

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7660077号
(P7660077)

(45)発行日 令和7年4月10日(2025.4.10)

(24)登録日 令和7年4月2日(2025.4.2)

| | | | |
|--------------------------|----------------|---------|--|
| (51)国際特許分類 | F I | | |
| G 0 1 N 33/53 (2006.01) | G 0 1 N 33/53 | D | |
| G 0 1 N 33/543 (2006.01) | G 0 1 N 33/543 | 5 0 1 A | |
| C 0 7 K 16/26 (2006.01) | C 0 7 K 16/26 | | |
| A 6 1 P 35/00 (2006.01) | A 6 1 P 35/00 | | |
| A 6 1 P 1/18 (2006.01) | A 6 1 P 1/18 | | |
| 請求項の数 17 (全21頁) 最終頁に続く | | | |

| | | | |
|-------------------|----------------------------------|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21)出願番号 | 特願2021-572701(P2021-572701) | (73)特許権者 | 509089063 ザ・ユニバーシティ・オブ・リバプール イギリス、エル69・7ゼットエクス 、リバプール、ブラウンロウヒル765 、ファウンデーションビルディング |
| (86)(22)出願日 | 令和2年2月17日(2020.2.17) | (74)代理人 | 100114188 弁理士 小野 誠 |
| (65)公表番号 | 特表2022-529073(P2022-529073 A) | (74)代理人 | 100119253 弁理士 金山 賢教 |
| (43)公表日 | 令和4年6月16日(2022.6.16) | (74)代理人 | 100124855 弁理士 坪倉 道明 |
| (86)国際出願番号 | PCT/EP2020/054046 | (74)代理人 | 100129713 弁理士 重森 一輝 |
| (87)国際公開番号 | WO2020/169511 | (74)代理人 | 100137213 弁理士 安藤 健司 |
| (87)国際公開日 | 令和2年8月27日(2020.8.27) | | |
| 審査請求日 | 令和5年2月9日(2023.2.9) | | |
| (31)優先権主張番号 | 1902193.0 | | |
| (32)優先日 | 平成31年2月18日(2019.2.18) | | |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 英国(GB) | | |
| (31)優先権主張番号 | 1903424.8 | | |
| (32)優先日 | 平成31年3月13日(2019.3.13) | | |
| | 最終頁に続く | | 最終頁に続く |

(54)【発明の名称】 診断方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

アディポネクチンポリペプチドおよびIL-1Raポリペプチドのレベルを試験するためのイムノアッセイの方法であって、

i) 被験対象から取得した血漿または血清の試料と、アディポネクチンに結合する抗体(単数または複数)と、IL-1Raに結合する抗体(単数または複数)とを含む調製物を形成して、抗体/アディポネクチンポリペプチド複合体および抗体/IL-1Raポリペプチド複合体を形成する工程と、

ii) 各複合体におけるアディポネクチンおよびIL-1Raのレベルを検出する工程と、

iii) 工程ii)で得られたアディポネクチンおよびIL-1Raのレベルを、関連する対照におけるアディポネクチンおよびIL-1Raのレベルと比較する工程であって、前記関連する対照が、随伴性の膵癌および随伴性の膵炎のいずれかを伴わない新規発症糖尿病(DM)に罹患しているか、またはその疑いのある対象である工程と、を含むか、またはそれらの工程からなるイムノアッセイ。

【請求項2】

対象が早期の膵管腺癌(PDAC)または膵炎に罹患している疑いがあるかどうかを試験するためのイムノアッセイの方法であって、

i) 被験対象から取得した血漿または血清の試料と、アディポネクチンに結合する抗体(単数または複数)と、IL-1Raに結合する抗体(単数または複数)とを含む調製

物を形成して、抗体 / アディポネクチンポリペプチド複合体および抗体 / I L - 1 R a ポリペプチド複合体を形成する工程と、

i i i) 各複合体におけるアディポネクチンおよび I L - 1 R a のレベルを検出する工程と、i i i i) 工程 i i i) で得られたアディポネクチンポリペプチドおよび I L - 1 R a ポリペプチドのレベルを、関連する対照対照におけるアディポネクチンポリペプチドおよび I L - 1 R a ポリペプチドのレベルと比較する工程であって、前記関連する対照対照が、随伴性の膵癌および随伴性の膵炎のいずれかを伴わない新規発症糖尿病 (D M) に罹患しているか、またはその疑いのある対象である工程と、を含むか、またはそれらの工程からなるイムノアッセイの方法。

【請求項 3】

前記随伴性の膵炎が急性膵炎または慢性膵炎である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記アディポネクチンポリペプチドが、配列番号 1 に記載されるアミノ酸配列またはその多型配列バリエーションを含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記 I L - 1 R a ポリペプチドが、配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列またはその多型配列バリエーションを含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記対象が P D A C に罹患しているか、または P D A C に罹患しやすいかに関する情報として用いるために、 C A 1 9 - 9 のレベルを検出することをさらに含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記 C A 1 9 - 9 のレベルが、イムノアッセイによって検出される、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記イムノアッセイが、 E L I S A またはビーズベースのイムノアッセイである、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

アディポネクチンおよび I L - 1 R a に結合する前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の方法に用いるための固体担体であって、アディポネクチンおよび I L - 1 R a に特異的に結合する固定化抗体を含む、固体担体。

【請求項 11】

前記固体担体が、 C A 1 9 - 9 に特異的に結合する固定化抗体をさらに含む、請求項 10 に記載の固体担体。

【請求項 12】

アディポネクチン、 I L - 1 R a、および C A 1 9 - 9 に特異的に結合する前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項 11 に記載の固体担体。

【請求項 13】

請求項 10 ~ 12 のいずれか一項に記載の固体担体を含む、ポイントオブケア装置。

【請求項 14】

請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の方法に用いるためのキットであって、

アディポネクチンポリペプチドに特異的に結合する抗体と、

I L - 1 R a ポリペプチドに特異的に結合する抗体と、

アディポネクチンポリペプチドに結合する前記抗体に結合する二次抗体、および I L - 1 R a ポリペプチドに結合する前記抗体に結合する二次抗体であって、別個の検出可能な標識を含む前記二次抗体と、を含む、またはそれらからなる、キット。

【請求項 15】

C A 1 9 - 9 に結合する抗体をさらに含む、請求項 14 に記載のキット。

10

20

30

40

50

【請求項 16】

対象が早期の膵管腺癌または膵炎について撮像されるべきかどうかを試験するためのイムノアッセイの方法であって、

i) 被験対象から取得した血漿または血清の試料と、アディポネクチンに結合する抗体（単数または複数）と、IL-1Raに結合する抗体（単数または複数）とを含む調製物を形成して、抗体/アディポネクチンポリペプチド複合体および抗体/IL-1Raポリペプチド複合体を形成する工程と、

ii) 各複合体におけるアディポネクチンおよびIL-1Raのレベルを検出する工程と、

iii) 工程ii)で得られたアディポネクチンポリペプチドおよびIL-1Raポリペプチドのレベルを、関連する対照におけるアディポネクチンポリペプチドおよびIL-1Raポリペプチドのレベルと比較する工程であって、前記関連する対照が、随伴性の膵癌および随伴性の膵炎のいずれかを伴わない新規発症糖尿病(DM)に罹患しているか、またはその疑いのある対象である工程と、を含むか、またはそれらの工程からなるイムノアッセイの方法。

10

【請求項 17】

前記随伴性の膵炎が、急性または慢性の膵炎である、請求項16の記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、糖尿病(DM)に関連付けられたPDAC発症のリスク増加のために選択された患者コホートにおいて、膵癌[すなわち、膵管腺癌(PDAC)]または膵炎を早期検出するための診断検査に関する。

20

【背景技術】

【0002】

正常細胞の癌細胞への変質には、しばしばいくつかの遺伝子のDNA配列における連続する体細胞変異および/または遺伝的変異を伴い、その結果、細胞タンパク質に増殖優位性をもたらす機能的変化をもたらし、また、それ自体は変異していないが、癌細胞の増殖優位性に寄与するさらなる遺伝子の発現レベル(mRNAおよびタンパク質レベル)の変化をもたらす。また、(一方または両方の親に由来する)生殖系列に受け継がれる遺伝子突然変異は、個体における癌の発症もしやすくする場合がある。しかしながら、一般的に癌、および特に膵管腺癌(PDAC)は、古典的な意味では、大部分は「遺伝的に決定」はされない。

30

【0003】

膵臓は、いくつかの重要なホルモン(インスリン、グルカゴン、およびソマトスタチンなど)を血液中に放出する内分泌細胞と、消化を助けるためにリパーゼおよびプロテアーゼを腸内に分泌する外分泌細胞とを含む、複雑な解剖学的構成および細胞構成を有する。PDACの起源組織であると考えられるのは、膵外分泌部である。PDACは、典型的には不明瞭な症状を有するか、または後期まで無症候性とみなされ、診断される前に他の器官への転移を許すことがしばしばある。未治療の転移性PDACの生存期間中央値は3~5か月である。局所進行性疾患の生存期間は6~10か月である。ところが、大部分の症例は進行期に診断され、治癒の可能性のある切除には遅すぎる。その上、化学療法は治癒的ではなく、それによりPDACの死亡率は発症率に近づく。

40

【0004】

臨床診断に至る無症候性期間内に、原発腫瘍は潜在的に転移性の「シード」細胞を循環中に放つ。腫瘍が1cm未満のときに切除が行われる場合、腫瘍がより大きい場合よりも5年生存率が非常に良好である(約5%と比較して75%)。腫瘍が1cm未満のうちにすべての患者が診断できるとすれば、外科的切除によって生存率は劇的に改善される可能性がある。ところが、現時点で無症候性PDACを検出する信頼できる手段は存在しない。

【0005】

50

P D A Cの発生率は増加しており、2030年までに乳癌を抜いて癌関連死の2番目の主因となることが予測されている。P D A Cは典型的に進行期に検出されるため、P D A C患者の大部分は潜在的に根治手術を受ける資格がないが、手術が可能である場合、全生存期間は有意に改善されることが示されてきた。

【0006】

P D A Cの一般大衆のスクリーニングには、現実的な障壁がある。この疾病は癌死の主因であるが、比較的希少であり、わずか0.014%の発生率で発生する。それ故に、スクリーニング検査は、極めて特異的なものとなり、また多数の偽陽性を回避するために、ほぼ100%に近づける必要があることになる。ところが、そのようなスクリーニング検査は、現時点では存在しない。C A 19 - 9は、P D A Cの管理のための日常的に臨床使用されている唯一のバイオマーカーである。ところが、その感度と特異性は低く、スクリーニング検査における偽陽性率は極めて高いため、また診断を確認するための追加検査は高価であるため、スクリーニングを非効率的で高価なものにしている。

10

【0007】

他のマーカーは、当該技術分野で公知である。米国特許第9863960号は、インターロイキン 1受容体拮抗薬(I L - 1 R a)の存在を測定することによって膵癌を診断する方法を開示している。国際特許公開広報第2017109518号は、対象が膵癌に罹患しているかどうかを判定するために、標的タンパク質のタンパク質グリコシル化シグネチャを判定する方法を開示している。C A - 19 - 9およびC E Aの高グリコシル化は、膵癌と関連していることが示された。さらに、米国特許公開第20170003294号および国際特許公開広報第2015157557号は、多数の範囲のバイオマーカーの有無を判定することを含む、膵癌または膵炎症性状態などの疾患を検出するための診断検査を開示している。

20

【0008】

研究によると、P D A C診断の時点で、P D A C患者の大多数が糖尿病(D M)に罹患していることが示されてきた^{1、2}。対照的に、肺癌、乳癌、前立腺癌、および結腸直腸癌を有する個体におけるD Mの有病率は、非癌対照よりも高くはない³。P D A CとD Mの関係は複雑である。長期罹患D Mは、P D A Cのリスクを増大させるが、約2倍(喫煙とほぼ同等)だけである。ところが、疫学データは、P D A CがD Mを引き起こす可能性があり、新規発症D MはP D A Cの存在の早期警告徴候であることを示している⁴。P D A C症例のおよそ50%で、糖尿病は最近の発症(3年以内)であり、新規発症D Mを有する個体を最大のP D A C高リスク群にしている。新規発症D Mの診断からその後のP D A Cの診断までの平均期間は、13ヵ月である。

30

【0009】

これは、より早期にP D A Cを検出するための実質的な機会を表すが、課題がある。一般集団におけるD Mの発生率は上昇しており、英国では毎年推定20万人の2型D M(T 2 D M)の新規症例が診断されている。新規発症D M症例の10%では、D Mは膵疾患(P D A C、慢性膵炎、その他)の二次性のもので、3 c D M型として知られているが、ほとんどの場合、T 2 D Mとして誤診される⁵。

【0010】

本開示は、新規発症糖尿病を有する個体におけるP D A Cまたは膵炎の検出のための、高度に特異的な検査の特徴付けに関するものであり、これは生体試料中のアディポネクチンおよびI L - 1 R aのレベルを測定し、膵外分泌部の糖尿病(P D A Cおよび膵炎に伴性のD Mを含む3 c型)をT 2 D Mと区別して、前者がP D A Cのスクリーニングに参加できるようにする。

40

【先行技術文献】

【特許文献】

【0011】

【文献】米国特許第9863960号

【文献】国際特許公開広報第2017109518号

50

【文献】米国特許公開第 20170003294 号

【文献】国際特許公開広報第 2015157557 号

【発明の概要】

【0012】

本発明の一つの態様によれば、対象が、高レベルのアディポネクチンポリペプチドおよび IL-1Ra ポリペプチドを有するかどうかを判定する免疫アッセイが提供されており、これは、

i) 被験対象から生体試料を取得する工程と、

ii) 当該試料と、アディポネクチンに結合する抗体（単数または複数）と、IL-1Ra に結合する抗体（単数または複数）とを含む調製物を形成して、抗体/アディポネクチンポリペプチド複合体および抗体/IL-1Ra ポリペプチド複合体を形成する工程と、

iii) 各複合体を検出する工程と、

iv) アディポネクチンおよび IL-1Ra のレベルを、関連する対照対照と比較する工程とを含む。

【0013】

本開示は、被験対象から取得した試料を、関連する対照対照と比較する。例えば、関連する対照対照は、随伴性の膵癌を伴わない新規発症 DM に罹患しているか、またはその疑いのある対象とすることが可能である。

【0014】

本発明の一つの態様によれば、対象が早期の膵管腺癌または膵炎に罹患している疑いがあるかどうかを判定するための免疫アッセイが提供されており、これは、

i) 被験対象から生体試料を取得する工程と、

ii) 当該試料と、アディポネクチンに結合する抗体（単数または複数）と、IL-1Ra に結合する抗体（単数または複数）とを含む調製物を形成して、抗体/アディポネクチンポリペプチド複合体および抗体/IL-1Ra ポリペプチド複合体を形成する工程と、

iii) 各複合体を検出する工程と、

iv) アディポネクチンポリペプチドおよび IL-1Ra ポリペプチドのレベルを、関連する対照対照と比較する工程と、を含む。

【0015】

膵炎は、膵臓の炎症であり、急性または慢性である可能性がある。急性膵炎では、膵臓は短期間だけ炎症を起こし、しばしば持続的な損傷がない。慢性膵炎では、膵臓は永久的に損傷を受け、消化液を全く生成できないか、または十分な量の消化液を生成することができない。慢性膵炎の症状は、しばしば膵癌と非常に類似している。

【0016】

本発明の好ましい方法では、当該膵炎は、急性または慢性の膵炎、好ましくは慢性膵炎である。

【0017】

本発明の好ましい方法では、アディポネクチンポリペプチドは、配列番号 1 に記載されるアミノ酸配列またはその多型配列バリエーションを含む。

【0018】

本発明の好ましい方法では、アディポネクチンポリペプチドのレベルが、当該正常対照対照と比較して少なくとも 2 倍増加する。

【0019】

本発明の好ましい方法では、IL-1Ra ポリペプチドは、配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列またはその多型配列バリエーションを含む。

【0020】

本発明の好ましい方法では、IL-1Ra ポリペプチドのレベルは、当該正常対照対照と比較して少なくとも 2 倍増加する。

【0021】

本発明の好ましい方法では、当該対象は、対象が前糖尿病性であるか、または早期 T 2

10

20

30

40

50

D Mに罹患しているかを判定するために、事前スクリーニングを受ける。

【0022】

糖尿病の症状はさまざまなものである可能性があるが、これには、多渴、頻尿、疲労、体重減少および筋肉量の喪失、鵝口瘡の頻発、治りの遅い切り傷または創傷、ならびにかすみ目が含まれる。糖尿病は通常、血中の血糖値を測定することによって診断される。

【0023】

本発明の好ましい方法では、当該対象は、糖尿病について検査を受ける。

【0024】

本発明の好ましい方法では、対象がP D A Cに罹患しているか、またはP D A Cに罹患しやすいかの尺度として、C A 1 9 - 9レベルが判定される。

10

【0025】

本発明の代替的な方法では、対象が膵炎に罹患しているか、または膵炎に罹患しやすいかの尺度として、C A 1 9 - 9レベルが判定される。

【0026】

本発明の好ましい方法では、当該膵炎は、急性または慢性の膵炎、好ましくは慢性膵炎である。

【0027】

多くのモノクローナル抗体が、配列N e u 5 A c 2 , 3 G a l 1 , 3 (F u c 1 , 4) G l c N A c を有する、シアリルルイスA (ルイスファミリーの血液型抗原の一部) と呼ばれる炭水化物構造であるC A 1 9 - 9抗原に対して開発されてきた。シアリルルイスAは、単糖前駆体をN結合型グリカンおよびO結合型グリカンの両方に順次連結するグリコシルトランスフェラーゼによって合成される。

20

【0028】

本発明の好ましい方法では、C A 1 9 - 9レベルは、イムノアッセイによって判定される。

【0029】

本発明の好ましい方法では、当該イムノアッセイは、E L I S Aまたはビーズベースのイムノアッセイである。

【0030】

本開示のイムノアッセイの代替的なフォーマット、例えば、サンドイッチアッセイ、ウェスタンブロット、質量分析ベースの検出、E L I S Aまたはビーズベースのイムノアッセイ、例えば、L u m i n e x (登録商標) が利用可能である。ところが、本発明の実施は、特定のイムノアッセイフォーマットに限定されず、当業者に利用可能な他のフォーマットも利用可能である。

30

【0031】

本発明の好ましい方法では、当該生体試料は、尿、血液、血漿、または血清からなる群から選択される。

【0032】

尿はバイオマーカーの重要な供給源であり、また非侵襲的な様式で連続的に採取することができ、かつ通常採血よりも好ましい。尿中のI L - 1 R a検出は標準的な手順(2 1) であり、また尿中のI L - 1 R aの検出用の市販キットが広範に入手可能である(表 1) 。アディポネクチンは、L u m i n e x アッセイキットなどの市販キットを用いて、健康な対象から採取した尿中で検出することができる。

40

【0033】

本発明の好ましい方法では、当該生体試料は尿である。

【0034】

本発明の好ましい方法では、当該抗体はポリクローナル血清である。

【0035】

本発明の代替的な方法では、当該抗体はモノクローナル抗体である。

【0036】

50

本発明の好ましい方法では、対象は、例えば、断層撮影または磁気共鳴撮像によって撮像されて、対象が早期の膵管腺癌または膵炎に罹患しているかどうか判定される。

【0037】

本発明のさらなる態様によれば、早期の膵管腺癌または膵炎についての治療レジメンが提供されており、これは、

i) 早期の膵管腺癌または膵炎に罹患している疑いのある対象に対して、本発明による方法を実施することと、

ii) 当該対象が早期の膵管腺癌または膵炎に罹患しているか、または早期の膵管腺癌または膵炎にかかりやすいと本方法で判断される場合に、早期の膵管腺癌または膵炎に対する対象を治療することと、を含む。

【0038】

本発明の好ましい実施形態では、当該治療は、腫瘍組織の切除である。

【0039】

本発明の代替的な実施形態では、当該治療は、1つ以上の化学療法剤の投与である。

【0040】

本発明の好ましい実施形態では、当該療法剤は、FOLFIRINOX（オキサリプラチン、ロイコピリン、イリノテカン、およびフルオロウラシル）、ゲムシタピン、GemCap（ゲムシタピンおよびカペシタピン）、FOLFOX（オキサリプラチン、フルオロウラシルおよびフォリン酸）、およびNab-パクリタキセルゲムシタピンからなる群から選択される。

【0041】

本発明のさらなる態様によれば、アディポネクチンおよび/またはIL-1Raに特異的に結合する固定化抗体を含む固体担体が提供されている。

【0042】

本発明の好ましい実施形態では、当該固体担体は、CA19-9に特異的に結合する固定化抗体をさらに含む。

【0043】

アディポネクチン、IL-1Ra、およびCA19-9に特異的に結合する抗体は、モノクローナル抗体であることが好ましい。

【0044】

本発明のさらなる態様によれば、本発明による固体担体を含むポイントオブケア装置が提供されている。

【0045】

本発明のさらなる態様によれば、

アディポネクチンポリペプチドに特異的に結合する抗体と、

IL-1Raポリペプチドに特異的に結合する抗体と、

アディポネクチンポリペプチドに結合する当該モノクローナル抗体に結合する二次抗体、およびIL-1Raポリペプチドに結合する二次抗体であって、当該二次抗体が別個の検出可能な標識を含むか、またはそれらからなるキットが提供されている。

【0046】

本発明の好ましい実施形態では、CA-19に結合する抗体、および別個に検出可能な標識を含むCA19-9に結合する二次抗体が提供されている。

【0047】

アディポネクチン、IL-1Ra、およびCA19-9に特異的に結合する当該抗体は、モノクローナル抗体であることが好ましい。

【0048】

本発明のさらなる態様によれば、早期の膵管腺癌または膵炎について対象が撮像されるべきかどうかを判定するための方法が提供されており、これは、

i) 被験対象から生体試料を取得する工程と、

ii) 当該試料と、アディポネクチンに結合する抗体（単数または複数）と、IL-1

10

20

30

40

50

R a に結合する抗体（単数または複数）とを含む調製物を形成して、抗体 / アディポネクチンポリペプチド複合体および抗体 / I L - 1 R a ポリペプチド複合体を形成する工程と、
i i i) 各複合体を検出する工程と、

i v) アディポネクチンポリペプチドおよび I L - 1 R a ポリペプチドのレベルを、関連する対照と比較する工程と、

v) 対象が早期の膵管腺癌または膵炎に罹患しているかどうかを判定するために、対象を撮像すべきかどうかを判定する工程と、を含むか、またはそれらの工程からなる。

【 0 0 4 9 】

本発明の好ましい方法では、対象は、例えば、断層撮影または磁気共鳴撮像によって撮像されて、対象が早期の膵管腺癌または膵炎に罹患しているかどうか判定される。

【 0 0 5 0 】

本明細書の説明および特許請求の範囲全体を通して、「含む (c o m p r i s e) 」および「含有する (c o n t a i n) 」という単語、ならびに単語の変化形、例えば「含む (c o m p r i s i n g) 」および「含む (c o m p r i s e s) 」は、「含むが、それらに限定されない」ことを意味し、その他の部分、追加物、構成要素、完全体、または工程の除外は意図しない（かつ除外しない）。「から本質的になる」とは、不可欠の完全体を有するが、不可欠の完全体の機能には実質的に影響を与えない完全体を含むことを意味する。

【 0 0 5 1 】

本明細書の説明および特許請求の範囲全体を通して、文脈上別段の解釈が要求されない限り、単数形は複数形を包含する。特に、不定冠詞が使用される場合、明細書は、文脈上別段の解釈を必要としない限り、複数性だけでなく単一性も企図するものとして理解されるべきである。

【 0 0 5 2 】

本発明の特定の態様、実施形態、または実施例に関連して説明される特徴、完全体、特性、化合物、化学的部分、または基は、それらと不適合でない限り、本明細書に説明される任意の他の態様、実施形態、または実施例に適用可能であるものと理解されるべきである。

【 0 0 5 3 】

ここで、本発明の実施形態を、以下の図を参照しながら、例示の目的のみで説明する。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 5 4 】

【 図 1 】 T 2 D M を有すると新規に診断されたすべての個体のうち約 1 0 % は、実際には T 3 c D M に罹患している。P D A C 随伴性の D M は、T 3 c D M の 8 ~ 1 0 % を占める。T 3 c D M ; 3 c 型糖尿病、T 2 D M ; 2 型糖尿病。

【 図 2 】 独立した 3 つのコホートで測定された血清アディポネクチンは、このアディポカインのレベルが、D M 対照と比較して、P D A C - D M 患者でより高く、P D A C を長期罹患 T 2 D M および新規発症 T 2 D M と区別することができることを示す。P C : 膵癌、P D A C - D M : 膵癌随伴性の糖尿病、D M : 長期罹患糖尿病、N O D : 新規発症糖尿病、H C : 健康な対照。

【 図 3 】 独立した 2 つのコホートで測定された I L - 1 R a の循環レベル。I L - 1 R a は、持続時間 (A , B) に関わらず、T 2 D M 患者と比較して、P D A C および P D A C - D M の患者においてアップレギュレートされる。P D A C : 膵癌、P D A C - D M : 膵癌随伴性の糖尿病、D M : 長期罹患糖尿病、N O D : 新規発症糖尿病。

【 図 4 】 アディポネクチンの血清レベル (A) および I L - 1 R a の血漿レベル (B) は、T 2 D M 患者と比較して、T 3 c D M 患者 (P D A C 随伴性および慢性膵炎随伴性) では有意に上昇している。T 3 c D M : 3 c 型糖尿病、T 2 D M : 2 型糖尿病。

【 図 5 】 血清アディポネクチンおよび血漿 I L - 1 R a は、併用して、糖尿病持続期間 (A) に関係なく、または新規発症単独 (B) (T 3 c D M : 3 c 型糖尿病、T 2 D M : 2 型糖尿病、N O D : 新規発症糖尿病) と比較して、3 c 型糖尿病と 2 型糖尿病との識別に

10

20

30

40

50

において良好な性能を示した。

【図6】新規発症DMの個体(すべての色)中のPDAC(黒色の個体)のバイオマーカーを媒介した特定、および診断への経路。T3cDM(濃い灰色の個体および黒色の個体)をT2DM(灰色の個体)と区別することで、PDACが多い集団が特定され、この部分集団のスクリーニングを実行可能にする。すべてのT3cDM患者は、T2DM患者に通常提示されるものとは異なる管理を必要とする。当方の焦点は、PDACの検出に当てられている。PDACは、T3cDM群の症例の10%を占める。

【図7】蛍光強度に対するそれぞれの標準物質および試料において測定されたアディポネクチン濃度(pg/mL)を示す、ルミネックス分析のプレート1から得られた検量線。最適な尿の希釈度は、S2とS4の間の曲線の線形セクション(赤で囲まれた部分)上に定置された。

10

【図8】蛍光強度に対するそれぞれの標準物質および試料において測定されたアディポネクチン濃度(pg/mL)を示す、ルミネックス分析のプレート2から得られた検量線。最適な尿の希釈度は、S2とS4の間の曲線の線形セクション(赤で囲まれた部分)上に定置された。

【発明を実施するための形態】

【0055】

材料および方法

患者群

膵癌を有する個体(術前)および健康な対象に由来する血清および血漿の試料を、リバプール大学GCP研究施設バイオバンクから取得した。糖尿病に罹患した個体に由来する血清および血漿の試料は、糖尿病クリニックおよびプライマリケアセンターからの照会後、ロイヤルリバプール大学病院で採取した。すべての参加者に、ロイヤルリバプール大学病院で承認された倫理プロトコルを使用する書面によるインフォームドコンセントを渡した(倫理ID:11/NW/0083および16/LO/1630)。

20

【0056】

試料コホート

独立した3つの試料セットを分析した。第一の発見セット(n=60)は、組織学的にPDACが確認された個体40名と、健康な対照個体20名からなる。PDACを有する個体は、糖尿病の陽性診断を有する者(患者12名、HbA1cが48mmol/mol以上)、および糖尿病診断の陰性者または画定されない者(患者28名、HbA1cが47mmol/mol未満またはデータなし)へとさらに下位分類された。2型糖尿病を有する個体における候補マーカーのレベルを決定するために、第二の独立した訓練試料セット(n=135)を解析した。これには、組織学的に確認されたPDACを有する個体80名(40名は糖尿病が診断され、40名は糖尿病陰性が診断された)、慢性膵炎を有する個体20名(10名は糖尿病が診断され、10名は糖尿病陰性が診断された)、長期罹患(診断後3年超)2型糖尿病を有する個体20名、および対象15名が含まれる。第三の独立した検証セット(n=175)を使用して、新規発症2型糖尿病(診断後3年未満)を有する個体における候補マーカーのレベルを評価した。検証セットは、組織学的に確認されたPDACを有する個体78名(37名は糖尿病が診断され、また41名は糖尿病陰性が診断された)、慢性膵炎を有する個体39名(19名は糖尿病が診断され、また20名は糖尿病陰性が診断された)、長期罹患(診断後3年超)2型糖尿病を有する個体20名、新規発症2型糖尿病(診断後3年以内)を有する個体18名、および健康な対象20名からなる。

30

40

【0057】

PDACを有する個体は切除可能な疾患を有し、そして治療目的で手術を受けた。

【0058】

試料採取

Sarstedt Monovette Serum ZチューブまたはK+EDTAチューブ(Sarstedt Ltd、英国レスター)内に血液を採集し、室温で30分間

50

静置した後、血清分画については800 × gで10分間、血漿分画については16000 × gで1分間遠心分離した。血清分画および血漿分画をクライオチューブの中へと分注し、そして使用前は - 80 で保存した。

【0059】

発見分析

ルミネックスおよび質量分析ベースの相対および絶対定量用の等圧タグ (iTRAQ) を、前述のように、試料の発見サブセット、PDAC (n = 40) および健康な対照 (n = 20、合計 n = 60) を使用して実施した ADDIN EN.CITE ADDIN EN.CITE.DATA 6、7。当方の iTRAQ データから生成した著しく改変されたタンパク質のリストを、Ingenuity Pathway Analysis (IPA) ソフトウェア (<http://www.ingenuity.com>) へとアップロードした。コア分析およびバイオマーカーフィルターの両方を実施して、代謝疾患経路および糖尿病に関連するタンパク質を特定した。

10

【0060】

訓練分析

IPA を介して生成された候補バイオマーカーを、血清および血漿の試料 135 個；PDAC (n = 40 は糖尿病を有し、n = 40 は糖尿病を有しない)、慢性膵炎 (n = 10 は糖尿病を有し、n = 10 は糖尿病を有しない)、長期罹患 2 型糖尿病 (n = 20)、および健康な対照 (n = 20) について、免疫アッセイを使用して評価した。

【0061】

20

検証分析

血清および血漿の試料 175 個；PDAC (n = 37 は糖尿病を有し、n = 41 は糖尿病を有しない)、慢性膵炎 (n = 19 は糖尿病を有し、n = 20 は糖尿病を有しない)、長期罹患 2 型糖尿病 (n = 20)、新規発症 2 型糖尿病 (n = 18)、および健康な対照 (n = 20) について、免疫アッセイを使用して、訓練分析から浮かび上がった最も有望なマーカーを評価した。

【0062】

バイオマーカー測定およびデータフィルタリング

血清アディポネクチンおよび血漿 IL-1Ra レベルを、Bio-Plex 200 システム (Bio-Rad、英国) 上で市販のルミネックス (それぞれ Bio-Plex Pro 糖尿病アディポネクチンアッセイおよび Bio-Plex Pro ヒトサイトカイン 27-Plex アッセイ、Bio-Rad、英国) を使用して測定した。すべての試料を、製造業者の説明書に従って 2 回ずつ測定し、プレート当たり 3 つの品質対照を使用して評価したプレート間の変動性を評価した。

30

【0063】

バイオマーカー濃度は、4 パラメータまたは 5 パラメータのロジスティック回帰モデルを使用して、陽性対照タンパク質の標準曲線から判定された。15% 以下のプレート間の変動が許容可能であるとみなされ、この範囲に収まらないプレートがあれば反復した。定量化されたバイオマーカーのうち、濃度が線形範囲に収まらないもの、および変動係数 (CV) が 20% を超える 2 回の測定値を有するものは、データセットから除去した。

40

【0064】

血糖値 (HbA1c mmol/mol) は、ロイヤルリバプール大学病院臨床生化学科によって、国際臨床化学連合が承認した方法を使用して測定された。

【0065】

統計分析

JMP バージョン 14 (SAS Institute Inc.、米国ノースカロライナ州ケリー) および R Studio バージョン 1.1.463 (Integrated Development for R, R Studio Inc.、米国マサチューセッツ州ボストン、<http://rstudio.com/>) が使用された。タンパク質発見データを、両側のマン・ホイットニーの U 検定を使用して分析し、段階的回帰モデルを使

50

用して、最も有望なマーカーの組み合わせを選択した。各候補マーカー（アディポネクチンおよびIL-1Ra）の単独および併用の両方の診断精度を、ROC解析によって評価した。

【0066】

尿試料採取

尿試料を、2名の健康な対象から取得し、そしてプロテアーゼ阻害剤を含んで、および含まないで処理した。尿試料を以下の希釈に供した：(1:1)、(1:2)、(1:4)、(1:5)、(1:10)、(1:20)、(1:100)。血漿対照は、1名の健康な対象および1名の膵癌患者から取得し、(1:400)の希釈へと調製した。アディポネクチンのレベルを、Bio-Plex Proヒト糖尿病アディポネクチンアッセイ (Bio-Rad、#171A7003M) を使用して測定した。

10

【0067】

データを、Bio-Plex Managerソフトウェアを使用して処理した。アディポネクチン濃度を平均し、そして計算した変動係数(CV)値は15%未満であり、標準物質および試料のために許容可能であるとみなされた。CVが15%超のデータポイントは外れ値としてマークされ、結果として、さらなる分析のために8点の検量線を生成した。

【0068】

血漿対照のアディポネクチン濃度を使用して品質管理チェックも実施され、ここで15%未満のCV値が許容可能であると見なされた。

20

【表1】

表1：尿中IL-1Ra検出用の市販キット

| 名称／ベンダー | 試料タイプ | 引用 |
|-------------------------------------------|---------------------|------|
| ヒトIL-1ra ELISAキット (ABCAM、ab211650) | EDTA血漿、尿、血清、唾液、細胞培養 | (22) |
| ヒトIL-1ra ELISAキット、(SIGMA ALDRICH、RAB0283) | 尿、血漿、血清、細胞培養 | (23) |
| ヒトIL-1ra ELISAキット、蛍光 (ABCAM、ab229435) | 尿、血漿 | 参照なし |
| IL1RAヒトELISAキット (THERMOFISHER、BMS2080) | 尿、血漿、血清、上清 | (24) |

30

【0069】

実施例1

PDACによって引き起こされる新規発症DMを、T2DMから区別することは、PDACの早期診断を可能にすることになる。

【0070】

一般集団におけるDMの発生率は上昇しており、英国では毎年推定20万人の2型糖尿病(T2DM)の新たな症例が診断されている。新規発症DM症例の10%では、DMは膵疾患(PDAC、慢性膵炎、その他)の二次性的のもので、3c型DM(T3cDM)として知られているが、大多数の症例ではT2DMとして誤診されている(図1)⁸。PDAC随伴性のDMは、誤診された新規発症T3cDMの症例の8~10%を占める(T2DMの新規診断の0.8~1%に相当)。

40

【0071】

根底にPDAC随伴性のDMを有する新規発症糖尿病を有する個体の0.8~1%を特定することは、現在のスクリーニング様式を使用して実現可能ではない。T3cDMをT2DMと区別することは、PDACが多い集団を特定することになり、この部分集団のス

50

クリーニングを実行可能にする。診断バイオマーカーが確立されれば、スクリーニングが容易になり、他の臨床的特徴と組み合わせて、これらの高リスクの個体を特定するのを助けることになる。

【0072】

PDACの早期診断を改善するために、タンパク質バイオマーカーの検出および開発のために血清および血漿を広範に分析した ADDIN EN.CITE ADDIN EN.CITE.DATA^{6、7、9~15}。相対および絶対定量用の等圧タグ (iTRAQ) を、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法 (LC-MS/MS) およびイムノアッセイ (ルミネックス、Rules Based Medicine、ELISA、およびウェスタンブロット) と併用して、包括的な発見プログラムを実施した。

10

【0073】

リパブルから入手した500個を超える診断用試料および対照用試料を使用して、発見作業では、PDACで379個の示差的に調節された血清タンパク質が特定された。Ingenuity Pathway Analysis (IPA) は、代謝疾患経路および糖尿病に関連するこれらの示差的に発現したタンパク質を選択した。DMステータスが既知であったこれらの試料のサブセットの分析は、膵癌 (DMステータスに無関係) と健康な対照との間の差異を観察することを可能にした。独立した血清および血漿の訓練セットおよび検証セットを使用した19個の候補バイオマーカーのその後の解析により、PDAC-DMを含むT3cDMの検出のための新規パネルの重要な潜在的構成要素として、アディポネクチンおよびインターロイキン 1受容体拮抗薬 (IL-1Ra) が強調された。

20

【0074】

低循環のアディポネクチン ($< 4 \mu\text{g}/\text{mL}$) はT2DMと関連付けられている¹⁶。ところが、当方は、独立した発見、訓練、および検証の試料セットにおいて、PDAC患者における (DMステータスに関わらない) このアディポカインの血清レベルの健康な対照と比較した有意な上昇を観察した (図2)。当方の訓練セットでは、PDACおよびDMの患者 ($n = 89$) について、アディポネクチンは、糖尿病および非糖尿病のPDAC患者の両方で、長期罹患DM対照と比較して上昇することが示された (それぞれ $p = 0.001$ および $p = 0.0004$ 、図2B)。アディポネクチンのレベルは、慢性膵炎患者とPDAC患者との間で類似しており、黄疸の影響を受けなかった (データは示さず)。これは、以前には、血中の特定のタンパク質の測定レベルに対するビリルビン上昇の影響を実証したことがあるため、重要な考慮事項である¹²。

30

【0075】

独立したコホート ($n = 175$) における検証により、PDACを有する個体においてアディポネクチンのレベルが、T2DMを有する個体と比較して、有意に上昇していることが確認された。DM (長期罹患T2DMおよび新規発症T2DMの両方) の持続期間に関わらず、血清アディポネクチンの上昇が観察された (図2C)。アディポネクチンは、T2DM対照 ($n = 39$ 、データは示さず) と比較して、糖尿病 ($n = 19$) および非糖尿病 ($n = 20$) の慢性膵炎 (CP) 患者においても上昇することが見出された。

【0076】

DMが新規に診断された個体では、診断時にアディポネクチンレベルの顕著な低減があったが¹⁷、より高いレベルのアディポネクチンが、PDACの存在を強調している可能性がある。さらに、アディポネクチンのより低い循環レベルは、T2DMに対する予測因子であり、アディポネクチン測定が、切迫した糖尿病の早期の特定手段を提供することになることが、ますます示唆される¹⁸。DM診断におけるアディポネクチンの役割に対する認識が高まれば、PDAC随伴性のDMを検出する機会が生まれる。

40

【0077】

当方のデータは、DMの臨床指標を示すが、アディポネクチンが正常から高い個体は、膵癌について検査すべきであることを示唆している。

【0078】

インターロイキン 1受容体拮抗薬 (IL-1Ra) は、炎症誘発性サイトカインのI

50

L - 1 群の内因性活性を低下させ、高グルコース曝露の破壊的影響から細胞を保護する。また IL - 1 R a の細胞発現は T 2 D M 患者で低減する一方¹⁹、血中濃度は増加する。IL - 1 R a 発現は黄疸の影響を受けず、またルミネックススペースの発見プログラムにおける血清および血漿の両方において、健康な対照と比較して、PDAC では上昇することが見出された²⁰。この観察は、独立した訓練セットおよび検証セットにおいて血漿中で確認され、レベルは、PDAC および PDAC - DM の両方において、T 2 D M (それぞれ $p < 0.006$ および < 0.03 、図 3 A および 図 3 B) および新規発症 T 2 D M ($p < 0.0001$ 、図 3 B) と比較して、有意に上昇することが示された。当方のデータは、DM が新規に診断された高リスクの個体において、より早期に PDAC を検出するための貴重なマーカーとしての循環 IL - 1 R a の使用を裏付けるものである。

10

【0079】

アディポネクチンおよび IL - 1 R a の血中濃度は、DM のステータスに関わらず、PDAC で、また CP (図示せず) でも上昇することが見出されたが、T 2 D M を有すると診断された個体における T 3 c D M (PDAC 随伴性および CP 随伴性) の特定のためのマーカーとしてのそれらの潜在的な役割が強調され、2 つの群の間でバイオマーカーレベルの中央値の有意な分離が観察された ($p < 0.0001$ 、図 4 A および 図 4 B)。

【0080】

DM ステータスに関わらず、PDAC および慢性膵炎 (CP) でのアディポネクチンおよび IL - 1 R a の両方の発現の増加は、T 2 D M 対照と比較して、3 c 型特異的効果を示す (図 4)。さらに、アディポネクチンと IL - R a の併用は、T 3 c D M (PDAC 随伴性および CP 随伴性) を T 2 D M (AUC 0.90、図 5 A) と区別することにおいて良好な性能を示し、感度 / 特異性は 73.7% / 83.7% である。より具体的には、新規発症 T 2 D M を有する個体の中から T 3 c D M を区別するにあたり、アディポネクチンと IL - 1 R a の併用により、0.91 の AUC を達成し、感度および特異性は 83.7% であった (図 5 B)。

20

【0081】

当方の検査は、英国で毎年推定 20 万人の T 2 D M を有すると診断された新規個体を標的としている。当方のマーカーは、一般的な T 2 D M によって生じた新規発症 DM を、T 3 c D M によって生じた新規発症 DM と区別することを可能にする。T 3 c D M を有する個体 (PDAC および CP の両方を含む) を特定することは、PDAC が非常に多い部分集団を選択することになる (図 6)。次いで、PDAC 診断のリスクが最も高い者を特定することは、既存の様式 (EUS、CT / MRI スキャン、生化学パネル) を使用する (この部分集団の) 将来的なスクリーニングを実行可能にする (図 6)。また、当方の検査では、CP を有する患者も選び出すことになる。

30

【0082】

実施例 2

アディポネクチンは、ルミネックスアッセイ (表 2) を使用して尿中で順調に検出され、濃度は生成された検量線に従って測定可能である (図 7 および 図 8)。尿の最適な希釈は、これらの試料が標準曲線の線形部分の間に位置するため、(1:1) および (1:2) であった。プロテアーゼ阻害剤を用いて処理した尿、およびプロテアーゼ阻害剤を用いずに処理した尿については、アディポネクチン濃度の差異はほとんど観察されなかった。アディポネクチンのレベルは、尿中で測定可能である。それ故に尿は、アディポネクチンおよび IL - 1 R A の測定に適している。

40

【表 2】

表 2：プロテアーゼ阻害剤を用いた、および用いない、患者の尿試料中のアディポネクチン濃度の平均値ならびに対応する CV 値を示す表。

| 希釈度 | 健康な対象 | 平均 [アディポネクチン]] (ng/ml) プロテアーゼ阻害剤を用 いた | 平均 [アディポネクチン]] (ng/ml) プロテアーゼ阻害剤を用 いない | %CV |
|------------------|-------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------|
| (1 : 1) | 対象 A | 18.38 | 16.36 | 8.21 |
| | 対象 B | CV > 15% | 25.91 | -- |
| (1 : 2) | 対象 A | 11.10 | 10.51 | 3.85 |
| | 対象 B | 12.19 | 16.06 | 19.35 |
| (1 : 4) | 対象 A | 6.48 | 8.30 | 17.40 |
| | 対象 B | 11.48 | 14.19 | 14.89 |
| (1 : 5) | 対象 A | 6.35 | 8.15 | 17.53 |
| | 対象 B | CV > 15% | 13.54 | -- |
| (1 : 10) | 対象 A | 5.74 | 7.71 | 20.66 |
| | 対象 B | 11.01 | 10.52 | 3.22 |
| (1 : 20) | 対象 A | 8.04 | 6.09 | 19.45 |
| | 対象 B | 11.52 | 9.53 | 13.40 |
| (1 : 100) | 対象 A | 9.80 | 7.41 | 19.62 |
| | 対象 B | CV > 15% | 10.74 | -- |

10

20

30

【0083】

参考文献

- ADDIN EN.REFLIST 1. Permert J, Ihse I, Jorfeldt L, et al. Pancreatic cancer is associated with impaired glucose metabolism. Eur J Surg 1993; 159: 101-7.
2. Pannala R, Leirness JB, Bamlet WR, et al. Prevalence and clinical profile of pancreatic cancer-associated diabetes mellitus. Gastroenterology 2008; 134: 981-7.
3. Aggarwal G, Kamada P, Chari ST. Prevalence of diabetes mellitus in pancreatic cancer compared to common cancers. Pancreas 2013; 42: 198-201.

40

50

4. Andersen DK, Korc M, Petersen GM, et al. Diabetes, Pancreatogenic Diabetes, and Pancreatic Cancer. *Diabetes* 2017;66:1103-1110.
5. Sah RP, Nagpal SJ, Mukhopadhyay D, et al. New insights into pancreatic cancer-induced paraneoplastic diabetes. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10:423-33.
6. Jenkinson C, Elliott VL, Evans A, et al. Decreased Serum Thrombospondin-1 Levels in Pancreatic Cancer Patients Up to 24 Months Prior to Clinical Diagnosis: Association with Diabetes Mellitus. *Clin Cancer Res* 2016;22:1734-43. 10
7. Shaw VE, Lane B, Jenkinson C, et al. Serum cytokine biomarker panels for discriminating pancreatic cancer from benign pancreatic disease. *Mol Cancer* 2014;13:114.
8. Woodmansey C, McGovern AP, McCullough KA, et al. Incidence, Demographics, and Clinical Characteristics of Diabetes of the Exocrine Pancreas (Type 3c): A Retrospective Cohort Study. *Diabetes Care* 2017;40:1486-1493. 20
9. Jenkinson C, Elliott V, Menon U, et al. Evaluation in pre-diagnosis samples discounts ICAM-1 and TIMP-1 as biomarkers for earlier diagnosis of pancreatic cancer. *J Proteomics* 2014;113C:400-402.
10. O'Brien DP, Sandanayake NS, Jenkinson C, et al. Serum CA19-9 is significantly upregulated up to 2 years before diagnosis with pancreatic cancer: implications for early disease detection. *Clin Cancer Res* 2015;21:622-31. 30
11. Sinclair J, Timms JF. Quantitative profiling of serum samples using TMT protein labelling, fractionation and LC-MS/MS. *Methods* 2011;54:361-9.
12. Tonack S, Jenkinson C, Cox T, et al. iTRAQ reveals candidate pancreatic cancer serum biomarkers: influence of obstructive jaundice on their performance. *Br J Cancer* 2013;108:1846-53. 40
13. Tonack S, Neoptolemos JP, Costello E. Analysis of serum proteins by LC-MS/MS. *Methods Mol Biol* 2010;658:281-91.
14. Tonack S, Aspinall-O'Dea M, Jenkins RE, et al. A technically detailed and pragmatic protocol for quantitative serum proteomics using iTRAQ. *J Proteomics* 2009;73:352-6.
15. Yan L, Tonack S, Smith R, et al. Confoundi 50

ng effect of obstructive jaundice in the interpretation of proteomic plasma profiling data for pancreatic cancer. *J Proteome Res* 2009;8:142-8.

16. Kawada T, Hasegawa M. Predictive ability of serum high-molecular-weight adiponectin in combination with serum insulin and serum C-reactive protein for the presence of metabolic syndrome. *Ann Hum Biol* 2012;39:108-12. 10

17. Herder C, Carstensen M, Ouwens DM. Anti-inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes. *Diabetes Obesity & Metabolism* 2013;15:39-50.

18. Anderson SG, Dunn WB, Banerjee M, et al. Evidence That Multiple Defects in Lipid Regulation Occur before Hyperglycemia during the Prodrome of Type-2 Diabetes. *Plos One* 2014;9. 20

19. Marculescu R, Endler G, Schillinger M, et al. Interleukin-1 receptor antagonist genotype is associated with coronary atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51:3582-5. 20

20. Shaw VE, Lane B, Jenkinson C, et al. Serum cytokine biomarker panels for discriminating pancreatic cancer from benign pancreatic disease. *Molecular Cancer* 2014;13.

ADDIN EN.REFLIST 21. Zwiach R. Predictive value of conjointly examined IL-1ra, TNF-R I, TNF-R II, and RANTES in patients with primary glomerulonephritis. *J Korean Med Sci*. 2013;28(2):261-7. 30

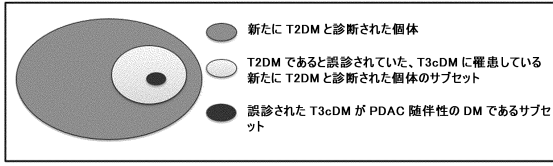
ADDIN EN.REFLIST 22. Karpenko MN, Vasilishina AA, Gromova EA, Muruzheva ZM, Miliukhina IV, Bernadotte A. Interleukin-1beta, interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-6, interleukin-10, and tumor necrosis factor-alpha levels in CSF and serum in relation to the clinical diversity of Parkinson's disease. *Cell Immunol*. 2018;327:77-82. 40

23. Arnalich F, Lopez J, Codoceo R, Jimenez M, Madero R, Montiel C. Relationship of plasma leptin to plasma cytokines and human survival in sepsis and septic shock. *The Journal of infectious diseases*. 1999;180(3):908-11.

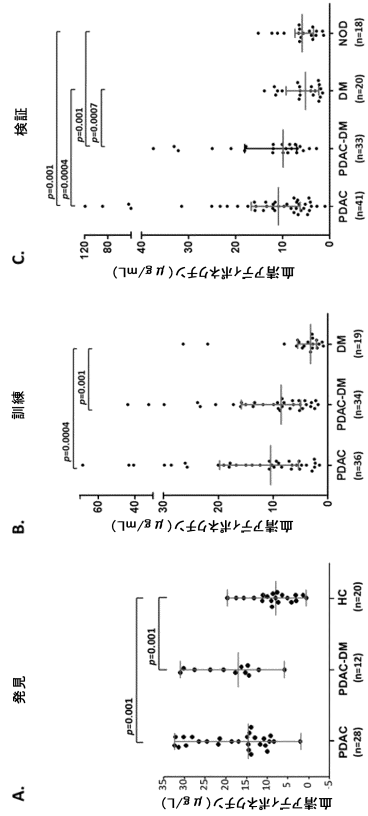
24. Zwiach R. Predictive value of conjointly examined IL-1ra, TNF-R I, TNF-R II, and RANTES in patients with primary glomerulone 50

【図面】

【図1】



【図2】



10

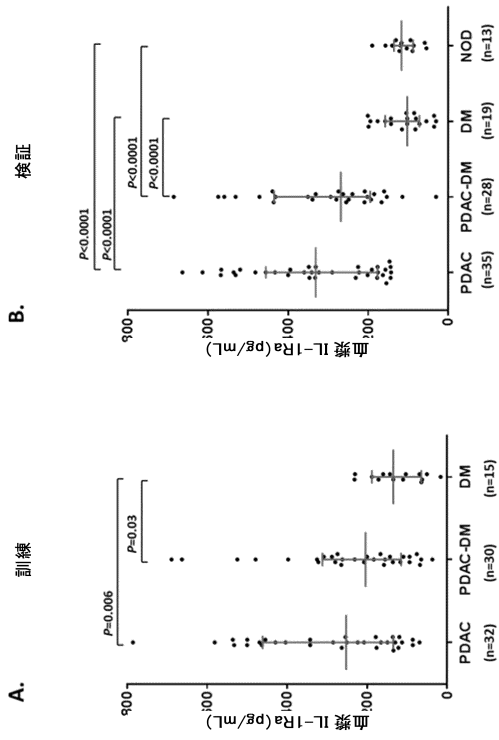
20

30

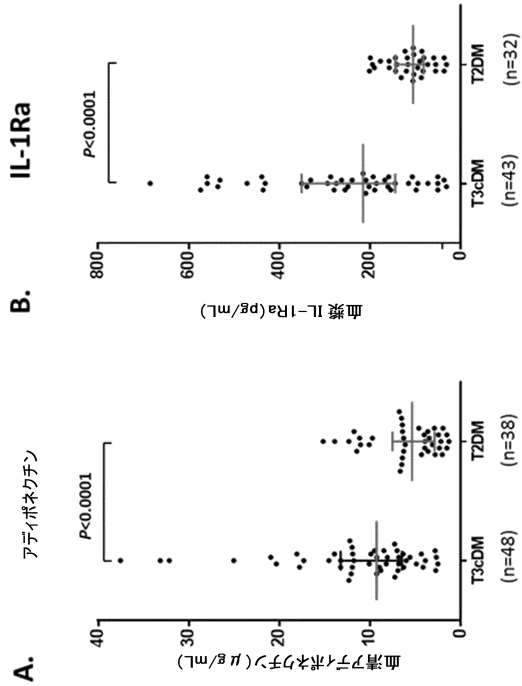
40

50

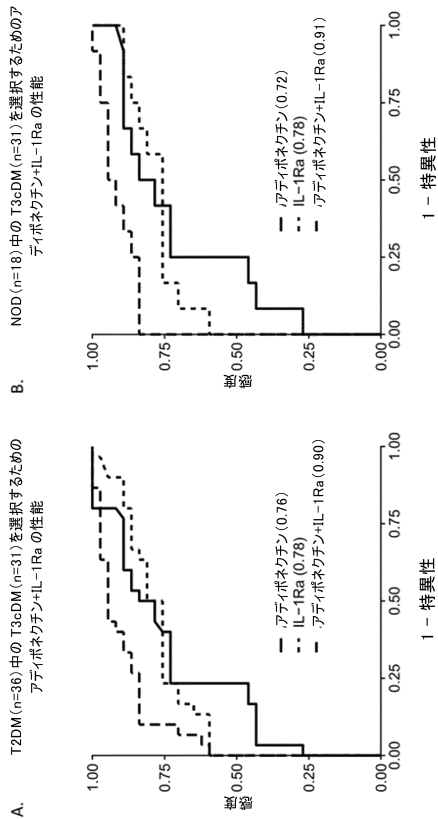
【 図 3 】



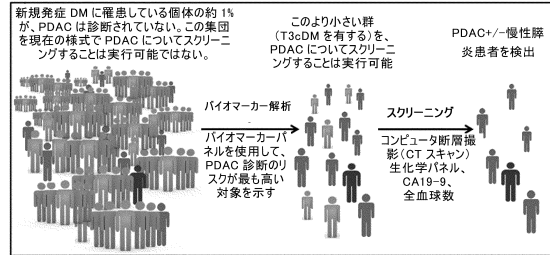
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



10

20

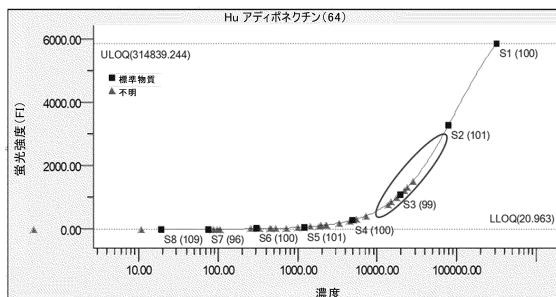
30

40

50

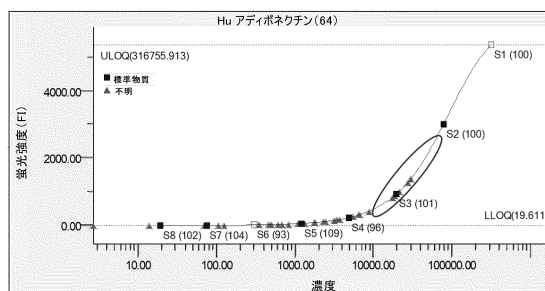
【 図 7 】

プレート 1



【 図 8 】

プレート 2



10

【 配列表 】

0007660077000001.app

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 K 31/282(2006.01)
 A 6 1 K 31/4745(2006.01)
 A 6 1 K 45/00 (2006.01)
 A 6 1 K 31/513(2006.01)
 A 6 1 K 31/7068(2006.01)
 A 6 1 K 31/337(2006.01)
 A 6 1 K 31/519(2006.01)
 C 1 2 N 15/12 (2006.01)
 C 0 7 K 14/575(2006.01)

F I

A 6 1 K 31/282
 A 6 1 K 31/4745
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 K 31/513
 A 6 1 K 31/7068
 A 6 1 K 31/337
 A 6 1 K 31/519
 C 1 2 N 15/12
 C 0 7 K 14/575

Z N A

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

(74)代理人 100143823

弁理士 市川 英彦

(74)代理人 100183519

弁理士 櫻田 芳恵

(74)代理人 100196483

弁理士 川崎 洋祐

(74)代理人 100160749

弁理士 飯野 陽一

(74)代理人 100160255

弁理士 市川 祐輔

(74)代理人 100202267

弁理士 森山 正浩

(74)代理人 100182132

弁理士 河野 隆

(74)代理人 100146318

弁理士 岩瀬 吉和

(74)代理人 100127812

弁理士 城山 康文

(72)発明者 コステロ, エンヤ

イギリス国、エル69・7ゼットエクス・リバプール、ブラウンロウ・ヒル・765、ファウン
 デーション・ビルディング・ザ・ユニバーシティー・オブ・リバプール

(72)発明者 グリーンハルフ, ウィリアム

イギリス国、エル69・7ゼットエクス・リバプール、ブラウンロウ・ヒル・765、ファウン
 デーション・ビルディング・ザ・ユニバーシティー・オブ・リバプール

(72)発明者 オールドフィールド, ルーシー

イギリス国、エル69・7ゼットエクス・リバプール、ブラウンロウ・ヒル・765、ファウン
 デーション・ビルディング・ザ・ユニバーシティー・オブ・リバプール

(72)発明者 ハロラン, クリストファー

イギリス国、エル69・7ゼットエクス・リバプール、ブラウンロウ・ヒル・765、ファウン
 デーション・ビルディング・ザ・ユニバーシティー・オブ・リバプール

(72)発明者 ガネ・ポーラ

イギリス国、エル69・7ゼットエクス・リバプール、ブラウンロウ・ヒル・765、ファウン
 デーション・ビルディング・ザ・ユニバーシティー・オブ・リバプール

審査官 倉持 俊輔

(56)参考文献 特表2014-508298(JP, A)

特表2014-512808(JP, A)

特表2017-532633(JP, A)

特表2009-528507(JP, A)

米国特許出願公開第 2 0 1 7 / 0 3 5 6 9 0 8 (U S , A 1)

国際公開第 0 3 / 0 1 6 9 0 6 (W O , A 1)

特表 2 0 0 7 - 5 2 5 4 1 0 (J P , A)

Ming-Chu CHANG et al. , Adiponectin as a Potential Differential Marker to Distinguish pancreatic Cancer and Chronic Pancreatitis , *Pancreas* , 2007年07月 , Vol.35, No.1 , pp.16-21

Ramesh KHADKA et al. , Risk factor, early diagnosis and overall survival on outcome of association between pancreatic cancer and diabetes mellitus: Changes and advances, a review , *International Journal of Surgery* , 2018年04月 , Vol.52 , pp.342-346

Hye Won CHUNG et al. , Clinical significance of elevated serum soluble CD40 ligand levels as diagnostic and prognostic tumor marker for pancreatic ductal adenocarcinoma , *Journal of Translational Medicine* , 2014年 , Vol.12, No.1 , Article No.102

T . KRECHLER et al. , Leptin and adiponectin in pancreatic cancer: connection with diabetes mellitus , *Neoplasma* , 2011年 , Vol.58, No.1 , pp.58-64

D . DRANKA-BOJAROWSKA et al. , The assessment of serum concentration of adiponectin, leptin and serum carbohydrate antigen 19.9 in patients with pancreatic cancer and chronic pancreatitis , *Journal of Physiology and Pharmacology* , 2015年 , Vol.66, No.5 , pp.653-663

Jan SKRHA et al. , Lower plasma levels of glucose-dependent insulinotropic peptide (GIP) and pancreatic polypeptide (PP) in patients with ductal adenocarcinoma of the pancreas and their relation to the presence of impaired gluco-regulation and weight loss , *Pancreatology* , 2016年12月15日 , Vol.17 , pp.89-94

Kadri COLAKIGLU et al. , Role of adiponectin and leptin as diagnostic markers in pancreatic cancer , *Bratislava Medical Journal* , 2017年07月24日 , Vol.118, No.7 , pp.394-398

C . HERDER et al. , Anti-inflammatory cytokines and risk of type-2 diabetes , *Diabetes, Obesity and Metabolism* , 2013年 , Vol.15, Suppl.3 , pp.39-50

Irini CHATZIRALLI et al. , Model for Risk-Based Screening of Diabetic Retinopathy in People With Newly-Diagnosed Type 2 Diabetes Mellitus , *Investigative ophthalmology & visual science* , 2017年05月01日 , Vol.58, No.6 , BIO99-BIO105

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

G 0 1 N 3 3 / 5 3 , 3 3 / 5 4 3 ,

P u b M e d