



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109642907 A

(43)申请公布日 2019.04.16

(21)申请号 201780032390.2

(22)申请日 2017.03.30

(30)优先权数据

2016-068695 2016.03.30 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.11.26

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2017/013203 2017.03.30

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/170847 JA 2017.10.05

(71)申请人 松森昭

地址 日本国大阪府箕面市新稻7丁目1-7-3

(72)发明人 松森昭

(74)专利代理机构 北京汇思诚业知识产权代理有限公司 11444

代理人 龚敏 王刚

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

C07K 16/42(2006.01)

C12Q 1/06(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

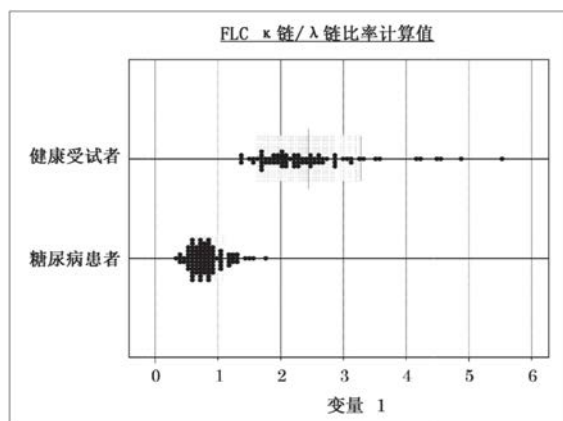
权利要求书3页 说明书19页 附图10页

(54)发明名称

用于测定糖尿病罹患的方法

(57)摘要

本发明的目的在于提供一种用于糖尿病的生物标记物,其不受膳食等的影响并且在血液采集后的储存期间几乎不会代谢。另外,本发明的目的还在于提供一种用于在糖尿病患者中检测免疫球蛋白生成细胞的激活是否存在的方法。包含在游离免疫球蛋白轻链中的κ链的浓度和λ链的浓度得到测量,并且当κ链的浓度与λ链的浓度的比率或κ链的浓度与λ链的浓度之间差值的绝对值低于阈值时,则确定受试者患有糖尿病并且免疫球蛋白生成细胞得到激活。



1. 一种针对测试受试者测定糖尿病罹患的方法,包括以下步骤(1)至(4)、步骤(1')至(4')、步骤(A)至(D)或步骤(A')至(D'):

(1) 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(2) 计算在所述步骤(1)中获得的 κ 链的浓度与 λ 链的浓度的比率(κ 链/ λ 链比率计算值);

(3) 将在所述步骤(2)中获得的所述 κ 链/ λ 链比率计算值与被定义为阈值的 κ 链/ λ 链比率(κ 链/ λ 链比率阈值)进行比较;和

(4) 当在所述步骤(3)中,所述 κ 链/ λ 链比率计算值低于所述 κ 链/ λ 链比率阈值时,确定所述测试受试者患有糖尿病;

(1') 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(2') 计算在所述步骤(1')中获得的 λ 链的浓度与 κ 链的浓度的比率(λ 链/ κ 链比率计算值);

(3') 将在所述步骤(2')中获得的所述 λ 链/ κ 链比率计算值与被定义为阈值的 λ 链/ κ 链比率(λ 链/ κ 链比率阈值)进行比较;和

(4') 当在所述步骤(3')中,所述 λ 链/ κ 链比率计算值高于所述 λ 链/ κ 链比率阈值时,确定所述测试受试者患有糖尿病;

(A) 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(B) 计算在所述步骤(A)中获得的 κ 链的浓度与 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链计算值);

(C) 将在所述步骤(B)中获得的所述 κ 链- λ 链计算值与被定义为阈值的 κ 链的浓度和 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链阈值)进行比较;和

(D) 当在所述步骤(C)中,所述 κ 链- λ 链计算值低于所述 κ 链- λ 链阈值时,确定所述测试受试者患有糖尿病;或者

(A') 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(B') 计算在所述步骤(A')中获得的 λ 链的浓度与 κ 链的浓度之间的差值的绝对值(λ 链- κ 链计算值);

(C') 将在所述步骤(B')中获得的所述 λ 链- κ 链计算值与被定义为阈值的 λ 链的浓度和 κ 链的浓度之间的差值的绝对值(λ 链- κ 链阈值)进行比较;和

(D') 当在所述步骤(C')中,所述 λ 链- κ 链计算值低于所述 λ 链- κ 链阈值时,确定所述测试受试者患有糖尿病。

2. 一种针对测试受试者测定糖尿病罹患的方法,包括以下步骤(i)至(iii):

(i) 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 λ 链的浓度;

(ii) 将在所述步骤(i)中获得的 λ 链的浓度(λ 链浓度)与被定义为阈值的 λ 链的浓度(λ 链阈值)进行比较;和

(iii) 当所述 λ 链浓度高于所述 λ 链阈值时,确定所述测试受试者患有糖尿病。

3. 一种针对测试受试者测定糖尿病罹患的方法,包括以下步骤(I)至(III):

(I) 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链的浓度;

(II) 将在所述步骤(I)中获得的 κ 链的浓度(κ 链浓度)与被定义为阈值的 κ 链的浓度(κ 链阈值)进行比较;和

(III) 当所述 κ 链浓度低于所述 κ 链阈值时,确定所述测试受试者患有糖尿病。

4. 一种针对糖尿病患者检测是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法,包括以下步骤(1)至(4)、步骤(1')至(4')、步骤(A)至(D)、步骤(A')至(D')或步骤(1'')至(4''):

(1) 测量在从患有糖尿病的测试受试者中采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(2) 计算在所述步骤(1)中获得的 κ 链的浓度与 λ 链的浓度的比率(κ 链/ λ 链比率计算值);

(3) 将在所述步骤(2)中获得的 κ 链/ λ 链比率计算值与被定义为阈值的 κ 链/ λ 链比率(κ 链/ λ 链比率阈值)进行比较;和

(4) 当在所述步骤(3)中,所述 κ 链/ λ 链比率计算值低于所述 κ 链/ λ 链比率阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活;

(1') 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(2') 计算在所述步骤(1')中获得的 λ 链的浓度与 κ 链的浓度的比率(λ 链/ κ 链比率计算值);

(3') 将在所述步骤(2')中获得的所述 λ 链/ κ 链比率计算值与被定义为阈值的 λ 链/ κ 链比率(λ 链/ κ 链比率阈值)进行比较;和

(4') 当在所述步骤(3')中,所述 λ 链/ κ 链比率计算值高于所述 λ 链/ κ 链比率阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活;

(A) 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(B) 计算在所述步骤(A)中获得的 κ 链的浓度与 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链计算值);

(C) 将在所述步骤(B)中获得的所述 κ 链- λ 链计算值与被定义为阈值的 κ 链的浓度和 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链阈值)进行比较;和

(D) 当在所述步骤(C)中,所述 κ 链- λ 链计算值低于所述 κ 链- λ 链阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活;

(A') 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(B') 计算在所述步骤(A')中获得的 λ 链的浓度与 κ 链的浓度之间的差值的绝对值(λ 链- κ 链计算值);

(C') 将在所述步骤(B')中获得的所述 λ 链- κ 链计算值与被定义为阈值的 λ 链的浓度和 κ 链的浓度之间的差值的绝对值(λ 链- κ 链阈值)进行比较;和

(D') 当在所述步骤(C')中,所述 λ 链- κ 链计算值低于所述 λ 链- κ 链阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活;或

(1'') 测量在从患有糖尿病的测试受试者采集的试样中包含在自由免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(2'') 计算在所述步骤(1'')中获得的 κ 链的浓度和 λ 链的浓度的总和(κ 链+ λ 链计算值);

(3'') 将在所述步骤(2'')中获得的所述 κ 链+ λ 链计算值与被定义为阈值的 κ 链+ λ 链值(κ 链+ λ 链阈值)进行比较;和

(4'') 当在所述步骤(3'')中,所述 κ 链+ λ 链计算值高于所述 κ 链+ λ 链阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活。

5. 一种针对糖尿病患者检测是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法,包括以下步骤(i)至(iii):

(i) 测量在从患有糖尿病的测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 λ 链的浓度;

(ii) 将在所述步骤(i)中获得的 λ 链的浓度(λ 链浓度)与被定义为阈值的 λ 链的浓度(λ 链阈值)进行比较;和

(iii) 当所述 λ 链浓度高于所述 λ 链阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活。

6. 一种针对糖尿病患者检测是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法,包括以下步骤(I)至(III):

(I) 测量在从患有糖尿病的测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链的浓度;

(II) 将在所述步骤(I)中获得的 κ 链的浓度(κ 链浓度)与被定义为阈值的 κ 链的浓度(κ 链阈值)进行比较;和

(III) 当所述 κ 链浓度低于所述 κ 链阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活。

7. 一种用于执行根据权利要求1或4所述的方法的测试试剂盒,包括:

游离免疫球蛋白 κ 轻链捕捉抗体;

游离免疫球蛋白 κ 轻链检测抗体;

游离免疫球蛋白 λ 轻链捕捉抗体;和

游离免疫球蛋白 λ 轻链检测抗体。

8. 一种用于执行根据权利要求1、2、4或5所述的方法的测试试剂盒,包括:

游离免疫球蛋白 λ 轻链捕捉抗体;和

游离免疫球蛋白 λ 轻链检测抗体。

9. 一种用于执行根据权利要求1、3、4或6所述的方法的测试试剂盒,包括:

游离免疫球蛋白 κ 轻链捕捉抗体;和

游离免疫球蛋白 κ 轻链检测抗体。

10. 一种用于执行根据权利要求1、2、4或5所述的方法的测试试剂,包含游离免疫球蛋白 λ 轻链抗体。

11. 一种用于执行根据权利要求1、3、4或6所述的方法的测试试剂,包含游离免疫球蛋白 κ 轻链抗体。

用于测定糖尿病罹患的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种确定糖尿病罹患的方法,一种检测糖尿病患者是否存在免疫球蛋白生成细胞激活的方法,以及用于这些方法的测试试剂和测试试剂盒。

背景技术

[0002] 迄今为止,包括 κ 链和 λ 链的游离免疫球蛋白轻链(FLC)已用于诊断血液疾病,例如骨髓瘤和淀粉样变性。在骨髓瘤中,根据经历致瘤性转化的细胞种类,在产生免疫球蛋白 κ 轻链的肿瘤中, κ 链增加以提高 κ 链/ λ 链比率,而在产生免疫球蛋白 λ 轻链的肿瘤中, λ 链增加以降低 κ 链/ λ 链比率。

[0003] 此外,在骨髓瘤以外的疾病中,已经报道FLC用作有用的标记物。例如,在专利文献1中,提出了一种检测选自心力衰竭、心肌症、心肌炎和急性心肌梗塞中的至少一种疾病的方法,包括使用 κ FLC水平、 λ FLC水平和 κ 链/ λ 链比率中的任何一个或多个值作为标记物。在非专利文献1中,提出使用cFLC(多克隆组合免疫球蛋白游离轻链: κ FLC含量和 λ FLC含量的总值)作为2型糖尿病患者中心血管疾病事件风险的标记物。在非专利文献2中表明, κ 链/ λ 链比率通过慢性肾病(CKD)阶段逐渐增加。

[0004] 此外,在专利文献1和非专利文献3中,报道了一种以更高灵敏度检测 κ FLC水平和 λ FLC水平的方法。

引文列表

专利文献

[0005] 专利文献1:JP 4950879B2

专利文献2:W02010/049672A2

非专利文献

[0006] 非专利文献1:Diabetes care,2014,37,p2028-2030

非专利文献2:Clin J Am SocNephrol.2008年11月;3(6):1684-1690。

非专利文献3:J Immunol Methods.2013年5月31日;391(1-2):1-13

发明内容

技术问题

[0007] 目前,使用血糖水平、血红蛋白A1c浓度等作为标记物来进行糖尿病的诊断。然而,血糖水平由于膳食等的影响而波动,因此需要测量空腹血糖水平来进行糖尿病的诊断。另外,在血液采集后,血红细胞代谢在血液采集管中的血液中的葡萄糖,因此需要使用含有氟化钠作为糖酵解抑制剂的血液采集管进行血液采集,以测量血糖水平、血红蛋白A1c等。

[0008] 鉴于上文,本发明的目的是提供一种不受膳食等影响的糖尿病生物标记物,并且在血液采集后的储存期间几乎不会被代谢。特别地,由于I型糖尿病是自身免疫疾病,因此本发明的另一个目的是提供一种检测糖尿病患者中是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法。

问题的解决方案

[0009] 本发明的发明人进行了深入研究, 结果发现, 在糖尿病患者中, 与健康受试者中的 κ FLC浓度相比, 血液中 κ FLC浓度降低, 以及与健康受试者中的 λ FLC浓度相比, 血液中 λ FLC浓度增加。发明人进一步发现, 伴随这种现象, 与健康受试者相比, 在糖尿病患者的血液中 κ FLC浓度与 λ FLC浓度的比率、以及 κ FLC浓度与 λ FLC浓度之间的差值的绝对值显著降低。

[0010] 基于该发现完成了本发明, 并且本发明包括以下方面。

项目1.

1. 一种针对测试受试者测定糖尿病罹患的方法, 包括以下步骤(1)至(4)、步骤(1')至(4')、步骤(A)至(D)或步骤(A')至(D'):

(1) 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(2) 计算步骤(1)中获得的 κ 链的浓度与 λ 链的浓度的比率(κ 链/ λ 链比率计算值);

(3) 将步骤(2)中获得的所述 κ 链/ λ 链比率计算值与被定义为阈值的 κ 链/ λ 链比率(κ 链/ λ 链比率阈值)进行比较; 和

(4) 当在步骤(3)中, 所述 κ 链/ λ 链比率计算值低于所述 κ 链/ λ 链比率阈值时, 确定所述测试受试者患有糖尿病;

(1') 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(2') 计算步骤(1')中获得的 λ 链的浓度与 κ 链的浓度的比率(λ 链/ κ 链比率计算值);

(3') 将在步骤(2')中获得的所述 λ 链/ κ 链比率计算值与被定义为阈值的 λ 链/ κ 链比率(λ 链/ κ 链比率阈值)进行比较; 和

(4') 当在步骤(3')中, 所述 λ 链/ κ 链比率计算值高于所述 λ 链/ κ 链比率阈值时, 确定所述测试受试者患有糖尿病;

(A) 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(B) 计算在步骤(A)中获得的 κ 链的浓度与 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链计算值);

(C) 将步骤(B)中获得的所述 κ 链- λ 链计算值与被定义为阈值的 κ 链的浓度和 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链阈值)进行比较; 和

(D) 当在步骤(C)中, 所述 κ 链- λ 链计算值低于所述 κ 链- λ 链阈值时, 确定所述测试受试者患有糖尿病; 或者

(A') 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(B') 计算步骤(A')中获得的 λ 链的浓度与 κ 链的浓度之间的差值的绝对值(λ 链- κ 链计算值);

(C') 将在步骤(B')中获得的所述 λ 链- κ 链计算值与被定义为阈值的 λ 链的浓度和 κ 链的浓度之间的差值的绝对值(λ 链- κ 链阈值)进行比较; 和

(D') 当在步骤(C')中所述 λ 链- κ 链计算值低于所述 λ 链- κ 链阈值时, 确定所述测试受试者患有糖尿病。

[0011] 项目2.

一种针对测试受试者测定糖尿病罹患的方法,包括以下步骤(i)至(iii):

(i) 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 λ 链的浓度;

(ii) 将步骤(i)中获得的 λ 链的浓度(λ 链浓度)与被定义为阈值的 λ 链的浓度(λ 链阈值)进行比较;和

(iii) 当所述 λ 链的浓度高于所述 λ 链阈值时,确定所述测试受试者患有糖尿病。

[0012] 项目3.

一种针对测试受试者测定糖尿病罹患的方法,包括以下步骤(I)至(III):

(I) 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链的浓度;

(II) 将步骤(i)中获得的 κ 链的浓度(κ 链浓度)与被定义为阈值的 κ 链的浓度(κ 链阈值);和

(III) 当所述 κ 链的浓度低于所述 κ 链阈值时,确定所述测试受试者患有糖尿病。

[0013] 项目4.

一种为糖尿病患者检测是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法,包括以下步骤(1)至(4)、步骤(1')至(4')、步骤(A)至(D)、步骤(A')至(D')或步骤(1'')至(4''):

(1) 测量在从患有糖尿病的测试受试者中采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(2) 计算步骤(1)中获得的 κ 链的浓度与 λ 链的浓度的比率(κ 链/ λ 链比率计算值);

(3) 将步骤(2)中获得的 κ 链/ λ 链比率计算值与被定义为阈值的 κ 链/ λ 链比率(κ 链/ λ 链比率阈值)进行比较;和

(4) 当在步骤(3)中,所述 κ 链/ λ 链比率计算值低于所述 κ 链/ λ 链比率阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活;

(1') 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(2') 计算步骤(1')中获得的 λ 链的浓度与 κ 链的浓度的比率(λ 链/ κ 链比率计算值);

(3') 将在步骤(2')中获得的所述 λ 链/ κ 链比率计算值与被定义为阈值的 λ 链/ κ 链比率(λ 链/ κ 链比率阈值)进行比较;和

(4') 当在步骤(3')中所述 λ 链/ κ 链比率计算值高于所述 λ 链/ κ 链比率阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活;

(A) 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(B) 计算在步骤(A)中获得的 κ 链的浓度与 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链计算值);

(C) 将步骤(B)中获得的所述 κ 链- λ 链计算值与被定义为阈值的 κ 链的浓度和 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链阈值)进行比较;和

(D) 当在步骤(C)中,所述 κ 链- λ 链计算值低于所述 κ 链- λ 链阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活;

(A') 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(B') 计算步骤(A')中获得的 λ 链的浓度与 κ 链的浓度之间的差值的绝对值(λ 链- κ 链计算值);

(C') 将在步骤(B')中获得的所述 λ 链- κ 链计算值与被定义为阈值的 λ 链的浓度和 κ 链的浓度之间的差值的绝对值(λ 链- κ 链阈值)进行比较;和

(D') 当在步骤(C')中,所述 λ 链- κ 链计算值低于所述 λ 链- κ 链阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活;或

(1'') 测量在从患有糖尿病的测试受试者采集的试样中包含在自由免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;

(2'') 计算在步骤(1'')中获得的 κ 链的浓度和 λ 链的浓度的总和(κ 链+ λ 链计算值);

(3'') 将步骤(2'')中获得的所述 κ 链+ λ 链计算值与被定义为阈值的 κ 链+ λ 链值(κ 链+ λ 链阈值)进行比较;和

(4'') 当在步骤(3'')中,所述 κ 链+ λ 链计算值高于所述 κ 链+ λ 链阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活。

[0014] 项目5.

一种检测糖尿病患者是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法,包括以下步骤(i)至(iii):

(i) 测量在从患有糖尿病的测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 λ 链的浓度;

(ii) 将步骤(i)中获得的 λ 链的浓度(λ 链浓度)与被定义为阈值的 λ 链的浓度(λ 链阈值)进行比较;和

(iii) 当所述 λ 链浓度高于所述 λ 链阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活。

[0015] 项目6.

一种为糖尿病患者检测是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法,包括以下步骤(I)至(III):

(I) 测量在从患有糖尿病的测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链的浓度;

(II) 将步骤(I)中获得的 κ 链的浓度(κ 链浓度)与被定义为阈值的 κ 链的浓度(κ 链阈值)进行比较;和

(III) 当 κ 链的浓度低于 κ 链阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活。

[0016] 项目7.

一种用于执行根据项目1或项目4所述的方法的测试试剂盒,包括:

游离免疫球蛋白 κ 轻链捕捉抗体;

游离免疫球蛋白 κ 轻链检测抗体;

游离免疫球蛋白 λ 轻链捕捉抗体;和

游离免疫球蛋白 λ 轻链检测抗体。

[0017] 项目8.

一种用于执行根据项目1、2、4或5所述的方法的测试试剂盒,包括:

游离免疫球蛋白 λ 轻链捕捉抗体;和
游离免疫球蛋白 λ 轻链检测抗体。

[0018] 项目9.

一种用于执行根据项目1、3、4或6所述的方法的测试试剂盒,包括:
游离免疫球蛋白 κ 轻链捕捉抗体;和
游离免疫球蛋白 κ 轻链检测抗体。

[0019] 项目10.

一种用于执行根据项目1、2、4或5所述的方法的测试试剂,包含游离免疫球蛋白 λ 轻链抗体。

[0020] 项目11.

一种用于执行根据项目1、3、4或6所述的方法的测试试剂,包含游离免疫球蛋白 κ 轻链抗体。

发明的有益效果

[0021] 根据本发明,糖尿病的罹患可以使用待用于另一种生化试验等的血清或血浆来确定。另外,用于测量的血液采集不需要在空腹时进行,并且不需要使用特殊抗凝血剂来进行血液采集。因此,可以减轻在血液采集时患者的负担。另外,根据本发明,可以为糖尿病患者检测免疫球蛋白生成细胞的激活。因此,可以判断糖尿病患者伴有免疫球蛋白生成细胞的激活,从而可以判断是否需要糖尿病患者进行抑制免疫球蛋白生成细胞的激活的治疗。

附图说明

[0022] 图1为糖尿病患者和健康受试者的 κ FLC/ λ FLC比率计算值的分布图。

图2为糖尿病患者和健康受试者的 κ FLCL- λ FLC计算值的分布图。

图3为糖尿病患者和健康受试者的 κ FLC浓度分布图。

图4为糖尿病患者和健康受试者的 λ FLC浓度分布图。

图5为糖尿病患者和健康受试者的 κ FLC+ λ FLC比率计算值的分布图。

图6为糖尿病患者的 κ FLCL/ λ FLC比率计算值和健康受试者的 κ FLC/ λ FLC比率计算值的ROC曲线图。

图7为糖尿病患者的 κ FLCL- λ FLC计算值和健康受试者的 κ FLC- λ FLC计算值的ROC曲线图。

图8为糖尿病患者的 κ FLC浓度和健康受试者的 κ FLC浓度的ROC曲线图。

图9为糖尿病患者的 λ FLC浓度和健康受试者的 λ FLC浓度的ROC曲线图。图10为糖尿病患者的 κ FLC+ λ FLC比率计算值和健康受试者的 κ FLC+ λ FLC比率计算值的ROC曲线图。

具体实施方式

[0023] 1. 术语说明

首先描述在本发明的说明书、权利要求和摘要中使用的术语。

[0024] 在本发明中,在人的情况下,术语“糖尿病”是指发表于“Tonyoby”,日本糖尿病学会杂志(the Journal of The Japan Diabetes Society)(第55卷,(2012),No.7,第485-504页;以下称为“委员会报告”)中的“关于糖尿病分类和诊断标准的委员会报告”(日本

HbA1c的国际协调修订)中描述的“糖尿病”。具体而言,根据表1确定一个人是否患有糖尿病(引用委员会报告的表4)。

表1

临床诊断:

1) 在初始测试中发现以下任意一项的病例可以判定为“糖尿病型”: (1) 空腹血糖水平 $\geq 126\text{mg/dl}$, (2) 2小时75g OGTT值 $\geq 200\text{mg/dl}$ 、(3) 偶然血糖水平 $\geq 200\text{mg/dl}$ 和(4) HbA1c (NGSP) $\geq 6.5\%$ (HbA1c (JDS) $\geq 6.1\%$)。在另一天进行再测试,如果再次确认“糖尿病型”,则该病例被诊断为糖尿病*。但是,不允许通过仅重复测试 HbA1c 进行诊断。另外,如果确认血糖水平和 HbA1c 指示相同血液采集中的糖尿病类型((1)至(3)和(4)中的任何一个),则该病例可以仅通过初试测试被诊断为糖尿病。

2) 在血糖水平指示糖尿病类型((1)至(3)中的任一个)并且满足以下任一条件的病例可以仅通过初始测试被诊断为糖尿病。

·存在典型的糖尿病症状(口干、烦渴、多尿和体重减轻)

·存在明确的糖尿病视网膜病变

3) 在可以确认过去满足上述条件1)或2)的病例需要被诊断为糖尿病或作为疑似糖尿病处理的情况,即使当前的测试值不满足上述条件。

4) 在甚至通过上述1)至3)难以判断为糖尿病的病例中,患者随后怀疑患

有糖尿病并且在一段时间后重新测试。

5) 在初始测试和重新测试中选择判断方法时请注意以下事项。

·当 HbA1c 用于初始测试中的判断时,为了诊断必须在重新测试中包括另一种判断方法。在测试中,原则上,测量血糖水平和 HbA1c。

·当基于偶然血糖水平 $\geq 200\text{mg/dl}$ 进行初始测试中的判断时,期望的是通过另一种测试方法进行再测试。

·在其中 HbA1c 和平均血糖水平可能有间隔的疾病/情况的病例中,需要基于血糖水平的诊断(表 5)。

流行病学调查:在旨在估计糖尿病罹患的情况下,通过单一测试对“糖尿病类型”的判断可以被解读为“糖尿病”。如果可能,使用 HbA1c (NGSP) $\geq 6.5\%$ (HbA1c (JDS) $\geq 6.1\%$) 或 2 小时 OGTT 值 $\geq 200\text{mg/dl}$ 的标准。

检查:确定检测糖尿病及其高危人群是非常重要的。对于筛选,不仅涉及血糖水平和 HbA1c,还涉及临床信息,例如家族史和肥胖症。

*需要在无压力状态下确认高血糖。

[0025] 在本发明中,术语“糖尿病患者”是指被诊断患有糖尿病的患者,患有继发性糖尿病性肾病的患者可以优选地从糖尿病患者中排除。

[0026] 在本发明中,术语“测试受试者”是指可以应用稍后描述的根据本发明的确定方法的个体。

[0027] 在本发明中,“个体”没有特别限制,并且其示例包括哺乳动物,例如人、小鼠、大鼠、狗、猫、兔、牛、马、山羊、绵羊和猪。其中,优选人、狗、猫等,更优选人。此外,个体包括患有疾病的个体和没有疾病的个体(健康个体)。个体的年龄和性别(雄性或雌性)不受限制。

[0028] 在本发明中,术语“试样”是指来自测试受试者的细胞、组织、血样和体液(汗液、皮肤分泌物、泪液、唾液、脑脊髓液、腹水和胸腔积液),优选尿液和血样,更优选血样。“血样”包括例如从测试受试者采集的血液(全血),或从血液所制备的血清或血浆。其中,更优选血清或血浆,更优选血清。用于采集血浆的抗凝血剂的种类没有特别限制。用于测量的测试受试者的血样和用于确定阈值的血样可以是相同种类或可以是不同种类,但优选是相同种类。另外,当血浆被用作血样时,优选使用与测试受试者的血浆相同的抗凝血剂采集的血液来制备用于确定阈值的血浆。

[0029] 此外,试样可以是新鲜的,或者可以是储存的。当储存试样时,试样可以储存在室温环境、冷藏环境或冷冻环境中,优选冷冻储存。

[0030] 在本发明中,免疫球蛋白生成细胞是指能够生成免疫球蛋白的细胞,包括B淋巴细胞、浆细胞等。另外,在本发明中,免疫球蛋白生成细胞的激活是指免疫球蛋白生成细胞的生成抗体能力被提高或可以被提高的状态。

[0031] 在本发明中,游离免疫球蛋白轻链(FLC)也称为免疫球蛋白游离L链或Bence Jones蛋白。游离免疫球蛋白轻链例如是与免疫球蛋白重链无关的免疫球蛋白轻链的单体

或二聚体。免疫球蛋白轻链基于抗原性的差异分为两种,即 κ 链和 λ 链。在下文中,游离免疫球蛋白 κ 轻链有时被称为 κ FLC,或简称为 κ 链。类似地,游离免疫球蛋白 λ 轻链有时被称为 λ FLC,或简称为 λ 链。

[0032] “ κ 链浓度”是指试样中游离免疫球蛋白 κ 轻链的浓度,并且可以是摩尔浓度或试样的单位给定体积的质量比(质量/体积),但是优选质量/体积。” λ 链浓度”是指试样中游离免疫球蛋白 λ 轻链的浓度,并且可以是摩尔浓度或试样的单位给定体积的质量比(质量/体积),但是优选质量/体积。

[0033] 作为反映“浓度”的值,除了前述之外,还可以使用信号强度(例如,荧光或冷光)。

[0034] 在本发明中, κ 链的浓度与 λ 链的浓度的比率有时被称为“ κ 链/ λ 链比率计算值”,以及 λ 链的浓度与 κ 链的浓度的比率有时被称为“ λ 链/ κ 链比率计算值”。另外, κ 链的浓度与 λ 链的浓度之间的差值的绝对值有时被称为“ κ 链- λ 链计算值”,以及 λ 链的浓度与 κ 链的浓度之间的差值的绝对值有时被称为“ λ 链- κ 链计算值”。符号“-”表示“减号”。此外, κ 链的浓度有时被称为“ κ 链浓度”,并且 λ 链的浓度有时被称为“ λ 链浓度”。另外, κ 链的浓度和 λ 链的浓度的总和有时称为“ κ 链+ λ 链计算值”。符号“+”表示“加号”。

[0035] 在本发明中,术语“阈值”是指,例如,从没有患糖尿病的个体的试样中的 κ 链和/或 λ 链的浓度获得的预确定的阈值,并且优选为从健康个体的试样中的 κ 链的浓度和/或 λ 链获得的预确定的阈值。

[0036] 例如,“预确定的阈值”如下:在下文将描述的“3. 确定罹患糖尿病的方法”和“4. 检测是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法”中,对应于来自测试受试者的试样中 κ 链的浓度与 λ 链的浓度的比率(κ 链/ λ 链比率计算值)的阈值(κ 链/ λ 链比率阈值)是来自未患糖尿病的个体的试样中 κ 链的浓度与 λ 链的浓度的比率;对应于 λ 链的浓度与 κ 链的浓度的比率(λ 链/ κ 链比率计算值)的阈值(λ 链/ κ 链比率阈值)是来自未患糖尿病的个体的试样中 λ 链的浓度与 κ 链的浓度的比率。另外,对应于来自测试受试者的试样中的 κ 链的浓度与 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链计算值)的阈值(κ 链- λ 链阈值)是来自未患糖尿病的个体的试样中 κ 链的浓度与 λ 链的浓度之间的差值的绝对值;以及对应于来自测试受试者的试样中的 λ 链的浓度与 κ 链的浓度之间的差值的绝对值(λ 链- κ 链计算值)的阈值(λ 链- κ 链阈值)是来自未患糖尿病的个体的试样中 λ 链的浓度与 κ 链的浓度之间的差值的绝对值。此外,对应于来自测试受试者的试样中 κ 链的浓度与 λ 链的浓度(κ 链+ λ 链计算值)的总和的阈值(κ 链+ λ 链阈值)是来自未患糖尿病的个体的试样中 κ 链的浓度与 λ 链的浓度的总和。此外,对应于来自测试受试者的试样中的 κ 链的浓度(κ 链浓度)的阈值(κ 链阈值)是来自未患糖尿病的个体的试样中的 κ 链的浓度。此外,对应于来自测试受试者的试样中 λ 链的浓度(λ 链浓度)的阈值(λ 链阈值)是来自未患糖尿病的个体的试样中 λ 链的浓度。

[0037] 另外,作为“预确定的阈值”的阈值的另一方面,可以以下面的方式获得阈值。例如,获得了由从患有糖尿病的多个个体采集的试样计算的 κ 链/ λ 链比率计算值、 λ 链/ κ 链计算值、 κ 链- λ 链计算值、 λ 链- κ 链计算值、或 κ 链+ λ 链计算值,以及由从没有患有糖尿病的多个个体采集的试样计算的 κ 链/ λ 链比率计算值、 λ 链/ κ 链计算值、 κ 链- λ 链计算值、 λ 链- κ 链计算值或 κ 链+ λ 链计算值。在多个值的基础上,能够最准确地分开糖尿病阳性(下文中简称为“阳性”)和糖尿病阴性(下文中简称为“阴性”)的值可以用作为“阈值”。对多个患有糖尿病的个体采集的试样分别测量 κ 链的浓度或 λ 链的浓度,并且对来自多个未患糖尿病的个体的试样

分别测量 κ 链的浓度或 λ 链的浓度。在得到的多个值的基础上,能够最准确地分开“阳性”和“阴性”的值可以用作为“阈值”。对多个患有糖尿病的个体采集的试样分别测量 κ 链的浓度或 λ 链的浓度,并且对来自多个未患糖尿病的个体的试样分别测量 κ 链的浓度或 λ 链的浓度。在获得的多个值的基础上,能够最准确地分开“阳性”和“阴性”的值可以用作为“阈值”。这里,根据测试目的,可以基于诸如灵敏度、特异性、阳性预测值或阴性预测值的值适当地设置“能够最准确进行分开的值”。

[0038] 另外,“预确定的阈值”的另一面如下所述。

[0039] 作为一个方面,当使用 κ 链/ λ 链比率计算值作为标记物来诊断糖尿病时,可以采用从多个患有糖尿病的个体获得的各个试样中的 κ 链/ λ 链比率计算值中的最高值作为阈值。例如,当希望在筛选测试中尽可能地减少假阴性时,可以适当地使用这种阈值。相反,当使用 κ 链/ λ 链比率计算值作为标记物来诊断糖尿病时,来自未患糖尿病的多个个体的试样中的 κ 链/ λ 链比率计算值中的最低值可被确定为阈值。例如,当希望尽可能减少假阳性时,可以适当地使用这种阈值。

[0040] 作为一个方面,当使用 λ 链/ κ 链比率计算值作为标记物来诊断糖尿病时,可以采用从多个患有糖尿病的个体获得的各个试样中的 λ 链/ κ 链比率计算值中的最低值作为阈值。例如,当希望在筛选测试中尽可能地减少假阳性时,可以适当地使用这种阈值。相反,当使用 λ 链/ κ 链比率计算值作为标记物来诊断糖尿病时,来自未患糖尿病的多个个体的试样中 λ 链/ κ 链比率计算值中的最高值可被确定为阈值。例如,当希望尽可能减少假阴性时,可以适当地使用这种阈值。

[0041] 作为“预确定的阈值”的另一个方面,当使用 κ 链- λ 链计算值作为标记物来诊断糖尿病时,可以采用从多个患有糖尿病的个体获得的各个试样中的 κ 链- λ 链计算值中的最高值作为阈值。例如,当希望在筛选测试中尽可能地减少假阴性时,可以适当地使用这种阈值。相反,当使用 κ 链- λ 链计算值作为标记物来诊断糖尿病时,来自未患糖尿病的多个个体的试样中的 κ 链- λ 链计算值中的最低值可被确定为阈值。例如,当希望尽可能减少假阳性时,可以适当地使用这种阈值。

[0042] 作为“预确定的阈值”的另一个方面,当使用 λ 链- κ 链计算值作为标记物来诊断糖尿病时,可以采用从患有糖尿病的多个个体的各个试样中获得的 λ 链- κ 链计算值中的最高值作为阈值。例如,当希望在筛选测试中尽可能地减少假阴性时,可以适当地使用这种阈值。相反,当使用 λ 链- κ 链计算值作为标记物来诊断糖尿病时,来自未患糖尿病的多个个体的试样中的 λ 链- κ 链计算值中的最低值可被确定为阈值。例如,当希望尽可能减少假阳性时,可以适当地使用这种阈值。

[0043] 作为“预确定的阈值”的另一面,当使用 κ 链+ λ 链比率计算值作为标记物来诊断糖尿病时,可以采用从患有糖尿病的多个个体获得的各个试样中的 κ 链+ λ 链比率计算值中的最低值作为阈值。例如,当希望在筛选测试中尽可能地减少假阳性时,可以适当地使用这种阈值。相反,当使用 κ 链+ λ 链比率计算值作为标记物来诊断糖尿病时,来自多个未患糖尿病的个体的样本中的 κ 链+ λ 链比率计算值中的最高值可被确定为阈值。例如,当希望尽可能减少阳性时,可以适当地使用这种阈值。

[0044] 作为“预确定的阈值”的另一面,当使用 κ 链的浓度作为标记物来诊断糖尿病时,可以采用从多个患有糖尿病的个体获得的各个试样中的 κ 链的浓度中的最高值作为阈值。

例如,当希望在筛选测试中尽可能地减少假阴性时,可以适当地使用这种阈值。相反,当使用 κ 链的浓度作为标记物来诊断糖尿病时,来自未患糖尿病的多个个体的试样中的 κ 链的浓度中的最低值可被确定为阈值。例如,当希望尽可能减少假阳性时,可以适当地使用这种阈值。

[0045] 作为“预确定的阈值”的另一方面,当使用 λ 链的浓度作为标记物来诊断糖尿病时,可以采用从多个患有糖尿病的个体获得的各个试样中的 λ 链的浓度中的最低值作为阈值。例如,当希望在筛选测试中尽可能地减少假阳性时,可以适当地使用这种阈值。相反,当使用 λ 链的浓度作为标记物来诊断糖尿病时,来自未患糖尿病的多个个体的试样中的 λ 链的浓度中的最高值可被确定为阈值。例如,当希望尽可能减少假阴性时,可以适当地使用这种阈值。

[0046] 另外,作为另一方面,阈值可以是来自一个未患糖尿病的个体的试样中的 κ 链/ λ 链比率计算值、 κ 链- λ 链计算值、 κ 链+ λ 链比率计算值、 κ 链的浓度、或 λ 链的浓度本身,或来自多个未患糖尿病的个体的试样中的 κ 链/ λ 链比率计算值、 κ 链- λ 链计算值、 κ 链+ λ 链计算值、 κ 链的浓度或 λ 链的浓度的平均值、中值或单值(aspect)。

[0047] 此外,作为阈值,患有糖尿病之前的测试受试者的 κ 链/ λ 链比率计算值、 λ 链/ κ 链比率计算值、 κ 链- λ 链计算值、 λ 链- κ 链计算值、 κ 链+ λ 链比率计算值、 κ 链的浓度或 λ 链的浓度(其可以是一个值,或者可以是例如多个值的平均值、中值或单值)可用于相同的测试受试者。

[0048] 作为另一方面,当上述阈值得到确定时,来自一个健康个体的试样中的 κ 链/ λ 链比率计算值、 κ 链- λ 链计算值、 κ 链+ λ 链比率计算值、 κ 链的浓度或 λ 链的浓度可用于代替来自一个未患糖尿病的个体的试样中的 κ 链/ λ 链比率计算值、 λ 链/ κ 链比率计算值、 κ 链- λ 链计算值、 λ 链- κ 链计算值、 κ 链+ λ 链比率计算值、 κ 链的浓度或 λ 链的浓度。

[0049] 在获得来自测试受试者的试样中的 κ 链/ λ 链比率计算值、 λ 链/ κ 链计算值、 κ 链- λ 链计算值、 λ 链- κ 链计算值、 κ 链+ λ 链比率计算值、 κ 链的浓度或 λ 链的浓度时,可以确定那些阈值,但也可以预先确定。

[0050] “健康个体”没有特别限制。“健康个体”优选是指在“个体”部分中描述的人或非人哺乳动物并且在生化测试、血液测试、尿液测试、血清测试、生理测试等中没有显示异常数据的个体。健康个体的年龄和性别没有特别限制。

[0051] “未患糖尿病的个体”除了个体未患糖尿病之外没有特别限制。“未患糖尿病的个体”优选是指在“个体”部分中描述的人或非人哺乳动物并且根据已知的诊断标准不能被诊断为糖尿病的个体。

[0052] “多个试样”是指两个或更多个、优选五个或更多个、更优选十个或更多个生物样品。“多个试样”可以是不同个体采集的试样,或者可以是同个体在不同时间采集的多个试样。

[0053] “多个值”是指两个或更多个、优选五个或更多个、更优选十个或更多个的 κ 链/ λ 链比率计算值、 λ 链/ κ 链比率计算值、 κ 链- λ 链计算值、 λ 链- κ 链计算值、 κ 链+ λ 链比率计算值、 κ 链浓度或 λ 链浓度。

[0054] “多个个体”是指两个或更多个、优选五个或更多个、更优选十个或更多个个体。

[0055] 从其中获得 κ 链/ λ 链比率计算值、 λ 链/ κ 链计算值、 κ 链- λ 链计算值、 λ 链- κ 链计算

值、 κ 链+ λ 链比率计算值、 κ 链浓度或 λ 链浓度以确定阈值的个体以及测试受试者不一定需要是相同的物种、年龄、性别等,但优选为相同类型。另外,个体优选是与测试受试者相同的代和/或相同的性别。

[0056] 在本发明中,“游离免疫球蛋白 κ 轻链抗体”也称为“抗 κ 链抗体”。游离免疫球蛋白 κ 轻链抗体不受限制,只要游离免疫球蛋白 κ 轻链抗体特异性结合到 κ 链,并且可以使用通过用 κ 链或其部分作为抗原而免疫非人动物获得的任何多克隆抗体和单克隆抗体及其片段(例如Fab和F(ab)₂)。然而,优选从抗原中去除至少一个高变区。另外,免疫球蛋白的类别和亚类没有特别限制。另外,抗 κ 链抗体可以是嵌合抗体。此外,抗 κ 链抗体可以是scFv等。另外,作为抗 κ 链抗体,也可以使用例如专利文献2或非专利文献3中记载的抗体,或可购买到的商品,例如抗 κ 轻链抗体[RM103](ab190484)(Abcam plc)。

[0057] 在本发明中,“游离免疫球蛋白 λ 轻链抗体”也称为“抗 λ 链抗体”。游离免疫球蛋白 λ 轻链抗体不受限制,只要游离免疫球蛋白 λ 轻链抗体特异性结合到 λ 链,以及可以使用通过用作抗原的用 λ 链或其部分免疫非人动物获得的任何多克隆抗体和单克隆抗体和其片段(例如Fab和F(ab)₂)。然而,优选从抗原中去除至少一个高变区。另外,免疫球蛋白的类别和亚类没有特别限制。另外,抗 λ 链抗体可以是嵌合抗体。此外,抗 λ 链抗体可以是scFv等。另外,作为抗 λ 链抗体,也可以使用例如专利文献2或非专利文献3中记载的抗体、或市售品,例如抗 λ 轻链抗体[2G9](ab1943)(Abcam plc)。

[0058] 在本发明中,术语“捕捉抗体”是指在ELISA方法等中用于捕捉抗原目的的抗体。另外,术语“检测抗体”是指用于检测抗原的抗体,优选下文描述的标记物质标记的抗体。

[0059] 2. 测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法

在本部分中,对在下文将描述的“3. 确定罹患糖尿病的方法”和“4. 检测是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法”中测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法进行描述。

[0060] 当测量 κ FLC和 λ FLC的浓度时,可以使用在“1. 术语描述”中描述的使用抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体的测量方法。已知的ELISA方法等可以用作测量 κ 链的浓度或 λ 链的浓度的方法。另外,使用竞争性ELISA方法作为具有更高灵敏度的方法进行测量。可以在两个独立的测量体系或一个测量体系中测量 κ FLC和 λ FLC的浓度。

[0061] 在这方面,用于抗原捕捉的抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体可以预先固定在固相(例如微孔板、荧光珠或磁珠)上,以形成固定化的抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体和试样中的 κ 链或 λ 链的复合物。通过本领域已知的方法检测固定在固相上的复合物或在固相上形成的复合物,可以测量试样中含有的 κ 链的浓度或其中含有的 λ 链的浓度。此外,在该方法中,可以在将复合物固定到固相之前形成用于抗原捕捉的抗 κ 链抗体或用于抗原捕捉的抗 λ 链抗体和试样中的 κ 链或 λ 链的复合物。

[0062] 将用于抗原捕捉的抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体固定到固相的方法没有特别限制。可以通过使用已知方法直接地或通过另一种物质间接地进行固定。作为直接结合,例如有物理吸附。具体地,通过使用免疫板等,每种捕捉抗体可以直接物理结合到微孔板上。另外,用于抗原捕捉的抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体可以间接固定在固相上。可以根据例如专利文献2或非专利文献3中描述的方法进行捕捉抗体到荧光珠、磁珠等的间接固定。

[0063] 固相的形状没有特别限制,其示例包括微孔板、微管、试管和珠。用于固相的材料没有特别限制,例如,聚苯乙烯、聚丙烯等可用于微孔板、微管、试管等。另外,在珠的情况

下,可以使用聚苯乙烯Xmap(商标)珠(Luminex Corporation)、MagPlex(商标)微球(Luminex Corporation)等。

[0064] 该方法可包括在形成络合物之后洗涤固相的操作。当进行洗涤时,可以使用含有表面活性剂等的PBS等。

[0065] 在该方法中,在通用ELISA方法的情况下,通过使用用标记物质标记的用于检测的抗 κ 链抗体或用标记物质标记的用于检测的抗 λ 链抗体,或者通过使用能够结合到未标记的抗 κ 链抗体或未标记的抗 λ 链抗体的用标记物质标记的抗免疫球蛋白抗体等,可以检测复合物,但优选使用用于检测的标记的抗 κ 链抗体或用于检测的标记的抗 λ 链抗体。此外,优选的是,待用于检测的抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体的抗原中的表位不同于待用于抗原捕捉的抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体的抗原中的表位。

[0066] 当通过竞争性ELISA方法测量 κ FLC或 λ FLC的浓度时,在用标记物质标记竞争剂的存在下,可以使试样中的 κ FLC或 λ FLC与用于捕捉的抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体接触。竞争剂是具有待通过与试样中的 κ FLC或 λ FLC相同的捕捉抗体识别的表位的肽或蛋白质。竞争剂可以从个体中分离,或者可以通过基因工程途径或化学途径合成。

[0067] 用于标记待用于检测的抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体、标记的抗免疫球蛋白抗体或竞争剂的标记物质不受特别限制,只要能产生可检测信号即可。其示例包括荧光物质、放射性同位素和酶。酶的示例包括碱性磷酸酶和过氧化物酶。荧光物质的示例包括:荧光染料,例如异硫氰酸荧光素(FITC),罗丹明和Alexa Fluor(商标);和荧光蛋白,如GFP。放射性同位素的示例包括 ^{125}I 、 ^{14}C 和 ^{32}P 。其中,优选碱性磷酸酶或过氧化物酶作为标记物质。

[0068] 通过用本领域已知的标记方法用上述标记物质标记每种抗体,获得待用于检测的抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体。另外,标记可以使用市售的标记试剂盒等进行。另外,对于标记的免疫球蛋白抗体,可以使用与标记抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体相同的技术,或者可以使用可购买到的产品。

[0069] 在该方法中,可以通过检测由复合物中包含的检测抗体的标记物质产生的信号来测量试样中包含的 κ FLC或 λ FLC的浓度。这里,“检测信号”包括定性地检测信号的是否存在、量化信号的强度并半定量地检测信号的强度。半定量检测是指分阶段地指示信号的强度,例如“无信号产生”、“弱”、“中等”和“强”。在该方法中,优选的是,定量或半定量地检测信号的强度。

[0070] 可以使用已知方法作为检测信号的方法。在该方法中,可以适当地选择根据源自上述标记物质的信号种类的测量方法。例如,当标记物质是酶时,可以通过使用已知设备(例如荧光计、光度计或分光光度计)测量通过允许酶的底物进行反应而产生的信号(例如光或颜色)来进行检测。

[0071] 酶的底物可以根据酶的种类从已知的底物中进行适当选择。例如,当碱性磷酸酶用作酶时,底物的示例包括:化学发光底物,例如CDP-Star(商标)(4-氯-3-(甲氧基螺[1,2-二氧杂环丁烷-3,2'-(5'-氯)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸烷]-4-基)苯基磷酸二钠);和显色底物,例如5-溴-4-氯-3-吡啶基磷酸酯(BCIP)、5-溴-6-氯-吡啶基磷酸二钠和对硝基苯基磷酸酯。当标记物质是过氧化物酶时,其示例是四甲基联苯胺(TMB)。

[0072] 当标记物质是放射性同位素时,可以使用已知设备(例如闪烁计数器)测量用作信号的辐射。另外,当标记物质是荧光物质时,可以使用已知的设备(例如荧光酶标仪或

Luminex(商标)系统(Luminex Corporation))测量作为信号的荧光。可以根据所使用的荧光物质的种类来适当地选定激发波长和荧光波长。

[0073] 信号的检测结果可以用作 κ 链的浓度的值或 λ 链的浓度的值。例如,当定量检测信号的强度时,信号强度本身的测量值或由信号强度的测量值计算得到的值可以用作 κ 链的浓度的值或者 λ 链的浓度的值。

[0074] 3. 确定罹患糖尿病的方法

本发明涉及针对测试受试者测定糖尿病罹患的方法。确定罹患糖尿病的方法包括以下四个方面。

[0075] 第一方面包括以下步骤(1)至(4):

(1) 根据“2. 测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”,测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;(2) 计算步骤(1)中获得的 κ 链的浓度与 λ 链的浓度的比率(κ 链/ λ 链比率计算值);(3) 比较步骤(2)中获得的 κ 链/ λ 链比率计算值与被定义为阈值的 κ 链/ λ 链比率(κ 链/ λ 链比率阈值);(4) 在步骤(3)中, κ 链/ λ 链比率计算值低于 κ 链/ λ 链比率阈值时,确定测试受试者患有糖尿病。

[0076] 第二方面包括以下步骤(1')至(4'):

(1') 根据“2. 测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”,测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;(2') 计算步骤(1')中获得的 λ 链的浓度与 κ 链的浓度的比率(λ 链/ κ 链比率计算值);(3') 比较在步骤(2')中获得的所述 λ 链/ κ 链比率计算值与被定义为阈值的 λ 链/ κ 链比率(λ 链/ κ 链比率阈值);(4') 当在步骤(3')中,所述 λ 链/ κ 链比率计算值高于所述 λ 链/ κ 链比率阈值时,确定所述测试受试者患有糖尿病。

[0077] 第三方面包括以下步骤(A)至(D):

(A) 测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;(B) 计算在步骤(A)中获得的 κ 链的浓度与 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链计算值);(C) 比较步骤(B)中获得的所述 κ 链- λ 链计算值与被定义为阈值的 κ 链的浓度和 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链阈值);和(D) 当在步骤(C)中,所述 κ 链- λ 链计算值低于所述 κ 链- λ 链阈值时,确定所述测试受试者患有糖尿病。

[0078] 第四方面包括以下步骤(A')至(D'):

(A') 根据“2. 测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”,测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;(B') 计算步骤(A')中获得的 λ 链的浓度与 κ 链的浓度之间的差值的绝对值(λ 链- κ 链计算值);(C') 比较在步骤(B')中获得的所述 λ 链- κ 链计算值与被定义为阈值的 λ 链的浓度和 κ 链的浓度之间的差值的绝对值(λ 链- κ 链阈值);和(D') 当在步骤(C')中所述 λ 链- κ 链计算值低于所述 λ 链- κ 链阈值时,确定所述测试受试者患有糖尿病。

[0079] 第五方面包括以下步骤(i)至(iii):

(i) 根据“2. 测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”,测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 λ 链的浓度;(ii) 比较步骤(i)中获得的 λ 链的浓度(λ 链浓度)与被定义为阈值的 λ 链的浓度(λ 链阈值);和(iii) 当所述 λ 链的浓度高于所述 λ 链阈值时,确定所述测试受试者患有糖尿病。

[0080] 第六方面包括以下步骤(I)至(III):

(I) 根据“2. 测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”，测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链的浓度；(II) 比较步骤(i)中获得的 κ 链的浓度(κ 链浓度)与被定义为阈值的 κ 链的浓度(κ 链阈值)；和(III)当所述 κ 链的浓度低于所述 κ 链阈值时，确定所述测试受试者患有糖尿病。

[0081] 第一至第六方面基于以下事实：与健康受试者相比，在糖尿病患者中的试样中 κ FLC的浓度降低并且血液中 λ FLC的浓度增加。因此，第一至第六方面可以各自单独进行，但选自由第一至第六方面组成的组中的两种或更多种也可以组合地进行。另外，在上述几个方面中，作为确定罹患糖尿病的方法，优选第一方面、第三方面、第五方面或第六方面，以及更优选第一方面、第三方面或第五方面。这些方面可以单独进行，但这些方面的两种以上也可以组合进行。

[0082] 4. 检测是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法

与健康受试者相比，在糖尿病患者的血液中 λ FLC的浓度增加。同时，与健康受试者相比，在糖尿病患者的试样中的 κ FLC的浓度降低，但是与健康受试者相比，在糖尿病患者的试样中的 λ FLC的浓度和血液中的 κ FLC浓度的总和增加。从上述内容可以认为，在糖尿病患者中，免疫球蛋白生成细胞、特别是 λ 链生成细胞被激活。

[0083] 本发明涉及检测糖尿病患者是否存在免疫球蛋白生成细胞的方法。检测糖尿病患者是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法包括以下五个方面。

[0084] 方面一包括以下步骤(1)至(4)：

(1) 根据“2. 测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”，测量在从患有糖尿病的测试受试者中采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度；(2) 计算步骤(1)中获得的 κ 链的浓度与 λ 链的浓度的比率(κ 链/ λ 链比率计算值)；(3) 比较步骤(2)中获得的 κ 链/ λ 链比率计算值与被定义为阈值的 κ 链/ λ 链比率(κ 链/ λ 链比率阈值)；和(4)当在步骤(3)中，所述 κ 链/ λ 链比率计算值低于所述 κ 链/ λ 链比率阈值时，确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活。

[0085] 方面II包括以下步骤(1')至(4')：

(1') 根据“2. 测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”，测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度；(2') 计算步骤(1')中获得的 λ 链的浓度与 κ 链的浓度的比率(λ 链/ κ 链比率计算值)；(3') 比较在步骤(2')中获得的所述 λ 链/ κ 链比率计算值与被定义为阈值的 λ 链/ κ 链比率(λ 链/ κ 链比率阈值)；和(4')当在步骤(3')中所述 λ 链/ κ 链比率计算值高于所述 λ 链/ κ 链比率阈值时，确定测试受试者患有糖尿病；

[0086] 方面III包括以下步骤(A)至(D)：

(A) 根据“2. 测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”，测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度；(B) 计算在步骤(A)中获得的 κ 链的浓度与 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链计算值)；(C) 比较步骤(B)中获得的所述 κ 链- λ 链计算值与被定义为阈值的 κ 链的浓度和 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链阈值)；和(D)当在步骤(C)中，所述 κ 链- λ 链计算值低于所述 κ 链- λ 链阈值时，确定测试受试者患有糖尿病。

[0087] 方面IV包括以下步骤(A')至(D')：

(A') 根据“2. 测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”，测量在从测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度；(B') 计算步骤(A')中获得的 λ 链的浓度与 κ 链

的浓度之间的差值的绝对值(λ 链- κ 链计算值);(C')比较在步骤(B')中获得的所述 λ 链- κ 链计算值与被定义为阈值的 λ 链的浓度和 κ 链的浓度之间的差值的绝对值(λ 链- κ 链阈值);和(D')当在步骤(C')中,所述 λ 链- κ 链计算值低于所述 λ 链- κ 链阈值时,确定测试受试者患有糖尿病。

[0088] 方面V包括以下步骤(1'')至(4''):

(1'')根据“2.测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”,测量在从患有糖尿病的测试受试者采集的试样中包含在自由免疫球蛋白轻链中的 κ 链和 λ 链的浓度;(2'')计算在步骤(1'')中获得的 κ 链的浓度和 λ 链的浓度的总和(κ 链+ λ 链计算值);(3'')比较步骤(2'')中获得的所述 κ 链+ λ 链计算值与被定义为阈值的 κ 链+ λ 链值(κ 链+ λ 链阈值);和(4'')当在步骤(3'')中,所述 κ 链+ λ 链计算值高于所述 κ 链+ λ 链阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活。

[0089] 方面VI包括以下步骤(i)至(iii):

(i)根据“2.测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”,测量在从患有糖尿病的测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 λ 链的浓度;(ii)比较步骤(i)中获得的 λ 链的浓度(λ 链浓度)与被定义为阈值的 λ 链的浓度(λ 链阈值);和(iii)当所述 λ 链的浓度高于所述 λ 链阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活。

[0090] 方面VII包括以下步骤(I)至(III):

(I)根据“2.测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”,测量在从患有糖尿病的测试受试者采集的试样中包含在游离免疫球蛋白轻链中的 κ 链的浓度;(II)比较步骤(I)中获得的 κ 链的浓度(κ 链浓度)与被定义为阈值的 κ 链的浓度(κ 链阈值);和(III)当 κ 链的浓度低于 κ 链阈值时,确定在所述测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活。

[0091] 方面I至VII基于以下事实:与健康受试者相比,在糖尿病患者的试样中 κ FLC的浓度降低并且血液中 λ FLC的浓度增加。因此,方面I至VII可以各自单独进行,但是选自方面I至VII的两种或更多种可以组合进行。另外,在上述方面中,作为检测糖尿病患者是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法,优选方面I、方面III、方面V或方面VI。方面I、方面III、方面V或方面VI可以单独进行,但是其两种以上可以组合进行。

[0092] 5. 治疗糖尿病的方法

“3.确定罹患糖尿病的方法”还可包括治疗糖尿病的步骤。具体地,当在确定方法中确定测试受试者患有糖尿病时,该方法包括治疗糖尿病的步骤。

[0093] 根据已知方法可以进行糖尿病的治疗。用于治疗糖尿病的方法的示例可包括饮食疗法、运动疗法和药物的施用。药物的示例可包括:胰岛素耐受性改善药物,例如噻唑烷药物和双胍药物;胰岛素促分泌素药物,如格列奈药物、磺酰脲药物和DPP-4抑制剂;和葡萄糖吸收/排泄控制药物,如SGLT2抑制剂和 α -葡萄糖苷酶抑制剂。

[0094] 另外,“4.检测是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法”还包括当确定在测试受试者中免疫球蛋白生成细胞得到激活时抑制免疫球蛋白生成细胞的激活的步骤。根据已知方法可以进行免疫球蛋白生成细胞的激活的抑制。例如该方法是免疫抑制疗法。

[0095] 6. 计算机程序

作为另一方面,本发明包括一种计算机程序,用于使包括处理器和存储器的计算机在处理器的控制下执行:“3.确定罹患糖尿病的方法”中描述的步骤(1)至(4);步骤(1')至(4');步骤(A)至(D);或者步骤(A')至(D')。

[0096] 作为另一方面,本发明还包括一种计算机程序,用于使包括处理器和存储器的计算机在控制器的控制下执行:“4.检测是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法”中描述的步骤(1)至(4);步骤(1')至(4');步骤(A)至(D);或者步骤(A')至(D')。

[0097] 这些计算机程序可以各自记录在记录介质上。

[0098] 7. 测试试剂

本发明涉及待用于“3.确定罹患糖尿病的方法”和“4.检测是否存在免疫球蛋白生成细胞的激活的方法”中的测试试剂。

[0099] 测试试剂包括以下两个方面。

[0100] 方面1的测试试剂包括游离免疫球蛋白 κ 轻链抗体(抗 κ 链抗体)。

[0101] 方面2的测试试剂包括游离免疫球蛋白 λ 轻链抗体(抗 λ 链抗体)。

[0102] 作为游离免疫球蛋白 κ 轻链抗体和游离免疫球蛋白 λ 轻链抗体,可以使用“1.术语说明”中描述的抗体。

[0103] 测试试剂仅需要包括至少一种抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体。当抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体是多克隆抗体时,通过用一种抗原免疫可以获得多克隆抗体,或者通过用两种或更多种抗原同时免疫同一个体可以获得多克隆抗体。另外,通过将两种或更多种抗原接种到彼此不同的动物中而获得的各个多克隆抗体可以彼此混合。当抗 κ 链抗体是单克隆抗体时,单克隆抗体可以由一种杂交瘤生成,但单克隆抗体可以由两种或更多种杂交瘤生成,以包括多种单克隆抗体中的两种或更多种,该单克隆抗体识别彼此相同或不同的表位。另外,可以包含作为混合物的一种或多种多克隆抗体和一种或多种单克隆抗体。

[0104] 包含在测试试剂中的抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体的形式没有特别限制,并且可以是例如含有每种抗体的抗血清或腹水的干态或液态。另外,每种抗体的形式可以是纯化的抗体,含有每种抗体的免疫球蛋白级分,或含有每种抗体的IgG级分的干态或水溶液。

[0105] 当形式是干态或液态的含有每种抗体的抗血清或腹水时,该形式可进一步含有以下物质中的至少一种:稳定剂,如 β -巯基乙醇和DTT;保护剂,如白蛋白;表面活性剂,如聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单月桂酸酯和聚氧乙烯(10)辛基苯基醚;和防腐剂,如叠氮化钠。另外,当每种抗体的形式是纯化的抗体、含有每种抗体的免疫球蛋白级分、或含有每种抗体的IgG级分的干态或水溶液时,该形式可以进一步含有以下物质中的至少一种:缓冲组分,例如磷酸盐缓冲液;稳定剂,如 β -巯基乙醇和DTT;保护剂,如白蛋白;盐,如氯化钠;表面活性剂等,如聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单月桂酸酯和聚氧乙烯(10)辛基苯基醚;和防腐剂,如叠氮化钠。

[0106] 包含在测试试剂中的抗 κ 链抗体或抗 λ 链抗体可以是未标记的,或者可以用生物素或上述标记物质标记,但优选用生物素或上述标记物质标记。作为标记物质,可以使用“2.测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”部分中举例说明的物质,优选碱性磷酸酶。另外,在本发明中,每种抗体可以以固定于固相表面等的状态提供。固相和固定化在“2.测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”部分中举例说明。固相优选为荧光珠或磁珠。

[0107] 8. 测试试剂盒

本发明涉及一种测试试剂盒,其包括“7.测试试剂”中所述的检测试剂。

[0108] 该测试试剂盒包括以下三个方面。

[0109] 方面1是包括游离免疫球蛋白 κ 轻链捕捉抗体和游离免疫球蛋白 κ 轻链检测抗体的

测试试剂盒。

[0110] 方面2是包括游离免疫球蛋白 λ 轻链捕捉抗体和游离免疫球蛋白 λ 轻链检测抗体的测试试剂盒。

[0111] 方面3是包括游离免疫球蛋白 κ 轻链捕捉抗体、游离免疫球蛋白 κ 轻链检测抗体、游离免疫球蛋白 λ 轻链捕捉抗体和游离免疫球蛋白 λ 轻链检测抗体的测试试剂盒。

[0112] 更具体地,测试试剂盒包括:包含待用作捕捉抗体的、由在“2. 测量 κ FLC和 λ 的浓度的方法”部分中举例说明的标记物质(优选生物素)标记的抗 κ 链抗体和/或抗 λ 链抗体的测试试剂,或包含待用作检测抗体的、由在“2. 测量 κ FLC和 λ 的浓度的方法”部分中举例说明的标记物质(优选碱性磷酸酶或荧光物质)标记的抗 κ 链抗体和/或抗 λ 链抗体的测试试剂。该实施方式可以进一步包括固相,优选与其结合的抗生物素蛋白的固相,更优选结合有抗生物素蛋白的结合珠或磁珠。另外,捕捉抗体可以以固定于固相的状态提供。该实施方式还可包括底物。底物优选为CDP-Star(商标)。

[0113] 标记物质、固相和底物的细节如“2. 测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”中所述,并且该描述可以并入本文。

[0114] 当捕捉抗体预先与固相结合时,根据该实施方式的测试试剂盒可包括具有固定于其上的捕捉抗体的固相、检测抗体和标记物质。检测抗体和标记物质可以包含在单独的容器中,或者可以包含在同一容器中。当标记物质是酶并且测试试剂盒还包括底物时,酶和底物需要包含在单独的容器中。当提供给用户时,固相、检测抗体和标记物质中的至少两种可以包装在一起,或者可以单独包装。

[0115] 当捕捉抗体未预先与固相结合时,根据该实施方式的测试试剂盒可包括固相、捕捉抗体、检测抗体和标记物质。捕捉抗体、检测抗体和标记物质中的至少两种可以包含在同一容器中,或者可以包含在单独的容器中。当标记物质是酶并且测试试剂盒还包括底物时,酶和底物需要包含在单独的容器中。当提供给用户时,固相、捕捉抗体、检测抗体和标记物质中的至少两种可以包装在一起,或者可以单独包装。

[0116] 另外,当测试试剂盒是用于进行竞争性ELISA方法的试剂盒时,试剂盒可以包括在“2. 测量 κ FLC和 λ FLC的浓度的方法”中描述的捕捉抗体和竞争剂。在这种情况下,捕捉抗体可以与固相结合或不与固相结合。

实施例

[0117] 现在,通过实施例更详细地描述本发明,但本发明不应解释为限于实施例的方面。

实施例:血清中 κ FLC和 λ FLC的浓度的测量

1. 方法

使用95名糖尿病患者和75名健康受试者作为测试受试者,测量血清中的 κ FLC和 λ FLC的浓度。健康受试者是确定患有不仅包括糖尿病而且包括其他疾病的疾病的测试受试者。在从每个测试受试者采集血液后立即从中分离血清,并将分离的血清立即在 -80°C 下冷冻并在 -80°C 下储存直至测量。该测量委托给包括非专利文献3的作者在内的组织,并且通过非专利文献3中描述的方法进行。

[0118] 通过使用对每个糖尿病患者和每个健康受试者进行测量而获得的 κ FLC和 λ FLC的浓度的值,计算 κ 链的浓度与 λ 链的浓度的比率(κ 链/ λ 链比率计算值)、 κ 链的浓度与 λ 链的浓度之间的差值的绝对值(κ 链- λ 链计算值)、以及 κ 链的浓度和 λ 链的浓度的总和(κ 链+ λ 链计

算值)。

[0119] 对于统计分析,将StatFlex用于执行基本统计(参数方法)和两组之间的独立多组比较(双试样t检验:Welch方法)。此外,对于灵敏度和特异性测试,进行ROC分析以制备ROC曲线并获得AUC值。

[0120] 2. 结果

(1) 基本统计和两组之间的独立多组比较

在表2中示出基本统计结果和两组之间的独立多组比较。此外,图1至图5示出糖尿病患者和健康受试者中的值的分布。与健康受试者相比,糖尿病患者的κFLC浓度、κ链/λ链比率计算值和κ链-λ链计算值显著降低。此外,与健康受试者相比,糖尿病患者的λFLC浓度和κ链+λ链计算值显著增加。

表2

	糖尿病患者	健康受试者	p值
κ链/λ链比率计算值	0.82±0.27	2.45±0.84	<0.00001
κ链-λ链计算值	-5.59±7.95	12.42±6.38	<0.00001
κFLC浓度 (mg/L)	17.25±5.48	21.50±6.36	0.00001
λFLC浓度 (mg/L)	22.84±9.66	9.08±1.89	<0.000001
κ链+λ链计算值	40.09±13.55	30.58±6.87	<0.00001

[0121] (2) ROC分析

在表3中示出通过糖尿病患者组和健康受试者组的ROC分析所获得的AUC值。另外,在图6至10中示出ROC曲线。用于λFLC浓度、κ链/λ链比率计算值和κ链-λ链计算值的AUC值为0.98、0.97和0.99,所有这些都归类为高精度。用于κFLC浓度和κ链+λ链计算值的AUC值分别为0.72和0.76,其被归类为低精度。

表3

	AUC值
κ链/λ链比率计算值	0.997
κ链-λ链计算值	0.99
κFLC浓度 (mg/L)	0.72
λFLC浓度 (mg/L)	0.98
κ链+λ链计算值	0.76

[0122] 另外,关于ROC曲线,如图6至10所示,κ链/λ链比率计算值(图6)、κ链-λ链计算值(图7)和λFLC浓度(图9)的图表各自具有沿着图表的左上角的形状,因此糖尿病患者的敏感度和特异性的结果都非常高。另一方面,κFLC浓度(图8)和κ链+λ链计算值(图10)的ROC曲线各自具有沿连接图表的左下角和右上角的对角线的形状,这表明对糖尿病患者的低的敏感度和特异性。

[0123] 3. 结论

从上述可以看出,在糖尿病患者中,血液中的κFLC浓度降低并且血液中的λFLC浓度增加。结果表明,κ链/λ链比率计算值和κ链-λ链计算值降低。另外,作为ROC分析的结果,表明κ链/λ链比率计算值、λFLC浓度和κ链-λ链计算值在糖尿病的预测能力和诊断能力方面是优异的。此外,从这些结果可以明显看出,λ链/κ链比率计算值和λ链-κ链计算值在糖尿病的预

测能力和诊断能力方面也是优异的。

[0124] 此外,λFLC浓度和κ链+λ链计算值表明,免疫球蛋白生成细胞的激活发生在糖尿病患者中。

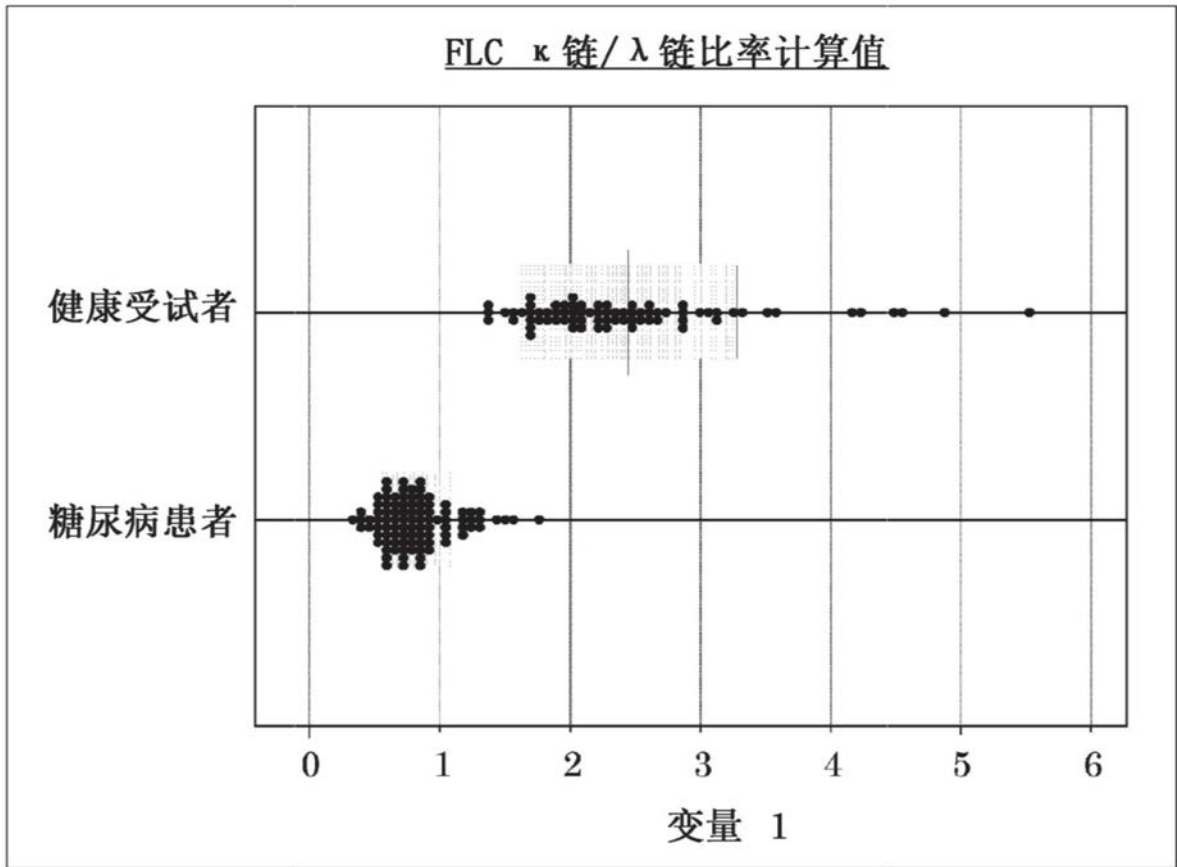


图1

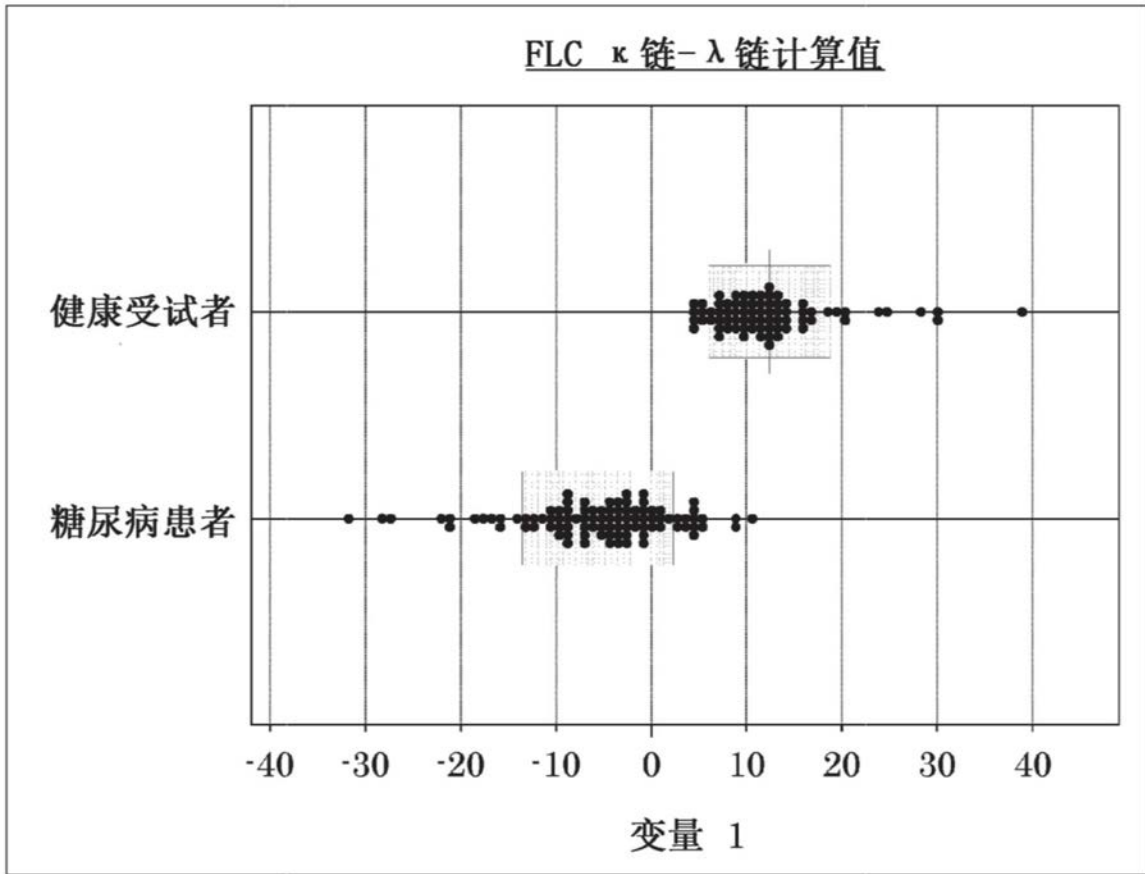


图2

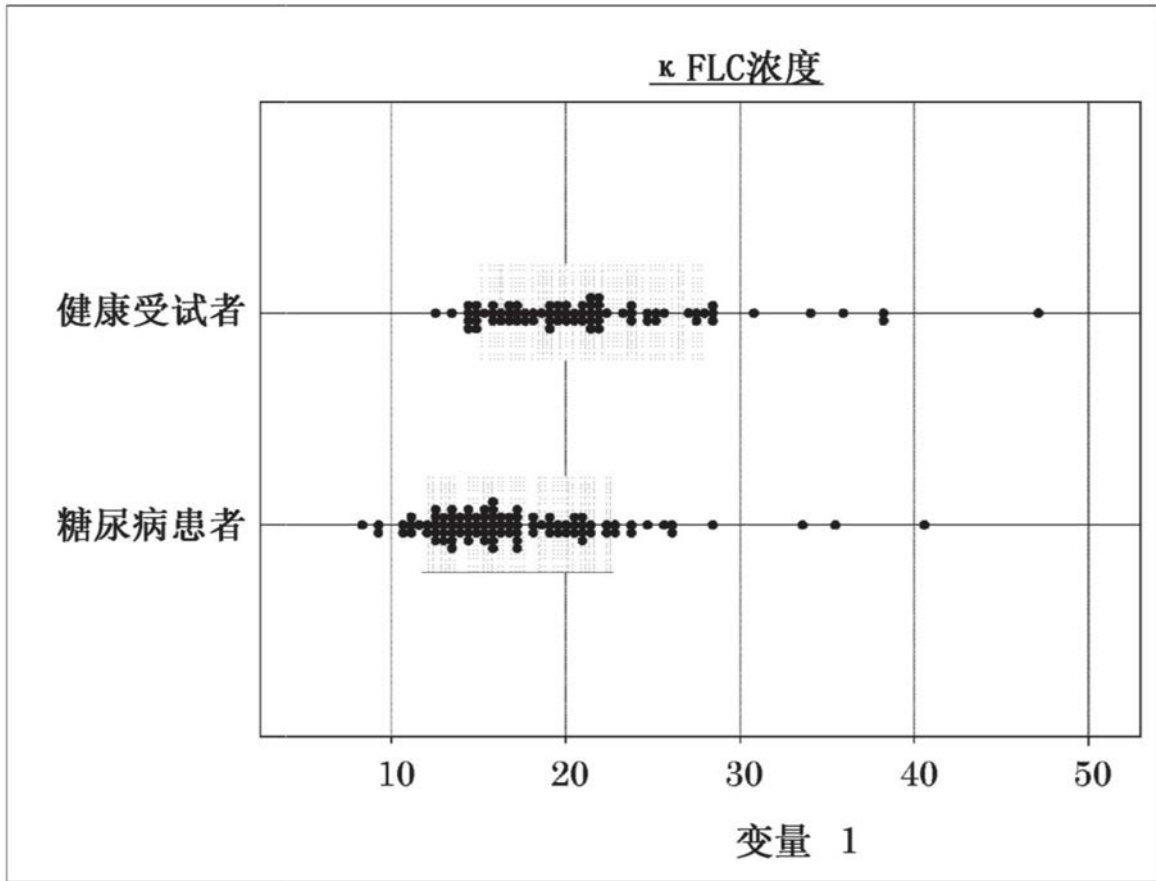


图3

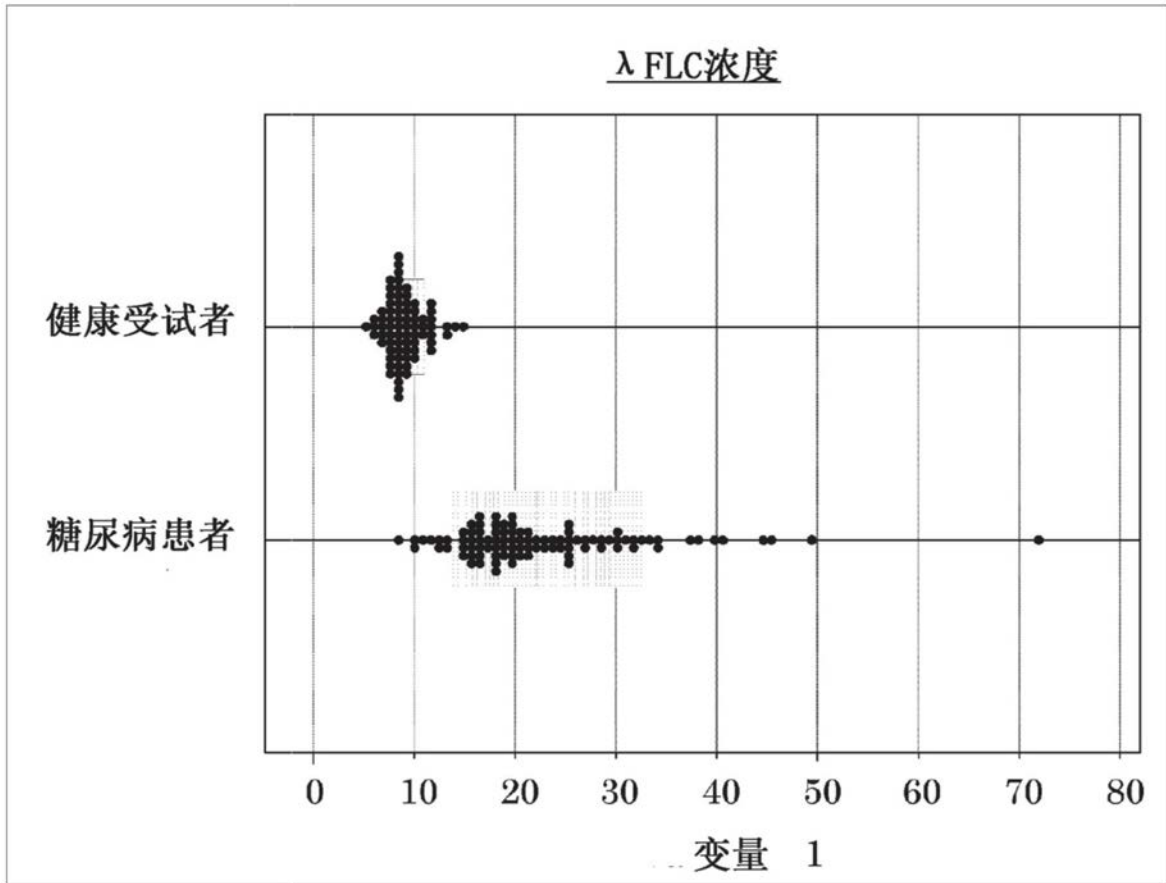


图4

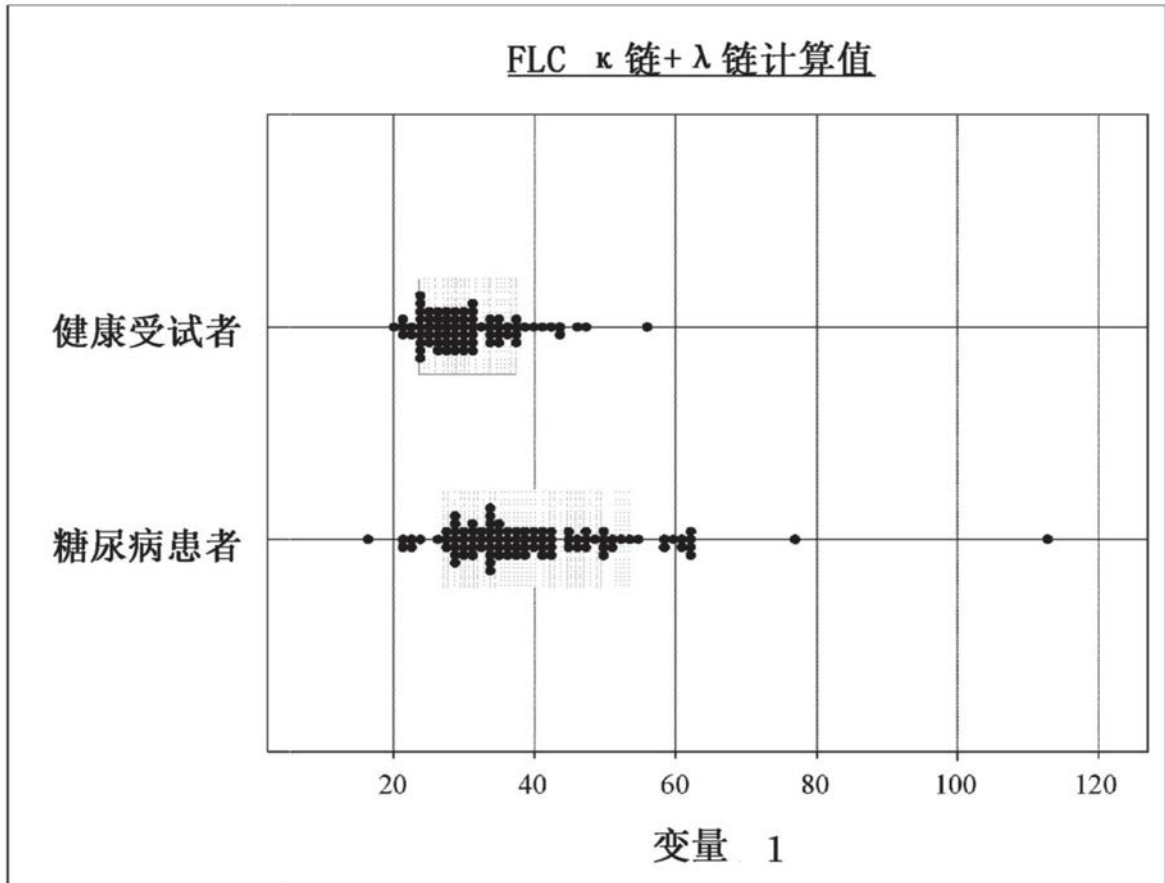


图5

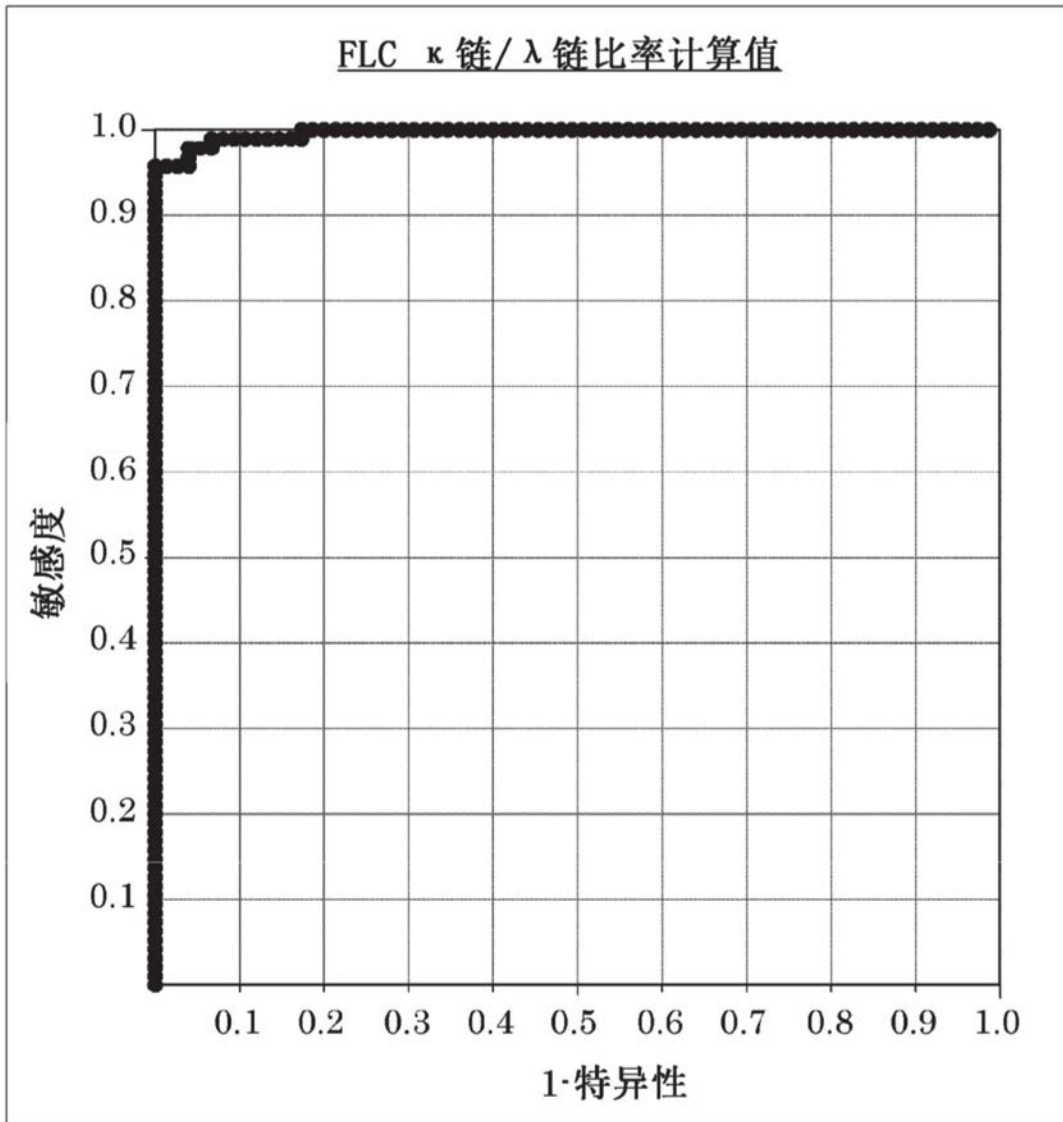


图6

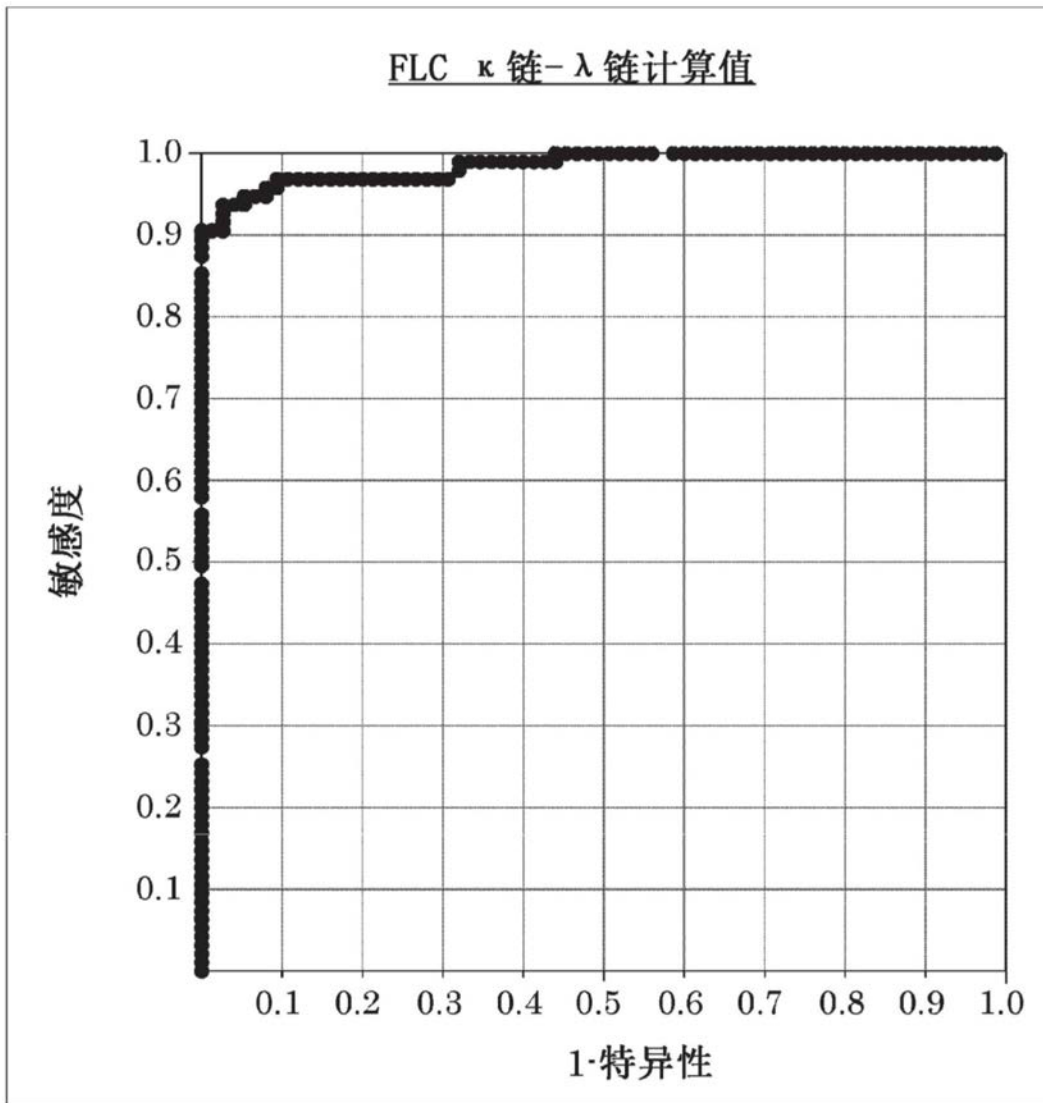


图7

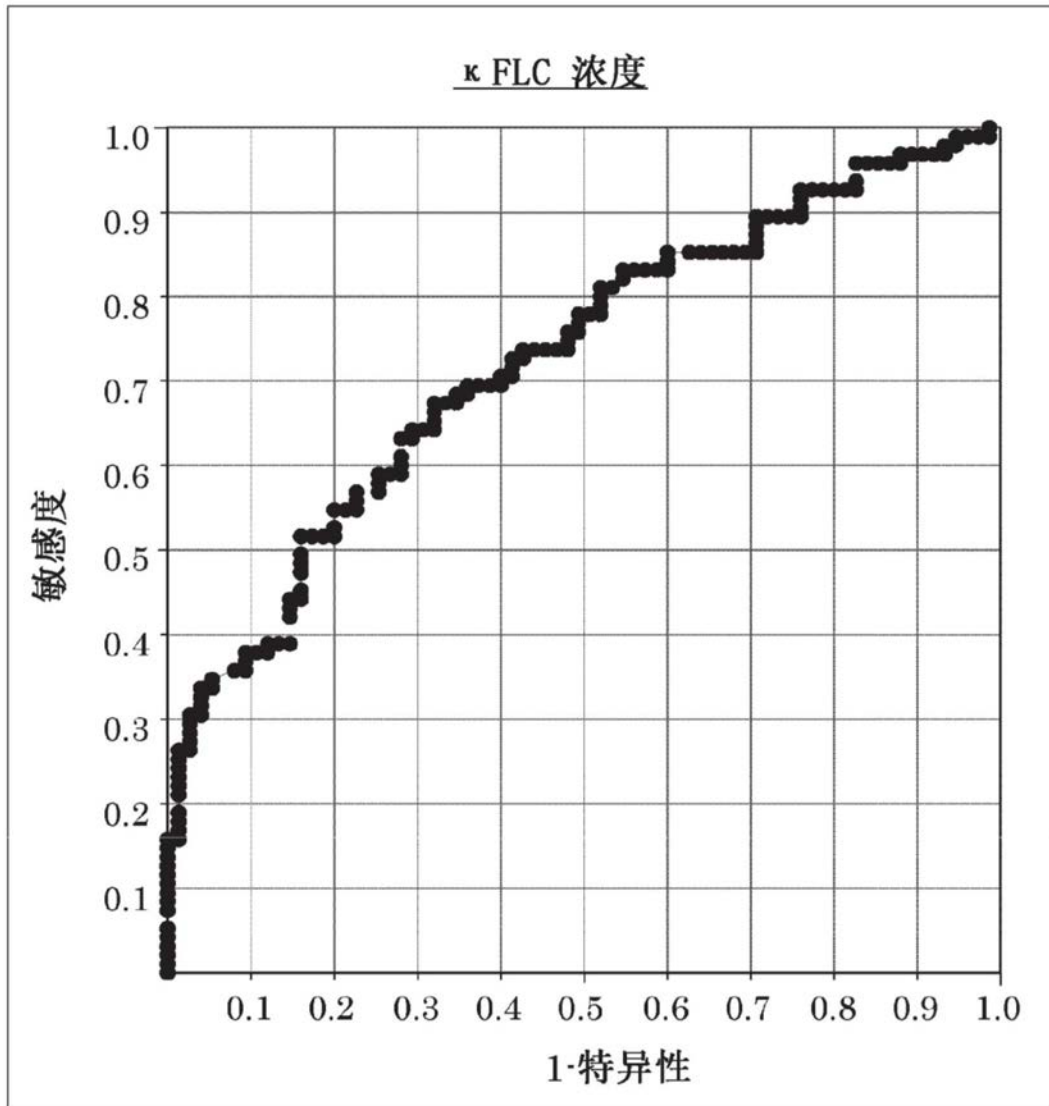


图8

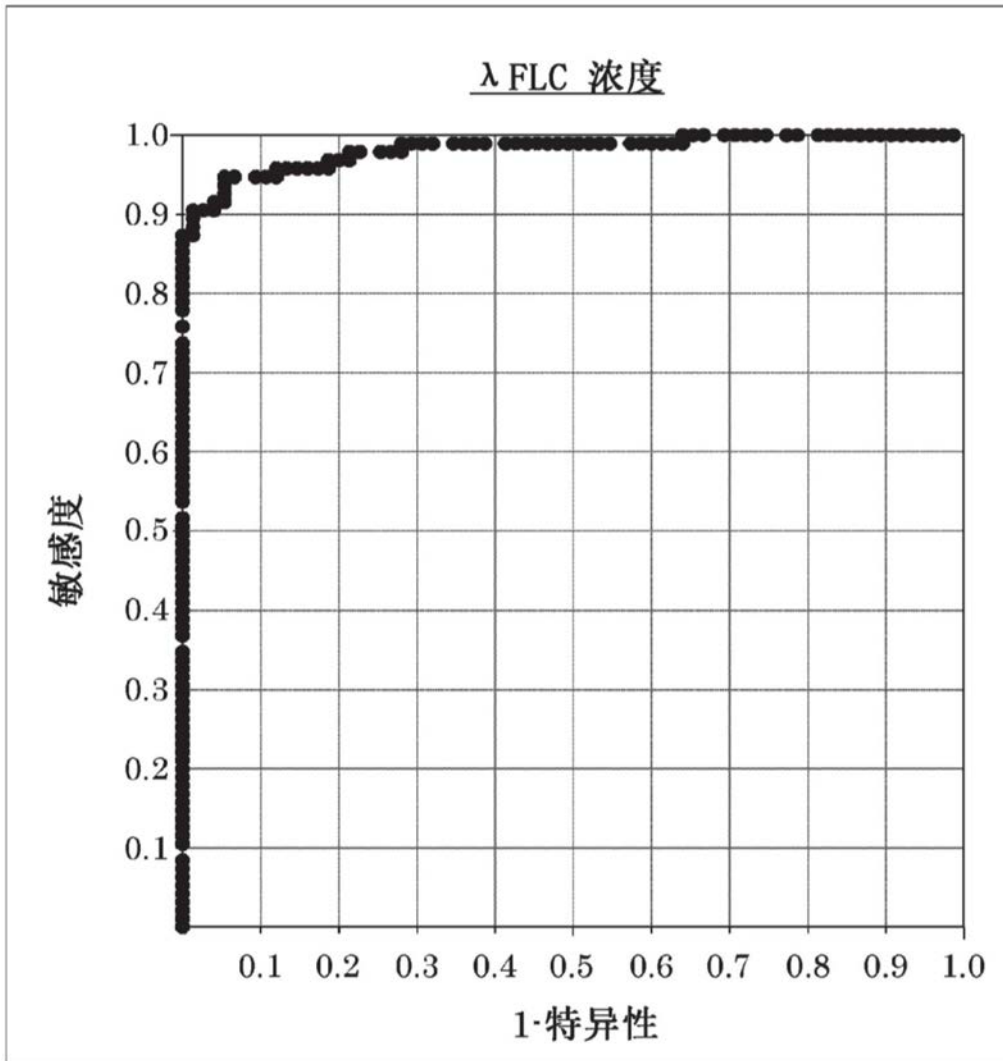


图9

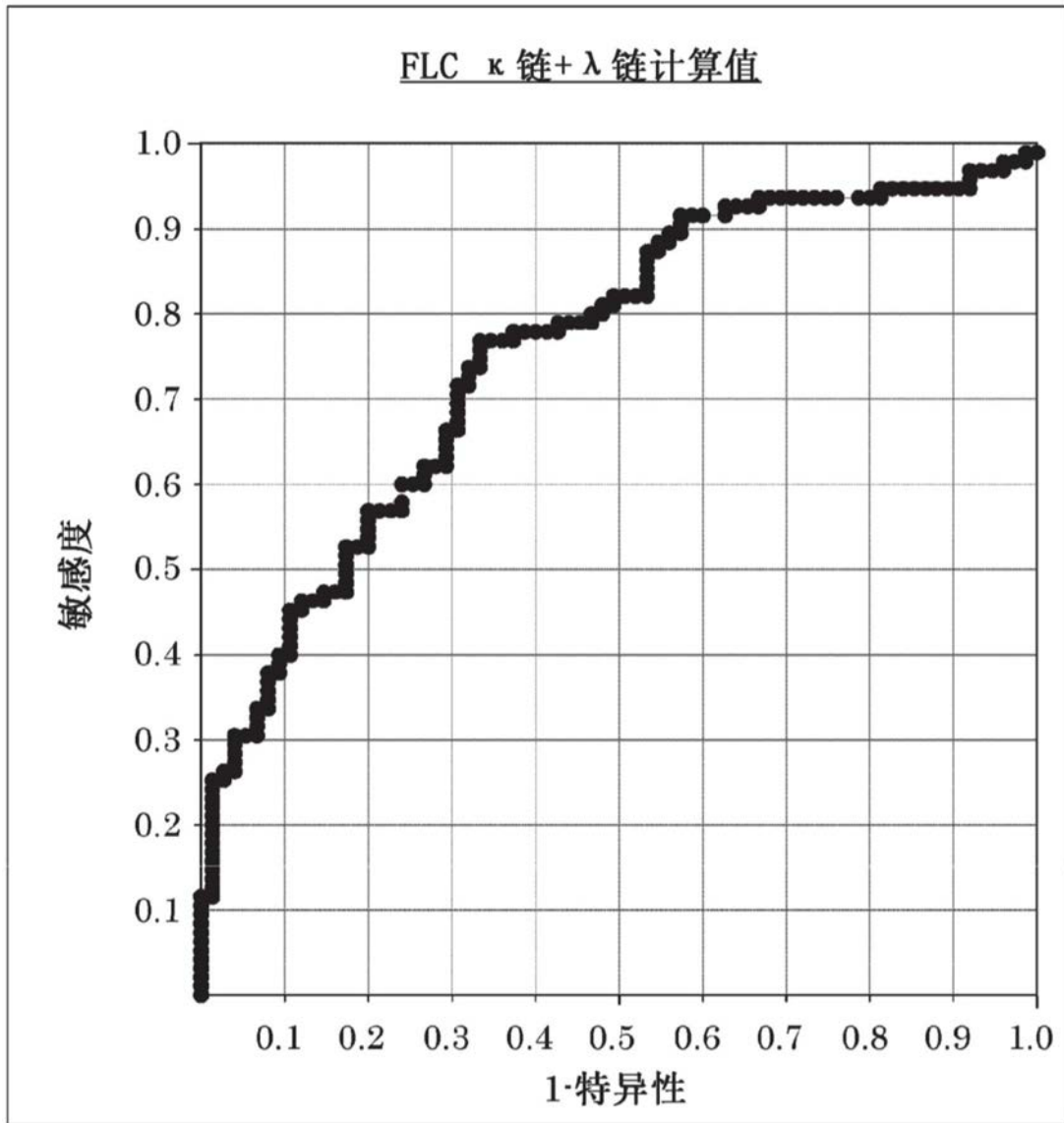


图10

专利名称(译)	用于测定糖尿病罹患的方法		
公开(公告)号	CN109642907A	公开(公告)日	2019-04-16
申请号	CN201780032390.2	申请日	2017-03-30
[标]申请(专利权)人(译)	晁松森		
申请(专利权)人(译)	松森昭		
当前申请(专利权)人(译)	松森昭		
[标]发明人	松森昭		
发明人	松森昭		
IPC分类号	G01N33/68 C07K16/42 C12Q1/06 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/6857 G01N2800/042 G01N33/53 C07K16/42 C12Q1/06 G01N33/6893		
代理人(译)	龚敏 王刚		
优先权	2016068695 2016-03-30 JP		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明的目的在于提供一种用于糖尿病的生物标记物，其不受膳食等的影响并且在血液采集后的储存期间几乎不会代谢。另外，本发明的目的还在于提供一种用于在糖尿病患者中检测免疫球蛋白生成细胞的激活是否存在的方法。包含在游离免疫球蛋白轻链中的κ链的浓度和λ链的浓度得到测量，并且当κ链的浓度与λ链的浓度的比率或κ链的浓度与λ链的浓度之间差值的绝对值低于阈值时，则确定受试者患有糖尿病并且免疫球蛋白生成细胞得到激活。

