

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局

(43) 国際公開日  
2014年12月31日(31.12.2014)



(10) 国際公開番号  
WO 2014/208645 A1

- (51) 国際特許分類:  
C12Q 1/68 (2006.01) A61P 37/08 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)  
A61K 45/00 (2006.01) C12N 15/09 (2006.01)  
A61P 17/04 (2006.01) G01N 33/68 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2014/066930
- (22) 国際出願日: 2014年6月26日(26.06.2014)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2013-136501 2013年6月28日(28.06.2013) JP  
特願 2013-259918 2013年12月17日(17.12.2013) JP
- (71) 出願人: 中外製薬株式会社(CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒1158543 東京都北区浮間5丁目5番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 有馬 麻里衣(ARIMA, Marii); 〒1038324 東京都中央区日本橋室町2丁目1番1号 中外

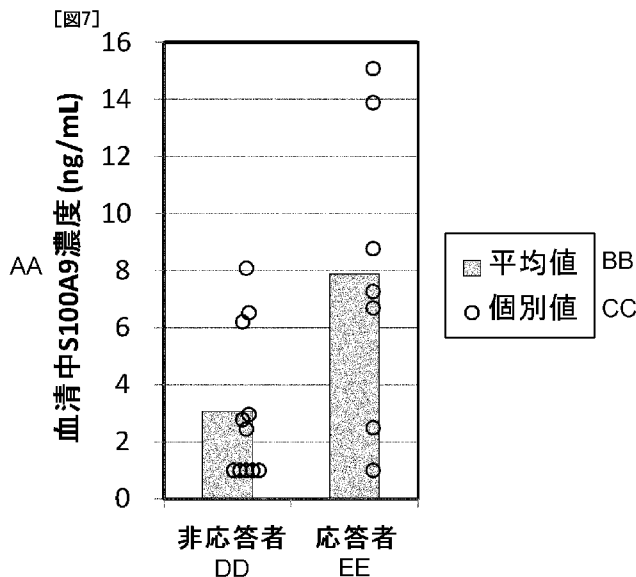
製薬株式会社内 Tokyo (JP). 田窪 亮子(TAKUBO, Ryoko); 〒1038324 東京都中央区日本橋室町2丁目1番1号 中外製薬株式会社内 Tokyo (JP). 岩瀬 志乃(IWASE, Shino); 〒1038324 東京都中央区日本橋室町2丁目1番1号 中外製薬株式会社内 Tokyo (JP). 松下 浩明(MATSUSHITA, Hiroaki); 〒4128513 静岡県御殿場市駒門1丁目135番地 中外製薬株式会社内 Shizuoka (JP). 溝呂木 暁彦(MIZOROKI, Akihiko); 〒4128513 静岡県御殿場市駒門1丁目135番地 中外製薬株式会社内 Shizuoka (JP). 高嶋 佳昭(TAKASHIMA, Yoshiaki); 〒4128513 静岡県御殿場市駒門1丁目135番地 中外製薬株式会社内 Shizuoka (JP).

- (74) 代理人: 春名 雅夫, 外(HARUNA, Masao et al.); 〒3000847 茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階 Ibaraki (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): 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,

[続葉有]

(54) Title: METHOD FOR PREDICTING RESPONSE OF PATIENT WITH PRURITIC DISEASE TO IL-31 ANTAGONIST THERAPY

(54) 発明の名称: そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測する方法



(57) Abstract: The present inventors discovered that by measuring the level of expression of at least one marker selected from a group consisting of (1) SERPINB3 and/or SERPINB4, (2) S100A9, (3) CXCL1, (4) SFTPD, (5) TCHH, and (6) CXCL6 in a sample obtained from a patient with a pruritic disease, it is possible to predict very easily and efficiently whether said patient will be a responder or a non-responder to IL-31 antagonist therapy. They also discovered that by measuring the level of expression of TCHH in the sample obtained from the patient, it is possible to diagnose whether or not said patient has a pruritic disease.

(57) 要約: 本発明者らは、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における (1) SERPINB3 および/または SERPINB4、(2) S100A9、(3) CXCL1、(4) SFTPD、(5) TCHH、ならびに(6) CXCL6 からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定することによって、その患者がIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者か非応答者かを極めて簡便にかつ効率よく予測できることを見出した。また、患者から得られた試料におけるTCHHの発現レベルを測定することによって、その患者がそう痒を伴う疾患に罹患しているか否かを診断できることを見出した。

- AA Serum S100A9 concentration (ng/mL)
- BB Mean value
- CC Individual value
- DD Nonresponder
- EE Responder

WO 2014/208645 A1



FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーロピア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

規則 4.17 に規定する申立て:

- 出願し及び特許を与えられる出願人の資格に関する申立て (規則 4.17(ii))

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則 5.2(a))

## 明 細 書

発明の名称：

そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療  
に対する応答を予測する方法

### 技術分野

[0001] 本発明は、そう痒を伴う疾患に罹患した患者の治療に対する応答を予測する方法に関する。また、本発明は、そう痒を伴う疾患の治療剤、そう痒を伴う疾患に罹患した患者を治療する方法、そう痒を伴う疾患に罹患した患者を選別する方法、および、そう痒を伴う疾患に罹患した患者の治療に対する応答を予測するためのキットに関する。さらに、本発明は、そう痒を伴う疾患を診断する方法、および、そう痒を伴う疾患を診断するためのキットに関する。

### 背景技術

[0002] そう痒（痒み）は、皮膚特有の感覚で、炎症を伴う様々な皮膚疾患に多く見られるが、ある種の内科系疾患（悪性腫瘍、糖尿病、肝疾患、腎不全、腎透析、痛風、甲状腺疾患、血液疾患、鉄欠乏）や妊娠、寄生虫感染が原因となる場合や、ときには薬剤性や心因性で起きることもある。痒みは主観的な感覚であるため数量的に客観的に評価することが難しく、痒みの発現メカニズムはまだ十分に解明されていない。現在のところ、痒みを引き起こす刺激物質としては、ヒスタミン、サブスタンスP、ブラジキニン、プロテイナーゼ、プロスタグランジン、オピオイドペプチドなどが知られている（非特許文献1）。

[0003] そう痒は患者本人にとっては非常に不快な症状であり、重度の場合には日常生活を営むのにも重大な障害となってくる。痒みの治療には、第一に皮膚炎や原因となる基礎疾患の治療が必要となるが、特に皮膚疾患の場合には、掻破によってその症状が悪化するため、痒みそのものに対する治療も同時に行う必要がある。掻破は、それによって皮膚が傷つけられて皮膚のバリアー

機能が障害され、物理的刺激や化学的刺激に対する侵襲や細菌感染等抗原の侵入を受けやすくなる。その結果、炎症が増悪してさらに痒みが増し、また掻破を繰り返すという悪循環に陥ることも多い。このように、特に強い痒みを伴う皮膚疾患においては、そう痒を治療すること自体がそのまま根本治療にもつながると考えられる（非特許文献2）。

[0004] このようなそう痒の治療には、内服剤として抗ヒスタミン剤、抗アレルギー剤などが主に用いられ、また外用剤としては、抗ヒスタミン剤、副腎皮質ステロイド外用剤、非ステロイド系抗消炎剤、カンフル、メントール、フェノール、サリチル酸、タール、クロタミトン、カプサイシン、保湿剤（尿素、ヒルドイド、ワセリンなど）などが用いられる。

[0005] そう痒が治療対象となる具体的な皮膚疾患としては、アトピー性皮膚炎、神経性皮膚炎、接触皮膚炎、脂漏性皮膚炎、自己感作性皮膚炎、毛虫皮膚炎、皮脂欠乏症、老人性皮膚そう痒、虫刺症、光線過敏症、蕁麻疹、痒疹、疱疹、膿痂疹、湿疹、白癬、苔癬、乾癬、疥癬、尋常性ざ瘡などが挙げられる。また、そう痒を伴う内臓疾患としては、悪性腫瘍、糖尿病、肝疾患、腎不全、腎透析、妊娠が特に問題となる。

[0006] 中でもアトピー性皮膚炎は、発汗、掻破、摩擦などの外的刺激によって容易に増悪することが知られ、そう痒が最も重要な治療目標となっている。アトピー性皮膚炎は、皮膚の炎症やかぶれ、湿疹を呈する疾患で、痒みを特徴とする慢性の皮膚疾患である。気管支喘息やアレルギー性鼻炎、アレルギー性皮膚炎などを起こしやすいアレルギー体質（アトピー素因）の上に、様々な刺激が加わって発症すると考えられている。アトピー性皮膚炎の発症メカニズムは未だ完全には解明されていないが、活性化T細胞、好塩基球あるいは肥満細胞上に存在するFcε受容体のIgEによる架橋およびそれに伴う活性化の結果、Th2に関連したサイトカイン（IL-4、IL-13、IL-5等）とケミカルメディエーター（ヒスタミン、セロトニン等）の生成が起きることが重要と考えられている。アトピー性皮膚炎の治療法には、ステロイド、抗ヒスタミン薬、その他の薬物療法の外、UVA（紫外線A波）を照射するPUVA療法等がある

。一方で、アトピー性皮膚炎などの疾患における痒みの発症は、単にヒスタミン等の放出によるものではないことも報告されており（非特許文献3）、新たな作用機序に基づく止痒剤の開発が期待されている。

[0007] IL-31 (Interleukin-31) は、新たに発見されたT細胞サイトカインであり、IL-31を過剰発現させたトランスジェニック・マウスでは、そう痒やアトピー性皮膚炎に類似する皮膚炎様症状が発症することが知られている（非特許文献4）。また、IL-31が結合する受容体は、IL-31RA (Interleukin-31 receptor A) とOSMR (Oncostatin M receptor) のヘテロダイマーであることが見出されており（特許文献1）、IL-31は本受容体を介して細胞内にシグナルを伝える。アトピー性皮膚炎患者の肥厚した表皮において、ヒトIL-31RAの発現が亢進していることが報告されている（非特許文献5）。

[0008] IL-31アンタゴニストを用いてアトピー性皮膚炎などのそう痒を伴う疾患を治療する方法については、すでいくつかの文献で報告がなされている（特許文献2～5）。また、IL-31アンタゴニストとして、IL-31中和抗体やIL-31RA (NR10) 中和抗体がすでいくつかの文献で報告されている（特許文献6～9）。しかし、アトピー性皮膚炎患者の血清においてIL-31タンパク質やmRNAの発現レベルが上昇しているとの報告がある一方で（非特許文献6, 7）、アトピー性皮膚炎患者と健康成人の皮膚においてIL-31の発現レベルに違いは見られないとの報告もあり（特許文献10）、全てのアトピー性皮膚炎患者の痒みにIL-31が関与しているわけではないと推測される。従って、アトピー性皮膚炎などのそう痒を伴う疾患に罹患した患者の中から、IL-31アンタゴニストによる治療の効果が期待できる患者のみを選別する方法が必要と考えられる。そのような方法として、これまでに、アトピー性皮膚炎患者から皮膚リンパ球抗原 (CLA) 陽性T細胞を単離し、そこから産生されるIL-31を測定することによって応答を予測するといった方法が報告されているが（特許文献10）、そのような操作は非常に煩雑で時間を要するという点において実用的であるとは言えなかった。すなわち、IL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を高い感度で簡便に予測する方法はこれまで知られておらず、そのような方

法の開発、特に、IL-31に代えてそのような予測を可能にする新規なバイオマーカー（サロゲートマーカー）の同定が求められていた。

- [0009] アトピー性皮膚炎において、多数の遺伝子の発現レベルが変動していることがこれまでの報告から知られている（特許文献11）。また、本明細書で後述するような遺伝子（SERPINB3およびSERPINB4（非特許文献8、9）、S100A9（特許文献12、非特許文献10）、CXCL1（非特許文献11～13）、SFTPD（非特許文献14）、CXCL6（非特許文献15））についても、アトピー性皮膚炎での発現レベルの変化が報告されているが、それらはいずれもアトピー性皮膚炎の発症や病態に各遺伝子が関与している可能性を示唆するのみであって、IL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測させるものではなかった。

## 先行技術文献

### 特許文献

- [0010] 特許文献1：W02004/003140  
特許文献2：W02006/088855  
特許文献3：W02007/133816  
特許文献4：W02007/142325  
特許文献5：W02009/072598  
特許文献6：W02006/122079  
特許文献7：W02008/028192  
特許文献8：W02009/072604  
特許文献9：W02010/064697  
特許文献10：W02006/088956  
特許文献11：W02004/031386  
特許文献12：W02006/063865

### 非特許文献

- [0011] 非特許文献1：Acta DermVenereol Suppl (1981) 97, 1-34  
非特許文献2：Br J Dermatol (2004) 151, 335-345  
非特許文献3：J Dermatol Sci (2001) 25, 20-28

非特許文献4 : Nat Immunol (2004) 5, 752-760

非特許文献5 : J Allergy Clin Immunol (2006) 117, 418-425

非特許文献6 : J Allergy Clin Immunol (2008) 122, 421-423

非特許文献7 : Ann Dermatol (2011) 23, 468-473

非特許文献8 : Clin Exp Allergy (2005) 35, 1327-1333

非特許文献9 : J Allergy Clin Immunol (2012) 129, 426-433

非特許文献10 : Exp Dermatol (2012) 21, 184-188

非特許文献11 : Methods (2012) 56, 198-203

非特許文献12 : Int Immunol (2010) 22, 453-467

非特許文献13 : PLoS One (2012) 7, e29815

非特許文献14 : Exp Dermatol (2006) 15, 168-174

非特許文献15 : Cytokine (2013) 61, 419-425

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0012] 本発明はこのような状況に鑑みてなされたものであり、その目的は、そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測する方法を提供することにある。また、IL-31アンタゴニストを有効成分として含み、IL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断された患者に投与されることを特徴とするそう痒を伴う疾患の治療剤、IL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断された患者にIL-31アンタゴニストを投与する工程を含む、そう痒を伴う疾患に罹患した患者を治療する方法、そう痒を伴う疾患に罹患した患者がIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であるか否かを選別する方法、および、そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測するためのキットを提供することも目的とする。さらに、ある患者がそう痒を伴う疾患に罹患しているか否かを診断する方法、および、そう痒を伴う疾患を診断するためのキットを提供することも目的とする。

### 課題を解決するための手段

[0013] 本発明者らは、そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測する方法について鋭意研究を行った結果、そう痒を伴う疾患に罹患した患者の中に、IL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者と非応答者が存在すること、患者から得られた試料における(1) SERPINB3および／またはSERPINB4、(2) S100A9、(3) CXCL1、(4) SFTPD、(5) TCHH、ならびに(6) CXCL6からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定することによって、その患者がIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者か非応答者かを極めて簡便かつ効率よく予測できることを見出した。また、その過程において、患者から得られた試料におけるTCHHの発現レベルを測定することによって、その患者がそう痒を伴う疾患に罹患しているか否かを診断できることを見出した。

[0014] 本発明は、このような知見に基づくものであり、具体的には以下の発明に関する。

〔1〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測する方法であって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定する工程を含む方法。

〔2〕 患者から得られた試料における前記マーカーの発現レベルが高い患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断する工程をさらに含む、〔1〕に記載の方法。

〔3〕 前記マーカーをポリペプチドとして測定する、〔1〕または〔2〕に

記載の方法。

〔４〕 試料が血液試料である、〔１〕から〔３〕のいずれか一項に記載の方法。

〔５〕 そう痒がIL-31により引き起こされるそう痒である、〔１〕から〔４〕のいずれか一項に記載の方法。

〔６〕 そう痒を伴う疾患がアトピー性皮膚炎である、〔１〕から〔５〕のいずれか一項に記載の方法。

〔７〕 IL-31アンタゴニストが、IL-31シグナルを阻害する抗体である、〔１〕から〔６〕のいずれか一項に記載の方法。

〔８〕 IL-31シグナルを阻害する抗体が、抗IL-31中和抗体または抗IL-31RA中和抗体である、〔７〕に記載の方法。

〔９〕 抗IL-31RA中和抗体が、配列番号：９に記載のCDR1、配列番号：１０に記載のCDR2、および配列番号：１１に記載のCDR3を含むH鎖可変領域、ならびに配列番号：１２に記載のCDR1、配列番号：１３に記載のCDR2、および配列番号：１４に記載のCDR3を含むL鎖可変領域を含む抗IL-31RA抗体である、〔８〕に記載の方法。

〔１０〕 抗IL-31RA中和抗体が、配列番号：１５に記載のH鎖可変領域、および配列番号：１６に記載のL鎖可変領域を含む抗IL-31RA抗体である、〔９〕に記載の方法。

〔１１〕 抗IL-31RA中和抗体が、配列番号：１７に記載のH鎖、および配列番号：１８に記載のL鎖を含む抗IL-31RA抗体である、〔１０〕に記載の方法。

〔１２〕 そう痒を伴う疾患の治療剤であって、IL-31アンタゴニストを有効成分として含み、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD

(5) TCHH、ならびに

(6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高い患者に投与されることを特徴とする治療剤。

〔13〕 そう痒を伴う疾患の治療剤であって、IL-31アンタゴニストを有効成分として含み、〔1〕から〔11〕のいずれか一項に記載の方法によりIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断された患者に投与されることを特徴とする治療剤。

〔14〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者を治療する方法であって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

(1) SERPINB3および／またはSERPINB4

(2) S100A9

(3) CXCL1

(4) SFTPD

(5) TCHH、ならびに

(6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高い患者にIL-31アンタゴニストを投与する工程を含む方法。

〔15〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者を治療する方法であって、〔1〕から〔11〕のいずれか一項に記載の方法によりIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断された患者にIL-31アンタゴニストを投与する工程を含む方法。

〔16〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者を選別する方法であって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

(1) SERPINB3および／またはSERPINB4

(2) S100A9

(3) CXCL1

(4) SFTPD

(5) TCHH、ならびに

(6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高い患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断する工程を含む方法。

〔17〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測するためのキットであって、

(1) SERPINB3および／またはSERPINB4

(2) S100A9

(3) CXCL1

(4) SFTPD

(5) TCHH、ならびに

(6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定するための試薬を含むことを特徴とするキット。

〔18〕 患者から得られた試料における前記マーカーの発現レベルが高い患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断することを記載した指示書をさらに含む、〔17〕に記載のキット。

〔19〕 そう痒を伴う疾患を診断する方法であって、ある患者から得られた試料におけるTCHHの発現レベルが高い患者を、そう痒を伴う疾患に罹患していると判断する工程を含む方法。

〔20〕 そう痒を伴う疾患を診断するためのキットであって、TCHHの発現レベルを測定するための試薬を含むことを特徴とするキット。

〔21〕 患者から得られた試料におけるTCHHの発現レベルが高い患者を、そう痒を伴う疾患に罹患していると判断することを記載した指示書をさらに含む、〔20〕に記載のキット。

[0015] 本発明は、さらに、以下の発明に関する。

〔A-1〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる

治療に対する応答の予測において使用するための

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーを検出する試薬。

〔A-2〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答の予測剤の製造における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーを検出する試薬の使用。

〔A-3〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答の予測における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーを検出する試薬

の使用。

〔A-4〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答の予測用マーカーを検出する方法であって、当該患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定する工程を含む方法。

〔A-5〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を評価する方法であって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定する工程を含む方法。

〔A-6〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を評価するための中間結果を得る方法であって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9

- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定する工程を含む方法。

[0016] 本発明は、さらに、以下の発明に関する。

[B-1] そう痒を伴う疾患の治療において使用するためのIL-31アンタゴニストであって、当該治療を受ける患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高いことを特徴とする、IL-31アンタゴニスト。

[B-2] そう痒を伴う疾患の治療剤の製造におけるIL-31アンタゴニストの使用であって、当該治療剤を投与される患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高いことを特徴とする、IL-31アンタゴニストの使用。

[B-3] そう痒を伴う疾患の治療におけるIL-31アンタゴニストの使用で

あって、当該治療を受ける患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高いことを特徴とする、IL-31アンタゴニストの使用。

[B-4] IL-31アンタゴニストを有効成分として含む、そう痒を伴う疾患の治療剤の製造方法であって、当該治療剤を投与される患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高いことを特徴とする、方法。

[0017] 本発明は、さらに、以下の発明に関する。

[C-1] そう痒を伴う疾患に罹患した患者の選別において使用するための

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーを検出する試薬であって、当該マーカーの発現レベルが高い患者がIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断される、試薬。

〔C-2〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者の選別剤の製造における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーを検出する試薬の使用であって、当該マーカーの発現レベルが高い患者がIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断される、使用。

〔C-3〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者の選別における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーを検出する試薬の使用であって、当該マーカーの発現レベルが高い患者がIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断される、使用。

〔C-4〕 そう痒を伴う疾患に罹患した患者の選別用マーカーを検出する方法であって、当該患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1

(4) SFTPD

(5) TCHH、ならびに

(6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定する工程、および当該マーカーの発現レベルが高い患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断する工程を含む方法。

[C-5] そう痒を伴う疾患に罹患した患者の選別のための中間結果を得る方法であって、当該患者から得られた試料における

(1) SERPINB3および／またはSERPINB4

(2) S100A9

(3) CXCL1

(4) SFTPD

(5) TCHH、ならびに

(6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定する工程、および測定した発現レベルの結果を他の情報と組み合わせることによって、当該マーカーの発現レベルが高い患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断する工程を含む方法。

[0018] 本発明は、さらに、以下の発明に関する。

[D-1] TCHHの発現レベルを測定する工程を含む、そう痒を伴う疾患を診断する方法。

[D-2] TCHHの発現レベルを測定する工程を含む、そう痒を伴う疾患をインビトロで診断する方法。

[D-3] TCHHの発現レベルを測定する工程を含む、そう痒を伴う疾患のマーカーを検出する方法。

[D-4] そう痒を伴う疾患の診断において使用するための、TCHH検出試薬。

[D-5] そう痒を伴う疾患の診断剤の製造における、TCHH検出試薬の使用

。

〔D-6〕 そう痒を伴う疾患の診断における、TCHH検出試薬の使用。

〔D-7〕 TCHHの発現レベルを測定する工程を含む、そう痒を伴う疾患の診断のための中間結果を得る方法。

### 図面の簡単な説明

[0019] [図1]NHEK細胞におけるSERPINB3およびSERPINB4のマイクロアレイ解析の結果を示す図である。(A)はSERPINB3/B4に特異的なプローブ、(B)(C)はSERPINB3に特異的なプローブ、(D)はSERPINB4に特異的なプローブを用いて、IL-31刺激有り無し各群についてそれぞれ測定された結果を示す。

[図2-1]HaCaT細胞におけるSERPINB3およびSERPINB4のマイクロアレイ解析の結果を示す図である。(A)はSERPINB3/B4に特異的なプローブ、(B)(C)はSERPINB3に特異的なプローブ、(D)はSERPINB4に特異的なプローブを用いて、IL-31刺激有り無し各群についてそれぞれ測定された結果を示す。

[図2-2]HaCaT細胞におけるCXCL1のマイクロアレイ解析の結果を示す図である。IL-31刺激有り無し各群についてそれぞれ測定された結果を示す。

[図2-3]HaCaT細胞におけるCXCL6のマイクロアレイ解析の結果を示す図である。IL-31刺激有り無し各群についてそれぞれ測定された結果を示す。

[図2-4]HaCaT細胞におけるTCHHのマイクロアレイ解析の結果を示す図である。IL-31刺激有り無し各群についてそれぞれ測定された結果を示す。

[図3-1]健康成人、およびアトピー性皮膚炎患者の血清サンプルにおけるCXCL1の発現量の測定結果を示す図である。

[図3-2]健康成人、およびアトピー性皮膚炎患者の血清サンプルにおけるCXCL6の発現量の測定結果を示す図である。

[図3-3]健康成人、およびアトピー性皮膚炎患者の血清サンプルにおけるTCHHの発現量の測定結果を示す図である。

[図4-1]カニクイザル皮膚におけるS100A9のマイクロアレイ解析の結果を示す図である。IL-31刺激有り無し各群についてそれぞれ測定された結果を示す。

[図4-2]カニクイザル皮膚におけるSFTPDのマイクロアレイ解析の結果を示す図である。IL-31刺激有りと無しの各群についてそれぞれ測定された結果を示す。

[図5-1]健康成人、およびアトピー性皮膚炎患者の血清サンプルにおけるS100A9の発現量を示す図である。

[図5-2]健康成人、およびアトピー性皮膚炎患者の血清サンプルにおけるSFTPDの発現量を示す図である。

[図6]健康成人、プラセボが投与されたアトピー性皮膚炎患者、抗ヒトIL-31受容体A抗体が投与されたアトピー性皮膚炎患者（非応答者／応答者）の各血清中SERPINB3/B4濃度を示す図である。

[図7]抗ヒトIL-31受容体A抗体が投与されたアトピー性皮膚炎患者（非応答者／応答者）の血清中S100A9濃度の平均値および個別値を示す図である。

[図8]抗ヒトIL-31受容体A抗体が投与されたアトピー性皮膚炎患者（非応答者／応答者）の血清中TCHH濃度の平均値および個別値を示す図である。

### 発明を実施するための形態

[0020] 本発明は、そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測する方法であって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定する工程を含む方法に関する。

[0021] 本発明においては、患者から得られた試料におけるマーカーの発現レベルが高い患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断し

、発現レベルが低い患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する非応答者であると判断するので、本発明の方法にそのような工程を含めてもよい。本発明において、マーカーの発現レベルが高いとは、マーカーの測定値がそのマーカーに対して設定された所定の値より高いことを意味し、マーカーの発現レベルが低いとは、そのマーカーに対して設定された所定の値以下であることを意味する。したがって、本発明の方法において、患者から得られた試料において測定されたマーカーの発現レベルが当該マーカーに対して設定された所定の値より高いことにより、当該患者はIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であることが示される。一態様において、本発明の方法は、患者から得られた試料において測定されたマーカーの発現レベルを、当該マーカーに対して設定された所定の値と比較する工程、および、当該測定された発現レベルが当該所定の値より高い場合に当該患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断する工程を含んでもよい。

[0022] 本発明におけるマーカーとは、バイオマーカーと言い換えることもでき、正常な生物学的過程、発病過程、又は治療に対する薬理学的な応答性の指標として客観的に測定され評価され得る特定の生体内化学物質を指す。マーカーは、疾患の有無、進行状態、もしくは罹患のしやすさの評価、あるいは薬剤の効果、至適用量、もしくは安全性の評価もしくは予測、あるいは今後の予測などに有用である。本発明におけるマーカーは遺伝子名で特定されており、マーカーとなる遺伝子をポリペプチドまたはポリヌクレオチドとして測定することが好ましく、ポリペプチドとして測定することが特に好ましい。

[0023] マーカーの発現レベルの測定は、マーカーの形態あるいはマーカーの発現レベルを測定しようとする試料の種類に応じて適切な方法を選択して実施することができる。マーカーの形態がポリペプチドの場合は、当該ポリペプチドに特異的に結合する抗体を用いた免疫学的手法により測定を行うことが好ましく、そのような手法として例えば、酵素免疫測定法（ELISA、EIA）、蛍光免疫測定法（FIA）、放射免疫測定法（RIA）、発光免疫測定法（LIA）、電気化学発光（ECL）法、ウエスタンブロッティング法、表面プラズモン共鳴法

、抗体アレイを用いた方法、免疫組織染色法、蛍光活性化細胞選別（FACS）法、イムノクロマトグラフィー法、免疫沈降法、免疫比濁法、ラテックス凝集法などを挙げることができる。マーカーの形態がポリヌクレオチドの場合は、当該ポリヌクレオチドに特異的に結合するオリゴヌクレオチドを用いた遺伝子工学的的手法により測定を行うことが好ましく、そのような手法として例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法、逆転写PCR（RT-PCR）法、リアルタイム定量PCR（Q-PCR）法、ノーザンブロットング法、ハイブリダイゼーション法（DNAマイクロアレイなどのオリゴヌクレオチドアレイを用いた方法も含む）などを挙げることができる。

[0024] 本発明における試料は、生体試料と言い換えることもでき、生体内に含まれる器官、組織、細胞、体液、あるいはそれらの混合物を指す。具体的な例としては、皮膚、気道、腸管、尿生殖路、神経、腫瘍、骨髄、血球、血液（全血、血漿、血清）、リンパ液、脳脊髄液、腹腔内液、滑液、肺内液、唾液、喀痰、尿などを挙げることができる。また、これらを洗浄して得られるもの、あるいは生体外で培養して得られるものも本発明における試料に含まれる。本発明における好ましい試料は血液であり、特に好ましい試料は血漿または血清である。

[0025] 本発明において、患者などから得られた試料は、マーカーの発現レベルの測定に供される前に、濃縮、精製、抽出、単離、あるいは物理的／化学的処理などの方法により加工されてもよい。例えば、血液試料から血球あるいは血漿成分を分離してもよいし、また、組織／細胞試料からDNAやRNAを抽出してもよい。あるいは加熱や化学試薬により不要成分を変性／除去してもよい。このような加工は、主にマーカーの発現レベルを測定する感度や特異性を向上させる目的で行われる。

[0026] 本発明における所定の値とは、何らかの科学的根拠に基づいて予め決定された値を意味するが、その値を基準にして、そう痒を伴う疾患に罹患した患者がIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であるか非応答者であるかを判断することができれば、どのような値であっても構わない。本発明に

おける所定の値は、後述するようにマーカーごとに設定されていてもよい。

[0027] 本発明における所定の値は、例えば健康成人から得られた試料（対照試料）におけるマーカーの測定値から設定することができる。本発明のマーカーの測定値は、健康成人と比較して、そう痒を伴う疾患に罹患した患者で増大していることが本研究の結果すでに判明しているため、一つの取り得る手段として、複数の健康成人から得られた試料におけるマーカーの測定値の平均値をそのまま所定の値としてもよいし、また、別の取り得る手段として、測定値の平均値に標準偏差の1.0倍、1.5倍、2.0倍、2.5倍、または3.0倍の値を加えた値を所定の値としてもよい。したがって、本発明の一態様において、健康成人から得られた試料（対照試料）において測定されたマーカーの発現レベルと比較して、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料において測定されたマーカーの発現レベルが高いことにより、当該患者がIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であることが示される。

[0028] また、本発明における所定の値は、臨床試験などそう痒を伴う疾患に罹患した複数の患者に対してIL-31アンタゴニストによる治療を行った際の結果に基づいて設定することもできる。ある基準値に対して、マーカーの測定値がそれより高い患者群とそれ以下の患者群とで、IL-31アンタゴニストによる治療の効果に差が見られる場合、その基準値を本発明における所定の値とすることができる。その際、両群の治療効果には統計学的な有意差が見られることが望ましい。例えば、本発明の一態様において、IL-31アンタゴニストによる治療効果が低い、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料において測定されたマーカーの発現レベルと比較して、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料において測定されたマーカーの発現レベルが高いことにより、当該患者がIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であることが示される。

[0029] 本発明におけるマーカーの測定値や所定の値は、マーカーの発現レベルの測定結果を何らかの方法で数値化したものを意味するが、数値としては測定の結果得られる値（例えば発色強度など）をそのまま用いてもよいし、また

、含まれるマーカーの量が既知の陽性対照試料を別途用意して、それとの比較で測定結果を換算した値（例えば濃度など）を用いてもよい。あるいは、上記のようにして得られた値を一定の範囲で区切るなどしてスコア化した値（例えばグレード1、2、3など）を用いてもよい。

[0030] 本発明において試料を得る患者は、そう痒を伴う疾患に罹患した患者であればどのような患者であってもよい。そう痒を伴う疾患の治療をまだ受けていない患者であってもよいし、治療をすでに受けている患者であってもよい。IL-31アンタゴニストによる治療をすでに受けている患者の場合、本発明は、IL-31アンタゴニストによる治療に対する当該患者の応答性をモニタリングする方法、または当該患者に対してIL-31アンタゴニストによる治療を継続すべきか否かを判断する方法を提供する。

[0031] IL-31 (Interleukin-31) は、新たに発見されたT細胞サイトカインであり、IL-31を過剰発現させたトランスジェニック・マウスでは、アトピー性皮膚炎に類似する皮膚炎様症状が発症し持続的な引っ掻き行動が見られるなど、そう痒に関与することが知られている。

[0032] ヒトIL-31の核酸配列およびアミノ酸配列は、それぞれ配列番号：1 (RefSeq登録番号NM\_001014336) および配列番号：2 (RefSeq登録番号NP\_001014358) に記載されている。

[0033] IL-31の受容体は、IL-31受容体A (IL-31RA) とオンコスタチンM受容体 (OSMR) のヘテロダイマーから形成される (Nat Immunol (2004) 5, 752-60)。IL-31RAはNR10とも呼ばれ、複数のスプライシングバリエーションがあることが知られている (W000/075314参照)。スプライシングバリエーションには、NR10.1 (652アミノ酸)、NR10.2 (252アミノ酸)、NR10.3 (662アミノ酸、IL-31RAv4とも呼ばれる)、IL-31RAv3 (764アミノ酸) などが知られているが、好ましいIL-31RAとしてはNR10.3 (IL-31RAv4) およびIL-31RAv3を挙げることができる。ヒトIL-31RA (IL-31RAv4) の核酸配列およびアミノ酸配列を、それぞれ配列番号：3 (RefSeq登録番号NM\_001242638) および配列番号：4 (RefSeq登録番号NP\_001229567) に、ヒトIL-31RA (IL-31RAv3) の核酸配列およびア

ミノ酸配列を、それぞれ配列番号：5（RefSeq登録番号NM\_139017）および配列番号：6（RefSeq登録番号NP\_620586）に示す。また、ヒトOSMRの核酸配列およびアミノ酸配列を、それぞれ配列番号：7（RefSeq登録番号NM\_003999）および配列番号：8（RefSeq登録番号NP\_003990）に示す。

[0034] 本発明におけるIL-31アンタゴニストとは、IL-31によって引き起こされる細胞内シグナル伝達を抑制あるいは遮断する化合物を意味し、これはIL-31シグナルを阻害する化合物と言い換えることもできる。そのような化合物は天然に存在する化合物であってもよいし、人工的に合成された化合物であってもよい。また、低分子化合物であってもよいし、タンパク質のような高分子化合物であってもよい。

[0035] 細胞外に存在するIL-31は、細胞表面に存在するIL-31受容体（IL-31RAとOSMRのヘテロダイマー）を介して細胞内シグナル伝達を引き起こすことが知られている（Nat Immunol (2004) 5, 752-760）。IL-31受容体の細胞外ドメインにIL-31結合ドメインが含まれており、そこにIL-31が結合すると、IL-31受容体の立体構造に変化が起こり、その結果としてIL-31受容体の細胞内ドメインから細胞内シグナル伝達を開始される。よって、ある化合物がIL-31シグナルを阻害するかどうかは、ある一つの方法として、その化合物がIL-31とIL-31受容体との結合を阻害するかどうかを調べることにより確認することができる。そのような測定を行うための方法として、ELISAやフローサイトメトリーを利用したアッセイ、表面プラズモン共鳴を利用したアッセイなどを挙げることができる。例えばELISAの場合、プレート上にIL-31受容体（またはIL-31RA）タンパク質を固相化して、そこに結合するIL-31タンパク質の量を、酵素標識された抗IL-31抗体などの二次抗体で検出するような系を用意して、そこに化合物を添加した場合に、検出されるIL-31タンパク質の量が減少するかどうかを測定することによって、当該化合物がIL-31とIL-31受容体との結合を阻害したかどうかを評価することができる。

[0036] また、別の方法として、ある化合物がIL-31シグナルを阻害するかどうかは、IL-31が細胞に作用することによって引き起こされる生理活性がその化合物

により阻害されるかどうかを調べることによっても確認することができる。ここでの生理活性は、何らかの方法により定量的あるいは定性的に測定できる活性であれば特に限定されないが、細胞増殖活性やタンパク質リン酸化活性、遺伝子／タンパク質発現誘導活性などを挙げることができる。例えば、表面にIL-31受容体を発現し、外部からのIL-31刺激に応じて増殖活性が誘導されるような細胞を用意して、そこに化合物を添加した場合に、IL-31により誘導される細胞増殖活性が低下するかどうかを測定することによって、当該化合物がIL-31シグナルを阻害したかどうかを評価することができる。そのような細胞としては、生来的にIL-31受容体を発現している天然の細胞を用いてもよいし、人工的にIL-31受容体を発現させた遺伝子組換え細胞を用いてもよい。遺伝子組換え細胞の好適な例として、IL-31受容体を発現させたBa/F3細胞を挙げることができる。また、他の方法として、Dillonらの文献 (Nat Immunol (2004) 5, 752-760) に記載の方法を用いることもできる。

[0037] 本発明において、IL-31アンタゴニストがIL-31シグナルを阻害する程度は特に限定されないが、少なくとも10%以上、好ましくは20%以上、30%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、特に好ましくは90%以上、95%以上、98%以上阻害する。

[0038] 本発明において、IL-31シグナルを阻害する化合物の好ましい態様としては、IL-31シグナルを阻害するタンパク質を挙げることができる。ここでのタンパク質は、IL-31またはIL-31受容体に特異的に結合する性質を有するタンパク質であれば特に限定されないが、好ましい例としては抗体や抗体様分子 (Curr Opin Biotechnol (2006) 17, 653-658、Curr Opin Struct Biol (1997) 7, 463-469、Protein Sci (2006) 15, 14-27) を挙げることができる。抗体には、モノクローナル抗体 (例えばIgG、IgM、IgE、IgA、IgDなど)、ポリクローナル抗体、改変抗体 (例えばキメラ抗体、ヒト化抗体、糖鎖改変抗体 (W099/54342、W000/61739) など)、抗体断片 (例えばFab、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、CDRなど)、多重特異性抗体 (例えば二重特異性抗体など)、コンジュゲート抗体 (例えばポリエチレングリコール (PEG)、放射性同位体、薬物などが付加

された抗体)などいかなる抗体も含まれる。一方、抗体様分子の例としては、DARPin (W02002/020565)、Affibody (W01995/001937)、Avimer (W02004/044011)、Adnectin (W02002/032925)などを挙げることができる。より好ましいのはIL-31シグナルを阻害する抗体である。また、IL-31シグナルを阻害するタンパク質の別の好ましい例として、IL-31RAの細胞外ドメインを含むタンパク質、あるいはIL-31受容体(IL-31RAとOSMRのヘテロダイマー)の各細胞外ドメインを含むタンパク質を挙げることができる。

[0039] さらに本発明において、IL-31シグナルを阻害する抗体の好ましい態様としては、IL-31に結合することによってIL-31シグナルを阻害する抗体(抗IL-31中和抗体)、あるいはIL-31受容体に結合することによってIL-31シグナルを阻害する抗体(抗IL-31受容体中和抗体)を挙げることができる。抗IL-31受容体中和抗体には、IL-31RAに結合することによってIL-31シグナルを阻害する抗体(抗IL-31RA中和抗体)、OSMRに結合することによってIL-31シグナルを阻害する抗体(抗OSMR中和抗体)、あるいはIL-31RAとOSMRのヘテロダイマーに結合することによってIL-31シグナルを阻害する抗体(抗IL-31RA/OSMRヘテロダイマー中和抗体)などが含まれるが、好ましくは抗IL-31RA中和抗体あるいは抗IL-31RA/OSMRヘテロダイマー中和抗体であり、より好ましくは抗IL-31RA中和抗体である。

[0040] 抗体を作製する方法は当業者によく知られているが、例えばハイブリドーマ法(Nature (1975) 256, 495)やファージ抗体ライブラリー法(Nature (1991) 352, 624-628、J Mol Biol (1991) 222, 581-597)により作製することができる。IL-31タンパク質やIL-31受容体タンパク質を免疫原として用いれば、これらの方法により抗IL-31抗体や抗IL-31受容体抗体を多数取得することができる。さらに、これらの抗体の中から、上記のIL-31シグナルを阻害する化合物を検出する方法を用いてスクリーニングを行えば、抗IL-31中和抗体や抗IL-31受容体中和抗体を取得することができる。IL-31やIL-31受容体などのタンパク質は当業者に公知の遺伝子工学的手法により調製することができる。具体的には、所望のタンパク質をコードする遺伝子を発現ベクターに挿入

して、それを適当な宿主細胞に導入した後、その宿主細胞中あるいはその宿主細胞の培養上清中に発現した目的のタンパク質を精製することにより調製することができる。

[0041] 抗IL-31中和抗体の好ましい例としては、W02006/122079に記載の抗IL-31抗体や、W02008/028192に記載の抗IL-31抗体を挙げることができる。

[0042] 抗IL-31RA中和抗体の好ましい例としては、W02007/142325に記載の抗IL-31RA (NR10) 抗体、W02009/072604に記載の抗IL-31RA (NR10) 抗体、W02010/064697に記載の抗IL-31RA (NR10) 抗体などを挙げることができる。また、別の好ましい例として、ヒトIL-31RAのドメイン1を認識する抗IL-31RA抗体を挙げることができる。ここでヒトIL-31RAのドメイン1とは、配列番号：6に記載のアミノ酸配列における53番目のアミノ酸から152番目のアミノ酸までの領域 (LPAKP~LENIA) を指す。それらの中でもより好ましくは、配列番号：9に記載のCDR1、配列番号：10に記載のCDR2、および配列番号：11に記載のCDR3を含むH鎖可変領域、ならびに配列番号：12に記載のCDR1、配列番号：13に記載のCDR2、および配列番号：14に記載のCDR3を含むL鎖可変領域を含む抗IL-31RA抗体であり、さらに好ましくは、配列番号：15に記載のH鎖可変領域、および配列番号：16に記載のL鎖可変領域を含む抗IL-31RA抗体であり、特に好ましくは、配列番号：17に記載のH鎖、および配列番号：18に記載のL鎖を含む抗IL-31RA抗体である。

[0043] また、CDRの定義の方法としては、Kabatらの方法 (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed (1991), Bethesda, MD)、Chothiaらの方法 (Science (1986) 233, 755-758)、抗原-抗体の接触 (Contact) 領域に基づく方法 (J Mol Biol (1996) 262, 732-745) などが知られている。具体的には、各方法によるCDRは以下のように定義される。

CDR	Kabat	Chothia	Contact
L1	L24-L34	L24-L34	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L96

H1	H31-H35B	H26-H32/34	H30-H35B	(Kabatナンバリング)
H1	H31-H35	H26-H32	H30-H35	(Chothiaナンバリング)
H2	H50-H65	H52-H56	H47-H58	
H3	H95-H102	H95-H102	H93-H101	

[0044] 従って、本発明における抗IL-31RA中和抗体の好ましい例としては、配列番号：15に記載のH鎖可変領域に含まれるCDR1、CDR2、およびCDR3、ならびに配列番号：16に記載のL鎖可変領域に含まれるCDR1、CDR2、およびCDR3を、それぞれH鎖CDR1、CDR2、およびCDR3、ならびにL鎖CDR1、CDR2、およびCDR3として含む抗IL-31RA抗体を挙げることができる。そのような抗体におけるCDRの定義の方法は、Kabatらの方法、Chothiaらの方法、抗原-抗体の接触(Contact)領域に基づく方法のいずれに従ってもよく、またそれらを組み合わせた方法に従ってもよい。

[0045] 上記のH鎖およびL鎖各CDRの配列、H鎖およびL鎖可変領域の配列、ならびにH鎖およびL鎖全長の配列で特定された抗IL-31RA抗体と同じエピトープに結合する抗IL-31RA抗体も抗IL-31RA中和抗体として同様に好ましい。エピトープとは、抗体が認識して結合する抗原の特定の構造単位のことであり、抗原がポリペプチドの場合は、通常6~10個程度のアミノ酸

からなる。エピトープの同定は、抗原を断片化したペプチドを合成する方法、部位特異的突然変異を抗原に導入する方法(例えばアルギニン/グルタミン酸スキャンニング、J Biol Chem (1995) 270, 21619-21625、J Biol Chem (2006) 281, 20464-20473)、抗原-抗体複合体の結晶化を行う方法など、当業者に公知の方法により行うことができる(Using Antibodies: A Laboratory Manual (1999), Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York)。本発明において、「同じエピトープに結合する」とは、2種類の抗体が結合するエピトープが少なくとも一部重複することを意味する。重複する程度は特に限定されないが、少なくとも10%以上、好ましくは20%以上、30%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、特に好ましくは90%以上、最も好ましくは100%重複する。

[0046] また、IL-31RAへの結合が上記のH鎖およびL鎖各CDRの配列、H鎖およびL鎖可変領域の配列、ならびにH鎖およびL鎖全長の配列で特定された抗IL-31RA抗体と競合する抗IL-31RA抗体も抗IL-31RA中和抗体として同様に好ましい。2種類の抗体が互いに競合するかどうかは、ELISAなどを利用した競合結合アッセイにより評価することができる。具体的には、2種類ある抗体のうち、一方の抗体を蛍光などで予め標識して、その抗体（標識抗体）の抗原への結合を検出する系を用意し、そこにもう一方の標識されていない抗体（被検抗体）を共存させた場合と共存させなかった場合とを比較して、被検抗体が共存した場合に標識抗体の抗原への結合量が低下していれば、被検抗体と標識抗体は互いに競合すると判断することができる。本発明において、競合する程度は特に限定されないが、少なくとも10%以上、好ましくは20%以上、30%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、特に好ましくは90%以上、95%以上、98%以上競合する（すなわち、他方の抗体の結合量を低下させる）。

[0047] 本発明におけるそう痒は、どのような原因によって引き起こされるそう痒であってもよいが、好ましくはIL-31によって引き起こされるそう痒である。

[0048] 本発明におけるそう痒を伴う疾患は、その疾患に罹患した結果としてそう痒が引き起こされる疾患であればどのような疾患であってもよいが、具体的な例としては、アトピー性皮膚炎、接触皮膚炎、神経性皮膚炎、脂漏性皮膚炎、自家感作性皮膚炎、毛虫皮膚炎、シラミ寄生症、虫さされ、皮脂欠乏症、老人性皮膚そう痒症、結節性痒疹、帯状疱疹、蕁麻疹、膿痂疹、湿疹、汗疹、疱疹状皮膚炎、類天疱瘡、酒さ性ざ瘡、尋常性ざ瘡、白癬、乾癬、苔癬、疥癬、白斑、乾皮症、円形脱毛症、光線過敏症、胆道閉塞、原発性胆汁性肝硬変、ウイルス性肝炎、尿毒症、慢性腎不全、血液透析、痛風、皮膚T細胞リンパ腫、白血病、真性一次性赤血球増加症、甲状腺機能亢進症、糖尿病、内臓癌、妊娠、薬物アレルギーなどを挙げることができる。

[0049] また、本発明は、そう痒を伴う疾患の治療剤であって、IL-31アンタゴニストを有効成分として含み、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試

料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高い患者に投与されることを特徴とする治療剤に関する。

[0050] 上述のように、本発明によって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測する方法が提供されたので、本発明は、そう痒を伴う疾患の治療剤であって、IL-31アンタゴニストを有効成分として含み、当該方法によりIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断された患者に投与されることを特徴とする治療剤も提供する。

[0051] また、本発明は、そう痒を伴う疾患に罹患した患者を治療する方法であって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高い患者にIL-31アンタゴニストを投与する工程を含む方法に関する。

[0052] 上述のように、本発明によって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測する方法が提供されたので、本発明は、そう痒を伴う疾患に罹患した患者を治療する方法であって、当該

方法によりIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断された患者にIL-31アンタゴニストを投与する工程を含む方法も提供する。

[0053] より具体的には、本発明におけるそう痒を伴う疾患に罹患した患者を治療する方法には、

(a) そう痒を伴う疾患に罹患した患者から試料を得る工程、

(b) 前記試料における

(1) SERPINB3および／またはSERPINB4

(2) S100A9

(3) CXCL1

(4) SFTPD

(5) TCHH、ならびに

(6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定する工程、

(c) 患者から得られた試料におけるマーカーの測定値とそのマーカーに対して設定された所定の値とを比較する工程、ならびに

(d) マーカーの測定値が所定の値より高い患者にIL-31アンタゴニストを投与する工程、

などの工程を含むことができる。

[0054] また、本発明は、そう痒を伴う疾患の治療において使用するためのIL-31アンタゴニストであって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

(1) SERPINB3および／またはSERPINB4

(2) S100A9

(3) CXCL1

(4) SFTPD

(5) TCHH、ならびに

(6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高い患者に投与されることを特徴とするIL-31アンタゴニストに関する。

[0055] 上述のように、本発明によって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測する方法が提供されたので、本発明は、そう痒を伴う疾患の治療に使用されるIL-31アンタゴニストであって、当該方法によりIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断された患者に投与されることを特徴とするIL-31アンタゴニストに関する。

[0056] また、本発明は、そう痒を伴う疾患の治療剤の製造におけるIL-31アンタゴニストの使用であって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高い患者に当該治療剤が投与されることを特徴とするIL-31アンタゴニストの使用に関する。

[0057] 上述のように、本発明によって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測する方法が提供されたので、本発明は、そう痒を伴う疾患の治療剤の製造におけるIL-31アンタゴニストの使用であって、当該方法によりIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断された患者に当該治療剤が投与されることを特徴とするIL-31アンタゴニストの使用に関する。

[0058] また、本発明は、そう痒を伴う疾患に罹患した患者を選別する方法であって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高い患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断する工程を含む方法に関する。

[0059] より具体的には、本発明におけるそう痒を伴う疾患に罹患した患者を選別する方法には、

- (a) そう痒を伴う疾患に罹患した患者から試料を得る工程、
- (b) 前記試料における
  - (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
  - (2) S100A9
  - (3) CXCL1
  - (4) SFTPD
  - (5) TCHH、ならびに
  - (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定する工程、

(c) 患者から得られた試料におけるマーカーの測定値とそのマーカーに対して設定された所定の値とを比較する工程、ならびに

(d) マーカーの測定値が所定の値より高い患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断する工程、  
などの工程を含むことができる。

[0060] また、本発明は、そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測するためのキットであって、

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定するための試薬を含むことを特徴とするキットに関する。

[0061] 前記キットは、さらに当該キットの使用方法を記載した指示書を含んでもよい。そのような使用方法の中には、マーカーの発現レベルを測定した結果を判断するための方法が記載されていることが望ましい。具体的には、患者から得られた試料におけるマーカーの測定値とそのマーカーに対して設定された所定の値とを比較して、所定の値より高い患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断し、所定の値以下の患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する非応答者であると判断することを記載した指示書を好ましい例として挙げるができる。

[0062] 本発明のキットに含まれる試薬は、マーカーの発現レベルを測定可能であれば特に限定されないが、マーカーの形態に応じた試薬を適宜選択することができる。マーカーの形態がポリペプチドの場合は、当該ポリペプチドに特異的に結合する抗体を含む試薬が好ましく、また、マーカーの形態がポリヌクレオチドの場合は、当該ポリヌクレオチドに特異的に結合するオリゴヌクレオチドを含む試薬が好ましい。

[0063] また、本発明のキットは、マーカーの発現レベルを測定する際の基準となる陽性対照試料を含むことが好ましい。陽性対照試料は、そこに含まれるマーカーの量が予め特定されている試料であれば特に限定されないが、当該キットで測定されるマーカーの形態に応じて適宜調製することができる。例えば、マーカーの形態がポリペプチドの場合、当該マーカーと同じポリペプチドを単離精製して定量したものを含む試料が陽性対照試料として好ましい。

[0064] 本発明における、そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測する方法とは、そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する有効性を評価する方法と言い換えることができる。また、そう痒を伴う疾患に罹患した患者の中からIL-31アンタゴニストによる治療に適した患者を選別する方法と言い換えることもできる。あるいは、そう痒を伴う疾患に罹患した患者における、IL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測するためのマーカー、当該治療に対する有効性を評価するためのマーカー、または当該治療に適した患者を選別するためのマーカーを検出する方法と言い換えることもできる。これらの方法は、患者から得られた試料を用いて、インビトロで行うことができる。

[0065] 一態様において、本発明は、そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を評価するための中間結果を得る方法を提供することができる。別の態様において、本発明は、そう痒を伴う疾患に罹患した患者の選別のための中間結果を得る方法を提供することができる。さらに別の態様において、本発明は、そう痒を伴う疾患の診断のための中間結果を得る方法を提供することができる。そのような中間結果をさらなる情報と組み合わせることによって、対象がそう痒を伴う疾患に罹患していること、または、そう痒を伴う疾患に罹患した患者がIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であることを、医師、看護師、又はその他の医療従事者が判定することを補助することができる。

[0066] 本発明において、そう痒を伴う疾患に罹患した患者がIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であるとは、IL-31アンタゴニストによる治療が当該患者におけるそう痒を軽減することを意味し、非応答者であるとは、IL-31アンタゴニストによる治療が当該患者におけるそう痒を軽減しないことを意味する。そう痒を伴う疾患がアトピー性皮膚炎などの皮膚疾患の場合、応答者に対しては、そう痒を軽減する効果に加えて、その基礎疾患である皮膚疾患を治療する効果が伴われていてもよい。そう痒が軽減されたかどうかは、当業者に公知の方法により評価することが可能である。例えば、視覚的アナ

ログ尺度 (Visual Analogue Scale、VAS) や白取の重症度基準を用いて患者が感じる痒みの程度をスコア化することが可能であるし、また、腕の動きの加速度により引っ掻き行動を計測するデバイス、微速度赤外線写真撮影やビデオ撮影によって患者の夜間における掻破回数を計測することが可能である。

[0067] 本発明におけるマーカーとしては、以下のものを挙げることができる。

(1) SERPINB3および／またはSERPINB4

SERPINB3 (serpin peptidase inhibitor, clade B, member 3) およびSERPINB4 (serpin peptidase inhibitor, clade B, member 4) は、分子量約45000のタンパク質で、Serpinファミリーに属するセリンプロテアーゼインヒビターである。SERPINB3およびSERPINB4は、ともに扁平上皮細胞癌関連抗原 (Squamous Cell Carcinoma Antigen; SCCA) の一種で、別名SCCA1およびSCCA2とも呼ばれており、子宮頸癌、食道癌、肺癌、皮膚癌などの患者において高い血中濃度を示し、癌の診断にも利用されている。一方で、SERPINB3 (SCCA1) およびSERPINB4 (SCCA2) は、アトピー性皮膚炎の患者の特に皮膚において、遺伝子、タンパク質ともに発現レベルが上昇していることが知られており、アトピー性皮膚炎のマーカーとなる可能性が示されている (Clin Exp Allergy (2005) 35, 1327-1333)。また、SERPINB3およびSERPINB4は、IL-31で刺激されたケラチノサイト細胞において、mRNAの発現レベルがわずかに上昇することが報告されている (J Allergy Clin Immunol (2012) 129, 426-433)。

[0068] ヒトSERPINB3の核酸配列およびアミノ酸配列を、それぞれ配列番号：19 (RefSeq登録番号NM\_006919) および配列番号：20 (RefSeq登録番号NP\_008850) に示す。ヒトSERPINB4の核酸配列およびアミノ酸配列を、それぞれ配列番号：21 (RefSeq登録番号NM\_002974) および配列番号：22 (RefSeq登録番号NP\_002965) に示す。

[0069] SERPINB3とSERPINB4の核酸配列およびアミノ酸配列の同一性は、それぞれ95%、91%と非常に高く、両者を区別して特異的に測定することは必ずしも容易ではないので、本技術分野においては両者を区別せず同時に測定すること

も多い。例えば、両者の核酸配列で共通する部分に遺伝子増幅用のプライマーや遺伝子検出用のプローブを設定して検出を行うことによって、両者を同時に測定することが可能であるし、また、両者のアミノ酸配列で共通する部分に結合する抗体を作製してELISA等の抗原-抗体反応を利用した検出を行うことによっても、両者を同時に測定することが可能である。

[0070] 本発明においては、SERPINB3またはSERPINB4を単独でマーカーとして用いてもよいし、両者を組み合わせてマーカーとして用いてもよい。両者をマーカーとする場合には、SERPINB3およびSERPINB4をそれぞれ単独で測定した後にそれらの結果を組み合わせてもよいし、あるいは上記のような方法でSERPINB3およびSERPINB4を同時に測定してもよい。本明細書における「SERPINB3/B4」の表記は、両者を区別しない方法で測定した場合のSERPINB3およびSERPINB4を表わす。

[0071] SERPINB3および／またはSERPINB4の発現レベルの測定は、本発明に記載の測定方法を用いて行うこともできるし、市販されている測定試薬（例えば、アーキテクト・SCC（登録商標）（アボットジャパン株式会社））を用いて行うこともできる。本明細書中に記載されているSERPINB3および／またはSERPINB4の具体的な測定値や所定の値は、前記測定試薬を用いて測定された値として解釈することができる。

[0072] SERPINB3および／またはSERPINB4に対して設定された所定の値は、SERPINB3および／またはSERPINB4の発現レベルを測定しようとする患者の試料の種類によっても変動し得るが、例えば、0.1から100 ng/mLの範囲から設定することができる。あるいは、0.2から90 ng/mL、0.3から80 ng/mL、0.4から70 ng/mL、0.5から60 ng/mL、1.0から50 ng/mL、1.5から40 ng/mL、2.0から30 ng/mL、2.5から20 ng/mL、3.0から10 ng/mLなどの範囲から設定することもできるが、これらに限定されない。

[0073] また、SERPINB3および／またはSERPINB4に対して設定された所定の値は、0.1 ng/mL、0.2 ng/mL、0.3 ng/mL、0.4 ng/mL、0.5 ng/mL、0.6 ng/mL、0.7 ng/mL、0.8 ng/mL、0.9 ng/mL、1.0 ng/mL、1.5 ng/mL、2.0 ng/mL、2.5 ng/mL、

mL、3.0 ng/mL、3.5 ng/mL、4.0 ng/mL、4.5 ng/mL、5.0 ng/mL、5.5 ng/mL、6.0 ng/mL、6.5 ng/mL、7.0 ng/mL、7.5 ng/mL、8.0 ng/mL、8.5 ng/mL、9.0 ng/mL、9.5 ng/mL、10 ng/mL、15 ng/mL、20 ng/mL、25 ng/mL、30 ng/mL、35 ng/mL、40 ng/mL、45 ng/mL、50 ng/mL、60 ng/mL、70 ng/mL、80 ng/mL、90 ng/mL、100 ng/mLなどの値から設定することもできるが、これらに限定されない。

[0074] (2) S100A9

S100A9 (S100 calcium binding protein A9) は、分子量約14000のタンパク質で、EF-ハンドカルシウム結合S100タンパク質ファミリーに属する。S100A9は、別名カルグラニューリンBやMRP14 (migration inhibitory factor-related protein 14) とも呼ばれており、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、クローン病、および結合組織疾患などの炎症性疾患の患者において高い血清レベルを示すことが知られている。一方で、S100A9は、アトピー性皮膚炎患者の皮膚において遺伝子の発現レベルが上昇していることが知られている (Exp Dermatol (2012) 21, 184-188)。また、S100A9は、IL-31で刺激されたケラチノサイト細胞においてmRNAの発現が誘導されることが報告されている (WO2006/063865)。

[0075] ヒトS100A9の核酸配列およびアミノ酸配列を、それぞれ配列番号：23 (RefSeq登録番号NM\_002965) および配列番号：24 (RefSeq登録番号NP\_002956) に示す。

[0076] S100A9の発現レベルの測定は、本発明に記載の測定方法を用いて行うこともできるし、市販されている測定試薬 (例えば、CircuLex S100A9/MRP14 ELISA Kit (Circulex)) を用いて行うこともできる。本明細書中に記載されているS100A9の具体的な測定値や所定の値は、前記測定試薬を用いて測定された値として解釈することができる。

[0077] S100A9に対して設定された所定の値は、S100A9の発現レベルを測定しようとする患者の試料の種類によっても変動し得るが、例えば、0.1から100 ng/mLの範囲から設定することができる。あるいは、0.5から90 ng/mL、1.0から85

ng/mL、1.5から80 ng/mL、2.0から75 ng/mL、2.5から70 ng/mL、3.0から65 ng/mL、4.0から60 ng/mL、5.0から55 ng/mL、10から50 ng/mLなどの範囲から設定することもできるが、これらに限定されない。

[0078] また、S100A9に対して設定された所定の値は、0.1 ng/mL、0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、1.5 ng/mL、2.0 ng/mL、2.5 ng/mL、3.0 ng/mL、3.5 ng/mL、4.0 ng/mL、4.5 ng/mL、5.0 ng/mL、5.5 ng/mL、6.0 ng/mL、6.5 ng/mL、7.0 ng/mL、7.5 ng/mL、8.0 ng/mL、8.5 ng/mL、9.0 ng/mL、9.5 ng/mL、10 ng/mL、15 ng/mL、20 ng/mL、25 ng/mL、30 ng/mL、35 ng/mL、40 ng/mL、45 ng/mL、50 ng/mL、55 ng/mL、60 ng/mL、65 ng/mL、70 ng/mL、75 ng/mL、80 ng/mL、85 ng/mL、90 ng/mL、95 ng/mL、100 ng/mLなどの値から設定することもできるが、これらに限定されない。

[0079] (3) CXCL1

CXCL1 (chemokine (C-X-C motif) ligand 1) は、分子量約7800のタンパク質で、CXCファミリーに属するケモカインの一種であり、別名GRO- $\alpha$  (growth regulated oncogene- $\alpha$ ) とも呼ばれている。CXCL1は、大腸癌や、卵巣癌、悪性黒色腫などの悪性腫瘍の患者の組織や血中において、遺伝子レベルやタンパク質レベルで発現が変動することが報告されている。一方で、CXCL1は、アトピー性皮膚炎患者の皮膚においてタンパク質の発現レベルが上昇していることが知られている (Methods (2012) 56, 198-203)。また、CXCL1は、好酸球とケラチノサイト細胞あるいは線維芽細胞を共培養した状態でIL-31刺激を加えることによって発現が誘導されることが報告されている (Int Immunol (2010) 22, 453-467, PLoS One (2012) 7, e29815)。

[0080] ヒトCXCL1の核酸配列およびアミノ酸配列を、それぞれ配列番号：25 (RefSeq登録番号NM\_001511) および配列番号：26 (RefSeq登録番号NP\_001502) に示す。

[0081] CXCL1の発現レベルの測定は、本発明に記載の測定方法を用いて行うこともできるし、市販されている測定試薬 (例えば、Human CXCL1/GRO alpha Quantikine ELISA Kit (R&D Systems)) を用いて行うこともできる。本明細書中

に記載されているCXCL1の具体的な測定値や所定の値は、前記測定試薬を用いて測定された値として解釈することができる。

[0082] CXCL1に対して設定された所定の値は、CXCL1の発現レベルを測定しようとする患者の試料の種類によっても変動し得るが、例えば、40から800 pg/mLの範囲から設定することができる。あるいは、50から780 pg/mL、60から760 pg/mL、70から740 pg/mL、80から720 pg/mL、90から700 pg/mL、100から680 pg/mL、110から660 pg/mL、120から640 pg/mL、130から620 pg/mLなどの範囲から設定することもできるが、これらに限定されない。

[0083] また、CXCL1に対して設定された所定の値は、40 pg/mL、50 pg/mL、60 pg/mL、70 pg/mL、80 pg/mL、90 pg/mL、100 pg/mL、110 pg/mL、120 pg/mL、130 pg/mL、140 pg/mL、150 pg/mL、160 pg/mL、170 pg/mL、180 pg/mL、190 pg/mL、200 pg/mL、210 pg/mL、220 pg/mL、230 pg/mL、240 pg/mL、250 pg/mL、260 pg/mL、270 pg/mL、280 pg/mL、290 pg/mL、300 pg/mL、310 pg/mL、320 pg/mL、330 pg/mL、340 pg/mL、350 pg/mL、360 pg/mL、370 pg/mL、380 pg/mL、390 pg/mL、400 pg/mL、410 pg/mL、420 pg/mL、430 pg/mL、440 pg/mL、450 pg/mL、460 pg/mL、470 pg/mL、480 pg/mL、490 pg/mL、500 pg/mL、510 pg/mL、520 pg/mL、530 pg/mL、540 pg/mL、550 pg/mL、560 pg/mL、570 pg/mL、580 pg/mL、590 pg/mL、600 pg/mL、610 pg/mL、620 pg/mL、630 pg/mL、640 pg/mL、650 pg/mL、660 pg/mL、670 pg/mL、680 pg/mL、690 pg/mL、700 pg/mL、710 pg/mL、720 pg/mL、730 pg/mL、740 pg/mL、750 pg/mL、760 pg/mL、770 pg/mL、780 pg/mL、790 pg/mL、800 pg/mLなどの値から設定することもできるが、これらに限定されない。

[0084] (4) SFTPD

SFTPD (surfactant protein D) は、分子量約43000のタンパク質で、コレクチンと呼ばれるタンパク質の一種である。SFTPDは、肺サーファクタントの構成成分であり、肺胞に分泌されて円滑な呼吸の維持に寄与すると同時に、自然免疫の因子として生体防御にも関与することが知られている。アトピー性皮膚炎患者と健康成人の皮膚を比較した場合、SFTPDは、アトピー性皮膚炎

患者の表皮有棘層においてタンパク質の発現レベルが上昇しているが、SFTPDの血清中濃度を比較した場合、アトピー性皮膚炎患者と健康成人で差は見られないことが報告されている (Exp Dermatol (2006) 15, 168-174)。

[0085] ヒトSFTPDの核酸配列およびアミノ酸配列を、それぞれ配列番号：27 (RefSeq登録番号NM\_003019) および配列番号：28 (RefSeq登録番号NP\_003010) に示す。

[0086] SFTPDの発現レベルの測定は、本発明に記載の測定方法を用いて行うこともできるし、市販されている測定試薬 (例えば、SP-Dキット「ヤマサ」EIAII (ヤマサ醤油株式会社)) を用いて行うこともできる。本明細書中に記載されているSFTPDの具体的な測定値や所定の値は、前記測定試薬を用いて測定された値として解釈することができる。

[0087] SFTPDに対して設定された所定の値は、SFTPDの発現レベルを測定しようとする患者の試料の種類によっても変動し得るが、例えば、1.0から400 ng/mLの範囲から設定することができる。あるいは、5.0から350 ng/mL、10から300 ng/mL、20から250 ng/mL、25から200 ng/mL、30から190 ng/mL、35から180 ng/mL、40から170 ng/mL、45から160 ng/mL、50から150 ng/mLなどの範囲から設定することもできるが、これらに限定されない。

[0088] また、SFTPDに対して設定された所定の値は、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10 ng/mL、15 ng/mL、20 ng/mL、25 ng/mL、30 ng/mL、35 ng/mL、40 ng/mL、45 ng/mL、50 ng/mL、55 ng/mL、60 ng/mL、65 ng/mL、70 ng/mL、75 ng/mL、80 ng/mL、85 ng/mL、90 ng/mL、95 ng/mL、100 ng/mL、110 ng/mL、120 ng/mL、130 ng/mL、140 ng/mL、150 ng/mL、160 ng/mL、170 ng/mL、180 ng/mL、190 ng/mL、200 ng/mL、210 ng/mL、220 ng/mL、230 ng/mL、240 ng/mL、250 ng/mL、300 ng/mL、350 ng/mL、400 ng/mLなどの値から設定することもできるが、これらに限定されない。

[0089] (5) TCHH

TCHH (trichohyalin) は、分子量約220000のタンパク質である。毛髪を生じる器官である毛包の内毛根鞘と呼ばれる部位に特異的に発現して、そこで

ケラチンフィラメントに結合してフィラメント同士を連結することにより、細胞の角化に関与すると考えられている。アトピー性皮膚炎等のそう痒を伴う疾患との関連は、これまでのところ特に報告されていない。

[0090] ヒトTCHHの核酸配列およびアミノ酸配列を、それぞれ配列番号：29 (RefSeq登録番号NM\_007113) および配列番号：30 (RefSeq登録番号NP\_009044) に示す。

[0091] TCHHの発現レベルの測定は、本発明に記載の測定方法を用いて行うこともできるし、市販されている測定試薬（例えば、ELISA Kit for Trichohyalin (TCHH) (USCN)）を用いて行うこともできる。本明細書中に記載されているTCHHの具体的な測定値や所定の値は、前記測定試薬を用いて測定された値として解釈することができる。

[0092] TCHHに対して設定された所定の値は、TCHHの発現レベルを測定しようとする患者の試料の種類によっても変動し得るが、例えば、10から400 ng/mLの範囲から設定することができる。あるいは、20から380 ng/mL、30から350 ng/mL、40から320 ng/mL、50から300 ng/mL、60から280 ng/mL、70から260 ng/mL、80から240 ng/mL、90から220 ng/mL、100から200 ng/mLなどの範囲から設定することもできるが、これらに限定されない。

[0093] また、TCHHに対して設定された所定の値は、10 ng/mL、15 ng/mL、20 ng/mL、25 ng/mL、30 ng/mL、35 ng/mL、40 ng/mL、45 ng/mL、50 ng/mL、55 ng/mL、60 ng/mL、65 ng/mL、70 ng/mL、75 ng/mL、80 ng/mL、85 ng/mL、90 ng/mL、95 ng/mL、100 ng/mL、105 ng/mL、110 ng/mL、115 ng/mL、120 ng/mL、125 ng/mL、130 ng/mL、135 ng/mL、140 ng/mL、145 ng/mL、150 ng/mL、155 ng/mL、160 ng/mL、165 ng/mL、170 ng/mL、175 ng/mL、180 ng/mL、185 ng/mL、190 ng/mL、195 ng/mL、200 ng/mL、205 ng/mL、210 ng/mL、215 ng/mL、220 ng/mL、225 ng/mL、230 ng/mL、235 ng/mL、240 ng/mL、245 ng/mL、250 ng/mL、255 ng/mL、260 ng/mL、265 ng/mL、270 ng/mL、275 ng/mL、280 ng/mL、285 ng/mL、290 ng/mL、295 ng/mL、300 ng/mL、305 ng/mL、310 ng/mL、315 ng/mL、320 ng/mL、325 ng/mL、330 ng/mL、335 ng/mL、340 ng

/mL、345 ng/mL、350 ng/mL、355 ng/mL、360 ng/mL、365 ng/mL、370 ng/mL、375 ng/mL、380 ng/mL、385 ng/mL、390 ng/mL、395 ng/mL、400 ng/mLなどの値から設定することもできるが、これらに限定されない。

[0094] (6) CXCL6

CXCL6 (chemokine (C-X-C motif) ligand 6) は、分子量約12000のタンパク質で、CXCファミリーに属するケモカインの一種であり、別名GCP2 (granulocyte chemotactic protein 2) やSCYB6 (small-inducible cytokine B6) とも呼ばれている。CXCL6は、IL-4で刺激されたケラチノサイト細胞において遺伝子発現の上昇が報告されており、アトピー性皮膚炎の発症との関係が示唆されている (Cytokine (2013) 61, 419-425)。

[0095] ヒトCXCL6の核酸配列およびアミノ酸配列を、それぞれ配列番号：31 (RefSeq登録番号NM\_002993) および配列番号：32 (RefSeq登録番号NP\_002984) に示す。

[0096] CXCL6の発現レベルの測定は、本発明に記載の測定方法を用いて行うこともできるし、市販されている測定試薬 (例えば、Human CXCL6/GCP-2 Quantikine ELISA Kit (R&D Systems)) を用いて行うこともできる。本明細書中に記載されているCXCL6の具体的な測定値や所定の値は、前記測定試薬を用いて測定された値として解釈することができる。

[0097] CXCL6に対して設定された所定の値は、CXCL6の発現レベルを測定しようとする患者の試料の種類によっても変動し得るが、例えば、10から400 pg/mLの範囲から設定することができる。あるいは、20から390 pg/mL、30から380 pg/mL、40から370 pg/mL、50から360 pg/mL、60から350 pg/mL、70から340 pg/mL、80から330 pg/mL、90から320 pg/mL、100から310 pg/mLなどの範囲から設定することもできるが、これらに限定されない。

[0098] また、CXCL6に対して設定された所定の値は、10 pg/mL、20 pg/mL、30 pg/mL、40 pg/mL、50 pg/mL、60 pg/mL、70 pg/mL、80 pg/mL、90 pg/mL、100 pg/mL、105 pg/mL、110 pg/mL、115 pg/mL、120 pg/mL、125 pg/mL、130 pg/mL、135 pg/mL、140 pg/mL、145 pg/mL、150 pg/mL、155 pg/mL、160 pg/mL

、165 pg/mL、170 pg/mL、175 pg/mL、180 pg/mL、185 pg/mL、190 pg/mL、195 pg/mL、200 pg/mL、205 pg/mL、210 pg/mL、215 pg/mL、220 pg/mL、225 pg/mL、230 pg/mL、235 pg/mL、240 pg/mL、245 pg/mL、250 pg/mL、255 pg/mL、260 pg/mL、265 pg/mL、270 pg/mL、275 pg/mL、280 pg/mL、285 pg/mL、290 pg/mL、295 pg/mL、300 pg/mL、310 pg/mL、320 pg/mL、330 pg/mL、340 pg/mL、350 pg/mL、360 pg/mL、370 pg/mL、380 pg/mL、390 pg/mL、400 pg/mLなどの値から設定することもできるが、これらに限定されない。

[0099] 本発明におけるマーカーとしては、上記のもの以外にIL-31やIL-31RAを挙げることもできる。IL-31やIL-31RAの発現レベルの測定は、本発明に記載の測定方法を用いて行うこともできるし、市販されている測定試薬を用いて行うこともできる。

[0100] また、本発明におけるマーカーは、本明細書内で挙げられたマーカーの中から一つを選択して用いてもよいし、二つ以上を選択しそれらを組み合わせ用いてもよい。

[0101] 本発明は、そう痒を伴う疾患を診断する方法であって、ある患者から得られた試料におけるTCHHの発現レベルが高い患者をそう痒を伴う疾患に罹患していると判断する工程を含む方法に関する。

[0102] より具体的には、本発明におけるそう痒を伴う疾患を診断する方法には、  
(a) ある患者から試料を得る工程、  
(b) 前記試料におけるTCHHの発現レベルを測定する工程、  
(c) 患者から得られた試料におけるTCHHの測定値と所定の値とを比較する工程、および  
(d) TCHHの測定値が所定の値より高い患者をそう痒を伴う疾患に罹患していると判断する工程、  
などの工程を含むことができる。

[0103] また、本発明は、そう痒を伴う疾患を診断するためのキットであって、TCHHの発現レベルを測定するための試薬を含むことを特徴とするキットに関する。

- [0104] 前記キットは、さらに当該キットの使用方法を記載した指示書を含んでもよい。そのような使用方法の中には、TCHHの発現レベルを測定した結果を判断するための方法が記載されていることが望ましい。具体的には、患者から得られた試料におけるTCHHの測定値と所定の値とを比較して、所定の値より高い患者をそう痒を伴う疾患に罹患していると判断することが記載された指示書を好ましい例として挙げるができる。
- [0105] 本発明の対象となる動物は特に限定されないが、好ましくは哺乳動物、特に好ましくはヒトである。対象となる動物に合わせて、本発明のIL-31アンタゴニストやマーカーを適宜選択することができる。すなわち、そう痒を伴う疾患に罹患した患者がヒトの患者である場合は、ヒトのIL-31アンタゴニストによる治療の応答を予測するために、ヒトのマーカーを測定すればよい。
- [0106] 本発明における治療剤は、有効成分であるIL-31アンタゴニストと医薬的に許容し得る担体を組み合わせて、それらを公知の方法で製剤化することが可能である。例えば、IL-31アンタゴニストに、薬理学上許容される担体もしくは媒体、具体的には、滅菌水や生理食塩水、植物油、乳化剤、懸濁剤、界面活性剤、安定剤、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、結合剤などを適宜組み合わせて、一般に認められた製薬実施に要求される単位用量形態で混和することによって製剤化することが考えられる。担体の例としては、軽質無水ケイ酸、乳糖、結晶セルロース、マンニトール、デンプン、カルメロースカルシウム、カルメロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、中鎖脂肪酸トリグリセライド、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60、白糖、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩類などを挙げるができる。これら製剤における有効成分の量は、指示された用量の範囲内で適宜設定することが可能である。
- [0107] また、本発明の治療剤の投与量や投与方法は、患者の体重や年齢、症状などにより変動するが、当業者であれば適宜選択することが可能である。投与

量としては、例えば、一回につき体重1kgあたり0.0001 mgから1000 mgの範囲で、あるいは患者あたり0.001から100000 mg/bodyの範囲で選ぶことができるが、これらの数値に必ずしも制限されるものではない。投与方法としては、経口投与または非経口投与を選択することが可能である。一般的に、有効成分が低分子化合物の場合は経口投与が好ましく、高分子化合物の場合は非経口投与が好ましい。非経口投与の例としては、注射投与、経鼻投与、経肺投与、経皮投与などが挙げられ、さらに注射の例としては、静脈内注射、筋肉内注射、腹腔内注射、皮下注射などが挙げられる。これらの投与方法により、本発明の治療剤を全身または局所に投与することができる。

[0108] なお、本明細書において引用された全ての先行技術文献は、参照として本明細書に組み入れられる。

## 実施例

[0109] 本発明は、以下の実施例によってさらに例示されるが、下記の実施例に限定されるものではない。

[0110] 〔実施例1〕 NHEK細胞を用いたバイオマーカー候補の探索

### (1-1) 細胞及びサンプルの取得

ヒト正常角化細胞の初代細胞であるNHEKはLonza Walkersville Inc. (Product code: C2507A)から取得した。当該細胞を、KGM-Gold SingleQuots(Lonza)を培地として使用し、5%CO<sub>2</sub>を含む大気下でインキュベーター中37°Cにて培養した。マイクロアレイに用いるサンプルは、IFN $\gamma$ 刺激条件下で、IL-31刺激有りと無しの2群、N数を3とした。IFN $\gamma$ はIL-31の受容体であるIL-31RAを誘導するために用いた。サンプルの調製時には24ウェルプレート(Corning)に2 $\times$ 10<sup>4</sup>個/ウェルの細胞を播種し、3日間培養した後に10 ng/mLのHuman IFN $\gamma$  (Peprotech)を含む培地、及び含まない培地にそれぞれのウェルの培地を置換した。さらに1日培養した後に最終濃度が500 ng/mLとなるようにHuman IL-31(R&D)を添加した。その他のサンプルに対しては同量の培地を添加し、再び培養した。そして、Human IL-31による刺激開始1、3、6、24時間後に培地を除き、RLT buffer(RNeasy plus 96 kit, Qiagen)を200  $\mu$ L添加し、サンプ

ルを回収した。Total RNAの抽出はRNeasy plus 96 kit(Qiagen)を用いて行った。

[0111] (1-2) NHEK細胞のmRNAマイクロアレイ実験

抽出したTotal RNAの量はNanoDrop 1000(Thermo Scientific)で測定し、その品質は、RNA 6000 Pico Kit(Agilent Technologies)を用いAgilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies)で確認した。Total RNAからのcRNAの合成及びビオチンラベル化、フラグメンテーションは、GeneChip (登録商標) 3' IVT Express Kit (Affymetrix)を用い、メーカー推奨の方法で行った。なおフラグメンテーション前に合成されたラベル化cRNAの量はNanoDropで測定し、その品質は、RNA 6000 Pico Kit(Agilent Technologies)を用いBioanalyzerで確認した。マイクロアレイは、GeneChip Human Genome U133 Plus 2.0 Array(Affymetrix)を使用し、アレイとフラグメント化cRNAのハイブリダイゼーション及びアレイの洗浄、染色は、GeneChip (登録商標) Hybridization, Wash, and Stain Kit(Affymetrix)を用い、メーカー推奨の方法で行った。アレイデータのスキニングは、GeneChip (登録商標) Scanner 3000 7G upgrade(Affymetrix)で行った。

[0112] (1-3) NHEK細胞のmRNAマイクロアレイ解析

マイクロアレイデータの統計解析は、統計プログラミング環境R及びマイクロソフトエクセルを用いた。ハイブリダイゼーションシグナル及び検出コールは、RでBioConductorパッケージのgcrma, affyライブラリを使用して計算、出力を行った。各種刺激後、IL-31刺激有りと無しの各群3サンプルの発現量の差を同時間で比較し、いずれかの時間で1.5倍以上の差があり、かつ統計的に有意なプローブ (ウェルチのt検定で $p < 0.05$ )となる151プローブ、141遺伝子を同定した。

[0113] (1-4) バイオマーカー候補因子の絞り込み

マイクロアレイ解析で同定された141遺伝子の中から、血清、血漿において測定可能と考えられる因子で、かつIL-31刺激により最も強く誘導される因子としてSERPINB3、SERPINB4が見出された。SERPINB3およびSERPINB4のマイク

ロアレイ解析の結果を図1に示す。これらの因子はIFN $\gamma$ 単独の刺激では誘導が見られず、IL-31に対して選択性を有していることが示唆された。これらの結果より、SERPINB3、SERPINB4をバイオマーカー候補因子として選択した。

[0114] 〔実施例2〕 HaCaT細胞を用いたバイオマーカー候補の探索

（2-1）細胞及びサンプルの取得

ヒト正常角化細胞の細胞株であるHaCaTはDeutsches Krebsforschungszentrumから取得した。当該細胞を、10%ウシ胎仔血清(MOREGATE)、1%ペニシリン/ストレプトマイシン(GIBCO)を補充したDMEM(GIBCO)を培地として使用し、5%CO<sub>2</sub>を含む大気下でインキュベーター中37℃にて培養した。マイクロアレイに用いるサンプルは、(1)IL-31刺激有り、IFN $\gamma$ 刺激有り、(2)IL-31刺激無し、IFN $\gamma$ 刺激有り、の2群、N数を3とした。IFN $\gamma$ はIL-31の受容体であるIL-31RAを誘導するために用いた。サンプルの調製時には24ウェルプレート(Corning)に5 $\times$ 10<sup>4</sup>個/ウェル播種し、培養した。そして、1日後に培地を除き、100 ng/mLとなるようにHuman IFN $\gamma$  (Peprotech)を加えたDMEMに置換した。さらに1日培養した後に、DMEMに希釈したHuman IL-31を最終濃度が375 ng/mLとなるように添加した。また、IL-31刺激無しの群に対しては同量のDMEMを添加し、再び培養した。Human IL-31による刺激開始1、3、6、24時間後に培地を除き、RLT buffer(RNeasy plus 96 kit, Qiagen)を200  $\mu$ L添加し、サンプルを回収した。Total RNAの抽出はRNeasy plus 96 kit(Qiagen)を用いて行った。

[0115] （2-2）HaCaT細胞のmRNAマイクロアレイ実験

抽出したTotal RNAの量はNanoDrop 1000(Thermo Scientific)で測定し、その品質は、RNA 6000 Pico Kit(Agilent Technologies)を用いAgilent 2100 Bioanalyzer(Agilent Technologies)で確認した。Total RNAからのcRNAの合成及びビオチンラベル化、フラグメンテーションは、GeneChip (登録商標) 3' IVT Express Kit (Affymetrix)を用い、メーカー推奨の方法で行った。なおフラグメンテーション前に合成されたラベル化cRNAの量はNanoDropで測定し、その品質は、RNA 6000 Pico Kit(Agilent Technologies)を用いBioanalyzer

rで確認した。マイクロアレイは、GeneChip Human Genome U133 Plus 2.0 Array(Affymetrix)を使用し、アレイとフラグメント化cRNAのハイブリダイゼーション及びアレイの洗浄、染色は、GeneChip (登録商標) Hybridization, Wash, and Stain Kit(Affymetrix)を用い、メーカー推奨の方法で行った。アレイデータのスキニングは、GeneChip (登録商標) Scanner 3000 7G upgrade(Affymetrix)で行った。

[0116] (2-3) HaCaT細胞のmRNAマイクロアレイ解析

マイクロアレイデータの統計解析は、Perl、統計プログラミング環境R及びマイクロソフトエクセルを用いた。ハイブリダイゼーションシグナルは、RのBioConductorパッケージのgcrmaライブラリを使用して計算・出力を行った。各種刺激後、IL-31刺激有りとなしとの各群3サンプルの発現量の差を同時間で比較し、いずれかの時間で1.5倍以上の差があり、かつ統計的に有意なプローブ(ウェルチのt検定で $p < 0.05$ )となる361プローブ、252遺伝子を同定した。検出限界値は16に設定した。

[0117] (2-4) ELISAによる血清中での候補因子の測定

マイクロアレイ解析で同定された252遺伝子の中から、IL-31刺激により発現誘導され、かつ血中で測定可能と考えられる因子としてSERPINB3、SERPINB4、CXCL1、CXCL6、TCHHが見出された。SERPINB3およびSERPINB4のマイクロアレイ解析の結果を図2-1に、CXCL1のマイクロアレイ解析の結果を図2-2に、CXCL6のマイクロアレイ解析の結果を図2-3に、TCHHのマイクロアレイ解析の結果を図2-4に示す。次にPROTEOMENEX社より購入した18例のアトピー性皮膚炎患者の血清サンプルと健康成人より取得した血清サンプルを用いて、CXCL1、CXCL6、TCHHの血清中での発現量についてELISA法により測定した。CXCL1のELISAキットはR&D Systems (Cat.No. DGR00)を、CXCL6のELISAキットはR&D Systems (Cat.No. DGC00)のELISAキットを、TCHHはUscn Life Science Inc. (Cat.No. E96480Hu)のELISAキットを用いて測定を行った。CXCL1、CXCL6、TCHHの測定結果をそれぞれ図3-1、図3-2、図3-3に示す。統計解析には対応の無いスチューデントのt検定を用いて両側検定を実施した

。

[0118] (2-5) バイオマーカー候補因子の絞り込み

CXCL1、CXCL6、TCHHを測定した結果、それぞれの因子がアトピー性皮膚炎患者の血清において健康成人に比べ有意に高い発現が認められた。これらの結果から、CXCL1、CXCL6、TCHHをバイオマーカー候補因子として選択した。

[0119] [実施例3] カニクイザル皮膚を用いたバイオマーカー候補の探索

(3-1) 組織及びサンプルの取得

ベトナム産カニクイザルはハムリー株式会社から取得した。カニクイザルの腹部皮膚を採取し、安全キャビネット内で70% エタノールに浸けた後、リン酸緩衝生理食塩水 (Phosphate buffered saline : PBS) 中で皮下脂肪を除去した。マイクロアレイに用いるサンプルは、IL-31刺激の有無と黄色ブドウ球菌腸毒素B (staphylococcal enterotoxin B : SEB) 刺激の有無の組み合わせによる4種の条件の比較検討とした。マイクロアレイに用いるサンプルは、採取した皮膚組織に注射針を用いて50 $\mu$ Lの刺激剤を注入し、注入部位を中心に $\Phi$ 4mm径の生検トレパン (貝印株式会社) で採取後に刺激剤中に浮かべ、5%CO<sub>2</sub>を含む大気下でインキュベーター中37 $^{\circ}$ Cにて培養することにより得た。各種刺激を行った皮膚組織は各群5サンプルずつ作製し、培養後は速やかに液体窒素で凍結させ、RNeasy plus kit (Qiagen)を用いてTotal RNAを抽出した。

。

[0120] (3-2) カニクイザル皮膚のmRNAマイクロアレイ実験

抽出したTotal RNAの量はNanoDrop 1000(Thermo Scientific)で測定し、その品質は、RNA 6000 Pico Kit(Agilent Technologies)を用いAgilent 2100 Bioanalyzer(Agilent Technologies)で確認した。Total RNAからのcDNAの合成は、cDNA Synthesis System(Roche Diagnostics)を用い、オプションとしてT4 DNA polymerase処理、RNase I処理、Proteinase K処理を加えたメーカー推奨の方法で行った。合成したcDNAは、High Pure PCR Product Purification Kit(Roche Diagnostics)でカラム精製した。cDNAの量は、Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit (Life Technologies)で測定し、その品質は、RNA 6000 P

ico Kit(Agilent Technologies)を用いBioanalyzerで確認した。cDNAのラベル化は、NimbleGen One-Color DNA Labeling Kit(Roche NimbleGen)を用い、メーカー推奨の方法で行った。ラベル化されたcDNAの量はNanoDropで測定した。マイクロアレイは、NimbleGen 12-plex Gene Expression Array for Cynomolgus monkey (135K)を使用した(参考文献1中のversion II microarray)。ラベル化されたcDNAとアレイのハイブリダイゼーションおよび洗浄は、NimbleGen Hybridization Kit(Roche NimbleGen)、NimbleGen Sample Tracking Control Kit(Roche NimbleGen)、NimbleGen Wash Buffer Kit(Roche NimbleGen)を用いてメーカー推奨の方法で行った。マイクロアレイのデータは、Roche NimbleGen MS200 Microarray Scanner(Roche NimbleGen)でアレイのスキャンニングを行い取得した。

[0121] 参考文献

1: Genome-based analysis of the nonhuman primate *Macaca fascicularis* as a model for drug safety assessment. *Genome Res.* 2011 Oct;21(10):1746-56

[0122] (3-3) カニクイザル皮膚のmRNAマイクロアレイ解析

マイクロアレイデータの解析は、Perl、統計プログラミングシステムR及びマイクロソフトエクセルを用いて行われた。NimbleGenアレイのスキャンニングデータからのアレイ搭載プローブシグナルの数値化、及びRMA(Robust Multichip Average)ノーマライゼーションは、NimbleGen MS 200 Microarray Scanner付属のNimbleScanソフトウェアを用いた。データ解析では遺伝子単位のシグナル値データであるRMA.callsファイルを用いた。各種刺激後、IL-31刺激無しかつSEB刺激有りの群と、IL-31刺激有しかつSEB刺激有りの群、各群5サンプルの発現量の差を同時時間で比較し、IL-31添加群が検出限界値としたRandomプローブの95 percentileより大きく、2倍以上の差があり、かつ統計的に有意な遺伝子(ウェルチのt検定で $p < 0.05$ )を併せて274個同定した。

[0123] (3-4) ELISAによる血清中での候補因子の測定

IL-31刺激により発現誘導される274遺伝子について、分泌タンパクである

こと、IL-31選択的に誘導される因子であること、アトピー性皮膚炎患者由来の血清中で健康成人由来のものよりも高値を示すことを基準とし、S100A9とSFTPDのIL-31誘導性タンパクを選抜した。S100A9のマイクロアレイ解析の結果を図4-1に、SFTPDのマイクロアレイ解析の結果を図4-2に示す。アトピー性皮膚炎患者由来の血清はPROTEOGENEX社より購入した18例のものを、健康成人由来のものと比較測定することによって検討した。S100A9の測定はELISAキット(Circulex, Cat.No. CY-8062)を、SFTPDの測定は体外診断用医薬品(協和メデックス株式会社, Cat.No. 54772-3)を用いて測定した。S100A9、SFTPDの測定結果をそれぞれ図5-1、図5-2に示す。統計解析は対応の無い学生t検定を用いて両側検定で実施した。

[0124] (3-5) バイオマーカー候補因子の絞り込み

S100A9、SFTPDを測定した結果、それぞれの因子がアトピー性皮膚炎患者の血清において健康成人に比べ有意に高い発現が認められた。これらの結果から、S100A9、SFTPDをバイオマーカー候補因子として選択した。

[0125] [実施例4] アトピー性皮膚炎患者におけるバイオマーカーの検討 (SERPINB3/B4)

(4-1) 試料採取

抗ヒトIL-31受容体A抗体(H鎖配列番号:17、L鎖配列番号:18)の第1相単回投与試験に参加した健康成人及びアトピー性皮膚炎患者より、バイオマーカー検討のための同意を得て血清サンプルを採取し評価した。

血清サンプルの提供者は、プラセボ、または抗ヒトIL-31受容体A抗体0.3 mg/kg、1 mg/kgもしくは3 mg/kgの単回皮下投与を受け、投与当日の投与前に血清サンプルを採取した。例数はそれぞれ、健康成人24例、アトピー性皮膚炎患者のプラセボ投与群6例、抗ヒトIL-31受容体A抗体0.3 mg/kg投与群5例、1 mg/kg投与群6例、3 mg/kg投与群7例であった。採取された血清サンプルは測定時まで-70°Cで保管された。

[0126] (4-2) 血清中SERPINB3/B4の測定

測定施設において、血清を解凍後、生理食塩水を用いて10倍希釈し、その

後、臨床検査として「アーキテクト・SCC（登録商標）」（アボットジャパン株式会社、製品番号8D18-26／8D18-36）を用いて血清中SERPINB3/B4濃度を測定した。

[0127] （４－３）結果の解析

上記第I相単回投与試験では、アトピー性皮膚炎患者において治験薬投与1週間前より治験期間中毎日、起床後及び就寝時にそう痒の強さを評価した。そう痒の強さの評価は、Visual Analog Scale (VAS)により行なった。VASは100 mmの直線で、0 mmを痒みなし、100 mmを考える最大の痒みとした場合に、測定時のかゆみの強さを患者自身が0から100 mmの間で示すものである。その結果、抗ヒトIL-31受容体A抗体の投与後にそう痒VASの低下が顕著に認められた被験者と、顕著な低下が認められなかったあるいは低下が認められなかった被験者が存在した。そこで、本試験においては、投与2週目のそう痒VASの週平均（起床後及び就寝時それぞれのそう痒VASの週平均の平均値）の値が投与前の1週間の週平均と比較して50%以上低下している被験者を抗ヒトIL-31受容体A抗体に対する応答性の高い被験者（応答者）、50%未満の低下であった被験者を抗ヒトIL-31受容体A抗体に対する応答性の低い被験者（非応答者）と定義した。

血清中SERPINB3/B4濃度は、血清中SERPINB3/B4濃度が5 ng/mLより高い被験者（SERPINB3/B4 High群）と、5 ng/mL以下の被験者（SERPINB3/B4 Low群）に分けた。

以上のように分けたSERPINB3/B4 High群とSERPINB3/B4 Low群別に、応答者と非応答者の割合を算出し、また、SERPINB3/B4 High群とSERPINB3/B4 Low群との間でこの割合に差があるかをFisherの正確検定に基づくp値を算出し、検討した。

[0128] （４－４）結果

本試験で測定した、全被験者の血清中SERPINB3/B4濃度を図6に示した。また、抗ヒトIL-31受容体A抗体の投与を受けたアトピー性皮膚炎患者の、SERPINB3/B4 High群とSERPINB3/B4 Low群別の、応答者と非応答者の割合を表1に

示した。

[0129] [表1]

	血清中 SERPINB3/B4 濃度	
	High (> 5 ng/mL)	Low ( $\leq$ 5 ng/mL)
非応答者	20.00% (1例/5例)	76.92% (10例/13例)
応答者	80.00% (4例/5例)	23.08% (3例/13例)

[0130] SERPINB3/B4 High群では応答者の割合が80% (5例中4例) と高く、一方でSERPINB3/B4 Low群では応答者の割合は23.08% (13例中3例) と低かった。また、SERPINB3/B4 High群とSERPINB3/B4 Low群との、応答者と非応答者の割合の差についてFisherの正確検定に基づくp値を算出したところ、両側p値は0.0474であった。

[0131] 以上から、血清中SERPINB3/B4濃度が高い患者では、抗ヒトIL-31受容体A抗体への応答性が高い患者が多く、一方で血清中SERPINB3/B4濃度が低い患者では、抗ヒトIL-31受容体A抗体への応答性が高い患者は少ない傾向にあり、血清中SERPINB3/B4濃度は、抗ヒトIL-31受容体A抗体のそう痒抑制効果を予測するバイオマーカーとなり得ることが示された。

[0132] [実施例5] アトピー性皮膚炎患者におけるバイオマーカーの検討 (S100A9, TCHH)

#### (5-1) 試料採取

抗ヒトIL-31受容体A抗体 (H鎖配列番号: 17、L鎖配列番号: 18) の第I相単回投与試験に参加したアトピー性皮膚炎患者より、バイオマーカー検討のための同意を得て血清サンプルを採取し評価した。

血清サンプルの提供者は、抗ヒトIL-31受容体A抗体0.3 mg/kg、1 mg/kgもしくは3 mg/kgの単回皮下投与を受け、投与当日の投与前に血清サンプルを採取した。各投与群の例数は、抗ヒトIL-31受容体A抗体0.3 mg/kg投与群5例、1 mg/kg投与群6例、3 mg/kg投与群7例であった。採取された血清サンプルは測定時まで-70°Cで保管された。

[0133] (5-2) 血清中S100A9及び血清中TCHHの測定

測定施設において、血清を解凍後、血清中S100A9濃度測定用血清はCircuLe x S100A9 / MRP14 ELISA Kit (株式会社サイクレックス, 製品番号CY-8062) に付属のSample Dilution Bufferで40倍希釈した後、同Kitを用いて血清中S100A9濃度を測定した。なお、検量線の希釈にはSample Dilution Bufferを用いた。

血清中TCHH濃度測定用血清はELISA Kit For Trichohyalin (TCHH) (ユーエスシーエヌライフサイエンス, 製品番号E96480Hu) に付属のStandard Diluentを用いて1000倍希釈した後、同Kitを用いて血清中TCHH濃度を測定した。

[0134] (5-3) 結果の解析

上記第I相単回投与試験では、アトピー性皮膚炎患者において治験薬投与1週間前より治験期間中毎日、起床後及び就寝時にそう痒の強さを評価した。そう痒の強さの評価は、Visual Analog Scale (VAS)により行なった。VASは100 mmの直線で、0 mmを痒みなし、100 mmを考える最大の痒みとした場合に、測定時のかゆみの強さを患者自身が0から100 mmの間で示すものである。その結果、抗ヒトIL-31受容体A抗体の投与後にそう痒VASの低下が顕著に認められた被験者と、顕著な低下が認められなかったあるいは低下が認められなかった被験者が存在した。そこで、本試験においては、投与2週目のそう痒VASの週平均(起床後及び就寝時それぞれのそう痒VASの週平均の平均値)の値が投与前の1週間の週平均と比較して50%以上低下している被験者を抗ヒトIL-31受容体A抗体に対する応答性の高い被験者(応答者)、50%未満の低下であった被験者を抗ヒトIL-31受容体A抗体に対する応答性の低い被験者(非応答者)と定義した。

血清中S100A9濃度及び血清中TCHH濃度は、応答者と非応答者との間で濃度の平均値に差があるかを対応の無いスチューデントのt検定に基づくp値を算出し、検討した。

[0135] (5-4) 結果

本試験で測定した、アトピー性皮膚炎患者の血清中S100A9濃度を図7に、

血清中TCHH濃度を図8に示した。

抗ヒトIL-31受容体A抗体の投与を受けたアトピー性皮膚炎患者の血清中S100A9濃度及び血清中TCHH濃度は、いずれも応答者で非応答者より高く、t検定の結果、血清中S100A9濃度の両側p値は0.0200、血清中TCHH濃度の両側p値は0.0296であった。

[0136] 以上から、血清中S100A9濃度、あるいは血清中TCHH濃度が高い患者では、抗ヒトIL-31受容体A抗体への応答性が高い患者が多く、一方で血清中S100A9濃度、血清中TCHH濃度が低い患者では、抗ヒトIL-31受容体A抗体への応答性が高い患者は少ない傾向にあり、血清中S100A9濃度、血清中TCHH濃度は、抗ヒトIL-31受容体A抗体のそう痒抑制効果を予測するバイオマーカーとなり得ることが示された。

#### 産業上の利用可能性

[0137] 本発明によって、患者から得られた試料における(1) SERPINB3および／またはSERPINB4、(2) S100A9、(3) CXCL1、(4) SFTPD、(5) TCHH、ならびに(6) CXCL6からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定することによって、IL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測できることが証明された。本発明は、そう痒を伴う疾患に罹患した患者に対してIL-31アンタゴニストによる治療を開始する前に、予めその応答を予測して、効果が得られることが期待される患者のみを当該治療の対象として選別することを可能にするものであり、適切な患者に適切な治療を行うという個別化医療の観点から極めて有用である。

## 請求の範囲

- [請求項1] そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測する方法であって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における
- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
  - (2) S100A9
  - (3) CXCL1
  - (4) SFTPD
  - (5) TCHH、ならびに
  - (6) CXCL6
- からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定する工程を含む方法。
- [請求項2] 患者から得られた試料における前記マーカーの発現レベルが高い患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。
- [請求項3] 前記マーカーをポリペプチドとして測定する、請求項1または2に記載の方法。
- [請求項4] 試料が血液試料である、請求項1から3のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項5] そう痒がIL-31により引き起こされるそう痒である、請求項1から4のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項6] そう痒を伴う疾患がアトピー性皮膚炎である、請求項1から5のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項7] IL-31アンタゴニストが、IL-31シグナルを阻害する抗体である、請求項1から6のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項8] IL-31シグナルを阻害する抗体が、抗IL-31中和抗体または抗IL-31RA中和抗体である、請求項7に記載の方法。
- [請求項9] 抗IL-31RA中和抗体が、配列番号：9に記載のCDR1、配列番号：1

0に記載のCDR2、および配列番号：11に記載のCDR3を含むH鎖可変領域、ならびに配列番号：12に記載のCDR1、配列番号：13に記載のCDR2、および配列番号：14に記載のCDR3を含むL鎖可変領域を含む抗IL-31RA抗体である、請求項8に記載の方法。

[請求項10] 抗IL-31RA中和抗体が、配列番号：15に記載のH鎖可変領域、および配列番号：16に記載のL鎖可変領域を含む抗IL-31RA抗体である、請求項9に記載の方法。

[請求項11] 抗IL-31RA中和抗体が、配列番号：17に記載のH鎖、および配列番号：18に記載のL鎖を含む抗IL-31RA抗体である、請求項10に記載の方法。

[請求項12] そう痒を伴う疾患の治療剤であって、IL-31アンタゴニストを有効成分として含み、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高い患者に投与されることを特徴とする治療剤。

[請求項13] そう痒を伴う疾患の治療剤であって、IL-31アンタゴニストを有効成分として含み、請求項1から11のいずれか一項に記載の方法によりIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断された患者に投与されることを特徴とする治療剤。

[請求項14] そう痒を伴う疾患に罹患した患者を治療する方法であって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4

- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高い患者にIL-31アンタゴニストを投与する工程を含む方法。

[請求項15] そう痒を伴う疾患に罹患した患者を治療する方法であって、請求項1から11のいずれか一項に記載の方法によりIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断された患者にIL-31アンタゴニストを投与する工程を含む方法。

[請求項16] そう痒を伴う疾患に罹患した患者を選別する方法であって、そう痒を伴う疾患に罹患した患者から得られた試料における

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD
- (5) TCHH、ならびに
- (6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルが高い患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断する工程を含む方法。

[請求項17] そう痒を伴う疾患に罹患した患者のIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答を予測するためのキットであって、

- (1) SERPINB3および／またはSERPINB4
- (2) S100A9
- (3) CXCL1
- (4) SFTPD

(5) TCHH、ならびに

(6) CXCL6

からなるグループから選択される少なくとも一つのマーカーの発現レベルを測定するための試薬を含むことを特徴とするキット。

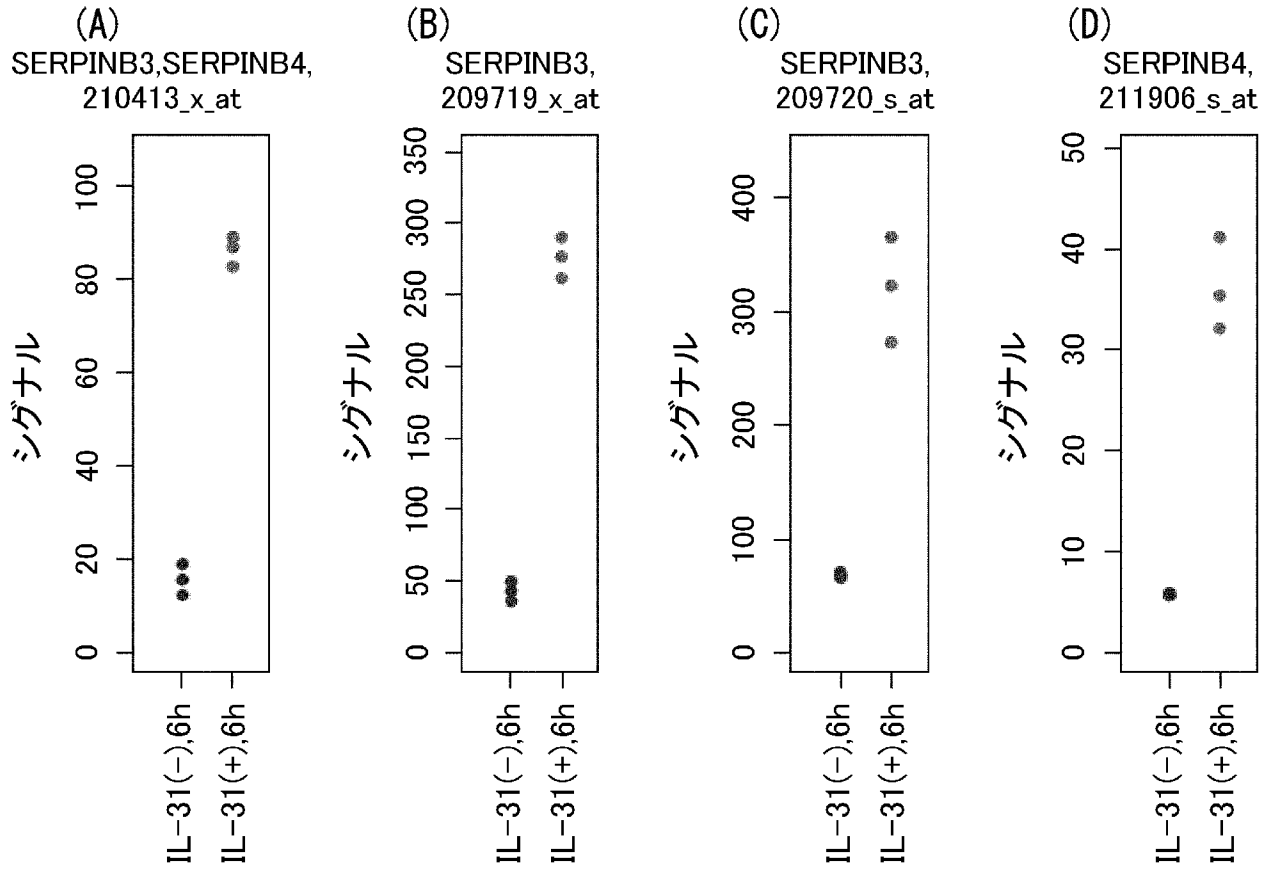
[請求項18] 患者から得られた試料における前記マーカーの発現レベルが高い患者をIL-31アンタゴニストによる治療に対する応答者であると判断することを記載した指示書をさらに含む、請求項17に記載のキット。

[請求項19] そう痒を伴う疾患を診断する方法であって、ある患者から得られた試料におけるTCHHの発現レベルが高い患者を、そう痒を伴う疾患に罹患していると判断する工程を含む方法。

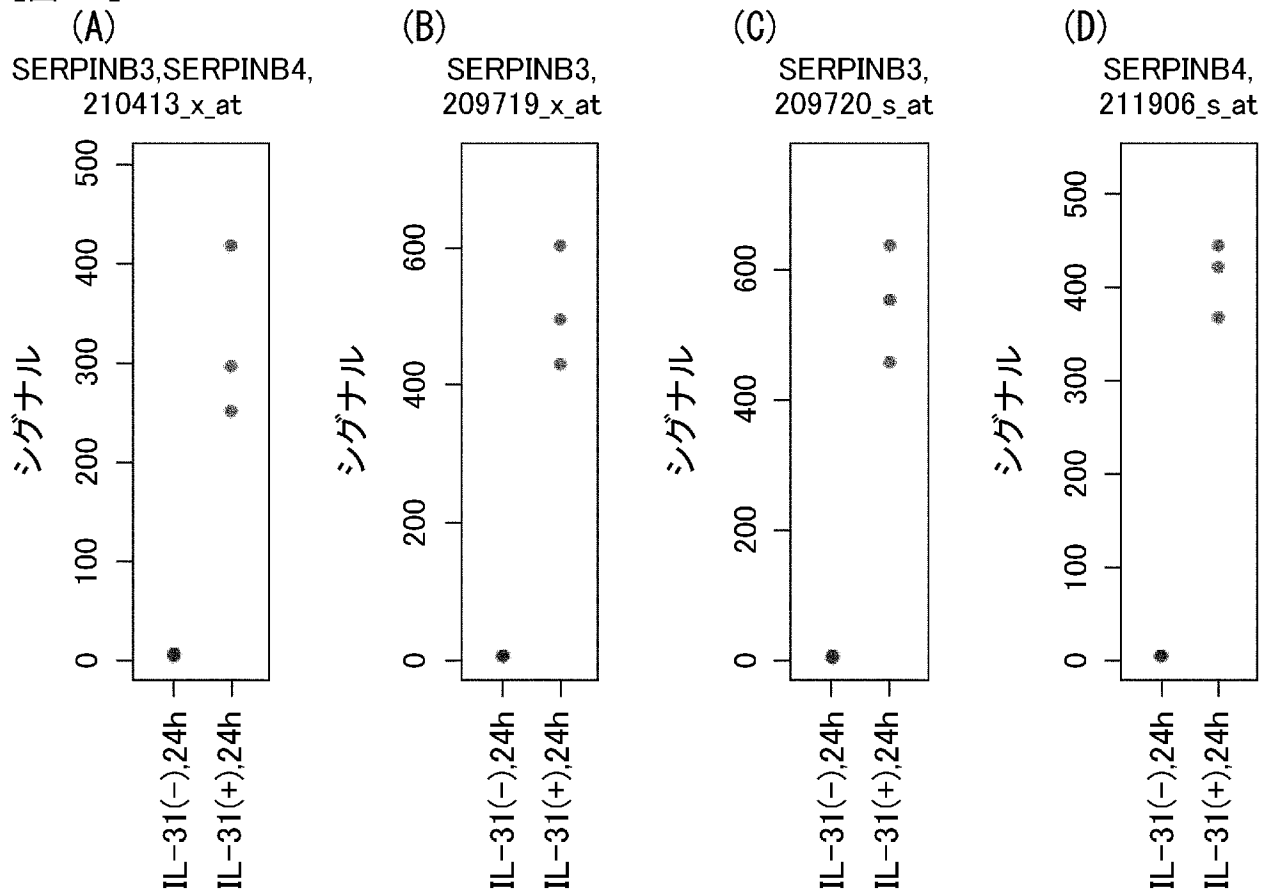
[請求項20] そう痒を伴う疾患を診断するためのキットであって、TCHHの発現レベルを測定するための試薬を含むことを特徴とするキット。

[請求項21] 患者から得られた試料におけるTCHHの発現レベルが高い患者を、そう痒を伴う疾患に罹患していると判断することを記載した指示書をさらに含む、請求項20に記載のキット。

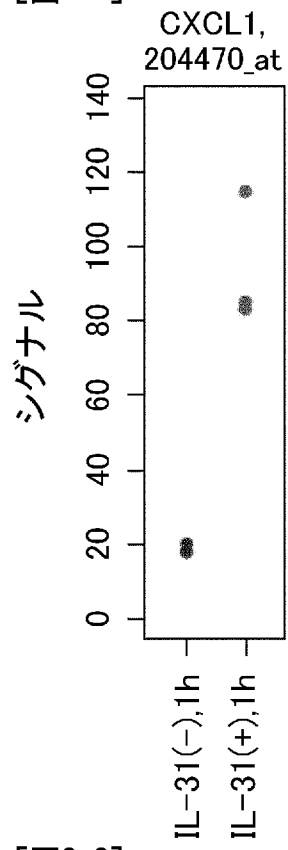
[図1]



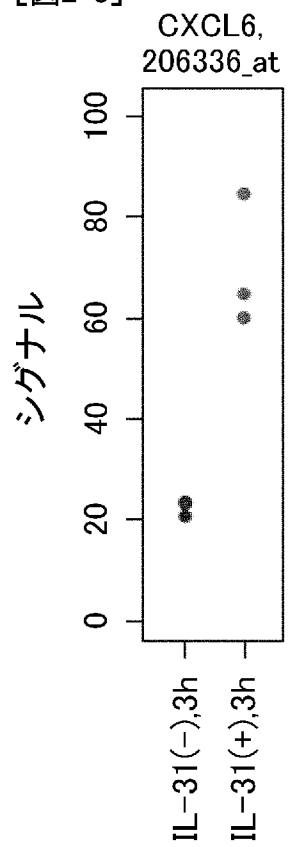
[図2-1]



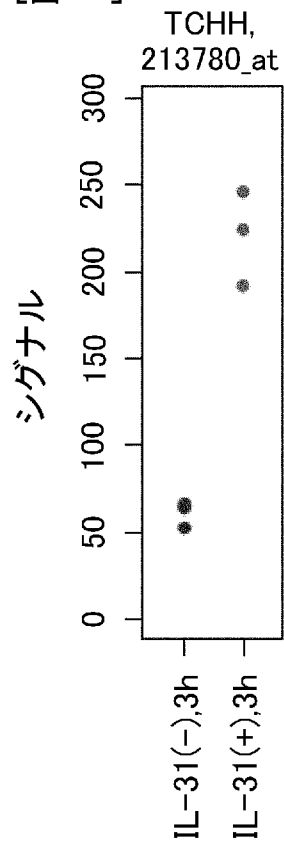
[図2-2]



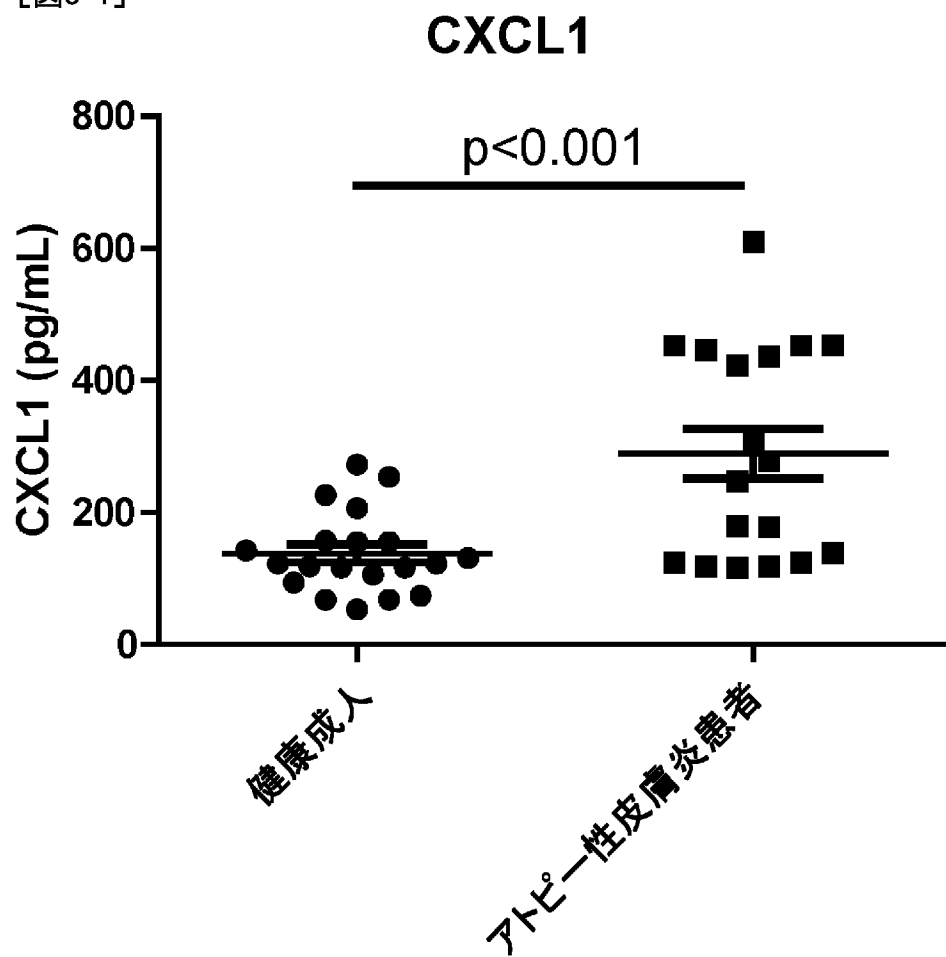
[図2-3]



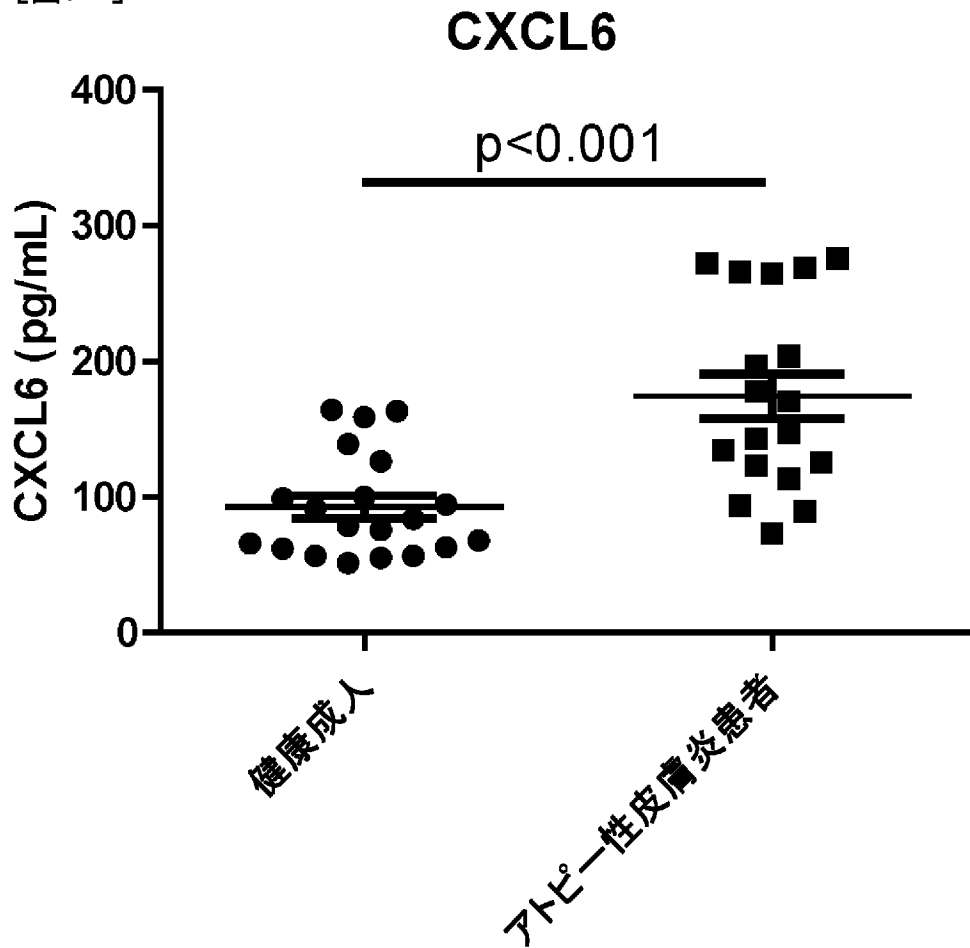
[図2-4]



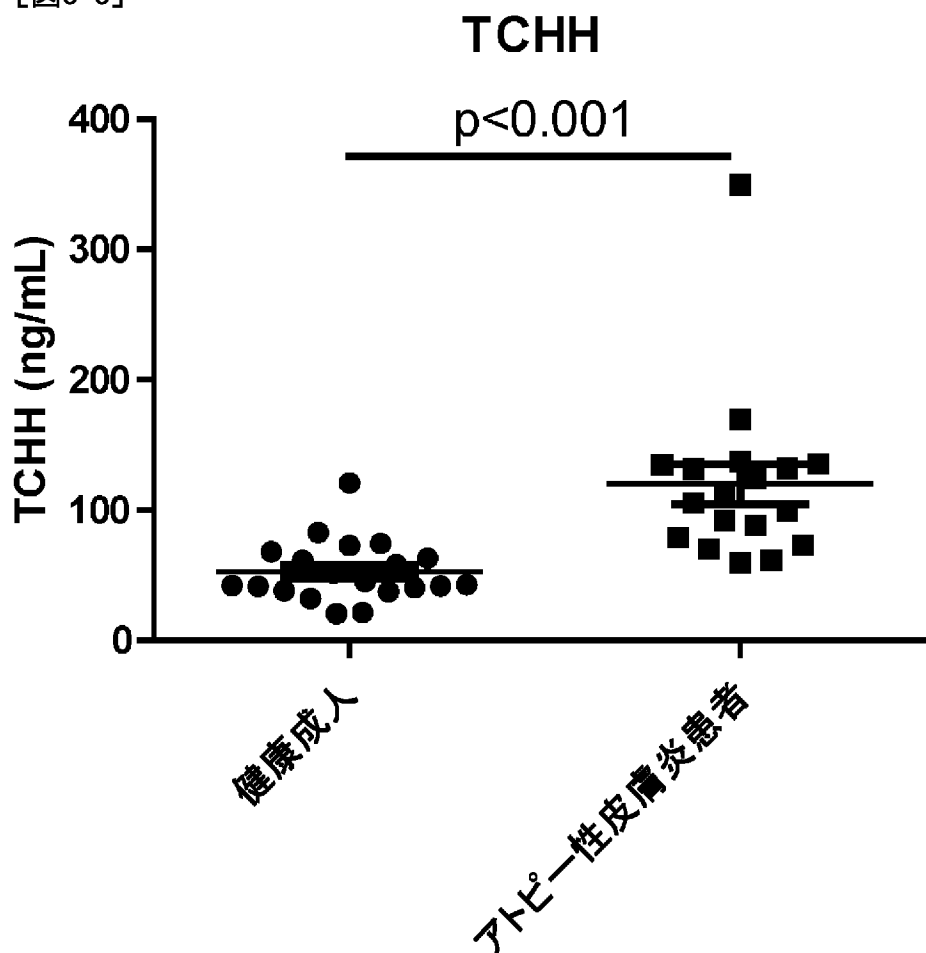
[図3-1]



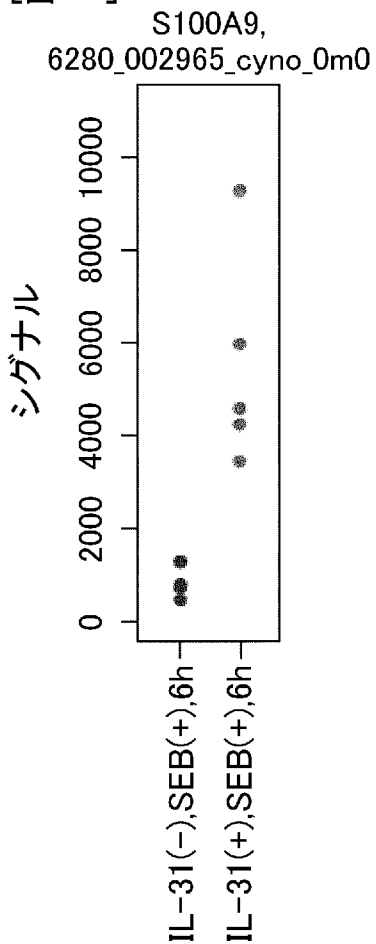
[図3-2]



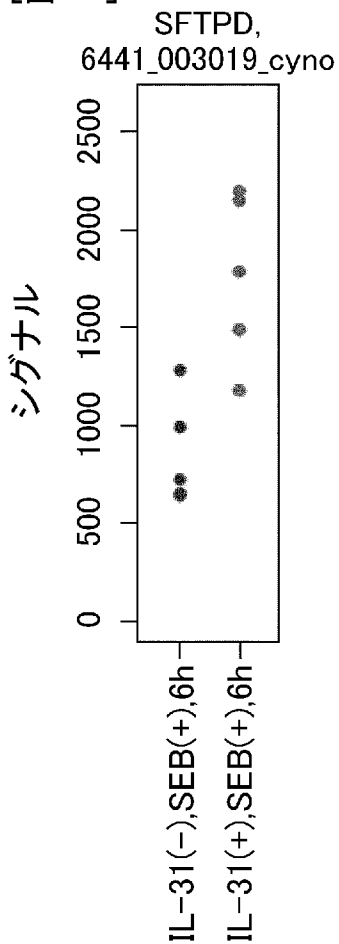
[図3-3]



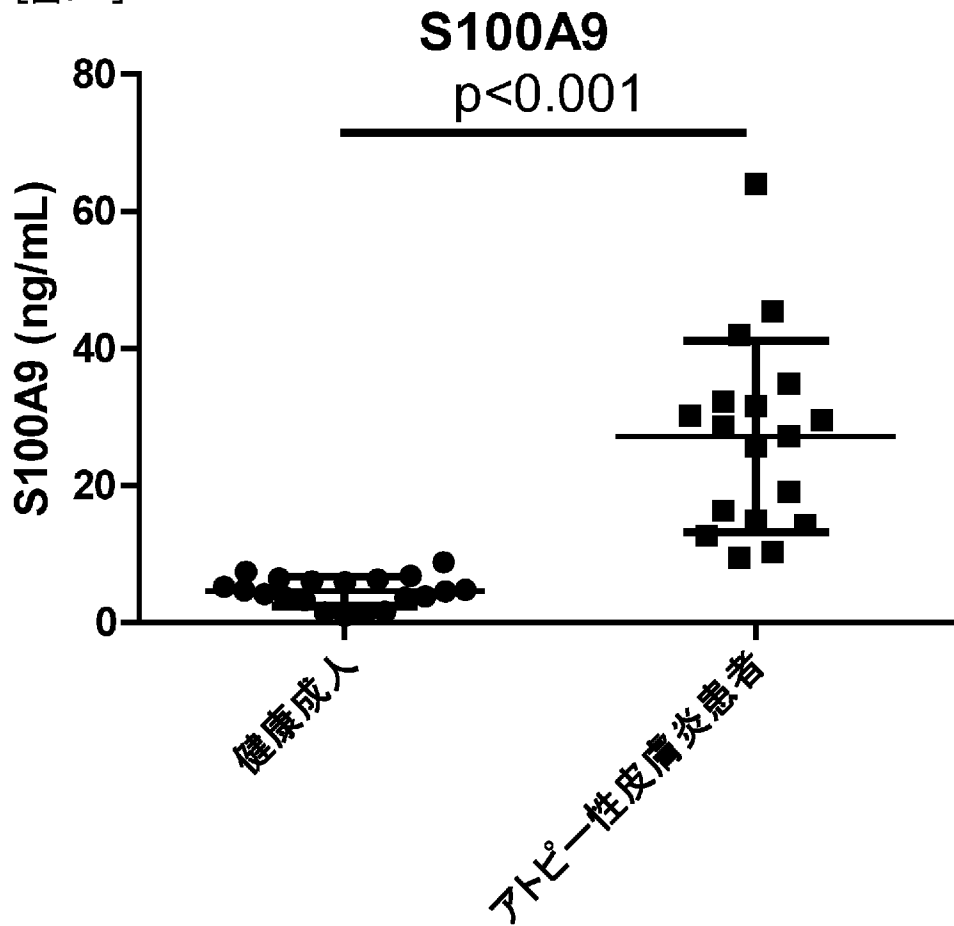
[図4-1]



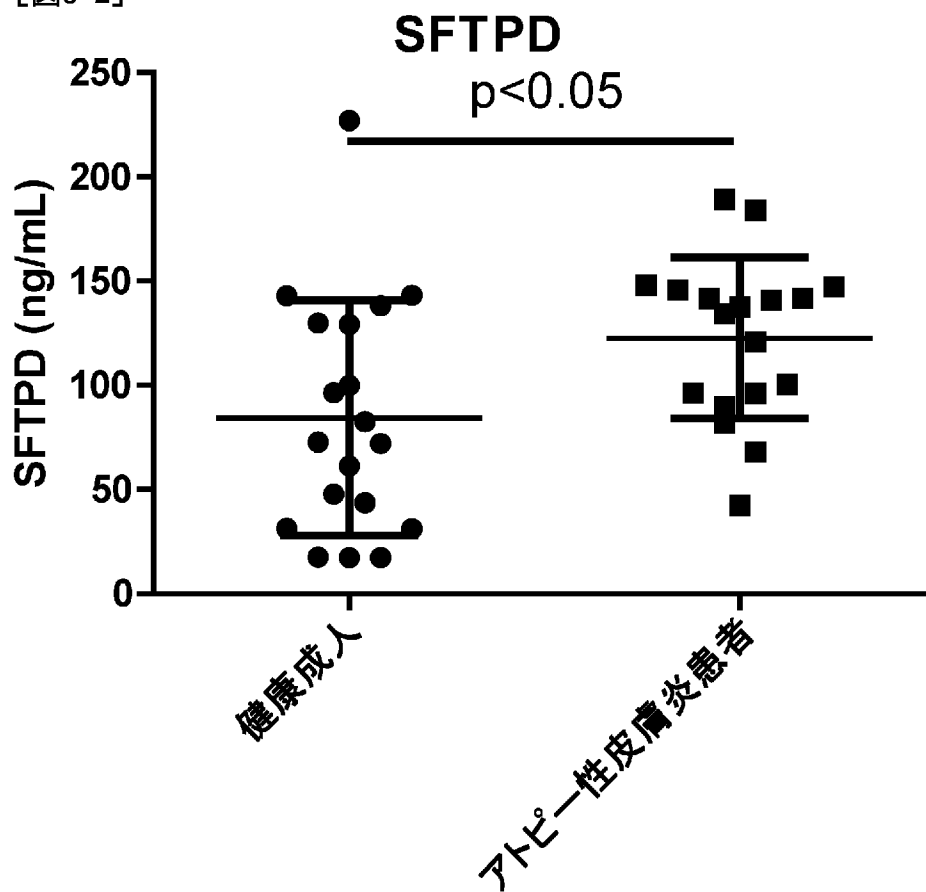
[図4-2]

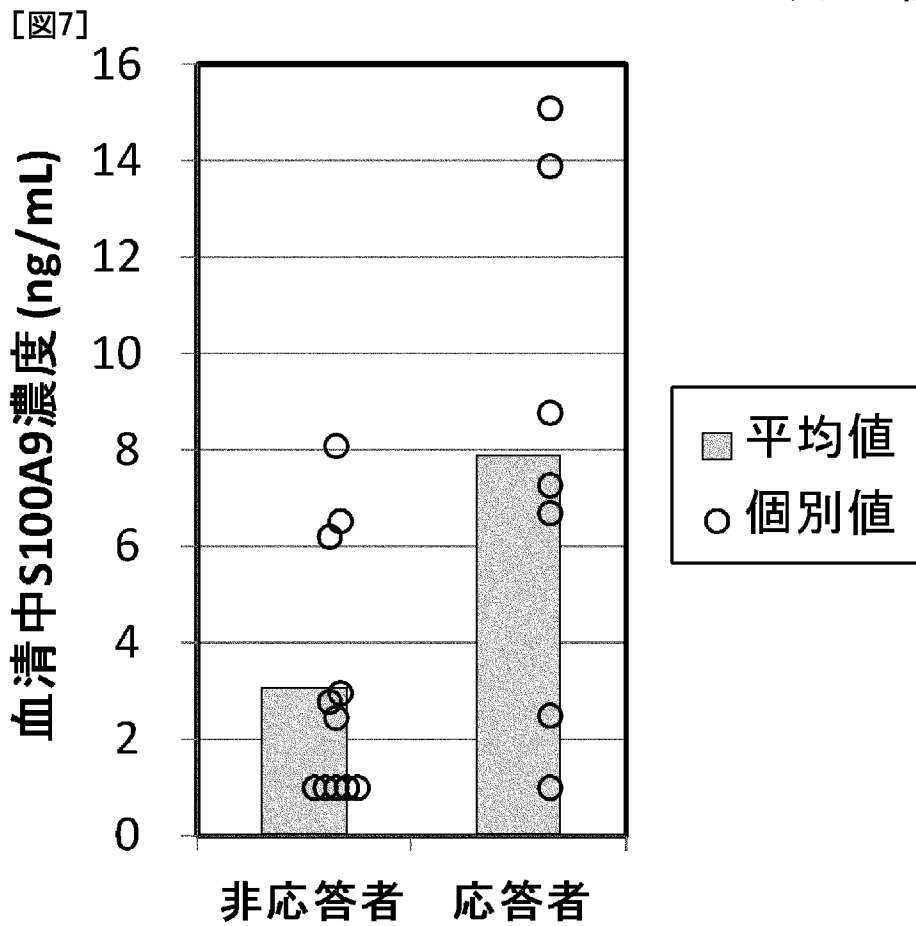
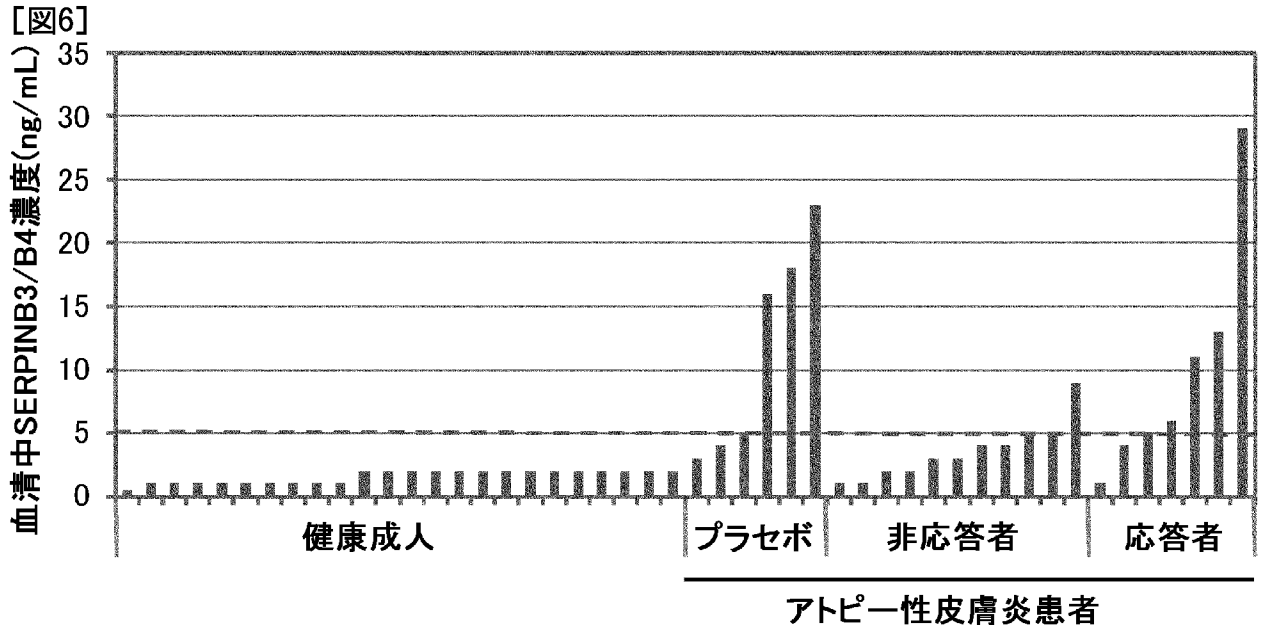


[図5-1]

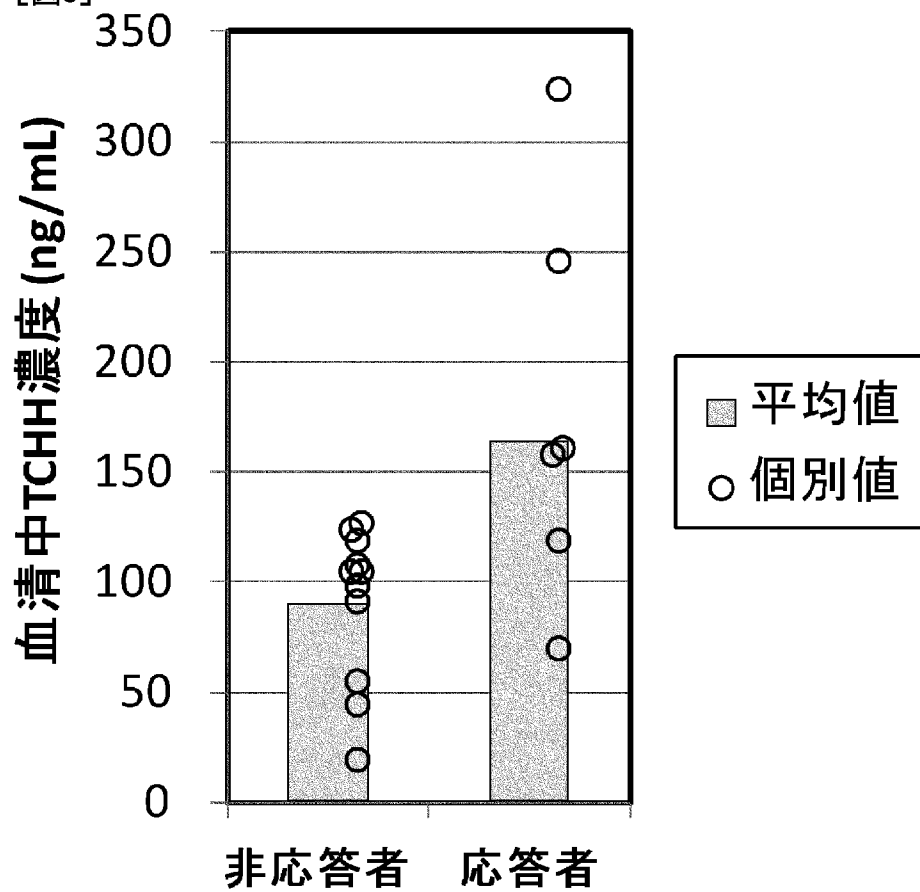


[図5-2]





[図8]



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2014/066930

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
*C12Q1/68(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61P17/04(2006.01)i, A61P37/08(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, G01N33/68(2006.01)i*  
 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)  
 C12Q1/00-3/00, C12N15/00-15/90

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
 Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2014  
 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2014 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2014

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
 CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN),  
 JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamIII)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP 2008-530138 A (ZymoGenetics, Inc.), 07 August 2008 (07.08.2008), claims; paragraph [0091] & JP 2008-530137 A & JP 4927762 B & US 2006/0188499 A1 & US 2006/0188500 A1 & US 2009/0092999 A1 & US 2009/0280121 A1 & US 2010/0266600 A1 & US 2011/0212093 A1 & US 2013/0177563 A1 & US 2013/0203070 A1 & EP 1856150 A & EP 1856539 A & WO 2006/088956 A2 & WO 2006/088955 A2 & CA 2595877 A & CA 2595939 A & IL 184734 A & IL 184776 D & AU 2006214325 A & AU 2006214326 A & MX 2007009471 A & MX 2007009577 A & IL 219145 D & AU 2012202218 A	12, 13 1-11, 16-18, 20, 21

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 01 September, 2014 (01.09.14)	Date of mailing of the international search report 09 September, 2014 (09.09.14)
--	---

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/066930

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP 2008-530137 A (ZymoGenetics, Inc.), 07 August 2008 (07.08.2008), claims; paragraph [0092] & US 2006/0182743 A1      & US 2009/0252730 A1 & US 2011/0117052 A1      & EP 1858924 A & WO 2006/088855 A1      & CA 2594490 A & IL 184371 A              & IL 207688 D & AU 2006214404 A        & MX 2007009718 A	12, 13 1-11, 16-18, 20, 21
A	JP 2010-530972 A (Schering Corp.), 16 September 2010 (16.09.2010), entire text & JP 5237366 B              & US 2010/0239590 A1 & EP 2171449 A              & WO 2008/156865 A2 & CA 2690568 A              & CN 101932935 A & CO 6351824 A              & AU 2008266745 B	1-13, 16-18, 20, 21

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2014/066930

**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.: 14, 15, 19  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
See extra sheet.
  
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).

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

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

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying 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.:

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2014/066930

Continuation of Box No.II-1 of continuation of first sheet(2)

The inventions according to claims 14 and 15 relate to a method that comprises a step for administering an IL-31 antagonist to a patient and, therefore, pertain to methods for treatment of the human body by therapy.

The invention according to claim 19 relates to a method for diagnosing a disease accompanied by pruritus and, therefore, pertains to diagnostic methods to be practiced on the human body.

Consequently, claims 14, 15 and 19 relate to a subject matter on which this International Searching Authority is not required to carry out a search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1.

<p>A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））</p> <p>Int.Cl. C12Q1/68(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61P17/04(2006.01)i, A61P37/08(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, G01N33/68(2006.01)i</p>														
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））</p> <p>Int.Cl. C12Q1/00-3/00, C12N15/00-15/90</p>														
<p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2014年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2014年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2014年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2014年	日本国実用新案登録公報	1996-2014年	日本国登録実用新案公報	1994-2014年				
日本国実用新案公報	1922-1996年													
日本国公開実用新案公報	1971-2014年													
日本国実用新案登録公報	1996-2014年													
日本国登録実用新案公報	1994-2014年													
<p>国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）</p> <p>CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)</p>														
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X A</td> <td>JP 2008-530138 A（ザイモジェネティクス、インコーポレイティド） 2008.08.07, 特許請求の範囲, [0091] &amp; JP 2008-530137 A &amp; JP 4927762 B &amp; US 2006/0188499 A1 &amp; US 2006/0188500 A1 &amp; US 2009/0092999 A1 &amp; US 2009/0280121 A1 &amp; US 2010/0266600 A1 &amp; US 2011/0212093 A1 &amp; US 2013/0177563 A1 &amp; US 2013/0203070 A1 &amp; EP 1856150 A &amp; EP 1856539 A &amp; WO 2006/088956 A2 &amp; WO 2006/088955 A2 &amp; CA 2595877 A &amp; CA 2595939 A &amp; IL 184734 A &amp; IL 184776 D &amp; AU 2006214325 A &amp; AU 2006214326 A &amp; MX 2007009471 A &amp; MX 2007009577 A &amp; IL 219145 D &amp; AU 2012202218 A</td> <td>12, 13 1-11, 16-18, 20, 21</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	X A	JP 2008-530138 A（ザイモジェネティクス、インコーポレイティド） 2008.08.07, 特許請求の範囲, [0091] & JP 2008-530137 A & JP 4927762 B & US 2006/0188499 A1 & US 2006/0188500 A1 & US 2009/0092999 A1 & US 2009/0280121 A1 & US 2010/0266600 A1 & US 2011/0212093 A1 & US 2013/0177563 A1 & US 2013/0203070 A1 & EP 1856150 A & EP 1856539 A & WO 2006/088956 A2 & WO 2006/088955 A2 & CA 2595877 A & CA 2595939 A & IL 184734 A & IL 184776 D & AU 2006214325 A & AU 2006214326 A & MX 2007009471 A & MX 2007009577 A & IL 219145 D & AU 2012202218 A	12, 13 1-11, 16-18, 20, 21						
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号												
X A	JP 2008-530138 A（ザイモジェネティクス、インコーポレイティド） 2008.08.07, 特許請求の範囲, [0091] & JP 2008-530137 A & JP 4927762 B & US 2006/0188499 A1 & US 2006/0188500 A1 & US 2009/0092999 A1 & US 2009/0280121 A1 & US 2010/0266600 A1 & US 2011/0212093 A1 & US 2013/0177563 A1 & US 2013/0203070 A1 & EP 1856150 A & EP 1856539 A & WO 2006/088956 A2 & WO 2006/088955 A2 & CA 2595877 A & CA 2595939 A & IL 184734 A & IL 184776 D & AU 2006214325 A & AU 2006214326 A & MX 2007009471 A & MX 2007009577 A & IL 219145 D & AU 2012202218 A	12, 13 1-11, 16-18, 20, 21												
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>														
<table border="0"> <tr> <td>* 引用文献のカテゴリー</td> <td>の日の後に公表された文献</td> </tr> <tr> <td>「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの</td> <td>「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</td> </tr> <tr> <td>「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</td> <td>「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）</td> <td>「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td>「&amp;」同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</td> <td></td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー	の日の後に公表された文献	「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの	「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの	「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの	「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）	「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの	「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」同一パテントファミリー文献	「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	
* 引用文献のカテゴリー	の日の後に公表された文献													
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの	「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの													
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの													
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）	「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの													
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」同一パテントファミリー文献													
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願														
<p>国際調査を完了した日</p> <p>01.09.2014</p>	<p>国際調査報告の発送日</p> <p>09.09.2014</p>													
<p>国際調査機関の名称及びあて先</p> <p>日本国特許庁（ISA/J P） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>	<p>特許庁審査官（権限のある職員）</p> <p>一宮 里枝</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3448</p>	<table border="1"> <tr> <td>4B</td> <td>3441</td> </tr> </table>	4B	3441										
4B	3441													

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X A	JP 2008-530137 A (ザイモジェネティクス, インコーポレイティド) 2008.08.07, 特許請求の範囲, [0092] & US 2006/0182743 A1 & US 2009/0252730 A1 & US 2011/0117052 A1 & EP 1858924 A & WO 2006/088855 A1 & CA 2594490 A & IL 184371 A & IL 207688 D & AU 2006214404 A & MX 2007009718 A	12, 13 1-11, 16-18, 20, 21
A	JP 2010-530972 A (シェーリング コーポレイション) 2010.09.16, 全文 & JP 5237366 B & US 2010/0239590 A1 & EP 2171449 A & WO 2008/156865 A2 & CA 2690568 A & CN 101932935 A & CO 6351824 A & AU 2008266745 B	1-13, 16-18, 20, 21

## 第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1.  請求項 14, 15, 19 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。  
つまり、  
特別ページ参照
2.  請求項 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3.  請求項 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

請求項14、15に係る発明は、患者にIL-31アンタゴニストを投与する工程を含む方法に係る発明であるから、治療による人体の処置方法に係る発明である。

請求項19に係る発明は、そう痒を伴う疾患を診断する方法に係る発明であるから、人体の診断方法に係る発明である。

よって、請求項14、15、19は、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1の規定により、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。