(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2013-528389
(P2013-528389A)
(43)公表日　平成25年7月11日(2013.7.11)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12Q 1/68	***(2006.01)***	C12Q	1/68	ZNAA	2G045
G01N 33/50	***(2006.01)***	G01N	33/50	P	4B024
G01N 33/564	***(2006.01)***	G01N	33/564	Z	4B063
G01N 33/53	***(2006.01)***	G01N	33/53	N	
C12N 15/09	*(2006.01)*	C12N	15/00	A	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 67 頁）

(21)出願番号　特願2013-513397 (P2013-513397)
(86)(22)出願日　平成23年6月3日 (2011.6.3)
(85)翻訳文提出日　平成25年1月30日 (2013.1.30)
(86)国際出願番号　PCT/US2011/039174
(87)国際公開番号　WO2011/153501
(87)国際公開日　平成23年12月8日 (2011.12.8)
(31)優先権主張番号　61/393,588
(32)優先日　平成22年10月15日 (2010.10.15)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/354,141
(32)優先日　平成22年6月11日 (2010.6.11)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/351,837
(32)優先日　平成22年6月4日 (2010.6.4)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　599132904
ネステク　ソシエテ　アノニム
スイス国，ブベイ，アブニュー　ネスレ　５５
(74)代理人　100088155
弁理士　長谷川　芳樹
(74)代理人　100114270
弁理士　黒川　朋也
(74)代理人　100128381
弁理士　清水　義憲
(74)代理人　100107456
弁理士　池田　成人
(74)代理人　100140453
弁理士　戸津　洋介

最終頁に続く

(54)【発明の名称】炎症性腸疾患の診断を改善させる方法

(57)【要約】
本発明は、ＧＬＩ１、ＭＤＲ１、及び／又はＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子中の１つ又は複数の変異体対立遺伝子の存在又は非存在を検出することによって、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）の潰瘍性大腸炎（ＵＣ）亜型を診断するための方法及びシステムを提供する。有利には、本発明では、増加した精度でＵＣの診断をもたらし、ＵＣとクローン病（ＣＤ）とを鑑別することが可能である。
【選択図】　図４

【特許請求の範囲】
【請求項１】
炎症性腸疾患（ＩＢＤ）と診断された個体において潰瘍性大腸炎（ＵＣ）を診断するための方法であって、
（ｉ）前記個体から得られた生体試料を分析して、前記試料中におけるＧＬＩ１、ＭＤＲ１、ＡＴＧ１６Ｌ１、及びその組合せからなる群から選択される遺伝子中の変異体対立遺伝子の存在又は非存在を決定するステップと、
（ｉｉ）前記変異体対立遺伝子の存在をＵＣの診断と関連づけるステップと
を含む方法。
【請求項２】
前記変異体対立遺伝子が、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）、又はその組合せを含む、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記変異体対立遺伝子がＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）を含む、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
前記変異体対立遺伝子がＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）を含む、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
前記変異体対立遺伝子が、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）、及びＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）からなる群から選択される１つ又は複数の対立遺伝子を含む、請求項１に記載の方法。
【請求項６】
ＡＮＣＡ及び／又はｐＡＮＣＡを検出することに比べてＵＣの診断を改善させる、請求項１～５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７】
前記生体試料を血清学的マーカーの存在又はレベルについて分析する追加のステップを含み、前記血清学的マーカーの存在又はレベルの検出が、１つ又は複数の変異体対立遺伝子の存在と相まってＵＣの診断をさらに改善させる、請求項１～６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８】
前記血清学的マーカーが、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体、抗微生物抗体、急性期タンパク質、アポリポタンパク質、デフェンシン、成長因子、サイトカイン、カドヘリン、及びその組合せからなる群から選択される、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
前記抗好中球抗体が、ＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ、及びその組合せからなる群から選択される、請求項８に記載の方法。
【請求項１０】
前記抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体が、抗サッカロマイセス・セレビシエ免疫グロブリンＡ（ＡＳＣＡ－ＩｇＡ）、抗サッカロマイセス・セレビシエ免疫グロブリンＧ（ＡＳＣＡ－ＩｇＧ）、及びその組合せからなる群から選択される、請求項８に記載の方法。
【請求項１１】
前記抗微生物抗体が、抗外膜タンパク質Ｃ（抗ＯｍｐＣ）抗体、抗Ｉ２抗体、抗フラゲリン抗体、及びその組合せからなる群から選択される、請求項８に記載の方法。
【請求項１２】
前記血清学的マーカーが、ＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ－１抗体、抗Ｉ２抗体、及びその組合せからなる群から選択される、請求項７に記載の方法。
【請求項１３】

前記個体がＵＣの症状を有する、請求項１～１２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４】
ＵＣの症状が、直腸炎症、直腸出血、直腸痛、下痢、腹部痙攣、腹痛、疲労、体重減少、発熱、結腸破裂及びその組合せからなる群から選択される、請求項１３に記載の方法。
【請求項１５】
前記生体試料が、血液、組織、唾液、頬細胞、毛髪、体液、血漿、血清、脳脊髄液、頬側スワブ、粘液、尿、大便、精子、膣分泌物、リンパ、羊水、胸水、涙、及びその組合せからなる群から選択される、請求項１～１４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１６】
前記変異体対立遺伝子の存在又は非存在が、電気泳動分析アッセイ、制限長多型分析アッセイ、配列解析アッセイ、ハイブリダイゼーション分析アッセイ、ＰＣＲ分析アッセイ、対立遺伝子特異的ハイブリダイゼーション、オリゴヌクレオチドライゲーション対立遺伝子特異的伸長／ライゲーション、対立遺伝子特異的増幅、一塩基伸長、分子反転プローブ、侵襲性切断、選択的終結、制限長多型性、配列決定、一本鎖コンホメーション多型性（ＳＳＣＰ）、一本鎖の鎖多型性、ミスマッチ切断、変性勾配ゲル電気泳動、及びその組合せからなる群から選択されるアッセイを使用して決定される、請求項１～１５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１７】
炎症性腸疾患（ＩＢＤ）と診断された個体において潰瘍性大腸炎（ＵＣ）とクローン病（ＣＤ）とを鑑別するための方法であって、
（ｉ）前記個体から得られた生体試料を分析して、前記試料中におけるＧＬＩ１、ＭＤＲ１、及びその組合せからなる群から選択される遺伝子中の変異体対立遺伝子の存在又は非存在を決定するステップと、
（ｉｉ）前記変異体対立遺伝子の存在をＵＣの診断と関連づけるステップと
を含む方法。
【請求項１８】
前記変異体対立遺伝子が、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）、又はその組合せを含む、請求項１７に記載の方法。
【請求項１９】
前記変異体対立遺伝子がＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）を含む、請求項１７に記載の方法。
【請求項２０】
前記変異体対立遺伝子が、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）、及びＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）からなる群から選択される１つ又は複数の対立遺伝子を含む、請求項１７に記載の方法。
【請求項２１】
前記生体試料を血清学的マーカーの存在又はレベルについて分析する追加のステップを含む、請求項１７～２０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２２】
前記生体試料が、血液、組織、唾液、頬細胞、毛髪、体液、血漿、血清、脳脊髄液、頬側スワブ、粘液、尿、大便、精子、膣分泌物、リンパ、羊水、胸水、涙、及びその組合せからなる群から選択される、請求項１７～２１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２３】
前記変異体対立遺伝子の存在又は非存在が、電気泳動分析アッセイ、制限長多型分析アッセイ、配列解析アッセイ、ハイブリダイゼーション分析アッセイ、ＰＣＲ分析アッセイ、対立遺伝子特異的ハイブリダイゼーション、オリゴヌクレオチドライゲーション対立遺伝子特異的伸長／ライゲーション、対立遺伝子特異的増幅、一塩基伸長、分子反転プローブ、侵襲性切断、選択的終結、制限長多型性、配列決定、一本鎖コンホメーション多型性（ＳＳＣＰ）、一本鎖の鎖多型性、ミスマッチ切断、変性勾配ゲル電気泳動、及びその組合せからなる群から選択されるアッセイを使用して決定される、請求項１７～２２のいず

れか一項に記載の方法。
【請求項２４】
前記個体がＵＣの症状を有する、請求項１７～２３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２５】
ＵＣの症状が、直腸炎症、直腸出血、直腸痛、下痢、腹部痙攣、腹痛、疲労、体重減少、発熱、結腸破裂及びその組合せからなる群から選択される、請求項２４に記載の方法。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
［関連出願の相互参照］
[0001]本出願は、その開示がすべての目的のためにその全体で本明細書中に参考として組み込まれている、２０１０年６月４日に出願の米国特許仮出願第６１／３５１，８３７号、２０１０年６月１１日に出願の米国特許仮出願第６１／３５４，１４１号、及び２０１０年１０月１５日に出願の米国特許仮出願第６１／３９３，５８８号の優先権を主張するものである。
【背景技術】
【０００２】
[0002]世界的に発生し、何百万人もの人を患わせている炎症性腸疾患（ＩＢＤ）は、病因が明らかでない３つの胃腸管系障害、すなわちクローン病（ＣＤ）、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、及び未確定大腸炎（ＩＣ）を表すのに用いられる総称である。ＩＢＤは、過敏性腸症候群（ＩＢＳ）と共に、全米国人の半数がその一生のうちに患うことになり、ＩＢＤでは２６億ドルを超え、ＩＢＳでは８０億ドルを超える費用となっている。これらの高い医療費の主な決定要因は、消化器疾患及びこれらの疾患がどのように進行するかの診断が困難であることである。これらの障害を患っている人々が全国平均よりも年間少なくとも８日間追加で仕事を休んでおり、ＩＢＤ及びＩＢＳの費用は生産性の損失によって悪化している。
【０００３】
[0003]炎症性腸疾患は、腹痛、慢性下痢、体重減少、及び痙攣を含めた多くの症状が過敏性腸症候群と共通しており、決定的な診断が非常に困難となっている。米国においてＩＢＤを患っていると疑われる５００万人のうち、１００万人のみがＩＢＤに罹患しているとして診断されている。ＩＢＤの鑑別診断及びその結果の決定が困難なことで、これらの疾患の早期且つ有効な処置が妨げられる。したがって、ＩＢＤの重症度を予後診断するための迅速且つ高感度の試験方法の必要性が存在する。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００４】
[0004]ＩＢＤの臨床亜型の診断はある程度は進歩しているが、クローン病（ＣＤ）と潰瘍性大腸炎（ＵＣ）とを鑑別するために使用する方法の必要性が依然として存在する。したがって、ＵＣを診断するため、及びＩＢＤが診断された個体においてＣＤとＵＣとを鑑別するための、改善された方法の必要性が存在する。ＣＤ患者の７０％は最終的にＧＩの外科手術を必要とするため、将来的に手術を必要とする患者を鑑別する能力は重要である。本発明はこれらの必要性を満たし、関連する利点も提供する。
【課題を解決するための手段】
【０００５】
[0005]特定の態様では、本発明は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）の潰瘍性大腸炎（ＵＣ）亜型を診断するための方法及びシステムを提供する。有利には、本発明では、感度、特異性、陰性予測値、陽性予測値、全体的な精度、及びその組合せなどの改善された臨床的パラメータを用いて、ＵＣの診断及びＵＣとＣＤとの鑑別を援助、補助、及び／又は容易にすることが可能である。

【０００６】
[0006]特定の実施形態では、本発明は、試料を分析して、ＧＬＩ１（たとえばｒｓ２２２８２２４及び／若しくはｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（たとえばｒｓ２０３２５８２）、並びに／又はＡＴＧ１６Ｌ１（たとえばｒｓ２２４１８８０）遺伝子中の１つ、２つ、３つ、４つ、又はそれより多くの変異体対立遺伝子（たとえば一塩基多型すなわちＳＮＰ）の存在又は非存在を決定することによって、ＵＣを診断する並びに／又はＵＣ及びＣＤなどのＩＢＤの臨床亜型間を鑑別するための方法及びシステムを提供する。これらの実施形態の特定の態様では、本発明には、ＵＣの診断をさらに改善させるため（たとえばＵＣ診断の感度を増加させることによる）及び／又はＵＣをＣＤ若しくはＩＣなどの他のＩＢＤ亜型から区別することをさらに改善させるために、試料を分析して、たとえばＡＮＣＡ（たとえばＥＬＩＳＡによる）及び／又はｐＡＮＣＡ（たとえば間接蛍光抗体（ＩＦＡ）アッセイによる）などの１つ又は複数の血清学的マーカーの存在（若しくは非存在）又は濃度レベルを決定することがさらに含まれていてもよい。

【０００７】
[0007]特定の実施形態では、本発明は、個体（たとえば以前にＩＢＤが診断された個体）から得られた試料を、ＧＬＩ１（たとえばｒｓ２２２８２２４及び／若しくはｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（たとえばｒｓ２０３２５８２）、並びに／又はＡＴＧ１６Ｌ１（たとえばｒｓ２２４１８８０）遺伝子中の１つ、２つ、３つ、４つ、又はそれより多くの変異体対立遺伝子（たとえばＳＮＰ）の存在又は非存在について分析することによって、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで行われるアッセイ方法を提供する。好ましい実施形態では、本発明のアッセイ方法は、ＵＣの診断及びＵＣとＣＤとの鑑別を援助、補助、及び／又は容易にする。

【０００８】
[0008]本発明の他の目的、特長、及び利点は、以下の詳細な説明及び図面から当業者に明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【０００９】
【図１】[0009]　受信者動作特性（Ｒｅｃｅｉｖｅｒ　Ｏｐｅｒａｔｏｒ　Ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｓｔｉｃ）（ＲＯＣ）曲線を使用して予測の精度を評価したことを示す図である。特に、ＲＯＣ曲線を用いて、ＵＣ試験に関連する血清学的及び遺伝子マーカーの精度を予測した。この評価の下で、信頼区間を用いたＡＵＣ（曲線下面積）統計量によって試験の性能が示される。ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡでは、ＲＯＣ曲線下面積（ＡＵＣ）は０．７９３（９５％ＣＩ：０．７２６～０．８６１）であった。ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡ及び３つの遺伝子変異体では、ＡＵＣは０．８５６（９５％ＣＩ：０．７９９～０．９１２）であり、したがって、３つの遺伝子変異体をＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡに追加する場合に健康な対照をＵＣから区別することにおけるモデルの増加した精度が確認される。
【図２】[0010]　ＲＯＣ曲線を使用して予測の精度を評価したことを示す図である。特に、ＲＯＣ曲線を用いて、ＵＣ試験に関連する血清学的及び遺伝子マーカーの精度を予測した。この評価の下で、信頼区間を用いたＡＵＣ統計量によって試験の性能が示される。ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡでは、ＲＯＣ曲線下面積（ＡＵＣ）は０．７９３（９５％ＣＩ：０．７２６～０．８６１）であった。ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡ及び２つの遺伝子変異体では、ＡＵＣは０．８５３（９５％ＣＩ：０．８０１～０．９０５）であり、したがって、２つの遺伝子変異体をＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡに追加する場合に健康な対照をＵＣから区別することにおけるモデルの増加した精度が確認される。
【図３】[0011]　免疫蛍光、続いて固定した好中球のＤＮＡｓｅ処理によるｐＡＮＣＡ染色パターンを示す図である。
【図４】[0012]　ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡ単独での診断精度を、ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡと組み合わせた場合の２つの遺伝子変異体ＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）及びＭＤＲ１（Ａ８９３Ｓ）と比較するための、ＲＯＣ分析の使用を示す図である。２つの遺伝子変異体をＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡに追加したことで、曲線下面積が０．８０２（９５％ＣＩ：０．７３７～０

．８６８）から０．８５３（９５％ＣＩ：０．８０１～０．９０５）へと増加した。

【発明を実施するための形態】

【００１０】

[0013]Ｉ．導入

本発明は、個体からの生体試料中における特定のマーカーの遺伝子型を決定することによって、ＵＣの診断又はＵＣとＣＤの鑑別の精度を実質的に改善させることができるという驚くべき発見に、部分的に基づく。したがって、一実施形態では、本発明は、遺伝子マーカーのパネルに基づいた診断プラットフォームを提供する。

【００１１】

[0014]特定の態様では、本発明は、ＵＣを診断する及びＵＣとＣＤ又はＩＣなどのＩＢＤの他の臨床亜型とを鑑別するための方法及びシステムを提供する。特定の実施形態では、本発明の方法及びシステムは、１つ又は複数の（たとえば多数の）遺伝子マーカーを、単独で又は１つ若しくは複数の（たとえば多数の）血清学的及び／若しくはタンパク質マーカーと組み合わせて、並びに単独で又は１つ若しくは複数の（たとえば多数の）アルゴリズム若しくは他の種類の統計分析（たとえば四分位数分析）と組み合わせて利用して、ＵＣを有する患者の同定を援助又は補助し、医師に価値のある診断の見識を提供する。他の実施形態では、本発明の方法及びシステムは、進行疾患を有する患者の治療決定を導くために有用である。

【００１２】

[0015]特定の場合では、本発明の方法及びシステムは、「変換（ｔｒａｎｓｆｏｒｍａｔｉｏｎ）」又はそれと関連する「機器」を含む。たとえば、ＥＬＩＳＡ技法を行って、本明細書中に記載のマーカーのうちの多くの存在又は濃度レベルを測定してもよい。ＥＬＩＳＡには、マーカー、たとえば自己抗体の、マーカー（たとえば自己抗体）と結合剤（たとえば抗原）との間の複合体への変換が含まれ、その後、これを標識した二次抗体で測定することができる。多くの場合、標識は、基質を検出可能な生成物へと変換する酵素である。検出可能な生成物の測定は、分光光度計などのプレートリーダーを使用して行うことができる。他の場合では、遺伝子マーカーは、ＰＣＲなどの様々な増幅技法を使用して決定する。ＰＣＲなどの増幅が含まれる方法ステップは、検出のために核酸の一本鎖又は二本鎖から多重鎖への変換をもたらす。検出には、蛍光光度計などの機器を使用して行う蛍光体の使用を含めることができる。

【００１３】

[0016]ＩＩ．定義

本明細書中で使用する、以下の用語は、そうでないと別段に指定した場合以外は、それらに帰された意味を有する。

【００１４】

[0017]用語「分類すること」には、試料又は病状若しくは予後診断を有する個体を「関連づけること」又は「カテゴリー化すること」が含まれる。特定の場合では、「分類すること」は、統計的証拠、経験的証拠、又は両方に基づいている。特定の実施形態では、分類する方法及びシステムでは、既知の病状又は予後診断を有する個体からの試料の、いわゆる訓練セット（ｔｒａｎｉｎｇ　ｓｅｔ）を使用する。確立された後、訓練データセットは、個体からの未知の試料の特長に対して比較する基礎、モデル、又は鋳型として役割を果たして、個体において未知の病状を分類する又は病状の予後診断をもたらす。一部の例では、「分類すること」とは、病状を診断すること及び／又は病状を別の病状から鑑別することと同種である。他の場合では、「分類すること」とは、病状が診断された個体において病状の予後診断をもたらすことと同種である。

【００１５】

[0018]用語「炎症性腸疾患」すなわち「ＩＢＤ」には、たとえば、クローン病（ＣＤ）、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、未確定大腸炎（ＩＣ）などの胃腸管系障害が含まれる。炎症性腸疾患（たとえば、ＣＤ、ＵＣ、及びＩＣ）は、過敏性腸症候群（ＩＢＳ）を含めた消化管のすべての他の障害、症候群、及び異常から区別される。表題「炎症性腸疾患の診断方

法」の米国特許出願公開第２００８０１３１４３９号及び米国特許出願公開第２０１０００９９０８３号は、どちらもすべての目的のためにその全体で本明細書中に参考として組み込まれている。

【００１６】

[0019]本明細書中で使用する用語「生体試料」、「試料」及びその変形には、個体から入手又は単離した生体検体が含まれる。適切な試料には、たとえば、それだけには限定されないが、血液、全血、血液の一部分、組織、唾液、頬細胞、毛髪、体液、尿、血漿、血清、脳脊髄液、頬側スワブ、粘液、尿、大便、精子、膣分泌物、リンパ、羊水、胸水、涙、任意の他の体液、組織試料（たとえば生検）、及びその細胞抽出物（たとえば赤血球抽出物）が含まれる。好ましい実施形態では、試料は血清試料である。血清、唾液、及び尿などの試料の使用は当分野で周知である（たとえばＨａｓｈｉｄａら、Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｌａｂ．Ａｎａｌ．、１１：２６７～８６（１９９７）を参照）。当業者には、マーカーレベルを分析する前に血清試料などの試料を希釈できることが理解されよう。

【００１７】

[0020]用語「マーカー」には、ＩＢＤ、ＣＤ、若しくはＵＣの診断の援助、補助、及び／若しくは改善、ＩＢＤ、ＣＤ、若しくはＵＣの確からしい経過及び結果の予測、並びに／又は疾患からの回復の見込みの予測に使用することができる、任意の生化学的マーカー、血清学的マーカー、遺伝子マーカー、又は他の臨床若しくは超音波検査の特徴が含まれる。そのようなマーカーの非限定的な例には、ＧＬＩ１（たとえばｒｓ２２２８２２４及び／若しくはｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（たとえばｒｓ２０３２５８２）、ＡＴＧ１６Ｌ１（たとえばｒｓ２２４１８８０）、並びに／又はＮＯＤ２／ＣＡＲＤ１５遺伝子中の変異体対立遺伝子などの遺伝子マーカー、抗好中球抗体（たとえばＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡなど）、抗サッカロマイセス・セレビシエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）抗体（たとえばＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ）、抗微生物抗体（たとえば抗ＯｍｐＣ抗体、抗Ｉ２抗体、抗フラゲリン抗体）、急性期タンパク質（たとえばＣＲＰ）、アポリポタンパク質（たとえばＳＡＡ）、デフェンシン（たとえばβデフェンシン）、成長因子（たとえばＥＧＦ）、サイトカイン（たとえばＴＷＥＡＫ、ＩＬ－１β、ＩＬ－６）、カドヘリン（たとえばＥ－カドヘリン）、細胞接着分子（たとえばＩＣＡＭ－１、ＶＣＡＭ－１）などの血清学的マーカー、その組合せが含まれる。一部の実施形態では、マーカーを統計分析と組み合わせて利用して、個体においてＩＢＤ、ＣＤ、又はＵＣの診断又は予後診断をもたらす。特定の場合では、診断は、ＩＢＤ又はＣＤ、ＵＣ、若しくはＩＣなどのその臨床亜型であることができる。特定の他の場合では、予後診断は、手術の必要性（たとえば小腸手術を必要とする見込み若しくは危険性）、ＣＤ若しくはＵＣの臨床亜型の発生（たとえば、狭窄性、穿通性、若しくは炎症性のＣＤ亜型などのＣＤ若しくはＵＣの特定の臨床亜型に罹りやすくなる見込み若しくは危険性）、１つ若しくは複数の臨床学的因子の発生（たとえば、特定の臨床学的因子に罹りやすくなる見込み若しくは危険性）、腸癌の発生（たとえば腸癌に罹りやすくなる見込み若しくは危険性）、又は疾患からの回復（たとえば寛解の見込み）であることができる。

【００１８】

[0021]本発明は、部分的に、個体から得られた試料中の少なくとも１つのマーカーの存在（若しくは非存在）又はレベル（たとえば濃度）を決定することに依存する。本明細書中で使用する用語「少なくとも１つのマーカーの存在を検出すること」には、当業者に知られている任意の定量的又は定性的アッセイを使用することによってそれぞれの目的のマーカーの存在を決定することが含まれる。特定の場合では、特定の形質、変数、遺伝子型、及び／又は生化学的若しくは血清学的物質（たとえばタンパク質若しくは抗体）の存在又は非存在を決定する定性的アッセイが、それぞれの目的のマーカーを検出するために適している。特定の他の場合では、ＤＮＡ、ＲＮＡ、タンパク質、抗体、又は活性の存在又は非存在を決定する定量的アッセイが、それぞれの目的のマーカーを検出するために適している。本明細書中で使用する用語「少なくとも１つのマーカーのレベルを検出すること」には、当業者に知られている任意の直接又は間接的な定量的アッセイを使用することに

よってそれぞれの目的のマーカーのレベルを決定することが含まれる。特定の場合では、たとえばＤＮＡ、ＲＮＡ、タンパク質、抗体、又は活性の相対的又は絶対的な量を決定する定量的アッセイが、それぞれの目的のマーカーのレベルを検出するために適している。当業者には、マーカーのレベルの検出に有用な任意のアッセイが、マーカーの存在又は非存在の検出にも有用であることが理解されよう。

【００１９】

[0022]用語「個体」、「対象」、又は「患者」には、典型的にはヒトが含まれるが、たとえば、他の霊長類、げっ歯類、イヌ、ネコ、ウマ、ヒツジ、ブタなどの他の動物も含まれる。

【００２０】

[0023]用語「臨床学的因子」には、ＩＢＤ、ＣＤ、又はＵＣに関連づけられている、個体における症状が含まれる。臨床学的因子の例には、それだけには限定されないが、下痢、腹痛、痙攣、発熱、貧血、体重減少、不安、鬱病、及びその組合せが含まれる。一部の実施形態では、ＩＢＤ、ＣＤ、又はＵＣの診断又は予後診断は、個体から得られた試料を分析して１つ又は複数の統計分析を適用することによって１つ又は複数のマーカーの存在、レベル、又は遺伝子型を決定することと、個体が１つ又は複数の臨床学的因子を有するかどうかを決定することとの組合せに基づいている。

【００２１】

[0024]用語「症状」又は「複数の症状」及びその変形には、個体によって経験される、特定の疾患に関連づけられている又は疾患に伴う、及び疾患の指標としてみなされる、身体機能の任意の感覚、変化又は認知された変化が含まれる。本発明の脈絡における症状を関連づけることができる疾患には、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）又はクローン病（ＣＤ）が含まれる。

【００２２】

[0025]好ましい態様では、本発明の方法は個体がＩＢＤと診断された後に使用する。しかし、他の場合では、本方法は、ＩＢＤを診断するために使用することができるか、又は、たとえばＩＢＤが疑われている又は他の方法を使用して以前に診断されている場合は、「第二診断（ｓｅｃｏｎｄ　ｏｐｉｎｉｏｎ）」として使用することができる。好ましい態様では、本方法は、ＵＣを診断する又はＵＣとＣＤとを鑑別するために使用することができる。用語「ＩＢＤを診断すること」及びその変形には、ＩＢＤの存在又は非存在を決定するための、本明細書中に記載の方法及びシステムの使用が含まれる。用語「ＵＣを診断すること」には、ＵＣの存在又は非存在を決定するため、及びＵＣとＣＤとを鑑別するための、本明細書中に記載の方法及びシステムの使用が含まれる。また、この用語には、個体における疾患活動性のレベルを評価することも含めることができる。一部の実施形態では、統計分析を使用して、Ｔｒｕｅｌｏｖｅら、Ｂｒ．Ｍｅｄ．Ｊ．、１２：１０４１～１０４８（１９５５）によって開発された基準に基づいて、軽度、中等度、重度、又は劇症型のＩＢＤ又はＵＣを診断する。他の実施形態では、統計分析を使用して、Ｈａｎａｕｅｒら、Ａｍ．Ｊ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．、９２：５５９～５６６（１９９７）によって開発された基準に基づいて、軽度から中等度、中等度から重度、又は重度から劇症の型のＩＢＤ又はＵＣを診断する。当業者は、個体においてＩＢＤ又はＵＣの重症度を評価するための他の方法を知っているであろう。

【００２３】

[0026]特定の場合では、本発明の方法は、ＩＢＤを診断する、ＵＣを診断する、又はＵＣとＣＤとを鑑別するために使用する。本方法は、疾患の進行及び退行をどちらも監視するために使用することができる。用語「ＩＢＤ又はＵＣの進行又は退行を監視すること」には、個体の病状（たとえば、ＩＢＤの存在若しくは重症度又はＵＣの存在）を決定するための、方法及びマーカープロフィールの使用が含まれる。特定の場合では、統計分析の結果を、それより前の時点に同じ個体で得られた結果と比較する。一部の態様では、本発明の方法は、たとえば、試料中の少なくとも１つのマーカーの存在又はレベルに基づいて個体においてＩＢＤ又はＵＣが迅速に又はゆっくりと進行する見込みを決定することによ

って、ＩＢＤ又はＵＣの進行を予測するためにも使用することができる。他の態様では、本発明の方法は、たとえば、試料中の少なくとも１つのマーカーの存在又はレベルに基づいて個体においてＩＢＤ又はＵＣが迅速に又はゆっくりと退行する見込みを決定することによって、ＩＢＤ又はＵＣの退行を予測するためにも使用することができる。

【００２４】

[0027]用語「遺伝子」及びその変形は、ポリペプチド鎖の産生に関与しているＤＮＡのセグメントをいい、プロモーター及び３’非翻訳領域などのコード領域のそれぞれ前及び後の領域、並びに個々のコードセグメント（エクソン）の間の介在配列（イントロン）が含まれる。

【００２５】

[0028]用語「遺伝子型」及びその変形は、たとえば二倍体の生物が１つ又は複数の目的の変異体対立遺伝子についてヘテロ接合性であるかホモ接合性であるかを含めた、生物の遺伝子構成をいう。

【００２６】

[0029]用語「ｍｉＲＮＡ」、「マイクロＲＮＡ」又は「ｍｉＲ」及びその変形は、互換性があるように使用され、遺伝子発現を調節する２１～２３個のヌクレオチド長の一本鎖ＲＮＡ分子が含まれる。ｍｉＲＮＡはＤＮＡが転写される遺伝子によってコードされているが、ｍｉＲＮＡはタンパク質へと翻訳されず（非コードＲＮＡ）、その代わりに、それぞれの一次転写物（プリ（ｐｒｉ－）ｍｉＲＮＡ）は、プレ（ｐｒｅ－）ｍｉＲＮＡと呼ばれる短いステムーループ構造へとプロセッシングされ、最終的には機能的ｍｉＲＮＡへとプロセッシングされる。成熟ｍｉＲは１つ又は複数のメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）分子と部分的に相補的であり、その主な機能は、遺伝子発現をダウンレギュレーションすることである。本明細書中に記載の実施形態には、診断的及び治療的な応用がどちらも含まれる。

【００２７】

[0030]用語「多型性」及びその変形は、集団中の２つ以上の遺伝子決定された代替配列又は対立遺伝子の発生をいう。「多型部位」とは、分岐が起こる座位をいう。好ましい多型部位は、それぞれが集団中で特定の頻度で発生している少なくとも２つの対立遺伝子を有する。多型座位は１つの塩基対（たとえば一塩基多型すなわちＳＮＰ）ほど小さくてもよい。多型マーカーには、制限断片長多型、可変数タンデム反復（ＶＮＴＲ）、超可変領域、ミニサテライト、ジヌクレオチド反復、トリヌクレオチド反復、テトラヌクレオチド反復、単純配列反復、及び、Ａｌｕなどの挿入要素が含まれる。最初に同定された対立遺伝子が自由裁量で参照対立遺伝子と指定され、他方の対立遺伝子が代替対立遺伝子、「変異体対立遺伝子」、又は「バリアンス」として指定される。選択された集団中で最も頻繁に発生している対立遺伝子は、場合によっては「野生型」対立遺伝子と呼ぶことができる。二倍体の生物は、変異体対立遺伝子についてホモ接合性又はヘテロ接合性であることができる。変異体対立遺伝子は、変異体対立遺伝子を保有する個体において観察可能な物理的又は生化学的な特徴（「表現型」）を生じても、生じなくてもよい。たとえば、変異体対立遺伝子は、目的の遺伝子によってコードされているタンパク質の酵素活性を変更してもよく、或いは、変異体対立遺伝子は、コードされているタンパク質の酵素活性に全く影響を与えなくてもよい。

【００２８】

[0031]用語「一塩基多型（ＳＮＰ）」及びその変形は、対立遺伝子内でのものを含めた、単一のヌクレオチドをポリヌクレオチドで変えることをいう。これには、１つのヌクレオチドの別のヌクレオチドによる置換え、及び単一のヌクレオチドの欠失又は挿入が含まれる場合がある。最も典型的には、ＳＮＰは二対立遺伝子マーカーであるが、三及び四対立遺伝子マーカーも存在することができる。非限定的な例として、ＳＮＰ　Ａ／Ｃを含む核酸分子には、多型位置にＣ又はＡが含まれていてもよい。ＳＮＰの組合せには、用語「ハプロタイプ」、たとえば、互いに連結された、単一のＤＮＡ鎖中のＳＮＰの遺伝子型が使用される。一部の実施形態では、用語「ハプロタイプ」は、ＳＮＰ対立遺伝子の組合せ

、たとえば単一のＤＮＡ分子上に一緒に見つかるＳＮＰの対立遺伝子を説明するために使用することができる。さらなる実施形態では、ハプロタイプ中のＳＮＰは互いに連鎖不平衡であることができる。

【００２９】

[0032]用語「連鎖不平衡」すなわち「ＬＤ」及びその変形は、２つ以上の座位の対立遺伝子が、集団からサンプリングした個体において、その個々の対立遺伝子の頻度の積によって予測された頻度で一緒に発生しない状況をいう。言い換えれば、ＬＤであるマーカーは、メンデルの第二法則の独立ランダム分離に従わない。さらに、高いＬＤであるマーカーは、互いに近くに位置すると推定することができ、遺伝形質と高いＬＤであるマーカー又はハプロタイプは、その形質に影響を与える遺伝子の近くに位置すると推定することができる。マーカーの物理的近接は、家系調査（そこでは連鎖と呼ばれる）又は集団研究（そこでは連鎖不平衡と呼ばれる）において測定することができる。

【００３０】

[0033]用語「傾斜遺伝子型分布」及びその変形は、遺伝子型が、特定の疾患又は対照集団と関連づけられていることについて標準の統計パラメータに従わない、すなわち標準の正常な対称分布パターンに従わない状況をいう。

【００３１】

[0034]用語「特異的」又は「特異性」及びその変形には、変異体対立遺伝子を検出することができるポリヌクレオチド（たとえば、異なる対立遺伝子間を区別することができるポリヌクレオチド）の脈絡において使用した場合、一方の変異体対立遺伝子を結合又はハイブリダイズ又は検出せずに、他方の変異体対立遺伝子を結合又はハイブリダイズ又は検出する能力が含まれる。一部の実施形態では、特異性とは、野生型対立遺伝子を検出し、突然変異体又は変異体の対立遺伝子を検出しないポリヌクレオチドの能力をいうことができる。他の実施形態では、特異性とは、突然変異体又は変異体の対立遺伝子を検出し、野生型対立遺伝子を検出しないポリヌクレオチドの能力をいうことができる。

【００３２】

[0035]本明細書中で使用する用語「抗体」には、ポリクローナル若しくはモノクローナル且つ任意のアイソタイプのものであることができる免疫グロブリン分子の集団、又は免疫グロブリン分子の免疫学的に活性のある断片が含まれる。そのような免疫学的に活性のある断片は、抗原と特異的に結合する抗体分子の部分を構成する、重鎖及び軽鎖可変領域を含有する。たとえば、当分野でＦａｂ、Ｆａｂ’又はＦ（ａｂ’）$_2$として知られている免疫グロブリン分子の免疫学的に活性のある断片が、用語「抗体」の意味に含まれる。

【００３３】

[0036]ＩＩＩ．実施形態の説明

本発明は、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）を診断する及びＵＣとクローン病（ＣＤ）とを鑑別するための方法及びシステムを提供する。合併疾患を有する患者を同定し、具体的な疾患の種類の評価を補助することによって、本明細書中に記載の方法及びシステムは、疾患の重症度及び処置の選択肢を評価するための貴重な情報をもたらす。一部の実施形態では、統計分析を血清学的、タンパク質、及び／又は遺伝子マーカーのプロフィールに適用することで、ＩＢＤ及びＵＣを予測することの精度が改善され、生物学的、慣用、手術、又はその何らかの組合せなどの治療を含めた、適切な処置の選択肢の選択も可能となる。

【００３４】

[0037]一態様では、本発明は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）と診断された及び／又はＵＣを有することが疑われた個体において潰瘍性大腸炎（ＵＣ）を診断するための方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、（ｉ）個体から得られた生体試料を分析して、生体試料中における遺伝子中の変異体対立遺伝子の存在又は非存在を決定するステップであって、遺伝子がＧＬＩ１、ＭＤＲ１、又はＡＴＧ１６Ｌ１のうちの１つ又は複数であるステップと、（ｉｉ）変異体対立遺伝子の存在をＵＣの診断と関連づけるステップとを含む。

【００３５】

[0038]一部の実施形態では、ＵＣを診断する方法は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）

変異体対立遺伝子の検出を用いる。他の実施形態では、ＵＣを診断する方法は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）変異体対立遺伝子の検出を用いる。一部の実施形態では、ＵＣを診断する方法は、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）変異体対立遺伝子の検出を用いる。さらなる実施形態では、ＵＣを診断する方法は、ＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）変異体対立遺伝子の検出を用いる。

【００３６】

[0039]他の実施形態では、ＵＣを診断する方法は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）、及びＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）からなる群から選択される１つ又は複数の変異体対立遺伝子の検出を用いる。特定の一実施形態では、ＵＣを診断する方法は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）及びＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）変異体対立遺伝子を検出することを含む。別の特定の実施形態では、ＵＣを診断する方法は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）及びＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）変異体対立遺伝子を検出することを含む。さらに別の特定の実施形態では、ＵＣを診断する方法は、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）及びＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）変異体対立遺伝子を検出することを含む。さらに別の特定の実施形態では、ＵＣを診断する方法は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）及びＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）変異体対立遺伝子を検出することを含む。

【００３７】

[0040]特定の実施形態では、本明細書中に記載の方法は、ＵＣを診断するためのＡＮＣＡ及び／又はｐＡＮＣＡに基づく方法に比べて、ＵＣの診断を改善させる。

【００３８】

[0041]他の実施形態では、ＵＣを診断する方法は、生体試料を血清学的マーカーの存在又はレベルについて分析する追加のステップを用い、血清学的マーカー存在又はレベルの検出は、１つ又は複数の変異体対立遺伝子の存在と相まってＵＣの診断をさらに改善させる。

【００３９】

[0042]さらに他の実施形態では、ＵＣを診断する方法は、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体、抗微生物抗体、急性期タンパク質、アポリポタンパク質、デフェンシン、成長因子、サイトカイン、カドヘリン、又は本明細書中に記載のマーカーの任意の組合せから選択される血清学的マーカーの検出を用いる。

【００４０】

[0043]さらなる実施形態では、ＵＣを診断する方法は、ＡＮＣＡ及びｐＡＮＣＡのうちの１つ、又はＡＮＣＡ及びｐＡＮＣＡの組合せから選択される抗好中球抗体を利用する。一実施形態では、抗好中球抗体は、免疫アッセイ（たとえばＥＬＩＳＡ）によって検出されるＡＮＣＡなどの抗好中球細胞質抗体（ＡＮＣＡ）、免疫組織化学的アッセイ（たとえばＩＦＡ）によって検出されるｐＡＮＣＡなどの核周囲型抗好中球細胞質抗体（ｐＡＮＣＡ）、若しくはＤＮＡｓｅ感受性免疫組織化学的アッセイ、又はその組合せを含む。

【００４１】

[0044]さらなる追加の実施形態では、ＵＣを診断する方法は、抗サッカロマイセス・セレビシエ免疫グロブリンＡ（ＡＳＣＡ－ＩｇＡ）、抗サッカロマイセス・セレビシエ免疫グロブリンＧ（ＡＳＣＡ－ＩｇＧ）、及びその組合せからなる群から選択される抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体を利用する。

【００４２】

[0045]さらに他の実施形態では、ＵＣを診断する方法は、抗外膜タンパク質Ｃ（抗ＯｍｐＣ）抗体、抗Ｉ２抗体、抗フラゲリン抗体、及びその組合せからなる群から選択される抗微生物抗体を利用する。

【００４３】

[0046]特定の実施形態では、血清学的マーカーは、ＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ（たとえば、ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ及び／若しくはＤＮＡｓｅ感受性ｐＡＮＣＡ　ＩＦＡ）、ＡＳＣＡ－

ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ－１抗体、抗Ｉ２抗体、又はその組合せを含む、又はそれからなる。

【００４４】

[0047]特定の場合では、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）、及び／又はＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）のＳＮＰのうちの１つ、２つ、３つ、又はそれより多くの存在又は非存在を、１つ、２つ、３つ、又はそれより多くの血清学的マーカー、たとえば、ＡＮＣＡ（たとえばＡＮＣＡ ＥＬＩＳＡ）、ｐＡＮＣＡ（たとえば、ｐＡＮＣＡ ＩＦＡ及び／若しくはＤＮＡｓｅ感受性ｐＡＮＣＡ ＩＦＡ）、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、抗ＯｍｐＣ抗体、抗ＣＢｉｒ－１抗体、抗Ｉ２抗体、又はその組合せの存在（若しくは非存在）又は（濃度）レベルと組み合わせて決定する。

【００４５】

[0048]特定の一実施形態では、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）、及びＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）のＳＮＰの存在とＡＮＣＡ（たとえばＥＬＩＳＡによる高いＡＮＣＡレベル）及び／又はｐＡＮＣＡ（たとえばアルコール固定した好中球のｐＡＮＣＡ陽性染色）の存在又はレベルとを組み合わせて用いて、ＵＣ診断の感度及び／又は精度を増加させることができる。別の特定の実施形態では、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）及びＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）のＳＮＰの存在とＡＮＣＡ（たとえばＥＬＩＳＡによる高いＡＮＣＡレベル）及び／又はｐＡＮＣＡ（たとえばアルコール固定した好中球のｐＡＮＣＡ陽性染色）の存在又はレベルとを組み合わせて用いて、ＵＣ診断の感度及び／又は精度を増加させることができる。

【００４６】

[0049]遺伝子マーカー中の変異体対立遺伝子の存在又は非存在は、以下のセクションＶＩに記載のアッセイを使用して決定することができる。変異体対立遺伝子の状態を決定するために使用することができるアッセイには、それだけには限定されないが、電気泳動分析アッセイ、制限長多型分析アッセイ、配列解析アッセイ、ハイブリダイゼーション分析アッセイ、ＰＣＲ分析アッセイ、対立遺伝子特異的ハイブリダイゼーション、オリゴヌクレオチドライゲーション対立遺伝子特異的伸長／ライゲーション、対立遺伝子特異的増幅、一塩基伸長、分子反転プローブ、侵襲性切断、選択的終結、制限長多型性、配列決定、一本鎖コンホメーション多型性（ＳＳＣＰ）、一本鎖の鎖多型性、ミスマッチ切断、変性勾配ゲル電気泳動、及びその組合せが含まれる。これらのアッセイは十分に記載されており、標準の方法が当分野で知られている。たとえば、いずれもすべての目的のためにその全体で本明細書中に参考として組み込まれている、Ａｕｓｕｂｅｌら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４～２００８）、第７章及び補遺４７、Ｔｈｅｏｐｈｉｌｕｓら、「ＰＣＲ Ｍｕｔａｔｉｏｎ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ」、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ、（２００２）、Ｉｎｎｉｓら、ＰＣＲ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．（１９９０）、Ｍａｎｉａｔｉｓら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、（１９８２）、Ａｕｓｕｂｅｌら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ａｎｄ Ｇｅｎｏｍｉｃｓ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４～２００８）、並びにＡｕｓｕｂｅｌら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４～２００８）を参照されたい。

【００４７】

[0050]血清学的マーカーの存在又は（濃度）レベルは、ハイブリダイゼーションアッセイ、増幅に基づくアッセイ、免疫アッセイ、免疫組織化学的アッセイ、又はその組合せを用いて検出（たとえば、決定、測定、分析など）することができる。試料中の１つ又は複

数の血清学的マーカーの存在又はレベルを検出又は決定するためのアッセイ、技法、及びキットの非限定的な例は、以下のセクションＶＩＩに記載されている。

【００４８】

[0051]他の実施形態では、ＵＣを診断する方法を、ＵＣの症状を有する個体において行う。さらなる実施形態では、ＵＣの症状には、それだけには限定されないが、直腸炎症、直腸出血、直腸痛、下痢、腹部痙攣、腹痛、疲労、体重減少、発熱、結腸破裂、及びその組合せが含まれる。

【００４９】

[0052]一部の実施形態では、ＵＣを診断する方法は、全血、組織、唾液、頬細胞、毛髪、体液、血漿、血清、脳脊髄液、頬側スワブ、粘液、尿、大便、精子、膣分泌物、リンパ、羊水、胸水、涙、及びその組合せからなる群から選択される生体試料の分析を伴う。

【００５０】

[0053]他の態様では、本発明は、ＩＢＤが診断された及び／又はＵＣを有することが疑われた個体において潰瘍性大腸炎（ＵＣ）とクローン病（ＣＤ）とを鑑別するための方法を提供する。特定の実施形態では、本方法は、（ｉ）個体から得られた生体試料を分析して、ＧＬＩ１及び／又はＭＤＲ１遺伝子中の１つ又は複数の変異体対立遺伝子の存在又は非存在を決定するステップと、（ｉｉ）変異体対立遺伝子の存在をＵＣの診断と関連づけるステップとを含む。

【００５１】

[0054]特定の実施形態では、ＵＣとＣＤとを鑑別する方法は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）変異体対立遺伝子の存在又は非存在の検出を含む。他の実施形態では、ＵＣとＣＤを鑑別する方法は、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）変異体対立遺伝子の存在又は非存在の検出を含む。好ましい実施形態では、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）及び／又はＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）変異体対立遺伝子の存在の検出はＵＣの指標であり、ＣＤの指標ではない。

【００５２】

[0055]他の実施形態では、ＵＣとＣＤとを鑑別する方法は、生体試料を血清学的マーカーの存在又はレベルについて分析する追加のステップを用い、血清学的マーカー存在又はレベルの検出と１つ又は複数の変異体対立遺伝子の存在とが相まってＩＢＤのＵＣ亜型とＣＤ亜型との鑑別をさらに改善させる。

【００５３】

[0056]さらに他の実施形態では、ＵＣとＣＤとを鑑別する方法は、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体、抗微生物抗体、急性期タンパク質、アポリポタンパク質、デフェンシン、成長因子、サイトカイン、カドヘリン、及び本明細書中に記載のマーカーの任意の組合せからなる群から選択される血清学的マーカーの検出を用いる。血清学的マーカーの非限定的な例は本明細書中に記載されている。

【００５４】

[0057]さらなる実施形態では、ＵＣとＣＤとを鑑別する方法は、生体試料の分析を含む。一部の実施形態では、生体試料は、血液、組織、唾液、頬細胞、毛髪、体液、血漿、血清、脳脊髄液、頬側スワブ、粘液、尿、大便、精子、膣分泌物、リンパ、羊水、胸水、涙、及びその組合せから得ることができる。

【００５５】

[0058]遺伝子マーカー中の変異体対立遺伝子の存在又は非存在は、以下のセクションＶＩに記載のアッセイを使用して決定することができる。変異体対立遺伝子の状態を決定するために使用することができるアッセイには、それだけには限定されないが、電気泳動分析アッセイ、制限長多型分析アッセイ、配列解析アッセイ、ハイブリダイゼーション分析アッセイ、ＰＣＲ分析アッセイ、対立遺伝子特異的ハイブリダイゼーション、オリゴヌクレオチドライゲーション対立遺伝子特異的伸長／ライゲーション、対立遺伝子特異的増幅、一塩基伸長、分子反転プローブ、侵襲性切断、選択的終結、制限長多型性、配列決定、一本鎖コンホメーション多型性（ＳＳＣＰ）、一本鎖の鎖多型性、ミスマッチ切断、変性

勾配ゲル電気泳動、及びその組合せが含まれる。

【００５６】

[0059]さらなる追加の実施形態では、ＵＣとＣＤとを鑑別する方法を、ＵＣの症状を有する患者において行う。さらなる実施形態では、ＵＣの症状には、それだけには限定されないが、直腸炎症、直腸出血、直腸痛、下痢、腹部痙攣、腹痛、疲労、体重減少、発熱、結腸破裂、及びその組合せが含まれる。

【００５７】

[0060]他の実施形態では、本発明は、個体群においてＧＬＩ１、ＭＤＲ１、又はＡＴＧ１６Ｌ１から選択される１つ又は複数の遺伝子中の少なくとも１つの対立遺伝子変異体と潰瘍性大腸炎（ＵＣ）の存在との関連性を検出する方法を提供する。一部の具体的な実施形態では、本方法は、（ｉ）生体試料をＩＢＤが診断された及び／又はＵＣを有することが疑われた個体群から得るステップと、（ｉｉ）生体試料をスクリーニングして、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）、ＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）、又はその組合せから選択される変異体対立遺伝子の存在又は非存在を決定するステップと、（ｉｉｉ）対立遺伝子変異体のうちの１つ又は複数が、ＩＢＤが診断された及び／又はＵＣを有することが疑われた個体群に偏っている統計的に有意な傾斜遺伝子型分布を示すかどうかを評価するステップであって、比較が、ＩＢＤが診断された及び／又はＵＣを有することが疑われた個体群と健康な個体群との間であるステップとを含む。

【００５８】

[0061]さらに好ましい実施形態では、個体群においてＧＬＩ１、ＭＤＲ１、又はＡＴＧ１６Ｌ１から選択される１つ又は複数の遺伝子中の少なくとも１つの対立遺伝子変異体とＵＣの存在との関連性を検出するための方法は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）変異体対立遺伝子の検出を伴う。一部の実施形態では、本方法は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）変異体対立遺伝子の検出を伴う。他の実施形態では、本方法は、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）変異体対立遺伝子の検出を伴う。さらに他の実施形態では、本方法は、ＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）変異体対立遺伝子の検出を伴う。さらなる実施形態では、本発明の方法は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）、及びＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）からなる群から選択される１つ、２つ、３つ、又はそれより多くの変異体対立遺伝子の検出を伴う。

【００５９】

[0062]他の実施形態では、個体群においてＧＬＩ１、ＭＤＲ１、又はＡＴＧ１６Ｌ１から選択される１つ又は複数の遺伝子中の少なくとも１つの対立遺伝子変異体とＵＣの存在との関連性を検出するための方法は、生体試料中における対立遺伝子変異体の検出を伴う。さらに他の実施形態では、生体試料（ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ）は、血液、組織、唾液、頬細胞、毛髪、体液、血漿、血清、脳脊髄液、頬側スワブ、粘液、尿、大便、精子、膣分泌物、リンパ、羊水、胸水、涙、及びその組合せから選択される。

【００６０】

[0063]他の好ましい実施形態では、ＧＬＩ１、ＭＤＲ１、又はＡＴＧ１６Ｌ１から選択される１つ又は複数の遺伝子中の少なくとも１つの対立遺伝子変異体とＵＣの存在との関連性を検出するための方法を、ＩＢＤが診断された及び／又はＵＣを有することが疑われたヒト個体集団並びに対照個体集団において行う。

【００６１】

[0064]さらなる実施形態では、ＧＬＩ１、ＭＤＲ１、又はＡＴＧ１６Ｌ１から選択される１つ又は複数の遺伝子中の少なくとも１つの対立遺伝子変異体とＵＣの存在との関連性を検出するための方法は、変異体対立遺伝子の存在又は非存在のスクリーニングを含む。さらに追加の実施形態では、スクリーニングは、電気泳動分析アッセイ、制限長多型分析アッセイ、配列解析アッセイ、ハイブリダイゼーション分析アッセイ、ＰＣＲ分析アッセイ、対立遺伝子特異的ハイブリダイゼーション、オリゴヌクレオチドライゲーション対立

遺伝子特異的伸長／ライゲーション、対立遺伝子特異的増幅、一塩基伸長、分子反転プローブ、侵襲性切断、選択的終結、制限長多型性、配列決定、一本鎖コンホメーション多型性（ＳＳＣＰ）、一本鎖の鎖多型性、ミスマッチ切断、変性勾配ゲル電気泳動、及びその組合せからなる群から選択されるアッセイを使用して行う。

【００６２】

[0065]さらなる実施形態では、スクリーニングは、群のそれぞれの個体に対して、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）、ＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）、及びその組合せから選択される１つ又は複数の対立遺伝子変異体で行う。さらに追加の実施形態では、スクリーニングは個体のプール及び対照のプールに対して実施する。

【００６３】

[0066]さらなる実施形態では、ＧＬＩ１、ＭＤＲ１、又はＡＴＧ１６Ｌ１から選択される１つ又は複数の遺伝子中の少なくとも１つの対立遺伝子変異体とＵＣの存在との関連性を検出するための方法は、対立遺伝子変異体が統計的に有意な傾斜遺伝子型分布を示すかどうかを評価することをさらに伴う。さらなる実施形態では、評価は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）、及びＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）からなる群から選択される１つの対立遺伝子変異体を、対照対ＵＣ集団におけるその分布について評価して、変異体対立遺伝子の非存在又は存在とＵＣの存在又は非存在との間に相関性が存在するかどうかを決定することからなる（たとえば以下の実施例セクションに例示）。さらに他のさらなる実施形態では、遺伝子型分布は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）、及びＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）からなる群から選択される複数の対立遺伝子変異体を、対照とＩＢＤが診断された及び／又はＵＣを有することが疑われた個体の集団との間で比較する。一部の実施形態では、遺伝子型分布は、個体プールと対照プールとの間のオッズ比分析を使用して比較する。

【００６４】

[0067]また、一部の実施形態では、本発明は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）及びＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）から選択される１つ又は複数の対立遺伝子変異体に特異的な核酸プローブを含有するキットも提供する。特定の実施形態では、キットは、ＴＡＣＣＡＧＡＧＴＣＣＣＡＡＧＴＴＴＣＴＧＧＧＧＧ［Ａ／Ｇ］ＴＴＣＣＣＡＧＧＴＴＡＧＣＣＣＡＡＧＣＣＧＴＧＣＴ（配列番号３９）、ＴＡＴＴＴＡＧＴＴＴＧＡＣＴＣＡＣＣＴＴＣＣＣＡＧ［Ｃ／Ａ］ＡＣＣＴＴＣＴＡＧＴＴＣＴＴＴＣＴＴＡＴＣＴＴＴＣ（配列番号４０）、ＴＡＴＴＴＡＧＴＴＴＧＡＣＴＣＡＣＣＴＴＣＣＣＡＧ［Ｃ／Ｔ］ＡＣＣＴＴＣＴＡＧＴＴＣＴＴＴＣＴＴＡＴＣＴＴＴＣ（配列番号４１）、及びＣＣＣＡＧＴＣＣＣＣＣＡＧＧＡＣＡＡＴＧＴＧＧＡＴ［Ａ／Ｇ］ＣＴＣＡＴＣＣＴＧＧＴＴＣＴＧＧＴＡＡＡＧＡＡＧＴ（配列番号４２）からなる群から選択される１つ又は複数のプローブを含有していてもよい。

【００６５】

[0068]また、一部の他の実施形態では、本発明は、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２６）、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）、及びＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）から選択される１つ又は複数の対立遺伝子変異体に特異的な核酸プローブを含有するアレイも提供する。他の実施形態では、アレイは、ＴＡＣＣＡＧＡＧＴＣＣＣＡＡＧＴＴＴＣＴＧＧＧＧＧ［Ａ／Ｇ］ＴＴＣＣＣＡＧＧＴＴＡＧＣＣＣＡＡＧＣＣＧＴＧＣＴ（配列番号３９）、ＴＡＴＴＴＡＧＴＴＴＧＡＣＴＣＡＣＣＴＴＣＣＣＡＧ［Ｃ／Ａ］ＡＣＣＴＴＣＴＡＧＴＴＣＴＴＴＣＴＴＡＴＣＴＴＴＣ（配列番号４０）、ＴＡＴＴＴＡＧＴＴＴＧＡＣＴＣＡＣＣＴＴＣＣＣＡＧ［Ｃ／Ｔ］ＡＣＣＴＴＣＴＡＧＴＴＣＴＴＴＣＴＴＡＴＣＴＴＴＣ（配列番号４１）、及びＣＣＣＡＧＴＣＣＣＣＣＡＧＧＡＣＡＡＴＧＴＧＧＡＴ［Ａ／Ｇ］ＣＴＣＡＴＣＣＴＧＧＴＴＣＴＧＧＴＡＡＡＧＡＡＧＴ（配列番号４２）からなる群から選択される１つ又は複数のプローブを含有していて

もよい。

【００６６】

[0069]さらなる態様では、本明細書中に記載のマーカーのうちの１つ又は複数を測定するためのパネルは、ＵＣの診断又はＵＣとＣＤとの鑑別について本発明の手法に関する関連情報をもたらすために構築されていてもよい。そのようなパネルは、遺伝子、生化学的、血清学的、タンパク質、又は本明細書中に記載の他のマーカーなどの、少なくとも１個、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個、２０個、２５個、３０個、３５個、４０個、又はそれより多くの個々のマーカーの存在（若しくは非存在）又はレベルを検出又は決定するために構築されていてもよい。また、単一のマーカー又はマーカーのサブセットの分析は、当業者によって様々な臨床設定において実施することもできる。それらには、それだけには限定されないが、通院、応急手当、救命医療、集中治療、監視ユニット、入院患者、外来患者、医院、診療所、及び集団検診の設定が含まれる。

【００６７】

[0070]一部の実施形態では、マーカーの分析は様々な物理的様式で実施することができる。たとえば、多数の試験試料の処理を容易にするために、マイクロタイタープレート又は自動化を使用することができる。或いは、適時の様式での処置、診断、及び予後診断を容易にするために、単一試料の様式を開発することができる。

【００６８】

[0071]ＩＶ．炎症性腸疾患

特定の実施形態では、本発明は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）の潰瘍性大腸炎（ＵＣ）亜型を診断するための方法及びシステムを提供する。特定の他の実施形態では、本発明は、ＵＣとクローン病（ＣＤ）などの他のＩＢＤ亜型とを鑑別するための方法及びシステムを提供する。

【００６９】

[0072]Ａ．クローン病

クローン病（ＣＤ）とは、胃腸管の任意の部分に関与する場合がある、慢性炎症の疾患である。一般的に、小腸の遠位部分、すなわち回腸、及び盲腸が冒される。他の場合では、疾患は小腸、結腸、又は肛門直腸の領域に限局されている。ＣＤは、時折十二指腸及び胃に、より稀に食道及び口腔に関与する。

【００７０】

[0073]ＣＤの変動する臨床徴候は、部分的に、疾患の変動する解剖学的局在化の結果である。ＣＤの最も頻度の高い症状は、腹痛、下痢、及び回帰熱である。ＣＤは、一般的に、腸閉塞又は腸瘻、腸の罹患したループ間の異常な通路に関連づけられている。また、ＣＤには、眼、関節、及び皮膚の炎症、肝疾患、腎結石、並びにアミロイド症などの合併症も含まれる。さらに、ＣＤは、腸癌の危険性の増加に関連づけられている。

【００７１】

[0074]いくつかの特長は、ＣＤ病理に特徴的である。貫壁性炎症として知られるＣＤに関連づけられている炎症は、腸壁の全層に関与する。たとえば、肥厚及び浮腫も、典型的には腸壁全体にわたって出現し、線維症が疾患の長期にわたる形態で存在する。ＣＤの炎症特徴は、「飛び石病変」として知られる炎症組織の区域が見かけ上正常な腸管によって分離されているという点で不連続である。さらに、介在組織の線状潰瘍形成、浮腫、及び炎症は、ＣＤに特有な腸管粘膜の「敷石状」の外見をもたらす。

【００７２】

[0075]ＣＤの特徴は、一般に粘膜下層で見つかる、肉芽腫として知られる炎症細胞の明白な凝集の存在である。一部のＣＤ症例は、典型的な明白な肉芽腫を表示する一方で、他のものはびまん性肉芽腫性反応又は非特異的な貫壁性炎症を示す。その結果、明白な肉芽腫の存在はＣＤの指標であるが、肉芽腫の非存在も疾患において一貫している。したがって、肉芽腫の存在ではなく、貫壁性又は不連続の炎症がＣＤの好ましい診断的指標である（Ｒｕｂｉｎ及びＦａｒｂｅｒ、Ｅｓｓｅｎｔｉａｌ　Ｐａｔｈｏｌｏｇｙ（第３版）、

Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ、Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ&Ｗｉｌｋｉｎｓ（２００１））。

【００７３】

[0076]クローン病は、疾患が進行する際の挙動によってカテゴリー化してもよい。これはクローン病のウィーン分類に形式化されている。Ｇａｓｃｈｅら、Ｉｎｆｌａｍｍ．Ｂｏｗｅｌ Ｄｉｓ．、６：８～１５（２０００）を参照されたい。クローン病では３つの疾患提示のカテゴリー、すなわち、（１）狭窄性、（２）穿通性、及び（３）炎症性が存在する。狭窄性疾患は、腸閉塞又は糞便の口径の変化をもたらすことがある、腸の狭小化を引き起こす。穿通性疾患は、腸と皮膚などの他の構造との間に異常な通路（瘻孔）を生じる。炎症性疾患（非狭窄性、非穿通性疾患としても知られる）は、狭窄又は瘻孔を引き起こさずに炎症を引き起こす。

【００７４】

[0077]したがって、クローン病は胃腸管を冒す複数の異種の疾患亜型を表し、同様の症状を生じることがある。ＣＤに言及して本明細書中で使用する用語「臨床亜型」には、１つのＣＤの分類を別のものから区別する１セットの臨床基準によって定義されたＣＤの分類が含まれる。非限定的な例として、ＣＤを有する対象は、本明細書中に記載のように狭窄性（たとえば内部狭窄性）、穿通性（たとえば内部穿通性）、若しくは炎症性疾患に罹患しているとして分類することができる、又は、これらの対象は、それに加えて若しくはその代わりに、線維狭窄性疾患、小腸疾患、内部穿孔性疾患、肛門周囲瘻形成疾患、ＵＣ様疾患、小腸手術の必要性、ＵＣ特長の非存在、若しくはその組合せに罹患しているとして分類することができる。

【００７５】

[0078]特定の場合では、ＣＤを有する対象は、狭窄性又は穿通性の表現型によって特徴づけられている臨床亜型である合併ＣＤに罹患しているとして分類することができる。特定の他の場合では、ＣＤを有する対象は、以下の合併症、すなわち、線維狭窄症、内部穿孔性疾患、及び小腸手術の必要性のうちの１つ又は複数によって特徴づけられているＣＤの形態に罹患しているとして分類することができる。さらなる例では、ＣＤを有する対象は、小腸手術を必要とする侵襲性形態の線維狭窄性疾患に罹患しているとして分類することができる。これらの亜型に関連する基準は、たとえば、Ｇａｓｃｈｅら、Ｉｎｆｌａｍｍ．Ｂｏｗｅｌ Ｄｉｓ．、６：８～１５（２０００）、Ａｂｒｅｕら、Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ、１２３：６７９～６８８（２００２）、Ｖａｓｉｌｉａｕｓｋａｓら、Ｇｕｔ、４７：４８７～４９６（２０００）、Ｖａｓｉｌｉａｕｓｋａｓら、Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ、１１０：１８１０～１８１９（１９９６）、及びＧｒｅｅｎｓｔｅｉｎら、Ｇｕｔ、２９：５８８～５９２（１９８８）に記載されている。

【００７６】

[0079]ＣＤの「線維狭窄性亜型」は、線維狭窄性疾患の１つ又は複数の認められている特徴によって特徴づけられているＣＤの分類である。線維狭窄性疾患のそのような特徴には、それだけには限定されないが、記述されている持続性の腸閉塞又は腸閉塞の腸切除が含まれる。ＣＤの線維狭窄性亜型には穿孔、膿瘍、又は瘻孔などの他の症状が伴う場合があり、嘔気、嘔吐、腹部膨満、及び固形食品の摂食不能などの持続性の腸管遮断の症状によってさらに特徴づけることができる。ＣＤの線維狭窄性亜型を有する患者の腸管のＸ線は、たとえば、遮断点より前の腸の膨満感を示す場合がある。

【００７７】

[0080]ＣＤの線維狭窄性亜型を有する対象における小腸手術の必要性は、この亜型のより侵襲性の形態を示している場合がある。ＣＤの追加の亜型も当分野で知られており、定義された臨床基準を使用して同定することができる。たとえば、内部穿孔性疾患は、腸管－腸内若しくは腸管－小胞の瘻孔、腹腔内膿瘍、又は小腸穿孔の現在又は以前の証拠によって定義されたＣＤの臨床亜型である。肛門周囲穿孔性疾患は、肛門周囲の瘻孔若しくは膿瘍又は直腸腟瘻の現在又は以前の証拠によって定義されたＣＤの臨床亜型である。ＣＤのＵＣ様臨床亜型は、左側結腸障害、出血又は緊急の症状、及び結腸生検の陰窩膿瘍の現

在又は以前の証拠によって定義することができる。疾患の位置は、１つ又は複数の内視鏡、放射線、又は病理学の研究に基づいて分類することができる。

【００７８】

[0081]当業者は、ＣＤの臨床亜型間に重複が存在する場合があり、ＣＤに罹患している対象はＣＤの複数の臨床亜型を有する場合があることを理解している。たとえば、ＣＤに罹患している対象はＣＤの線維狭窄性亜型を有することができ、小腸手術の必要性又は内部穿孔性疾患亜型によって特徴づけられている臨床亜型の臨床基準も満たすことができる。同様に、本明細書中に記載のマーカーは、ＣＤの複数の臨床亜型に関連づけることができる。

【００７９】

[0082]Ｂ．潰瘍性大腸炎

潰瘍性大腸炎（ＵＣ）とは、痙攣、腹痛、直腸出血、血液の緩い分泌、膿、及び粘液を伴った慢性下痢によって特徴づけられている大腸の疾患である。ＵＣの徴候は広く変動する。増悪及び寛解のパターンがＵＣ患者の約７０％の臨床的経過の典型であるが、寛解のない連続的な症状がＵＣを有する一部の患者で存在する。ＵＣの局所的及び全身性の合併症には、関節炎、ブドウ膜炎などの眼の炎症、皮膚潰瘍、及び肝疾患が含まれる。さらに、ＵＣ、特に疾患の長期にわたる大規模な形態は、結腸癌の危険性の増加に関連づけられている。

【００８０】

[0083]ＵＣは、通常は直腸の最も遠位の部分から可変距離で近位に伸びる、びまん性疾患である。用語「左側大腸炎」とは、脾臓湾曲部にまで伸びる結腸の遠位部分に関与する炎症を説明する。直腸温存（ｓｐａｒｉｎｇ）又は結腸の右側（近位部分）が単独で関与することはＵＣでは珍しい。ＵＣの炎症プロセスは結腸に限定されており、たとえば小腸、胃、又は食道は巻き込まない。さらに、ＵＣは、一般に腸壁のより深層は冒さない粘膜の表在性炎症によって区別される。また、変性腸管陰窩が好中球で満たされている陰窩膿瘍も、ＵＣにおいて典型的である（Ｒｕｂｉｎ及びＦａｒｂｅｒ、上記）。

【００８１】

[0084]特定の場合では、ＵＣに関して、症状の可変性は、疾患の程度（すなわち、炎症を起こしている結腸及び直腸の量）及び炎症の強度の相違を反映する。疾患は直腸から始まり、結腸を「上に」移動して器官のより多くの部分を巻き込む。ＵＣは、巻き込まれた結腸の量によってカテゴリー化することができる。典型的には、炎症が直腸及び直腸に隣接する結腸の短い区域に限局されている患者は、より広汎性の結腸の炎症を有する患者よりも軽度な症状及び良好な予後診断を有する。

【００８２】

[0085]直腸が高頻度で冒されていない、斑状の疾患であるＣＤに比べて、ＵＣは、通常は近位よりも遠位でより重度である結腸の連続的な炎症によって特徴づけられている。ＵＣにおける炎症は、通常は粘膜層に限定されているという点で表在性であり、好中球及び陰窩膿瘍を伴った急性炎症性浸潤によって特徴づけられている。対照的に、ＣＤは腸壁の厚さ全体を冒し、必ずではないが多くの場合に肉芽腫が存在する。回盲弁で、又はそれに遠位の結腸中で終結する疾患はＵＣの指標である一方で、回腸末端の関与、敷石状様の外見、明白な潰瘍、又は瘻孔はＣＤを示唆する。

【００８３】

[0086]様々な種類の潰瘍性大腸炎が炎症の位置及び程度に従って分類されている。ＵＣに言及して本明細書中で使用する用語「臨床亜型」には、１つのＵＣの分類を別のものから区別する１セットの臨床基準によって定義されたＵＣの分類が含まれる。非限定的な例として、ＵＣを有する対象は、潰瘍性直腸炎、直腸Ｓ状結腸炎、左側大腸炎、汎大腸炎、劇症大腸炎、及びその組合せに罹患しているとして分類することができる。これらの亜型に関連する基準は、たとえばＫｏｒｎｂｌｕｔｈら、Ａｍ．Ｊ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．、９９：１３７１～８５（２００４）に記載されている。

【００８４】

[0087]潰瘍性直腸炎とは、直腸に限定されている炎症によって定義されたＵＣの臨床亜型である。直腸Ｓ状結腸炎とは、直腸及びＳ状結腸を冒すＵＣの臨床亜型である。左側大腸炎とは、結腸の左側全体の、直腸から結腸が脾臓付近で曲がって上腹部を横切り始める場所（脾臓湾曲部）を冒すＵＣの臨床亜型である。汎大腸炎とは、結腸全体を冒すＵＣの臨床亜型である。劇症大腸炎は、汎大腸炎の稀であるが重度の形態である。劇症大腸炎を有する患者は病状が非常に重く、脱水、重度の腹痛、出血を伴う遅延性の下痢、さらにはショックを伴っている。

【００８５】

[0088]一部の実施形態では、ＵＣの臨床亜型の分類は、有効な処置経過を計画する際に重要である。潰瘍性直腸炎、直腸Ｓ状結腸炎、及び左側大腸炎は、ステロイド系又は他の浣腸及び泡沫を含めた肛門から導入した局所剤で処置することができる一方で、汎大腸炎は、活性成分が結腸の冒された部分の全体に達することができるように、経口医薬品で処置しなければならない。

【００８６】

[0089]当業者は、ＵＣの臨床亜型間に重複が存在する場合があり、ＵＣに罹患している対象はＵＣの複数の臨床亜型を有する場合があることを理解している。同様に、本明細書中に記載のマーカーは、ＵＣの複数の臨床亜型に関連づけることができる。

【００８７】

[0090]Ｃ．未確定大腸炎

未確定大腸炎（ＩＣ）とは、ＣＤ及びＵＣの両方の特長が含まれるＩＢＤの臨床亜型である。両疾患の症状のそのような重複は、ＩＣを有する患者において一時的に（たとえば疾患の初期）又は持続的に（たとえば疾患が進行する間ずっと）起こる場合がある。臨床的には、ＩＣは、直腸出血を伴う又は伴わない腹痛及び下痢によって特徴づけられている。たとえば、正常な粘膜によって分離された断続的な多数の潰瘍形成を有する大腸炎が、この疾患を有する患者で見つかる。組織学的には、貫壁性炎症を伴った重度の潰瘍形成のパターンが存在する。直腸には典型的には疾患が存在せず、リンパ系炎症細胞は凝集を示さない。ＩＣを有する患者では、深いスリット様の亀裂が筋細胞溶解の病巣で観察されるが、介在粘膜は典型的には最小限に鬱血しており、杯細胞は保存されている。

【００８８】

[0091]Ｖ．ＩＢＤマーカー

生化学的マーカー、血清学的マーカー、タンパク質マーカー、遺伝子マーカー、及び他の臨床又は超音波検査の特徴を含めた、様々なＩＢＤマーカーが、ＩＢＤを診断する、ＵＣを診断する、及びＵＣとＣＤとを鑑別するための本発明の方法で使用するために適している。特定の態様では、本明細書中に記載の診断及び予後診断方法は、アルゴリズム（たとえば統計分析）を、ＩＢＤマーカーのうちの１つ又は複数について決定された存在、濃度レベル、又は遺伝子型に適用することを利用して、ＩＢＤの診断、ＵＣの診断を援助若しくは補助する、及び／又はＵＣとＣＤとの鑑別を容易にする。

【００８９】

[0092]ＩＢＤマーカーの非限定的な例には、（ｉ）たとえば、表１～２に記載の遺伝子のうちの任意のもの（たとえば、ＧＬＩ１、ＭＤＲ１、及び／又はＡＴＧ１６Ｌ１）、ＮＯＤ２遺伝子などの遺伝子マーカー、並びに（ｉｉ）たとえば、サイトカイン、成長因子、抗好中球抗体、抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体、抗微生物抗体、急性期タンパク質、アポリポタンパク質、デフェンシン、カドヘリン、細胞接着分子、及びその組合せなどの生化学的、血清学的、及びタンパク質マーカーが含まれる。

【００９０】

[0093]Ａ．遺伝子マーカー

試料中の１つ又は複数の遺伝子マーカー中の対立遺伝子変異体の存在又は非存在の決定は、本発明において特に有用である。遺伝子マーカーの非限定的な例には、それだけには限定されないが、表１及び２に記載の遺伝子のうちの任意のものが含まれる。好ましい実施形態では、ＧＬＩ１、ＭＤＲ１、及び／又はＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子中の少なくとも１つ

の一塩基多型（ＳＮＰ）の存在又は非存在を決定する。たとえば、その開示がすべての目的のためにその全体で本明細書中に参考として組み込まれている、Ｂａｒｒｅｔｔら、Ｎａｔ．Ｇｅｎｅｔ．、４０：９５５～６２（２００８）及びＷａｎｇら、Ａｍｅｒ．Ｊ．Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅｔ．、８４：３９９～４０５（２００９）を参照されたい。

【００９１】

[0094]表１は、１つ又は複数の対立遺伝子変異体（たとえばＳＮＰ）の存在又は非存在についての遺伝子型決定がＵＣの診断に有用な遺伝子の例示的なリストを提供する。表２は、ＵＣとＣＤとの鑑別に有用な遺伝子マーカー及び対応するＳＮＰの例示的なリストを提供する。

【００９２】

【表１】

表 1. 潰瘍性大腸炎の SNP

遺伝子	SNP
GLI1	rs2228224
MDR1	rs2032582
ATG16L1	rs224180

【００９３】

【表２】

表 2. 潰瘍性大腸炎対クローン病の SNP

遺伝子	SNP
GLI1	rs2228224
MDR1	rs2032582

【００９４】

[0095]１．ＧＬＩ１

Ｇｌｉタンパク質はヘッジホッグ（Ｈｈ）シグナル伝達経路に関与している。これらのタンパク質は、胚発生中に多くの細胞種及びほとんどの器官において細胞運命の決定、増殖及びパターン形成に関与していることが示されている（たとえばＡｌｔａｂａら、Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ、１２６（１４）：３２０５～１６（１９９９）を参照）。Ｇｌｉ遺伝子は転写因子として作用し、ジンクフィンガー結合ドメインを含有する。具体的には、ＧＬＩ１（神経膠腫関連癌遺伝子相同体１としても知られる）は、ヘッジホッグシグナル伝達経路中の転写因子として関与しており、Ｃ２－Ｈ２ジンクフィンガードメイン及びジンクフィンガー間にコンセンサスなヒスチジン／システインリンカー配列を含有する。ヒトでは、Ｇｌｉ１は癌遺伝子をコードしていることが知られており、転写の阻害剤及び活性化剤のどちらとしても作用することができる（たとえばＪａｃｏｂら、ＥＭＢＯ Ｒｅｐ．、４（８）：７６１～７６５（２００３）を参照。ヒトＧｌｉ１の下流遺伝子標的の一部には、それぞれサイクリンＤ２及びプラコグロビンなどの細胞周期及びアポトーシスの調節因子が含まれる（たとえばＹｏｏｎら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、２７７：５５４８～５５５５（２００２）を参照）。また、Ｇｌｉ１は基底細胞癌（ＢＣＣ）においてＦｏｘＭ１もアップレギュレーションする（たとえばＴｅｈら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．、６２（１６）：４７７３～４７８０（２００２）を参照）。また、Ｇｌｉ１の発現は、特定の細胞種においてＳｈｈの発現を模倣することもできる（たとえばＤａｈｍａｎｅら、Ｎａｔｕｒｅ、３８９：８７６～８８１（１９９７）を参照）。

【００９５】

[0096]ＧＬＩ１（Ｇｌｉ１）遺伝子中のＳＮＰなどの対立遺伝子変異体の非存在の存在の決定は、本発明において特に有用である。本明細書中で使用する用語「ＧＬＩ１変異体

」又はその変形には、野生型ＧＬＩ１遺伝子に比べて１つ若しくは複数の変化を含有するＧＬＩ１遺伝子のヌクレオチド配列、又は野生型ＧＬＩ１ポリペプチド配列に比べて１つ若しくは複数の変化を含有するＧＬＩ１ポリペプチドのアミノ酸配列が含まれる。ＧＬＩ１は、ＩＢＤ２連鎖領域染色体１２（１２ｑ１３）内に位置決定されている。ＣからＧへの転移（ＧＬＩ１のエクソン１２中に位置する）の突然変異であるｒｓ２２２８２２６ＳＮＰが、ＩＢＤを有する患者におけるＧＬＩ１中の生殖系列の変異として同定された（たとえばＬｅｅｓら、ＰＬＯＳ、５（１２）：１７６１～１７７５（２００８）を参照）。ＧＬＩ１中のｒｓ２２２８２２６突然変異は低下した機能を有するタンパク質を生じる。たとえば、Ｌｅｅｓ、上記及びＢｅｎｔｌｅｙら、Ｇｅｎｅｓ　Ｉｍｍｕｎ．（２０１０年５月）を参照されたい。

【００９６】

[0097]ＧＬ１の遺伝子位置情報は、たとえばＧｅｎｅＩＤ：２７３５に記載されている。ヒトＧＬＩ１のｍＲＮＡ（コード）及びポリペプチド配列は、たとえば、それぞれＮＭ＿００５２６９．２（配列番号２５）及びＮＰ＿００５２６０．１（配列番号２６）に記載されている。さらに、ＧＬＩ１が含まれるヒト染色体１２の完全配列、ＧＲＣｈ３７一次参照アセンブリは、たとえばＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＣ＿０００００１２．１１に記載されている。さらに、他の種からのＧＬＩ１の配列は、ＧｅｎＢａｎｋデータベース中に見つけることができる。

【００９７】

[0098]ｒｓ２２２８２２４　ＳＮＰは本発明の方法において特に有用であり、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＰ＿００１１５３５１７．１（配列番号３８）の位置８０５でのグリシンからアスパラギン酸への変化に対応するＧからＡへの転移としてＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１１６００４５．１（配列番号３７）のヌクレオチド位置２６７２に位置するか、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＰ＿００１１６１０８１．１（配列番号３６）の位置８９２でのグリシンからアスパラギン酸への変化に対応するＧからＡへの転移としてＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１１６７６０９．１（配列番号３５）の位置２７５３に位置するか、又はＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＰ＿００５２６０．１（配列番号２６）の位置９３３でのグリシンからアスパラギン酸への変化に対応するＧからＡへの転移としてＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００５２６９．２（配列番号２５）の位置２８７６に位置する。

【００９８】

[0099]ｒｓ２２２８２２６　ＳＮＰは、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＰ＿００１１５３５１７．１（配列番号３４）の位置９７２でのグルタミン酸からグルタミンへの変化に対応するＧからＣへの塩基転換としてＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１１６００４５．１（配列番号３３）のヌクレオチド位置３１７２に位置するか、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＰ＿００１１６１０８１．１（配列番号３６）の位置１０５９でのグルタミン酸からグルタミンへの変化に対応するＧからＣへの塩基転換としてＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１１６７６０９．１（配列番号３５）の位置３２５３に位置するか、又はＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＰ＿００５２６０．１（配列番号３８）の位置１１００でのグルタミン酸からグルタミンへの変化に対応するＧからＣへの塩基転換としてＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００５２６９．２（配列番号３７）の位置３３７６に位置する。

【００９９】

[0100]２．ＭＤＲ１

ＭＤＲ１は、ＡＴＰ結合カセット（ＡＢＣ）トランスポーターのタンパク質ファミリーのメンバーである。また、ＭＤＲ１は、多剤耐性又はＡＴＰ結合カセット、サブファミリーＢ（ＭＤＲ／ＴＡＰ）メンバー１（ＡＢＣＢ１）、Ｐ－糖タンパク質（浸透性－糖タンパク質）、及びＰＧＹ１としても知られている。ＡＢＣタンパク質は、細胞外及び細胞内膜の両方を横切って様々な分子を輸送する。７つの明白に異なるＡＢＣ輸送のサブファミリー、すなわち、ＡＢＣ１、ＭＤＲ／ＴＡＰ、ＭＲＰ、ＡＬＤ、ＯＡＢＰ、ＧＣＮ２０及びＷｈｉｔｅが存在する。ＭＤＲ１はＭＤＲ／ＴＡＰファミリーのメンバーであり、これらのタンパク質は多剤耐性に関与している。ＭＤＲ１は多剤耐性細胞における薬物蓄積の

減少に特に関与しており、抗癌薬に対する耐性を媒介することができる。ＭＤＲ１は血液脳関門においてトランスポーターとして機能し、様々な物質のＡＴＰ依存性排出ポンプとして作用する。たとえば、Ａｌｌｅｒら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、３２３（５９２２）：１７１８～２２（２００９）、ｖａｎ Ｈｅｌｖｏｏｒｔら、Ｃｅｌｌ、８７（３）：５０７～５１７（１９９６）、Ｕｅｄａら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、２６２（２）：５０５～５０８（１９８７）、及びＴｈｉｅｂａｕｔら、ＰＮＡＳ、８４（２１）：７７３５～７７３８（１９８７）を参照されたい。

【０１００】

[0101]ＭＤＲ１遺伝子中のＳＮＰなどの対立遺伝子変異体の非存在の存在の決定は、本発明において特に有用である。本明細書中で使用する用語「ＭＤＲ１変異体」又はその変形には、野生型ＭＤＲ１遺伝子に比べて１つ若しくは複数の変化を含有するＭＤＲ１遺伝子のヌクレオチド配列、又は野生型ＭＤＲ１ポリペプチド配列に比べて１つ若しくは複数の変化を含有するＭＤＲ１ポリペプチドのアミノ酸配列が含まれる。ＭＤＲ１はヒト染色体７に位置決定されている。ＭＤＲ１は、そのヒト多型性が様々な薬物の薬物動態学的プロフィールを変更するＡｌａ８９３Ｓｅｒ／Ｔｈｒ及びＣ３４３５Ｔにおいて報告されている膜トランスポータータンパク質である。たとえば、Ｂｒａｎｔら、Ａｍ．Ｊ．Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅｔ．、７３：１２８２～１２９２（２００３）及びＷａｎｇら、Ｃｕｒｒ．Ｐｈａｒｍａｃｏｇｅｎｏｍｉｃｓ ａｎｄ Ｐｅｒｓｏｎａｌｉｚｅｄ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ、７：４０～５８（２００９）を参照されたい。

【０１０１】

[0102]ＭＤＲ１の遺伝子位置情報は、たとえばＧｅｎｅＩＤ：５２４３に記載されている。ヒトＭＤＲ１のｍＲＮＡ（コード）及びポリペプチド配列は、たとえば、それぞれＮＭ＿０００９２７．３（配列番号２７）及びＮＰ＿０００９１８．２（配列番号２８）に記載されている。さらに、ＭＤＲ１が含まれるヒト染色体７（７ｑ２１．１２）の完全配列、ＧＲＣｈ３７一次参照アセンブリは、たとえばＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＴ＿００７９３３．１５に記載されている。さらに、他の種からのＭＤＲ１の配列は、ＧｅｎＢａｎｋデータベース中に見つけることができる。

【０１０２】

[0103]ｒｓ２０３２５８２　ＳＮＰは本発明の方法において特に有用であり、ＴからＡへの塩基転換又はＴからＧへの塩基転換のどちらかとして配列番号２７（ＮＭ＿０００９２７．３）のヌクレオチド位置３０９５に位置する。ＴからＡへの塩基転換は配列番号２８（ＮＰ＿０００９１８．２）の位置８９３でのセリンからスレオニンへの変化に対応する一方で、ＴからＧへの塩基転換は配列番号２８（ＮＰ＿０００９１８．２）の位置８９３でのセリンからアラニンへの変化に対応する。

【０１０３】

[0104]３．ＡＴＧ１６Ｌ１

ＡＴＧ１６Ｌ１は、ａｕｔｏｐｈａｇｙ ｒｅｌａｔｅｄ １６－ｌｉｋｅ １としても知られており、細胞質成分をリソソームに送達する細胞内過程である、自己貪食と呼ばれる過程に関与するタンパク質である。自己貪食とは、細胞成分を再利用するために細胞によって使用される過程である。また、自己貪食過程は炎症反応にも関与しており、細菌による免疫系の破壊を促進する。ＡＴＧ１６Ｌ１タンパク質は大きなタンパク質複合体のＷＤ反復含有成分であり、自食胞の形成の間中、自己貪食性の単離膜と会合する（たとえば、Ｍｉｚｕｓｈｉｍａら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｅｌｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ、１１６（９）：１６７９～１６８８（２００３）及びＨａｍｐｅら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ、３９：２０７～２１１（２００６）を参照）。ＡＴＧ１６Ｌ１はクローン病に関連づけられている（たとえばＲｉｏｕｘら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ、３９（５）：５９６～６０４（２００７）を参照）。また、たとえば、Ｍａｒｑｕｅｚら、Ｉｎｆｌａｍｍ．Ｂｏｗｅｌ Ｄｉｓｅａｓｅ、１５（１１）：１６９７～１７０４（２００９）、Ｍｉｚｕｓｈｉｍａら、Ｊ．Ｃｅｌｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ、１１６：１６７９～１６８８（２００３）、及びＺｈｅｎｇら、ＤＮＡ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ：Ｔｈｅ Ｊ ｏｆ Ｄ

ＮＡ Ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ａｎｄ Ｍａｐｐｉｎｇ、１５（４）：３０３～５（２００４）も参照されたい）。

【０１０４】

[0105]ＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子中のＳＮＰなどの対立遺伝子変異体の非存在の存在の決定は、本発明において特に有用である。本明細書中で使用する用語「ＡＴＧ１６Ｌ１変異体」又はその変形には、野生型ＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子に比べて１つ若しくは複数の変化を含有するＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子のヌクレオチド配列、又は野生型ＡＴＧ１６Ｌ１ポリペプチド配列に比べて１つ若しくは複数の変化を含有するＡＴＧ１６Ｌ１ポリペプチドのアミノ酸配列が含まれる。ＡＴＧ１６Ｌ１は、ａｕｔｏｐｈａｇｙ ｒｅｌａｔｅｄ １６－ｌｉｋｅ １としても知られており、ヒト染色体２に位置決定されている。

【０１０５】

[0106]ＡＴＧ１６Ｌ１の遺伝子位置情報は、たとえばＧｅｎｅＩＤ：５５０５４に記載されている。ヒトＡＴＧ１６Ｌ１のｍＲＮＡ（コード）及びポリペプチド配列は、たとえば、それぞれＮＭ＿０１７９７４．３（配列番号２９）又はＮＭ＿０３０８０３．６（配列番号３１）及びＮＰ＿０６０４４４．３（配列番号３０）又はＮＰ＿１１０４３０．５（配列番号３２）に記載されている。さらに、ＡＴＧ１６Ｌ１が含まれるヒト染色体２（２ｑ３７．１）の完全配列、ＧＲＣｈ３７一次参照アセンブリは、たとえばＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＴ＿００５１２０．１６に記載されている。さらに、他の種からのＡＴＧ１６Ｌ１の配列は、ＧｅｎＢａｎｋデータベース中に見つけることができる。

【０１０６】

[0107]ｒｓ２２４１８８０ ＳＮＰは本発明の方法において特に有用であり、配列番号３０（ＮＰ＿０６０４４４．３）の位置２８１でのスレオニンからアラニンへの変化に対応するＡからＧへの転移として配列番号２９（ＮＭ＿０１７９７４．３）のヌクレオチド位置１０９８に位置するか、又は配列番号３２（ＮＰ＿１１０４３０．５）の位置３００でのスレオニンからアラニンへの変化に対応するＡからＧへの転移として配列番号３１（ＮＭ＿０３０８０３．６）の位置１１５５に位置する。

【０１０７】

[0108]Ｂ．サイトカイン

試料中の少なくとも１つのサイトカインの存在又はレベルの決定は、本発明において有用である。本明細書中で使用する用語「サイトカイン」には、様々な免疫系の機能を調節する免疫細胞によって分泌された様々なポリペプチド又はタンパク質のうちの任意のものが含まれ、ケモカインなどの小サイトカインが包含される。また、用語「サイトカイン」には、たとえば体重、造血、血管形成、創傷治癒、インスリン耐性、免疫応答、及び炎症反応の調節において機能する脂肪細胞によって分泌されたサイトカインの群を含む、アディポサイトカインも含まれる。

【０１０８】

[0109]特定の態様では、それだけには限定されないが、ＴＮＦ－α、ＴＮＦ関連のアポトーシスの弱い誘導因子（ＴＷＥＡＫ）、オステオプロテゲリン（ＯＰＧ）、ＩＦＮ－α、ＩＦＮ－β、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１α、ＩＬ－１β、ＩＬ－１受容体拮抗剤（ＩＬ－１ｒａ）、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、可溶性ＩＬ－６受容体（ｓＩＬ－６Ｒ）、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ－１５、ＩＬ－１７、ＩＬ－２３、及びＩＬ－２７を含めた少なくとも１つのサイトカインの存在又はレベルを、試料中で決定する。特定の他の態様では、たとえば、ＣＸＣＬ１／ＧＲＯ１／ＧＲＯα、ＣＸＣＬ２／ＧＲＯ２、ＣＸＣＬ３／ＧＲＯ３、ＣＸＣＬ４／ＰＦ－４、ＣＸＣＬ５／ＥＮＡ－７８、ＣＸＣＬ６／ＧＣＰ－２、ＣＸＣＬ７／ＮＡＰ－２、ＣＸＣＬ９／ＭＩＧ、ＣＸＣＬ１０／ＩＰ－１０、ＣＸＣＬ１１／Ｉ－ＴＡＣ、ＣＸＣＬ１２／ＳＤＦ－１、ＣＸＣＬ１３／ＢＣＡ－１、ＣＸＣＬ１４／ＢＲＡＫ、ＣＸＣＬ１５、ＣＸＣＬ１６、ＣＸＣＬ１７／ＤＭＣ、ＣＣＬ１、ＣＣＬ２／ＭＣＰ－１、ＣＣＬ３／ＭＩＰ－１α、ＣＣＬ４／ＭＩＰ－１β、ＣＣＬ５／ＲＡＮＴＥＳ、ＣＣＬ６／Ｃ１０、ＣＣＬ７／ＭＣＰ－３、ＣＣＬ８／ＭＣＰ－２、ＣＣＬ９／ＣＣＬ１０、ＣＣＬ１１／エオ

タキシン、ＣＣＬ１２／ＭＣＰ－５、ＣＣＬ１３／ＭＣＰ－４、ＣＣＬ１４／ＨＣＣ－１、ＣＣＬ１５／ＭＩＰ－５、ＣＣＬ１６／ＬＥＣ、ＣＣＬ１７／ＴＡＲＣ、ＣＣＬ１８／ＭＩＰ－４、ＣＣＬ１９／ＭＩＰ－３β、ＣＣＬ２０／ＭＩＰ－３α、ＣＣＬ２１／ＳＬＣ、ＣＣＬ２２／ＭＤＣ、ＣＣＬ２３／ＭＰＩＦ１、ＣＣＬ２４／エオタキシン－２、ＣＣＬ２５／ＴＥＣＫ、ＣＣＬ２６／エオタキシン－３、ＣＣＬ２７／ＣＴＡＣＫ、ＣＣＬ２８／ＭＥＣ、ＣＬ１、ＣＬ２、及びCX_3CL1などの少なくとも１つのケモカインの存在又はレベルを、試料中で決定する。特定のさらなる態様では、それだけには限定されないが、レプチン、アディポネクチン、レジスチン、活性又は全プラスミノーゲン活性化阻害剤－１（ＰＡＩ－１）、ビスファチン、及びレチノール結合タンパク質４（ＲＢＰ４）を含めた少なくとも１つのアディポサイトカインの存在又はレベルを、試料中で決定する。好ましくは、ＩＬ－６、ＩＬ－１β、及び／又はＴＷＥＡＫの存在又はレベルを決定する。

【０１０９】

[0110]特定の場合では、特定のサイトカインの存在又はレベルは、たとえばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅に基づくアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。特定の他の場合では、特定のサイトカインの存在又はレベルは、たとえば免疫アッセイ（たとえばＥＬＩＳＡ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。血清、血漿、唾液、又は尿試料中のＩＬ－６、ＩＬ－１β、又はＴＷＥＡＫなどのサイトカインの存在又はレベルを決定するための適切なＥＬＩＳＡキットは、たとえば、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ．（ミネソタ州Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ）、Ｎｅｏｇｅｎ Ｃｏｒｐ．（ケンタッキー州Ｌｅｘｉｎｇｔｏｎ）、Ａｌｐｃｏ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ（ニューハンプシャー州Ｓａｌｅｍ）、Ａｓｓａｙ Ｄｅｓｉｇｎｓ，Ｉｎｃ．（ミシガン州Ａｎｎ Ａｒｂｏｒ）、ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ（カリフォルニア州Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ）、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（カリフォルニア州Ｃａｍａｒｉｌｌｏ）、Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ（カリフォルニア州Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ）、ＣＨＥＭＩＣＯＮ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．（カリフォルニア州Ｔｅｍｅｃｕｌａ）、Ａｎｔｉｇｅｎｉｘ Ａｍｅｒｉｃａ Ｉｎｃ．（ニューヨーク州Ｈｕｎｔｉｎｇｔｏｎ Ｓｔａｔｉｏｎ）、ＱＩＡＧＥＮ Ｉｎｃ．（カリフォルニア州Ｖａｌｅｎｃｉａ）、Ｂｉｏ－Ｒａｄ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．（カリフォルニア州Ｈｅｒｃｕｌｅｓ）、及び／又はＢｅｎｄｅｒ ＭｅｄＳｙｓｔｅｍｓ Ｉｎｃ．（カリフォルニア州Ｂｕｒｌｉｎｇａｍｅ）から入手可能である。

【０１１０】

[0111]ヒトＩＬ－６ポリペプチド配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿０００５９１（配列番号１）に記載されている。ヒトＩＬ－６ ｍＲＮＡ（コード）配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿０００６００（配列番号２）に記載されている。当業者には、ＩＬ－６がインターフェロンベータ２（ＩＦＮＢ２）、ＨＧＦ、ＨＳＦ、及びＢＳＦ２としても知られていることが理解されよう。

【０１１１】

[0112]ヒトＩＬ－１βポリペプチド配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿０００５６７（配列番号３）に記載されている。ヒトＩＬ－１β ｍＲＮＡ（コード）配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿０００５７６（配列番号４）に記載されている。当業者には、ＩＬ－１βがＩＬ１Ｆ２及びＩＬ－１ベータとしても知られていることが理解されよう。

【０１１２】

[0113]ヒトＴＷＥＡＫポリペプチド配列は、たとえば、Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿００３８００（配列番号５）及びＡＡＣ５１９２３に記載されている。ヒトＴＷＥＡＫ ｍＲＮＡ（コード）配列は、たとえば、Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿００３８０９（配列番号６）及びＢＣ１０４４２０に記載されている。当業者には、ＴＷＥＡＫが腫瘍壊死因子リガンドスーパーファミリーメンバー１２（ＴＮＦＳＦ１２）、ＡＰＯ３リガンド（

ＡＰＯ３Ｌ）、ＣＤ２５５、ＤＲ３リガンド、成長因子誘導性１４（Ｆｎ１４）リガンド、及びＵＮＱ１８１／ＰＲＯ２０７としても知られていることが理解されよう。

【０１１３】

[0114]Ｃ．成長因子

また、試料中の１つ又は複数の成長因子の存在又はレベルの決定も、本発明において有用である。本明細書中で使用する用語「成長因子」には、細胞増殖及び／又は細胞分化を刺激することができる様々なペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質のうちの任意のものが含まれる。

【０１１４】

[0115]特定の態様では、それだけには限定されないが、表皮成長因子（ＥＧＦ）、ヘパリン結合表皮成長因子（ＨＢ－ＥＧＦ）、血管内皮成長因子（ＶＥＧＦ）、色素上皮由来因子（ＰＥＤＦ、セルピンＦ１としても知られる）、アンフィレギュリン（ＡＲＥＧ、シュワン腫由来成長因子（ＳＤＧＦ）としても知られる）、塩基性線維芽細胞成長因子（ｂＦＧＦ）、肝細胞成長因子（ＨＧＦ）、トランスフォーミング成長因子－α（ＴＧＦ－α）、トランスフォーミング成長因子－β（ＴＧＦ－β）、骨形成タンパク質（たとえばＢＭＰ１～ＢＭＰ１５）、血小板由来成長因子（ＰＤＧＦ）、神経成長因子（ＮＧＦ）、β－神経成長因子（β－ＮＧＦ）、神経栄養因子（たとえば、脳由来神経栄養因子（ＢＤＮＦ）、ニューロトロフィン３（ＮＴ３）、ニューロトロフィン４（ＮＴ４）など）、成長分化因子－９（ＧＤＦ－９）、顆粒球－コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）、顆粒球－マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）、ミオスタチン（ＧＤＦ－８）、エリスロポエチン（ＥＰＯ）、及びトロンボポエチン（ＴＰＯ）を含めた少なくとも１つの成長因子の存在又はレベルを、試料中で決定する。好ましくは、ＥＧＦの存在又はレベルを決定する。

【０１１５】

[0116]特定の場合では、特定の成長因子の存在又はレベルは、たとえばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅に基づくアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。特定の他の場合では、特定の成長因子の存在又はレベルは、たとえば免疫アッセイ（たとえばＥＬＩＳＡ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。血清、血漿、唾液、又は尿試料中のＥＧＦなどの成長因子の存在又はレベルを決定するための適切なＥＬＩＳＡキットは、たとえば、Ａｎｔｉｇｅｎｉｘ Ａｍｅｒｉｃａ Ｉｎｃ．（ニューヨーク州Ｈｕｎｔｉｎｇｔｏｎ Ｓｔａｔｉｏｎ）、Ｐｒｏｍｅｇａ（ウィスコンシン州Ｍａｄｉｓｏｎ）、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ．（ミネソタ州Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ）、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（カリフォルニア州Ｃａｍａｒｉｌｌｏ）、ＣＨＥＭＩＣＯＮ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．（カリフォルニア州Ｔｅｍｅｃｕｌａ）、Ｎｅｏｇｅｎ Ｃｏｒｐ．（ケンタッキー州Ｌｅｘｉｎｇｔｏｎ）、ＰｅｐｒｏＴｅｃｈ（ニュージャージー州Ｒｏｃｋｙ Ｈｉｌｌ）、Ａｌｐｃｏ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ（ニューハンプシャー州Ｓａｌｅｍ）、Ｐｉｅｒｃｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．（イリノイ州Ｒｏｃｋｆｏｒｄ）、及び／又はＡｂａｚｙｍｅ（マサチューセッツ州Ｎｅｅｄｈａｍ）から入手可能である。

【０１１６】

[0117]ヒト表皮成長因子（ＥＧＦ）ポリペプチド配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿００１９５４（配列番号７）に記載されている。ヒトＥＧＦ ｍＲＮＡ（コード）配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１９６３（配列番号８）に記載されている。当業者には、ＥＧＦがベーターウロガストロン、ＵＲＧ、及びＨＯＭＧ４としても知られていることが理解されよう。

【０１１７】

[0118]Ｄ．抗好中球抗体

また、試料中のＡＮＣＡレベル及び／又はｐＡＮＣＡの存在若しくは非存在の決定も、本発明において有用である。本明細書中で使用する用語「抗好中球細胞質抗体」すなわち「ＡＮＣＡ」には、好中球の細胞質及び／又は核成分に向けられた抗体が含まれる。ＡＮ

ＣＡ活性は、好中球中のＡＮＣＡ染色パターンに基づいていくつかの広義なカテゴリー、すなわち、（１）核周囲型のハイライトのない細胞質好中球染色（ｃＡＮＣＡ）、（２）核の外縁の周りの核周囲染色（ｐＡＮＣＡ）、（３）核の内縁の周りの核周囲染色（ＮＳＮＡ）、及び（４）好中球全体にわたって点在する広汎性染色（ＳＡＰＰＡ）に分けることができる。特定の場合では、ｐＡＮＣＡ染色はＤＮａｓｅ処理に感受性がある。用語ＡＮＣＡには、それだけには限定されないが、ｃＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ、ＮＳＮＡ、及びＳＡＰＰＡを含めた、抗好中球反応性のすべての種類が包含される。同様に、用語ＡＮＣＡには、それだけには限定されないが免疫グロブリンＡ及びＧを含めたすべての免疫グロブリンアイソタイプが包含される。

【０１１８】

[0119]個体からの試料中のＡＮＣＡレベルは、たとえばアルコール固定した好中球を用いた酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）などの免疫アッセイを使用して決定することができる（たとえばＰＣＴ国際公開第２０１０／１２０８１４号パンフレットの実施例１を参照）。ｐＡＮＣＡなどのＡＮＣＡの特定のカテゴリーの存在又は非存在は、たとえば間接蛍光抗体（ＩＦＡ）アッセイなどの免疫組織化学的アッセイを使用して決定することができる。特定の実施形態では、試料中のｐＡＮＣＡの存在又は非存在は、ＤＮａｓｅ処理した固定した好中球を用いた免疫蛍光アッセイを使用して決定する（たとえばＰＣＴ国際公開第２０１０／１２０８１４号パンフレットの実施例２を参照）。固定した好中球に加えて、ヒト抗体に向けられた抗体を検出に使用することができる。また、それだけには限定されないが、未精製又は部分精製の好中球抽出物、ヒストンＨ１又はそのＡＮＣＡ反応性断片などの精製タンパク質、タンパク質断片、又は合成ペプチド（たとえば米国特許第６，０７４，８３５号を参照）、ヒストンＨ１様抗原、ポリン抗原、バクテロイデス（Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｅｓ）抗原、又はそのＡＮＣＡ反応性断片（たとえば米国特許第６，０３３，８６４号を参照）、分泌小胞抗原又はそのＡＮＣＡ反応性断片（たとえば米国特許出願公開第０８／８０４，１０６号を参照）、及び抗ＡＮＣＡイディオタイプ抗体を含めた、ＡＮＣＡに特異的な抗原も、ＡＮＣＡレベルの決定に適している。当業者には、ＡＮＣＡに特異的なさらなる抗原の使用が本発明の範囲内にあることが理解されよう。上述の特許文書のそれぞれの開示は、すべての目的のためにその全体で本明細書中に参考として組み込まれている。

【０１１９】

[0120]Ｅ．抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体

また、試料中のＡＳＣＡ（たとえば、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ、ＡＳＣＡ－ＩｇＧ、ＡＳＣＡ－ＩｇＭなど）の存在又はレベルの決定も、本発明において有用である。用語「抗サッカロマイセス・セレビシエ免疫グロブリンＡ」すなわち「ＡＳＣＡ－ＩｇＡ」には、エス・セレビシエと特異的に反応する免疫グロブリンＡアイソタイプの抗体が含まれる。同様に、用語「抗サッカロマイセス・セレビシエ免疫グロブリンＧ」すなわち「ＡＳＣＡ－ＩｇＧ」には、エス・セレビシエと特異的に反応する免疫グロブリンＧアイソタイプの抗体が含まれる。

【０１２０】

[0121]試料がＡＳＣＡ－ＩｇＡ又はＡＳＣＡ－ＩｇＧについて陽性であるかどうかの決定は、ヒト抗体配列に特異的な抗体又はＡＳＣＡに特異的な抗原を使用して行う。そのような抗原は、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧによって特異的に結合される任意の抗原又は抗原混合物であることができる。ＡＳＣＡ抗体はエス・セレビシエと結合するその能力によって最初に特徴づけられたが、抗原がＡＳＣＡ抗体と特異的に結合することができる限りは、ＡＳＣＡによって特異的に結合される抗原をエス・セレビシエ又は様々な他の供給源から得ることができることが、当業者には理解されよう。したがって、試料中のＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧのレベルを決定するために使用することができるＡＳＣＡに特異的な抗原の例示的な供給源には、それだけには限定されないが、サッカロマイセス属（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ）又はカンジダ属（Ｃａｎｄｉｄａ）細胞などの死滅酵母細胞全体、ホスホペプチドマンナン（ＰＰＭ）などの酵母細胞

壁マンナン、オリゴマンノシドなどのオリゴ糖、ネオ糖脂質、抗ＡＳＣＡイディオタイプ抗体などが含まれる。エス・セレビシエ株Ｓｕ１、Ｓｕ２、ＣＢＳ１３１５、若しくはＢＭ１５６、又はカンジダ・アルビカンス（Ｃａｎｄｉｄａ　ａｌｂｉｃａｎｓ）株ＶＷ３２などの酵母の様々な種及び株が、ＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧに特異的な抗原としての使用に適切である。また、ＡＳＣＡに特異的な精製抗原及び合成抗原も、試料中のＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧのレベルの決定における使用に適切である。精製抗原の例には、それだけには限定されないが、オリゴマンノシドなどの精製オリゴ糖抗原が含まれる。合成抗原の例には、それだけには限定されないが、米国特許出願公開第２００３０１０５０６０号に記載されているものなどの合成オリゴマンノシド、たとえば、Ｄ－Ｍａｎβ（１－２）Ｄ－Ｍａｎβ（１－２）Ｄ－Ｍａｎβ（１－２）Ｄ－Ｍａｎ－ＯＲ、Ｄ－Ｍａｎα（１－２）Ｄ－Ｍａｎα（１－２）Ｄ－Ｍａｎα（１－２）Ｄ－Ｍａｎ－ＯＲ、及びＤ－Ｍａｎα（１－３）Ｄ－Ｍａｎα（１－２）Ｄ－Ｍａｎα（１－２）Ｄ－Ｍａｎ－ＯＲ［式中、Ｒは水素原子、C_1～C_{20}アルキル、又は任意選択で標識された連結基である］が含まれる。

【０１２１】

[0122]酵母細胞壁マンナン、たとえばＰＰＭの調製物を、試料中のＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧのレベルの決定に使用することができる。そのような水溶性表面抗原は、たとえばオートクレーブを含めた当分野で知られている任意の適切な抽出技法によって調製することができるか、又は商業的に入手することができる（たとえばＬｉｎｄｂｅｒｇら、Ｇｕｔ、３３：９０９～９１３（１９９２）を参照）。また、ＰＰＭの酸安定性画分は、本発明の統計アルゴリズムにおいても有用である（Ｓｅｎｄｉｄら、Ｃｌｉｎ．Ｄｉａｇ．Ｌａｂ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、３：２１９～２２６（１９９６））。試料中のＡＳＣＡレベルの決定に有用な例示的なＰＰＭは、エス・ウバルム（Ｓ．ｕｖａｒｕｍ）株ＡＴＣＣ＃３８９２６に由来する。その開示がすべての目的のためにその全体で本明細書中に参考として組み込まれているＰＣＴ国際公開第２０１０／１２０８１４号パンフレットの実施例３は、酵母細胞ウェル（ｗｅｌｌ）マンナンの調製及びＥＬＩＳＡアッセイを使用した試料中のＡＳＣＡレベルの分析を記載している。

【０１２２】

[0123]また、オリゴマンノシドなどの精製オリゴ糖抗原も、試料中のＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／又はＡＳＣＡ－ＩｇＧのレベルの決定に有用な可能性がある。精製オリゴマンノシド抗原は、たとえばＦａｉｌｌｅら、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｉｎｆｅｃｔ．Ｄｉｓ．、１１：４３８～４４６（１９９２）に記載されているように、好ましくはネオ糖脂質へと変換する。そのようなオリゴマンノシド抗原とＡＳＣＡとの反応性は、マンノシル鎖の長さ（Ｆｒｏｓｈら、Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８２：１１９４～１１９８（１９８５））、アノマー立体配置（Ｆｕｋａｚａｗａら、「Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｆｕｎｇａｌ　Ｄｉｓｅａｓｅ」、Ｅ．Ｋｕｒｓｔａｋ（編）、Ｍａｒｃｅｌ　Ｄｅｋｋｅｒ　Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、ページ３７～６２（１９８９）、Ｎｉｓｈｉｋａｗａら、Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、３４：８２５～８４０（１９９０）、Ｐｏｕｌａｉｎら、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．、２３：４６～５２（１９９３）、Ｓｈｉｂａｔａら、Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．、２４３：３３８～３４８（１９８５）、Ｔｒｉｎｅｌら、Ｉｎｆｅｃｔ．Ｉｍｍｕｎ．、６０：３８４５～３８５１（１９９２））、又は結合の位置（Ｋｉｋｕｃｈｉら、Ｐｌａｎｔａ、１９０：５２５～５３５（１９９３））を変動させることによって最適化できることを、当業者には理解されよう。

【０１２３】

[0124]本発明の方法で使用するための適切なオリゴマンノシドには、それだけには限定されないが、マンノテトラオースＭａｎ（１－３）Ｍａｎ（１－２）Ｍａｎ（１－２）Ｍａｎを有するオリゴマンノシドが含まれる。そのようなオリゴマンノシドは、たとえばＦａｉｌｌｅら、上記に記載のように、ＰＰＭから精製することができる。ＡＳＣＡに特異的な例示的なネオ糖脂質は、オリゴマンノシドをその対応するＰＰＭから放出させ、続い

て放出されたオリゴマンノシドを４－ヘキサデシルアニリンなどとカップリングさせることによって構築することができる。

【０１２４】

[0125]Ｆ．抗微生物抗体

また、試料中の抗ＯｍｐＣ抗体の存在又はレベルの決定も、本発明において有用である。本明細書中で使用する用語「抗外膜タンパク質Ｃ抗体」すなわち「抗ＯｍｐＣ抗体」には、たとえば、その開示がすべての目的のためにその全体で本明細書中に参考として組み込まれている、米国特許第７，１３８，２３７号及びＰＣＴ国際公開第０１／８９３６１号パンフレットに記載されている、細菌外膜ポリンに向けられた抗体が含まれる。用語「外膜タンパク質Ｃ」すなわち「ＯｍｐＣ」とは、抗ＯｍｐＣ抗体と免疫反応性の細菌ポリンをいう。

【０１２５】

[0126]個体からの試料中に存在する抗ＯｍｐＣ抗体のレベルは、ＯｍｐＣタンパク質又はその免疫反応性断片などのその断片を使用して決定することができる。試料中の抗ＯｍｐＣ抗体レベルを決定するために有用な適切なＯｍｐＣ抗原には、それだけには限定されないが、ＯｍｐＣタンパク質、ＯｍｐＣタンパク質と実質的に同じアミノ酸配列を有するＯｍｐＣポリペプチド、又はその免疫反応性断片などのその断片が含まれる。本明細書中で使用するＯｍｐＣポリペプチドは、一般に、ＯｍｐＣタンパク質と約５０％より高い同一性、好ましくは約６０％より高い同一性、より好ましくは約７０％より高い同一性、さらにより好ましくは約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％より高いアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを説明し、アミノ酸同一性はＣＬＵＳＴＡＬＷなどの配列アラインメントプログラムを使用して決定する。そのような抗原は、たとえば、イー・コリ（Ｅ．ｃｏｌｉ）などの腸内細菌からの精製によって、Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号Ｋ００５４１などの核酸の組換え発現によって、液相若しくは固相ペプチド合成などの合成手段によって、又はファージディスプレイを使用することによって調製することができる。その開示がすべての目的のためにその全体で本明細書中に参考として組み込まれているＰＣＴ国際公開第２０１０／１２０８１４号パンフレットの実施例４は、ＯｍｐＣタンパク質の調製及びＥＬＩＳＡアッセイを使用した試料中の抗ＯｍｐＣ抗体レベルの分析を記載している。

【０１２６】

[0127]また、試料中の抗Ｉ２抗体の存在又はレベルの決定も、本発明において有用である。本明細書中で使用する用語「抗Ｉ２抗体」には、たとえば、その開示がすべての目的のためにその全体で本明細書中に参考として組み込まれている米国特許第６，３０９，６４３号に記載されている、細菌転写調節因子と相同性を共有する微生物抗原に向けられた抗体が含まれる。用語「Ｉ２」とは、抗Ｉ２抗体と免疫反応性の微生物抗原をいう。微生物Ｉ２タンパク質は、シー・パスツーリアヌム（Ｃ．ｐａｓｔｅｕｒｉａｎｕｍ）からの予測タンパク質４、マイコバクテリウム・ツベルクローシス（Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓ）からのＲｖ３５５７ｃ、及びアクリフェックス・エオリカス（Ａｑｕｉｆｅｘ　ａｅｏｌｉｃｕｓ）からの転写調節因子とある程度の類似度の弱い相同性を共有する、１００個のアミノ酸のポリペプチドである。Ｉ２タンパク質の核酸及びタンパク質の配列は、たとえば米国特許第６，３０９，６４３号に記載されている。

【０１２７】

[0128]個体からの試料中に存在する抗Ｉ２抗体のレベルは、Ｉ２タンパク質又はその免疫反応性断片などのその断片を使用して決定することができる。試料中の抗Ｉ２抗体レベルを決定するために有用な適切なＩ２抗原には、それだけには限定されないが、Ｉ２タンパク質、Ｉ２タンパク質と実質的に同じアミノ酸配列を有するＩ２ポリペプチド、又はその免疫反応性断片などのその断片が含まれる。そのようなＩ２ポリペプチドは、Ｉ２タンパク質に対してシー・パスツーリアヌムタンパク質４よりも高い配列類似度を示し、そのアイソタイプ変異体及び相同体が含まれる。本明細書中で使用するＩ２ポリペプチドは、一般に、天然に存在するＩ２タンパク質と約５０％より高い同一性、好ましくは約６０％

より高い同一性、より好ましくは約７０％より高い同一性、さらにより好ましくは約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％より高いアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを説明し、アミノ酸同一性はＣＬＵＳＴＡＬＷなどの配列アラインメントプログラムを使用して決定する。そのようなＩ２抗原は、たとえば、微生物からの精製によって、Ｉ２抗原をコードしている核酸の組換え発現によって、液相若しくは固相ペプチド合成などの合成手段によって、又はファージディスプレイを使用することによって調製することができる。試料中の抗Ｉ２抗体レベルの決定は、ＥＬＩＳＡアッセイ（たとえば、その開示がすべての目的のためにその全体で本明細書中に参考として組み込まれているＰＣＴ国際公開第２０１０／１２０８１４号パンフレットの実施例５、２０、及び２２を参照）又は組織学的アッセイを使用して行うことができる。

【０１２８】

[0129]また、試料中の抗フラゲリン抗体の存在又はレベルの決定も、本発明において有用である。本明細書中で使用する用語「抗フラゲリン抗体」には、たとえば、その開示がすべての目的のためにその全体で本明細書中に参考として組み込まれている、米国特許第７，３６１，７３３号及びＰＣＴ特許国際公開第０３／０５３２２０号パンフレットに記載されている、細菌鞭毛のタンパク質成分に向けられた抗体が含まれる。用語「フラゲリン」とは、抗フラゲリン抗体と免疫反応性の細菌鞭毛タンパク質をいう。微生物フラゲリンには、たとえば、自身を中空の円柱に配置してフィラメントを形成する、細菌鞭毛中に見つかるタンパク質が含まれる。

【０１２９】

[0130]個体からの試料中に存在する抗フラゲリン抗体のレベルは、フラゲリンタンパク質又はその免疫反応性断片などのその断片を使用して決定することができる。試料中の抗フラゲリン抗体レベルを決定するために有用な適切なフラゲリン抗原には、それだけには限定されないが、Ｃｂｉｒ－１フラゲリン、フラゲリンＸ、フラゲリンＡ、フラゲリンＢ、その断片、及びその組合せなどのフラゲリンタンパク質、フラゲリンタンパク質と実質的に同じアミノ酸配列を有するフラゲリンポリペプチド、又はその免疫反応性断片などのその断片が含まれる。本明細書中で使用するフラゲリンポリペプチドは、一般に、天然に存在するフラゲリンタンパク質と約５０％より高い同一性、好ましくは約６０％より高い同一性、より好ましくは約７０％より高い同一性、さらにより好ましくは約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％より高いアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを説明し、アミノ酸同一性はＣＬＵＳＴＡＬＷなどの配列アラインメントプログラムを使用して決定する。そのようなフラゲリン抗原は、たとえば、ヘリコバクター・ビリス（Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ Ｂｉｌｉｓ）、ヘリコバクター・ムステラエ（Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ ｍｕｓｔｅｌａｅ）、ヘリコバクター・ピロリ（Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ ｐｙｌｏｒｉ）、ブチリビブリオ・フィブリソルベンス（Ｂｕｔｙｒｉｖｉｂｒｉｏ ｆｉｂｒｉｓｏｌｖｅｎｓ）、及び盲腸中に見つかる細菌などの細菌からの精製によって、フラゲリン抗原をコードしている核酸の組換え発現によって、液相若しくは固相ペプチド合成などの合成手段によって、又はファージディスプレイを使用することによって調製することができる。試料中の抗フラゲリン（たとえば抗Ｃｂｉｒ－１）抗体レベルの決定は、ＥＬＩＳＡアッセイ又は組織学的アッセイを使用して行うことができる。

【０１３０】

[0131]Ｇ．急性期タンパク質

また、試料中の１つ又は複数の急性期タンパク質の存在又はレベルの決定も、本発明において有用である。急性期タンパク質とは、その血漿濃度が炎症に応答して増加（陽性急性期タンパク質）又は減少（陰性急性期タンパク質）するタンパク質のクラスである。この応答は急性期反応（ａｃｕｔｅ－ｐｈａｓｅ ｒｅａｃｔｉｏｎ）と呼ばれる（急性期反応（ａｃｕｔｅ－ｐｈａｓｅ ｒｅｓｐｏｎｓｅ）とも呼ばれる）。陽性急性期タンパク質の例には、それだけには限定されないが、Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）、Ｄ－二量

体タンパク質、マンノース－結合タンパク質、アルファ１－抗トリプシン、アルファ１－抗キモトリプシン、アルファ２－マクログロブリン、フィブリノーゲン、プロトロンビン、第ＶＩＩＩ因子、フォンウィルブランド因子、プラスミノーゲン、補体因子、フェリチン、血清アミロイドＰ成分、血清アミロイドＡ（ＳＡＡ）、オロソムコイド（アルファ１－酸糖タンパク質、ＡＧＰ）、セルロプラスミン、ハプトグロビン、及びその組合せが含まれる。陰性急性期タンパク質の非限定的な例には、アルブミン、トランスフェリン、トランスサイレチン、トランスコルチン、レチノール－結合タンパク質、及びその組合せが含まれる。好ましくは、ＣＲＰ及び／又はＳＡＡの存在又はレベルを決定する。

【０１３１】

[0132]特定の場合では、特定の急性期タンパク質の存在又はレベルは、たとえばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅に基づくアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。特定の他の場合では、特定の急性期タンパク質の存在又はレベルは、たとえば免疫アッセイ（たとえばＥＬＩＳＡ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。たとえば、Ａｌｐｃｏ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ（ニューハンプシャー州Ｓａｌｅｍ）から入手可能なサンドイッチ比色ＥＬＩＳＡアッセイを使用して、血清、血漿、尿、又は糞便試料中のＣＲＰのレベルを決定することができる。同様に、Ｂｉｏｍｅｄａ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ（カリフォルニア州Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ）から入手可能なＥＬＩＳＡキットを使用して、試料中のＣＲＰレベルを検出することができる。試料中のＣＲＰレベルを決定するための他の方法は、たとえば、その開示がすべての目的のためにその全体で本明細書中に参考として組み込まれている、米国特許第６，８３８，２５０号及び第６，４０６，８６２号、並びに米国特許出願公開第２００６００２４６８２号及び第２００６００１９４１０号に記載されている。ＣＲＰレベルを決定するためのさらなる方法には、たとえば、免疫比濁測定アッセイ、迅速免疫拡散アッセイ、及び視覚的凝集アッセイが含まれる。

【０１３２】

[0133]Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）とは、血液中で炎症に応答して見つかるタンパク質である（急性期タンパク質）。ＣＲＰは、典型的には肝臓及び脂肪細胞（ｆａｔ ｃｅｌｌ）（脂肪細胞（ａｄｉｐｏｃｙｔｅ））によって産生される。ＣＲＰはペントラキシンのタンパク質ファミリーのメンバーである。ヒトＣＲＰポリペプチド配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿０００５５８（配列番号９）に記載されている。ヒトＣＲＰ ｍＲＮＡ（コード）配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿０００５６７（配列番号１０）に記載されている。当業者には、ＣＲＰがＰＴＸ１、ＭＧＣ８８２４４、及びＭＧＣ１４９８９５としても知られていることが理解されよう。

【０１３３】

[0134]Ｈ．アポリポタンパク質

また、試料中の１つ又は複数のアポリポタンパク質の存在又はレベルの決定も、本発明において有用である。アポリポタンパク質とは、脂肪（脂質）と結合するタンパク質である。これらは、血流を通って食事性脂肪を輸送するリポタンパク質を形成する。食事性脂肪は腸管内で消化され、肝臓へと運ばれる。また、脂肪は肝臓自体中でも合成される。脂肪は脂肪細胞（ｆａｔ ｃｅｌｌ）（脂肪細胞（ａｄｉｐｏｃｙｔｅ））内で貯蔵される。脂肪は格筋、心臓、及び他の器官において必要に応じてエネルギーのために代謝され、母乳中で分泌される。また、アポリポタンパク質は、酵素補因子、受容体リガンド、並びにリポタンパク質の代謝及び組織中へのその取り込みを調節する脂質輸送担体としても役割を果たす。アポリポタンパク質の例には、それだけには限定されないが、ＡｐｏＡ（たとえば、ＡｐｏＡ－Ｉ、ＡｐｏＡ－ＩＩ、ＡｐｏＡ－ＩＶ、ＡｐｏＡ－Ｖ）、ＡｐｏＢ（たとえば、ＡｐｏＢ４８、ＡｐｏＢ１００）、ＡｐｏＣ（たとえば、ＡｐｏＣ－Ｉ、ＡｐｏＣ－ＩＩ、ＡｐｏＣ－ＩＩＩ、ＡｐｏＣ－ＩＶ）、ＡｐｏＤ、ＡｐｏＥ、ＡｐｏＨ、血清アミロイドＡ（ＳＡＡ）、及びその組合せが含まれる。好ましくは、ＳＡＡの存在又はレベルを決定する。

【０１３４】

[0135]特定の場合では、特定のアポリポタンパク質の存在又はレベルは、たとえばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅に基づくアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。特定の他の場合では、特定のアポリポタンパク質の存在又はレベルは、たとえば免疫アッセイ（たとえばＥＬＩＳＡ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。血清、血漿、唾液、尿、又は大便などの試料中のＳＡＡの存在又はレベルを決定するための適切なＥＬＩＳＡキットは、たとえば、Ａｎｔｉｇｅｎｉｘ Ａｍｅｒｉｃａ Ｉｎｃ．（ニューヨーク州Ｈｕｎｔｉｎｇｔｏｎ Ｓｔａｔｉｏｎ）、Ａｂａｚｙｍｅ（マサチューセッツ州Ｎｅｅｄｈａｍ）、ＵＳＣＮ Ｌｉｆｅ（テキサス州Ｍｉｓｓｏｕｒｉ Ｃｉｔｙ）、及び／又はＵ．Ｓ．Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ（マサチューセッツ州Ｓｗａｍｐｓｃｏｔｔ）から入手可能である。

【０１３５】

[0136]血清アミロイドＡ（ＳＡＡ）タンパク質とは、血漿中の高密度リポタンパク質（ＨＤＬ）に関連づけられているアポリポタンパク質のファミリーである。ＳＡＡの様々なアイソフォームが、様々なレベルで構成的に（構成的ＳＡＡ）又は炎症性刺激に応答して（急性期ＳＡＡ）発現されている。これらのタンパク質は、主に肝臓によって産生される。無脊椎動物及び脊椎動物の全体にわたってこれらのタンパク質が保存されていることは、ＳＡＡがすべての動物において非常に重要な役割を果たすことを示唆している。急性期血清アミロイドＡタンパク質（Ａ－ＳＡＡ）は炎症の急性期中に分泌される。ヒトＳＡＡポリペプチド配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿０００３２２（配列番号１１）に記載されている。ヒトＳＡＡ ｍＲＮＡ（コード）配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿０００３３１（配列番号１２）に記載されている。当業者には、ＳＡＡがＰＩＧ４、ＴＰ５３Ｉ４、ＭＧＣ１１１２１６、及びＳＡＡ１としても知られていることが理解されよう。

【０１３６】

[0137]Ｉ．デフェンシン

また、試料中の１つ又は複数のデフェンシンの存在又はレベルの決定も、本発明において有用である。デフェンシンとは、脊椎動物及び無脊椎動物のどちらにおいても見つかるシステインに富んだ小さな陽イオンタンパク質である。これらは細菌、真菌、並びに多くの外被及び非外被ウイルスに対して活性である。これらは、６個（脊椎動物中）～８個の保存的なシステイン残基を含めた１８～４５個のアミノ酸から典型的になる。免疫系の細胞は、たとえば好中性顆粒球及びほぼすべての上皮細胞において、貪食された細菌の死滅を補助するためにこれらのペプチドを含有する。ほとんどのデフェンシンは、微生物細胞膜と結合することによって機能し、包埋された後、必須のイオン及び栄養素の流出を可能にする孔様の膜欠損を形成する。デフェンシンの非限定的な例には、α－デフェンシン（たとえば、ＤＥＦＡ１、ＤＥＦＡ１Ａ３、ＤＥＦＡ３、ＤＥＦＡ４）、β－デフェンシン（たとえば、βデフェンシン－１（ＤＥＦＢ１）、βデフェンシン－２（ＤＥＦＢ２）、ＤＥＦＢ１０３Ａ／ＤＥＦＢ１０３Ｂ～ＤＥＦＢ１０７Ａ／ＤＥＦＢ１０７Ｂ、ＤＥＦＢ１１０～ＤＥＦＢ１３３）、及びその組合せが含まれる。好ましくは、ＤＥＦＢ１及び／又はＤＥＦＢ２の存在又はレベルを決定する。

【０１３７】

[0138]特定の場合では、特定のデフェンシンの存在又はレベルは、たとえばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅に基づくアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。特定の他の場合では、特定のデフェンシンの存在又はレベルは、たとえば免疫アッセイ（たとえばＥＬＩＳＡ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。血清、血漿、唾液、尿、又は大便などの試料中のＤＥＦＢ１及び／又はＤＥＦＢ２の存在又はレベルを決定するための適切なＥＬＩＳＡキットは、たとえば、Ａｌｐｃｏ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ（ニューハンプシャー州Ｓａｌｅｍ）、Ａｎｔｉｇｅｎｉｘ Ａｍｅｒｉｃａ Ｉｎｃ．（ニューヨーク州Ｈｕｎｔｉｎｇｔｏｎ Ｓｔａｔｉｏｎ）、ＰｅｐｒｏＴｅｃｈ（ニュージャージー州Ｒｏｃｋｙ Ｈｉｌｌ）、及び／又はＡｌｐｈａ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃ Ｉｎｔｌ．Ｉｎｃ．（テキサス州

Ｓａｎ　Ａｎｔｏｎｉｏ）から入手可能である。

【０１３８】

[0139]β－デフェンシンは、微生物コロニー形成に対する上皮表面の耐性に関連づけられている抗微生物ペプチドである。これらはすべてのデフェンシンの中で最も広く分布しており、白血球及び多種の上皮細胞によって分泌される。たとえば、これらは舌、皮膚、角膜、唾液腺、腎臓、食道、及び気道上に見つけることができる。ヒトＤＥＦＢ１ポリペプチド配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿００５２０９（配列番号１３）に記載されている。ヒトＤＥＦＢ１　ｍＲＮＡ（コード）配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿００５２１８（配列番号１４）に記載されている。当業者には、ＤＥＦＢ１がＢＤ１、ＨＢＤ１、ＤＥＦＢ－１、ＤＥＦＢ１０１、及びＭＧＣ５１８２２としても知られていることが理解されよう。ヒトＤＥＦＢ２ポリペプチド配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿００４９３３（配列番号１５）に記載されている。ヒトＤＥＦＢ２　ｍＲＮＡ（コード）配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿００４９４２（配列番号１６）に記載されている。当業者には、ＤＥＦＢ２がＳＡＰ１、ＨＢＤ－２、ＤＥＦＢ－２、ＤＥＦＢ１０２、及びＤＥＦＢ４としても知られていることが理解されよう。

【０１３９】

[0140]Ｊ．カドヘリン

また、試料中の１つ又は複数のカドヘリンの存在又はレベルの決定も、本発明において有用である。カドヘリンとは、細胞接着において重要な役割を果たしており、組織内の細胞が一緒に結合されていることを確実にする、１型膜貫通タンパク質のクラスである。これらは機能するためにカルシウム（Ca^{2+}）イオンに依存する。カドヘリンスーパーファミリーには、カドヘリン、プロトカドヘリン、デスモグレイン、及びデスモコリンなどが含まれる。構造的には、これらは細胞外Ca^{2+}－結合ドメインであるカドヘリン反復を共有する。本発明における使用に適したカドヘリンには、それだけには限定されないが、ＣＤＨ１－Ｅ－カドヘリン（上皮）、ＣＤＨ２－Ｎ－カドヘリン（中性）、ＣＤＨ１２－カドヘリン１２、２型（Ｎ－カドヘリン２）、ＣＤＨ３－Ｐ－カドヘリン（胎盤）、ＣＤＨ４－Ｒ－カドヘリン（網膜）、ＣＤＨ５－ＶＥ－カドヘリン（血管内皮）、ＣＤＨ６－Ｋ－カドヘリン（腎臓）、ＣＤＨ７－カドヘリン７、２型、ＣＤＨ８－カドヘリン８、２型、ＣＤＨ９－カドヘリン９、２型（Ｔ１－カドヘリン）、ＣＤＨ１０－カドヘリン１０、２型（Ｔ２－カドヘリン）、ＣＤＨ１１－ＯＢ－カドヘリン（骨芽細胞）、ＣＤＨ１３－Ｔ－カドヘリン－Ｈ－カドヘリン（心臓）、ＣＤＨ１５－Ｍ－カドヘリン（筋小管）、ＣＤＨ１６－ＫＳＰ－カドヘリン、ＣＤＨ１７－ＬＩカドヘリン（肝臓－腸管）、ＣＤＨ１８－カドヘリン１８、２型、ＣＤＨ１９－カドヘリン１９、２型、ＣＤＨ２０－カドヘリン２０、２型、及びＣＤＨ２３－カドヘリン２３（神経感覚上皮）が含まれる。好ましくは、Ｅ－カドヘリンの存在又はレベルを決定する。

【０１４０】

[0141]特定の場合では、特定のカドヘリンの存在又はレベルは、たとえばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅に基づくアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。特定の他の場合では、特定のカドヘリンの存在又はレベルは、たとえば免疫アッセイ（たとえばＥＬＩＳＡ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。血清、血漿、唾液、尿、又は大便などの試料中のＥ－カドヘリンの存在又はレベルを決定するための適切なＥＬＩＳＡキットは、たとえば、Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ．（ミネソタ州Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ）及び／又はＧｅｎＷａｙ　Ｂｉｏｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．（カリフォルニア州Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ）から入手可能である。

【０１４１】

[0142]Ｅ－カドヘリンとは、カドヘリンスーパーファミリーからの古典的カドヘリンである。これは、５つの細胞外カドヘリン反復、１つの膜貫通領域、及び１つの高度に保存的な細胞質側末端からなるカルシウム依存性の細胞間接着糖タンパク質である。Ｅ－カド

ヘリンの外部ドメインは哺乳動物細胞との細菌接着を媒介し、細胞質ドメインは内部移行に必要である。ヒトＥ－カドヘリンポリペプチド配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿００４３５１（配列番号１７）に記載されている。ヒトＥ－カドヘリン　ｍＲＮＡ（コード）配列は、たとえばＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿００４３６０（配列番号１８）に記載されている。当業者には、Ｅ－カドヘリンがＵＶＯ、ＣＤＨＥ、ＥＣＡＤ、ＬＣＡＭ、Ａｒｃ－１、ＣＤ３２４、及びＣＤＨ１としても知られていることが理解されよう。

【０１４２】

[0143]Ｋ．細胞接着分子（ＩｇＳＦ　ＣＡＭ）

また、試料中の１つ又は複数の免疫グロブリンスーパーファミリー細胞接着分子の存在又はレベルの決定も、本発明において有用である。本明細書中で使用する用語「免疫グロブリンスーパーファミリー細胞接着分子」（ＩｇＳＦ　ＣＡＭ）には、１つ又は複数の免疫グロブリン様の折り畳みドメインを有しており、細胞間接着及び／又はシグナル伝達に機能する、細胞の表面に位置する様々なポリペプチド又はタンパク質のうちの任意のものが含まれる。多くの場合、ＩｇＳＦ　ＣＡＭは膜貫通タンパク質である。ＩｇＳＦ　ＣＡＭの非限定的な例には、神経細胞接着分子（ＮＣＡＭ、たとえば、ＮＣＡＭ－１２０、ＮＣＡＭ－１２５、ＮＣＡＭ－１４０、ＮＣＡＭ－１４５、ＮＣＡＭ－１８０、ＮＣＡＭ－１８５など）、細胞間接着分子（ＩＣＡＭ、たとえば、ＩＣＡＭ－１、ＩＣＡＭ－２、ＩＣＡＭ－３、ＩＣＡＭ－４、及びＩＣＡＭ－５）、血管細胞接着分子－１（ＶＣＡＭ－１）、血小板－内皮細胞接着分子－１（ＰＥＣＡＭ－１）、Ｌ１細胞接着分子（Ｌ１ＣＡＭ）、Ｌ１ＣＡＭに相同性を有する細胞接着分子（Ｌ１の近い相同体）（ＣＨＬ１）、シアル酸結合Ｉｇ様レクチン（ＳＩＧＬＥＣ、たとえば、ＳＩＧＬＥＣ－１、ＳＩＧＬＥＣ－２、ＳＩＧＬＥＣ－３、ＳＩＧＬＥＣ－４など）、ネクチン（たとえば、ネクチン－１、ネクチン－２、ネクチン－３など）、並びにネクチン様分子（たとえば、Ｎｅｃｌ－１、Ｎｅｃｌ－２、Ｎｅｃｌ－３、Ｎｅｃｌ－４、及びＮｅｃｌ－５）が含まれる。好ましくは、ＩＣＡＭ－１及び／又はＶＣＡＭ－１の存在又はレベルを決定する。

【０１４３】

[0144]１．細胞間接着分子－１（ＩＣＡＭ－１）

ＩＣＡＭ－１とは、白血球及び内皮細胞の膜中に低濃度で連続的に存在する膜貫通細胞接着タンパク質である。サイトカイン刺激の際、濃度は大きく増加する。ＩＣＡＭ－１はＩＬ－１及びＴＮＦαによって誘導することができ、血管内皮、マクロファージ、及びリンパ球によって発現される。ＩＢＤでは、炎症誘発性サイトカインは、ＩＣＡＭ－１及びＶＣＡＭ－１などの接着分子の発現をアップレギュレーションすることによって炎症を引き起こす。増加した接着分子の発現がより多くのリンパ球を感染した組織に動員し、組織の炎症をもたらす（Ｇｏｋｅら、Ｊ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．、３２：４８０（１９９７）、及びＲｉｊｃｋｅｎら、Ｇｕｔ、５１：５２９（２００２）を参照）。ＩＣＡＭ－１は細胞間接着分子１遺伝子（ＩＣＡＭ１、Ｅｎｔｒｅｚ　ＧｅｎｅＩＤ：３３８３、Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿０００２０１（配列番号１９））によってコードされており、細胞間接着分子１前駆体ポリペプチド（Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿０００１９２（配列番号２０））のプロセッシング後に産生される。

【０１４４】

[0145]２．血管細胞接着分子－１（ＶＣＡＭ－１）

ＶＣＡＭ－１とは、血管内皮へのリンパ球、単球、好酸球、及び好塩基球の接着を媒介する膜貫通細胞接着タンパク質である。内皮細胞におけるサイトカインによるＶＣＡＭ－１の上方制御は、増加した遺伝子転写（たとえば、腫瘍壊死因子－アルファ（ＴＮＦα）及びインターロイキン－１（ＩＬ－１）に応答したもの）の結果として起こる。ＶＣＡＭ－１は血管細胞接着分子１遺伝子（ＶＣＡＭ１、Ｅｎｔｒｅｚ　ＧｅｎｅＩＤ：７４１２）によってコードされており、転写物（Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１０７８（変異体１、配列番号２１）又はＮＭ＿０８０６８２（変異体２））の選択的スプライシング、及び前駆体ポリペプチドスプライスアイソフォーム（Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号ＮＰ＿０

０１０６９（アイソフォームａ、配列番号２２）又はＮＰ＿５４２４１３（アイソフォームｂ））のプロセッシング後に産生される。

【０１４５】

[0146]特定の場合では、ＩｇＳＦ　ＣＡＭの存在又はレベルは、たとえばハイブリダイゼーションアッセイ又は増幅に基づくアッセイなどのアッセイを用いて、ｍＲＮＡ発現のレベルで検出する。特定の他の場合では、ＩｇＳＦ　ＣＡＭの存在又はレベルは、たとえば免疫アッセイ（たとえばＥＬＩＳＡ）又は免疫組織化学的アッセイを使用して、タンパク質発現のレベルで検出する。組織試料、生検、血清、血漿、唾液、尿、又は大便などの試料中のＩＣＡＭ－１及び／又はＶＣＡＭ－１の存在又はレベルを決定するための適切な抗体及び／又はＥＬＩＳＡキットは、たとえば、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（カリフォルニア州Ｃａｍａｒｉｌｌｏ）、Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．（カリフォルニア州Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ）、及び／又はＡｂｃａｍ　Ｉｎｃ．（マサチューセッツ州Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ）から入手可能である。

【０１４６】

[0147]ＶＩ．遺伝子型決定方法

様々な手段を使用して、ＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子、ＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は任意の本明細書中に記載の他の遺伝子マーカー中の多型部位において個体を遺伝子型決定して、試料（たとえば核酸試料）が特定の変異体対立遺伝子又はハプロタイプを含有するかどうかを決定することができる。たとえば、個体からの核酸の酵素増幅を好都合に使用して、続く分析のための核酸を得ることができる。また、１つ又は複数の目的の遺伝子マーカー中の特定の変異体対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在は、酵素増幅を用いずに個体の核酸から直接決定することもできる。特定の好ましい実施形態では、ＧＬＩ１、ＭＤＲ１、及び／又はＡＴＧ１６Ｌ１の座位のうちの１つ、２つ又はそれより多くで個体を遺伝子型決定する。

【０１４７】

[0148]遺伝子型決定を使用して、ＳＮＰを含めた変種又は多型性を検出し得る。一部の例では、遺伝子型決定アッセイを使用して、以下のＳＮＰのうちの１つ又は複数を検出し得る：ｒｓ２２２８２２４（ＧＬＩ１）、ｒｓ２２２８２２６（ＧＬＩ１）、ｒｓ２０３２５８２（ＭＤＲ１）、及び／又はｒｓ２２４１８８０（ＡＴＧ１６Ｌ１）。

【０１４８】

[0149]増幅したかどうかにかかわらず、個体からの核酸遺伝子型決定を、様々な技法のうちの任意のものを使用して行うことができる。有用な技法には、それだけには限定されないが、すべて単独で又は組み合わせて使用することができる、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）に基づく分析アッセイ、配列解析アッセイ、及び電気泳動分析アッセイ、制限長多型分析アッセイ、ハイブリダイゼーション分析アッセイ、対立遺伝子特異的ハイブリダイゼーション、オリゴヌクレオチドライゲーション対立遺伝子特異的伸長／ライゲーション、対立遺伝子特異的増幅、一塩基伸長、分子反転プローブ、侵襲性切断、選択的終結、制限長多型性、配列決定、一本鎖コンホメーション多型性（ＳＳＣＰ）、一本鎖の鎖多型性、ミスマッチ切断、並びに変性勾配ゲル電気泳動が含まれる。本明細書中で使用する用語「核酸」には、たとえばゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ及びｍＲＮＡを含めた、一本鎖又は二本鎖のＤＮＡ又はＲＮＡ分子などのポリヌクレオチドが含まれる。この用語には、天然及び合成起源のどちらの核酸分子も包含され、また、ネイティブ核酸分子のセンス又はアンチセンス鎖のどちらか又は両方を表す直鎖状、環状、又は分枝状の立体配置の分子も包含される。そのような核酸は、未精製、精製、又は、たとえばビーズ若しくはカラムマトリックスなどの合成材料に付着していることができることを理解されたい。

【０１４９】

[0150]核酸を含有する材料は、個体からルーチン的に得られる。そのような材料は、核酸を調製することができる任意の生体物質である。非限定的な例として、材料は、全血、血清、血漿、唾液、頬スワブ、痰、又は核酸を含有する他の体液若しくは組織であることができる。一実施形態では、本発明の方法は、非侵襲性手段によって容易に得てゲノムＤ

ＮＡを調製するために使用することができる、全血を用いて実施する。別の実施形態では、遺伝子型決定は、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）を使用した個体の核酸の増幅を含む。核酸を増幅するためのＰＣＲの使用は当分野で周知である（たとえばＭｕｌｌｉｓら（編）、Ｔｈｅ　Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ　Ｃｈａｉｎ　Ｒｅａｃｔｉｏｎ、Ｂｉｒｋｈａｕｓｅｒ、Ｂｏｓｔｏｎ、（１９９４）を参照）。さらに別の実施形態では、ＰＣＲ増幅は、１つ又は複数の蛍光標識したプライマーを使用して行う。さらなる実施形態では、ＰＣＲ増幅は、ＤＮＡ副溝結合剤を含有する１つ又は複数の標識又は非標識のプライマーを使用して行う。

【０１５０】

[0151]様々な異なるプライマーのうちの任意のものを使用して、本発明の方法においてＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子若しくはＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中の変異体対立遺伝子の存在又は非存在を決定するために、個体の核酸をＰＣＲによって増幅することができる。当業者には理解されるように、ＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子若しくはＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中で目的の多型部位（複数可）に隣接する配列に基づいて、ＰＣＲ分析用のプライマーを設計することができる。非限定的な例として、配列プライマーは、ＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子若しくはＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中の目的の多型部位の上流又は下流の配列の約１５～約３０個のヌクレオチドを含有することができる。そのようなプライマーは、一般に、増幅反応において安定なアニーリングステップを可能にする高い融解温度を達成するため十分なグアニン及びシトシンの含有率を有するように設計される。プライマーセレクト（Ｐｒｉｍｅｒ　Ｓｅｌｅｃｔ）などのいくつかのコンピュータプログラムが、ＰＣＲプライマーの設計を援助するために利用可能である。

【０１５１】

[0152]Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓから入手可能なタックマン（Ｔａｑｍａｎ）（登録商標）対立遺伝子区別アッセイは、多型部位で個体を遺伝子型決定し、それによってＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子若しくはＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は本明細書中に記載の他の遺伝子マーカー中の特定の変異体対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定することに有用な場合がある。タックマン（登録商標）対立遺伝子区別アッセイでは、それぞれの対立遺伝子について特異的に蛍光色素標識したプローブを構築する。プローブは、それぞれの対立遺伝子の増幅を鑑別するためにＦＡＭ及びＶＩＣ（商標）などの異なる蛍光レポーター色素を含有する。さらに、それぞれのプローブは、蛍光共鳴エネルギー移動によって蛍光を消光させる消光色素を一端に有する。ＰＣＲ中、それぞれのプローブは、個体からの核酸中の相補的配列と特異的にアニーリングする。Ｔａｑポリメラーゼの５’ヌクレアーゼ活性を使用して、対立遺伝子とハイブリダイズするプローブのみを切断する。切断によりレポーター色素が消光色素から分離され、レポーター色素による蛍光の増加がもたらされる。したがって、ＰＣＲ増幅によって生じる蛍光シグナルは、試料中にどの対立遺伝子が存在するかを示す。プローブと対立遺伝子との間のミスマッチは、プローブのハイブリダイゼーション及びＴａｑポリメラーゼによる切断のどちらの効率も低下させ、その結果、蛍光シグナルはわずかから存在しないものとなる。当業者には、たとえばＫｕｔｙａｖｉｎら、Ｎｕｃ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ、２８：６５５～６６１（２０００）に記載されているように、ＤＮＡ副溝結合剤（ＭＧＢ）基をＤＮＡプローブとコンジュゲートさせることによって、対立遺伝子区別アッセイにおける改善された特異性を達成できることが理解されよう。副溝結合剤には、それだけには限定されないが、ジヒドロシクロピロロインドールトリペプチド（ＤＰＩ３）などの化合物が含まれる。

【０１５２】

[0153]また、配列解析も、本明細書中に記載の方法に従って個体を遺伝子型決定して、ＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子若しくはＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中の特定の変異体対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために有用な場合がある。当業者には知られているように、目的の変異体対立遺伝子は、ＧＬＩ１遺伝

子、ＭＤＲ１遺伝子若しくはＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中の目的の多型部位に隣接する配列に基づいて設計されている適切なプライマーを使用した配列解析によって、検出することができる。たとえば、ＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子又はＡＴＧ１６Ｌ１変異体対立遺伝子は、当業者によって設計されたプライマーを使用した配列解析によって検出することができる。追加又は代替の配列プライマーは、ＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子若しくはＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中の目的の多型部位の約４０～約４００塩基対上流又は下流の配列に対応する配列の約１５～約３０個のヌクレオチドを含有することができる。そのようなプライマーは、一般に、配列決定反応において安定なアニーリングステップを可能にする高い融解温度を達成するために十分なグアニン及びシトシンの含有率を有するように設計される。

【０１５３】

[0154]用語「配列解析」には、核酸中のヌクレオチドの順序が決定される任意の手動又は自動の方法が含まれる。一例として、配列解析を使用してＤＮＡの試料のヌクレオチド配列を決定することができる。用語、配列解析には、それだけには限定されないが、たとえばマクサム－ギルバート及びサンガー配列決定並びにその変形を含めたジデオキシ酵素方法などの、化学的及び酵素的方法が包含される。用語、配列解析には、それだけには限定されないが、キャピラリー電気泳動及びレーザー誘導性蛍光検出に依存し、ＭｅｇａＢＡＣＥ１０００又はＡＢＩ３７００などの機器を使用して行うことができるキャピラリーアレイＤＮＡ配列決定がさらに包含される。さらなる非限定的な例として、用語、配列解析には、熱サイクル配列決定（Ｓｅａｒｓら、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ、１３：６２６～６３３（１９９２）を参照）、固相配列決定（Ｚｉｍｍｅｒｍａｎら、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．、３：３９～４２（１９９２）を参照、及びマトリックス支援レーザー脱離／イオン化飛行時間質量分析などの質量分析を用いた配列決定（ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ ＭＳ、Ｆｕら、Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈ．、１６：３８１～３８４（１９９８）を参照）が包含される。用語、配列解析には、それだけには限定されないが、配列のセグメントを同定するためにすべての可能な短いオリゴヌクレオチドのアレイに依存する、ハイブリダイゼーションによる配列決定（ＳＢＨ）がさらに含まれる（Ｃｈｅｅら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２７４：６１０～６１４（１９９６）、Ｄｒｍａｎａｃら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２６０：１６４９～１６５２（１９９３）、及びＤｒｍａｎａｃら、Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈ．、１６：５４～５８（１９９８）を参照）。当業者には、これら及びさらなる変形が本明細書中に定義する用語、配列解析によって包含されることが理解されよう。

【０１５４】

[0155]また、電気泳動分析も、本発明の方法に従って個体を遺伝子型決定して、ＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子若しくはＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中の特定の変異体対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために有用な場合がある。増幅断片などの１つ又は複数の核酸に言及して本明細書中で使用する「電気泳動分析」には、荷電分子が電界の影響下で静置培地を通って移動する方法が含まれる。電気泳動遊走は、核酸を主にその荷電に基づいて分離し、荷電は核酸の大きさに比例しており、より小さな分子はより速く遊走する。用語、電気泳動分析には、それだけには限定されないが、アガロース若しくはポリアクリルアミドゲル電気泳動などのスラブゲル電気泳動、又はキャピラリー電気泳動を使用した分析が含まれる。キャピラリー電気泳動分析は、一般に、小さな直径（５０～１００ｍ）の石英キャピラリー内で、高い（キロボルトレベル）の分離電位の存在下で、数分間の分離時間で起こる。キャピラリー電気泳動分析を使用して、核酸はＵＶ吸収又は蛍光標識によって好都合に検出され、数百塩基対までの断片で一塩基の分解能を得ることができる。そのような電気泳動分析方法及びその変形は、たとえばＡｕｓｕｂｅｌら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、第２章（補遺４５）、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９９９）に記載のように当分野で周知である。

【０１５５】

[0156]また、制限断片長多型（ＲＦＬＰ）分析も、本発明の方法に従って個体を遺伝子型決定して、ＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子若しくはＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中の特定の変異体対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために有用な場合がある（Ｊａｒｃｈｏら、ＤｒａｃｏｐｏｌｉらのＣｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ、ページ２．７．１～２．７．５、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、Ｉｎｎｉｓら（編）、ＰＣＲ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ：Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ.（１９９０）を参照）。本明細書中で使用する「制限断片長多型分析」には、特定の塩基配列、一般には回文構造又は逆方向反復を認識した後に核酸の分解を触媒するエンドヌクレアーゼである制限酵素を使用して多型対立遺伝子を区別するための任意の方法が含まれる。当業者には、ＲＦＬＰ分析の使用は、多型部位で変異体対立遺伝子を野生型又は他の対立遺伝子から鑑別することができる酵素に依存することが理解されよう。

【０１５６】

[0157]さらに、対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションが、本明細書中に記載の方法において個体を遺伝子型決定して、ＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子若しくはＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中の特定の変異体対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために有用な場合がある。対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションは、たとえば変異体対立遺伝子を包含する配列に完全に相補的な配列を有する、標識したオリゴヌクレオチドプローブの使用に基づいている。適切な条件下では、変異体対立遺伝子に特異的なプローブは、変異体対立遺伝子を含有する核酸とはハイブリダイズするが、プローブに比べて１つ又は複数のヌクレオチドのミスマッチを有する１つ又は複数の他の対立遺伝子とはハイブリダイズしない。所望する場合は、代替（たとえば野生型）対立遺伝子に一致する、第２の対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドプローブも使用することができる。同様に、対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドの増幅の技法を使用して、たとえば、変異体対立遺伝子のヌクレオチド配列と完全に相補的であるが、他の対立遺伝子に比べて１つ又は複数のミスマッチを有する、対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドプライマーを使用することによって、変異体対立遺伝子を選択的に増幅することができる（Ｍｕｌｌｉｓら、上記）。当業者には、変異体対立遺伝子と他の対立遺伝子を区別する１つ又は複数のヌクレオチドのミスマッチは、多くの場合、対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションにおいて使用する対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドプライマーの中心に位置することが理解されよう。対照的に、ＰＣＲ増幅において使用する対立遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドプライマーは、一般に、変異体と他の対立遺伝子を区別する１つ又は複数のヌクレオチドのミスマッチをプライマーの３’末端に含有する。

【０１５７】

[0158]ヘテロ二重鎖移動度アッセイ（ＨＭＡ）は、本発明の方法において遺伝子型決定を行って、ＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子若しくはＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中の特定の変異体対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために使用することができる別の周知のアッセイである。ミスマッチを保有するＤＮＡ二重鎖は、完全に塩基対合した二重鎖の移動度に比べてポリアクリルアミドゲル中での移動度が低下しているため、ＨＭＡは変異体対立遺伝子の存在を検出するために有用である（Ｄｅｌｗａｒｔら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２６２：１２５７～１２６１（１９９３）、Ｗｈｉｔｅら、Ｇｅｎｏｍｉｃｓ、１２：３０１～３０６（１９９２）を参照）。

【０１５８】

[0159]また、一本鎖コンホメーション多型性（ＳＳＣＰ）の技法も、本明細書中に記載の方法において遺伝子型決定を行って、ＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子若しくはＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中の特定の変異体対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために有用な場合がある（Ｈａｙａｓｈｉ、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ａｐｐｌｉｃ.、１：３４～３８（１９９１）を参照）。この技法を使用して、非変性ゲル電気泳動の際に変更された電気泳動移動度を生じる一本鎖ＤＮＡの二次構造の差異に基

づいて変異体対立遺伝子を検出することができる。変異体対立遺伝子は、試験断片の電気泳動パターンを既知の対立遺伝子を含有する対応する標準の断片と比較することによって検出される。

【０１５９】

[0160]また、変性勾配ゲル電気泳動（ＤＧＧＥ）も、本発明の方法において、ＧＬＩ１遺伝子、ＭＤＲ１遺伝子若しくはＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子又は他の遺伝子マーカー中の特定の変異体対立遺伝子又はハプロタイプの存在又は非存在を決定するために有用な場合がある。ＤＧＧＥでは、二本鎖ＤＮＡを、漸増濃度の変性剤を含有するゲル中で電気泳動する。ミスマッチした対立遺伝子からなる二本鎖断片は、より迅速に融解するセグメントを有しており、それにより、そのような断片が完全に相補的な配列に比べて異なって移動することが引き起こされる（Ｓｈｅｆｆｉｅｌｄら、「Ｉｄｅｎｔｉｆｙｉｎｇ ＤＮＡ Ｐｏｌｙｍｏｒｐｈｉｓｍｓ ｂｙ Ｄｅｎａｔｕｒｉｎｇ Ｇｒａｄｉｅｎｔ Ｇｅｌ Ｅｌｅｃｔｒｏｐｈｏｒｅｓｉｓ」、Ｉｎｎｉｓら、上記、１９９０を参照）。

【０１６０】

[0161]個体を遺伝子型決定するために有用な他の分子学的方法が当分野で知られており、本発明の方法において有用である。そのような周知の遺伝子型決定の手法には、それだけには限定されないが、自動配列決定及びＲＮａｓｅミスマッチ技法が含まれる（Ｗｉｎｔｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．、８２：７５７５～７５７９（１９８５）を参照）。さらに、当業者には、多数の変異体対立遺伝子の存在又は非存在を決定する場合は、分子学的方法の任意の組合せによって個々の変異体対立遺伝子を検出できることが理解されよう。一般に、Ｂｉｒｒｅｎら（編）、Ｇｅｎｏｍｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、第１巻（Ａｎａｌｙｚｉｎｇ ＤＮＡ）、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ（１９９７）を参照されたい。さらに、当業者には、多数の変異体対立遺伝子を個々の反応又は単一の反応において検出できることが理解されよう（「多重鎖」アッセイ）。

【０１６１】

[0162]上記に鑑みて、当業者には、ＩＢＤを診断する、ＵＣを診断する、又はＵＣとＣＤとを鑑別するための本発明の方法（たとえば、１つ又は複数のＧＬＩ１、ＭＤＲ１、又はＡＴＧ１６Ｌ１変異体対立遺伝子の存在又は非存在を決定することによる）は、上述の周知の遺伝子型決定アッセイ又は当分野で知られている他のアッセイの１つ又は任意の組合せを使用して実施できることが理解されよう。

【０１６２】

[0163]ＶＩＩ．アッセイ

ＩＢＤを診断する、ＩＢＤの診断を分類する（たとえばＣＤ若しくはＵＣ）、又はＵＣとＣＤとを鑑別するために、当分野で知られている様々なアッセイ、技法、及びキットのうちの任意のものを使用して、試料中の１つ又は複数の生化学的、血清学的、又はタンパク質マーカーの存在（若しくは非存在）又はレベル（たとえば濃度）を検出又は決定することができる。

【０１６３】

[0164]フローサイトメトリーを使用して、試料中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出することができる。ビーズに基づく免疫アッセイを含めたそのようなフローサイトメトリーアッセイを使用して、たとえば、カンジダ・アルビカンス及びＨＩＶタンパク質に対する血清抗体の検出について記載されたものと同じ様式で、抗体マーカーレベルを決定することができる（たとえば、Ｂｉｓｈｏｐ及びＤａｖｉｓ、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ、２１０：７９～８７（１９９７）、ＭｃＨｕｇｈら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ、１１６：２１３（１９８９）、Ｓｃｉｌｌｉａｎら、Ｂｌｏｏｄ、７３：２０４１（１９８９）を参照）。

【０１６４】

[0165]また、マーカーに特異的な組換え抗原を発現させるためのファージディスプレイ

技術も、試料中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出するために使用することができる。たとえば抗体マーカーに特異的な抗原を発現するファージ粒子を、所望する場合は、抗ファージモノクローナル抗体などの抗体を使用してマルチウェルプレートに固定することができる（Ｆｅｌｉｃｉら、「Ｐｈａｇｅ－Ｄｉｓｐｌａｙｅｄ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ ａｓ Ｔｏｏｌｓ ｆｏｒ Ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒａ」、Ａｂｅｌｓｏｎ（編）、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌ．、２６７、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ：Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．（１９９６））。

【０１６５】

[0166]競合的及び非競合的免疫アッセイを含めた様々な免疫アッセイ技法を使用して、試料中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出することができる（たとえばＳｅｌｆ及びＣｏｏｋ、Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．、７：６０～６５（１９９６）を参照）。用語、免疫アッセイには、それだけには限定されないが、酵素増幅免疫アッセイ技法（ＥＭＩＴ）、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、抗原捕捉ＥＬＩＳＡ、サンドイッチＥＬＩＳＡ、ＩｇＭ抗体捕捉ＥＬＩＳＡ（ＭＡＣ ＥＬＩＳＡ）、及び微粒子酵素免疫アッセイ（ＭＥＩＡ）などの酵素免疫アッセイ（ＥＩＡ）、キャピラリー電気泳動免疫アッセイ（ＣＥＩＡ）、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、免疫放射線アッセイ（ＩＲＭＡ）、蛍光偏光免疫アッセイ（ＦＰＩＡ）、並びに化学発光アッセイ（ＣＬ）を含めた技法が包含される。所望する場合は、そのような免疫アッセイは自動であることができる。また、免疫アッセイは、レーザー誘導性蛍光と併せて使用することもできる（たとえば、Ｓｃｈｍａｌｚｉｎｇ及びＮａｓｈａｂｅｈ、Ｅｌｅｃｔｒｏｐｈｏｒｅｓｉｓ、１８：２１８４～２１９３（１９９７）、Ｂａｏ、Ｊ．Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒ．Ｂ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｓｃｉ．、６９９：４６３～４８０（１９９７）を参照）。また、フローインジェクションリポソーム免疫アッセイ及びリポソーム免疫センサーなどのリポソーム免疫アッセイも、本発明における使用に適切である（たとえばＲｏｎｇｅｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ、２０４：１０５～１３３（１９９７）を参照）。さらに、マーカー濃度の関数としてピーク速度シグナルに変換される増加した光散乱をタンパク質／抗体複合体の形成がもたらす比濁分析アッセイが、本発明における使用に適切である。比濁分析アッセイはＢｅｃｋｍａｎ Ｃｏｕｌｔｅｒから販売されており（カリフォルニア州Ｂｒｅａ、キット＃４４９４３０）、ベーリング比濁計分析器（Ｂｅｈｒｉｎｇ Ｎｅｐｈｅｌｏｍｅｔｅｒ Ａｎａｌｙｚｅｒ）を使用して行うことができる（Ｆｉｎｋら、Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｃｈｅｍ．Ｃｌｉｎ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、２７：２６１～２７６（１９８９））。

【０１６６】

[0167]抗原捕捉ＥＬＩＳＡが、試料中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出するために有用な場合がある。たとえば、抗原捕捉ＥＬＩＳＡでは、目的のマーカーに向けられた抗体を固相に結合させ、マーカーが抗体によって結合されるように試料を加える。洗浄によって未結合のタンパク質を除去した後、結合したマーカーの量を、たとえばラジオイムノアッセイを使用して定量することができる（たとえばＨａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、１９８８）を参照）。また、サンドイッチＥＬＩＳＡも本発明における使用に適切な場合がある。たとえば、二抗体のサンドイッチアッセイでは、第１の抗体を固体支持体と結合させ、目的のマーカーを第１の抗体と結合させる。マーカーの量は、マーカーと結合する第２の抗体の量を測定することによって定量する。抗体は、磁気若しくはクロマトグラフィーマトリックス粒子、アッセイプレート（たとえばマイクロタイターウェル）の表面、固体基質材料の小片又は膜（たとえば、プラスチック、ナイロン、紙）などの様々な固体支持体上に固定することができる。抗体又は複数の抗体を固体支持体にアレイでコーティングすることによって、アッセイ条片を調製することができる。その後、この条片を試験試料に浸し、洗浄及び検出ステップによって素早く処理して、有色スポットなどの測定可能なシグナルを

生じさせることができる。

【０１６７】

[0168]また、たとえばヨウ素－１２５（^{125}Ｉ）で標識した二次抗体を使用したラジオイムノアッセイ（Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ、上記）も、試料中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出するために適切である。また、化学発光性のマーカーで標識した二次抗体も、本発明における使用に適切な場合がある。化学発光性の二次抗体を使用した化学発光アッセイは、マーカーレベルの高感度の非放射性検出に適している。そのような二次抗体は、様々な供給源、たとえば、Ａｍｅｒｓｈａｍ Ｌｉｆｅｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．（イリノイ州Ａｒｌｉｎｇｔｏｎ Ｈｅｉｇｈｔｓ）から商業的に入手することができる。

【０１６８】

[0169]上述の免疫アッセイが、試料中の１つ又は複数の血清学的マーカーの存在（若しくは非存在）又はレベルを検出するために特に有用である。非限定的な例として、固定した好中球ＥＬＩＳＡは、試料がＡＮＣＡについて陽性であるかどうかを決定するため、又は試料中のＡＮＣＡレベルを決定するために有用である。同様に、酵母細胞壁ホスホペプチドマンナンを使用したＥＬＩＳＡは、試料がＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／若しくはＡＳＣＡ－ＩｇＧについて陽性であるかどうかを決定するため、又は試料中のＡＳＣＡ－ＩｇＡ及び／若しくはＡＳＣＡ－ＩｇＧレベルを決定するために有用である。ＯｍｐＣタンパク質又はその断片を使用したＥＬＩＳＡは、試料が抗ＯｍｐＣ抗体について陽性であるかどうかを決定するため、又は試料中の抗ＯｍｐＣ抗体レベルを決定するために有用である。Ｉ２タンパク質又はその断片を使用したＥＬＩＳＡは、試料が抗Ｉ２抗体について陽性であるかどうかを決定するため、又は試料中の抗Ｉ２抗体レベルを決定するために有用である。フラゲリンタンパク質（たとえばＣｂｉｒ－１フラゲリン）又はその断片を使用したＥＬＩＳＡは、試料が抗フラゲリン抗体について陽性であるかどうかを決定するため、又は試料中の抗フラゲリン抗体レベルを決定するために有用である。さらに、上述の免疫アッセイは、試料中の他の血清学的マーカーの存在又はレベルを検出するために特に有用である。

【０１６９】

[0170]抗体と目的のマーカーとの特異的な免疫学的結合は直接又は間接的に検出することができる。直接標識には、抗体に付着した蛍光又はルミネセントのタグ、金属、色素、放射性核種などが含まれる。ヨウ素－１２５（^{125}Ｉ）で標識した抗体を使用して、試料中の１つ又は複数のマーカーのレベルを決定することができる。マーカーに特異的な化学発光性抗体を使用した化学発光アッセイは、マーカーレベルの高感度の非放射性検出に適している。また、蛍光色素で標識した抗体も、試料中の１つ又は複数のマーカーのレベルを決定するために適している。蛍光色素の例には、それだけには限定されないが、ＤＡＰＩ、フルオレセイン、ヘキスト（Ｈｏｅｃｈｓｔ）３３２５８、Ｒ－フィコシアニン、Ｂ－フィコエリスリン、Ｒ－フィコエリスリン、ローダミン、テキサスレッド、及びリサミンが含まれる。蛍光色素に連結した二次抗体は商業的に入手することができ、たとえば、ヤギＦ（ａｂ’）$_2$抗ヒトＩｇＧ－ＦＩＴＣはＴａｇｏ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌｓ（カリフォルニア州Ｂｕｒｌｉｎｇａｍｅ）から入手可能である。

【０１７０】

[0171]間接的な標識には、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）、アルカリホスファターゼ（ＡＰ）、β－ガラクトシダーゼ、ウレアーゼなどなどの当分野で周知の様々な酵素が含まれる。西洋ワサビ－ペルオキシダーゼ検出システムは、たとえば、４５０ｎｍで検出可能な可溶性の生成物を過酸化水素の存在下で与える発色基質テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）を用いて使用することができる。アルカリホスファターゼ検出システムは、たとえば４０５ｎｍで容易に検出可能な可溶性の生成物を与える発色基質ｐ－ニトロフェニルリン酸を用いて使用することができる。同様に、β－ガラクトシダーゼ検出システムは、４１０ｎｍで検出可能な可溶性の生成物を与える発色基質ｏ－ニトロフェニル－β－Ｄ－ガラクトピラノシド（ＯＮＰＧ）を用いて使用することができる。ウレアーゼ検出シ

ステムは、尿素－ブロモクレゾールパープル（Ｓｉｇｍａ　Ｉｍｍｕｎｏｃｈｅｍｉｃａｌｓ、モンタナ州Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ）などの基質を用いて使用することができる。有用な酵素に連結した二次抗体はいくつかの商業的供給源から得ることができ、たとえば、ヤギＦ（ａｂ’）$_2$抗ヒトＩｇＧ－アルカリホスファターゼは、Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ（ペンシルベニア州Ｗｅｓｔ　Ｇｒｏｖｅ）から購入することができる。

【０１７１】

[0172]直接又は間接的な標識からのシグナルは、たとえば、発色基質からの色を検出するための分光光度計、^{125}Ｉを検出するためのガンマカウンターなどの放射線を検出するための放射線カウンター、又は特定の波長の光の存在下で蛍光を検出するための蛍光光度計を使用して分析することができる。酵素連結抗体の検出には、マーカーレベルの量の定量分析を、ＥＭＡＸマイクロプレートリーダー（ＥＭＡＸ　Ｍｉｃｒｏｐｌａｔｅ　Ｒｅａｄｅｒ）（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ、カリフォルニア州Ｍｅｎｌｏ　Ｐａｒｋ）などの分光光度計を使用して、製造者の指示に従って行うことができる。所望する場合は、本明細書中に記載のアッセイは、自動化する又はロボットで行うことができ、多数の試料からのシグナルを同時に検出することができる。

【０１７２】

[0173]また、定量的ウエスタンブロッティングを使用して、試料中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出又は決定することもできる。ウエスタンブロットは、濃度測定の走査又はリン光体イメージングなどの周知の方法によって定量することができる。非限定的な例として、タンパク質試料を１０％ＳＤＳ－ＰＡＧＥレムリ（Ｌａｅｍｍｌｉ）ゲル上で電気泳動させる。一次マウスモノクローナル抗体をブロットと反応させ、予備スロットブロット実験を使用して抗体結合が線形であることを確認することができる。ヤギ抗マウス西洋ワサビペルオキシダーゼカップリング抗体（ＢｉｏＲａｄ）を二次抗体として使用し、シグナル検出は、化学発光を使用して、たとえばルネッサンス（Ｒｅｎａｉｓｓａｎｃｅ）化学発光キット（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｎｕｃｌｅａｒ、マサチューセッツ州Ｂｏｓｔｏｎ）を用いて、製造者の指示に従って行う。走査濃度測定計（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｙｎａｍｉｃｓ、カリフォルニア州Ｓｕｎｎｙｖａｌｅ）を使用してブロットのオートラジオグラフを分析し、陽性対照に対して正規化する。値は、たとえば実測値と陽性対照との比として報告する（濃度測定指数）。そのような方法は、たとえばＰａｒｒａら、Ｊ．Ｖａｓｃ．Ｓｕｒｇ．、２８：６６９～６７５（１９９８）に記載のように当分野で周知である。

【０１７３】

[0174]或いは、様々な免疫組織化学的アッセイ技法を使用して、試料中の１つ又は複数のマーカーの存在又はレベルを検出又は決定することができる。用語「免疫組織化学的アッセイ」には、蛍光顕微鏡観察又は光学顕微鏡観察を使用した、目的のマーカーと反応する抗体とカップリング（すなわちコンジュゲート）させた蛍光色素又は酵素の視覚的検出を利用する技法が包含され、それだけには限定されないが、直接蛍光抗体アッセイ、間接蛍光抗体（ＩＦＡ）アッセイ、抗補体免疫蛍光、アビジン－ビオチン免疫蛍光、及び免疫ペルオキシダーゼアッセイが含まれる。たとえば、ＩＦＡアッセイは、試料がＡＮＣＡについて陽性かどうか、試料中のＡＮＣＡのレベル、試料がｐＡＮＣＡについて陽性かどうか、試料中のｐＡＮＣＡのレベル、並びに／又はＡＮＣＡ染色パターン（たとえば、ｃＡＮＣＡ、ｐＡＮＣＡ、ＮＳＮＡ、及び／若しくはＳＡＰＰＡの染色パターン）を決定するために有用である。試料中のＡＮＣＡの濃度は、たとえば、エンドポイント滴定によって、又は既知の参照標準と比較した蛍光の視覚的強度を測定することによって定量することができる。

【０１７４】

[0175]特定の他の実施形態では、目的のマーカーの存在又はレベルは、精製したマーカーの量を検出又は定量することによって決定することができる。マーカーの精製は、たとえば、高圧液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）によって単独で、又は質量分析（たとえ

ば、ＭＡＬＤＩ／ＭＳ、ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ／ＭＳ、ＳＥＬＤＩ－ＴＯＦ／ＭＳ、タンデムＭＳなど）と組み合わせて達成することができる。また、目的のマーカーの定性的又は定量的な検出は、それだけには限定されないが、ブラッドフォードアッセイ、クマシーブルー染色、銀染色、放射標識したタンパク質用のアッセイ、及び質量分析を含めた周知の方法によって決定することもできる。

【０１７５】

[0176]一部の態様では、複数のマーカーの分析は、別々に又は１つの試験試料を用いて同時に実施してもよい。マーカーの別々又は連続的なアッセイについて、適切な器具には、エレクシス（ＥｌｅｃＳｙｓ）（Ｒｏｃｈｅ）、アックスシム（ＡｘＳｙｍ）（Ａｂｂｏｔｔ）、アクセス（Ａｃｃｅｓｓ）（Ｂｅｃｋｍａｎ）、アドビア（ＡＤＶＩＡ）（登録商標）、セントール（ＣＥＮＴＡＵＲ）（登録商標）（Ｂａｙｅｒ）、及びニコルスアドバンテージ（ＮＩＣＨＯＬＳ　ＡＤＶＡＮＴＡＧＥ）（登録商標）（Ｎｉｃｈｏｌｓ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ）免疫アッセイシステムなどの臨床的実験室分析器が含まれる。好ましい器具又はタンパク質チップは、単一の表面上で複数のマーカーの同時アッセイを行う。特に有用な物理的様式は、複数の異なるマーカーを検出するための複数の明白なアドレス指定可能な位置を有する表面を含む。そのような様式には、たとえば、タンパク質マイクロアレイ又は「タンパク質チップ」（たとえばＮｇら、Ｊ．Ｃｅｌｌ　Ｍｏｌ．Ｍｅｄ．、６：３２９～３４０（２００２）を参照）及び特定のキャピラリー装置（たとえば米国特許第６，０１９，９４４号を参照）が含まれる。これらの実施形態では、それぞれの明白な表面の位置は、それぞれの位置で検出するための１つ又は複数のマーカーを固定するための抗体を含んでいてもよい。或いは、表面は、表面の明白な位置で固定された、検出のために１つ又は複数のマーカーを固定するための抗体を含む１つ又は複数の明白な粒子（たとえば、微粒子又はナノ粒子）を含んでいてもよい。

【０１７６】

[0177]様々な目的のマーカーの存在又はレベルを検出するための上述のアッセイに加えて、ノーザン分析、逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応（ＲＴ－ＰＣＲ）、又はマーカーコード配列の一部分と相補的な核酸配列とのハイブリダイゼーションに基づいた任意の他の方法（たとえばスロットブロットハイブリダイゼーション）などの、ルーチン的な技法を使用したマーカーｍＲＮＡレベルの分析も、本発明の範囲内にある。適用可能なＰＣＲ増幅技法は、たとえば、Ａｕｓｕｂｅｌら、Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ（１９８４～２００８）、第７章及び補遺４７、Ｔｈｅｏｐｈｉｌｕｓら、「ＰＣＲ　Ｍｕｔａｔｉｏｎ　Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ」、Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ、（２００２）、Ｉｎｎｉｓら、ＰＣＲ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．（１９９０）、並びにＭａｎｉａｔｉｓら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂ．、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、（１９８２）に記載されている。一般的な核酸ハイブリダイゼーション方法はＡｎｄｅｒｓｏｎ、「Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄ　Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ」、ＢＩＯＳ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ、（１９９９）に記載されている。また、複数の転写された核酸配列（たとえば、ｍＲＮＡ又はｃＤＮＡ）の増幅又はハイブリダイゼーションも、マイクロアレイに配置したｍＲＮＡ又はｃＤＮＡ配列で行うことができる。マイクロアレイ方法は、一般に、Ｈａｒｄｉｍａｎ、「Ｍｉｃｒｏａｒｒａｙｓ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ａｎｄ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ：Ｎｕｔｓ＆Ｂｏｌｔｓ」、ＤＮＡ　Ｐｒｅｓｓ、（２００３）及びＢａｌｄｉら、「ＤＮＡ　Ｍｉｃｒｏａｒｒａｙｓ　ａｎｄ　Ｇｅｎｅ　Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ：Ｆｒｏｍ　Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔｓ　ｔｏ　Ｄａｔａ　Ａｎａｌｙｓｉｓ　ａｎｄ　Ｍｏｄｅｌｉｎｇ」、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｐｒｅｓｓ、（２００２）に記載されている。

【０１７７】

[0178]多数の試料の効率的な処理のために、いくつかの目的のマーカーを１つの試験へ

と合わせてもよい。さらに、当業者には、同じ対象からの多数の試料を（たとえば連続的する時点などで）試験することの価値が理解されよう。そのような一連の試料の試験は、マーカーレベルの経時的な変化の同定を可能にすることができる。マーカーレベルの増加又は減少、及びマーカーレベルの変化の非存在は、ＵＣの診断又はＵＣとＣＤとの鑑別を容易にするための有用な予後診断的及び予測的情報を提供することができる。

【０１７８】

[0179]上記に鑑みて、当業者には、ＩＢＤに関する、最も具体的にはＵＣを診断するため、又はＵＣとＣＤとを鑑別するための診断的情報を提供するための本発明の方法は、上述の周知のアッセイ又は当分野で知られている他のアッセイのうちの１つ又は任意の組合せを使用して実施できることが理解されよう。

【０１７９】

[0180]ＶＩＩＩ．統計分析

一部の態様では、本発明は、ＩＢＤを診断するため、ＩＢＤの診断を分類するため（たとえばＣＤ若しくはＵＣ）、ＩＢＤの亜型をＵＣとして分類するため、又はＵＣとＣＤとを鑑別するための方法及びシステムを提供する。特定の実施形態では、分位分析を、ＩＢＤを診断する、ＵＣを診断する、又はＵＣとＣＤとを鑑別するための本明細書中に記載のアッセイのうちの任意のものによって決定された１つ又は複数のＩＢＤマーカーの存在、レベル、及び／又は遺伝子型に適用する。他の実施形態では、１つ又は複数の学習統計的分類子システムを、ＩＢＤを診断する、ＵＣを診断する、又はＵＣとＣＤとを鑑別するための本明細書中に記載のアッセイのうちの任意のものによって決定された１つ又は複数のＩＢＤマーカーの存在、レベル、及び／又は遺伝子型に適用する。本明細書中に記載のように、本発明の統計分析は、ＩＢＤの診断、ＵＣの診断、及びＵＣとＣＤとの鑑別の改善された感度、特異性、陰性予測値、陽性予測値、及び／又は全体的な精度を有利にもたらす。

【０１８０】

[0181]用語「統計分析」又は「統計アルゴリズム」又は「統計方法」には、変数間の関係性を決定するために使用される様々な統計方法及びモデルのうちの任意のものが含まれる。本発明では、変数は、少なくとも１つの目的のマーカーの存在、レベル、又は遺伝子型である。任意の数のマーカーを、本明細書中に記載の統計分析を使用して分析することができる。たとえば、１個、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個、２０個、２５個、３０個、３５個、４０個、４５個、５０個、５５個、６０個、又はそれより多くのマーカーの存在又はレベルを統計分析に含めることができる。一実施形態では、ロジスティック回帰を使用する。別の実施形態では、直線回帰を使用する。特定の好ましい実施形態では、本発明の統計分析は、たとえば所定の集団内の変数としての、１つ又は複数のマーカーの分位測定を含む。分位とは、データの試料を（可能な限り）等しい数の観察値を含有する群へと分ける１セットの「切点」である。たとえば、四分位数とは、データの試料を４つの（可能な限り）等しい数の観察値を含有する群へと分ける値である。下位四分位数とは、順序づけたデータセットを４分の１上ったデータ値であり、上位四分位数とは、順序づけたデータセットを４分の１下ったデータ値である。五分位数とは、データの試料を５つの（可能な限り）等しい数の観察値を含有する群へと分ける値である。本発明には、統計分析における変数としての（連続的な変数と同様に）、マーカーレベルのパーセンタイル範囲（たとえば、三分位数、四分位数、五分位数など）又はその累積索引（たとえば、四分位数の和のスコア（ＱＳＳ）を得るためのマーカーレベルの四分位数の和など）の使用も含まれる場合がある。

【０１８１】

[0182]好ましい実施形態では、本発明は、四分位数分析を使用して１つ又は複数の目的のマーカーの存在、レベル（たとえば規模）、及び／又は遺伝子型を検出又は決定することを含む。この種類の統計分析では、目的のマーカーのレベルは、試料の参照データベースに関して第１四分位数（＜２５％）、第２四分位数（２５～５０％）、第３四分位数（

５１％～＜７５％）、又は第４四分位数（７５～１００％）にあるとして定義される。これらの四分位数は、それぞれ１、２、３、及び４の四分位数スコアを割り当ててもよい。特定の場合では、試料中で検出されないマーカーは、０又は１の四分位数スコアが割り当てられる一方で、試料中で検出される（たとえば存在する）マーカー（たとえば試料はマーカーについて陽性である）は、４の四分位数スコアが割り当てられる。一部の実施形態では、四分位数１は最低のマーカーレベルを有する試料を表す一方で、四分位数４は最高のマーカーレベルを有する試料を表す。他の実施形態では、四分位数１は特定のマーカー遺伝子型（たとえば野生型対立遺伝子）を有する試料を表す一方で、四分位数４は別の特定のマーカー遺伝子型（たとえば対立遺伝子変異体）を有する試料を表す。試料の参照データベースには、広い範囲のＩＢＤ（たとえばＣＤ及び／又はＵＣ）患者が含まれる場合がある。そのようなデータベースから、四分位数のカットオフを確立することができる。本発明における使用に適した四分位数分析の非限定的な例は、たとえばＭｏｗら、Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ、１２６：４１４～２４（２００４）に記載されている。

【０１８２】

[0183]一部の実施形態では、本発明の統計分析は、１つ又は複数の学習統計的分類子システムを含む。本明細書中で使用する用語「学習統計的分類子システム」には、複雑なデータセット（たとえば目的のマーカーのパネル）に適応し、そのようなデータセットに基づいて判断を行うことができる機械学習アルゴリズム技法が含まれる。一部の実施形態では、判断／分類木（たとえば、ランダムフォレスト（ＲＦ）又は分類及び回帰木（Ｃ＆ＲＴ））などの単一の学習統計的分類子システムを使用する。他の実施形態では、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、又はそれより多くの学習統計的分類子システムの組合せを、好ましくはタンデムで使用する。学習統計的分類子システムの例には、それだけには限定されないが、帰納的学習（たとえば、ランダムフォレスト、分類及び回帰木（Ｃ＆ＲＴ）、ブーストツリーなどの判断／分類木）、確率的近似（ＰＡＣ）学習、コネクショニスト学習（たとえば、神経回路網（ＮＮ）、人工神経回路網（ＡＮＮ）、ニューロファジー回路網（ＮＦＮ）、ネットワーク構造、多層パーセプトロンなどのパーセプトロン、多層フィードフォワードネットワーク、神経回路網の適用、信念ネットワークにおけるベイズ学習など）、強化学習（たとえば、ナイーブ学習、適応性動的学習、及び時間差学習などの既知の環境における受動的学習、未知の環境における受動的学習、未知の環境における能動的学習、学習行動価値関数、強化学習の適用等）、並びに遺伝的アルゴリズム及び進化的プログラミングを使用するものが含まれる。他の学習統計的分類子システムには、サポートベクターマシーン（たとえばカーネル法）、多変量適応型回帰スプライン（ＭＡＲＳ）、レーベンバーグ－マルカルトアルゴリズム、ガウス－ニュートンアルゴリズム、混合ガウス、勾配降下アルゴリズム、及び学習ベクター量子化（ＬＶＱ）が含まれる。

【０１８３】

[0184]ランダムフォレストとは、Ｌｅｏ　Ｂｒｅｉｍａｎ氏及びＡｄｅｌｅ　Ｃｕｔｌｅｒ氏によって開発されたアルゴリズムを使用して構築された学習統計的分類子システムである。ランダムフォレストでは、多数の個々の決定木を使用し、個々の木によって決定されたクラスの最頻値（すなわち最も頻繁に起こっているもの）を選択することによってクラスを決定する。ランダムフォレスト分析は、たとえば、Ｓａｌｆｏｒｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（カリフォルニア州Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ）から入手可能なランダムフォレスト（ＲａｎｄａｍＦｏｒｅｓｔｓ）ソフトウェアを使用して行うことができる。ランダムフォレストの説明には、たとえば、Ｂｒｅｉｍａｎ、Ｍａｃｈｉｎｅ　Ｌｅａｒｎｉｎｇ、４５：５～３２（２００１）及びｈｔｔｐ：／／ｓｔａｔ－ｗｗｗ．ｂｅｒｋｅｌｅｙ．ｅｄｕ／ｕｓｅｒｓ／ｂｒｅｉｍａｎ／ＲａｎｄｏｍＦｏｒｅｓｔｓ／ｃｃ＿ｈｏｍｅ．ｈｔｍを参照されたい。

【０１８４】

[0185]分類及び回帰木は、古典的回帰モデルの当てはめのコンピュータ集約的な代替方法を表しており、典型的には、１つ又は複数の予測子に基づいて目的のカテゴリー的又は

連続的な応答の最良な可能なモデルを決定するために使用する。分類及び回帰木の分析は、たとえば、Ｓａｌｆｏｒｄ Ｓｙｓｔｅｍｓから入手可能なＣ＆ＲＴソフトウェア又はＳｔａｔＳｏｆｔ，Ｉｎｃ．（オクラホマ州Ｔｕｌｓａ）から入手可能なスタティスティカ（Ｓｔａｔｉｓｔｉｃａ）データ分析ソフトウェアを使用して行うことができる。分類及び回帰木の説明は、たとえば、Ｂｒｅｉｍａｎら、「Ｃｌａｓｓｉｆｉｃａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｒｅｇｒｅｓｓｉｏｎ Ｔｒｅｅｓ」、Ｃｈａｐｍａｎ ａｎｄ Ｈａｌｌ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４）及びＳｔｅｉｎｂｅｒｇら、「ＣＡＲＴ：Ｔｒｅｅ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｄ Ｎｏｎ－Ｐａｒａｍｅｔｒｉｃ Ｄａｔａ Ａｎａｌｙｓｉｓ」、Ｓａｌｆｏｒｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、（１９９５）中に見つかる。

【０１８５】

[0186]神経回路網とは、計算のコネクショニスト手法に基づいた情報処理に数学的又は計算的なモデルを使用する、相互接続された人工ニューロンの群である。典型的には、神経回路網は、ネットワーク内を流れる外部又は内部情報に基づいてその構造を変化させる適応性システムである。神経回路網の具体的な例には、パーセプトロン、単層パーセプトロン、多層パーセプトロン、逆伝搬ネットワーク、アダリン（ＡＤＡＬＩＮＥ）ネットワーク、マダリン（ＭＡＤＡＬＩＮＥ）ネットワーク、ラーンマトリックス（Ｌｅａｒｎｍａｔｒｉｘ）ネットワーク、ラジアル基底関数（ＲＢＦ）ネットワーク、及び自己組織化マップ又はコホーネン自己組織化ネットワークなどのフィードフォワード神経回路網、単純再帰ネットワーク及びホップフィールドネットワークなどの再帰神経回路網、ボルツマン機械などの確率的神経回路網、機械及び連想神経回路網の委員会などのモジュラー神経回路網、並びに瞬時訓練神経回路網、スパイキング神経回路網、動的神経回路網、及びカスケード神経回路網などの他の種類のネットワークが含まれる。神経回路網の分析は、たとえばＳｔａｔＳｏｆｔ，Ｉｎｃ．から入手可能なスタティスティカデータ分析ソフトウェアを使用して行うことができる。神経回路網の説明には、たとえば、Ｆｒｅｅｍａｎら、「Ｎｅｕｒａｌ Ｎｅｔｗｏｒｋｓ：Ａｌｇｏｒｉｔｈｍｓ，Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ａｎｄ Ｐｒｏｇｒａｍｍｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ」、Ａｄｄｉｓｏｎ－Ｗｅｓｌｅｙ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ（１９９１）、Ｚａｄｅｈ、Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌ、８：３３８～３５３（１９６５）、Ｚａｄｅｈ、「ＩＥＥＥ Ｔｒａｎｓ．ｏｎ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｍａｎ ａｎｄ Ｃｙｂｅｒｎｅｔｉｃｓ」、３：２８～４４（１９７３）、Ｇｅｒｓｈｏら、「Ｖｅｃｔｏｒ Ｑｕａｎｔｉｚａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｓｉｇｎａｌ Ｃｏｍｐｒｅｓｓｉｏｎ」、Ｋｌｕｙｗｅｒ Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ、Ｂｏｓｔｏｎ、Ｄｏｒｄｒｅｃｈｔ、Ｌｏｎｄｏｎ（１９９２）、及びＨａｓｓｏｕｎ、「Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌｓ ｏｆ Ａｒｔｉｆｉｃｉａｌ Ｎｅｕｒａｌ Ｎｅｔｗｏｒｋｓ」、ＭＩＴ Ｐｒｅｓｓ、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、Ｍａｓｓａｃｈｕｓｅｔｔｓ、Ｌｏｎｄｏｎ（１９９５）を参照されたい。

【０１８６】

[0187]サポートベクターマシーンとは、分類及び回帰に使用される１セットの関連する教師あり学習技法であり、たとえばＣｒｉｓｔｉａｎｉｎｉら、「Ａｎ Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｓｕｐｐｏｒｔ Ｖｅｃｔｏｒ Ｍａｃｈｉｎｅｓ ａｎｄ Ｏｔｈｅｒ Ｋｅｒｎｅｌ－Ｂａｓｅｄ Ｌｅａｒｎｉｎｇ Ｍｅｔｈｏｄｓ」、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ（２０００）に記載されている。サポートベクターマシーン分析は、たとえば、Ｔｈｏｒｓｔｅｎ Ｊｏａｃｈｉｍｓ氏（カーネル大学）によって開発されたＳＶＭ^{ライト}（ＳＶＭ^{ｌｉｇｈｔ}）ソフトウェアを使用して、又はＣｈｉｈ－Ｃｈｕｎｇ Ｃｈａｎｇ氏及びＣｈｉｈ－Ｊｅｎ Ｌｉｎ氏（台湾国立大学）によって開発されたＬＩＢＳＶＭソフトウェアを使用して行うことができる。

【０１８７】

[0188]本明細書中に記載の様々な統計方法及びモデルは、健康な個体並びにＩＢＤ（たとえばＣＤ及び／又はＵＣ）患者からの試料（たとえば血清学的及び／又は遺伝的試料）のコホートを使用して訓練及び試験することができる。たとえば、医師、好ましくは胃腸科専門医によって、たとえば米国特許第６，２１８，１２９号に記載のように生検、大腸

内視鏡検査、又は免疫アッセイを使用してＩＢＤ又はその臨床亜型に罹患しているとして診断された患者からの試料が、本発明の統計方法及びモデルの訓練及び試験における使用に適している。また、ＩＢＤが診断された患者からの試料は、たとえば、米国特許第５，７５０，３５５号及び第５，８３０，６７５号に記載の免疫アッセイを使用してクローン病又は潰瘍性大腸炎にも階層化することができる。健康な個体からの試料には、ＩＢＤ試料として同定されなかったものを含めることができる。当業者は、本発明の統計方法及びモデルを訓練及び試験するために使用することができる患者試料のコホートを得るためのさらなる技法及び診断基準を知っているであろう。

【０１８８】

[0189]本明細書中で使用する用語「感度」とは、試料が陽性である場合に、本発明の診断、予後診断、又は予測方法が陽性結果を与える、たとえば、ＩＢＤの予測された診断、ＵＣの予測された診断、又はＩＢＤのＵＣとＣＤ亜型の予測された鑑別を有する確率をいう。感度は、真の陽性結果の数を真陽性及び偽陰性の和で除算することによって計算する。感度は、本質的には、本発明がどれだけ良好にＩＢＤの予測された診断、ＵＣの予測された診断、又はＩＢＤのＵＣとＣＤ亜型の予測された鑑別を有する者を、ＩＢＤの予測された診断、ＵＣの予測された診断、又はＩＢＤのＵＣとＣＤ亜型の予測された鑑別を有さない者から正しく同定するかの測度である。統計方法及びモデルは、感度が少なくとも約６０％であり、たとえば、少なくとも約６５％、７０％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％であることができるように、選択することができる。

【０１８９】

[0190]用語「特異性」とは、試料が陽性でない場合に、本発明の診断、予後診断、又は予測方法が陰性結果を与える、たとえば、ＩＢＤの予測された診断、ＵＣの予測された診断、又はＩＢＤのＵＣとＣＤ亜型の予測された鑑別を有さない確率をいう。特異性は、真の陰性結果の数を真陰性及び偽陽性の和で除算することによって計算する。特異性は、本質的には、本発明がどれだけ良好にＩＢＤの予測された診断、ＵＣの予測された診断、又はＩＢＤのＵＣとＣＤ亜型の予測された鑑別を有さない者をＩＢＤの予測された診断、ＵＣの予測された診断、又はＩＢＤのＵＣとＣＤ亜型の予測された鑑別を有する者から排除するかの測度である。統計方法及びモデルは、特異性が少なくとも約６０％であり、たとえば、少なくとも約６５％、７０％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％であることができるように、選択することができる。

【０１９０】

[0191]本明細書中で使用する用語「陰性予測値」すなわち「ＮＰＶ」とは、ＩＢＤの予測された診断、ＵＣの予測された診断、又はＩＢＤのＵＣとＣＤ亜型の予測された鑑別を有さないとして同定された個体が実際にはＩＢＤの予測された診断、ＵＣの予測された診断、又はＩＢＤのＵＣとＣＤ亜型の予測された鑑別を有さない確率をいう。陰性予測値は、真陰性の数を真陰性及び偽陰性の和で除算することによって計算することができる。陰性予測値は、診断又は予後診断方法の特徴、及び分析した集団における疾患の有病率によって決定する。統計方法及びモデルは、疾患有病率を有する集団中の陰性予測値が約７０％～約９９％の範囲内となるように選択することができ、たとえば、少なくとも約７０％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％であることができる。

【０１９１】

[0192]用語「陽性予測値」すなわち「ＰＰＶ」とは、ＩＢＤの予測された診断、ＵＣの予測された診断、又はＩＢＤのＵＣとＣＤ亜型の予測された鑑別を有するとして同定された個体が実際にはＩＢＤの予測された診断、ＵＣの予測された診断、又はＩＢＤのＵＣと

ＣＤ亜型の予測された鑑別を有する確率をいう。陽性予測値は、真陽性の数を真陽性及び偽陽性の和で除算することによって計算することができる。陽性予測値は、診断又は予後診断方法の特徴、及び分析した集団における疾患の有病率によって決定する。統計方法及びモデルは、疾患有病率を有する集団中の陽性予測値が約７０％～約９９％の範囲内となるように選択することができ、たとえば、少なくとも約７０％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％であることができる。

【０１９２】

[0193]陰性及び陽性の予測値を含めた予測値は、分析した集団における疾患の有病率によって影響を受ける。本発明では、統計方法及びモデルは、特定のＩＢＤ、ＵＣ、又はＣＤの有病率を有する臨床集団について所望の臨床的パラメータを生成するように選択することができる。たとえば、統計方法及びモデルは、たとえば胃腸科専門医院又は一般開業医院などの診療所において見ることができる、約１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、又は７０％までのＩＢＤ、ＵＣ、又はＣＤの有病率について選択することができる。

【０１９３】

[0194]本明細書中で使用する用語「全体的な一致」又は「全体的な精度」とは、本発明の方法がＩＢＤを診断する、ＵＣを診断する、又はＵＣとＣＤとを鑑別する精度をいう。全体的な精度は、真陽性及び真陰性の和を試料の結果の合計数で除算したものとして計算し、分析した集団における疾患の有病率によって影響を受ける。たとえば、統計方法及びモデルは、疾患有病率を有する患者集団における全体的な精度が少なくとも約４０％であるように選択することができ、たとえば、少なくとも約４０％、４１％、４２％、４３％、４４％、４５％、４６％、４７％、４８％、４９％、５０％、５１％、５２％、５３％、５４％、５５％、５６％、５７％、５８％、５９％、６０％、６１％、６２％、６３％、６４％、６５％、６６％、６７％、６８％、６９％、７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％であることができる。

【０１９４】

[0195]ＩＸ．キット

本発明は、本明細書中に記載ＳＮＰのうちの１つ又は複数の存在又は非存在を決定するためのキットを提供する。特定の態様では、本発明のキットは１つ又は複数のプローブを含む。特定の実施形態では、キットは、

（ｉ）ＳＮＰ位置（又は部位）を含む標的ポリヌクレオチドの野生型変異体対立遺伝子と結合することができる第１の標識したプローブ、及び

（ｉｉ）ＳＮＰ位置（又は部位）を含む標的ポリヌクレオチドの非野生型変異体対立遺伝子と結合することができる第２の標識したプローブ、

を含み、第１及び第２のプローブは異なって標識されている。

【０１９５】

[0196]異なった標識化により、単一の反応混合物内のプローブの別々の検出が可能となる。本発明の方法では、プローブのそれぞれの対立遺伝子バージョンを異なる色素で標識し、それによって、野生型及び突然変異体プローブの両方の検出が可能となる。色素標識したプローブの例には、それだけに限定されないが、ＶＩＣ（商標）又はＦＡＭ色素で標識したタックマンプローブ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、米国から入手可能）が含まれる。プローブを標識するための色素のさらなる例には、それだけには限定されないが、Ｃｙ３、Ｃｙ３．５、Ｃｙ５、Ｃｙ５．５、５－ＦＡＭ、６－ＦＡＭ、５（６）－ＦＡＭ、５－ＦＡＭ、ＳＥ、６－ＦＡＭ、ＳＥ、５（６）－ＦＡＭ、ＳＥ、５－ＴＡＭＲＡ、６－ＴＡＭＲＡ、５（６）－ＴＡＭＲＡ、５－ＴＡＭＲＡ、ＳＥ、６－ＴＡＭＲＡ

、ＳＥ、５（６）－ＴＡＭＲＡ、ＳＥ、ｄＲ１１０　５－ＦＡＭ（商標）、６－ＦＡＭ（商標）、６－ＦＡＭ５－ＦＡＭ６－ＦＡＭ６－ＦＡＭ６－ＦＡＭ、緑色色素（たとえば、ｄＲ６Ｇ、ＪＯＥ（商標）、ＨＥＸ（商標）、ＶＩＣ（登録商標）、ＪＯＥ、ＶＩＣ、ＴＥＴ（商標）、ｄＲ６Ｇが含まれる）、黄色色素（たとえば、ｄＴＡＭＲＡ（商標）、ＴＡＭＲＡ（商標）、ＮＥＤ（商標）、ＮＥＤ、ＨＥＸが含まれる）、赤色色素（たとえば、ｄＲＯＸ（商標）、ＲＯＸ（商標）、ＲＯＸ、ＰＥＴ（登録商標）、ＴＡＭＲＡが含まれる）及びオレンジ色色素（たとえば、ＬＩＺ（登録商標）及びＬＩＺが含まれる）が含まれる。

【０１９６】

[0197]一部の実施形態では、ＳＮＰ　ｒｓ２２８２２４を検出するために使用するキット中に含めるためのプローブ配列は、ＴＡＣＣＡＧＡＧＴＣＣＣＡＡＧＴＴＴＣＴＧＧＧＧＧＡＴＴＣＣＣＡＧＧＴＴＡＧＣＣＣＡＡＧＣＣＧＴＧＣＴ（配列番号３９）及びＴＡＣＣＡＧＡＧＴＣＣＣＡＡＧＴＴＴＣＴＧＧＧＧＧＧＧＴＴＣＣＣＡＧＧＴＴＡＧＣＣＣＡＡＧＣＣＧＴＧＣＴ（配列番号３９）であり、どちらもＴＡＣＣＡＧＡＧＴＣＣＣＡＡＧＴＴＴＣＴＧＧＧＧＧＧ［Ａ／Ｇ］ＴＴＣＣＣＡＧＧＴＴＡＧＣＣＣＡＡＧＣＣＧＴＧＣＴ（配列番号３９）に由来し、［Ａ／Ｇ］の表記はｒｓ２２２８２２４　ＳＮＰの位置を表す。さらなる実施形態では、第１のプローブはＶＩＣ（商標）色素で標識されており、Ａ対立遺伝子を含有し、第２のプローブはＦＡＭ（商標）で標識されており、Ｇ対立遺伝子を含有する。ｒｓ２２２８２２４　ＳＮＰの存在又は非存在の検出では、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｇ／Ｇ）シグナルはホモ接合性の野生型遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＶＩＣ（Ａ／Ａ）シグナルはホモ接合性の突然変異体遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の突然変異体遺伝子型を示す。

【０１９７】

[0198]一部の実施形態では、ＳＮＰ　ｒｓ２０３２５８２を検出するために使用するキット中に含めるためのプローブ配列は、ＴＡＴＴＴＡＧＴＴＴＧＡＣＴＣＡＣＣＴＴＣＣＣＡＧＣＡＣＣＴＴＣＴＡＧＴＴＣＴＴＴＣＴＴＡＴＣＴＴＴＣ（配列番号４０）及びＴＡＴＴＴＡＧＴＴＴＧＡＣＴＣＡＣＣＴＴＣＣＣＡＧＡＡＣＣＴＴＣＴＡＧＴＴＣＴＴＴＣＴＴＡＴＣＴＴＴＣ（配列番号４０）であり、どちらもＴＡＴＴＴＡＧＴＴＴＧＡＣＴＣＡＣＣＴＴＣＣＣＡＧ［Ｃ／Ａ］ＡＣＣＴＴＣＴＡＧＴＴＣＴＴＴＣＴＴＡＴＣＴＴＴＣ（配列番号４０）に由来し、［Ｃ／Ａ］の表記はｒｓ２０３２５８２　ＳＮＰの位置を表す。さらなる実施形態では、第１のプローブはＶＩＣ（商標）色素で標識されており、Ｃ対立遺伝子を含有し、第２のプローブはＦＡＭ（商標）で標識されており、Ａ対立遺伝子を含有する。ｒｓ２０３２５８２　ＳＮＰの存在又は非存在の検出では、プローブが逆になっており（Ｃの代わりにＧ及びＡの代わりにＴ）、したがって、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｔ／Ｔ）シグナルはホモ接合性の野生型遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＶＩＣ（Ｇ／Ｇ）シグナルはホモ接合性の突然変異体遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の突然変異体遺伝子型を示す。

【０１９８】

[0199]一部の実施形態では、ＳＮＰ　ｒｓ２０３２５８２を検出するために使用するキット中に含めるためのプローブ配列は、ＴＡＴＴＴＡＧＴＴＴＧＡＣＴＣＡＣＣＴＴＣＣＣＡＧＣＡＣＣＴＴＣＴＡＧＴＴＣＴＴＴＣＴＴＡＴＣＴＴＴＣ（配列番号４１）及びＴＡＴＴＴＡＧＴＴＴＧＡＣＴＣＡＣＣＴＴＣＣＣＡＧＴＡＣＣＴＴＣＴＡＧＴＴＣＴＴＴＣＴＴＡＴＣＴＴＴＣ（配列番号４１）であり、どちらもＴＡＴＴＴＡＧＴＴＴＧＡＣＴＣＡＣＣＴＴＣＣＣＡＧ［Ｃ／Ｔ］ＡＣＣＴＴＣＴＡＧＴＴＣＴＴＴＣＴＴＡＴＣＴＴＴＣ（配列番号４１）に由来し、［Ｃ／Ｔ］の表記はｒｓ２０３２５８２　ＳＮＰの位置を表す。さらなる実施形態では、第１のプローブはＶＩＣ（商標）色素で標識されており、Ｃ対立遺伝子を含有し、第２のプローブはＦＡＭ（商標）で標識されており、Ｔ対立遺伝子を含有する。ｒｓ２０３２５８２　ＳＮＰの存在又は非存在の検出では、プローブが逆になっており（Ｃの代わりにＧ及びＡの代わりにＴ）、したがって、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ａ／Ａ）シグナルはホモ接合性の野生型遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＶＩＣ（Ｇ／Ｇ）シグナ

ルはホモ接合性の突然変異体遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の突然変異体遺伝子型を示す。

【０１９９】

[0200]一部の実施形態では、ＳＮＰ　ｒｓ２２４１８８０を検出するために使用するキット中に含めるためのプローブ配列は、ＣＣＣＡＧＴＣＣＣＣＣＡＧＧＡＣＡＡＴＧＴＧＧＡＴＡＣＴＣＡＴＣＣＴＧＧＴＴＣＴＧＧＴＡＡＡＧＡＡＧＴ（配列番号４２）及びＣＣＣＡＧＴＣＣＣＣＣＡＧＧＡＣＡＡＴＧＴＧＧＡＴＧＣＴＣＡＴＣＣＴＧＧＴＴＣＴＧＧＴＡＡＡＧＡＡＧＴ（配列番号４２）であり、ＣＣＣＡＧＴＣＣＣＣＣＡＧＧＡＣＡＡＴＧＴＧＧＡＴ［Ａ／Ｇ］ＣＴＣＡＴＣＣＴＧＧＴＴＣＴＧＧＴＡＡＡＧＡＡＧＴ（配列番号４２）に由来し、［Ａ／Ｇ］の表記はｒｓ２２４１８８０　ＳＮＰの位置を表す。さらなる実施形態では、第１のプローブはＶＩＣ（商標）色素で標識されており、Ａ対立遺伝子を含有し、第２のプローブはＦＡＭ（商標）で標識されており、Ｇ対立遺伝子を含有する。ｒｓ２２４１８８０　ＳＮＰの存在又は非存在の検出では、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｇ／Ｇ）シグナルはホモ接合性の野生型遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＶＩＣ（Ａ／Ａ）シグナルはホモ接合性の突然変異体遺伝子型を示し、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の突然変異体遺伝子型を示す。

【０２００】

[0201]一部の実施形態では、キットは１組又は複数セットのプローブを含有する。他の実施形態では、キットは、ＳＮＰの検出反応に必要な緩衝液又は他の試薬を含有していてもよい。緩衝液及び他の試薬の種類は当分野で周知であり、その使用は当業者によって容易に決定することができる。

【実施例】

【０２０１】

[0202]Ｘ．実施例

以下の実施例は、例示のために提供するが、特許請求した発明を制限しない。

【０２０２】

[0203]実施例１：ＤＮＡの単離方法。

ＤＮＡ単離に使用した試料は、当分野で知られている標準の手順を使用して血液又は体液から得た。試料からＤＮＡを単離するために、供給されたプロトコル（ＱＩＡＧＥＮ、米国から入手したＱＩＡａｍｐ　ＤＮＡ血液ミニキット、カタログ＃５１１０６）を使用して、ＱＩＡＧＥＮの血液又は体液からのＤＮＡ精製のためのプロトコル（スピンプロトコル）を１００μｌの反応サイズで用いた。

【０２０３】

[0204]ＤＮＡ単離手順：

１）２０μｌのプロテアーゼを１．５ｍｌのマイクロ遠心管の底にピペットで入れる。

２）１００μｌの試料をマイクロ遠心管に加える。

３）１００ｕｌの１×ＰＢＳをマイクロ遠心管に加える。

４）２００μｌの緩衝液ＡＬを試料に加える。

５）１５秒間パルス渦攪拌することによって混合する。

６）５６℃で１０分間インキュベーションする。

７）１．５ｍｌのマイクロ遠心管を手短に遠心分離して、蓋の内側から液滴を除去する。

８）２００μｌのエタノール（９６～１００％）を試料に加える。

９）１５秒間パルス渦攪拌することによって混合する。

１０）１．５ｍｌのマイクロ遠心管を手短に遠心分離して、蓋の内側から液滴を除去する。

１１）縁を濡らさずに混合物をＱＩＡａｍｐミニ遠心カラム（２ｍｌの採取チューブ内）に注意深く入れる。キャップを閉める。

１２）６０００×ｇ（８０００ｒｐｍ）で１分間遠心分離する。

１３）遠心カラムを清浄な２ｍｌの採取チューブ内に入れ、濾液を含有するチューブを廃棄する。

１４）遠心カラムを注意深く開け、縁を濡らさずに５００μｌの緩衝液ＡＷ１を加える。キャップを閉める。

１５）６０００×ｇ（８０００ｒｐｍ）で１分間遠心分離する。

１６）遠心カラムを清浄な２ｍｌの採取チューブ内に入れ、濾液を含有するチューブを廃棄する。

１７）遠心カラムを注意深く開け、縁を濡らさずに５００μｌの緩衝液ＡＷ２を加える。キャップを閉める。

１８）最高速度２００００×ｇ（１４，０００ｒｐｍ）で３分間遠心分離する。

１９）遠心カラムを清浄な１．５ｍｌのマイクロ遠心管内に入れ、濾液を含有するチューブを廃棄する。

２０）遠心カラムを開け、２００μｌの緩衝液ＡＥを加える。

２１）室温で５分間インキュベーションする。

２２）６０００×ｇ（８０００ｒｐｍ）で１分間遠心分離する。

【０２０４】

[0205]実施例２：ＳＮＰアッセイ方法。

ＳＮＰ分析には、ＡＢＩ３８４急速リアルタイムプレート調製キットを使用した（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、米国）。手短に述べると、アッセイ材料は、タックマンＧＴＸｐｒｅｓｓマスターミックス及びそれぞれのＳＮＰに適したＡＢＩ遺伝子型決定アッセイからなっていた（ｒｓ２２２８２２４には、使用したアッセイＩＤはＣ＿３１２５１４６＿１０であり、ｒｓ２２２８２２６には、使用したアッセイＩＤはＣ＿１１２９３０７４＿１０であり、ｒｓ２０３２５８２には、使用したアッセイＩＤはＣ＿１１７１１７２０Ｄ＿３０又はＣ＿１１７１１７２０Ｄ＿４０であり、ｒｓ２２４１８８０には、使用したアッセイＩＤはＣ＿９０９５５７７＿２０であった）。さらなるアッセイ材料には、ＡＸＹＧＥＮサイエンティフィックリザーバー８列（Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｒｅｓｅｒｖｏｉｒ　８　Ｒｏｗ）（パート番号ＲＥＳ－ＭＷ８－ＬＰ－ＳＩ、Ａｘｙｇｅｎ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、米国カリフォルニア）、ＡＢＩ　マイクロアンプオプティカル（ＭｉｃｒｏＡｍｐ　Ｏｐｔｉｃａｌ）バーコード付３８４ウェル反応プレート（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、米国からのパート番号４３０９８４９）、マイクロアンプオプティカル接着フィルム（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、米国からのパート番号４３１１９７１）が含まれていた。ＰＣＲ反応に使用したシステムは７９００ＨＴ急速リアルタイムＰＣＲシステムＥ２２１６（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、米国）であった。製品は添付の製造者の指示に従って使用した。

【０２０５】

[0206]ＳＮＰの検出手順：

１）遺伝子型決定アッセイミックスを氷上で解凍する。遺伝子型決定ミックスを光から保護しておく。

２）ＧＴＸｐｒｅｓｓマスターミックスを氷上に保つ。マスターミックスを光から保護しておく。

３）試料／対照ＤＮＡを割り当てたプレートのウェルに加える：

ａ．４０×遺伝子型決定ミックスを使用する場合は２．３７５μｌのＤＮＡ／ウェルを加える

又は

ｂ．２０×遺伝子型決定ミックスを使用する場合は２．２５μｌのＤＮＡ／ウェルを加える。

４）反応（Ｒｘｎ）ミックスを調製する：

ａ．ＧＴＸｐｒｅｓｓマスターミックスを穏やかに反転して内容物を混合する。

ｂ．遺伝子型決定アッセイを穏やかに渦攪拌して内容物を混合し、手短に遠心分離することによって内容物を遠沈させる。

ｃ．無菌的なクライオバイアル内に、最初にＧＴＸｐｒｅｓｓマスターミックスをピペットで入れ、その後に遺伝子型決定アッセイを入れる：
ｉ．ＧＴＸｐｒｅｓｓマスターミックスの量：２．５μｌ／ウェルを加える
ｉｉ．遺伝子型決定アッセイの量：
１．４０×遺伝子型決定ミックスを使用する場合は０．１２５μｌの遺伝子型決定ミックス／ウェルを加える
又は
２．２０×遺伝子型決定ミックスを使用する場合は０．２５μｌの遺伝子型決定ミックス／ウェルを加える。
５）クライオバイアルを穏やかに渦攪拌して内容物を混合する。
６）クライオバイアルの内容物を無菌的なリザーバー内に注ぎ、その後、ピペットで：
ａ．４０×遺伝子型決定ミックスを使用する場合はピペット２．６２５μｌのｒｘｎミックス／ウェル
又は
２０×遺伝子型決定ミックスを使用する場合はピペット２．７５μｌのｒｘｎミックス／ウェルを入れる。
７）プレートを密閉する。
８）プレートを渦攪拌し、その後、プレートを軽くたたいてウェル中に存在するすべての気泡を除去する。
９）試料体積＝５μｌに設定し、ＲＴ　ＰＣＲを開始する：
ａ．段階１：５０．０℃で２：００分間
ｂ．段階２：９５．０℃で１０：００分間
ｃ．段階３：反復：４０回
ｉ．９５．０℃で０：１５分間
ｉｉ．６０．０℃で１：００分間

【０２０６】

[0207]実施例３：血清学的マーカーと組み合わせた遺伝子変異体は潰瘍性大腸炎の同定を改善させる。

クローン病（ＣＤ）及び潰瘍性大腸炎（ＵＣ）は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）の２つの一般的な形態である。血清学的マーカーを使用してこれらの疾患の区別を助けることはできるが、その精度は一般にＣＤの方が高い。これは、血清学的マーカーのほとんどがＣＤ患者中で見つかる一方で、主なＵＣマーカーは１つ、すなわち抗好中球細胞質（ｃｙｔｏｐｌａｍｉｃ）抗体（ＡＮＣＡ）しか存在しないことが原因である。ＵＣ関連ＡＮＣＡは、アルコール固定した好中球に対して核周囲染色パターン（ｐＡＮＣＡ）をもたらす。しかし、その高い特異性にもかかわらず、ＵＣ症例の４８％のみがｐＡＮＣＡ陽性である。ＧＷＡＳ分析を使用した新しいＩＢＤマーカーの検索により、遺伝的突然変異が疾患において重要な役割を果たしていることが確認された。実際、数々の遺伝子マーカーが同定されており、ＣＤ、ＵＣ又は両方に関連づけられている。

【０２０７】

[0208]研究の目的：本研究の目的は、ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡと組み合わせて、ＵＣを有する患者をより良好に同定するために寄与することができる遺伝子マーカーを同定することであった。

【０２０８】

[0209]方法：十分に特徴づけられたＵＣ患者（ｎ＝８１人）及び健康な対照（ＨＣ、ｎ＝１５３人）からのＤＮＡを、３つの遺伝子、すなわちＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）、ＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）、及びＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）中の変異体について遺伝子型決定した。ＵＣとＨＣの間の危険対立遺伝子頻度の差異を、フィッシャーの正確検定を使用して分析し、オッズ比（ＯＲ）を９５％信頼区間（ＣＩ）で計算した。患者及び対照の血清を、ＥＬＩＳＡによってＡＮＣＡについて、及び免疫蛍光、続

いて固定した好中球のＤＮＡｓｅ処理によってｐＡＮＣＡについて試験した。ランダムフォレストを使用して予測モデルを生成し、１つ取り出す交差検証（ｌｅａｖｅ－ｏｎｅ－ｏｕｔ　ｃｒｏｓｓ　ｖａｌｉｄａｔｉｏｎ）を使用して妥当性確認した。

【０２０９】

[0210]結果：ＨＣに比べてＵＣにおいて、危険対立遺伝子頻度の有意な差異がＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）突然変異について見出された（ｐ＜０．００１、ＯＲ＝２．６４、９５％ＣＩ＝１．７３～４．０７）。三対立遺伝子ＭＤＲ１変異体では、最も一般的なＭＤＲ１突然変異（Ａ８９３Ｓ）はＵＣに有意に関連づけられていることが判明した（ｐ＝０．０１０、ＯＲ＝１．６７、９５％ＣＩ＝１．１１～２．５１）。ＡＴＧ１６Ｌ１もＵＣに有意に関連づけられていた（ｐ＝０．００６、ＯＲ＝１．７３、９５％ＣＩ＝１．１６～２．５９）（表３）。受信者動作特性（ＲＯＣ）分析を使用して、ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡ単独での診断精度を、３つの遺伝子変異体とＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡとの組合せと比較した（図１）。３つの遺伝子変異体の追加は、ＲＯＣ曲線下面積を０．７９３（ＣＩ＝０．７２６～０．８６１）から０．８５６（ＣＩ＝０．７９９～０．９１２）へと増加させ、その結果、８０％の固定特異性でのＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡの感度が６７％から７８％へと改善された（表４）。

【０２１０】

[0211]結論：本発明者らは、ＵＣに関連づけられている新しい遺伝子変異体ＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）を特徴づけ、ＭＤＲ１（Ａ８９３Ｓ）及びＡＴＧ１６Ｌ１（Ｔ３００Ａ）変異体とＵＣとの関連を確認した。これらの遺伝子変異体は、ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡと組み合わせて、ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡ単独よりも高いＵＣの診断精度をもたらした。

【０２１１】

【表３】

表 3: UC との SNP の関連性

遺伝子	SNP	RAF (HC対UC) P値	OR (CI)
GLI1 (G933D)	rs2228224	<0.001	2.64 (1.73 - 4.07)
MDR1 (A893S)	rs2032582	0.010	1.67 (1.11 - 2.51)
ATG16L1(T300A)	rs2241880	0.006	1.73 (1.16 - 2.59)

【０２１２】

【表４】

表 4: ANCA/pANCA への遺伝子変異体の追加

	HC (特異性)	UC (感度)	AUC (CI)
血清学 (ANCA + pANCA)	80%	67%	0.793 (0.726 - 0.861)
血清学 + 3つの遺伝子変異体	80%	78%	0.856 (0.799 - 0.912)

【０２１３】

[0212]実施例４：遺伝子変異体を血清学的マーカーと組み合わせることで潰瘍性大腸炎の診断の精度が改善される。

クローン病（ＣＤ）及び潰瘍性大腸炎（ＵＣ）は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）の２つの一般的な形態である。血清学的マーカーを使用してこれらの疾患の区別を助けることはできるが、その精度は一般にＣＤの方が高い。これは、多様な血清学的マーカーのほとんどがＣＤに関連づけられている一方で、主なＵＣマーカーは１つ、すなわち抗好中球細胞質抗体（ＡＮＣＡ）しか存在しないことが原因である。ＵＣ関連ＡＮＣＡは、アルコール固定した好中球に対して核周囲染色パターン（ｐＡＮＣＡ）をもたらす。しかし、その高い特異性にもかかわらず、ＵＣ症例の４８％のみがｐＡＮＣＡ陽性である。ＧＷＡＳ分析を使用した新しいＩＢＤマーカーの検索により、遺伝的突然変異が疾患の病因学において重要な役割を果たしていることが確認された。数々の遺伝子マーカーが同定されており、ＣＤ

、ＵＣ又は両方に関連づけられている。

【０２１４】

[0213]研究の目的：この探索的研究の目的は、ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡと組み合わせて、ＵＣを有する患者をより良好に同定するために寄与することができる遺伝子マーカーを同定することであった。

【０２１５】

[0214]方法：十分に特徴づけられたＵＣ患者（ｎ＝８１人）及び健康な対照（ＨＣ、ｎ＝１５３人）からのＤＮＡを、２つの遺伝子、すなわちＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）及びＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）中の変異体について遺伝子型決定した。ＵＣとＨＣの間の危険対立遺伝子頻度の差異を、フィッシャーの正確検定を使用して分析し、オッズ比（ＯＲ）を９５％信頼区間（ＣＩ）で計算した。患者及び対照の血清を、ＥＬＩＳＡによってＡＮＣＡについて、及び免疫蛍光、続いて固定した好中球のＤＮＡｓｅ処理によってｐＡＮＣＡについて試験した。ランダムフォレストを使用して予測モデルを生成し、１つ取り出す交差検証を使用して妥当性確認した。

【０２１６】

[0215]結果：ＨＣに比べてＵＣにおいて、危険対立遺伝子頻度の有意な差異がＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）突然変異について見出された（ｐ＜０．００１、ＯＲ＝２．６４、９５％ＣＩ＝１．７３～４．０７）。三対立遺伝子ＭＤＲ１変異体では、最も一般的なＭＤＲ１突然変異（Ａ８９３Ｓ）はＵＣに有意に関連づけられていた（ｐ＝０．０１０、ＯＲ＝１．６７、９５％ＣＩ＝１．１１～２．５１）（表５）。受信者動作特性（ＲＯＣ）分析を使用して、ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡ単独での診断精度を、２つの遺伝子変異体とＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡとの組合せと比較した（図２）。２つの遺伝子変異体の追加は、ＲＯＣ曲線下面積を０．７９３（ＣＩ＝０．７２６～０．８６１）から０．８５３（ＣＩ＝０．８０１～０．９０５）（表６）へと増加させた。

【０２１７】

[0216]結論：本発明者らは、ＵＣに関連づけられている新しい遺伝子変異体ＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）を特徴づけ、ＭＤＲ１（Ａ８９３Ｓ）変異体とＵＣとの関連を確認した。この集団のサブセットでは、これらの遺伝子変異体は、ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡと組み合わせて、ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡ単独よりも高いＵＣの診断精度をもたらした。

【０２１８】

【表５】

表 5: UC との SNP の関連性

遺伝子	SNP	RAF (HC対UC) P値	OR (CI)
GLI1 (G933D)	rs2228224	<0.001	2.64 (1.73 - 4.07)
MDR1 (A893S)	rs2032582	0.010	1.67 (1.11 - 2.51)

【０２１９】

【表６】

表 6: ANCA/pANCA への遺伝子変異体の追加

	HC (特異性)	UC (感度)	AUC (CI)
血清学 (ANCA + pANCA)	80%	68%	0.793 (0.726 - 0.861)
血清学 + 2つの遺伝子変異体	80%	72%	0.853 (0.801-0.905)

【０２２０】

[0217]実施例５：遺伝子変異体を血清学的マーカーと組み合わせることで潰瘍性大腸炎の診断の精度が改善される。

導入

炎症性腸疾患（ＩＢＤ）は、腸の内側が連続的に又は繰り返して炎症を起こすいくつか

の障害からなる。ＩＢＤの原因は不明確であるが、多遺伝子性の性質であり、腸の内側の組織の免疫系による誤った認識及び腸の内側の免疫系細胞の蓄積に関与して炎症がもたらされると考えられている。ＩＢＤの２つの一般的な形態は潰瘍性大腸炎（ＵＣ）及びクローン病（ＣＤ）である。ＵＣとＣＤの区別は血清学的マーカーの検査によって達成することができる。ほとんどの血清学的マーカーはＣＤに関連づけられている（たとえば、ＡＳＣＡ　ＩｇＡ及びＩｇＧ、抗ＯｍｐＣ、抗ＣＢｉｒ１、抗Ｉ２など）。抗好中球細胞質抗体（ＡＮＣＡ）のみが主にＵＣで見つかる。ＵＣ症例の４８％において、アルコール固定した好中球は核周囲染色パターン（ｐＡＮＣＡ）を生じ、ｐＡＮＣＡに特異的であるが、ＵＣに感受性ではない。全ゲノム関連研究（ＧＷＡＳ）により、多剤耐性遺伝子（ＡＢＣＢ１／ＭＤＲ１）を含有する染色体７ｑ上の連鎖領域（Ｂｒａｎｔら、Ａｍ　Ｊ　Ｈｕｍ　Ｇｅｎｅｔ．、２００３、７３（６）１２８２～１２９２）及び神経膠腫関連癌遺伝子相同体１（Ｇｌｉ１）を含有するＩＢＤ２連鎖領域１２ｑ１３（Ｌｅｅｓら、ＰＬｏＳ　Ｍｅｄ．、２００８、５（１２）Ｅ２３９）を含めたＩＢＤの数々の感受性座位が同定されている。

【０２２１】

[0218]研究の目的

ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡと組み合わせてＵＣを有する患者の同定をより成功させる診断試験に寄与する、新しい遺伝子マーカーを同定することである。

【０２２２】

[0219]材料及び方法

十分に特徴づけられたＵＣ患者（ｎ＝８１人）及び健康な対照（ＨＣ、ｎ＝１５３人）からのＤＮＡを、２つの遺伝子、すなわちＧｌｉ１（ｒｓ２２２８２２４及びｒｓ２２２８２２６）並びにＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）中の３つの変異体について遺伝子型決定した（表７）。ＵＣとＨＣの間の危険対立遺伝子頻度（ＲＡＦ）の差異を、フィッシャーの正確検定を使用して分析し、オッズ比（ＯＲ）を９５％信頼区間（ＣＩ）で計算した。患者及び対照の血清を、ＥＬＩＳＡによってＡＮＣＡについて、及び免疫蛍光、続いて固定した好中球のＤＮＡｓｅ処理によってｐＡＮＣＡについて試験した（図３）。ランダムフォレストを使用して予測モデルを生成し、１つ取り出す交差検証を使用して妥当性確認した。

【０２２３】

【表７】

表7: 患者の特徴

特徴	潰瘍性大腸炎(n＝81)		健康な対照(n＝153)
性別	39%男性		43%男性
平均診断年齢(歳)	30		該当なし
疾患の程度/位置	n＝	%	
盲腸	37	46	該当なし
上行結腸	47	59	該当なし
横行結腸	53	66	該当なし
下行結腸	66	83	該当なし
Ｓ状	74	93	該当なし
直腸	80	100	該当なし

【０２２４】

[0220]結果

ｐＡＮＣＡ／ＡＮＣＡマーカーの分布は、健康な対照に比べてＵＣ集団の方が高かった（表８）。

ＨＣ試料の１％がｐＡＮＣＡ陽性であった。

ＵＣ試料の４８％がｐＡＮＣＡ陽性であった。

ＨＣ試料の１０％が高い血清ＡＮＣＡ値を有していた。

ＵＣ試料の６０％が高い血清ＡＮＣＡ値を有していた。

【０２２５】

[0221]ＵＣ対ＨＣにおいて、ＲＡＦの有意な差異がＧｌｉ１及びＭＤＲ１のＳＮＰで見出された（表９）。

Ｇｌｉ１（Ｇ９３３Ｄ）ｐ＜０．００１、ＯＲ：２．６４、（９５％ＣＩ：１．７３～４．０７）。

Ｇｌｉ１（Ｑ１１００Ｅ）ｐ＝０．０２、ＯＲ：１．６６、（９５％ＣＩ：１．０７～２．６２）。

ＭＤＲ１（Ａ８９３Ｓ）ｐ＝０．０１、ＯＲ：１．６７、（９５％ＣＩ：１．１１～２．５１）。

【０２２６】

[0222]ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡへの２つの遺伝子変異体の追加は、曲線下面積を０．８０２（９５％ＣＩ：０．７３７～０．８６８）から０．８５３（９５％ＣＩ：０．８０１～０．９０５）へと増加させた（図４）。

【０２２７】

【表８】

表8: ANCA/pANCAマーカーの分布

	pANCA-		pANCA+		ANCA低		ANCA高	
	n=	%	n=	%	n=	%	n=	%
健康な対照(n=153)	151	99	2	1	137	90	16	10
潰瘍性大腸炎(n=81)	42	52	39	48	32	40	49	60

【０２２８】

【表９】

表9: GLI1及びMDR1のSNPの危険対立遺伝子頻度

	健康な対照		潰瘍性大腸炎			
	n=	%	n=	%	P値	OR (CI)
Gli1 (Q1100E) rs2228226	193	63.9	121	74.7	0.02	1.66 (1.07～2.62)
Gli1 (G933D) rs2228224	147	48	115	71	<0.0001	2.64 (1.73～4.07)
MDR1 (S893A/T) rs2032582	111	36.2	79	48.8	0.01	1.67 (1.11～2.51)

【０２２９】

[0223]ＡＢＣＢ１／ＭＤＲ１遺伝子は染色体７ｑ２１．１２に位置する。エクソン２１中の三対立遺伝子の遺伝子変異体２６７７Ｇ＞Ｔ／Ａ（ｒｓ２０３２５８２）は、位置８９３の細胞内の非同義のアミノ酸変化をもたらす（Ａ８９３Ｓ／Ｔ）。Ｗａｎｇら、ＡＡＰＳ Ｊ．、２００６、８（３）Ｅ５１５～Ｅ５２０を参照されたい。Ｇｌｉ１遺伝子は染色体１２ｑ１３．２～ｑ１３．３に位置する。エクソン１２中の遺伝子変異体３３７６Ｇ＞Ｃ（ｒｓ２２２８２２６）は、位置１１００の非同義のアミノ酸変化をもたらす（Ｑ１１００Ｅ）。遺伝子変異体２８７６Ｇ＞Ａ（ｒｓ２２２８２２４）は、位置９３３の非同義のアミノ酸変化をもたらす（Ｇ９３３Ｄ）。Ｌｅｅｓら、ＰＬｏＳ Ｍｅｄ．、２００８、５（１２）Ｅ２３９を参照されたい。

【０２３０】

[0224]抗好中球細胞質抗体（ＡＮＣＡ）は好中球の細胞内成分に向けられている（図３）。共焦点及び電子顕微鏡観察により、ＵＣ関連ｐＡＮＣＡは主にクロマチン上に局在化しており、核の周辺に向かって濃縮されていたことが実証されている。ＵＣ患者では、ＤＮＡｓｅ Ｉで処理した後にｐＡＮＣＡ染色パターンは失われた。ＵＣ症例の約７０％において抗原認識の完全な損失が存在していた一方で、症例の３０％では細胞質染色への変換が存在していた。ＵＣ患者の３パーセントは耐性パターンを有する（Ｎａｋａｍｕｒａら、Ｃｌｉｎ Ｃｈｉｍ Ａｃｔａ．、２００３；３３５（１～２）９～２０）。

【０２３１】

[0225]予想どおり、ｐＡＮＣＡ／ＡＮＣＡマーカーの分布は、ＨＣに比べてＵＣ集団の方が高かった。実際、ＵＣ試料の４８％に比べてＨＣ試料の１％のみがｐＡＮＣＡ陽性であった。同様に、ＵＣ試料の６０％に比べてＨＣ試料の１０％のみが高い血清ＡＮＣＡ値を有していた（表８）。

【０２３２】

[0226]ＨＣに比べてＵＣにおいて、ＲＡＦの有意な差異がＧｌｉ１（Ｇ９３３Ｄ）突然変異について見出された（ｐ＜０．００１、ＯＲ：２．６４、９５％ＣＩ：１．７３～４．０７）。有意なＲＡＦの差異がＧｌｉ１（Ｑ１１００Ｅ）でも見出された（ｐ＝０．０２、ＯＲ：１．６６、９５％ＣＩ：１．０７～２．６２）。三対立遺伝子ＭＤＲ１変異体では、最も一般的なＭＤＲ１突然変異（Ａ８９３Ｓ）はＵＣに有意に関連づけられていた（ｐ＝０．０１０、ＯＲ：１．６７、９５％ＣＩ：１．１１～２．５１）（表９）。

【０２３３】

[0227]受信者動作特性分析を使用して、ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡ単独での診断精度を、２つの遺伝子変異体Ｇｌｉ１（Ｇ９３３Ｄ）及びＭＤＲ１（Ａ８９３Ｓ）とＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡとの組合せと比較した。２つの遺伝子変異体の追加は、曲線下面積を０．８０２（９５％ＣＩ：０．７３７～０．８６８）から０．８５３（９５％ＣＩ：０．８０１～０．９０５）へと増加させた（図４）。

【０２３４】

[0228]結論

本研究は、新しいＵＣ関連の遺伝子変異体：Ｇｌｉ１（Ｇ９３３Ｄ）を特徴づけ、ＭＤＲ１（Ａ８９３Ｓ）変異体とＵＣとの関連を確認した。この集団のサブセットでは、Ｇｌｉ１及びＭＤＲ１変異体は、ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡと組み合わせて、ＡＮＣＡ／ｐＡＮＣＡ単独よりも高いＵＣの診断精度をもたらした。

【０２３５】

[0229]実施例６：ＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）ｒｓ２２２８２２４及びＭＤＲ１（Ａ８９３Ｓ／Ｔ）ｒｓ２０３２５８２の危険対立遺伝子因子（ＲＡＦ）分析。

本実施例は、クローン病（ＣＤ）、ＵＣ、及び健康な対照（ＨＣ）患者からの試料中のＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）ｒｓ２２２８２２４及びＭＤＲ１（Ａ８９３Ｓ／Ｔ）ｒｓ２０３２５８２のＳＮＰと潰瘍性大腸炎（ＵＣ）との関連性の分析を提供する。

【０２３６】

[0230]ｒｓ２２２８２２４　ＳＮＰの検出を本明細書中に記載のように行った。ｒｓ２２２８２２４　ＳＮＰ分析のアッセイ結果の解釈では、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｇ／Ｇ）シグナルはホモ接合性の野生型として示され、ＶＩＣ／ＶＩＣ（Ａ／Ａ）シグナルはホモ接合性の突然変異体として示され、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の突然変異体として示された。

【０２３７】

[0231]ｒｓ２０３２５８２　ＳＮＰの検出を本明細書中に記載のように行った。ｒｓ２０３２５８２　ＳＮＰ分析のアッセイ結果の解釈では、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｔ／Ｔ）シグナルはホモ接合性の突然変異体として示され、ＶＩＣ／ＶＩＣ（Ｇ／Ｇ）シグナルはホモ接合性の野生型遺伝子型として示され、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の突然変異体遺伝子型として示された。

【０２３８】

[0232]以下の表１０は、ＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）ｒｓ２２２８２２４及びＭＤＲ１（Ａ８９３Ｓ）ｒｓ２０３２５８２の危険対立遺伝子頻度を示す。特に、表１０は、健康な対照（ＨＣ）と潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、ＨＣとクローン病（ＣＤ）、及びＣＤとＵＣの比較のデータを含有する。

【０２３９】

【表１０】

表10

	HC		UC			
	n	%	n	%	P値	OR (CI)
Gli1 (G933D) rs2228224	209	49%	206	68%	<0.00001	2.21 (1.48～3.30)
MDR1 (A893S) rs2032582	114	26.5%	143	48%	<0.00001	1.94 (1.40～2.68)
	HC		CD			
	n	%	n	%	P値	OR (CI)
Gli1 (G933D) rs2228224	209	49%	325	59%	<0.001	1.56 (1.21～2.01)
MDR1 (A893S) rs2032582	114	26.5%	199	38%	0.07	1.29 (0.97～1.72)
	CD		UC			
	n	%	n	%	P値	OR (CI)
Gli1 (G933D) rs2228224	325	59%	206	68%	0.01	1.42 (1.06～1.88)
MDR1 (A893S) rs2032582	199	38%	143	48%	0.01	1.5 (1.12～2.01)

【０２４０】

[0233]表１０は、ＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）ｒｓ２２２８２２４及びＭＤＲ１（Ａ８９３Ｓ）ｒｓ２０３２５８２変異体対立遺伝子は、ＨＣ又はＣＤに比べてそれぞれ独立して且つ有意にＵＣに関連づけられていたことを示す。さらに、表１０は、ＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）ｒｓ２２２８２２４変異体対立遺伝子はＨＣに比べてＣＤに有意に関連づけられていたことを示す。したがって、本発明に従ってＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）及び／又はＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）変異体対立遺伝子の存在又は非存在を決定することは、たとえば患者をＵＣに罹患しているとして対健康な対照患者及び／又はＣＤを有する患者として同定することによってＵＣを診断するために特に有用である。

【０２４１】

[0234]実施例７～９は、ＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）ｒｓ２２２８２２４、ＭＤＲ１（Ａ８９３Ｓ／Ｔ）ｒｓ２０３２５８２、及びＡＴＧ１６Ｌ１（Ｔ３００Ａ）ｒｓ２２４１８８０のＳＮＰの存在又は非存在を決定するためのさらなる試料の分析を記載する。

【０２４２】

[0235]実施例７：ＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）ｒｓ２２２８２２４の検出。

ＧＬＩ１遺伝子は染色体１２に位置する。ｒｓ２２２８２２４　ＳＮＰは、ＧからＡへの転移からなり、ＧＧＴからＧＡＴへのコドン変化を有するミスセンス突然変異である。ｒｓ２２２８２２４　ＳＮＰは、転写物ＮＭ＿００５２６９．２（配列番号２５）の位置２８７６に位置する。この転移は、タンパク質ＩＤ　ＮＰ＿００５２６０．１（配列番号２６）のアミノ酸変化Ｇ９９３Ｄ（グリシン９３３からアスパラギン酸）をもたらす。

【０２４３】

[0236]ｒｓ２２２８２２４　ＳＮＰを検出するために、ＡＢＩタックマンアッセイを使用した（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）。ＡＢＩアッセイＩＤ番号はＣ＿３１２５１４６＿１０であった（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、米国から入手可能）。以下の構成の配列をタックマンアッセイに使用した［ＶＩＣ／ＦＡＭ］：ＴＡＣＣＡＧＡＧＴＣＣＣＡＡＧＴＴＴＣＴＧＧＧＧＧ［Ａ／Ｇ］ＴＴＣＣＣＡＧＧＴＴＡＧＣＣＣＡＡＧＣＣＧＴＧＣＴ（配列番号３９）。［Ａ／Ｇ］の表記はｒｓ２２２８２２４　ＳＮＰの位置を表す。プローブのＶＩＣバージョンはＡ対立遺伝子を含有し、ＦＡＭプローブはＧ対立遺伝子を含有する。

【０２４４】

[0237]ｒｓ２２２８２２４　ＳＮＰ分析のアッセイ結果の解釈では、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｇ／Ｇ）シグナルはホモ接合性の野生型として示され、ＶＩＣ／ＶＩＣ（Ａ／Ａ）シグナ

ルはホモ接合性の突然変異体として示され、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の突然変異体として示された。これらの結果を表１１に示す。

【０２４５】

【表１１】

表11: GLI1 G933D(C_3125146_10、rs2228224)

診断	計数	VIC (A)	VIC%	両方	両方%	FAM (G)	FAM%
IBDクローン病	547	197	36.0%	257	47.0%	93	17.0%
IBD潰瘍性大腸炎	304	141	46.4%	130	42.8%	33	10.9%
HC/健康な対照/正常	428	117	27.3%	185	43.2%	126	29.4%
IBS GI対照	149	46	30.9%	71	47.7%	32	21.5%

【０２４６】

[0238]以下の表１２～１７中の結果は、ｒｓ２２２８２２４　ＳＮＰの危険対立遺伝子因子（ＲＡＦ）分析を表す。危険対立遺伝子はＡである。ヘテロ接合性の突然変異体の値を分割し、ホモ接合性の野生型及びホモ接合性の突然変異体遺伝子型の両方に等しく再分布した後の両方の対立遺伝子の頻度を使用して、ｐ値を計算した。その後、様々な集団（クローン病（ＣＤ）、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、健康な対照（ＨＣ）、及びＩＢＳ　ＧＩ対照（ＩＢＳ））を示したように互いに比較した。表１２はＨＣとＵＣの比較のデータを含有する。表１３はＨＣとＣＤの比較のデータを含有する。表１４はＣＤとＵＣの比較のデータを含有する。表１５はＩＢＳとＵＣの比較のデータを含有する。表１６はＩＢＳとＣＤの比較のデータを含有する。表１７はＩＢＳとＨＣの比較のデータを含有する。

【０２４７】

【表１２】

表 12: HC 対 UC の RAF 分析

P値	9.26E-05		
		(95%信頼度)	
オッズ比	2.211735	1.480269	3.30465

【０２４８】

【表１３】

表 13: HC 対 CD の RAF 分析

P値	0.000609		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.561224	1.209452	2.015312

【０２４９】

【表１４】

表 14: CD 対 UC の RAF 分析

P値	0.016385		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.416667	1.065424	1.883705

【０２５０】

【表１５】

表 15: IBS 対 UC の RAF 分析

P値	0.006857		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.738636	1.162187	2.601006

【０２５１】

【表１６】

表 16: IBS 対 CD の RAF 分析

P値	0.271411		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.227273	0.851724	1.768411

【０２５２】

【表１７】

表 17: IBS 対 HC の RAF 分析

P値	0.207079		
		(95%信頼度)	
オッズ比	0.786096	0.540662	1.142946

【０２５３】

[0239]表１２、１４、及び１５は、ＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）ｒｓ２２２８２２４変異体対立遺伝子は、ＨＣ又はＣＤ又はＩＢＳに比べてＵＣに有意に関連づけられていたことを示す。表１３は、ＧＬＩ１（Ｇ９３３Ｄ）ｒｓ２２２８２２４変異体対立遺伝子はＨＣに比べてＣＤに有意に関連づけられていたことを示す。したがって、本発明に従ってＧＬＩ１（ｒｓ２２２８２２４）変異体対立遺伝子の存在又は非存在を決定することは、たとえば患者をＵＣに罹患しているとして対健康な対照患者、ＩＢＳ　ＧＩ対照患者、及び／又はＣＤを有する患者として同定することによってＵＣを診断するために特に有用である。

【０２５４】

[0240]ｒｓ２２２８２２６　ＳＮＰ分析のアッセイ結果の解釈では、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｇ／Ｇ）シグナルはホモ接合性の野生型として示され、ＶＩＣ／ＶＩＣ（Ａ／Ａ）シグナルはホモ接合性の突然変異体として示され、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の突然変異体として示された。これらの結果を表１８に示す。

【０２５５】

【表１８】

表18: GLI1_Q1100E(C_11293074_10､rs2228226)

診断	計数	VIC	VIC%	両方	両方%	FAM	FAM%
IBDクローン病	235	114	48.5%	94	40.0%	27	11.5%
IBD潰瘍性大腸炎	254	134	52.8%	99	39.0%	21	8.3%
HC/健康な対照/正常	409	174	42.5%	185	45.2%	50	12.2%

【０２５６】

[0241]以下の表１９～２１中の結果は、ｒｓ２２２８２２６　ＳＮＰの危険対立遺伝子因子（ＲＡＦ）分析を表す。危険対立遺伝子はＣである。ヘテロ接合性の突然変異体の値を分割し、ホモ接合性の野生型及びホモ接合性の突然変異体遺伝子型の両方に等しく再分布した後の両方の対立遺伝子の頻度を使用して、ｐ値を計算した。その後、様々な集団（クローン病（ＣＤ）、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、及び健康な対照（ＨＣ））を示したように

互いに比較した。表１９はＨＣとＵＣの比較のデータを含有する。表２０はＨＣとＣＤの比較のデータを含有する。表２１はＣＤとＵＣの比較のデータを含有する。

【０２５７】

【表１９】

表 19: HC 対 UC の RAF 分析

P値	0.060996		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.384615	0.984504	1.947336

【０２５８】

【表２０】

表 20: HC 対 CD の RAF 分析

P値	0.342064		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.181141	0.837682	1.665423

【０２５９】

【表２１】

表 21: CD 対 UC の RAF 分析

P値	0.423769		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.172269	0.794003	1.730741

【０２６０】

[0242]実施例８：ＭＤＲ１（Ａ８９３Ｓ／Ｔ）ｒｓ２０３２５８２の検出。

遺伝子は染色体７に位置する。アラニンからセリンへの変化に対応する、ＧＣＴからＴＣＴへのコドン変化を有するＧからＴへの塩基転換、又はアラニンからスレオニンへの変化に対応する、ＧＣＴからＡＣＴへのコドン変化を有するＧからＡへの塩基転換のどちらかの、２つのミスセンス突然変異が存在する。ＳＮＰの位置は転写物ＮＭ＿０００９２７．３（配列番号２７）の３０９５である。これは、タンパク質ＩＤ　ＮＰ＿０００９１８．２（配列番号２８）のアミノ酸変化Ｓ８９３Ｔ／Ａをもたらす。

【０２６１】

[0243]ｒｓ２０３２５８２　ＳＮＰを検出するために、ＡＢＩタックマンアッセイを使用した（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、米国）。ＡＢＩアッセイＩＤ番号はＣ＿１１７１１７２０Ｃ＿３０であり（Ａ８９３Ｓ）、これは一般的な突然変異である（アッセイはＡｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、米国から入手可能）。３つの対立遺伝子が存在するため、三対立遺伝子アッセイを用いた。

【０２６２】

[0244]以下のプローブ配列を、ＡＢＩアッセイＩＤ　Ｃ＿１１７１１７２０Ｃ＿３０（Ａ８９３Ｓ）を用いたタックマンアッセイに使用した：ＴＡＴＴＴＡＧＴＴＴＧＡＣＴＣＡＣＣＴＴＣＣＣＡＧ［Ｃ／Ａ］ＡＣＣＴＴＣＴＡＧＴＴＣＴＴＴＣＴＴＡＴＣＴＴＴＣ（配列番号４０）。表記Ｃ／Ａはｒｓ２０３２５８２　ＳＮＰの位置を表し、プローブのＶＩＣ標識したバージョンはＣ対立遺伝子を含有し、プローブのＦＡＭ標識したバージョンはＡ対立遺伝子を含有する。

【０２６３】

[0245]一部のタックマンプローブはマイナスＤＮＡ鎖を使用して設計し、配列番号４０のｒｓ２０３２５８２プローブはマイナス鎖に対して作製した。言い換えれば、ＳＮＰは

プラス鎖上のＧからＴであり、マイナス鎖に対して作製したプローブはＣ又はＡを含有する。したがって、ＧでＣが置換されており、ＴでＡが置換されている。ｒｓ２０３２５８２　ＳＮＰ分析のアッセイ結果の解釈では、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｔ／Ｔ）シグナルはホモ接合性の突然変異体として示され、ＶＩＣ／ＶＩＣ（Ｇ／Ｇ）シグナルはホモ接合性の野生型遺伝子型として示され、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の突然変異体遺伝子型として示された。

【０２６４】

[0246]以下のプローブ配列を、ＡＢＩアッセイＩＤ　Ｃ＿１１７１１７２０Ｄ＿４０（Ａ８９３Ｔ）を用いたタックマンアッセイに使用した：ＴＡＴＴＡＧＴＴＧＡＣＴＣＡＣＣＴＴＣＣＣＡＧ［Ｃ／Ｔ］ＡＣＣＴＴＣＴＡＧＴＴＣＴＴＴＣＴＴＡＴＣＴＴＴＣ（配列番号４１）。表記Ｃ／Ｔはｒｓ２０３２５８２　ＳＮＰの位置を表し、プローブのＶＩＣ標識したバージョンはＣ対立遺伝子を含有し、プローブのＦＡＭ標識したバージョンはＴ対立遺伝子を含有する。

【０２６５】

[0247]一部のタックマンプローブはマイナスＤＮＡ鎖を使用して設計し、配列番号４１のｒｓ２０３２５８２プローブはマイナス鎖に対して作製した。言い換えれば、ＳＮＰはプラス鎖上のＧからＡであり、マイナス鎖に対して作製したプローブはＣ又はＴを含有する。したがって、ＧでＣが置換されており、ＴでＡが置換されている。ｒｓ２０３２５８２　ＳＮＰ分析のアッセイ結果の解釈では、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ａ／Ａ）シグナルはホモ接合性の突然変異体と呼ばれ、ＶＩＣ／ＶＩＣ（Ｇ／Ｇ）シグナルはホモ接合性の野生型と呼ばれ、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の突然変異体と呼ばれた。これらの結果を表２２に示す。

【０２６６】

【表２２】

表 22: MDR1 S893T/A(rs2032582)

診断	計数	AA	AA%	GA	GA%	GG	GG%	GT	GT%	TA	TA%	TT	TT%
HC/正常	429	1	0.2%	19	4.4%	155	36.1%	138	32.2%	11	2.6%	45	10.5%
IBDクローン病	525	4	0.8%	21	4.0%	184	35.0%	228	43.4%	3	0.6%	85	16.2%
IBD潰瘍性大腸炎	297	0	0.0%	8	2.7%	75	25.3%	135	45.5%	3	1.0%	76	25.6%
IBS GI対照	149	3	2.0%	1	0.7%	52	34.9%	62	41.6%	3	2.0%	28	18.8%

【０２６７】

[0248]以下の表２３～２８中の結果は、最も一般的な突然変異Ａ８９３Ｓの危険対立遺伝子因子（ＲＡＦ）分析を表す。危険対立遺伝子はＴである。ヘテロ接合性の突然変異体の値を分割し、ホモ接合性の野生型及びホモ接合性の突然変異体遺伝子型の両方に等しく再分布した後の両方の対立遺伝子の頻度を使用して、ｐ値を計算した。その後、様々な集団（クローン病（ＣＤ）、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、健康な対照（ＨＣ）、及びＩＢＳ　ＧＩ対照（ＩＢＳ））を互いに比較した。表２３はＨＣとＵＣの比較のデータを含有する。表２４はＨＣとＣＤの比較のデータを含有する。表２５はＣＤとＵＣの比較のデータを含有する。表２６はＩＢＳとＵＣの比較のデータを含有する。表２７はＩＢＳとＣＤの比較のデータを含有する。表２８はＨＣとＩＢＳの比較のデータを含有する。

【０２６８】

【表２３】

表 23: HC 対 UC の RAF 分析 (G>T、A893S)

P値	5.25E-05		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.941176	1.405255	2.681483

【０２６９】

【表２４】

表 24: HC 対 CD の RAF 分析 (G>T、A893S)

P値	0.078882		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.294118	0.970428	1.725774

【０２７０】

【表２５】

表 25: CD 対 UC の RAF 分析 (G>T、A893S)

P値	0.006594		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.5	1.118869	2.01096

【０２７１】

【表２６】

表 26: IBS 対 UC の RAF 分析 (G>T、A893S)

P値	0.097193		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.409639	0.938878	2.116441

【０２７２】

【表２７】

表 27: IBS 対 CD の RAF 分析 (G>T、A893S)

P値	0.762812		
		(95%信頼度)	
オッズ比	0.943089	0.644574	1.379854

【０２７３】

【表２８】

表 28: HC 対 IBS の RAF 分析(G>T、A893S)

P値	0.124187		
		(95%信頼度)	
オッズ比	0.728751	0.486509	1.091609

【０２７４】

[0249]表２３及び２５は、ＭＤＲ１（Ａ８９３Ｓ）ｒｓ２０３２５８２変異体対立遺伝子はＨＣ又はＣＤに比べてＵＣに有意に関連づけられていたことを示す。したがって、本発明に従ってＭＤＲ１（ｒｓ２０３２５８２）変異体対立遺伝子の存在又は非存在を決定することは、たとえば患者をＵＣに罹患しているとして対健康な対照患者及び／又はＣＤを有する患者として同定することによってＵＣを診断するために特に有用である。

【０２７５】

[0250]実施例９：ＡＴＧ１６Ｌ１（Ｔ３００Ａ）ｒｓ２２４１８８０の検出。

ＡＴＧ１６Ｌ１遺伝子は染色体１２に位置する。このｒｓ２２４１８８０は、ＡからＧへの転移からなり、ＡＣＴからＧＣＴへのコドン変化を有するミスセンス突然変異である。ｒｓ２２４１８８０　ＳＮＰは、転写物ＮＭ＿０３０８０３．６（配列番号３１）の位

置１１５５に位置する。この転移は、タンパク質ＩＤ　ＮＰ＿１１０４３０．５（配列番号３２）のアミノ酸変化Ｔ３００Ａをもたらす。

【０２７６】

[0251]ｒｓ２２４１８８０　ＳＮＰを検出するために、ＡＢＩタックマンアッセイを使用した（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、米国）。ＡＢＩアッセイＩＤはＣ＿９０９５５７７＿２０であった（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、米国から入手可能）。以下の構成の配列をタックマンアッセイに使用した［ＶＩＣ／ＦＡＭ］：ＣＣＣＡＧＴＣＣＣＣＣＡＧＧＡＣＡＡＴＧＴＧＧＡＴ［Ａ／Ｇ］ＣＴＣＡＴＣＣＴＧＧＴＴＣＴＧＧＴＡＡＡＧＡＡＧＴ（配列番号４２）。［Ａ／Ｇ］の表記はｒｓ２２４１８８０　ＳＮＰの位置を表す。プローブのＶＩＣ標識したバージョンはＡ対立遺伝子を含有し、プローブのＦＡＭ標識したバージョンはＧ対立遺伝子を含有する。

【０２７７】

[0252]ｒｓ２２４１８８０　ＳＮＰ分析のアッセイ結果の解釈では、ＦＡＭ／ＦＡＭ（Ｇ／Ｇ）シグナルはホモ接合性の突然変異体と呼ばれ、ＶＩＣ／ＶＩＣ（Ａ／Ａ）シグナルはホモ接合性の野生型と呼ばれ、ＶＩＣ／ＦＡＭシグナルはヘテロ接合性の突然変異体と呼ばれた。これらの結果を表２９に示す。

【０２７８】

【表２９】

表 29: ATG16L1 T281A/T300A(C_9095577_20,rs2241880)

診断	計数	VIC (A)	VIC%	両方	両方%	FAM (G)	FAM%
IBDクローン病	420	82	19.5%	195	46.4%	143	34.0%
IBD潰瘍性大腸炎	267	61	22.8%	107	40.1%	99	37.1%
HC/健康な対照/正常	414	145	35.0%	165	39.9%	104	25.1%
IBSGI対照	175	71	40.6%	51	29.1%	53	30.3%

【０２７９】

[0253]以下の表３０～３５中の結果は、ｒｓ２２４１８８０　ＳＮＰの危険対立遺伝子因子（ＲＡＦ）を表す。危険対立遺伝子はＧである。ヘテロ接合性の突然変異体の値を分割し、ホモ接合性の野生型及びホモ接合性の突然変異体遺伝子型の両方に等しく再分布した後の両方の対立遺伝子の頻度を使用して、ｐ値を計算した。その後、様々な集団（クローン病（ＣＤ）、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、健康な対照（ＨＣ）、及びＩＢＳ　ＧＩ対照（ＩＢＳ））を互いに比較した。表３０はＨＣとＵＣの比較のデータを含有する。表３１はＨＣとＣＤの比較のデータを含有する。表３２はＣＤとＵＣの比較のデータを含有する。表３３はＩＢＳとＵＣの比較のデータを含有する。表３４はＩＢＳとＣＤの比較のデータを含有する。表３５はＩＢＳとＨＣの比較のデータを含有する。

【０２８０】

【表３０】

表 30: HC 対 UC の RAF 分析

P値	0.00223		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.620155	1.188117	2.209297

【０２８１】

【表３１】

表 31: HC 対 CD の RAF 分析

P値	0.000173		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.687831	1.283397	2.219713

【０２８２】

【表３２】

表 32: CD 対 UC の RAF 分析

P値	0.795992		
		(95%信頼度)	
オッズ比	0.959904	0.703868	1.309075

【０２８３】

【表３３】

表 33: IBS 対 UC の RAF 分析

P値	0.013508		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.620155	1.103622	2.378442

【０２８４】

【表３４】

表 34: IBS 対 CD の RAF 分析

P値	0.007497		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1.620155	1.136029	2.310595

【０２８５】

【表３５】

表 35: IBS 対 HC の RAF 分析

P値	1		
		(95%信頼度)	
オッズ比	1	0.701014	1.426506

【０２８６】

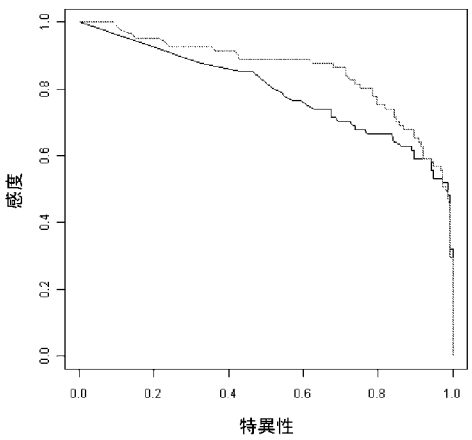
[0254]表３０及び３３は、ＡＴＧ１６Ｌ１（Ｔ３００Ａ）ｒｓ２２４１８８０変異体対立遺伝子はＨＣ又はＩＢＳに比べてＵＣに有意に関連づけられていたことを示す。表３１及び３４は、ＡＴＧ１６Ｌ１（Ｔ３００Ａ）ｒｓ２２４１８８０変異体対立遺伝子はＨＣ又はＩＢＳに比べてＣＤに有意に関連づけられていたことを示す。したがって、本発明に従ってＡＴＧ１６Ｌ１（ｒｓ２２４１８８０）変異体対立遺伝子の存在又は非存在を決定することは、たとえば患者をＵＣに罹患しているとして対健康な対照患者及び／又はＩＢＳ　ＧＩ対照患者として同定することによってＵＣを診断するために特に有用である。

【０２８７】

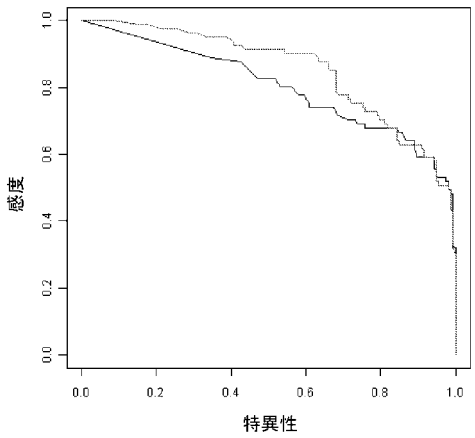
[0255]本明細書中に記載の実施例及び実施形態は例示目的のみであり、それに鑑みた様々な改変又は変更が当業者に提案され、本出願の精神及び範囲並びに添付の特許請求の範

囲の範囲内に含まれることを理解されたい。それだけには限定されないが、本明細書中で言及した特許、特許出願、雑誌論文、Ｇｅｎｂａｎｋ受託番号、及びＧｅｎｅＩＤ番号を含めたすべての出版物は、すべての目的のためにその全体で本明細書中に参考として組み込まれている。

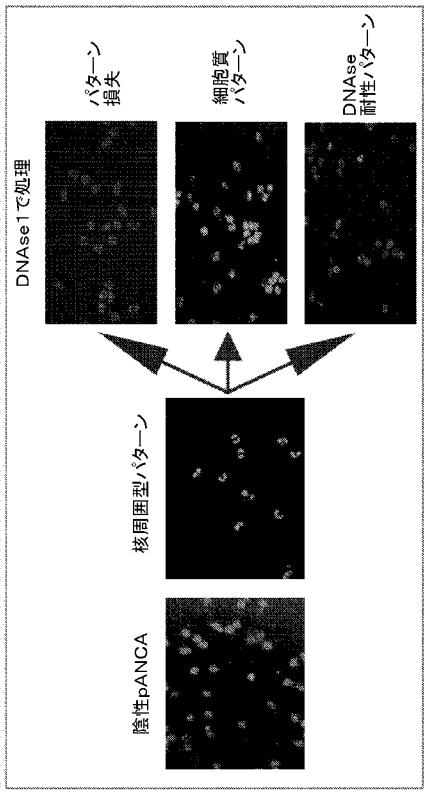
【図１】



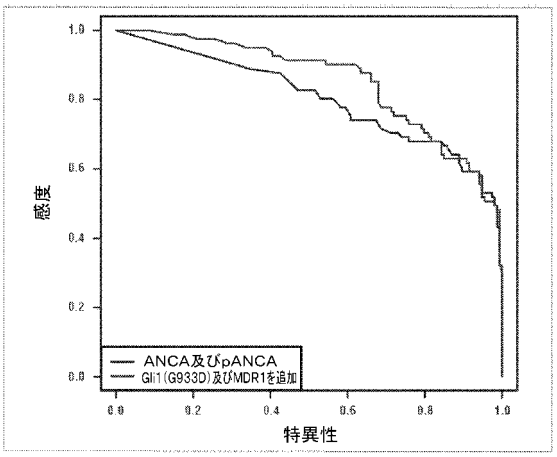
【図２】



【図３】



【図４】



【配列表】
2013528389000001.app

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 プリンセン, フレッド
アメリカ合衆国, カリフォルニア州, ラ ホヤ, カークウッド プレイス ６１０
(72)発明者 ジング, シャラット
アメリカ合衆国, カリフォルニア州, ランチョ サンタ フェ, トップ オブ ザ モーニング ウェー ８１７１

Ｆターム(参考) 2G045 CA25 CA26 CB07 DA13 DA36 DA37 FB02 FB03 FB05
4B024 AA11 BA80 CA02 HA12
4B063 QA01 QA19 QQ02 QQ43 QQ79 QQ96 QR08 QR32 QR48 QR55
QR62 QS15 QS25 QS33 QS34 QX02