



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106574923 A

(43)申请公布日 2017.04.19

(21)申请号 201580042087.1

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所
11256

(22)申请日 2015.08.06

代理人 杨宏军

(30)优先权数据

2014-160891 2014.08.06 JP

(51)Int.Cl.

G01N 33/50(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.02.04

G01N 27/62(2006.01)

G01N 33/493(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2015/072421 2015.08.06

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/021704 JA 2016.02.11

(71)申请人 国立大学法人东京大学

地址 日本东京都

(72)发明人 村田幸久 中村达朗 前田真吾

权利要求书1页 说明书13页 附图8页

(54)发明名称

食物过敏的检验方法及检验用试剂盒

(57)摘要

本发明的课题在于提供能够简单且正确地对食物过敏的发作风险、其症状严重程度进行评价的检验方法。本发明提供对受试者的食物过敏加以检验的方法,所述方法包括对所述受试者尿中tetranor-PGDM的量进行测定的工序。

1. 对受试者的食物过敏进行检验的方法,所述方法包括对所述受试者尿中tetranor-PGDM的量进行测定的工序。

2. 如权利要求1所述的方法,其中,所述tetranor-PGDM的量越多,则评价为食物过敏的症状越严重或变得越严重,或者评价为食物过敏发作的风险越高或变得越高。

3. 如权利要求1或2所述的方法,其还包括对所述受试者尿中tetranor-PGEM的量进行测定的工序。

4. 如权利要求3所述的方法,其中,所述tetranor-PGDM的量在一定时间内上升、并且所述tetranor-PGEM的量暂时性上升的情况下,判断为不是其他炎症性疾病而是食物过敏。

5. 如权利要求1~4中任一项所述的方法,其用于对食物过敏的治疗方法或治疗药物的评价。

6. 如权利要求5所述的方法,其用于脱敏疗法。

7. 如权利要求1~6中任一项所述的方法,其中,对所述tetranor-PGDM的量及/或tetranor-PGEM的量的测定通过质谱装置或免疫测定法来进行。

8. 如权利要求7所述的方法,其中,所述方法包括向所述受试者的尿中加入氘代tetranor-PGDM及/或氘代tetranor-PGEM作为内标的前处理工序,并且,对所述tetranor-PGDM的量及/或tetranor-PGEM的量的测定通过质谱装置来进行。

9. 如权利要求1~8中任一项所述的方法,其特征在于,对食物过敏中的肥大细胞的活化进行评价。

10. 食物过敏的尿样检验用试剂盒,所述试剂盒包含以下的(i)或(ii):

(i) 抗tetranor-PGDM抗体;

(ii) 抗tetranor-PGDM抗体及氘代tetranor-PGDM。

11. 如权利要求9所述的食物过敏的尿样检验用试剂盒,所述试剂盒还包含以下的任意一者:

(i) 抗tetranor-PGEM抗体;

(ii) 抗tetranor-PGEM抗体及氘代tetranor-PGEM。

12. 如权利要求10或11所述的食物过敏的尿样检验用试剂盒,其特征在于,对食物过敏中的肥大细胞的活化进行评价。

13. 食物过敏的尿样检验用试纸,所述试纸包含抗tetranor-PGDM抗体。

14. 如权利要求13所述的食物过敏的尿样检验用试纸,所述试纸还包含抗tetranor-PGEM抗体。

15. 如权利要求13或14所述的尿样检验用试纸,其特征在于,对食物过敏中的肥大细胞的活化进行评价。

16. 尿中的tetranor-PGDM或尿中的tetranor-PGEM作为食物过敏标识物的体外用途。

17. 尿中的tetranor-PGDM或尿中的tetranor-PGEM作为食物过敏中的肥大细胞活化标识物的体外用途。

食物过敏的检验方法及检验用试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及能够简单且正确地对食物过敏的发作风险、其症状严重程度进行评价的检验方法。

背景技术

[0002] 食物过敏是指因将食品中含有的过敏原摄入体内而引发的各种过敏反应。就其症状而言,除了可举出腹泻、呕吐、皮肤炎等之外,严重时还引起休克甚至死亡。日本国内的成人患病率为高达2.6%,而新生儿还进一步高达5.3%,而且重症例多,因此成为大问题。

[0003] 作为食物过敏的发作机理,以下的机理是已知的。i) T细胞·B细胞与侵入体内的过敏原反应,产生IgE。ii) 若过敏原再次进入体内,结合有IgE的肥大细胞将会释放出组胺等活性物质(脱颗粒),引起强的炎症。

[0004] 除了熟知的鸡蛋·牛奶·小麦以外,可成为过敏原的食品还有很多。就对食物过敏的预防而言,除了鉴定出过敏原及避免进食之外别无他法,不能安心地食用食物的患者的生活质量(QOL)显著受损。此外,如果将诱因食物去除,则也有可能会在营养方面造成不良影响(尤其是对儿童而言)。另外,近年来生活环境的变化导致食物过敏患病率进一步增加或症状恶化,因此对其病理机理的阐明和对治疗药物的开发、用于评价食品过敏原性的实验体系的确立已成为当务之急。

[0005] 此外,作为食物过敏的治疗方法之一,存在有脱敏疗法。脱敏疗法是在医师管理下向患者施予经稀释的过敏原以试图诱导出免疫耐受的方法。很多过敏疾病治疗方法为对症治疗法,而与之相对,脱敏疗法作用于过敏疾病的发作机理、其目标在于根治过敏疾病,因此受到关注。脱敏疗法从极低的施予量开始、并逐渐增加施予量,此时,为了不发生因施予了超过阈值的量的过敏原而引起严重症状的情况,需要有能够正确评价患者过敏症状严重程度的手段。

[0006] 目前,作为食物过敏的诊断方法,正在使用对血中的IgE加以测定的诊断方法。但是,该方法即使能推测过敏反应的有无,却仍无法获知发作风险及症状的程度。也即,血中的IgE抗体的存在量与食物过敏症状的发作风险、严重程度是不一致的(非专利文献1)。此外,对该方法而言采血是必需的,因此为进行采血而必须要去医疗机构,并且,采血本身对婴幼儿而言也是大的负担。

[0007] 现有技术文献

[0008] 非专利文献

[0009] 非专利文献1:厚生劳动科学研究班的食物过敏诊疗辅导2011(厚生労働科学研究班による食物アレルギーの診療の手引き2011)(http://www.allergy.go.jp/allergy/guideLine/05/05_2011.pdf)

发明内容

[0010] 发明要解决的课题

[0011] 本发明的课题在于提供能够简单且正确地对食物过敏的发作风险、其症状严重程度、预后进行评价的检验方法。

[0012] 用于解决课题的手段

[0013] 本申请的发明人为了解决上述课题,首先关注了前列腺素D₂(PGD₂)(其是肥大细胞最大量产生的生理活性物质),对能否通过测定其来评价食物过敏的发作风险或严重程度进行了研究。然而,PGD₂在生物体内在仅50秒的短时间内即被代谢,因此难以检测。

[0014] 本申请的发明人进行了进一步的反复研究,结果发现:作为PGD₂代谢产物的 tetranor-PGDM将被排出至尿中,能被稳定地检测,并且其在尿中的浓度显示出与生物体中存在的肥大细胞数量具有相关性,由此还显示出与过敏的发作风险、严重程度也具有相关性。确认到:在施予食物过敏的治疗药物后、症状得到改善的情况下,相应地,尿中的 tetranor-PGDM的量也减少。还确认到:因食物过敏导致的 tetranor-PGDM的量的上升即使在过敏原刺激消失后也还能维持一定时间,因此即使在发作后短时间内也仍能进行检验。

[0015] 另外,本申请的发明人还发现:作为前列腺素E₂(PGE₂)代谢产物的 tetranor-PGEM也能通过尿样来测定,并且,通过测定 tetranor-PGDM和 tetranor-PGEM的浓度变化模式,能够将食物过敏与其他炎症疾病区分开来,由此完成了本发明。

[0016] 即,本发明涉及下述的项:

[0017] (1)对受试者的食物过敏进行检验的方法,所述方法包括对所述受试者尿中 tetranor-PGDM的量进行测定的工序;

[0018] (2)如上述(1)所述的方法,其中,所述 tetranor-PGDM的量越多,则评价为食物过敏的症状越严重或变得越严重,或者评价为食物过敏症状发作的风险越高或变得越高;

[0019] (3)如上述(1)或(2)所述的方法,其还包括对所述受试者尿中 tetranor-PGEM的量进行测定的工序;

[0020] (4)如上述(3)所述的方法,其中,所述 tetranor-PGDM的量在一定时间内上升、并且所述 tetranor-PGEM的量暂时性上升的情况下,判断为不是其他炎症性疾病而是食物过敏;

[0021] (5)如上述(1)~(4)中任一项所述的方法,其用于对食物过敏的治疗方法或治疗药物的评价;

[0022] (6)如上述(5)所述的方法,其用于脱敏疗法;

[0023] (7)如上述(1)~(6)中任一项所述的方法,其中,对所述 tetranor-PGDM的量及/或 tetranor-PGEM的量的测定通过质谱装置或免疫测定法来进行;

[0024] (8)如上述(7)所述的方法,其中,所述方法包括向所述受试者的尿中加入氘代 tetranor-PGDM及/或氘代 tetranor-PGEM作为内标的前处理工序,并且,对所述 tetranor-PGDM的量及/或 tetranor-PGEM的量的测定通过质谱装置来进行;

[0025] (9)如上述(1)~(8)中任一项所述的方法,其特征在于,对食物过敏中的肥大细胞的活化进行评价;

[0026] (10)食物过敏的尿样检验用试剂盒,所述试剂盒包含以下的(i)或(ii):

[0027] (i)抗 tetranor-PGDM抗体;

[0028] (ii)抗 tetranor-PGDM抗体及氘代 tetranor-PGDM;

[0029] (11)如上述(9)所述的食物过敏的尿样检验用试剂盒,所述试剂盒还包含以下的

任意一者：

[0030] (i) 抗tetranor-PGEM抗体；

[0031] (ii) 抗tetranor-PGEM抗体及氘代tetranor-PGEM；

[0032] (12) 如上述(10)或(11)所述的食物过敏的尿样检验用试剂盒，其特征在于，对食物过敏中的肥大细胞的活化进行评价；

[0033] (13) 食物过敏的尿样检验用试纸(stick)，所述试纸包含抗tetranor-PGDM抗体；

[0034] (14) 如上述(13)所述的食物过敏或肥大细胞活化的尿样检验用试纸，所述试纸还包含抗tetranor-PGEM抗体；

[0035] (15) 如上述(13)或(14)所述的尿样检验用试纸，其特征在于，对食物过敏中的肥大细胞的活化进行评价；

[0036] (16) 尿中的tetranor-PGDM或尿中的tetranor-PGEM作为食物过敏标识物的体外用途；及

[0037] (17) 尿中的tetranor-PGDM或尿中的tetranor-PGEM作为食物过敏中的肥大细胞活化标识物的体外用途。

[0038] 发明的效果

[0039] 通过本发明涉及的检验方法，能够以简单的方法(对尿样中tetranor-PGDM的量加以测定)对食物过敏的有无正确地做出评价，并且不仅于此，还能够对发作风险或症状严重程度正确地做出评价。通过所述方法，使得在症状出现之前对风险加以评价并进行预防性治疗也成为可能。此外，能够通过评价对脱敏疗法的响应、从而在安全范围内尽可能多地施予过敏原，使得治疗效率良好地进行。

[0040] 对本发明涉及的检验方法而言，因为不需要采血等医疗技术，因此使用本发明涉及的检验用试剂盒、检验用试纸即使在家中也能进行检验。

[0041] 进一步地，如果在本发明涉及的检验方法中还对尿样中tetranor-PGEM的量进行测定，则还能够将其他炎症性疾病与食物过敏区分开来。

附图说明

[0042] [图1] 示出了利用抗原(OVA)刺激制得的食物过敏模型小鼠的腹泻发作频率和肠道肥大细胞数量。

[0043] [图2] 示出了利用抗原(OVA)刺激制得的食物过敏模型小鼠尿中tetranor-PGDM及tetranor-PGEM浓度变化的推移情况。

[0044] [图3] 示出了抗原(OVA)刺激中止后的尿中tetranor-PGDM及tetranor-PGEM的浓度变化的推移情况。

[0045] [图4] 为对食物过敏模型小鼠被施予色甘酸钠后的腹泻发作频率和尿中tetranor-PGDM的浓度变化进行测定的结果。

[0046] [图5] 为对食物过敏模型小鼠被施予地塞米松后的腹泻发作频率和尿中tetranor-PGDM的浓度变化进行测定的结果。

[0047] [图6] 示出了对DSS诱导性结肠炎模型的体重变化和疾病活动指数(Disease Activity Index)进行测定的结果。

[0048] [图7] 示出了对DSS结肠炎模型小鼠的尿中tetranor-PGDM及tetranor-PGEM的浓

度进行测定的结果。

[0049] [图8] 示出了对TNBS诱导性结肠炎模型的体重变化和结肠的长度进行测定的结果。

[0050] [图9] 示出了对TNBS结肠炎模型小鼠的尿中tetranor-PGDM及tetranor-PGEM的浓度进行测定的结果。

[0051] [图10] 为OVA诱发性过敏性支气管炎模型小鼠的肺H&E染色图像

[0052] [图11] 示出了对过敏性支气管炎模型的尿中的tetranor-PGDM和tetranor-PGEM的浓度进行测定的结果。

[0053] [图12] 示出了对DNFB诱发性过敏性接触性皮炎模型小鼠的耳厚进行测定的结果。

[0054] [图13] 示出了对过敏性接触性皮炎模型小鼠的尿中tetranor-PGDM及tetranor-PGEM的浓度进行测定的结果。

[0055] [图14] 示出了在移植了人肥大细胞的NOG小鼠中在结肠和肺组织中植活的肥大细胞。

[0056] [图15] 示出了在对肥大细胞人源化小鼠进行抗原·抗体刺激后、测定被排出至尿中的tetranor-PGDM和tetranor-PGEM的浓度的结果。

[0057] [图16] 示出了在对移植了小鼠肥大细胞(BMMC)或人肥大细胞(LAD2)的小鼠进行抗原·抗体刺激后、测定被排出至尿中的tetranor-PGDM和tetranor-PGEM的浓度的结果。

具体实施方式

[0058] [食物过敏的检验方法]

[0059] 本发明涉及的食物过敏的检验方法包括对受试者的尿中tetranor-PGDM的量进行测定的工序。tetranor-PGDM(9 α -羟基-11,15-二氧化-13,14-二氢-2,3,4,5-四正前列-1,20-二酸,9 α -hydroxy-11,15-dioxo-13,14-dihydro-2,3,4,5-tetranor-prostan-1,20-dioic acid)是PGD₂的代谢产物。如实施例所示,尿中tetranor-PGDM的量随着食物过敏症状严重程度的上升、随着组织中肥大细胞数量及活化而上升,并且随着因施予食物过敏的治疗药物导致的对症状的抑制而下降。因此,如果对尿中tetranor-PGDM的量加以测定,则不仅能评价食物过敏的有无,而且还能评价食物过敏的严重程度。此外,在有食物过敏的人的尿中,在即使不进行抗原刺激的情况下tetranor-PGDM浓度也高。因此,还可以对食物过敏未发作的人的尿中tetranor-PGDM的量进行测定,从而来评价食物过敏的发作风险。

[0060] 本说明书中,“食物过敏”是指因将食品中含有的过敏原摄入体内而引起的各种过敏反应。作为食物过敏,鸡蛋、牛奶、甲壳类、小麦、水果、坚果类、鱼贝类、荞麦等的过敏是广为人知的,但食物过敏还包括除上述这些以外的过敏原所导致的过敏。症状发生于皮肤、粘膜、消化器官、呼吸器官等中,腹泻、呕吐、皮炎等是代表性的。

[0061] 本说明书中,“受试者”可以是有食物过敏可能性的个体、实际上产生过食物过敏症状的个体、正在接受食物过敏治疗的个体、正在服用食物过敏的治疗药物的个体、不清楚是否有食物过敏的个体等。此外,“受试者”不限于人,也可以是小鼠、大鼠、兔、猫、狗、猴、猪、羊、牛、马等哺乳动物。

[0062] 本发明涉及的食物过敏的检验方法的一种方式中,尿中tetranor-PGDM的量更多

时,则判断为症状更严重或发作风险更高。关于尿中tetranor-PGDM的量是否更多,可对从同一个体多次采集的尿中tetranor-PGDM的量进行测定并对结果加以比较,从而对tetranor-PGDM的量进行判断。该情况下,能够对同一个体的严重程度、发作风险的变化进行评价。此外,关于尿中tetranor-PGDM的量是否更多,还可以对从多人采集的尿中tetranor-PGDM的量进行测定并对结果加以比较,从而对tetranor-PGDM的量进行判断。该情况下,能够通过与其他人进行比较,来评价严重程度或发作风险的高低。

[0063] 本发明涉及的食物过敏的检验方法的一种方式中,尿中tetranor-PGDM的量高于规定的值时,判断为症状严重或发作风险高,尿中tetranor-PGDM的量低于规定的值时,判断为症状轻或发作风险低。规定值(临界值)可通过将多个健康个体或非食物过敏患者尿样中tetranor-PGDM的量与多个食物过敏患者尿样中tetranor-PGDM的量加以比较、利用常规方法来确定。

[0064] 一种方式中,本发明涉及的食物过敏的检验方法可用于对向食物过敏患者施予的治疗药物、对患者施行的治疗方法的评价中。例如,对从治疗开始前至治疗开始后的任意时间点采集的尿样中tetranor-PGDM的量进行测定,tetranor-PGDM的量减少的情况下,判断为该治疗药物或治疗方法是有效的,tetranor-PGDM的量不减少或有所增加的情况下,判断为该治疗药物或治疗方法不是有效的。此时,tetranor-PGDM量的减少或增加可以不是显著的减少或增加,只要是本领域技术人员能够判断为存在减少或增加倾向的程度即可。

[0065] 一种方式中,本发明涉及的食物过敏的检验方法可用于:在用于食物过敏的治疗药物开发的动物实验中对该药物的效果进行评价。

[0066] 一种方式中,本发明涉及的食物过敏的检验方法意指为了得到诊断所必需的信息而对从受试者采集的试样进行调查。所述检验方法例如由检验公司等来实施。

[0067] 关于用于本发明的检验中的尿液,可使用按照常规方法采集的尿液。可以是一次得到的尿液,也可以是两次以上合并得到的尿液。采集的尿液在直到检验时为止可以以室温保存,也可以于-40℃以下(例如-80℃)保存。冻结的尿液可在快速融化后用于测定。

[0068] 关于尿中tetranor-PGDM的量的测定,可使用用于对溶液中特定物质进行检测、测定的所有方法来进行。本说明书中,提及“尿中tetranor-PGDM的量的测定”时,不仅包括对其量进行精确测定,还包括仅检测其有无、仅判定其是否高于或低于规定的量。可利用肌酸酐等标准物质的量对尿中tetranor-PGDM的量进行校正。

[0069] 作为对尿中tetranor-PGDM的量进行测定的方法,可举出例如免疫测定法、凝集法、比浊法、western印迹法、表面等离子体共振(SPR)法、各种质量分析法、利用高效液相色谱的方法、HPLC-MS/MS法等,但并不限于这些。其中,利用抗tetranor-PGDM抗体与尿样中tetranor-PGDM之间的抗原抗体反应来测定tetranor-PGDM量的免疫测定法特别简单,因而优选。

[0070] 免疫测定法中,使用经可检测性地标记的抗tetranor-PGDM抗体、或经可检测性地标记的抗tetranor-PGDM抗体的抗体(二抗)。根据抗体标记方法不同,免疫测定法可被分类为酶免疫测定(EIA或ELISA)、放射免疫测定(RIA)、荧光免疫测定(FIA)、荧光偏振免疫分析(FPIA)、化学发光免疫分析(CLIA)等,这些均可用于本发明的方法中。

[0071] ELISA法中使用经过氧化物酶、碱性磷酸酶等酶标记的抗体,RIA法中使用经¹²⁵I、¹³¹I、³⁵S、³H等放射性物质标记的抗体,FPIA法中使用经异硫氰酸荧光素、罗丹明、丹磺酰

氯、藻红素、四甲基罗丹明异硫氰酸酯、近红外荧光材料等荧光物质标记的抗体,CLIA法中使用经荧光素酶、荧光素(Luciferin)、水母素(aequorin)等发光物质标记的抗体。此外,对经胶体金、量子点等纳米粒子标记的抗体进行检测也是可以的。

[0072] 此外,免疫测定法中,还可以用生物素对抗tetranor-PGDM抗体进行标记,使其与经酶等标记的亲合素或链霉亲和素结合从而进行检测。

[0073] 免疫测定法中,其中使用酶标记的ELISA法能够简便且迅速地测定抗原。ELISA法包括竞争法和夹心法。竞争法中,将抗tetranor-PGDM抗体固定于微孔板等固相载体上,添加尿样和经酶标记的tetranor-PGDM,使得抗原抗体反应发生。先进行洗涤后,使其与酶底物反应、显色,对吸光度进行测定。若尿样中的tetranor-PGDM多则显色变弱,若尿样中的tetranor-PGDM少则显色变强,因此,可使用标准曲线来求出tetranor-PGDM的量。

[0074] 夹心法中,将抗tetranor-PGDM抗体固定于固相载体上,添加尿液样品,使其发生反应,然后进一步添加经酶标记的另外的抗tetranor-PGDM抗体,使其发生反应。洗涤后,使其与酶底物反应、显色,对吸光度进行测定,由此可求出tetranor-PGDM的量。夹心法中,也可以在使尿样中的tetranor-PGDM与固定于固相载体上的抗体反应后,首先添加未经标记的抗tetranor-PGDM抗体(一抗),再对针对该未经标记的抗tetranor-PGDM抗体的抗体(二抗)进行酶标记并进一步添加。

[0075] 关于酶底物而言,酶为过氧化物酶的情况下,可使用3,3'-二氨基联苯胺(DAB)、3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)、邻苯二胺(OPD)等,酶为碱性磷酸酶的情况下,可使用对硝基苯磷酸酯(NPP)等。

[0076] 本说明书中,“固相载体”只要为能够固定抗体的载体即可,没有特别限定,可举出玻璃制、金属性、树脂制等的微量滴定板、基板、珠粒、硝酸纤维素膜、尼龙膜、PVDF膜等,可通过已知的方法将目标物质或抗体固定于这些固相载体上。

[0077] 抗tetranor-PGDM抗体可按照单克隆抗体及多克隆抗体的任意已知的方法来制作。单克隆抗体可通过下述方式得到:从例如经tetranor-PGDM免疫的非人哺乳动物分离出抗体产生细胞,使其与骨髓瘤细胞等融合来制作杂交瘤,并对该杂交瘤产生的抗体进行纯化。另外,多克隆抗体可从经tetranor-PGDM免疫的动物的血清得到。

[0078] 抗tetranor-PGDM抗体也可使用现有的抗体。

[0079] 本发明涉及的食物过敏的检验方法中,除了对受试者尿中tetranor-PGDM的量进行测定以外,还可测定tetranor-PGEM的量。tetranor-PGEM(9,15-二氧代-11 α -羟基-13,14-二氢-2,3,4,5-四正前列-1,20-二酸,9,15-dioxo-11 α -hydroxy-13,14-dihydro-2,3,4,5-tetranor-prostan-1,20-dioic acid)是PGE₂的代谢产物。如实施例所示,可知在食物过敏的情况下,tetranor-PGEM的量在发作后暂时性上升,之后立即下降。

[0080] 如实施例所示,尿中tetranor-PGDM的量在其他炎症性疾病中显示为与食物过敏不同的情形。因此,通过测定尿中tetranor-PGDM的量,可进行与其他炎症性疾病(例如,肠炎、哮喘、过敏性皮炎)的病症鉴别。

[0081] 此外,如实施例所示,尿中tetranor-PGEM的量在其他炎症性疾病中也显示为与食物过敏不同的情形。因此,通过对尿中tetranor-PGDM的量和尿中tetranor-PGEM的量两者进行测定,能够进行更高精度的病症鉴别。

[0082] 更具体而言,尿中tetranor-PGDM的量在一定时间内维持上升、尿中tetranor-

PGEM的量暂时性上升后立即下降的情况下,可判断为食物过敏。这里,一定时间是指,例如,摄取作为食物过敏原因的物质后3日以上、5日以上、7日以上、10日以上、或20日以上。暂时性上升后立即下降是指,例如,在上升发生后5日以内、4日以内、或3日以内下降。

[0083] 另一方面,在通过经口施予葡聚糖硫酸钠(DSS)制得的小鼠结肠炎模型中,尿中tetranor-PGDM的量暂时性上升后立即下降,但tetranor-PGEM的量急剧上升并且之后也维持为高的值。已知在DSS肠炎模型中发生介由嗜中性粒细胞、巨噬细胞引起的炎症。在通过三硝基苯磺酸(TNBS)诱导出的小鼠溃疡性结肠炎模型中,尿中tetranor-PGDM的量及尿中tetranor-PGEM的量均暂时性上升后立即下降。过敏性支气管炎模型小鼠中,尿中tetranor-PGDM的量暂时性上升后立即下降,尿中tetranor-PGEM的量几乎不变化。已知哮喘中出现的呼吸道炎症、支气管炎是介由嗜酸性粒细胞而发生的炎症。过敏性皮炎模型小鼠中,尿中tetranor-PGDM的量及尿中tetranor-PGEM的量均上升,并在较长时间内维持。

[0084] 尿中tetranor-PGEM的量可按照与上述的尿中tetranor-PGDM的量同样的方法来测定。

[0085] 通过本发明涉及的食物过敏的检验方法,还可对食物过敏中的肥大细胞的活化进行评价。

[0086] 本说明书中,“肥大细胞的活化”是指肥大细胞数量的增加、脱颗粒的增加。如下文所述的实施例所示,尿中tetranor-PGDM的量随着肥大细胞的增加而上升,在脱颗粒抑制的情况下减少。此外,尿中tetranor-PGEM的量也随着肥大细胞的增加而上升。因此,可以将尿中tetranor-PGDM的量及尿中tetranor-PGEM的量作为指标来评价肥大细胞的活化。

[0087] 例如,已知过敏性鼻炎在肥大细胞缺损小鼠中出现症状,而另一方面,食物过敏在肥大细胞缺损小鼠中几乎不出现症状等,据此,已知食物过敏对肥大细胞依赖性高、肥大细胞数量的增加对其发作及进展而言是重要的。作为检测对该食物过敏而言特有的肥大细胞(尤其是消化道粘膜类型的肥大细胞)的活化的方法,迄今为止仅有对血中的组胺浓度进行测定的方法,但由于血中的组胺15分钟即会消失,因此事实上尚不存在能够对肥大细胞的活化加以检测的方法。

[0088] [食物过敏检验用试剂盒]

[0089] 本发明涉及的食物过敏检验用试剂盒为用于通过使用上文所述的检验方法进行食物过敏检验的试剂盒,所述试剂盒包含抗tetranor-PGDM抗体。

[0090] 本发明的检验用试剂盒包括为了通过利用抗tetranor-PGDM抗体的免疫测定法来测定tetranor-PGDM的量所必需的试剂及装置。

[0091] 检验用试剂盒的一种方式用于通过夹心法来测定tetranor-PGDM的量的试剂盒,所述试剂盒包含:微量滴定板、捕获用的抗tetranor-PGDM抗体、经碱性磷酸酶或过氧化物酶标记的抗tetranor-PGDM抗体、及碱性磷酸酶底物(NPP等)或过氧化物酶的底物(DAB、TMB、OPD等)。

[0092] 捕获用抗体和标记抗体识别不同的表位。

[0093] 对于这样的试剂盒,首先将捕获用抗体固定于微量滴定板,对尿液样品进行适当稀释并将其添加至微量滴定板,然后进行孵育,除去样品并进行洗涤。接下来,添加经标记的抗体,然后进行孵育,加入底物使其显色。使用微量滴定板读数仪等对显色进行测定,由此可求出tetranor-PGDM的量。

[0094] 检验用试剂盒的其他方式为用于使用二抗、通过夹心法来测定tetranor-PGDM的量的试剂盒,所述试剂盒包含:微量滴定板、捕获用的抗tetranor-PGDM抗体、抗tetranor-PGDM抗体(作为一抗)、经碱性磷酸酶或过氧化物酶标记的针对抗tetranor-PGDM抗体的抗体(作为二抗)、及碱性磷酸酶(NPP等)或过氧化物酶的底物(DAB、TMB、OPD等)。

[0095] 捕获用抗体和一抗识别不同的表位。

[0096] 对于这样的试剂盒,首先将捕获用抗体固定于微量滴定板,对尿液样品进行适当稀释并将其添加至微量滴定板,然后进行孵育,除去样品并进行洗涤。接下来,添加一抗,进行孵育及洗涤,再添加经酶标记的二抗,进行孵育,然后加入底物使其显色。使用微量滴定板读数仪等对显色进行测定,由此可求出tetranor-PGDM的量。通过使用二抗,可放大反应,提高检测灵敏度。

[0097] 检验用试剂盒中可具有作为内标使用的氘代tetranor-PGDM。氘代tetranor-PGDM是tetranor-PGDM的氘标记体,通过将它们作为内标,在利用质谱仪对尿中tetranor-PGDM的量进行测定时,可对每次分析的提取效率及离子化效率进行校正。作为氘代tetranor-PGDM,可举出例如tetranor-PGDM-d6、tetranor-PGDM-d4、tetranor-PGDM-d8。

[0098] 各检验用试剂盒还可包含必需的缓冲液、酶反应终止液、微孔板读数仪等。

[0099] 标记抗体不限于经酶标记的抗体,其还可以为经放射性物质(^{25}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 、 ^3H 等)、荧光物质(异硫氰酸荧光素、罗丹明、丹磺酰氯、藻红素、四甲基罗丹明异硫氰酸酯、近红外荧光材料等)、发光物质(荧光素酶、荧光素、水母素等)、纳米粒子(胶体金、量子点)等标记的抗体。此外,还可以使用生物素化抗体作为标记抗体,并在试剂盒中包括进经标记的亲合素或链霉亲和素。

[0100] 本发明的检验用试剂盒可包含为了通过利用抗tetranor-PGEM抗体的免疫测定法来测定tetranor-PGEM的量所必需的试剂及装置。为测定tetranor-PGEM的量所必需的试剂及装置可以是与上文所述的为了测定tetranor-PGDM的量所必需的试剂及装置相同的试剂及装置。

[0101] 该情况下,可具有作为内标使用的氘代tetranor-PGEM。氘代tetranor-PGEM是tetranor-PGEM的氘标记体,通过将它们作为内标,在利用质谱仪对尿中tetranor-PGEM的量进行测定时,可对每次分析的提取效率及离子化效率进行校正。作为氘代tetranor-PGDM,可举出例如tetranor-PGEM-d6、tetranor-PGEM-d4、tetranor-PGEM-d8。

[0102] 本发明涉及的食物过敏检验用试剂盒还可用于对食物过敏中的肥大细胞的活化进行评价。

[0103] [尿样检验用试纸]

[0104] 本发明涉及的食物过敏检验用试纸为用于通过使用上文所述的检验方法来进行食物过敏检验的条状的检验药物,其表示尿样中tetranor-PGDM的量能够以有颜色的线等而被可视化的检验用试纸。检验用试纸可以使用已知的那些,例如,可利用例如免疫层析法,可以是下述这样的构成:所述构成中,抗体容纳部(容纳有经胶体金等标记的第一抗tetranor-PGDM抗体)与判定部(其中,识别tetranor-PGDM的其他表位的第二抗tetranor-PGDM抗体以线状形式固定在纤维素膜等上)以窄槽连在一起。向所述试纸中添加尿样时,在抗体容纳部发生标记抗体与tetranor-PGDM的结合,形成tetranor-PGDM-标记抗体复合体,该复合体通过毛细管现象经由槽而移向判定部。当该复合体被所固定的第二抗tetranor-

PGDM抗体捕获时,由于胶体金的等离子体效应将在判定部出现红色的线。

[0105] 检验用试纸的判定部可设置固定有针对标记抗体的抗体的对照线。不论是否存在 tetranor-PGDM,对照线均会显色,由此能够确认试验是否正确进行。

[0106] 检验用试纸还可具有用于吸收尿样的吸收纸、干燥剂等。

[0107] 对检验用试纸而言,通过预先在抗体容纳部中还容纳进经标记的抗 tetranor-PGEM抗体、以及在判定部使得识别 tetranor-PGEM的其他表位的抗 tetranor-PGEM抗体被固定为线状,由此可同时测定 tetranor-PGDM和 tetranor-PGEM。

[0108] 通过采用这样的检验用试纸,即使在家中也能简单地测定尿中 tetranor-PGDM的量及 tetranor-PGEM的量,能够评价食物过敏的发作风险、程度。

[0109] 本发明涉及的食物过敏检验用试纸还可用于对食物过敏的肥大细胞的活化进行评价。

[0110] [食物过敏标识物及食物过敏中的肥大细胞活化标识物]

[0111] 本说明书中,“食物过敏标识物”表示其量能成为食物过敏的发作风险、食物过敏的症状严重程度、预后的指标的物质。此外,“食物过敏中的肥大细胞活化标识物”表示其量能成为食物过敏中的肥大细胞活化的有无、程度的指标的物质。

[0112] 对于将尿中的 tetranor-PGDM或尿中的 tetranor-PGEM在体外使用以作为食物过敏标识物或食物过敏中的肥大细胞活化标识物而言,可以像针对本发明涉及的食物过敏的检验方法所说明的那样对尿中 tetranor-PGDM的量或尿中 tetranor-PGEM的量加以测定。对尿中 tetranor-PGDM的量或尿中 tetranor-PGEM的量的变化进行经时测定,可以从其模式有效地推测食物过敏的发作风险或食物过敏的症状严重程度、预后、以及肥大细胞活化的有无、程度。

[0113] 本说明书中引用的所有专利文献及非专利文献的公开内容均通过参考作为整体被并入本说明书中。

[0114] 实施例

[0115] 以下,基于实施例对本发明具体地进行说明,但本发明不受这些内容的任何限定。本领域技术人员可在不脱离本发明主旨的情况下将本发明变更为各种各样的实施方式,这类变更也被涵盖在本发明的范围内。

[0116] 1.材料及方法

[0117] (1) 卵清蛋白(OVA)诱导性食物过敏模型小鼠的制作

[0118] 模型制作:以2周的时间间隔向野生型的BALB/c小鼠(6-8周龄、雌性)进行2次OVA(50 μ g)腹腔内施予,由此使其致敏,此后2周后起,每隔2天进行1次OVA(10mg)经口施予,共计10次。作为对照,向经OVA致敏的小鼠每隔2天经口施予1次生理盐水,共计10次。

[0119] 给药治疗:在向利用前述方法进行了OVA致敏的小鼠经口施予OVA的期间,每天向其腹腔内施予地塞米松(2mg/kg)或色甘酸钠(300 μ g/只小鼠)。

[0120] 症状评价:施予OVA后1小时内发生腹泻症状的小鼠的只数被以百分比进行评价。

[0121] 肥大细胞数量:制作肠道组织的石蜡切片,在显微镜下计量被氯乙酸酯酶(CAE, chIoroacetate esterase)染色染成桃红色的肥大细胞的数量。

[0122] 尿采集:使用代谢笼采集经口施予OVA或生理盐水后24小时的尿。

[0123] (2) 葡聚糖硫酸钠(DSS)诱发性结肠炎模型小鼠的制作

[0124] 模型制作:使野生型的C57BL/6小鼠(6-8周龄、雌性)通过自由饮水摄入2%DSS,进行7天,由此使得结肠炎发作。使用在相同期间内自由饮用自来水的小鼠作为对照。

[0125] 症状评价:在试验期间内(10天时间),每天测定小鼠的体重及疾病活动指数(DAI)。DAI被定义如下。0分:正常便,1分:软便,2分:重度软便,3分:水样腹泻,4分:出血性腹泻。

[0126] 尿采集:使用代谢笼,每隔2天采集24小时的尿。

[0127] (3) 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)诱发性结肠炎模型小鼠的制作

[0128] 模型制作:向野生型C57BL/6小鼠(6-8周龄、雌性)直肠内施予2.5%TNBS,诱导出结肠炎。作为对照,向小鼠结肠内施予溶剂(50%乙醇)。

[0129] 症状评价:在TNBS施予后10天内,每天测定小鼠的体重。

[0130] 结肠的长度:TNBS施予3天后和10天后对小鼠实施安乐死,测定结肠的长度。

[0131] 尿采集:使用代谢笼,每隔2天采集24小时的尿。

[0132] (4) OVA诱发性过敏性支气管炎模型小鼠的制作

[0133] 模型制作:以2周的时间间隔向野生型的BALB/c小鼠(6-8周龄、雌性)进行2次OVA(50 μ g)腹腔内施予,由此使其致敏,此后2周后起,每隔2天进行1次OVA(150 μ g)经鼻施予,共计10次。作为对照,向经OVA致敏的小鼠每隔2天经鼻施予1次生理盐水,共计10次。

[0134] 症状评价:在第10次经鼻施予OVA的24小时后,对小鼠实施安乐死,并摘取其肺。制作肺组织的石蜡切片,进行H&E染色后,进行病理组织学评价。

[0135] 尿采集:使用代谢笼,采集经鼻施予OVA或生理盐水后24小时的尿。

[0136] (5) 过敏性接触性皮炎模型小鼠的制作

[0137] 模型制作:向野生型的BALB/c小鼠(6-8周龄、雌性)的耳廓进行抗DNP抗体(1.25 μ g)皮内施予,由此使其致敏,此后24小时后,在耳廓上涂抹0.2%二硝基氟苯(DNFB),诱导出皮炎。

[0138] 症状评价:在以DNFB进行的刺激后,在30分钟、1小时、3小时、6小时、1-10天时对耳廓厚度进行测定,将其与刺激前的厚度的差值作为耳部浮肿程度。

[0139] 尿采集:使用代谢笼,每隔2天采集24小时的尿。

[0140] (6) 肥大细胞特异性人源化小鼠的制作

[0141] 人源化小鼠制作:向作为肠免疫缺陷小鼠的NOG小鼠(6-8周龄、雌性)静脉注射作为人肥大细胞系的LAD2细胞(5×10^4 或 5×10^5),制作肥大细胞特异性人源化小鼠。作为对照,静脉注射来自小鼠骨髓的肥大细胞(BMMC)。肥大细胞植活评价:在肥大细胞移植的2周后对小鼠实施安乐死,利用CAE染色将结肠及肺的肥大细胞数量与移植前的小鼠进行比较。

[0142] 尿采集:使用代谢笼,在移植后1、3、7、14、21天时采集24小时的尿。

[0143] (7) 尿的前处理

[0144] 向采集到的小鼠的尿100 μ I中,作为内标,混合进5ng的tetranor-PGDM-d6及tetranor-PGEM-d6(tetranor-PGDM及tetranor-PGEM的氘标记物)。以纯化水定容至1mI,利用盐酸将pH调节为3。将经调节的尿注入经乙醇及纯化水平衡过的Sep-Pak Vac C18柱,用6mI 10%乙腈溶液及6mI己烷进行洗涤,然后用3mI乙酸乙酯使其溶出,在氮气流下使其干燥固化。将残余物溶解于100 μ I的10%乙腈溶液中,作为测定样品。

[0145] (8) 尿中tetranor-PGDM及tetranor-PGEM的测定

[0146] 使用经前处理的尿液样品,利用高效液相色谱串联质谱装置(HPLC-MS/MS)对 tetranor-PGDM及tetranor-PGEM进行测定。作为HPLC装置,使用Prominence系统(系统控制器CBM-20A、2台送液单元LC-20AD、柱温箱CTO-20A、带冷却功能的自动进样器SIL20AC,岛津制作所),分离柱使用Inertsil IODS-3、内径2.1mm×长150mm(GL Sciences公司),流动相为0.02%乙酸和乙腈的浓度梯度,流速为0.4mI/min。柱温箱设定为37℃,自动进样器设定为4℃。关于MS/MS部,使用将电喷雾离子化作为离子源的三重四极杆型质谱装置(LCMS-8030,岛津制作所)。作为定量法使用MRM(多反应监测,MuItiple Reaction Monitoring)法。对 tetranor-PGDM(质量数328)及tetranor-PGEM(质量数328)的检测是通过将产生的m/z(质量数÷电荷)为327的前体离子(precursor ion)再以碰撞诱导解离(CID)进一步分解、使用由此产生的m/z为309的产物离子(product ion)来进行的。对内标tetranor-PGDM-d6(质量数334)及tetranor-PGEM-d6(质量数334)的检测是通过将产生的m/z(质量数÷电荷)为333的前体离子再以CID进一步分解、使用由此产生的m/z为315的产物离子来进行的。tetranor-PGDM和tetranor-PGEM化学结构非常类似,故而它们的前体离子及产物离子的m/z相同。因此,利用HPLC中驻留时间的不同来区别这两者。数据分析使用MS/MS所附的软件LabSoLutions LCMS Ver.5.53来进行。从得到的质量色谱图,针对来源于tetranor-PGDM或tetranor-PGEM的峰进行面积计算,利用使用标准物质制作的标准曲线进行对各峰的定量。定量时,使用来源于为校正每次分析的提取效率及离子化效率而作为内标导入的tetranor-PGDM-d6或tetranor-PGEM-d6的峰的面积值来进行校正。尿中tetranor-PGDM及tetranor-PGEM的量用尿中肌酸酐(creatinine)浓度进行校正,记为ng/mg肌酸酐。尿中肌酸酐浓度利用测定试剂盒(LabAssay Creatinine,和光纯药)来定量。

[0147] 2.结果

[0148] (1) 过敏症状的程度与肥大细胞的关联

[0149] 图1中示出了食物过敏模型小鼠的腹泻发作频率(左:n=10)和结肠组织中的肥大细胞数量(右:n=4)。与抗原刺激成正比地,腹泻发作频率升高、结肠组织中肥大细胞数量增加。

[0150] (2) 尿中的tetranor-PGDM及tetranor-PGEM(1)

[0151] 图2中示出了食物过敏模型小鼠尿中tetranor-PGDM及tetranor-PGEM的推移情况。可见tetranor-PGDM随着抗原刺激次数的增加而上升(左:n=10)。另一方面,可见tetranor-PGEM在抗原刺激开始后暂时性上升,随后立即下降(右:n=10)。

[0152] (3) 尿中的tetranor-PGDM及tetranor-PGEM(2)

[0153] 图3中示出了抗原刺激中止后一段时间内尿中tetranor-PGDM及tetranor-PGEM的推移情况。尿中的PGDM浓度有减少倾向,但在刺激中止后的三周以显著高的值被排出(上:n=7)。而另一方面,可见PGEM在刺激结束后立即减少(下:n=7)。

[0154] (4) 尿中tetranor-PGDM对肥大细胞的特异性

[0155] 图4中示出了在经口施予OVA期间以每天1次、每只300μg腹腔内施予色甘酸钠(cromolyn)的情况下尿中tetranor-PGDM的变动情况。色甘酸钠使肥大细胞的细胞膜稳定化,从而抑制脱颗粒。色甘酸钠的施予抑制了OVA诱导的食物过敏症状(左:n=5),使排出至尿中的tetranor-PGDM的量显著地减少(右:n=5)。

[0156] (5) 尿中tetranor-PGDM对治疗的响应

[0157] 图5中示出了将用于治疗过敏性疾病的甾体类抗炎药地塞米松 (DEX) 以每天1次、每1kg体重2mg的量进行腹腔内施予时尿中tetranor-PGDM的变动情况。地塞米松的施予抑制了OVA诱导的食物过敏症状(左:n=5),同时,使得排出至尿中的tetranor-PGDM的量显著地减少(右:n=5)。

[0158] (6) 基于尿中tetranor-PGDM和tetranor-PGEM浓度的病症鉴别 (1)

[0159] 图6中示出了DSS结肠炎模型小鼠的体重(左:n=5)和严重程度的变动情况(右:n=5)。观察到因施予DSS导致的体重减少和结肠炎恶化。

[0160] 图7中示出了DSS结肠炎模型的尿中tetranor-PGDM和tetranor-PGEM的推移情况。尿中tetranor-PGDM的浓度虽然在施予DSS后暂时性上升,但随后立即下降(左:n=5)。而另一方面,tetranor-PGEM的浓度自DSS施予起即急剧上升,此后也始终维持为高的值(右:n=5)。

[0161] (7) 基于尿中tetranor-PGDM和tetranor-PGEM浓度的病症鉴别 (2)

[0162] 图8中示出了TNBS结肠炎模型小鼠的体重变动(左:n=5)和结肠长度(右:n=5)。观察到因TNBS导致的体重减少和结肠变短。

[0163] 图9中示出了TNBS结肠炎模型的尿中tetranor-PGDM和tetranor-PGEM的推移情况。对于tetranor-PGDM(左:n=5)、tetranor-PGEM(右:n=5),均观察到浓度的暂时性上升。

[0164] (8) 基于尿中tetranor-PGDM和tetranor-PGEM浓度的病症鉴别 (3)

[0165] 图10中示出了OVA诱发性过敏性支气管炎模型小鼠的肺的H&E染色图像。观察到因施予OVA导致的炎症细胞的浸润和支气管杯状细胞的过度形成(右)。

[0166] 图11中示出了过敏性支气管炎模型的尿中tetranor-PGDM和tetranor-PGEM的推移情况。尿中tetranor-PGDM的浓度发生了暂时性上升(左:n=5)。而另一方面,tetranor-PGEM(右:n=5)的浓度几乎没有变化。

[0167] (9) 基于尿中tetranor-PGDM和tetranor-PGEM浓度的病症鉴别 (4)

[0168] 图12中示出了在DNFB诱发性过敏性接触性皮炎模型中发生的耳部肿胀。涂抹DNFB的情况下,耳部肿胀体现出即时相(IPR)、迟发相(LPR)、超迟发相(vLPR)的三相性(n=5)。

[0169] 图13中示出了过敏性皮炎模型的尿中tetranor-PGDM和tetranor-PGEM的推移情况。尿中的tetranor-PGDM(左:n=5)、tetranor-PGEM(右:n=5)的轻度上升在长时期内均被维持。

[0170] (10) 肥大细胞特异性人源化小鼠的尿中tetranor-PGDM及tetranor-PGEM

[0171] 图14中示出了在超免疫缺陷(NOG)小鼠的结肠及肺组织中植活有人肥大细胞(LAD2)时的状况(图7左:n=3)。

[0172] 图15中示出了对肥大细胞人源化小鼠进行抗原·抗体刺激后排出至尿中的tetranor-PGDM和tetranor-PGEM的推移情况。尿中tetranor-PGDM的浓度在刺激后立即上升,并在2周内都保持为较高的值(●:n=4)。而另一方面,tetranor-PGEM的浓度在刺激后暂时性上升,但在6小时后即立刻下降(▲:n=4)。

[0173] 由上述结果可见,尿中的tetranor-PGDM和tetranor-PGEM作为人的过敏标识物也是有用的。

[0174] (11) 人或小鼠肥大细胞使得尿中 tetranor-PGDM/PGEM 产生的情况

[0175] 图16中示出了向NOG小鼠中分别移植小鼠肥大细胞(BMMC)和人肥大细胞(LAD2)、并对其进行抗原·抗体刺激后排出至尿中的tetranor-PGDM及tetranor-PGEM。与移植有小鼠肥大细胞的小鼠相比,移植有人肥大细胞的小鼠排出约10倍的tetranor-PGDM(左:n=5)。tetranor-PGEM的排出浓度为约2.5倍(右:n=5)。

[0176] 由该结果也可见,尿中的tetranor-PGDM和tetranor-PGEM作为人的过敏标识物也是有用的。

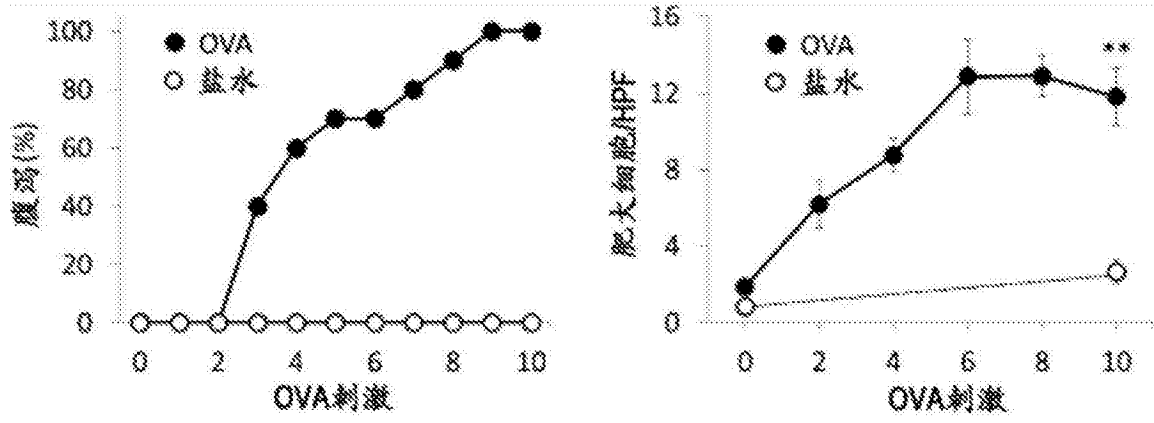


图1

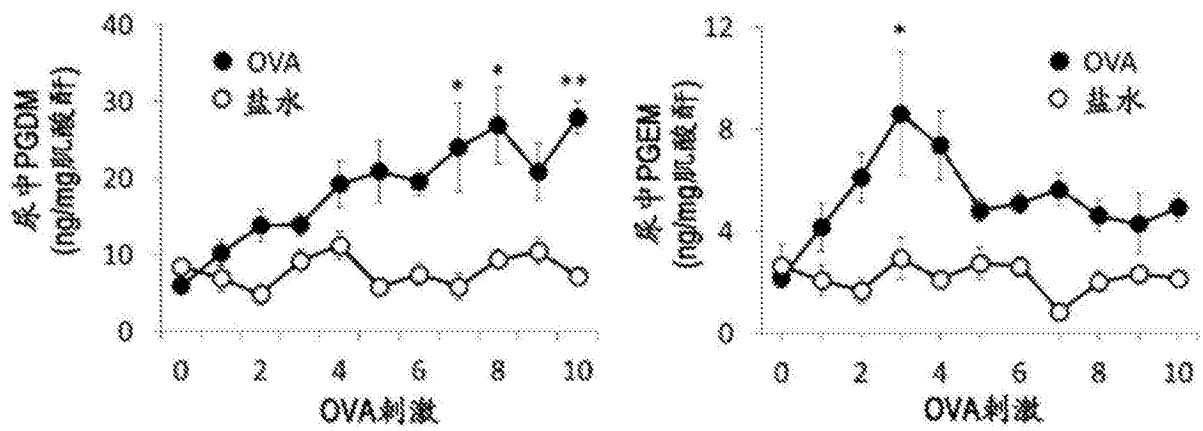


图2

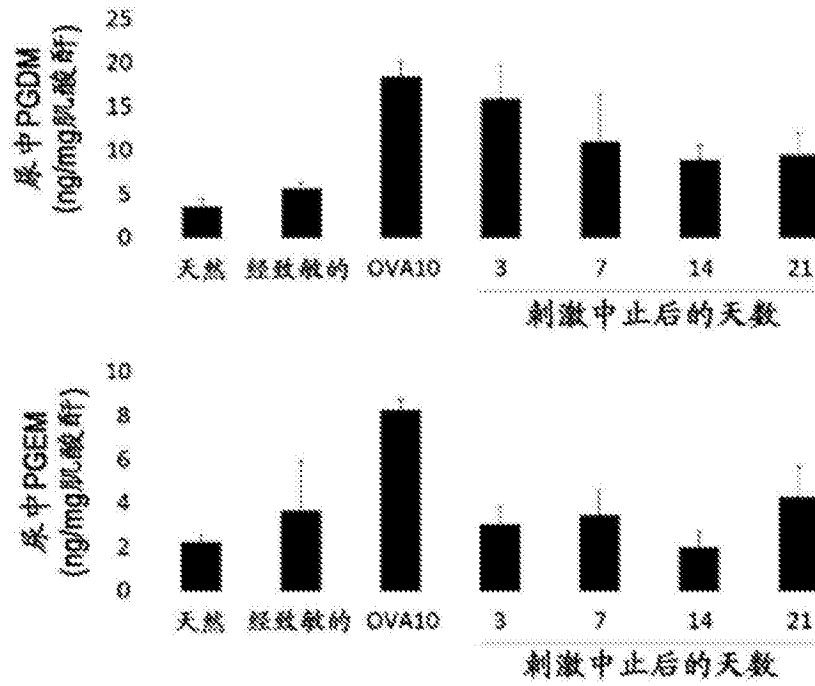


图3

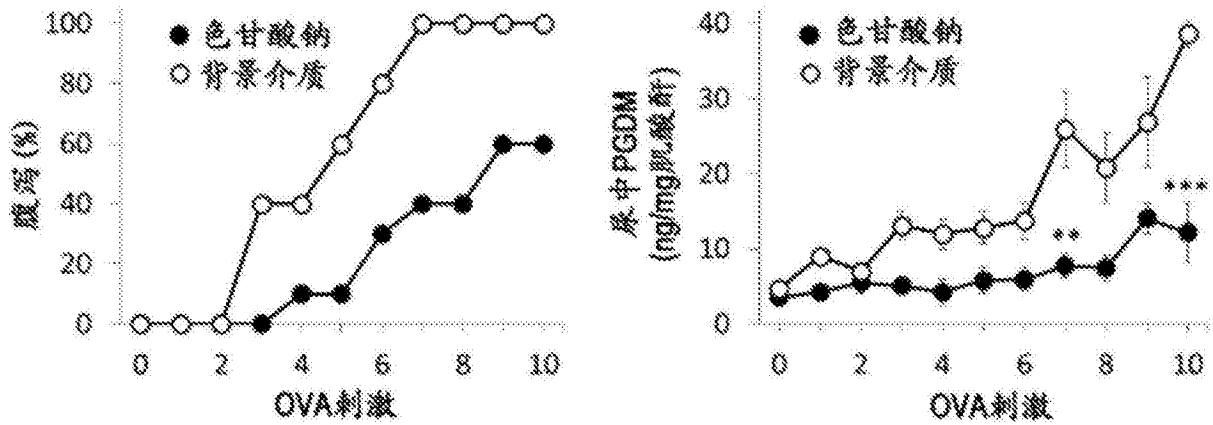


图4

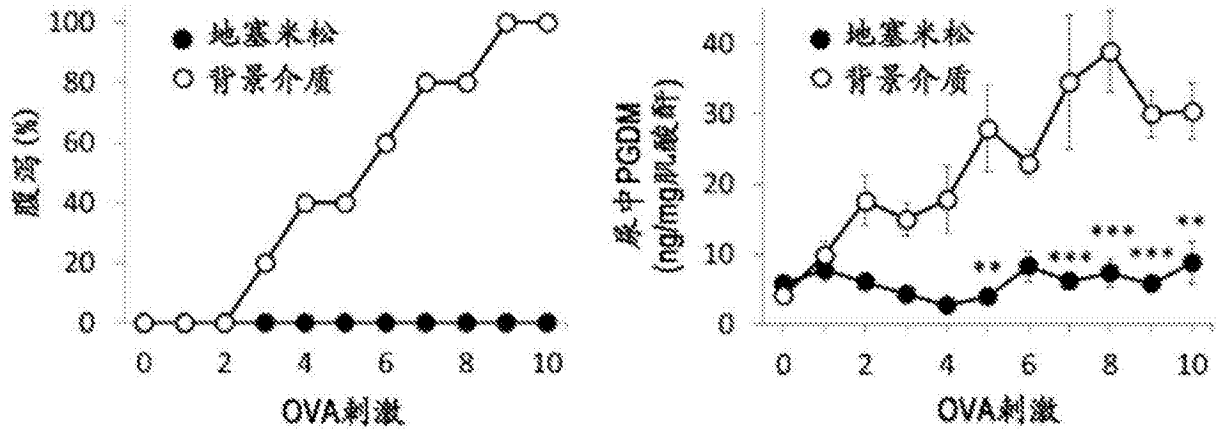


图5

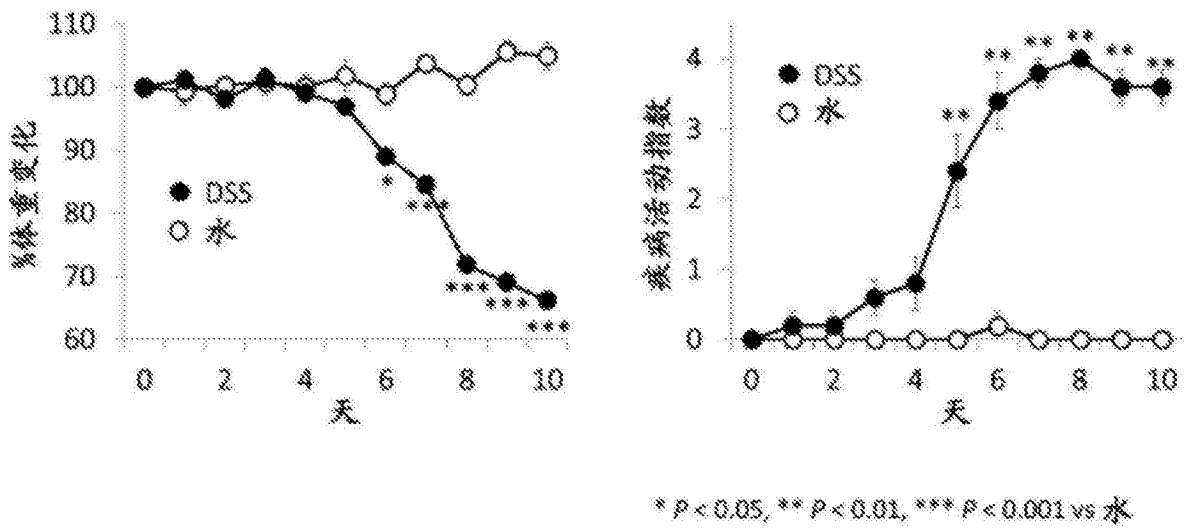


图6

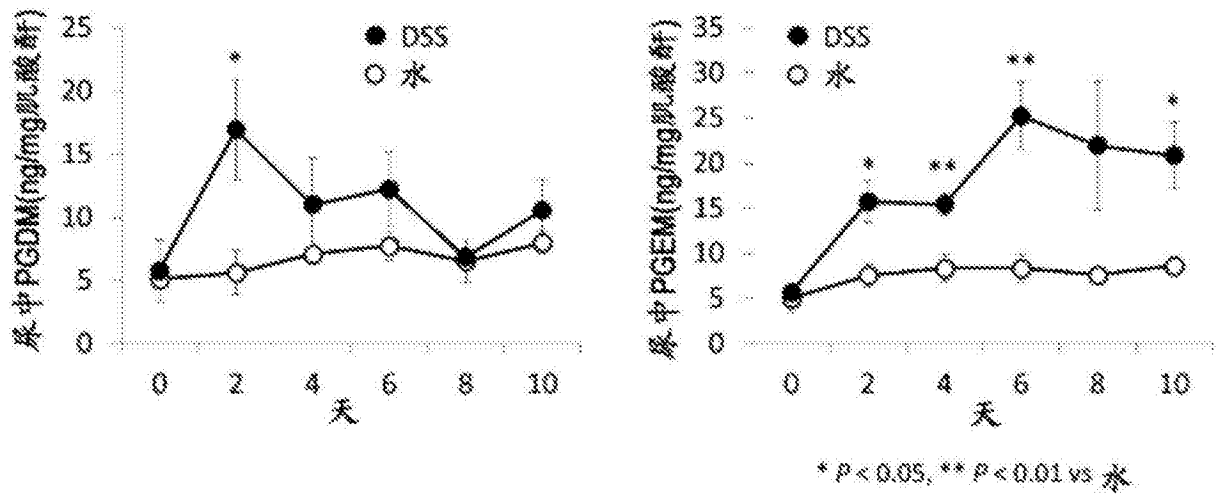


图7

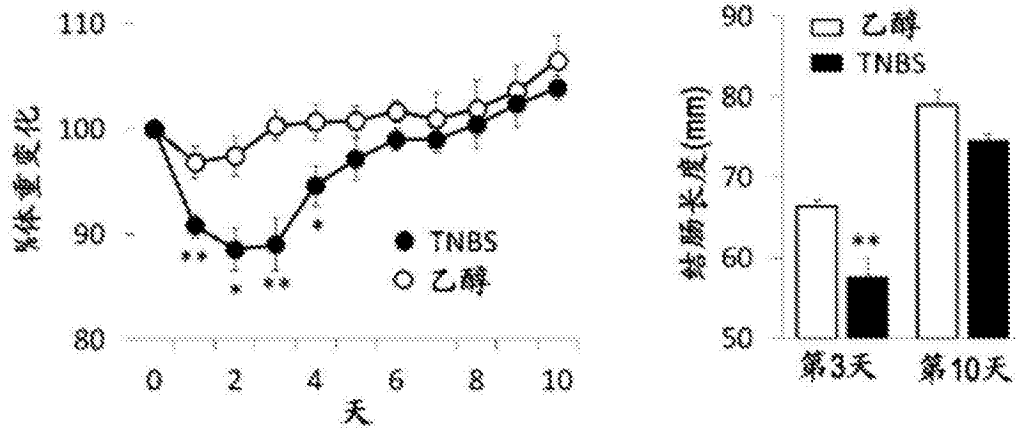


图8

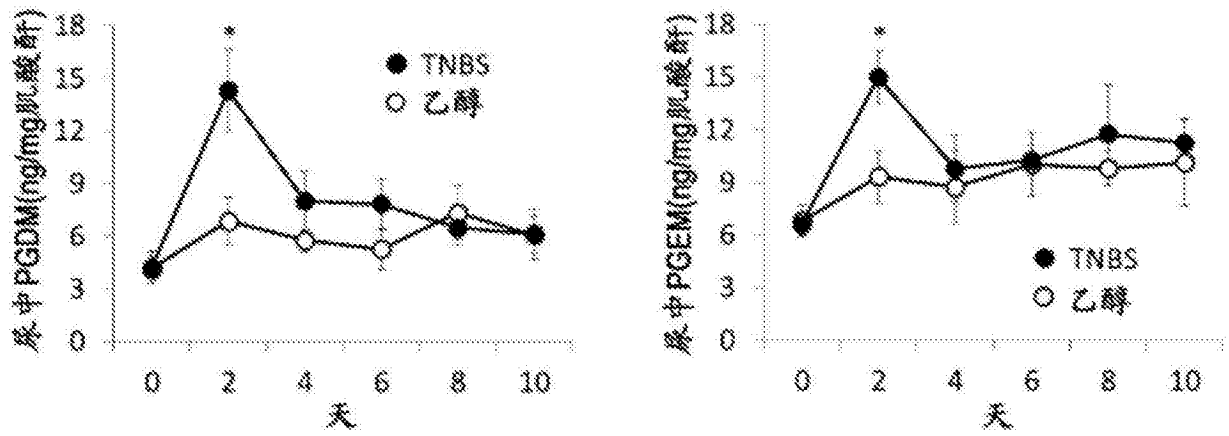


图9

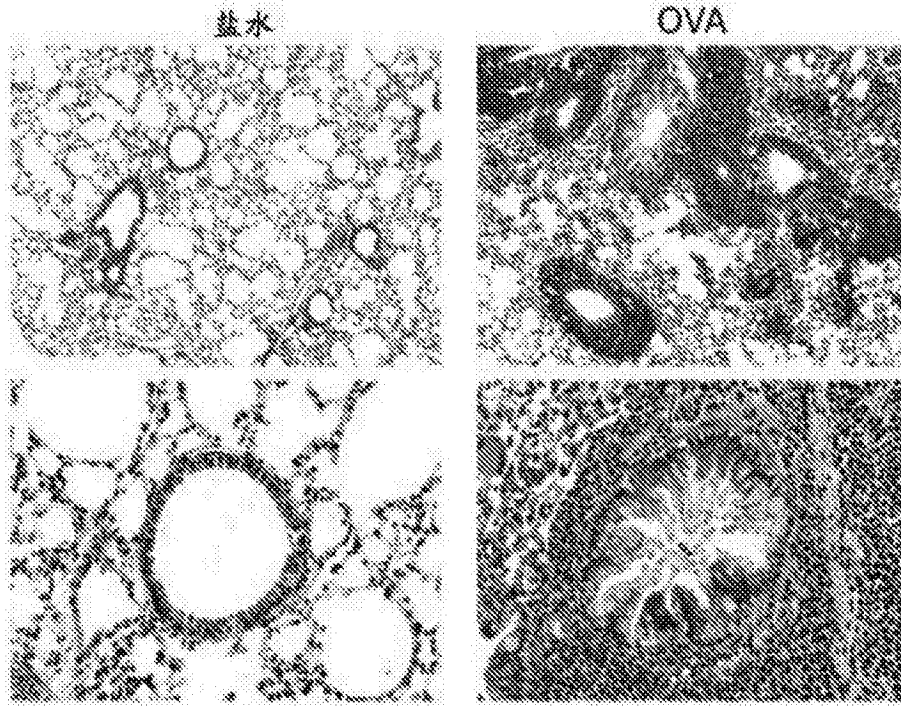


图10

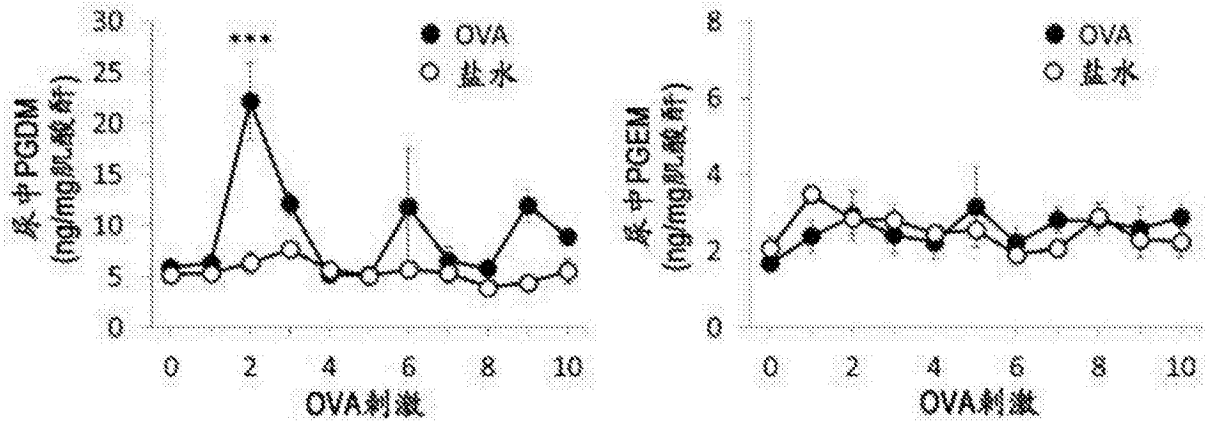


图11

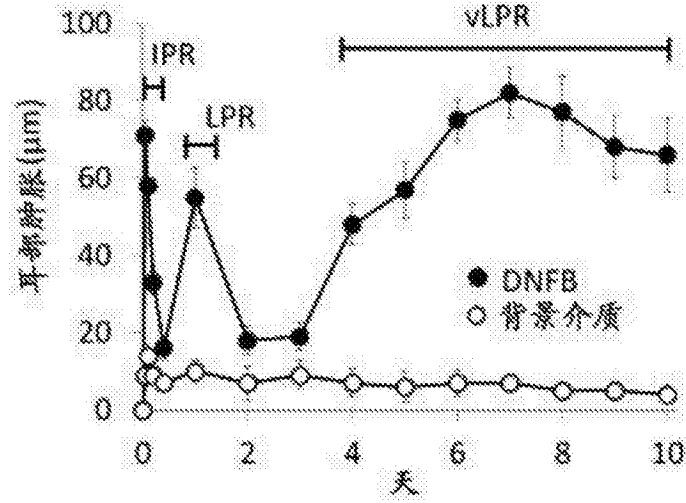


图12

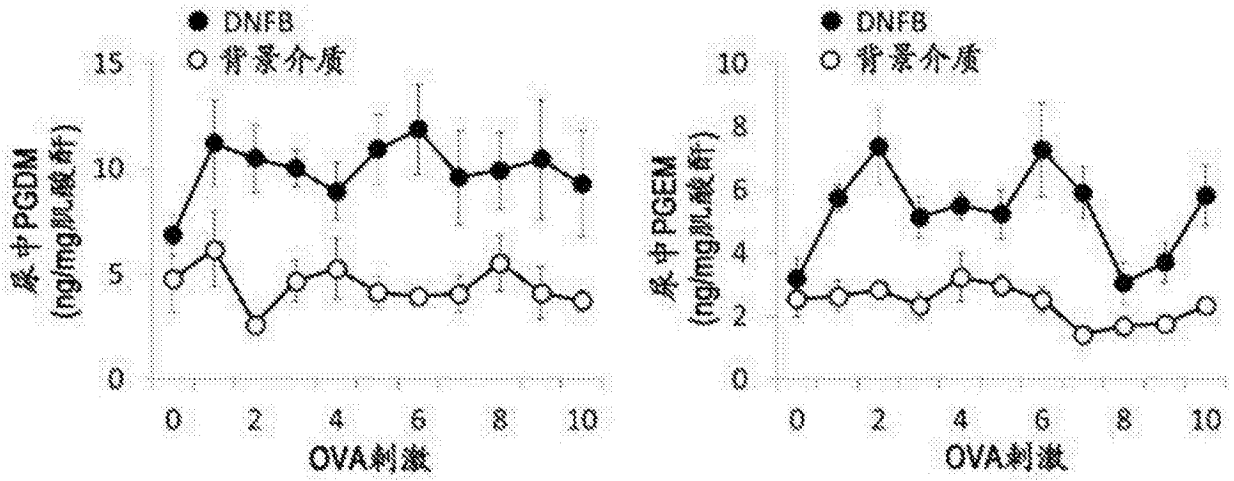


图13

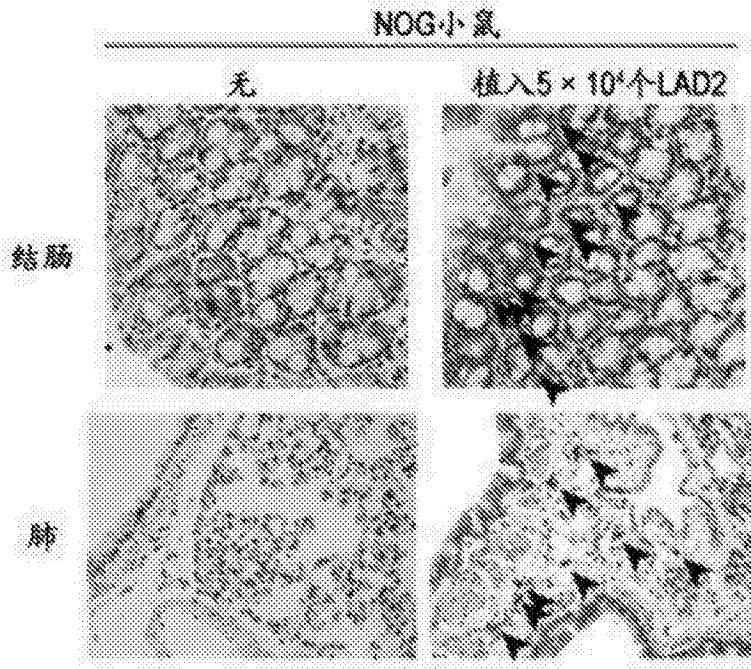


图14

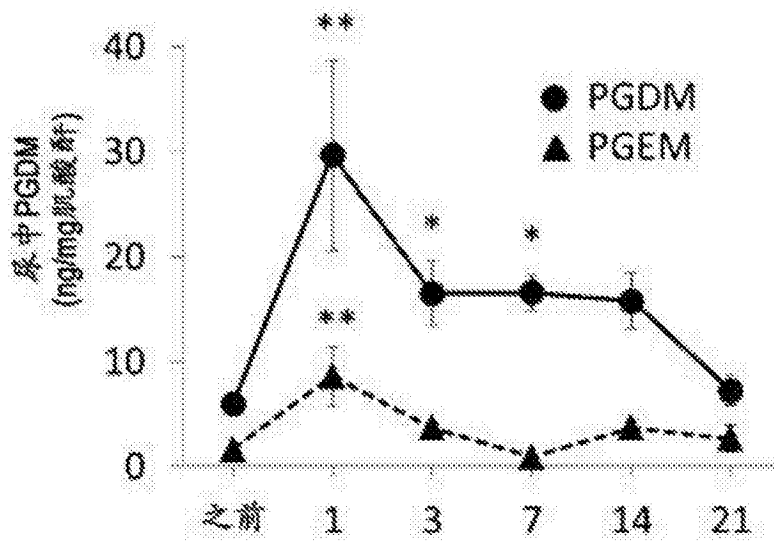


图15

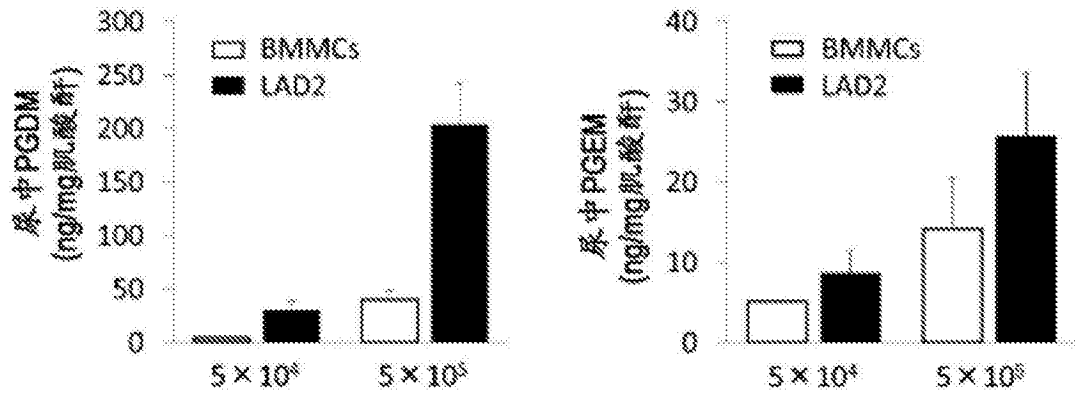


图16

专利名称(译)	食物过敏的检验方法及检验用试剂盒		
公开(公告)号	CN106574923A	公开(公告)日	2017-04-19
申请号	CN201580042087.1	申请日	2015-08-06
[标]申请(专利权)人(译)	国立大学法人 东京大学		
申请(专利权)人(译)	国立大学法人东京大学		
当前申请(专利权)人(译)	国立大学法人东京大学		
[标]发明人	中村达朗 前田真吾		
发明人	村田幸久 中村达朗 前田真吾		
IPC分类号	G01N33/50 G01N27/62 G01N33/493 G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N33/88 G01N2800/24 G01N27/62 G01N33/493 G01N2800/52		
代理人(译)	杨宏军		
优先权	2014160891 2014-08-06 JP		
其他公开文献	CN106574923B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明的课题在于提供能够简单且正确地对食物过敏的发作风险、其症状严重程度进行评价的检验方法。本发明提供对受试者的食物过敏加以检验的方法，所述方法包括对所述受试者尿中tetranor-PGDM的量进行测定的工序。

