

(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2012-520469

(P2012-520469A)

(43) 公表日 平成24年9月6日(2012.9.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>G O 1 N 33/53 (2006.01)</b>	G O 1 N 33/53	D
<b>G O 1 N 33/573 (2006.01)</b>	G O 1 N 33/53	P
	G O 1 N 33/573	A
	G O 1 N 33/53	B

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 104 頁)

(21) 出願番号 特願2011-554259 (P2011-554259)  
 (86) (22) 出願日 平成22年3月12日 (2010.3.12)  
 (85) 翻訳文提出日 平成23年11月14日 (2011.11.14)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2010/027243  
 (87) 国際公開番号 W02010/105235  
 (87) 国際公開日 平成22年9月16日 (2010.9.16)  
 (31) 優先権主張番号 12/403,369  
 (32) 優先日 平成21年3月12日 (2009.3.12)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 61/237,198  
 (32) 優先日 平成21年8月26日 (2009.8.26)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 510067957  
 キャンサー・ブリヴェンション・アンド・  
 キュア, リミテッド  
 アメリカ合衆国インディアナ州46360  
 , ミシガン・シティ, ワシントン・ストリ  
 ート 105  
 (74) 代理人 100140109  
 弁理士 小野 新次郎  
 (74) 代理人 100075270  
 弁理士 小林 泰  
 (74) 代理人 100080137  
 弁理士 千葉 昭男  
 (74) 代理人 100096013  
 弁理士 富田 博行

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 性別に基づく疾病の識別・評価・予防及び治療を含む、肺病の識別・評価・予防及び治療の方法並びにそのキット

## (57) 【要約】

本発明は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のような肺疾患を診断することにおいて有用なバイオマーカー及びバイオマーカーの組合せを提供する。本発明は、更にバイオマーカー及びバイオマーカーの組合せの発現の程度に基づく、肺疾患を区別する方法、治療をモニターする方法、及び治療的介入に対する被験者の反応を予測する方法を提供する。バイオマーカー及びバイオマーカーの組合せを検出するための薬剤を含んでなるキットが、更に提供される。

【選択図】図1A

FIGURE 1A

FLUORESCENCE INTENSITY LEVEL IN THE NORMAL POPULATION									
Parameter	Age	Sex	Race	Parameter	Age	Sex	Race	Parameter	Age
AB-Schist	5751.00	55.15	42.4	MDP-3	15562.06	59.830	32.79		
EGF	5015.80	447.17	88.46	IP-10	3408.61	427.11	128.54		
IL-6	220.76	1261.87	499.13	IL-10	401.93	816.89	203.85		
PAI-1 (total)	4292.05	1273.31	27.34	MDP-8	2677.87	7303.34	53.09		
Resistin	5178.02	2254.58	71.30	MDP-2	24052.74	928.10	3.86		
Leptin	8089.08	9137.49	112.06	G-CSF	17.85	1164.65	6526.86		
VCAM-1	1017.74	600.37	59.87	aPAI-1	50.48	26.11	49.00		
MDP-15	0.50	4.35	241.43	IL-4	7225.40	6553.62	86.12		
SA	1541.52	4224.24	273.96	TGF- $\alpha$	2241.01	2823.52	111.88		
VCAM-1	3488.15	1784.70	51.36	IFN- $\gamma$	347.30	1150.62	331.31		
CD40 Ligand	161.38	122.05	119.14	MPO	1060.51	4670.11	235.10		
IL-7	552.25	2222.01	401.71	MDP-1alpha	2579.04	2074.87	104.11		
C-Peptide	8734.89	8389.22	96.10	IL-1 $\alpha$	628.86	1771.02	213.66		
MEP	616.91	413.44	63.81	VEGF	4701.40	5321.58	111.67		
CRP	10243.98	8109.54	84.92	IL-13	664.25	2012.82	202.95		
IL-1alpha	4374.13	9770.09	130.14	Resistin	1489.90	3380.72	327.32		
MDP-7	308.12	88.70	28.71	IL-10p70	1174.44	4080.10	347.40		
IL-4	2261.07	2781.85	123.82	IL-18	718.53	2976.43	362.32		
Adiponectin	24515.43	1203.90	5.36	GLP-1 (Active)	788.76	2472.64	351.49		
MDP-9	26346.58	803.64	5.83	FRACTALKINE	916.75	2204.68	258.83		
GMP-CSF	105.94	973.06	535.21	IL-2	534.85	1202.18	255.97		
MDP-12	5.29	2.18	118.31	ROTAXIN	5342.86	6613.72	186.47		
IL-15	231.18	679.77	322.65	MDP-Bone	1513.50	3354.71	254.47		
IL-17	1680.72	4323.28	251.40	aPAI-2	181.43	63.29	24.88		
IL-13p40, free	371.53	1093.36	636.36	Angiitin (Active)	1447.02	4395.31	913.16		
MDP	97.85	71.64	73.44	MDP-1	6810.22	8026.18	45.68		
TGF- $\alpha$	1785.89	3585.20	202.41	Glucagon	1869.83	4633.13	247.89		
IL-1/2	12.16	34.72	181.17	MDP-1	27869.05	945.91	3.47		
IL-6	3367.94	5905.10	189.25	SAF	24722.42	803.37	3.25		

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

被験者の生理学的特徴づけの方法であって、前記被験者の生理学的試料中の表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5 A、表 5 B、表 5 C、表 6、表 7、表 8、表 9 A、表 9 B、表 9 C、表 10、表 11、表 12、表 16 A、表 16 B、表 16 C、表 17、表 18、表 19、表 20 A、表 20 B、表 20 C、表 21、表 22、表 23、又は前記表の組合せからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなり、ここにおいて、前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度が、肺疾患の指標である、前記方法。

**【請求項 2】**

被験者の生理学的特徴づけの方法であって、前記被験者の生理学的試料中の配列番号 1 - 17 からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチドの発現の程度を決定し、そして前記被験者の生理学的試料中の表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5 A、表 5 B、表 5 C、表 6、表 7、表 8、表 9 A、表 9 B、表 9 C、表 10、表 11、表 12、表 16 A、表 16 B、表 16 C、表 17、表 18、表 19、表 20 A、表 20 B、表 20 C、表 21、表 22、表 23、又は前記表の組合せからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなり、ここにおいて、前記少なくとも一つのポリペプチドの発現の程度及び表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5 A、表 5 B、表 5 C、表 6、表 7、表 8、表 9 A、表 9 B、表 9 C、表 10、表 11、表 12、表 16 A、表 16 B、表 16 C、表 17、表 18、表 19、表 20 A、表 20 B、表 20 C、表 21、表 22、表 23、又は前記表の組合せからの前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度が、肺疾患の指標である、前記方法。

**【請求項 3】**

被験者の生理学的特徴づけの方法であって、前記被験者の生理学的試料中の配列番号 12 の発現の程度を決定することを含んでなり、ここにおいて、前記少なくとも一つのポリペプチドの発現の程度が、肺疾患の指標である、前記方法。

**【請求項 4】**

前記生理学的特徴づけが、前記被験者の生理学的試料中の表 2、表 6、表 10、表 17、又は表 21 からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる被験者の反応性気道疾患を診断することであり、ここにおいて、前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度が、反応性気道疾患の指標である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記生理学的特徴づけが、前記被験者の生理学的試料中の表 3、表 7、表 11、表 18、又は表 22 からの少なくとも一つのバイオマーカーの前記被験者中の発現の程度を決定することを含んでなる被験者の非小細胞肺癌を診断することであり、ここにおいて、前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度が、非小細胞肺癌の存在又は発症の指標である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記生理学的特徴づけが、前記被験者の生理学的試料中の表 4、表 8、表 12、表 19、又は表 23 からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる被験者の肺疾患を診断することであり、ここにおいて、前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度が肺疾患を診断することを援助する、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記少なくとも一つのバイオマーカーが、複数のバイオマーカーを含んでなる、請求項 1 - 2 及び 4 - 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記少なくとも一つのバイオマーカーが、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、又は前記表の組合せから選択され、好ましくは複数のバイオマーカーが、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、又は前記表の組合せのバイオマーカー 1 - 20 番、更に

10

20

30

40

50

好ましくはバイオマーカー 1 - 10 番から選択される複数のバイオマーカーを含んでなる、請求項 1 - 2 及び 4 - 6 に記載の方法。

【請求項 9】

更に、前記少なくとも一つのバイオマーカーが、更に表 13 B 及び / 又は表 14 B 上にも見出される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記ヒトが男性であり、そして前記バイオマーカーが、表 5 A、表 5 B、表 5 C、表 6、表 7、表 8、表 16 A、表 16 B、表 16 C、表 17、表 18、表 19、又は前記表の組合せから選択され、好ましくは複数のバイオマーカーが、表 5 A、表 5 B、表 5 C、表 6、表 7、表 8、又は前記表の組合せのバイオマーカー 1 - 20 番、更に好ましくはバイオマーカー 1 - 10 番から選択される、請求項 1 - 2 及び 4 - 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 11】

前記ヒトが女性であり、そして前記少なくとも一つのバイオマーカーが、表 9 A、表 9 B、表 9 C、表 10、表 11、表 12、表 20 A、表 20 B、表 20 C、表 21、表 22、表 23、又は前記表の組合せから選択され、好ましくは複数のバイオマーカーが、表 9 A、表 9 B、表 9 C、表 10、表 11、表 12、表 20 A、表 20 B、表 20 C、表 21、表 22、表 23、又は前記表の組合せのバイオマーカー 1 - 20 番、更に好ましくはバイオマーカー 1 - 10 番から選択される、請求項 1 - 2 及び 4 - 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 12】

更に、前記少なくとも一つのバイオマーカーが、更に表 13 A 及び / 又は表 14 A 上にも見出される、請求項 10 又は 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

更に、前記被験者の生理学的試料中の表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5 A、表 5 B、表 5 C、表 6、表 7、表 8、表 9 A、表 9 B、表 9 C、表 10、表 11、表 12、表 16 A、表 16 B、表 16 C、表 17、表 18、表 19、表 20 A、表 20 B、表 20 C、表 21、表 22、表 23 からのバイオマーカーに連結する少なくとも一つの一次相互作用物質の発現の程度を決定することを含んでなり、ここにおいて、前記少なくとも一つの一次相互作用物質の発現の程度が、肺疾患の指標である、請求項 1 - 12 のいずれか 1 項に記載の生理学的特徴づけの方法。

30

【請求項 14】

前記肺疾患が、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患である、請求項 1 - 3、及び 6 - 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

前記反応性気道疾患が、喘息である、請求項 4 又は 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記発現の程度を決定することが、定量的多重免疫アッセイを行うことである、請求項 1 - 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

前記方法が、更に前記被験者の生理学的試料を得ることを含んでなる、請求項 1 - 16 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 18】

前記生理学的試料が、血液の血清又は血漿のような生物学的流体である、請求項 1 - 17 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 19】

前記被験者が、ヒトのような哺乳動物である、請求項 1 - 18 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 20】

被験者の生理学的特徴づけの方法であって、

50

( a ) 被験者中の MMP - 8 のレベルが異常であるか否かを決定するための工程 ; 及び  
( b ) 被験者中の肝細胞増殖因子 ( HGF )、可溶性 Fas リガンド ( sFasL )、  
PAI - 1、インスリン ( INS )、上皮細胞増殖因子 ( EGF )、ミエロペルオキシダーゼ ( MPO )、マクロファージ遊走阻止因子 ( MIF )、及びこれらの組合せからなる群から選択されるバイオマーカーのレベルが、異常であるか否かを決定するための工程 ;  
を含んでなり、ここにおいて、前記バイオマーカーの異常なレベルが、肺疾患の指標である、前記方法。

【請求項 2 1】

更に、被験者中の MMP - 1 のレベルが異常であるか否かを決定するための工程を含んでなる、請求項 2 1 に記載の方法。

10

【請求項 2 2】

工程 ( b ) が、被験者中の HGF のレベルが異常であるか否かを決定することを含んでなる、請求項 2 0 又は 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 3】

被験者の生理学的特徴づけの方法であって、

( a ) 被験者中の MMP - 8 又はそれと連結する一次相互作用物質のレベルを測定し ;  
そして

( b ) 被験者中の HGF、sFasL、PAI - 1、INS、EGF、MPO、及び MIF 又はこれらと連結する一次相互作用物質からなる群から選択されるバイオマーカーのレベルを測定すること ;

20

を含んでなり、ここにおいて、前記バイオマーカー又はそれと連結する前記一次相互作用物質のレベルが異常である場合、被験者が肺疾患の増加した可能性を有する、前記方法。

【請求項 2 4】

更に、前記被験者中の MMP - 1 又はこれと連結する一次相互作用物質のレベルを測定することを含んでなり、ここにおいて、前記バイオマーカー又は前記これと連結する一次相互作用物質のレベルが異常である場合、被験者が肺疾患の増加した可能性を有する、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

工程 ( b ) が、被験者中の HGF のレベルを測定することを含んでなる、請求項 2 3 又は 2 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 2 6】

男性の被験者の生理学的特徴づけの方法であって、

( a ) 前記男性の被験体中の INS、MMP - 7、MMP - 8、レジスチン、及び / 又は HGF の少なくとも二つのバイオマーカーのレベルを決定し、 ; そして

( b ) 工程 ( a ) において決定されたレベルを、正常な被験者中の前記少なくとも二つのバイオマーカーのレベルと比較すること ;

を含んでなり、ここにおいて、前記比較は、それぞれのバイオマーカーが、前記被験者中で上方又は下方制御されているか否かを決定することを可能にし、そして更にここにおいて、INS が下方制御され、及び / 又は MMP - 7、MMP - 8、レジスチン、及び / 又は HGF が上方制御された場合、前記男性の被験者が、肺疾患を有する増加した可能性を有する、前記方法。

40

【請求項 2 7】

工程 ( a ) が、少なくとも三つ、好ましくは少なくとも四つ、更に好ましくは少なくとも五つの前記バイオマーカーのレベルを決定することを含んでなる、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

女性の被験者の生理学的特徴づけの方法であって、

( a ) 前記女性の被験者中の IL - 8、血清アミロイド P、血清アミロイド A、及び C 反応性タンパク質の少なくとも二つのレベルを決定し ; そして

( b ) 工程 ( a ) において決定されたレベルを、正常な被験者中の前記少なくとも二つ

50

のバイオマーカーのレベルと比較すること；

を含んでなり、ここにおいて、前記比較は、それぞれのバイオマーカーが、前記患者中で上方又は下方制御されているか否かを決定することを可能にし、そして更にここにおいて、IL-8及び/又は血清アミロイドPが下方制御され、及び/又は血清アミロイドA及び/又はC反応性タンパク質が上方制御された場合、前記女性の被験者が、肺疾患の増加した可能性を有する、前記方法。

【請求項29】

工程(a)が、少なくとも三つ、好ましくは少なくとも四つの前記バイオマーカーのレベルを決定することを含んでなる、請求項26に記載の方法。

【請求項30】

(a)表1A、表1B、表1C、表2、表3、表4、表5A、表5B、表5C、表6、表7、表8、表9A、表9B、表9C、表10、表11、表12、表16A、表16B、表16C、表17、表18、表19、表20A、表20B、表20C、表21、表22、表23、又は前記表の組合せから複数のバイオマーカーを選択し；(b)前記バイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し；そして(c)発現の程度を決定するための前記手段を含んでなるキットを設計すること；  
を含んでなる、被験者中の肺疾患を診断するためのキットを設計するための方法。

【請求項31】

(a)配列番号1-17からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチド、及び表1A、表1B、表1C、表2、表3、表4、表5A、表5B、表5C、表6、表7、表8、表9A、表9B、表9C、表10、表11、表12、表16A、表16B、表16C、表17、表18、表19、表20A、表20B、表20C、表21、表22、表23、又は前記表の組合せからの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し；(b)配列番号1-17からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチド、及び表1A、表1B、表1C、表2、表3、表4、表5A、表5B、表5C、表6、表7、表8、表9A、表9B、表9C、表10、表11、表12、表16A、表16B、表16C、表17、表18、表19、表20A、表20B、表20C、表21、表22、表23、又は前記表の組合せからの前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し；そして(c)前記発現の程度を決定するための前記手段を含んでなるキットを設計すること；を含んでなる、被験者中の肺疾患を診断するためのキットを設計するための方法。

【請求項32】

前記バイオマーカーが、表1A、表1B、表1C、表2、表3、表4、又は前記表の組合せから選択され、好ましくは前記バイオマーカーが、表1A、表1B、表1C、表2、表3、表4、又は前記表の組合せのバイオマーカー1-20番、更に好ましくはバイオマーカー1-10番からの複数のバイオマーカーから選択される、請求項30又は31に記載の方法。

【請求項33】

更に、表13B及び/又は表14Bから少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなる、請求項30-32のいずれか1項に記載の方法。

【請求項34】

前記被験者が男性であり、そして前記バイオマーカーが、表5A、表5B、表5C、表6、表7、表8、表16A、表16B、表16C、表17、表18、表19、又は前記表の組合せから選択され、好ましくは複数のバイオマーカーは、表5A、表5B、表5C、表6、表7、表8、表16A、表16B、表16C、表17、表18、表19、又は前記表の組合せのバイオマーカー1-20番、更に好ましくはバイオマーカー1-10番から選択される、請求項30又は31のいずれか1項に記載の方法。

【請求項35】

前記被験者が女性であり、そして前記少なくとも一つのバイオマーカーが、表9A、表9B、表9C、表10、表11、表12、表20A、表20B、表20C、表21、表2

10

20

30

40

50

2、表 2 3、又は前記表の組合せから選択され、好ましくは複数のバイオマーカーは、表 9 A、表 9 B、表 9 C、表 1 0、表 1 1、表 1 2、表 2 0 A、表 2 0 B、表 2 0 C、表 2 1、表 2 2、表 2 3、又は前記表の組合せのバイオマーカー 1 - 2 0 番、更に好ましくはバイオマーカー 1 - 1 0 番から選択される、請求項 3 0 又は 3 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 6】

更に、表 1 3 A 及び / 又は表 1 4 A から少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなる、請求項 3 5 又は 3 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 7】

表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5 A、表 5 B、表 5 C、表 6、表 7、表 8、表 9 A、表 9 B、表 9 C、表 1 0、表 1 1、表 1 2、表 1 6 A、表 1 6 B、表 1 6 C、表 1 7、表 1 8、表 1 9、表 2 0 A、表 2 0 B、表 2 0 C、表 2 1、表 2 2、表 2 3、又は前記表の組合せからの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を含んでなるキット。

10

【請求項 3 8】

( a ) 配列番号 1 - 1 7 からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチドの発現の程度を決定するための手段 ; 及び ( b ) 表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5 A、表 5 B、表 5 C、表 6、表 7、表 8、表 9 A、表 9 B、表 9 C、表 1 0、表 1 1、表 1 2、表 1 6 A、表 1 6 B、表 1 6 C、表 1 7、表 1 8、表 1 9、表 2 0 A、表 2 0 B、表 2 0 C、表 2 1、表 2 2、表 2 3、又は前記表の組合せからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を含んでなるキット。

20

【請求項 3 9】

前記少なくとも一つのバイオマーカーが、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、又は前記表の組合せから選択され、好ましくは前記バイオマーカーが、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、又は前記表の組合せのバイオマーカー 1 - 2 0 番、更に好ましくはバイオマーカー 1 - 1 0 番からの複数のバイオマーカーから選択される、請求項 3 7 又は 3 8 に記載のキット。

【請求項 4 0】

更に、表 1 3 B 及び / 又は表 1 4 B からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を含んでなる、請求項 3 7 - 3 9 のいずれか 1 項に記載のキット。

30

【請求項 4 1】

前記少なくとも一つのバイオマーカーが、表 5 A、表 5 B、表 5 C、表 6、表 7、表 8、表 1 6 A、表 1 6 B、表 1 6 C、表 1 7、表 1 8、表 1 9、又は前記表の組合せから選択され、好ましくは前記バイオマーカーは、表 5 A、表 5 B、表 5 C、表 6、表 7、表 8、表 1 6 A、表 1 6 B、表 1 6 C、表 1 7、表 1 8、表 1 9、又は前記表の組合せのバイオマーカー 1 - 2 0 番、更に好ましくはバイオマーカー 1 - 1 0 番からの複数のバイオマーカーから選択される、請求項 3 7 又は 3 8 に記載のキット。

【請求項 4 2】

前記少なくとも一つのバイオマーカーが、表 9 A、表 9 B、表 9 C、表 1 0、表 1 1、表 1 2、表 2 0 A、表 2 0 B、表 2 0 C、表 2 1、表 2 2、表 2 3、又は前記表の組合せから選択され、好ましくは前記バイオマーカーは、表 9 A、表 9 B、表 9 C、表 1 0、表 1 1、表 1 2、表 2 0 A、表 2 0 B、表 2 0 C、表 2 1、表 2 2、表 2 3、又は前記表の組合せのバイオマーカー 1 - 2 0 番、更に好ましくはバイオマーカー 1 - 1 0 番からの複数のバイオマーカーから選択される、請求項 3 7 又は 3 8 に記載のキット。

40

【請求項 4 3】

更に、表 1 3 A 及び / 又は表 1 4 A からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を含んでなる、請求項 4 1 又は 4 2 に記載のキット。

【請求項 4 4】

前記バイオマーカーがポリペプチドである、請求項 3 7 - 4 3 のいずれか 1 項に記載の

50

キット。

【請求項 4 5】

前記発現の程度を決定するための前記手段が、検出剤を含んでなる、請求項 3 7 - 4 4 のいずれか 1 項に記載のキット。

【請求項 4 6】

前記検出剤が、前記バイオマーカー又は前記ポリペプチドに特異的に結合する試薬を含んでなる、請求項 4 5 に記載のキット。

【請求項 4 7】

前記試薬が、抗体を含んでなる、請求項 4 6 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

(a) 技術分野

[001]本発明は、バイオマーカーを使用する、肺疾患の検出、識別、評価、予防、診断、及び治療並びにそのキットに関する。更に具体的には、本発明は、特異的バイオマーカーの発現レベルを測定し、そして定量することによる非小細胞肺癌及び反応性気道疾患の診断に関する。本発明は、更に、ヒトの血清又は他の生物学的流体中に存在するバイオマーカーの識別にも関し、これは、正常な集団中に見出されるものと異なったレベルで発現することが見いだされた場合、ヒトの肺組織及びヒトの気道系に関連する病態の指標である。このような病態に伴うバイオマーカーを識別し、これらのバイオマーカーの発現レベルを定量し、そして発現レベルを正常なヒトの血清中に存在することが一般的に予測されるレベルと比較することによって、簡単な血液検査によってその進行の初期において病態の存在を検出し、そして病態の進行を特徴づけし、そして同様に病態間区別することが可能である。

20

【背景技術】

【0002】

(b) 関連する技術の説明

[002]喘息及び肺癌のような呼吸器系の病態は、数百万人のアメリカ人に影響している。事実、米国肺協会（登録商標）は、殆ど2千万人のアメリカ人が喘息に罹っていることを報告している。米国癌協会は、2007年単年で229,400人の新しい呼吸器系の癌の事例及び164,840人の呼吸器系の癌による死亡を推定した。癌がまだ局所的である間に検出された全ての癌の事例の5年間生存率は46%であるが、肺癌患者の5年間生存率は僅か13%である。それに対応して、肺癌の16%のみが疾病が広がる前に発見されている。肺癌は、一般的に癌細胞の病態に基づいて二つの主要な型に分類される。それぞれの型は、癌性となるために形質転換される細胞の型によって命名される。小細胞肺癌は、ヒトの肺組織の小細胞に由来し、一方非小細胞肺癌は、一般的に小細胞型ではない全ての肺癌を包含する。非小細胞肺癌は、治療が全ての非小細胞型のために一般的に同一であるために、一緒に分類される。更に、非小細胞肺癌、全体として、NSCLCは、全ての肺癌の約75%を構成する。

30

【0003】

40

[003]肺癌患者の低い生存率の主要な因子は、肺癌を初期に診断することが困難であるという事実である。肺癌を診断する、又はヒトにおけるその存在を識別する現時点の方法は、腫瘍の存在又は非存在を物理的に決定するための、肺のX-線の撮影、コンピューター化断層撮影(CT)走査及び同様な試験に制限される。従って、肺癌の診断は、しばしば有意な時間存在する症状に応じてのみ、そして疾病が物理的に検出可能な集団を生じるために十分に長くヒト中に存在した後に行われている。

【0004】

[004]同様に、喘息を検出する現時点の方法は、典型的には再発性の喘鳴、咳、及び胸部絞扼感のような長期の症状の提示後に行われる。喘息を検出する現時点の方法は、典型的には、肺活量測定又は負荷試験のような肺の機能試験に限定される。更に、これらの試

50

験は、しばしば他の病態又は慢性閉塞性肺疾患（COPD）、気管支炎、肺炎、及び鬱血性心不全のような反応性気道疾患を除外するための多くの他の試験と共に行うように医師によって指示される。

【0005】

[005]その発症の初期にヒトの肺組織の病態を診断する簡単な信頼性のある方法は、当技術において存在しない。更に、特定の肺組織の病態の存在を示すことが可能である今日使用可能な血液試験は存在しない。従って、肺癌の存在をその疾病の進行の初期に決定するための方法を開発することが好ましい。喘息及び非小細胞肺癌を診断し、そしてこれらを互いに、そして感染のような他の肺疾患と、症状の初期の出現において区別するための方法を開発することも同様に好ましい。発現の相対的強度が変化した場合、非小細胞肺癌及び/又は反応性気道疾患の存在の指標であるヒトの血液中に存在する特異的タンパク質を識別することが更に好ましい。

10

【発明の概要】

【0006】

[006]本発明は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のような肺疾患に関する被験者の生理学的状態を特徴づけるために有用である多くのバイオマーカーを識別する。これらのバイオマーカーは、表1から23において示される。

【0007】

[007]表1Aは、その発現レベルが、一つ又はそれより多い肺の疾患を持つ個体において測定された場合に、正常な個体におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表1Bは、その発現レベルが、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のいずれかを持つ個体において測定された場合に、正常な個体におけるレベルと異なり、そして非小細胞肺癌及び反応性気道疾患の間に異なった発現レベルを示すことが見いだされたバイオマーカーを記載する。表1Cは、その発現が、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を持つ個体において測定された場合に、正常な個体におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。

20

【0008】

[008]表2は、その発現が、反応性気道疾患を持つ個体において測定された場合に、正常な個体におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表3は、その発現が、非小細胞肺癌を持つ個体において測定された場合に、正常な個体におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表4は、その発現レベルが、非小細胞肺癌及び反応性気道疾患を持つ個体間で測定された場合に異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。

30

【0009】

[009]表5Aは、その発現レベルが、一つ又はそれより多い肺疾患を持つ男性において測定された場合に、正常な男性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表5Bは、その発現レベルが、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のいずれかを持つ男性において測定された場合に、正常な男性におけるレベルと異なり、そして非小細胞肺癌及び反応性気道疾患の間に異なった発現レベルを示すことが見いだされたバイオマーカーを記載する。表5Cは、その発現が、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を持つ男性において測定された場合に、正常な男性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。

40

【0010】

[010]表6は、その発現が、反応性気道疾患を持つ男性において測定された場合に、正常な男性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表7は、その発現が、非小細胞肺癌を持つ男性において測定された場合に、正常な男性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表8は、その発現レベルが、非小細胞肺癌及び反応性気道疾患を持つ男性間で異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。

【0011】

50



[011]表 9 A は、その発現レベルが、一つ又はそれより多い肺疾患を持つ女性において測定された場合に、正常な女性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表 9 B は、その発現レベルが、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のいずれかを持つ女性において測定された場合に、正常な女性におけるレベルと異なり、そして非小細胞肺癌及び反応性気道疾患の間に異なった発現レベルを示すことが見いだされたバイオマーカーを記載する。表 9 C は、その発現が、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を持つ女性において測定された場合に、正常な女性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。

#### 【 0 0 1 2 】

[012]表 1 0 は、その発現が、反応性気道疾患を持つ女性において測定された場合に、正常な女性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表 1 1 は、その発現が、非小細胞肺癌を持つ女性において測定された場合に、正常な女性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表 1 2 は、その発現レベルが、非小細胞肺癌及び反応性気道疾患を持つ女性間で異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。

10

#### 【 0 0 1 3 】

[013]表 1 3 A は、その発現が、男性及び女性の反応性気道疾患の集団間で有意に異なるバイオマーカーを記載する。表 1 3 B は、その発現が、男性及び女性の反応性気道疾患の集団間で有意に異ならないバイオマーカーを記載する。表 1 4 A は、その発現が、男性及び女性の非小細胞肺癌の集団間で有意に異なるバイオマーカーを記載する。表 1 4 B は、その発現が、男性及び女性の非小細胞肺癌の集団間で有意に異ならないバイオマーカーを記載する。表 1 5 A は、正常な集団に対する蛍光強度の相対的標準偏差によって順位づけされたバイオマーカーを記載する。表 1 5 B は、正常な女性の集団に対する蛍光強度の相対的標準偏差によって順位づけされたバイオマーカーを記載する。表 1 5 C は、正常な男性の集団に対する蛍光強度の相対的標準偏差によって順位づけされたバイオマーカーを記載する。

20

#### 【 0 0 1 4 】

[014]表 1 6 A は、その発現レベルが、一つ又はそれより多い肺疾患を持つ男性において測定した場合に、正常な男性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表 1 6 B は、その発現レベルが、正常な男性におけるレベルと、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のいずれかを持つ男性において測定された場合に異なり、そして非小細胞肺癌及び反応性気道疾患の間に異なった発現レベルを示すことが見いだされたバイオマーカーを記載する。表 1 6 C は、その発現が、非小細胞肺癌及び反応性気道疾患を持つ男性において測定された場合に、正常な男性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。

30

#### 【 0 0 1 5 】

[015]表 1 7 は、その発現が、反応性気道疾患を持つ男性において測定された場合に、正常な男性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表 1 8 は、その発現が、非小細胞肺癌を持つ男性において測定された場合に、正常な男性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表 1 9 は、その発現レベルが、非小細胞肺癌及び反応性気道疾患を持つ男性間で異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。

40

#### 【 0 0 1 6 】

[016]表 2 0 A は、その発現レベルが、一つ又はそれより多い肺疾患を持つ女性において測定された場合に、正常な女性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表 2 0 B は、その発現レベルが、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のいずれかを持つ女性において測定された場合に、正常な女性における発現レベルと異なり、そして非小細胞肺癌及び反応性気道疾患の間に異なった発現レベルを示すことが見いだされたバイオマーカーを記載する。表 2 0 C は、その発現が、非小細胞肺癌及び反応性気道疾患を持つ女性において測定された場合に、正常な女性における発現レベルと異な

50

っていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。

【0017】

[017]表21は、その発現が、反応性気道疾患を持つ女性において測定された場合に、正常な女性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表22は、その発現が、非小細胞肺癌を持つ女性において測定された場合に、正常な女性におけるレベルと異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。表23は、その発現レベルが、非小細胞肺癌及び反応性気道疾患を持つ女性間で異なっていることが見いだされたバイオマーカーを記載する。

【0018】

[018]表1-15の有意性は、スチューデントt検定を使用して決定した。表16-23の有意性は、クラスカル-ウォリス法を使用して決定した。

[019]配列番号1-17を含んでなるポリペプチドは、その発現が一つ又はそれより多い疾病により変化することが見いだされた更なるバイオマーカーである。

【0019】

[020]本発明は、これらのバイオマーカーの識別に依存する各種の診断、予測及び治療法を提供する。

[021]本発明は、被験者の生理学的試料における、表1-12又は16-23の任意の数からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる、被験者における生理学的特徴づけの方法を提供し、ここにおいて、前記の少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のような肺疾患の指標であるか、或いは非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のような肺疾患を識別することを補助することができる。本発明は、更に被験者の生理学的試料中の、表1-12又は16-23にも表れる、表13B、14B、又は15Bからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる、被験者における生理学的特徴づけの方法を提供し、好ましくは、バイオマーカーは、表1-12又は16-23の番号1-10のバイオマーカーの少なくとも一つであり、ここにおいて、前記の少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のような肺疾患の指標である。別に又は更に、これらのバイオマーカーの一次相互作用物質の発現の程度を決定することができる。

【0020】

[022]本発明は、被験者の生理学的試料中の配列番号12の発現を程度を決定することを含んでなる被験者における生理学的特徴づけの方法を提供し、ここにおいて、配列番号12の発現の程度は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のような肺疾患の指標である。

【0021】

[023]本発明は、被験者の生理学的試料中の配列番号1-17からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチドの発現を程度を決定し、そしていずれもの数の表1-12又は表16-23からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる被験者における生理学的特徴づけの方法を提供し、ここにおいて、前記少なくとも一つのポリペプチド及び前記いずれもの数の表1-12又は表16-23からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のような肺疾患の指標である。

【0022】

[024]本発明は、被験者の生理学的試料中の表2、表6、表10、表17及び表21からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる、被験者における反応性気道疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患の指標である。

【0023】

[025]本発明は、被験者の生理学的試料中の表3、表7、表11、表18、又は表22からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる、被験者における非小細胞肺癌を診断する方法を提供し、ここにおいて、前記少なくとも一つの

バイオマーカーの発現の程度は、非小細胞肺癌の存在又は発症の指標である。

【 0 0 2 4 】

[026]本発明は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の少なくとも一つの危険性がある被験者の生理学的試料中の表 4、表 8、表 1 2、表 1 9、又は表 2 3 からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の危険性がある被験者の可能性を区別することを援助するための診断法を提供し、ここにおいて、表 4、表 8、表 1 2、表 1 9、又は表 2 3 からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、前記被験者が非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の危険性にある可能性を区別することを援助する。

【 0 0 2 5 】

[027]本発明は、被験者の生理学的試料中の本明細書中に記載される少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる、治療的介入に被験者が反応するものである可能性を予測するための方法を提供し、ここにおいて、前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、前記治療的介入に対する被験者の反応を予測することを援助する。

【 0 0 2 6 】

[028]本発明は、更に被験者の生理学的試料中の本明細書中に記載される少なくとも一つのバイオマーカーの一回目の発現の程度、前記最初の決定後の時間における被験者の生理学的試料中の前記の少なくとも一つのバイオマーカーの二回目の発現の程度を決定し、そして前記一回目の発現の程度及び二回目の発現の程度を比較することを含んでなる、被験者をモニターする方法を提供する。

【 0 0 2 7 】

[029]本発明は、更に本明細書中に記載される少なくとも一つのバイオマーカーを選択し、前記の少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し、そして前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、キットを設計する方法を提供する。

【 0 0 2 8 】

[030]本発明は、更に本明細書中に記載される少なくとも一つのバイオマーカーを選択し、前記の少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤を選択し、そして前記少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤を含んでなるキットを設計することを含んでなる、キットを設計する方法を提供する。

【 0 0 2 9 】

[031]本発明は、更に本明細書中に記載される少なくとも一つのバイオマーカーを含んでなるキットを提供する。

[032]本発明は、更に配列番号 1 2 からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチドの発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを提供する。

【 0 0 3 0 】

[033]本発明は、更に配列番号 1 2 からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチドを検出するための検出剤を含んでなるキットを提供する。

[034]本発明は、更に ( a ) 配列番号 1 - 1 7 からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチドの発現の程度を決定するための手段、及び ( b ) いずれもの表 1 - 1 2 又は表 1 6 - 2 3 からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを提供する。

【 0 0 3 1 】

[035]本発明は、更に ( a ) 配列番号 1 - 1 7 からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチドを検出するための検出剤、及び ( b ) いずれもの表 1 - 1 2 又は表 1 6 - 2 3 からの少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤を含んでなるキットを提供する。

【 0 0 3 2 】

[036]本発明は、更に複数の上記表からのバイオマーカー及び / 又はポリペプチドを含

10

20

30

40

50

有するキットを提供する。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 3 3 】

[037]

【図 1 A】図 1 A は、実施例 1 からの正常な（ N O ）集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。 [038]

【図 1 B】図 1 B は、実施例 1 からの非小細胞肺癌の（ L C ）集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。

【 0 0 3 4 】

[039]

【図 1 C】図 1 C は、実施例 1 からの喘息の（ A S T ）集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。 [040]

【図 1 D】図 1 D は、実施例 1 からの L C 集団対 N O 集団、 A S T 集団対 N O 集団、及び L C 集団対 A S T 集団中のそれぞれのバイオマーカーの蛍光強度の平均における変化のパーセントを示す。

【 0 0 3 5 】

[041]

【図 1 E】図 1 E は、実施例 1 からの集団中のそれぞれのバイオマーカーに対して測定された平均蛍光強度及び変動性を比較することによって得られたスチューデント t 値に伴う確率を示し、ここで、比較された集団は、それぞれ L C 集団対 N O 集団、 A S T 集団対 N O 集団、及び L C 集団対 A S T 集団である。

【 0 0 3 6 】

[042]

【図 2 A】図 2 A は、実施例 2 からの正常な（ N O ）集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。 [043]

【図 2 B】図 2 B は、実施例 2 からの非小細胞肺癌の（ L C ）集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。

【 0 0 3 7 】

[044]

【図 2 C】図 2 C は、実施例 2 からの喘息の（ A S T ）集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。 [045]

【図 2 D】図 2 D は、実施例 2 からの L C 集団対 N O 集団、 A S T 集団対 N O 集団、及び A S T 対 L C 集団中のそれぞれのバイオマーカーの蛍光強度の平均における変化のパーセントを示す。

【 0 0 3 8 】

[046]

【図 2 E】図 2 E は、実施例 2 からの集団中のそれぞれのバイオマーカーに対して測定された平均蛍光強度及び変動性を比較することによって得られたスチューデント t 値に伴う確率を示し、ここで、比較された集団は、それぞれ L C 集団対 N O 集団、 A S T 集団対 N O 集団、及び A S T 集団対 L C 集団である。

【 0 0 3 9 】

[047]

【図 3 A】図 3 A は、実施例 3 からの正常な（ N O ）集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。 [048]

【図 3 B】図 3 B は、実施例 3 からの非小細胞肺癌の（ L C ）集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。

【 0 0 4 0 】

[049]

【図 3 C】図 3 C は、実施例 3 からの喘息の（ A S T ）集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。 [050]

【図 3 D】図 3 D は、実施例 3 からの A S T 集団対 N O 集団、L C 集団対 N O 集団、及び A S T 集団対 L C 集団中のそれぞれのバイオマーカーの蛍光強度の平均における変化のパーセントを示す。

【 0 0 4 1 】

[051]

【図 3 E】図 3 E は、実施例 3 からの集団中のそれぞれのバイオマーカーに対して測定された平均蛍光強度及び変動性を比較することによって得られたスチューデント t 値に伴う確率を示し、ここで、比較された集団は、それぞれ A S T 集団対 N O 集団、L C 集団対 N O 集団、及び A S T 対 L C 集団である。

【 0 0 4 2 】

[052]

【図 4 A】図 4 A は、実施例 3 からの正常な ( N O ) 女性の集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。 [053]

【図 4 B】図 4 B は、実施例 3 からの非小細胞肺癌の ( L C ) 女性の集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。

【 0 0 4 3 】

[054]

【図 4 C】図 4 C は、実施例 3 からの喘息の ( A S T ) 女性の集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。 [055]

【図 4 D】図 4 D は、実施例 3 からの女性の A S T 集団対 N O の集団、女性の L C 集団対 N O の集団、及び女性の A S T 集団対 L C の集団中のそれぞれのバイオマーカーの蛍光強度の平均における変化のパーセントを示す。

【 0 0 4 4 】

[056]

【図 4 E】図 4 E は、実施例 3 からの女性の集団中のそれぞれのバイオマーカーに対して測定された平均蛍光強度及び変動性を比較することによって得られたスチューデント t 値に伴う確率を示し、ここで、比較された集団は、それぞれ女性の A S T 集団対 N O 集団、女性の L C 集団対 N O 集団、及び女性の A S T 集団対 L C 集団である。

【 0 0 4 5 】

[057]

【図 5 A】図 5 A は、実施例 3 からの正常な ( N O ) 男性の集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。 [058]

【図 5 B】図 5 B は、実施例 3 からの非小細胞肺癌の ( L C ) 男性の集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。

【 0 0 4 6 】

[059]

【図 5 C】図 5 C は、実施例 3 からの喘息の ( A S T ) 男性の集団中のバイオマーカーの平均蛍光強度レベル、並びに標準偏差及び相対標準偏差を示す。 [060]

【図 5 D】図 5 D は、実施例 3 からの男性の A S T 集団対 N O 集団、男性の L C 集団対 N O 集団、及び男性の A S T 集団対 L C 集団中のそれぞれのバイオマーカーの蛍光強度の平均における変化のパーセントを示す。

【 0 0 4 7 】

[061]

【図 5 E】図 5 E は、実施例 3 からの男性の集団中のそれぞれのバイオマーカーに対して測定された平均蛍光強度及び変動性を比較することによって得られたスチューデント t 値に伴う確率を示し、ここで、比較された集団は、それぞれ男性の A S T 対 N O 集団、男性の L C 対 N O 集団、及び男性の L C 対 A S T 集団である。

【 0 0 4 8 】

[062]

【図 6 A】図 6 A は、実施例 3 からの女性の A S T 集団と比較した男性の A S T 集団、女

10

20

30

40

50

性の LC 集団と比較した男性の LC 集団、及び女性の NO 集団と比較した男性の NO 集団におけるそれぞれのバイオマーカーの蛍光強度の平均における変化のパーセントを示す。

【 0 0 4 9 】

[063]

【図 6 B】図 6 B は、実施例 3 からの男性及び女性の集団中のそれぞれのバイオマーカーに対して測定された平均蛍光強度及び変動性を比較することによって得られたスチューデント t 値に伴う確率を示し、ここで、比較された集団は、それぞれ男性及び女性の A S T 集団、男性及び女性の LC 集団、並びに男性及び女性の NO 集団である。

【 0 0 5 0 】

[064]

【図 7 A】図 7 A は、実施例 3 の LC 対 NO 女性集団、A S T 対 NO 女性集団、及び A S T 対 LC 女性集団中のそれぞれのバイオマーカーの平均濃度の変化のパーセントを示す。

【 0 0 5 1 】

[065]

【図 7 B】図 7 B は、実施例 3 の女性の集団中のそれぞれのバイオマーカーに対して測定された濃度を比較することによって計算されたクラスカル - ウォリス検定に伴う確率を示し、ここで、比較された集団は、それぞれ女性の A S T 対 NO 集団、女性の LC 対 NO 集団、及び女性の A S T 対 LC 集団である。

【 0 0 5 2 】

[066]

【図 8 A】図 8 A は、実施例 3 の男性の LC 対 NO 集団、男性の A S T 対 NO 集団、及び男性の A S T 対 LC 集団中のそれぞれのバイオマーカーの平均濃度の変化のパーセントを示す。

【 0 0 5 3 】

[067]

【図 8 B】図 8 B は、実施例 3 の男性の集団中のそれぞれのバイオマーカーに対して測定された濃度を比較することによって計算されたクラスカル - ウォリス検定に伴う確率を示し、ここで、比較された集団は、それぞれ男性の A S T 対 NO 集団、男性の LC 対 NO 集団、及び男性の A S T 対 LC 集団である。

【 0 0 5 4 】

[068]

【図 9】図 9 は、表 1 6 B のバイオマーカー間の関係を示す。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 5 5 】

[069]本発明は、性別に基づく疾病の検出、識別、評価、予防、及び診断、並びに治療を含む、バイオマーカーを使用する肺疾患の検出、識別、評価、予防、診断、及び治療の各種の方法に関する。これらの方法は、それに対する変化した発現が、非小細胞肺癌及び / 又は反応性気道疾患（例えば、喘息、慢性閉塞性肺炎、等）の指標である特異的バイオマーカーの発現の程度を決定することを含む。本発明は、更にこれらのバイオマーカーを検出するための検出剤、又はこれらのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を含んでなる各種のキットを提供する。

【 0 0 5 6 】

定義

[070]本明細書中で使用される場合、“バイオマーカー”又は“マーカー”は、生物学的系の生理学的状態の特徴的指標として客観的に測定される生物学的分子である。本開示の目的のために、生物学的分子は、イオン、小分子、ペプチド、タンパク質、翻訳後修飾を保有するペプチド及びタンパク質、ヌクレオシド、ヌクレオチド並びに RNA 及び DNA を含むポリヌクレオチド、糖タンパク質、リボタンパク質、並びにこれらの種類の分子の各種の共有結合及び非共有結合の修飾を含む。生物学的分子は、生物学的系の機能に自然な、特徴的な及び / 又は必須ないずれものこれらの実体を含む。バイオマーカーの殆ど

10

20

30

40

50

は、ポリペプチドであるが、これらは、更に mRNA 又はポリペプチドとして発現される遺伝子産物の翻訳前の形態である修飾された mRNA であることができるか、或いはこれらは、ポリペプチドの翻訳後修飾を含むことができる。

【 0 0 5 7 】

[071]本明細書中で使用される場合、“被験者”は、いずれもの動物を意味するが、しかし好ましくは、例えばヒトのような哺乳動物である。多くの態様において、被験者は、肺疾患を有する、又はそれを有する危険性があるヒトの患者であるものである。

【 0 0 5 8 】

[072]本明細書中で使用する場合、“生理学的試料”は、生物学的流体及び組織からの試料を含む。生物学的流体は、全血、血液血漿、血液血清、痰、尿、汗、リンパ液、及び肺胞洗浄液を含む。組織の試料は、固形肺組織又は他の固形組織からの生検、リンパ節の生検組織、転移巣の生検を含む。生理学的試料を得る方法は公知である。

10

【 0 0 5 9 】

[073]本明細書中で使用する場合、“治療的介入”は、一つ又はそれより多い小分子又は大分子、放射線照射、外科手術、又はこれらのいずれもの組合せのような治療剤の投与を含む。

【 0 0 6 0 】

[074]本明細書中で使用する場合、“検出剤”は、本明細書中に記載されるバイオマーカーを特異的に検出する試薬及び系を含む。検出剤は、抗体、核酸プローブ、アプタマー、レクチン、或いは特定のマーカー又は複数のマーカーに対して、対象の試料中にある特定のマーカー及び他のマーカー間を弁別するために十分な特異的親和性を有する他の試薬のような試薬、並びに先に記載したような結合又は他の方法による不動化されたりガンドを使用するセンサーを含むセンサーのような系を含む。

20

【 0 0 6 1 】

バイオマーカーの識別

[075]本発明のバイオマーカーは、二つの方法を使用して識別された。第 1 に、非小細胞肺癌及び / 又は喘息の指標であるバイオマーカーの識別は、それぞれの病態を持つと診断された集団からの患者の血漿中の 59 種の選択されたバイオマーカーの測定された発現レベルを、医師によって確認されたように、病態を持つと診断されていない集団と比較することによって行われた。この方法は、実施例 1 - 3 中に詳述される。

30

【 0 0 6 2 】

[076]第 2 に、バイオマーカーは、質量分光法を使用して識別された。非小細胞肺癌及び / 又は喘息の指標であるタンパク質の識別は、異なった生理学的状態の患者から得られた試料のトリプシンペプチド消化物の質量スペクトルのデータを比較することによって行われた。特に、データは、時間を超えて発現した断片を含有するペプチド及びタンパク質の、偽性の又はプロトン化された分子イオンのシグナルの強度の一次元のグラフ化された指示として表されるペプチド断片の質量であった。数千のタンパク質の発現レベルを比較し、17 種のタンパク質の識別を得て、これを、いずれもの診断された肺組織の病態を有しない個体の集団、医師によって診断されたように喘息を有する個体の集団、及び医師によって診断されたように非小細胞肺癌を有する個体の集団間で有意に異なった強度で発現した。この方法は、実施例 6 及び 7 中に詳述される。

40

【 0 0 6 3 】

一次相互作用物質

[077]生命を維持するために必要な多数の細胞及び生命体の生理学的機能を促進及び制御するために、生物学的分子は、互いに相互作用しなければならない。これらの相互作用は、通信の一種と考えることができる。この通信において、各種の生物学的分子は、メッセージと考えることができる。そのシグナル伝達機能の一部として、これらの分子は、他の種類の生物学的分子を含む広範囲の標的と必然的に相互作用する。

【 0 0 6 4 】

[078]相互作用する分子の一つの種類は、受容体として一般的に知られている。直接の

50

分子内相互作用のもう一つの種類は、補助因子の酵素への結合である。これらの分子内相互作用は、シグナル伝達分子のネットワークを形成し、これは一緒に作業して、細胞及び有機体の必須の生命機能を行い、そして制御する。本発明の特定のバイオマーカーは、他のバイオマーカーに生理学的に結合し、そのレベルは、特定のバイオマーカーのレベルと調和した様式で増加又は減少する。これらの他のバイオマーカーは、本発明の特定のバイオマーカーに関して“一次相互作用物質”と呼ばれる。

【0065】

[079] “一次相互作用物質”は、特定の生物学的分子と直接相互作用する分子の実体である。例えば、薬物モルヒネは、オピエート受容体と直接相互作用して、最終的に疼痛の感覚の消失をもたらす。従って、オピエート受容体は“一次相互作用物質”の定義下の一次相互作用物質である。一次相互作用物質は、これらが相互作用する通信経路における前記のバイオマーカーの上流及び下流の両方の直接の近隣物を含む。これらの実体は、タンパク質、核酸及び小分子を包含し、これらは、制約されるものではないが、直接（又は間接）制御、発現、化学反応、分子合成、結合、プロモーター結合、タンパク質修飾及び分子運搬を含む関係によって接続されていることができる。そのレベルが調和されているバイオマーカーの群は、当業者並びに生理学及び細胞生物学の知識のある者にとって公知である。実際に、特定のバイオマーカーに対する一次相互作用物質は、当技術において既知であり、そして各種のデータベース及びARIADNE PATHWAY STUDIO, ExPASy Proteomics Server, Qlucore Omics Explorer, Protein Prospector, PQuad, ChEMBL、等のような入手可能な生物情報学のソフトウェアを使用して見出すことができる（例えば、ARIADNE PATHWAY STUDIO, Ariadne, Inc., <www.ariadne.genomics.com>又はChEMBL Database, European Bioinformatics Institute, European Molecular Biology Laboratory, <www.ebi.ac.uk>を参照されたい）。

10

20

【0066】

[080] 本発明の特定のバイオマーカーのレベルが異常である場合、その発現が特定のバイオマーカーと調和する一次相互作用物質のレベルも更に異常である。従って、特定のバイオマーカーのレベルが異常であることの決定は、それと調和する一次相互作用物質のレベルを測定することによって達成することができる。当業者は、もちろん特定のバイオマーカーの代わりに、又はそれに加えて使用された一次相互作用物質のレベルが、特定のバイオマーカーの挙動と一致して、規定された、そして再現可能な方法で変化するものであることを確認するものである。

30

【0067】

[081] 本発明は、いずれもの本明細書中に記載される方法に対して、特定のバイオマーカーと共に行われる方法を、別の方法として、その特定のバイオマーカーの一次相互作用物質と共に行うことができることを提供する。例えば、本発明は、HGFの発現の程度を決定することを含んでなる、生理学的特徴づけの方法を提供する。同様に、本発明は、更にHGFの一次相互作用物質の発現の程度を決定することを含んでなる、生理学的特徴づけの方法を提供する。HGFの一次相互作用物質は、制約されるものではないが、実施例12において規定されるものを含む。

40

【0068】

有意なバイオマーカーを規定する表

[082] 表1Aは、その発現レベルが、AST対NO集団、LC対NO集団及びAST対LC集団間の少なくとも一つで、有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。

【0069】



【表 1 A】

表 1 A

肺疾患に対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	IL-13	28	MMP-12
2	I-TAC	29	PAI-1
3	MCP-1	30	アミリン (全体)
4	MMP-1	31	IL-1 $\alpha$
5	MPO	32	sFSI
6	HGF	33	IL-4
7	エオタキシン	34	MIP-1 $\beta$
8	MMP-9	35	IL-10
9	MMP-7	36	SE-セ렉チン
10	IP-10	37	IL-17
11	SAA	38	GM-CSF
12	レジスチン	39	G-CSF
13	IL-5	40	TGF- $\alpha$
14	レプチン	41	IFN- $\gamma$
15	sVCAM-1	42	フラクタルカイン
16	アジポネクチン	43	VEGF
17	CRP	44	IL-7
18	C-ペプチド	45	IL-12 (p40)
19	MMP-3	46	Sfas
20	SAP	47	MIF
21	IL-1ra	48	IL-1 $\beta$
22	IL-15	49	IL-2
23	EGF	50	MIP-1 $\alpha$
24	IL12 (p70)	51	インスリン
25	MMP-8	52	GLP-1
26	IL-8	53	sCD40 リガンド
27	IL-6		

10

20

30

40

【 0 0 7 0 】

[083]表 1 B は、その発現レベルが、A S T 対 N O 集団、L C 対 N O 集団、及び A S T 対 L C 集団間の少なくとも一つで、有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

【 0 0 7 1 】

## 【表 1 B】

表 1 B

肺疾患に対する有意な バイオマーカー	
番号	バイオマーカー
1	IL-13
2	I-TAC
3	MCP-1
4	MMP-1
5	MPO
6	HGF
7	エオタキシン
8	MMP-9
9	MMP-7
10	IP-10
11	SAA
12	レジスチン
13	IL-5
14	レプチン
15	sVCAM-1
16	アジポネクチン
17	CRP
18	C-ペプチド
19	MMP-3
20	SAP
21	IL-1ra
22	IL-15

10

20

30

## 【 0 0 7 2 】

[084]表 1 C は、その発現レベルが、A S T 対 N O 集団及び L C 対 N O 集団間の少なくとも一つで、有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

40

## 【 0 0 7 3 】

## 【表 1 C】

表 1 C

肺疾患に対する 有意な バイオマーカー	
番号	バイオマーカー
1	EGF
2	IL12 (p70)
3	IL-8
4	IL-6
5	MMP-12
6	PAI-1
7	アミリン (全体)
8	IL-4
9	MIP-1 $\beta$
10	IL-10
11	SE-セレクチン
12	IL-17
13	GM-CSF
14	G-CSF
15	TGF- $\alpha$
16	IFN- $\gamma$
17	フラクタルカイン
18	VEGF
19	IL-12 (p40)
20	IL-7
21	インスリン

10

20

30

## 【 0 0 7 4 】

[085]表 2 は、その発現レベルが、A S T 対 N O 集団間で有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

40

## 【 0 0 7 5 】

【表 2】

表 2

反応性気道疾患を示す 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	IL-13	24	IL-7
2	I-TAC	25	sVCAM-1
3	EGF	26	SE-セ렉チン
4	MCP-1	27	レプチン
5	HGF	28	アジポネクチン
6	MPO	29	IL-17
7	IL12 (p70)	30	CRP
8	MMP-9	31	GM-CSF
9	IL-8	32	MIP-1 $\beta$
10	エオタキシン	33	TGF- $\alpha$
11	IL-6	34	IL-10
12	IP-10	35	フラクタルカイン
13	IL-1 $\alpha$	36	IFN- $\gamma$
14	PAI-1	37	C-ペプチド
15	レジスチン	38	VEGF
16	sFSI	39	G-CSF
17	IL-5	40	IL-1ra
18	アミリン (全体)	41	IL-15
19	MMP-1	42	MMP-3
20	MMP-12	43	IL-12 (p40)
21	IL-4	44	SAP
22	SAA	45	インスリン
23	MMP-7		

10

20

30

## 【 0 0 7 6 】

[086]表 3 は、その発現レベルが、LC 対 NO 集団間で有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

40

## 【 0 0 7 7 】

【表 3】

表 3

非小細胞肺癌（NSCLC）に対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	IL-13	25	IL-5
2	EGF	26	IL-4
3	I-TAC	27	レプチン
4	MMP-1	28	SE-セレクチン
5	IL12 (p70)	29	MIP-1 $\alpha$
6	エオタキシン	30	C-ペプチド
7	MMP-8	31	IL-1ra
8	MCP-1	32	SAP
9	MPO	33	G-CSF
10	IP-10	34	IL-17
11	SAA	35	MMP-3
12	HGF	36	IFN- $\gamma$
13	MMP-9	37	TGF- $\alpha$
14	MMP-12	38	sVCAM-1
15	アミリン (全体)	39	IL-15
16	PAI-1	40	GM-CSF
17	MMP-7	41	フラクタルカイン
18	IL-6	42	IL-1 $\beta$
19	MIP-1 $\beta$	43	VEGF
20	アジポネクチン	44	GLP-1
21	IL-10	45	IL-7
22	CRP	46	インスリン
23	レジスチン	47	IL-12 (p40)
24	MIF	48	IL-8

【 0 0 7 8 】

[087]表 4 は、その発現レベルが、A S T 対 L C 集団間で有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

【 0 0 7 9 】

10

20

30

40

【表 4】

表 4

反応性気道疾患及び NSCLC間を区別する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	MMP-7	17	MMP-3
2	MMP-1	18	IL-5
3	SAA	19	SAP
4	MMP-8	20	エオタキシン
5	IL-8	21	MMP-9
6	MCP-1	22	CRP
7	レプチン	23	アジボネクチン
8	IL-1 $\alpha$	24	IP-10
9	HGF	25	IL-1ra
10	I-TAC	26	Sfas
11	sVCAM-1	27	IL-2
12	MPO	28	IL-15
13	sFSI	29	IL12 (p70)
14	C-ペプチド	30	IL-6
15	IL-13	31	sCD40 リガンド
16	レジスチン	32	VEGF

10

20

【0080】

30

[088]表 5 A は、その発現レベルが、A S T 対 N O の男性の集団、L C 対 N O の男性の集団、及び A S T 対 L C の男性の集団間の少なくとも一つで、有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

【0081】

【表 5 A】

表 5 A

男性の集団における肺疾患に対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	I-TAC	27	IL-5
2	MPO	28	レジスチン
3	HGF	29	IL-1 $\beta$
4	MMP-1	30	IL-7
5	MMP-8	31	IL-4
6	エオタキシン	32	MIP-1 $\beta$
7	IL-8	33	レプチン
8	MMP-7	34	GM-CSF
9	PAI-1	35	G-CSF
10	IP-10	36	TGF- $\alpha$
11	sVCAM-1	37	IL-17
12	IL-10	38	CRP
13	アジポネクチン	39	IL-15
14	SAP	40	VEGF
15	IFN- $\gamma$	41	フラクタルカイン
16	IL-13	42	MMP-3
17	EGF	43	IL-12 (p40)
18	MCP-1	44	C-ペプチド
19	MIF	45	IL-1ra
20	IL-12(p70)	46	GLP-1
21	MMP-9	47	MIP-1 $\alpha$
22	IL-6	48	sFSI
23	アミリン (全体)	49	インスリン
24	SAA	50	Sfas
25	IL-1 $\alpha$	51	SE-セレクチン
26	TNF- $\alpha$	52	MMP-12

10

20

30

40

【 0 0 8 2 】

[089]表 5 B は、その発現レベルが、A S T 対 N O の男性の集団、L C 対 N O の男性の集団、及び A S T 対 L C の男性の集団間の少なくとも一つで、有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

【 0 0 8 3 】

## 【表 5 B】

表 5 B

男性の集団における 肺疾患 に対する 有意な バイオマーカー	
番号	バイオマーカー
1	I-TAC
2	MPO
3	HGF
4	MMP-1
5	MMP-8
6	エオタキシン
7	IL-8
8	MMP-7
9	PAI-1
10	IP-10
11	sVCAM-1
12	IL-10
13	アジポネクチン
14	SAP
15	IFN- $\gamma$

10

20

30

## 【 0 0 8 4 】

[090]表 5 C は、その発現レベルが、A S T 対 N O の男性の集団及び L C 対 N O の男性の集団間の少なくとも一つで、有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

## 【 0 0 8 5 】



## 【表 5 C】

表 5 C

男性の集団における 肺疾患に対する 有意な バイオマーカー	
番号	バイオマーカー
1	IL-13
2	EGF
3	MCP-1
4	MIF
5	IL-12(p70)
6	MMP-9
7	IL-6
8	TNF- $\alpha$
9	IL-5
10	レジスチン
11	IL-1 $\beta$
12	IL-7
13	IL-4
14	MIP-1 $\beta$
15	レプチン
16	GM-CSF
17	G-CSF
18	TGF- $\alpha$
19	IL-17
20	IL-15
21	VEGF
22	フラクタルカイン
23	IL-12 (p40)
24	MIP-1 $\alpha$

10

20

30

40

## 【 0 0 8 6 】

[091]表 6 は、その発現レベルが、A S T 対 N O の男性の集団間で有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

## 【 0 0 8 7 】

【表 6】

表 6

男性の集団における 反応性気道疾患に対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	IL-13	23	IL-4
2	I-TAC	24	IP-10
3	MPO	25	MIP-1 $\beta$
4	HGF	26	GM-CSF
5	EGF	27	G-CSF
6	MCP-1	28	TGF- $\alpha$
7	IL-8	29	レプチン
8	MIF	30	IL-17
9	IL-6	31	sVCAM-1
10	MMP-9	32	GLP-1
11	IL-12(p70)	33	IL-15
12	エオタキシン	34	MMP-7
13	IL-1 $\alpha$	35	VEGF
14	PAI-1	36	IL-10
15	MMP-8	37	フラクタルカイン
16	TNF- $\alpha$	38	IL-12 (p40)
17	IL-5	39	IFN- $\gamma$
18	MMP-1	40	アジボネクチン
19	IL-1 $\beta$	41	SE-セレクチン
20	sFSI	42	SAP
21	レジスチン	43	MIP-1 $\alpha$
22	IL-7		

10

20

30

【 0 0 8 8 】

[092]表 7 は、その発現レベルが、LC 対 NO の男性の集団間で有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

40

【 0 0 8 9 】

【表 7】

表 7

男性の集団における NSCLCに対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	IL-13	25	CRP
2	I-TAC	26	IL-10
3	EGF	27	アジポネクチン
4	MPO	28	IL-7
5	HGF	29	IL-4
6	MMP-1	30	MMP-3
7	MMP-8	31	G-CSF
8	MIF	32	MIP-1 $\alpha$
9	エオタキシン	33	IL-17
10	IL-12(p70)	34	IFN- $\gamma$
11	MCP-1	35	IL-1ra
12	MMP-9	36	C-ペプチド
13	PAI-1	37	TGF- $\alpha$
14	SAA	38	IL-15
15	IP-10	39	フラクタルカイン
16	アミリン (全体)	40	IL-1 $\beta$
17	MMP-7	41	GM-CSF
18	レジスチン	42	sVCAM-1
19	IL-6	43	SAP
20	MIP-1 $\beta$	44	VEGF
21	TNF- $\alpha$	45	IL-12 (p40)
22	レプチン	46	インスリン
23	IL-8	47	MMP-12
24	IL-5		

10

20

30

40

【 0 0 9 0 】

[093]表 8 は、その発現レベルが、A S T 対 L C の男性の集団間で有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

【 0 0 9 1 】

【表 8】

表 8

男性の集団における反応性気道疾患 及びNSCLC間を区別する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	MMP-1	15	SAP
2	MMP-8	16	HGF
3	MMP-7	17	C-ペプチド
4	アミリン (全体)	18	I-TAC
5	SAA	19	Sfas
6	IL-8	20	PAI-1
7	インスリン	21	IL-1ra
8	IL-1 $\alpha$	22	アジポネクチン
9	sVCAM-1	23	IFN- $\gamma$
10	IP-10	24	IL-10
11	CRP	25	GLP-1
12	MPO	26	IL-6
13	MMP-3	27	IL-13
14	エオタキシン	28	IL-15

10

20

## 【0092】

[094]表 9 A は、その発現レベルが、A S T 対 N O の女性の集団、L C 対 N O の女性の集団、及び A S T 対 L C の女性の集団間の少なくとも一つで、有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の有意性及び差の大きさに基づく降順で記載されている。

30

## 【0093】

【表 9 A】

表 9 A

女性の集団における肺疾患に対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	I-TAC	27	G-CSF
2	レプチン	28	SAP
3	IP-10	29	MMP-3
4	MMP-7	30	GM-CSF
5	SAA	31	sICAM-1
6	MPO	32	TNF- $\alpha$
7	エオタキシン	33	IL-10
8	MMP-9	34	MIP-1 $\beta$
9	アジポネクチン	35	IL-1 $\alpha$
10	CRP	36	sCD40 リガンド
11	C-ペプチド	37	IL-6
12	sVCAM-1	38	MMP-12
13	IL-15	39	MMP-2
14	IL-1ra	40	IL-5
15	IL-13	41	IL-4
16	EGF	42	Sfas
17	IL-12(p70)	43	MMP-8
18	MCP-1	44	IL-1 $\beta$
19	MMP-1	45	IL-12 (p40)
20	HGF	46	IL-2
21	IL-8	47	VEGF
22	レジスチン	48	TGF- $\alpha$
23	sFSI	49	IFN- $\gamma$
24	PAI-1	50	GLP-1
25	MIF	51	アミリン (全体)
26	SE-セレクチン	52	インスリン

10

20

30

40

【 0 0 9 4 】

[095]表 9 B は、その発現レベルが、A S T 対 N O の女性の集団、L C 対 N O の女性の集団、及び A S T 対 L C の女性の集団間で、有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

【 0 0 9 5 】

## 【表 9 B】

表 9 B

女性の集団における 肺疾患に対する 有意な バイオマーカー	
番号	バイオマーカー
1	I-TAC
2	レプチン
3	IP-10
4	MMP-7
5	SAA
6	MPO
7	エオタキシン
8	MMP-9
9	アジポネクチン
10	CRP
11	C-ペプチド
12	sVCAM-1
13	IL-15
14	IL-1ra

10

20

## 【 0 0 9 6 】

[096]表 9 C は、その発現レベルが、A S T 対 N O の女性の集団及び L C 対 N O の女性の集団間で、有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

30

## 【 0 0 9 7 】

## 【表 9 C】

表 9 C

女性の集団における 肺疾患に対する 有意な バイオマーカー	
番号	バイオマーカー
1	IL-13
2	EGF
3	IL-12(p70)
4	MCP-1
5	PAI-1
6	MIF
7	SE-セレクチン
8	G-CSF
9	GM-CSF
10	sICAM-1
11	IL-2
12	TGF- $\alpha$

10

20

## 【 0 0 9 8 】

[097]表 1 0 は、その発現レベルが、A S T 対 N O の女性の集団間で有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

30

## 【 0 0 9 9 】

## 【表 1 0】

表 1 0

女性の集団における 反応性気道疾患に対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	IL-13	24	C-ペプチド
2	I-TAC	25	IL-4
3	EGF	26	アジポネクチン
4	MCP-1	27	Sfas
5	レプチン	28	TNF- $\alpha$
6	IL-12(p70)	29	G-CSF
7	IP-10	30	MIP-1 $\beta$
8	MPO	31	MMP-3
9	HGF	32	IL-15
10	MMP-9	33	IL-12 (p40)
11	エオタキシン	34	IL-2
12	SAA	35	sICAM-1
13	レジスチン	36	IL-1 $\beta$
14	sFSI	37	GM-CSF
15	PAI-1	38	IL-1ra
16	MMP-2	39	VEGF
17	MMP-7	40	GLP-1
18	CRP	41	アミリン (全体)
19	sCD40 リガンド	42	IL-1 $\alpha$
20	MIF	43	インスリン
21	SE-セレクトイン	44	IL-6
22	sVCAM-1	45	TGF- $\alpha$
23	IL-5		

10

20

30

## 【 0 1 0 0】

[098]表 1 1 は、その発現レベルが、LC 対 NO の女性の集団間で有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

40

## 【 0 1 0 1】



## 【表 1 1】

表 1 1

女性の集団における NSCLCに対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	IL-13	17	MMP-12
2	EGF	18	MIF
3	IL-12(p70)	19	SE-セレクチン
4	I-TAC	20	PAI-1
5	SAA	21	SAP
6	IP-10	22	IL-1ra
7	MMP-1	23	C-ペプチド
8	MCP-1	24	sICAM-1
9	エオタキシン	25	sVCAM-1
10	レプチン	26	IL-15
11	MMP-9	27	G-CSF
12	アジポネクチン	28	GM-CSF
13	MMP-7	29	IFN- $\gamma$
14	MPO	30	IL-2
15	IL-8	31	TGF- $\alpha$
16	CRP		

10

20

## 【0 1 0 2】

30

[099]表 1 2 は、その発現レベルが、AST 対 LC の女性の集団間で有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

## 【0 1 0 3】

## 【表 1 2】

表 1 2

女性の集団における反応性気道疾患 及びNSCLC間を区別する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	MMP-7	16	MMP-8
2	MMP-1	17	IL-15
3	IL-8	18	SAP
4	IL-10	19	MMP-3
5	SAA	20	MMP-9
6	HGF	21	エオタキシン
7	I-TAC	22	IL-1ra
8	レプチン	23	CRP
9	レジスチン	24	IP-10
10	sFSI	25	IL-6
11	MPO	26	MIP-1 $\beta$
12	C-ペプチド	27	IL-13
13	sVCAM-1	28	IL-5
14	IL-1 $\alpha$	29	PAI-1
15	アジポネクチン	30	IFN- $\gamma$

10

20

## 【0104】

[0100]表 1 3 A は、その発現レベルが、男性及び女性の A S T 集団間で、有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

30

## 【0105】

【表 1 3 A】

表 1 3 A

男性及び女性の 反応性気道疾患の集団間に 有意な差を持つ バイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	IL-6	18	Sfas
2	IL-1 $\alpha$	19	レジスチン
3	IL-5	20	I-TAC
4	G-CSF	21	IL-17
5	IL-4	22	HGF
6	IL-7	23	MMP-9
7	レプチン	24	IP-10
8	GM-CSF	25	CRP
9	MIF	26	C-ペプチド
10	IL-15	27	sVCAM-1
11	TGF- $\alpha$	28	PAI-1
12	MIP-1 $\beta$	29	SAP
13	MMP-1	30	IL-10
14	sCD40 リガンド	31	フラクタルカイン
15	MMP-2	32	アミリン (全体)
16	VEGF	33	MPO
17	IL-12 (p40)		

10

20

30

【 0 1 0 6 】

[0101]表 1 3 B は、その発現レベルが、男性及び女性の A S T 集団間で、有意でない差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

【 0 1 0 7 】

## 【表 1 3 B】

表 1 3 B

男性及び女性の 反応性気道疾患の集団間に 有意な差を持つ バイオマーカー	
番号	バイオマーカー
1	アジポネクチン
2	<b>MMP-3</b>
3	<b>IL-1ra</b>
4	<b>IFN-<math>\gamma</math></b>
5	<b>SE-セレクトリン</b>
6	<b>IL-2</b>
7	<b>IL-13</b>
8	<b>SAA</b>
9	エオタキシン
10	<b>sICAM-1</b>
11	<b>EGF</b>
12	<b>MMP-7</b>
13	<b>IL-12(p70)</b>
14	<b>MMP-12</b>
15	<b>sFSI</b>
16	<b>IL-8</b>
17	<b>MMP-13</b>
18	インスリン
19	<b>MMP-8</b>
20	<b>MCP-1</b>
21	<b>GLP-1</b>
22	<b>IL-1<math>\beta</math></b>
23	<b>TNF-<math>\alpha</math></b>
24	<b>MIP-1<math>\alpha</math></b>

10

20

30

40

## 【0108】

[0102]表 1 4 A は、その発現レベルが、男性及び女性の LC 集団間で、有意な又は僅かに有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

## 【0109】

## 【表 1 4 A】

表 1 4 A

男性及び女性の NSCLCの集団間に 有意な差を持つ バイオマーカー	
番号	バイオマーカー
1	HGF
2	MMP-1
3	レプチン
4	PAI-1
5	レジスチン
6	IP-10
7	アジボネクチン
8	MIF
9	IL-8
10	IL-10
11	MIP-1 $\alpha$
12	SAA
13	I-TAC
14	MMP-3
15	IL-1 $\beta$

10

20

30

## 【0 1 1 0】

[0103]表 1 4 B は、その発現レベルが、男性及び女性の LC 集団間で、有意でない差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 1 - 3 に示すように、スチューデント t 検定を使用して決定した。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

## 【0 1 1 1】

## 【表 1 4 B】

表 1 4 B

男性及び女性の NSCLCの集団間に 有意な差を持たないバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	IL-15	22	Sfas
2	エオタキシン	23	IL-6
3	フラクタルカイン	24	SE-セレクトイン
4	sICAM-1	25	EGF
5	IL-1ra	26	MMP-9
6	GM-CSF	27	インスリン
7	IL-12 (p40)	28	MMP-8
8	TGF- $\alpha$	29	GLP-1
9	MPO	30	IL-5
10	IL-13	31	MMP-2
11	MMP-7	32	IL-4
12	IL-17	33	MIP-1 $\beta$
13	IL-2	34	IL-12(p70)
14	SAP	35	sCD40 リガンド
15	IFN- $\gamma$	36	IL-1 $\alpha$
16	sVCAM-1	37	IL-7
17	CRP	38	MMP-12
18	MCP-1	39	TNF- $\alpha$
19	VEGF	40	アミリン (全体)
20	C-ペプチド	41	sFSI
21	G-CSF	42	MMP-13

10

20

30

## 【0 1 1 2】

[0104]表 1 5 A は、正常な集団に対する蛍光強度の相対的標準偏差による、昇順で順位づけされたバイオマーカーを記載する。

## 【0 1 1 3】

40

【表 1 5 A】

表 1 5 A

正常な集団に対する蛍光強度における 相対的標準偏差によって順位づけされた バイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	G-CSF	30	エオタキシン
2	IL-15	31	PAI-1
3	フラクタルカイン	32	sFSI
4	TGF- $\alpha$	33	レプチン
5	SAP	34	IL-6
6	IL-10	35	MMP-9
7	VEGF	36	IP-10
8	IL-12 (p40), 遊離	37	インスリン
9	sVCAM-1	38	EGF
10	IL-17	39	MMP-1
11	TNF- $\alpha$	40	GLP-1
12	MMP-3	41	SAA
13	IFN- $\gamma$	42	IL-1 $\alpha$
14	IL-1 $\beta$	43	MIF
15	C-ペプチド	44	MMP-12
16	IL-7	45	アミリン (全体)
17	GM-CSF	46	Sfas
18	MIP-1 $\beta$	47	MPO
19	sICAM-1	48	IL-8
20	MMP-7	49	sCD40 リガンド
21	IL-4	50	MMP-2
22	MCP-1	51	HGF
23	アジポネクチン	52	MMP-13
24	MIP-1 $\alpha$	53	IL-2
25	レジスチン	54	MMP-8
26	CRP	55	IL12 p40
27	SE-セレクトイン	56	IL-2
28	IL-1ra	57	I-TAC
29	IL-5		

10

20

30

40

【 0 1 1 4 】

[0105]表 1 5 B は、正常な女性の集団に対する蛍光強度の相対的標準偏差による、昇順で順位づけされたバイオマーカーを記載する。

【 0 1 1 5 】

【表 1 5 B】

表 1 5 B

正常な女性の集団に対する 蛍光強度における 相対的標準偏差によって順位づけされた バイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	G-CSF	30	MIP-1 $\alpha$
2	IL-15	31	sFSI
3	GM-CSF	32	エオタキシン
4	IL-1ra	33	PAI-1
5	フラクタルカイン	34	IP-10
6	IL-10	35	IL-5
7	IL-2	36	MMP-2
8	TGF- $\alpha$	37	MMP-9
9	VEGF	38	IL-6
10	IL-12 (p40)	39	MMP-1
11	SAP	40	EGF
12	TNF- $\alpha$	41	IL-12(p70)
13	sVCAM-1	42	MIF
14	IL-17	43	レプチン
15	MMP-3	44	sCD40 リガンド
16	IL-7	45	HGF
17	MIP-1 $\beta$	46	インスリン
18	C-ペプチド	47	MPO
19	sICAM-1	48	SAA
20	IFN- $\gamma$	49	GLP-1
21	MMP-7	50	IL-1 $\alpha$
22	IL-1 $\beta$	51	MMP-8
23	IL-4	52	I-TAC
24	アジポネクチン	53	IL-8
25	レジスチン	54	MMP-12
26	Sfas	55	IL-13
27	MCP-1	56	アミリン (全体)
28	CRP	57	MMP-13
29	SE-セレクチン		

10

20

30

40

【 0 1 1 6 】

【0106】表 1 5 C は、正常な男性の集団に対する蛍光強度の相対的標準偏差による、昇順で順位づけされたバイオマーカーを記載する。

【 0 1 1 7 】



【表 1 5 C】

表 1 5 C

正常な男性の集団に対する蛍光強度における 相対的標準偏差によって 順位づけされた バイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	IL-1 $\beta$	30	HGF
2	IL-15	31	レプチン
3	G-CSF	32	IL-5
4	MIP-1 $\alpha$	33	エオタキシン
5	TGF- $\alpha$	34	MMP-9
6	フラクタルカイン	35	IL-1ra
7	SAP	36	PAI-1
8	IFN- $\gamma$	37	sFSI
9	IL-10	38	IL-6
10	sVCAM-1	39	インスリン
11	TNF- $\alpha$	40	EGF
12	VEGF	41	アミリン (全体)
13	IL-12 (p40)	42	MMP-1
14	MCP-1	43	IL-8
15	MIP-1 $\beta$	44	IP-10
16	C-ペプチド	45	SAA
17	MMP-3	46	GLP-1
18	IL-17	47	MMP-12
19	IL-7	48	IL-1 $\alpha$
20	sICAM-1	49	MMP-13
21	MIF	50	sCD40 リガンド
22	GM-CSF	51	MMP-2
23	MMP-7	52	Sfas
24	IL-4	53	MPO
25	アジポネクチン	54	IL-2
26	SE-セレクチン	55	I-TAC
27	CRP	56	IL-12(p70)
28	レジスチン	57	IL-13
29	MMP-8		

【 0 1 1 8 】

[0107]表 1 6 A は、その発現レベルが、A S T 対 N O の男性の集団、L C 対 N O の男性の集団、及び A S T 対 L C の男性の集団間の少なくとも一つで、有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 4 に示すように、クラスカル - ウォリス法を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の有

10

20

30

40

50

意性及び差の大きさに基づく降順で記載されている。

【 0 1 1 9 】

【 表 1 6 A 】

表 1 6 A

男性集団における 肺疾患に対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	HGF	19	MIP-1 $\alpha$
2	MMP-8	20	MMP-13
3	I-TAC	21	G-CSF
4	EGF	22	IFN- $\gamma$
5	PAI-1	23	MMP-7
6	MMP-1	24	IP-10
7	MPO	25	CRP
8	MIF	26	インスリン
9	エオタキシン	27	VEGF
10	MMP-12	28	SAP
11	SAA	29	アジポネクチン
12	レジスチン	30	sVCAM-1
13	sFSI	31	Sfas
14	レプチン	32	IL-1ra
15	C-ペプチド	33	IL-12 (p40)
16	MMP-9	34	MIP-1 $\beta$
17	MCP-1	35	sICAM-1
18	MMP-3		

10

20

30

40

【 0 1 2 0 】

[0108]表 1 6 B は、その発現レベルが、A S T 対 N O の男性の集団、L C 対 N O の男性の集団、及び A S T 対 L C の男性の集団間で、有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 4 に示すように、クラスカル - ウォリス法を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

【 0 1 2 1 】

## 【表 1 6 B】

表 1 6 B

男性集団における 肺疾患に対する 有意な バイオマーカー	
番号	バイオマーカー
1	HGF
2	MMP-8
3	I-TAC
4	EGF
5	PAI-1
6	MMP-1
7	MPO
8	MIF
9	エオタキシン
10	MMP-12
11	SAA
12	レジスチン
13	sFSI
14	レプチン
15	C-ペプチド

10

20

## 【 0 1 2 2 】

30

[0109]表 1 6 C は、その発現レベルが、A S T 対 N O の男性の集団及び L C 対 N O の男性の集団間で、有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 4 に示すように、クラスカル - ウォリス法を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

## 【 0 1 2 3 】

## 【表 1 6 C】

表 1 6 C

男性の集団における 肺疾患に対する 有意なバイオマーカー	
番号	バイオマーカー
1	HGF
2	MMP-8
3	I-TAC
4	MMP-9
5	EGF
6	PAI-1
7	MMP-1
8	MPO
9	MIF
10	MCP-1
11	エオタキシン
12	MMP-3
13	MIP-1 $\alpha$
14	MMP-12
15	MMP-13
16	IP-10
17	VEGF
18	レジスチン
19	sFSI
20	C-ペプチド
21	Sfas
22	SAA
23	インスリン
24	SAP
25	レプチン

10

20

30

40

## 【 0 1 2 4】

[0110]表 1 7 は、その発現レベルが、A S T 対 N O の男性の集団間で有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 4 に示すように、クラスカル - ウォリス法を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

## 【 0 1 2 5】

【表 17】

表 17

男性の集団における 反応性気道疾患に対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	HGF	16	sFSI
2	I-TAC	17	MMP-13
3	EGF	18	VEGF
4	MMP-8	19	C-ペプチド
5	PAI-1	20	レジスチン
6	MPO	21	sVCAM-1
7	MMP-9	22	G-CSF
8	MCP-1	23	Sfas
9	MIP-1 $\alpha$	24	sICAM-1
10	エオタキシン	25	レプチン
11	MMP-1	26	SAP
12	MIF	27	インスリン
13	MMP-3	28	IFN- $\gamma$
14	MMP-12	29	SAA
15	IP-10		

10

20

【0126】

[0111]表18は、その発現レベルが、LC対NOの男性の集団間で有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例4に示すように、クラスカル-ウォリス法を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

30

【0127】

【表 18】

表 18

男性の集団における NSCLCに対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	HGF	17	MMP-7
2	MMP-8	18	レジスチン
3	MMP-9	19	CRP
4	I-TAC	20	VEGF
5	EGF	21	SAA
6	MMP-1	22	アジポネクチン
7	PAI-1	23	IL-1ra
8	MPO	24	Sfas
9	MIF	25	MIP-1 $\beta$
10	MMP-3	26	sFSI
11	MMP-12	27	C-ペプチド
12	エオタキシン	28	インスリン
13	MMP-13	29	SAP
14	MCP-1	30	レプチン
15	MIP-1 $\alpha$	31	IL-12 (p40)
16	IP-10	32	

10

20

30

【0128】

[0112]表 19 は、その発現レベルが、AST 対 LC の男性の集団間で有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 4 に示すように、クラスカル - ウォリス法を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

【0129】

## 【表 19】

表 19

男性の集団における 反応性気道疾患及びNSCLC 間を区別する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	I-TAC	12	レジスチン
2	HGF	13	アジポネクチン
3	MPO	14	MMP-12
4	sFSI	15	MMP-7
5	PAI-1	16	CRP
6	C-ペプチド	17	G-CSF
7	sVCAM-1	18	IFN- $\gamma$
8	エオタキシン	19	SAA
9	EGF	20	MMP-1
10	レプチン	21	MMP-8
11	MIF	22	

10

20

## 【0130】

[0113]表20Aは、その発現レベルが、AST対NOの女性の集団、LC対NOの女性の集団、及びAST対LCの女性の集団間の少なくとも一つで、有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例4に示すように、クラスカル-ウォリス法を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の有意性及び差の大きさに基づく降順で記載されている。

30

## 【0131】

【表 2 0 A】

表 2 0 A

女性の集団における 肺疾患に対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	I-TAC	22	MMP-1
2	PAI-1	23	フラクタルカイン
3	MMP-7	24	IL-1 $\alpha$
4	MMP-3	25	CRP
5	IL-8	26	MIP-1 $\beta$
6	MPO	27	IP-10
7	レプチン	28	IL-1ra
8	sFSI	29	MIP-1 $\alpha$
9	HGF	30	VEGF
10	レジスチン	31	IFN- $\gamma$
11	C-ペプチド	32	アジボネクチン
12	MMP-13	33	エオタキシン
13	SAP	34	IL-6
14	sVCAM-1	35	MMP-12
15	MMP-8	36	sICAM-1
16	IL-10	37	MIF
17	MMP-9	38	Sfas
18	G-CSF	39	IL-12 (p40)
19	EGF	40	IL-4
20	MCP-1	41	インスリン
21	SAA		

10

20

30

【 0 1 3 2 】

[0114]表 2 0 B は、その発現レベルが、A S T 対 N O の女性の集団、L C 対 N O の女性の集団、及び A S T 対 L C の女性の集団間で、有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 4 に示すように、クラスカル - ウォリス法を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

40

【 0 1 3 3 】



## 【表 2 0 B】

表 2 0 B

女性の集団における 肺疾患に対する 有意な バイオマーカー	
番号	バイオマーカー
1	I-TAC
2	PAI-1
3	MMP-7
4	MMP-3
5	IL-8
6	MPO
7	レプチン
8	sFSI
9	HGF
10	レジスチン
11	C-ペプチド
12	MMP-13
13	SAP
14	sVCAM-1
15	MMP-8

10

20

## 【 0 1 3 4 】

30

[0115]表 2 0 C は、その発現レベルが、A S T 対 N O の女性の集団及び L C 対 N O の女性の集団間で、有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 4 に示すように、クラスカル - ウォリス法を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

## 【 0 1 3 5 】

## 【表 2 0 C】

表 2 0 C

女性の集団における 肺疾患に対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	MMP-9	17	HGF
2	G-CSF	18	IL-8
3	I-TAC	19	レジスチン
4	EGF	20	IL-6
5	MCP-1	21	Sfas
6	PAI-1	22	C-ペプチド
7	SAA	23	MMP-7
8	MPO	24	sVCAM-1
9	MMP-3	25	sICAM-1
10	CRP	26	MMP-8
11	IP-10	27	MIF
12	レプチン	28	MMP-13
13	sFSI	29	SAP
14	IFN- $\gamma$	30	MIP-1 $\alpha$
15	アジポネクチン	31	VEGF
16	エオタキシン	32	IL-1ra

10

20

30

## 【 0 1 3 6 】

[0116]表 2 1 は、その発現レベルが、A S T 対 N O の女性の集団間で、有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 4 に示すように、クラスカル - ウォリス法を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

## 【 0 1 3 7 】

【表 2 1】

表 2 1

女性の集団における 反応性気道疾患に対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	MMP-9	18	アジボネクチン
2	I-TAC	19	エオタキシン
3	EGF	20	C-ペプチド
4	PAI-1	21	IL-6
5	MCP-1	22	sVCAM-1
6	G-CSF	23	IL-4
7	IL-1 $\alpha$	24	MMP-3
8	MPO	25	Sfas
9	IL-8	26	MMP-8
10	レプチン	27	sICAM-1
11	sFSI	28	MIF
12	HGF	29	MMP-13
13	IP-10	30	SAP
14	レジスチン	31	MMP-7
15	IFN- $\gamma$	32	MIP-1 $\alpha$
16	SAA	33	VEGF
17	CRP	34	IL-1ra

10

20

30

【 0 1 3 8 】

[0117]表 2 2 は、その発現レベルが、LC 対 NO の女性の集団間で、有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 4 に示すように、クラスカル - ウォリス法を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

【 0 1 3 9 】

【表 2 2】

表 2 2

女性の集団における NSCLCに対する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	MMP-9	20	IL-6
2	G-CSF	21	Sfas
3	EGF	22	sICAM-1
4	IL-10	23	レジスチン
5	MCP-1	24	MMP-8
6	SAA	25	sFSI
7	MMP-3	26	sVCAM-1
8	PAI-1	27	フラクタルカイン
9	I-TAC	28	HGF
10	CRP	29	MIF
11	MMP-1	30	MMP-13
12	MPO	31	C-ペプチド
13	IP-10	32	SAP
14	アジポネクチン	33	インスリン
15	MMP-7	34	IL-8
16	エオタキシン	35	MIP-1 $\alpha$
17	IFN- $\gamma$	36	MIP-1 $\beta$
18	レプチン	37	VEGF
19	MMP-12	38	IL-1ra

10

20

30

【0140】

[0118]表 2 3 は、その発現レベルが、AST対LCの女性の集団間で、有意な差を有するバイオマーカーを記載する。有意性は、実施例 4 に示すように、クラスカル - ウォリス法を使用して決定した。僅かに有意なバイオマーカーは含んでいない。マーカーは、蛍光強度の差の大きさに基づく降順で記載されている。

【0141】

【表 2 3】

表 2 3

女性の集団における 反応性気道疾患及びNSCLC 間を区別する 有意なバイオマーカー			
番号	バイオマーカー	番号	バイオマーカー
1	IL-8	12	MPO
2	HGF	13	MMP-8
3	sFSI	14	MMP-12
4	I-TAC	15	SAP
5	C-ペプチド	16	MMP-13
6	IL-1 $\alpha$	17	MIP-1 $\beta$
7	レジスチン	18	MMP-1
8	IL-12 (p40)	19	MMP-3
9	レプチン	20	フラクタルカイン
10	sVCAM-1	21	MMP-7
11	PAI-1	22	IL-10

10

20

## 【0142】

## 発現の程度の決定

[0119] 発現の程度は、典型的にはタンパク質又はペプチドである発現産物の定量的測定に、一般的に関係する。本発明は、RNA（翻訳前）又はタンパク質レベル（翻訳後修飾を含む）における発現の程度を決定することを意図する。特に、本発明は、転写、翻訳、翻訳後修飾のレベル、或いはタンパク質の分解の程度又は度合における増加若しくは減少が反映されるバイオマーカーの濃度の変化を決定することを意図し、ここで、これらの変化は、特定の疾病状態又は疾病の進行に伴う。

30

## 【0143】

[0120] 試料は、被験者中の発現の程度が、試料中の前記のマーカーの濃度に比例していることを確実にするように採取される。測定は、測定値が、試料中のバイオマーカーの濃度に比例するように行われる。従って、測定値は、発現の程度に比例する。これらの要求に合致する試料採取技術及び測定技術の選択は、当技術の範囲内である。

## 【0144】

[0121] 典型的には、肺の疾患の指標である少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、正常な個体における平均的発現レベルから統計的に有意な程度異なっている少なくとも一つのバイオマーカーのレベルである；言い換えれば、少なくとも一つのバイオマーカーは、正常からの統計的異常者である。統計的有意性及び偏差は、集団の平均を比較するためのいずれもの既知の方法を使用して、又は測定値を集団の平均値と比較することによって決定することができる。このような方法は、単一の及び同時に考慮される多数のマーカーに対するスチューデントt検定、分散分析（ANOVA）、を等を含む。

40

## 【0145】

[0122] 発現の程度を決定するための別の方法として、又はそれと組合せて、本明細書中に記載される方法は、バイオマーカーのレベルが、正常なレベル（例えば、範囲）内に入るか、又は正常なレベルの範囲外（即ち、異常）であるか否かを決定することを含む。生理学的試料中の生物学的分子のレベルを測定する者は、彼らが定期的に測定する集団中の

50

特定のバイオマーカーの正常なレベルを日常的に決定し、典型的には特定の研究室によって決定された値の正常な範囲として記載する。従って、当業者は、特定のバイオマーカーの正常なレベルを必然的に熟知し、そしてそのバイオマーカーのレベルが正常なレベル又は範囲の範囲外であるか否かを決定することができるものである。

【 0 1 4 6 】

[0123]更に典型的には、肺疾患の指標である少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、差が、肺疾患の診断、予測、及び／又は評価を決定することができるように、正常な個体中の平均的発現レベルと分析的に有意であるように更に十分な大きさで異なっている少なくとも一つのバイオマーカーのレベルである。当業者は、より大きい大きさの差が、肺疾患の診断、予測、及び／又は評価を援助するために好ましいことを理解する。Instrumental Method of Analysis, Seventh Edition, 1988を参照されたい。

10

【 0 1 4 7 】

[0124]正常な被験者によって発現される多くのタンパク質は、小細胞肺癌又は喘息のような疾病又は症状を有する被験者において程度の差はあるが発現されるものである。当業者は、殆どの疾病が、多数の異なったバイオマーカーの変化を顕在化することを認識するものである。このように、疾病は、複数のマーカーの発現のパターンによって特徴づけることができる。実際に、複数のバイオマーカーの発現のパターンにおける変化は、各種の診断及び予測法、並びにモニター、療法の選択、及び患者の評価法において使用することができる。本発明は、このような方法を提供する。これらの方法は、特定の生理学的状態に対する複数のマーカーの発現のパターンを決定すること、又は適したパターン認識のためのいずれもの技術によって特徴づけられるような生理学的状態の変化に相関する、このようなパターンの変化を決定することを含んでなる。

20

【 0 1 4 8 】

[0125]発現の程度を決定する多くの方法は、当技術において既知である。発現を決定するための手段は、制約されるものではないが、放射性免疫測定法、酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA)、放射測定又は可視若しくは紫外光の吸光による分光検出法を伴う高圧液体クロマトグラフィー、質量分光法の定性及び定量分析、ウェスタンブロット、放射能、蛍光又は化学発光プローブ又は核の検出による定量的可視化を伴う一又は二次元のゲル電気泳動、吸収又は蛍光測光法を伴う抗体基材検出、多くの化学発光レポーター系のいずれかの蛍光による定量化、酵素アッセイ、免疫沈澱又は免疫捕捉アッセイ、固相及び液相免疫アッセイ、プロテインアレイ又はチップ、DNAアレイ又はチップ、プレートアッセイ、アプタマー及び分子刷込みポリマーのような弁別を可能にする結合親和性を有する分子を使用するアッセイ、並びにいずれもの他の適した技術、いずれもの記載された検出技術又は機器の機器操作によるバイオマーカーの濃度のいずれもの他の定量分析的決定を含む。

30

【 0 1 4 9 】

[0126]発現の程度を決定する工程は、当技術において既知の発現を決定するためのいずれもの手段、特に本明細書中で考察される手段によって行うことができる。好ましい態様において、発現の程度を決定する工程は、抗体による免疫アッセイを行うことを含んでなる。

40

【 0 1 5 0 】

決定のためのバイオマーカーの選択

[0127]当業者は、本発明において使用するための適当な抗体を容易に選択することが可能であるものである。選択された抗体は、好ましくは対象の抗原に対して選択性であり、前記抗原に対する高い結合特異性を保有し、そして他の抗原と最小の交差反応性を有する。対象の抗原に結合する抗体の能力は、例えば、酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA)、流動細胞計測法、及び免疫組織化学法のような既知の方法によって決定することができる。好ましくは、抗体が結合する対象の抗原は、健康な患者から採取された細胞又は生物学的試料とは対照的に、疾病の患者から採取された細胞又は生物学的試料中に異なって存

50

在する。異なった集団中の抗原の異なった存在は、対象のそれぞれの集団（例えば、疾病の集団対健康な集団）から採取された試料に対する抗体の結合を比較することによって決定することができる。例えば、実施例 1 - 4 を参照されたい；更に図 1 - 8 も参照されたい。例えば、非癌細胞より癌細胞中で高いレベルで発現する対象の抗原を決定することができる。例えば、実施例 1 - 4 を参照されたい；更に図 1 - 8 も参照されたい。更に、抗体は、対象の抗体に対する相対的に高い結合特異性を有していなければならない。抗体の結合特異性は、免疫沈澱法のような既知の方法によって、或いは放射免疫アッセイ（RIA）又は ELISA のような *in vitro* の結合アッセイによって決定することができる。高い結合特異性及び最小の交差反応性を持つ対象の抗原を結合する能力のある抗体を選択する方法の開示は、例えば、米国特許第 7, 288, 249 号中に提供され、これは、参考文献としてその全てが本明細書中に援用される。

10

#### 【0151】

[0128] 本発明は、本明細書中に記載される一つ又はそれより多いバイオマーカーの発現の程度を決定する工程を含んでなる各種の方法を提供する。一つの態様において、この方法は、いずれもの数の表 1 - 14 又は 16 - 23 からのいずれものバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。表 1 - 14 及び 16 - 23 中のバイオマーカーは、一般的に発現の程度の降順で記載される。これらの表の上部に近いバイオマーカーは、一般的により大きい感受性（例えば、より低いレベルの差を検出する）を示す。このようなバイオマーカーの使用は、疾病の状態間の弁別を援助することができる。表 15 のバイオマーカーは、蛍光強度の相対的標準偏差に基づく昇順で記載されている。表 15 の上部に

20

#### 【0152】

[0129] 従って、好ましい方法は、特定の表のバイオマーカー 1 - 20 番、或いは 20 個より少なく含有している表の場合、記載されたバイオマーカーの全部の発現の程度を決定することを含んでなる。別の方法として、このモードは、1 - 10 番のバイオマーカー、更に好ましくは 1 - 8 番のバイオマーカー、なお更に好ましくは 1 - 6 番のバイオマーカー、そして最も好ましくは 1 - 4 番のバイオマーカー、或いはいずれものこれらの群のバイオマーカーの部分集合の発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの態様において、この方法は、特定の表からのバイオマーカーのいずれもの組合せの発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの態様において、この方法は、特定の表の 1 - 20 番（又は 20 個より少ない場合、記載の最大）のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、好ましくは 1 - 10 番のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、更に好ましくは 1 - 8 番のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、なお更に好ましくは 1 - 6 番のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、そして最も好ましくは 1 - 4 番のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、或いはいずれものこれらの群のバイオマーカーの部分集合の発現の程度を決定することを含んでなる。好ましいモードにおいて、この方法は、特定の表の 1 - 6、1 - 8、1 - 10、1 - 15、又は 1 - 20 番のバイオマーカーから選択される三つのバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合の発現の程度を決定することを含んでなる。別の方法として、この方法は、特定の表の 1 - 8、1 - 10、1 - 15、又は 1 - 20 番のバイオマーカーから選択される 4、5、6、又は 7 個のバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合の発現の程度を決定することを含んでなる。別の方法として、この方法は、特定の表の 1 - 15 又は 1 - 20 番のバイオマーカーから選択される 8、9、10、11、12、又は 13 個のバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合の発現の程度を決定することを含んでなる。もちろん、当業者は、対象の疾病に伴うか否かを問わず、他のバイオマーカーの発現の程度を同時に決定することが、本発明の意図の範囲内であることを認識するものである。

30

40

50

## 【 0 1 5 3 】

[0130]複数のバイオマーカーの発現レベルの決定は、発現の変化のパターンの観察を容易にし、そしてこのようなパターンは、個々のバイオマーカーの検出より更に敏感な、そして更に正確な診断を提供する。例えば、変化のパターンは、異常なレベルで同時に発現する複数の特定のバイオマーカーを含むものである。変化のパターンは、更に、他の特定のバイオマーカーの異常な減少と同時に、幾つかの特定のバイオマーカーの異常な上昇を含んでなる。当業者は、本明細書中に含まれる図に与えられるデータ中のこのようなパターンを観察するものである。（以下の実施例 4 の考察を参照）。このような決定は、多重免疫アッセイのような多重又はマトリックススペースの形式で行うことができる。

## 【 0 1 5 4 】

[0131]もう一つの態様において、この方法は、少なくとも二つの表（例えば、表 2 及び表 3）からのいずれものバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの態様において、この方法は、特定の表の 1 - 20 番（又は 20 個より少ない場合、記載の最大）のバイオマーカー、及び別の表からの 1 - 20 番（又は 20 個より少ない場合、記載の最大）のバイオマーカー、好ましくは一つ又は両方の表からの 1 - 10 番のバイオマーカー、更に好ましくは一つ又は両方の表からの 1 - 8 番のバイオマーカー、なお更に好ましくは一つ又は両方の表からの 1 - 6 番のバイオマーカー、そして最も好ましくは一つ又は両方の表からの 1 - 4 番のバイオマーカー、或いはいずれものこれらの群のバイオマーカーの部分集合の発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの態様において、この方法は、特定の表及び別の表からの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せの発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの態様において、この方法は、特定の表の 1 - 20 番（又は 20 個より少ない場合、記載の最大）のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、及び別の表からの 1 - 20 番（又は 20 個より少ない場合、記載の最大）のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、好ましくは一つ又は両方の表からの 1 - 10 番のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、更に好ましくは一つ又は両方の表からの 1 - 8 番のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、なお更に好ましくは一つ又は両方の表からの 1 - 6 番のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、そして最も好ましくは一つ又は両方の表からの 1 - 4 番のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、或いはいずれものこれらの群のバイオマーカーの部分集合の発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの態様において、一つの表からの複数の（諸）バイオマーカーは、他のいずれもの表中に存在しない。好ましいモードにおいて、この方法は、特定の表の 1 - 6、1 - 8、1 - 10、1 - 15、又は 1 - 20 番のバイオマーカーから選択される三つのバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合及び別の表の 1 - 6、1 - 8、1 - 10、1 - 15、又は 1 - 20 番のバイオマーカーから選択される三つのバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合の発現の程度を決定することを含んでなる。別の方法として、この方法は、特定の表の 1 - 8、1 - 10、1 - 15、又は 1 - 20 番のバイオマーカーから選択される 4、5、6、又は 7 個のバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合、及び別の表の 1 - 8、1 - 10、1 - 15、又は 1 - 20 番のバイオマーカーから選択される 4、5、6、又は 7 個のバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合の発現の程度を決定することを含んでなる。別の方法として、この方法は、特定の表の 1 - 15、又は 1 - 20 番のバイオマーカーから選択される 8、9、10、11、12、又は 13 個のバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合、及び別の表の 1 - 15、又は 1 - 20 番のバイオマーカーから選択される 8、9、10、11、12、又は 13 個のバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合の発現の程度を決定することを含んでなる。もちろん、当業者は、対象の疾病に伴うか否かを問わず、他のバイオマーカーの発現の程度を同時に決定することが、本発明の意図の範囲内であることを認識するものである。

## 【 0 1 5 5 】

[0132]この方法が、少なくとも三つの異なった表（例えば、表 2、表 3、及び表 4）か



らのいずれものバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる場合、同じ種類の組合せが適用可能であることは理解されるものである。例えば、一つの態様において、この方法は、第1の表の1 - 20番（又は20個より少ない場合、記載の最大）からの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、第2の表からの1 - 20番（又は20個より少ない場合、記載の最大）からの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、及び第3の表の1 - 20番（又は20個より少ない場合、記載の最大）からの複数のバイオマーカーのいずれもの組合せ、好ましくはそれぞれの表からの1 - 10番のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーの組合せ、更に好ましくはそれぞれの表からの1 - 8番のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーの組合せ、なお更に好ましくはそれぞれの表からの1 - 6番のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーの組合せ、そして最も好ましくはそれぞれの表からの1 - 4番のバイオマーカーからの複数のバイオマーカーの組合せの発現の程度を決定することを含んでなる。好ましいモードにおいて、この方法は、第1の表の1 - 6、1 - 8、1 - 10、1 - 15、又は1 - 20番のバイオマーカーから選択される三つのバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合、第2の表の1 - 6、1 - 8、1 - 10、1 - 15、又は1 - 20番のバイオマーカーから選択される三つのバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合、及び第3の表の1 - 6、1 - 8、1 - 10、1 - 15、又は1 - 20番のバイオマーカーから選択される三つのバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合の発現の程度を決定することを含んでなる。別の方法として、この方法は、第1の表の1 - 8、1 - 10、1 - 15、又は1 - 20番のバイオマーカーから選択される4、5、6、又は7個のバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合、第2の表の1 - 8、1 - 10、1 - 15、又は1 - 20番のバイオマーカーから選択される4、5、6、又は7個のバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合、及び第3の表の1 - 8、1 - 10、1 - 15、又は1 - 20番のバイオマーカーから選択される4、5、6、又は7個のバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合の発現の程度を決定することを含んでなる。別の方法として、この方法は、第1の表の1 - 15、又は1 - 20番のバイオマーカーから選択される8、9、10、11、12又は13個のバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合、第2の表の1 - 15、又は1 - 20番のバイオマーカーから選択される8、9、10、11、12又は13個のバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合、及び第3の表の1 - 15、又は1 - 20番のバイオマーカーから選択される8、9、10、11、12又は13個のバイオマーカーのいずれもの特定の部分集合の発現の程度を決定することを含んでなる。もちろん、当業者は、対象の疾病に伴うか否かを問わず、他のバイオマーカーの発現の程度を同時に決定することが、本発明の意図の範囲内であることを認識するものである。

#### 【0156】

[0133] 複数のバイオマーカーの発現レベルの決定は、発現の変化のパターンの観察を容易にし、そしてこのようなパターンは、個々のバイオマーカーの検出より更に敏感な、そして更に正確な診断を提供する。この決定は、多重免疫アッセイのような多重又はマトリックススペースの形式で行うことができる。

#### 【0157】

[0134] 他の態様において、5、10、15、20、25、30、35、又は40より多くない発現の程度が決定される。

[0135] 診断又は予測アッセイにおいて使用するためのバイオマーカーの選択は、特定のバイオマーカー及びその一次相互作用物質間の既知の関係をを使用して容易にすることができる。本発明人等によって識別された全ての、でなければ、多くのバイオマーカー（表1 - 23参照）は、細胞又は生命体の各種の通信経路に関与する。通信経路の一つの構成要素の正常からの逸脱は、通信経路の他のメンバー中の関連する逸脱によって伴われることが予想される。当業者は、各種のデータベース及び入手可能な生物情報学のソフトウェア（例えば、ARIADNE PATHWAY STUDIO, Ariadne, Inc., <www.ariadne.genomics.com> 又はChEMBL Database, European Bioinformatics Institute,

10

20

30

40

50

European Molecular Biology Laboratory, <www.embl.ac.uk>を参照)を使用して通信経路のメンバーを容易に連結することができる。複数のバイオマーカーが複数のものの中の他のものと同じ通信経路にはない幾つかのバイオマーカーを含む、複数のバイオマーカーのレベルが異常であるか否かを決定することに基づく診断法は、バイオマーカーのレベルを測定することによって収集された情報を最大化する可能性がある。

#### 【0158】

[0136]先に考察したバイオマーカーの各種の組合せは、キットを設計するための方法及び本明細書中に記載されるキットにも、更に適用可能であることも更に理解されるものである。

10

#### 【0159】

[0137]マーカーの特定の部分集合を選択するための優先度を含む先に考察した選択基準は、特定の方法に伴うこれらの表に関して本明細書中に記載されるいずれもの方法のために使用することができることは認識されるものである。

#### 【0160】

##### 生理学的特徴づけの方法

[0138]本発明は、以下に記載されるように各種の集団中の個体の生理学的特徴づけのための方法に関する。本明細書中で使用する場合、本発明の方法による生理学的特徴づけの方法は、特定の疾病を診断する方法、個体が治療的介入に反応するものである可能性を予測する方法、治療的介入に対する個体の反応をモニターする方法、個体が個々の疾病の危険性があるか否かを決定する方法、特定の疾病に対する危険性の程度を決定する方法、患者の疾病の重度の程度を分類する方法、及び共通な幾つかの症状を有する疾病間を区別するための方法を含む。一般的に、これらの方法は、先に記載したような特定のバイオマーカーの発現の程度を決定することに依存する。

20

#### 【0161】

##### A. 一般的集団

[0139]本発明は、被験者の生理学的特徴づけの方法を提供する。一つの態様において、本発明は、被験者の生理学的試料中の表1Aからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる被験者の生理学的特徴づけの方法を提供し、ここで、少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患又は非小細胞肺癌のような肺疾患の指標であるか、或いは反応性気道疾患及び小細胞肺癌間を弁別することを援助する。もう一つの態様において、この方法は、表1Bからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなり、ここで、少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患又は非小細胞肺癌のような肺疾患の指標であるか、或いは反応性気道疾患及び小細胞肺癌間を弁別することを援助する。もう一つの態様において、この方法は、表1Cからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなり、ここで、少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患又は非小細胞肺癌のような肺疾患の指標であるか、或いは反応性気道疾患及び小細胞肺癌間を弁別することを援助する。

30

#### 【0162】

[0140]もう一つの態様において、本発明は、配列番号12の発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの態様において、この方法は、配列番号12並びに配列番号1-11及び13-17のいずれか一つの発現の程度を決定することを含んでなる。

40

#### 【0163】

[0141]好ましい態様において、本発明は、被験者の生理学的試料中の表1Aからの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる被験者の生理学的特徴づけの方法を提供し、ここで、複数のマーカーの発現のパターンは、生理学的状態又は症状、或いは疾病状態(例えば、非小細胞肺癌の段階)又は症状の変化に相関する。もう一つの好ましい態様において、表1Aからの複数のバイオマーカーの発現のパターンは、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のような肺疾患の指標であるか、或いは反応性気道疾患及び小

50

細胞肺癌間を弁別することを援助する。好ましくは、複数のバイオマーカーは、実施例中で計算されるようなスチューデント  $t$  値に基づく誤ったパターンの分類の低い確率に基づいて選択される。もう一つの好ましい態様において、表 1 A からのバイオマーカーの発現のパターンは、被験者が特定の疾病又は症状を有するか、又は有することができる可能性の増加に相関する。更に好ましい態様において、被験者中の表 1 A からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定する方法は、被験者が、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患（例えば、喘息）のような肺疾患を発症するか、有するか又は有することができる可能性の増加を検出する。発現のパターンは、パターン認識に対して当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけすることができる。複数のバイオマーカーは、表 1 A に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。

10

#### 【0164】

[0142]本発明は、更に被験者の生理学的試料中の配列番号 1 2 の発現の程度を決定することを含んでなる被験者の生理学的特徴づけの方法を提供し、ここにおいて、配列番号 1 2 の発現の程度は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の肺疾患の指標である。好ましい態様において、配列番号 1 2 の複数のマーカー及び配列番号 1 - 1 1 及び 1 3 - 1 7 のいずれか一つの発現のパターンを決定し、そして本明細書中に記載されているように使用する。

#### 【0165】

[0143]もう一つの側面において、本発明は、(a)被験者の生理学的試料を得て；(b)前記被験者の、配列番号 1 - 1 7 からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチドの発現の程度を決定し；そして(c)前記被験者の、表 1 A からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる被験者の生理学的特徴づけの方法を提供し、ここにおいて、前記ポリペプチド及び表 1 A からのバイオマーカーの両方の発現の程度は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の肺疾患の指標である。もう一つの態様において、配列番号 1 - 1 7 の複数のマーカー、及び表 1 A からの複数のバイオマーカーの発現のパターンを決定し、そして本明細書中に記載されるように使用する。

20

#### 【0166】

[0144]一つの態様において、被験者は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患（例えば、喘息、慢性閉塞性肺炎、等）の肺疾患に対する危険性がある。“危険性がある”被験者は、無症状であるが、個人的又は家族的病歴、行動、疾病を起こす薬物（例えば、発癌性物質）への暴露、又は幾つかの他の原因のために、疾病を発症することに対して大部分の集団より大きい可能性のある個体を含む。“危険性がある”個体は、個体に対して決定される危険因子を集めることによって伝統的に確認される。本発明は、関連するバイオマーカーの発現の程度を決定することにより、“危険性がある”個体の向上した検出を提供する。一つの態様において、疾病に伴う特定のバイオマーカー（特に表 2 又は表 3 からのバイオマーカー）のレベルを、一つの個体に対して決定し、そして正常な集団に対して予測されるものと異なるレベルは、個体に“危険性がある”ことを示唆する。もう一つの態様において、正常から統計的に逸脱する関連するバイオマーカー（疾病に対して適当に表 2 又は表 3 から）の数は、より大きい危険性を示す異常なマーカーのより大きい数により決定される。

30

40

#### 【0167】

[0145]先に記載した態様は、表 1 A のバイオマーカーを参照している。然しながら、いずれもの記載された態様において、表 1 B 又は 1 C のバイオマーカーで、表 1 A のバイオマーカーを置換えることができることは認識されるものである。これらの特定の方法において決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることも更に認識されるものである。

#### 【0168】

##### B. 男性の集団

[0146]本発明は、男性の被験者における生理学的特徴づけの方法を提供する。一つの態

50

様において、本発明は、前記男性の被験者から試料を得て、そして男性の被験者の生理学的試料中の表 5 A 又は 1 6 A からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる男性の被験者の生理学的特徴づけの方法を提供し、ここで、少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患又は非小細胞肺癌のような肺疾患の指標であるか、或いは反応性気道疾患及び小細胞肺癌間を弁別することを援助する。もう一つの態様において、この方法は、表 5 B 又は 1 6 B からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなり、ここで、少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患又は非小細胞肺癌の指標であるか、或いは反応性気道疾患及び小細胞肺癌間を弁別することを援助する。もう一つの態様において、この方法は、表 5 C 又は 1 6 C からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなり、ここで、少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患又は非小細胞肺癌の指標である。

10

20

30

40

50

#### 【0169】

[0147] 好ましい態様において、本発明は、男性の被験者の生理学的試料中の表 5 A 又は 1 6 A からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる男性の被験者における生理学的特徴づけの方法を提供し、ここで、複数のマーカーの発現のパターンは、生理学的状態又は症状、或いは疾病状態（例えば、非小細胞肺癌の段階）又は症状の変化と相関する。もう一つの態様において、表 5 A 又は 1 6 A からの複数のバイオマーカーの発現のパターンは、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患のような肺疾患の指標であるか、或いは反応性気道疾患及び小細胞肺癌間を弁別することを援助する。好ましくは、複数のバイオマーカーは、複数のバイオマーカーは、実施例中で計算されるようなスチューデント t 値に基づく誤ったパターンの分類の低い確率に基づいて選択される。もう一つの好ましい態様において、表 5 A 又は 1 6 A からのバイオマーカーの発現のパターンは、男性の被験者が特定の疾病又は症状を有するか、又は有することができる可能性の増加に相関する。更に好ましい態様において、男性の被験者中の表 5 A 又は 1 6 A からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定する方法は、男性の被験者が、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患（例えば、喘息）のような肺疾患を発症するか、有するか又は有することができる可能性の増加を検出する。発現のパターンは、パターン認識に対して当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけすることができる。複数のバイオマーカーは、表 5 A 又は 1 6 A に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。

#### 【0170】

[0148] もう一つの側面において、本発明は、（a）男性の被験者の生理学的試料を得て；（b）前記被験者の、配列番号 1 - 17 からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチドの発現の程度を決定し；そして（c）前記被験者の、表 5 A 又は 1 6 A からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる男性の被験者の生理学的特徴づけの方法を提供し、ここにおいて、前記ポリペプチド及び表 5 A 又は 1 6 A からのバイオマーカーの両方の発現の程度は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の肺疾患の指標である。もう一つの態様において、配列番号 1 - 17 の複数のマーカー、及び表 5 A 又は 1 6 A からの複数のバイオマーカーの発現のパターンを決定し、そして本明細書中に記載されるように使用する。

#### 【0171】

[0149] 一つの態様において、男性の被験者は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患（例えば、喘息、慢性閉塞性肺炎、等）の肺疾患に対する危険性がある。“危険性がある”被験者は及び個体は、先に考察されている。一つの態様において、疾病に伴う特定のバイオマーカー（特に表 6、7、17 又は 18 からのバイオマーカー）のレベルは、一つの男性の個体に対して決定され、そして正常な集団に対して予測されるものと異なるレベルは、個体に“危険性がある”ことを示唆する。もう一つの態様において、正常から統計的に逸脱する関連するバイオマーカー（疾病に対して適当に表 6、7、17 又は 18 から）の数は、より大きい危険性を示す異常なマーカーのより大きい数により決定される。

## 【 0 1 7 2 】

[0150] 先に記載した態様は、表 5 A 又は 1 6 A のバイオマーカーを参照している。然しながら、いずれもの記載された態様における、表 5 B 又は 5 C のバイオマーカーで、表 5 A のバイオマーカーを置換えることができ、そして表 1 6 B 又は 1 6 C のバイオマーカーで、表 1 6 A のバイオマーカーを置換えることができることは認識されるものである。これらの特定の方法において決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることも更に認識されるものである。

## 【 0 1 7 3 】

## C . 女性の集団

[0151] 本発明は、女性の被験者における生理学的特徴づけの方法を提供する。一つの態様において、本発明は、前記女性の被験者から試料を得て、そして女性の被験者の生理学的試料中の表 9 A 又は 2 0 A からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる女性の被験者の生理学的特徴づけの方法を提供し、ここで、少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患又は非小細胞肺癌のような肺疾患の指標であるか、或いは反応性気道疾患及び小細胞肺癌間を弁別することを援助する。もう一つの態様において、この方法は、表 9 B 又は 2 0 B からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなり、ここで、少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患又は非小細胞肺癌の指標であるか、或いは反応性気道疾患及び小細胞肺癌間を弁別することを援助する。もう一つの態様において、この方法は、表 9 C 又は 2 0 C からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなり、ここで、少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患又は非小細胞肺癌の指標である。

## 【 0 1 7 4 】

[0152] 好ましい態様において、本発明は、女性の被験者の生理学的試料中の表 9 A 又は 2 0 A からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる女性の被験者における生理学的特徴づけの方法を提供し、ここで、複数のマーカーの発現のパターンは、生理学的状態又は症状、或いは疾病状態（例えば、非小細胞肺癌の段階）又は症状の変化と相関する。もう一つの好ましい態様において、表 9 A 又は 2 0 A からの複数のバイオマーカーの発現のパターンは、反応性気道疾患又は非小細胞肺癌のような肺疾患の指標であるか、或いは反応性気道疾患及び小細胞肺癌間を弁別することを援助する。好ましくは、複数のバイオマーカーは、複数のバイオマーカーは、実施例中で計算されるようなスチューデント t 値に基づく誤ったパターンの分類の低い確率に基づいて選択される。もう一つの好ましい態様において、表 9 A 又は 2 0 A からのバイオマーカーの発現のパターンは、女性の被験者が特定の疾病又は症状を有するか、又は有することができる可能性の増加に相関する。更に好ましい態様において、女性の被験者中の表 9 A 又は 2 0 A からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定する方法は、女性の被験者が、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患（例えば、喘息）のような肺疾患を発症する、有する又は有することができる可能性の増加を検出する。発現のパターンは、パターン認識に対して当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけすることができる。複数のバイオマーカーは、表 9 A 又は 2 0 A に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。

## 【 0 1 7 5 】

[0153] もう一つの側面において、本発明は、( a ) 女性の被験者の生理学的試料を得て；( b ) 前記被験者の、配列番号 1 - 1 7 からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチドの発現の程度を決定し；( c ) 前記被験者の、表 9 A 又は 2 0 A からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる女性の被験者の生理学的特徴づけの方法を提供し、ここにおいて、前記ポリペプチド及び表 9 A 又は 2 0 A からのバイオマーカーの両方の発現の程度は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の肺疾患の指標である。もう一つの態様において、配列番号 1 - 1 7 の複数のマーカー、及び表 9 A

又は 20A からの複数のバイオマーカーの発現のパターンを決定し、そして本明細書中に記載されるように使用する。

#### 【0176】

[0154] 一つの態様において、女性の被験者は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患（例えば、喘息、慢性閉塞性肺炎、等）の肺疾患に対する危険性がある。“危険性がある”被験者は及び個体は、先に考察されている。一つの態様において、疾病に伴う特定のバイオマーカー（特に表 10、11、21、又は 22 からのバイオマーカー）のレベルは、一つの女性の個体に対して決定され、そして正常な集団に対して予測されるものと異なるレベルは、個体に“危険性がある”ことを示唆する。もう一つの態様において、正常から統計的に逸脱する関連するバイオマーカー（疾病に対して適当に表 10、11、21、又は 22 から）の数は、より大きい危険性を示す異常なマーカーのより大きい数により決定される。

10

#### 【0177】

[0155] 先に記載した態様は、表 9A 又は 20A のバイオマーカーを参照している。然しながら、いずれもの記載された態様における、表 9B 又は 9C のバイオマーカーで、表 9A のバイオマーカーを置換えることができ、そして表 20B 又は 20C のバイオマーカーで、表 20A のバイオマーカーを置換えることができることは認識されるものである。これらの特定の方法において決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることも更に認識されるものである。

20

#### 【0178】

##### 肺疾患

[0156] 本発明は、肺疾患のための各種の診断及び予測の方法を提供する。特に、本発明は、反応性気道疾患を、そして特に過剰反応性  $TH_2$  及び  $TH_{17}$  細胞に伴う疾病を診断する方法を提供する。反応性気道疾患は、喘息、慢性閉塞性肺炎、アレルギー性鼻炎、嚢胞性線維症、気管支炎、又は各種の生理学的及び / 又は環境的刺激に対する過敏性を顕在化した他の疾病を含む。特に、本発明は、喘息及び慢性閉塞性肺炎を診断する、更に特に喘息を診断する方法を提供する。

#### 【0179】

[0157] 本発明は、更に非小細胞肺癌を診断する方法も提供する。これらの方法は、本明細書中に記載される少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含み、ここにおいて、（諸）バイオマーカーは、非小細胞肺癌の存在又は発症の指標である。例えば、本明細書中に記載されるバイオマーカーの発現の程度は、非小細胞肺癌の進行の程度、前癌性病変の存在、又は非小細胞肺癌の段階付けを決定するために使用することができる。

30

#### 【0180】

[0158] 特別な態様において、被験者は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の一つ又はそれより多い症状を示す個体から選択される。症状は、咳、息切れ、喘鳴、胸痛、及び喀血；腕の外側を下向きに降りる肩の疼痛、又は嘔れ声に導く声帯の麻痺を含むことができ；食道の侵襲は嚥下の困難性に導くことができる。中枢気道が閉塞された場合、肺の一部の圧潰を起こし、そして膿瘍又は肺炎に導く感染を起こすことができる。骨への転移は、極度の疼痛を生じることができる。脳への転移は、霞目 頭痛、癲癇を含む神経性の症状、或いは身体の部分の感覚の衰弱又は喪失のような卒中に普通に伴う症状を起こすことができる。肺癌は、しばしば腫瘍細胞によるホルモン様物質の産生から得られる症状を生じる。NSCLC において見られる普通の腫瘍随伴症候群は、上昇した血流中のカルシウムを起こす副甲状腺ホルモン様物質の産生である。喘息は、典型的には特に夜間の咳、喘鳴、息切れ、及び胸部絞扼感、疼痛又は圧迫のような症状を生じる。従って、喘息の症状の多くは、NSCLC と共通であることは明らかである。

40

#### 【0181】

##### 反応性気道疾患を診断する方法

50

[0159]本発明は、以下に記載するように各種の集団中の個体における反応性気道疾患を診断する方法に関する。一般的に、これらの方法は、本明細書中に記載されるような特定のバイオマーカーの発現の程度を決定することに依存する。

【0182】

A．一般的集団

[0160]本発明は、(a)被験者の生理学的試料を得て；そして(b)前記被験者中の、表2からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる被験者における反応性気道疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患の指標である。

【0183】

[0161]好ましい態様において、本発明は、被験者の生理学的試料中の表2からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる被験者における反応性気道疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、複数のマーカーの発現のパターンは、反応性気道疾患の指標であるか、又は反応性気道疾患の状態の変化に相関する。もう一つの好ましい態様において、発現のパターンは、被験者が、反応性気道疾患を有するか、又は有することができる可能性の増加に相関する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけすることができる。複数のバイオマーカーは、表2に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

【0184】

[0162]一つの態様において、被験者は、反応性気道疾患に対する危険性がある。一つの態様において、反応性気道疾患に伴う特定のバイオマーカーのレベルが個体に対して決定され、そして正常な集団に対して予測されるものと異なるレベルは、個体が“危険性がある”ことを示唆する。もう一つの態様において、正常から統計的に逸脱する表2からの関連するバイオマーカーの数は、反応性気道疾患のより大きい危険性を示す異常なマーカーのより大きい数により決定される。もう一つの態様において、被験者は、反応性気道疾患の一つ又はそれより多い症状を示す個体から選択される。

【0185】

[0163]いずれもの上記の態様において、この方法で使用するための好ましいバイオマーカーは、表13Bからの少なくとも一つのバイオマーカーを含んでなる。更に好ましくは、この態様におけるバイオマーカーの全ては、表13B中に見出すことができる。

【0186】

B．男性の集団

[0164]本発明は、(a)男性の被験者の生理学的試料を得て；そして(b)前記被験者中の、表6又は17からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる、男性の被験者における反応性気道疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患の指標である。

【0187】

[0165]好ましい態様において、本発明は、男性の被験者の生理学的試料中の表6又は17からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる男性の被験者における反応性気道疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、複数のマーカーの発現のパターンは、反応性気道疾患の指標であるか、又は反応性気道疾患の状態の変化に相関する。もう一つの好ましい態様において、発現のパターンは、男性の被験者が、反応性気道疾患を有するか、又は有することができる可能性の増加に相関する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけすることができる。複数のバイオマーカーは、表6又は17に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定され

る複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

【0188】

[0166]一つの態様において、男性の被験者は、反応性気道疾患に対する危険性がある。一つの態様において、反応性気道疾患に伴う特定のバイオマーカーのレベルが男性の個体に対して決定され、そして正常な集団に対して予測されるものと異なるレベルは、個体が“危険性がある”ことを示唆する。もう一つの態様において、正常から統計的に逸脱する表6からの関連するバイオマーカーの数は、反応性気道疾患のより大きい危険性を示す異常なマーカーのより大きい数により決定される。もう一つの態様において、男性の被験者は、反応性気道疾患の一つ又はそれより多い症状を示す個体から選択される。

10

【0189】

[0167]もう一つの態様において、この方法において使用するためのバイオマーカーは、表13Aからの少なくとも一つのバイオマーカーを含んでなる。

C. 女性の集団

[0168]本発明は、(a)女性の被験者の生理学的試料を得て；そして(b)前記被験者中の、表10又は21からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる、女性の被験者における反応性気道疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患の指標である。

20

【0190】

[0169]好ましい態様において、本発明は、女性の被験者の生理学的試料中の表10又は21からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる、女性の被験者における反応性気道疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、複数のマーカーの発現のパターンは、反応性気道疾患の指標であるか、又は反応性気道疾患の状態の変化に相関する。もう一つの好ましい態様において、発現のパターンは、女性の被験者が、反応性気道疾患を有するか、又は有することができる可能性の増加に相関する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけることができる。複数のバイオマーカーは、表10又は21に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

30

【0191】

[0170]一つの態様において、女性の被験者は、反応性気道疾患に対する危険性がある。一つの態様において、反応性気道疾患に伴う特定のバイオマーカーのレベルが、女性の個体に対して決定され、そして正常な集団に対して予測されるものと異なるレベルは、個体が“危険性がある”ことを示唆する。もう一つの態様において、正常から統計的に逸脱する表10又は21からの関連するバイオマーカーの数は、反応性気道疾患のより大きい危険性を示す異常なマーカーのより大きい数により決定される。もう一つの態様において、女性の被験者は、反応性気道疾患の一つ又はそれより多い症状を示す個体から選択される。

40

【0192】

[0171]もう一つの態様において、この方法において使用するためのバイオマーカーは、表13Aからの少なくとも一つのバイオマーカーを含んでなる。

非小細胞肺癌を診断する方法

[0172]本発明は、以下に記載するように各種の集団中の個体における非小細胞肺癌を診断する方法に関する。一般的に、これらの方法は、本明細書中に記載されるような特定のバイオマーカーの発現の程度を決定することに依存する。

【0193】

50



## A . 一般的集団

[0173]本発明は、( a )被験者の生理学的試料を得て；そして( b )前記被験者中の、表 2 からの少なくとも一つのバイオマーカの発現の程度を決定することを含んでなる被験者における非小細胞肺癌を診断する方法を提供し、ここにおいて、前記少なくとも一つのバイオマーカの発現の程度は、非小細胞肺癌の存在又は発症の指標である。

【 0 1 9 4 】

[0174]好ましい態様において、本発明は、被験者の生理学的試料中の表 3 からの複数のバイオマーカの発現の程度を決定することを含んでなる被験者における非小細胞肺癌を診断する方法を提供し、ここにおいて、複数のマーカの発現のパターンは、非小細胞肺癌の指標であるか、又は非小細胞肺癌の状態の変化（即ち、臨床又は診断段階）に相関する。もう一つの好ましい態様において、発現のパターンは、被験者が、非小細胞肺癌を有するか、又は有することができる可能性の増加に相関する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけることができる。複数のバイオマーカは、表 3 に関して先に記載したバイオマーカのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカを、“決定のためのバイオマーカの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

10

【 0 1 9 5 】

[0175]一つの態様において、被験者は、非小細胞肺癌に対する危険性がある。一つの態様において、非小細胞肺癌に伴う特定のバイオマーカのレベルが個体に対して決定され、そして正常な集団に対して予測されるものと異なるレベルは、個体が“危険性がある”ことを示唆する。もう一つの態様において、正常から統計的に逸脱する表 3 からの関連するバイオマーカの数、非小細胞肺癌のより大きい危険性を示す異常なマーカのより大きい数により決定される。もう一つの態様において、被験者は、非小細胞肺癌の一つ又はそれより多い症状を示す個体から選択される。

20

【 0 1 9 6 】

[0176]いずれもの上記の態様において、この方法で使用するための好ましいバイオマーカは、表 1 4 B からの少なくとも一つのバイオマーカを含んでなる。更に好ましくは、この態様におけるバイオマーカの全ては、表 1 4 B 中に見出すことができる。

【 0 1 9 7 】

30

## B . 男性の集団

[0177]本発明は、( a )男性の被験者の生理学的試料を得て；そして( b )前記被験者中の、表 7 又は 1 8 からの少なくとも一つのバイオマーカの発現の程度を決定することを含んでなる、男性の被験者における非小細胞肺癌を診断する方法を提供し、ここにおいて、前記少なくとも一つのバイオマーカの発現の程度は、非小細胞肺癌の存在又は発症の指標である。

【 0 1 9 8 】

[0178]好ましい態様において、本発明は、男性の被験者の生理学的試料中の表 7 又は 1 8 からの複数のバイオマーカの発現の程度を決定することを含んでなる男性の被験者における非小細胞肺癌を診断する方法を提供し、ここにおいて、複数のマーカの発現のパターンは、非小細胞肺癌の指標であるか、又は非小細胞肺癌の状態（例えば、段階）の変化に相関する。もう一つの好ましい態様において、発現のパターンは、被験者が、非小細胞肺癌を有するか、又は有することができる可能性の増加に相関する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけることができる。複数のバイオマーカは、表 7 又は 1 8 に関して先に記載したバイオマーカのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカを、“決定のためのバイオマーカの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

40

【 0 1 9 9 】

50

[0179] 一つの態様において、男性の被験者は、非小細胞肺癌に対する危険性がある。一つの態様において、非小細胞肺癌に伴う特定のバイオマーカーのレベルが男性の個体に対して決定され、そして正常な男性の集団に対して予測されるものと異なるレベルは、個体が“危険性がある”ことを示唆する。もう一つの態様において、正常から統計的に逸脱する表 7 からの関連するバイオマーカーの数は、非小細胞肺癌のより大きい危険性を示す異常なマーカーのより大きい数により決定される。もう一つの態様において、男性の被験者は、非小細胞肺癌の一つ又はそれより多い症状を示す個体から選択される。

【0200】

[0180] もう一つの態様において、この方法において使用するためのバイオマーカーは、表 1 4 A からの少なくとも一つのバイオマーカーを含んでなる。

10

C. 女性の集団

[0181] 本発明は、(a) 女性の被験者の生理学的試料を得て；そして (b) 前記被験者中の、表 1 1 又は 2 2 からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる、女性の被験者における非小細胞肺癌を診断する方法を提供し、ここにおいて、前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、非小細胞肺癌の存在又は発症の指標である。

【0201】

[0182] 好ましい態様において、本発明は、女性の被験者の生理学的試料中の表 1 1 又は 2 2 からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる女性の被験者における非小細胞肺癌を診断する方法を提供し、ここにおいて、複数のマーカーの発現のパターンは、非小細胞肺癌の指標であるか、又は非小細胞肺癌の状態（例えば、段階）の変化に相関する。もう一つの好ましい態様において、発現のパターンは、女性の被験者が、非小細胞肺癌を有するか、又は有することができる可能性の増加に相関する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけることができる。複数のバイオマーカーは、表 1 1 又は 2 2 に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

20

【0202】

[0183] 一つの態様において、女性の被験者は、非小細胞肺癌に対する危険性がある。一つの態様において、非小細胞肺癌に伴う特定のバイオマーカーのレベルが女性の個体に対して決定され、そして正常な女性の集団に対して予測されるものと異なるレベルは、個体が“危険性がある”ことを示唆する。もう一つの態様において、正常から統計的に逸脱する表 1 1 又は 2 2 からの関連するバイオマーカーの数は、非小細胞肺癌のより大きい危険性を示す異常なマーカーのより大きい数により決定される。もう一つの態様において、女性の被験者は、非小細胞肺癌の一つ又はそれより多い症状を示す個体から選択される。

30

【0203】

[0184] もう一つの態様において、この方法において使用するためのバイオマーカーは、表 1 4 A からの少なくとも一つのバイオマーカーを含んでなる。

40

非小細胞肺癌及び反応性気道疾患間を弁別する方法

[0185] 本発明は、以下に記載するような各種の集団中の個体における肺疾患を診断する方法に関する。一般的に、これらの方法は、反応性気道疾患及び非小細胞肺癌の指標間を弁別する特定のバイオマーカーの発現の程度を決定することに依存する。

【0204】

A. 一般的集団

[0186] 本発明は、更に前記被験者中の、表 4 からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる被験者における肺疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、表 4 からの前記の少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患及び非小細胞肺癌の指標間を弁別することを援助する。一つの態様において、

50

被験者は、反応性気道疾患及び／又は非小細胞肺癌を有すると診断される。例えば、この診断は、被験者の生理学的試料中の少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度によって決定することができ、ここで、少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患及び／又は非小細胞肺癌の指標である。

【0205】

[0187]本発明は、更に(a)被験者の生理学的試料を得て；そして(b)前記被験者中の、表4からの少なくとも一つのバイオマーカー、表2からの少なくとも一つのバイオマーカー、及び表3からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる被験者の肺疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、(i)前記表2、表3、及び表4のそれぞれからの少なくとも一つのバイオマーカーは、同一ではなく、(ii)前記表2及び表3からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、それぞれ反応性気道疾患及び非小細胞肺癌の肺疾患の指標であり；そして(iii)前記表4からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、非小細胞肺癌及び反応性気道疾患の指標間を弁別することを援助する。好ましくは、この方法は、それぞれの表からの、他の表のいずれにも存在しない少なくとも一つのマーカーを含む。

10

【0206】

[0188]好ましい態様において、この方法は、表4からの複数のバイオマーカー、そして好ましくは、更に表2からの複数のバイオマーカー、及び表3からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの好ましい態様において、発現のパターンは、被験者が非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を有する可能性の増加と相関する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけすることができる。複数のバイオマーカーは、表2、表3、及び表4に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

20

【0207】

[0189]一つの態様において、被験者は、非小細胞肺癌及び／又は反応性気道疾患に対する危険性がある。もう一つの態様において、被験者は、非小細胞肺癌及び／又は反応性気道疾患の一つ又はそれより多い症状を示す個体から選択される。

30

【0208】

[0190]本発明は、更に(a)非小細胞肺癌又は反応性気道疾患に対する危険性にある被験者の生理学的試料を得て；そして(b)前記被験体中の、表4からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる、被験者が、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を発症する危険性があるか又はそれに罹った可能性を区別することを援助するための診断法を提供し、ここにおいて、前記表4からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、前記被験者が非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の危険性がある可能性を区別することを援助する。

【0209】

[0191]好ましい態様において、この方法は、表4からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの好ましい態様において、発現のパターンは、被験者が非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を有する可能性の増加に相関する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけすることができる。複数のバイオマーカーは、表4に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

40

【0210】

[0192]一つの態様において、被験者は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の一つ又はそ

50

れより多い症状を示す個体から選択される。“危険性がある”被験者に関する方法は、先に記載され、そしてこれに関連する方法は、本明細書中で意図されている。

【0211】

B．男性の集団

[0193]本発明は、更に前記被験者中の、表8又は19からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる男性の被験者における肺疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、表8又は19からの前記の少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患及び非小細胞肺癌の指標間を弁別することを援助する。一つの態様において、男性の被験者は、反応性気道疾患及び／又は非小細胞肺癌を有すると診断される。例えば、この診断は、男性の被験者の生理学的試料中の少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度によって決定することができ、ここで、少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患及び／又は非小細胞肺癌の指標である。

10

【0212】

[0194]本発明は、更に(a)男性の被験者の生理学的試料を得て；そして(b)前記被験者中の、表8からの少なくとも一つのバイオマーカー、表6からの少なくとも一つのバイオマーカー、及び表7からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる男性の被験者の肺疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、(i)前記表6、表7、及び表8のそれぞれからの少なくとも一つのバイオマーカーは、同一ではなく、(ii)前記表6及び表7からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、それぞれ反応性気道疾患及び非小細胞肺癌の肺疾患の指標であり；そして(iii)前記表8からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、非小細胞肺癌及び反応性気道疾患の指標間を弁別することを援助する。好ましくは、この方法は、それぞれの表からの、他の表のいずれにも存在しない少なくとも一つのマーカーを含む。

20

【0213】

[0195]本発明は、更に(a)男性の被験者の生理学的試料を得て；そして(b)前記被験者中の、表19からの少なくとも一つのバイオマーカー、表18からの少なくとも一つのバイオマーカー、及び表17からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる男性の被験者の肺疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、(i)前記表17、表18、及び表19のそれぞれからの少なくとも一つのバイオマーカーは、同一ではなく、(ii)前記表17及び表18からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、それぞれ反応性気道疾患及び非小細胞肺癌の肺疾患の指標であり；そして(iii)前記表19からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、非小細胞肺癌及び反応性気道疾患の指標間を弁別することを援助する。好ましくは、この方法は、それぞれの表からの、他の表のいずれにも存在しない少なくとも一つのマーカーを含む。

30

【0214】

[0196]好ましい態様において、この方法は、表8からの複数のバイオマーカーの、そして好ましくは、更に表6からの複数のバイオマーカー、及び表7からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの好ましい態様において、発現のパターンは、男性の被験者が非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を有する可能性の増加と相関する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけすることができる。複数のバイオマーカーは、表6、表7、及び表8に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

40

【0215】

[0197]好ましい態様において、この方法は、表19からの複数のバイオマーカー、そして好ましくは、更に表17からの複数のバイオマーカー、及び表18からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの好ましい態様において、

50

発現のパターンは、男性の被験者が非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を有する可能性の増加と相関する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけすることができる。複数のバイオマーカーは、表 17、表 18、及び表 19 に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

【0216】

[0198]一つの態様において、男性の被験者は、非小細胞肺癌及び/又は反応性気道疾患に対する危険性がある。もう一つの態様において、男性の被験者は、非小細胞肺癌及び/又は反応性気道疾患の一つ又はそれより多い症状を示す個体から選択される。

10

【0217】

[0199]本発明は、更に(a)非小細胞肺癌又は反応性気道疾患に対する危険性がある男性の被験者の生理学的試料を得て;そして(b)前記被験者中の表8又は表19からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を発症する危険性があるか、又はそれに罹った男性の被験者の可能性を区別することを援助する診断法を提供し、ここにおいて、前記表8又は19からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、前記被験者が非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の危険性がある可能性を区別することを援助する。

【0218】

20

[0200]好ましい態様において、この方法は、表8からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの好ましい態様において、発現のパターンは、男性の被験者が非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を有する可能性の増加と相関する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけすることができる。複数のバイオマーカーは、表8又は表19に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

【0219】

30

[0201]一つの態様において、男性の被験者は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の一つ又はそれより多い症状を示す個体から選択される。“危険性がある”被験者に関する方法は、先に記載され、そしてこれに関連する方法は、本明細書中で意図されている。

【0220】

B. 女性の集団

[0202]本発明は、更に前記被験者中の、表12又は23からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる女性の被験者における肺疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、表12又は23からの前記の少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患及び非小細胞肺癌の指標間を弁別することを援助する。一つの態様において、女性の被験者は、反応性気道疾患及び/又は非小細胞肺癌を有すると診断される。例えば、この診断は、女性の被験者の生理学的試料中の少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度によって決定することができ、ここで、少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、反応性気道疾患及び/又は非小細胞肺癌の指標である。

40

【0221】

[0203]本発明は、更に(a)女性の被験者の生理学的試料を得て;そして(b)前記被験者中の、表12からの少なくとも一つのバイオマーカー、表10からの少なくとも一つのバイオマーカー、及び表11からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる女性の被験者の肺疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、(i)前記表10、表11、及び表12のそれぞれからの少なくとも一つのバイオマーカー

50

ーは、同一ではなく、( i i ) 前記表 1 0 及び表 1 1 からの少なくとも一つのバイオマーカの発現の程度は、それぞれ反応性気道疾患及び非小細胞肺癌の肺疾患の指標であり；そして( i i i ) 前記表 1 2 からの少なくとも一つのバイオマーカの発現の程度は、非小細胞肺癌及び反応性気道疾患の指標間を弁別することを援助する。好ましくは、この方法は、それぞれの表からの、他の表のいずれにも存在しない少なくとも一つのマーカを含む。

【 0 2 2 2 】

[0204] 本発明は、更に( a ) 女性の被験者の生理学的試料を得て；そして( b ) 前記被験者中の、表 2 3 からの少なくとも一つのバイオマーカ、表 2 1 からの少なくとも一つのバイオマーカ、及び表 2 2 からの少なくとも一つのバイオマーカの発現の程度を決定することを含んでなる女性の被験者の肺疾患を診断する方法を提供し、ここにおいて、( i ) 前記表 2 1、表 2 2、及び表 2 3 のそれぞれからの少なくとも一つのバイオマーカは、同一ではなく、( i i ) 前記表 2 1 及び表 2 2 からの少なくとも一つのバイオマーカの発現の程度は、それぞれ反応性気道疾患及び非小細胞肺癌の肺疾患の指標であり；そして( i i i ) 前記表 2 3 からの少なくとも一つのバイオマーカの発現の程度は、非小細胞肺癌及び反応性気道疾患の指標間を弁別することを援助する。好ましくは、この方法は、それぞれの表からの、他の表のいずれにも存在しない少なくとも一つのマーカを含む。

10

【 0 2 2 3 】

[0205] 好ましい態様において、この方法は、表 1 2 からの複数のバイオマーカの、そして好ましくは、更に表 1 0 からの複数のバイオマーカ、及び表 1 1 からの複数のバイオマーカの発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの好ましい態様において、発現のパターンは、女性の被験者が非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を有する可能性の増加と相関する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけすることができる。複数のバイオマーカは、表 1 0、表 1 1、及び表 1 2 に関して先に記載したバイオマーカのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカを、“ 決定のためのバイオマーカの選択 ” と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

20

【 0 2 2 4 】

[0206] 好ましい態様において、この方法は、表 2 3 からの複数のバイオマーカ、そして好ましくは、更に表 2 1 からの複数のバイオマーカ、及び表 2 2 からの複数のバイオマーカの発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの好ましい態様において、発現のパターンは、男性の被験者が非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を有する可能性の増加と相関する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけすることができる。複数のバイオマーカは、表 2 1、表 2 2、及び表 2 3 に関して先に記載したバイオマーカのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカを、“ 決定のためのバイオマーカの選択 ” と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

30

40

【 0 2 2 5 】

[0207] 一つの態様において、女性の被験者は、非小細胞肺癌及び / 又は反応性気道疾患に対する危険性がある。もう一つの態様において、女性の被験者は、非小細胞肺癌及び / 又は反応性気道疾患の一つ又はそれより多い症状を示す個体から選択される。

【 0 2 2 6 】

[0208] 本発明は、更に( a ) 非小細胞肺癌又は反応性気道疾患に対する危険性がある女性の被験者の生理学的試料を得て；そして( b ) 前記被験者中の表 1 2 又は表 2 3 からの少なくとも一つのバイオマーカの発現の程度を決定することを含んでなる、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を発症する危険性があるか、又はそれに罹った女性の被験者の可能性を区別することを援助する診断法を提供し、ここにおいて、前記表 1 2 又は 2 3 からの

50

少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、前記被験者が非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の危険性がある可能性を区別することを援助する。

【0227】

[0209]好ましい態様において、この方法は、表12又は23からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。もう一つの好ましい態様において、発現のパターンは、女性の被験者が非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を有する可能性の増加と相關する。発現のパターンは、パターン認識のための当技術において既知のいずれもの技術によって特徴づけることができる。複数のバイオマーカーは、表12又は表23に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

10

【0228】

[0210]一つの態様において、女性の被験者は、非小細胞肺癌又は反応性気道疾患の一つ又はそれより多い症状を示す個体から選択される。“危険性がある”被験者に関する方法は、先に記載され、そしてこれに関連する方法は、本明細書中で意図されている。

【0229】

[0211]例えば異なった疾病状態又は異なった集団間を弁別する目的のために、一つより多い表から選択されるバイオマーカーを使用する本明細書中のいずれもの方法において、個体からのバイオマーカーに対する結果の分析は、同時に又は連続して行うことができる。

20

【0230】

治療をモニターする方法

[0212]本発明は、以下に記載されるように各種の集団中の個体の治療をモニターする方法に関する。一般的に、これらの方法は、特定のバイオマーカーの発現の程度を決定することに依存する。

【0231】

A. 一般的集団

[0213]本発明は、更に(a)第1に、被験者から得た試料中の表1Aからの少なくとも一つのバイオマーカーの前記被験者中の発現の程度を決定し；(b)前記第1の発現の程度とは異なった時間において被験者から得た第2の試料を使用して、前記表1Aからの少なくとも一つのバイオマーカーの第2の前記被験者中の発現の程度を決定し；そして(d)前記第1の発現の程度及び前記第2の発現の程度を比較することを含んでなる被験者をモニターする方法を提供する。典型的には、被験者は、第1及び第2の試料を得る時間の間に治療的介入を経験した。第1及び第2の決定間の発現のパターンの変化の検出は、治療的介入の効果を反映すると考えることができる。この態様は、更に特定の治療的介入に反応するその発現の程度の変化を示す特定のバイオマーカーを識別するために有用である。

30

【0232】

[0214]好ましい態様において、この方法は、表1Aからの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。複数のバイオマーカーは、表1Aに関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

40

【0233】

[0215]先に記載した態様は、表1Aのバイオマーカーを参照している。然しながら、表1B、表1C、表2、表3、又は表4のバイオマーカーで、いずれもの記載された態様における表1Aのバイオマーカーを置換えることができることは認識されるものである。

【0234】

50

## B．男性の集団

[0216]本発明は、更に（a）第１に、男性の被験者から得た試料中の表５Ａ又は１６Ａからの少なくとも一つのバイオマーカーの前記男性の被験者中の発現の程度を決定し；（b）前記第１の発現の程度とは異なった時間において男性の被験者から得た第２の試料を使用して、前記表１Ａ又は１６Ａからの少なくとも一つのバイオマーカーの第２の前記男性の被験者中の発現の程度を決定し；そして（d）前記第１の発現の程度及び前記第２の発現の程度を比較することを含んでなる男性の被験者をモニターする方法を提供する。典型的には、男性の被験者は、第１及び第２の試料を得る時間の間に治療的介入を経験した。第１及び第２の決定間の発現のパターンの変化の検出は、治療的介入の効果を反映すると考えることができる。この態様は、更に特定の治療的介入に反応するその発現の程度の変化を示す特定のバイオマーカーを識別するために有用である。

10

### 【０２３５】

[0217]好ましい態様において、この方法は、表５Ａ又は１６Ａからの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。複数のバイオマーカーは、表５Ａ又は１６Ａに関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

### 【０２３６】

[0218]先に記載した態様は、表５Ａ又は１６Ａのバイオマーカーを参照している。然しながら、表５Ｂ、表５Ｃ、表６、表７、表８、表１６Ｂ、表１６Ｃ、表１７、表１８、又は表１９のバイオマーカーで、いずれもの記載された態様における表５Ａ又は１６Ａのバイオマーカーを置換えることができることは認識されるものである。

20

### 【０２３７】

## C．女性の集団

[0219]本発明は、更に（a）第１に、女性の被験者から得た試料中の表９Ａ又は２０Ａからの少なくとも一つのバイオマーカーの前記女性の被験者中の発現の程度を決定し；（b）前記第１の発現の程度とは異なった時間において女性の被験者から得た第２の試料を使用して、前記表９Ａ又は２０Ａからの少なくとも一つのバイオマーカーの第２の前記女性の被験者中の発現の程度を決定し；そして（d）前記第１の発現の程度及び前記第２の発現の程度を比較することを含んでなる女性の被験者をモニターする方法を提供する。典型的には、女性の被験者は、第１及び第２の試料を得る時間の間に治療的介入を経験した。第１及び第２の決定間の発現のパターンの変化の検出は、治療的介入の効果を反映すると考えることができる。この態様は、更に特定の治療的介入に反応するその発現の程度の変化を示す特定のバイオマーカーを識別するために有用である。

30

### 【０２３８】

[0220]好ましい態様において、この方法は、表９Ａ又は２０Ａからの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。複数のバイオマーカーは、表９Ａ又は２０Ａに関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

40

### 【０２３９】

[0221]先に記載した態様は、表９Ａ又は２０Ａのバイオマーカーを参照している。然しながら、表９Ｂ、表９Ｃ、表１０、表１１、表１２、表２０Ｂ、表２０Ｃ、表２１、表２２、又は表２３のバイオマーカーが、いずれもの記載された態様において表９Ａ又は２０Ａのバイオマーカーを置換えることができることは認識されるものである。

### 【０２４０】

治療的介入に対する被験者の反応を予測する方法

[0222]本発明は、以下に記載されるように各種の集団中の治療的介入に対する被験者の

50



反応を予測する方法に関する。一般的に、これらの方法は、特定のバイオマーカーの発現の程度を決定することに依存する。

【0241】

A．一般的方法

[0223]本発明は、更に（a）被験者の生理学的試料を得て；そして（b）前記被験者中の、表1Aからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる治療的介入に対する被験者の反応を予測するための方法を提供し、ここにおいて、前記表1Aからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、前記治療的介入に対する被験者の反応を予測することを援助する。この態様において使用するための好ましいバイオマーカーは、被験者の集団をモニターすることによる対象の治療的介入に対して反応性であることを示すバイオマーカーである。この態様は、更に治療に対して反応性である可能性のある患者の選択のために使用することもできる。

10

【0242】

[0224]好ましい態様において、この方法は、表1Aからの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。複数のバイオマーカーは、表1Aに関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

20

【0243】

[0225]先に記載した態様は、表1Aのバイオマーカーを参照している。然しながら、表1B、表1C、表2、表3、又は表4のバイオマーカーが、いずれもの記載された態様における表1Aのバイオマーカーを置換えることができることは認識されるものである。

【0244】

B．男性の集団

[0226]本発明は、更に（a）男性の被験者の生理学的試料を得て；そして（b）前記男性の被験者中の、表5A又は16Aからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる治療的介入に対する男性の被験者の反応を予測するための方法を提供し、ここにおいて、前記表5A又は16Aからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、前記治療的介入に対する男性の被験者の反応を予測することを援助する。この態様において使用するための好ましいバイオマーカーは、男性の被験者の集団をモニターすることによる対象の治療的介入に対して反応性であることを示すバイオマーカーである。この態様は、更に治療に対して反応性である可能性のある男性の患者の選択のために使用することもできる。

30

【0245】

[0227]好ましい態様において、この方法は、表5A又は16Aからの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。複数のバイオマーカーは、表5A又は16Aに関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

40

【0246】

[0228]先に記載した態様は、表5A又は16Aのバイオマーカーを参照している。然しながら、表5B、表5C、表6、表7、表8、表16B、表16C、表17、表18、又は表19のバイオマーカーで、いずれもの記載された態様における表5A又は16Aのバイオマーカーを置換えることができることは認識されるものである。

【0247】

C．女性の集団

[0229]本発明は、更に（a）女性の被験者の生理学的試料を得て；そして（b）前記女性の被験者中の、表9A又は20Aからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度

50

を決定することを含んでなる治療的介入に対する女性の被験者の反応を予測するための方法を提供し、ここにおいて、前記表 9 A 又は 2 0 A からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度は、前記治療的介入に対する女性の被験者の反応を予測することを援助する。この態様において使用するための好ましいバイオマーカーは、女性の被験者の集団をモニターすることによる対象の治療的介入に対して反応性であることを示すバイオマーカーである。この態様は、更に治療に対して反応性である可能性のある女性の患者の選択のために使用することもできる。

【 0 2 4 8 】

[0230] 好ましい態様において、この方法は、表 9 A 又は 2 0 A からの複数のバイオマーカーの発現の程度を決定することを含んでなる。複数のバイオマーカーは、表 9 A 又は 2 0 A に関して先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを含んでなることができる。実際に、これらの特定の方法で決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

10

【 0 2 4 9 】

[0231] 先に記載した態様は、表 9 A 又は 2 0 A のバイオマーカーを参照している。然しながら、表 9 B、表 9 C、表 1 0、表 1 1、表 1 2、表 2 0 B、表 2 0 C、表 2 1、表 2 2、又は表 2 3 のバイオマーカーで、いずれもの記載された態様における表 9 A 又は 2 0 A のバイオマーカーを置換えることができることは認識されるものである。

【 0 2 5 0 】

20

キットを設計する方法

A . 一般的集団

[0232] 本発明は、更に ( a ) 表 1 A からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し ; ( b ) 前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し ; そして ( c ) 前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、被験者の肺疾患を診断することを援助するためのキットを設計するための方法を提供する。

【 0 2 5 1 】

[0233] 本発明は、更に ( a ) 表 1 B からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し ; ( b ) 前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し ; そして ( c ) 前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、被験者の非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を診断するためのキットを設計するための方法を提供する。

30

【 0 2 5 2 】

[0234] 本発明は、更に ( a ) 表 1 C からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し ; ( b ) 前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し ; そして ( c ) 前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、被験者の非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を診断するためのキットを設計するための方法を提供する。

【 0 2 5 3 】

40

[0235] 本発明は、更に ( a ) 表 2 からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し ; ( b ) 前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し ; そして ( c ) 前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、被験者の反応性気道疾患を診断するためのキットを設計するための方法を提供する。

【 0 2 5 4 】

[0236] 本発明は、更に ( a ) 表 3 からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し ; ( b ) 前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し ; そして ( c ) 前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、被験者の非小細胞肺癌を診断するためのキットを設計するための方法を提供

50

する。

【 0 2 5 5 】

[0237]本発明は、更に ( a ) 表 4 からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し ; ( b ) 前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し ; そして ( c ) 前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、被験者の肺疾患を診断することを援助するためのキットを設計するための方法を提供する。

【 0 2 5 6 】

[0238]上記の方法において、別の方法として工程 ( b ) 及び ( c ) は、 ( b ) 前記少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤を選択し、そして ( c ) 少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための前記検出剤を含んでなるキットを設計することによって行うことができる。

10

【 0 2 5 7 】

[0239]本発明は、更に一つより多い表からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなるキットを設計するための方法を提供する。例えば、本発明は、表 2 からの少なくとも一つのバイオマーカー及び表 3 からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなるキットを設計するための方法を提供する。もう一つの例において、本発明は、表 2 からの少なくとも一つのバイオマーカー、表 3 からの少なくとも一つのバイオマーカー、及び表 4 からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなるキットを設計するための方法を提供する。これらの方法が、更に先に記載したように工程 ( b ) 及び ( c ) を含んでなることは理解されるものである。

20

【 0 2 5 8 】

[0240]これらの特定の方法において決定される複数のバイオマーカーを、“ 決定のためのバイオマーカーの選択 ” と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

【 0 2 5 9 】

B . 男性の集団

[0241]本発明は、更に ( a ) 表 5 A 又は 1 6 A からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し ; ( b ) 前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し ; そして ( c ) 前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、男性の被験者の肺疾患を診断することを援助するためのキットを設計するための方法を提供する。

30

【 0 2 6 0 】

[0242]本発明は、更に ( a ) 表 5 B 又は 1 6 B からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し ; ( b ) 前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し ; そして ( c ) 前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、男性の被験者の非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を診断するためのキットを設計するための方法を提供する。

【 0 2 6 1 】

[0243]本発明は、更に ( a ) 表 5 C 又は 1 6 C からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し ; ( b ) 前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し ; そして ( c ) 前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、男性の被験者の非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を診断するためのキットを設計するための方法を提供する。

40

【 0 2 6 2 】

[0244]本発明は、更に ( a ) 表 6 又は 1 7 からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し ; ( b ) 前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し ; そして ( c ) 前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、男性の被験者の反応性気道疾患を診断するためのキットを設計するための方法を提供する。

50

## 【 0 2 6 3 】

[0245]本発明は、更に（ a ）表 7 又は 1 8 からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し；（ b ）前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し；そして（ c ）前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、男性の被験者の非小細胞肺癌を診断するためのキットを設計するための方法を提供する。

## 【 0 2 6 4 】

[0246]本発明は、更に（ a ）表 8 又は 1 9 からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し；（ b ）前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し；そして（ c ）前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、男性の被験者の肺疾患を診断することを援助するためのキットを設計するための方法を提供する。

## 【 0 2 6 5 】

[0247]上記の方法において、別の方法として工程（ b ）及び（ c ）は、（ b ）前記少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤を選択し、そして（ c ）少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための前記検出剤を含んでなるキットを設計することによって行うことができる。

## 【 0 2 6 6 】

[0248]本発明は、更に一つより多い表からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなるキットを設計するための方法を提供する。例えば、本発明は、表 6 からの少なくとも一つのバイオマーカー及び表 7 からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなるキットを設計するための方法を提供する。もう一つの例において、本発明は、表 6 からの少なくとも一つのバイオマーカー、表 7 からの少なくとも一つのバイオマーカー、及び表 8 からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなるキットを設計するための方法を提供する。もう一つの例において、本発明は、表 1 7 からの少なくとも一つのバイオマーカー、及び表 1 8 からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなるキットを設計するための方法を提供する。もう一つの例において、本発明は、表 1 7 からの少なくとも一つのバイオマーカー、表 1 8 からの少なくとも一つのバイオマーカー、及び表 1 9 からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなるキットを設計するための方法を提供する。これらの方法が、更に先に記載したように、工程（ b ）及び（ c ）を含んでなることは理解されるものである。

## 【 0 2 6 7 】

[0249]これらの特定の方法において決定される複数のバイオマーカーを、“ 決定のためのバイオマーカーの選択 ” と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

## 【 0 2 6 8 】

## C . 女性の集団

[0250]本発明は、更に（ a ）表 9 A 又は 2 0 A からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し；（ b ）前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し；そして（ c ）前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、女性の被験者の肺疾患を診断することを援助するためのキットを設計するための方法を提供する。

## 【 0 2 6 9 】

[0251]本発明は、更に（ a ）表 9 B 又は 2 0 B からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し；（ b ）前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し；そして（ c ）前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、女性の被験者の非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を診断するためのキットを設計するための方法を提供する。

## 【 0 2 7 0 】

[0252]本発明は、更に（a）表9C又は20Cからの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し；（b）前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し；そして（c）前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、女性の被験者の非小細胞肺癌又は反応性気道疾患を診断するためのキットを設計するための方法を提供する。

【0271】

[0253]本発明は、更に（a）表10又は21からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し；（b）前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し；そして（c）前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、女性の被験者の反応性気道疾患を診断するためのキットを設計するための方法を提供する。

10

【0272】

[0254]本発明は、更に（a）表11又は22からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し；（b）前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し；そして（c）前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、女性の被験者の非小細胞肺癌を診断するためのキットを設計するための方法を提供する。

【0273】

[0255]本発明は、更に（a）表12又は23からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択し；（b）前記少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を選択し；そして（c）前記発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを設計することを含んでなる、女性の被験者の肺疾患を診断することを援助するためのキットを設計するための方法を提供する。

20

【0274】

[0256]上記の方法において、別の方法として工程（b）及び（c）は、（b）前記少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤を選択し、そして（c）少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための前記検出剤を含んでなるキットを設計することによって行うことができる。

【0275】

[0257]本発明は、更に一つより多い表からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなるキットを設計するための方法を提供する。例えば、本発明は、表10からの少なくとも一つのバイオマーカー及び表11からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなるキットを設計するための方法を提供する。もう一つの例において、本発明は、表10からの少なくとも一つのバイオマーカー、表11からの少なくとも一つのバイオマーカー、及び表12からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなるキットを設計するための方法を提供する。もう一つの例において、本発明は、表21からの少なくとも一つのバイオマーカー及び表22からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなるキットを設計するための方法を提供する。もう一つの例において、本発明は、表21からの少なくとも一つのバイオマーカー、表22からの少なくとも一つのバイオマーカー、及び表23からの少なくとも一つのバイオマーカーを選択することを含んでなるキットを設計するための方法を提供する。これらの方法が、更に先に記載したように工程（b）及び（c）を含んでなることは理解されるものである。

30

40

【0276】

[0258]これらの特定の方法において決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることは認識されるものである。

【0277】

キット

[0259]本発明は、本明細書中に記載される少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程

50

度を決定するための手段を含んでなるキットを提供する。本発明は、更に本明細書中に記載される少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤を含んでなるキットを提供する。

【0278】

[0260]本発明は、表1Aからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを提供する。本発明は、表1Aからの少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤を含んでなるキットを提供する。

【0279】

[0261]本発明は、更に配列番号12の発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを提供する。一つの態様において、キットは、配列番号12並びに配列番号1-11及び13-17のいずれもの組合せの発現の程度を決定するための手段を含んでなる。

10

【0280】

[0262]本発明は、更に配列番号12を検出するための検出剤を含んでなるキットを提供する。一つの態様において、キットは、配列番号12並びに配列番号1-11及び13-17のいずれもの組合せを検出するための検出剤を含んでなる。

【0281】

[0263]本発明は、更に配列番号1-17からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチドの発現の程度を決定するための手段、及び表1Aからの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための手段を含んでなるキットを提供する。

【0282】

20

[0264]本発明は、更に配列番号1-17からなる群から選択される少なくとも一つのポリペプチドを検出するための検出剤、及び表1Aからの少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤を含んでなるキットを提供する。

【0283】

[0265]先に記載した態様は、表1Aのバイオマーカーを参照している。然しながら、表1B、表1C、表2、表3、表4、表5A、表5B、表5C、表6、表7、表8、表9A、表9B、表9C、表10、表11、表12、表16A、表16B、表16C、表17、表18、表19、表20A、表20B、表20C、表21、表22、又は表23のバイオマーカーで、いずれもの記載されたキット中の表1Aのバイオマーカーを置換えることができることは認識されるものである。

30

【0284】

[0266]本発明は、更に(a)表2からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための第1の手段；及び(b)表3からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための第2の手段を含んでなるキットを提供し、ここにおいて、前記表2及び表3からの少なくとも一つのバイオマーカーは、同一ではない。

【0285】

[0267]本発明は、更に(a)表2からの少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤；及び(b)表3からの少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤を含んでなるキットを提供し、ここにおいて、前記表2及び表3からの少なくとも一つのバイオマーカーは、同一ではない。

40

【0286】

[0268]本発明は、更に(a)表2からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための第1の手段；(b)表3からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための第2の手段；及び(c)表4からの少なくとも一つのバイオマーカーの発現の程度を決定するための第3の手段を含んでなるキットを提供し、ここにおいて、前記表2、表3及び表4からの少なくとも一つのバイオマーカーは、同一ではない。

【0287】

[0269]本発明は、更に(a)表2からの少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤；(b)表3からの少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤；及び(c)表4からの少なくとも一つのバイオマーカーを検出するための検出剤を含ん

50

でなるキットを提供し、ここにおいて、前記表 2、表 3 及び表 4 からの少なくとも一つのバイオマーカーは、同一ではない。

#### 【0288】

[0270]先に記載した態様は、表 2、表 3、及び表 4 のバイオマーカーを参照している。然しながら、表 6、表 7、表 8、表 17、表 18、又は表 19 のバイオマーカーで、それぞれいずれもの記載されたキット中の、表 2、表 3、及び表 4 のバイオマーカーを置換えることができることは認識されるものである。更に、表 10、表 11、表 12、表 21、表 22、又は表 23 のバイオマーカーで、それぞれ記載されたキット中の、表 2、表 3、及び表 4 のバイオマーカーを置換えることができることは認識されるものである。なお更に、本発明が特定の複数のバイオマーカーの検出を必要とするいずれもの方法のために、先に記載したバイオマーカーのいずれもの組合せを検出するための手段を含んでなるキットを意図することを当業者は理解するものである。これらの特定のキットにおいて決定される複数のバイオマーカーを、“決定のためのバイオマーカーの選択”と題する項で先に考察した基準を使用して規定された表から選択することができることも更に認識されるものである。

10

#### 【実施例】

#### 【0289】

[0271]以下の実施例は、本明細書中に開示される本発明の各種のモードを例示するために提供されるが、しかしこれらは、本発明をいかなる方法でも制約することを意図するものではない。

20

#### 【0290】

##### 実施例 1

[0272]ヒトの血液試料を、志願者から収集した。30種の試料を、非小細胞肺癌又は喘息のいずれかを有することが知られていない個体から収集した。これらの30種の試料は、本明細書中で“正常な集団”を構成し、そしてそのように呼ばれる。28種の血液試料を、喘息を有し、そして医師によってそのように診断された個体から収集した。これらの28種の試料は、本明細書中で“喘息の集団”を構成し、そしてそのように呼ばれる。30種の血液試料を、非小細胞肺癌を有することが知られ、そしてそのように医師によって診断された個体から収集した。これらの30種の試料は、“肺癌の集団”を構成し、そしてそのように呼ばれる。

30

#### 【0291】

[0273]変化した発現レベルが肺癌又は喘息に伴われるものであると信じられるバイオマーカーを選択する研究を行った。本明細書中で使用される場合、“肺癌”は、非小細胞肺癌であることが知られる肺癌を包含することを意味する。試験するために、以下の59種のバイオマーカー：CD40、肝細胞増殖因子(“HGF”)、I-TAC(“CXCL11”)；“ケモカイン(C-X-Cモチーフ)リガンド11”、“インターフェロン誘導性T細胞アルファ化学誘引物質”)、レプチン(“LEP”)、マトリックスメタルプロテイナーゼ(“MMP”)1、MMP2、MMP3、MMP7、MMP8、MMP9、MMP12、MMP13、CD40可溶性リガンド(“CD40リガンド”)、上皮細胞増殖因子(“EGF”)、エオタキシン(“CCL11”)、フラクタルカイン、顆粒球コロニー刺激因子(“G-CSF”)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(“GM-CSF”)、インターフェロン(“IFN”)、インターロイキン(“IL”)1、IL-1、IL-1ra、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12(p40)、IL-12(p70)、IL-13、IL-15、IL-17、IP-10、単球走化性タンパク質1(“MCP-1”)、マクロファージ炎症性タンパク質(“MIP”)1、MIP-1、トランスフォーミング増殖因子(“TGF”)、腫瘍壊死因子(“TNF”)、血管内皮増殖因子(“VEGF”)、インスリン(“Ins”)、C-ペプチド、グルカゴン様タンパク質-1/アミリン(“GLP-1/アミリン”)、アミリン(全体)、グルカゴン、アジポネクチン、プラスミノゲン活性化因子阻害剤1(“PAI-1”)；“セルビン”(活性/全

40

50

体)、レジスチン(“RETN”; “xcp1”)、sFas、可溶性Fasリガンド(“sFasL”)、マクロファージ遊走阻止因子(“MIF”)、sE-セ렉チン、可溶性血管細胞接着分子(“sVCAM”)、可溶性細胞間接着分子(“sICAM”)、ミエロペルオキシダーゼ(“MPO”)、C反応性タンパク質(“CRP”)、血清アミロイドA(“SAA”; “SAA1”)、及び血清アミロイドP(“SAP”)を選択した。

#### 【0292】

[0274]正常、喘息及び肺癌の集団のそれぞれの血漿検体を、血漿検体を、自動化ビーズ基剤技術を使用する定量的多重免疫アッセイであるLuminoxのxMAP技術を使用する分析にかけることによってそれぞれの59種のバイオマーカーに対してスクリーニングした。

10

#### 【0293】

[0275]幾つかの異なったアッセイのキット、即ち、Milliporeのヒトサイトカイン/ケモカイン(カタログ番号MPXHCYT0-60K、ヒト内分泌(カタログ番号HENDO-65K)、ヒト血清アジボカイン(カタログ番号HADKI-61K)、ヒト敗血症/アポトーシス(カタログ番号HSEP-63K)、ヒト心血管パネル1(カタログ番号HCVD1-67AK)及びヒト心血管パネル2(HCVD2-67BK)、R&D Systems, Inc.のヒトフルオロカインMAP鑑定ベースキットB(カタログ番号LUB00)及びヒトフルオロカインMAP MMP鑑定ベースキット(カタログ番号LMP000)を、バイオマーカー男性クリーニングするためにLuminoxのxMAP技術と共に使用した。多重免疫アッセイから得られた蛍光強度レベルを、それぞれの集団のそれぞれの血漿検体に対するそれぞれの59種のバイオマーカーに対して記録した。記録された蛍光強度は、試料中の対応するバイオマーカーの濃度に、そして個体中のその発現の程度に比例する。それぞれの集団に対するそれぞれのバイオマーカーに伴う蛍光強度のレベルに対する平均、標準偏差、及び相対的標準偏差を計算した。図1Aないし1Cは、正常な(NO)、非小細胞肺癌の(LC)、及び喘息の(AST)集団中のそれぞれのバイオマーカーに対する平均の平均、標準偏差及び相対的標準偏差を示す。

20

#### 【0294】

[0276]次いでスチューデントt検定を、それぞれの集団間のそれぞれの特定のバイオマーカーに対する病態間の差を特徴づけるために使用した。正常な患者からの試料に対するそれぞれのバイオマーカーの平均の蛍光強度の測定値を、肺癌に罹った患者からの試料のもの及び更に喘息に罹った患者由来の試料のものと比較した。図1Dは、それぞれのマーカーに対する各種の集団の平均間の差を示す。更に、肺癌の患者に対する平均の蛍光強度の測定値を、喘息の患者に対する平均の蛍光強度の測定値と比較し、そして有意性男性チューデントt統計を使用して評価した。

30

#### 【0295】

[0277]正常、喘息及び肺癌の集団間のそれぞれのバイオマーカーに対する統計的差の更なる解析を行った。集団間のそれぞれのバイオマーカーに対する平均発現レベルの差を特徴づけるために、スチューデントt値を、マイクロソフトのEXCELのソフトウェアパッケージ中で使用可能なt検定機能を使用して計算した。EXCELのt検定機能男性チューデントt値に伴う確率を計算するために、両側検定分布を使用する等分散の仮定下で使用した。

40

#### 【0296】

[0278]集団間の発現レベルの差の有意性は、0.05より小さい関連する確率を伴ういずれものスチューデントt値を、喘息又は肺癌に関わらず所定の病態の存在を示すために有意であると考ええる基準により決定した。0.05又はそれより小さい基準を使用することは、一般的に科学の分野において受容される。0.1より大きい関連する確率を伴ういずれものスチューデントt値は、所定の病態の存在を示すために有意ではないと考えられる。更に、0.051及び0.1間の関連する確率を伴ういずれものスチューデントt値は、限界的であると決定される。

50



## 【 0 2 9 7 】

[0279]ここで図 1 E を参照して、それぞれの集団に対するそれぞれのバイオマーカーを比較して計算された関連する確率に伴うスチューデント t 値を示す。図 1 E に示した確率に伴うスチューデント t 値は、それぞれの喘息、正常、及び肺癌の集団が、単一の平均及び正規分布を有することに基づいて計算されていることは注意されるべきである。

## 【 0 2 9 8 】

[0280]バイオマーカーの発現レベルにおける差の有意性は、バイオマーカーの相対的重要性を順位付けするために使用される。病態間で最も有意に異なることが見いだされたバイオマーカーは、相対的により重要として分類される。平均蛍光強度の測定値は、試験され、そして他の集団中の検体の平均強度と有意に異なる強度を有する全てのバイオマーカーに対するデータは、更なる分析から排除された。相対的に低い相対的標準偏差を有するバイオマーカーは、相対的に高い標準偏差を有するものより更に有意であると分類された。

10

## 【 0 2 9 9 】

[0281]逸脱の方向、即ち、特定のマーカーの平均的レベルが、いずれもの他の病態に対するいずれもの病態中で増加するか又は減少するか否かは、特定のマーカーの相対的有意性を判断するために使用しなかった。このような方法で、バイオマーカーのグループは構築され、これは、病態間の高い変動性、相対的に低い相対的標準偏差及び良好な計器の検出性（ゼロではない未補正平均蛍光強度として定義）を示した。これらの計算を、免疫アッセイの効率を試験するために使用し、そして正常な集団の発現レベル間の発現レベルの有意な差を示すバイオマーカーを決定するために、並びに肺癌及び / 又は喘息の病態の特徴であり、そしてそれに伴う参照範囲を決定するために分析した。

20

## 【 0 3 0 0 】

[0282]なお図 1 E を参照して、スチューデント t 値に伴う確率を計算して、喘息の集団を正常な集団と比較した。喘息の集団及び正常な集団間の有意な差を、バイオマーカー s E - セレクチン、E G F、レプチン、I L - 5、P A I - 1、レジスチン、M M P - 1 3、C D 4 0 リガンド s V C A M - 1、H G F、C ペプチド、s I C A M - 1、M M P - 7、アジボネクチン、G M - C S F 及び M I F に対するスチューデント t の確率から決定された。この決定は、本明細書中に記載されたスチューデント t 機能を使用して、喘息の集団からの 2 8 種の検体を、正常な集団からの 3 0 種の検体と比較した場合、それぞれのこれらのバイオマーカーに対するスチューデント t 値に伴う確率が 0 . 0 5 より小さかったことに基づいて行った。バイオマーカー C R P、M M P - 9、I L - 4、I L - 1、S A A、I L - 7 及び I L - 6 に対する喘息の集団及び正常な集団間の差は、これらのバイオマーカーのそれぞれに対するスチューデント t 確率が 0 . 0 5 より有意に大きいため有意ではないと決定された。

30

## 【 0 3 0 1 】

[0283]更に図 1 E に示すように、スチューデント t 値に伴う確率を計算して、肺癌の集団と正常な集団を比較した。肺癌の集団及び正常な集団間の有意な差は、バイオマーカー s E - セレクチン、E G F、レプチン、I L - 5、P A I - 1、レジスチン、C R P、M M P - 9、I L - 4、I L - 1、S A A、I L - 7、C D 4 0 リガンド、M M P - 7 及び M M P - 1 2 に対するスチューデント t 確率から決定した。再び、この決定は、本明細書中に記載されたスチューデント t 機能を使用して、肺癌の集団からの 3 0 種の検体を、正常な集団からの 3 0 種の検体と比較した場合、それぞれのこれらのバイオマーカーに対するスチューデント t 確率が 0 . 0 5 より小さかったことに基づいて行った。バイオマーカー M M P - 1 3、H G F、C ペプチド、s I C A M、アジボネクチン、G M - C S F、I L - 1 7、T N F、I T A C 及び M I F に対する肺癌の集団及び正常な集団間の差は、これらのそれぞれに対するスチューデント t 確率が 0 . 0 5 より有意に大きいため有意ではないと決定された。

40

## 【 0 3 0 2 】

[0284]三つのバイオマーカーは、肺癌の集団及び正常な集団間で 0 . 0 5 より僅かに大

50

きいのみのスチューデント t 値に伴う確率を有していた。具体的には、肺癌の集団を正常な集団と比較した場合、IL - 6 は、0 . 0 7 6 1 9 5 5 2 8 のスチューデント t 確率を有し、s V C A M - 1 は、0 . 0 8 8 6 9 9 4 9 のスチューデント t 確率を有し、そして IL - 1 5 は、0 . 0 8 6 3 2 4 3 7 2 のスチューデント T 確率を有していた。これらのバイオマーカーは、肺癌の集団及び正常な集団間で有意ではない差を有すると見做される。然しながら、これらの三つのバイオマーカーに対するスチューデント t 確率が、0 . 0 5 に近いという事実のために、それぞれの集団が、正常及び肺癌の集団間で有意に変化することができることが可能である。

#### 【0303】

[0285]最後に、図 1 E に示すように、更なる分析を、肺癌の集団と喘息の集団を比較するために、スチューデント t 値に伴う確率を計算することによって行った。肺癌の集団及び喘息の集団間の有意な差を、バイオマーカー s E - セレクチン、E G F、レプチン、IL - 5、P A I - 1、レジスチン、C R P、M M P - 9、IL - 4、IL - 1、S A A、IL - 7、IL - 6、M M P - 1 3、s V C A M、H G F、C ペプチド、s I C A M、アジボネクチン、G M - C S F、IL - 1 7、IL - 1 5、T N F 及び I - T A C に対するスチューデント t 確率から決定した。この決定は、本明細書中に記載されたスチューデント t 機能を使用して、肺癌の集団からの 3 0 検体を、喘息の集団からの 2 8 種の検体と比較した場合、それぞれのこれらのバイオマーカーに対するスチューデント t 確率が 0 . 0 5 より小さかったことに基づいて行った。バイオマーカー C D 4 0 リガンド、M M P - 7、M M P - 1 2 及び M I F に対する肺癌の集団及び喘息の集団間の差は、これらのバイオマーカーのそれぞれに対するスチューデント t 確率が、0 . 0 5 より有意に大きいために有意ではないと決定された。

#### 【0304】

##### 実施例 2

[0286]ヒトの血液試料を志願者から収集した。1 4 2 種の試料を、非小細胞肺癌又は喘息のいずれかを有することが知られていない個体から収集した。これらの試料は、“正常な集団”を構成し、そしてそのように呼ばれる。1 0 8 種の血液試料を、喘息を有し、そして医師によってそのように診断された個体から収集した。これらの試料は、本明細書中で“喘息の集団”を構成し、そしてそのように呼ばれる。1 4 6 種の血液試料を、非小細胞肺癌を有することが知られ、そしてそのように医師によって診断された個体から収集した。これらは、“肺癌の集団”を構成し、そしてそのように呼ばれる。

#### 【0305】

[0287]実施例 1 に記載したものと同一方法を行った。図 2 A - 2 E は、得られた結果を示す。これらの結果は、本発明の方法のために適したバイオマーカーを選択するための指針を提供する。特に、特定のマーカーに対する確率は、これに関して有用である。

#### 【0306】

[0288]図 2 E は、異なった集団の生理学的状態間を弁別するための各種のバイオマーカーの有効性に伴う確率を示す。0 . 1 又はそれより小さい確率値は、対象のバイオマーカーを識別するためにこの表で強調されている。本発明の好ましい方法において使用されるバイオマーカーは、0 . 0 5 又はそれより小さい、更に好ましくは 0 . 0 1、そしてなお更に好ましくは 0 . 0 0 1 又はそれより小さい確率値を有するものである。

#### 【0307】

##### 実施例 3

[0289]ヒトの血液試料を、志願者から収集した。2 8 8 種の試料を、非小細胞肺癌又は喘息のいずれかを有することが知られていない個体から収集した。これらの試料は、“正常な集団”を構成し、そしてそのように呼ばれる。1 8 0 種の血液試料を、喘息を有することが知られ、そして医師によってそのように診断された個体から収集した。これらの試料は、本明細書中で“喘息の集団”を構成し、そしてそのように呼ばれる。3 6 0 種の血液試料を、非小細胞肺癌を有することが知られ、そしてそのように医師によって診断された個体から収集した。これらは、“肺癌の集団”を構成し、そしてそのように呼ばれる。

## 【0308】

[0290] 実施例 1 に記載したものと同一方法を行った。更に P a n o m i c s の P r o c a r t a サイトカインキット (カタログ番号 P C 1 0 1 7 ) を使用した。P A I - 1 及びレプチンに対する抗体を、二つの別のキットから使用した。P A I - 1<sup>A</sup> 及びレプチン<sup>1</sup> に対する抗体を、M i l l i p o r e によって産生した。P A I - 1<sup>B</sup> に対する抗体を、P a n o m i c s によって産生した。図 3 A - 3 E は、得られた結果を示す。これらの結果は、本発明の方法のために適したバイオマーカーを選択するための指針を提供する。特に、特定のマーカーに対する確率値は、これに関して有用である。

## 【0309】

[0291] 図 3 E は、異なった集団の生理学的状態間を弁別するための各種のバイオマーカーの有効性に伴う確率を示す。0 . 1 又はそれより小さい確率値は、対象のバイオマーカーを識別するためにこの表で強調されている。本発明の好ましい方法において使用されるバイオマーカーは、0 . 0 5 又はそれより小さい、更に好ましくは 0 . 0 1、そしてなお更に好ましくは 0 . 0 0 1 又はそれより小さい確率値を有するものである。

## 【0310】

[0292] 次いで得られたデータを分離し、そして性別によって分析した。

[0293] 図 4 A - 4 C は、正常 ( N O )、非小細胞肺癌 ( L C )、及び喘息 ( A S T ) の女性の集団におけるバイオマーカーの平均の蛍光強度レベルを示す。図 4 D は、A S T 対 N O の女性の集団、L C 対 N O の女性の集団、及び A S T 対 L C の女性の集団における、それぞれのバイオマーカーの平均における変化のパーセントを示す。図 4 E は、それぞれのバイオマーカーに対して測定された平均の蛍光強度を比較することによって計算されたスチューデント t 値に伴う確率を示し、ここで、比較された平均は、それぞれ、A S T 対 N O の女性の集団、L C 対 N O の女性の集団、及び A S T 対 L C の女性の集団である。

## 【0311】

[0294] 男性の集団に関する同じ情報を、図 5 A - 5 E に示す。

[0295] 次に、女性及び男性の集団のデータを比較した。図 6 A は、A S T の女性の集団と比較した A S T の男性の集団、L C の女性の集団と比較した L C の男性の集団、及び N O の女性の集団と比較した N O の男性の集団における、それぞれのバイオマーカーの平均における変化のパーセントを示す。図 6 B は、実施例 3 からの男性及び女性の集団における、それぞれのバイオマーカーに対して測定された平均の蛍光強度を比較することによって計算されたスチューデント t 値に伴う確率を示し、ここで、比較された平均は、それぞれ、A S T の男性及び女性の集団、L C の男性及び女性の集団、及び N O の男性及び女性の集団である。

## 【0312】

実施例 4

[0296] クラスカル - ウォリス検定は、公知のノンパラメトリック統計法である。実施例 3 から得られたデータを、性別によって分離し、そしてクラスカル - ウォリス ( U 検定 ) によって解析した。0 . 0 5 又はそれより小さい確率値を持つマーカーを、有意と考えた。僅かに有意な ( 0 . 0 5 1 - 0 . 1 0 間の確率 ) 及び有意ではない ( 0 . 1 0 より大きい確率 ) を示すマーカーは廃棄した。保持したマーカーに対する結果を、図 7 - 8 に示す。

## 【0313】

[0297] 図 7 A は、L C 対 N O の女性の集団、A S T 対 N O の女性の集団、及び A S T 対 L C の女性の集団におけるそれぞれのバイオマーカーの平均濃度におけるパーセントの変化を示す。スカラー和 ( 即ち、全ての三つの比較に対する変化のパーセントの絶対値の和 ) が、更に提供され、そしてバイオマーカーを順位付けするために使用された。図 7 B は、それぞれのバイオマーカーに対して測定された濃度を比較することによって計算されたクラスカル - ウォリス検定に伴う確率を示し、ここで、比較された集団は、それぞれ、A S T 対 N O の女性の集団、L C 対 N O の女性の集団、及び A S T 対 L C の女性の集団である。

10

20

30

40

50

## 【 0 3 1 4 】

[0298] 男性の集団に関する同じ情報を、図 8 A 及び 8 B に示す。

[0299] バイオマーカーは、独特の性別及び疾病特異的パターンを示した。LC の性別に無関係の解析において、少なくとも 25 % のカットオフ閾値の絶対的变化を持つ 36 種のマーカー及び少なくとも 50 % のカットオフを持つ 32 種のマーカーが識別された。女性において、少なくとも 25 % のカットオフを持つ 32 種のマーカー及び少なくとも 50 % のカットオフを持つ 30 種が見いだされた。男性において、39 種のマーカーが少なくとも 25 % のカットオフであり、そして 37 種が少なくとも 50 % のカットオフであることが見いだされた。四つのマーカー：IL - 8 及び血清アミロイド P（下方制御）、ケッセイアミロイド A 及び C 反応性タンパク質（全て上方制御）の発現が、LC を持つ女性に対して、NO と比較して独特であった。五つのマーカー：インスリン（下方制御）、マトリックスメタルプロテイナーゼ - 7 及び - 8 並びに肝細胞増殖因子（全て上方制御）が、LC を持つ男性に対して、NO と比較して独特であった。三つのマーカーが、逆の発現のパターンを示し：( i ) VEGF は、LC を持つ女性において、NO と比較して下方制御され、そして男性において上方制御され；( i i ) レプチンは、女性において上方制御され、そして男性において下方制御され、そして( i i i ) MIP - 1 a は、LC を持つ男性において、NO に対して上方制御され、そして女性において下方制御された。

10

## 【 0 3 1 5 】

[0300] 本発明は、疾病状態の性別基準の識別の各種の方法を提供する。例えば、本発明は、インスリンが下方制御され、及び / 又はマトリックスメタルプロテイナーゼ - 7 及び - 8、レジスチン並びに肝細胞増殖因子が上方制御されているか否かを決定することを含んでなる男性の被験者における生理学的特徴づけの方法を提供する。このようなパターンは、疾病の指標である。本発明の意図中のアッセイは、男性の被験者中の三つ、四つ、又は五つのこれらのバイオマーカーの異常な上方 / 下方制御を検出することを含む。

20

## 【 0 3 1 6 】

[0301] もう一つの例において、本発明は、IL - 8 及び / 又は血清アミロイド P が下方制御され、及び / 又は血清アミロイド A 及び C 反応性タンパク質が上方制御されているか否かを決定することを含んでなる、女性の被験体における生理学的特徴づけの方法を提供する。このようなパターンは、疾病の指標である。本発明の意図中のアッセイは、女性の被験者の三つ、四つ、又は五つのこれらのバイオマーカーの異常な上方 / 下方制御を検出することを含む。

30

## 【 0 3 1 7 】

実施例 5

[0302] ヒトの血液試料を、志願者から収集した。30 種の試料を、非小細胞肺癌又は喘息のいずれかを有することが知られていない個体から収集した。非小細胞肺癌又は喘息のいずれかを有さないことが知られてる個体は、“正常な集団”を構成し、そしてそのように呼ばれる。28 種の血液試料を、喘息を有することが知られ、そして医師によってそのように診断された個体から収集した。喘息を有することが知られた個体は、本明細書中で“喘息の集団”を構成し、そしてそのように呼ばれる。30 種の血液試料を、非小細胞肺癌を有することが知られ、そしてそのように医師によって診断された個体から収集した。非小細胞肺癌を有することが知られた個体は、本明細書中で“肺癌の集団”を構成し、そしてそのように呼ばれる。一般的に、本明細書中で使用される場合、用語“肺癌”又は“複数の肺癌”は、非小細胞肺癌を指すことを意味する。

40

## 【 0 3 1 8 】

[0303] それぞれの喘息の集団、正常な集団及び肺癌の集団から 8 ないし 10 種の血漿試料を、試験するために無作為に選択した。それぞれの集団からのそれぞれの血漿の検体をプロテアーゼ又は消化剤に晒した。トリプシンをプロテアーゼとして使用し、そしてプロテアーゼとして使用することが、トリプシンが、プロリンがリシン又はアルギニンのいずれかに直接続いて存在する場合を除き、ペプチド鎖をリシン及びアルギニンのカルボキシル側で開裂することが知られている事実により、高度に特異的で、そして高度に予測可能

50

な開裂を起こすその能力のために好ましい。トリプシンが使用されたが、他のプロテアーゼ又は消化剤を使用することは可能である。少なくともトリプシンのように特異的に開裂するプロテアーゼ、又はプロテアーゼの混合物を使用することが好ましい。

#### 【0319】

[0304]開裂後、トリプシンによって残されたペプチドであるトリプシンペプチドは、次いで、遠心及び産生されたトリプシンペプチドのクロマトグラフ的分割を行うための、Eksigent 2D毛管HPLCの0.375×180mmのSupelcosil ABZ+カラムを使用する、0.1%のギ酸を伴うアセトニトリル水溶液の勾配による毛管液体クロマトグラフィーに、検体をかけることによって不溶性物質から分離された。このペプチドの分離は、エレクトロスプレーイオン化過程が、これらが、この場合HPLCカラムの終点と共通の末端であるエレクトロスプレーのエミッターから同時に溶出される場合、高いプロトン親和性を有する種類のイオンが、低いプロトン親和性を有するイオンのイオン形成を抑制するものである、イオンコサプレッションに晒されるために必要である。

10

#### 【0320】

[0305]この方法は、トリプシン消化中に産生される多くのペプチドのクロマトグラフ的分離を可能にし、そしてコサプレッションの問題を最小にすることを援助し、これによって擬分子イオンのコサプレッションの形成の機会を最大にし、これによってイオンの試料採取を最大にする。次いでそれぞれの検体のトリプシンペプチドをLC-ESIMSにかけた。LC-MSIMSは、それぞれの検体中のペプチドを、先に記載したように、水、アセトニトリル及びギ酸からなる溶媒系のカラムを通して通過させることによって、それぞれの検体中のそれぞれのペプチドを時間内に分離した。

20

#### 【0321】

[0306]次いでペプチドをエレクトロスプレーイオン化源でスプレーして、ペプチドをイオン化し、そして先に記載したようにペプチドの擬分子イオンを産生した。ペプチドを、LC-ESIMS中の質量分析器を通過させ、ここで、それぞれのペプチドの擬分子イオンの分子質量が測定された。LC-MSIMSを通過した後、それぞれの試料中に存在するペプチドのために、質量スペクトルのデータ、即ち強度、分子量及びペプチドのクロマトグラフのカラムからの溶出の時間から質量スペクトルの読出しを作成した。質量スペクトルの読出しは、一般的にLC-MSIMSによって記録されたペプチドの擬分子イオンのシグナルのグラフ的説明であり、ここにおいて、x軸は質量と電荷の比であり、y軸は擬分子イオンシグナルの強度である。次いでこれらのデータは、LC-MSIMSを制御するソフトウェア系によって加工され、そして結果としてのデータを獲得し、そして保存する。

30

#### 【0322】

[0307]質量スペクトルデータが得られ、そして質量スペクトル読出しに入れられた後、比較解析が行われ、ここにおいて、それぞれの集団に対してLC-MSIMSにおいて試験されたそれぞれの血漿検体の質量スペクトル読出しが、病態間及び病態内の両方で行われた。質量スペクトルのピークを、正常な集団中の試験されたそれぞれの検体間で比較した。次いで、質量スペクトルのピークを、喘息の集団及び肺癌の集団中の試験されたそれぞれの検体間で比較した。病態内の比較が行われた後、病態間の比較が行われ、ここにおいて、喘息集団に対してLC-MSIMS中で試験されたそれぞれの検体に対する質量スペクトルの読出しを、正常な集団中の試験されたそれぞれの検体に対して比較した。同様に、肺癌の集団中のためのLC-MSIMS中で試験されたそれぞれの検体に対する質量スペクトルの読出しを、正常な集団中の試験されたしれぞれの検体に対して比較した。

40

#### 【0323】

[0308]ペプチド強度が、病態内で不調和に異なって発現するか、又は喘息の集団又は肺癌の集団を正常な集団と比較した場合、実質的に変化しない(強度で10倍より小さい変動)ことを示す質量スペクトルの読出しを伴うペプチドは、有意ではないと決定し、そして除外した。一般的に、使用された除外の基準は、識別され特徴づけされたペプチドの少

50

なくとも半数のペプチドのピーク強度を、それぞれの病態からの個々の患者の血漿検体の分析から誘導された少なくとも10組のデータからの所定のタンパク質と比較することを含んでいた。所定のタンパク質から誘導されたペプチドのピークの大部分の強度が、血漿のデータの組の80%の強度において少なくとも10倍高い場合、このタンパク質は、二つの病態の群間で異なって制御されると分類された。

#### 【0324】

[0309] 然しながら、異なって制御されることが観察されるペプチドを与えるタンパク質の識別は、未知であり、そして識別する必要がある。タンパク質の識別を行うために、ペプチドの擬分子イオンシグナルの強度を、既知のタンパク質及びペプチド並びに疑わしいタンパク質及びペプチドのライブラリーを含有する既知のデータベースにわたって比較した。

10

#### 【0325】

[0310] それぞれの正常な、それぞれの肺癌及び喘息の集団からのそれぞれの検体に対するトリプシン消化物の質量スペクトルの読出しを、MASCOTと呼ばれる既知のサーチエンジンにインプットした。MASCOTは、当技術において既知のサーチエンジンであり、これは、四つの主要な配列データベース、即ちMSDB、NCBI nt、SwissProt及びdbESTデータベースからのタンパク質を識別するために、質量スペクトルのデータを使用する。これらのデータベースは、既知の配列の全てのタンパク質、及び遺伝子配列から誘導される特徴的タンパク質転写開始領域の観察に基づく全ての推定的タンパク質の情報を含有する。これらのデータベースは、継続的に正確さ及び重複性に対して検討され、そして新しいタンパク質及び遺伝子配列が識別され、そして科学及び特許文献中に公開されると、継続的な付加が行われる。

20

#### 【0326】

[0311] 検索基準及びパラメータを、MASCOTプログラムにインプットし、そしてそれぞれの集団に対する質量スペクトル読出しからの質量スペクトルデータを、MASCOTプログラムによって実行した。MASCOTプログラムに入れた質量スペクトルデータは、それぞれの病態の全ての検体に対する。次いでMASCOTプログラムは、配列データベースに対してインプットされたペプチドに対する質量スペクトルデータを、それぞれのペプチドのピーク強度及び質量を、既知のペプチド及びタンパク質の質量及びピーク強度と比較することによって実行する。次いでMASCOTは、検索結果を作成し、これを、通常、分析されたそれぞれの試料に対する“有意な一致”として知られる可能なタンパク質識別の一致の候補のリストを返した。

30

#### 【0327】

[0312] 有意な一致は、試験されるそれぞれの検体に対する“MOWSEスコア”と呼ばれるスコアを指定することによってMASCOTプログラムによって決定される。MOWSEスコアは、スコアが $-10 * \log_{10}(P)$ であるアルゴリズムであり、式中、Pは、観察された一致が無作為な出来事である確率であり、これは、pが0.05より小さい場合に有意なp値に相関し、これは、一般的に科学の分野で受容される標準である。概略55ないし概略66又はそれより大きいMOWSEスコアは、一般的に有意と考えられる。有意性なレベルは、具体的な検索上の考慮及びデータベースのパラメータにより僅かに変化する。有意な一致は、それぞれのペプチドの実行に対して返され、タンパク質の候補リストとなる。

40

#### 【0328】

[0313] 次に、その全てが参考文献として本明細書中で援用される、US20090069189中に記載されているものと同じ方法を使用して比較分析を行った。

[0314] 質量スペクトルの読出しからのデータを、有意な一致と照合して、未処理のデータ、ピーク強度、電荷の多重度、同位体の分布及び隣接電荷の状態を確認した。次いで逆検索を行って、MASCOTプログラムによる自動的検索によって欠損され得るペプチドを候補リストに加えた。更なるペプチドを、トリプシンペプチド及びその対応する分子量が既知のアミノ酸、又はタンパク質の遺伝子配列に基づいて計算されるコンピューター

50

上の消化を行って比較されたペプチドの、それぞれのパラメータと実質的に一致する一つのタンパク質を意味する“最良の一致”を選択することによって識別した。次いでこれらの予測したペプチド質量を、未処理の質量スペクトルのデータに対して検索し、そしていずれもの識別されたピークを検査し、そして先に記載したように認定した。次いで、M A S C O Tによって自動的に識別されたもの及び手計算によって識別されたものを含む全てのペプチドを、M A S C O Tによって使用される質量リストに入れた。次いで洗練された一致を、洗練されたM O W S Eスコアを誘導するために使用した。

#### 【0329】

[0315]識別過程の結果として、タンパク質アルギナーゼ - 1 が、喘息の集団、肺癌の集団及び / 又は正常な集団間で有意に異なって発現することが決定された。この方法を使用して識別された他のタンパク質は、B A C 0 4 6 1 5、Q 6 N S C 8、C A F 1 7 3 5 0、Q 6 Z U D 4、Q 8 N 7 P 1、C A C 6 9 5 7 1、タンパク質 4 を含有する F E R M 領域、J C C 1 4 4 5 プロテアソームエンドペプチダーゼ複合体の C 2 長さの鎖によるスプライス型、シンタキシン 1 1、A A K 1 3 0 8 3、及び A K K 1 3 0 4 9 0 である。その全てが本明細書中に参考文献として援用される、U S 2 0 0 9 0 0 6 9 1 8 9 を参照されたい。

10

#### 【0330】

[0316]喘息及び肺癌患者において一貫して異なって発現する特異的タンパク質を、患者の血漿中のタンパク質を、トリプシン消化及び L C - E S I M S による分析にかけ、質量スペクトルを得て、そして質量スペクトルデータが一つ又はそれより多いアルギナーゼ 1、B A C 0 4 6 1 5、Q 6 N S C 8、C A F 1 7 3 5 0、Q 6 Z U D 4、Q 8 N 7 P 1、C A C 6 9 5 7 1、タンパク質 4 を含有する F E R M 領域、J C C 1 4 4 5 プロテアソームエンドペプチダーゼ複合体の C 2 長さの鎖によるスプライス型、シンタキシン 1 1、A A K 1 3 0 8 3、及び A A K 1 3 0 4 9 0 のピークを含むか否かを決定することによって、識別することにより、これらの病態を疾病の進行の初期に診断することが可能である。次いで患者の試料中に見出されたいずれものタンパク質のレベルを、正常な集団中に見出されるレベルと比較した。

20

#### 【0331】

[0317]配列番号 1 に開示されるアミノ酸配列は、本出願の出願の日付においてタンパク質 B A C 0 4 6 1 5 に対して知られた第一アミノ酸の配列である。配列番号 2 に開示されるアミノ酸配列は、本出願の出願の日付においてタンパク質 Q 6 N S C 8 に対して知られた第一アミノ酸の配列である。配列番号 3 に開示されるアミノ酸配列は、本出願の出願の日付においてタンパク質 C A F 1 7 3 5 0 に対して知られた第一アミノ酸の配列である。配列番号 4 に開示されるアミノ酸配列は、本出願の出願の日付においてタンパク質 Q 6 Z U D 4 に対して知られた第一アミノ酸の配列である。配列番号 5 に開示されるアミノ酸配列は、本出願の出願の日付においてタンパク質、タンパク質 4 を含有する F E R M 領域に対して知られた第一アミノ酸の配列である。配列番号 6 に開示されるアミノ酸配列は、本出願の出願の日付においてタンパク質 A A K 1 3 0 8 3 に対して知られた第一アミノ酸の配列である。配列番号 7 に開示されるアミノ酸配列は、本出願の出願の日付においてタンパク質 Q 8 N 7 P 1 に対して知られた第一アミノ酸の配列である。配列番号 8 に開示されるアミノ酸配列は、本出願の出願の日付においてタンパク質 C A C 6 9 5 7 1 に対して知られた第一アミノ酸の配列である。配列番号 9 に開示されるアミノ酸配列は、本出願の出願の日付においてタンパク質 J C C 1 4 4 5 プロテアソームエンドペプチダーゼ複合体の C 2 長さの鎖によるスプライス型に対して知られた第一アミノ酸の配列である。配列番号 10 に開示されるアミノ酸配列は、本出願の出願の日付においてタンパク質シンタキシン 1 1 に対して知られた第一アミノ酸の配列である。配列番号 11 に開示されるアミノ酸配列は、本出願の出願の日付においてタンパク質 A A K 1 3 0 4 9 に対して知られた第一アミノ酸の配列である。配列番号 12 に開示されるアミノ酸配列は、本出願の出願の日付においてタンパク質アルギナーゼ - 1 に対して知られた第一アミノ酸の配列である。

30

40

#### 【0332】

50

実施例 6

[0318]喘息の患者から選択された組織検体を、実施例 5 に記載したものと同一方法にかけた。更にその全てが本明細書中に参考文献として援用される、出願番号 6 1 / 1 7 6 , 4 3 7 を参照されたい。

## 【 0 3 3 3 】

[0319]認識過程の結果として、以下のタンパク質が、喘息の患者中で有意に異なって発現することが決定された：

## 【 0 3 3 4 】

## 【表 2 4】

寄託番号	遺伝子又は タンパク質	文献から示唆された機能	質量	Mowse スコア	配列番号
Q6ZR64 (ヒト)	FLJ46603	仮定上のタンパク質 HBV preS1 でトランス活性化されたタンパク質 1	23397	51	13
Q8WUX6 (ヒト)	AAH19232	肺の組織中で発現した	12347	49	14
Q5YA4	CCDC52 タンパク質 断片	RhoA GTP アーゼの制御における潜在的役割	11748	51	15
Q5T2Z1 (ヒト)	DDA3	p53 によって活性化	25035	56	16
OSHU7C	シトクロム c オキシダーゼ 鎖 VIIc 前駆物質	ミトコンドリア呼吸鎖複合体の末端成分； レドックスエネルギーの ATP への転換	7241	46	17

10

20

30

## 【 0 3 3 5 】

[0320]喘息の患者中で一貫して有意に異なって発現する五つの特異的タンパク質を、患者の組織の検体中のタンパク質をトリプシン消化及び LC - E S I M S による分析にかけ、質量スペクトルデータを得て、そして質量スペクトルデータが、一つ又はそれより多い配列番号 1 3 - 1 7 に対するピークを含むか否かを決定することによって、疾病の進行の初期にこれらの病態を診断することが可能である。次いで患者の試料中に見出されたいずれものタンパク質のレベルを、正常な集団中に見出されたレベルと比較される。

40

## 【 0 3 3 6 】

実施例 7

## 非小細胞肺癌の診断試験

[0321]生物学的流体の試料を、診断情報が所望される患者から得る。好ましくは試料は、血液の血清又は血漿である。試料中の次の 1 4 種のバイオマーカー： I L - 1 3 、 I - T A C 、 M C P - 1 、 M M P - 1 、 M P O 、 H G F 、 エオタキシン、 M M P - 9 、 M M P - 7 、 I P - 1 0 、 S A A 、 レジスチン、 I L - 5 、 及び s V A C M - 1 の七つ（ 7 種 ）の濃度を決定する。それぞれのバイオマーカーに対する試料からの測定された濃度を、正常なヒトの個体、喘息を持つと診断された個体の集団、及び N S C L C を持つと診断された個体の集団中の同じ流体中に見出されたそのマーカーの濃度の範囲と比較する。正常な

50



範囲からの逸脱は、肺疾患の指標であり、そして喘息を持つ個体の集団に対する範囲からの逸脱は、NSCLCの指標である。同じ14種の組からのバイオマーカーを使用する患者の試験を、喘息又は他の反応性気道疾患の診断のために類似の方法で使うことができる。

#### 【0337】

##### 実施例 8

##### 非小細胞肺癌に対する治療のモニター

[0322] 生物学的流体の治療前の試料を、NSCLCを持つと診断された患者から、疾病に対するいずれもの治療の前に得た。好ましくは試料は、血液の血清又は血漿である。試料中の次の24種のバイオマーカー：IL-13、EGF、I-TAC、MMP-1、IL-12 (p70)、エオタキシン、MMP-8、MCP-1、MPO、IP-10、SAA、HGF、MMP-9、MMP-12、アミリン(全体)、MMP-7、IL-6、MIL-1、アジボネクチン、IL-10、IL-5、IL-4、SE-セレクチン、及びMIP-1の八つ(8種)の濃度を決定した。試料からのそれぞれのバイオマーカーに対する測定された濃度を、正常なヒトの個体中の同じ流体中に見出されたそのマーカーの濃度の範囲と比較することができる。治療前の試料が採取された後、患者は、外科手術とそれに続く照射を含んでなる治療的介入を受ける。外科手術後、しかし照射の前に同じ流体の試料を採取する。更なる試料をそれぞれの照射セッション後に採取する。それぞれの試料中の同じ八つ(8種)のバイオマーカー中の濃度を決定する。それぞれのバイオマーカーの発現のレベルの変化を記録し、そして疾病の進行の他の症状と比較する。

10

20

#### 【0338】

##### 実施例 9

##### 予知的なバイオマーカーの選択

[0323] 生物学的流体の治療前の試料を、NSCLCを持つと診断された患者の集団から、疾病に対するいずれもの治療の前に得た。好ましくは試料は、血液の血清又は血漿である。試料中の次の24種のバイオマーカー：IL-13、EGF、I-TAC、MMP-1、IL-12 (p70)、エオタキシン、MMP-8、MCP-1、MPO、IP-10、SAA、HGF、MMP-9、MMP-12、アミリン(全体)、MMP-7、IL-6、MIL-1、アジボネクチン、IL-10、IL-5、IL-4、SE-セレクチン、及びMIP-1の八つ(8種)の濃度を決定した。試料からのそれぞれのバイオマーカーに対する測定された濃度を、正常なヒトの個体中の同じ流体中に見出されるそのマーカーの濃度の範囲と比較する。治療前の試料が採取された後、それぞれの患者は、外科手術とそれに続く照射を含んでなる治療的介入を受ける。外科手術後、しかし照射の前に同じ流体の試料を採取する。更なる試料をそれぞれの照射セッション後に採取する。それぞれの試料中の24種のバイオマーカーの濃度を決定する。それぞれのバイオマーカーの発現のレベルの変化を記録し、そして疾病の進行の他の症状と比較する。そのレベルが治療後に変化した全てのマーカーを識別する。

30

#### 【0339】

##### 実施例 10

##### 感受性の患者の選択

[0324] 生物学的試料を、NSCLCを持つと診断された患者から得る。好ましくは、試料は血液の血清又は血漿である。試料中の先の実施例で識別されたそれぞれのバイオマーカーの濃度を決定し、そして正常から逸脱した値を示す最高の数のバイオマーカーを示す患者を、治療のために選択する。

40

#### 【0340】

##### 実施例 11

##### 男性の被験体中の非小細胞肺癌に対する診断試験

[0325] 生物学的流体の試料を、診断情報が所望される男性の患者から得る。好ましくは試料は、血液の血清又は血漿である。試料中の次の14種のバイオマーカー：I-TAC、MPO、HGF、MMP-1、MMP-8、エオタキシン、IL-8、MMP-7、I

50

P - 10、s V A C M - 1、I L - 10、アジボネクチン、S A P、及びI F N - の七つ（7種）の濃度を決定する。それぞれのバイオマーカーに対する試料からの測定された濃度を、正常なヒトの男性の個体、喘息を持つと診断された男性の個体の集団、及びN S C L Cを持つと診断された男性の個体の集団中の同じ流体中に見出されたそのマーカーの濃度の範囲と比較する。正常な範囲からの逸脱は、肺疾患の指標であり、そして喘息を持つ個体の集団の範囲からの逸脱は、N S C L Cの指標である。同じ14種の組からのバイオマーカーを使用する患者の試験を、喘息又は他の反応性気道疾患の診断のために類似の方法で使うことができる。

#### 【0341】

##### 実施例 12

男性の被験体における非小細胞肺癌に対する別の試験

[0326]表1 - 15中に規定した全ての、でなければ、多くバイオマーカーは、先に記載した種類の通信経路に關与する。幾つかのバイオマーカーは、一次相互作用物質として互いに關連する。診断又は予測アッセイにおいて使用するためのマーカーの選択は、特定のバイオマーカー及びその一次相互作用物質間の既知の關係を使用して容易にすることができる。表16Bに記載したバイオマーカー間の既知の通信の關係は、A r i a d n e系によって發生した図9中に見ることができる。図9は、H G F（肝細胞増殖因子）の一次相互作用物質が、s F a s L（可溶性F a sリガンド）、P A I - 1（セルピン プラスミノゲン活性化因子阻害剤1）（活性/全体）、I n s（インスリン；これは更にCペプチドを含む）、E G F（上皮細胞増殖因子）、M P O（ミエロペルオキシダーゼ）、及びM I F（遊走阻止因子）を含むことを示す。他の相互作用物質（一次ではない）は、R E T N（レジスチン、x c p 1）、S A A 1（血清アミロイドA、S A A）、C C L 1 1（エオタキシン）、L E P（レプチン）及びC X C L 1 1（ケモカイン（C - X - Cモチーフ）リガンド11、インターフェロン誘導T細胞アルファ走化性因子（I - T A C）又はインターフェロン - ガンマ誘導タンパク質9（I P - 9））を含む。更に、図9は、二つのバイオマーカーM M P 1及びM M P - 8（マトリックスメタルプロテイナーゼ1及び8）が、H G Fとの通信経路上にないことを示す。

#### 【0342】

[0327]バイオマーカーの選択を測定することによって収集される情報を最大化するための一つの方法は、同じ通信経路にないバイオマーカーが収集物中に含まれるように、複数のバイオマーカーを選択することである。表16B中のバイオマーカーのリストを使用することにより、少なくともH G F又はH G F及びM M P - 8との一次相互作用物質であるもう一つのバイオマーカーのレベルが、男性の被験者中で異常である場合、被験者が肺癌を有する可能性は、非常に高いように見受けられる。M M P - 1のレベルも更に異常である場合、可能性はなお更に高い。従って、男性の被験者における肺癌を診断するための本発明による一つの方法は、少なくともH G F又はH G F及びM M P - 8との一次相互作用物質であるもう一つのバイオマーカーのレベルを決定し、そしてこのレベルを正常な集団に対して予測される範囲と比較して、これらのバイオマーカーのレベルが異常であることを見ることであるものである。好ましいモードにおいて、この診断法は、更にM M P - 1のレベルが、正常であるか否かを決定することを含むものである。更に好ましくは、一つ又はそれより多いC X C L 1 1、L E P、S A A 1及び/又はR E T Nも、更に決定され、そしてそのレベルを、正常な個体の集団に対して予測される範囲と比較されるものである。異常なレベルで存在するこれらのバイオマーカーが多ければ、被験者が肺癌である可能性は大きい。

#### 【0343】

##### 実施例 13

男性における非小細胞肺癌に対する治療のモニター

[0328]生物学的流体の治療前の試料を、N S C L Cを持つと診断された男性の患者から、疾病に対するいずれもの治療の前に得た。好ましくは試料は、血液の血清又は血漿である。試料中の次の24種のバイオマーカー：I L - 13、I - T A C、E G F、M P O、

10

20

30

40

50

HGF、MMP - 1、MMP - 8、MIF、エオタキシン、IL - 12 ( p 7 0 )、MCP - 1、MMP - 9、SAA、IP - 10、アミリン ( 全体 )、MMP - 7、レジスチン、IL - 6、MIL - 1、TNF -、IL - 8、IL - 5、CRP、及びIL - 10の八つ ( 8 種 ) の濃度を決定した。試料からのそれぞれのバイオマーカーに対する測定された濃度を、正常なヒトの個体中の同じ流体中に見出されるそのマーカーの濃度の範囲と比較することができる。治療前の試料が採取された後、患者は、外科手術とそれに続く照射を含んでなる治療的介入を受ける。外科手術後、しかし照射の前に同じ流体の試料を採取する。更なる試料をそれぞれの照射セッション後に採取する。それぞれの試料中の同じ八つ ( 8 種 ) のバイオマーカーの濃度を決定する。それぞれのバイオマーカーの発現のレベルの変化を記録し、そして疾病の進行の他の症状と比較する。

10

#### 【 0 3 4 4 】

##### 実施例 1 4

##### 予知的なバイオマーカーの選択

[0329] 生物学的流体の治療前の試料を、NSCLCを持つと診断された男性の患者の集団から、疾病に対するいずれもの治療の前に得た。好ましくは試料は、血液の血清又は血漿である。試料中の次の24種のバイオマーカー：IL - 13、I - TAC、EGF、MPO、HGF、MMP - 1、MMP - 8、MIF、エオタキシン、IL - 12 ( p 7 0 )、MCP - 1、MMP - 9、SAA、IP - 10、アミリン ( 全体 )、MMP - 7、レジスチン、IL - 6、MIL - 1、TNF -、IL - 8、IL - 5、CRP、及びIL - 10の濃度を決定した。試料からのそれぞれのバイオマーカーに対する測定された濃度を、正常なヒトの個体中の同じ流体中に見出されるそのマーカーの濃度の範囲と比較する。治療前の試料が採取された後、それぞれの患者は、外科手術とそれに続く照射を含んでなる治療的介入を受ける。外科手術後、しかし照射の前に同じ流体の試料を採取する。更なる試料をそれぞれの照射セッション後に採取する。それぞれの試料中の24種のバイオマーカーの濃度を決定する。それぞれのバイオマーカーの発現のレベルの変化を記録し、そして疾病の進行の他の症状と比較する。

20

#### 【 0 3 4 5 】

##### 実施例 1 5

##### 感受性の患者の選択

[0330] 生物学的流体の試料を、NSCLCを持つと診断された男性患者から得る。好ましくは、試料は血液の血清又は血漿である。試料中の先の実施例で識別されたそれぞれのバイオマーカーの濃度を決定し、そして正常から逸脱した値を示す最高の数のバイオマーカーを示す患者を、治療のために選択する。

30

【図 1 A】

FIGURE 1A

正常な集団における蛍光強度レベル									
パイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.	パイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.		
sE-セレクトリン	-3754.00	35.15	-0.94	MMP-3	1560.06	5918.30	37.79		
EGF	5015.80	4447.17	88.66	IP-10	3408.61	4279.11	125.54		
IL-5	293.76	1201.87	-409.13	IL-10	401.93	816.03	203.03		
PAL-1 (金)	4650.05	1273.31	27.38	MMP-8	2673.57	1392.34	52.08		
レプスチン	3138.02	2234.38	71.20	MMP-2	2052.74	928.10	3.86		
レプスチン	8089.08	9137.49	112.96	G-CSF	1164.65	4625.86			
sVCAM-1	1017.74	609.37	59.87	sFasL	59.40	29.11	-49.00		
MMP-13	0.30	6.35	2141.82	IL-8	7726.40	6653.62	86.12		
sICAM-1	1541.92	4224.24	273.96	TGF- $\beta$ 1	2820.52	111.88			
CD40 リガンド	3488.15	1784.70	-51.16	IPN- $\beta$ 1	347.50	1150.62	331.31		
IL-7	161.20	192.05	119.14	MPO	1960.51	4609.11	235.10		
C- $\beta$ 2 マイクログロブリン	-553.29	2222.61	-401.71	MIP-1 $\alpha$	2579.96	3201.87	124.11		
HGF	8734.89	8388.22	96.03	IL-1 $\alpha$	828.88	1771.02	213.66		
CRP	650.01	413.44	63.61	VEGF	4791.40	5321.58	111.07		
IL-1 $\alpha$	10243.98	8699.54	84.92	IL-13	664.75	2013.87	302.95		
IL-1 $\beta$	6574.13	9870.69	150.14	IL-12p70	1485.90	3880.72	227.82		
MMP-7	309.12	88.76	28.71	IL-12p90	1174.46	4080.10	347.40		
IL-4	2261.07	2731.85	120.82	IL-1 $\beta$	778.53	2976.43	382.32		
アジメチン	24525.83	1200.90	5.26	GLP-1 (活性)	708.76	2492.64	351.69		
MMP-9	28540.58	803.64	2.82	フラクタルカイン	916.75	2024.48	220.83		
GM-CSF	103.94	973.06	936.21	IL-2	334.85	1262.10	235.97		
MMP-12	-2.29	2.48	-108.31	エオシノキシン	6342.86	6613.72	104.27		
IL-15	231.98	679.37	292.85	MIP-1 $\beta$	1513.50	3551.71	234.07		
IL-17	1680.73	4225.28	251.40	sFas	181.43	63.29	34.88		
IL-12(p40)遊離	171.55	1091.36	636.16	アミリン (活性)	6010.22	4589.31	3171.16		
TNF- $\alpha$ リガンド	97.55	71.64	73.44	MMP-1	6010.22	4006.18	66.66		
MIF	1185.89	3586.20	302.41	グルカゴン	1869.83	4633.13	247.89		
I-TAC	19.16	34.72	181.17	MCP-1	27869.05	965.91	3.47		
IL-6	3557.94	5666.10	159.25	SAP	24732.42	803.37	3.25		

【図 1 B】

FIGURE 1B

腫瘍の集団における蛍光強度レベル									
パイオマーカー				パイオマーカー					
	平均	S.D.	R.S.D.		平均	S.D.	R.S.D.		
8E-セレクト	37.10	26.27	-0.71	MMP-3	15470.68	5795.86	37.46		
EGF	12471.39	9397.19	75.55	IP-10	5641.16	6148.52	108.99		
IL-5	547.96	859.85	-90.70	IL-10	1053.38	2430.64	230.75		
PAL-1 (総体)	3776.85	1098.08	29.07	MMP-8	2845.20	1305.16	45.87		
レプスチン	2084.83	853.26	40.93	GMP-2	23768.35	1272.05	5.35		
レプスチン	24.05	8538.62	35503.61	G-CSF	-209.22	896.64	-428.57		
sVCAM-1	1364.62	912.59	66.88	sFasL	487.48	284.79	493.46		
MMP-13	-1.10	3.81	-345.47	IL-8	7258.97	8012.30	122.78		
SAA	7712.92	10706.73	138.82	TGF- $\beta$ 1	1859.04	4739.54	254.95		
sICAM-1	2484.13	3305.66	-133.07	IFN- $\gamma$ 1	248.91	1141.12	458.45		
CD40 リガンド	539.63	495.14	91.76	MPO	2899.33	5179.23	178.64		
IL-7	-1723.03	869.90	-50.49	MIP-1 $\alpha$ / IL-1 $\alpha$	4869.60	7609.88	157.51		
C- $\beta$ 2 マイクログロブリン	10380.92	8201.68	79.01	IL-1 $\alpha$	298.27	535.27	179.46		
HGF	560.93	421.36	75.12	VEGF	7222.50	6074.27	84.10		
CRP	20810.52	6883.21	32.11	IL-13	373.67	713.36	190.90		
IL-1 $\alpha$	404.89	5992.97	1480.15	IL-12(p70)	1758.20	3177.46	180.72		
IL-1 $\beta$	535.63	674.48	115.57	IL-12(p90)	208.66	701.87	336.37		
IL-4	422.10	1652.03	391.38	IL-1B	1278.97	3946.61	308.58		
フラクタルカイン	24462.63	1616.93	6.61	GLP-1 (活性)	229.15	437.88	191.09		
MMP-9	27269.90	1233.41	4.52	フラクタルカイン	279.20	747.82	267.85		
GM-CSF	-188.48	771.98	-409.58	IL-2	178.31	421.41	236.34		
MMP-12	-0.65	2.25	-345.94	エオシノキシン	6982.76	6113.93	87.56		
IL-15	19.63	139.23	709.13	MIP-1 $\beta$	924.40	2438.40	263.79		
IL-17	265.67	812.81	305.94	sFas	214.14	140.95	65.82		
IL-12(p40) 遊離	-115.91	847.03	-730.77	アミリン (活性)	889.30	1721.49	193.58		
MIF	331.60	1019.01	307.30	MMP-1	7517.19	6016.10	80.03		
TNF- $\alpha$ リガンド	379.20	644.19	169.88	フラクタルカイン	2319.96	3302.68	142.36		
I-TAC	7.90	24.12	305.44	MCP-1	27622.58	1394.00	5.05		
IL-6	1381.59	3261.99	206.25	SAP	24537.83	742.40	3.03		

【図 1 C】

FIGURE 1C

癌の集団における蛍光強度レベル							
パイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.	パイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.
aE-セレクトリン	106.77	49.48	46.35	MMP-3	12561.00	6374.02	50.74
EGF	1891.44	2231.32	117.97	IP-10	2936.55	4067.24	138.50
IL-5	1652.42	2751.18	166.49	IL-10	230.17	601.55	261.35
PAL-1 (金)	2816.18	1591.94	-56.53	MMP-8	2134.40	1521.23	71.27
レプスチン	1113.54	1337.70	120.13	MMP-2	24772.42	2488.88	10.05
レプスチン	17523.57	8823.12	50.35	G-CSF	164.26	1467.85	893.59
sVCAM-1	3784.43	856.94	22.64	aFasL	49.41	80.27	162.04
MMP-13	3.94	4.38	116.10	IL-8	5297.59	6465.20	122.04
sICAM-1	1415.16	1503.12	106.22	TGF- $\beta$ 1	3668.40	4933.06	139.20
CD40 リガンド	5039.72	2494.41	49.49	IPN- $\beta$ 1	66.13	170.57	257.94
IL-7	703.27	459.35	65.31	MPO	2477.35	310.70	125.57
C- $\beta$ 2 マイクログロブリン	634.33	1674.74	-264.02	MIP-1 $\alpha$ ルプア	3104.09	3288.61	105.94
HGF	21354.00	5055.31	23.67	IL-1 $\alpha$	737.51	893.00	155.71
CRP	904.47	453.18	50.33	VEGF	5570.03	4603.60	83.73
IL-1 $\alpha$	12052.08	8985.63	74.56	IL-13	541.10	816.76	150.94
IL-1 $\beta$	5722.73	9910.91	173.19	IL-12	2948.06	4584.49	155.51
MMP-7	385.99	137.37	35.59	IL-12(p70)	448.58	651.36	146.51
IL-4	2366.17	4127.72	174.45	IL-1B	166.73	367.22	220.25
IL-17	21241.91	3183.07	14.98	GLP-1 (活性)	273.07	599.24	197.47
MMP-9	28559.72	916.63	3.21	フラクタルカイン	318.34	752.30	236.32
GM-CSF	5741.1	1081.15	188.32	IL-2	386.20	561.42	145.37
MMP-12	-0.88	3.26	-372.85	エオシノキシン	6985.59	4047.59	57.94
IL-15	193.73	294.67	152.10	MIP- $\beta$ 2	550.53	1038.97	188.72
IL-12(p40) 遊離	1267.20	2096.39	165.44	aFas	238.89	1384.67	77.30
MIF	361.39	899.35	248.86	アミリン (活性)	995.40	2621.90	263.40
TNF- $\alpha$ リガンド	143.50	79.27	55.24	MMP-1	6968.82	5642.31	80.97
I-TAC	917.00	878.85	95.84	フラクタルカイン	1598.53	3655.30	228.67
IL-6	20.77	12.07	58.12	MCP-1	27601.89	2359.19	8.55
	4559.95	6199.94	135.97	SAP	24394.42	1810.34	7.42

【図 1 D】

FIGURE 1D

平均蛍光強度における変化のパーセント							
パイオマーカー	IC 群 NO	AST 群 NO	IC 群 AST	パイオマーカー	IC 群 NO	AST 群 NO	IC 群 AST
8E-セレクト	-1.15	-102.84	-3600.69	MMP-3	-1.21	-19.79	-51.48
EGF	148.64	-62.29	125.02	IP-10	63.50	-13.85	709.83
IL-5	222.70	-662.50	-104.99	IL-10	162.08	-42.73	-10.72
PAL-1 (金)	-18.78	-160.56	-222.72	MMP-8	6.42	-20.17	122.89
レプスチン	-35.56	-64.51	186.59	MMP-2	-1.18	2.99	-7.54
レプスチン	99.70	116.63	-129.48	G-CSF	1072.30	-1020.42	293.76
sVCAM-1	34.08	271.85	-65.45	sFasL	720.72	-16.82	14.38
MMP-13	471.91	1229.05	-8.70	IL-8	-6.05	-31.44	339.52
SAA	400.22	-8.22	524.17	TGF- $\beta$ 1	-26.26	41.43	300.77
sICAM-1	-28.78	-244.48	-215.09	IPN- $\beta$ 1	-28.33	-80.96	232.69
CD40 リガンド	234.76	336.27	-60.21	MPO	47.89	26.36	-218.24
IL-7	214.1	14.65	70.89	MIP-1 $\alpha$	88.75	20.32	147.13
Cx-36	18.84	144.47	-38.39	IL-1 $\alpha$	-64.02	-30.81	137.89
HGF	-13.70	39.15	-129.39	VEGF	50.74	16.25	115.00
CRP	103.15	17.65	17.23	IL-13	-43.70	-18.60	-101.85
IL-1 $\alpha$	103.15	17.65	17.23	IL-13	-43.70	-18.60	-101.85
IL-1 $\beta$	-93.84	-12.95	-27.14	IL-12(p70)	82.33	-62.15	-46.85
MMP-7	88.80	24.87	-27.90	IL-12(p90)	-18.23	-62.15	-46.85
IL-4	-81.33	4.65	-65.13	IL-1B	64.38	-78.58	10.66
アジメチン	-0.26	-13.39	12.60	GLP-1 (活性)	-57.67	-61.47	70.47
GM-CSF	-4.45	0.07	3.87	フラクタルカイン	-69.94	-65.28	-43.21
MMP-9	-281.34	452.37	-140.55	IL-2	-166.66	-27.79	14.84
MMP-12	-71.66	-41.85	-100.00	エオシノシン	10.09	10.13	-64.76
IL-15	-91.54	-16.49	-8.38	MIP-1 $\beta$	-38.92	-63.63	7.17
IL-17	-84.19	-24.60	-94.81	sFas	18.03	31.67	54.25
IL-12(p40)遊離	-167.56	110.66	-297.38	アミリン (活性)	-38.54	-31.21	18.55
MIF	239.94	47.11	267.31	MMP-1	25.07	15.95	-22.61
TNF- $\alpha$ リガンド	-68.02	-22.67	-7.11	フラクタルカイン	24.07	-14.51	-24.79
I-TAC	-56.79	8.37	-38.37	MCP-1	-0.88	-0.86	-0.24
IL-6	-55.55	28.16	-54.85	SAP	-0.79	-1.37	-2.51

【 図 2 A 】

[illegible]

	平均	S.D.	R.S.D.
パイオマーカー			
アジボネクチン	2339.70	1601.88	68.46
レジスチン	114.63	91.26	79.61
PAI-1	366.00	424.13	115.88
SE-セクレチン	63.11	49.58	78.55
sVCAM-1	1634.10	408.80	25.02
sICAM-1	3541.68	1752.76	49.49
MPO	717.62	1645.83	229.35
CRP	8839.73	6391.84	72.31
SAA	1970.35	3668.84	186.20
SAP	2160.88	597.89	27.67
レプチン	2638.03	3025.87	114.70
GLP-1	57.77	100.58	174.10
アミリン (全体)	120.65	256.04	212.21
C-ペプチド	5015.95	2022.03	40.31
インスリン	322.77	436.71	135.30
SIns	49.72	183.17	368.37
sFIns	13.17	12.32	93.54
MIF	61.55	113.33	182.95
IL-1 $\beta$	23.90	11.80	50.24
IL-2	13.13	55.39	421.85
IL-1ra	22.32	24.11	108.02
IL-4	112.05	66.15	59.03
IL-5	17.40	19.03	109.38
IL-6	36.69	30.08	136.52
IL-7	14.32	5.44	37.95
TGF- $\alpha$	32.10	8.07	25.13
フラクタルカイン	12.69	3.15	24.80
IL-8	280.43	703.76	250.96
IL-10	12.55	3.87	30.82
IL-15	24.21	4.43	18.28
IL-17	36.44	13.75	37.74
IL-1 $\alpha$	83.74	148.45	177.27
IFN- $\gamma$	21.75	5.92	27.23
G-CSF	23.75	4.58	19.27
GM-CSF	27.98	14.45	51.65
TNF- $\alpha$	39.67	17.41	43.88
MCP-1	49.72	34.31	69.02
IL-12 (p40), 遊離	24.17	7.86	32.54
MIP-1 $\alpha$	39.78	27.14	68.22
MIP-1 $\beta$	20.27	9.77	48.19
VEGF	41.55	13.17	31.71

**FIGURE 2B**

肺癌の集団における 蛍光強度レベル			
	平均	S.D.	S.E.D.
パイオマーカー			
アジポネクチン	2334.09	1827.31	72.11
レジスチン	149.61	142.26	95.09
PAI-1	629.60	307.11	48.78
SE-セクレチン	36.61	58.58	160.04
sVCAM-1	1599.09	586.93	36.70
siCAM-1	3079.69	1607.64	52.20
MPO	3000.57	2145.32	71.50
CRP	12563.08	6483.62	51.61
SAA	7173.28	7639.62	106.78
SAP	1161.51	897.26	77.25
レプチン	802.52	1210.97	150.90
GLP-1	135.12	727.35	538.29
アミン (全体)	301.16	1096.20	363.99
C-ペプチド	2820.47	1931.78	68.49
インスリン	231.23	704.98	304.88
Sfas	42.69	62.34	75.77
sFSI	8.88	5.26	59.19
MIF	126.13	225.30	178.62
IL-1 $\beta$	25.60	3.06	11.94
IL-2	9.61	3.44	35.78
IL-1ra	26.67	6.50	24.39
IL-4	90.91	45.70	50.27
IL-5	14.17	4.90	34.60
IL-6	56.88	201.09	355.57
IL-7	27.30	115.57	422.52
TGF- $\alpha$	32.23	8.82	27.38
フラクタルカイン	13.29	3.05	22.29
IL-8	98.68	120.57	127.97
IL-10	22.46	74.90	333.47
IL-15	24.30	2.82	11.61
IL-17	50.64	39.88	78.76
IL-1 $\alpha$	48.51	23.72	48.91
IFN- $\gamma$	23.99	6.93	28.87
G-CSF	24.96	16.23	65.03
GM-CSF	28.98	3.60	12.43
TNF- $\alpha$	90.78	565.51	622.96
MCP-1	149.53	230.71	154.29
IL-12 (p40), 遊離	21.72	8.15	37.51
MIP-1 $\alpha$	63.94	150.25	235.00
MIP-1 $\beta$	38.30	127.37	332.54
VEGF	40.73	22.15	54.38

**FIGURE 2C**

肺癌の集団における 蛍光強度レベル			
	平均	S.D.	R.S.D.
パイオマーカー			
アゾホネチン	3035.92	2008.84	66.17
レジスチン	265.24	189.24	71.35
PAI-J	788.76	267.12	33.87
SE-セクレチン	38.80	30.29	78.07
eVCAM-1	2988.12	948.06	31.73
ICCAM-1	3466.48	1326.54	38.27
MPO	4005.47	2572.12	64.22
CRA	10609.85	6186.73	58.31
SAP	3862.88	4256.70	110.19
SAP	2558.42	654.11	25.57
レプティン	2901.26	3238.21	111.61
GLP-1	133.45	627.72	470.36
アクリン (全体)	347.48	1257.27	361.82
C-ペプチド	5798.84	2767.02	47.72
インスリン	493.28	1468.20	297.64
Sfna	82.05	61.68	50.80
eFSI	33.56	50.68	151.01
MIF	69.89	48.66	69.62
IL-1 $\beta$	41.58	15.12	36.51
IL-2	12.75	3.63	28.46
IL-1ra	27.03	5.07	18.78
IL-4	216.14	368.04	170.28
IL-5	42.86	89.64	209.14
IL-6	174.63	694.85	397.90
IL-7	28.25	15.68	55.53
TGF- $\alpha$	43.24	13.20	30.54
フラクタルカリン	16.13	3.54	21.96
IL-8	1123.79	2876.50	255.96
IL-10	15.80	3.81	24.10
IL-15	30.22	8.18	27.08
IL-17	57.59	27.56	47.86
IL-1 $\alpha$	294.98	854.12	289.55
IFN- $\gamma$	26.60	5.96	22.40
G-CSF	32.29	14.01	43.40
GM-CSF	40.62	35.59	82.70
TNF- $\alpha$	88.03	350.87	398.57
MCP-1	555.77	2390.21	430.08
IL-12 (p40), 遊離	29.45	8.77	29.77
MIP-1 $\alpha$	136.92	834.62	609.56
MIP-1 $\beta$	30.17	41.55	137.72
VEGF	54.31	19.95	36.73

【図 2 D】

FIGURE 2D

平均蛍光における 蛍光の変化のパーセント			
バイオマーカー	LC 値 NO	AST 値 NO	AST 値 LC
アジボネクテン	8.308023	29.756609	16.5298599
レジスチン	30.52113	131.39591	43.5940182
PAI-1	72.02467	115.599824	20.1778046
SE-セクレチン	-41.9987	-38.524081	5.65196398
sVCAM-1	-2.14221	82.8602657	46.4849324
sICAM-1	-13.0445	-2.1233592	11.1580584
MPO	318.1283	458.159543	25.0880246
CRP	42.12863	20.02461	-18.409577
SA	264.0607	96.0500618	-85.697828
SAP	-46.2484	18.3969983	54.6005061
レプシン	-69.579	9.97796417	72.3390188
GLP-1	133.9041	131.013935	-1.2510585
アミリン (全体)	149.6069	188.091524	13.3314104
C-ペプチド	-43.77	13.6079318	51.3614645
インスリン	-28.3602	52.8249719	53.1230023
Sfas	-14.1487	65.0120998	47.972753
sFSI	-32.5859	154.781105	73.5403963
MIF	103.6145	12.821492	-80.474883
IL-1β	8.95437	76.9673003	38.4324848
IL-2	-26.8184	-2.8675535	24.6579521
IL-1ra	19.49224	21.1124424	1.33776455
IL-4	-18.8655	92.8892423	57.9372345
IL-5	-18.5965	146.294659	66.9487515
IL-6	55.02707	375.999006	67.4312203
IL-7	90.62035	97.1867053	3.33001776
TGF-α	0.411397	34.7028941	25.4571344
フラクタルカイン	4.789211	27.1132799	17.5623423
IL-8	-64.8117	300.737772	91.2191083
IL-10	79.63757	25.9054886	-42.199971
IL-15	0.349499	24.7932651	19.5874082
IL-17	38.98752	58.0586958	12.0658817
IL-1α	-42.0762	252.257187	83.5563807
IFN-γ	10.33321	22.3173905	9.79761046
G-CSF	5.06491	35.9358549	22.7099558
GM-CSF	3.606656	45.1976606	28.644042
TNF-α	128.8153	121.889912	-3.1211056
MCP-1	200.7569	1017.85782	73.0952475
IL-12 (p40) 遊離	-10.1185	21.8436008	26.2320627
MIP-1α	60.73545	244.225273	53.3051572
MIP-1β	88.94775	48.82232	-26.96197
VEGF	-1.96318	30.7326781	25.0097033

【図 2 E】

FIGURE 2E

スチューデントT値の確立として表示される 集団の差の有意性			
バイオマーカー	TLC 値 NO	TAST 値 NO	TAST 値 LC
アジボネクテン	0.306	0.001	0.039
レジスチン	0.007	0.000	0.000
PAI-1	0.000	0.000	0.000
SE-セクレチン	0.000	0.000	0.723
sVCAM-1	0.526	0.000	0.000
sICAM-1	0.014	0.700	0.043
MPO	0.000	0.000	0.001
CRP	0.000	0.022	0.016
SA	0.000	0.000	0.000
SAP	0.000	0.000	0.000
レプシン	0.000	0.486	0.000
GLP-1	0.157	0.112	0.985
アミリン (全体)	0.032	0.019	0.755
C-ペプチド	0.000	0.006	0.000
インスリン	0.151	0.145	0.000
Sfas	0.647	0.000	0.000
sFSI	0.000	0.000	0.000
MIF	0.001	0.490	0.011
IL-1β	0.037	0.111	0.204
IL-2	0.444	0.944	0.000
IL-1ra	0.035	0.046	0.632
IL-4	0.001	0.000	0.000
IL-5	0.046	0.000	0.000
IL-6	0.193	0.008	0.000
IL-7	0.130	0.000	0.933
TGF-α	0.888	0.000	0.000
フラクタルカイン	0.000	0.000	0.000
IL-8	0.002	0.000	0.000
IL-10	0.000	0.000	0.357
IL-15	0.841	0.000	0.000
IL-17	0.000	0.000	0.121
IL-1α	0.005	0.001	0.001
IFN-γ	0.002	0.000	0.002
G-CSF	0.341	0.000	0.000
GM-CSF	0.411	0.000	0.000
TNF-α	0.224	0.000	0.965
MCP-1	0.000	0.005	0.042
IL-12 (p40) 遊離	0.006	0.000	0.000
MIP-1α	0.034	0.117	0.302
MIP-1β	0.000	0.002	0.524
VEGF	0.679	0.000	0.000

【図 3 A】

FIGURE 3A

正常な集団における蛍光強度レベル							
バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.	バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.
アジボネクテン	2259.55	1504.98	66.61	IL-17	37.60	13.52	35.95
レジスチン	124.37	90.22	72.55	IL-1α	95.36	185.32	194.33
PAI-1 <sup>a</sup>	335.10	371.63	110.90	IFN-γ	23.30	9.28	39.81
SE-セクレチン	60.34	47.38	78.85	G-CSF	23.84	4.12	17.29
sVCAM-1	1753.31	513.04	29.26	GM-CSF	28.60	12.57	43.94
sICAM-1	3295.75	1574.35	47.77	TNF-α	43.52	15.71	36.10
MPO	592.73	1503.40	253.64	MCP-1	46.39	29.47	63.51
CRP	8384.00	6292.94	75.06	IL-12 (p40)	24.93	7.26	29.11
SA	2202.71	4017.36	182.38	MIP-1α	41.04	27.61	67.27
SAP	2200.71	570.75	25.93	MIP-1β	21.28	9.86	46.35
レプシン <sup>1</sup>	2204.67	2771.37	125.70	VEGF	40.80	11.45	28.07
GLP-1	56.21	102.46	182.27	IL-12 (p70)	7.66	36.69	479.00
アミリン (全体)	142.47	339.44	238.25	IL-13	11.41	57.04	499.86
C-ペプチド	4748.58	1971.09	41.51	MMP-2	155.73	439.49	282.21
インスリン	278.12	424.50	152.63	MMP-1	103.52	179.41	173.31
Sfas	58.81	148.38	252.31	MMP-3	6668.81	2442.77	36.63
sFSI	15.13	16.89	111.59	エオタキシシン	196.78	208.46	105.94
MIF	52.08	112.39	215.81	レプシン <sup>2</sup>	3767.80	3885.08	103.11
IL-1β	23.71	9.52	40.16	IP-10	543.43	820.15	150.92
IL-2	12.26	44.02	358.99	MMP-9	1090.51	1599.16	146.64
IL-1ra	23.11	19.35	83.77	MMP-13	9.95	35.67	358.67
IL-4	114.39	72.33	63.23	PAI-1 <sup>b</sup>	38.94	98.35	252.58
IL-5	18.57	18.35	99.90	I-TAC	30.16	154.83	513.40
IL-6	40.99	56.36	137.98	MMP-12	12.41	27.69	223.09
IL-7	15.82	6.61	41.79	HGF	206.22	619.73	300.52
TGF-α	31.46	8.00	25.44	MMP-7	1004.07	577.62	57.53
フラクタルカイン	13.36	3.35	25.09	EGF	30.91	49.02	158.60
IL-8	239.47	629.22	262.76	sCD40 リガンド	155.50	434.04	279.12
IL-10	13.06	3.63	27.82	MMP-8	70.26	318.85	453.80
IL-15	24.53	4.27	17.42				

【図 3 B】

FIGURE 3B

肺癌の集団における蛍光強度レベル							
バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.	バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.
アジボネクテン	3563.76	2288.94	64.23	IL-17	46.36	29.90	64.51
レジスチン	191.29	136.17	71.19	IL-1α	122.68	394.79	321.80
PAI-1 <sup>a</sup>	787.03	389.14	49.44	IFN-γ	28.31	9.99	35.20
SE-セクレチン	41.71	45.85	109.94	G-CSF	29.55	19.35	65.51
sVCAM-1	1422.20	548.56	38.57	GM-CSF	33.26	10.06	30.23
sICAM-1	3121.73	1440.47	46.14	TNF-α	75.33	359.82	477.69
MPO	2188.38	1952.85	89.24	MCP-1	183.83	210.11	114.29
CRP	12951.79	5490.37	42.39	IL-12 (p40)	26.01	8.07	31.01
SA	7383.07	6685.22	90.55	MIP-1α	53.41	97.52	182.57
SAP	1663.82	907.73	54.56	MIP-1β	33.74	81.49	241.55
レプシン <sup>1</sup>	1441.00	1806.76	125.38	VEGF	43.93	17.22	39.19
GLP-1	130.29	700.99	538.03	IL-12 (p70)	46.82	92.35	197.24
アミリン (全体)	337.43	1028.44	304.79	IL-13	401.00	520.85	129.89
C-ペプチド	3431.59	2603.38	75.87	MMP-2	165.31	320.62	193.95
インスリン	373.06	777.90	208.52	MMP-1	744.40	766.38	102.95
Sfas	68.60	41.26	60.15	MMP-3	8137.21	3111.85	38.24
sFSI	18.15	58.41	321.91	エオタキシシン	818.65	576.64	70.44
MIF	76.00	155.45	204.54	レプシン <sup>2</sup>	3214.92	3305.20	102.81
IL-1β	27.08	4.32	15.94	IP-10	1846.73	1381.81	74.82
IL-2	11.66	5.89	50.57	MMP-9	3141.11	2616.52	83.30
IL-1ra	29.38	9.12	31.04	MMP-13	21.06	189.11	898.16
IL-4	154.43	214.60	138.96	PAI-1 <sup>b</sup>	268.11	201.13	75.02
IL-5	26.12	43.27	165.65	I-TAC	429.48	315.35	73.43
IL-6	74.67	185.61	248.58	MMP-12	32.74	168.74	513.37
IL-7	23.67	73.58	310.88	HGF	678.43	787.38	116.06
TGF-α	37.56	12.62	33.59	MMP-7	2070.90	1166.98	56.35
フラクタルカイン	15.27	4.37	28.58	EGF	455.13	462.40	101.60
IL-8	168.26	286.40	170.21	sCD40 リガンド	120.25	367.11	305.30
IL-10	20.28	47.88	236.16	MMP-8	284.02	494.63	174.15
IL-15	28.90	7.04	24.37				

【図 3 C】

FIGURE 3C

喘息の集団における蛍光強度レベル						
バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.	バイオマーカー	平均	S.D.
アジホネクテン	2963.37	1855.21	62.60	IL-17	48.31	24.48
レジスチン	290.12	347.80	119.88	IL-1a	250.35	734.45
PAL-1 <sup>A</sup>	791.20	259.58	32.81	IFN- $\gamma$	27.57	6.28
SE-セクレチン	37.42	26.25	70.14	G-CSF	27.42	12.61
sVCAM-1	2580.30	1000.17	38.76	GM-CSF	35.60	26.94
MPO	3202.40	1322.66	41.30	TNF- $\alpha$	69.25	272.27
CRP	3799.80	2433.44	64.04	MCP-1	436.56	1969.47
SAA	10529.32	5894.42	55.98	IL-12 (p40)	26.81	8.15
SAP	3637.04	3965.44	109.03	MIP-1a	97.63	647.11
レプチン <sup>1</sup>	2336.72	646.89	27.68	MIP-1 $\beta$	26.41	32.51
GLP-1	3009.58	2925.20	97.20	VEGF	46.98	18.08
アミリン (全体)	106.06	513.75	484.39	IL-13	32.48	54.69
C-ペプチド	274.00	1007.69	367.77	IL-13	297.79	362.17
インスリン	5509.05	2653.46	48.17	MMP-2	184.87	248.32
Sfas	407.57	1178.79	289.22	MMP-1	192.84	280.81
sFSI	76.93	40.19	52.24	MMP-3	6150.32	2828.47
MIF	31.20	48.27	154.71	ニオタキシン	652.21	484.14
IL-1 $\beta$	61.77	80.34	130.06	レプチン <sup>2</sup>	4322.85	3756.93
IL-2	34.22	117.74	344.13	IP-10	1575.99	1241.02
IL-2	12.75	3.38	26.52	MMP-9	4097.20	2679.44
IL-1ra	26.25	5.19	19.76	MMP-13	9.37	38.54
IL-4	190.65	318.74	167.19	PAL-1 <sup>A</sup>	461.47	358.67
IL-5	36.72	75.10	204.50	I-TAC	783.04	637.12
IL-6	132.01	548.69	415.63	MMP-12	20.79	42.60
IL-7	23.30	13.78	59.16	HGF	1381.06	921.98
TGF- $\alpha$	38.36	16.97	44.25	MMP-7	487.07	493.70
フラクタルカイン	15.87	3.41	21.51	EGF	419.64	417.55
IL-8	829.39	2332.42	281.22	sCD40 リガンド	175.32	259.04
IL-10	15.64	4.29	27.42	MMP-8	140.35	889.83
IL-15	27.01	7.96	29.47			634.00

【図 3 D】

FIGURE 3D

平均蛍光強度における変化のパーセント													
バイオマーカー	AST	LC	NO	AST	LC	NO	バイオマーカー	AST	LC	NO	AST	LC	NO
アジホネクテン	31.15	57.72	-20.26	IL-17	28.48	23.29	レジスチン	133.78	34.07	162.52	16.31	21.46	-2.67
PAL-1 <sup>A</sup>	134.11	134.86	0.53	IFN- $\gamma$	15.02	23.95	SE-セクレチン	-37.99	-30.88	-1.46	G-CSF	24.45	16.28
sVCAM-1	47.17	-18.69	-44.88	GM-CSF	59.14	73.10	MPO	-2.83	-5.28	2.52	TNF- $\alpha$	841.00	296.25
CRP	541.07	269.21	42.41	MCP-1	7.53	4.30	SAA	65.12	235.18	-103.00	MIP-1a	137.86	30.14
SAP	6.18	-24.40	-28.80	MIP-1 $\beta$	24.09	58.53	レプチン <sup>1</sup>	36.51	-34.64	52.12	VEGF	15.13	7.67
GLP-1	88.68	131.77	-22.84	IL-12 (p70)	324.00	511.21	アミリン (全体)	92.33	136.84	-23.15	IL-13	2509.42	3413.77
C-ペプチド	16.01	-27.73	37.71	MMP-2	8.71	6.15	インスリン	46.55	34.14	8.47	MMP-1	86.29	619.10
Sfas	30.81	16.84	16.84	MMP-3	231.44	231.44	sFSI	106.17	19.89	41.85	ニオタキシン	-7.77	-22.02
MIF	18.62	45.93	-23.03	レプチン <sup>2</sup>	14.73	14.73	IL-1 $\beta$	44.28	14.18	20.86	IP-10	190.61	239.83
IL-2	3.97	-4.95	8.58	MMP-9	275.71	188.04	IL-2	3.97	-4.95	8.58	MMP-13	111.71	124.61
IL-1ra	13.62	27.16	-11.92	MMP-12	35.00	19.00	IL-4	66.67	35.00	19.00	PAL-1 <sup>A</sup>	1085.19	588.59
IL-5	26.24	42.30	28.87	I-TAC	2496.41	1324.07	IL-6	222.04	82.15	43.44	MMP-12	67.51	163.78
IL-7	47.25	49.61	-1.60	HGF	569.70	228.98	TGF- $\alpha$	21.95	19.41	2.08	MMP-7	51.49	106.25
フラクタルカイン	18.84	14.34	3.78	EGF	1287.57	137.57	IL-8	246.38	25.74	79.71	sCD40 リガンド	12.74	-8.46
IL-10	19.70	55.21	-29.66	MMP-8	99.75	394.23	IL-15	10.11	17.84	-7.02			-102.36

【図 3 E】

FIGURE 3E

ステロイドT量の増減とバイオマーカーの有意性													
バイオマーカー	TAST	LC	NO	TAST	LC	NO	バイオマーカー	TAST	LC	NO	TAST	LC	NO
アジホネクテン	0.000	0.002	0.000	IL-17	0.000	0.000	レジスチン	0.000	0.000	0.000	0.449	0.000	0.000
PAL-1 <sup>A</sup>	0.000	0.000	0.000	IFN- $\gamma$	0.000	0.000	SE-セクレチン	0.000	0.000	0.000	0.367	0.000	0.000
sVCAM-1	0.000	0.000	0.000	G-CSF	0.000	0.000	MPO	0.000	0.000	0.000	0.181	0.000	0.000
CRP	0.000	0.000	0.000	GM-CSF	0.000	0.000	SAA	0.000	0.000	0.000	0.146	0.000	0.000
SAP	0.000	0.000	0.000	TNF- $\alpha$	0.000	0.000	レプチン <sup>1</sup>	0.000	0.000	0.000	0.842	0.000	0.000
GLP-1	0.000	0.000	0.000	MCP-1	0.000	0.000	アミリン (全体)	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.000
C-ペプチド	0.000	0.000	0.000	IL-12 (p40)	0.000	0.000	C-ペプチド	0.000	0.000	0.000	0.277	0.000	0.000
インスリン	0.000	0.000	0.000	MIP-1a	0.000	0.000	インスリン	0.000	0.000	0.000	0.205	0.000	0.000
Sfas	0.000	0.000	0.000	MIP-1 $\beta$	0.000	0.000	Sfas	0.000	0.000	0.000	0.246	0.000	0.000
sFSI	0.000	0.000	0.000	VEGF	0.000	0.000	sFSI	0.000	0.000	0.000	0.055	0.000	0.000
MIF	0.000	0.000	0.000	IL-13	0.000	0.000	MIF	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
IL-1 $\beta$	0.000	0.000	0.000	MMP-2	0.000	0.000	IL-1 $\beta$	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
IL-2	0.000	0.000	0.000	MMP-3	0.000	0.000	IL-2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
IL-1ra	0.000	0.000	0.000	MMP-12	0.000	0.000	IL-1ra	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
IL-4	0.000	0.000	0.000	PAL-1 <sup>A</sup>	0.000	0.000	IL-4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
IL-5	0.000	0.000	0.000	I-TAC	0.000	0.000	IL-5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
IL-6	0.000	0.000	0.000	MMP-12	0.000	0.000	IL-6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
IL-7	0.000	0.000	0.000	HGF	0.000	0.000	IL-7	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
TGF- $\alpha$	0.000	0.000	0.000	MMP-7	0.000	0.000	TGF- $\alpha$	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
フラクタルカイン	0.000	0.000	0.000	EGF	0.000	0.000	フラクタルカイン	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
IL-8	0.000	0.000	0.000	sCD40 リガンド	0.000	0.000	IL-8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
IL-10	0.000	0.000	0.000	MMP-8	0.000	0.000	IL-10	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
IL-15	0.000	0.000	0.000		0.000	0.000	IL-15	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

【図 4 A】

FIGURE 4A

正常な女性の集団における蛍光強度							
バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.	バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.
アジホネクテン	2116.17	1225.14	57.89	IL-17	41.58	12.84	30.88
レジスチン	158.01	95.09	60.18	IL-1a	83.31	155.36	186.48
PAL-1 <sup>A</sup>	499.52	438.77	87.84	IFN- $\gamma$	26.73	11.79	44.13
SE-セクレチン	75.37	56.07	74.40	G-CSF	26.24	3.43	13.09
sVCAM-1	1658.49	448.12	27.02	GM-CSF	30.93	4.43	14.32
sICAM-1	3520.37	1512.81	42.97	TNF- $\alpha$	54.88	13.94	25.40
MPO	1269.64	2084.74	164.20	MCP-1	59.33	39.47	66.53
CRP	7532.14	5561.16	73.83	IL-12 (p40)	27.09	6.13	22.64
SAA	1773.59	3197.93	180.31	MIP-1a	50.13	39.77	79.34
SAP	2238.83	555.16	24.80	MIP-1 $\beta$	26.92	11.02	40.96
レプチン <sup>1</sup>	860.83	1311.22	152.32	VEGF	43.79	9.56	21.83
GLP-1	54.12	99.58	184.01	IL-12(p70)	7.87	11.21	142.41
アミリン (全体)	161.50	469.30	290.59	IL-13	27.17	74.25	273.33
C-ペプチド	4048.15	1725.03	42.61	MMP-2	132.15	148.40	112.30
インスリン	287.45	463.63	161.29	MMP-1	182.66	242.24	132.62
Sfas	63.98	42.36	66.21	MMP-3	7467.26	2419.60	32.40
sFSI	13.35	10.94	81.94	エオタキシシン	289.67	253.39	87.48
MIF	105.73	157.68	149.14	レプチン <sup>2</sup>	2169.69	2831.50	130.50
IL-1 $\beta$	26.63	13.82	51.90	IP-10	452.58	410.35	90.67
IL-2	11.04	2.32	21.05	MMP-9	1713.45	2162.04	126.18
IL-1ra	24.48	3.85	15.71	MMP-13	14.07	51.00	362.52
IL-4	105.32	60.09	57.05	PAL-1 <sup>B</sup>	66.22	113.55	171.47
IL-5	18.93	19.27	101.80	I-TAC	92.89	207.98	223.91
IL-6	43.44	57.12	131.50	MMP-12	15.55	36.33	233.39
IL-7	17.80	6.28	35.26	HGF	538.75	846.22	157.07
TGF- $\alpha$	34.76	7.54	21.70	MMP-7	1163.17	547.69	47.09
フラクタルカイン	14.96	2.95	19.71	EGF	48.56	64.54	132.92
IL-8	401.98	915.65	227.79	sCD40 リガンド	139.86	213.56	152.69
IL-10	14.76	3.07	20.81	MMP-8	222.46	446.02	200.50
IL-15	26.97	3.76	13.93				

【図 4 B】

FIGURE 4B

肺癌を持つ女性に於ける蛍光強度									
バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.	バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.		
アジボネクチン	4041.07	2456.96	60.80	IL-17	45.15	20.95	46.40		
レジスチン	1651.4	104.34	63.18	IL-1a	101.95	454.84	446.12		
PAL-1 <sup>a</sup>	680.06	281.74	41.43	IFN- $\gamma$	29.47	10.86	36.86		
SE-セクレチン	39.28	24.76	63.02	G-CSF	28.03	7.27	25.95		
sVCAM-1	1486.20	580.24	39.04	GM-CSF	33.00	6.80	20.61		
sICAM-1	3129.94	1388.46	44.36	TNF- $\alpha$	113.63	639.16	562.50		
MPO	2236.00	2021.46	90.41	MCP-1	175.20	224.24	127.99		
CRP	12373.56	6171.04	49.87	IL-12(p40)	25.63	9.73	37.96		
SAA	6407.43	6756.26	105.44	MIP-1 $\alpha$	67.31	169.37	251.61		
SAP	1610.90	912.77	56.66	MIP-1 $\beta$	41.90	143.28	341.91		
レプチン <sup>1</sup>	1836.07	2086.83	113.66	VEGF	41.74	11.81	28.30		
GLP-1	112.59	751.23	667.22	IL-12(p70)	58.24	142.89	245.35		
アミリン (全体)	252.51	919.35	364.09	IL-13	410.97	510.37	124.18		
C-ペプチド	3270.49	2492.50	76.21	MMP-2	139.64	205.55	147.20		
インスリン	338.74	801.56	236.63	MMP-1	602.07	546.07	90.70		
Sfas	64.72	36.09	55.76	MMP-3	7690.73	3309.64	43.03		
sFSI	13.51	21.88	161.99	エオタキシン	814.32	573.07	70.37		
MIF	55.10	97.46	176.88	レプチン <sup>2</sup>	3933.88	3864.56	98.24		
IL-1 $\beta$	27.70	4.44	16.03	IP-10	1631.25	1066.13	65.36		
IL-2	12.03	5.77	47.98	MMP-9	3423.98	2497.43	72.94		
IL-1ra	29.50	8.33	28.23	MMP-13	11.66	33.41	286.54		
IL-4	130.02	173.21	133.21	PAL-1 <sup>a</sup>	244.76	206.20	84.24		
IL-5	22.15	44.14	199.26	I-TAC	387.53	314.80	81.23		
IL-6	70.54	257.76	365.41	MMP-12	24.93	36.33	145.74		
IL-7	31.77	130.07	409.42	HGF	537.31	620.75	115.53		
TGF- $\alpha$	36.97	12.35	33.42	MMP-7	2122.99	1114.85	52.51		
フラクタルカイン	15.30	4.82	31.48	EGF	422.32	483.79	114.56		
IL-8	126.83	168.86	133.13	sCD40リガンド	99.65	261.62	262.55		
IL-10	27.03	84.44	312.39	MMP-8	247.64	364.87	147.34		
IL-15	28.91	6.61	22.86						

【図 4 C】

FIGURE 4C

喘息を持つ女性に於ける蛍光強度レベル									
バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.	バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.		
アジボネクチン	2944.64	1614.58	54.83	IL-17	43.39	21.49	49.53		
レジスチン	332.29	416.68	125.40	IL-1a	164.86	441.25	267.64		
PAL-1 <sup>a</sup>	841.92	266.60	31.67	IFN- $\gamma$	27.88	6.03	21.64		
SE-セクレチン	36.85	25.26	68.56	G-CSF	21.06	4.35	20.67		
sVCAM-1	2435.16	971.17	39.88	GM-CSF	28.29	5.43	19.20		
sICAM-1	3084.39	1425.90	46.23	TNF- $\alpha$	43.88	8.91	20.30		
MPO	4056.85	2406.72	59.32	MCP-1	337.96	1126.34	333.28		
CRP	11504.22	6148.46	53.45	IL-12(p40)	23.53	5.49	23.34		
SAA	3764.05	3808.32	101.18	MIP-1 $\alpha$	47.70	29.11	61.04		
SAP	2216.83	576.86	26.02	MIP-1 $\beta$	22.11	6.60	29.87		
レプチン <sup>1</sup>	4148.56	3054.11	73.62	VEGF	40.46	9.69	23.95		
GLP-1	153.82	647.05	420.66	IL-12(p70)	30.32	53.08	175.08		
アミリン (全体)	377.66	1265.49	335.09	IL-13	307.87	373.66	121.37		
C-ペプチド	5897.41	2865.27	48.59	MMP-2	222.30	297.87	134.00		
インスリン	521.74	1464.79	280.75	MMP-1	239.58	326.58	136.31		
Sfas	88.02	45.72	51.94	MMP-3	6188.26	2312.49	37.55		
sFSI	26.67	43.10	161.59	エオタキシン	676.90	441.51	65.23		
MIF	50.56	92.56	183.07	レプチン <sup>2</sup>	5870.26	3702.57	63.07		
IL-1 $\beta$	23.81	4.81	20.19	IP-10	1698.22	1212.85	71.42		
IL-2	12.46	3.21	25.76	MMP-9	4522.52	2746.21	60.72		
IL-1ra	26.42	5.68	21.51	MMP-13	11.59	48.42	417.84		
IL-4	147.54	195.73	132.66	PAL-1 <sup>a</sup>	512.32	379.29	74.03		
IL-5	27.72	42.32	152.66	I-TAC	890.86	677.56	76.06		
IL-6	69.69	142.44	204.39	MMP-12	24.82	51.96	209.35		
IL-7	18.13	7.94	43.80	HGF	1549.14	858.93	55.45		
TGF- $\alpha$	32.08	15.94	49.69	MMP-7	517.14	462.20	89.38		
フラクタルカイン	15.25	2.85	18.70	EGF	405.07	357.97	88.37		
IL-8	704.24	1718.95	244.09	sCD40リガンド	213.58	312.95	146.52		
IL-10	14.95	4.15	27.78	MMP-8	192.74	1107.98	574.85		
IL-15	22.54	4.34	19.27						

【図 4 D】

FIGURE 4D

女性の集団に於ける平均蛍光強度の変化のパーセント									
バイオマーカー	AST 対 LC	AST 対 LC	AST 対 LC	AST 対 LC	AST 対 LC	AST 対 LC	AST 対 LC	AST 対 LC	AST 対 LC
アジボネクチン	39.15	40.66	-37.23	IL-17	8.59	22.38	-4.04		
レジスチン	4.51	50.30	59.25	IFN- $\gamma$	4.32	10.36	-58.16		
PAL-1 <sup>a</sup>	68.55	36.14	-19.78	G-CSF	6.81	6.71	-33.10		
SE-セクレチン	-51.10	-47.88	-6.59	GM-CSF	-8.54	-20.04	-16.67		
sVCAM-1	46.83	-10.39	-38.97	TNF- $\alpha$	-1.48	409.66	-138.93		
sICAM-1	-12.38	-11.09	-1.48	MCP-1	107.36	48.16	-8.95		
MPO	219.53	76.11	-44.88	IL-12(p40)	-13.17	-5.40	-41.12		
CRP	52.74	64.28	-7.56	MIP-1 $\alpha$	-4.86	34.27	-55.68		
SAA	112.23	261.37	-70.23	MIP-1 $\beta$	-7.61	-4.67	-3.18		
SAP	-0.38	-8.95	8.57	VEGF	28.01	1033.27	-63.39		
レプチン <sup>1</sup>	381.92	113.29	-55.74	IL-13	68.22	5.67	37.18		
GLP-1	163.32	108.05	-26.80	MMP-2	31.16	229.61	-181.30		
アミリン (全体)	123.35	56.35	-33.14	MMP-3	17.53	2.99	-24.88		
C-ペプチド	45.68	17.85	-35.07	MMP-9	133.68	181.12	-20.30		
インスリン	37.56	1.15	-26.47	エオタキシン	170.56	81.31	-32.99		
Sfas	99.73	-47.89	-8.98	レプチン <sup>2</sup>	276.23	200.44	-3.94		
sFSI	-82.08	-3.89	-16.33	IP-10	163.94	99.83	-24.29		
MIF	-10.60	3.82	-11.61	MMP-13	17.64	-17.11	-4.64		
IL-1 $\beta$	12.92	20.47	-11.61	PAL-1 <sup>a</sup>	673.63	209.60	52.23		
IL-2	40.08	23.45	-11.87	I-TAC	859.07	317.20	56.50		
IL-4	46.45	17.02	-30.95	MMP-12	59.60	-0.26	-4.42		
IL-5	22.55	62.39	-1.32	HGF	187.55	-82.52	-310.52		
IL-6	1.86	-78.45	-15.26	MMP-7	55.54	70.75	-4.26		
IL-7	6.70	2.30	-0.31	EGF	52.72	-28.75	53.35		
フラクタルカイン	1.99	81.99	-80.75	sCD40リガンド	734.23	11.32	-38.48		
IL-8	1.34	83.17	-28.25	MMP-8	-13.36	11.32	-38.48		
IL-10	-16.41	7.20							
IL-15									

【図 4 E】

FIGURE 4E

女性の集団に於けるスクリーニング下での 標準として表示された集団の有意性									
バイオマーカー	T.AST 対 LC	T.AST 対 LC	T.AST 対 LC	T.AST 対 LC	T.AST 対 LC	T.AST 対 LC	T.AST 対 LC	T.AST 対 LC	T.AST 対 LC
アジボネクチン	0.000	0.000	0.000	IL-17	0.429	0.010	0.768		
レジスチン	0.000	0.000	0.000	IL-1a	0.057	0.620	0.010		
PAL-1 <sup>a</sup>	0.000	0.000	0.000	IFN- $\gamma$	0.354	0.000	0.000		
SE-セクレチン	0.000	0.000	0.000	G-CSF	0.000	0.000	0.150		
sVCAM-1	0.000	0.000	0.000	GM-CSF	0.000	0.000	0.253		
sICAM-1	0.000	0.000	0.000	TNF- $\alpha$	0.000	0.000	0.451		
MPO	0.000	0.000	0.000	MCP-1	0.000	0.000	0.148		
CRP	0.000	0.000	0.000	IL-12(p40)	0.000	0.000	0.553		
SAA	0.000	0.000	0.000	MIP-1 $\alpha$	0.596	0.277	0.208		
SAP	0.000	0.000	0.000	MIP-1 $\beta$	0.000	0.251	0.000		
レプチン <sup>1</sup>	0.000	0.000	0.000	VEGF	0.000	0.144	0.163		
GLP-1	0.000	0.000	0.000	IL-12(p70)	0.000	0.000	0.142		
アミリン (全体)	0.000	0.000	0.000	IL-13	0.000	0.000	0.000		
C-ペプチド	0.000	0.000	0.000	MMP-2	0.000	0.247	0.564		
インスリン	0.000	0.000	0.000	MMP-3	0.129	0.000	0.000		
Sfas	0.000	0.000	0.000	MMP-9	0.000	0.533	0.000		
sFSI	0.000	0.000	0.000	エオタキシン	0.000	0.000	0.000		
MIF	0.000	0.000	0.000	レプチン <sup>2</sup>	0.000	0.000	0.000		
IL-1 $\beta$	0.000	0.000	0.000	IP-10	0.000	0.000	0.000		
IL-2	0.000	0.000	0.000	MMP-13	0.000	0.000	0.000		
IL-4	0.000	0.000	0.000	PAL-1 <sup>a</sup>	0.000	0.000	0.000		
IL-5	0.000	0.000	0.000	I-TAC	0.000	0.000	0.000		
IL-6	0.000	0.000	0.000	MMP-12	0.000	0.000	0.000		
IL-7	0.000	0.000	0.000	HGF	0.000	0.000	0.000		
TGF- $\alpha$	0.000	0.000	0.000	MMP-7	0.000	0.000	0.000		
フラクタルカイン	0.000	0.000	0.000	EGF	0.000	0.000	0.000		
IL-8	0.000	0.000	0.000	sCD40リガンド	0.000	0.000	0.000		
IL-10	0.000	0.000	0.000	MMP-8	0.000	0.000	0.000		
IL-15	0.000	0.000	0.000						



【図 5 A】

FIGURE 5A

正常な男性の集団における蛍光強度							
バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.	バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.
アジボネクチン	2375.01	1677.13	70.62	IL-17	34.68	13.33	38.44
レジスチン	99.39	78.12	78.60	IL-1 $\alpha$	104.49	205.17	196.36
PAI-1 <sup>A</sup>	213.37	254.21	119.14	IFN- $\gamma$	20.78	5.73	27.58
SE-セクレチン	49.28	36.75	74.57	G-CSF	22.05	3.68	16.68
sVCAM-1	1822.54	548.47	30.09	GM-CSF	26.91	15.97	59.33
sICAM-1	3128.49	1607.19	51.37	TNF- $\alpha$	35.13	11.03	31.38
MPO	95.40	396.70	415.85	MCP-1	36.83	12.40	33.66
CRP	8947.58	6700.43	74.89	IL-12 (p40)	23.35	7.64	32.74
SAA	2444.04	4420.98	180.89	MIP-1 $\alpha$	34.36	7.76	22.58
SAP	2170.66	583.20	26.87	MIP-1 $\beta$	17.13	6.29	36.73
レプチン <sup>1</sup>	3159.85	3108.95	98.39	VEGF	38.60	12.27	31.79
GLP-1	57.97	105.08	181.26	IL-12(p70)	7.53	47.57	631.42
アミリン (全体)	127.91	196.50	153.63	IL-13	-0.07	36.12	-48855.51
C-ペプチド	5243.25	1975.58	37.68	MMP-2	173.98	566.49	325.61
インスリン	269.95	395.42	146.48	MMP-1	45.54	70.31	154.37
Sfas	54.83	192.79	351.58	MMP-3	6075.64	2300.75	37.87
sFSI	16.47	20.16	122.40	エオタキシン	127.35	132.34	103.92
MIF	12.66	6.60	52.09	レプチン <sup>2</sup>	4899.58	4110.65	83.90
IL-1 $\beta$	21.56	2.60	12.05	IP-10	612.33	1020.53	166.66
IL-2	13.17	58.19	441.69	MMP-9	635.66	724.02	113.90
IL-1ra	22.06	25.34	114.88	MMP-13	6.92	16.91	244.36
IL-4	121.09	79.91	65.99	PAI-1 <sup>B</sup>	13.51	73.47	543.75
IL-5	17.97	17.75	98.78	I-TAC	-15.62	70.30	-450.19
IL-6	-39.17	56.42	144.04	MMP-12	-10.06	-18.84	187.30
IL-7	14.36	6.51	45.31	HGF	-38.01	32.84	-86.39
TGF- $\alpha$	29.04	7.49	25.78	MMP-7	892.29	570.49	63.94
ブラクタルカイン	12.16	3.14	25.82	EGF	17.96	27.01	150.43
IL-8	120.31	200.43	166.59	sCD40 リガンド	167.64	543.74	324.35
IL-10	11.81	3.52	29.85	MMP-8	-41.37	35.20	-85.08
IL-15	22.73	3.72	16.36				

【図 5 B】

FIGURE 5B

男性の肺癌の集団における蛍光強度レベル							
バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.	バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.
アジボネクチン	3308.09	2112.68	63.86	IL-17	46.93	33.34	71.03
レジスチン	203.24	147.53	72.59	IL-1 $\alpha$	132.63	364.95	275.17
PAI-1 <sup>A</sup>	837.56	421.88	50.37	IFN- $\gamma$	27.78	9.55	34.39
SE-セクレチン	42.79	52.96	123.79	G-CSF	30.21	22.90	75.83
sVCAM-1	1392.31	532.93	38.28	GM-CSF	33.37	11.28	33.81
sICAM-1	3120.40	1469.20	47.08	TNF- $\alpha$	57.62	17.36	30.13
MPO	2172.28	1925.67	88.65	MCP-1	187.93	203.98	108.54
CRP	13265.74	5095.50	38.41	IL-12 (p40)	26.17	7.19	27.49
SAA	7854.70	6623.56	84.33	MIP-1 $\alpha$	47.00	23.96	50.98
SAP	1689.28	907.93	53.75	MIP-1 $\beta$	30.00	14.79	49.29
レプチン <sup>1</sup>	1241.43	1616.24	130.19	VEGF	44.89	19.17	42.71
GLP-1	138.75	679.26	489.56	IL-12(p70)	41.57	54.79	131.80
アミリン (全体)	377.72	1076.85	285.09	IL-13	397.79	527.21	132.54
C-ペプチド	3518.32	2653.51	75.42	MMP-2	177.06	362.25	204.59
インスリン	388.05	769.26	198.24	MMP-1	811.18	843.83	104.03
Sfas	70.28	43.45	61.83	MMP-3	8324.20	2990.05	35.92
sFSI	20.35	69.16	339.84	エオタキシン	815.97	575.92	70.58
MIF	85.95	175.61	204.33	レプチン <sup>2</sup>	2860.57	2948.31	103.07
IL-1 $\beta$	26.79	4.24	15.84	IP-10	1949.78	1499.56	76.91
IL-2	11.49	5.97	51.93	MMP-9	3017.93	2667.24	88.38
IL-1ra	29.34	9.50	32.36	MMP-13	25.44	228.13	896.89
IL-4	165.98	231.18	139.28	PAI-1 <sup>B</sup>	279.67	198.30	70.91
IL-5	28.01	42.91	153.18	I-TAC	450.09	314.46	69.87
IL-6	76.81	141.04	183.63	MMP-12	36.42	203.07	-557.88
IL-7	19.93	9.24	46.38	HGF	746.89	847.21	113.43
TGF- $\alpha$	37.83	12.78	33.77	MMP-7	2049.58	1193.44	58.23
ブラクタルカイン	15.26	4.16	27.25	EGF	471.66	452.79	96.00
IL-8	187.89	325.97	173.49	sCD40 リガンド	129.51	407.77	314.85
IL-10	17.14	6.35	37.07	MMP-8	300.58	545.34	181.43
IL-15	28.87	7.24	25.09				

【図 5 C】

FIGURE 5C

男性の喘息の集団における蛍光強度レベル							
バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.	バイオマーカー	平均	S.D.	R.S.D.
アジボネクチン	2947.72	2190.78	74.32	IL-17	56.69	27.10	47.81
レジスチン	221.87	167.29	75.40	IL-1 $\alpha$	396.04	1049.31	264.95
PAI-1 <sup>A</sup>	711.75	224.74	31.58	IFN- $\gamma$	27.11	6.72	24.79
SE-セクレチン	38.26	28.16	73.59	G-CSF	38.02	14.71	38.68
sVCAM-1	2829.19	1012.66	35.79	GM-CSF	47.83	40.94	85.59
sICAM-1	3394.91	1123.56	33.10	TNF- $\alpha$	111.92	444.94	397.55
MPO	3403.65	2428.77	71.36	MCP-1	606.76	2887.62	475.91
CRP	8963.97	5125.42	57.18	IL-12 (p40)	32.29	8.99	27.84
SAA	3443.76	4262.10	123.76	MIP-1 $\alpha$	182.01	1059.60	582.15
SAP	2535.86	714.51	28.18	MIP-1 $\beta$	33.66	52.04	154.58
レプチン <sup>1</sup>	1141.66	1299.27	113.81	VEGF	57.87	23.15	40.00
GLP-1	27.56	38.25	138.81	IL-12(p70)	36.55	57.75	158.03
アミリン (全体)	104.12	110.92	106.53	IL-13	284.25	346.16	121.78
C-ペプチド	4893.34	2138.06	43.69	MMP-2	124.45	107.75	86.58
インスリン	222.02	317.93	143.20	MMP-1	117.09	156.76	133.88
Sfas	58.05	16.92	29.15	MMP-3	6119.28	3561.09	58.19
sFSI	38.99	55.65	142.74	エオタキシン	610.56	552.32	90.46
MIF	80.03	50.32	62.87	レプチン <sup>2</sup>	1764.32	2112.24	119.72
IL-1 $\beta$	51.76	192.52	371.97	IP-10	1300.30	1119.80	86.12
IL-2	13.27	3.63	27.33	MMP-9	3405.05	2443.42	71.76
IL-1ra	26.01	4.29	16.50	MMP-13	5.81	7.96	136.94
IL-4	263.83	449.92	170.54	PAI-1 <sup>B</sup>	381.16	307.44	80.66
IL-5	52.10	109.08	209.37	I-TAC	610.84	524.00	85.78
IL-6	237.79	874.22	367.65	MMP-12	14.41	17.40	120.78
IL-7	32.02	16.91	52.81	HGF	1109.68	967.32	87.17
TGF- $\alpha$	48.84	13.25	27.13	MMP-7	437.39	545.63	124.75
ブラクタルカイン	16.93	4.02	23.75	EGF	447.62	505.26	112.88
IL-8	1050.01	3114.51	296.62	sCD40 リガンド	111.41	103.15	92.58
IL-10	16.83	4.30	25.53	MMP-8	55.11	265.37	481.49
IL-15	34.44	7.08	20.56				

【図 5 D】

FIGURE 5D

男性の集団における平均蛍光強度の変化のパーセント															
	AST	NO	LC	AST	NO	LC	AST	NO	LC	AST	NO	LC	AST	NO	LC
バイオマーカー															
アジボネクチン	24.11	39.29	-12.33	IL-17	63.48	279.04	26.93	66.51	17.21	66.51	17.21	66.51	66.51	17.21	66.51
レジスチン	123.24	104.49	8.40	IL-1 $\alpha$	30.48	72.94	33.66	20.56	20.56	20.56	20.56	20.56	20.56	20.56	20.56
PAI-1 <sup>A</sup>	233.58	222.55	-4.70	IFN- $\gamma$	72.41	77.75	24.02	30.22	30.22	30.22	30.22	30.22	30.22	30.22	30.22
SE-セクレチン	22.36	-13.18	-11.82	G-CSF	218.55	1547.33	-410.23	69.03	69.03	69.03	69.03	69.03	69.03	69.03	69.03
sVCAM-1	55.23	-23.61	-50.79	GM-CSF	77.75	38.29	36.79	74.18	74.18	74.18	74.18	74.18	74.18	74.18	74.18
sICAM-1	8.52	-20.26	8.09	TNF- $\alpha$	96.87	99.91	16.29	22.42	22.42	22.42	22.42	22.42	22.42	22.42	22.42
MPO	3467.91	2177.11	-36.18	MCP-1	385.29	385.29	-451.75	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74
CRP	0.18	-48.26	-47.99	IL-12 (p40)	385.29	385.29	-451.75	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74
SAA	40.90	221.38	-128.09	MIP-1 $\alpha$	385.29	385.29	-451.75	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74
SAP	1682	-22.18	-33.38	MIP-1 $\beta$	385.29	385.29	-451.75	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74
レプチン <sup>1</sup>	-63.87	-60.71	-8.74	VEGF	385.11	385.11	-451.75	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74
GLP-1	-52.47	139.34	-103.63	IL-12(p70)	385.11	385.11	-451.75	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74
アミリン (全体)	-18.59	0.531	-30.76	IL-13	385.29	385.29	-451.75	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74	-41.74
C-ペプチド	-6.67	-32.90	38.10	MMP-2	28.47	15.90	168.08	452.77	452.77	452.77	452.77	452.77	452.77	452.77	452.77
インスリン	-17.76	74.78	-74.78	MMP-1	0.72	37.01	-36.03	-37.01	-36.03	-36.03	-36.03	-36.03	-36.03	-36.03	-36.03
Sfas	5.87	28.17	-22.30	MMP-3	379.44	540.73	-33.64	-41.62	-41.62	-41.62	-41.62	-41.62	-41.62	-41.62	-41.62
sFSI	436.67	23.54	47.80	エオタキシン	64.99	112.35	218.42	40.95	40.95	40.95	40.95	40.95	40.95	40.95	40.95
MIF	532.08	58.78	-7.59	レプチン <sup>2</sup>	485.68	374.77	267.65	-337.75	-337.75	-337.75	-337.75	-337.75	-337.75	-337.75	-337.75
IL-1 $\beta$	140.10	24.29	48.24	IP-10	272.13	1900.94	26.63	26.63	26.63	26.63	26.63	26.63	26.63	26.63	26.63
IL-2	0.73	-12.80	13.44	MMP-9	-101.55	-1902.15	26.32	26.32	26.32	26.32	26.32	26.32	26.32	26.32	26.32
IL-4	17.94	33.04	-13.81	MMP-13	43.25	240.07	-152.76	-152.76	-152.76	-152.76	-152.76	-152.76	-152.76	-152.76	-152.76
IL-1 $\alpha$	17.87	37.07	46.23	PAI-1 <sup>B</sup>	30.97	30.97	32.69	32.69	32.69	32.69	32.69	32.69	32.69	32.69	32.69
IL-5	189.94	55.89	46.23	LtAC	-50.98	120.70	-168.60	-168.60	-168.60	-168.60	-168.60	-168.60	-168.60	-168.60	-168.60
IL-6	507.08	96.10	37.75	MMP-12	239.73	2526.60	-5.37	-5.37	-5.37	-5.37	-5.37	-5.37	-5.37	-5.37	-5.37
IL-7	122.93	38.77	37.75	HGF	33.54	22.74	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25
IL-8	30.25	22.55	9.83	MMP-7	92.11	92.11	-1.85	-1.85	-1.85	-1.85	-1.85	-1.85	-1.85	-1.85	-1.85
IL-9	9.18	25.49	9.83	EGF	33.54	22.74	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25
IL-10	772.73	56.17	82.11	ICD40 $\gamma$ / IGF-1	-332.23	-332.23	-445.37	-445.37	-445.37	-445.37	-445.37	-445.37	-445.37	-445.37	-445.37
IL-11	4.52	45.16	-1.85	MMP-8	33.54	22.74	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25	-16.25
IL-15	51.52	27.02	37.75	IL-17	63.48	279.04	26.93	66.51	17.21	66.51	17.21	66.51	66.51	17.21	66.51

男性の集団に対するメタチュービデント7値の 標準と7値で表わした集団間の有意性									
	TAST 8/9	TIC 8/9	TAST 8/10	TIC 8/10	TAST 8/11	TIC 8/11	TAST 8/12	TIC 8/12	TAST 8/13
パイオマーカー									
アジホタケタン	0.033	0.000	0.000	0.000	IL-17	0.000	0.000	0.000	0.256
レジスタン	0.000	0.000	0.157	0.000	IL-14	0.001	0.001	0.000	0.035
PAL1*	0.000	0.000	0.000	0.000	IFN- $\gamma$	0.000	0.000	0.000	0.042
SR- $\beta$ -ヒカタン	0.029	0.172	0.206	0.000	G-CSF	0.000	0.000	0.000	0.381
IL-1	0.000	0.000	0.000	0.000	GM-CSF	0.000	0.000	0.000	0.112
sICAM-1	0.000	0.000	0.000	0.000	GM-CSF	0.000	0.000	0.000	0.190
sICAM-1	0.217	0.958	0.454	0.000	TNF- $\alpha$	0.027	0.000	0.000	0.390
MPO	0.000	0.000	0.016	0.000	MCP-1	0.000	0.000	0.000	0.213
CRP	0.986	0.000	0.000	0.000	IL-12 (p40)	0.017	0.000	0.000	0.302
SAA	0.116	0.000	0.000	0.000	MIP-1 $\alpha$	0.074	0.000	0.000	0.174
SAP	0.000	0.000	0.000	0.000	MIP-1 $\beta$	0.000	0.000	0.000	0.157
レブタン1	0.000	0.000	0.000	0.000	VEGF	0.000	0.000	0.000	0.319
IL-1 $\beta$	0.000	0.000	0.000	0.000	IL-1 (p40)	0.000	0.000	0.000	0.207
IL-1 $\beta$	0.025	0.131	0.058	0.000	IL-13	0.000	0.000	0.000	0.029
IL-1 $\beta$ (金体)	0.353	0.003	0.003	0.003	MMP-2	0.479	0.000	0.000	0.026
C-ペプタド	0.734	0.000	0.003	0.003	MMP-3	0.000	0.000	0.000	0.000
インスリン	0.878	0.000	0.012	0.000	MMP-3	0.912	0.000	0.000	0.005
Sfrn	0.892	0.227	0.449	0.000	エロタキシン	0.000	0.000	0.000	0.147
IFN1	0.000	0.484	0.795	0.000	レブタン2	0.000	0.000	0.000	0.000
MIF	0.000	0.000	0.199	0.000	IFN- $\gamma$	0.000	0.000	0.000	0.000
IL-1 $\beta$	0.044	0.000	0.159	0.000	MMP-9	0.000	0.000	0.000	0.530
IL-2	0.989	0.653	0.371	0.000	MMP-9	0.608	0.299	0.000	0.309
IL-2	0.206	0.000	0.317	0.000	MMP-13	0.000	0.000	0.000	0.002
IL-1ra	0.000	0.017	0.317	0.000	PAL1*	0.000	0.000	0.000	0.005
IL-4	0.000	0.005	0.211	0.000	LTAC	0.000	0.000	0.000	0.008
IL-5	0.000	0.000	0.000	0.000	MMP-12	0.105	0.229	0.000	0.000
IL-6	0.002	0.001	0.000	0.000	HGF	0.000	0.000	0.000	0.000
IL-7	0.000	0.000	0.114	0.000	MMP-7	0.000	0.000	0.000	0.000
TGF- $\alpha$	0.000	0.000	0.547	0.000	EGF	0.000	0.000	0.000	0.615
フラクタリオン	0.000	0.000	0.869	0.000	CD40 リボンド	0.402	0.418	0.000	0.155
IL-8	0.000	0.018	0.019	0.000	MMP-8	0.000	0.000	0.000	0.007
IL-10	0.000	0.000	0.001	0.000					
IL-15	0.000	0.000	0.000	0.000					

[illegible][illegible]

	LC 対 NO	AST 対 NO	IC 対 IC	スカラー値	バイオマーカー	LC 算 NO	AST 対 NO	AST 対 LC	スカラー値
I-TAC	272.54	898.32	61.93	1104.24	MMP-1	211.09	-0.40	-212.35	423.84
PAL-1	236.98	331.62	23.39	590.52	アラタカリン	-19.66	-80.00	-301.66	401.32
MMP-7	84.44	-63.12	-408.06	547.62	IL-1 $\alpha$	71.64	260.31	52.36	384.32
MMP-3	256.73	24.09	-219.71	340.53	CPR	212.08	85.24	-68.45	365.74
IL-8	-82.05	205.35	94.12	381.53	MIP-1 $\beta$	-94.59	-97.96	-164.40	336.96
MPO	146.60	208.72	20.12	375.44	IP-10	137.95	151.54	5.40	294.88
レプタン	66.76	129.92	44.23	310.02	IL-1m	-99.93	-99.96	-67.00	266.89
ePSI	-11.14	188.58	69.21	268.93	MIP-1 $\alpha$	-48.14	-90.57	-57.53	233.24
HGF	-25.19	161.48	71.38	257.97	VEGF	-97.48	-97.90	-21.17	216.52
レニンチン	5.74	110.38	49.74	165.86	IFN- $\gamma$	69.14	106.91	15.81	185.87
C-ペプチド	-34.06	56.58	58.42	151.06	アジラキチン	79.43	65.79	-6.07	176.01
MMP-13	-33.46	-57.59	-57.65	148.91	エポタキシン	90.42	65.79	-8.23	133.45
SAP	-37.59	-58.12	-49.49	145.01	IL-6	31.65	52.43	13.63	97.71
sVCAM-1	-14.50	30.75	34.61	79.87	MMP-12	49.48	5.90	-41.14	96.32
MMP-8	-45.98	-3.33	3.78	14.08	sICAM-1	19.75	-13.48	-58.41	71.64
IL-10	607.39	-88.77	-6984.58	MI	SfP	-33.32	-33.99	0.49	66.79
MMP-9	146.27	3385.22	55.03	4907.52	Stas	22.05	18.36	-3.12	43.53
G-CSF	793.53	263.78	-145.62	1202.93	IL-12 (p40)	75.26	219.85	48.21	340.31
E-CF	627.08	408.97	-42.85	1078.90	IL-4	-37.26	26.12	50.25	113.63
MCP-1	477.55	324.18	-36.16	837.89	インスリン	-42.14	-18.85	28.70	89.70
SAA	453.90	100.01	-176.94	720.83					

【図 7 B】

Figure 7B  
女性の集団に対するクラスカル-ウォリスの  
検定として表示された集団の間の有意性

バイオマーカー	LC 対 NO	AST 対 NO	AST 対 LC	バイオマーカー	LC 対 NO	AST 対 NO	AST 対 LC
バイオマーカー				バイオマーカー			
HTAC	1.31E-19	2.50E-38	1.19E-11	MMP-1	1.81E-13	0.143	7.91E-13
PAI-1	1.01E-17	1.64E-21	0.030	PAI-1	2.85E-49	0.391	0.008
MMP-7	1.04E-12	9.55E-23	2.81E-29	IL-10	8.76E-47	1.67E-05	5.81E-04
MMP-8	0.041	9.37E-07	2.16E-06	CRP	0.218	1.78E-07	0.253
EGF	4.82E-32	0.004	0.004	MIP-1β	0.027	0.812	0.004
MPO	5.92E-36	3.36E-14	1.02E-15	IP-10	1.05E-19	4.53E-20	0.754
レブリン	1.48E-15	1.77E-11	1.23E-19	IL-1α	2.09E-55	1.35E-09	0.332
αFSI	7.36E-35	1.72E-11	1.33E-19	MIP-1α	0.003	1.29E-04	0.238
HGF	0.001	7.52E-15	1.52E-19	VEGF	1.43E-05	6.72E-04	0.314
レジスチン	8.18E-14	1.19E-12	3.57E-10	IPN-7	2.00E-42	3.77E-05	0.638
C-ペプチド	7.34E-40	0.004	4.76E-10	アジボタニン	3.41E-09	1.68E-11	0.316
MMP-13	0.124	9.59E-08	1.11E-05	エオタキシン	1.59E-09	0.009	0.225
SAP	8.57E-42	6.46E-07	0.031	IL-6	1.94E-32	0.009	0.225
αVCAM-1	6.40E-03	5.43E-07	2.49E-13	MMP-12	2.05E-05	0.528	4.44E-05
MMP-8	0.005	2.79E-04	1.15E-11	αICAM-1	0.009	9.67E-04	0.100
IL-10	3.35E-38	0.251	8.52E-06	MIF	1.16E-46	1.33E-07	0.002
MMP-9	2.57E-13	2.85E-13	0.704	Sna	8.55E-28	0.003	0.051
EGF	2.31E-05	3.38E-04	0.363	IL-12 (p40)	0.19	0.753	0.145
MCP-1	1.48E-24	2.10E-24	0.298	IL-4	0.252		
SAA	5.11E-19	6.55E-22	0.361	インスリン	1.73E-35		
	3.15E-40	4.84E-14	0.033				

【図 8 A】

Figure 8A  
男性の集団における平均濃度の変化のパーセント

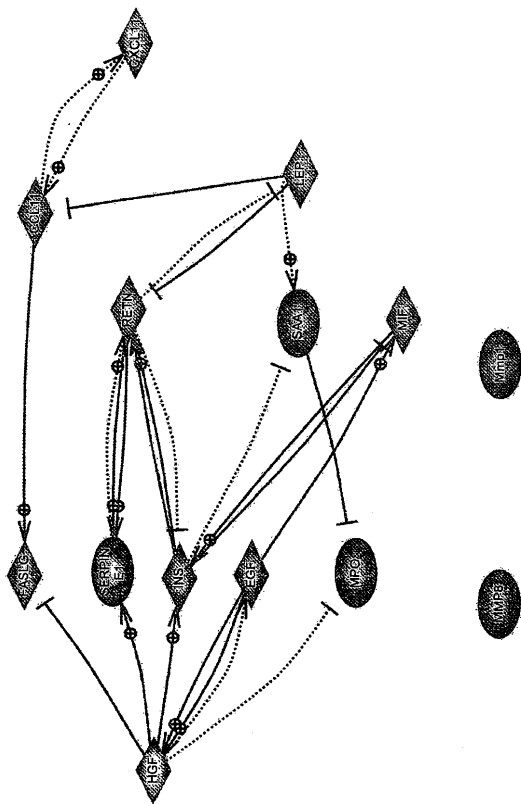
バイオマーカー	LC 対 NO	AST 対 NO	AST 対 LC	バイオマーカー	LC 対 NO	AST 対 NO	AST 対 LC
バイオマーカー				バイオマーカー			
HGF	31570.67	70709.80	55.27	102335.75	MMP-1a	167.51	556.86
MMP-8	24397.41	2673.65	-548.91	28609.97	MMP-13	243.63	75.96
HTAC	5284.92	20195.93	73.47	25584.31	G-CSF	218.18	11.35
EGF	3182.66	3895.15	17.83	7055.65	IPN-7	66.22	-57.08
PAI-1	1766.61	2974.80	59.29	4780.71	MMP-7	161.73	-3.44
MMP-1	2657.85	496.02	-562.71	3516.58	IP-10	165.05	198.57
MPO	858.94	1884.89	49.66	2713.49	CRP	81.49	-55.15
MIF	687.69	491.62	-33.14	1212.44	インスリン	-24.90	-56.95
エオタキシン	365.15	522.18	25.24	912.57	VEGF	72.82	51.88
MMP-12	399.62	158.80	-93.05	651.48	SAP	-39.69	-53.58
SAA	49.02	-62.23	-294.54	403.78	αVCAM-1	43.04	-9.06
レジスチン	90.46	29.15	-47.46	167.07	αVCAM-1	-15.22	16.68
αFSI	-0.87	78.86	44.88	124.31	Sna	13.76	6.21
レブリン	-51.27	-49.51	3.49	104.26	IL-1α	24.34	-42.18
C-ペプチド	-2.14	29.77	28.45	65.56	IL-12 (p40)	-72.67	4.72
MMP-9	10857.07	1705.79	-506.77	13069.63	MIP-1β	4.75	36.34
MCP-1	235.25	829.77	63.94	1128.96	αICAM-1	9.18	-31.45
MMP-3	515.02	216.75	-94.17	825.93			

【図 8 B】

Figure 8B  
男性の集団に対するクラスカル-ウォリス検定の  
検定として表示された集団の間の有意性

バイオマーカー	LC 対 NO	AST 対 NO	AST 対 LC	バイオマーカー	LC 対 NO	AST 対 NO	AST 対 LC
バイオマーカー				バイオマーカー			
HGF	5.6879E-58	1.25E-44	1.44E-10	MIP-1α	1.23E-09	9.06E-04	0.582
MMP-8	7.13597E-36	0.003	4.08E-13	MMP-13	4.07E-12	0.002	0.377
HTAC	1.904E-63	1.22E-44	3.22E-08	G-CSF	0.119	0.002	6.22E-05
EGF	4.54971E-61	3.10E-31	0.006	IPN-7	0.992	0.014	0.018
PAI-1	9.63123E-52	3.91E-32	0.032	MMP-7	2.98033E-28	0.213	4.52E-18
MMP-1	2.591E-52	1.34E-09	2.27E-16	IP-10	1.04E-31	1.87E-18	0.725
MPO	3.30E-47	3.03E-32	4.17E-11	CRP	1.04E-11	0.758	1.87E-19
MIF	3.05E-27	2.20E-29	0.006	インスリン	4.18E-04	3.54E-05	0.219
エオタキシン	2.85E-43	5.55E-28	0.001	VEGF	6.046E-13	2.61E-09	0.699
MMP-12	7.21087E-32	1.39E-04	0.002	SAP	3.30E-07	1.22E-05	0.739
SAA	4.51E-19	0.002	1.23E-06	アジボタニン	6.95E-11	0.283	4.39E-08
レブリン	5.26E-16	0.011	3.40E-04	αVCAM-1	0.674	9.79E-10	1.48E-15
αFSI	3.39E-21	0.019	3.88E-17	Sna	2.65E-15	4.93E-08	0.245
C-ペプチド	1.08E-10	0.013	8.32E-04	IL-1α	6.40E-09	0.088	0.009
MMP-9	9.13E-11	1.72E-02	1.07E-08	IL-12 (p40)	0.001	0.333	0.180
MCP-1	6.48556E-33	4.61E-20	0.759	MIP-1β	0.001	0.066	0.434
	2.78E-39	3.91E-21	0.186	αICAM-1	0.723	2.17E-05	0.218
MMP-3	5.09E-15	2.29E-05	0.170				



【図 9】



【配列表】

2012520469000001.xml

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2010/027243
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
C12Q 1/68(2006.01)i, C12N 15/12(2006.01)i, G01N 33/53(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q 1/68; C12N 5/08; G01N 33/574		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) NCBI PubMed, eKOMPASS (KIPO internal), "lung cancer, biomarker, expression profile, etc."		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/063413 A2 (Source Precision Medicine INC., US) 29 May 2008 - see the whole document, especially Claims 1, 5, 6 ; Abstract.	30,32,34,35,37,39 ,41,42 31,38
A		
X	US 2003/0104499 A1 (Pressman et al., US) 05 Jun 2003 - see the whole document, especially Claims 1, 4, 14, 19; Abstract.	30,32,34,35,37,39 ,41,42 31,38
A		
X	Iizasa T et al. "Elevated levels of circulating plasma matrix metalloproteinase 9 in non-small cell lung cancer patients" Clin Cancer Res, Vol. 5, No. 1, Pages 149-53, January 1999	30,32,34,35,37,39 ,41,42
A	- see the whole document, especially Abstract; Figures 1, 2; Table 1.	31,38
X	US 2006/0084126 A1 (Segal E.A., US) 20 Apr 2006 - see the whole document, especially Claims 32-35; Abstract.	30,32,34,35,37,39 ,41,42 31,38
A		
A	Ma et al., "Alteration in gene expression profile and biological behavior in human lung cancer cell line NL9980 by nm23-H1 gene silencing" Biochem Biophys Res Commun, Vol. 371, No. 3, pp425-430, 25 Apr 2008 - see the whole document.	30-32,34,35,37-39 ,41,42
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of 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 07 JANUARY 2011 (07.01.2011)		Date of mailing of the international search report 07 JANUARY 2011 (07.01.2011)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer Lee, Jun Hyuk Telephone No. 82-42-481-8115 

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

**PCT/US2010/027243****Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of 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. ☒ Claims Nos.: 1-29  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claims 1-29 are directed to a method of physiological characterization in a subject, which fall into the category of diagnostic methods practised on the human body [Article 17(2)(a)(i), Rule 39.1(iv) PCT]
2. ☒ Claims Nos.: 36,46,47  
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:
  - 1) Claims 46 and 47 are so unclear and indefinite that no meaningful search could be made because these claims are drafted in reference to multiple dependent claims such as claims 12-19, 33, 40 and 43-45 (see the category Box No. II-3 below).
  - 2) Claim 36 refers to itself, failing to comply with Article 6 PCT.
3. ☒ Claims Nos.: 12-19,33,40,43-45  
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:

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 an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
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 claims 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 claims 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**

Information on patent family members

International application No.

**PCT/US2010/027243**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008-063413 A2	29.05.2008	CA 2669600 A1 EP 2087140 A2 US 2010-184034 A1 WO 2008-063413 A2 WO 2008-063413 A3 WO 2008-063413 A3	29.05.2008 12.08.2009 22.07.2010 29.05.2008 29.05.2008 04.09.2008
US 2003-0104499 A1	05.06.2003	US 2005-0282201 A1 US 6939670 B2	22.12.2005 06.09.2005
US 2006-0084126 A1	20.04.2006	US 2006-0105405 A1	18.05.2006

## フロントページの続き

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

(74)代理人 100135415

弁理士 中濱 明子

(72)発明者 ストリーパー, ロバート・ティー

アメリカ合衆国テキサス州 7 8 2 4 0, サン・アントニオ, アップル・グリーン・ロード 7 7 3 8

(72)発明者 イズビッカ, エルジュビェタ

アメリカ合衆国テキサス州 7 8 2 4 0, サン・アントニオ, アップル・グリーン・ロード 7 7 3 8

(72)発明者 ベック, サン・エイチ

アメリカ合衆国ワシントン州 9 8 2 9 6, スノホミッシュ, サウスイースト, シックスティフィフス・アベニュー 1 9 8 1 5