

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成27年12月10日(2015.12.10)

【公表番号】特表2015-502740(P2015-502740A)

【公表日】平成27年1月29日(2015.1.29)

【年通号数】公開・登録公報2015-006

【出願番号】特願2014-537335(P2014-537335)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A A

G 0 1 N 33/53 D

G 0 1 N 33/53 N

G 0 1 N 33/53 X

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 33/543 5 4 5 A

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成27年10月19日(2015.10.19)

【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】

サンプルが、炎症性腸疾患（IBD）を有する個体に由来するもの（IBDサンプル）であるか、IBDを有しない個体に由来するもの（非IBDサンプル）であるかを決定するため、及び／又はサンプルがIBDサンプルと決定された場合にIBDの臨床亜型を決定するための方法であって、

（a）前記サンプルを分析して、該サンプル中の、血清学的マーカー、遺伝子マーカー、炎症マーカー、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される1つ又は複数のマーカーの存在、レベル又は遺伝子型を決定して、マーカープロファイルを得るステップと、

（b）第1のランダムフォレスト統計解析を前記マーカープロファイルに適用して、前記サンプルがIBDサンプルであるか非IBDサンプルであるかの決定を得るステップと、

（c）IBDサンプルとして指定された前記サンプルに決定木又はルールセットを適用して、前記IBDサンプルが不確定サンプルとしてカテゴリー化されるかどうかを決定するステップと、

（d）前記IBDサンプルが不確定サンプルでない場合に、第2のランダムフォレスト統計解析を前記IBDサンプルに適用して、IBDの臨床亜型を決定するステップと、を含む方法。

【請求項2】

第1のランダムフォレスト統計解析及び第2のランダムフォレスト統計解析のためのマーカーは、独立に、ANCA、ASCA-A、ASCA-G、pANCA、pANCA2

、抗F1aX抗体、SAA、抗F1a2抗体、ICAM、抗OmpC抗体、抗CBir1抗体、VCAM、CRP、NKX2-3、ATG16L1、STAT3、ECM1、VEGF、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

pANCA2の値を決定するためにpANCAの存在又はレベルが使用される、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記IBDサンプルが、3の四分位数スコアより大きい(>Q3の)ANCAレベルを有し、pANCA2陽性であり、>Q3の抗CBir1抗体又は抗A4-F1a2抗体又は抗F1aX抗体のレベルを有する場合に、前記IBDサンプルは、決定木又はルールセットを用いて不確定サンプルとしてカテゴリー化される、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記IBDサンプルが、pANCA2陽性であり、抗CBir1抗体、抗A4-F1a2抗体及び抗F1aX抗体から選択される3種のマーカーのうちの2種であって>Q3である2種を発現する場合に、前記IBDサンプルは、決定木又はルールセットを用いて不確定サンプルとしてカテゴリー化される、請求項3に記載の方法。

【請求項6】

サンプルが、炎症性腸疾患(IBD)を有する個体に由来するもの(IBDサンプル)であるか、IBDを有しない個体に由来するもの(非IBDサンプル)であるかを決定するため、及び／又はサンプルがIBDサンプルと決定された場合にIBDの臨床亜型を決定するための方法であって、

(a) 前記サンプルを分析して、少なくとも下記マーカーの各々の存在又はレベル又は遺伝子型を決定して、マーカープロファイルを得るステップと、

(i) 次の血清学的マーカー：ASCA-A、ASCA-G、ANCA、pANCA、抗OmpC抗体、抗CBir1抗体、抗F1aX抗体及び抗A4-F1a2抗体の各々の存在又はレベル

(ii) 次の炎症マーカー：VEGF、ICAM、VCAM、SAA及びCRPの各々の存在又はレベル

(iii) 次の遺伝子マーカー：ATG16L1、ECM1、NKX2-3及びSTAT3の各々の遺伝子型

(b) 第1のランダムフォレスト統計解析を前記マーカープロファイルに適用して第1のモデルスコアを算出し、該第1のモデルスコアを第1のカットオフ値と比較して、前記サンプルがIBDサンプルであるか非IBDサンプルであるかの決定を得るステップと、

(c) 前記サンプルがIBDサンプルである場合に、前記IBDサンプルに決定木を適用して、前記IBDサンプルが不確定サンプルであるかどうかを決定するステップであって、

前記IBDサンプルが、3の四分位数スコアより大きい(>Q3の)ANCAレベルを有し、pANCA2陽性であり、>Q3の抗CBir1抗体又は抗A4-F1a2抗体又は抗F1aX抗体のレベルを有する場合に、前記IBDサンプルは不確定サンプルであり、或いは前記IBDサンプルが、pANCA2陽性であり、抗CBir1抗体、抗A4-F1a2抗体及び抗F1aX抗体から選択される3種のマーカーのうちの2種であって>Q3である2種を発現する場合に、前記IBDサンプルは不確定サンプルであり、

pANCA2の値を決定するためにpANCAの存在又はレベルが使用される、ステップと、

(d) 前記IBDサンプルが不確定サンプルでない場合に、第2のランダムフォレスト統計解析を前記IBDサンプルに適用して第2のモデルスコアを算出し、該第2のモデルスコアを第2のカットオフ値と比較してIBDの臨床亜型を決定するステップと、を含む方法。

【請求項7】

前記血清学的マーカー又は炎症マーカーの各々の存在又はレベルは、独立に、ハイブリ

ダイゼーションアッセイ、増幅ベースのアッセイ、免疫アッセイ、又は免疫組織化学的アッセイを用いて検出される、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記遺伝子マーカーの各々の遺伝子型は、独立に、前記遺伝子マーカーの各々における一塩基多型（SNP）の有無に関するジェノタイピングによって検出される、請求項6に記載の方法。

【請求項9】

前記SNPは、ATG16L1のrs2241880、ECM1のrs3737240、NKX2-3のrs10883365、及び／又はSTAT3のrs744166である、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

IBDの臨床亜型はクローン病（CD）又は潰瘍性大腸炎（UC）である、請求項6に記載の方法。

【請求項11】

第2のランダムフォレスト統計解析は、（i）前記サンプル中のASCA-A、ASCA-G、ANCA、pANCA、抗OmpC抗体、抗Cbir1抗体、抗Flax抗体、抗A4-Fla2抗体及びVEGFの存在又はレベル、及び（ii）前記サンプル中のECM1及びSTAT3の遺伝子型に基づくものである、請求項6に記載の方法。

【請求項12】

前記サンプルは、血清、血漿、全血及び便からなる群から選択される、請求項6に記載の方法。

【請求項13】

pANCA値が0又は+1である場合にpANCA2値が陰性である、又は
pANCA値が+2、+3又は+4である場合にpANCA2値が陽性である、
請求項6に記載の方法。

【請求項14】

請求項13に記載の方法であって、

前記pANCA2陰性サンプルにおいて、

（a）pANCA2陰性サンプルがクローン病の直接的な予測となるかどうかを決定するステップであって、該決定は、血清マーカーパネルを測定し、血清マーカーパネルの血清マーカーの各々をカットオフ値と比較して、サンプルがクローン病に一致するかどうかを決定することによって行われ、血清マーカーパネルは、ASCA-IgA、ASCA-IgG及びOmpC-IgAからなる群のメンバーである、ステップ、又は

（b）pANCA2陰性サンプルがクローン病に一致するかどうかを決定するステップであって、該決定は、CD計数パネルを測定してCD計数値を形成することによって行われ、CD計数パネルは、ASCA-IgA、ASCA-IgG、OmpC-IgA、Cbir1-IgG、A4-Fla2-IgG及びFlax-IgGからなる群のメンバーであり、サンプルは、CD計数値が2以上である場合にクローン病に一致する、ステップ、又は

（c）pANCA値がゼロであるpANCA2陰性サンプルがIBDに一致するか一致しないかを決定するステップであって、該決定は、ANCA-ELISAを測定し、ANCA-ELISA値を参照値と比較し、CD計数値を考慮して、サンプルがIBDに一致するか一致しないかを決定することによって行われる、ステップ、又は

（d）pANCA値がゼロであるpANCA2陰性サンプルがIBDに一致するかどうか又は不確定のIBDであるかどうかを決定するステップであって、該決定は、ANCA-ELISAを測定し、ANCA-ELISA値を比較し、CD計数値を考慮して、サンプルがIBDに一致するか一致しないか、又はサンプルがIBDに一致し、クローン病若しくは潰瘍性大腸炎に関して不確定であるかどうかを決定することによって行われる、ステップ、又は

（e）pANCA値が1であるpANCA2陰性サンプルがIBDに一致するか一致し

ないかを決定するステップであって、該決定は、ANCA ELISAを測定し、ANCA ELISA値をカットオフ値と比較して、サンプルがIBDに一致するか一致しないかを決定することによって行われる、ステップをさらに含む方法。

【請求項15】

上記パート（a）において、

ASCA-IgAの値が69 EU/mL以上である、又は

ASCA-IgGの値が40 EU/mL以上である、又は

OmpC-IgAの値が60 EU/mL以上である

場合に、クローン病に一致するものとしてサンプルが指定される、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

上記パート（b）において、

下記i～vの決定を行うことによってCD計数値を割り当て、

総CD計数値が2以上である場合に、サンプルがクローン病に一致すると指定することをさらに含む、請求項14に記載の方法。

i. ASCA-IgAが8.5 EU/mL以上である場合にCD計数値に+1を与える。

ii. ASCA-IgGが17.8 EU/mL以上である場合にCD計数値に+1を与える。

iii. OmpC-IgAが10.9 EU/mL以上である場合にCD計数値に+1を与える。

iv. 2種以上のフラジェリンマーカーがそれぞれの参照範囲より高い場合にCD計数値に+1を与える。

v. 任意のフラジェリンが100 EU/mL以上である場合にCD計数値に+1を与える。

【請求項17】

CBir1-IgGの参照値が78.4 EU/mL以上である、又は

A4-Fla2-IgGの参照値が44.8 EU/mL以上である、又は

Flax-IgGの参照値が33.4 EU/mL以上である、

請求項16に記載の方法。

【請求項18】

上記パート（c）において、pANCAがゼロ（検出されず）である場合、

i. ANCA ELISAが20 EU/mL未満であるならば、サンプルをIBDに一致しないものとして指定する、又は

ii. ANCA ELISAが27.4 EU/mLより大きければ、サンプルを潰瘍性大腸炎に一致するものとして指定する、又は

iii. ANCA ELISAが20 EU/mL以上かつ27.4 EU/mL以下であり、CD計数値がゼロであるならば、サンプルをIBDに一致しないものとして指定する、又は

iv. ANCA ELISAが20 EU/mL以上かつ27.4 EU/mL以下であり、CD計数値が1であるならば、サンプルを、IBDに一致するが、クローン病又は潰瘍性大腸炎に関して不確定であるものとして指定する

ことをさらに含む、請求項14に記載の方法。

【請求項19】

pANCAが1である場合、

i. ANCA ELISAが13.7 EU/mL未満であるならば、サンプルをIBDに一致しないものとして指定する、又は

ii. ANCA ELISAが13.7 EU/mL以上であるならば、サンプルを潰瘍性大腸炎に一致するものとして指定する

ことをさらに含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 20】

サンプルが、炎症性腸疾患（IBD）を有する個体に由来するもの（IBD サンプル）であるか、IBD を有しない個体に由来するもの（非 IBD サンプル）であるかを決定するため、及び／又はサンプルが IBD サンプルと決定された場合に IBD の臨床亜型を決定するための方法であって、

（a）前記サンプルを分析して、少なくとも下記マーカーの各々の存在又はレベル又は遺伝子型を決定して、マーカープロファイルを得るステップと、

（i）次の血清学的マーカー：ASCA-A、ASCA-G、ANCA、pANCA、抗OmpC抗体、抗CBir1抗体、抗FlaX抗体及び抗A4-Fla2抗体の各々の存在又はレベル

（ii）次の炎症マーカー：VEGF、ICAM、VCAM、SAA及びCRPの各々の存在又はレベル

（iii）次の遺伝子マーカー：ATG16L1、ECM1、NKX2-3及びSTAT3の各々の遺伝子型

（b）第1のランダムフォレスト統計解析を前記マーカープロファイルに適用して、前記サンプルがIBDサンプルであるか非IBDサンプルであるかを少なくとも70%の感度で決定するステップと、

（c）前記サンプルがIBDサンプルである場合に、前記IBDサンプルに決定木を適用して、前記IBDサンプルが不確定サンプルであるかどうかを決定するステップであって、

前記IBDサンプルが、3の四分位数スコアより大きい（ $> Q3$ の）ANCAレベルを有し、pANCA2陽性であり、 $> Q3$ の抗CBir1抗体又は抗A4-Fla2抗体又は抗FlaX抗体のレベルを有する場合に、前記IBDサンプルは不確定サンプルであり、或いは前記IBDサンプルが、pANCA2陽性であり、抗CBir1抗体、抗A4-Fla2抗体及び抗FlaX抗体から選択される3種のマーカーのうちの2種であって $> Q3$ である2種を発現する場合に、前記IBDサンプルは不確定サンプルであり、

pANCA2の値を決定するためにpANCAの存在又はレベルが使用される、ステップと、

（d）前記IBDサンプルが不確定サンプルでない場合に、第2のランダムフォレスト統計解析を前記IBDサンプルに適用して、IBDの臨床亜型を、クローン病（CD）については少なくとも85%の感度で、潰瘍性大腸炎（UC）については少なくとも95%の感度で決定するステップと、
を含む方法。