

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-516988  
(P2016-516988A)

(43) 公表日 平成28年6月9日(2016.6.9)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68	2 G O 4 5
GO 1 N 33/50 (2006.01)	GO 1 N 33/50 Z	4 B O 6 3
GO 1 N 33/15 (2006.01)	GO 1 N 33/15 Z	4 C O 8 6
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	
A 6 1 K 31/437 (2006.01)	A 6 1 K 31/437	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 62 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2015-562444 (P2015-562444)  
 (86) (22) 出願日 平成26年3月4日 (2014.3.4)  
 (85) 翻訳文提出日 平成27年9月10日 (2015.9.10)  
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2014/059427  
 (87) 国際公開番号 W02014/140995  
 (87) 国際公開日 平成26年9月18日 (2014.9.18)  
 (31) 優先権主張番号 61/794, 385  
 (32) 優先日 平成25年3月15日 (2013.3.15)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 304044793  
 アルファ ワッセルマン ソシエタ ペル  
 アチオニ  
 ALFA WASSERMANN S. P  
 . A.  
 イタリア国 65020 (ピエ) アラ  
 ノ ヴィア エンリコ フェルミ 1  
 (74) 代理人 100090686  
 弁理士 鎌田 充生  
 (72) 発明者 ヴィスコミ, ジュゼッペ クラウディオ  
 イタリア国, イー40133 ボローニ  
 ヤ, ヴィア ラガッツィ デル '99  
 , 5 アルファ ワッセルマン ソシエ  
 タ ペル アチオニ内

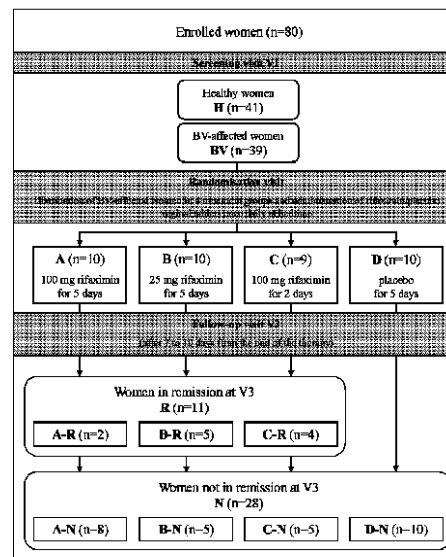
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 膣感染症を診断するための方法

(57) 【要約】

本発明は、膣感染症を評価するための診断方法に関し、この方法は、特異的タンパク質の使用を含む。本発明はさらに、膣感染症の抗生物質による治療後の感染からの回復を評価するため、及びこの感染の回復及び寛解を予測するための診断方法における特異的タンパク質の使用に関する。本発明はまた、リファキシミンによる治療後の膣感染症からの回復を評価するため、及びこの感染の回復及び寛解を予測するための特異的タンパク質の使用を含む診断方法に関する。

Figure 1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

腔内細菌感染の検査を受ける個体において前記感染を診断する方法であって、

- ・前記個体から得られた腔液サンプルをプロテオーム解析に供する工程、
  - ・健康な又は感染されていない個体由来の腔液を表す参照サンプルにおけるタンパク質の発現レベルと比較して、検査腔液サンプルにおいて発現レベルが変化したタンパク質を決定する工程であって、参照サンプルに対して検査サンプルにおける 1 又は複数のタンパク質の発現レベルの減少又は増大により腔感染症を診断する、工程、及び
  - ・診断の結果を用いて前記個体に治療を提供できるように前記診断の結果を報告する工程、又は前記診断の結果に基づいて前記個体を治療する工程
- を含む方法。

10

## 【請求項 2】

参照サンプルに対して検査サンプルにおいて減少又は増大する 1 又は複数のタンパク質が、ビタミン D 結合タンパク質、デスモコリン - 2、カルシウム依存性塩素チャネル制御因子 4、カタラーゼ、低分子プロリンリッチタンパク質 3、ガレクチン - 3 - 結合タンパク質、ヘモペキシン、免疫グロブリンファミリー、中間径フィラメントファミリー、リポカリンファミリー、1 - 酸性糖タンパク質 1、1 - 酸性糖タンパク質 2、好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン、リンパ球特異的タンパク質 1、ミエロプラスチン、ペリリピン - 3、ペリプラキン、タンパク質 S 1 0 0 - A 9、タンパク質 S 1 0 0 - A 7、及びスーパーオキシドディスムターゼ [ C u - Z n ] からなる群より選択される請求項 1 記載の方法。

20

## 【請求項 3】

参照サンプルに対して検査サンプル液において増大する 1 又は複数のタンパク質が、デスモコリン - 2、低分子プロリンリッチタンパク質 3、免疫グロブリン J 鎖、ケラチン I 型細胞骨格 1 0、ケラチン I I 型細胞骨格 1、上皮ケラチン I I 型細胞骨格 2、ケラチン I I 型細胞骨格 5、好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン、リンパ球特異的タンパク質 1、ペリリピン - 3 及びペリプラキンからなる群より選択される請求項 1 又は 2 記載の方法。

## 【請求項 4】

参照サンプルに対して検査サンプルにおいて減少する 1 又は複数のタンパク質が、ビタミン D 結合タンパク質、カルシウム依存性塩素チャネル制御因子 4、カタラーゼ、ガレクチン - 3 - 結合タンパク質、ヘモペキシン、免疫グロブリン M 鎖定常領域、1 - 酸性糖タンパク質 1、1 - 酸性糖タンパク質 2、ミエロプラスチン、タンパク質 S 1 0 0 - A 9、タンパク質 S 1 0 0 - A 7 及びスーパーオキシドディスムターゼ [ C u - Z n ] からなる群より選択される請求項 1 又は 2 記載の方法。

30

## 【請求項 5】

検査サンプルと参照サンプルとの発現増大の比率が、約 1 . 5 ~ 約 4 0 の範囲にある請求項 1 記載の方法。

## 【請求項 6】

検査サンプルと参照サンプルとのタンパク質発現減少の比率が、約 - 1 . 5 ~ 約 - 5 6 5 0 の範囲にある請求項 1 記載の方法。

40

## 【請求項 7】

抗生物質による治療後に寛解の検査を受ける個体の細菌性腔感染症からの寛解の状態を診断する方法であって、

- ・抗生物質による治療後に検査を受ける前記個体から得られた腔液サンプルをプロテオーム解析に供する工程、
- ・B V 感染を患う個体由来の腔液サンプルにおけるタンパク質の発現レベルと比較して、検査液サンプルにおいて発現レベルが変化したタンパク質を決定する工程であって、B V 感染サンプルに対して検査サンプルにおける少なくとも 1 つのタンパク質の発現レベルの減少又は増大により、抗生物質による治療後の B V からの寛解の状態を診断する、工程、

50

及び

・診断の結果を用いて前記個体に治療を提供できるように前記診断の結果を報告する工程、又は前記診断の結果に基づいて前記個体を治療する工程を含む方法。

【請求項 8】

B V 感染したサンプル液に対して検査サンプル液において減少する少なくとも 1 つのタンパク質が、ビタミン D 結合タンパク質、カルシウム依存性塩素チャネル制御因子 4、カタラーゼ、ガレクチン - 3 - 結合タンパク質、ヘモペキシン、免疫グロブリン M 鎖 C 領域、1 - 酸性糖タンパク質 1、1 - 酸性糖タンパク質 2、タンパク質 S 1 0 0 - A 9、タンパク質 S 1 0 0 - A 7 及びスーパーオキシドディスムターゼ [ C u - Z n ] からなる群より選択される請求項 7 記載の方法。

10

【請求項 9】

抗生物質による治療後の B V 感染したサンプル液に対して検査サンプル液において増大する少なくとも 1 つのタンパク質が、デスモコリン - 2、低分子プロリンリッチタンパク質 3、免疫グロブリン J 鎖、ケラチン I 型細胞骨格 1 0、ケラチン I I 型細胞骨格 1、上皮ケラチン I I 型細胞骨格 2、ケラチン I I 型細胞骨格 5、好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン、リンパ球特異的タンパク質 1、ペリリピン - 3 及びペリプラキリンからなる群より選択される請求項 7 記載の方法。

【請求項 1 0】

抗生物質がリファキシミンである請求項 7 記載の方法。

20

【請求項 1 1】

さらに、B V 感染したサンプルに対して検査サンプルにおけるタンパク質発現レベルの減少又は増大に基づいて、抗生物質の最適な又は有効な用量及び治療の時間を選択する工程を含む請求項 7 記載の方法。

【請求項 1 2】

抗生物質療法に反応しない患者であって、抗生物質による治療後の B V からの寛解の状態が同定されていない患者を評価するための請求項 7 ~ 1 1 のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 3】

サンプルが頸腔液のサンプルである請求項 1 又は 7 記載の方法。

【請求項 1 4】

請求項 1 の方法に従って腔内細菌感染を診断するための検査キットであって、腔感染症を同定するために有用な少なくとも 1 つのタンパク質と、質量分析を用いて腔感染症を診断する方法を実施するための説明書とを含む、キット。

30

【請求項 1 5】

請求項 7 の方法に従って細菌性腔感染症からの寛解の状態を決定するための検査キットであって、抗生物質、特にリファキシミンによる治療後の腔感染症からの寛解を決定するために有用な少なくとも 1 つのタンパク質と、タンパク質決定のための解析技術を用いて腔感染症を診断する方法を実施するための説明書とを含む、キット。

【請求項 1 6】

腔感染症を診断するための方法であって、

- ・腔液の検査サンプルにおいて発現されたタンパク質のプロテオームプロファイルを、腔液の正常又は参照サンプルにおいて発現されたタンパク質のプロテオームプロファイルと比較する工程、
- ・検査サンプルと正常又は参照サンプルとの間で発現が異なるタンパク質の総数が 3 又はそれ以上であれば、腔感染症が存在すると決定する工程、及び
- ・診断の結果を用いて個体に治療を提供できるように前記診断の結果を報告する工程、又は前記診断の結果に基づいて前記個体を治療する工程を含む方法。

40

【請求項 1 7】

発現が異なるタンパク質が、1 . 5 に等しいか又はそれより大きい比率の絶対値を有す

50

ると同定される請求項 16 記載の方法。

【請求項 18】

発現が異なるタンパク質が、3 に等しいか又はそれより大きい比率の絶対値を有すると同定される請求項 16 記載の方法。

【請求項 19】

膣感染症の治療の有効性を評価するための方法であって、

- ・治療のクール中又は治療のクール後の膣液の検査サンプルのプロテオームプロファイル
- を、治療のクール前又は治療のクールの初期に採取された膣液のサンプルと比較する工程
- 、
- ・発現が異なる 1 又は複数のタンパク質の同定に基づいて寛解の状態を決定する工程、及び
- ・評価の結果を用いて個体に治療を提供できるように前記評価の結果を報告する工程、又は前記評価の結果に基づいて前記個体を治療する工程

を含む方法。

【請求項 20】

治療のクールがリファキシミンを投与することである請求項 19 記載の方法。

【請求項 21】

25 mg ~ 100 mg の量のリファキシミンが、1 日 1 回、5 日間投与される請求項 20 記載の方法。

【請求項 22】

発現が異なるタンパク質が、1.5 に等しいか又はそれより大きい比率の絶対値を有すると同定される請求項 19 記載の方法。

【請求項 23】

発現が異なるタンパク質が、3 に等しいか又はそれより大きい比率の絶対値を有すると同定される請求項 19 記載の方法。

【請求項 24】

非応答状態 (non responder status) であると判断された場合に、治療のクールが、投与される抗生物質、用量サイズ、又は投与の頻度を変更するように修正される請求項 19 記載の方法。

【請求項 25】

膣感染症の有効な治療を同定するための方法であって、

- ・細菌性膣感染症と診断された個体群を同定する工程、
- ・各個体から得られた膣液サンプルをプロテオーム解析に供する工程、
- ・前記個体群を 2 又はそれ以上のプールに分ける工程、
- ・各プールに別個の治療を与える工程、
- ・各プール中の各個体から治療後に得られた膣液サンプルをプロテオーム解析に供する工程、
- ・各プールについて、治療前後で発現が異なるタンパク質を決定する工程、
- ・発現が異なるタンパク質の最大数を有する患者プールを同定することによって、有効な治療を決定する工程、及び
- ・研究の結果を用いて細菌性膣感染症を患う個体に治療を提供できるように前記研究の結果を報告する工程、又は前記研究の結果に基づいて前記個体を治療する工程

を含む、方法。

【請求項 26】

発現が異なるタンパク質が、1.5 に等しいか又はそれより大きい比率の絶対値を有すると同定される請求項 25 記載の方法。

【請求項 27】

膣内細菌感染の検査を受ける個体において前記感染の寛解を予測するための方法であって、

- ・個体から得られた膣液サンプルをプロテオーム解析に供する工程、及び

・健康な又は感染されていない個体由来の膿液を表す参照サンプルにおけるタンパク質の発現レベルと比較して、検査液サンプルにおいて発現レベルが変化したタンパク質を決定する工程であって、表 1 及び / 又は表 2 から選択される 1 又は複数のタンパク質の発現レベルにおける変化が、1 に等しいか又はそれより大きい比率の絶対値を有する場合に治療後の寛解が予測される、工程を含む、方法。

【請求項 28】

治療が、リファキシミンを含む医薬処方物が検査を受ける個体に投与されることによる請求項 27 記載の方法。

【請求項 29】

感染の診断が請求項 1 記載の方法によって決定されている個体の腔内細菌感染の治療に使用するためのリファキシミンを含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、特異的タンパク質の使用を含む、腔感染症を評価するための診断方法に関する。本発明は、さらに、腔感染症の抗生物質による治療後の感染症からの回復を評価するため、及び感染症の回復及び寛解を予測するための診断方法における特異的タンパク質の使用に関する。本発明はまた、リファキシミンによる治療後の腔感染症からの回復を評価するため、及び感染症の回復及び寛解を予測するための特異的タンパク質の使用を含む診断方法に関する。

【背景技術】

【0002】

(背景技術)

リファキシミン (INN; メルクインデックス第 13 版 (The Merck Index, XIII ed.), 8304, CAS No. 80621-81-4 (非特許文献 1) 参照)、IUPAC 命名法 (2S, 16Z, 18E, 20S, 21S, 22R, 23R, 24R, 25S, 26S, 27S, 28E) - 5, 6, 21, 23, 25 ペンタヒドロキシ - 27 - メトキシ - 2, 4, 11, 16, 20, 22, 24, 26 - オクタメチル - 2, 7 - (エポキシペンタデカ - (1, 11, 13) トリエニミノ) ベンゾフロ (4, 5 - e) ピリド (1, 2, - a) ベンズイミダゾール - 1, 15 (2H) - ジオン, 25 - アセテート) は、リファンピシン群に属する半合成抗生物質である。より正確には、リファキシミンは、イタリア国特許第 1154655 号 (特許文献 1) に記載のピリド - イミダゾ - リファマイシンである。欧州特許第 0161534 号 (特許文献 2) には、リファマイシン O (メルクインデックス第 13 版 (The Merck Index, XIII ed.), 8301 (非特許文献 2)) を出発物質としてリファキシミンを製造する方法が記載されている。

【0003】

米国特許第 7,045,620 号 (特許文献 3)、欧州特許第 1557421 B1 号 (特許文献 4)、欧州特許第 1676847 B1 号 (特許文献 5)、欧州特許第 1676848 B1 号 (特許文献 6)、WO 2005/044823 (特許文献 7)、WO 2006/094662 (特許文献 8) には、リファキシミンの結晶形、及び が記載されており、これらの各々は、参照することによりその全体が本明細書に組み入れられる。WO 2008/155728 (特許文献 9) 及び米国特許出願公開第 2009/312357 号 (特許文献 10) には、無定形を得るための方法が記載されており、これらの各々は、参照することによりその全体が本明細書に組み入れられる。WO 2009/108730 (特許文献 11) には、形、形、 - 乾燥形、形、 - 1 形、 - 2 形及び - 乾燥形と名付けられたリファキシミンの多形が記載されており、これらの各々は、参照することによりその全体が本明細書に組み入れられる。WO 2011/153444 (特許文献 12) には多形 及び が記載され、WO 2011/156897 (特許文献

10

20

30

40

50

13)にはAPO-1及びAPO-2と名付けられた多形が記載されており、これらの各々は、参照することによりその全体が本明細書に組み入れられる。ヴィスコミ G. (Viscomi G.)らは、Cryst. Eng Comm., 2008, 10 1074-1081 (2008) (非特許文献3)において、多形、  
、  
、  
、それらを得るための方法並びにそれらの化学物理学的特性及び生物学的特性を記載しており、これは、参照することによりその全体が本明細書に組み入れられる。

#### 【0004】

リファキシミンは、グラム陽性及びグラム陰性細菌に対して活性な抗生物質であり、デコンブ J. J. (Descombe J. J.)ら、Int. J. Clin. Pharmacol. Res., 14 (2), 51-56, (1994) (非特許文献4)に記載のように、経口経路を介して投与されたとき、無視できる低い全身性吸収によって特徴付けられる。リファキシミンは、例えば、腸感染、下痢及び過敏性腸症候群 (IBS) 並びに小腸における細菌増殖、すなわち、「小腸細菌過剰増殖 (SIBO)」を引き起こす、胃腸管に局在化した細菌に対して発揮される抗菌活性で知られており、小腸細菌過剰増殖 (SIBO) は、クローン病 (CD)、膵不全、腸炎、線維筋肉痛に関係することも知られている。リファキシミンは、感染性及び炎症性腸疾患の治療において、急性期及び慢性期の両方で適切な役割を果たす。

#### 【0005】

異なる形態のリファキシミンは、異なるレベルの全身性吸収に関連している。リファキシミンは、現在、病因がグラム陽性及びグラム陰性腸内細菌に部分的に又は完全に関係する急性及び慢性病状 [腸微生物フローラの均衡変化によって生じる下痢症候群 (例えば、夏季下痢、旅行者下痢症及び全腸炎など) など] の治療に認可されている。リファキシミンは、胃腸管の外科的処置後の感染性合併症の手術前及び手術後の予防において；高アンモニア血症の治療における補助剤として；及び肝性脳症の急性エピソードのリスクの低減においても有用である。

#### 【0006】

リファキシミンはまた、「下肢静止不能症候群」の治療において；肝不全患者における突発性細菌性腹膜炎の予防のため；及びプロトンポンプ阻害剤の連用 (慢性的使用) によって誘発される感染の予防のために役立たせることができる。

#### 【0007】

さらに、リファキシミンが全身性吸収に乏しいという事実は、前述の適用に有利である。なぜなら、リファキシミンは高用量であっても有毒ではなく、望まれない副作用 [例えば、抗生物質耐性 (抗生物質抵抗性) 細菌株 (系統) の選択及び起こり得る薬理的相互作用のリスクなど] の発生率を低減させるからである。

#### 【0008】

リファキシミンは、その特徴により、局所治療に有用な化合物、例えば、膣感染症 (例えば、細菌性膣症) の治療に有用な化合物になる。

#### 【0009】

膣感染症は、妊娠可能年齢の女性の間で頻度の高い病状であり、40~50%の割合が細菌性膣症に相当する。症候的であり合併症を有さない場合、細菌性膣症は、悪臭のある膣分泌物によって特徴付けられ、炎症性臨床像 (膣症) に関連せず、膣内生態系 (vaginal ecosystem) の変化に帰される。

#### 【0010】

細菌性膣症は、正常な微生物相 (microbiota) の生態における不均衡によって特徴付けられ、この生態において、乳酸桿菌 (ラクトバチルス) 属 (lactobacilli) の枯渇及び嫌気性細菌の増殖が生じる。

#### 【0011】

健康な女性の正常な膣内フローラ (膣内微生物叢 (vaginal flora)) は、乳酸桿菌属 (Lactobacilli)、特にラクトバチルス クリスパタス (Lactobacillus crispatus) 及びガセリ (gasseri) が優勢に存在していることから、過酸化水素を産生して酸性膣内 pH を維持する。そのため、ほとんどの病原性微生物の増殖が阻害される。

10

20

30

40

50

## 【0012】

細菌性膣症において、乳酸桿菌属の細菌が、正常値より千倍も高く過剰増殖する通性嫌気性及び好気性細菌により置き換えられる。通性嫌気性及び好気性細菌は、主に、ガードネレラ バギナリス (*Gardnerella vaginalis*) (これは細菌性膣症を患うほぼすべての女性に存在する)、マイコプラズマ ホミニス (*Mycoplasma hominis*)、グラム陰性嫌気性細菌 [バクテロイデス属 (*Bacteroides*) 及びプレボテラ属 (*Prevotella*) など]、嫌気性菌 [ペプトストレプトコッカス属 (*Peptostreptococcus*) など]、グラム陽性嫌気性菌 [50%のケースにおいて存在するモビルンカス属 (*Mobiluncus*) など]、及びグラム陽性桿菌 (パチルス (*bacilli*)) [細菌性膣症の95%のケースにおいて存在するアトポビウム バギナーレ (*Atopobium vaginae*) など] に代表される。

10

## 【0013】

女性が細菌性膣症を発病しやすくなる要因としては、妊娠可能な年齢であること、人種、社会経済的地位、膣洗浄の常習的な使用、喫煙及び複数のパートナーとの性的行為が挙げられる。一方、エストロプロゲステン薬 (estrogen-progestin drugs) を摂取することにより、保護的役割が果たされるようである。また、この病状は主に妊娠可能な年齢の女性にみられるので、ホルモン成分が細菌性膣症の原因病理に関与することがわかった。

## 【0014】

細菌性膣症は、例えば、不妊及び子宮外妊娠のよくある原因である骨盤炎症性疾患、婦人科医学的・外科的処置後の外科的損傷の感染、妊婦の早期破水、早産及び流産などのいくつかの重大な婦人科医学的及び産科学的合併症に関連し得る。性感染症とはみなされないが、細菌性膣症は、妊娠していない女性及び妊婦の両方について、性行為でうつる流行病 (HIVウイルス感染を含む) にかかるリスクの増大に関連する。妊婦においては、母親から胎児へのHIVウイルス感染のリスクの増大をも左右する。

20

## 【0015】

細菌性膣症の病因は完全には理解されていないが、その治療は、臨床的回復及び微生物学的回復の両方を促すこと、そして可能であれば感染の再発を回避することを目的とする。したがって、理想的な治療は、病原種の低減に有効であると同時に、起こり得る疾患再発の予防を目的として乳酸桿菌属保護種 (*Lactobacillus protective species*) の復元及び増殖をも促進すべきである。

## 【0016】

米国疾病予防管理センター (Center of Disease Control (CDC))、2010, 59, NoRR-12 のガイドライン (非特許文献5) には、症候的でありかつ妊娠していない細菌性膣症のすべての女性は、抗生物質療法により治療されるべきであると述べられている。この点において、CDCは、最初の治療的アプローチとして、例えば、メトロニダゾール、経口錠剤 500 mg を1日2回7日間; 又はメトロニダゾール、膣用ゲル、0.75%、アプリーケータ (5 g) を1日1回5日間もしくはクリンダマイシン、膣用クリーム、2%、アプリーケータ (5 g) を1日1回7日間などの抗生物質療法を提案している。メトロニダゾール及びクリンダマイシンはともに、全身性経路を介して (経口的) 又は局所的経路を介して (経膣的) のいずれかで投与され、細菌性膣症の治療に有効である。しかし、シモニス JA (Simoes JA) ら、*Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* 2001, 9(1), 41-45 (非特許文献6) に記載のように、乳酸桿菌属保護フローラに対するこれら両方の薬物の阻害作用により、再発の予防においてその有効性が制限される。

30

40

## 【0017】

さらに、たとえ膣経路を介して投与された場合でも、上記抗生物質はともに全身性副作用に関連し、副作用のいくつか、例えば、メトロニダゾールの場合は神経反応、クリンダマイシンの場合は偽膜性大腸炎などが、特に関連する。また、繰り返し投与されると、メトロニダゾール及びクリンダマイシンはともに、膣投与されたとしても全身に吸収されるので、膣レベルのみならず全身レベルで微生物学的抵抗性を誘発し得る。

## 【0018】

欧州特許第0547294号 (特許文献14) には、50~500 mg の量でリファキ

50

シミンを含む組成物が記載され、リファキシミンに感受性の微生物によって生じた膣感染症の治療に有用であると述べられている。特に、欧州特許第0547294号(特許文献14)には、リファキシミン200mgを含むリファキシミン膣用泡剤(フォーム剤)及びクリーム剤の製剤により行われた臨床試験が記載されており、カプセル剤、膣坐剤(ovule)及び錠剤中にリファキシミンを含む細菌性膣症治療用組成物も記載されている。欧州特許第0547294号(特許文献14)の表1には、ガードネレラ バギナリス、バクテロイデス ビビウス-ディシエンス(*Bacteroides bivius-disiens*)、モビルンカス属などの病原菌及び乳酸桿菌属などの非病原菌の両方に対するリファキシミンの重要な抗菌活性が報告されている。これらの細菌は、膣分泌物中に一般に存在する。

#### 【0019】

乳酸桿菌属の存在は健康な膣環境を維持するために有益であるので、乳酸桿菌属の阻害は治療有効性に関して有害な事象であるとみなされなければならない。実際には、既に述べたように、乳酸桿菌属によって生じた酸環境は、病原菌の定着(colonization)を予防するための必須条件である。

#### 【0020】

欧州特許第0547292号(特許文献15)の表1には、乳酸桿菌属に対するリファキシミンの阻害作用(MIC<sub>50</sub>及びMIC<sub>90</sub>)が、病原菌[例えば、ガードネレラ バギナリス、モビルンカス属種(*Mobiluncus spp*)、バクテロイデス ビビウス-ディシエンス(*Bacteroides bivius-disiens*)など]に対する阻害作用と等しいか又はさらに高いことも示されている。したがって、膣経路を介して投与される場合、リファキシミンは、乳酸桿菌属を含む細菌フローラ全体に対して無差別に作用する。

#### 【0021】

デブビア A. (Debbia A.) ら、J. Chemother. 20, (2), 186-194, 2008(非特許文献7)には、リファキシミンが時間依存的な細菌活性を示すことが報告されている。

#### 【0022】

米国特許出願第13/559,613号(特許文献16)には、膣感染症の治療に有用なリファキシミンへの適切な曝露時間及びリファキシミンの局所濃度を提供する、膣感染症の治療に有効なリファキシミン医薬組成物が記載されており、この組成物は、膣感染症の再発予防に重要な乳酸桿菌属の濃度を減少させない。また、米国特許出願第13/559,013号(特許文献17)には、リファキシミンが1日用量100mg/日未満で膣感染症の治療に有効であるという臨床試験が記載されている。

#### 【0023】

細菌性膣症の診断は、臨床的及び/又は微生物学的基準に基づいて行うことができる。臨床的診断は、アムセル R. (Amsel R.) ら、Am. J. Med. 1983; 74(1): 14-22(非特許文献8)に記載のアムセル(Amsel)の臨床的診断基準に従って行われる。この診断では、以下の4つの症状のうち少なくとも3つが示された場合に陽性となる:(1)均質でかつ膣壁に付着する膣分泌物、(2)臭気試験陽性(膣分泌物に10%水酸化カリウムを添加すると「魚臭」を発する)、(3)4.5より高い膣内pH、及び(4)20%を超える量のクルー細胞(新鮮標本の顕微鏡検査によって同定される、細菌で被覆された扁平上皮膣細胞)。

#### 【0024】

微生物学的診断は、グラム染色による膣分泌物の顕微鏡検査を含むニュージェント(Nugent)のスコアの計算に基づく。3つの異なる膣内細菌種の存在及び量が決定される。特に、乳酸桿菌属の濃度が高いと低いスコアが得られ、ガードネレラ属(*Gardnerella*)及びバクテロイデス属の存在が確認されるとスコアが増え、そしてモビルンカス属の存在が確認されるとスコアはさらに高くなる。ニュージェント RP (Nugent RP) ら、J. Clin. Microbiol. 1991, 29(2), 297-301(非特許文献9)に記載のように、スコア結果0~3は健康な女性の膣内フローラを表し、スコア4~6は膣内フローラが変わり始めていることを示し、スコア7~10は細菌性膣症感染の確実な診断を示す。

#### 【0025】

10

20

30

40

50



近年、チョウ X (Zhou X) ら、Microbiology 2004, 150 (Pt8), 2565-2573 (非特許文献 10) 及び Appl. Environ. Microbiol. 2004, 70(6), 3575-3581 (非特許文献 11) に記載のように、DNA の配列分析に基づく PCR - D G G E 及びリアルタイム PCR などのさらなる診断的分子技術が開発されており、腔内生態系の微生物組成の同定が可能になっている。ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) は、単一の又は少数の DNA の複製を数桁にわたって増幅して特定の DNA 配列の複製を何千～何百万生成するものであり、他の方法を用いると検出レベル未満の遺伝子 (単数又は複数) を同定するために有用である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0026】

【特許文献 1】イタリア国特許第 1 1 5 4 6 5 5 号

【特許文献 2】欧州特許第 0 1 6 1 5 3 4 号

【特許文献 3】米国特許第 7, 0 4 5, 6 2 0 号

【特許文献 4】欧州特許第 1 5 5 7 4 2 1 B 1 号

【特許文献 5】欧州特許第 1 6 7 6 8 4 7 B 1 号

【特許文献 6】欧州特許第 1 6 7 6 8 4 8 B 1 号

【特許文献 7】WO 2 0 0 5 / 0 4 4 8 2 3

【特許文献 8】WO 2 0 0 6 / 0 9 4 6 6 2

【特許文献 9】WO 2 0 0 8 / 1 5 5 7 2 8

【特許文献 10】米国特許出願公開第 2 0 0 9 / 3 1 2 3 5 7 号

【特許文献 11】WO 2 0 0 9 / 1 0 8 7 3 0

【特許文献 12】WO 2 0 1 1 / 1 5 3 4 4 4

【特許文献 13】WO 2 0 1 1 / 1 5 6 8 9 7

【特許文献 14】欧州特許第 0 5 4 7 2 9 4 号

【特許文献 15】欧州特許第 0 5 4 7 2 9 2 号

【特許文献 16】米国特許出願第 1 3 / 5 5 9, 6 1 3 号

【特許文献 17】米国特許出願第 1 3 / 5 5 9, 0 1 3 号

【非特許文献】

【0027】

【非特許文献 1】メルクインデックス第 1 3 版 (The Merck Index, XIII ed.), 8304, C AS No. 80621-81-4 30

【非特許文献 2】メルクインデックス第 1 3 版 (The Merck Index, XIII ed.), 8301

【非特許文献 3】Cryst. Eng Comm., 2008, 10 1074-1081 (2008)

【非特許文献 4】Int. J. Clin. Pharmacol. Res., 14 (2), 51-56, (1994)

【非特許文献 5】米国疾病予防管理センター (Center of Disease Control (CDC)), 2010, 59, NoRR-12 のガイドライン

【非特許文献 6】Infect. Dis. Obstet. Gynecol. 2001, 9(1), 41-45

【非特許文献 7】J. Chemother. 20, (2), 186-194, 2008

【非特許文献 8】Am. J. Med. 1983; 74(1): 14-22

【非特許文献 9】J. Clin. Microbiol. 1991, 29(2), 297-301 40

【非特許文献 10】Microbiology 2004, 150 (Pt8), 2565-2573

【非特許文献 11】Appl. Environ. Microbiol. 2004, 70(6), 3575-3581

【発明の概要】

【0028】

(発明の概要)

本発明は、腔感染症、特に細菌性腔症 (BV) を診断するための新たな方法に関する。本発明の診断方法は低侵襲性であり、特異的タンパク質の使用によって、例えば、患者の腔液中のタンパク質の数及び型 (タイプ) を、健康な又は感染されていない状態を示す腔液の参照サンプル中のタンパク質の数及び型 (タイプ) と比較して決定することによって、BV の評価を可能にする。本発明の一実施形態は、腔液中に存在する特異的タンパク質

10

20

30

40

50

を特徴付けることによって膿感染症を診断するための方法である。一実施形態は、患者がBVから寛解（回復）するため、又は患者のBVを根絶するために最も有効な抗生物質及び投薬量を選択するために、前記特徴付けられたタンパク質を使用することに関する。

【0029】

一実施形態において、本発明は、膣内細菌感染を診断する方法を提供し、この方法は、膣液サンプルをプロテオーム解析に供する工程、及び参照サンプルにおけるタンパク質の発現レベルと比較して、検査液サンプルにおいて発現レベルが変化したタンパク質を決定する工程であって、1又は複数のタンパク質の発現レベルの減少又は増大により膿感染症を診断する工程を含む。特定の実施形態において、1又は複数のタンパク質は、表1及び2に列挙されたタンパク質から選択される。いくつかの実施形態において、検査サンプルと参照サンプルとの発現増大の比率は、約1.5～約40の範囲にある。他の実施形態において、検査サンプルと参照サンプルとのタンパク質発現減少の比率は、約-1.5～約-5650の範囲にある。

10

【0030】

別の実施形態において、寛解及び回復の状態は、感染後の治療に反応した個体由来のサンプルにおけるタンパク質の発現レベルを、健康な個体を表す参照サンプルにおけるタンパク質のレベルと比較することによって評価されてもよい。

【0031】

別の実施形態において、本発明は、抗生物質による治療後に寛解の検査を受ける個体の細菌性膿感染症からの寛解の状態を診断する方法を提供し、この方法は、抗生物質による治療後に検査を受ける個体から得られた膣液サンプルをプロテオーム解析に供すること、及びBV感染した個体（好ましくは、治療前の同じ個体）由来の液体を表す参照サンプルにおけるタンパク質の発現レベルと比較して、検査液サンプルにおいて発現レベルが変化したタンパク質を決定することであって、参照サンプルに対して検査サンプルにおける少なくとも1つのタンパク質の発現レベルの減少又は増大により、抗生物質による治療後のBVからの寛解の状態を診断することによる。

20

【0032】

さらなる実施形態において、本発明は、感染された女性の膣サンプルのプロテオーム解析に基づいてBVの寛解及び回復を予測するための診断方法を提供し、この方法において、健康な又は感染されていない女性と比較して、発現されたタンパク質のレベルの比率が1より大きい場合にBVが同定される。いくつかの実施形態において、抗生物質の最適な又は有効な用量及び治療の時間を選択する方法は、参照サンプルに対して検査サンプルにおけるタンパク質発現レベルの減少又は増大に基づいて提供される。有効な治療は、種々の治療の前後のタンパク質発現における変化を比較して同定することもでき、最も有効な治療は、発現が異なるタンパク質が最大数であるプール（pool）に対応している。非応答（無反応）患者は、抗生物質（例えば、リファキシミン）による治療後の寛解などで特徴付けられない患者として同定される。

30

【0033】

別の実施形態において、本発明は、膣内細菌感染を診断するため、又は寛解を評価するための検査キットを提供し、本明細書に開示された方法によって治療の有効性も提供される。前記キットは、膿感染症を同定するために有用な少なくとも1つのタンパク質（例えば、表7及び8において同定されたタンパク質、好ましくは表1又は2において同定されたタンパク質）と、質量分析を用いて膿感染症を診断する方法を実施するための説明書とを含む。

40

【0034】

別の実施形態において、本発明は、個体における膣内細菌感染を治療するための抗生物質の使用を提供し、この使用は、膣液サンプルをプロテオーム解析に供することを含む感染診断に基づいて医薬組成物を個体に治療的に有効な量で投与すること、及び参照サンプルにおけるタンパク質の発現レベルと比較して、検査液サンプルにおいて発現レベルが変化したタンパク質を決定することであって、1又は複数のタンパク質の発現レベルにおけ

50

る減少又は増大により膣感染症を診断することを含む。

【0035】

本明細書で同定された特異的タンパク質は、(i)検査される個体において細菌性膣感染症からの寛解を評価すること、(ii)細菌性膣感染症が抗生物質による治療を行うことによって寛解になる可能性を診断の際に予測又は決定すること、及び(iii)感染症からの寛解を得るために最も有効な抗生物質及び/又は投薬量を選択又は同定することにおいて有用である。特に、本発明には、リファキシミンによる治療後のBVの寛解を評価するための特異的タンパク質の使用が記載されている。また、検査を受ける患者が抗生物質による治療後に感染症から寛解になる可能性を予測又は決定することが可能である。

【0036】

別の実施形態において、本発明はまた、BVに罹患した女性のリファキシミンによる治療の有効性を評価及び予測するための方法も提供する。

【0037】

特定の実施形態において、本発明は、リファキシミンによる治療の有効性を、治療中及び治療前に評価するための診断方法を提供する。

【0038】

別の特定の実施形態において、本発明は、膣液中の特異的タンパク質の存在によって、BVに罹患した女性が寛解するか否かを予測するための診断方法を提供する。

【0039】

本発明は、膣感染症を診断するための方法を提供し、膣感染症を治療する方法の有効性を評価し、そして膣感染症を治療するための治療のクール(一連の治療)前、クール中及びクール後の種々の時点でサンプリングされた膣液のプロテオームプロファイル(proteomic profiles)の比較に基づいて特定の治療のクールに対する非応答(無反応)者(non-responder)を同定することによって、当該分野の欠点及び問題を解決する。

【0040】

別の実施形態において、膣感染症を診断するための方法が提供され、この方法は、膣液の検査サンプルのプロテオームプロファイルを膣液の正常又は参照サンプルのプロテオームプロファイルと比較する工程、及び表1又は表2のタンパク質の総数が少なくとも1又は複数である場合に膣感染症の存在を決定する工程を含む。

【0041】

別の実施形態において、膣感染症の治療の有効性を評価するための方法が提供され、この方法は、治療のクール中又は治療のクール後の膣液の検査サンプルのプロテオームプロファイルを、治療のクール前又は治療のクールの初期に採取した膣液のサンプルのプロテオームプロファイルと比較する工程、及び表1又は表2のタンパク質の総数が少なくとも1である場合に膣感染症の寛解を決定する工程を含む。

【0042】

別の実施形態において、膣感染症の最も有効な治療を同定するための方法が提供され、この方法は、膣感染症と診断された患者の各プールに別個の治療のクールを与える工程、治療のクール中又は治療のクール後の膣液の検査サンプルのプロテオームプロファイルと比較する工程、及び発現が異なるタンパク質が最大数であるプロテオームプロファイルを有する患者プールを同定することによって最も有効な治療を決定する工程を含む。とりわけ、比較されるサンプルは、意義のある比較を提供するように同じ時間間隔で採取されるべきである。

【0043】

別の実施形態において、膣感染症の治療中又は治療後の寛解及び回復を予測するための方法が提供され、この方法は、膣感染症と診断された患者由来の膣液の検査サンプルのプロテオームプロファイルを、膣液の正常又は参照サンプルのプロテオームプロファイルと比較する工程、及び表1、表2又は両方の表から選択されるタンパク質の総数が少なくとも1又は10以上である場合に膣感染症の寛解を予測する工程を含む。

【0044】

10

20

30

40

50

記載された方法によると、表 1、表 2 又はこれらの組み合わせに示される特異的タンパク質は、「バイオマーカー」とも称される。腔液中に存在するこれらのタンパク質は表 7 及び 8 によって選択され、健康な女性に対して腔感染症に罹患した女性の腔液における最も重要なタンパク質を表す。「バイオマーカー」とも定義される特定の好ましいタンパク質としては、ビタミン D 結合タンパク質、デスモコリン - 2、カルシウム依存性塩素チャネル制御因子 4、カタラーゼ、低分子プロリンリッチタンパク質 3、ガレクチン - 3 - 結合タンパク質、ヘモベキシン、免疫グロブリンファミリー、中間径フィラメントファミリー、リポカリンファミリー、 $\alpha$ 1 - 酸性糖タンパク質 1、 $\alpha$ 1 - 酸性糖タンパク質 2、好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン、リンパ球特異的タンパク質 1、ミエロプラスチン、ペリリピン - 3、ペリプラキン、タンパク質 S 1 0 0 - A 9、タンパク質 S 1 0 0 - A 7 及びスーパーオキシドディスムターゼ [ C u - Z n ] が挙げられる。

10

【図面の簡単な説明】

【 0 0 4 5 】

【図 1】図 1 は、収集した腔液のサンプルの計画である。

【図 2】図 2 は、M S / M S データの多変量解析。腔内微生物相の比較の分子解析である。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 4 6 】

(実施形態の詳細な説明)

特に規定されない限り、本明細書において使用される技術用語及び科学用語は、本発明の属する分野における当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。シングルトン (Singleton) ら、Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, NY 1994) は、本出願で使用される多くの用語に対する一般的な指針を当業者に提供する。

20

【 0 0 4 7 】

用語「プロテオーム」は、本明細書において、所定の時間での生体サンプル中の重要な (大部分の) タンパク質を記述するために用いられる。プロテオームの概念は、ゲノムとは根本的に異なる。用語「プロテオーム」又は「プロテオームプロファイル」は、所定の時間での生体サンプル (例えば、腔液) 中の複数のタンパク質の発現パターンの表示を言及するために用いられる。プロテオームプロファイルは、例えば、質量スペクトルとして表すことができるが、他の表示 (例えば、同定又は発現されたタンパク質又はそのフラグメントのスペクトルを含む、タンパク質の物理化学的又は生化学的特性に基づくクロマトグラフスペクトル) も含まれる。したがって、プロテオームプロファイルは、例えば、二次元ゲル電気泳動 (例えば、2 - D P A G E) によって測定されるタンパク質の電気泳動的特性における差異に基づいていてもよく、二次元電気泳動ゲル中の複数の点 (スポット) として表すこともできる。あるいは、プロテオームプロファイルは、二次元液体クロマトグラフィーによって測定されるタンパク質の等電点及び疎水性における差異に基づいていてもよく、例えば、コンピュータで作成された視覚的二次元地図 (マップ) として表すこともでき、又は、系中のタンパク質の分子量に基づいて (例えば、分子量の異なるタンパク質を分離できる様々な多孔度を有する膜に基づいて) 分離されてもよい。

30

40

【 0 0 4 8 】

用語「タンパク質」又は「バイオマーカー」は、特に重要な診断的価値を有する。腔液中のタンパク質は、病理学的状態 (例えば、腔感染症) の徴候で、経過中に、及び / 又は寛解において、増大又は減少し得る。発現が異なるタンパク質又はバイオマーカーの数は、特に重要な診断的、評価的及び予測的価値を有する。例えば、抗生物質による治療の有効性を評価する本発明の方法において、発現が異なるタンパク質の数が多いほど、治療が効果的であることをより強く示す。発現が異なるタンパク質が少なすぎる場合、患者は非応答者と同定することができ、その患者に疾患の寛解を達成させるために治療のクルの調整 (例えば、抗生物質の変更、投薬量の変更、投与の頻度の変更など) が必要であろう。また、最も有効な治療は、異なる治療法によって治療された異なる患者プール間で、発

50

現異なるタンパク質の数を比較することによって同定されてもよい。発現異なるタンパク質の最大数が得られる治療法を、最も有効であるとして選択できる。

【0049】

健康な膣液（参照サンプル、正常な又は感染されていないサンプル）及び細菌性膣症と診断された患者から得られた膣液（検査サンプル）などの異なる供給源由来のサンプルを比較して、上方制御（up-regulated）又は下方制御（down-regulated）されたタンパク質（「バイオマーカー」）を検出できる。これらのタンパク質は、例えば、ペプチドマスフィンガープリンティング及び/又は質量分析及びシークエンシング法を用いて同定及び十分なキャラクタリゼーション（特徴付け）のために抽出でき、あるいは、正常な及び/又は疾患特異的なプロテオームマップは、当該疾患（細菌性膣症）の診断のために、又は疾患の存在、非存在もしくは状態を確認するために直接的に用いることができる。ダサリ S.（Dasari S.）ら、J Proteome Res 2007, 6, 1258-68及びゼーヘルズ（Zegels）ら、Proteome Sci 2010, 8, 63に記載のように、膣液（VF、頸膣液（CVF）とも称する）は、水、電解質、低分子量有機化合物（グルコース、アミノ酸及び脂質）並びに血漿漏出液、頸/膣上皮細胞、子宮頸内膜、絨毛膜及び膣内微生物相から生じるありとあらゆるタンパク質及びタンパク質分解酵素からなる複雑な生体液である。ビゲロー（Bigelow）、Hum Reprod 2004, 19, 884-92に記載のように、膣液は、外部病原体に対する最初の防御線を形成し、受精能力（fertility）を知らせ、受精、妊娠及び出産を促進する。

10

【0050】

患者からの膣液の収集は低侵襲性であり、かつ比較的安全であるので、膣感染症（例えば、BV）などの病理学的状態の診断のため、並びに治療、診断及び予防戦略の開発のためのバイオマーカー源として特に便利かつ有用である。

20

【0051】

膣感染症の診断は、「患者の反応（patient response）」の同定を含み、この同定は、膣感染状態の変化を示す任意のエンドポイントを用いて評価でき、このような状態の変化としては、（1）膣感染症の進行の少なくともある程度までの阻害、（2）膣感染症の予防、（3）膣感染症と関連する1又は複数の症状又は指標（ニュージェントのスコア又はアムセルの診断基準など）の少なくともある程度までの寛解、並びに/又は（4）病的状態と関連する全ての症状又は指標が存在しないか、及び/もしくは個体とその膣液とが治療後の所定の時点で健康な状態に戻る治療が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0052】

用語「治療」又は「治療のクール」とは、治療上の処置及び予防的又は防止的手段の両方をいい、この目的は、標的とされた病的状態又は障害を予防し、又は鈍化（寛解）もしくは回復（病理学的状態の全ての指標を消去）させることである。治療には、1又は複数の薬理的に活性な物質（薬物）、その投薬量及び頻度の選択及び管理、並びに最善の有効性のための剤形の選択を含む。治療を必要とする人としては、前記障害（例えば、BV）を既に患っている人、並びに前記障害（再発性感染）を有する傾向のある人又は前記障害が予防されるべき人が挙げられる。

【0053】

本発明の方法のいくつかの実施形態において、個体の膣内細菌感染を治療することは、膣液サンプルをプロテオーム解析に供することを含む感染診断に基づいて医薬組成物を個体に治療的に有効な量で投与することを含む。リファキシミン及びリファキシミンの医薬組成物の形態は、米国特許第7,045,620号；同第8,158,781号；同第8,173,801号；同第7,902,206号；同第8,217,054号；同第7,923,553号；同第8,158,644号；同第8,193,196号；及び同第6,140,355号に記載されており、これらの文献は、参照することによりその全体が本明細書に全て組み入れられる。

40

【0054】

本発明は、膣感染症の非侵襲性診断のための方法及び手段に関し、この方法及び手段は、患者又は異なる患者プール（例えば、健康な患者、疾患を有する患者及び治療の様々な

50

ステージの患者) から得られた膿液のプロテオームプロファイルの比較によって決定される異なったタンパク質発現に基づく。

【0055】

本明細書に記載の方法によって同定されるように、膿液中に存在し、膿感染症の徴候及び/又は寛解とともに増大又は減少する特異的タンパク質及びタンパク質ファミリーを、「バイオマーカー」と称する。これらのバイオマーカーは、(i) 膿感染症を診断するため、(ii) 膿感染症の治療の有効性を予測及び/又は評価するため、並びに(iii) 抗生物質、投薬量及び頻度などの最も有効な治療を同定するために、客観的にかつ本明細書に記載の方法に従って測定できる。これらのタンパク質は、当業者に公知のプロテオーム技術などのタンパク質決定のための分析技術(例えば、質量分析)を用いて決定できる。

10

【0056】

本明細書には、寛解及び治癒を含む疾患の様々なステージで細菌性膿症の状態を診断及び/又は評価するために、膿液中に存在する特異的タンパク質(バイオマーカー)を使用することが記載されている。特異的タンパク質は、プロテオーム解析の分野で公知の技術を用いて膿液のプロテオームプロファイルを解析することによって特徴付けられる。

【0057】

一態様において、本発明は、特異的タンパク質の発現の差異又は変化を決定することによって女性の膿感染症を診断するための新たな低侵襲性の方法を有利に提供する。記載された特異的タンパク質はまた、抗生物質によるBVの治療の有効性を予測及び評価するため、並びにBVの治癒及び寛解のための有効な抗生物質投薬量を同定するために有用である。

20

【0058】

本発明の方法に従って見出された特異的タンパク質の存在の評価によって、膿感染症における抗生物質による治療の有効性を、その治療中又は治療前にも予測することが可能である。特異的タンパク質の発現レベル又は発現レベルの変化は、リファキシミンによる治療後の膿感染症の治癒、回復及び寛解を評価及び予測するために使用できる。さらに、前記方法によると、所定の患者のための最も有効なリファキシミン投薬量の同定、並びに治療のクール(例えば、リファキシミン療法)に反応していない患者の同定が可能である。膿液中に存在する特異的タンパク質を同定することによって、抗生物質による治療(特に、リファキシミンによる治療)後の感染症の寛解、回復又は除去(elimination)を高い成功率で予測可能である。本発明の方法はまた、プロテオミクス、質量分析、Elisa(酵素結合免疫吸着法)、ウェスタンブロットティング、核磁気共鳴(NMR)などの分析技術を用いて、膿感染症を診断するため、膿感染症からの寛解又は回復を評価するため、及び抗生物質による治療を終了して患者が寛解に至る可能性及びこの寛解を得るために最適な投薬量を診断の際に評価するために有用な、特異的タンパク質のセットを提供する。

30

【0059】

本発明の方法によると、プロテオーム技術は、バイオマーカーとして同定された特異的タンパク質を分析及び/又は特徴付けることによってBVを診断するために有用である。質量分析、Elisa、ウェスタンブロットティング、NMRなどの当該分野で利用可能な他の分析技術もまた、タンパク質の量を分析及び決定するために有用である。

40

【0060】

膿感染症の状態を同定するために有用な少なくとも1つのタンパク質の特徴付けに使用するための診断キットも、提供される。前記キットは、質量分析を用いて膿感染症を診断する方法を実施するための説明書を含む。

【0061】

本発明の診断方法は、臨床試験に登録された女性から収集された膿液に対して検査され、18歳~50歳の閉経前の妊娠していないベルギー人女性80名について分析された。スクリーニング来院(V1)において、アムセルの診断基準とグラム染色によるニュージェントのスコアリングとの両方を用いて、健康であるかBVであるかの診断がなされた。ニュージェントのスコアが3より大きく、かつ4つのアムセルの診断基準のうち少なくとも

50

も3つが陽性である患者は、BV陽性であるとみなされた。この臨床的評価に従って、女性を、健康な被験体(H)(n=41)及びBVと診断された患者(n=39)の2つの群に分類した。試験来院(study visit)V1でBVと診断された患者を、米国特許出願第13/559,013号に報告された多施設二重盲検無作為プラシーボ対照試験(multicenter, double-blind, randomised, placebo-controlled study)(EudraCT: 2009-011826-32)に含めた。この試験は、BVの治療について、プラシーボに対する様々な用量のリファキシミン膣錠(膣用錠剤)の有効性を比較するために実施された。これらの患者は、無作為化来院を行って4つの治療群に分類された。

- ・A群は、100mgリファキシミン膣錠を1日1回5日間投与された(n=10)。
- ・B群は、25mgリファキシミン膣錠を1日1回5日間投与された(n=10)。
- ・C群は、100mgリファキシミン膣錠を1日1回最初の2日間、次いでプラシーボ膣錠を残りの3日間投与された(n=9)。
- ・D群は、プラシーボ膣錠を1日1回5日間投与された(n=10)。

#### 【0062】

この治療の終了から7~10日後、追跡来院(V3)を実施した。寛解は、アムセルの診断基準(3未満)及びグラム染色によるニュージェントのスコア(3以下)に従ってV3で評価された。

#### 【0063】

2mLの生理食塩水による標準化膣洗浄物(standardized vaginal rinsings)(すなわち、膣液又はVF)を分析のためにV1及びV3において収集し、DNA及びタンパク質をさらなる分析のために膣液から分離した(すなわち、膣分離物)。

#### 【0064】

定量PCR(リアルタイム定量PCR)を、膣内微生物相がもたらす不均衡に關与する細菌群の同定及び定量化のため、特に、BVの存在下において影響を及ぼすことが知られている主な細菌群[乳酸桿菌属(Lactobacillus)、アトポビウム属(Atopobium)、ガードネレラ バギナリス、プレボテラ属、ベイヨネラ属(Veillonella)、モビルンカス属及びマイコプラズマ ホミニスなど]の濃度を決定するために使用した。

#### 【0065】

定量PCRを、健康な女性(H)、V1においてBVに罹患していた女性(BV)、V3においてリファキシミンによる治療後に寛解していた女性(R)、及びV3において抗生物質又はプラシーボによる治療後に寛解していなかった女性(N)のCVFから抽出したDNAサンプルについて実施した。

#### 【0066】

膣内微生物相組成の分子解析を表5に示す。この表において、被験体の臨床的状態[健康(H)又はBV罹患(BV)、及び抗生物質による治療に対する反応性について、寛解(R)又は非寛解(N)]に関して、分析された細菌群を保有する女性の割合が示されている。乳酸桿菌属、アトポビウム属、G.バギナリス、プレボテラ属、ベイヨネラ属、モビルンカス属及びM.ホミニスの定量化を、表6に示す。このデータは、定量PCR解析において膣サンプルから抽出された総細菌DNA( $\mu\text{g}$ )あたりの標的属又は種のDNA( $\text{ng}$ )として表される。

#### 【0067】

このデータから、乳酸桿菌属はH群よりもBV群で有意に低いことが確認される。抗生物質による治療後、R群における乳酸桿菌属の中央値はBV群よりも約10倍高い。これに対して、N群で測定された乳酸桿菌属は、BV群と非常に類似しており、H群及びR群の両方と比較して有意に低かった。R群におけるアトポビウム属の濃度は、H群と比較して依然として高いとはいえ、BV群において検出された濃度よりも有意に低かった。N群は、H群及びR群の両方と比較してアトポビウム属の量が有意に高かった。アトポビウム属と同様に、G.バギナリス及びプレボテラ属は、H群及びR群において非常に低い濃度で存在しており、BV群及びN群においては有意に高い濃度が認められた。ベイヨネラ属及びモビルンカス属は、H群及びR群に属するいずれの女性においても定量化されなかつ

10

20

30

40

50

た一方、B V群及びN群に属する女性のほとんどは、これらの細菌群を保有していなかった。R群において、B V群と比較してM.ホミニスの有意な低減が認められた。

【0068】

臨床試験に登録された女性から収集した標準化腔液を、定性的及び定量的プロテオーム技術（例えば、定量PCR）によって解析し、腔液中に存在するタンパク質を特徴付けた。例えば、タンパク質を腔液から分離し、そしてこれらの腔分離物を必要に応じて分画（例えば、クロマトグラフィー）し、次いで質量分析技術（MS/MS）を用いて、あるサンプル又はサンプルプール由来の特異的タンパク質の量と比較した他のサンプル又はサンプルプール由来の特異的タンパク質の量の変化を検出した。プロテオームプロファイルと比較して、プロテオームの差異、例えば、健康な患者と疾患を有する患者との間、又は治療及び寛解の異なるステージの患者間のプロテオームの差異を同定した。

10

【0069】

プロテオーム解析を、B V感染の状態に従ってグループ分けした以下の9プールの腔分離物について実施した。

- ・ Hプール（41名の健康な女性由来）；B Vプール（39名のB V罹患女性由来）
  - ・ A - Rプール（A群のリファキシミン治療後に寛解していた2名の女性由来）
  - ・ A - Nプール（A群のリファキシミン治療後に寛解しなかった8名の女性由来）
  - ・ B - Rプール（B群のリファキシミン治療後に寛解していた5名の女性由来）
  - ・ B - Nプール（B群のリファキシミン治療後に寛解しなかった5名の女性由来）
  - ・ C - Rプール（C群のリファキシミン治療後に寛解していた4名の女性由来）
  - ・ C - Nプール（C群のリファキシミン治療後に寛解しなかった5名の女性由来）
  - ・ D - Nプール（D群のブラシーボ治療後に寛解していなかった10名の女性由来）
- 診断方法を検査するために収集した腔液の一覧（スキーム）を、図1に示す。

20

【0070】

データベース検索は、獲得した質量分析データを用いて実施し（Masco t検索エンジン、Matrix Scienceによって提供されたデータベース）、健康な女性（H）及びB Vに罹患した女性（B V）から得られた分画プール中の合計131のヒト及び微生物タンパク質を同定した。興味深いことに、B Vプールに対応するヒトタンパク質の大部分（すなわち、約70%）における発現変化は、比率（割合）の中央値5.5（範囲1.5～521.1倍）で上方制御された。50倍より大きい発現変化は、NSFL1補因子p47（521.1倍）、ERO1様タンパク質（90.2倍）、デスマグレイン-3（59.5倍）及びグリシン開裂系Hタンパク質（53.5倍）について認められた。注目すべきことは、HPAによると、これらのタンパク質は全て、正常な女性組織において中程度から強度に発現されることである。-1.5～-5645.4倍の範囲（中央値-7.0）の有意な下方制御は、約25%のヒトタンパク質について生じた。最も高い発現変化はカルシウム依存性塩素チャネル制御因子4について観察され、HPAによると、この制御因子は主に消化管において発現され、泌尿生殖器官中に少量のみ存在する。

30

【0071】

スーパーオキシドディスムターゼ（-49.2倍）及びセルピンB4（-43.5倍）もまた、有意に過少発現されたことが認められた。

40

【0072】

MS/MSによって同定された発現が異なるタンパク質のデータを用いて、多変量解析（multivariate analysis）を実行した。

【0073】

多変量解析は、主成分分析（Principal Component Analysis（PCA））として公知であり、PCAの結果を図2a及び図2bに示す。これらの図では、健康な女性及びB Vに罹患した女性の分画プール中のペプチド並びにリファキシミンで治療された女性のペプチドが示される。リファキシミンによる治療は、100mg/日の投薬量で5日間（寛解、A - R；非寛解、A - N）、25mg/5日間（寛解、B - R；非寛解、B - N）、100mg/2日間（寛解、C - R；非寛解、C - N）、及びブラシーボ5日間（D - N）で

50



あった。2つのタイプの比較を行った：(i)健康な女性の腔液(HF)由来のタンパク質の分画プールと、細菌性腔症に罹患した女性の腔液(BVF)由来のタンパク質の分画プールとの比較；(ii)様々な用量のリファキシミン又はブラシーボの投与によって治療されたBV罹患女性の腔液由来のタンパク質の全プールの治療前(BV)と治療後(A-R、A-N、B-R、B-N、C-R、C-N、D-N)との比較。タンパク質の分画プールは、例えば、MS/MSによる解析に先立って、様々な膜多孔度を有する膜濾過による分離でタンパク質を分離することによって得られる。

#### 【0074】

プロテオーム技術によって同定されたタンパク質を、遺伝子オントロジー(Gene Ontology(GO))解析(AmiGOバージョン1.8、データベース公開2012-11-03)に供し、同定されたタンパク質と関連する生物学的プロセス、分子機能及び細胞内局在を同定した。MS/MSデータについて、さらに、公に利用可能なHuman Protein Atlasデータベース(HPA)を用いて組織発現パターンを評価した。

10

#### 【0075】

表9、10及び11は、健康な女性とBVに罹患した女性との間で発現が異なるとMS/MSで同定されたタンパク質の遺伝子オントロジー(GO)カテゴリー化に関する割合を示す。この分類は、生物学的プロセス、細胞の構成要素、分子機能のようなキーワードカテゴリーに従って行った。タンパク質が2以上の機能的カテゴリーと関連する場合、1つのGO用語を任意に選択した。

20

#### 【0076】

各ヒトタンパク質について、GOデータベースからの情報に基づいて、生物学的プロセス、細胞局在及び分子機能を定めた。発現が異なるタンパク質の最大群(約23%)は、先天性免疫応答及び補体活性化に関与していた。興味深いことに、このGOカテゴリーは14の免疫グロブリン鎖領域をグループ分けし、これらの領域は、免疫グロブリン(Ig)m $\mu$ 鎖C領域(-6.1倍の発現変化)を唯一の例外として、全てBVにおいて過剰に発現した(比率の中央値7.1)。BVにおける顕著な上方制御は、補体C3(比率34.5)、インター- $\alpha$ -トリプシンインヒビター重鎖H1(比率36.9)及びリンパ球特異的タンパク質1(比率21.4)についても観察され、これらは、同じ生物学的プロセスカテゴリーに分類された。

30

#### 【0077】

上皮発達及び角質化は同定されたタンパク質の15%を占めたのに対し、14%が低分子代謝プロセスに関与すると分類された。タンパク質の5%のみが炎症反応に関与した。

#### 【0078】

制御異常の(dysregulated)タンパク質の半数以上は、細胞外空間に局在化(37%)又は形質膜と関連(結合)(16%)していた。

#### 【0079】

同定されたタンパク質の4分の1近くは、細胞質(23%)であった。分子機能によると、発現が異なるタンパク質の53%もが結合活性を有すると分類された。これらのうち、タンパク質結合(20%)が最も多く示されたGOカテゴリーであり、次いでカルシウムイオン(14%)及び抗原結合(13%)であった。同定されたタンパク質の20%が酵素活性に関連し、17%が構造分子(細胞骨格分子)活性に関連していた。

40

#### 【0080】

発現が異なるヒトタンパク質を伴う経路及びネットワークは、機能解析用統合ソフトウェアであるMetaCore(登録商標)(Thomson Reuter)を用いて解析された。濃縮解析(enrichment analysis)により、濃縮経路(enriched pathways)の大部分が細胞骨格再構成(cytoskeleton remodelling)、補体活性化(古典経路、副経路及びレクチン経路)及び血液凝固(データは示さず)に関連したことが明らかになった。タンパク質間のマップ相互作用のために、最短経路を「analyze network」アルゴリズムを用いて解析した。構築された機能的サブネットワーク(functional sub-networks)に基づくと、HFプール及びBVFにプールにおいて発現が異なるタンパク質は、発達プロセス(P=1.2

50

$2 \times 10^{-31}$  )、免疫系プロセス ( $P = 3.93 \times 10^{-22}$  ) 及び化学的刺激に対する反応 ( $P = 1.71 \times 10^{-20}$  ) に主に関与していた。

【0081】

H F プールと B V F プールとで発現が異なっていた 13 個の微生物タンパク質のうち、9 個 (約 69%) が乳酸桿菌属菌株 (系統) に由来しており、L. アシドフィルス (*L. acidophilus*)、L. カゼイ (*L. casei*)、L. ガセリ (*L. gasseri*) 及び L. ヘルベティカス (*L. helveticus*) 種に属し、主にグルコース代謝及びタンパク質合成に関与していた。これら 9 個のうち、5 個は B V F プールにおいて比率の中央値 - 7.7 で下方制御され、L. アシドフィルスに由来する 4 個のタンパク質を含む。L. アシドフィルスは、主な  $H_2O_2$  産生乳酸桿菌属種の 1 つであり、乳酸桿菌属が健康な腔内微生物相の保護に関与していることを支持する。

10

【0082】

B V において過剰に発現された 4 個のタンパク質のうち、2 個は、腔内に最も高い頻度で生じる乳酸桿菌属種の 1 つである L. ガセリ由来である (比率の中央値 3.2)。残りのタンパク質は L. カゼイ ( $n = 1$ ) 及び L. ヘルベティカス ( $n = 2$ ) 由来であり、これらの種は、直腸腔の交差汚染 (cross-contamination) の結果として腔内生態系において認めることができる。興味深いことに、対照的な発現パターンを有する異なる乳酸桿菌属種から 3 個のエノラーゼ及び 2 個のトリオースリン酸イソメラーゼが同定され、このことは、これらのタンパク質と B V 状態との間に相関性がないことを示唆した。スタフィロコッカス アウレウス (黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)) (低温ショックタンパク質 *cspA*)、S. エピデルミディス (表皮ブドウ球菌 (*S. epidermidis*)) (L-乳酸デヒドロゲナーゼ) 及びカンジダ グラブラタ (*Candida glabrata*) (細胞質 tRNA<sub>2</sub>-チオール化タンパク質 2 (Cytoplasmic tRNA 2-thiolation protein 2)) 由来の 3 個のタンパク質は、これらの細菌がどれも B V と関連していることが知られていないにもかかわらず、B V F プールにおいて有意に増大した (それぞれ、比率 48.0、3.6 及び 2.7)。サッカロミセス セレビスエ (*Saccharomyces cerevisiae*) 由来の 1 個のタンパク質 (転写因子 PDR8) は、B V F プールにおいて下方制御された (比率 - 36.2)。

20

【0083】

質量分析 (MS/MS) によると、B V に罹患した女性の腔液中で発現が異なると同定された 284 個のヒトタンパク質のほとんどは、リファキシミンで治療された患者において下方制御されたので、B V に罹患した女性において観察されたタンパク質プロファイルの変化を妨げて腔内生態系に健康な状態を戻すことにリファキシミンが影響を与えることを示す。

30

【0084】

表 10 は、MS/MS により同定されたタンパク質の遺伝子オントロジー (GO) のカテゴリー化の割合を示し、前記同定されたタンパク質は、B V に罹患した女性においてリファキシミン/プラシーボ治療の前後で発現が異なる。分類は、(a) 生物学的プロセス、(b) 細胞の構成要素、(c) 分子機能などのキーワードカテゴリーに従って行い、タンパク質が 2 以上の機能的カテゴリーと関連する場合、1 つの GO 用語を任意に選択した。

40

【0085】

B V と健康な女性 (H) との比較と同様に、GO 分類によって同定された主なカテゴリーは先天性免疫応答、補体活性化及び低分子代謝プロセスと関連しているのに対し、炎症反応に関与しているのはほんのわずかな割合 (3% 未満) のみである。しかし、免疫グロブリン及び他の免疫分子は、過少発現する傾向を示した。この所見は、B V 対 H のデータセットについての結果の比較において認められた所見とは逆であり、抗生物質による治療後に免疫応答が全般的にシャットダウンする (general shutdown) ことを示す。

【0086】

このプロテオミクス研究は、腔内プロテオームの調節における抗生物質投薬量の重要性

50

も強調する。

【0087】

このタンパク質解析において、ブラシーボの投与は異なるタンパク質（発現が異なるタンパク質）の最小数と関連しており、その発現の変化は、リファキシミンで治療された女性において観察された傾向と逆の方向にある。

【0088】

興味深いことに、A - N プール及び B - N プールは、B V プール並びに C - R プール及び C - N プールと一致していた。このことは、B V に罹患した女性、リファキシミンによる治療後に寛解しなかった女性、及び 2 日間のみ抗生物質を投与された女性のプロテオームプロファイルの類似性を示唆する。

10

【0089】

発現が異なるタンパク質の最大数は、25 mg のリファキシミンを 1 日 1 回 5 日間投与した後に同定された。この投薬量は、タンパク質発現においても最高倍の変化をもたらしたので、B V に関するプロテオームに対してこの治療レジメンが最も大きな影響を与えることも確認された。

【0090】

いくつかの特異的タンパク質は、細菌感染を評価するために有意義である。表 1 及び表 2 は、健康な女性からサンプリングされた膿液を表す参照サンプルに対して、膿感染症に罹患した女性からサンプリングされた膿液中に存在する最も有意なタンパク質を選択する表 7 及び表 8 から得られた重要なタンパク質のセットを示す。これらのタンパク質は、感染症（例えば、細菌性膿症）の状態を診断及び評価するために有意義である。

20

【0091】

これらの特異的タンパク質は、細菌性膿症（B V）に影響を受け、B V の診断に有用であるので、「B V 用の特異的バイオマーカー」と称される。表 1 は、健康な女性（例えば、感染していない女性）からサンプリングされた膿液を表す参照サンプルに対して B V に罹患した女性において増大する、重要なタンパク質のセットを示し、一方、表 2 は、健康な女性からサンプリングされた膿液を表す参照サンプルに対して B V に罹患した女性において減少する、重要なタンパク質のセットを示す。健康な状態又は感染（例えば、B V）の状態に対して減少又は増大する特異的タンパク質の例としては、ビタミン D 結合タンパク質、デスモコリン - 2、カルシウム依存性塩素チャネル制御因子 4、カタラーゼ、低分子プロリンリッチタンパク質 3、ガレクチン - 3 - 結合タンパク質、ヘモペキシン、免疫グロブリンファミリー、中間径フィラメントファミリー、リポカリンファミリー、1 - 酸性糖タンパク質 1、1 - 酸性糖タンパク質 2、好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン、リンパ球特異的タンパク質 1、ミエロプラスチン、ペリリピン - 3、ペリプラキン、タンパク質 S 100 - A 9、タンパク質 S 100 - A 7、スーパーオキシドディスムターゼ [Cu - Zn] が挙げられる。

30

【0092】

健康な女性からサンプリングされた膿液を表す参照サンプルに対して膿感染症患者からサンプリングされた膿液中に存在する特異的タンパク質の量の変化は、感染症（例えば、細菌性膿症）の存在を決定するために診断上有用である。

40

【0093】

例えば、発現が異なるタンパク質が、表 1 において同定された特異的タンパク質の少なくとも 1 つであって、かつ 1.5 より大きい比率を有する場合、細菌感染が陽性であると診断される。好ましくは、表 1 において同定された特異的タンパク質の少なくとも 2 つが 1.5 より大きい比率を有する。より好ましくは、表 1 において同定された特異的タンパク質の 3 又はそれ以上が 1.5 より大きい比率を有する。本発明の方法のいくつかの実施形態において、前記比率は 3 より大きく、好ましくは 5、10 又は 20 より大きい。

【0094】

別の例において、発現が異なるタンパク質が、表 2 において同定された特異的タンパク質の少なくとも 1 つであって、かつ 1.5 未満の比率を有する場合、細菌感染は陽性で

50

あると診断される。好ましくは、表2において同定された特異的タンパク質の少なくとも2つが-1.5未満の比率を有する。より好ましくは、表2において同定された特異的タンパク質の3又はそれ以上が-1.5未満の比率を有する。上記方法のいくつかの実施形態において、前記比率は-3未満であり、好ましくは-5、-10又は-20より大きい。特定の例において、細菌感染は、-5000未満（好ましくは-5500未満）の比率でカルシウム依存性塩素チャネル制御因子4が低減することによって、陽性であると診断される。

【0095】

【表1】

表1

タンパク質名	比率:BV/H
デスモコリン-2	8.9
低分子プロリンリッチタンパク質3	2.0
免疫グロブリンJ鎖	3.7
中間径フィラメントファミリー	
ケラチンI型細胞骨格10	30.3
ケラチンII型細胞骨格1	4.9
上皮ケラチンII型細胞骨格2	39.8
ケラチンII型細胞骨格5	2.0
好中球セラチナーゼ結合性リポカリン	19.7
リンパ球特異的タンパク質1	21.4
ペリリピン-3	1.9
ペリプラキン	3.5

10

20

【0096】

【表2】

表2

タンパク質名	比率:BV/H
ビタミンD結合タンパク質	-2.8
カルシウム依存性塩素チャネル制御因子4	-5645.4
カタラーゼ	-16.2
ガレクチン-3-結合タンパク質	-8.8
ヘモペキシン	-1.7
免疫グロブリンファミリー	
免疫グロブリンmu鎖C領域	-6.1
リポカリンファミリー	
$\alpha$ 1-酸性糖タンパク質1	-7.9
$\alpha$ 1-酸性糖タンパク質2	-28.6
ミエロプラスチン	-5.1
タンパク質S100-A9	-4.0
タンパク質S100-A7	-4.3
スーパーオキシドディスムターゼ[Cu-Zn]	-49.2

30

40

【0097】

50

表 3 及び 4 は、異なる投薬量及び異なる治療時間でのリファキシミンによる治療後において、寛解 (R) にある女性に対する BV に罹患した女性 (BV) の腔液中のタンパク質比率を示す。

【 0 0 9 8 】

表 3 は、以下の比較において、異なるリファキシミン投薬量での治療後のタンパク質の減少を示す：異なる投薬量のリファキシミンによって誘発された (R) (A - R、B - R、C - R) に対するリファキシミン BV に罹患した女性 (BV)。

【 0 0 9 9 】

治療後の患者からサンプリングされた腔液に対する、腔感染症 (例えば、細菌性腔症) 患者由来の腔液サンプル中に存在する特異的タンパク質の量の変化は、例えば、感染症が持続しており患者が治療に対して非応答者であるかどうか、感染症が寛解にあるかどうか、又は感染症が治癒しているかどうかなど、感染症の状態を評価するために診断上有用である。

10

【 0 1 0 0 】

例えば、発現が異なるタンパク質が、表 3 において同定された特異的タンパク質の少なくとも 1 つであって、かつ 1.5 より大きい比率を有する場合、細菌感染の寛解が積極的に (positively) 決定される。好ましくは、表 1 において同定された少なくとも 2 つの特異的タンパク質が 1.5 より大きい比率を有する。より好ましくは、表 1 において同定された特異的タンパク質の 3 又はそれ以上が 1.5 より大きい比率を有する。本発明の方法のいくつかの実施形態において、前記比率は 2 より大きく、好ましくは 3、5 又は 10 より大きい。特定の実施形態において、寛解は、1.5 より大きな比率でヘモペキシン又はタンパク質 S 1 0 0 - A 7 が増大することによって判断される。

20

【 0 1 0 1 】

別の例において、発現が異なるタンパク質が、表 4 において同定された特異的タンパク質の少なくとも 1 つであって、かつ - 1.5 未満の比率を有する場合、細菌感染の寛解が積極的に決定される。好ましくは、表 2 において同定された特異的タンパク質の少なくとも 2 つが - 1.5 未満の比率を有する。より好ましくは、表 2 において同定された特異的タンパク質の 3 又はそれ以上が - 1.5 未満の比率を有する。上記方法のいくつかの実施形態において、前記比率は - 3 未満であり、好ましくは - 5、- 10 又は - 20 より大きい。特定の例において、細菌感染の寛解は、- 1.5 未満、好ましくは - 2 未満、より好ましくは - 3 未満の比率で低分子プロリンリッチタンパク質 3、ペリリピン - 3、ペリプラキン及び / 又は免疫グロブリン J 鎖が低減することによって、積極的に決定される。

30

【 0 1 0 2 】

様々な治療後の腔感染症患者のプールからサンプリングされた腔液中に存在する特異的タンパク質の量の差異は、感染症の状態を評価するための最も有効な治療を同定するために有用である。一般に、治療の有効性は、特定の治療について (治療前後のプロテオームプロファイルの比較によって決定される) 発現が異なるタンパク質の総数によって評価できる。発現が異なるタンパク質 (特に、表 3 及び 4 において同定されたタンパク質) の数が多いほど、治療の有効性が大きい。

【 0 1 0 3 】

40

【表 3】

表 3

タンパク質名	比率:BV/R		
	A-R 100 mg×5日間	B-R 25 mg×5日間	C-R 100 mg×2日間
ビタミンD結合タンパク質	1.7	17.8	0.0
カルシウム依存性塩素チャネル制御因子4	2.9	0.0	1.8
カタラーゼ	0.0	4.0	2.3
ガレクチン-3-結合タンパク質	3.6	2.7	0.0
ヘモペキシン	1.9	9.0	1.7
免疫グロブリンファミリー			
免疫グロブリンmu鎖C領域	1.8	8.1	0.0
リポカリンファミリー			
α1-酸性糖タンパク質1	2.3	7.8	0.0
α1-酸性糖タンパク質2	1.5	19.5	-1.9
ミエロプラスチン	0.0	3.1	4.0
タンパク質S100-A9	4.2	2.6	0.0
タンパク質S100-A7	19.2	5.7	2.5
スーパーオキシドディスムターゼ[Cu-Zn]	1.8	1.5	0.0

10

20

## 【0104】

表 4 は、以下の比較において、リファキシミンによる治療後に増大するタンパク質を示す：異なる投薬量のリファキシミンによって誘発された（R）（A-R、B-R、C-R）に対するBV。

## 【0105】

【表 4】

表 4

タンパク質名	比率:BV/R		
	A-R 100 mg×5日間	B-R 25 mg×5日間	C-R 100 mg×2日間
デスモコリン-2	-1.5	-2.0	0.0
低分子プロリンリッチタンパク質3	-6.6	-6.6	-4.4
免疫グロブリンファミリー			
免疫グロブリンJ鎖	-1.5	-4.1	-2.2
中間径フィラメントファミリー			
ケラチンI型細胞骨格10	-2.8	-3.5	0.0
ケラチンII型細胞骨格1	-3.9	-6.2	-2.3
上皮ケラチンII型細胞骨格2	-4.3	-7.1	0.0
ケラチンII型細胞骨格5	-16.3	-12.7	-2.5
リポカリンファミリー			
好中球セラチナーゼ結合性リポカリン	0.0	-1.5	0.0
リンパ球特異的タンパク質1	-2.8	-3.2	0.0
ペリリピン-3	-1.7	-2.9	-2.3
ペリプラキン	-3.6	-3.4	-2.0

10

20

## 【0106】

米国特許出願第13/559,613号(参照することによりその全体が本明細書に組み入れられる)に記載の臨床試験には、B群が25mgリファキシミンによる5日間の治療後に感染から寛解したことが示されている。本明細書に記載の方法の一態様は、BVの治療の有効性を評価することであり、例えば、BVの寛解を同定することは、本明細書に記載の特異的タンパク質の発現における変化によって示される。別の態様は、抗生物質による治療(特に、リファキシミン療法)に対する患者の反応(応答)を評価することである。非応答患者の同定は、投薬量を変更するか又は抗生物質療法を変更するかのいずれかによってBVが寛解にある積極的な臨床的反応をもたらすように治療を修正するために特に重要である。

30

## 【0107】

表3及び4は、ビタミンD結合タンパク質、免疫グロブリンファミリー、リポカリンファミリー、ミエロプラスチンファミリーが、リファキシミンによる治療後のBVの寛解を評価するための好ましい特異的バイオマーカーであることを示す。免疫グロブリンファミリー(免疫グロブリンmu鎖C領域及び免疫グロブリンJ鎖);リポカリンファミリー(1-酸性糖タンパク質1、1-酸性糖タンパク質2);中間径フィラメントファミリー(ケラチンII型細胞骨格1、上皮ケラチンII型細胞骨格2及びケラチンII型細胞骨格5)における特異的タンパク質も好ましい。

40

## 【0108】

本発明の方法の開示によると、プロテオーム技術は、バイオマーカーとして同定された特異的タンパク質を分析及び/又は特徴付けることによってBVを診断するために有用である。ELISA、ウェスタンブロッティング、NMRなどの当該分野で利用可能な他の分析技術もまた、タンパク質の量を分析及び決定するために有用である。

## 【0109】

膣感染症を同定するために有用な少なくとも1つのタンパク質の特徴付けに使用するた

50

めの診断キットも、提供される。前記キットは、質量分析を用いて膣感染症を診断する方法を実施するための説明書を含む。

【0110】

実施例1には、DNAの配列分析に基づくリアルタイムPCRが記載され、健康な女性及びBVに罹患した女性において収集されたサンプルの膣内生態系の微生物組成を示す。

【0111】

実施例2には、質量分析を用いて膣液中に存在するタンパク質の決定(プロテオームプロファイル)が記載されており、表7は、質量分析による解析によって同定される、健康な女性(HF)とBVに罹患した女性(BVF)とで発現が異なるタンパク質を示す。

【0112】

表8は、質量分析による解析によって同定される、治療前(BV)と治療後(A-R、A-N、B-R、B-N、C-R、C-N、D-N)とでBVに罹患した女性において発現が異なるタンパク質を示す。

【0113】

リファキシミン及びプラシーボによる治療後、284個のヒトタンパク質が、BVに罹患した女性由来の膣液中に存在すると同定され、48個(約17%)が、BVプールと比べて、抗生物質の投薬量にも臨床的成果にも関係なく、リファキシミン治療された女性由来の全プールにおいて存在した。特に、23個のタンパク質が治療後に増大し、17個のタンパク質が治療後に減少したのに対して、残りの8個のタンパク質については、タンパク質存在量の対照的な変化が観察された。とりわけ、リファキシミン治療群において、ケラチンII型細胞骨格74(範囲789.6~13424.4倍)、タンパク質FAM25(範囲437.6~8944.5倍)及びウェルナー症候群ATP依存性ヘリカーゼ(範囲12.4~750.5倍)について数百~千倍以上の増大が認められた。興味深いことに、これらのタンパク質について最も高い変化は、B-Rプール、次いでA-Rプールにおいて生じた一方、プラシーボ投与後には、ほとんど又は全く変化が観察されなかった。HPAによると、これらのタンパク質は全て、女性組織及び消化管の両方において中程度から強度に発現される。注目すべきことは、タンパク質FAM25は、以前に、HFプールに対してBVFにおいて有意に下方制御される(比率-11.2)と同定されていたことである。同様の逆の傾向は、両方のプロテオーム比較データセットにおいて発現が異なる89個のタンパク質のうち残りの45個について得られた。特に、BV対Hの比較において認められたものとは逆に、これらのタンパク質のうち25個は、リファキシミンにより治療された女性由来の6つのプールのうち少なくとも4つにおいて上方制御(5個)又は下方制御(20個)された。25個のうち17個(68%)のタンパク質について、最も高い比率はB-Rプールと関連していた。興味深いことに、B群は、発現が異なるヒトタンパク質の最大総数を示し、発現が異なるタンパク質の数は、B-Rプールにおいて214個、B-Nプールにおいて155個であった。また、B-Rプール中の83個のタンパク質の比率変化(倍数変化)が、プール間で最も高く、BVに関連するプロテオームに対してこの治療レジメンが大きな影響を与えることを示唆した。特に、ケラチンII型細胞骨格74、タンパク質FAM25及びウェルナー症候群ATP依存性ヘリカーゼに加えて、スタニオカルシン-1(比率113.1)、キニノーゲン-1(比率-88.6)及び前立腺幹細胞抗原(比率63.8)について、50倍より大きい発現変化が認められた。Zn-2-糖タンパク質(比率-9.4)、免疫グロブリン重鎖V-III領域BUT(比率-1.6)及びVH26(比率-1.5)、カリクレイン-13(比率1.5)並びに好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン(比率1.5)は、B-Rプールにおいてのみ発現が異なると同定された。注目すべきことは、174個のタンパク質がA-RプールとB-Rプールとの間で共有され、168個(97%)が同じ発現傾向を示したことである。逆に、138個のタンパク質のみがB-Rプール及びC-Rプールに共通し、24個(17%)が逆の変化(逆の倍数変化)を有していた。

【0114】

プラシーボの投与は、異なるタンパク質(発現が異なるタンパク質)の最小数(207

10

20

30

40

50



個)と関連していた。D - N プールにおいて50倍を超える発現変化は、タンパク質ND R G 1 (比率 - 1317.2)、免疫グロブリン - 7鎖C領域(比率 - 957.1)、タンパク質S100 - P (比率 - 443.4)、ロイシンリッチ反復含有タンパク質8E (比率 - 205.8)、免疫グロブリン鎖V - I I I領域POM (比率 - 83.6)及び免疫グロブリンJ鎖(比率 - 50.8)について認められた。とりわけ、免疫グロブリン鎖V - I I I領域POMを除いて、タンパク質発現の変化は、他のプールにおいて観察された傾向とは逆の方向にあった。

#### 【0115】

同定された発現が異なるヒトタンパク質の各々について、GOデータベースからの情報に基づいて、生物学的プロセス、細胞局在及び分子機能を定めた。BV対Hの比較と同様に、たいていのタンパク質が先天性免疫応答及び補体活性化(22%)及び低分子代謝プロセス(16%)に関与していたのに対し、炎症反応に関与していたのはわずか3%であった。興味深いことに、最も多く示されたGOカテゴリーにおいて、約14%のタンパク質のみがリファキシミンによる治療後に増大し、32個(54%)が減少した一方、19個(32%)のタンパク質について対照的な変化が認められた。

10

#### 【0116】

注目すべきことは、このカテゴリーは、Hプールに対するBVプールにおいても発現が異なると同定された17個のタンパク質をグループ分けしたことである。これらのタンパク質のうち10個、すなわち、アネキシンA3、補体C3、免疫グロブリン - 2鎖C領域、免疫グロブリン重鎖V - I I I領域VH26、免疫グロブリン鎖C領域、免疫グロブリン鎖V - I V領域(フラグメント)、免疫グロブリン鎖V - I I I領域LOI、免疫グロブリン鎖V - I V領域Hi1、免疫グロブリン - 1鎖C領域及びラクトトランスフェリンは、BV対Hのデータセットにおいて認められたものとは逆に、過少発現する傾向を示した。大量のタンパク質が、細胞外空間(39%)及び形質膜(12%)に局在化していた。発現が異なるタンパク質の20%もが、細胞質であった。示された主な分子機能は、構造分子活性(19%)、抗原結合(15%)及びタンパク質結合(14%)であった。

20

#### 【0117】

発現が異なるヒトタンパク質を伴う経路及びネットワークは、MetaCore(登録商標)データベース検索(Thomson Reuter)を用いて解析された。濃縮解析によると、最も濃縮した経路は、HFプール及びBVFプールの以前の分析と同様に、細胞骨格再構成、血液凝固及び補体活性化と関連していた。

30

#### 【0118】

BV、A - R、A - N、B - R、B - N、C - R、C - N及びD - Nプールにおいて発現が異なる30個の微生物タンパク質の半分以上(すなわち、約53%)は、乳酸桿菌属種[L.アシドフィルス、L.ブレビス(L. brevis)、L.カゼイ、L.デルブレッキイ亜種ブルガリクス(L. delbrueckii subsp. bulgaricus)、L.ガセリ、L.ヘルベティカス、L.ジョンソニ(L. johnsonii)]由来であり、主にグルコース代謝、複製及びタンパク質合成に関与していた。興味深いことに、L.ブレビス由来のトリガーファクターのみが、リファキシミンによる治療後に全てのプールにおいて比率の中央値 - 2.5で下方制御されたことが認められた。6個の乳酸桿菌属タンパク質は、抗生物質により治療された女性由来の6つのプールのうち少なくとも2つにおいて、過剰発現(2個)又は過少発現(4個)されたのに対し、L.デルブレッキイ亜種ブルガリクス由来のピルビン酸キナーゼ(比率1.5)及びトリオースリン酸イソメラーゼ(比率2.4)は、それぞれ、A - Rプール及びB - Nプールにおいてのみ影響した。プール間で対照的な発現パターンは、乳酸桿菌属由来の残り7個のタンパク質について観察された。とりわけ、L.アシドフィルス、L.デルブレッキイ亜種ブルガリクス、L.ガセリ及びL.ヘルベティカス由来の4個のエノラーゼが同定されたが、最初の3個のみが、抗生物質投与に対して、比率の中央値 - 2.7で下方制御の傾向を示した。最大の比率変化はA - RプールにおいてL.ガセリ由来のホスホグリセリン酸キナーゼについて観察された(-22.1倍)が、

40

50

このタンパク質は A - N、B - R、C - R 及び D - N プールにおいて過剰発現されたことが認められ、このことは、抗生物質による治療と相関性がないことを示唆した。

【0119】

14 個 (47%) の発現が異なる微生物タンパク質は、腔環境と関連し得る他の微生物に由来していた。すなわち、オエノコッカス オエニ (*Oenococcus oeni*)、ピキア ギリエルモンディ (*Pichia guilliermondii*)、ビフィドバクテリウム ロンガム亜種インファンティス (*Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*)、*S. セレシエ*、*S. エピデルミディス*、ウレアプラズマ パルバム (*Ureaplasma parvum*)、マイコプラズマ ゲニタリウム (*Mycoplasma genitalium*)、エシェリキア コリ (大腸菌 (*Escherichia coli*)) 及び *S. アウレウス*。特に、ホスホグリセリン酸キナーゼ及び確実な DNA II ヘリカーゼホモログ (probable DNA helicase II homolog) は、それぞれ、B V と関連していることが知られている *U. パルバム* 及び *M. ゲニタリウム* に由来していた。3 個のタンパク質は 1 又は複数の乳酸桿菌属種においても同定されたが、対照的な変化を示した: 60 kDa シャペロニン (*L. ガセリ* 及び *O. オエニ*)、ホスホグリセリン酸キナーゼ (*L. ガセリ*、*L. ヘルベティカス* 及び *U. パルバム*) 及びピルビン酸キナーゼ (*L. デルプレッキイ* 亜種 *ブルガリクス* 及び *S. アウレウス*)。 *U. パルバム* 由来のホスホグリセリン酸キナーゼ (比率の中央値 5.1) 及び *S. アウレウス* 由来の UPF0082 タンパク質 SAB0618 (比率の中央値 8.9) は全てのプールで上方制御された一方、中央値 - 2.3 倍の下方制御が *S. セレシエ* 由来のリンゴ酸デヒドロゲナーゼについて観察された。

10

20

【0120】

表 8 は、質量分析による解析によって同定される、治療前 (B V) と治療後 (A - R、A - N、B - R、B - N、C - R、C - N、D - N) とで B V に罹患した女性において発現が異なるタンパク質を示す。

【0121】

リファキシミン及びブラシーボによる治療後、284 個のヒトタンパク質が、B V に罹患した女性由来の C V において発現が異なると同定され、48 個 (約 17%) が、B V プールと比べて、抗生物質の投薬量にも臨床的成果にも関係なく、リファキシミン治療された女性由来の全プールにおいて発現が異なっていた。特に、23 個のタンパク質が治療後に増大し、17 個のタンパク質が治療後に減少したのに対して、残りの 8 個のタンパク質については、タンパク質存在量の対照的な変化が観察された。とりわけ、リファキシミン治療群において、ケラチン II 型細胞骨格 74 (範囲 789.6 ~ 13424.4 倍)、タンパク質 FAM25 (範囲 437.6 ~ 8944.5 倍) 及びウエルナー症候群 ATP 依存性ヘリカーゼ (範囲 12.4 ~ 750.5 倍) について数百 ~ 千倍以上の増大が認められた。興味深いことに、これらのタンパク質について最も高い変化は、B - R プール、次いで A - R プールにおいて生じた一方、ブラシーボ投与後には、ほとんど又は全く変化が観察されなかった。

30

【0122】

H P A によると、これらのタンパク質は全て、女性組織及び消化管の両方において中程度から強度に発現される。注目すべきことは、タンパク質 FAM25 は、以前に、H プールに対して B V において有意に下方制御される (比率 - 11.2) と同定されていたことである。同様の逆の傾向は、両方のプロテオーム比較データセットにおいて発現が異なる 89 個のタンパク質のうち残りの 45 個について得られた。特に、B V 対 H の比較において認められたものとは逆に、これらのタンパク質のうち 25 個は、リファキシミンにより治療された女性由来の 6 つのプールのうち少なくとも 4 つにおいて上方制御 (5 個) 又は下方制御 (20 個) された。25 個のうち 17 個 (68%) のタンパク質について、最も高い比率は B - R プールと関連していた。興味深いことに、B 群は、発現が異なるヒトタンパク質の最大総数を示し、発現が異なるタンパク質の数は、B - R プールにおいて 214 個、B - N プールにおいて 155 個であった。また、B - R プール中の 83 個のタンパク質の比率変化 (倍数変化) が、プール間で最も高く、B V に関連するプロテオームに対

40

50

してこの治療レジメンが大きな影響を与えることを示唆した。特に、ケラチン I I 型細胞骨格 7 4、タンパク質 F A M 2 5 及びウエルナー症候群 A T P 依存性ヘリカーゼに加えて、スタニオカルシン - 1 (比率 1 1 3 . 1)、キニノーゲン - 1 (比率 - 8 8 . 6) 及び前立腺幹細胞抗原 (比率 6 3 . 8) について、5 0 倍より大きい発現変化が認められた。Z n - 2 - 糖タンパク質 (比率 - 9 . 4)、免疫グロブリン重鎖 V - I I I 領域 B U T (比率 - 1 . 6) 及び V H 2 6 (比率 - 1 . 5)、カリクレイン - 1 3 (比率 1 . 5) 並びに好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン (比率 1 . 5) は、B - R プールにおいてのみ発現が異なると同定された。注目すべきことは、1 7 4 個のタンパク質が A - R プールと B - R プールとの間で共有され、1 6 8 個 (9 7 %) が同じ発現傾向を示したことである。逆に、1 3 8 個のタンパク質のみが B - R プール及び C - R プールに共通し、2 4 個 (1 7 %) が逆の変化 (逆の倍数変化) を有していた。

10

## 【 0 1 2 3 】

ブラシーボの投与は、異なるタンパク質 (発現が異なるタンパク質) の最小数 (2 0 7 個) と関連していた。D - N プールにおいて 5 0 倍を超える発現変化は、タンパク質 N D R G 1 (比率 - 1 3 1 7 . 2)、免疫グロブリン - 7 鎖 C 領域 (比率 - 9 5 7 . 1)、タンパク質 S 1 0 0 - P (比率 - 4 4 3 . 4)、ロイシンリッチ反復含有タンパク質 8 E (比率 - 2 0 5 . 8)、免疫グロブリン 鎖 V - I I I 領域 P O M (比率 - 8 3 . 6) 及び免疫グロブリン J 鎖 (比率 - 5 0 . 8) について認められた。とりわけ、免疫グロブリン 鎖 V - I I I 領域 P O M を除いて、タンパク質発現の変化は、他のプールにおいて観察された傾向とは逆の方向にあった。

20

## 【 0 1 2 4 】

同定された発現が異なるヒトタンパク質の各々について、G O データベースからの情報に基づいて、生物学的プロセス、細胞局在及び分子機能を定めた。B V 対 H の比較と同様に、たいていのタンパク質が先天性免疫応答及び補体活性化 (2 2 %) 及び低分子代謝プロセス (1 6 %) に関与していたのに対し、炎症反応に関与していたのはわずか 3 % であった。興味深いことに、最も多く示された G O カテゴリーにおいて、約 1 4 % のタンパク質のみがリファキシミンによる治療後に増大し、3 2 個 (5 4 %) が減少した一方、1 9 個 (3 2 %) のタンパク質について対照的な変化が認められた。

## 【 0 1 2 5 】

注目すべきことは、このカテゴリーは、H F プールに対する B V プールにおいても発現が異なると同定された 1 7 個のタンパク質をグループ分けしたことである。これらのタンパク質のうち 1 0 個、すなわち、アネキシン A 3、補体 C 3、免疫グロブリン - 2 鎖 C 領域、免疫グロブリン重鎖 V - I I I 領域 V H 2 6、免疫グロブリン 鎖 C 領域、免疫グロブリン 鎖 V - I V 領域 (フラグメント)、免疫グロブリン 鎖 V - I I I 領域 L O I、免疫グロブリン 鎖 V - I V 領域 H i 1、免疫グロブリン - 1 鎖 C 領域及びラクトトランスフェリンは、B V 対 H のデータセットにおいて認められたものとは逆に、過少発現する傾向を示した。大量のタンパク質が、細胞外空間 (3 9 %) 及び形質膜 (1 2 %) に局在化していた。発現が異なるタンパク質の 2 0 % もが、細胞質であった。示された主な分子機能は、構造分子活性 (1 9 %)、抗原結合 (1 5 %) 及びタンパク質結合 (1 4 %) であった。

30

40

## 【 0 1 2 6 】

発現が異なるヒトタンパク質を伴う経路及びネットワークは、M e t a C o r e (登録商標) データベース検索 (Thomson Reuter) を用いて解析された。濃縮解析によると、最も濃縮した経路は、H プールの以前の分析と同様に、細胞骨格再構成、血液凝固及び補体活性化と関連しており、B V、A - R、A - N、B - R、B - N、C - R、C - N 及び D - N プールにおいて乳酸桿菌属種 (L . アシドフィルス、L . プレビス、L . カゼイ、L . デルプレッキイ亜種ブルガリクス、L . ガセリ、L . ヘルベティカス、L . ジョンソニ) に由来し、主にグルコース代謝、複製及びタンパク質合成に関与していた。興味深いことに、L . プレビス由来のトリガーファクターのみが、リファキシミンによる治療後に全てのプールにおいて比率の中央値 - 2 . 5 で下方制御されたことが認められた。6 個の乳

50

酸桿菌属タンパク質は、抗生物質により治療された女性由来の6つのプールのうち少なくとも2つにおいて、過剰発現(2個)又は過少発現(4個)されたのに対し、L・デルプレッキイ亜種ブルガリクス由来のピルビン酸キナーゼ(比率1.5)及びトリオースリン酸イソメラーゼ(比率2.4)は、それぞれ、A-Rプール及びB-Nプールにおいてのみ影響した。プール間で対照的な発現パターンは、乳酸桿菌属由来の残り7個のタンパク質について観察された。とりわけ、L・アシドフィルス、L・デルプレッキイ亜種ブルガリクス、L・ガセリ及びL・ヘルベティカス由来の4個のエノラーゼが同定されたが、最初の3個のみが、抗生物質投与に対して、比率の中央値-2.7で下方制御の傾向を示した。最大の比率変化はA-RプールにおいてL・ガセリ由来のホスホグリセリン酸キナーゼについて観察された(-22.1倍)が、このタンパク質はA-N、B-R、C-R及びD-Nプールにおいて過剰発現されたことが認められ、このことは、抗生物質による治療と相関性がないことを示唆した。

10

## 【0127】

14個(47%)の発現が異なる微生物タンパク質は、腔環境と関連し得る他の微生物に由来していた。すなわち、オエノコッカス オエニ、ピキア ギリエルモンディ、ピフィドバクテリウム ロンガム亜種インファンティス、サッカロミセス セレピシエ、サッカロミセス エピデルミディス、ウレアプラズマ パルバム、マイコプラズマ ゲニタリウム、エシェリキア コリ及びスタフィロコッカス アウレウス。特に、ホスホグリセリン酸キナーゼ及び確実なDNAIIホモログは、それぞれ、BVと関連していることが知られているウレアプラズマ パルバム及びマイコプラズマ ゲニタリウムに由来していた。3個のタンパク質は1又は複数の乳酸桿菌属種においても同定されたが、対照的な変化を示した: 60kDaシャペロニン(ラクトバチルス ガセリ及びアシドフィルス)、ホスホグリセリン酸キナーゼ(ラクトバチルス ガセリ、ラクトバチルス ヘルベティカス及びウレアプラズマ パルバム)及びピルビン酸キナーゼ(ラクトバチルス デルプレッキイ亜種ブルガリクス及びスタフィロコッカス・アウレウス)。ウレアプラズマ パルバム由来のホスホグリセリン酸キナーゼ(比率の中央値5.1)及びスタフィロコッカス アウレウス由来のUPF0082タンパク質SAB0618(比率の中央値8.9)は全てのプールで上方制御された一方、中央値-2.3倍の下方制御がサッカロミセス セレピシエ由来のリンゴ酸デヒドロゲナーゼについて観察された。

20

## 【0128】

本発明の一実施形態は、腔内細菌感染の検査を受ける個体においてこの感染を診断する方法であって、この方法は、個体から得られた腔液サンプルをプロテオーム解析に供する工程、及び健康な又は感染していない個体由来の腔液サンプルにおけるタンパク質の発現レベルと比較して、検査液サンプルにおいて発現が変化したタンパク質を決定する工程であって、健康なサンプルに対して検査サンプルにおけるタンパク質の発現レベルの増大又は減少により腔感染症を診断する工程を含む。特定のタンパク質の増大又は減少は、好ましくは、絶対値が1.5、2、3、4、5、10、15又は20より大きい比率である。

30

## 【0129】

一実施形態は、腔内細菌感染を診断する方法であって、この方法において、健康なサンプルに対して検査サンプルにおいて減少又は増大するタンパク質は、ビタミンD結合タンパク質、デスモコリン-2、カルシウム依存性塩素チャンネル制御因子4、カタラーゼ、低分子プロリンリッチタンパク質3、ガレクチン-3-結合タンパク質、ヘモペキシン、免疫グロブリンファミリー、中間径フィラメントファミリー、リボカリンファミリー、1-酸性糖タンパク質1、1-酸性糖タンパク質2、好中球ゼラチナーゼ結合性リボカリン、リンパ球特異的タンパク質1、ミエロプラスチン、ペリリピン-3、ペリプラキン、タンパク質S100-A9、タンパク質S100-A7及びスーパーオキシドディスムターゼ[Cu-Zn]からなる群より選択される。

40

## 【0130】

別の実施形態は、診断方法であって、この方法において、健康なサンプル液に対して検査サンプル液において増大するタンパク質は、デスモコリン-2、低分子プロリンリッチ

50

タンパク質 3、免疫グロブリン J 鎖、ケラチン I 型細胞骨格 (keratin type I cytoskeletal) 10、ケラチン II 型細胞骨格 1、上皮ケラチン II 型細胞骨格 2 (keratin type II cytoskeletal 2 epidermal)、ケラチン II 型細胞骨格 5、好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン、リンパ球特異的タンパク質 1、ペリリピン - 3、ペリプラキリン又はこれらの組み合わせから選択される。

【0131】

別の実施形態は、膣感染症の診断方法であって、この方法において、健康なサンプル液に対して検査サンプル液において減少するタンパク質は、ビタミン D 結合タンパク質、カルシウム依存性塩素チャネル制御因子 4、カタラーゼ、ガレクチン - 3 - 結合タンパク質、ヘモペキシン、免疫グロブリン M 鎖定常領域、1 - 酸性糖タンパク質 1、1 - 酸性糖タンパク質 2、ミエロプラスチン、タンパク質 S 100 - A 9、タンパク質 S 100 - A 7、スーパーオキシドディスムターゼ [Cu - Zn] 又はこれらの組み合わせから選択される。

10

【0132】

特に、膣感染症の診断方法において、検査サンプルと参照サンプルとのタンパク質発現比率の増大は、約 1.5 ~ 約 40 の範囲にあり、また、検査サンプルと参照サンプルとのタンパク質発現比率の減少は、約 - 1.5 ~ 約 - 5650 の範囲にある。

【0133】

特定の一実施形態は、膣感染症の診断方法であって、この方法において、抗生物質による治療後、BV 感染したサンプル液に対して検査サンプル液において減少するタンパク質は、ビタミン D 結合タンパク質、カルシウム依存性塩素チャネル制御因子 4、カタラーゼ、ガレクチン - 3 - 結合タンパク質、ヘモペキシン、免疫グロブリン M 鎖 C 領域、1 - 酸性糖タンパク質 1、1 - 酸性糖タンパク質 2、タンパク質 S 100 - A 9、タンパク質 S 100 - A 7、スーパーオキシドディスムターゼ [Cu - Zn] 又はこれらの組み合わせから選択される。

20

【0134】

特定の一実施形態は、膣感染症の診断方法であって、この方法において、抗生物質による治療後、BV 感染したサンプル液に対して検査サンプル液において増大するタンパク質は、デスモコリン - 2、低分子プロリンリッチタンパク質 3、免疫グロブリン J 鎖、ケラチン I 型細胞骨格 10、ケラチン II 型細胞骨格 1、上皮ケラチン II 型細胞骨格 2、ケラチン II 型細胞骨格 5、好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン、リンパ球特異的タンパク質 1、ペリリピン - 3、ペリプラキリン又はこれらの組み合わせから選択される。

30

【0135】

特定の一実施形態は、膣感染症の診断方法であって、この方法において、診断された感染症を治療する方法は、リファキシミンを投与することである。

【0136】

特定の一実施形態は、リファキシミンによる治療の有効性を、その治療前に評価するための診断方法である。

【0137】

特定の一実施形態は、リファキシミンによる治療中及び治療前に、BV に冒された患者が寛解するか否かを評価するための診断方法である。

40

【実施例】

【0138】

実施例 1

この実施例には、DNA の配列分析に基づくリアルタイム PCR が記載され、健康な及び BV に罹患した女性において収集されたサンプルの膣内生態系の微生物組成を示す。

【0139】

膣内細菌群のリアルタイム PCR 分析

(a) サンプル収集

18 歳 ~ 50 歳の閉経前の妊娠していないベルギー人女性合計 80 名を本試験に含めた

50

。スクリーニング来院 ( V 1 ) において、アムセルの診断基準とグラム染色によるニュージェントのスコアリングとの両方を用いて、健康であるか B V であるかの診断がなされた。ニュージェントのスコアが 3 より大きく、かつ 4 つのアムセルの診断基準のうち少なくとも 3 つが陽性である患者は、B V 陽性であるとみなされた。この臨床的評価に従って、女性を、膣管感染の徴候を有さなかった健康な被験体 ( H ) ( n = 4 1 ) 及び B V 患者 ( n = 3 9 ) の 2 つの群に分けた。

【 0 1 4 0 】

試験来院 V 1 で B V と診断された患者を、多施設二重盲検無作為ブラシーボ対照試験 ( E u d r a C T : 2 0 0 9 - 0 1 1 8 2 6 - 3 2 ) に含めた。この試験は、B V の治療について、ブラシーボに対する様々な用量のリファキシミン膣錠の有効性を比較するために実施された。これらの患者は、無作為化来院を行って 4 つの治療群に分類された：A 群は、1 0 0 m g リファキシミン膣錠を 1 日 1 回 5 日間投与され ( n = 1 0 )、B 群は、2 5 m g リファキシミン膣錠を 1 日 1 回 5 日間投与され ( n = 1 0 )、C 群は、1 0 0 m g リファキシミン膣錠を 1 日 1 回最初の 2 日間、次いでブラシーボ膣錠を残りの 3 日間投与され ( n = 9 )、D 群は、ブラシーボ膣錠を 1 日 1 回 5 日間投与された ( n = 1 0 )。試験投薬は、就寝前に膣内投与された。治療の終了から 7 ~ 1 0 日後、追跡来院 ( V 3 ) を実施した。寛解は、アムセルの診断基準 ( 3 未満 ) 及びグラム染色によるニュージェントのスコア ( 3 以下 ) に従って V 3 で評価された ( 表 1 )。

10

【 0 1 4 1 】

2 m L の生理食塩水による標準化膣洗浄物を、左、中央及び右上膣円蓋 ( left, central and right upper vaginal vaults ) に 2 2 番径針から液を流して再吸引することによって、分析のために V 1 及び V 3 において収集した。その後、この膣洗浄物は使用するまで - 8 0 で保管した。

20

【 0 1 4 2 】

サンプル収集は、図 1 にも示されている。

【 0 1 4 3 】

( b ) D N A 及びタンパク質の抽出

各膣洗浄物 1 m L を 9 5 0 0 g で 1 5 分間遠心分離してペレットを上澄みから分離し、タンパク質抽出のために使用した。このペレットを細菌 D N A 分離のために処理した。

【 0 1 4 4 】

D N A 量は、N a n o D r o p N D - 1 0 0 0 ( NanoDrop(R) Technologies、デラウェア州ウィルミントン ) を用いて定量した。

30

【 0 1 4 5 】

9 容量部のアセトン : H C l ( 1 0 : 1 ) を膣洗浄物の上澄みに添加し、1 2 0 0 0 g で 1 0 分間遠心分離することによってタンパク質を沈殿させた。タンパク質のペレットを、7 0 % エタノール 1 m L に溶解し、サンプルを 1 2 0 0 0 g で 1 0 分間回転させた。アセトン 1 m L を添加し、1 2 0 0 0 g で 5 分間遠心分離することによってタンパク質をさらに沈殿させた。上澄みを除去した後、ペレットを S p e e d V a c 濃縮装置 ( Thermo Savant ISS110, Thermo Fisher Scientific、マサチューセッツ州ウォルサム ) によって乾燥し、次いで - 2 0 で保管した。

40

【 0 1 4 6 】

タンパク質抽出物を、2 - D Q u a n t キット ( GE Healthcare、スウェーデン、ウプサラ ) を用いて、製造業者の説明書に従って定量した。

【 0 1 4 7 】

( c ) リアルタイム P C R

4 1 名の健康な女性 ( H )、並びに 3 9 名の B V に罹患した女性のリファキシミン / プラシーボによる治療前 ( B V )、リファキシミン / プラシーボによる治療後 R ( 寛解した 1 1 名の女性 ) 及び N ( 寛解しなかった 2 8 名の女性 ) から収集された頸膣液 ( C V F ) から抽出された D N A サンプルについて、リアルタイム P C R を実施した。

【 0 1 4 8 】

50

16S rRNA遺伝子又は16S-23S rRNAスペーサー領域に標的された特異的プライマーセットを用いて、以下の属又は種を定量した：乳酸桿菌属、ガードネラバギナリス、アトポビウム属、プレボテラ属、ベイヨネラ属、マイコプラズマ ホミニス及びモビルンカス属。

【0149】

標的属及び種の大部分の分布はR群及びH群において類似していた一方、N群はBV群に非常に類似したプロファイルを示した。このことは、健康なような状態を取り戻すことにおいてリファキシミンが有効であることを示唆する。表5は、試験群H、BV、R又はNに属する女性が、分析された各細菌群を有する割合を示す。

【0150】

【表5】

表5

	女性の割合(%)			
	H	BV	R	N
乳酸桿菌属	100	100	100	89.3
ガードネラ バギナリス	9.8	97.4	45.5	85.7
アトポビウム属	56.1	100	100	100
プレボテラ属	68.3	97.4	81.8	89.3
ベイヨネラ属	0.0	46.2	0.0	35.7
マイコプラズマ ホミニス	61	82.1	63.6	71.4
モビルンカス属	2.4	17.9	0.0	10.7

【0151】

試験群H、BV、R及びNに属する女性における乳酸桿菌属、アトポビウム属、ガードネラバギナリス、プレボテラ属、ベイヨネラ属、モビルンカス属及びモビルンカスホミニスの中央値濃度 (median concentration) を、表4に示す。このデータは、膣サンプルから抽出した総DNA ( $\mu\text{g}$ ) あたりの標的属又は種のDNA (ng) として表される。

【0152】

【表6】

表6

群	標的DNA/ゲノム膣DNA(ng/ $\mu\text{g}$ ) (中央値 $\pm$ SD)						
	乳酸桿菌属	アトポビウム属	G. バギナリス	プレボテラ属	ベイヨネラ属	モビルンカス属	モビルンカスホミニス
H	1.93E+01	5.12E-01	0.0	3.61E-02	0.0	0.0	1.92E-02
BV	5.20E+00	1.16E+02	5.40E+01	1.32E+01	0.0	0.0	1.03E-02
R	4.63E+01	4.86E+00	0.0	4.51E-02	0.0	0.0	1.56E-03
N	5.16E+00	4.18E+01	4.85E+01	1.73E+00	0.0	0.0	2.50E-03

【0153】

実施例2

膣液のプロテオーム解析

この実施例には、質量分析を用いて膣液中に存在するタンパク質を決定すること(プロテオームプロファイル)が記載される。表7は、質量分析による解析によって同定される、健康な女性(H)とBVに罹患した女性(BV)とで発現が異なるタンパク質を示す。

## 【 0 1 5 4 】

## ( a ) サンプルの収集

18歳～50歳の閉経前の妊娠していないベルギー人女性合計80名を本試験に含めた。スクリーニング来院(V1)において、アムセルの診断基準とグラム染色によるニュージェントのスコアリングとの両方を用いて、健康であるかBVであるかの診断がなされた。ニュージェントのスコアが3より大きく、かつ4つのアムセルの診断基準のうち少なくとも3つが陽性である患者は、BV陽性であるとみなされた。この臨床的評価に従って、女性を、膣管感染の徴候を有さなかった健康な被験体(H)(n=41)及びBV患者(n=39)の2つの群に分けた。

## 【 0 1 5 5 】

試験来院V1でBVと診断された患者を、多施設二重盲検無作為ブラシーボ対照試験(EudraCT:2009-011826-32)に含めた。この試験は、BVの治療について、ブラシーボに対する様々な用量のリファキシミン膣錠の有効性を比較するために実施された。これらの患者は、無作為化来院を行って4つの治療群に分類された:A群は、100mgリファキシミン膣錠を1日1回5日間投与され(n=10)、B群は、25mgリファキシミン膣錠を1日1回5日間投与され(n=10)、C群は、100mgリファキシミン膣錠を1日1回最初の2日間、次いでブラシーボ膣錠を残りの3日間投与され(n=9)、D群は、ブラシーボ膣錠を1日1回5日間投与された(n=10)。試験投薬は、就寝前に膣内投与された。治療の終了から7～10日後、追跡来院(V3)を実施した。寛解は、アムセルの診断基準(3未満)及びグラム染色によるニュージェントのスコア(3以下)に従ってV3で評価された(表1)。

## 【 0 1 5 6 】

2mLの生理食塩水による標準化膣洗浄物を、左、中央及び右上膣円蓋に22番径針から液を流して再吸引することによって、分析のためにV1及びV3において収集した。その後、この膣洗浄物は使用するまで-80℃で保管した。

## 【 0 1 5 7 】

## ( b ) タンパク質のMF10分画

分画に先立って、タンパク質1mgを含むHプール及びBVプールをそれぞれ、実施例1の工程(a)及び(b)に従って調製した。これらのプールを構成するために、各膣サンプルからの等量のタンパク質を混合し、ドライダウン(dry down)し、90mM Tris / 10mM EACA緩衝液(pH10.2)及び尿素1Mの280μL中に再懸濁させた。タンパク質のMF10分画を、5kDa制限膜並びに1kDa、5kDa、25kDa、50kDa及び125kDa分離膜を備えた5-カートリッジアセンブリを用いて実施した。チャンパーアセンブリ後、90mM Tris / 10mM EACA緩衝液(pH10.2)100mLを緩衝液リザーバに添加し、電極に行き渡らせ(循環させ)た。タンパク質プール(140μL)を、別々の運転(separate runs)のためにカソードに最も近いチャンパーに添加した。分画は、250Vで30分間実施した。画分収集後、低分子量画分(1～5kDa及び5～25kDa)を、Stage tips(登録商標)C18、200mLを用いて製造業者の説明書に従って脱塩し、MS/MSによる解析のために用いた(HFプール及びBVプール)。

## 【 0 1 5 8 】

## ( c ) 質量分析による解析

MS/MSによる解析は、タンパク質をそれぞれ50μg含む、H及びBVプール並びにBV、A-R、A-N、B-R、B-N、C-R、C-N及びD-Nプール全てについて実施した。各画分又はプールを、50mM炭酸水素アンモニウム(pH8)50μL中に再懸濁した。1μg/μLのトリプシンを添加し、反応を37℃で一晩行った(incubated)。ギ酸の添加によって反応を停止した後、サンプルをボルテックスに供し、ドライダウンした。消化されたサンプルのペレットを緩衝液A(0.1%ギ酸)10μL中に再懸濁し、ブランク(緩衝液A)を間に挟んで、各サンプル0.2μLを3回流した。

## 【 0 1 5 9 】

10

20

30

40

50



消化されたペプチドを、Ultimate 3000 HPLC及び自動サンプリングシステム(Dionex、オランダ、アムステルダム)を用いてnano-LCによって分離した。サンプル(0.2 µL)を濃縮し、H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>CN(98:2、0.05%トリフルオロ酢酸、v/v)を用いて10 µL/分でマイクロC18プレカラム(500 µm × 2 mm、Michrom Bioresources、カリフォルニア州オーバーン)上で脱塩した。4分洗浄した後、プレカラムを、ガットリン(Gatlin)らに従って製造されたフリットレスC18ナノカラム(75 µm i.d. × 10 cm、5 µm、200 )のラインに切り換えた(Valco 10 port valve, Dionex)。

#### 【0160】

ペプチドを、H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>CN(98:2、0.1%ギ酸、v/v)からH<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>CN(64:36、0.1%ギ酸、v/v)への直線勾配を用いて250 nL/分で30分かけて溶離した。高圧(2000 V)を、低容量T字管(low volume tee)並びにカラムチップ(LTQ-Orbitrap Velos質量分析計の加熱したキャピラリー(T=280 )から0.5 cmに位置する)に加えた。陽イオンをエレクトロスプレーによって生成させ、Orbitrapをデータ依存測定モード(data-dependent acquisition mode(DDA))において作動させた。350~1750 m/zのサーベスキャンを取得した(累積ターゲット値1000000イオンを有し、400 m/zでの分解能=30000)。荷電状態2以上を有する最も豊富な(5000カウントより大きい)イオン10個までを、活性化q=0.25及び活性化時間30ミリ秒(ms)、ターゲット値30000イオンで、衝突誘起解離を用いるリニアイオントラップ内で連続的に分離してフラグメント化した。MS/MSについて選択された質量電荷比は、45秒間動的に排除された。

#### 【0161】

LTQ-Orbitrap VelosからのMS/MSファイルについてのピークリストを、Progenesis LC-MS v4を用いて処理した。このソフトウェアは、LC-MS運転の生ファイルを2Dプロファイルに変換し、ユーザー定義及び自動ベクターを用いて、これらのプロファイルを任意に選択された運転に並べる。ペプチド強度を、独自コード(proprietary code)を用いて標準化し、統計的分析に使用して、ANOVA及びq-値を計算し、かつ実験プール間で発現が異なるペプチドを推論した(P<0.05)。Progenesis Statsパッケージを使用して、P<0.05のペプチドを用いて主成分分析(PCA)を実施した。ペプチドを区別するMS/MSスペクトルを、データベース検索プログラムMASCOT(Matrix Science、イギリス、ロンドン)を用いるスイス・プロット(Swiss-Prot)データベース(バージョン15)に対して検索した。親イオン及びフラグメントイオンを、それぞれ、公差±4 ppm及び±0.5 Daで検索した。ペプチドの電荷状態は、+2及び+3で設定した。「酵素なし」を特定した。マッチングが高いイオンスコアを有し、かつ統計的に有意(P<0.05)及び(半)トリプシン消化性(semi)tryptic)であった場合に、タンパク質及びペプチドは確信して同定されたと見なされた。同定後、フィルターを適用して、ヒト起源のタンパク質及び腫瘍環境と関連する微生物によって産生されたタンパク質を選択した。実験プール間で1.5倍以上の変化を示したタンパク質のみを考慮した。結果を表7及び表8に示す。

#### 【0162】

【表 7】

表 7

タンパク質名	Mascot検索結果				
	スイスプロット Acc. N.	ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	比率 BV/H
10kDaシャペロニン OS=ラクトバチルス アシドフィルス	Q93G08	1	50.0	$9.43 \times 10^{-4}$	
14-3-3タンパク質σ	P31947	2	100.0	$6.80 \times 10^{-4}$	5.0
30Sリボソームタンパク質S6 OS=ラクトバチルス アシドフィルス	Q5FN09	2	71.6	$4.69 \times 10^{-5}$	-3.3
50Sリボソームタンパク質 L7/L12 OS=ラクトバチルス ガゼリ	Q045V5	1	86.9	$2.71 \times 10^{-4}$	3.8
アシル-CoA-結合タンパク質	P07108	5	136.2	$3.31 \times 10^{-4}$	1.8
脂肪組織高発現遺伝子タンパク質 (Adipose most abundant gene transcript 2 protein)	Q15847	1	36.6	$2.73 \times 10^{-5}$	-20.2
α1-酸性糖タンパク質1	P02763	5	182.3	$1.42 \times 10^{-4}$	-7.9
α1-酸性糖タンパク質2	P19652	2	103.3	$1.57 \times 10^{-4}$	-28.6
α1-抗キモトリプシン	P01011	2	128.9	$5.57 \times 10^{-7}$	6.4
α1-抗トリプシン	P01009	15	650.5	$4.30 \times 10^{-3}$	1.5
α1B-糖タンパク質	P04217	2	95.7	$1.30 \times 10^{-3}$	1.9
α2-HS-糖タンパク質	P02765	7	238.2	$4.64 \times 10^{-6}$	5.0
α2-マクログロブリン	P01023	4	156.8	$1.35 \times 10^{-4}$	2.1
α2-マクログロブリン様タンパク質1	A8K2U0	10	305.1	$8.57 \times 10^{-6}$	6.3
アネキシンA1	P04083	5	198.4	$4.86 \times 10^{-3}$	-1.7
アネキシンA2	P07355	7	254.4	$2.02 \times 10^{-7}$	-7.1
アネキシンA3	P12429	1	53.1	$5.31 \times 10^{-5}$	5.7
抗トロンビン-III	P01008	4	165.0	$4.12 \times 10^{-6}$	4.3
アポリポタンパク質A-I	P02647	7	309.2	$2.84 \times 10^{-5}$	2.7
アポリポタンパク質A-II	P02652	3	124.3	$7.60 \times 10^{-7}$	-2.7
カドヘリン-1	P12830	3	106.0	$3.78 \times 10^{-7}$	8.2
カルシウム依存性塩素チャネル制御因子4	Q14CN2	1	23.1	$1.74 \times 10^{-4}$	-5645.4

10

20

30

【 0 1 6 3 】

【表 8】  
(表 7 の続き)

タンパク質名	Mascot検索結果				
	スイスプロット Acc. N.	ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	比率 BV/H
カルモジュリン様タンパク質3	P27482	3	83.4	$8.55 \times 10^{-10}$	29.2
カルモジュリン様タンパク質5	Q9NZT1	3	133.3	$1.73 \times 10^{-6}$	11.1
炭酸脱水酵素1	P00915	8	318.3	$5.20 \times 10^{-5}$	2.9
カタラーゼ	P04040	1	68.5	$1.98 \times 10^{-2}$	-16.2
カテプシンB	P07858	3	124.4	$7.41 \times 10^{-5}$	4.0
セルロプラスミン	P00450	4	126.3	$1.48 \times 10^{-3}$	2.5
低温ショックタンパク質cspA OS=スタフィロコッカス アウレウス	Q2YY16	1	51.1	$5.09 \times 10^{-5}$	48.0
補体C3	P01024	6	266.9	$3.31 \times 10^{-9}$	34.5
コルヌリン	Q9UBG3	36	1641.2	$1.73 \times 10^{-4}$	-2.7
シスタチン-A	P01040	6	300.9	$3.31 \times 10^{-6}$	3.6
シチジンデアミナーゼ	P32320	1	72.0	$2.63 \times 10^{-4}$	3.5
細胞質tRNA2-チオール化タンパク質2 OS=カンジダ グラブラタ	Q6FLE5	3	109.4	$2.12 \times 10^{-6}$	2.7
DMBT1 (Deleted in malignant brain tumors 1) タンパク質	Q9UGM3	1	46.1	$3.61 \times 10^{-5}$	4.2
ダーモカイン	Q6E0U4	3	113.8	$5.90 \times 10^{-4}$	-4.0
デスモコリン-2	Q02487	7	257.9	$2.10 \times 10^{-5}$	8.9
デスマグレイン-3	P32926	2	123.0	$2.97 \times 10^{-7}$	59.5
デスマプラキン	P15924	5	169.8	$1.15 \times 10^{-5}$	4.2
エノラーゼ1 OS=ラクトバチルス ガセリ	Q043Z5	2	94.9	$1.82 \times 10^{-5}$	2.6
エノラーゼ OS=ラクトバチルス アシドフィ ルス	Q5FKM6	5	216.0	$1.51 \times 10^{-5}$	-17.8
エノラーゼ OS=ラクトバチルス ヘルベティ カス	A8YUV4	6	350.9	$5.81 \times 10^{-3}$	-10.0
ERO1様タンパク質 $\alpha$	Q96HE7	2	107.4	$5.42 \times 10^{-7}$	90.2
上脂脂肪酸結合タンパク質	Q01469	5	176.5	$3.91 \times 10^{-5}$	-8.4
フィブリノゲン $\alpha$ 鎖	P02671	13	598.0	$1.43 \times 10^{-4}$	2.7
フィブロネクチン	P02751	1	55.8	$3.63 \times 10^{-2}$	6.0
フィラグリン	P20930	28	1869.5	$1.12 \times 10^{-3}$	-6.9
フィラグリン-2	Q5D862	2	111.7	$3.65 \times 10^{-4}$	-6.0
フラビンレダクターゼ	P30043	1	137.5	$1.12 \times 10^{-2}$	2.4
ガレクチン-3-結合タンパク質	Q08380	1	57.9	$3.01 \times 10^{-5}$	-8.8
グリセルアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼ	P04406	7	318.6	$8.60 \times 10^{-5}$	13.5
グリシン開裂系Hタンパク質, ミトコンドリア	P23434	1	49.2	$3.82 \times 10^{-8}$	53.5
ハプトグロビン	P00738	9	343.2	$3.73 \times 10^{-5}$	4.6
ヘム結合タンパク質2	Q9Y5Z4	3	118.9	$2.54 \times 10^{-5}$	2.8
ヘモグロビンサブユニット $\beta$	P68871	41	2370.6	$2.93 \times 10^{-5}$	1.8
ヘモペキシン	P02790	1	50.1	$1.87 \times 10^{-3}$	-1.7
免疫グロブリン $\gamma$ -1鎖C領域	P01857	9	473.8	$1.41 \times 10^{-6}$	8.0
免疫グロブリン $\gamma$ -2鎖C領域	P01859	2	67.8	$4.94 \times 10^{-6}$	12.6
免疫グロブリン重鎖V-III領域VH26	P01764	1	99.7	$2.39 \times 10^{-5}$	6.4
免疫グロブリン $\kappa$ 鎖C領域	P01834	7	396.8	$1.68 \times 10^{-6}$	7.1

【 0 1 6 4 】

【表 9】  
(表7の続き)

タンパク質名	Mascot検索結果				
	スイスプロット Acc. N.	ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	比率 BV/H
免疫グロブリンκ鎖V-I領域EU	P01598	1	70.3	$2.77 \times 10^{-3}$	8.2
免疫グロブリンκ鎖V-II領域TEW	P01617	1	33.7	$4.60 \times 10^{-2}$	3.5
免疫グロブリンκ鎖V-III領域SIE	P01620	1	83.3	$2.54 \times 10^{-5}$	11.7
免疫グロブリンκ鎖V-IV領域	P06312	1	100.8	$4.25 \times 10^{-6}$	24.4
免疫グロブリンλ鎖V-III領域LOI	P80748	1	74.6	$1.66 \times 10^{-4}$	5.2
免疫グロブリンλ鎖V-IV領域Hil	P01717	1	40.0	$1.54 \times 10^{-2}$	7.8
免疫グロブリンλ-1鎖C領域	P0CG04	1	52.6	$7.00 \times 10^{-6}$	6.8
免疫グロブリンλ-3鎖C領域	P0CG06	5	231.0	$1.13 \times 10^{-5}$	5.3
免疫グロブリンμ鎖C領域	P01871	1	33.8	$2.92 \times 10^{-2}$	-6.1
免疫グロブリンGFc結合タンパク質	Q9Y6R7	2	57.3	$2.80 \times 10^{-5}$	12.8
免疫グロブリンJ鎖	P01591	2	103.5	$3.42 \times 10^{-4}$	3.7
インター-α-トリプシンインヒビター重鎖H1	P19827	1	44.8	$1.91 \times 10^{-5}$	36.9
インターロイキン-1レセプターアンタゴニスト タンパク質	P18510	7	482.8	$5.06 \times 10^{-8}$	12.1
ケラチンI型細胞骨格10	P13645	12	555.1	$1.22 \times 10^{-4}$	30.3
ケラチンI型細胞骨格15	P19012	2	61.5	$4.42 \times 10^{-5}$	-8.2
ケラチンI型細胞骨格17	Q04695	3	130.2	$1.02 \times 10^{-2}$	-1.5
ケラチンI型細胞骨格9	P35527	4	89.9	$5.60 \times 10^{-6}$	35.0
ケラチンII型細胞骨格1	P04264	23	1042.1	$9.23 \times 10^{-7}$	4.9
上皮ケラチンII型細胞骨格2	P35908	9	382.2	$2.59 \times 10^{-6}$	39.8
ケラチンII型細胞骨格5	P13647	3	89.7	$2.17 \times 10^{-4}$	2.0
ケラチンII型細胞骨格78	Q8N1N4	2	110.3	$4.11 \times 10^{-3}$	-8.3
ラクトランスフェリン	P02788	8	432.9	$1.82 \times 10^{-4}$	1.5
ラジニン-1	O00515	1	55.9	$5.57 \times 10^{-3}$	-8.1
白血球エラスターゼインヒビター	P30740	8	264.9	$1.67 \times 10^{-7}$	23.3
L-乳酸デヒドロゲナーゼB鎖	P07195	1	37.3	$3.22 \times 10^{-5}$	13.5
L-乳酸デヒドロゲナーゼ OS=スタフィロコッカス エピデルミディス	Q5HL31	1	29.9	$1.27 \times 10^{-2}$	3.6
リンパ球特異的タンパク質1	P33241	2	56.8	$2.38 \times 10^{-7}$	21.4
ムチン-21	Q5SSG8	1	119.9	$6.37 \times 10^{-3}$	-5.9
ムチン-5B	Q9HC84	3	117.2	$4.66 \times 10^{-4}$	3.7

【 0 1 6 5 】

【表 10】  
(表7の続き)

タンパク質名	Mascot検索結果				
	スイスプロット Acc. N.	ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	比率 BV/H
ミエロプラスチン	P24158	2	78.7	$1.10 \times 10^{-2}$	-5.1
ミリストイル化アラニンリッチCキナーゼ基質	P29966	5	190.7	$1.01 \times 10^{-3}$	-2.4
ネトリン-G2	Q96CW9	1	52.8	$4.99 \times 10^{-2}$	3.5
神経芽細胞分化関連タンパク質AHNAK	Q09666	13	549.6	$8.92 \times 10^{-5}$	1.7
好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン	P80188	1	70.7	$9.40 \times 10^{-7}$	19.7
NSFL1補因子p47	Q9UNZ2	2	76.9	$1.90 \times 10^{-8}$	521.1
臭覚レセプター-5B2	Q96R09	1	37.9	$1.61 \times 10^{-4}$	29.4
中心小体周辺物質1タンパク質	Q15154	1	33.2	$1.74 \times 10^{-4}$	-2.6
ペリリピン-3	O60664	7	315.4	$6.18 \times 10^{-6}$	1.9
ペリプラキン	O60437	12	547.6	$3.01 \times 10^{-3}$	3.5
ホスファチジルエタノールアミン結合タンパク質1	P30086	1	49.8	$2.29 \times 10^{-2}$	5.2
ホスホキャリアタンパク質HPr OS=ラクタパチルス カゼイ	Q9KJV3	1	80.6	$1.92 \times 10^{-3}$	1.7
プラスチン-2	P13796	2	64.8	$3.88 \times 10^{-6}$	16.7
確実な(probable)陽イオン輸送ATPアーゼ13 A5	Q4VNC0	2	54.8	$2.64 \times 10^{-2}$	-3.5
タンパク質FAM25	B3EWG3	2	51.6	$3.90 \times 10^{-6}$	-11.2
タンパク質S100-A11	P31949	1	53.7	$1.45 \times 10^{-4}$	3.3
タンパク質S100-A14	Q9HCY8	3	95.3	$1.46 \times 10^{-7}$	9.1
タンパク質S100-A7	P31151	3	140.1	$1.15 \times 10^{-5}$	-4.3
タンパク質S100-A9	P06702	18	763.9	$2.27 \times 10^{-7}$	-4.0
タンパク質S100-P	P25815	2	110.8	$6.76 \times 10^{-3}$	1.7
タンパク質-グルタミン-γ-グルタミルトラン スフェラーゼE	Q08188	3	145.8	$3.88 \times 10^{-5}$	14.9
ピルビン酸キナーゼアイソザイムM1/M2	P14618	3	107.4	$4.27 \times 10^{-5}$	3.0
RasGTPアーゼ活性化様タンパク質IQGAP1	P46940	6	241.7	$1.00 \times 10^{-5}$	10.3
レペチン	Q6XPR3	7	267.4	$1.13 \times 10^{-5}$	-9.2
レジスチン	Q9HD89	1	59.3	$7.23 \times 10^{-5}$	11.2
セメノゲリン-1	P04279	3	159.6	$1.54 \times 10^{-8}$	-12.9
セロトランスフェリン	P02787	7	289.0	$3.50 \times 10^{-5}$	2.9
セルピンB12	Q96P63	2	111.7	$5.81 \times 10^{-5}$	6.6
セルピンB13	Q9UIV8	2	97.5	$2.94 \times 10^{-2}$	4.4
セルピンB4	P48594	1	23.4	$8.91 \times 10^{-3}$	-45.8
血清アルブミン	P02768	62	2895.3	$1.18 \times 10^{-6}$	3.7
低分子プロリンリッチタンパク質3	Q9UBC9	4	131.7	$2.29 \times 10^{-4}$	2.0
スーパーオキシドディスムターゼ[Cu-Zn]	P00441	2	68.9	$4.89 \times 10^{-3}$	-49.2
スプラバシン	Q6UWP8	4	153.8	$1.58 \times 10^{-5}$	-17.5
シナプス小胞膜タンパク質 VAT-1ホモログ	Q99536	2	137.7	$1.02 \times 10^{-3}$	5.3
チオレドキシンドメイン含有タンパク質17	Q9BRA2	1	44.6	$2.53 \times 10^{-6}$	43.6
トランスアルドラーゼ	P37837	2	82.3	$3.06 \times 10^{-3}$	11.4
転写因子PDR8 OS=サッカロミセス セレビスエ	Q06149	1	38.9	$4.32 \times 10^{-2}$	-36.2

【 0 1 6 6 】

10

20

30

40

【表 1 1】

(表 7 の続き)

タンパク質名	Mascot 検索結果				
	スイスプロット Acc. N.	ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	比率 BV/H
トランスサイレチン	P02766	5	194.3	$2.12 \times 10^{-5}$	2.0
トリオースリン酸イソメラーゼ OS=ラクトバチルス アシドフィルス	Q5FL49	6	275.6	$3.47 \times 10^{-3}$	-7.7
トリオースリン酸イソメラーゼ OS=ラクトバチルス ヘルベティカス	A8YUE4	1	22.3	$1.17 \times 10^{-4}$	8.1
ビタミンD結合タンパク質	P02774	2	80.6	$2.08 \times 10^{-2}$	-2.8

10

【 0 1 6 7 】

【表 1 2】

表 8

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイスプロット Acc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
		7	374.2	$7.31 \times 10^{-12}$	-2.2	0.0	-2.7	0.0	-2.8	7.0	4.6
2,4-ジエノイル-CoAレダクターゼ, ミトコンドリア	Q16698	4	168.0	$1.01 \times 10^{-5}$	0.0	0.0	0.0	0.0	-2.2	-2.3	0.0
30Sリボソームタンパク質 S11 OS=ラクトバチルス アシドフィルス	Q5FM66	3	144.9	$3.52 \times 10^{-5}$	1.6	1.1	-1.4	-1.7	1.1	-2.6	2.1
50Sリボソームタンパク質 L6 OS=ラクトバチルス ジョンソニ	Q74L75	2	107.3	$3.58 \times 10^{-11}$	-1.7	-1.4	-1.5	-2.5	-2.9	1.6	-3.1
60kDa シヤペロニン OS=ラクトバチルス ガゼリ	Q045Q8	5	327.7	$9.45 \times 10^{-12}$	1.3	-1.6	1.1	3.0	-1.9	1.0	2.2
60kDa シヤペロニン OS=オエノコッカス オエニ	Q04E64	4	104.6	$4.75 \times 10^{-8}$	-1.2	1.1	1.9	1.3	1.2	-1.6	-1.1
60S リボソームタンパク質 L29	P47914	1	57.6	$3.84 \times 10^{-6}$	14.7	27.6	8.1	21.6	7.1	13.3	-11.5
アクチン OS=ピキア キリエルモンディ	A5DQP9	10	393.7	$1.03 \times 10^{-9}$	1.4	-1.7	1.2	-1.1	1.3	1.8	-1.0
アシル-CoA-結合タンパク質	P07108	6	351.9	$2.73 \times 10^{-8}$	0.0	0.0	1.5	0.0	2.4	1.5	1.6
ADP-リボシルシクラーゼ2	Q10588	2	89.0	$2.95 \times 10^{-9}$	-2.4	-2.8	0.0	-3.0	0.0	-1.8	2.1

20

30

40

【 0 1 6 8 】

【表 1 3】  
 (表 8 の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイスプロット Acc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
アファミン	P43652	3	97.7	$2.21 \times 10^{-6}$	-2.3	-1.6	-1.6	-1.6	0.0	-3.3	0.0
$\alpha$ 1-酸性糖タンパク質1	P02763	5	308.5	$2.44 \times 10^{-15}$	0.0	-2.3	0.0	-7.8	0.0	0.0	0.0
$\alpha$ 1-酸性糖タンパク質2	P19652	1	53.6	$1.45 \times 10^{-9}$	2.0	-1.5	0.0	-19.5	0.0	1.9	4.1
$\alpha$ -1-抗トリプシン	P01009	32	2091.6	$1.43 \times 10^{-14}$	0.0	0.0	0.0	-3.3	-1.6	-1.8	-2.7
$\alpha$ -1B-糖タンパク質	P04217	6	274.1	$6.66 \times 10^{-15}$	-1.7	-4.2	-2.4	-14.9	-2.9	-2.6	0.0
$\alpha$ -2-抗プラスミン	P08697	3	105.9	$4.50 \times 10^{-11}$	1.6	3.2	1.7	3.9	1.9	2.0	1.8
$\alpha$ -2-HS-糖タンパク質	P02765	2	90.4	$4.81 \times 10^{-8}$	2.8	0.0	1.5	-1.7	1.6	1.8	0.0
$\alpha$ -2-マクログロブリン	P01023	29	1867.5	$3.13 \times 10^{-9}$	0.0	-2.0	-2.5	-10.6	-3.1	-1.9	0.0
$\alpha$ -2-マクログロブリン様タンパク質1	A8K2U0	66	3533.1	$5.62 \times 10^{-7}$	-1.7	-1.9	-1.5	0.0	-1.8	-1.7	0.0
$\alpha$ -アクチニン-4	O43707	11	568.4	$7.72 \times 10^{-9}$	0.0	-2.6	-2.2	-3.9	-1.5	0.0	0.0
$\alpha$ -アミラーゼ <sup>1</sup>	P04745	4	120.3	$3.34 \times 10^{-10}$	2.6	1.9	1.5	1.8	0.0	0.0	-6.8
$\alpha$ -エララーゼ <sup>2</sup>	P06733	15	721.6	$2.95 \times 10^{-8}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.7
アンキオテンシノゲン	P01019	7	377.7	$1.31 \times 10^{-13}$	-1.8	0.0	-1.5	-5.5	0.0	-1.9	0.0
アネキシンA1	P04083	28	2268.8	$5.63 \times 10^{-4}$	0.0	2.5	3.8	0.0	2.4	0.0	8.1
アネキシンA11	P50995	5	188.9	$5.55 \times 10^{-16}$	-4.3	-1.7	2.5	-5.7	0.0	-5.2	2.8
アネキシンA2	P07355	31	2235.8	$7.75 \times 10^{-3}$	1.9	4.1	3.0	3.3	2.4	2.2	7.6
アネキシンA3	P12429	20	1106.1	$7.88 \times 10^{-15}$	-2.1	0.0	1.9	-2.6	0.0	-2.5	0.0
アネキシンA4	P09525	6	429.4	$9.77 \times 10^{-7}$	-2.4	-2.5	0.0	-3.7	0.0	-3.3	1.6
アネキシンA6	P08133	4	156.5	$1.71 \times 10^{-8}$	-2.1	-1.8	1.9	-4.9	0.0	-1.7	2.3
アネキシンA7	P20073	1	55.1	$1.72 \times 10^{-6}$	-1.8	0.0	0.0	-2.2	0.0	-3.3	-9.2
抗トロンビンⅢ	P01008	7	334.9	$9.81 \times 10^{-10}$	1.5	2.0	0.0	-1.9	0.0	0.0	1.7
アポリポタンパク質A-I	P02647	15	762.6	$1.11 \times 10^{-16}$	5.4	0.0	-1.8	-2.0	-1.7	3.7	0.0
アポリポタンパク質A-IV	P06727	1	38.6	$3.28 \times 10^{-10}$	0.0	-5.0	1.7	-4.5	-1.8	-3.0	-7.7
アスロジシン	P20160	4	185.7	$1.55 \times 10^{-8}$	-3.3	-1.5	0.0	0.0	-1.8	-3.0	2.5
殺菌性透過性増強タンパク質	P17213	8	366.6	$5.56 \times 10^{-8}$	-1.9	0.0	0.0	0.0	-1.6	0.0	1.6

【 0 1 6 9 】

10

20

30

40

【表 1 4】  
(表 8 の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイズプロット Acc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
殺菌性/透過性増強タンパク質様1	Q8N4F0	6	362.6	$6.32 \times 10^{-9}$	-7.9	-19.2	-4.8	-4.3	-4.6	-6.1	-1.5
カトヘリン-1	P12830	3	212.3	$2.20 \times 10^{-14}$	-2.9	-5.2	-1.9	-20.1	-3.1	-6.1	-2.5
カルシウム依存性塩素チャネル制御因子4	Q14CN2	7	263.0	$7.29 \times 10^{-11}$	-2.3	-2.9	0.0	0.0	-1.7	-1.8	1.6
カルモジュリン様タンパク質3	P27482	6	364.7	$4.00 \times 10^{-14}$	0.0	-5.2	2.3	-2.7	-1.9	3.5	0.0
カルモジュリン様タンパク質5	Q9NZT1	5	274.7	$1.71 \times 10^{-7}$	0.0	-1.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
カルパイン-1 触媒サブユニット	P07384	9	330.3	$1.09 \times 10^{-11}$	-2.4	-4.7	-1.5	-5.5	-2.4	-3.2	0.0
カルパスタチン	P20810	2	108.7	$3.34 \times 10^{-11}$	4.4	7.3	1.9	4.5	2.9	3.8	0.0
炭酸脱水酵素1	P00915	9	560.5	$1.44 \times 10^{-15}$	-1.9	-19.0	-7.5	-15.4	-9.5	0.0	-11.5
癌胎児性抗原関連細胞接着分子5	P06731	9	527.8	$1.74 \times 10^{-13}$	-2.2	0.0	0.0	0.0	0.0	-2.2	-1.8
癌胎児性抗原関連細胞接着分子8	P31997	2	170.3	$1.09 \times 10^{-9}$	-3.5	0.0	0.0	0.0	-1.5	-3.2	-22.4
カタラーゼ	P04040	23	1408.1	0.00	0.0	0.0	2.4	-4.0	0.0	-2.3	0.0
カテプシンB	P07858	7	341.3	$1.45 \times 10^{-9}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7
カテプシンD	P07339	3	154.2	$4.78 \times 10^{-7}$	0.0	1.5	2.9	1.7	0.0	0.0	0.0
カテプシンG	P08311	6	238.3	$6.92 \times 10^{-8}$	0.0	0.0	0.0	2.2	0.0	0.0	2.8
細胞レチン酸結合タンパク質2	P29373	7	276.4	$2.20 \times 10^{-12}$	-2.6	-2.9	-1.7	-4.7	-1.6	2.0	2.2
セルロプラスミン	P00450	7	256.6	$4.14 \times 10^{-9}$	0.0	-2.7	-1.8	-3.6	-1.8	0.0	-3.4
塩素細胞内チャネルタンパク質1	O00299	1	49.9	$1.09 \times 10^{-9}$	1.6	0.0	-4.2	-1.9	-2.4	1.6	-7.1
コフィリン-1	P23528	3	191.8	$6.85 \times 10^{-7}$	-1.5	-4.0	-4.5	-3.1	0.0	2.6	3.8
補体C3	P01024	57	3268.9	$1.11 \times 10^{-16}$	0.0	-4.0	-1.8	-6.1	-2.4	-2.3	-2.2
補体C4-A	P0C0L4	16	687.3	$7.43 \times 10^{-9}$	0.0	-1.8	0.0	-2.5	0.0	0.0	0.0
補体因子H	P08603	5	193.3	$6.22 \times 10^{-7}$	0.0	0.0	-1.5	0.0	0.0	0.0	4.7

【 0 1 7 0 】

10

20

30

40



【表 15】  
(表 8 の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイスプロット Acc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
コニフィン-B	P22528	2	67.7	$3.25 \times 10^{-13}$	1.6	1.5	0.0	2.8	1.8	2.1	-3.5
コルヌリン	Q9UBG3	93	6695.0	$3.06 \times 10^{-2}$	0.0	0.0	0.0	1.6	-1.5	0.0	0.0
シスタチン-A	P01040	12	823.0	$7.00 \times 10^{-8}$	-2.7	0.0	0.0	0.0	2.8	-1.7	-2.1
システインリッチ分泌タンパク質3	P54108	6	275.7	$1.82 \times 10^{-9}$	0.0	3.9	0.0	7.3	1.6	1.6	-15.2
シチジンデアミナーゼ <sup>c</sup>	P32320	4	189.3	$1.28 \times 10^{-5}$	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0
D-ト-パクロムデカルホキシラーゼ <sup>c</sup>	P30046	1	40.1	$9.36 \times 10^{-8}$	-2.1	-4.4	-1.5	-6.0	0.0	0.0	-1.6
$\delta(3,5)$ - $\delta(2,4)$ -ジエノイル-CoAインメラーゼ, ミトコンドリア	Q13011	2	94.0	$1.40 \times 10^{-10}$	-2.2	-2.3	-2.5	-6.8	0.0	-6.6	-5.3
デスマコリン-2	Q02487	12	672.2	$4.80 \times 10^{-9}$	0.0	1.5	0.0	2.0	1.5	0.0	-1.5
デスマグレイン-1	Q02413	7	358.3	$8.29 \times 10^{-8}$	-2.1	-1.6	0.0	0.0	-1.6	-2.1	-3.7
デスマグレイン-3	P32926	9	369.9	$7.73 \times 10^{-8}$	0.0	-1.9	0.0	-4.2	-1.5	-1.7	-2.1
デスマプラキン	P15924	6	187.7	$7.73 \times 10^{-10}$	-2.1	-2.4	0.0	-2.1	0.0	-1.5	-2.0
ジペプチジルペプチダーゼ1	P53634	4	147.0	$1.13 \times 10^{-8}$	3.5	2.1	2.7	0.0	1.9	2.8	-1.7
伸長因子G OS=ラクトバチルス ヘルベティカス	A8YXK3	4	113.1	$4.50 \times 10^{-6}$	1.6	-1.1	1.6	-1.1	2.3	-1.3	2.2
伸長因子Ts OS=ビフィドバクテリウム ロンガム 亜種インファンティス	B7GQR9	4	198.6	$5.21 \times 10^{-11}$	-1.8	1.7	4.2	-1.3	1.9	1.2	1.9
エノラーゼ1 OS=ラクトバチルス ガゼリ	Q043Z5	8	528.4	$2.94 \times 10^{-11}$	-2.5	-3.5	-3.1	-1.9	-2.1	1.1	1.3
エノラーゼ <sup>c</sup> OS=ラクトバチルス アシドフィルス	Q5FKM6	1	26.8	$6.65 \times 10^{-8}$	-1.8	-2.6	-2.3	-1.2	-4.0	-1.0	1.0
エノラーゼ <sup>c</sup> OS=ラクトバチルス テ ルプレッキイ亜種ブルガリクス	Q1G9S9	1	21.1	$1.23 \times 10^{-10}$	-2.7	-2.7	-2.7	-3.0	1.1	-3.9	0.0
エノラーゼ <sup>c</sup> OS=ラクトバチルス ヘルベティカス	A8YLV4	1	32.2	$4.91 \times 10^{-12}$	1.9	-1.6	1.6	-1.2	1.9	1.6	1.3
エンホプラキン	Q92817	4	159.3	$1.96 \times 10^{-11}$	2.0	1.9	3.2	0.0	0.0	2.1	1.8

10

20

30

40

【 0 1 7 1 】

【表 16】  
(表8の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイズプロット Acc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
ER膜タンパク質複合体サブユニット1 OS=サッカロミセス セレビシエ	P25574	3	87.7	$1.84 \times 10^{-13}$	1.5	2.5	1.6	2.9	-1.1	1.6	-1.1
ERO1様タンパク質 $\alpha$	Q96HE7	7	343.3	$1.22 \times 10^{-7}$	-1.7	-1.7	-1.5	-2.1	0.0	1.7	-1.8
細胞外マトリックスタンパク質1	Q16610	5	243.6	$1.65 \times 10^{-13}$	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.9	2.7
エスリン	P15311	5	238.1	$1.51 \times 10^{-10}$	-1.9	-6.0	-2.1	-5.2	-3.2	0.0	4.0
F-アクチン-キャッピングタンパク質 サブユニット $\alpha$ -1	P52907	6	312.2	$1.99 \times 10^{-14}$	-1.7	-6.5	-1.8	-8.5	-2.4	-2.5	-3.3
上皮脂肪酸結合タンパク質	Q01469	14	612.7	$1.89 \times 10^{-15}$	0.0	2.9	2.0	3.4	0.0	0.0	0.0
フィブリノゲン $\alpha$ 鎖	P02671	10	464.2	$2.18 \times 10^{-12}$	1.5	-2.1	-1.7	-3.8	-2.4	0.0	-5.5
フィブリノゲン $\beta$ 鎖	P02675	14	746.4	0.00	0.0	-4.6	-2.2	-7.6	-2.6	0.0	0.0
フィブリノゲン $\gamma$ 鎖	P02679	8	570.5	$1.86 \times 10^{-12}$	-1.7	-4.5	-3.1	-4.0	-4.3	-1.6	-2.3
フィブネクチン	P02751	4	173.4	$2.17 \times 10^{-6}$	-1.7	-1.9	0.0	-1.9	-2.1	-2.0	-1.8
フィブリン-1	P23142	1	59.2	$5.19 \times 10^{-11}$	5.5	-2.5	0.0	-2.2	0.0	1.5	1.8
フィラグリン	P20930	48	2677.8	$2.47 \times 10^{-10}$	1.8	7.5	1.6	17.9	4.4	2.2	-2.9
フィラミン-A	P21333	17	801.9	$3.53 \times 10^{-10}$	-2.1	-3.4	0.0	-3.5	-1.9	-3.8	-2.4
フィラミン-B	O75369	14	568.7	$5.45 \times 10^{-10}$	-2.5	-1.7	0.0	0.0	-1.5	-2.0	0.0
フルクトース-1,6- ビスホスファターゼ	P09467	1	48.6	$3.98 \times 10^{-12}$	-4.9	-1.9	-4.7	-14.4	-3.5	-8.0	2.7
フルクトース-ビスリン酸アルドラーゼA	P04075	21	1144.6	$1.89 \times 10^{-15}$	0.0	-4.4	0.0	-4.2	-2.0	0.0	-1.6
ガレクチン-3-結合タンパク質	Q08380	8	328.8	$1.15 \times 10^{-10}$	-1.6	-3.6	-2.7	-2.7	0.0	0.0	0.0
ガレクチン-7	P47929	2	92.5	$1.44 \times 10^{-10}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.9	5.2
$\gamma$ -グルタミルピドローラーゼ	Q92820	2	82.1	$7.43 \times 10^{-5}$	0.0	0.0	2.7	0.0	0.0	0.0	2.8
$\gamma$ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ	O75223	6	323.2	$4.63 \times 10^{-13}$	0.0	1.6	0.0	2.0	0.0	0.0	-1.5
ゲルゾリン	P06396	15	854.6	$2.97 \times 10^{-8}$	0.0	-1.6	0.0	0.0	0.0	-1.5	3.0
グルコサミン6-リン酸N-アセチルトランスフェラーゼ	Q96EK6	1	60.7	$1.35 \times 10^{-3}$	2.4	8.6	3.6	13.0	5.7	4.3	-10.3

【 0 1 7 2 】

【表 17】  
(表 8 の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイスプロット Acc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
グルコース-6-リン酸1-デヒドロゲナーゼ <sup>b</sup>	P11413	5	172.0	$1.18 \times 10^{-14}$	-2.4	-11.2	1.6	-9.0	0.0	-4.5	2.9
グルタレートキナーゼ-1	P35754	2	167.4	$1.97 \times 10^{-13}$	-1.8	-1.6	2.8	-1.9	0.0	-3.2	-1.5
グルタチオンS-トランスフェラーゼP	P09211	9	648.4	$1.47 \times 10^{-13}$	-3.0	-6.1	-2.4	-2.9	-2.3	0.0	-2.6
グリセルアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼ <sup>c</sup>	P04406	12	805.8	$4.33 \times 10^{-15}$	2.1	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	0.0
グリセルアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼ OS=ラクタチルス デルブレッキイ亜種ブルガリクス	O32755	7	345.8	$6.49 \times 10^{-9}$	-1.1	1.6	-1.7	2.0	-1.8	-1.9	-1.1
グリコデルリン	P09466	5	412.7	$1.11 \times 10^{-16}$	13.5	-5.9	-1.9	0.0	-3.2	-2.1	2.0
ハプトグロビン	P00738	18	821.0	0.00	0.0	-4.9	-2.0	-7.5	-6.4	0.0	-2.6
熱ショック70kDaタンパク質6	P17066	10	410.2	$3.02 \times 10^{-10}$	0.0	-2.1	-2.6	-1.6	-1.7	0.0	3.8
熱ショックタンパク質β-1	P04792	15	865.1	$6.11 \times 10^{-15}$	2.3	7.3	0.0	8.9	1.8	2.2	0.0
ヘム結合タンパク質2	Q9Y5Z4	5	291.6	$6.61 \times 10^{-7}$	0.0	-3.2	0.0	-1.5	0.0	0.0	-2.5
ヘモグロビンサブユニットα	P69905	17	916.8	0.00	0.0	-22.3	-14.8	-33.4	-16.1	1.6	-4.9
ヘモグロビンサブユニットβ	P68871	28	1846.5	0.00	-1.9	-28.9	-18.9	-41.7	-16.8	0.0	-9.1
ヘモグロビンサブユニットδ	P02042	3	174.5	$2.22 \times 10^{-16}$	-2.1	-15.7	-6.2	-15.2	-8.5	0.0	-15.4
ヘモグロビンサブユニットε	P02008	1	27.6	$3.01 \times 10^{-9}$	2.2	1.7	2.7	1.8	3.4	2.2	-2.5
ヘモペキシン	P02790	10	481.1	$3.49 \times 10^{-9}$	-1.5	-1.9	0.0	-9.0	-1.7	-1.7	1.6
ヒスチンリッチ糖タンパク質	P04196	4	164.2	$1.89 \times 10^{-6}$	0.0	-1.8	0.0	0.0	1.5	1.6	31.4
ヒストンH1.0	P07305	3	189.1	$1.05 \times 10^{-12}$	0.0	0.0	1.9	1.6	0.0	0.0	-7.6
ヒストンH1.3	P16402	5	201.9	$2.43 \times 10^{-12}$	0.0	2.4	1.5	3.0	2.7	0.0	-2.7
免疫グロブリンα-1鎖C領域	P01876	14	607.0	$4.76 \times 10^{-14}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.9
免疫グロブリンα-2鎖C領域	P01877	1	72.7	$1.31 \times 10^{-3}$	0.0	-2.0	0.0	-1.6	-1.7	-1.5	-1.6
免疫グロブリンγ-1鎖C領域	P01857	34	2042.1	$7.97 \times 10^{-10}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-2.5
免疫グロブリンγ-2鎖C領域	P01859	10	543.1	$1.60 \times 10^{-8}$	0.0	0.0	0.0	-3.4	0.0	-1.5	-3.4

【 0 1 7 3 】

10

20

30

40

【表 18】  
(表 8 の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイスプロット Acc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
免疫グロブリンγ-4鎖C領域	P01861	1	98.1	$1.22 \times 10^{-4}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.8	-1.5
免疫グロブリン重鎖V-III領域 BUT	P01767	2	84.9	$3.38 \times 10^{-9}$	0.0	0.0	0.0	-1.6	0.0	0.0	2.8
免疫グロブリン重鎖V-III領域 CAM	P01768	1	61.4	$4.69 \times 10^{-6}$	1.9	6.0	3.1	2.4	2.2	3.0	-5.8
免疫グロブリン重鎖V-III領域 GAL	P01781	3	117.6	$6.74 \times 10^{-9}$	-2.9	-4.9	-4.4	-7.5	-6.3	-5.1	0.0
免疫グロブリン重鎖V-III領域 JON	P01780	1	48.6	$7.61 \times 10^{-4}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-39.6
免疫グロブリン重鎖V-III領域 TEI	P01777	3	276.4	$1.47 \times 10^{-9}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-4.7
免疫グロブリン重鎖V-III領域 VH26	P01764	5	302.6	$4.66 \times 10^{-3}$	0.0	0.0	0.0	-1.5	0.0	0.0	0.0
免疫グロブリンκ鎖C領域	P01834	14	985.3	$8.13 \times 10^{-8}$	-1.6	0.0	0.0	0.0	-1.6	-2.5	-4.5
免疫グロブリンκ鎖V-I領域 AG	P01593	1	81.7	$3.69 \times 10^{-10}$	0.0	-1.8	1.9	-1.9	-1.5	-3.5	-12.7
免疫グロブリンκ鎖V-I領域 BAN	P04430	1	105.2	$3.81 \times 10^{-3}$	0.0	0.0	0.0	-1.5	0.0	-2.1	-41.7
免疫グロブリンκ鎖V-I領域 CAR	P01596	2	61.2	$1.06 \times 10^{-8}$	-4.0	-4.2	-2.6	-2.9	-1.5	-6.4	4.7
免疫グロブリンκ鎖V-I領域 DEE	P01597	6	346.1	$7.10 \times 10^{-11}$	0.0	0.0	0.0	-1.7	0.0	-2.0	-2.9
免疫グロブリンκ鎖V-I領域 HK102 (フラグメント)	P01602	5	338.6	$6.92 \times 10^{-14}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.5	-5.5
免疫グロブリンκ鎖V-I領域 Lay	P01605	1	67.8	$2.22 \times 10^{-16}$	1.7	0.0	1.7	0.0	0.0	-1.5	-17.8
免疫グロブリンκ鎖V-I領域 Mev	P01612	1	84.8	$3.46 \times 10^{-10}$	0.0	0.0	1.9	0.0	1.7	-1.6	-91.9
免疫グロブリンκ鎖V-I領域 WEA	P01610	1	20.3	$9.58 \times 10^{-6}$	3.2	0.0	2.4	4.5	0.0	2.2	-2.9
免疫グロブリンκ鎖V-I領域 Wes	P01611	1	25.9	$7.69 \times 10^{-11}$	-2.4	-5.6	1.7	-2.9	-2.0	-4.5	0.0
免疫グロブリンκ鎖V-II領域 GM607 (フラグメント)	P06309	4	185.8	$4.83 \times 10^{-8}$	0.0	-1.8	0.0	-2.1	0.0	0.0	0.0
免疫グロブリンκ鎖V-III領域 B6	P01619	1	71.5	$1.73 \times 10^{-6}$	0.0	-1.7	0.0	-1.5	-2.1	-1.9	-5.9
免疫グロブリンκ鎖V-III領域 CL	P04207	3	240.2	$1.30 \times 10^{-9}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-6.2
免疫グロブリンκ鎖V-III領域 HAH	P18135	9	469.9	$4.71 \times 10^{-8}$	0.0	0.0	0.0	-1.5	0.0	-2.1	-4.6
免疫グロブリンκ鎖V-III領域 POM	P01624	1	65.4	$4.84 \times 10^{-4}$	0.0	0.0	-2.6	-2.1	-1.7	-3.3	-83.6

【 0 1 7 4 】

【表 19】  
(表8の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイスプロット Acc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
免疫グロブリンκ鎖V-III領域 VG (フラグメント)	P04433	3	210.4	5.79 × 10 <sup>-3</sup>	0.0	-1.5	0.0	-1.6	0.0	-2.3	-2.0
免疫グロブリンκ鎖V-IV領域 (フラグメント)	P06312	5	392.0	6.11 × 10 <sup>-6</sup>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-2.1	-2.7
免疫グロブリンκ鎖V-IV領域 STH (フラグメント)	P83593	1	44.9	1.79 × 10 <sup>-5</sup>	2.0	0.0	2.1	2.3	0.0	-1.7	-6.4
免疫グロブリンλ鎖V-I領域 HA	P01700	2	112.4	1.66 × 10 <sup>-8</sup>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-3.6
免疫グロブリンλ鎖V-III領域 LOI	P80748	3	163.2	2.39 × 10 <sup>-13</sup>	0.0	-1.5	0.0	0.0	1.5	-1.5	-3.2
免疫グロブリンλ鎖V-III領域 SH	P01714	2	190.98	7.28 × 10 <sup>-10</sup>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.8	-8.0
免疫グロブリンλ鎖V-IV領域 Hil	P01717	2	118.3	2.34 × 10 <sup>-6</sup>	0.0	-1.8	0.0	-2.7	0.0	-2.4	-3.8
免疫グロブリンλ鎖V-VI領域 EB4	P06319	2	121.6	7.25 × 10 <sup>-4</sup>	0.0	0.0	0.0	-2.0	0.0	0.0	-2.1
免疫グロブリンλ-1鎖C領域	POCG04	2	146.0	2.33 × 10 <sup>-6</sup>	0.0	-1.8	0.0	-1.5	0.0	-2.6	-11.4
免疫グロブリンλ-2鎖C領域	POCG05	11	661.9	3.61 × 10 <sup>-7</sup>	0.0	-1.7	0.0	-1.9	0.0	-2.2	-3.7
免疫グロブリンλ-7鎖C領域	A0M8Q6	1	37.4	5.87 × 10 <sup>-13</sup>	2.9	-2.0	1.9	4.5	0.0	3.3	-957.1
免疫グロブリンμ鎖C領域	P01871	9	440.2	1.11 × 10 <sup>-16</sup>	0.0	-1.8	-1.9	-8.1	-2.8	0.0	-1.5
免疫グロブリンGFc結合タン パク質	Q9Y6R7	24	1123.5	2.22 × 10 <sup>-9</sup>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.6
免疫グロブリンJ鎖	P01591	3	115.0	2.40 × 10 <sup>-10</sup>	3.3	1.5	2.2	4.1	2.3	2.2	-50.8
インスリン様増殖因子結合タン パク質7	Q16270	2	120.7	7.84 × 10 <sup>-3</sup>	16.3	1.7	2.8	27.6	4.8	7.7	0.0
インターα-トリプシンインヒター 重鎖H1	P19827	2	141.2	6.65 × 10 <sup>-5</sup>	-2.1	-2.1	-2.3	-2.2	0.0	0.0	0.0
インターα-トリプシンインヒター 重鎖H2	P19823	3	137.4	4.59 × 10 <sup>-8</sup>	3.9	-2.4	-1.9	-1.5	0.0	6.2	0.0
インターα-トリプシンインヒター 重鎖H4	Q14624	2	57.2	5.98 × 10 <sup>-11</sup>	0.0	-2.3	0.0	-2.6	0.0	0.0	-12.0
インターロイキン-1ファミリーメンバ ー9	Q9NZH8	2	77.6	2.66 × 10 <sup>-5</sup>	0.0	-2.0	2.3	0.0	0.0	-1.5	0.0
インターロイキン-1レセプターアンタゴ ニストタンパク質	P18510	10	598.9	3.64 × 10 <sup>-10</sup>	-1.5	-2.1	1.5	-2.3	0.0	-2.6	-1.7
インホルクリン	P07476	20	1063.2	4.19 × 10 <sup>-13</sup>	2.5	5.3	0.0	4.3	0.0	4.7	0.0
イソクエン酸デヒドロゲナーゼ [NADP]細胞質	O75874	2	77.3	1.28 × 10 <sup>-10</sup>	-3.6	-4.0	-3.4	-44.2	0.0	-5.6	-4.0

【 0 1 7 5 】

10

20

30

40

【表 2 0】  
(表 8 の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイスプロ トAcc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
カリクレイン-10	O43240	4	175.2	$9.09 \times 10^{-7}$	-2.9	-1.5	-2.6	0.0	-1.9	-2.4	5.4
カリクレイン-11	Q9UBX7	5	214.2	$1.43 \times 10^{-10}$	-3.3	-5.4	-3.9	-3.7	0.0	-1.5	-2.8
カリクレイン-12	Q9UKR0	1	64.7	$7.93 \times 10^{-5}$	2.3	5.6	2.0	1.8	1.5	1.5	2.0
カリクレイン-13	Q9UKR3	5	225.2	$2.67 \times 10^{-9}$	0.0	0.0	0.0	1.6	0.0	0.0	0.0
カリクレイン-6	Q92876	3	128.1	$5.21 \times 10^{-9}$	-2.0	-3.1	-1.5	0.0	-2.7	-3.5	0.0
ケラチン型細胞骨格10	P13645	4	293.7	$2.82 \times 10^{-12}$	0.0	2.8	0.0	3.5	1.7	0.0	0.0
ケラチン型細胞骨格13	P13646	38	2352.6	$3.33 \times 10^{-16}$	0.0	3.3	2.4	4.1	1.6	0.0	0.0
ケラチン型細胞骨格14	P02533	4	141.7	$4.91 \times 10^{-11}$	0.0	-2.5	0.0	-2.3	-2.0	0.0	-1.5
ケラチン型細胞骨格15	P19012	1	24.1	$2.14 \times 10^{-6}$	1.9	3.3	1.7	4.1	3.0	2.1	2.5
ケラチン型細胞骨格16	P08779	3	97.8	$2.44 \times 10^{-15}$	0.0	1.8	0.0	0.0	2.2	0.0	-13.5
ケラチン型細胞骨格19	P08727	1	75.8	$3.78 \times 10^{-4}$	-2.0	1.7	0.0	1.5	-1.5	0.0	1.6
ケラチン型細胞骨格9	P35527	2	80.6	$8.01 \times 10^{-13}$	-14.9	-20.5	-5.3	-6.9	-7.8	-3.3	1.9
ケラチン型細胞骨格1	P04264	36	2396.7	0.00	1.8	3.9	1.5	6.2	0.0	2.3	0.0
上皮ケラチン型細胞骨格2	P35908	7	441.6	$5.65 \times 10^{-11}$	2.1	4.3	3.6	7.1	2.1	0.0	-2.2
口腔ケラチン型細胞骨格2	Q01546	5	343.6	$3.65 \times 10^{-11}$	92.1	2.1	0.0	24.3	0.0	1.5	-2.5
ケラチン型細胞骨格4	P19013	33	1931.5	0.00	0.0	8.0	0.0	5.1	0.0	2.6	2.0
ケラチン型細胞骨格5	P13647	23	1403.5	$3.44 \times 10^{-15}$	4.3	16.3	2.3	12.7	3.0	2.5	3.0
ケラチン型細胞骨格6A	P02538	63	3344.7	0.00	1.6	4.0	0.0	7.6	2.1	1.6	0.0
ケラチン型細胞骨格6B	P04259	2	125.6	$5.61 \times 10^{-14}$	3.1	14.7	2.5	17.0	4.1	3.5	-1.7
ケラチン型細胞骨格6C	P48668	1	63.8	$5.43 \times 10^{-8}$	-3.2	3.4	6.5	11.3	2.2	4.4	2.0
ケラチン型細胞骨格74	Q7RTS7	1	24.1	0.00	5268.7	9742.2	789.6	13424.4	1580.5	1016.7	0.0
ケラチン/サイト分化関連タンパク質	P60985	1	68.2	$3.72 \times 10^{-5}$	-2.4	-6.2	-2.3	-6.2	2.1	2.4	1.5
キノーゲン-1	P01042	1	45.8	$1.34 \times 10^{-9}$	-1.8	-4.6	-38.3	-88.6	-6.0	0.0	6.1
ラクトランスフェリン	P02788	27	1726.8	0.00	-1.8	0.0	0.0	-5.0	0.0	-2.7	0.0

【 0 1 7 6 】

10

20

30

40

【表 2 1】  
(表 8 の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	Mascot 検索結果				比率 X/H						
	スイスプロット Acc. N.	ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
ラシン-B1	P20700	3	103.8	$5.79 \times 10^{-7}$	-1.8	1.9	0.0	2.8	3.2	0.0	0.0
レグマイン	Q99538	2	118.1	$1.33 \times 10^{-8}$	-2.6	0.0	-1.5	1.7	0.0	0.0	3.4
ロインリッチ $\alpha$ -2-糖タンパク質	P02750	2	106.7	$1.35 \times 10^{-9}$	0.0	-3.4	0.0	-10.9	0.0	-4.0	-6.4
ロインリッチ反復含有タンパク質8E	Q6NSJ5	1	20.1	$3.19 \times 10^{-6}$	3.8	-1.5	1.6	-17.2	0.0	0.0	-205.8
白血球エラスターゼインヒター	P30740	28	2229.4	$4.37 \times 10^{-10}$	-2.0	0.0	0.0	-1.5	0.0	-2.4	-2.5
L-乳酸デヒドロゲナーゼ1 OS=ラクトバチルス ジョンソニ	P62052	2	102.2	$2.76 \times 10^{-8}$	-1.3	-1.3	-1.8	-3.1	1.4	1.1	1.8
長い口蓋肺及び鼻上皮癌 関連タンパク質 1 (Long palate, lung and nasal epithelium carcinoma- associated protein 1)	Q8TDL5	17	962.4	$1.29 \times 10^{-8}$	0.0	0.0	-2.1	-1.7	-1.8	0.0	0.0
ルカン	P51884	1	30.5	$1.24 \times 10^{-8}$	-20.2	-9.9	-5.2	-21.0	-7.4	-19.2	5.0
リンパ球特異的タンパク質1	P33241	3	103.4	$2.07 \times 10^{-5}$	2.5	2.8	3.2	3.2	1.7	0.0	-2.1
リソーム関連膜糖タンパク質2	P13473	2	124.7	$1.55 \times 10^{-10}$	-2.6	0.0	0.0	-1.8	-1.6	-3.1	3.6
マクロファージ遊走阻止因子	P14174	2	121.5	$9.33 \times 10^{-15}$	0.0	-4.9	0.0	-9.2	-2.8	1.6	-1.6
マクロファージキッキングタンパク質	P40121	6	244.6	$7.36 \times 10^{-11}$	-1.7	-5.3	0.0	-3.7	-2.1	-2.0	-2.4
リンゴ酸デヒドロゲナーゼ, ミコン ドリア OS=サッカロミセス セレビシエ	P17505	2	102.0	$7.64 \times 10^{-10}$	-2.0	-9.1	-1.6	-3.1	-2.3	-2.2	-1.3
マトリクスメタロプロテイナーゼ-9	P14780	11	589.2	$2.06 \times 10^{-13}$	-1.5	-3.3	-2.0	-6.5	-2.4	-4.3	0.0
微小管関連タンパク質4	P27816	6	175.6	$3.74 \times 10^{-6}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-2.0	5.7
ムチン-16	Q8WXI7	32	856.2	$5.32 \times 10^{-5}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7	1.8
ムチン-5AC (フラグメント)	P98088	5	166.1	$2.06 \times 10^{-7}$	-2.0	-1.9	-1.6	-2.1	-1.9	-2.3	2.1

10

20

30

【 0 1 7 7 】

【表 2 2】

(表 8 の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイスプロット Acc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
ムチン-5B	Q9HC84	10	367.1	$1.84 \times 10^{-10}$	0.0	-2.7	0.0	-2.1	-1.6	0.0	0.0
ミエロプラスチン	P24158	13	694.5	$3.33 \times 10^{-16}$	-2.2	0.0	1.5	-3.1	-3.0	-4.0	-1.7
ミエロペルオキシダーゼ	P05164	28	1652.5	$1.49 \times 10^{-12}$	-1.7	1.9	1.8	1.5	1.6	0.0	2.2
N(4)-(β-N-アセチルグルコサミン)-L-アスパラギナーゼ	P20933	2	56.8	$2.99 \times 10^{-9}$	-1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	-2.0	5.2
神経芽細胞分化関連タンパク質AHNAK	Q09666	40	1601.4	$3.54 \times 10^{-11}$	-2.1	0.0	0.0	0.0	-1.6	-2.1	-2.3
好中球コグナターゼ	P22894	9	519.7	$8.86 \times 10^{-13}$	-2.4	-4.5	0.0	-5.8	0.0	-1.7	-1.6
好中球エラスターゼ	P08246	11	455.5	$1.66 \times 10^{-8}$	0.0	1.9	2.3	1.5	0.0	0.0	3.3
好中球セラチナーゼ結合性リポカリン	P80188	18	1097.5	$1.10 \times 10^{-7}$	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0
非特異的細胞障害性細胞レセプタータンパク質1ホモログ	Q6ZVX7	3	110.8	$1.88 \times 10^{-8}$	0.0	0.0	0.0	0.0	-2.8	3.7	-2.5
核小体タンパク質8	Q76FK4	3	85.6	$3.79 \times 10^{-8}$	0.0	0.0	-1.9	2.1	0.0	0.0	4.2
ヌクレオリンTIAR	Q01085	1	82.5	$2.66 \times 10^{-9}$	-3.6	0.0	0.0	0.0	0.0	-4.1	-2.3
ヌクレオチド二リン酸キナーゼB	P22392	4	128.9	$5.91 \times 10^{-13}$	1.6	-3.4	0.0	-7.3	-2.2	0.0	-1.8
オブスクリン様タンパク質1	O75147	2	61.2	$2.79 \times 10^{-11}$	-1.5	-6.1	-2.1	-3.3	-1.8	0.0	0.0
オルファクトミン-4	Q6LUX06	5	208.5	$1.44 \times 10^{-10}$	0.0	-1.6	0.0	0.0	0.0	1.8	1.9
パントテン酸シターゼ OS=スタフィロコッカス エピテルミティス	Q5HL36	1	55.1	$8.51 \times 10^{-10}$	-1.3	-3.4	-2.4	1.5	1.3	1.3	1.2
ペプチドグリカン認識タンパク質1	O75594	1	42.1	$5.35 \times 10^{-5}$	3.9	-2.1	3.1	1.8	2.6	0.0	5.4
ペリリピン-3	O60664	4	180.1	$2.44 \times 10^{-9}$	0.0	1.7	1.7	2.9	0.0	2.3	2.1
ペリプラキリン	O60437	7	315.2	$1.45 \times 10^{-13}$	0.0	3.6	0.0	3.4	0.0	2.0	1.8
ペルオキシレドキシナーゼ6	P30041	3	151.5	$5.60 \times 10^{-7}$	-3.0	-2.0	-5.8	0.0	-7.6	0.0	1.5

10

20

30

【 0 1 7 8 】



【表 2 3】

(表 8 の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイズプロット Acc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
ホスファチジルエタノールアミン結合 タンパク質1	P30086	5	359.6	$1.94 \times 10^{-13}$	0.0	-3.1	0.0	-4.2	0.0	-1.5	-2.7
ホスホキヤリアタンパク質HPr OS=ラクトバチルス カゼイ	Q9KJV3	3	139.3	$8.87 \times 10^{-11}$	1.1	1.5	1.1	2.5	1.2	1.2	1.2
ホスホグリセリン酸キナーゼ1	P00558	11	487.8	$7.24 \times 10^{-14}$	0.0	-1.9	0.0	-2.4	0.0	2.9	0.0
ホスホグリセリン酸キナーゼ OS=ラクトバチルス カゼリ	Q042F2	1	36.1	$1.65 \times 10^{-2}$	4.9	-22.1	-1.3	2.5	1.1	2.1	3.1
ホスホグリセリン酸キナーゼ OS=ラクトバチルス ヘルベティカス	A8YUE3	4	204.4	$1.07 \times 10^{-12}$	1.4	-1.1	1.9	2.5	-2.5	-1.1	-1.1
ホスホグリセリン酸キナーゼ OS=ウレアプラスマ パルハム	Q9PQL2	1	29.1	$2.25 \times 10^{-10}$	7.8	4.4	1.7	7.1	1.7	5.1	7.7
ホスホリパーゼB様1	Q6P4A8	5	237.0	$5.09 \times 10^{-10}$	-2.1	-1.6	0.0	-2.1	-2.1	-3.0	0.0
プロコフィリン-1	Q13835	4	235.4	$1.41 \times 10^{-8}$	2.7	1.5	2.0	2.3	1.7	-1.7	-4.0
血漿プロテアーゼC1インヒター	P05155	6	398.3	$9.94 \times 10^{-6}$	1.6	0.0	-1.5	-2.2	-1.6	0.0	1.8
血漿セリンプロテアーゼインヒター	P05154	10	606.7	$2.63 \times 10^{-8}$	0.0	-1.5	-1.9	0.0	0.0	-1.8	0.0
プラスミゲンアクチベーターインヒター -2	P05120	5	233.0	$1.03 \times 10^{-12}$	-1.8	-1.9	-1.5	2.4	-1.5	0.0	0.0
プラスチン-2	P13796	28	1709.9	$4.72 \times 10^{-10}$	-2.1	-2.3	0.0	-6.2	-1.7	-4.5	0.0
プラスチン-3	P13797	9	475.1	$1.21 \times 10^{-13}$	-3.7	-6.7	0.0	-5.1	-2.0	0.0	2.0
ホリ(U)-特異的エンドリボスクレ アーゼ	P21128	1	63.7	$2.42 \times 10^{-4}$	-1.8	-30.8	1.5	-4.6	2.0	1.7	3.1
高分子免疫グロブリンレセプター	P01833	11	687.7	$2.75 \times 10^{-7}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.6	0.0
POUドメイン, クラス2, 転写因 子1	P14859	5	128.1	$8.44 \times 10^{-6}$	1.9	3.0	0.0	2.1	-1.5	0.0	0.0
確実な(probable)DNAヘリカー ゼII ホモログ OS=マイコプラスマ ケニトリウム	P47486	3	79.4	$1.87 \times 10^{-13}$	-2.2	1.1	-5.0	-6.4	-6.9	-1.4	-3.2
確実な(probable)ホスホグリセ リン酸ムターゼ4	Q8NDY7	1	53.4	$1.60 \times 10^{-2}$	7.2	5.6	1.7	7.0	1.8	19.2	29.2

10

20

30

【 0 1 7 9 】

【表 2 4】  
 (表 8 の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイスプロトAcc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ヘプテッド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
プロフィリン-1	P07737	6	384.3	$1.47 \times 10^{-10}$	0.0	-5.1	-2.9	-5.0	-1.9	-2.0	-4.5
プロスタグランジン-H2 D-イソメラーゼ	P41222	2	108.4	$1.61 \times 10^{-6}$	0.0	1.9	1.6	0.0	0.0	0.0	0.0
プロスタシン	Q16651	3	128.3	$5.06 \times 10^{-7}$	1.7	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.5	-3.2
前立腺幹細胞抗原	O43653	1	63.7	$1.95 \times 10^{-12}$	14.3	142.1	3.5	63.8	25.9	32.9	11.3
前立腺酸性ホスファターゼ	P15309	3	109.3	$2.25 \times 10^{-9}$	-3.7	-11.1	-1.6	0.0	-1.9	-1.5	3.1
プロテアソームサブユニットβタイプ-3	P49720	2	63.0	$2.49 \times 10^{-8}$	-3.6	-5.8	-3.1	-5.7	-3.5	-5.1	-27.7
タンパク質ジスルフィド-イソメラーゼ	P07237	10	445.8	$2.05 \times 10^{-9}$	-2.3	-1.8	0.0	-5.1	-2.9	0.0	0.0
タンパク質FAM25	B3EWG3	1	42.5	0.00	1874.1	6741.8	437.6	8944.5	5346.2	2938.9	0.0
タンパク質NDRG1	Q92597	1	38.2	0.00	2.8	5.4	3.1	7.0	6.3	1.8	-1317.2
タンパク質S100-A12	P80511	6	406.2	$1.76 \times 10^{-9}$	2.3	-1.7	2.6	0.0	1.7	-2.1	-1.5
タンパク質S100-A7	P31151	8	465.2	$1.11 \times 10^{-16}$	-2.5	-19.2	0.0	-5.7	-4.3	-2.5	-1.5
タンパク質S100-A8	P05109	16	712.4	$3.33 \times 10^{-16}$	0.0	-3.1	0.0	-2.5	-2.9	1.5	-1.5
タンパク質S100-A9	P06702	20	1133.2	0.00	0.0	-4.2	0.0	-2.6	0.0	0.0	-3.3
タンパク質S100-P	P25815	1	86.1	$2.27 \times 10^{-7}$	1.6	0.0	0.0	0.0	-3.4	1.5	-443.4
タンパク質-グルタミンγ-グルタミルトランスフェラーゼE	Q08188	26	1518.6	$1.32 \times 10^{-12}$	-1.9	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.6	0.0
タンパク質-グルタミンγ-グルタミルトランスフェラーゼK	P22735	6	304.3	$4.91 \times 10^{-11}$	-2.3	0.0	-1.9	0.0	-2.1	-3.4	-5.7
プリンスクレオトホスホリラーゼ	P00491	2	104.9	$1.34 \times 10^{-8}$	0.0	0.0	-1.9	3.7	-1.7	2.0	0.0
ピュロマイシン感受性アミノプチダーゼ	P55786	6	240.7	$2.54 \times 10^{-12}$	-3.8	-16.3	-3.8	-6.7	-8.7	-1.6	3.2
推定β-アクチン様タンパク質3	Q9BYX7	5	205.9	$5.48 \times 10^{-11}$	2.1	0.0	2.1	-2.0	1.6	2.6	2.3
推定脂肪酸結合タンパク質5様タンパク質3	A8MUU1	3	72.5	$3.04 \times 10^{-2}$	-2.0	1.6	-1.6	1.8	-2.0	0.0	-2.6

10

20

30

【 0 1 8 0 】

【表 2 5】  
(表 8 の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイズプロット Acc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
推定未同定(putative uncharacterized)タンパク質 ydbA OS=エシェリキア コリ	P33666	2	79.6	$2.48 \times 10^{-8}$	-2.1	1.0	-1.1	1.9	2.1	1.0	-2.1
ピルビン酸キナーゼアイソザイム M1/M2	P14618	17	955.5	$2.22 \times 10^{-16}$	0.0	-2.5	-1.9	-3.7	-2.1	1.6	-1.9
ピルビン酸キナーゼ OS=ラクトバチルス デルブレッキイ 亜種ブルガリクス	P34038	5	342.4	$2.36 \times 10^{-5}$	-1.1	1.5	-1.1	1.1	-1.2	1.3	-1.3
ピルビン酸キナーゼ OS=スタフィロコッカス アウレウス	Q2YTE3	1	40.6	$6.68 \times 10^{-8}$	-1.5	-2.6	-3.0	-1.1	1.0	-3.4	1.1
Ras GTPアーゼ活性化様タンパク質IQGAP1	P46940	4	139.2	$7.55 \times 10^{-15}$	-1.9	-3.9	-2.1	-12.8	-2.5	-2.7	0.0
Ras関連タンパク質Rab-7a	P51149	5	311.8	$8.85 \times 10^{-9}$	-1.6	0.0	1.5	-1.6	0.0	-2.5	-1.5
レプチン	Q6XPR3	7	192.1	$2.22 \times 10^{-16}$	9.6	4.3	1.5	13.4	1.9	3.6	1.8
Rho GDP-解離阻害剤2	P52566	2	76.2	$1.67 \times 10^{-11}$	0.0	-3.4	-3.2	-5.2	-1.7	-3.3	0.0
リボソーム再生因子 OS=ピシドバクテリウム ロンガム 亜種インファンティス	B7GQS1	2	71.2	$1.25 \times 10^{-14}$	-1.2	-4.5	-1.1	-2.4	1.0	-2.8	-3.4
サイエリン(Sciellin)	O95171	7	366.1	$1.26 \times 10^{-7}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0
セメナゲリン-2	Q02383	2	70.7	$2.74 \times 10^{-5}$	525.8	1.9	-2.3	5.9	-1.8	0.0	4.9
セリン プロテアーゼ27	Q9BQR3	4	190.7	$2.61 \times 10^{-13}$	0.0	-1.7	0.0	-2.3	0.0	-1.5	-1.5
セリン/トレオニン-プロテイン キナーゼULK1	O75385	3	94.6	$2.53 \times 10^{-13}$	-5.1	-2.2	0.0	-4.4	-1.7	-7.4	-5.7
セロトランスフェリン	P02787	35	1958.4	$2.78 \times 10^{-15}$	1.6	-1.5	0.0	-3.9	-1.5	0.0	0.0
セルビリンB12	Q96P63	7	448.5	$2.25 \times 10^{-8}$	-1.5	-2.7	-1.8	-1.9	0.0	-1.7	-2.7
セルビリンB13	Q9UJ8	18	1048.5	$6.91 \times 10^{-5}$	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0
セルビリンB3	P29508	60	3860.2	0.00	0.0	3.2	1.8	4.3	1.6	2.6	0.0
セルビリンB4	P48594	10	814.8	$3.10 \times 10^{-5}$	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0
セルビリンB5	P36952	5	209.5	$2.56 \times 10^{-14}$	-3.3	-7.9	0.0	-4.7	-2.6	2.0	2.1
セルビリンB6	P35237	8	422.3	$5.02 \times 10^{-10}$	-2.1	0.0	0.0	0.0	0.0	-2.2	-2.3

【 0 1 8 1 】

【表 2 6】  
(表 8 の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイスプロット Acc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
セルピンB9	P50453	2	76.8	$2.52 \times 10^{-12}$	-2.6	-4.1	0.0	-5.6	0.0	-6.6	2.7
血清アルブミン	P02768	89	4758.9	$1.55 \times 10^{-12}$	-1.5	-2.3	0.0	-13.2	-1.6	-2.1	-2.7
血清パラオキシナーゼ/アリアルエステラーゼ1	P27169	5	174.3	$2.28 \times 10^{-7}$	1.5	0.0	1.7	0.0	1.5	0.0	-4.3
低分子プロリンリッチタンパク質3	Q9UBC9	28	1125.2	0.00	3.4	6.6	0.0	6.6	1.7	4.4	0.0
スタニオカルシン-1	P52823	1	48.3	$5.28 \times 10^{-5}$	1.9	3.4	1.7	113.1	4.0	13.3	-1.7
スルフヒドリルオキシダーゼ1	O00391	13	586.5	$9.15 \times 10^{-11}$	-1.6	0.0	0.0	1.6	0.0	-1.6	1.7
スーパーオキシドディスムターゼ [Cu-Zn]	P00441	5	189.0	$1.94 \times 10^{-6}$	0.0	-1.8	0.0	-1.5	0.0	0.0	0.0
スプラバシン	Q6UWP8	4	290.5	$1.91 \times 10^{-4}$	13.5	17.9	7.6	15.1	3.9	14.4	-11.5
シンテニン-1	O00560	1	65.9	$9.80 \times 10^{-3}$	4.4	1.9	2.6	-3.1	0.0	-2.3	-5.8
タリン-1	Q9Y490	12	403.0	$8.18 \times 10^{-8}$	0.0	-1.6	0.0	-1.6	0.0	0.0	0.0
Tctex1ドメイン含有タンパク質2	Q8WW35	1	45.1	$1.64 \times 10^{-8}$	-1.6	1.8	-25.1	4.2	-13.6	0.0	-6.4
テニューリン-3	Q9P273	1	47.0	$4.91 \times 10^{-12}$	9.7	33.3	12.3	-2.3	10.2	0.0	0.0
チオレドキシシン	P10599	9	485.1	$2.83 \times 10^{-11}$	0.0	2.5	1.5	3.1	0.0	0.0	0.0
トランスアルドラーゼ <sup>b</sup>	P37837	6	273.6	$2.45 \times 10^{-13}$	-1.8	-1.9	1.6	-1.7	-2.2	2.4	0.0
膜貫通プロテアーゼセリン11D	O60235	9	566.0	$1.13 \times 10^{-11}$	-1.8	0.0	-1.6	2.6	0.0	0.0	0.0
トランスサイレチン	P02766	8	576.3	$3.77 \times 10^{-9}$	0.0	0.0	0.0	-4.7	-1.8	0.0	0.0
トリガーファクター OS=ラクトバチルス プレビス	Q03QN6	1	34.9	$6.44 \times 10^{-11}$	-2.4	-3.8	-2.1	-2.2	-3.2	-2.7	-1.1
トリオースリン酸イソメラーゼ <sup>c</sup> OS=ラクトバチルス デルプレッキイ 亜種ブルガリクス	Q1GB25	4	149.1	$1.50 \times 10^{-9}$	-1.2	-1.3	2.4	-1.2	-1.3	-1.4	1.0
腫瘍タンパク質D54	O43399	2	98.8	$1.67 \times 10^{-10}$	0.0	2.2	0.0	2.2	0.0	0.0	4.1
未同定膜タンパク質 YAL018C OS=サッカロミセス セレビシエ	P31379	2	80.8	$5.18 \times 10^{-14}$	2.0	1.1	2.0	2.9	4.2	-1.6	2.6

10

20

30

40

【 0 1 8 2 】

【表 2 7】  
(表 8 の続き)

タンパク質名 <sup>a</sup>	スイスプロット Acc. N.	Mascot 検索結果			比率 X/H						
		ペプチド カウント	スコア	Anova (P)	A-N	A-R	B-N	B-R	C-N	C-R	D-N
未同定タンパク質yphG OS=エシェリア コリ	P76585	1	47.3	$7.63 \times 10^{-5}$	-4.3	1.1	-1.1	1.1	-1.1	1.0	-1.7
UPF0082タンパク質SAB0618 OS=スタフィロコッカス アウレウス	Q2YSR2	1	40.4	$2.67 \times 10^{-6}$	5.6	9.3	9.2	10.5	5.9	8.9	1.8
ウロニル2-スルホトランスフェラーゼ <sup>b</sup>	Q9Y2C2	1	27.4	$1.03 \times 10^{-4}$	-786.0	2.0	-786.0	2.1	-917.5	-7.7	4.3
UTP-グルコース-1-リン酸ウリ ジリルトランスフェラーゼ <sup>c</sup>	Q16851	2	76.2	$1.04 \times 10^{-6}$	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.9
UV除去修復タンパク質 RAD23ホモロク B	P54727	5	181.1	$3.03 \times 10^{-10}$	-2.9	-2.8	-1.6	-2.2	-1.5	-2.2	3.6
パーシコアタンパク質	P13611	7	299.5	$6.15 \times 10^{-8}$	0.0	0.0	-1.7	2.6	0.0	0.0	2.4
ピンキュリン	P18206	17	850.8	$3.14 \times 10^{-9}$	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0
ビタミンD結合タンパク質	P02774	3	112.5	$6.66 \times 10^{-16}$	0.0	-1.7	-2.0	-17.8	0.0	0.0	-3.4
ウェルナー症候群ATP依存性 ヘリカーゼ <sup>d</sup>	Q14191	1	32.6	$4.80 \times 10^{-13}$	302.6	331.1	131.2	750.5	12.4	209.6	5.7
ジンクフィンガータンパク質185	O15231	5	171.4	$3.62 \times 10^{-11}$	2.2	5.2	0.0	5.8	1.5	1.8	5.3
ジンクフィンガータンパク質335	Q9H4Z2	4	122.6	$1.90 \times 10^{-7}$	0.0	0.0	0.0	-1.6	0.0	0.0	-2.1
Zn- $\alpha$ -2-糖タンパク質	P25311	2	62.2	$1.98 \times 10^{-10}$	0.0	0.0	0.0	-9.4	0.0	0.0	-1.8
ザイクシン	Q15942	5	138.5	$5.10 \times 10^{-12}$	-1.7	-3.2	0.0	-5.1	2.0	0.0	0.0

10

20

## 【 0 1 8 3 】

プロテオーム技術によって同定されたタンパク質を、遺伝子オントロジー (GO) 解析 (AmiGO バージョン 1.8、データベース公開 2012-11-03) に供し、同定されたタンパク質と関連する生物学的プロセス、分子機能及び細胞内局在を同定した。MS/MS データについて、さらに、公に利用可能な Human Protein Atlas データベース (HPA) を用いて組織発現パターンを評価した。表 9 は、健康な女性と BV に罹患した女性との間で発現が異なると MS/MS で同定されたタンパク質の遺伝子オントロジー (GO) カテゴリー化を示す。分類は、キーワードカテゴリーとして「生物学的プロセス」に従って実施した。

30

## 【 0 1 8 4 】

## 【表 2 8】

表 9

遺伝子オントロジー(GO)カテゴリー化	「生物学的プロセス」による GOカテゴリー化の割合(%)
急性期及び炎症反応	5
血液凝固	5
細胞接着	3
細胞骨格組織化	2
上皮発達及び角質化	13
先天性免疫応答及び補体活性化	20
エンドペプチダーゼ活性の調節	4
酸化的ストレス及び外部刺激に対する応答	5
低分子代謝プロセス	12
輸送	11
他	7
NA	13

10

20

## 【 0 1 8 5】

表 1 0 は、健康な女性と B V に罹患した女性との間で発現が異なると M S / M S により同定されたタンパク質の遺伝子オントロジー ( G O ) のカテゴリー化を示す。分類は、キーワードカテゴリーとして「細胞の構成要素」に従って実施した。

## 【 0 1 8 6】

## 【表 2 9】

表 1 0

遺伝子オントロジー(GO)カテゴリー化	「細胞の構成要素」による GOカテゴリー化の割合(%)
細胞質	22
細胞骨格構成成分	3
細胞外空間	35
粒子及び小胞	2
ハプトグロビン-ヘモグロビン複合体	2
形質膜に内在又は関連	15
内部小器官	8
ケラチンフィラメント	5
核	2
NA	6

30

40

## 【 0 1 8 7】

表 1 1 は、健康な女性と B V に罹患した女性との間で発現が異なると M S / M S により同定されたタンパク質の遺伝子オントロジー ( G O ) のカテゴリー化を示す。分類は、キーワードカテゴリーとして「分子機能」に従って実施した。

## 【 0 1 8 8】

## 【表 3 0】

表 1 1

遺伝子オントロジー(GO)カテゴリー化	「分子機能」による GOカテゴリー化の割合(%)
抗原結合	12
カルシウムイオン結合	13
イオン結合	2
脂質結合	2
タンパク質結合	19
酵素活性	19
レセプター活性	2
構造分子活性	16
輸送体活性	5
他	2
NA	8

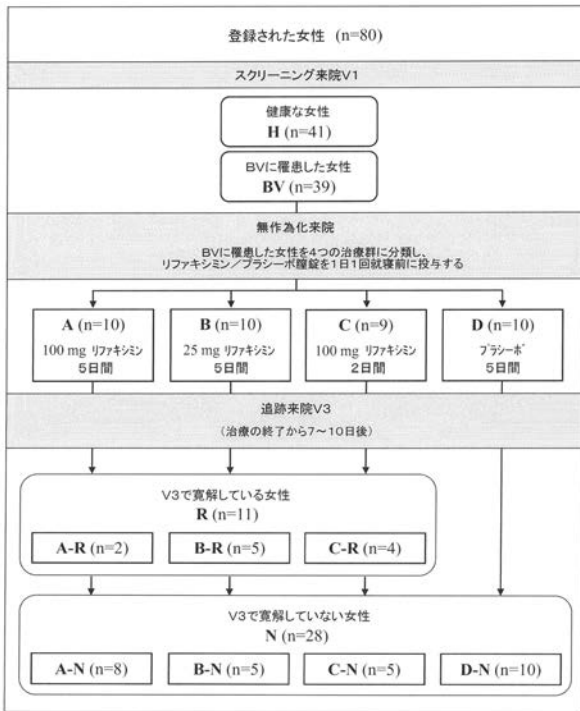
10

## 【 0 1 8 9】

20

多変量解析 (PCA) は、発現が異なるタンパク質の MS / MS データを用いて行い、図 2 に示した。図 2 a は、来院 V 1 における健康な女性 (H) 及び BV に罹患した女性の分画プール中のペプチドの PCA を示す。図 2 b は、BV に罹患した女性のリファキシミンにより治療前後の全プール中のペプチドの PCA を示し、それぞれ、100 mg の投薬量を 5 日間で寛解 (A - R) 及び非寛解 (A - N) ; 25 mg を 5 日間で寛解 (B - R) 及び非寛解 (B - N) ; 100 mg を 2 日間で寛解 (C - R) 及び非寛解 (C - N) ; 並びにプラシーボを 5 日間 (D - N) である。データは、サンプルにつき 3 回行ったときの解析から得る。

【 図 1 】



【 図 2 】

図2a

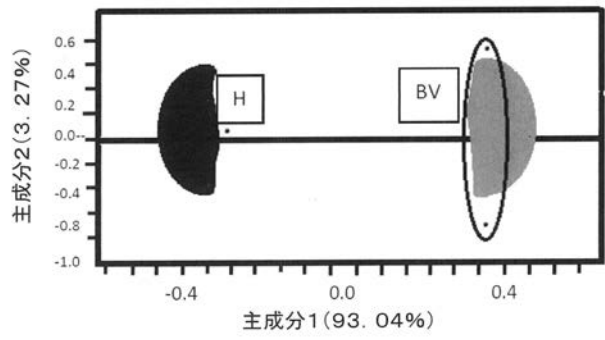
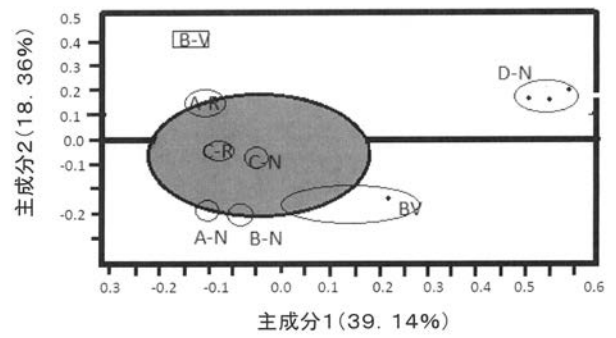


図2b





## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2014/059427

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
INV. C12Q1/04	G01N33/569	
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
C12Q 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, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A X Y	DE 102 41 700 A1 (MEDIFACT PUBLISHING GMBH [DE]) 18 March 2004 (2004-03-18) abstract; claims 1,2,3,5,6 ----- US 2007/161125 A1 (ROSENFELD RON [US] ET AL) 12 July 2007 (2007-07-12) page 40, column 1 claim 26 paragraph [0165] ----- ----- -/--	1,4-7, 10-29 2,3,8,9  14,15  1,4-7, 10-29
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
<p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"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)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		<p>"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</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
5 June 2014		18/09/2014
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  Gundlach, Björn

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/IB2014/059427
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SURENDRA DASARI ET AL: "Comprehensive Proteomic Analysis of Human Cervical-Vaginal Fluid", JOURNAL OF PROTEOME RESEARCH, vol. 6, no. 4, 1 April 2007 (2007-04-01), pages 1258-1268, XP055121649, ISSN: 1535-3893, DOI: 10.1021/pr0605419	14,15
Y	abstract; table 1	1,4-7, 10-29
X	----- HITTI J ET AL: "Noninvasive diagnosis of intraamniotic infection: proteomic biomarkers in vaginal fluid", AMERICAN JOURNAL OF OBSTETRICS & GYNECOLOGY, MOSBY, ST LOUIS, MO, US, vol. 203, no. 1, 1 July 2010 (2010-07-01), pages 32.e1-32.e8, XP027109407, ISSN: 0002-9378 [retrieved on 2010-05-15]	14,15
Y	abstract; table 2	1,4-7, 10-29
X	----- EP 0 547 294 A1 (ALFA WASSERMANN SPA [IT]) 23 June 1993 (1993-06-23) paragraphs [0032], [0037]; claim 12	29
X	----- SPEAR G T ET AL: "Vaginal IL-8 levels are positively associated with Candida albicans and inversely with lactobacilli in HIV-infected women", JOURNAL OF REPRODUCTIVE IMMUNOLOGY, ELSEVIER SCIENCE IRELAND LTD, IE, vol. 78, no. 1, 1 June 2008 (2008-06-01), pages 76-79, XP022634645, ISSN: 0165-0378, DOI: 10.1016/J.JRI.2007.11.001 [retrieved on 2008-02-19]	1
Y	abstract	1,4-7, 10-29
A	page 77, paragraph 2	2,3,8,9
Y	----- INGER MATTSBY-BALTZER ET AL: "IL-1beta, IL-6, TNFalpha, fetal fibronectin, and endotoxin in the lower genital tract of pregnant women with bacterial vaginosis", ACTA OBSTETRICIA AND GYNECOLOGICA SCANDINAVICA., vol. 77, no. 7, 1 July 1998 (1998-07-01), pages 701-706, XP055121904, DK ISSN: 0001-6349, DOI: 10.1034/j.1600-0412.1998.770701.x	1,4-7, 10-29
	abstract	
	-----	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/IB2014/059427**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.:

1-29(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/ IB2014/ 059427

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

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

1. claims: 1-29(partially)

Method for detecting or predicting remission of a vaginal bacterial infection, the status of remission, the efficacy of treatment, an efficacious treatment, a pharmaceutical composition and kits involving vitamin D binding protein as a biomarker.

---

2-20. claims: 1-29(partially)

Method for detecting or predicting remission of a vaginal bacterial infection, the status of remission, the efficacy of treatment, an efficacious treatment, a pharmaceutical composition and kits involving one of the other biomarkers mentioned in claim 2.

---

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2014/059427

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 10241700	A1	18-03-2004	NONE	
-----				
US 2007161125	A1	12-07-2007	AT 513219 T	15-07-2011
			AU 2007324014 A1	29-05-2008
			CA 2667357 A1	29-05-2008
			CN 101611319 A	23-12-2009
			EP 2092344 A2	26-08-2009
			HK 1129926 A1	27-04-2012
			JP 2010509596 A	25-03-2010
			US 2007161125 A1	12-07-2007
			WO 2008063928 A2	29-05-2008
-----				
EP 0547294	A1	23-06-1993	AT 130510 T	15-12-1995
			CA 2073601 A1	18-06-1993
			DE 69206245 D1	04-01-1996
			DE 69206245 T2	02-05-1996
			DK 0547294 T3	18-12-1995
			EP 0547294 A1	23-06-1993
			ES 2081531 T3	01-03-1996
			GR 3018205 T3	29-02-1996
			IT 1253711 B	23-08-1995
			JP 2834951 B2	14-12-1998
			JP H05255085 A	05-10-1993
			TW 217385 B	11-12-1993
			US 5314904 A	24-05-1994
			US 6140355 A	31-10-2000
-----				

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 P 15/02 (2006.01)</b>	A 6 1 P 15/02	
<b>A 6 1 P 31/04 (2006.01)</b>	A 6 1 P 31/04	

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

(72) 発明者 カラニ, フィオレッタ  
 イタリア国, イ - 4 0 1 3 3 ボローニャ, ヴィア ラガッツィ デル ' 9 9 , 5 アル  
 ファ ワッセルマン ソシエタ ペル アチオニ内

(72) 発明者 ヴィターリ, ベアトリーチェ  
 イタリア国, イ - 4 0 1 2 7 ボローニャ, ヴィア サン ドナート, 1 9 / 2 ユニバー  
 シティ オブ ボローニャ デパートメント オブ ファーマシー アンド バイオテクノロジー  
 ズ

(72) 発明者 クルチアーニ, フェデリカ  
 イタリア国, イ - 4 0 1 2 7 ボローニャ, ヴィア サン ドナート, 1 9 / 2 ユニバー  
 シティ オブ ボローニャ デパートメント オブ ファーマシー アンド バイオテクノロジー  
 ズ

F ターム (参考) 2G045 AA25 AA28 BA13 BB01 BB03 BB24 CB15 CB21 DA20 DA36  
 DA37 FA36 FB06 JA01  
 4B063 QA13 QA19 QQ03 QQ21 QQ22  
 4C086 AA01 AA02 CB22 MA01 MA04 NA05 ZA81 ZB35