

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680006471.7

[51] Int. Cl.  
G01N 33/493 (2006.01)  
G01N 33/53 (2006.01)  
G01N 33/577 (2006.01)

[43] 公开日 2008年2月27日

[11] 公开号 CN 101133323A

[22] 申请日 2006.4.14  
[21] 申请号 200680006471.7  
[30] 优先权  
    [32] 2005.4.14 [33] JP [31] 117521/2005  
[86] 国际申请 PCT/JP2006/307939 2006.4.14  
[87] 国际公布 WO2006/118004 日 2006.11.9  
[85] 进入国家阶段日期 2007.8.30  
[71] 申请人 藤原睦宪  
    地址 日本国東京都  
    共同申请人 冈安勋 林裕造  
    富士瑞必欧株式会社  
[72] 发明人 藤原睦宪 冈安勋 林裕造

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司  
    代理人 李贵亮

权利要求书 2 页 说明书 15 页 附图 2 页

## [54] 发明名称

溃疡性大肠炎或间质性肺炎的病期判定方法  
及其病期判定用试剂盒

## [57] 摘要

本发明提供一种病期判定方法，与以往在溃疡性大肠炎或间质性肺炎的病期的判定中使用的利用内窥镜的需要熟练的粘膜病变的观察或利用从活体提取的病理组织标本的分析不同，本发明提供的方法可以容易地辨别病情、能够判断治疗药的选择、治疗效果的程度、给药中止等，是通过将尿中含有的物质数值化来定量判定病期的方法。测定尿中的前列腺素 E 主要代谢物 (PGE - MUM) 的浓度的值，判定溃疡性大肠炎的缓解前期 (Pre - remission phase) 和溃疡性大肠炎的缓解期 (Remission phase) 的病期。另外，测定尿中的所述 PGE - MUM 的浓度的值，判定间质性肺炎的活动期和间质性肺炎的非活动期的病期。

1. 一种溃疡性大肠炎的缓解前期与所述溃疡性大肠炎的缓解期的病期判定方法，其特征在于，

将在伴随给消炎药的治疗管理下，对被诊断为处于溃疡性大肠炎的缓解期的患者的尿中含有的前列腺素主要代谢物（PGE-MUM）进行测定，将得到的所述尿中的 PGE-MUM 浓度的值作为基础值，

当所述患者的尿中的 PGE-MUM 浓度的值为超过该基础值并在所述基础值的 3 倍以下的范围时，判定为溃疡性大肠炎的缓解前期（Pre-remission phase），

当所述患者的尿中的 PGE-MUM 浓度的值在该基础值以下的范围时，判定为溃疡性大肠炎的缓解期（Remission phase）。

2. 根据权利要求 1 所述的病期判定方法，其特征在于，

所述溃疡性大肠炎的缓解前期为溃疡性大肠炎的病理学评分（Matts 分类）在 2~3 的范围的情况，

所述溃疡性大肠炎的缓解期为所述 Matts 分类在不到 2 的范围的情况。

3. 一种间质性肺炎的活动期（Active phase）与所述间质性肺炎的非活动期（None-active phase）的病期判定方法，其中，

通过在伴随给消炎药的治疗管理下测定间质性肺炎的患者的尿中含有的前列腺素主要代谢物（PGE-MUM），来判断间质性肺炎的活动期（Active phase）与所述间质性肺炎的非活动期（None-active phase）。

4. 根据权利要求 3 所述的病期判定方法，其特征在于，

对被诊断为处于所述间质性肺炎的非活动期的患者的尿中含有的 PGE-MUM 进行测定，将得到的所述尿中的 PGE-MUM 浓度的值作为基础值，

当所述患者的尿中的 PGE-MUM 浓度的值为超过该基础值的范围时，判定为间质性肺炎的活动期，

当所述患者的尿中的 PGE-MUM 浓度的值在该基础值以下的范围

时，判定为间质性肺炎的非活动期。

5. 根据权利要求 1~4 中任意一项所述的病期判断方法，其特征在于，利用抗 PGE-MUM 抗体来免疫测定所述 PGE-MUM。

6. 一种溃疡性大肠炎的缓解前期（Pre-remission phase）与溃疡性大肠炎的缓解期（Remission phase）的病期判定用试剂盒，其中，

其含有已标记的 PGE-MUM 试剂及抗 PGE-MUM 抗体试剂，利用样品中的 PGE-MUM 测定，根据溃疡性大肠炎的病理学评分（Matts 分类）来分类溃疡性大肠炎的缓解前期（Pre-remission phase）与溃疡性大肠炎的缓解期（Remission phase）。

7. 一种间质性肺炎的活动期（Active phase）与间质性肺炎的非活动期（None-active phase）的病期判定用试剂盒，其中，

其含有已标记的 PGE-MUM 试剂及抗 PGE-MUM 抗体试剂，利用样品中的 PGE-MUM 测定，判定间质性肺炎的活动期（Active phase）与间质性肺炎的非活动期（None-active phase）。

8. 根据权利要求 6 或 7 所述的病期判定用试剂盒，其中，抗 PGE-MUM 抗体为抗 PGE-MUM 多克隆抗体。

9. 根据权利要求 6 或 7 所述的病期判定用试剂盒，其中，抗 PGE-MUM 抗体为抗 PGE-MUM 单克隆抗体。

10. 根据权利要求 6~9 中任意一项所述的病期判定用试剂盒，其中，还含有与抗 PGE-MUM 抗体发生反应的抗免疫球蛋白抗体试剂。

## 溃疡性大肠炎或间质性肺炎的病期判定方法及其病期判定用试剂盒

### 技术领域

本发明涉及一种溃疡性大肠炎或间质性肺炎的病期判定方法及其病期判定用试剂盒。

### 背景技术

已知溃疡性大肠炎是难治性炎症疾病，据报道患者数（特定疾病受分配者）在平成 14 年度为 77,073 人，每年以约 5,000 人正在增加。所述溃疡性大肠炎是一种在大肠的粘膜出现糜烂或溃疡的大肠的炎症性疾病。该疾病的原因被认为是肠内细菌的参与或免疫功能没有正常发挥功能的自身免疫反应的异常或者饮食生活的变化的参与等，但尚不清楚。特征性的症状是伴有便血或不伴有便血的腹泻和经常发生的腹痛。病变有从直肠连续地进而向上行性（口侧）扩展的性质，最大为从直肠扩展到全部结肠。该疾病根据病变的扩展或病程经过等被如下所述地分类。

- (1) 根据病变的扩展的分类：全部大肠炎、左侧大肠炎、直肠炎
- (2) 病期的分类：活动期、缓解期
- (3) 根据严重程度的分类：轻症、中等症、重症、严重症
- (4) 根据临床经过的分类：复发缓解型、慢性持续型、急性严重症型、初次发作型

诊断所述溃疡性大肠炎时，根据作为临床症状的持续性或反复性的粘血、血便或者其既往史进行诊断，进而并用结肠或乙状结肠内的内窥镜检查 and 活检，根据需要还进行高度且需要很大费用的灌肠 X 线检查或整个大肠内窥镜检查。首先，对从临床症状获得的数据进行分析，进行是否需要手术、治疗药的选择、给药的中止决定等最佳治疗方法的选择。进而，为了确认病情，进行内窥镜检查，但在所述溃疡性大肠炎的活动期还伴有穿孔或肠道粘膜的损伤导致的出血的危险，反复的检查在医疗费用上成为

很大的负担，而且是一种伴随着给检查患者带来负担和痛苦的方法。

另外，有报道前列腺素（prostaglandin）类（以下称为 PGs）或其衍生物在活体内与各种病情之间的关系，已知有以简单的操作对微量 PGs 进行定量的方法。作为该测定法，包括气相色谱质谱分析法（GC-MS）、放射免疫分析法（RIA）、酶免疫测定法（EIA）等。前列腺素 E<sub>2</sub>（PGE）已知为参与活体内的炎症反应的重要的化学介质（chemical mediator），有报道利用竞争法以酶免疫法测定其尿中的主要代谢物（PGE Main Urinary Metabolite，以下称为“PGE-MUM”。）的方法（专利文献 1）。

而且，本发明人等尝试着将从所述溃疡性大肠炎患者得到的尿样本测定所述 PGE-MUM 的值、与数值化所述溃疡性大肠炎患者的多个临床症状（临床疾病活性）的评分的总评分（修订 Talstad（タルスタッド）评分（score））联系起来（非专利文献 1）。

另一方面，已知间质性肺炎为难治性炎症疾病之一。

该间质性肺炎是伴有间质的炎症并最终引起肺泡的纤维化的病例的总称，已知有特发性肺纤维症、非特异性间质性肺炎、特发性器质化肺炎等病例。

该间质性肺炎的发生机制尚不很清楚，其诊断需要高度的经验，存在不得不对每个病例综合判断患者的病例、各种采集数据的检查结果等的困难。

为了解决该问题，还对测定血中的骨桥蛋白量得到的值与所述间质性肺炎的症状之间的关系进行了探讨（专利文献 2）。

另外，作为判断该间质性肺炎的症状的标记物，已知有表面活性蛋白 D（SP-D）、表面活性蛋白 A（SP-A）、涎液（シアル）化糖链抗原 KL-6 等。

但是，这些标记物在所述间质性肺炎的症状进展之后才被作为结果检测出来，所以可以明确：依赖于这些标记物的方法未必适合作为判定所述间质性肺炎的病期的阶段的手段。

专利文献 1：特开昭 61-11664 号公报

专利文献 2：特开 2005-030852 号公报

非专利文献 1：消化（Digestion） 2000； 61： 201-206

## 发明内容

首先，对于所述溃疡性大肠炎而言，如下所述，目前的溃疡性大肠炎根据病期被大体上分成 2 期。

活动期 (Active phase): 自述血便，可见内窥镜中血管透见像的消失、易出血性、糜烂或溃疡等的状态。

缓解期 (Remission phase): 血便消失、内窥镜中活动期所见消失、出现血管透见像的状态。

但是，对于所述溃疡性大肠炎而言，在所述活动期与所述缓解期之间存在被称为缓解前期 (Pre-remission phase) 的过渡病期，病理学上可以观察到从接近所述活动期的缓解前期到接近所述缓解期的缓解前期的宽范围的病理像。在接近所述缓解期的病例中，很难客观地判断，尽管临床症状消失，但在判断是否中止给药时，对通过内窥镜观察的所见和从活体采集的 10 处以上的病理组织标本进行分析，利用以下所示的 Matts 分类对全部组织标本进行评分化，求得评分的平均值，根据多年的经验作出判断。已知如果判断为所述缓解前期已缓解并中止给药，不仅所述溃疡性大肠炎会复发，而且会发生向大肠癌移行的可能性等各种问题。

所述非专利文献 1 显示所述 PGE-MUM 的测定结果与表示所述溃疡性大肠炎的病情的活动期和缓解期的修订 Talstad 评分相关，显示了不进行内窥镜检查而判断病期的标准，但有时在用修订 Talstad 评分判断为缓解期的病例中包含需要继续给药的本发明所示的所述缓解前期的病例，无法进行区别。作为在用修订 Talstad 评分进行判定中使用的项目，包括腹泻、体温、心动过速、红细胞沉淀速度、血红蛋白、白细胞、血小板、总蛋白质、白蛋白、铁等，对测定的各项目数值进行评分化，总计该评分，求得修订 Talstad 评分。

另一方面，对于间质性肺炎而言，难以判断活动期与非活动期，为了判定这些病期，除了对所述间质性肺炎的患者进行听诊、X 线检查等以外，必需利用肺组织的活检来进行病理组织学诊断等。特别是为了实施所述肺组织的活检，必需向所述患者的气道中插入内窥镜等从而实际上从所述患者的体内采集所述肺组织的活检中所必需的量的肺组织，给所述患者带来

的身体上、精神上的负担极大。

进而，已知如果判断所述间质性肺炎的病期为非活动期而中止给药，不仅所述间质性肺炎会复发、进而进展，而且会发生向肺癌移行的可能性等各种问题。

另外，对于前面的专利文献2中的方法而言，必需采集所述间质性肺炎的患者的血浆或血清，经过多阶段的操作，对其中所含有的骨桥蛋白量进行定量。

本发明的目的在于，提供一种详细而客观地对存在于活动期与缓解期之间的所述溃疡性大肠炎的缓解前期的病期进行分类的方法，提供一种用于对目前即使利用通过内窥镜的观察所见或从活体采集的组织标本的分析也难以判断的所述溃疡性大肠炎的病期进行判定的简单的病期判定方法。

另外，本发明的目的还在于，提供一种详细而客观地对所述间质性肺炎的活动期与所述间质性肺炎的非活动期的病期进行分类的方法，提供一种用于对目前难以判断的所述间质性肺炎的病期进行判定的简单的病期判定方法。

本发明人等进行了潜心研究，结果发现从被诊断为处于溃疡性大肠炎的缓解期的患者采集尿，将其尿中含有的所述PGE-MUM浓度的值作为基础值来事前掌握，在所述患者的所述PGE-MUM浓度显示出超过该基础值并在所述基础值的3倍以下的范围时，所述患者的病期对应所述溃疡性大肠炎的缓解前期。

进而，本发明人等还发现从被诊断为处于间质性肺炎的非活动期的患者采集尿，将其尿中含有的所述PGE-MUM浓度的值作为基础值来事前掌握，在所述患者的所述PGE-MUM浓度显示出超过该基础值的范围时，所述患者的病期对应所述间质性肺炎的活动期，以至完成本发明。

即，本发明提供以下的(1)~(10)。

(1) 溃疡性大肠炎的缓解前期与溃疡性大肠炎的缓解期的病期判定方法，其特征在于，

在伴随给消炎药的治疗管理下，对诊断为处于所述溃疡性大肠炎的缓解期的患者的尿中含有的前列腺素主要代谢物(PGE-MUM)进行测定，

将得到的所述尿中的 PGE—MUM 浓度的值作为基础值，

当所述患者的尿中的 PGE—MUM 浓度的值超过该基础值并在所述基础值的 3 倍以下的范围时，判定为溃疡性大肠炎的缓解前期（Pre-remission phase），

当所述患者的尿中的 PGE—MUM 浓度的值在该基础值以下的范围时，判定为溃疡性大肠炎的缓解期（Remission phase）。

（2）根据上述（1）所述的病期判定方法，其特征在於，

所述溃疡性大肠炎的缓解前期为溃疡性大肠炎的病理学评分（Matts 分类）在 2~3 的范围内的情况，

所述溃疡性大肠炎的缓解期为所述 Matts 分类在不到 2 的范围的情况。

（3）间质性肺炎的活动期（Active phase）与所述间质性肺炎的非活动期（None—active phase）的病期判定方法，其是一种通过在伴随给消炎药的治疗管理下测定间质性肺炎的患者的尿中含有的前列腺素主要代谢物（PGE—MUM）来判断间质性肺炎的活动期（Active phase）与所述间质性肺炎的非活动期（None—active phase）的病期判定方法。

（4）根据上述（3）所述的病期判定方法，其特征在於，

对诊断为处于所述间质性肺炎的非活动期的患者的尿中含有的 PGE—MUM 进行测定，将得到的所述尿中的 PGE—MUM 浓度的值作为基础值，

当所述患者的尿中的 PGE—MUM 浓度的值在超过该基础值的范围时，判定为间质性肺炎的活动期，

当所述患者的尿中的 PGE—MUM 浓度的值在该基础值以下的范围时，判定为间质性肺炎的非活动期。

（5）根据上述（1）~（4）中任意一项所述的病期判定方法，其特征在於，

利用抗 PGE—MUM 抗体来免疫测定所述 PGE—MUM。

（6）溃疡性大肠炎的缓解前期（Pre-remission phase）与溃疡性大肠炎的缓解期（Remission phase）的病期判定用试剂盒，其含有已标记的 PGE—MUM 试剂及抗 PGE—MUM 抗体试剂，利用样品中的 PGE—MUM 测

定，根据溃疡性大肠炎的病理学评分（Matts 分类）来分类溃疡性大肠炎的缓解前期（Pre-remission phase）与溃疡性大肠炎的缓解期（Remission phase）。

（7）间质性肺炎的活动期（Active phase）与间质性肺炎的非活动期（None-active phase）的病期判定用试剂盒，其含有已标记的 PGE-MUM 试剂及抗 PGE-MUM 抗体试剂，利用样品中的 PGE-MUM 测定，判定间质性肺炎的活动期（Active phase）与间质性肺炎的非活动期（None-active phase）。

（8）根据上述（6）或（7）所述的病期判定用试剂盒，其中，抗 PGE-MUM 抗体为抗 PGE-MUM 多克隆抗体。

（9）根据上述（6）或（7）所述的病期判定用试剂盒，其中，抗 PGE-MUM 抗体为抗 PGE-MUM 单克隆抗体。

（10）根据上述（6）～（9）中任意一项所述的病期判定用试剂盒，其中，

还含有与抗 PGE-MUM 抗体发生反应的抗免疫球蛋白抗体试剂。

根据本发明，可以通过定量测定尿中的所述 PGE-MUM 来简单地辨别所述溃疡性大肠炎的缓解前期和所述溃疡性大肠炎的缓解期的病期。另外，可以通过定量测定尿中的所述 PGE-MUM 来简单地辨别所述间质性肺炎的活动期和所述间质性肺炎的非活动期的病期。

此外，根据本发明的方法，可以将以往使用的利用通过需要熟练而且需要高额检查费用的内窥镜等的观察或从活体采集的病理组织标本的分析来进行判定的方法代替为本发明的方法，所以不会给所述患者带来像将内窥镜插入到所述溃疡性大肠炎的患者或所述间质性肺炎的患者的体内等的检查或采集所述患者的体内组织等的作手术等所伴随的身体上、精神上的负担，结果不依赖于实施检查的医师等的个人判断差异，对于所述溃疡性大肠炎或所述间质性肺炎而言能够简单地判定其病期，所以不仅治疗药的选择、给药中止等的判断变得容易，而且治疗效果的判定变得容易，患者的 QOL（生活质量（Quality of Life））的提高或医疗费力的削减成为可能。

## 附图说明

图 1 表示缓解期的溃疡性大肠炎患者病理照片。观察到的黑点为显示若干炎症性细胞浸润的细胞的核。

图 2 表示缓解前期的溃疡性大肠炎患者病理照片。观察到的黑点为显示大量炎症性细胞浸润的细胞的核

图 3 表示活动期的溃疡性大肠炎患者病理照片。观察到的黑点为显示大量炎症性细胞浸润的细胞的核，另外还观察到作为活动期的特征的细胞浸润引起的隐窝脓肿。

## 具体实施方式

利用本发明的方法测定的 PGE-MUM (7 $\alpha$ -hydroxy-5, 11-diketotetranor-prosta-1, 16-dioic acid) 被发现为是 PGE<sub>1</sub> 和 E<sub>2</sub>、特别是 PGE<sub>2</sub> 向尿中的主要代谢物。在测定所述 PGE-MUM 的浓度的值时，可以使用尿作为样本，利用例如 GC-MS、HPLC、使用抗 PGE-MUM 抗体的免疫测定法等实施。所述 PGE-MUM 的浓度的值的测定可以同时且简单地测定大量的样本，所以优选用免疫测定法实施，优选加入利用氢氧化钠等进行的碱处理从而成为化学稳定的二环体的测定法来实施。作为所述免疫测定法中使用的抗 PGE-MUM 抗体，例如关于所述抗体可以举出多克隆抗体或单克隆抗体等。本发明中使用的抗体只要是作为与二环化的 PGE-MUM (以下称为二环 PGE-MUM) 发生特异性反应的抗体的多克隆抗体或单克隆抗体等，就优选。关于所述抗体，例如可以按照特开昭 61-11664 号 (专利文献 1) 中记载的方法制造多克隆抗体。在制造所述抗体时，由于所述 PGE-MUM 是半抗原 (hapten)，所以首先利用碱处理使所述 PGE-MUM 成为 PGE-MUM 的二环体，在使其与适当的蛋白质例如牛血清白蛋白 (BSA)、球蛋白、甲状腺球蛋白、血蓝蛋白等结合之后，与适当的佐剂 (adjuvant) 悬浊混合，隔开使用间隔对动物 (大鼠、小鼠、豚鼠、家兔、狗、猫、羊、山羊等) 使用，经过规定时间后采集动物的血清，以公知的方法进行处理，从而可以获得多克隆抗体。

另外，单克隆抗体可以利用通过如下所述的过程作成的杂交瘤 (hybridoma) 产生，即：使在作成所述多克隆时使用的 PGE-MUM 的

二环体与所述的适当的蛋白质结合，用作免疫原来免疫动物，使从脾脏得到的单克隆抗体产生细胞与肿瘤细胞发生细胞融合，从而作成杂交瘤。

所述杂交瘤可以用下面的方法得到。将如上所述得到的 PGE-MUM 的二环体结合蛋白质与弗氏（フロイント）的完全佐剂一起，分数次，每隔 2~3 周向小鼠等动物进行腹腔内或静脉给予来进行免疫。接着，使脾脏等来源的抗体产生细胞与来自骨髓瘤细胞株（line）的细胞（骨髓瘤细胞）等可以在试管内增殖的肿瘤细胞融合。作为融合方法，可以按照 Kohler（ケーラー）和 Milstein（ミルシュタイン）的常规方法（自然（Nature），256 卷，495 页，1975 年），利用聚乙二醇进行，或者也可以利用仙台病毒等进行。

使用利用上述方法得到的抗 PGE-MUM 抗体，实施所述 PGE-MUM 的免疫测定。作为该免疫测定法，优选基于相对测定对象物质的所述 PGE-MUM 的周知的竞争法的免疫测定法进行，可以举出用标记物质分类的酶免疫测定法（EIA）、荧光免疫测定法、发光免疫测定法、放射免疫测定法（RIA）等。

通常，在竞争法中可以使用已标记的抗原。作为标记物质，例如包括酶、荧光物质、发光物质、放射性同位素等。标记物与抗原的结合方法可以利用公知的形成共价键或非共价键的方法来制造。结合的方法例如可以举出使用缩合剂形成共价键的方法、使用各种交联剂的方法等（例如参照“蛋白质核酸酶”增刊 31 号，37~45 页（1985））。在利用共价键的方法中，除了可以使用存在于抗原的官能团以外，例如还可以在利用常规方法导入硫醇基、氨基、羧基、羟基等官能团之后利用所述结合法制造标记抗原。另外，作为利用非共价键的方法，可以举出物理吸附法等。

所述 PGE-MUM 的测定，例如优选以下记载的免疫测定法实施。使规定量的所述已标记的 PGE-MUM、所述抗 PGE-MUM 抗体、将要实施测定的含有 PGE-MUM 的样本发生竞争性反应，从与所述抗体结合或未结合的已标记的抗原的量来定量所述样本中的所述 PGE-MUM。

如上所述，作为所述 PGE-MUM，例如优选使用二环化的 PGE-MUM（二环体 PGE-MUM），作为所述抗 PGE-MUM 抗体，例如优选使用抗二环 PGE-MUM。

为了从与所述抗体结合的已标记的抗原中分离没有结合的抗原,可以进一步加入免疫球蛋白抗体,使其沉淀分离,测定与复合体结合的标记物质或没有结合的标记物质,由此来实施。该方法被称为二抗体法,也可以利用使用木炭过滤器(charcoal filter)的方法等来实施。所述抗免疫球蛋白抗体也可以通过测定使其与固相结合的反免疫球蛋白抗体、与固相结合的标记物质或没有结合的标记物质来实施。所述抗免疫球蛋白抗体可以利用周知的方法例如物理吸附法、利用交联剂或共价键的化学结合法、利用抗生物素蛋白-生物素(avidin-biotin)结合的结合法等而与固相结合。当然,在测定所述标记物质时,要对应所述标记物质进行选择。

在本发明的病期判定用试剂盒中含有所述已标记的 PGE-MUM 试剂、所述抗 PGE-MUM 抗体试剂。更优选含有所述二环 PGE-MUM 试剂、所述抗二环 PGE-MUM 抗体试剂。进而在试剂盒中,除了与抗 PGE-MUM 抗体结合的抗免疫球蛋白抗体试剂以外,根据需要还加入样本稀释液、试剂稀释液、已知浓度的标准 PGE-MUM 等,在 EIA 时还加入基质、停止液等而构成。

作为本发明中使用的实施所述 PGE-MUM 的测定的样本,例如可以举出从人、动物等采集的尿。

其中,作为在所述溃疡性大肠炎的缓解前期和所述溃疡性大肠炎的缓解期的病期判定中使用的样本,使用在伴随给消炎药的治疗管理下采集的所述溃疡性大肠炎患者的尿。

另外,作为在所述间质性肺炎的活动期和非活动期的病期判定中使用的样本,使用在伴随给消炎药的治疗管理下采集的所述间质性肺炎患者的尿。

作为本发明中使用的消炎药,例如可以例示甾体皮质激素、非甾体消炎镇痛药(non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID)等。

这些消炎药可以使用一种或两种以上。

所述样本使用存尿一日份的样本,但也可以使用不存尿采集的样本进行测定。采集的尿在用于测定之前优选在低温、零下 20℃ 以下保存。

另外,所述样本中含有的所述 PGE-MUM 浓度的值的测定可以以采集的所述样本全量为标准来实施,也可以考虑利用肌酸酐(creatinine)对

采集的所述样本的一部分进行补正来实施。

从操作的简便性出发，在测定所述样本中含有的所述 PGE-MUM 浓度的值时，优选考虑利用肌酸酐对采集的所述样本的一部分进行补正来实施。

下面对本发明中使用的基础值进行说明。

对于所述溃疡性大肠炎患者的基础值，可以通过利用上述的方法，测定在伴随给消炎药的治疗管理下被诊断为处于溃疡性大肠炎的缓解期的患者的尿中含有的 PGE-MUM 浓度的值来得到。

另外，对于所述间质性肺炎患者的基础值，也可以通过利用上述的方法，测定在伴随给消炎药的治疗管理下被诊断为处于间质性肺炎的非活动期的患者的尿中含有的 PGE-MUM 浓度的值来得到。

在求所述基础值时，优选在对被诊断为所述缓解期或所述非活动期的患者给予消炎药等的基础上，采集一日存尿或在规定的时刻等采集尿。

另外，在规定所述基础值时，优选预先进行试验评价考虑估计的测定所述 PGE-MUM 的试剂的测定间误差等，然后再规定。

判定所述溃疡性大肠炎的病期的方法，可以使用利用 Matts 分类（Matts Classification）的病理学评分。Matts 分类对利用内窥镜从活体采集的多个组织标本进行分析，对全部组织标本以 1~5 进行评分，求评分的平均值来判断。Matts 分类如表 1 所示。

[表 1] Matts 分类

病理学评分	体征
1	正常
2	淋巴细胞和浆细胞或者多核白细胞向粘膜或粘膜固有层浸润
3	大量细胞向粘膜、粘膜固有层及粘膜下层浸润
4	大量细胞向粘膜的全层浸润引起隐窝脓肿的发生
5	细胞向若干或全部的粘膜层的浸润引起的粘膜溃疡化、糜烂或坏死

利用用于判断所述溃疡性大肠炎的病情的 Matts 分类，将病理学评分的平均值不到 2 分记为所述溃疡性大肠炎的缓解期，将 2 以上不到 3 分记为所述溃疡性大肠炎的缓解前期，将 3 分以上记为所述溃疡性大肠炎的活

动期。利用病理学判断，通常在所述溃疡性大肠炎的缓解前期和所述溃疡性大肠炎的活动期，判断为继续给药治疗。

判定所述间质性肺炎的病期的方法，通过测定所述间质性肺炎的患者的尿中含有的所述 PGE-MUM 来实施。

所述 PGE-MUM 的测定方法与前面说明的所述溃疡性大肠炎的情况完全相同。

将在给消炎药的治疗管理下被诊断为处于所述间质性肺炎的非活动期的间质性肺炎的患者的尿中含有的 PGE-MUM 浓度的值作为基础值，

当所述尿中的 PGE-MUM 浓度的值为超过该基础值的范围时，判定为间质性肺炎的活动期（Active phase），

当所述尿中的 PGE-MUM 浓度的值在该基础值以下的范围时，判定为间质性肺炎的非活动期（None-active phase）。

本发明提供一种通过测定样本中的 PGE-MUM 的浓度的值而容易地判定所述溃疡性大肠炎的病期的方法。

另外，在本发明中测定的所述 PGE-MUM，由于在各种炎症性疾病中起因于 PGE 及/或 PGE-MUM 产生亢进而被排出到尿中，所以例如可以成为炎症性肠疾病、大肠癌或大肠腺瘤引起的粘膜固有层的炎症、肺癌等的诊断标记物。

进而，PGE-MUM 测定也成为确认作为前列腺素合成酶的环加氧酶（cyclooxygenase）（COX-2）的活性或 COX-2 抑制剂（inhibitor）等药剂的作用的标记物。

## 实施例

以下利用实施例对本发明进一步详细说明，但本发明不被实施例所限定。

### 实施例 1 PGE-MUM 的测定

对显示出溃疡性大肠炎的症状的患者，给予作为消炎药的甾体皮质激素及サザロピリン。

用根据 Inagawa 等的液相二抗体法的 RIA 测定法（Adv. PG. TX. LT. Res., 11,191-196（1983）），来提取、定量这些患者的尿中 PGE-MUM。

即，将直到测定前保存在 $-80^{\circ}\text{C}$ 下的各病期的所述溃疡性大肠炎患者的尿（一日份存尿） $100\mu\text{l}$ 分注于反应容器中，添加等量的 $2\text{N NaOH}$ ，室温下放置1小时，使所述PGE-MUM二环化，然后加 $100\mu\text{l}$ 的 $2\text{N HCl}$ 进行中和。接着，添加 $700\mu\text{l}$ 的含有 $0.1\text{M NaCl}$ 和 $0.1\%$ 明胶的 $0.1\text{M}$ 磷酸缓冲液（ $\text{pH}7.3$ ），作为测定用样品。作为反应操作法，向 $100\mu\text{l}$ 的尿或各浓度的标准样品液（含有PGE-MUM的二环体）中加入 $^{125}\text{I}$ 标记PGE-MUM溶液及稀释第1抗体溶液（参照兔抗人PGE-MUM抗体；特开昭61-11664号（专利文献1））各 $100\mu\text{l}$ ，混合，在 $37^{\circ}\text{C}$ 下孵育60分钟。

然后，向各样品中分别加入 $100\mu\text{l}$ 正常兔血清（50倍稀释；第一Radioisotope（ラジオアイソトープ）公司制）及第2抗体（10倍稀释的羊抗兔IgG抗体；第一Radioisotope公司制），进一步孵育一夜。接着，以 $4^{\circ}\text{C}$ 、 $3000\text{rpm}$ 离心分离10分钟，弃上清，用自动孔计数器（オート ウェル カウンター）RAW-300（岛津制作所公司制）测定沉淀物的放射性，测定尿中PGE-MUM。同样对标准样品液进行测定，作成检量线。另外，从各尿的测定结果和所述检量线求得PGE-MUM的浓度。

就溃疡性大肠炎患者而言，关于从活体采集的多个（10个以上）组织标本求病理学评分（Matts分类），将其分为缓解期、缓解前期或活动期，对该患者的尿测定PGE-MUM。其结果如表2所示。

[表 2]

病 期	样品 No.	病理学评分 (Matts分类)	P G E - M U M (ng/ml)
缓解期 (Remission phase)	A-1	1.7	5.39
	A-2	1.0	4.09
	A-3	1.0	11.37
	A-4	1.8	18.13
	A-5	1.8	5.39
缓解前期 (Pre-remission phase)	B-1	2.8	18.13
	B-2	2.8	28.72
	B-3	2.8	20.61
	B-4	2.0	9.80
	B-5	2.8	27.24
活动期 (Active phase)	C-1	3.6	60.94
	C-2	4.6	344.97
	C-3	3.2	33.98
	C-4	4.4	74.33
	C-5	4.6	362.89

在给消炎药的治疗管理下的基础值尽管存在个人差异，但作为所述 PGE-MUM 浓度大致为 10ng/ml。

如表 2 所示，根据 Matts 分类，对于病理学评分不到 2 而被判断为缓解期的患者样品，对于除了样品 A-3 及样品 A-4 以外的样品，所述 PGE-MUM 浓度均不到 10ng/ml，病理学判断与所述 PGE-MUM 浓度相关。另外，用 Matts 分类，对于病理学评分为 2 以上不到 3 而被辨别为缓解前期的患者样品，对于除了样品 B-4 以外的样品，所述 PGE-MUM 浓度均超过基础值 10ng/ml，为基础值的 3 倍即 30ng/ml 以下，病理学判断与所述 PGE-MUM 浓度密切相关。

另外，利用 Matts 分类被判断为缓解期、缓解前期或活动期的各病期的所述溃疡性大肠炎患者的病理照片如图 1~3 所示。也可以从病理照片确认各病期与 PGE-MUM 浓度密切相关。

#### 实施例 2

代替实施例 1 的情况下的各病期的所述溃疡性大肠炎患者的尿，使用各病期的所述间质性肺炎患者的尿，除此以外，利用与实施例 1 的情况完全相同的操作，求所述 PGE-MUM 的浓度。

此外，对患者给予作为消炎药的甾体皮质激素及非甾体系消炎镇痛剂。

结果如表 3 所示。

在此所述间质性肺炎的活动期是指患者的间质的炎症在进展或者患者的肺泡的纤维化在进展的病期。

通过听诊、X 线检查以及利用活检材料的病理学检查等被诊断为所述间质性肺炎的非活动期的各患者的基础值大致为 10ng/ml 以下,与此相对,被诊断为所述间质性肺炎的活动期的各患者的尿中的 PGE-MUM 浓度,除了样品 D-2 以外,超过 10ng/ml。

即使这样,在所述间质性肺炎的情况下,病理学诊断与所述 PGE-MUM 浓度也密切相关。

[表 3]

病 期	样品 No.	P G E - M U M (ng/ml)
活动期 (Active phase)	D-1	2 4 0 . 1 3
	D-2	8 . 9
	D-3	2 4 . 0 1
	D-4	3 5 . 2 9
	D-5	7 3 . 9 4
	D-6	2 8 . 6 4
	D-7	1 0 . 7 9
	D-8	2 2 . 2 4
	D-9	1 7 . 9 2
	D-10	2 5 . 0 2

[比较例 1]

对显示出急性胃炎或慢性胃炎的症状的患者,利用与实施例 1 的情况完全相同的操作,求所述 PGE-MUM 的浓度,结果未见从所述显示出急性胃炎或慢性胃炎的症状的患者得到的尿中的所述 PGE-MUM 的浓度、与所述患者的症状的进展程度之间存在有意义的相关性。

[比较例 2]

对显示出 GPT (=ALT) 的值为 200IU/L 以下的症状的丙型肝炎的症状的患者,利用与实施例 1 的情况完全相同的操作,求所述 PGE-MUM 的浓度,结果未见在从所述显示出丙型肝炎的症状的患者得到的尿中的所述 PGE-MUM 的浓度、与所述患者的症状的进展程度之间存在有意义的相关性。

显示出乙型肝炎的症状的患者的情况也与上述同样,未见与所述患者的症状的进展程度之间存在有意义的相关性。

[比较例 3]

对显示出甲状腺炎的症状的患者,利用与实施例 1 的情况完全相同的操作,求所述 PGE-MUM 的浓度,结果未见在从所述显示出甲状腺炎的症状的患者得到的尿中的所述 PGE-MUM 的浓度、与所述患者的症状的进展程度之间存在有意义的相关性。

[比较例 4]

对发生直径 2cm 以下的化脓性病变的患者,利用与实施例 1 的情况完全相同的操作,求所述 PGE-MUM 的浓度,结果未见在从所述发生化脓性病变的患者得到的尿中的所述 PGE-MUM 的浓度、与所述患者的症状的进展程度之间存在有意义的相关性。

如上述实施例 1~2 及比较例 1~4 的结果所示可知,本发明对关于所述溃疡性大肠炎的病期判定及关于所述间质性肺炎的病期判定为特别有用的方法。

本说明书以 2005 年 4 月 14 日申请的特愿 2005-117521 为基础。在此包括其全部内容。

缓解期

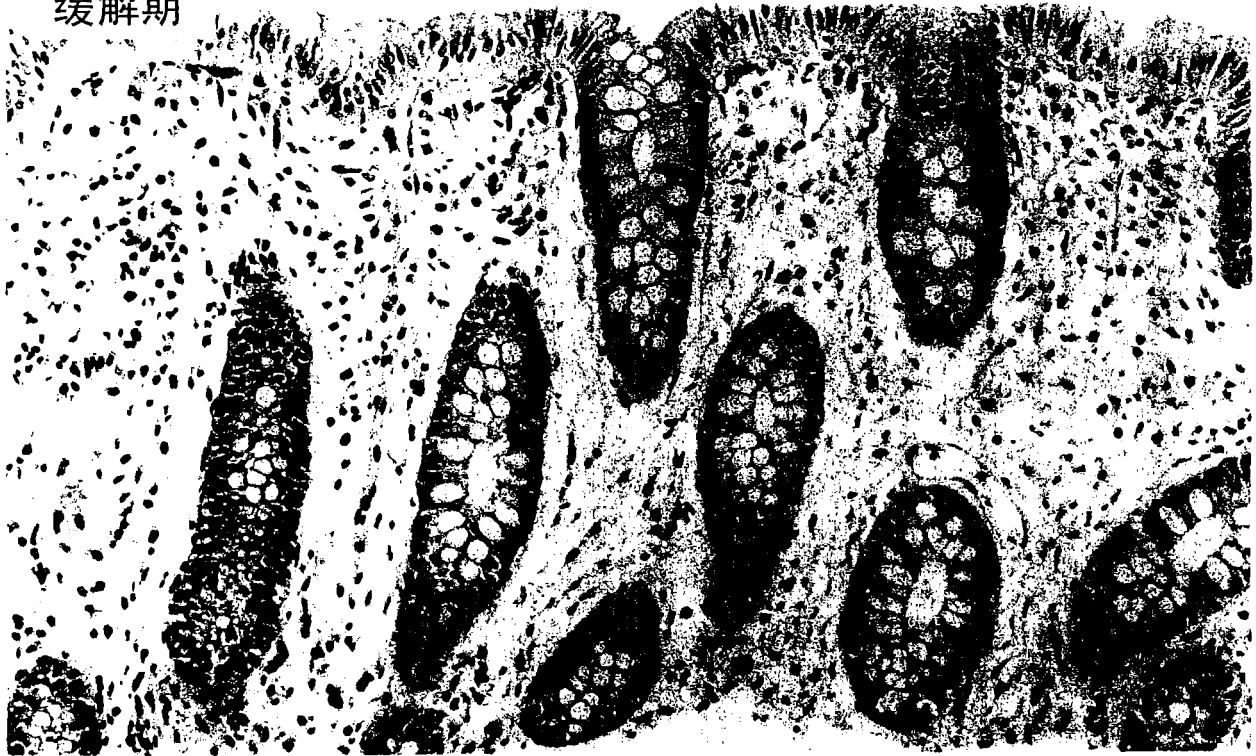


图 1

缓解前期

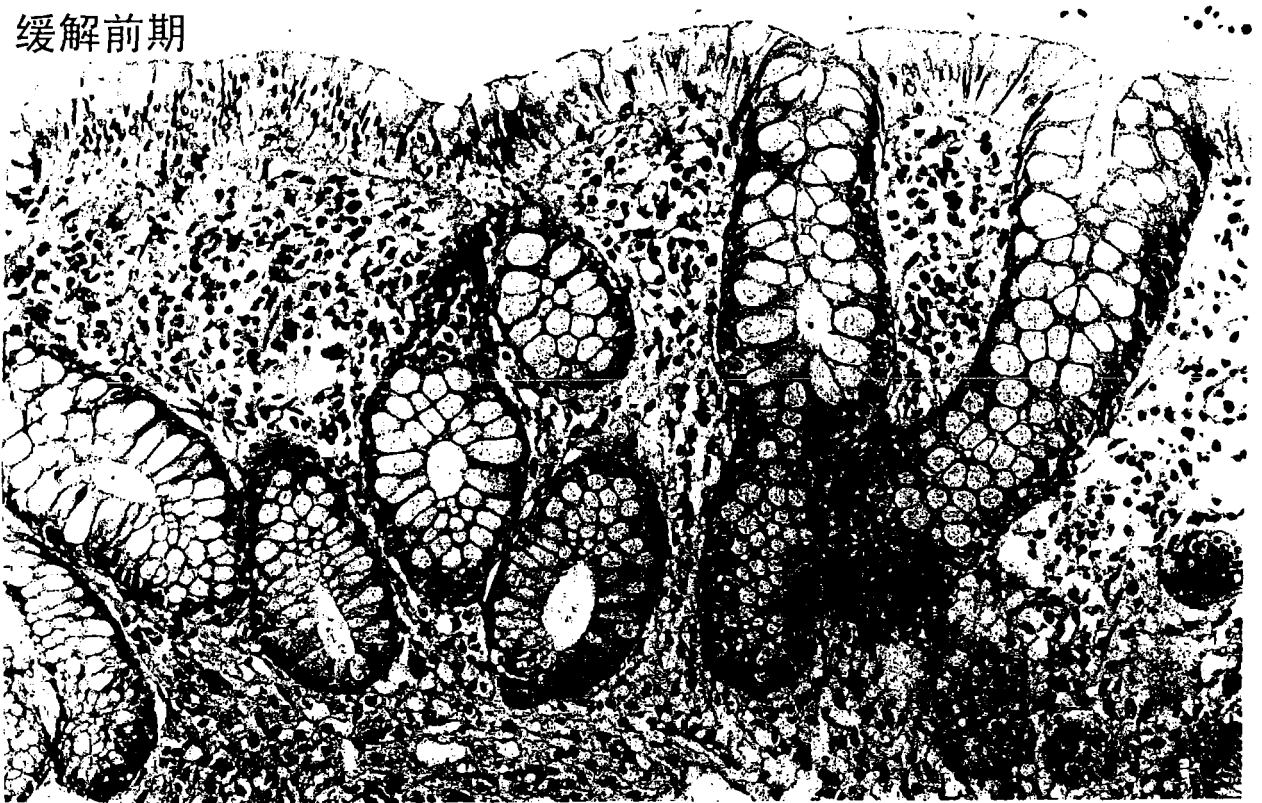


图 2

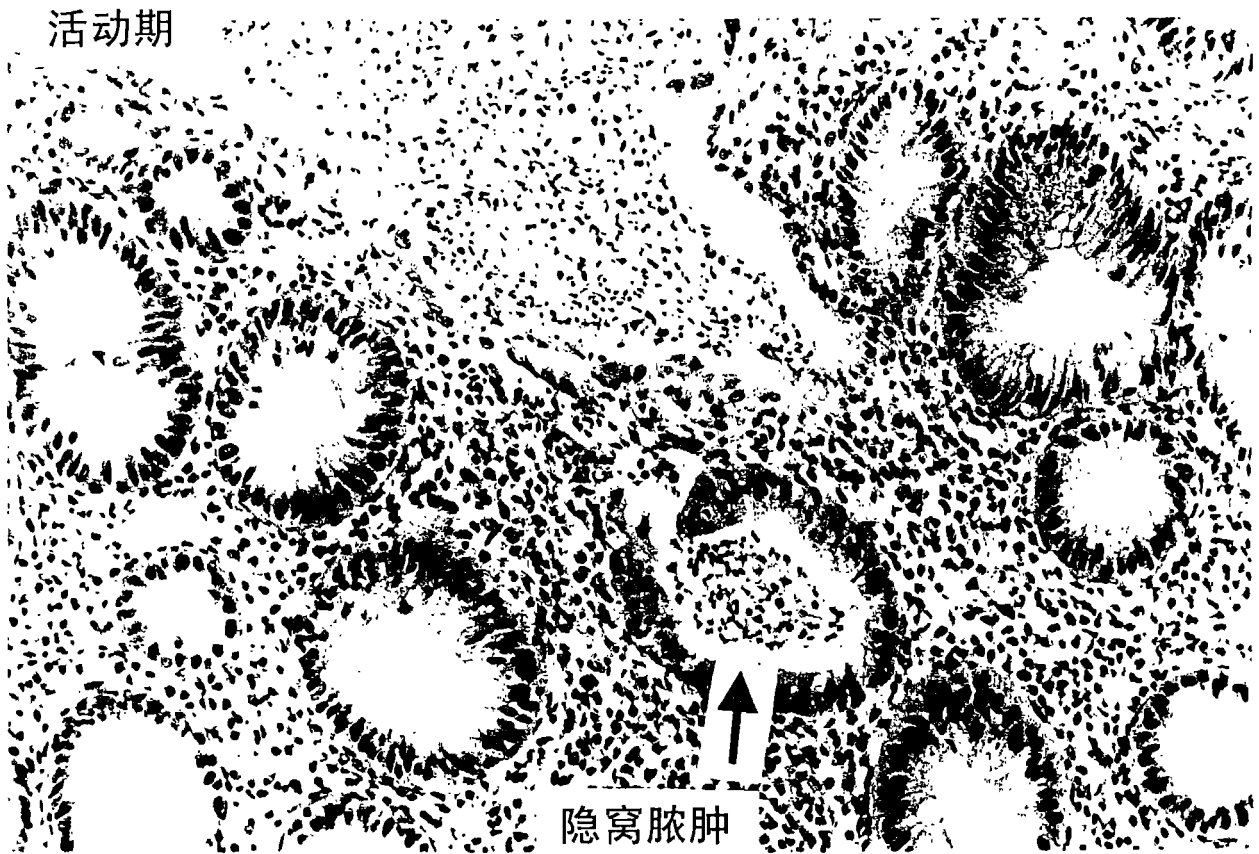


图 3

专利名称(译)	溃疡性大肠炎或间质性肺炎的病期判定方法及其病期判定用试剂盒		
公开(公告)号	<a href="#">CN101133323A</a>	公开(公告)日	2008-02-27
申请号	CN200680006471.7	申请日	2006-04-14
[标]申请(专利权)人(译)	冈安勋 林裕造 富士瑞必欧株式会社		
申请(专利权)人(译)	冈安勋 林裕造 富士瑞必欧株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	冈安勋 林裕造 富士瑞必欧株式会社		
[标]发明人	藤原睦宪 冈安勋 林裕造		
发明人	藤原睦宪 冈安勋 林裕造		
IPC分类号	G01N33/493 G01N33/53 G01N33/577		
CPC分类号	G01N2800/065 G01N2800/12 G01N33/88 Y10T436/201666		
代理人(译)	李贵亮		
优先权	2005117521 2005-04-14 JP		
其他公开文献	CN101133323B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供一种病期判定方法，与以往在溃疡性大肠炎或间质性肺炎的病期的判定中使用的利用内窥镜的需要熟练的粘膜病变的观察或利用从活体提取的病理组织标本的分析不同，本发明提供的方法可以容易地辨别病情、能够判断治疗药的选择、治疗效果的程度、给药中止等，是通过将尿中含有的物质数值化来定量判定病期的方法。测定尿中的前列腺素E主要代谢物(PGE - MUM)的浓度的值，判定溃疡性大肠炎的缓解前期(Pre - remission phase)和溃疡性大肠炎的缓解期(Remission phase)的病期。另外，测定尿中的所述PGE - MUM的浓度的值，判定间质性肺炎的活动期和间质性肺炎的非活动期的病期。



图 1

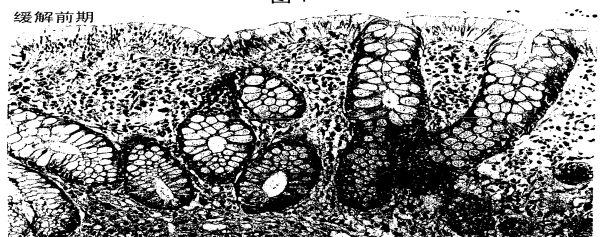


图 2