

(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2015-520383

(P2015-520383A)

(43) 公表日 平成27年7月16日(2015.7.16)

(51) Int.Cl.

GO 1 N 33/68 (2006.01)

F 1

GO 1 N 33/68

テーマコード(参考)

2 GO 4 5

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 30 頁)

(21) 出願番号	特願2015-516117 (P2015-516117)
(86) (22) 出願日	平成25年6月4日 (2013.6.4)
(85) 翻訳文提出日	平成27年1月30日 (2015.1.30)
(86) 國際出願番号	PCT/US2013/044075
(87) 國際公開番号	W02013/184660
(87) 國際公開日	平成25年12月12日 (2013.12.12)
(31) 優先権主張番号	61/655,322
(32) 優先日	平成24年6月4日 (2012.6.4)
(33) 優先権主張國	米国(US)

(71) 出願人	510206198 バイオメット、バイオロジクス、リミテッド、ライアビリティー、カンパニー B I O M E T B I O L O G I C S, L LC アメリカ合衆国インディアナ州、ワルソー、ペル、ドライブ、56、イー。
(74) 代理人	100117787 弁理士 勝沼 宏仁
(74) 代理人	100091487 弁理士 中村 行季
(74) 代理人	100120617 弁理士 浅野 真理
(74) 代理人	100126099 弁理士 反町 洋

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】変形性関節症を診断するための方法

## (57) 【要約】

ヒトまたはその他の哺乳類被験体において、変形性関節症を管理するための方法であつて、被験体の組織サンプルにおける、血小板由来増殖因子 A B ( P D G F - A B )、血小板由来増殖因子 B B ( P D G F - B B )、および上皮細胞増殖因子 ( E G F ) のうち 1 以上を含む特定のサイトカインおよび増殖因子の測定を含んでなる方法。組織サンプルは、全血、血液画分、尿、唾液、および滑液であり得る。方法は、変形性関節症を診断すること、および X 線学的方法またはその他の方法を用いて変形性関節症を有すると診断された被験体におけるなど、変形性関節症の重篤度を評価するための方法を含む。方法はまた、測定されたサイトカインレベルと参照レベルを比較することを含み得る。変形性関節症の臨床進行を管理する方法は、測定されたサイトカインレベルと参照レベルの間の差異に基づいて臨床行為を開始することを含む。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

哺乳類被験体において変形性関節症を評価するための方法であって、前記被験体の組織サンプルにおいて、血小板由来増殖因子A B ( P D G F - A B )、血小板由来増殖因子B B ( P D G F - B B )、上皮細胞増殖因子( E G F )、およびそれらの組合せからなる群から選択されるサイトカインの濃度を測定することを含んでなる、方法。

**【請求項 2】**

前記サイトカインが P D G F - A B を含んでなる、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

前記サイトカインが P D G F - B B を含んでなる、請求項 1 または 2 に記載の方法。 10

**【請求項 4】**

前記サイトカインが E G F を含んでなる、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記サイトカインが前記の群から選択される複数のサイトカインを含んでなる、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記組織サンプルが全血、血液画分、尿、唾液、滑液、およびそれらの組合せからなる群から選択される、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記組織サンプルが全血または全血画分である、請求項 6 に記載の方法。 20

**【請求項 8】**

前記サイトカインの濃度をサイトカイン参照レベルと比較することをさらに含んでなる、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記サイトカイン参照レベルが哺乳類被験体集団におけるサイトカインの組織サンプル濃度の平均値または中央値である、請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記哺乳類被験体集団が変形性関節症を持たない被験体の集団である、請求項 9 に記載の方法。 30

**【請求項 11】**

前記組織サンプルが全血または血液画分であり、前記サイトカイン参照レベルが全血中濃度において約 6 ~ 約 1 7 n g / m l の P D G F - A B を含んでなる、請求項 10 に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記組織サンプルが全血または血液画分であり、前記サイトカイン参照レベルが全血中濃度において約 1 . 9 ~ 約 7 n g / m l の P D G F - B B を含んでなる、請求項 10 または請求項 11 に記載の方法。

**【請求項 13】**

前記組織サンプルが全血または血液画分であり、前記サイトカイン参照レベルが全血中濃度において約 1 1 0 ~ 約 4 2 0 n g / m l の E G F を含んでなる、請求項 10 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の方法。 40

**【請求項 14】**

前記サイトカイン参照レベルにおけるサイトカイン濃度が X 線学的指標と相關している、請求項 8 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 15】**

前記 X 線学的指標が関節裂隙狭小化、骨棘の存在、軟骨下骨硬化、軟骨下骨囊胞、およびそれらの組合せからなる群から選択される、請求項 14 に記載の方法。

**【請求項 16】**

前記サイトカイン参照レベルが、測定時よりも前の時点で被験体から得られた組織サンプル中のサイトカイン濃度である、請求項 8 に記載の方法。 50

**【請求項 17】**

前の時点が少なくとも約4週間、または少なくとも約3か月、または少なくとも約6か月、または少なくとも1年である、被験体における変形性関節症の進行を監視するための請求項16に記載の方法。

**【請求項 18】**

前記被験体において変形性関節症を診断するための、請求項1～17のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 19】**

前記被験体が関節痛、関節硬直、関節損傷、X線学的異形、およびそれらの組合せからなる群から選択される変形性関節症症状を有する、請求項18に記載の方法。

10

**【請求項 20】**

前記被験体において変形性関節症の重篤度を評価するための、請求項1～19のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 21】**

前記被験体が変形性関節症を有すると事前に診断されている、請求項20に記載の方法。

**【請求項 22】**

前記被験体の組織サンプル中のサイトカイン濃度をサイトカイン参照レベルと比較すること、およびその比較の結果に基づいて重篤度指数値を決定することをさらに含んでなる、請求項1、18または20に記載の方法。

20

**【請求項 23】**

前記サイトカイン参照レベルが、測定時よりも前の時点で前記被験体から得られた組織サンプル中のサイトカイン濃度である、請求項19に記載の方法。

**【請求項 24】**

前記被験体において関節のX線学的測定を行うことをさらに含んでなる、請求項1に記載の方法。

**【請求項 25】**

前記被験体が変形性関節症の症状を示す、請求項1～24のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 26】**

前記濃度が酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）を用いて決定される、請求項1～25のいずれか一項に記載の方法。

30

**【請求項 27】**

前記被験体がヒトである、請求項1～26のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 28】**

前記被験体が伴侶動物、使役動物、または競技動物である、請求項1～27のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 29】**

哺乳類被験体において変形性関節症を評価する方法であつて、

(a) 前記被験体から得られた第1の血液サンプル中のサイトカインレベルを測定すること；

(b) 前記被験体から得られた第2の血液サンプル中のサイトカインレベルを測定すること；および

(c) 第1のサンプル中のサイトカインレベルと第2のサンプル中のサイトカインレベルを比較して、サイトカインレベルの変化を決定することを含んでなり、ここで、

(d) 前記サイトカインは、血小板由来増殖因子AB（PDGF-AB）、血小板由来増殖因子BB（PDGF-BB）、上皮細胞増殖因子（EGF）、およびそれらの組合せからなる群から選択される、方法。

40

**【請求項 30】**

50

( i ) 第 1 のサンプル中のサイトカインレベルを測定する時点で、前記被験体の関節の第 1 の X 線学的評価を行うこと；

( i i ) 第 2 のサンプル中のサイトカインレベルを測定する時点で、前記被験体の関節の第 2 の X 線学的評価を行うこと；

( i i i ) 第 1 の X 線学的評価と第 2 の X 線学的評価を比較して、X 線学的变化を決定すること；および

( i v ) X 線学的变化をサイトカインレベルの变化と相關させることをさらに含んでなる、哺乳類被験体において変形性関節症の進行を監視するための請求項 2 9 に記載の方法。

**【請求項 3 1】**

第 2 の血液サンプルが、第 1 の血液サンプルが得られた後、少なくとも 4 週間の時点で得られる、請求項 2 9 または 3 0 に記載の方法。

**【請求項 3 2】**

哺乳類被験体において変形性関節症の臨床進行を管理する方法であって、

( a ) 前記被験体の血液において、血小板由来増殖因子 A B ( P D G F - A B ) 、血小板由来増殖因子 B B ( P D G F - B B ) 、上皮細胞増殖因子 ( E G F ) 、およびそれらの組合せからなる群から選択されるサイトカインの濃度を測定すること；

( b ) 前記サイトカイン濃度とサイトカイン参照レベルを比較して、サイトカインレベルの変動を決定すること；および

( c ) そのサイトカインレベルの変動に基づいて臨床行為を開始することを含んでなる、方法。

**【請求項 3 3】**

前記臨床行為が、治療計画の投与の開始、治療計画の時機の変更、治療計画のレベルの変更、治療計画の終了、およびそれらの組合せの群から選択される、請求項 3 2 に記載の方法。

**【請求項 3 4】**

前記治療計画が、インターロイキン - 1 受容体拮抗薬 ( I L - 1 r a ) および可溶性腫瘍壞死因子受容体 I を含んでなる抗炎症性組成物の投与を含んでなる、請求項 3 3 に記載の方法。

**【請求項 3 5】**

前記抗炎症性組成物が、

i ) 少なくとも約 1 0 , 0 0 0 p g / m l の濃度のインターロイキン - 1 受容体拮抗薬 ( I L - 1 r a ) ；

( i i ) 少なくとも約 1 , 2 0 0 p g / m l の濃度の可溶性腫瘍壞死因子受容体 1 ( s T N F - R 1 ) ；および

( i i i ) s T N F - R I I 、 I G F - I 、 E G F 、 H G F 、 P D G F - A B 、 P D G F - B B 、 V E G F 、 T G F - 1 、および s I L - 1 R I I 、およびそれらの混合物からなる群から選択されるタンパク質 ( ここで、組成物中の該タンパク質の濃度は、通常の血液中の該タンパク質の濃度より高い )

を含んでなる、請求項 3 4 に記載の方法。

**【請求項 3 6】**

前記哺乳類被験体がヒトである、請求項 3 2 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 3 7】**

前記哺乳類被験体が伴侶動物、使役動物、または競技動物である、請求項 3 2 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 3 8】**

前記サイトカイン参照レベルが、測定時よりも前の時点で被験体から得られた血液中のサイトカイン濃度である、請求項 3 2 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 3 9】**

前の時点が少なくとも約 4 週間、または少なくとも約 3 か月、または少なくとも約 6 か

10

20

30

40

50

月、または少なくとも約1年である、被験体における変形性関節症の進行を監視するための請求項38に記載の方法。

【請求項40】

重篤度指指数値が前記比較の結果に基づいて決定される、請求項32～39のいずれか一項に記載の方法。

【請求項41】

前記サイトカイン参照レベルが哺乳類被験体集団におけるサイトカインの血中濃度の平均値または中央値である、請求項32～37のいずれか一項に記載の方法。

【請求項42】

前記哺乳類被験体集団が変形性関節症を持たない被験体の集団である、請求項41に記載の方法。 10

【請求項43】

前記サイトカイン参照レベルが全血中濃度において約6～約17ng/mlのPDGF-ABを含んでなる、請求項42に記載の方法。

【請求項44】

前記サイトカイン参照レベルが全血中濃度において約2～約7ng/mlのPDGF-BBを含んでなる、請求項42または43に記載の方法。

【請求項45】

前記サイトカイン参照レベルが全血中濃度において約110～約420pg/mlのEGFを含んでなる、請求項42～44のいずれか一項に記載の方法。 20

【請求項46】

前記被験体が変形性関節症を有すると事前に診断されている、請求項41～45のいずれか一項に記載の方法。

【請求項47】

前記被験体が関節痛、関節硬直、関節損傷、X線学的異形、およびそれらの組合せからなる群から選択される変形性関節症症状を有する、請求項46に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

変形性関節症は、主として関節痛に関連する潜在的に消耗性の疾患である。変形性関節症はまた、関節圧痛、腫脹硬直、筋肉衰弱、および柔軟性の喪失も特徴とし得る。関節リウマチとは違い、変形性関節症は全身性疾患ではなく、むしろ、変形性関節症の症状は通常、罹患関節に限局される。関節の重大な軟骨欠損が関節の奇形を招くことがあり、これが関節の不安定性を引き起こし得る。 30

【0002】

現在のところ、その進行を遅延させるまたは予防する働きをする一般的な治療選択肢は存在しない。変形性関節症は鋭意研究されているが、何が変形性関節症を発症させるのか明らかな答えは依然として無く、加齢、関節の酷使、肥満、および遺伝などの因子が全て、この疾患の発症に役割を果たしている可能性がある。さらに、変形性関節症が単一の疾患なのか、または密接に関連する経路を持ついくつかの疾患の組合せなのかも決定されていない。 40

【0003】

変形性関節症は、現在、関節裂隙狭小化の所見によるなどのX線学的方法によって診断されている。残念ながら、この診断は、患者がすでに軟骨量を失い始め、関節裂隙狭小化を来すまで実現しない。インターロイキン-1(IL-1)および腫瘍壞死因子-(TNF-)などのいくつかの炎症性サイトカインは、変形性関節症の発症に中枢的な役割を果たすことが知られている。しかしながら、ヒトおよび動物血液中には無数の増殖因子が存在する。これらの増殖因子の濃度は複数の因子によって変動し得る。よって、ある任意の臨床対象において変形性関節症の存在を診断するための基礎としてこれらいずれかの因子の測定を使用することは極めて困難である。 50

**【発明の概要】****【0004】**

本技術は、ヒトまたはその他の哺乳類被験体において変形性関節症を管理するための方法を提供する。これらの方法は、被験体の組織サンプルにおける、血小板由来増殖因子A B ( P D G F - A B )、血小板由来増殖因子B B ( P D G F - B B )、および上皮細胞増殖因子 ( E G F ) のうち 1 以上を含む、ある特定のサイトカインおよび増殖因子の測定を含んでなる。組織サンプルは、全血、血液画分、尿、唾液、滑液、およびそれらの組合せからなる群から選択され得る。このような方法は、変形性関節症を診断するためのもの、および X 線学的方法またはその他の方法を用いて変形性関節症を有すると診断された被験体におけるなど、変形性関節症の重篤度を評価するための方法を含む。

10

**【0005】**

いくつかの実施形態では、方法はさらに、サイトカイン濃度とサイトカイン参照レベルを比較することを含んでなる。サイトカイン参照レベルは、変形性関節症を持たない被験体集団などの哺乳類被験体集団におけるサイトカインの組織サンプル濃度の平均値または中央値であり得る。参照レベルは、測定時よりも前の時点での被験体から得られた組織サンプル中のサイトカイン濃度であり得る。

**【0006】**

いくつかの実施形態では、本方法は、

( a ) 前記被験体から得られた第 1 の血液サンプル中のサイトカインレベルを測定すること；

( b ) 前記被験体から得られた第 2 の血液サンプル中のサイトカインレベルを測定すること；および

( c ) 第 1 のサンプル中のサイトカインレベルと第 2 のサンプル中のサイトカインレベルを比較して、サイトカインレベルの変化を決定することを含んでなり、ここで、

( d ) 前記サイトカインは、血小板由来増殖因子A B ( P D G F - A B )、血小板由来増殖因子B B ( P D G F - B B )、上皮細胞増殖因子 ( E G F )、およびそれらの組合せからなる群から選択される。

20

**【0007】**

このような方法は、

( i ) 第 1 のサンプル中のサイトカインレベルを測定する時点で、前記被験体の関節の第 1 の X 線学的評価、またはその他の P D G F もしくは E G F に基づかない診断評価を行うこと；

( i i ) 第 2 のサンプル中のサイトカインレベルを測定する時点で、前記被験体の関節の第 2 の X 線学的評価、またはその他の P D G F もしくは E G F に基づかない診断評価を行うこと；

( i i i ) 第 1 の評価と第 2 の評価を比較して、X 線学的变化を決定すること；および

( i v ) X 線学的变化をサイトカインレベルの変化と相關させることをさらに含んでなり得る。

**【0008】**

本技術はまた、哺乳類被験体において変形性関節症の臨床進行を管理する方法であって、

( a ) 前記被験体の血液において、血小板由来増殖因子A B ( P D G F - A B )、血小板由来増殖因子B B ( P D G F - B B )、上皮細胞増殖因子 ( E G F )、およびそれらの組合せからなる群から選択されるサイトカインの濃度を測定すること；

( b ) 前記サイトカイン濃度とサイトカイン参照レベルを比較して、サイトカインレベルの変動を決定すること；および

( c ) そのサイトカインレベルの変動に基づいて臨床行為を開始することを含んでなる方法も提供する。

30

**【0009】**

40

50

臨床行為は、治療計画の投与の開始、治療計画の時機の変更、治療計画のレベルの変更、治療計画の終了、およびそれらの組合せの群から選択され得る。治療計画は、インターロイキン-1受容体拮抗薬(IL-1ra)および可溶性腫瘍壞死因子受容体Iを含んでなる抗炎症性組成物の投与を含んでなり得る。

**【発明の具体的説明】**

**【0010】**

以下の技術の記載は、本質的に、1以上の発明の主題、製造および使用の単なる例示であり、本出願の優先権を主張して出願され得るようなその他の出願、またはそれからの登録特許で特許請求される具体的な発明のいずれの範囲、適用または使用も限定することを意図しない。本技術の理解を助けるために意図される語句の非限定的な記述は、本詳細な説明の末尾に提供される。

10

**【0011】**

**評価方法**

本技術は、哺乳類被験体において変形性関節症を評価するための方法を提供する。このような方法としては、ヒトおよびその他の哺乳類被験体において、変形性関節症を診断する方法、変形性関節症を発症する感受性を評価する方法、および変形性関節症の進行を監視する方法が含まれる。その他の哺乳類被験体としては、伴侶動物、使役動物、または競技動物、例えば、イヌ、ネコおよびウマが含まれる。

**【0012】**

変形性関節症の従来のX線学的指標は感度が低く、疾患がかなり進行した後に初めて変形性関節症の存在を明らかにできるに過ぎない。このような当技術分野の方法を用いて初期段階の変形性関節症を診断することには、被験体におけるX線学的变化を定義および観察することが困難なために問題がある。本技術の方法は、発症段階および進行した段階において変形性関節症を診断することを可能とする。血小板由来増殖因子AB(PDGFA-B)の濃度は、関節裂隙狭小化、骨棘の存在、軟骨下骨硬化および軟骨下骨囊胞を含む、変形性関節症患者の変形性関節症指標と特に相関がある。下表は、変形性関節症指標を呈さないか、1つ、2つまたは3つを呈する被験体の、例としての平均PDGF-A-B、PDGF-BBおよびEGF濃度を示す。

20

**【0013】**

**【表1】**

30

変形性関節症 指標の数	平均PDGF-AB 濃度 (ng/ml)	平均PDGF-BB 濃度 (ng/ml)	平均EGF濃度 (pg/ml)
0	22.5	6.7	452
1	18.7	6.0	450
2	15.7	4.8	350
3	14.5	4.9	306

40

**【0014】**

血中またはその他の組織サンプル中の種々のサイトカインおよび増殖因子の基礎レベルでの変化を監視することにより、変形性関節症の早期検出を行うことができる。被験体に対して十分早期に行えば、X線学的に明らかになる前に変形性関節症を検出することができる。従って、その進行の予防または緩徐化を達成することができる。変形性関節症の早期検出は、病態が重大になる前の医学的加入を可能とする。

50

## 【0015】

種々の実施形態では、本方法は、サイトカインおよび増殖因子のベースラインレベルを確立するために、一定の期間にわたって、すなわち、数週間か、数ヶ月か、または数年か繰り返すことができる。これらのレベルの変化は変形性関節症の発症を示す。このような方法は、変形性関節症を発症するリスクのある被験体、例えば、変形性関節症を発症する遺伝的環境リスクを有する被験体に特に有益である。このようなリスクの例としては、肥満、遺伝的素因、および過去の関節外傷が含まれる。

## 【0016】

変形性関節症に関連する疼痛を有する全ての患者が疾患のX線学的エビデンスを示すが、疾患のX線学的エビデンスを示す全ての患者が疼痛を有するわけではない。有利には、本明細書に記載の方法は、変形性関節症リスクと疼痛から見た重篤度またはX線学的エビデンスに対して別個の指標を与える診断ツールを提供する。従って、本診断方法は、個別化された臨床行為または治療を可能とする。例えば、疾患進行を追跡することができ、臨床行為が機能しているかどうかについて決定を下すことができ、従って、その臨床行為に対する調整を行うことができる。変形性関節症の重篤な病期では、以下にさらに記載するように、患者に攻撃的な療法、または複数の療法を投与することができる。重篤度の低い病期では、患者に攻撃性の低い療法を投与することができる。

10

## 【0017】

哺乳類被験体において変形性関節症を評価するための方法は、被験体の組織サンプルにおいて、血小板由来増殖因子A B ( P D G F - A B )、血小板由来増殖因子B B ( P D G F - B B )、上皮細胞増殖因子 ( E G F )、およびそれらの組合せからなる群から選択されるサイトカインの濃度を測定することを含んでなる。その後、この測定は、医師またはその他の医療提供者によって、医薬品の臨床試験の実施の基準に一致する任意の様式で、変形性関節症の評価、および前記疾患の管理に使用され得ると理解される。いくつかの実施形態では、哺乳類被験体において変形性関節症を評価するための方法は、サイトカインの組織レベルを測定すること、およびそのレベルとサイトカイン参照レベルを比較することを含んでなり、この場合、参照レベルから逸脱する測定レベルが、被験体における、変形性関節症の存在、関節炎に対する感受性、または関節炎の進行を示す。

20

## 【0018】

サイトカインの組織レベルを測定するために使用可能な組織の例としては、血液、尿、唾液、および滑液が含まれる。用語「血液」は、全血および全血画分、例えば、血清、血漿、多血小板血漿、および乏血小板血漿を含むと理解される。

30

## 【0019】

種々の実施形態では、サイトカイン参照レベルは、第2の診断（すなわち、P D G F - A B、P D G F - B B および E G F の測定を用いない診断）を用いた変形性関節症の指標と相関させる。このような診断としては、関節裂隙狭小化、骨棘の存在、軟骨下骨硬化、軟骨下骨囊胞、またはそれらの組合せなどのX線学的指標を含み得る。サイトカイン参照レベルは、被験体の診断または治療におけるさらなる工程の指標となる閾値レベルとして働き得る。このような工程は、付加的診断を行うこと、被験体のさらなる監視（例えば、一定の期間にわたっての本技術の方法またはその他の方法を用いた反復試験）、または以下に述べるように治療計画またはその他の臨床行為を開始することを含み得る。

40

## 【0020】

いくつかの実施形態では、サイトカイン参照レベルは、哺乳類被験体集団または測定を受けている被験体におけるサイトカインの組織濃度を反映する。例えば、サイトカイン参照レベルは、変形性関節症を持たない哺乳類被験体集団（すなわち、その方法の被験体と同種の被験体）の組織サンプル（例えば、血液レベル）中のサイトカインの平均値または中央値であり得る。例えば、P D G F - A B 参照レベルは、約 6 n g / m l ~ 約 1 7 n g / m l の全血中濃度であり得、P D G F - B B 参照レベルは、約 2 n g / m l ~ 約 7 n g / m l の全血中濃度であり得、E G F 参照レベルは、約 1 1 0 p g / m l ~ 約 4 2 0 p g / m l の全血中濃度であり得る。このような参照レベルは統計変動を受け、診断または治

50

療におけるさらなる工程の閾値は、参照レベルから統計標準偏差を反映し得ると理解される。例えば、閾値は、臨床試験において測定される被験体集団のサイトカインの平均濃度にその試験の測定の標準偏差の2倍に等しい濃度を加えたものに相当し得る。いくつかの方法では、PDGF-AB、PDGF-BBおよびEGFのうち2つ以上が閾値、例えば上記に示される値より小さければ、診断または治療のためのさらなる工程を行うことができる。

#### 【0021】

いくつかの実施形態では、サイトカイン参照レベルは、測定時よりも前の時点での被験体から得られた組織中のサイトカイン濃度である。よって、本方法は、

(a) 前記被験体から得られた第1の血液サンプル中のサイトカインレベルを測定すること；  
10

(b) 前記被験体から得られた第2の血液サンプル中のサイトカインレベルを測定すること；および

(c) 第1のサンプル中のサイトカインレベルと第2のサンプル中のサイトカインレベルを比較して、サイトカインレベルの変化を決定すること  
を含んでなってよく、ここで、

(d) 前記サイトカインは、血小板由来増殖因子AB(PDGF-AB)、血小板由来増殖因子BB(PDGF-BB)、上皮細胞増殖因子(EGF)、およびそれらの組合せからなる群から選択される。

#### 【0022】

測定時よりも前の時点（すなわち、第1のサンプルにおける測定と第2のサンプルにおける測定の間の時点）は、数日から、数週間、数ヶ月、数年というものであります。例えば、前の時点は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約6週間、約2か月、約3か月、4か月、約6か月、約9か月、約1年、約1.5年、約2年、または約5年であります。種々の実施形態では、測定時よりも前の時点は、少なくとも4週間、少なくとも6か月、または少なくとも約1年である。被験体に特異的なサイトカイン参照レベルを使用することにより、被験体のサイトカインプロファイルの小さな変化を確立することができる。これらの小さな変化は、変形性関節症の発症を診断するため、または変形性関節症の進行を監視するために使用することができる。変化が変形性関節症の発症を示す場合には、その疾患の進行を予防または緩和化するように被験体を治療することができる。  
30

#### 【0023】

いくつかの方法では、PDGF-ABが閾値、例えば、約2～約32ng/ml；約5～約30ng/ml、約6～約17ng/ml、約8～約23ng/ml、または約16～約26ng/mlの値より小さければ、診断または治療のためのさらなる工程を行うことができる。例えば、PDGF-AB閾値は、約1.9、2、4.9、5、6、8、8.2、13、13.8、14、14.2、14.5、14.7、15、15.7、16、16.6、16.7、17、18.7、19、20、22.5、23、23.4、23.8、24、25.6、26、31、31.1、31.7、または32ng/mlであり得る。いくつかの方法では、PDGF-BBが閾値、例えば、約1～約16ng/ml、約2～約11ng/ml、約2～約10ng/ml、または約2～約7ng/mlの値より小さければ、診断または治療のためのさらなる工程を行うことができる。例えば、PDGF-BB閾値は、約1、1.6、1.9、2、3.7、4、4.8、4.9、5、5.6、6、6.4、6.6、6.7、6.8、7、または9、9.1、8.6、9、10、11、11.1、16、または16.1ng/mlであり得る。いくつかの方法では、EGFが閾値、例えば、約87～約1300pg/ml、約130～約780pg/ml、約175～約770pg/ml、約185～約700pg/ml、または約110～約420pg/mlの値より小さければ、診断または治療のためのさらなる工程を行うことができる。例えば、EGF閾値は、約87、90、110、112、130、175、180、190、300、306、310、350、400、415、418、420、425、430、450、452、470、476、480、565、570、600、730、  
40

820、824、または830 pg/mlであり得る。

#### 【0024】

変形性関節症の発症前のサイトカイン参照レベルを確立することが被験体にとって望ましいことであり得るが、変形性関節症の症状を有する被験体において、疾患の進行を監視することを可能とするサイトカイン参照レベルを確立することもできる。あるいは、サイトカイン参照レベルは症状の発症前に確立することができ、症状が表れた際に測定を行うことができる。変形性関節症の症状の限定されない例としては、関節痛、関節硬直、関節損傷、X線学的異形、およびそれらの組合せが含まれる。サイトカイン参照レベルに対するサイトカインレベルの変化を監視することにより、その被験体の臨床行為を、変形性関節症の示された病期に合わせることができる。

10

#### 【0025】

サイトカイン参照レベルは、被験体が変形性関節症を有すると診断される前または診断された後に確立することができる。例えば、変形性関節症の診断後に被験体のサイトカインが測定される場合、疾患の進行を監視することができる。種々の実施形態では、被験体において変形性関節症の重篤度を決定することができ、重篤度指数を確立することができる。よって、現行法は、被験体の組織中のサイトカイン濃度とサイトカイン参照レベルを比較すること、およびその比較の結果に基づいて重篤度指数値を決定することを含んでなり得る。いくつかの実施形態では、本方法は、サイトカイン参照レベルを確立する時点、および／または組織中のサイトカイン濃度を測定する時点で、被験体の関節のX線学的評価を行うことをさらに含んでなる。X線学的評価の比較は、X線学的变化を決定するために使用することができ、これをサイトカインレベルの変化に相関させることができる。これらの変化は、被験体に対して行われる臨床行為を左右し得る。

20

#### 【0026】

##### 測定方法

サイトカインの組織レベルの測定は、血液またはその他の組織サンプル中のサイトカインレベルを測定するために好適ないずれの方法を用いて行ってもよい。このような方法には、当技術分野で公知のバイオアッセイおよびイムノアッセイが含まれる。測定は、臨床現場（例えば、診療所または病室）で血液またはその他の組織サンプルを得ること、および試験所で検査することによって行うことができる。いくつかの実施形態では、検査は、好適な診断検査デバイスを用いて、ポイント・オブ・ケア(point-of-care)で行うことができる。検査は本方法の被験者、または医師、看護師、もしくはその他の医療提供者によって行うことができる。

30

#### 【0027】

種々の実施形態では、測定は、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）の使用を含んでなる。ELISAアッセイは一般に、マルチウェルアッセイプレートで行われる。種々の実施形態がサンドイッチELISAからモデル化され、アッセイプレートの代わりに複数の小ストリップを使用することができる。ストリップはポリスチレンまたはメタクリレートなどの可視光を通す材料から構成される端部を含んでなる。その端部は小さなくぼみ、複数のくぼみ、または固定化区画を含んでなり、その上に抗体を結合させることができる。この小さなくぼみまたは固定化区画にサイトカイン特異的な抗体をコーティングすることができる。使用者はこのストリップの端部を、対象とするサイトカインを含有する血液または血漿サンプルに浸すことができる。ストリップはまた、種々の標準濃度のサイトカインの溶液に浸すこともできる。インキュベーション後、ストリップを洗浄することができる。次に、これらのストリップの端部を、セイヨウワサビペルオキシダーゼ（HRP）などの酵素にコンジュゲートされている、サイトカインに特異的な第2の抗体を含んでなる溶液に浸すことができる。次いで、結合していない抗体-HRPコンジュゲートをくぼみまたは固定化区画から洗い流す。その後、ストリップの端部を、テトラメチルベンジン（TMP）、水、およびH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を含んでなる基質溶液に浸す。次いで、これらのストリップを、そのストリップを幾何学的に受容するリーダーに挿入することができ、このようにして、くぼみまたは固定化区画において、450 nmの波長で吸光度の読み取りを

40

50

行うことができる。

#### 【0028】

別の実施形態として、Song, et al., Nat Commun. 2012; 3:1283. Doi: 10.1038/ncomm s2292により記載されているVチップ上で行うELISAアッセイがある。Vチップは、複数のくぼみおよびチャネルと2枚のプレートを含んでなるマイクロ流体チップである。Vチップは上端と下端を有する。一方のプレートがもう一方のプレートに対して移動すると、フロー・チャネルが形成される。従って、様々な成分をフローレーンからVチップに予め添加した後に反応させることができる。一番上のフローレーンにはインクまたは色素を予め添加する。上から2つ目のフローレーンには抗サイトカイン抗体を予めコーティングした後、目的のアナライトを含有する血漿サンプルを添加する。インキュベーション期間の後、このレーンを洗浄して非特異的シグナルを回避することができる。上から2番目のフローレーンより下のフローレーンはそれぞれ抗体コンジュゲートカタラーゼ（抗体・カタラーゼ）およびカタラーゼ基質である過酸化物（H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>）で満たす。カタラーゼの存在下で、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>はH<sub>2</sub>OとO<sub>2</sub>（気体）に分解される。一方のプレートを他方に対してスライドさせると、分岐フロー・チャネルが形成される。フロー・チャネルの形成により、フローレーンの成分が混合される。抗体・カタラーゼは目的のアナライトと結合し、カタラーゼ反応が起こる。この反応により放出されたO<sub>2</sub>（気体）が、一番上のレーンのインク／色素を、フロー・チャネルを通して上へと流動させる。抗体に結合したサイトカインの量に依存して生産されるO<sub>2</sub>（気体）が多いほど、インク／色素は遠くへ移動する。

10

#### 【0029】

##### 臨床進行の管理方法

上記に示したように、本技術は、哺乳類被験体において変形性関節症の臨床進行を管理するための方法であって、

(a) 前記被験体の血液において、血小板由来増殖因子AB(PDGF-AB)、血小板由来増殖因子BB(PDGF-BB)、上皮細胞増殖因子(EGF)、およびそれらの組合せからなる群から選択されるサイトカインの濃度を測定すること；

(b) 前記サイトカイン濃度とサイトカイン参照レベルを比較して、サイトカインレベルの変動を決定すること；および

(c) そのサイトカインレベルの変動に基づいて臨床行為を開始することを含んでなる方法を提供する。

20

30

#### 【0030】

本方法において、臨床行為は、治療計画の投与、治療計画の時機の変更、治療計画のレベルの変更、治療計画の終了、およびそれらの組合せを含んでなり得る。治療計画としては、変形性関節症の治療または予防に関する当技術分野で公知の任意の方法、例えば、全身用または局所用薬剤、生物製剤、および物理的療法の投与が含まれる。薬物療法としては、非ステロイド系抗炎症薬、ステロイド、およびそれらの組合せの投与が含まれる。

40

#### 【0031】

いくつかの実施形態では、治療計画は、インターロイキン-1受容体拮抗薬(IL-1ra)および可溶性腫瘍壞死因子受容体I(sTNF-R I)を含んでなる抗炎症性組成物の投与を含んでなる。抗炎症性組成物は、少なくとも約10,000pg/mlの濃度のIL-1ra、少なくとも約1,200pg/mlの濃度のsTNF-R I、ならびにsTNF-R II、IGF-I、EGF、HGF、PDGF-AB、PDGF-BB、VEGF、TGF-1、およびsIL-1RII、およびそれらの混合物からなる群から選択されるタンパク質（なお、組成物中の該タンパク質の濃度は、通常の血液中の該タンパク質の濃度より高い）を含んでなるタンパク質溶液であり得る。タンパク質溶液は、被験体に対して自己または同種異系源であり得る。

50

#### 【0032】

タンパク質溶液は、サイトカイン産生細胞を含んでなる、白血球、脂肪間質細胞、骨髓間質細胞、またはその他の組織からの1以上の成分の誘導によって作製することができる。いくつかの実施形態では、方法は、IL-1-raおよびsTNF-R Iなどのサイトカ

50

インを産生し得る細胞を含んでなる液体（「サイトカイン細胞懸濁液」）を分画することを含んでなる。方法は、多血小板血漿などの液体をポリアクリルアミドビーズなどの固相抽出材料と接触させることによってサイトカイン細胞懸濁液を分画することを含んでなり得る。本明細書において有用なものの中でもタンパク質溶液およびタンパク質溶液の作製方法は、米国特許出願公開第2009/0220482号、Higginsら、2009年9月3日公開；米国特許出願公開第2010/0055087号、Higginsら、2010年3月4日公開；米国特許出願公開第2011/0052561号、Hoepner、2011年3月3日公開；国際出願公開第2012/030593号、Higginsら、2012年3月8日公開；および米国特許出願公開第2012/0172836号、Higginsら、2012年7月5日公開に記載されている。本技術の態様に有用な組成物および方法はまた、2013年3月15日出願の下記出願：米国特許出願第13/840,562号、Binderら、Methods and Non-Immunogenic Compositions for Treating Inflammatory Diseases；米国特許出願第13/841,083号、Landriganら、Treatment of Inflammatory Respiratory Disease Using Protein Solutions；米国特許出願第13/837,005号、Woodell-Mayら、Methods and Acellular Compositions for Treating Inflammatory Disorders；米国特許出願第13/837,480号、O'Shaughnessseyら、O'Shaughnessey, et al., Treatment of Pain Using Protein Solutions；米国特許出願第13,839,280号、Leachら、Methods for Making Cytokine Compositions from Tissue Using Non-Centrifugal Methods；および米国特許出願第13/840,129号、Matusukaら、Treatment of Collagen Defects Using Protein Solutions；および米国特許出願第13/841,103号、Landriganら、Treatment of Peripheral Vascular Disease Using Protein Solutionsにも記載されており、これらは全て、引用することにより本明細書の一部とされる。

### 【0033】

種々の実施形態では、タンパク質溶液は、IL-1ra（インターロイキン-1受容体抗薬）、sTNF-RⅠ、sTNF-RⅡ（可溶性腫瘍壊死因子-受容体2）、IGF-I（インスリン様増殖因子1）、EGF（上皮細胞増殖因子）、HGF（肝細胞増殖因子）、PDGF-AB（血小板由来増殖因子AB）、PDGF-BB（血小板由来増殖因子BB）、VEGF（血管内皮増殖因子）、TGF-1（トランスフォーミング増殖因子-1）、およびsIL-1RⅡ（可溶性インターロイキン1受容体II）からなる群から選択される少なくとも2つのタンパク質を含んでなり、組成物中の各タンパク質の濃度は、通常の血液中の該タンパク質の濃度より高い。組成物中のこのようなどのタンパク質の濃度も、通常の血液中のその個々の濃度より高いものであってもよいが、2種類を超えるタンパク質の濃度が通常の血液中のそれらの個々の濃度より高い必要はない。

### 【0034】

種々の実施形態では、タンパク質溶液は、下記成分を含んでなる。

### 【0035】

【表2】

表1. タンパク質溶液タンパク質成分例

成分	組成物濃度	通常全血中濃度
血漿タンパク質 (総)	約80mg/ml以上 約100mg/ml以上 約200mg/ml以上 約250mg/ml以上	約67mg/ml
アルブミン	約60mg/ml以上 約100mg/ml以上	約56mg/ml
フィブリノゲン	約3.2mg/ml以上 約4mg/ml以上	約2.9mg/ml
IL-1ra	約10,000pg/ml以上 約25,000pg/ml以上 約30,000pg/ml以上 約25,000~約110,000pg/ml 約25,000~約40,000pg/ml	約4200pg/ml
s TNF-R I	約1,200pg/ml以上 約1,800pg/ml以上 約3,000pg/ml以上	約630pg/ml
s TNF-R II	約3,000pg/ml以上 約5,000pg/ml以上 約7,000pg/ml以上 約9,000pg/ml以上	約1200pg/ml
s IL-1R II	約15,000pg/ml以上 約20,000pg/ml以上 約25,000pg/ml以上	約11,800pg/ml
増殖因子		
EGF	約800pg/ml以上 約1,000pg/ml以上 約1,200pg/ml以上	約250pg/ml

10

20

30

40

HGF	約1, 000 pg/ml以上 約2, 500 pg/ml以上 約2, 800 pg/ml以上 約3, 000 pg/ml以上	約500 pg/ml
PDGF-AB	約35, 000 pg/ml以上 約50, 000 pg/ml以上 約70, 000 pg/ml以上	約6, 000 pg/ml
PDGF-BB	約10, 000 pg/ml以上 約15, 000 pg/ml以上 約20, 000 pg/ml以上	約1, 500 pg/ml
TGF- $\beta$ 1	約100, 000 pg/ml以上 約150, 000 pg/ml以上 約190, 000 pg/ml以上	約10, 000 pg/ml
IGF-1	約130, 000 pg/ml以上 約150, 000 pg/ml以上 約160, 000 pg/ml以上	約70, 000 pg/ml
VEGF	約500 pg/ml以上 約600 pg/ml以上 約800 pg/ml以上	約150 pg/ml

10

20

30

## 【0036】

タンパク質濃度は実施例4に示されている方法を用いて測定することができる。

## 【0037】

組成物は、さらに好ましくは、生存サイトカイン産生細胞、溶解サイトカイン産生細胞、またはその両方を含んでなる。好ましい組成物では、タンパク質溶液は、単球、顆粒球、および血小板を含んでなる。種々の実施形態では、タンパク質溶液は、下記成分を含んでなる。

## 【0038】

## 【表3】

表2. タンパク質溶液細胞成分例

成分	組成物濃度	通常の全血中濃度
サイトカイン産生細胞	少なくとも約15k/ $\mu$ l 少なくとも約30k/ $\mu$ l 約30~約60k/ $\mu$ l 約40~約50k/ $\mu$ l	6. 5k/ $\mu$ l
赤血球	約3M/ $\mu$ l未満 約2M/ $\mu$ l未満 約2. 5M/ $\mu$ l未満	4. 5M/ $\mu$ l
血小板	少なくとも約400k/ $\mu$ l 少なくとも約800k/ $\mu$ l 少なくとも約1, 000k/ $\mu$ l	240k/ $\mu$ l
好中球	少なくとも約5k/ $\mu$ l 少なくとも約10k/ $\mu$ l 少なくとも約12k/ $\mu$ l	3. 7k/ $\mu$ l
単球	少なくとも約1k/ $\mu$ l 少なくとも約2k/ $\mu$ l 少なくとも約3k/ $\mu$ l	0. 5k/ $\mu$ l
リンパ球	少なくとも約5k/ $\mu$ l 少なくとも約10k/ $\mu$ l 少なくとも約20k/ $\mu$ l	2k/ $\mu$ l
好酸球	少なくとも約0. 15k/ $\mu$ l 少なくとも約0. 18k/ $\mu$ l	0. 1k/ $\mu$ l
好塩基球	少なくとも約0. 2k/ $\mu$ l 少なくとも約0. 4k/ $\mu$ l 少なくとも約0. 6k/ $\mu$ l	0. 1k/ $\mu$ l

10

20

30

40

## 【0039】

この濃度は種特異的であると理解される。さらに、濃度は個々の被験体間で異なり得ると理解される。よって、サイトカイン産生細胞を含有する血液またはその他の組織からのタンパク質溶液の作製を含んでなる方法では、タンパク質溶液中のタンパク質および細胞の濃度は、上記に列挙したものとは異なる場合があり、上記で列挙した値は、被験体集団に見られ得る濃度の平均値である。

## 【0040】

種々の実施形態では、タンパク質溶液中のタンパク質またはその他の成分の1以上の濃度が、通常の血液中のその成分の濃度より高い。(このようなより高い濃度の成分を含む組成物は、そのような成分が「豊富」であると言われる。)本明細書に言及される場合、

50

「通常の」血液またはその他の組織中の成分の濃度は、その組織が得られた哺乳類被験体の一般集団で、例えば、通常の全血で見られる濃度である。抗炎症性サイトカイン組成物が特定の被験体由来の組織から誘導される方法では、タンパク質または細胞の「通常の」濃度は、そのタンパク質または細胞を駆動するために処理が行われる前のその個体の血液中の濃度であり得る。

#### 【0041】

よって、種々の実施形態では、タンパク質溶液の1以上の成分の濃度は、通常の血液中のその成分の濃度より約1.5倍、約2倍、または約3倍を超えて高い。例えば、成分は、以下のように、通常の(全)血液に比べて、組成物中ではより高い濃度を持ち得る：

- ・少なくとも約2.5倍、または少なくとも約3倍または少なくとも約5倍高い濃度のIL-1ra；
- ・少なくとも約2倍、または少なくとも約2.5倍または少なくとも約3倍高い濃度のTNF-RⅠ；
- ・少なくとも約2倍、または少なくとも約2.5倍または少なくとも約3倍高い濃度のTNF-RⅡ；
- ・少なくとも約1.5倍、または少なくとも約1.8倍または少なくとも約2倍高い濃度のSIL-1RII；
- ・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5倍高い濃度のEGF；
- ・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倍高い濃度のHGF；
- ・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5倍高い濃度のPDGF-AB；
- ・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5倍高い濃度のPDGF-BB；
- ・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6倍高い濃度のTGF-1；
- ・少なくとも約1.2倍、または少なくとも約1.4倍または少なくとも約1.5倍高い濃度のIGF-1；
- ・少なくとも約2倍、または少なくとも約2.5倍または少なくとも約3倍高い濃度のVEGF；

・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倍高い濃度のサイトカイン産生細胞；

- ・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4倍高い濃度の血小板；
  - ・少なくとも1.5倍、または少なくとも2倍または少なくとも3倍高い濃度の好中球；
  - ・少なくとも3倍、または少なくとも4倍または少なくとも6倍高い濃度の単球；
  - ・少なくとも5倍、または少なくとも8倍または少なくとも10倍高い濃度のリンパ球；
- および

・少なくとも2倍、または少なくとも4倍または少なくとも6倍高い濃度の好塩基球。

また、タンパク質溶液中の赤血球の濃度は、通常の血液中の赤血球の濃度の好ましくはせいぜい半分、またはせいぜい3分の1である。

#### 【0042】

例えば、タンパク質溶液は、

- (a) 少なくとも約10,000pg/mlのIL1-ra；
- (b) 少なくとも約1,200pg/mlのTNF-RⅠ；および
- (c) TNF-RⅢ、IGF-I、EGF、HGF、PDGF-AB、PDGF-BB、VEGF、TGF-1、およびSIL-1RII、ならびにそれらの混合物からなる群から選択されるタンパク質(ここで、前記タンパク質は、通常の血液中のタンパク質のベースライン濃度より高い濃度を有する)

を含んでなり得る。別の例では、タンパク質溶液は、

10

20

30

40

50

(a) 通常の血液中の IL-1ra の濃度より少なくとも 3 倍高い濃度のインターロイキン - 1 受容体拮抗薬 (IL-1ra) ;

(b) 通常の血液中の IL-1ra の濃度より少なくとも 2 倍高い濃度の可溶性組織壞死因子 - r1 (sTNF-r1) ;

(c) 通常の血液中のサイトカイン産生細胞の濃度より少なくとも 2 倍高い濃度のサイトカイン産生細胞；および

(d) 通常の血液中の血小板の濃度より少なくとも 2 倍高い濃度の血小板を含んでなる。

#### 【0043】

いくつかの実施形態では、タンパク質溶液中の IL-1ra の濃度は、好ましくは、タンパク質溶液中のインターロイキン - 1 の濃度より少なくとも 5,000 倍、または少なくとも 10,000 倍高い。IL-1ra : インターロイキン - 1 (IL-1) 濃度の比は好ましくは少なくとも 100 である。いくつかの実施形態では、タンパク質溶液中の IL-1ra の濃度は、好ましくは、タンパク質溶液中の IL-1 の濃度より少なくとも 1500 倍、または少なくとも 8000 倍高い。IL-1RII : インターロイキン - 1 (IL-1) 濃度の比は好ましくは 1 より大きい。いくつかの実施形態では、タンパク質溶液中の sIL-1RII は、好ましくは、タンパク質溶液中のインターロイキン - 1 の濃度より少なくとも 2000 倍、または少なくとも 4500 倍高い。

10

#### 【実施例】

#### 【0044】

本技術の方法は、下記の試験によって例示される。具体的には、サイトカインと、増殖因子、共存症、並行投薬および変形性関節症指標との間の相互作用を決定するために、変形性関節症患者由来の全血および自己タンパク質溶液を分析する。

20

#### 【0045】

抗レベルの抗炎症性サイトカインおよび増殖因子を含有する自己タンパク質溶液 (APS) が調製され、in vitro において対応する炎症性サイトカインの作用を軽減するために使用された。このような方法およびデバイスは、米国特許出願公開第 2009 / 0220482 号、および米国特許出願公開第 2010 / 0055087 号に記載されており、両方とも引用することにより本明細書の一部とされる。これまでの全ての研究は、比較的健康なドナー集団からの血液を用いて実施されたが、抗炎症性サイトカインが変形性関節症患者の血液から十分均等に捕捉され得ると仮定されていた。この試験の目的は、サイトカインと、増殖因子、投薬、および変形性関節症血液中の併存症の相互作用、ならびに APS 組成に及ぼす影響を決定することであった。

30

#### 【0046】

X 線学的膝変形性関節症のエビデンスを有する 105 名の患者からの血液を採取し、処理を施して APS を作製した。患者病歴ならびに膝関節損傷および変形性関節症転帰スコア (Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score) (KOOS) 調査に対する回答を回収した。ベースラインサンプルおよび APS サンプルにおけるサイトカインおよび増殖因子の分析を、酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) を用いて行った。スピアマンの順位相関を用いて、サイトカインと、増殖因子、共存症、投薬および変形性関節症指標との間の関係を特定した。変形性関節症患者由来 APS 少なくともならびに健康ドナー由来の APS 中に、IL-1 受容体拮抗薬 (IL-1ra) 、可溶性 IL-1 受容体 II (sIL-1RII) ならびに可溶性 TNF 受容体 I および II (sTNF-RII, sTNF-RIII) を捕捉した。以下の表 3 参照。

40

#### 【0047】

## 【表4】

表3. 変形性関節症患者および健康ドナーからの重要サイトカインのベースライン濃度およびAPS濃度

サイトカイン		ベースライン濃度 (pg/ml)	APS濃度 (pg/ml)	増加倍率
IL-1 $\beta$	健康	3.4	3.8	1.1
	OA	3.3	8.9	2.7
IL-1ra	健康	8092	30853	3.8
	OA	7576	41896	5.5
sIL-1R $\alpha$	健康	7361	20477	2.8
	OA	9535	20573	2.2
TNF- $\alpha$	健康	ND	3.4	ND
	OA	ND	4.3	ND
sTNF-R $\alpha$	健康	629	2408	3.8
	OA	808	3011	3.7
sTNF-R $\beta$	健康	2485	9491	3.8
	OA	1491	5060	3.4

## 【0048】

グルコサミン / コンドロイチン補助剤およびプロピオン酸誘導体（例えば、イブプロフェン）を服用した患者は、低い循環レベルの sTNF-R および IL-1ra を示した。以下の表4 参照。

## 【0049】

10

20

30

## 【表5】

表4. 変形性関節症患者の循環血液中の重要サイトカインの濃度に影響を及ぼす正(+)の因子および負(-)の因子

TNF $\alpha$	s TNF-R	IL-1 $\beta$	IL-1ra	ILra : IL1 $\beta$ 比
(-) 利尿薬	(+) アンギオテンシンII受容体拮抗薬	(-) 高コレステロール/スタチン	(+) アンギオテンシンII受容体拮抗薬	(-) BMI
	(-) グルコサミンコンドロイチン	(-) 総合ビタミン剤	(+) 嘸煙	(-) 軟骨下骨硬化
	(-) プロピオン酸誘導体		(-) 年齢	
			(-) グルコサミンコンドロイチン	
			(-) プロピオン酸誘導体	

## 【0050】

循環血小板由来増殖因子AB(PDGFB-AB)濃度は評価した全ての変形性関節症指標、すなわち、関節裂隙狭小化、軟骨下骨硬化、軟骨下骨囊胞および骨棘と相関があることが判明し、それが疾患の重篤度の可能性のある予測因子となり得ることを示す。以下の表5参照。

## 【0051】

10

20

30

## 【表6】

表5. 変形性関節症の指標と負（-）の関係および正（+）の関係を示す因子

関節裂隙狭小化	骨棘	軟骨下骨硬化	軟骨下骨囊胞
(-) PDGF-AB	(-) PDGF-AB	(-) PDGF-AB	(-) PDGF-AB
(+) 年齢	(+) ビタミンD	(-) IGF-1	(-) EGF
(++) 甲状腺薬			
		(-) IL-1ra : IL1β 比	(-) 甲状腺薬
		(+) 高コレステロール、甲状 腺薬、NSAID、栄養 補助剤	

10

20

30

40

## 【0052】

年齢、性別、および総合ビタミン剤などの因子は患者のKOOS応答に影響を及ぼし得る。以下の表6参照。

## 【0053】

## 【表7】

表6. KOOS応答に影響を及ぼす正（+）の影響および負の（-）影響

	年齢	性別 (女性)	増感剤	筋弛緩薬	栄養補助剤	ビタミンD 補助剤
KOOS 症状	+		+	-		+
KOOS 疼痛	+		+	-		
KOOS 日常生活		-		-	+	
KOOS スポーツ	+	-				
KOOS 生活の質	+			-	+	
KOOS 総合	+	-		-	+	

## 【0054】

循環TNF- $\alpha$ はIL-1濃度と最も相関があった。グルコサミン／コンドロイチン

50

補助剤を服用した患者は、拮抗薬としての可溶性腫瘍壞死因子受容体（S TNF - R）およびIL - 1受容体拮抗薬（IL - 1ra）のより低い循環レベルを示した。循環血小板由来増殖因子AB（PDGF - AB）濃度は、変形性関節症指標である軟骨下骨硬化、軟骨下骨囊胞、および骨棘と相関があることが判明し、それが疾患の重篤度の可能性のある予測因子となり得ることを示す。PDGF - ABの循環濃度は、変形性関節症の重篤度の診断尺度を提供し得る。

#### 【0055】

##### 技術用語の非限定的技術

本明細書で使用する見出し（「緒論」および「概要」など）および小見出しほは、単に本開示内の論題の概略構成を意図するものであり、本技術またはそのいずれの態様の開示も限定することを意図しない。特に、「緒論」に開示される主題は、新規な技術を含み得るものであって、従来技術の列挙を構成するものではない。「概要」に開示される主題は、本技術またはその任意の実施形態の全範囲の網羅的または完全な開示ではない。本明細書のある節内で、ある材料を特に有用性を持つとして分類または考査されることは便宜上行われるものであり、それがある任意の組成物で使用される場合、本明細書におけるその分類に従って必ずまたは唯一機能しなければならぬと断定を下すべきではない。

10

#### 【0056】

本開示に引用される全ての特許および特許出願の開示は、引用することにより本明細書の一部とされる。

20

#### 【0057】

説明および具体的な例は、本技術の実施形態を示すが、単に例示を目的に意図され、本技術の範囲を限定するものではない。特定の具体例、材料、組成物および方法の均等な変更、修飾および変形を本技術の範囲内で行ってもよく、実質的に同等の結果を持つ。さらに、記載の特徴を有する複数の具体例の列挙は、付加的な特徴を持つ他の具体例、または記載の特徴の異なる組合せを組み込んだ他の具体例を排除することを意図しない。具体的な例は、本技術の組成物および方法をいかにして作製し使用するかを例示する目的で示され、そうではないことが明示されない限り、本技術の所与の具体例が作製または試験されたこと、またはされていないことを表すことを意図するものではない。

#### 【0058】

本明細書で使用する場合、「好ましい」または「好ましい～」という用語は、ある状況下である利益を付与する技術の具体例を意味する。しかしながら、同じまたは他の状況下で、他の具体例も好ましいものあり得る。さらに、1以上の好ましい具体例の列挙はその他の具体例が有用でないことを暗に示すものではなく、本技術の範囲から他の具体例を排除することを意図しない。

30

#### 【0059】

本明細書で使用する場合、「含む」という用語およびその变形は限定されないことを意図し、従って、一覧としての項目の列挙は、本技術の材料、組成物、デバイス、および方法に有用であり得る他の同様の項目の排除を意図するものではない。同様に、「できる」と「してよい」という用語およびそれらの变形も限定されないことを意図し、従って、ある具体例が特定の要素または特徴を含んでなることができる、または含んでなってよいという記載は、それらの要素または特徴を含まない本技術の他の具体例を排除しない。

40

#### 【0060】

含む、含有する、または有するなどの非限定的用語の類義語としての「含んでなる」というオーブンエンド型の用語が本技術の具体例を記載および特許請求するために本明細書で使用されるが、あるいは、具体例は「からなる」または「から本質的になる」などのより限定的な用語を用いて記載することもできる。従って、材料、成分または工程段階を列挙する任意の所与の具体例に関して、本技術はまた具体的に、付加的な材料、成分または工程が本出願に明示的に列挙されていなくとも、そのような付加的な材料、成分または工程を排除して（からなる場合）、また、その具体例の重大な特性に影響を及ぼす付加的な材料、成分または工程を排除して（から本質的になる場合）、このような材料、成分また

50

は工程からなる、またはから本質的になる具体例を含む。例えば、要素A、BおよびCを挙げる組成物または工程の列挙は、当技術分野で列挙され得る要素Dが本明細書において排除されると明示されていなくとも、要素Dを排除して、A、BおよびCからなる、また、から本質的になる具体例を具体的に想定する。さらに、本明細書で使用する場合、列挙されている材料または成分「から本質的になる」という用語は、列挙されている材料または成分「からなる」具体例を想定する。

#### 【0061】

本明細書で使用する場合、「1つの(a and an)」は、「少なくとも1つの」その項目が存在することを示し、可能であれば、複数のこののような項目が存在し得る。値に対して適用される場合「約」は、その計算および測定がその値に若干の不正確さを許容することを示す（値の正確さに対する何らかのアプローチを伴う；およそまたはその値に合理的に近い；ほぼ）。何らかの理由で、「約」により示される不正確さが当技術分野においてこの通常の意味によって別の形で理解されない限り、本明細書で使用する「約」は、通常の測定方法またはそのようなパラメーターの使用から生じ得る偏差を少なくとも示す。

10

#### 【0062】

本明細書で使用する場合、範囲は、そうではないことが示されない限り、終点を含み、全範囲内の全ての異なる値およびさらなる分割範囲を含む。よって、例えば、「A～B」または「約A～約B」の範囲はAおよびBを含む。特定のパラメーター（温度、分子量、重量パーセンテージなど）の値および値の範囲の開示は、本明細書において有用な他の値および値の範囲を排除しない。あるパラメーターに関する2以上の具体的な例示値は、そのパラメーターに関して特許請求され得る値の範囲の終点を定義し得ると想定される。例えば、パラメーターXが値Aを有すると本明細書で例示され、また、値Zを有するとも例示される場合、パラメーターXは約A～約Zの値の範囲を有し得ることが想定される。同様に、あるパラメーターについて値の2以上の範囲が開示されている場合は、（そのような範囲がネストされている場合であれ、重複している場合であれ、または異なる場合であれ）それらの開示されている値の終点を用いて特許請求され得る値の、可能性のある総ての組合せを包含することが想定される。例えば、パラメーターXが本明細書において1～10、または2～9、または3～8の範囲の値を有すると例示される場合、パラメーターXが1～9、1～8、1～3、1～2、2～10、2～8、2～3、3～10、および3～9を含む値の他の範囲を有し得ることも想定される。

20

#### 【手続補正書】

【提出日】平成26年7月23日(2014.7.23)

30

#### 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

哺乳類被験体において変形性関節症を評価するための方法であって、

(a) 前記被験体の組織サンプルにおいて、血小板由来増殖因子AB(PDGF-AB)、血小板由来増殖因子BB(PDGF-BB)、上皮細胞増殖因子(EGF)、およびそれらの組合せからなる群から選択されるサイトカインの濃度を測定すること；

(b) 前記被験体の組織サンプルにおけるサイトカイン濃度とサイトカイン参照レベルを比較すること；および

(c) その比較の結果に基づいて変形性関節症を評価することを含んでなり、ここで、

(d) 全血中濃度でのPDGF-ABのサイトカイン参照レベルが約2～約32ng/mlであり、全血中濃度でのPDGF-BBのサイトカイン参照レベルが約1～約16ng/mlであり、かつ、全血中濃度でのEGFのサイトカイン参照レベルが約87～約1

300 pg / ml である、方法。

【請求項 2】

前記サイトカインが PDGF - AB である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記サイトカインが PDGF - BB である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記サイトカインが EGF である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

全血中濃度での PDGF - AB のサイトカイン参照レベルが約 6 ~ 約 17 ng / ml であり、全血中濃度での PDGF - BB のサイトカイン参照レベルが約 2 ~ 約 11 ng / ml であり、かつ、全血中濃度での EGF のサイトカイン参照レベルが約 175 ~ 約 770 pg / ml である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記組織サンプルが全血、多血小板血漿、乏血小板血漿、尿、唾液、およびそれらの組合せからなる群から選択される、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記組織サンプルが全血、多血小板血漿、または乏血小板血漿である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記サイトカイン参照レベルが哺乳類被験体集団におけるサイトカインの組織サンプル濃度の平均値または中央値である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記哺乳類被験体集団が変形性関節症を持たない被験体の集団である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記組織サンプルが全血、多血小板血漿、または乏血小板血漿であり、全血中濃度での PDGF - AB のサイトカイン参照レベルが約 6 ~ 約 17 ng / ml である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 11】

前記サイトカインが PDGF - BB であり、前記組織サンプルが全血、多血小板血漿、または乏血小板血漿であり、かつ、全血中濃度での PDGF - BB のサイトカイン参照レベルが約 1.9 ~ 約 7 ng / ml である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 12】

前記サイトカインが EGF であり、前記組織サンプルが全血、多血小板血漿、または乏血小板血漿であり、かつ、全血中濃度での EGF サイトカイン参照レベルが約 110 ~ 約 420 pg / ml である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 13】

前記サイトカイン参照レベルにおけるサイトカイン濃度が X 線学的指標と相關している、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記 X 線学的指標が関節裂隙狭小化、骨棘の存在、軟骨下骨硬化、軟骨下骨囊胞、およびそれらの組合せからなる群から選択される、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記サイトカイン参照レベルが、測定時よりも前の時点で被験体から得られた組織サンプル中のサイトカイン濃度である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

前の時点が少なくとも約 4 週間、または少なくとも約 3 か月、または少なくとも約 6 か月、または少なくとも約 1 年である、被験体における変形性関節症の進行を監視するための請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

前記被験体において変形性関節症を診断するための、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記被験体が関節痛、関節硬直、関節損傷、X線学的異形、およびそれらの組合せからなる群から選択される変形性関節症症状を有する、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記被験体において変形性関節症の重篤度を評価するための、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記被験体が変形性関節症を有すると事前に診断されている、請求項 19 に記載の方法。

。

【請求項 21】

前記比較の結果に基づいて重篤度指数値を決定することをさらに含んでなる、請求項 1 ~ 17 または 19 に記載の方法。

【請求項 22】

前記サイトカイン参照レベルが、測定時よりも前の時点での被験体から得られた組織サンプル中のサイトカイン濃度である、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 23】

前記被験体において関節のX線学的測定を行うことをさらに含んでなる、請求項 1 に記載の方法。

。

【請求項 25】

前記濃度が酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) を用いて決定される、請求項 1 ~ 24 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

前記被験体がヒトである、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

前記被験体が伴侶動物、使役動物、または競技動物である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

哺乳類被験体において変形性関節症を評価する方法であつて、

(a) 前記被験体から得られた第 1 の血液サンプル中のサイトカインレベルを測定すること；

(b) 前記被験体から得られた第 2 の血液サンプル中のサイトカインレベルを測定すること；および

(c) 第 1 のサンプル中のサイトカインレベルと第 2 のサンプル中のサイトカインレベルを比較して、サイトカインレベルの変化を決定することを含んでなり、ここで、

(d) 前記サイトカインは、血小板由来増殖因子 AB (PDGF-AB)、血小板由来増殖因子 BB (PDGF-BB)、上皮細胞増殖因子 (EGF)、およびそれらの組合せからなる群から選択される、方法。

【請求項 29】

(i) 第 1 のサンプル中のサイトカインレベルを測定する時点で、前記被験体の関節の第 1 の X 線学的評価を行うこと；

(ii) 第 2 のサンプル中のサイトカインレベルを測定する時点で、前記被験体の関節の第 2 の X 線学的評価を行うこと；

(iii) 第 1 の X 線学的評価と第 2 の X 線学的評価を比較して、X 線学的变化を決定すること；および

( i v ) X 線学的变化をサイトカインレベルの变化と相關させることをさらに含んでなる、哺乳類被験体において変形性関節症の進行を監視するための請求項 2 8 に記載の方法。

【請求項 3 0】

第 2 の血液サンプルが、第 1 の血液サンプルが得られた後、少なくとも 4 週間の時点を得られる、請求項 2 8 または 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

哺乳類被験体において変形性関節症の臨床進行を管理する方法であつて、

( a ) 前記被験体の血液において、血小板由来増殖因子 A B ( P D G F - A B ) 、血小板由来増殖因子 B B ( P D G F - B B ) 、上皮細胞増殖因子 ( E G F ) 、およびそれらの組合せからなる群から選択されるサイトカインの濃度を測定すること；

( b ) 前記サイトカイン濃度とサイトカイン参照レベルを比較して、サイトカインレベルの変動を決定すること；および

( c ) そのサイトカインレベルの変動に基づいて臨床行為を開始することを含んでなる、方法。

【請求項 3 2】

前記臨床行為が、治療計画の投与の開始、治療計画の時機の変更、治療計画のレベルの変更、治療計画の終了、およびそれらの組合せの群から選択される、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記治療計画が、インターロイキン - 1 受容体拮抗薬 ( I L - 1 r a ) および可溶性腫瘍壞死因子受容体 I を含んでなる抗炎症性組成物の投与を含んでなる、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記抗炎症性組成物が、

( i ) 少なくとも約 1 0 , 0 0 0 p g / m l の濃度のインターロイキン - 1 受容体拮抗薬 ( I L - 1 r a ) ；

( i i ) 少なくとも約 1 , 2 0 0 p g / m l の濃度の可溶性腫瘍壞死因子受容体 1 ( s T N F - R 1 ) ；および

( i i i ) s T N F - R I I 、 I G F - I 、 E G F 、 H G F 、 P D G F - A B 、 P D G F - B B 、 V E G F 、 T G F - 1 、および s I L - 1 R I I 、およびそれらの混合物からなる群から選択されるタンパク質（なお、組成物中の該タンパク質の濃度は、通常の血液中の該タンパク質の濃度より高い）

を含んでなる、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記哺乳類被験体がヒトである、請求項 3 1 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記被験体が伴侶動物、使役動物、または競技動物である、請求項 3 1 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記サイトカイン参照レベルが、測定時よりも前の時点で被験体から得られた血液中のサイトカイン濃度である、請求項 3 1 ~ 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 8】

前の時点が少なくとも約 4 週間、または少なくとも約 3 か月、または少なくとも約 6 か月、または少なくとも約 1 年である、被験体における変形性関節症の進行を監視するための請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

重篤度指數値が前記比較の結果に基づいて決定される、請求項 3 1 ~ 3 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記サイトカイン参照レベルが哺乳類被験体集団におけるサイトカインの血中濃度の平均値または中央値である、請求項31～36のいずれか一項に記載の方法。

【請求項41】

前記哺乳類被験体集団が変形性関節症を持たない被験体の集団である、請求項40に記載の方法。

【請求項42】

前記サイトカイン参照レベルが全血中濃度において約6～約17ng/mlのPDGF-ABを含んでなる、請求項41に記載の方法。

【請求項43】

前記被験体が変形性関節症を有すると事前に診断されている、請求項40～42のいずれか一項に記載の方法。

【請求項44】

前記被験体が関節痛、関節硬直、関節損傷、X線学的異形、およびそれらの組合せからなる群から選択される変形性関節症症状を有する、請求項43に記載の方法。

【請求項45】

前記サイトカインがPDGF-ABである、請求項31～44のいずれか一項に記載の方法。

【請求項46】

前記サイトカインがPDGF-BBである、請求項31～44のいずれか一項に記載の方法。

【請求項47】

前記サイトカインがEGFである、請求項31～44のいずれか一項に記載の方法。

【請求項48】

全血中濃度でのPDGF-ABのサイトカイン参照レベルが約6～約17ng/mlである、請求項45に記載の方法。

【請求項49】

全血中濃度でのPDGF-BBのサイトカイン参照レベルが約2～約7ng/mlである、請求項46に記載の方法。

【請求項50】

全血中濃度でのEGFのサイトカイン参照レベルが約110～約420pg/mlである、請求項47に記載の方法。

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2013/044075
---

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, CHEM ABS Data, Sequence Search, 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.
X	<p>EDUARDO ANITUA ET AL: "Relationship between Investigative Biomarkers and Radiographic Grading in Patients with Knee Osteoarthritis", INTERNATIONAL JOURNAL OF RHEUMATOLOGY, vol. 26, no. 5, 1 January 2009 (2009-01-01), pages 910-4, XP055076904, ISSN: 1687-9260, DOI: 10.1016/j.semarthrit.2005.03.001 page 1, right-hand column, paragraph 2 page 2, left-hand column, paragraph 2.2; tables 1, 2</p> <p>-----</p> <p>-/-</p>	1-47

<input checked="" 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 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

\*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
---

Date of mailing of the international search report
--

29 August 2013
----------------

06/09/2013
------------

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016
--

Authorized officer
--------------------

Petri, Bernhard
-----------------

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2013/044075
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JENNIFER WOODELL-MAY ET AL: "Autologous protein solution inhibits MMP-13 production by IL-1[beta] and TNF[alpha]-stimulated human articular chondrocytes", JOURNAL OF ORTHOPAEDIC RESEARCH, vol. 29, no. 9, 1 September 2011 (2011-09-01), pages 1320-1326, XP55013094, ISSN: 0736-0266, DOI: 10.1002/jor.21384 table 1 -----	1-47
X	WO 2006/023412 A2 (US GOV HEALTH & HUMAN SERV [US]; LING SHARI M [US]; PERLEE LORAH [US];) 2 March 2006 (2006-03-02) abstract page 3, lines 18-19; example 10; tables 8, 13 -----	1-47

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No  
PCT/US2013/044075

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006023412 A2	02-03-2006	AU 2005277559 A1	02-03-2006
		CA 2575439 A1	02-03-2006
		EP 1782074 A2	09-05-2007
		JP 2008510168 A	03-04-2008
		US 2007225206 A1	27-09-2007
		US 2010150838 A1	17-06-2010
		WO 2006023412 A2	02-03-2006

---

フロントページの続き

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

(74)代理人 100176083

弁理士 松山 祐子

(72)発明者 クリスト、オショーネシー

アメリカ合衆国インディアナ州、ピアストン、エムス、ビー27、レーン、137

F ターム(参考) 2G045 AA01 AA25 CA02 CA11 CA12 CA15 CA16 CA17 CA20 CA24

CA25 CB01 CB13 CB30 DA36 DA38 DA57 DA80 FB01 FB03

FB15