

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-520497
(P2024-520497A)

(43)公表日 令和6年5月24日(2024.5.24)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	4 C 0 8 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	
	A 6 1 K 39/395	N

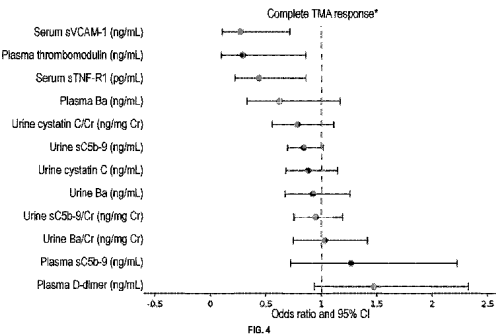
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全99頁)

(21)出願番号	特願2023-573141(P2023-573141)	(71)出願人	503102674
(86)(22)出願日	令和4年5月26日(2022.5.26)		アレクシオン ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド
(85)翻訳文提出日	令和6年1月12日(2024.1.12)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 2 1 0, ボストン, シーポート ブールバード 1 2 1
(86)国際出願番号	PCT/US2022/031062	(74)代理人	100078282
(87)国際公開番号	WO2022/251446		弁理士 山本 秀策
(87)国際公開日	令和4年12月1日(2022.12.1)	(74)代理人	100113413
(31)優先権主張番号	63/194,704		弁理士 森下 夏樹
(32)優先日	令和3年5月28日(2021.5.28)	(74)代理人	100181674
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 飯田 貴敏
(31)優先権主張番号	63/272,033	(74)代理人	100181641
(32)優先日	令和3年10月26日(2021.10.26)		弁理士 石川 大輔
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	230113332
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 C M-T M A バイオマーカーを検出するための方法

(57)【要約】

補体媒介血栓性微小血管障害症 (C M-T M A) バイオマーカーを検出するための薬剤及び方法が提供される。薬剤は、C M-T M A バイオマーカー、好ましくは、補体成分因子Bのタンパク質分解断片 (B a) 及び可溶性C 5 b 9 (s C 5 b 9) に特異的に結合することができ、C M-T M Aの診断及び治療の方法、例えば、ラブリズマブ (A L X N 1 2 1 0) などの抗C 5抗体による治療において使用することができる。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象における補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を診断するための方法であって、

（a）シスタチン C；シスタチン C／クレアチニン比；補体因子 B a；補体因子 B a／クレアチニン比；補体 s C 5 b－9；及び／又は補体 s C 5 b－9／クレアチニン比からなる群から選択される少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 6 つのバイオマーカーのレベルを検出する；好ましくは、前記対象から得られた体液サンプル中の B a 及び s C 5 b 9 を含む少なくとも 2 つのバイオマーカーを含むシグネチャーにおけるバイオマーカーのレベルを検出することと；

10

（b）前記バイオマーカーのレベル；好ましくは、前記シグネチャーにおける前記バイオマーカーの前記レベルを対照と比較することと、

を含み、ここで前記対象の前記生体サンプル中の前記バイオマーカーレベルの、前記対照のそれと比較した増加は、前記対象が CM-TMA を患っているか、患っていることが疑われるか、又は患うリスクがあることを示す、方法。

【請求項 2】

対象における補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を診断するための方法であって、

（a）前記対象から得られた体液サンプル中の、シスタチン C、シスタチン C／クレアチニン比、補体因子 B a、補体因子 B a／クレアチニン比、補体 s C 5 b－9、補体 s C 5 b－9／クレアチニン比、s V C A M－1、s T N F－R 1、トロンボモジュリン、又はそれらの組み合わせからなる群から選択されるバイオマーカーのレベルを検出することと；

20

（b）前記バイオマーカーの前記レベル；好ましくは、前記シグネチャーにおける前記バイオマーカーの前記レベルを対照と比較することと、

を含み、ここで前記対象の前記生体サンプル中の前記バイオマーカーレベルの、前記対照のそれと比較した増加は、前記対象が CM-TMA を患っているか、患っていることが疑われるか、又は患うリスクがあることを示す、方法。

【請求項 3】

対象における補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）の治療を評価するための方法であって、

30

（a）補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を患っている対象から体液サンプルを得ることと；

（b）前記対象から得られた体液サンプル中の、シスタチン C、シスタチン C／クレアチニン比、補体因子 B a、補体因子 B a／クレアチニン比、補体 s C 5 b－9、補体 s C 5 b－9／クレアチニン比、s V C A M－1、s T N F－R 1、トロンボモジュリン、又はそれらの組み合わせからなる群から選択されるバイオマーカーのレベルを検出することと；

（c）前記バイオマーカーの前記レベルを、補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を患っていない患者を含む対照と比較することと、

40

（d）補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を有する前記対象を治療することと；

（e）補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を患っている対象から体液サンプルを得ることと；

（f）前記対象から得られた体液サンプル中の、シスタチン C、シスタチン C／クレアチニン比、補体因子 B a、補体因子 B a／クレアチニン比、補体 s C 5 b－9、補体 s C 5 b－9／クレアチニン比、s V C A M－1、s T N F－R 1、トロンボモジュリン、s C 5 b－9、又はそれらの組み合わせからなる群から選択されるバイオマーカーのレベルを検出することと；

（g）前記バイオマーカーの前記レベルを、補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA

50

A) を患っていない患者を含む対照と比較することと、を含む、方法。

【請求項 4】

バイオマーカーを検出するための方法であって、

(a) 補体媒介血栓性微小血管障害症 (CM-TMA) を患っている対象から体液サンプルを得ることと；

(b) 前記対象から得られた体液サンプル中の、シスタチン C、シスタチン C / クレアチニン比、補体因子 B a、補体因子 B a / クレアチニン比、補体 s C 5 b - 9、補体 s C 5 b - 9 / クレアチニン比、s V C A M - 1、s T N F - R 1、トロンボモジュリン、又はそれらの組み合わせからなる群から選択されるバイオマーカーのレベルを検出することと、

10

を含む、方法。

【請求項 5】

前記バイオマーカーの前記レベルを対照と比較することをさらに含み、ここで前記対照は、補体媒介血栓性微小血管障害症 (CM-TMA) を患っていない患者を含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記体液サンプルは、血清、血液、尿、血漿、又はそれらの混合物を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

20

前記体液サンプルは、尿を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記体液サンプルは、血漿を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記体液サンプルは、血清を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記体液サンプルは、尿、血漿、及び血清の混合物を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記バイオマーカーは、前記対象の推定糸球体濾過量 (e G F R) 及び／又は尿タンパク質クレアチニン比 (U P C R) に関連する、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 12】

前記対象及び前記対照からの体液サンプル中のクレアチニンのレベルを検出することと、前記体液サンプル中の前記バイオマーカーのレベルを前記クレアチニンレベルに基づいて正規化することと、をさらに含み；好ましくは、前記体液サンプルは、尿を含み、前記クレアチニンレベルは、クレアチニンアッセイを用いて検出される、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記対照は、健常対象からの同一の生体サンプルを含む、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 14】

前記バイオマーカーは、シスタチン C、補体因子 B a、及び／又は s C 5 b 9 から選択されるタンパク質バイオマーカーを含み、前記検出は、前記バイオマーカーを、前記バイオマーカーに特異性で結合する抗体又はその抗原結合断片を含む薬剤と接触させることを含む、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

前記抗体、又はその抗原結合断片は、ヒト化抗体、組換え抗体、二重特異性抗体、キメラ化若しくはキメラ抗体、モノクローナル抗体、脱免疫化抗体、完全ヒト抗体、一本鎖抗体、F v 断片、F d 断片、F a b 断片、F a b ' 断片、F (a b ')₂ 断片、又はそれらの

50

組み合わせからなる群から選択される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記検出ステップは、以下のバイオマーカー：(a) シスタチン C + B a ; (b) シスタチン C + s C 5 b 9 ; (c) シスタチン C + シスタチン C / クレアチニン ; (d) シスタチン C + B a / クレアチニン ; (e) シスタチン C + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (f) B a + s C 5 b 9 ; (g) B a + シスタチン C / クレアチニン ; (h) B a + B a / クレアチニン ; (i) B a + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (j) s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン ; (k) s C 5 b 9 + B a / クレアチニン ; (l) s C 5 b 9 + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (m) シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン ; (n) シスタチン C / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン ; 又は (o) B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニンを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含む、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 17】

前記検出ステップは、以下のバイオマーカー：(a) シスタチン C + B a + s C 5 b 9 ; (b) シスタチン C + B a + シスタチン C / クレアチニン ; (c) シスタチン C + B a + B a / クレアチニン ; (d) シスタチン C + B a + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (e) シスタチン C + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン ; (f) シスタチン C + s C 5 b 9 + B a / クレアチニン ; (g) シスタチン C + s C 5 b 9 + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (h) シスタチン C + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン ; (i) シスタチン C + シスタチン C / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (j) シスタチン C + B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (k) B a + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン ; (l) B a + s C 5 b 9 + B a / クレアチニン ; (m) B a + s C 5 b 9 + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (n) B a + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン ; (o) B a + シスタチン C / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (p) B a + B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (q) s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン ; (r) s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (s) s C 5 b 9 + B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン ; 又は (t) シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニンを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含む、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法。

20

30

【請求項 18】

前記検出ステップは、以下のバイオマーカー：(a) シスタチン C + B a + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン ; (b) シスタチン C + B a + s C 5 b 9 + B a / クレアチニン ; (c) シスタチン C + B a + s C 5 b 9 + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (d) シスタチン C + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + (e) シスタチン C + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (f) シスタチン C + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (g) B a + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン ; (h) B a + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (i) B a + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン ; 又は (j) s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニンを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含む、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 19】

前記検出ステップは、以下のバイオマーカー：(a) シスタチン C + B a + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン ; (b) シスタチン C + B a + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン ; (c) シスタチン C + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン ; 又は (d) B a + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニンを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含む

50

、請求項 1 ～ 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記検出ステップは、以下のバイオマーカー：(a) シスタチン C + B a + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニンを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含む、請求項 1 ～ 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

体液サンプルは、尿を含む、請求項 1 ～ 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

B a 及び s C 5 b 9 から選択される血漿バイオマーカーを検出することをさらに含む、請求項 1 ～ 21 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 23】

B a 及び s C 5 b 9 を含む血漿バイオマーカーシグネチャーを検出することをさらに含む、請求項 1 ～ 22 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

前記体液サンプルは、血漿 B a、尿 B a / C r、尿 s C 5 b - 9 / C r、及び血漿 s C 5 b - 9 を含む不均一サンプルを含む、請求項 1 ～ 23 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 25】

前記検出ステップは、血清 V C A M - 1、血清 s T N F - R 1、血漿トロンボモジュリン、及び尿 s C 5 b - 9 を検出することを含む、請求項 1 ～ 24 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 26】

前記体液サンプルは、尿及び血漿を含む不均一サンプルを含み、前記検出ステップは、(a) 尿シスタチン C + 血漿 B a；(b) 尿シスタチン C + 血漿 s C 5 b 9；(c) 尿 B a + 血漿 B a；(d) 尿 B a + 血漿 s C 5 b 9；(e) 尿 s C 5 b 9 + 血漿 B a；(f) 尿 s C 5 b 9 + 血漿 s C 5 b 9；(g) 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a；(h) 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 s C 5 b 9；(i) 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a；(j) B a / クレアチニン + 血漿 s C 5 b 9；(k) 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a；又は (l) 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 s C 5 b 9 から選択される少なくとも 1 つの尿バイオマーカー及び少なくとも 1 つの血漿バイオマーカーを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含む、請求項 1 ～ 25 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 27】

前記体液サンプルは、尿及び血漿を含む不均一サンプルを含み、前記検出ステップは、(a) 尿シスタチン C + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9；(b) 尿 B a + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9；(c) 尿 s C 5 b 9 + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9；(d) 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9；(e) 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9；又は (f) 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 から選択される少なくとも 1 つの尿バイオマーカー及び少なくとも 2 つの血漿バイオマーカーを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含む、請求項 1 ～ 25 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 28】

前記体液サンプルは、尿及び血漿を含む不均一サンプルを含み、前記検出ステップは、(a) 尿シスタチン C + 尿 B a + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9；(b) 尿シスタチン C + 尿 s C 5 b 9 + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9；(c) 尿シスタチン C + 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9；(d) 尿シスタチン C + 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9；(e) 尿シスタチン C + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9；(f) 尿 B a + 尿 s C 5 b 9 + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9；(g) 尿 B a + 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9；(h) 尿 B a + 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a 若しくは

50

血漿 s C 5 b 9 ; (i) 尿 B a + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9 ; (j) 尿 s C 5 b 9 + 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9 ; (k) 尿 s C 5 b 9 + 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9 ; (l) 尿 s C 5 b 9 + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9 ; (m) 尿シスタチン C / クレアチニン + 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9 ; (n) 尿シスタチン C / クレアチニン + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9 ; 又は (o) 尿 B a / クレアチニン + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 若しくは血漿 s C 5 b 9 から選択される少なくとも 2 つの尿バイオマーカー及び少なくとも 1 つの血漿バイオマーカーを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含む、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 2 9】

前記バイオマーカーは、血漿補体因子 B a、s C 5 b - 9、トロンボモジュリン、及び D - 二量体；血清 s T N F - R I 及び s V C A M - 1；尿 B a 因子、s C 5 b - 9、及びシスタチン C を含む、請求項 1 ~ 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 0】

前記対象の推定糸球体濾過量 (e G F R) を含む二次マーカーを測定することをさらに含む、請求項 1 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記対象の尿タンパク質 / クレアチニン比 (U P C R) を含む二次マーカーを測定することをさらに含む、請求項 1 ~ 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 3 2】

前記バイオマーカー及び前記二次マーカーのレベルは、前記対照と比較して増加する、請求項 1 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記対照は、補体媒介血栓性微小血管障害症 (C M - T M A) を有しない対象、任意選択的に検出不能レベルの尿 s C 5 b 9 を有する対象から得られる同一の体液サンプルを含む、請求項 1 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記対象は、哺乳動物である、請求項 1 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 5】

30

前記対象は、ヒトである、請求項 1 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記対象は、補体媒介血栓性微小血管障害症 (C M - T M A) を有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがある、請求項 1 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記対象は、補体の阻害剤で治療されているか又は治療中である、請求項 1 ~ 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 8】

補体の前記阻害剤は、抗体、小分子、ポリペプチド、ポリペプチド類似体、ペプチド模倣薬、及びアプタマー、又はそれらの組み合わせからなる群から選択される補体 C 5 阻害剤を含む、請求項 3 7 に記載の方法。

40

【請求項 3 9】

前記補体 C 5 阻害剤は、組換え抗 C 5 ミニ抗体 M B 1 2 / 2 2、内皮 M B 1 2 / 2 2 - R G D に標的化される抗 C 5 ミニ抗体、C 5 特異的アプタマー A R C 1 8 7、C 5 特異的アプタマー A R C 1 9 0 5 (アバシンカプタドベゴル)、ブドウ球菌性超抗原様タンパク質 7 (S S L 7)、オルニソドロス・モウバタ (O r n i t h o d o r o s m o u b a t a) C 阻害剤 (O m C I)、又はそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

50

補体の前記阻害剤は、(a) 補体 C 5 に特異性で結合し、任意選択的に、(b) C 5 の断片 C 5 a 及び C 5 b への切断を阻害する抗 C 5 抗体又はその抗原結合断片を含み；好ましくは、前記抗原結合断片は、前記抗 C 5 抗体の抗体重鎖相補性決定領域 1～3 (V_H C D R 1～3) 及び抗体軽鎖相補性決定領域 1～3 (V_L C D R 1～3)；より好ましくは、前記抗 C 5 抗体の可変重 (V_H) 鎖及び可変軽 (V_L) 鎖を含む抗原結合断片を含む、請求項 38 又は 39 に記載の方法。

【請求項 41】

前記抗体、又はその抗原結合断片は、ヒト化抗体、組換え抗体、二重特異性抗体、キメラ化若しくはキメラ抗体、モノクローナル抗体、脱免疫化抗体、完全ヒト抗体、一本鎖抗体、F_v断片、F_d断片、F_ab断片、F_ab'断片、F_(a b')断片、又はそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 40 に記載の方法。

10

【請求項 42】

前記抗 C 5 抗体は、エクリズマブ、ラブリズマブ、若しくはそれらの組み合わせ又はそのバイオシミラーを含む、請求項 40 又は 41 に記載の方法。

【請求項 43】

前記抗 C 5 抗体は、ラブリズマブ又はそのバイオシミラーを含み；好ましくは、前記治療は、前記対象の体重に基づく、1 日目の単回負荷投与、その後 15 日目に開始する通常の維持投与を含む、ラブリズマブによる治療を含み、(a) $\geq 40 \sim < 60$ キログラム (kg) の体重の対象に対して、治療は、2400 ミリグラム (mg) の負荷、次いで 8 週間毎の 3000 mg の維持投与を含み；(b) $\geq 60 \sim < 100$ kg の体重の対象に対して、治療は、2700 mg の負荷、次いで 8 週間毎の 3300 mg の維持投与を含み；(c) ≥ 100 kg の体重の対象に対して、治療は、3000 mg の負荷、次いで 8 週間毎の 3600 mg の維持投与を含む、請求項 37～42 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 44】

前記抗 C 5 抗原結合断片は、パキセリズマブを含む、請求項 42 又は 43 に記載の方法。

【請求項 45】

前記対象は、補体の前記阻害剤で治療されている可能性があり、且つ前記治療は、前記対象から前記体液サンプルを得る前の 1 か月未満、任意選択的に、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、又は 1 日未満に実施されている、請求項 37～44 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 46】

前記対象が補体媒介血栓性微小血管障害症 (CM-TMA) を発現するリスクがあるかを判定することをさらに含む、請求項 37～45 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 47】

前記対象は、所定の投薬スケジュール下で、補体阻害剤で治療されているか又は治療中であり、前記患者が前記補体阻害剤療法に対して治療応答性であるかを判定することをさらに含む、請求項 37～46 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 48】

前記対象は、非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) を含む補体媒介血栓性微小血管障害症 (CM-TMA) を有するか又は発現するリスクがあり；好ましくは、前記 CM-TMA は、腎臓 aHUS を含む、請求項 1～47 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 49】

対象の補体 C 5 の阻害剤による治療に対する応答性をモニタリングするための方法であって、シスタチン C；シスタチン C／クレアチニン比；補体因子 B a；補体因子 B a／クレアチニン比；補体 s C 5 b-9；s V C A M-1、s T N F-R 1、トロンボモジュリン、及び／又は補体 s C 5 b-9／クレアチニン比からなる群から選択される少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 6 つのバイオマーカーのレベルを検出すること；好ましくは、前記治療の前及び後に、前

50

記対象から得られた体液サンプル中の B a 及び s C 5 b 9 を含む少なくとも 2 つのバイオマーカーを含むシグネチャーにおけるバイオマーカーのレベルを検出することと、前記治療の前及び後に、前記対象の体液サンプル中の前記バイオマーカーのレベル；好ましくは、前記シグネチャーにおける前記バイオマーカーのレベルを比較することと；を含み、

ここで前記対象は、補体媒介血栓性微小血管障害症 (C M - T M A) を有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがあり；

ここで前記対象は、補体 C 5 の阻害剤で治療されている可能性があるか又は治療中であり；及び

治療後の前記対象の体液サンプル中の前記バイオマーカーのレベルの、前記補体 C 5 阻害剤による治療前のそのレベルと比較しての低下は、前記対象が前記治療に応答性であることを示す、

10

方法。

【請求項 5 0】

前記体液サンプルは、血清、血液、尿、血漿、又はそれらの混合物を含む、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記対象の推定糸球体濾過量 (e G F R) を含む二次マーカーを測定することをさらに含む、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記対象の尿タンパク質／クレアチニン比 (U P C R) を含む二次マーカーを測定することをさらに含む、請求項 5 0 又は 5 1 に記載の方法。

20

【請求項 5 3】

前記バイオマーカー及び前記二次マーカーのレベルは、前記治療後、前記対象の体液サンプル中で低下する、請求項 4 9 ～ 5 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 4】

補体媒介血栓性微小血管障害症 (C M - T M A) を、C M - T M A 関連バイオマーカータンパク質における生理学的変化を誘導するのに十分な様式で補体阻害剤を使用して治療するための方法であって、(a) 前記対象から得られた体液中の、シスタチン C ； s V C A M - 1、s T N F - R 1、トロンプモジュリン、シスタチン C ／クレアチニン比；補体因子 B a ；補体因子 B a ／クレアチニン比；補体 s C 5 b - 9 ；及び／又は補体 s C 5 b - 9 ／クレアチニン比からなる群から選択される C M - T M A 関連バイオマーカータンパク質のレベル又は活性を測定する；好ましくは、B a 及び s C 5 b 9 を含む少なくとも 2 つのバイオマーカーを含むシグネチャーにおけるバイオマーカーのレベル又は活性を測定することと；(b) C M - T M A を有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがある対象に、補体の阻害剤を、前記バイオマーカー又は前記バイオマーカーシグネチャーのレベル又は活性における、前記阻害剤による治療前の前記対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中のそのレベル又は活性と比較しての低下を引き起こすのに十分な量及び頻度で投与することと、を含む方法。

30

【請求項 5 5】

前記補体阻害剤は、ラブリズマブを含む、請求項 5 4 に記載の方法。

40

【請求項 5 6】

前記体液サンプルは、血清、血液、尿、血漿、又はそれらの混合物を含む、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 7】

補体媒介血栓性微小血管障害症 (C M - T M A) を有する患者であって、所定の投薬スケジュール下で補体阻害剤によって治療されている患者が、異なる投薬スケジュールを必要とするか否かを判定するための方法であって、(A) 前記 C M - T M A 患者が前記所定の投薬スケジュール下で前記補体阻害剤による治療に応答性であるか否かを判定することであって、前記対象から得られた体液中の、シスタチン C ；シスタチン C ／クレアチニン比；補体因子 B a ；補体因子 B a ／クレアチニン比；補体 s C 5 b - 9 ；s V C A M - 1

50

、s T N F - R 1、トロンボモジュリン、及び／又は補体 s C 5 b - 9 / クレアチニン比からなる群から選択される C M - T M A 関連バイオマーカータンパク質の濃度及び活性の一方又は両方を測定することを含む、判定すること；好ましくは、B a 及び s C 5 b 9 を含む少なくとも 2 つのバイオマーカーを含むシグネチャーにおけるバイオマーカーのレベルを測定することと；(B) 前記患者が前記補体阻害剤による治療に対して応答性でない場合、前記非奏効患者に、異なる補体阻害剤又は同じ補体阻害剤を、前記所定の投薬スケジュールと比較してより高い用量又はより頻繁な投薬スケジュールで投与することと、を含み、ここで (a) 前記バイオマーカー又は前記バイオマーカーシグネチャーの、前記阻害剤による治療前の前記対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して低下したレベル又は活性は、前記対象が前記阻害剤による治療に応答性であることを示す、方法。

10

【請求項 5 8】

前記補体阻害剤は、ラブリズマブを含む、請求項 5 7 に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記体液サンプルは、血清、血液、尿、血漿、又はそれらの混合物を含む、請求項 5 8 に記載の方法。

【請求項 6 0】

補体媒介血栓性微小血管障害症 (C M - T M A) を診断するためのキットであって、アッセイプレート及び結合剤を、任意選択的に前記キットを使用するための指示書と一緒に含む、

20

ここで前記結合剤は、独立して、複数の生物学的分析物に特異性で結合する、抗体、又はその抗原結合断片であり、

前記分析物は、C M - T M A のタンパク質バイオマーカーであり、

前記タンパク質バイオマーカーは、補体成分因子 B のタンパク質分解断片 (B a) 及び可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b - 9) を、任意選択的にシスタチン C と一緒に含む、キット。

【請求項 6 1】

クレアチニンアッセイのための試薬をさらに含む、請求項 6 0 に記載のキット。

【請求項 6 2】

尿タンパク質 / クレアチニン比 (U P C R) を測定するための試薬をさらに含む、請求項 6 0 又は 6 1 に記載のキット。

30

【請求項 6 3】

有効量の補体阻害剤を含む、対象における補体媒介血栓性微小血管障害症 (C M - T M A) を治療するための組成物であって、前記補体阻害剤は、抗 C 5 抗体又はその C 5 結合断片、好ましくは、エクリズマブ、ラブリズマブ、又はそのバイオシミラーである、組成物。

【請求項 6 4】

前記有効量は、前記対象におけるバイオマーカー及び／又はバイオマーカーシグネチャーのレベルを、前記補体阻害剤による治療前のそのレベルと比較して低減するのに十分な量である、請求項 6 3 に記載の組成物。

40

【請求項 6 5】

前記バイオマーカーは、シスタチン C ; シスタチン C / クレアチニン比 ; 補体因子 B a ; 補体因子 B a / クレアチニン比 ; 補体 s C 5 b - 9 ; 補体 s C 5 b - 9 / クレアチニン比、又はそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 6 つのバイオマーカーを含む、請求項 6 4 に記載の組成物。

【請求項 6 6】

前記バイオマーカーシグネチャーは、B a 及び s C 5 b 9 を含む少なくとも 2 つのバイオマーカーを含む、請求項 6 3 に記載の組成物。

【請求項 6 7】

50

前記バイオマーカー及び／又はバイオマーカーシグネチャーのレベルは、前記対象から得られた体液サンプル中で検出される、請求項 63～66 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 68】

前記体液サンプルは、尿、血液、血清、血漿、又はそれらの組み合わせである、請求項 67 に記載の組成物。

【請求項 69】

補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を治療するための薬剤の製造のための、有効量の補体阻害剤の使用であって、前記補体阻害剤は、抗 C5 抗体又はその C5 結合断片、好ましくは、エクリズマブ、ラブリズマブ、又はそのバイオシミラーである、使用。

10

【請求項 70】

前記有効量は、前記対象におけるバイオマーカー及び／又はバイオマーカーシグネチャーのレベルを、前記補体阻害剤による治療前のそのレベルと比較して低減するのに十分な量である、請求項 69 に記載の使用。

【請求項 71】

前記バイオマーカーは、シスタチン C；シスタチン C／クレアチニン比；補体因子 Ba；補体因子 Ba／クレアチニン比；補体 sC5b-9；補体 sC5b-9／クレアチニン比、sVCAM-1、sTNF-R1、トロンプモジュリン、又はそれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 6 つのバイオマーカーを含む、請求項 70 に記載の使用。

20

【請求項 72】

前記バイオマーカーシグネチャーは、Ba 及び sC5b9 を含む少なくとも 2 つのバイオマーカーを含む、請求項 71 に記載の使用。

【請求項 73】

前記バイオマーカー及び／又はバイオマーカーシグネチャーのレベルは、前記対象から得られた体液サンプル中で検出される、請求項 69～72 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 74】

前記体液サンプルは、血液、血清、尿、血漿、又はそれらの組み合わせである、請求項 73 に記載の使用。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連特許出願の相互参照

この国際特許出願は、2021 年 5 月 28 日に出願された米国仮特許出願第 63／194,704 号明細書、及び 2021 年 10 月 26 日に出願された米国仮特許出願第 63／272,033 号明細書の優先権を主張し、それらの各開示は、その全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

40

1. 分野

本開示は、補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）バイオマーカーの検出のための薬剤及び方法に関する。薬剤は、CM-TMA バイオマーカー、好ましくは補体成分因子 B のタンパク質分解断片（Ba）及び可溶性 C5b9（sC5b9）に特異的に結合することができ、CM-TMA の診断及び治療の方法において使用することができる。

【背景技術】

【0003】

2. 関連技術の説明

補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）は、過剰な補体の生成によって駆動される臨床的障害である。それは、血小板減少症及び微小血管症性溶血性貧血（MAHA）

50

と全身臓器障害をもたらす微小血管血栓症（TMA）によって特徴づけられる。CM-TMAの一形態である非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）は、全身性内皮及び臓器障害をもたらす、補体系の天然制御因子の減少に起因する病理学的補体活性化によって特徴づけられる。エリテマトーデスは、補体の活性化に関連する多臓器の免疫複合体障害、及びループス腎炎（LN）と称される腎不全である。これら患者のサブセットは、TMAとともに、進行性の生命を脅かす血小板減少症、MAHA、及びaHUSに類似する進行性腎不全も発現する。患者のこのサブセットは、コルチコステロイド、シクロホスファミド、免疫調節、及び血漿交換に対する応答性が低い。Park et al. Blood Adv（2018）2（16）：2090-2094。当該技術分野では、CM-TMAを診断するためのCM-TMAバイオマーカーの効果的検出についての必要性が存在する。

10

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0004】

【非特許文献1】Park et al. Blood Adv（2018）2（16）：2090-2094

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

本開示は、部分的には、CM-TMAを有する患者の診断、予後、管理、及び治療を可能にする、尿及び／又は血漿中でのバイオマーカーの同定に基づく。特に、本開示は、好ましくは、CM-TMAの診断における、及び抗C5抗体療法、例えば、ラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標））による治療に対する患者の応答性の測定における、少なくとも2つのバイオマーカーBa及びsC5b9を含むバイオマーカーシグネチャーを使用する、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9；及び／又は補体sC5b-9／クレアチニン比などのタンパク質バイオマーカーの検出及び使用に関する。一部の実施形態において、本開示は、さらに、CM-TMAの診断及び／又は治療における、二次マーカー、例えば推定糸球体濾過量（eGFR）及び／又は尿タンパク質クレアチニン比（UPCR）の、上記バイオマーカーに加えての使用に関する。特に、抗C5抗体、例えば、ラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標））によるCM-TMAの治療に関する実施形態において、ベースライン（BL）血漿Baレベルなどの特定のバイオマーカーが治療後のeGFR変化に関連することが見出された。同様に、ベースライン（BL）の尿sC5b-9、sC5b-9／Cr、尿Ba及びBa／Crは、治療後のUPCR変化に関連した。

20

30

ある実施形態において、完全TMA奏効を評価するための方法は、対象におけるバイオマーカーのセットを検出することを含み得、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9；補体sC5b-9／クレアチニン比、sVCAM-1、sTNF-R1、及び／又はトロンボモジュリンからなる群から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つのバイオマーカーのレベルを検出する；好ましくは、対象から得られた体液サンプル中のBa及びsC5b9を含む少なくとも2つのバイオマーカーを含むサブセットにおけるバイオマーカーのレベルを検出することを含み得る。バイオマーカーのサブセットは、血清sVCAM-1、血清sTNF-R1、血漿トロンボモジュリン、及び尿sC5b-9を含み得る。

40

【0006】

ある実施形態において、対象における補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を診断するための方法は、（a）対象から得られた体液サンプル中の、シスタチンC、シスタチンC／クレアチニン比、補体因子Ba、補体因子Ba／クレアチニン比、補体sC5b-9、補体sC5b-9／クレアチニン比、sVCAM-1、sTNF-R1、トロンボモジュリン、又はそれらの組み合わせからなる群から選択されるバイオマーカーのレベルを検出することと；（b）バイオマーカーのレベル；好ましくはシグネチャーにお

50

るバイオマーカーのレベルを、対照と比較することと；を含み得、ここで対象の生体サンプル中のバイオマーカーレベルの、対照の場合と比較した増加は、対象がCM-TMAを患っているか、患っていることが疑われるか、又は患うリスクがあることを示す。

【0007】

ある実施形態において、対象における補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）の治療を評価するための方法は、（a）補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を患っている対象から体液サンプルを得ることと；（b）対象から得られた体液サンプル中の、シスタチンC、シスタチンC／クレアチニン比、補体因子Ba、補体因子Ba／クレアチニン比、補体sC5b-9、補体sC5b-9／クレアチニン比、sVCAM-1、sTNF-R1、トロンプモジュリン、又はそれらの組み合わせからなる群から選択されるバイオマーカーのレベルを検出することと；（c）バイオマーカーのレベルを対照と比較することと、（d）補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を有する対象を治療することと；（e）補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を患っている対象から体液サンプルを得ることと；（f）対象から得られた体液サンプル中の、シスタチンC、シスタチンC／クレアチニン比、補体因子Ba、補体因子Ba／クレアチニン比、補体sC5b-9、補体sC5b-9／クレアチニン比、sVCAM-1、sTNF-R1、トロンプモジュリン、sC5b-9、又はそれらの組み合わせからなる群から選択されるバイオマーカーのレベルを検出することと；（f）バイオマーカーのレベルを対照と比較することと、を含み得、ここで対照は、補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を患っていない患者を含む。

10

20

【0008】

ある実施形態において、バイオマーカーを検出するための方法は、（a）補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を患っている対象から体液サンプルを得ることと；（b）対象から得られた体液サンプル中の、シスタチンC、シスタチンC／クレアチニン比、補体因子Ba、補体因子Ba／クレアチニン比、補体sC5b-9、補体sC5b-9／クレアチニン比、sVCAM-1、sTNF-R1、トロンプモジュリン、又はそれらの組み合わせからなる群から選択されるバイオマーカーのレベルを検出することと、を含み得る。方法は、バイオマーカーのレベルを対照と比較することをさらに含み得、ここで対照は、補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を患っていない患者を含む。

30

【0009】

ある実施形態において、体液サンプルは、不均一サンプルを含み、血漿Ba、尿Ba／Cr、尿sC5b-9／Cr、及び血漿sC5b-9を含み得る。

【0010】

ある実施形態において、検出ステップは、血清VCAM-1、血清sTNF-R1、血漿トロンプモジュリン、及び尿sC5b-9を検出することを含み得る。

【0011】

ある実施形態において、対象における補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を診断するための方法は、（a）シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9；及び／又は補体sC5b-9／クレアチニン比からなる群から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つのバイオマーカーのレベルを検出する；好ましくは、対象から得られた体液サンプル中のBa及びsC5b-9を含む少なくとも2つのバイオマーカーを含むシグネチャーにおけるバイオマーカーのレベルを検出することと；（b）バイオマーカーのレベル；好ましくはシグネチャーにおけるバイオマーカーのレベルを；対照と比較することと、を含み得、ここで対象の生体サンプル中のバイオマーカーレベルの、対照の場合と比較した増加は、対象がCM-TMAを患っているか、患っていることが疑われるか、又は患うリスクがあることを示す。

40

【0012】

ある実施形態において、シスタチンC、補体因子Ba、補体sC5b-9を検出するための方法は、（a）シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体

50

因子 B a / クレアチニン比；補体 s C 5 b - 9 ；及び／又は補体 s C 5 b - 9 / クレアチニン比からなる群から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つのバイオマーカーのレベルを検出する；好ましくは、対象から得られた体液サンプル中の B a 及び s C 5 b 9 を含む少なくとも2つのバイオマーカーを含むシグネチャーにおけるバイオマーカーのレベルを検出することと；(b) バイオマーカーのレベル；好ましくはシグネチャーにおけるバイオマーカーのレベルを；対照、任意選択的に健常対象と比較することと、を含み得る。ある実施形態において、対象の生体サンプル中のバイオマーカーレベルの、対照の場合と比較した増加は、対象が C M - T M A を患っているか、患っていることが疑われるか、又は患うリスクがあることを示し得る。

10

【0013】

ある実施形態において、対象におけるバイオマーカーのセットを検出するための方法は、シスタチン C ；シスタチン C / クレアチニン比；補体因子 B a ；補体因子 B a / クレアチニン比；補体 s C 5 b - 9 ；及び／又は補体 s C 5 b - 9 / クレアチニン比からなる群から選択されるバイオマーカーを検出する；好ましくは、対象から得られた体液サンプル中の B a 及び s C 5 b 9 を含む少なくとも2つのバイオマーカーを含むサブセットにおけるバイオマーカーのレベルを検出することを含み得る。

【0014】

ある実施形態において、対象におけるバイオマーカーのセットを検出するための方法は、対象から得られた体液サンプル中の、シスタチン C ；シスタチン C / クレアチニン比；補体因子 B a ；補体因子 B a / クレアチニン比；補体 s C 5 b - 9 、任意選択的に、尿 s C 5 b - 9 ；補体 s C 5 b - 9 / クレアチニン比、s V C A M - 1 、任意選択的に、血清 s V A C M - 1 、s T N F - R 1 、任意選択的に、血清 s T N F - R 1 、トロンプモジュリン、任意選択的に、血漿トロンプモジュリン、又はそれらの組み合わせからなる群から選択されるバイオマーカーを検出することを含み得る。

20

【0015】

ある実施形態において、バイオマーカーは、シスタチン C ；シスタチン C / クレアチニン比；補体因子 B a ；補体因子 B a / クレアチニン比；補体 s C 5 b - 9 、任意選択的に、尿 s C 5 b - 9 ；補体 s C 5 b - 9 / クレアチニン比、s V C A M - 1 、任意選択的に、血清 s V A C M - 1 (可溶性血管細胞接着分子-1)、s T N F - R 1 (可溶性腫瘍壊死因子受容体1)、任意選択的に、血清 s T N F - R 1 、トロンプモジュリン、任意選択的に、血漿トロンプモジュリン、又はそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。

30

【0016】

ある実施形態において、体液サンプルは、血清、血液、尿、血漿、又はそれらの混合物を含み得る。体液サンプルは、尿を含み得る。体液サンプルは、血漿を含み得る。体液サンプルは、血液を含み得る。体液サンプルは、血清を含み得る。体液サンプルは、尿、血漿、及び血清の混合物を含み得る。

【0017】

ある実施形態において、バイオマーカーは、対象の推定糸球体濾過量 (e G F R) 及び／又は尿タンパク質クレアチニン比 (U P C R) に関連し得る。

40

【0018】

ある実施形態において、方法は、対象及び対照からの体液サンプル中のクレアチニンのレベルを検出することと、体液サンプル中のバイオマーカーのレベルをクレアチニンレベルに基づいて正規化することと、を含み得；好ましくは、体液サンプルは、尿を含み得、クレアチニンレベルは、クレアチニンアッセイを用いて検出される。

【0019】

ある実施形態において、対照は、健常対象からの同一の生体サンプルを含み得る。

【0020】

ある実施形態において、バイオマーカーは、シスタチン C 、補体因子 B a 、及び／又は s C 5 b 9 から選択されるタンパク質バイオマーカーを含み得、検出は、バイオマーカー

50

を、バイオマーカーに特異性で結合する抗体又はその抗原結合断片を含む薬剤と接触させることを含む。抗体、又はその抗原結合断片は、ヒト化抗体、組換え抗体、二重特異性抗体、キメラ化若しくはキメラ抗体、モノクローナル抗体、脱免疫化抗体、完全ヒト抗体、一本鎖抗体、Fv断片、Fd断片、Fab断片、Fab'断片、F(ab')₂断片、又はそれらの組み合わせからなる群から選択することができる。

【0021】

ある実施形態において、検出ステップは、以下のバイオマーカーを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含み得る：(a) シスタチンC + Ba；(b) シスタチンC + sC5b9；(c) シスタチンC + シスタチンC / クレアチニン；(d) シスタチンC + Ba / クレアチニン；(e) シスタチンC + sC5b9 / クレアチニン；(f) Ba + sC5b9；(g) Ba + シスタチンC / クレアチニン；(h) Ba + Ba / クレアチニン；(i) Ba + sC5b9 / クレアチニン；(j) sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン；(k) sC5b9 + Ba / クレアチニン；(l) sC5b9 + sC5b9 / クレアチニン；(m) シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン；(n) シスタチンC / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；又は(o) Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン。

10

【0022】

ある実施形態において、検出ステップは、以下のバイオマーカーを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含み得る：(a) シスタチンC + Ba + sC5b9；(b) シスタチンC + Ba + シスタチンC / クレアチニン；(c) シスタチンC + Ba + Ba / クレアチニン；(d) シスタチンC + Ba + sC5b9 / クレアチニン；(e) シスタチンC + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン；(f) シスタチンC + sC5b9 + Ba / クレアチニン；(g) シスタチンC + sC5b9 + sC5b9 / クレアチニン；(h) シスタチンC + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン；(i) シスタチンC + シスタチンC / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；(j) シスタチンC + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；(k) Ba + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン；(l) Ba + sC5b9 + Ba / クレアチニン；(m) Ba + sC5b9 + sC5b9 / クレアチニン；(n) Ba + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン；(o) Ba + シスタチンC / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；(p) Ba + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；(q) sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン；(r) sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；(s) sC5b9 + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；又は(t) シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン。

20

30

【0023】

ある実施形態において、検出ステップは、以下のバイオマーカーを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含み得る：(a) シスタチンC + Ba + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン；(b) シスタチンC + Ba + sC5b9 + Ba / クレアチニン；(c) シスタチンC + Ba + sC5b9 + sC5b9 / クレアチニン；(d) シスタチンC + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + (e) シスタチンC + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；(f) シスタチンC + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；(g) Ba + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン；(h) Ba + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；(i) Ba + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；又は(j) sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン。

40

【0024】

ある実施形態において、検出ステップは、以下のバイオマーカーを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含み得る：(a) シスタチンC + Ba + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン；(b) シスタチンC + Ba + sC5b9

50

+シスタチンC／クレアチニン+s C 5 b 9／クレアチニン；(c) シスタチンC+s C 5 b 9+シスタチンC／クレアチニン+B a／クレアチニン+s C 5 b 9／クレアチニン；又は(d) B a+s C 5 b 9+シスタチンC／クレアチニン+B a／クレアチニン+s C 5 b 9／クレアチニン。

【0025】

ある実施形態において、検出ステップは、以下のバイオマーカーを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含み得る：(a) シスタチンC+B a+s C 5 b 9+シスタチンC／クレアチニン+B a／クレアチニン+s C 5 b 9／クレアチニン。

【0026】

ある実施形態において、方法は、B a及びs C 5 b 9から選択される血漿バイオマーカーを検出することをさらに含み得る。

10

【0027】

ある実施形態において、方法は、B a及びs C 5 b 9を含む血漿バイオマーカーシグネチャーを検出することをさらに含み得る。

【0028】

ある実施形態において、体液サンプルは、尿及び血漿を含む不均一サンプルを含み得、検出ステップは、(a) 尿シスタチンC+血漿B a；(b) 尿シスタチンC+血漿s C 5 b 9；(c) 尿B a+血漿B a；(d) 尿B a+血漿s C 5 b 9；(e) 尿s C 5 b 9+血漿B a；(f) 尿s C 5 b 9+血漿s C 5 b 9；(g) 尿シスタチンC／クレアチニン+血漿B a；(h) 尿シスタチンC／クレアチニン+血漿s C 5 b 9；(i) 尿B a／クレアチニン+血漿B a；(j) B a／クレアチニン+血漿s C 5 b 9；(k) 尿s C 5 b 9／クレアチニン+血漿B a；又は(l) 尿s C 5 b 9／クレアチニン+血漿s C 5 b 9から選択される少なくとも1つの尿バイオマーカー及び少なくとも1つの血漿バイオマーカーを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含み得る。

20

【0029】

ある実施形態において、体液サンプルは、尿及び血漿を含む不均一サンプルを含み得、検出ステップは、(a) 尿シスタチンC+血漿B a+血漿s C 5 b 9；(b) 尿B a+血漿B a+血漿s C 5 b 9；(c) 尿s C 5 b 9+血漿B a+血漿s C 5 b 9；(d) 尿シスタチンC／クレアチニン+血漿B a+血漿s C 5 b 9；(e) 尿B a／クレアチニン+血漿B a+血漿s C 5 b 9；又は(f) 尿s C 5 b 9／クレアチニン+血漿B a+血漿s C 5 b 9から選択される少なくとも1つの尿バイオマーカー及び少なくとも2つの血漿バイオマーカーを含むバイオマーカーシグネチャーを検出することを含み得る。

30

【0030】

ある実施形態において、体液サンプルは、尿及び血漿を含む不均一サンプルを含み得、検出ステップは、(a) 尿シスタチンC+尿B a+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；(b) 尿シスタチンC+尿s C 5 b 9+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；(c) 尿シスタチンC+尿シスタチンC／クレアチニン+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；(d) 尿シスタチンC+尿B a／クレアチニン+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；(e) 尿シスタチンC+尿s C 5 b 9／クレアチニン+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；(f) 尿B a+尿s C 5 b 9+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；(g) 尿B a+尿シスタチンC／クレアチニン+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；(h) 尿B a+尿B a／クレアチニン+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；(i) 尿B a+尿s C 5 b 9／クレアチニン+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；(j) 尿s C 5 b 9+尿シスタチンC／クレアチニン+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；(k) 尿s C 5 b 9+尿B a／クレアチニン+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；(l) 尿s C 5 b 9+尿s C 5 b 9／クレアチニン+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；(m) 尿シスタチンC／クレアチニン+尿B a／クレアチニン+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；(n) 尿シスタチンC／クレアチニン+尿s C 5 b 9／クレアチニン+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9；又は(o) 尿B a／クレアチニン+尿s C 5 b 9／クレアチニン+血漿B a若しくは血漿s C 5 b 9から選択される少なくとも2つの尿バイオマーカー及び少なくとも1つの血漿バイオマーカーを含むバイオマーカー

40

50

ーシングネチャーを検出することを含む。バイオマーカーは、血漿補体因子 B a、s C 5 b-9、トロンボモジュリン、及び D-二量体；血清 s T N F-R I 及び s V C A M-1；尿 B a 因子、s C 5 b-9、及びシスタチン C を含み得る。

【0031】

ある実施形態において、方法は、対象の推定糸球体濾過量（e G F R）を含む二次マーカーを測定することをさらに含み得る。

【0032】

ある実施形態において、方法は、対象の尿タンパク質／クレアチニン比（U P C R）を含む二次マーカーを測定することをさらに含み得る。

【0033】

ある実施形態において、バイオマーカー及び二次マーカーのレベルは、対照と比較して増加する。

【0034】

ある実施形態において、対照は、補体媒介血栓性微小血管障害症（C M-T M A）を有しない対象、任意選択的に、検出不能レベルの尿 s C 5 b 9 を有する対象から得られた同一の体液サンプルを含み得る。

【0035】

ある実施形態において、対象は、哺乳動物であり得る。対象は、ヒトであり得る。

【0036】

ある実施形態において、対象は、補体媒介血栓性微小血管障害症（C M-T M A）を有し得るか、有することが疑われ得るか、又は発現するリスクがあり得る。

【0037】

ある実施形態において、対象は、補体の阻害剤で治療を受けている可能性があるか、又は治療中であり得る。補体の阻害剤は、抗体、小分子、ポリペプチド、ポリペプチド類似体、ペプチド模倣薬、及びアプタマー、又はそれらの組み合わせからなる群から選択される補体 C 5 阻害剤を含み得る。補体 C 5 阻害剤は、組換え抗 C 5 ミニ抗体 M B 1 2 / 2 2、内皮 M B 1 2 / 2 2-R G D に標的化される抗 C 5 ミニ抗体、C 5 特異的アプタマー A R C 1 8 7、C 5 特異的アプタマー A R C 1 9 0 5（A v a c i n c a p t a d p e g o l）、ブドウ球菌の超抗原様タンパク質 7（S S L 7）、オルニソドロス・モウバタ（O r n i t h o d o r o s m o u b a t a）C 阻害剤（O m C I）、又はそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。補体の阻害剤は、（a）補体 C 5 に特異性で結合し、且つ任意選択的に、（b）C 5 の断片 C 5 a 及び C 5 b への切断を阻害する抗 C 5 抗体又はその抗原結合断片を含み得；好ましくは、抗原結合断片は、抗 C 5 抗体の抗体重鎖相補性決定領域 1~3（V_H C D R 1~3）及び抗体軽鎖相補性決定領域 1~3（V_L C D R 1~3）；より好ましくは、抗 C 5 抗体の可変重（V H）鎖及び可変軽（V L）鎖を含む抗原結合断片を含む。抗体、又はその抗原結合断片は、ヒト化抗体、組換え抗体、二重特異性抗体、キメラ化若しくはキメラ抗体、モノクローナル抗体、脱免疫化抗体、完全ヒト抗体、一本鎖抗体、F v 断片、F d 断片、F a b 断片、F a b' 断片、F（a b'）₂断片、又はそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。抗 C 5 抗体は、エクリズマブ、ラブリズマブ、若しくはそれらの組み合わせ又はそのバイオシミラーを含み得る。

【0038】

ある実施形態において、抗 C 5 抗体は、ラブリズマブ又はそのバイオシミラーを含み得；好ましくは、治療は、対象の体重に基づく、1 日目の単回負荷投与、その後 1 5 日目に開始する通常の維持投与を含む、ラブリズマブによる治療を含み、（a） $\geq 40 \sim < 60$ キログラム（k g）の体重の対象に対して、治療は、2 4 0 0 ミリグラム（m g）の負荷、次いで 8 週間毎の 3 0 0 0 m g の維持投与を含み；（b） $\geq 60 \sim < 100$ k g の体重の対象に対して、治療は、2 7 0 0 m g の負荷、次いで 8 週間毎の 3 3 0 0 m g の維持投与を含み；且つ（c） ≥ 100 k g の体重の対象に対して、治療は、3 0 0 0 m g の負荷、次いで 8 週間毎の 3 6 0 0 m g の維持投与を含む。抗 C 5 抗原結合断片は、パキセリズマブを含み得る。

10

20

30

40

50

【0039】

ある実施形態において、対象は、補体の阻害剤で治療されている可能性があり、治療は、対象から体液サンプルを得る前の1か月未満、任意選択的に、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、又は1日未満に実施されている。

【0040】

ある実施形態において、方法は、対象が補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を発現するリスクがあるか否かを判定することをさらに含み得る。

【0041】

ある実施形態において、対象は、所定の投薬スケジュール下で、補体阻害剤で治療されている可能性があるか、又は治療中であり得、方法は、患者が補体阻害剤療法に対して治療応答性であるか否かを判定することをさらに含む。

【0042】

ある実施形態において、対象は、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）を含む補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を有し得るか又は発現するリスクがあり得；好ましくは、CM-TMAは、腎臓aHUSを含む。

【0043】

ある実施形態において、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9；及び／又は補体sC5b-9／クレアチニン比からなる群から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つのバイオマーカーのレベルを検出する；好ましくは、治療前及び治療後に、対象から得られた体液サンプル中のBa及びsC5b9を含む少なくとも2つのバイオマーカーを含むシグネチャーにおけるバイオマーカーのレベルを検出することと、治療前及び治療後に、対象の体液サンプル中のバイオマーカーのレベル；好ましくは、シグネチャーにおけるバイオマーカーのレベルを比較することと；を含む、対象の補体C5の阻害剤による治療に対する応答性をモニタリングするための方法において、対象は、補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがあり；ここで対象は、補体C5の阻害剤で治療されている可能性があるか又は治療中であり；且つ治療後の対象の体液サンプル中のバイオマーカーのレベルの、補体C5阻害剤による治療前のそのレベルと比較しての低下は、対象が治療に応答性であることを示す。方法は、対象の推定糸球体濾過量（eGFR）を含む二次マーカーを測定することをさらに含み得る。方法は、対象の尿タンパク質／クレアチニン比（UPCR）を含む二次マーカーを測定することをさらに含み得る。対象の体液サンプル中のバイオマーカー及び二次マーカーのレベルは、治療後、低下し得る。

【0044】

ある実施形態において、補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を、補CM-TMA関連バイオマーカータンパク質における生理学的変化を誘導するのに十分な様式で、体阻害剤を使用して治療するための方法は、（a）対象から得られた体液中の、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9；及び／又は補体sC5b-9／クレアチニン比からなる群から選択されるCM-TMA関連バイオマーカータンパク質のレベル又は活性を測定する；好ましくは、Ba及びsC5b9を含む少なくとも2つのバイオマーカーを含むシグネチャーにおけるバイオマーカーのレベル又は活性を測定することと；（b）CM-TMAを有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがある対象に、補体の阻害剤を、バイオマーカー又はバイオマーカーシグネチャーのレベル又は活性における、阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中のそのレベル又は活性と比較した低下を引き起こすのに十分な量及び頻度で投与することと、を含み得る。補体阻害剤は、ラブリズマブを含み得る。

【0045】

ある実施形態において、補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を有する患者であって、所定の投薬スケジュール下、補体阻害剤で治療される患者が異なる投薬スケジュールを必要とするか否かを判定するための方法は、（A）CM-TMA患者が所定の投薬スケジュール下の補体阻害剤による治療に応答性であるか否かを判定することであって、対象から得られた体液中の、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9；及び／又は補体sC5b-9／クレアチニン比からなる群から選択されるCM-TMA関連バイオマーカータンパク質の濃度及び活性の一方又は両方を測定することを含む、判定すること；好ましくは、Ba及びsC5b-9を含む少なくとも2つのバイオマーカーを含むシグネチャーにおけるバイオマーカーのレベルを測定することと；（B）患者が補体阻害剤による治療に対して応答性でない場合、非奏効患者に、異なる補体阻害剤又は同じ補体阻害剤を、所定の投薬スケジュールと比較してより高い用量又はより頻繁な投薬スケジュールで投与することと、を含み得、ここで（a）バイオマーカー又はバイオマーカーシグネチャーの、阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して低下したレベル又は活性は、対象が阻害剤による治療に応答性であることを示す。補体阻害剤は、ラブリズマブを含み得る。バイオマーカーは、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9、任意選択的に、尿sC5b-9；補体sC5b-9／クレアチニン比、sVCAM-1、任意選択的に、血清sVCAM-1；sTNF-R1、任意選択的に、血清sTNF-R1；トロンボモジュリン、任意選択的に、血漿トロンボモジュリン；又はそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。

10

20

【0046】

ある実施形態において、補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を診断するためのキットは、任意選択的にキットを使用するための指示書と一緒に、アッセイプレート及び結合剤を含み得、ここで結合剤は、独立して、複数の生物学的分析物に特異性で結合する、抗体、又はその抗原結合断片であり、ここで分析物は、CM-TMAのタンパク質バイオマーカーであり、またここでタンパク質バイオマーカーは、任意選択的にシスタチンCと一緒に、補体成分因子Bのタンパク質分解断片（Ba）及び可溶性C5b-9（sC5b-9）を含む。バイオマーカーは、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9、任意選択的に、尿sC5b-9；補体sC5b-9／クレアチニン比、sVCAM-1、任意選択的に、血清sVCAM-1；sTNF-R1、任意選択的に、血清sTNF-R1、トロンボモジュリン、任意選択的に、血漿トロンボモジュリン；又はそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。キットは、クレアチニンアッセイのための試薬をさらに含み得る。キットは、尿タンパク質／クレアチニン比（UPCR）を測定するための試薬をさらに含み得る。

30

【0047】

ある実施形態において、対象における補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を治療するための組成物は、有効量の補体阻害剤を含み得、ここで補体阻害剤は、抗C5抗体又はそのC5結合断片、好ましくは、エクリズマブ、ラブリズマブ、又はそのバイオシミラーである。有効量は、対象におけるバイオマーカー及び／又はバイオマーカーシグネチャーのレベルを、補体阻害剤による治療前のそのレベルと比較して低減するのに十分な量であり得る。バイオマーカーは、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9；補体sC5b-9／クレアチニン比、又はそれらの組み合わせからなる群から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つのバイオマーカーを含み得る。バイオマーカーシグネチャーは、Ba及びsC5b-9を含む少なくとも2つのバイオマーカーを含み得る。バイオマーカー及び／又はバイオマーカーシグネチャーのレベルは、対象から得られた体液サンプル中で検出することができる。体液

40

50

サンプルは、尿、血漿、又はそれらの組み合わせであり得る。バイオマーカーは、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9、任意選択的に、尿sC5b-9；補体sC5b-9／クレアチニン比、sVCA M-1、任意選択的に、血清sVCA M-1；sTNF-R1、任意選択的に、血清sTNF-R1；トロンプモジュリン、任意選択的に、血漿トロンプモジュリン；又はそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。

【0048】

ある実施形態において、本開示は、有効量の補体阻害剤の使用に関し、ここで補体阻害剤は、補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を治療するための薬剤の製造のための、抗C5抗体又はそのC5結合断片、好ましくは、エクリズマブ、ラブリズマブ、又はそのバイオシミラーである。有効量は、対象におけるバイオマーカー及び／又はバイオマーカーシグネチャーのレベルを、補体阻害剤による治療前のそのレベルと比較して低減するのに十分な量であり得る。バイオマーカーは、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9；補体sC5b-9／クレアチニン比、又はそれらの組み合わせからなる群から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つのバイオマーカーを含み得る。バイオマーカーシグネチャーは、Ba及びsC5b9を含む少なくとも2つのバイオマーカーを含み得る。バイオマーカー及び／又はバイオマーカーシグネチャーのレベルは、対象から得られた体液サンプル中で検出することができる。体液サンプルは、尿、血漿、又はそれらの組み合わせであり得る。バイオマーカーは、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9、任意選択的に、尿sC5b-9；補体sC5b-9／クレアチニン比；sVCA M-1、任意選択的に、血清sVCA M-1；sTNF-R1、任意選択的に、血清sTNF-R1；トロンプモジュリン、任意選択的に、血漿トロンプモジュリン、又はそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。

【0049】

本開示の本質、目的、及び利点のさらなる理解のため、以下の詳細な説明を参照し、以下の図面と併せて解読する必要がある、ここで同等の参照数字は、同等要素を意味する。

【図面の簡単な説明】

【0050】

【図1-1】図1は、ラブリズマブ治療による補体調節不全及び腎損傷減少のバイオマーカーを表す。P値は、従属変数としての対数変換バイオマーカー、及び共変数としての訪問の固定カテゴリー効果及び対数変換ベースライン値の固定連続効果を伴う反復測定分析のための混合モデルから得られ、ベースラインからの平均変化がゼロに等しいという帰無仮説を平均変化がゼロに等しくないという代替仮説に対して検定する。点線は、正常ドナーサンプルの最小及び最大を表す。BL，ベースライン；Cr，クレアチニン。

【図1-2】同上。

【図2】図2は、ベースラインバイオマーカーとベースラインの臨床的尺度との間の関連性を表す。回帰係数は、従属変数としての対数変換ベースライン臨床的尺度及び独立変数としての対数変換ベースラインバイオマーカーレベルを伴う単純線形回帰分析から得られた。ベースラインバイオマーカーにおける2倍増加毎において、実験室値は、2（の回帰係数乗）倍増加（又は減少）する。百分率の増加（又は減少）を計算するため、この値から1を引いて100を掛ける；P値は、回帰係数がゼロに等しいという帰無仮説の両側検定から得られる。スピアマン相関係数が報告される。アウトラインボックスは、補体調節不全及び腎損傷のバイオマーカーにおける統計学的に有意な結果を示す。ハイライト／網掛けは、非常に高い相関を示す。Cr，クレアチニン；eGFR，推定糸球体濾過量；LDH，乳酸デヒドロゲナーゼ；UPCR，尿タンパク質／クレアチニン比。

【図3】図3は、治療の26週にわたる、ベースラインバイオマーカーと臨床的尺度の変化との間の関連性を表す。回帰係数は、従属変数としての臨床的尺度におけるベースラインからの26週変化での対数変換単純線形回帰分析及び独立変数としてのベースラインバ

イオマーカーレベルの対数（2）を伴う単純線形回帰分析から得られた。ベースラインバイオマーカーにおける2倍増加毎において、実験室値の変化は、回帰係数だけ増加（又は減少）し；P値は、回帰係数がゼロに等しいという帰無仮説の両側t検定から得られる。スピアマン相関係数が報告される。赤ボックスは、補体特異的バイオマーカーにおける統計学的に有意な結果を示す。黄色ハイライトは、非常に高い相関を示す。Cr，クレアチニン；eGFR，推定糸球体濾過量；LDH，乳酸デヒドロゲナーゼ；UPCR，尿タンパク質／クレアチニン比。

【図4】図4は、ベースラインバイオマーカーレベルが、26週目、選ばれた臨床アウトカムと有意に関連したことを示すデータを表す。*血小板数の正規化、LDHの正規化、及び血清クレアチニンの改善と定義される。CI，信頼区間；Cr，クレアチニン；LDH，乳酸デヒドロゲナーゼ；TMA，血栓性微小血管障害症。

10

【図5-1】図5は、52週までの経時的な血液観測レベルにおけるバイオマーカーのバイオリンプロットを表す。（A）血漿Ba；（B）血漿トロポモジュリン；（C）血漿sC5b-9；（D）血漿D-二量体；（E）血清sTNF-R1；（F）血清sVCAM-1。ラブリズマブ用量は、体重によって決定され、ベースラインでの負荷投与、15日目の2回目投与、71日目及びその後週1回の維持投与で投与された。水平線は、25%、中央値及び75%四分位値を表す。P値は、従属変数としてのバイオマーカー、及び共変数としての訪問の固定カテゴリー効果及びベースライン値の固定連続効果を伴う反復測定分析のための混合モデルから計算される。ベースラインからの平均変化がゼロに等しいという帰無仮説が、平均変化がゼロに等しくないという代替仮説に対して試験された。

20

【図5-2】同上。

【図5-3】同上。

【図6-1】図6は、52週までの経時的な尿観測レベルにおけるバイオマーカーのバイオリンプロットを表す。（A）尿シスタチンC／クレアチニン；（B）尿sC5b-9／クレアチニン；（C）尿Ba／クレアチニン。ラブリズマブ用量は、体重によって決定され、ベースラインでの負荷投与、15日目の2回目投与、71日目及びその後週1回の維持投与で投与された。水平線は、25%、中央値及び75%四分位値を表す。P値は、従属変数としてのバイオマーカー、及び共変数としての訪問の固定カテゴリー効果及びベースライン値の固定連続効果を伴う反復測定分析のための混合モデルから計算される。ベースラインからの平均変化がゼロに等しいという帰無仮説が、平均変化がゼロに等しくないという代替仮説に対して試験された。

30

【図6-2】同上。

【図7-1】図7は、52週目のeGFR及びバイオマーカー（血液中）のベースラインからの経時的な変化の完全TMA奏効状態によるラインプロットを表す。（A）血漿Ba、ng/mL（黒丸）；（B）血漿トロポモジュリン、ng/mL（黒丸）；（C）血漿sC5b-9、ng/mL（黒丸）；（D）血漿D-二量体、ng/mL（黒丸）；（E）血清sTNF-R1、ng/mL（黒丸）；（F）血清sVCAM-1、ng/mL（黒丸）。血液及び尿バイオマーカーにおけるベースラインからの変化が、52週に至るeGFRの臨床的尺度と比較された。実線は、完全TMA奏効者を表し；破線は、完全TMA非応答者を表し；黒星印は、eGFR（mL／分／1.73m²）血清を表す。P値は、バイオマーカーのそれぞれについて各図中に提示される。

40

【図7-2】同上。

【図7-3】同上。

【図8】図8は、52週目のeGFR及びバイオマーカー（尿中）のベースラインからの経時的な変化の完全TMA奏効状態によるラインプロットを表す。（A）尿シスタチンC／クレアチニン、ng/mgクレアチニン（黒丸）；（B）尿sC5b-9／クレアチニン、ng/mgクレアチニン（黒丸）；（C）尿Ba／クレアチニン、ng/mgクレアチニン（黒丸）。血液及び尿バイオマーカーにおけるベースラインからの変化が、52週に至るeGFRの臨床的尺度と比較された。実線は、完全TMA奏効者を表し；破線は、完全TMA非応答者を表し；黒星印は、eGFR（mL／分／1.73m²）血清を表す

50

。P 値は、バイオマーカーのそれぞれについて各図中に提示される。

【図 9】図 9 は、ベースラインバイオマーカーレベルに基づく、治療 52 週目の完全 TMA 奏効のロジスティック回帰分析を表す。オッズ比は、従属変数としての応答変数及び独立変数としてのベースラインバイオマーカーレベルの対数を伴うロジスティック回帰分析から得られ、ベースラインバイオマーカーにおける 2 倍増加毎において有効性奏効を達成するオッズの増加（又は減少）を表す。CI，信頼区間；Cr，クレアチニン；LDH，乳酸デヒドロゲナーゼ；TMA，血栓性微小血管障害症。

【図 10-1】図 10 は、患者対正常ドナーにおける Ba 及び sC5b-9 レベルの受信者動作特性（ROC）曲線を表す。尿及び血漿中の個別の sC5b-9 及び Ba レベルについてのドットプロット。B．尿及び血漿中の組み合わせバイオマーカーについての ROC 曲線。C．尿及び血漿中の組み合わせバイオマーカーについてのバイオリンプロット。D．組み合わせバイオマーカーについての要約表。TP，真陽性；TN，真陰性；FP，偽陽性；FN，偽陰性。

10

【図 10-2】同上。

【図 10-3】同上。

【図 10-4】同上。

【図 11-1】図 11 は、患者対正常ドナーにおける Ba 及び sC5b-9 レベルの受信者動作特性（ROC）曲線を表す。A．尿及び血漿中の個別バイオマーカーについての ROC 曲線。B．尿及び血漿中の個別バイオマーカーについてのバイオリンプロット。

20

【図 11-2】同上。

【図 11-3】同上。

【発明を実施するための形態】

【0051】

本開示をさらに説明する前に、特定の実施形態のバリエーションが構築可能であるばかりか、添付の特許請求の範囲の範囲内に入ることから、本開示が下記の開示の特定の実施形態に限定されないことは理解されるべきである。使用される用語が特定の実施形態を説明することを目的とし、限定することが意図されないことも理解されるべきである。その代わり、本開示の範囲は、添付の特許請求の範囲によって確立されることになる。

【0052】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において、単数形「a」、「an」及び「the」は、文脈上そうでないとする明確な指示がない限り、複数の参照を含む。特に定義されない限り、本明細書で用いられる全ての科学技術用語は、本開示が属する当業者に一般に理解されている場合と同じ意味を有する。

30

【0053】

「抗体」（Ab）及び「免疫グロブリン」（Ig）は、同じ構造的特徴を有する糖タンパク質である。抗体が特定抗原に対する結合特異性を示す一方で、免疫グロブリンは、抗体及び他の抗体様分子の両方であって、抗原特異性を欠いているものを含む。

【0054】

「天然抗体及び免疫グロブリン」は、通常は、2つの同一の軽（L）鎖及び2つの同一の重（H）鎖から構成される、約 150,000 ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。各軽鎖は、1つの共有ジスルフィド結合によって重鎖に連結される一方で、ジスルフィド結合の数は、異なる免疫グロブリンアイソタイプの重鎖間で変動する。また、各重鎖及び各軽鎖は、規則的間隔の鎖内ジスルフィド架橋を有する。各重鎖は、一末端に可変ドメイン（VH）とそれに続くいくつかの定常ドメインを有する。各軽鎖は、一方の末端に可変ドメイン（VL）及びその他方の末端に定常ドメインを有し；軽鎖の定常ドメインは、重鎖の最初の定常ドメインと整列され、軽鎖可変ドメインは、重鎖の可変ドメインと整列される。特定のアミノ酸残基は、軽鎖可変ドメインと重鎖可変ドメインとの間に界面を形成すると考えられる。Clothia et al. J. Mol. Biol. 186 : 651 (1985) ; Novotny and Haber Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 82 : 4592 (1985) .

40

50

【0055】

「可変」という用語は、広義には、可変ドメインの特定部分が、抗体中で配列が広範に異なり、特定の各抗体のその特定抗原への結合及び特異性において使用されるという事実を指す。しかし、可変性は、抗体の可変ドメイン全体を通じて均一には分布されない。それは、軽鎖及び重鎖可変ドメインのいずれにおいても、相補性決定領域（CDR）又は超可変領域と呼ばれる3つのセグメント内に集約される。可変ドメインのより高度に保存された部分は、フレームワーク（FR）と呼ばれる。天然軽鎖及び重鎖の可変ドメインのそれぞれは、βシート構造を連結するループを形成し、いくつかの場合にはβシート構造の一部を形成する、3つのCDRによって連結されたβシート構造を主にとり、4つのFR領域を含む。各鎖内のCDRは、FR領域によって極めて接近した状態で、他方の鎖からのCDRと一緒に保持され、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する（Johnson & Wu “Kabat Database and its applications: 30 years after the first variability plot” Nucleic Acids Research (2000) 28 (1): 214-218）。定常ドメインは、抗体の抗原への結合に直接的に関与せず、抗体依存性細胞毒性における抗体の関与などの様々なエフェクター機能を示す。

10

【0056】

抗体のパイン消化により、「Fab」断片と呼ばれる、2つの同一の抗原結合断片であって、それぞれが単一の抗原結合部位を有するものと、残りの「Fc」断片であって、名称が容易に結晶化するその能力を反映するものが生成される。ペプシン処理により、2つの抗原結合部位を有し、さらに抗原を架橋する能力があるF(ab')₂断片が生成される。

20

【0057】

「Fv」は、完全な抗原認識及び結合部位を含む最小の抗体断片である。2本鎖のFv種において、この領域は、強固な非共有結合での1つの重鎖及び1つの軽鎖可変ドメインの二量体からなる。一本鎖のFv種において、1つの重鎖及び1つの軽鎖可変ドメインは、軽鎖及び重鎖が2本鎖のFv種の場合と類似する「二量体」構造で会合し得るように、柔軟なペプチドリンカーによって共有結合的に連結され得る。この立体配置では、各可変ドメインの3つのCDRが相互作用し、VH-VL二量体の表面で抗原結合部位を画定する。集合的に、6つのCDRは、抗体に抗原結合特異性を付与する。しかし、たとえ単一の可変ドメイン（又は抗原に特異的な3つのCDRのみを含むFvの半分）が抗原を認識し、それに結合する能力を有しても、全結合部位より低い親和性である。

30

【0058】

また、Fab断片は、軽鎖の定常ドメイン及び重鎖の第1の定常ドメイン（CH1）を含む。Fab'断片は、Fab断片と、抗体ヒンジ領域からの1つ以上のシステインを含む重鎖CH1ドメインのカルボキシ末端への数残基の付加分だけ異なる。Fab'-SHは、定常ドメインのシステイン残基が遊離チオール基を有するFab'における本明細書中の名称である。F(ab')₂抗体断片は、最初にそれらの間にヒンジシステインを有するFab'断片の対として生成された。抗体断片の他の化学的カップリングも公知である。

40

【0059】

任意の脊椎動物種からの抗体（免疫グロブリン）の「軽鎖」は、カッパ（κ）及びラムダ（λ）と呼ばれる2つの明確に異なるタイプの一方に、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて割り当てることができる。

【0060】

それらの重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンは、異なるクラスに割り当てることができる。免疫グロブリンには、5つの主要なクラス：IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgMが存在し、これらのいくつかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2にさらに分割することができる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメ

50

ンは、それぞれ α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、及び μ と呼ばれる。免疫グロブリンの異なるクラスのサブユニット構造及び三次元配置は、周知である。“Therapeutic Antibody Engineering” (1st Ed.) Strohl & Strohl Woodhead Publishing (2012)。「抗体」という用語は、具体的に、抗体断片クローンを含むモノクローナル抗体を包含する。

【0061】

「抗体断片」は、インタクトな抗体の一部、一般にはインタクトな抗体の抗原結合又は可変領域を含む。抗体断片の例としては、Fab、Fab'、F(ab')₂、及びFv断片；二重特異性抗体；一本鎖抗体分子、例えば、一本鎖Fv(scFv)分子；並びに抗体断片から形成される多特異性抗体が挙げられる。“Human Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols” (2nd Ed.) Steinitz (Ed.) Humana Press (2019)。

10

【0062】

「モノクローナル抗体」は、本明細書で使用する場合、広義には、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体（又は抗体断片）を指し、例えば、その集団を含む個別抗体は、少量で存在し得ることが考えられる天然に存在する突然変異を除いては同一である。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、単一の抗原部位に特異的である。さらに、典型的には異なる決定基（エпитープ）に特異的な異なる抗体を含む従来の（ポリクローナル）抗体製剤と対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一決定基に特異的である。それらの特異性に加えて、モノクローナル抗体は、他の免疫グロブリンによって汚染されていないハイブリドーマ培養によって合成される点で有利である。修飾語「モノクローナル」は、抗体の実質的に均一な集団から得られるような抗体の特性を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするように解釈されるべきでない。例えば、本発明に従って使用されるべきモノクローナル抗体は、Kohler et al., Nature, 256:495 (1975)で最初に記載されたハイブリドーマ法によって作製することができ、又は組換えDNA法（例えば、米国特許第4,816,567号明細書を参照されたい）によって作製することができる。「モノクローナル抗体」は、例えば、Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991)及びMarks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991)に記載された技術を用いてファージ抗体ライブラリーから単離された抗原認識及び結合部位を含む抗体断片のクローン（Fvクローン）も含む。

20

30

【0063】

本明細書中のモノクローナル抗体は、具体的には、重鎖及び／又は軽鎖の一部が、特定種に由来する抗体又は特定の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一又は相同である一方で、鎖の残りが、別種に由来する抗体又は別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一又は相同であるような「キメラ」抗体（免疫グロブリン）、並びにこうした抗体の断片を、それらが所望される生物学的活性を示す限りにおいて含む。(Cabilly et al.への米国特許第4,816,567号明細書；Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984))；“Antibody Engineering” Volume 2 (2nd Ed.) Kontermann & Duebel. Springer Press (2010)。

40

【0064】

「ヒト」抗体（「完全ヒト」抗体とも呼ばれる）は、広義には、ヒト免疫グロブリンからのヒトフレームワーク領域及びCDRの全てを含む抗体を指す。一例において、フレームワーク及びCDRは、同じ元のヒト重鎖及び／又は軽鎖アミノ酸配列から得られる。しかし、1つのヒト抗体からのフレームワークは、異なるヒト抗体からのCDRを含むように改変することができる。

【0065】

非ヒト（例えば、マウス）抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト免疫グロブリン由来の最小

50

配列を含む、キメラ免疫グロブリン、その免疫グロブリン鎖又は断片（抗体のFv、Fab、Fab'、F(ab')₂又は他の抗原結合部分配列など）である。ほとんどの場合、ヒト化抗体は、レシピエントの相補性決定領域（CDR）からの残基が非ヒト種（マウス、ラット又はウサギなど）のCDRからの残基で置換されたヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）、又は所望される特異性、親和性、及び性能を有する合成配列（ドナー抗体）である。いくつかの場合、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域（FR）残基は、対応する非ヒト残基で置換される。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体中でも移入されたCDR又はフレームワーク配列内でも見出されない残基を含み得る。これらの修飾は、抗体性能をさらに洗練し、最適化するために設けられる。一部の実施形態において、全てのCDRは、ヒト化免疫グロブリン中のドナー免疫グロブリンから得られる。定常領域は、存在する必要がないが、存在する場合、それらは、ヒト免疫グロブリン定常領域と実質的に同一である、例えば、少なくとも約85～90%、例えば約95%以上同一である必要がある。それ故、ヒト化免疫グロブリンの、おそらくはCDRを除く全ての部分は、天然ヒト免疫グロブリン配列の対応部分と実質的に同一である。「ヒト化抗体」は、ヒト化軽鎖及びヒト化重鎖免疫グロブリンを含む抗体である。ヒト化抗体は、CDRを提供するドナー抗体と同じ抗原に結合する。ヒト化免疫グロブリン又は抗体のアクセプターフレームワークは、ドナーフレームワークから得られたアミノ酸での限られた数の置換を有し得る。ヒト化又は他のモノクローナル抗体は、抗原結合又は他の免疫グロブリン機能に対する効果を実質的に有しない、追加的な保存的アミノ酸置換を有し得る。ヒト化免疫グロブリンは、遺伝子工学を用いて構築することができる。例えば、米国特許第5,585,089号明細書を参照されたい。

10

20

【0066】

「一本鎖Fv」又は「scFv」抗体断片は、抗体のVH及びVLドメインを含み、これらのドメインは、単一のポリペプチド鎖内に存在する。一般に、scFvポリペプチドは、scFvが抗原結合に所望される構造を形成することを可能にする、VH及びVLドメイン間のポリペプチドリンカーをさらに含む。scFvのレビューとしては、Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)を参照されたい。

30

【0067】

「二重特異性抗体」は、本明細書で使用する場合、広義には、2つの抗原結合部位を有する小さい抗体断片であって、同じポリペプチド鎖内に軽鎖可変ドメイン（VL）に連結された重鎖可変ドメイン（VH）（VH-VL）を含む断片を指す。同じ鎖上で2つのドメイン間の対合を可能にするには短すぎるリンカーを用いることによって、ドメインは、別の鎖の相補的ドメインと対合し、2つの抗原結合部位を創出することが強いられる。二重特異性抗体は、例えば、欧州特許第404,097号明細書；国際公開第93/11161号パンフレット；及びHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)により十分に記載されている。

40

【0068】

「単離された」抗体は、その天然環境の成分から同定及び分離及び／又は回収されているものである。その天然環境の汚染物質成分とは、抗体における診断又は治療用途に干渉することになる材料であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質性又は非タンパク質性溶質を含み得る。好ましい実施形態において、抗体は、（1）ローリー法によって測定する場合、抗体の95重量%超、及び最も好ましくは99重量%超まで、（2）スピニングカップ配列決定装置の使用により、N末端若しくは内部アミノ酸配列の少なくとも15残基を得るのに十分な程度まで、又は（3）クーマシーブルー若しくは好ましくは銀染色を使用する還元若しくは非還元条件下でのSDS-PAGEによって均一になるまで精製されることになる。単離された抗体は、抗体の天然環境の少なくとも1つの成分が存在しな

50

くなることから、組換え細胞内のインサイチュの抗体を含む。しかし、通常は、単離された抗体は、少なくとも1つの精製ステップによって調製されることになる。

【0069】

「結合剤」は、本明細書で使用する場合、広義には、抗原（例えば、バイオマーカータンパク質）に結合する、任意の天然、合成又は遺伝子改変薬剤、例えばタンパク質を指す。結合剤は、天然に存在する抗体であり得る、又はそれに由来し得る。結合タンパク質又は薬剤は、特異的抗原に結合し、複合体を形成することによって、抗体と同様に機能し得る。結合剤又はタンパク質は、抗体の単離された抗原結合断片を含み得る。

【0070】

「哺乳動物」は、本明細書で使用する場合、広義には、皮膚上の毛髪の被覆、及び雌における若年を養うための泌乳乳腺によって特徴づけられる、哺乳類クラスのありとあらゆる温血脊椎動物を指す。哺乳類は、限定はされないが、ヒト、家畜動物、及び動物園用、スポーツ用、又はペット用動物を含む。哺乳類の例として、限定はされないが、アルパカ、アルマジロ、カピバラ、ネコ、ラクダ、チンパンジー、チンチラ、ウシ、イヌ、スナネズミ、ヤギ、ゴリラ、モルモット、ハムスター、ウマ、ヒト、キツネザル、ラマ、マウス、非ヒト霊長類、ブタ、ラット、ヒツジ、トガリネズミ、リス、及びバクが挙げられる。哺乳類は、限定はされないが、ウシ、イヌ、ウマ、ネコ、マウス、ヒツジ、ブタ、霊長類、及びげっ歯類種を含む。哺乳動物は、Washington D. C. における国立自然史博物館（National Museum of Natural History）、スミソニアン協会（Smithsonian Institution）によって維持された世界の哺乳動物種上に列記されているありとあらゆる哺乳動物も含む。同様に、「対象」又は「患者」という用語は、ヒト及び動物の対象及び／又は患者をいずれも含む。

【0071】

「正常」は、本明細書で使用する場合、広義には、特定の疾患又は病態（例えば、CM-TMA、aHUS）を有しないばかりか、疾患又は病態を有する又は発現するリスクがあることが疑われていない個体又は個体群を指す。また、「正常」という用語は、正常な又は健常な個体又は対象（又はこうした対象の群）から単離された生物学的検体又はサンプル（例えば、体液）、例えば「正常対照サンプル」又は「正常対照の体液」を認定するために本明細書で用いられる。

【0072】

「aHUSを発現するリスクがある」対象は、本明細書で使用する場合、広義には、障害を発現するための1つ以上（例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、又は8つ以上）のリスク因子を有する対象を指す。aHUSに対するリスク因子は、医学分野で周知であり、例えば、病態を発現する素因、例えば、病態の家族歴、又は例えば、補体因子H（CFH）、膜補因子タンパク質（MCP；CD46）、C4b結合タンパク質、補体因子B（CFB）、又は補体因子I（CFI）における1つ以上の突然変異などの病態を発現する遺伝的素因を含む。例えば、Warwicker et al. (1998) Kidney Int 53:836-844; Richards et al. (2001) Am J Hum Genet 68:485-490; Caprioli et al. (2001) Am Soc Nephrol 12:297-307; Neuman et al. (2003) J Med Genet 40:676-681; Richards et al. (2006) Proc Natl Acad Sci USA 100:12966-12971; Fremeaux-Bacchi et al. (2005) J Am Soc Nephrol 17:2017-2025; Esparza-Gordillo et al. (2005) Hum Mol Genet 14:703-712; Goicoechea de Jorge et al. (2007) Proc Natl Acad Sci USA 104(1):240-245; Blom et al. (2008) J Immunol 180(9):6385-91; 及びFremeaux-Bacchi et al. (2004) J

Medical Genet 41:e84)を参照されたい。Kavanagh et al. (2006)、上記も参照されたい。リスク因子は、例えば、肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) による感染、妊娠、がん、抗がん剤 (例えば、キニーネ、マイトマイシンC、シスプラチン、又はブレオマイシン) への曝露、免疫療法剤 (例えば、シクロスポリン、OKT3、又はインターフェロン) への曝露、抗血小板薬 (例えば、チクロピジン又はクロピドグレル) への曝露、HIV感染、移植、自己免疫疾患、並びに複合メチルマロン酸尿症及びホモシスチン尿症 (cblC) も含む。例えば、Constantinescu et al. (2004) Am J Kidney Dis 43:976-982; George (2003) Curr Opin Hematol 10:339-344; Gottschall et al. (1994) Am J Hematol 47:283-289; Valavaara et al. (1985) Cancer 55:47-50; Miralbell et al. (1996) J Clin Oncol 14:579-585; Dragon-Durey et al. (2005) J Am Soc Nephrol 16:555-63; 及びBecker et al. (2004) Clin Infect Dis 39:S267-S275を参照されたい。したがって、aHUSを発現するリスクがあるヒトは、例えば、aHUSの家族歴を有する者及び／又はHIV感染を有する者であり得る。上記から、「aHUSを発現するリスクがある」対象が目的の種の中の対象の全てではないことは明らかであろう。

10

20

【0073】

「aHUSを有することが疑われる」対象は、本明細書で使用する場合、広義には、その病態の1つ以上の症状を有する者を指す。この病態の症状は、医療の当業者に周知であり、例えば、重篤な高血圧症、タンパク尿、尿毒症、嗜眠／疲労、易刺激性、血小板減少症、微小血管症性溶血性貧血、及び腎機能障害 (例えば、急性腎不全) を含む。上記の節から、「aHUSを有することが疑われる」対象が目的の種の中の対象の全てではないことは明らかであろう。

【0074】

本明細書で使用する場合、CM-TMAとの関連での「トリガー」は、CM-TMAが生じる原因となる事象、状況、又は状態である。一部の実施形態において、CM-TMAトリガーは、自己免疫病態又は事象である。一部の実施形態において、トリガーは、感染、例えば、細菌感染、ウイルス感染、真菌感染、又は寄生虫感染である。一部の実施形態において、トリガーは、移植、例えば、骨髄移植又は固形臓器移植 (例えば、腎臓、脾臓、肝臓、心臓、及び小腸移植から選択される) である。一部の実施形態において、トリガーは、1つ以上の薬剤である。一部の実施形態において、トリガーは、悪性高血圧症である。

30

【0075】

補体系

補体系は、細胞及びウイルス病原体の侵入に対して保護するための身体の他の免疫系と併せて作用する。血漿タンパク質及び膜補因子の複雑な収集物として見出される、少なくとも25の補体タンパク質が存在する。血漿タンパク質は、脊椎動物血清中のグロブリンの約10%を形成する。補体成分は、それらの免疫防御機能を、一連の複雑であるが正確な酵素切断及び膜結合事象における相互作用によって達成する。得られる補体カスケードは、オプソニンの免疫調節性、及び溶解性機能を有する産物の産生を引き起こす。補体活性化に関連する生物学的活性の簡潔な要約が、例えば、Merck Manual, 16th Editionにおいて提供されている。

40

【0076】

補体カスケードは、古典的経路、代替経路、又はレクチン経路を介して進行する。これらの経路は、多くの成分を共有し、またそれらの初期ステップにおいて異なる一方で、標的細胞の活性化及び破壊に関与する、同じ「終末補体」成分 (C5からC9) に収束し、それらを共有する。

50

【0077】

古典的経路（CP）は、典型的に、標的細胞上の抗原性部位の抗体認識、及びそれへの結合によって開始される。代替経路（AP）は、抗体独立性であり得、病原体表面上の特定分子によって開始され得る。加えて、レクチン経路は、典型的に、マンノース結合レクチン（MBL）の高マンノース基質への結合に伴って開始される。これらの経路は、補体成分C3が活性プロテアーゼによって切断され、C3a及びC3bを生成するポイントで収束する。補体攻撃を活性化する他の経路は、補体機能の様々な局面を引き起こす事象の順序の中で後に作用し得る。C3aは、アナフィラトキシンである。C3bは、細菌及び他の細胞、並びに特定のウイルス及び免疫複合体に結合し、それらを循環から除去するために標識する。C3bのこのオプソニン機能は、一般に補体系の最も重要な抗感染性作用であると考えられる。C3bはまた、各経路に固有の他の成分との複合体を形成し、古典的又は代替C5転換酵素を形成し、それにより補体成分C5（以降、「C5」と称される）がC5a及びC5bに切断される。

10

【0078】

C5の切断により、例えば、C5a、強力なアナフィラトキシン及び化学走化性因子、及びC5b（一連のタンパク質相互作用を通じて、溶解性終末補体複合体C5b-9の形成を引き起こす）などの生物活性種が放出される。C5a及びC5b-9は、加水分解酵素、反応性酸素種、アラキドン酸代謝産物及び様々なサイトカインなどの下流炎症性因子の放出を増幅することによる、多面的な細胞活性化特性も有する。

20

【0079】

C5bをC6、C7、及びC8と組み合わせ、標的細胞の表面にC5b-8複合体が形成される。いくつかのC9分子の結合時、膜侵襲複合体（MAC、C5b-9、終末補体複合体-TCC）が形成される。十分な数のMACが標的細胞膜内に挿入するとき、それらが作り出す開口部（MAC孔）は、標的細胞の迅速な浸透圧溶解を媒介する。より低い非溶解濃度のMACは、他の効果をもたらし得る。特に、少数のC5b-9複合体の内皮細胞及び血小板への膜挿入により、有害な細胞活性化が引き起こされ得る。いくつかの場合、活性化は、細胞溶解に先行し得る。

【0080】

C3a及びC5aは、活性化補体成分である。これらは、マスト細胞脱顆粒を誘起し得、それにより好塩基球及びマスト細胞からヒスタミン、そして他の炎症のメディエーターが放出され、スムーズな筋収縮、増加した血管透過性、白血球活性化、及び他の炎症性現象、例えば細胞過形成をもたらす細胞増殖をもたらされる。C5aは、炎症促進性顆粒球を補体活性化の部位に誘引するのに役立つ走化性ペプチドとしても機能する。C5a受容体は、気管支及び肺胞上皮細胞及び気管支平滑筋細胞の表面に見出される。C5a受容体は、好酸球、マスト細胞、単球、好中球、及び活性化リンパ球上でも見出されている。

30

【0081】

補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）は、過剰な補体の生成によって駆動される臨床的障害である。それは、血小板減少症及び微小血管症性溶血性貧血（MAHA）と全身臓器障害をもたらす微小血管血栓症（TMA）によって特徴づけられる。

【0082】

aHUSは、慢性補体調節不全を含む遺伝性の生命を脅かす疾患である。その疾患を患う患者は、特に、脳卒中及び腎不全をもたらし得る、血栓性微小血管障害症（TMA）を患う。アンタゴニスト抗C5抗体のエクリズマブは、TMAを劇的に低減し、血小板レベルを正常化し、aHUS患者の腎機能を改善することが示されている。しかし、たとえaHUS患者に対する補体阻害剤療法の明確且つ強固な臨床的有用性を有しても、一部の患者は、依然として、治療にもかかわらず、いくつかのaHUSバイオマーカータンパク質のレベル増加を経験する。米国特許第9,494,601号明細書を参照されたい。

40

【0083】

aHUSは、遺伝性、後天性、又は特発性であり得る。aHUSは、同じ家族の2名以上（例えば、3名、4名、5名、又は6名以上）のメンバーが少なくとも6か月置いてそ

50

の疾患に冒され、且つ一般的なトリガー剤への曝露が排除されている場合、又は1つ以上のaHUS関連遺伝子突然変異（例えば、CFH、MCP/CD46、CFB、又はCFIにおける1つ以上の突然変異）が対象において同定される場合、遺伝性とみなすことができる。例えば、対象は、CFH関連aHUS、CFB関連aHUS、CFI関連aHUS、又はMCP関連aHUSを有し得る。遺伝性aHUSの最大30%がCFHの突然変異に、12%がMCPの突然変異に、5～10%がCFIの突然変異に、そして2%未満がCFBの突然変異に関連する。遺伝性aHUSは、多重性（例えば、家族性；2名以上が冒された家族メンバー）又は単一性（例えば、家族内の1名の発生）であり得る。aHUSは、基礎的環境要因（例えば、薬剤、全身性疾患、又は志賀様外毒素を生じないウイルス薬若しくは細菌薬）を同定可能である場合、後天性とみなすことができる。aHUSは、トリガー（遺伝性又は環境性）が明白でない場合、特発性とみなすことができる。

10

【0084】

本明細書に記載の方法は、対象を、aHUSを有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがある者として同定することを含み得る。ヒト対象が、血小板減少症、微小血管症性溶血性貧血、又は急性腎不全を有するか否かを判定するため、本明細書に記載のaHUSバイオマーカーのプロファイリングの使用に加えて、臨床検査を実施することができる。血小板減少症は、(i) $150,000/\text{mm}^3$ 未満（例えば、 $60,000/\text{mm}^3$ 未満）の血小板数；(ii) 循環中の血小板破壊の増加を反映する、低減される血小板生存時間の減少；及び(iii) 血小板新生の二次活性化に一致する、末梢塗抹において認められる巨大血小板の1つ以上として、医療従事者によって診断することができる。微小血管症性溶血性貧血は、(i) $10\text{mg}/\text{dL}$ 未満（例えば、 $6.5\text{mg}/\text{dL}$ 未満）のヘモグロビン濃度；(ii) 増加した血清乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)濃度 ($>460\text{U}/\text{L}$)；(iii) 高ビリルビン血症、網赤血球増加、循環遊離ヘモグロビン、及び低い又は検出不能なハプトグロビン濃度；並びに(iv) クームス試験陰性と一緒に末梢塗抹における有棘又はヘルメット細胞の典型的局面による断片化赤血球（分裂赤血球）の検出の1つ以上として、医療従事者によって診断することができる。例えば、Kaplan et al. (1992) "Hemolytic Uremic Syndrome and Thrombotic Thrombocytopenic Purpura," Informa Health Care (ISBN0824786637) and Zipfel (2005) "Complement and Kidney Disease," Springer (ISBN3764371668) を参照されたい。

20

30

【0085】

CM-TMAバイオマーカーの検出

本開示は、CM-TMAを患う患者及び／又は補体阻害剤療法を受けているCM-TMA患者における体液中のCM-TMAバイオマーカーを検出するための薬剤及び方法を提供する。aHUSは、診断するのが困難である。

【0086】

補体媒介血栓性微小血管障害症(CM-TMA)を有する患者の診断及びモニタリングのために検証されたバイオマーカーは、臨床的に利用可能でなく；CM-TMAの一形態である非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)を有する患者におけるバイオマーカーの特徴づけにより、CM-TMAを有する患者に対して、診断、治療決定及びモニタリングを通知することができる。

40

【0087】

CM-TMAを有する患者に対する診断、予後及びモニタリングのため、検証されたバイオマーカーへのアンメットニーズが存在する。発明者は、意外にも、補体因子Ba及びsC5b-9の測定値がTMA患者のCM-TMA/aHUSサブセットの同定における臨床的有用性を示すことを見出した。確かに、発明者は、意外にも、Ba因子と一緒に、血管組織バイオマーカーのTNF-R1及びトロンプモジュリンが、それらの腎機能障害との強力な関連性及びラブリズマブ治療に対する完全TMA奏効に基づき、有望な臨床予後の有用性を示すことを発見した。

50

【0088】

本明細書に記載の方法は、CM-TMAを有する患者の診断、モニタリング、及び治療における、(1)シスタチンC；(2)補体Ba；(3)sC5b9；(4)シスタチンC／クレアチニン；(5)補体Ba／クレアチニン；(6)sC5b9／クレアチニンから選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、又は少なくとも6つのタンパク質バイオマーカーの使用を含み得る。バイオマーカーが尿に由来する場合、本開示は、(a)シスタチンC；(b)Ba；(c)sC5b9；(d)シスタチンC／クレアチニン；(e)Ba／クレアチニン；(f)sC5b9／クレアチニンの使用を提供する。より具体的には、本開示は、CM-TMAの診断、及び例えば抗C5抗体など（ラブリズマブなど）の補体の阻害剤による治療における、上記バイオマーカーの単独使用、又は推定糸球体濾過量（eGFR）及び／又は尿タンパク質クレアチニン比（UPCR）などの二次マーカーとの併用のいずれかに関する。特に、治療開始後、ベースライン（BL）血漿補体因子Baが治療後（例えば、ラブリズマブの注入の26週目）のeGFR変化に関連することが認められた。同様に、尿sC5b-9、sC5b-9／Cr、尿Ba及びBa／Crは、治療後（例えば、ラブリズマブの注入の26週目）のUPCR変化に関連した。

10

【0089】

本明細書に記載の方法において検出されるバイオマーカーは、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9、任意選択的に、尿sC5b-9；補体sC5b-9／クレアチニン比；sVCAM-1、任意選択的に、血清sVACM-1；sTNF-R1、任意選択的に、血清sTNF-R1；トロンプモジュリン、任意選択的に、血漿トロンプモジュリン；又はそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。

20

【0090】

本開示のCM-TMAバイオマーカーの構造（例えば、アミノ酸配列）は、公知であり、データベース（例えば、GENBANK及び／又はUNIPROT）内に登録されている。例えば、ヒトシスタチンCは、GENBANK No. NP_0000090（日付：2021年9月12日）及びUNIPROT No. P01034（日付：2021年6月2日）下に登録されている。Ba及びBbを形成するために切断されるヒト補体Bは、GENBANK No. NP_001701（日付：2021年7月26日）及びUNIPROT No. P00751（日付：2021年6月2日）下に登録されている。sC5b9複合体を形成するヒトC5～C9は、GENBANK Nos. NP_001726（C5タンパク質；日付：2021年10月3日）；NP_000056（C6タンパク質；日付：2021年4月20日）；NP_000578（C7タンパク質；日付：2021年6月27日）；NP_000553（C8αタンパク質；日付：2021年6月30日）、NP_000057（C8βタンパク質；日付：2021年6月24日）、及びNP_000597（C8γタンパク質；日付：2021年2月14日）；NP_001728（C9タンパク質；日付：2021年6月26日）及びUNIPROT Nos. P01031（C5タンパク質）；P13671（C6タンパク質）；P10643（C7タンパク質）；P07357（C8αタンパク質）、P07358（C8βタンパク質）、及びP07360（C8γタンパク質）；及びP02748（C9タンパク質）（全ては2021年6月2日に登録された）下に登録されている。ヒトVCAM-1は、GENBANK No. NP_001069（日付：2021年9月7日）及びUNIPROT No. P19320（日付：2021年6月2日）下に登録されている。ヒトTNFR-1は、GENBANK No. NP_001056（日付：2021年10月17日）及びUNIPROT No. P19438（日付：2021年6月2日）下に登録されている。ヒトトロンプモジュリンは、GENBANK No. NP_000352（日付：2021年9月12日）及びUNIPROT No. P07204（日付：2021年6月2日）下に登録されている。

30

40

【0091】

50

本開示は、さらに、補体バイオマーカーの補体成分因子Bのタンパク質分解断片（Ba）（血漿及び尿中）及び可溶性C5b9（sC5b-9）（尿中）が、ベースライン時及び抗C5療法による治療の26週にわたり、aHUSを有する患者における腎機能に関連したという意外な発見に基づく。こうしたバイオマーカーは、CM-TMAにおける診断可能性を示し、補体阻害に対する腎奏効を予測し得る。

【0092】

本開示が任意の特定の理論に拘束されない一方で、発明者は、補体阻害剤（抗C5抗体など）で治療された患者の、Ba及び／又はsC5b-9の濃度変化についてのモニタリングが、患者を、aHUSを含むCM-TMAを有するか又は発現するリスクがあるとして診断するために有用であることを見出した。Ba及び／又はsC5b-9の状態のモニタリングは、CM-TMA患者が補体阻害剤による治療法に奏効しているか否かを判定するためにも有用であり得る。さらに、Ba及び／又はsC5b-9の状態の評価は、ヒトにおけるBa及び／又はsC5b-9バイオマーカータンパク質の濃度に対するその効果のおかげで、その疾患に対する臨床的に有意な効果を達成するのに十分である（例えば、補体関連疾患、例えばaHUSを治療するのに十分である）、補体阻害剤、例えば抗C5抗体の閾値用量を含む用量を同定するためにも有用である。

【0093】

発明者は、CM-TMAに対するバイオマーカー、すなわち、Ba及びsC5b-9を同定した。発明者は、特定のタンパク質の増加した、又は場合によっては低下した濃度がCM-TMAの存在に関連することを発見した。同様に、補体阻害剤で治療されたCM-TMA患者から得られた体液中の特定のタンパク質の濃度（又は活性）の低下又は増加は、患者が阻害剤による治療法に奏効していることを示す。（血漿及び尿中で検出された）補体バイオマーカーBa及び（尿中で検出された）sC5b-9は、ベースライン時及び抗C5療法による治療の26週にわたる、CM-TMAを有する患者における腎機能に関連した。したがって、こうしたタンパク質の濃度及び／又は活性レベルの分析を用いて、特に、CM-TMAに対するリスクを評価し、CM-TMAを診断し、CM-TMAの進行若しくは寛解をモニタリングし、且つ／又は補体阻害剤に対する治療奏効をモニタリングすることができる。

【0094】

シグネチャーにおける組織特異的バイオマーカー及びそれらの組み合わせ
尿バイオマーカー

尿バイオマーカーは、CM-TMAを有する患者の診断、モニタリング、及び治療において使用することができる。この目的に有用である尿バイオマーカーは、（a）シスタチンC；（b）Ba；（c）sC5b9；（d）シスタチンC／クレアチニン；（e）Ba／クレアチニン；及び（f）sC5b9／クレアチニン又はそれらの任意の組み合わせを含み、例えば、上記バイオマーカーの少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、又は6つ全部を含む。

【0095】

上記バイオマーカーの組み合わせを含む尿バイオマーカーシグネチャーは、サンプル中で検出することができ、任意選択的に、CM-TMAを有する患者の診断、モニタリング、及び治療において使用することができる。部分的には、バイオマーカーの組み合わせの相加的又はさらに相乗的な予測力に起因し、こうしたシグネチャーを本開示の様々な実施形態において利用することが望ましいことがある。異なるバイオマーカーが異なる生体サンプルに由来する、例えば、シグネチャーが尿sC5b9タンパク質レベル及び血漿Baタンパク質レベルを含む場合、さらにより望ましいことがある。

【0096】

少なくとも2つの尿バイオマーカーを含む尿バイオマーカーシグネチャーの例としては、限定はされないが、（a）シスタチンC+Ba；（b）シスタチンC+sC5b9；（c）シスタチンC+シスタチンC／クレアチニン；（d）シスタチンC+Ba／クレアチニン；（e）シスタチンC+sC5b9／クレアチニン；（f）Ba+sC5b9；（g

）Ba + シスタチンC / クレアチニン；（h）Ba + Ba / クレアチニン；（i）Ba + sC5b9 / クレアチニン；（j）sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン；（k）sC5b9 + Ba / クレアチニン；（l）sC5b9 + sC5b9 / クレアチニン；（m）シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン；（n）シスタチンC / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；及び（o）Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニンが挙げられる。

【0097】

少なくとも3つの尿バイオマーカーを含む尿バイオマーカーシグネチャーの例としては、限定はされないが、（a）シスタチンC + Ba + sC5b9；（b）シスタチンC + Ba + シスタチンC / クレアチニン；（c）シスタチンC + Ba + Ba / クレアチニン；（d）シスタチンC + Ba + sC5b9 / クレアチニン；（e）シスタチンC + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン；（f）シスタチンC + sC5b9 + Ba / クレアチニン；（g）シスタチンC + sC5b9 + sC5b9 / クレアチニン；（h）シスタチンC + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン；（i）シスタチンC + シスタチンC / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；（j）シスタチンC + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；（k）Ba + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン；（l）Ba + sC5b9 + Ba / クレアチニン；（m）Ba + sC5b9 + sC5b9 / クレアチニン；（n）Ba + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン；（o）Ba + シスタチンC / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；（p）Ba + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；（q）sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン；（r）sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；（s）sC5b9 + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；及び（t）シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニンが挙げられる。

【0098】

少なくとも4つの尿バイオマーカーを含む尿バイオマーカーシグネチャーの例としては、限定はされないが、（a）シスタチンC + Ba + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン；（b）シスタチンC + Ba + sC5b9 + Ba / クレアチニン；（c）シスタチンC + Ba + sC5b9 + sC5b9 / クレアチニン；（d）シスタチンC + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + （e）シスタチンC + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；（f）シスタチンC + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；（g）Ba + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン；（h）Ba + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；（i）Ba + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；又は（j）sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニンが挙げられる。少なくとも5つの尿バイオマーカーを含む尿バイオマーカーシグネチャーの例としては、限定はされないが、（a）シスタチンC + Ba + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン；（b）シスタチンC + Ba + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；（c）シスタチンC + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニン；（d）Ba + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニンが挙げられる。

【0099】

少なくとも6つの尿バイオマーカーを含む尿バイオマーカーシグネチャーのさらなる代表的な例としては、限定はされないが、（a）シスタチンC + Ba + sC5b9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + sC5b9 / クレアチニンが挙げられる。本明細書に記載のバイオマーカーの組み合わせを含む尿バイオマーカーシグネチャーのいずれか1つ又は組み合わせは、本明細書に記載の方法において使用することができる。

【0100】

血漿バイオマーカー

血漿バイオマーカーは、C M-T M Aを有する患者の診断、モニタリング、及び治療において使用することができる。この目的に有用である血漿バイオマーカーは、(a) 補体 B a 及び (b) s C 5 b 9、又はそれらの任意の組み合わせを含み、例えば、上記血漿バイオマーカーの少なくとも2つを含む。

【0101】

血漿バイオマーカーシグネチャーは、上記血漿バイオマーカーの組み合わせを含み得る。例えば、少なくとも2つの血漿バイオマーカーを含む血漿バイオマーカーシグネチャーは、B a 及び s C 5 b 9 を含み得る。さらなる血漿バイオマーカーは、血漿トロンボモジュリンを含む。

【0102】

不均一サンプルからのバイオマーカー

不均一サンプル（例えば、尿及び血漿）からのバイオマーカーを含む例示的なバイオマーカーシグネチャーは、本明細書に記載の診断及び治療方法において使用することができる。不均一サンプル（例えば、尿及び血漿）からのバイオマーカーを含む例示的なバイオマーカーシグネチャーは、体液サンプル中で検出することができる。

【0103】

不均一サンプルからの2つのバイオマーカーシグネチャー（尿からの少なくとも1つ及び血漿からの1つ）は、診断及び治療方法において使用することができる。不均一サンプルからの例示的な2つのバイオマーカーシグネチャーは、体液サンプル中で検出することができる。例示的な不均一な2つのバイオマーカーシグネチャーとしては、限定はされないが、(a) 尿シスタチン C + 血漿 B a ; (b) 尿シスタチン C + 血漿 s C 5 b 9 ; (c) 尿 B a + 血漿 B a ; (d) 尿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (e) 尿 s C 5 b 9 + 血漿 B a ; (f) 尿 s C 5 b 9 + 血漿 s C 5 b 9 ; (g) 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a ; (h) 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 s C 5 b 9 ; (i) 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a ; (j) 尿 B a / クレアチニン + 血漿 s C 5 b 9 ; (k) 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a ; (l) 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 s C 5 b 9 が挙げられる。

【0104】

不均一サンプルからの3つのバイオマーカーシグネチャー（例えば、尿からの少なくとも1つ及び血漿からの2つを含む）は、本明細書に記載の診断及び治療方法において使用することができる。不均一サンプルからの例示的な3つのバイオマーカーシグネチャーは、体液サンプル中で検出することができる。不均一な3つのバイオマーカーシグネチャーの例としては、限定はされないが、(a) 尿シスタチン C + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (b) 尿 B a + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (c) 尿 s C 5 b 9 + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (d) 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (e) 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (f) 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 が挙げられる。

【0105】

不均一サンプルからの3つのバイオマーカーシグネチャー（例えば、尿からの少なくとも2つ及び血漿からの1つを含む）は、本明細書に記載の診断及び治療方法において使用することができる。不均一サンプルからの例示的な3つのバイオマーカーシグネチャーは、体液サンプル中で検出することができる。不均一な3つのバイオマーカーシグネチャーの例としては、限定はされないが、(a) 尿シスタチン C + 尿 B a + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (b) 尿シスタチン C + 尿 s C 5 b 9 + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (c) 尿シスタチン C + 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (d) 尿シスタチン C + 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (e) 尿シスタチン C + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (f) 尿 B a + 尿 s C 5 b 9 + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (g) 尿 B a + 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (h) 尿 B a + 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a 又は

10

20

30

40

50

血漿 s C 5 b 9 ; (i) 尿 B a + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (j) 尿 s C 5 b 9 + 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (k) 尿 s C 5 b 9 + 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (l) 尿 s C 5 b 9 + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (m) 尿シスタチン C / クレアチニン + 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (n) 尿シスタチン C / クレアチニン + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (o) 尿 B a / クレアチニン + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 が挙げられる。

【 0 1 0 6 】

不均一サンプルからの4つのバイオマーカーシグネチャー（例えば、尿からの少なくとも2つ及び血漿からの2つを含む）は、本明細書に記載の診断及び治療方法において使用することができる。不均一サンプルからの例示的な4つのバイオマーカーシグネチャーは、体液サンプル中で検出することができる。不均一な4つのバイオマーカーシグネチャーの例としては、限定はされないが（a）尿シスタチン C + 尿 B a + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (b) 尿シスタチン C + 尿 s C 5 b 9 + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (c) 尿シスタチン C + 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (d) 尿シスタチン C + 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (e) 尿シスタチン C + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (f) 尿 B a + 尿 s C 5 b 9 + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (g) 尿 B a + 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (h) 尿 B a + 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (i) 尿 B a + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (j) 尿 s C 5 b 9 + 尿シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (k) 尿 s C 5 b 9 + 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (l) 尿 s C 5 b 9 + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (m) 尿シスタチン C / クレアチニン + 尿 B a / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (n) 尿シスタチン C / クレアチニン + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 ; (o) 尿 B a / クレアチニン + 尿 s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a + 血漿 s C 5 b 9 が挙げられる。

【 0 1 0 7 】

不均一サンプルからの4つのバイオマーカーシグネチャー（例えば、尿からの少なくとも3つ及び血漿からの1つを含む）は、本明細書に記載の診断及び治療方法において使用することができる。不均一サンプルからの例示的な4つのバイオマーカーシグネチャーは、体液サンプル中で検出することができる。不均一な3つのバイオマーカーシグネチャーの例としては、限定はされないが、（a）尿シスタチン C + 尿 B a + 尿 s C 5 b 9 + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (b) シスタチン C + B a + シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (c) シスタチン C + B a + B a / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (d) シスタチン C + B a + s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (e) シスタチン C + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (f) シスタチン C + s C 5 b 9 + B a / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (g) シスタチン C + s C 5 b 9 + s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (h) シスタチン C + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (i) シスタチン C + シスタチン C / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (j) シスタチン C + B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (k) B a + s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (l) B a + s C 5 b 9 + B a / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (m) B a + s C 5 b 9 + s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (n) B a + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (o) B a + シスタチン C / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (p) B a + B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン + 血漿 B a 又は血漿 s C 5 b 9 ; (q) s C 5 b 9 + シスタチン C / クレアチニン + B a / クレ

10

20

30

40

50

アチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(r) sC5b9+シスタチンC／クレアチニン+sC5b9／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(s) sC5b9+Ba／クレアチニン+sC5b9／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(t) シスタチンC／クレアチニン+Ba／クレアチニン+sC5b9／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9が挙げられる。

【0108】

不均一サンプルからの4つのバイオマーカーシグネチャー（例えば、血清からの2つ、血漿からの1つ及び尿からの1つ）は、本明細書に記載の診断及び治療方法において使用することができる。本明細書に記載の不均一サンプルからの例示的な4つのバイオマーカーシグネチャーは、体液サンプル中で検出することができる。例示的な4つのバイオマーカーシグネチャーは、血清sVCAM-1（循環する血管接着分子-1）、血清sTNF-R1（可溶性腫瘍壊死因子受容体1）、血漿トロポモジュリン、及び尿C5b-9を含み得る。

10

【0109】

不均一サンプルからの5つのバイオマーカーシグネチャー（例えば、尿からの少なくとも3つ及び血漿からの2つを含む）は、本明細書に記載の診断及び治療方法において使用することができる。本明細書に記載の不均一サンプルからの例示的な5つのバイオマーカーシグネチャーは、体液サンプル中で検出することができる。不均一な3つのバイオマーカーシグネチャーの例としては、限定はされないが、(a) 尿シスタチンC+尿Ba+尿sC5b9+血漿Ba又は血漿sC5b9；(b) シスタチンC+Ba+シスタチンC／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(c) シスタチンC+Ba+Ba／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(d) シスタチンC+Ba+sC5b9／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(e) シスタチンC+sC5b9+シスタチンC／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(f) シスタチンC+sC5b9+Ba／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(g) シスタチンC+sC5b9+sC5b9／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(h) シスタチンC+シスタチンC／クレアチニン+Ba／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(i) シスタチンC+シスタチンC／クレアチニン+sC5b9／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(j) シスタチンC+Ba／クレアチニン+sC5b9／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(k) Ba+sC5b9+シスタチンC／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(l) Ba+sC5b9+Ba／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(m) Ba+sC5b9+sC5b9／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(n) Ba+シスタチンC／クレアチニン+Ba／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(o) Ba+シスタチンC／クレアチニン+sC5b9／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(p) Ba+Ba／クレアチニン+sC5b9／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(q) sC5b9+シスタチンC／クレアチニン+Ba／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(r) sC5b9+シスタチンC／クレアチニン+sC5b9／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(s) sC5b9+Ba／クレアチニン+sC5b9／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9；(t) シスタチンC／クレアチニン+Ba／クレアチニン+sC5b9／クレアチニン+血漿Ba又は血漿sC5b9からなる群から選択されるシグネチャーが挙げられ、但しそれら以外に、血漿バイオマーカー、例えばBa及びsC5b9の両方が含まれる（上記の不均一な4つのバイオマーカーシグネチャーは、血漿バイオマーカーをいずれか一方で含み、組み合わせでは含まない）。

20

30

40

【0110】

不均一サンプルからの5つのバイオマーカーシグネチャー（例えば、尿からの少なくとも4つ及び血漿からの1つを含む）は、本明細書に記載の方法において使用することができる。本明細書に記載の不均一サンプルからの例示的な5つのバイオマーカーシグネチャーは、体液サンプル中で検出することができる。不均一な5つのバイオマーカーシグネチャーの例としては、限定はされないが、(a) シスタチンC+Ba+sC5b9+シスタ

50

チンC / クレアチニン； (b) シスタチンC + Ba + s C 5 b 9 + Ba / クレアチニン；
 (c) シスタチンC + Ba + s C 5 b 9 + s C 5 b 9 / クレアチニン； (d) シスタチン
 C + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + (e) シスタチンC + s C 5 b 9 + シス
 タチンC / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン； (f) シスタチンC + シスタチン
 C / クレアチニン + Ba / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン； (g) Ba + s C
 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン； (h) Ba + s C 5 b 9 +
 シスタチンC / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン； (i) Ba + シスタチンC /
 クレアチニン + Ba / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン；又は (j) s C 5 b 9
 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニンからな
 る群から選択される尿からの4つのバイオマーカーシグネチャー、並びに補体Ba及び (b) s C 5 b 9 からなる群から選択される血漿からの1つのバイオマーカー、又はそれら
 の任意の組み合わせが挙げられる。

10

【0111】

不均一サンプルからの6つのバイオマーカーシグネチャー（例えば、尿からの少なくとも4つ及び血漿からの2つを含む）は、本明細書に記載の方法において使用することができる。本明細書に記載の不均一サンプルからの例示的な6つのバイオマーカーシグネチャーは、体液サンプル中で検出することができる。不均一な6つのバイオマーカーシグネチャーの例としては、例えば、(1) (a) シスタチンC + Ba + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン； (b) シスタチンC + Ba + s C 5 b 9 + Ba / クレアチニン； (c) シスタチンC + Ba + s C 5 b 9 + s C 5 b 9 / クレアチニン； (d) シスタチンC + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + (e) シスタチンC + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン； (f) シスタチンC + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン； (g) Ba + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン； (h) Ba + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン； (i) Ba + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン；又は (j) s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニンからなる群から選択される尿からの4つのバイオマーカーシグネチャー、及び血漿からの2つのバイオマーカーシグネチャー、例えば、上記のBa + s C 5 b 9、又は(2) (a) シスタチンC + Ba + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン； (b) シスタチンC + Ba + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン； (c) シスタチンC + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン； (d) Ba + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニンからなる群から選択される尿からの5つのバイオマーカーシグネチャー、及び補体Ba及び (b) s C 5 b 9 からなる群から選択される血漿からの単一のバイオマーカー、又はそれらの任意の組み合わせを含み得る。

20

30

【0112】

不均一サンプルからの7つのバイオマーカーシグネチャー（例えば、尿からの少なくとも5つ及び血漿からの2つを含む）は、本明細書に記載の方法において使用することができる。本明細書に記載の不均一サンプルからの例示的な7つのバイオマーカーシグネチャーは、体液サンプル中で検出することができる。不均一な7つのバイオマーカーシグネチャーの例としては、(a) シスタチンC + Ba + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン； (b) シスタチンC + Ba + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン； (c) シスタチンC + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニン； (d) Ba + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + Ba / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニンからなる群から選択される尿からの5つのバイオマーカーシグネチャー及び血漿からの2つのバイオマーカーシグネチャー、例えばBa及びs C 5 b 9を含み得る。

40

【0113】

不均一サンプルからの8つのバイオマーカーシグネチャー（例えば、尿からの少なくと

50

も6つ及び血漿からの2つを含む)は、本明細書に記載の方法において使用することができる。本明細書に記載の不均一サンプルからの例示的な8つのバイオマーカーシグネチャーは、体液サンプル中で検出することができる。不均一な8つのバイオマーカーシグネチャーの例としては、シスタチンC + B a + s C 5 b 9 + シスタチンC / クレアチニン + B a / クレアチニン + s C 5 b 9 / クレアチニンを含む尿からの6つのバイオマーカーシグネチャーと、B a 及び s C 5 b 9 を例とする血漿からの2つのバイオマーカーシグネチャーとを含み得る。

【0114】

本明細書に記載のタンパク質バイオマーカーは、例えば、対象の生体サンプル中のクレアチニンのレベルに基づいて正規化することができる。正規化においては、バイオマーカーの由来のクレアチニンレベルの決定のため、同一の生体サンプル源を使用することが好ましい。好ましくは、本開示は、尿クレアチニンレベルのレベルに基づく尿バイオマーカーの正規化に関する(クレアチニンmgあたりのバイオマーカーng)。特に、尿B a、s C 5 b 9 及びサイトスタチンCのレベルは、尿クレアチニンレベルに基づいて正規化される。

10

【0115】

バイオマーカーレベルは、対象のサンプル中のクレアチニンのレベルに正規化することができ、クレアチニンレベルは、対象のバイオマーカーレベル又はバイオマーカーシグネチャーの測定と同時に(例えば、同時に、又は非常に小さい時間間隔、例えば、1時間未満、好ましくは30分未満、特に20分未満、若しくは特に5分未満の間隔で別々に)測定される。例えば、血漿B a 及び/又は血漿s C 5 b 9 のレベルは、血漿クレアチニンレベルに基づいて正規化することができる。

20

【0116】

本明細書に記載の診断及び/又は治療方法は、少なくとも1つの二次マーカーを本明細書に記載のバイオマーカー及び/又はバイオマーカーシグネチャーと一緒に測定することを含み得、ここでバイオマーカーレベルは、任意選択的に、対象のサンプル中のクレアチニンレベルに正規化される。二次マーカーの代表的な例としては、例えば、推定糸球体濾過量(eGFR)及び/又は尿タンパク質クレアチニン比(UPCR)が挙げられる。好ましくは、これらの二次マーカーは、バイオマーカー又はバイオマーカーシグネチャーと同時に、任意選択的に、正規化対象の分析物のレベル(クレアチニンレベル)と一緒に測定される。

30

【0117】

診断及び/又は検出の方法

生体サンプル中のバイオマーカーを検出するための方法は、対象から体液を得ることと；体液を、バイオマーカー、例えば、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(B a)、可溶性C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又はそれらの組み合わせから選択されるタンパク質バイオマーカーに結合する薬剤と接触させることと；薬剤の、バイオマーカー、例えば、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(B a)、可溶性C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又は両方から選択されるタンパク質バイオマーカーへの結合を検出することと、を含み得る。方法は、B a 及び/又はs C 5 b - 9 のレベルを測定することをさらに含み得る。バイオマーカーの検出において、酵素結合免疫吸着測定(ELISA)、ラジオイムノアッセイ(RIA)などの標準イムノアッセイを含む抗体ベースの検出を含む、任意の標準的方法を用いることができる。

40

【0118】

対象におけるCM-TMA関連バイオマーカータンパク質の状態をモニタリング又は評価するための方法は、対象から体液を得ることと；体液を、バイオマーカー、例えば、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(B a)、可溶性C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又はそれらの組み合わせから選択されるタンパク質バイオマーカーに結合する薬剤と接触させることと；薬剤の、バイオマーカー、例えば、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(B a)、可溶性C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又は両方から選択されるタンパク質バイオマーカー

50

ーへの結合を検出することと、を含み得る。方法は、B a 及び／又は s C 5 b - 9 のレベルを測定することをさらに含み得る。

【0119】

対象におけるCM-TMA関連バイオマーカータンパク質の濃度及び活性レベルの一方又は両方を評価するための方法は、体液を得ることと、タンパク質バイオマーカー、例えば、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(B a)、可溶性C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又は両方をイムノアッセイによって検出することと、を含み得る。方法は、バイオマーカーの濃度を標準的測定に基づいて決定する、例えば、サンプルの単位体積あたりのバイオマーカーの量又は相対量を計算することをさらに含み得る。活性を測定する場合、標準の活性アッセイを実行することができる。例えば、バイオマーカーが補体B bであり、目的のパラメータが対象のサンプル中のB bの活性である場合、C 3切断アッセイを実施することができる。このアッセイでは、B bがC 3 b B b複合体の触媒活性部位であり(C 3転換酵素)、新たなC 3をC 3 a 及びC 3 bに切断する能力があることが理解される。同様に、バイオマーカーが補体s C 5 b 9であり、目的のパラメータが対象のサンプル中のs C 5 b 9の活性である場合、CH 5 0などの終末補体複合体アッセイを使用することができる。CH 5 0検査は、溶解アッセイであり、そこでは、5 0 %の溶解を得るために要求される量を決定するため、古典的補体経路のアクチベーターとしての抗体感作ヒツジ赤血球(E A) 及び被検血清の様々な希釈物が使用される。パーセント溶血は、分光光度的に決定される。CH 5 0検査は、T C C自体が、実施可能な切断アッセイで測定される溶血に直接的に関与することから、T C Cの間接的尺度である。一部の実施形態において、直接的アッセイを使用することができる。

10

20

【0120】

患者が血栓性微小血管障害症を発現するリスクがあるか否かをモニタリング又は判定するための方法は、体液を得ることと、上記のバイオマーカー又はバイオマーカーシグネチャー、例えば、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(B a)、可溶性C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又は両方の1つ以上をイムノアッセイによって検出することと、を含み得る。方法は、B a 及び／又はs C 5 b - 9 のレベルを測定することをさらに含み得る。

【0121】

対象におけるCM-TMA関連バイオマーカータンパク質の状態をモニタリング若しくは評価するための方法、又は対象における、上記のバイオマーカー若しくはバイオマーカーシグネチャー、例えば、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(B a)、可溶性C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、若しくは両方の1つ以上の濃度及び活性レベルの一方若しくは両方を評価するための方法は、体液を得ることと、上記のバイオマーカー又はバイオマーカーシグネチャー、例えば、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(B a)、可溶性C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又は両方の1つ以上をイムノアッセイによって検出することと、を含み得る。方法は、B a 及び／又はs C 5 b - 9 のレベルを測定することをさらに含み得る。

30

【0122】

対象がCM-TMAを有するか又は発現するリスクがあるかを判定するための方法は、体液を得ることと、上記のバイオマーカー又はバイオマーカーシグネチャー、例えば、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(B a)、可溶性C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又は両方の1つ以上をイムノアッセイによって検出することと、を含み得る。方法は、B a 及び／又はs C 5 b - 9 のレベルを測定することをさらに含み得る。

40

【0123】

対象が補体阻害剤による治療に奏効しているか否かを判定するための方法は、体液を得ることと、上記のバイオマーカー又はバイオマーカーシグネチャー、例えば、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(B a)、可溶性C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又は両方の1つ以上をイムノアッセイによって検出することを含み得る。方法は、B a 及び／又はs C 5 b - 9 のレベルを測定することと、を含み得る。一部の実施形態において、本開示は、補体媒介血栓性微小血管障害症(CM-TMA)を、CM-TMA関連バイオマーカータン

50

パク質における生理学的変化を誘導するのに十分な様式で補体阻害剤を使用して治療するための方法であって、(a) 対象から得られた体液中の、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9；補体sC5b-9／クレアチニン比、又はそれらの組み合わせからなる群から選択されるCM-TMA関連バイオマーカータンパク質のレベル又は活性を測定する；好ましくは、Ba及びsC5b9を含む少なくとも2つのバイオマーカーを含むシグネチャーにおけるバイオマーカーのレベル又は活性を測定することと；(b) CM-TMAを有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがある対象に、補体の阻害剤を、バイオマーカー又はバイオマーカーシグネチャーのレベル又は活性における、阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中のそのレベル又は活性と比較しての低下を引き起こすのに十分な量及び頻度で投与することと、を含む方法に関する。これらの実施形態において、好ましくは、補体阻害剤は、ラブリズマブなどの抗C5抗体を含む。

10

【0124】

補体媒介血栓性微小血管障害症(CM-TMA)を有する患者であって、所定の投薬スケジュール下で補体阻害剤によって治療されている患者が、異なる投薬スケジュールを必要とするか否かを判定するための方法は、(A) CM-TMA患者が所定の投薬スケジュール下で補体阻害剤による治療に応答性であるか否かを判定することであって、対象から得られた体液中の、シスタチンC；シスタチンC／クレアチニン比；補体因子Ba；補体因子Ba／クレアチニン比；補体sC5b-9；及び／又は補体sC5b-9／クレアチニン比、又はそれらの組み合わせからなる群から選択されるCM-TMA関連バイオマーカータンパク質の濃度及び活性の一方又は両方を測定することを含む、判定すること；好ましくは、Ba及びsC5b9を含む少なくとも2つのバイオマーカーを含むシグネチャーにおけるバイオマーカーのレベルを測定することと；(B) 患者が補体阻害剤による治療に対して応答性でない場合、非奏効患者に、異なる補体阻害剤又は同じ補体阻害剤を、所定の投薬スケジュールと比較してより高い用量又はより頻繁な投薬スケジュールで投与することと、を含み得、ここで(a) バイオマーカー又はバイオマーカーシグネチャーの、阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して低下したレベル又は活性は、対象が阻害剤による治療に応答性であることを示す。これらの実施形態において、好ましくは、補体阻害剤は、ラブリズマブなどの抗C5抗体を含む。

20

30

【0125】

対象は、aHUSを有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがあるヒトであり得る。対象は、CM-TMAを有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがあるヒトであり得る。対象は、ループス、任意選択的にループス腎炎を有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがあるヒトであり得る。

【0126】

対象は、補体の阻害剤、任意選択的に、補体成分C5の阻害剤、例えば抗C5抗体で治療されている(治療中である)者であり得る。治療は、対象からサンプルを得る前の1か月未満(例えば、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、又は1日未満)になされている可能性がある。

40

【0127】

本明細書に記載の方法は、対象が、CM-TMA、特に、aHUS、ループス、任意選択的に、ループス腎炎、又はそれらの組み合わせを有するか又は発現するリスクがあるかを判定するステップをさらに含み得る。対象が所定の投薬スケジュール下で補体阻害剤(例えば、抗C5抗体)で治療されているか又は治療中である場合、方法は、患者が補体阻害剤療法に応答性であるか否かを判定することをさらに含み得る。

【0128】

補体成分因子Bのタンパク質分解断片(Ba)及び可溶性C5b9(sC5b-9)の、阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中のこれらのバイ

50

オマーカーの濃度と比較して低下した濃度は、対象が阻害剤による治療に応答性であることを示す。

【0129】

補体成分C5の阻害剤による治療に対する対象の応答性をモニタリングするための方法は、体液中のバイオマーカーを検出することを含み得、ここでバイオマーカーは、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(Ba)、可溶性C5b9(sC5b-9)、又は両方である。体液は、(i)CM-TMAを有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがあり、且つ(ii)所定の投薬スケジュール下で補体成分C5の阻害剤で治療中(又は例えば最近に治療されている)対象から得られる。こうした方法に従い、(a)補体成分因子Bのタンパク質分解断片(Ba)、可溶性C5b9(sC5b-9)、若しくは両方の、阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して低下した濃度；又は(b)補体の競合物質による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して増加した濃度は、対象が阻害剤による治療に応答性であることを示す。

10

【0130】

対象が補体阻害剤による治療に応答しているか否かを判定するための方法は、体液中の、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(Ba)、可溶性C5b9(sC5b-9)、又は両方であるバイオマーカーを検出することを含み得る。補体成分因子Bのタンパク質分解断片(Ba)、可溶性C5b9(sC5b-9)、又は両方の、阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して低下した濃度。

20

【0131】

対象の補体の阻害剤による治療に対する応答性をモニタリングするための方法は、体液中のバイオマーカーを検出することを含み得、ここでバイオマーカーは、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(Ba)、可溶性C5b9(sC5b-9)、又は両方である。対象は、CM-TMAを有する、有することが疑われる、又は発現するリスクがあり、且つ対象は、補体の阻害剤で治療されているか又は治療中である。(A)体液中の、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(Ba)、可溶性C5b9(sC5b-9)、若しくは両方であるバイオマーカーの検出での、阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して低下した濃度；又は(B)補体の阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して増加した濃度は、対象が阻害剤による治療に応答性であることを示す。

30

【0132】

ループス、任意選択的にループス腎炎の数、頻度、又は発生、発生の可能性、又は発現するリスクを、補体阻害剤を使用し、血栓症又は凝固に関連するバイオマーカータンパク質における生理学的変化を誘導するのに十分な様式で低減するための方法は、(a)対象から得られた体液中の、補体成分因子Bのタンパク質分解断片(Ba)、可溶性C5b9(sC5b-9)、又は両方である、血栓症及び／又は凝固に関連するバイオマーカータンパク質の濃度を測定することと；(b)ループス、任意選択的にループス腎炎を有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがある対象に、補体の阻害剤を、バイオマーカータンパク質における生理学的変化であって、バイオマーカータンパク質の濃度が、補体阻害剤による治療前の対象から得られた同一の生体サンプル中のマーカーの濃度と比較して低下した生理学的変化を引き起こすのに十分な量及び頻度で投与することと、を含み得る。方法は、バイオマーカーの濃度を治療前及び治療後の両方に測定することを含み得る。

40

【0133】

所定の投薬スケジュール下で補体阻害剤によって治療されるCM-TMA患者が、(i)異なる補体阻害剤による治療又は(ii)異なる投薬スケジュール下での同じ補体阻害剤による治療を必要とするか否かを判定するための方法は、(A)CM-TMA患者が所定の投薬スケジュール下での補体阻害剤による治療に応答性であるか否かを判定することであって、対象から得られた体液中の、体液中の補体成分因子Bのタンパク質分解断片(

50

B a)、可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又は両方であるバイオマーカーの濃度及び活性の一方又は両方を測定することを含む、判定することと；(B) 患者が補体阻害剤による治療に対して応答性でない場合、異なる補体阻害剤又は同じ補体阻害剤を、所定の投薬スケジュールと比較してより高い用量又はより頻繁な投薬スケジュールで患者に投与することと、を含み得、(a) 補体成分因子 B のタンパク質分解断片 (B a)、可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又は両方の、阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して低下した濃度；又は (b) 補体の阻害剤による治療前の、対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して増加した濃度は、対象が阻害剤による治療に応答性であることを示す。

【0134】

対象を、非典型溶血性尿毒症症候群 (a H U S) を有するか、又は発現するリスクがあると診断するための方法は、体液中の、少なくとも 2 つの a H U S 関連バイオマーカータンパク質である補体成分因子 B のタンパク質分解断片 (B a)、可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又は両方の濃度を測定することを含み得る。体液は、a H U S を有することが疑われるか又は発現するリスクがある対象から得られるものである。方法に従い、補体成分因子 B のタンパク質分解断片 (B a)、可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又は両方の、同じタイプの正常対照の体液中の濃度と比較して増加した濃度は、対象が a H U S を有するか又は発現するリスクがあることを示す。対照は、標準のイムノアッセイを介して測定する場合、健常対象、例えば、C M - T M A を有しない対象、好ましくは、検出可能なレベルの s C 5 b 9 を含有しない尿サンプルの対象から得ることができる。

【0135】

C M - T M A 患者が補体阻害剤による治療に応答しているか否かを判定するための方法は、C M - T M A を有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがあり、且つ補体阻害剤 (例えば、抗 C 5 抗体) で治療された患者から得られた生体サンプル中の B a 及び／又は s C 5 b - 9 の濃度を測定することと；生体サンプル中の 1 つ以上のバイオマーカーの濃度が、補体阻害剤による治療前の患者から得られた同じタイプの生体サンプル中の 1 つ以上のバイオマーカーの濃度と比較して低下する場合、患者が治療に応答していると判定する、又は生体サンプル中の 1 つ以上のバイオマーカーの濃度が、補体阻害剤による治療前の患者から得られた同じタイプの生体サンプル中の 1 つ以上のバイオマーカーの濃度と比較して低下しない場合、患者が治療に応答していないと判定することと、を含み得る。したがって、方法を用いて、補体阻害剤で治療された C M - T M A 患者における終末補体遮断を評価又はモニタリングすることができる。患者が治療に対して非応答性である、又は応答性がより低い場合の実施形態において、方法は、補体阻害剤の投与量若しくは投与頻度を変更する、又は患者の治療における使用のための異なる補体阻害剤 (例えば、C 3 活性化の阻害剤) を選択することも含み得る。

【0136】

検出方法

バイオマーカーである、補体成分因子 B のタンパク質分解断片 (B a)、可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b - 9)、又は両方は、イムノアッセイ、例えば、酵素結合免疫吸着測定 (E L I S A)、ラジオイムノアッセイ (R I A)、蛍光免疫測定法 (F I A)、化学発光イムノアッセイ (C L I A)、カウンティングイムノアッセイ (C I A)、比色イムノアッセイ、ウエスタンブロッティング、ドットプロット、サイトメトリックビーズアレイ (C B A)、又はそれらの組み合わせを用いて測定することができる。イムノアッセイのための方法は、当該技術分野で公知である。Laboratory Methods in Immunology Shawkatova (2019)。

【0137】

C 5 b に結合する抗体及びこうした抗体を作製するための方法は、当該技術分野で公知である。市販の抗 C 5 b 抗体は、例えば、Hycult Biotechnology (カタログ番号：H M 2 0 8 0；クローン 5 6 8) 及び A B C A M (登録商標) (a b 4 6 1 5 1 又は a b 4 6 1 6 8) を含むいくつかのベンダーから入手可能である。

【0138】

抗体は、抗B因子抗体（ATCC寄託番号PTA-6230によって産生されるモノクローナル抗体1379など）であり得る。抗B因子抗体は、例えば、Ueda et al. (1987) J Immunol 138 (4) : 1143-9; Tanhehco et al. (1999) Transplant Proc 31 (5) : 2168-71; 米国特許第7,999,082号明細書及び米国特許第7,964,705号明細書; 並びに国際公開第09/029669号パンフレットにも記載されている。

【0139】

実施例セクション及びそれ以外の箇所において、本開示の様々な実施形態の実施において有用である代表的なタイプの抗体が、例えば、特定のベンダー及び／又はカタログ番号についての情報とともに提供される。本開示が特定のベンダー／製造業者からの抗体検出試薬を使用する例示的な実施形態に限定されないことは理解されるべきである。本開示のバイオマーカー／分析物に対する抗体は、Biolegend (San Diego, CA)、Southern Biotech (Birmingham, AL)、United States Biological (USB; Salem, MA)、Lifespan Biosciences (LSBIO; Seattle, WA)、ABCAM (登録商標) (Cambridge, United Kingdom)、Cell Signaling Technology (Danvers, MA)、及びSigma-Aldrich (St. Louis, MO)を含む任意の製造業者から得ることができる。例えば、ウサギ抗PODXL抗体は、USB (カタログ番号212672)、LSBIO (カタログ番号LS-C141161)、ABCAM (登録商標) (カタログ番号ab205350) 及びSigma-Aldrich (カタログ番号HPA002110) から購入することができ; 抗CD9抗体のクローンMM2/57は、Southern Biotech (カタログ番号9310)、EMD Millipore (カタログ番号CBL162)、VWR (カタログ番号89366)、及びBIO RAD (カタログ番号MCA469G) から購入することができる。抗体は、従来技術、例えば、マウス若しくはウサギなどの哺乳動物の免疫及び／又はハイブリドーマ技術を用いて作製することもできる。

【0140】

バイオマーカーは、アレイを用いて検出することができる。例えば、アレイは、アレイの各アドレスがアッセイプレートのウェルである場合、プロテインチップであり得る。アレイの各アドレスは、上に結合剤を固定化している粒子（例えば、ビーズ）であり得る。

【0141】

生体サンプル中のタンパク質発現レベルの測定は、任意の好適な方法によって実施することができる。例えば、Greenfield (Ed.) (2014) "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor, N. Y. を参照されたい。一般に、タンパク質レベルは、対象から得られた生体サンプルをバイオマーカータンパク質に対する結合剤と接触させ; サンプル（例えば、体液）中の結合剤に結合するバイオマーカータンパク質の1つ以上のレベルを検出し; そしてサンプル中のバイオマーカータンパク質の1つ以上のレベルを対照サンプル（例えば、正常サンプル）中の対応するタンパク質バイオマーカーのレベルと比較することによって決定される。特定の実施形態において、好適な結合剤は、ペプチド成分、RNA分子、又はポリペプチド（例えば、タンパク質マーカーのポリペプチド配列、そのペプチドバリエーション、又はこうした配列の非ペプチド模倣物を含むポリペプチド）の存在下又は不在下でのリボソームである。

【0142】

好適な結合剤は、本明細書に記載のバイオマーカータンパク質に特異的な抗体も含む。本発明の方法における使用に適した抗体は、モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体並びに抗体の抗原結合断片（例えば、Fab断片又はscFv）を含む。モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体、断片及びキメラを含む抗体は、当該技術分野で公知の方法を用いて調製することができる。本発明の方法において使用されるべき抗体は、当該技術

分野で周知の方法によって精製することができる。Greenfield (Ed.) (2014) "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor, N. Y. 抗体は、商業的供給源から得ることもできる。

【0143】

結合剤は、直接的又は間接的に検出可能な部分で標識される。検出可能な薬剤の役割は、結合剤のタンパク質マーカー（又はその断片）への結合によって形成された複合体の視覚化を可能にすることにより、診断方法の検出ステップを容易にすることである。検出可能な薬剤を選択できることで、それは、測定可能な、分析中のサンプル中に存在するタンパク質マーカーの量に関連する（好ましくは比例する）強度のシグナルを生成する。ポリペプチド及び抗体などの生体分子を標識するための方法は、当該技術分野で周知である。多種多様な検出可能な薬剤のいずれかは、本発明の実施において使用することができる。好適な検出可能な薬剤としては、限定はされないが、様々なリガンド、放射性核種、蛍光色素、化学発光剤、微小粒子（例えば、量子ドット、ナノ結晶、リン光体）、酵素（例えば、ELISAにおいて使用されるもの、例えば、西洋わさびペルオキシダーゼ、βガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）、比色標識、磁気標識、及びビオチン、ジゴキシゲニン又は他のハプテン及び抗血清若しくはモノクローナル抗体が利用可能である場合のタンパク質が挙げられる。

10

【0144】

結合剤（例えば、抗体）は、担体又は支持体（例えば、ビーズ、磁気粒子、ラテックス粒子、マイクロタイタープレートウェル、キュベット、又は他の反応容器）上に固定化することができる。好適な担体又は支持体材料の例としては、アガロース、セルロース、ニトロセルロース、デキストラン、Sephadex（登録商標）、Sephacrose（登録商標）、リポソーム、カルボキシメチルセルロース、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、斑糲岩、濾紙、マグネタイト、イオン交換樹脂、プラスチックフィルム、プラスチックチューブ、ガラス、ポリアミン-メチルビニル-エーテル-マレイン酸共重合体、アミノ酸共重合体、エチレン-マレイン酸共重合体、ナイロン、シルク、又はそれらの組み合わせが挙げられる。結合剤は、第1の結合剤に特異的な第2の結合剤を用いて、間接的に固定化することができる（例えば、タンパク質マーカーに特異的なマウス抗体は、担体又は支持体上にコーティングされたヒツジ抗マウスIgG Fc断片特異抗体を用いて固定化することができる）。

20

30

【0145】

生体サンプル中のタンパク質発現レベルは、イムノアッセイを用いて測定することができる。こうしたアッセイの例としては、当該技術分野で周知の従来方法である、時間分解蛍光イムノアッセイ（TR-FIA）、ラジオイムノアッセイ、酵素免疫測定法（例えば、ELISA）、免疫蛍光免疫沈降、ラテックス凝集、赤血球凝集、ウエスタンブロット、及び組織化学検査が挙げられる。結合剤とタンパク質マーカーとの結合によって形成される複合体によって生成されるシグナルの検出及び定量化の方法は、アッセイの性質及び検出可能部分（例えば、蛍光部分）の性質に依存することになる。

【0146】

例において、遺伝子のタンパク質発現（例えば、Ba及び／又はsC5b-9）の存在又は量は、ウエスタンブロッティング技術を用いて測定することができる。例えば、ライセートは、生体サンプルから調製することができ、又は生体サンプル（例えば、体液）自体は、Laemmli緩衝液と接触させ、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）にかけることができる。次に、サイズによって分離されたSDS-PAGE分離タンパク質は、フィルター膜（例えば、ニトロセルロース）に移し、目的のタンパク質に特異的な検出可能標識抗体を用いて免疫ブロット技術にかけることができる。結合された検出可能標識抗体の存在又は量は、生体サンプル中のタンパク質の存在又は量を示す。

40

【0147】

50

ある例において、イムノアッセイは、バイオマーカータンパク質（例えば、B a 及び／又は s C 5 b - 9）のタンパク質発現の検出及び／又は測定のために用いることができる。上記の通り、検出を目的として、イムノアッセイは、検出部分（例えば、蛍光剤又は酵素）を有する抗体を用いて実施することができる。生体サンプルからのタンパク質は、固相マトリックス（例えば、マルチウェルアッセイプレート、ニトロセルロース、アガロース、S e p h a r o s e（登録商標）、コード化された粒子、又は磁気ビーズ）に直接的にコンジュゲートすることができ、又は固相マトリックスに付着する特異的結合対の第 1 メンバー（例えば、ビオチン又はストレプトアビジン）に、特異的結合対の第 2 メンバー（例えば、ストレプトアビジン又はビオチン）への結合時にコンジュゲートすることができる。固相マトリックスへのこうした付着は、タンパク質が検出抗体との接触前に生体サンプルの他の干渉又は無関係成分から精製されることを可能にし、その後の非結合抗体の洗浄も可能にする。ここで、上記の通り、結合された検出可能標識抗体の存在又は量は、生体サンプル中のタンパク質の存在又は量を示す。

10

【0148】

或いは、タンパク質発現レベルは、タンパク質を検出するための当該技術分野で公知の質量分析ベースの方法又は画像ベースの方法を用いて測定することができる。他の好適な方法は、2 D ゲル電気泳動、プロテオミクスに基づく方法、例えばゲルから回収された個別タンパク質の同定（例えば、質量分析又は N 末端配列決定による）及び／又はバイオインフォマティクスを含む。

20

【0149】

タンパク質発現を検出又は測定するための方法は、任意選択的に、複数のサンプルの迅速な調製、処理、及び分析を可能にする形式で実施することができる。これは、例えば、マルチウェルアッセイプレート（例えば、96 ウェル又は 384 ウェル）内又はアレイ（例えば、プロテインチップ）内であり得る。様々な試薬に対する保存液は、手作業又はロボット制御によって提供することができ、それに続くサンプル調製、ピペッティング、希釈、混合、分布、洗浄、インキュベート（例えば、ハイブリダイゼーション）、サンプル読み取り、データ収集（光学データ）及び／又は分析（コンピュータ支援画像分析）は、市販の分析ソフトウェア、ロボティクス、及びアッセイから生成されたシグナルを検出する能力がある検出装置を用いて、ロボット制御によって実施することができる。こうした検出器の例としては、限定はされないが、分光光度計、ルミノメーター、蛍光分光計、及び放射性同位元素の崩壊を測定する装置が挙げられる

30

【0150】

診断用抗体

抗体又はその抗原結合断片は、ヒト化抗体、組換え抗体、二重特異性抗体、キメラ化若しくはキメラ抗体、モノクローナル抗体、脱免疫化抗体、完全ヒト抗体、一本鎖抗体、F v 断片、F d 断片、F a b 断片、F a b ' 断片、F (a b ')₂ 断片、又はそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。

【0151】

モノクローナル抗体

本明細書で開示されるモノクローナル抗体は、任意のアイソタイプであり得る。モノクローナル抗体は、例えば、I g M 又は I g G 抗体、例えば、I g G 1 又は I g G 2 であり得る。B a 又は s C 5 b - 9 に免疫特異的に結合する抗体のクラスは、周知の手順に従い、別のものとスイッチ可能である（例えば、I g G は I g M にスイッチ可能である）。クラススイッチを用いて、1 つの I g G サブクラスを別のものに、例えば I g G 1 から I g G 2 に変換することもできる。

40

【0152】

本発明の抗体は、一価、二価、三価又は多価であり得る。例えば、一価 s c F v は、化学的に又は別のタンパク質若しくは物質との会合により多量体化され得る。ヘキサヒスチンタグ又は F l a g タグに融合された s c F v は、N i - N T A アガロース（Q i a g e n）を用いて、又は抗 F l a g 抗体（S t r a t a g e n e , I n c .）を用いて多量

50

体化され得る。

【0153】

本発明の抗体は、単一特異性、二重特異性、三重特異性又はより多い多重特異性であり得る。多重特異性抗体は、Ba及び／又はsC5b-9の異なるエピトープ、又はその断片、及び異種エピトープ、例えば異種ポリペプチド又は固体支持体材料に特異的であり得る。例えば、国際公開第93/17715号パンフレット；国際公開第92/08802号パンフレット；国際公開第91/00360号パンフレット；国際公開第92/05793号パンフレット；Tutt et al., J. Immunol. 147:60-69 (1991)；米国特許第4,474,893号明細書；米国特許第4,714,681号明細書；米国特許第4,925,648号明細書；米国特許第5,573,920号明細書；米国特許第5,601,819号明細書；Kostelny et al., J. Immunol. 148:1547-1553 (1992)を参照されたい。

10

【0154】

抗体を産生するための方法

本明細書に記載の方法において使用可能な抗体(s c F v及び他の分子であって、本発明の抗体断片若しくはバリエーションを含むか又は代替的にそれらからなるもの)は、抗体の合成のための当該技術分野で公知の任意の方法、特に化学合成又は好ましくは組換え発現技術によって産生することができる。Greenfield (Ed.) (2014) “Antibodies: A Laboratory Manual”, Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor, N. Y.

20

【0155】

Ba及び／又はsC5b-9、又はそれらの断片に免疫特異的に結合する一本鎖Fv(s c F v)は、当該技術分野で公知のファージディスプレイ法を用いて作製することができる。ファージディスプレイ法において、それらをコードするポリヌクレオチド配列を運ぶファージ粒子の表面に、機能的抗体ドメインが提示される。特に、VH及びVLドメインをコードするDNA配列は、動物cDNAライブラリー(例えば、リンパ組織のヒト又はマウスcDNAライブラリー)又は合成cDNAライブラリーから増幅される。VH及びVLドメインをコードするDNAは、PCRによりs c F vリンカーによって一緒に連結され、ファージミドベクター(例えば、pCANTAB 6又はpComb 3 HSS)にクローン化される。ベクターは、大腸菌(E. coli)にエレクトロポレートされ、大腸菌(E. coli)は、ヘルパーファージによって感染される。これらの方法において使用されるファージは、典型的に、fd及びM13を含む糸状ファージであり、VH及びVLドメインは、通常、ファージ遺伝子III又は遺伝子VIIのいずれかに組換え的に融合される。目的の抗原(例えば、Ba及び／又はsC5b-9、又はそれらの断片)に結合する抗原結合ドメインを発現するファージは、抗原により、例えば、標識抗原又は固体表面若しくはビーズに結合若しくは捕捉された抗原を用いて選択又は同定することができる。本発明の抗体を産生するために用いることができるファージディスプレイ法の例としては、限定はされないが、Brinkman et al., J. Immunol. Methods 182:41-50 (1995)；Ames et al., J. Immunol. Methods 184:177-186 (1995)；Kettleborough et al., Eur. J. Immunol. 24:952-958 (1994)；Persic et al., Gene 187:9-18 (1997)；Burton et al., Advances in Immunology 57:191-280 (1994)；国際公開第91/10737号パンフレット；国際公開第92/01047号パンフレット；国際公開第92/18619号パンフレット；国際公開第93/11236号パンフレット；国際公開第95/15982号パンフレット；国際公開第95/20401号パンフレット；国際公開第97/13844号パンフレット；並びに米国特許第5,698,426号明細書；米国特許第5,223,409号明細書；米国特許第5,403,484号明細書；米国特許第5,580,717号明細書

30

40

50

；米国特許第5,427,908号明細書；米国特許第5,750,753号明細書；米国特許第5,821,047号明細書；米国特許第5,571,698号明細書；米国特許第5,427,908号明細書；米国特許第5,516,637号明細書；米国特許第5,780,225号明細書；米国特許第5,658,727号明細書；米国特許第5,733,743号明細書及び米国特許第5,969,108号明細書に開示されたものが挙げられる。

【0156】

上の参考文献に記載の通り、ファージ選択後、例えば下記の通り、ファージからの抗体コード領域を単離して使用し、ヒト若しくはヒト化抗体を含む全抗体、又は任意の他の所望される抗原結合断片を作製し、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、及び細菌を含む、任意の所望される宿主内で発現させることができる。Fab、Fab'及びFab'₂断片を組換え的に産生するための技術は、当該技術分野で公知の方法、例えば、国際公開第92/22324号パンフレット；Mullinax et al., Bio Techniques 12(6):864-869(1992)；Sawai et al., AJRI 34:26-34(1995)；及びBetter et al., Science 240:1041-1043(1988)に開示されたものを用いて利用することもできる。

10

【0157】

全抗体を作製するため、PCRプライマー、例えば、VH又はVLヌクレオチド配列、制限部位、及び制限部位を保護するためのフランキング配列を用いて、scFvクローン中のVH又はVL配列を増幅することができる。当業者に公知のクローニング技術を用いて、PCR増幅VHドメインは、VH定常領域、例えばヒトガンマ4定常領域を発現するベクターにクローン化することができ、PCR増幅VLドメインは、VL定常領域、例えばヒトカッパ又はラムダ定常領域を発現するベクターにクローン化することができる。好ましくは、VH又はVLドメインを発現するためのベクターは、免疫グロブリン可変ドメイン、免疫グロブリン定常ドメイン、及びネオマイシンなどの選択マーカーのための選択された発現系、分泌シグナル、クローニング部位において、重鎖及び軽鎖の発現を誘導するのに適したプロモーターを含む。VH及びVLドメインはまた、必要な定常領域を発現する1つのベクターにクローン化することができる。次に、重鎖変換ベクター及び軽鎖変換ベクターを細胞株に同時トランスフェクトし、全長抗体、例えばIgGを発現する安定な細胞株又は一過性細胞株が当業者に公知の技術を用いて作製される。

20

30

【0158】

一旦、本明細書に記載の方法において使用可能な抗体（その抗体断片又はバリエーションを含むか又は代替的にそれらからなる分子を含む）が化学的に合成されているか又は組換え的に発現されていると、それは、免疫グロブリン分子、又はより一般的にはタンパク質分子の精製を意図した当該技術分野で公知の任意の方法によって、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、親和性、特にプロテインAに続く特異的抗原に対する親和性によるもの、及びサイジングカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、差次的溶解度、又はタンパク質の精製のための任意の他の標準技術などによって精製することができる。さらに、本明細書に記載の方法において使用可能な抗体を、本明細書に記載の異種ポリペプチド配列又は当該技術分野で公知のその他と融合し、精製を容易にすることができる。

40

【0159】

本明細書に記載の方法において使用可能な抗体を組換え的に産生するための方法は、当業者に周知である。抗体は、当業者に周知の従来技術を用いて、オペロン及び抗体をコードするDNA配列を含む発現ベクターを構築することによって産生することもできる。さらに、本発明は、上記の核酸分子を含み得る、ベクター、特に、プラスミド、コスミド、ウイルス、バクテリオファージ及び遺伝子工学において一般的な他のベクターに関する。ベクター内に含まれる核酸分子は、原核細胞及び真核細胞における転写を保証する調節エレメントに連結することができる。

【0160】

50

ベクターは、標的宿主細胞内の外来タンパク質の発現のための操作を容易にする配列を含む。便宜上、形質転換のための配列の操作及びDNAの生成は、最初に細菌宿主（例えば、大腸菌（*E. coli*））内で実施され、通常、ベクターは、細菌複製起点及び適切な細菌選択マーカを含む、こうした操作を容易にするための配列を含むことになる。選択マーカは、選択培地中で増殖される形質転換宿主細胞の生存又は増殖に必要なタンパク質をコードする。選択遺伝子を含むベクターで形質転換されていない宿主細胞は、培地中で生存しないことになる。典型的な選択遺伝子は、抗生物質又は他の毒素に対する耐性を付与し、栄養要求欠損を補完し、又は複合培地から得ることができない重要な栄養分を供給するタンパク質をコードする。酵母の形質転換のための例示的なベクター及び方法は、当該技術分野で記載がなされている。例えば、Burke, et al. (2000) *Methods in Yeast Genetics* Cold Spring Harbor Laboratory Pressを参照されたい。

10

【0161】

抗体をコードするポリヌクレオチドは、酵母細胞内でのポリペプチドの発現を提供する転写及び翻訳調節配列に作動可能に連結することができる。これらのベクター成分は、限定はされないが、エンハンサーエレメント、プロモーター、及び転写終結配列の1つ以上を含み得る。ポリペプチドを分泌するための配列を含めることもできる（例えば、シグナル配列）。

【0162】

核酸は、別の核酸配列との機能的関係に置かれる場合、「作動可能に連結される」。例えば、シグナル配列に対するDNAは、それがポリペプチドの分泌に関与するタンパク質前駆体として発現される場合、ポリペプチドに対するDNAに作動可能に連結され；プロモーター又はエンハンサーは、それが配列の転写に影響する場合、コード配列に作動可能に連結される。一般に、「作動可能に連結される」は、広義には、隣接する連結されたDNA配列を指し、分泌型リーダーの場合、隣接し、リーディングフレーム内に存在することを指す。しかし、エンハンサーは、隣接される必要がない。

20

【0163】

プロモーターは、それらが作動可能に連結される特定の核酸配列の転写及び翻訳を制御する、構造遺伝子の開始コドンの上流（5'側）（一般に、約100～1000bp以内）に位置する非翻訳配列である。こうしたプロモーターは、いくつかのクラス：誘導性、構成的、及び抑制性プロモーター（例えば、リプレッサーの不在に応答して転写のレベルを増加させるもの）に分類される。誘導性プロモーターは、培養条件における一部の変化（例えば、栄養素の存在若しくは不在又は温度の変化）に応答し、DNAからの転写のレベル増加をそれらの制御下で開始させ得る。

30

【0164】

発現ベクターを、当業者に周知の従来技術によって宿主細胞にトランスフェクトし、トランスフェクト宿主細胞を作製し、前記トランスフェクト宿主細胞を当業者に周知の従来技術によって培養し、前記抗体を産生する。

【0165】

抗Ba及び／又は抗sC5b-9抗体を発現するために使用される宿主細胞は、大腸菌（*E. coli*）などの細菌細胞、酵母（例えば、出芽酵母（*S. cerevisiae*））、又は真核細胞（例えば、哺乳動物細胞株）のいずれかであり得る。この目的のために明確に定義されたタイプの哺乳動物細胞、例えば、骨髄腫細胞、3T3、HeLa、C6A2780、Vero、MOCKII、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）、Sf9、Sf21、COS、NSO、又はHEK293細胞株は、使用可能である。

40

【0166】

ベクターを構築することができる一般的方法、宿主細胞を作製するために必要なトランスフェクション法、並びに前記宿主細胞から抗体及びその断片を産生するために必要な培養方法の全ては、従来技術を含む。好ましくは、抗体を産生するために使用される細胞株は哺乳動物細胞株であるが、大腸菌（*E. coli*）由来細菌株などの細菌細胞株、又は

50

酵母細胞株などの任意の他の好適な細胞株は、使用することができる。

【0167】

同様に、抗体は、一旦産生されると、当該技術分野における標準的手順、例えば、クロスフロー濾過、硫酸アンモニウム沈殿、及び親和性カラムクロマトグラフィーなどに従って精製することができる。

【0168】

CM-TMAに関連するバイオマーカー又はバイオマーカーシグネチャーに結合する抗体は、任意の公知の方法、例えば結合アッセイを用いてスクリーニングすることができる。代表的な方法において、標的バイオマーカー又はその抗原エпитープは、標準細胞内で発現され、抗体は、当該技術分野で公知の選択技術を用いてパニングされる。抗体は、例えば結合親和性、例えば少なくとも 10^{-6} M；好ましくは 10^{-8} M；及び特に 10^{-10} Mの解離定数 (K_d) に基づいてランク付けすることができる。ここで、 K_d 値は、標準の結合アッセイを用いて決定することができる。

10

【0169】

体液

本明細書に記載の方法における使用に適した生体サンプルは、例えば、あらゆる体液を含む。生体サンプルは、例えば、対象（例えば、ヒトなどの哺乳動物）から得られる検体であり得るか、又はこうした対象に由来し得る。生体サンプルは、尿、全血又はその画分（例えば、血漿又は血清）、唾液、精液、痰、脳脊髄液、涙、又は粘液などの体液でもあり得る。生体サンプルは、必要に応じて、目的の特定分析物（例えば、タンパク質）を含有する画分にさらに分画することができる。例えば、全血サンプルは、血清又はタンパク質の特定タイプを含有する画分に分画することができる。必要に応じて、生体サンプルは、対象からの異なる生体サンプルの組み合わせ、例えば2つの異なる体液の組み合わせであり得る。

20

【0170】

患者から得られる体液は、血液、任意選択的に、限定はされないが、血清又は血漿を含む血液画分であり得る。体液は、尿であり得る。体液は、血液、血清、血漿、尿、又はそれらの組み合わせであり得る。測定は、1つの体液に対して実施することができる。本明細書に記載の方法において、測定は、対象から得られる少なくとも2つの異なる体液、例えば、血液、血漿、血清、及び尿の組み合わせに対して実施することができる。例えば、第1のバイオマーカータンパク質の濃度は、体液の1つのタイプにおいて測定され、第2のバイオマーカータンパク質は、体液の第2のタイプにおいて測定される。

30

【0171】

本発明に適した生体サンプルは、対象から収集された新しい又は凍結サンプル、又は既知の診断、治療及び／若しくはアウトカムの履歴を伴うアーカイブサンプルであり得る。生体サンプルは、対象、例えば、補体関連障害（例えば、CM-TMA）を有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがある対象から得ることができる。生体サンプルを得るのに適した任意の方法を用いることができるが、例示的な方法としては、例えば、静脈切開術、スワブ（例えば、頬側スワブ）、洗浄、又は細針吸引生検手順が挙げられる。

40

【0172】

タンパク質抽出物は、生体サンプルから調製することができる。タンパク質抽出物は、総タンパク質含量を含む。タンパク質抽出の方法は、当該技術分野で周知である。例えば、Roe (2001) “Protein Purification Techniques: A Practical Approach”, 2nd Edition, Oxford University Press. Numerous different and versatile kits can be used to extract proteins from bodily fluids and tissues, and are commercially available from, for example, BioRad Laboratories (Hercules, Cal

50

if.), BD Biosciences Clontech (Mountain View, Calif.), Chemicon International, Inc. (Temecula, Calif.), Calbiochem (San Diego, Calif.), Pierce Biotechnology (Rockford, Ill.), and Invitrogen Corp. (Carlsbad, Calif.)を参照されたい。

【0173】

生体サンプル中のバイオマーカーの活性又は完全性を保存するサンプルを入手及び／又は貯蔵するための方法は、当業者に周知である。例えば、生体サンプルは、適切な緩衝剤及び／又はプロテアーゼ阻害剤を含む阻害剤などの、タンパク質構造における変化（例えば、容積モル浸透圧濃度又はpHの変化）を保存又は最小化することが意図された1つ以上の追加薬剤とさらに接触させることができる。こうした阻害剤としては、限定はされないが、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、エチレングリコール四酢酸（EGTA）、プロテアーゼ阻害剤、例えば、フッ化フェニルメチルスルホニル（PMSF）、アプロチニン、及びロイペプチンなどのキレート剤が挙げられる。サンプルを貯蔵する、又はそうでなければ操作するための適切な緩衝剤及び条件については、例えば、Pollard and Walker (1997), "Basic Cell Culture Protocols," volume 75 of Methods in molecular biology, Humana Press; Masters (2000) "Animal cell culture: a practical approach," volume 232 of Practical approach series, Oxford University Press; and Jones (1996) "Human cell culture protocols," volume 2 of Methods in molecular medicine, Humana Pressに記載されている。

10

20

【0174】

サンプルを処理し、干渉物質を除去する、又はその存在を最小化することができる。例えば、生体サンプルを分画又は精製し、目的と異なる1つ以上の材料（例えば、細胞）を除去することができる。生体サンプルを分画又は精製する方法は、限定はされないが、フローサイトメトリー、蛍光標識細胞分取、及び沈降を含む。

30

【0175】

本明細書に記載の方法は、バイオマーカータンパク質の濃度の測定値を記録することを含み得る。記録は、書き込むことができ、又はコンピュータ読み取り可能メディア上に行うことができる。方法は、バイオマーカータンパク質の濃度の測定値を対象及び／又は対象が受ける治療における医師に伝えることをさらに含み得る。

【0176】

CM-TMAを治療するための治療方法

「完全TMA奏効」は、広義には、血液学的パラメータ（例えば、血小板数及び乳酸デヒドロゲナーゼ [LDH]）の正規化及び腎機能の改善（血清クレアチニンのベースラインからの $\geq 25\%$ の低下）を必要とした複合アウトカム尺度を指し；透析参加者の場合、ベースラインは、透析終了後の少なくとも6日目に確立された。参加者は、少なくとも4週（28日）毎に得られた2つの別の評価、及び26週の初期評価期間中のあらゆる測定について、これらの基準を満たさなければならなかった。発明者は、意外にも、（1）血清sVCAM-1、（2）血清sTNF-R1、（3）血漿トロンボモジュリン及び（4）尿sC5b-9のベースラインレベルの低下が完全TMA奏効を達成する可能性の増加に関連することを発見した。

40

【0177】

加えて、完全TMA奏効は、治療を受けている患者における血清クレアチニンの改善とともに、血小板数及びLDHの正規化の組み合わせ尺度によって評価することができる。

【0178】

50

補体阻害剤は、所定の投薬スケジュール下で、部分的には対象の体重に基づいて、対象に投与することができる。例示的な抗C5抗体の投薬スケジュール（例えば、慢性投薬スケジュール）については、国際公開第2010/054403号パンフレット及び米国特許第9,658,236号明細書に記載されている。

【0179】

補体阻害剤は、抗体又はその抗原結合断片、小分子、ポリペプチド、ポリペプチド類似体、ペプチド模倣薬、又はアプタマーであり得る。補体阻害剤は、補体成分C1、C2、C3、C4、C5、C6、C7、C8、C9、D因子、B因子、プロペルジン、MBL、MASP-1、MASP-2、生物活性断片、又はそれらの組み合わせの1つ以上を阻害し得る。補体阻害剤は、C5aに関連するアナフィラトキシン活性の生成及び／又はC5bに関連する膜侵襲複合体のアセンブリの一方又は両方を阻害し得る。

10

【0180】

限定はされないが、CR1、LEX-CR1、MCP、DAF、CD59、H因子、コブラ毒因子、FUT-175、コンプレスタチン、K76 COOH、及びそれらの組み合わせを含む補体阻害化合物の天然又は可溶性形態は、使用することができる。

【0181】

補体阻害剤は、a) CR2（例えば、ヒトCR2）又はその断片を含むCR2部分、及びb) FH又はその断片を含むFH部分を含む補体受容体2（CR2）-H因子（FH）分子であり得、ここでCR2-FH分子又はその断片は、CR2リガンドに結合する能力があり、且つCR2-FH分子は、代替経路の補体活性化を阻害する能力がある。例示的なCR2-FH融合タンパク質は、国際公開第2007/149567号パンフレット及び国際公開第2011/143637号パンフレットに記載されている。補体阻害剤は、CR2などの標的ドメイン又は抗C3d抗体（国際公開第2011/163412号パンフレットに記載の通り）を含み得る。標的ドメインとCD59、CD55、及びH因子様分子などの他の補体阻害剤との融合は、補体阻害剤として、本明細書に記載の方法において使用することができる。国際公開第2011/163412号パンフレット。

20

【0182】

補体の阻害剤は、組換え抗C5ミニ抗体MB12/22、内皮MB12/22-RGDに標的化される抗C5ミニ抗体、C5特異的アプタマーARC187、C5特異的アプタマーARC1905（アバシンカプタドペゴル）、ブドウ球菌性超抗原様タンパク質7（SSL7）、オルニソドロス・モウバタ（Ornithodoros moubata）C阻害剤（OmCI）、又はそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。

30

【0183】

補体の阻害剤は、アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片であり得る。抗体又はその抗原結合断片は、ヒト化抗体、組換え抗体、二重特異性抗体、キメラ化若しくはキメラ抗体、モノクローナル抗体、脱免疫化抗体、完全ヒト抗体、一本鎖抗体、Fv断片、Fd断片、Fab断片、Fab'断片、F(ab')₂断片、又はそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。

【0184】

アンタゴニスト抗体は、限定はされないが、SOLIRIS（登録商標）（エクリズマブ）及びULTOMIRIS（登録商標）（ラブリズマブ）を含む抗C5抗体であり得る。アンタゴニスト抗体は、パキセリズマブ、抗C5抗体のC5結合断片であり得る。

40

【0185】

本明細書に記載の方法は、対象が所定の投薬スケジュール下で阻害剤による治療に対して応答性でない場合、補体阻害剤を所定の投薬スケジュールと比較してより高い用量又は増加した投与頻度で対象に投与するステップを含み得る。

【0186】

補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を治療するための方法は、CM-TMAを有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがある対象に、補体の阻害剤（例えば、補体成分C5の阻害剤）を、補体成分因子Bのタンパク質分解断片（Ba）

50

、可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b - 9) 、又は両方における生理学的変化をもたらすのに十分な量及び頻度で投与することを含み得、ここで生理学的変化は、(a) 補体成分因子 B のタンパク質分解断片 (B a) 、可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b - 9) 、若しくは両方の、阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して低下した濃度；又は (b) 補体の阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して増加した濃度からなる群から選択される。一部の実施形態において、少なくとも 1 つの C M - T M A 関連バイオマーカーは、補体成分因子 B のタンパク質分解断片 (B a) 、可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b - 9) 、又は両方であり得る。

【 0 1 8 7 】

補体媒介血栓性微小血管障害症 (C M - T M A) を、補体阻害剤を使用し、C M - T M A 関連バイオマーカータンパク質における生理学的変化を誘導するのに十分な様式で治療するための方法であって、(a) 対象から得られた体液中の、補体成分因子 B のタンパク質分解断片 (B a) 、可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b - 9) 、又は両方である C M - T M A 関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定することと；(b) C M - T M A を有するか、有することが疑われるか、又は発現するリスクがある対象に、補体の阻害剤を、2 つの C M - T M A 関連バイオマーカータンパク質の少なくともそれぞれにおける生理学的変化を引き起こすのに十分な量及び頻度で投与することと、を含む方法において、生理学的変化は、(a) 補体成分因子 B のタンパク質分解断片 (B a) 、可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b - 9) 、又は両方の、阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して低下した濃度；及び (b) 対象から得られた体液中の、補体の阻害剤による治療前の対象から得られた同じタイプの体液のサンプル中の濃度と比較して増加した濃度からなる群から選択される。方法は、生理学的変化が生じたか否かを判定することも含み得る。

【 0 1 8 8 】

対象におけるバイオマーカーのセットを検出するための方法は、シスタチン C ；シスタチン C / クレアチニン比；補体因子 B a ；補体因子 B a / クレアチニン比；補体 s C 5 b - 9 ；及び／又は補体 s C 5 b - 9 / クレアチニン比からなる群から選択される少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 6 つのバイオマーカーのレベルを検出する；好ましくは、対象から得られた体液サンプル中の B a 及び s C 5 b 9 を含む少なくとも 2 つのバイオマーカーを含むサブセットにおけるバイオマーカーのレベルを検出することを含み得る。

【 0 1 8 9 】

本明細書に記載の方法は、体液中の、補体成分因子 B のタンパク質分解断片 (B a) 、可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b - 9) 、又は両方である C M - T M A 関連バイオマーカータンパク質の濃度を測定することをさらに含み得る。体液は、対象から得ることができる。

【 0 1 9 0 】

本明細書に記載の方法は、補体成分因子 B のタンパク質分解断片 (B a) 、可溶性 C 5 b 9 (s C 5 b - 9) 、又は両方の生理学的変化が生じているか否かを判定することを含み得る。治療後、B a 及び s C 5 b 9 の両方の濃度は低下し得る。例えば、治療後、B a 及び s C 5 b 9 のそれぞれの濃度（例えば、尿、血液、血漿、血清濃度）は低下し得る。

【 0 1 9 1 】

B a 濃度は、治療開始後 6 週目までに少なくとも 1 0 % だけ低下し得る。B a 濃度は、治療開始後 1 2 週目までに少なくとも 3 0 % だけ低下し得る。低下した B a 濃度は、血液、血清、血漿、尿、又はそれらの組み合わせにおける濃度であり得る。低下した B a 濃度は、血漿中であり得る。

【 0 1 9 2 】

s C 5 a b 9 濃度は、治療開始後 3 週目までに少なくとも 4 0 % だけ低下し得る。s C 5 a b 9 濃度は、治療開始後 6 週目までに少なくとも 7 0 % だけ低下し得る。s C 5 a b 9 濃度は、治療開始後 3 週目までに少なくとも 5 0 % だけ低下し得る。低下した s C 5 a b 9 濃度は、血液、血清、血漿、尿、又はそれらの組み合わせにおける濃度であり得る。

s C 5 a b 9 濃度は、血漿中であり得る。s C 5 a b 9 濃度は、尿中であり得る。s C 5 a b 9 濃度は、血漿及び尿中であり得る。

【0193】

本明細書に記載の方法において、方法は、補体の阻害剤を、バイオマーカーにおける生理学的変化をもたらすのに十分な量及び頻度で、対象に投与することを含み得る。

【0194】

バイオマーカータンパク質における生理学的変化は、阻害剤の投与（例えば、慢性投与）後、2日、3日、4日、5日、6日、1週、2週、3週、4週、6週、2か月、9週、又は3か月以上の範囲内に生じ得る。

【0195】

有効量の補体阻害剤の投与後、バイオマーカータンパク質の濃度は、阻害剤の投与後、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、又は70%だけ低下し得る。

【0196】

有効量の補体阻害剤の投与後、バイオマーカータンパク質の濃度は、1用量以上の補体阻害剤の投与後、バイオマーカータンパク質の正常濃度の50%、49%、48%、47%、46%、45%、44%、43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、又は1%の範囲内まで低下し得る。

【0197】

本明細書に記載の方法の対象は、透析を、補体阻害剤による治療前の3か月（例えば、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、又は1週）以内に、少なくとも1回（例えば、少なくとも2回、3回、4回、又は5回以上）受けている可能性がある。例えば、対象は、透析を、補体阻害剤療法を受ける前の2か月にわたり1回受けている可能性がある。別の例において、対象は、透析を、補体阻害剤療法を受ける直前の3か月以内に3回受けている者であり得る。さらに、Ba、s C 5 b 9、シスタチンC、及び／又はクレアチニンの濃度は、健常者における濃度（例えば、血液、血漿、血清、及び／又は尿濃度）と比較して増加し得る。

【0198】

対象は、最初の急性補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）の徴候を経験している最中であり得る。例えば、補体阻害剤による治療前、対象は、正常濃度と比較して増加した濃度の、上記バイオマーカーの少なくとも1つ又は例えば複数のバイオマーカーを含む上記バイオマーカーシグネチャーを有し得る。

【0199】

対象は、CM-TMAを有するが、臨床寛解状態であるとみなされた者である（例えば、対象は、正常レベルの血小板又は他の血液学的マーカー、例えばLDH又はハプトグロビンを有する者である）。対象は、本明細書に記載のCM-TMAバイオマーカーの1つ以上、例えば限定はされないが、Ba、s C 5 b 9、シスタチンC、及び／又はクレアチニンの1つ以上の増加したレベルを有する者であり得る。

【0200】

本明細書に記載の方法は、バイオマーカーの状態をモニタリングすることと、（補体阻害剤療法に加えて）第2の治療法を開始するか、又は補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）患者に施されている1つ以上の第2の治療法の投与計画を変更するかのいずれかを決定することと、をさらに含み得る。例えば、補体阻害剤による治療（例えば、慢性治療）の間、1つ以上のCM-TMA関連バイオマーカータンパク質の濃度は、対象から得られた1つ以上の体液中で測定することができる。バイオマーカータンパク質の1つ以上の濃度が正規化されておらず、且つ／又は増加したままである場合、医師は、増加したバイオマーカーに起因するあらゆる病態生理学的作用に対処するため、1つ以上の追加

10

20

30

40

50

的な二次薬剤（例えば、抗炎症薬）を対象に投与することを選ぶことができる。

【0201】

正常な対照濃度は、本明細書に記載の方法のいずれかにおいて使用する場合、例えば、1名以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、又は40名以上）の健常者から得られた1つ又は複数の生体サンプル中の所与のバイオマーカータンパク質の濃度であり得る（又はそれに基づき得る）。一部の実施形態において、バイオマーカーの正常な対照濃度は、例えば、2名以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、又は40名以上）の健常者から得られたプールサンプル中のバイオマーカーの濃度であり得る（又はそれに基づき得る）。本明細書に記載の方法のいずれかの一部の実施形態において、プールサンプルは、健常者又は、少なくとも、CM-TMAを有しない、又は有することが疑われない（ばかりか発現するリスクもない）個体から得ることができる。例えば、対象がCM-TMAを有する者であるか否かを判定することは、患者から得られた生体サンプル（又は生体サンプルのいくつかの異なるタイプ）中の1つ以上の補体成分タンパク質の測定された濃度を比較することと、測定された濃度をプールされた健常サンプル中の同じタンパク質の平均濃度と比較することと、を含み得る。こうした健常なヒト対照の濃度は、一部の実施形態において、値の範囲、又はその範囲から得られる中央値若しくは平均値であり得る。

10

【0202】

治療薬の投与

組成物（例えば、補体阻害剤及び／又は二次薬剤）は、部分的には投与経路に応じた種々の方法を用いて、対象、例えばヒト対象に投与することができる。経路は、例えば、静脈内注射若しくは注入（IV）、皮下注射（SC）、腹腔内（IP）注射、又は筋肉内注射であり得る。

20

【0203】

投与は、例えば、局所注入、注射によって、又はインプラントを用いて達成することができる。インプラントは、多孔質、非多孔質、又はゼラチン質材料、例えば、膜、例えばシラスティック膜（silastic membrane）、又はファイバーであり得る。インプラントは、組成物の対象への持続的又は周期的放出を意図して設計することができる。例えば、米国特許出願公開第2008/0241223号明細書；米国特許第5,501,856号明細書；米国特許第4,863,457号明細書；及び米国特許第3,710,795号明細書；並びに欧州特許第488401号明細書及び欧州特許第430539号明細書を参照されたい。組成物は、例えば、拡散系、侵食系又は対流系、例えば、浸透圧ポンプ、生分解性インプラント、電気拡散系、電気浸透系、蒸気圧ポンプ、電解ポンプ、発泡ポンプ、圧電ポンプ、侵食に基づく系、又は電気機械系に基づく移植可能な装置経由で対象に送達することができる。

30

【0204】

補体阻害剤（例えば、抗C5抗体又はその断片）の好適な用量であって、対象における補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）を治療又は予防する能力がある用量は、例えば、治療されるべき対象の年齢、性別、及び体重、並びに使用される特定の阻害剤化合物を含む、種々の要素に依存し得る。例えば、CM-TMAを有する対象を治療するため、ヒトC5に特異的なsiRNAの異なる用量は、同じ患者を治療するのに必要とされる抗C5抗体の用量と比較して必要とされ得る。対象に投与される用量に影響する他の要素としては、例えば、CM-TMAのタイプ又は重症度が挙げられる。例えば、CFH関連非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）を有する対象は、MCP関連aHUSを有する対象とは異なる用量の阻害剤の投与を必要とし得る。他の要素として、例えば、同時に又は以前に対象を冒している他の医学的障害、対象の一般健康、対象の遺伝的素因、食事、投与の期間、排泄速度、薬剤組み合わせ、及び対象に投与される任意の他の追加治療薬を挙げることができる。また、任意の特定対象のための特定用量及び治療計画が、治療する医師（例えば、医師又は看護師）の判断に依存することも理解されるべきである。

40

【0205】

50

阻害剤は、一定用量として、又はミリグラム／キログラム「mg／kg」用量で投与することができる。用量を選択することで、組成物中の1つ以上の活性薬剤に対する抗体の産生又は他の宿主免疫応答を低減又は回避することもできる。抗C5抗体などの阻害剤の例示的な用量として、例えば、1～100mg／kg体重、0.5～50mg／kg体重、0.1～100mg／kg体重、0.5～25mg／kg体重、1～20mg／kg体重、及び1～10mg／kg体重が挙げられる。

【0206】

ヒトには、抗C5抗体（例えば、エクリズマブ、ラブリズマブ）を、約900mgの用量で約12日毎（例えば、約10、11、13、14、15、16、17、18、19、20、21、28、30、42、又は49日以上毎）に静脈内に投与することができる。例えば、Hill et al. (2005) Blood 106(7):2559を参照されたい。

10

【0207】

ヒトには、抗C5抗体（例えば、エクリズマブ、ラブリズマブ）を、約600mg（例えば、約625、650、700、725、750、800、825、850、875、900、925、950、又は1,000mg以上）の用量で毎週、任意選択的には2週以上（例えば、3、4、5、6、7、又は8週以上）にわたって静脈内に投与することができる。初期治療後、ヒトには、抗体を、例えば維持用量として、約900mgの用量で、約14日毎（例えば、約11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、28、30、42、又は49日以上毎）に投与することができる。例えば、Hillmen et al. (2004) N Engl J Med. 350(6):552-9及びDmytrijuk et al. (2008) The Oncologist 13(9):993を参照されたい。

20

【0208】

ヒトには、抗C5抗体（例えば、エクリズマブ、ラブリズマブ）を、約900mg（例えば、925、950、975、1000、1100、又は1200mg以上）の用量で毎週、任意選択的には2週以上（例えば、3、4、5、6、7、又は8週以上）にわたって静脈内に投与することができる。初期治療後、ヒトには、抗体を、例えば維持用量として、約1200mgの用量で、約14日毎（例えば、約11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、28、30、42、又は49日以上毎）に投与することができる。例えば、国際特許出願公開番号の国際公開第2010/054403号パンフレットを参照されたい

30

【0209】

一部の実施形態において、本開示は、CM-TMAを前記方法に従って診断又は予後診断する、例えば、対象のサンプル中の、(1)シスタチンC；(2)シスタチンC／クレアチニン；(3)補体因子Ba；(4)補体因子Ba／クレアチニン；(5)補体sC5b-9；及び／又は(6)補体sC5b-9／クレアチニンから、任意選択的には(7)sTNFR1、(8)VCAM-1及び／又は(9)トロンプモジュリンと一緒に選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つのバイオマーカーの検出；好ましくは、対象から得られた体液サンプル中のBa及びsC5b9を含む少なくとも2つのバイオマーカーを含むバイオマーカーシグネチャーのレベルを検出することと；抗C5抗体又はその抗原結合断片を対象に投与することと、を含む、ヒト対象におけるCM-TMAを治療することに関する。一部の実施形態において、治療方法は、抗C5抗体又は抗原結合断片の投与の前及び後のバイオマーカーの検出を含み、ここで、抗C5抗体又は抗原結合断片の投与後の対象のサンプル中のバイオマーカーの濃度における、抗C5抗体又は抗原結合断片の投与前のその濃度と比較しての調節（例えば、減弱）は、対象がCM-TMAの効果的治療を受けていることを示す。

40

【0210】

一部の実施形態において、抗C5抗体は、エクリズマブ、ラブリズマブ、テシドルマブ

50

、ボゼリマブ、又はクロバリマブ、又はそのバイオシミラー又は抗原結合断片から選択される。例えば、エクリズマブの好ましいバイオシミラーは、例えば、A B P 9 5 9、S B 1 2 又は E l i z a r i a を含む。一部の実施形態において、抗 C 5 抗体は、国際公開第 1 9 9 5 0 2 9 6 9 7 号パンフレット及び米国特許第 6, 3 5 5, 2 4 5 明細書に記載されているエクリズマブ (S O L I R I S) を含み、エクリズマブの重鎖及び軽鎖は、国際公開第 2 0 0 7 1 0 6 5 8 5 号パンフレット及び米国特許第 9, 7 1 8, 8 8 0 号明細書に提供されている。一部の実施形態において、抗 C 5 抗体は、国際公開第 2 0 1 5 1 3 4 8 9 4 号パンフレット及び米国特許第 9, 0 7 9, 9 4 9 号明細書に記載されているラブリズマブ (U L T O M I R I S (登録商標)、B N J 4 4 1 及び A L X N 1 2 1 0 としても公知) を含む。一部の実施形態において、抗 C 5 抗体は、クロバリマブを含み、抗体配列は、F u k u z a w a e t a l. (S c i. R e p., 7: 1 0 8 0, 2 0 1 7) に開示されている。一部の実施形態において、抗 C 5 抗体は、米国特許第 1 0, 6 3 3, 4 3 4 号明細書に記載されているボゼリマブを含む。一部の実施形態において、抗 C 5 抗体は、テシドルマブ (L F G 3 1 6) を含む。

10

20

30

40

50

【0211】

一部の実施形態において、C M - T M A の治療において、抗 C 5 抗体、又は抗原結合断片は、固定用量で投与する。例えば、一実施形態において、抗 C 5 抗体、又は抗原結合断片は、患者の体重に関係なく、1 0 m g、2 0 m g、2 5 m g、5 0 m g、7 5 m g、1 0 0 m g、1 2 5 m g、1 5 0 m g、1 7 5 m g、2 0 0 m g、2 2 5 m g、2 5 0 m g、2 7 5 m g、3 0 0 m g、3 2 5 m g、3 5 0 m g、3 7 5 m g、4 0 m g、4 2 5 m g、4 5 0 m g、4 7 5 m g、5 0 0 m g、5 2 5 m g、5 5 0 m g、5 7 5 m g、6 0 0 m g、6 2 5 m g、6 5 0 m g、6 7 5 m g、7 0 0 m g、7 2 5 m g、7 5 0 m g、7 7 5 m g、8 0 0 m g、8 2 5 m g、8 5 0 m g、8 7 5 m g、9 0 0 m g、9 2 5 m g、9 5 0 m g、9 7 5 m g、1 0 0 0 m g、1 1 0 0 m g、1 2 0 0 m g、1 3 0 0 m g、1 4 0 0 m g、1 5 0 0 m g、1 6 0 0 m g、1 7 0 0 m g、1 8 0 0 m g、1 9 0 0 m g、2 0 0 0 m g、2 1 0 0 m g、2 2 0 0 m g、2 3 0 0 m g、2 4 0 0 m g、2 5 0 0 m g、2 6 0 0 m g、2 7 0 0 m g、2 8 0 0 m g、2 9 0 0 m g、3 0 0 0 m g、3 1 0 0 m g、3 2 0 0 m g、3 3 0 0 m g、3 4 0 0 m g、3 5 0 0 m g、3 6 0 0 m g、3 7 0 0 m g、3 8 0 0 m g、3 9 0 0 m g、4 0 0 0 m g、4 1 0 0 m g、4 2 0 0 m g、4 3 0 0 m g、4 4 0 0 m g、4 5 0 0 m g、4 6 0 0 m g、4 7 0 0 m g、4 8 0 0 m g、4 9 0 0 m g、5 0 0 0 m g、5 1 0 0 m g、5 2 0 0 m g、5 3 0 0 m g、5 4 0 0 m g、5 5 0 0 m g、5 6 0 0 m g、5 7 0 0 m g、5 8 0 0 m g、5 9 0 0 m g、6 0 0 0 m g、6 1 0 0 m g、6 2 0 0 m g、6 3 0 0 m g、6 4 0 0 m g、6 5 0 0 m g、6 6 0 0 m g、6 7 0 0 m g、6 8 0 0 m g、6 9 0 0 m g、7 0 0 0 m g、7 1 0 0 m g、7 2 0 0 m g、7 3 0 0 m g、7 4 0 0 m g、7 5 0 0 m g、7 6 0 0 m g、7 7 0 0 m g、7 8 0 0 m g、7 9 0 0 m g、8 0 0 0 m g、8 1 0 0 m g、8 2 0 0 m g、8 3 0 0 m g、8 4 0 0 m g、8 5 0 0 m g、8 6 0 0 m g、8 7 0 0 m g、8 8 0 0 m g、8 9 0 0 m g、9 0 0 0 m g、9 1 0 0 m g、9 2 0 0 m g、9 3 0 0 m g、9 4 0 0 m g、9 5 0 0 m g、9 6 0 0 m g、9 7 0 0 m g、9 8 0 0 m g、9 9 0 0 m g、1 0 0 0 0 m g、1 0 1 0 0 m g、1 0 2 0 0 m g、1 0 3 0 0 m g、1 0 4 0 0 m g、1 0 5 0 0 m g、1 0 6 0 0 m g、1 0 7 0 0 m g、1 0 8 0 0 m g、1 0 9 0 0 m g 又は 1 1 0 0 0 m g の用量で投与する。

【0212】

別の実施形態において、抗 C 5 抗体、又はその抗原結合断片 (例えば、ラブリズマブ (U L T O M I R I S (登録商標))) は、1 2 0 0 m g、2 4 0 0 m g、2 7 0 0 m g、3 0 0 0 m g、3 3 0 0 m g、又は 3 6 0 0 m g の用量で投与する。

【0213】

別の実施形態において、抗 C 5 抗体、又は抗原結合断片の用量は、患者の体重に基づく。例えば、一実施形態において、1 0 m g、2 0 m g、2 5 m g、5 0 m g、7 5 m g、1 0 0 m g、1 2 5 m g、1 5 0 m g、1 7 5 m g、2 0 0 m g、2 2 5 m g、2 5 0 m

g、275mg、300mg、325mg、350mg、375mg、400mg、425mg、450mg、475mg、500mg、525mg、550mg、575mg、600mg、625mg、650mg、675mg、700mg、725mg、750mg、775mg、800mg、825mg、850mg、875mg、900mg、925mg、950mg、975mg、1000mg、1100mg、1200mg、1300mg、1400mg、1500mg、1600mg、1700mg、1800mg、1900mg、2000mg、2100mg、2200mg、2300mg、2400mg、2500mg、2600mg、2700mg、2800mg、2900mg、3000mg、3100mg、3200mg、3300mg、3400mg、3500mg、3600mg、3700mg、3800mg、3900mg、4000mg、4100mg、4200mg、4300mg、4400mg、4500mg、4600mg、4700mg、4800mg、4900mg、5000mg、5100mg、5200mg、5300mg、5400mg、5500mg、5600mg、5700mg、5800mg、5900mg、6000mg、6100mg、6200mg、6300mg、6400mg、6500mg、6600mg、6700mg、6800mg、6900mg、7000mg、7100mg、7200mg、7300mg、7400mg、7500mg、7600mg、7700mg、7800mg、7900mg、8000mg、8100mg、8200mg、8300mg、8400mg、8500mg、8600mg、8700mg、8800mg、8900mg、9000mg、9100mg、9200mg、9300mg、9400mg、9500mg、9600mg、9700mg、9800mg、9900mg、10000mg、10100mg、10200mg、10300mg、10400mg、10500mg、10600mg、10700mg、10800mg、10900mg又は11000mgの抗C5抗体、又は抗原結合断片を $\geq 30 \sim < 40$ kgの体重の患者に投与する。別の実施形態において、1200mg又は2700mgの抗C5抗体、又はその抗原結合断片（例えば、ラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標））を、 $\geq 30 \sim < 40$ kgの体重の患者に投与する。

10

20

30

40

50

【0214】

別の実施形態において、10mg、20mg、25mg、50mg、75mg、100mg、125mg、150mg、175mg、200mg、225mg、250mg、275mg、300mg、325mg、350mg、375mg、400mg、425mg、450mg、475mg、500mg、525mg、550mg、575mg、600mg、625mg、650mg、675mg、700mg、725mg、750mg、775mg、800mg、825mg、850mg、875mg、900mg、925mg、950mg、975mg、1000mg、1100mg、1200mg、1300mg、1400mg、1500mg、1600mg、1700mg、1800mg、1900mg、2000mg、2100mg、2200mg、2300mg、2400mg、2500mg、2600mg、2700mg、2800mg、2900mg、3000mg、3100mg、3200mg、3300mg、3400mg、3500mg、3600mg、3700mg、3800mg、3900mg、4000mg、4100mg、4200mg、4300mg、4400mg、4500mg、4600mg、4700mg、4800mg、4900mg、5000mg、5100mg、5200mg、5300mg、5400mg、5500mg、5600mg、5700mg、5800mg、5900mg、6000mg、6100mg、6200mg、6300mg、6400mg、6500mg、6600mg、6700mg、6800mg、6900mg、7000mg、7100mg、7200mg、7300mg、7400mg、7500mg、7600mg、7700mg、7800mg、7900mg、8000mg、8100mg、8200mg、8300mg、8400mg、8500mg、8600mg、8700mg、8800mg、8900mg、9000mg、9100mg、9200mg、9300mg、9400mg、9500mg、9600mg、9700mg、9800mg、9900mg、10000mg、10100mg、10200mg、10300mg、10400

mg、10500mg、10600mg、10700mg、10800mg、10900mg、又は11000mgの抗C5抗体、又は抗原結合断片を、 $\geq 40 \sim < 60$ kgの体重の患者に投与する。別の実施形態において、2400mg又は3000mgのC5抗体、又はその抗原結合断片（例えば、ラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標）））を、 $\geq 40 \sim < 60$ kgの体重の患者に投与する。

【0215】

別の実施形態において、10mg、20mg、25mg、50mg、75mg、100mg、125mg、150mg、175mg、200mg、225mg、250mg、275mg、300mg、325mg、350mg、375mg、400mg、425mg、450mg、475mg、500mg、525mg、550mg、575mg、600mg、625mg、650mg、675mg、700mg、725mg、750mg、775mg、800mg、825mg、850mg、875mg、900mg、925mg、950mg、975mg、1000mg、1100mg、1200mg、1300mg、1400mg、1500mg、1600mg、1700mg、1800mg、1900mg、2000mg、2100mg、2200mg、2300mg、2400mg、2500mg、2600mg、2700mg、2800mg、2900mg、3000mg、3100mg、3200mg、3300mg、3400mg、3500mg、3600mg、3700mg、3800mg、3900mg、4000mg、4100mg、4200mg、4300mg、4400mg、4500mg、4600mg、4700mg、4800mg、4900mg、5000mg、5100mg、5200mg、5300mg、5400mg、5500mg、5600mg、5700mg、5800mg、5900mg、6000mg、6100mg、6200mg、6300mg、6400mg、6500mg、6600mg、6700mg、6800mg、6900mg、7000mg、7100mg、7200mg、7300mg、7400mg、7500mg、7600mg、7700mg、7800mg、7900mg、8000mg、8100mg、8200mg、8300mg、8400mg、8500mg、8600mg、8700mg、8800mg、8900mg、9000mg、9100mg、9200mg、9300mg、9400mg、9500mg、9600mg、9700mg、9800mg、9900mg、10000mg、10100mg、10200mg、10300mg、10400mg、10500mg、10600mg、10700mg、10800mg、10900mg又は11000mgの抗C5抗体、又はその抗原結合断片を、 $\geq 60 \sim < 100$ kgの体重の患者に投与する。別の実施形態において、2700mg又は3300mgの抗C5抗体、又はその抗原結合断片（例えば、ラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標）））を、 $\geq 60 \sim < 100$ kgの体重の患者に投与する。

【0216】

別の実施形態において、10mg、20mg、25mg、50mg、75mg、100mg、125mg、150mg、175mg、200mg、225mg、250mg、275mg、300mg、325mg、350mg、375mg、400mg、425mg、450mg、475mg、500mg、525mg、550mg、575mg、600mg、625mg、650mg、675mg、700mg、725mg、750mg、775mg、800mg、825mg、850mg、875mg、900mg、925mg、950mg、975mg、1000mg、1100mg、1200mg、1300mg、1400mg、1500mg、1600mg、1700mg、1800mg、1900mg、2000mg、2100mg、2200mg、2300mg、2400mg、2500mg、2600mg、2700mg、2800mg、2900mg、3000mg、3100mg、3200mg、3300mg、3400mg、3500mg、3600mg、3700mg、3800mg、3900mg、4000mg、4100mg、4200mg、4300mg、4400mg、4500mg、4600mg、4700mg、4800mg、4900mg、5000mg、5100mg、5200mg、5300mg、5400mg、5500mg、5600mg、5700mg、5800mg、5900

mg、6000mg、6100mg、6200mg、6300mg、6400mg、6500mg、6600mg、6700mg、6800mg、6900mg、7000mg、7100mg、7200mg、7300mg、7400mg、7500mg、7600mg、7700mg、7800mg、7900mg、8000mg、8100mg、8200mg、8300mg、8400mg、8500mg、8600mg、8700mg、8800mg、8900mg、9000mg、9100mg、9200mg、9300mg、9400mg、9500mg、9600mg、9700mg、9800mg、9900mg、10000mg、10100mg、10200mg、10300mg、10400mg、10500mg、10600mg、10700mg、10800mg、10900mg、又は11000mgの抗C5抗体、又はその抗原結合断片を、 ≥ 100 kgの体重の患者に投与する。別の実施形態において、3000mg又は3600mgの抗C5抗体、又はその抗原結合断片（例えば、ラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標）））を、 ≥ 100 kgの体重の患者に投与する。

10

【0217】

別の実施形態において、CM-TMAを有するヒト患者を治療する方法であって、患者に抗C5抗体、又はその抗原結合断片（例えば、ラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標）））を

（a）1日目に1回、 $\geq 30 \sim < 40$ kgの体重の患者に対して1200mg、 $\geq 40 \sim < 60$ kgの体重の患者に対して2400mg、 $\geq 60 \sim < 100$ kgの体重の患者に対して2700mg、又は ≥ 100 kgの体重の患者に対して3000mgの用量で；

20

（b）15日目及びその後8週間毎に、 $\geq 30 \sim < 40$ kgの体重の患者に対して2700mg、 $\geq 40 \sim < 60$ kgの体重の患者に対して3000mg、 $\geq 60 \sim < 100$ kgの体重の患者に対して3300mg、又は ≥ 100 kgの体重の患者に対して3600mgの用量で

投与することを含む方法が提供される。

【0218】

別の実施形態において、CM-TMAを有するヒト患者を治療する方法であって、抗C5抗体、又はその抗原結合断片（例えば、ラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標）））を、 $\geq 30 \sim < 40$ kgの体重の患者に

（a）1日目に1回、1200mgの用量で；

30

（b）15日目及びその後8週間毎に、2700mgの用量で

投与する方法が提供される。

【0219】

別の実施形態において、CM-TMAを有するヒト患者を治療する方法であって、抗C5抗体、又はその抗原結合断片（例えば、ラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標）））を、 $\geq 40 \sim < 60$ kgの体重の患者に

（a）1日目に1回、2400mgの用量で；

（b）15日目及びその後8週間毎に、3000mgの用量で

投与する方法が提供される。

【0220】

別の実施形態において、CM-TMAを有するヒト患者を治療する方法であって、抗C5抗体、又はその抗原結合断片（例えば、ラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標）））を、 $\geq 60 \sim < 100$ kgの体重の患者に

（a）1日目に1回、2700mgの用量で；

（b）投与サイクルの15日目及びその後8週間毎に、3300mgの用量で

投与する方法が提供される。

40

【0221】

別の実施形態において、CM-TMAを有するヒト患者を治療する方法であって、抗C5抗体、又はその抗原結合断片（例えば、ラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標）））を、 ≥ 100 kgの体重の患者に

50

- (a) 1日目に1回、3000mgの用量で；
(b) 15日目及びその後8週間毎に、3600mgの用量で
投与する方法が提供される。

【0222】

別の実施形態において、CM-TMAを有するヒト患者を治療する方法であって、患者に有効量の抗C5抗体、又はその抗原結合断片を投与することを含み、抗C5抗体、又はその抗原結合断片は、それぞれ配列番号19、18及び3に記載されるCDR1、CDR2及びCDR3重鎖配列と、それぞれ配列番号4、5及び6に記載されるCDR1、CDR2及びCDR3軽鎖配列と、ヒト新生児Fc受容体(FcRn)に結合するバリエーションヒトFc領域とを含み、バリエーションヒトFc CH3領域は、それぞれEU番号付けで、
ネイティブヒトIgG Fc領域のメチオニン428及びアスパラギン434に対応する残基においてMet-429-Leu及びAsn-435-Ser置換を含み、抗C5抗体、又はその抗原結合断片を患者に

10

(a) 1日目に1回、 $\geq 30 \sim < 40$ kgの体重の患者に対して1200mg、 $\geq 40 \sim < 60$ kgの体重の患者に対して2400mg、 $\geq 60 \sim < 100$ kgの体重の患者に対して2700mg、又は ≥ 100 kgの体重の患者に対して3000mgの用量で；

(b) 15日目及びその後8週間毎に、 $\geq 30 \sim < 40$ kgの体重の患者に対して2700mg、 $\geq 40 \sim < 60$ kgの体重の患者に対して3000mg、 $\geq 60 \sim < 100$ kgの体重の患者に対して3300mg、又は ≥ 100 kgの体重の患者に対して3600mgの用量で

20

投与する方法が提供される。

【0223】

別の実施形態において、抗C5抗体、又は抗原結合断片は、1キログラム当たりのミリグラム(mg/kg)用量で投与する。例えば、一実施形態において、抗C5抗体、又はその抗原結合断片は、0.1mg/kg、0.25mg/kg、0.5mg/kg、0.75mg/kg、1.0mg/kg、1.25mg/kg、1.50mg/kg、1.75mg/kg、2.0mg/kg、2.25mg/kg、2.50mg/kg、2.75mg/kg、3.0mg/kg、3.25mg/kg、3.50mg/kg、3.75mg/kg、4.0mg/kg、4.25mg/kg、4.50mg/kg、4.75mg/kg、5.0mg/kg、5.25mg/kg、5.50mg/kg、5.75mg/kg、6.0mg/kg、6.25mg/kg、6.50mg/kg、6.75mg/kg、7.0mg/kg、7.25mg/kg、7.50mg/kg、7.75mg/kg、8.0mg/kg、8.25mg/kg、8.50mg/kg、8.75mg/kg、9.0mg/kg、9.25mg/kg、9.50mg/kg、9.75mg/kg、10.0mg/kg、11.25mg/kg、11.50mg/kg、11.75mg/kg、12.0mg/kg、12.25mg/kg、12.50mg/kg、12.75mg/kg、13.0mg/kg、13.25mg/kg、13.50mg/kg、13.75mg/kg、14.0mg/kg、14.25mg/kg、14.50mg/kg、14.75mg/kg、15.0mg/kg、15.25mg/kg、15.50mg/kg、15.75mg/kg、16.0mg/kg、16.25mg/kg、16.50mg/kg、16.75mg/kg、17.0mg/kg、17.25mg/kg、17.50mg/kg、17.75mg/kg、18.0mg/kg、18.25mg/kg、18.50mg/kg、18.75mg/kg、19.0mg/kg、19.25mg/kg、19.50mg/kg、19.75mg/kg、20.0mg/kg、20.25mg/kg、20.50mg/kg、20.75mg/kg、21.0mg/kg、21.25mg/kg、21.50mg/kg、21.75mg/kg、22.0mg/kg、22.25mg/kg、22.50mg/kg、22.75mg/kg、23.0mg/kg、23.25mg/kg、23.50mg/kg、23.75mg/kg、24.0mg/kg、24.25mg/kg、24.50mg/kg、24.75mg/kg
又は25.0mg/kgの用量で投与する。

30

40

50

【0224】

一実施形態において、抗C5抗体、又は抗原結合断片は、週1回、週2回、週3回、週4回、週5回、週6回、又は毎日投与する。別の実施形態において、抗C5抗体、又は抗原結合断片は、2週間毎に1回、3週間毎に1回、4週間毎に1回、5週間毎に1回、6週間毎に1回、7週間毎に1回、8週間毎に1回、9週間毎に1回、10週間毎に1回、11週間毎に1回又は12週間毎に1回投与する。別の実施形態において、抗C5抗体、又は抗原結合断片は、1日目に負荷用量で、次いで15日目及びその後8週間毎に異なる維持用量で投与する。

【0225】

別の実施形態において、抗C5抗体、又はその抗原結合断片は、1つ以上の投与サイクルで投与する。一実施形態において、投与サイクルは、26週間である。別の実施形態において、治療は、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又は11サイクルを含む。別の実施形態において、患者を約1、2、3、4、5、又は6か月間治療する。別の実施形態において、治療は、ヒト患者の生涯にわたり継続する。

【0226】

抗C5抗体、又は抗原結合断片は、任意の好適な手段を介して投与することができる。一実施形態において、抗C5抗体、又は抗原結合断片（例えば、ラブリズマブ（ULTRIMIRIS（登録商標）））は、静脈内投与する。別の実施形態において、抗C5抗体、又は抗原結合断片は、皮下投与する。

【0227】

本明細書に記載の方法に従って治療される患者は、治療を開始する前3年以内に、又は治療を開始する時点で、髄膜炎菌感染に対してワクチン接種されている可能性がある。髄膜炎菌ワクチンを受けた後2週間未満で治療を受けた患者は、ワクチン接種の2週間後まで適切な予防抗生物質でも治療され得る。本明細書に記載の方法に従って治療される患者は、髄膜炎菌血清型A、C、Y、W135及び／又はBに対してワクチン接種され得る。

【0228】

本明細書に記載の方法に従って治療される患者は、ループス腎炎、全身性強皮症、又は固形臓器移植に伴うTMAを有する。これらの患者は、ヘモフィルス・インフルエンザ（*Haemophilus influenzae*）b型（Hib）及び肺炎球菌（*Streptococcus pneumoniae*）に対して治療前にワクチン接種され得る。

【0229】

本明細書に記載の治療レジメンは、抗C5抗体、又はその抗原結合断片の特定の血清トラフ濃度を維持するのに十分である。治療は、例えば、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、200、205、210、215、220、225、230、240、245、250、255、260、265、270、280、290、300、305、310、315、320、325、330、335、340、345、350、355、360、365、370、375、380、385、390、395、又は400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の抗C5抗体、又はその抗原結合断片の血清トラフ濃度を維持し得る。一実施形態において、治療は、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の抗C5抗体、又はその抗原結合断片の血清トラフ濃度を維持する。別の実施形態において、治療は、150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の抗C5抗体、又はその抗原結合断片の血清トラフ濃度を維持する。別の実施形態において、治療は、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の抗C5抗体、又はその抗原結合断片の血清トラフ濃度を維持する。別の実施形態において、治療は、250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の抗C5抗体、又はその抗原結合断片の血清トラフ濃度を維持する。別の実施形態において、治療は、300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の抗C5抗体、又はその抗原結合断片の血清トラフ濃度を維持する。別の実施形態において、治療は、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の抗C5抗体、又はその抗原結合断片の血清トラフ濃度を維持する。別の実施形態において、治療は、約175 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の抗C5抗体、又はその抗原結合断片の血清トラフ濃度を維持する。

【0230】

有効な奏効を得るため、抗C5抗体は、患者の血液1ミリリットル当たり少なくとも50 μ g、55 μ g、60 μ g、65 μ g、70 μ g、75 μ g、80 μ g、85 μ g、90 μ g、95 μ g、100 μ g、105 μ g、110 μ g、115 μ g、120 μ g、125 μ g、130 μ g、135 μ g、140 μ g、145 μ g、150 μ g、155 μ g、160 μ g、165 μ g、170 μ g、175 μ g、180 μ g、185 μ g、190 μ g、195 μ g、200 μ g、205 μ g、210 μ g、215 μ g、220 μ g、225 μ g、230 μ g、235 μ g、240 μ g、245 μ g、250 μ g、255 μ g又は260 μ gの抗体を維持するための量及び頻度で、患者に投与され得る。別の実施形態において、抗C5抗体は、患者の血液1ミリリットル当たり50 μ g～250 μ gの抗体を維持するための量及び頻度で、患者に投与する。別の実施形態において、抗C5抗体は、患者の血液1ミリリットル当たり100 μ g～200 μ gの抗体を維持するための量及び頻度で、患者に投与する。別の実施形態において、抗C5抗体は、患者の血液1ミリリットル当たり約175 μ gの抗体を維持するための量及び頻度で、患者に投与する。

10

【0231】

別の実施形態において、有効な奏効を得るため、抗C5抗体は、最小遊離C5濃度を維持するための量及び頻度で、患者に投与する。抗C5抗体は、例えば、0.2 μ g/mL、0.3 μ g/mL、0.4 μ g/mL、0.5 μ g/mL以下の遊離C5濃度を維持するための量及び頻度で、患者に投与することができる。別の実施形態において、本明細書に記載の治療は、治療期間全体にわたり遊離C5濃度を99%超だけ低減させる。

20

【0232】

「慢性的に投与される」、「慢性治療」、「慢性的に治療する」又は類似するその文法的変形は、広義には、患者の血液中の治療薬の特定の閾値濃度を維持し、患者における全身補体活性を長期にわたって完全に又は実質的に抑制するために用いられる治療計画を指す。したがって、補体阻害剤で慢性的に治療された対象は、阻害剤により、患者における全身補体活性を阻害又は実質的に阻害する患者の血液中の阻害剤の濃度を維持するのに十分である量及び投与頻度で、2週以上の期間（例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、若しくは52週；1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、若しくは12か月；又は1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10、10.5、若しくは12年又は患者の余生の間）にわたって治療することができる。補体阻害剤は、血清溶血活性を20（例えば、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、又は5）%以下で維持するのに有効である量及び頻度で、それを必要とする患者に慢性的に投与することができる。例えば、Hill et al. (2005) Blood 106 (7) : 2559を参照されたい。補体阻害剤は、血清乳酸デヒドロゲナーゼ（LDH）レベルを、LDHにおける正常範囲の少なくとも20（例えば、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、又は5）%以内に維持するのに有効である量及び頻度で、患者に投与することができる。Hill et al. (2005) 上記を参照されたい。補体阻害剤は、血清LDHレベルを550 IU/L未満（例えば、540、530、520、510、500、490、480、470、460、450、440、430、420、410、400、390、380、370、360、350、340、330、320、310、300、290、280未満、又は270未満）で維持するのに有効である量及び頻度で、患者に投与することができる。患者における全身補体阻害を維持するため、補体阻害剤は、例えば、週1回、2週間毎に1回、週2回、1日1回、月1回、又は3週間毎に1回、患者に慢性的に投与することができる。

30

40

【0233】

50

一部の実施形態において、治療は、ラブリズマブの、その投薬スケジュール下での投与を含む。一部の実施形態において、ラブリズマブは、対象の体重に基づく、1日目の単回負荷投与、その後15日目に開始する規則的な維持投与を含む静脈内（i.v.）製剤として投与され、ここで（a） $\geq 40 \sim < 60$ キログラム（kg）の体重の対象の場合、治療は、2400ミリグラム（mg）の負荷、次いで8週間毎の3000mgの維持投与を含み；（b） $\geq 60 \sim < 100$ kgの体重の対象の場合、治療は、2700mgの負荷、次いで8週間毎の3300mgの維持投与を含み；且つ（c） ≥ 100 kgの体重の対象の場合、治療は、3000mgの負荷、次いで8週間毎の3600mgの維持投与を含む。一部の実施形態において、ラブリズマブは、皮下（SC）製剤として投与される。

【0234】

10

組成物

組成物は、治療有効量のヒト補体成分C5の阻害剤（例えば、抗C5抗体又はその抗原結合断片）を含み得る。2種の好ましい抗C5抗体としては、限定はされないが、エクリズマブ（SOLIRIS（登録商標））及びラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標））が挙げられる。好ましい抗C5抗原結合断片は、パキセリズマブである。

【0235】

組成物は、賦形剤、担体、希釈剤、安定剤、緩衝剤、抗酸化剤、又はそれらの組み合わせをさらに含む医薬組成物であり得る。医薬組成物は、治療有効量のヒト補体成分C5の阻害剤（例えば、抗C5抗体又はその抗原結合断片）を含み得る。2種の好ましい抗C5抗体として、限定はされないが、エクリズマブ（SOLIRIS（登録商標））及びラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標））が挙げられる。好ましい抗C5抗原結合断片は、パキセリズマブである。

20

【0236】

有効量は、部分的には投与された阻害剤の効果、又は2種以上の薬剤が使用される場合の抗体及び1つ以上の追加的な活性薬剤のコンビナトリアル効果に基づき、当業者によって容易に決定することができる。また、治療有効量のヒト補体成分C5の阻害剤（例えば、抗C5抗体）[例えば、エクリズマブ、ラブリズマブ]は、個体の病態、年齢、性別、及び体重、並びに抗体（及び1つ以上の追加的な活性薬剤）が個体における所望の応答、例えば少なくとも1つの病態パラメータの回復、例えば、CM-TMAの少なくとも1つの症状の寛解を誘発する能力などの要素に応じて変動し得る。例えば、治療有効量のヒト補体成分C5の阻害剤（例えば、抗C5抗体）は、血小板減少症、微小血管症性溶血性貧血、腎不全、及び／又は当該技術分野で公知の若しくは本明細書に記載のCM-TMAの症状のいずれか1つを阻害し（その重症度を低減し、又はその発生を除去し）、且つ／又は予防し得る。2種の好ましい抗C5抗体として、限定はされないが、エクリズマブ（SOLIRIS（登録商標））及びラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標））が挙げられる。また、治療有効量においては、治療的に有益な効果が、組成物の任意の有毒な又は有害な効果を上回る。

30

【0237】

本明細書に記載の組成物は、治療有効量のヒト補体成分C5の阻害剤を含み得る。2種の好ましい抗C5抗体として、限定はされないが、エクリズマブ（SOLIRIS（登録商標））及びラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標））が挙げられる。本明細書に記載の組成物は、治療有効量の、補体成分C5タンパク質に結合する抗体、又はその抗原結合断片を含み得る。一部の実施形態において、組成物は、組成物が全体として治療的に有効であるように、2つ以上（例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、又は11以上）の異なるヒト補体成分C5の阻害剤を含み得る。例えば、組成物は、ヒトC5タンパク質に結合する抗体と、ヒトC5タンパク質をコードするmRNAに結合し、その分解を促進するsiRNAとを含み得、ここで抗体及びsiRNAのそれぞれは、組み合わせられる場合に治療的に有効である濃度である。一部の実施形態において、組成物は、組成物が全体として治療的に有効であるように、阻害剤及び1つ以上の第2の活性薬剤を含み得る。例えば、組成物は、ヒトC5タンパク質に結合する抗体とCM-TMAを治療又は予

40

50

防するのに有用な別の薬剤とを含み得る。

【0238】

こうした組成物の毒性及び治療効果は、細胞培養物又は実験動物（aHUSの動物モデル）における公知の薬学的手順によって決定することができる。これらの手順は、例えば、LD₅₀（集団の50％に対する致死用量）及びED₅₀（集団の50％における治療有効用量）を決定するために用いることができる。毒性及び治療効果の間の用量比は、治療指数であり、それはLD₅₀/ED₅₀比として表すことができる。高い治療指数を示す、組成物、又は組成物の阻害剤（例えば、抗C5抗体）〔例えば、エクリズマブ、ラブリズマブ〕は好ましい。有毒な副作用を示す組成物が使用可能である一方で、こうした化合物を患部組織の部位に向けて標的にする送達系を設計し、正常細胞に対する潜在的損傷を最小化し、それにより副作用を低減することには注意する必要がある。

10

【0239】

細胞培養アッセイ及び動物試験から得られたデータは、ヒトにおける使用のための用量範囲の配合において使用することができる。aHUSの好適な動物モデルは、当該技術分野で公知であり、例えば、Atkinson et al. (2007) Journal of Experimental Medicine 204(6):1245-1248に記載されている。かかる阻害剤の用量は、一般に、毒性をほとんど又は全く伴わないED₅₀を含む、阻害剤（例えば、抗C5抗体又はその抗原結合断片）の循環濃度の範囲内にある。用量は、この範囲内で、用いられる剤形及び利用される投与経路に応じて変動し得る。本明細書に記載のように（例えば、CM-TMAを治療又は予防するために）使用されるヒト補体成分C5の阻害剤（例えば、抗C5抗体）の場合、治療有効用量は、最初に細胞培養アッセイから評価することができる。用量を動物モデルにおいて配合し、細胞培養下で決定されるときにIC₅₀（例えば、症状の最大半量阻害を達成する試験化合物の濃度）を含む循環血漿濃度範囲を達成することができる。こうした情報を用いて、ヒトにおける有用な用量をより正確に決定することができる。血漿のレベルは、例えば高性能液体クロマトグラフィーによって測定することができる。

20

【0240】

ヒト補体成分C5の阻害剤の要求される用量は、対象の血液中のヒトC5タンパク質の濃度に基づいて決定することができる。例えば、より高い濃度の循環ヒトC5タンパク質レベルを有する対象は、より低いレベルの循環ヒトC5を有する対象より高い用量のヒトC5阻害剤を必要とし得る。対象からの血液由来体液サンプル中のヒト補体成分C5の濃度を決定するための方法は、当該技術分野で公知であり、例えば、Rawal et al. (1998) J Biol Chem 273(27):16828-16835に記載されている。

30

【0241】

方法は、CM-TMAに対する他の治療法と併せて実施することができる。例えば、組成物は、腎摘除術（例えば、両側性腎摘除術）、透析、血漿交換、又は血漿注入と同時、その前、又はその後に、対象に投与することができる（例えば、Noris et al. (2005) "Non-shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome." In: Zipfel P (ed). Complement and Kidney Disease. Basel: Birkhauser-Verlag, 65-83を参照されたい）。

40

【0242】

ヒト補体成分C5の阻害剤（例えば、抗C5抗体又はその抗原結合断片）〔例えば、エクリズマブ、ラブリズマブ〕は、単独療法として対象に投与することができる。或いは、上記の通り、阻害剤は、別の治療、例えばCM-TMAに対する別の治療との組み合わせ療法として対象に投与することができる。例えば、組み合わせ療法は、対象（例えば、ヒト患者）に、CM-TMAを有する又は発現するリスクがある対象に治療的利益を提供する1つ以上の追加薬剤（例えば、降圧薬）を投与することを含み得る。ヒト補体成分C5の阻害剤及び1つ以上の追加的な活性薬剤は、同時に投与することができる。まず阻害剤

50

を適時投与してもよく、そして1つ以上の追加的な活性薬剤が2番目に適時投与される。一部の実施形態において、まず1つ以上の追加的な活性薬剤が適時投与され、そして阻害剤が2番目に適時投与される。

【0243】

ヒト補体成分C5の阻害剤は、以前又は現在投与された治療薬を置換又は増強し得る。例えば、抗C5抗体又はその抗原結合断片による治療時、1つ以上の追加的な活性薬剤の投与には、停止又は減少させることができ、例えば、より低いレベルでの投与が可能である。以前の治療薬の投与は、維持することができる。以前の治療薬は、ヒトC5の阻害剤のレベルが治療効果をもたらすのに十分なレベルに達するまで、維持することができる。2つの治療薬は、組み合わせて投与することができる。

10

【0244】

本明細書で定義される通り、CM-TMAにおける改善のため、対象（例えば、ヒト患者）をモニタリングすることは、疾患パラメータの変化、例えば、疾患の1つ以上の症状の改善について対象を評価することを意味する。こうした症状は、本明細書に記載のCM-TMAの症状のいずれかを含む。一部の実施形態において、その評価は、治療開始後、少なくとも1時間、例えば、少なくとも2、4、6、8、12、24、若しくは48時間、又は少なくとも1日、2日、4日、10日、13日、20日以上、又は少なくとも1週、2週、4週、10週、13週、20週以上実施される。対象は、以下の期間：治療の開始前；治療の間；又は治療の1つ以上の要素が施された後の1つ以上において評価することができる。評価は、さらなる治療の必要性を評価する、例えば、用量、投与の頻度、又は治療の持続期間が変更されるべきであるかを評価することを含み得る。それは、選択された治療様式を追加又は除外する、例えば、本明細書に記載のCM-TMAに対する治療のいずれかを追加又は除外する必要性を評価することも含み得る。

20

【0245】

B因子（Ba）のタンパク質分解断片の濃度

B因子のタンパク質分解断片の濃度を測定することができる。断片は、Baであり得る。生体サンプルは、血液、血清、血漿、及び／又は尿サンプルであり得る。生体サンプルは、血漿及び尿であり得る。

【0246】

生体サンプル中のBaの濃度は、Baの正常な対照濃度より少なくとも2倍高い場合、増加したとみなされる。生体サンプル中のBaの濃度は、Baの正常な対照濃度より少なくとも5倍高い場合、増加したとみなされる。生体サンプル中のBaの濃度は、約1,000 ng/mLより高い場合、増加したとみなされる。生体サンプル中のBaの濃度は、約1,500 ng/mLより高い場合、増加したとみなされる。生体サンプル中のBaの濃度は、約2,500 ng/mLより高い場合、増加したとみなされる。

30

【0247】

治療後のBa濃度（例えば、血漿Ba濃度）の、治療前の対象から得られた体液の同じタイプのサンプル中のBa濃度と比較して少なくとも10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、又は50%の低下は、対象が、完全な血栓性細小血管障害（TMA）応答（例えば、TMA事象の中断）を有するか又は達成する可能性が高いことを示す。その低下は、補体阻害剤による初回治療後の12週目までに生じ得る。その低下は、補体阻害剤による初回治療後の12～17週以内に生じ得る。その低下は、補体阻害剤による初回治療後の26週目までに生じ得る。

40

【0248】

終末補体複合体（sC5b-9）の濃度

サンプル中のsC5b-9の濃度は、sC5b-9の正常な対照濃度より少なくとも10倍高い場合、増加したとみなすことができる。生体サンプル中のsC5b-9の濃度は、sC5b-9の正常な対照濃度より少なくとも50倍高い場合、増加したとみなされる。生体サンプル中のsC5b-9の濃度は、sC5b-9の正常な対照濃度より少なくとも100倍高い場合、増加したとみなされる。生体サンプル中のsC5b-9の濃度は、

50

尿中クレアチニンの1mgあたり少なくとも20ngである場合、増加したとみなされる。生体サンプル中のsC5b-9の濃度は、尿中クレアチニンの1mgあたり少なくとも30ngである場合、増加したとみなされる。対照濃度は、健常対象、例えば、CM-TMAを有しない対象、好ましくは、標準のイムノアッセイを介して測定する場合に、検出可能なレベルのsC5b9を含有しない尿サンプルの対象からの生体サンプルから決定することができる。

【0249】

クレアチニンレベル

本開示の一部の実施形態において、対象の生体サンプル中のクレアチニンレベルが測定される。限定はされないが、比色分析（例えば、Jaffe法）、酵素法、化学発光アッセイ、クロマトグラフ技術、分子インプリントポリマー（MIP）、キャピラリー電気泳動、分光光度法、電位差測定センサー、電気化学センサー（ECA）、pHメーター、及び電流測定センサーを含む、任意のルーチン的な方法を用いて、クレアチニンレベルを測定することができる。これらの技術は、サンプル処理をほとんど又は全く行わずに、血液サンプル、尿標本、さらには唾液サンプルに対して実施することができる（Weiet al., Anal Chem, 2012 Sep 18; 84 (18): 7933-7）。一部の実施形態において、上記アッセイは、クレアチニンに結合するナノ粒子（NP）を用いて改善することができる。

【0250】

推定糸球体濾過量（eGFR）

成人において、正常なGFR値は、約90を超える。これは年齢とともに減少することがあり、例えば、70歳を超える人は、たとえ疾患の不在下であっても、約75を超えるGFRを有し得る。任意の年齢で60未満のGFR値は、腎不全及び／又は腎疾患の徴候である。CKD-EPIクレアチニン方程式（2009）を用いて、GFRを推定することができる。

【0251】

次の単一方程式として表される：

$$eGFR = \frac{141 \times \min(S_{cr}/\kappa, 1)^\alpha \times \max(S_{cr}/\kappa, 1)^{-1.209} \times 0.993^{Age} \times 1.018 [\text{女性の場合}] \times 1.159 [\text{アフリカ系である場合}]}{eGFR (\text{推定糸球体濾過量}) = mL / \text{分} / 1.73 m^2}$$

$$S_{cr} (\text{標準化された血清クレアチニン}) = mg / dL$$

$$\kappa = 0.7 (\text{女性}) \text{ 又は } 0.9 (\text{男性})$$

$$\alpha = -0.329 (\text{女性}) \text{ 又は } -0.411 (\text{男性})$$

$$\min = S_{cr} / \kappa \text{ 又は } 1 \text{ の最小を示す}$$

$$\max = S_{cr} / \kappa \text{ 又は } 1 \text{ の最大を示す}$$

$$age = \text{歳}$$

【0252】

CKD-EPIクレアチニン方程式（2009）は、当該技術分野で公知であり、米国腎臓財団（National Kidney Foundation）によって提供される。米国腎臓財団ウェブサイト（2021）；Levey et al. Ann Intern Med. (2009) 150 (9): 604-612。

【0253】

本明細書に記載のバイオマーカーの状態は、補体阻害剤で治療されたCM-TMA患者についての推定糸球体濾過量（eGFR）における改善を予測し得る。例えば、Ba及び／又はsC5b-9の濃度の減少（例えば、慢性治療計画における初期治療後26週以内）は、補体阻害剤で治療されたCM-TMA患者がeGFRにおける臨床的に有意な改善

を達成しているか又は達成する可能性が高いことを示す。

【0254】

尿タンパク質／クレアチニン（Cr）比（UPCR）

約0.2未満のUPCRは、正常範囲内とみなされる。Huang et al. Pediatr Nephrol. (2020) 35 (3) : 463-468 ; Karkar & Abdelrahman Saudi J Kidney Dis Transpl (2010) 21 : 949-50。

【0255】

バイオマーカーと二次マーカーeGFR及び／又はUPCRとの間の関連性

本開示の実施形態は、CM-TMAの診断、管理、及び治療における、上記二次マーカー、例えばeGFR及び／又はUPCRに関連するCM-TMAバイオマーカーの使用に関する。代表的な実施例セクションにおいて例示される通り、CM-TMAの二次マーカー、例えばeGFR及び／又はUPCRと本開示の一次タンパク質バイオマーカーとの間の関連性のレベルは、ルーチン的な技術、例えば回帰分析を用いて決定することができる。

10

【0256】

キット

本明細書に記載の方法を実施するのに有用な様々な試薬及び材料を含むキットも提供される。本明細書に記載の測定する、診断する、評価する（evaluating）、及び／又は評価する（assessing）ための手順は、診断研究所、実験室、又は各施術者によって実施することができる。本発明は、ありとあらゆるこれらの設定において使用可能であるキットを提供する。

20

【0257】

キットは、特に、生体サンプル（例えば、体液）を特徴づけるか又は処理する、バイオマーカーレベル（例えば、タンパク質又は核酸レベル）を測定する、対象におけるCM-TMAを診断する、又は対象における治療応答を本明細書に提供される方法に従ってモニタリングするための材料及び試薬を含み得る。キットは、1つ以上のCM-TMAバイオマーカータンパク質（例えば、Ba、sC5b9、又は両方）のタンパク質レベルを特異的に検出する少なくとも1つ以上の試薬、及び任意選択的に、キットを使用するための指示書を含み得る。キットは、例えば、本明細書に記載のアレイのいずれかを含み得る。

30

【0258】

キットは、好適な対照サンプル（例えば、正常健常者からの体液又は既知の対照量の目的の特定分析物を含む溶液）を含み得る。キットは、本明細書に記載の1つ以上の方法に従う、キットを使用するための指示書を含み得、対象から得られた生体サンプル（例えば、体液）を処理するため、及び／又は試験を実施するための指示書又は結果を解釈するための指示書を含み得る。

【実施例】

【0259】

実施例1

患者におけるCM-TMAバイオマーカーの検出

40

aHUSを有する成人におけるラブリズマブ（末端C5補体阻害剤）の第III相試験（NCT02949128）からのデータを使用し、患者におけるベースライン（BL；治療前）血清、血漿及び尿バイオマーカーレベルを、健常ボランティア（HV）におけるレベルと比較し、BL及び治療開始後26週での腎機能との関連性（例えば、推定糸球体濾過量[eGFR]及び尿タンパク質／クレアチニン[Cr]比[UPCR]）について評価した。回帰係数及びP値（両側t検定）を報告する。

【0260】

結果：この分析は、55名の患者を含んだ：中央値39（範囲：19～76）歳；67%女性；53%白人、27%アジア系。特定のBLバイオマーカーがHVと比較して増加し、BLバイオマーカーレベルとBL eGFR及びBL UPCRの両方との間の関連

50

性を同定した（表 1）。BL 血漿補体因子 Ba は、ラブリズマブ治療の 26 週後の eGFR 変化に関連した一方で、尿 sC5b-9、sC5b-9/Cr、Ba 及び Ba/Cr は、治療の 26 週後の UPCR 変化に関連した。

【 0 2 6 1 】

【 表 1 】

表 1

バイオマーカー	増加した BL バイオマーカー を有する患者* % (n/N)	BL バイオマーカーの 腎機能尺度 (BL) との 関連性 回帰係数 (P 値)		BL バイオマーカーの 腎機能尺度との 関連性 (26 週) 回帰係数 (P 値)	
		eGFR	UPCR	eGFR	UPCR
尿シスタチン C/Cr (ng/mg Cr)	100.0 (36/36)	-0.25 (0.0002)	0.42 (0.0048)	-2.28 (0.4290)	-9.72 (0.2385)
血漿 Ba (ng/ml)	97.7 (42/43)	-0.55 (<0.0001)	1.25 (0.0001)	-13.98 (0.0085)	-27.42 (0.1021)
尿シスタチン C (ng/ml)	97.6 (41/42)	-0.25 (<0.0001)	0.51 (<0.0001)	-0.62 (0.7788)	-7.38 (0.2103)
尿 Ba (ng/ml)	97.5 (39/40)	-0.28 (<0.0001)	0.73 (<0.0001)	1.41 (0.5825)	-16.07 (0.0090)
尿 Ba/Cr (ng/mg Cr)	97.1 (34/35)	-0.31 (<0.0001)	0.77 (<0.0001)	2.40 (0.3957)	-17.28 (0.0110)
尿 sC5b-9** (ng/ml)	88.1 (37/42)	-0.12 (0.0021)	0.44 (<0.0001)	-0.79 (0.5862)	-16.03 (<0.0001)
尿 sC5b-9**/Cr (ng/mg Cr)	88.1 (37/42)	-0.10 (0.0391)	0.45 (<0.0001)	1.91 (0.3650)	-21.46 (<0.0001)
血漿 sC5b-9 (ng/ml)	79.1 (34/43)	0.19 (0.1430)	-0.25 (0.3712)	-3.17 (0.5269)	15.91 (0.1830)

* HV について観察された最大値と比較された,**尿 sC5b-9 は,HV において検出不能であり,それ故, HV 値は $\frac{1}{2}$ LLOQ に設定された (本明細書に記載のさらなる試験において, sC5b-9 についての正常ドナー値は, 尿 sC5b-9 についての定量下限の半分($\frac{1}{2}$ LLOQ)に設定された)。

【 0 2 6 2 】

結論：補体バイオマーカー Ba（血漿及び尿）及び sC5b-9（尿）は、ベースラインで及び抗 C5 療法による治療の 26 週にわたり、aHUS を有する患者における腎機能に関連した。こうしたバイオマーカーは、CM-TMA における診断可能性を示し、終末補体阻害に対する腎奏効を予測し得る。

【0263】

実施例 2

患者における C M - T M A バイオマーカーの検出

a H U S は、同定されたトリガーの存在下又は不在下での、代替補体経路の調節不全に起因する補体媒介血栓性微小血管障害症の一形態であり、典型的には腎損傷／不全をもたらす；他の臓器系に対する損傷は一般的である。a H U S の診断又は予後のための検証されたバイオマーカー又はアッセイで、現在利用可能なものはない。a H U S を有する患者における臨床的に有意なバイオマーカーの個別又は組み合わせの同定を行えば、より迅速な診断、臨床経過の予測、及び／又はより早期の治療開始をもたらすことができる。

【0264】

補体阻害剤療法にナীবである a H U S を有する成人における、補体 C 5 阻害剤ラブリズマブの第 I E I 相試験からの探索的バイオマーカーデータを使用し、この分析は、以下を含んだ：

(a) この集団におけるベースラインバイオマーカーレベルを正常ドナーにおけるレベルと比較し；

(b) ラブリズマブによる治療中のバイオマーカーレベルのベースラインからの長期的変化を評価し；

(c) ベースラインバイオマーカーレベルとベースラインの臨床的尺度及び治療 2 6 週後の臨床的尺度の変化の両方との間の関連性を試験し；且つ

(d) ベースラインバイオマーカーレベルと治療 2 6 週後の臨床アウトカムとの間の関連性を試験する。

【0265】

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2:患者の人口統計及び疾患の特徴

変数	n (%), 明示しない限り, ベースライン時 (N=56)*	
初回注入時の 中央値年齢, yr(範囲)	40.1 (19.5–76.6)	10
年齢群	11 (19.6)	
≥18~<30 yr	17 (30.4)	
≥30~<40 yr	15 (26.8)	
≥40~<50 yr	5 (8.9)	
≥50~<60 yr	8 (14.3)	
≥60 yr		
性別, 女性	37 (66.1)	20
人種		
アジア系	15 (26.8)	
白人	29 (51.8)	
非開示	8 (14.3)	
その他	4 (7.1)	
ベースライン臨床検査値, 中央値(範囲)#	95.3 (18–473)	30
血小板, x10 ⁹ /L	508 (230–3249)	
LDH, U/l	284 (51–1027)	
血清クレアチニン, μmol/L†	10 (4–80)	
eGFR, mL/分/1.73m ²	85 (60.5–140)	
ヘモグロビン, g/L		40

【 0 2 6 6 】

【表 3】

表 3 患者の人口統計及び疾患の特徴

変数	26 週目の n (%) [95% CI] (N=56)*	
完全 TMA 奏効	30 (53.6) [39.6–67.5]	
血液学的正規化 [‡]	41 (73.2) [60.7–85.7]	10
血小板数の正規化	47 (83.9) [73.4–94]	
LDH の正規化	43 (76.8) [64.8–88.7]	
血清クレアチニンにおける ベースラインからの $\geq 25\%$ の改善	33 (58.9) [45.2–72.7]	20

【 0 2 6 7 】

【表 4】

表 4 患者の人口統計及び疾患の特徴

変数	n (%), 明示しない限り, ベースライン時 (N=56)*	
≥ 1 の同定された病原性バリエント又は自 己抗体を有する患者 ^{§,¶}	1 (2.6)	30
C3	2 (5.1)	
Cd46	1 (2.6)	
CFB	2 (5.1)	
CFH	2 (5.1)	
CFH 自己抗体		
Rondeau et al. Kidney Int (2020)97:1287-96 も参照されたい		40

【 0 2 6 8 】

* 全分析セット、その内の N = 5 5 がバイオマーカー分析セットを形成した；# ベースライン値は、一部の患者において血漿交換／注入後であり得る；† 安全性セット、N = 5 8；‡ L D H 及び血小板数の両方の正規化と定義された；
§ 試験した患者の数，n = 3 9；¶ 1 名の追加患者は、C F H 自己抗体を有した；しかし、この患者は、遺伝的性質の理由で試験されなかった。全体で、C F H 自己抗体について試験された 5 2 名中 3 名の患者は陽性であった。
C F、補体因子；C I、信頼区間；e G F R、推定糸球体濾過量；L D H、乳酸デヒド

50

ロゲナーゼ；TMA、血栓性微小血管障害症
【0269】
【表5】

表5 治療前のaHUSを有する成人において大部分のバイオマーカーが正常ドナーレベルと比較して増加した

バイオマーカー	ベースラインでの バイオマーカーレベル*		正常ドナーについて観察された最大値と比較 して増加したベースラインバイオマーカーを有 する患者 n/N (%)
	aHUSを有す る成人 n [#] , 中央値 (最小値, 最大 値)	正常ドナー n [#] , 中央値 (最小値, 最大値)	
尿シスタチン C/Cr (ng/mg Cr)	36, 9052.1 (99.9, 38649.5)	5, 40.8 (22.1, 42.7)	36/36 (100)
尿シスタチン C (ng/ml)	42, 4068.5 (4.7, 45876.9)	10, 16.3 (4.7, 31.1)	41/42 (98)
血漿 Ba (ng/ml)	43, 6288.1 (1280.4, 29886.6)	20, 891.4 (684.7, 1375.9)	42/43 (98)
尿 Ba (ng/ml)	40, 4129.0 (5.0, 40200.0)	10, 3.7 (1.0, 8.0)	39/40 (98)
尿 Ba/Cr (ng/mg Cr)	35, 8358.0 (22.0, 58478.0)	10, 4.2 (3.0, 56.0)	34/35 (97)
尿 sC5b-9/Cr (ng/mg Cr) [†]	32, 321.5 (9.3, 81600.0)	10, 5.9 3.6, 13.9	31/32 (97)
血清 sTNF-RI (pg/mL)	54, 7407.9 (1330.6, 24781.6)	19, 838.0 (658.8, 1617.1)	51/54 (94)
血漿トロンボモジュ リン (ng/ml)	44, 11.3 (3.8, 27.2)	19, 4.3 (3.1, 5.8)	40/44 (91)
尿 sC5b-9 (ng/ml) [†]	42, 130.5 (2.6, 154000.0)	10, 2.6 2.6, 2.6	37/42 (88)
血漿 sC5b-9 (ng/ml)	43, 937.7 (325.0, 10007.0)	10, 423.9 (349.0, 585.0)	34/43 (79)
血漿 D-二量体 (ng/ml)	49, 4076.6 (474.0, 47862.1)	19, 551.9 (39.6, 2739.0)	31/49 (63)
血清 sVCAM-1 (ng/ml)	54, 1506.0 (763.5, 5522.2)	20, 560.0 (251.3, 3803.2)	7/54 (13)

【0270】

* A 名目全体で55名のaHUSを有する成人、10名の正常な尿ドナー及び20名の正常な血清／血漿ドナーがこの試験において評価された；# nは、評価可能なデータを有する患者／ドナーの数を指す。

[†] sC5b-9は、正常ドナーの尿サンプル中で検出不能であり、それ故、この分析の場合、正常ドナー値は、尿sC5b-9については1／2 LLOQに設定された。

全ての生体分析アッセイにおいて、市販ELISA及びカスタムMSDの両方は、バイ

10

20

30

40

50

オマーカー法についての2018 FDAガイダンスに対して認証された。サンプル試験及びデータ報告は、規制された品質制御実験室において実施された。

アウトラインボックスは、クレアチニンに対して正規化された血漿中及び尿中の補体特異的バイオマーカーについての結果を示す。

aHUS、非典型溶血性尿毒症症候群、Cr、クレアチニン；ELISA、酵素結合免疫吸着測定；FDA、米国食品医薬品局（United States Food and Drug Administration）；LLOQ、定量下限；MSD、メソスケールディスカバリー

【0271】

aHUSを有する成人の63～100%において、血清sVCAM-1を例外とする全てのバイオマーカーが、正常ドナーにおける最大観測レベルと比較して増加した。補体特異的バイオマーカーBa及びsC5b-9は、患者の>75%において増加し、血漿及び尿Baは、 $\geq 97\%$ において増加した。これは、尿中、血漿中及び血清中で試験されたバイオマーカーのセットである。

【0272】

発明者は、尿サンプル中で、クレアチニンに対して正規化されたバイオマーカーレベルも評価した。補体因子Ba及びタンパク質sC5b-9についての輪郭された強調結果は、（代替及び末端経路それぞれの）補体活性に特異的に関連する。これらの結果は、これらのバイオマーカーのaHUS及び他の補体媒介性病態の両方の診断における使用をいずれも支持する。

【0273】

図1は、ラブリズマブ治療による補体調節不全及び腎損傷減少のバイオマーカーを表す。尿Ba/Cr及びsC5b-9/Crレベルは、ラブリズマブの初回投与後、有意に低下し、C5阻害の早期薬力学的効果を示した。血漿Baレベルは、71日目からベースラインレベルと比較して有意に低下し、持続的な末端阻害が代替補体経路活性を低減し得ることを示した。尿シスタチンC/Crレベルは、ラブリズマブの初回投与後、有意に低下し、腎回復を示唆した。発明者は、正規化されたデータを評価し、それは経時的变化を最もよく示した。これらの結果は、補体特異的バイオマーカーが抗C5療法に応答して確実に減少し、それが治療応答モニタリングの使用を支持することを示す。

【0274】

図2は、ベースラインバイオマーカーとベースラインの臨床的尺度との間の関連性を表す。血漿Ba及び尿Ba/Cr及びsC5b-9/Cr、及び尿シスタチンC/Crのベースラインレベルは、より低いベースラインeGFR及び増加したベースラインタンパク尿と有意に関連した。また、非補体特異的バイオマーカーと同じ臨床的尺度との間に有意な関連性が認められた。これらの補体特異的バイオマーカーがベースラインでの腎機能尺度、具体的にはeGFR及びタンパク尿と有意に関連したことから、Ba及びsC5b-9についての結果を強調する。

【0275】

図3は、治療の26週にわたる、ベースラインバイオマーカーと臨床的尺度の変化との間の関連性を表す。ラブリズマブによる治療の26週後、（a）ベースライン尿sC5b-9/Crは、血小板数の増加と有意に関連し；（b）ベースライン尿Ba/Cr及びsC5b-9/Crは、タンパク尿レベルの変化と有意に逆相関し；且つ（c）ベースライン血漿Baは、eGFRの変化と有意に逆相関した。非補体特異的バイオマーカーについても、いくつかの有意な関連性が認められた。

【0276】

強調結果は、血漿中のベースラインBa、そして特に尿中のBa及びsC5b-9（正規化された結果）がC5阻害剤治療中の腎機能に関連したことを示す。これは、それらが治療アウトカムの予測（評価）において使用可能であることを示す。

【0277】

図4は、ベースラインバイオマーカーレベルが、26週目、選ばれた臨床アウトカムと

10

20

30

40

50

有意に関連したことを示すデータを表す。オッズ比は、従属変数としての応答変数及び独立変数としてのベースラインバイオマーカーレベルの対数を用いるロジスティック回帰分析から得られ、ベースラインバイオマーカーにおける2倍増加毎において有効性奏効を達成するオッズの増加（又は減少）を表す。26週目、（1）血清sVCAM-1及びsTNF-R1のより低いベースラインレベルは、完全TMA奏効を達成するより高い可能性と有意に関連し；（2）血漿トロポモジュリンのより低いベースラインレベルは、完全TMA奏効を達成するより高い可能性と有意に関連し；且つ（3）尿sC5b-9のより低いベースラインレベルは、完全TMA奏効を達成するより高い可能性との有意な関連性に近づいた。発明者は、完全TMA奏効：血清クレアチニンの改善を併せた、血小板数及びLDHの正規化の組み合わせ尺度を評価した。補体特異的バイオマーカーの内、尿中sC5b-9は、C5阻害剤治療後の完全TMA奏効と最も顕著な関連性を有した。非補体特異的バイオマーカーの内、腎機能に関連するものは、最も有意な関連性を有した。

10

【0278】

血液及び／又は尿中の7つのバイオマーカーの、新規に診断されたaHUSを有する治療ナイーブな成人における臨床診断、予後及び予測的有用性についての評価から、発明者は、以下の観察結果を作成した：

（1）血漿中の補体バイオマーカー（Ba及びsC5b-9）及び尿中の補体バイオマーカー（Ba）は、aHUSを有する患者において、正常ドナーと比較して増加し；

（2）血漿Ba、尿Ba／Cr及びsC5b-9／Crのベースラインレベル、並びに尿シスタチンC／Crのベースラインレベルは、ベースラインでの腎機能と有意に関連し（eGFRの低下及びタンパク尿の増加）；

20

（3）補体バイオマーカーレベル（尿Ba／Cr及びsC5b-9／Cr）は、C5阻害によって有意に低下し、補体活性に対するC5阻害の早期薬力学的効果を示し；且つ

（4）ベースライン尿sC5b-9レベルは、26週目、完全TMA奏効との有意な関連性に近づいた。

【0279】

特に尿中の補体バイオマーカーBa及びsC5b-9の測定は、CM-TMA／aHUSの診断における有用性、並びに補体阻害剤治療、例えば、エクリズマブ（SOLIRIS（登録商標））及び／又はラブリズマブ（ULTOMIRIS（登録商標））などの抗C5抗体による治療に対する奏効のモニタリングにおける予測的有用性を有する。これは、ベースライン及び26週目のそれらの腎機能との関連性に起因し得る。例えば、尿中の補体特異的バイオマーカーは、それらの腎機能のモニタリングにおいて特に有用であり得る。

30

【0280】

このデータは、血漿及び尿バイオマーカータンパク質を測定することにより、CM-TMAなどの補体媒介性腎疾患及び補体阻害剤療法に対する奏効の診断、予後及び／又は予測シグネチャーを得ることができることを示唆する。

【0281】

実施例3

非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）を有する成人における補体媒介血栓性微小血管障害症（CM-TMA）の探索診断及び予後バイオマーカー：ラブリズマブの第3相試験の分析

40

導入

TMAは、典型的には臓器障害／不全を引き起こす、血小板減少症、微小血管症性溶血性貧血及び微小血管血栓症の三徴候を呈する病態を包含する広義の臨床用語である。CM-TMAは、補体遺伝子突然変異及び後天性自己抗体の存在下又は不在下で、補体活性化の生成によって駆動されるTMA障害のサブセットである。CM-TMAの原型形態とみなされることが多いaHUSは、終末補体の過剰活性化を引き起こす、補体の代替経路の過剰活性化が原因である。補体カスケードは、分解物の生成を含む。

【0282】

50

C M - T M A / a H U S の病態生理についての情報にもかかわらず、その鑑別診断及び予後に関するいくつかの臨床的課題が存在する。1つのこうした課題は、この不均一な疾患集団を規定し得る、高感度、特異的であり、臨床的に検証されたバイオマーカーの欠如である。したがって、新規なマトリックスの持続的探索、サンプル収集プロトコル、及び生体分析アッセイは、a H U S を有する患者における臨床的に有意なバイオマーカーの個別及び／又は組み合わせを同定し、正確に測定するために必要である。a H U S を有する患者におけるバイオマーカー「シグネチャー」の同定は、C M - T M A の他の形態を有する患者の診断、治療決定及び治療モニタリングを通知するために役立ち得る。

【0283】

C o f i e l l らからの試験では、補体阻害の薬力学的効果が、補体活性化、炎症、内皮損傷、血栓、及び腎損傷を含む、a H U S を有する患者における複数の細胞プロセスのマーカーに対する、抗補体 C 5 モノクローナル抗体 (m A b) エクリズマブによる治療を介して探索された。C o f i e l l e t a l . エクリズマブは、a H U S における補体活性化、炎症、内皮損傷、血栓、及び腎損傷マーカーを低減する。B l o o d (2 0 1 5) 1 2 5 (2 1) : 3 2 5 3 - 6 2 .

【0284】

試験では、エクリズマブによる治療後、これらプロセスの血液及び尿マーカーの大半が、正常ドナーサンプルと比較すると、正常又は準正常レベルに回復することが見出された。同文献。逆に、近位の代替経路及び内皮活性化のマーカーは、治療後、部分的に増加したままであり、エクリズマブの作用機構の上流の経路において調節不全が進行中であることが示唆された。同文献。にもかかわらず、バイオマーカーの有用性は、C o f i e l l らからの試験の中心事項ではなく、分析されたタンパク質の a H U S / C M - T M A に特異的なバイオマーカーとしての有用性のより具体的な評価が求められることを意味した。

【0285】

方法

本分析では、a H U S を有する成人におけるラブリズマブの第3相臨床試験からのデータを使用し、a H U S を有する成人における補体活性化、炎症、及び腎損傷の血液及び尿バイオマーカーの有望な診断及び予後有用性について探索した。発明者は、26週及び52週にわたるラブリズマブ治療後の、バイオマーカーレベルのベースラインからの長期的変化を評価した。発明者は、事後分析において、a H U S を有する成人におけるラブリズマブの第3相試験の初期評価 (26週) 及び延長期間 (52週) からのデータを遡及的に評価した。

【0286】

目的のバイオマーカーは、血漿補体因子 B a 、 s C 5 b - 9 、 トロンボモジュリン、及び D - 二量体；血清 s T N F - R I 及び s V C A M - 1 ；尿 B a 因子、s C 5 b - 9 、 及びシスタチン C である。ランダムな時刻及び排尿量の探索条件下で、スポット尿収集を実施した。尿収集におけるこれらの変動について制御するため、尿バイオマーカーを尿クレアチニン濃度に対して正規化した。B e c t o n - D i c k i n s o n (B D) S S T (登録商標) バキューテイナーを使用し、血清を収集し、B D P 1 0 0 (登録商標) バキューテイナーを使用し、B a 因子、s C 5 b - 9 及びトロンボモジュリンに対して血漿を収集し、D - 二量体に対してクエン酸血漿を収集した。尿を、プロテアーゼ阻害剤を有する専売の低温安定化溶液 (c r y o s t a b i l i z i n g s o l u t i o n) に収集した。全ての正常ドナーの血清、血漿及び尿バイオマーカーサンプルにおいて、a H U S バイオマーカーサンプルマトリックスと等価なマトリックスを作製した。全ての生体分析法は、解析前の可変性を最小化するために最適化され、全ての臨床サンプルについての収集と試験との間の時間を上回るような許容される長期貯蔵安定性を含む、F D A バイオマーカーガイダンスに対して十分に検証された、カスタムの又は改良された市販の固相リガンド結合イムノアッセイであった。

【0287】

治療開始前に評価された、a H U S を有する患者におけるベースラインの血清、血漿、

及び尿バイオマーカーレベルを、正常ドナーサンプルから得られたバイオマーカーレベルと比較し；正常な血清及び血漿サンプルは、A l e x i o n 社内のドナー、B i o I V T (W e s t b u r y , N Y , U S A)、及びS a n g u i n e B i o s c i e n c e s (W a l t h a m , M A , U S A) から入手した一方で、正常な尿サンプルは、A l e x i o n 社内のドナー及びS a n g u i n e B i o s c i e n c e s から入手した。

【0288】

長期的なバイオマーカーレベル、及びラブリズマブによる治療後のベースラインからのレベルの変化を、従属変数として対数変換バイオマーカーレベル、及び共変数として訪問の固定カテゴリー効果及び対数変換ベースラインレベルの固定連続効果を伴う、反復測定

10

の混合モデル (M M R M) 分析を用いて評価した。

【0289】

また、ベースラインバイオマーカーは、ベースラインでの血漿交換 (P E) / 血漿注入 (P I) 及び透析状態との関連で評価した。

【0290】

ベースラインバイオマーカーを、T M A の主要な臨床的尺度－血小板数、乳酸デヒドロゲナーゼ (L D H) 濃度、推定糸球体濾過量 (e G F R) 及び尿タンパク質／クレアチニン比 (U P C R) －との関連性について、ベースラインバイオマーカーレベルとベースライン臨床的尺度との間、並びにベースラインバイオマーカーレベルと治療開始から26週目及び52週目の臨床的尺度の変化との間のスピアマン相関係数を介して評価した。また、従属変数としての対数変換ベースライン臨床的尺度と独立変数としての対数変換ベースラインバイオマーカーレベルの両方を用いて、並びに従属変数としての臨床変数のベースラインからの26週目及び52週目変化と独立変数としての対数変換ベースラインバイオマーカーレベルとを用いて、単純線形回帰分析を実施した。ベースライン臨床的尺度との関連性については、ベースラインバイオマーカーの全ての2倍増加が、実験室値における2の回帰係数乗倍の増加 (又は減少) をもたらす。26週目及び52週目での臨床的尺度の変化との関連性を評価する場合、ベースラインバイオマーカーにおける全ての2倍増加が、実験室値における回帰係数分増加 (又は減少) する変化をもたらす。回帰分析後、両側t検定を用いて、有意性について検定した。

20

【0291】

臨床的尺度 (例えば、血小板数、L D H、e G F R 及びU P C R) については、52週目のベースラインバイオマーカー及びバイオマーカーレベルに基づいて、さらなる線形回帰分析を実施した。従属変数は、臨床的尺度におけるベースラインからの52週目変化であり、独立変数は、対数 (2) 変換ベースラインバイオマーカーレベル及び対数 (2) 変換投与後バイオマーカーレベルであった。結果を、52週目の完全T M A 奏効状態 (血小板数の正規化、L D H の正規化、及び血清クレアチニンにおけるベースラインからの $\geq 25\%$ の改善であって、少なくとも4週置きの2回別々の評価時に同時に満たされた場合と定義される) によって層別化した。

30

【0292】

ロジスティック回帰分析を実施し、ベースラインで同定されたバイオマーカーと完全T M A 奏効との間のあらゆる関係性を評価した。患者は、完全T M A 奏効のエンドポイントが26週目の評価によって確認された場合、この分析セットに含めた。ロジスティック回帰分析においては、臨床的奏効を従属変数として設定し、ベースラインバイオマーカーレベルの対数を独立変数として設定した。オッズ比 (O R) 及び95%信頼区間 (C I) を報告し、ここでO R は、ベースラインバイオマーカーの2倍増加毎に有効性奏効を達成するオッズの増加 (又は減少) を表し；ロジスティック回帰分析に続く統計学的有意性を、ワルド検定を介して評価した。

40

【0293】

感受性及び特異性の分析のため、a H U S 患者及び正常ドナーからの尿及び血漿中のB a 及びs C 5 b - 9 のベースラインレベルをC o m b i R O C (C o m b i R O C . e u で利用可能なオンラインツール) に入力し、受信者動作特性 (R O C) 曲線を生成した。

50

ウェブサイトは、National Institute of Molecular Genetics (Milan, Italy) のProtein Microarray and Bioinformatics Facilitiesによって維持されている。
【0294】

結果

ベースライン人口統計

全体で56名のaHUSを有する成人をこの臨床試験に登録し、その内55名を本バイオマーカー分析に含めた；患者の人口統計及び疾患の特徴を表6に概説する。初回注入時の年齢中央値は40.1歳であり、その大半は、女性（66%）及び白人（52%）であった。

【0295】

10

20

30

40

50

【表 6】
表 6 ベースライン人口統計及び疾患の特徴

変数	n (%), 明示しない限り、 ベースライン時 (N=56) ^a
初回注入時の中央値年齢, yr(範囲)	40.1 (19.5–76.6)
年齢群	
≥18~<30 yr	11 (19.6)
≥30~<40 yr	17 (30.4)
≥40~<50 yr	15 (26.8)
≥50~<60 yr	5 (8.9)
≥60 yr	8 (14.3)
性別, 女性	37 (66.1)
人種	
アジア系	15 (26.8)
白人	29 (51.8)
非開示	8 (14.3)
その他	4 (7.1)
ベースライン臨床検査値, 中央値 (範囲) ^b	
血小板, ×10 ⁹ /L	95.3 (18–473)
LDH, U/L	508 (230–3249)
血清クレアチニン, μmol/L ^c	284 (51–1027)
eGFR, mL/分/1.73m ²	10 (4–80)
ヘモグロビン, g/L	85 (60.5–140)
≥1 の同定された病原性バリエーション又は自己抗体を有する患者 ^{d,e}	
C3	1 (2.6)
CD46	2 (5.1)
CFB	1 (2.6)
CFH	2 (5.1)
CFH 自己抗体	2 (5.1)

^a 完全な分析セットであり、その内の N=55 がバイオマーカー分析セットを形成した; ^b ベースライン値は、一部の患者において血漿交換/注入後であり得る; ^c 安全性セット, N=58; ^d LDH 及び血小板数の両方の正規化と定義される; ^e 試験された患者の数, n=39; ^e 追加患者 1 名が CFH 自己抗体を有した; しかし、この患者は遺伝的性質のために試験されなかった。全体で、CFH 自己抗体について試験された 52 名中 3 名の患者が陽性であった。
CF, 補体因子; eGFR, 推定糸球体濾過量; LDH, 乳酸デヒドロゲナーゼ; TMA, 血栓性微小血管障害症; yr, 歳
表は、Creative Commons CC-BY-NC-ND ライセンスの下、Rondeau E, et al. Kidney Int 2020;97:1287-96 から複製された。

【0296】
a HUS を有する患者と正常ドナーとの間のベースラインバイオマーカーレベルの比較
a HUS を有する成人及び正常ドナーにおけるベースラインバイオマーカーレベルの比較を表 7 に提示する。a HUS を有する患者において、血漿 sC5b-9 及び血清 sVCAM-1 を例外とする全てのバイオマーカーが、正常ドナーと比較して上昇した。血漿及び尿中の代替補体経路に特異的なバイオマーカー Ba 因子は、患者の ≥ 95 % で増加した。尿中の終末補体経路に特異的なバイオマーカー sC5b-9 は、患者の > 85 % で増加した。
【0297】

【表 7】

表 7 aHUS を有する成人及び正常ドナーにおけるベースラインバイオマーカーレベルの比較

バイオマーカー	ベースラインでの バイオマーカーレベル n ^a , 中央値 (最小値, 最大値)		P 値	正常ドナーについて観察された最 大値と比較して増加したベースラ インバイオマーカーを有する患者 n/N (%)
	aHUS を有す る成人 ^b	正常ドナー ^b		
尿シスタチン C/Cr (ng/mg Cr)	36 9052.1 (99.9, 38649.5)	10 32.8 (18.7, 329.3)	<0.0001	35/36 (97)
尿 Ba/Cr (ng/mg Cr)	35 8358.0 (22.0, 58478.0)	2 3.9 (1.0, 108.0)	<0.0001	34/35 (97)
血清 sTNF-RI (pg/mL)	54 7407.9 (1330.6, 24781.6)	20 867.2 (663.4, 1595.1)	<0.0001	52/54 (96)
血漿 Ba (ng/ml)	43 6288.1 (1280.4, 29886.6)	59 951.8 (586.6, 1784.5)	<0.0001	41/43 (95)
尿 sC5b-9/Cr (ng/mg Cr) ^c	42 256.0 (4.1, 1629629.6)	22 3.8 (0.9, 13.9)	<0.0001	36/42 (86)
血漿トロンボモ ジュリン (ng/ml)	44 11.3 (3.8, 27.2)	20 4.4 (3.2, 5.8)	<0.0001	35/44 (80)
血漿 D-二量体 (ng/ml)	49 4076.6 (474.0, 47862.1)	19 462.9 (91.2, 2064.8)	<0.0001	35/49 (71)
血漿 sC5b-9 (ng/ml)	43 937.7 (325.0, 10007.0)	39 406.6 (216.0, 1505.0)	<0.0001	9/43 (21)
血清 sVCAM- 1 (ng/ml)	54 1506.0 (763.5, 5522.2)	20 559.6 (279.8, 3965.7)	<0.0001	5/54 (9)

^a n は、評価可能なデータによる患者/ドナーの数の詳細を示す; ^b 名目全体で 55 名の aHUS を有する成人、この試験において、25 の正常尿、20 の正常血清及び 60 の正常血漿のドナーが評価された。

aHUS、非典型溶血性尿毒症症候群; Cr、クレアチニン

【0298】

ラブリズマブによる治療後のバイオマーカーにおけるベースラインからの長期的変化

ラブリズマブで治療された aHUS を有する成人において、全ての収集時点でのクレアチニンで正規化された尿 sC5b-9 及び Ba レベルのベースラインと比較した有意な低下を含む、血液及び尿バイオマーカーの両方についての薬力学的効果が認められた (図 5 A ~ F 及び図 6 A ~ C)。血清 sTNF-R1 及び血漿 D-二量体レベルについても、127 日目までで、ベースラインレベルから有意に低下した (図 5)。

【0299】

ベースラインバイオマーカーの、前処置の血漿交換／血漿注入 (PE／PI) 及び透析と

10

20

30

40

50

の 関 連 性

ベースラインバイオマーカーを前処置の P E / P I 状態とのあらゆる関連性について評価したとき、ラブリズマブの初回注入の 7 日以内に P E / P I を受けた患者は、受けなかった患者と比較して、有意により低い血漿 s C 5 b - 9 レベル及びより高い尿 B a / クレアチニンレベルを有した (表 8) 。 治療開始の 5 日以内に透析を受けた患者は、受けなかった患者より有意に高い血漿 B a 、血清 s T N F - R 1 、及び尿 B a / クレアチニンを有した (表 9) 。

【 0 3 0 0 】
【 表 8 】

表 8 前処置の血漿交換/血漿注入によるベースラインでのバイオマーカーレベル

バイオマーカー	初回注入の 7 日以内の P E / P I N=36			初回注入の 7 日以内の P E / P I なし N=19			P 値
	n	中央値 (最小値, 最大値)		n	中央値 (最小値, 最大値)		
血漿 Ba (ng/ml)	28	6677.1 (1280.4, 29886.6)		15	5437.6 (2059, 20190.8)		0.5493
血清 sTNF-R1 (pg/ml)	36	7613.3 (1330.6, 24781.6)		18	6942.8 (1367.3, 21815.0)		0.3354
血漿トロロンボモジュリン (ng/ml)	29	11.1 (4.2, 20.2)		15	12.3 (3.8, 27.2)		0.4210
血漿 sC5b-9 (ng/ml)	28	784.7 (325.0, 10007.0)		15	1259.8 (424.0, 9929.0)		0.0428
血漿 D-二量体 (ng/ml)	32	4714.9 (1043.6, 47862.1)		17	3172.9 (474.0, 19258.3)		0.4817
血清 sVCAM-1 (ng/ml)	36	1435.2 (824.3, 5522.2)		18	1612.0 (763.5, 5185.1)		0.3354
尿シスタチン C/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	22	9052.1 (212.3, 38649.5)		14	9310.5 (99.9, 32867.8)		0.7827
尿 Ba/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	20	9950.5 (1829.0, 58478.0)		15	7521.0 (22.0, 22647.0)		0.0597
尿 sC5b-9/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	20	426.5 (9.0, 81600.0)		12	318.5 (22.0, 1840.0)		0.4958

PE, 血漿交換; PI, 血漿注入

【表 9】

表 9 治療開始前 5 日以内の透析によるベースラインでのバイオマーカーレベル

バイオマーカー	治療開始から 5 日以内の透析 N=28		治療開始から 5 日以内の透析なし N=27		P 値
	n	中央値 (最小値, 最大値)	n	中央値 (最小値, 最大値)	
血漿 Ba (ng/ml)	24	7360.8 (1741.6, 29886.6)	19	3829.0 (1280.4, 14232.5)	0.0252
血清 sTNF-R1 (pg/ml)	28	9042.3 (1514.4, 24781.6)	26	5436.4 (1330.6, 13737.3)	0.0021
血漿トロンボモジュリン (ng/ml)	25	12.1 (4.2, 25.2)	19	11.2 (3.8, 27.2)	0.3254
血漿 sC5b-9 (ng/ml)	24	807.9 (325.0, 1584.0)	19	1259.8 (424.0, 10007.0)	0.1092
血漿 D-二量体 (ng/ml)	25	5301.7 (1528.0, 47862.1)	24	3303.9 (474.0, 19258.3)	0.1585
血清 sVCAM-1 (ng/ml)	28	1435.2 (981.8, 5522.2)	26	1612.0 (763.5, 4050.0)	0.8694
尿シスタチン C/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	13	10688.8 (709.7, 38649.5)	23	5486.8 (100.0, 32867.8)	0.0561
尿 Ba/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	13	16790.0 (3849.0, 58478.0)	22	6509.5 (22.0, 22647.0)	0.0022
尿 sC5b-9/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	13	957.0 (31.0, 81600.0)	19	148.0 (9.0, 2410.0)	0.0551

【0302】

ベースラインバイオマーカーのベースライン臨床的尺度との関連性

また、ベースラインバイオマーカーレベルに対するベースライン臨床的尺度の単純回帰分析後（表 10）、増加した血漿 Ba、血漿トロンボモジュリン、及び血清 sTNF-R I の全てが、より低いベースライン eGFR 値と有意に関連した。正規化された尿シスタチン C、sC5b-9 及び Ba についても、より低いベースライン eGFR 値に関連した。増加した血漿 Ba、トロンボモジュリン、及び D-二量体、血清 sTNF-R I、並びに正規化された尿シスタチン C、sC5b-9、及び Ba の全てが、より高いベースライン UPCR 値と有意に関連した。ベースラインでの任意のバイオマーカーレベルとベース

10

20

30

40

50

ライン血小板数との間の有意な関連性は、同定されなかった。
【 0 3 0 3 】
【 表 1 0 - 1 】

表 10 ベースラインバイオマーカーレベルのベースライン血小板数、LDH、eGFR 及び UPCR との比較

バイオマーカー	ベースライン血小板数 (10 ⁹ /L)				ベースライン LDH (U/L)			
	n	回帰係数推定値	P 値	相関係数	n	回帰係数推定値	P 値	相関係数
血漿 Ba (ng/ml)	43	0.27	0.1237	0.1993	43	0	0.9726	0.0752
血漿 トロンボモジュリン (ng/ml)	44	0.29	0.2785	0.148	44	-0.15	0.4687	-0.0461
血漿 sC5b-9 (ng/ml)	43	-0.07	0.6486	-0.1691	43	0.03	0.8143	0.1057
血漿 D-二量体 (ng/ml)	49	-0.22	0.0652	-0.3185	49	0.24	0.0141	0.3583
血清 sTNF-RI (pg/ml)	54	0.27	0.0672	0.1925	54	-0.05	0.6802	0.0226
血清 sVCAM-1 (ng/ml)	54	-0.25	0.2154	-0.132	54	0.23	0.1812	0.2428
尿シスタチン C/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	36	-0.04	0.5717	-0.0032	36	0.1	0.16	0.1196
尿 sC5b-9/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	32	-0.08	0.1259	-0.2739	32	0.05	0.3467	0.1173
尿 Ba/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	35	0.07	0.4067	-0.0466	35	0.05	0.5568	0.0527

【 0 3 0 4 】

【表 1 0 - 2】

バイオマーカー	ベースライン eGFR (mL/分/1.73m ²)				ベースライン 尿タンパク質 (mg/dL)/ クレアチニン (mmol/L) 比			
	n	回帰係数推定値	P 値	相関係数	n	回帰係数推定値	P 値	相関係数
血漿 Ba (ng/ml)	43	-0.55	<0.0001	-0.5799	36	1.25	0.0001	0.6247
血漿 トロンボモジュリン (ng/ml)	44	-0.64	0.0023	-0.3404	37	1.27	0.0067	0.3208
血漿 sC5b-9 (ng/ml)	43	0.19	0.143	0.3482	36	-0.25	0.3712	-0.0597
血漿 D-二量体 (ng/ml)	49	-0.1	0.2996	-0.2018	39	0.55	0.0153	0.446
血清 sTNF-RI (pg/ml)	54	-0.53	<0.0001	-0.5879	42	0.93	0.0011	0.3939
血清 sVCAM-1 (ng/ml)	54	-0.1	0.5696	0.0403	42	0.39	0.3868	0.0777
尿シスタチン C/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	35	-0.25	0.0002	-0.5813	29	0.42	0.0048	0.4453
尿 sC5b-9/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	31	-0.1	0.0391	-0.435	27	0.45	<0.0001	0.8059
尿 Ba/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	34	-0.31	<0.0001	-0.5929	30	0.77	<0.0001	0.7646

eGFR, 推定糸球体濾過量; LDH, 乳酸デヒドロゲナーゼ; TMA, 血栓性微小血管障害症; yr, 歳

表 10(続き)

【 0 3 0 5】

2 6 週目及び 5 2 週目のベースラインバイオマーカーの臨床的尺度における変化との関連性

ベースラインバイオマーカーレベルに対する単純回帰を用いる、2 6 週目及び 5 2 週目の臨床的尺度における変化の分析では、ベースラインバイオマーカーレベルと血小板数の変化との間の有意な関連性はいずれの時点でも見出されなかった（表 1 1）。ベースライン尿 s C 5 b - 9 / クレアチニンレベルは、2 6 週目で L D H の変化と有意に関連したが、5 2 週目では有意に関連しなかった（表 1 2）。増加した血漿 B a 及び D - 二量体、血清 s T N F - R 1 及び s V C A M - 1、並びに尿シスタチン C / クレアチニン及び B a /

クレアチニンは、26週目でeGFRのベースラインからの変化と有意に逆相関した（表13）。

【0306】

【表11】

表 11.26 週目及び 52 週目のベースラインバイオマーカーの血小板数の変化との比較

バイオマーカー	26 週目の血小板数の変化 ($10^9/L$)				52 週目の血小板数の変化 ($10^9/L$)			
	n	回帰係数 推定値	P 値	相関 係数	n	回帰係数 推定値	P 値	相関 係数
血漿 Ba (ng/ml)	42	-18.55	0.3866	- 0.1929	39	-32.98	0.1029	- 0.3939
血漿トロンボモジュリン (ng/ml)	42	-33.13	0.3386	- 0.3377	39	-44.78	0.1666	- 0.4324
血漿 sC5b-9 (ng/ml)	42	35.51	0.0725	0.2388	39	3.47	0.9088	- 0.0690
血漿 D-二量体 (ng/ml)	47	-10.32	0.3891	- 0.1662	44	-15.87	0.2084	- 0.2150
血清 sTNF-R1 (pg/ml)	45	-2.80	0.8630	- 0.2887	44	-14.59	0.2794	- 0.3661
血清 sVCAM-1 (ng/ml)	46	-45.54	0.1510	- 0.2698	44	-54.65	0.0892	- 0.2832
尿シスタチン C/クレアチ ニン (ng/mg クレアチニ ン)	37	-11.02	0.3402	- 0.3146	35	-10.67	0.1216	- 0.3229
尿 sC5b-9/クレアチニ ン (ng/mg クレアチニン)	39	-13.21	0.3564	- 0.1420	40	1.59	0.8894	0.1465
尿 Ba/クレアチニ ン (ng/mg クレアチニン)	34	-9.70	0.1571	- 0.3724	36	-7.65	0.1859	- 0.3239

【0307】

10

20

30

40

50

【表 1 2】

表 12.26 週目及び 52 週目のベースラインバイオマーカーの乳酸デヒドロゲナーゼの変化との比較

バイオマーカー	26 週目の LDH の変化 (U/L)				52 週目の LDH の変化 (U/L)			
	n	回帰係数 推定値	P 値	相関係数	n	回帰係数 推定値	P 値	相関係数
血漿 Ba (ng/ml)	42	195.63	0.0799	0.1843	39	148.96	0.1987	0.1848
血漿トロンボモジュリン (ng/ml)	42	197.92	0.2781	0.1623	39	221.86	0.2131	0.2826
血漿 sC5b-9 (ng/ml)	42	21.65	0.8431	-0.0523	39	252.52	0.1375	0.0051
血漿 D-二量体 (ng/ml)	47	-14.05	0.8307	0.0661	44	-80.41	0.3033	-0.0499
血清 sTNF-R1 (pg/ml)	45	17.80	0.8469	0.2282	44	54.70	0.5201	0.2779
血清 sVCAM-1 (ng/ml)	46	102.39	0.5688	0.1740	44	148.72	0.4569	0.1051
尿シスタチン C/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	37	31.73	0.6243	0.1268	35	42.99	0.4074	0.1249
尿 sC5b-9/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	39	139.35	0.0454	0.1478	40	63.14	0.3448	0.1049
尿 Ba/クレアチニン (ng/mg クレアチニン)	34	47.37	0.1846	0.2990	36	42.76	0.2334	0.1996

LDH, 乳酸デヒドロゲナーゼ

【 0 3 0 8 】

【表 1 3】

表 13 26 週目及び 52 週目のベースラインバイオマーカーの推定糸球体濾過量の変化との比較

バイオマーカー	26 週目の eGFR の変化 (mL/分/1.73m ²)				52 週目の eGFR の変化 (mL/分/1.73m ²)			
	n	回帰係数 推定値	P 値	相関 係数	n	回帰係数 推定値	P 値	相関 係数
血漿 Ba (ng/ml)	41	-18.36	0.0006	- 0.7447	38	-20.38	<0.0001	- 0.7381
血漿トロンボモジュリン (ng/ml)	41	-21.78	0.0163	- 0.6654	38	-30.15	<0.0001	- 0.8356
血漿 D-二量体 (ng/ml)	41	3.55	0.5508	- 0.0846	38	-11.99	0.1516	- 0.4229
血漿 sC5b-9 (ng/ml)	46	-13.29	<0.0001	- 0.4875	43	-15.05	0.0001	- 0.5023
血清 sTNF-R1 (pg/ml)	44	-23.96	<0.0001	- 0.7938	43	-22.50	<0.0001	- 0.8260
血清 sVCAM-1 (ng/ml)	45	-26.37	0.0037	- 0.5847	43	-24.93	0.0042	- 0.6880
尿シスタチン C/クレアチ ニン (ng/mg クレアチニ ン)	36	-8.85	0.0059	- 0.4938	34	-8.54	0.0003	- 0.6691
尿 sC5b-9/クレアチニ ン (ng/mg クレアチニン)	38	-1.51	0.7046	0.1018	39	0.25	0.9437	0.1678
尿 Ba/クレアチニ ン (ng/mg クレアチニン)	33	-8.31	<0.0001	- 0.8692	35	-5.45	0.0008	- 0.7028

eGFR, 推定糸球体濾過量

【0309】

52 週目、ベースライン血漿トロンボモジュリンレベルとの有意な逆関連性を加えることによって、同じ関係が認められた（表 1 3 及び図 7 及び図 8）。

【0310】

26 週目及び 52 週目のベースラインバイオマーカーの完全 TMA 奏効との関連性

ロジスティック回帰分析によって評価する場合、血清 sVCAM-1、血漿トロンボモジュリン、血清 sTNF-R1、及び血漿 Ba レベルの増加が、完全 TMA 奏効を達成する可能性が高まることと有意に関連することが見出され；正規化された尿 sC5b-9 の場合、関連性は、有意性に接近した。治療の 52 週目、同じ関連性が認められた（図 9）。完全 TMA 奏効は、患者の > 60% において達成され、完全 TMA 奏効までの期間中央値は、86 日であった（95% CI 42, 401）。

【0311】

ベースラインバイオマーカーレベルの完全 TMA 奏効との関連性

血漿 Ba 及び尿 sC5b-9、血漿トロンボモジュリン、及び血清 sTNF-R1 のベースラインレベルは、完全 TMA 奏効者において、非奏効者と比較して有意により低かった（図 9）。

【0312】

選ばれたベースラインバイオマーカーレベルの臨床的感受性及び特異性

aHUS 患者対正常ドナーのレベルにおける血漿及び尿中のベースライン Ba 及び sC

5 b-9 レベルの C o m b i R O C 分析によると、バイオマーカーを個別に分析した時、2 群のある程度の重複が認められることが示された (図 10 A)。組み合わせバイオマーカー分析を用いた時、この効果は消失し、尿及び血漿の両方において高い特異性及び選択性が達成された (図 10 B、C 及び D)。

【0313】

個別の曲線下面積値においては、s C 5 b-9 は、尿中で血漿中より大幅に大きかった (0.72 対 0.52) 一方で、B a の場合、それは血漿中でより大きかった (0.67 対 0.80) (図 11 A)。血漿 s C 5 b-9 において、尿 s C 5 b-9 よりも偽陽性 (F P) 及び偽陰性 (F N) の結果が生じた (32 F P、19 F N 対 0 F P、5 F N) ; しかし、尿及び血漿中の B a レベルにおける分布は酷似し、偽の結果はほとんど認められなかった (図 11 B)。

10

【0314】

考察

この試験において、代替及び終末補体経路の活性に関連するバイオマーカー、すなわち、それぞれ B a 及び s C 5 b-9 は、腎機能に関連するベースライン臨床的尺度、すなわち、e G F R 及び U P C R と並んで、ベースライン P E / P I 及び透析状態と有意に関連することが見出された。ベースライン血漿 B a 及び尿 s C 5 b-9 レベルの両方は、52 週目、完全 T M A 奏効との関連性を示した。分析培地に基づくこれらバイオマーカーの有用性において、尿バイオマーカーの場合、クレアチニンレベルに対して正規化されたか否かと無関係に、差異が認められた (血漿対血清対尿)。例えば、血漿中だが尿中でない s C 5 b-9 及び尿中だが血漿中でない B a は、治療開始の 7 日以内に P E / P I を必要とする患者に関連した。血漿注入が血液バイオマーカーレベルを本質的に変更することから、尿であれば、この設定でのバイオマーカー試験にとってより信頼できる培地であることが予想されるであろう。しかし、クレアチニンレベルに対して正規化する場合、尿中 B a は、P E / P I 状態ともはや有意に関連しなかった。さらに、尿及び血漿 B a の両方が治療開始前の 5 日以内の透析状態と有意に関連した一方で、尿 s C 5 b-9 のみがこの関連性を有し ; クレアチニンに対する正規化時、透析状態との有意な関連性を維持するのは、尿中の B a であるが s C 5 b-9 でなかった。

20

【0315】

分析培地は、他の s C 5 b-9 の関連性にも関連した。s C 5 b-9 のベースラインレベルは、尿中で分析すると、正常ドナーのレベルからはるかに大きい範囲にわたって増加することが見出された。加えて、ベースラインの尿中であるが血漿中でない s C 5 b-9 は、52 週目に U P C R の変化と有意に関連し ; 尿中であるが血漿中でない s C 5 b-9 レベルは、治療の 52 週にわたって低下した。これらの観察結果は、尿中对血漿中の我々の s C 5 b-9 の R O C 分析と併せて、尿がより信頼できる分析培地であることを示唆する。

30

【0316】

この試験の結果によると、B a 及び s C 5 b-9 が、- 特に尿サンプル中で分析すると -、a H U S を有する成人におけるそれらの、正常ドナーにおける最大観測レベルと比較してのほぼ全面的な増加と並んで、それらの選ばれた臨床的尺度及びアウトカムとの関連性から明らかであるように、C M - T M A のバイオマーカーとしての使用への可能性を示すことが示唆される。尿中のそれらの検出の信頼度は、特に組み合わせの場合、図 10 によってさらに証明された。

40

【0317】

ドットプロット (図 10 A) は、a H U S 対 H V における B a 及び s C 5 b-9 レベルの相対的分布をグラフ表示する。A U C 曲線 (図 10 B) は、B a 及び s C 5 b-9 値を C o m b i R O C のウェブベースのアルゴリズムを用いて組み合わせる場合、受性 / 1 - 特異性の組み合わせを表し、バイオリンプロット (図 10 C) は、真陽性 / 真陰性 / 偽陽性 / 偽陰性における最適閾値カットオフに対する a H U S 及び H V の分布のビジュアルを提示し、要約表 (図 10 D) は、図 10 C のバイオリンプロットの表形式である、C O m

50

b i R O C 分析からの実値を提示する。追加セクションにおける C o m b i R O C 図は、個別結果である。こうしたことから、この証拠により、これら 2 つの補体特異的バイオマーカーの組み合わせが、活性を測定し、補体媒介 T M A 患者を同定する時点で、いずれか 1 つの単独よりも臨床的に感受性があり、特異的であり、補体阻害剤療法からの臨床的有用性を予測することが確認される。

【 0 3 1 8 】

この分析は、これらのバイオマーカーが、C M - T M A 疾患、特に腎機能に関連するものの具体的側面の診断及び予後における有用性を示し得ることを示唆する。

【 0 3 1 9 】

この試験の結果は、治療中の U P C R の変化とのその有意な関連性から明らかなように、a H U S の有望なバイオマーカーとしての s C 5 b - 9 (特に、尿中 s C 5 b - 9) の使用を、腎機能 (不全) のマーカーとしてのその使用における具体的ケースとともに支持する。さらに、s C 5 b - 9 レベルは、ベースライン P E / P I の要件 (血漿 s C 5 b - 9) 及び透析状態 (尿中 s C 5 b - 9) にも関連した。

【 0 3 2 0 】

結論

この分析の結果は、特に尿中での a H U S の管理における有望な診断及び予後的有用性を伴う主要なバイオマーカーのセットに光を当てる。これらのデータはまた、抗補体 C 5 療法に応答したバイオマーカーのレベルに対する薬力学的効果を、特に B a 及び s C 5 b - 9 における治療奏効を予測するためのそれらの有用性ととともに示す。患者リスク層別化及び管理決定を導くため、より大きい患者集団におけるこれらバイオマーカーのさらなる評価及び検証が必要である。

【 0 3 2 1 】

本明細書中で引用される全ての参考文献は、あたかも各参考文献が参照により組み込まれるように具体的且つ個別に示されたように、参照により本明細書に組み込まれる。あらゆる参考文献の引用は、出願日に先立つその開示が意図され、本開示が先行発明の理由でこうした参考文献に先行するように権利を与えられないことの承認として解釈されるべきでない。

【 0 3 2 2 】

上記の要素のそれぞれ、又は 2 つ以上が併せて、上記のタイプと異なる他のタイプの方法において有用な適用を見出すこともできることは理解されるであろう。さらなる分析を伴わずに、上記は、現在の知識を適用することによって、他方が、先行技術の視点から、添付の特許請求の範囲に記載される本開示の一般的又は具体的態様の本質的特徴を十分に構成するという特徴を除くことなく、それを様々な適用に容易に適応させることができるという本開示の主旨をそのように完全に示すことになる。上記の実施形態は、あくまで例として提示される。

10

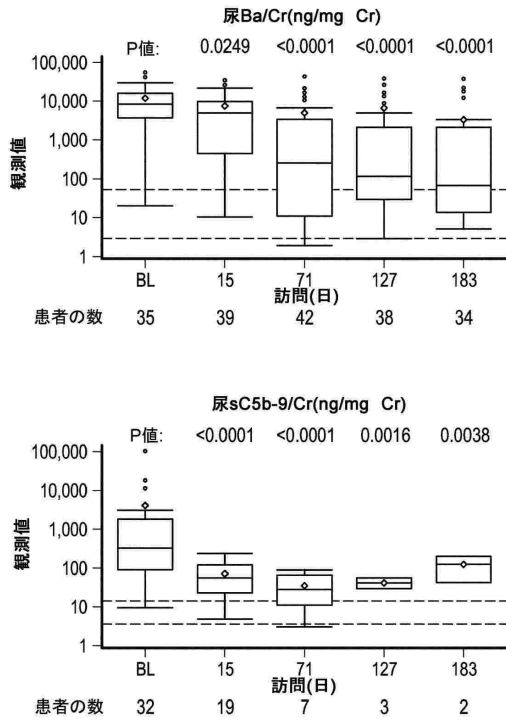
20

30

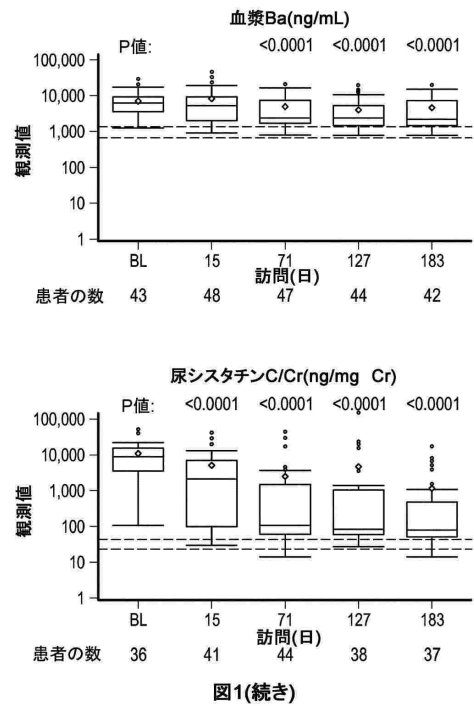
40

50

【図面】
【図 1 - 1】



【図 1 - 2】



【図 2】

バイオマーカー	ベースライン血小板数 (10 ⁹ /L)				ベースラインLDH (U/L)			
	n	回帰係数推定値	P値	相関係数	n	回帰係数推定値	P値	相関係数
血漿Ba (ng/mL)	43	0.27	0.1237	0.1993	43	0	0.9726	0.0752
血漿sTNF-R1 (pg/mL)	54	0.27	0.0672	0.1925	54	-0.05	0.6802	0.0226
血漿トロンボモジュリン (ng/mL)	44	0.29	0.2785	0.1480	44	-0.15	0.4687	-0.0461
血漿sC5b-9 (ng/mL)	43	-0.07	0.6486	-0.1691	43	0.03	0.8143	0.1057
血漿D-二量体 (ng/mL)	49	-0.22	0.0652	-0.3185	49	0.24	0.0141	0.3583
血漿sVCAM-1 (ng/mL)	54	-0.25	0.2154	-0.1320	54	0.23	0.1812	0.2428
尿シタチンC/Cr (ng/mg Cr)	36	-0.04	0.5717	-0.0032	36	0.10	0.1600	0.1196
尿Ba/Cr (ng/mg Cr)	35	0.07	0.4067	-0.0466	35	0.05	0.5568	0.0527
尿sC5b-9/Cr (ng/mg Cr)	32	-0.08	0.1259	-0.2739	32	0.05	0.3467	0.1173

バイオマーカー	ベースラインeGFR (mL/分/1.73m ²)				ベースライン尿タンパク (mg/dL)/Cr(mmol/L)比			
	n	回帰係数推定値	P値	相関係数	n	回帰係数推定値	P値	相関係数
血漿Ba (ng/mL)	43	-0.55	<0.0001	-0.5799	36	1.25	0.0001	0.6247
血漿sTNF-R1 (pg/mL)	54	-0.53	<0.0001	-0.5879	42	0.93	0.0011	0.3939
血漿トロンボモジュリン (ng/mL)	44	-0.64	0.0023	-0.3404	37	1.27	0.0067	0.3208
血漿sC5b-9 (ng/mL)	43	0.19	0.1430	-0.3482	36	-0.25	0.3712	-0.0597
血漿D-二量体 (ng/mL)	49	-0.10	0.2996	-0.2018	39	0.55	0.0153	0.446
血漿sVCAM-1 (ng/mL)	54	-0.10	0.5696	0.0403	42	0.39	0.3868	0.0777
尿シタチンC/Cr (ng/mg Cr)	35	-0.25	0.0002	-0.5813	29	0.42	0.0048	0.4453
尿Ba/Cr (ng/mg Cr)	34	-0.31	<0.0001	-0.5929	30	0.77	<0.0001	0.7846
尿sC5b-9/Cr (ng/mg Cr)	31	-0.10	0.0391	-0.435	27	0.45	<0.0001	0.8059

図2

【図 3】

バイオマーカー	血小板数の変化 (10 ⁹ /L)				LDHの変化 (U/L)			
	n	回帰係数推定値	P値	相関係数	n	回帰係数推定値	P値	相関係数
血漿Ba (ng/mL)	37	-17.92	0.3404	-0.0894	37	12.08	0.8945	-0.1342
血漿sTNF-R1 (pg/mL)	48	-33.23	0.0371	-0.2901	48	118.81	0.1342	0.1076
血漿トロンボモジュリン (ng/mL)	38	-48.34	0.0858	-0.2843	38	208.84	0.1247	0.2127
血漿sC5b-9 (ng/mL)	37	-9.28	0.5807	0.0177	37	-20.18	0.8064	-0.0235
血漿D-二量体 (ng/mL)	43	26.69	0.0423	0.3087	43	-98.40	0.1332	-0.2397
血漿sVCAM-1 (ng/mL)	48	-23.72	0.3105	-0.1102	48	12.92	0.9111	-0.1138
尿シタチンC/Cr (ng/mg Cr)	32	-3.09	0.7172	-0.0764	32	-63.02	0.2009	-0.1433
尿Ba/Cr (ng/mg Cr)	31	-8.19	0.3898	0.0117	31	-38.30	0.4599	-0.1214
尿sC5b-9/Cr (ng/mg Cr)	28	12.73	0.0263	0.3466	28	-19.65	0.6178	-0.1149

バイオマーカー	eGFRの変化 (mL/分/1.73m ²)				尿タンパクの変化 (mg/dL)/Cr(mmol/L)比			
	n	回帰係数推定値	P値	相関係数	n	回帰係数推定値	P値	相関係数
血漿Ba (ng/mL)	37	-13.98	0.0085	-0.4056	28	-27.42	0.1021	-0.5276
血漿sTNF-R1 (pg/mL)	47	-15.56	0.0019	-0.464	34	-16.81	0.2233	-0.3348
血漿トロンボモジュリン (ng/mL)	38	-24.21	0.0024	-0.5636	29	-24.43	0.3116	-0.2453
血漿sC5b-9 (ng/mL)	37	-3.17	0.5269	0.0037	28	15.91	0.1830	0.2337
血漿D-二量体 (ng/mL)	42	7.84	0.0539	0.2378	31	-16.88	0.1871	-0.5024
血漿sVCAM-1 (ng/mL)	47	-26.13	0.0003	-0.5346	34	7.03	0.7744	-0.013
尿シタチンC/Cr (ng/mg Cr)	30	-2.28	0.4290	-0.0585	23	-9.72	0.2385	-0.2994
尿Ba/Cr (ng/mg Cr)	30	2.40	0.3957	0.0919	24	-17.28	0.0110	-0.6487
尿sC5b-9/Cr (ng/mg Cr)	26	1.91	0.3650	0.1371	21	-21.46	<0.0001	-0.7753

図3

10

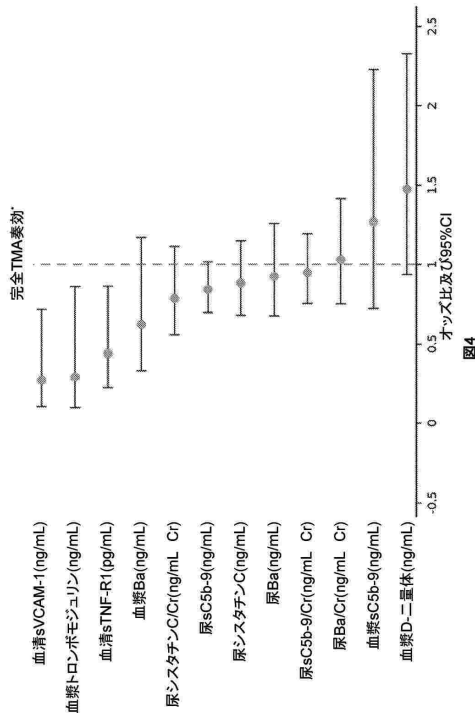
20

30

40

50

【図 4】



【図 5 - 1】

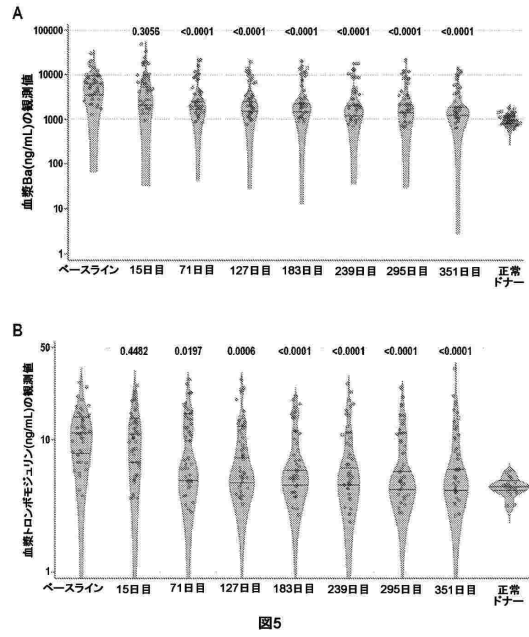


図5

【図 5 - 2】

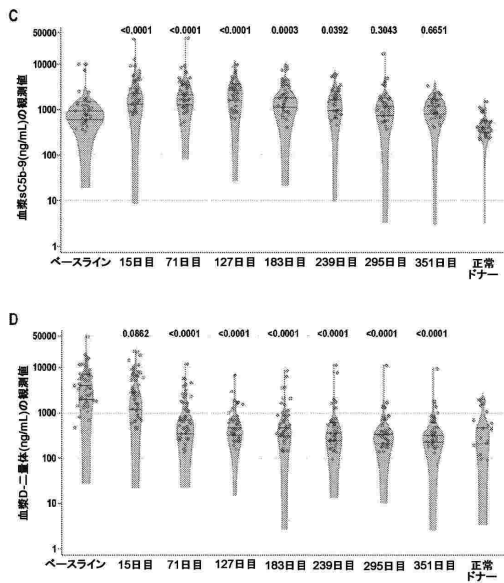


図5(続き)

【図 5 - 3】

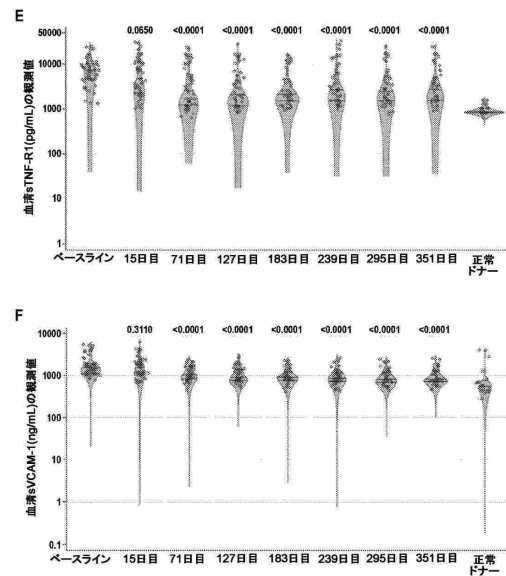


図5(続き)

10

20

30

40

50

【図 6 - 1】

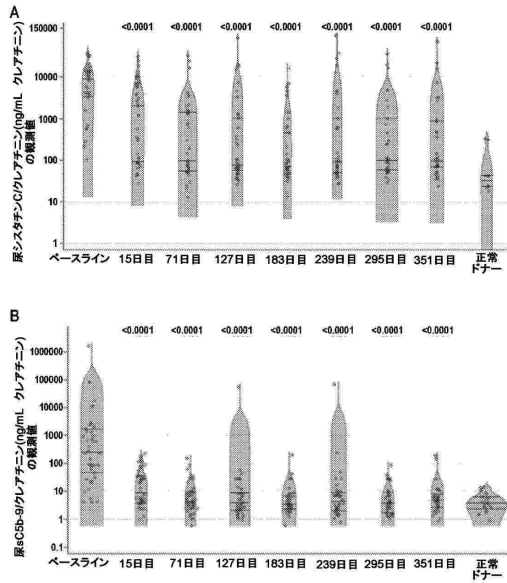


図6

【図 6 - 2】

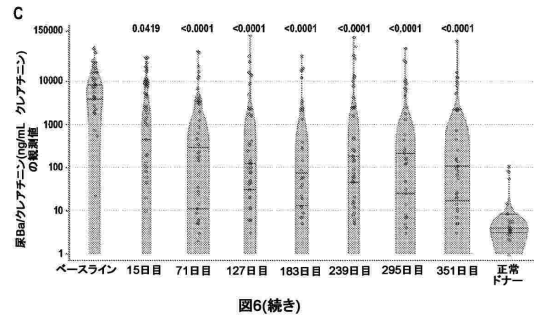


図6(続き)

【図 7 - 1】

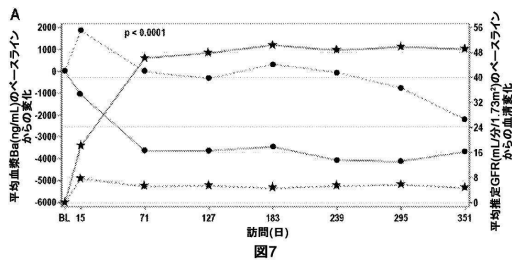


図7

【図 7 - 2】

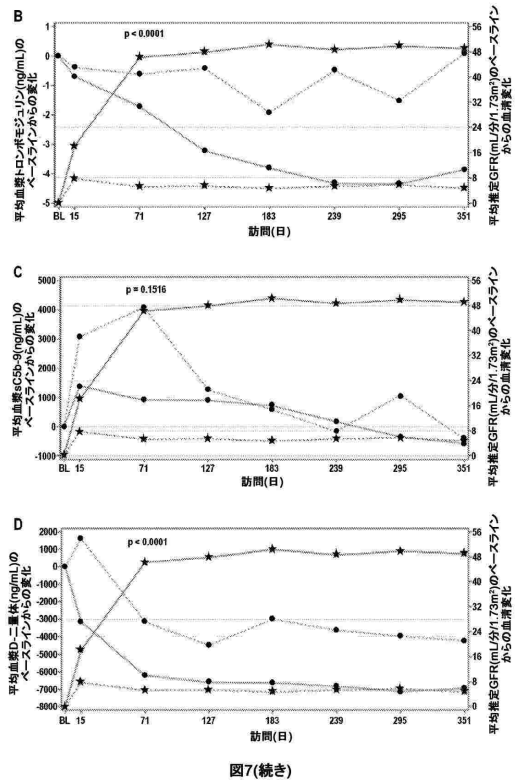
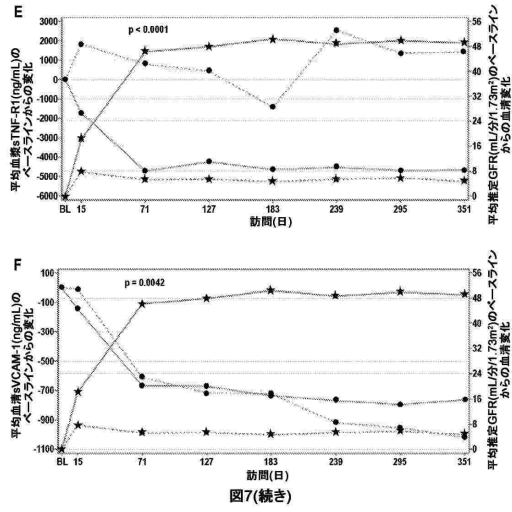
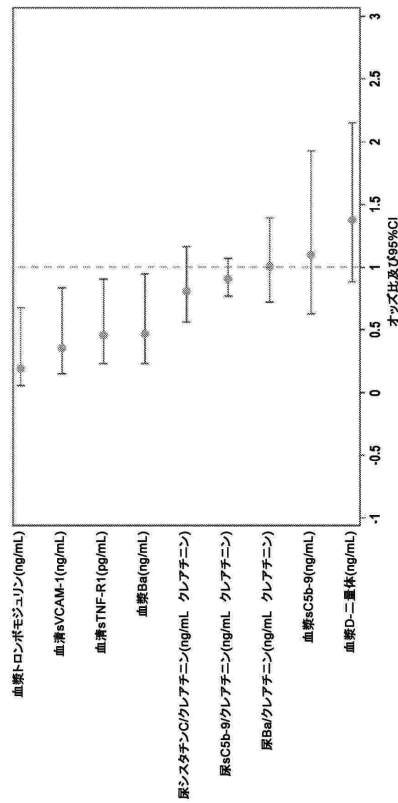


図7(続き)

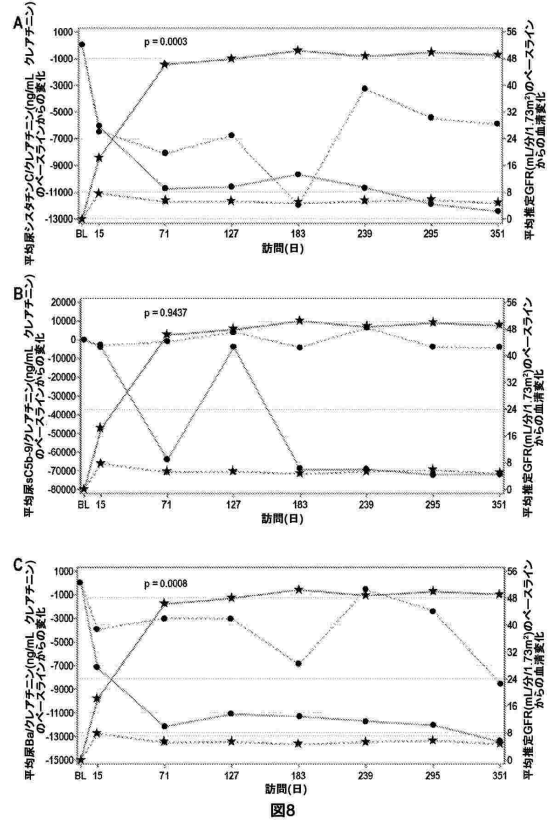
【図 7 - 3】



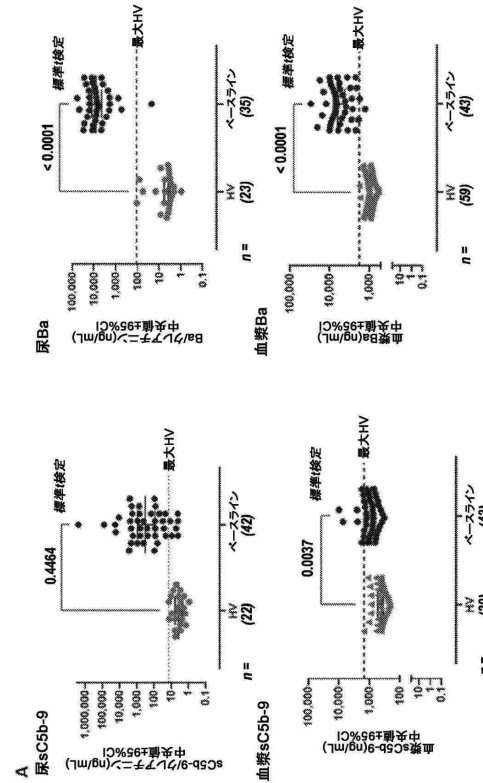
【図 9】



【図 8】



【図 10 - 1】



10

20

30

40

50

【図 10 - 2】

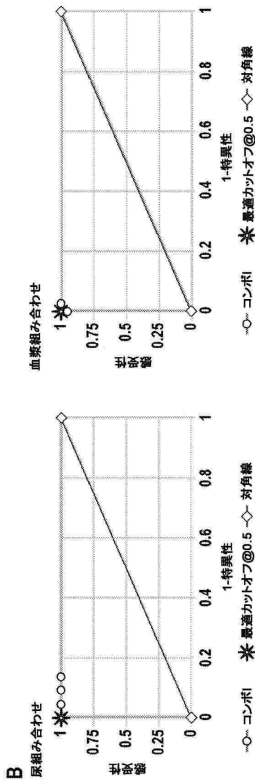


図10(続き)

【図 10 - 3】

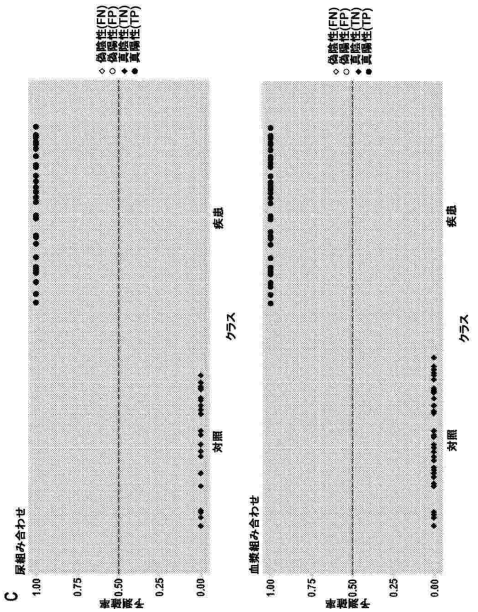


図10(続き)

【図 10 - 4】

D

原組み合わせ					
組み合わせ	AUC	SE (TP)	SP (TN)	最適カットオフ	FP/FN
sC5b9	0.956	0.857	1	0.717	0/5
Ba	0.996	0.971	1	0.673	0/1
sC5b9/Ba	1	1	1	0.500	0/0

血漿組み合わせ					
組み合わせ	AUC	SE (TP)	SP (TN)	最適カットオフ	FP/FN
sC5b9	0.562	0.452	0.846	0.517	32/19
Ba	0.999	0.976	1	0.795	0/1
sC5b9/Ba	1	1	1	0.5	0/0

図10(続き)

【図 11 - 1】

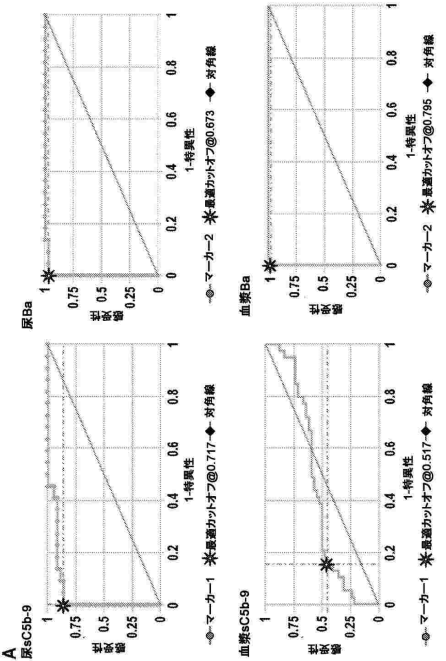
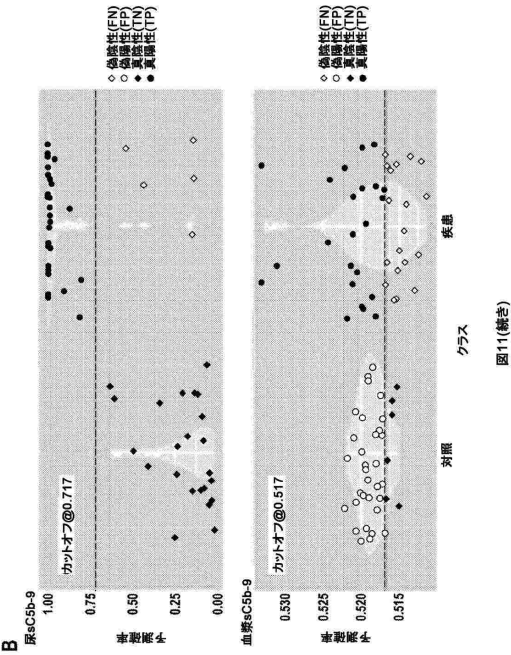
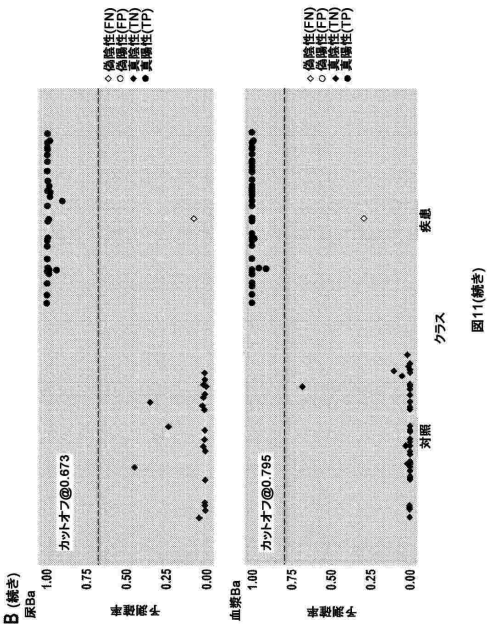


図11

【図 1 1 - 2】



【図 1 1 - 3】



10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/031062

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N33/68
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2015/079613 A1 (MCKNIGHT SUSAN FAAS [US] ET AL) 19 March 2015 (2015-03-19) the whole document In particular: Paragraphs 3-25 and 121-161; Figures 1-24; Claims 130-139, 152-162 and 293-298. ----- -/--	1-62

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 August 2022

Date of mailing of the international search report

17/10/2022

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

Authorized officer

C.F. Angioni

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/031062

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	COFIELL ROXANNE ET AL: "Eculizumab reduces complement activation, inflammation, endothelial damage, thrombosis, and renal injury markers in aHUS", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 125, no. 21, 21 May 2015 (2015-05-21), pages 3253-3262, XP086510994, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/BLOOD-2014-09-600411 [retrieved on 2020-11-19] the whole document See in particular: Title; Abstract; Materials and methods, Biomarker detection; Pages 3255-3256, "Biomarker levels at baseline"; Tables 1 and 2. -----	1-62
Y	DIORIO CAROLINE ET AL: "Evidence of thrombotic microangiopathy in children with SARS-CoV-2 across the spectrum of clinical presentations", BLOOD ADVANCES, vol. 4, no. 23, 8 December 2020 (2020-12-08), pages 6051-6063, XP055952471, ISSN: 2473-9529, DOI: 10.1182/bloodadvances.2020003471 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7724906/pdf/advancesADV2020003471.pdf the whole document In particular: Title; Abstract; Methods. -----	1-62
Y	PURDE METTE-TRIIN ET AL: "The cystatin C/creatinine ratio, a marker of glomerular filtration quality: associated factors, reference intervals, and prediction of morbidity and mortality in healthy seniors", TRANSLATIONAL RESEARCH, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 169, 14 November 2015 (2015-11-14), page 80, XP029410586, ISSN: 1931-5244, DOI: 10.1016/J.TRS.2015.11.001 the whole document In particular: Title; Abstract; Methods. -----	1-62

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/031062

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:
1-62 (partially)

Remark on Protest

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

International Application No. PCT/US2022 /031062

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-62 (partially)

Methods for the diagnosis, methods for evaluating treatment, methods for monitoring treatment and methods of treatment of complement-mediated thrombotic microangiopathy (CM-TMA) as well as compositions and kits for use in such methods, wherein the biomarker is selected from cystatin C or cystatin C/creatinine ratio.

2. claims: 1-62 (partially)

Methods for the diagnosis, methods for evaluating treatment, methods for monitoring treatment and methods of treatment of complement-mediated thrombotic microangiopathy (CM-TMA) as well as compositions and kits for use in such methods, wherein the biomarker is selected from complement factor Ba or complement factor Ba/creatinine ratio.

3. claims: 1-62 (partially)

Methods for the diagnosis, methods for evaluating treatment, methods for monitoring treatment and methods of treatment of complement-mediated thrombotic microangiopathy (CM-TMA) as well as compositions and kits for use in such methods, wherein the biomarker is selected from complement sC5b-9 or complement sC5b-9/creatinine ratio.

4. claims: 1-62 (partially)

Methods for the diagnosis, methods for evaluating treatment, methods for monitoring treatment and methods of treatment of complement-mediated thrombotic microangiopathy (CM-TMA) as well as compositions and kits for use in such methods, wherein the biomarker is selected from sVCAM-1.

5. claims: 1-62 (partially)

Methods for the diagnosis, methods for evaluating treatment, methods for monitoring treatment and methods of treatment of complement-mediated thrombotic microangiopathy (CM-TMA) as well as compositions and kits for use in such methods, wherein the biomarker is selected from sTNF-R1.

6. claims: 1-62 (partially)

Methods for the diagnosis, methods for evaluating treatment, methods for monitoring treatment and methods of treatment of

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2022 /031062

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

complement-mediated thrombotic microangiopathy (CM-TMA) as well as compositions and kits for use in such methods, wherein the biomarker is selected from thrombomodulin.

7. claims: 63-74(partially)

Composition comprising a complement inhibitor and use thereof for the treatment of CM-TMA, wherein the complement inhibitor is an anti-C5 antibody or a C5-binding fragment thereof defined by eculizumab.

8. claims: 63-74(partially)

Composition comprising a complement inhibitor and use thereof for the treatment of CM-TMA, wherein the complement inhibitor is an anti-C5 antibody or a C5-binding fragment thereof defined by ravulizumab.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				International application No	
Information on patent family members				PCT/US2022/031062	
Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
US 2015079613	A1	19-03-2015	AU 2014306002	A1	18-02-2016
			BR 112016002435	A2	12-09-2017
			CA 2918959	A1	12-02-2015
			CN 105683759	A	15-06-2016
			EA 201690346	A1	31-08-2016
			EP 3011345	A2	27-04-2016
			EP 3290922	A1	07-03-2018
			ES 2650917	T3	23-01-2018
			HK 1218443	A1	17-02-2017
			JP 6211701	B2	11-10-2017
			JP 6798934	B2	09-12-2020
			JP 2016528235	A	15-09-2016
			JP 2017142266	A	17-08-2017
			JP 2021009162	A	28-01-2021
			KR 20160033230	A	25-03-2016
			KR 20180026555	A	12-03-2018
			KR 20200066743	A	10-06-2020
			SI 3011345	T1	29-12-2017
			US 2015079613	A1	19-03-2015
			US 2016154009	A1	02-06-2016
			US 2017023590	A1	26-01-2017
			US 2017269102	A1	21-09-2017
			US 2021285964	A1	16-09-2021
			WO 2015021166	A2	12-02-2015

フロントページの続き

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D
K,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),O
A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,
LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,
RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,Z
A,ZM,ZW

弁護士 山本 健策

- (72)発明者 キャメット, トビン ジェイ.
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 2 1 0, ボストン, シーポート ブールバード 1 2 1
- (72)発明者 マックナイト, スーザン ファース
 アメリカ合衆国 コネチカット 0 6 3 7 1, オールド ライム, ストーンウッド ドライブ 1 4
- F ターム (参考) 4C085 AA14 BB11 BB31 EE01