

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-520600
(P2025-520600A)

(43)公表日 令和7年7月3日(2025.7.3)

(51)国際特許分類
G 0 1 N 33/68 (2006.01)

F I
G O 1 N 33/68

テーマコード (参考)
2 G 0 4 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全55頁)			
(21)出願番号	特願2024-574752(P2024-574752)	(71)出願人	591003013
(86)(22)出願日	令和5年6月23日(2023.6.23)		エフ. ホフマンーラ ロシュ アーゲー
(85)翻訳文提出日	令和6年12月19日(2024.12.19)		F. HOFFMANN-LA ROCH
(86)国際出願番号	PCT/EP2023/067108		E AKTIENGESSELLSCHA
(87)国際公開番号	WO2023/247752		FT
(87)国際公開日	令和5年12月28日(2023.12.28)		スイス・シーエイチー 4 0 7 0 パーゼル
(31)優先権主張番号	22180800.9		・グレンツアーヘルストラツセ 1 2 4
(32)優先日	令和4年6月23日(2022.6.23)	(74)代理人	100118902
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		弁理士 山本 修
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW), EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES, FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV 最終頁に続く	(74)代理人	100106208
			弁理士 宮前 徹
		(74)代理人	100196508
			弁理士 松尾 淳一
		(74)代理人	100196243
			弁理士 運 敬太
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 子宮内膜症を診断するためおよび子宮内膜症の病期を分類するための方法

(57)【要約】

本発明は、対象のサンプルの c - K i t の量または濃度を決定し、決定されたレベルを基準値と比較することによって、対象が子宮内膜症を有するかどうかを診断する方法、子宮内膜症の病期を分類する方法、子宮内膜症の治療レジメンの治療効果を決定する方法、および対象の子宮内膜症の進行をモニタリングする方法に関する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

対象の子宮内膜症を診断するための方法であって、

a) 前記対象由来の生体液サンプルの c - K i t のレベルを決定する工程、

b) 前記 c - K i t のレベルを、少なくとも 1 つの適切な基準値の c - K i t レベルと比較する工程、

c) 工程 b) における前記比較が、対象が前記適切な基準値と比較して増加したレベルの c - K i t を有することを示す場合、前記対象を、子宮内膜症を有するとして特定する工程

を含む方法。

10

【請求項 2】

対象の子宮内膜症の病期を分類するための方法であって、

a) 前記対象由来の生体液サンプルの c - K i t のレベルを決定する工程、

b) 前記 c - K i t のレベルを、少なくとも 1 つの適切な基準値の c - K i t レベルと比較する工程、

c) 工程 b) における前記比較が、前記対象が、前記少なくとも 1 つの適切な基準値の c - K i t レベルと比較して、増加したまたは減少したレベルの c - K i t を有することを示す場合、前記対象において子宮内膜症の病期を分類する工程

を含む方法。

20

【請求項 3】

前記生体液サンプルが、血液、血清、血漿、毛細管血、間質液、腹腔液、または月経液であり、好ましくは前記生体液サンプルが血清である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記診断または分類が、米国生殖医学会のスコアリングシステムとは独立して行われる、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記対象の子宮内膜症の病期が、米国生殖医学会の改訂版のスコアリングシステム (r - A S R M) に従って、ステージ I、ステージ II、ステージ III、またはステージ IV の子宮内膜症として分類される、請求項 2 ～ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記対象の子宮内膜症の病期が、米国生殖医学会の改訂版のスコアリングシステム (r - A S R M) に従って、ステージ I またはステージ II の子宮内膜症として分類される、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 7】

子宮内膜症が、腹膜子宮内膜症、子宮内膜腫、深部浸潤性子宮内膜症、および腺筋症からなる群から選択される、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記 c - K i t のレベルと対照サンプルまたは所定の基準レベルとの前記比較に基づいて、前記対象のための治療レジメンを選択することをさらに含む、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 9】

前記選択された治療レジメンを前記対象に施すことをさらに含み、任意に、前記選択された治療レジメンが薬物ベースの治療法および／または外科的処置（腹腔鏡検査）を含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

対象における子宮内膜症の進行をモニタリングするための方法であって、

i. 請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の方法の工程 a) ～ b) に従って前記対象由来の生体液サンプルの c - K i t のレベルを決定する工程、

ii. 治療中または治療後に前記対象から得られた生体液サンプルを使用して一定の時間間隔で工程 i を繰り返す工程、および

50

i i i . i で特定された前記 c - K i t のレベルを、i i で特定された前記 c - K i t レベルと比較する工程であって、i から i i への前記 c - K i t レベルの変化が前記対象における子宮内膜症進行の変化を示す、工程を含む方法。

【請求項 1 1】

対象の子宮内膜症の治療レジメンの治療効果を決定するための方法であって、

i . 請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の方法の工程 a) ～ b) に従って前記対象由来の生体液サンプルの c - K i t のレベルを決定する工程、

i i . 治療中または治療後に前記対象から得られた生体液サンプルを使用して一定の時間間隔で工程 a) を繰り返す工程、および

i i i . 工程 a) で決定された前記 c - K i t のレベルを工程 b) で決定されたものと比較し、前記 c - K i t のレベルが治療後に低下した場合に前記治療レジメンが治療効果を有することを特定する工程を含む方法。

【請求項 1 2】

ビジュアルアナログスケール (V A S) に従った月経困難症および／または V A S に従った下腹部痛の評定をさらに含む、請求項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記対象由来の前記生体液サンプルの C A - 1 2 5 のレベルを決定することをさらに含む、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4】

- c - K i t の量もしくは濃度と C A - 1 2 5 の量もしくは濃度との比、または

- c - K i t の量もしくは濃度と月経困難症との比、または

- c - K i t の量もしくは濃度と、C A - 1 2 5 の量もしくは濃度と、月経困難症との比、または

- c - K i t の量もしくは濃度と、V A S スケールに従った下腹部痛との比を計算することを含む、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

子宮内膜症が疑われる患者を評定するためのコンピュータ実装方法であって、

(f) 前記対象のサンプルの第 1 のバイオマーカーのレベルに関する値を受け取る工程であって、前記第 1 のバイオマーカーが c - K i t である、工程、

(g) 前記対象のサンプルの第 2 のバイオマーカーのレベルに関する値を受け取る工程であって、前記第 2 のバイオマーカーが C A 1 2 5 である、工程、

(h) V A S に従った月経困難症および／または V A S に従った下腹部痛のレベルに関する値を受け取る工程、

(i) 工程 (a) ～ (c) の前記レベルに関する前記値を前記バイオマーカーの基準、および月経困難症の量と比較し、および／または前記バイオマーカーの前記レベルおよび月経困難症の量に基づいて子宮内膜症が疑われる前記対象を評定するためのスコアを計算する工程、ならびに

(j) 工程 (d) で行われた前記比較および／または前記計算に基づいて前記対象を評定する工程

を含むコンピュータ実装方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、対象が子宮内膜症を有するかどうかを診断する方法、子宮内膜症を有する対象のリスクを評定する方法、子宮内膜症の病期を分類する方法、子宮内膜症の治療レジメンの治療効果を決定する方法、および対象のサンプル中の c - K i t の量または濃度を決定し、決定されたレベルを基準値と比較することによって、対象の子宮内膜症の進行をモニタリングする方法に関する。

10

20

30

40

50

【背景技術】

【0002】

発明の背景

子宮内膜症は、子宮内膜腺の成長および子宮外の間質様病変（Liuら、2011）によって定義される慢性障害である。病変は、腹膜病変、卵巣の表在性インプラントもしくは嚢胞、または深部浸潤性疾患であり得る。これは、増殖および接着特性（Liuら、2011）の増加を特徴とする同所性子宮内膜細胞から生じる。同所性子宮内膜における細胞生存率の増加は、アポトーシスの減少および細胞増殖の増加の結果である（Johnsonら、2005）。子宮内膜症は、生殖可能年齢の全女性の5～8%、および慢性骨盤痛を有する女性の70%が罹患する。子宮内膜症の患者数は、世界中で1億7600万人の女性であると推定されている（Adams onら、J Endometr. 2010; 2: 3-6）。これらの女性の多くは、子宮内膜症の診断が遅れることが多く、その結果、不必要な苦痛および生活の質の低下をもたらしている。18～45歳の患者では、遅れが7～10年である。子宮内膜症の大部分の女性が青年期に症状の発生を訴えているので、早めの紹介、診断、疾患の特定、および治療により、疼痛を軽減し、疾患の進行を防ぐ可能性がある。早期診断に対する障壁としては、青年期患者における診断および治療が高額であること、ならびに周期性および非周期性疼痛などの区別できない症状を呈することが挙げられる（Parasarら、Curr Obstet Gynecol Rep. 2017; 6: 34-41）。

10

【0003】

子宮内膜症の診断のゴールドスタンダードは、腹腔鏡による視覚化およびその後の組織学的確認である。これまで、子宮内膜症の診断のための非侵襲的方法はなかった（Hsuら、Clin Obstet Gynecol 2010: 53: 413-419）。診断的腹腔鏡検査の間、子宮内膜症の腹腔鏡手術のトレーニングを受け技能を有する婦人科医は、骨盤の全身検査を行う必要がある（NICE guideline NG73, 2017）。外科的視覚化には、信頼できる診断のために十分な専門知識、訓練、および技能が必要である。医師によって極力長い間回避される腹腔鏡手術が、診断のために必要とされるという事実が、7～10年の診断の遅れに至る。非侵襲的な診断試験の欠如は、症状の発症と子宮内膜症の確定診断との間の長い遅れの重大な原因となっている（Signorile and Baldi, J Cell Physiol 2014; 229: 1731-1735）。したがって、子宮内膜症の診断のための、特に早期、最小および軽度の子宮内膜症（改訂版米国生殖医学会rASRMステージI～II）の診断のための非侵襲的な試験に対する医学的必要性は満たされていない。

20

30

【0004】

子宮内膜症の非侵襲的診断により、早期の診断および治療が可能になり、生活の質が改善され、子宮内膜症に関連する社会的なコストが削減される可能性があり、したがって、世界子宮内膜症学会（WES）および世界子宮内膜症研究財団（WERF）によって研究優先事項として選択されている（Fassbenderら、Springer, Peripheral Blood Biomarkers for Endometriosis. 2017）。したがって、子宮内膜症を診断するための非侵襲的ツールは、最終的に生活の質を改善させ、受胎能を維持し得る早期の診断および介入を容易にし得る（Parasarら、Curr Obstet Gynecol Rep. 2017; 6: 34-41）。

40

【0005】

血液バイオマーカーは、腹腔鏡術を必要とする子宮内膜症の診断の時間的遅れを減少させるために不可欠である。CA-125は最も一般的に使用される血液バイオマーカーの1つであるが、その診断有用性は子宮内膜症rASRMステージIIIおよびIVに限定される（Nisenblatら、Cochrane Database of Systematic Reviews. 2016; 5: CD012179）。

【0006】

50

c-K i tは、145 k d膜貫通チロシンキナーゼ受容体（C D 1 1 7）をコードする癌原遺伝子である（R o s k o s k iら、2005）。幹細胞因子（S C F）は、c-K i t受容体の同族リガンドである。S C F誘導c-K i tシグナル伝達は、多様な範囲の生物学的機能において重要な役割を果たすことが示されている（S h a r k e yら、1994）。c-K i tの血清レベルは増殖性肥満細胞障害において増加し、肥満細胞におけるc-K i t放出経路の存在を示唆する（C r u zら、J B i o l C h e m. 2004）。それは、骨髄、赤血球、巨核球、リンパ球、生殖細胞およびメラノサイト前駆細胞を含む複数の細胞型の生存、分化、および動員に不可欠である（B e s m e rら、1991, L y a mら、1998, P a p a y a n n o p o u l o uら、1991）。いくつかの研究は、c-K i t機能の調節不全が、癌を含む様々な疾患の発症に関連することを強調している（V l i a g o f t i sら、1997, M i e t t i n e nら、2005）。例えば、c-K i tが分化、活性化および恒常性を調節する肥満細胞（G i l f i l l a nら、2011）では、c-K i t受容体内の突然変異がシグナル伝達カスケードを妨害し、S C Fとは無関係に構成的受容体活性化を誘導し、肥満細胞症を引き起こす可能性がある（C a r d e t tら、2013）。さらに、内皮細胞におけるc-K i tへのS C F結合は、内皮接着結合を破壊し、血管漏出を増強する（K i mら、2014）。c-K i tシグナル伝達の変化はまた、発癌、ならびに胃腸間質腫瘍（G I S T）、急性骨髄性白血病（A M L）、肥満細胞白血病（M C L）および黒色腫を含む多種多様な良性および悪性新生物障害の発症と関連している（H aら、2010、M a t s u d aら、1993、S a k u r a iら、1999、A y a t o l l a h iら、2017、B o i s s a nら、2000、M o n t o n eら、1997）。

10

20

【0007】

バイオマーカーのレベル／存在は、組織または血清で測定した場合に異なり得る。例えば、補体成分C7および補体成分C4は、子宮内膜症を有しない対照女性の同所性子宮内膜と比較して、子宮内膜症を有する女性の異所性子宮内膜において過剰発現を示した（A h nら、F e r t i l S t e r i l 2016; E y s t e rら、F e r t i l S t e r i l 2007）。しかし、血清補体成分C7タンパク質の増加も補体成分C4タンパク質の増加も循環血では見られなかった（H e v e rら、P N A S 2007）。脳由来神経栄養因子（B D N F）mRNA発現レベルは、同所性子宮内膜におけるよりも卵巣子宮内膜病変において高かった（W a n gら、J o u r n a l o f O v a r i a n R e s e a r c h 2022）。しかしながら、血清B D N Fは、子宮内膜症を有さない対照女性と比較して、子宮内膜症を有する女性では有意に異ならなかった（P e r r i c o sら、E x p B i o l M e d (M a y w o o d) 2018）。さらに、乳癌では、C E A (O)、E R β 、C K 1 9、c-M y cなどの分子マーカーが正常と患者の血液で有意に異なる一方で、これらのマーカーは組織サンプルで有意差がないことが観察された。

30

【0008】

したがって、組織におけるバイオマーカーの局所的に変化した発現は、循環血液のこれらのバイオマーカーの1：1を有意に異なるレベルに変換しない。

【0009】

バイオマーカーを使用することによる子宮内膜症の非侵襲的診断に対して高い必要性があり、それは子宮内膜症の徴候および症状を示す患者を確実に早期にリスク評価および／または特定することを可能にする。

40

【0010】

したがって、本発明は、これらの必要性に応じる手段および方法を提供する。

【発明の概要】

【0011】

発明の概要

第1の態様では、本発明は、対象の子宮内膜症を診断するための方法に関し、方法は、

a) 対象由来の生体液サンプルのc-K i tのレベルを決定する工程、

b) c-K i tのレベルを、少なくとも1つの適切な基準値のc-K i tレベルと比較

50

する工程、

c) 工程 b) における比較が、対象が適切な基準値と比較して増加したレベルの c-K i t を有することを示す場合、対象を、子宮内膜症を有すると特定する工程を含む。

【0012】

第2の態様において、本発明は、対象における子宮内膜症の病期を分類するための方法に関し、方法は、

a) 対象由来の生体液サンプルの c-K i t のレベルを決定する工程、

b) c-K i t のレベルを、少なくとも1つの適切な基準値の c-K i t レベルと比較する工程、

c) 工程 b) における比較が、対象が、少なくとも1つの適切な基準値の c-K i t レベルと比較して、増加したまたは減少したレベルの c-K i t を有することを示す場合、対象において子宮内膜症の病期を分類する工程を含む。

【0013】

第3の態様では、本発明は、対象の子宮内膜症の進行をモニタリングするための方法に関し、方法は、

i. 子宮内膜症を診断および分類するための上記の方法の工程 a) ~ b) に従って対象由来の生体液サンプル中の c-K i t のレベルを決定する工程、

ii. 治療中または治療後に対象から得られた生体液サンプルを使用して一定の時間間隔で工程 i を繰り返す工程、および

iii. i で特定された c-K i t のレベルを、ii で特定された c-K i t レベルと比較する工程であって、i から ii への c-K i t レベルの変化が対象における子宮内膜症進行の変化を示す、工程を含む。

【0014】

第4の態様では、本発明は、対象の子宮内膜症の治療レジメンの治療効果を決定するための方法に関し、方法は、

i. 子宮内膜症を診断および分類するための上記の方法の工程 a) ~ b) に従って対象由来の生体液サンプル中の c-K i t のレベルを決定する工程、

ii. 治療中または治療後に対象から得られた生体液サンプルを使用して一定の時間間隔で工程 i を繰り返す工程、および

iii. 工程 i で決定された c-K i t のレベルを工程 ii で決定されたものと比較し、c-K i t のレベルが治療後に低下した場合に治療レジメンが治療効果を有することを特定する工程を含む。

【図面の簡単な説明】

【0015】

以下、添付の図面を参照しながら、本発明の実施形態をさらに説明する。

【0016】

【図1】ボックスプロット分析：対照群（非病理学的対照、症候性対照（良性所見なし）対子宮内膜症の症例群（ステージ I、子宮内膜症ステージ II、子宮内膜症ステージ III、および子宮内膜症ステージ IV）および良性所見を有する対照の血清サンプル中の c-K i t レベル [ng/mL]。血清 c-K i t レベルを、ヒト CD117/c-K i t Quantikine ELISA Kit (R&D Systems、米国) を使用して測定した。

【図2A】ボックスプロット分析：子宮内膜症を有していない対照と比較した子宮内膜症の女性（ステージ I ~ II ~ III ~ IV）の血清サンプル中の c-K i t レベル [ng/mL]。c-K i t (A) および CA-125 (MUC16) (B) レベルを、Olink プロテオミクス技術を用いて測定した。A：N 陰性 (Ctrl)：16；N 陽性 (E

10

20

30

40

50

nd o) : 24 ; AUC 0.77 (0.62 ~ 0.92) ; B : N 陰性 (C t r l) : 16 ; N 陽性 (E n d o) : 24 ; AUC 0.76 (0.61 ~ 0.92)

【図 2 B】ボックスプロット分析：子宮内膜症を有していない対照と比較した子宮内膜症の女性（ステージ I ~ I I ~ I I I ~ I V）の血清サンプル中の c - K i t レベル [ng / mL]。c - K i t (A) および CA - 125 (MUC16) (B) レベルを、O l i n k プロテオミクス技術を用いて測定した。A : N 陰性 (C t r l) : 16 ; N 陽性 (E n d o) : 24 ; AUC 0.77 (0.62 ~ 0.92) ; B : N 陰性 (C t r l) : 16 ; N 陽性 (E n d o) : 24 ; AUC 0.76 (0.61 ~ 0.92)

【発明を実施するための形態】

【0017】

発明の詳細な説明

本発明は、血清中の c - K i t のレベル上昇が子宮内膜症に関連するという驚くべき発見に基づいている。c - K i t レベルはすべてのステージ I、I I、I I I、および I V で増加し、ステージ I I は c - K i t の最高のレベルを示し、ステージ I、I I I、および I V は同等のレベル増加を示し、これは血清 c - K i t に子宮内膜症の早期検出の診断可能性を付与する。

【0018】

本発明者らは、血清で測定された c - K i t が対照と比較して子宮内膜症の女性において増加することを初めて示す。c - K i t のレベルは、子宮内膜症ステージ I、特にステージ I I（最小／軽度の子宮内膜症）で特異的に増加している。

【0019】

子宮内膜症、特に早期子宮内膜症の確実な診断および／または分類のための非侵襲的な試験に対する医学的要求性は満たされていない。c - K i t は、早期子宮内膜症の女性を特定する非侵襲的な血液ベースの試験の利点を有する。

【0020】

本発明者らは、子宮内膜症の女性から得られた血清中の c - K i t のレベルを調査した。驚くべきことに、本発明者らは、子宮内膜症の女性由来の血清サンプルにおいて、c - K i t のレベル上昇が検出され得ることを見出した。特に、子宮内膜症の初期段階の女性において既に c - K i t レベルの上昇が検出され得るという事実により、このマーカーが子宮内膜症を初期段階で診断するための有用なツールになる。したがって、そのような生体液中の c - K i t のレベルの決定を可能にするアッセイは、子宮内膜症の診断および／または治療のための分類、予後、および患者の層別化に有用であり得る。

【0021】

本明細書に提示されるデータは、血清中の c - K i t レベルの決定が、子宮内膜症を診断するための手段、子宮内膜症を有するリスク層別化の手段、および対象における子宮内膜症の病期を分類するための手段を提供することを示す（例えば、対象において一定の間隔で c - K i t レベルを決定するとき、または決定された値を既知の段階の値と比較することによって）。これはまた、子宮内膜症の進行のモニタリングおよび／または治療レジメンの評価を可能にする。

【0022】

本明細書に提示されるデータはまた、血清中の c - K i t レベルの決定が、子宮内膜症の初期段階および対照サンプルを CA - 125 よりも正確に検出するための手段を提供することを示す。

【0023】

定義

「含む (c o m p r i s e)」という単語、ならびに「含む (c o m p r i s e s)」および「含むこと (c o m p r i s i n g)」のような変形は、記載された整数もしくはは工程または整数もしくはは工程のグループの包含を意味するが、いかなる他の整数もしくはは工程または整数もしくはは工程のグループの除外を意味しないことが理解されよう。

【0024】

10

20

30

40

50

本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「a」、「an」、および「the」は、別途内容が明確に指示しない限り、複数の指示対象を含む。

【0025】

濃度、レベル、量、および他の数値データは、本明細書では「範囲」の形式で表現または提示され得る。このような範囲の形式は、便宜上および簡潔にするために単に使用されているに過ぎないことが理解され、したがって、その範囲の境界として明示的に列挙されている数値を含むだけでなく、各数値および部分範囲があたかも明示的に列挙されているかのごとく、その範囲内に包含される個々の数値または部分範囲のすべてを含むように柔軟に解釈されるべきである。例示として、「150mg～600mg」の数値範囲は、150mg～600mgの明示的に列挙された値を含むだけでなく、示された範囲内の個々の値および部分範囲も含むと解釈されるべきである。したがって、この数値範囲には、150、160、170、180、190、・・・580、590、600mgなどの個々の値、および150から200、150から250、250から300、350から600などの部分範囲が含まれる。この同じ原理は、1つの数値のみを列挙する範囲にも適用される。さらに、このような解釈は、その範囲の幅または記載されている特性にかかわらず、適用すべきである。

10

【0026】

「約」という用語は、数値に関連して使用される場合、示された数値よりも5%小さい下限値を有し、かつ示された数値よりも5%大きい上限値を有する範囲内の数値を包含することを意味する。

20

【0027】

一般に、記載される方法は、対象から既に得られたサンプルを用いて行われるインビトロの方法（すなわち、サンプルは方法のために提供され、対象からサンプルを得るために行われる工程は方法の一部として含まれない）である。したがって、方法は、対象から生体液サンプルを提供する工程を含み得る。本明細書で使用される場合、サンプルとの関連で「提供する」、「得る」または「得ること」は、「直接」または「間接的」な手段によってサンプルを所有することになる任意の手段であり得る。直接的にサンプルを得ることは、サンプルを得るためのプロセスを行うこと（例えば、抽出などの物理的方法を実行すること）を意味する。サンプルを間接的に得ることは、別の団体または供給源（例えば、サンプルを直接取得した第三者の研究所）からサンプルを受け取ることを指す。

30

【0028】

本明細書で提供される方法は、対象由来の生体液サンプル（例えば、血液サンプル）を提供することを含む。本明細書に記載の方法で試験されるサンプルは、「試験サンプル」とも呼ばれる。

【0029】

本明細書で使用される場合、「生体（流）サンプル」、「試験サンプル」、「サンプル」という用語は互換的に使用され、その変形は、対象から得られたまたは由来するサンプルを指す。本明細書に記載の目的のために、サンプルは、生体液（本明細書では体液とも呼ばれる）サンプルであるか、またはそれを含む。

【0030】

サンプルの例としては、限定されないが、血液、血清、血漿、滑液、間質液、毛細管血、腹腔液、月経液、尿、唾液、およびリンパ液などの体液サンプルが挙げられる。サンプルの分析は、化学ベースで達成され得る。化学的分析には、特定のインジケータの有無またはそれらの量、濃度もしくはレベルの変化の検出が含まれるが、これらに限定されない。

40

【0031】

サンプルは、インビトロでのサンプルであり、インビトロで分析されることになり、体内に戻されない。

【0032】

血液サンプルは、全血サンプル、または処理された血液サンプル、例えば血清、血漿な

50

どであり得る。対象から生体液サンプル（例えば、全血、血清、血漿など）を得るための方法は、当技術分野で周知である。例えば、対象から血液サンプルを得るための方法は周知であり、静脈切開術で使用される確立された技術を含む。得られた血液サンプルを、標準的な技術を用いてさらに処理して、例えば血清サンプルまたは血漿サンプルを得ることができる。有利にも、対象から生体液サンプルを得るための方法は、典型的には低侵襲性または非侵襲性である。

【0033】

全血サンプルは、身体から採取され、成分（血小板または血漿など）が（実質的に）除去されていない血液サンプルとして定義される。言い換えれば、全血サンプル中の成分の相対的な比は、体内の血液と実質的に同じである。これに関連して、「実質的に同じ」は、全血の構成成分の相対的な比の非常に小さな変化、例えば、最大5%、最大4%、最大3%、最大2%、最大1%などの変化を可能にする。全血は、血液の細胞部分と流体部分の両方を含む。したがって、全血サンプルはまた、血漿中のその細胞成分の（実質的に）すべてを有し、細胞成分（すなわち、必要な白血球、赤血球、血液の血小板を少なくとも含む）がインタクトである血液サンプルとして定義され得る。

【0034】

好ましい例では、生体液サンプルは血清である。

【0035】

血液、血漿、血清、唾液、および尿サンプル由来のタンパク質バイオマーカーを分析する（および任意に、単離、濃縮、または抽出する）ための方法は、以前に記載されており、例えば、Heitzer, E., Haque, I. S., Roberts, C. E. S. ら。Current and future perspectives of liquid biopsies in genomics-driven oncology. Nat Rev Genet 20, 71–88 (2019) を参照されたい。

【0036】

本発明の文脈において、「バイオマーカー」という用語は、生物系の中にある、当該系の生物学的状態の指標として使用される物質を指す。当技術分野では、「バイオマーカー」という用語は、当該内因性物質（例えば、抗体、核酸プローブなど、イメージングシステム）の検出手段にも適用されることがある。本発明の文脈において、「バイオマーカー」という用語は、検出手段ではなく物質にのみ適用されるものとする。したがって、バイオマーカーは、生体に存在する任意の種類の分子、例えば核酸（DNA、mRNA、miRNA、rRNA など）、タンパク質（細胞表面受容体、サイトゾルタンパク質など）、代謝産物もしくはホルモン（血糖、インスリン、エストロゲンなど）、別の分子の特定の修飾に特徴的な分子（例えば、タンパク質の糖部分またはホスホリル残基、ゲノムDNAのメチル残基）、または生物によって内在化された物質もしくはそのような物質の代謝産物であり得る。バイオマーカーは、疾患を有する対象から採取されたサンプル中に、疾患を有さない対象と比較して差次的に存在する有機生体分子（例えば、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、その異性体、その免疫学的に検出可能な断片、対応する核酸分子（例えば、mRNA、cDNA など））である。異なる群におけるバイオマーカーの平均または中央値の水準が統計的に関連があると計算される場合、バイオマーカーは差次的に存在する。統計学的有意性についての一般的な検定は、とりわけ、t検定（例えば、スチューデントt検定）、ANOVA、Kruskal-Wallis、Wilcoxon、Mann-Whitney、受信者動作特性（ROC曲線）、精度およびオッズ比を含む。バイオマーカーにより、単独でまたは組み合わせて、対象が1つの表現型状態または別の表現型状態に属する相対リスクの尺度が得られる。

【0037】

したがって、これらは、疾患（診断）、薬物の治療有効性および薬物毒性のマーカーとして有用である。

【0038】

典型的には、本明細書で言及されるバイオマーカーは、タンパク質のレベルで測定され

10

20

30

40

50

る。

【0039】

本明細書で提供される方法は、1つ以上のタンパク質のレベルを「決定する」ことを指す。当業者には明らかなように、1つ以上のタンパク質のレベルは、典型的には、サンプルのタンパク質のレベルを測定することによって「決定」される。したがって、「決定する」という用語は、本明細書では「測定する」または「測定することによって決定する」という用語に置き換えることができる。

【0040】

本明細書で使用される「決定すること」または「評価すること」という用語はまた、患者が子宮内膜症に罹患しているかどうかを評価／決定することを指す。したがって、本明細書で使用される評価としては、患者のサンプル中のc-Ki tの量または濃度を決定し、決定された量または濃度を基準と比較することにより、子宮内膜症を診断すること、対象が子宮内膜症に罹患するリスクを評価すること、子宮内膜症の治療を選択すること、子宮内膜症に罹患しているかまたは子宮内膜症の治療を受けている患者をモニタリングすることが挙げられる。典型的には、本発明に従って言及される評価は、子宮内膜症の存在の評価である。

10

【0041】

「測定」、「測定する」または「決定する」という用語は、好ましくは定性的、半定量的、または定量的測定を含む。

【0042】

従来の「決定」方法は、生体液サンプルのバイオマーカーのレベルを測定するために臨床サンプルを民間の試験所に送ること、または生体液サンプルのバイオマーカーのレベルを測定するために市販のアッセイキットを使用することを含み得る。例示的なキットおよび供給業者は、当業者にとって、明らかであろう。様々な例では、バイオマーカーは、ポイントオブケアでの使用などのためのELISAアッセイまたはラテラルフローデバイス、ならびにスポットチェック比色試験を使用して決定、検出、および／または定量化することができる。

20

【0043】

「レベル」または「量」という用語は、本明細書で使用される場合、本明細書で言及されるバイオマーカーの絶対的な量、当該バイオマーカーの相対的な量または濃度、およびそれらと相関するまたはそれらから導き出され得る任意の値またはパラメータを包含する。このような値またはパラメータは、直接的な測定により当該ペプチドから得られる、すべての具体的な物理的または化学的特性に由来する強度シグナル値、例えば、質量スペクトルまたはNMRスペクトルにおける強度の値を含む。さらに、本明細書の別の箇所で明示される間接的な測定により得られる値またはパラメータ、例えば、ペプチドに応答して生物学的読み出しシステムにより測定される応答量、または特異的に結合したリガンドから得られる強度シグナルはすべて包含される。上述の量またはパラメータと相関する値は、すべての標準的な数学的演算によっても得ることができるということを理解されたい。

30

【0044】

生体液サンプルに存在するバイオマーカーのレベルは、例えば、サンプルに存在するタンパク質のバイオマーカーの量をアッセイすることによって決定され得る。特定のタンパク質の量を測定するためのアッセイは当技術分野で周知であり、直接的または間接的な測定を含む。サンプル中のタンパク質のバイオマーカーのレベルはまた、サンプル中のタンパク質のバイオマーカー活性のレベルを決定することによって決定され得る。したがって、タンパク質の「レベル」は、タンパク質自体の量またはその活性レベルの両方を包含する。

40

【0045】

例えば、生体液サンプル中のタンパク質のバイオマーカーのレベルは、例えば、質量分析、イムノアッセイ、酵素アッセイ、分光光度法、比色法、蛍光測定、細菌アッセイ、タンパク質マイクロアレイ、化合物分離技術、または分析物の存在および／または量を決定

50

するための他の既知の技術からなる群から選択されるプロセスを含む、当技術分野で公知の任意の適切な方法および材料によって決定する（例えば、測定する）ことができる。関連技術の例としては、酵素結合免疫吸着アッセイ（E L I S A）、免疫沈降、免疫蛍光、酵素免疫アッセイ（E I A）、ラジオイムノアッセイ（R I A）、ウエスタンブロット分析およびラテラルフロー（例えば、タンパク質のバイオマーカーに特異的な膜結合抗体を利用するラテラルフローデバイス（L F D）の使用）が挙げられる。

【0046】

好ましくは、生体液サンプル中のタンパク質のバイオマーカーのレベルは、E L I S A またはラテラルフローによって測定される。

【0047】

本明細書で使用される「一定間隔で」という用語は、所定の時間後の同じ対象における c - K i t レベルの定期的な決定を指す。すべての対象が異なるため、疾患の発症速度は対象ごとに異なり得る。ある対象では、疾患の進行が数年以内にステージ I からステージ I V まで進行し得る一方で、別の対象では、それが 1 つのステージで数年間にわたり停滞し得る。したがって、対象における c - K i t レベルの進展の連続写真を得て、得られた c - K i t レベルを対応する疾患ステージ I、I I、I I I、および I V に割り当てることができるようにするために、疾患の進行のステージがスキップされないようにして間隔を選択すべきである。好ましくは、対象の c - K i t レベルは、6 ヶ月、7 ヶ月、8 ヶ月、9 ヶ月、10 ヶ月、11 ヶ月、または 12 ヶ月ごとに決定される。

【0048】

「c - K i t」という用語は、c - k i t および S C F R としても知られる受容体チロシンキナーゼタンパク質 C D 1 1 7 をコードする遺伝子である。これは、幹細胞因子（S C F）の細胞受容体であり、c - k i t リガンド、肥満細胞増殖因子、およびスチール因子とも呼ばれる。この受容体-リガンド系は、生殖細胞発生、メラニン形成、造血、および腫瘍形成において必須の役割を果たす。C D 1 1 7 は、リンパ球、骨髄、赤血球、および巨核球の前駆細胞、N K 細胞、生殖細胞、メラノサイト、グリア細胞、血管平滑筋細胞、胎盤および上皮細胞に発現される。C D 1 1 7 における変化したレベルおよび変異は、肺、乳房、消化管間質および胚細胞腫瘍を含むいくつかのタイプの癌に関連する。この遺伝子について、異なるアイソフォームをコードする複数の転写変異体が見出されている。S C F は、受容体 c - K i t への結合を通じてその生物学的効果を発揮し、この受容体は、順次、肥満細胞、造血幹細胞および生殖系列の細胞において発現される [C h o N H . ら. (2004) F e r t i l S t e r i l 8 1 : 4 0 3 - 7]。ヒト c - K i t のアミノ酸配列は、U n i P r o t を介してアクセスされ得る (U n i P r o t K B - P 1 0 7 2 1 (K I T _ H U M A N) _ H U M A N を参照)。識別子 P 1 0 7 2 1 - 1、P 1 0 7 2 1 - 2 および P 1 0 7 2 1 - 4 を有する c - K i t について記載されている 3 つのアイソフォームがある。

【0049】

癌抗原 1 2 5 または腫瘍抗原 1 2 5 と呼ばれることもある炭水化物抗原 1 2 5 である「C A - 1 2 5」は、M U C 1 6 遺伝子によって産生され、細胞膜に会合するムチン型糖タンパク質である。C A - 1 2 5 は、子宮内膜、卵管、卵巣、および腹膜を含む体腔上皮に由来する上皮細胞卵巣癌のバイオマーカーである。C A - 1 2 5 の診断的使用は、中程度の感度の子宮内膜症ステージ I I I および I V（中等度および重度の子宮内膜症）に限定される。

【0050】

疾患の「症状」は、そのような疾患を有する組織、器官、または生物によって気付かれ得る疾患の暗示であり、限定されないが、組織、器官または個体の疼痛、脱力感、圧痛、緊張、硬直および痙攣を含む。疾患の「徴候」または「シグナル」には、限定されないが、バイオマーカーもしくは分子マーカーなどの特定のインジケータの有無、増加もしくは上昇、減少もしくは低下などの変化 (c h a n g e) もしくは変化 (a l t e r a t i o n)、または症状の発症、存在、もしくは悪化が含まれる。疼痛の症状には、限定されな

10

20

30

40

50

いが、持続性または様々な灼熱痛、拍動痛、かゆみまたは刺痛として感じられ得る不快な感覚が含まれる。

【0051】

「疾患」および「障害」という用語は、本明細書では互換的に使用され、異常な状態、特に組織、器官または個体がもはやその機能を効率的に果たすことができない病または損傷などの異常な医学的状态を指す。必ずしもそうとは限らないが、典型的には、疾患は、そのような疾患の存在を示す特定の症状または徴候に関連する。したがって、そのような症状または徴候の存在は、疾患に罹患している組織、器官または個体を示し得る。これらの症状または徴候の変化は、そのような疾患の進行を示し得る。疾患の進行は、典型的には、疾患の「悪化」または「好転」を示し得る、そのような症状または徴候の増加または減少を特徴とする。疾患の「悪化」は、組織、器官、または生物がその機能を効率的に果たす能力の減少を特徴とするのに対して、疾患の「好転」は、典型的には、組織、器官または個体がその機能を効率的に果たす能力の増加を特徴とする。疾患を「発症するリスク」がある組織、器官、または個体は、健康な状態にあるが、疾患が顕在化する可能性を示す。典型的には、疾患を発症するリスクは、そのような疾患の早期または弱い徴候または症状に関連する。そのような場合、疾患の発症は依然として治療によって予防され得る。疾患の例には、炎症性疾患、感染性疾患、皮膚状態、内分泌疾患、腸疾患、神経障害、関節疾患、遺伝性障害、自己免疫疾患、外傷性疾患、および様々な種類の癌が含まれるが、これらに限定されない。

【0052】

「子宮内膜症」は、子宮外の子宮内膜様組織の病変を特徴とする慢性のホルモン依存性炎症性疾患である。子宮内膜症の臨床症状は、患者によって大きく異なる。子宮内膜症患者は、月経中間期出血、月経痛（月経困難症）、性交痛（性交疼痛症）、有痛性排便（排便障害）および有痛性排尿（排尿障害）などの症状を呈することが多い。子宮内膜症による骨盤痛は通常慢性的であり（6ヶ月以上持続する）、月経困難症（症例の50～90%において）、性交疼痛症、骨盤深部痛、ならびに背部痛および腰部痛を伴う下腹部痛、または背部痛および腰部痛を伴わない下腹部痛に関連する。疼痛は、月経周期全体にわたって予測不能かつ断続的に起こり得るか、または連続的であり得、鈍く、拍動し、または鋭く、身体活動によって悪化し得る。膀胱および腸に関連する症状（悪心、膨満、および早期満腹）は、典型的には周期的である。疼痛は徐々に悪化する場合があり、性質が変化し得る。まれに、女性に、神経障害性の構成要素を示唆する症状である灼熱感または過敏症を訴える。多くの場合、子宮内膜症は無症候性であり得、不妊症の評価中に臨床医の注意を引くのみである（Sinaiら、Fertil Steril、2008；89（3）：538－545）。子宮内膜症の女性では、受精能力のある男女（15～20%）と比較して、毎月の生殖率が低下している（2～10%）。子宮内膜症は受胎能を弱めるが、通常、受精を完全に妨げるわけではない（Fadhlaouiら、Front Surg、2014；1：24）。

【0053】

子宮内膜症の最も一般的に罹患する部位は骨盤内器官および腹膜であるが、場合によっては肺などの身体の他の部分が罹患する。疾患の程度は、他の点では正常な骨盤内臓器のいくつかの小さな病変から、大きな卵巣子宮内膜嚢胞（子宮内膜腫）および／または骨盤の解剖学的構造に著しい歪みを引き起こす広範な線維症および癒着形成まで様々である。位置に基づいて、子宮内膜病変は、腹膜子宮内膜症、卵巣子宮内膜嚢胞（子宮内膜腫）、深部結節（深部浸潤子宮内膜症）、および子宮腺筋症に分類し得る（Kennedyら、Hum Reprod、2005；20（10）：2698－2704）。深部浸潤性子宮内膜症は、直腸膈中隔および膈円蓋の表面組織、骨盤壁、子宮傍組織、腸、子宮、または膀胱以外に位置する子宮内膜症の任意の症状であると考えられる（Halisら、（2010）. Deutsches Arzteblatt International, 107（25），446）。子宮内膜症はまた、横隔膜（横隔膜子宮内膜症）を含み得るか、または胸部（胸部子宮内膜症）を含み得る（Nezhatら、JSLS 2019）。

【0054】

「rASRMステージ」または「rASRM病期分類」という用語は、米国生殖医学会（ASRM）によって確立された、手術（腹腔鏡検査）での所見に基づく子宮内膜症の重症度を記載する改訂版の分類体系を指す。分類は、赤色、白色、および黒色の病変などの腹膜および骨盤インプラントの形態に基づいており、各病変の併発の割合を含めるべきである。子宮内膜インプラント、プラーク、子宮内膜腫および癒着の数、大きさおよび部位に留意すべきである。腸、尿路、卵管、膈、子宮頸部、皮膚、または他の部位の子宮内膜症は、ASRMガイドラインに従って記録すべきである。ASRMガイドラインによる子宮内膜症の病期分類は、ポイントスコアに基づいて決定されたステージⅠ、Ⅱ、ⅢおよびⅣであり、最小、軽度、中等度および重度の子宮内膜症に対応する。rASRMのステージⅠおよびⅡの子宮内膜症（最小から軽度の子宮内膜症）は、表在性腹膜子宮内膜症、小さな深部病変の存在の可能性、子宮内膜腫の非存在および／または軽度の膜の付着を特徴とする。rASRMステージⅢおよびⅣの子宮内膜症（中等度から重度の子宮内膜症）は、表在性腹膜子宮内膜症、子宮および腸の間の中等度から広範囲の癒着を伴う深部浸潤性子宮内膜症、ならびに／または卵巣および卵管を含む中等度から広範囲の癒着を伴う子宮内膜腫嚢胞の存在を特徴とする。

10

【0055】

ビジュアルアナログスケールである「VAS」という用語は、疼痛の強度を評定するための道具である。VASは、長さ10cmの水平線からなり、その端部は「疼痛なし」および「考えられる最大の疼痛」としてマークされている。各患者はライン上で自分の疼痛レベルをチェックし、一番左の「疼痛なし」からチェックしたマークまでの距離をセンチメートルで測定し、0～10の疼痛スコアを得る。「疼痛なし」は疼痛スコア0に対応し、「考えられる最大の疼痛」は疼痛スコア10に対応する。子宮内膜症の女性では、月経困難症は疼痛の最も高い知覚に関連しており、平均VASスコアは約6である（Cuzzolinら、Rev Bras Ginecol Obstet 2019；41（3）：170－175）。

20

【0056】

対象は、本明細書では患者と呼ばれる場合がある。「対象」、「個体」、および「患者」という用語は、本明細書では互換的に使用され、動物、好ましくは哺乳動物、より典型的にはヒトを指す。患者は、好ましくはヒトの女性である。子宮内膜症は、月経開始時から発症するため、若年時に診断する必要がある。したがって、患者は、好ましくは12～24歳の若齢または青年期のヒトの女性である。本発明の実施形態では、患者は、若齢または青年期のヒトの女性である。対象は症候性（例えば、対象は、子宮内膜症に関連する症状を呈する）であり得るか、または対象は無症候性（例えば、対象は、子宮内膜症に関連する症状を示さない）であり得る。対象は、子宮内膜症と診断され得るか、子宮内膜症を発症するリスクがあるか、または子宮内膜症の症状を呈し得る。対象は、子宮内膜症を有し得るか、または有していると疑われ得る（例えば、暗示または示唆する症状または病歴を示す）。

30

【0057】

したがって、いくつかの例において、対象は子宮内膜症を有する（また、方法が、対象が子宮内膜症を有することを診断する、特定する（または検出する））。これに関連して、「診断する」、「特定する」、および「検出する」という用語は、互換的に使用することができる。

40

【0058】

特定の例では、対象は初期段階（ステージⅠまたはステージⅡ）の子宮内膜症を有する。

【0059】

本発明の方法によって調査される患者は、子宮内膜症が疑われる患者とする。本明細書で使用される場合、「子宮内膜症が疑われる」という用語は、患者が子宮内膜症の臨床パラメータ、徴候、および／または症状を示すものであることを意味する。したがって、本

50

発明による患者は、典型的には、子宮内膜症に罹患しているか、または子宮内膜症に罹患していると疑われる患者である。徴候および症状を伴う子宮内膜症の疑いがある患者：月経困難症（有痛性月経期間）、排尿障害（有痛性排尿）、排便障害（排便困難または有痛性排便）、性交疼痛症（性交中または性交後の疼痛）、および月経周期とは無関係の慢性的な腹痛／骨盤痛、重度の月経出血、長期間の月経期間、不妊症、疲労、周期的な肺の問題（気胸）、周期的な咳、胸痛または血痰（喀血）、肩端痛、有痛性直腸出血または尿中の血液の存在（出血）、および周期的な癒痕腫脹および疼痛（E H R E I n f o r m a t i o n o n E n d o m e t r i o s i s , 2 0 2 2 w w w . e s h r e . e u / g u i d e l i n e s ）。

【0060】

あるいは、c-K i t レベルは、いずれかの子宮内膜症の疑いなしにスクリーニング検査の一部として日常的に決定されるが、症状のない子宮内膜症を初期段階で検出することができる。

【0061】

対象においてc-K i t の上昇したレベルを検出することによって、対象が子宮内膜症に罹患しているという疑いが確認され、対象が子宮内膜症に罹患している高いリスクがある。特に、対象が子宮内膜症の臨床パラメータ、徴候、および／または症状を既に示している場合、c-K i t レベルの増加の決定は、子宮内膜症の存在を確認する。

【0062】

「比較する」という用語は、本明細書で使用される場合、対象由来のサンプルにおけるバイオマーカーの量／レベルを、本明細書の別の箇所で明示されるバイオマーカーの基準量または基準値と比較することを指す。本明細書で使用される場合の比較することは、通常、対応するパラメータまたは値の比較を指し、例えば、絶対的な量は基準の絶対的な量と比較されるのに対し、濃度は基準の濃度と比較され、またはサンプル中のバイオマーカーから得られた強度シグナルは基準サンプルから得られた同じ種類の強度シグナルと比較されることを理解されたい。比較は、手動またはコンピュータ支援で実行されてもよい。したがって、比較は、コンピューティングデバイスによって実施することができる。対象由来のサンプルにおけるバイオマーカーの測定量または検出量、および基準量の値は、例えば、互いに比較することができ、また当該比較は、比較のためのアルゴリズムを実行するコンピュータプログラムにより自動的に実施され得る。当該評価を実施するコンピュータプログラムは、適切な出力形式で、所望の評定を提供する。コンピュータを利用した比較において、測定量の値は、コンピュータプログラムにより、データベースに保存されている好適な基準に相当する値と比較されてもよい。コンピュータプログラムは、比較の結果をさらに評価し得る、すなわち、適切な出力形式で所望の評定を自動的に提供し得る。コンピュータを利用した比較において、測定量の値は、コンピュータプログラムにより、データベースに保存されている好適な基準に相当する値と比較されてもよい。コンピュータプログラムは、比較結果をさらに評価し得る、すなわち、好適な出力形式で所望の評定を自動的に提供し得る。

【0063】

「（適切な）基準値」または「基準サンプル」または「対照サンプル」という用語は、本明細書で使用される場合、目的のサンプルと実質的に同一の様式で分析され、その情報が目的のサンプルの情報と比較されるサンプルを指す。これにより、基準サンプルは、目的のサンプルから入手された情報の評価を可能にする基準を提供する。対照サンプルは、健常な個体の体液、特に非侵襲性試験のための血清または血漿に由来し得、それによって組織、器官または個体の健康状態の基準を提供する。正常な基準サンプルの状態と目的のサンプルの状態との間の差は、そのような疾患もしくは障害の存在もしくはさらなる進行を示し得る。対照サンプルは、異常なまたは疾患を有する組織、器官、または個体に由来し得、それにより、組織、器官、または個体の罹患した状態の基準が提供される。正常または異常な基準サンプルの状態と目的のサンプルの状態との間の差は、そのような疾患もしくは障害の非存在または改善を示し得る。

10

20

30

40

50

【0064】

基準サンプルはまた、目的のサンプルと同じ組織、器官、または個体に由来し得るが、より早い時点で採取されている。以前に採取された基準サンプルの状態と目的のサンプルの状態との間の差は、疾患の進行、すなわち経時的な疾患の改善または悪化を示し得、これにより、子宮内膜症の病期をステージⅠ、Ⅱ、ⅢまたはⅣであると分類することが可能になり得る。

【0065】

決定された値は、異なる種類であり得る2つ以上の（適切な）基準値と比較することができる。例えば、決定された値は、より早い時点で同じ対象から得られた1つまたは複数の値と比較することができ、並行して、他の対象（子宮内膜症の病期が既知）から得られた1つまたは複数の値と比較することができる。

10

【0066】

対照サンプルは、内部または外部の対照サンプルであり得る。内部の対照サンプルを使用して、すなわち、試験サンプルならびに同じ対象から採取した1つ以上の他のサンプルで、マーカーレベルを評定して、当該マーカーのレベルに変化があるかどうかを決定する。外部の対照サンプルについては、個体に由来するサンプルのマーカーの存在または量を、所与の状態に罹患していることが知られている、もしくはそのリスクがあることが知られている個体；または所与の状態がないことが知られている個体、すなわち「正常な個体」のマーカーの存在または量と比較する。

【0067】

そのような外部の対照サンプルは、単一の個体から得られてもよく、または年齢が一致し、交絡疾患がない基準集団から得られてもよいことが当業者に理解されよう。典型的には、適切な基準集団からの十分に特徴付けられた100名の個体由来のサンプルを使用して、「基準値」を設定する。しかしながら、基準集団はまた、20、30、50、200、500、または1000名の個体からなるように選択され得る。健常な個体は、対照値を設定するための好ましい基準集団を表す。

20

【0068】

例えば、患者サンプルのマーカー濃度を、特定の疾患の特定の経過に関連することが知られている濃度と比較し得る。例えば、それは子宮内膜症の特定の病期に関連することが知られている濃度と比較することができる。通常、サンプルのマーカー濃度は、診断と直接的または間接的に相関し、マーカー濃度は、例えば、個体がその疾患に由来する特定の苦痛のリスクがあるかどうかを決定するために使用される。あるいは、マーカーの濃度を、より早い時点で同じ対象から得られたマーカーの濃度と比較することができる。あるいは、サンプルのマーカー濃度は、例えば、特定の疾患における治療に対する応答、特定の疾患の診断、特定の疾患の重症度の評定、特定の疾患に対する適切な薬物を選択するためのガイダンス、疾患進行のリスクを判断する際、または患者のフォローアップにおいて関連することが知られているマーカーの濃度と比較し得る。意図する診断用途に応じて、適切な対照サンプルが選択され、その中にマーカーに関する対照値または基準値が設定される。当業者にまた明らかなように、対照サンプルで設定された絶対的なマーカーの値は、使用されるアッセイに依存する。

30

40

【0069】

本明細書に記載の方法のための最も一般的な対照サンプルおよび／またはそれに由来する基準値は、「非病理学的対照」および「症候性対照」から得られるが、これらに限定されない。これらのサンプルが得られる対応する対象は、それぞれ「非病理学的対象」および「症候性対象」である。

【0070】

「非病理学的対照」は、子宮内膜症に罹患しておらず、子宮内膜症に関連し得るいかなる症状も示さない（例えば、月経／腹痛、子宮／卵巣嚢胞または癌など）、対象の対照サンプルを指す。

【0071】

50

「症候性対照」は、子宮内膜症に通常関連する症状（例えば、月経／腹痛、不妊症など）に苛まれているが、腹腔鏡検査に基づいて子宮内膜症を除外することができ、組織の変化（例えば、子宮／卵巣嚢胞または癌）を観察することができない対象の対照サンプルを指す。

【0072】

「良性所見の対照」は、組織変化（例えば、子宮／卵巣嚢胞、癌、類線維腫）を有するが、それが子宮内膜症に類似していない対象のサンプルの群を指す。さらに、これらの対象は、症候性（例えば、月経／腹痛、不妊症など）または無症候性であり得、これもまた経時的に変化し得る。

【0073】

対照サンプルは、試験サンプルと同時に、前または後に、別々にまたは同時にアッセイすることができる。試験サンプルとの比較に用いられる対照の値は、複数（例えば、2以上、5以上、10以上、グループなど）の対照サンプルの平均または中央値として算出される値であってもよい。あるいは、対照サンプルは、子宮内膜症に罹患していない（または「症候性対照」である）、1を超える（例えば、2以上、5以上、10以上、グループなど）個体に由来する（すなわち、混合の）サンプルであり得る。

【0074】

したがって、一例では、対照サンプルは、子宮内膜症を有していない対照の対象（「非病理学的対照」）から得られる。さらなる例では、対照サンプルは、「症候性対照」である対象から得られる。

【0075】

子宮内膜症の病期の分類のために、結果を特定の病期に割り当てることができるようにするために、試験サンプルといくつかの異なる対照サンプルとの比較を行うことができ、または行わなければならない。例えば、非病理学的サンプルおよびステージIIのサンプルとの比較である。または、非病理学的サンプルと、ステージIIのサンプルおよびステージIVのサンプルとの比較である。これはまた、手術と組み合わせて、疾患の特定の病期を確認または決定することができる。

【0076】

あるいは、生体液サンプル中のバイオマーカー（例えば、タンパク質）のレベルを、目的のバイオマーカーの所定の基準レベルと比較することができる。本明細書で使用される場合、「所定の基準レベル」は、所定のカットオフ値、すなわち子宮内膜症を統計的に予測するスコアを生成するために使用され得る、基準データベースから得られたバイオマーカーのレベルを指す。一例では、所定の基準レベルは、同じ種に由来する子宮内膜症に罹患していない少なくとも1つの個体におけるバイオマーカーの平均または中央値の水準である。所定の基準値は、子宮内膜症に罹患していない個体の群または集団から得られた平均または中央値として計算され得る。例えば、所定の基準値は、「症候性対照」である個体の群または集団から取得された平均または中央値として計算され得る。個体または個体の集団は、試験サンプルが得られる対象と同じ年齢、または同じ健康状態もしくは条件であり得る。

【0077】

したがって、一例において、所定の基準レベルは、子宮内膜症を有していない対照対象におけるバイオマーカーの平均水準である。さらなる例では、所定の基準レベルは、「症候性対照」である対象におけるバイオマーカーの平均水準である。

【0078】

典型的には、対象の子宮内膜症を診断するための方法において、対照サンプルまたは所定の基準は、試験されている対象（すなわち、試験サンプルが得られる／提供される対象）とは異なる個体または個体群から得られる。そのような例では、対照または所定の基準は、試験されている対象が子宮内膜症を有するかどうかを決定するためのベンチラインとして使用される。

【0079】

10

20

30

40

50

代替的な例では、対照または所定の基準値は、試験サンプルと同じ個体から、しかしより早い時点で得られることがある。これは、子宮内膜症の病期を分類する、対象における進行を決定する、子宮内膜症に対する治療レジメンの治療効果を決定する、および／または子宮内膜症に対する処方された治療レジメンの対象の順守または遵守を決定する、本明細書に記載の方法に特に関連する。このために、サンプルは、同じ対象の同じ生体液から取得され、生体液は、血液、血清、血漿、毛細管血、間質液、腹腔液、または月経液であり、好ましくは、生体液サンプルは血清である。

【0080】

そのような例では、対照サンプルまたは所定の基準レベルを使用して、同じ対象の時間間隔にわたるバイオマーカーのレベルのいずれかの変化を決定する。したがって、所定の基準レベルまたは対照サンプルは、例えばより早い時点で得られた試験サンプルと同じ対象から得ることができる。このより早い時点は、子宮内膜症と診断される前であり得る。

【0081】

所定のレベルは、中央値または平均などの単一のカットオフ値であり得る。これは、信頼区間などのカットオフ（または閾値）の値の範囲とすることができる。これは、1つの定義された群のリスクが別の定義された群のリスクよりも倍高いまたは低い（例えば、約2倍、4倍、8倍、16倍またはそれを超える）場合など、比較群に基づいて確立することができる。それは、例えば、対象の集団（例えば、対照の対象）が、低リスク群、中リスク群、および高リスク群などの群に等しく（または等しくなく）分割されるか、または四分位に、最低四分位は最低リスクの対象で、最高四分位は最高リスクの対象で分けるか、またはn分位（すなわち、n個の等間隔の間隔）に、最低のn分位は最低リスクの対象で、最高のn分位は最高リスクの対象で分割される範囲であり得る。さらに、基準は、調査される対象を含む個体の集団のバイオマーカーの相対的な量または絶対的な量についての計算された基準、最も好ましくは平均または中央値であり得る。好適な基準値、好ましくは平均または中央値をどのように計算するかは、当技術分野で周知である。

【0082】

したがって、いくつかの場合、対象におけるタンパク質のバイオマーカーのレベルが、対照サンプルのバイオマーカーのレベルまたは所定の基準レベル以上であることは、臨床状態を示す（例えば、子宮内膜症を示す）。他の場合では、対象におけるバイオマーカーのレベルが、対照サンプルのバイオマーカーのレベルまたは所定の基準レベル以下であることは、子宮内膜症の特定の病期を示す。

【0083】

典型的には、ただし必ずではなく、対照の対象と区別するのに十分、より大きいまたはより小さいということは、統計学的に有意により大きい、または統計学的に有意により小さいことである。対象におけるバイオマーカーのレベルが対照の対象におけるバイオマーカーのレベルと等しいことが子宮内膜症の病期を示す場合、「等しい」は、ほぼ等しい（例えば、統計的に差がない）ことを指す。

【0084】

所定の値は、選択された対象の特定の集団（例えば、ヒト対象）に依存し得る。例えば、外見では健康な集団は、子宮内膜症を有するかまたは有する可能性が高い対象の集団とは異なる「正常」範囲のタンパク質のバイオマーカーを有する。したがって、選択された所定の値は、対象（例えば、ヒト対象）が入るカテゴリ（例えば、健康、疾患、疾患の病期）を考慮に入れることができる。

【0085】

適切な範囲およびカテゴリは、当業者による日常的な実験のみで選択することができる。

【0086】

適切には、サンプルにおいて検出された特定のバイオマーカーのレベル（例えば、試験サンプル、対照サンプルなど）は、同じサンプルの基準タンパク質のレベルを使用してバイオマーカーの測定されたレベル（量または活性）を調整することによって正規化するこ

10

20

30

40

50

とができ、基準タンパク質はマーカー自体ではない（それは、例えば、構成的に発現されるタンパク質である）。この正規化は、1つのサンプル中のバイオマーカーのレベルを別のサンプルと比較すること、または異なる供給源由来のサンプル間で比較することを可能にする。次いで、この正規化されたレベルを任意に基準値または対照と比較することができる。例えば、全血サンプル中のタンパク質のバイオマーカーを測定する場合、バイオマーカーは絶対的な濃度として表されてもよく、あるいはアルブミン、免疫グロブリンまたは血漿タンパク質濃度などの、全血で構成的に発現される既知のタンパク質に対して正規化されてもよい。

【0087】

例えば、血清（または血漿）サンプル中のタンパク質のバイオマーカーを測定する場合、バイオマーカーは絶対的な濃度として表されてもよく、あるいはこれは、血清（または血漿）において構成的に発現される既知のタンパク質に対して正規化されてもよい。

【0088】

対象のサンプル中の1つまたは複数のバイオマーカーのレベルの増加または減少を特定するために、試験サンプル中のバイオマーカーのレベルを、対照サンプル中の同じバイオマーカーのレベルまたは同じバイオマーカーの所定の基準レベルと比較することができる。

【0089】

本明細書に記載される方法において、比較（対照サンプル／所定の基準値におけるバイオマーカーのレベルと対象の試験サンプルとの間の比較）が、対照サンプルまたは所定の基準レベルと比較して、増大したレベルのc-K i tを対象が有することを示すならば、対象は子宮内膜症を有するとして特定され得る。

【0090】

本明細書で使用される「分類する」という用語は、4つのステージI、II、III、およびIVからなる米国生殖医学会の改訂版のスコアリングシステム（r-ASRM）による子宮内膜症のステージの分類を指す（Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. Fertil Steril. 1997）。本明細書で提供されるデータに示されるように、ステージI、IIIおよびIVにおけるc-K i tレベルはほぼ同じであり、対照と比較して増加している。ステージIIにおけるc-K i tレベルは、ステージI、III、およびIVと比較して増加している。これにより、調査されたサンプルと基準値または以前の段階で調査された少なくとも1つのサンプルとの比較に基づいて、子宮内膜症の状態を、決定されたc-K i tのレベルに基づいて4つの病期のうちの1つに分類するための基準に従って分類することが可能になる。基準値／基準サンプルに応じて、目的のサンプル中のc-K i tのレベルと基準サンプルとの間の差を使用して、r-ASRMに従って子宮内膜症の病期を特定の病期に割り当てることができる。例えば、c-K i t基準値がステージIIの子宮内膜症を有する患者のサンプルに由来する場合、目的のサンプル中のc-K i tレベルの低下は、患者がステージI、III、またはIVの子宮内膜症を有するか、または患者が子宮内膜症を有さないことを意味する。これは、得られたc-K i t値と子宮内膜症に罹患していない個体の基準値との比較次第である。または、基準値がステージI、III、またはIVの子宮内膜症を有する患者のサンプルに由来し、目的のサンプルのレベルが上昇している場合、患者がステージIIの子宮内膜症を有することを意味する。子宮内膜症の特定の病期に割り当てられたc-K i tレベルの範囲が定義されている場合、分類を行うこともできる。これにより、得られた値が例えばステージIに割り当てられた範囲内にあることは、この患者が子宮内膜症ステージIに罹患していることを意味する。

【0091】

さらに、健康状態の悪化のリスクが予測される場合、典型的には、予測は6ヶ月および2年の予測ウィンドウ内で行われることが理解されよう。より典型的には、当該予測ウィンドウは、骨盤痛などの症状に依存する非侵襲的試験の約6ヶ月～12ヶ月の時間ウィン

10

20

30

40

50

ドウに関する。

【0092】

当業者によって理解されるように、本発明に従って行われる評価は、好ましいが、通常、調査された対象の100%については正しくない場合がある。この用語は、典型的には、対象の統計学的に有意な部分が正確に評価され得ることを必要とする。部分が統計的に有意であるかどうかは、様々な周知の統計評価ツール、例えば、信頼区間の決定、p値の決定、スチューデントt検定、マン・ホイットニー検定などを使用して、当業者によってさらに難なく決定されることができる。詳細は、Dowdy and Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, New York 1983に見出すことができる。典型的に想定される信頼区間は、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%である。p値は、典型的には、0.2、0.1、0.05である。

10

【0093】

インジケータの「低下した」または「減少した」レベルという用語は、基準または基準サンプルと比較して低下しているサンプルにおけるそのようなインジケータのレベルを指す。「減少」、「減少した」、「低減した」、「低減」、または「下方制御される」、「より低い」という用語はすべて、本明細書では一般に、統計的に有意な量の減少を意味するために使用される。しかしながら、誤解を避けるために、「低減した」、「低減」、「減少した」または「減少」は、基準レベル／対照と比較して少なくとも10%の減少、例えば少なくとも約20%、または少なくとも約30%、または少なくとも約40%、または少なくとも約50%、または少なくとも約60%、または少なくとも約70%、または少なくとも約80%、または少なくとも約90%、または100%以下の減少（すなわち、基準／対照サンプルと比較して存在しないレベル）、または基準レベル／対照と比較して10～100%の間の任意の減少、または少なくとも約0.5倍、または少なくとも約1.0倍、または少なくとも約1.2倍、または少なくとも約1.5倍、または少なくとも約2倍、または少なくとも約3倍、または少なくとも約4倍、または少なくとも約5倍、または少なくとも約10倍の減少、または基準レベル／対照と比較して1.0倍～10倍またはそれを超える任意の減少での減少を意味する。

20

【0094】

インジケータ／（バイオ）マーカーの「上昇した」または「増加した」レベルという用語は、基準（値）または基準サンプルと比較してより高いサンプル中のそのようなインジケータのレベルを指す。例えば、所与の疾患に罹患している一個体の体液サンプル中で、当該疾患に罹患していない個体の同じ体液サンプル中よりも高い量で検出可能なタンパク質は、上昇したレベルを有する。「増加した」、「増加」または「上方制御」、「より高い」という用語はすべて、本明細書では、統計的に有意な量の増加を一般的に意味するために使用され、いずれの誤解をも避けるために、「増加した」、「増加」という用語は基準レベル／対照と比較して少なくとも10%の増加、例えば少なくとも約20%、または少なくとも約30%、または少なくとも約40%、または少なくとも約50%、または少なくとも約60%、または少なくとも約70%、または少なくとも約80%、または少なくとも約90%、または100%以下の増加、または基準レベル／対照と比較して10～100%の間の任意の増加、または少なくとも約0.5倍、または少なくとも約1.0倍、または少なくとも約1.2倍、または少なくとも約1.5倍、または少なくとも約2倍、または少なくとも約3倍、または少なくとも約4倍、または少なくとも約5倍、または少なくとも約10倍の増加、または基準レベル／対照と比較して1.0倍～10倍またはそれを超える任意の増加での増加を意味する。

30

40

【0095】

「免疫グロブリン（Ig）」という用語は、本明細書で使用される場合、免疫グロブリンスーパーファミリーの糖タンパク質を付与する免疫を指す。「表面免疫グロブリン」は、それらの膜貫通領域によってエフェクター細胞の膜に付着しており、限定されないが、

50

B細胞受容体、T細胞受容体、クラスIおよびII主要組織適合複合体（MHC）タンパク質、ベータ2ミクログロブリン（約2M）、CD3、CD4、およびCD5などの分子を包含する。

【0096】

典型的には、「抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、膜貫通領域を欠き、したがって血流および体腔に放出され得る分泌型免疫グロブリンを指す。ヒト抗体は、それらが保有する重鎖に基づいて異なるアイソタイプに分類される。ギリシャ文字により示される5種類のヒトIg重鎖： α 、 γ 、 δ 、 ϵ 、および μ が存在する。存在する重鎖の種類は、抗体のクラス（すなわち、これらの鎖は、IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgM抗体にそれぞれ見られる）を定め、それぞれ異なる役割を果たし、異なる種類の抗原に対する適切な免疫応答を指示する。異なる重鎖は、サイズおよび組成が異なり、約450個のアミノ酸を含み得る（Janewayら、（2001）Immunobiology, Garland Science）。IgAは、消化管、気道および尿生殖路などの粘膜領域、ならびに唾液、涙および母乳に見出され、病原体によるコロニー形成を妨げる（Underdown & Schiff（1986）Annu. Rev. Immunol. 4:389-417）。IgDは主に、抗原に曝露されたことがないB細胞で抗原受容体として機能し、好塩基球および肥満細胞を活性化して抗微生物因子を産生することに関与している（Geisbergerら、（2006）Immunology 118:429-437；Chenら、（2009）Nat. Immunol. 10:889-898）。IgEは、肥満細胞および好塩基球からのヒスタミン放出を引き起こすアレルゲンへの結合を介してアレルギー反応に関与する。IgEは、寄生虫からの防御にも関与する（Pierら、（2004）Immunology, Infection, and Immunity, ASM Press）。IgGは、侵入病原体に対する抗体ベースの免疫の大部分を提供し、胎盤を通過して胎児に受動免疫を与え得る唯一の抗体アイソタイプである（Pierら、（2004）Immunology, Infection, and Immunity, ASM Press）。ヒトでは4つの異なるIgGサブクラス（IgG1、2、3、および4）があり、血清中の存在量の順に命名され、IgG1が最も多く（約66%）、IgG2（約23%）、IgG3（約7%）、およびIgG（約4%）がこれに続く。異なるIgGクラスの生物学的プロファイルは、それぞれのヒンジ領域の構造によって決定される。IgMは、単量体形態、および非常に高いアビディティを有する分泌型五量体形態でB細胞の表面に発現される。IgMは、十分なIgGが産生される前のB細胞媒介（体液性）免疫の初期段階で病原体を排除することに関与する（Geisbergerら、（2006）Immunology 118:429-437）。抗体は、単量体として見出されるだけでなく、2つのIgユニットの二量体（例えばIgA）、4つのIgユニットの四量体（例えば、硬骨魚のIgM）、または5つのIgユニットの五量体（例えば哺乳動物IgM）を形成することも知られている。抗体は、典型的には、ジスルフィド結合を介して連結される、2つの同一の重鎖および2つの同一の軽鎖を含む4つのポリペプチド鎖から作製され、「Y」形状の巨大分子に類似する。鎖の各々は、いくつかの免疫グロブリンドメインを含み、そのうちのいくつかは定常ドメインであり、他のものは可変ドメインである。免疫グロブリンドメインは、2つのシートに配置された7〜9本の反平行のストランドの2層層サンドイッチからなる。典型的には、抗体の重鎖は4つのIgドメインを含み、そのうちの3つは定常（CHドメイン：CH1、CH2、CH3）ドメインであり、そのうちの1つは可変ドメイン（VH）である。軽鎖は、典型的には、1つの定常Igドメイン（CL）および1つの可変Igドメイン（VL）を含む。例示すると、ヒトIgG重鎖は、N末端からC末端にVwCH1-CH2-CH3の順序（VwCy1-Cy2-Cy3とも称される）で連結された4つのIgドメインで構成されており、一方、ヒトIgG軽鎖は、N末端からC末端にVL-CLの順序で連結された2つの免疫グロブリンドメインで構成されており、カップ型またはラムダ型のいずれか（VK-CKまたはVA-CA）である。例示すると、ヒトIgGの定常鎖は447個のアミノ酸を含む。本明細書および特許請求の範囲全体を通じて、免疫グロブリンのアミノ

10

20

30

40

50

酸位置のナンバリングは、Kabat, E. A., Wu, T. T., Perry, H. M., Gottesman, K. S., and Foeller, C., (1991) Sequences of proteins of immunological interest, 5th ed. U. S. Department of Health and Human Service, National Institutes of Health, Bethesda, MDにおけるような「EUインデックス」のナンバリングである。「KabatのEUインデックス」は、ヒトIgGLEU抗体の残基番号を指す。したがって、IgGの文脈におけるCHドメインは以下の通りである：「CH1」は、KabatにおけるようなEUインデックスによるアミノ酸位置118～220位を指し；「CH2」は、KabatにおけるようなEUインデックスによるアミノ酸位置237～340位を指し；「CH3」は、KabatにおけるようなEUインデックスによるアミノ酸位置341～447位を指す。

10

【0097】

「全長抗体」、「インタクトな抗体」、および「全抗体」という用語は、以下に定義の抗体断片ではない、その実質的にインタクトな形態の抗体を指すために、本明細書で互換的に使用される。これらの用語は、具体的には、Fc領域を含む重鎖を有する抗体を指す。

【0098】

抗体のパパイン消化により、各々単一の抗原結合部位を有する「Fab断片」（「Fab部分」または「Fab領域」とも称される）と、容易に結晶化するその能力を反映して命名された残りの「Fe断片」（「Fe部分」または「Fe領域」とも称される）と呼ばれる、2つの同一の抗原結合断片が産生される。ヒトIgG Fe領域の結晶構造は決定されている（Deisenhofer (1981) Biochemistry 20:2361-2370）。IgG、IgAおよびIgDアイソタイプでは、Fe領域は、抗体の2つの重鎖のCH2およびCH3ドメインに由来する2つの同一のタンパク質断片から構成され、IgMおよびIgEアイソタイプでは、Fe領域は、各ポリペプチド鎖に3つの重鎖定常ドメイン（CH2～4）を含む。さらに、より小さい免疫グロブリン分子が天然に存在するか、または人工的に構築されている。「Fab'断片」という用語は、Ig分子のヒンジ領域を追加で含むFab断片を指し、一方で「F(ab')2断片」は、化学的に連結されているかまたはジスルフィド結合を介して結合されている2つのFab'断片を含むと理解される。「単一ドメイン抗体（sdAb）」、（Desmyterら、(1996) Nat. Structure Biol. 3:803-811）および「ナノボディ」は単一のVHドメインのみを含むが、「一本鎖Fv（scFv）」断片は、短いリンカーペプチドを介して軽鎖可変ドメインに連結された重鎖可変ドメインを含む（Hustonら、(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 5879-5883）。二価の一本鎖可変断片（di-scFv）は、2つのscFv（scFvA-scFvB）を連結することによって操作することができる。これは、2つのVH領域および2つのVL領域を有する単一のペプチド鎖を生成することによって行われ得、「タンデムscFv」（VHA-VLA-VHB-VLB）を得る。別の可能性は、2つの可変領域が一緒に折り畳まれるには短すぎるリンカーを有するscFvの作製であり、scFvを強制的に二量体化させる。通常、5残基の長さを有するリンカーが、これらの二量体を生成するために、使用される。この種類は、「ダイアボディ」として公知である。VHドメインとVLドメインとの間のさらに短いリンカー（1個または2個のアミノ酸）は、単一特異性三量体、いわゆる「トリアボディ」または「トリボディ」の形成をもたらす。二重特異性ダイアボディは、それぞれ配列VHA-VLBおよびVHB-VLAまたはVLA-VHBおよびVLB-VHAを有する鎖に発現させることによって形成される。一本鎖ダイアボディ（scDb）は、12～20個のアミノ酸、好ましくは14個のアミノ酸のリンカーペプチド（P）によって連結されたVHA-VLBおよびVHB-VLA断片（VHA-VLB-P-VHB-VLA）を含む。「二重特異性T細胞エンゲージャー（BiTE）」は、異なる抗体の2つのscFvからなる融合タンパク質であ

20

30

40

50

り、s c F v の一方は C D 3 受容体を介して T 細胞に結合し、他方は腫瘍特異的分子を介して腫瘍細胞に結合する (K u f e r ら、(2004) T r e n d s B i o t e c h n o l . 22:238-244)。二重親和性再標的化分子 (「D A R T」分子) は、C 末端ジスルフィド架橋によってさらに安定化されたダイアボディである。

【0099】

したがって、「抗体断片」という用語は、インタクトな抗体の、好ましくはその抗原結合領域を含む部分を指す。抗体断片には、F a b、F a b'、F (a b')₂、F v 断片；ダイアボディ；s d A b、ナノボディ、s c F v、d i - s c F v、タンデム s c F v、トリアボディ、ダイアボディ、s c D b、B i T E、および D A R T が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0100】

「結合親和性」という用語は、一般に、分子 (例えば抗体) の単一の結合部位と、その結合パートナー (例えば抗原) との間の非共有相互作用の合計の強度を指す。別段示されない限り、本明細書で使用される場合、「結合親和性」とは、結合対のメンバー (例えば、抗体と抗原との) 間の 1:1 の相互作用を反映する固有の結合親和性のことを指す。分子 X のそのパートナー Y に対する親和性は一般に、解離定数 (K d) によって表され得る。親和性は、限定されないが、表面プラズモン共鳴に基づくアッセイ (例えば、P C T 出願公開国際公開第 2005/012359 号パンフレットに記載されているような B I A c o r e アッセイ)；酵素結合免疫吸着測定法 (E L I S A)；および競合アッセイ (例えば、R I A) を含む、当技術分野で公知の一般的な方法によって測定し得る。低親和性抗体は、一般に、抗原とゆっくり結合し、容易に解離する傾向にあるが、高親和性抗体は、一般に、抗原と迅速に結合し、より長く結合したままの傾向にある。結合親和性の種々の測定方法が当技術分野で公知であり、これらのいずれも、本発明の目的に対して使用することができる。

20

【0101】

「サンドイッチイムノアッセイ」は、目的の分析物の検出に広く使用されている。そのようなアッセイでは、分析物は、第 1 の抗体と第 2 の抗体との間に「サンドイッチされる」。典型的には、サンドイッチアッセイは、捕捉および検出する抗体が、目的の分析物の、重複していない異なるエピトープに結合することを必要とする。適切な手段によって、そのようなサンドイッチ複合体が測定され、それにより分析物が定量される。典型的なサンドイッチ型アッセイでは、固相に結合した、または固相に結合することができる第 1 の抗体、および検出可能に標識された第 2 の抗体は各々、重複しない異なるエピトープで分析物に結合する。第 1 の分析物に特異的な結合剤 (例えば、抗体) は、固体表面に共有結合しているかまたは受動的に結合しているかのいずれかである。固体表面は、典型的にはガラスまたはポリマーであり、最も一般的に使用されるポリマーは、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、またはポリプロピレンである。固体支持体は、チューブ、ビーズ、マイクロプレートのディスク、またはイムノアッセイの実施に好適な任意の他の表面であってもよい。結合プロセスは、当技術分野でよく知られており、一般に、架橋共有結合、または物理的吸着からなり、ポリマー-抗体複合体は、試験サンプルの調製において洗浄される。次いで、試験されるサンプルのアリコート

30

40

【0102】

非常に用途の広い代替サンドイッチアッセイ形式には、結合対の第 1 のパートナーでコ

50

ーティングされた固相、例えば常磁性ストレプトアビジンでコーティングした微粒子の使用が含まれる。このような微粒子を、結合対の第2のパートナー（例えば、ビオチン化抗体）に結合した分析物に特異的な結合剤、結合対の当該第2のパートナーが当該分析物に特異的な結合剤に結合している分析物を含むと疑われるまたは含んでいるサンプル、および検出可能に標識された第2の分析物に特異的な結合剤と共にインキュベートする。当業者には明らかなように、これらの成分は、適切な条件下で、分析物、結合対の第2のパートナー（に結合した）分析物に特異的な結合剤、および結合対の第1のパートナーを介して標識抗体を固相微粒子に結合させるのに十分な期間インキュベートされる。適宜、このようなアッセイは、1つ以上の洗浄工程を含んでもよい。

【0103】

「検出可能に標識した」という用語は、直接的または間接的に検出することができる標識を包含する。

【0104】

直接的に検出可能な標識が、検出可能なシグナルを提供するか、または標識が、第2の標識と相互作用するかのいずれかを行って、第1または第2の標識によってもたらされる検出可能なシグナルを改変して、例えば、FRET（蛍光共鳴エネルギー移動）を与える。蛍光色素および発光（化学発光および電気化学発光を含む）色素などの標識（Briggsら“Synthesis of Functionalised Fluorescent Dyes and Their Coupling to Amines and Amino Acids,” J. Chem. Soc., Perkin-Trans. 1 (1997) 1051-1058)は、検出可能なシグナルを提供し、一般に、標識化に適用可能である。一実施形態では、検出可能に標識されたとは、検出可能なシグナル、すなわち蛍光標識、発光標識（例えば、化学発光標識または電気化学発光標識）、放射性標識または金属キレート系標識をそれぞれ提供するかまたは提供するように誘導可能な標識を指す。

【0105】

多数の標識（色素とも称する）が利用可能であり、これらは概して、以下の区分に分類することができ、区分はすべてまとまっており、およびその各々が本開示による実施形態を表している。

【0106】

（a）蛍光色素

蛍光色素は、例えば、Briggsら“Synthesis of Functionalized Fluorescent Dyes and Their Coupling to Amines and Amino Acids,” J. Chem. Soc., Perkin-Trans. 1 (1997) 1051-1058)によって記載されている。

【0107】

蛍光標識または蛍光体には、希土類キレート（ユーロピウムキレート）、フルオレセイン型標識、例えばFITC、5-カルボキシフルオロセイン、6-カルボキシフルオロセイン、ローダミン型標識、例えばTAMRA、ダンシル、リサミン、シアニン、フィコエリトリン、テキサスレッド、およびこれらの類似体が含まれる。蛍光標識は、本明細書に開示される技術を使用して、標的分子に含まれるアルデヒド基に結合させることができる。蛍光色素および蛍光標識試薬には、Invitrogen/Molecular Probes (Eugene, Oregon, USA) およびPierce Biotechnology, Inc. (Rockford, Ill.) から市販されるものが含まれる。

【0108】

（b）発光色素

発光色素または標識は、化学発光色素および電気化学発光色素にさらに下位分類することができる。

10

20

30

40

50

【0109】

化学発光標識の異なるクラスには、ルミノール、アクリジニウム化合物、セレンテラジンおよび類似体、ジオキセタン、ペルオキシシュウ酸およびペルオキシシュウ酸誘導体に基づく系が含まれる。免疫診断手順のためには、主にアクリジニウム系標識が使用される（詳細な概要は、Dodeigne C. ら、Talanta 51 (2000) 415-439において示されている）。

【0110】

電気化学発光標識として使用される主な関連性のある標識は、それぞれルテニウムおよびイリジウム系の電気化学発光錯体である。電気化学発光（ECL）は、高感度で選択的な方法として分析用途に非常に有用であることが証明された。それは、化学発光分析の分析上の利点（背景光シグナルの非存在）を、電極電位を適用することによる反応制御の容易さと結びつける。概して、ルテニウム錯体、特に液相または液固界面においてTPA（トリプロピルアミン）を用いて再生する[Ru(Bpy)₃]²⁺（約620 nmで光子を放出）がECL標識として使用される。

10

【0111】

電気化学発光（ECL）アッセイは、目的の分析物の存在および濃度の高感度かつ正確な測定を提供する。このような技法は、適切な化学的環境において電気化学的に酸化または還元したときに発光するように誘導することができる標識または他の反応物を使用する。このような電気化学発光は、特定の時間に特定の様式で作用電極に印加される電圧によって引き起こされる。標識によって生成された光は、測定され、分析物の存在または量を示す。このようなECL技法のより完全な説明については、米国特許第5,221,605号明細書、米国特許第5,591,581号明細書、米国特許第5,597,910号明細書、PCT出願公開国際公開第90/05296号パンフレット、PCT出願公開国際公開第92/14139号パンフレット、PCT出願公開国際公開第90/05301号パンフレット、PCT出願公開国際公開第96/24690号パンフレット、PCT出願公開米国特許出願公開第95/03190号明細書、PCT米国特許出願公開97/16942、PCT出願公開米国特許出願公開第96/06763号明細書、PCT出願公開国際公開第95/08644号パンフレット、PCT出願公開国際公開第96/06946号パンフレット、PCT出願公開国際公開第96/33411号パンフレット、PCT出願公開国際公開第87/06706号パンフレット、PCT出願公開国際公開第96/39534号パンフレット、PCT出願公開国際公開第96/41175号パンフレット、PCT出願公開国際公開第96/40978号パンフレット、PCT/US97/03653および米国特許出願公開08/437,348（米国特許第5,679,519号明細書）が参照される。また、Knight, ら、(Analyst, 1994, 119:879-890)によるECLの分析用途に関する1994年の総説および総説に引用されている参考文献も参照される。一実施形態では、本明細書による方法は、電気化学発光標識を使用して実施される。

20

30

【0112】

近年、イリジウム系ECL標識も記載されている（国際公開第2012107419号パンフレット）。

40

【0113】

(c) 放射性標識は、放射性同位体（放射性核種）、例えば、³H、¹¹C、¹⁴C、¹⁸F、³²P、³⁵S、⁶⁴Cu、⁶⁸Ga、⁸⁶Y、⁸⁹Zr、⁹⁹Tc、¹¹¹In、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹³¹I、¹³³Xe、¹⁷⁷Lu、²¹¹At、または¹³¹Biを採用する。

【0114】

(d) イメージングおよび治療目的のための標識として適切な金属キレート錯体は当技術分野でよく知られている（米国特許出願公開第2010/0111861号明細書；米国特許第5,342,606号明細書；米国特許第5,428,155号明細書；米国特許第5,316,757号明細書；米国特許第5,480,990号明細書；米国特許第

50

5, 462, 725号明細書；米国特許第5, 428, 139号明細書；米国特許第5, 385, 893号明細書；米国特許第5, 739, 294号明細書；米国特許第5, 750, 660号明細書；米国特許第5, 834, 461号明細書；Hnatowichら、J. Immunol. Methods 65 (1983) 147-157；Mearesら、Anal. Biochem. 142 (1984) 68-78；Mirzadehら、Bioconjugate Chem. 1 (1990) 59-65；Mearesら、J. Cancer (1990), Suppl. 10: 21-26；Izardら、Bioconjugate Chem. 3 (1992) 346-350；Nikulaら、Nucl. Med. Biol. 22 (1995) 387-90；Cameraら、Nucl. Med. Biol. 20 (1993) 955-62；Kukisら、J. Nucl. Med. 39 (1998) 2105-2110；Verelら、J. Nucl. Med. 44 (2003) 1663-1670；Cameraら、J. Nucl. Med. 21 (1994) 640-646；Rueggら、Cancer Res. 50 (1990) 4221-4226；Verelら、J. Nucl. Med. 44 (2003) 1663-1670；Leeら、Cancer Res. 61 (2001) 4474-4482；Mitchellら、J. Nucl. Med. 44 (2003) 1105-1112；KobayashiらBioconjugate Chem. 10 (1999) 103-111；Miedererら、J. Nucl. Med. 45 (2004) 129-137；DeNardoら、Clinical Cancer Research 4 (1998) 2483-90；Blendら、Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals 18 (2003) 355-363；NikulaらJ. Nucl. Med. 40 (1999) 166-76；Kobayashiら、J. Nucl. Med. 39 (1998) 829-36；Mardirossianら、Nucl. Med. Biol. 20 (1993) 65-74；Roselliら、Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals, 14 (1999) 209-20)。

10

20

30

40

50

【0115】

本明細書に記載の方法は、診断に基づいて（すなわち、バイオマーカーのレベルと基準値／レベル／対照との比較に基づいて）対象の治療レジメンを選択し、任意に施すことをさらに含むことができる。治療（treatment）は、例えば、手術、および場合によっては治療（therapy）、またはそれらの組み合わせを含むことができる。しかしながら、場合によっては、即時的な治療が必要とされないことがあり、対象は、積極的な監視のために選択され得る。

【0116】

本明細書で使用される場合、「積極的な監視」、「モニタリング」、および「注意深い経過観察」という用語は、本明細書では互換的に使用され、症状が現れるかまたは変化するまでいずれの治療を行うことなく患者の状態を厳密にモニタリングすることを意味する。

【0117】

本明細書で使用される場合、用語「治療する」、「治療すること」および「治療」は、状態、障害、または症状（すなわち、この場合、子宮内膜症）の病状を変化させる意図で行われる介入を含むと解釈される。したがって、「治療」は、標的とされる状態、障害、または症状を減速させる（軽減する）ことを目的とする治療的処置を指す。したがって、「治療」は、治療前の症状と比較した場合、子宮内膜症の症状、例えば少なくとも5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または100%の低減、遅延、または阻害を包含する。子宮内膜症の状況では、適切な治療には、鎮痛薬、ホルモン治療（ホルモン避妊薬など）、ゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）アゴニスト、および／または手術が含まれ得る。（Longo, D. Lら、2020. Sc. D. N Engl J Med, 382, pp. 1244-56）。

【0118】

本明細書で使用される場合、「手術」という用語は、例えば腹腔鏡検査または神経温存手術のような、子宮内膜組織の除去のために行われる外科的方法に適用される。

【0119】

本明細書で使用される場合、「治療」という用語は、薬物ベースの治療、放射線、ホルモン療法、凍結手術、化学療法、免疫療法、生物学的療法、および高強度集束超音波を含む。子宮内膜症の薬物ベースの治療は、例えば、神経原性炎症の阻害または標的化、および／または鎮痛薬および／またはホルモン療法であり得る。

【0120】

治療のタイプは、対象が有する、有することが疑われる子宮内膜症の特定の形態および／またはステージに応じて多様である。

【0121】

実施形態

本発明者らは、驚くべきことに、子宮内膜症の女性、特に子宮内膜症の初期段階の女性の生体液、特に血清において増加する新しいタンパク質のバイオマーカー $c-Kit$ を特定した。

【0122】

バイオマーカー $c-Kit$ は、子宮内膜症を診断するため、または対照（例えば、非病理学的対象または症候性対象）と比較して、対象における子宮内膜症の病期を分類するために使用することができる。

【0123】

特に、血清 $c-Kit$ は、子宮内膜症の早期診断およびリスク層別化のための血液バイオマーカーとして使用することができる。さらに、血清 $c-Kit$ を使用して、子宮内膜症の早期医学的管理のために疾患ステージ I およびステージ II の患者を選択することができる。したがって、それは子宮内膜症の診断の遅延を有意に減少させ、患者の生活を改善し、経済的負担を軽減することができる。

【0124】

バイオマーカーは、本明細書に記載の方法、キット、アッセイ、または使用のいずれかで、有利にも使用することができる。

【0125】

対象における子宮内膜症を診断するための方法

第1の態様では、本発明は、対象の子宮内膜症を診断するための方法に関し、方法は、

a) 対象由来の生体液サンプルの $c-Kit$ のレベルを決定する工程、

b) $c-Kit$ のレベルを、少なくとも1つの適切な基準値の $c-Kit$ レベルと比較する工程、

c) 工程 b) における比較が、対象が適切な基準値と比較して増加したレベルの $c-Kit$ を有することを示す場合、対象を、子宮内膜症を有するとして特定する工程を含む。

【0126】

実施形態では、患者の体液サンプル中の $c-Kit$ のレベルまたは量または濃度の上昇は、対象の子宮内膜症の存在を示す。特に、対象の体液サンプルの $c-Kit$ の量または濃度が、基準値による $c-Kit$ の量または濃度よりも高い場合、対象の体液サンプルの $c-Kit$ の量または濃度は、対象に子宮内膜症が存在していることを示す。

【0127】

特定の実施形態では、少なくとも1つの適切な基準値が、

i. 非病理学的対象または症候性対象における $c-Kit$ のレベル、または

ii. 非病理学的対象の群または症候性対象の群における平均レベルの $c-Kit$ 、またはそれらの組み合わせである、

または、少なくとも1つの適切な基準値が、

iii. 非病理学的対象または症候性対象における $c-Kit$ のレベルの所定の値、または

10

20

30

40

50

i v . 非病理学的対象の群または症候性対象の群における c - K i t のレベルの所定の平均値、またはそれらの組み合わせである。

【0128】

特定の実施形態では、本発明者らは、子宮内膜症の初期段階における血清 c - K i t の増加、続いて子宮内膜症の後期段階における減少を検出し得た。しかし、後期段階の c - K i t の量または濃度は、対照レベルと比較してさらに高い。

【0129】

特に、50%以上上昇した c - K i t の量は、子宮内膜症の存在または発症のリスクを示す。特に、100%以上上昇した c - K i t の量は、子宮内膜症の存在を示す。特に、150%以上上昇した c - K i t の量は、子宮内膜症の存在を示す。特に、200%以上上昇した c - K i t の量は、子宮内膜症を示す。

【0130】

適切には、生体液サンプルは、血液、血清、血漿、毛細管血、間質液、腹腔液、または月経液であり、好ましくは生体液サンプルは血清である。

【0131】

実施形態において、サンプルはインビトロのサンプルであり、すなわちインビトロで分析され、対象の体内に戻されない。実施形態では、本発明の方法はインビトロの方法である。

【0132】

特定の実施形態では、対象はヒトの対象である。特定の実施形態では、患者はヒトの女性の対象である。特定の実施形態において、対象は、若齢または青年期のヒトの女性である。特に、対象は、身体的な状態に起因して子宮内膜症に罹患することが可能な対象である。

【0133】

実施形態では、診断が r A S R M 病期分類とは無関係に実施される。特に、評価は、腹腔鏡検査を実施することなく行われる。特に、評価は、腹腔鏡検査および／または r A S R M 病期分類を使用して患者の子宮内膜症の存在または重症度を評価することなく行われる。

【0134】

実施形態では、診断される子宮内膜症は、r A S R M 病期分類によるステージ I 子宮内膜症、r A S R M 病期分類によるステージ II 子宮内膜症、r A S R M 病期分類によるステージ III 子宮内膜症、r A S R M 病期分類によるステージ IV 子宮内膜症からなる群から選択される。特定の実施形態では、診断される子宮内膜症は、ステージ I、ステージ II、ステージ III またはステージ IV の子宮内膜症である。

【0135】

実施形態では、子宮内膜症は、早期子宮内膜症、特に、r A S R M 病期分類によるステージ I 子宮内膜症または r A S R M 病期分類によるステージ II 子宮内膜症である。

【0136】

特定の実施形態では、診断される子宮内膜症は、ステージ III またはステージ IV の子宮内膜症である。

【0137】

実施形態では、評価される子宮内膜症は、腹膜子宮内膜症、子宮内膜腫、深部浸潤子宮内膜症 (D I E) および子宮腺筋症からなる群から選択される。

【0138】

特定の実施形態では、診断される子宮内膜症は、腹膜子宮内膜症である。他の特定の実施形態では、診断される子宮内膜症は、r A S R M 病期分類によるステージ I またはステージ II の腹膜子宮内膜症である。

【0139】

別の実施形態において、方法は、c - K i t のレベルと対照サンプルまたは所定の基準レベルとの比較に基づいて、対象のための治療レジメンを選択することをさらに含む。特

10

20

30

40

50

定の実施形態では、方法は、選択された治療レジメンを対象に施すことをさらに含み、任意に、選択された治療レジメンは、薬物ベースの治療法および／または外科的処置（腹腔鏡検査）を含む。子宮内膜症の薬物ベースの治療法は、例えば、鎮痛剤ホルモン治療および／または手術によるものであり得る。

【0140】

診断がむしろ重篤な疾患段階を示唆するかどうかに応じて、当業者は、最も適切で有望な治療レジメンを選択する方法を十分に認識している。

【0141】

本発明による実施形態では、c-Kitのタンパク質レベルは、任意に、以下から選択されるプロセス、すなわちELISAアッセイ、イムノブロットイング、ラテラルフローアッセイ、タンパク質マイクロアレイ、および質量分析を用いて決定される。

【0142】

実施形態では、c-Kitの量は、抗体を使用して、特にモノクローナル抗体を使用して決定される。実施形態では、患者のサンプルのc-Kitの量を決定する工程a)は、イムノアッセイを行うことを含む。実施形態では、イムノアッセイは、直接的または間接的な形式のいずれかで行われる。実施形態では、そのようなイムノアッセイは、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、酵素イムノアッセイ(EIA)、ラジオイムノアッセイ(RIA)、または発光、蛍光、化学発光もしくは電気化学発光の検出に基づくイムノアッセイからなる群から選択される。

【0143】

特定の実施形態では、対象のサンプル中のc-Kitのレベルを決定する工程a)は、
i) 対象のサンプルを、c-Kitに特異的に結合する1つ以上の抗体とインキュベートし、それによって抗体とc-Kitとの複合体を生成する工程、および
ii) 工程i)で形成された複合体を定量し、それにより、対象のサンプルにおけるc-Kitの量を定量する工程を含む。

【0144】

特定の実施形態では、工程i)において、サンプルは、c-Kitに特異的に結合する2つの抗体とインキュベートされる。当業者に明らかなように、サンプルは、第1の抗c-Kit抗体／c-Kit／第2の抗c-Kit抗体複合体を形成するのに十分な時間および条件下で、いずれかの所望の順序で、すなわち、最初に第1の抗体、次いで第2の抗体、または最初に第2の抗体、次いで第1の抗体、または同時に、第1の抗体および第2の抗体を接触させ得る。当業者が容易に理解するように、特異的抗c-Kit抗体とc-Kit抗原／分析物との間の複合体(=抗c-Kit複合体)の形成、またはc-Kitに対する第1の抗体、c-Kit(分析物)および第2の抗c-Kit抗体を含む二次複合体もしくはサンドイッチ複合体(=抗c-Kit抗体／c-Kit／第2の抗c-Kit抗体複合体)の形成のために適切または十分である時間および条件を確立することは、日常的な実験に過ぎない。

【0145】

抗c-Kit抗体／c-Kit複合体の検出は、任意の適切な手段によって実施され得る。第1の抗c-Kit抗体／c-Kit／第2の抗c-Kit抗体の複合体の検出は、任意の適切な手段によって実施され得る。当業者は、このような手段／方法に完全に精通している。

【0146】

特定の実施形態では、c-Kitに対する第1の抗体、c-Kit(分析物)およびc-Kitに対する第2の抗体を含むサンドイッチが形成され、第2の抗体は検出可能に標識されている。

【0147】

一実施形態では、c-Kitに対する第1の抗体、c-Kit(分析物)およびc-Kitに対する第2の抗体を含むサンドイッチが形成され、第2の抗体は検出可能に標識化

10

20

30

40

50

され、第1の抗c-Ki t抗体は固相に結合することができるか、または固相に結合されている。

【0148】

実施形態において、第2の抗体は、直接的または間接的に検出可能に標識されている。特定の実施形態では、第2の抗体は、発光色素、特に化学発光色素または電気化学発光色素で検出可能に標識されている。

【0149】

実施形態では、方法は、患者における月経困難症および／または下腹部痛の評定をさらに含む。実施形態では、月経困難症および／または下腹部痛の存在は、VASスケールにより評定される。実施形態では、月経困難症VASスコアが4以上であることは、中等度または重度の月経困難症を示した。実施形態では、3以下のスコアは、月経困難症がないことまたは軽度であることを示す。

【0150】

実施形態では、方法は、対象由来の生体液サンプル中のCA-125のレベルを決定することをさらに含む。

【0151】

対象における子宮内膜症の病期を分類するための方法

第2の態様において、本発明は、対象における子宮内膜症の病期を分類するための方法に関し、方法は、

- a) 対象由来の生体液サンプルのc-Ki tのレベルを決定する工程、
- b) c-Ki tのレベルを、少なくとも1つの適切な基準値のc-Ki tレベルと比較する工程、
- c) 工程b)における比較が、対象が、少なくとも1つの適切な基準値のc-Ki tレベルと比較して、増加したまたは減少したレベルのc-Ki tを有することを示す場合、対象において子宮内膜症の病期を分類する工程を含む。

【0152】

実施形態では、対象の体液サンプル中のc-Ki tのレベルまたは量または濃度の上昇または低下は、対象の子宮内膜症の病期を示すことができる。特に、対象の体液サンプル中のc-Ki tのレベルは、対象の体液サンプル中のc-Ki tのレベルが、子宮内膜症の病期が既知である基準値によるc-Ki tのレベルよりも高いまたは低い場合、対象の子宮内膜症の病期を示す。必要に応じて、子宮内膜症の病期を分類するために、いくつかの基準値との比較を行う。さらに、これは、子宮内膜症の病期を決定するために使用される手術または他のパラメータと組み合わせて、はるかに正確な分類を可能にすることができる。

【0153】

特に、c-Ki tが、子宮内膜症に罹患していない対象の同じ体液サンプル中よりも子宮内膜症の存在について評定される対象の体液サンプル中でより高いレベルで検出可能である場合、これは子宮内膜症の任意の病期を示し、わずかな増加はステージI、III、およびIVを示し、一方でより強い増加はステージIIを示す。得られた値を子宮内膜症の病期が既知である基準値とさらに比較することで、得られた値を子宮内膜症のある病期に割り付けることができる。

【0154】

特定の実施形態では、少なくとも1つの適切な基準値が、

i. 非病理学的対象、症候性対象、または米国生殖医学会の改訂版のスコアリングシステム(r-ASRM)によるステージI、ステージII、ステージIII、もしくはステージIVの子宮内膜症を有する対象におけるc-Ki tのレベル、または

ii. 米国生殖医学会の改訂版のスコアリングシステム(r-ASRM)による、非病理学的対象である、症候性対象である、もしくはそれらの組み合わせである対象の群、またはステージI、ステージII、ステージIII、もしくはステージIVの子宮内膜症を

10

20

30

40

50

有する対象の群における $c-K i t$ の平均レベルである、

または、少なくとも1つの適切な基準値が、

i i i . 非病理学的対象、症候性対象、または米国生殖医学会の改訂版のスコアリングシステム ($r-A S R M$) によるステージ I、ステージ II、ステージ III、もしくはステージ IV の子宮内膜症を有する対象における $c-K i t$ のレベルの所定の値、または

i v . 米国生殖医学会の改訂版のスコアリングシステム ($r-A S R M$) による、非病理学的対象、症候性対象である、もしくはそれらの組み合わせである群、またはステージ I、ステージ II、ステージ III、もしくはステージ IV の子宮内膜症を有する対象の群における $c-K i t$ のレベルの所定の平均の値である。

【0155】

特定の実施形態では、本発明者らは、子宮内膜症の初期段階における血清 $c-K i t$ の増加、続いて子宮内膜症の後期段階における減少を検出し得た。しかし、後期段階の $c-K i t$ の量または濃度は、対照レベルと比較してさらに高い。

【0156】

例えば、非病理学的対象よりも高いが、ステージ II 子宮内膜症を有する対象よりも低い、得られた $c-K i t$ のレベルは、ステージ I、III、または IV の子宮内膜症を示す。

【0157】

例えば、ステージ I の子宮内膜症を有する対象よりも高く、ステージ III の子宮内膜症を有する対象よりも高い、得られた $c-K i t$ のレベルは、ステージ II の子宮内膜症を示す。

【0158】

一例において、方法は、インビトロの方法である。

【0159】

バイオマーカー、組み合わせ、サンプル、方法の工程、対象、子宮内膜症の種類、治療、基準値などの詳細は、他の場所に提示されており、この態様および他のすべての態様に等しく適用される。

【0160】

対象における子宮内膜症の進行をモニタリングするための方法

第3の態様では、本発明は、対象の子宮内膜症の進行をモニタリングするための方法に関し、方法は、

i . 本明細書に上述されている方法の工程 a) ~ b) に従って対象由来の生体液サンプル中の $c-K i t$ のレベルを決定する工程、

i i . 治療中または治療後に対象から得られた生体液サンプルを使用して一定の時間間隔で工程 i を繰り返す工程、および

i i i . i で特定された $c-K i t$ のレベルを、i i で特定された $c-K i t$ レベルと比較する工程であって、i から i i への $c-K i t$ レベルの変化が対象における子宮内膜症進行の変化を示す、工程を含む。

【0161】

実施形態では、子宮内膜症に罹患している患者をモニタリングして、 $c-K i t$ の量または濃度が患者のサンプル中で経時的に変化しているかどうかを決定する。特に、子宮内膜症に罹患している患者をモニタリングして、 $c-K i t$ の量または濃度が経時的に増加しているか、減少しているか、または変化していないかを決定する。実施形態では、子宮内膜症に罹患している患者のサンプル中の $c-K i t$ の量の上昇が決定された場合、患者をモニタリングする。

【0162】

方法は、本明細書に記載される任意の種類の子宮内膜症の進行をモニタリングするために使用され得る。

【0163】

10

20

30

40

50

典型的には、そのようなモニタリング方法は、子宮内膜症についてまだ治療されていない対象（すなわち、以前に子宮内膜症の治療（治療または手術）を受けたことがない）に対して行われる。そのような対象は、本明細書では「ナイーブな」対象として記載される。

【0164】

しかしながら、そのようなモニタリング方法は、子宮内膜症について既に治療されている対象に対して行われる方法も包含する。

【0165】

対象における子宮内膜症の進行を経時的にモニタリングすることは、疾患の進行（例えば、疾患の状態または疾患の症状の悪化）の可能な限り早い特定を助ける。そのようなモニタリングは、当然ながら、反復的なサンプルを経時的に採取することを含む。したがって、方法は、特定の対象について1つまたはそれを超える時間間隔で繰り返され得、その結果を比較して、その対象の子宮内膜症の発症、進行、または改善を経時的にモニタリングし得、生体液サンプル（例えば、血清）中で試験されたバイオマーカーのレベルの量の変化は、対象の子宮内膜症の進行の変化を示す。

【0166】

いくつかの研究は、子宮内膜症の手術後に医学的治療が行われた後、血清CA-125のレベルが低下したことを報告している（Chenら、1998、Acta Obstet Gynecol Scand、77:665-70、Jacobsら、1989、Hum Reprod、4:1-12）。

【0167】

疾患の進行は、2つまたはそれを超える時間間隔の結果を同じ対象について比較する場合、経時的に検出されるc-Kitのレベルの増加によって示され得る。

【0168】

換言すれば、方法が複数回行われる場合、より遅い時間間隔で検出されたc-Kitのレベルが、より早い時間間隔で検出された場合よりも高いとき、疾患の進行が示され得る。c-Kitのレベルにおける「増大」は、方法が同じ対象（および同等の生体液サンプルのタイプ）に対して以前に（すなわち、より早い時間間隔で）行われたときに、c-Kitが検出されなかった（すなわち、検出可能なレベルで存在しなかった）、より遅い時間間隔でのc-Kitの検出を、包含する。これは、ナイーブな対象における子宮内膜症の進行をモニタリングする場合に、特に関連する。

【0169】

疾患の進行をモニタリングするための適切な時間間隔は、当業者によって容易に特定することができ、モニタリングされる子宮内膜症の特定の形態に依存する。非限定的な例として、方法は、少なくとも1週間、1ヶ月、6ヶ月、または少なくとも1年ごとに、または臨床的に必要なときにいつでも、すなわち子宮内膜症の症状の顕著な変化の場合に、繰り返すことができる。

【0170】

一例において、方法は、インビトロの方法である。

【0171】

バイオマーカー、組み合わせ、サンプル、方法の工程、対象、子宮内膜症の種類、治療、基準値などの詳細は、他の場所に提示されており、この態様および他のすべての態様に、等しく適用される。

【0172】

対象における子宮内膜症のための治療レジメンの治療効果を決定するための方法

第4の態様では、本発明は、対象の子宮内膜症の治療レジメンの治療効果を決定するための方法に関し、方法は、

i. 本明細書に上述されている方法の工程a)～b)に従って対象由来の生体液サンプル中のc-Kitのレベルを決定する工程、

ii. 治療中または治療後に対象から得られた生体液サンプルを使用して一定の時間間

10

20

30

40

50

隔で工程 a) を繰り返す工程、および

i i i . 工程 a) で決定された c - K i t のレベルを工程 b) で決定されたものと比較し、c - K i t のレベルが治療後に低下した場合に治療レジメンが治療効果を有することを特定する工程を含む。

【0173】

一例において、治療効果を示す c - K i t のレベルの変化は、治療後の c - K i t レベルの低下である。c - K i t のレベルにおける「減少」は、方法が同じ対象（および同等の生体液サンプルのタイプ）に対して以前に（すなわち、より早い時間間隔で）行われたときに、c - K i t が検出された、より遅い時間間隔での c - K i t の不検出（すなわち、検出可能なレベルで存在しなかった）を包含する。

10

【0174】

工程 i は、子宮内膜症の治療レジメンが開始される前の時点で対象から得られた生体液サンプルを使用する方法に従って、最初の実施され得る。あるいは、工程 i は、治療レジメンの開始と同時に、または子宮内膜症の治療レジメンの開始後の時点で、対象から得られた生体液サンプルを用いて、最初の実施してもよい。したがって、方法は、最初から（すなわち、レジメンの開始時から）または治療レジメンが開始した後の時点から（すなわち、治療レジメン自体の間に子宮内膜症に対する治療レジメンの治療効果を決定すること）、子宮内膜症の治療レジメンの治療効果を決定するために使用することができる。

【0175】

20

実施形態では、子宮内膜症の治療を受けている対象のサンプル中の c - K i t の量または濃度が変化していないかまたは増加していることは、治療が無効であることを示し、すなわち、子宮内膜症の治療を受けている対象のサンプル中の c - K i t の量または濃度が変化していないかまたは増加していることは、子宮内膜症が持続しているかまたは再発していることを示す。特に、c - K i t の量が 50 % 以上に増加している場合、子宮内膜症の治療は無効である。特に、c - K i t の量が 100 % 以上に増加している場合、子宮内膜症の治療は無効である。特に、c - K i t の量が 150 % 以上に増加している場合、子宮内膜症の治療は無効である。特に、c - K i t の量が 200 % 以上に増加している場合、子宮内膜症の治療は無効である。

【0176】

30

あるいは、c - K i t の変化していないレベルは、疾患が停滞していること、または c - K i t レベルがステージ I に匹敵するステージ I からステージ I I I、または I V に進んだことのいずれかを意味し得る。

【0177】

（例えば、治療期間にわたる）疾患の状態または症状の改善はまた、経時的な c - K i t の安定化されたレベルによって示され得る（同等の期間にわたる治療の非存在下で観察される c - K i t のレベルと比較して、または同等の対照と比較して）。

【0178】

治療レジメンは、疾患の進行の遅延または症状の発生の遅延をもたらす場合（例えば、治療期間にわたって）、治療効果を有するものとして特定され得る。

40

【0179】

治療レジメンはまた、疾患の状態または症状の改善をもたらす場合（例えば、治療期間にわたって）、治療効果を有するものとして特定され得る。治療レジメンが治療効果を有するかどうかを決定する方法は、当技術分野で周知である。

【0180】

治療の期間は、治療が行われる時間間隔（例えば、1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月、1 年、2 年など）を指す。

【0181】

当業者にとって明らかなように、治療効果を示す c - K i t レベルの変化の方向は、治療前の対象の疾患の状態および使用される対照／基準に依存し得る。

50

【0182】

c-K i tのレベルの変化はまた、治療後の処方された治療の順守または遵守を示すことができる。

【0183】

対象が処方された治療レジメンを順守または遵守したことを特定するための傾向は、子宮内膜症の治療レジメンの治療効果を決定することに関して上で詳細に記載したものと同等である。これは、「処方された治療レジメン」が推奨される治療レジメンであり、したがって典型的には治療効果を有するからである（したがって、バイオマーカーレベルに対する治療効果が認められることは、処方された治療レジメンへの対象の順守または遵守の指標である）。

10

【0184】

実施形態では、対象は、異なる時点で数回モニタリングされる。実施形態では、患者は、数週間、数ヶ月または数年という時間フレーム内で、数回モニタリングされる。特定の実施形態では、対象は、月に1回または年に1回モニタリングされる。実施形態では、子宮内膜症に罹患している対象は、子宮内膜症の診断後、1ヶ月に1回または1年に1回モニタリングされる。実施形態では、子宮内膜症について治療されている対象は、治療後に1回、特に外科的治療後に1回モニタリングされる。特に、子宮内膜症について治療されている対象は、治療の有効性および／または子宮内膜症の再発を決定するために、1ヶ月に1回または1年に1回モニタリングされる。

【0185】

方法はまた、特定のレジメンまたは治療様式が子宮内膜症に対する治療効果を有するかどうかを決定するためのスクリーニングのツールとして有用であり得る。試験されたレジメンまたは治療様式は、新しいレジメンまたは治療様式、修正されたレジメンまたは治療様式、またはさらなる試験を必要とする既知のレジメンまたは治療様式であり得る。これに関連して、治療様式は、例えば、子宮内膜症の治療において有用であるかまたは有用であると思われる薬物または医薬である。

20

【0186】

実施形態では、子宮内膜症の治療法は、薬物ベースの治療法または外科的治療からなる群から選択される。実施形態では、治療レジメンは、外科的療法、放射線療法、免疫療法、ホルモン療法、超音波療法、またはそれらの組み合わせを含む。好ましい実施形態では、子宮内膜症の外科的治療は、腹腔鏡検査または神経温存術である。実施形態では、子宮内膜症の薬物ベースの治療は、神経原性炎症の阻害または標的化、および／または鎮痛薬および／またはホルモン療法である。

30

【0187】

特定の実施形態では、治療は、子宮内膜症の治療を受けている患者のサンプル中のc-K i tの量または濃度が変化していないか、または増加していると決定された場合に、治療が適応される。

【0188】

バイオマーカー、組み合わせ、サンプル、方法の工程、対象、子宮内膜症の種類、治療などの詳細は、他の場所に提示されており、この態様にも等しく適用される。

40

【0189】

したがって、子宮内膜症の治療レジメンの治療効果を決定するための方法について上に詳細に記載したすべての態様は、ここでも等しく適用される。

【0190】

一例において、方法は、インビトロの方法である。

【0191】

バイオマーカー、組み合わせ、サンプル、方法の工程、対象、子宮内膜症の種類、治療、基準値などの詳細は、他の場所に提示されており、この態様および他のすべての態様に、等しく適用される。

【0192】

50

子宮内膜症患者を評定するためのコンピュータ実装方法

第4の態様では、本発明は、子宮内膜症が疑われる患者を評定するためのコンピュータ実装方法に関し、方法は、

(a) 対象のサンプルの第1のバイオマーカーのレベルに関する値を受け取る工程であって、当該第1のバイオマーカーがc-K i tである、工程、

(b) 対象のサンプルの第2のバイオマーカーのレベルに関する値を受け取る工程であって、当該第2のバイオマーカーがC A 1 2 5である、工程、

(c) V A Sに従った月経困難症および／またはV A Sに従った下腹部痛のレベルに関する値を受け取る工程、

(d) 工程(a)～(c)のレベルに関する値を当該バイオマーカーの基準、および月経困難症の量と比較し、および／またはバイオマーカーのレベルおよび月経困難症の量に基づいて子宮内膜症が疑われる対象を評定するためのスコアを計算する工程、ならびに

(e) 工程(d)で行われた比較および／または計算に基づいて当該対象を評定する工程を含む。

【0193】

本明細書で使用される場合、「コンピュータ実装」という用語は、方法が、典型的には、コンピュータまたは同様のデータ処理デバイス中に含まれるデータ処理ユニット上で自動化された様式で実行されることを意味する。データ処理ユニットは、バイオマーカーの量に関する値を受け取る。そのような値は、量、相対的な量、または本明細書の他の箇所で詳細に説明される量を反映する任意の他の計算値であってもよい。したがって、上述の方法は、バイオマーカーの量の決定を必要とせず、むしろ既に予め決定された量に関する値を使用することを理解されたい。

【0194】

本発明はまた、原則として、コンピュータプログラム、コンピュータプログラム製品、または当該コンピュータプログラムが有形的に組み込まれたコンピュータ可読記憶媒体も企図し、コンピュータプログラムは、データ処理デバイスまたはコンピュータで実行されると、上記で指定された本発明の方法を実行する命令を含む。具体的には、本開示は、さらに、

—少なくとも1つのプロセッサを含むコンピュータまたはコンピュータネットワークであって、プロセッサが、本明細書に記載の実施形態のうちの1つによる方法を実行するように適合されている、コンピュータまたはコンピュータネットワーク、

—データ構造がコンピュータで実行されている間に、本明細書に記載された実施形態のうちの1つによる方法を実行するように適合されたコンピュータロード可能データ構造、

—コンピュータスクリプトであって、プログラムがコンピュータで実行されている間に、コンピュータプログラムが、本明細書に記載の実施形態のうちの1つによる方法を実行するように適合されている、コンピュータスクリプト、

—コンピュータプログラムがコンピュータまたはコンピュータネットワークで実行されている間に、本明細書に記載された実施形態のうちの1つによる方法を実行するためのプログラム手段を備えるコンピュータプログラム、

—プログラム手段がコンピュータに読み取り可能な記憶媒体に格納された、先行する実施形態によるプログラム手段を備えるコンピュータプログラム、

—データ構造が記憶媒体に格納され、データ構造が、コンピュータもしくはコンピュータネットワークのメインの記憶装置および／または作業記憶装置にロードされた後、本明細書に記載の実施形態のうちの1つによる方法を実行するように適合された、記憶媒体、

—コンピュータまたはコンピュータネットワークでプログラムコード手段が実行された場合に、本明細書に記載される実施形態のうちの1つによる方法を実行するために、プログラムコード手段が格納され得る、または記憶媒体に格納され得る、プログラムコード手段を有するコンピュータプログラム製品、

—本明細書の他の箇所で定義されているパラメータのデータを含む、典型的には暗号化

10

20

30

40

50

されたデータストリームシグナル、ならびに

ー本発明の方法によって提供される評価を含む、典型的には暗号化されたデータストリームシグナルを包含する。

【0195】

CA-125、症状または臨床データとの組み合わせ

本発明による方法は、最も信頼できる結果を得るために、子宮内膜症を診断または分類するのに有用な他の試験、バイオマーカー、臨床データ、またはさらなる情報と組み合わせることができる。

【0196】

診断能力がかなり低いにもかかわらず、CA-125は、子宮内膜症のバイオマーカーとして日常的に使用されている。したがって、c-Ki tのレベルを決定するのを、本明細書に記載される方法の文脈において対象から得られたCA-125と組み合わせることが有利であり得る。

【0197】

CA-125の他に、子宮内膜症を診断または分類するために使用される他の症状または臨床データを、c-Ki tレベルの決定と組み合わせ使用することができる。そのような症状または臨床データは、年齢、月経困難症、腹痛、または他のバイオマーカーであり得るが、これらに限定されない。

【0198】

キットおよびデバイス

別の態様では、対象における子宮内膜症の病期を診断または分類するためのキットが提供される。キットは、試験サンプル中の複数の分析物のレベルを決定するのに適した試薬（例えば、本明細書に開示されるバイオマーカーのレベルを決定するのに適した試薬）を含む。

【0199】

本明細書に記載のキットは、典型的には、c-Ki tタンパク質に特異的に結合する検出可能に標識された薬剤を含む。

【0200】

そのようなキットは、CA-125に特異的に結合する検出可能に標識された薬剤をさらに含み得る。

【0201】

本明細書に記載のキットは、様々な形態をとることができる。典型的には、キットは、サンプル中の複数のバイオマーカー（例えば、c-Ki tおよび任意にCA-125）のレベルを決定するのに適した試薬を含む。

【0202】

任意に、キットは、1つまたはそれを超える対照サンプルまたは基準を含有し得る。典型的には、対象のバイオマーカーのレベルと対照サンプルのバイオマーカーのレベルとの比較は、臨床状態（例えば、子宮内膜症の診断）を示す。また、キットは、場合によっては、基準（例えば、所定の値）を提供する書面の情報（しるし）を含み、対象におけるバイオマーカーのレベルと基準（所定の値）との比較は、臨床状態（例えば、子宮内膜症の診断）を示す。場合により、キットは、バイオマーカーレベルまたは発生を基準（例えば、予測モデル）と比較するのに有用なソフトウェアを含む。通常、ソフトウェアは、コンパクトディスクなどのコンピュータ可読フォーマットで提供されるが、インターネットを介してダウンロードして入手することもできる。しかしながら、キットはそのように限定されず、他の変形が当業者には明らかであろう。

【0203】

キットの構成要素は、輸送に適した容器に収容されてもよい。バイオマーカーに関する詳細は上に与えられており、ここでも同様に適用される。適切には、バイオマーカーはタンパク質であり得る。

【0204】

いくつかの例では、キットは、ラテラルフローの面などの連続的な（例えば、固体）表面に検出可能に標識された薬剤を含む。あるいは、2つ以上の検出可能に標識された薬剤を含む例では、検出可能に標識された薬剤は、多層マイクロタイタープレート（例えば、E L I S A アッセイの場合）などの（例えば、固体）表面の別個の（すなわち、空間的に分離している）ゾーンに配置されてもよい。当技術分野で周知の他の適切な表面および容器もまた、本明細書に記載のキットの一部を形成し得る。

【0205】

一例では、キットは、検出可能に標識された薬剤を検出するための1つまたは複数の試薬をさらに含む。適切な試薬は当技術分野で周知であり、使用され得る（および当技術分野で周知である）適切な検出方法のいずれか1つを実施するために必要な標準試薬および緩衝液を含むが、これらに限定されない。

10

【0206】

一例では、キットは、マルチウェルプレート、ボールベアリング、抽出緩衝液、抽出ボトル、およびラテラルフローデバイスのうちの1つまたは複数を含む。

【0207】

対象における子宮内膜症を診断するためのアッセイデバイスも提供される。

【0208】

典型的には、デバイスは、c - K i t タンパク質に特異的に結合する少なくとも1つの検出可能に標識された薬剤が位置する表面を含む。

【0209】

そのようなデバイスは、C A - 1 2 5 に特異的に結合する検出可能に標識された薬剤をさらに含み得る。

20

【0210】

2つの検出可能に標識された薬剤が使用される場合、それらは表面の別個のゾーンに配置され得る。換言すれば、2つの検出可能に標識された薬剤は、マルチウェルマイクロタイタープレートなどの（例えば、固体）表面の別個の（すなわち、空間的に分離している）ゾーンに位置し得る。目的のバイオマーカーに特異的に結合する検出可能に標識された薬剤は、本明細書の他の箇所に詳細に記載されている。

【0211】

アッセイデバイスは、検出可能に標識された薬剤が配置される表面を含む。適切な表面は、ラテラルフローの面、ドットプロット表面、ディップスティック表面、または表面プラズモン共鳴を実施するのに適した表面などの連続（例えば、固体）表面を含む。他の適切な表面としては、マイクロタイタープレート、マルチウェルプレートなどが挙げられる。当技術分野で周知の他の適切な表面もまた、本明細書に記載のアッセイデバイスの一部を形成し得る。

30

【0212】

したがって、適切なアッセイデバイスフォーマットには、それだけに限らないが、目的のバイオマーカーの存在、レベル、または非存在を検出するためのラテラルフロー、ドットプロット、E L I S A、または表面プラズモン共鳴アッセイのいずれか1つを実施するのに適したデバイスフォーマットが含まれる。

40

【0213】

データストレージの態様

バイオマーカーレベルおよび／または基準レベルは、適切なストレージ媒体（例えば、データベース）に格納することができ、したがって、将来の診断にも利用可能である。これはまた、対応する基準サンプルが得られた対象が子宮内膜症を有していたことが（将来）確認されると、データベースにおいて適切な基準結果を特定することができるので、疾患の有病率を効率的に診断することを可能にする。本明細書で使用される場合、「データベース」は、適切な記憶媒体で収集されたデータ（例えば、分析物および／または基準レベル情報および／または患者情報）を含む。さらに、データベースは、データベース管理システムをさらに備え得る。データベース管理システムは、好ましくは、ネットワークベ

50

ースの階層的またはオブジェクト指向のデータベース管理システムである。さらに、データベースは、連邦または統合データベースであってよい。より好ましくは、データベースは、例えばクライアントサーバシステムなどの分配（連邦）システムとして実装され得る。より好ましくは、データベースは、検索アルゴリズムによって試験データセットをデータ集合に含まれるデータセットと比較することができるように構成される。具体的には、そのようなアルゴリズムを使用することによって、子宮内膜症を示す類似または同一のデータセットを求めてデータベースを検索することができる（例えば、クエリ検索）。したがって、同一または類似のデータセットをデータ集合において特定することができる場合、試験データセットは、子宮内膜症に関連付けられる。したがって、データ収集から得られた情報は、子宮内膜症を診断するために、または対象から得られた試験データセットに基づいて使用することができる。より好ましくは、データ収集は、上記の群のいずれか1つに含まれるすべての分析物の特性値を含む。

10

【0214】

本明細書に記載の方法は、例えば、技術者、医師、または患者へ結果または診断（またはその両方）を伝達することをさらに含み得る。特定の例では、コンピュータを使用して、結果または診断（またはその両方）を関係者、例えば医師およびその患者に伝達する。

【0215】

いくつかの例では、診断が得られた後、結果または診断（またはその両方）が早急に対象に伝達される。結果または診断（またはその両方）は、対象の治療医によって対象に伝達され得る。あるいは、結果または診断（またはその両方）は、電子メールによって対象に送信されてもよく、または電話によって対象に伝達されてもよい。コンピュータを使用して、電子メールまたは電話によって、結果または診断を伝達することができる。特定の例では、結果または診断を含むメッセージは、電気通信の当業者によく知られているコンピュータハードウェアとソフトウェアとの組み合わせを使用して自動的に生成され、対象に配信され得る。

20

【0216】

使用

子宮内膜症の生体液バイオマーカーとしてのバイオマーカー c-K i t s の使用が、本明細書でまた提供される。

【0217】

好ましい例において、c-K i t は、一般に子宮内膜症のバイオマーカーとして使用され得る。この文脈において、「子宮内膜症一般的に」は、腹膜子宮内膜症、子宮内膜腫、深部浸潤子宮内膜症、および腺筋症を含むがこれらに限定されない子宮内膜症のすべての形態を指す。

30

【0218】

また、c-K i t は C A - 1 2 5 と組み合わせてもよい。

【0219】

バイオマーカー、サンプル、方法、対象、子宮内膜症の種類などの詳細は、他の場所に提示されており、この態様にも等しく適用される。

【0220】

コンパニオン診断

本明細書で提供される方法、キット、アッセイデバイス、および使用は、対応する薬物または生物由来物質（対応する薬物または生物由来物質は子宮内膜症を治療または予防するためのものである）の安全かつ効果的な使用に不可欠な情報を提供するコンパニオン診断の一部として、例えば医療デバイス、しばしばインビトロのデバイスの一部として、使用され得る。

40

コンパニオン診断

さらなる実施形態では、本発明は、以下の態様に関する：

1. 対象の子宮内膜症を診断するための方法であって、

a) 対象由来の生体液サンプルの c-K i t のレベルを決定する工程、

50

b) c-K i t のレベルを、少なくとも 1 つの適切な基準値の c-K i t レベルと比較する工程、

c) 工程 b) における比較が、対象が適切な基準値と比較して増加したレベルの c-K i t を有することを示す場合、対象を、子宮内膜症を有するとして特定する工程を含む方法。

【0221】

2. 少なくとも 1 つの適切な基準値が、

i. 非病理学的対象または症候性対象における c-K i t のレベル、または

i i. 非病理学的対象の群または症候性対象の群における平均レベルの c-K i t、またはそれらの組み合わせである、

または、少なくとも 1 つの適切な基準値が、

i i i. 非病理学的対象または症候性対象における c-K i t のレベルの所定の値、または

i v. 非病理学的対象の群または症候性対象の群における c-K i t のレベルの所定の平均値、またはそれらの組み合わせである、態様 1 に記載の方法。

【0222】

3. 対象の子宮内膜症の病期を分類するための方法であって、

a) 対象由来の生体液サンプルの c-K i t のレベルを決定する工程、

b) c-K i t のレベルを、少なくとも 1 つの適切な基準値の c-K i t レベルと比較する工程、

c) 工程 b) における比較が、対象が、少なくとも 1 つの適切な基準値の c-K i t レベルと比較して、増加したまたは減少したレベルの c-K i t を有することを示す場合、対象において子宮内膜症の病期を分類する工程

を含む方法。

【0223】

4. 対象の子宮内膜症の病期を分類するための方法であって、

a) 対象由来の生体液サンプルの c-K i t のレベルを一定の間隔で決定する工程、

b) c-K i t のレベルを、対象における初期段階で決定された c-K i t レベルの少なくとも 1 つの値と比較する工程、

c) 工程 b) における比較が、対象が、対象において初期段階で決定された c-K i t レベルの少なくとも 1 つの値と比較して、増加したまたは減少したレベルの c-K i t を有することを示す場合、対象において子宮内膜症の病期を分類する工程

を含む方法。

【0224】

5. 少なくとも 1 つの適切な基準値が、

i. 非病理学的対象、症候性対象、または米国生殖医学会の改訂版のスコアリングシステム (r-A S R M) によるステージ I、ステージ II、ステージ III、もしくはステージ IV の子宮内膜症を有する対象における c-K i t のレベル、または

i i. 米国生殖医学会の改訂版のスコアリングシステム (r-A S R M) による、非病理学的対象である、症候性対象である、もしくはそれらの組み合わせである対象の群、またはステージ I、ステージ II、ステージ III、もしくはステージ IV の子宮内膜症を有する対象の群における c-K i t の平均レベルである、

または、少なくとも 1 つの適切な基準値が、

i i i. 非病理学的対象、症候性対象、または米国生殖医学会の改訂版のスコアリングシステム (r-A S R M) によるステージ I、ステージ II、ステージ III、もしくはステージ IV の子宮内膜症を有する対象における c-K i t のレベルの所定の値、または

i v. 米国生殖医学会の改訂版のスコアリングシステム (r-A S R M) による、非病理学的対象、症候性対象である、もしくはそれらの組み合わせである群、またはステージ I、ステージ II、ステージ III、もしくはステージ IV の子宮内膜症を有する対象の群における c-K i t のレベルの所定の平均の値である、態様 3 または 4 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【0225】

6. 生体液サンプルが、血液、血清、血漿、毛細管血、間質液、腹腔液、または月経液であり、好ましくは生体液サンプルが血清である、いずれかの先行する態様に記載の方法。

【0226】

7. 対象がヒト、好ましくは女性のヒトである、いずれかの先行する態様に記載の方法。

【0227】

8. c-K i tのタンパク質レベルは、任意に、以下から選択されるプロセス、すなわちE L I S Aアッセイ、イムノブロッティング、ラテラルフローアッセイ、タンパク質マイクロアレイ、および質量分析を用いて決定される、いずれかの先行する態様に記載の方法。

10

【0228】

9. 選択された治療レジメンを対象に施すことをさらに含み、任意に、選択された治療レジメンが、外科手術、放射線療法、免疫療法、ホルモン療法、超音波療法、またはそれらの組み合わせを含む、いずれかの先行する態様に記載の方法。

【0229】

10. 診断または分類が、米国生殖医学会のスコアリングシステムとは独立して行われる、いずれかの先行する態様に記載の方法。

【0230】

11. 対象の子宮内膜症の病期が、米国生殖医学会の改訂版のスコアリングシステム（r-A S R M）に従って、ステージI、ステージII、ステージIII、またはステージIVの子宮内膜症として分類される、態様3～10のいずれかに記載の方法。

20

【0231】

12. 対象の子宮内膜症の病期が、米国生殖医学会の改訂版のスコアリングシステム（r-A S R M）に従って、ステージIまたはステージIIの子宮内膜症として分類される、態様3～11のいずれかに記載の方法。

【0232】

13. 子宮内膜症が、腹膜子宮内膜症、子宮内膜腫、深部浸潤性子宮内膜症、および腺筋症からなる群から選択される、いずれかの先行する態様に記載の方法。

30

【0233】

14. c-K i tのレベルと対照サンプルまたは所定の基準レベルとの比較に基づいて、対象のための治療レジメンを選択することをさらに含む、いずれかの先行する態様に記載の方法。

【0234】

15. 選択された治療レジメンを対象に施すことをさらに含み、任意に、選択された治療レジメンが薬物ベースの治療法および／または外科的処置（腹腔鏡検査）を含む、態様14に記載の方法。

【0235】

16. 対象における子宮内膜症の進行をモニタリングするための方法であって、

40

i. 態様1～15のいずれか一項に記載の方法の工程a)～b)に従って対象由来の生体液サンプルのc-K i tのレベルを決定する工程、

ii. 治療中または治療後に対象から得られた生体液サンプルを使用して一定の時間間隔で工程iを繰り返す工程、および

iii. iで特定されたc-K i tのレベルを、iiで特定されたc-K i tレベルと比較する工程であって、iからiiへのc-K i tレベルの変化が対象における子宮内膜症進行の変化を示す、工程を含む方法。

【0236】

17. 対象の子宮内膜症の治療レジメンの治療効果を決定するための方法であって、

50

i. 態様 1 ～ 15 のいずれか一項に記載の方法の工程 a) ～ b) に従って対象由来の生体液サンプルの c - K i t のレベルを決定する工程、

ii. 治療中または治療後に対象から得られた生体液サンプルを使用して一定の時間間隔で工程 i を繰り返す工程、および

iii. 工程 i で決定された c - K i t のレベルを工程 ii で決定されたものと比較し、c - K i t のレベルが治療後に低下した場合に治療レジメンが治療効果を有することを特定する工程

を含む方法。

【0237】

18. ビジュアルアナログスケール (V A S) に従った月経困難症および／または V A S に従った下腹部痛の評定をさらに含む、いずれかの先行する態様に記載の方法。

【0238】

19. 対象由来の生体液サンプルの C A - 1 2 5 のレベルを決定することをさらに含む、いずれかの先行する態様に記載の方法。

【0239】

20. - c - K i t の量もしくは濃度と C A - 1 2 5 の量もしくは濃度との比、または - c - K i t の量もしくは濃度と月経困難症との比、または

- c - K i t の量もしくは濃度と、C A - 1 2 5 の量もしくは濃度と、月経困難症との比、または

- c - K i t の量もしくは濃度と、V A S スケールに従った下腹部痛との比

を計算することを含む、態様 18 に記載の方法。

【0240】

21. 子宮内膜症が疑われる患者を評定するためのコンピュータ実装方法であって、

(a) 対象のサンプルの第 1 のバイオマーカーのレベルに関する値を受け取る工程であって、当該第 1 のバイオマーカーが c - K i t である、工程、

(b) 対象のサンプルの第 2 のバイオマーカーのレベルに関する値を受け取る工程であって、当該第 2 のバイオマーカーが C A 1 2 5 である、工程、

(c) V A S に従った月経困難症および／または V A S に従った下腹部痛のレベルに関する値を受け取る工程、

(d) 工程 (a) ～ (c) のレベルに関する値を当該バイオマーカーの基準、および月経困難症の量と比較し、および／またはバイオマーカーのレベルおよび月経困難症の量に基づいて子宮内膜症が疑われる対象を評定するためのスコアを計算する工程、ならびに

(e) 工程 (d) で行われた比較および／または計算に基づいて当該対象を評定する工程

を含むコンピュータ実装方法。

【0241】

22. 子宮内膜症のバイオマーカーとしての生体液サンプル中の上昇した c - K i t レベルの使用。

【0242】

23. 生体液サンプルが、血液または血液由来、好ましくは血清である、態様 22 に記載の使用。

【0243】

24. 子宮内膜症を診断および／または分類するためである、態様 22 および 23 に記載の使用。

【0244】

25. c - K i t タンパク質に特異的に結合する少なくとも 1 つの検出可能に標識された薬剤を含む、対象における子宮内膜症を診断および／または分類するためのキット。

【0245】

26. 検出可能に標識された薬剤を検出するための 1 つまたは複数の試薬をさらに含む、態様 25 に記載のキット。

10

20

30

40

50

【0246】

27. 対象において子宮内膜症を診断および／または分類するためのアッセイデバイスであって、デバイスがc-Kitタンパク質に特異的に結合する少なくとも1つの検出可能に標識された薬剤が配置された表面を含む、アッセイデバイス。

【0247】

本発明の態様を、以下の非限定的な実施例により説明する。以下の実施例および図は、本発明の理解を助けるために提供されており、本発明の真の範囲は、添付の特許請求の範囲に記載されている。本発明の要旨から逸脱することなく、記載された手順に改変を加えることができることが理解される。

【実施例】

【0248】

実施例1：子宮内膜症の女性におけるバイオマーカーc-Kitの診断能力

測定のために、ヒトの女性由来の合計250個の血清サンプルを分析した（臨床データについては、本明細書の対応するセクションを参照されたい）。分析物の濃度をELISA（酵素結合免疫吸着アッセイ）によって決定した。症例群は、後続の組織学的確認を伴う腹腔鏡検査によって診断された子宮内膜症（腹膜子宮内膜症、腺筋症、子宮内膜腫、および深部浸潤性子宮内膜症；rASRMステージI～IV）と診断された患者から構成され、また対照群は子宮内膜症のない健常女性を含む。

【0249】

ヒトの血清中のc-Kitの濃度を、Human CD117/c-Kit Quantikine ELISA Kit（R&D Systems、米国（カタログ番号：DSCR00））を使用して求めた。キットは、定量的サンドイッチELISA技術を利用する。マイクロタイタープレートを、ヒトc-Kitに特異的なモノクローナル抗体でプレコートする。サンプルを50倍希釈で測定する。すべての試薬を室温にした後、各サンプルおよび標準液100μLを添加する。サンプルを1連で測定し、標準を2連で測定する。650rpmに設定したマイクロプレートシェーカーで室温で2.5時間インキュベーションする間、存在するいずれかのc-Kitを、マイクロタイタープレートにある固定化された捕捉する抗体に、結合させる。洗浄工程（4×300μL）中に、100μLのc-Kitに特異的な酵素結合モノクローナル抗体をウェルに添加する前に、未結合物質をプレートから除去する。シェーカーにおいて1時間インキュベートし、未結合の検出抗体を除去するために別の洗浄工程を行った後、100μLの基質溶液をプレートに添加する。次の10分以内に、最初の工程で結合したc-Kitの量に比例して発色する。50μLの停止溶液を添加することによって発色を停止させ、プレートリーダーを用いて、検出のために450nmおよびバックグラウンド減算のために570nmで色強度を測定する。検量線を生成するために、キットと共に提供された凍結乾燥組換えc-Kitを再構成し、標準物質希釈液で希釈した。アッセイの校正範囲は、6.14pg/mL～1500pg/mLである。キャリブレーション7（1500pg/mL）を、キャリブレーション希釈剤中の原液の6倍希釈によって調製し、キャリブレーション1に対するキャリブレーション6（6.14pg/mL）を、キャリブレーション希釈剤中の連続2.5倍希釈工程によって調製する。純粋なキャリブレーション希釈剤はブランク（0pg/mL）として機能する。検量線は、重み付けなしの4パラメータ非線形回帰（ニュートン／ラフソン）を用いてフィッティングした。

【0250】

結果を図1に示す。

【0251】

血清c-Kitレベルは、非病理性対照と比較して子宮内膜症のステージIおよびステージIIで徐々に増加し、ステージIIIで減少する。

【0252】

以下の表1において、モデルの能力が、曲線下面積（AUC）を検討することによって決定される。可能な最良のAUCは1であり、可能な最低のAUCは0.5である。最適

10

20

30

40

50

なカットオフを、ヨーデン指数（感度＋特異度の最大和－１）を使用して選択した。

【０２５３】

【表１】

表１：受信者操作特性（ＲＯＣ）分析を使用して、組織学的に子宮内膜症が確認された女性と子宮内膜症がない女性（対照）を識別するためのｃ－Ｋｉｔバイオマーカの診断能力を示しており、ＲＯＣ分析の曲線下面積（ＡＵＣ）および関連する９５％信頼区間を記載している。Ｎは、試験されたサンプルの数を示す（症例＋対照、各群の数は分析物に応じて異なる）。

群比較	AUC (曲線下面積)	95%CI (信頼区間)	N (サンプルの サイズ)	サンプルの タイプ
症候性対照（良性病態なし）対 エンドステージⅠ	0.5616	0.4218～ 0.7015	73	血清
症候性対照（良性病態なし）対 エンドステージⅠⅠ	0.7018	0.5419～ 0.8607	57	血清
症候性対照（良性病態なし）対 エンドステージⅠⅠⅠ	0.5934	0.4551～ 0.7318	71	血清
症候性対照（良性病態なし）対 エンドステージⅠⅣ	0.5906	0.4337～ 0.7474	62	血清
症候性対照（良性病態なし）対 エンドステージⅠ～ⅠⅠ	0.6062	0.4851～ 0.7274	87	血清
症候性対照（良性病態なし）対 エンドステージⅠⅠⅠ～ⅠⅣ	0.5923	0.4735～ 0.7110	90	血清
非病理学的対照対エンドステージ Ⅰ	0.5738	0.4480～ 0.6996	126	血清
非病理学的対照対エンドステージ ⅠⅠ	0.7202	0.5810～ 0.8594	110	血清
非病理学的対照対エンドステージ ⅠⅠⅠ	0.6062	0.4830～ 0.7294	124	血清
非病理学的対照対エンドステージ ⅠⅣ	0.6042	0.4616～ 0.7467	115	血清
非病理学的対照対エンドステージ Ⅰ～ⅠⅠ	0.6042	0.5165～ 0.7242	140	血清
非病理学的対照対エンドステージ ⅠⅠⅠ～ⅠⅣ	0.6054	0.5053～ 0.7055	143	血清

【０２５４】

実施例２：子宮内膜症の女性におけるＣＡ－１２５と比較したバイオマーカ－ｃ－Ｋｉｔの診断能力

さらなる実験では、バイオマーカ－ｃ－Ｋｉｔの能力を現在の標準的なバイオマーカ－ＣＡ－１２５と比較した。

【０２５５】

ＣＡ－１２５の濃度は、ｃｏｂａｓ ｅ６０１分析装置によって決定した。ｃｏｂａｓ ｅ６０１分析装置を用いたＣＡ１２５ⅠⅠの検出は、Ｅｌｅｃｓｙｓ（登録商標）電気化学発光（ＥＣＬ）技術に基づく。簡単に説明すると、ビオチン標識およびルテニウム標識抗体をそれぞれの量の未希釈のサンプルと合わせ、分析装置でインキュベートする。次の

で、ビオチン標識免疫複合体の結合を促進するために、ストレプトアビジン被覆磁性微粒子を加え、装置でインキュベートする。このインキュベーション工程の後、反応混合物を測定セルに移し、そこでビーズを電極の表面に磁氣的に捕捉する。次いで、結合したイムノアッセイ複合体を遊離の残りの粒子から分離するために、その後のECL反応のためのトリプロビルアミン(TPA)を含有するProCell M緩衝液を測定セルに導入する。次いで、作用電極と対電極との間の電圧の誘導は、ルテニウム錯体およびTPAによる光子の放出をもたらす反応を開始させる。得られた電気化学発光シグナルは、光電子増倍管によって記録され、それぞれの分析物の濃度レベルを示す数値に変換される。

【0256】

結果を図2Aおよび図2Bに示す。

【0257】

図2Aおよび2Bのボックスプロットは、ハイスループット多重イムノアッセイ-PCR(OLINKプロテオミクス)分析から得たデータを使用して、対照および子宮内膜症の病期(ステージI、ステージII、ステージIII、ステージIV)のそれぞれについて生成した。データは、中央値(中央四分位)、四分位範囲(群のスコアの中央50%を表す)、上位四分位(スコアの75%が上位四分位を下回る)、下位四分位(スコアの25%が下位四分位を下回る)を含む箱ひげ図を使用して提示される。ひげは、それぞれ5パーセンタイルおよび95パーセンタイルを示す。

【0258】

血清c-Kitは、基準バイオマーカーCA-125と比較して、子宮内膜症の初期段階(ステージI、ステージII)の検出についてより良好な診断能力を示す。

【0259】

以下の表2において、CA-125と比較したバイオマーカーとしてのc-Kitの能力を、初期段階の子宮内膜症(ステージIおよびII)についての両方のバイオマーカーの曲線下面積(AUC)を調べることによって決定する。

【0260】

【表2】

表2：子宮内膜症(ステージIおよびステージII)の女性および対照における血清c-Kitバイオマーカーおよび基準バイオマーカーCA-125の診断能力。CA-125の測定は、近接伸長アッセイPEA法(proximity extension assay)を使用して、OLINKによって行われた。c-Kitレベルを、CD117/c-Kit Quantikine ELISA Kitを使用して測定した。c-Kitレベルは、良性所見、子宮内膜症のステージI、およびステージIIである対照において徐々に増加し、ステージIIIおよびIVに減少して戻る。

群比較	AUC (曲線下面積)	95%CI (信頼区間)	N (サンプルの サイズ)	サンプルの タイプ
c-Kit対照対子宮内膜症 ステージI	0.5738	0.4480～ 0.6996	126	血清
CA-125対照対子宮内膜症 ステージI	0.4662	0.3499～ 0.5825	155	血清
c-Kit対照対子宮内膜症 ステージII	0.7202	0.5810～ 0.8594	110	血清
CA-125対照対子宮内膜症 ステージII	0.6002	0.4340～ 0.7665	138	血清

【0261】

対照に対するステージIおよびステージIIの子宮内膜症のROC分析のAUC値は、血清c-KitのAUC=0.72、AUC=0.57対血清CA-125のAUC=0

． 4 6 \ A U C = 0 . 6 であつた。

【 0 2 6 2 】

血清 c - K i t は、基準バイオマーカー C A - 1 2 5 と比較して、子宮内膜症の初期段階（ステージ I、ステージ I I）の検出についてより良好な診断能力を示す。

【 0 2 6 3 】

コホートに関する臨床データ：

1）子宮内膜症の症例：

a）総コホート数：101人の患者

b）年齢：

【 0 2 6 4 】

【表 3】

年齢	患者数
18～24	1
25～30	22
31～35	26
36～40	31
41～45	15
46～50	5
51～55	1

閉経期（45～50歳）の患者数：7人

c）ホルモン避妊薬／デバイス：

【 0 2 6 5 】

【表 4】

ホルモン避妊薬／ デバイス	患者数
いいえ	58
はい	42
データなし	1

避妊ホルモン／デバイスなし：57．42％

避妊ホルモン／デバイスの利用：41．58％

d）子宮内膜症のタイプおよび関連障害：

【 0 2 6 6 】

【表 5】

子宮内膜症のタイプ／ 障害	患者数
腹膜子宮内膜症	81
腺筋症：	22
子宮内膜腫：	6
深部浸潤性子宮内膜症：	5

e）子宮内膜症の病期：

【 0 2 6 7 】

10

20

30

40

50

【表 6】

ステージ	患者数
ステージⅠ：	33
ステージⅡ：	13
ステージⅢ：	26
ステージⅣ：	19

f) 月経痛スコア：

10

【0268】

【表 7】

月経痛スコア
データなし：38
月経痛VAS=10：7
月経痛VAS=9：11
月経痛VAS=8：11
月経痛VAS=7：13
月経痛VAS=6：6
月経痛VAS=5：3
月経痛VAS=4：2
月経痛VAS=3：5
月経痛VAS=2：3
月経痛VAS=1：1
月経痛VAS=0：1

20

患者の88.11%が(VAS≥5)を有する

【0269】

30

2) 子宮内膜症なしの症例、重度の疼痛(「症候性対照」)：

a) 総コホート数：65人の患者

b) 年齢：

【0270】

【表 8】

年齢	患者数
18～24	13
25～30	14
31～35	10
36～40	15
41～45	8
46～50	5
51～55	0

40

閉経期(45～50歳)の患者数：6名

c) ホルモン避妊薬/デバイス：

【0271】

50

【表 9】

ホルモン避妊薬／ デバイス	患者数
いいえ	4 2
はい	2 1
データなし	2

避妊ホルモン／デバイスなし：6 4．6 1 %
避妊ホルモン／デバイスの利用：3 2．3 0 %
d) 月経痛スコア：

10

【 0 2 7 2 】

【表 1 0】

月経痛スコア
データなし：0
月経痛VAS＝1 0：9
月経痛VAS＝9：1 7
月経痛VAS＝8：1 5
月経痛VAS＝7：2 4
月経痛VAS＝6：0
月経痛VAS＝5：0
月経痛VAS＝4：0
月経痛VAS＝3：0
月経痛VAS＝2：0
月経痛VAS＝1：0
月経痛VAS＝0：0

20

患者の1 0 0 %が有する（VAS≧7）

30

【 0 2 7 3 】

3) 子宮内膜症なし、疼痛なし（「非病理学的対照」）：
a) 総コホート数：8 4 人の患者
b) 年齢：

【 0 2 7 4 】

【表 1 1】

年齢	患者数
1 8～2 4	0
2 5～3 0	1 4
3 1～3 5	2 4
3 6～4 0	1 5
4 1～4 5	1 6
4 6～5 0	1 1
5 1～5 5	4

40

閉経期（4 5～5 0 歳）の患者数：1 3 人
c) ホルモン避妊薬／デバイス：

50

【 0 2 7 5 】
【 表 1 2 】

ホルモン避妊薬／ デバイス	患者数
いいえ	6 2
はい	2 0
データなし	2

避妊ホルモン／デバイスなし： 7 3 . 8 %
避妊ホルモン／デバイスの利用： 2 3 . 8 %
d) 月経痛スコア：

【 0 2 7 6 】
【 表 1 3 】

月経痛スコア
データなし： 0
月経痛VAS＝1 0： 0
月経痛VAS＝9： 0
月経痛VAS＝8： 0
月経痛VAS＝7： 0
月経痛VAS＝6： 0
月経痛VAS＝5： 0
月経痛VAS＝4： 0
月経痛VAS＝3： 0
月経痛VAS＝2： 2 3
月経痛VAS＝1： 1 6
月経痛VAS＝0： 4 5

患者の 1 0 0 %が有する (VAS ≤ 2)

10

20

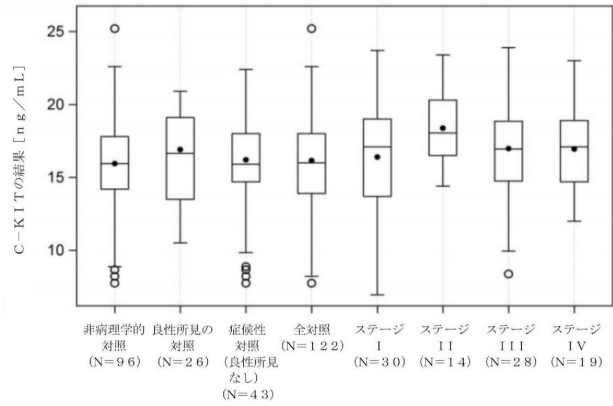
30

40

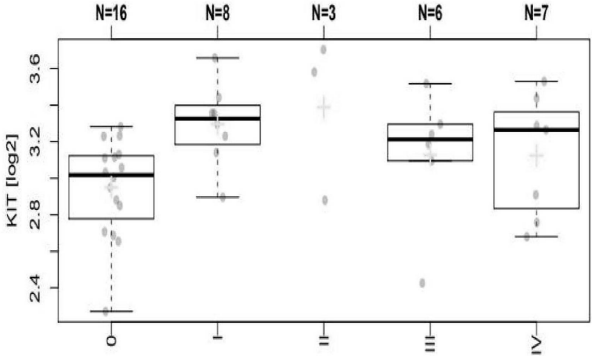
50

【図面】

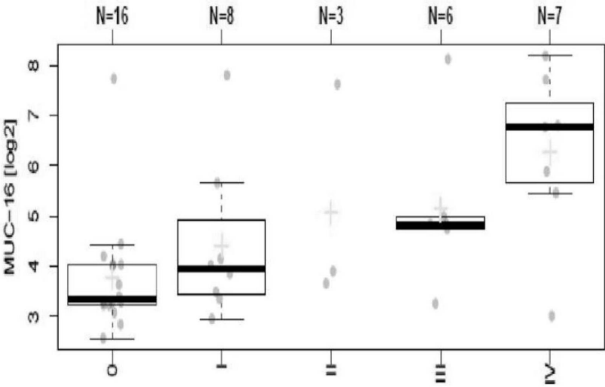
【図 1】



【図 2 A】



【図 2 B】



10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/067108

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N33/68
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	UZAN C ET AL: "Endometrium from women with and without endometriosis, and peritoneal, ovarian and bowel endometriosis, show different c-kit protein expression", JOURNAL OF REPRODUCTIVE IMMUNOLOGY, ELSEVIER SCIENCE IRELAND LTD, IE, vol. 65, no. 1, 1 February 2005 (2005-02-01), pages 55-63, XP027670798, ISSN: 0165-0378 [retrieved on 2005-02-01]	15
A	table 1 ----- -/--	1-14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 August 2023

Date of mailing of the international search report

05/09/2023

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rosin, Oliver

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/067108

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	TEIRUCHELVAM UMA ET AL: "Increased uNK Progenitor Cells in Women With Endometriosis and Infertility are Associated With Low Levels of Endometrial Stem Cell Factor", AMERICAN JOURNAL OF REPRODUCTIVE IMMUNOLOGY, vol. 75, no. 4, 20 January 2016 (2016-01-20), pages 493-502, XP055814777, US ISSN: 1046-7408, DOI: 10.1111/aji.12486 figures 1-2	15
A	-----	1-14
Y	ARIANNA PACCHIAROTTI ET AL: "Expression of oct-4 and c-kit antigens in endometriosis", FERTILITY AND STERILITY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 95, no. 3, 13 October 2010 (2010-10-13), pages 1171-1173, XP028147771, ISSN: 0015-0282, DOI: 10.1016/J.FERTNSTERT.2010.10.029 [retrieved on 2010-10-18]	15
A	table 1	1-14
Y	VICKI NISENBLAT ET AL: "CD012179 Blood biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis", COCHRANE DATABASE OF SYSTEMATIC REVIEWS, no. 5, 1 January 2016 (2016-01-01), pages 1-631, XP055721227, GB ISSN: 1469-493X, DOI: 10.1002/14651858.CD012179	15
A	the whole document	1-14
Y	SINGH PUSHPA ET AL: "Molecular Insights into Endometrial Cancer in Mice", STEM CELL REVIEWS AND REPORTS, SPRINGER US, NEW YORK, vol. 18, no. 5, 7 April 2022 (2022-04-07), pages 1702-1717, XP037892459, ISSN: 2629-3269, DOI: 10.1007/s12015-022-10367-3 [retrieved on 2022-04-07]	15
A	figure 7	1-14
13	T WO 2022/207628 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; ROCHE DIAGNOSTICS GMBH [DE] ET AL.) 6 October 2022 (2022-10-06)	
2	----- -/--	

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/067108

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PERRICOS ALEXANDRA ET AL: "Does the Use of the "Proseek Multiplex Oncology I Panel" on Peritoneal Fluid Allow a Better Insight in the Pathophysiology of Endometriosis, and in Particular Deep-Infiltrating Endometriosis?", JOURNAL OF CLINICAL MEDICINE, vol. 9, no. 6, 26 June 2020 (2020-06-26), page 2009, XP055863373, CH ISSN: 2077-0383, DOI: 10.3390/jcm9062009 chapter 2.1; tab 1, 3; page 9 -----	15
Y	CHANG JUI-HUNG ET AL: "Expression of the pluripotent transcription factor OCT4 promotes cell migration in endometriosis", FERTILITY AND STERILITY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 99, no. 5, 3 January 2013 (2013-01-03), page 1332, XP028527173, ISSN: 0015-0282, DOI: 10.1016/J.FERTNSTERT.2012.11.033 the whole document -----	15
Y	WO 2021/013786 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; ROCHE DIAGNOSTICS GMBH [DE] ET AL.) 28 January 2021 (2021-01-28) the whole document -----	15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2023/067108

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.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
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:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

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

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

see additional sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically 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.:

30

40

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 Application No. PCT/EP2023/067108

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-14

Methods in the context of endometriosis, where fluid-based levels of c-kit are determined and compared to reference values.

2. claim: 15

Computer-implemented method for assessing a patient with suspected endometriosis.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				International application No PCT/EP2023/067108	
Information on patent family members					
Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 2022207628	A1	06-10-2022	NONE		

WO 2021013786	A1	28-01-2021	CN 114144676 A		04-03-2022
			EP 4004555 A1		01-06-2022
			JP 2022542056 A		29-09-2022
			US 2022137058 A1		05-05-2022
			WO 2021013786 A1		28-01-2021

10

20

30

40

50

フロントページの続き

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

- (72)発明者 フロール, アルジョシャ・ミヒャエル
ドイツ国 8 2 3 7 7 ペンツベルク, ノンネンバルト 2, ロシュ ダイアグノスティックス ゲー
エムベーハー
- (72)発明者 ゲオルゴブルー, エカテリーニ
スイス国 6 3 4 3 ロートクロイツ ツェットゲー, フォルレンシュトラッセ 2, ロシュ ダイア
グノスティックス インターナツィオナール アクチェンゲゼルシャフト
- (72)発明者 ゲノン, リム
スイス国 6 3 4 3 ロートクロイツ ツェットゲー, フォルレンシュトラッセ 2, ロシュ ダイア
グノスティックス インターナツィオナール アクチェンゲゼルシャフト
- (72)発明者 フント, マルティン
スイス国 6 3 4 3 ロートクロイツ ツェットゲー, フォルレンシュトラッセ 2, ロシュ ダイア
グノスティックス インターナツィオナール アクチェンゲゼルシャフト
- (72)発明者 クラマー, マルティン
ドイツ国 8 2 3 7 7 ペンツベルク, ノンネンバルト 2, ロシュ ダイアグノスティックス ゲー
エムベーハー

F ターム (参考) 2G045 AA13 AA25 CA26 DA36 FB03