

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2015年6月11日(11.06.2015)



(10) 国際公開番号
WO 2015/083765 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 33/68 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2014/082061
- (22) 国際出願日: 2014年12月4日(04.12.2014)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2013-251152 2013年12月4日(04.12.2013) JP
- (71) 出願人: 国立大学法人大阪大学(OSAKA UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: 吉崎 和幸(YOSHIZAKI, Kazuyuki); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP). 宇野 賀津子(UNO, Kazuko); 〒6068225 京都府京都市左京区田中門前町103番地の5 財団法人ルイ・パストゥール医学研究センター内 Kyoto (JP). 岩橋 充啓(IWAHASHI, Mitsuhiro); 〒7390002 広島県東広島市西条町吉行2214番地 医療法人ヤマナ会東広島記念病院内 Hiroshima (JP). 八木 克巳(YAGI, Katsumi); 〒6068225 京都府京都市左京区田中門前町103番地の5 財団法人ルイ・パストゥール医学研究センター内 Kyoto (JP).
- (74) 代理人: 山田 威一郎, 外(YAMADA, Iichiro et al.); 〒5300005 大阪府大阪市北区中之島6-2-40 中之島インテス21階 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): 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, 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, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: METHOD FOR PREDICTING THERAPEUTIC EFFECT OF BIOLOGICAL PREPARATION ON RHEUMATOID ARTHRITIS

(54) 発明の名称: 生物学的製剤による関節リウマチの治療効果を予測判定する方法

(57) Abstract: The objective of the present invention is to provide a method for simply, inexpensively and accurately assessing, before administering a biological preparation, the therapeutic effect thereof (in particular whether there will be a complete response) or the improvement of symptoms in patients having rheumatoid arthritis. By using at least one serum concentration selected from the group consisting of sgp130, IP-10, sTNFR1, sTNFR2, GM-CSF, IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, Eotaxin, VEGF, MCP-1, TNF- α , IFN- γ , FGF basic, PDGF-bb, sIL-6R and MIP-1 α , the therapeutic effect (improvement of symptoms and possibility of response) of an inflammatory cytokine-targeting biological preparation on a patient having rheumatoid arthritis can be predicted in any type of facility in a simple, inexpensive, and highly accurate manner before administering the biological preparation.

(57) 要約: 本発明の目的は関節リウマチ患者に生物学的製剤を投与する前に、簡便、廉価、且つ正確に、治療効果(特に、完全寛解状態になるか否か)、又は症状の改善度を判定する方法を提供することである。sgp130、IP-10、sTNFR1、sTNFR2、GM-CSF、IL-1 β 、IL-2、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、Eotaxin、VEGF、MCP-1、TNF- α 、IFN- γ 、FGF basic、PDGF-bb、sIL-6R、及びMIP-1 α よりなる群から選択される1種又は2種以上の血清中濃度を利用することによって、炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤を投与する前に、関節リウマチ患者に対する治療効果(症状の改善度や寛解の可能性)を、簡便且つ廉価で、如何なる施設でも可能で、しかも高い正確性をもって予測判定できる。

WO 2015/083765 A1

明 細 書

発明の名称：

生物学的製剤による関節リウマチの治療効果を予測判定する方法

技術分野

[0001] 本発明は、関節リウマチ患者への生物学的製剤による治療効果を予測判定する方法に関する。より具体的には、本発明は、関節リウマチ患者に生物学的製剤を投与する前に、症状の改善度、寛解の可能性等の治療効果を予測判定する方法に関する。更に、本発明は、関節リウマチ患者への生物学的製剤による治療効果を予測判定するための診断薬に関する。

背景技術

[0002] 関節リウマチは、関節滑膜を病変の中心とする全身性の炎症性疾患であり、その患者数は日本で約70万人にも及ぶといわれている。関節リウマチの治療には、炎症性サイトカインを標的にする多くの生物学的製剤が開発されており、近年では、TNF- α 又はIL-6の作用を阻害する抗TNF- α 剤又は抗IL-6剤が臨床的に実用化されている。

[0003] これまでに、トシリズマブ、エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ等の、炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤が関節リウマチの治療に使用されている。トシリズマブは、ヒト化IL-6受容体抗体であり、膜結合型IL-6受容体及び可溶性IL-6受容体に結合しIL-6シグナルを抑制する作用によって関節リウマチを鎮静化させる薬剤である。また、エタネルセプトは、ヒトIgG1のFc領域とヒト腫瘍壊死因子II型受容体の細胞外ドメインのサブユニット2量体からなる完全ヒト型可溶性TNF/LT α レセプター製剤であり、TNF α / β の両方に結合し、TNF受容体へのシグナル伝達を阻害することにより、関節リウマチを鎮静化させる薬剤である。アダリムマブ及びインフリキシマブは、ヒト型及びキメラ型抗TNF- α 抗体であり、過剰に産生されたTNF- α に特異的に結合し、TNF- α のTNF- α 受容体への結合を阻害することによって、関節リウマ

チを鎮静化させる薬剤である。

[0004] このような生物学的製剤は、関節リウマチの治療において一定の有効性が確認されている一方で、薬価が高い、治療効果判定に時間がかかる等の欠点があることに加えて、無効例も一定の割合で存在しており、更に感染症、間質性肺炎等の副作用発現も認められることがあるため、生物学的製剤を使用可能な症例は限定されている。そのため、炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤の有効性を関節リウマチ患者毎に事前に推測できれば、関節リウマチ患者に福音をもたらし、医療経済にも寄与することになる。

[0005] 従来、炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤の関節リウマチ患者に対する有効性を予測するマーカーについて精力的に検討されている。例えば、トシリズマブによる関節リウマチの治療有効性を予測する方法としては、マイクロDNAチップを使用する方法、ベースライン時のCRP値を指標とする方法、血中の可溶性ICAM1濃度及びCXCL13濃度を指標とする方法、白血球のADAMT5遺伝子発現量を指標とする方法（非特許文献4）、遺伝子多型を網羅的に解析する方法（特許文献1及び2）、IL-6受容体の遺伝子変異を解析する方法（特許文献3）等が報告されている。また、インフリキシマブによる関節リウマチの治療有効性を予測する方法としては、IL10RB遺伝子、IRF5遺伝子及びIRF5遺伝子の多型を解析する方法（特許文献4）が報告されている。更に、エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ等の抗TNF- α 剤による関節リウマチの治療有効性を予測する方法として、遺伝子多型を網羅的に解析する方法（特許文献5）も報告されている。

[0006] しかしながら、従来の関節リウマチの治療効果の判定方法では、遺伝子解析等を要し操作が煩雑である、解析に時間又は費用がかかる、汎用性が乏しい、正診率が低い等の欠点がある。更に、従来の手法では、生物学的製剤の投与前に、関節リウマチを完全寛解できるか否かを正確に判定することができないため、生物学的製剤の投与前に、その治療効果を見越した適切な治療方針を確立できていないという問題点もある。

[0007] このような従来技術を背景として、簡便且つ廉価で、汎用性に富み、更に高い正確性をもって、関節リウマチ患者に対する生物学的製剤投与の治療効果を予測する技術を確立することが切望されている。

先行技術文献

特許文献

[0008] 特許文献1：国際公開第2011/128096号

特許文献2：特開2011-182780号公報

特許文献3：国際公開第2012/41332号

特許文献4：特開2009-225713号公報

特許文献5：特開2010-088432号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] 本発明は、関節リウマチ患者に生物学的製剤を投与する前に、簡便且つ廉価で、汎用性に富み、更に高い正確性をもって、治療効果（症状の改善度や寛解の可能性）を予測判定する方法を提供することを目的とする。また、本発明は、当該方法を実施するための診断薬を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0010] 本発明者等は、前記課題を解決すべく、生物学的製剤を投与した関節リウマチ患者の予後の状態と、生物学的製剤の投与前の当該患者の血清中のサイトカイン、ケモカイン及びそれらの可溶性受容体の濃度を分析したところ、s g p 1 3 0、I P - 1 0、s T N F R I、s T N F R I I、G M - C S F、I L - 1 β 、I L - 2、I L - 5、I L - 6、I L - 7、I L - 8、I L - 9、I L - 1 0、I L - 1 2、I L - 1 3、I L - 1 5、E o t a x i n、V E G F、M C P - 1、T N F - α 、I F N - γ 、F G F b a s i c、P D G F - b b、s I L - 6 R、及びM I P - 1 α よりなる群から選択される1種又は2種以上の血清中濃度を利用することによって、炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤を投与する前に、関節リウマチ患者に対する治療効

果（症状の改善度や寛解の可能性）を、簡便且つ廉価で、如何なる施設でも可能で、しかも高い正確性をもって予測判定できることを見出した。

[0011] より詳細には、本発明者等は、以下に示す知見を得た。

(1-1) 線形単回帰分析によって、過去に抗サイトカイン療法（インフリキシマブ、エタネルセプト、アダリムマム、トシリズマブ等の投与）を受けていないリウマチ患者（以下、「ナイーブ患者」と表記することもある）に対してトシリズマブを投与して治療した場合に、DAS-28値の改善度（治療前のDAS-28値－治療16週後のDAS-28値）が、当該患者におけるトシリズマブ投与前のIL-7、IL-8、IL-12、IL-13、IP-10、及びVEGFの血清中濃度のlog値と有意な相関があることを見出した。

(1-2) 線形単回帰分析によって、過去に抗サイトカイン療法を受けたリウマチ患者（以下、「スイッチ患者」と表記することもある）に対してトシリズマブを投与して治療した場合に、DAS-28値の改善度が、当該患者におけるトシリズマブ投与前のIL-1 β 、IL-5、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、FGFbasic、GM-CSF、IFN- γ 、TNF- α 、及びVEGFの血清中濃度のlog値と有意な相関があることを見出した。

(1-3) 線形単回帰分析によって、ナイーブ患者に対してエタネルセプトを投与して治療した場合に、DAS-28値の改善度が、当該患者におけるエタネルセプト投与前のIL-6及びIP-10の血清中濃度のlog値と有意な相関があることを見出した。

(1-4) 線形多重回帰分析によって、ナイーブ患者に対してトシリズマブを投与して治療した場合に、DAS-28値の改善度が、当該患者におけるトシリズマブ投与前のIL-1 β 、IL-7、TNF- α 、及びsIL-6Rの血清中濃度のlog値の組み合わせと有意な相関性があることを見出した。

(1-5) 線形多重回帰分析によって、ナイーブ患者に対してエタネルセプトを投与して治療した場合に、DAS-28値の改善度が、当該患者におけるエタネルセプト投与前のIL-2、IL-15、sIL-6R、及びsTNFR1の

血清中濃度のL o g 値の組み合わせと有意な相関性があることを見出した。

(2-1) 線形単回帰分析によって、ナイーブ患者に対してトシリズマブを投与して治療した場合に、治療16週後のDAS-28値が、当該患者におけるトシリズマブ投与前のs g p 1 3 0の血清中濃度と有意な相関性があることを見出した。

(2-2) 線形単回帰分析によって、スイッチ患者に対してトシリズマブを投与して治療した場合に、治療16週後のDAS-28値が、当該患者におけるトシリズマブ投与前のs g p 1 3 0の血清中濃度、並びにI L - 1 β 、I L - 2、I L - 5、I L - 1 5、GM - C S F、I F N - γ 、及びT N F - α の血清中濃度のL o g 値と有意な相関性があることを見出した。

(2-3) 線形単回帰分析によって、ナイーブ患者に対してエタネルセプトを投与して治療した場合に、治療16週後のDAS-28値が、当該患者におけるエタネルセプト投与前のI L - 9の血清中濃度のL o g 値と有意な相関性があることを見出した。

(2-4) 線形多重回帰分析によって、ナイーブ患者に対してトシリズマブを投与して治療した場合に、治療16週後のDAS-28値が、当該患者におけるトシリズマブ投与前のs g p 1 3 0の血清中濃度、並びにI L - 8、E o t a x i n、I P - 1 0、s T N F R I、s T N F R I I、I L - 6、及びV E G Fの血清中濃度のL o g 値の組み合わせと有意な相関性があることを見出した。

(2-5) 線形多重回帰分析によって、ナイーブ患者に対してトシリズマブを投与して治療した場合に、治療16週後のDAS-28値が、当該患者におけるトシリズマブ投与前のs g p 1 3 0の血清中濃度、並びにI L - 8、E o t a x i n、I P - 1 0、s T N F R I、s T N F R I I、及びI L - 6の血清中濃度のL o g 値の組み合わせと有意な相関性があることを見出した。

(2-6) 線形多重回帰分析によって、スイッチ患者に対してトシリズマブを投与して治療した場合に、治療16週後のDAS-28値が、当該患者におけるトシリズマブ投与前のs g p 1 3 0の血清中濃度、並びにI P - 1 0及びGM -

CSFの血清中濃度のLog値の組み合わせと有意な相関性があることを見出した。

(2-7) 線形多重回帰分析によって、ナীব患者に対してエタネルセプトを投与して治療した場合に、治療16週後のDAS-28値が、エタネルセプト投与前のDAS-28値、並びにIL-6及びIL-13の血清中濃度のLog値の組み合わせと有意な相関性があることを見出した。

(2-8) 線形多重回帰分析によって、ナীব患者に対してエタネルセプトを投与して治療した場合に、治療16週後のDAS-28値が、エタネルセプト投与前のIL-9、TNF- α 及びVEGFの血清中濃度のLog値の組み合わせと有意な相関性があることを見出した。

(3-1) ロジスチック多重回帰分析によって、ナীব患者に対してトシリズマブを投与して治療した場合の寛解の可能性を、トシリズマブ投与前のsgp130の血清中濃度と、IP-10の血清中濃度のLog値と、sTNFR11の血清中濃度のLog値と、IL-6、IL-7、MCP-1又はIL-1 β の血清中濃度のLog値との組み合わせによって予測判定できることを見出した。

(3-2) ロジスチック多重回帰分析によって、スイッチ患者に対してトシリズマブを投与して治療した場合の寛解の可能性を、トシリズマブ投与前のsgp130の血清中濃度と、IP-10の血清中濃度のLog値と、sTNFR11の血清中濃度のLog値と、IL-6又はIL-1 β の血清中濃度のLog値との組み合わせによって予測判定できることを見出した。

(3-3) ロジスチック多重回帰分析によって、ナীব患者に対してエタネルセプトを投与して治療した場合の寛解の可能性を、エタネルセプト投与前のDAS-28値と、VEGF及びPDGF-bbの血清中濃度のLog値の組み合わせによって予測判定できることを見出した。

(3-4) ロジスチック多重回帰分析によって、ナীব患者に対してエタネルセプトを投与して治療した場合の寛解の可能性を、エタネルセプト投与前のDAS-28値と、MIP-1 α 及びPDGF-bbの血清中濃度のLog値の組み

合わせによっても予測判定できることを見出した。

(3-5) 線形多重回帰分析によって、ナイーブ患者に対してエタネルセプトを投与して治療した場合の寛解の可能性を、エタネルセプト投与前のIL-9及びTNF- α の血清中濃度のLog値の組み合わせによっても予測判定できることを見出した。

[0012] 本発明は、これらの知見に基づいて更に検討を重ねることによって完成したものである。即ち、本発明は、下記に掲げる態様の発明を提供する。

項1. 関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測判定する方法であって、

生物学的製剤の投与前の関節リウマチ患者から採取された血清における、s g p 1 3 0、I P - 1 0、s T N F R I、s T N F R I I、G M - C S F、I L - 1 β 、I L - 2、I L - 5、I L - 6、I L - 7、I L - 8、I L - 9、I L - 1 0、I L - 1 2、I L - 1 3、I L - 1 5、E o t a x i n、V E G F、M C P - 1、T N F - α 、I F N - γ 、F G F b a s i c、P D G F - b b、s I L - 6 R、及びM I P - 1 α よりなる群から選択される少なくとも1種の判定マーカーの濃度を測定する工程を含むことを特徴とする、判定方法。

項2. トシリズマブによる寛解の可能性を予測判定する方法であって、

前記判定マーカーが、s g p 1 3 0、I P - 1 0、s T N F R I I、I L - 6、I L - 7、M C P - 1及びI L - 1 β よりなる群から選択される少なくとも1種である、項1に記載の判定方法。

項3. 前記判定マーカーとして少なくともs g p 1 3 0を使用する、項2に記載の判定方法。

項4. トシリズマブが投与される患者が、過去に抗サイトカイン療法を受けていない関節リウマチ患者であって、

前記判定マーカーが、(i) s g p 1 3 0と、(ii) I P - 1 0と、(iii) s T N F R I Iと、(iv) I L - 6、I L - 7、M C P - 1又はI L - 1 β との組み合わせである、項2又は3に記載の判定方法。

項5. トシリズマブが投与される患者が、過去に抗サイトカイン療法を受けている関節リウマチ患者であって、

前記判定マーカーが、(i) s g p 1 3 0 と、(ii) I P - 1 0 と、(iii) s T N F R I I と、(iv) I L - 6 又は I L - 1 β との組み合わせである、項2又は3に記載の判定方法。

項6. 過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において、エタネルセプトによる寛解の可能性を予測判定する方法であって、

前記判定マーカーが、I L - 9、T N F - α 、V E G F、P D G F - b b、及びM I P - 1 α よりなる群から選択される少なくとも1種である、項1に記載の判定方法。

項7. 前記判定マーカーが、I L - 9 及び T N F - α の組み合わせ、V E G F 及び P D G F - b b の組み合わせ、或いはM I P - 1 α 及び P D G F - b b の組み合わせである、項6に記載の判定方法。

項8. 過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において、トシリズマブによる治療後の疾患活動性指標を予測判定する方法であって、

前記判定マーカーが、s g p 1 3 0、I L - 8、E o t a x i n、I P - 1 0、s T N F R I、s T N F R I I、I L - 6、及びV E G F よりなる群から選択される少なくとも1種である、項1に記載の判定方法。

項9. 前記判定マーカーが、s g p 1 3 0、I L - 8、E o t a x i n、I P - 1 0、s T N F R I、s T N F R I I、及びI L - 6 の組み合わせ、或いはs g p 1 3 0、I L - 8、E o t a x i n、I P - 1 0、s T N F R I、s T N F R I I、I L - 6、及びV E G F の組み合わせである、項8に記載の判定方法。

項10. 過去に抗サイトカイン療法を受けているリウマチ患者において、トシリズマブによる治療後の疾患活動性指標の値を予測判定する方法であって、

前記判定マーカーが、s g p 1 3 0、I L - 1 β 、I L - 2、I L - 5、I L - 1 5、G M - C S F、I F N - γ 、T N F - α 、及びI P - 1 0 よりな

る群から選択される少なくとも1種である、項1に記載の判定方法。

項11. 前記判定マーカーが、s g p 1 3 0、I P - 1 0、及びGM - C S Fの組み合わせである、項10に記載の判定方法。

項12. 過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において、エタネルセプトによる治療後の疾患活動性指標の値を予測判定する方法であって、

前記判定マーカーが、I L - 9、I L - 6、I L - 1 3、T N F - α 及びV E G Fよりなる群から選択される少なくとも1種である、項1に記載の判定方法。

項13. 前記判定マーカーが、I L - 9、T N F - α 及びV E G Fの組み合わせ、或いはI L - 6及びI L - 1 3の組み合わせである、項12に記載の判定方法。

項14. 過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において、トシリズマブによる治療後の症状の改善度を予測判定する方法であって、

前記判定マーカーが、I L - 7、I L - 8、I L - 1 2、I L - 1 3、I P - 1 0、V E G F、I L - 1 β 、T N F - α 、及びs I L - 6 Rよりなる群から選択される少なくとも1種である、項1に記載の判定方法。

項15. 前記判定マーカーが、I L - 1 β 、I L - 7、T N F - α 、及びs I L - 6 Rの組み合わせである、項14に記載の判定方法。

項16. 過去に抗サイトカイン療法を受けているリウマチ患者において、トシリズマブによる治療後の症状の改善度を予測判定する方法であって、

前記判定マーカーが、I L - 1 β 、I L - 5、I L - 6、I L - 7、I L - 1 0、I L - 1 2、I L - 1 3、I L - 1 5、F G F b a s i c、GM - C S F、I F N - γ 、T N F - α 、及びV E G Fよりなる群から選択される少なくとも1種である、項1に記載の判定方法。

項17. 過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において、エタネルセプトによる治療後の症状の改善度を予測判定する方法であって、

、

前記判定マーカーが、IL-6、IP-10、IL-2、IL-13、IL-15、sIL-6R、及びsTNFR1よりなる群から選択される少なくとも1種である、項1に記載の判定方法。

項18. 前記判定マーカーが、IL-2、IL-15、sIL-6R、及びsTNFR1の組み合わせ、或いはIL-6及びIL-13の組み合わせである、項17に記載の判定方法。

項19. トシリズマブ及びエタネルセプトよりなる生物学的製剤の中から、過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において治療により有効な生物学的製剤を選択する方法であって、

項4に記載の判定方法に従って、トシリズマブによる寛解の可能性を予測判定する工程、

項6に記載の判定方法に従って、エタネルセプトによる寛解の可能性を予測判定する工程、及び

前記工程で予測判定されたトシリズマブによる寛解の可能性とエタネルセプトによる寛解の可能性を対比し、寛解の可能性が高い生物学的製剤を選択する工程

を含む、生物学的製剤の選択方法。

項20. トシリズマブ及びエタネルセプトよりなる生物学的製剤の中から、過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において治療により有効な生物学的製剤を選択する方法であって、

項10又は11に記載の判定方法に従って、トシリズマブによる治療後の疾患活動性指標を予測判定する工程、

項12又は13に記載の判定方法に従って、エタネルセプトによる治療後の疾患活動性指標を予測判定する工程、及び

前記工程で予測判定されたトシリズマブによる治療後の疾患活動性指標とエタネルセプトによる治療後の疾患活動性指標を対比し、治療後の疾患活動性指標が低い生物学的製剤を選択する工程

を含む、生物学的製剤の選択方法。

項 2 1. トシリズマブ及びエタネルセプトよりなる生物学的製剤の中から、過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において治療により有効な生物学的製剤を選択する方法であって、

項 1 4 又は 1 5 に記載の判定方法に従って、トシリズマブによる治療後の症状の改善度を予測判定する工程、

項 1 7 又は 1 8 に記載の判定方法に従って、エタネルセプトによる治療後の症状の改善度を予測判定する工程、及び

前記工程で予測判定されたトシリズマブによる治療後の症状の改善度とエタネルセプトによる治療後の症状の改善度を対比し、治療後の症状の改善度が高い生物学的製剤を選択する工程

を含む、生物学的製剤の選択方法。

項 2 2. 関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測判定するための診断薬であって、

s g p 1 3 0、I P - 1 0、s T N F R I、s T N F R I I、G M - C S F、I L - 1 β 、I L - 2、I L - 5、I L - 6、I L - 7、I L - 8、I L - 9、I L - 1 0、I L - 1 2、I L - 1 3、I L - 1 5、E o t a x i n、V E G F、M C P - 1、T N F - α 、I F N - γ 、F G F b a s i c、P D G F - b b、s I L - 6 R、及び M I P - 1 α よりなる群から選択される少なくとも 1 種のマーカーを検出可能な試薬を含む、診断薬。

発明の効果

[0013] 本発明によれば、炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤を投与する前に、関節リウマチ患者に対する治療効果を正確に推測することができ、当該生物学的製剤によって関節リウマチが完全寛解状態になるか否かを高い精度で判定することができる。更に、本発明によれば、当該生物学的製剤の投与前に、関節リウマチ患者に対する症状の改善度を正確に判定することもでき、当該生物学的製剤による治療効果を見越した適切な治療方針を立てることが可能になる。また、本発明によれば、治療前の関節リウマチ患者にとって、どの生物学的製剤の投与が最も効果的であるかを予測することもでき

るので、患者毎に最適な生物学的製剤を選択して、患者毎に最も有効な治療方針を立てることも可能になる。

[0014] このように、本発明を利用することにより、生物学的製剤の投与が有効な関節リウマチ患者を識別することができるので、患者にとっては治療費の抑制、治療効果の予測による安心感の付与等のメリットがあり、医師にとっても生物学的製剤の有効性の正確な予測に基づく適切な治療方針の確立が可能になる。

[0015] 更に、本発明では、汎用性に乏しく複雑で時間を要する遺伝子解析等を必要とせず、血清中の特定のサイトカイン、ケモカイン、及び／又は可溶性受容体の濃度を指標として使用するので、既存の測定法を用いて簡便且つ廉価に、炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤の有効性を患者毎に事前に推測することができる。

図面の簡単な説明

[0016] [図1]トシリズマブ治療患者及びエタネルセプト治療患者のトライアルプロファイルを示す図である。

[図2]図2-1～2-4は、サイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体の血清中濃度について、健常者と関節リウマチ患者のクリニカルベースラインの個体群統計を示す図である。

[図3]トシリズマブ治療患者及びエタネルセプト治療患者における、治療前のDAS-28値と治療16週後のDAS-28値の関係を示す図である。

[図4]トシリズマブ療法を受けたナীব患者における、治療前のDAS-28値（PreDAS-28 score）と、治療前のDAS-28値から16週後のDAS-28値を差し引いた値（PreDAS-28 score-16W DAS-28 score）の関係を示す図である。

[図5]トシリズマブ療法を受けたナীব患者を対象として、治療前に回帰式（4）によって算出された治療16週後のDAS-28値の予測値と、治療16週後のDAS-28値の実際値との対比を行った結果を示す図である。

[図6]トシリズマブ療法を受けたスイッチ患者を対象として、治療前に回帰式（5）によって算出された治療16週後のDAS-28値の予測値と、治療16週

後のDAS-28値の実際値との対比を行った結果を示す図である。

[図7]エタネルセプト療法を受けたナীব患者を対象として、治療前に回帰式(7)によって算出された治療16週後のDAS-28値の予測値と、治療16週後のDAS-28値の実際値との対比を行った結果を示す図である。

[図8]エタネルセプト療法を受けたナীব患者における、エタネルセプト療法の治療16週後のDAS-28の実際値と、トシリズマブ療法を受けたと仮定して推測される治療16週後のDAS-28値の予測値との関係を示す図である。

[図9]寛解と非寛解の患者について、血清中のs p g 1 3 0濃度と治療前のDAS-28値の関係を分析した結果を示す図である。

発明を実施するための形態

[0017] 1. 判定方法

本発明は、関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療の有効性を判定する方法であって、生物学的製剤の投与前の関節リウマチ患者から採取された血清における、s g p 1 3 0、I P - 1 0、s T N F R I、s T N F R I I、G M - C S F、I L - 1 β 、I L - 2、I L - 5、I L - 6、I L - 7、I L - 8、I L - 9、I L - 1 0、I L - 1 2、I L - 1 3、I L - 1 5、E o t a x i n、V E G F、M C P - 1、T N F - α 、I F N - γ 、F G F b a s i c、P D G F - b b、s I L - 6 R、及びM I P - 1 α よりなる群から選択される1種又は2種以上の濃度を測定する工程を含むことを特徴とする。以下、本発明の判定方法について詳述する。

[0018] 判定対象となる生物学的製剤

本発明の判定方法は、関節リウマチ患者に対して、炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤の治療効果を予測判定する方法である。

[0019] 炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤としては、関節リウマチの治療に使用される生物学的製剤であることを限度として特に制限されず、本発明の判定方法では、使用する生物学的製剤の種類に応じて、その治療効果を予測判定することができる。炎症性サイトカインを標的にした生物学的製

剤としては、例えば、抗IL-6剤、及び抗TNF- α 剤が挙げられる。抗IL-6剤としては、具体的には、ヒト化抗IL-6受容体抗体、ヒトIgG1のFc領域とヒト腫瘍壊死因子II型受容体の細胞外ドメインのサブユニット2量体からなるヒト型可溶性TNF/LT α レセプター、抗TNF- α 抗体等が挙げられる。前記ヒト化抗IL-6受容体抗体として、より具体的にはトシリズマブが挙げられる。また、前記ヒト型可溶性TNF/LT α レセプターとしては、より具体的にはエタネルセプトが挙げられる。また、前記抗TNF- α 抗体としては、より具体的には、アダリムマブ及びインフリキシマブが挙げられる。

[0020] これらの生物学的製剤の中でも、本発明の判定方法において、適用される好適なものとして、ヒト化抗IL-6受容体抗体、及びヒト型可溶性TNF/LT α レセプター、更に好ましくはトシリズマブ及びエタネルセプトが挙げられる。

[0021] 判定対象となる患者

本発明の判定方法では、前記生物学的製剤を投与する前の関節リウマチ患者において、前記生物学的製剤の投与が有効であるか否かを判定する。

[0022] また、本発明の判定方法において、対象となる関節リウマチ患者については、前記生物学的製剤の投与前である限り、特に制限されず、メトトレキサート等のDMARDsの投与薬を受けているか否かの別や、過去の抗サイトカイン療法（インフリキシマブ、エタネルセプト、アダリムマブ、トシリズマブ等の投与）の投与履歴も問わない。本発明の判定方法では、過去の生物学的製剤の投与履歴に応じて所望の判定マーカーを選択することにより、生物学的製剤による治療効果を予測判定することができる。

[0023] 判定マーカー

本発明の判定方法では、前記関節リウマチ患者の血清におけるsgp130 (soluble gp130)、IP-10 (interferon-inducible protein 10)、sTNFR I (soluble receptors for tumor necrosis factor type I)、sTNFR II (soluble receptors for tumor necrosis factor type II)

、GM-CSF (granulocyte macrophage colony-stimulating factor)、IL-1 β (interleukin-1 β)、IL-2 (interleukin-2)、IL-5 (interleukin-5)、IL-6 (interleukin-6)、IL-7 (interleukin-7)、IL-8 (interleukin-8)、IL-9 (interleukin-9)、IL-10 (interleukin-10)、IL-12 (interleukin-12)、IL-13 (interleukin-13)、IL-15 (interleukin-15)、Eotaxin、VEGF (vascular endothelial growth factor)、MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1)、TNF- α (tumor necrosis factor- α)、IFN- γ (interferon- γ)、FGF basic (basic fibroblast growth factor)、PDGF-bb (platelet-derived growth factor bb)、sIL-6R (soluble receptors for interleukin-6)、及びMIP-1 α (macrophage inflammatory protein-1 α) よりなる群から選択される1種又は2種以上を判定マーカーとして使用する。

[0024] 本発明の判定方法において、前述する特定のサイトカイン、ケモカイン、及び可溶性受容体の中の1種を単独で使用して判定マーカーとしてもよいが、より高い精度で生物学的製剤による治療効果を予測判定するという観点から、これらの中の2種以上を組み合わせる判定マーカーとすることが好ましい。

[0025] 前記判定マーカーは、予測判定する治療効果の内容、投与する生物学的製剤の種類、過去の生物学的製剤の投与履歴等に応じて、適宜選択して使用される。以下、予測判定する治療効果の内容毎に、判定マーカーとして好適な例を具体的に示す。

[0026] <生物学的製剤の治療後の症状の改善度（疾患活動性指標の値の改善度；治療前の疾患活動性指標の値－治療後の疾患活動性指標の値）を予測判定する場合>

ナイーブ患者であってトシリズマブが投与される患者（以下、「トシリズマブ療法ナイーブ患者」と表記することもある）であれば、IL-7、IL-8、IL-12、IL-13、IP-10、VEGF、IL-1 β 、TN

F- α 、及びsIL-6Rよりなる群から選択される少なくとも1種を判定マーカーとして使用することが好ましく、IL-1 β 、IL-7、TNF- α 、及びsIL-6Rを組み合わせて判定マーカーとして使用することが更に好ましい。

[0027] スイッチ患者であってトシリズマブが投与される患者（以下、「トシリズマブ療法スイッチ患者」と表記することもある）であれば、IL-1 β 、IL-5、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、FGFbasic、GM-CSF、IFN- γ 、TNF- α 、及びVEGFよりなる群から選択される少なくとも1種を判定マーカーとして使用することが好ましい。

[0028] ナイーブ患者であってエタネルセプトが投与される患者（以下、「エタネルセプト療法ナイーブ患者」と表記することもある）であれば、IL-6、IP-10、IL-2、IL-13、IL-15、sIL-6R、及びsTNFR1よりなる群から選択される少なくとも1種を判定マーカーとして使用することが好ましく、IL-2、IL-15、sIL-6R、及びsTNFR1の組み合わせが判定マーカーとして更に好ましい。

[0029] <生物学的製剤の治療後の疾患活動性指標の値自体を予測判定する場合>

トシリズマブ療法ナイーブ患者であれば、sgp130、IL-8、Eotaxin、IP-10、sTNFR1、sTNFR11、IL-6、及びVEGFよりなる群から選択される少なくとも1種を判定マーカーとして使用することが好ましく；sgp130、IL-8、Eotaxin、IP-10、sTNFR1、sTNFR11、及びIL-6の組み合わせ、或いはsgp130、IL-8、Eotaxin、IP-10、sTNFR1、sTNFR11、IL-6、及びVEGFの組み合わせが判定マーカーとして更に好ましい。

[0030] トシリズマブ療法スイッチ患者であれば、sgp130、IL-1 β 、IL-2、IL-5、IL-15、GM-CSF、IFN- γ 、TNF- α 、及びIP-10よりなる群から選択される少なくとも1種を判定マーカーとし

て使用することが好ましく；s g p 1 3 0、I P - 1 0、及びGM - C S Fの組み合わせが判定マーカーとして更に好ましい。

[0031] エタネルセプト療法ナイーブ患者であれば、I L - 9、I L - 6、I L - 1 3、T N F - α 及びV E G Fよりなる群から選択される少なくとも1種を判定マーカーとして使用することが好ましく、I L - 9、T N F - α 及びV E G Fの組み合わせ、或いはI L - 6及びI L - 1 3の組み合わせが判定マーカーとして更に好ましい。

[0032] <生物学的製剤の治療による寛解の可能性（寛解に至るか否か）を予測判定する場合>

トシリズマブが投与される患者（トシリズマブ療法ナイーブ患者及びトシリズマブ療法スイッチ患者の双方を含む）であれば、s g p 1 3 0、I P - 1 0、s T N F R 1 1、I L - 6、I L - 7、M C P - 1及びI L - 1 β よりなる群から選択される少なくとも1種を判定マーカーとして使用することが好ましく；少なくともs g p 1 3 0を使用することがより好ましく、(i) s g p 1 3 0と、(ii) I P - 1 0と、(iii) s T N F R 1 1と、(iv) I L - 6、I L - 7、M C P - 1又はI L - 1 β の組み合わせが更に好ましい。より具体的には、トシリズマブ療法ナイーブ患者の場合であれば、(i) s g p 1 3 0と、(ii) I P - 1 0と、(iii) s T N F R 1 1と、(iv) I L - 6、I L - 7、M C P - 1又はI L - 1 β の組み合わせが判定マーカーとして特に好ましい。また、トシリズマブ療法スイッチ患者の場合であれば、(i) s g p 1 3 0と、(ii) I P - 1 0と、(iii) s T N F R 1 1と、(iv) I L - 6又はI L - 1 β の組み合わせが判定マーカーとして特に好ましい。

[0033] エタネルセプト療法ナイーブ患者であれば、I L - 9、T N F - α 、V E G F、P D G F - b b、及びM I P - 1 α よりなる群から選択される少なくとも1種を判定マーカーとして使用することが好ましく；I L - 9及びT N F - α の組み合わせ、V E G F及びP D G F - b bの組み合わせ、或いはM I P - 1 α 及びP D G F - b bの組み合わせが判定マーカーとして特に好ましい。

[0034] 判定マーカーとして使用される前記サイトカイン、ケモカイン及び可溶性

受容体の血清中の各濃度は、E L I S Aのような抗原抗体反応を利用した測定系によって測定できることは公知であり、これらの測定キットも市販されている。従って、本発明の判定方法において、前記サイトカイン、ケモカイン及び可溶性受容体は、公知の方法、公知の測定キットにより測定することができる。

[0035] 生物学的製剤による治療効果の予測判定

前記判定マーカーの測定値に基づいて、生物学的製剤による治療効果を予測判定することができる。例えば、生物学的製剤による治療で完全寛解した患者、非寛解であった患者について、予め前記判定マーカーの測定を行い、回帰分析によって生物学的製剤の治療効果（目的変数）と前記判定マーカーの測定値（説明変数）の回帰式を求めておき、当該回帰式に、判定対象となる関節リウマチ患者の判定マーカーの測定値を当てはめる方法が挙げられる。なお、回帰式を求めるに当たって、前記判定マーカーの内、s g p 1 3 0以外については、血清中濃度（p g / m l）のl o g値を使用することが好ましく、s g p 1 3 0については血清中濃度（μ g / m l）の値を使用することが好ましい。また、回帰式は、多重回帰分析によって導出することが好ましい。前記回帰式において目的変数については、予測判定すべき治療効果の内容に基づいて適宜設定すればよい。

[0036] 例えば、生物学的製剤の治療後の症状の改善度を予測判定する場合であれば、目的変数を「治療前の疾患活動性指標の値から所定期間治療後の疾患活動性指標の値を差し引いた値」に設定し、線形多重回帰分析により解析すればよい。また、例えば、生物学的製剤の治療後の疾患活動性指標の値を予測判定する場合であれば、目的変数を「所定期間治療後の疾患活動性指標の値」に設定し、線形多重回帰分析により解析すればよい。ここで、疾患活動性指標の値としては、具体的には、DAS(Disease activity score)-28値、CDAI(Clinical Disease Activity Index)値、及びSDAI(Simple Disease Activity Index)値等が挙げられる。DAS-28値、CDAI値、及びSDAI値は、相互に相関しており、関節リウマチの症状を反映しているため、本発明の判定方法ではこ

これらの疾患活動性指標の値のいずれを使用してもよい。また、本発明の判定方法に使用される疾患活動性指標は、前記で例示したものに限定されず、将来新たに提唱され得るものを使用することもできる。

[0037] また、生物学的製剤の治療による寛解の可能性（寛解したか、しなかったかの結果）を予測判定する場合であれば、ロジスチック多重回帰分析により解析すればよい。

[0038] なお、前記判定マーカーの測定値を説明変数として利用した回帰分析では、必要に応じて治療前の疾患活動性指標の値（DAS-28値、CDAI値、SDAI値等）やBoolean法による評価結果も説明変数として利用してもよい。

[0039] 以下、本発明の判定方法について、予測判定する治療効果を、治療後の症状の改善度と、治療後のDAS-28値と、寛解の可能性とに分けて、具体的手法を説明する。但し、本発明の判定方法は、下記具体的な手法に限定されて解釈されるものではない。

[0040] <治療後の症状の改善度の予測判定>

目的変数を「治療前の疾患活動性指標の値から所定期間治療後の疾患活動性指標の値を差し引いた値」、説明変数を「前記判定マーカーの測定値」に設定して線形多重回帰分析を行うことにより、生物学的製剤による治療後の症状の改善度を予測判定することが可能になる。

[0041] 後述する実施例では、生物学的製剤による16週間の治療後の症状の改善度（DAS-28値の改善度；治療前のDAS-28値－治療16週後のDAS-28値）を予測判定する回帰式として、リウマチ患者の過去の投薬履歴及び生物学的製剤の種類に分けて、以下の式（1）及び（2）が見出されている。判定対象となる関節リウマチ患者の過去の投薬履歴と生物学的製剤の種類に応じて、下記回帰式（1）及び（2）のいずれかに当てはめて目的変数を求めることによって、16週間の治療後の症状の改善度を予測判定できる。下記回帰式で算出される目的変数が大きい値になる程、当該患者は生物学的製剤によって症状の改善度が大きいと予測判定される。

[0042] [トシリズマブ療法ナイーブ患者の16週間の治療後の症状の改善度（DAS-2

8値の改善度；治療前のDAS-28値－治療16週後のDAS-28値）を予測判定する場合]

判定マーカー：IL-1 β 、IL-7、TNF- α 、及びsIL-6R

回帰式（1）：

目的関数（治療前のDAS-28値－治療16週後のDAS-28値）＝5.505＋（-3.618×A）＋（3.255×B）＋（1.475×C）＋（-1.841×D）

A：血清中IL-1 β の濃度（pg/ml）のlog値

B：血清中IL-7の濃度（pg/ml）のlog値

C：血清中TNF- α の濃度（pg/ml）のlog値

D：血清中sIL-6Rの濃度（pg/ml）のlog値

[0043] [エタネルセプト療法ナイーブ患者の16週間の治療後の症状の改善度（DAS-28値の改善度；治療前のDAS-28値－治療16週後のDAS-28値）を予測判定する場合]

判定マーカー：IL-2、IL-15、sIL-6R、及びsTNFR I

回帰式（2）：

目的関数（治療前のDAS-28値－治療16週後のDAS-28値）＝7.325＋（-1.567×E）＋（1.632×F）＋（-2.540×D）＋（1.973×G）

E：血清中IL-2の濃度（pg/ml）のlog値

F：血清中IL-15の濃度（pg/ml）のlog値

D：血清中sIL-6Rの濃度（pg/ml）のlog値

G：血清中sTNFR II濃度（pg/ml）のlog値

[0044] 前記回帰式（1）及び（2）では、生物学的製剤による16週間の治療後のDAS-28値の改善度を予測判定するために使用される回帰式の例を示しているが、勿論、CDAI値又はSDAI値を用いて同様の手法にて線形多重回帰分析を行うことにより、生物学的製剤による16週間の治療後のCDAI値又はSDAI値の改善度（CDAI値又はSDAI値の改善度；治療前のCDAI値又はSDAI値－治療16週後のCDAI値又はSDAI値）を予測判定することもできる。また、生物学的製剤による治療16週後であれば、治療効果が安定して現れるため、前記回

帰式（１）及び（２）では１６週間の治療後の症状の改善度を予測判定するための回帰式を示しているが、勿論、生物学的製剤による治療１６週以前又は以降の症状の改善度についても、同様の手法にて線形多重回帰分析を行うことによって予測判定することが可能である。

[0045] また、後述する実施例では、生物学的製剤による１６週間の治療後の症状のDAS-28値を予測判定する回帰式として、リウマチ患者の過去の投薬履歴及び生物学的製剤の種類に分けて、以下の式（３）～（７）が見出されている。判定対象となる関節リウマチ患者の過去の投薬履歴と生物学的製剤の種類に応じて、下記回帰式（３）～（７）のいずれかに当てはめて目的変数を求めることによって、１６週間の治療後のDAS-28値を予測判定できる。下記回帰式で算出される目的変数が２．３以下になる場合、当該患者は生物学的製剤によって寛解に至ると予測判定される。

[0046] [トシリズマブ療法ナীব患者の１６週間の治療後のDAS-28値を予測判定する場合]

判定マーカー：sgp130、IL-8、Eotaxin、IP-10、sTNFR I、sTNFR II、IL-6、及びVEGF

回帰式（３）：

目的関数（１６週間の治療後のDAS-28値）＝ $6.909 + (-5.341 \times H) + (3.940 \times I) + (-1.039 \times J) + (-1.002 \times K) + (-2.580 \times L) + (1.407 \times G) + (0.744 \times M) + (-0.850 \times N)$

H：血清中sgp130の濃度（ $\mu\text{g/ml}$ ）

I：血清中IL-8の濃度（ pg/ml ）のlog値

J：血清中Eotaxinの濃度（ pg/ml ）のlog値

K：血清中IP-10の濃度（ pg/ml ）のlog値

L：血清中sTNFR IIの濃度（ pg/ml ）のlog値

G：血清中sTNFR II濃度（ pg/ml ）のlog値

M：血清中IL-6の濃度（ pg/ml ）のlog値

N：血清中VEGFの濃度（ pg/ml ）のlog値

[0047] [トシリズマブ療法ナীব患者の16週間の治療後のDAS-28値を予測判定する場合]

判定マーカー : sgp130、IL-8、Eotaxin、IP-10、sTNFRI、sTNFRII、及びIL-6

回帰式(4) :

目的関数(16週間の治療後のDAS-28値) = $4.731 + (-5.433 \times H) + (2.551 \times I) + (-0.937 \times J) + (-1.116 \times K) + (-2.010 \times L) + (1.630 \times G) + (0.577 \times M)$

H : 血清中sgp130の濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

I : 血清中IL-8の濃度 (pg/ml) のlog値

J : 血清中Eotaxinの濃度 (pg/ml) のlog値

K : 血清中IP-10の濃度 (pg/ml) のlog値

L : 血清中sTNFRIIの濃度 (pg/ml) のlog値

G : 血清中sTNFRII濃度 (pg/ml) のlog値

M : 血清中IL-6の濃度 (pg/ml) のlog値

[0048] [トシリズマブ療法スイッチ患者の16週間の治療後のDAS-28値を予測判定する場合]

判定マーカー : sgp130、IP-10及びGM-CSF

回帰式(5) :

目的関数(16週間の治療後のDAS-28値) = $2.837 + (-6.037 \times H) + (0.714 \times K) + (-0.622 \times O)$

H : 血清中sgp130の濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

K : 血清中IP-10の濃度 (pg/ml) のlog値

O : 血清中GM-CSFの濃度 (pg/ml) のlog値

[0049] [エタネルセプト療法ナীব患者の16週間の治療後のDAS-28値を予測判定する場合]

判定マーカー : IL-6及びIL-13、説明変数としてエタネルセプト投与前のDAS-28値も使用

回帰式 (6) :

目的関数 (16週間の治療後のDAS-28値) = $0.081 + (0.522 \times a) + (-0.969 \times M) + (1.409 \times P)$

a : エタネルセプト投与前のDAS-28値

M : 血清中IL-6の濃度 (pg/ml) のlog値

P : 血清中IL-13の濃度 (pg/ml) のlog値

[0050] [エタネルセプト療法ナイーブ患者の16週間の治療後のDAS-28値を予測判定する場合]

判定マーカー : IL-9、TNF- α 及びVEGF

回帰式 (7) :

目的関数 (16週間の治療後のDAS-28値) = $0.703 + (0.646 \times S) + (-0.551 \times C) + (0.858 \times N)$

S : 血清中IL-9の濃度 (pg/ml) のlog値

C : 血清中TNF- α の濃度 (pg/ml) のlog値

N : 血清中VEGFの濃度 (pg/ml) のlog値

[0051] 前記回帰式 (7) では、エタネルセプト投与前のDAS-28値を説明変数として使用しないため、医師による主観を排除して、16週間の治療後のDAS-28値を予測できるので、前記回帰式 (6) よりも好ましいといえる。

[0052] 前記回帰式 (3) ~ (7) では、生物学的製剤による16週間の治療後のDAS-28値を予測判定するために使用される回帰式の例を示しているが、勿論、CDAI値又はSDAI値を用いて同様の手法にて線形多重回帰分析を行うことにより、生物学的製剤による16週間の治療後のCDAI値又はSDAI値自体を予測判定することもできる。また、前述するように、生物学的製剤による治療16週後であれば、治療効果が安定して現れるため、前記回帰式 (3) ~ (7) では16週間の治療後の疾患活動性指標の値を予測判定するための回帰式を示しているが、勿論、生物学的製剤による治療16週以前又は以降の疾患活動性指標の値についても、同様の手法にて線形多重回帰分析を行うことによって予測判定することが可能である。

[0053] 更に、後述する実施例では、生物学的製剤による16週間の治療後の寛解の可能性（寛解又は非寛解のいずれであるか）を予測判定する回帰式として、リウマチ患者の過去の投薬履歴及び生物学的製剤の種類に分けて、以下の式（8）～（16）が見出されている。判定対象となる関節リウマチ患者の過去の投薬履歴と生物学的製剤の種類に応じて、下記回帰式（8）～（16）のいずれかに当てはめて16週間の治療後の寛解の確率（p）を求めることによって、16週間の治療後に寛解に至るか否かを予測判定できる。下記回帰式（8）～（16）から推測される寛解の確率とは、DAS-28値が2.3以下の状態になる確率を指し、回帰式（8）～（16）で算出されるpの値が1に近い程、16週間の治療後に寛解になる可能性が高く、例えば、便宜上、当該pの値が0.5以上であれば寛解、0.5未満であれば非寛解と予測判定できる。ここで、DAS-28値が2.3の場合を寛解と非寛解の境界としているのは、IL-6を阻害することによって炎症とは無関係にCRP値が低下しやすくDAS-28値が低下することがあるので、寛解と予測判定する精度を高めるためであり、一般的な寛解と非寛解の境界とされているDAS-28値（2.6）よりも低い値に設定している。

[0054] [トシリズマブ療法ナীব患者の寛解の可能性を予測判定する場合]

判定マーカー：sgp130、IP-10、sTNFR11、及びIL-6

回帰式（8）：

$$p / (1-p) = \exp \{ (-5.095) + (-36.648 \times H) + (-4.004 \times K) + (5.632 \times G) + (1.658 \times M) \}$$

p：16週間の治療後の寛解の確率

H：血清中sgp130の濃度（ $\mu\text{g/ml}$ ）

K：血清中IP-10の濃度（ pg/ml ）のlog値

G：血清中sTNFR11濃度（ pg/ml ）のlog値

M：血清中IL-6の濃度（ pg/ml ）のlog値

[0055] [トシリズマブ療法ナীব患者の寛解の可能性を予測判定する場合]

判定マーカー：sgp130、IP-10、sTNFR11、及びIL-7

回帰式 (9) :

$$p / (1-p) = e \times p \{ (-3.467) + (-42.849 \times H) + (-4.430 \times K) + (5.736 \times G) + (2.705 \times B) \}$$

p : 16週間の治療後の寛解の確率

H : 血清中sgp130の濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

K : 血清中IP-10の濃度 (pg/ml) のlog値

G : 血清中sTNFR II濃度 (pg/ml) のlog値

B : 血清中IL-7の濃度 (pg/ml) のlog値

[0056] [トシリズマブ療法ナイーブ患者の寛解の可能性を予測判定する場合]

判定マーカー : s g p 1 3 0、 I P - 1 0、 s T N F R I I、及びMCP-1

回帰式 (10) :

$$p / (1-p) = e \times p \{ (-2.834) + (-38.721 \times H) + (-4.664 \times K) + (5.369 \times G) + (2.502 \times B) \}$$

p : 16週間の治療後の寛解の確率

H : 血清中sgp130の濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

K : 血清中IP-10の濃度 (pg/ml) のlog値

G : 血清中sTNFR II濃度 (pg/ml) のlog値

P : 血清中MCP-1の濃度 (pg/ml) のlog値

[0057] [トシリズマブ療法ナイーブ患者の寛解の可能性を予測判定する場合]

判定マーカー : s g p 1 3 0、 I P - 1 0、 s T N F R I I、及びIL-1

β

回帰式 (11) :

$$p / (1-p) = e \times p \{ (-1.269) + (-39.538 \times H) + (-3.807 \times K) + (5.086 \times G) + (1.647 \times A) \}$$

p : 16週間の治療後の寛解の確率

H : 血清中sgp130の濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

K : 血清中IP-10の濃度 (pg/ml) のlog値

G : 血清中sTNFR II濃度 (pg/ml) のlog値

A : 血清中IL-1 β の濃度 (pg/ml) のlog値

[0058] [トシリズマブ療法スイッチ患者の寛解の可能性を予測判定する場合]

判定マーカー : sgp130、IP-10、sTNFR11、及びIL-6

回帰式 (12) :

$$p / (1-p) = \exp \{ (-10.935) + (-29.051 \times H) + (4.466 \times K) + (2.067 \times G) + (-2.757 \times M) \}$$

p : 16週間の治療後の寛解の確率

H : 血清中sgp130の濃度 (μ g/ml)

K : 血清中IP-10の濃度 (pg/ml) のlog値

G : 血清中sTNFR11濃度 (pg/ml) のlog値

M : 血清中IL-6の濃度 (pg/ml) のlog値

[0059] [トシリズマブ療法スイッチ患者の寛解の可能性を予測判定する場合]

判定マーカー : sgp130、IP-10、sTNFR11、及びIL-1 β

回帰式 (13) :

$$p / (1-p) = \exp \{ (-9.671) + (-27.150 \times H) + (3.205 \times K) + (1.914 \times G) + (-2.540 \times A) \}$$

p : 16週間の治療後の寛解の確率

H : 血清中sgp130の濃度 (μ g/ml)

K : 血清中IP-10の濃度 (pg/ml) のlog値

G : 血清中sTNFR11濃度 (pg/ml) のlog値

A : 血清中IL-1 β の濃度 (pg/ml) のlog値

[0060] [エタネルセプト療法ナイーブ患者の寛解の可能性を予測判定する場合]

判定マーカー : VEGF及びPDGF-bb、説明変数としてエタネルセプト投与前のDA S-28値も使用

回帰式 (14) :

$$p / (1-p) = \exp \{ (-19.058) + (1.390 \times a) + (-2.763 \times E) + (4.962 \times Q) \}$$

p : 16週間の治療後の寛解の確率

a : エタネルセプト投与前のDAS-28値

E : 血清中VEGFの濃度 (pg/ml) のlog値

Q : 血清中PDGF-bbの濃度 (pg/ml) のlog値

[0061] [エタネルセプト療法ナイーブ患者の寛解の可能性を予測判定する場合]

判定マーカ : MIP-1 α 及びPDGF-bb、説明変数としてエタネルセプト投与前のDAS-28値も使用

回帰式 (15) :

$$p / (1-p) = e \times p \{ (-18.491) + (1.107 \times a) + (-1.808 \times R) + (3.930 \times Q) \}$$

p : 16週間の治療後の寛解の確率

a : エタネルセプト投与前のDAS-28値

R : 血清中MIP-1 α の濃度 (pg/ml) のlog値

Q : 血清中PDGF-bbの濃度 (pg/ml) のlog値

[0062] [エタネルセプト療法ナイーブ患者の寛解の可能性を予測判定する場合]

判定マーカ : IL-9 及びTNF- α

回帰式 (16) :

$$p / (1-p) = e \times p \{ (-1.004) + (1.711 \times S) + (-1.031 \times C) \}$$

p : 16週間の治療後の寛解の確率

S : 血清中IL-9の濃度 (pg/ml) のlog値

C : 血清中TNF- α の濃度 (pg/ml) のlog値

[0063] 前記回帰式 (16) では、エタネルセプト投与前のDAS-28値を説明変数として使用しないため、医師による主観を排除して、寛解の可能性を予測できるので、前記回帰式 (14) 及び (15) よりも好ましいといえる。

[0064] 前記回帰式 (6) ~ (16) では、16週間の治療後のDAS-28値が2.3以下になる場合を寛解、2.3超である場合を非寛解として、16週間の治療後の寛解の可能性を予測判定する回帰式の例を示しているが、勿論、CDAI値又はSDAI値を用いて同様の手法にてロジスチック多重回帰分析を行うこと

により、生物学的製剤による16週間の治療後の寛解の可能性を予測判定することもできる。また、前述するように、生物学的製剤による治療16週後であれば、治療効果が安定して現れるため、前記回帰式(6)～(16)では16週間の治療後の寛解の可能性を予測判定するための回帰式を示しているが、勿論、生物学的製剤による治療16週以前又は以降の寛解の可能性についても、同様の手法にてロジスチック多重回帰分析を行うことによって予測判定することが可能である。

[0065] 投与すべき生物学的製剤の選定

本発明の判定方法は、生物学的製剤の投与前にその治療有効性を予測できるので、治療開始前に投与すべき最適な生物学的製剤の選択に利用することもできる。

[0066] 例えば、ナイーブ患者の治療後の症状の改善度について、トシリズマブの投与の場合とエタネルセプトの投与の場合のそれぞれを前記方法で予測し、改善度が高い方の生物学的製剤を選択することにより、当該患者に最適な生物学的製剤を投与することが可能になる。具体的には、前記回帰式(1)を用いて予測したトシリズマブ療法による治療後の症状の改善度と、前記回帰式(2)を用いて予測したエタネルセプト療法による治療後の症状の改善度とを対比し、当該改善度が大きい方を最適な生物学的製剤として選択することができる。

[0067] また、例えば、ナイーブ患者の16週間の治療後のDAS-28値について、トシリズマブの投与の場合とエタネルセプトの投与の場合のそれぞれを前記方法で予測し、16週間の治療後のDAS-28値が低い方の生物学的製剤を選択することにより、当該患者に最適な生物学的製剤を投与することが可能になる。具体的には、前記回帰式(3)～(5)のいずれかを用いて予測したトシリズマブ療法による16週間の治療後のDAS-28値と、前記回帰式(6)又は(7)を用いて予測したエタネルセプト療法による16週間の治療後のDAS-28値とを対比し、当該DAS-28値が小さい方を最適な生物学的製剤として選択することができる。

[0068] また、例えば、ナীব患者の寛解の可能性について、トシリズマブの投与の場合とエタネルセプトの投与の場合のそれぞれを前記方法で予測し、寛解の可能性が高い方の生物学的製剤を選択することにより、当該患者に最適な生物学的製剤を投与することが可能になる。具体的には、前記回帰式（8）～（11）のいずれかを用いて予測したトシリズマブ療法による寛解の可能性と、前記回帰式（14）～（16）のいずれかを用いて予測した寛解の可能性とを対比し、当該寛解の可能性が高い方を最適な生物学的製剤として選択することができる。

[0069] 2. 診断薬

本発明は、更に前記検出方法を実施するための診断薬を提供する。具体的には、本発明の診断薬は、関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療の有効性を判定するための診断薬であって、s g p 1 3 0、I P - 1 0、s T N F R I、s T N F R I I、G M - C S F、I L - 1 β 、I L - 2、I L - 5、I L - 6、I L - 7、I L - 8、I L - 9、I L - 1 0、I L - 1 2、I L - 1 3、I L - 1 5、E o t a x i n、V E G F、M C P - 1、T N F - α 、I F N - γ 、F G F b a s i c、P D G F - b b、s I L - 6 R、及びM I P - 1 α よりなる群から選択される少なくとも1種の判定マーカーを検出可能な試薬を含むことを特徴とする。

[0070] 前記判定マーカーは、E L I S A等の抗原抗体反応を利用した測定系によって測定でき、前記判定マーカーを検出可能な試薬としては、具体的には、前記判定マーカーに特異的に結合可能な抗体、及びそのフラグメントが挙げられる。また、前記判定マーカーに特異的に結合可能な抗体は、適切な支持体の上に結合させて抗体アレイとして提供してもよい。

[0071] 更に、本発明の診断薬は、抗原抗体反応により前記判定マーカーを検出するために必要となる試薬（二次抗体、発色物質等）が含まれていてもよい。

実施例

[0072] 以下に、実施例を挙げて、本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらによって何ら限定されるものではない。

[0073] 1. 患者及び実験方法

(患者)

以下、過去に抗サイトカイン療法（インフリキシマブ、エタネルセプト、アダリムマム、トシリズマブ等の投与）を受けていないリウマチ患者をナイーブ患者と表記し、過去に抗サイトカイン療法を受けているリウマチ患者をスイッチ患者と表記する。

[0074] 2008年3月から2013年6月までに医療法人ヤマナ会東東広島記念病院にて、メソトレキセート療法が無効であった155名の関節リウマチ患者を登録した。155名のうち、98名はトシリズマブの治療を受け、残り57名はエタネルセプトの治療を受けた。トシリズマブの治療を受けた98名のうち、58名が以前に抗サイトカイン療法を受けていないナイーブ患者で、40名が以前に抗サイトカイン療法を1～3回受けたスイッチ患者である。エタネルセプト治療を受けた57名のうち、49名は以前に抗サイトカイン療法を受けていないナイーブ患者で、残り8名は以前に抗サイトカイン療法を受けたスイッチ患者である。これらの全ての患者からは、血液サンプルの供給を受ける前に、書面にてインフォームドコンセントを得た。また、本研究前に医療法人ヤマナ会東東広島記念病院の倫理委員会の許可を得た上で、本試験はその許可の下に行った。

[0075] 表1に、クリニカルベースラインの個体群統計、臨床所見を示す。また、図1に、トシリズマブ治療患者及びエタネルセプト治療患者のトライアルプロファイルを示し、図2-1～図2-4に、治療前のサイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体の血清中濃度を示す。トシリズマブ治療患者中で、9名のナイーブ患者（副作用や他の疾患が生じた患者8名と、16週間全体のデータが取得できなかった患者1名）については削除した。また、トシリズマブ治療患者中で、副作用が生じた1名のスイッチ患者（16週間全体のデータが取得できなかった患者）も削除した。DAS-28値、CRP、腫脹関節数、圧痛関節数、Stage、Classは、群間で差は殆どなかった（表1）。また、罹患期間は、エタネルセプト治療患者がトシリズマブ治療患者に比べて短かった（

表1)。

[0076] サイトカインのベースライン濃度を作成するために、C型肝炎とガンの罹患歴がない健常者(56名;男性20名、女性36名)から血清を取得した。健常者は、財団法人パストゥール研究所又は医療法人ヤマナ会東広島記念病院による健康チェックを受け、健常者からは書面にてインフォームドコンセントを得た。このベースライン濃度は、サイトカイン/ケモカイン/可溶性受容体の分布パターンを求めるために使用した。

[0077] (実験手法)

治療を行う前に、関節リウマチ患者の血清におけるサイトカイン、ケモカイン及び可溶性受容体の濃度を測定した。

[0078] 図1に、8mg/kgのトシリズマブ又は50mg/kgのエタネルセプトを4週間に1回投与したナীব患者及びスイッチ患者の臨床結果を示す。治療16週間後(4回の投与後)に、DAS-28-CRP値と、寛解か非寛解であるかに基づいて治療効果を判定した。更に、非寛解については、患者のDAS-28-CRP値に基づいて、低、中、高に分類した。DAS-28-ESR値は、関節リウマチ患者の症状を判定するために広く使用されているが、DAS-28-CRP値とDAS-28-ESR値は、殆ど互換性があり、同じ結果を導くことが報告されている(Ann Rheum Dis.2007, March 407-409 Comparison of Disease Activity Score(DAS) 28-erythrocyte Sedimentation rate and DAS-C-reactive protein threshold votes. Inoue E, Yamanaka H, et al.)。

[0079] 本試験では、DAS-28-CRP値を関節リウマチ患者の症状の判定に使用した。寛解はDAS-28-CRP値が<2.3、非寛解はDAS-28-CRP値が \geq 2.3として分類した。非寛解した患者は、更に、Inoue等によって開発されたDAS-28-CRP分類システムを使用してその症状の重症度に応じて、低(DAS-28-CRP値=2.3~2.6)、中(DAS-28-CRP値=2.7~4.1)、高(DAS-28-CRP値>4.1)に分類した。症状の判定を一定にするために、医療法人ヤマナ会東広島記念病院の同じ医師が全ての患者の最終の症状の判定を行った。また、図3に、図1に示す各患者の臨床結果の詳細、即ち、トシリズマブ療法を受

けたナイーブ患者、トシリズマブ療法を受けたスイッチ患者、及びエタネルセプト療法を受けたナイーブ患者について、治療前と治療16週後のDAS-28-CRP値を判定した結果を示す。以下、DAS-28-CRP値を単にDAS-28値と表記することもある。

[0080] (サイトカイン/ケモカイン/可溶性受容体の分析)

全てのサイトカイン測定は、マルチプレックスサイトカインアレイシステム (Bio-Plex 200、Bio-Rad Laboratories社製) を使用し、その製品プロトコールに従って実施した。全ての患者と健常者の血清は、1600g、10分間の遠心によって回収した。全ての血清サンプルは、分析まで-80°Cで保存した。Bio-Plex Human Cytokine 27-Plex Panelには、27種のサイトカイン(IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, basic FGF, eotaxin, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF-bb, RANTES, TNF- α , VEGF)が分析できるようになっている。また、これら以外に、sIL-6R, sgp130, sTNF-RI及びsTNF-RIIについても分析した(Milliplex[®] MAP, Human Soluble Cytokine Receptor panel: Millipore Co. MA)。本試験では、56名の健常者についてこれらのサイトカイン、ケモカイン及び可溶性受容体の濃度を同時に測定し、それらの分布パターンを求めた。データの収集及び分析は、Bio-Plex Manager software version 5.0を用いて行った。

[0081] (統計分析)

健常者におけるサイトカイン/ケモカイン値の分布を分析した。なお、sgp130以外のサイトカイン、ケモカイン及び可溶性受容体は濃度 (pg/ml) の値のlog値を使用して分析し、sgp130は濃度 (μ g/ml) の値をそのまま使用した。

[0082] 先ず、線形単回帰分析及び線形多重回帰分析を行い、サイトカイン/ケモカイン/可溶性受容体濃度又は臨床検査値と、0週目の患者のDAS-28値から16週後のDAS-28値を引いた値との間の関連性について調べた。次に、臨床検査値を導入した回帰計算値から16週後のDAS-28値を推測した。更に、ロジス

チック単回帰分析及びロジスチック多重回帰分析を行い、血清中サイトカイン濃度と寛解又は非寛解との関係について解析した。得られるパラメータのp値が <0.05 であることは、有意差があることを示している。統計分析は、全てJMP 9.0ソフトウェアを用いて行った。

[0083] 2. 結果

(臨床評価)

表1及び2に、患者のクリニカルベースラインの個体群統計、臨床所見、サイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体の特徴を示し、図2-1～図2-4に、治療前のサイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体の血清中濃度について、健常者と関節リウマチ患者のクリニカルベースラインの個体群統計を示す。表1中、StageはSteinbrocker(1949)の分類(I～IV; Steinbrocker 0 et al:Therapeutic criteria in rheumatoid arthritis. JAMA 140:659,1949)、ClassはHochberg(1992)の(I～IV; Hochberg MC et al, The American College of Rheumatology 1991 revised criteria for the Classification of global functional status in rheumatoid arthritis. Arthritis and Rheumatism, 35:498-502, 1992)に基づいて、関節リウマチの機能分類基準判定した結果である。これらの結果は、3つのリウマチ患者群の間で臨床的な有意差がなく、殆どのリウマチ患者において、サイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体の血清中濃度が、健常者に比べて有意に高いことを示している。

[0084]

[表1]

患者の基本情報データ

	トシリズマブ療法を受けたナীব患者			トシリズマブ療法を受けたスイッチ患者			エタネルセプト療法を受けたナীব患者		
	n=48	75% quartile	25% quartile	n=40	75% quartile	25% quartile	n=43	75% quartile	25% quartile
臨床パラメータ	59.4	68.5	62.0	56.76	66.3	49.5	59.2	68.0	61.0
年齢(歳)	10.6 ± 1.8	15.5	3.6	10.85 ± 1.17	14.8	5.5	7.9 ± 8.4	11.0	5.0
罹患期間(年)	8254.0 ± 424.0	10247	7930	8192.3 ± 371.0	9858	6770	8173.4 ± 455.9	9890	7470
WBC (/μl)	41.5 ± 4.45	53.0	23.5	57.48 ± 7.28	86.0	21.0	54.2 ± 5.4	67.0	46.0
Ferritin	94.8 ± 12.8	114.9	81.3	64.28 ± 9.05	100.6	28.6	140.1 ± 28.4	206.3	57.7
RBC	384.2 ± 8.4	405.2	388.5	409.8 ± 8.67	448.3	402.0	402.9 ± 8.1	444.0	400.0
Hb	11.0 ± 0.23	11.8	10.4	11.77 ± 0.28	13.1	10.6	11.9 ± 0.2	13.3	12.2
Ht	35.4 ± 0.6	37.4	35.7	37.56 ± 0.82	35.4	28.1	37.3 ± 0.7	40.9	38.0
Plt	32.3 ± 1.3	38.5	25.7	29.03 ± 1.38	35.4	23.3	29.7 ± 1.5	39.2	26.5
CRP (QI/QL)(mg/dl)	3.5 ± 0.7	4.5	2.3	2.4 ± 0.5	2.9	1.2	2.8 ± 0.4	4.5	1.6
DAS28-CRP	4.6 ± 0.2	5.6	4.4	4.4 ± 0.1	5.1	4.4	4.7 ± 0.2	5.4	4.7
RF (U/ml)	155.0 ± 31.0	231.0	70.5	89.2 ± 14.5	148.0	17.0	188.3 ± 53.2	185.0	80.0
VAS	53.3 ± 3.7	71.3	50.0	57.3 ± 3.6	75.0	40.0	57.1 ± 4.3	76.0	50.0
腫瘍壊死数	7.0 ± 0.9	9.0	5.0	5.1 ± 0.5	7.8	5.0	6.4 ± 0.7	9.0	6.0
圧痛関節数	6.3 ± 0.9	9.0	4.0	5.3 ± 0.4	6.8	3.8	6.6 ± 0.8	8.0	5.0
Stage	2.9 ± 0.2	4.0	2.0	3.7 ± 0.08	4.0	3.0	2.8 ± 0.2	4.0	3.0
Class	2.0 ± 0.1	2.0	1.8	2.3 ± 0.07	3	2	2.2 ± 0.1	3.0	2.0

WBC 白血球数 (x10³/μl)
 Fe 血清鉄 (μg/dl)
 Ferritin フェリチン (ng/dl) CLIAは方法
 RBC 赤血球数 (x10³/μl)
 Hb ヘモグロビン値 (g/dl)
 Ht ヘマトクリット値 (%)
 Plt 血小板数 (x10³/μl)
 CRP C-反応蛋白 (mg/dl)
 DAS28-CRP 血沈の発数をCRPの発数に変えた疾患活動性スコア
 RF リウマチ因子濃度 (IU/ml)
 VAS (VAS) 今まで経験した最大の疼痛を100mmとしたときの疼痛度 (mm)
 Stage リウマチの機能分類基準 (主にX線学的進行度) (I~IV)
 Class (クラス) 関節リウマチの機能分類基準 (主に日常生活上の支障度) (I~IV)

DASはEULAR(ヨーロッパリウマチ連盟)が推奨する評面法で、疾患の活動性の絶対値が算出される。
 DAS28評価関節を28関節に絞り込んでいる。
 DAS28は、
 ①圧痛関節
 ②腫瘍壊死
 ③患者による全般的健康状態(VASによる)
 ④CRPまたはESR
 以上の4項目を測定し、公式 * により算出する
 公式 * DAS28 = 0.56 X √T28 + √s28 + 0.7 X ln(CRP) + 0.014 X GH

<文献> Van Der Heijde DMFM et al. Ann Rheum Dis 49, 916-920, 1990
 Van Der Heijde DMFM et al. Ann Rheum Dis 51, 177-181, 1992

[0085] 49名のナীব患者が16週のトシリズマブ療法を受け、その56%の

患者（27名）が寛解であり、残りの21名は非寛解であった（図1）。更に、39名のスイッチ患者が16週のトシリズマブ療法を受け、その内、9名が寛解であり、残りの30名は非寛解であった。

[0086] また、49名のナイーブ患者が16週のエタネルセプト療法を受け、その内、18名が寛解であり、残りの31名は非寛解であった（図1）。本試験では、スイッチ患者の数が非常に少なかったため、エタネルセプト療法に関しては、ナイーブ患者のみを分析に使用した。

[0087] 図4に、トシリズマブ療法を受けたナイーブ患者における、治療前のDAS-28値（PreDAS-28 score）と、治療前のDAS-28値から16週後のDAS-28値を差し引いた値（PreDAS-28 score-16W DAS-28 score）の関係を示す。図4から、殆どのナイーブ患者において、トシリズマブ療法後にDAS-28値の改善が認められた。

[0088] （治療前のリウマチ患者におけるサイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体の血清濃度を用いた、治療16週間後のDAS-28値に基づくバイオマーカーの検索）

今回の結果から、ナイーブ患者の約55%と、スイッチ患者の約23%が、トシリズマブ療法後に寛解になると期待される。ナイーブ患者の約45%と、スイッチ患者の約77%は、最終の症状が同一ではないが、ある程度の症状の改善が認められる。また、ナイーブ患者の約36.7%は、エタネルセプト療法後に寛解になると期待される。そして、残りの約60%は、エタネルセプト療法後にある程度の症状の改善が認められる。

[0089] 従来、Pers Y.M.ら（Rheumatology (2013) doi: 10.1093/rheumatology/ke t301 First published online: September 19, 2013）は、日常診察からトシリズマブ治療で12～24週後のDAS-28値を評価したところ、40%の患者で寛解となり、主な予測マーカーは若年者、高CRP値、そして心血管障害のない患者であることを報告している。また、Koike T（J. Rheumatology 2013年11月）らは、トシリズマブ治療28週後にDAS28-ESRで47.6%の寛解を報告した。一方、エタネルセプトについては、Markenson JA.ら（J.Rheuma

tology 2011、7月、p.1273-81) がRADIUS試験の中で、Curitis JR.ら (Ann Rheum Dis.2012.71.206-212) がTEMPO試験の中で、52週後にDAS-28値 \leq 3.2の低疾患活動と寛解が得られた患者は53%でメソトレキセートを加えると63%となったと報告している。また、Koike T.ら (J.Rheumatology 2013年10月、p.1658-1668) は、24週後のDAS-28値で評価すると、エタネルセプトとメソトレキセートを加えた治療が、単独又はメソトレキセート以外の抗リウマチ薬 (DMARD) を加えた治療より有効であったことを示している。更に、Cannon GW.ら (Clin Exp Rheumatol. 2013年11月) は、TEMPO及びRADIUS試験から3年間の観察で35%が寛解になったと報告している。更に、Cannon GW.らは低疾患活動の方が寛解になりやすいことを示している。但し、これらの報告では、生物学的製剤による治療効果を予測判定するためのマーカーは解明されていない。

[0090] そこで、サイトカイン／ケモカインの血清中濃度を使用して、治療16週間後のDAS-28値に基づく関節リウマチの改善度の推測が可能になるかを検証した。

[0091] 図2-1～図2-4に、健常者と3つの群 (トシリズマブ療法を受けたナীব患者、トシリズマブ療法を受けたスイッチ患者、エタネルセプト療法を受けたナীব患者) について、治療前のサイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体のベースラインの個体群統計の比較を示す。図2-1～図2-4から分かるように、s p g 1 3 0、s I L - 6 R、及びs T N F R I 以外では、関節リウマチ患者における血清中の濃度が健常者に比べて有意に高かった。また、エタネルセプト療法を受けたナীব患者では、トシリズマブ療法を受けたナীব患者に比べて、サイトカイン／ケモカインの血清中濃度が低かった。また、この結果から、トシリズマブ療法を受けたナীব患者は、エタネルセプト療法を受けたナীব患者に比べて、治療前のC R P 値が高いことも明らかとなった。

[0092] DAS-28値の改善度に関与しているサイトカイン／ケモカインを解明するために、線形単回帰分析を行った。DAS-28値の改善度 (治療前のDAS-28値 - 治

療16週後のDAS-28値)を目的変数として使用し、サイトカイン/ケモカイン/可溶性受容体の血清中濃度については、そのまま又はlog値に換算して独立変数として使用した。結果を表2に示す。表2に示すように、 $p < 0.05$ を示すlog IL-7, log IL-8, log IL-12, log IL-13, log IP-10及びlog VEGFは、トシリズマブ療法を受けたナীব患者におけるDAS-28値の改善度と有意に一致していた。また、トシリズマブ療法を受けたスイッチ患者では、log IL-1 β , log IL-5, log IL-6, log IL-7, log IL-10, log IL-12, log IL-13, log IL-15, log FGF, log GM-CSF, log IFN- γ , log TNF- α 及びlog VEGFがDAS-28値の改善度と有意に一致していた。一方、エタネルセプト療法を受けたナীব患者では、log IL-6及びlog IP-10がDAS-28値の改善度と有意に一致していた。

[0093] [表2]

線形単回帰分析 DAS-28改善度

目的変数: DAS-28 improvement (=0週DAS-28値-16週DAS-28値)

Cytokine/Chemokine	トシリズマブ療法を受けたナীব患者		トシリズマブ療法を受けたスイッチ患者		エタネルセプト療法を受けたナীব患者	
	Estimates	p value	Estimates	p value	Estimates	p value
logHu IL-1b	0.211	0.513	0.944	0.006	0.290	0.321
logHu IL-1ra	0.298	0.189	0.366	0.142	0.240	0.341
logHu IL-2	0.294	0.213	0.522	0.278	0.240	0.246
logHu IL-4	0.836	0.158	0.789	0.238	0.453	0.344
logHu IL-5	0.534	0.133	1.337	0.003	0.198	0.598
logHu IL-6	0.519	0.087	0.701	0.016	0.572	0.048
logHu IL-7	0.890	0.035	1.204	0.011	0.207	0.576
logHu IL-8	1.603	0.043	0.447	0.439	0.743	0.230
logHu IL-9	0.345	0.136	0.327	0.169	0.182	0.460
logHu IL-10	0.589	0.058	0.860	0.011	0.054	0.865
logHu IL-12	0.918	0.010	1.059	0.008	0.004	0.990
logHu IL-13	0.755	0.036	0.930	0.016	-0.023	0.959
logHu IL-15	0.276	0.099	0.433	0.010	0.306	0.073
logHu IL-17	0.438	0.453	0.536	0.431	-0.174	0.873
logHu Eotaxin	0.574	0.084	0.753	0.068	0.570	0.122
logHu FGF basic	0.333	0.396	0.978	0.245	0.276	0.589
logHu G-CSF	0.290	0.576	1.331	0.084	0.347	0.479
logHu GM-CSF	0.143	0.573	0.692	0.002	0.115	0.675
logHu IFN-g	0.297	0.397	1.069	0.005	0.289	0.381
logHu IP-10	1.119	0.009	0.582	0.258	0.969	0.048
logHu MCP-1	0.610	0.135	0.543	0.208	0.659	0.103
logHu MIP-1a	0.962	0.057	0.751	0.099	0.451	0.262
logHu PDGF-bb	0.859	0.104	0.256	0.850	-0.845	0.323
logHu MIP-1b	1.108	0.108	0.124	0.842	0.461	0.258
logHu RANTES	0.664	0.144	0.297	0.519	-0.826	0.348
logHu TNF-a	0.364	0.187	0.810	0.010	0.398	0.088
logHu VEGF	0.996	0.007	0.899	0.028	0.208	0.626
sgp130	0.000	0.216	0.000	0.382	0.000	0.669
logHu-sIL-6R	-0.981	0.292	0.783	0.370	-0.798	0.332
logHu-sTNFRI	-0.360	0.617	-0.555	0.439	0.131	0.828
logHu-sTNFRII	-0.855	0.312	-0.111	0.889	-0.083	0.863
CRP	0.081	0.025	0.064	0.265	0.014	0.841
0wDAS28-CRP	0.693	<0.0001	0.741	<0.0001	0.597	<0.0001
MMP	0.001	0.384	0.002	0.055	-0.001	0.473
RF	0.001	0.000	0.004	0.039	0.001	0.220
VAS	0.029	<0.0001	0.020	0.024	0.025	<0.0001
腫脹関節数	0.082	0.002	0.133	0.026	0.102	0.009
疼痛関節数	0.106	<0.0001	0.166	0.009	0.121	0.008

[0094] DAS-28値の改善度とサイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体濃度との相関を求めるために、線形多重回帰分析を行った。その結果、段階的な多重回帰分析によって、トシリズマブ療法を受けたナীব患者において、log IL-1β, log IL-7, log TNF-α及びlog sIL-6Rの組み合わせが、DAS-28値の改善度と有意な相関性があることが見出された（表3）。

[0095] 一方、エタネルセプト療法を受けたナীব患者では、log IL-2, log IL-15, log IL-6R, 及びlog TNFR1の組み合わせが、DAS-28値の改善度と有意な相関性があることが見出された（表4）。

[0096] [表3]

トシリズマブ療法を受けたナীব患者の線形多重回帰分析 DAS-28改善度

目的変数: DAS-28 improvement (=0週DAS-28値-16週DAS-28値)

トシリズマブ療法を受けたナীব患者		
Multiple regression analysis (Objective value=0w-16wDAS28)		
R ²		0.376
ANOVA(分散分析)		p=0.0004
Cytokine/Chemokine/soluble receptor	Estimate	p value
intercept	5.505	0.1216
logHu IL-1b	-3.618	0.0002
logHu IL-7	3.255	0.0002
logHu TNF-a	1.475	0.0221
logHu-sIL-6R	-1.814	0.0264

[0097] [表4]

エタネルセプト療法を受けたナীব患者 線形多重回帰分析 DAS-28改善度

目的変数: DAS-28 improvement (=0週DAS-28値-16週DAS-28値)

エタネルセプト療法を受けたナীব患者		
Multiple regression analysis (Objective value=0w-16wDAS28)		
R ²		0.343
ANOVA(分散分析)		p=0.0037
Cytokine/Chemokine/soluble receptor	Estimate	p value
intercept	7.325	0.0231
logHu IL-2	-1.567	0.0058
logHu IL-15	1.632	0.0008
logHusIL-6R	-2.540	0.0130
logHu-sTNFR1	1.973	0.0115

[0098] 治療16週後における最終評価のDAS-28値（16wDAS28）に關与しているサイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体を解明するために、線形単回帰分析を行った。治療16週後のDAS-28値を目的変数として使用し、サイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体の血中濃度については、そのまま又はlog値

に換算して独立変数として使用した。表5に示すように、 $p < 0.05$ を示すs g p 1 3 0では、トシリズマブ療法を受けたナীব患者における治療16週後のDAS-28値と有意に一致していた。また、トシリズマブ療法を受けたスイッチ患者では、 $\log \text{ IL-1}\beta$, $\log \text{ IL-2}$, $\log \text{ IL-5}$, $\log \text{ IL-15}$, $\log \text{ GM-CSF}$, $\log \text{ IFN-}\gamma$, $\log \text{ TNF-}\alpha$ 及びs p g 1 3 0が治療16週後のDAS-28値と有意に一致していた。一方、エタネルセプト療法を受けたナীব患者では、 $\log \text{ IL-9}$ が治療16週後のDAS-28値と有意に一致していた。

[0099]

log IL-6, 及び log IL-VEGF の組み合わせが、治療16週後のDAS-28値と有意な相関性があることが見出された。また、log IL-VEGF を使用しなくても、極めて有意な相関性があることが見出された (表7)。

[0101] また、トシリズマブ療法を受けたスイッチ患者においては、sgp130, log IP-10, 及び log GM-CSF の組み合わせが、治療16週後のDAS-28値と有意な相関性があることが見出された (表8)。

[0102] 一方、エタネルセプト療法を受けたナীব患者については、治療前のDAS-28値、log IL-6、及び log IL-13 の組み合わせでも、DAS-28値の改善度と相関が認められた (表9)。また、エタネルセプト療法を受けたナীব患者において、治療前のDAS-28値を使用しなくても、log IL-9, log TNF- α , 及び log VEGF の組み合わせが、治療16週後のDAS-28値と有意な相関性があることも見出された (表10)。

[0103] [表6]

トシリズマブナীব線形多重回帰分析 目的変数16週DAS-28

Multiple linear regression analysis of cytokine /chemokine /soluble receptor based on 16w DAS-28
 A.Multiple regression analysis were performed to find the parameters related to 16wDAS-28 (=16wDAS28).

Naïve Tocilizumab Therapy トシリズマブ ナীব		
Multiple regression analysis (Objective value=16wDAS28)		
R ² 0.646		
ANOVA(分散分析) p<0.0001		
Cytokine/Chemokine/soluble receptor	Estimate	p value
intercept	6.909	0.001
sgp130#	-0.534	0.002
log IL-8	3.940	<.0001
log Eotaxin	-1.039	<.0001
log IP-10	-1.002	0.002
log sTNFR1	-2.580	<.0001
log sTNFR2	1.407	0.030
log IL-6	0.744	0.002
log VEGF	-0.850	0.039

sgp130# : μ g/ml
 others : pg/ml

[0104]

[表7]

トシリズマブナীব線形多重回帰分析 目的変数16週DAS-28

Multiple linear regression analysis of cytokine /chemokine /soluble receptor based on 16w DAS-28
 A.Multiple regression analysis were performed to find the parameters related to 16wDAS-28 (=16wDAS28).

Naïve Tocilizumab Therapy トシリズマブ ナীব		
Multiple regression analysis (Objective value=16wDAS28)		
R ²		0.605
ANOVA(分散分析)		p<0.0001
Cytokine/Chemokine/soluble receptor	Estimate	p value
intercept	4.731	0.0127
sgp130#	-0.543	0.003
log IL-8	2.551	<.0001
log Eotaxin	-0.937	0.0004
log IP-10	-1.116	0.0007
log sTNFRI	-2.010	0.0004
log sTNFRII	1.630	0.0152
log IL-6*	0.577	0.0096

sgp130# : μ g/ml
 others : pg/ml

[0105] [表8]

トシリズマブスイッチ線形多重回帰分析 目的変数16週DAS-28

Multiple linear regression analysis of cytokine /chemokine /soluble receptor based on 16w DAS-28
 A.Multiple regression analysis were performed to find the parameters related to 16wDAS-28 (=16wDAS28).

トシリズマブスイッチ		
Multiple regression analysis (Objective value=16wDAS28)		
R ²		0.486
ANOVA(分散分析)		p<0.0001
Cytokine/Chemokine/soluble receptor	Estimate	p value
intercept	2.837	0.011
sgp130#	-0.604	0.003
log IP-10	0.714	0.003
log GM-CSF	-0.622	0.0003

sgp130# : μ g/ml
 others : pg/ml

[0106]

[表9]

エタネルセプト療法を受けたナীব患者の線形多重回帰分析

Multiple linear regression analysis of cytokine/chemokine/soluble receptor and DAS28-CRP before therapy on 16week Das-28.

目的変数: 16週DAS-28

Naive Etanercept Therapy		
Multiple regression analysis (Objective value=16wDAS28)		
R ²		0.321
ANOVA(分散分析)		p=0.0016
Cytokine/Chemokine/soluble receptor	estimate	p value
intercept	0.081	0.907
DAS28-CRP (治療前)	0.522	0.000
logHu IL-6	-0.969	0.015
log HuIL-13	1.409	0.015

[0107] [表10]

エタネルセプトナীব線形多重回帰分析 目的変数16週DAS-28

Multiple linear regression analysis of cytokine /chemokine /soluble receptor based on 16w DAS-28

A.Multiple regression analysis were performed to find the parameters related to 16wDAS-28 (=16wDAS28).

トシリズマブスイッチ		
Multiple regression analysis (Objective value=16wDAS28)		
R ²		0.264
ANOVA(分散分析)		p=0.0093
Cytokine/Chemokine/soluble receptor	Estimate	p value
intercept	0.703	0.348
log IL-9	0.646	0.007
log TNF- α	-0.551	0.039
log VEGF	0.858	0.053

IL-9, TNF- α , VEGF : $\mu\text{g/ml}$

[0108] また、表 7 に示す線形多重回帰分析に基づいて求められた前記回帰式 (4) を使用して、トシリズマブ療法を受けたナীব患者における治療 16 週後の DAS-28 値の予測値を求めた。図 5 に、回帰式 (4) によって算出された治療 16 週後の DAS-28 値の予測値と、治療 16 週後の DAS-28 値の実際値との対比を行った結果を示す。この結果から、表 7 に示す線形多重回帰分析の結果から推測される治療 16 週後の DAS-28 値は、治療 16 週後の DAS-28 値の実際値とよく一致していることが確認された。

[0109] また、表 8 に示す線形多重回帰分析に基づいて求められた前記回帰式 (5) を使用して、トシリズマブ療法を受けたスイッチ患者における治療 16 週

後のDAS-28値の予測値を求めた。図6に、回帰式(5)によって算出された治療16週後のDAS-28値の予測値と、治療16週後のDAS-28値の実際値との対比を行った結果を示す。この結果から、表8に示す線形多重回帰分析の結果から推測される治療16週後のDAS-28値は、治療16週後のDAS-28値の実際値とよく一致していることが確認された。

[0110] 表10に示す線形多重回帰分析に基づいて求められた前記回帰式(7)を使用して、エタネルセプト療法を受けたナীব患者における治療16週後のDAS-28値の予測値を求めた。図7に、回帰式(7)によって算出された治療16週後のDAS-28値の予測値と、治療16週後のDAS-28値の実際値との対比を行った結果を示す。この結果から、表10に示す線形多重回帰分析の結果から、治療16週後のDAS-28値をある程度推測し得ることが確認された。

[0111] また、エタネルセプト療法を受けたナীব患者において、仮にエタネルセプト療法を受けずにトシリズマブ療法を受けたと仮定して、治療16週後のDAS-28の予測値を前記回帰式(4)を使用して求めた。図8に、エタネルセプト療法の治療16週後のDAS-28の実際値と、トシリズマブ療法を受けたと仮定して推測される治療16週後のDAS-28値の予測値を示す。この結果から、エタネルセプト療法を受けたナীব患者については、トシリズマブ療法を受けた方がより高い治療効果が予測される患者(図8のa)、エタネルセプト療法とトシリズマブ療法に差が殆ど認められないと予測される患者(図8のb)、及びエタネルセプト療法を受けた方がより高い治療効果が認められると予測される患者(図8のc)に分類された。図8のaに示す患者については、実際に受けたエタネルセプト療法よりも、トシリズマブ療法の方が有効であると推測されることから、本発明によって、治療前にトシリズマブ療法及びエタネルセプト療法によるDAS-28値を推測しておくことにより、より有効な治療薬の選定が可能になることも明らかとなった。

[0112] (治療前のリウマチ患者におけるサイトカイン/ケモカイン/可溶性受容体の血清濃度を用いた、寛解の可能性を予測判定するためのバイオマーカーの検索)

関節リウマチの治療において、患者の症状に一部でも改善が認められることは望ましいが、完全寛解に至ることが最も望ましい。そこで、更に、最終のDAS-28値を推測する諸因子に加えて、患者が完全寛解に至るか否かを予測するサイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体の探索を行った。

- [0113] 完全寛解と非寛解の患者群について、ロジスチック単回帰分析によって、サイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体濃度のデータを分析した。また、トシリズマブ療法を受けたナイーブ患者及びスイッチ患者、並びに、エタネルセプト療法を受けたナイーブ患者について、ロジスチック単回帰分析によって、サイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体濃度のデータを分析した結果を表10に示す。ロジスチック単回帰分析によって、腫脹関節数 (swollen joint count) 及び圧痛関節数 (tender joint count) と、DAS-28値は、完全寛解と非寛解の群間で有意に異なっていることが明らかとなった。更に、s p g 1 3 0は、トシリズマブ療法を受けたナイーブ患者及びスイッチ患者において、完全寛解と非寛解の群間で有意に異なっていた (表11)。一方、エタネルセプト療法を受けたナイーブ患者では、寛解と非寛解の群間でs p g 1 3 0の有意な差異は認められなかった (表11)。また、寛解と非寛解の患者について、血清中のs p g 1 3 0濃度と治療前のDAS-28値の関係を分析した結果を図9に示す。図9から明らかなように、寛解に至った多くの患者では、s p g 1 3 0の濃度が高かった。

- [0114]

[表11]

ロジスティック単回帰解析

Cytokine/Chemokine		トシリズムブ療法を受けた ナイーブ患者(n=48)		トシリズムブ療法を受け たスイッチ患者(n=40)		エタネルセプト療法を受け たナイーブ患者(n=43)	
		Whole Model Test	Parameter Estimates	Whole Model Test	Parameter Estimates	Whole Model Test	Parameter Estimates
		Single logistic analysis, p value	Estimates	Single logistic analysis, p value	Estimates	Single logistic analysis, p value	Estimates
logHu IL-1b	pg/ml	0.378	0.486	0.147	-1.081	0.577	-0.274
logHu IL-1ra	pg/ml	0.148	-0.628	0.087	1.573	0.323	0.478
logHu IL-2	pg/ml	0.856	0.074	0.080	-1.009	0.857	0.064
logHu IL-4	pg/ml	0.534	0.638	0.420	-1.241	0.965	-0.035
logHu IL-5	pg/ml	0.814	0.143	0.189	-1.276	0.896	-0.083
logHu IL-6	pg/ml	0.184	0.663	0.270	-0.710	0.950	-0.030
logHu IL-7	pg/ml	0.585	0.401	0.233	-1.231	0.660	0.280
logHu IL-8	pg/ml	0.432	1.088	0.864	-0.207	0.751	-0.333
logHu IL-9	pg/ml	0.545	-0.242	0.289	-0.540	0.020	1.075
logHu IL-10	pg/ml	0.604	-0.281	0.196	-0.948	0.572	0.310
logHu IL-12	pg/ml	0.773	-0.181	0.113	-1.457	0.833	0.123
logHu IL-13	pg/ml	0.963	0.029	0.432	-0.669	0.671	0.322
logHu IL-15	pg/ml	0.924	0.027	0.173	-0.519	0.942	0.021
logHu IL-17	pg/ml	0.197	-1.332	0.920	0.147	0.691	-0.730
logHu Eotaxin	pg/ml	0.447	-0.441	0.512	-0.590	0.639	0.299
logHu FGF basic	pg/ml	0.792	-0.177	0.725	-0.371	0.402	0.773
logHu G-CSF	pg/ml	0.599	-0.471	0.786	-0.450	0.901	-0.104
logHu GM-CSF	pg/ml	0.910	0.104	0.099	-0.930	0.798	-0.102
logHu IFN-g	pg/ml	0.536	0.369	0.190	-1.081	0.681	-0.228
logHu IP-10	pg/ml	0.647	-0.344	0.604	0.557	0.393	0.733
logHu MCP-1	pg/ml	0.402	0.593	0.696	-0.366	0.960	0.035
logHu MIP-1a	pg/ml	0.428	0.698	0.305	-0.963	0.885	-0.098
logHu PDGF-bb	pg/ml	0.751	0.290	0.458	0.894	0.356	1.357
logHu MIP-1b	pg/ml	0.709	0.444	0.508	-0.882	0.161	-0.991
logHu RANTES	pg/ml	0.748	0.252	0.866	0.166	0.823	-0.335
logHu TNF-a	pg/ml	0.787	0.127	0.143	-1.020	0.694	-0.162
logHu VEGF	pg/ml	0.400	0.558	0.389	-0.793	0.967	0.030
sgp130	μ g/ml	-18.182	0.003	-24.159	0.003	0.212	-5.882
logHu-sIL-6R	pg/ml	0.118	-2.590	0.023	-5.922	0.679	0.590
logHu-sTNFR1	pg/ml	0.302	-1.284	0.843	-0.306	0.566	0.591
logHu-sTNFR2	pg/ml	0.719	-0.519	0.064	1.210	0.390	0.775
age		0.139	0.039	0.064	-0.073	0.444	0.019
Duration of disease		0.228	0.041	0.221	-0.059	0.414	0.033
WBC		0.173	0.000	0.434	0.000	0.057	0.000
DAS28-CRP		0.011	0.608	0.689	0.165	0.005	0.845
VAS		0.328	0.013	0.810	0.005	0.419	0.011
CRP		0.993	0.001	0.939	-0.009	0.019	0.342
RF		0.121	0.002	0.995	0.000	0.015	0.006
腫脹関節数		0.015	0.123	0.193	0.182	0.012	0.218
圧痛関節数		0.014	0.123	0.363	0.137	0.046	0.147
Stage		0.237	0.328	0.352	0.651	0.615	-0.158
Class		0.459	0.481	0.806	-0.201	0.403	0.438

[0115] 段階的なフォワードロジスティック多重回帰分析によって、トシリズムブ投与前の患者におけるサイトカイン／ケモカイン／可溶性受容体の血清濃度に基づいて、寛解と非寛解の予測バイオマーカーとしての多変数モデルの検討

を行った。段階的なフォワードロジスチック多重回帰分析とROCカーブに基づいて見出された寛解と非寛解の予測バイオマーカの好適な組み合わせを表12及び13に示す。この分析結果から、トシリズマブ療法を受けたナীব患者では、sgp130、log IP-10、log sTNFR II及びlog IL-6が、寛解に至るか否かを高精度に判断する上での予測バイオマーカとなり得ることが明らかとなった ($p=0.0004$) (表11a)。また、log IL-7 ($p=0.0003$)、log IL-1 β ($p=0.0005$)又はlog MCP-1 ($p=0.0004$)も、sgp130、log IP-10、及びlog sTNFR IIとの組み合わせについても、トシリズマブ療法を受けたナীব患者において、寛解に至るか否かを高精度に判断する上での予測バイオマーカとなり得ることが明らかとなった (表12b~d)。

[0116] また、トシリズマブ療法を受けたスイッチ患者では、sgp130、log IP-10、log sTNFR II及びlog IL-6の組み合わせが、寛解に至るか否かを高精度に判断する上での予測バイオマーカとなり得ることが明らかとなった ($p=0.002$) (表13a)。更に、sgp130、log IP-10、log sTNFR II及びlog IL-1 β の組み合わせでも、寛解に至るか否かを高精度に判断する上での予測バイオマーカとなり得ることが明らかとなった ($p=0.003$) (表13b)。

[0117] 一方、エタネルセプト療法を受けたナীব患者については、トシリズマブ療法で得られたロジスチック多重回帰分析とROCカーブに基づいて見出された寛解の可能性を予測判定するバイオマーカ群では $p=0.257$ となり、このバイオマーカ群によって寛解に至るか否かを予測できないことが示された (表14)。一方、別のロジスチック多重回帰分析により、表15に示されるように、治療前のDAS-28値 (0wDAS-28)、log VEGF、及びlog PDGF-bbの組み合わせによっても、ある程度は寛解の可能性を予測判定できることも示された。更に、表16に示されるように、エタ

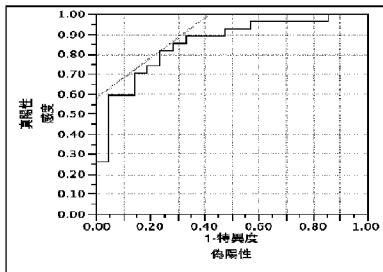
ネルセプト療法を受けたナীব患者については、治療前のDAS-28値 (0wDAS-28) を使用しなくても、log IL-9及びlog TNF- α の組み合わせによっても、ある程度は寛解の可能性を予測判定できることも明らかとなった。即ち、関節リウマチ患者は、その病態が多様化しており、寛解の可能性を予測判定するバイオマーカーは、IL-6阻害が有効な患者とTNF- α 阻害が有効な患者では異なっていることが示唆された。

[0118] [表12]

トシリズマブ ナীব ログスティック多重回帰解析

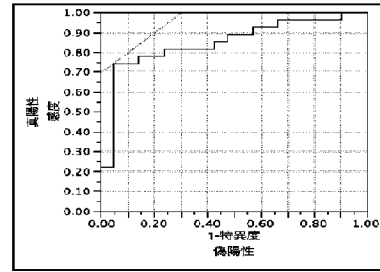
multiple logistic analysis, 目的変数:remission vs non-remission

a. Whole Model Test p=0.0004		
Parameter Estimates		
Term	Estimates	p value(Prob>ChiSq)
Intercept	-5.092	0.466
sgp130	-36.648	0.001
logHu IP-10	-4.004	0.007
logHu-sTNFRII	5.632	0.016
logHu IL-6	1.658	0.034



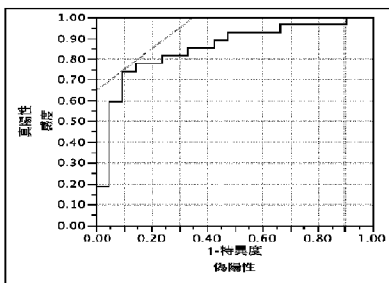
Area Under Curve=0.85009

b. Whole Model Test p=0.0003		
Parameter Estimates		
Term	Estimates	p value(Prob>ChiSq)
Intercept	-3.467	0.621
sgp130	-42.849	0.001
logHu IP-10	-4.430	0.005
logHu-sTNFRII	5.736	0.017
logHu IL-7	2.705	0.035



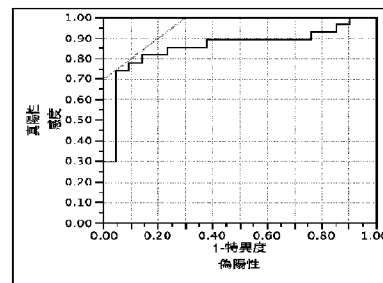
Area Under Curve=0.84832

c. Whole Model Test p=0.0004		
Parameter Estimates		
Term	Estimates	p value(Prob>ChiSq)
Intercept	-2.834	0.884
sgp130	-38.721	0.001
logHu IP-10	-4.664	0.007
logHu-sTNFRII	5.389	0.020
logHu MCP-1	2.502	0.040



Area Under Curve=0.84832

d. Whole Model Test p=0.0005		
Parameter Estimates		
Term	Estimates	p value(Prob>ChiSq)
Intercept	-1.269	0.853
sgp130	-39.538	0.001
logHu IP-10	-3.807	0.008
logHu-sTNFRII	5.086	0.028
logHu IL-1b	1.647	0.050



Area Under Curve=0.85362

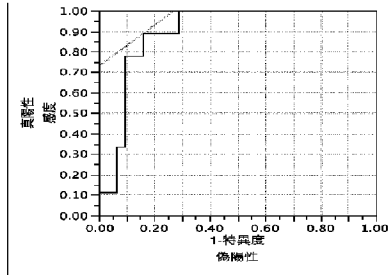
[0119]

[表13]

トシリズマブ スイッチ ロジスティック多重回帰分析
 multiple logistic analysis, 目的変数remission vs non-remission

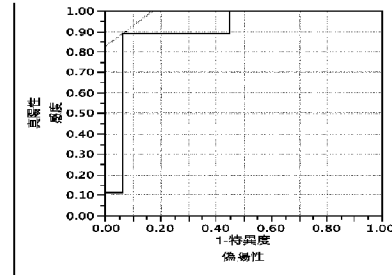
a. Whole Model Test p=0.0020		
Parameter Estimates		
Term	Estimates	p value(Prob>ChiSq)
Intercept	-10.935	0.190
sgp130#	-29.051	0.020
logHu IP-10	4.466	0.060
logHu-sTNFRII	2.067	0.084
logHu IL-6	-2.757	0.047

b. Whole Model Test p=0.0030		
Parameter Estimates		
Term	Estimate	Prob>ChiSq
Intercept	-9.671	0.217
sgp130#	-27.150	0.026
logHu IP-10	3.205	0.095
logHu-sTNFRII	1.914	0.090
logHu IL-1b	-2.540	0.055



Area Under Curve =0.892

sgp130#: μ g/ml



Area Under Curve = 0.899

sgp130#: μ g/ml

[0120] [表14]

トシリズマブ療法を受けた患者から得られたロジスティック多重回帰分析結果に基づいて見出された寛解の可能性を予測判定するバイオマーカーを用いて、エタネルセプト療法を受けたナイーブ患者についてロジスティック多重回帰分析を行った結果

Whole Model Test p=0.257		
Parameter Estimates		
Term	Estimates	p value(Prob>ChiSq)
Intercept	-6.489	0.179
sgp130	-9.591	0.150
logHu IL-6	-0.422	0.467
logHu IP-10	0.893	0.435
logHu-sTNFR II	1.789	0.235

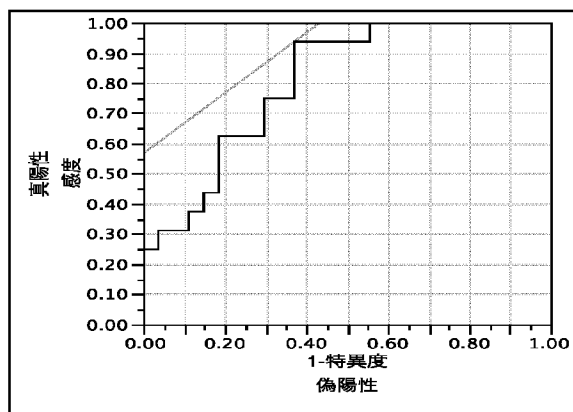
[0121]

[表15]

エタンルセプトナイーブ ロジスチック多重回帰分析

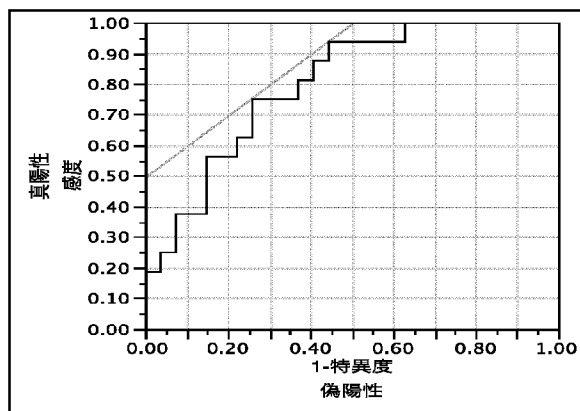
multiple logistic analysis, 目的変数:remission vs non-remission

Whole Model Test		p=0.0034
Parameter Estimates		
Term	Estimates	p value(Prob>ChiSq)
Intercept	-19.058	0.025
0w DAS28-CRP	1.390	0.007
log VEGF	-2.763	0.045
log PDGF-bb	4.962	0.042



Area Under Curve=0.8055

Whole Model Test		p=0.0071
Parameter Estimates		
Term	Estimates	p value(Prob>ChiSq)
Intercept	4.491	0.031
0w DAS28-CRP	1.107	0.007
log MIP-1a	-1.808	0.082
log PDGF-bb	3.930	0.069



Area Under Curve=0.7986

[0122] [表16]

エタンルセプトナイーブ ロジスチック多重回帰分析

multiple logistic analysis, 目的変数: remission vs non-remission

Whole Model Test		p=0.0115
Parameter Estimates		
Term	Estimates	p value(Prob>ChiSq)
Intercept	-1.004	0.337
log IL-9	1.711	0.012
log TNF- α	-1.031	0.079

請求の範囲

- [請求項1] 関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測判定する方法であって、
生物学的製剤の投与前の関節リウマチ患者から採取された血清における、s g p 1 3 0、I P - 1 0、s T N F R I、s T N F R I I、G M - C S F、I L - 1 β 、I L - 2、I L - 5、I L - 6、I L - 7、I L - 8、I L - 9、I L - 1 0、I L - 1 2、I L - 1 3、I L - 1 5、E o t a x i n、V E G F、M C P - 1、T N F - α 、I F N - γ 、F G F b a s i c、P D G F - b b、s I L - 6 R、及びM I P - 1 α よりなる群から選択される少なくとも1種の判定マーカーの濃度を測定する工程を含むことを特徴とする、判定方法。
- [請求項2] トシリズマブによる寛解の可能性を予測判定する方法であって、
前記判定マーカーとして少なくともs g p 1 3 0を使用する、請求項1に記載の判定方法。
- [請求項3] トシリズマブが投与される患者が、過去に抗サイトカイン療法を受けていない関節リウマチ患者であって、
前記判定マーカーが、(i) s g p 1 3 0と、(ii) I P - 1 0と、(iii) s T N F R I Iと、(iv) I L - 6、I L - 7、M C P - 1又はI L - 1 β との組み合わせである、請求項2に記載の判定方法。
- [請求項4] トシリズマブが投与される患者が、過去に抗サイトカイン療法を受けている関節リウマチ患者であって、
前記判定マーカーが、(i) s g p 1 3 0と、(ii) I P - 1 0と、(iii) s T N F R I Iと、(iv) I L - 6又はI L - 1 β との組み合わせである、請求項2に記載の判定方法。
- [請求項5] 過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において、
エタネルセプトによる寛解の可能性を予測判定する方法であって、
前記判定マーカーが、I L - 9及びT N F - α の組み合わせ、V E G F及びP D G F - b bの組み合わせ、或いはM I P - 1 α 及びP D

GF-bbの組み合わせである、請求項1に記載の判定方法。

[請求項6] 過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において、トシリズマブによる治療後の疾患活動性指標を予測判定する方法であって、

前記判定マーカーが、sgp130、IL-8、Eotaxin、IP-10、sTNFR1、sTNFR1I、及びIL-6の組み合わせ、或いはsgp130、IL-8、Eotaxin、IP-10、sTNFR1、sTNFR1I、IL-6、及びVEGFの組み合わせである、請求項1に記載の判定方法。

[請求項7] 過去に抗サイトカイン療法を受けているリウマチ患者において、トシリズマブによる治療後の疾患活動性指標の値を予測判定する方法であって、

前記判定マーカーが、sgp130、IP-10、及びGM-CSFの組み合わせである、請求項1に記載の判定方法。

[請求項8] 過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において、エタネルセプトによる治療後の疾患活動性指標の値を予測判定する方法であって、

前記判定マーカーが、IL-9、TNF- α 及びVEGFの組み合わせ、或いはIL-6及びIL-13の組み合わせである、請求項1に記載の判定方法。

[請求項9] 過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において、トシリズマブによる治療後の症状の改善度を予測判定する方法であって、

前記判定マーカーが、IL-1 β 、IL-7、TNF- α 、及びsIL-6Rの組み合わせである、請求項1に記載の判定方法。

[請求項10] 過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において、エタネルセプトによる治療後の症状の改善度を予測判定する方法であって、

前記判定マーカーが、IL-2、IL-15、sIL-6R、及びsTNFR1の組み合わせ、或いはIL-6及びIL-13の組み合わせである、請求項1に記載の判定方法。

[請求項11]

トシリズマブ及びエタネルセプトよりなる生物学的製剤の中から、過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において治療により有効な生物学的製剤を選択する方法であって、

請求項3に記載の判定方法に従って、トシリズマブによる寛解の可能性を予測判定する工程、

請求項5に記載の判定方法に従って、エタネルセプトによる寛解の可能性を予測判定する工程、及び

前記工程で予測判定されたトシリズマブによる寛解の可能性とエタネルセプトによる寛解の可能性を対比し、寛解の可能性が高い生物学的製剤を選択する工程

を含む、生物学的製剤の選択方法。

[請求項12]

トシリズマブ及びエタネルセプトよりなる生物学的製剤の中から、過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において治療により有効な生物学的製剤を選択する方法であって、

請求項6に記載の判定方法に従って、トシリズマブによる治療後の疾患活動性指標を予測判定する工程、

請求項8に記載の判定方法に従って、エタネルセプトによる治療後の疾患活動性指標を予測判定する工程、及び

前記工程で予測判定されたトシリズマブによる治療後の疾患活動性指標とエタネルセプトによる治療後の疾患活動性指標を対比し、治療後の疾患活動性指標が低い生物学的製剤を選択する工程

を含む、生物学的製剤の選択方法。

[請求項13]

トシリズマブ及びエタネルセプトよりなる生物学的製剤の中から、過去に抗サイトカイン療法を受けていないリウマチ患者において治療により有効な生物学的製剤を選択する方法であって、

請求項 9 に記載の判定方法に従って、トシリズマブによる治療後の症状の改善度を予測判定する工程、

請求項 10 に記載の判定方法に従って、エタネルセプトによる治療後の症状の改善度を予測判定する工程、及び

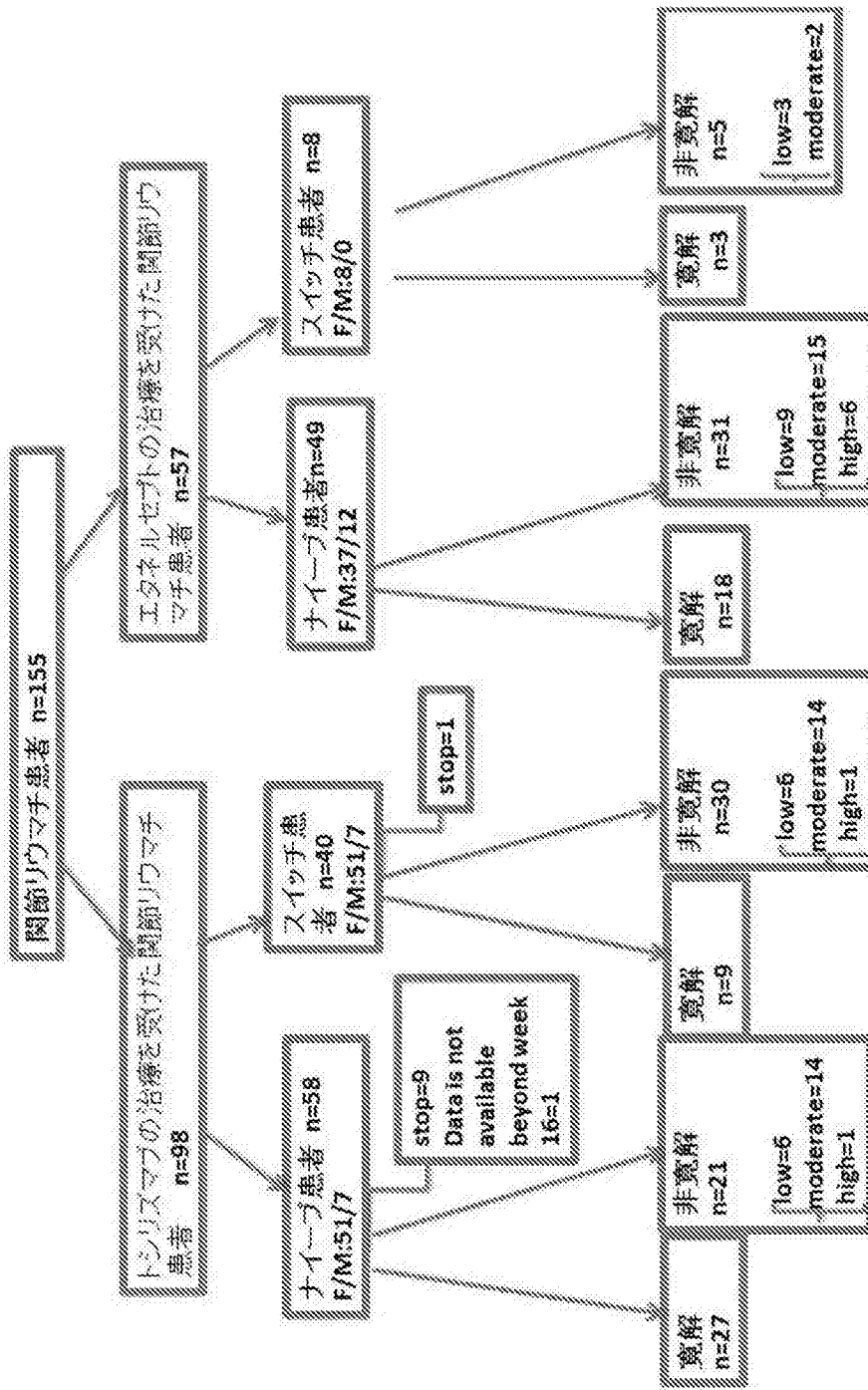
前記工程で予測判定されたトシリズマブによる治療後の症状の改善度とエタネルセプトによる治療後の症状の改善度を対比し、治療後の症状の改善度が高い生物学的製剤を選択する工程を含む、生物学的製剤の選択方法。

[請求項14]

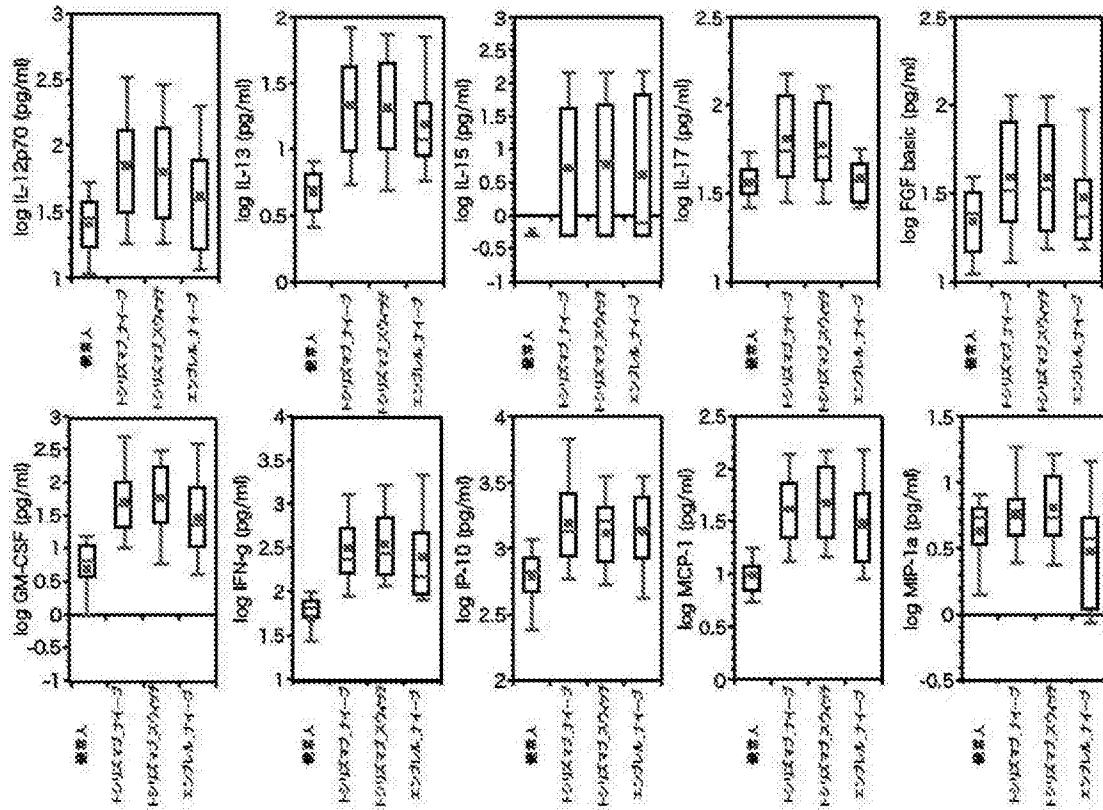
関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測判定するための診断薬であって、

s g p 1 3 0、I P - 1 0、s T N F R I、s T N F R I I、G M - C S F、I L - 1 β 、I L - 2、I L - 5、I L - 6、I L - 7、I L - 8、I L - 9、I L - 1 0、I L - 1 2、I L - 1 3、I L - 1 5、E o t a x i n、V E G F、M C P - 1、T N F - α 、I F N - γ 、F G F b a s i c、P D G F - b b、s I L - 6 R、及び M I P - 1 α よりなる群から選択される少なくとも 1 種のマーカーを検出可能な試薬を含む、診断薬。

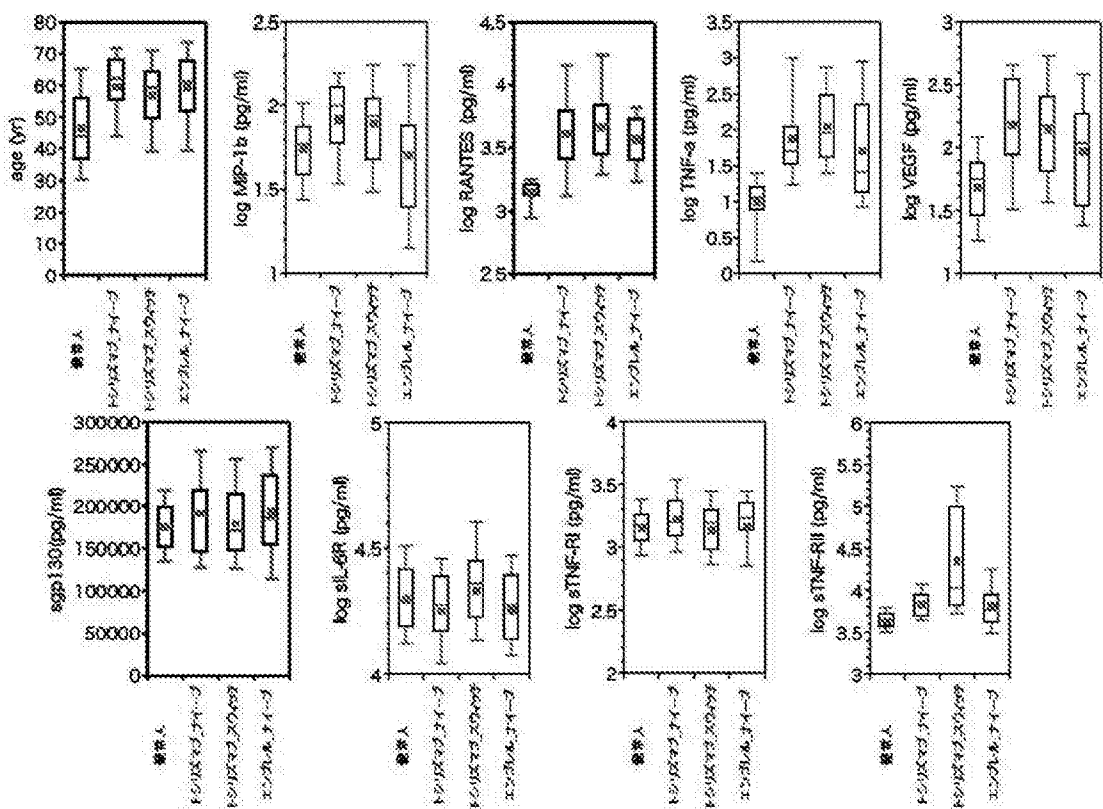
[図1]



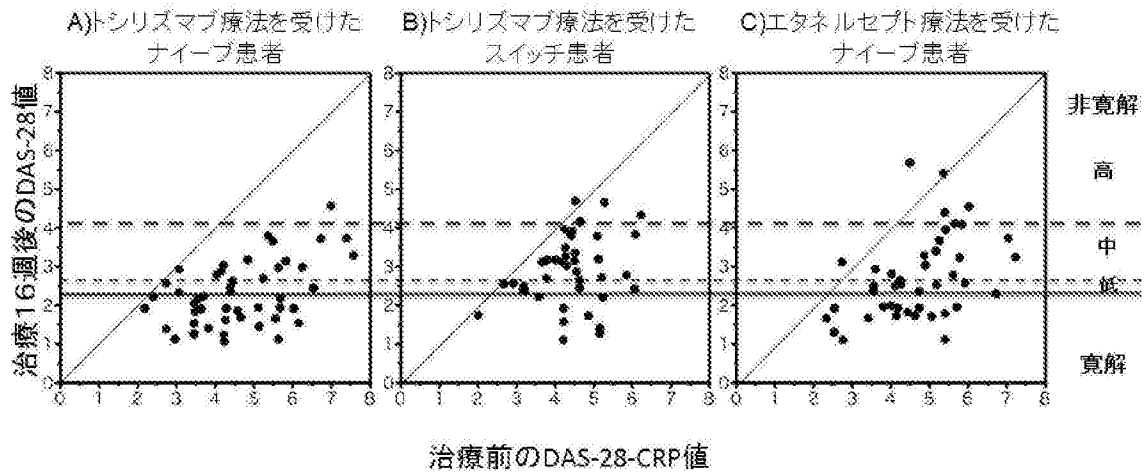
[図2-3]



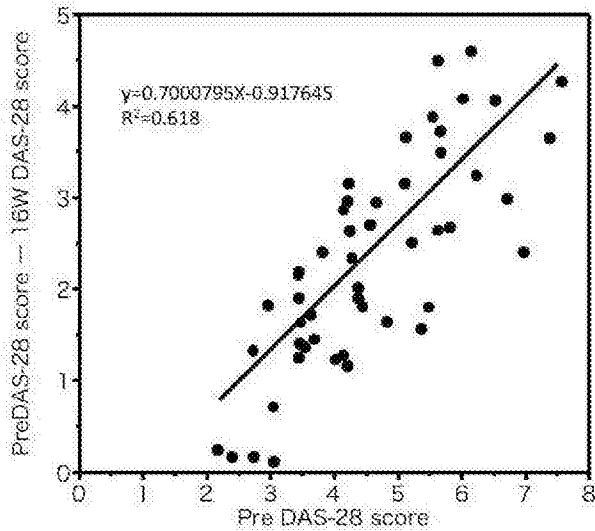
[図2-4]



[図3]

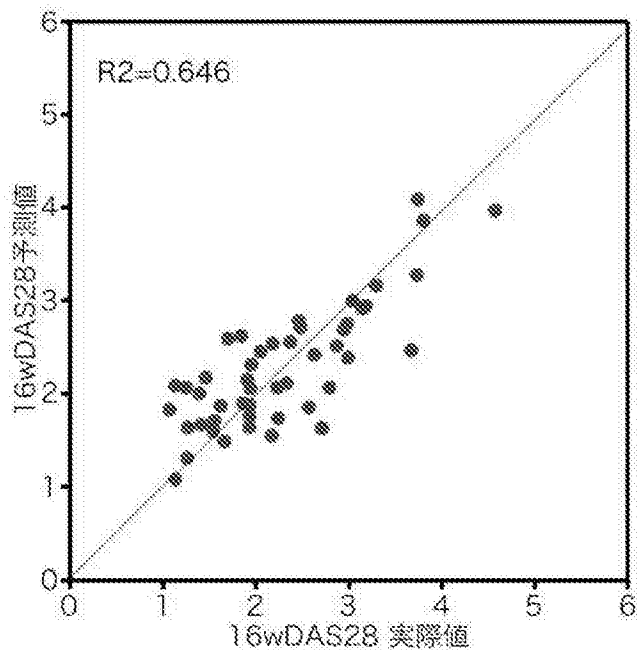


[図4]



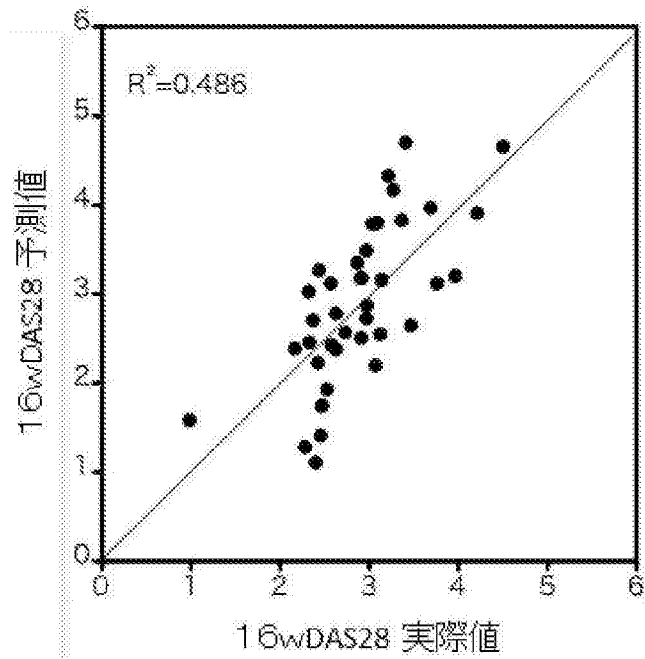
[図5]

トシリズマブ療法を受けたナイーブ患者



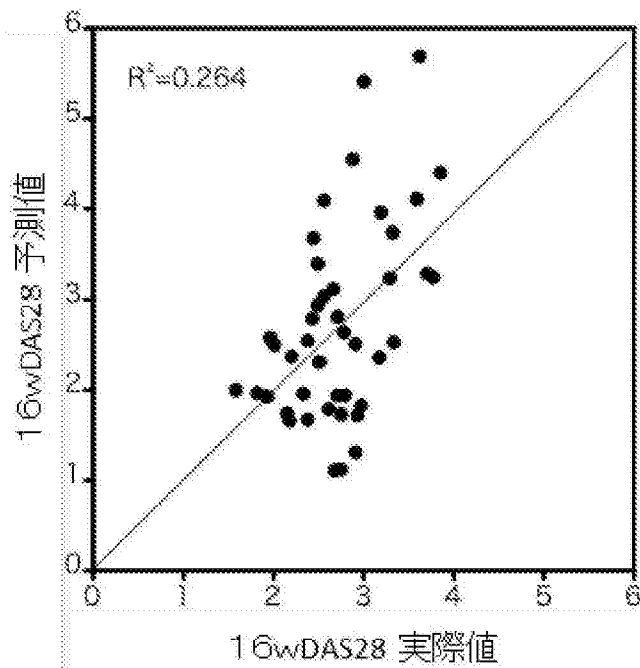
[図6]

トシリズマブ療法を受けたスイッチ患者

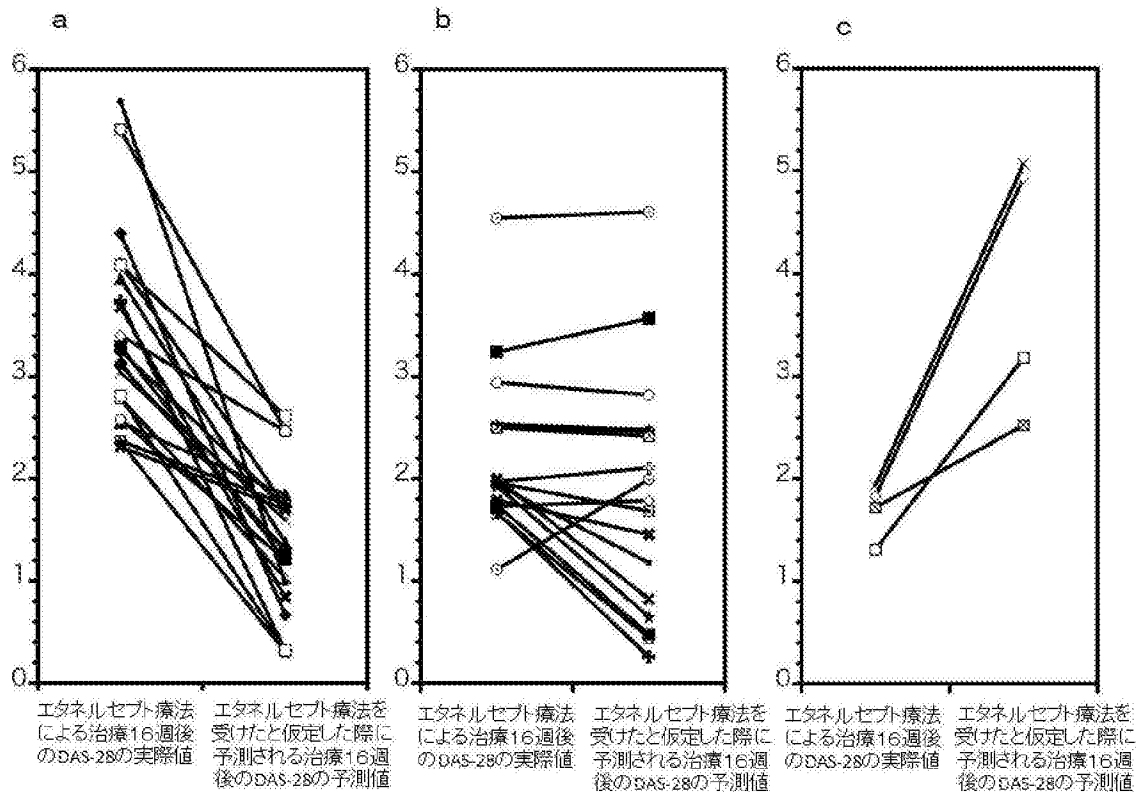


[図7]

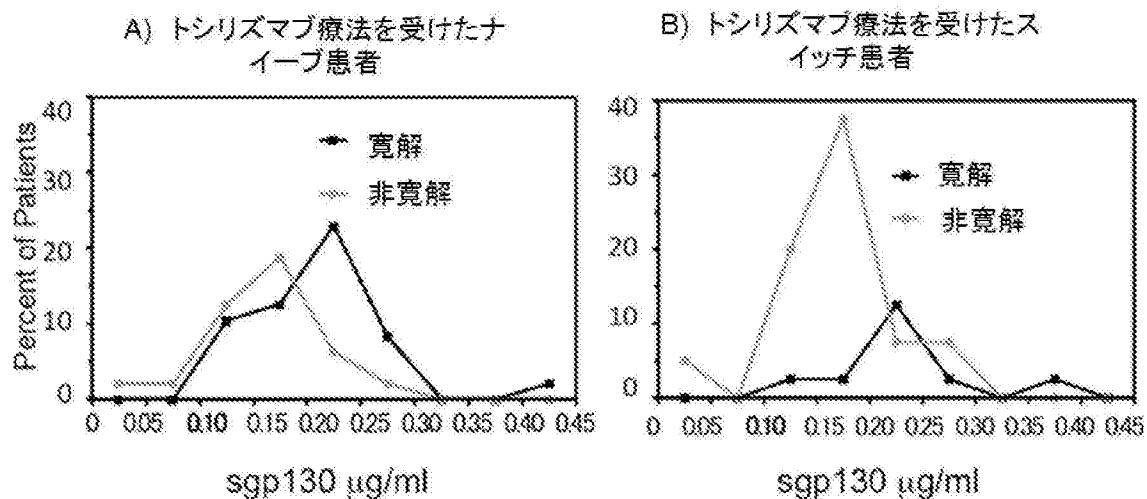
エタネルセプト療法を受けたナীব患者



[図8]



[図9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/082061

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/68 (2006.01) i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N33/68

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2015
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2015	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2015

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

CAplus/MEDLINE/BIOSIS (STN), JSTplus/JMEDplus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Shusaku NAKASHIMA et al., "Tocilizumab no Chiryō Hannosei o Shimesu Biomarker no Kento", Japan College of Rheumatology Sokai Gakujutsu Shukai Kokusai Symposium Program Shorokushu, 19 March 2013 (19.03.2013), vol.57th-22nd, page 419	1-4, 6, 7, 11, 12, 14 (Partial)
A	Hiroshi SAWANO, "MMP-3 is a Predictive Factor for Clinical Disease Activity Index Remission in Tocilizumab Treatment of Rheumatoid Arthritis", Japanese Journal of Joint Diseases, 31 July 2012 (31.07.2012), vol.31, no.2, pages 115 to 119	1-4, 6, 7, 11, 12, 14 (Partial)

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
24 February 2015 (24.02.15)

Date of mailing of the international search report
10 March 2015 (10.03.15)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/082061

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Ryo TAKAHASHI, "Seibutsugakuteki Seizai Koka Yosoku Inshi to shite no Ko CCP Kotai", Rheumatology, 28 August 2012 (28.08.2012), vol.48, no.2, pages 225 to 230	1-4, 6, 7, 11, 12, 14 (Partial)
A	Keisuke IZUMI, "Bunshi Hyotekiyaku Chiryō no Yogo to Chiryō Seiseki Hyōka Rheumatism Hyotekiyaku no Yukosei Yosoku Inshi", Japanese Journal of Clinical Medicine, 20 November 2012 (20.11.2012), vol.70, Suppl 8, pages 658 to 663	1-4, 6, 7, 11, 12, 14 (Partial)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/082061

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:

Claims 1 to 14 have a common technical feature "a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine".

However, the above-said technical feature cannot be considered to be a special technical feature, since the technical feature does not make a contribution over the prior art in the light of the contents disclosed in the document 1 or 2.

Further, there is no other same or corresponding special technical feature among these inventions.

(Continued to extra 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 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.:
1-4, 6, 7, 11, 12 and 14 (partial)

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 SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/082061

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet(2)

Accordingly, claims are classified into twenty five inventions each of which has a special technical feature indicated below.

(Invention 1) claims 1-4, 6, 7, 11, 12 and 14

Inventions relating to use of spg130 as a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

(Invention 2) claims 1 and 14

Inventions relating to use of IP-10 as a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

(Invention 3) claims 1, 10 and 14

Inventions relating to use of sTNFRI as a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

(Inventions 4-5) claims 1 and 14

Inventions relating respectively to use of sTNFRII and GM-CSF as a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

(Invention 6) claims 1, 9, 13 and 14

Inventions relating to use of IL-1 β as a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

(Inventions 7-8) claims 1 and 14

Inventions relating respectively to use of IL-2 and IL-5 as a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

(Invention 9) claims 1, 8, 10 and 14

Inventions relating to use of IL-6 as a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

(Inventions 10-11) claims 1 and 14

Inventions relating respectively to use of IL-7 and IL-8 as a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

(Invention 12) claims 1, 5, 8 and 14

Inventions relating to use of IL-9 as a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

(Inventions 13-17) claims 1 and 14

Inventions relating respectively to use of IL-10, IL-12, IL-13, IL-15 and Eotaxinas a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

(Invention 18) claims 1, 5 and 14

Inventions relating to use of VEGF as a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

(Inventions 19-22) claims 1 and 14

Inventions relating respectively to use of MCP-1, TNF- α , IFN- γ and FGFbasic as a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

(Continued to next extra sheet)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/082061

(Invention 23) claims 1, 5 and 14

Inventions relating to use of PDGF-bb as a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

(Inventions 24-25) claims 1 and 14

Inventions relating respectively to use of sIL-6R and MIP-1 α as a biomarker for predicting therapeutic effect on a rheumatoid arthritis patient of a biological preparation targeting an inflammatory cytokine.

Document 1: Ryo TAKAHASHI, "Seibutsugakuteki Seizai Koka Yosoku Inshi to shite no Ko CCP Kotai", Rheumatology, 28 August 2012 (28.08.2012), vol.48, no.2, pages 225 to 230

Document 2: Keisuke IZUMI, "Bunshi Hyotekiyaku Chiryō no Yogo to Chiryō Seiseki Hyōka Rheumatism Hyotekiyaku no Yukosei Yosoku Inshi", Japanese Journal of Clinical Medicine, 20 November 2012 (20.11.2012), vol.70, Suppl 8, pages 658 to 663

(no continuation sheet)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/68(2006.01)i		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/68		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2015年 日本国実用新案登録公報 1996-2015年 日本国登録実用新案公報 1994-2015年		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CAplus/MEDLINE/BIOSIS(STN), JSTplus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	中島崇作ほか, Tocilizumab の治療反応性を示すバイオマーカーの検討, 日本リウマチ学会総会・学術集会・国際シンポジウムプログラム・抄録集, 2013.03.19, Vol57th-22nd, P.419	1-4, 6, 7, 11, 12, 14 (部分的)
A	澤野浩, MMP-3 はトシリズマブ治療における Clinical Disease Activity Index 寛解の予測因子である, 日本関節病学会誌, 2012.07.31, Vol.31, No.2, P.115-119	1-4, 6, 7, 11, 12, 14 (部分的)
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	24.02.2015	国際調査報告の発送日
		10.03.2015
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 海野 佳子 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	2 J 3906

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	高橋良, 生物学的製剤効果予測因子としての抗CCP抗体, 月刊リウマチ科, 2012. 08. 28, Vol. 48, No. 2, P. 225-230	1-4, 6, 7, 11, 12, 14 (部分的)
A	泉啓介, 分子標的薬治療の予後と治療成績評価 リウマチ標的薬の有効性予測因子, 日本臨床, 2012. 11. 20, Vol. 70, Suppl8, P. 658-663	1-4, 6, 7, 11, 12, 14 (部分的)

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求項 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

2. 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

請求項1-14は、[関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカー]という共通の技術的特徴を有している。しかしながら、当該技術的特徴は、文献1又は2の開示内容に照らして、先行技術に対する貢献をもたらすものではないから、当該技術的特徴は、特別な技術的特徴であるとはいえない。また、これらの発明の間には、他に同一の又は対応する特別な技術的特徴は存在しない。そして、請求の範囲は、各々下記の特別な技術的特徴を有する25の発明に区分される。

(続きは、特別ページを参照。)

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

請求項 1-4, 6, 7, 11, 12, 14 (部分的)

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

(第Ⅲ欄の続き。)

(発明1) 請求項1-4, 6, 7, 11, 12, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして s p g 1 3 0 を用いることに係る発明。

(発明2) 請求項1, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして I P - 1 0 を用いることに係る発明。

(発明3) 請求項1, 10, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして s T N F R I、を用いることに係る発明。

(発明4-5) 請求項1, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして s T N F R I I、GM-C S F を用いることのそれぞれに係る発明。

(発明6) 請求項1, 9, 13, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして I L - 1 β を用いることに係る発明。

(発明7-8) 請求項1, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして I L - 2、I L - 5 を用いることのそれぞれに係る発明。

(発明9) 請求項1, 8, 10, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして I L - 6 を用いることに係る発明。

(発明10-11) 請求項1, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして I L - 7、I L - 8 を用いることのそれぞれに係る発明。

(発明12) 請求項1, 5, 8, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして I L - 9 を用いることに係る発明。

(発明13-17) 請求項1, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして I L - 1 0、I L - 1 2、I L - 1 3、I L - 1 5、E o t a x i n を用いることのそれぞれに係る発明。

(発明18) 請求項1, 5, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして V E G F を用いることに係る発明。

(発明19-22) 請求項1, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして M C P - 1、T N F - α 、I F N - γ 、F G F b a s i c を用いることのそれぞれに係る発明。

(発明23) 請求項1, 5, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして P D G F - b b を用いることに係る発明。

(続葉あり)

(発明 24-25) 請求項 1, 14

関節リウマチ患者への炎症性サイトカインを標的にした生物学的製剤による治療効果を予測するためのバイオマーカーとして s I L - 6 R、M I P - 1 α を用いることのそれぞれに係る発明。

文献 1 : 高橋良, 生物学的製剤効果予測因子としての抗 C C P 抗体, 月刊リウマチ科, 2012. 08. 28, Vol. 48, No. 2, P. 225-230

文献 2 : 泉啓介, 分子標的薬治療の予後と治療成績評価 リウマチ標的薬の有効性予測因子, 日本臨床, 2012. 11. 20, Vol. 70, Suppl8, P. 658-663

(続葉なし)