(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2017-518753
(P2017-518753A)
(43)公表日　平成29年7月13日(2017.7.13)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12Q 1/68	(2006.01)	C12Q	1/68	ZNAA	4B063
A61K 31/7105	(2006.01)	A61K	31/7105		4C084
A61P 19/08	(2006.01)	A61P	19/08		4C086
A61P 19/10	(2006.01)	A61P	19/10		
A61K 48/00	(2006.01)	A61K	48/00		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 69 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2016-572656 (P2016-572656)
(86)(22)出願日　平成27年6月11日 (2015.6.11)
(85)翻訳文提出日　平成29年2月10日 (2017.2.10)
(86)国際出願番号　PCT/EP2015/063091
(87)国際公開番号　WO2015/189345
(87)国際公開日　平成27年12月17日 (2015.12.17)
(31)優先権主張番号　14172354.4
(32)優先日　平成26年6月13日 (2014.6.13)
(33)優先権主張国　欧州特許庁 (EP)
(31)優先権主張番号　14198560.6
(32)優先日　平成26年12月17日 (2014.12.17)
(33)優先権主張国　欧州特許庁 (EP)

(71)出願人　507205623
ウニヴェルズィテート・フューア・ボーデンクルトゥーア・ウィーン
オーストリア国アー－１１８０　ウィーン，グレーゴア・メンデル－シュトラーセ　３３
(74)代理人　100140109
弁理士　小野　新次郎
(74)代理人　100075270
弁理士　小林　泰
(74)代理人　100101373
弁理士　竹内　茂雄
(74)代理人　100118902
弁理士　山本　修

最終頁に続く

(54)【発明の名称】骨折および骨障害の診断および治療のための組成物および方法

(57)【要約】
本発明は、異常な骨ミネラル密度に関連する障害、特に骨粗鬆症の療法、予防および診断に関し；ここで、患者試料中の選択したマイクロＲＮＡのレベルを検出し、そして健康な個体のレベルに比較した、前記レベルの増加または減少が、障害の指標である。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
被験体において骨粗鬆症を診断するか、または骨粗鬆症性骨折のリスクを決定するか、または治療を監視するｉｎ　ｖｉｔｒｏ法であって：
ａ）前記被験体由来の血液試料を提供し；
ｂ）
ｉ）ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３５ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０８、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９３ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１５、ｈｓａ－ｍｉＲ－２２３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２７ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ｅ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８７ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６４２ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２またはそのアイソフォームまたは変異体からなる群ＩＩ　ｍｉＲＮＡ、および／または
ｉｉ）ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０８、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９１－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－１－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７４ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７５、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５１ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９８、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２７、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－７－５ｐ、

ｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９８－５ｐまたはそのアイソフォームまたは変異体からなる群ＩＩＩ　ｍｉＲＮＡ、および／または

ｉｉｉ）ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２５ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４０９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７４－３ｐ、またはそのアイソフォームまたは変異体からなる群Ｉ　ｍｉＲＮＡ

のいずれかより選択される、２またはそれより多いｍｉＲＮＡのレベルを測定し、そして

ｃ）健康な個体由来の参照血液試料における対応するｍｉＲＮＡのレベルと、前記ｍｉＲＮＡのレベルを比較する、

ここで、参照試料に比較した際の前記レベルの１．５倍を超える相違が、骨粗鬆症または骨折リスクの指標である

工程を含む、前記方法。

【請求項２】

前記ｍｉＲＮＡのレベルを、健康な被験体における対応するｍｉＲＮＡの平均レベルに比較し、１標準偏差より大きい相違が、将来の骨折リスクが増加した骨粗鬆症の指標となる、請求項１記載の方法。

【請求項３】

前記の２またはそれより多いヒトｍｉＲＮＡが、群Ｉ　ｍｉＲＮＡまたは群ＩＩ　ｍｉＲＮＡまたは群ＩＩＩ　ｍｉＲＮＡより選択される、請求項１または２記載の方法。

【請求項４】

群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのいずれかの少なくとも３、好ましくは少なくとも４、好ましくは少なくとも５、特に最大１３６のｍｉＲＮＡのレベルを測定する、請求項１～３のいずれか一項記載の方法。

【請求項５】

群Ｉおよび／または群ＩＩおよび／または群ＩＩＩ　ｍｉＲＮＡのいずれかのすべてのｍｉＲＮＡのレベルを測定する、請求項１または２記載の方法。

【請求項６】

ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂおよびｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐのレベルを測定する、請求項１または２のいずれか一項記載の方法。

【請求項７】

ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、およびｈｓａ－ｍｉＲ－９４２のレベルを測定する、請求項１または２記載の方法。

【請求項８】

ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２およびｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐの少なくとも２つのレベルを測定する、請求項１または２記載の方法。

【請求項９】

ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－

３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐからなる群より選択される少なくとも１つのさらなるｍｉＲＮＡのレベルを測定する、請求項８記載の方法。

【請求項１０】

ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐおよびｍｉＲ－４８６－３ｐの少なくとも２つのレベルを測定する、請求項１または２記載の方法。

【請求項１１】

ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－５３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－７－５ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐからなる群より選択される少なくとも１つのさらなるｍｉＲＮＡのレベルを測定する、請求項１０記載の方法。

【請求項１２】

１またはそれより多いさらなるｍｉＲＮＡを検出し、ここで前記ｍｉＲＮＡが

ａ）健康な個体に比較した際、骨粗鬆症個体において示差的に制御されており、そして

ｂ）骨形成分化および／または破骨細胞形成（ｏｓｔｅｏｃｌａｓｔｏｇｅｎｉｃ）活性化に関与する

請求項１～１１記載の方法。

【請求項１３】

前記のさらなるｍｉＲＮＡが、ｈｓａ－ｍｉＲ－１００、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２４ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４８ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２４、ｈｓａ－ｍｉＲ－３１、ｈｓａ－ｍｉＲ－２２－３ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－９３からなる群ＩＶ　ｍｉＲＮＡより選択される、請求項８記載の方法。

【請求項１４】

前記のさらなるｍｉＲＮＡが、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４０－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４６ａ－５ｐ、ｈｓａ－　ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１７、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１８、ｈｓａ－ｍｉＲ－２６ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２７ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２８６１、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３４ｃ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３９６０およびｈｓａ－ｍｉＲ－５０３－５ｐ、またはそのアイソフォームおよび変異体からなる群Ｖ　ｍｉＲＮＡより選択される、請求項１２または１３記載の方法。

【請求項１５】

被験体を、特に骨折の予後に関して監視するための、請求項１～１４のいずれか一項記載の方法の使用。

【請求項１６】

被験体が、骨折を患うかまたは骨折を発展させるリスクがある骨粗鬆症または骨減少症患者、あるいは２型真性糖尿病のリスクがあるかまたは該疾患を患う患者である、請求項１～１４のいずれか一項記載の方法。

【請求項１７】

ｍｉＲＮＡレベルの相違を、定量的またはデジタルＰＣＲ、配列決定、マイクロアレイ、Ｌｕｍｉｎｅｘ核酸アッセイ、または他のハイブリダイゼーションに基づく技術によって決定する、請求項１～１４のいずれか一項記載の方法。

【請求項１８】

ａ）ｍｉＲＮＡ群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩ由来の少なくとも１つ、特に少なくとも２つの合成ヒトｍｉＲＮＡならびに／あるいは

ｂ）

ｉ．前記ｍｉＲＮＡのレベルを減少させ；そして／または

ｉｉ．前記ｍｉＲＮＡをコードする配列の発現を阻害するかもしくは下方制御するか、または前記ｍｉＲＮＡを分解するかもしくは切断する
群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも２つのアンタゴニスト／阻害剤
を含む、骨粗鬆症または骨折を治療するかまたは防止する際に使用するための組成物。
【請求項１９】
薬剤を調製するための、ｍｉＲＮＡ群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩ由来の少なくとも１つ、特に少なくとも２つの合成ヒトｍｉＲＮＡならびに／あるいは前記ｍｉＲＮＡのレベルを減少させ；そして／または前記ｍｉＲＮＡをコードする配列の発現を阻害するかもしくは下方制御するか、または前記ｍｉＲＮＡを分解するかもしくは切断する、群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも２つのアンタゴニスト／阻害剤を含む、組成物の使用。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、異常な骨ミネラル密度に関連する障害、特に骨粗鬆症の療法、予防および診断に関する。
【背景技術】
【０００２】
骨粗鬆症は、骨脆弱性増加および骨折リスク増加を導く、骨量の全身性減少によって特徴付けられる。
【０００３】
骨折リスクならびに治療反応を早期に評価するための現在の方法には、非侵襲性画像化技術、ならびに骨代謝の臨床的パラメータおよび生化学的マーカーの分析が含まれる。最近、マイクロＲＮＡが多様な組織の細胞から血流内に分泌されることが同定されてきており、これらはおそらく、体の異なる部分における病的プロセスを示す。マイクロＲＮＡが、骨形成および骨吸収細胞、特に骨芽細胞および破骨細胞の発生および機能に重要な役割を果たす証拠がある。どちらの細胞タイプも、骨同化および異化の間のホメオスタシスを調節し、そしてしたがって、マイクロＲＮＡは、骨代謝において、中心的な生理学的役割を果たす。しかし、今日まで、骨疾患を引き起こす骨代謝の不均衡が、循環マイクロＲＮＡのレベルに反映されうるかどうかに関してはほとんど知られていない。
【０００４】
骨粗鬆症性骨折は、骨脆弱性の増加によって引き起こされ、これは、骨組織における低い骨量および微小構造変化によって引き起こされうる。こうした骨折は、米国、欧州および日本において、７５００万人以上の人々が罹患している骨粗鬆症の決定的に困難な転帰である（Ｋａｎｉｓら、２０１３）。先進国において、椎骨または非椎骨骨折に苦しむ生涯リスクは３０％～４０％であり、骨粗鬆症は、冠動脈心疾患のものと類似の発症率を有する。さらに、前腕骨折を例外として、骨粗鬆症性骨折は、死亡率増加と関連する。大部分の骨折は、急性の疼痛を引き起こし、そして患者の入院、運動抑制およびしばしば緩慢な回復を導く。
【０００５】
さらに、骨粗鬆症症状は、全般に脆弱性骨折リスクの上昇に苦しむ、２型糖尿病患者でしばしば観察される。真性糖尿病は、被験体が高血糖を有する代謝疾患群を指す。２型糖尿病はインスリン耐性から生じ、これは、細胞がインスリンを適切に使用することができない状態であり、ときにまた、絶対インスリン不全も伴う。この型は以前、非インスリン依存性真性糖尿病（ＮＩＤＤＭ）または「成人発症糖尿病」と称された。
【０００６】
骨粗鬆症の予防、診断および管理において、骨折リスクの評価および治療反応の監視が最も重要な２つの側面である。したがって、骨ミネラル密度（ＢＭＤ）を測定することによる骨量の分析が、現在、臨床診療およびＷＨＯ　ＦＲＡＸアンケートの一部において、ルーチンに分析される、骨格の唯一の臨床パラメータである（Ｋａｎｉｓら、２０１３）。しかし、骨強度および骨代謝（Ｃｅｆａｌｕ、２００４）、年齢および部位依存性骨密

度相違との相関を欠いているため、他の確立された骨折リスクの臨床スコアと組み合わされた（Ｒｕｂｉｎら、２０１３）、Ｔ－スコア（すなわち健康な３０歳のものに対する患者のＢＭＤの比較）の評価は、しばしば、骨折リスクの予測を改善しない。特に、患者が２型糖尿病に罹患している場合、ＢＭＤおよび骨折リスクの間には相関の証拠がなく、これは、骨折リスクの別のマーカーの必要性を示す。

【０００７】

骨形成、骨吸収および療法治療反応率を概算するため、いくつかの生化学的骨代謝マーカー（ＢＴＭ）が同定されてきており（Ｖａｓｉｋａｒａｎら、２０１１）、例えば血清プロコラーゲンＩ型Ｎプロペプチド（ｓ－ＰＩＮＰ）、Ｉ型コラーゲンの血清Ｃ末端テロペプチド（ｓ－ＣＴＸ）がある。これらのマーカーと骨代謝の相関が確立される一方、骨折リスク予測に関するその特異性および感度は、さらに検証される必要がある。したがって、これらの生化学マーカーの臨床診療への取り込みを推奨しているのは、ごくわずかな国のみである（Ｖａｓｉｋａｒａｎら、２０１１）。

【０００８】

骨代謝の他の潜在的なマーカーは、骨形成および吸収において主要な役割を果たすことが知られるシグナル伝達経路から得られることも可能であり、例えばＷＮＴ、ＢＭＰ－２またはＲＡＮＫＬがある。例えば、Ｄｉｃｋｋｏｐｆ－１（ＤＫＫ－１）またはスクレロスチン（ＳＯＳＴ）遺伝子はＷＮＴおよびＷＮＴ受容体の結合パートナーとして作用し、それによって、その活性およびそれに続いて骨形成を制御することも可能である（Ｃａｎａｌｉｓ、２０１３）。しかし、食餌、運動および概日リズムに反応した血清/血漿中のこれらのタンパク質の前分析安定性には疑問があり、そしてしたがって、これらのタンパク質が他の組織でもまた産生され、そして他の疾患に反応して制御される可能性もあるという事実のため、骨代謝に関して一般的に有意であるかも疑問である。特に、特定のタイプの癌に関しては、ＷＮＴ－シグナル伝達は疾患進行を駆動することが示されてきている（Ａｎａｓｔａｓ　＆　Ｍｏｏｎ、２０１３）。

【０００９】

最近、骨代謝の調節において（Ｄｏｎｇ、Ｙａｎｇ、Ｇｕｏ、＆　Ｋａｎｇ、２０１２；Ｚｈａｏら、２０１３）、遺伝子発現を制御する小分子非コードＲＮＡである（Ｂａｒｔｅｌ、２００９）マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）の重要性がますます注目されてきている。いくつかのｍｉＲＮＡは、骨細胞への幹細胞分化の間、骨形成阻害剤をサイレンシングする（Ｔｒｏｍｐｅｔｅｒら、２０１３）か、ＢＭＰ仲介性骨芽細胞増殖および分化を制御する（Ｌｉら、２００８）か、またはＷＮＴシグナル伝達の活性を組織化する（Ｋａｐｉｎａｓ、Ｋｅｓｓｌｅｒ、＆　Ｄｅｌａｎｙ、２００９）ことが示されてきている。したがって、骨再生を加速するための療法剤としてそして／または骨代謝および骨折リスクを評価するための診断ツールとしてのｍｉＲＮＡの潜在能力が、近年知られるようになってきている（ｖａｎ　Ｗｉｊｎｅｎら、２０１３）。血清および血漿においてｍｉＲＮＡは、過酷な条件に曝された後であってさえ優れて安定であり、ｍｉＲＮＡの数が限定されており（血漿／血清中に分泌されて見出されるものは＜５００）、化学組成が単純であり、転写後修飾されておらず、そして高度でそしてよく確立された高感度スクリーニング技術が利用可能であることから、ｍｉＲＮＡはバイオマーカーの優れた候補とされる。実際、血液循環ｍｉＲＮＡは、すでに、疾患（Ｋｅｌｌｅｒら、２０１１）、特に癌および心臓血管疾患、または非病的プロセス、例えば加齢（Ｗｅｉｎｅｒら、２０１３）の背景で分析されてきている。骨粗鬆症の開始および進行を調節可能であるか、またはこの病的プロセスの代理マーカーとして働きうるｍｉＲＮＡの組み合わせは、その使用が骨折リスクを予測する非侵襲性アプローチ、ならびに骨粗鬆症進行の療法的調節のためのターゲットに相当する、特異的骨粗鬆症シグネチャーである。

【００１０】

ＷＯ２０１３１５５０８５は、単球においてｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ａを検出する、低骨ミネラル密度の診断法を示唆する。

近年、５つの自由に循環するｍｉＲＮＡおよび骨組織ｍｉＲＮＡが同定され、そして骨

粗鬆症性骨折に関連づけられてきている（Ｓｅｅｌｉｇｅｒら、２０１４）。
【００１１】
ＷＯ２００７０２３３０６は、骨疾患診断のためのｍｉＲＮＡ－２２３の使用を記載する。
Ｗａｎｇ Ｙ．ら，２０１２，ＰｌｏｓＯｎｅ，７，４，ｅ３４６４１は、閉経後骨粗鬆症に関連する潜在的なバイオマーカーとして、ｍｉＲ－１３３ａを報告する。
【００１２】
ＷＯ２０１１１４４７６１は、骨障害の治療において使用するためのｍｉＲ－３１を記載する。
【先行技術文献】
【特許文献】
【００１３】
【特許文献１】ＷＯ２０１３１５５０８５
【特許文献２】ＷＯ２００７０２３３０６
【特許文献３】ＷＯ２０１１１４４７６１
【非特許文献】
【００１４】
【非特許文献１】Ｋａｎｉｓら、２０１３
【非特許文献２】Ｃｅｆａｌｕ、２００４
【非特許文献３】Ｒｕｂｉｎら、２０１３
【非特許文献４】Ｖａｓｉｋａｒａｎら、２０１１
【非特許文献５】Ｃａｎａｌｉｓ、２０１３
【非特許文献６】Ａｎａｓｔａｓ ＆ Ｍｏｏｎ、２０１
【非特許文献７】Ｄｏｎｇ、Ｙａｎｇ、Ｇｕｏ、＆ Ｋａｎｇ、２０１２
【非特許文献８】Ｚｈａｏら、２０１３
【非特許文献９】Ｂａｒｔｅｌ、２００９
【非特許文献１０】Ｔｒｏｍｐｅｔｅｒら、２０１３
【非特許文献１１】Ｌｉら、２００８
【非特許文献１２】Ｋａｐｉｎａｓ、Ｋｅｓｓｌｅｒ、＆ Ｄｅｌａｎｙ、２００９
【非特許文献１３】ｖａｎ Ｗｉｊｎｅｎら、２０１３
【非特許文献１４】Ｋｅｌｌｅｒら、２０１１
【非特許文献１５】Ｗｅｉｎｅｒら、２０１３
【非特許文献１６】Ｓｅｅｌｉｇｅｒら、２０１４
【非特許文献１７】ＷａｎｇＹ．ら，２０１２，ＰｌｏｓＯｎｅ，７，４，ｅ３４６４１
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１５】
本発明の目的は、骨粗鬆症または骨減少症を診断し、そして骨折を予測する際の範囲、特異性および妥当性を広げ、そしてまた骨ホメオスタシスを安定化させ、そして骨折治癒を加速することによる、骨粗鬆症療法のための新規剤を提供することである。
【００１６】
この問題は、本発明によって解決される。
【課題を解決するための手段】
【００１７】
本発明者らは、最近のならびに最近でない骨粗鬆症性骨折を有する患者から得た血液試料において、上方または下方制御されている特定のｍｉＲＮＡを検出した。
本発明は、特に、特異的に上方または下方制御され、そしてしたがって、価値あるバイオマーカーとして有用であり、そして広範囲の骨疾患病期および年齢群の両方に渡って適用可能な診断シグネチャーに相当する、選択されるｍｉＲＮＡセットを提供する。

【００１８】
本発明にしたがって、被験体において、骨粗鬆症を診断するか、骨粗鬆症性骨折のリスクを決定するか、または治療成功を監視するｉｎ　ｖｉｔｒｏ法であって：
ａ）前記被験体由来の血液または血清試料を提供し；
ｂ）前記血清または血液試料において
１．　ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３５ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０８、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９３ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１５、ｈｓａ－ｍｉＲ－２２３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２７ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ｅ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８７ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６４２ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２またはそのアイソフォームまたは変異体からなる群ＩＩ　ｍｉＲＮＡ、および／または
２．　ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０８、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９１－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－１－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７４ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７５、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５１ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９８、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２７、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－

５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９８－５ｐまたはそのアイソフォームまたは変異体からなる群ＩＩＩ　ｍｉＲＮＡ、および／または

３．　ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２５ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４０９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７４－３ｐ、またはそのアイソフォームまたは変異体からなる群Ｉ　ｍｉＲＮＡ

のいずれかより選択される、２またはそれより多いｍｉＲＮＡのレベルを測定し、そして

ｃ）健康な個体由来の参照血液または血清試料における対応するｍｉＲＮＡのレベルと、前記ｍｉＲＮＡのレベルを比較する、

ここで、参照試料に比較した際の前記レベルの１．５倍を超える相違が、骨粗鬆症の指標、または骨折、特に骨粗鬆症性骨折のリスクの指標である

工程を含む、前記方法を提供する。

【００１９】

本発明の別の態様において、前記ｍｉＲＮＡのレベルを、健康な被験体における、特に健康な被験体に由来する試料のプールにおける、対応するｍｉＲＮＡの平均レベルに比較することも可能であり、１標準偏差より大きい、特に約１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、特に約２の標準偏差またはそれより大きい相違が、将来の骨折、特に骨粗鬆症性骨折のリスクが増加した骨粗鬆症の指標となる。

【００２０】

さらなる態様にしたがって、２．５標準偏差、特に約３、特に約３．５、特に３．５標準偏差より大きい相違は、将来の骨折、特に骨粗鬆症性骨折の高いリスクを持つ骨粗鬆症の指標である。

【００２１】

したがって、本発明の態様内には、診断しようとする被験体由来のそれぞれの試料と比較するため、健康な被験体由来の単一の参照試料または健康な被験体由来の試料プールのいずれかの使用がある。前記プールは、異なる個体由来の、２、３、４、５、６、７、またはそれより多い試料、特に最大１０、１００または１００を超える血液試料からなることも可能である。

【００２２】

本発明の特定の態様において、選択した被験体または被験体集団において、骨粗鬆症を診断するかまたは骨折のリスクを予測するｉｎ　ｖｉｔｒｏ法であって：

ａ．真性糖尿病、特にＩＩ型真性糖尿病を患わず、また発展させる素因も持たない被験体由来の血液試料を提供し、

ｂ．特に上に列挙したような、群Ｉ　ｍｉＲＮＡおよび／または群ＩＩ　ｍｉＲＮＡのいずれかより選択される２またはそれより多いｍｉＲＮＡ、そして場合によってさらに

ｃ．健康な個体に比較した際、骨粗鬆症の個体において示差的に制御されている、そして／または骨形成分化および／または破骨細胞形成（ｏｓｔｅｏｃｌａｓｔｏｇｅｎｉｃ）活性化に関与する１またはそれより多いさらなるｍｉＲＮＡ

のレベルを測定し；そして

ｄ．前記ｍｉＲＮＡ、またはそのアイソフォームおよび変異体のレベルを、健康な個体のコホートにおける平均レベルと比較する、ここで、参照に比較して、１標準偏差より大きい、特に約１．５、特に約２標準偏差の相違が、将来の骨粗鬆症性骨折のリスクが増加した骨粗鬆症の指標であり、一方、２．５標準偏差より大きい、特に約３、特に約３．５、さらに具体的には３．５標準偏差より大きい相違が、将来の骨折が高リスクである骨粗鬆症の指標である

工程を含む、前記方法を提供する。

【００２３】
本発明のさらなる特定の態様において、選択した被験体集団において、骨粗鬆症を診断するかまたは骨折リスクを予測するｉｎ　ｖｉｔｒｏ法であって：
ａ）真性糖尿病、特にＩＩ型真性糖尿病を患うか、または発展させる素因を有する被験体由来の血液試料を提供し、
ｂ）特に上に列挙したような、群ＩＩＩ　ｍｉＲＮＡより選択される２またはそれより多いｍｉＲＮＡ、そして場合によってさらに
ｃ）健康な個体に比較した際、骨粗鬆症の個体において示差的に制御されている、そして／または骨形成分化および／または破骨細胞形成活性化に関与する１またはそれより多いさらなるｍｉＲＮＡ
のレベルを測定し；そして
ｄ）前記ｍｉＲＮＡ、またはそのアイソフォームおよび変異体のレベルを、健康な個体のコホートまたはプールにおける平均レベルと比較する、ここで、参照に比較して、１標準偏差より大きい、特に約１．５、特に約２標準偏差の相違が、将来の骨粗鬆症性骨折のリスクが増加した骨粗鬆症の指標であり、一方、２．５標準偏差より大きい、特に約３、特に約３．５、さらに具体的には３．５標準偏差より大きい相違が、将来の骨折が高リスクである骨粗鬆症の指標である
工程を含む、前記方法を提供する。
【００２４】
本発明のさらなる態様において、本発明の方法にしたがって、群Ｉ　ｍｉＲＮＡ由来の２またはそれより多いヒトｍｉＲＮＡのレベルを測定する。特に、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３または１４の群ＩのｍｉＲＮＡを測定し、そして健康なドナー由来の単一試料または試料プールであることも可能な標準参照試料のレベルと比較する。
【００２５】
本発明のさらなる態様において、本発明の方法にしたがって、群ＩＩ　ｍｉＲＮＡ由来の前記の２またはそれより多いヒトｍｉＲＮＡのレベルを測定する。特に、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７または４８の群ＩＩのｍｉＲＮＡのレベルを測定し、そして健康なドナー由来の単一試料または試料プールであることも可能な標準参照試料のレベルと比較する。
【００２６】
本発明のさらなる態様において、本発明の方法にしたがって、群ＩＩＩ　ｍｉＲＮＡ由来の前記の２またはそれより多いヒトｍｉＲＮＡのレベルを測定する。特に、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３または７４の群ＩＩＩのｍｉＲＮＡのレベルを測定し、そして健康なドナー由来の単一試料または試料プールであることも可能な標準参照試料のレベルと比較する。
【００２７】
また、上に列挙したような、前記群Ｉ、群ＩＩ、および群ＩＩＩのｍｉＲＮＡのｍｉＲＮＡレベルの測定の任意の組み合わせも、もちろん、本発明の範囲に取り込まれる。
本発明のさらなる態様にしたがって、群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのいずれかの少なくとも３、好ましくは少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、・・・最大１３６のｍｉＲＮＡのレベルを測定する。
【００２８】
本発明の特定の態様にしたがって、群Ｉおよび／または群ＩＩおよび／または群ＩＩＩ

ｍｉＲＮＡのいずれかのすべてのｍｉＲＮＡのレベルを測定する。
特定の側面にしたがって、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂおよびｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐのレベルを測定する方法を提供する。
【００２９】
さらなる特定の側面は、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、およびｈｓａ－ｍｉＲ－９４２のレベルを測定する本発明の方法を提供することである。
【００３０】
本発明の方法のさらなる側面にしたがって、個体、特に２型真性糖尿病疾患の徴候をまったく持たない閉経後の女性において、特に骨粗鬆症を診断するためまたは骨折リスクを決定するため、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２およびｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐの少なくとも２つのレベルを測定する。場合によって、上に列挙したような前記の少なくとも２つのｍｉＲＮＡを、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐの少なくとも１つと組み合わせて測定することも可能である。
【００３１】
本発明のさらにさらなる側面において、個体、特に真性糖尿病疾患に罹患した閉経後の女性において、特に骨粗鬆症を診断するためまたは骨折リスクを決定するため、ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐおよびｍｉＲ－４８６－３ｐの少なくとも２つのレベルを測定する。場合によって、上に列挙したような前記の少なくとも２つのｍｉＲＮＡを、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－５３２－３９、ｈｓａ－ｍｉＲ－７－５ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐの少なくとも１つと組み合わせて測定することも可能である。
【００３２】
さらなる側面において、本発明の方法によって、１またはそれより多いさらなるｍｉＲＮＡを検出し、ここで前記ｍｉＲＮＡは
ｉ）健康な個体に比較した際、骨粗鬆症個体において示差的に制御されており、そして
ｉｉ）骨形成分化および／または破骨細胞形成活性化に関与する。
【００３３】
さらにさらなる態様において、ｈｓａ－ｍｉＲ－１００、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２４ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４８ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２４、ｈｓａ－ｍｉＲ－３１、ｈｓａ－ｍｉＲ－２２－３ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－９３からなる群ＩＶ　ｍｉＲＮＡより選択される、さらなるｍｉＲＮＡを検出する。
【００３４】
本発明のさらなる態様において、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４０－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１７、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１８、ｈｓａ－ｍｉＲ－２６ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２７ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２８６１、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉ

Ｒ－２９ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３４ｃ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３９６０、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０３－５ｐ、またはそのアイソフォームおよび変異体からなる群Ｖ　ｍｉＲＮＡより選択される、さらなるｍｉＲＮＡを、本発明の方法において測定する。

【００３５】

本発明の別の態様にしたがって、被験体が骨粗鬆症を有するかまたは骨粗鬆症を発展させるリスクがあるかどうかを決定する方法であって：

ａ）前記被験体由来の血液または血清試料を提供し；

ｂ）前記血清または血液試料において、群ＩＩ、ＩＩＩまたはＩ　ｍｉＲＮＡのいずれかより選択される、２またはそれより多いｍｉＲＮＡのレベル、あるいは他の上に列挙したｍｉＲＮＡのいずれか、あるいはそのアイソフォームまたは変異体のレベルを測定し、そして

ｃ）健康な個体由来の参照血液または血清試料における対応するｍｉＲＮＡのレベルと、前記ｍｉＲＮＡのレベルを比較し、

ｄ）参照試料に比較した際、ｍｉＲＮＡの前記レベルにおける１．５倍より高い相違を示す被験体において、骨粗鬆症を治療する

工程を含む、前記方法を提供する。

【００３６】

さらなる態様において、被験体は、骨折を患うかまたは骨折を発展させるリスクがある骨減少症患者、あるいは２型真性糖尿病のリスクがあるかまたは該疾患を患う患者であって、前記被験体は、参照試料に比較した際、上に列挙したそれぞれのｍｉＲＮＡの２またはそれより多くのレベルが、１．５倍を超える増進または減少を示す場合、治療を受ける。

【００３７】

本発明はしたがって、また、被験体を監視するため、そして／または骨折、特に骨粗鬆症性骨折の予後のための方法も提供する。

本発明の方法を、骨折のリスクを決定しなければならない任意の被験体、特に骨折を患うかまたは骨折を発展させるリスクがある骨粗鬆症患者、あるいは真性糖尿病、特に２型真性糖尿病のリスクがあるかまたは該疾患を患う患者に関する標準試験として使用することも可能である。

【００３８】

本発明の特定の態様にしたがって、ｍｉＲＮＡレベルの相違を、定量的またはデジタルＰＣＲ、ＤＮＡ／ＲＮＡ配列決定、マイクロアレイ、発光に基づくＬｕｍｉｎｅｘ^{TM}核酸アッセイ、または他のハイブリダイゼーションに基づく技術によって決定する。

【００３９】

本発明はまた、

ａ）ｍｉＲＮＡ群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩ由来の、アイソフォームを含む、少なくとも１つ、特に少なくとも２つの単離合成ヒトｍｉＲＮＡを用いた内因性マイクロＲＮＡの置換ならびに／あるいは

ｂ）

ｉ．前記ｍｉＲＮＡに結合し、切断し、そしてしたがってそのレベルを減少させ；そして／または

ｉｉ．ターゲットｍｉＲＮＡに結合し、そして隔離し、したがって前記ｍｉＲＮＡをコードする配列の発現を下方制御する

合成アンタゴニスト／阻害剤分子の投与による、群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも２つの阻害および／または分解

からなる、骨粗鬆症または骨折を治療するかまたは防止する際に使用するための組成物も提供する。

【００４０】

特に、リボザイムをそれに用いてもよい。

特に、前記組成物を薬剤調製において用いてもよい。

本発明のさらなる態様にしたがって、被験体において骨粗鬆症または骨折を治療するかまたは防止するための方法であって、

ａ）ｍｉＲＮＡ群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩ由来の少なくとも２つの単離ヒトｍｉＲＮＡならびに／あるいは

ｂ）

ｉ．前記ｍｉＲＮＡのレベルを減少させ；そして／または

ｉｉ．前記ｍｉＲＮＡをコードする配列の発現を阻害するかもしくは下方制御する群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも２つのアンタゴニスト／阻害剤

の有効量を投与する工程を含む、前記方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【００４１】

【図１－１】多変量分類モデル。ａ）１～４のｍｉＲＮＡ：ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２、およびｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐの組み合わせに基づく、対照患者（Ｃｏ）から、最近でない骨折（Ｆｘ）を有する閉経後の女性を分類するための受信者動作特性（ＲＯＣ）曲線。ｂ）最近でない骨粗鬆症性骨折を伴うおよび伴わない閉経後の女性の血清試料における、ａ）由来のｍｉＲＮＡの規準化Ｃｐ値を示すボックスプロット。ｃ）１～４のｍｉＲＮＡ：ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－４８６－３ｐの組み合わせに基づく、骨折を伴わない糖尿病対照患者（ＤＭ）から、最近でない骨粗鬆症性骨折を患う２型糖尿病女性（ＤＭＦｘ）を分類するためのＲＯＣ曲線。ｄ）ＤＭＦｘ血清試料対ＤＭ試料における、ｃ）のｍｉＲＮＡの規準化Ｃｐ値を示すボックスプロット。

【図１－２】多変量分類モデル。ａ）１～４のｍｉＲＮＡ：ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２、およびｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐの組み合わせに基づく、対照患者（Ｃｏ）から、最近でない骨折（Ｆｘ）を有する閉経後の女性を分類するための受信者動作特性（ＲＯＣ）曲線。ｂ）最近でない骨粗鬆症性骨折を伴うおよび伴わない閉経後の女性の血清試料における、ａ）由来のｍｉＲＮＡの規準化Ｃｐ値を示すボックスプロット。ｃ）１～４のｍｉＲＮＡ：ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－４８６－３ｐの組み合わせに基づく、骨折を伴わない糖尿病対照患者（ＤＭ）から、最近でない骨粗鬆症性骨折を患う２型糖尿病女性（ＤＭＦｘ）を分類するためのＲＯＣ曲線。ｄ）ＤＭＦｘ血清試料対ＤＭ試料における、ｃ）のｍｉＲＮＡの規準化Ｃｐ値を示すボックスプロット。

【図１－３】多変量分類モデル。ａ）１～４のｍｉＲＮＡ：ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２、およびｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐの組み合わせに基づく、対照患者（Ｃｏ）から、最近でない骨折（Ｆｘ）を有する閉経後の女性を分類するための受信者動作特性（ＲＯＣ）曲線。ｂ）最近でない骨粗鬆症性骨折を伴うおよび伴わない閉経後の女性の血清試料における、ａ）由来のｍｉＲＮＡの規準化Ｃｐ値を示すボックスプロット。ｃ）１～４のｍｉＲＮＡ：ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－４８６－３ｐの組み合わせに基づく、骨折を伴わない糖尿病対照患者（ＤＭ）から、最近でない骨粗鬆症性骨折を患う２型糖尿病女性（ＤＭＦｘ）を分類するためのＲＯＣ曲線。ｄ）ＤＭＦｘ血清試料対ＤＭ試料における、ｃ）のｍｉＲＮＡの規準化Ｃｐ値を示すボックスプロット。

【図１－４】多変量分類モデル。ａ）１～４のｍｉＲＮＡ：ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２、およびｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐの組み合わせに基づく、対照患者（Ｃｏ）から、最近でない骨折（Ｆｘ）を有する閉経後の女性を分類するための受信者動作特性（ＲＯＣ）曲線。ｂ）最近でない骨粗鬆症性骨折を伴うおよび伴わない閉経後の女性の血清試料における、ａ）由来のｍｉＲＮＡの規準化Ｃｐ値を示すボックスプロット。ｃ）１～４のｍｉＲＮＡ：ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－４８６－３ｐの組み合わせに基づく、骨折を伴わない糖尿病対照患者（ＤＭ）から、最近でない骨粗鬆症性骨折を患

う２型糖尿病女性（ＤＭＦｘ）を分類するためのＲＯＣ曲線。ｄ）ＤＭＦｘ血清試料対ＤＭ試料における、ｃ）のｍｉＲＮＡの規準化Ｃｐ値を示すボックスプロット。

【図２－１】多変量分類モデル：さらなるｍｉＲＮＡによる、４パラメータモデルの拡大または置換は、分類性能を改善する。ａ）２型糖尿病を伴わない閉経後の女性における骨粗鬆症：女性骨折患者の分類に対する、最大９のｍｉＲＮＡとｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐの分析を組み合わせた効果を、ＲＯＣ分析から得られるＡＵＣ値として示す。ｂ）２型糖尿病を伴う患者における骨粗鬆症：女性骨折患者の分類に対する、最大９のマイクロＲＮＡとｍｉＲ－５５０ａ－５ｐの分析を組み合わせた効果を、ＲＯＣ分析由来のＡＵＣ値として示す。ＡＵＣ＝１．０は、完璧な分類を示す。

【図２－２】多変量分類モデル：さらなるｍｉＲＮＡによる、４パラメータモデルの拡大または置換は、分類性能を改善する。ａ）２型糖尿病を伴わない閉経後の女性における骨粗鬆症：女性骨折患者の分類に対する、最大９のｍｉＲＮＡとｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐの分析を組み合わせた効果を、ＲＯＣ分析から得られるＡＵＣ値として示す。ｂ）２型糖尿病を伴う患者における骨粗鬆症：女性骨折患者の分類に対する、最大９のマイクロＲＮＡとｍｉＲ－５５０ａ－５ｐの分析を組み合わせた効果を、ＲＯＣ分析由来のＡＵＣ値として示す。ＡＵＣ＝１．０は、完璧な分類を示す。

【発明を実施するための形態】

【００４２】

骨形成分化は、間葉系幹細胞または脂肪組織由来幹細胞が活性化されて、増殖し、そして骨芽細胞に分化する間のプロセスと定義される。このプロセスは、アルカリホスファターゼ（ＡＬＰ）の分泌、遺伝子、例えばオステオカルシン、ＲＵＮＸ２、ＡＬＰ発現の変化、およびカルシウム取り込み上昇によって特徴付けられる。

【００４３】

破骨細胞形成は、単球（すなわちマクロファージ）が、ＲＡＮＫＬおよびＭ－ＣＳＦによって活性化されて、破骨細胞を形成する間のプロセスと定義され、これは、H^+、特定のプロテアーゼおよび他の酵素、例えば酒石酸（ｔａｒｔｒｅａｔｅ）耐性酸性ホスファターゼ（ＴＲＡＰ）、骨吸収を補助するカテプシンＫの放出によって特徴付けられる。

【００４４】

本明細書において、用語「血液試料」は、血清、血漿、全血およびその構成要素、血液由来産物または調製物を指す。血漿および血清は、実施例に示すように非常に有用である。

【００４５】

本明細書において、用語「被験体」または「個体」または「患者」は、温血哺乳動物、特にヒトを指すものとする。

用語「患者」には、予防または療法的治療のいずれかを受けたか、あるいは限定されるわけではないが、骨粗鬆症または真性糖尿病のような特定の疾患と診断されている、ヒトおよび他の哺乳動物被験体が含まれる。

【００４６】

用語「治療」は、したがって、予防的および療法的治療の両方を含むよう意味される。

本明細書において、用語「個体コホート」または「個体プール」は、健康な個体群を指すものとし、そして特に、前記個体から受け取った試料を指すことも可能である。コホートの個体数は多様であることも可能であり、すなわち、２、３、４、５、６、７、またはそれより多い個体を含むことも可能であるが、また、より大きい被験体群であることも可能であり、例えば、限定されるわけではないが、１０、５０、１００またはそれより多い個体であることも可能である。本発明の態様にしたがって、コホートはまた、５００またはそれより多い個体の巨大コホートを含むことも可能である。

【００４７】

本発明にしたがって、用語「約」は、明確に、列挙した値、ならびにそこからの小さな逸脱を含む。したがって、１０％、好ましくは５％、好ましくは１％の列挙した値からの逸脱は、用語「約」に含まれる。本発明にしたがって、平均年齢約６０歳の原発性骨粗鬆

症（閉経後）を伴う被験体を評価したが、これは、約７０歳またはそれより高齢の被験体が罹患する老年性骨粗鬆症による骨喪失および骨折リスクとは対照的である。

【００４８】

用語「治療成功」は、本明細書において、骨密度を維持するかまたは骨粗鬆症プロセスを遅延させ、そして骨粗鬆症の結果として骨折する（骨粗鬆症性骨折）リスクを減少させると定義される。したがって、治療成功を予測するマーカーは、患者の臨床転帰、すなわち骨折リスクの減少に優先的に関連するはずである。中程度の治療成功は、約２５％から最大約５０％、骨折リスクを減少させる。高い治療成功は、５０％を超えるリスク減少を生じる。

【００４９】

本発明は、骨粗鬆症を診断するか、骨粗鬆症病変（ｌｅａｓｏｎｓ）または骨折を発展させるリスクを決定するか、あるいは、療法、特に骨粗鬆症または糖尿病治療を受けている被験体において治療を監視するための方法において使用するための選択されたｍｉＲＮＡを提供する。

【００５０】

前記ｍｉＲＮＡは、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２－３ｐ　ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２５ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３５ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０８、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９１－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９３ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－１－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１５、ｈｓａ－ｍｉＲ－２２３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２７ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ｅ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７４ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７５、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４０９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５１ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８７ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ

－５４８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９８、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２７、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６４２ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－９６－５ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－９８－５ｐ－またはそのアイソフォームまたは変異体である。

【００５１】

健康な被験体におけるレベルに比較して、前記ｍｉＲＮＡの２またはそれより多くのレベルの増加または減少の検出を、被験体における骨粗鬆症または骨折のリスクを予測するために使用可能である。

【００５２】

特に、群Ｉ　ｍｉＲＮＡ、特に、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２５ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４０９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７４－３ｐ、またはそのアイソフォームまたは変異体からなる前記ｍｉＲＮＡの２またはそれより多くのレベルの増加が測定されると、骨粗鬆症の特異的な指標であるかまたは骨粗鬆症を発展させるリスクの特異的な指標である可能性がある。ｍｉＲＮＡの前記増加または減少は、最近の骨折を患う被験体における、血液または血清レベルから得られるデータに特に基づく。

【００５３】

特に、群ＩＩ　ｍｉＲＮＡ、特に、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３５ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０８、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９３ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１５、ｈｓａ－ｍｉＲ－２２３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２７ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ｅ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８７ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６４２ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２またはそのアイソフォームまたは変異体からなる前記ｍｉＲＮＡの２またはそれより多くのレベルの増加が測定されると、骨粗鬆症の特異的な指標であるかまたは骨粗鬆症を発展させるリスクの特異的な指標である可能性がある。ｍｉＲＮＡの前記増加または減少は、最近の骨折を患わない被験体における、血液または血清レベルから得られるデータに特に基づく。

【００５４】

特定の態様にしたがって、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８を群ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも１つと組み合わせる。

さらに特定の態様にしたがって、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２を群ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも１つと組み合わせる。

【００５５】

さらに特定の態様にしたがって、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５５を群ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも１つと組み合わせる。

さらに特定の態様にしたがって、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２を群ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも１つと組み合わせる。

【００５６】

さらに特定の態様にしたがって、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６を群ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも１つと組み合わせる。

さらに特定の態様にしたがって、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３を群ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも１つと組み合わせる。

【００５７】

さらに特定の態様にしたがって、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０を群ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも１つと組み合わせる。

特に、群ＩＩＩ　ｍｉＲＮＡ、特に、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０８、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９１－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－１－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７４ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７５、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５１ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９８、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２７、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－９６－５ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－９８－５ｐまたはそのアイソフォームまたは変異体からなる前記ｍｉＲＮＡの２またはそれより多くのレベルの増加が測定されると、ＩＩ型糖尿病に罹患した被験体において、骨粗鬆症の特異的な指標であるかまたは骨粗鬆症を発展させるリスクまたは骨病変もしくは骨折のリスクの特異的な指標である可能性がある。

【００５８】

さらに特定の態様にしたがって、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２を群ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも１つと組み合わせる。

さらに特定の態様にしたがって、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６を群ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも１つと組み合わせる。

【００５９】

さらに特定の態様にしたがって、ｈｓａ－ｍｉＲ－９６を群ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも１つと組み合わせる。

さらに特定の態様にしたがって、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２を群ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも１つと組み合わせる。

【００６０】

特に、群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩ ｍｉＲＮＡのいずれかの少なくとも２つと組み合わせた、ｈｓａ－ｍｉＲ－１００、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２４ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４８ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２４、ｈｓａ－ｍｉＲ－３１、ｈｓａ－ｍｉＲ－２２－３ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－９３またはそのアイソフォームまたは変異体からなるさらなるｍｉＲＮＡのレベルの測定または検出は、被験体における骨粗鬆症のさらなる指標であるかまたは骨粗鬆症を発展させるリスクまたは骨病変もしくは骨折のリスクのさらなる指標である可能性がある。

【００６１】

特に、群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩ ｍｉＲＮＡのいずれかの少なくとも２つと組み合わせた、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４０－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１７、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１８、ｈｓａ－ｍｉＲ－２６ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２７ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２８６１、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３４ｃ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３９６０、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０３－５ｐ、またはそのアイソフォームおよび変異体からなるさらなるｍｉＲＮＡのレベルの測定または検出は、被験体における骨粗鬆症のさらなる指標であるかまたは骨粗鬆症を発展させるリスクまたは骨病変もしくは骨折のリスクのさらなる指標である可能性がある。

【００６２】

特に、健康な被験体のレベルに比較して、ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｍｉＲ－１５５－５ｐ、およびｍｉＲ－９４２の少なくとも２つが異なるレベルであることは、２型糖尿病を伴わない閉経後の女性において、骨折リスクの指標である。この患者群において、骨折リスクおよび／または骨粗鬆症の診断の感度および特異性は、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、および／またはｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐより選択されるさらなるｍｉＲＮＡマーカーを分析に含めることによって、さらに改善可能である。特定の態様は、限定されるわけではないが、マーカー：

ｍｉＲ－１８８－３ｐおよびｍｉＲ－３８２－３ｐ；

ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｍｉＲ－３８２－３ｐおよびｍｉＲ－９４２；

ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｍｉＲ－１５５－５ｐ、およびｍｉＲ－９４２；

ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ；

ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ；

ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ；

ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－５

８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ；
ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ
の組み合わせである。

【００６３】

さらなる代替態様にしたがって、健康な被験体のレベルに比較して、ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－４８６－３ｐの少なくとも２つが異なるレベルであることは、２型糖尿病に罹患した閉経後の女性において、骨折リスクの指標である。この患者群において、骨折リスクおよび／または骨粗鬆症の診断の感度および特異性は、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐより選択されるさらなるｍｉＲＮＡマーカーを含めることによって、さらに改善可能である。特定の態様は、限定されるわけではないが、マーカー：
ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐおよびｍｉＲ－３２－３ｐ；
ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐおよびｍｉＲ－９６－５ｐ；
ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐおよびｍｉＲ－４８６－３ｐ；
ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－４８６－３ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ；
ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ　ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ；
ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ　ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｍｉＲ　５３２－３ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－９２－３ｐ；ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐ；
ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－５ｐ、ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐ；
ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－４８６－３ｐ、ｍｉＲ　５３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２－３ｐ
の組み合わせである。

【００６４】

本明細書において、用語「マイクロＲＮＡ」または「ｍｉＲＮＡ」または「ｍｉＲ」は、コーディング・メッセンジャーＲＮＡにハイブリダイズし、そしてその発現を制御する１７～２５ヌクレオチドの間の非コーディングＲＮＡ分子を示す。用語「ｍｉＲＮＡ分子」は、天然ｍｉＲＮＡ分子を含む、ｍｉＲＮＡに相当する任意の核酸分子、すなわち成熟ｍｉＲＮＡ、プレｍｉＲＮＡ、プリｍｉＲＮＡを指す。

【００６５】

「ｍｉＲ前駆体」、「プレｍｉＲＮＡ」または「プレｍｉＲ」は、ｍｉＲＮＡを含有す

る、ヘアピン構造を有する非コーディングＲＮＡを示す。プレｍｉＲＮＡは、一次ｍｉＲＮＡ転写物、または「プリｍｉＲＮＡ」の、Ｄｒｏｓｈａとして知られる二本鎖ＲＮＡ特異的リボヌクレアーゼによる切断の産物である。前駆体は、それぞれのポリヌクレオチドの成熟中に生じるため、それぞれのポリヌクレオチドの形であることも可能である。特に、前記前駆体の例を、表２～４に列挙し、特にこれらは、配列番号１６～３０、７８～１２４、２７０、１９７～２６８、２７２および／または２７４のものである。

【００６６】

成熟ｍｉＲＮＡおよびそれぞれの前駆体のヌクレオチド配列が当該技術分野に知られ、そしてこれらは、データベースｍｉＲＢａｓｅより、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｍｉｒｂａｓｅ．ｏｒｇ／ｉｎｄｅｘ．ｓｈｔｍｌで、またはＳａｎｇｅｒデータベースより、ｈｔｔｐ：／／ｍｉｃｒｏｒｎａ．ｓａｎｇｅｒ．ａｃ．ｕｋ／ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ／ｆｔｐ．ｓｈｔｍｌで、入手可能である。ヌクレオチド配列はまた、それぞれの遺伝子バンク寄託番号への言及を含めて、表２～４に特に開示される。

【００６７】

本発明の背景において、検出するかまたは阻害しようとするポリヌクレオチドの背景において，本明細書において、同一のポリヌクレオチドは、配列番号１～１５、２６９、３１～７７、１２５～１９６、２７１および／または２７３のいずれか１つのヌクレオチド配列を含むかまたはこれらからなるポリヌクレオチドに、少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％または９９％の同一性を持つ核酸配列を有することも可能である。

【００６８】

さらに、本発明の背景において、検出するかまたは阻害しようとするポリヌクレオチドの背景において，本明細書において、同一のポリヌクレオチドは、それぞれのシード配列の５’端および／または３’端で対応するプレｍｉＲＮＡ配列の１、２、３またはそれより多いヌクレオチドを含む、配列番号１～１５、２６９、３１～７７、１２５～１９６、２７１および／または２７３のいずれか１つのヌクレオチド配列を含むかまたはこれらからなるポリヌクレオチドに、少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％または９９％の同一性を持つ核酸配列を有することも可能である。

【００６９】

本発明の目的のため、参照ｍｉＲＮＡの「アイソフォームおよび変異体」（「アイソｍｉｒ」とも称されている）には、トリミング変異体（５’トリミング変異体：５’ダイシング部位が、参照ｍｉＲＮＡ配列から上流または下流である；３’トリミング変異体：３’ダイシング部位が、参照ｍｉＲＮＡ配列から上流または下流である）、あるいは１またはそれより多いヌクレオチド修飾を有する変異体（参照ｍｉＲＮＡの３’端への３’ヌクレオチド付加；ｍｉＲＮＡ前駆体からのヌクレオチド変化によるヌクレオチド置換）、あるいはそのアイソフォームおよび変異体を含む相補的成熟マイクロＲＮＡ鎖（例えば所定の５’成熟マイクロＲＮＡに関しては、相補的３’成熟マイクロＲＮＡ、およびその逆）が含まれる。ヌクレオチド修飾に関して、ＲＮＡ／ＲＮＡ結合に適したヌクレオチド、すなわち５’シード領域および切断／アンカー側のヌクレオチドは、修飾からは除外される。

【００７０】

以下において、別に言及しない限り、用語「ｍｉＲＮＡ」は、３ｐおよび５ｐ鎖、ならびにそのアイソフォームおよび変異体を含む。

特に、用途「ｍｉＲ－それぞれの数字－３ｐ」は、本明細書において、また、その相補的５ｐ　ｍｉＲＮＡも含み、そして逆も当てはまる。

【００７１】

特定の態様において、関心対象のｍｉＲＮＡを、関心対象の前記ｍｉＲＮＡと、好ましくはストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチドを用いて、そしてハイブリダイゼーション・シグナルを測定して、検出する。

【００７２】

好ましい態様において、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）によって、関心対象のｍｉＲ

ＮＡのレベルを測定する。ＰＣＲ法は当該技術分野に周知であり、そして広く用いられ、これらには、定量的リアルタイムＰＣＲ、半定量的ＰＣＲ、多重ＰＣＲ、デジタルＰＣＲ、またはその任意の組み合わせが含まれる。特に好ましい態様において、定量的リアルタイムＰＣＲ（ｑＲＴ－ＰＣＲ）によって、ｍｉＲＮＡレベルを決定する。ｑＲＴ－ＰＣＲを用いたｍｉＲＮＡレベルの決定法が当該技術分野に周知であり、そしてこれらには通常、ｍｉＲＮＡのｃＤＮＡへの逆転写が先行する。

【００７３】

本発明において有用であるＰＣＲ法において、プライマーは通常、成熟ｍｉＲＮＡ分子に基づくが、ハイブリダイゼーションの振る舞いを最適にするため、化学的修飾が含まれることも可能である。

【００７４】

ｑＲＴ－ＰＣＲ法は、ｍｉＲＮＡ発現の絶対レベルを決定することも可能である。あるいは、ｑＲＴ－ＰＣＲ法は、ｍｉＲＮＡの相対量を決定することも可能である。１またはそれより多い内部標準核酸配列レベルに対して、ｍｉＲＮＡのレベルを規準化することによって、ｍｉＲＮＡの相対量を決定することも可能である。一般的に、こうした内部標準核酸配列は、分析する血液または血清試料において、一定レベルを有するはずである。例えば、内部標準核酸配列は、グリセロアルデヒド－３－リン酸デヒドロゲナーゼ（ＧＡＰＤＨ）、ベーターアクチン（ＡＣＴＢ）のようなｍＲＮＡ、または５Ｓおよび１８ＳリボソームｒＲＮＡ、ＲＮＵ４８、ＲＮＵ４４、およびＲＮＵ６などの非コーディングＲＮＡのようなｍＲＮＡなどの恒常的に転写されるＲＮＡ核酸配列であることも可能である。さらに、血清または血漿中で一定のそして高いレベルを有するｍｉＲＮＡ、例えばｍｉＲ－２３ａ－３ｐ、ｍｉＲ－２３ｂ－３ｐ、ｍｉＲ－１５－５ｐまたはｍｉＲ－１６－５ｐを、相対的定量化のための参照として用いることも可能である。さらに、ＲＮＡ単離またはｃＤＮＡ合成中に等モル量で添加される合成ＲＮＡ配列を、特定のｍｉＲＮＡの相対定量化のための参照として用いることも可能である。

【００７５】

本発明で有用なリアルタイムＰＣＲ定量化法の概要は、Ｓｃｈｍｉｔｔｇｅｎら、２００８，Ｍｅｔｈｏｄｓ．Ｊａｎｕａｒｙ；４４（１）：３１－３８に提供される。

ｍｉＲＮＡ検出用のプライマーは、例えばＥｘｉｑｏｎから、マイクロＲＮＡ　ＬＮＡ™　ＰＣＲプライマーセットとして、商業的に入手可能である。

【００７６】

ｍｉＲＮＡは比較的短い分子であるため、例えばＷＯ２０１１／１４４７６に示唆されるように、逆転写および増幅の前に、アデノシン単量体を鎖に付加することによって、これらを延長することが有用でありうる（ポリアデニル化として知られる技術）。簡潔には、適切な試薬（例えばＴｒｉｚｏｌ試薬）によって試料からＲＮＡを抽出し、ＡＴＰおよびポリ（Ａ）ポリメラーゼの存在下でポリアデニル化し、ポリ（Ｔ）アダプターおよび５’ＲＡＣＥ配列を用いてｃＤＮＡに逆転写し、そしてｍｉＲＮＡの３’端に由来する順方向プライマーおよび逆方向ＲＡＣＥプライマーを用いて増幅することも可能である。この技術の改善には、３’端のヌクレオチド（Ａ、Ｃ、またはＧで構成されるが、Ｔを含まず、したがって、ポリＡ配列上のどこかでのプライミングを除外し、そしてｍｉＲＮＡ配列上でのプライミングを強いる）を含むＲＡＣＥプライマー、あるいは化学修飾を含むまたは含まない２、３、４、またはそれより多いヌクレオチドを用いた特定のマイクロＲＮＡの３’　ｃＤＮＡ端に係留されたＲＡＣＥプライマーの設計が含まれる。

【００７７】

ｍｉＲＮＡの検出はまた、当該技術分野に知られる他の方法、例えばＷＯ２０１１／１４４７６に記載されるものによって、例えばディープシーケンシング、ビーズに基づく定量化、例えばＩｌｌｕｍｉｎａビーズアレイ、ヒドロゲル粒子に基づく定量化、例えばＦｉｒｅｆｌｙ™によって、マイクロアレイ技術、例えばＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎより入手可能なＮｃｏｄｅ™ヒトｍｉＲＮＡアレイ、Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ、Ａｇｉｌｅｎｔより入手可能なチップアレイ、または例えばＥｘｉｑｏｎのＬＮＡ主鎖捕捉プローブを使用

するマイクロアレイ（ｍｉＲＣＵＲＹ　ＬＮＡ™アレイ）によって、達成可能である。
【００７８】
ｍｉＲＮＡレベルの相違はまた、化学発光に基づく多重核酸アッセイ、例えばＰａｎｏｍｉｃｓ、またはマイクロＲＮＡ相補的制御部位を含むレポータータンパク質を含有するレポータープラスミドアッセイ（「バイオセンサー」）、または当該技術分野に知られる他のハイブリダイゼーションに基づく技術を用いて、決定することも可能である。
【００７９】
本発明の方法におけるｍｉＲＮＡの使用は、骨粗鬆症のような低骨ミネラル密度（分泌されるｍｉＲＮＡに反映される異常な骨代謝による）と関連する骨障害を診断するために、そして特に、骨粗鬆症性骨折のリスクを評価するために有用である。
【００８０】
本発明は、特に、広範囲の骨疾患病期および年齢群の両方に渡って適用可能な診断シグネチャーに相当するｍｉＲＮＡセットを提供する。特に、ａ）Ｓｅｅｌｉｇｅｒら、上記によって補充されるものよりもより若い患者の血液または血清において示差的に制御されるｍｉＲＮＡ、ｂ）最近でない骨折を有する患者において示差的に制御されるｍｉＲＮＡ、および／またはｃ）最近でない骨折を有する２型糖尿病患者において示差的に制御されるｍｉＲＮＡの検出は、高リスクの骨折を有する患者の早期診断、長期予後、およびスクリーニングに関してより高い有意性を有する診断および予測ツールを提供する。
【００８１】
疾患進行に関する予後値を含むバイオマーカーは、重度の骨粗鬆症性骨折の発生を最小限にするため、最も重要である。現在、骨粗鬆症性骨折の高い発症率は、大部分が、骨画像化およびルーチンの臨床パラメータ、ならびに性別、年齢、生活様式および家族歴およびＦＲＡＸ™スコアなどの顕性特性に基づく非特異的な診断法に起因するとされうる。しかし、これらのパラメータの評価は、骨代謝および骨芽細胞／破骨細胞活性に直接には関連しない。したがって、ＦＲＡＸ™およびＢＭＤを伴う一般的な指針にもかかわらず、個々の骨折リスクにおける高い変動が依然としてあり続けている。マイクロＲＮＡを用いた早期診断は、骨代謝の読み取り値に依存し、そしてしたがって、その疾患の病理生理自体に依存する。したがって、この分析は、個々の患者に対してより特異的である。
【００８２】
別の側面にしたがって、本発明は、骨粗鬆症のような骨折および骨障害の治療のための、または２型糖尿病の背景における、特に骨折の防止または治癒のための、療法的組成物に関する。
【００８３】
特に組成物は、
ａ．ｍｉＲＮＡ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２５ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３５ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０８、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９１－５ｐ、ｈｓａ

－ｍｉＲ－１９２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９３ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－１－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１５、ｈｓａ－ｍｉＲ－２２３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２７ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ｅ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７４ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７５、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４０９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５１ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８７ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９８、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２７、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６４２ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９８－５ｐまたはそのアイソフォームおよび変異体の少なくとも１つ、特に少なくとも２つの単離または合成ヒトｍｉＲＮＡおよび／または

ｂ．　ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２５ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３５ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０８、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９１－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９３ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－１－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１５、ｈｓａ－ｍｉＲ－２２３－

５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２７ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ｅ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７４ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７５、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４０９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５１ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８７ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９８、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２７、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６４２ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９８－５ｐ、またはそのアイソフォームおよび変異体の少なくとも１つ、特に少なくとも２つのｍｉＲＮＡのアンタゴニスト／阻害剤であって

ｉ　前記ｍｉＲＮＡのレベルを減少させ；そして／または

ｉｉ　前記ｍｉＲＮＡをコードする配列の発現を阻害するかまたは下方制御するか、あるいは前記ｍｉＲＮＡを分解するかまたは切断する、特にリボザイムから選択される

前記アンタゴニスト／阻害剤

を含むことも可能である。

【００８４】

別の側面にしたがって、組成物は、さらに、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４０－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１７、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１８、ｈｓａ－ｍｉＲ－２６ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２７ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２８６１、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３４ｃ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３９６０、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０３－５ｐ、または本明細書に定義するようなそのアイソフォームおよび変異体、あるいは前記ｍｉＲＮＡのレベルを減少させ；そして／または

前記ｍｉＲＮＡをコードする配列の発現を阻害するかまたは下方制御するか、あるいは前記ｍｉＲＮＡを分解するかまたは切断する、特にリボザイムから選択される

その阻害剤またはアンタゴニストを含有することも可能である。

【００８５】

別の側面にしたがって、組成物はさらに、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐより選択される１またはそれより多いｍｉＲＮＡを、場合によって、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐ、または本明細書に定義するようなそのアイソフォームおよび変異体、あるいは前記ｍｉＲＮＡのレベルを減少させ；そして／または

前記ｍｉＲＮＡをコードする配列の発現を阻害するかまたは下方制御するか、あるいは前記ｍｉＲＮＡを分解するかまたは切断する、特にリボザイムから選択される

その阻害剤またはアンタゴニストと組み合わせて含有する。
【００８６】
さらに別の側面にしたがって、組成物はさらに、ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－４８６－３ｐより選択される１またはそれより多いｍｉＲＮＡを、場合によって、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐ、または本明細書に定義するようなそのアイソフォームおよび変異体、あるいは前記ｍｉＲＮＡのレベルを減少させ；そして／または
前記ｍｉＲＮＡをコードする配列の発現を阻害するかまたは下方制御するか、あるいは前記ｍｉＲＮＡを分解するかまたは切断する、特にリボザイムから選択される
その阻害剤またはアンタゴニストと組み合わせて含有する。
【００８７】
これらのｍｉＲＮＡまたはその阻害剤／アンタゴニストは、それぞれ、上記段落に列挙したｍｉＲＮＡと組み合わせて、または単一の構成要素として、またはその任意の組み合わせで使用することも可能である。
【００８８】
ｍｉＲＮＡ自体またはその阻害剤／アンタゴニストが療法組成物中に活性成分として取り込まれるかどうかは、こうしたｍｉＲＮＡが骨粗鬆症性骨折のリスクがある患者において上方または下方制御されるかどうかだけでなく、骨形成分化または破骨細胞形成活性化におけるその特定の機能にも依存する。例えば、表１に示すように、または特にｍｉＲ３１－５ｐに関して知られるように、骨形成分化の阻害剤として機能するｍｉＲＮＡが、骨粗鬆症において上方制御されることが見出される場合、あるいはｍｉＲ－１４８ａ－５ｐのように、破骨細胞形成の促進因子として機能する場合、こうしたｍｉＲＮＡの阻害剤／アンタゴニストが、本発明の組成物中の活性成分であろう。
【００８９】
以下において、別に記載しない限り、用語「ｍｉＲＮＡ療法剤」は、ｍｉＲＮＡ自体およびそれぞれのｍｉＲＮＡ阻害剤／アンタゴニストの両方に関して用いられる。
ｍｉＲＮＡ療法剤は、一般的に、ターゲティングされる成熟ｍｉＲＮＡの配列に基づく。ｍｉＲＮＡ置換療法のための療法剤は、置換される成熟ｍｉＲＮＡの配列と大部分を共有する必要がある。ｍｉＲＮＡの５’シード領域には、正確な配列相同性が必要である。ｍｉＲＮＡ機能を特異的に阻害するように設計された療法剤（抗マイクロＲＮＡオリゴヌクレオチド、ＡＭＯ）は、安定なハイブリダイゼーションそしてしたがって、ｍｉＲＮＡの隔離が達成されるように、ターゲティングされた配列に相補的である必要がある。ＡＭＯは、それぞれ、安定なＲＮＡ二重鎖形成を引き起こす化学的修飾、例えばホスホロチオエート主鎖、またはＬＮＡおよび糖鎖の２’ＯＭｅ修飾を含有することも可能である。
【００９０】
骨障害を有する被験体の血清／血漿において上方または下方制御されているｍｉＲＮＡが、骨形成におけるその機能のために、疾患原因として関連しうるかどうかは、骨形成分化に対するこれらのｍｉＲＮＡの影響を評価することによって決定可能であり：骨形成分化開始前に、間葉系幹細胞において合成マイクロＲＮＡトランスフェクションを行う。例えばｑＰＣＲ、ウェスタンブロットによって、または酵素的に、またはカルシウム沈着を決定するアッセイによって、例えばＤｅｎｇら（Ｄｅｎｇら、２０１４）に記載されるようなアリザリン染色によって、初期骨形成マーカー、アルカリホスファターゼ（ＡＬＰ）を定量化するアッセイを用いて、骨形成に関するｍｉＲＮＡの重要性に関する結論を引き出すことも可能である。
【００９１】
あるいは、本発明において、ＭＳＣ、またはＭＳＣのモデルとして脂肪組織由来幹細胞

（ＡＳＣ）を、ｍｉＲＮＡ療法剤をコードするＤＮＡ配列を含有する哺乳動物ベクター構築物でトランスフェクションし、そして上述のような骨形成分化に対する影響を決定することによって、ｍｉＲＮＡ療法剤の本発明における有用性に関してルーチンに試験することも可能である。

【００９２】

ＭＳＣおよびＡＳＣは、例えば、Ｗｏｌｂａｎｋら、２００７（Ｔｉｓｓｕｅ Ｅｎｇ １３，１１７３－１１８３）およびＷｏｌｂａｎｋら、２００９（Ｔｉｓｓｕｅ Ｅｎｇ Ｐａｒｔ Ａ １５，１８４３－１８５４）に記載されるように、既知の方法によって得られうる。

【００９３】

骨再生に関与することが確認され、そしてしたがって骨治癒を促進することが確認されたｍｉＲＮＡは、本発明の薬学的組成物において活性成分として有用である。

骨障害を有する被験体の血清／血漿において上方または下方制御されるｍｉＲＮＡが、骨吸収におけるその機能のために、疾患原因として関連しうるかどうかは、破骨細胞形成に対するこれらのｍｉＲＮＡの影響を評価することによって決定可能であり：ＲＡＮＫＬおよびＭ－ＣＳＦを通じた破骨細胞形成の開始前に、ＣＤ１４＋末梢血単核細胞における合成マイクロＲＮＡトランスフェクションを行う。破骨細胞マーカー、例えば酒石酸耐性酸ホスファターゼ（ＴＲＡＰ）活性、カルシトニン受容体およびＲＡＮＫ発現を定量化するアッセイを用いて、骨吸収に関するｍｉＲＮＡの重要性に関する結論を導き出すことも可能である。損なわれていない細胞または細胞溶解物を用いて、ｍｉＲ前駆体からｍｉＲＮＡを得ることも可能であるし、あるいは単離プロセシング酵素、例えば単離Ｄｒｏｓｈａ／Ｄｇｃｒ８およびダイサーを用いて、ｉｎ ｖｉｔｒｏでｍｉＲＮＡを産生することも可能である。ｍｉＲ前駆体からプロセシングすることなしに、ｍｉＲＮＡを、化学合成によって産生することもまた可能である。

【００９４】

ｍｉＲＮＡのアンタゴニスト／阻害剤は、当該技術分野において周知であり、そしてカスタマイズされたｍｉＲＮＡ阻害剤は、商業的に入手可能である。例えば、本発明の背景のアンタゴニスト／阻害剤は、アンタゴｍｉＲ（Ｋｒｉｉｔｚｆｅｌｄｔ，Ｎａｔｕｒｅ（２００５），４３８：６８５－６８９）またはホスホロチオエート結合およびコレステロールテールを有する任意の他のＴ－Ｏ－メチル－ＲＮＡオリゴヌクレオチド、ｍｉＲＣＵＲＹ ＬＮＡ™マイクロＲＮＡ阻害剤（Ｅｘｉｑｏｎ）、ｉｎ ｖｉｖｏ ＬＮＡ™ｍｉＲＮＡ阻害剤（Ｅｘｉｑｏｎ）、小分子ＬＮＡ（Ｏｂａｄ，Ｎａｔ Ｇｅｎｅｔ（２０１１），４３（４）：３７１－３７８）、ｍｉＲ－デコイまたはｍｉＲ－スポンジ（Ｅｂｅｒｔ，Ｎａｔ Ｍｅｔｈｏｄｓ（２００７），４：７２１－７２６；Ｂｏｎｄ，Ｎａｔ Ｍｅｄ（２００８），１４：１２７１－１２７７）等のような核酸分子であることも可能である。アンタゴニスト／阻害剤はまた、Ｃｈａｔｔｅｒｊｅｅ，Ｎａｔｕｒｅ（２００９），４６１：５４６－９に記載されるようなｍｉＲＮＡ分解酵素、Ｔｅｄｅｓｃｈｉ，Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ Ｔｏｄａｙ（２００９），１４：７７６－７８３に記載されるようなハンマーヘッドリボザイム、またはＪａｄｈａｖ，Ａｎｇｅｗ Ｃｈｅｍ Ｉｎｔ Ｅｄ Ｅｎｇｌ（２００９），４８（１４）：２５５７－２５６０に記載されるようなアンタゴｍｉｒザイム（ａｎｔｏｇｏｍｉｒｚｙｍｅ）由来であることも可能である。本発明の背景において、アンタゴｍｉＲ、ｍｉＣＵＲＹ ＬＮＡ™マイクロＲＮＡ阻害剤、ｉｎ ｖｉｖｏ ＬＮＡ™ｍｉＲ阻害剤、小分子ＬＮＡ、ｍｉＲデコイまたはｍｉＲスポンジである。

【００９５】

さらなる態様において、いわゆる「個別化薬剤」の原理にしたがって、すなわちこの場合、いわゆる「コンパニオン」診断である、本発明の診断法の結果と相関して、薬学的組成物の活性成分を選択する。これは、特異的ｍｉＲＮＡを置換するかまたは阻害するかいずれかを目的とする、ｍｉＲＮＡの療法的投与に関する決定が、個体において特定のｍｉＲＮＡのレベルを分析する付随する診断法と緊密に関連することを意味する。

【００９６】
破骨細胞特異的促進因子、例えばカルシトニン受容体（ＣａｌｃＲ）、ＲＡＮＫ（ＮＦｋＢの受容体活性化因子）、コロニー刺激因子１受容体（ｃ－Ｆｍｓ）、およびカテプシンＫ（ＣａｔｈＫ）を用いてもよい。
【００９７】
例えば骨折後の骨治癒を加速するための、局所投与の態様において、ｍｉＲＮＡ療法剤をコードする核酸分子を、ウイルスまたは非ウイルスベクターによって、あるいは裸のＤＮＡまたはＲＮＡとして、関心対象の部位に送達することも可能である。Ｐｅｌｌｅｄら，２０１０（Ｔｉｓｓｕｅ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ：Ｐａｒｔ Ｂ，Ｖｏｌｕｍｅ １６，Ｎｏ．１、１３－２０）によって概説されるように、骨折部位内の療法分子の局在は、ターゲット部位での物理的配置によって、あるいは生物学的接着剤、例えばフィブリノーゲンおよびトロンビンのポリマーを含む、損傷領域またはその近傍に移植される三次元バイオマテリアルからの遺伝子放出によって、確実にされることも可能である。有用な物理的配置法には、骨折部位への、ｍｉＲＮＡの直接注射、またはポリエチレンイミン（ＰＥＩ）療法剤などの剤で形成される脂質－マイクロＲＮＡ複合体が含まれる。好ましくは、核酸分子がｉｎ ｓｉｔｕで細胞に浸透するために、例えばリポソームまたはＰＥＩを用いて、複合体化状態で、送達される。あるいは、ｍｉＲＮＡをウイルスによって転写することも可能である。好ましくは、Ｅｇｅｒｍａｎｎら，２００６（Ｈｕｍ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．Ｍａｙ；１７（５）：５０７－１７）によって、骨形成タンパク質（ＢＭＰ）発現するために記載されるように、アデノウイルスベクターを用いる。
【００９８】
ベクターを用いる代わりに、ｉｎ ｖｉｖｏエレクトロポレーションまたはソノポレーションを用いて、療法剤を局所送達することも可能である。これらの方法を用いて、ｍｉＲＮＡまたはｍｉＲＮＡコードＤＮＡ分子を直接骨折に注射し、そして電気パルスまたは超音波を部位に経皮的に適用する。前記ｍｉＲＮＡまたはそのアンタゴニスト／阻害剤は、特に、骨修復および再生に用いられる、フィブリン組織充填材の一部であることも可能である。
【００９９】
さらなる態様において、限定されるわけではないが、骨髄、脂肪組織、臍帯組織、尿、または胎盤を含む任意の供給源由来の間葉系幹細胞であって、療法性ｍｉＲＮＡを過剰発現するかまたは抑制するように遺伝子操作された前記細胞を、欠損部位に移植することも可能である（Ｍａｒｉｅ，２０１１，Ｏｓｔｅｏｐｏｒｏｓ Ｉｎｔ ２２：２０２３－２０２６、Ｄｅｎｇら、上記）。
【０１００】
代替態様において、例えば導入遺伝子発現による、関心対象の部位、例えば骨折部位へのｍｉＲＮＡ療法剤の局在は、まず、ｍｉＲＮＡ療法ＤＮＡ／ＲＮＡを送達系に結合させ（例えば吸着、捕捉または固定によって、あるいは共有結合によって；Ｌｕｇｉｎｂｕｅｈｌら，２００４，Ｅｕｒ Ｊ Ｐｈａｒｍ Ｂｉｏｐｈａｒｍ ５８：１９７－２０８）、そして次いで、遺伝子活性化マトリックス（ＧＡＭ）を欠損部位に、例えばＦａｎｇら、１９９６（Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ９３，５７５３）に記載されるように移植することによって、達成される。
【０１０１】
ｍｉＲＮＡの送達のためのマトリックスに関連して、有用なマトリックス（ＧＡＭ、「遺伝子活性化マトリックス」）が記載されてきている。療法的に活性であるｍｉＲＮＡまたはその阻害剤／アンタゴニストを、そのままままたはマトリックス内に取り込んでのいずれかで局所投与する場合もまた、骨をターゲティングする分子に連結させることが好適である可能性もある。これは、骨をターゲティングする分子とｍｉＲＮＡ療法剤を複合体化するために用いられる、送達ビヒクル、例えばリポソームに連結することによって達成可能である。核酸分子を局所投与する場合、骨をターゲティングする分子の取り込みは、送達ビヒクルの表面にこれを連結することによって達成される。同じことはＣＰＰにも当て

はまる。

【０１０２】

ｍｉＲＮＡ分子またはそれをコードする核酸分子のいずれかを含有する本発明の任意のｍｉＲＮＡ療法剤、またはアンチセンス阻害剤を、１またはそれより多い他の剤、例えばテリパラチド、デノスマブ、ブロソズマブ、ロモソズマブ、ビスホスホネート、例えばアレンドロネート、ゾレンドロネート、あるいは１またはそれより多い骨増殖因子またはそれぞれのコード核酸分子、例えばＢＭＰ－２および／またはＢＭＰ－７のようなＢＭＰ、あるいは例えばｍｉＲ－３１をアンタゴナイズするＲＮＡのようなＲＮＡと組み合わせることも可能である。

【０１０３】

本発明はさらに、以下の項目を含む：

１．　被験体において骨粗鬆症を診断するか、または骨粗鬆症性骨折のリスクを決定するか、または治療成功を監視するｉｎ　ｖｉｔｒｏ法であって：

ａ）前記被験体由来の血液試料を提供し；

ｂ）前記血液試料において

ｉ．ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３５ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０８、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９３ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１５、ｈｓａ－ｍｉＲ－２２３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２７ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ｅ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８７ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－６４２ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２またはそのアイソフォームまたは変異体からなる群ＩＩ　ｍｉＲＮＡ、および／または

ｉｉ．ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｉ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９０８、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９１－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－１－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１０、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０１ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－

３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７４ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７５、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５１ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４８６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４９３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５４５－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５９８、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２７、ｈｓａ－ｍｉＲ－６２９－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９８－５ｐまたはそのアイソフォームまたは変異体からなる群ＩＩＩ　ｍｉＲＮＡ、および／または

ｉｉｉ．ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２５ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４０９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７４－３ｐ、またはそのアイソフォームまたは変異体からなる群Ｉ　ｍｉＲＮＡ

のいずれかより選択される、２またはそれより多いｍｉＲＮＡのレベルを測定し、そして

ｃ）健康な個体由来の参照血液試料における対応するｍｉＲＮＡのレベルと、前記ｍｉＲＮＡのレベルを比較する、

ここで、参照試料に比較した際の前記レベルの１．５倍を超える相違が、骨粗鬆症または骨粗鬆症性骨折リスク上昇の指標であるか、または

ｄ）健康な被験体における対応するｍｉＲＮＡの平均レベルと、前記ｍｉＲＮＡのレベルを比較する、ここで、１標準偏差を超える相違が、将来の骨粗鬆症性骨折リスクが増加した骨粗鬆症の指標である

いずれかの工程を含む、前記方法。

【０１０４】

２．　２．５倍を超える相違が、将来の骨粗鬆症性骨折リスクが増加した骨粗鬆症の指標である、項目１記載の方法。

３．　前記の２またはそれより多いヒトｍｉＲＮＡが、群Ｉ　ｍｉＲＮＡより選択される、項目１または２記載の方法。

【０１０５】

４．　前記の２またはそれより多いヒトｍｉＲＮＡが、群ＩＩ　ｍｉＲＮＡより選択される、項目１～３記載の方法。

５．　前記の２またはそれより多いヒトｍｉＲＮＡが、群ＩＩＩ　ｍｉＲＮＡより選択される、項目１～４記載の方法。

【０１０６】

６．　群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのいずれかの少なくとも３、好ましくは少なくとも４、好ましくは少なくとも５のｍｉＲＮＡのレベルを測定する、項目１～５のいずれか一項記載の方法。

【０１０７】

７．　群Ｉおよび／または群ＩＩおよび／または群ＩＩＩ　ｍｉＲＮＡのいずれかのすべてのｍｉＲＮＡのレベルを測定する、項目１または２記載の方法。

８．　ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐのレベルを測定する、項目１または２のいずれか一項記載の方法。

【０１０８】

９．　ｈｓａ－ｍｉＲ－１０６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２７－３ｐ、ｈｓａ－ｍ

ｉＲ－１３３ｂ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９６ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３６９－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－４５４－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４１、およびｈｓａ－ｍｉＲ－９４２のレベルを測定する、項目１または２のいずれか一項記載の方法。

【０１０９】

１０．　ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３８２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９４２、ｈｓａ－ｍｉＲ－１５５－５ｐの少なくとも２つのレベルを測定する、項目１または２記載の方法。

【０１１０】

１１．　ｈｓａ－ｍｉＲ－１３６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７８ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０２－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５７６－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５８２－３ｐからなる群より選択される少なくとも１つのさらなるｍｉＲのレベルを測定する、項目１０記載の方法。

【０１１１】

１２．　ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－４８６－３ｐの少なくとも２つのレベルを測定する、項目１または２記載の方法。

１３．　ｈｓａ－ｌｅｔ－７ｇ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４１－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４３－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１６－２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１８１ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３２３ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－５００ａ－５ｐ、ｈｓａ－５３２－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－７－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－９２ａ－３ｐからなる群より選択される少なくとも１つのさらなるｍｉＲＮＡのレベルを測定する、項目１２記載の方法。

【０１１２】

１４．　１またはそれより多いさらなるｍｉＲＮＡを検出し、前記ｍｉＲＮＡが健康な個体に比較した際、骨粗鬆症個体において示差的に制御されており、そして骨形成分化および／または破骨細胞形成活性化に関与する、項目１～１３のいずれか一項記載の方法。

【０１１３】

１５．　前記のさらなるｍｉＲＮＡが、ｈｓａ－ｍｉＲ－１００、ｈｓａ－ｍｉＲ－１２４ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４８ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２４、ｈｓａ－ｍｉＲ－３１、ｈｓａ－ｍｉＲ－２２－３ｐおよびｈｓａ－ｍｉＲ－９３からなる群ＩＶ　ｍｉＲＮＡより選択される、項目１～１４記載の方法。

【０１１４】

１６．　前記のさらなるｍｉＲＮＡが、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４０－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１４６ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ａ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２００ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１７、ｈｓａ－ｍｉＲ－２１８、ｈｓａ－ｍｉＲ－２２３、ｈｓａ－ｍｉＲ－２６ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２７ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２８６１、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ａ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ｂ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２９ｃ－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０４－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３３５－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３４ｃ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７０－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３９６０、ｈｓａ－ｍｉＲ－５０３－５ｐ、またはそのアイソフォームおよび変異体からなる群Ｖ　ｍｉＲＮＡより選択される、項目１～１５のいずれか一項記載の方法。

【０１１５】

１７．　被験体を監視するための項目１～１６のいずれか一項記載の方法の使用。

１８．　骨折の予後のための項目１～１６のいずれか一項記載の方法の使用。

１９．　被験体が、骨折を患うかまたは骨折を発展させるリスクがある骨粗鬆症患者、あるいは２型真性糖尿病のリスクがあるかまたは該疾患を患う患者である、項目１～１６

のいずれか一項記載の方法。
【０１１６】
２０．　ｍｉＲＮＡレベルの相違を、定量的またはデジタルＰＣＲ、配列決定、マイクロアレイ、Ｌｕｍｉｎｅｘ核酸アッセイ、または他のハイブリダイゼーションに基づく技術によって決定する、項目１～１６のいずれか一項記載の方法。
【０１１７】
２１．　ｍｉＲＮＡ群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩ由来の少なくとも２つの合成ヒトｍｉＲＮＡならびに／あるいは
前記ｍｉＲＮＡのレベルを減少させ；そして／または前記ｍｉＲＮＡをコードする配列の発現を阻害するかもしくは下方制御するか、または前記ｍｉＲＮＡを分解するか、または前記ｍｉＲＮＡを分解するかもしくは切断する、群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも２つのアンタゴニスト／阻害剤
を含む、骨粗鬆症または骨折を治療するかまたは防止する際に使用するための組成物。
【０１１８】
２２．　薬剤調製において使用するための、項目２１記載の組成物。
２３．　被験体において骨粗鬆症または骨折を治療するかまたは防止するための方法であって、
ｍｉＲＮＡ群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩ由来の少なくとも２つの単離ヒトｍｉＲＮＡならびに／あるいは
ａ．前記ｍｉＲＮＡのレベルを減少させ；そして／または
ｂ．前記ｍｉＲＮＡをコードする配列の発現を阻害するかもしくは下方制御するか、または前記ｍｉＲＮＡを分解するか、または前記ｍｉＲＮＡを分解するかもしくは切断する群Ｉ、ＩＩまたはＩＩＩのｍｉＲＮＡの少なくとも２つのアンタゴニスト／阻害剤
の有効量を投与する工程を含む、前記方法。
【０１１９】
本明細書記載の実施例は、本発明の例示であり、そして限定であるとは意図されない。本発明の異なる態様が、本発明にしたがって記載されてきている。本明細書に記載し、そして例示する技術に対して、本発明の精神および範囲から逸脱することなく、多くの修飾および変動を行うことも可能である。したがって、実施例が例示のみであり、そして本発明の範囲に対して限定しないことが理解されるべきである。
【実施例】
【０１２０】
実施例１：最近の大腿骨頸部骨折に反応した循環マイクロＲＮＡ
研究設計
最近の骨折におけるｍｉＲＮＡの分析のため、Ｓｅｅｌｉｇｅｒら、２０１４、上記によって選択されるものより若い患者に焦点を置いたが、これは、初期の疾患発展中、すなわちより若い年齢で、診断が優先的に行われるためである。
【０１２１】
室温で３０分間インキュベーションした後、室温で２０００ｘｇで１５分間遠心分離することによって、１４人の被験体から血清試料を収集することに関して、アッパーオーストリア倫理委員会によって、倫理的な認可が与えられた。以前の骨粗鬆症性大腿骨折の発生に基づいて、被験体を２群（ｎ＝７）に分類した（図１ａ）。分析した特性、例えば年齢、肥満度指数（ＢＭＩ）、術後の試料採取間隔、ＢＭＤ　Ｔ－スコア、ビタミンＤおよびＰＴＨなどの分析した特性のうち、ＢＭＩのみが有意な相違を示した。
【０１２２】
ＲＮＡ単離
長期保存のため、血清試料を－８０℃で凍結させた。ＲＮＡ単離に際して、血清を３７℃で融解し、１２，０００ｘｇで５分間遠心分離して、細胞破片を除去し、そして２００μｌの血清を、３５ｆｍｏｌの合成ｃｅｌ－ｍｉＲ－３９－３ｐスパイクイン対照を含有する７５０μｌ　Ｑｉａｚｏｌ中でホモジナイズした。ＲＮＡ沈殿および精製のため、標

準プロトコルから以下の逸脱を含めて、クロロホルムおよびｍｉＲＮｅａｓｙ単離キット（Ｑｉａｇｅｎ、ドイツ）を用いて、ＲＮＡ単離を行った：２００μｌ血漿を７５０μｌＱｉａｚｏｌ中にホモジナイズした。正確に５００μｌの水性相を採取し、１μｌのグリコーゲン（Ａｍｂｉｏｎ、テキサス州）を最終濃度５０μｇ／ｍｌまで添加し、そして７５０μｌの１００％エタノールで沈殿させた。カラムをＲＰＥ緩衝液で３回洗浄し、そして血漿ＲＮＡを３０μｌヌクレアーゼ不含水で１回溶出し、そして－８０℃で保存した。それぞれのＴａｑｍａｎマイクロＲＮＡアッセイキットおよびＭａｓｔｅｒｍｉｘ（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を用いて、Ｑｉａｇｅｎ Ｒｏｔｏｒｇｅｎｅ上、４つ組で、ｃｅｌ－ｍｉＲ－３９－３ｐの定量化を行った。

【０１２３】

ｑＰＣＲ分析

血清または血漿中を循環することが繰り返し見出されてきている１７５の別個のヒトｍｉＲＮＡを含む、３８４ウェルの血清／血漿フォーカスパネルを用いて、デンマークのＥｘｉｑｏｎ Ｉｎｃ．によって、ｍｉＲＮＡ発現のスクリーニングを行った。まず、ｍｉＲＣＵＲＹ ＬＮＡ普遍的ＲＴ反応キットを用いて、２０μｌ反応中、４μｌの単離ＲＮＡを逆転写した。ＵｎｉＳｐ３およびＵｎｉＳｐ６は、この工程で添加され、そして続いて酵素阻害剤の存在を検出するために分析される、合成対照である。ｑＰＣＲ分析前に、ＲＴ反応を５０倍に希釈し、そしてＲｏｃｈｅ ＬＣ４８０リアルタイムＰＣＲ系（Ｒｏｃｈｅ、ドイツ）を用いて、１０μｌ反応中、試料あたり１回、各ｍｉＲＮＡをアッセイした。

【０１２４】

データ分析

融解曲線分析を行い、そして１より多いピークを有するｍｉＲＮＡ ＰＣＲ反応を分析から除外した。ｌｉｎｒｅｇソフトウェアパッケージに似たアルゴリズムを用いて、増幅効率を計算した。大部分のｍｉＲＮＡに関して、効率は、１．８～２．１の間の範囲であった。＜１．６の効率を生じる個々の反応をデータセットから除外した。全血清／血漿フォーカスパネルプレート上で、「テンプレート不含」ｃＤＮＡ合成対照をアッセイすることによって、各ｍｉＲＮＡに関するバックグラウンドレベルを生じた。ｍｉＲＮＡアッセイの大部分はいかなるシグナルも生じず、そしてバックグラウンドＣｐを４２にセットした。本発明者らは、すべてのｍｉＲＮＡアッセイが、分析に含まれるバックグラウンド値よりも＞５Ｃｐ低いシグナルを示すことを必要とした。すべての１４の試料（１２４アッセイ）に渡って検出されるｍｉＲＮＡアッセイの平均Ｃｐに基づいて、Ｃｐ値の規準化を行った。Ｎｏｒｍｆｉｎｄｅｒソフトウェアを用いて、平均Ｃｐの安定性が、データセット中のいかなる個々のｍｉＲＮＡアッセイの安定性よりも高いことを確認した。以下の等式を用いて規準化した：規準化Ｃｐ（ｄＣｐ）＝平均Ｃｐ（１２４アッセイ）－アッセイＣｐ（試料）。これは、デルタＣｐ（ｄＣｐ）値を生じ、発現に関する相対$\log_2$転換測定値であり、より高い値は血漿中のより高い濃度を示し、そしてより低いｄＣｐ値はより低い濃度を示す。

【０１２５】

マン・ホイットニーＵ検定を用いてノンパラメトリックｔ統計を計算し、そして各群の平均発現値間の倍変化を計算した。総合すると、１５のｍｉＲＮＡが、最近の骨折および対照試料の間の高い相違（倍変化＞１．５）を示した。

【０１２６】

実施例２： ２型糖尿病を伴うおよび伴わない、既往または偶発的である最近でない骨粗鬆症性骨折を有する患者における循環マイクロＲＮＡ

既往骨粗鬆症性骨折に関する研究設計

研究実行中に、７４人の月経後女性（骨折歴を含まない１７人の対照（Ｃｏ）、脆弱性骨折歴を有する１９人の対照（Ｆｘ）、骨折を伴わない１９人の２型糖尿病女性（ＤＭ）および脆弱性骨折歴を有する１９人の２型糖尿病女性（ＤＭＦｘ））の血清試料を収集した。研究に含まれるためには、すべての女性が閉経後で、年齢５０～７５歳であり、１８

～３７ｋｇ／ｍ２の範囲の肥満度指数でなければならなかった。すべての被験体は動くことができ、そして歩行器なしに移動可能である必要があった。糖尿病群に登録された被験体に関しては、最低限３年間の経口投薬および／またはインスリンによる２型糖尿病治療歴を必要とした。白人、アジア系およびアフリカ系アメリカ人女性が含まれた。骨折を有する被験体は、骨折が、低エネルギー外傷、例えば立位またはそれより低い位置からの転倒によって引き起こされ、そして閉経後にも持続した場合にのみ、含まれた。局所腫瘍、腫瘍様病変またはレントゲン写真上で視覚化されるような病巣脱ミネラル化などの他の起源の病的骨折を有する患者は研究から除外した。

【０１２７】

除外基準は、骨代謝に影響を及ぼしうるすべての医学的状態、例えば重度神経障害疾患、若年性または閉経前特発性骨粗鬆症、甲状腺機能亢進症、副甲状腺機能亢進症、最近の長期間（＞３ヶ月）の運動抑制歴、長期間の薬剤使用、アルコール依存、慢性胃腸疾患、重大な慢性腎機能障害（ＣＫＤ病期ＩＶおよびＶ）、重大な慢性肝機能障害、不安定な心臓血管疾患または制御されない高血圧を含んだ。さらに、最近６ヶ月に渡る、副腎またはタンパク質同化ステロイド、エストロゲン、制酸剤、抗痙攣剤、抗凝固剤、薬理学的用量のビタミンＡ、フッ化物、ビスホスホネート、カルシトニン、タモキシフェンまたは副甲状腺ホルモン（ＰＴＨ）でのいかなる長期治療も、除外基準と見なされた。骨量および骨構造に対する影響が証明されているため、ロシグリタゾンまたはピオグリタゾンなどの抗糖尿病剤を投与されている被験体もまた研究から除外された。

【０１２８】

研究プロトコルは、ＵＣＳＦヒト研究委員会（ＣＨＲ）によって認可され、そしてすべての患者は、参加前に書面のインフォームドコンセントを提出した。研究室の取扱注意事項にしたがって、一晩の絶食の１２時間後、８～１１ａｍの間に、血液標本を収集した。血清試料に関しては、血液を直立状態で４０分間凝固させ、そして次いで、収集１時間以内に、２５００ｒｐｍで１５分間遠心分離した。試料のいずれも視覚検査では溶血の徴候を示さなかった。血清を続いて、１．５ｍｌプラスチックスクリューキャップバイアルに移し、そしてさらなる分析まで、－８０℃で保存した。

【０１２９】

偶発的骨粗鬆症性骨折に関する研究設計

ＡＧＥＳ－レイキャビク・コホートの６６歳を超える４４３人の閉経後女性を含む、前向き入れ子症例対照研究設計を作成した。この研究の目的は、最初の骨粗鬆症性骨折（偶発的骨折）またはさらなる骨粗鬆症性骨折の予測のための循環マイクロＲＮＡの同定であった。この目的のため、血清マイクロＲＮＡレベルに関してベースラインで血液試料を分析し、そして５．４年での最初の追跡調査後の患者転帰と相関させる。総合すると、研究設計は４群を含み：対照群は、既往骨折を含まず、そして５．４年の追跡調査中、骨折を維持しなかった１００人の健康な個体を含み、骨折群は、追跡調査中に最初の偶発的骨折を維持した１００人、およびすでに１またはそれより多い既往骨折を有した後、追跡調査期間中にさらなる骨折を維持した７２人の１７２人の患者を含み、対照糖尿病群は、２型糖尿病と診断されているが、既往骨折を伴わず、また追跡調査中に偶発的骨折を維持しなかった１００人の個体を含み、そして糖尿病性骨折群は、５．４年の追跡調査内に最初の偶発的骨折を維持した３５人、およびベースラインで既往骨折を有し、そして追跡期間中に１またはそれより多いさらなる偶発的骨折を有した３６人の患者の７１人の患者からなった。

【０１３０】

骨折群では、高エネルギー外傷およびストレス骨折を伴う患者を除外した。研究受診の１８ヶ月前以内に起こった既往骨折を除外した。３０ｍｌ／分（ｅＧＦＲ）を超える腎機能、＞２０ｋｇ／ｍ２のＢＭＩを示し、長期のまたは最近の運動抑制歴がなく、骨に影響を及ぼす薬剤を現在摂取しておらず、そして自己報告または診断書に基づく腎疾患、肝疾患、慢性胃腸疾患、副甲状腺機能亢進症、卵巣摘出術、慢性アルコール依存、または特発性骨粗鬆症の徴候がない被験体のみを含めた。

【０１３１】
ＲＮＡ単離
ＲＮＡ単離のため、２００μｌの血清を３７℃で溶解し、１２，０００ｘｇで５分間遠心分離し、そして小分子ＲＮＡ精製効率を監視するため、３つの異なる濃度で合成ＲＮＡスパイクイン対照（Ｅｘｉｑｏｎ、デンマーク）を含有する、１０００μｌ Ｑｉａｚｏｌ中にホモジナイズした。標準プロトコルから以下の逸脱を含めて、ＲＮＡ沈殿および精製のため、クロロホルム抽出およびｍｉＲＮｅａｓｙ単離キット（Ｑｉａｇｅｎ、ドイツ）を用いて、ＲＮＡ単離を行った：抽出後、正確に６５０μｌの水性相を採取し、１μｌのグリコーゲン（Ａｍｂｉｏｎ、米国テキサス州）を最終濃度５０μｇ／ｍｌまで添加し、そして９７５μｌの１００％エタノールで沈殿させた。カラムをＲＰＥ緩衝液で３回洗浄し、そしてＲＮＡを３０μｌヌクレアーゼ不含水で１回溶出し、そして－８０℃で保存した。

【０１３２】
ｑＰＣＲ分析
Ｅｘｉｑｏｎによる試薬を用いて、３８４ウェルプレート中で、ｍｉＲＮＡのｑＰＣＲに基づくハイスループット定量化を行った。まず、普遍的ｃＤＮＡ合成キットＩＩを用いて、５０μｌ反応中、１０μｌの単離ＲＮＡを逆転写した。この工程中に、ＵｎｉＳｐ６およびｃｅｌ－ｍｉＲ－３９－３ｐを添加して、酵素阻害剤の存在を監視した。カスタム設計のプレコーティングＰｉｃｋ＆Ｍｉｘ３８４ウェルプレート中で、ｑＰＣＲ分析前に、ｃＤＮＡ試料を１００倍に希釈した。ｅｐＭｏｔｉｏｎ Ｐ５０７３液体取り扱いロボット（Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆ、ドイツ）を用いて、１０μｌのｑＰＣＲ混合物をｑＰＣＲプレートの各ウェルに分配した。Ｒｏｃｈｅ ＬＣ４８０リアルタイムＰＣＲ系（Ｒｏｃｈｅ、ドイツ）を用いて、１０μｌ反応中、試料あたり１回、各ｍｉＲＮＡをアッセイする。

【０１３３】
データ分析
融解曲線分析を行い、そして１より多いピークを有するｍｉＲＮＡ ＰＣＲ反応を分析から除外した。ｌｉｎｒｅｇソフトウェアパッケージに似たアルゴリズムを用いて、増幅効率を計算した。大部分のｍｉＲＮＡに関して、効率は、１．８～２．１の間の範囲であった。＜１．６の効率を生じる個々の反応をデータセットから除外した。全血清／血漿フォーカスパネルプレート上で、「テンプレート不含」ｃＤＮＡ合成対照をアッセイすることによって、各ｍｉＲＮＡに関するバックグラウンドレベルを生じた。ｍｉＲＮＡアッセイの大部分はいかなるシグナルも生じず、そしてバックグラウンドＣｐを４２にセットした。発現データを、以下の基準にしたがって、あらかじめフィルタリングした：ｉ）空の値を５０％より多く含むフィーチャーを除外した；ｉｉ）任意の４群間の１因子ＡＮＯＶＡ分析において、＜０．０５のｐ値を持つフィーチャーを選択した；ｉｉｉ）骨折および非骨折試料または糖尿病および非糖尿病試料間の陰性シグナルの不均等な分布を示す、カイ二乗検定ｐ値＜０．１を有するフィーチャーを選択した。この段階の目的は、任意の４群において制御に向かう傾向を有するフィーチャーのみをさらにプロセシングすることを可能にすることであった。残りの１４６フィーチャーのＣｔ値を、スパイクイン対照レベルの全体の平均に関して補正し、そして最後に、正規分布値の仮定に基づいて、空の値を帰属値（ｉｍｐｕｔｅｄ ｖａｌｕｅ）で置き換えた。

【０１３４】
一般化最小二乗によって、クラス情報、例えば骨折対非骨折、または糖尿病性骨折対糖尿病対照を取り込む、遺伝子に関する線形モデルを用意した。クラス係数が０とは異なるかどうかの試験のｐ値を、ＢｅｎｊａｍｉｎｉおよびＨｏｃｈｂｅｒｇによって提唱される方法を用いた多重試験のために調整した。Ｂｉｏｃｏｎｄｕｃｔｏｒレポジトリーのｌｉｍｍａパッケージを用いた。基本分類装置としてサポートベクターマシンを用い、ＡＵＣ値および５倍交差検証の誤分類率によって、すべての単一モデルを評価した。最大ＡＵＣ値に近いＡＵＣ値を得る最少モデルサイズを選択した。元来のデータと同じ次元性およ

び相関構造を取り込むが、クラス間の平均に相違を示さない、シミュレーションデータを用いて、全方法を反復した。生じた最大のＡＵＣ値を、ゼロ再現性によって特徴付けられる参照点として用いた。上述の２工程法を用いて選択したすべてのモデルは、参照ポイントに比較した際、明らかに優れた結果を生じた。

【０１３５】

結果

非糖尿病性骨折患者の分類のため、０．９７８のＡＵＣ値を生じる４つのマイクロＲＮＡの組み合わせ（図１ａおよびｂ）を同定した。この組み合わせは、ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｍｉＲ－９４２、ｍｉＲ－１５５－５ｐ、およびｍｉＲ－３８２－３ｐからなった。分類モデル中のｍｉＲＮＡのさらなる取り込み（最大総数１０のｍｉＲＮＡ）は、ＡＵＣを１．０の値まで改善することが可能であり（図２ａ）、このうちｍｉＲ－１３６－３ｐおよびｍｉＲ－５０２－５ｐは、分類に最強の影響を有した。

【０１３６】

糖尿病性骨折患者の分類のため、０．９３３のＡＵＣ値を生じる４つのマイクロＲＮＡの組み合わせ（図１ｃおよびｄ）を同定した。この組み合わせは、ｍｉＲ－５５０ａ－５ｐ、ｍｉＲ－９６－５ｐ、ｍｉＲ－３２－３ｐ、およびｍｉＲ－４８６－３ｐからなった。分類モデル中のｍｉＲＮＡのさらなる取り込み（最大総数１０のｍｉＲＮＡ）は、ＡＵＣを１．０の値まで改善することが可能であり（図２ｂ）、このうちｍｉＲ－２０３ａおよびｍｉＲ－１４１－３ｐ、およびｌｅｔ－３２３ａ－３ｐは、分類に最強の影響を有した。

【０１３７】

実施例３：骨形成分化の背景におけるマイクロＲＮＡ機能の分析

患者同意を得て、局所麻酔下で、外来腫脹脂肪吸引から得た皮下脂肪組織から、ヒト脂肪由来幹細胞（ＡＳＣ）を得た。以前記載されるように（Ｗｏｌｂａｎｋら、２００７ａ；Ｗｏｌｂａｎｋら、２００７ｂ；Ｗｏｌｂａｎｋら、２００９ａ）ＡＳＣを単離し、そして４ｍＭ　Ｌ－グルタミン、１０％ウシ胎児血清（ＦＣＳ、ＰＡＡ）および１ｎｇ／ｍＬ組換えヒト塩基性線維芽細胞増殖因子（ｒｈＦＧＦ、Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を補ったＤＭＥＭ－低グルコース／ＨＡＭ　Ｆ－１２中、３７℃、５％ＣＯ２および９５％気湿で培養した。増殖率に併せて、細胞を週１回または２回、１：２のスプリット比で継代した。

【０１３８】

ＡＳＣにおける骨形成分化の導入

２４ウェル細胞培養プレートにおいて、すべての分化プロトコルを行った。骨形成分化のため、ＡＳＣをウェルあたり2×10^3細胞の密度で植え付けた。植え付け７２時間後、細胞を骨形成分化培地（ＤＭＥＭ－低グルコース、１０％ＦＣＳ、４ｍＭ　Ｌ－グルタミン、１０ｎＭデキサメタゾン、１５０μＭアスコルビン酸－２－リン酸、１０ｍＭ　β－グリセロールリン酸および１０ｎＭビタミン－Ｄ３）と最長４週間インキュベーションした。

【０１３９】

アリザリンレッドＳ染色

石灰化構造のアリザリン染色のため、細胞を７０％エタノール中、－２０℃で１時間固定した。簡単にリンスした後、細胞を４０ｍＭアリザリンレッド溶液（Ｓｉｇｍａ）で２０分間染色し、そしてＰＢＳで洗浄した。定量化のため、２００μｌ　０．１Ｍ　ＨＣＬ／０．５％ＳＤＳ溶液を用いて、アリザリンを３０分間抽出した。抽出した色素を４２５ｎｍで測定した。

【０１４０】

トランスフェクション

ｓｉＰＯＲＴ^{TM}ＮｅｏＦＸ^{TM}トランスフェクション試薬（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を用いて、ＡＳＣをトランスフェクションした。製造者のプロトコルにしたがって、細胞を１０ｎＭ前駆体マイクロＲＮＡまたはスクランブル化ｍｉＲＮＡ対照

＃２（Ａｍｂｉｏｎ）でトランスフェクションした。トランスフェクション３日後、上述のように分化を開始した。

【０１４１】

結果

ｈｓａ－ｍｉＲ－１０ｂ－５ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－２０３ａ、ｈｓａ－ｍｉＲ－３７６ａ－３ｐ、およびｍｉＲ－５５０ａ－５ｐのトランスフェクションは、５０％またはそれより多い骨形成分化の有意な阻害を生じた。ｈｓａ－ｍｉＲ－１８８－３ｐ、ｈｓａ－ｍｉＲ－１９９ｂ－５ｐ、およびｍｉＲ－１４８ａ－５ｐのトランスフェクションは、２００％より多く、そして最大４００％の骨形成分化の有意な加速を生じた。

【０１４２】

表

表１

【０１４３】

【表１－１】

#	患者コホート	miRNA ID	Log2 倍変化（疾患対対照）	p 値
1	最近の OFX 群 I	hsa-miR-10a-5p	0,95	0,0012
2		hsa-miR-10b-5p	1,01	0,0012
3		hsa-miR-106a-5p	-0,33	0,078
4		hsa-miR-125b-5p	0,54	0,2734
5		hsa-miR-127-3p	0,83	0,1634
6		hsa-miR-133a	-0,55	0,3295
7		hsa-miR-133b	-1,47	0,0280
8		hsa-miR-143-3p	-0,51	0,1010
9		hsa-miR-18a-3p	-0,50	0,2741
10		hsa-miR-194-5p	0,49	0,2266
11		hsa-miR-30a-5p	0,72	0,1092
12		hsa-miR-328-3p	-0,62	0,0344
13		hsa-miR-376a-3p	0,77	0,1160
14		hsa-miR-409-3p	0,86	0,2042
15		hsa-miR-574-3p	-0,51	0,2016
1	最近でない OFX 群 II	hsa-let-7i-3p	-0,56	0,206
2		hsa-miR-1227-3p	0,53	0,643
3		hsa-miR-127-3p	-1,04	0,145
4		hsa-miR-133b	-0,81	0,086
5		hsa-miR-135a-5p	-0,90	0,030
6		hsa-miR-136-3p	-0,87	0,055
7		hsa-miR-143-3p	-0,64	0,210
8		hsa-miR-155-5p	-1,11	0,013
9		hsa-miR-181a-3p	-2,93	0,000
10		hsa-miR-188-3p	-1,72	0,003
11		hsa-miR-1908	-0,90	0,484
12		hsa-miR-190a	-1,37	0,052
13		hsa-miR-192-5p	-0,64	0,090
14		hsa-miR-193b-3p	-0,74	0,137
15		hsa-miR-196b-5p	-0,64	0,201
16		hsa-miR-199b-5p	-0,62	0,553
17		hsa-miR-200b-3p	-0,61	0,236
18		hsa-miR-203a	0,87	0,725
19		hsa-miR-205-5p	-0,53	0,162
20		hsa-miR-20b-5p	-0,67	0,225
21		hsa-miR-214-3p	-0,57	0,209

【０１４４】

【表１－２】

22		hsa-miR-215	-0,61	0,124
23		hsa-miR-223-5p	-0,58	0,144
24		hsa-miR-27a-3p	-0,52	0,145
25		hsa-miR-30e-3p	-0,63	0,100
26		hsa-miR-323a-3p	-0,67	0,165
27		hsa-miR-330-3p	1,02	0,088
28		hsa-miR-342-5p	-1,16	0,035
29		hsa-miR-369-3p	-1,04	0,055
30		hsa-miR-376c-3p	-0,74	0,152
31		hsa-miR-377-3p	-1,02	0,062
32		hsa-miR-378a-5p	-1,19	0,016
33		hsa-miR-410	-0,59	0,151
34		hsa-miR-454-3p	-0,59	0,179
35		hsa-miR-487b	-0,91	0,132
36		hsa-miR-495-3p	-1,02	0,089
37		hsa-miR-500a-5p	-0,96	0,122
38		hsa-miR-502-5p	-1,36	0,040
39		hsa-miR-542-5p	-1,43	0,126
40		hsa-miR-548a-3p	-0,66	0,252
41		hsa-miR-550a-5p	2,17	0,052
42		hsa-miR-576-3p	-1,58	0,002
43		hsa-miR-582-3p	-1,55	0,020
44		hsa-miR-624-5p	-0,69	0,197
45		hsa-miR-642a-5p	-1,56	0,018
46		hsa-miR-941	-0,66	0,442
47		hsa-miR-942	-1,88	0,002
48		Hsa-miR-382-3p	-2.11	0.471
1	最近でない DMFX 群 III	hsa-let-7b-5p	0,97	0,005
2		hsa-let-7g-5p	0,99	0,002
3		hsa-let-7i-5p	0,91	0,002
4		hsa-miR-106a-5p	0,96	0,009
5		hsa-miR-106b-5p	1,01	0,006
6		hsa-miR-127-3p	-1,29	0,487
7		hsa-miR-132-3p	0,84	0,015
8		hsa-miR-140-3p	0,78	0,014
9		hsa-miR-141-3p	1,27	0,002
10		hsa-miR-143-3p	0,87	0,080
11		hsa-miR-143-5p	1,42	0,007
12		hsa-miR-144-3p	0,94	0,009
13		hsa-miR-146b-5p	0,90	0,012

【０１４５】

【表１－３】

14		hsa-miR-154-5p	-1,64	0,127
15		hsa-miR-16-2-3p	1,03	0,001
16		hsa-miR-16-5p	0,89	0,008
17		hsa-miR-17-5p	0,98	0,032
18		hsa-miR-181b-5p	0,83	0,035
19		hsa-miR-181c-3p	1,51	0,002
20		hsa-miR-181c-5p	1,25	0,004
21		hsa-miR-185-5p	0,81	0,024
22		hsa-miR-18a-3p	0,77	0,051
23		hsa-miR-18a-5p	0,88	0,020
24		hsa-miR-18b-5p	0,92	0,019
25		hsa-miR-1908	-1,43	0,186
26		hsa-miR-191-5p	0,99	0,006
27		hsa-miR-196b-5p	1,03	0,037
28		hsa-miR-199b-5p	1,35	0,082
29		hsa-miR-19b-1-5p	2,38	0,007
30		hsa-miR-19b-3p	0,76	0,018
31		hsa-miR-200b-3p	0,94	0,050
32		hsa-miR-203a	1,98	0,007
33		hsa-miR-20a-5p	0,92	0,013
34		hsa-miR-20b-5p	1,12	0,068
35		hsa-miR-210	0,78	0,023
36		hsa-miR-21-3p	1,09	0,003
37		hsa-miR-25-3p	0,82	0,016
38		hsa-miR-26b-5p	0,79	0,023
39		hsa-miR-301a-3p	1,15	0,005
40		hsa-miR-301b	1,17	0,010
41		hsa-miR-323a-3p	1,21	0,002
42		hsa-miR-324-5p	1,15	0,017
43		hsa-miR-330-3p	1,23	0,022
44		hsa-miR-363-3p	0,83	0,008
45		hsa-miR-369-3p	-1,29	0,011
46		hsa-miR-374a-5p	0,84	0,017
47		hsa-miR-375	1,30	0,004
48		hsa-miR-376c-3p	-0,98	0,052
49		hsa-miR-378a-5p	1,09	0,023
50		hsa-miR-451a	0,91	0,012
51		hsa-miR-454-3p	0,99	0,023
52		hsa-miR-486-3p	1,16	0,018
53		hsa-miR-486-5p	1,04	0,003

【０１４６】

【表１－４】

54		hsa-miR-493-5p	-0,85	0,607
55		hsa-miR-500a-5p	1,93	0,001
56		hsa-miR-532-3p	0,87	0,006
57		hsa-miR-545-3p	1,33	0,017
58		hsa-miR-550a-3p	0,98	0,032
59		hsa-miR-550a-5p	4,84	0,000
60		hsa-miR-589-5p	0,83	0,719
61		hsa-miR-590-3p	0,92	0,055
62		hsa-miR-598	0,87	0,068
63		hsa-miR-627	0,97	0,034
64		hsa-miR-629-5p	0,96	0,009
65		hsa-miR-7-5p	1,40	0,001
66		hsa-miR-92a-3p	0,81	0,002
67		hsa-miR-93-3p	0,86	0,042
68		hsa-miR-93-5p	0,93	0,018
69		hsa-miR-941	1,70	0,024
70		hsa-miR-942	2,36	0,000
71		hsa-miR-96-5p	1,35	0,000
72		hsa-miR-98-5p	0,85	0,031
73		hsa-miR-181a-5p	0.74	0.041
74		hsa-miR-32-3p	1.11	0.021

【０１４７】

表２－最近の骨粗鬆症性骨折対対照

【０１４８】

【表２－１】

成熟 ID	成熟配列	配列番号	成熟寄託	前駆体 miRNA	前駆体 miRNA 配列	配列番号	前駆体 miRNA 寄託
hsa-miR-10a-5p	UACCCUGUAGAUCCGAAUUUGUG	1	MIMAT0000253	hsa-mir-10a	GAUCUGUCUGUCUUCUGUAUAUACCCUGUAGAUCCGAAUUUGUGUAAGGAAUUUUGUGGUCACAAAUUCGUAUCUAGGGGAAUAUGUAGUUGACAUAAACACUCCGCUCU	16	MI0000266
hsa-miR-10b-5p	UACCCUGUAGAACCGAAUUUGUG	2	MIMAT0000254	hsa-mir-10b	CCAGAGGUUGUAACGUUGUCUAUAUAUACCCUGUAGAACCGAAUUUGUGUGGUAUCCGUAUAGUCACAGAUUCGAUUCUAGGGGAAUAUAUGGUCGAUGCAAAAACUUCA	17	MI0000267
hsa-miR-106a-5p	AAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	3	MIMAT0000103	hsa-mir-106a	CCUUGGCCAUGUAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGCUUUUUGAGAUCUACUGCAAUGUAAGCACUUCUUACAUUACCAUGG	18	MI0000113
hsa-miR-125b-5p	UCCCUGAGACCCUAACUUGUGA	4	MIMAT0000423	hsa-mir-125b-1	UGCGCUCCUCUCAGUCCCUGAGACCCUAACUUGUGAUGUUUACCGUUUAAAUCCACGGGUUAGGCUCUUGGGAGCUGCGAGUCGUGCU	19	MI0000446
hsa-miR-127-3p	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU	5	MIMAT0000446	hsa-mir-127	UGUGAUCACUGUCUCCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUUCAGAAAGAUCAUCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGGAAGUCUCAUCAUC	20	MI0000472
hsa-miR-133a-3p	UUUGGUCCCCUUCAACCAGCUG	6	MIMAT0000427	hsa-mir-133a-1	ACAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAAUCGCCUCUUCAAUGGAUUUGGUCCCCUUCAACCAGCUGUAGCUAUGCAUUGA	21	MI0000450
hsa-miR-133b	UUUGGUCCCCUUCAACCAGCUA	7	MIMAT0000770	hsa-mir-133b	CCUCAGAAGAAAGAUGCCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGAACCAAGUCCGUCUUCCUGAGAGGUUUGGUCCCCUUCAACCAGCUACAGCAGGGCUGGCAAUGCCCAGUCCUUGGAGA	22	MI0000822

【０１４９】

【表２－２】

hsa-miR-143-3p	UGAGAUGAAGCACUGUAGCUC	8	MIMAT0000435	hsa-mir-143	GCGCAGCGCCCUGUCUCCCAGCCUGAGGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCUGAGAUGAAGCACUGUAGCUCAGGAAGAGAGAAGUUGUUCUGCAGC	23	MI0000459
hsa-miR-18a-3p	ACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUGG	9	MIMAT0002891	hsa-mir-18a	UGUUCUAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGUAGAUUAGCAUCUACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUGGCA	24	MI0000072
hsa-miR-194-5p	UGUAACAGCAACUCCAUGUGGA	10	MIMAT0000460	hsa-mir-194-1	AUGGUGUUAUCAAGUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGUACCAAUUUCCAGUGGAGAUGCUGUUACUUUUGAUGGUUACCAA	25	MI0000488
hsa-miR-30a-5p	UGUAAACAUCCUCGACUGGAAG	11	MIMAT0000087	hsa-mir-30a	GCGACUGUAAACAUCCUCGACUGGAAGCUGUGAAGCCACAGAUGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGCUGC	26	MI0000088
hsa-miR-328-3p	CUGGCCCUCUCUGCCCUUCCGU	12	MIMAT0000752	hsa-mir-328	UGGAGUGGGGGGGCAGGAGGGGCUCAGGGAGAAAGUGCAUACAGCCCCUGGCCCUCUCUGCCCUUCCGUCCCCUG	27	MI0000804
hsa-miR-376a-3p	AUCAUAGAGGAAAAUCCACGU	13	MIMAT0000729	hsa-mir-376a-1	UAAAAGGUAGAUUCUCCUUCUAUGAGUACAUUAUUUAUGAUUAAUCAUAGAGGAAAAUCCACGUUUUC	28	MI0000784
hsa-miR-409-3p	GAAUGUUGCUCGGUGAACCCCU	14	MIMAT0001639	hsa-mir-409	UGGUACUCGGGGAGAGGUUACCCGAGCAACUUUGCAUCUGGACGACGAAUGUUGCUCGGUGAACCCCUUUUCGGUAUCA	29	MI0001735
hsa-miR-574-3p	CACGCUCAUGCACACACCCACA	15	MIMAT0003239	hsa-mir-574	GGGACCUGCGUGGGUGCGGGCGUGUGAGUGUGUGUGUGAGUGUGUGUCGCUCCGGGUCCACGCUCAUGCACACACCCACACGCCCACACUCAGG	30	MI0003581

【０１５０】

表３－最近でない骨粗鬆症性骨折対対照

【０１５１】

【表３－１】

成熟 ID	配列番号	成熟配列	成熟寄託	ヘアピン	配列番号	ヘアピン配列	ヘアピン寄託
hsa-let-7i-3p	31	CUGCGCAAGCUACUGCCUUGCU	MIMAT0004585	hsa-let-7i	78	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGGUUGUGACAUUGCCCGCUGUGGAGAUAACUGCGCAAGCUACUGCCUUGCUA	MI0000434
hsa-miR-1227-3p	32	CGUGCCACCCUUUUCCCCAG	MIMAT0005580	hsa-mir-1227	79	GUGGGGCCAGGCGGUGGUGGGCACUGCUGGGGUGGGCACAGCAGCCAUGCAGAGCGGGCAUUUGACCCCGUGCCACCCUUUUCCCCAG	MI0006316
hsa-miR-127-3p	33	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU	MIMAT0000446	hsa-mir-127	80	UGUGAUCACUGUCUCCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUUCAGAAAGAUCAUCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGGAAGUCUCAUCAUC	MI0000472
hsa-miR-133b	34	UUUGGUCCCCUUCAACCAGCUA	MIMAT0000770	hsa-mir-133b	81	CCUCAGAAGAAAGAUGCCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGAACCAAGUCCGUCUUCCUGAGAGGUUUGGUCCCCUUCAACCAGCUACAGCAGGGCUGGCAAUGCCCAGUCCUUGGAGA	MI0000822
hsa-miR-135a-5p	35	UAUGGCUUUUUAUUCCUAUGUGA	MIMAT0000428	hsa-mir-135a-1	82	AGGCCUCGCUGUUCUCUAUGGCUUUUUAUUCCUAUGUGAUUCUACUGCUCACUCAUAUAGGGAUUGGAGCCGUGGCGCACGGCGGGGACA	MI0000452
hsa-miR-136-3p	36	CAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCU	MIMAT0004606	hsa-mir-136	83	UGAGCCCUCGGAGGACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGGAUUCUUAUGCUCCAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCUUCAGAGGGUUCU	MI0000475
hsa-miR-143-3p	37	UGAGAUGAAGCACUGUAGCUC	MIMAT0000435	hsa-mir-143	84	GCGCAGCGCCCUGUCUCCCAGCCUGAGGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCUGAGAUGAAGCACUGUAGCUCAGGAAGAGAGAAGUUGUUCUGCAGC	MI0000459

【０１５２】

【表３－２】

hsa-miR-155-5p	38	UUAAUGCUAAUCGUGAUAGGGGU	MIMAT0000646	hsa-mir-155	85	CUGUUAAUGCUAAUCGUGAUAGGGGUUUUGCCUCCAACUGACUCCUACAUAUUAGCAUUAACAG	MI0000681
hsa-miR-181a-3p	39	ACCAUCGACCGUUGAUUGUACC	MIMAT0000270	hsa-mir-181a-1	86	UGAGUUUUGAGGUUGCUUCAGUGAACAUUCAACGCUGUCGGUGAGUUUGGAAUUAAAAUCAAAACCAUCGACCGUUGAUUGUACCCUAUGGCUAACCAUCAUCUACUCCA	MI0000289
hsa-miR-188-3p	40	CUCCCACAUGCAGGGUUUGCA	MIMAT0004613	hsa-mir-188	87	UGCUCCCUCUCUCACAUCCCUUGCAUGGUGGAGGGUGAGCUUUCUGAAAACCCCUCCCACAUGCAGGGUUUGCAGGAUGGCGAGCC	MI0000484
hsa-miR-1908-5p	41	CGGCGGGGACGGCGAUUGGUC	MIMAT0007881	hsa-mir-1908	88	CGGGAAUGCCGCGGCGGGGACGGCGAUUGGUCCGUAUGUGUGGUGCCACCGGCCGCCGGCUCCGCCCCGGCCCCCGCCCC	MI0008329
hsa-miR-190a-5p	42	UGAUAUGUUUGAUAUAUUAGGU	MIMAT0000458	hsa-mir-190a	89	UGCAGGCCUCUGUGUGAUAUGUUUGAUAUAUUAGGUUGUUAUUUAAUCCAACUAUAUAUCAAACAUAUUCCUACAGUGUCUUGCC	MI0000486
hsa-miR-192-5p	43	CUGACCUAUGAAUUGACAGCC	MIMAT0000222	hsa-mir-192	90	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAGCCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUUCCAUAGGUCACAGGUAUGUUCGCCUCAAUGCCAGC	MI0000234
hsa-miR-193b-3p	44	AACUGGCCCUCAAAGUCCCGCU	MIMAT0002819	hsa-mir-193b	91	GUGGUCUCAGAAUCGGGGUUUUGAGGGCGAGAUGAGUUUAUGUUUUAUCCAACUGGCCCUCAAAGUCCCGCUUUUUGGGGUCAU	MI0003137
hsa-miR-196b-5p	45	UAGGUAGUUUCCUGUUGUUGG	MIMAT0001080	hsa-mir-196b	92	ACUGGUCGGUGAUUUAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGGAUCCACCUUUCUCUCGACAGCACGACACUGCCUUCAUUACUUCAGUUG	MI0001150

【０１５３】

【表３－３】

hsa-miR-199b-5p	46	CCCAGUGUUUAGACUAUCUGUUC	MIMAT0000263	hsa-mir-199b	93	CCAGAGGACACCUCCACUCCGUCUACCCAGUGUUUAGACUAUCUGUUCAGGACUCCCAAAUUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGGCUGGGCUGGGUUAGACCCUCGG	MI0000282
hsa-miR-200b-3p	47	UAAUACUGCCUGGUAAUGAUGA	MIMAT0000318	hsa-mir-200b	94	CCAGCUCGGGCAGCCGUGGCCAUCUUACUGGGCAGCAUUGGAUGGAGUCAGGUCUCUAAUACUGCCUGGUAAUGAUGACGGCGGAGCCCUGCACG	MI0000342
hsa-miR-203a	48	GUGAAAUGUUUAGGACCACUAG	MIMAT0000264	hsa-mir-203a	95	GUGUUGGGGACUCGCGCGCUGGGUCCAGUGGUUCUUAACAGUUCAACAGUUCUGUAGCGCAAUUGUGAAAUGUUUAGGACCACUAGACCCGGCGGGCGCGGCGACAGCGA	MI0000283
hsa-miR-205-5p	49	UCCUUCAUUCCACCGGAGUCUG	MIMAT0000266	hsa-mir-205	96	AAAGAUCCUCAGACAAUCCAUGUGCUUCUCUUGUCCUUCAUUCCACCGGAGUCUGUCUCAUACCCAACCAGAUUUCAGUGGAGUGAAGUUCAGGAGGCAUGGAGCUGACA	MI0000285
hsa-miR-20b-5p	50	CAAAGUGCUCAUAGUGCAGGUAG	MIMAT0001413	hsa-mir-20b	97	AGUACCAAAGUGCUCAUAGUGCAGGUAGUUUUGGCAUGACUCUACUGUAGUAUGGGCACUUCCAGUACU	MI0001519
hsa-miR-214-3p	51	ACAGCAGGCACAGACAGGCAGU	MIMAT0000271	hsa-mir-214	98	GGCCUGGCUGGACAGAGUUGUCAUGUGUCUGCCUGUCUACACUUGCUGUGCAGAACAUCCGCUCACCUGUACAGCAGGCACAGACAGGCAGUCACAUGACAACCCCAGCCU	MI0000290
hsa-miR-215-5p	52	AUGACCUAUGAAUUGACAGAC	MIMAT0000272	hsa-mir-215	99	AUCAUUCAGAAAUGGUAUACAGGAAAAUGACCUAUGAAUUGACAGACAAUAUAGCUGAGUUUGUCUGUCAUUUCUUUAGGCCAAUAUCUGUAUGACUGUGCUACUUCAA	MI0000291

【０１５４】

【表３－４】

hsa-miR-223-5p	53	CGUGUAUUUGACAAGCUGAGUU	MIMAT0004570	hsa-mir-223	100	CCUGGCCUCCUGCAGUGCCACGCUCCGUGUAUUUGACAAGCUGAGUUGGACACUCCAUGUGGUAGAGUGUCAGUUUGUCAAAUACCCCAAGUGCGGCACAUGCUUACCAG	MI0000300
hsa-miR-27a-3p	54	UUCACAGUGGCUAAGUUCCGC	MIMAT0000084	hsa-mir-27a	101	CUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACACCAAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUCCGCCCCCCAG	MI0000085
hsa-miR-30e-3p	55	CUUUCAGUCGGAUGUUUACAGC	MIMAT0000693	hsa-mir-30e	102	GGGCAGUCUUUGCUACUGUAAACAUCCUUGACUGGAAGCUGUAAGGUGUUCAGAGGAGCUUUCAGUCGGAUGUUUACAGCGGCAGGCUGCCA	MI0000749
hsa-miR-323a-3p	56	CACAUUACACGGUCGACCUCU	MIMAT0000755	hsa-mir-323a	103	UUGGUACUUGGAGAGAGGUGGUCCGUGGCGCGUUCGCUUUAUUUAUGGCGCACAUUACACGGUCGACCUCUUUGCAGUAUCUAAUC	MI0000807
hsa-miR-330-3p	57	GCAAAGCACACGGCCUGCAGAGA	MIMAT0000751	hsa-mir-330	104	CUUUGGCGAUCACUGCCUCUCUGGGCCUGUGUCUUAGGCUCUGCAAGAUCAACCGAGCAAAGCACACGGCCUGCAGAGAGGCAGCGCUCUGCCC	MI0000803
hsa-miR-342-5p	58	AGGGGUGCUAUCUGUGAUUGA	MIMAT0004694	hsa-mir-342	105	GAAACUGGGCUCAAGGUGAGGGGUGCUAUCUGUGAUUGAGGGACAUGGUUAAUGGAAUUGUCUCACACAGAAAUCGCACCCGUCACCUUGGCCUACUUA	MI0000805
hsa-miR-369-3p	59	AAUAAUACAUGGUUGAUCUUU	MIMAT0000721	hsa-mir-369	106	UUGAAGGGAGAUCGACCGUGUUAUAUUCGCUUUAUUGACUUCGAAUAAUACAUGGUUGAUCUUUUCUCAG	MI0000777
hsa-miR-376c-3p	60	AACAUAGAGGAAAUUCCACGU	MIMAT0000720	hsa-mir-376c	107	AAAAGGUGGAUAUUCCUUCUAUGUUUAUGUUAUUUAUGGUUAAACAUAGAGGAAAUUCCACGUUUU	MI0000776

【０１５５】

【表３－５】

hsa-miR-377-3p	61	AUCACACAAAGGCAACUUUUGU	MIMAT0000730	hsa-mir-377	108	UUGAGCAGAGGUUGCCCUUGGUGAAUUCGCUUUAUUUAUGUUGAAUCACACAAAGGCAACUUUUGUUUG	MI0000785
hsa-miR-378a-5p	62	CUCCUGACUCCAGGUCCUGUGU	MIMAT0000731	hsa-mir-378a	109	AGGGCUCCUGACUCCAGGUCCUGUGUGUUACCUAGAAAUAGCACUGGACUUGGAGUCAGAAGGCCU	MI0000786
hsa-miR-382-3p	269	AAUCAUUCACGGACAACACUU	MIMAT0022697	hsa-mir-382	270	UACUUGAAGAGAAGUUGUUCGUGGUGGAUUCGCUUUACUUAUGACGAAUCAUUCACGGACAACACUUUUUUCAGUA	MI0000790
hsa-miR-410-3p	63	AAUAUAACACAGAUGGCCUGU	MIMAT0002171	hsa-mir-410	110	GGUACCUGAGAAGAGGUUGUCUGUGAUGAGUUCGCUUUUAUUAAUGACGAAUAUAACACAGAUGGCCUGUUUUCAGUACC	MI0002465
hsa-miR-454-3p	64	UAGUGCAAUAUUGCUUAUAGGGU	MIMAT0003885	hsa-mir-454	111	UCUGUUUAUCACCAGAUCCUAGAACCCUAUCAAUAUUGUCUCUGCUGUGUAAAUAGUUCUGAGUAGUGCAAUAUUGCUUAUAGGGUUUUGGUGUUUGGAAAGAACAAUGGGCAGG	MI0003820
hsa-miR-487b-3p	65	AAUCGUACAGGGUCAUCCACUU	MIMAT0003180	hsa-mir-487b	112	UUGGUACUUGGAGAGUGGUUAUCCCUGUCCUGUUCGUUUUGCUCAUGUCGAAUCGUACAGGGUCAUCCACUUUUUCAGUAUCAA	MI0003530
hsa-miR-495-3p	66	AAACAAACAUGGUGCACUUCUU	MIMAT0002817	hsa-mir-495	113	UGGUACCUGAAAAGAAGUUGCCCAUGUUAUUUUCGCUUUAUAUGUGACGAAACAAACAUGGUGCACUUCUUUUUCGGUAUCA	MI0003135
hsa-miR-500a-5p	67	UAAUCCUUGCUACCUGGGUGAGA	MIMAT0004773	hsa-mir-500a	114	GCUCCCCCUCUCUAAUCCUUGCUACCUGGGUGAGAGUGCUGUCUGAAUGCAAUGCACCUGGGCAAGGAUUCUGAGAGCGAGAGC	MI0003184
hsa-miR-502-5p	68	AUCCUUGCUAUCUGGGUGCUA	MIMAT0002873	hsa-mir-502	115	UGCUCCCCCUCUCUAAUCCUUGCUAUCUGGGUGCUAGUGCUGGCUCAAUGCAAUGCACCUGGGCAAGGAUUCAGAGAGGGGGAGCU	MI0003186

【０１５６】

【表３－６】

hsa-miR-542-5p	69	UCGGGGA UCAUCAUG UCACGAGA	MIMAT0003340	hsa-mir-542	116	CAGAUCUCAGACAUC UCGGGGAUCAUCAU GUCACGAGAUACCAG UGUGCACUUGUGAC AGAUUGAUAACUGA AAGGUCUGGGAGCC ACUCAUCUUCA	MI0003686
hsa-miR-548a-3p	70	CAAAACUG GCAAUUAC UUUUGC	MIMAT0003251	hsa-mir-548a-1	117	UGCAGGGAGGUAUU AAGUUGGUGCAAAA GUAAUUGUGAUUUU UGCCAUUAAAAGUA ACGACAAAACUGGCA AUUACUUUUGCACC AAACCUGGUAUU	MI0003593
hsa-miR-550a-5p	71	AGUGCCUG AGGGAGU AAGAGCCC	MIMAT0004800	hsa-mir-550a-1	118	UGAUGCUUUGCUGG CUGGUGCAGUGCCU GAGGGAGUAAGAGC CCUGUUGUUGUAAG AUAGUGUCUUACUC CCUCAGGCACAUCUC CAACAAGUCUCU	MI0003600
hsa-miR-576-3p	72	AAGAUGU GGAAAAAU UGGAAUC	MIMAT0004796	hsa-mir-576	119	UACAAUCCAACGAGG AUUCUAAUUUCUCC ACGUCUUUGGUAAU AAGGUUUGGCAAAG AUGUGGAAAAAUUG GAAUCCUCAUUCGA UUGGUUAUAACCA	MI0003583
hsa-miR-582-3p	73	UAACUGG UUGAACAA CUGAACC	MIMAT0004797	hsa-mir-582	120	AUCUGUGCUCUUUG AUUACAGUUGUUCA ACCAGUUACUAAUC UAACUAAUUGUAAC UGGUUGAACAACUG AACCCAAAGGGUGCA AAGUAGAAACAUU	MI0003589
hsa-miR-624-5p	74	UAGUACCA GUACCUUG UGUUCA	MIMAT0003293	hsa-mir-624	121	AAUGCUGUUUCAAG GUAGUACCAGUACC UUGUGUUCAGUGGA ACCAAGGUAAACACA AGGUAUUGGUAUUA CCUUGAGAUAGCAU UACACCUAAGUG	MI0003638
hsa-miR-642a-5p	75	GUCCCUCU CCAAAUGU GUCUUG	MIMAT0003312	hsa-mir-642a	122	AUCUGAGUUGGGAG GGUCCCUCUCCAAAU GUGUCUUGGGGUGG GGGAUCAAGACACA UUUGGAGAGGGAAC CUCCCAACUCGGCCU CUGCCAUCAUU	MI0003657
hsa-miR-941	76	CACCCGGC UGUGUGC ACAUGUGC	MIMAT0004984	hsa-mir-941-1	123	UGUGGACAUGUGCC CAGGGCCCGGGACAG CGCCACGGAAGAGGA CGCACCCGGCUGUG UGCACAUGUGCCCA	MI0005763

【０１５７】

【表３－７】

hsa-miR-942-5p	77	UCUUCUCUGUUUUGGCCAUGUG	MIMAT0004985	hsa-mir-942	124	AUUAGGAGAGUAUCUUCUCUGUUUUGGCCAUGUGUGUACUCACAGCCCCUCACACAUGGCCGAAACAGAGAAGUUACUUUCCUAAU	MI0005767

【０１５８】

表４－最近でない糖尿病性骨折対対照

【０１５９】

【表４－１】

成熟 ID	配列番号	成熟配列	成熟寄託	ヘアピン	配列番号	ヘアピン配列	ヘアピン寄託
hsa-let-7b-5p	125	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUU	MIMAT0000063	hsa-let-7b	197	CGGGGUGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUUUCAGGGCAGUGAUGUUGCCCCUCGGAAGAUAACUAUACAACCUACUGCCUUCCCUG	MI0000063
hsa-let-7g-5p	126	UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU	MIMAT0000414	hsa-let-7g	198	AGGCUGAGGUAGUAGUUUGUACAGUUUGAGGGUCUAUGAUACCACCCGGUACAGGAGAUAACUGUACAGGCCACUGCCUUGCCA	MI0000433
hsa-let-7i-5p	127	UGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUU	MIMAT0000415	hsa-let-7i	199	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGGUUGUGACAUUGCCCGCUGUGGAGAUAACUGCGCAAGCUACUGCCUUGCUA	MI0000434
hsa-miR-106a-5p	128	AAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	MIMAT0000103	hsa-mir-106a	200	CCUUGGCCAUGUAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGCUUUUUGAGAUCUACUGCAAUGUAAGCACUUCUUACAUUACCAUGG	MI0000113
hsa-miR-106b-5p	129	UAAAGUGCUGACAGUGCAGAU	MIMAT0000680	hsa-mir-106b	201	CCUGCCGGGGCUAAAGUGCUGACAGUGCAGAUAGUGGUCCUCUCCGUGCUACCGCACUGUGGGUACUUGCUGCUCCAGCAGG	MI0000734
hsa-miR-127-3p	130	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU	MIMAT0000446	hsa-mir-127	202	UGUGAUCACUGUCUCCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUUCAGAAAGAUCAUCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGGAAGUCUCAUCAUC	MI0000472

【０１６０】

【表４－２】

hsa-miR-132-3p	131	UAACAGUCUACAGCCAUGGUCG	MIMAT0000426	hsa-mir-132	203	CCGCCCCCGCGUCUCCAGGGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUUACUGUGGGAACUGGAGGUAACAGUCUACAGCCAUGGUCGCCCCGCAGCACGCCCACGCGC	MI0000449
hsa-miR-140-3p	132	UACCACAGGGUAGAACCACGG	MIMAT0004597	hsa-mir-140	204	UGUGUCUCUCUCUGUGUCCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUGUUCUACCACAGGGUAGAACCACGGACAGGAUACCGGGGCACC	MI0000456
hsa-miR-141-3p	133	UAACACUGUCUGGUAAAGAUGG	MIMAT0000432	hsa-mir-141	205	CGGCCGGCCCUGGGUCCAUCUUCCAGUACAGUGUUGGAUGGUCUAAUUGUGAAGCUCCUAACACUGUCUGGUAAAGAUGGCUCCCGGGUGGGUUC	MI0000457
hsa-miR-143-3p	134	UGAGAUGAAGCACUGUAGCUC	MIMAT0000435	hsa-mir-143	206	GCGCAGCGCCCUGUCUCCCAGCCUGAGGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCUGAGAUGAAGCACUGUAGCUCAGGAAGAGAGAAGUUGUUCUGCAGC	MI0000459
hsa-miR-143-5p	135	GGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGU	MIMAT0004599	hsa-mir-143	207	GCGCAGCGCCCUGUCUCCCAGCCUGAGGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCUGAGAUGAAGCACUGUAGCUCAGGAAGAGAGAAGUUGUUCUGCAGC	MI0000459
hsa-miR-144-3p	136	UACAGUAUAGAUGAUGUACU	MIMAT0000436	hsa-mir-144	208	UGGGGCCCUGGCUGGGAUAUCAUCAUAUACUGUAAGUUUGCGAUGAGACACUACAGUAUAGAUGAUGUACUAGUCCGGGCACCCCC	MI0000460
hsa-miR-146b-5p	137	UGAGAACUGAAUUCCAUAGGCU	MIMAT0002809	hsa-mir-146b	209	CCUGGCACUGAGAACUGAAUUCCAUAGGCUGUGAGCUCUAGCAAUGCCCUGUGGACUCAGUUCUGGUGCCCGG	MI0003129

【０１６１】

【表４－３】

hsa-miR-154-5p	138	UAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCG	MIMAT0000452	hsa-mir-154	210	GUGGUACUUGAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGCUUUAUUUGUGACGAAUCAUACACGGUUGACCUAUUUUUCAGUACCAA	MI0000480
hsa-miR-16-2-3p	139	CCAAUAUUACUGUGCUGCUUUA	MIMAT0004518	hsa-mir-16-2	211	GUUCCACUCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUAGUGAAAUAUAUAUUAAACACCAAUAUUACUGUGCUGCUUUAGUGUGAC	MI0000115
hsa-miR-16-5p	140	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG	MIMAT0000069	hsa-mir-16-1	212	GUCAGCAGUGCCUUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUAAGAUUCUAAAAUUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGUAAGGUUGAC	MI0000070
hsa-miR-17-5p	141	CAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	MIMAT0000070	hsa-mir-17	213	GUCAGAAUAAUGUCAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGUGAUAUGUGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUAUGGUGAC	MI0000071
hsa-miR-181a-5p	271	AACAUUCAACGCUGUCGGUGAGU	MIMAT0000256	hsa-mir-181a-2	272	AGAAGGGCUAUCAGGCCAGCCUUCAGAGGACUCCAAGGAACAUUCAACGCUGUCGGUGAGUUUGGGAUUUGAAAAAACCACUGACCGUUGACUGUACCUUGGGGUCCUUA	MI0000269
hsa-miR-181b-5p	142	AACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGU	MIMAT0000257	hsa-mir-181b-1	214	CCUGUGCAGAGAUUAUUUUUUAAAAGGUCACAAUCAACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGUUGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAACAAUGAAUGCAACUGUGGCCCCGCUU	MI0000270
hsa-miR-181c-3p	143	AACCAUCGACCGUUGAGUGGAC	MIMAT0004559	hsa-mir-181c	215	CGGAAAAUUUGCCAAGGGUUUGGGGGAACAUUCAACCUGUCGGUGAGUUUGGGCAGCUCAGGCAAACCAUCGACCGUUGAGUGGACCCUGAGGCCUGGAAUUGCCAUCCU	MI0000271

【０１６２】

【表４－４】

hsa-miR-181c-5p	144	AACAUUCAACCUGUCGGUGAGU	MIMAT0000258	hsa-mir-181c	216	CGGAAAAUUUGCCAAGGGUUUGGGGGAACAUUCAACCUGUCGGUGAGUUUGGGCAGCUCAGGCAAACCAUCGACCGUUGAGUGGACCCUGAGGCCUGGAAUUGCCAUCCU	MI0000271
hsa-miR-185-5p	145	UGGAGAGAAAGGCAGUUCCUGA	MIMAT0000455	hsa-mir-185	217	AGGGGGCGAGGGAUUGGAGAGAAAGGCAGUUCCUGAUGGUCCCCUCCCCAGGGGCUGGCUUUCCUCUGGUCCUUCCCUCCCA	MI0000482
hsa-miR-18a-3p	146	ACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUGG	MIMAT0002891	hsa-mir-18a	218	UGUUCUAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGUAGAUUAGCAUCUACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUGGCA	MI0000072
hsa-miR-18a-5p	147	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAG	MIMAT0000072	hsa-mir-18a	219	UGUUCUAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGUAGAUUAGCAUCUACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUGGCA	MI0000072
hsa-miR-18b-5p	148	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGUUAG	MIMAT0001412	hsa-mir-18b	220	UGUGUUAAGGUGCAUCUAGUGCAGUUAGUGAAGCAGCUUAGAAUCUACUGCCCUAAAUGCCCCUUCUGGCA	MI0001518
hsa-miR-1908-5p	149	CGGCGGGGACGGCGAUUGGUC	MIMAT0007881	hsa-mir-1908	221	CGGGAAUGCCGCGGCGGGGACGGCGAUUGGUCCGUAUGUGUGGUGCCACCGGCCGCCGGCUCCGCCCCGGCCCCCGCCCC	MI0008329
hsa-miR-191-5p	150	CAACGGAAUCCCAAAAGCAGCUG	MIMAT0000440	hsa-mir-191	222	CGGCUGGACAGCGGGCAACGGAAUCCCAAAAGCAGCUGUUGUCUCCAGAGCAUUCCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCCUGCUCUCCUGCCU	MI0000465
hsa-miR-196b-5p	151	UAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGG	MIMAT0001080	hsa-mir-196b	223	ACUGGUCGGUGAUUUAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGGAUCCACCUUUCUCUCGACAGCACGACACUGCCUUCAUUACUUCAGUUG	MI0001150

【０１６３】

【表４－５】

hsa-miR-199b-5p	152	CCCAGUGUUUAGACUAUCUGUUC	MIMAT0000263	hsa-mir-199b	224	CCAGAGGACACCUCCACUCCGUCUACCCAGUGUUUAGACUAUCUGUUCAGGACUCCCAAAUUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGGCUGGGCUGGGUUAGACCCUCGG	MI0000282
hsa-miR-19b-1-5p	153	AGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGC	MIMAT0004491	hsa-mir-19b-1	225	CACUGUUCUAUGGUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUGUGAUAUUCUGCUGUGCAAAUCCAUGCAAAACUGACUGUGGUAGUG	MI0000074
hsa-miR-19b-3p	154	UGUGCAAAUCCAUGCAAAACUGA	MIMAT0000074	hsa-mir-19b-1	226	CACUGUUCUAUGGUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUGUGAUAUUCUGCUGUGCAAAUCCAUGCAAAACUGACUGUGGUAGUG	MI0000074
hsa-miR-200b-3p	155	UAAUACUGCCUGGUAAUGAUGA	MIMAT0000318	hsa-mir-200b	227	CCAGCUCGGGCAGCCGUGGCCAUCUUACUGGGCAGCAUUGGAUGGAGUCAGGUCUCUAAUACUGCCUGGUAAUGAUGACGGCGGAGCCCUGCACG	MI0000342
hsa-miR-203a	156	GUGAAAUGUUUAGGACCACUAG	MIMAT0000264	hsa-mir-203a	228	GUGUUGGGGACUCGCGCGCUGGGUCCAGUGGUUCUUAACAGUUCAACAGUUCUGUAGCGCAAUUGUGAAAUGUUUAGGACCACUAGACCCGGCGGGCGCGGCGACAGCGA	MI0000283
hsa-miR-20a-5p	157	UAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAG	MIMAT0000075	hsa-mir-20a	229	GUAGCACUAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAGUGUUUAGUUAUCUACUGCAUUAUGAGCACUUAAAGUACUGC	MI0000076
hsa-miR-20b-5p	158	CAAAGUGCUCAUAGUGCAGGUAG	MIMAT0001413	hsa-mir-20b	230	AGUACCAAAGUGCUCAUAGUGCAGGUAGUUUUGGCAUGACUCUACUGUAGUAUGGGCACUUCCAGUACU	MI0001519
hsa-miR-210-3p	159	CUGUGCGUGUGACAGCGGCUGA	MIMAT0000267	hsa-mir-210	231	ACCCGGCAGUGCCUCCAGGCGCAGGGCAGCCCCUGCCCACCGCACACUGCGCUGCCCCAGACCCACUGUGCGUGUGACAGCGGCUGAUCUGUGCCUGG	MI0000286

【０１６４】

【表４－６】

						GCAGCGCGACCC	
hsa-miR-21-3p	160	CAACACCAGUCGAUGGGCUGU	MIMAT0004494	hsa-mir-21	232	UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCAUGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA	MI0000077
hsa-miR-25-3p	161	CAUUGCACUUGUCUCGGUCUGA	MIMAT0000081	hsa-mir-25	233	GGCCAGUGUUGAGAGGCGGAGACUUGGGCAAUUGCUGGACGCUGCCCUGGGCAUUGCACUUGUCUCGGUCUGACAGUGCCGGCC	MI0000082
hsa-miR-26b-5p	162	UUCAAGUAAUUCAGGAUAGGU	MIMAT0000083	hsa-mir-26b	234	CCGGGACCCAGUUCAAGUAAUUCAGGAUAGGUUGUGUGCUGUCCAGCCUGUUCUCCAUUACUUGGCUCGGGGACCGG	MI0000084
hsa-miR-301a-3p	163	CAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAGC	MIMAT0000688	hsa-mir-301a	235	ACUGCUAACGAAUGCUCUGACUUUAUUGCACUACUGUACUUUACAGCUAGCAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAGCAUCUGAAAGCAGG	MI0000745
hsa-miR-301b	164	CAGUGCAAUGAUAUUGUCAAAGC	MIMAT0004958	hsa-mir-301b	236	GCCGCAGGUGCUCUGACGAGGUUGCACUACUGUGCUCUGAGAAGCAGUGCAAUGAUAUUGUCAAAGCAUCUGGGACCA	MI0005568
hsa-miR-32-3p	273	CAAUUUAGUGUGUGUGAUAUUU	MIMAT0004505	hsa-mir-32	274	GGAGAUAUUGCACAUUACUAAGUUGCAUGUUGUCACGGCCUCAAUGCAAUUUAGUGUGUGUGAUAUUUUC	MI0000090
hsa-miR-323a-3p	165	CACAUUACACGGUCGACCUCU	MIMAT0000755	hsa-mir-323a	237	UUGGUACUUGGAGAGAGGUGGUCCGUGGCGCGUUCGCUUUAUUUAUGGCGCACAUUACACGGUCGACCUCUUUGCAGUAUCUAAUC	MI0000807
hsa-miR-324-5p	166	CGCAUCCCCUAGGGCAUUGGUGU	MIMAT0000761	hsa-mir-324	238	CUGACUAUGCCUCCCCGCAUCCCCUAGGGCAUUGGUGUAAAGCUGGAGACCCACUGCCCCAGGUGCUGCUGGGGGUUGUAGUC	MI0000813

【０１６５】

【表４－７】

hsa-miR-330-3p	167	GCAAAGCACACGGCCUGCAGAGA	MIMAT0000751	hsa-mir-330	239	CUUUGGCGAUCACUGCCUCUCUGGGCCUGUGUCUUAGGCUCUGCAAGAUCAACCGAGCAAAGCACACGGCCUGCAGAGAGGCAGCGCUCUGCCC	MI0000803
hsa-miR-363-3p	168	AAUUGCACGGUAUCCAUCUGUA	MIMAT0000707	hsa-mir-363	240	UGUUGUCGGGUGGAUCACGAUGCAAUUUUGAUGAGUAUCAUAGGAGAAAAAUUGCACGGUAUCCAUCUGUAAACC	MI0000764
hsa-miR-369-3p	169	AAUAAUACAUGGUUGAUCUUU	MIMAT0000721	hsa-mir-369	241	UUGAAGGGAGAUCGACCGUGUUAUAUUCGCUUUAUUGACUUCGAAUAAUACAUGGUUGAUCUUUUCUCAG	MI0000777
hsa-miR-374a-5p	170	UUAUAAUACAACCUGAUAAGUG	MIMAT0000727	hsa-mir-374a	242	UACAUCGGCCAUUAUAAUACAACCUGAUAAGUGUUAUAGCACUUAUCAGAUUGUAUUGUAAUUGUCUGUGUA	MI0000782
hsa-miR-375	171	UUUGUUCGUUCGGCUCGCGUGA	MIMAT0000728	hsa-mir-375	243	CCCCGCGACGAGCCCCUCGCACAAACCGGACCUGAGCGUUUUGUUCGUUCGGCUCGCGUGAGGC	MI0000783
hsa-miR-376c-3p	172	AACAUAGAGGAAAUUCCACGU	MIMAT0000720	hsa-mir-376c	244	AAAAGGUGGAUAUUCCUUCUAUGUUUAUGUUAUUUAUGGUUAAACAUAGAGGAAAUUCCACGUUUU	MI0000776
hsa-miR-378a-5p	173	CUCCUGACUCCAGGUCCUGUGU	MIMAT0000731	hsa-mir-378a	245	AGGGCUCCUGACUCCAGGUCCUGUGUGUUACCUAGAAAUAGCACUGGACUUGGAGUCAGAAGGCCU	MI0000786
hsa-miR-451a	174	AAACCGUUACCAUUACUGAGUU	MIMAT0001631	hsa-mir-451a	246	CUUGGGAAUGGCAAGGAAACCGUUACCAUUACUGAGUUUAGUAAUGGUAAUGGUUCUCUUGCUAUACCCAGA	MI0001729
hsa-miR-454-3p	175	UAGUGCAAUAUUGCUUAUAGGGU	MIMAT0003885	hsa-mir-454	247	UCUGUUUAUCACCAGAUCCUAGAACCCUAUCAAUAUUGUCUCUGCUGUGUAAAUAGUUCUGAGUAGUGCAAUAUUGCUUAUAGGGUUUUGGUGUUUGGAAAGAACAAUGGGCAGG	MI0003820

【０１６６】

【表４－８】

hsa-miR-486-3p	176	CGGGGCAGCUCAGUACAGGAU	MIMAT0004762	hsa-mir-486	248	GCAUCCUGUACUGAGCUGCCCCGAGGCCCUUCAUGCUGCCCAGCUCGGGGCAGCUCAGUACAGGAUAC	MI0002470
hsa-miR-486-5p	177	UCCUGUACUGAGCUGCCCCGAG	MIMAT0002177	hsa-mir-486	249	GCAUCCUGUACUGAGCUGCCCCGAGGCCCUUCAUGCUGCCCAGCUCGGGGCAGCUCAGUACAGGAUAC	MI0002470
hsa-miR-493-5p	178	UUGUACAUGGUAGGCUUUCAUU	MIMAT0002813	hsa-mir-493	250	CUGGCCUCCAGGGCUUUGUACAUGGUAGGCUUUCAUUCAUUCGUUUGCACAUUCGGUGAAGGUCUACUGUGUGCCAGGCCCUGUGCCAG	MI0003132
hsa-miR-500a-5p	179	UAAUCCUUGCUACCUGGGUGAGA	MIMAT0004773	hsa-mir-500a	251	GCUCCCCCUCUCUAAUCCUUGCUACCUGGGUGAGAGUGCUGUCUGAAUGCAAUGCACCUGGGCAAGGAUUCUGAGAGCGAGAGC	MI0003184
hsa-miR-532-3p	180	CCUCCCACACCCAAGGCUUGCA	MIMAT0004780	hsa-mir-532	252	CGACUUGCUUUCUCUCCUCCAUGCCUUGAGUGUAGGACCGUUGGCAUCUUAAUUACCCUCCCACACCCAAGGCUUGCAAAAAAGCGAGCCU	MI0003205
hsa-miR-545-3p	181	UCAGCAAACAUUUAUUGUGUGC	MIMAT0003165	hsa-mir-545	253	CCCAGCCUGGCACAUUAGUAGGCCUCAGUAAAUGUUUAUUAGAUGAAUAAAUGAAUGACUCAUCAGCAAACAUUUAUUGUGUGCCUGCUAAAGUGAGCUCCACAGG	MI0003516
hsa-miR-550a-3p	182	UGUCUUACUCCCUCAGGCACAU	MIMAT0003257	hsa-mir-550a-1	254	UGAUGCUUUGCUGGCUGGUGCAGUGCCUGAGGGAGUAAGAGCCCUGUUGUUGUAAGAUAGUGUCUUACUCCCUCAGGCACAUCUCCAACAAGUCUCU	MI0003600
hsa-miR-550a-5p	183	AGUGCCUGAGGGAGUAAGAGCCC	MIMAT0004800	hsa-mir-550a-1	255	UGAUGCUUUGCUGGCUGGUGCAGUGCCUGAGGGAGUAAGAGCCCUGUUGUUGUAAGAUAGUGUCUUACUCCCUCAGGCACAUCUCCAACAAGUCUCU	MI0003600

【０１６７】

【表４－９】

hsa-miR-589-5p	184	UGAGAACCACGUCUGCUCUGAG	MIMAT0004799	hsa-mir-589	256	UCCAGCCUGUGCCCAGCAGCCCCUGAGAACCACGUCUGCUCUGAGCUGGGUACUGCCUGUUCAGAACAAAUGCCGGUUCCCAGACGCUGCCAGCUGGCC	MI0003599
hsa-miR-590-3p	185	UAAUUUUAUGUAUAAGCUAGU	MIMAT0004801	hsa-mir-590	257	UAGCCAGUCAGAAAUGAGCUUAUUCAUAAAAGUGCAGUAUGGUGAAGUCAAUCUGUAAUUUUAUGUAUAAGCUAGUCUCUGAUUGAAACAUGCAGCA	MI0003602
hsa-miR-598-3p	186	UACGUCAUCGUUGUCAUCGUCA	MIMAT0003266	hsa-mir-598	258	GCUUGAUGAUGCUGCUGAUGCUGGCGGUGAUCCCGAUGGUGUGAGCUGGAAAUGGGGUGCUACGUCAUCGUUGUCAUCGUCAUCAUCAUCCGAG	MI0003610
hsa-miR-627-5p	187	GUGAGUCUCUAAGAAAAGAGGA	MIMAT0003296	hsa-mir-627	259	UACUUAUUACUGGUAGUGAGUCUCUAAGAAAAGAGGAGGUGGUUGUUUUCCUCCUCUUUUCUUUGAGACUCACUACCAAUAAUAAGAAAUACUACUA	MI0003641
hsa-miR-629-5p	188	UGGGUUUACGUUGGGAGAACU	MIMAT0004810	hsa-mir-629	260	UCCCUUUCCCAGGGGAGGGGCUGGGUUUACGUUGGGAGAACUUUUACGGUGAACCAGGAGGUUCUCCCAACGUAAGCCCAGCCCCUCCCCUCUGCCU	MI0003643
hsa-miR-7-5p	189	UGGAAGACUAGUGAUUUUGUUGU	MIMAT0000252	hsa-mir-7-1	261	UUGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUGUUGUUUUUUAGAUAACUAAAUCGACAACAAAUCACAGUCUGCCAUAUGGCACAGGCCAUGCCUCUACAG	MI0000263
hsa-miR-92a-3p	190	UAUUGCACUUGUCCCGGCCUGU	MIMAT0000092	hsa-mir-92a-1	262	CUUUCUACACAGGUUGGGAUCGGUUGCAAUGCUGUGUUUCUGUAUGGUAUUGCACUUGUCCCGGCCUGUUGAGUUUGG	MI0000093

【０１６８】

【表４－１０】

hsa-miR-93-3p	191	ACUGCUGAGCUAGCACUUCCCG	MIMAT0004509	hsa-mir-93	263	CUGGGGGCUCCAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAGUGUGAUUACCCAACCUACUGCUGAGCUAGCACUUCCCGAGCCCCCGG	MI0000095
hsa-miR-93-5p	192	CAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAG	MIMAT0000093	hsa-mir-93	264	CUGGGGGCUCCAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAGUGUGAUUACCCAACCUACUGCUGAGCUAGCACUUCCCGAGCCCCCGG	MI0000095
hsa-miR-941	193	CACCCGGCUGUGUGCACAUGUGC	MIMAT0004984	hsa-mir-941-1	265	UGUGGACAUGUGCCCAGGGCCCGGGACAGCGCCACGGAAGAGGACGCACCCGGCUGUGUGCACAUGUGCCCA	MI0005763
hsa-miR-942-5p	194	UCUUCUCUGUUUUGGCCAUGUG	MIMAT0004985	hsa-mir-942	266	AUUAGGAGAGUAUCUUCUCUGUUUUGGCCAUGUGUGUACUCACAGCCCCUCACACAUGGCCGAAACAGAGAAGUUACUUUCCUAAU	MI0005767
hsa-miR-96-5p	195	UUUGGCACUAGCACAUUUUUGCU	MIMAT0000095	hsa-mir-96	267	UGGCCGAUUUUGGCACUAGCACAUUUUUGCUUGUGUCUCUCCGCUCUGAGCAAUCAUGUGCAGUGCCAAUAUGGGAAA	MI0000098
hsa-miR-98-5p	196	UGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUU	MIMAT0000096	hsa-mir-98	268	AGGAUUCUGCUCAUGCCAGGGUGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUUGUGGGGUAGGGAUAUUAGGCCCCAAUUAGAAGAUAACUAUACAACUUACUACUUUCCCUGGUGUGUGGCAUAUUCA	MI0000100

【０１６９】

参考文献

【０１７０】

【化１－１】

Anastas, J. N., & Moon, R. T. (2013). WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. *Nature Reviews Cancer*, *13*(1), 11–26. doi:10.1038/nrc3419

Bartel, D. P. (2009). MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, *136*(2), 215–233. doi:10.1016/j.cell.2009.01.002

Canalis, E. (2013). Wnt signalling in osteoporosis: mechanisms and novel therapeutic approaches. *Nature Reviews. Endocrinology*, *9*(10), 575–83. doi:10.1038/nrendo.2013.154

Cefalu, C. A. (2004). Is bone mineral density predictive of fracture risk reduction? *Current Medical Research and Opinion*, *20*(3), 341–349. doi:10.1185/030079903125003062

Deng, Y., Bi, X., Zhou, H., You, Z., Wang, Y., Gu, P., & Fan, X. (2014). Repair of critical-sized bone defects with anti-miR-31-expressing bone marrow stromal stem cells and poly(glycerol sebacate) scaffolds. *European Cells & Materials*, *27*, 13–24; discussion 24–5. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24425157

Dong, S., Yang, B., Guo, H., & Kang, F. (2012). MicroRNAs regulate osteogenesis and chondrogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *418*(4), 587–591. doi:10.1016/j.bbrc.2012.01.075

Kanis, J. A., McCloskey, E. V, Johansson, H., Cooper, C., Rizzoli, R., Reginster, J.-Y., & Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) and the Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation (IOF). (2013). European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporosis International: A Journal Established as Result of Cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, *24*(1), 23–57. doi:10.1007/s00198-012-2074-y

Kapinas, K., Kessler, C. B., & Delany, A. M. (2009). miR-29 suppression of osteonectin in osteoblasts: regulation during differentiation and by canonical Wnt signaling. *Journal of Cellular Biochemistry*, *108*(1), 216–224. doi:10.1002/jcb.22243

【０１７１】

【化１－２】

Keller, A., Leidinger, P., Bauer, A., Elsharawy, A., Haas, J., Backes, C., … Meese, E. (2011). Toward the blood-borne miRNome of human diseases. *Nature Methods*, *8*(10), 841–3. doi:10.1038/nmeth.1682

Li, Z., Hassan, M. Q., Volinia, S., van Wijnen, A. J., Stein, J. L., Croce, C. M., … Stein, G. S. (2008). A microRNA signature for a BMP2-induced osteoblast lineage commitment program. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(37), 13906–13911. doi:10.1073/pnas.0804438105

Rubin, K. H., Abrahamsen, B., Friis-Holmberg, T., Hjelmborg, J. V. B., Bech, M., Hermann, A. P., … Brixen, K. (2013). Comparison of different screening tools (FRAX®, OST, ORAI, OSIRIS, SCORE and age alone) to identify women with increased risk of fracture. A population-based prospective study. *Bone*, *56*(1), 16–22. doi:10.1016/j.bone.2013.05.002

Seeliger, C., Karpinski, K., Haug, A., Vester, H., Schmitt, A., Bauer, J., & van Griensven, M. (2014). Five Freely Circulating miRNAs and Bone Tissue miRNAs are Associated with Osteoporotic Fractures. *Journal of Bone and Mineral Research : The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. doi:10.1002/jbmr.2175

Trompeter, H.-I., Dreesen, J., Hermann, E., Iwaniuk, K. M., Hafner, M., Renwick, N., … Wernet, P. (2013). MicroRNAs miR-26a, miR-26b, and miR-29b accelerate osteogenic differentiation of unrestricted somatic stem cells from human cord blood. *BMC Genomics*, *14*(1), 111. doi:10.1186/1471-2164-14-111

Van Wijnen, A. J., van de Peppel, J., van Leeuwen, J. P., Lian, J. B., Stein, G. S., Westendorf, J. J., … Kakar, S. (2013). MicroRNA functions in osteogenesis and dysfunctions in osteoporosis. *Current Osteoporosis Reports*, *11*(2), 72–82. doi:10.1007/s11914-013-0143-6

Vasikaran, S., Eastell, R., Bruyère, O., Foldes, A. J., Garnero, P., Griesmacher, A., … IOF-IFCC Bone Marker Standards Working Group. (2011). Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. *Osteoporosis International: A Journal Established as Result of Cooperation between the European Foundation for*

【０１７２】

【化１－３】

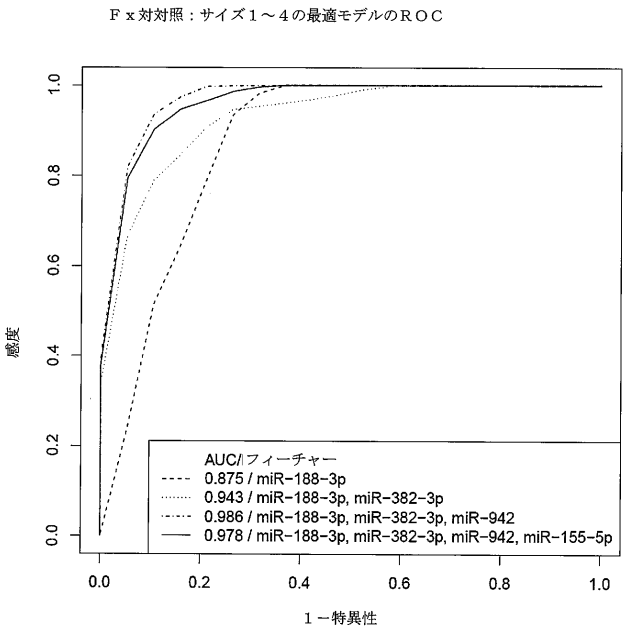
Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA, *22*(2), 391–420. doi:10.1007/s00198-010-1501-1

Weilner, S., Schraml, E., Redl, H., Grillari-Voglauer, R., & Grillari, J. (2013). Secretion of microvesicular miRNAs in cellular and organismal aging. *Experimental Gerontology*, *48*(7), 626–633. doi:10.1016/j.exger.2012.11.017

Zhao, X., Xu, D., Li, Y., Zhang, J., Liu, T., Ji, Y., … Xie, X. (2013). MicroRNAs regulate bone metabolism. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. doi:10.1007/s00774-013-0537-7

【図１－１】

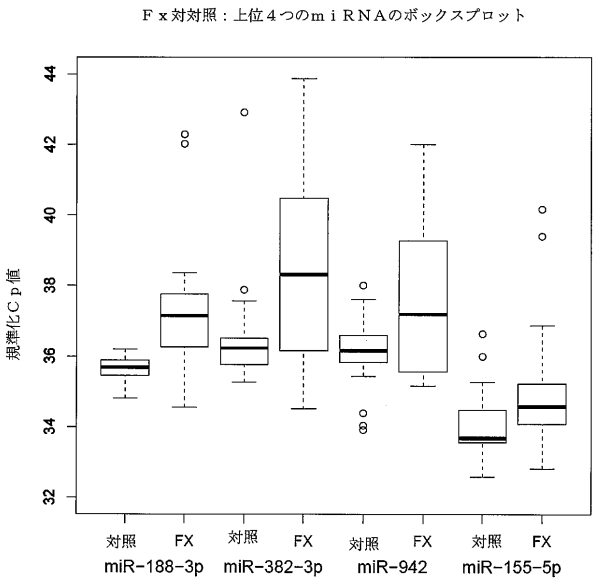
a



【図１－２】

図１続き

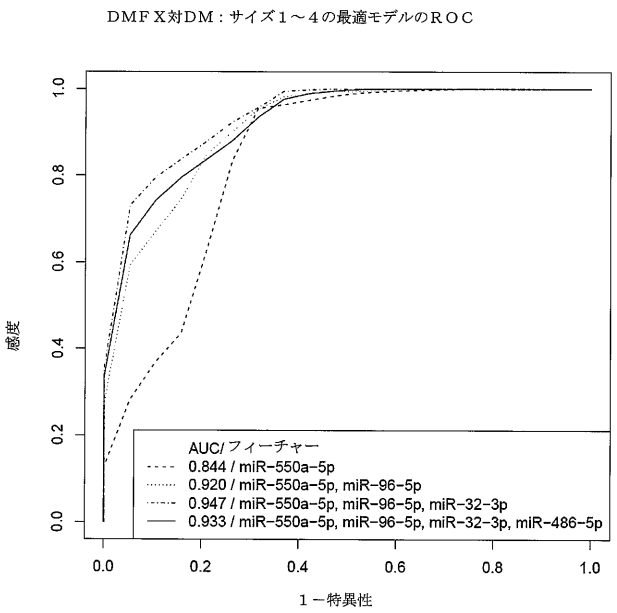
b



【図１－３】

図１続き

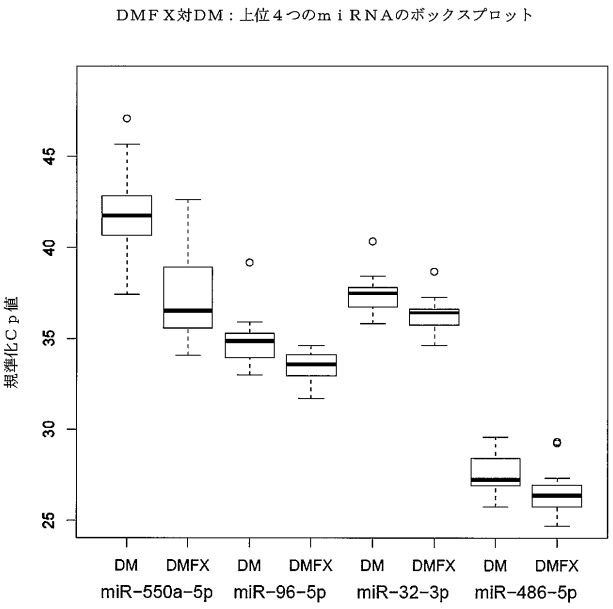
c



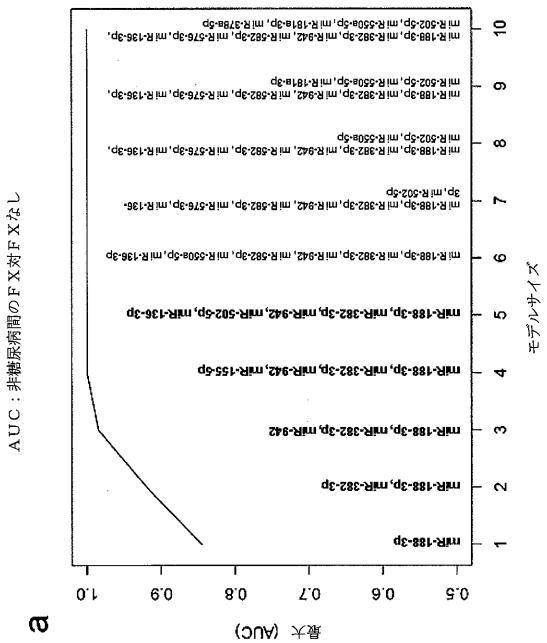
【図１－４】

図１続き

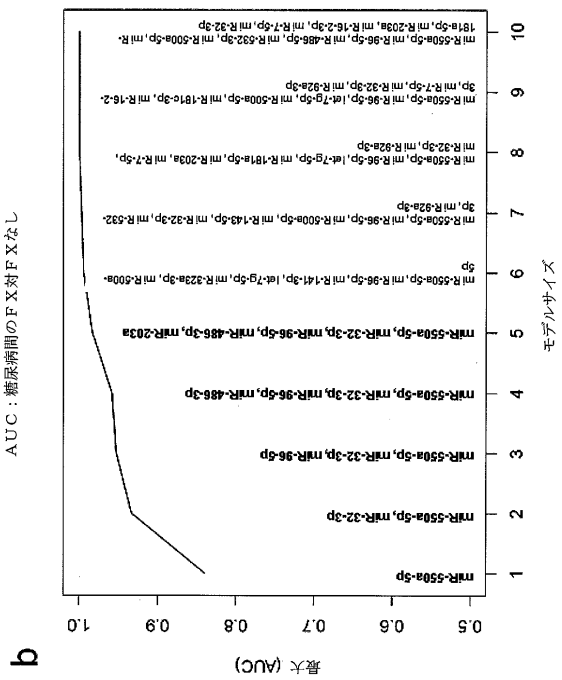
d



【図２－１】



【図２－２】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2015/063091

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12Q1/68
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)
C12Q

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, 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	WO 2007/023306 A1 (IMMUNODIAGNOSTIC SYSTEMS LTD [GB]; GAUTVIK KAARE M [NO]; JEMTLAND RUNE) 1 March 2007 (2007-03-01) pages 5-6; claim 15 -----	1-19
X	WO 2013/155085 A1 (UNIV CREIGHTON [US]; XIAO PENG [US]) 17 October 2013 (2013-10-17) paragraph [0106] ----- -/--	1-19

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] 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	Date of mailing of the international search report
7 July 2015	14/12/2015

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

1

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2015/063091

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YANG WANG ET AL: "MiR-133a in Human Circulating Monocytes: A Potential Biomarker Associated with Postmenopausal Osteoporosis", PLOS ONE, vol. 7, no. 4, 10 April 2012 (2012-04-10), page e34641, XP055141362, ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/journal.pone.0034641 abstract	1-19
X	SEELIGER C ET AL: "Identification of freely circulating mirnas in the serum, in bone tissue and in cells related to bone homeostasis that are associated with osteoporotic fractures", JOURNAL OF TISSUE ENGINEERING AND REGENERATIVE MEDICINE, vol. 8, no. Suppl. 1, Sp. Iss. SI, 1 June 2014 (2014-06-01), page 270, XP008172201, & EUROPEAN-CHAPTER MEETING OF TISSUE-ENGINEERING-AND-REGENERATIVE-MEDICINE-SOCIETY (TERMIS); GENOVA, ITALY; JUNE 10 -13, 2014 the whole document	1-19
X	WO 2011/144761 A1 (UNIV WIEN BODENKULTUR [AT]; GRILLARI JOHANNES [AT]; SCHRAML ELISABETH) 24 November 2011 (2011-11-24) page 6	1-19

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2015/063091

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. [X] forming part of the international application as filed:

      [X] in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      [ ] on paper or in the form of an image file.

   b. [X] furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      [ ] in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      [ ] on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. [ ] In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2015/063091

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-19(partially)

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/EP2015/063091

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-19(partially)

methods for diagnosing osteoporosis, determining the risk of osteoporotic fractures, methods for monitoring treatment of osteoporosis based on mir-188-3p alone or in combination with one or more miRNAs; uses of mir-188-3p alone or in combination, or its antagonist for treating osteoporosis

---

2-136. claims: 1-19(partially)

same as above for each of the remaining miRNAs listed in claim 1 (alone, or in combination, in the case the miRNA is disclosed in a combination with other miRNAs).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2015/063091

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007023306 A1	01-03-2007	NONE	
WO 2013155085 A1	17-10-2013	NONE	
WO 2011144761 A1	24-11-2011	CA 2800018 A1	24-11-2011
		CN 103210085 A	17-07-2013
		EP 2571988 A1	27-03-2013
		JP 2013534908 A	09-09-2013
		US 2013108687 A1	02-05-2013
		US 2014162265 A1	12-06-2014
		US 2015119450 A1	30-04-2015
		WO 2011144761 A1	24-11-2011

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*43/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１	
Ｃ１２Ｎ	*15/09*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/00	Ａ	

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

(74)代理人 100107386
弁理士 泉谷 玲子
(72)発明者 グリラリ，ヨハネス
オーストリア国 ２１０２ ビーザンベルク，ゼッツガッセ ７
(72)発明者 グリラリ，レジーナ
オーストリア国 ２１０２ ビーザンベルク，ゼッツガッセ ７
(72)発明者 ハックル，マティアス
オーストリア国 １１７０ ウィーン，レオポルトークンシャクープラッツ ４／８
(72)発明者 シュラムル，エリザベート
オーストリア国 １０１０ ウィーン，マルクーアウレルーシュトラーセ ９／１０
(72)発明者 ヴァイルナー，シルヴィア
オーストリア国 ３４６４ ペルツェンドルフ，ハウプトシュトラーセ ２

Ｆターム(参考) 4B063 QA01 QA19 QQ03 QQ52 QR32 QR62 QS25
4C084 AA13 MA02 MA16 MA66 NA05 NA14 ZA961 ZA962 ZA971 ZA972
ZC201 ZC202
4C086 AA01 AA02 EA16 MA02 MA04 NA05 NA14 ZA96 ZA97 ZC20