

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6715767号
(P6715767)

(45) 発行日 令和2年7月1日(2020.7.1)

(24) 登録日 令和2年6月11日(2020.6.11)

(51) Int.Cl.	F I	
C 1 2 Q 1/6883 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6883	Z N A Z
C 1 2 Q 1/6844 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6844	Z
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
請求項の数 42 (全 105 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-526089 (P2016-526089)	(73) 特許権者	509012625
(86) (22) 出願日	平成26年10月22日 (2014.10.22)		ジェネンテック, インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2017-501680 (P2017-501680A)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ ディーエヌエー
(43) 公表日	平成29年1月19日 (2017.1.19)		ウェイ 1
(86) 国際出願番号	PCT/US2014/061759	(74) 代理人	110002077
(87) 国際公開番号	W02015/061441		園田・小林特許業務法人
(87) 国際公開日	平成27年4月30日 (2015.4.30)	(72) 発明者	アップバス, アレクサンダー アール.
審査請求日	平成29年10月23日 (2017.10.23)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
(31) 優先権主張番号	61/894, 831		80, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
(32) 優先日	平成25年10月23日 (2013.10.23)		ウェイ 1
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(72) 発明者	アーロン, ジョーセフ アール.
			アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
			80, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
			ウェイ 1
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 好酸球性疾患の診断及び治療方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗 I L - 1 3 抗体を含む治療法に対する喘息に罹患した患者の応答を予測する方法において、

患者から得られた生体試料において、C S F 1、M E I S 2、L G A L S 1 2、I D O 1、T H B S 4、O L I G 2、A L O X 1 5、S I G L E C 8、C C L 2 3、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、S O R D、A S B 2、C A C N G 6、G P R 4 4、M G A T 3、S L C 4 7 A 1、S M P D 3、C C R 3、C L C、C Y P 4 F 1 2、及び A B T B 2 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーの m R N A レベルを測定する工程と、

試料中の検出された m R N A レベルを基準レベルと比較する工程と、

試料中の測定された m R N A レベルが基準レベルと比較して上昇しているときに患者が治療法に応答することを予測し、試料中の測定された m R N A レベルが基準レベルと比較して減少しているときに患者が治療法に応答しないことを予測する工程とを含み、

マーカーの 1 つが C S F 1 である、方法。

【請求項 2】

抗 I L - 1 3 抗体による治療に対する喘息患者の応答性を予測する方法において、患者からの生体試料中の C S F 1、M E I S 2、L G A L S 1 2、I D O 1、T H B S 4、O L I G 2、A L O X 1 5、S I G L E C 8、C C L 2 3、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7

、S O R D、A S B 2、C A C N G 6、G P R 4 4、M G A T 3、S L C 4 7 A 1、S M P D 3、C C R 3、C L C、C Y P 4 F 1 2、及びA B T B 2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのm R N Aレベルを測定する工程を含み、基準レベルと比較して上昇したm R N Aレベルが、抗I L - 1 3抗体による治療に応答する可能性がある者として患者を同定し、マーカーの1つがC S F 1である、方法。

【請求項3】

抗I L - 1 3抗体を含む治療法に応答する可能性があるとして喘息に罹患した患者を同定する方法において、

(a) 患者からの生体試料中のC S F 1、M E I S 2、L G A L S 1 2、I D O 1、T H B S 4、O L I G 2、A L O X 1 5、S I G L E C 8、C C L 2 3、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、S O R D、A S B 2、C A C N G 6、G P R 4 4、M G A T 3、S L C 4 7 A 1、S M P D 3、C C R 3、C L C、C Y P 4 F 1 2、及びA B T B 2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのm R N Aレベルを測定する工程と、

(b) (a)において測定されたm R N Aレベルを基準レベルと比較する工程と、

(c) (a)において測定されたm R N Aレベルが基準レベルを越えるときに抗I L - 1 3抗体を含む治療法に応答する可能性があるとして患者を同定する工程とを含み、

マーカーの1つがC S F 1である、方法。

【請求項4】

抗I L - 1 3抗体が、I M A - 0 2 6、I M A - 6 3 8 (アンルキンズマブとも言う、I N N番号9 1 0 6 4 9 - 3 2 - 0 ; Q A X - 5 7 6 ; I L 4 / I L 1 3トラップ)、又はトラロキヌマブ (C A T - 3 5 4とも言う、C A S番号1 0 4 4 5 1 5 - 8 8 - 9) である、請求項1から3の何れか一項に記載の方法。

【請求項5】

抗I L - 1 3抗体が抗I L - 1 3二重特異性抗体である、請求項1から4の何れか一項に記載の方法。

【請求項6】

抗I L - 1 3抗体が、配列番号9、1 9、及び2 1から選択される配列を含むV Hと配列番号1 0、2 0、及び2 2から選択される配列を含むV Lを含む抗体 ; H V R H 1、H V R H 2、H V R H 3、H V R L 1、H V R L 2、及びH V R L 3を含み、各H V Rが配列番号1 1、配列番号1 2、配列番号1 3、配列番号1 4、配列番号1 5、及び配列番号1 6のアミノ酸配列を有する抗I L - 1 3抗体 ; 又はレプリキズマブである、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

m R N Aレベルを測定する工程が、m R N Aを増幅させ、増幅産物を検出して、m R N Aレベルを測定することを含む、請求項1から6の何れか一項に記載の方法。

【請求項8】

基準レベルが基準集団中の各マーカーの中央値レベルである、請求項1から7の何れか一項に記載の方法。

【請求項9】

抗I L - 1 3抗体を含む、患者における喘息の治療のための医薬であって、患者から得られた生体試料は、C S F 1、M E I S 2、L G A L S 1 2、I D O 1、T H B S 4、O L I G 2、A L O X 1 5、S I G L E C 8、C C L 2 3、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、S O R D、A S B 2、C A C N G 6、G P R 4 4、M G A T 3、S L C 4 7 A 1、S M P D 3、C C R 3、C L C、C Y P 4 F 1 2、及びA B T B 2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのm R N Aレベルが基準集団中の各マーカーのm R N Aレベルと比較して上昇したと決定されており、マーカーの1つがC S F 1である、医薬。

【請求項 10】

抗 I L - 13 抗体を含む、患者における喘息の治療のための医薬であって、患者から得られた生体試料中の、C S F 1、M E I S 2、L G A L S 12、I D O 1、T H B S 4、O L I G 2、A L O X 15、S I G L E C 8、C C L 23、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、S O R D、A S B 2、C A C N G 6、G P R 44、M G A T 3、S L C 47 A 1、S M P D 3、C C R 3、C L C、C Y P 4 F 12、及び A B T B 2 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーの m R N A レベルの、基準集団中の各マーカーの m R N A レベルと比較しての上昇に基づいて、患者が治療のために選択されており、マーカーの 1 つが C S F 1 である、医薬。

【請求項 11】

10

m R N A レベルが、増幅を含む方法によって決定されている、請求項 9 又は請求項 10 に記載の医薬。

【請求項 12】

m R N A レベルが、定量的 P C R を含む方法によって決定されている、請求項 11 に記載の医薬。

【請求項 13】

m R N A レベルが、m R N A を増幅させ、増幅産物を検出することを含む方法によって決定されている、請求項 9 から 12 の何れか一項に記載の医薬。

【請求項 14】

基準レベルが基準集団中の各マーカーの中央値レベルである、請求項 9 から 13 の何れか一項に記載の医薬。

20

【請求項 15】

抗 I L - 13 抗体が、I M A - 026、I M A - 638（アンルキンズマブとも言う、I N N 番号 910649-32-0；Q A X - 576；I L 4 / I L 13 トラップ）、又はトラロキヌマブ（C A T - 354 とも言う、C A S 番号 1044515-88-9）である、請求項 9 から 14 の何れか一項に記載の医薬。

【請求項 16】

抗 I L - 13 抗体が、配列番号 9、19、及び 21 から選択される配列を含む V H と配列番号 10、20、及び 22 から選択される配列を含む V L を含む抗体；H V R H 1、H V R H 2、H V R H 3、H V R L 1、H V R L 2、及び H V R L 3 を含み、各 H V R が配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、及び配列番号 16 のアミノ酸配列を有する抗 I L - 13 抗体；又はレプリキズマブである、請求項 9 から 15 の何れか一項に記載の医薬。

30

【請求項 17】

患者に 4 週毎に 37.5 m g、又は 125 m g 又は 250 m g のフラット用量が投与される、請求項 16 に記載の医薬。

【請求項 18】

抗 I L - 13 抗体が皮下投与される、請求項 9 から 17 の何れか一項に記載の医薬。

【請求項 19】

抗 I L - 13 抗体が二重特異性抗 I L - 13 抗体である、請求項 9 から 18 の何れか一項に記載の医薬。

40

【請求項 20】

二重特異性抗 I L - 13 抗体が I L - 13 と I L - 4 に結合する、請求項 19 に記載の医薬。

【請求項 21】

前記少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーが、(a) C S F 1、M E I S 2、C C L 23、H S D 3 B 7、S O R D、C A C N G 6、M G A T 3、S L C 47 A 1、及び A B T B 2；
(b) C S F 1、M E I S 2、L G A L S 12、I D O 1、A L O X 15、S I G L E C 8、C C L 23、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、C A C N G 6、及び G P R 44；

50

(c) C S F 1、C C L 2 3、I D O 1、H S D 3 B 7、及び C A C N G 6 ;
 (d) C S F 1、C C L 2 3、I D O 1、及び C A C N G 6 ;
 (e) C S F 1、H S D 3 B 7、S I G L E C 8、及び G P R 4 4 ; 又は、
 (f) C S F 1、S I G L E C 8、C C L 2 3、C A C N G 6、及び G P R 4 4 から選択される、請求項 9 から 2 0 の何れか一項に記載の医薬。

【請求項 2 2】

mRNA レベルが上昇している場合、患者は好酸球性炎症陽性 (E I P) である、請求項 9 から 2 1 の何れか一項に記載の医薬。

【請求項 2 3】

患者が中等度から重度の喘息に罹患している、請求項 9 から 2 2 の何れか一項に記載の医薬。 10

【請求項 2 4】

喘息がコルチコステロイドでコントロール不良である、請求項 9 から 2 3 の何れか一項に記載の医薬。

【請求項 2 5】

コルチコステロイドが吸入コルチコステロイドである、請求項 2 4 に記載の医薬。

【請求項 2 6】

吸入コルチコステロイドが、キュバール (登録商標)、パルミコート (登録商標)、シンピコート (登録商標)、Aerobid (登録商標)、フロベント (登録商標)、Flonase (登録商標)、アドベア (登録商標) 又はアズマコート (登録商標) である、請求項 2 5 に記載の医薬。 20

【請求項 2 7】

患者が第二コントローラーで治療されている、請求項 9 から 2 6 の何れか一項に記載の医薬。

【請求項 2 8】

第二コントローラーが長時間作用型気管支拡張薬 (L A B D) である、請求項 2 7 に記載の医薬。

【請求項 2 9】

L A B D が、長時間作用型 - 2 アゴニスト (L A B A)、ロイコトリエン受容体アンタゴニスト (L T R A)、長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト (L A M A)、テオフィリン、又は経口コルチコステロイド (O C S) である、請求項 2 8 に記載の医薬。 30

【請求項 3 0】

L A B D が、シンピコート (登録商標)、アドベア (登録商標)、プロバナ (登録商標)、フォラジル (登録商標)、PerforomistTM、又はセレベント (登録商標) である、請求項 2 8 に記載の医薬。

【請求項 3 1】

患者が、0 ~ 1 7 歳、2 ~ 1 7 歳、2 ~ 6 歳、6 ~ 1 1 歳、8 ~ 1 7 歳、1 2 ~ 1 7 歳、2 歳以上、6 歳以上、又は 1 2 歳以上である、請求項 9 から 3 0 の何れか一項に記載の医薬。

【請求項 3 2】 40

生体試料が、血液、血清、血漿及び末梢血単核球 (P B M C) から選択される、請求項 9 から 3 1 の何れか一項に記載の医薬。

【請求項 3 3】

生体試料が P B M C である、請求項 3 2 に記載の医薬。

【請求項 3 4】

抗 I L - 1 3 抗体での治療処置に対する推定レスポnder及びノンレスポnderに喘息患者を層別化するための、喘息患者から得られた生体試料中における C S F 1、M E I S 2、L G A L S 1 2、I D O 1、T H B S 4、O L I G 2、A L O X 1 5、S I G L E C 8、C C L 2 3、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、S O R D、A S B 2、C A C N G 6、G P R 4 4、M G A T 3、S L C 4 7 A 1、S M P D 3、C C R 3、C L C、C Y P 4 F 50

12、及びA B T B 2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定するためのキットであって、
喘息患者から得られた試料における少なくとも一つのマーカーのmRNAレベルを測定するための手段を含み、
マーカーの1つがCSF1である、キット。

【請求項35】

キットが、

a) 喘息患者から得られた試料中の前記少なくとも一つのマーカーのmRNAレベルを測定するための手段を含み、

b) a) で決定された前記少なくとも一つのマーカーのレベルが基準レベルと比較され、

c) 前記患者が、b) で得られた比較に基づいてレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化される、請求項34に記載のキット。

【請求項36】

少なくとも一つのマーカーのmRNAレベルが基準レベルを越えている場合、患者がレスポnderのカテゴリーに層別化される、請求項35に記載のキット。

【請求項37】

少なくとも一つのマーカーのレベルが基準レベルを越えている場合、患者は好酸球性炎症陽性(EIP)である、請求項35又は請求項36に記載のキット。

【請求項38】

患者がEIPである場合、抗IL-13抗体を含む治療法が選択される、請求項37に記載のキット。

【請求項39】

喘息患者を層別化するためのキットであって、

a) 患者から得られた試料中におけるCSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びA B T B 2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのmRNAレベルを測定するための試薬と、

b) (i) 前記少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのmRNAレベルを測定し、(ii) 前記少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを基準レベルと比較し、(iii) 前記比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化するための、指示書とを含み、

マーカーの1つがCSF1である、キット。

【請求項40】

キットが、患者が(a) EIPであるか若しくはEINであるか；又は(b) 抗IL-13抗体に応答する可能性があるかどうかを決定するためのパッケージ挿入物を含む、請求項39に記載のキット。

【請求項41】

重篤な増悪を被る可能性がある喘息患者を同定する方法において、

患者から得られる生体試料において、CSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びA B T B 2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのmRNAレベルを測定する工程と、

試料中の検出されたmRNAレベルを基準レベルと比較する工程と、

試料中の測定されたmRNAレベルが基準レベルと比較して上昇している場合に患者が

10

20

30

40

50

重篤な増悪を被る可能性があると予測する工程と
を含み、
マーカーの1つがCSF1である、方法。

【請求項42】

重篤な増悪を被る可能性のある喘息患者を同定する方法において、

(a) 患者からの生体試料中におけるCSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのmRNAレベルを測定する工程と、

(b) (a) で測定されたmRNAレベルを基準レベルと比較する工程と、

(c) (a) で測定されたmRNAレベルが基準レベルを越えている場合に重篤な増悪を被る可能性が高いとして患者を同定する工程と
を含み、
マーカーの1つがCSF1である、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願とのクロスリファレンス)

この出願は、その全体が出典明示によりここに援用される2013年10月23日出願の米国仮出願第61/894831号の優先権の利益を主張する。

【0002】

(配列表)

本出願は、EFS-Web経由で提出され、その全体が出典明示によりここに援用される配列表を含む。前記ASCIIコピーは、2014年10月3日に作成され、P5689R1-WO__SL.txtと命名され、25035バイトのサイズである。

【0003】

(分野)

喘息を含むがこれに限定されない過剰な好酸球数又は活性に関連する疾患を診断し治療する方法が提供される。また提供されるのは、TH2経路阻害剤である所定の治療薬による治療のために患者を選択するか又は同定する方法である。

【背景技術】

【0004】

喘息は世界的に発生率が増加している複雑な病気である。数あるイベントのなかでも、好酸球性炎症が喘息患者の気道において報告されている。疾患の病態生理は、可変気道閉塞、気道炎症、粘液過分泌、及び上皮下線維症によって特徴付けられる。臨床的には、患者は咳、喘鳴、及び息切れを示す場合がある。多くの患者が現在利用可能な治療法で十分に治療されているが、幾らかの喘息患者は、現在の治療法の使用にもかかわらず、持続的な疾患を患っている。

【0005】

喘息の治療のため、多くの薬剤が市販され又は開発中である。喘息治療のための標的には、IL-13、IL-17、IL-5、及びIL-4のようなサイトカイン並びにIgEのようなアレルギーに関連した標的が含まれる。喘息の治療のための市販の例示的治療分子及び開発中の治療薬候補には、限定されないが、オマリズマブ(XOLAIR(登録商標))(可溶性IgEを標的)(例えばChang等, J Allergy Clin Immunol. 117 (6): 1203-12 (2006); Winchester等, N. Engl. J. Med. 355 (12): 1281-2 (2006); Brodli等, Arch Dis Child. 97 (7): 604-9 (2012); Bousquet等, Chest 125 (4): 1378-86 (2004); Schulman, ES, Am J Respir Crit Care Med. 164 (8 Pt 2): S6-11 (2001); Chang

10

20

30

40

50

等, Adv Immunol. 93: 63-119 (2007)を参照)、レプリキズマブ(I L - 1 3 を標的)(例えばCorren等(2011) N Engl J Med 365: 1088-98 ; Scheerens等(2012) Am J Respir Crit Care Med 185: A3960 ; Jia等(2012) J Allergy Clin Immunol 130: 647-654 e10 ; 国際公開第 2 0 1 2 / 0 8 3 1 3 2 号を参照)、メポリズマブ(I L - 5 を標的)(例えばHalidar等, N Engl J Med. 2009 Mar 5;360(10):973-84 ; Nair等, N Engl J Med. 2009 Mar 5;360(10):985-93 ; Pavord等, The Lancet 380 (9842): 651-659, doi:10.1016/S0140-6736(12)60988-Xを参照)、及びキリズマブ(膜結合型 I g E を標的)(例えば米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 2 4 3 7 5 0 号を参照)が含まれる。

【 0 0 0 6 】

ヒト喘息は気道における好酸球性炎症及び2型サイトカイン発現によって特徴付けられるアレルギー疾患と一般に見なされているが、気道炎症に関して明らかに異種性である。ゲノムアプローチでは、2型サイトカイン発現及び好酸球性炎症の度合いに対応する異種性遺伝子発現パターンが喘息気道において同定された。これらの遺伝子発現パターンにより、気管支鏡検査又は喀痰誘発法を必要としない好酸球性気道炎症の候補バイオマーカーの同定がなされた。2型気道炎症のメディエーターを標的とする生物学的候補治療法が、近年、中程度から重度の喘息患者における臨床試験を通じて進展した。血清ペリオスチン、呼気一酸化窒素濃度(F E _{N O})、及び血中好酸球数が、I L - 1 3、I L - 5、及びI g E を標的とする生物学的治療法の臨床試験における臨床的有用性のため充実されうる潜在的な予測及び薬力学的バイオマーカーとして現れたバイオマーカーである。Arron等, 2013, DOI: 10.1513/AnnalsATS.201303-047AW。

【 0 0 0 7 】

上で検討されたようなバイオマーカーは特定の治療処置に応答する可能性が高いかも知れない喘息患者の同定の可能性を証明したが、今日まで、検証され規制当局によってそのような使用が承認されたものはない。また、過去に同定されたバイオマーカーには、例えばバイオマーカーを測定する特定の装置の必要性、顕著な患者内又は患者間変動、又は発育中に変わりうる(例えば成人レベルに比較した小児レベル)か又は喘息を越えた更なる疾患に関連しているかも知れないバイオマーカーレベル等の、ある種の実際的制限及びその使用に関連した交絡要因がある場合があった。また、臨床医等が喘息の病態生理側面、臨床活動、治療法に対する応答、予後、又は疾患発症リスクを精確に定義することを可能にする臨床的に検証された診断マーカー、例えばバイオマーカーは同定されていない。従って、喘息患者が治療を求めているので、特定の患者に対して効果的な治療薬の探索に関連したかなりの試行錯誤が今も存在する。そのような試行錯誤は、しばしばかなりのリスクを伴い、最も効果的な治療法を見出すために患者に不快感を与える。

【 0 0 0 8 】

よって、どの喘息患者と、例えば限定されないが、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、鼻茸、好酸球性食道炎、好酸球増加症候群のような他のアトピー性又は好酸球性疾患に罹患している患者がどの治療に応答するかを決定し、そのような決定を喘息と他の好酸球性疾患の患者のためのより効果的な治療レジメンに組み入れるのに効果的である新規バイオマーカーを同定するための必要性が継続して存在している。また、そのようなバイオマーカーと疾患状態との関連性に関する統計的かつ生物学的に有意で再現性のある情報は、特定の治療剤での治療から有意に恩恵を受けることが期待されるであろう特定の患者サブセットを、例えば治療剤がそのような特定の患者亜集団において治療的に有益であるか又は有益であると臨床試験において示された場合に同定する取り組みにおいて不可欠な要素として利用することができるであろう。

【 0 0 0 9 】

ここに記載された発明は上述の必要性の所定のものを満たし、また他の有益性をもたらす。

【発明の概要】

【 0 0 1 0 】

この出願は、T H 2 経路を阻害するための治療薬と、それを使用するより良好な方法を

10

20

30

40

50

提供する。この出願は、場合によってはＴＨ２経路阻害剤を用いての疾患の治療に使用するための、疾患を診断する良好な方法をまた提供する。

【００１１】

ここに提供される治療及び診断の方法は、喘息、好酸球性疾患、呼吸器疾患、ＩＬ－１３媒介性疾患及び／又はＩｇＥ媒介性疾患、又はそれら疾患に関連する症状に罹患した患者に適用することができる。喘息とは診断されなかった患者を含む喘息様の症状を患っている患者を、ここで提供される方法によって治療することができる。

【００１２】

一実施態様によれば、ここに提供される方法に従って治療される患者は、喘息、好酸球性疾患、呼吸器疾患、ＩＬ－１３媒介性疾患及び／又はＩｇＥ媒介性疾患、又はこれら疾患に関連した症状に罹患し、かつがん及び／又は腫瘍に罹患していない。別の実施態様によれば、ここに提供される方法に従って治療される患者は、喘息、好酸球性疾患、呼吸器疾患、ＩＬ－１３媒介性疾患及び／又はＩｇＥ媒介性疾患、又はこれら疾患に関連した症状に罹患しており、２歳以上、１２歳以上、１８歳以上、１９歳以上、２から１８歳の間、２から１７歳の間、又は１２～１７歳の間、又は１２から１８歳の間、２から７５歳の間、１２から７５歳の間、又は１８から７５歳の間である。

【００１３】

幾つかの実施態様では、好酸球性炎症の診断アッセイ（ＥＩＤＡ）が提供される。

【００１４】

幾つかの実施態様では、ＴＨ２経路阻害剤による治療に応答する可能性がある喘息患者又は呼吸器疾患患者を同定する方法が提供される。幾つかの実施態様では、該方法は、好酸球性炎症の診断アッセイ（ＥＩＤＡ）を使用して、患者が好酸球性炎症陽性（ＥＩＰ）であるかを決定することを含み、ここでＥＩＰ状態は患者がＴＨ２経路阻害剤による治療に応答する可能性があることを示す。

【００１５】

幾つかの実施態様では、重度の増悪に罹患する可能性がある喘息患者又は呼吸器疾患患者を同定する方法が提供される。幾つかの実施態様では、該方法は、好酸球性炎症の診断アッセイ（ＥＩＤＡ）を使用して、患者が好酸球性炎症陽性（ＥＩＰ）であるかを決定することを含み、ここでＥＩＰ状態は患者が重度の増悪の増加に罹患する可能性があることを示す。幾つかの実施態様では、該方法は、患者から生体試料を得る工程と、ＣＳＦ１、ＭＥＩＳ２、ＬＧＡＬＳ１２、ＩＤＯ１、ＴＨＢＳ４、ＯＬＩＧ２、ＡＬＯＸ１５、ＳＩＧＬＥＣ８、ＣＣＬ２３、ＰＹＲＯＸＤ２、ＨＳＤ３Ｂ７、ＳＯＲＤ、ＡＳＢ２、ＣＡＣＮＧ６、ＧＰＲ４４、ＭＧＡＴ３、ＳＬＣ４７Ａ１、ＳＭＰＤ３、ＣＣＲ３、ＣＬＣ、ＣＹＰ４Ｆ１２、及びＡＢＴＢ２から選択される試料中の少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのｍＲＮＡレベルを測定する工程と、試料中の検出されたｍＲＮＡレベルを基準レベルと比較する工程と、試料中の測定されたｍＲＮＡレベルが基準レベルと比較して上昇しているときに患者が重度の増悪を被る可能性があることを予測する工程を含む。幾つかの実施態様では、該方法は、（ａ）患者からの生体試料中のＣＳＦ１、ＭＥＩＳ２、ＬＧＡＬＳ１２、ＩＤＯ１、ＴＨＢＳ４、ＯＬＩＧ２、ＡＬＯＸ１５、ＳＩＧＬＥＣ８、ＣＣＬ２３、ＰＹＲＯＸＤ２、ＨＳＤ３Ｂ７、ＳＯＲＤ、ＡＳＢ２、ＣＡＣＮＧ６、ＧＰＲ４４、ＭＧＡＴ３、ＳＬＣ４７Ａ１、ＳＭＰＤ３、ＣＣＲ３、ＣＬＣ、ＣＹＰ４Ｆ１２、及びＡＢＴＢ２から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのｍＲＮＡレベルを測定する工程と、（ｂ）（ａ）において測定されたｍＲＮＡレベルを基準レベルと比較する工程と、（ｃ）（ａ）において測定されたｍＲＮＡレベルが基準レベルを越えるときに重度の増悪を被る可能性がある患者を同定する工程とを含む。幾つかの実施態様では、ｍＲＮＡレベルを測定する工程は増幅を含む。幾つかの実施態様では、ｍＲＮＡレベルを測定する工程は定量的ＰＣＲを含む。幾つかの実施態様では、ｍＲＮＡレベルを測定する工程は、ｍＲＮＡを増幅させ、増幅産物を検出して、ｍＲＮＡレベルを測定することを含む。幾つかの実施態様では、基準レベルは基準集団中の各マーカーの中央値レベルである。幾つかの実施態様では、少なくとも

10

20

30

40

50

一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーは、CSF1、MEIS2、CCL23、HSD3B7、SORD、CACNG6、MGAT3、SLC47A1、及びABTB2から選択される。幾つかの実施態様では、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーは、MEIS2、LGALS12、IDO1、ALOX15、SINGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、CACNG6、及びGPR44から選択される。幾つかの実施態様では、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーは、CCL23、IDO1、HSD3B7、及びCACNG6から選択される。幾つかの実施態様では、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つのマーカーは、CCL23、IDO1、及びCACNG6から選択される。幾つかの実施態様では、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つのマーカーは、HSD3B7、SINGLEC8、及びGPR44から選択される。幾つかの実施態様では、少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つのマーカーは、SINGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される。

10

【0016】

幾つかの実施態様では、TH2経路阻害剤による治療にตอบสนองする可能性が少ない喘息患者又は呼吸器疾患患者を同定する方法が提供される。幾つかの実施態様では、該方法は、好酸球性炎症の診断アッセイ(EIDA)を使用して、患者が好酸球性炎症陰性(EIN)であるかを決定することを含み、ここでEIN状態は患者がTH2経路阻害剤による治療にตอบสนองする可能性が少ないことを示す。

【0017】

20

幾つかの実施態様では、TH2経路阻害剤により治療されている喘息患者をモニタリングする方法が提供される。幾つかの実施態様では、該方法は、好酸球性炎症の診断アッセイ(EIDA)を使用して、患者が好酸球性炎症陽性(EIP)であるか又は好酸球性炎症陰性(EIN)であるかを決定することを含む。幾つかの実施態様では、該方法は、TH2経路阻害剤の治療レジメンを決定することを更に含む。幾つかの実施態様では、EIPの決定は、TH2経路阻害剤による治療を継続することを示し、EINの決定はTH2経路阻害剤による治療を中止することを示す。

【0018】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、EIDAは、a)患者から得られた試料中のCSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SINGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定する工程と、b)工程a)において決定された少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを基準レベルと比較する工程を含みうる。幾つかの実施態様では、EIDAは、c)工程b)で得られた比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化する工程を更に含む。幾つかの実施態様では、方法は、患者がレスポnderである場合にTH2経路阻害剤を含む治療法を選択することを更に含む。上記実施態様の幾つかでは、EIDAは、SINGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つのマーカーのレベルを決定することを含む。

30

40

【0019】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、EIDAは、a)患者から得られた試料中のCSF1、MEIS2、CCL23、HSD3B7、SORD、CACNG6、MGAT3、SLC47A1、及びABTB2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定する工程と、b)工程a)において決定された少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを基準レベルと比較する工程を含みうる。幾つかの実施態様では、EIDAは、c)工程b)で得られた比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別

50

化する工程を更に含む。幾つかの実施態様では、方法は、患者がレスポnderである場合にTH2経路阻害剤を含む治療法を選択することを更に含む。

【0020】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、EIDAは、a)患者から得られた試料中のMEIS2、LGALS12、IDO1、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定する工程と、b)工程a)において決定された少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを基準レベルと比較する工程を含みうる。幾つかの実施態様では、EIDAは、c)工程b)で得られた比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化する工程を更に含む。幾つかの実施態様では、方法は、患者がレスポnderである場合にTH2経路阻害剤を含む治療法を選択することを更に含む。上記実施態様の幾つかでは、EIDAは、SIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つのマーカーのレベルを決定することを含む。

10

【0021】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、EIDAは、a)患者から得られた試料中のCCL23、IDO1、HSD3B7、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定する工程と、b)工程a)において決定された少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを基準レベルと比較する工程を含みうる。幾つかの実施態様では、EIDAは、c)工程b)で得られた比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化する工程を更に含む。幾つかの実施態様では、方法は、患者がレスポnderである場合にTH2経路阻害剤を含む治療法を選択することを更に含む。

20

【0022】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、EIDAは、a)患者から得られた試料中のCCL23、IDO1、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定する工程と、b)工程a)において決定された少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを基準レベルと比較する工程を含みうる。幾つかの実施態様では、EIDAは、c)工程b)で得られた比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化する工程を更に含む。幾つかの実施態様では、方法は、患者がレスポnderである場合にTH2経路阻害剤を含む治療法を選択することを更に含む。

30

【0023】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、EIDAは、a)患者から得られた試料中のHSD3B7、SIGLEC8、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定する工程と、b)工程a)において決定された少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを基準レベルと比較する工程を含みうる。幾つかの実施態様では、EIDAは、c)工程b)で得られた比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化する工程を更に含む。幾つかの実施態様では、方法は、患者がレスポnderである場合にTH2経路阻害剤を含む治療法を選択することを更に含む。

40

【0024】

幾つかの実施態様では、TH2経路阻害剤を含む治療法に対する喘息又は呼吸器疾患に罹患した患者の応答を予測する方法が提供される。幾つかの実施態様では、該方法は、患者から生体試料を得る工程と、CSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される試料中の少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのmRNAレ

50

ベルを測定する工程を含む。幾つかの実施態様では、該方法は、試料中の検出されたmRNAレベルを基準レベルと比較する工程を含む。幾つかの実施態様では、該方法は、試料中の測定されたmRNAレベルが基準レベルと比較して上昇しているときに患者が治療法に反応することを予測し、試料中の測定されたmRNAレベルが基準レベルと比較して減少しているときに患者が治療法に反応しないことを予測する工程を含む。上記実施態様の幾つかでは、SIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つのマーカーのmRNAレベルが測定される。

【0025】

幾つかの実施態様では、TH2経路阻害剤治療に対する喘息患者又は呼吸器疾患患者の反応性を予測する方法が提供される。幾つかの実施態様では、該方法は、患者から生体試料中のCSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される試料中の少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのmRNAレベルを測定する工程を含む。幾つかの実施態様では、基準レベルと比較して上昇したmRNAレベルが、TH2経路阻害剤による治療に反応する可能性がある者として患者を特定する。上記実施態様の幾つかでは、SIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つのマーカーのmRNAレベルが測定される。

【0026】

幾つかの実施態様では、TH2経路阻害剤を含む治療法に反応する可能性があるとして喘息又は呼吸器疾患に罹患した患者を同定する方法が提供される。幾つかの実施態様では、該方法は、患者から生体試料中のCSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される試料中の少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのmRNAレベルを測定する工程を含む。幾つかの実施態様では、該方法は、測定されたmRNAレベルを基準レベルと比較することを更に含む。幾つかの実施態様では、該方法は、測定されたmRNAレベルが基準レベルを越えているとき、TH2経路阻害剤を含む治療法に反応する可能性があるとして患者を同定することを含む。上記実施態様の幾つかでは、SIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つのマーカーのmRNAレベルが測定される。

【0027】

幾つかの実施態様では、喘息又は呼吸器疾患に罹患した患者を治療する方法が提供される。幾つかの実施態様では、該方法は、患者からの生体試料中のCSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのmRNAレベルを測定する工程を含む。幾つかの実施態様では、該方法は、測定されたmRNAレベルを基準レベルと比較する工程を含む。幾つかの実施態様では、該方法は、測定されたmRNAレベルが基準レベルを越えるときにTH2経路阻害剤を含む治療法に反応する可能性があるとして患者を同定する工程を含む。幾つかの実施態様では、該方法は、測定されたmRNAレベルが基準レベルを越えるときに治療法を施して、喘息又は呼吸器疾患を治療する工程を含む。上記実施態様の幾つかでは、SIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくと

も二つ、少なくとも三つ、又は四つのマーカーのmRNAレベルが測定される。

【0028】

幾つかの実施態様では、患者における喘息又は呼吸器疾患を治療する方法は、治療有効量のTH2経路阻害剤を患者に投与することを含み、ここで、患者から得られた生体試料において、CSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのmRNAレベルが上昇したと決定されている。上記実施態様の幾つかでは、SIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つのマーカーの上昇したmRNAレベルが測定されている。

10

【0029】

幾つかの実施態様では、患者における喘息又は呼吸器疾患を治療する方法は、治療有効量のTH2経路阻害剤を患者に投与することを含み、CSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーの患者から得られた生体試料中の上昇したmRNAレベルに基づいて、治療される患者が選択されている。上記実施態様の幾つかでは、SIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つのマーカーの上昇したmRNAレベルが決定されている。

20

【0030】

ここに記載された方法の何れかにおいて、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーはCSF1、MEIS2、CCL23、HSD3B7、SORD、CACNG6、MGAT3、SLC47A1、及びABTB2から選択されうる。ここに記載された方法の何れかにおいて、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーは、MEIS2、LGALS12、IDO1、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、CACNG6、及びGPR44から選択されうる。ここに記載された方法の何れかにおいて、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーは、CCL23、IDO1、HSD3B7、及びCACNG6から選択されうる。ここに記載された方法の何れかにおいて、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つのマーカーは、CCL23、IDO1、及びCACNG6から選択されうる。ここに記載された方法の何れかにおいて、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つのマーカーは、HSD3B7、SIGLEC8、及びGPR44から選択されうる。ここに記載された方法の何れかにおいて、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカー又は四つのマーカーはSIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択されうる。

30

【0031】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、少なくとも一つのマーカーのレベルを決定する工程は、増幅を含みうる。ここに記載の実施態様の何れかにおいて、少なくとも一つのマーカーのレベルを決定する工程は、RT-PCRを含みうる。ここに記載の実施態様の何れかにおいて、少なくとも一つのマーカーのレベルを決定する工程は、定量的PCRを含みうる。ここに記載の実施態様の何れかにおいて、mRNAレベルを測定する工程は、mRNAを増幅させ、増幅産物を検出し、それによってmRNAのレベルを測定する工程を含みうる。

40

【0032】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、基準レベルは、基準集団における各マーカーの中央値、平均値、又は平均レベルでありうる。ここに記載の実施態様の何れかにおいて

50

、基準レベルは、基準集団における各マーカーの中央値レベルでありうる。ここに記載の実施態様の何れかにおいて、基準レベルは、基準集団における各マーカーの平均値レベルでありうる。ここに記載の実施態様の何れかにおいて、基準レベルは、基準集団における各マーカーの平均レベルでありうる。非限定的な例示的基準集団は、喘息の患者、中程度から重度の喘息の患者、健康な個体、及び健康な個体と喘息の患者を含むグループを含む。幾つかの実施態様では、基準集団は中程度から重度の喘息の患者を含む。更なる非限定的な例示的基準集団は、好酸球性疾患（ここに記載の好酸球性疾患を含む）の患者、例えばアトピー性皮膚炎の患者、アレルギー性鼻炎の患者、鼻茸の患者、好酸球性食道炎の患者、好酸球増加症候群の患者等々を含む。

【0033】

10

幾つかの実施態様では、少なくとも一つのマーカーのレベルが基準レベルを越えている場合、患者はレスポnderのカテゴリに層別化される。幾つかの実施態様では、少なくとも一つのマーカーのレベルが基準レベルを越えている場合、患者は好酸球性炎症陽性（EIP）である。

【0034】

幾つかの実施態様では、生体試料は、血液、血清、血漿、及び末梢血単核球（PBM C）から選択される。幾つかの実施態様では、生体試料はPBM Cである。幾つかの実施態様では、生体試料は喘息患者から得られる。所定の実施態様では、上述の方法に係る患者は中程度から重度の喘息に罹患している。所定の実施態様では、喘息又は呼吸器疾患はコルチコステロイドでコントロール不良である。所定の実施態様では、コルチコステロイドは吸入コルチコステロイドである。所定の実施態様では、吸入コルチコステロイドは、キュバル（登録商標）、パルミコート（登録商標）、シンピコート（登録商標）、A e r o b i d（登録商標）、フロベント（登録商標）、フルナーゼ（登録商標）、アドベア（登録商標）又はアズマコート（登録商標）である。所定の実施態様では、患者はまた、第二コントローラーで治療されている。所定の実施態様では、第二コントローラーは長時間作用型気管支拡張薬（LABD）である。所定の実施態様では、LABDは長時間作用型 2 アゴニスト（LABA）、ロイコトリエン受容体アンタゴニスト（LTRA）、長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト（LAMA）、テオフィリン、又は経口コルチコステロイド（OCS）である。所定の実施態様では、LABDはシンピコート（登録商標）、アドベア（登録商標）、プロバナ（登録商標）、フォラジル（登録商標）、P e r f o r o m i s tTM、又はセレベント（登録商標）である。

20

30

【0035】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、患者は0～17歳、2～17歳、2～6歳、6～11歳、8～17歳、12～17歳、2歳以上、6歳以上、又は12歳以上でありうる。幾つかの実施態様では、患者は18歳以上である。ここに記載の実施態様の何れかにおいて、患者はヒトでありうる。

【0036】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、TH2経路阻害剤は、標的ITK、BTk、IL-9（例えばMEDI-528）、IL-5（例えばメボリズマブ、CAS番号196078-29-2；レシリズマブ（resilizumab））、IL-13（例えばIMA-026、IMA-638（アンルキンズマブとも言う、INN番号910649-32-0；QAX-576；IL4/IL13トラップ）、トラロキヌマブ（CAT-354とも言う、CAS番号1044515-88-9）；AER-001、ABT-308（ヒト化13C5.5抗体とも言う）、IL-4（例えばAER-001、IL4/IL13トラップ）、OX40L、TSLP、IL-25、IL-33及びIgE（例えばXOLAIR（登録商標）、QGE-031；MEDI-4212；キリズマブ）；及び受容体、例えばIL-9受容体、IL-5受容体（例えば、MEDI-563（ベンラリズマブ、CAS番号1044511-01-4）、IL-4受容体（例えばAMG-317、AIR-645、デュピルマブ）、IL-13受容体 1（例えばR-1671）及びIL-13受容体 2、OX40、TSLP-R、IL-7Rアルファ（TSLP

40

50

の共受容体)、I L 1 7 R B (I L - 2 5 の受容体)、S T 2 (I L - 3 3 の受容体)、C C R 3、C C R 4、C R T H 2 (例えばA M G - 8 5 3、A P 7 6 8、A P - 7 6 1、M L N 6 0 9 5、A C T 1 2 9 9 6 8)、F c e p s i l o n R I、F c e p s i l o n R I I / C D 2 3 (I g E の受容体)、F l a p (例えばG S K 2 1 9 0 9 1 5)、S y k キナーゼ (R - 3 4 3、P F 3 5 2 6 2 9 9) ; C C R 4 (A M G - 7 6 1)、T L R 9 (Q A X - 9 3 5) を阻害しうるか、又はC C R 3、I L 5、I L 3、G M - C S F の多重サイトカイン阻害剤 (例えばT P I A S M 8) である。

【 0 0 3 7 】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、T H 2 経路阻害剤は、抗 I L 1 3 / I L 4 経路阻害剤又は抗 I g E 結合剤でありうる。ここに記載の実施態様の何れかにおいて、T H 2 経路阻害剤は抗 I L - 1 3 抗体でありうる。所定の実施態様では、抗 I L - 1 3 抗体は、配列番号 9、19、及び 21 から選択される配列を含む V H と配列番号 10、20、及び 22 から選択される配列を含む V L を含む抗体、H V R H 1、H V R H 2、H V R H 3、H V R L 1、H V R L 2、及び H V R L 3 を含み、各 H V R が配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、及び配列番号 16 のアミノ酸配列を有する抗 I L - 1 3 抗体、又はレプリキズマブである。

【 0 0 3 8 】

幾つかの実施態様では、患者に 4 週毎に 37.5 mg、又は 125 mg 又は 250 mg のフラット用量が投与される。幾つかの実施態様では、抗 I L - 1 3 抗体が皮下投与される。幾つかの実施態様では、抗 I L - 1 3 抗体が、予め充填されたシリンジ又は自動注入装置を使用して投与される。

【 0 0 3 9 】

所定の実施態様では、抗 I L - 1 3 抗体は二重特異性抗体である。所定の実施態様では、抗 I L - 1 3 抗体は、I L - 4 にもまた結合する二重特異性抗体である。

【 0 0 4 0 】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、T H 2 経路阻害剤は抗 I g E 抗体でありうる。所定の実施態様では、抗 I g E 抗体は、(i) X O L A I R (登録商標) 抗体、(i i) 可変重鎖が配列番号 1 で可変軽鎖が配列番号 2 である、可変重鎖と可変軽鎖を含む抗 M 1 ' 抗体、又は (i i i) 可変重鎖が H V R - H 1、H V R - H 2 及び H V R - H 3 を更に含み、可変軽鎖が H V R - L 1、H V R - L 2 及び H V R - L 3 を更に含む、可変重鎖と可変軽鎖を含む抗 M 1 ' 抗体であり、かつ (a) H V R - H 1 が配列番号 3 の配列 [G F T F S D Y G I A] を有し ; (b) H V R - H 2 が配列番号 4 の配列 [A F I S D L A Y T I Y Y A D T V T G] を有し ; (c) H V R - H 3 が配列番号 5 の配列 [A R D N W D A M D Y] を有し ; (d) H V R - L 1 が配列番号 6 の配列 [R S S Q S L V H N N A N T Y L H] を有し ; (e) H V R - L 2 が配列番号 7 の配列 [K V S N R F S] を有し ; (f) H V R - L 3 が配列番号 8 の配列 [S Q N T L V P W T] を有する。幾つかの実施態様では、抗 I g E 抗体は抗 M 1 ' 抗体である。

【 0 0 4 1 】

幾つかの実施態様では、抗 M 1 ' 抗体は、12 週間に一回 150 mg、4 週間に一回 300 mg、又は 12 週間に一回 450 mg のフラット用量で皮下投与される。幾つかの実施態様では、抗 M 1 ' 抗体は、12 週間に一回 150 mg のフラット用量で皮下投与される。幾つかの実施態様では、抗 M 1 ' 抗体は、12 週間に一回 450 mg のフラット用量で皮下投与される。幾つかの実施態様では、初回用量の投与の 4 週間後に抗 M 1 ' 抗体の更なる用量が皮下投与される。

【 0 0 4 2 】

一実施態様では、この発明に係る T H 2 経路阻害剤で治療された患者は、一種、二種、三種、又はそれ以上の治療剤でまた治療される。一実施態様では、患者は喘息患者である。一実施態様によれば、患者は T H 2 経路阻害剤と一種、二種、三種以上の治療剤で治療され、ここで、T H 2 阻害剤以外の少なくとも一種の治療剤は、コルチコステロイド、ロイコトリエンアンタゴニスト、L A B A、コルチコステロイド / L A B A の併用組成物、

10

20

30

40

50

テオフィリン、クロモグリク酸ナトリウム、ネドクロミルナトリウム、オマリズマブ、LAMA、MABA、5-リボキシゲナーゼ活性化タンパク質（FLAP）阻害剤、又は酵素PDE-4阻害剤である。本発明の一態様によれば、TH2経路阻害剤は、EIP状態と診断された喘息患者に投与され、ここでその診断はEIP状態を決定するためのEIDアッセイ（単独で又は他のアッセイとの併用で）の使用を含む。更なる一実施態様では、喘息患者は治療前にコルチコステロイドではコントロール不良である。別の実施態様では、喘息患者はまた第二コントローラーで治療されている。一実施態様では、第二のコントローラーはコルチコステロイド、LABA又はロイコトリエンアンタゴニストである。更なる実施態様では、喘息患者は中等度から重度の喘息に罹患している。従って、一実施態様では、TH2経路阻害剤で治療されるべき患者は、TH2経路阻害剤による治療前にコルチコステロイドでコントロール不良である中等度から重度の喘息患者であり、その後、TH2経路阻害剤と一種、二種、三種又はそれ以上のコントローラーで治療される。一実施態様では、コントローラーの少なくとも一種はコルチコステロイドである。更なる実施態様では、そのような患者はTH2経路阻害剤、コルチコステロイド及び別のコントローラーで治療される。別の実施態様では、患者は軽度の喘息に罹患しているが、コルチコステロイドで治療されていない。治療薬は、TH2阻害剤と比較して異なる治療サイクルを有していてもよく、その結果、患者の治療の一部としてのTH2阻害剤に比べて異なる時間に投与されうる。従って、一実施態様によれば、この発明による治療方法は、患者へTH2経路阻害剤を投与し、場合によっては、少なくとも一種、二種又は三種の更なる治療剤を投与する工程を含む。一実施態様では、TH2経路阻害剤は、別の治療剤を含む組成物中に存在する。別の実施態様では、TH2経路阻害剤は、別の治療剤を含む組成物中には存在しない。

【0043】

別の実施態様によれば、本発明は、配列番号9、19、及び21から選択される配列を含むVHと配列番号10、20、及び22から選択される配列を含むVLとを含む抗IL13抗体；HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVR L1、HVR L2、及びHVR L3を含み、各HVRが配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、及び配列番号16のアミノ酸配列を有する抗IL13抗体；又はレプリキズマブを、フラット用量として投与することを含む、喘息を治療するための方法を含む。一実施態様では、配列番号9、19、及び21から選択される配列を含むVHと配列番号10、20、及び22から選択される配列を含むVLとを含む抗IL13抗体が、125～1000mgのフラット用量（つまり体重に依存しない）、又は37.5mgのフラット用量、又は125mgのフラット用量、又は250mgのフラット用量、又は500mgのフラット用量として、皮下注射により又は静脈内注射により、2週間ごと、3週間ごと、及び4週間ごとから選択される時間頻度で投与される。一実施態様では、HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVR L1、HVR L2、及びHVR L3を含み、各HVRが配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15及び配列番号16のアミノ酸配列を有する抗IL13抗体が、125～1000mgのフラット用量（つまり体重に依存しない）、又は37.5mgのフラット用量、又は125mgのフラット用量、又は250mgのフラット用量、又は500mgのフラット用量として、皮下注射により又は静脈内注射により、2週間ごと、3週間ごと、及び4週間ごとから選択される時間頻度で投与される。幾つかの実施態様では、患者は、ここに記載されたEIDアッセイを使用してEIPと診断される。

【0044】

別の実施態様によれば、配列番号9、19、及び21から選択される配列を含むVHと配列番号10、20、及び22から選択される配列を含むVLとを含む抗体が、喘息を治

療するために、患者の増悪速度を経時的に減少させ又はF E V₁を改善するのに十分な治療的有効量で投与される。更に別の実施態様では、本発明は、配列番号9、19、及び21から選択される配列を含むVHと配列番号10、20、及び22から選択される配列を含むVLとを含む抗IL13抗体あるいはHVRH1、HVRH2、HVRH3、HVR L1、HVR L2、及びHVR L3を含み、各HVRが配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、及び配列番号16のアミノ酸配列を有する抗IL13抗体を、37.5mgのフラット用量(つまり体重に依存しない)、又は125mgのフラット用量、又は250mgのフラット用量として投与することを含む、喘息を治療するための方法を含む。所定の実施態様では、その用量は、ある期間、4週間に1回、皮下注射によって投与される。所定の実施態様では、その期間は、6ヶ月、1年、2年、5年、10年、15年、20年、又は患者の一生涯である。所定の実施態様では、喘息は重度の喘息であり、患者は吸入コルチコステロイドと第二コントローラー医薬でコントロール不十分かコントロール不良である。幾つかの実施態様では、患者は、EIP状態を決定するEIDアッセイを使用してEIP状態と診断され、患者は上述のように抗IL13抗体による治療のために選択される。別の実施態様では、本発明は、上述のように抗IL13抗体で喘息患者を治療することを含み、ここで、該患者は、EIP状態を決定するここに記載のEIDアッセイを使用してEIP状態と以前に診断されている。一実施態様では、喘息患者は18歳以上である。一実施態様では、喘息患者は12から17歳であり、抗IL13抗体は250mgのフラット用量又は125mgのフラット用量で投与される。一実施態様では、喘息患者は6から11歳であり、抗IL13抗体は125mgのフラット用量又は62.5mgのフラット用量で投与される。

【0045】

本発明は、患者における喘息又は呼吸器疾患を治療するのに使用されるTH2経路阻害剤である治療剤を提供し、ここで該患者はEIPである。幾つかの実施態様では、TH2経路の阻害のための標的は、IL-9、IL-5、IL-13、IL-4、OX40L、TSLP、IL-25、IL-33及びIgE；及びIL-9受容体、IL-5受容体、IL-4受容体、IL-13受容体1及びIL-13受容体2、OX40、TSLP-R、IL-7R(TSLPの共受容体)、IL17RB(IL-25の受容体)、ST2(IL-33の受容体)、CCR3、CCR4、CRTH2、FcεpsilonRI及びFcεpsilonRII/CD23(IgEの受容体)などの受容体から選択される。一実施態様では、本発明の方法によって治療されるべき患者は、軽度から重度の喘息、場合によっては中等度から重度の喘息に罹患しており、その喘息がコルチコステロイドでコントロール不良である。幾つかの実施態様では、治療されるべき患者は、CSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカー、あるいはCSF1、MEIS2、CCL23、HSD3B7、SORD、CACNG6、MGAT3、SLC47A1、及びABTB2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカー、あるいはMEIS2、LGALS12、IDO1、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカー、あるいはCCL23、IDO1、HSD3B7、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカー、あるいはCCL23、IDO1、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカー、あるいはHSD3B7、SIGLEC8、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカー、あるいはSIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つ全てのマーカーのレベルが上昇していることに加え、21ppbを越えるか又は35ppbを

10

20

30

40

50

越える FE_{NO} レベルを有する。

【0046】

他の態様では、喘息患者を $TH2$ 経路阻害剤による治療処置に対する可能なレスポonder及びノンレスポonderに層別化／分類するための、喘息患者から得られた試料中の $CSF1$ 、 $MEIS2$ 、 $LGALS12$ 、 $IDO1$ 、 $THBS4$ 、 $OLIG2$ 、 $ALOX15$ 、 $SIGLEC8$ 、 $CCL23$ 、 $PYROXD2$ 、 $HSD3B7$ 、 $SORD$ 、 $ASB2$ 、 $CACNG6$ 、 $GPR44$ 、 $MGAT3$ 、 $SLC47A1$ 、 $SMPD3$ 、 $CCR3$ 、 CLC 、 $CYP4F12$ 、及び $ABTB2$ から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを測定するためのキットの使用が提供される。所定の実施態様では、該使用は、(a) 喘息患者から得られた試料中の $CSF1$ 、 $MEIS2$ 、 $LGALS12$ 、 $IDO1$ 、 $THBS4$ 、 $OLIG2$ 、 $ALOX15$ 、 $SIGLEC8$ 、 $CCL23$ 、 $PYROXD2$ 、 $HSD3B7$ 、 $SORD$ 、 $ASB2$ 、 $CACNG6$ 、 $GPR44$ 、 $MGAT3$ 、 $SLC47A1$ 、 $SMPD3$ 、 $CCR3$ 、 CLC 、 $CYP4F12$ 、及び $ABTB2$ から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定する工程と、(b) 工程(a)において決定された一又は複数のマーカーのレベルを基準レベルと比較する工程と、(c) 工程(b)において得られた比較に基づいて前記患者をレスポonder又はノンレスポonderのカテゴリーに層別化する工程を含む。

10

【0047】

他の態様では、喘息患者を $TH2$ 経路阻害剤による治療処置に対する可能なレスポonder及びノンレスポonderに層別化／分類するための、喘息患者から得られた試料中の $CSF1$ 、 $MEIS2$ 、 $CCL23$ 、 $HSD3B7$ 、 $SORD$ 、 $CACNG6$ 、 $MGAT3$ 、 $SLC47A1$ 、及び $ABTB2$ から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを測定するためのキットの使用が提供される。所定の実施態様では、該使用は、(a) 喘息患者から得られた試料中の $CSF1$ 、 $MEIS2$ 、 $CCL23$ 、 $HSD3B7$ 、 $SORD$ 、 $CACNG6$ 、 $MGAT3$ 、 $SLC47A1$ 、及び $ABTB2$ から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定する工程と、(b) 工程(a)において決定された一又は複数のマーカーのレベルを基準レベルと比較する工程と、(c) 工程(b)において得られた比較に基づいて前記患者をレスポonder又はノンレスポonderのカテゴリーに層別化する工程を含む。

20

30

【0048】

他の態様では、喘息患者を $TH2$ 経路阻害剤による治療処置に対する可能なレスポonder及びノンレスポonderに層別化／分類するための、喘息患者から得られた試料中の $MEIS2$ 、 $LGALS12$ 、 $IDO1$ 、 $ALOX15$ 、 $SIGLEC8$ 、 $CCL23$ 、 $PYROXD2$ 、 $HSD3B7$ 、 $CACNG6$ 、及び $GPR44$ から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを測定するためのキットの使用が提供される。所定の実施態様では、該使用は、(a) 喘息患者から得られた試料中の $MEIS2$ 、 $LGALS12$ 、 $IDO1$ 、 $ALOX15$ 、 $SIGLEC8$ 、 $CCL23$ 、 $PYROXD2$ 、 $HSD3B7$ 、 $CACNG6$ 、及び $GPR44$ から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定する工程と、(b) 工程(a)において決定された一又は複数のマーカーのレベルを基準レベルと比較する工程と、(c) 工程(b)において得られた比較に基づいて前記患者をレスポonder又はノンレスポonderのカテゴリーに層別化する工程を含む。

40

【0049】

他の態様では、喘息患者を $TH2$ 経路阻害剤による治療処置に対する可能なレスポonder及びノンレスポonderに層別化／分類するための、喘息患者から得られた試料中の $CCL23$ 、 $IDO1$ 、 $HSD3B7$ 、及び $CACNG6$ から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを測定するためのキットの使用、あるいは $SIGLEC8$ 、 $CCL23$ 、 $CACNG6$ 、及び $GPR44$ から選択される少

50

なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は4つ全てのマーカーのレベルを測定するためのキットの使用が提供される。所定の実施態様では、該使用は、(a)喘息患者から得られた試料中のCCL23、IDO1、HSD3B7、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定する工程、あるいはSIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つ全てのマーカーのレベルを決定する工程、(b)工程(a)において決定された一又は複数のマーカーのレベルを基準レベルと比較する工程と、(c)工程(b)において得られた比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化する工程を含む。

【0050】

10

他の態様では、喘息患者をTH2経路阻害剤による治療処置に対する可能なレスポnder及びノンレスポnderに層別化/分類するための、喘息患者から得られた試料中のCCL23、IDO1、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルを測定するためのキットの使用、あるいはSIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つ全てのマーカーのレベルを測定するためのキットの使用が提供される。所定の実施態様では、該使用は、(a)喘息患者から得られた試料中のCCL23、IDO1、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルを決定する工程、あるいはSIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つ全てのマーカーのレベルを決定する工程、(b)工程(a)において決定された一又は複数のマーカーのレベルを基準レベルと比較する工程と、(c)工程(b)において得られた比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化する工程を含む。

20

【0051】

他の態様では、喘息患者をTH2経路阻害剤による治療処置に対する可能なレスポnder及びノンレスポnderに層別化/分類するための、喘息患者から得られた試料中のHSD3B7、SIGLEC8、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルを測定するためのキットの使用が提供される。所定の実施態様では、該使用は、(a)喘息患者から得られた試料中のHSD3B7、SIGLEC8、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルを決定する工程、(b)工程(a)において決定された一又は複数のマーカーのレベルを基準レベルと比較する工程と、(c)工程(b)において得られた比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化する工程を含む。

30

【0052】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、少なくとも一つのマーカーのレベルを決定する工程は、増幅を含みうる。ここに記載の実施態様の何れかにおいて、少なくとも一つのマーカーのレベルを決定する工程は、RT-PCRを含みうる。ここに記載の実施態様の何れかにおいて、少なくとも一つのマーカーのレベルを決定する工程は、定量的PCRを含みうる。ここに記載の実施態様の何れかにおいて、mRNAレベルを測定する工程は、mRNAを増幅させ、増幅産物を検出し、それによってmRNAのレベルを測定する工程を含みうる。

40

【0053】

幾つかの実施態様では、基準レベルは、基準集団における各マーカーの中央値レベルである。ここに記載の実施態様の何れかにおいて、基準レベルは、基準集団における各マーカーの平均値レベルでありうる。幾つかの実施態様では、マーカーの基準レベルは、基準集団におけるマーカーの平均レベルである。非限定的な例示的基準集団は、喘息の患者、中程度から重度の喘息の患者、健康な個体、及び健康な個体と喘息の患者を含むグループを含む。幾つかの実施態様では、基準集団は中程度から重度の喘息の患者を含む。更なる

50

非限定的な例示的基準集団は、好酸球性疾患（ここに記載の好酸球性疾患を含む）の患者、例えばアトピー性皮膚炎の患者、アレルギー性鼻炎の患者、鼻茸の患者、好酸球性食道炎の患者、好酸球増加症候群の患者等々を含む。

【0054】

幾つかの実施態様では、少なくとも一つのマーカーのレベルが基準レベルを越えている場合、患者はレスポnderのカテゴリーに層別化される。幾つかの実施態様では、少なくとも一つのマーカーのレベルが基準レベルを越えている場合、患者は好酸球性炎症陽性（EIP）である。

【0055】

幾つかの実施態様では、生体試料は、血液、血清、血漿、及び末梢血単核球（PBMC）から選択される。幾つかの実施態様では、生体試料はPBMCである。幾つかの実施態様では、生体試料は喘息患者から得られる。所定の実施態様では、上の段落に記載された使用に係る患者は中程度から重度の喘息に罹患している。所定の実施態様では、喘息又は呼吸器疾患はコルチコステロイドでコントロール不良である。所定の実施態様では、コルチコステロイドは吸入コルチコステロイドである。所定の実施態様では、吸入コルチコステロイドは、キューバル（登録商標）、パルミコート（登録商標）、シンピコート（登録商標）、Aerobid（登録商標）、フロベント（登録商標）、フルナーゼ（登録商標）、アドベア（登録商標）又はアズマコート（登録商標）である。一実施態様では、患者はまた、第二コントローラーで治療されている。所定の実施態様では、第二コントローラーは長時間作用型気管支拡張薬（LABD）である。所定の実施態様では、LABDは長時間作用型 2 アゴニスト（LABA）、ロイコトリエン受容体アンタゴニスト（LTR A）、長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト（LAMA）、テオフィリン、又は経口コルチコステロイド（OCS）である。所定の実施態様では、LABDはシンピコート（登録商標）、アドベア（登録商標）、プロバナ（登録商標）、フォラジル（登録商標）、PerforomistTM、又はセレベント（登録商標）である。

【0056】

所定の実施態様では、上記使用に係るTH2経路阻害剤は、標的ITK、BTK、IL-9（例えばMEDI-528）、IL-5（例えばメボリズマブ、CAS番号196078-29-2；レシリズマブ（resilizumab））、IL-13（例えばIMA-026、IMA-638（アンルキンズマブとも言う、INN番号910649-32-0；QAX-576；IL4/IL13トラップ）、トラロキヌマブ（CAT-354とも言う、CAS番号1044515-88-9）；AER-001、ABT-308（ヒト化13C5.5抗体とも言う）、IL-4（例えばAER-001、IL4/IL13トラップ）、OX40L、TSLP、IL-25、IL-33及びIgE（例えばXOLAIR（登録商標）、QGE-031；MEDI-4212；キリズマブ）；及び受容体、例えばIL-9受容体、IL-5受容体（例えば、MEDI-563（ベンラリズマブ、CAS番号1044511-01-4）、IL-4受容体（例えばAMG-317、AIR-645、デュピルマブ）、IL-13受容体 1（例えばR-1671）及びIL-13受容体 2、OX40、TSLP-R、IL-7Rアルファ（TSLPの共受容体）、IL17RB（IL-25の受容体）、ST2（IL-33の受容体）、CCR3、CCR4、CRTH2（例えばAMG-853、AP768、AP-761、MLN6095、ACT129968）、FcεpsilonRI、FcεpsilonRI/CD23（IgEの受容体）、Flap（例えばGSK2190915）、Sykキナーゼ（R-343、PF3526299）；CCR4（AMG-761）、TLR9（QAX-935）を阻害するか、又はCCR3、IL5、IL3、GM-CSFの多重サイトカイン阻害剤（例えばTP1 ASM8）である。

【0057】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、TH2経路阻害剤は、抗IL13/IL4経路阻害剤又は抗IgE結合剤でありうる。ここに記載の実施態様の何れかにおいて、TH2経路阻害剤は抗IL-13抗体でありうる。所定の実施態様では、抗IL-13抗体は

、配列番号 9、19、及び 21 から選択される配列を含む V H と配列番号 10、20、及び 22 から選択される配列を含む V L を含む抗体、H V R H 1、H V R H 2、H V R H 3、H V R L 1、H V R L 2、及び H V R L 3 を含み、各 H V R が配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、及び配列番号 16 のアミノ酸配列を有する抗 I L - 13 抗体、又はレプリキズマブである。

【0058】

所定の実施態様では、抗 I L - 13 抗体は二重特異性抗体である。所定の実施態様では、抗 I L - 13 抗体は、I L - 4 にもまた結合する二重特異性抗体である。

【0059】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、T H 2 経路阻害剤は抗 I g E 抗体でありうる。所定の実施態様では、抗 I g E 抗体は、(i) X O L A I R (登録商標) 抗体、(i i) 可変重鎖が配列番号 1 で可変軽鎖が配列番号 2 である、可変重鎖と可変軽鎖を含む抗 M 1 ' 抗体、又は (i i i) 可変重鎖が H V R - H 1、H V R - H 2 及び H V R - H 3 を更に含み、可変軽鎖が H V R - L 1、H V R - L 2 及び H V R - L 3 を更に含む、可変重鎖と可変軽鎖を含む抗 M 1 ' 抗体であり、かつ (a) H V R - H 1 が配列番号 3 の配列 [G F T F S D Y G I A] を有し；(b) H V R - H 2 が配列番号 4 の配列 [A F I S D L A Y T I Y Y A D T V T G] を有し；(c) H V R - H 3 が配列番号 5 の配列 [A R D N W D A M D Y] を有し；(d) H V R - L 1 が配列番号 6 の配列 [R S S Q S L V H N N A N T Y L H] を有し；(e) H V R - L 2 が配列番号 7 の配列 [K V S N R F S] を有し；(f) H V R - L 3 が配列番号 8 の配列 [S Q N T L V P W T] を有する。幾つかの実施態様では、抗 I g E 抗体は抗 M 1 ' 抗体である。

【0060】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、患者は 0 ~ 17 歳、2 ~ 17 歳、2 ~ 6 歳、6 ~ 11 歳、8 ~ 17 歳、12 ~ 17 歳、2 歳以上、6 歳以上、又は 12 歳以上でありうる。幾つかの実施態様では、患者は 18 歳以上である。ここに記載の実施態様の何れかにおいて、患者はヒトでありうる。

【0061】

更に他の態様では、喘息患者又は呼吸器疾患に罹患した患者から得られた生体試料中の C S F 1、M E I S 2、L G A L S 1 2、I D O 1、T H B S 4、O L I G 2、A L O X 1 5、S I G L E C 8、C C L 2 3、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、S O R D、A S B 2、C A C N G 6、G P R 4 4、M G A T 3、S L C 4 7 A 1、S M P D 3、C C R 3、C L C、C Y P 4 F 1 2、及び A B T B 2 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを測定するためのキットが提供される。幾つかの実施態様では、該キットは、(i) 少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーの m R N A レベルを測定し、(i i) 少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを基準レベルと比較し、(i i i) 該比較に基づいて前記患者をレスポンダー又はノンレスポンダーのカテゴリーに層別化するための指示書を含む。幾つかの実施態様では、該キットは、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第二核酸分子にハイブリダイズする少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第一核酸分子を含み、ここで、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第二核酸分子は、C S F 1、M E I S 2、L G A L S 1 2、I D O 1、T H B S 4、O L I G 2、A L O X 1 5、S I G L E C 8、C C L 2 3、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、S O R D、A S B 2、C A C N G 6、G P R 4 4、M G A T 3、S L C 4 7 A 1、S M P D 3、C C R 3、C L C、C Y P 4 F 1 2、及び A B T B 2 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーあるいはその一部をコードする。所定の実施態様では、該キットは上で提供された使用を記述する情報を含んでいるパッケージ挿入物を含む。

【0062】

更に他の態様では、喘息患者又は呼吸器疾患に罹患した患者から得られた生体試料中の C S F 1、M E I S 2、C C L 2 3、H S D 3 B 7、S O R D、C A C N G 6、M G A T

3、S L C 4 7 A 1、及びA B T B 2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを測定するためのキットが提供される。幾つかの実施態様では、該キットは、(i) 少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのm R N Aレベルを測定し、(i i) 少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを基準レベルと比較し、(i i i) 該比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化するための指示書を含む。幾つかの実施態様では、該キットは、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第二核酸分子にハイブリダイズする少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第一核酸分子を含み、ここで、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第二核酸分子は、C S F 1、M E I S 2、C C L 2 3、H S D 3 B 7、S O R D、C A C N G 6、M G A T 3、S L C 4 7 A 1、及びA B T B 2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーあるいはその一部をコードする。所定の実施態様では、該キットは上で提供された使用を記述する情報を含んでいるパッケージ挿入物を含む。

10

【 0 0 6 3 】

更に他の態様では、喘息患者又は呼吸器疾患に罹患した患者から得られた生体試料中のM E I S 2、L G A L S 1 2、I D O 1、A L O X 1 5、S I G L E C 8、C C L 2 3、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、C A C N G 6、及びG P R 4 4から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを測定するためのキットが提供される。幾つかの実施態様では、該キットは、(i) 少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのm R N Aレベルを測定し、(i i) 少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを基準レベルと比較し、(i i i) 該比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化するための指示書を含む。幾つかの実施態様では、該キットは、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第二核酸分子にハイブリダイズする少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第一核酸分子を含み、ここで、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第二核酸分子は、M E I S 2、L G A L S 1 2、I D O 1、A L O X 1 5、S I G L E C 8、C C L 2 3、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、C A C N G 6、及びG P R 4 4から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーあるいはその一部をコードする。所定の実施態様では、該キットは上で提供された使用を記述する情報を含んでいるパッケージ挿入物を含む。

20

30

【 0 0 6 4 】

更に他の態様では、喘息患者又は呼吸器疾患に罹患した患者から得られた生体試料中のC C L 2 3、I D O 1、H S D 3 B 7、及びC A C N G 6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを測定するためのキット、あるいはS I G L E C 8、C C L 2 3、C A C N G 6、及びG P R 4 4から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つ全てのマーカーのレベルを測定するためのキットが提供される。幾つかの実施態様では、該キットは、(i) 少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのm R N Aレベルを測定し、(i i) 少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを基準レベルと比較し、(i i i) 該比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化するための指示書を含む。幾つかの実施態様では、該キットは、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第二核酸分子にハイブリダイズする少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第一核酸分子を含み、ここで、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第二核酸分子は、C C L 2 3、I D O 1、H S D 3 B 7、及びC A C N G 6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーあるいはその一部、あるいはS I G L E C 8、C C L 2 3、C A C N G 6、及びG P R 4 4から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーあるいはその一部をコードする。所定の実施態様では、該キットは上で提供された使用を記述する情報を含んでいるパッケージ挿入物を含む

40

50

。

【 0 0 6 5 】

更に他の態様では、喘息患者又は呼吸器疾患に罹患した患者から得られた生体試料中の C C L 2 3、I D O 1、及び C A C N G 6 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルを測定するためのキットが提供される。幾つかの実施態様では、該キットは、(i) 少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーの m R N A レベルを測定し、(i i) 少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを基準レベルと比較し、(i i i) 該比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化するための指示書を含む。幾つかの実施態様では、該キットは、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第二核酸分子にハイブリダイズする少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第一核酸分子を含み、ここで、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第二核酸分子は、C C L 2 3、I D O 1、及び C A C N G 6 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーあるいはその一部をコードする。所定の実施態様では、該キットは上で提供された使用を記述する情報を含んでいるパッケージ挿入物を含む。

10

【 0 0 6 6 】

更に他の態様では、喘息患者又は呼吸器疾患に罹患した患者から得られた生体試料中の H S D 3 B 7、S I G L E C 8、及び G P R 4 4 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルを測定するためのキットが提供される。幾つかの実施態様では、該キットは、(i) 少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーの m R N A レベルを測定し、(i i) 少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを基準レベルと比較し、(i i i) 該比較に基づいて前記患者をレスポnder又はノンレスポnderのカテゴリーに層別化するための指示書を含む。幾つかの実施態様では、該キットは、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第二核酸分子にハイブリダイズする少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第一核酸分子を含み、ここで、少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つの第二核酸分子は、H S D 3 B 7、S I G L E C 8、及び G P R 4 4 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーあるいはその一部をコードする。所定の実施態様では、該キットは上で提供された使用を記述する情報を含んでいるパッケージ挿入物を含む。

20

30

【 0 0 6 7 】

また更なる他の態様では、患者における喘息サブタイプを診断するためのキットが提供され、該キットは、(1) 患者から得られた血清試料中の C S F 1、M E I S 2、L G A L S 1 2、I D O 1、T H B S 4、O L I G 2、A L O X 1 5、S I G L E C 8、C C L 2 3、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、S O R D、A S B 2、C A C N G 6、G P R 4 4、M G A T 3、S L C 4 7 A 1、S M P D 3、C C R 3、C L C、C Y P 4 F 1 2、及び A B T B 2 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定することと、(2) 血清試料中の C S F 1、M E I S 2、L G A L S 1 2、I D O 1、T H B S 4、O L I G 2、A L O X 1 5、S I G L E C 8、C C L 2 3、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、S O R D、A S B 2、C A C N G 6、G P R 4 4、M G A T 3、S L C 4 7 A 1、S M P D 3、C C R 3、C L C、C Y P 4 F 1 2、及び A B T B 2 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを測定するための指示書を含み、ここで、前記マーカーの何れか一つ、組合せ又は全ての発現レベルの上昇が喘息サブタイプを示す。

40

【 0 0 6 8 】

また更なる他の態様では、患者における喘息サブタイプを診断するためのキットが提供され、該キットは、(1) 患者から得られた血清試料中の C S F 1、M E I S 2、C C L 2 3、H S D 3 B 7、S O R D、C A C N G 6、M G A T 3、S L C 4 7 A 1、及び A B T B 2 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカー

50

のレベルを決定することと、(2)血清試料中のCSF1、MEIS2、CCL23、HSD3B7、SORD、CACNG6、MGAT3、SLC47A1、及びABTB2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを測定するための指示書を含み、ここで、前記マーカーの何れか一つ、組合せ又は全ての発現レベルの上昇が喘息サブタイプを示す。

【0069】

また更なる他の態様では、患者における喘息サブタイプを診断するためのキットが提供され、該キットは、(1)患者から得られた血清試料中のMEIS2、LGALS12、IDO1、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定することと、(2)血清試料中のMEIS2、LGALS12、IDO1、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを測定するための指示書を含み、ここで、前記マーカーの何れか一つ、組合せ又は全ての発現レベルの上昇が喘息サブタイプを示す。

10

【0070】

また更なる他の態様では、患者における喘息サブタイプを診断するためのキットが提供され、該キットは、(1)患者から得られた血清試料中のCCL23、IDO1、HSD3B7、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを決定することと、(2)血清試料中のCCL23、IDO1、HSD3B7、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルを測定するための指示書を含み、ここで、前記マーカーの何れか一つ、組合せ又は全ての発現レベルの上昇が喘息サブタイプを示す。

20

【0071】

また更なる他の態様では、患者における喘息サブタイプを診断するためのキットが提供され、該キットは、(1)患者から得られた血清試料中のCCL23、IDO1、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルを決定することと、(2)血清試料中のCCL23、IDO1、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルを測定するための指示書を含み、ここで、前記マーカーの何れか一つ、組合せ又は全ての発現レベルの上昇が喘息サブタイプを示す。

30

【0072】

また更なる他の態様では、患者における喘息サブタイプを診断するためのキットが提供され、該キットは、(1)患者から得られた血清試料中のHSD3B7、SIGLEC8、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルを決定することと、(2)血清試料中のHSD3B7、SIGLEC8、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルを測定するための指示書を含み、ここで、前記マーカーの何れか一つ、組合せ又は全ての発現レベルの上昇が喘息サブタイプを示す。

40

【0073】

また更なる他の態様では、患者における喘息サブタイプを診断するためのキットが提供され、該キットは、(1)患者から得られた血清試料中のSIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つ全てのマーカーのレベルを決定することと、(2)血清試料中のSIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つ全てのマーカーのレベルを測定するための指示書を含み、ここで、前記マーカーの何れか一つ、組合せ又は全ての発現レベルの上昇が喘息サブタイプを示す。

【0074】

50

幾つかの実施態様では、キットは、喘息患者又は呼吸器疾患患者がEIPであるかEINであるかを決定するためのパッケージ挿入物を更に含む。幾つかの実施態様では、キットは、喘息患者がTH2経路阻害剤に応答する可能性があるかどうかを決定するためのパッケージ挿入物を更に含む。幾つかの実施態様では、キットは、上で提供された使用の何れかを記載する情報を含んでいるパッケージ挿入物を更に含む。幾つかの実施態様では、キットは、生体試料を保持する空の容器を更に含む。幾つかの実施態様では、キットは、一又は複数のマーカーのレベルを決定するための試薬を含む。幾つかの実施態様では、一又は複数のマーカーのレベルを決定するための試薬は、限定されないが、CSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される一又は複数のマーカーをコードする一又は複数の第二核酸分子にハイブリダイズする一又は複数の第一核酸分子を含む。

10

【0075】

更に他の態様では、喘息又は呼吸器疾患に罹患している患者を治療する方法において、EIPと診断された患者にTH2経路阻害剤を投与することを含む方法が提供される。所定の実施態様では、該方法は、EIDアッセイを使用して患者をEIPと診断する工程を含む。所定の実施態様では、該方法は、患者がEIPであると判定された場合に患者をTH2経路阻害剤で再治療する工程を更に含む。所定の実施態様では、患者からの血清、全血、PBM C、又は血漿が使用されて、患者がEIPであるかどうか決定される。

20

【図面の簡単な説明】

【0076】

【図1A】血清ペリオスチンは18歳未満の喘息患者では上昇しているが、成人喘息患者では年齢に関連していない。(A)その159名が18歳未満であったオマリズマブ試験008、009、010、及びEXTRAからの783名の喘息患者における血清ペリオスチンレベル対年齢。

【図1B】(B)試験別の血清ペリオスチンレベルの範囲と分布。濃い水平の黒線は中央値を示し、ボックス及びウィスカーはそれぞれ四分位及び全範囲を示す。

【図2A】血中好酸球と年齢の関係は小児及び成人喘息患者にわたって連続である。(A)その413名が18歳未満であったオマリズマブ試験008、009、010、及びEXTRAからの2028名の喘息患者における血中好酸球数対年齢。

30

【図2B】(B)試験別の血中好酸球数の範囲と分布。濃い水平の黒線は中央値を示し、ボックス及びウィスカーはそれぞれ四分位及び全範囲を示す。

【図3】血清ペリオスチンレベル及び血中好酸球数は成人喘息患者では正に相関しているが、小児喘息患者では正に相関していない。(A)EXTRA試験の成人；(B)MILLY試験の成人；(C)EXTRAの12～17歳の患者；(D)試験010の6～12歳の患者。rSはスピアマンの順位相関係数。

【図4A-B】末梢血中の好酸球関連遺伝子の様々な細胞分布。EXTRAで血中好酸球に相関していた選択遺伝子はGSE3982の単離末梢血白血球集団中で不定に発現している(Liu等(2006) J Allergy Clin Immunol 118: 496-503)。(A)SIGLEC8の発現は主として好酸球に制限されている。(B)CLCの発現は好酸球と好塩基球に制限されている。

40

【図4C-D】(C)CSF1の発現は、好酸球、好塩基球、マスト細胞、好中球、樹状細胞、マクロファージ、及びTリンパ球を含む複数の末梢血白血球タイプにわたって分布している。(D)中枢神経系のオリゴデンドロサイト細胞中に発現される転写因子とされるOLIG2は好酸球に高レベルで発現している。

【図4E】(E)中枢神経系のシュワン細胞中に発現される末梢ミエリンタンパク質をコードするPMP22は複数の骨髄細胞系列の細胞型で発現している。

【図5】好酸球に関連する末梢血遺伝子の発現は、レプリズマブから臨床的利益を受ける中程度～重度喘息患者を明らかにする。MILLY試験の200名の患者においてレブ

50

リキズマブ又はプラセボの初回用量前の0日目に血液遺伝子発現を成功裏に測定し (Corr en等 (2011) N Engl J Med 365: 1088-98)、x軸に示された各転写物の中央値レベルに従って患者を分けた。各遺伝子に対して遺伝子発現が中央値レベルよりも高い患者対低い患者における12週の治療後のレプリキズマブ処置患者とプラセボ処置患者間の平均値F E V₁のベースラインからのパーセント変化の差が示される。ドットはF E V₁の平均プラセボ調整変化を表し、ウィスカーは95%信頼区間を表す。塗りつぶした円を伴う細い黒線は選択された遺伝子; 点描の円を伴う太い黒線は、その遺伝子発現データが入手できた同じ患者集団における非遺伝子発現バイオマーカーの血清ペリオスチン、血中好酸球数、及びF e N Oを例証目的で示している。

【図6A】32週の期間にわたって中央値を越える遺伝子発現レベルの患者対中央値より低い遺伝子発現レベルの患者における臨床応答の一貫した亢進。示される選択遺伝子: (A) T H B S 4。

【図6B】示される選択遺伝子: (B) S I G L E C 8。

【図6C】示される選択遺伝子: (C) C C L 2 3。

【図6D】示される選択遺伝子: (D) G P R 4 4。

【図6E】示される選択遺伝子: (E) C S F 1。

【図6F】示される選択遺伝子: (F) M E I S 2。

【図6G】示される選択遺伝子: (G) L G A L S 1 2。

【図6H】示される選択遺伝子: (H) I D O 1。レプリキズマブ処置患者におけるF E V₁のベースラインからのパーセント変化は灰色で示され、プラセボ処置患者は黒で示される。全集団に対して中央値を越える遺伝子発現レベルの患者を上のパネルに示し、中央値より低い患者を下のパネルに示す。データがない場合、最終観察繰越法 (L O C F) をCorren等 (2011) N Engl J Med 365: 1088-98に従って使用した。

【図7】G A L A I I小児コホート (小児試験) における血中好酸球百分率と年齢の関係。喘息患者は三角形で示し、健康な対照は円で示す。r Sはスピアマンの順位相関係数。

【図8A】成人及び小児被験者における遺伝子発現と血中好酸球百分率の間のマッチ及びミスマッチの例。好酸球関連転写物の末梢血レベルの発現 (- C t) は血中好酸球百分率の平方根の関数としてプロットされる。成人の中程度～重度の喘息被験者 (B O B C A T) は正方形で示され、小児喘息被験者 (G A L A [小児試験]) は三角形で示され、健康な小児対照被験者 (G A L A [小児試験]) は円で示される。(A) C C L 2 3発現は年齢又は診断に関わりなく血中好酸球に対して一定の関係を示す。

【図8B】(B) C C L発現は血中好酸球増加症に同等に関係しているが、成人被験者と小児被験者では異なったレベルである。

【図8C】(C) C S F 1発現は相関係数とスケールの双方で成人被験者と小児被験者で変わる。

【図9】M I L L Y、B O B C A T、及びG A L A I Iコホートにおける遺伝子発現に対する年齢及び血中好酸球百分率の効果のモデル。線形回帰モデルを構築した: 遺伝子発現 = (血中好酸球百分率) - 2 + 年齢 + 年齢 * (血中好酸球百分率) - 2 + バッチ及び血中好酸球百分率及び年齢の推定値が各転写物に対して95%の信頼区間でプロットされる。好酸球百分率に対して > 1で年齢に対して < 0.025の絶対値推定値を持つ遺伝子を、年齢と独立して好酸球百分率に対する関係を最大化する転写物として列挙する。

【発明を実施するための形態】

【0077】

(詳細な説明)

特許出願及び刊行物を含むここで引用された全ての参考文献は、任意の目的のために出典明示によりその全体が援用される。

【0078】

別に規定されない限り、ここで使用される技術及び科学用語は、この発明が属する技術分野の当業者によって通常理解されるものと同じ意味を有する。Singleton等, Dictionar

10

20

30

40

50

y of Microbiology and Molecular Biology 2版, J. Wiley & Sons (New York, N.Y. 1994)、及びMarch, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 4版, John Wiley & Sons (New York, N.Y. 1992)は、本出願において使用された用語の多くのものに対しての一般的な指針を当業者に提供する。

【0079】

(幾つかの定義)

この明細書を解釈する目的のために、次の定義が適用され、適切な場合にはいつでも、単数形で使用される用語はまた複数を含み、その逆もある。以下に記載される何れかの定義が、出典明示によりここに援用される任意の文書と矛盾する場合、以下に記載の定義が優先する。

【0080】

この明細書及び添付の特許請求の範囲に使用される場合、単数形「a」、「an」及び「the」は、そうでないことが文脈から明らかでない限り、複数の指示対象を含む。従って、例えば、「タンパク質」又は「抗体」への言及は、複数のタンパク質又は抗体をそれぞれ含み；「細胞」への言及は細胞混合物を含む等々である。

【0081】

ここで使用される場合、「EIDA」又は「EIDアッセイ」と略される「好酸球性炎症の診断アッセイ」は、体に好酸球性炎症又は体にTH2経路炎症を有する患者を、患者からの生体試料中の少なくとも一の好酸球性炎症マーカーのレベルを測定することにより診断するアッセイであり、そのマーカーの少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つは、CSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORRD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される。幾つかの実施態様では、EIDアッセイは、患者からの生体試料中の少なくとも一つの好酸球性炎症マーカーのレベルを測定することを含み、ここで、そのマーカーの少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つは、CSF1、MEIS2、CCL23、HSD3B7、SORRD、CACNG6、MGAT3、SLC47A1、及びABTB2から選択される。幾つかの実施態様では、EIDアッセイは、患者からの生体試料中の少なくとも一つの好酸球性炎症マーカーのレベルを測定することを含み、ここで、そのマーカーの少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つは、MEIS2、LGALS12、IDO1、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、CACNG6、及びGPR44から選択される。幾つかの実施態様では、EIDアッセイは、患者からの生体試料中の少なくとも一つの好酸球性炎症マーカーのレベルを測定することを含み、ここで、そのマーカーの少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つは、CCL23、IDO1、HSD3B7、及びCACNG6から選択される。幾つかの実施態様では、EIDアッセイは、患者からの生体試料中の少なくとも一つの好酸球性炎症マーカーのレベルを測定することを含み、ここで、そのマーカーの少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全ては、CCL23、IDO1、及びCACNG6から選択される。幾つかの実施態様では、EIDアッセイは、患者からの生体試料中の少なくとも一つの好酸球性炎症マーカーのレベルを測定することを含み、ここで、そのマーカーの少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全ては、HSD3B7、SIGLEC8、及びGPR44から選択される。幾つかの実施態様では、EIDアッセイは、患者からの生体試料中の少なくとも一つの好酸球性炎症マーカーのレベルを測定することを含み、ここで、そのマーカーの少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つ全ては、SIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される。幾つかの実施態様では、mRNAレベルが測定される。幾つかの実施態様では、患者における好酸球性炎症の診断を行うために二又はそれ以上のアッセイを実施することができる。一実施態様では、EIDアッセイは、FENOアッセイと組み合わせて、上述の少なくとも一つの好酸球性炎症マーカーのレベルを測定することを含む。

10

20

30

40

50

【0082】

好酸球性炎症陽性（EIP）患者又は状態とは、その患者由来の生体試料が、CSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルについて試験されたならば、選択されたマーカーの一又は複数のレベルが各マーカーの基準レベルを越えている患者を指す。幾つかの実施態様では、生体試料は、血液、例えば全血又は血液の細胞画分、例えばPBMCから得られるRNAである。幾つかの実施態様では、生体試料は血清又は血漿である。幾つかの実施態様では、患者は、その患者由来の生体試料がCSF1、MEIS2、CCL23、HSD3B7、SORD、CACNG6、MGAT3、SLC47A1、及びABTB2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルについて試験された場合、マーカーの一又は複数のレベルが各マーカーの基準レベルを越えているならば、EIPである。幾つかの実施態様では、患者は、その患者由来の生体試料がMEIS2、LGALS12、IDO1、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルについて試験された場合、マーカーの一又は複数のレベルが各マーカーの基準レベルを越えているならば、EIPである。幾つかの実施態様では、患者は、その患者由来の生体試料がCCL23、IDO1、HSD3B7、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルについて試験された場合、マーカーの一又は複数のレベルが各マーカーの基準レベルを越えているならば、EIPである。幾つかの実施態様では、患者は、その患者由来の生体試料がCCL23、IDO1、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルについて試験された場合、マーカーの一又は複数のレベルが各マーカーの基準レベルを越えているならば、EIPである。幾つかの実施態様では、その患者由来の生体試料がSIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つ全てのマーカーのレベルについて試験された場合、マーカーの一又は複数のレベルが各マーカーの基準レベルを越えているならば、EIPである。幾つかの実施態様では、基準レベルは基準集団の中央値レベルである。幾つかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団のマーカーの平均値レベルである。幾つかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団のマーカーの平均レベルである。非限定的な例示的基準集団は、喘息の患者、中程度から重度の喘息の患者、健康な個体、及び健康な個体と喘息の患者を含むグループを含む。幾つかの実施態様では、基準集団は中程度から重度の喘息の患者を含む。更なる非限定的な例示的基準集団は、好酸球性疾患（ここに記載の好酸球性疾患を含む）の患者、例えばアトピー性皮膚炎の患者、アレルギー性鼻炎の患者、鼻茸の患者、好酸球性食道炎の患者、好酸球増加症候群の患者等々を含む。

【0083】

ここに記載の実施態様の何れかにおいて、マーカーをコードするmRNAのレベルが決定されうる。生体試料中のmRNAレベルを決定する様々な方法が当該分野で知られており、及び/又はここに記載される。幾つかの実施態様では、生体試料は、血液、例えば全血又は血液の細胞画分、例えばPBMCから得られるRNAである。幾つかの実施態様では、生体試料は血清又は血漿である。幾つかの実施態様では、mRNAのレベルの検出は逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）を含む。幾つかの実施態様では、mRNAのレベルの検出は定量的PCR（qPCR）を含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 8 4 】

好酸球性炎症陰性（EIN）患者又は状態とは、その患者由来の生体試料が、CSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルについて試験されたならば、選択されたマーカーの各々のレベルが各マーカーの基準レベルにあるか基準レベルより低い患者を指す。幾つかの実施態様では、生体試料は、血液、例えば全血又は血液の細胞画分、例えばPBMCから得られるRNAである。幾つかの実施態様では、生体試料は血清又は血漿である。幾つかの実施態様では、患者は、その患者由来の生体試料がCSF1、MEIS2、CCL23、HSD3B7、SORD、CACNG6、MGAT3、SLC47A1、及びABTB2から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルについて試験された場合、選択されたマーカーの各々のレベルが各マーカーの基準レベルにあるか基準レベルより低いならば、EINである。幾つかの実施態様では、患者は、その患者由来の生体試料がMEIS2、LGALS12、IDO1、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、CACNG6、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルについて試験された場合、選択されたマーカーの各々のレベルが各マーカーの基準レベルにあるか基準レベルより低いならば、EINである。幾つかの実施態様では、患者は、その患者由来の生体試料がCCL23、IDO1、HSD3B7、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルについて試験された場合、選択されたマーカーの各々のレベルが各マーカーの基準レベルにあるか基準レベルより低いならば、EINである。幾つかの実施態様では、患者は、その患者由来の生体試料がCCL23、IDO1、及びCACNG6から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルについて試験された場合、選択されたマーカーの各々のレベルが各マーカーの基準レベルにあるか基準レベルより低いならば、EINである。幾つかの実施態様では、患者は、その患者由来の生体試料がHSD3B7、SIGLEC8、及びGPR44から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルについて試験された場合、選択されたマーカーの各々のレベルが各マーカーの基準レベルにあるか基準レベルより低いならば、EINである。幾つかの実施態様では、基準レベルは基準集団の中央値レベルである。幾つかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団のマーカーの平均値レベルである。幾つかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団のマーカーの平均レベルである。非限定的な例示的基準集団は、喘息の患者、中程度から重度の喘息の患者、健康な個体、及び健康な個体と喘息の患者を含むグループを含む。幾つかの実施態様では、基準集団は中程度から重度の喘息の患者を含む。更なる非限定的な例示的基準集団は、好酸球性疾患（ここに記載の好酸球性疾患を含む）の患者、例えばアトピー性皮膚炎の患者、アレルギー性鼻炎の患者、鼻茸の患者、好酸球性食道炎の患者、好酸球増加症候群の患者等々を含む。

【 0 0 8 5 】

EIN状態は患者の状態を表し、状態を決定するために使用されるアッセイのタイプには依存しないことが理解されるべきである。従って、他の好酸球性炎症の診断（EID）アッセイを、好酸球性炎症陰性状態を試験するために使用することができ又は開発して使用することができる。

【 0 0 8 6 】

所定の実施態様では、「基準レベルにある」なる用語は、基準レベルかあるいは基準レベルと1%まで、2%まで、3%まで、4%まで、5%まで異なるレベルと本質的に同一である、個体又は患者からの試料中のバイオマーカーのレベルを指す。幾つかの実施態様では、基準レベルは基準集団の中央値レベルである。幾つかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団のマーカーの平均値レベルである。幾つかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団のマーカーの平均レベルである。非限定的な例示的基準集団は、喘息の患者、中程度から重度の喘息の患者、健康な個体、及び健康な個体と喘息の患者を含むグループを含む。幾つかの実施態様では、基準集団は中程度から重度の喘息の患者を含む。更なる非限定的な例示的基準集団は、好酸球性疾患（ここに記載の好酸球性疾患を含む）の患者、例えばアトピー性皮膚炎の患者、アレルギー性鼻炎の患者、鼻茸の患者、好酸球性食道炎の患者、好酸球増加症候群の患者等々を含む。

10

【0087】

所定の実施態様では、「基準レベルを越えている」なる用語は、基準レベルと比較した場合、ここに記載の方法によって決定して、少なくとも5%、10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、100%又はそれ以上、基準レベルを越えている個体又は患者からの試料中のバイオマーカーのレベルを指す。幾つかの実施態様では、基準レベルは基準集団の中央値レベルである。幾つかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団のマーカーの平均値レベルである。幾つかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団のマーカーの平均レベルである。非限定的な例示的基準集団は、喘息の患者、中程度から重度の喘息の患者、健康な個体、及び健康な個体と喘息の患者を含むグループを含む。幾つかの実施態様では、基準集団は中程度から重度の喘息の患者を含む。更なる非限定的な例示的基準集団は、好酸球性疾患（ここに記載の好酸球性疾患を含む）の患者、例えばアトピー性皮膚炎の患者、アレルギー性鼻炎の患者、鼻茸の患者、好酸球性食道炎の患者、好酸球増加症候群の患者等々を含む。

20

【0088】

所定の実施態様では、「基準レベルよりも低い」なる用語は、基準レベルと比較した場合、ここに記載の方法によって決定して、少なくとも5%、10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、100%又はそれ以上、基準レベルより低い個体又は患者からの試料中のバイオマーカーのレベルを指す。幾つかの実施態様では、基準レベルは基準集団の中央値レベルである。幾つかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団のマーカーの平均値レベルである。幾つかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団のマーカーの平均レベルである。非限定的な例示的基準集団は、喘息の患者、中程度から重度の喘息の患者、健康な個体、及び健康な個体と喘息の患者を含むグループを含む。幾つかの実施態様では、基準集団は中程度から重度の喘息の患者を含む。更なる非限定的な例示的基準集団は、好酸球性疾患（ここに記載の好酸球性疾患を含む）の患者、例えばアトピー性皮膚炎の患者、アレルギー性鼻炎の患者、鼻茸の患者、好酸球性食道炎の患者、好酸球増加症候群の患者等々を含む。

30

【0089】

「マーカー」及び「バイオマーカー」なる用語は、分子、例えば遺伝子、タンパク質、糖鎖構造、又は糖脂質、代謝物、mRNA、miRNA、タンパク質、DNA（cDNA又はゲノムDNA）、DNAコピー数、又は後成的変化、例えばDNAメチル化の増加、減少、又は変化（例えばシトシンメチル化、又はCpGメチル化、非CpGメチル化）；ヒストン修飾（例えば（脱）アセチル化、（脱）メチル化、（脱）リン酸化、ユビキチン化、SUMO化、ADPリボシル化）；ヌクレオソーム位置の変化で、その哺乳動物組織又は細胞中又は上の発現もしくは存在を標準的な方法（又はここに開示した方法）によって検出することができ、例えばここに記載のTH2経路阻害剤を使用するTH2経路阻害に基づく治療計画に対する哺乳動物細胞又は組織の感受性を予測し、診断し、及び/又は予後判断しうるものを指すために交換可能に使用される。バイオマーカーはまた被験者から得られた生体試料において測定されうる生物学的又は臨床的特質、例えば限定されない

40

50

が、血球数、例えば血中好酸球数、 FEV_1 又は $FeNO$ でありうる。所定の実施態様では、そのようなバイオマーカーのレベルは、基準集団に対して観察されたものよりも高いか又は低いことが決定される。所定の実施態様では、血中好酸球数は $200/\mu l$ 、又は $250/\mu l$ 、又は $300/\mu l$ 、又は $400/\mu l$ である。

【0090】

「比較する」なる用語は、個体又は患者からの試料中のバイオマーカーのレベルを、この明細書の他の場所で特定されたバイオマーカーの基準レベルと比較することを指す。比較は、通常、対応するパラメーター又は値の比較を指し、例えば絶対量は絶対基準量と比較され、濃度は基準濃度と比較され、又は試料中のバイオマーカーから得られた強度シグナルは基準試料から得られた同じタイプの強度シグナルと比較されることが理解されなければならない。比較は手作業で実施されてもよいし、コンピューター支援下でもよい。よって、比較は（例えばここに開示されたシステムの）計算装置によって実施されうる。個体又は患者からの試料中のバイオマーカーの測定又は検出レベルの値と基準レベルを例えば互いに比較することができ、該比較は、比較のためのアルゴリズムを実行するコンピュータープログラムによって自動的に実施されうる。前記評価を実施するコンピュータープログラムが適切な出力形式で所望の評価を与える。コンピューターによる比較では、決定された量の値が、コンピュータープログラムによってデータベースに保存されている適切な基準に対応する値と比較されうる。コンピュータープログラムは比較の結果を更に評価し得、つまり適切な出力形式で所望の評価を自動的に提供する。コンピューターによる比較では、決定された量の値が、コンピュータープログラムによってデータベースに保存されている適切な基準に対応する値と比較されうる。コンピュータープログラムは比較の結果を更に評価し得、つまり適切な出力形式で所望の評価を自動的に提供する。

【0091】

バイオマーカーを「検出する」なる用語は、この他の場所に記載した適切な検出方法を用いて試料中のバイオマーカーの存在又は量を検出する方法を指す。

【0092】

バイオマーカーのレベルを「測定する」なる用語は、バイオマーカーの定量、例えば、この他の場所に記載した適切な検出方法を用いて試料中のバイオマーカーのレベルを決定することを指す。

【0093】

「治療法の効果をモニターする」なる用語は、試料が治療前及び／又は治療下の患者から、連続的を含み、少なくとも一回、得られ、治療法が効果的であるかどうかの指標を得るために一又は複数のバイオマーカーがそこで測定されることを示すために使用される。

【0094】

治療法の効果のモニタリングでは、一又は複数のバイオマーカーのレベルが測定され、幾つかの実施態様では、バイオマーカーの基準レベルと比較され、又は幾つかの実施態様では、より早い時点で同じ患者から得られた試料中のバイオマーカーのレベルと比較される。幾つかの実施態様では、一又は複数のバイオマーカーの現在のレベルが、患者の治療開始前に同じ患者から得られた試料中におけるバイオマーカーのレベルと比較される。

【0095】

幾つかの実施態様では、各マーカーの基準レベルを越えている $CSF1$ 、 $MEIS2$ 、 $LGALS12$ 、 $IDO1$ 、 $THBS4$ 、 $OLIG2$ 、 $ALOX15$ 、 $SIGLEC8$ 、 $CCL23$ 、 $PYROXD2$ 、 $HSD3B7$ 、 $SORD$ 、 $ASB2$ 、 $CACNG6$ 、 $GP44$ 、 $MGAT3$ 、 $SLC47A1$ 、 $SMPD3$ 、 $CCR3$ 、 CLC 、 $CYP4F12$ 、及び $ABTB2$ から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルが、患者が該治療法に応答する可能性が高いことを示している。幾つかの実施態様では、各マーカーの基準レベルを越えている $CSF1$ 、 $MEIS2$ 、 $CCL23$ 、 $HSD3B7$ 、 $SORD$ 、 $CACNG6$ 、 $MGAT3$ 、 $SLC47A1$ 、及び $ABTB2$ から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルが、患者が該治療法に応答する可能性が高いことを示している。幾つかの実施態

様では、各マーカーの基準レベルを越えている M E I S 2、L G A L S 1 2、I D O 1、A L O X 1 5、S I G L E C 8、C C L 2 3、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、C A C N G 6、及び G P R 4 4 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルが、患者が該治療法に应答する可能性が高いことを示している。幾つかの実施態様では、各マーカーの基準レベルを越えている C C L 2 3、I D O 1、H S D 3 B 7、及び C A C N G 6 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つのマーカーのレベルが、患者が該治療法に应答する可能性が高いことを示している。幾つかの実施態様では、各マーカーの基準レベルを越えている C C L 2 3、I D O 1、及び C A C N G 6 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルが、患者が該治療法に应答する可能性が高いことを示している。幾つかの実施態様では、各マーカーの基準レベルを越えている H S D 3 B 7、S I G L E C 8、及び G P R 4 4 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つ全てのマーカーのレベルが、患者が該治療法に应答する可能性が高いことを示している。幾つかの実施態様では、各マーカーの基準レベルを越えている S I G L E C 8、C C L 2 3、C A C N G 6、及び G P R 4 4 から選択される少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つ全てのマーカーのレベルが、患者が該治療法に应答する可能性が高いことを示している。幾つかの実施態様では、基準レベルは基準集団の中央値レベルである。幾つかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団のマーカーの平均値レベルである。幾つかの実施態様では、マーカーの基準レベルは基準集団のマーカーの平均レベルである。非限定的な例示的基準集団は、喘息の患者、中程度から重度の喘息の患者、健康な個体、及び健康な個体と喘息の患者を含むグループを含む。幾つかの実施態様では、基準集団は中程度から重度の喘息の患者を含む。更なる非限定的な例示的基準集団は、好酸球性疾患（ここに記載の好酸球性疾患を含む）の患者、例えばアトピー性皮膚炎の患者、アレルギー性鼻炎の患者、鼻茸の患者、好酸球性食道炎の患者、好酸球増加症候群の患者等々を含む。

【 0 0 9 6 】

「治療を推奨する」なる語句は、T H 2 経路阻害剤で適切に治療されるか又は適切には治療されないとして患者を特定するために患者の試料中のここに記載の一又は複数のバイオマーカーのレベル又は存在に関して生成された情報又はデータを使用することを指す。

「治療を推奨する」なる語句は、T H 2 経路阻害剤を含む治療法に程度の差はあれ应答するとして同定され又は選択された患者に対して T H 2 経路阻害剤を含む治療法を提案し又は選択するために生成された情報又はデータを使用することを指す場合がある。使用され又は生成された情報又はデータは文書、口頭又は電子的など、任意の形態であってよい。

幾つかの実施態様では、生成された情報又はデータの使用は、通信 (communicating)、提示、報告、保存、送信 (sending)、伝達 (transferring)、供給、伝送 (transmitting)、分配、又はそれらの組合せを含む。幾つかの実施態様では、通信、提示、報告、保存、送信、伝達、供給、伝送、分配、又はそれらの組合せは、計算装置、解析ユニット又はその組合せによって実施される。幾つかの更なる実施態様では、通信、提示、報告、保存、送信、伝達、供給、伝送、分配、又はそれらの組合せは、研究室又は医療専門家によって実施される。幾つかの実施態様では、情報又はデータは、ここに記載の一又は複数のマーカーのレベルの基準レベルとの比較を含む。幾つかの実施態様では、情報又はデータは、患者が T H 2 経路阻害剤を含む治療法で適切に治療され又は適切には治療されないとの表示を含み、幾つかの例では、患者が特定の T H 2 経路阻害剤、例えば抗 I L - 1 3 抗体又は抗 M 1 ' 抗体を含む治療法で適切に治療され又は適切には治療されないとの表示を含む。

【 0 0 9 7 】

「患者を選択する」又は「患者を同定する」なる語句は、T H 2 経路阻害剤を含む治療法から恩恵を受ける可能性が高い又は恩恵を受ける可能性が低いとして患者を同定し又は選択するために患者の試料中のここに記載の一又は複数のマーカーのレベルに関して生成された情報又はデータを使用することを指す。使用され又は生成される情報又はデータは

、文書、口頭又は電子的など、任意の形態であってよい。幾つかの実施態様では、生成された情報又はデータの使用は、通信、提示、報告、保存、送信、伝達、供給、伝送、分配、又はそれらの組合せを含む。幾つかの実施態様では、通信、提示、報告、保存、送信、伝達、供給、伝送、分配、又はそれらの組合せは、計算装置、解析ユニット又はその組合せによって実施される。幾つかの更なる実施態様では、通信、提示、報告、保存、送信、伝達、供給、伝送、分配、又はそれらの組合せは、研究室又は医療専門家によって実施される。幾つかの実施態様では、情報又はデータは、ここに記載の一又は複数のマーカーのレベルの基準レベルとの比較を含む。幾つかの実施態様では、情報又はデータは、患者が T H 2 経路阻害剤を含む治療法で適切に治療され又は適切には治療されないとの表示を含み、幾つかの例では、患者が特定の T H 2 経路阻害剤、例えば抗 I L - 1 3 抗体又は抗 M 1 ' 抗体を含む治療法で適切に治療され又は適切には治療されないとの表示を含む。

10

【 0 0 9 8 】

「治療法を選択する」なる語句は、患者に対する治療法を特定するか又は選択するために患者の試料中のここに記載の一又は複数のマーカーのレベル又は存在に関して生成された情報又はデータを使用することを指す。幾つかの実施態様では、治療法は T H 2 経路阻害剤を含みうる。「治療法を推奨する」なる語句はまた T H 2 経路阻害剤を含む治療法に程度の差はあれ応答するとして同定され又は選択された患者に対して T H 2 経路阻害剤を含む治療法を提案し又は選択するために生成された情報又はデータを使用することを指す場合がある。使用され又は生成された情報又はデータは文書、口頭又は電子的など、任意の形態であってよい。幾つかの実施態様では、生成された情報又はデータの使用は、通信、提示、報告、保存、送信、伝達、供給、伝送、分配、又はそれらの組合せを含む。幾つかの実施態様では、通信、提示、報告、保存、送信、伝達、供給、伝送、分配、又はそれらの組合せは、計算装置、解析ユニット又はその組合せによって実施される。幾つかの更なる実施態様では、通信、提示、報告、保存、送信、伝達、供給、伝送、分配、又はそれらの組合せは、研究室又は医療専門家によって実施される。幾つかの実施態様では、情報又はデータは、患者が T H 2 経路阻害剤を含む治療法で適切に治療され又は適切には治療されないとの表示を含み、幾つかの例では、患者が特定の T H 2 経路阻害剤、例えば抗 I L - 1 3 抗体又は抗 M 1 ' 抗体を含む治療法で適切に治療され又は適切には治療されないとの表示を含む。

20

【 0 0 9 9 】

「生体試料」なる用語は、限定されないが、血液、血清、血漿、末梢血単核球 (P B M C)、痰、組織生検 (例えば、肺試料)、及び鼻腔スワブ又は鼻ポリープを含む鼻試料を含む。試料は、治療前、治療中又は治療後に採取されうる。試料は、喘息又は呼吸器疾患に罹患していると疑われるか又は罹患していると診断されており、よって治療を必要とする可能性が高い患者から、又は如何なる疾患にも罹患しているとは疑われていない正常の個体から採取されうる。幾つかの実施態様では、マーカーの m R N A レベルを検出又は測定する前にここに記載の生体試料から R N A が抽出される。

30

【 0 1 0 0 】

マーカー又はバイオマーカーを「増幅する」なる用語は、当該分野で知られ、及び / 又はこの他の場所に記載された適切なマーカー増幅法を用いるマーカーの増幅を意味する。

40

【 0 1 0 1 】

F E N O アッセイは、F E _N O (呼気一酸化窒素濃度) レベルを測定するアッセイを指す。そのようなレベルは、例えば、2005年に米国胸部学会 (A T S) が刊行したガイドラインに従って、ハンドヘルド携帯装置 N I O X M I N O (登録商標) (Aerocrine, Solna, Sweden) を使用して評価することができる。F E _N O は他の同様な方法、例えば F e N O 又は F E N O とも言及され得、そのような類似の変形例全てが同じ意味を持つことが理解されるべきである。

【 0 1 0 2 】

ここに提供される方法に従って試験され又は治療される患者の年齢は、全年齢を含む。

50

幾つかの実施態様では、年齢は18歳である。幾つかの実施態様では、年齢は12歳である。幾つかの実施態様では、年齢は2歳である。幾つかの実施態様では、年齢は2～18歳、12～18歳、18～75歳、12～75歳又は2～75歳である。

【0103】

喘息は、変化しやすく再発性の症状、可逆性気流閉塞（例えば、気管支拡張による）及び気管支過感受性を特徴とする複合疾患で、根底にある炎症と関連している場合があり、又は関連していない場合がある。喘息の例としては、アスピリン感受性/増悪喘息、アトピー性喘息、重度の喘息、軽度の喘息、中等度から重度の喘息、コルチコステロイドナイド喘息、慢性喘息、コルチコステロイド抵抗性喘息、コルチコステロイド難治性喘息、新たに診断され未治療の喘息、喫煙による喘息、コルチコステロイドでコントロール不良の喘息、及びJ Allergy Clin Immunol (2010) 126(5):926-938に述べられたような他の喘息が含まれる。

10

【0104】

好酸球性疾患は、非定型症状が、体内の局所的又は全身的な好酸球のレベル又は活性に起因して現れる場合がある過剰の好酸球数に関連する疾患である。過剰の好酸球数又は活性に関連する疾患には、限定されないが、喘息（アスピリン感受性喘息を含む）、アトピー性喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎（季節性アレルギー性鼻炎を含む）、非アレルギー性鼻炎、喘息、重度の喘息、慢性好酸球性肺炎、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、セリアック病、チャグ・ストラウス症候群（結節性動脈周囲炎プラスアトピー）、好酸球性筋痛症候群、好酸球増加症候群、突発性血管浮腫を含む浮腫反応、蠕虫感染症（ここでは好酸球は保護の役割を持ちうる）、オンコセルカ皮膚炎、及び好酸球性食道炎、好酸球性胃炎、好酸球性胃腸炎、好酸球性腸炎及び好酸球性大腸炎を含むがこれらに限定されない好酸球関連消化管疾患、鼻のマイクローポリープ症及びポリープ症、アスピリン不耐容、喘息及び閉塞性睡眠時無呼吸症候群が含まれる。好酸球由来の分泌産物はまた腫瘍における血管新生及び結合組織形成の促進及び慢性喘息、クローン病、強皮症及び心内膜心筋線維症などの病態に見られる線維化反応に関連している（Munitz A, Levi-Schaffer F. Allergy 2004; 59: 268-75, Adamko等 Allergy 2005; 60: 13-22, Oldhoff等 Allergy 2005; 60: 693-6）。他の例には、がん（例えば、神経膠芽腫（例えば多形神経膠芽腫）、非ホジキンリンパ腫（NHL））、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、喘息、線維症、炎症性腸疾患、肺線維症（特発性肺線維症（IPF）及び硬化症に続発する肺線維症を含む）、COPD、肝線維症が含まれる。

20

30

【0105】

IL-13媒介性疾患は、非定型症状が体内の局所的及び/又は全身的なIL-13のレベル又は活性に起因して現れる場合がある過剰のIL-13レベル又は活性に関連する疾患を意味する。IL-13媒介性疾患の例には、がん（例えば、非ホジキンリンパ腫、神経膠芽腫）、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、喘息、線維症、炎症性腸疾患（例えば、クローン病）、肺の炎症性疾患（例えば、IPFのような肺線維症）、COPD、肝線維症が含まれる。

【0106】

IL-4媒介性疾患は、非定型症状が体内の局所的及び/又は全身的なIL-4のレベル又は活性に起因して現れる場合がある過剰のIL-4レベル又は活性に関連する疾患を意味する。IL-4媒介性疾患の例には、がん（例えば、非ホジキンリンパ腫、神経膠芽腫）、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、喘息、線維症、炎症性腸疾患（例えば、クローン病）、肺の炎症性障害（例えば、IPFのような肺線維症）、COPD、肝線維症が含まれる。

40

【0107】

IL-5媒介性疾患は、非定型症状が体内の局所的及び/又は全身的なIL-5のレベル又は活性に起因して現れる場合がある過剰のIL-5レベル又は活性に関連する疾患を意味する。IL-5媒介性疾患の例には、がん（例えば、非ホジキンリンパ腫、神経膠芽腫）、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、喘息、線維症、炎症性腸疾患（例えば、クロー

50

ン病)、肺の炎症性障害(例えば、I P Fのような肺線維症)、C O P D、肝線維症が含まれる。

【0108】

I L - 9 媒介性疾患は、非定型症状が体内の局所的及び/又は全身的なI L 9のレベル又は活性に起因して現れる場合がある過剰のI L 9レベル又は活性に関連する疾患を意味する。I L - 9 媒介性疾患の例には、がん(例えば、非ホジキンリンパ腫、神経膠芽腫)、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、喘息、線維症、炎症性腸疾患(例えば、クローン病)、肺の炎症性障害(例えば、I P Fのような肺線維症)、C O P D、肝線維症が含まれる。

【0109】

T S L P 媒介性疾患は、非定型症状が体内の局所的及び/又は全身的なT S L Pのレベル又は活性に起因して現れる場合がある過剰のT S L Pレベル又は活性に関連する疾患を意味する。T S L P 媒介性疾患の例には、がん(例えば、非ホジキンリンパ腫、神経膠芽腫)、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、喘息、線維症、炎症性腸疾患(例えば、クローン病)、肺の炎症性障害(例えば、I P Fのような肺線維症)、C O P D、肝線維症が含まれる。

【0110】

I g E 媒介性疾患とは、非定型症状が体内の局所的及び/又は全身的なI g Eのレベル又は活性に起因して現れる場合がある過剰のI g Eレベル又は活性に関連する疾患を意味する。そのような疾患には、喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、線維症(例えば、I P Fなどの肺線維症)が含まれる。

【0111】

喘息様症状には、息切れ、咳(痰の産生及び/又は痰の質及び/又は咳頻度の変化)、喘鳴、胸部絞扼感、気管支収縮及び上記の症状の何れか又はこれらの症状の組み合わせに起因する夜間中途覚醒からなる群から選択される症状が含まれる(Juniper等(2000) Am. J. Respir. Crit. Care Med., 162(4), 1330-1334.)。

【0112】

「呼吸器疾患」なる用語は、限定されないが、喘息(例えば、アレルギー性及び非アレルギー性喘息(例えば、年少の子供における、例えば呼吸器多核体ウイルス(R S V)の感染による))；気管支炎(例えば、慢性気管支炎)；慢性閉塞性肺疾患(C O P D)(例えば、肺気腫(例えば、タバコ誘発性肺気腫)；気道炎症、好酸球増加症、線維症、過剰粘液産生、例えば、嚢胞性線維症、肺線維症、アレルギー性鼻炎を含む病態を含む。気道炎症、過度の気道分泌、及び気道閉塞によって特徴づけることができる疾患の例には、喘息、慢性気管支炎、気管支拡張症、及び嚢胞性線維症が含まれる。

【0113】

増悪(一般に喘息発作又は急性喘息とも呼ばれる)は、息切れ、咳(痰の産生及び/又は痰の質及び/又は咳頻度の変化)、喘鳴、胸部絞扼感、上記の症状の一つ又はこれらの症状の組み合わせに起因する夜間中途覚醒の新規又は進行性の増加のエピソードである。増悪はしばしば呼気流量(P E F又はF E V₁)の低下によって特徴付けられる。しかし、P E Fの変動性は、増悪からの回復に至るまで又はその最中には増加するかもしれないが、増悪の最中には通常は増加しない。増悪の重症度は、軽度から生命を脅かす範囲に及び、症状及び肺機能の両方に基づいて評価することができる。ここに記載されたような重度の喘息増悪は、喘息治療のための以下の入院加療、つまり、高コルチコステロイドの使用(例えば、一日のコルチコステロイドの総用量又は500マイクログラム以上のF P又は等価物の一日の総用量を3日間又はそれ以上連続して4倍にする)、又は経口/非経口のコルチコステロイドの使用の任意の一つ又は組み合わせをもたらす増悪を含む。

【0114】

T H 2 経路阻害剤はT H 2 経路を阻害する薬剤である。

【0115】

T H 2 経路阻害剤の例には、I T K、B T K、I L - 9(例えば、M E D I - 5 2 8)

10

20

30

40

50

、IL - 5 (例えば、メボリズマブ、CAS 番号 196078 - 29 - 2 ; レシリズマブ (resilizumab))、IL - 13 (例えば、IMA - 026 , IMA - 638 (アンルキンズマブとも言う、INN 番号 910649 - 32 - 0 ; QAX - 576 ; IL4 / IL13 トラップ)、トラロキヌマブ (CAT - 354 とも言う、CAS 番号 1044515 - 88 - 9) ; AER - 001 , ABT - 308 (ヒト化 13C5 . 5 抗体とも言う)、IL - 4 (例えば AER - 001 , IL4 / IL13 トラップ)、OX40L、TSLP、IL - 25、IL - 33、可溶性 IgE (例えば、XOLAIR、QGE - 031 ; MEDI - 4212) 及び膜結合型 IgE (キリズマブ) ; 及び受容体、例えば、IL - 9 受容体、IL - 5 受容体 (例えば、MEDI - 563 (ベンラリズマブ、CAS 番号 1044511 - 01 - 4)、IL - 4 受容体 (例えば、AMG - 317、AIR - 645、デュピルマブ)、IL - 13 受容体 1 (例えば R - 1671) 及び IL - 13 受容体 2、OX40、TSLP - R、IL - 7R アルファ (TSLP の共受容体)、IL17RB (IL - 25 の受容体)、ST2 (IL - 33 の受容体)、CCR3、CCR4、CRTH2 (例えば AMG - 853、AP768、AP - 761、MLN6095、ACT129968)、FcεpsilonRI、FcεpsilonRII / CD23 (IgE の受容体)、Flap (例えば、GSK2190915)、Syk キナーゼ (R - 343、PF3526299) ; CCR4 (AMG - 761)、TLR9 (QAX - 935) 及び CCR3、IL5、IL3、GM - CSF の多重サイトカイン阻害剤 (例えば、TP1 ASM8) からなる群から選択される標的の何れか一つの活性の阻害剤が含まれる。上記標的の阻害剤の例は、例えば、国際公開第 2008 / 086395 号 ; 国際公開第 2006 / 085938 号 ; 米国特許第 7615213 号 ; 米国特許第 7501121 号 ; 国際公開第 2006 / 085938 号 ; 国際公開第 2007 / 080174 号 ; 米国特許第 7807788 号 ; 国際公開第 2005007699 号 ; 国際公開第 2007036745 号 ; 国際公開第 2009 / 009775 号 ; 国際公開第 2007 / 082068 号 ; 国際公開第 2010 / 073119 号 ; 国際公開第 2007 / 045477 号 ; 国際公開第 2008 / 134724 号 ; 米国特許出願公開第 2009 / 0047277 号 ; 及び国際公開第 2008 / 127271 号) に開示されている。

【0116】

ここに提供される治療剤は、例えば、ポリペプチド (例えば、抗体、イムノアドヘシン又はペプチボディ)、ここで同定された標的をコードする核酸分子に結合し得るタンパク質又は核酸分子に結合し得るアプタマー又は小分子 (すなわち、siRNA) など、上で特定された標的に結合することができる薬剤を含む。

【0117】

「抗 IL13 / IL4 経路阻害剤」は、IL - 13 及び / 又は IL - 4 シグナル伝達を阻害する治療剤を指す。抗 IL13 / IL4 経路阻害剤の例は、IL13 及び / 又は IL4 とその受容体との相互作用の阻害剤を含み、そのような阻害剤は、限定されないが、抗 IL13 結合剤、抗 IL4 結合剤、抗 IL3 / IL4 二重特異性結合剤、抗 IL4 受容体結合剤、抗 IL13 受容体 1 結合剤及び抗 IL13 受容体 2 結合剤を含む。IL13、IL4 に結合できる単一ドメイン抗体 (単一のドメイン結合 IL13 と単一のドメイン結合 IL4 を持つ二重特異性抗体を含む)、IL - 13R アルファ 1、IL - 13R アルファ 2 又は IL - 4R アルファが特に阻害剤として含まれる。一を越える標的と結合することができる分子が含まれることを理解すべきである。

【0118】

「抗 IL4 結合剤」は、ヒト IL4 に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含みうる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディ及びペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含みうる。一実施態様によれば、結合剤はヒト IL - 4 配列に 1 μM ~ 1 pM の間の親和性で結合する。抗 IL4 結合剤の具体的な例は、可溶性 IL4 受容体 (例えばヒト Fc 領域に融合した IL4 受容体の細胞外ドメイン)、抗 IL4 抗体、及び可溶性 IL13 受容体 1 (例えばヒト Fc 領域に融合した IL13 受容体 1 の細

10

20

30

40

50

胞外ドメイン)を含みうる。

【0119】

「抗IL4受容体 結合剤」はヒトIL4受容体 に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含みうる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディ及びペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含みうる。一実施態様によれば、結合剤はヒトIL-4受容体 配列に1 uM ~ 1 pMの間の親和性で結合する。抗IL4受容体 結合剤の具体的な例は、抗IL4受容体 抗体を含みうる。

【0120】

「抗IL13結合剤」は、ヒトIL13に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含みうる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディ及びペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含みうる。一実施態様によれば、結合剤はヒトIL-13配列に1 uM ~ 1 pMの間の親和性で結合する。抗IL13結合剤の具体的な例は、抗IL13抗体、ヒトFcに融合した可溶性IL13受容体 2、ヒトFcに融合した可溶性IL4受容体 、ヒトFcに融合した可溶性IL13受容体 を含みうる。一実施態様では、抗IL13抗体は、(1)配列番号11のアミノ酸配列を含むHV RH 1、(2)配列番号12のアミノ酸配列を含むHV RH 2、(3)配列番号13のアミノ酸配列を含むHV RH 3、(4)配列番号14のアミノ酸配列を含むHV RL 1、(5)配列番号15のアミノ酸配列を含むHV RH 2、及び(6)配列番号16のアミノ酸配列を含むHV RH 3を含む。別の実施態様では、抗IL-13抗体は、配列番号9、19、及び21から選択される配列を含むVHと配列番号10、20、及び22から選択される配列を含むVLとを含む。一実施態様によれば、抗体はIgG1抗体である。別の実施態様によれば、抗体はIgG4抗体である。一実施態様によれば、IgG4抗体はその定常ドメインにS228P変異を含む。

【0121】

「抗IL13受容体 1結合剤」は、ヒトIL13受容体 1に特異的に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含みうる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディ及びペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含みうる。一実施態様によれば、結合剤は、ヒトIL-13受容体 1配列に1 uM ~ 1 pMの間の親和性で結合する。抗IL13受容体 1結合剤の具体的な例は、抗IL13受容体 1抗体を含みうる。

【0122】

「抗IL13受容体 2結合剤」は、ヒトIL13受容体 2に特異的に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含みうる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディ及びペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含みうる。一実施態様によれば、結合剤はヒトIL-13受容体 2配列に1 uM ~ 1 pMの間の親和性で結合する。抗IL13受容体 2結合剤の具体的な例は、抗IL13受容体 2抗体を含みうる。

【0123】

「抗IgE結合剤」は、ヒトIgEに特異的に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含みうる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディ及びペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含みうる。一実施態様によれば、抗IgE抗体は、配列番号17のアミノ酸配列を含むVL配列と配列番号18のアミノ酸配列を含むVH配列とを含む。

【0124】

「抗M1'結合剤」は、B細胞上の表面発現IgEの膜近傍のM1'領域に特異的に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含みうる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘシン、抗体、

10

20

30

40

50

ペプチボディ及びペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含みうる。一実施態様によれば、抗IgE抗体は国際公開第2008/116149号に記載される抗体又はその変異体を含む。別の実施態様によれば、抗M1'抗体は可変重鎖と可変軽鎖を含み、ここで可変重鎖は配列番号1で可変軽鎖は配列番号2である。別の実施態様によれば、抗IgE/M1'抗体は、可変重鎖及び可変軽鎖を含み、ここで可変重鎖はHVR-H1、HVR-H2及びHVR-H3を更に含み、かつ可変軽鎖はHVR-L1、HVR-L2及びHVR-L3を更に含み、かつ(a)HVR-H1は配列番号1の残基26~35[GFTFS DY GIA;配列番号3]であり;(b)HVR-H2は配列番号1の残基49~66[A F I S D L A Y T I Y Y A D T V T G;配列番号4]であり;(c)HVR-H3は配列番号1の残基97~106[ARDNWDAMDY;配列番号5]であり;(d)HVR-L1は配列番号2の残基24~39[RSSQSLVHNNANTYLH;配列番号6]であり;(e)HVR-L2は配列番号2の残基55~61[KVSNRF S;配列番号7]であり;(f)HVR-L3は配列番号2の残基94~102[SQNTLV PWT;配列番号8]である。

【0125】

「小分子」なる用語は、50ダルトンから2500ダルトンの間の分子量を有する有機分子を指す。

【0126】

「抗体」なる用語は最も広範な意味で使用され、特に、例えば、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、ポリエピトープ特異性を有する抗体、単鎖抗体、多重特異性抗体及び抗体の断片を網羅する。そのような抗体は、キメラ、ヒト化、ヒト及び合成でありうる。そのような抗体及びそれらを作製する方法は以下により詳細に記載される。

【0127】

「コントロール不良である」又は「コントロールできない」なる用語は、疾患の症状を最小限に抑えるための治療レジメンが不十分であることを指す。ここで使用される場合、「コントロール不良である」及び「コントロール不十分である」との用語は交換可能に使用することができ、同じ状態を指すものである。患者のコントロール状態は、患者の臨床履歴、治療に対する応答性及び処方された現在の治療のレベルを含む多くの要因に基づいて、主治医によって決定されうる。例えば、医師は、75%未満と予測されるFEV₁又は自己最高値、過去2~4週間におけるSABAの必要の頻度(例えば、2回の用量/週に等しいかそれ以上)、過去2~4週間における夜間中途覚醒/症状(例えば、2夜/週に等しいかそれ未満)、過去2~4週間における活動の制限、過去2~4週間における昼間症状などの要因を考慮する場合がある。

【0128】

「治療剤」なる用語は疾患を治療するために使用される任意の薬剤を指す。

【0129】

「コントローラー」又は「プリベンター(preventor)」なる用語は、喘息の炎症をコントロールするために使用される任意の治療剤を指す。コントローラーの例は、コルチコステロイド、ロイコトリエン受容体アンタゴニスト(例えば、モンテルカスト、ジレウトン、プラナルカスト、ザフィルルカストのようなロイコトリエンの合成又は活性を阻害する)、LABA、コルチコステロイド/LABA併用組成物、テオフィリン(アミノフィリンを含む)、クロモグリク酸ナトリウム、ネドクロミルナトリウム、オマリズマブ、LAMA、MABA(例えば、二官能性ムスカリン性アンタゴニスト-ベータ2アゴニスト)、5-リボキシゲナーゼ活性化タンパク質(FLAP)阻害剤、及び酵素PDE-4阻害剤(例えば、ロフルミラスト)を含む。「第二コントローラー」は典型的には第一コントローラーとは同一でないコントローラーを指す。

【0130】

「コルチコステロイド節約(sparing)」又は「CS」なる用語は、他の治療剤の投与に起因する疾患の治療のためにコルチコステロイドを摂取している患者における疾患を治療するために使用されるコルチコステロイドの頻度及び/又は量の減少、又は消失を意味

10

20

30

40

50

する。「C S 剤」は、コルチコステロイドを摂取している患者においてC Sを生じさせる治療剤を指す。

【0131】

「コルチコステロイド」なる用語は、限定されないが、フルチカゾン（プロピオン酸フルチカゾン（FP）を含む）、ベクロメタゾン、ブデソニド、シクレソニド、モメタゾン、フルニソリド、ベタメタゾン及びトリウムシノロンを含む。「吸入可能コルチコステロイド」は吸入による送達に適しているコルチコステロイドを意味する。例示的な吸入可能コルチコステロイドは、フルチカゾン、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、ブデノシド、フランカルボン酸モメタゾン、シクレソニド、フルニソリド、トリウムシノロンアセトニド、及び現在利用可能な又は将来利用可能になる任意の他のコルチコステロイドである。吸入することができ、かつ長時間作用型 2 - アゴニストと併用されうるコルチコステロイドの例には、限定されないが、ブデソニド / ホルモテロール及びフルチカゾン / サルメテロールが含まれる。

10

【0132】

コルチコステロイド / LABA 併用薬の例は、フランカルボン酸フルチカゾン / ビランテロールトリフェニル酢酸塩（vilanterol trifenate）及びインダカテロール / モメタゾンを含む。

【0133】

「LABA」なる用語は、長時間作用型 2 - アゴニストを意味し、そのアゴニストには、例えば、サルメテロール、ホルモテロール、バンブテロール、アルブテロール、インダカテロール、アルホルモテロール及びクレンブテロールが含まれる。

20

【0134】

「LAMA」なる用語は長時間作用型ムスカリン性アンタゴニストを意味し、そのアゴニストにはチオトロピウムが含まれる。

【0135】

LABA / LAMA の組み合わせの例は、限定されないが、オロダテロールチオトロピウム（Boehringer Ingelheim's）及びインダカテロールグリコピロニウム（Novartis）を含む。

【0136】

「SABA」なる用語は、短時間作用型 2 - アゴニストを意味し、そのアゴニストには、限定されないが、サルブタモール、レボサルブタモール、フェノテロール、テルブタリン、ピルブテロール、プロカテロール、ビトルテロール、リミテロール、カルブテロール、ツロブテロール及びレプロテロールが含まれる。

30

【0137】

ロイコトリエン受容体アンタゴニスト（しばしばローカスト（leukast）と称する）（LTRA）は、ロイコトリエンを阻害する薬物である。ロイコトリエン阻害剤の例には、モンテルカスト、ジロートン、プラニルカスト、及びザフィルルカストが含まれる。

【0138】

「FEV₁」なる用語は、強制呼気の最初の一秒間に吐き出される空気の体積を指す。それは気道閉塞の尺度である。FEV₁ の 20 % 減少（PC20）を誘導するために必要とされるメサコリンの誘発性濃度は気道過敏性の尺度である。FEV₁ は他の同様の方法、例えば FEV₁ とも言及され得、そのような類似の変形例全てが同じ意味を持つことが理解されるべきである。

40

【0139】

用語「FEV₁ の相対的变化」=（治療の第 12 週での FEV₁ - 治療開始前の FEV₁）を FEV₁ で割ったもの。

【0140】

「軽度の喘息」なる用語は、一般に 1 週間に 2 回未満の症状又は増悪、1 ヶ月に 2 回未満の夜行性の症状を経験する患者を指し、増悪の間に無症候性である。軽度の、断続的な喘息は以下により必要に応じてしばしば治療される：吸入気管支拡張薬（短時間作用型吸

50

入 2 アゴニスト) ; 既知のトリガーの回避 ; 毎年のインフルエンザワクチン接種 ; 6 ~ 10 年毎の肺炎球菌ワクチン接種 ; 及び場合によっては同定されたトリガーへの暴露前の吸入 2 - アゴニスト、クロモリン、又はネドクロミル。患者において短時間作用型 2 アゴニストの必要性が増加している (例えば、急性増悪のために 1 日に短時間作用型 2 - アゴニストを 3 から 4 回以上使用するか又は症状のため 1 月に一を越えるキャニスターを使用する) 場合、患者は治療に漸増を必要とする。

【 0 1 4 1 】

「中等度喘息」なる用語は、一般に、患者が週 2 回以上増悪を経験しかつその増悪が睡眠や活動に影響を与える ; 患者が 1 ヶ月 2 回以上喘息のため夜間に覚醒する ; 患者が短時間作用型吸入 2 - アゴニストを毎日又は一日おきに必要とする慢性的な喘息症状を持っている ; 患者の PEF 又は FEV₁ の治療前ベースラインが 60 から 80 % と予測され、PEF 変動が 20 から 30 % である、喘息を指す。

10

【 0 1 4 2 】

「重度の喘息」なる用語は、一般に、患者がほぼ継続した症状、頻繁な増悪、喘息に起因する頻繁な夜間覚醒を有し、活動が制限され、PEF 又は FEV₁ ベースラインが 60 % 未満と予測され、かつ PEF 変動が 20 から 30 % である、喘息を指す。

【 0 1 4 3 】

救急薬の例には、アルブテロール、ベントリンなどが含まれる。

【 0 1 4 4 】

「耐性 (抵抗性)」とは、治療剤による治療後にほとんど又は全く有意な改善を示さない疾患を指す。例えば、喘息がコントロール不良のままであるか又は FEV₁ が改善しないかを確定するために、高用量の ICS (例えば、一日のコルチコステロイドの総用量又は 500 マイクログラム以上の FP (又は等価物) の一日の総用量を少なくとも 3 日間又はそれ以上連続して 4 倍する)、又は全身のコルチコステロイドによる治療を 2 週間の試験中、必要とする喘息は、しばしば重度の難治性喘息と考えられる。

20

【 0 1 4 5 】

ここに提供される治療剤は、非経口、皮下、腹腔内、肺内、及び鼻腔内を含む、任意の適切な手段により投与することができる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下投与が含まれる。一実施態様では、治療剤は吸入される。別の実施態様によれば、投与は注射、例えば、静脈内又は皮下注射によって与えられる。更に別の実施態様では、治療剤は、シリンジ (例えば、充填済又は未充填) 又はオートインジェクターを使用して投与される。

30

【 0 1 4 6 】

疾患の予防又は治療の場合、治療剤の適切な投薬量は、治療される疾患のタイプ、疾患の重症度及び過程、治療剤が予防目的か治療目的として投与されるのかどうか、過去の治療法、患者の臨床歴、及び薬剤への応答、及び主治医の裁量に依存するであろう。治療剤は、一回で又は一連の治療に渡って適切に患者に投与される。治療剤組成物は良好な医療実務に合致した形で処方され、用量決定され、投与されるであろう。この観点において考慮すべき要因には、治療されている特定の疾患、治療されている特定の哺乳類、個々の患者の臨床状態、疾患の原因、薬剤送達部位、投与方法、投与スケジュール、及び医療従事者に知られている他の要因が含まれる。

40

【 0 1 4 7 】

好酸球性疾患 (喘息を含む) のため、及び TH2 療法を使用して他の疾患を治療するためのレプリキズマブの投薬 : レプリキズマブは 0 . 1 mg / kg から 100 mg / kg (患者体重) を投与することができる。一実施態様では、患者に投与される投薬量は 0 . 1 mg / kg から 200 mg / kg (患者体重) の間である。別の実施態様では、用量は 1 mg / kg から 10 mg / kg (患者体重) である。

【 0 1 4 8 】

代替の実施態様では、レプリキズマブはフラット用量として投与することができる。一実施態様では、レプリキズマブは 125 ~ 1000 mg のフラット用量 (すなわち、体重

50

に依存しない)、又は37.5mgのフラット用量、又は125mgのフラット用量、又は250mgのフラット用量、又は500mgのフラット用量として、皮下注射によるか又は静脈内注射により、2週間毎、3週間毎、4週間毎、5週間毎、6週間毎、7週間毎、8週間毎、9週間毎、10週間毎、11週間毎、12週間毎、13週間毎、14週間毎、15週間毎、16週間毎、1ヶ月毎、2ヶ月毎、3ヶ月毎、又は4ヶ月毎からなる群から選択される時間の頻度で投与される。別の実施態様では、患者が体重過多である場合、レプリキズマブは、例えば月あたり3回の頻度で125~250mgを投与することができる。一実施態様では、レプリキズマブは4週間ごとに125mg、250mg又は500mgのフラット用量として投与される。別の実施態様では、レプリキズマブは40kgを超える患者に対して4週間ごとに37.5mg、125mg、250mg又は500mgのフラット用量として投与される。

10

【0149】

一実施態様では、患者は18歳以上である。一実施態様では、喘息患者は12から17歳であり、レプリキズマブが250mgのフラット用量で又は125mgのフラット用量で投与される。一実施態様では、喘息患者は6から11歳であり、レプリキズマブが125mgのフラット用量で投与される。

【0150】

好酸球性疾患(喘息を含む)のため、及びTH2療法を使用して他の疾患を治療するためのキリズマブの投薬:キリズマブは0.003mg/kgから100mg/kg(患者体重)を投与することができる。一実施態様では、患者に静脈内又は皮下投与によって投与される投薬量は0.003mg/kgから5mg/kg(患者体重)の間である。

20

【0151】

代替の実施態様では、キリズマブはフラット用量として投与することができる。一実施態様では、キリズマブは150~450mgのフラット用量(すなわち、体重に依存しない)として、皮下注射によるか又は静脈内注射により、4週間毎又は12週間毎からなる群から選択される時間の頻度(例えば3ヶ月に1回、又は四半期毎に1回)で投与される。一実施態様では、キリズマブは、4週間毎に300mgの用量で皮下投与される。一実施態様では、キリズマブは、12週間に1回(つまり、3ヶ月に1回、又は四半期毎に1回)、450mgの用量で皮下投与される。所定の実施態様では、450mgの更なる皮下用量が4週目に1回、投与される。一実施態様では、キリズマブは、12週間に1回(つまり、四半期毎に1回)、150mgの用量で皮下投与される。所定の実施態様では、150mgの更なる皮下用量が4週目に1回、投与される。

30

【0152】

「患者の応答」又は「応答」(及びその文法的変化形)は、限定しないが、(1)減速及び完全な停止を含む疾患の進行のある程度の阻害;(2)疾患の発現及び/又は症状の数の減少;(3)病巣サイズの縮小;(4)隣接末梢器官及び/又は組織への疾患細胞浸潤の阻害(即ち、減少、減速又は完全停止);(5)疾患拡散の阻害(即ち減少、減速又は完全停止);(6)疾病病巣の退縮又は消失を、必ずでは無いが、もたらしうる自己免疫応答の減少;(7)疾患に伴う一又は複数の症状のある程度の軽減;(8)治療後の無病を提示する期間の増加;及び/又は(9)治療後の任意の時点での死亡率の減少を含む、患者に対する利益を示す任意のエンドポイントを使用して評価することができる。

40

【0153】

「親和性」とは、分子(例えば、抗体)の単一結合部位とその結合パートナー(例えば、抗原)との間の非共有結合相互作用の総和の強度を指す。ここで使用される場合、特に断らない限り、「結合親和性」は、結合対(例えば、抗体及び抗原結合アーム)のメンバー間の1:1の相互作用を反映している内因的な結合親和性を指す。そのパートナーYに対する分子Xの親和性は、一般的に解離定数(Kd)で表すことができる。親和性は、ここに記載したものを含む、当該技術分野で知られている一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための特定の例証的かつ例示的实施態様は、次に説明される。

50

【0154】

「親和性成熟」抗体とは、その改変を有していない親抗体と比較して、抗原に対する抗体の親和性に改良を生じせしめる一又は複数の改変を、一又は複数の超可変領域（HVR）に持つ抗体を指す。

【0155】

「抗標的抗体」及び「標的に結合する抗体」なる用語は、抗体が、標的を標的とする点で診断及び／又は治療用薬剤として有用であるように、十分な親和性で標的に結合することができる抗体を指す。一実施態様では、抗標的抗体の無関係な非標的タンパク質への結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）又はピアコアアッセイによって測定して、抗体の標的への結合の約10%未満である。所定の実施態様では、標的へ結合する抗体は、解離定数（Kd）が、 $1\mu\text{M}$ 、 100nM 、 10nM 、 1nM 、 0.1nM 、 0.01nM 、又は 0.001nM （例えば、 10^{-8}M 以下、例えば、 10^{-8}M から 10^{-13}M 、例えば、 10^{-9}M から 10^{-13}M ）である。所定の実施態様では、抗標的抗体は、異なる種の間で保存されている標的のエピトープに結合する。

10

【0156】

「抗体」なる用語は最も広い意味で用いられ、様々な抗体構造を包含し、限定されないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば二重特異性抗体）、及び所望の抗原結合活性を示す限り、抗体断片を含む。

【0157】

「抗体断片」は、インタクトな抗体が結合する抗原に結合するインタクトな抗体の一部を含むインタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例としては、限定されないが、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SHは、F(ab')₂；ダイアボディ、直鎖状抗体、単鎖抗体分子（例えばscFv）；及び抗体断片から形成された多重特異性抗体が含まれる。

20

【0158】

参照抗体と「同じエピトープに結合する抗体」とは、競合アッセイにおいて50%以上、参照抗体のその抗原への結合をブロックする抗体を指し、逆に参照抗体は、競合アッセイにおいて50%以上、その抗体のその抗原への結合をブロックする。競合アッセイを実施するための様々な方法が当該分野においてよく知られている。

30

【0159】

ここでの目的のための「アクセプターヒトフレームワーク」とは、以下に定義されるように、ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークから得られる軽鎖可変ドメイン（VL）フレームワーク又は重鎖可変ドメイン（VH）フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターヒトフレームワークは、その同一のアミノ酸配列を含んでいてもよく、又はそれはアミノ酸配列変化を含みうる。幾つかの実施態様では、アミノ酸変化の数は、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、又は2以下である。幾つかの実施態様では、VLアクセプターヒトフレームワークは、VLヒト免疫グロブリンフレームワーク配列又はヒトコンセンサスフレームワーク配列と配列が同一である。

40

【0160】

「キメラ」抗体なる用語は、重鎖及び／又は軽鎖の一部分が特定の起源又は種から由来する一方、重鎖及び／又は軽鎖の残りが異なる起源又は種から由来する抗体を指す。

【0161】

抗体の「クラス」は、その重鎖が保有する定常ドメイン又は定常領域のタイプを指す。抗体には5つの主要なクラス：IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMがあり、これらの幾つかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IGA1、及びIgA2に更に分けられうる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、 γ 、 δ 、 ϵ 、 μ 、及び κ と呼ばれる。

50

【0162】

「エフェクター機能」とは、抗体のアイソタイプにより変わる、抗体のFc領域に起因する生物学的活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、C1q結合及び補体依存性細胞傷害性(CDC)；Fc受容体結合性；抗体依存性細胞媒介性細胞障害性(ADCC)；ファゴサイトーシス；細胞表面受容体(例えば、B細胞受容体)のダウンレギュレーション；及びB細胞活性化が含まれる。

【0163】

薬剤、例えば、薬学的製剤の「有効量」とは、所望の治療的又予防的結果を達成するために必要な用量及び期間での、有効な量を指す。

【0164】

ここでの「Fc領域」なる用語は、定常領域の少なくとも一部を含む、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用される。その用語は、天然配列Fc領域と変異体Fc領域を含む。一実施態様では、ヒトIgG重鎖Fc領域はCys226又はPro230から重鎖のカルボキシル末端まで伸長する。しかし、Fc領域のC末端リジン(Lys447)は存在しているか、又は存在していない場合がある。ここで他の定義が記載されていない限り、Fc領域又は定常領域内のアミノ酸残基の番号付けは、Kabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるように、EUインデックスとも呼ばれるEU番号付け系に従う。

【0165】

「フレームワーク」又は「FR」は、超可変領域(HVR)残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのFRは、一般に4つのFRのドメイン、つまり、FR1、FR2、FR3、及びFR4からなる。従って、HVR及びFR配列は、一般にVH(又はVL)の以下の配列に現れる：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【0166】

「完全長抗体」、「インタクトな抗体」及び「全抗体」なる用語は、ここでは互換的に使用され、天然型抗体構造と実質的に類似の構造を有するか、又はここで定義されるFc領域を含む重鎖を有する抗体を指す。

【0167】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」及び「宿主細胞培養」なる用語は互換的に使用され、外因性の核酸が導入された細胞を指し、そのような細胞の子孫を含む。宿主細胞は、「形質転換体」及び「形質転換された細胞」を含み、これは継代の数に関係なく、一次形質転換細胞と、それに由来する子孫を含む。子孫は親細胞と核酸含量が完全には同一ではないかもしれないが、突然変異が含まれる場合がある。最初に形質転換された細胞においてスクリーニング又は選択されたものと同じ機能又は生物活性を有する変異型子孫がここで含まれる。

【0168】

「ヒト抗体」は、ヒト又はヒト細胞により産生されるか、又はヒト抗体のレパートリー又は他のヒト抗体をコードする配列を利用した非ヒト源に由来する抗体のそれに対応するアミノ酸配列を有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を特に除外する。

【0169】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」とは、ヒト免疫グロブリンVL又はVHフレームワーク配列の選択において最も一般的に存在するアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般的には、ヒト免疫グロブリンVL又はVH配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループからのものである。一般的には、配列のサブグループは、Kabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5版, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), 1-3巻にあるサブグループである。一実施態様では、VLに対して、サブグループは上掲のKabat等のサブグループカッパIである。一実施態様では、VHに

10

20

30

40

50

対して、サブグループは上掲の K a b a t 等のサブグループ I I I である。

【 0 1 7 0 】

「ヒト化」抗体は、非ヒト H V R 由来のアミノ酸残基とヒト F R 由来アミノ酸残基を含むキメラ抗体を指す。所定の実施態様では、ヒト化抗体は、少なくとも一つ、典型的には 2 つの可変ドメインの実質的に全てを含み、H V R (例えば、C D R) の全て又は実質的に全てが非ヒト抗体のものに対応し、F R の全て又は実質的に全てがヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は、任意には、ヒト抗体由来の抗体定常領域の少なくとも一部を含んでいてもよい。抗体、例えば、非ヒト抗体の「ヒト化型」は、ヒト化を受けた抗体を指す。

【 0 1 7 1 】

「超可変領域」又は「H V R」なる用語は、配列が超可変であるか、及び/又は構造的に定まったループ(「超可変ループ」)を形成する抗体可変ドメインの領域の各々を指す。一般的に、天然 4 鎖抗体は、V H (H 1、H 2、H 3) に 3 つ、V L (L 1、L 2、L 3) に 3 つの 6 つの H V R を含む。H V R は、一般的に超可変ループ由来及び/又は「相補性決定領域」(C D R) 由来のアミノ酸残基を含み、後者は、典型的には最も配列可変性であり、及び/又は抗原認識に関与している。ここで使用される H V R は、位置 2 4 - 3 6 (H V R L 1 について)、4 6 - 5 6 (H V R L 2 について)、8 9 - 9 7 (H V R L 3 について)、2 6 - 3 5 B (H V R H 1 について)、4 7 - 6 5 (H V R H 2 について)、及び 9 3 - 1 0 2 (H V R H 3 について) 内に位置する任意の数の残基を含む。

【 0 1 7 2 】

「個体」又は「患者」又は「被験者」は哺乳動物である。哺乳動物は、限定されないが、家畜動物(例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ)、霊長類(例えば、ヒト及びサルなどの非ヒト霊長類)、ウサギ、及び齧歯類(例えばマウス及びラット)を含む。所定の実施態様では、個体又は患者又は被験者はヒトである。幾つかの実施態様では、ここでの「個体」又は「患者」又は「被験者」は、喘息又は呼吸器疾患の一又は複数の徴候、症状、又は他の指標を被っているか被った、治療に適格な任意の一人のヒト被験者である。被験者に含める意図があるのは、疾患の如何なる臨床徴候も示していない臨床研究治療に関与した任意の被験者、疫学的研究に関与した被験者、又は対照として一度使用された被験者である。被験者は、T H 2 経路阻害剤又は他の薬剤で過去に治療されていてもよく、又は治療されていなくてもよい。被験者は、ここでの治療が開始されるとき T H 2 阻害剤に対してナイーブであってもよく、つまり、被験者は、「ベースライン」において(つまり、ここでの治療法における T H 2 阻害剤の初回用量の投与前のセットポイント時点、例えば治療開始前の被験者の選別の日)、例えば T H 2 阻害剤で過去に治療されていなくてもよい。そのような「ナイーブな」被験者は、一般に、そのような薬剤での治療のための候補であると考えられる。

【 0 1 7 3 】

「小児」個体又は患者又は被験者は出生直後から 1 8 歳(又は 0 から 1 8 歳)までのヒトである。幾つかの実施態様では、小児個体又は患者又は被験者は 2 から 6 歳、2 から 1 7 歳、6 から 1 1 歳、6 から 1 8 歳、6 から 1 7 歳、8 から 1 7 歳、1 2 から 1 7 歳、又は 1 2 から 1 8 歳である。

【 0 1 7 4 】

「単離された」抗体は、その自然環境の成分から分離されたものである。幾つかの実施態様では、抗体は、例えば、電気泳動(例えば、S D S - P A G E、等電点電気泳動(I E F)、キャピラリー電気泳動)又はクロマトグラフィー(例えば、イオン交換又は逆相 H P L C)により決定されて、9 5 % 又は 9 9 % を越える純度まで精製される。抗体純度の評価法の概説としては、例えば Flatman 等, J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007) を参照のこと。

【 0 1 7 5 】

「単離された」核酸は、その自然環境の成分から分離された核酸分子を指す。単離された核酸は、核酸分子を通常含む細胞に含まれる核酸分子を含むが、その核酸分子は、染色

10

20

30

40

50

体外又はその自然の染色体位置とは異なる染色体位置に存在している。

【0176】

「抗標的抗体をコードする単離された核酸」は、抗体の重鎖及び軽鎖（又はその断片）をコードする一又は複数の核酸分子を指し、単一のベクター又は別個のベクター内のそのような核酸分子、及び宿主細胞の一又は複数の位置に存在するそのような核酸分子を含む。

【0177】

「モノクローナル抗体」なる用語は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を意味し、すなわち、例えば、天然に生じる変異を含み、又はモノクローナル抗体調製物の製造時に発生し、一般的に少量で存在している変異体などの、可能性のある変異体抗体を除き、集団を構成する個々の抗体は同一であり、及び／又は同じエпитープに結合する。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を典型的には含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。従って、「モノクローナル」なる修飾語は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものとして解釈されるべきではない。例えば、ここで提供される方法に従って使用されるモノクローナル抗体は、限定されないが、ハイブリドーマ法、組換えDNA法、ファージディスプレイ法、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部又は一部を含むトランスジェニック動物を利用する方法を含む様々な技術によって作製され得、そのような方法及びモノクローナル抗体を作製するための他の例示的な方法はここに記載されている。

【0178】

「ネイキッド抗体」とは、異種性部分（例えば、細胞傷害性部分）又は放射性標識にコンジュゲートしていない抗体を指す。ネイキッド抗体が薬学的製剤中に存在していてもよい。

【0179】

「天然型抗体」は、様々な構造をとる天然に生じる免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然型IgG抗体は、ジスルフィド結合している2つの同一の軽鎖と2つの同一の重鎖からなる約150000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。N末端からC末端に向けて、各重鎖は、可変重鎖ドメイン又は重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VH）を有し、3つの定常ドメイン（CH1、CH2及びCH3）が続く。同様に、N末端からC末端に向けて、各軽鎖は、可変軽鎖ドメイン又は軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VL）を有し、定常軽鎖（CL）ドメインが続く。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（ κ ）とラムダ（ λ ）と呼ばれる、2つのタイプの一つに割り当てることができる。

【0180】

「パッケージ挿入物」なる用語は、適応、用法、用量、投与方法、併用療法、禁忌についての情報、及び／又はそのような治療用製品の使用に関する警告を含む、治療用製品の商用パッケージに慣習的に含められるインストラクションを指すために使用される。「パッケージ挿入物」なる用語はまた、意図される用途、試験の原理、試薬の調製及び取り扱い、検体の収集及び調製、アッセイのキャリブレーション及びアッセイ手順、アッセイの感度と特異性などの性能と精度のデータに関する情報を含む、診断用製品の商用パッケージに慣習的に含められるインストラクションを指すためにも使用される。

【0181】

参照ポリペプチド配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」は、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入した後、如何なる保存的置換も配列同一性の一部と考えないとした、参照ポリペプチドのアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、当業者の技量の範囲にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN、又はMegalign（DNASTAR）ソフトウェアのような公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用する

ことにより達成可能である。当業者であれば、比較される配列の完全長に対して最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、配列をアラインするための適切なパラメーターを決定することができる。しかし、ここでの目的のためには、%アミノ酸配列同一性の値は、配列比較コンピュータープログラム A L I G N - 2 を使用することによって生成される。A L I G N - 2 配列比較コンピュータープログラムはジェネンテック社によって著作され、そのソースコードは米国著作権庁（ワシントン D . C . , 2 0 5 5 9 ）に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号 T X U 5 1 0 0 8 7 の下で登録されている。A L I G N - 2 プログラムは、ジェネンテック社（サウスサンフランシスコ、カリフォルニア）から公的に入手可能であり、又はそのソースコードからコンパイルすることができる。A L I G N - 2 プログラムは、デジタル U N I X の V 4 . 0 D を含む、U N I X オペレーティングシステム上での使用ではコンパイルされるべきである。全ての配列比較パラメーターは、A L I G N - 2 プログラムによって設定され、変動しない。

10

【 0 1 8 2 】

アミノ酸配列比較に A L I G N - 2 が用いられる状況では、与えられたアミノ酸配列 A の、与えられたアミノ酸配列 B への、それと、又はそれに対する %アミノ酸配列同一性（あるいは、与えられたアミノ酸配列 B へ、それと、又はそれに対して所定の %アミノ酸配列同一性を持つか又は含む与えられたアミノ酸配列 A と言うこともできる）は次のように計算される：

【 0 1 8 3 】

20

分数 X / Y の 1 0 0 倍であって、X は配列アラインメントプログラム A L I G N - 2 により、A と B のそのプログラムのアラインメントにおいて同一と一致したスコアのアミノ酸残基の数であり、Y は B 中の全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列 A の長さがアミノ酸配列 B の長さとは異なる場合、A の B に対する %アミノ酸配列同一性は、B の A に対する %アミノ酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。特に断らない限り、ここで使用される全てのアミノ酸配列同一性 % の値が、A L I G N - 2 コンピュータープログラムを使用し、直前の段落で説明したようにして得られる。

【 0 1 8 4 】

「薬学的製剤」なる用語は、そこに含まれる活性成分の生物学的活性が効果的であることを可能にする形態であって、製剤が投与される被験者にとって許容できない毒性がある更なる成分を含まない調製物を指す。

30

【 0 1 8 5 】

「薬学的に許容される担体」は、被験者に非毒性である、有効成分以外の薬学的製剤中の成分を指す。薬学的に許容される担体は、限定されないが、緩衝剤、賦形剤、安定剤、又は保存料を含む。

【 0 1 8 6 】

「標的」なる用語は、特に断らない限り、霊長類（例えばヒト）及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）などの哺乳動物を含む任意の脊椎動物由来の任意の天然型分子を指す。その用語は、「完全長」の未処理の標的並びに細胞内でのプロセッシングから生じる任意の形態の標的を包含する。その用語はまた、天然に存在する標的の変異体、例えば、スプライス変異体又は対立遺伝子変異体を包含する。

40

【 0 1 8 7 】

「治療」なる用語（及び「治療する（treat）」又は「治療している（treating）」など文法上の変形）は、治療されている個体の自然経過を変えようと試みる臨床的介入を指し、予防のために、又は臨床病理の過程中的の何れかで実施されうる。治療の望ましい効果は、限定されないが、疾患の発症又は再発を予防すること、症状の緩和、疾患の直接的又は間接的な病理学的帰結の縮小、転移を予防すること、疾患の進行の速度を遅らせること、疾患状態の改善又は緩和、及び寛解又は予後の改善を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、疾患の発症を遅延させるか又は疾患の進行を遅くするために使用される。

【 0 1 8 8 】

50

「可変領域」又は「可変ドメイン」なる用語は、抗体の抗原への結合に關与する抗体の重鎖又は輕鎖のドメインを指す。天然型抗体の重鎖及び輕鎖の可変ドメイン（それぞれVH及びVL）は、4つの保存されたフレームワーク領域（FR）と3つの超可変領域（HVR）を含む各ドメインを持ち、一般的に類似構造を有する。（例えば、Kindt等 Kuby Immunology, 6版, W.H. Freeman and Co., 91頁（2007）を参照）。単一のVH又はVLドメインが抗原結合特異性を付与するのに十分であり得る。更に、特定の抗原に結合する抗体は、相補的なVL又はVHドメインのそれぞれのライブラリーをスクリーニングするために、抗原に結合する抗体由来のVH又はVLドメインを用いて単離することができる。例えば、Portolano等, J. Immunol. 150:880-887（1993）；Clarkson等, Nature 352:624-628（1991）を参照のこと。

10

【0189】

「ベクター」なる用語は、それが連結されている別の核酸を伝播することができる核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、並びにそれが導入された宿主細胞のゲノム中に組み込まれたベクターを含む。ある種のベクターは、それらが作用可能なように連結されている核酸の発現を指示することができる。このようなベクターは、ここでは「発現ベクター」と言う。

【0190】

組成物及び方法

一態様では、本発明は、新規な診断アッセイ及びより良い治療方法に部分的に基づいている。幾つかの実施態様では、喘息及び他の疾患を治療するより良い方法が提供される。

20

【0191】

例示的な抗体

抗IL13抗体

一態様では、本発明はヒトIL-13に結合する単離された抗体を提供する。

【0192】

一実施態様では、抗IL13抗体は、配列番号14のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号15のアミノ酸配列を含むHVR-L2、配列番号16のアミノ酸配列を含むHVR-L3、配列番号11のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号12のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号13のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。

30

【0193】

別の実施態様では、抗体は、配列番号9及び配列番号10の可変領域配列を含む。別の実施態様では、抗体は、配列番号19及び配列番号20の可変領域配列を含む。別の実施態様では、抗体は、配列番号21及び配列番号20の可変領域配列を含む。

【0194】

上記実施態様の何れかにおいて、抗IL-13抗体はヒト化することができる。一実施態様では、抗IL-13抗体は、上記実施態様の何れかにおけるHVRを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンのフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含む。

【0195】

他の態様では、抗IL-13抗体は、配列番号9のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。所定の実施態様では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、参照配列に対して置換（例えば保存的置換）、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗IL-13抗体はヒトIL-13へ結合する能力を保持する。所定の実施態様では、配列番号9において、合計1から10のアミノ酸が、置換、変更、挿入及び/又は欠失している。所定の実施態様では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外の（すなわちFR内の）領域で生じる。場合によっては、抗IL13抗体は、配列番号9のVH配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。場合に

40

50

よっては、抗 I L 1 3 抗体は、配列番号 1 9 の V H 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。場合によっては、抗 I L 1 3 抗体は、配列番号 2 1 の V H 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。

【 0 1 9 6 】

他の態様では、配列番号 1 0 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、又は 1 0 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン (V L) を含む、抗 I L - 1 3 抗体が提供される。所定の実施態様では、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % の同一性を有する V L 配列は、参照配列に対して置換 (例えば保存的置換)、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗 I L - 1 3 抗体は I L - 1 3 へ結合する能力を保持する。所定の実施態様では、配列番号 1 0 において、合計 1 から 1 0 のアミノ酸が、置換、挿入及び / 又は欠失している。所定の実施態様では、置換、挿入、又は欠失は、H V R の外の (すなわち F R 内の) 領域で生じる。場合によっては、抗 I L - 1 3 抗体は、配列番号 1 0 の V L 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。場合によっては、抗 I L - 1 3 抗体は、配列番号 2 0 の V L 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。場合によっては、抗 I L - 1 3 抗体は、配列番号 2 2 の V L 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。

10

【 0 1 9 7 】

更に別の実施態様では、抗 I L - 1 3 抗体は、配列番号 1 0 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、又は 1 0 0 % の配列同一性を有する V L 領域と、配列番号 9 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、又は 1 0 0 % の配列同一性を有する V H 領域とを含む。また更なる実施態様では、抗 I L 1 3 抗体は、配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3、配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。

20

【 0 1 9 8 】

他の態様では、上記に与えられた実施態様の何れかにある V H と、上記に与えられた実施態様の何れかにある V L とを含む抗 I L - 1 3 抗体が提供される。

30

【 0 1 9 9 】

更なる態様では、本発明は、ここに提供された抗 I L - 1 3 抗体と同一のエピトープに結合する抗体を提供する。例えば、所定の実施態様では、配列番号 9 の V H 配列と配列番号 1 0 の V L 配列を含む抗 I L - 1 3 抗体と同じエピトープに結合するか、又は該抗体によって競合的に阻害されうる抗体が提供される。

【 0 2 0 0 】

本発明の更なる態様では、上記実施態様の何れかに記載の抗 I L - 1 3 抗体は、キメラ、ヒト化又はヒト抗体を含むモノクローナル抗体でありうる。一実施態様では、抗 I L 1 3 抗体は、抗体断片、例えば、F v、F a b、F a b'、s c F v、ダイアボディ、又は F (a b')₂ 断片である。他の実施態様では、抗体は、完全長抗体、例えば、インタクトな I g G 1 又は I g G 4 抗体、又はここで定義された他の抗体クラス又はアイソタイプである。別の実施態様によれば、抗体は二重特異性抗体である。一実施態様では、二重特異性抗体は、上述の H V R を含むか又は V H 及び V L 領域を含む。

40

【 0 2 0 1 】

更なる態様では、上記実施態様の何れかに記載の抗 I L - 1 3 抗体は、以下のセクション 1 - 7 に記載の特徴の何れかを、単独で又は組み合わせて、取り込んでいてもよい。

【 0 2 0 2 】

抗 M 1' 抗体

一態様では、本発明は、ヒト B 細胞上の表面発現 I g E の膜近位 M 1' 領域に結合する単離された抗体を提供する。

50

【0203】

一実施態様では、抗M1'抗体は、配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L2、配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-L3、配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。

【0204】

別の実施態様では、抗体は、配列番号1及び配列番号2の可変領域配列を含む。

【0205】

上記実施態様の何れかにおいて、抗M1'抗体はヒト化することができる。一実施態様では、抗M1'抗体は、上記実施態様の何れかにおけるHVRを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンのフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含む。

10

【0206】

他の態様では、抗M1'抗体は、配列番号1のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。所定の実施態様では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、参照配列に対して置換(例えば保存的置換)、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗M1'抗体はヒトM1'へ結合する能力を保持する。所定の実施態様では、配列番号1において、合計1から10のアミノ酸が、置換、変更、挿入及び/又は欠失している。所定の実施態様では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外の(すなわちFR内の)領域で生じる。場合によっては、抗M1'抗体は、配列番号1のVL配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。

20

【0207】

他の態様では、配列番号2のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン(VL)を含む、抗M1'抗体が提供される。所定の実施態様では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、参照配列に対して置換(例えば保存的置換)、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗M1'抗体はM1'へ結合する能力を保持する。所定の実施態様では、配列番号2において、合計1から10のアミノ酸が、置換、挿入及び/又は欠失している。所定の実施態様では、置換、挿入、又は欠失は、HVRの外の(すなわちFR内の)領域で生じる。場合によっては、抗M1'抗体は、配列番号2のVL配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。

30

【0208】

更に別の実施態様では、抗M1'抗体は、配列番号2のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有するVL領域と、配列番号1のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有するVH領域とを含む。また更なる実施態様では、抗M1'抗体は、配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L1、配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L2、配列番号8のアミノ酸配列を含むHVR-L3、配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H1、配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。

40

【0209】

他の態様では、上記に与えられた実施態様の何れかにあるVHと、上記に与えられた実施態様の何れかにあるVLとを含む抗M1'抗体が提供される。

【0210】

更なる態様では、本発明は、ここに提供された抗M1'抗体と同一のエピトープに結合する抗体を提供する。例えば、所定の実施態様では、配列番号1のVH配列と配列番号2

50

のV L配列を含む抗M 1'抗体と同じエピトープに結合するか、又は該抗体によって競合的に阻害されうる抗体が提供される。

【0211】

本発明の更なる態様では、上記実施態様の何れかに記載の抗M 1'抗体は、キメラ、ヒト化又はヒト抗体を含むモノクローナル抗体でありうる。一実施態様では、抗M 1'抗体は、抗体断片、例えば、F v、F a b、F a b'、s c F v、ダイアボディ、又はF (a b')₂断片である。他の実施態様では、抗体は、完全長抗体、例えば、インタクトなI g G 1又はI g G 4抗体、又はここで定義された他の抗体クラス又はアイソタイプである。別の実施態様によれば、抗体は二重特異性抗体である。一実施態様では、二重特異性抗体は、上述のH V Rを含むか又はV H及びV L領域を含む。

10

【0212】

更なる態様では、上記実施態様の何れかに記載の抗M 1'抗体は、以下のセクション1-7に記載の特徴の何れかを、単独で又は組み合わせで、取り込んでいてもよい。

【0213】

1. 抗体親和性

所定の実施態様では、ここに提供される抗体は、解離定数(K d)が、1 μ M、1 0 0 n M、1 0 n M、1 n M、0 . 1 n M、0 . 0 1 n M、又は0 . 0 0 1 n M (例えば、1 0⁻⁸ M以下、例えば、1 0⁻⁸ Mから1 0⁻¹³ M、例えば、1 0⁻⁹ Mから1 0⁻¹³ M)である。

【0214】

20

一実施態様では、K dは、次のアッセイによって記載されるように、対象の抗体のF a b型とその抗原を用いて実施される放射標識抗原結合アッセイ(R I A)によって測定される。抗原に対するF a bの溶液結合親和性は、一連の力価の非標識抗原の存在下で、最小濃度の(1 2 5 I)標識抗原でF a bを均衡にし、ついで抗F a b抗体被覆プレートで結合抗原を捕獲することによって測定する(例えばChen等, J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)を参照)。アッセイ条件を確立するために、M I C R O T I T E R (登録商標)マルチウェルプレート(Thermo Scientific)を5 μ g / m lの5 0 m M炭酸ナトリウム(p H 9 . 6)中の捕獲抗F a b抗体(Cappel Labs)で一晩被覆し、その後P B S中の2 % (w / v)のウシ血清アルブミンで室温(およそ2 3 ° C)で2 から5 時間、ブロックする。非吸着プレート(Nunc #269620)において、1 0 0 p M又は2 6 p Mの[1 2 5 I]抗原を段階希釈した対象のF a bと混合する(例えば、Presta等, Cancer Res. 57: 4593-4599(1997)における抗V E G F抗体F a b-1 2の評価と一致)。ついで対象のF a bを一晩インキュベートする;しかし、インキュベーションは平衡状態に達したことを確認するまでより長い時間(例えば約6 5 時間)継続する場合がある。その後、混合物を捕獲プレートに移し、室温で(例えば1 時間)インキュベートする。ついで、溶液を取り除き、プレートをP B S中の0 . 1 %ポリソルベート2 0 (T w e e n-2 0 (登録商標))で8 回洗浄する。プレートが乾燥したら、1 5 0 μ l / ウェルの閃光物質(MicroScint-20T M; Packard)を加え、プレートをT O P C O U N T T M カウンター(Packard)で1 0 分間計数する。最大結合の2 0 %か又はそれ以下を与える各F a bの濃度を選択して競合結合アッセイに用いる。

30

40

【0215】

他の実施態様によれば、~ 1 0 反応単位(R U)の固定した抗原C M 5チップで2 5のB I A c o r e (登録商標)-2 0 0 0又はB I A c o r e (登録商標)-3 0 0 0 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)を使用して表面プラズモン共鳴アッセイを使用してK dが測定される。簡単に言うと、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ(CM5, BIAcore Inc.)を、提供者の指示書に従ってN - エチル - N' - (3 - ジメチルアミノプロピル) - カルボジイミド塩酸塩(E D C)及びN - ヒドロキシスクシンイミド(N H S)で活性化する。抗原を1 0 m Mの酢酸ナトリウム(p H 4 . 8)で5 μ g / m l (~ 0 . 2 μ M)に希釈した後、結合したタンパク質のおよそ1 0 反応単位(R U)を達成するように5 μ l / 分の流量で注入する。抗原の注入後、未反応群をブロックするた

50

めに1 Mのエタノールアミンを注入する。動力学的な測定では、2 倍の段階希釈した Fab (0.78 nM から 500 nM) を 25 、およそ 25 μ l / 分の流量で 0.05 % ポリソルベート 20 (Tween-20 TM) 界面活性剤 (PBST) を含む PBS に注入する。結合及び解離のセンサーグラムを同時にフィットさせることによる単純一対一ラングミュア結合モデル (simple one-to-one Langmuir binding model) (BIAcore Evaluation ソフトウェアバージョン 3.2) を用いて、結合速度 (k_{on}) と解離速度 (k_{off}) を算出する。平衡解離定数 (K_d) を k_{off} / k_{on} 比として算出する。例えば、Chen 等, J. Mol Biol 293:865-881(1999) を参照のこと。上記の表面プラズモン共鳴アッセイにより結合速度が 106 M⁻¹ S⁻¹ を上回る場合、分光計、例えば、ストップフロー装置分光光度計 (Aviv Instruments) 又は攪拌キュベットを備えた 8000 シリーズ SLM - Aminco 分光光度計 (ThermoSpectronic) で測定される、漸増濃度の抗原の存在下で、PBS (pH 7.2)、25 の、20 nM の抗抗原抗体 (Fab 型) の蛍光放出強度 (励起 = 295 nm ; 放出 = 340 nm、バンドパス = 16 nm) の増加又は減少を測定する蛍光消光技術を用いて結合速度を測定することができる。

【0216】

2. 抗体断片

所定の実施態様では、ここで提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片は、限定されないが、Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv、及び scFv 断片、及び下記の他の断片を含む。所定の抗体断片の総説については、Hudson 等 Nat. Med. 9:129-134 (2003) を参照。scFv 断片の総説については、例えば、Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 113 巻, Rosenberg and Moore 編 (Springer-Verlag, New York), 頁 269-315 (1994) を参照; また、国際公開第 93 / 16185 号; 及び米国特許第 5571894 号及び第 5587458 号も参照。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、かつインビボ半減期を増加させた Fab 及び F(ab')₂ 断片の議論については、米国特許第 5869046 号を参照のこと。

【0217】

ダイアボディは 2 価又は二重特異性でありうる 2 つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、欧州特許第 404097 号; 国際公開第 1993 / 01161 号; Hudson 等, Nat. Med. 9:129-134 (2003); 及び Hollinger 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993) を参照。トリアボディ及びテトラボディもまた Hudson 等, Nat. Med. 9:129-134 (2003) に記載されている。

【0218】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全て又は一部、又は軽鎖可変ドメインの全て又は一部を含む抗体断片である。所定の実施態様では、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である (Domantis, Inc., Waltham, MA; 例えば、米国特許第 6248516 B1 号を参照)。

【0219】

抗体断片は様々な技術で作製することができ、限定されないが、ここに記載するように、インタクトな抗体のタンパク消化、並びに組換え宿主細胞 (例えば、大腸菌又はファージ) による生産を含む。

【0220】

3. キメラ及びヒト化抗体

所定の実施態様では、ここで提供される抗体はキメラ抗体である。所定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第 4816567 号、及び Morrison 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984) に記載されている。一例では、キメラ抗体は、非ヒト可変領域 (例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、又はサル等の非ヒト霊長類由来の可変領域) 及びヒト定常領域を含む。更なる例では、キメラ抗体は、クラス又はサブクラスが親抗体のものから変化した「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、その抗原結合断片を含む。

【0221】

10

20

30

40

50

所定の実施態様では、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、ヒトに対する免疫原性を低減するために、親の非ヒト抗体の特異性と親和性を保持したまま、ヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、HVR、例えば、CDR（又はその一部）が、非ヒト抗体から由来し、FR（又はその一部）がヒト抗体配列に由来する、一以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、場合によっては、ヒト定常領域の少なくとも一部をまた含む。幾つかの実施態様では、ヒト化抗体の幾つかのFR残基は、抗体特異性又は親和性を回復もしくは改善するために、非ヒト抗体（例えば、HVR残基が由来する抗体）由来の対応する残基で置換されている。

【0222】

ヒト化抗体及びそれらの作製方法は、例えば、Almagro及びFransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)に総説され、更に、Riechmann等, *Nature* 332:323-329 (1988) ; Queen等, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989) ; 米国特許第5821337号、7527791号、6982321号、及び7087409号 ; Kashmiri等, *Methods* 36:25-34 (2005) (SDR(a-CDR)グラフィングを記述) ; Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (「リサーフェシング」を記述) ; Dall'Acqua等, *Methods* 36:43-60 (2005) (「FRシャッフリング」を記述) ; 及びOsbourn等, *Methods* 36:61-68 (2005) 及びKlimka等, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (FRシャッフリングへの「誘導選択」アプローチを記述) に記載されている。

【0223】

ヒト化に用いられうるヒトフレームワーク領域は、限定されないが、「ベストフィット」法を使用して選択されるフレームワーク領域（例えば、Sims等 *J. Immunol.* 151:2296 (1993)）；軽鎖又は重鎖の可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列由来のフレームワーク領域（例えば、Carter等 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992)）；及びPresta等 *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)を参照）；ヒト成熟（体細胞変異）フレームワーク領域又はヒト生殖細胞系フレームワーク領域（例えば、Almagro及びFransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)を参照）；及びFRライブラリスクリーニング由来のフレームワーク領域（例えば、Baca等, *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997)）及びRosok等, *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)を参照）を含む。

【0224】

4. ヒト抗体

所定の実施態様では、ここで提供される抗体はヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野で知られている様々な技術を使用して生産することができる。ヒト抗体は一般的にvan Dijk及びvan de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) 及びLonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)に記載されている。

【0225】

ヒト抗体は、抗原投与に反応してインタクトなヒト抗体又はヒト可変領域を有するインタクトな抗体を産生するように修飾されたトランスジェニック動物に免疫源を投与することによって調製することができる。このような動物は、ヒト免疫グロブリン座位の全て又は一部を典型的には含み、それは、内在性免疫グロブリン座位を置き換えるか、又は染色体外、又は動物の染色体内にランダムに組み込まれて存在する。そのようなトランスジェニックマウスにおいて、内在性免疫グロブリン座位は、一般的に不活性化される。トランスジェニック動物からヒト抗体を得る方法の概説は、Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)を参照のこと。また、XENOMOUSE™技術を記載する米国特許第6075181号及び同6150584号；HUMAB（登録商標）技術を記載した米国特許第5770429号；K-MOUSE（登録商標）技術を記載した米国特許第7041870号；VELOCIMOUSE（登録商標）技術を記載した米国特許出願公開第2007/0061900号を参照。このような動物により産生されるインタクトな抗体からのヒト可変領域は、例えば異なるヒト定常領域と組合せることにより、更に修飾することができる。

【0226】

ヒト抗体は、ハイブリドーマベース法によって作製することができる。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髓腫及びマウス-ヒトヘテロ細胞株が記載されている。(例えば、Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur等, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 及びBoerner等, J. Immunol., 147: 86 (1991)を参照)。ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を介して産生されたヒト抗体はまた、Li等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103: 3557-3562 (2006)に記載されている。更なる方法は、例えば、米国特許第7 1 8 9 8 2 6号(ハイブリドーマ細胞株からのモノクローナルヒトIgM抗体の産生を記載している)及びNi, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006)(ヒト-ヒトハイブリドーマを記載している)に記載されたものを含む。ヒトハイブリドーマ技術(トリオーマ技術)もまた、Vollmers及びBrandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005) 及び Vollmers及びBrandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005)に記載される。

10

【0227】

ヒト抗体は、ヒト由来のファージディスプレイライブラリーから選択されたFvクローン可変ドメイン配列を単離することによってまた産生されうる。このような可変ドメイン配列は、次に所望のヒト定常ドメインと組み合わせてもよい。抗体ライブラリーからヒト抗体を選択するための技術が、以下に記載される。

【0228】

5. ライブラリー由来の抗体

20

本発明の抗体は、所望の活性又は活性群を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって単離することができる。例えば、様々な方法が、ファージディスプレイライブラリーを生成し、所望の結合特性を有する抗体についてのライブラリーをスクリーニングするために、当該技術分野で知られている。そのような方法は、例えば、Hoogenboom等 in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien等編, Human Press, Totowa, NJ, 2001)に総説され、更に、例えば、McCafferty等, Nature 348:552-554; Clackson等, Nature 352: 624-628 (1991); Marks等, J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks及びBradbury, Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo編, Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu等, J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee等, J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); 及びLee等, J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004)に概説されている。

30

【0229】

あるファージディスプレイ法では、VH及びVL遺伝子のレパートリーがポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により別個にクローニングされ、ファージライブラリーにランダムに再結合され、その後、Winter等, Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)に記載されるように、抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは、典型的には、抗体断片を、単鎖Fv(scFv)断片、又はFab断片の何れかとして提示する。免疫源からのライブラリーは、ハイブリドーマを構築する必要性なしで免疫原に高親和性抗体を提供する。あるいは、Griffiths等, EMBO J, 12: 725-734 (1993)に記載されるように、ナイーブなレパートリーを、免疫感作なしで、広範囲の非自己抗原とまた自己抗原に対して単一ソースの抗体を提供するために、(例えばヒトから)クローン化することができる。最後に、ナイーブなライブラリーはまた、Hoogenboom及びWinter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)に記載されるように、非常に可変なCDR3領域をコードし、インビトロで再構成を達成するために、幹細胞由来の未転位V遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含むPCRプライマーを使用することにより、合成することができる。ヒト抗体ファージライブラリーを記述する特許公報は、例えば、米国特許第5 7 5 0 3 7 3号、及び米国特許出願公開第2 0 0 5 / 0 0 7 9 5 7 4号、2 0 0 5 / 0 1 1 9 4 5 5号、2 0 0 5 / 0 2 6 6 0 0 0号、2 0 0 7 / 0 1 1 7 1 2 6号、2 0 0 7 / 0 1 6 0 5 9 8号、2 0 0 7 / 0 2 3 7 7 6 4号、2 0 0 7 / 0 2 9 2 9 3 6号及び2 0

40

50

09/0002360を含む。

【0230】

ヒト抗体ライブラリーから単離された抗体又は抗体断片は、ここでのヒト抗体又はヒト抗体断片とみなされる。

【0231】

6. 多重特異性抗体

所定の実施態様では、ここで提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも二つの異なる部位に対して結合特異性を有するモノクローナル抗体である。所定の実施態様では、結合特異性の一つはIL-13に対してであり、他は任意の他の抗原に対してである。所定の実施態様では、二重特異性抗体は、IL-13の2つの異なるエピトープに結合しうる。二重特異性抗体はまた細胞に対して細胞傷害性薬物を局在化させるために用いることができる。二重特異性抗体は、完全長抗体又は抗体断片として調製することができる。

10

【0232】

多重特異性抗体を作製するための技術は、限定されないが、異なる特異性を有する2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の組換え共発現(Milstein及びCuello, Nature 305: 537 (1983))、国際公開第93/08829号、及びTraunecker等, EMBO J. 10: 3655 (1991)を参照)及び「ノブ・イン・ホール」エンジニアリング(例えば、米国特許第5731168号を参照)を含む。多重特異抗体はまた、抗体のFc-ヘテロ2量体分子を作製するために静電ステアリング効果を操作すること(国際公開第2009/089004A1号)、2つ以上の抗体又は断片を架橋すること(例えば米国特許第4676980号、及びBrennan等, Science, 229: 81 (1985)を参照)、2重特異性抗体を生成するためにロイシンジッパーを使用すること(例えば、Kostelny等, J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)を参照)、二重特異性抗体断片を作製するため、「ダイアボディ」技術を使用すること(例えば、Hollinger等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)を参照)、単鎖Fv(sFv)ダイマーを使用すること(例えば、Gruber等, J. Immunol., 152:5368 (1994)を参照)、及び例えばTutt等 J. Immunol. 147: 60 (1991)に記載されているように、三重特異性抗体を調製することによって、作製することができる。

20

【0233】

「オクトパス抗体」を含む、3つ以上の機能性抗原結合部位を持つ改変抗体もまたここに含まれる(例えば、米国特許出願公開第2006/0025576A1号を参照)。

30

【0234】

ここでの抗体又は断片はまたIL-13並びにその他の異なる抗原に結合する抗原結合部位を含む「2重作用(Dual Acting) Fab」又は「DAF」を含む(例えば米国特許出願公開第2008/0069820号参照)。

【0235】

7. 抗体変異体

所定の実施態様では、ここで提供される抗体のアミノ酸配列変異体が企図される。例えば、抗体の結合親和性及び/又は他の生物学的特性を改善することが望まれる場合がある。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列に適切な改変を導入することにより、又はペプチド合成によって調製することができる。そのような改変は、例えば、抗体のアミノ酸配列内における、残基の欠失、及び/又は挿入及び/又は置換を含む。最終コンストラクトが所望の特性、例えば、抗原結合性を有していることを条件として、欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせが、最終コンストラクトに到達させるためになされうる。

40

【0236】

置換、挿入、及び欠失変異体

所定の実施態様では、一又は複数のアミノ酸置換を有する抗体変異体が提供される。置換突然変異の対象となる部位は、HVRとFRを含む。保存的置換は、表1に「保存的置換」の見出しの下に示されている。より実質的な変更が、表1に「例示的な置換」の見出

50

しの下に与えられ、アミノ酸側鎖のクラスに関連して以下に更に説明される。アミノ酸置換が対象の抗体に導入され得、その産物が、所望の活性、例えば、抗原結合性の保持 / 改善、免疫原性の減少、又は A D C C 又は C D C の改善についてスクリーニングされる。

表1

元の残基	例示的置換	保存的置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン	Leu

【 0 2 3 7 】

アミノ酸は共通の側鎖特性に従ってグループに分けることができる：

- (1) 疎水性：ノルロイシン, M e t , A l a , V a l , L e u , I l e ;
- (2) 中性の親水性：C y s , S e r , T h r , A s n , G l n ;
- (3) 酸性：A s p , G l u ;
- (4) 塩基性：H i s , L y s , A r g ;
- (5) 鎖配向に影響する残基：G l y , P r o ;
- (6) 芳香族：T r p , T y r , P h e .

【 0 2 3 8 】

非保存的置換は、これらの分類の一つのメンバーを他の分類に交換することを必要とするであろう。

【 0 2 3 9 】

置換変異体の一つのタイプは、親抗体（例えば、ヒト化又はヒト抗体）の一又は複数の高頻度可変領域残基の置換を含む。一般的には、更なる研究のために選択される得られた変異体は、親抗体に対して、所定の生物学的特性の改変（例えば、改善）（例えば、親和

10

20

30

40

50

性の増加、免疫原性を減少)を有し、及び/又は親抗体の所定の生物学的特性を実質的に保持しているであろう。例示的な置換変異体は、親和性成熟抗体であり、これは、例えば、ここに記載されるもののようなファージディスプレイベースの親和性成熟技術を使用して、簡便に生成されうる。簡潔に言えば、一又は複数のHVR残基が変異させられ、変異体抗体は、ファージ上にディスプレイされ、特定の生物学的活性(例えば、結合親和性)についてスクリーニングされる。

【0240】

変更(例えば、置換)は、例えば抗体の親和性を向上させるために、HVRにおいて行うことができる。このような変更は、HVRの「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟過程中に高頻度で変異を受けるコドンにコードされた残基で(例えばChowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)を参照)、及び/又はSDR(a-CDR)で行うことができ、得られた変異体VH又はVLが結合親和性について試験される。二次ライブラリーから構築し選択し直すことによる親和性成熟が、例えばHoogenboom等 in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等編, Human Press, Totowa, NJ, (2001)に記載されている。親和性成熟の幾つかの実施態様では、多様性が、様々な方法(例えば、エラープローンPCR、鎖シャッフリング、又はオリゴヌクレオチド指定突然変異誘発)の何れかにより、成熟のために選択された可変遺伝子中に導入される。ついで、二次ライブラリーが作成される。ついで、所望の親和性を持つ抗体変異体を同定するためにライブラリーがスクリーニングされる。多様性を導入するするもう一つの方法は、幾つかのHVR残基(例えば、一度に4から6残基)がランダム化されるHVR指向のアプローチを含む。抗原結合に関与するHVR残基は、例えばアラニンスキャニング突然変異誘発又はモデリングを使用して、特異的に同定されうる。特にCDR-H3及びCDR-L3がしばしば標的にされる。

【0241】

所定の実施態様では、置換、挿入、又は欠失は、そのような改変が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限り、一又は複数のHVR内で発生しうる。例えば、実質的に結合親和性を低下させない保存的改変(例えばここで提供される保存的置換)をHVR内で行うことができる。このような改変は、HVR「ホットスポット」又はSDRの外側であってもよい。上に与えられた変異体VH又はVL配列の所定の実施態様では、各HVRは不変であるか、又は僅か1個、2個又は3個のアミノ酸置換を含むかの何れかである。

【0242】

突然変異誘発のために標的とすることができる抗体の残基又は領域を同定するための有用な方法は、Cunningham及びWells (1989) *Science*, 244:1081-1085により記載されるように、「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれる。この方法では、標的残基の残基又はグループ(例えば、arg、asp、his、lys及びgluなどの荷電残基)が同定され、抗原と抗体との相互作用が影響を受けるかどうかを判断するために、中性又は負に荷電したアミノ酸(例えば、アラニン又はポリアラニン)に置換される。更なる置換が、最初の置換に対する機能的感受性を示すアミノ酸の位置に導入され得る。代わりに、又は加えて、抗原抗体複合体の結晶構造が、抗体と抗原との接触点を同定する。そのような接触残基及び隣接残基が、置換の候補として標的とされるか又は排除されうる。変異体はそれらが所望の特性を含むかどうかを決定するためにスクリーニングされうる。

【0243】

アミノ酸配列挿入は、一残基から百以上の残基を含むポリペプチド長にわたるアミノ及び/又はカルボキシル末端融合、並びに単一又は複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。末端挿入の例としては、N末端メチオニン残基を有する抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体は、酵素に対する抗体のN末端又はC末端への融合(例えばADEPTの場合)、又は抗体の血清半減期を増加させるポリペプチドへの融合を含む。

【0244】

グリコシル化変異体

10

20

30

40

50

所定の実施態様では、ここで提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増加又は減少するように改変される。抗体へのグリコシル化部位の付加又は欠失は、一又は複数のグリコシル化部位が作成され又は除かれるようにアミノ酸配列を変えることによって簡便に達成することができる。

【0245】

抗体がFc領域を含む場合には、それに結合する糖を変えることができる。哺乳動物細胞によって生成される天然型抗体は、典型的には、Fc領域のCH2ドメインのAsn297にN結合により一般的に結合した分岐鎖、二分岐オリゴ糖を含んでいる。例えばWright等 TIBTECH 15:26-32 (1997)を参照。オリゴ糖は、様々な炭水化物、例えば、二分岐糖鎖構造の「幹」のGlcNAcに結合した、マンノース、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)、ガラクトース、シアル酸、並びにフコースを含みうる。幾つかの実施態様では、本発明の抗体におけるオリゴ糖の改変が、所定の改善された特性を有する抗体変異型を作製するために行われうる。

【0246】

一実施態様では、抗体変異体は、Fc領域に(直接又は間接的に)結合したフコースを欠く糖鎖構造を有して提供される。例えば、このような抗体におけるフコースの量は、1%から80%、1%から65%、5%から65%、又は20%から40%でありうる。フコースの量は、例えば、国際公開第2008/077546号に記載されているように、MALDI-TOF質量分析法によって測定されるAsn297に結合している全ての糖鎖構造の合計(例えば、複合体、ハイブリッド及び高マンノース構造)に対して、Asn297の糖鎖中のフコースの平均量を計算することによって決定される。Asn297は、Fc領域(Fc領域残基のEU番号付け)でおよそ297の位置に位置するアスパラギン残基を指す;しかし、Asn297もまた位置297の上流又は下流のおよそ±3アミノ酸に、すなわち抗体の軽微な配列変異に起因して、位置294と300の間に位置しうる。このようなフコシル化変異体はADC機能改善させる場合がある。例えば、米国特許出願公開第2003/0157108号(Presta, L.);米国特許出願公開第2004/0093621号(協和発酵工業株式会社)を参照。「フコース非修飾」又は「フコース欠損」抗体変異体に関連する刊行物の例としては、米国特許出願公開第2003/0157108号、国際公開第2000/61739号、国際公開第2001/29246号、米国特許出願公開第2003/0115614号、米国特許出願公開第2002/0164328号、米国特許出願公開第2004/0093621号、米国特許出願公開第2004/0132140号、米国特許出願公開第2004/0110704号、米国特許出願公開第2004/0110282号、米国特許出願公開第2004/0109865号、国際公開第2003/085119号、国際公開第2003/084570号、国際公開第2005/035586号、国際公開第2005/035778号、国際公開第2005/053742号、国際公開第2002/031140号、Okazaki等 J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki等 Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)が含まれる。非フコシル化抗体を産生する能力を有する細胞株の例としては、タンパク質フコシル化を欠損しているLecl3 CHO細胞(Ripka等 Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986);米国特許出願公開第2003/0157108 A1号, Presta, L.;及び国際公開第2004/056312 A1号, Adams等、特に実施例11)、及びノックアウト細胞株、例えばアルファ-1, 6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞(例えば、Yamane-Ohnuki等 Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y.等, Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006);及び国際公開第2003/085107号を参照)を含む。

【0247】

二分オリゴ糖を伴う抗体変異体が更に提供され、例えば、そこでは、抗体のFc領域に結合した二分岐オリゴ糖がGlcNAcによって二分されている。このような抗体変異体はフコシル化を減少させ、及び/又はADC機能を改善する場合がある。そのような抗体変異体の例は、例えば、国際公開第2003/011878号(Jean-Mairet等);米

国特許第6602684号(Umana等)；及び米国特許出願公開第2005/0123546号(Umana等)に記載されている。Fc領域に結合したオリゴ糖内に少なくとも1つのガラクトース残基を持つ抗体変異体も提供される。このような抗体変異体はCDC機能を改善させる場合がある。このような抗体変異体は、例えば、国際公開第1997/30087号(Patel等)；国際公開第1998/58964号(Raju, S.)；及び国際公開第1999/22764号(Raju, S.)に記載されている。

【0248】

Fc領域変異体

所定の実施態様では、一又は複数のアミノ酸修飾を、ここで提供される抗体のFc領域に導入することができ、それによってFc領域変異体を生成する。Fc領域の変異体は、一又は複数のアミノ酸位置においてアミノ酸修飾(例えば置換)を含むヒトFc領域の配列(例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3又はIgG4のFc領域)を含みうる。

【0249】

所定の実施態様では、本発明は、インビボでの抗体の半減期は重要であるが、ある種のエフェクター機能(例えば補体及びADCC)が不要又は有害である用途のための望ましい候補とならしめる、全てではないが一部のエフェクター機能を有する抗体変異体を意図している。インビトロ及び/又はインビボでの細胞毒性アッセイを、CDC活性及び/又はADCC活性の減少/枯渇を確認するために行うことができる。例えば、Fc受容体(FcR)結合アッセイは、抗体がFcR結合を欠くが(よって、おそらくADCC活性を欠く)、FcRn結合能力を保持していることを確認するために行うことができる。ADCCを媒介する初代細胞のNK細胞は、FcRIIIのみを発現するが、単球はFcRI、FcRII及びFcRIIIを発現する。造血細胞におけるFcRの発現は、Ravetch及びKinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)の464頁の表3に要約されている。目的の分子のADCC活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第5500362号(例えば、Hellstrom, I.等 Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)を参照)及びHellstrom, I.等, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985)；5821337号(Bruggemann, M.等, J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)を参照)に記載されている。あるいは、非放射性アッセイ法を用いることができる(例えば、フローサイトメトリー用のACTITTM非放射性細胞傷害性アッセイ(Cell Technology, Inc. Mountain View, CA)；及びCytotox 96(登録商標)非放射性細胞毒性アッセイ(Promega, Madison, WI)を参照。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核球(PBMC)及びナチュラルキラー(NK)細胞が含まれる。あるいは、又は追加的に、目的の分子のADCC活性は、Clynes等 PNAS (USA) 95:652-656 (1998)に開示されるもののよう、インビボで、例えば動物モデルにおいて評価することができる。C1q結合アッセイはまた、抗体が体C1qに結合することができず、よって、CDC活性を欠いていることを確認するために行うことができる。例えば、国際公開第2006/029879号及び国際公開第2005/100402号のC1q及びC3c結合ELISAを参照。補体活性化を評価するために、CDCアッセイを行うことができる(例えば、Gazzano-Santoro等, J. Immunol. Methods 202:163 (1996)；Cragg, M.S.等, Blood 101:1045-1052 (2003)；及びCragg, M.S.及びM.J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)を参照)。FcRn結合及びインビボでのクリアランス/半減期の測定をまた当該分野で知られている方法を使用して行うことができる(例えば、Petkova, S.B.等, Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)を参照)。

【0250】

エフェクター機能が減少した抗体には、Fc領域の残基238、265、269、270、297、327、329の一又は複数の置換を有するものが含まれる(米国特許第6737056号)。そのようなFc変異体は、残基265及び297のアラニンへの置換を有する、いわゆる「DANA」Fc変異体を含む、アミノ酸位置265、269、270、297及び327の2以上での置換を有するFc変異体を含む(米国特許第7332581号)。

10

20

30

40

50

【0251】

FcRへの改善又は減少させた結合を持つ所定の抗体変異体が記載されている。(例(例えば、米国特許第6737056号;国際公開第2004/056312号、及びShields等, J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)を参照)。

【0252】

所定の実施態様では、抗体変異体はADCCを改善する一又は複数のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の位置298、333、及び/又は334における置換(EUの残基番号付け)を含む。

【0253】

幾つかの実施態様では、例えば、米国特許第6194551号、国際公開第99/51642号、及びIdusogie等 J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)に記載されているように、改変された(すなわち改善されたか減少した)C1q結合及び/又は補体依存性細胞傷害(CDC)を生じる、Fc領域における改変がなされる。

【0254】

増加した半減期を持ち、胎児への母性IgGの移送を担う(Guyer等, J. Immunol. 117:587 (1976) 及びKim等, J. Immunol. 24:249 (1994))、新生児Fc受容体(FcRn)への結合が改善された抗体は、米国特許出願公開第2005/0014934A1号(Hinton等)に記載されている。これらの抗体は、FcRnへのFc領域の結合を改善する一又は複数の置換を有するFc領域を含む。このようなFc変異体は、Fc領域の残基の一又は複数の置換を有するものが含まれる: 238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424又は434、例えば、Fc領域の残基434の置換(米国特許第7371826号)。

【0255】

Fc領域の変異体の他の例に関して、Duncan及びWinter, Nature 322:738-40 (1988); 米国特許第5648260号; 米国特許第5624821号; 及び国際公開第94/29351号も参照のこと。

【0256】

システイン操作抗体変異体

所定の実施態様では、システイン操作抗体、例えば抗体の一又は複数の残基がシステイン残基で置換される「thioMAbs」を作ることが望ましいことがある。特定の実施態様では、置換される残基が抗体の接近可能な部位で生じる。これらの残基をシステインと置換することによって、反応性チオール基が抗体の接近可能な部位に位置させられ、抗体を他の部分、例えば薬剤部分又はリンカー薬剤部分に結合させ、ここで更に記載されるように免疫コンジュゲートを作るために使用されうる。所定の実施態様では、以下の残基の任意の一又は複数のシステインと置換されうる: 軽鎖のV205(カバット番号付け); 重鎖のA118(EU番号付け); 及び重鎖Fc領域のS400(EU番号付け)。システイン操作抗体は、例えば米国特許第7521541号に記載されるようにして、産生されうる。

【0257】

抗体誘導体

所定の実施態様では、ここに提供される抗体は、当該技術分野において知られ直ぐに利用できる更なる非タンパク質性部分を含むように更に修飾することができる。抗体の誘導体化に適した部分は、限定しないが、水溶性ポリマーを含む。水溶性ポリマーの非限定的な例には、限定されるものではないが、ポリエチレングリコール(PEG)、エチレングリコール/プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン/無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸(ホモポリマーかランダムコポリマー)、及びデキストラン又はポリ(n-ビニルピロリドン)ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、プロリプロピレンオ

キシド/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチレン化ポリオール（例えばグリセロール）、ポリビニルアルコール、及びそれらの混合物が含まれる。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは水中におけるその安定性のために製造の際に有利でありうる。ポリマーは任意の分子量であってよく、分枝状でも非分枝状でもよい。抗体に結合するポリマーの数は変化してもよく、一を超えるポリマーが結合する場合、それらは同じでも異なった分子でもよい。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び/又はタイプは、限定されるものではないが、抗体誘導体が定まった条件下での治療に使用されるかどうか等を含む、改善される抗体の特定の性質又は機能を含む考慮事項に基づいて決定することができる。

【0258】

10

他の実施態様では、放射線への暴露によって選択的に加熱されうる非タンパク質様部分及び抗体のコンジュゲートが提供される。一実施態様では、非タンパク質様部分はカーボンナノチューブである（Kam等，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)）。放射線は任意の波長のものであってよく、限定するものではないが、通常の細胞に害を与えないが、抗体-非タンパク質様部分に近位の細胞が死滅させられる温度まで非タンパク質様部分を加熱する波長が含まれる。

【0259】

組換え方法及び組成物

抗体は、例えば米国特許第4816567号に記載されているように、組換え法及び構成物を使用して製造することができる。一実施態様では、ここに記載される抗体をコードする単離核酸が提供される。このような核酸は、抗体のVLを含むアミノ酸配列及び/又は抗体のVHを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び/又は重鎖）をコードしうる。更なる実施態様では、そのような核酸を含む一又は複数のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。更なる実施態様では、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。一実施態様では、宿主細胞は、以下を含む（例えば、以下で形質転換される）：（1）抗体のVLを含むアミノ酸配列と抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、又は（2）抗体のVLを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第一ベクター、及び抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第二ベクター。一実施態様では、宿主細胞は、真核生物、例えばチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、又はリンパ系細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）である。一実施態様では、抗体を作製する方法が提供され、その方法は、抗体の発現に適した条件下で、上で与えられたような抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養することを含み、かつ必要に応じて、宿主細胞（又は宿主細胞培地）から抗体を回収することを含む。

20

30

【0260】

抗体の組換え生産では、例えば上述のような抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞での更なるクローニング及び/又は発現のために一又は複数のベクターに挿入される。このような核酸は、直ちに単離され、一般的な手順を使用して（例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能であるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）配列決定されうる。

【0261】

40

抗体をコードするベクターのクローニング又は発現のために適した宿主細胞は、ここに記載される原核細胞又は真核細胞である。例えば、抗体は、特にグリコシル化及びFcエフェクター機能が不要でない場合に、細菌で生産されうる。細菌での抗体断片及びポリペプチドの発現については、米国特許第5648237号、米国特許第5789199号、及び米国特許第5840523号を参照のこと。（また大腸菌中での抗体断片の発現を記述しているCharlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo編, Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254を参照）。発現後、抗体は、可溶性画分中の細菌細胞ペーストから単離され得、更に精製されうる。

【0262】

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母などの真核微生物が、抗体をコードするベクターの

50

ための適切なクローニング又は発現宿主であり、そのグリコシル化経路が「ヒト化」された菌及び酵母株を含み、部分的に又は完全にヒト化したグリコシル化パターンを持つ抗体の生産を生じる。Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004), 及びLi等, Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)を参照。

【0263】

グリコシル化抗体の発現に適した宿主細胞は、多細胞生物（無脊椎動物及び脊椎動物）からもまた誘導される。無脊椎動物細胞の例は、植物及び昆虫の細胞を含む。特にヨウトガ細胞のトランスフェクションのために、昆虫細胞と併用されうる多くのバキュロウィルス株が同定されている。

【0264】

植物細胞培養もまた宿主として利用することができる。例えば米国特許第5959177号、同第6040498号、同第6420548号、同第7125978号、及び同第6417429号（遺伝子導入植物において抗体を生産するためのPLANTIBODIESTM技術を記述）を参照。

【0265】

脊椎動物細胞をまた宿主として使用することができる。例えば、懸濁状態で増殖するよう適合化された哺乳動物細胞株が有用な場合がある。有用な哺乳動物細胞株の他の例は、SV40 (COS-7) によって形質転換されたサル腎臓CV1株；ヒト胚腎臓株 (Graham等, J. Gen Virol. 36:59 (1977)に記載された293又は293細胞)；ベビーハムスター腎臓細胞 (BHK)；マウスセルトリ細胞 (例えばMather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)に記載されるTM4細胞)；サル腎臓細胞 (CV1)；アフリカミドリザル腎臓細胞 (VERO-76)；ヒト子宮頸癌細胞 (HELA)；イヌ腎臓細胞 (MDCK)；バッファローラット肝臓細胞 (BRL3A)；ヒト肺細胞 (W138)；ヒト肝臓細胞 (HepG2)；マウス乳腺腫瘍 (MMT060562)；Mather等, Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)に記載されるTRI細胞；MRC5細胞；及びFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株は、DHFR-CHO細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞 (Urlaub等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980))；及びY0、NS0、及びSp2/0等のミエロマ細胞株である。抗体生産のために適した哺乳動物宿主細胞株の概説として、例えばYazaki及びWu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo編, Humana Press, Totowa, NJ), pp255-268 (2003)を参照のこと。

【0266】

診断及び検出のための方法及び組成物

本発明は、TH2経路阻害剤での治療処置に程度の差はあれ応答する可能性がある被験者を同定するための、特定のバイオマーカー（例えばCSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2の一又は複数及びその組合せ）の使用に少なくとも部分的に基づいている。よって、開示された方法は、患者を治療するための適切な又は効果的な治療法を評価する際に有用なデータ及び情報を取得するための簡便かつ効率的で、潜在的にコスト効率のよい手段を提供する。例えば、試料は喘息患者又は呼吸器疾患患者から得ることができ、その試料を、特定の分析物を測定する様々なインビトロアッセイによって検査し、一又は複数のバイオマーカーの発現レベルが基準集団中における発現レベルと比較して増加したか減少したかどうかを決定することができる。幾つかの実施態様では、患者からの試料中におけるCSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、又はそれ以上の発現レベルが健康な個体における発現レベル以上であれば、その患者はTH2経路阻害剤による治療から恩恵を受ける可能性がある。

【0267】

タンパク質又は核酸を含むバイオマーカーは、当該分野で一般的に知られている方法を使用して検出又は測定することができる。遺伝子又はバイオマーカーの発現レベル／量は、限定されないが、mRNA、cDNA、タンパク質、タンパク質断片及び／又は遺伝子コピー数を含む、当該分野で知られている任意の適切な基準に基づいて決定することができる。検出方法は、試料中のあるバイオマーカーのレベルを定量する方法（定量法）又はあるバイオマーカーが試料中に存在しているかどうかを決定するもの（定性法）を一般に包含する。次の方法のどれがバイオマーカーの定性及び／又は定量検出に適しているかは当業者には一般に知られている。試料は、例えばタンパク質では、ウェスタン及びイムノアッセイ、例えばELISA、RIA、蛍光ベースイムノアッセイを使用して、並びに興味ある遺伝子バイオマーカーからのmRNA又はDNAでは、ノーザン、ドット・プロット、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）解析、アレイハイブリダイゼーション、リボヌクレアーゼ保護アッセイを使用して、又はDNAマイクロアレイスナップショットを含む市販されているDNA SNPチップマイクロアレイを使用して、簡便にアッセイすることができる。バイオマーカーを検出する更なる好適な方法は、そのペプチド又はポリペプチドに特異的な物理的又は化学的性質、例えばその精確な質量又はNMRスペクトルを測定することを含む。該方法は、例えばバイオセンサー、イムノアッセイに連結された光学装置、バイオチップ、分析装置、例えば質量計、NMR分析計、又はクロマトグラフィー装置を含む。更に、方法には、マイクロプレートELISAベース法、全自動又はロボットイムノアッセイ（例えばElectrysmアナライザーで利用可能）、CBA（例えばRoche-HitachiTMアナライザーで利用可能な酵素コバルト結合アッセイ）、及びラテックス凝集アッセイ（例えばRoche-HitachiTMアナライザーで利用可能）が含まれる。

10

20

【0268】

幾つかの実施態様では、mRNAバイオマーカーは当該分野で一般的に知られている任意の方法によって増幅させることができる。増幅とは、一般的に標的バイオマーカー、通常は試料中に存在するバイオマーカー分子からの複数のバイオマーカー分子の生産を意味する。例えば、バイオマーカーが核酸の場合、核酸の増幅は、プライマーが、例えばポリメラーゼによる伸長の開始部位を提供するために標的核酸分子上の特異的な部位にハイブリダイズする、標的核酸からの複数の核酸の生産を意味する。増幅は、限定されないが、PCRベース増幅法、例えば標準的PCR、ロングPCR、ホットスタートPCR、qPCR、及びRT-PCR；等温増幅法、例えば核酸配列ベース増幅（NASBA）及び転写媒介増幅（TMA）；及びハイブリダイゼーションシグナル増幅法、例えば分岐DNAアッセイ法など、当該分野で一般的に知られている任意の方法によって実施することができる。

30

【0269】

所定の実施態様では、試料中の遺伝子又はバイオマーカーの発現／量は、試料中の遺伝子又はバイオマーカーの発現レベル／量が基準集団中の遺伝子又はバイオマーカーの発現レベル／量より多い場合、基準集団中の発現／量と比較して増加している。同様に、試料中の遺伝子又はバイオマーカーの発現／量は、試料中の遺伝子又はバイオマーカーの発現レベル／量が基準集団中の遺伝子又はバイオマーカーの発現レベル／量より少ない場合、基準集団中の発現／量と比較して減少している。

40

【0270】

所定の実施態様では、試料は、アッセイされたRNA又はタンパク質の量の差と使用されたRNA又はタンパク質試料の品質の変動、及び実施アッセイ間の変動の両方に対して正規化される。そのような正規化は、既知のハウスキーピング遺伝子、例えばPP1A、ACTB、GAPDH、TFRC等々を含むある種の規準化遺伝子の発現を測定し導入することによって、達成されうる。別法では、正規化は、アッセイされた遺伝子又はその大きなサブセットの全ての平均値又は中央値シグナルに基づくことができる（グローバル正規化アプローチ）。遺伝子毎のベースでは、患者の腫瘍のmRNA又はタンパク質の測定

50

された正規化量が、規準セットに見出された量と比較される。患者当たりで、試験腫瘍当たりの各 mRNA 又はタンパク質の正規化された発現レベルは、基準セットにおいて測定された発現レベルのパーセンテージとして表すことができる。分析される特定の患者試料において測定された発現レベルは、この範囲内のあるパーセンタイルになり、それは当該分野で知られている方法によって決定することができる。

【0271】

対象のバイオマーカー及びハウスキーピング遺伝子の発現レベルを、喘息患者又は呼吸器疾患患者由来の生体試料から測定することができる。バイオマーカーの得られた検出データ（例えば Ct データ）をハウスキーピング遺伝子の検出データに対して正規化することができ、Ct 値（ $Ct = Ct(\text{バイオマーカー遺伝子}) - Ct(\text{ハウスキーピング遺伝子})$ ）が得られる。試験されたバイオマーカーの Ct 値の平均値を計算することができる（例えば3つのバイオマーカーに対する3通りの Ct 値を加え、9で割る）。2名以上の健康な人の生体試料からの対象の同じバイオマーカーの発現レベルを、同じ方法を使用して検出することができ、健康な人のデータに対する平均値及び標準偏差を計算することができる。別法では、置換値（例えば参照）が同じ方法に対して展開される場合、その値を、試験している健康な人に代えて使用できる。

【0272】

幾つかの実施態様では、喘息患者又は呼吸器疾患患者の平均 Ct 又は Ct 値を、次のようにして、健康な人の中央値又は平均 Ct 又は Ct 値と比較することができる：（1）閾値を設定することができ、該閾値より上では、患者は EIP であると考えられ、閾値より下では患者は EIN であると考えることができる；（2）幾つかの実施態様では、閾値は健康な人（又は対照）の中央値 Ct 又は Ct 値である。幾つかの実施態様では、喘息患者又は呼吸器疾患患者の平均 Ct 又は Ct 値は、次のようにして健康な人の中央値又は平均 Ct 又は Ct 値と比較することができる：（1）閾値を設定することができ、該閾値より上では、患者は EIP であると考えられ、該閾値より下では患者は EIN であると考えることができる；（2）幾つかの実施態様では、閾値は、健康な人（又は対照）の平均 Ct 又は Ct 値の 1.5 倍かあるいは健康な人（又は対照）の平均 Ct 又は Ct 値の 2 標準偏差分、上である。

【0273】

Ct は閾値サイクルである。Ct は、反応の中で生成される蛍光が予め定められた閾値線を超えときのサイクル数である。

【0274】

幾つかの実施態様では、実験は参照 RNA に対して正規化され、参照 RNA は様々な組織源からの RNA の包括的混合物である（例えば Clontech (Mountain View, CA) の参照 RNA # 636538）。他の実施態様では、参照 RNA はトランスフェリン受容体（TFRC）である。幾つかの実施態様では、同じ参照 RNA が各 qRT-PCR 実験に含められ、異なった実験実施間の結果の比較を可能にする。

【0275】

標的遺伝子又はバイオマーカーを含む生体試料は、当該分野で知られている方法によって得ることができる。また、治療の進捗を、そのような体試料を標的遺伝子又は遺伝子産物について試験することによってより簡単にモニターすることができる。

【0276】

バイオマーカータンパク質の検出では、そのようなアッセイ形式を使用する広範囲のイムノアッセイ技術が利用可能であり、例えば米国特許第 4016043 号、同第 4424279 号、及び同第 4018653 号を参照のこと。これらには、非競合型の単一部位及び 2 部位又は「サンドイッチ」アッセイの両方、並びに伝統的な競合結合アッセイが含まれる。また、これらのアッセイは、標的バイオマーカーに対する標識抗体の直接結合を含む。所定の実施態様では、試料中のタンパク質の発現は、免疫組織化学（「IHC」）及び染色プロトコールを使用して検査される。組織切片の免疫組織化学的染色は、試料中のタンパク質の存在を評価するか又は検出する信頼できる方法であることが示されている。

免疫組織化学技術は、一般に色素生産性又は蛍光性の方法によってインサイツで細胞抗原をプローブし可視化するために抗体を利用する。

【 0 2 7 7 】

直接アッセイ及び間接アッセイの二つの一般的方法が利用可能である。最初のアッセイによれば、標的抗原に対する抗体の結合性が直接決定される。この直接アッセイは標識試薬、例えば蛍光タグ又は酵素標識一次抗体を使用するもので、その試薬は更なる抗体相互作用なしに可視化されうる。典型的な間接アッセイでは、非コンジュゲート一次抗体が抗原に結合し、ついで標識二次抗体が一次抗体に結合する。二次抗体が酵素標識にコンジュゲートされる場合、発色性又は蛍光発生基質が加えられて抗原の可視化がなされる。幾つかの二次抗体が一次抗体上の異なったエピトープと反応しうるので、シグナル増幅が生じる。

10

【 0 2 7 8 】

一次及び/又は二次抗体は、典型的には検出可能な部分で標識されるであろう。一般に次のカテゴリーに分類できる数多くの標識が利用可能である：

(a) 放射性同位元素、例えば ^{35}S 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^3H 、及び ^{131}I 。抗体は例えば Immunology, 1及び2巻, Coligen 等編集 Wiley-Interscience, New York, New York, Pubs. (1991)の Current Protocols に記載された技術を使用して放射性同位元素で標識することができ、放射能はシンチレーション測定を使用して測定することができる。

(b) コロイド金粒子

20

(c) 限定されないが、希土類キレート(ユーロピウムキレート)、テキサスレッド、ローダミン、フルオレセイン、ダンシル、リサミン、ウンベリフェロン、フィコクリセリン(phycocrytherin)、フィコシアニン又は SPECTRUM ORANGE 7 及び SPECTRUM GREEN 7 などの市販のフルオロフォア及び/又は上記の何れか一又は複数の誘導体を含む蛍光標識。該蛍光標識は、例えば、上記の Immunology の Current Protocols に開示された技術を用いて抗体にコンジュゲートすることができる。蛍光は、蛍光計を使用して定量することができる。

(d) 様々な酵素基質標識が利用可能であり、米国特許第 4 2 7 5 1 4 9 号にはこれらの幾つかの概説がある。酵素は一般に様々な技術を使用して測定することができる色素生産性基質の化学変化を触媒する。例えば、酵素は、分光光度的に測定することができる基質の色の変化を触媒しうる。あるいは、酵素は、基質の蛍光又は化学発光を変えうる。蛍光の変化を定量化する技術は上記の通りである。化学発光基質は、化学反応によって電子的に励起され、(例えば化学発光計測器を使用して)測定できるか、又はエネルギーを蛍光アクセプターに与える光を発しうる。酵素標識の例には、ルシフェラーゼ(例えば、ホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ；米国特許第 4 7 3 7 4 5 6 号)、ルシフェリン、2, 3 - ジヒドロフタラジンジオン(dihydrophthalazinediones)、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、ウレアーゼ、西洋わさびペルオキシダーゼ(HRPO)などのペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、サッカライドオキシダーゼ(例えばグルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ及びグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ)、複素環オキシダーゼ(例えばウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼ)、ラクトペルオキシダーゼ、ミクロペルオキシダーゼなどが含まれる。抗体に酵素をコンジュゲートする技術は、O'Sullivan等, Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for use in Enzyme Immunoassay, in Methods in Enzym. (J. Langone及びH. Van Vunakis編), Academic press, New York, 73:147-166 (1981)に記載されている。

30

40

【 0 2 7 9 】

酵素-基質の組合せの例には、例えば以下のものが含まれる：

(i) 基質として水素ペルオキシダーゼを伴う西洋わさびペルオキシダーゼ(HRPO)、ここで水素ペルオキシダーゼが染料前駆体(例えば、オルトフェニレンジアミン(OPD)又は3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン塩酸塩(TMB))を酸化する

50

;

(i i) 色素生産性基質としてパラ - ニトロフェニルホスフェートを伴うアルカリホスファターゼ (A P) ; 及び

(i i i) 色素生産性基質 (例えば p - ニトロフェニル - - D - ガラクトシダーゼ) 又は蛍光発生基質 (例えば 4 - メチルウンベリフェリル - - D - ガラクトシダーゼ) を伴う - D - ガラクトシダーゼ (- D - G a l) 。

【 0 2 8 0 】

多くの他の酵素基質の組合せが当業者に利用可能である。これらの一般的な概説については、米国特許第 4 2 7 5 1 4 9 号及び 4 3 1 8 9 8 0 を参照。しばしば、標識は抗体と間接的にコンジュゲートされる。これを達成するための様々な技術が当業者には知られている。例えば、抗体はビオチンとコンジュゲートさせることができ、前述した大きな 4 つの広いカテゴリーの標識の何れもアビジンとコンジュゲートさせることができ、その逆もまた可能である。ビオチンは選択的にアビジンと結合し、よって、標識はこの間接的な方法で抗体にコンジュゲートさせることができる。あるいは、抗体と標識を間接的にコンジュゲートさせるために、抗体を小ハプテンとコンジュゲートさせ、前述した標識の異なるタイプのうち一つを抗ハプテン抗体とコンジュゲートさせる。このようにして、抗体と標識の間接的なコンジュゲーションを達成することができる。

【 0 2 8 1 】

任意工程のブロック工程の後に、一次抗体が試料中の標的タンパク質抗原と結合するような好適な条件下と十分な時間の間、試料を一次抗体に曝露させる。これを達成するための好適な条件は常套的な実験によって決定できる。試料に対する抗体の結合度合いは、上で検討された検出可能な標識の何れか一つを使用して決定される。所定の実施態様では、標識は、3 , 3 ' - ジアミノベンジジン色素原などの色素生産性基質の化学変化を触媒する酵素標識 (例えば H R P O) である。一実施態様では、酵素標識は、一次抗体 (例えば、一次抗体はウサギポリクローナル抗体であり、二次抗体はヤギ抗ウサギ抗体である) に特異的に結合する抗体にコンジュゲートさせる。

【 0 2 8 2 】

幾つかの実施態様では、試料を、抗体 - バイオマーカー複合体が生じるのに十分な条件下で該バイオマーカーに特異的な抗体と接触させ、ついで該複合体を検出してもよい。バイオマーカーの存在は、多くの方法、例えば血漿又は血清を含む多種多様な組織及び試料を検定するためのウエスタンブロッティング及び E L I S A 手順で検出することができる。このようなアッセイ形式を使用する広範囲のイムノアッセイ技術が利用可能であり、例えば米国特許第 4 0 1 6 0 4 3 号、同第 4 4 2 4 2 7 9 号及び同第 4 0 1 8 6 5 3 号を参照のこと。これらには、非競合型の単一部位及び 2 部位又は「サンドイッチ」アッセイの両方、並びに伝統的な競合結合アッセイが含まれる。また、これらのアッセイは、標的バイオマーカーに対する標識抗体の直接結合を含む。

【 0 2 8 3 】

サンドイッチアッセイは最も有用で一般的に使用されるアッセイの一つである。サンドイッチアッセイ技術には多くのバリエーションあり、その全てが本発明により包含されることが意図される。簡潔に述べると、典型的なフォワードアッセイでは、非標識抗体を固形基体に固定して、試験される試料が結合分子と接触させられる。抗体 - 抗原複合体の生成を可能にする十分な時間、適当な時間のインキュベーション後、検出可能なシグナルを産生できるレポーター分子で標識された抗原に特異的な第二抗体をついで添加し、抗体 - 抗原 - 標識抗体の他の複合体が形成されるのに十分な時間インキュベートする。反応しなかった材料を洗い流し、レポーター分子により産生されるシグナルを観察することによって抗原の存在が決定される。結果は、可視的なシグナルを単純に観察した定性的なものであり、又は既知量のバイオマーカーを含む参照試料と比較した定量的なものでありうる。

【 0 2 8 4 】

フォワードアッセイの変形態様には、試料及び標識抗体の両方が結合抗体に同時に添加される同時アッセイが含まれる。これらの技術は、直ぐに明らかになる任意のマイナーな

10

20

30

40

50

変形を含めて、当業者に知られている。典型的なフォワードサンドイッチアッセイでは、バイオマーカーに特異性を有する第一抗体が、固体表面に共有的又は受動的に結合している。固体表面は、典型的にはガラス又はポリマーであり、最も一般的に使用されるポリマーは、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、又はポリプロピレンである。固体支持体は、チューブ、ビーズ、マイクロプレートのディスク、又は免疫アッセイの実施に適した任意の他の表面の形態をしていてよい。結合方法は当該分野でよく知られており、一般的に架橋、共有結合、又は物理的吸着からなり、ポリマー-抗体複合体は、試験試料の調製の際に洗浄される。ついで、試験される試料のアリコートが、固相複合体に添加され、十分な時間（例えば、2 - 40分、又は都合がよければ一晩）、適切な条件下（例えば、室温から40℃、例えば25℃～32℃）でインキュベートされ、抗体中に存在する任意のサブユニットの結合を可能にする。インキュベート時間後、抗体サブユニット固相を洗浄し、乾燥させ、バイオマーカーの一部に対して特異的な第二抗体と共にインキュベートする。分子マーカーへの第二抗体の結合を示すために使用されるレポーター分子に第二抗体を結合させる。

【0285】

別法では、試料中の標的バイオマーカーを固定し、その後レポーター分子で標識されていても又は標識されていなくともよい特異的抗体に固定標的を曝すことを伴う。標的の量及びレポーター分子シグナルの強度に応じて、結合標的は、抗体での直接標識によって検出可能とされうる。あるいは、第一抗体に特異的な第二標識抗体を標的-第一抗体複合体に曝して、標的-第一抗体-第二抗体の三元複合体を形成させる。複合体は、レポーター分子により発されるシグナルにより検出される。本明細書で使用される「レポーター分子」とは、その化学的性質によって、抗原と結合した抗体の検出を可能にする分析して同定可能となるシグナルを提供する分子を意味する。この種のアッセイにおいて最も一般的に使用されるレポーター分子は、酵素、フルオロフォア又は放射性核種含有分子（すなわち、放射性同位元素）及び化学発光分子である。

【0286】

酵素イムノアッセイの場合、酵素は、一般にグルタルアルデヒド又は過ヨウ素酸塩によって、第二抗体にコンジュゲートされる。しかしながら、直ぐに認識されるように、当業者が直ぐ利用できる多種多様な異なるコンジュゲーション技術が存在する。一般的に使用される酵素には、とりわけ、西洋わさびペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、ガラクトシダーゼ及びアルカリホスファターゼがある。特定の酵素と共に使用される基質は、一般に、対応する酵素による加水分解の際の、検出可能な色の変化の発生で選択される。適切な酵素の例には、アルカリホスファターゼ及びペルオキシダーゼが含まれる。また、上記の色素生産性基質よりも蛍光性産物を産生する蛍光発生基質を用いることができる。全ての場合において、酵素標識抗体を第一抗体-分子マーカー複合体に加えて、結合させ、ついで過剰な試薬を洗い流す。ついで、適切な基質を含む溶液を抗体-抗原-抗体の複合体に加える。基質が第二抗体に結合した酵素と反応して定性的可視シグナルを生じ、これを、通常は分光光度的に定量化して、試料中に存在するバイオマーカーの量の表示が得られる。別法では、フルオレセイン及びローダミンなどの蛍光性化合物を、抗体の結合能を変化させることなく抗体に化学的に結合させることができる。特定の波長の光が照射されて活性化されると、蛍光色素標識抗体はその光エネルギーを吸収し、分子内に励起状態を誘発し、続いて光学顕微鏡を用いて視覚的に検出可能な特徴的な色で光が放射される。EIAでは、蛍光標識抗体は、第一抗体-分子マーカー複合体に結合できる。結合していない試薬を洗い落とした後、残りの三元複合体を適切な波長の光に曝すと、観察される蛍光が対象の分子マーカーの存在を示す。免疫蛍光法及びEIA技術は双方とも当該分野で確立されたものである。しかしながら、放射性同位元素、化学発光性分子又は生物発光性分子などの他のレポーター分子を用いることもできる。

【0287】

本発明の方法は、試料中のCSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HS

10

20

30

40

50

D3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2の少なくとも1、2、3、4、5、6、7又はそれ以上あるいはその組合せのmRNAの存在及び/又は発現を調べるプロトコルを更に含む。細胞中のmRNAの評価方法は既知であり、例えば、相補的DNAプローブを使用するハイブリダイゼーションアッセイ（例えば、一又は複数の遺伝子に特異的な標識リボプローブを使用するインサイツハイブリダイゼーション、ノーザンブロット及び関連技術）及び様々な核酸増幅アッセイ（例えば、一又は複数の遺伝子に特異的な相補的プライマーを使用するRT-PCR及び他の増幅型の検査法、例えば分岐DNA、SISBA、TMA等々）が含まれる。

【0288】

10

哺乳動物由来の組織又は他の試料は、ノーザン、ドットブロット又はPCR分析を使用して、mRNAについて簡便にアッセイすることができる。例えば、定量的PCR（qPCR）アッセイなどのRT-PCRアッセイは当該分野で知られている。幾つかの実施態様では、qPCRはRoche Cobas（登録商標）システムで実施される。本発明の例示的实施態様では、生体試料中の標的mRNAの検出方法は、少なくとも一のプライマーを使用して逆転写によって、試料からcDNAを生成し；そのなかの標的cDNAを増幅するために、標的ポリヌクレオチドをセンス及びアンチセンスプライマーとして使用してそのように産生されたcDNAを増幅することを含む。加えて、そのような方法は、生体試料中の標的mRNAのレベルを決定することを可能にする一又は複数の工程（例えば、アクチンファミリーメンバー又はGAPDHなどの「ハウスキーピング」遺伝子の比較対照mRNA配列のレベルを同時に調べることを）を含んでいてもよい。場合によって、増幅された標的cDNAの配列を決定することができる。

20

【0289】

本発明の任意の方法は、マイクロアレイ技術によって、組織又は細胞試料中のmRNA、例えば標的mRNAを調べるか又は検出するプロトコルを含む。核酸マイクロアレイを使用して、試験及び対照組織試料から得た試験及び対照mRNA試料を逆転写し、標識してcDNAプローブを生成する。ついで、プローブを、固形支持体上に固定した核酸のアレイにハイブリダイズさせる。アレイは、アレイの各メンバーの配列及び位置が分かるように構成される。例えば、その発現が抗血管形成治療の臨床上の利益の増加又は減少と相関している遺伝子の選択を、固形支持体上にアレイ化することができる。特定のアレイメンバーとの標識プローブのハイブリダイゼーションは、プローブが由来した試料がその遺伝子を発現することを示している。疾患組織の差次的遺伝子発現解析は、貴重な情報を提供しうる。マイクロアレイ技術は、単一の実験で何千もの遺伝子のmRNA発現プロファイルの評価するために核酸ハイブリダイゼーション技術及び演算技術を利用する。（2001年10月11日公開の国際公開公報01/75166を参照；（例えば米国特許第5700637号、同第5445934号及び同第5807522号、Lockart, Nature Biotechnology, 14:1675-1680 (1996)）、アレイ製作の考察のためにCheung, V.G.等, Nature Genetics 21(Suppl): 15-19 (1999)を参照）。DNAマイクロアレイは、ガラス又は他の基体上にスポットされるか又は直接合成される遺伝子断片を含む微小アレイである。

30

40

何千もの遺伝子が、通常、単一アレイに現れる。典型的なマイクロアレイ実験は次の工程を含む：1）試料から単離したRNAからの蛍光標識された標的の調製、2）マイクロアレイへの標識標的のハイブリダイゼーション、3）アレイの洗浄、染色及びスキャニング、4）走査画像の解析、及び5）遺伝子発現プロファイルの作成。現在、二つの主要なタイプのDNAマイクロアレイが使用されている：cDNAから調製されたPCR産物を含む遺伝子発現アレイ及びオリゴヌクレオチドアレイ（通常25～70マー）。アレイを形成する際、オリゴヌクレオチドは、事前に作製して表面にスポットしても、（インサイツで）表面上で直接合成されてもよい。

【0290】

Affymetrix GeneChip（登録商標）システムは、ガラス表面上でオ

50

リゴヌクレオチドを直接合成することにより製造されるアレイを含む市販のマイクロアレイシステムである。プローブ/遺伝子アレイ：オリゴヌクレオチド（通常25マー）が、半導体ベースのフォトリソグラフィと固相化学合成技術との組合せによって、ガラスウェーハ上へ直接合成される。各アレイは最高400000の異なるオリゴを含み、各オリゴは何百万ものコピー中に存在する。オリゴヌクレオチドプローブがアレイ上の既知の位置で合成されるので、ハイブリダイゼーションのパターン及びシグナル強度は、Affymetrix Microarray Suiteソフトウェアによる遺伝子同一性と相対的な発現レベルの面から解釈できる。各遺伝子は、一連の異なるオリゴヌクレオチドプローブによってアレイ上に表される。各プローブ対は、完全一致のオリゴヌクレオチドと、不一致のオリゴヌクレオチドからなる。完全一致プローブは、特定の遺伝子に対して完全に相補的な配列を有するため、遺伝子の発現を測定する。不一致プローブは、中心塩基位置での単一塩基置換によって、完全一致プローブとは異なり、標的遺伝子転写物の結合を妨げる。これによって、完全一致オリゴに対して測定されるシグナルに寄与するバックグラウンド及び非特異的ハイブリダイゼーションを決定できる。Microarray Suiteソフトウェアは、完全一致プローブのハイブリダイゼーション強度から不完全一致プローブのハイブリダイゼーション強度を減算して、それぞれのプローブセットの絶対値又は比強度の値を決定する。プローブは、Genbank及び他のヌクレオチド貯蔵所の現在の情報に基づいて選択される。該配列は遺伝子の3'末端の独特の領域を認識すると考えられている。GeneChipハイブリダイゼーションオープン（「回転式（rotisserie）」オープン）を使用して、一度に最高64アレイのハイブリダイゼーションを実施する。流体（fluidics）ステーションでは、プローブアレイの洗浄と染色が行われる。これは完全に自動化され、4つのモジュールを含んでおり、各モジュールが一つのプローブアレイを保持している。各モジュールは、事前にプログラム化された流体プロトコルを使用してMicroarray Suiteソフトウェアにより独立に制御される。スキャナーは、プローブアレイに結合した標識cRNAにより発せられる蛍光強度を測定する共焦点レーザー蛍光発光スキャナーである。Microarray Suiteソフトウェアを伴うコンピューターワークステーションが流体ステーションとスキャナーを制御する。Microarray Suiteソフトウェアは、プローブアレイについて事前にプログラム化したハイブリダイゼーション、洗浄及び染色プロトコルを使用して8基までの流体ステーションを制御することができる。また、ソフトウェアは、ハイブリダイゼーション強度データを獲得し、適切なアルゴリズムを使用して各遺伝子の存在/非存在情報に変換する。最後に、ソフトウェアは、比較解析によって、遺伝子発現における実験間の変化を検出し、出力をテキストファイルにフォーマットし、このファイルを更なるデータ解析のために他のソフトウェアプログラムで使うことができる。

【0291】

また、組織又は細胞試料中の選択された遺伝子又はバイオマーカーの発現は、機能的アッセイ又は活性ベースのアッセイにより調べることもできる。例えば、バイオマーカーが酵素である場合、組織又は細胞試料中の与えられた酵素の存在を決定又は検出するために当該分野で知られているアッセイを実施してもよい。

【0292】

試験結果に基づく患者の好酸球性炎症状態（例えばEIP又はEIN）は報告書で提供されうる。報告書は、任意の形態の文書材料（例えば紙又はデジタル形態、又はインターネット）あるいは口頭発表（例えば人（ライブ）又はレコード）でありうる。報告書は、患者がインターフェロン阻害剤治療から恩恵を受けうるか又はそれに応答する可能性があるかを医療専門家（例えば医師）に更に示しうる。

【0293】

本発明のキットは多くの実施態様を有する。所定の実施態様では、キットは、容器と、該容器上のラベルと、該容器内に収容される組成物を含み、ここで、組成物は一又は複数のバイオマーカーに対応する一又は複数の標的ポリペプチド配列に結合する一又は複数の一次抗体を含み、該容器上のラベルは、該組成物を使用して少なくとも一種の哺乳動物

細胞中の一又は複数の標的タンパク質の存在を評価することができることと、少なくとも一種の哺乳動物細胞中の一又は複数の標的タンパク質の存在を評価するための抗体の使用についてのインストラクションを示すものである。キットは、組織試料を調製し、組織試料の同じ部分に抗体とプローブを適用するための、一セットのインストラクションと材料を更に含む。キットは、一次抗体と二次抗体の双方を含んでいてもよく、ここで、二次抗体は例えば酵素標識などの標識にコンジュゲートされている。

【0294】

「検出する」なる用語は定量的又は定性的検出を包含する。所定の実施態様では、生体試料は細胞又は組織、例えば血清、血漿、鼻腔スワブ及び痰を含む。

【0295】

薬学的製剤

ここに記載された抗IL-13抗体又は他のTH2経路阻害剤の薬学的製剤は、所望の程度の純度を有するそのような抗体又は分子を一又は複数の任意成分の薬学的に許容される担体 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16版, Osol, A. 編(1980)) と混合することによって、凍結乾燥製剤又は水溶液の形態で調製される。薬学的に許容される担体は、用いられる投薬量及び濃度でレシピエントに一般に非毒性であり、限定されないが、緩衝剤、例えばリン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸；アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化剤；保存料（例えば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド；ヘキサメトニウムクロライド；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチル又はベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えばメチル又はプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；及びm-クレゾール）；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば、血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン又はリジン；グルコース、マンノース又はデキストリンを含む単糖類、二糖類、他の炭水化物；キレート剤、例えば、EDTA；糖、例えば、スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトール；塩形成対イオン、例えば、ナトリウム、金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；及び/又はポリエチレングリコール（PEG）等の非イオン性界面活性剤が挙げられる。ここにおける例示的な薬学的に許容される担体は、介在性薬物分散剤、例えば、可溶性の中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質（sHASEGP）、例えば、rHuPH20（HYLENEX（登録商標）、Baxter International, Inc.）などのヒト可溶性PH-20ヒアルロニダーゼ糖タンパク質を更に含む。所定の例示的なsHASEGP及び使用法は、rHuPH20を含み、米国特許出願公開第2005/0260186号及び第2006/0104968に開示されている。一態様では、sHASEGPは、コンドロイチナーゼなどの一又は複数の追加のグルコサミノグリカナーゼと組み合わせられる。

【0296】

例示的な凍結乾燥抗体製剤は、米国特許第6267958号に記載されている。水性の抗体製剤は、米国特許第6171586号及び国際公開第2006/044908号に記載されているものが含まれ、後者の製剤はヒスチジン-酢酸緩衝剤を含む。

【0297】

ここでの製剤は、また、治療を受けている特定の適応症のために必要な一を越える活性成分、好ましくは、互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を持つものを含んでいてもよい。例えば、TH2経路阻害剤と共にコントローラーを更に提供することが望ましい場合がある。そのような活性成分は、意図した目的のために有効な量で組み合わせられて適切に存在する。

【0298】

また、活性成分は、例えばコアセルベーション技術により又は界面重合により調製されたマイクロカプセル、例えば、各々ヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン-マイクロカプセル及びポリ(メタクリル酸メチル)マイクロカプセル中、コロイド状薬物送達系(例

10

20

30

40

50

えば、リボソーム、アルブミンミクロスフィア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル)中、又はマイクロエマルジョン中に封入されてもよい。このような技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16版, Osol, A. 編(1980)に開示されている。

【0299】

徐放性製剤が調製されてもよい。徐放性製剤の好適な例は、抗体を含む固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、そのマトリクスが成形品、例えばフィルム又はマイクロカプセルの形をしている。

【0300】

インビボ投与に使用される製剤は、一般的に無菌である。無菌性は、例えば、滅菌濾過膜を通して濾過することにより、直ぐに達成することができる。

【0301】

治療的方法及び組成物

好酸球性炎症は、アレルギー性及び非アレルギー性の両方の様々な疾患に関連している(Gonlugur (2006) Immunol. Invest. 35(1):29-45)。炎症は怪我に対する生体組織の回復性応答である。炎症反応の特徴は、組織それ自体に産生される所定の化学物質に起因する損傷組織における白血球の蓄積である。好酸球白血球は、例えばアレルギー性疾患、蠕虫感染症及び腫瘍性疾患など広範な病態において蓄積する(Kudlacz等, (2002) Inflammation 26: 111-119)。免疫系の成分である好酸球白血球は、粘膜表面の防御的な要素である。それらは、抗原だけでなく寄生虫、化学物質及び外傷にも応答する。

【0302】

組織好酸球増加症は、湿疹、天疱瘡、急性蕁麻疹、及び中毒性表皮壊死症並びにアトピー性皮膚炎などの皮膚疾患で生じる(Rzany等, Br. J. Dermatol. 135: 6-11 (1996))。好酸球はIgE介在アレルギー性皮膚反応において組織及び空の顆粒タンパク質中に蓄積する(Nielsen等, Ann. Allergy Asthma Immunol., 85: 489-494 (2001))。肥満細胞と結合した好酸球は関節の炎症を引き起こす可能性がある(Miossec, J. Clin. Rheumatol. 3: 81-83 (1997))。好酸球性炎症にはしばしば関節外傷が伴う。滑膜液好酸球増加症は、関節リウマチ、寄生虫症、好酸球増加症候群、ライム病、及びアレルギー性プロセス並びに関節血症などの疾患及び関節造影と関連付けることができる(Atanes等, Scand. J. Rheumatol., 25: 183-185 (1996))。好酸球性炎症は骨にも影響を与える場合がある(Yetiser等, Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol., 62: 169-173 (2002))。好酸球性筋疾患の例としては、好酸球性化膿性筋炎、好酸球性多発性筋炎、及び局所的好酸球性筋炎を含む(Lakhanpal等, Semin. Arthritis Rheum., 17: 331-231 (1988))。骨格筋に影響を与える好酸球性炎症は、寄生虫感染症又は薬物又は過好酸球増加症の幾つかの全身疾患の特徴(例えば、特発性好酸球增多症候群及び好酸球増多筋痛症候群)と関連付けうる。好酸球は自己免疫抗体によって認識されるエピトープに対する炎症応答に関与する(Engineer等, Cytokine, 13: 32-38 (2001))。結合組織の疾患は好中球性、好酸球性又はリンパ球性の血管の炎症に至る可能性がある(Chen等, J. Am. Acad. Dermatol., 35: 173-182 (1996))。組織及び末梢血の好酸球増加症は、活動的なリウマチ性疾患で発生する場合がある。結合組織病の一種である強直性脊椎炎における血清ECPレベルの上昇は、好酸球がまた根底にあるプロセスにも関与していることを示唆している(Feltelius等, Ann. Rheum. Dis., 46: 403-407 (1987))。ウェゲナー肉芽腫症は肺結節、胸水、末梢血好酸球増加症を伴う場合は減多にない(Krupsky等, Chest, 104: 1290-1292 (1993))。

【0303】

少なくとも400/mm³の末梢血好酸球増加症は、全身性硬化症の症例の7%、限局性強皮症の症例の31%、及び好酸球性筋膜炎の症例の61%で生じる可能性がある(Falanga等, J. Am. Acad. Dermatol., 17: 648-656 (1987))。強皮症は、マイスナーとアウエルパッハ神経叢に密接に似た炎症過程を生じ、胃腸系における好酸球白血球及び肥満細胞からなる。好酸球由来神経毒は、強皮症で起きるように、胃腸運動機能障害の一因となりうる(DeSchryver-Kecsckemeti等Arch. Pathol. Lab Med., 113: 394-398 (1989))。

【0304】

10

20

30

40

50

好酸球は、局所的 (Varga等, Curr. Opin. Rheumatol., 9: 562-570 (1997)) 又は全身性の (Bouros等, Am. J. Respir. Crit. Care Med., 165: 1581-1586 (2002)) 結合組織増殖を伴いうる。それらは線維芽細胞におけるプロテオグリカン分解を阻害することにより、繊維化を誘発する場合があります (Hernnas等, Eur. J. Cell Biol., 59: 352-363 (1992))、線維芽細胞が、GM-CSFを分泌することにより好酸球の生存を媒介する (Vancheri等, Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 1: 289-214 (1989))。好酸球は、鼻 (Bacherct等, J. allergy Clin. Immunol., 107: 607-614 (2001))、気管支 (Arguelles等, Arch. Intern. Med., 143: 570-571 (1983))、及び消化管ポリープ組織 (Assarian等, Hum. Pathol., 16: 311-312 (1985)) に見いだすことができる。同様に、好酸球は、炎症性偽腫瘍 (筋線維芽細胞腫瘍) に局在する場合がある。好酸球は、多くの場合、眼窩部において炎症性偽腫瘍を伴い、その場合、症状は血管性浮腫又はアレルギー性結膜炎を模倣する場合があります (Li等, Ann. Allergy, 69: 101-105 (1992))。

10

【0305】

好酸球性炎症は組織外傷に見出すことができる (例えば、手術又は怪我の結果として)。好酸球性炎症はまた心血管系疾患 (例えば、好酸球性心筋炎、好酸球性冠状動脈炎、虚血性心疾患、急性心筋梗塞、心臓破裂) に関係している場合がある。壊死性炎症過程はまた好酸球性炎症 (多発性筋炎、冠状動脈解離、神経ベーチェット病の壊死性病変、認知症、脳梗塞) にまた関与する場合がある。

【0306】

Th2惹起/好酸球性喘息サブフェノタイプの非侵襲的バイオマーカーには血清ペリオスチン、呼気一酸化窒素濃度 (FeNO)、及び末梢血好酸球数がある。Arron等(2013) Adv Pharmacol 66: 1-49を参照のこと。これらのマーカーのなかで、血清ペリオスチンが、レプリキズマブに対する予測診断として価値が上がっているが、これは、それが重度の喘息のBOBCAT観察研究 (Jia等 (2012) J Allergy Clin Immunol 130: 647-654 e10) における (痰及び組織好酸球増加症の複合状態によって決定された) 気道好酸球状態の最良の単一の予測因子であり、それがMILLY試験 (Corren等 (2011) N Engl J Med 365: 1088-98) において2回の投薬前来診にわたってFeNO又は血中好酸球よりも実質的に少ない患者内変動を示しており、(FeNOのような) 特殊なポイントオブケア機器を必要としないし、(血中好酸球のような) 既存の臨床研究室において広くは標準化されていない自動細胞計数器に依存しない標準化され、広く利用可能なアッセイプラットフォームで利用できるためである。血清ペリオスチンは成人喘息のTh2/好酸球性サブタイプに対するしっかりした一貫性のあるバイオマーカーであると思われるが、それを小児喘息に応用することができるかどうかは知られていなかった。

20

30

【0307】

MILLY試験では、ベースラインで50ng/mlを越える血清ペリオスチンレベルを有していたICSにもかかわらず喘息のコントロール不良の成人は、12週間のレプリキズマブ治療後に血清ペリオスチンの平均14.4%の減少 ($p = 0.001$) を示したが、50ng/mlより少ないベースライン血清ペリオスチンレベルの患者は、治療期間中、有意でない2.9%の血清ペリオスチンの減少を示した ($p = 0.3$)。Scheerens等(2012) Am J Respir Crit Care Med 185: A3960を参照のこと。12週のレプリキズマブ治療後の喘息患者における血清ペリオスチンレベルの分布は、健康な対照成人における血清ペリオスチンレベルの分布とオーバーラップした (Arron等, Annals Am. Thoracic Soc., 近刊(2013), DOI: 10.1513/AnnalsATS.201303-047AW)。これらの結果は、高血清ペリオスチンの成人喘息患者において、バックグラウンドレベルを越える過剰なペリオスチンは気道におけるIL13の活動のためであり、この過剰量は総全身ペリオスチンの約10~15%を構成していることを示唆している。

40

【0308】

ペリオスチンは、骨基質を築く細胞である骨芽細胞の産物として最初は同定された。Horiuchi等(1999) J Bone Miner Res 14: 1239-49を参照のこと。解剖学的には、骨におけるペリオスチンの発現は発達段階における軟骨内及び膜内骨化の部位に局在化しており、

50

ペリオスチン発現レベルが骨成長の速度と相関しているかもしれないことを示唆している。若年マウスでは、全身ペリオスチンレベル及び骨代謝のマーカ―は上昇しており、動物の成熟につれて減少し、8週齢から成体期全体にわたって比較的安定したレベルを達成する。Contie等(2010) Calcif Tissue Int 87: 341-5を参照のこと。ヒトでは、小児集団の喘息は成人喘息よりもアトピー及び2型炎症により一般的に関連しているが、喘息の子供においても好酸球性及び非好酸球性気道炎症サブセットの証拠が残っている。Baraldo等(2011) Eur Respir J 38: 575-83を参照のこと。よって、Th2/好酸球性気道炎症の増加を伴う喘息の子供を同定するバイオマーカ―は、抗IL13及び2型炎症を標的とする他の治療薬からの臨床的有用性を証明するため患者の選択を可能にするのに有用な場合がある。

10

【0309】

本発明者は、18歳より若い小児被験者において全身ペリオスチンレベルは上昇しているが、18歳より年齢が上の喘息患者では年齢依存性を示さないことを見出した。好酸球性気道炎症に関連しているが骨成長によって混乱させられることがなさそうなバイオマーカ―を同定するため、末梢血好酸球数に相関した転写物を同定する中程度から重度の喘息患者の大きなコホートのゲノム全体の発現解析を実施した。ついで、MILLY試験におけるレプリキズマブの臨床的有用性の向上を予測するバイオマーカ―としてその転写物のサブセットを検証した。続いて、成人喘息患者におけるレプリキズマブの臨床的有用性の向上を予測する末梢血転写物のサブセットが、成人及び小児喘息患者における血中好酸球百分率及び最小年齢依存性に対して類似の相関を示すことを検証した。

20

【0310】

ここに提供されるものは、患者からの生体試料中の少なくとも一つの好酸球性炎症マーカ―のレベルを測定することによって、TH2経路阻害剤での治療に対する応答が予測される(又はそれに応答性であるであろう)好酸球性炎症陽性(EIP)患者を同定する方法であり、ここで、マーカ―の一又は複数は、患者からの試料中のCSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される。

【0311】

またここに提供されるものは、好酸球性炎症陽性患者へTH2経路阻害剤を投与することを含む、喘息、好酸球性疾患、IL-13媒介疾患、IL4媒介疾患、IL9媒介疾患、IL5媒介疾患、IL33媒介疾患、IL25媒介疾患、TSLP媒介疾患、IGE媒介疾患又は喘息様症状を治療する方法であり、ここで、その患者は、EIDアッセイを使用してEIPであると診断されている。

30

【0312】

所定の実施態様では、レプリキズマブを好酸球性炎症陽性患者に投与することを含む、喘息、好酸球性疾患、IL-13媒介疾患、IL4媒介疾患、又はIGE媒介疾患を治療する方法が提供される。

【0313】

所定の実施態様では、125~500mgのフラット用量のレプリキズマブを、疾患に罹患している患者に対して4週間毎に投与することを含む、喘息、好酸球性疾患、IL-13媒介疾患、IL4媒介疾患、又はIGE媒介疾患を治療する方法が提供される。

40

【0314】

また提供されるものは、喘息患者に治療的有効量のレプリキズマブを投与することを含む喘息(又は呼吸器疾患)を治療する方法であり、その治療が5%を超えるFEV₁の相対的变化をもたらす。別の実施態様では、FEV₁は6%、7%、8%、9%、又は10%FEV₁より大きい。別の実施態様では、患者はEIDアッセイを使用してEIPとして診断されている。

【0315】

50

所定の実施態様では、喘息患者に治療的有効量のレプリキズマブを投与することを含む喘息（又は呼吸器疾患）を治療する方法であり、その治療が35%を超える（他の実施態様では36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%を超え、最大85%；別の実施態様では、患者はEIPと診断されている）増悪率の減少をもたらす方法が提供される。

【0316】

所定の実施態様では、喘息患者に治療的有効量のレプリキズマブを投与することを含む喘息（又は呼吸器疾患）を治療する方法が提供され、その治療が夜間覚醒の減少をもたらす。一実施態様では、患者はEIDアッセイを使用して診断されている。別の実施態様では、患者の喘息はコルチコステロイドでコントロール不良である。別の実施態様では、患者はEIPと診断されている。

10

【0317】

また提供されるものは、喘息患者に治療的有効量のレプリキズマブを投与することを含む喘息（又は呼吸器疾患）を治療する方法であり、その治療が喘息コントロールの改善をもたらす。一実施態様では、患者はEIDアッセイを使用して診断されている。別の実施態様では、喘息はコルチコステロイド治療でコントロール不良である。別の実施態様では、患者はEIPと診断されている。

【0318】

喘息患者に治療的有効量のレプリキズマブを投与することを含む喘息（又は呼吸器疾患）を治療する方法が提供され、その治療が肺の炎症の減少をもたらす。一実施態様では、患者はEIDアッセイを使用して診断されている。別の実施態様では、喘息はコルチコステロイド治療でコントロール不良である。別の実施態様では、患者はEIPと診断されている。

20

【0319】

所定の実施態様では、喘息患者に治療的有効量のレプリキズマブを投与することを含む、好酸球性疾患に罹患しコルチコステロイドで治療されている患者の好酸球性疾患を治療する方法が提供され、治療が、疾患を治療するために使用されるコルチコステロイド治療の（量又は頻度）の減少又は消失をもたらす。一実施態様では、患者はEIDアッセイを使用して診断されている。別の実施態様では、患者の喘息はコルチコステロイド治療でコントロール不良である。別の実施態様では、患者は治療前にEIPと診断されている。

30

【0320】

また提供されるものは、EIDアッセイを使用して患者をEIPとして診断し、喘息患者に治療的有効量のTH2経路阻害剤を投与し、患者のEIP状態を診断し、及び患者がEIPである場合、患者をTH2経路阻害剤で再治療することを含む、喘息（又は呼吸器疾患）に罹患した患者の治療の方法である。診断は、EIDアッセイの使用だけで、又はFENOレベルとの併用で、なされうる。幾つかの実施態様では、治療される患者は21ppbを超えるFENOレベルを有している。幾つかの実施態様では、治療される患者は35ppbを超えるFENOレベルを有している。

【0321】

幾つかの実施態様では、EIDアッセイを使用して好酸球性炎症陰性（EIN）である患者を同定し、患者がEINであることを決定する方法が提供される。幾つかの実施態様では、該方法は、患者からの生体試料中の少なくとも一つの好酸球性炎症マーカーのレベルを測定することを含み、該マーカーの少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つがCSF1、MEIS2、LGALS12、IDO1、THBS4、OLIG2、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、SORD、ASB2、CACNG6、GPR44、MGAT3、SLC47A1、SMPD3、CCR3、CLC、CYP4F12、及びABTB2から選択される。幾つかの実施態様では、マーカーの少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つはCSF1、MEIS2、CCL23、HSD3B7、SORD、CACNG6、MGAT3、SLC47A1、及びABTB2から選択される。幾つかの実施態様では、マーカーの少なくとも一

40

50

つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つはMEIS2、LGALS12、IDO1、ALOX15、SIGLEC8、CCL23、PYROXD2、HSD3B7、CACNG6、及びGPR44から選択される。幾つかの実施態様では、マーカーの少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は少なくとも三つはCCL23、IDO1、HSD3B7、及びCACNG6から選択される。幾つかの実施態様では、マーカーの少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つはCCL23、IDO1、及びCACNG6から選択される。幾つかの実施態様では、マーカーの少なくとも一つ、少なくとも二つ、又は三つはHSD3B7、SIGLEC8、及びGPR44から選択される。幾つかの実施態様では、マーカーの少なくとも一つ、少なくとも二つ、少なくとも三つ、又は四つはSIGLEC8、CCL23、CACNG6、及びGPR44から選択される。

10

【0322】

ここに提供される任意のTH2経路阻害剤を、ここに記載の治療法、特に喘息に使用することができる。一実施態様では、喘息患者はコルチコステロイドで治療されており、ここに記載されるEIDアッセイを使用してTH2経路阻害剤に応答性であると診断されている。更なる実施態様では、喘息患者は中等度から重度の喘息に罹患している。別の実施態様では、患者は軽度の喘息に罹患しているが、コルチコステロイドで治療されていない。

【0323】

本発明の抗体（及び任意の更なる治療剤）は、非経口、肺内、及び鼻腔内、及び局所治療が所望される場合は、病巣内投与を含む、任意の適切な手段によって投与することができる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下投与が含まれる。投薬は、その投与が短期間か又は長期であるかどうかにかかわらず部分的に依存して、任意の適切な経路、例えば、静脈内又は皮下注射などの注射により、行うことができる。限定されないが、単回又は様々な時点にわたる複数回投与、ボラス投与、及びパルス注入を含む様々な投与スケジュールがここで考慮される。

20

【0324】

本発明の抗体は良好な医療実務に合致した方法で処方され、用量決定され、投与される。この文脈において考慮される要因は、治療されている特定の疾患、治療されている特定の哺乳類、個々の患者の臨床状態、疾患の原因、薬剤送達部位、投与方法、投与スケジュール、及び医療従事者に知られた他の要因を含む。抗体は、必要ではないが場合によっては、問題となる疾患の予防又は治療に現在使用されている一又は複数の薬剤と共に処方される。そのような他の薬剤の有効量は製剤中に存在する抗体の量、疾患又は治療の種類、及び上で検討された他の要因に依存する。これらは、ここに記載されたものと同じ投薬量及び投与経路で、又はここに記載された投薬量の約1%から99%で、又は経験的に/臨床的に妥当であると決定された任意の投薬量及び任意の経路により、一般に使用される。

30

【0325】

疾患の予防又は治療では、本発明の抗体の適切な投薬量（単独か、又は、一又は複数の他の更なる治療剤との併用で使用される場合）は、治療されるべき疾患の種類、抗体の種類、疾患の重症度及び経過、抗体を予防目的か治療目的の何れで投与するか、以前の治療法、患者の臨床履歴及び抗体に対する応答、及び担当医の裁量に依存する。抗体は、一回で、又は一連の治療にわたって患者に適切に投与される。疾患の種類及び重症度に応じて、例えば一又は複数回の別個の投与によるか、連続注入によるかに関わらず、抗体約1 µg/kgから15 mg/kg（例えば0.1 mg/kg ~ 10 mg/kg）が患者への投与のための初期候補投薬量でありうる。一つの典型的な一日当たり投薬量は上記された要因に応じて、約1 µg/kgから100 mg/kg又はそれ以上の範囲であるかもしれない。数日間以上に渡る反復投与では、病態に応じて、治療は、疾患症状の望まれる抑制が起こるまで一般に持続されるであろう。一つの例示的抗体投薬量は約0.05 mg/kgから約10 mg/kgの範囲であろう。従って、約0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg又は10 mg/kgの一又は複数の用量（又はその何れかの組み合わせ）が患者に投与されうる。このような用量は、断続的に、例えば毎週又は3週毎に（例

40

50

えば患者が抗体の約 2 から約 20 用量、又は例えば約 6 用量を受けるように) 投与される。しかしながら、他の投与計画が有用な場合がある。この治療法の進行は、常套的な技術及びアッセイにより容易にモニターされる。

【0326】

所定の実施態様では、本発明の抗体は 37.5 mg のフラット用量(つまり体重に依存しない)、又は 125 mg のフラット用量、又は 250 mg のフラット用量として投与される。所定の実施態様では、その用量は所定の期間、4 週間に 1 回皮下注射によって投与される。所定の実施態様では、その期間は、6 ヶ月、1 年、2 年、5 年、10 年、15 年、20 年、又は患者の一生涯である。所定の実施態様では、喘息は重度の喘息であり、患者は吸入ステロイドと第二コントローラー医薬でコントロール不十分か又はコントロール不良である。別の実施態様では、患者は EIP を決定する EID アッセイを使用して EIP 状態と診断され、患者は上述のように抗 IL13 抗体による治療のために選択される。別の実施態様では、該方法は、上述のように抗 IL13 抗体で喘息患者を治療することを含み、ここで、該患者は、EIP 状態を決定する EID アッセイを使用して EIP 状態と以前に診断されている。一実施態様では、喘息患者は 18 歳以上である。一実施態様では、喘息患者は 12 から 17 歳であり、抗 IL13 が 250 mg のフラット用量又は 125 mg のフラット用量で投与される。一実施態様では、喘息患者は 6 から 11 歳であり、抗 IL13 抗体が 125 mg のフラット用量で投与される。

10

【0327】

上記の製剤又は治療方法の何れかを、抗標的抗体の代わりか又は該抗体に加えて、本発明のイムノコンジュゲートを使用して実施してもよいことが理解される。

20

【0328】

製造品

本発明の他の態様では、上述した疾患の治療、予防、及び/又は診断に有用な物質を含む製造品が提供される。製造品は、容器と容器上の又は容器に付属するラベル又はパッケージ挿入物を含む。好適な容器は、例えばボトル、バイアル、シリンジ、IV 輸液バッグ等を含む。容器はガラス又はプラスチックなどの様々な物質から形成されうる。容器は、病態の治療、予防、及び/又は診断にそれ自体で又は他の組成物との併用で効果的である組成物を収容し、無菌のアクセスポートを有し得る(例えば、容器は静脈内溶液バッグ又は皮下注射針により貫通可能なストッパーを有するバイアルでありうる)。組成物中の少なくとも一の活性剤は本発明の抗体である。ラベル又はパッケージ挿入物は、組成物が選択された病態を治療するために使用されることを示している。更に、製造品は、(a) 本発明の抗体を含む組成物である組成物がそこに収容された第一の容器と; (b) 更なる細胞傷害性又はその他の治療剤を含む組成物である組成物がそこに収容された第 2 の容器を備えうる。本発明のこの実施態様における製造品は、組成物を特定の病態を治療するために使用できることを示すパッケージ挿入物を更に含んでいてもよい。あるいは、又は加えて、製造品は、薬学的に許容されるバッファー、例えば注射用静菌水(BWF I)、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー液及びデキストロース液を含む第二(又は第三)の容器を更に備えていてもよい。それは、他のバッファー、希釈液、フィルター、針、及びシリンジを含む、商業的及び使用者の立場から望まれる他の材料を更に含んでいてもよい。

30

40

【0329】

上記の製造品の何れかは、抗標的抗体の代わりか又はそれに加えて、イムノコンジュゲートを含んでいてもよいことが理解される。

【実施例】

【0330】

実施例 1 - 方法

血液を PAX gene RNA 採血管(PreAnalytiX)で採血した; 全 RNA を、製造者(Qiagen)の指示に従って市販キットを使用して抽出した。

【0331】

EXTRA 試験からの血液試料中の候補バイオマーカー遺伝子の発現をヒトゲノム U1

50

33 プラス 2.0 アレイ (Affymetrix 社, Santa Clara, CA) によって評価した。EXTRA 試験は、例えば Hanania 等, Am. J. RCCM, 187: 804-811 (2013); 及び Hanania 等, Ann. Intern. Med., 154: 573-582 (2011) に記載されている。マイクロアレイハイブリダイゼーションは、Asuragen 社 (Austin, TX) によって実施された。生の CEL ファイルデータをまとめ、ロバストマルチアレイ平均法 (Robust Multi-array Averaging (RMA)) を使用して正規化し、R/Bioconductor を使用して解析した。

【0332】

MILLY、BOBCAT、及び GALA II 血液試料中の候補バイオマーカー遺伝子の発現を Fluidigm qPCR アッセイによって定量した。

【0333】

10

qPCR アッセイの選択

遺伝子発現を、特異的プライマー及びプローブを用いて qPCR によって測定した。FAM レポーターを用いる選択されたアッセイは、Applied Biosystems 社 (ABI) から購入した。TaqMan (登録商標) 遺伝子発現アッセイは次の二つのガイドラインを有する：

1. プライマーは、可能な残基ゲノム DNA からの PCR 増幅を防ぐために可能ならば少なくとも二つの異なったエクソンに及ぶべきである；

2. アッセイはロバスト性について検証され、会社によって推奨されている。

【0334】

アッセイ ID 及び含まれる遺伝子の ABI 提供コンテキスト配列を表 2 に列挙する。

20

表2: 潜在的バイオマーカー遺伝子アッセイ

	遺伝子符号	アッセイID	コンテキスト配列	配列番号
1	ABTB2	Hs00377559_m1	AAGAACGCCAATGGTGTCTCTCCC	23
2	ACOT11	Hs00374982_m1	CACACCATTAGTGTGGACAAGTGG	24
3	ALOX15	Hs00609608_m1	CCTATCTTCAAGCTTATAATTCCCC	25
4	ASB2	Hs00387867_m1	TTAGCCAAGTACGGTGCTGACATCA	26
5	BACE2	Hs00273238_m1	CACCTTGCCAAGCCATCAAGTTCTCT	27
6	CACNG6	Hs00230428_m1	GGAGCTGCCCGGAGAAGCAAAGTGC	28
7	CCL23	Hs00270756_m1	GGTGTCATCTTCTCACCAGAAGG	29
8	CCR3	Hs00266213_s1	TGTGCCCCCGCTGTACTCCCTGGTG	30
9	CD9	Hs01124022_m1	TCTACACAGGAGTCTATATTCTGAT	31
10	CLC	Hs00171342_m1	CCTGTTTCTTGAATGAACCATATCT	32
11	CSF1	Hs00174164_m1	AGCATGACAAGGCCTGCGTCCGAAC	33
12	CYP4F12	Hs02515808_s1	AGCGGCGTCGCACCCTCCCCACTCA	34
13	CYSLTR1	Hs00272624_s1	TCAACGTACCATTCACCTTCATTTT	35
14	CYSLTR2	Hs00252658_s1	TTAGTTGACCTTGCTGCAGTTCTCC	36
15	DACH1	Hs00974297_m1	AAAGAATAGAGCCATAGTTCAAAAG	37
16	FAM124B	Hs01902988_s1	CGGGAATGTCAGTGGACCCCAAAGA	38
17	GPR44	Hs00173717_m1	TCTGTGCCCAGAGCCCCACGATGTC	39
18	HRH4	Hs00222094_m1	ACTTCTTTGTGGGTGTGATCTCCAT	40
19	HSD3B7	Hs00986913_g1	AGGAGCTGAAGACAGGGCCTGTGAG	41
20	IDO1	Hs00984148_m1	TTCTGCAATCAAAGTAATTCCTACT	42
21	IL1RL1	Hs00545033_m1	ATTGTCAGAAGTCCCACATTCAATA	43
22	IL5RA	Hs00602482_m1	AAGGAATGGATATTTGCAGATAGAA	44
23	KBTBD11	Hs00362847_m1	CGCGGCGAGGAACAAGAGTGTGGTG	45
24	KIAA1024	Hs00324407_m1	TCTAAAGAGGCAGACAGGCAGTACG	46
25	LGALS12	Hs01041389_m1	GAATGAGGAAGTGAAGGTGAGTGTG	47
26	LRR17	Hs00180581_m1	CAAGTTCAGCCTAGGGACTCCACGT	48
27	MEIS2	Hs00542638_m1	AAATCTCGCTGACCATAACCCTTCT	49
28	MGAT3	Hs02379589_s1	CCGTGTGGGAGACCGGCCTGCCAGG	50
29	MYB	Hs00920554_m1	AAGACCCCGGCACAGCATATATAGC	51
30	OLIG1	Hs00744293_s1	CCCGCACCTGGTCCCGGCCAGCCTG	52
31	OLIG2	Hs00377820_m1	TCAAATCGCATCCAGATTTTCGGGT	53
32	P2RY14	Hs00961463_m1	AAAAATCTTAAAGGCCTCTGCCTT	54
33	PMP22	Hs00165556_m1	CATCACCAAACGAATGGCTGCAGTC	55
34	PRSS33	Hs00960785_g1	CTTCCCCAGGAGGGCACTGCCAGCT	56
35	PYROXD2	Hs01550625_m1	GGGGCTCATCCTGGAGGAGGTGTGA	57
36	RNASE2	Hs03047029_s1	CAGTGGAAGCCAGGTGCCTTTAATC	58
37	SIGLEC8	Hs00274289_m1	TGAGGGCACAGGCACCTCAAGACCT	59
38	SLC16A14	Hs00541300_m1	ACCACCTTTTGCAGGTGGATCTAT	60
38	SLC29A1	Hs01085706_m1	CAGCCTCAGGACAGATACAAAGCTG	61
40	SLC47A1	Hs00217320_m1	GCTGGCCCCGCGTTCTTGGTTCAGC	62
41	SMPD3	Hs00920354_m1	CAACCTGCAGAAGGTCCTGGAGAGT	63
42	SORD	Hs00973148_m1	TCAAGTAGTGGTGAAGTCTGTCT	64
43	SPNS3	Hs00699394_m1	GGCAGCCTGTACAGGGACCCCAAGA	65
44	THBS4	Hs00170261_m1	TGACATGTGTGTGTGGAGTCGGTTG	66
45	UGT2B28	Hs00852540_s1	AGCTCTGGGAGTTGTGGAAAGGTGC	67

10

20

30

40

50

【 0 3 3 5 】

P C R 正規化に使用された遺伝子特異的内在性コントロールとしての三つのハウスキーピング遺伝子に対するアッセイもまた A B I T a q M a n (登録商標) 内在性コントロールインベントリから選択され、表 3 に示される。

表3: 内在性制御遺伝子アッセイ

遺伝子	パート番号
PPIA	4333763F
GAPDH	4333764F
TFRC	4333770F

10

【 0 3 3 6 】

R N A の逆転写

臨床試料の P A X g e n e R N A の一本鎖 c D N A への逆転写 (R T) を、大容量 c D N A 逆転写キットを売主 (A B I) によって提供されたプロトコルに従って使用して、20 μ l の反応体積で実施した。簡単に述べると、リボヌクレアーゼ阻害剤と逆転写酵素を含むマスターミックスを調製し、96 ウェル P C R マイクロプレート中において等体積で 50 n g / μ l の全 R N A と混合した。R T 反応をサーマルサイクラーで実施した。ついで、R T 産物を、ヌクレアーゼを含まない水で 10 n g / μ l まで希釈し、- 20 で保存した。

20

【 0 3 3 7 】

c D N A の前増幅

F l u i d i g m システムで低遺伝子発現に対して最適な結果を達成するために、特異的標的増幅 (Specific Target Amplification) (S T A) が推奨される。特異的標的増幅 (S T A) は、共に A p p l i e d B i o s y s t e m s (A B I) 製の T a q M a n (登録商標) P r e A m p マスターミックス及び T a q M a n (登録商標) 遺伝子発現アッセイを利用する。好酸球関連候補遺伝子に対して上の表に示された 45 の遺伝子発現アッセイとハウスキーピング遺伝子に対する 3 の対照発現アッセイをプールし、ヌクレアーゼを含まない T E バッファーで 0 . 2 X まで希釈した。P r e A m p キットにおいて提供されたプロトコルに従って、興味ある標的だけに対するプライマー源としてプールされた遺伝子発現アッセイを反応で用いて、推奨された 14 サイクル、12 . 5 n g の c D N A を含む 5 μ l の体積で、前増幅を実施した。前増幅 D N A を、ヌクレアーゼを含まない T E バッファーで 5 倍に希釈し、4 又は長期では - 20 で保存した。二つの内部参照、つまり一つは精製されたヒト好酸球由来のもの、他方は C l o n t e c h L a b o r a t o r i e s から購入したものをまた前増幅手順に含めた。

30

【 0 3 3 8 】

F l u i d i g m プラットフォーム P C R 反応

遺伝子発現のための q P C R を、F l u i d i g m の B i o M a r k ^{T M} システムの 96 . 96 ダイナミックアレイ集積流体回路 (I F C) を売主のガイドラインに従って用いて、実施した。簡単に述べると、ダイナミックアレイ I F C を、I F C コントローラー上でコントロールライン流体でプライミングした。試料とアッセイは、それぞれ各試料とアッセイに対して各 5 μ l で D N A を含まない環境下で別個に調製した。96 試料と 48 アッセイを二通りダイナミックアレイ I F C 上に配し、I F C コントローラーを使用して充填した。ついで、ダイナミックアレイ I F C を、リアルタイム P C R 及びデータ収集のために B i o M a r k システムで実行した。各 I F C に適用された各 96 試料セットは、88 の臨床試料、最小の汚染を担保するために 4 通りの負の対照、及びそれぞれ二通りの二つ内部普遍的参照を、実験間の遺伝子発現の正規化及び品質管理評価のために含む。

40

【 0 3 3 9 】

データ収集及び処理

B i o M a r k システムから収集された P C R 結果を解析し、C t 値の関数として R

50

nをグラフ化した。全試料に対する各遺伝子発現の結果を、最適閾値に対して手作業で評価し、増幅の曲線アナログ及び指数増殖期に基づいてCt値及びフェイル/パスコールを決定した。同じIFCチップ中の各遺伝子に対してCt値によって表される遺伝子発現レベルを、同じ試料中の正規化インデックスに対して正規化して、デルタCt (dCt)を得た。各試料に対する正規化インデックスは、3つの選択されたハウスキーピング遺伝子からのCt値の幾何平均として計算した。ついで、各試料における各遺伝子発現のデルタデルタCt (ddCt)を、同じ実験IFCチップにおける好酸球由来の普遍的参照からの同じ遺伝子に対して計算した。異なった実験IFCチップからの第二の普遍的参照からの各遺伝子のddCtを、検出可能な発現を伴う遺伝子に対して10%未満の変動係数(CV)の予め定められた許容可能範囲を用いて、品質管理検証に使用した。ついで、各個々のIFCチップ中の試料に対する各遺伝子のddCtを、バイオ統計解析のためのメタデータセットとして統合した。検出限界未満の遺伝子発現はNAと標記した。

10

【0340】

データ解析をR統計プログラミング言語(バージョン2.15)で実施した。発現データは次のように計算された：

【0341】

各プレート上の各個体i及び遺伝子jに対して、

インデックス(i) = 3つのハウスキーピング遺伝子からのCt値の幾何平均

dCt(遺伝子) = Ct(i, j) - インデックス(i)；

ddCt = dCt(i, j) - dCt(Ref1, j)。

20

【0342】

各チップのddCt値を統合した。Ref2における各遺伝子のddCtを品質管理に使用し、変動係数を、検出可能な範囲の全ての遺伝子に対して10%未満が担保されるように計算した。

【0343】

結果のない試料は無作為に欠測していると仮定し、帰属させなかった。20%を超える欠測値の試料又は遺伝子は解析から除外した。残りの欠測データは、データの隣接する完全なベクトルの分布に対して調べ、それらが無作為の欠測として又は検出限界未満として処理するかどうかを決定した。要約統計量については、欠測値を伴う試料を計算から除外した(例えば与えられた治療及びバイオマーカーに対する試料総数から除外した)。

30

【0344】

データ分布を視覚的に調べて、遺伝子が試料内に正規分布していることと、試料が各遺伝子に対して正規分布していることの双方を担保した。バッチ効果(例えばqPCRプレート)を調べ、必要に応じてブロックングによって説明した。極端なバッチ効果を伴う遺伝子は除外した。遺伝子発現予測変数の組合せを、対数尺度データの算術平均によって計算した。

【0345】

全ての変数に対して、ベースラインは、前もって特定された治療投与(0日目)前の最後の評価として定義される。重要な人口統計学及びベースライン特性(層別化変数及び既知の予後的意義を持つ任意の変数を含む)と有効性アウトカムを、バイオマーカー集団と非バイオマーカー集団の間で比較して、バイオマーカーの欠損状態に関連した潜在的な選択バイアスを調べた。

40

【0346】

ベースラインにおける各バイオマーカーの全体分布をプロットし、記述統計学(例えば、平均値、標準偏差、中央値及び範囲)を使用して、患者集団に対するベースラインバイオマーカー値をまとめた。

【0347】

ベースラインで測定されたバイオマーカーの予測効果は、二つの方法によって評価した。第一の方法は、

FEV₁ ~ 治療 + 発現 + 治療 : 発現

50

のように、各アウトカム変数と各バイオマーカーの線形回帰を実施し、相互作用項の統計的有意性とエフェクトサイズを調べることによって各バイオマーカーの有意な予知力を試験するものである。第二の方法は、試験被験者を二つのグループ、つまり各バイオマーカーの中央値以上のグループと中央値未満のグループに分け、二つのグループ間の治療効果の差を計算するものである。あるバイオマーカーは、次の基準が満たされるならば、第一の方法において治療有効性の潜在的な予測因子として成功すると考えられた：

- 1．バイオマーカー - 治療の相互作用の強い証拠がある（ p 値 < 0.05 ）
- 2．診断陽性集団における治療効果の大きさが少なくとも 8 % である
- 3．効果の方向がポジティブで、つまり、より高い遺伝子発現が、改善された治療有効性に関係している

【0348】

あるバイオマーカーは、次の基準が満たされるならば、第二の方法において治療有効性の潜在的な予測因子として成功すると考えられた：

- 1．高バイオマーカー対低バイオマーカーグループにおいて異なった有効性レベルの強い証拠がある（平均推定値にオーバーラップしない信頼区間）
- 2．効果の方向がポジティブで、つまり、より高い遺伝子発現が、改善された治療有効性に関係している

【0349】

成功の二次的指標として、バイオマーカーの成績が、血清ペリオスチン、呼気一酸化窒素濃度（ $FeNO$ ）、及び末梢血好酸球数の成績と比較される。

【0350】

実施例 2 - 血清ペリオスチンは小児患者において上昇

我々は、過去に実施された臨床試験において治療前に採取された 6 ~ 75 歳の年齢範囲の喘息患者からの血清試料中のペリオスチンを測定した。例えば、Hanania 等 (2013) *Am J Respir Crit Care Med* 187: 804-11 ; Hanania 等 (2011) *Ann Intern Med* 154: 573-82 ; Milgrom 等 (2001) *Pediatrics* 108: E36 ; Milgrom 等 (1999) *N Engl J Med* 341: 1966-73 ; Busse 等 (2001) *J Allergy Clin Immunol* 108: 184-90 ; Holgate 等 (2004) *Clin Exp Allergy* 34: 632-8 ; 及び Soler 等 (2001) *Eur Respir J* 18: 254-61 を参照のこと。ペリオスチンレベルは、18 から 75 歳の年齢の成人患者（図 1）において 48.9 ng/ml の中央値レベルと $22.1 - 108.7 \text{ ng/ml}$ の範囲（表 4）を伴い、比較的一貫した分布が観察された。小児患者（年齢 6 ~ 17 歳）では、血清ペリオスチンレベルは成人患者と比較して顕著に上昇しており（図 1）、6 ~ 11 歳のグループで 119.6 ng/ml で、12 ~ 17 歳のグループで 104.3 ng/ml の中央値レベルで、 $41.4 \sim 352.2 \text{ ng/ml}$ の広い範囲のレベルが全ての小児患者にわたって観察された（表 4）。特に、小児患者における中央値レベルは、成人患者において観察された全ての範囲の上端を越えていた。更に、該レベルは成人と比較して小児喘息患者においてかなりより変動性であると思われた。これらの知見は若年及び成体マウスにおいてなされた観察（Contie 等 (2010) *Calcif Tissue Int* 87: 341-50 を参照）と一致しており、成人において導き出された抗 IL 13 治療法の患者を選択する血清ペリオスチンカットオフが小児患者に適用可能ではない場合があることを示唆している。

表 4: オマリズマブ試験 008、009、010、及び EXTRA における年齢別の血清ペリオスチンレベルの範囲と分布。値は ng/ml である。

	年齢: 6-11 yrs	年齢: 12-17 yrs	年齢: 18-75 yrs
n	107	57	659
平均値 (SD)	129.0 (43.5)	100.5 (33.0)	51.9 (15.3)
中央値	119.6	104.3	48.9
範囲	59.3 - 352.2	41.4 - 177.2	22.1 - 108.7

10

20

30

40

50

【 0 3 5 1 】

実施例 3 - 血中好酸球と血清ペリオスチンは中程度から重度の成人喘息患者では相関しているが小児喘息患者では相関していない

血中好酸球数は成人におけるよりも小児喘息患者において僅かに高い傾向があるが、分布はオーバーラップしており、血清ペリオスチンとは異なり、血中好酸球数は、水平になる約 40 歳まで延びる、年齢にわたってなだらかで連続的な僅かに下方方向のトレンドが観察される（図 2）。血中好酸球及び血清ペリオスチンレベルが重度の喘息患者において正に相関していることが過去に示されている。例えば Jia 等(2012) J Allergy Clin Immunol 130: 647-654 e10 を参照のこと。更なる大きな試料セットにおいてこの知見を確認するため、成人における中程度から重度の喘息の二つの大きな臨床試験コホート（E X T R A（Hanania 等(2013) Am J Respir Crit Care Med 187: 804-11）及び M I L L Y（Corren 等(2011) N Engl J Med 365: 1088-98））における血中好酸球の治療前レベルを評価した；血清ペリオスチンと血中好酸球の間に中程度であるが統計的に有意な正の相関が見出された（図 3 A，E X T R A；図 3 B，M I L L Y）。しかしながら、小児喘息患者では、血中好酸球と血清ペリオスチンは正に相関していない（図 3 C，E X T R A における患者年齢 12 ~ 17；図 3 D，試験 010 における患者年齢 6 ~ 12）。小児喘息患者における僅かに上昇した血中好酸球数は、アトピーになる大なる傾向の関数であり得、血清ペリオスチンの場合にそうであると思われるように独立した生理学的原因による可能性は低い。

10

【 0 3 5 2 】

20

実施例 4 - 末梢血中の遺伝子発現パターンは好酸球数に関係している

血清ペリオスチンは成人喘息患者における気道好酸球増加症（Jia 等(2012) J Allergy Clin Immunol 130: 647-654 e10）とレプリキズマブに対する応答性（Corren 等(2011) N Engl J Med 365: 1088-98）の双方を予測する一方、血中好酸球数は成人（Jia 等(2012) J Allergy Clin Immunol 130: 647-654 e10）及び小児（Baraldo 等(2011) Eur Respir J 38: 575-83）双方の喘息患者における気道好酸球に相関しているので、血中好酸球数に対応する末梢血における遺伝子発現パターンが、レプリキズマブからの臨床的有用性を予測する好適なバイオマーカーであるかもしれないと仮定した。中程度から重度の喘息患者における血中好酸球数と関連した末梢血中の転写物を同定するために、E X T R A 試験におけるベースラインの 321 名の被験者からの全血（P A X g e n e）試料のゲノム全体の発現マイクロアレイ解析を実施した。Hanania 等(2013) Am J Respir Crit Care Med 187: 804-11；Hanania 等(2011) Ann Intern Med 154: 573-82 を参照のこと。血中好酸球数の最上位対最下位三分位値において有意に高いレベルで発現された 150 以上の転写物（q 値 < 0.05）を同定した。表 5 は血中好酸球数の最上位及び最下位三分位値間の上位 150 の差次的に発現された転写物を列挙している。転写物レベルと好酸球数の間の順位（スピアマン）相関関係を調べることによって、これらの転写物は血中好酸球数に連続的に関連していることが確認された。

30

表 5 : 血中好酸球数の最上位及び最下位三分位間の上位 1 5 0 の差次的発現転写物

遺伝子符号	遺伝子名	Entrez ID	プローブセット ID	発現比, 高:低 三分位 (log2)	q-値	r(s) 対好酸 球数	発現 パターン
CCL23	chemokine (C-C motif) ligand 23	6368	210548 at	2.74	2.72E-46	0.63	その他
PRSS33	protease, serine, 33	260429	1552349 a at	2.25	1.18E-44	0.65	
OLIG2	oligodendrocyte lineage transcription factor 2	10215	213825 at	2.15	5.57E-47	0.67	eo
SIGLEC8	sialic acid binding Ig-like lectin 8	27181	208253 at	2.03	4.85E-47	0.67	eo
ALOX15	arachidonate 15-lipoxygenase	246	207328 at	1.95	4.50E-34	0.61	その他
PMP22	peripheral myelin protein 22	5376	210139 s at	1.82	1.35E-34	0.57	その他
IL5RA	interleukin 5 receptor, alpha	3568	211517 s at	1.76	5.30E-43	0.63	eobaso
IDO1	indoleamine 2,3-dioxygenase 1	3620	210029 at	1.61	2.11E-29	0.55	その他
SLC16A14	solute carrier family 16, member 14	151473	238029 s at	1.52	2.14E-27	0.52	
SLC29A1	solute carrier family 29 (nucleoside transporters), member 1	2030	201802 at	1.48	7.63E-50	0.67	
SMPD3	sphingomyelin phosphodiesterase 3, neutral membrane	55512	219695 at	1.39	1.20E-46	0.66	EO
CACNG6	calcium channel, voltage-dependent, gamma subunit 6	59285	1552863 a at	1.36	1.07E-27	0.55	その他
GPR44	G protein-coupled receptor 44	11251	206361 at	1.25	2.11E-38	0.60	EO
HRH4	histamine receptor H4	59340	221170 at	1.24	8.08E-29	0.55	その他
IL1RL1	interleukin 1 receptor-like 1	9173	242809 at	1.23	6.86E-24	0.52	
CD9	CD9 molecule	928	233317 at	1.20	3.31E-19	0.47	
OLIG1	oligodendrocyte transcription factor 1	116448	228170 at	1.06	2.05E-30	0.56	eobaso
CYSLTR2	cysteinyl leukotriene receptor 2	57105	220813 at	1.05	1.18E-26	0.51	eobaso
SORD	sorbitol dehydrogenase	6652	230782 at	1.01	2.89E-28	0.53	
LRRRC17	leucine rich repeat containing 17	10234	205381 at	0.97	1.84E-26	0.54	

UGT2B28	UDP glucuronosyltransferase 2 family, polypeptide B28	54490	211682 x at	0.95	5.78E-24	0.49	
COR3	chemokine (C-C motif) receptor 3	1232	208304 at	0.92	8.97E-19	0.45	
HSD3B7	hydroxy-delta-5-steroid dehydrogenase, 3 beta- and steroid delta-isomerase 7	80270	222817 at	0.91	1.12E-24	0.55	Eo
KIAA1024	KIAA1024	23251	215081 at	0.89	1.50E-17	0.43	
CLC	Charcot-Leyden crystal protein	1178	206207 at	0.89	2.59E-33	0.62	Eo
BACE2	beta-site APP-cleaving enzyme 2	25825	222446 s at	0.88	1.16E-25	0.48	
MEIS2	Meis homeobox 2	4212	207480 s at	0.88	4.57E-24	0.52	Eo
CYP4F12	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 12	66002	206539 s at	0.88	4.47E-17	0.41	
ASB2	ankyrin repeat and SOCS box containing 2	51676	227915 at	0.87	5.35E-26	0.53	Eo
LGALS12	lectin, galactoside-binding, soluble, 12	85329	223828 s at	0.87	7.11E-23	0.47	
SPNS3	spinster homolog 3 (Drosophila)	201305	235900 at	0.83	9.31E-24	0.50	その他
P2RY14	purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 14	9934	206637 at	0.82	3.40E-21	0.47	その他
PYROXD2	pyridine nucleotide-disulphide oxidoreductase domain 2	84795	228384 s at	0.76	2.41E-23	0.52	eobaso
THBS4	thrombospondin 4	7060	204776 at	0.75	8.13E-30	0.51	
DACH1	dachshund homolog 1 (Drosophila)	1602	205471 s at	0.75	8.69E-16	0.43	eobaso
P2RY2	purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 2	5029	206277 at	0.68	1.05E-13	0.42	
CSF1	colony stimulating factor 1 (macrophage)	1435	209716 at	0.64	1.24E-18	0.51	
MYB	v-myb myeloblastosis viral oncogene homolog (avian)	4602	204798 at	0.64	1.58E-22	0.48	Eo
SLC47A1	solute carrier family 47, member 1	55244	219525 at	0.63	2.18E-07	0.32	eobaso
ACOT11	acyl-CoA thioesterase 11	26027	214763 at	0.63	5.07E-26	0.53	
ABTB2	ankyrin repeat and BTB (POZ)	25841	213497 at	0.61	8.40E-22	0.50	その他

10

20

30

40

	domain containing 2								
FAM124B	family with sequence similarity 124B	79843	220637_at	0.60	7.12E-11	0.35			
RNASE2	ribonuclease, RNase A family, 2 (liver, eosinophil-derived neurotoxin)	6036	206111_at	0.50	5.03E-09	0.31			その他
CYSLTR1	cysteinyl leukotriene receptor 1	10800	216288_at	0.47	2.78E-07	0.32			eobaso
MGAT3	mannosyl (beta-1,4-)-glycoprotein beta-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase	4248	209764_at	0.36	2.42E-09	0.38			
IDO2	indoleamine 2,3-dioxygenase 2	169355	1568638_a_at	0.32	2.45E-06	0.28			
KBTBD11	kelch repeat and BTB (POZ) domain containing 11	9920	204301_at	0.26	1.35E-04	0.30			
GLOD5	glyoxalase domain containing 5	392465	241564_at	1.59	2.31E-22	0.53			EO
ADORA3	adenosine A3 receptor	140	206171_at	1.49	3.10E-38	0.60			EO
ABP1	amiloride binding protein 1 (amine oxidase (copper-containing))	26	203559_s_at	1.37	5.21E-13	0.38			
GPR82	G protein-coupled receptor 82	27197	1553317_s_at	1.31	1.88E-27	0.51			
HRASLS5	HRAS-like suppressor family, member 5	117245	231050_at	1.23	6.36E-41	0.61			その他
C21orf130	chromosome 21 open reading frame 130	284835	240068_at	1.21	1.00E-24	0.51			その他
CEBPE	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), epsilon	1053	214523_at	1.18	1.35E-34	0.58			EO
PIK3R6	phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 6	146850	1558770_a_at	1.12	3.32E-36	0.61			EO
TRPC6	transient receptor potential cation channel, subfamily C, member 6	7225	206528_at	1.06	2.26E-18	0.42			その他
CAT	catalase	847	215573_at	0.99	3.10E-23	0.53			その他
CACNA1D	calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1D subunit	776	243334_at	0.99	1.01E-23	0.50			
FGFR2	fibroblast growth factor receptor 2	2263	203638_s_at	0.96	5.24E-07	0.30			その他
VSTM1	V-set and transmembrane domain containing 1	284415	235818_at	0.94	1.32E-17	0.46			その他

10

20

30

40

PDE4D	phosphodiesterase 4D, cAMP-specific	5144	1554717_a_at	0.91	1.69E-23	0.49	Eo
STAC	SH3 and cysteine rich domain	6769	205743_at	0.88	1.91E-11	0.34	
SVOPL	SVOP-like	136306	1554300_a_at	0.88	3.62E-22	0.47	
HES1	hairy and enhancer of split 1, (Drosophila)	3280	203394_s_at	0.81	2.58E-22	0.46	
CDK15	cyclin-dependent kinase 15	65061	239201_at	0.80	1.24E-17	0.44	
CD24	CD24 molecule	100133941	208650_s_at	0.76	2.08E-13	0.37	
SLC7A8	solute carrier family 7 (amino acid transporter, L-type), member 8	23428	216092_s_at	0.76	5.28E-15	0.39	その他
VLDLR	very low density lipoprotein receptor	7436	209822_s_at	0.74	1.16E-11	0.36	その他
RPS6KA2	ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 2	6196	212912_at	0.73	4.76E-22	0.48	その他
SPATA9	spermatogenesis associated 9	83890	223840_s_at	0.72	2.31E-22	0.44	Eo
SYNE1	spectrin repeat containing, nuclear envelope 1	23345	215350_at	0.72	4.85E-12	0.32	その他
EPAS1	endothelial PAS domain protein 1	2034	200878_at	0.69	3.59E-13	0.40	Eo
TOX2	TOX high mobility group box family member 2	84969	228737_at	0.68	2.52E-14	0.40	
CHST13	carbohydrate (chondroitin 4) sulfotransferase 13	166012	239647_at	0.67	2.12E-07	0.30	Eo
PLEKHA7	pleckstrin homology domain containing, family A member 7	144100	228450_at	0.66	7.60E-12	0.37	
EEF2K	eukaryotic elongation factor-2 kinase	29904	225546_at	0.65	1.47E-17	0.44	
MYCT1	myc target 1	80177	231947_at	0.65	7.75E-13	0.35	その他
FBN1	fibrillin 1	2200	202766_s_at	0.63	1.45E-13	0.41	
EMR1	egf-like module containing, mucin-like, hormone receptor-like 1	2015	207111_at	0.63	1.25E-15	0.39	その他
SEMA7A	semaphorin 7A, GPI membrane anchor	8482	230345_at	0.62	6.52E-25	0.52	
LOC283454	hypothetical protein LOC283454	283454	229552_at	0.61	1.01E-05	0.26	Eo

10

20

30

40

C6orf114	chromosome 6 open reading frame 114	85411	1554486_a_at	0.60	1.21E-11	0.37	
GPR114	G protein-coupled receptor 114	221188	229971_at	0.57	1.00E-16	0.46	
GFOD1	glucose-fructose oxidoreductase domain containing 1	54438	219821_s_at	0.57	4.39E-14	0.40	その他
LOC645638	WDNM1-like pseudogene	645638	229566_at	0.57	1.00E-13	0.34	その他
ACACB	acetyl-CoA carboxylase beta	32	49452_at	0.56	8.02E-13	0.39	
EPN2	epsin 2	22905	241239_at	0.56	2.00E-13	0.37	その他
C10orf128	chromosome 10 open reading frame 128	170371	228372_at	0.56	1.91E-14	0.42	Eo
ENPP2	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 2	5168	209392_at	0.56	6.03E-08	0.31	Eo
PIK3R3	phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 3 (gamma)	8503	202743_at	0.55	1.81E-10	0.35	その他
GPR34	G protein-coupled receptor 34	2857	223620_at	0.55	1.53E-06	0.26	その他
DIXDC1	DIX domain containing 1	85458	214724_at	0.54	8.66E-09	0.31	その他
TFF3	trefoil factor 3 (intestinal)	7033	204623_at	0.54	8.90E-13	0.41	その他
EFNB2	ephrin-B2	1948	202668_at	0.54	3.05E-11	0.34	その他
ACSF2	acyl-CoA synthetase family member 2	80221	218844_at	0.52	2.64E-17	0.46	eobaso
SRGAP3	SLIT-ROBO Rho GTPase activating protein 3	9901	209794_at	0.52	1.88E-13	0.42	
PNPLA6	patatin-like phospholipase domain containing 6	10908	203718_at	0.51	1.52E-14	0.40	
GPR39	G protein-coupled receptor 39	2863	208600_s_at	0.51	1.52E-14	0.38	
ASRGL1	asparaginase like 1	80150	218857_s_at	0.51	1.91E-11	0.37	
CCDC141	coiled-coil domain containing 141	285025	1553645_at	0.50	3.55E-09	0.28	
GF11B	growth factor independent 1B transcription repressor	8328	237403_at	0.50	5.24E-07	0.29	その他
ATP8B3	ATPase, aminophospholipid transporter, class I, type 8B, member 3	148229	239457_at	0.50	6.72E-13	0.37	その他

10

20

30

40

PHKG2	phosphorylase kinase, gamma 2 (testis)	5261	1556369_a_at	0.50	2.10E-10	0.37	Eo
ZBTB42	zinc finger and BTB domain containing 42	100128927	229691_at	0.49	2.54E-18	0.44	
KHDRBS3	KH domain containing, RNA binding, signal transduction associated 3	10656	209781_s_at	0.48	3.76E-14	0.44	その他
COL9A2	collagen, type IX, alpha 2	1298	213622_at	0.47	1.78E-05	0.28	その他
CNKSR3	CNKSR family member 3	154043	227481_at	0.46	1.31E-10	0.33	
TEC	tec protein tyrosine kinase	7006	206301_at	0.46	2.80E-14	0.44	
DAPK2	death-associated protein kinase 2	23604	215184_at	0.46	1.22E-06	0.33	
LOC285812	hypothetical protein LOC285812	285812	230179_at	0.45	4.32E-13	0.37	Eo
VSIG10	V-set and immunoglobulin domain containing 10	54621	226485_at	0.45	3.45E-04	0.26	その他
ZNRF3	zinc and ring finger 3	84133	226360_at	0.45	5.50E-11	0.35	Eo
CD101	CD101 molecule	9398	207167_at	0.45	8.59E-08	0.30	その他
AKR1C1	aldo-keto reductase family 1, member C1	1645	204151_x_at	0.45	7.18E-07	0.28	
FHL3	four and a half LIM domains 3	2275	218818_at	0.43	1.22E-07	0.34	その他
BLM	Bloom syndrome, RecQ helicase-like	641	205733_at	0.43	1.07E-08	0.31	
CAMK1	calcium/calmodulin-dependent protein kinase I	8536	1558556_at	0.43	9.12E-07	0.27	その他
C6orf97	chromosome 6 open reading frame 97	80129	220581_at	0.43	2.44E-09	0.31	Eo
ZNFR23	zinc finger protein 823	55552	229732_at	0.43	2.44E-09	0.35	
LYPD1	LY6/PLAUR domain containing 1	116372	212909_at	0.42	6.12E-12	0.38	その他
SAG	S-antigen; retina and pineal gland (arrestin)	6295	206671_at	0.42	2.77E-12	0.39	
KLHL13	kelch-like 13 (Drosophila)	90293	227875_at	0.42	6.12E-12	0.33	Eo
LOC81691	exonuclease NEF-sp	81691	208107_s_at	0.42	1.81E-09	0.34	Eo
OXER1	oxoeicosanoid (OXE) receptor 1	165140	1553222_at	0.41	1.07E-10	0.38	その他

INPP1	inositol polyphosphate-1-phosphatase	3628	202794_at	0.41	2.89E-15	0.42	その他
HCRP1	hepatocellular carcinoma-related HCRP1	387535	216176_at	0.40	2.00E-04	0.29	
KIAA0649	KIAA0649	9858	203955_at	0.40	2.94E-11	0.37	その他
ACSM3	acyl-CoA synthetase medium-chain family member 3	6296	210377_at	0.40	1.72E-07	0.29	その他
KSR1	kinase suppressor of ras 1	8844	235252_at	0.39	2.14E-07	0.33	
HYAL3	hyaluronoglucosaminidase 3	8372	211728_s_at	0.38	5.81E-07	0.25	eobaso
AJAPI	adherens junctions associated protein 1	55966	206460_at	0.38	3.39E-10	0.36	
BRI3BP	BRI3 binding protein	140707	231810_at	0.36	9.94E-11	0.34	
KIF23	kinesin family member 23	9493	244427_at	0.35	2.45E-06	0.31	その他
KLHL6	kelch-like 6 (Drosophila)	89857	1560396_at	0.35	5.59E-04	0.27	その他
CKB	creatine kinase, brain	1152	200884_at	0.35	4.72E-07	0.25	
FBP1	fructose-1,6-bisphosphatase 1	2203	209696_at	0.34	6.06E-07	0.29	
GAPT	GRB2-binding adaptor protein, transmembrane	202309	1552386_at	0.34	1.14E-06	0.26	
HIC1	hypermethylated in cancer 1	3090	230218_at	0.32	4.69E-06	0.27	Eo
PLIN2	perilipin 2	123	209122_at	0.32	7.81E-08	0.34	
FAM46B	family with sequence similarity 46, member B	115572	229518_at	0.32	2.14E-07	0.29	
LOC115110	hypothetical LOC115110	115110	233960_s_at	0.32	2.84E-08	0.31	その他
GOLIM4	golgi integral membrane protein 4	27333	204324_s_at	0.31	9.66E-05	0.30	Eo
MARCKSL1	MARCKS-like 1	65108	200644_at	0.31	4.32E-08	0.33	
OLFM2	olfactomedin 2	93145	223601_at	0.31	8.46E-06	0.27	
TMEM38A	transmembrane protein 38A	79041	222896_at	0.30	1.07E-04	0.27	その他
C14orf102	chromosome 14 open reading frame 102	55051	221231_s_at	0.30	2.28E-06	0.26	その他
C13orf27	chromosome 13 open reading frame 27	93081	213346_at	0.30	7.18E-07	0.26	

SEP11	septin 11	55752	230071_at	0.29	9.32E-05	0.26	その他
FAAH	fatty acid amide hydrolase	2166	204231_s_at	0.29	5.52E-04	0.26	
KCNK6	potassium channel, subfamily K, member 6	9424	223658_at	0.28	5.60E-06	0.31	その他
GRAMD1B	GRAM domain containing 1B	57476	212906_at	0.28	3.27E-04	0.29	その他
KBTBD11	kelch repeat and BTB (POZ) domain containing 11	9920	204301_at	0.26	1.35E-04	0.30	eobaso

10

20

30

40

【 0 3 5 3 】

実施例 5 - 好酸球数と関連した転写物は好酸球限定遺伝子及び広範に発現された遺伝子を含む

50

喘息患者において、気道中の炎症性サイトカイン I L 5 及び I L 1 3 は相補的な形で全身性好酸球増加症に寄与する場合がある：1) I L 5 の主要な機能は好酸球造血、動員、及び生存を促進することであり、よって気道中の上昇した I L 5 発現はシグナルを骨髓に送って好酸球を産生させる；2) I L 1 3 の多くの機能のなかに上皮細胞及び線維芽細胞のような気管支粘膜の構造細胞において C C L 1 1、1 3、2 3、2 4、及び 2 6 のような C C R 3 結合ケモカインの発現を誘導することがあり、よって、I L 5 によって動員された好酸球がケモカイン勾配に沿って I L 1 3 発現の部位に向けて遊走する。例えば Wen 等(2013) Proc Natl Acad Sci U S A 110: 6067-72を参照のこと。ケモカイン誘導を介して好酸球走化性を促進することに加えて、I L 1 3 は、末梢血中に変化したレベルの可溶性及び細胞性メディエーターを生じせしめうる複数の更なる効果を気道に作用させる。例えば Arron 等(2013) Adv Pharmacol 66: 1-49を参照のこと。よって、末梢好酸球増加症を促進するプロセスが、血液細胞中における遺伝子発現に対する他の好酸球非依存的効果をまた生じさせる。

【0354】

末梢血好酸球数に関連した転写物が好酸球又は他の細胞型におけるその発現によるものであったかどうかを決定するために、選別された血液細胞を含む公的に利用可能なデータセット (G S E 3 9 8 2) における好酸球関連転写物の相対的発現レベルを調べた。Liu 等(2006) J Allergy Clin Immunol 118: 496-503を参照のこと。G S E 3 9 8 2 データセットにも表された E X T R A データセット中の最も高度の好酸球関連転写物のなかで、3つの主要な発現パターンが同定された：1) 好酸球制限パターンで、転写物の発現は調べられた全ての細胞型のなかで好酸球に主に見出されている；2) 好酸球/好塩基球制限パターンで、発現は好酸球と好塩基球の双方に見出されるが他の細胞型には見出されない、及び3) 広い発現パターンで、転写物は、好酸球を含む場合も含まない場合もある複数の血液細胞型に見出される。興味深いことに、F c R I 及びトリプターゼ遺伝子のような末梢血白血球（組織常在性マスト細胞にも見出される場合がある）のなかの好塩基球に特異的な多くの既知の転写物にもかかわらず、選択された転写物の何れも好塩基球に独特には発現されなかったが、これは、好塩基球においては必ずではない好酸球におけるその発現のため、好酸球制限/好塩基球制限転写物が我々の解析において有意であったことを示唆している。表5は、両データセットに表された転写物の発現パターンを列挙しており、ここで、「e o」は主として好酸球制限発現を示し、「e o b a s o」は主として好酸球と好塩基球に制限された発現を示し、「その他」はより広い発現及び/又は好酸球又は好塩基球以外の白血球に制限された発現を示している。多くの転写物は G S E 3 9 8 2 データセットには表されておらず、よって、注釈が付けられていない。3通りのパターンの例は図4に例示されており、3つ全ての転写物が血中好酸球数に高度に相関しているにもかかわらず、S I G L E C 8 は大部分が好酸球に制限され（図4A）、C L C は主として好酸球と好塩基球に発現し（図4B）、C S F 1 は複数の細胞型にわたってより広く発現している（図4C）。これらのデータは、末梢血中の幾つかの好酸球関連転写物が、好酸球数に関連するが厳密には好酸球数によるものではない生物学的プロセスを反映している場合があることを示唆しており、該好酸球数は、好酸球の単なる計数を超えて、気道における病態生理学的プロセスを予測する末梢血転写物の力に対してロバスト性を与える潜在性を有している。

【0355】

実施例6 - 末梢血中の好酸球関連転写物は、レプリキズマブからの臨床的有用性が増加した中程度から重度の喘息患者を同定する

我々は、第II相の M I L L Y 試験において、試験における中央値レベルを越える治療前血清ペリオスチン又は F e N O レベルを持つ I C S にもかかわらずコントロールが乏しい喘息の中程度から重度の患者が、プラセボと比較して有意に改善されたレプリキズマブ治療に対する肺機能を示したが、中央値未満のベースライン血清ペリオスチン又は F e N O レベルの患者はプラセボと比較してレプリキズマブからの有意な有用性を示さなかったことを示した。例えば Corren 等(2011) N Engl J Med 365: 1088-98 ; Arron 等(2011) N En

10

20

30

40

50

gl J Med 365: 2433-34を参照のこと。末梢血中の好酸球関連遺伝子発現が、レプリキズマブの臨床的有用性を同様に予測しうるかどうかを決定するために、M I L L Y試験の患者からのベースライン P A X g e n e 血液 R N A 試料における q P C R による 47 の好酸球関連転写物の発現を評価した。試料は無作為化の際に試験薬の初回投与の直前に採取したもので、修正治療企図集団の 219 名の患者のうちの 208 名について利用できた。

【0356】

発現データの評価における第一のステップは品質の考慮であった。選択されたプライマー及びプローブセットを用いた P C R 増幅は 3 つの遺伝子 (I D O 2、K B T B D 1 1、及び P 2 R Y 2) に対しては失敗した。I L 5 R A は q P C R 中に許容できない技術的性能 (プレート効果) を示したので、更なる解析から省いた。L R R C 1 7 データは 300 を越え 25 % を越える試料で欠けており、そのために更なる解析から省いた。8 つの試料が 25 % を越える遺伝子に対してデータ欠測があり、省いた。残りの欠測データは、数が少なく、明らかに無作為に分布していたので、帰属させた。

【0357】

評価されたアウトカムは、ベースラインにおける各遺伝子の中央値発現レベルで二分された患者の 12 週での F E V₁ のプラセボ調整変化の差であった。応答の一貫性を担保するために、事後分析で二分されたグループの成績を調べ、試験の 32 週の過程にわたって連続的に F E V₁ 応答を予測した。

【0358】

20 を越える転写物が、ペリオスチン、F e N O、及び血中好酸球に匹敵するか又はそれらよりも良好に作用し、12 週におけるレプリキズマブのプラセボ調整 F E V₁ 有用性を高めた。ベースラインの中央値発現レベルに従って二分したとき、中央値より上の C S F 1、M E I S 2、L G A L S 1 2、I D O 1、T H B S 4、O L I G 2、A L O X 1 5、S I G L E C 8、C C L 2 3、P Y R O X D 2、H S D 3 B 7、S O R D、A S B 2、C A C N G 6、G P R 4 4、M G A T 3、S L C 4 7 A 1、S M P D 3、C C R 3、C L C、C Y P 4 F 1 2、及び A B T B 2 の発現レベルを伴う患者は、全て、中央値未満のその遺伝子の発現レベルを伴う患者よりも 12 週における有意に大なるレプリキズマブのプラセボ調整 F E V₁ の改善を示した (95 % 信頼区間はゼロを含まない、図 5)。C D 9、P 2 R Y 1 4、P M P 2 2、B A C E 2、R N A S E 2、F A M 1 2 4 B、U G T 2 8 2 8、A C O T 1 1、C Y S L T R 1、I L 1 R L 1、及び M Y B を含む数個の遺伝子の発現はレプリキズマブのプラセボ調整 F E V₁ 有用性を実質的に高めなかった一方、O L I G 1、P R S S 3 3、H R H 4、S P N S 3、S L C 2 9 A 1、C Y S L T R 2、D A C H 1、及び S L C 1 6 A 1 4 を含む他のものは臨床的有用性を高めたが、プラセボ調整 F E V₁ 改善の 95 % 信頼区間はゼロを含む (図 5)。中央値で二分されたベースライン値を使用して、12 週でのプラセボ調整 F E V₁ 有用性について違いが出た遺伝子は、試験の期間全体にわたる全ての時点で F E V₁ 有用性を高める傾向があった (図 6)。総括すると、これらのデータは、末梢血中の 20 を越える個々の遺伝子転写物が、中程度から重度の喘息患者の集団がレプリキズマブの臨床的有用性の向上を経験する可能性を高めうることを示している。

【0359】

実施例 7 - 末梢血遺伝子発現レベルは成人及び小児被験者において血中好酸球と相関する
血清ペリオスチンは小児喘息患者において顕著に異なったレベルで発現され、血中好酸球とは相関していないので、末梢血中の好酸球関連転写物が、1) 小児被験者において血中好酸球と相関しており、2) 成人及び小児被験者において比較できる程度のスケールであるかどうか決定された。その 277 名が医師が診断した喘息に罹患しており、134 名が年齢を適合させた健康な対照であった「G A L A I I」試験 (Nishimura 等 (2013) A m J Respir Crit Care Med 188: 309-18 ; Kumar 等 (2013) J Allergy Clin Immunol doi: 10.1016/j.jaci.2013.02.046. [印刷前のEpub] ; Borrell 等 (2013) A m J Respir Crit Care Med 187: 697-702) における 8 ~ 21 歳の 411 名の被験者から、一致 P A X g e n e 血液 R N A 試料、血中好酸球百分率、F e N O、及び血清 I g E レベルを得た。G A L A

の喘息被験者は、対照被験者よりも有意に低い予想FEV₁%及び有意に高い血清IgE、血中好酸球、及びFeNOを有していた。GALAの小児喘息被験者は有意に相関した血中好酸球百分率及びFeNOレベルを有しており、その範囲及び分布は、BOBCATコホートにおける成人の中程度から重度の喘息被験者からの血中好酸球百分率及びFeNO(Jia等(2012) J Allergy Clin Immunol 130: 647-654 e10)とオーバーラップしていた(表6)。GALAの喘息被験者と健康な対照の双方において、血中好酸球百分率と年齢の間に弱いが有意な負の相関があったが(図7、図3の他のコホートで示された知見と同様)、血中好酸球百分率は成人被験者と比較して実質的に歪みはなかった。

表6：BOBCAT(成人)及びGALA II(小児)コホートの臨床的及び人口統計学的特徴

	BOBCAT (N=88)	GALA (喘息; N=277)	GALA (対照; N=134)
年齢, 中央値(範囲)	47 (20-67)	15 (8-21)	15 (10-21)
性別(M:F)	32:34	133:144	59:75
予想FEV ₁ %, 中央値(IQR)	61 (53-79)	88 (80-99)*	96 (85-105)
血清IgE	160 (39-373)	255 (89-634)*	110 (36-290)
血中eos数/μl	235 (115-375)	300 (100-500)*	200 (100-300)
血中eos, %	3.7 (1.7-5.1)	3.8 (2.2-6.7)*	2.7 (1.5-5.8)
FeNO, ppb	24 (16-49)	25 (10-44)*	13 (8-25)

*p<0.0001 対GALA対照

血中eos対FeNO, r _s	0.40 (p<0.002)	0.57 (p<0.001)
----------------------------	----------------	----------------

ここに提供されるものは抗RSPO抗体、特に抗RSPO2抗体及び/又は抗RSPO3抗体、及びこれを使用する方法である。

【0360】

成人喘息患者における血中好酸球増加に関連した転写物が小児被験者における血中好酸球増加に関連し、比較できる程度のスケールであったかどうかを評価するために、上に記載の43の遺伝子をGALA(最初のGALA試験は例えばCorvol等, Pharmacogenet Genomics. 2009 Jul;19(7):489-96に記載されている)においてqPCRによって評価し、バッチ効果を軽減するためにBOBCATからの88のベースライン試料を同時に評価した。殆どの遺伝子で、成人喘息患者と喘息に罹患しているか罹患していない小児被験者において、発現レベルと血中好酸球百分率との間に類似の関係が観察され、血中好酸球を予測する遺伝子発現の能力が年齢又は診断に独立して一貫していることを示唆している(例えば、CCL23、図8A)。しかしながら、幾つかの転写物では、GALAとBOBCATの間で異なるパターンが観察され、例えばCLCは、成人及び小児被験者において血中好酸球百分率に対して同等の相関係数を有していたが、与えられた血中好酸球百分率に対して小児被験者におけるよりも成人において実質的により高いレベルで発現しており(図8B);あるいはCSF1では、成人及び小児被験者において異なる相関係数と異なるスケールが観察された(図8C)。血中好酸球数に高度に関連し、かつ年齢には最小限に依存性であった転写物を同定するために、遺伝子発現が血中好酸球百分率、年齢、年齢と血中好酸球百分率の間の相互作用項、及びバッチの関数として評価された、BOBCAT、MILLY、及びGALAからの全データを取り込んでいる線形回帰モデルを構築した。血中好酸球百分率がモデル推定値において最大となり、年齢がモデル推定値において最小となった遺伝子が同定された(図9)。遺伝子選択のための更なる考慮には、MILLY試験においてレプリキズマブの臨床的有用性が向上した患者を同定するベースライン遺

伝子発現レベルの能力と末梢血中の発現レベルのダイナミックレンジの向上が含まれた。表 7 は、M I L L Y における 12 週での F E V₁ のプラセボ調整変化 (図 5)、B O B C A T 及び G A L A 喘息被験者における遺伝子発現と血中好酸球百分率の間のピアソン相関係数、小児及び成人喘息被験者間の図 8 に示された C t 対 (血中好酸球百分率) - 2 の回帰に対する Y 切片の比、及び各遺伝子に対して全 G A L A 及び B O B C A T 試料において観察された発現レベルの 10 パーセントイルと 90 パーセントイルの間の C t の差によって決定される発現のダイナミックレンジによってランク付けされた上位 20 遺伝子を示している。B O B C A T と G A L A の間で同等の相関係数 (0 - 10%) を持つ遺伝子は、異なる相関係数を持つ遺伝子よりも高い優先順位を有していると思われた; より小さいインターセプト比 (0 - 10%) を持つ遺伝子は大きなインターセプト比を持つ遺伝子よりも優先順位が高いと思われ、より大きいダイナミックレンジ (> 3 サイクル) を持つ遺伝子は小さいダイナミックレンジを持つ遺伝子よりも優先順位が高いと思われた。

10

【 0 3 6 1 】

まとめると、線形回帰モデル (図 9) 及びカテゴリー解析 (表 7) における多くの遺伝子の成績は、それらが、小児喘息患者における 2 型炎症性メディエーターを標的とする治療法からの臨床的有用性の向上を予測するバイオマーカーとして好適である場合があることを示唆している。

表7:レプリキズマブの臨床的有用性を予想する血中好酸球関連転写物のまとめと成人及び小児喘息における遺伝子発現と血中好酸球百分率との間の関係

遺伝子	MILLY $\Delta \Delta FEV_1$ (%)	r_p 対 sqrt % eos BOBCAT	r_p 対 sqrt % eos GALA (CASE)	Δ インターセプト 比 GALA 対 BOBCAT	ダイナミック レンジ (ddCt)
CSF1	11.9	0.57	0.54	0.28 **	2.3 *
MEIS2	10.3	0.37	0.41	0.14 *	3.4
LGALS12	9.8	0.53 *	0.67 *	0.10	2.7 *
IDO1	9.7	0.72	0.76	0.03	3.4
THBS4	9.6	0.71	0.77	0.17 *	3.5
OLIG2	9.5	0.78	0.82	0.26 **	3.8
ALOX15	9.0	0.74	0.76	0.11 *	4.7
SIGLEC8	8.6	0.82	0.79	0.11 *	4.4
CCL23	8.5	0.71	0.79	0.04	4.9
PYROXD2	8.4	0.59	0.62	0.10	2.3 *
HSD3B7	8.2	0.44	0.46	0.08	3.7
SORD	8.2	0.57	0.60	0.15 *	2.3 *
ASB2	8.1	0.69	0.73	0.11 *	2.6 *
CACNG6	6.7	0.70	0.69	0.09	3.3
GPR44	6.1	0.76	0.80	0.11 *	3.9
MGAT3	6.0	0.50 **	0.17 **	0.94 **	4.5
SLC47A1	5.9	0.26 *	0.41 *	0.18 *	3.0
SMPD3	5.8	0.86	0.83	0.14 *	3.2
CCR3	5.8	0.48 *	0.58 *	0.03	2.4 *
CLC	5.5	0.74	0.83	-0.22 **	4.4
ABTB2	5.1	0.69	0.68	0.27 **	2.9 *
CYP4F12	5.1	0.38 *	0.24 *	0.46 **	4.1

【 0 3 6 2 】

実施例 8 - 文献

1 .Arron, JR, H Scheerens, 及びJG Matthews. (2013) Redefining approaches to asthma: developing targeted biologic therapies. Adv Pharmacol 66: 1-49.

10

20

30

40

50

- 2 . Jia, G, RW Erickson, DF Choy, S Mosesova, LC Wu等(2012) Periostin is a systemic biomarker of eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 130: 647-654 e10.
- 3 . Corren, J, RF Lemanske, NA Hanania, PE Korenblat, MV Parsey等(2011) Lebrikizumab treatment in adults with asthma. *N Engl J Med* 365: 1088-98.
- 4 . Scheerens, H, JR Arron, DF Choy, S Mosesova, P Lal等(2012) Lebrikizumab Treatment Reduces Serum Periostin Levels In Asthma Patients With Elevated Baseline Levels Of Periostin. *Am J Respir Crit Care Med* 185: A3960.
- 5 . Horiuchi, K, N Amizuka, S Takeshita, H Takamatsu, M Katsuura等(1999) Identification and characterization of a novel protein, periostin, with restricted expression to periosteum and periodontal ligament and increased expression by transforming growth factor beta. *J Bone Miner Res* 14: 1239-49. 10
- 6 . Contie, S, N Voorzanger-Rousselot, J Litvin, N Bonnet, S Ferrari等(2010) Development of a new ELISA for serum periostin: evaluation of growth-related changes and bisphosphonate treatment in mice. *Calcif Tissue Int* 87: 341-50.
- 7 . Baraldo, S, G Turato, E Bazzan, A Ballarin, M Damin等(2011) Noneosinophilic asthma in children: relation with airway remodelling. *Eur Respir J* 38: 575-83.
- 8 . Hanania, NA, S Wenzel, K Rosen, HJ Hsieh, S Mosesova等(2013) Exploring the effects of Omalizumab in allergic asthma: an analysis of biomarkers in the EXTRA study. *Am J Respir Crit Care Med* 187: 804-11. 20
- 9 . Hanania, NA, O Alpan, DL Hamilos, JJ Condemi, I Reyes-Rivera等(2011) Omalizumab in severe allergic asthma inadequately controlled with standard therapy: a randomized trial. *Ann Intern Med* 154: 573-82.
- 10 . Milgrom, H, W Berger, A Nayak, N Gupta, S Pollard等(2001) Treatment of childhood asthma with anti-immunoglobulin E antibody (omalizumab). *Pediatrics* 108: E36.
- 11 . Milgrom, H, RB Fick, Jr., JQ Su, JD Reimann, RK Bush等(1999) Treatment of allergic asthma with monoclonal anti-IgE antibody. *rhMAb-E25 Study Group. N Engl J Med* 341: 1966-73.
- 12 . Busse, W, J Corren, BQ Lanier, M McAlary, A Fowler-Taylor等(2001) Omalizumab, anti-IgE recombinant humanized monoclonal antibody, for the treatment of severe allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 108: 184-90. 30
- 13 . Holgate, ST, AG Chuchalin, J Hebert, J Lotvall, GB Persson等(2004) Efficacy and safety of a recombinant anti-immunoglobulin E antibody (omalizumab) in severe allergic asthma. *Clin Exp Allergy* 34: 632-8.
- 14 . Soler, M, J Matz, R Townley, R Buhl, J O'Brien等(2001) The anti-IgE antibody omalizumab reduces exacerbations and steroid requirement in allergic asthmatics. *Eur Respir J* 18: 254-61.
- 15 . Wen, T, JA Besse, MK Mingler, PC Fulkerson, and ME Rothenberg. (2013) Eosinophil adoptive transfer system to directly evaluate pulmonary eosinophil trafficking in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 6067-72. 40
- 16 . Liu, SM, R Xavier, KL Good, T Chtanova, R Newton等(2006) Immune cell transcriptome datasets reveal novel leukocyte subset-specific genes and genes associated with allergic processes. *J Allergy Clin Immunol* 118: 496-503.
- 17 . Floyd, H, J Ni, AL Cornish, Z Zeng, D Liu等(2000) Siglec-8. A novel eosinophil-specific member of the immunoglobulin superfamily. *J Biol Chem* 275: 861-6.
- 18 . Tavernier, J, R Devos, S Cornelis, T Tuypens, J Van der Heyden等(1991) A human high affinity interleukin-5 receptor (IL5R) is composed of an IL5-specific alpha chain and a beta chain shared with the receptor for GM-CSF. *Cell* 66: 1175-84. 50

- 19 . Nagata, K, H Hirai, K Tanaka, K Ogawa, T Aso等(1999) CRTH2, an orphan receptor of T-helper-2-cells, is expressed on basophils and eosinophils and responds to mast cell-derived factor(s). *FEBS Lett* 459: 195-9.
- 20 . Mita, H, M Hasegawa, H Saito, and K Akiyama. (2001) Levels of cysteinyl leukotriene receptor mRNA in human peripheral leucocytes: significantly higher expression of cysteinyl leukotriene receptor 2 mRNA in eosinophils. *Clin Exp Allergy* 31: 1714-23.
- 21 . Turk, J, RL Maas, AR Brash, LJ Roberts, 2nd, and JA Oates. (1982) Arachidonic acid 15-lipoxygenase products from human eosinophils. *J Biol Chem* 257: 7068-76. 10
- 22 . Gleich, GJ, DA Loegering, KG Mann, and JE Maldonado. (1976) Comparative properties of the Charcot-Leyden crystal protein and the major basic protein from human eosinophils. *J Clin Invest* 57: 633-40.
- 23 . Ponath, PD, S Qin, TW Post, J Wang, L Wu等(1996) Molecular cloning and characterization of a human eotaxin receptor expressed selectively on eosinophils. *J Exp Med* 183: 2437-48.
- 24 . Ponath, PD, S Qin, DJ Ringler, I Clark-Lewis, J Wang等(1996) Cloning of the human eosinophil chemoattractant, eotaxin. Expression, receptor binding, and functional properties suggest a mechanism for the selective recruitment of eosinophils. *J Clin Invest* 97: 604-12. 20
- 25 . Kitaura, M, T Nakajima, T Imai, S Harada, C Combadiere等(1996) Molecular cloning of human eotaxin, an eosinophil-selective CC chemokine, and identification of a specific eosinophil eotaxin receptor, CC chemokine receptor 3. *J Biol Chem* 271: 7725-30.
- 26 . Daugherty, BL, SJ Siciliano, JA DeMartino, L Malkowitz, A Sirotna等(1996) Cloning, expression, and characterization of the human eosinophil eotaxin receptor. *J Exp Med* 183: 2349-54.
- 27 . Rothenberg, ME, R Ownbey, PD Mehlhop, PM Loiselle, M van de Rijn等(1996) Eotaxin triggers eosinophil-selective chemotaxis and calcium flux via a distinct receptor and induces pulmonary eosinophilia in the presence of interleukin 5 in mice. *Mol Med* 2: 334-48. 30
- 28 . Combadiere, C, SK Ahuja, 及びPM Murphy. (1996) Cloning and functional expression of a human eosinophil CC chemokine receptor. *J Biol Chem* 271: 11034.
- 29 . Hansel, TT, JB Braunstein, C Walker, K Blaser, PL Bruijnzeel等(1991) Sputum eosinophils from asthmatics express ICAM-1 and HLA-DR. *Clin Exp Immunol* 86: 271-7.
- 30 . Kohno, Y, X Ji, SD Mawhorter, M Koshiba, and KA Jacobson. (1996) Activation of A3 adenosine receptors on human eosinophils elevates intracellular calcium. *Blood* 88: 3569-74.
- 31 . Hamann, KJ, RM Ten, DA Loegering, RB Jenkins, MT Heise等(1990) Structure and chromosome localization of the human eosinophil-derived neurotoxin and eosinophil cationic protein genes: evidence for intronless coding sequences in the ribonuclease gene superfamily. *Genomics* 7: 535-46. 40
- 32 . Novak, H, A Muller, N Harrer, C Gunther, JM Carballido等(2007) CCL23 expression is induced by IL-4 in a STAT6-dependent fashion. *J Immunol* 178: 4335-41.
- 33 . Syed, F, CC Huang, K Li, V Liu, T Shang等(2007) Identification of interleukin-13 related biomarkers using peripheral blood mononuclear cells. *Biomarkers* 12: 414-23.
- 34 . Hamilton, JA. (2008) Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 8: 533-44. 50

35 . von Bubnoff, D and T Bieber. (2012) The indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) pathway controls allergy. *Allergy* 67: 718-25.

36 . Esnault, S, EA Kelly, EA Schwantes, LY Liu, LP DeLain等(2013) Identification of genes expressed by human airway eosinophils after an in vivo allergen challenge. *PLoS One* 8: e67560.

37 . Lee, JS, JH Kim, JS Bae, JY Kim, TJ Park等(2010) Association of CACNG6 polymorphisms with aspirin-intolerance asthmatics in a Korean population. *BMC Med Genet* 11: 138.

38 . Burgess, DL, LA Gefrides, PJ Foreman, and JL Noebels. (2001) A cluster of three novel Ca²⁺ channel gamma subunit genes on chromosome 19q13.4: evolution and expression profile of the gamma subunit gene family. *Genomics* 71: 339-50.

39 . Schmitz, J, A Owyang, E Oldham, Y Song, E Murphy等(2005) IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 23: 479-90.

40 . Gudbjartsson, DF, US Bjornsdottir, E Halapi, A Helgadóttir, P Sulem等(2009) Sequence variants affecting eosinophil numbers associate with asthma and myocardial infarction. *Nat Genet* 41: 342-7.

41 . Meijer, DH, MF Kane, S Mehta, H Liu, E Harrington等(2012) Separated at birth? The functional and molecular divergence of OLIG1 and OLIG2. *Nat Rev Neurosci* 13: 819-31.

42 . Quarles, RH. (2002) Myelin sheaths: glycoproteins involved in their formation, maintenance and degeneration. *Cell Mol Life Sci* 59: 1851-71.

43 . Arron, JR, J Corren, and JG Matthews. (2011) Author response to correspondence on "Lebrikizumab treatment in adults with asthma". *N Engl J Med* 365: 2433-34.

44 . Nishimura, KK, JM Galanter, LA Roth, SS Oh, N Thakur等(2013) Early-Life Air Pollution and Asthma Risk in Minority Children. The GALA II and SAGE II Studies. *Am J Respir Crit Care Med* 188: 309-18.

45 . Kumar, R, EA Nguyen, LA Roth, SS Oh, CR Gignoux等(2013) Factors associated with degree of atopy in Latino children in a nationwide pediatric sample: The Genes-environments and Admixture in Latino Asthmatics (GALA II) study. *J Allergy Clin Immunol*

46 . Borrell, LN, EA Nguyen, LA Roth, SS Oh, H Tcheurekdjian等(2013) Childhood obesity and asthma control in the GALA II and SAGE II studies. *Am J Respir Crit Care Med* 187: 697-702.

47 . Aoki, T, Y Matsumoto, K Hirata, K Ochiai, M Okada等(2009) Expression profiling of genes related to asthma exacerbations. *Clin Exp Allergy* 39: 213-221.

【 0 3 6 3 】

前述の発明は、理解を明確にする目的のために例示や実施例によってある程度詳細に説明してきたが、説明や実施例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。ここで引用した全ての特許及び科学文献の開示は、出典明示によりその全体が明示的に援用される。

【 0 3 6 4 】

配列表

配列番号	説明	配列
1	抗 M1' 抗体 (キリズマブ) 重鎖可変領域	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYGIWVRQA PGKGLEWVAF ISDLAYTIYY ADTVTGRTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDN WDAMDYWGQG TLVTVSS
2	抗 M1' 抗体 (キリズマブ) 軽鎖可変領域	DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRSSQSLV HNNANTYLHW YQQKPGKAPK LLIYKVSNNF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCSQNTLVP WFTGQGTKVE IK
3	抗 M1' (キリズマブ) HVR-H1	GFTFSDYGIA
4	抗 M1' (キリズマブ) HVR-H2	AFISDLAYTIYYADTVTG
5	抗 M1' (キリズマブ) HVR-H3	ARDNWDAMDY
6	抗 M1' (キリズマブ) HVR-L1	RSSQSLVHNNANTYLH
7	抗 M1' (キリズマブ) HVR-L2	KVSNRFS
8	抗 M1' (キリズマブ) HVR-L3	SQNTLVPWT
9	レブリキズマブ 重鎖可変領域	VTLRSEGPAL VKPTQTLTTLT CTVSGFSLSA YSVNWIRQPP GKALEWLAMI WGDGKIVYNS ALKSRLTISK DTSKNQVVLV MTNMDPVDTA TYCAGDGY PYAMDNWGQG SLVTVSS
10	レブリキズマブ 軽鎖可変領域	DIVMTQSPDS LSVSLGERAT INCRASKSVD SYGNSFMHWY QQKPGQPPKL LIYLASNLES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQQNNEDPR TFGGGTKVEI K
11	レブリキズマブ HVR-H1	AYSVN
12	レブリキズマブ HVR-H2	MIWGDGKIVYNSALKS
13	レブリキズマブ HVR-H3	DGYYPYAMDN
14	レブリキズマブ HVR-L1	RASKSVDSYGNSFMH
15	レブリキズマブ HVR-L1	LASNLES
16	レブリキズマブ HVR-L1	QQNNEDPRT

10

20

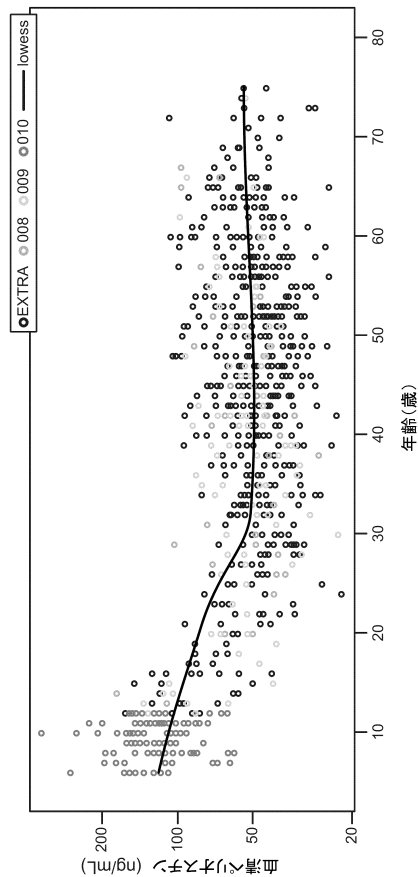
30

17	抗 IgE 抗体軽鎖 可変領域	Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
18	抗 IgE 抗体重鎖 可変領域	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Tyr Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Val Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly Gln Gly
19	代替 レブリキズ マブ VH	QVTLRESGPA LVKPTQTLTL TCTVSGFSLS AYSVNWIRQP PGKALEWLAM IWGDGKIVYN SALKSRLTIS KDTSKNQVVL TMTNMDPVDV ATYYCAGDGY YPYAMDNWGQ GSLVTVSS
20	代替レブリキズマ ブ VL	DIVLTQSPDS LSVSLGERAT INCRASKSVD SYGNSFMHWY QQKPGQPPKL LIYLASNLES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQQNNEDPR TFGGGTKVEI KR
21	レブリキズマブ VH Q1E	EVTLRESGPA LVKPTQTLTL TCTVSGFSLS AYSVNWIRQP PGKALEWLAM IWGDGKIVYN SALKSRLTIS KDTSKNQVVL TMTNMDPVDV ATYYCAGDGY YPYAMDNWGQ GSLVTVSS
22	レブリキズマブ VL M4L	DIVLTQSPDS LSVSLGERAT INCRASKSVD SYGNSFMHWY QQKPGQPPKL LIYLASNLES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQQNNEDPR TFGGGTKVEI KR

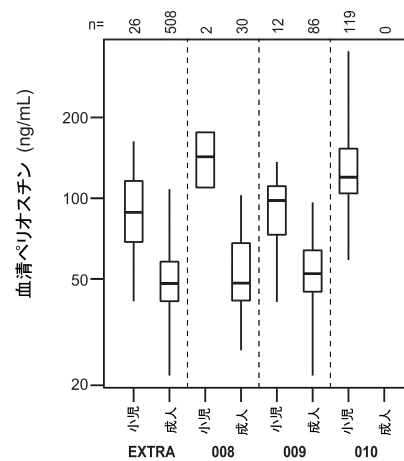
10

20

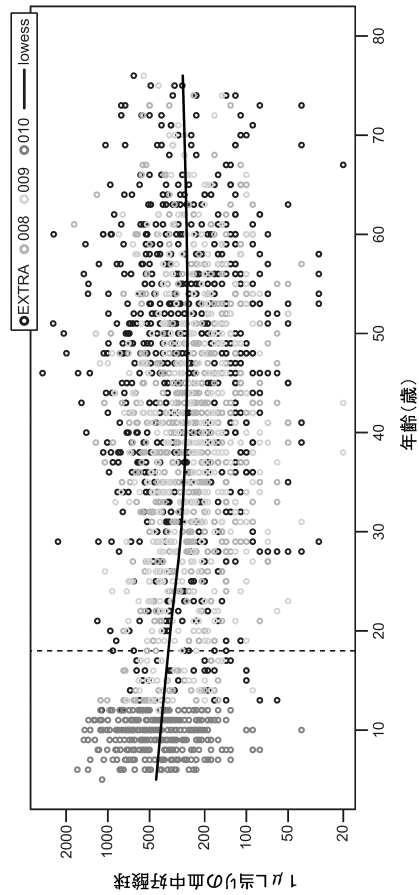
【図 1 A】



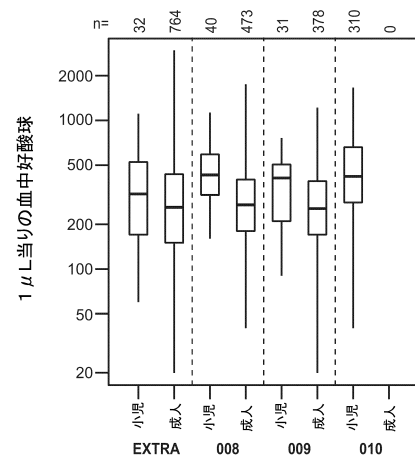
【図 1 B】



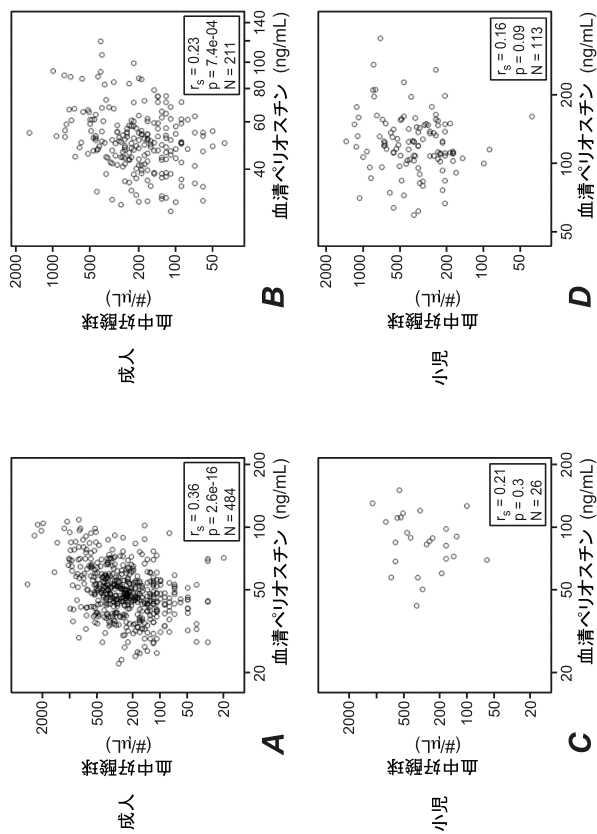
【図 2 A】



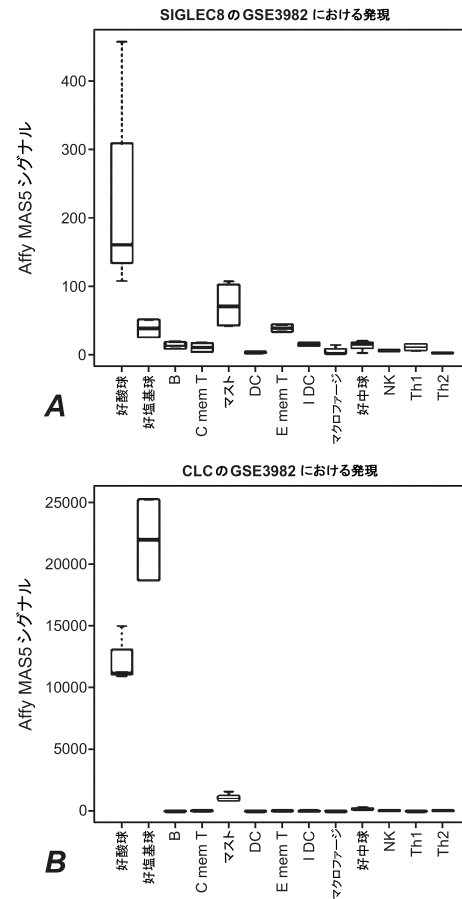
【図 2 B】



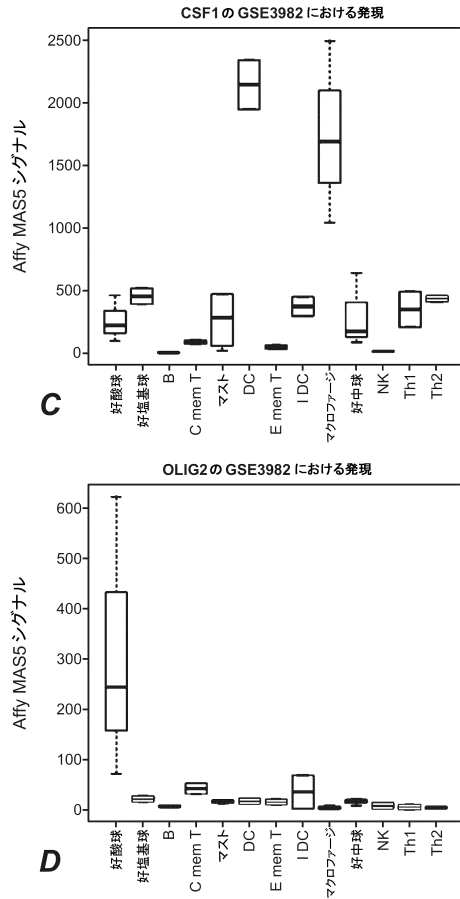
【図 3】



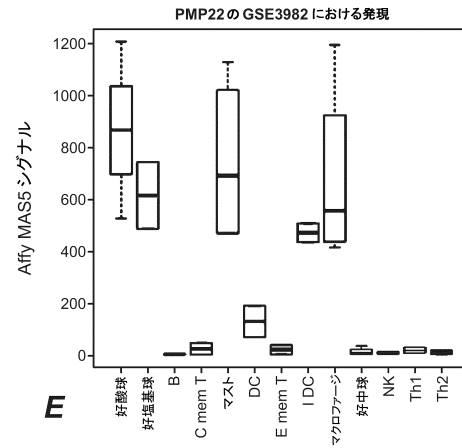
【図 4 A - B】



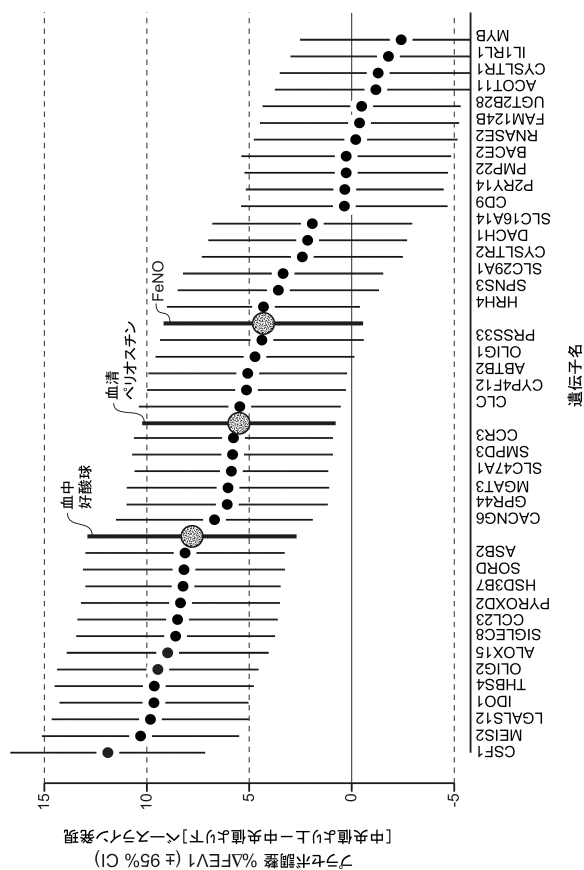
【図 4 C - D】



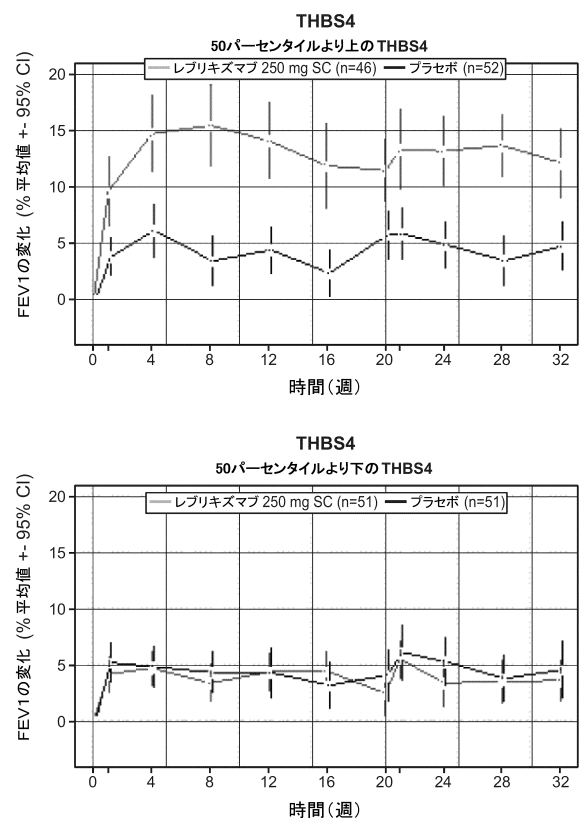
【図 4 E】



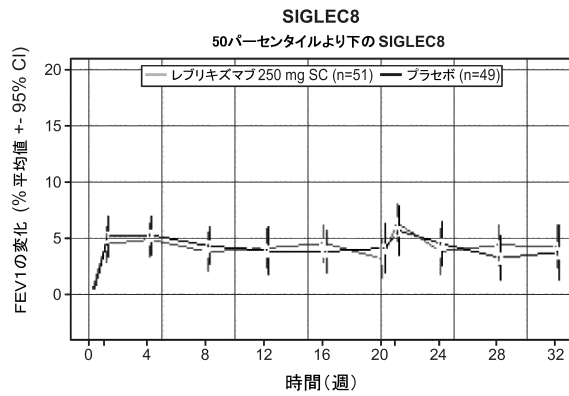
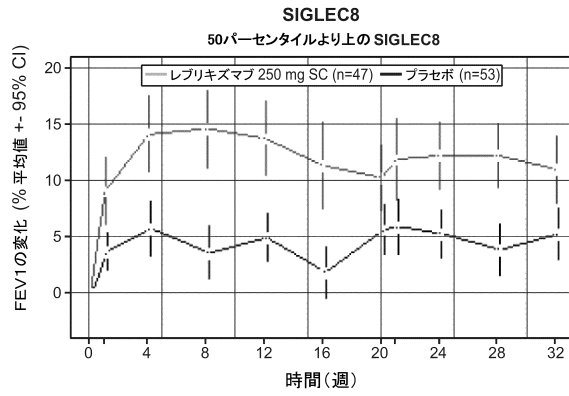
【図 5】



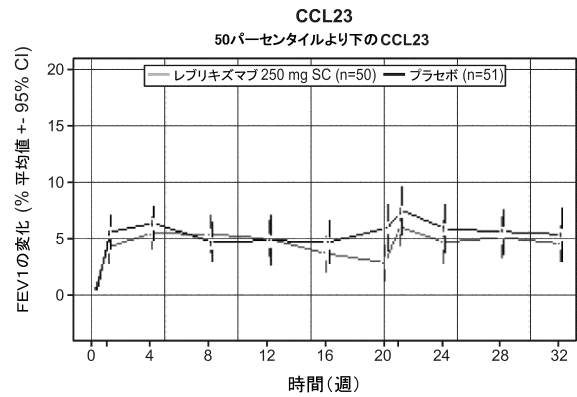
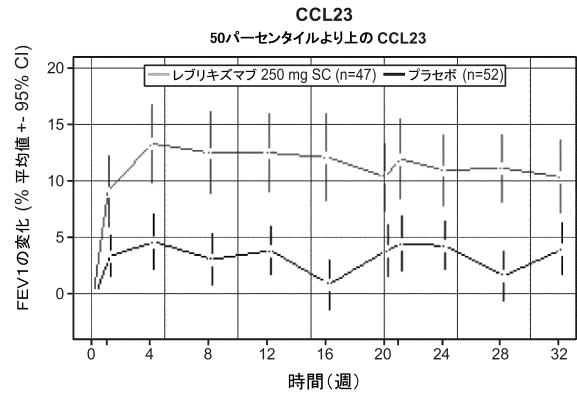
【図 6 A】



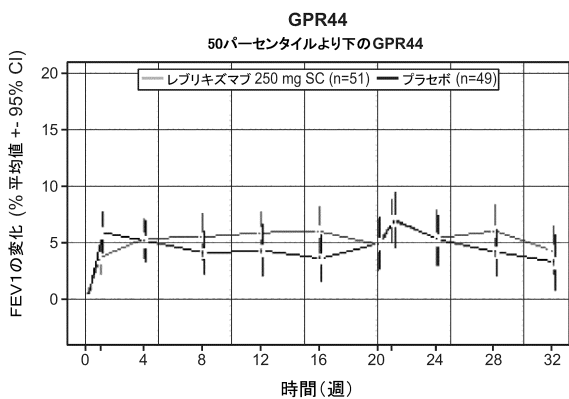
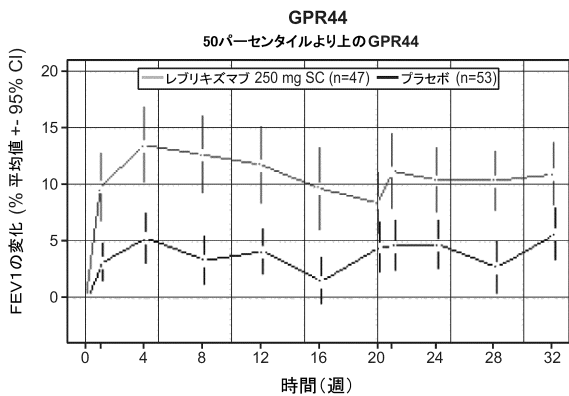
【図 6 B】



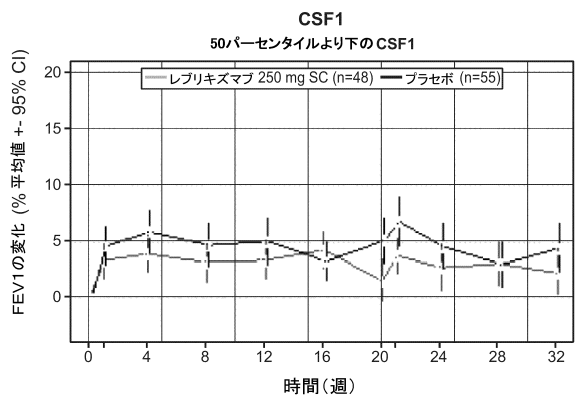
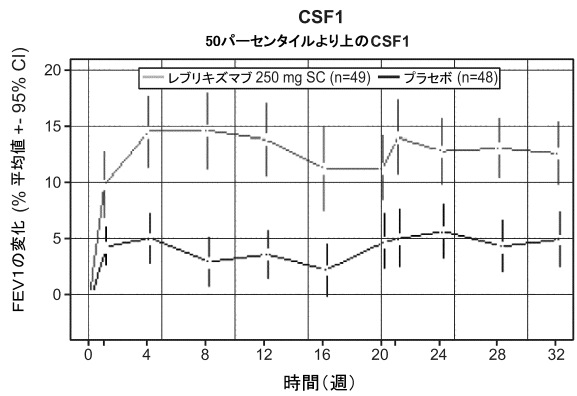
【図 6 C】



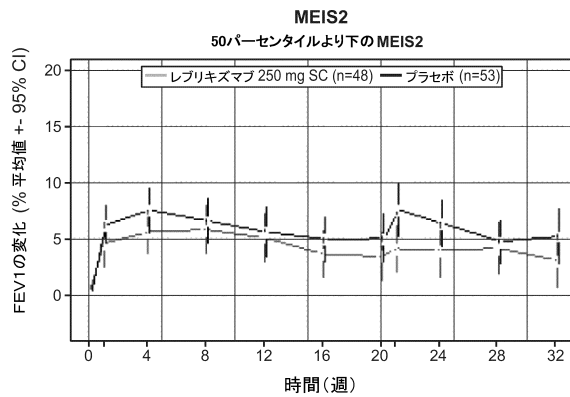
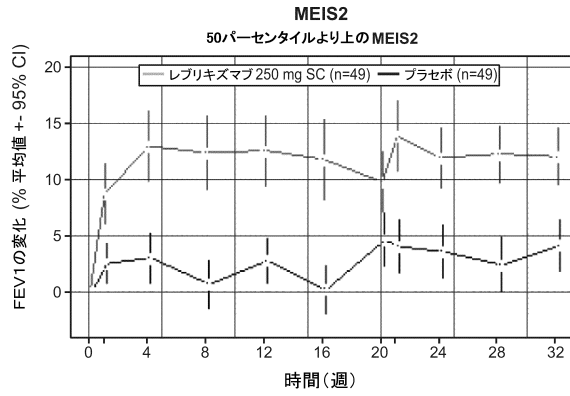
【図 6 D】



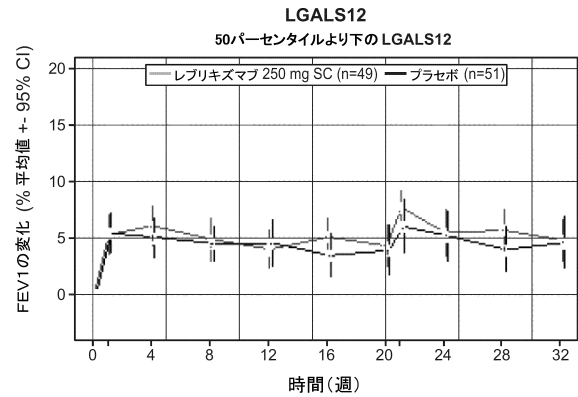
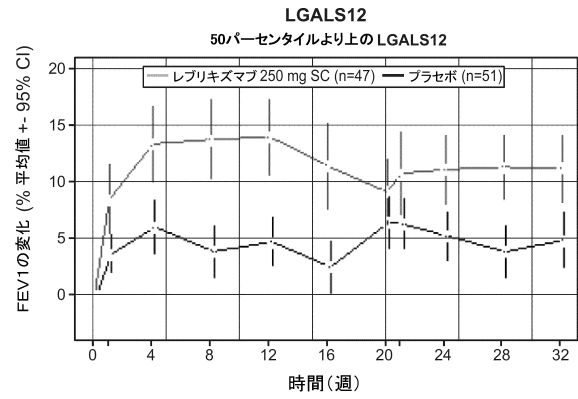
【図 6 E】



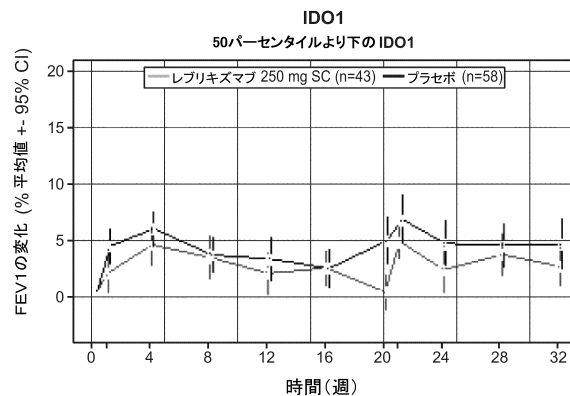
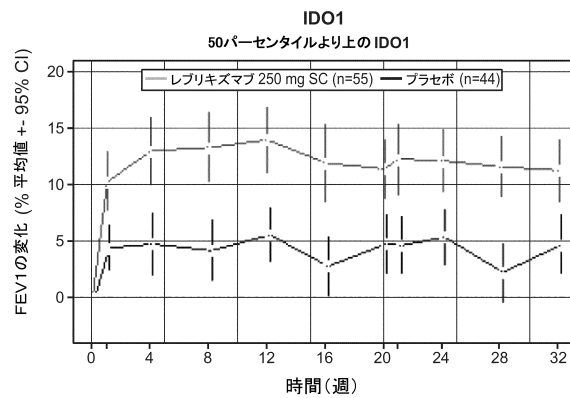
【図 6 F】



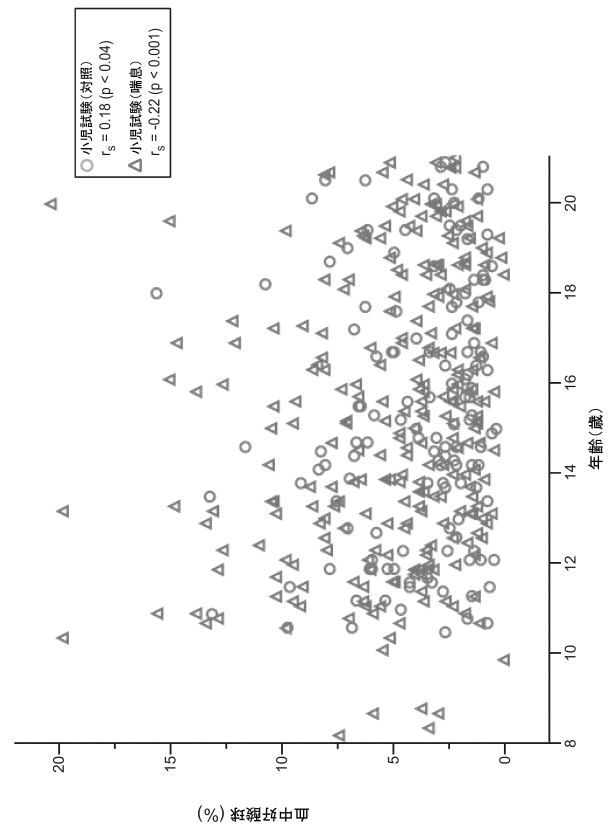
【図 6 G】



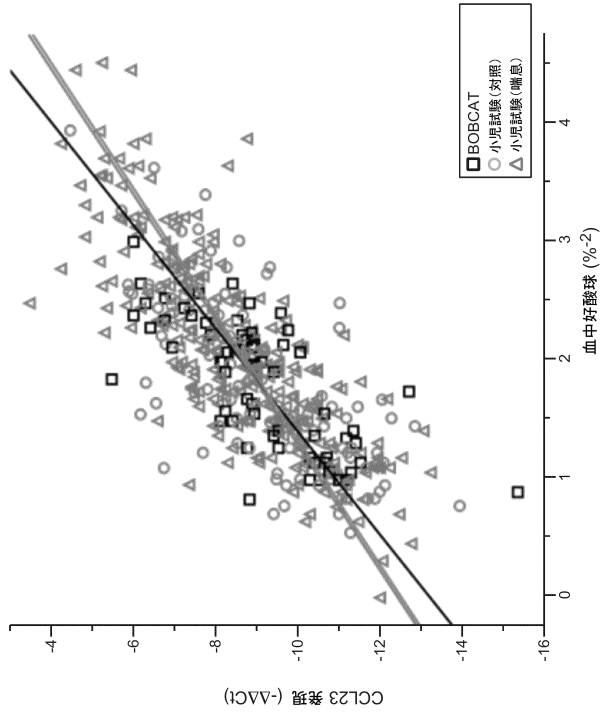
【図 6 H】



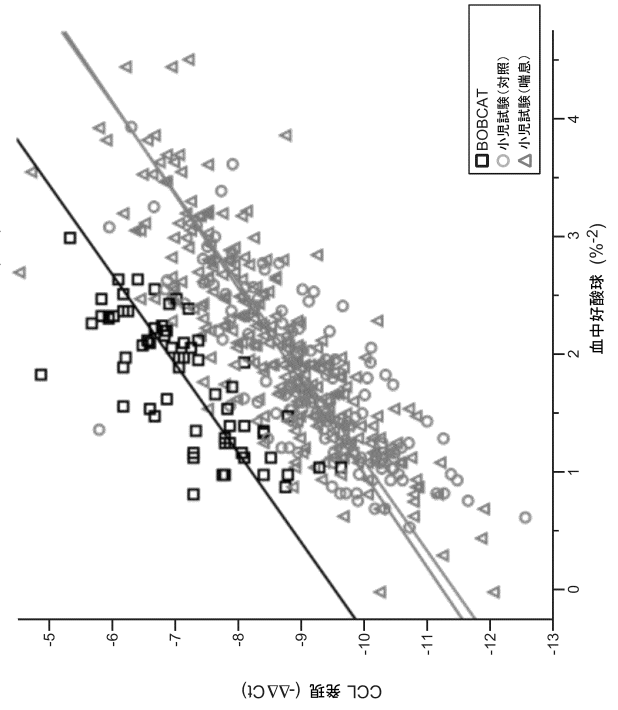
【図 7】



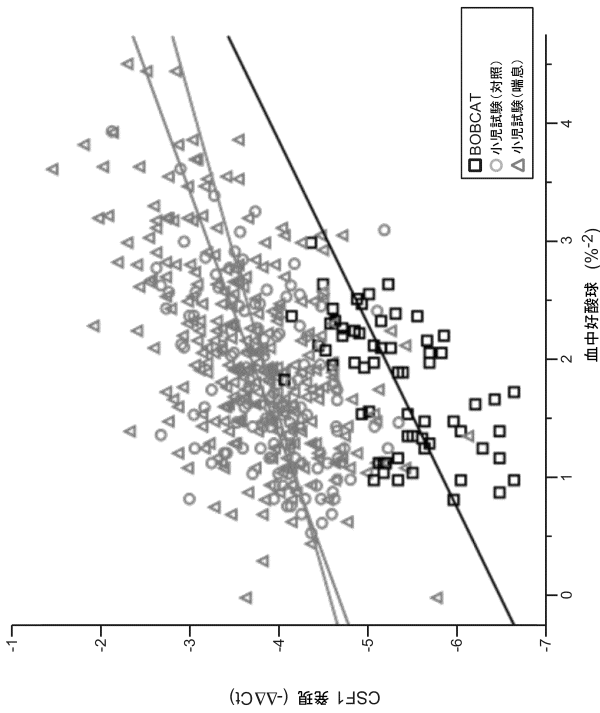
【図 8 A】



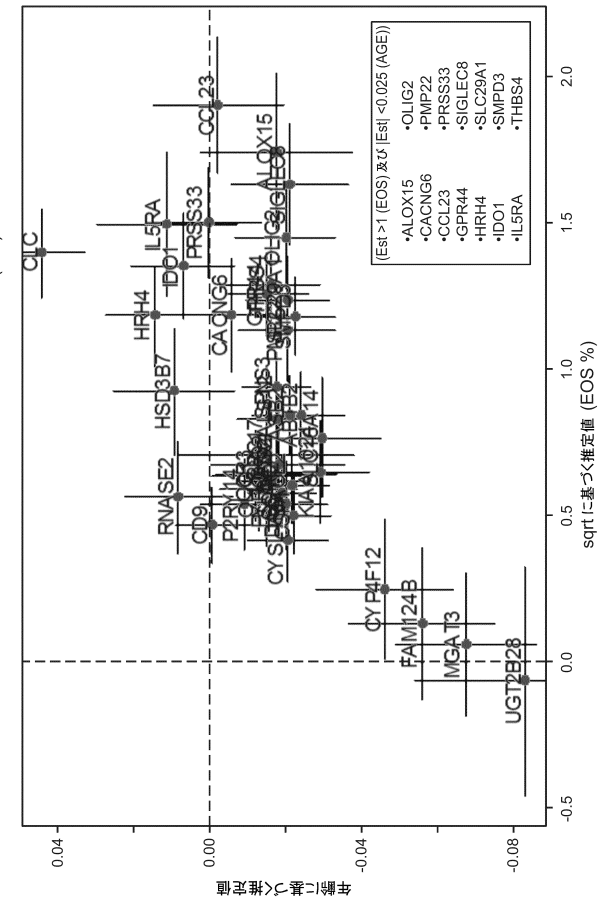
【図 8 B】



【図 8 C】



【図 9】



【配列表】

0006715767000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 33/50 (2006.01) A 6 1 K 45/00
C 1 2 N 15/12 (2006.01) G 0 1 N 33/50 P
C 1 2 N 15/12

- (72)発明者 チョイ, デーヴィッド エフ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
ウェイ 1
- (72)発明者 チア, コイチュアン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
ウェイ 1
- (72)発明者 ルーウィン-コー, ニコラス ジェー. アイ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
ウェイ 1
- (72)発明者 モースヘッド, カトリーナ ビー.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
ウェイ 1

審査官 平林 由利子

- (56)参考文献 特表2011-523350(JP,A)
国際公開第2012/083132(WO,A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
- C 1 2 Q 1 / 0 0 - 3 / 0 0
 - A 6 1 K 3 1 / 3 3 - 3 3 / 4 4
 - A 6 1 K 4 5 / 0 0
 - C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0
 - G 0 1 N 3 3 / 4 8 - 3 3 / 9 8
 - GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq
 - UniProt/GeneSeq
 - JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
 - CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)