(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第6228302号
(P6228302)

(45)発行日　平成29年11月8日(2017.11.8)　(24)登録日　平成29年10月20日(2017.10.20)

(51)Int.Cl.		F I		
G01N 33/68	(2006.01)	G01N	33/68	
G01N 33/53	(2006.01)	G01N	33/53	P
G01N 33/533	(2006.01)	G01N	33/53	D
G01N 33/532	(2006.01)	G01N	33/53	X
G01N 33/534	(2006.01)	G01N	33/533	

請求項の数 13　(全 32 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号	特願2016-525462 (P2016-525462)
(86)(22)出願日	平成26年7月9日 (2014.7.9)
(65)公表番号	特表2016-524168 (P2016-524168A)
(43)公表日	平成28年8月12日 (2016.8.12)
(86)国際出願番号	PCT/US2014/046015
(87)国際公開番号	WO2015/006489
(87)国際公開日	平成27年1月15日 (2015.1.15)
審査請求日	平成28年4月8日 (2016.4.8)
(31)優先権主張番号	61/845,121
(32)優先日	平成25年7月11日 (2013.7.11)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者　509278081
ユニバーシティー　オブ　ノース　テキサス　ヘルス　サイエンス　センター　アット　フォートワース
UNIVERSITY OF NORTH TEXAS HEALTH SCIENCE CENTER AT FORT WORTH
アメリカ国　テキサス７６１０９　フォートワース　キャンプボウイブルバード３５００　オフィス　オブ　リサーチ　アンド　バイオテクノロジー

最終頁に続く

(54)【発明の名称】プライマリーケアセッティングにおいて神経学的疾患を検出するための血液に基づくスクリーニング

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

以下のステップを含む、プライマリーケアセッティング内においてアルツハイマー病をスクリーニングするためのデータを収集する方法。

プライマリーケアセッティングにおいて対象から得られた血液被検試料における、ＩＬ７、ＴＮＦα、ＩＬ５、ＩＬ６、ＣＲＰ、ＩＬ１０、ＴＮＣ、及びＩＣＡＭ１のバイオマーカーを測定するステップ；

前記バイオマーカーの組み合わせのレベルを、正常血液試料における相当するバイオマーカーの組み合わせのレベルと比較するステップ；

測定された前記８つのバイオマーカーに基づき前記アルツハイマー病を同定するためのデータを収集するステップ；及び

予測された前記アルツハイマー病に基づき前記対象のための治療コースを選択するためのデータを収集するステップ；

【請求項２】

個体又はプライマリーケア従事者に、計算されたリスクの変化を通知するためのデータを収集するステップをさらに含む、請求項１に記載の方法。

【請求項３】

試料が血清又は血漿試料であり、プライマリーケアクリニック内におけるアルツハイマー病の仮判定後に、このプライマリーケア提供者に、この特別な血液スクリーニングの知見に適切な特定の種類の専門医の紹介に関する情報を提供し、個体を前記アルツハイマー

病及びそれに従った治療の専門医に導く、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
患者年齢及び認知神経科学的スクリーニング検査のパラメータを含むことにより、解析を緻密化するステップであって、本発明の血清に基づくマーカー、年齢及び認知神経科学的スクリーニング検査のうちの２又は３以上の組み合わせが、アルツハイマー病を持たない対照対象と比較して、アルツハイマー病の判定のためのプライマリーケアセッティングにおいて少なくとも９０％正確であるステップ；及び
神経変性疾患の正確な検出及び識別のために、睡眠障害（はい／いいえ）、幻視（はい／いいえ）、精神医学的／人格変化（はい／いいえ）、年齢、認知神経科学的スクリーニング及び２又は３以上の本発明らの血清に基づくマーカーのパラメータのうちの１又は２以上を判定するためのデータを収集するステップのうち少なくとも１つをさらに含む、請求項１～３のいずれかに記載の方法。
【請求項５】
様々なタンパク質の発現レベルが、蛍光検出、化学発光検出、電気化学発光検出及びパターン形成アレイ、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、抗体結合、蛍光励起分取、検出可能ビーズ分取、抗体アレイ、マイクロアレイ、酵素アレイ、受容体結合アレイ、アレル特異的プライマー伸長、標的特異的プライマー伸長、固相結合アレイ、液相結合アレイ、蛍光共鳴移動又は放射性標識化のうちの少なくとも１種によって測定される、請求項１～４のいずれかに記載の方法。
【請求項６】
全体的精度９４、９５、９６、９７、９８、９９若しくは１００％（感度（ＳＮ）、特異性（ＳＰ）（ＳＮ＝０．９４、ＳＰ＝０．８３））による軽度ＡＤ（ＣＤＲグローバルスコア１．０以下）、又は全体的精度９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９若しくは１００％（ＳＮ＝０．９７、ＳＰ＝０．７２）による非常に初期のＡＤ（ＣＤＲグローバルスコア＝０．５）のうちの少なくとも１つのスクリーニングに用いられる、請求項１～５のいずれかに記載の方法。
【請求項７】
感度よりも高い特異性を用いるプライマリーセッティングにおいてスクリーニングに用いられ、前記特異性が、０．９７～１．０の範囲内であり、前記感度が、０．８０～１．０の範囲内である、請求項１～６のいずれかに記載の方法。
【請求項８】
以下のステップを含むものとしてさらに定義される、請求項１～７のいずれかに記載の方法。
アルツハイマー病を有すると疑われる個体から単離された試料から、バイオマーカーＩＬ－７及びＴＮＦαを含むバイオマーカーの測定値を得るステップ；
対象の年齢及び前記対象から得られた１又は２以上の認知神経科学的スクリーニング検査（時計描画、言語流暢性、睡眠障害、幻視、行動障害、運動障害）の結果を加えるステップ；
モデルの出力から前記アルツハイマー病を発症する前記個体のリスクを計算するステップであって、前記モデルへの入力が、前記２つのバイオマーカーの前記測定値、前記対象の年齢及び１又は２以上の認知検査の前記結果を含み、さらに、前記モデルが、選択された個体集団の縦断的研究のデータを適合させることにより開発され、前記適合されたデータが、前記選択された個体集団における前記バイオマーカーのレベル、前記対象の年齢及び１又は２以上の認知検査の前記結果並びにアルツハイマー病を含むステップ；及び
前記個体の前記計算されたリスクを、前記個体由来の少なくとも１つのより初期の試料から得られる以前に計算されたリスクと比較するステップ；
【請求項９】
以下のステップを含む、アルツハイマー病の治療において有用であると考えられる候補薬物を評価するために用いられる、請求項１～８のいずれかに記載の方法。
（ａ）アルツハイマー病を有すると疑われる１又は２名以上の患者から得られる１又は

２以上の血液試料からの、ＩＬ７、ＴＮＦα、ＩＬ５、ＩＬ６、ＣＲＰ、ＩＬ１０、ＴＮＣ、及びＩＣＡＭ１のバイオマーカー、前記患者の年齢並びに前記患者の１又は２以上の認知神経科学的スクリーニング検査の結果を測定するステップ；

（ｂ）候補薬物が投与された前記患者の第１のサブセットから得られる１又は２以上の血液試料からの前記バイオマーカー、前記患者の年齢、及び前記患者の１又は２以上の認知神経科学的スクリーニング検査の結果と、プラセボが投与された前記患者の第２のサブセットから得られる１又は２以上の血液試料からの前記バイオマーカー、前記患者の年齢、及び前記患者の１又は２以上の認知神経科学的スクリーニング検査の結果とを測定するステップ；

（ｃ）前記候補薬物が、前記第２のサブセットの患者において生じるいかなる低下と比較して統計的に有意に、前記８つのバイオマーカーの発現を低下させるか否かを判定するステップであって、統計的に有意な低下が、前記候補薬物が前記アルツハイマー病の治療において有用であることを示し、参照レベルと比較してより低いＣＲＰ及びＩＬ１０のレベル、又は参照レベルと比較して上昇した血液中のＩＬ－７及びＴＮＦアルファのレベルが、前記個体が前記アルツハイマー病を患っている可能性がより高いことを示す、ステップ；及び

（ｄ）治療後に前記１又は２以上の認知ステップを反復してもよいステップ；

【請求項１０】

患者プロファイルに最もマッチするアルツハイマー病プロファイルを判定するステップをさらに含む、請求項１～９のいずれかに記載の方法であって、前記判定が以下のステップを含む、前記方法。

適切にプログラムされたコンピュータにおいて、１又は２以上のアルツハイマー病を有すると疑われる患者由来の血液又は血漿試料におけるＩＬ７、ＴＮＦα、ＩＬ５、ＩＬ６、ＣＲＰ、ＩＬ１０、ＴＮＣ、及びＩＣＡＭ１バイオマーカーの発現レベルを、参照データベースにおける参照プロファイルと比較して、前記患者プロファイルと前記参照プロファイルのそれぞれとの間の類似性の尺度を判定するステップ；

適切にプログラムされたコンピュータにおいて、ステップ（ａ）において判定された類似性の前記尺度間の最大類似性に基づき、前記患者プロファイルに最もマッチする参照データベースにおける参照プロファイルを同定するステップ；

ユーザー・インターフェース・デバイス、コンピュータ可読記憶媒体又はローカル若しくは遠隔コンピュータシステムに出力するステップ、或いは前記最大類似性又は前記患者プロファイルに最もマッチする前記参照データベースにおける前記参照プロファイルの前記疾患細胞試料の前記疾患を表示するステップ；及び

血液試料由来のＩＬ７、ＴＮＦα、ＩＬ５、ＩＬ６、ＣＲＰ、ＩＬ１０、ＴＮＣ、及びＩＣＡＭ１のバイオマーカーの発現レベルを判定するステップであって、前記方法が、感度よりも高い特異性を用いる一次設定におけるスクリーニングに用いられ、前記特異性が０．９７～１．０の範囲内であり、前記感度が０．８０～１．０の範囲内である、ステップ；

【請求項１１】

ヒト個体から得られる血液試料におけるＩＬ－７、ＴＮＦα、ＩＬ５、ＩＬ６、ＣＲＰ、ＩＬ１０、ＴＮＣ、及びＩＣＡＭ１のバイオマーカーの発現レベルを検出するための１又は２以上の試薬と、１又は２以上の神経学的スクリーニング検査シートと、

前記個体の血液試料由来の前記バイオマーカーの正規化された測定レベルを参照レベルと比較するための、或いは、前記患者の年齢及び前記患者の前記神経学的スクリーニング検査の結果を参照と比較するための説明書であって、各アルツハイマー病診断バイオマーカーの前記参照レベルが、アルツハイマー病ではないヒト個体の１又は２以上の血液試料由来の前記アルツハイマー病診断バイオマーカーの正規化された測定レベルを含み、各アルツハイマー病診断バイオマーカーの前記参照レベルに満たないアルツハイマー病診断バイオマーカーのレベルが、前記個体がアルツハイマー病を患っている可能性がより高いことを示し、前記検査が少なくとも９０％正確であり、前記参照レベルと比較して上昇した

血液中のＩＬ－７及びＴＮＦアルファの発現レベル、又は前記参照レベルと比較してより低いＣＲＰ及びＩＬ１０のレベルのうち少なくとも１つが、前記個体が前記アルツハイマー病を患っている可能性がより高いことを示す、前記説明書と
を含む、プライマリーケアセッティングにおけるアルツハイマー病の診断を補助するための迅速スクリーニングキット。
【請求項１２】
ＦＶＩＩ、Ｉ３０９、ＴＮＦＲ１、Ａ２Ｍ、ＴＡＲＣ、エオタキシン３、ＶＣＡＭ１、ＴＰＯ、ＦＡＢＰ、ＩＬ１８、Ｂ２Ｍ、ＳＡＡ、ＰＰＹ、ＤＪ１及びα－シヌクレインから選択される発現マーカーのレベルを検出するための１又は２以上の試薬をさらに含む、請求項１１に記載のキット。
【請求項１３】
試料が血清試料であり、アルツハイマー病の仮判定後に、個体を前記アルツハイマー病の専門医に導く、請求項１１に記載のキット。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、全般的には、プライマリーケアセッティング内における神経学的疾患の間のスクリーニング、検出及び識別の分野に関し、特に、神経学的疾患患者の検出、スクリーニング及び識別のためのバイオマーカーに関する。
【背景技術】
【０００２】
本発明の範囲を限定することなく、神経学的疾患に関連するその背景について記載する。
【０００３】
病状の検出及び評価は、ヒトゲノムの配列決定及びバイオインフォマティクスツールの有効性の結果、大いに進歩した。斯かるシステムの一例は、複数の疾患及び重症度の解析のためのシステム及び方法に関する、Avinash, et al.に発行された米国特許第８，４３０，８１６号明細書に教示されている。簡潔に説明すると、この発明者らは、複数の疾患型の参照偏位（reference deviation）マップにアクセスするための、コンピュータに実行される方法を含むデータ処理技法を教示している。参照偏位マップは、それぞれの疾患型の重症度レベルに関連付けられたマップのサブセットを含むことができ、疾患重症度スコアは、各重症度レベルに関連付けることができる。この方法は、参照偏位マップのサブセットに基づく複数の疾患型の患者重症度レベルを選択するステップも含むと言われている。また、この方法は、選択された患者重症度レベルに関連付けられた疾患重症度スコアに少なくとも部分的に基づく、組み合わせた患者疾患重症度スコアを自動的に計算するステップを含むことができ、組み合わせた患者疾患重症度スコアに少なくとも部分的に基づく報告を出力するステップを含むことができる。
【０００４】
別の斯かる発明は、Zhangに発行された、神経変性障害のバイオマーカーを対象とする米国特許第８，００８，０２５号明細書に教示されている。簡潔に説明すると、この発明者は、脳脊髄液試料における遺伝子産物発現パターンを検出し、前記試料の遺伝子産物発現パターンを、神経変性疾患の存在又は非存在を示すことが知られた遺伝子産物発現パターンのライブラリーと比較することにより、アルツハイマー病、パーキンソン病及びレビー小体型認知症疾患等、神経変性疾患を診断するための方法を教示している。この方法は、神経変性疾患進行のモニタリング及び治療的処置の効果の評価を提供するとも言われる。対象方法を実施するためのキット、システム及びデバイスも提供される。
【０００５】
Huによって出願された米国特許出願公開第２０１３／００１２４０３号明細書は、自閉症スペクトラム障害を同定するための組成物及び方法を対象としている。この出願は、自

閉症スペクトラム障害に関連する遺伝子に対し特異性を備える複数の異なるオリゴヌクレオチドを有するマイクロＲＮＡチップを対象とする。この発明は、自閉症スペクトラム障害を含む神経学的及び精神医学的状態のマイクロＲＮＡプロファイルを同定する方法、斯かる状態を治療する方法、並びに斯かる神経学的及び精神医学的状態の治療のための治療法を同定する方法を提供すると言われる。

【０００６】

さらに別の出願は、神経変性疾患を診断するための方法及びキットに関する、Schlossmacher, et al.によって出願された米国特許出願公開第２０１１／０１５９５２７号明細書である。簡潔に説明すると、この出願は、対象が、神経変性疾患を発症するか又はそうであると診断され得るか判定するための方法及び診断キットを教示していると言われている。この方法は、対象から得られる脳脊髄液（ＣＳＦ）試料におけるアルファ－シヌクレイン及び総タンパク質の量を定量化するステップと、総タンパク質含量に対するアルファ－シヌクレインの比を計算するステップと、このＣＳＦ試料における総タンパク質含量に対するアルファ－シヌクレインの比を、健康な神経変性疾患ではない対象から得られるＣＳＦ試料における総タンパク質含量に対するアルファ－シヌクレインの比と比較するステップと、この比較から、この対象が神経変性疾患を発症する見込みを有するか判定するステップ又は対象における神経変性疾患の診断をするステップとを含むと言われている。総タンパク質含量に対するアルファ－シヌクレインの比の差は、対象が、神経変性疾患を発症する見込みを有する又は神経変性疾患を発症したことを示すと言われている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００７】

【特許文献１】米国特許第８，４３０，８１６号明細書

【特許文献２】米国特許第８，００８，０２５号明細書

【特許文献３】米国特許出願公開第２０１３／００１２４０３号明細書

【特許文献４】米国特許出願公開第２０１１／０１５９５２７号明細書

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００８】

一実施形態において、本発明は、プライマリーケアセッティングにおいて対象から血液被検試料を得るステップと、ＩＬ７、ＴＮＦα、ＩＬ５、ＩＬ６、ＣＲＰ、ＩＬ１０、ＴＮＣ、ＩＣＡＭ１、ＦＶＩＩ、Ｉ３０９、ＴＮＦＲ１、Ａ２Ｍ、ＴＡＲＣ、エオタキシン３、ＶＣＡＭ１、ＴＰＯ、ＦＡＢＰ、ＩＬ１８、Ｂ２Ｍ、ＳＡＡ、ＰＰＹ、ＤＪ１及び／又はα－シヌクレインから選択される、前記血液試料における２又は３以上のバイオマーカーを測定するステップと、前記バイオマーカーの１つ又は組み合わせのレベルを、正常血液試料における相当するバイオマーカーの１つ又は組み合わせのレベルと比較するステップと、前記対象が、神経学的疾患を有する可能性が高いことを示す、前記正常血液試料のレベルに関連した前記血液被検試料における前記２又は３以上のバイオマーカーのレベルの増加を測定するステップと、測定された前記２つのバイオマーカーに基づき、前記神経学的疾患を同定するステップと、予測された前記神経学的疾患に基づき、前記対象のための治療コースを選択するステップとを含む、プライマリーケアセッティング内における神経学的疾患をスクリーニングするための方法及び／又は器具を含む。一態様において、バイオマーカー測定値の少なくとも１つは、イムノアッセイ及び酵素活性アッセイからなる群から選択される方法によって得られる。別の態様において、本方法は、個体又はプライマリーケア従事者に、計算されたリスクの変化を通知するステップをさらに含む。別の態様において、本方法は、個体又はプライマリーケア従事者に、計算されたリスクの変化を通知するステップをさらに含む。別の態様において、本方法は、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２又は１３のバイオマーカーを用いて、神経学的疾患の間を区別する。別の態様において、単離された生物学的試料は、血清又は血漿である。別の態様において、試料は血清試料であり、プライマリーケアクリニック内における神経学的疾患の

仮判定後において、このプライマリーケア提供者に、この特定の血液スクリーニングの知見に適切な特有の種類の専門医の紹介に関する情報を提供し、この神経学的疾患及びそれに従った治療のために、個体を専門医に導く。別の態様において、神経学的疾患は、アルツハイマー病、パーキンソン病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症及び神経変性疾患から選択される。別の態様において、本方法は、次のパラメータ：患者年齢及び認知神経科学的スクリーニング検査を含むことにより、解析を緻密化するステップをさらに含み、２又は３以上の本出願人らの血清に基づくマーカー、年齢及び前記認知神経科学的スクリーニング検査の前記組み合わせは、神経学的疾患又は障害を持たない対照対象と比較して、アルツハイマー病の判定のためのプライマリーケアセッティングにおいて少なくとも９０％正確である。別の態様において、本方法は、神経変性疾患間の正確な検出及び識別のために、次のパラメータ：睡眠障害（あり／なし）、幻視（あり／なし）、精神医学的／人格変化（あり／なし）、年齢、認知神経科学的スクリーニング及び２又は３以上の本出願人らの血清に基づくマーカーのうちの１又は２以上を判定するステップをさらに含む。別の態様において、様々なタンパク質の発現レベルは、蛍光検出、化学発光検出、電気化学発光検出及びパターン形成アレイ、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、抗体結合、蛍光励起分取、検出可能ビーズ分取、抗体アレイ、マイクロアレイ、酵素アレイ、受容体結合アレイ、アレル特異的プライマー伸長、標的特異的プライマー伸長、固相結合アレイ、液相結合アレイ、蛍光共鳴移動又は放射性標識化のうちの少なくとも１つによって測定される。別の態様において、本方法は、全体的精度９４、９５、９６、９７、９８、９９又は１００％（感度（ＳＮ）、特異性（ＳＰ）（ＳＮ＝０．９４、ＳＰ＝０．８３））による軽度ＡＤ（ＣＤＲグローバルスコア１．０以下）又は全体的精度９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９又は１００％（ＳＮ＝０．９７、ＳＰ＝０．７２）による非常に初期のＡＤ（ＣＤＲグローバルスコア＝０．５）のうち少なくとも１つのスクリーニングに用いられる。別の態様において、本方法は、感度よりも高い特異性を用いるプライマリーセッティングにおけるスクリーニングに用いられ、前記特異性は、０．９７～１．０の範囲内であり、前記感度は、０．８０～１．０の範囲内である。

【０００９】

本発明の別の実施形態は、１又は２以上の神経学的疾患状態の間を区別するための方法及び器具を含み、前記方法は、神経学的疾患を有すると疑われる個体から単離された少なくとも１つの生物学的試料から、バイオマーカーＩＬ－７及びＴＮＦαを含むバイオマーカーの測定値を得るステップと、前記対象の年齢及び前記対象から得られた１又は２以上の認知神経科学的スクリーニング検査（時計描画、言語流暢性、リスト学習、睡眠障害、幻視、行動障害、運動障害）の結果を加えるステップと、モデルの出力から、前記神経学的疾患を発症する前記個体のリスクを計算するステップであって、前記モデルへの入力が、前記２つのバイオマーカーの前記測定値、前記対象の年齢及び１又は２以上の認知検査の前記結果を含み、さらに、前記モデルが、選択された個体集団の縦断的研究のデータを適合させることにより開発されており、前記適合されたデータが、前記選択された個体集団における前記バイオマーカーのレベル、前記対象の年齢及び１又は２以上の認知検査の前記結果並びに神経学的疾患を含むステップと、前記個体の前記計算されたリスクを、前記個体由来の少なくとも１つのより初期の試料から得られる以前に計算されたリスクと比較するステップとを含む。一態様において、バイオマーカー測定値のうち少なくとも１つは、蛍光検出、化学発光検出、電気化学発光検出及びパターン形成アレイ、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、抗体結合、蛍光励起分取、検出可能ビーズ分取、抗体アレイ、マイクロアレイ、酵素アレイ、受容体結合アレイ、アレル特異的プライマー伸長、標的特異的プライマー伸長、固相結合アレイ、液相結合アレイ、蛍光共鳴移動又は放射性標識化のうち少なくとも１つから選択される方法によって得られる。別の態様において、バイオマーカー測定値のための方法のうち２又は３以上は、神経学的疾患の交差検証に用いられる。別の態様において、本方法は、個体又は医療従事者に、計算されたリスクの変化を通知するステップをさらに含む。別の態様において、本方法は、個体又は医療従事者に、計算されたリスクの変化を通知するステップをさらに含む。別の態様において、バイオマーカーは、

ＩＬ７、ＴＮＦα、ＩＬ５、ＩＬ６、ＣＲＰ、ＩＬ１０、ＴＮＣ、ＩＣＡＭ１、ＦＶＩＩ、Ｉ３０９、ＴＮＦＲ１、Ａ２Ｍ、ＴＡＲＣ、エオタキシン３、ＶＣＡＭ１、ＴＰＯ、ＦＡＢＰ、ＩＬ１８、Ｂ２Ｍ、ＳＡＡ、ＰＰＹ、ＤＪ１及び／又はα－シヌクレインから選択される１又は２以上のバイオマーカーをさらに含む。別の態様において、本方法は、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２又は１３のバイオマーカーを用いて、神経学的疾患を区別する。別の態様において、単離された生物学的試料は、血清又は血漿である。別の態様において、試料は血清試料であり、神経学的疾患の仮判定後において、この神経学的疾患のために個体を専門医に導く。別の態様において、神経学的疾患は、アルツハイマー病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、パーキンソン病及び認知症から選択される。別の態様において、本方法は、アルツハイマー病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、パーキンソン病及び認知症から選択される１又は２以上の神経学的疾患の除外に用いられる。別の態様において、本方法は、感度よりも高い特異性を用いるプライマリーセッティングにおけるスクリーニングに用いられ、前記特異性は、０．９７～１．０の範囲内であり、前記感度は、０．８０～１．０の範囲内である。

【００１０】

別の実施形態において、本発明は、（ａ）神経学的疾患を有すると疑われる患者から得られる１又は２以上の血液試料から、ＩＬ７、ＴＮＦα、ＩＬ５、ＩＬ６、ＣＲＰ、ＩＬ１０、ＴＮＣ、ＩＣＡＭ１、ＦＶＩＩ、Ｉ３０９、ＴＮＦＲ１、Ａ２Ｍ、ＴＡＲＣ、エオタキシン３、ＶＣＡＭ１、ＴＰＯ、ＦＡＢＰ、ＩＬ１８、Ｂ２Ｍ、ＳＡＡ、ＰＰＹ、ＤＪ１及び／又はα－シヌクレインから選択される２又は３以上のバイオマーカー、前記患者の年齢及び前記患者の１又は２以上の認知神経科学的スクリーニング検査の結果を測定するステップと、（ｂ）候補薬物を前記患者の第１のサブセットに投与し、プラセボを前記患者の第２のサブセットに投与するステップと、（ｃ）前記候補薬物又は前記プラセボの前記投与後に、ステップ（ａ）を反復するステップと、（ｄ）前記候補薬物が、前記第２のサブセットの患者において生じるいかなる低下と比較して統計的に有意に、前記１又は２以上のバイオマーカーの発現を低下させるか否かを判定するステップであって、統計的に有意な低下が、前記候補薬物が、前記神経学的疾患の治療において有用であることを示すステップとを含む、臨床治験を行って、神経学的疾患の治療において有用であると考えられる候補薬物を評価する方法も含む。別の態様において、本方法は、所定の量の時間の後に、患者から１又は２以上の追加的な血液試料を得るステップと、前記１又は２以上の追加的な試料由来のバイオマーカーのレベルを比較して、疾患進行を判定するステップとをさらに含む。別の態様において、本方法は、所定の期間患者を治療するステップと、前記所定の量の時間の後に前記患者から１又は２以上の追加的な血液試料を得るステップと、前記１又は２以上の追加的な試料由来のバイオマーカーのレベルを比較して、疾患進行を判定するステップとをさらに含む。

【００１１】

別の実施形態において、本発明は、（ａ）前記対象から得られる血液試料におけるＩＬ７、ＴＮＦα、ＩＬ５、ＩＬ６、ＣＲＰ、ＩＬ１０、ＴＮＣ、ＩＣＡＭ１、ＦＶＩＩ、Ｉ３０９、ＴＮＦＲ１、Ａ２Ｍ、ＴＡＲＣ、エオタキシン３、ＶＣＡＭ１、ＴＰＯ、ＦＡＢＰ、ＩＬ１８、Ｂ２Ｍ、ＳＡＡ、ＰＰＹ、ＤＪ１及び／又はα－シヌクレインから選択される２又は３以上のバイオマーカー、前記患者の年齢及び１又は２以上の認知神経科学的スクリーニング検査の結果を測定して、神経変性疾患プロファイルを判定するステップと、（ｂ）前記ステップ（ａ）から得られる前記対象の前記神経変性疾患プロファイルの同定結果に基づき、前記対象が、前記臨床治験に参加するべきか否かを判定するステップであって、前記神経変性疾患プロファイル及び前記候補薬物が、前記神経学的疾患の治療において有用である可能性が高い場合のみに、前記対象が選択されるステップとを含む、臨床治験のための対象を選択して、神経学的疾患の治療において有用であると考えられる候補薬物を評価する方法も含む。

【００１２】

別の実施形態において、本発明は、神経学的疾患に関して患者を治療するステップと、神経学的疾患を有すると疑われる患者から得られる血液試料から２又は３以上のバイオマーカー、前記患者の年齢及び前記患者の１又は２以上の認知検査の結果を測定するステップと、前記治療が、治療していない前記第２のサブセットの患者又は前記患者から得られる先の試料において生じるいかなる低下と比較して統計的に有意に、前記１又は２以上のバイオマーカーの発現を低下させるか否かを判定するステップであって、統計的に有意な低下が、前記治療が前記神経学的疾患の治療において有用であることを示すステップとを含む、神経学的疾患の治療の効果を評価する方法も含む。

【００１３】

別の実施形態において、本発明は、ヒト個体から血液試料を得るステップと、前記個体の血液試料由来のＩＬ－７及びＴＮＦαバイオマーカーの正規化された測定レベルを、各神経学的疾患診断バイオマーカーの参照レベルと比較するステップであって、神経学的疾患診断バイオマーカーの群が、ＩＬ－７及びＴＮＦαを含むステップと、前記患者の年齢及び前記患者の１又は２以上の認知検査の結果を得るステップであって、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルが、神経学的疾患でないヒト個体の１又は２以上の血液試料由来の前記神経学的疾患診断バイオマーカーの正規化された測定レベルを含み、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルを超える神経学的疾患診断バイオマーカーのレベル、前記患者の年齢及び前記患者の１又は２以上の認知検査の結果が、前記個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示すステップとを含む、神経学的疾患の診断を補助する方法も含む。一態様において、本発明は、参照レベルと比較して上昇した血液中のＩＬ－７及びＴＮＦアルファの発現レベルが、個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示す方法も含む。別の態様において、本方法は、ＩＬ７、ＴＮＦα、ＩＬ５、ＩＬ６、ＣＲＰ、ＩＬ１０、ＴＮＣ、ＩＣＡＭ１、ＦＶＩＩ、Ｉ３０９、ＴＮＦＲ１、Ａ２Ｍ、ＴＡＲＣ、エオタキシン３、ＶＣＡＭ１、ＴＰＯ、ＦＡＢＰ、ＩＬ１８、Ｂ２Ｍ、ＳＡＡ、ＰＰＹ、ＤＪ１及び／又はα－シヌクレインから選択される１又は２以上のバイオマーカーの血液レベルを判定するステップをさらに含む。別の態様において、本方法は、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２又は１３のバイオマーカーを用いて、神経学的疾患を区別する。別の態様において、参照レベルと比較してより低いＣＲＰ及びＩＬ１０のレベルは、個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示す。別の態様において、本方法は、所定の量の時間の後に、患者から１又は２以上の追加的な血液試料を得るステップと、前記１又は２以上の追加的な試料由来のバイオマーカーのレベルを比較して、疾患進行を判定するステップとをさらに含む。別の態様において、単離された血液試料は、血清試料である。別の態様において、血液試料は血清試料であり、神経学的疾患の仮判定後において、この神経学的疾患のために個体を専門医に導く。別の態様において、神経学的疾患は、アルツハイマー病、パーキンソン病及び認知症から選択される。別の態様において、本方法は、感度よりも高い特異性を用いるプライマリーセッティングにおけるスクリーニングに用いられ、前記特異性は、０．９７～１．０の範囲内であり、前記感度は、０．８０～１．０の範囲内である。

【００１４】

別の実施形態において、本発明は、ヒト個体から得られる血液試料におけるＩＬ－７及びＴＮＦαの発現レベルを検出するための１又は２以上の試薬と、１又は２以上の神経学的スクリーニング検査シートと、前記個体の血液試料由来の前記ＩＬ－７及びＴＮＦαバイオマーカーの正規化された測定レベル、前記患者の年齢及び前記患者の神経学的スクリーニング検査の結果を参照レベルと比較するための説明書とを含む、プライマリーケアセッティングにおける神経学的疾患の診断を補助するための迅速スクリーニングキットも含み、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルは、神経学的疾患がないヒト個体の１又は２以上の血液試料由来の前記神経学的疾患診断バイオマーカーの正規化された測定レベルを含み、各神経学的疾患診断バイオマーカーの前記参照レベルに満たない神経学的疾患診断バイオマーカーのレベルは、前記個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示し、前記検査は、少なくとも９０％正確である。別の態様において、参

照レベルと比較して上昇した血液中のＩＬ－７及びＴＮＦアルファの発現レベルは、個体が、神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示す。別の態様において、本キットは、ＩＬ７、ＴＮＦα、ＩＬ５、ＩＬ６、ＣＲＰ、ＩＬ１０、ＴＮＣ、ＩＣＡＭ１、ＦＶＩＩ、Ｉ３０９、ＴＮＦＲ１、Ａ２Ｍ、ＴＡＲＣ、エオタキシン３、ＶＣＡＭ１、ＴＰＯ、ＦＡＢＰ、ＩＬ１８、Ｂ２Ｍ、ＳＡＡ、ＰＰＹ、ＤＪ１及び／又はα－シヌクレインから選択される発現マーカーのレベルを検出するための１又は２以上の試薬をさらに含む。別の態様において、参照レベルと比較してより低いＣＲＰ及びＩＬ１０のレベルは、個体が神経学的疾患を患っている可能性がより高いことを示す。別の態様において、試料は血清試料であり、神経学的疾患の仮判定後において、この神経学的疾患のために個体を専門医に導く。別の態様において、神経学的疾患は、アルツハイマー病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、パーキンソン病及び認知症から選択される。別の態様において、様々なタンパク質の発現レベルは、核酸、タンパク質レベル又は機能的タンパク質レベルのうち少なくとも１つにおいて測定される。別の態様において、様々なタンパク質の発現レベルは、蛍光検出、化学発光検出、電気化学発光検出及びパターン形成アレイ、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、抗体結合、蛍光励起分取、検出可能ビーズ分取、抗体アレイ、マイクロアレイ、酵素アレイ、受容体結合アレイ、アレル特異的プライマー伸長、標的特異的プライマー伸長、固相結合アレイ、液相結合アレイ、蛍光共鳴移動又は放射性標識化のうち少なくとも１つによって測定される。

【００１５】

別の実施形態において、本発明は、（ａ）適切にプログラムされたコンピュータにおいて、１又は２以上の神経学的疾患を有すると疑われる患者由来の血液試料におけるＩＬ－７及びＴＮＦαの発現レベルを、参照データベースにおける参照プロファイルと比較して、前記患者プロファイルと前記参照プロファイルのそれぞれとの間の類似性の尺度を判定するステップと、（ｂ）適切にプログラムされたコンピュータにおいて、ステップ（ａ）において判定される類似性の前記尺度間の最大類似性に基づき、前記患者プロファイルに最も良くマッチする参照データベースにおける参照プロファイルを同定するステップと、（ｃ）ユーザー・インターフェース・デバイス、コンピュータ可読記憶媒体又はローカル若しくは遠隔コンピュータシステムに出力するステップ、或いは前記最大類似性又は前記患者プロファイルに最も良くマッチする前記参照データベースにおける前記参照プロファイルの前記疾患細胞試料の前記疾患を表示するステップとを含む、患者プロファイルに最も良くマッチする１又は２以上の神経学的疾患プロファイルを判定する方法も含む。一態様において、本方法は、ＩＬ７、ＴＮＦα、ＩＬ５、ＩＬ６、ＣＲＰ、ＩＬ１０、ＴＮＣ、ＩＣＡＭ１、ＦＶＩＩ、Ｉ３０９、ＴＮＦＲ１、Ａ２Ｍ、ＴＡＲＣ、エオタキシン３、ＶＣＡＭ１、ＴＰＯ、ＦＡＢＰ、ＩＬ１８、Ｂ２Ｍ、ＳＡＡ、ＰＰＹ、ＤＪ１及び／又はα－シヌクレインから選択される、血液試料から１又は２以上のマーカーの発現レベルを判定するステップをさらに含む。別の態様において、本方法は、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２又は１３のバイオマーカーを用いて、神経学的疾患を区別する。別の態様において、本方法は、感度よりも高い特異性を用いるプライマリーセッティングにおけるスクリーニングに用いられ、前記特異性は、０．９７～１．０の範囲内であり、前記感度は、０．８０～１．０の範囲内である。

【図面の簡単な説明】

【００１６】

本発明の特色及び利点のより完全な理解のために、続いて、次の添付の図面と共に本発明の詳細な説明を参照する。

【図１】２回複製した２名の対照参加者から得られるＭＳＤプラットフォームにおいてＴＨＰＯ、ＦＡＢＰ３、ＰＰＹ、ＩＬ１８及びＩ３０９をアッセイする神経変性パネル１のデータを示す図である。図示されている通り、このアッセイは高度に信頼できる。

【図２】ＡＤ対正常対照（ＮＣ）のランダムフォレストリスクスコアのボックスプロットである。

【図３】血清バイオマーカープロファイルの受信者動作特性（ＲＯＣ；receiver operati

on characteristic）プロットである。
【図４】ランダムフォレストバイオマーカーモデルから得られるジニプロットである。
【図５】血清バイオマーカープロファイルの受信者動作特性（ＲＯＣ）プロットである。
【図６】神経変性疾患間の区別における相対的プロファイルの重要性を強調するグラフである。疾患状態に亘る相対的プロファイルは変動した。
【発明を実施するための形態】
【００１７】
本発明の様々な実施形態の作製及び使用を詳細に後述するが、本発明が、多種多様な特異的な文脈において具体化され得る多くの適用可能な発明概念を提供することを認めるべきである。本明細書に記述されている具体的な実施形態は、単に本発明を作製及び使用する具体的な様式を説明するものであって、本発明の範囲の限界を定めるものではない。
【００１８】
本発明の理解を容易にするために、多数の用語を下に定義する。本明細書に定義されている用語は、本発明に関連する分野の当業者によって一般的に理解されている意義を有する。「ａ」、「ａｎ」及び「ｔｈｅ」等の用語は、単数形の実体のみを指すことを目的とせず、図解のために具体例を用いることができるその一般的クラスを含む。本明細書における用語法は、本発明の特異的な実施形態の記載に用いられるが、特許請求の範囲において概要を述べるものを除いて、その使用は、本発明の限界を定めるものではない。
【００１９】
本明細書において、語句「プライマリーケアクリニック」、「プライマリーケアセッティング」、「プライマリーケア提供者」は、医療システム内における患者のためのコンタクト／相談の主要ポイントを指すよう互換的に用いられており、患者が必要とし得る専門医と連携する。
【００２０】
本明細書において、語句「専門医」は、神経学、精神医学又はさらにより詳細には運動障害若しくは記憶障害等、特定の疾患を専門とする医療行為又は開業医を指す。
【００２１】
本明細書において、次の略語が用いられており、これらの遺伝子の哺乳類バージョンを含むことができるが、ある特定の実施形態において、これらの遺伝子は、ヒト遺伝子である：ＩＬ７　－　インターロイキン－７、ＴＮＦα　－　腫瘍壊死因子アルファ、ＩＬ５　－　インターロイキン－５、ＩＬ６　－　インターロイキン－６、ＣＲＰ　－　Ｃ反応性タンパク質、ＩＬ１０　－　インターロイキン－１０、ＴＮＣ　－　テネイシンＣ、ＩＣＡＭ１　－　細胞内接着分子１、ＦＶＩＩ　－　第ＶＩＩ因子、Ｉ３０９　－　ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド１、ＴＮＦＲ１　－　腫瘍壊死因子受容体１、Ａ２Ｍ　－　アルファ－２－ミクログロブリン、ＴＡＲＣ　－　ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド１７、エオタキシン３、ＶＣＡＭ１　－　血管細胞接着分子１、ＴＰＯ　－　甲状腺ペルオキシダーゼ、ＦＡＢＰ３　－　脂肪酸結合タンパク質３、ＩＬ１８－　インターロイキン－１８、Ｂ２Ｍ　－　ベーター２－ミクログロブリン、ＳＡＡ　－　血清　アミロイドＡ１クラスター、ＰＰＹ　－　膵臓ポリペプチド、ＤＪ１　－　パーキンソンタンパク質７、α－シヌクレイン。
【００２２】
本明細書において、語句「神経学的疾患」は、中枢神経系の疾患又は障害を指し、その多くは、例えば、ＡＤ、パーキンソン病、軽度認知機能障害（ＭＣＩ）及び認知症等、神経変性障害を含み、神経学的疾患は、多発性硬化症、ニューロパチーを含む。本発明は、初期又は完全なスクリーニングとして、パーキンソン病、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症及びダウン症候群等、他の神経変性障害からの、ＡＤの検出及びこれを区別するための特定の使用を見出す。
【００２３】
本明細書において、用語「アルツハイマー患者」、「ＡＤ患者」及び「ＡＤと診断された個体」は全て、ＡＤと診断された又はアルツハイマー病（ＡＤ）の高可能性診断を下さ

れた個体を指す。
【００２４】
本明細書において、用語「パーキンソン病患者」及び「パーキンソン病と診断された個体」は全て、ＰＤと診断された又はパーキンソン病の診断を下された個体を指す。
【００２５】
本明細書において、用語「前頭側頭型認知症」及び「前頭側頭型認知症と診断された個体」は全て、ＦＴＤと診断された又はＦＴＤの診断を下された個体を指す。
【００２６】
本明細書において、用語「レビー小体型認知症」（ＤＬＢ）及び「ＤＬＢと診断された個体」は全て、ＤＬＢと診断された又はＤＬＢの診断を下された個体を指す。
【００２７】
本明細書において、用語「ダウン症候群」（ＤＳ）及び「ダウン症候群と診断された個体」は全て、ＤＳと診断された又はＤＳの診断を下された個体を指す。
【００２８】
本明細書において、語句「神経学的疾患バイオマーカー」は、神経学的疾患診断バイオマーカーであるバイオマーカーを指す。
【００２９】
本明細書において、用語「神経学的疾患バイオマーカータンパク質」は、タンパク質バイオマーカー又は機能的にタンパク質バイオマーカーのレベルにある物質のいずれかを指す。
【００３０】
本明細書において、「診断を補助する」ための方法は、神経学的疾患（例えば、ＡＤ、ＰＤ、ＤＬＢ、ＦＴＤ、ＤＳ又はＭＣＩ）の存在又は性質に関する臨床判定をアシストする方法を指し、確定診断に関して決定的であってもそうでなくてもよい。従って、例えば、神経学的疾患の診断を補助する方法は、個体由来の血液試料における１又は２以上の神経学的疾患バイオマーカーの量を測定するステップを含むことができる。
【００３１】
本明細書において、用語「層別化」は、神経学的疾患の特色に基づく、異なるクラス又は層への個体の選別を指す。例えば、アルツハイマー病個体の集団の層別化は、疾患重症度（例えば、軽度、中等度、進行した等）に基づく該個体の割り当てに関与する。
【００３２】
本明細書において、用語「予測」は、個体が、ある特定の神経学的疾患を発症する確率が有意に増強されていることを発見することを指す。
【００３３】
本明細書において、「生体液試料」は、個体から得られる多種多様な流体試料型を指し、診断又はモニターアッセイにおいて用いることができる。生体液試料は、例えば、血液、脳脊髄液（ＣＳＦ）、尿及び生物学的起源の他の液体試料を含む。一般的に、試料は、試料におけるマーカーの解析に干渉しない限り、安定化試薬での処理、可溶化又はタンパク質若しくはポリヌクレオチド等のある特定の構成成分の濃縮に供される。
【００３４】
本明細書において、「血液試料」は、血液、好ましくは、末梢（又は循環）血に由来する生物学的試料を指す。血液試料は、例えば、全血、血清又は血漿となり得る。ある特定の実施形態において、血清は、試料を容易に利用でき、多くの場合、他のサンプリングのために得られるため、バイオマーカーの供給源として好まれ、安定的であり、必要とされる加工が少なく、よって、冷蔵機器又は電気が殆どない場所に理想的となり、容易に輸送可能であり、医療支援スタッフによって一般的に取り扱われる。
【００３５】
本明細書において、「正常」個体又は「正常」個体由来の試料は、医師によって疾患、例えば、神経学的疾患ではないと評価された又は評価される個体から得られる定量的データ、定性的データ又はその両方を指す。多くの場合、「正常」個体は、評価しようとする

個体の試料と、１、２、３、４、５、６、７、８、９又は１０歳の範囲内の同齢でもある。

【００３６】

本明細書において、用語「治療」は、特定の障害の症状の軽減、寛解及び／又は安定化並びに症状の進行遅延を指す。例えば、ＡＤの「治療」は、（１）ＡＤの１又は２以上の症状の排除、（２）ＡＤの１又は２以上の症状の低下、（３）ＡＤの症状の安定化（例えば、ＡＤのより進行したステージに進行しないこと）及び（４）ＡＤの１又は２以上の症状の発病遅延、ＡＤの１又は２以上の症状の進行（即ち、悪化）遅延及び（５）ＡＤの１又は２以上の症状の進行（即ち、悪化）遅延のうちいずれか１又は２以上を含む。

【００３７】

本明細書において、用語「倍数差」は、測定値及び参照値、例えば、ＡＤバイオマーカー、パーキンソンのバイオマーカー、認知症バイオマーカー又は神経学的疾患のうち１若しくは２以上の区別を可能にする値の間の規模の差の数的表現を指す。典型的には、倍数差は、数的参照値で数的測定値を割ることによって数学的に計算される。例えば、ＡＤバイオマーカーの測定値が２０ナノグラム／ミリリットル（ｎｇ／ｍｌ）であり、参照値が１０ｎｇ／ｍｌである場合、倍数差は２（２０／１０＝２）である。或いは、ＡＤバイオマーカーの測定値が１０ナノグラム／ミリリットル（ｎｇ／ｍｌ）であり、参照値が２０ｎｇ／ｍｌである場合、倍数差は１０／２０又は－０．５０又は－５０％である。

【００３８】

本明細書において、「参照値」は、絶対値、相対値、上及び／又は下限を有する値、値の範囲、平均的値、中央値、平均値又は特定の対照若しくはベースライン値と比較される値となり得る。一般に、参照値は、例えば、好ましくは、より初期の時点における、例えば、ＡＤ、パーキンソン病又は認知症等の神経学的疾患の個体由来の試料から得られる値、或いは検査されている個体以外の神経学的疾患患者又はＡＤ、パーキンソン病若しくは認知症と診断されていない個体である「正常」個体由来の試料から得られる値等、個々の試料値に基づく。参照値は、ＡＤ患者、パーキンソン病患者、認知症患者又は正常個体由来等、多数の試料に基づくことができる、或いは検査しようとする試料を含む又は除外する試料のプールに基づくことができる。

【００３９】

本明細書において、語句「所定の量の時間」は、統計的に有意な結果を生じる測定の間の時間の長さを記載するために用いられ、これは、神経学的疾患の疾患進行の場合、７日間、２週間、１カ月間、３カ月間、６カ月間、９カ月間、１年間、１年３カ月間、１年６カ月間、１年９カ月間、２年間、２年３カ月間、２年６カ月間、２年９カ月間、３、４、５、６、７、８、９又はさらには１０年間及びこれらの組み合わせとなり得る。

【００４０】

本明細書において、語句「認知神経科学的スクリーニング検査」又は「認知検査」は、認知状態又は機能障害を測定するための、当業者に公知の１又は２以上の検査を記載するために用いられ、４点時計描画検査、言語流暢性検査、トレイルメイキングテスト、リスト学習検査その他を挙げることができるがこれらに限定されない。当業者であれば、これらの検査を改変する仕方、同様の認知機能を測定する新たな検査を本発明による使用のために開発及び実行することができる仕方を認識及び理解する。

【００４１】

臨床治療及び管理並びに治療及び予防治験の設計に決定的に重要であるにもかかわらず、神経変性疾患の鑑別診断は困難である（Villemagne VL, Rowe CC. Long night's journey into the day: Amyloid-β imaging in Alzheimer's disease. Journal of Alzheimer's Disease. 2013;33(SUPPL. 1):S349-S359、Pyykko OT, Helisalmi S, Koivisto AM, et al. APOE4 predicts amyloid-β in cortical brain biopsy but not idiopathic normal pressure hydrocephalus. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry. 2012;83(11):1119-1124、Benadiba M, Luurtsema G, Wichert-Ana L, Buchpigel CA, Filho GB. New molecular targets for PET and SPECT imaging in neurodegenerative disease

s. Revista Brasileira de Psiquiatria. 2012;34(SUPPL2):S125-S148、McKeith IG, Fairbairn AF, Bothwell RA, et al. An evaluation of the predictive validity and inter-rater reliability of clinical diagnostic criteria for senile dementia of Lewy body type. Neurology. 1994;44(5):872-877）。前進した評価及び治療の実行のための専門的診療所に患者を紹介するために、通常、プライマリーケア提供者からの適切な紹介が必要とされる。しかし、以前の研究は、プライマリーケアセッティングにおける神経変性疾患の評価及び管理が不十分であり（Van Den Dungen P, Van Marwijk HWM, Van Der Horst HE, et al. The accuracy of family physicians' dementia diagnoses at different stages of dementia: A systematic review. International Journal of Geriatric Psychiatry. 2012;27(4):342-354、Lopponen M, Raiha I, Isoaho R, Vahlberg T, Kivela S-L. Diagnosing cognitive impairment and dementia in primary health care - a more active approach is needed. Age and Ageing. November 1, 2003 2003;32(6):606-612、Belmin J, Min L, Roth C, Reuben D, Wenger N. Assessment and management of patients with cognitive impairment and dementia in primary care. Journal of Nutrition, Health and Aging. 2012;16(5):462-467、Maeck L, Haak S, Knoblauch A, Stoppe G. Dementia diagnostics in primary care: a representative 8-year follow-up study in lower saxony, Germany. Dementia & Geriatric Cognitive Disorders. 2008;25(2):127-134）、不適切な薬物療法が頻繁に投与される（Fiss T, Thyrian JR, Fendrich K, Van Den Berg N, Hoffmann W. Cognitive impairment in primary ambulatory health care: Pharmacotherapy and the use of potentially inappropriate medicine. International Journal of Geriatric Psychiatry. 2013;28(2):173-181）ことを実証する。年齢６５＋患者のための外来セッティングにおける平均医師来診期間が、およそ１８分間である（Lo A, Ryder K, Shorr RI. Relationship between patient age and duration of physician visit in ambulatory setting: Does one size fit all? Journal of the American Geriatrics Society. 2005;53(7):1162-1167）ことを考慮すると、プライマリーケア提供者は、その老齢期患者内の神経学的疾病をスクリーニングし、その結果、専門医への適切な紹介を行うための迅速且つ対費用効果の高い方法を切実に必要とする。

【００４２】

プライマリーケアクリニックのセッティング内で実行することができる血液に基づくスクリーニングツールの有効性は、重大な意味を有する。臨床観点から、調査した医師の半数未満が、神経変性疾患のスクリーニングが重要であると考えていたが、一般大衆及び介護者の大多数は、斯かるスクリーニングが極めて重要であると考えていた（Bond J, Graham N, Padovani A, MacKell J, Knox S, Atkinson J. Screening for cognitive impairment, Alzheimer's disease and other dementias: Opinions of European caregivers, payors, physicians and the general public. Journal of Nutrition, Health and Aging. 2010;14(7):558-562）。その上、外来セッティングにおける高齢患者の平均医師来診は、２０分間未満であり（Lo A, Ryder K, Shorr RI. Relationship between patient age and duration of physician visit in ambulatory setting: Does one size fit all? Journal of the American Geriatrics Society. 2005;53(7):1162-1167）、簡易な神経学的及び認知評価であっても、利用できる時間は著しく限定される。従って、プライマリーケア提供者は、可能な神経変性疾患の前進した臨床評価のための専門医にいずれの患者を紹介するべきか判定するための方法を切実に必要とする。神経変性疾患の診断における先進神経画像処理技法（ＭＲＩ、ｆＭＲＩ、ＤＴＩ、ＰＥＴ）の有用性を実証するおびただしい量の研究が完了したが、これらは、多段階診断プロセスにおける第１のステップとして法外な費用を要する。費用及びアクセスのため、血液に基づくバイオマーカーが、神経変性疾患のリスク及び診断フローアプローチのベースラインにおける「大集団の将来の高感度スクリーニングに必須である可能性が最も高いであろう」と提案された（Schneider P, Hampel H, Buerger K. Biological marker candidates of alzheimer's disease in blood, plasma, and serum. CNS Neuroscience and Therapeutics. 2009;15(4):358-374）。例えば、ＰＥＴアミロイドーベータ（Ａβ）走査は、アルツハイマー病の診断プロセスに

おける使用のために近年ＦＤＡ認可された。試験当たり＄１，０００で（実際の費用の３分の１～１０分の１未満）ＰＥＴ　Ａβイメージングが入手できるようになり、プライマリーケアセッティング内で年間僅か百万名の高齢者がスクリーニングされるように（年齢６５＋のアメリカ人が４千万名存在する）なれば、神経変性スクリーニングのための費用は、年間十億ドル（米ドル）となる。１００ドル／人で血液に基づくスクリーニング機器を利用できるようになれば、費用は年間１億ドルとなる。検査した１５％が陽性であり、ＰＥＴ　Ａβイメージングに進む場合（１億５千万ドル）、このスクリーニング～経過観察手順の費用節減は、年間７億５千万ドルとなり、年間スクリーニングを実際に必要とするその４０分の１未満をスクリーニングする。

【００４３】

血液に基づくツールは、神経変性疾患のための多段階診断プロセスにおける第１のステップとしての役割を容易に適合させ、スクリーニング陽性を確証的診断及び治療開始のための専門医に紹介することができる。実際には、これは、がん、心臓病学、感染性疾患及びその他多くの医学分野のために既に利用されているプロセスである。

【００４４】

プライマリーケアセッティングへの専門的診療所に基づくスクリーニングの適用は、単純明快に思われるがそうではなく、下に実証される通り、前の手順はプライマリーケアセッティング内で機能しない。多段階診断プロセスにおける第１のステップとして血液に基づくスクリーニングを実行する能力は、決定的であるが、専門的診療所と比較して疾患存在の実質的により低い基準率のために非常に複雑化されており（Alzheimer's Association. 2013 Alzheimer's Disease Facts and Figures. Alzheimer's & Dementia. 2013;9(2):1-72）、このより低い基準率は、検査結果の予測精度におびただしい影響を有する。

【００４５】

別の実質的な前進は、本手順から得られる。特に、この手順は、臨床治験へのエントリーに先立つ患者のスクリーニングに利用することもできる。ＡＤの予防、進行緩徐化及び／又は治療を目標とした治療治験に対する主な妨害は、疾患の検出に利用できるバイオマーカーの欠如である（Shaw LM, Korecka M, Clark CM, Lee VM, Trojanowski JQ. Biomarkers of neurodegeneration for diagnosis and monitoring therapeutics. Nature Reviews. Drug Discovery. 2007;6(4):295-303、Thal LJ, Kantarci K, Reiman EM, et al. The role of biomarkers in clinical trials for Alzheimer disease. Alzheimer Disease & Associated Disorders. 2006;20(1):6-15）。ＡＤのための血液に基づくスクリーニングツールの検証は、試験エントリープロセスを緻密化することにより、斯かる治験の費用を有意に低下させることができる。イメージング診断（例えば、Ａβ神経画像処理）が、試験エントリーに必要とされる場合、血液検査における陽性スクリーニングのみをスクリーニングの第２段階（即ち、ＰＥＴ走査）に向かわせ、患者の同定及びスクリーニングのための費用を徹底的に低下させる。本発明のスクリーニングのための新たな方法は、より広い範囲の集団及び／又はクリニックセッティングからの患者のリクルートメント、スクリーニング及び／又は選択を容易にし、これにより、十分なサービスを受けていない患者集団に臨床治験に関与する機会を提供し、これは、以前に行われた治験の大部分の主な限界であった（Martin MA, Swider SM, Olinger T, et al. Recruitment of Mexican American adults for an intensive diabetes intervention trial. Ethnicity and Disease. 2011;21(1):7-12）。

【００４６】

本発明者らは、初めて、次の事項を実証するデータを提供する：新規手順は、高精度で神経変性疾患の間を検出及び識別することができる。疾患確認及び治療開始のための専門医提供者への特異的な紹介を導く、プライマリーケアセッティング内における第一選択スクリーニングとしての実行に利用することができる本新規手順。

【００４７】

方法。神経変性疾患患者。ＡＤ及び対照患者。３００名のＴＡＲＣＣ参加者（１５０名のＡＤ症例、１５０名の対照）由来の非絶食時血清試料を解析した。その上、同じ対象群

由来の２００種の血漿試料（１００種のＡＤ症例及び１００種の対照）を解析した。ＴＡＲＣＣプロトコールの方法論は、他の文献に記載されている（Waring S, O'Bryant, SE, Reisch, JS, Diaz-Arrastia, R, Knebl, J, Doody, R, for the Texas Alzheimer's Research Consortium. The Texas Alzheimer's Research Consortium longitudinal research cohort: Study design and baseline characteristics. Texas Public Health Journal. 2008;60(3):9-13、O'Bryant SE, Hobson V, Hall JR, et al. Brain-derived neurotrophic factor levels in alzheimer's disease. Journal of Alzheimer's Disease. 2009;17(2):337-341）。簡潔に説明すると、各参加者は、５か所の参加ＴＡＲＣＣ会場のうち１か所で、医学評価、神経心理学的検査及び採血を含む年間の標準化評価を受ける。ＡＤの診断は、心理測定的検査における正常限界内で行われるＮＩＮＣＤＳ－ＡＤＲＤＡ基準（McKhann D, Drockman, D., Folstein, M. et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group. Neurology. 1984;34:939-944）及び対照に基づく。各会場における機関審査委員会認可を得て、全参加者に対し書面によるインフォームドコンセントを得る。

【００４８】

非ＡＤ患者。ダウンの試料（Down's Samples）。カリフォルニア大学サンディエゴ校（ＵＣＳＤ）におけるアルツハイマー病協同的試験コアから、ダウン症候群（ＤＳ）と診断された１１名の男性患者から血清試料を得た。パーキンソン病試料。パーキンソン病（ＰＤ）と診断された４９名の患者（２８名の男性及び２１名の女性）から得た血清試料は、テキサス大学南西医療センター（ＵＴＳＷ）運動障害診療所から得た。レビー小体型認知症（ＤＬＢ）及び前頭側頭型認知症（ＦＴＤ）試料。１１つのＤＬＢ及び１９つのＦＴＤ試料由来の血清試料をＵＴＳＷアルツハイマー病コーディネートセンター（ＡＤＣＣ）から得た。

【００４９】

血清試料収集。次の通りにＴＡＲＣＣ及びＵＴＳＷ　ＡＤＣ血清試料を収集した：（１）非絶食時血清試料を１０ｍｌ　tiger-topチューブに収集し、（２）３０分間室温にて垂直位置で凝血させ、（３）収集１時間以内に１０分間１３００×ｇで遠心分離し、（４）１．０ｍｌアリコートの血清をクライオバイアル（cryovial）チューブに移し、（５）各アリコートにFreezerworks（商標）バーコード標識をしっかりと貼り、（６）貯蔵のため、アッセイにおいて用いるまで－８０℃フリーザー内に試料を置いた。アリコート作製及び－８０℃フリーザーにおける貯蔵に先立ち、ダウン症候群血清試料を３０００ｒｐｍで１０分間遠心分離した。

【００５０】

血漿：（１）１０ｍｌ　lavender-topチューブ内に非絶食時血液を収集し、１０～１２回穏やかに反転し、（２）収集１時間以内にチューブを１３００×ｇで１０分間遠心分離し、（３）１ｍｌアリコートをクライオバイアルチューブに移し、（４）Freezerworks（商標）バーコード標識を貼り、（５）貯蔵のために－８０℃フリーザーに置く。

【００５１】

ヒト血清アッセイ。Meso Scale Discovery（ＭＳＤ；www.mesoscale.com）社製のSECTOR Imager 2400Aにおいて、電気化学発光（ＥＣＬ）を用いたマルチプレックスバイオマーカーアッセイプラットフォームにより、全試料を２回複製してアッセイした。ＭＳＤプラットフォームは、ＡＤを含む種々のヒト疾患に関連するバイオマーカーのアッセイに広範に用いられてきた（Bjerke M, Portelius E, Minthon L, et al. Confounding factors influencing amyloid beta concentration in cerebrospinal fluid. International Journal of Alzheimer's Disease. 2010、Kounnas MZ, Danks AM, Cheng S, et al. Modulation of γ-Secretase Reduces β-Amyloid Deposition in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. Neuron. 2010;67(5):769-780、Kuhle J, Regeniter A, Leppert D, et al. A highly sensitive electrochemiluminescence immunoassay for the neurofilament heavy chain protein. Journal of Neuroimmunology. 2010;220(1-2):114-119、Oh ES, Mielke MM, Rosenberg PB, et al. Comparison of conventional ELISA with elec

trochemiluminescence technology for detection of amyloid-β in plasma. Journal of Alzheimer's Disease. 2010;21(3):769-773、Alves G, Bronnick K, Aarsland D, et al. CSF amyloid-β and tau proteins, and cognitive performance, in early and untreated Parkinson's Disease: The Norwegian ParkWest study. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry. 2010;81(10):1080-1086）。ＥＣＬ技術は、電気化学的に刺激されると光を放射する標識を用い、これは、多くの非常に低濃度の分析物の検出感度を改善する。ＥＣＬ測定は、より高感度であり、従来のＥＬＩＳＡよりも少ない容量を要するという十分に確立した特性を有し（Kuhle J, Regeniter A, Leppert D, et al. A highly sensitive electrochemiluminescence immunoassay for the neurofilament heavy chain protein. Journal of Neuroimmunology. 2010;220(1-2):114-119）、大部分のアッセイのための基準的手法である。アッセイされるマーカーは、以前に作製され、交差検証されたＡＤアルゴリズムに由来し（O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A serum protein-based algorithm for the detection of Alzheimer disease. Archives of Neurology. 2010;67(9):1077-1081、O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A Blood-Based Screening Tool for Alzheimer's Disease That Spans Serum and Plasma: Findings from TARC and ADNI. PLoS ONE. 2011;6(12):e28092、O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A blood-based algorithm for the detection of Alzheimer's disease. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. 2011;32(1):55-62）、脂肪酸結合タンパク質（ＦＡＢＰ３）、ベータ２ミクログロブリン、膵臓ポリペプチド（ＰＰＹ）、ｓＴＮＦＲ１、ＣＲＰ、ＶＣＡＭ１、トロンボポエチン（ＴＨＰＯ）、α２マクログロブリン（Ａ２Ｍ）、エオタキシン３、腫瘍壊死因子α、テネイシンＣ、ＩＬ－５、ＩＬ６、ＩＬ７、ＩＬ１０、ＩＬ１８、Ｉ３０９、第ＶII因子、ＴＡＲＣ、ＳＡＡ及びＩＣＡＭ１を含んだ。図１は、本発明のＭＳＤアッセイの信頼性を図解する。

【００５２】

統計解析。Ｒ（Ｖ 2.10）統計ソフトウェア（R_Development_Core_Team. R: A language and environment for statistical computing. 2009; www.R-project.org.）及びIBM SPSS19を用いて解析を行った。カイ二乗及びｔ検定を用いて、それぞれカテゴリー的変数（ＡＰＯＥ　ε４アレル頻度、性別、人種、民族、心血管リスク因子の存在）及び連続型変数（年齢、教育、ミニメンタルステート検査［ＭＭＳＥ］及びボックススコアの臨床認知症評点和［ＣＤＲ－ＳＢ］）に関して症例対対照を比較した。Ｂｏｘ－Ｃｏｘ変換を用いてバイオマーカーデータを変換した。Ｒパッケージランダムフォレスト（Ｖ 4.5）（Breiman L. Random forests. Machine Learning. 2001;45(1):5-32）を用いて、全ソフトウェアデフォルト設定でランダムフォレスト（ＲＦ）予測モデルを行った。ＲパッケージDiagnosisMed（V0.2.2.2）を用いて計算したＲパッケージＡＵＣ（曲線下面積）を用いて、ＲＯＣ（受信者動作特性）曲線を解析した。血清及び血漿マーカーのため訓練及び被検試料に別々に、試料をランダムに分けた。ＲＦモデルを訓練セットにおいて作成し、続いて被検試料に適用した。ロジスティック回帰を用いて、本発明者らの以前の研究（O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A serum protein-based algorithm for the detection of Alzheimer disease. Archives of Neurology. 2010;67(9):1077-1081、O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A Blood-Based Screening Tool for Alzheimer's Disease That Spans Serum and Plasma: Findings from TARC and ADNI. PLoS ONE. 2011;6(12):e28092、O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A blood-based algorithm for the detection of Alzheimer's disease. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. 2011;32(1):55-62、O'Bryant SE XG, Edwards M, Devous MD, Gupta V, Martins R, Zhang F, Barber RC for the Texas Alzheimer's Research Consortium. Biomarkers of Alzheimer's Disease Among Mexican Americans. Journal of Alzheimer's Disease. 2013, in press）と同様に、ＲＦリスクスコアと人口統計データ（即ち、年齢、性別、教育及びＡＰＯＥ４存在［あり／なし］）とを組み合わせた。ＡＤにおける斯かる変数及び認知機能不全の間のリンクを実証する以前の研究（Dickstein DL, Walsh J, Brautigam H, Stockton Jr SD, Gandy S, Hof PR. Role of vascular risk factors and vascular dysfunction in Alz

heimer's disease. Mount Sinai Journal of Medicine. 2010;77(1):82-102、Piazza F, Galimberti G, Conti E, et al. Increased tissue factor pathway inhibitor and homocysteine in Alzheimer's disease. Neurobiology of Aging. 2010、Okereke OI, Selkoe DJ, Pollak MN, et al. A profile of impaired insulin degradation in relation to late-life cognitive decline: A preliminary investigation. International Journal of Geriatric Psychiatry. 2009;24(2):177-182、van Oijen M, Hofman A, Soares HD, Koudstaal PJ, Breteler MM. Plasma Abeta(1-40) and Abeta(1-42) and the risk of dementia: a prospective case-cohort study.[see comment]. Lancet Neurology. 2006;5(8):655-660）を考慮して、臨床変数を加えて、より頑強な診断アルゴリズムを作成した。アルゴリズムをさらに緻密化するために、バイオマーカーリスクスコアを、経過観察解析の際に最適診断精度を保持したマーカーの最小セットに限定した。これらの試験の第２の目標のため、全診断群のマルチ分類のためにサポートベクターマシン（ＳＶＭ）解析を利用した。解析の第１のセット（ＡＤ　ｎ＝５１；ＮＣ　ｎ＝４９）において利用される１００例のＡＤ症例及び対照から得られるデータのランダム試料を選択し、１１例のＤＳ、４９例のＰＤ、１９例のＦＴＤ及び１１例のＤＬＢ症例と共に１２例の追加的な正常対照（ＮＣ）（６２例の合計ＮＣ）から得られる血清データと組み合わせた。５倍交差検証により、合計した組み合わせ試料においてＳＶＭ解析を行った。ＳＶＭは、決定境界を規定する決定平面の概念に基づき、主に、異なるクラス標識の症例を分離する多次元的空間に超平面を構築することにより分類タスクを行う方法である。５倍交差検証によりＳＶＭに基づく方法を用いて、試料組み合わせのための分類子を開発し、続いてこの分類子を適用して、試料組み合わせを予測した。

【００５３】

結果。本発明者らによる以前の研究と同様に、ＡＤ患者は、有意により高齢であり（ｐ＜０．００１）、より少ない年数の教育を得て（ｐ＜０．００１）、ＭＭＳＥにおいてより低くスコア化され（ｐ＜０．００１）、ＣＤＲ－ＳＢにおいてより高かった（ｐ＜０．００１）（表１を参照）。性別又は脂質異常症、糖尿病若しくは高血圧の存在の観点から群間に有意差はなかった。ＡＤ群は、ＡＰＯＥ４保因者が有意により多かったが、ＮＣ群は、肥満（ＢＭＩ３０以上）と分類された個体が有意により多かった。

【００５４】

【表１】

表 1. コホートの人口統計的特徴

	AD (N=150)	対照 (N=150)	P 値
性別(男性)	35%	31%	0.46
年齢(歳)	78.0(8.2) 57-94	70.6(8.9) 52-90	<0.001
教育(年)	14.0 (3.4) 0-22	15.6(2.7) 10-23	<0.001
APOE4 存在(あり/なし)	61%	26%	<0.001
ヒスパニック民族	5%	5%	0.61
人種(非ヒスパニック系白人)	95%	97%	0.49
MMSE	19.2(6.1) 1-30	29.4(0.9) 26-30	<0.001
CDR-SB	7.8(4.4) 1-18	0.0(0.04) 0-1	<0.001
高血圧(%あり)	56%	59%	0.73
脂質異常症(%あり)	53%	56%	0.49
糖尿病(%あり)	12%	13%	0.60
肥満(%あり)	13%	24%	0.04

【００５５】

ＥＣＬアッセイから得られる血清に基づくＲＦバイオマーカープロファイルを、被検試料に適用する場合、得られる感度（ＳＮ）は０．９０であり、特異性（ＳＰ）は０．９０であり、ＲＯＣ曲線下面積（ＡＵＣ）は０．９６であった（図２及び図３並びに表２を参照）。

【００５６】

【表２】

表 2: AD バイオマーカー感度及び特異性並びに受信者動作特性曲線下面積(AUC)の統計的結果

	AUC	感度 (95% CI)	特異性 (95% CI)
血清バイオマーカー単独	0.96	0.90 (0.81,0.95)	0.90 (0.82, 0.95)
臨床変数単独	0.85	0.77 (0.66, 0.85)	0.82 (0.72, 0.89)
バイオマーカー+臨床変数	0.98	0.95 (0.87, 0.98)	0.90 (0.81, 0.95)
省略されたバイオマーカープロファイル(8 タンパク質)	0.95	0.88 (0.79, 0.94)	0.92 (0.83, 0.96)
省略されたバイオマーカープロファイル(8 タンパク質)+臨床変数	0.98	0.92 (0.84, 0.96)	0.94 (0.87, 0.98)
血漿バイオマーカー単独	0.76	0.65 (0.46, 0.74)	0.79 (0.69, 0.95)

【００５７】

図３は、２１つの血清バイオマーカーを用いた血清バイオマーカープロファイルのためのＲＯＣプロットを示す。血漿に基づくアルゴリズムは、それぞれ０．６５、０．７９及び０．７６のＳＮ、ＳＰ及びＡＵＣという、さらにより低い精度推定値を生じた。従って、残る解析は、もっぱら血清に集中した。ＲＦバイオマーカープロファイルによるアルゴリズムへの年齢、性別、教育及びＡＰＯＥ４の包接は、ＳＮ、ＳＰ及びＡＵＣをそれぞれ０．９５、０．９０及び０．９８に増加させた（表２）。次に、ＲＦを再実行して、最小数の血清バイオマーカーによる最適化されたアルゴリズムを判定した。バイオマーカープロファイル由来の上位８つのマーカーのみを用いて（図４を参照）、それぞれ０．８８、０．９２及び０．９５のＳＮ、ＳＰ及びＡＵＣを得た（図５及び表２を参照）。年齢、性別、教育及びＡＰＯＥ４遺伝子型を加えることにより、ＳＮ、ＳＰ及びＡＵＣがそれぞれ０．９２、０．９４及び０．９８に増加した。

【００５８】

図４は、変数重要性及び差次的発現を実証する、ランダムフォレストバイオマーカーモデルから得られるジニプロットを示す。図５は、ＡＤアルゴリズムのための上位８つのバイオマーカーのみを用いたＲＯＣプロットを示す。

【００５９】

ＡＤの血液に基づくバイオマーカープロファイルを利用して、ＡＤを他の神経学的疾患から識別することができるか判定するためのＳＶＭマルチ分類子解析のため、２０３名の参加者（ＡＤ　ｎ＝５１、ＰＤ　ｎ＝４９、ＤＳ　ｎ＝１１、ＦＴＤ　ｎ＝１９、ＤＬＢ　ｎ＝１１、ＮＣ　ｎ＝６２）から得られるタンパク質アッセイにおいて解析を行った。この試料の人口統計的特徴を表３に示す。

【００６０】

【表３】

表 3: 多変量分類のための第２のコホートの人口統計的特徴

	AD N=51	PD N=49	DS N=11	FTD N=19	DLB N=11	NC N=61
年齢	78.0 (9.0)	68 (9.6)	52 (2.0)	65.8(8.8)	75.6(4.5)	70 (9.0)
教育	15.0 (3.0)	--	--	14.8(3.2)	14.8(2.8)	16.2 (2.7)
性別	22 M; 29 F	28 M; 21 F	52 M	14 M; 5 F	8 M; 3F	23 M; 38 F
注記: PD 及び DS 症例の教育に関する情報は利用できない。略語:AD、アルツハイマー病。PD、パーキンソン病。DS、ダウン症候群。FTD、前頭側頭型認知症。DLB、レビー小体認知症。NC、正常対照。						

【００６１】

図６は、神経変性疾患間の区別における相対的プロファイルの重要性を強調する。疾患状態に亘る相対的プロファイルは変動した。例えば、Ａ２Ｍ及びＦＶＩＩは、ＤＬＢ及びＦＴＤにおいて不釣合に上昇する一方、ＴＮＦαは、ＡＤにおいて不釣合に上昇し、ＰＤ及びＤＬＢにおいて最低である一方、ＰＰＹは、ＰＤにおいて最低であり、ＤＬＢにおいて最高である。ＳＶＭに基づくアルゴリズムを用いて、全タンパク質を組み合わせるバイオマーカープロファイルを作成して、全参加者を同時に分類した。驚くべきことに、ＳＶＭの全体的精度は、１００％（ＳＮ＝１．０、ＳＰ＝１．０）であり、全個体をそれぞれのカテゴリー化内に正確に分類した。

【００６２】

コミュニティーに基づくセッティングにおける血液スクリーニングの実行。「Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer’s Disease」に関する作業部会による１９９８年コンセンサス・レポート（Anonymous. Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group.[see comment][erratum appears in Neurobiol Aging 1998 May-Jun;19(3):285]. Neurobiology of Aging. 1998;19(2):109-116）は、ＡＤのための推定バイオマーカーの最低限の容認可能な性能基準に関するガイドラインを提供する。感度（ＳＮ）及び特異性（ＳＰ）が、０．８０以上となり、陽性適中率（ＰＰＶ）が８０％以上となるべきであり、９０％に近いＰＰＶが最良であると記述された。この報告は、「高い陰性適中率［ＮＰＶ］が非常に有用となるであろう」とも記述している。この助成金に関するＰＩ及びバイオインフォマティクスチームは、ＰＰＶ及びＮＰＶを含む、診断精度統計学を計算する広範な経験を有する（O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A serum protein-based algorithm for the detection of Alzheimer disease. Archives of Neurology. 2010;67(9):1077-1081、O'Bryant S, Xiao, G, Barber, R, Reisch, J, Hall, J, Cullum, CM, Doody, R, Fairchild, T, Adams, P, Wilhelmsen, K, & Diaz-Arrastia, R. A blood based algorithm for the detection of Alzheimer's disease. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. 2011;32:55-62、O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A Blood-Based Screening Tool for Alzheimer's Disease That Spans Serum and Plasma: Findings from TARC and ADNI. PLoS ONE. 2011;6(12):e28092、O'Bryant SE, Xiao G, Edwards M, et al. Biomarkers of Alzheimer's disease among Mexican Americans. Journal of Alzheimer's Disease. 2013;34(4):841-849、O'Bryant SE, Lucas JA. Estimating the predictive value of the Test of Memory Malingering: An illustrative example for clinicians. Clinical Neuropsychologist. 2006;20(3):533-540、B

auer L, O'Bryant SE, Lynch JK, McCaffrey RJ, Fisher JM. Examining the test of memory malingering trial 1 and word memory test immediate recognition as screening tools for insufficient effort. Assessment. 2007;14(3):215-222、Clark JH, Hobson VL, O'Bryant SE. Diagnostic accuracy of% retention scores on RBANS verbal memory subtests for the diagnosis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. Archives of Clinical Neuropsychology. 2010;25(4):318-326、Duff K, Humphreys Clark JD, O'Bryant SE, Mold JW, Schiffer RB, Sutker PB. Utility of the RBANS in detecting cognitive impairment associated with Alzheimer's disease: Sensitivity, specificity, and positive and negative predictive powers. Archives of Clinical Neuropsychology. 2008;23(5):603-612、Duff K, Hobson VL, Beglinger LJ, O'Bryant SE. Diagnostic accuracy of the RBANS in mild cognitive impairment: Limitations on assessing milder impairments. Archives of Clinical Neuropsychology. 2010;25(5):429-441、O'Bryant SE, Humphreys JD, Smith GE, et al. Detecting dementia with the mini-mental state examination in highly educated individuals. Archives of Neurology. 2008;65(7):963-967）。ＳＮ／ＳＰ及びＰＰＶ／ＮＰＶの間の重要な差は、後者が予測精度統計学（即ち、検査に基づき患者を診断する際に、臨床医がどの程度正確であるか）であることである。ＰＰＶ／ＮＰＶは、疾患存在の基準率に依存している（O'Bryant SE, Lucas JA, Willis FB, Smith GE, Graff-Radford NR, Ivnik RJ. Discrepancies between self-reported years of education and estimated reading level among elderly community-dwelling African-Americans: Analysis of the MOAANS data. Archives of Clinical Neuropsychology. 2007;22(3):327-332）。ＡＤに関して、特殊クリニックセッティング（specialty clinic settings）における５０％以上と比較して、コミュニティーにおける疾患存在の基準率が、年齢６５歳以上の１１％である（Alzheimer's Association. 2013 Alzheimer's Disease Facts and Figures. Alzheimer's & Dementia. 2013;9(2):1-72）ことが推定される。ＰＰＶ及びＮＰＶは、ベイズ統計学に基づき、次に概要を述べる通りに計算される。

【００６３】

【数１】

$$PPV = \frac{(SN \times BR)}{(SN \times BR) + [(1 - SP) \times RC]}$$

$$NPV = \frac{(SP \times RC)}{(SP \times RC) + [(1 - SN) \times BR]}$$

【００６４】

ＰＰＶ＝陽性適中率、ＳＮ＝感度、ＢＲ＝基準率、ＲＣ＝残る症例、ＮＰＶ＝陰性適中率、ＳＰ＝特異性。８タンパク質スクリーニング又はアルゴリズムにおいて、ＳＰを０．９８に保持した場合、ＳＮは、０．８６に下落した。コミュニティー内における１１％のＡＤ推定基準率（Alzheimer's Association. 2013 Alzheimer's Disease Facts and Figu

res. Alzheimer's & Dementia. 2013;9(2):1-72）によりＰＰＶ及びＮＰＶ計算を適用すると、本発明のスクリーニング及び／又はアルゴリズムは、非常に正確となり、コミュニティーに基づくセッティング内で、即ち、一次ポイントオブケアにおいて用いることができる。これは、ＰＰＶが３５％未満であった１９９８年コンセンサス・レポートに基づき容認可能となる最低限の要件と比較される（表４を参照）。

【００６５】

【表４】

表 4: プライマリーケアセッティングにおけるアルツハイマー病のための血液に基づくスクリーニングの診断精度			基準率=11%	
	SN	SP	PPV	NPV
本新規手順	0.86	0.98	0.84	0.98
1998 年コンセンサス・レポート最低ガイドライン (Anonymous. Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group.[see comment][erratum appears in Neurobiol Aging 1998 May-Jun;19(3):285]. Neurobiology of Aging. 1998;19(2):109-116)	0.80	0.80	0.33	0.97
本出願人らの以前の研究(O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A serum protein-based algorithm for the detection of Alzheimer disease. Archives of Neurology. 2010;67(9):1077-1081)	0.94	0.84	.42	.99
本出願人らの以前の研究(O'Bryant S, Xiao, G, Barber, R, Reisch, J, Hall, J, Cullum, CM, Doody, R, Fairchild, T, Adams, P, Wilhelmsen, K, & Diaz-Arrastia, R. A blood based algorithm for the detection of Alzheimer's disease. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. 2011;32:55-62)	0.89	0.85	0.42	0.98
本出願人らの以前の研究(O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A Blood-Based Screening Tool for Alzheimer's Disease That Spans Serum and Plasma: Findings from TARC and ADNI. PLoS ONE. 2011;6(12):e28092)	0.75	0.91	0.50	0.97
AIBL 試験(Doecke J, Laws, SM, Faux, NG, Wilson, W, Burnham, SC, Lam, CP, Mondal, A, Bedo, J, Busy, AI, Brown, B, De Ruyck, K, Ellis, KA, Fowler, C, Gupta, VB, Head, R, Macaulay, L, Pertile, K, Rowe, CC, Rembach, A, Rodrigues, M, Rumble, R, Szoeke, C, Taddei, K, Taddei, T, Trounson, B, Aimes, D, Masters, CL, Martins, RN. Blood-based protein biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease. Arch Neurol. 2012;published online)	0.85	0.85	0.41	0.98
ペプトイドアプローチ(Reddy MM, Wilson R, Wilson J, et al. Identification of candidate IgG biomarkers for alzheimer's disease via combinatorial library screening. Cell. 2011;144(1):132-142)	0.94	0.94	0.66	0.99
Laske 及び同僚(Laske C LT, Stransky E, Hoffmann N, Fallgatter AJ, Dietzsch J. . Identification of a blood-based biomarker panel for classification of Alzheimer's disease. International Journal of Neuropsychopharmacology. 2011;14(9):1147-1155)	0.94	0.80	0.37	0.99
BR=基準率、SN=感度、SP=特異性、PPV=陽性適中率、NPV=陰性適中率				

【００６６】
本発明者らの以前の研究の知見と共に、他の研究グループによる知見も比較のために含まれている。上に明確に図解されている通り、本新規手順は、おそらく、専門的診療所への紹介において容認可能な精度を有するために、プライマリーケアセッティングにおいて利用することができる唯一の手順である。プライマリーケア提供者に、専門紹介が必要であると示す際に、ペプトイドアプローチを例外として、他の試みのうち、偶然（即ち、５０％）より優れたものは存在しない。
【００６７】
【表５】

表 5: プライマリーケアセッティングにおける神経変性疾患のための血液に基づくスクリーニングの診断精度			基準率=11%	
	SN	P	PPV	NPV
本新規手順	1.0	1.0	1.0	1.0
1998 年コンセンサス・レポート最低ガイドライン(Anonymous. Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group.[see comment][erratum appears in Neurobiol Aging 1998 May-Jun;19(3):285]. Neurobiology of Aging. 1998;19(2):109-116)	0.80	0.80	0.33	0.97
BR=基準率、SN=感度、SP=特異性、PPV=陽性適中率、NPV=陰性適中率				

【００６８】
本アプローチは、全体的プロファイルの使用による神経変性疾患の同定において１００％である。母集団におけるこのような疾患の非常に低い有病率を考慮すると、プライマリーケア開業医によって為される専門医への適切な紹介には高い精度が必要とされる。
【００６９】
選択認知検査と特異的バイオマーカーとの組み合わせ。本出願人らは、その近年の研究において、分子プロファイルを神経心理学的検査実行のために作成することができ、このようなプロファイルが、検査スコアにおける分散の５０％以上を占めたことを実証する（O'Bryant SE GX, Barber RC, Cullum CM, Weiner M, Hall J, Edwards M, Grammas P, Wilhelmsen K, Doody R, Diaz-Arrastia R. Molecular neuropsychology: creation of test-specific blood biomarker algorithms. Dementia and Geriatric Cognitive Disorder

s．2013，in press）。特異的な血清に基づくバイオマーカー及び選択認知検査を組み合わせて、評価プロセスを緻密化し、診断精度を増加させることができることがさらに実証された。一例において、単一の、施行が容易である認知検査（この例においては、４点時計描画検査、但し、他の短く容易な検査、例えば、言語流暢性、トレイルメイキング、リスト学習その他を用いることもできる）と併せて、上位２つのマーカーのみを血清アルゴリズムから選択した（ＴＮＦα及びＩＬ７）。これら３項目を単一のロジスティック回帰において組み合わせると、ＮＣ（ｎ＝１５０）からの全ＡＤ（ｎ＝１５０）の区別において、９２％精度が見出された（ＳＮ＝０．９４、ＳＰ＝０．９０）。試料が軽度ＡＤ（ＣＤＲグローバルスコア１．０以下）のみに制限された場合、９４％の全体的精度（ＳＮ＝０．９４、ＳＰ＝０．８３）が見出された。最後に、そして重要なことに、試料は、非常に初期のＡＤ（ＣＤＲグローバルスコア＝０．５）のみに制限されると、９１％の全体的精度（ＳＮ＝０．９７、ＳＰ＝０．７２）をもたらした。これらの知見は、アルゴリズム全体を緻密化するための選択認知検査と特異的バイオマーカーとの組み合わせの可能性を明確に実証する。

【００７０】

要約すると、本アプローチは、（１）アルツハイマー病の検出において高度に正確であり、（２）神経変性疾患間の検出及び識別において高度に正確であり、（３）多段階診断プロセスにおける第１のステップとして、プライマリーケアセッティング内で実行することができ、（４）特異的血清バイオマーカー及び選択認知神経科学的スクリーニング評価の組み合わせは、優れた精度によりスクリーニングプロセスを緻密化することができる。

【００７１】

表６は、紹介のための専門医の選択、従って、プライマリーケアセンター又はポイントオブケアにおいて測定される２又は３以上のバイオマーカーのスクリーニング結果に基づく治療コースを示す。

【００７２】

【表６】

	スクリーニング結果		専門医紹介
プライマリーケアセッティングにおける血清スクリーニング	アルツハイマー病	➡	記憶障害専門医
	パーキンソン病	➡	運動障害専門医
	レビー小体型認知症	➡	DLB 患者のための専門的診療所
	前頭側頭型認知症	➡	FTD 患者のための専門的診療所及び精神医学の包接
	ダウン症候群	➡	神経発達疾患専門医及び遺伝子検査/カウンセリング

【００７３】

本明細書において記述されているいかなる実施形態を、本発明のいかなる方法、キット、試薬又は組成物に関して実行することもでき、逆もまた同じであることが企図される。さらに、本発明の組成物を用いて、本発明の方法を達成することができる。

【００７４】

本明細書に記載されている特定の実施形態が、例証として示されており、本発明の限定として示されていないことが理解されよう。本発明の主な特色は、本発明の範囲から逸脱することなく、様々な実施形態において用いることができる。当業者であれば、本明細書に記載されている特異的な手順の多数の均等物を認識し、或いは単なるルーチン実験法を

用いて確かめることができる。斯かる均等物は、本発明の範囲内であると考慮され、特許請求の範囲によって網羅される。

【００７５】

本明細書において言及されているあらゆる刊行物及び特許出願は、本発明が属する技術分野における当業者の技能水準を示す。あらゆる刊行物及び特許出願は、あたかも個々の刊行物又は特許出願それぞれが、ここに本明細書の一部を構成するものとしてその内容を援用すると特に且つ個々に示されているのと同じ程度まで、ここに本明細書の一部を構成するものとしてその内容を援用する。

【００７６】

単語「ａ」又は「ａｎ」の使用は、特許請求の範囲及び／又は本明細書において用語「を含む（comprising）」と併せて用いられる場合、「１」を意味することができるが、「１又は２以上」、「少なくとも１」及び「１又は１を超える」の意義とも矛盾しない。特許請求の範囲における用語「又は」の使用は、選択肢のみを指す又は選択肢が相互排他的であると明示されない限り、「及び／又は」を意味するように用いられるが、本開示は、選択肢のみ及び「及び／又は」を指す定義を支持する。本願を通して、用語「約」は、ある値が、該値の判定に用いられるデバイス、方法の固有の誤差変動、又は試験対象間に存在する変動を含むことを示すように用いられる。

【００７７】

本明細書及び特許請求の範囲において用いられている通り、単語「を含んでいる（comprising）」（並びに「を含む（comprise）」及び「を含み（comprises）」等、「を含んでいる」のいずれかの形態）、「有している」（並びに「有する」及び「有し」等、「有している」のいずれかの形態）、「含んでいる（including）」（並びに「含み（includes）」及び「含む（include）」等、「含んでいる」のいずれかの形態）又は「含有している」（並びに「含有し」及び「含有する」等、「含有している」のいずれかの形態）は、包括的又はオープンエンド型であり、追加的な列挙されていない要素又は方法ステップを除外しない。

【００７８】

用語「又はこれらの組み合わせ」は、本明細書において、この用語に先行する収載されている項目のあらゆる並べ替え及び組み合わせを指す。例えば、「Ａ、Ｂ、Ｃ又はこれらの組み合わせ」は、Ａ、Ｂ、Ｃ、ＡＢ、ＡＣ、ＢＣ又はＡＢＣのうち少なくとも１つを含むことを目的とし、特定の文脈において順序が重要である場合、ＢＡ、ＣＡ、ＣＢ、ＣＢＡ、ＢＣＡ、ＡＣＢ、ＢＡＣ又はＣＡＢも含む。この例を続けると、ＢＢ、ＡＡＡ、ＡＢ、ＢＢＣ、ＡＡＡＢＣＣＣＣ、ＣＢＢＡＡＡ、ＣＡＢＡＢＢその他等、１又は２以上の項目又は用語の反復を含有する組み合わせが明確に含まれる。当業者であれば、文脈からそれ以外のことが明らかとならない限り、典型的に、いずれかの組み合わせにおける項目又は用語の数には限界がないことを理解できよう。ある特定の実施形態において、本発明は、移行句「から本質的になる」又は「からなる」を用いることもできる方法及び組成物を含むこともできる。

【００７９】

本明細書において、限定するものではないが「約」、「実質的な」又は「実質的に」等の近似値の単語は、それにより修飾される場合、必ずしも絶対的又は完全ではないと理解される条件を指すが、当業者によって、提示される通りの条件の指定が保証されるのに十分なほど近いと考慮される。記載が変動し得る程度は、設けることができる変化の大きさに依存し、当業者に依然として、修飾された特色が、修飾前の特色の要求された特徴及び能力を未だ有していると認識させることができる。先行の記述には従うが、一般に、「約」等の近似値の単語によって修飾される本明細書における数値は、記述された値から少なくとも±１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２又は１５％変動し得る。

【００８０】

本明細書に開示及び請求されている組成物及び／又は方法は全て、本開示を踏まえて、

過度の実験法を用いることなく作製及び実施することができる。好ましい実施形態の観点から本発明の組成物及び方法を記載してきたが、当業者であれば、本発明の概念、精神及び範囲から逸脱することなく、本明細書に記載されている組成物及び／又は方法及び方法のステップ又は一連のステップに変動を適用することができることが明らかである。当業者に明らかな斯かる類似の代用物及び改変は全て、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の精神、範囲及び概念の内にあると考慮される。

【００８１】

（参考文献）

1. Villemagne VL, Rowe CC. Long night's journey into the day: Amyloid-β imaging in Alzheimer's disease. Journal of Alzheimer's Disease. 2013;33(SUPPL. 1):S349-S359.

2. Pyykko OT, Helisalmi S, Koivisto AM, et al. APOE4 predicts amyloid-β in cortical brain biopsy but not idiopathic normal pressure hydrocephalus. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry. 2012;83(11):1119-1124.

3. Benadiba M, Luurtsema G, Wichert-Ana L, Buchpigel CA, Filho GB. New molecular targets for PET and SPECT imaging in neurodegenerative diseases. Revista Brasileira de Psiquiatria. 2012;34(SUPPL2):S125-S148.

4. McKeith IG, Fairbairn AF, Bothwell RA, et al. An evaluation of the predictive validity and inter-rater reliability of clinical diagnostic criteria for senile dementia of Lewy body type. Neurology. 1994;44(5):872-877.

5. Van Den Dungen P, Van Marwijk HWM, Van Der Horst HE, et al. The accuracy of family physicians' dementia diagnoses at different stages of dementia: A systematic review. International Journal of Geriatric Psychiatry. 2012;27(4):342-354.

6. Lopponen M, Raiha I, Isoaho R, Vahlberg T, Kivela S-L. Diagnosing cognitive impairment and dementia in primary health care - a more active approach is needed. Age and Ageing. November 1, 2003 2003;32(6):606-612.

7. Belmin J, Min L, Roth C, Reuben D, Wenger N. Assessment and management of patients with cognitive impairment and dementia in primary care. Journal of Nutrition, Health and Aging. 2012;16(5):462-467.

8. Maeck L, Haak S, Knoblauch A, Stoppe G. Dementia diagnostics in primary care: a representative 8-year follow-up study in lower saxony, Germany. Dementia & Geriatric Cognitive Disorders. 2008;25(2):127-134.

9. Fiss T, Thyrian JR, Fendrich K, Van Den Berg N, Hoffmann W. Cognitive impairment in primary ambulatory health care: Pharmacotherapy and the use of potentially inappropriate medicine. International Journal of Geriatric Psychiatry. 2013;28(2):173-181.

10. Lo A, Ryder K, Shorr RI. Relationship between patient age and duration of physician visit in ambulatory setting: Does one size fit all? Journal of the American Geriatrics Society. 2005;53(7):1162-1167.

11. Bond J, Graham N, Padovani A, MacKell J, Knox S, Atkinson J. Screening for cognitive impairment, Alzheimer's disease and other dementias: Opinions of European caregivers, payors, physicians and the general public. Journal of Nutrition, Health and Aging. 2010;14(7):558-562.

12. Schneider P, Hampel H, Buerger K. Biological marker candidates of alzheimer's disease in blood, plasma, and serum. CNS Neuroscience and Therapeutics. 2009;15(4):358-374.

13. Alzheimer's Association. 2013 Alzheimer's Disease Facts and Figures. Alzheimer's & Dementia. 2013;9(2):1-72.

14. Shaw LM, Korecka M, Clark CM, Lee VM, Trojanowski JQ. Biomarkers of neurodegeneration for diagnosis and monitoring therapeutics. Nature Reviews. Drug Discov

ery. 2007;6(4):295-303.
15. Thal LJ, Kantarci K, Reiman EM, et al. The role of biomarkers in clinical trials for Alzheimer disease. Alzheimer Disease & Associated Disorders. 2006;20(1):6-15.
16. Martin MA, Swider SM, Olinger T, et al. Recruitment of Mexican American adults for an intensive diabetes intervention trial. Ethnicity and Disease. 2011;21(1):7-12.
17. O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A serum protein-based algorithm for the detection of Alzheimer disease. Archives of Neurology. 2010;67(9):1077-1081.
18. O'Bryant S, Xiao, G, Barber, R, Reisch, J, Hall, J, Cullum, CM, Doody, R, Fairchild, T, Adams, P, Wilhelmsen, K, & Diaz-Arrastia, R. A blood based algorithm for the detection of Alzheimer's disease. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. 2011;32:55-62.
19. O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A Blood-Based Screening Tool for Alzheimer's Disease That Spans Serum and Plasma: Findings from TARC and ADNI. PLoS ONE. 2011;6(12):e28092.
20. O'Bryant SE, Xiao G, Edwards M, et al. Biomarkers of Alzheimer's disease among Mexican Americans. Journal of Alzheimer's Disease. 2013;34(4):841-849.
21. Waring S, O'Bryant, SE, Reisch, JS, Diaz-Arrastia, R, Knebl, J, Doody, R, for the Texas Alzheimer's Research Consortium. The Texas Alzheimer's Research Consortium longitudinal research cohort: Study design and baseline characteristics. Texas Public Health Journal. 2008;60(3):9-13.
22. O'Bryant SE, Hobson V, Hall JR, et al. Brain-derived neurotrophic factor levels in alzheimer's disease. Journal of Alzheimer's Disease. 2009;17(2):337-341.
23. McKhann D, Drockman, D., Folstein, M. et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group. Neurology. 1984;34:939-944.
24. Bjerke M, Portelius E, Minthon L, et al. Confounding factors influencing amyloid beta concentration in cerebrospinal fluid. International Journal of Alzheimer's Disease. 2010.
25. Kounnas MZ, Danks AM, Cheng S, et al. Modulation of γ-Secretase Reduces β-Amyloid Deposition in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. Neuron. 2010;67(5):769-780.
26. Kuhle J, Regeniter A, Leppert D, et al. A highly sensitive electrochemiluminescence immunoassay for the neurofilament heavy chain protein. Journal of Neuroimmunology. 2010;220(1-2):114-119.
27. Oh ES, Mielke MM, Rosenberg PB, et al. Comparison of conventional ELISA with electrochemiluminescence technology for detection of amyloid-β in plasma. Journal of Alzheimer's Disease. 2010;21(3):769-773.
28. Alves G, Bronnick K, Aarsland D, et al. CSF amyloid-β and tau proteins, and cognitive performance, in early and untreated Parkinson's Disease: The Norwegian ParkWest study. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry. 2010;81(10):1080-1086.
29. O'Bryant SE, Xiao G, Barber R, et al. A blood-based algorithm for the detection of Alzheimer's disease. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. 2011;32(1):55-62.
30. R_Development_Core_Team. R: A language and environment for statistical computing. 2009; www.R-project.org.
31. Breiman L. Random forests. Machine Learning. 2001;45(1):5-32.
32. O'Bryant SE XG, Edwards M, Devous MD, Gupta V, Martins R, Zhang F, Barber RC for the Texas Alzheimer's Research Consortium. Biomarkers of Alzheimer's Diseas

e Among Mexican Americans. Journal of Alzheimer's Disease. 2013, in press.
33. Dickstein DL, Walsh J, Brautigam H, Stockton Jr SD, Gandy S, Hof PR. Role of vascular risk factors and vascular dysfunction in Alzheimer's disease. Mount Sinai Journal of Medicine. 2010;77(1):82-102.
34. Piazza F, Galimberti G, Conti E, et al. Increased tissue factor pathway inhibitor and homocysteine in Alzheimer's disease. Neurobiology of Aging. 2010.
35. Okereke OI, Selkoe DJ, Pollak MN, et al. A profile of impaired insulin degradation in relation to late-life cognitive decline: A preliminary investigation. International Journal of Geriatric Psychiatry. 2009;24(2):177-182.
36. van Oijen M, Hofman A, Soares HD, Koudstaal PJ, Breteler MM. Plasma Abeta(1-40) and Abeta(1-42) and the risk of dementia: a prospective case-cohort study.[see comment]. Lancet Neurology. 2006;5(8):655-660.
37. Anonymous. Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group.[see comment][erratum appears in Neurobiol Aging 1998 May-Jun;19(3):285]. Neurobiology of Aging. 1998;19(2):109-116.
38. O'Bryant SE, Lucas JA. Estimating the predictive value of the Test of Memory Malingering: An illustrative example for clinicians. Clinical Neuropsychologist. 2006;20(3):533-540.
39. Bauer L, O'Bryant SE, Lynch JK, McCaffrey RJ, Fisher JM. Examining the test of memory malingering trial 1 and word memory test immediate recognition as screening tools for insufficient effort. Assessment. 2007;14(3):215-222.
40. Clark JH, Hobson VL, O'Bryant SE. Diagnostic accuracy of% retention scores on RBANS verbal memory subtests for the diagnosis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. Archives of Clinical Neuropsychology. 2010;25(4):318-326.
41. Duff K, Humphreys Clark JD, O'Bryant SE, Mold JW, Schiffer RB, Sutker PB. Utility of the RBANS in detecting cognitive impairment associated with Alzheimer's disease: Sensitivity, specificity, and positive and negative predictive powers. Archives of Clinical Neuropsychology. 2008;23(5):603-612.
42. Duff K, Hobson VL, Beglinger LJ, O'Bryant SE. Diagnostic accuracy of the RBANS in mild cognitive impairment: Limitations on assessing milder impairments. Archives of Clinical Neuropsychology. 2010;25(5):429-441.
43. O'Bryant SE, Humphreys JD, Smith GE, et al. Detecting dementia with the mini-mental state examination in highly educated individuals. Archives of Neurology. 2008;65(7):963-967.
44. O'Bryant SE, Lucas JA, Willis FB, Smith GE, Graff-Radford NR, Ivnik RJ. Discrepancies between self-reported years of education and estimated reading level among elderly community-dwelling African-Americans: Analysis of the MOAANS data. Archives of Clinical Neuropsychology. 2007;22(3):327-332.
45. Doecke J, Laws, SM, Faux, NG, Wilson, W, Burnham, SC, Lam, CP, Mondal, A, Bedo, J, Busy, AI, Brown, B, De Ruyck, K, Ellis, KA, Fowler, C, Gupta, VB, Head, R, Macaulay, L, Pertile, K, Rowe, CC, Rembach, A, Rodrigues, M, Rumble, R, Szoeke, C, Taddei, K, Taddei, T, Trounson, B, Aimes, D, Masters, CL, Martins, RN. Blood-based protein biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease. Arch Neurol. 2012;published online.
46. Reddy MM, Wilson R, Wilson J, et al. Identification of candidate IgG biomarkers for alzheimer's disease via combinatorial library screening. Cell. 2011;144(1):132-142.
47. Laske C LT, Stransky E, Hoffmann N, Fallgatter AJ, Dietzsch J. . Identificat

ion of a blood-based biomarker panel for classification of Alzheimer's disease. International Journal of Neuropsychopharmacology. 2011;14(9):1147-1155.
48. O'Bryant SE GX, Barber RC, Cullum CM, Weiner M, Hall J, Edwards M, Grammas P, Wilhelmsen K, Doody R, Diaz-Arrastia R. Molecular neuropsychology: creation of test-specific blood biomarker algorithms. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders. 2013, in press.

【図１】

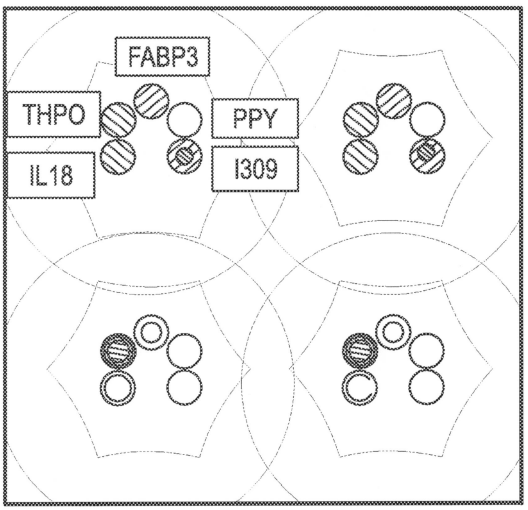

FIG. 1

【図２】

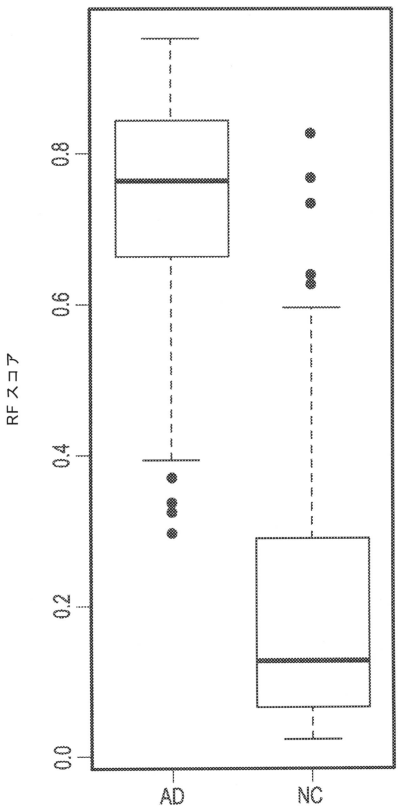

FIG. 2

【図３】

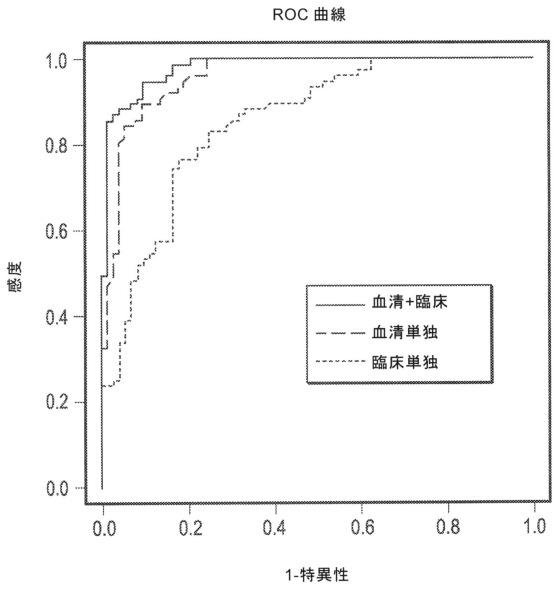

FIG. 3

【図４】

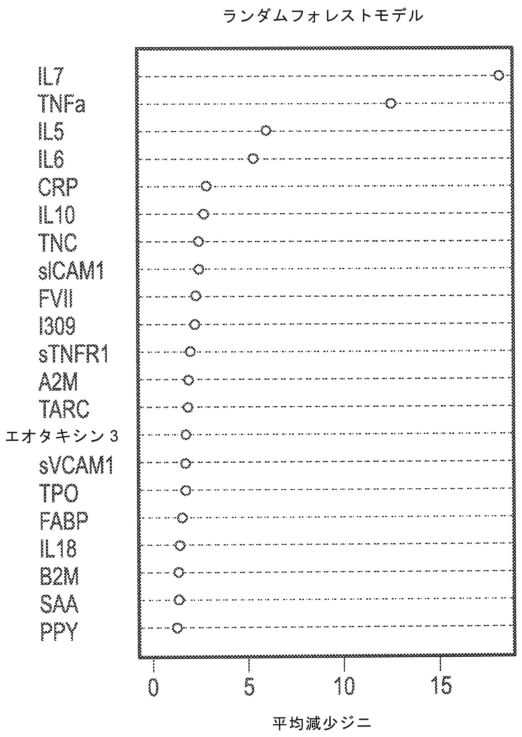

FIG. 4

【図５】

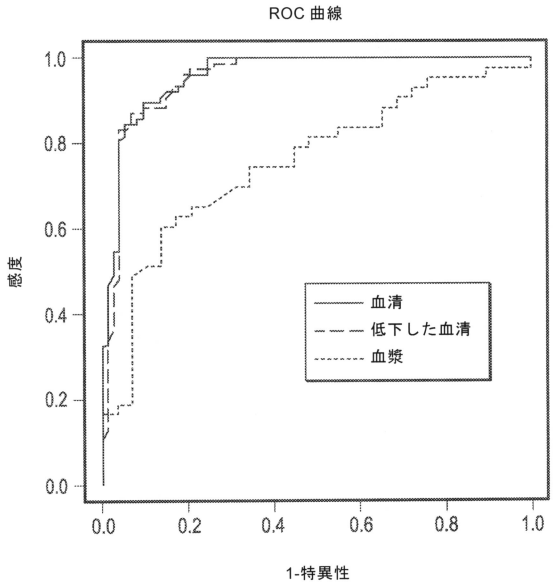

FIG. 5

【図６】

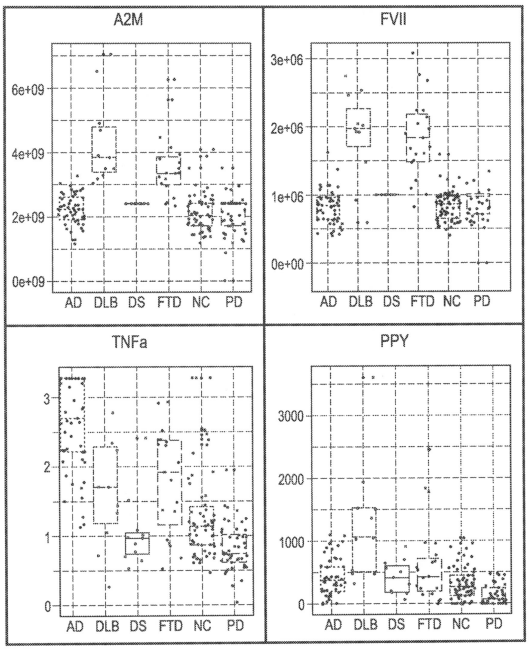

FIG. 6

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI		
G01N	*33/542*	*(2006.01)*	G01N	33/532	B
C12Q	*1/68*	*(2006.01)*	G01N	33/534	
			G01N	33/542	A
			C12Q	1/68	A

(73)特許権者 500039463
ボード・オブ・リージエンツ，ザ・ユニバーシテイ・オブ・テキサス・システム
アメリカ合衆国、テキサス・７８７０１、オーステイン、ウエスト・セブンス・ストリート・２０１
(74)代理人 100107984
弁理士 廣田 雅紀
(74)代理人 100102255
弁理士 小澤 誠次
(74)代理人 100096482
弁理士 東海 裕作
(74)代理人 100188352
弁理士 松田 一弘
(74)代理人 100131093
弁理士 堀内 真
(74)代理人 100150902
弁理士 山内 正子
(74)代理人 100141391
弁理士 園元 修一
(74)代理人 100198074
弁理士 山村 昭裕
(72)発明者 オブライアント シド イー.
アメリカ国 テキサス７６００８ アレド グリーンリーフドライブ１５１７
(72)発明者 バーバー ロバート シー.
アメリカ国 テキサス７６１２６ ベンブルック リオグランデドライブ１３０８
(72)発明者 シャオ グアンファ
アメリカ国 テキサス７５０１９ コッペル ベンチウッドレーン１９２
(72)発明者 ジャーマン ドゥワイト
アメリカ国 テキサス７５２２５ ダラス パードゥー２９１７

審査官 三木 隆

(56)参考文献 国際公開第２０１１／１４３５９７（WO，Ａ１）
国際公開第２００７／０９４４７２（WO，Ａ１）
特表２００８－５０６４１５（ＪＰ，Ａ）
特表２０１３－５１１５０６（ＪＰ，Ａ）
米国特許出願公開第２０１５／０２４１４５４（ＵＳ，Ａ１）
特表２００８－５４４２２５（ＪＰ，Ａ）
Sid E, A Blood-Based Algorithm for the Detection of Alzheimer's Disease, Dement Geriatr Cogn Disord, ２０１１年 ９月, Vol.32 No.1, Page.55-62, Published online 2011 Aug 24
O'Bryant SE, A blood-based screening tool for Alzheimer's disease that spans serum and plasma: findings from TARC and ADNI, PLoS One, ２０１１年, Vol.6 No.12, Page.e28092
Doecke James D, Blood-based protein biomarkers for diagnosis of Alzheimer disease, Arc

hives of neurology, ２０１２年１０月, Vol. 69 No. 10, Page. 1318-1325

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)

Ｇ０１Ｎ　３３／６８
Ｃ１２Ｑ　　１／６８
Ｇ０１Ｎ　３３／５３
Ｇ０１Ｎ　３３／５３２
Ｇ０１Ｎ　３３／５３３
Ｇ０１Ｎ　３３／５３４
Ｇ０１Ｎ　３３／５４２
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）