日 (2017. 6. 8)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	2 G 0 4 5
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	C 1 2 M 1/00 A	4 B 0 2 9
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 B 0 6 3
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/545 (2006.01)	A 6 1 K 31/545	4 C 0 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 91 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2016-557954 (P2016-557954)
 (86) (22) 出願日 平成27年3月13日 (2015. 3. 13)
 (85) 翻訳文提出日 平成28年11月11日 (2016. 11. 11)
 (86) 国際出願番号 PCT/CA2015/000160
 (87) 国際公開番号 W02015/135071
 (87) 国際公開日 平成27年9月17日 (2015. 9. 17)
 (31) 優先権主張番号 61/953, 458
 (32) 優先日 平成26年3月14日 (2014. 3. 14)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 516277808
 ハンコック, ロバート イー. ダブリュ.
 カナダ国 ブイ6ジェイ 4ビー3 プリ
 ティッシュ コロンビア, バンクーバー,
 メープル クレセント 4470
 (74) 代理人 100091096
 弁理士 平木 祐輔
 (74) 代理人 100118773
 弁理士 藤田 節
 (74) 代理人 100122389
 弁理士 新井 栄一
 (74) 代理人 100111741
 弁理士 田中 夏夫
 (74) 代理人 100169971
 弁理士 菊田 尚子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 敗血症の診断

(57) 【要約】

確定臨床診断の前に重度敗血症を診断する方法。第1臨床像において採血された患者で重度敗血症および臓器不全の未来の診断と強く関連する遺伝子発現のパターンが特定された。これらの方法は、2以上のポリヌクレオチドのパターンを特定することを含んでなり、それにより、これらのポリヌクレオチドの変化した発現を予測的および実際の敗血症と関連させる。また、この遺伝子発現パターンの特徴に基づき敗血症を処置するための薬剤を特定するための方法も提供される。

【選択図】 図1

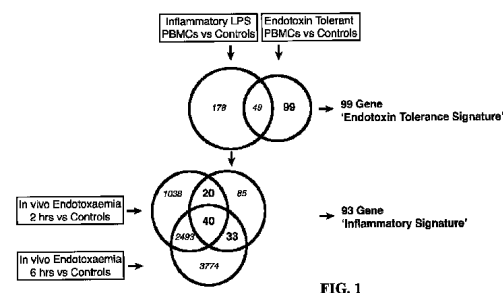


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象において敗血症を診断するための方法であって、前記対象から得た生体サンプルにおいて複数の内毒素耐性シグネチャー遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較することを含んでなり、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記対象が敗血症を有することを示す、方法。

【請求項 2】

敗血症が重度敗血症である、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

重度敗血症を発症するリスクのある対象を特定するための方法であって、前記対象から得た生体サンプルにおいて複数の内毒素耐性シグネチャー遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較することを含んでなり、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記対象が重度敗血症を発症するリスクを有することを示す、方法。

【請求項 4】

臓器不全のリスクのある対象を特定するための方法であって、前記対象から得た生体サンプルにおいて複数の内毒素耐性シグネチャー遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較することを含んでなり、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記対象が臓器不全のリスクを有することを示す、方法。

20

【請求項 5】

前記対象に敗血症を有する疑いがある、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記対象が標準手順により敗血症を有すると診断された、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 7】

前記複数の遺伝子が ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1 および VCAN から選択される、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 8】

50

対象において内毒素耐性を診断するための方法であって、

a) 前記対象から得た生体サンプルにおいて、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される複数の遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および

b) 前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較することを含んでなり、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記対象が内毒素耐性を有することを示す、方法。

【請求項9】

前記対象に敗血症を有するまたは敗血症を有する疑いがある、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間に差異があれば、前記対象を重度敗血症および／または臓器不全のリスクがあるとして特定することをさらに含んでなる、請求項8または9に記載の方法。

【請求項11】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも2つの、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項7～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも5つの、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも10の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項11に記載の方法。

【請求項14】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも15の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項11に記載の方法。

【請求項15】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも20の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項11に記載の方法。

【請求項 16】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも25の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項11に記載の方法。

【請求項 17】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも30の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項11に記載の方法。

【請求項 18】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも31の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項11に記載の方法。

【請求項 19】

遺伝子がADAMDEC1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PPBP、PROCR、PTGES、PTGR1、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A12、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TMEM158、TREM1、UPP1またはVCANであれば発現変化方向はアップレギュレーションであり、遺伝子がADAM15、ALCAM、ALDH1A1、CAMP、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、DHRS9、GPNMB、HTRA1、IL18BP、LIPA、LY86、NQO1、PLD3、PSTPIP2、RARRES1、RNASE1、S100A4、TLR7またはTSPAN4であればダウンレギュレーションである、請求項11～18のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記複数の遺伝子がC19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択される、請求項7～19のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

前記複数の遺伝子がC19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRを含んでなる、請求項7～19のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

発現レベルの決定が、前記複数の遺伝子のそれぞれによりコードされる核酸を検出することを含んでなる、請求項1～21のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 23】

発現レベルの決定が、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）増幅法、非PCR系増幅法、逆

10

20

30

40

50

転写酵素－（R T）P C R、Q－βレプリカーゼ増幅、リガーゼ連鎖反応、シグナル増幅（アンプリブローブ）、ライトサイクリング、ディファレンシャルディスプレイ、ノーザン分析、ハイブリダイゼーション、マイクロアレイ分析、DNAシーケンシング、R e f－S e q、マスアレイ分析およびM A L D I－T O F質量分析の1以上を含んでなる、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

核酸の検出が、前記生体サンプルを、前記複数の遺伝子のそれぞれによりコードされる核酸とハイブリダイズし得る複数のポリヌクレオチドプローブを含んでなるマイクロアレイと接触させることを含んでなる、請求項22に記載の方法。

【請求項25】

発現レベルの決定が、前記生体サンプルからmRNAを単離すること、前記mRNAを逆転写してcDNA産物を生成すること、および前記cDNA産物を、前記複数の遺伝子から発現される複数のmRNAと相補的な複数のcDNAとハイブリダイズし得る複数のポリヌクレオチドプローブを含んでなるマイクロアレイと接触させることを含んでなる、請求項22に記載の方法。

【請求項26】

前記対象から生体サンプルを得る工程をさらに含んでなる、請求項1～25のいずれか一項に記載の方法。

【請求項27】

前記生体サンプルが血液、血漿、血清、組織、羊水、唾液、尿、便、気管支肺胞洗浄液、脳脊髄液または皮膚細胞を含んでなる、請求項1～26のいずれか一項に記載の方法。

【請求項28】

前記生体サンプルが血液を含んでなる、請求項1～26のいずれか一項に記載の方法。

【請求項29】

有効量の1以上の抗生物質を、請求項1に記載の方法により敗血症を有すると診断された対象に投与することを含んでなる、敗血症の治療方法。

【請求項30】

対象において敗血症を治療するための方法であって、

a) 前記対象が敗血症を有するかどうか、または敗血症を発症するリスクがあるかどうかを、

(i) 前記対象から得た生体サンプルにおいて、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される複数の遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および

(ii) 記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較すること、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを

10

20

30

40

50

表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異は、前記対象が敗血症を有すること、または敗血症を発症するリスクがあることを示す、により決定すること、および

b) 前記対象が敗血症を有する、または敗血症を発症するリスクがある場合に、前記対象に有効量の1以上の抗生物質を投与することを含んでなる、方法。

【請求項31】

敗血症が重度敗血症である、請求項30に記載の方法。

【請求項32】

前記1以上の抗生物質が、グリコペプチド、セフラスポリン(ceftazidime)、β-ラクタム、β-ラクタマーゼ阻害剤、カルバペネム、キノロン、フルオロキノロン、アミノグリコシド、マクロライドおよびモノバクタムの1つまたは組合せである、請求項29～31のいずれか一項に記載の方法。

【請求項33】

対象において臓器不全のリスクを軽減するための方法であって、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法により敗血症を有するまたは重度敗血症を発症するリスクがあると診断された対象に有効量の1以上の抗生物質を投与することを含んでなる、方法。

【請求項34】

対象において臓器不全のリスクを軽減するための方法であって、

a) 前記対象が臓器不全のリスクを有するかどうかを、

(i) 前記対象から得た生体サンプルにおいて、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される複数の遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および

(ii) 前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較すること、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異は、前記対象が臓器不全のリスクを有することを示す、により決定すること、および

b) 前記対象が臓器不全のリスクを有する場合に、前記対象に有効量の1以上の抗生物質を投与することを含んでなる、方法。

【請求項35】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも2つの、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項29～34のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 36】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも5つの、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項35に記載の方法。

【請求項 37】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも10の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項35に記載の方法。

【請求項 38】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも15の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項35に記載の方法。

10

【請求項 39】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも20の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項35に記載の方法。

【請求項 40】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも25の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項35に記載の方法。

20

【請求項 41】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも30の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項35に記載の方法。

【請求項 42】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも31の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項35に記載の方法。

【請求項 43】

遺伝子がADAMDEC1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PPBP、PROCR、PTGES、PTGR1、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A12、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TMEM158、TREM1、UPP1またはVCANであれば発現変化方向はアップレギュレーションであり、遺伝子がADAM15、ALCAM、ALDH1A1、CAMP、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、DHRS9、GPNMB、HTRA1、IL18BP、LIPA、LY86、NQO1、PLD3、PSTPIP2、RARRES1、RNASE1、S100A4、TLR7またはTSPAN4であればダウンレギュレーションである、請求項35～42のいずれか一項に記載の方法。

30

40

【請求項 44】

前記複数の遺伝子がC19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2A

50

A3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択される、請求項29～43のいずれか一項に記載の方法。

【請求項45】

前記複数の遺伝子がC19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRを含んでなる、請求項29～43のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項46】

重度敗血症を発症する対象のリスクを軽減するための方法であって、請求項3に記載の方法により重度敗血症を発症するリスクがあると診断された対象に、内毒素耐性を打ち消す薬剤の有効量を投与することを含んでなる、方法。

【請求項47】

対象において臓器不全のリスクを軽減するための方法であって、請求項4に記載の方法により臓器不全のリスクを有すると診断された対象に、内毒素耐性を打ち消す薬剤の有効量を投与することを含んでなる、方法。

【請求項48】

重度敗血症または臓器不全を発症する対象のリスクを軽減するための方法であって、前記対象に内毒素耐性を打ち消す薬剤の有効量を投与することを含んでなる、方法。

20

【請求項49】

前記対象が重度敗血症または臓器不全を発症するリスクを有することを、

(a) 前記対象から得た生体サンプルにおいて、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される複数の遺伝子の発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および

30

(b) 前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較すること、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異は、前記対象が重度敗血症または臓器不全を発症するリスクを有することを示す、により決定することをさらに含んでなる、請求項48に記載の方法。

40

【請求項50】

前記対象から得たサンプルにおいて前記複数の遺伝子の発現を処置中の1以上の時点で

50

モニタリングすることをさらに含んでなる、請求項 46、47 または 49 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 51】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも 2 つの、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項 46、47、49 または 50 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 52】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも 5 つの、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項 51 に記載の方法。

10

【請求項 53】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも 10 の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項 51 に記載の方法。

【請求項 54】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも 15 の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項 51 に記載の方法。

【請求項 55】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも 20 の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項 51 に記載の方法。

20

【請求項 56】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも 25 の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項 51 に記載の方法。

【請求項 57】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも 30 の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項 51 に記載の方法。

30

【請求項 58】

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記複数の遺伝子のうち少なくとも 31 の、ある発現変化方向における発現の差異により定義される、請求項 51 に記載の方法。

【請求項 59】

遺伝子が ADAMDEC1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PPBP、PROCR、PTGES、PTGR1、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A12、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TMEM158、TREM1、UPP1 または VCAN であれば発現変化方向はアップレギュレーションであり、遺伝子が ADAM15、ALCAM、ALDH1A1、CAMP、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、DHR9、GPNMB、HTRA1、IL18BP、LIPA、

40

50

LY86、NQO1、PLD3、PSTPIP2、RARRES1、RNASE1、S100A4、TLR7またはTSPAN4であればダウンレギュレーションである、請求項51～58のいずれか一項に記載の方法。

【請求項60】

前記複数の遺伝子がC19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択される、請求項46、47および49～59のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項61】

前記複数の遺伝子がC19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRを含んでなる、請求項46、47および49～59のいずれか一項に記載の方法。

【請求項62】

内毒素耐性を打ち消す薬剤が免疫療法である、請求項46～61のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項63】

前記薬剤が免疫細胞を含んでなる、請求項62に記載の方法。

【請求項64】

前記薬剤がインターフェロン γ 、CpG-オリゴヌクレオチド(ODN)、CpG-ODNとIL-10の組合せ、抗CD40抗体、STAT3の阻害剤、STAT6の阻害剤、p50の阻害剤、NF κ Bの阻害剤、IKK β の阻害剤、イミダゾキノロンまたはゾレンドロン酸である、請求項46～61のいずれか一項に記載の方法。

【請求項65】

敗血症の処置用の候補薬剤を特定するための方法であって、
 a) 内毒素耐性細胞を試験薬剤と接触させること、
 b) 前記内毒素耐性細胞において複数の内毒素耐性シグネチャー遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定して発現シグネチャーを得ること、
 c) 前記発現シグネチャーを参照発現シグネチャーと比較すること、ここで、前記参照シグネチャーは、正常細胞における前記複数の遺伝子の発現レベルを表す、および
 d) 前記発現シグネチャーが前記参照シグネチャーと実質的に一致する場合に、その試験薬剤を敗血症の処置用の候補薬剤として選択すること
 を含んでなる、方法。

30

【請求項66】

前記複数の遺伝子がADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、M

40

50

X D 1、M Y A D M、N E F H、N Q O 1、N R I P 3、O L I G 2、P A N X 2、P A P L N、P D L I M 7、P L A U R、P L D 3、P P B P、P R O C R、P S T P I P 2、P T G E S、P T G R 1、R A B 1 3、R A R R E S 1、R E T N、R H B D D 2、R N A S E 1、S 1 0 0 A 1 2、S 1 0 0 A 4、S 1 0 0 A 8、S 1 0 0 A 9、S E R P I N A 1、S E R P I N B 7、S L C 1 6 A 1 0、S L C 7 A 1 1、T G M 2、T L R 7、T M E M 1 5 8、T R E M 1、T S P A N 4、U P P 1およびV C A Nから選択される、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記複数の遺伝子が少なくとも 5 つの遺伝子を含んでなる、請求項 6 5 または 6 6 に記載の方法。

10

【請求項 6 8】

前記複数の遺伝子が少なくとも 1 0 の遺伝子を含んでなる、請求項 6 5 または 6 6 に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記複数の遺伝子が少なくとも 1 5 の遺伝子を含んでなる、請求項 6 5 または 6 6 に記載の方法。

【請求項 7 0】

前記複数の遺伝子が少なくとも 2 0 の遺伝子を含んでなる、請求項 6 5 または 6 6 に記載の方法。

【請求項 7 1】

前記複数の遺伝子が少なくとも 2 5 の遺伝子を含んでなる、請求項 6 5 または 6 6 に記載の方法。

20

【請求項 7 2】

前記複数の遺伝子が少なくとも 3 0 の遺伝子を含んでなる、請求項 6 5 または 6 6 に記載の方法。

【請求項 7 3】

前記複数の遺伝子が少なくとも 3 1 の遺伝子を含んでなる、請求項 6 5 または 6 6 に記載の方法。

【請求項 7 4】

前記複数の遺伝子が C 1 9 o r f 5 9、C C L 2 2、C D 1 4、C D 3 0 0 L F、C Y P 1 B 1、D H R S 9、F C E R 1 G、F P R 1、F P R 2、G K、H I S T H 2 H 2 A A 3、H K 2、H K 3、H P S E、L I L R A 5、M G S T 1、P D L I M 7、P L A U R、P S T P I P 2、R A B 1 3、R E T N、R H B D D 2、S 1 0 0 A 4、S 1 0 0 A 9、S 1 0 0 A 1 2、S E R P I N A 1、U P P 1、C P V L、C S T 3、L Y 8 6 および P R O C R から選択される、請求項 6 5 ～ 7 3 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 7 5】

前記複数の遺伝子が C 1 9 o r f 5 9、C C L 2 2、C D 1 4、C D 3 0 0 L F、C Y P 1 B 1、D H R S 9、F C E R 1 G、F P R 1、F P R 2、G K、H I S T H 2 H 2 A A 3、H K 2、H K 3、H P S E、L I L R A 5、M G S T 1、P D L I M 7、P L A U R、P S T P I P 2、R A B 1 3、R E T N、R H B D D 2、S 1 0 0 A 4、S 1 0 0 A 9、S 1 0 0 A 1 2、S E R P I N A 1、U P P 1、C P V L、C S T 3、L Y 8 6 および P R O C R を含んでなる、請求項 6 5 ～ 7 3 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 7 6】

サンプルにおいて A D A M 1 5、A D A M D E C 1、A L C A M、A L D H 1 A 1、A N K R D 1、C 1 9 o r f 5 9、C A 1 2、C A M P、C C L 1、C C L 1 9、C C L 2 2、C C L 2 4、C C L 7、C D 1 4、C D 3 0 0 L F、C D 9 3、C D K 5 R A P 2、C P V L、C S T 3、C S T 6、C T S K、C X C L 1 0、C Y P 1 B 1、C Y P 2 7 B 1、D D I T 4、D H R S 9、D P Y S L 3、E G R 2、E M R 1、E M R 3、F B P 1、F C E R 1 G、F C E R 2、F P R 1、F P R 2、G K、G P N M B、G P R 1 3 7 B、H B E G F、H I S T 1 H 1 C、H I S T 2 H 2 A A 3、H I S T 2 H 2 A C、H K 2

50

、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される複数の遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定するためのキットであって、遺伝子特異的試薬と使用説明書を含んでなり、前記遺伝子特異的試薬のそれぞれが前記複数の遺伝子またはその相補物の各個の発現産物を検出することができる、キット。

10

【請求項77】

前記複数の遺伝子が少なくとも5つの遺伝子を含んでなる、請求項76に記載のキット。

【請求項78】

前記複数の遺伝子が少なくとも10の遺伝子を含んでなる、請求項76に記載のキット。

【請求項79】

前記複数の遺伝子が少なくとも15の遺伝子を含んでなる、請求項76に記載のキット。

20

【請求項80】

前記複数の遺伝子が少なくとも20の遺伝子を含んでなる、請求項76に記載のキット。

【請求項81】

前記複数の遺伝子が少なくとも25の遺伝子を含んでなる、請求項76に記載のキット。

【請求項82】

前記複数の遺伝子が少なくとも30の遺伝子を含んでなる、請求項76に記載のキット。

30

【請求項83】

前記複数の遺伝子が少なくとも31の遺伝子を含んでなる、請求項76に記載のキット。

【請求項84】

前記複数の遺伝子がC19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2A3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択される、請求項76～83のいずれか一項に記載のキット。

40

【請求項85】

前記複数の遺伝子がC19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2A3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRを含んでなる、請求項76～83のいずれか一項に記載のキット。

【請求項86】

前記発現産物またはその相補物がRNA、cDNAまたはタンパク質である、請求項76～85のいずれか一項に記載のキット。

50

【請求項 87】

各発現産物が核酸であり、各遺伝子特異的試薬が、前記核酸発現産物またはその相補物の少なくとも1つと特異的に結合し得るポリヌクレオチドプローブを含んでなる、請求項86に記載のキット。

【請求項 88】

核酸発現産物の少なくとも一部の増幅のためのポリヌクレオチドプライマーをさらに含んでなる、請求項87に記載のキット。

【請求項 89】

前記ポリヌクレオチドプローブがマイクロアレイとして提供される、請求項87または88に記載のキット。

10

【請求項 90】

1以上の対照をさらに含んでなる、請求項76～89のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 91】

前記キットが対象における敗血症の診断、重度敗血症を発症する対象のリスクの決定、または対象における臓器不全のリスクの決定を目的として使用のためのものである、請求項76～90のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 92】

サンプルにおいて複数の内毒素耐性シグネチャー遺伝子の発現を検出するためのマイクロアレイであって、固相支持体に結合された複数のポリヌクレオチドプローブを含んでなり、前記ポリヌクレオチドプローブのそれぞれが前記複数の遺伝子またはその相補物の各個の発現産物と特異的にハイブリダイズし得る、マイクロアレイ。

20

【請求項 93】

前記複数の遺伝子がADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される、請求項92に記載のマイクロアレイ。

30

【請求項 94】

前記複数の遺伝子が少なくとも5つの遺伝子を含んでなる、請求項92または93に記載のマイクロアレイ。

40

【請求項 95】

前記複数の遺伝子が少なくとも10の遺伝子を含んでなる、請求項92または93に記載のマイクロアレイ。

【請求項 96】

前記複数の遺伝子が少なくとも15の遺伝子を含んでなる、請求項92または93に記載のマイクロアレイ。

【請求項 97】

前記複数の遺伝子が少なくとも20の遺伝子を含んでなる、請求項92または93に記載

50

載のマイクロアレイ。

【請求項 98】

前記複数の遺伝子が少なくとも 25 の遺伝子を含んでなる、請求項 92 または 93 に記載のマイクロアレイ。

【請求項 99】

前記複数の遺伝子が少なくとも 30 の遺伝子を含んでなる、請求項 92 または 93 に記載のマイクロアレイ。

【請求項 100】

前記複数の遺伝子が少なくとも 31 の遺伝子を含んでなる、請求項 92 または 93 に記載のマイクロアレイ。

【請求項 101】

前記複数の遺伝子が C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2A3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86 および PROCR から選択される、請求項 92～100 のいずれか一項に記載のマイクロアレイ。

【請求項 102】

前記複数の遺伝子が C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2A3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86 および PROCR を含んでなる、請求項 92～100 のいずれか一項に記載のマイクロアレイ。

【請求項 103】

1 以上の対照ポリヌクレオチドプローブをさらに含んでなる、請求項 92～102 のいずれか一項に記載のマイクロアレイ。

【請求項 104】

(i) 複数の遺伝子またはその相補物の各個の発現産物と特異的にハイブリダイズし得るポリヌクレオチドプローブと (ii) 1 以上の対照ポリヌクレオチドプローブから本質的になる、請求項 103 に記載のマイクロアレイ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は 2014 年 3 月 14 日出願の米国仮特許出願第 61/953,458 号の優先権を主張するものである。米国仮特許出願第 61/953,458 号の全内容は引用することにより本明細書の一部とされる。

【0002】

発明の分野

本発明は、診断の分野、特に、組み合わせて敗血症の早期診断、ならびに重度敗血症および／または臓器不全の予測を可能とする DNA 配列のユニークなセットに関する。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

敗血症は、世界の主要な感染関連の死因であり続け、年間の死者数の推計 8.5% (500 万人) にのぼる [Angus D, et al. Critical Care Medicine 2001; 29(7): 1303-10; Kumar G, Kumar N, Taneja A, et al. Chest 2011; 140:1223-31]。新規な抗生物質およ

10

20

30

40

50

びワクチン、早期認識および最良の実践処置、ならびに十分な設備の集中治療室を含む近代医学の発展[Angus D et al.]にも関わらず、約30%という高い死亡率は、数十年間ほとんど変わらないままであった[Daniels R. J Antimicrobial Chemotherapy 2011; 66(Suppl 2): ii11-ii23]。

【0004】

細菌内毒素（LPSを含む）は炎症の強力な誘導物質であり、早期に命を脅かすサイトカインストームおよび敗血性ショックの原因としての、敗血症のトリガーであることが示唆されている[Opal SM. Contributions to Nephrology 2010; 167: 14-24; Salomao R, et al. Shock 2012; 38:227-42]。これに対して、LPSは、2回目にその刺激に曝された際にLPSおよびその他の細菌産物に応答する細胞の能力を著しく低下させると定義される、内毒素耐性として知られる反対の作用も生成し得る[Otto GP, et al. Critical Care 2011; 15:R183]。他の微生物分子により誘導され得ることから細胞リプログラミングとも呼ばれる内毒素耐性は、細胞の抗炎症状態ではなくむしろ細胞のリプログラミングであり、従って、細胞は内毒素を含む多数の微生物シグネチャーにもはや応答することができないことに留意することが重要である。

10

【0005】

内毒素耐性は主として後期重度敗血症の際に見られる免疫抑制状態に関連するのではないということが提案されている[Otto GP, et al. 2011; Cavaillon J, et al. J Endotoxin Res 2005; 11(5): 311-20; Cavaillon J, Adib-Conquy M. Critical Care Medicine 2006; 10:233]。しかしながら、1つには、これまで使用されてきたex vivoサイトカインアッセイの限界のために、この関係は依然として特徴付けが不十分である。これらの所見にも関わらず、臨床教義は、特にその初期段階において敗血症を過度な炎症性応答として特定し、処置することである。しかしながら、敗血症に特徴的なユニークな免疫抑制状態はこの疾患の予後に本質的に関連する。実際に、過度な炎症と免疫抑制の間の相対的バランス、および特にそれぞれどの時点で疾患の臨床経過が進行するのかを理解することは、敗血症転帰の改善に向けた重要なステップである。

20

【0006】

敗血症の診断のためのバイオマーカーは、米国特許第7, 767, 395号；米国特許出願公開第2011/0312521号；米国特許出願公開第2011/0076685号；国際特許出願公開第WO2014/209238号、および国際特許出願公開第WO2013/152047号で提案されている。

30

【0007】

この背景情報は、本出願者により信じられている既知の情報を本発明に潜在的に関連するものとする目的で示される。先行情報のいずれかが本発明に対する従来技術をなすという承認を必ずしも意図しない、そう解釈されるべきではない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

【特許文献1】米国特許第7, 767, 395号

【特許文献2】米国特許出願公開第2011/0312521号

40

【特許文献3】米国特許出願公開第2011/0076685号

【特許文献4】国際特許出願公開第WO2014/209238号

【特許文献5】国際特許出願公開第WO2013/152047号

【非特許文献】

【0009】

【非特許文献1】Angus D, et al. Critical Care Medicine 2001; 29(7): 1303-10

【非特許文献2】Kumar G, Kumar N, Taneja A, et al. Chest 2011; 140:1223-31

【非特許文献3】Daniels R. J Antimicrobial Chemotherapy 2011; 66(Suppl 2): ii11-ii23

【非特許文献4】Opal SM. Contributions to Nephrology 2010; 167: 14-24

50

【非特許文献 5】Salomao R, et al. Shock 2012; 38:227-42

【非特許文献 6】Otto GP, et al. Critical Care 2011; 15:R183

【非特許文献 7】Cavaillon J, et al. J Endotoxin Res 2005; 11(5): 311-20;

【非特許文献 8】Cavaillon J, Adib-Conquy M. Critical Care Medicine 2006; 10:233

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0010】

発明の概要

本発明は一般に、初期重度敗血症の診断に関する。一態様において、本発明は、対象において敗血症を診断するための方法であって、前記対象から得た生体サンプルにおいて複数の内毒素耐性シグネチャー遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較することを含んでなり、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記対象が敗血症を有することを示す方法に関する。

10

【0011】

別の態様では、本発明は、重度敗血症を発症するリスクのある対象を特定するための方法であって、前記対象から得た生体サンプルにおいて複数の内毒素耐性シグネチャー遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較することを含んでなり、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記対象が重度敗血症を発症するリスクを有することを示す方法に関する。

20

【0012】

別の態様では、本発明は、臓器不全のリスクのある対象を特定するための方法であって、前記対象から得た生体サンプルにおいて複数の内毒素耐性シグネチャー遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較することを含んでなり、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記対象が臓器不全のリスクを有することを示す、方法に関する。

30

【0013】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCRA、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される。

40

【0014】

50

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択される。

【0015】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRを含んでなる。

【0016】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRからなる。

【0017】

別の態様では、本発明は、対象において内毒素耐性を診断するための方法であって、a) 前記対象から得た生体サンプルにおいて、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される複数の遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、およびb) 前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較することを含んでなり、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記対象が内毒素耐性を有することを示す方法に関する。

【0018】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、

CST3、LY86およびPROCRから選択される。

【0019】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRを含んでなる。

【0020】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRからなる。

【0021】

別の態様では、本発明は、有効量の1以上の抗生物質を、上記の方法により敗血症を有すると診断された対象に投与することを含んでなる、敗血症の治療方法に関する。

【0022】

別の態様では、本発明は、対象において敗血症を治療するための方法であって、a) 前記対象が敗血症を有するかどうか、または敗血症を発症するリスクがあるかどうかを、(i) 前記対象から得た生体サンプルにおいて、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される複数の遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および(ii) 記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較すること、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異は、前記対象が敗血症を有すること、または敗血症を発症するリスクがあることを示す、により決定すること、およびb) 前記対象が敗血症を有する、または敗血症を発症するリスクがある場合に、前記対象に有効量の1以上の抗生物質を投与することを含んでなる方法に関する。

【0023】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S

100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択される。

【0024】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRを含んでなる。

【0025】

10

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRからなる。

【0026】

別の態様では、本発明は、対象において臓器不全のリスクを軽減するための方法であって、上記の方法により敗血症を有するまたは重度敗血症を発症するリスクがあると診断された対象に有効量の1以上の抗生物質を投与することを含んでなる、方法に関する。

20

【0027】

別の態様では、本発明は、対象において臓器不全のリスクを軽減するための方法であって、

a) 前記対象が臓器不全のリスクを有するかどうかを、(i) 前記対象から得た生体サンプルにおいて、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される複数の遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および(ii) 前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較すること、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異は、前記対象が臓器不全のリスクを有することを示す、により決定すること、およびb) 前記対象が臓器不全のリスクを有する場合に、前記対象に有効量の1以上の抗生物質を投与すること

30

40

を含んでなる方法に関する。

【0028】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14

50

、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択される。

【0029】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRを含んでなる。

10

【0030】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRからなる。

【0031】

別の態様では、本発明は、重度敗血症を発症する対象のリスクを軽減するための方法であって、上記の方法により重度敗血症を発症するリスクがあると診断された対象に、内毒素耐性を打ち消す薬剤の有効量を投与することを含んでなる方法に関する。

20

【0032】

別の態様では、本発明は、対象において臓器不全のリスクを軽減するための方法であって、上記の方法により臓器不全のリスクを有すると診断された対象に、内毒素耐性を打ち消す薬剤の有効量を投与することを含んでなる方法に関する。

【0033】

別の態様では、本発明は、重度敗血症または臓器不全を発症する対象のリスクを軽減するための方法であって、前記対象に内毒素耐性を打ち消す薬剤の有効量を投与することを含んでなる方法に関する。特定の実施形態では、本方法は、前記対象が重度敗血症または臓器不全を発症するリスクを有することを、(a) 前記対象から得た生体サンプルにおいて、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される複数の遺伝子の発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および

30

40

(b) 前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較すること、こ

50

ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、

前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異は、前記対象が重度敗血症または臓器不全を発症するリスクを有することを示す、により決定することをさらに含んでなり得る。

【0034】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択される。

10

【0035】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRを含んでなる。

【0036】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRからなる。

20

【0037】

別の態様では、本発明は、敗血症の処置用の候補薬剤を特定するための方法であって、a) 内毒素耐性細胞を試験薬剤と接触させること、b) 前記内毒素耐性細胞において複数の内毒素耐性シグネチャー遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定して発現シグネチャーを得ること、c) 前記発現シグネチャーを参照発現シグネチャーと比較すること、ここで、前記参照シグネチャーは、正常細胞における前記複数の遺伝子の発現レベルを表す、およびd) 前記発現シグネチャーが前記参照シグネチャーと実質的に一致する場合に、その試験薬剤を敗血症の処置用の候補薬剤として選択することを含んでなる方法に関する。

30

【0038】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11

40

50

、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される。

【0039】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択される。

【0040】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRを含んでなる。

【0041】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRからなる。

【0042】

別の態様では、本発明は、サンプルにおいてADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される複数の遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定するためのキットであって、遺伝子特異的試薬と使用説明書を含んでなり、前記遺伝子特異的試薬のそれぞれが前記複数の遺伝子またはその相補物の各個の発現産物を検出することができるキットに関する。

【0043】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、

10

20

30

40

50

CST3、LY86およびPROCRCから選択される。

【0044】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRCを含んでなる。

【0045】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRCからなる。

【0046】

別の態様では、本発明は、サンプルにおいて複数の内毒素耐性シグネチャー遺伝子の発現を検出するためのマイクロアレイであって、固相支持体に結合された複数のポリヌクレオチドプローブを含んでなり、前記ポリヌクレオチドプローブのそれぞれが前記複数の遺伝子またはその相補物の各個の発現産物と特異的にハイブリダイズし得るマイクロアレイに関する。

【0047】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCRC、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1およびVCANから選択される。

【0048】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRCから選択される。

【0049】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、

PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRを含んでなる。

【0050】

特定の実施形態では、前記複数の遺伝子は、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRからなる。

10

【0051】

本発明のこれらおよびその他の特徴は、以下の詳細な説明でより明らかとなり、そこでは添付の図面が参照される。

【図面の簡単な説明】

【0052】

【図1】図1は、内毒素耐性シグネチャーおよび炎症シグネチャーを定義するために使用する方法の概略図を示す。内毒素耐性シグネチャーは、対照と比較した場合に、内毒素耐性PBM Cではユニークに差次的に発現されるが、炎症PBM Cではそうではない99の遺伝子として定義された（変化倍率 >2 、 p 値 <0.05 ）。炎症シグネチャーは、*in vivo*内毒素血症データセットにおいて一貫して差次的に発現された遺伝子を選択することにより93遺伝子シグネチャーとして定義された。

20

【図2】図2は、公開データセットからの敗血症患者からの差次的遺伝子発現の再分析が内毒素耐性シグネチャーとの強い関連を示したことを示す。遺伝子セット検定アプローチROASTを用い、これまでに公開されている9つのデータセットから、敗血症患者と対照における「内毒素耐性」の濃縮を特徴付けた。総てのデータセットは、ICU収容後1日目または3日目に動員された敗血症患者を含み、「健常」対照と比較した。ROAST遺伝子セット検定は99999回転で実行し、従って、この検定から得られる最も有意な p 値は 0.00001 である。ROAST遺伝子セット検定から得られた p 値を $\log(1/p \text{ 値})$ としてグラフ化したが、見やすいように変換前の p 値を示す。

【図3】図3は、公開データセットに基づく敗血症患者は一般に、炎症シグネチャーと有意な関係が低いことを示したことを示す。遺伝子セット検定アプローチROASTを用い、これまでに公開されている9つのデータセットにおいて敗血症患者と対照とで、内毒素耐性シグネチャー（グレー）に対する炎症シグネチャー（白）の濃縮を特徴付けた。総てのデータセットは、ICU収容後1日目および／または3日目に動員された敗血症患者を含み、「健常」対照と比較した。ROAST遺伝子セット検定は99999回転で実行し、従って、この検定から得られる最も有意な p 値は 0.00001 である。ROAST遺伝子セット検定から得られた p 値を $\log(1/p \text{ 値})$ としてグラフ化したが、見やすいように変換前の p 値を示す。

30

【図4】図4は、内毒素耐性と敗血症の間の関係が内毒素耐性シグネチャーを定義するために使用した特定の手法に依存しないことを明らかにする。種々の内毒素耐性関連シグネチャーは、種々の変化倍率（FC）および P 値カットオフにおいて対照と比較した場合に、内毒素耐性PBM Cではユニークに差次的に発現されるが、炎症PBM Cではそうではない遺伝子に基づいて特定された。データセットは、0日目RNA-Seqデータセットが本明細書に記載されているものであることを除き、図3の凡例に記載の通りであった。最終的な内毒素耐性シグネチャーは、変化倍率（FC）および P 値カットオフそれぞれ2および 0.05 において定義された。

40

【図5】図5は、内毒素耐性シグネチャーが第1臨床像において敗血症患者と強く関連することを示す。遺伝子セット検定アプローチを用い、最初の敗血症の臨床的疑いの際に（すなわち、一般に、ICU収容前の救急病棟で）動員された独自の所内コホートからの予測敗血症患者において、内毒素耐性シグネチャーおよび炎症シグネチャーの対照と比較し

50

た濃縮を特徴付けた。その後、患者群を、遡及的な (retrospective) 臨床特徴に基づき、現行の敗血症判定基準と一致して「敗血症」または「非敗血症」として定義した (表 3)。分析は、「敗血症」および「非敗血症」群を対照と (a)、また、「敗血症」と「敗血症」群 (b) を比較することにより行った。加えて、シグネチャーの濃縮はまた、「敗血症」群 (c) と「非敗血症」 (d) 群 (c) 内の微生物培養結果に基づいて分析した。

【図 6】図 6 は、内毒素耐性シグネチャーが第 1 臨床像において敗血症患者と強く関連し、疾患および臓器不全の重篤度と関連することを示す。遺伝子セット検定アプローチを用い、図 5 に関して記載されたように予測敗血症患者における内毒素耐性シグネチャーおよび炎症シグネチャーの手術対照と比較した濃縮を特徴付けた。(a) 患者を単独型、複合型 (3+)、単独型の臓器不全および非臓器不全群に分類した。(b) 患者を ICU への移動を必要とする者および必要としない者に分類した。

【図 7】図 7 は、敗血症患者に特徴的な内毒素耐性遺伝子のコアセットを示す。内毒素耐性シグネチャーからの 99 のうち 31 の遺伝子のコアセットは、総ての敗血症患者試験 (文献および所内データセット) で見られた最も頻繁に差次的に発現される遺伝子に基づいて決定された。異なる試験間でのより良い視覚的比較のために、各個のデータセットを、遺伝子発現値を 6 つの等しいビンに分けることによりさらに変換した。データは、それぞれ発現の比較的大きな変化および比較的小さな変化を表す最も薄い陰および最も濃い陰を有するヒートマップとして表される。分化はカラーヒートマップとしてより明確にした。

【図 8】図 8 は、サイトスケープの j-アクティブモジュールプラグインを用いて特定された内毒素耐性シグネチャーからの遺伝子のサブネットワークを示す。まず、表 1 に挙げられている遺伝子の第 1 水準インタラクターを含めることによりネットワークを形成し、次に、特に濃い (すなわち、高度に相互連結した) サブネットワークを特定する j-アクティブモジュールを用いた分析にかけた。濃いノード (遺伝子) は調節不全性が高く、薄いノードは調節不全遺伝子の直接的インタラクターであり、線は「エッジ」を表し、実験的に証明された相互作用を示す。シグネチャーの 99 の遺伝子のうち 60 がヒト細胞において強固に相互連結していたことは、これらの遺伝子間の生物学的に意味のある関係を含意し、すなわち、これらの遺伝子は細胞において共調節されるか、または共通の目的に関与する。ネットワーク内で明らかなのは、セルピン A1、転写因子 CEBP α , β 、EGR2、HNF4A、CXCL10、および FCER2、ならびに顕著な自然免疫転写因子 NFKB1、IRF1、STAT6、JUN、および FOS、ならびに受容体 TLR4 (それら自体は調節不全型ではない) を含むハブタンパク質 (細胞のシグナル伝達および輸送に関与する中心的な高度に相互連結したタンパク質) であり、内毒素耐性におけるそれらの関与の可能性を示唆する。

【発明を実施するための形態】

【0053】

発明の詳細な説明

本明細書では、敗血症の診断に使用され得る、内毒素耐性に特徴的なユニークな遺伝子シグネチャー (「内毒素耐性シグネチャー」) が特定される。内毒素耐性シグネチャーは、疑われる敗血症患者の、敗血症を発症した者または発症に進まなかった者の間を識別すること、およびまた臓器不全を予測することができる。

【0054】

従って、本発明の特定の実施形態は、本明細書に記載の内毒素耐性シグネチャーを用いて、対象、例えば、敗血症を有することが知られているまたは敗血症を有する疑いのある患者において内毒素耐性を診断する方法に関する。内毒素耐性の存在は、患者が敗血症を有することの指標であることが示され、さらに、患者が重度敗血症および/または臓器不全を発症するリスクを有することの指標である。本発明の特定の実施形態は、本明細書に記載の内毒素耐性シグネチャーを用いて、対象において敗血症を診断する方法に関する。特定の実施形態では、敗血症は重度敗血症である。特定の実施形態は、本明細書に記載の内毒素耐性シグネチャーを用いて、敗血症を有する疑いのある対象において敗血症を確認する方法に関する。いくつかの実施形態は、本明細書に記載の内毒素耐性シグネチャーを

用いて、対象が重度敗血症および／または臓器不全を発症するリスクを有するかどうかを予測する方法に関する。

【0055】

本明細書に記載されるように、内毒素耐性により媒介される免疫不全は、第1臨床像において、また、疾患の臨床経過中、優性に存在することが決定付けられている。本明細書に提供されるデータは、臨床疾患の総てのステージで、敗血症を内毒素耐性により媒介される免疫不全を特徴とする疾患として再定義し、従って、初期および後期敗血症における潜在的治療標的として内毒素耐性を特定する。

【0056】

よって、本発明の特定の実施形態は、例えば、本明細書に記載の診断方法を使用することにより、内毒素耐性を有すると特定された患者を、それらの患者が敗血症、重度敗血症および／または臓器不全を発症するリスクを軽減するために処置する方法に関する。特定の

10

【0057】

本発明の特定の実施形態は、本明細書に記載の内毒素耐性シグネチャーを用いて、敗血症の処置のための候補薬剤を特定する方法に関する。

【0058】

特定の実施形態は、対象において敗血症を診断するための方法であって、前記対象から得た生体サンプルにおいて複数の内毒素耐性シグネチャー遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較することを含んでなり、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記対象が敗血症を有することを示す方法に関する。

20

【0059】

特定の実施形態は、重度敗血症を発症するリスクのある対象を特定するための方法であって、前記対象から得た生体サンプルにおいて複数の内毒素耐性シグネチャー遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較することを含んでなり、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記対象が重度敗血症を発症するリスクを有することを示す方法に関する。

30

【0060】

特定の実施形態は、臓器不全のリスクのある対象を特定するための方法であって、前記対象から得た生体サンプルにおいて複数の内毒素耐性シグネチャー遺伝子のそれぞれの発現レベルを決定してサンプル遺伝子シグネチャーを得ること、および前記サンプル遺伝子シグネチャーを参照遺伝子シグネチャーと比較することを含んでなり、ここで、前記参照遺伝子シグネチャーは、前記複数の遺伝子のそれぞれの標準発現レベルを表し、前記サンプル遺伝子シグネチャーと前記参照遺伝子シグネチャーの間の差異が、前記対象が臓器不全のリスクを有することを示す方法に関する。

40

【0061】

定義

便宜のため、本明細書、実施例、および添付の特許請求の範囲で使用される特定の用語および句の意味を以下に示す。これらの定義は本質的に限定を意味するものではなく、単に、本発明の特定の態様の理解を助けるためのものである。そうではないことが定義されない限り、本明細書で使用される総ての技術用語および科学用語は、本発明が属する分野の熟練者により共通に理解されているものと同じ意味を有する。

【0062】

用語「複数」は、本明細書で使用する場合、1を越える、例えば、2以上、3以上、4

50

以上などを意味する。

【0063】

用語「遺伝子」は、ポリペプチドまたは前駆体を産生するために必要なコード配列を含んでなる核酸配列を意味する。場合によっては、コード配列の発現を指示および／または制御する制御配列もまた用語「遺伝子」により包含され得る。ポリペプチドまたは前駆体は、全長コード配列またはコード配列の一部によりコードされ得る。遺伝子は、コード領域または非翻訳領域のいずれかに、ポリペプチドもしくは前駆体の生物活性もしくは化学構造、発現率、または発現制御の様式に影響を及ぼし得る1以上の修飾を含んでよい。このような修飾としては、限定されるものではないが、その集団中に自然に生じる一塩基多型を含め、1以上のヌクレオチドの突然変異、挿入、欠失、および置換が含まれる。遺伝子は連続したコード配列を構成してよく、または遺伝子は1以上の部分配列を含んでよい。用語「遺伝子」は、本明細書で使用する場合、表1に示される遺伝子の変異体を含む。

10

【0064】

用語「遺伝子発現プロファイル」または「遺伝子シグネチャー」は、特定の細胞または組織種により発現される遺伝子群を意味し、ひとまとめに遺伝子の発現、またはそのような遺伝子の差次的発現は、敗血症などの特定の病態の指標および／または予測となる。

【0065】

用語「核酸」は、本明細書で使用する場合、1以上のヌクレオチド、例えば、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、またはその両方から構成される分子を意味する。この用語にはヌクレオチドのモノマーおよびポリマーが含まれ、ポリマーの場合には、ヌクレオチドは一般に5'から3'への結合により（いくつかの実施形態では、別の結合も企図される）順に相互結合される。ヌクレオチドポリマーは、一本鎖または二本鎖であり得る。ヌクレオチドは天然に存在するものであっても、または天然塩基対と塩基対関係を形成することができる、合成的に生産された類似体であってもよい。非天然塩基の例としては、限定されるものではないが、アザおよびデアザピリミジン類似体、アザおよびデアザプリン類似体、ならびにピリミジン環の炭素原子および窒素原子の1以上がヘテロ原子、例えば、酸素、硫黄、セレン、およびリンなどにより置換されているその他の複素環式塩基類似体が挙げられる。

20

【0066】

用語「に相当する」およびその文法的変形は、核酸配列に関して本明細書で使用する場合、その核酸配列が参照核酸配列の総てまたは一部と同一であることを示す。対照的に、用語「と相補的である」は、核酸配列が参照核酸配列の相補鎖の総てまたは一部と同一であることを示して本明細書で使用する。説明として、核酸配列「T A T A C」は参照配列「T A T A C」に回答し、参照配列「G T A T A」と相補的である。本明細書で使用する場合、「その相補物」は、ヌクレオチド配列において参照核酸と相補的な核酸を意味する。mRNAの相補物は、RNAポリヌクレオチド配列またはDNAポリヌクレオチド配列であり得る。DNAポリヌクレオチドの相補物は、RNAポリヌクレオチドまたはDNAポリヌクレオチドであり得る。

30

【0067】

用語「差次的発現」は、罹患組織または細胞と正常組織または細胞における遺伝子またはタンパク質の発現の量的および／または質的な差異を意味する。例えば、差次的に発現される遺伝子は、正常状態と疾患状態とでその発現が活性化もしくは完全に不活化されていてよく、または疾患状態と正常状態とでアップレギュレート（過剰発現）またはダウンレギュレート（過少発現）されてもよい。言い換えれば、遺伝子またはタンパク質の発現が、患者の正常（無病）組織もしくは細胞および／または対照の組織もしくは細胞におけるその発現レベルと比較して、患者の罹患組織もしくは細胞により高いまたはより低いレベルで見られる場合に、遺伝子またはタンパク質は差次的に発現される。

40

【0068】

用語「生体サンプル」は、生物（例えば、ヒト患者）または生物の成分（例えば、細胞）から得られるサンプルを意味する。サンプルは、いずれの適切な生体組織または体液で

50

あってもよい。サンプルは、患者由来のサンプルである「臨床サンプル」であり得る。このようなサンプルには、限定されるものではないが、痰、血液、血液細胞（例えば、白血球）、羊水、血漿、精液、骨髓、および組織または細針生検サンプル、尿、腹腔液、および胸膜液、またはそれら由来の細胞が含まれる。生体サンプルはまた、組織学的目的で採取された凍結切片などの組織切片も含み得る。生体サンプルはまた、「患者サンプル」と呼ばれる場合もある。

【0069】

本明細書で使用する場合、用語「含んでなる」、「有する」、「含む」および「含有する」およびそれらの文法的変形は、包含またはオープンエンドであり、列挙されていなく付加的要素および／または方法工程を排除しない。用語「から本質的になる」は、組成物、使用または方法に関して本明細書で使用する場合、付加的要素および／または方法工程が存在してもよいが、これらの付加が列挙された組成物、方法または使用が機能する様式に実質的に影響を及ぼさないことを表す。用語「からなる」は、組成物、使用または方法に関して本明細書で使用する場合、付加的要素および／または方法工程の存在を排除する。特定の要素および／または工程を含んでなる本明細書に記載の組成物、使用または方法はまた、それらの実施形態が具体的に言及されているかいないに関わらず、特定の実施形態では、それらの要素および／または工程から本質的になってもよく、他の実施形態では、それらの要素および／または工程からなり得る。

【0070】

本明細書に述べられているいずれの実施形態も、開示されている本発明の方法、使用または組成物のいずれに関しても実施可能であること、また、その逆も企図される。

【0071】

敗血症

「敗血症」は一般に、疑われるまた立証された感染に対する臨床応答を意味する。敗血症は、例えば、下記の症状：頻呼吸または頻脈；白血球増多症または白血球減少症；および高体温または低体温のうち2以上を含むと定義でき、感染および免疫複合障害を呈する場合もある。多くの他の症状が存在しても存在しなくてもよく、医師の合議により定義されているが（Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Chest 2009; 136(5 Suppl):e28参照）、これらの症状は敗血症に特異的なものではない。敗血症には臓器不全が合併する場合があります、集中治療病棟への収容を必要とすることがあり、この場合には、「重度敗血症」と呼ばれる。多くの場合救急病棟にいる患者が敗血症に関連する初期症状のいくつかを獲得している場合、しばしばそれらの患者は敗血症が疑われる患者と見なされ、これが処置のための特定の病院プロトコルの端緒となる。しかしながら、遡及的にのみ、24～48時間後に、微生物学的検査によって感染が確認されるか、または患者が2つ以上の(one of more)臓器の不全を含むより重度の症状を獲得する場合、それらの患者は「初期段階敗血症」患者であったことが確認される（Lyle NH, et al., Annals of the New York Academy of Sciences 2014, 1323:101-14における総説を参照）。

【0072】

内毒素耐性シグネチャー

一態様において、本発明は、敗血症の際に調節される複数の遺伝子に関し、それらの発現プロファイルは、対象において内毒素耐性を定義するのに役立つ。これらの遺伝子の発現の差異、すなわち、対象遺伝子によってアップレギュレーションまたはダウンレギュレーションのいずれかは、対照と比較した場合、内毒素耐性の指標となる遺伝子シグネチャー（「内毒素耐性シグネチャー」）を定義する。本発明の特定の実施形態に従った内毒素耐性シグネチャーにより含まれ得る内毒素耐性シグネチャー遺伝子（ETSG）の限定されない例を表1に示す。

【0073】

これらの遺伝子の配列は、the National Center for Biotechnology (NCBI) により維持管理されているGenBankデータベースなどの公開データベースから、例えば、示されている遺伝子記号を用いて検索すること

により、当業者により容易に取得可能である。これらの遺伝子記号は、HGNC、Entrez Gene、UniProtKB/Swiss-Prot、OMIM、GeneLoc、およびEnsemblを含むあらゆるデータベースにより普遍的に認識され、総ての別名がGeneCardsデータベースにより定義されている。GenBankから入手可能な代表的遺伝子配列の限定されない例を表1に示す。

【0074】

【表1】

表1: 代表的内毒素耐性シグネチャー遺伝子 (ETSG)

遺伝子記号	説明	GenBank 参照配列 #	アップ(+) またはダウン(-)レギュレーション
ADAM15	ADAM メタロペプチダーゼドメイン 15	NP_001248393.1	-
ADAMDEC1	ADAM 様, デサイシン 1	NP_001138743.1	+
ALCAM	活性化白血球細胞接着分子	NP_001230209.1	-
ALDH1A1	アルデヒドデヒドロゲナーゼ 1 ファミリー, メンバーA1	NP_000680.2	-
ANKRD1	アンキリンリピートドメイン 1 (心筋)	NP_055206.2	+
C19orf59	染色体 19 オープンリーディングフレーム 59	NP_777578.2	+
CA12	炭酸脱水酵素 XII	NP_001209.1	+
CAMP	カテリシジン抗菌ペプチド	NP_004336.3	-
CCL1	ケモカイン(C-C モチーフ)リガンド 1; SCYA1	NP_002972.1	+
CCL19	ケモカイン(C-C モチーフ)リガンド 19; MIP3β	NP_006265.1	+
CCL22	ケモカイン(C-C モチーフ)リガンド 22; MDC	NP_002981.2	+
CCL24	ケモカイン(C-C モチーフ)リガンド 24; エオ タキシン-2	NP_002982.2	+
CCL7	ケモカイン(C-C モチーフ)リガンド 7	NP_006264.2	+
CD14	CD14 分子	NP_000582.1	+
CD300LF	CD300 分子様ファミリーメンバーF	NP_001276011.1	+
CD93	CD93 分子	NP_036204.2	+
CDK5RAP2	CDK5 調節サブユニット関連タンパク質 2	NP_001011649.1	+
CPVL	カルボキシペプチダーゼ, 卵黄形成様	NP_061902.2	-
CST3	シスタチン C	NP_000090.1	-
CST6	シスタチン E/M	NP_001314.1	-

10

20

30

40

50

遺伝子記号	説明	GenBank 参照配列 #	アップ(+) またはダウ ン(-)レギュ レーション
CTSK	カテプシン K	NP_000387.1	-
CXCL10	ケモカイン(C-X-C モチーフ)リガンド 10	NP_001556.2	-
CYP1B1	シトクロム P450, ファミリー1, サブファミ リーB, ポリペプチド 1	NP_000095.2	+
CYP27B1	シトクロム P450, ファミリー27, サブファミ リーB, ポリペプチド 1	NP_000776.1	+
DDIT4	DNA 損傷誘導転写産物 4	NP_061931.1	+
DHRS9	デヒドロゲナーゼ/レダクターゼ(SDR ファミ リー)メンバー9	NP_001135742.1	-
DPYSL3	ジヒドロピリミジナーゼ様 3	NP_001184223.1	+
EGR2	初期成長応答 2	NP_000390.2	+
EMR1	EGF 様モジュール含有, ムチン様, ホルモン 受容体様 1	NP_001243181.1	+
EMR3	EGF 様モジュール含有, ムチン様, ホルモン 受容体様 3	NP_001276087.1	+
FBP1	フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ 1	NP_000498.2	+
FCER1G	IgE の Fc フラグメント, 高親和性 I, 受容体; γ ポリペプチド	NP_004097.1	+
FCER2	IgE の Fc フラグメント, 低親和性 II, 受容体 (CD23)	NP_001193948.2	+
FPR1	ホルミルペプチド受容体 1	NP_001180235.1	+
FPR2	ホルミルペプチド受容体 2	NP_001005738.1	+
GK	グリセロールキナーゼ	NP_000158.1	+
GPNMB	糖タンパク質(膜貫通)NMB	NP_001005340.1	-
GPR137B	G タンパク質共役型受容体 137B	NP_003263.1	+
HBEGF	ヘパリン結合 EGF 様増殖因子	NP_001936.1	+

10

20

30

40

遺伝子記号	説明	GenBank 参照配列 #	アップ(+) またはダウ ン(-)レギュ レーション
HIST1H1C	ヒストンクラスター1, H1C	NP_005310.1	+
HIST2H2AA3	ヒストンクラスター2, H2AA3	NP_001035807.1	+
HIST2H2AC	ヒストンクラスター2, H2AC	NP_003508.1	+
HK2	ヘキソキナーゼ 2	NP_000180.2	+
HK3	ヘキソキナーゼ 3(白血球)	NP_002106.2	+
HPSE	ヘパラーゼ	NP_001092010.1	+
HSD11B1	ヒドロキシステロイド(11-β)デヒドロゲナー ゼ 1	NP_001193670.1	+
HTRA1	HTRA セリンペプチダーゼ 1	NP_002766.1	-
IL18BP	インターロイキン 18 結合タンパク質	NP_001034748.1	-
IL3RA	インターロイキン 3 受容体, α(低親和性)	NP_001254642.1	+
ITGB8	インテグリン, β8	NP_002205.1	+
KIAA1199	KIAA1199	NP_001280227.1	+
LILRA3	白血球免疫グロブリン様受容体, サブファミ リーA(TM ドメイン不含), メンバー3	NP_001166125.1	+
LILRA5	白血球免疫グロブリン様受容体, サブファミ リーA(TM ドメイン不含), メンバー5	NP_067073.1	+
LIPA	リパーゼ A, リソソーム鎖酸, コレステロー ルエステラーゼ	NP_000226.2	-
LY86	リンパ球抗原 86	NP_004262.1	-
MARCO	コラーゲン構造を有するマクロファージ受 容体	NP_006761.1	+
MGST1	ミクロソームグルタチオン S-トランスフェ ラーゼ 1	NP_001247440.1	+
MMP7	マトリックスメタロペプチダーゼ 7(マトリ ライシン, 子宮)	NP_002414.1	+

10

20

30

40

遺伝子記号	説明	GenBank 参照配列 #	アップ(+) またはダウ ン(-)レギュ レーション
MT1F	メタロチオネイン 1F	NP_001288201.1	+
MT1G	メタロチオネイン 1G	NP_001288196.1	+
MT1H	メタロチオネイン 1H	NP_005942.1	+
MT1M	メタロチオネイン 1M	NP_789846.1	+
MT1X	メタロチオネイン 1X	NP_005943.1	+
MXD1	MAX 二量体化タンパク質 1	NP_001189442.1	+
MYADM	骨髄関連分化マーカー	NP_001018654.1	+
NEFH	神経フィラメント, 重鎖ポリペプチド	NP_066554.2	+
NQO1	NAD(P)H デヒドロゲナーゼ, キノン 1	NP_000894.1	-
NRIP3	核受容体相互作用タンパク質 3	NP_065696.1	+
OLIG2	乏突起神経膠細胞系列転写因子 2	NP_005797.1	+
PANX2	P アネキシン 2	NP_001153772.1	+
PAPLN	パピリン, プロテオグリカン様硫酸化糖タン パク質	NP_775733.3	+
PDLIM7	PDZ および LIM ドメイン 7 (不明)	NP_005442.2	+
PLAUR	プラスミノーゲンアクチベーター, ウロキナ ーゼ受容体	NP_001005376.1	+
PLD3	ホスホリパーゼ D ファミリー, メンバー 3	NP_001026866.1	-
PPBP	血小板前駆体塩基性タンパク質(ケモカイン (C-X-C モチーフ)リガンド 7)	NP_002695.1	+
PROCR	タンパク質 C 受容体, 内皮	NP_006395.2	+
PSTPIP2	プロリン-セリン-トレオニンホスファターゼ 相互作用タンパク質 2	NP_077748.3	-
PTGES	プロスタグランジン E シンターゼ	NP_004869.1	+
PTGR1	プロスタグランジンレダクターゼ 1	NP_001139580.1	+
RAB13	RAB13, メンバー RAS 癌遺伝子ファミリー	NP_001258967.1	+

10

20

30

40

遺伝子記号	説明	GenBank 参照配列 #	アップ(+) またはダウン(-)レギュレーション
RARRES1	レチノイン酸受容体応答因子(タザロテン誘導)1	NP_002879.2	-
RETN	レジスチン	NP_001180303.1	+
RHBDD2	Rhomboid ドメイン含有 2	NP_001035546.1	+
RNASE1	リボヌクレアーゼ, RNASE A ファミリー, 1(膵臓)	NP_002924.1	-
S100A12	S100 カルシウム結合タンパク質 A12	NP_005612.1	+
S100A4	S100 カルシウム結合タンパク質 A4	NP_002952.1	-
S100A8	S100 カルシウム結合タンパク質 A8	NP_002955.2	+
S100A9	S100 カルシウム結合タンパク質 A9	NP_002956.1	+
SERPINA1	セルピンペプチダーゼ阻害剤, クレード A (α -1 抗プロテイナーゼ, 抗トリプシン), メンバー1	NP_000286.3	+
SERPINB7	セルピンペプチダーゼ阻害剤, クレード B(オボアルブミン), メンバー7	NP_001035237.1	+
SLC16A10	溶質担体ファミリー16, メンバー10(芳香族アミノ酸輸送体)	NP_061063.2	+
SLC7A11	溶質担体ファミリー7(陰イオンアミノ酸輸送体軽鎖, xc-システム), メンバー11	NP_055146.1	+
TGM2	トランスグルタミナーゼ 2	NP_004604.2	+
TLR7	Toll 様受容体 7	NP_057646.1	-
TMEM158	膜貫通タンパク質 158(遺伝子/偽遺伝子)	NP_056259.2	+
TREM1	骨髄細胞で発現されるトリガー受容体 1	NP_001229518.1	+
TSPAN4	テトラスパニン 4	NP_001020405.1	-
UPP1	ウリジンホスホリラーゼ 1	NP_001274355.1	+
VCAN	バーシカン	NP_001119808.1	+

【 0 0 7 5 】

内毒素耐性シグネチャーは、表 1 に示される総ての内毒素耐性シグネチャー遺伝子 (E T S G) を含んでなくてもよく、またはこれらの遺伝子のサブセットを含んでなくてもよい。特定の実施形態では、内毒素耐性シグネチャーは、表 1 に示される、少ないものでは 2 つの E T S G および最大 99 の E T S G を含んでなり得る。いくつかの実施形態では、内毒素耐性シグネチャーは、表 1 の少なくとも 3、少なくとも 4、少なくとも 5、少なくとも 6、少なくとも 7、少なくとも 8、少なくとも 9 (or least nine)、少なくとも 10

10

20

30

40

50

、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、または少なくとも15のETSGを含んでなる。いくつかの実施形態では、内毒素耐性シグネチャーは、15以上のETSG、例えば、20以上、25以上または30以上のETSGを含んでなる。いくつかの実施形態では、内毒素耐性シグネチャーは、表1の約31のETSGを含んでなる。いくつかの実施形態では、内毒素耐性シグネチャーは、約35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、または99のETSGを含んでなる。

【0076】

特定の実施形態では、内毒素耐性シグネチャーは、表1の2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99のETSGを含んでなる。

【0077】

特定の実施形態では、内毒素耐性シグネチャーは、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択される少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15のETSGを含んでなる。

【0078】

いくつかの実施形態では、内毒素耐性シグネチャーは、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択される少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25または少なくとも30のETSGを含んでなる。

【0079】

特定の実施形態では、内毒素耐性シグネチャーは、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択される2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30または31のETSGを含んでなり、場合により表1からの1以上の他のETSGを含んでなってもよい。

【0080】

いくつかの実施形態では、内毒素耐性シグネチャーは、ETSG：C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRを含んでなり、場合により表

10

20

30

40

50

1からの1以上の他のETSGを含んでなる。

【0081】

ETSGの発現の変化は、対照（または参照）サンプルにおけるETSGの発現と比較した場合に、遺伝子が内毒素耐性を有する対象においてアップレギュレートされているかダウンレギュレートされているかを示す発現変化方向により定義され得る。表1に示されるETSGを参照すれば、例えば、内毒素耐性を有する対象は、ADAMDEC1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PPBP、PROCR、PTGES、PTGR1、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A12、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TMEM158、TREM1、UPP1またはVCANの1以上のアップレギュレーション、およびADAM15、ALCAM、ALDH1A1、CAMP、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、DHRS9、GPNMB、HTRA1、IL18BP、LIPA、LY86、NQO1、PLD3、PSTPIP2、RARRES1、RNASE1、S100A4、TLR7またはTSPAN4の1以上のダウンレギュレーションを示す。

【0082】

ETSGの発現の変化は、場合により、対照に対する発現レベルの最小変化倍率によりさらに定義されてもよい。特定の実施形態では、所与のETSGのアップレギュレーションまたはダウンレギュレーションは、対照と比較した場合にその遺伝子の発現レベルの少なくとも1.5倍の変化倍率と定義され得る。いくつかの実施形態では、所与のETSGのアップレギュレーションまたはダウンレギュレーションは、対照と比較した場合にその遺伝子の発現レベルの2倍以上の変化と定義され得る。発現の対照（または標準または参照）レベルは、例えば、健常対象由来のサンプルにおけるETSGの発現レベル、または非内毒素耐性細胞におけるETSGの発現レベルであり得る。

【0083】

方法

診断方法

本発明の特定の実施形態は、敗血症を有するまたは敗血症を有する疑いのある対象が内毒素耐性を有するかどうか、従って、敗血症、重度敗血症および／または臓器不全の1以上を発症するリスクがあるかどうかを決定するために内毒素耐性シグネチャーを用いる診断方法に関する。

【0084】

特定の実施形態では、対象は敗血症を有する疑いがあり、本方法は、その患者を、敗血症を有するとして特定する。いくつかの実施形態では、対象は敗血症を有する疑いがあり、本方法は、その対象を重度敗血症および／または臓器不全を発症するリスクがあるとして特定する。特定の実施形態では、対象は敗血症を有する疑いがあり、本方法は、その患者を、重度敗血症を有するとして特定する。

【0085】

一般に、本診断方法は、検査対象から得られた生体サンプルにおいて、内毒素耐性シグネチャーにより含まれる遺伝子の発現を検出することを含んでなる。対象と比較した場合のこれらの遺伝子の発現の差異が決定される。これらの遺伝子のうち少なくとも2つの発現の、定義された発現変化方向の差異は、その対象が敗血症、重度敗血症および／または

臓器不全の1以上を有する、またはそれを発症するリスクを有することの指標となる。

【0086】

特定の実施形態では、対象サンプルと比較した場合の内毒素耐性シグネチャーにおける3以上、4以上、5以上、6以上、7以上、8以上、9以上、10以上、11以上、12以上、13以上、14以上、または15以上のETSGの発現の差異は、その対象が敗血症、重度敗血症および／または臓器不全の1以上を有する、またはそれを発症するリスクを有することの指標となる。いくつかの実施形態では、対象サンプルと比較した場合の内毒素耐性シグネチャーにおける少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25または少なくとも30のETSGの発現の差異は、その対象が敗血症、重度敗血症および／または臓器不全の1以上を有する、またはそれを発症するリスクを有することの指標となる。

10

【0087】

別の実施形態では、対象サンプルと比較した場合の内毒素耐性シグネチャーにおける少なくとも20%のETSGの発現の差異は、その対象が敗血症、重度敗血症および／または臓器不全の1以上を有する、またはそれを発症するリスクを有することの指標となる。いくつかの実施形態では、対象サンプルと比較した場合の内毒素耐性シグネチャーにおける20%以上、30%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、または90%以上のETSGの発現の差異は、その対象が敗血症、重度敗血症および／または臓器不全の1以上を有する、またはそれを発症するリスクを有することの指標となる。いくつかの実施形態では、対象サンプルと比較した場合の内毒素耐性シグネチャーにおける少なくとも35%のETSGの発現の差異は、その対象が敗血症、重度敗血症および／または臓器不全の1以上を有する、またはそれを発症するリスクを有することの指標となる。

20

【0088】

いくつかの実施形態では、対象サンプルと比較した場合の内毒素耐性シグネチャーにおける各ETSGの発現の差異は、その対象が敗血症、重度敗血症および／または臓器不全の1以上を有する、またはそれを発症するリスクを有することの指標となり、ここで、内毒素耐性シグネチャーは、2～約99の間のETSG、例えば、約3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25または30～約99の間のETSGを含んでなり得る。

30

【0089】

特定の実施形態では、対象サンプルと比較した場合の表1の2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99のETSGの発現の差異は、その対象が敗血症、重度敗血症および／または臓器不全の1以上を有する、またはそれを発症するリスクを有することの指標となる。

40

【0090】

特定の実施形態では、対象サンプルと比較した場合の2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、または31の下記ETSG: C19orf59、CCCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB

50

13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRの発現の差異は、その対象が敗血症、重度敗血症および／または臓器不全の1以上を有する、またはそれを発症するリスクを有することの指標となる。

【0091】

生体サンプルは、例えば、血液、血漿、血清、組織、羊水、唾液、尿、便、気管支肺胞洗浄液、脳脊髄液、もしくは細胞（皮膚細胞など）または細胞抽出物を含んでなり得る。

【0092】

内毒素耐性シグネチャーにより含まれるETSGの発現は、各遺伝子の発現産物の検出により決定され得る。発現産物は、例えば、RNA、RNAから調製されたcDNA、またはタンパク質であり得る。発現産物がRNAまたはcDNAである場合、その遺伝子の全配列が検出されてもよいし、またはその遺伝子の定義された任意の一部、例えば、10ヌクレオチド以上の配列が検出されてもよい。

【0093】

遺伝子の発現を検出および定量する方法は当技術分野で周知であり（例えば、Current Protocols in Molecular Biology, 1987 & updates, Ausubel et al. (編), Wiley & Sons, New York, NY参照）、検出可能に標識されたポリヌクレオチドプローブ、抗体、およびアプタマーなどの使用を含む。

【0094】

特定の実施形態では、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、逆転写酵素（RT）PCR、Q-βレプリカーゼ増幅、リガーゼ連鎖反応、核酸配列増幅、シグナル増幅（アンプリプローブ）、ライトサイクリング、ディファレンシャルディスプレイ、ノーザン分析、ハイブリダイゼーション、マイクロアレイ、RNA-Seq、核酸シーケンシング、マスアレイ分析、およびMALDI-TOF質量分析の1以上が、ETSGの発現を決定する上で使用可能である。

【0095】

特定の実施形態では、診断方法は、ETSGの発現の検出のために検出可能に標識されたポリヌクレオチドを使用する。これらの方法は、サンプルからの核酸の単離、核酸の精製、RNAの逆転写、および／または核酸増幅の1以上をさらに含んでなり得る。いくつかの実施形態では、ETSGの発現を決定するために使用されるポリヌクレオチドプローブは、例えば、サンプルのより迅速な処理を可能とするアレイまたはマイクロアレイとして、固相支持体上に固定されてもよい。アレイおよびマイクロアレイを作製する方法は、当技術分野で周知である。加えて、本明細書でETSGとして特定された遺伝子のいくつかを検出するためのプローブを含むいくつかの標準的なマイクロアレイが市販されており、従って、開示されている診断方法で使用するのに好適であり得る。例えば、Affymetrix U133 GeneChip（商標）アレイ（Affymetrix, Inc.、サンタクララ、CA）、Agilent TechnologiesゲノムcDNAマイクロアレイ（サンタクララ、CA）、およびIllumina, Inc.（サンディエゴ、CA）から入手可能なアレイ。これらのアレイは、全ヒトゲノムのプローブセットがチップ上に固定されており、試験サンプル中の遺伝子のアップレギュレーションおよびダウンレギュレーションを判定するために使用することができる。予め選択された遺伝子を検出ための特注アレイおよびマイクロアレイも数社から市販されている。遺伝子発現分析を実行する機器および試薬も市販されている（例えば、Affymetrix GeneChip（商標）システム）。分析から得られた発現データは次に、必要であれば、または所望により、さらなる分析のための適当なデータベースに入力することができる。

【0096】

いくつかの実施形態では、差次的に発現される遺伝子は、cDNAに変換した後に、例えば、Sequenom MassARRAY（登録商標）システムを用いたマトリックス支援レーザー脱離／イオン化－飛行時間（MALDI-TOF）質量分析の使用により検出することができる（例えば、Kricka LJ. Clin Chem 1999; 45:453-458参照）。

10

20

30

40

50

【0097】

発現プロファイルの正確度を保証する手段として、そのサンプルにおいて「参照遺伝子」、「対照遺伝子」または「ハウスキーピング遺伝子」として知られる特定の遺伝子の発現も決定することができる。参照遺伝子は、癌組織および正常組織を含む多くの組織種で一貫して発現される遺伝子であり、従って、遺伝子発現プロファイルを正規化するために有用である。内毒素耐性シグネチャーの遺伝子と並行して参照遺伝子の発現を決定することで、遺伝子発現プロファイルの決定のために使用した技術が適切に機能しているというさらなる保証が得られる。適当な参照遺伝子（本明細書では対照遺伝子およびハウスキーピング遺伝子とも呼ばれる）は、当業者により容易に選択できる。

【0098】

内毒素耐性シグネチャーの E T S G に関して決定された発現レベルは、例えば、健常個体由来の生体サンプルにおける E T S G の発現レベルまたは非内毒素耐性細胞における E T S G の発現レベルであり得る好適な参照または対照と比較される。この比較には、例えば、視覚的検査および／または測定値の算術的もしくは統計的比較を含んでよく、任意の参照遺伝子の発現を考慮することができる。遺伝子の発現レベルの差異を決定するための比較の好適な方法は当技術分野で周知である。

【0099】

特定の実施形態では、本診断方法は、標準的な敗血症診断手順に対する確定診断として使用可能である。いくつかの実施形態では、本診断方法は、単独診断として使用可能である。

【0100】

特定の実施形態では、本診断方法は、敗血症を有する疑いのある対象において敗血症を確定するために使用可能である。対象は、それらの対象が敗血症の標準的な診断判定基準、例えば、微生物培養分析、血圧測定、白血球総数、検温、呼吸数の測定、および／または心拍数の測定、を満たすかどうかを判定するための 1 以上の評価をすべて受けていてもよい。特定の実施形態では、本診断方法は、標準的な診断判定基準により敗血症を有すると診断されている患者の敗血症を確定するために使用してもよい。特定の実施形態では、本診断方法は、敗血症を有する患者を、重度敗血症を有する、かつ／または臓器不全のリスクがあるとして診断するために使用してもよい。

【0101】

特定の実施形態では、生体サンプルにおける E T S G の発現レベルの決定は、生体サンプルにおいて複数の E T S G によりコードされている複数の m R N A の存在を検出することを含んでなる。いくつかの実施形態では、サンプルにおける E T S G によりコードされている m R N A の存在の検出は、生体サンプルから得られた m R N A を用いて逆転写反応を行い、c D N A 産物を作製すること、および前記 c D N A 産物を、E T S G によりコードされている m R N A と相補的なヌクレオチド配列を含んでなる c D N A とハイブリダイズし得る核酸プローブと接触させることを含んでなる。

【0102】

いくつかの実施形態では、本方法は、生体サンプルから得られた m R N A を用いて逆転写反応により作製された c D N A 産物を、複数の E T S G によりコードされている m R N A と相補的なヌクレオチド配列を含んでなる c D N A とハイブリダイズし得る核酸プローブを含んでなるマイクロアレイと接触させることを含んでなる。

【0103】

処置方法

特定の実施形態では、本発明は、患者が敗血症、重度敗血症および／または臓器不全を発症するリスクを軽減するために、例えば、本明細書に記載の診断方法を使用することにより、内毒素耐性を有すると特定された患者を処置する方法に関する。特定の実施形態では、本明細書に記載の方法による敗血症患者の免疫状態の早期同定は、適当な療法の選択を先導する助けとなる。

【0104】

特定の実施形態では、患者が内毒素耐性を有する、および敗血症、重度敗血症および／または臓器不全を発症するリスクを有すると特定される場合、処置の方法は、重度敗血症の処置に指示される少なくとも1つの抗生物質の治療上有効な用量を患者に投与することを含んでなる。

【0105】

重度敗血症を処置するために好適な抗生物質の例としては、限定されるものではないが、グリコペプチド（例えば、バンコマイシン、オリトバンシン(oritvancin)またはテレバンシン(televancin)）、セフラスポリン（例えば、セフトリアキソン、セフォタキシム、またはセフェピム）、β-ラクタム／β-ラクタマーゼ阻害剤（例えば、ピペラシリン-タゾバクタム、クラブラン酸チカルシリン）、カルバペネム（例えば、イミペネムまたはメロペネム）、キノロンおよびフルオロキノロン（例えば、シプロフロキサシン、モキシフロキサシンまたはレボフロキサシン）、アミノグリコシド（例えば、ゲンタマイシン、トブラマイシンまたはアミカシン）、マクロライド（例えば、アジスロマイシン、クラリスロマイシンまたはエリスロマイシン）およびモノバクタム（例えば、アズトレオナム）、およびそれらの種々の組合せが挙げられる。一般に、組合せは、異なるクラスからの抗生物質を含んでなる。

10

【0106】

本明細書に示されるように、敗血症は、内毒素耐性により媒介される免疫不全を特徴とする疾患として定義され得る。よって、敗血症患者における内毒素耐性を打ち消すことは、重度敗血症および／もしくは臓器不全を予防する、またはそれを発症する患者の尤度を低減するための潜在的治療アプローチである。よって、いくつかの実施形態では、本発明は、患者に内毒素耐性を打ち消す薬剤を投与することを含んでなる、敗血症を有する患者を処置する方法に関する。いくつかの実施形態では、本発明は、患者に内毒素耐性を打ち消す薬剤投与することを含んでなる、重度敗血症および／または臓器不全を予防する、またはそれを発症する患者のリスクを軽減する方法に関する。特定の実施形態では、患者は、本明細書に記載の診断方法により敗血症、重度敗血症および／または臓器不全を発症するリスクがあるとして特定される。

20

【0107】

内毒素耐性を打ち消す薬剤は、例えば、免疫療法であり得る。いくつかの実施形態では、内毒素耐性を打ち消す薬剤は免疫細胞を含んでなる。内毒素耐性を打ち消す薬剤の他の例としては、限定されるものではないが、インターフェローン-γ、CpGオリゴヌクレオチド単独またはIL-10との組合せ、抗CD40抗体、STAT3の阻害剤、STAT6の阻害剤、p50の阻害剤、NFκBの阻害剤、IKKβの阻害剤、イミダゾキノリンおよびゾレンドロン酸が挙げられる。

30

【0108】

内毒素耐性は、M2状態で「ロックされた」マクロファージをもたらし得る。特定の実施形態では、内毒素耐性を打ち消す薬剤は、マクロファージ表現型をM2からM1に、またはM2からM0（運命付けされていないマクロファージを表す）に変更し得る。

【0109】

いくつかの実施形態では、本発明は、患者にマクロファージ表現型をM2からM1に変更する薬剤を投与することを含んでなる、敗血症を有する患者を処置する方法に関する。いくつかの実施形態では、本発明は、患者にマクロファージ表現型をM2からM1に変更する薬剤を投与することを含んでなる、重度敗血症および／または臓器不全を発症する患者のリスクを軽減する方法に関する。特定の実施形態では、患者は、本明細書に記載の診断方法により敗血症、重度敗血症および／または臓器不全を発症するリスクがあるとして特定される。

40

【0110】

特定の実施形態では、マクロファージ表現型をM2からM1に変更し得る薬剤は、免疫療法、免疫細胞、インターフェローン-γ、CpGオリゴヌクレオチド単独またはIL-10との組合せ、抗CD40抗体、STAT3の阻害剤、STAT6の阻害剤、p50の阻

50

害剤、NF κ Bの阻害剤、IKK β の阻害剤、イミダゾキノリンおよびゾレンドロン酸から選択される。

【0111】

本発明の特定の実施形態は、内毒素耐性を打ち消す薬剤の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含んでなる、重度敗血症を発症する対象のリスクを軽減するための方法に関する。いくつかの実施形態では、対象は、本明細書に開示される方法により重度敗血症を発症するリスクがあると診断されている。

【0112】

本発明の特定の実施形態は、内毒素耐性を打ち消す薬剤の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含んでなる、対象において臓器不全のリスクを軽減するための方法に関する。いくつかの実施形態では、対象は、本明細書に開示される方法により臓器不全のリスクがあると診断されている。

10

【0113】

本発明の特定の実施形態は、内毒素耐性を打ち消す薬剤の有効量を、それを必要とする対象に投与することを含んでなる、敗血症の治療方法に関する。いくつかの実施形態では、対象は、本明細書に開示される方法により敗血症を有すると診断されている。

【0114】

一実施形態では、内毒素耐性を打ち消し、本明細書に開示される方法において使用が見出される薬剤は免疫療法であり得る。一実施形態では、内毒素耐性を打ち消し、本明細書に開示される方法において使用が見出される薬剤は免疫細胞を含んでなる。一実施形態では、免疫細胞は同系免疫細胞であり、例えば、前記細胞は免疫細胞が投与される対象由来のものであり得る。別の実施形態では、免疫細胞は同種異系の、すなわち、免疫細胞が投与される対象以外の個体に由来する、免疫細胞である。

20

【0115】

一実施形態では、内毒素耐性を打ち消し、本明細書に開示される方法において使用が見出される薬剤はインターフェロン γ である。一実施形態では、内毒素耐性を打ち消し、本明細書に開示される方法において使用が見出される薬剤はCpG-オリゴヌクレオチド(ODN)である。一実施形態では、内毒素耐性を打ち消し、本明細書に開示される方法において使用が見出される薬剤は、CpG-ODNとインターロイキン-10(IL-10)の組合せである。一実施形態では、内毒素耐性を打ち消し、本明細書に開示される方法において使用が見出される薬剤は抗CD40抗体である。一実施形態では、内毒素耐性を打ち消し、本明細書に開示される方法において使用が見出される薬剤はSTAT3の阻害剤である。一実施形態では、内毒素耐性を打ち消し、本明細書に開示される方法において使用が見出される薬剤はSTAT-6の阻害剤である。一実施形態では、内毒素耐性を打ち消し、本明細書に開示される方法において使用が見出される薬剤はp50の阻害剤である。一実施形態では、内毒素耐性を打ち消し、本明細書に開示される方法において使用が見出される薬剤はNF κ Bの阻害剤である。一実施形態では、内毒素耐性を打ち消し、本明細書に開示される方法において使用が見出される薬剤はIKK β の阻害剤である。一実施形態では、内毒素耐性を打ち消し、本明細書に開示される方法において使用が見出される薬剤はイミダゾキノロンである。一実施形態では、内毒素耐性を打ち消し、本明細書に開示される方法において使用が見出される薬剤はゾレンドロン酸である。

30

40

【0116】

スクリーニング方法

本発明の特定の実施形態は、内毒素耐性シグネチャーに含まれるETSGの発現に対する試験薬剤の効果を評価することにより、敗血症の処置用の候補薬剤を特定するための方法に関する。ETSGの発現に影響を及ぼす試験化合物の能力は、例えば、細胞をin vitroにおいて試験化合物と接触させること、その細胞におけるETSGの発現を測定すること、およびその細胞におけるETSGの発現を対照細胞における同じETSGの発現レベルと比較することにより評価され得る。

【0117】

50

E T S G の発現は、本明細書および他所に記載される当技術分野で公知の種々の方法により評価され得る。

【0118】

特定の実施形態では、試験細胞は内毒素耐性細胞であり得、対照細胞は非内毒素耐性（正常）細胞であり得る。この実施形態によれば、試験薬剤で処理された細胞の発現パターン（または遺伝子シグネチャー）が対照細胞の発現パターン（または遺伝子シグネチャー）に実質的に相当すれば、これはその試験薬剤が敗血症の処置用の候補薬剤であることを示す。これに関して「実質的に相当する」とは、外毒素耐性細胞でアップレギュレートされる E T S G の発現が低減され、外毒素耐性細胞でダウンレギュレートされる E T S G の発現が増強されることを意味する。

10

【0119】

いくつかの実施形態では、処理細胞における E T S G の少なくとも 1 つの発現レベルは、対照細胞における同じ E T S G の発現レベルの所定の限界内である。例えば、対照細胞における同じ E T S G の発現レベルの約 ± 25 % 以内、約 ± 20 % 以内、約 ± 15 % 以内、または約 ± 10 % 以内。

【0120】

いくつかの実施形態では、本方法は、細胞と試験薬剤を接触させる前に、細胞において内毒素耐性を誘導するのに十分な時間、細胞を内毒素と接触させることをさらに含んでなり得る。内毒素は、例えば、細菌リポ多糖類（L P S）またはリポテイコ酸またはそれらの組合せであり得る。L P S またはリポテイコ酸は単離された形態であってよく、または L P S および／もしくはリポテイコ酸を天然に含有する細菌と接触させることにより提供されてもよい。内毒素耐性を誘導するために必要な時間は、当業者ならば容易に決定できる。内毒素耐性を誘導するためには内毒素による 2 回以上の処理が必要とされる場合がある。一般に、約 12 ～ 約 24 時間の間の時間、例えば、約 14、約 16、約 18 または約 20 時間、内毒素で 1 ～ 3 回の間の処理が使用され得る。複数回の処理が使用される場合、各処理で使用される内毒素は同じであっても異なってもよい。

20

【0121】

いくつかの実施形態では、スクリーニング方法は、内毒素耐性細胞を内毒素に対して反応する能力に関して評価すること、従って、試験薬剤が細胞の耐性を打破する能力を持つことを示すことを含み得る。いくつかの実施形態では、スクリーニング方法は、第 2 の細胞をインターフェロナー γ、C p G オリゴヌクレオチド（I L を伴うまたは伴わない）、抗 C D 40 抗体、S T A T 3 の阻害剤、S T A T 6 の阻害剤、p 50 の阻害剤、N F κ B の阻害剤、I K K β の阻害剤、イミダゾキノロンまたはゾレンドロン酸などの、内毒素耐性を打ち消すことが知られる薬剤と接触させること、および第 2 の細胞において同じ E T S G の発現を決定することをさらに含んでなる。

30

【0122】

特定の実施形態では、本方法は、試験薬剤を、マクロファージ表現型を M 2 から M 1 に変更する能力に関してアッセイすることをさらに含んでなり得る。

【0123】

キットおよびマイクロアレイ

本発明の特定の実施形態は、本明細書で特定される E T S G を検出するために有用なキットに関する。よって、本キットは、複数の、例えば、2 以上の E T S G の発現を決定するための 1 以上の試薬を含んでなる。一般に、本キットは、本明細書に記載される診断方法、または診断方法の 1 以上の工程を実行するために一緒に使用され、通常、共通のパッケージング内に一緒に提供される、例えば 2 以上の試薬の集合体を含んでなる。

40

【0124】

E T S G の発現を決定するための 1 以上の試薬は、E T S G の発現産物（核酸またはタンパク質）または核酸発現産物の相補物を検出することができる遺伝子特異的プローブを含んでなり得る。E T S G によりコードされる m R N A の逆転写のため、および／または E T S G からのもしくは E T S G によりコードされる m R N A から作製された c D N A か

50

らの核酸配列の増幅のためのポリヌクレオチドプライマーもキットに提供され得る。

【0125】

特定の実施形態では、本キットは、表1に挙げられているETS Gから選択される複数のETS Gの遺伝子特異的プローブを含んでなる。いくつかの実施形態では、複数のETS Gは、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRを含んでなる。

10

【0126】

特定の実施形態では、キットは、表1の2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99のETS Gの遺伝子特異的プローブを含んでなる。

20

【0127】

特定の実施形態では、ETS Gに特異的なキットの遺伝子特異的プローブは、表1から選択されるETS Gのプローブを含んでなる。

【0128】

特定の実施形態では、ETS Gに特異的なキットの遺伝子特異的プローブは、表1から選択されるETS Gのプローブからなる。

【0129】

特定の実施形態では、ETS Gに特異的なキットの遺伝子特異的プローブは、表1の全てのETS Gのプローブからなる。

【0130】

特定の実施形態では、ETS Gに特異的なキットの遺伝子特異的プローブは、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択されるETS Gのプローブを含んでなる。

30

【0131】

特定の実施形態では、ETS Gに特異的なキットの遺伝子特異的プローブは、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択されるETS Gのプローブからなる。

40

【0132】

特定の実施形態では、ETS Gに特異的なキットの遺伝子特異的プローブは、下記：C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、R

50

AB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRのそれぞれのプローブからなる。

【0133】

特定の実施形態では、キットは、下記ETSG：C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRのうち2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、または31の遺伝子特異的プローブを含んでなる。

10

【0134】

特定の実施形態では、キットは、固相支持体上に固定されている複数のETSG特異的ポリヌクレオチドプローブを含んでなるマイクロアレイを含んでなり得るか、またはからなり得る。前記マイクロアレイは、ハウスキーピング遺伝子などの対照配列に特異的な対照ポリヌクレオチドプローブをさらに含んでなり得る。

【0135】

本キットは場合により、バッファー、塩、酵素、酵素補因子、基質、検出試薬、および洗浄試薬など、生物学的手順を行うために必要とされる1以上の他の試薬を含み得る。単離および／または試験サンプルの処理のためのバッファーおよび溶液などの付加的成分も本キットに含まれてよい。本キットは、1以上の対照配列またはサンプルを付加的に含み得る。

20

【0136】

本キットの成分の1以上は場合により凍結乾燥されてよく、本キットは凍結乾燥成分の再構成に好適な試薬をさらに含んでなり得る。

【0137】

本キットの種々の成分は好適な容器で提供される。いくつかの実施形態では、容器はそれ自体、生物学的手順を行うために好適な容器、例えば、マイクロタイタープレートであり得る。適当であれば、本キットはまた場合により、反応容器、混合容器および試薬もしくは試験サンプルの調製および生物学的手順の実施を助けるその他の成分を含み得る。本キットはまた、シリンジ、ピペット、または鉗子など、試験サンプルの取得を助けるための1以上の器具を含み得る。

30

【0138】

いくつかの実施形態では、キットまたはそれらの容器により含まれる試薬は、それらの使用を助けるためにカラーコードを有していてもよい。試薬がカラーコードを有する場合、特定の工程においてある試薬を別の試薬に加えると、例えば、その混合物の色が変わることとなり、従って、その工程が実施された指標を提供することができる。

【0139】

本キットは場合により、紙の形態で、CD、DVD、もしくはUSBスティックなどのコンピューター読み取り可能な形態で、またはウェブサイトアクセスするための指示もしくは説明の形態で提供され得る使用説明書を含むことができる。本キットはまた、本キットの使用から得られた結果の解釈を助けるために、ソフトウェア、またはソフトウェアを提供するウェブサイトアクセスするための指示もしくは説明を含んでなる、コンピューター読み取り可能な媒体も含んでなり得る。

40

【0140】

本発明の特定の実施形態は、複数のETSGの検出のためのマイクロアレイに関する。一実施形態では、本マイクロアレイは、固相支持体に結合された複数のポリヌクレオチドプローブを含んでなり、前記ポリヌクレオチドプローブのそれぞれは複数のETSGの各

50

個の発現産物（またはその相補物）と特異的にハイブリダイズし得る。本マイクロアレイは場合により1以上の対照プローブ、例えば、ハウスキーピング遺伝子の発現を検出し得るプローブを含み得る。いくつかの実施形態では、本マイクロアレイは、例えば、表4に示されるものから選択される複数の炎症シグネチャー遺伝子のプローブをさらに含んでなり得る。マイクロ分析のためには、プローブ配列は一般に約15～約100ヌクレオチド長の間、例えば、約15～約90ヌクレオチド長の間、約15～約80ヌクレオチド長の間、約15～約70ヌクレオチド長の間、約15～約60ヌクレオチド長の間、または約20～約60ヌクレオチド長の間である。限定を意味するものではなく単に例として、一般にプローブ配列は、Affymetrixアレイでは約25nt、また、Agilentアレイでは約60ntを含んでなる。

10

【0141】

特定の実施形態では、マイクロアレイは、複数のETS GによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る複数の核酸プローブを含んでなる。

【0142】

いくつかの実施形態では、マイクロアレイは、複数のETS GによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブから本質的になる。いくつかの実施形態では、マイクロアレイは、(i) 複数のETS GによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブと、(ii) 非ETS Gの部分セットによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブから本質的になる。いくつかの実施形態では、マイクロアレイは、(i) 複数のETS GによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブと、(ii) ハウスキーピング遺伝子の部分的セットによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブから本質的になる。いくつかの実施形態では、マイクロアレイは、(i) 複数のETS GによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブと、(ii) 複数の炎症シグネチャー遺伝子によりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブから本質的になる。いくつかの実施形態では、マイクロアレイは、(i) 複数のETS GによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブと、(ii) 複数の炎症シグネチャー遺伝子によりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブと、(iii) ハウスキーピング遺伝子の部分的セットによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブから本質的になる。いくつかの実施形態では、マイクロアレイは、(i) 複数のETS GによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブと、(ii) 複数の炎症シグネチャー遺伝子によりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブと、(iii) 非ETS Gの部分セットによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブから本質的になる。

20

30

40

【0143】

いくつかの実施形態では、マイクロアレイは、複数のETS GによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブからなる。いくつかの実施形態では、マイクロアレイは、(i) 複数のETS GによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブと、(ii) 非ETS Gの部分セットによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブからなる。いくつかの実施形態では、マイクロアレイは、(i) 複数のETS Gによ

50

りコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブと、(ii)ハウスキーピング遺伝子の部分的セットによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブからなる。いくつかの実施形態では、マイクロアレイは、(i)複数のETSGによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブと、(ii)複数の炎症シグネチャー遺伝子によりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブと、(iii)ハウスキーピング遺伝子の部分的セットによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブからなる。いくつかの実施形態では、マイクロアレイは、(i)複数のETSGによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブと、(ii)複数の炎症シグネチャー遺伝子によりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブと、(iii)非ETSGの部分的セットによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸

10

20

【0144】

いくつかの実施形態では、複数のETSGによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブの数は、そのマイクロアレイの他の核酸プローブの数よりも多い。いくつかの実施形態では、ETSGによりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブの数と炎症シグネチャー遺伝子によりコードされるmRNAと相補的なヌクレオチド配列を含んでなるcDNAとハイブリダイズし得る核酸プローブの数の和は、そのマイクロアレイの他の核酸プローブの数よりも多い。

【0145】

いくつかの実施形態では、複数のETSGは、表1に挙げられているETSGから選択される。いくつかの実施形態では、複数のETSGは、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRCを含んでなる。いくつかの実施形態では、複数の炎症シグネチャー遺伝子は、表4に挙げられている遺伝子から選択される。

30

【0146】

特定の実施形態では、マイクロアレイは、表1の2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99のETSGのプローブを含む。

40

【0147】

特定の実施形態では、ETSGに特異的なマイクロアレイの複数のプローブは、表1から選択されるETSGのプローブを含んでなる。

50

【0148】

特定の実施形態では、ETSGに特異的なマイクロアレイの複数のプローブは、表1から選択されるETSGのプローブからなる。

【0149】

特定の実施形態では、ETSGに特異的なマイクロアレイの複数のプローブは、表1の総てのETSGのプローブからなる。

【0150】

特定の実施形態では、ETSGに特異的なマイクロアレイの複数のプローブは、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択されるETSGのプローブを含んでなる。

【0151】

特定の実施形態では、ETSGに特異的なマイクロアレイの複数のプローブは、C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRから選択されるETSGのプローブからなる。

【0152】

特定の実施形態では、ETSGに特異的なマイクロアレイの複数のプローブは、下記：C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRのそれぞれのプローブからなる。

【0153】

特定の実施形態では、マイクロアレイは、下記ETSG：C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRの2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、または31のプローブを含む。

【0154】

今後の態様および実施形態

また、本発明の下記の今後の態様および実施形態も本明細書に開示される。

【0155】

一実施形態では、重度敗血症を有する、または重度敗血症を発症する高いリスクを有する患者を特定する方法であって、個体から生体サンプルを得ること、および内毒素耐性シグネチャーから少なくとも2以上の遺伝子の発現レベルを決定することを含んでなり、それにより、敗血症、重度敗血症または臓器不全のリスクが、非敗血症個体における同じ遺伝子の発現に比べての内毒素耐性シグネチャー遺伝子の発現の変化により示される方法が提供される。

【0156】

一態様において、本発明は、重度敗血症を有する、または重度敗血症発症する高いリスクを有する患者を特定する方法であって、前記患者から生体サンプルを得ること、および前記生体サンプルにおいて少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15の異なる内毒素耐性シグネチャー遺伝子（ETSG）の発現レベルを決定することを含んでなり、それにより、重度敗血症の存在または高いリスクがETSGの発現レベルにより示される方法を提供する。一実施形態では、15を越える異なるETGSの発現レベルが決定される。一実施形態では、20を越える異なるETGSの発現レベルが決定される。一実施形態では、25を越える異なるETGSの発現レベルが決定される。一実施形態では、30を越える異なるETGSの発現レベルが決定される。一実施形態では、約31の異なるETGSの発現レベルが決定される。

10

【0157】

一実施形態では、少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または31までのETSGがRNASE1、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROC、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1、およびVCANからなる群から選択される。

20

30

【0158】

特定の実施形態では、表1の2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99のETSGの発現レベルが決定される。

40

【0159】

特定の実施形態では、下記ETSG：C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST

50

3、LY86およびPROCRAの2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、または31の発現レベルが決定される。

【0160】

一実施形態では、本方法は、敗血症を有さない個体からの対照サンプルにおいて同じETS Gの発現レベルを決定することをさらに含んでなる。患者サンプルと対照サンプルからのETS Gの発現レベルが異なる場合、患者は重度敗血症を有する、または重度敗血症の高いリスクを有すると特定される。

【0161】

一実施形態では、患者は、重度敗血症を有するとまだ確定診断されていない。別の実施形態では、患者は、重度敗血症を有するとすでに診断されている。

【0162】

一実施形態では、生体サンプルは、血液、組織、羊水、唾液、尿、羊水、気管支肺泡洗浄液、および皮膚細胞からなる群から選択される。

【0163】

一実施形態では、重度敗血症を有する患者の特定は、患者に最適な療法を誘導するために使用される。

【0164】

一実施形態では、ETS G発現のレベルは、生体サンプルにおいてRNAまたはcDNAレベルを評価することにより決定される。一実施形態では、ETS G発現のレベルは、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、逆転写酵素（RT）PCR、Q-βレプリカーゼ増幅、リガーゼ連鎖反応、核酸配列増幅、シグナル増幅（アンプリプローブ）、ライトサイクリングおよびPCRの他の変形形態または非PCRに基づく増幅方法、ディファレンシャルディスプレイ、ノーザン分析、ハイブリダイゼーション、マイクロアレイ、DNAシーケンシング、RNA-Seq、核酸シーケンシング、マスアレイ分析、およびMALDI-TOF質量分析から選択される1以上の方法を用いて決定される。

【0165】

一態様において、本発明は、臓器不全のリスクのある個体を特定する方法であって、前記個体から生体サンプルを得ること、および前記生体サンプルにおいて少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15の異なるETS Gの発現レベルを決定することを含んでなり、それにより、臓器不全のリスクがETS Gの発現レベルにより示される方法を提供する。一実施形態では、15を越える異なるETS Gの発現レベルが決定される。一実施形態では、20を越える異なるETS Gの発現レベルが決定される。一実施形態では、25を越える異なるETS Gの発現レベルが決定される。一実施形態では、30を越える異なるETS Gの発現レベルが決定される。一実施形態では、約31の異なるETS Gの発現レベルが決定される。

【0166】

一実施形態では、本方法は、敗血症を持たない個体からの対照サンプルにおける同じETS Gの発現レベルを決定することをさらに含んでなる。患者サンプルと対照サンプルからのETS Gの発現レベルが異なる場合に、患者が臓器不全のリスクを有すると特定される。

【0167】

一実施形態では、少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31のETS Gは、RNA SE1、ADAM15、ADAMDEC1、

ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1、およびVCANからなる群から選択される。

10

【0168】

特定の実施形態では、表1の2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99のETSGの発現レベルが決定される。

20

【0169】

特定の実施形態では、下記ETSGのうち2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、または31の発現レベルが決定される：C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HIST2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCR。

30

【0170】

一態様において、本発明は、重度敗血症を処置するための方法であって、重度敗血症を有する、または重度敗血症を発症する高いリスクを有する患者を特定すること、および前記患者を重度敗血症の処置に指示される少なくとも1つの有効な抗生物質で処置することを含んでなる方法を提供する。一実施形態では、患者の特定は、前記患者から生体サンプルを得ること、および前記生体サンプルにおいて少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15の異なるETSGの発現レベルを決定することを含んでなり、それにより、重度敗血症の存在または高いリスクが前記少なくとも2つのETSGの発現レベルにより示される。一実施形態では、15を越える異なるETSGの発現レベルが決定される。一実施形態では、20を越える異なるETSGの発現レベルが決定される。一実施形態では、25を越える異なるETSGの発現レベルが決定される。一実施形態では、30を越える異なるETSGの発現レベルが決定される。一実施形態では、約31の異なるETSGの発現レベルが決定される。

40

50

【0171】

一実施形態では、少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31のETSGは、RNASE1、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1、およびVCANからなる群から選択される。

10

20

【0172】

特定の実施形態では、表1の2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99のETSGの発現レベルが決定される。

30

【0173】

特定の実施形態では、下記ETSG：C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRの2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、または31の発現レベルが決定される。

40

【0174】

一実施形態では、本方法は、敗血症を持たない個体からの対照サンプルにおける同じETSGの発現レベルを決定することをさらに含んでなる。患者サンプルと対照サンプルからのETSGの発現レベルが異なる場合、その患者は重度敗血症を有すると特定され、重度敗血症の処置に指示される少なくとも1つの有効な抗生物質の治療上有効な用量がその患者に投与される。

【0175】

一態様において、本発明は、それぞれが異なるETSGのヌクレオチド配列に相当するまたは相補的なヌクレオチド配列を含んでなる、少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なく

50

とも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15の異なる核酸を含んでなる重度敗血症の特定のための検査キットを提供する。一実施形態では、本キットは、15を越える異なる核酸を含んでなる。一実施形態では、本キットは、20を越える異なる核酸を含んでなる。一実施形態では、本キットは、25を越える異なる核酸を含んでなる。一実施形態では、本キットは、30を越える異なる核酸を含んでなる。一実施形態では、本キットは、約31の異なる核酸を含んでなる。

【0176】

一実施形態では、本キットは、それぞれが異なるETS Gのヌクレオチド配列に相当するまたは相補的なヌクレオチド配列を含んでなり、前記ETS GがRNA SE 1、ADAM 15、ADAM DEC 1、ALCAM、ALDH 1A 1、ANKRD 1、C19 or f 59、CA 12、CAMP、CCL 1、CCL 19、CCL 22、CCL 24、CCL 7、CD 14、CD 300 LF、CD 93、CDK 5 RAP 2、CPVL、CST 3、CST 6、CTSK、CXCL 10、CYP 1B 1、CYP 27B 1、DDIT 4、DHRS 9、DPYSL 3、EGR 2、EMR 1、EMR 3、FBP 1、FCER 1G、FCER 2、FPR 1、FPR 2、GK、GPNMB、GPR 137B、HBEGF、HIST 1H 1C、HIST 2H 2AA 3、HIST 2H 2AC、HK 2、HK 3、HPSE、HSD 11B 1、HTRA 1、IL 18BP、IL 3RA、ITGB 8、KIAA 1199、LILRA 3、LILRA 5、LIPA、LY 86、MARCO、MGST 1、MMP 7、MT 1F、MT 1G、MT 1H、MT 1M、MT 1X、MXD 1、MYADM、NEFH、NQO 1、NRIP 3、OLIG 2、PANX 2、PAPLN、PDLIM 7、PLAUR、PLD 3、PPBP、PROCR、PSTPIP 2、PTGES、PTGR 1、RAB 13、RARRES 1、RETN、RHBDD 2、RNA SE 1、S100A 12、S100A 4、S100A 8、S100A 9、SERPINA 1、SERPINB 7、SLC 16A 10、SLC 7A 11、TGM 2、TLR 7、TMEM 158、TREM 1、TSPAN 4、UPP 1、およびVCANからなる群から選択される、少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なる核酸を含んでなる。

【0177】

特定の実施形態では、本キットは、それぞれが表1の異なるETS Gのヌクレオチド配列に相当するまたは相補的なヌクレオチド配列を含んでなる、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99の異なる核酸を含んでなる。

【0178】

特定の実施形態では、本キットは、下記ETS G：C19 or f 59、CCL 22、CD 14、CD 300 LF、CYP 1B 1、DHRS 9、FCER 1G、FPR 1、FPR 2、GK、HISTH 2H 2AA 3、HK 2、HK 3、HPSE、LILRA 5、MGST 1、PDLIM 7、PLAUR、PSTPIP 2、RAB 13、RETN、RHBDD 2、S100A 4、S100A 9、S100A 12、SERPINA 1、UPP 1、CPVL、CST 3、LY 86およびPROCRのうち1つのヌクレオチド配列に相当するま

たは相補的なヌクレオチド配列を含んでなる、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、または31の異なる核酸を含んでなる。

【0179】

一態様において、本発明は、それぞれが異なるETS Gに相当するまたは相補的なヌクレオチド配列を含んでなる、少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15の異なる核酸を含んでなる、重度敗血症を発症する高いリスクを有する個体を特定するための検査キットを提供する。一実施形態では、本キットは、15を越える異なる核酸を含んでなる。一実施形態では、本キットは、20を越える異なる核酸を含んでなる。一実施形態では、本キットは、25を越える異なる核酸を含んでなる。一実施形態では、本キットは、30を越える異なる核酸を含んでなる。一実施形態では、本キットは、約31の異なる核酸を含んでなる。

10

【0180】

一実施形態では、本キットは、それぞれが異なるETS Gのヌクレオチド配列に相当するまたは相補的なヌクレオチド配列を含んでなり、前記ETS GがRNASE1、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1、およびVCANからなる群から選択される、少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なる核酸を含んでなる。

20

30

【0181】

特定の実施形態では、本キットは、それぞれが表1の異なるETS Gのヌクレオチド配列に相当するまたは相補的なヌクレオチド配列を含んでなる、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99の異なる核酸を含んでなる。

40

50

【0182】

特定の実施形態では、本キットは、それぞれが下記ETSG：C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHRS9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRのうち1つのヌクレオチド配列に相当するまたは相補的なヌクレオチド配列を含んでなる、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、または31の異なる核酸を含んでなる。

10

【0183】

一態様において、本発明は、それぞれが異なるETSGのヌクレオチド配列に相当するまたは相補的なヌクレオチド配列を含んでなる、少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15の異なる核酸を含んでなる、臓器不全のリスクを有する個体を特定するための検査キットを提供する。一実施形態では、本キットは、15を越える異なる核酸を含んでなる。一実施形態では、本キットは、20を越える異なる核酸を含んでなる。一実施形態では、本キットは、25を越える異なる核酸を含んでなる。一実施形態では、本キットは、30を越える異なる核酸を含んでなる。一実施形態では、本キットは、約31の異なる核酸を含んでなる。

20

【0184】

一実施形態では、本キットは、それぞれが異なるETSGのヌクレオチド配列に相当するまたは相補的なヌクレオチド配列を含んでなり、前記ETSGがRNASE1、ADAM15、ADAMDEC1、ALCAM、ALDH1A1、ANKRD1、C19orf59、CA12、CAMP、CCL1、CCL19、CCL22、CCL24、CCL7、CD14、CD300LF、CD93、CDK5RAP2、CPVL、CST3、CST6、CTSK、CXCL10、CYP1B1、CYP27B1、DDIT4、DHRS9、DPYSL3、EGR2、EMR1、EMR3、FBP1、FCER1G、FCER2、FPR1、FPR2、GK、GPNMB、GPR137B、HBEGF、HIST1H1C、HIST2H2AA3、HIST2H2AC、HK2、HK3、HPSE、HSD11B1、HTRA1、IL18BP、IL3RA、ITGB8、KIAA1199、LILRA3、LILRA5、LIPA、LY86、MARCO、MGST1、MMP7、MT1F、MT1G、MT1H、MT1M、MT1X、MXD1、MYADM、NEFH、NQO1、NRIP3、OLIG2、PANX2、PAPLN、PDLIM7、PLAUR、PLD3、PPBP、PROCR、PSTPIP2、PTGES、PTGR1、RAB13、RARRES1、RETN、RHBDD2、RNASE1、S100A12、S100A4、S100A8、S100A9、SERPINA1、SERPINB7、SLC16A10、SLC7A11、TGM2、TLR7、TMEM158、TREM1、TSPAN4、UPP1、およびVCAN。23からなる群から選択される、少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なる核酸を含んでなる。

30

40

【0185】

特定の実施形態では、本キットは、それぞれが表1の異なるETSGのヌクレオチド配列に相当するまたは相補的なヌクレオチド配列を含んでなる、2、3、4、5、6、7、

50

8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99の異なる核酸を含んでなる。

【0186】

特定の実施形態では、本キットは、下記ETSG：C19orf59、CCL22、CD14、CD300LF、CYP1B1、DHR9、FCER1G、FPR1、FPR2、GK、HISTH2H2AA3、HK2、HK3、HPSE、LILRA5、MGST1、PDLIM7、PLAUR、PSTPIP2、RAB13、RETN、RHBDD2、S100A4、S100A9、S100A12、SERPINA1、UPP1、CPVL、CST3、LY86およびPROCRのうち1つのヌクレオチド配列に相当するまたは相補的なヌクレオチド配列を含んでなる、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、または31の異なる核酸を含んでなる。

【0187】

一実施形態では、本発明の検査キットは、使用説明書、サンプル採取デバイス、サンプル調製用の1以上の試薬、および陽性対照サンプルをさらに含んでなる。

【0188】

一実施形態では、本発明の検査キットは、使用説明書、サンプル採取デバイス、サンプル調製用の1以上、および陰性対照サンプルをさらに含んでなる。

【0189】

一実施形態では、本発明の検査キットは、使用説明書、サンプル採取デバイス、サンプル調製用の1以上の試薬、および陰性対照サンプルと陽性対照サンプルをさらに含んでなる。

【0190】

一態様において、本発明は、重度敗血症を有する患者を処置する方法であって、その個体由来の細胞における少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なるETSGの発現を変化させることにより内毒素耐性を打ち消す薬剤の治療上有効な量を前記患者に投与することを含んでなる方法を提供する。

【0191】

一実施形態では、前記薬剤は、インターフェロン γ ；IL-10を伴うまたは伴わないCpG-ODN；抗CD40；STAT3、STAT6、p50 NF κ B、およびIKK β の阻害剤；イミダゾキノロン；およびゾレンドロン酸からなる群から選択される。一実施形態では、前記薬剤は免疫細胞である。

【0192】

一態様において、本発明は、患者において重度敗血症を予防するまたは遅延させる方法であって、前記患者由来の細胞における少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または99までの異なるETSGの発現を変化させることにより内毒素耐性を打ち消す薬剤の有効量を前記患者に投与することを含んでなる方法を提供する。

【0193】

10

20

30

40

50

一実施形態では、前記薬剤は、インターフェロン γ ；IL-10を伴うまたは伴わない CpG-ODN；抗CD40；STAT3、STAT6、p50 NF κ B、およびIKK β の阻害剤；イミダゾキノロン；およびゾレンドロン酸からなる群から選択される。一実施形態では、前記薬剤は免疫細胞である。

【0194】

一態様において、本発明は、患者において重度敗血症を処置する方法であって、前記患者由来の細胞における少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なるETSGの発現を変化させることにより内毒素耐性を打ち消す薬剤の治療上有効な量を前記患者に投与することを含んでなり、療法中に前記患者から採取したサンプルにおいて少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なるETSGの発現をモニタリングすることをさらに含んでなる方法を提供する。

10

【0195】

一実施形態では、前記薬剤は、インターフェロン γ ；IL-10を伴うまたは伴わない CpG-ODN；抗CD40；STAT3、STAT6、p50 NF κ B、およびIKK β の阻害剤；イミダゾキノロン；およびゾレンドロン酸からなる群から選択される。一実施形態では、前記薬剤は免疫細胞である。

20

【0196】

一態様において、本発明は、患者において重度敗血症を予防するまたは遅延させる方法であって、患者由来の細胞における少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なるETSGの発現を変化させることにより内毒素耐性を打ち消す薬剤の有効量を前記患者に投与することを含んでなり、予防処置中に前記患者から採取したサンプルにおいて少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なるETSGの発現をモニタリングすることをさらに含んでなる方法を提供する。

30

【0197】

一実施形態では、前記薬剤は、インターフェロン γ ；IL-10を伴うまたは伴わない CpG-ODN；抗CD40；STAT3、STAT6、p50 NF κ B、およびIKK β の阻害剤；イミダゾキノロン；およびゾレンドロン酸からなる群から選択される。一実施形態では、前記薬剤は免疫細胞である。

40

【0198】

一態様において、本発明は、患者において臓器不全を予防するまたは遅延させる方法であって、患者由来の細胞における少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なるETSGの発現を変化させることにより内毒素耐性を打ち消す薬剤の有効量を前記患者に投与することを含んでなり、予防処置中に前

50

記患者から採取したサンプルにおいて少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なるETS Gの発現をモニタリングすることをさらに含んでなる方法を提供する。

【0199】

一実施形態では、前記薬剤は、インターフェロン γ ；IL-10を伴うまたは伴わないCpG-ODN；抗CD40；STAT3、STAT6、p50 NF κ B、およびIKK β の阻害剤；イミダゾキノロン；およびゾレンドロン酸からなる群から選択される。一実施形態では、前記薬剤は免疫細胞である。

10

【0200】

一態様において、本発明は、重度敗血症を処置する方法であって、インターフェロン γ ；IL-10を伴うまたは伴わないCpG-ODN；抗CD40；STAT3、STAT6、p50 NF κ B、およびIKK β の阻害剤；イミダゾキノロン；およびゾレンドロン酸からなる群から選択される薬剤の治療上有効な量を患者に投与することを含んでなる方法を提供する。一実施形態では、本方法は、療法中に前記患者から採取したサンプルにおいて少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なるETS Gの発現をモニタリングすることをさらに含んでなる。

20

【0201】

一態様において、本発明は、重度敗血症を予防するまたは遅延させ方法であって、インターフェロン γ ；IL-10を伴うまたは伴わないCpG-ODN；抗CD40；STAT3、STAT6、p50 NF κ B、およびIKK β の阻害剤；イミダゾキノロン；およびゾレンドロン酸からなる群から選択される薬剤の有効量を患者に投与することを含んでなる方法を提供する。一実施形態では、前記方法は、予防処置中に前記患者から採取したサンプルにおいて少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なるETS Gの発現をモニタリングすることをさらに含んでなる。

30

【0202】

一態様において、本発明は、臓器不全を予防するまたは遅延させる方法であって、インターフェロン γ ；IL-10を伴うまたは伴わないCpG-ODN；抗CD40；STAT3、STAT6、p50 NF κ B、およびIKK β の阻害剤；イミダゾキノロン；およびゾレンドロン酸からなる群から選択される薬剤の有効量を患者に投与することを含んでなる方法を提供する。一実施形態では、本方法は、予防処置中に前記患者から採取したサンプルにおいて少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なるETS Gの発現をモニタリングすることをさらに含んでなる。

40

【0203】

一態様において、本発明は、敗血症を処置することができる薬剤を同定する方法であって、細胞を前記薬剤と接触させること、および前記細胞において少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ

50

、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15の異なるETS Gの発現を決定することを含んでなる方法を提供する。

【0204】

一実施形態では、前記細胞は内毒素耐性細胞である。一実施形態では、本方法は、細胞を薬剤と接触させた後にその細胞を内毒素と接触させることをさらに含んでなる。一実施形態では、前記内毒素は、細菌リポ多糖類またはリポテイコ酸である。一実施形態では、細菌リポ多糖類またはリポテイコ酸が細菌内に存在する。

【0205】

一実施形態では、本発明の薬剤は、細胞を好適な用量の内毒素と接触させること、18時間待つこと、次いで、前記細胞をより少用量の同じまたは別の内毒素と再び接触させて内毒素耐性細胞を作出すること、次いで、前記内毒素耐性細胞を本発明の薬剤とともにインキュベートすること、および第3の用量の内毒素と相互作用する細胞の能力の回復（耐性打破）を調べることによって得られる。

【0206】

一実施形態では、本方法は、第2の細胞をインターフェロン γ ；IL-10を伴うまたは伴わないCpG-ODN；抗CD40；STAT3、STAT6、p50 NF κ B、またはIKK β の阻害剤；イミダゾキノロン；またはゾレンドロン酸と接触させること、および第2の細胞において同じETS Gの発現を決定することをさらに含んでなる。

【0207】

一実施形態では、前記方法は、前記薬剤を、マクロファージ表現型をM2からM1に変更する能力に関してアッセイすることをさらに含んでなる。

【0208】

本発明の薬剤は、細胞を好適な用量の内毒素と接触させること、18時間待つこと、および次いで、細胞をより少用量の同じまたは別の内毒素と再び接触させて内毒素耐性細胞を作出すること、次いで、前記内毒素耐性細胞を本発明の薬剤とともにインキュベートすること、および第3の用量の内毒素と相互作用する細胞の能力の回復（耐性打破）を調べることにより得ることができる。一実施形態では、前記内毒素は、細菌リポ多糖類またはリポテイコ酸である。

【0209】

一態様において、本発明は、敗血症を処置し得る薬剤を提供、その薬剤は本発明の方法により同定される。一実施形態では、前記薬剤は、マクロファージ表現型をM2からM1に変更し得る。

【0210】

一態様において、本発明は、内毒素耐性を抑制することによる敗血症の治療方法を提供する。一実施形態では、患者由来の細胞において少なくとも1つの、または少なくとも2つ、または少なくとも3つ、または少なくとも4つ、または少なくとも5つ、または少なくとも6つ、または少なくとも7つ、または少なくとも8つ、または少なくとも9つ、または少なくとも10、または少なくとも11、または少なくとも12、または少なくとも13、または少なくとも14、または少なくとも15、または少なくとも31の異なるETS Gの発現を変更し得る薬剤が使用される。

【0211】

本明細書に記載の本発明のより良い理解を得るために、以下の実施例を示す。これらの実施例は本発明の例示的实施形態を記載することを意図し、本発明の範囲を何ら限定するものではないと理解される。

【実施例】

【0212】

方法

概要： 内毒素耐性および炎症LPS遺伝子シグネチャーは、対照PBMCと比較して

10

20

30

40

50

差次的に発現される遺伝子を同定するヒトPBMCの公開[Pena OM, et al. Journal of Immunology 2011; 186:7243-54]マイクロアレイ分析から導いた。シグネチャー間のより直接的な比較を可能とするため、差次的に発現される炎症遺伝子を、2時間および6時間の時点で*in vivo*において低用量LPSで刺激した健常個体のPBMCからの試験的内毒素血症マイクロアレイデータセット(GSE3284)[Calvano et al., Nature, 2005, 437:1032-1037]とオーバーラップさせることにより、178から93の遺伝子にさらに減じた。患者および対照における「内毒素耐性」シグネチャーおよび「炎症」シグネチャーの分析は、統計的精密遺伝子セット検定ROAST[Wu D, et al. Bioinformatics 2010; 26:2176-82]を用いて行った。データセットの選択は下記の包含判定基準に基づいた：1) 横断的または縦断的コホート研究、2) 全血または精製白血球集団、3) 小児または成人患者、4) 対照として使用する健常対象、5) 科学雑誌で公開されているデータセットのみ。正規化されたデータセットをNCBI GEOから、BioconductorパッケージGEOquery[Davis S, Meltzer PS. Bioinformatics 2007; 23:1846-7]を用いてダウンロードした。データ処理は総て、Bioconductor[Gentleman RC, et al. Genome Biology 2004; 5:R80]を用いてRにて実行した。ここで報告されるRNA Seq試験では、73名の患者(60±17歳; 男性46名、女性27名)を、UBCヒト倫理審査による承認に従い、救急病棟での初療時に患者の状態に敗血症に進む可能性があるという医師の鑑定に基づいて、繰り延べ同意で動員した。初回の採血後、全血から全RNAを調製し、cDNAに変換し、Illumina Genome Analyzer IIxで配列決定を行い、ヒトゲノムにマッピングし、標準的な方法によりテーブルに変換した。正規化には、Limma package function *voom*を用いた。慣例の検査に基づく他の総ての臨床パラメーターは、カルテの調査によって得た。

【0213】

メタ分析データセット。敗血症データセットの検索は公開リポジトリNCBI GEOおよびEBI Array Expressで行った。データセットの選択(表2)は、下記の包含判定基準に基づいた：1) 横断的または縦断的コホート研究、2) 全血または精製白血球集団、3) 小児または成人患者、4) 対照として使用する健常対象、5) 科学雑誌で試験の一部として公開されているデータセットのみ。アクセスしたデータセットの一覧を表2に示す。

【0214】

10

20

30

【表 2】

表2: 再分析した公開敗血症データセットの説明*

N*	GEO ID (GSE #)	選択されたサンプル	サンプ ル(敗血 症/対照)	場所; 細胞種;サン プル採取時間	Pubmed #, Year	Array Platform
1	28750	敗血症対象および健常対 照由来のサンプルのみ使 用。術後対象群が分析か ら除外した。	10/ 20	オーストラリ ア; 白血球; ICU <24 時間 >	21682927 ; 2011	A
2	13015	B. シュードマレイ以外の 生物による敗血症を有す るサンプルのみ使用、対 照は併存症を持たない健 常者であった。	24/ 3	タイ; 全血; 敗血症診断の 24 時間以内	19903332 ; 2009	B
3	9692	試験により提供されたサ ンプルを総て使用。	30/ 15	USA; 白血球; ICU <24 時間 >	18460642 ; 2007	A
4	26378	試験により提供されたサ ンプルを総て使用。	82/ 21	USA; 白血球; ICU <24 時間 >	21738952 ; 2011	A
5	26440	試験により提供されたサ ンプルを総て使用。	98/ 32	USA; 白血球; ICU <24 時間 >	21738952 ; 2011	A

10

20

30

6	4607	ICU 収容後 1 日目および 3 日目に採取した敗血性ショックを受けている対象からのサンプルのみ使用。SIRS および SIRS 消散対象 サンプルは除外。	69/ 15	USA; 白血球; ICU <24 時間>	17374846; 2006	A
7	8121	試験により提供されたサンプルを総て使用。	60/ 15	USA; 白血球; ICU <24 時間>	17932561; 2007	A
8	11755	ICU 収容 24 時間後(1 日目)および 72 時間後(3 日目)の敗血症対象からのサンプルのみ使用。収容後 8 時間で採取したサンプルは分析から除外。	5/ 3	オランダ; 白血球; ICU <24 時間>	23842590; 2008	A
9	13904	敗血症および敗血性ショック対象からのサンプルのみ使用。SIRS 対象は分析から除外。	158/ 18	USA 白血球; ICU <24 時間>	19325468; 2008	A

10

20

30

【0215】

表2 脚注

* マイクロアレイデータは、リポジトリ Gene Expression Omnibus (GEO) からダウンロードした。関連論文 (Pubmed 番号で示す)、分析した患者数および特定の試験の詳細を示す。試験の説明を脚注として含める。アレイプラットフォームは A. GPL570 [HG-U133_Plus_2] Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array; B. GPL6947 Illumina Human HT-12 V3.0 発現ビーズチップであった。

【0216】

表2の第1列の試験による研究計画：

1. GSE 28750。横断的。オーストラリアにて4箇所の救命救急医療現場で行われた多施設、前向き臨床試験。敗血症患者は、1992 Consensus Statement 判定基準を満たし、微生物学的診断に基づいて全身感染の臨床徴候があった場合に動員した。健常対象は本試験の正常対照として使用した。
2. GSE 13015。横断的。非感染対照と比較した、バークホルデリア・シュードマレイ (*Burkholderia pseudomallei*) による陽性血液培養を示す敗血症および他の生物による敗血症を有する患者の研究。
3. GSE 9692。横断的。小児集中治療室 (PICU) に収容された敗血性ショックの小児特有判定基準を有する10歳未満の小児。正常対照患者は、下記の排除判定基準

40

50

を用い、参加施設から動員した：近日の発熱性疾患（2週間以内）、近日の抗炎症薬の使用（2週間以内）、または炎症に関連する慢性または急性疾患の病歴。

4. G S E 2 6 3 7 8。横断的。敗血性ショックを有する小児からの発現データを、P I C U収容の最初の24時間に相当する全血由来R N Aサンプルを用いて作成した。健常対象（小児）を本研究の正常対照として使用した。

5. G S E 2 6 4 4 0。横断的。敗血性ショックを有する小児からの発現データを、P I C U収容の最初の24時間に相当する全血由来R N Aサンプルを用いて作成した。健常対象（小児）を本試験の正常対照として使用した。

6. G S E 4 6 0 7。縦断的。小児集中治療室に収容され、S I R Sまたは敗血性ショックのいずれかの判定基準を満たす10歳未満の小児が本研究に適格者であった。対照患者は、下記の排除判定基準を用い、参加施設の外来科または入院科から動員した：近日の発熱性疾患（2週間以内）、近日の抗炎症薬の使用（2週間以内）、または炎症に関連する慢性または急性疾患の病歴。

7. G S E 8 1 2 1。縦断的。ゲノムレベルの発現プロファイルを、敗血性ショックを有する小児の、それぞれ敗血性ショックの1日目および3日目に相当する全血由来R N Aから作成した。対照患者は、下記の排除判定基準を用い、参加施設から動員した：近日の発熱性疾患（2週間以内）、近日の抗炎症薬の使用（2週間以内）、または炎症に関連する慢性または急性疾患の病歴。

8. G S E 1 1 7 5 5。縦断的。前向き症例対照研究、髄膜炎菌敗血症を有する6名の小児を含めた。採血を4時点（小児集中治療室への収容後 $t = 0$ 、 $t = 8$ 、 $t = 24$ および $t = 72$ 時間）で行った。健常対象（小児）を本研究の正常対照として用いた。

9. G S E 1 3 9 0 4。縦断的。入院1日目および3日目の全身性炎症性応答症候群（S I R S）、敗血症、および敗血性ショックスペクトラムに相当する救急疾患小児のゲノムレベルの発現プロファイル。健常対象（小児）を本研究の正常対照として用いた。

【0217】

患者の選択および研究計画。盲検、観察的、比較コホート研究において、担当医の鑑定に基づいて敗血症の疑いがある患者を、敗血症の初療疑い時にカナダ、バンクーバーのセントポール病院から登録した。本研究に適当なサンプルサイズを決定するために、十分な感度について標準的な検定力計算を用いた[Jones SR, S Carley, and M Harrison. Emergency medicine Journal 2003; 20, 453-458, 2003]。95%信頼水準で少なくとも感度0.9を達成するためには、35名の敗血症患者および70名の全患者の必要サンプルサイズ（敗血症の疑いがある患者の50%が実際に敗血症を有すると仮定）を評価した。72名の全患者を動員し、その後、37名の敗血症患者を含むことが判明した。本研究の唯一の包含判定基準は、担当医の所見時の敗血症の疑いであった。大多数の患者（83%）は救急室から登録された。表3に示されるように、これらの個体は不均質であった。U B C倫理審査による承認プロトコールにより、敗血性ショックに感染していない者からに及ぶコホートの早期患者動員を可能とする繰り延べ同意が可能であった。対照として、感染の徴候のない、緊急でない手術が予定された、同意している健常個体を動員した。最初の血液培養時にE D T A管に採血し、すぐに氷上に置いた。血漿およびパフィーコートを分離し、2つの1 m lアリコート、安全なアラーム付きの -80°C 冷凍庫に移すまで、 -20°C 下のバーコード付きクリオバイアルに移した。試験識別番号をこれらの保証付き登録フォームに割り当て、その後の総ての分析で使用した、このようにして、これらの患者の遺伝子発現を分析する研究者には患者情報または臨床経過が伏せられ、最後のデータ分析の際にのみ明らかにされた。臨床データは、セントポール病院のファイアウォールを設けたR S S暗号化サーバー上のO R A C L E系データベースに保存した。

【0218】

臨床データは、R N A - S e qデータを伏せられた医師研究者により遡及的に（retrospectively）収集された。新たな臓器不全は、電子医療記録システムにおいて収集された検査値に基づいて定義された。評価された急性臓器不全は、ショック（昇圧剤による処置）、急性呼吸窮迫症候群（人工呼吸の必要）、凝固障害（血小板総数 $< 80 / \mu\text{L}$ ）、肝

不全（総ビリルビン $>34\mu\text{mol/L}$ ）および急性腎臓傷害（基準値からの血清クレアチニン上昇 $\geq 26.5\mu\text{mol/L}$ または ≥ 1.5 倍）の存在であった。最初のバイタルサインは、書類記録から遡及的に（retrospectively）抽出した。

【0219】

【表3】

表3: 比較コホート研究のために動員された個々の患者の詳細

Lab ID	ICU または 非 ICU ¹	臓器 不全の 数*	診断の 判定基準 ²						
			微生物 学 [§]	ト リ ア ー ジ 血圧 収縮期/ 拡張期	初 期 WBC	ト リ ア ー ジ 体温/°C	トリア ー ジ 心拍数	トリア ー ジ 呼吸数	最 初 の CO ₂ 分圧
敗血症群									
612920	ICU	4	陽性	94/62	17	37.8	170	40	NA ³
154114	ICU	3	陽性	73/45	22.4	36.7	73	32	38
297580	ICU	4	陽性	86/40	10.4	35.3	56	16	30
212463	ICU	3	陽性	165/101	19.1	37.5	98	34	71
708631	ICU	2	陽性	100/61	8	38.2	96	10	42
799587	ICU	5	陽性	84/45	7.2	37	127	22	25
795380	ICU	3	陽性	139/90	4.2	30.4	53	22	61
913994	ICU	4	陽性	81/62	10.4	39.3	139	40	26
889485	ICU	4	陽性	67/53	16.3	36.1	142	26	30
137731	ICU	3	陽性	130/78	19.8	36.4	100	16	52
862476	ICU	4	陽性	136/80	25.8	39.2	110	30	49
864637	ICU	4	陽性	83/54	11.3	37.2	126	26	51
980414	ICU	3	陽性	112/62	26.3	37.9	126	44	35
375523	ICU	4	陽性	134/58	37.7	38.5	133	34	NA
364132	非 ICU	0	陽性	98/68	9.4	38.3	119	22	NA
450578	非 ICU	0	陽性	86/44	18.4	37.7	86	18	NA
694402	非 ICU	1	陽性	175/81	2.2	37.4	118	22	NA
732740	非 ICU	2	陽性	155/83	3.2	37.1	107	22	NA
826967	非 ICU	1	陽性	129/66	23.8	37.2	109	20	NA

300271	ICU	3	陰性	103/57	15.3	36.7	102	22	42
679797	ICU	3	陰性	96/57	40	36.9	127	24	NA
266144	ICU	4	陰性	217/121	2.1	36.5	135	20	28
602395	ICU	3	陰性	105/95	12.9	37.5	92	NA	37
476146	ICU	3	陰性	106	15.2	36.2	105	- ⁴	44
853176	非 ICU	0	陰性	139/69	14.4	37.1	105	23	NA
220171	非 ICU	2	陰性	76/51	3.3	39	109	18	NA
581691	非 ICU	1	陰性	102/57	19.5	36.7	105	24	NA
823914	非 ICU	0	陰性	90/52	12.3	37.2	138	28	NA
155286	非 ICU	0	陰性	141/79	14.8	36.4	114	20	NA
658301	非 ICU	1	陰性	114/76	16.6	36.7	119	16	NA
800267	非 ICU	1	陰性	143/97	6.3	36.5	130	24	NA
235545	非 ICU	0	陰性	103/78	21.8	36.4	105	18	NA
342306	非 ICU	1	陰性	120/73	12.1	36.7	136	16	NA
468026	非 ICU	0	陰性	171/110	6.4	37.3	101	22	NA
522087	非 ICU	0	陰性	124/62	7	36.7	120	38	NA
716574	非 ICU	1	陰性	117/89	5.8	36.4	106	40	NA
746024	非 ICU	1	陰性	91/55	19.1	37.4	90	28	NA
非敗血症群									
402569	ICU	3	陽性	123/74	10.4	37.1	74	16	31
941715	非 ICU	0	陽性	119/65	5.1	36.8	82	16	NA
583654	非 ICU	0	陽性	180/96	7.6	36.4	64	20	NA
237093	非 ICU	0	陽性	102/58	10.3	36.6	82	16	NA
355472	非 ICU	1	陽性	147/70	13.4	38	66	20	NA
416442	非 ICU	2	陽性	133/62	7	39.5	89	20	NA
439362	非 ICU	1	陽性	146/84	5.6	36.8	89	16	NA
701198	非 ICU	1	陽性	147/68	5.6	36.4	107	18	NA
583577	ICU	2	陰性	203/111	11.2	36	85	32	73

10

20

30

40

749752	ICU	3	陰性	85/50	12.3	36.6	60	18	NA
673143	ICU	4	陰性	162/87	9.1	36.8	90	20	40
362763	ICU	3	陰性	126/60	7.3	37	90	³	39
377121	ICU	1	陰性	128/88	4.8	37.2	115	20	36
288187	非 ICU	0	陰性	95/57	9.7	36.9	98	20	NA
993234	非 ICU	0	陰性	152/57	6.8	36.6	88	24	NA
890426	非 ICU	1	陰性	135/75	8.1	37.6	105	16	NA
290697	非 ICU	0	陰性	100/61	8.4	36.7	91	20	NA
104582	非 ICU	0	陰性	140/88	17.1	36.6	74	20	NA
245286	非 ICU	0	陰性	136/75	5.7	36.8	105	20	NA
417642	非 ICU	0	陰性	120/60	6.9	36.7	77	24	NA
911536	非 ICU	0	陰性	123/80	4.3	39.4	90	18	NA
346081	非 ICU	0	陰性	167/70	2.1	36.9	72	20	NA
449469	非 ICU	0	陰性	127/78	5.9	37.3	104	16	NA
568243	非 ICU	1	陰性	159/98	6.7	36.9	93	18	NA
695232	非 ICU	1	陰性	142/84	19.1	37.8	90	16	NA
770905	非 ICU	0	陰性	123/60	13.2	35.4	73	16	NA
929438	非 ICU	1	陰性	170/102	12.8	37.4	83	16	NA
602005	非 ICU	0	無し ⁵	130/66	1.8	36.6	64	14	NA
145305	非 ICU	0	陰性	142/75	8.4	36.8	67	18	NA
366713	非 ICU	0	陰性	91/58	10.8	36.6	71	16	NA
332278	非 ICU	1	陰性	99/59	8.5	36.6	86	16	NA
379752	非 ICU	0	陰性	130/69	10.6	36.9	65	16	NA
669339	非 ICU	0	陰性	123/80	5.9	37	77	16	NA
310017	非 ICU	0	陰性	141/96	11.4	36.9	88	20	NA
504886	非 ICU	0	陰性	99/55	NA	36.4	66	16	NA

【 0 2 2 0 】

表 3 脚注： * 敗血症の疑いの 4 8 時間以内。 ^s 敗血症の疑いのほとんど 4 8 時間以内。

¹ 最初の臨床検査後に患者が I C U に移ったかどうかを示す。 ² [Bone RC, RA Balk, FB Cerra, RP Dellinger, AM Fein, WA Knaus, RM Schein, WJ Sibbald, ASCC Committee. 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/Soc Critical Care Medicine. 1992. Chest 2009;136:e28; Hotchkiss, RS, IE Karl, The pathophysiology and treatment of sepsis. N Engl J Med 2003; 348, 138-150] の通りの敗血症の診断判定基準。呼吸数および C O₂ 分圧はもはや判定基準ではないが、追加情報として加えた。 ³ N A : 得られなかったことを示す。 ⁴ 患

者は人工呼吸された。⁵ 無しは、培養を要しなかったことを示す。

【0221】

RNA-Seq。 TruSeq 標準全RNAサンプル分取キットに従い、Ribo-Zero サンプル調製ガイド (Illumina) を用いて全RNAからcDNAライブラリーを調製した。サンプル分取中にユニーク・アダプター・インデックス (Illumina) を付け、サンプルを泳動プールし、単一のフローセルレーンにロードして技術的変動を低減した。RNA-Seqは、GAIIx装置 (Illumina) にて、63bp長の配列リード (+アダプター/インデックス配列) で1回の読み取り実行を用いて行った。生のベースコールデータをOff-Line Basecaller 1.9.4

(Illumina) および特注Perlスクリプトを用いてFASTQ配列ファイルに変換した。リードを、TopHat versionバージョン2.0.6およびBowtie2 2.0.0-β6を用いてhg19ヒトゲノムに対してアラインした。リードをまず、新規な接合の検索を無効にしてEnsembl転写産物にマッピングした。次に、ゲノム座標をタンパク質コードEnsembl遺伝子のカウントに変換した。これを行うために、まず、所与の遺伝子に関して総てのタンパク質コード転写産物をマージすることによりキメラ遺伝子モデルを定義した。全サンプルの中でそれらのエキソンの50%にリードを持った転写産物を発現されなかったとして定義し、キメラトランスクリプトームから排除した。キメラ遺伝子とオーバーラップしたリードを、htseqカウントスクリプトを用いて交点-非空モード(intersection-nonempty mode)で計数した。ユニークにマッピングされた遺伝子カウントのファイルを作成するために、このスクリプトは、マルチマッピングリードならびに複数の異なる遺伝子とオーバーラップするリードを排除する。

【0222】

データ分析。 総てのデータ処理はBioconductorを用いてRで実行した。メタ分析のため、正規化されたデータセットを、NCBI GEOからBioconductor package GEOqueryを使用してダウンロードした。データがさらなる正規化を必要とした場合には、さらなる分位正規化工程を含めた。RNA-Seq分析では、データを、リードカウントを重み付きlog base 2 counts per millionに変換するLimaパッケージのVoom関数を用いて正規化した。メタ分析およびRNA-Seq分析の両方に関して、データはLimaパッケージの線形モデルを用いて要約した。

【0223】

遺伝子シグネチャーの定義および分析。 内毒素耐性シグネチャーおよび炎症遺伝子シグネチャーをこれまでに公開されている[Pena et al 2011]、対照PBMCと比較して差次的に発現される遺伝子を同定するヒトPBMCのマイクロアレイ分析から導いた。シグネチャー間のより直接的な比較を可能とするため、差次的に発現される炎症遺伝子を、2時間および6時間、in vivoにて低用量LPSで刺激した健常個体のPBMCから得た試験的内毒素血症マイクロアレイデータセット (GSE3284) を用いて178から93の遺伝子にさらに減じた。重要なこととして、シグネチャーの導出に用いたこの2つの主要な遺伝子発現データセット (GSE22248およびGSE3284) を次に、続いての遺伝子セットバリデーション検定から排除した。患者および対照の内毒素耐性シグネチャーおよび炎症シグネチャーの存在または不在の分析は、十分に確立された、統計学的に精密な遺伝子セット検定ROASTを用いて実行した。遺伝子セットの検定では本質的に、所与の遺伝子セット/シグネチャーがあるデータセット内で濃縮されたシグネチャーかどうかを問う。ROAST法はその上、濃縮を計算する際に遺伝子の発現方向の考慮を可能とし、これは遺伝子の発現方向が知られている場合に検定の精度を高める(Wu et al., Bioinformatics, 2010; 26(17):2176-82)。ROASTは99999回転で実行し、従って、この検定から得られる最も有意なp値は0.00001である。また、さらなる内毒素耐性関連シグネチャーも、これまでに公開されているデータセットから (図4) および代わりの独立した、嚢胞性線維症患者内毒素耐性データセット[Del Fresno C, et al. Journal of Immunology 2009; 182:6494-507]からの複数の有意なカットオフにおいて

、本質的に同じ結果で定義された。

【0224】

診断予測のランダムフォレスト分析。各データセットを、ランダムサンプリングを用いて、トレーニングセット（敗血症患者および対照の75%を含有）とテストセット（敗血症患者および対照の25%を含有）に分けた。データセットGSE13015およびGSE11755は、各データセットの対照数が少ない（N=3）ためにこの分析から省いた。残りの8データセットのそれぞれについて、トレーニングセットに対してモデルを定義し、その後、テストセットに対して、ランダムフォレストパッケージ[Liaw A, Wiener M. R News 2002; 2:18-22]を1000までのntreeセットとともに用いて評価した。この手順を100回繰り返し、各データセットについて平均予測精度を記録した。

10

【0225】

実施例1： シグネチャーの定義および特性決定

確定された敗血症患者は「内毒素耐性シグネチャー」を発現する。敗血症における免疫抑制段階の発生を特徴付けるため、およびその内毒素耐性との関連を確定するために、ロバストなバイオインフォマティクスアプローチを採用した。内毒素耐性遺伝子シグネチャーを定義するために、炎症シグナル伝達をモデル化するためにLPSで1回、または内毒素耐性をモデル化するためには2回処理したヒト末梢血単核細胞（PBMC）のマイクロアレイ分析を用いた。対照と比較して、内毒素耐性PBMCでは、ユニークに差次的に発現される遺伝子に基づいて99の遺伝子を含んでなる「内毒素耐性シグネチャー」（下記の表A）が特定されたが、炎症PBMCではそうではなかった。比較のため、本発明者らは、従前のPBMCマイクロアレイデータ(Pena et al., 2011)およびin vivo試験的内毒素血症データセット(Calvano et al., 2005)からの「炎症シグネチャー」を定義した（図1、表4）。内毒素耐性に関する遺伝子シグネチャーが定義されたので、本発明者らは、536名の早期敗血症患者（ICU収容1日後または3日後）および142名の健常対照を包含する9つの公開独立盲検臨床敗血症コホートでグローバルなメタ分析を行った（表2； 図2、3、4）。これらの再分析データセットの総てで、患者はICU収容後1日後または3日後に動員された。

20

【0226】

【表 A】

表A: 内毒素耐性シグネチャー遺伝子および内毒素耐性 PBMC と対照におけるそれらの相対的発現

遺伝子記号	説明	変化倍率
ADAM15	ADAM メタロペプチダーゼドメイン 15	-2.1
ADAMDEC1	ADAM 様, デサイシン 1	3.0
ALCAM	活性化白血球細胞接着分子	-2.0
ALDH1A1	アルデヒドデヒドロゲナーゼ 1 ファミリー, メンバー A1	-3.8
ANKRD1	アンキリンリピートドメイン 1(心筋)	4.1
C19orf59	染色体 19 オープンリーディングフレーム 59	12.6
CA12	炭酸脱水酵素 XII	8.2
CAMP	カテリシジン抗菌ペプチド	-3.9
CCL1	ケモカイン(C-C モチーフ)リガンド 1; SCYA1	7.1
CCL19	ケモカイン(C-C モチーフ)リガンド 19; MIP3β	4.1
CCL22	ケモカイン(C-C モチーフ)リガンド 22; MDC	7.0
CCL24	ケモカイン(C-C モチーフ)リガンド 24; エオタキシン-2	19.8
CCL7	ケモカイン(C-C モチーフ)リガンド 7	21.0
CD14	CD14 分子	2.5
CD300LF	CD300 分子様ファミリーメンバー F	2.1
CD93	CD93 分子	4.6
CDK5RAP2	CDK5 調節サブユニット関連タンパク質 2	2.2
CPVL	カルボキシペプチダーゼ, 卵黄形成様	-3.6
CST3	シスタチン C	-4.2
CST6	シスタチン E/M	-2.5
CTSK	カテプシン K	-2.4
CXCL10	ケモカイン(C-X-C モチーフ)リガンド 10	-9.9
CYP1B1	シトクロム P450, ファミリー 1, サブファミリー B, ポリペプチド 1	2.1

10

20

30

40

遺伝子記号	説明	変化倍率
CYP27B1	シトクロム P450, ファミリー27, サブファミリーB, ポリペプチド 1	3.0
DDIT4	DNA 損傷誘導転写産物 4	2.2
DHRS9	デヒドロゲナーゼ/レダクターゼ(SDR ファミリー)メンバー9.	-5.7
DPYSL3	ジヒドロピリミジナーゼ様 3	2.6
EGR2	初期成長応答 2	2.0
EMR1	EGF 様モジュール含有, ムチン様, ホルモン受容体様 1	2.1
EMR3	EGF 様モジュール含有, ムチン様, ホルモン受容体様 3	2.4
FBP1	フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ 1	3.2
FCER1G	IgE の Fc フラグメント, 高親和性 I, 受容体; γ ポリペプチド	2.0
FCER2	IgE の Fc フラグメント, 低親和性 II, 受容体 (CD23)	2.9
FPR1	ホルミルペプチド受容体 1	5.7
FPR2	ホルミルペプチド受容体 2	4.9
GK	グリセロールキナーゼ	2.3
GPNMB	糖タンパク質(膜貫通)NMB	-8.1
GPR137B	G タンパク質共役型受容体 137B	2.2
HBEGF	ヘパリン結合 EGF 様増殖因子	2.5
HIST1H1C	ヒストンクラスター1, H1C	2.3
HIST2H2AA3	ヒストンクラスター2, H2AA3	4.0
HIST2H2AC	ヒストンクラスター2, H2AC	3.6
HK2	ヘキソキナーゼ 2	2.4
HK3	ヘキソキナーゼ 3(白血球)	2.1
HPSE	ヘパラナーゼ	2.4
HSD11B1	ヒドロキシステロイド(11- β)デヒドロゲナーゼ 1	4.1
HTRA1	HTRA セリンペプチダーゼ 1	-3.3
IL18BP	インターロイキン 18 結合タンパク質	-3.5

10

20

30

40

遺伝子記号	説明	変化倍率
IL3RA	インターロイキン 3 受容体, α (低親和性)	4.2
ITGB8	インテグリン, $\beta 8$	2.1
KIAA1199	KIAA1199	4.1
LILRA3	白血球免疫グロブリン様受容体, サブファミリーA(TM ドメイン不含), メンバー3	14.0
LILRA5	白血球免疫グロブリン様受容体, サブファミリーA(TM ドメイン不含), メンバー5	2.6
LIPA	リパーゼ A, リソソーム酸, コレステロールエステラー ゼ	-4.5
LY86	リンパ球抗原 86	-2.6
MARCO	コラーゲン構造を有するマクロファージ受容体	3.7
MGST1	ミクロソームグルタチオン S-トランスフェラーゼ 1	2.7
MMP7	マトリックスメタロペプチダーゼ 7(マトリライシン, 子 宮)	12.0
MT1F	メタロチオネイン 1F	16.2
MT1G	メタロチオネイン 1G	61.1
MT1H	メタロチオネイン 1H	51.1
MT1M	メタロチオネイン 1M	23.8
MT1X	メタロチオネイン 1X	14.8
MXD1	MAX 二量体化タンパク質 1	2.0
MYADM	骨髄関連分化マーカー	2.1
NEFH	神経フィラメント, 重鎖ポリペプチド	2.1
NQO1	NAD(P)H デヒドロゲナーゼ, キノン 1	-2.3
NRIP3	核受容体相互作用タンパク質 3	2.2
OLIG2	乏突起神経膠細胞系列転写因子 2	2.5
PANX2	P アネキシン 2	2.7
PAPLN	パピリン, プロテオグリカン様硫酸化糖タンパク質	2.0
PDLIM7	PDZ および LIM ドメイン 7(不明)	3.1

10

20

30

40

遺伝子記号	説明	変化倍率
PLAUR	プラスミノージェンアクチベーター, ウロキナーゼ受容体	2.7
PLD3	ホスホリパーゼ D ファミリー, メンバー3	-3.1
PPBP	血小板前駆体塩基性タンパク質(ケモカイン(C-X-C モチーフ)リガンド7)	6.8
PROCR	タンパク質 C 受容体, 内皮	2.0
PSTPIP2	プロリン-セリン-トレオニンホスファターゼ相互作用タンパク質 2	-2.1
PTGES	プロスタグランジン E シンターゼ	3.3
PTGR1	プロスタグランジンレダクターゼ 1	2.6
RAB13	RAB13, メンバー-RAS 癌遺伝子ファミリー	2.3
RARRES1	レチノイン酸受容体応答因子(タザロテン誘導)1	-3.8
RETN	レジスチン	4.4
RHBDD2	Rhomboid ドメイン含有 2	2.9
RNASE1	リボヌクレアーゼ, RNASEA ファミリー, 1(膵臓)	-10.4
S100A12	S100 カルシウム結合タンパク質 A12	3.7
S100A4	S100 カルシウム結合タンパク質 A4	-2.7
S100A8	S100 カルシウム結合タンパク質 A8	2.1
S100A9	S100 カルシウム結合タンパク質 A9	2.5
SERPINA1	セルピンペプチダーゼ阻害剤, クレード A(α -1 抗プロテイナーゼ, 抗トリプシン), メンバー1	5.7
SERPINB7	セルピンペプチダーゼ阻害剤, クレード B(オボアルブミン), メンバー7	4.3
SLC16A10	溶質担体ファミリー16, メンバー10(芳香族アミノ酸輸送体)	2.9
SLC7A11	溶質担体ファミリー7(陰イオンアミノ酸輸送体軽鎖, xc-システム), メンバー11	2.3
TGM2	トランスグルタミナーゼ 2	2.1
TLR7	Toll 様受容体 7	-2.2

10

20

30

40

遺伝子記号	説明	変化倍率
TMEM158	膜貫通タンパク質 158(遺伝子/偽遺伝子)	2.1
TREM1	骨髄細胞で発現されるトリガー受容体 1	3.5
TSPAN4	テトラスパニン 4	-2.4
UPP1	ウリジンホスホリラーゼ 1	2.1
VCAN	バーシカン	5.3

【 0 2 2 7 】

【表 4】

表4:炎症シグネチャー遺伝子および炎症 PBMC と対照におけるそれらの相対的発現

遺伝子記号	説明	変化倍率
CCL20	ケモカイン(C-Cモチーフ)リガンド 20; MIP3 α	14.6
CCL3L1	ケモカイン(C-Cモチーフ)リガンド 3 様 1; MIP1AP	9.2
G0S2	G0/G1 スイッチ 2	7.2
CFB	補体因子 B	6.1
AK4	アデニル酸キナーゼ 4	5.4
IFIT3	テトラトリコペプチドリピート 3 を有するインターフェロン誘導タンパク質	5.1
HERC5	E3 ユビキチンタンパク質リガーゼ 5 含有 HECT および RL ドメイン	4.8
PDSS1	プレニル(デカプレニル)ニリン酸シンターゼ, サブユニット 1	4.8
BATF	塩基性ロイシンジッパー転写因子, ATF 様	4.7
DNAAF1	ダイニン, 軸糸, アセンブル因子 1	4.7
XAF1	XIAP 関連因子 1	4.4
PIM2	PIM-2 癌遺伝子	4.2
IFI44	インターフェロン誘導タンパク質 44	3.7
F3	血液凝固因子 III(トロンボプラスチン, 組織因子)	3.6
FAM129A	配列類似性を有するファミリー129, メンバーA	3.5
IFIT2	テトラトリコペプチドリピート 2 を有するインターフェロン誘導タンパク質	3.4
KCNJ2	カリウム内向き整流性チャネル, サブファミリーJ, メンバー2	3.4
MX2	ミクソウイルス(インフルエンザウイルス)耐性 2(マウス)	3.4
EIF2AK2	真核生物翻訳開始因子 2- α キナーゼ 2	3.2

10

20

30

40

遺伝子記号	説明	変化倍率
CCL3L3	ケモカイン(C-C モチーフ)リガンド 3 様 3; LD78	3.1
IRF7	インターフェロン調節因子 7	3.1
CXCL2	ケモカイン(C-X-C モチーフ)リガンド 2; MIP2 α	3.0
FFAR2	遊離脂肪酸受容体 2	3.0
RIPK2	受容体相互作用セリン-トレオニンキナーゼ 2	3.0
ADORA2A	アデノシン A2a 受容体	2.9
SAMD9L	不妊 α モチーフドメイン含有 9 様	2.9
GRAMD1A	GRAM ドメイン含有 1A	2.8
SOD2	スーパーオキシドジスムターゼ 2, ミトコンドリア	2.8
SOCS1	サイトカインシグナル伝達 1 のサプレッサー	2.7
CD80	CD80 分子	2.6
TNF	腫瘍壊死因子	2.6
CASP5	カスパーゼ 5, アポトーシス関連システインペプチダーゼ	2.5
CD83	CD83 分子	2.5
IFI35	インターフェロン誘導タンパク質 35	2.5
PIM1	Pim-1 癌遺伝子	2.5
SLAMF7	SLAM ファミリーメンバー 7	2.5
TRIM25	三分節モチーフ 含有 25	2.5
C1orf122	染色体 1 オープンリーディングフレーム 122	2.4
GBP4	グアニル酸結合タンパク質 4	2.4
PIM3	Pim-3 癌遺伝子	2.4
GBP2	グアニル酸結合タンパク質 2, インターフェロン誘導	2.3
RNF144B	Ring フィンガータンパク質 144B	2.3
TXN	チオレドキシン	2.3
YRDC	Yrdc ドメイン含有(大腸菌)	2.3
ALCAM	活性化白血球細胞接着分子	2.2
ANTXR2	炭疽毒受容体 2	2.2

10

20

30

40

遺伝子記号	説明	変化倍率
ISG20	インターフェロン刺激エキソヌクラーゼ遺伝子 20kda	2.2
OASL	2'-5'-オリゴアデニル酸シンセターゼ様	2.2
PARP9	ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼファミリー, メンバー 9	2.2
PTX3	ペントラキシン 3, ロング	2.2
TNFAIP2	腫瘍壊死因子, α 誘導タンパク質 2	2.2
TNFSF10	腫瘍壊死因子(リガンド)スーパーファミリー, メンバー 10	2.2
B4GALT5	UDP-Gal: β glcnac β 1,4-ガラクトシルトランスフェラー ゼ, ポリペプチド 5	2.1
BCL3	B 細胞 CLL/リンパ腫 3	2.1
EDN1	エンドセリン 1	2.1
GADD45B	成長停止および DNA 傷害誘導, β	2.1
IRAK2	インターロイキン-1 受容体関連キナーゼ 2	2.1
JUNB	Jun B 癌原遺伝子	2.1
MTF1	金属-調節転写因子 1	2.1
NFKB2	B 細胞の κ 軽鎖ポリペプチド遺伝子エンハンサーの核 因子 2	2.1
SAMD9	不妊 α モチーフドメイン含有 9	2.1
UPB1	ウレイドプロピオナーゼ, β	2.1
GCH1	GTP シクロヒドロラーゼ 1	2.0
HSH2D	造血系 SH2 ドメイン含有	2.0
NFKBIZ	B 細胞の κ 軽鎖ポリペプチド遺伝子エンハンサーの核 因子阻害剤, ζ	2.0
TNIP1	TNFAIP3 相互作用タンパク質 1	2.0
ZC3H12A	ジンクフィンガー-CCCH 型含有 12A	2.0
CORO1B	コロニン, アクチン結合タンパク質, 1B	-2.0

10

20

30

40

遺伝子記号	説明	変化倍率
H2AFY	H2A ヒストンファミリー, メンバーY	-2.0
IFFO1	中間径フィラメントファミリーオーファン1	-2.0
SPIRE1	Spire ホモログ 1(ショウジョウバエ)	-2.0
TSC22D3	TSC22 ドメインファミリー, メンバー3	-2.0
CSF1R	コロニー刺激因子1受容体	-2.1
PLIN2	ペリリピン2	-2.1
ZMIZ1	ジンクフィンガー, MIZ 型含有1	-2.1
CTSB	カテプシンB	-2.2
LPAR6	リゾホスファチジン酸受容体6	-2.2
MS4A7	膜貫通4-ドメイン, サブファミリーA, メンバー7	-2.2
SLAMF8	SLAM ファミリーメンバー8	-2.2
IDH1	イソクエン酸デヒドロゲナーゼ1(NADP+), 可溶性	-2.3
LTA4H	ロイコトリエンA4ヒドロラーゼ	-2.4
CAMK1	カルシウム/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI	-2.5
CORO1C	コロニン, アクチン結合タンパク質, 1C	-2.5
CLEC10A	C型レクチンドメインファミリー10, メンバーA	-2.9
CD86	CD86分子	-3.1
PKD4	ピルビン酸デヒドロゲナーゼキナーゼ, アイソザイム4	-3.1
ACP5	酸性ホスファターゼ5, 酒石酸耐性	-3.2
HAVCR2	A型肝炎ウイルス細胞受容体2	-3.2
ASGR1	アシアロ糖タンパク質受容体1	-3.4
NCEH1	中性コレステロールエステルヒドロラーゼ1	-3.6
RCBTB2	レギュレーター染色体縮合(RCC1)および BTB (POZ)ドメイン2	-3.9
ADAP2	デュアルPHドメイン2を有するArfGAP	-4.6
HMOX1	ヘムオキシゲナーゼ(デサイクリン)1	-5.5

【0228】

敗血症患者と健常対照における内毒素耐性シグネチャーおよび炎症シグネチャーの相対的発現を評価するために、所与のシグネチャー（遺伝子セット）がデータセット内の群間で有意に濃縮されているかどうかを調べる遺伝子セット検定アプローチを用いた。9コホートの総てにおいて敗血症患者は、対照と比較して内毒素耐性シグネチャーと強く関連した免疫発現プロファイルを示すことが判明した（図2）。これらの結果は、内毒素耐性シグネチャーを定義するために用いた変化倍率／統計学的カットオフには依存していなかった（図4）。炎症シグネチャーはほとんどのデータセットと有意に関連していたが、この

関連は内毒素耐性シグネチャーより一貫して弱かった（図3）。内毒素耐性を後期敗血症とのみ関連付ける従前の報告(Cavaillon J, C Adrie, C Fitting, M Adib-Conquy. J Endotoxin Res 2005; 11:311-320; Otto, GP, M Sossdorf, RA Claus, J Rodel, K Menge, K Reinhart, M Bauer, NC Riedemann. Critical Care 2011; 15:R183; Schefold JC, D Hasper, HD Volk, P Reinke. Medical hypotheses 2008; 71:203-208)とは対照的に、ICU 収容1日後という早期の敗血症患者に「内毒素耐性シグネチャー」との関連が存在し、3日目も維持され、敗血症患者における「安定な」内毒素耐性プロファイルの早期発達と一致していた（図2）。よって、敗血症における免疫不全は内毒素耐性により特徴付けられることが明らかである。

【0229】

10

「内毒素耐性シグネチャー」は、敗血症を有する患者で極めて早く発達し、診断前に検出可能である。これまでに公開されている、事前のメタ分析で用いた9つのデータセットの総ての1つの制限は、初療時ではなく敗血症の「確定診断」後の敗血症患者トランスクリプトームの分析であった。従って、内毒素耐性の発生の時機および本明細書で特定されたシグネチャーの診断上の有用性をより良く理解するために、臨床疾患の可能な限り最も早い段階でユニークな患者コホートを形成した。担当医の患者病歴の分析、身体検査および微生物培養検査の緊急要請に基づき、敗血症の臨床的疑いの直後に患者を動員した。敗血症診断／微生物同定を助けるために、培養用に採取された初回血液サンプルから単離されたRNAに対してRNA-Seqを行った。これに基づき適当な検定力計算を行い、72名のごく初期の疑いのある敗血症患者（表3）、ならびに基礎疾患の無い予定手術の前に動員されたさらに11名の対照患者を動員した。この臨床的試みにおいて早期差次的診断手段の可能性を検討すると、生理学における種々の重大な障害（おそらく敗血症により引き起こされた）を最初に呈する患者のコホートは大きな臨床的合併症を有する。

20

【0230】

サンプル単離後に最も早く記録された臨床評価（表3）に基づき、72名の疑いのある敗血症患者のコホート内の患者を現行の敗血症診断判定基準(R. C. Bone, et al., 2009)と一致して、「敗血症」（n=37）、または「非敗血症」（n=35）として適切的に分類した。顕著なこととしては、臨床的敗血症の最も早期であっても、内毒素耐性シグネチャーは、健常対照と比較して、後に敗血症を有すると確定された患者でのみ有意に濃縮されており、他の診断を有する（「非敗血症」）患者ではそうではなかった（図5A）。事前のまた分析からの結果と合わせると、敗血症は、臨床疾患の総ての初期段階で内毒素耐性と強く関連していると思われる（図2および5A）。加えて、炎症シグネチャーは「非敗血症」群では統計的有意性に達していなかったものの、これら2群の内毒素耐性シグネチャーと炎症シグネチャーの対照的な相対的濃縮は、敗血症患者にユニークな内毒素耐性と炎症のバランスにおける基本的差異を示し得る。最後に、内毒素耐性シグネチャーも、「非敗血症」群と直接比較した場合、「敗血症」群で濃縮されており（図5B）、「疾病」患者だけでなく敗血症に対する内毒素耐性の特異性を裏づける。

30

【0231】

敗血症を診断する試みの1つは、低感度の細菌培養による感染の確定である(RC Bone, et al., 2009)。実際に、現行の敗血症診断判定基準は、これらの感度の問題のために、確定された感染よりも「感染の疑い」に基づいている(RC Bone, et al., 2009)。この概念は、患者群の両方でシグネチャー濃縮を微生物培養結果と比較することにより強調された。従前の結果と一致して、内毒素耐性シグネチャーは「敗血症群」で高く（図5C）、炎症シグネチャーは微生物培養結果に関わらず「非敗血症」群で高く（図5D）、さらに、「疾病」患者のこれらの2群間でのシグネチャーの興味深い逆転傾向が強調される。予想されたように、微生物培養の感度問題を考えれば、内毒素耐性シグネチャーは培養陽性群でより有意な濃縮を示したが、培養陰性群でも強い濃縮があり、この群内でおそらく誤って同定された「感染陰性」患者の存在と一致している（図5C）。RNA-Seq分析を診断的微生物培養に使用されたものと同じ血液サンプルで行った際の、敗血症シグネチャーと内毒素耐性シグネチャーの間の強い関連は、内毒素耐性シグネチャーが微生物培養

40

50

よりも高感度の診断用ツールを提供し得ることを示唆する。

【0232】

これらのデータを合わせると、内毒素耐性は、敗血症の初期臨床経過中に存在し、「診断」前に検出可能であり、敗血症の疑いのあった患者のコホートの中で敗血症を発症する患者を識別するために使用可能であることを示す。

【0233】

【表5】

表5: 患者コホートにおける臓器不全および感染部位に関する統計値

A. 臓器不全の部位	患者の数
肺(呼吸不全)	22
腎臓(急性腎傷害)	41
肝臓	9
心血管系	22
B. 感染の部位	
血液	9
尿路	10
気道	6
消化管	4
皮膚および軟組織	3
骨	1

【0234】

次に、疑いのある敗血症患者コホートにおける内毒素耐性に駆動される免疫抑制状態（内毒素耐性シグネチャーにより検出されるような）と続いての臓器不全の発生によって定義される敗血症の重篤度との関連を検討した。続いての臓器不全発生は、敗血症診断とは独立に臓器不全陽性群および陰性群に遡及的に分類された患者で、試験登録の48時間内で評価した（心血管、凝固、腎臓、肝臓、および呼吸器系；表4および5）。次に、これらの群に上記と同じ遺伝子セット検定分析を行った。興味深いことに、内毒素耐性シグネチャーは、個々のまたは複数の（3+）臓器不全の発生と有意な関係があることが判明した（図6A；血液凝固不全を除く）。ICU収容は、各科で利用可能な空きまたはベッド数などの病院規定の固有の主観性に依存し得るが、ICUに移送される患者は一般に死亡リスクの高い悪い状態にある。従って、ICU収容の要件も、第2の、疾病重篤度の確度の低い尺度として評価したところ、この場合にも内毒素耐性シグネチャーは疾病重篤度の高さに関連していた（図6B）。これらの結果は、内毒素耐性が敗血症の重篤度、特に、続いての臓器不全の発生と関連していることを示す。

【0235】

10の独立したデータセットからの600名を越える患者で、内毒素耐性と敗血症の間に強い関連が得られたので、敗血症診断のツールとしての内毒素耐性シグネチャーの有用性を検討した。全99の遺伝子の内毒素耐性シグネチャーは敗血症における免疫不全を特徴付けるために有用であったが、遺伝子が少数であるほど診断検査には使用しやすい。よって、この最初のシグネチャーの有用なサブセット（診断上の有用性に関して後に試験できる）を同定するために99遺伝子シグネチャーをさらに分析した。これを行うため、9

つの文献データセットの多数（7＋）で敗血症患者と対照の間に1.5倍を超える差次的発現を示した遺伝子を選択した。これにより、元の99遺伝子内毒素耐性シグネチャーから31の遺伝子のサブセットが同定された（図7）。

【0236】

分類アルゴリズム、ランダムフォレストを、特定された31遺伝子サブセット内の遺伝子の、対照から敗血症患者を分類する能力を評価するために用いた。各データベース（外部および内部）をトレーニングセットとテストセットに分け、各データベースに対して独立にランダムフォレスト分類を行った。31遺伝子サブセットは、対照から敗血症患者分離する場合に優れた精度を示し、総てのデータベースの平均精度は95.7%であった（表6）。この31遺伝子サブセットはまた、敗血症の疑いのある患者群で敗血症および個々の／複合型の臓器不全の予測においても高性能を示し、62.4～87.4%の範囲の精度であった（表6）。この同じ分析は全99遺伝子の内毒素耐性シグネチャーを用いても行われ、この遺伝子セットは同等の性能を示し、この遺伝子低減戦略の妥当性が裏づけられる（表7）。受信者動作特性の曲線下面積（AUC）の評価も同様に行った。複数の異なるデータセットで、臨床上適切な時点（診断培養の現時刻）での31遺伝子サブセットの強力な性能は、敗血症の診断における31遺伝子サブセットの使用を支持する。内毒素耐性と敗血症の間の強い関連は10の異なるデータベースで同定され、場所、方法、性別、年齢、人種、および敗血症診断判定基準変数に依存しなかった。よって、全99遺伝子内毒素耐性シグネチャーと31遺伝子サブセットの両方が敗血症診断のツールとして有用性を有する。敗血症のための正確な診断ツールは、敗血症における早期介入の重要性および敗血症に特異的な臨床特徴の欠如のために高い臨床優先度を持つ[Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Lancet Infectious Diseases 2013; 13: 260-8]。内毒素耐性関連バイオマーカーを用いるさらなる利点は、それらが患者の免疫機能状態に関する情報を提供するという点である。

【0237】

10

20

【表 6】

表6: 内毒素耐性シグネチャーの診断能*

変数	31 遺伝子内毒素耐性 サブセットを使用す る場合の精度	99 遺伝子内毒素耐 性シグネチャーを使 用する場合の精度
敗血症(括弧内は患者数) 対 対照		
所内敗血症試験(37)対、対照	93.3%	92.7%
GSE28750 試験(30)対、対照	99.3%	97.4%
GSE9692 試験(45)対、対照	95.1%	96.6%
GSE13904 試験(227)対、対照	96.3%	94.2%
GSE26440 試験(130)対、対照	96.3%	96.0%
GSE4607 試験(84)対、対照	93.6%	92.6%
GSE8121 試験(71)対、対照	93.2%	92.2%
GSE26378 試験(70)対、対照	98.3%	98.6%
平均	95.7%	95.0%
敗血症対、非敗血症		
敗血症対、非敗血症	62.4%	64.2%
臓器不全対、非敗血症		
呼吸器	77.5%	75.5%
心血管	77.2%	73.6%
肝臓	77.8%	78.0%
急性腎傷害	71.5%	74.1%
凝固	87.4%	86.4%
複合(3+)	77.3%	73.7%

【0238】

表6脚注：* 各データセットを、ランダムサンプリングを用いて、トレーニングセット（敗血症患者および対照の2／3を含有）とテストセット（敗血症患者および対照の1／3を含有）に分けた。データセットGSE13015およびGSE11755は、各データセットの対照数が少ない（N＝3）ためにこの分析から省いた。残りの8データセットのそれぞれについて、トレーニングセットに対してモデルを定義し、その後、テストセットに対して、ランダムフォレストパッケージを1000までのntreeセットとともに用いて評価した。この手順を100回繰り返し、各データセットについて平均予測精度を記録した。最初に敗血症の疑いがあり、敗血症または臓器不全を発症したまたは発症へ移行しなかった患者を分類するために、このデータセットで分析を繰り返した。

【0239】

内毒素耐性シグネチャーは、対照から敗血症患者を分離する際に優れた精度を示し（全体の精度：ランダムフォレスト＝95％；曲線下面積＝98.9％）、19～227名の

患者を含む各試験で同様の精度を示した（表6）。

【0240】

内毒素耐性シグネチャーと確定敗血症の間の関係は強く、10の異なるデータセットで統計学的に有意であり（図2および5、表6）、サンプルサイズ、場所、方法、性別、年齢および人種に依存しなかった。これらの結果から、内毒素耐性シグネチャーはごく初期の敗血症にロバストな関係を示すことが確認される。内毒素耐性シグネチャーは、主として臓器不全の発生により評価される疾病の重篤度にも関連があった。従って、内毒素耐性により媒介される免疫不全が介在する敗血症病因のアップデートモデルが示される。さらに、これらの結果は、免疫不全が臨床上適切な診断上の時点で検出できることを示し、患者の機能的免疫状態に関するユニークな情報を提供する。従って、内毒素耐性シグネチャーまたはサブセットは、免疫調節（例えば、抗内毒素耐性）および支持療法から利益を受け得る患者のサブセットを定義するために役立ち得る。

10

【0241】

敗血症は一般に、過度な炎症性応答（初期）、その後の抗炎症／免疫抑制優勢段階への移行として分類される(Hotchkiss et al, 2013)。しかしながら、この後期の性質および時機は十分に特徴付けられていなかった。内毒素耐性を後期敗血症とのみ関連付けるこれまでの報告とは対照的に、本明細書に記載される結果は、10の敗血症患者コホートの総てで、初期臨床疾患の総ての段階で内毒素耐性シグネチャーおよびサブセットおよび強く関連付けられる免疫発現プロファイルを示したことが明らかであった（図2、5および6）。遺伝的臨床展望から、この疾患をどのように処置するか考える場合、過度の炎症および抗炎症／免疫抑制段階の性質および時機を特徴付けることは不可欠である。これは、おそらくは患者の免疫状態に関する知識の欠如のために種々の治療アプローチがこれまでに大きな成功を遂げなかった場合に特に重要である。本明細書に提供されたデータはまた、このシグネチャーが敗血症の発症を予測できたことも示し、内毒素耐性シグネチャーおよびサブセットが診断ツールとして有用性を持つことを示唆する。

20

【0242】

最も重要なこととして、本研究は、内毒素耐性シグネチャーおよびサブセットと疾病の重篤度および臓器不全との関連を明らかに示すことができた（図6）。臓器不全は患者の増悪およびやがては死に寄与する主要な因子と考えられる。重要なこととして、内毒素耐性シグネチャーは、臓器不全の発生の最大48時間前に存在しており、シグネチャーまたはサブセットはさらに、どの患者が増悪病態を発症するリスクが高いかを評価するスクリーニング方法としても使用できることを示す。

30

【0243】

これらのデータは初期敗血症では内毒素耐性状態が優勢であることを示したが、本研究で行った比較の多くでは、比較的低いレベルにもかかわらず、炎症シグネチャーも有意に濃縮されていたことに留意することが重要である。生物学的展望から、これらの所見は、局部的感染を有する個体（例えば、非敗血症群の患者）は、最初の傷害が起こる際に、炎症のバランスをとり、システムを恒常性へ導くために短時間の炎症性応答が急速に鎮静することを示唆する。しかしながら、制御されない感染源が存在し、おそらく遺伝子因子が寄与する敗血症では(Murkin JM, and KR Walley, The Journal of Extra-Corporeal Technology 41, P43-49, 2009)、炎症と内毒素耐性の間の免疫バランスは、内毒素耐性によりますます優勢となる状態に向かって有害なまでにアンバランスとなる。よって、本明細書での所見は、好中球および単球／マクロファージなどの休止中の免疫細胞が活性となる初期（制御されない）感染が存在し、その結果、患者が最初の強い臨床症状を発症することを示す。敗血症患者では、第2の内毒素刺激がおそらく内毒素耐性プロファイルの急速な活性化をもたらす。最初の入院時まで、この内毒素耐性プロファイルは末梢血単核細胞で系統的に優勢となるとともに、この急速にターンオーバーする集団で残存する好中球性の炎症がなお起こる。

40

【0244】

従って、敗血症に炎症成分が残るとともに、内毒素耐性により駆動される状態が敗血症

50

における全面的免疫不全に、ひいては疾患の重篤度に寄与している。

【0245】

細胞レベルでは、敗血症における免疫不全の主要な原因は、おそらくは、過度の好中球性炎症および血管漏出、凝固、リンパ球の死滅などのその結果を軽減する試みにおける、寛容化単球／マクロファージの急速な蓄積このシステムのM2様状態へのロック(Pena, O M, et al., J Immunol 2011, 186:7243-7254)である。しかしながら、患者の単球／マクロファージ応答が弱化する、好中球などの他の免疫細胞集団の継続的活性化にもかかわらず、一次感染の排除不能および二次感染に対する感受性の増大にも至り得る。骨髓からの絶え間なく補充されているため、好中球はおそらく炎症誘発性サイトカイン応答の主要な駆動因子であるが、それらもおそらくやがては内毒素耐性状態に入る(Parker LC, et al., J Leukocyte Biology 2005; 78:1301-1305)。

【0246】

加えて、本明細書では、内毒素耐性シグネチャーおよびサブセットは敗血症群間の陽性培養とより高い関連を持ち、陰性培養を示すものとも同様のより高い傾向を持っていたことが示される(図5C)。対照的に、炎症シグネチャーは「非敗血症」患者間で優勢であり、陽性培養を示す患者間に強く存在している(図5D)。従前に述べた点で整列される患者の各群間で異なる傾向を見出すことは興味深い:「非敗血症」群において陽性培養に対して陰性の方向で増強された初期炎症シグネチャーは、おそらく局部的感染または初期の無菌性炎症プロセスの際の炎症の初期増強相を示す。その後、「敗血症」群の患者の場合のように、極端に体調不良となった患者では、全身感染によりもたらされる耐性へ向かう急速な移行が見られ、記載された結果に見られるようなより強い内毒素耐性状態およびその存在の増強に至り、培養陰性から培養陽性傾向を示す。

【0247】

処置のために宿主指向型療法を考える際には、臨床疾患中の炎症および免疫抑制プログラムの寄与を特徴付けることが重要である。本明細書に記載の結果は、内毒素耐性状態が臨床的敗血症の最も初期の段階で優勢であり、おそらくは敗血症における免疫不全を駆動していることを証明する。よって、過度な炎症だけによって特徴付けられる免疫相があれば、それはおそらく発病前に起こる。しかしながら、多くの敗血症患者群における炎症シグネチャーの有意な濃縮を考えれば、それはおそらく敗血症病因のユニークなパターンに寄与する内毒素耐性と炎症の組合せである。これらの所見は、2段階モデルから臨床疾患の最も早期に内毒素耐性により駆動される免疫不全により特徴付けられる臨床上関連のある免疫病因論への転換を要する。優勢な内毒素耐性シグネチャーの検出は、敗血症の疑いを助け、従って、治療チームを免疫応答のバランスをとるための適当な支持療法および免疫調節療法を考えることに向ける。

【0248】

結論として、これらの研究は、敗血症の経過のごく初期に存在する、敗血症病因に関連し、臓器不全のリスクに強く関連するユニークな内毒素耐性プロファイルの初めての記載を提供する。

【0249】

実施例2:内毒素耐性シグネチャーに基づく新規療法

内毒素耐性遺伝子のネットワーク分析は、これらの遺伝子のほとんどが極めて強いサブネットワークを形成していたことを明らかにし、このシグネチャーが敗血症患者の免疫不全におそらく関連する決定的な機構を反映することを示唆する(図8)。

【0250】

患者が間もなく敗血症に罹患しようとしていることを知る1つの意味は、最も有効な薬物のカクテルを含んでなる適当な抗生物質療法を適用できるということである。現行の臨床指針は、培養結果を待っている間に患者には静脈内セフトリアキソンおよびアジスロマイシンを開始すべきことを指示している。この投与計画の目的は、敗血症を獲得する可能性があると思われる患者の一部だけが実際にそうなるので、主要な耐性問題の回避を試みることである(例えば表3参照)。疾病経過のごく初期に患者が敗血症を有することを知

ることで、医師は感染の影響を軽減することを試みるために最も積極的な療法を指示することができる。

【0251】

第2の治療戦略は耐性を打破してマクロファージの免疫抑制状態を逆転させることであろう。これまでに事実上、敗血症を処置するために試みられた総ての療法が、反対のことをする、すなわち、過剰な炎症状態を抑制することを試みたものであり、これは敗血症に対する患者の防御能を悪化させる可能性を持っている。過剰な炎症状態を抑制するための31を越える臨床試験では、一貫して、このアプローチは失敗した。

【0252】

内毒素耐性を打破するための方法の例としては、免疫細胞[Heusinkveld M, et al. Journal of Immunology 2011; 187:1157-1165]、インターフェロン γ 、IL-10を伴うまたは伴わないCpG-ODN、抗CD40、STAT3の阻害剤、STAT6の阻害剤、p50の阻害剤、NF κ Bの阻害剤、IKK β の阻害剤、イミダゾキノロンおよびゾレンドロン酸[Sica A, A Mantovani. Journal of Clinical Investigation 2012; 122:787-795]が挙げられる。他の可能性のある薬剤としては、M2極性化マクロファージにおいて内毒素耐性シグネチャーからの1以上の遺伝子の発現を抑制する、または*in vitro*および*in vivo*でM2マクロファージの特性をM1マクロファージの特性に戻すための化学薬剤、細胞または天然物が挙げられる[Sica and Mantovani, 2012]。 10

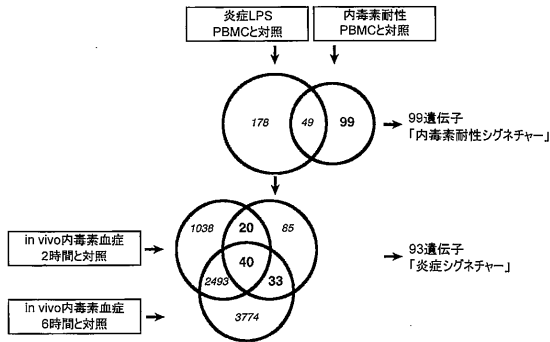
【0253】

本明細書に引用されている総ての特許、特許出願、刊行物およびデータベースエントリーの開示は、それにより、このような各個の特許、特許出願、刊行物およびデータベースエントリーが具体的かつ個々に引用することにより本明細書の一部とされることが示される場合と同程度に、それらの全内容が引用することにより具体的に本明細書の一部とされる。 20

【0254】

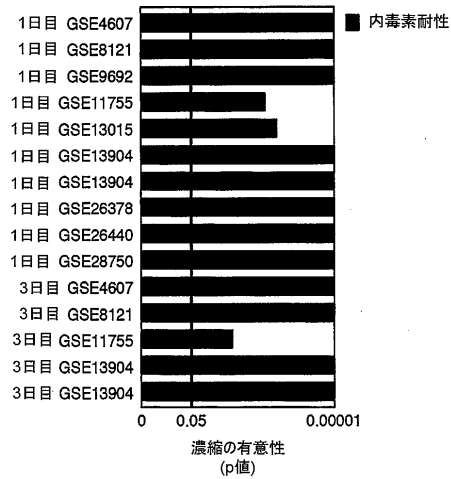
本発明はある特定の実施形態を参照して記載されているが、本発明の趣旨および範囲から逸脱することなくその種々の改変が当業者には自明である。当業者に自明であるこのような改変は総て、下記の特許請求の範囲内に含まれるものとする。

【図 1】



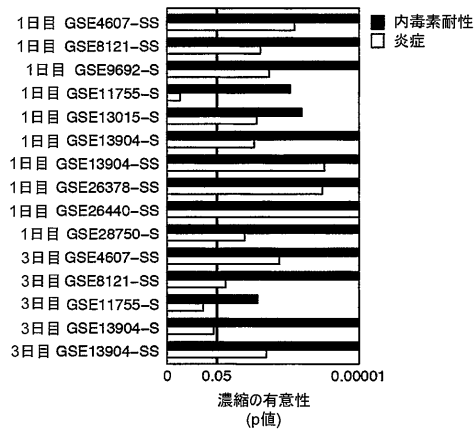
【図 2】

公開されている敗血症データセットの再分析



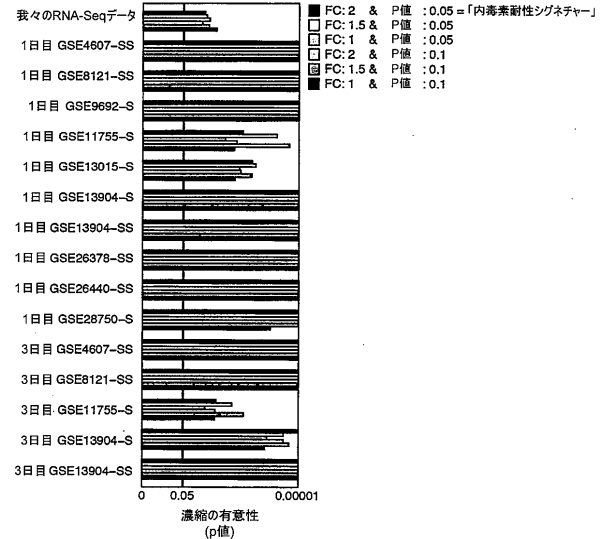
【図 3】

公開されている敗血症データセットの再分析

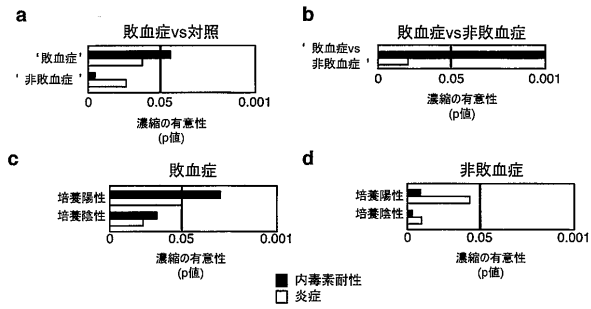


【図 4】

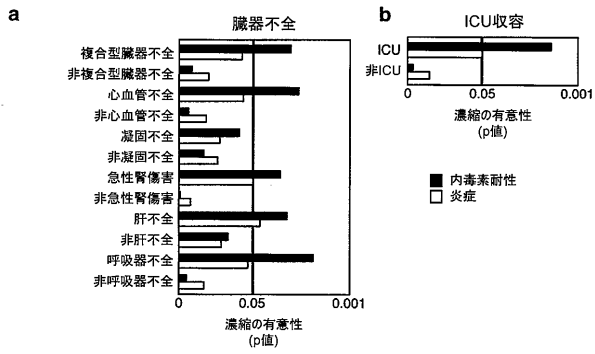
種々のカットオフにおいて定義されたシグネチャーを用いた分析



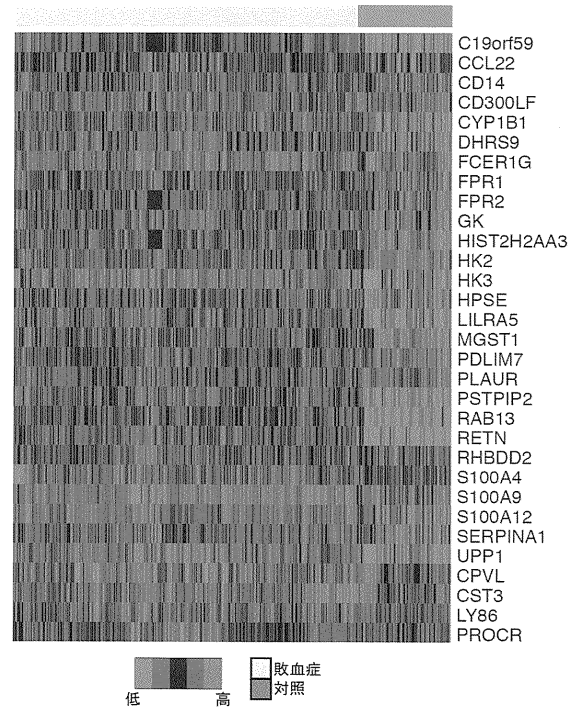
【図 5】



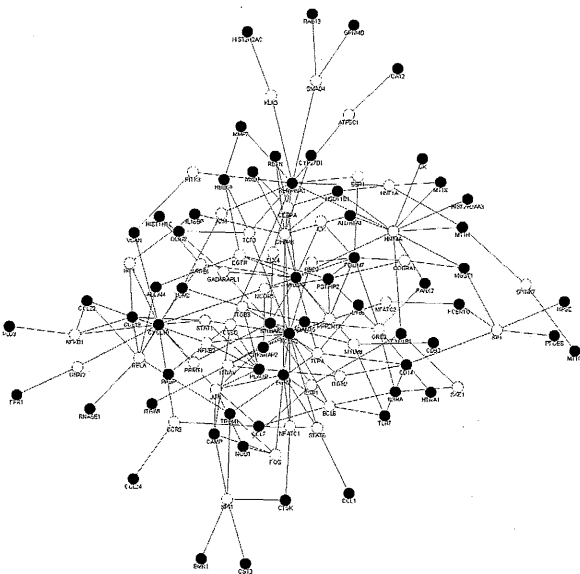
【図 6】



【図 7】



【図 8】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CA2015/000160
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: C40B 40/08 (2006.01), C12Q 1/68 (2006.01), C40B 30/04 (2006.01), G01N 33/48 (2006.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC (2006.01); C40B 40/08, C12Q 1/68, C40B 30/04, G01N 33/48		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used) See extra sheet.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO2010/049818 (PAYEN DE LA GARANDERIE, D., et al) 06 May 2010 (06-05-2010) *abstract; page 2 lines 19-28*	7-28, 30-32, 34-45, 49-64, 66-91, 93-104
A	WO2009/095786 (PAYEN DE LA GARANDERIE, D., et al) 06 August 2009 (06-08-2009) *abstract; page 2 lines 20-31; page 4 lines 23-39*	7-28, 30-32, 34-45, 49-64, 66-91, 93-104
A	SUÁREZ-SANTAMARÍA, M., et al. Prognostic value of inflammatory markers (notably cytokines and procalcitonin), nutritional assessment, and organ function in patients with sepsis. European Cytokine Network. March 2010 (03-2010), Vol. 21, No. 1, Pages 19-26, ISSN 1148-5493. *abstract; Table 1*	7-28, 30-32, 34-45, 49-64, 66-91, 93-104
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.		☒ See patent family annex.
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search 09 June 2015 (09-06-2015)		Date of mailing of the international search report 9 June 2015 (09-06-2015)
Name and mailing address of the ISA/CA Canadian Intellectual Property Office Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT 50 Victoria Street Gatineau, Quebec K1A 0C9 Facsimile No.: 001-819-953-2476		Authorized officer Pascal Lachance (819) 994-8889

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CA2015/000160**Continuation of Box B. Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used).**

Databases: QUESTEL-ORBIT, PubMed

Keywords: sepsis, biomarker, marker, signature, organ failure, SIRS, systemic inflammatory response syndrome, ADAM15, ADAMDEC1, ALCAM, ALDH1A1, ANKRD1, C19orf59, CA12, CAMP, CCL1, CCL19, CCL22, CCL24, CCL7, CD14, CD300LF, CD93, CDK5RAP2, CPVL, CST3, CST6, CTSK, CXCL10, CYP1B1, CYP27B1, DDIT4, DHRS9, DPYSL3, EGR2, EMR1, EMR3, FBP1, FCER1G, FCER2, FPR1, FPR2, GK, GPNMB, GPR137B, HBEGF, HIST1H1C, HIST2H2AA3, HIST2H2AC, HK2, HK3, HPSE, HSD11B1, HTRA1, IL18BP, IL3RA, ITGB8, KIAA1199, LILRA3, LILRA5, LIPA, LY86, MARCO, MGST1, MMP7, MT1F, MT1G, MT1H, MT1M, MT1X, MXD1, MYADM, NEFH, NQO1, NRIP3, OLIG2, PANX2, PAPLN, PDLIM7, PLAUR, PLD3, PPBP, PROCR, PSTPIP2, PTGES, PTGR1, RAB13, RARRES1, RETN, RHBDD2, RNASE1, S100A12, S100A4, S100A8, S100A9, SERPINA1, SERPINB7, SLC16A10, SLC7A11, TGM2, TLR7, TMEM158, TREM1, TSPAN4, UPP1, VCAN

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CA2015/000160

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- A	SUTHERLAND, A., et al. Development and validation of a novel molecular biomarker diagnostic test for the early detection of sepsis. Critical Care. 2011, Vol. 15, Document R149, Pages 1-11, ISSN 1364-8535. *abstract; materials and methods*	76-91, 93-103 --- 7-28, 30-32, 34-45, 49-64, 66-75, 104
X --- A	PANKLA, R., et al. Genomic transcriptional profiling identifies a candidate blood biomarker signature for the diagnosis of septicemic melioidosis. Genome Biology. 2009, Vol. 10, Document R127, Pages 1-22, ISSN 1474-760X. *abstract; materials and methods*	76-91, 93-103 --- 7-28, 30-32, 34-45, 49-64, 66-75, 104
X --- A	CVIJANOVICH, N., et al. Validating the genomic signature of pediatric septic shock. Physiological Genomics. 06 May 2008 (06-05-2008), Vol. 34, Pages 127-134, ISSN 1094-8341. *abstract; methods*	76-91, 93-103 --- 7-28, 30-32, 34-45, 49-64, 66-75, 104

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CA2015/000160**Box No. II****Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of the first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claim Nos.: 29-64 (completely) and 65-75 (partially)
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

See extra sheet.

2. ☒ Claim Nos.: 1-6, 29, 33, 46-48, 65 and 92 (completely) and 7-20, 22-28, 30-32, 34-44, 49-60, 62-64, 66-74, 76-84, 86-91, 93-101 and 103-104 (partially)
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

See extra sheet.

3. ☐ Claim Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III**Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

See extra sheet.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claim Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CA2015/000160**Continuation of Box No. II.1**

Claims 29-64 (completely) and 65-75 (partially) are directed to a method for treatment of the human or animal body by surgery or therapy, which the International Searching Authority is not required to examine under **Rule 67.1(iv) of the PCT**. Moreover, this Authority has established a written opinion of claims 29-64 based on the alleged use of the 31-gene and 99-gene diagnostic signatures for sepsis or organ failure to determine whether a subject should be administered an effective amount of one or more antibiotics to treat sepsis or organ failure.

With respect to claims 65-75, the method as defined can encompass contacting an endotoxin tolerant cell in an organism, which is considered as being a method of treatment. Claims 65-75 were searched insofar as the method concerns an *in vitro* method.

Continuation of Box No. II.2

Claims 1-6, 29, 33, 46-48, 65 and 92 feature methods of diagnosing sepsis, risk of developing severe sepsis or risk of organ failure, as well as related therapeutic methods, kits and microarrays, wherein the level of expression of Endotoxin Tolerance Signature genes is determined. However the genes comprised in said signature are not defined. Said claims relate to subject matter that is inadequately defined and which is not fully supported by the description over the entire claimed scope and therefore fails to comply with the requirements of **Article 5 of the PCT** and **Article 6 of the PCT** to such an extent that a meaningful search is not possible.

Claims 7-20, 22-28, 30-32, 34-44, 49-60, 62-64, 66-74, 76-84, 86-91, 93-101 and 103-104 are directed to methods of diagnosing sepsis, risk of developing severe sepsis or risk of organ failure, as well as related therapeutic methods, kits and microarrays, wherein the level of expression of any plurality of genes, i.e. any to or more genes, selected from lists as defined in instant claims 7 or 20 is determined. The combinatorially large number of possible pluralities of genes defined in said claims, for use in diagnosing sepsis, risk of developing severe sepsis or risk of organ failure, are not supported by the description and fail to comply with the requirements of **Article 5 of the PCT** and **Article 6 of the PCT** to such an extent that a meaningful search over the entire claimed scope is not possible.

An effort was nevertheless made by the ISA to identify subject matter on which a meaningful search could be performed. In view of the description, the subject matter apparently most important for the applicant is a diagnostic signature comprising all 99 genes of the signature defined in instant Table A and for example in instant claim 7 or comprising all 31 genes of the subset signature defined for example in instant claim 20, wherein said signatures are used to diagnose sepsis, risk of developing severe sepsis or risk of organ failure. The 99-gene and 31-gene signatures are shown to develop early in patients with sepsis and are detectable before a clinical diagnosis is normally made. Consequently, the search has been established for the parts of the application which appear to be clear and supported, namely the subject matter of claims 7-20, 22-28, 30-32, 34-44, 49-60, 62-64, 66-74, 76-84, 86-91, 93-101 and 103-104 relating to the signatures comprising all 99 genes of the signature defined in instant Table A or comprising all 31 genes of the subset signature defined for example in instant claim 20, wherein said signatures are used to diagnose sepsis, risk of developing severe sepsis or risk of organ failure.

Continuation of Box No. III

The application is directed to methods of diagnosing sepsis, risk of developing severe sepsis or risk of organ failure, as well as related therapeutic methods, kits and microarrays, featuring diagnostic signatures comprising any plurality of two or more of the biomarker genes of instant Table A, as defined for example in instant claim 7. As each of the biomarker genes featured in said signatures is structurally distinct, the only feature which might serve to unify the subject matter of the claims is the general concept of using a plurality of any two or more biomarker genes to diagnose sepsis, risk of developing severe sepsis or risk of organ failure.

However, the general concept of using a plurality of any two or more biomarker genes to diagnose sepsis, risk of developing severe sepsis or risk of organ failure is known in the prior art, as disclosed for example in each of WO2010/049818, WO2009/095786, Suárez-Santamaría et al., 2010, Sutherland et al., 2011, Pankla et al., 2009 and Cvijanovich et al., 2008, and thus the claims do not relate to a single inventive concept *a posteriori* under **Rule 13.1 of the PCT**. Therefore the claims are directed to a plurality of alleged inventions wherein each specific combination of any two or more biomarker genes selected from Table A represents a separate group of invention.

The claims must be limited to one inventive concept as set out in **Rule 13 of the PCT**.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CA2015/000160

Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date
WO2010049818A1	06 May 2010 (06-05-2010)	WO2010049818A1 CN102257387A EP2350646A1 JP2012507030A JP5619016B2 US2010105084A1 US8283131B2 US2011287433A1	06 May 2010 (06-05-2010) 23 November 2011 (23-11-2011) 03 August 2011 (03-08-2011) 22 March 2012 (22-03-2012) 05 November 2014 (05-11-2014) 29 April 2010 (29-04-2010) 09 October 2012 (09-10-2012) 24 November 2011 (24-11-2011)
WO2009095786A2	06 August 2009 (06-08-2009)	WO2009095786A2 WO2009095786A3 CA2713839A1 EP2085486A1 EP2245194A2 JP2011510650A US2011190143A1	06 August 2009 (06-08-2009) 05 November 2009 (05-11-2009) 06 August 2009 (06-08-2009) 05 August 2009 (05-08-2009) 03 November 2010 (03-11-2010) 07 April 2011 (07-04-2011) 04 August 2011 (04-08-2011)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/4704 (2006.01)	A 6 1 K 31/4704	
A 6 1 K 31/7036 (2006.01)	A 6 1 K 31/7036	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	G 0 1 N 33/50	P
G 0 1 N 37/00 (2006.01)	G 0 1 N 37/00	1 0 2
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 33/68 (2006.01)	G 0 1 N 33/68	
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/15	Z
	G 0 1 N 33/50	Z

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

(74)代理人 100144794

弁理士 大木 信人

(72)発明者 ハンコック, ロバート イー. ダブリュ.

カナダ国 ブイ6ジェイ 4ビー3 ブリティッシュ コロンビア, バンクーバー, メープル ク
レセント 4470

(72)発明者 ペナ セルラト, オルガ エム.

カナダ国 ブイ5エス 2ワイ2 ブリティッシュ コロンビア, バンクーバー, キラーニー ス
トリート 6835

(72)発明者 ハンコック, デイヴィット ジー.

カナダ国 ブイ6ジェイ 4ビー3 ブリティッシュ コロンビア, バンクーバー, メープル ク
レセント 4470

(72)発明者 ボイド, ジョン

カナダ国 ブイ6ケー 2エー8 ブリティッシュ コロンビア, バンクーバー, ウェスト 8テ
ィーエイチ アヴェニュー 2377

Fターム(参考) 2G045 AA25 CA25 CA26 DA14

4B029 AA07 AA23 BB20 CC01 FA15

4B063 QA19 QQ03 QQ08 QQ42 QQ52 QR55 QR62 QS25 QS34 QX01

4C084 AA17 NA14 ZB35

4C086 AA01 AA02 BC29 CC08 CC09 EA12 MA01 MA04 NA14 ZB35