

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02016/072364

発行日 平成29年8月17日(2017.8.17)

(43) 国際公開日 平成28年5月12日(2016.5.12)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
GO 1 N 33/92 (2006.01)	GO 1 N 33/92	Z 2GO41
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	S 2GO45
GO 1 N 30/88 (2006.01)	GO 1 N 30/88	E
GO 1 N 30/72 (2006.01)	GO 1 N 30/72	C
GO 1 N 27/62 (2006.01)	GO 1 N 27/62	X

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 30 頁) 最終頁に続く

出願番号	特願2016-557746 (P2016-557746)	(71) 出願人	000173924 公益財団法人野口研究所 東京都板橋区加賀一丁目9番7号
(21) 国際出願番号	PCT/JP2015/080801	(74) 代理人	100125748 弁理士 高橋 徳明
(22) 国際出願日	平成27年10月30日(2015.10.30)	(74) 代理人	100177161 弁理士 日比 敦士
(31) 優先権主張番号	特願2014-224811 (P2014-224811)	(74) 代理人	100191972 弁理士 宮坂 友梨
(32) 優先日	平成26年11月5日(2014.11.5)	(72) 発明者	井ノ口 仁一 宮城県仙台市泉区高森五丁目9-7
(33) 優先権主張国	日本国(JP)	(72) 発明者	ベイロン ルーカス 宮城県仙台市青葉区小松島四丁目16-2 8 ボザールマンション301
		Fターム(参考)	2G041 CA01 EA04 FA10 HA01 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 疾患を検出する方法

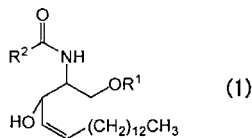
(57) 【要約】

本発明は、(a) 被験者由来の血液試料中のガングリオシドGM3を測定する工程

を含む、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患を検出する、又は、該疾患の発症リスクを検出する方法であって、

該ガングリオシドGM3は、下記式(1)で表される構造であることを特徴とする検出方法に関する。

[化1]



[式(1)中、R¹は、ガングリオシドGM3を構成する糖鎖を示し、R²-C(=O)-は、置換基としてOH基を有する、二重結合を有していてもよい炭素数16

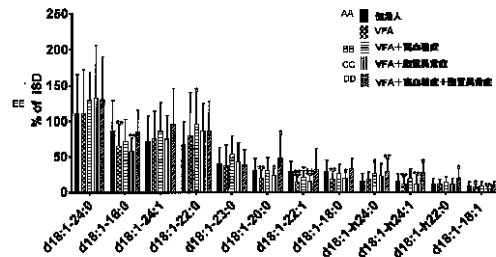
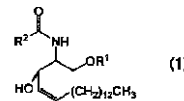


FIG. 3a
AA: healthy person
BB: VFA + hyperglycemia
CC: VFA + dyslipidemia
DD: VFA + hyperglycemia + dyslipidemia
EE: % of ISO

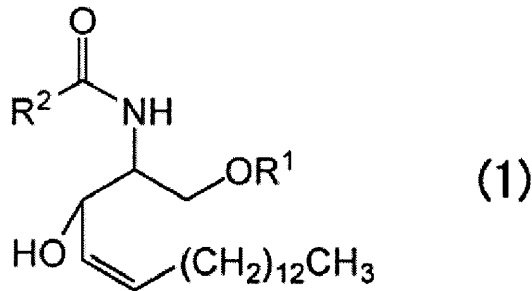
【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) 被験者由来の血液試料中のガングリオシド GM3 を測定する工程を含む、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも 1 つの疾患若しくは 2 つ以上が合併された疾患を検出する、又は、該疾患の発症リスクを検出する方法であって、

該ガングリオシド GM3 は、下記式 (1) で表される構造であることを特徴とする検出方法。

【化 1】



[式 (1) 中、 R^1 は、ガングリオシド GM3 を構成する糖鎖を示し、 $R^2 - C(=O) -$ は、置換基として OH 基を有する、二重結合を有していてもよい炭素数 16 以上 24 以下の脂肪酸残基を示す。]

【請求項 2】

上記疾患がメタボリックシンドロームである請求項 1 に記載の検出方法。

【請求項 3】

上記式 (1) で表される構造は、 $R^2 - C(=O) -$ が、置換基として OH 基を有する、二重結合を有していてもよい炭素数 22 又は 24 の炭化水素基である請求項 1 又は請求項 2 に記載の検出方法。

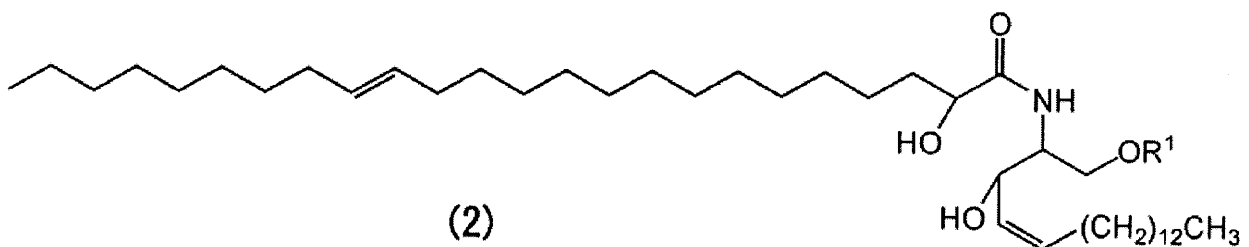
【請求項 4】

上記式 (1) で表される構造は、 $R^2 - C(=O) -$ が、置換基として OH 基を有する、二重結合を有する炭素数 24 の炭化水素基である請求項 1 又は請求項 2 に記載の検出方法。

【請求項 5】

上記式 (1) で表される構造が下記式 (2) で表される構造である請求項 1 又は請求項 2 に記載の検出方法。

【化 2】



[式 (2) 中、 R^1 は、ガングリオシド GM3 を構成する糖鎖を示す。]

【請求項 6】

(b) 上記 (a) 工程で測定した上記式 (2) で表される構造であるガングリオシド GM3 の量と、健常人由来の血液試料中の上記式 (2) で表される構造であるガングリオシド GM3 の量を比較する工程と、

10

20

30

40

50

(c) 上記(b)工程で有意な差があった場合に、上記被験者の、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患に関するマーカーの値が、上記健常人と比較して異常であると判定する工程を更に含む、請求項5に記載の検出方法。

【請求項7】

上記内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、及び、高血圧症に関するマーカーは、オートタキシン、HOMA-IR、HbA1c、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニン-アミノトランスフェラーゼ、低密度リポタンパク質コレステロール、空腹時血糖、及び、血圧よりなる群から選択される少なくとも1つである、請求項6に記載の検出方法。

10

【請求項8】

上記アテローム性動脈硬化症に関するマーカーは、スフィンゴミエリン、リゾホスファチジルコリン、C反応性タンパク質、及び、平均内臓中膜肥厚よりなる群から選択される少なくとも1つである、請求項6又は請求項7に記載の検出方法。

【請求項9】

上記ガングリオシドGM3の測定を、上記ガングリオシドGM3に対して抗体を作用させる方法、高速液体クロマトグラフィー法、質量分析法、又は、液体クロマトグラフィー/質量分析法によって行う、請求項1ないし請求項8の何れかの請求項に記載の検出方法。

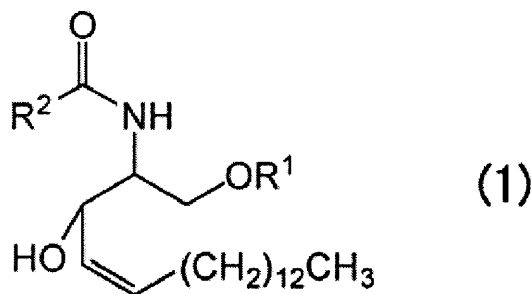
20

【請求項10】

標準物質としてガングリオシドGM3を含有する、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患を検出する、又は、該疾患の発症リスクを検出するキットであり、

該ガングリオシドGM3は、下記式(1)で表される構造であることを特徴とする検出キット。

【化3】



30

[式(1)中、R¹は、ガングリオシドGM3を構成する糖鎖を示し、R²-C(=O)-は、置換基としてOH基を有する、二重結合を有していてもよい炭素数16以上24以下の脂肪酸残基を示す。]

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、特定の疾患を検出する又は該疾患の発症リスクを検出する方法及びそれらの検出キットに関し、更に詳しくは、特定の構造を有するガングリオシドGM3を測定する工程を含む、特定の疾患を検出する又は該疾患の発症リスクを検出する方法及びそれらの検出キットに関するものである。

【背景技術】

【0002】

50

糖尿病及び循環器病（CVD；cardiovascular disease）は肥満、高血圧及び身体活動の低下を含む多くの危険因子が重複し、互いに関連性がある。CVDの1つであるアテローム性動脈硬化症は、コレステロール及び脂肪が血管の内腔に蓄積することによって、プラークが形成された状態をいう。このプラークが破裂すると、血栓ができ、脳卒中、心臓発作等を引き起こす危険性がある（非特許文献1）。

【0003】

これまでにメタボリック及び行動リスク因子がアテローム性動脈硬化症を引き起こす原因となっていることが報告されている。行動リスク因子には、運動不足、過剰なカロリー、塩及び脂肪摂取等の不健康な食事、タバコ、及びアルコールの乱用等が含まれる。従来のメタボリックリスク因子には、高血圧、血中におけるコレステロール等の脂質濃度の増加、及び高血糖等が含まれる。また、頸動脈内膜中膜肥厚（CIMT）がCVD危険因子と関連があることが報告されている。

10

【0004】

一方、糖尿病には、1型糖尿病と2型糖尿病がある。2型糖尿病は、過剰なカロリー摂取、運動不足、肥満及び血中における低密度リポタンパク質（LDL）濃度増加等と関連があり、生活習慣病と言われている。2型糖尿病では、インスリン抵抗性及び/又はインスリン分泌不全となり、高血糖状態となっている（非特許文献2）。内臓脂肪の過剰蓄積に伴う脂肪細胞の機能異常によるアディポサイトカインの分泌バランスの破綻が、インスリン抵抗性を惹起し、2型糖尿病や動脈硬化性疾患の要因として重要な役割を果たしていることが明らかにされている。

20

【0005】

内臓脂肪組織中には常時、骨髄性細胞であるマクロファージが潜在しているが、肥大化に伴いインスリン抵抗性を獲得しつつある内臓脂肪細胞からはMCP-1というアディポサイトカインが分泌され、更にマクロファージが周辺血管より動員される。また、肥大化した脂肪組織から分泌される多量の遊離脂肪酸もToll-like receptorを介してマクロファージを活性化し、TNFやIL-6等の炎症性サイトカインを分泌する。これらの炎症性サイトカインが脂肪細胞に作用し、脂肪細胞のインスリン抵抗性を増悪する。その結果、アディポサイトカインの分泌異常が亢進する。この脂肪細胞の慢性炎症状態が、全身性のインスリン抵抗性を惹起することが見出され、脂肪組織の病態生理が注目されている（非特許文献3）。

30

【0006】

現在2型糖尿病の血液診断は、一般的に血糖値、HbA1c、グリコアルブミン値等を指標に診断されているが、2型糖尿病の病状を正解に把握するためには、1つの指標だけではなく、複数の指標を測定し、評価しなければならない。

【0007】

これまでに、発明者らは、血液中の、ガングリオシドの1つであるガングリオシドGM3（-Neu5Ac-(2-3)-Gal-(1-4)-Glc-(1-1)-セラミド）を定量することによって、2型糖尿病、高脂血症、高血圧及び肥満からなる群から選択されるインスリン抵抗性病態を示す疾患を検出することができることを見出した（特許文献1、非特許文献4）。ガングリオシドはシアル酸を含むスフィンゴ糖脂質の総称であり、スフィンゴ糖脂質は、セラミドにグルコース、ガラクトース、N-アセチルガラクトサミン、N-アセチルグルコサミン、シアル酸等の糖や硫酸の段階的な酵素付加によって生合成された糖脂質であり、細胞膜脂質二重層の外側に発現している。

40

また、これまでの研究により、総GM3量は、リポタンパク質コレステロール（LDL-c）と相関関係があることがわかっている（非特許文献4）。

【0008】

また、血液中のガングリオシドGM3には、セラミド部分の炭化水素基の炭素数や二重結合の数、置換基の種類や数等により、多くの分子種が存在している。分子種によって、生物物理学的特性や生理学的機能が異なると言われ、特定の構造を有するガングリオシドGM3を測定することが、メタボリックシンドローム等の生活習慣病の検出に更に有効で

50

あると考えられるが、これまでのところ、当該検出により有効であるガングリオシドGM3の構造については報告がなされていない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】国際公開第2007/139224号

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】Kwon, G. P. et al., Circulation, 117 (2008) 2919-2927

【非特許文献2】Chen, L. et al., Nat rev Endocrinol., 8 (2012) 228-236

【非特許文献3】Katada, H. et al., Chem Bio Chem., 10 (2009) 1279

【非特許文献4】Sato, T. et al., Obe Res Clin Pract., 2 (2008) I-II

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

本発明は上記背景技術に鑑みてなされたものであり、その課題は、メタボリックシンドローム等の生活習慣病（特定疾患）に関与する多くの分子と相関性がある、特定の構造を有するガングリオシドGM3を測定する工程を含む、疾患を検出する又は該疾患の発症リスクを検出する方法及びキットを提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0012】

本発明者は、上記の課題を解決すべく鋭意検討を重ねた結果、セラミド部分がヒドロキシル化されたガングリオシドGM3を測定することにより、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患を検出する、又は、該疾患の発症リスクを検出できることを見出した。

【0013】

また、該特定の構造を有するガングリオシドGM3は、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患に関するマーカーと相関関係があることを見出して本発明を完成するに至った。

【0014】

すなわち、本発明は以下の方法である。

[1]

(a) 被験者由来の血液試料中のガングリオシドGM3を測定する工程

を含む、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患を検出する、又は、該疾患の発症リスクを検出する方法であって、

該ガングリオシドGM3は、下記式(1)で表される構造であることを特徴とする検出方法である。

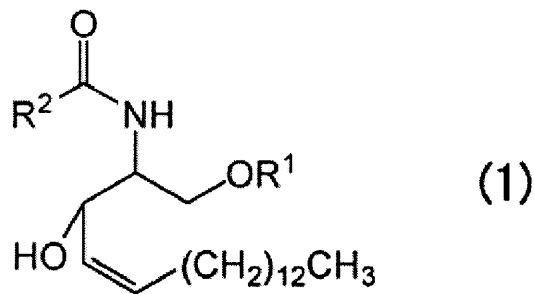
10

20

30

40

【化 1】



10

[式(1)中、 R^1 は、ガングリオシドGM3を構成する糖鎖を示し、 $R^2 - C(=O) -$ は、置換基としてOH基を有する、二重結合を有していてもよい炭素数16以上24以下の脂肪酸残基を示す。]

【0015】

[2]

上記疾患がメタボリックシンドロームである[1]に記載の検出方法。

【0016】

[3]

上記式(1)で表される構造は、 $R^2 - C(=O) -$ が、置換基としてOH基を有する、二重結合を有していてもよい炭素数22又は24の炭化水素基である[1]又は[2]に記載の検出方法。

20

【0017】

[4]

上記式(1)で表される構造は、 $R^2 - C(=O) -$ が、置換基としてOH基を有する、二重結合を有する炭素数24の炭化水素基である[1]又は[2]に記載の検出方法。

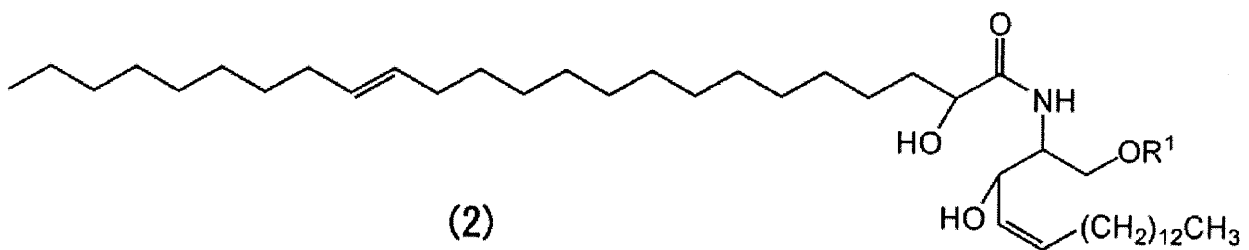
【0018】

[5]

上記式(1)で表される構造が下記式(2)で表される構造である[1]又は[2]に記載の検出方法。

30

【化 2】



40

[式(2)中、 R^1 は、ガングリオシドGM3を構成する糖鎖を示す。]

【0019】

[6]

(b)上記(a)工程で測定した上記式(2)で表される構造であるガングリオシドGM3の量と、健常人由来の血液試料中の上記式(2)で表される構造であるガングリオシドGM3の量を比較する工程と、

(c)上記(b)工程で有意な差があった場合に、上記被験者の、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患に関するマーカーの値が、上記健常人と比較して異常であると判定する工程

50

を更に含む、[5]に記載の検出方法。

【 0 0 2 0 】

[7]

上記内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、及び、高血圧症に関するマーカーは、オートタキシン、HOMA - IR、HbA1c、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニン - アミノトランスフェラーゼ、低密度リポタンパク質コレステロール、空腹時血糖、及び、血圧よりなる群から選択される少なくとも1つである、[6]に記載の検出方法。

【 0 0 2 1 】

[8]

上記アテローム性動脈硬化症に関するマーカーは、スフィンゴミエリン、リゾホスファチジルコリン、C反応性タンパク質、及び、平均内臓中膜肥厚よりなる群から選択される少なくとも1つである、[6]又は[7]に記載の検出方法。

【 0 0 2 2 】

[9]

上記ガングリオシドGM3の測定を、上記ガングリオシドGM3に対して抗体を作用させる方法、高速液体クロマトグラフィー法、質量分析法、又は液体クロマトグラフィー/質量分析法によって行う、[1]ないし[8]の何れかの請求項に記載の検出方法。

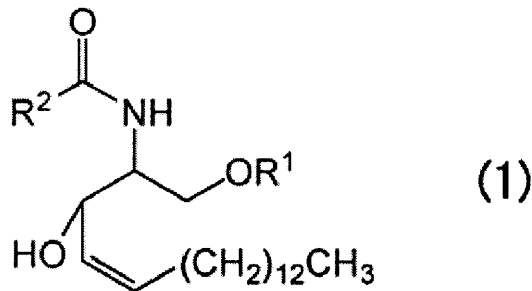
【 0 0 2 3 】

[1 0]

標準物質としてガングリオシドGM3を含有する、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患を検出する、又は、該疾患の発症リスクを検出するキットであり、

該ガングリオシドGM3は、下記式(1)で表される構造であることを特徴とする検出キット。

【化3】



[式(1)中、R¹は、ガングリオシドGM3を構成する糖鎖を示し、R² - C(=O) - は、置換基としてOH基を有する、二重結合を有していてもよい炭素数16以上24以下の脂肪酸残基を示す。]

【発明の効果】

【 0 0 2 4 】

本発明の検出方法によれば、前記問題点を解消し前記課題を解決し、血液試料中の特定構造を有するガングリオシドGM3を測定することにより、従来の検出方法と比べて、被験者の状態を、より基本的見地から、より正確に、より簡便に把握することができる。

式(1)で表される特定のガングリオシドGM3を測定することにより、一般的ガングリオシドGM3の測定(ガングリオシドGM3全体の測定)に比べて、更なる的確に、特定疾患の検出ができたり、特定疾患の発症リスクの検出ができたりする。

また、従来の生活習慣病の検出方法と比べて、被験者の生活習慣病に関連する状態をより正確に把握することができる。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 5 】

具体的には、本発明の検出方法により、特定の構造を有するガングリオシドGM3を測定することで、従来法に比べ、より基本的見地から、より正確に、より簡便に、「内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患」を検出することができる。

本明細書では、上記「 」内（合併された疾患も含む）を、「特定疾患」と略記することができる。

【 0 0 2 6 】

また、従来法に比べ、上記特定疾患の発症リスクを、より基本的見地から、より正確に、より簡便に、より早期に予測することができて、該特定疾患に罹患しないよう早めに対策を講じること等ができる。

10

【 0 0 2 7 】

また、本発明の検出方法により、総GM3量を測定することでは特定疾患を検出することができない場合であっても、特定疾患を検出したり、特定疾患の発症リスクを検出したりすることができる。

特に、本発明の検出方法により、被験者がメタボリックシンドロームに罹患しているか否かを検出したり、該発症リスクを判断したりすることができる。

【 0 0 2 8 】

また、特定の構造を有するガングリオシドGM3は、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症のマーカーと相関性があり、該特定の構造を有するガングリオシドGM3を測定するという簡便な操作により、上記特定疾患に罹患しているかを検出する又は上記特定疾患を発症するリスクがあるかを予測することができる。

20

【 0 0 2 9 】

本発明によれば、前記特定疾患、メタボリックシンドローム、生活習慣病等の疾患を検出すること又は該疾患の発症リスクを検出することによって、それらによって引き起こされる、糖尿病；心筋梗塞、狭心症等の心臓血管障害；脳梗塞等の脳血管障害；腎機能障害；四肢動脈閉塞等の血管障害；等の循環器系疾患の検出・予防が容易になる。

【 図面の簡単な説明 】

30

【 0 0 3 0 】

【 図 1 】 健常人及び各疾患に罹患している患者の血清中の総GM3量を測定した結果を示すグラフである。

【 図 2 】 血清中の総GM3量と、(A)総コレステロール量、(B)LDL-コレステロール(LDL-c)量、(C)オートタキシン量、(D)平均内臓中膜肥厚(Mean IMT)、(E)空腹時血糖値、(F)インスリン、(G)HOMA-IR量、及び(H)HbA1c量との相関関係を示すグラフである。

【 図 3 A 】 健常人及び各疾患に罹患している患者の血清中の、12個のGM3分子種の量を測定した結果を示すグラフである。

【 図 3 B 】 健常人及び各疾患に罹患している患者の血清中の、11個のGM3分子種の量を測定した結果を示すグラフである。

40

【 図 4 】 血清中の特定の構造を有するGM3([hC24:1]GM3)量と、(A)総コレステロール量、(B)LDL-コレステロール(LDL-c)量、(C)オートタキシン量、及び(D)平均内臓中膜肥厚(Mean IMT)、(E)空腹時血糖値、(F)インスリン、(G)HOMA-IR量、及び(H)HbA1c量との相関関係を示すグラフである。

【 図 5 】 GM3、スフィンゴミエリン、セラミドに存在する[hC24:1]量を測定したグラフである。縦軸は、[C24:1]量を100としたときの割合(%)である。

【 図 6 】 健常人及び各疾患に罹患している患者の、(A)血清中のヒドロキシル化GM3(「d18:1-h24:0」、「d18:1-h24:1」、「d18:1-h22:1」)

50

0」)の合計量、(B)血清中の非ヒドロキシル化GM3(「d18:1-24:0」、「d18:1-24:1」、「d18:1-22:0」)の合計量を測定した結果を示すグラフである。

【図7】血清中のヒドロキシル化GM3(「d18:1-h24:0」、「d18:1-h24:1」、「d18:1-h22:0」)の合計量と、(A)総コレステロール量、(B)LDL-コレステロール(LDL-c)量、(C)オートタキシン量、(D)平均内臓中膜肥厚(Mean IMT)、(E)空腹時血糖値、(F)インスリン、(G)HOMA-IR量、及び(H)HbA1c量との相関関係を示すグラフである。

【図8】血清中の非ヒドロキシル化GM3(「d18:1-24:0」、「d18:1-24:1」、「d18:1-22:0」)の合計量と、(A)総コレステロール量、(B)LDL-コレステロール(LDL-c)量、(C)オートタキシン量、(D)平均内臓中膜肥厚(Mean IMT)、(E)空腹時血糖値、(F)インスリン、(G)HOMA-IR量、及び(H)HbA1c量との相関関係を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

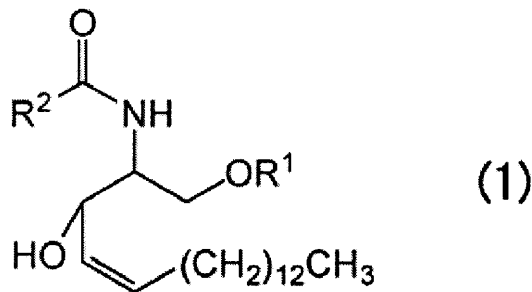
【0031】

以下、本発明について説明するが、本発明は以下の実施の具体的態様に限定されるものではなく、任意に変形して実施することができる。

【0032】

本発明の検出方法は、(a)被験者由来の血液試料中のガングリオシドGM3を測定する工程を含む、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患を検出する、又は、該疾患の発症リスクを検出する方法であって、該ガングリオシドGM3は、下記式(1)で表される構造であることを特徴とする。

【化4】



[式(1)中、R¹は、ガングリオシドGM3を構成する糖鎖を示し、R²-C(=O)-は、置換基としてOH基を有する、二重結合を有していてもよい炭素数16以上24以下の脂肪酸残基を示す。]

【0033】

本明細書中において、各疾患を以下のように定義する。

<1>被験者のへその位置でのウエストサイズが男性の場合は85cm以上、女性の場合は90cm以上のときに、内臓脂肪型肥満症(visceral fat accumulation、以下「VFA」と略記する場合がある)であると判断する。

<2>被験者の空腹時血糖値が126mg/dL以上であるときに、高血糖症(hyperglycemia)であると判断する。

【0034】

<3>次の(1)から(3)の条件のうち、少なくとも1つの条件に当てはまるときに、脂質異常症(dyslipidemia)であると判断する。

(1)被験者のトリグリセライド(中性脂肪)値が150mg/dL以上。

(2)被験者の低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-c)値が140mg/dL以上。

10

20

30

40

50

(3) 被験者の高密度リポタンパク質コレステロール(HDL-c)値が40mg/dL未満。

【0035】

<4> 被験者の収縮期血圧(最高血圧)が140mmHg以上、及び/又は、拡張期血圧(最低血圧)が90mmHg以上であるときに、高血圧症(hypertension)であると判断する。

<5> アテローム性動脈硬化症(atherosclerosis)とは、粥状動脈硬化とも言われ、血管の内膜に脂肪やコレステロールが蓄積することにより、プラーク(粥種)が該血管の内膜に形成されている状態をいう。

【0036】

<6> 腎症(Nephropathy)は、腎機能が低下する病気である。高血糖症等により血糖値が高い状態が続いたことにより、腎臓の毛細血管に障害が起きて発生する腎症がある。

<7> また、上記VFA、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、アテローム性動脈硬化症等、生活習慣に起因すると考えられる疾患を「生活習慣病」と略記する場合がある。

【0037】

本発明の検出方法は、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患を検出する、又は、該疾患の発症リスクを検出する方法である。

「2つ以上が合併された疾患を検出する」とは、「内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも2つ以上の疾患を被験者が発症しているか否かを検出する」ということである。

また、「2つ以上が合併された疾患の発症リスクを検出する」とは、「内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも2つ以上の疾患の発症リスクを被験者が有しているか否かを検出する」ということである。

【0038】

本発明の検出方法は、特定疾患の検出方法、特定疾患の発症リスクの検出方法であるが、また、本発明の検出方法は、生活習慣病を検出する、又は、該生活習慣病の発症リスクを検出する方法でもある。

【0039】

また、本発明の検出方法は、メタボリックシンドロームを検出する、又は、該メタボリックシンドロームの発症リスクを検出する方法でもある。

本明細書において、「メタボリックシンドローム」とは、内臓脂肪型肥満症であると共に、「高血糖症、脂質異常症及び高血圧症」のうち少なくとも2つの疾患を発症している状態を言う。従って、「メタボリックシンドローム」の状態は、特定疾患を発症している状態に含まれる。

【0040】

<工程(a)>

工程(a)においては、被験者由来の血液試料中の、下記式(1)で表される構造を有する特定のガングリオシドGM3を測定する。該「測定」とは、特定のガングリオシドGM3の存在を血液中に確認したり、血液中の特定のガングリオシドGM3を定量したりすることを含む概念である。該「測定」は、必要に応じて、更にその他の工程を含んでもよい。

【0041】

一般に「ガングリオシド(Ganglioside)」とは、糖鎖上に1つ以上のシアール酸が結合しているスフィンゴ糖脂質を言う。

「ガングリオシドGM3」とは、スフィンゴ糖脂質の糖鎖が、下記「 R 」内であるものを言う。

$\text{R} = \text{Neu5Ac} - (2 - 3) - \text{Gal} - (1 - 4) - \text{Glc} - (1 - 1) - \text{セ}$

10

20

30

40

50

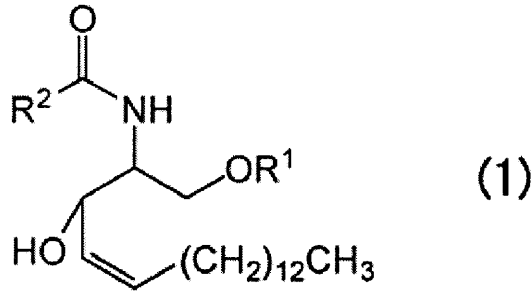
ラミド」

ここで、「 - Neu 5 Ac 」は、N-アセチル - ノイラミン酸、「 - Gal 」は、 - ガラクトース、「 - Glc 」は、 - グルコースを示す。

【 0 0 4 2 】

本発明で測定するガングリオシド GM 3 (以下、単に「 GM 3 」と略記する場合がある)は、GM 3 の中でも特に下記式 (1) で表される構造を有するものである。

【 化 5 】



10

[式 (1) 中、R¹ は、ガングリオシド GM 3 を構成する糖鎖を示し、R² - C (= O) - は、置換基として OH 基を有する、二重結合を有していてもよい炭素数 1 6 以上 2 4 以下の脂肪酸残基を示す。]

20

【 0 0 4 3 】

ここで、「ガングリオシド GM 3 」の定義から、式 (1) 中の「ガングリオシド GM 3 を構成する糖鎖である R¹ 」とは、「 - Neu 5 Ac 」、 「 - Gal 」及び「 - Glc 」が、前記「ガングリオシド GM 3 」の定義のように結合したものである。

【 0 0 4 4 】

以下、「上記式 (1) で表される構造を有する GM 3 」を、単に「ヒドロキシル化 GM 3 」と略記する場合がある。

【 0 0 4 5 】

上記式 (1) で表される構造については、上記式 (1) 中の「 R² - C (= O) - 」が、置換基として OH 基を有する、二重結合を有していてもよい炭素数 2 2 又は 2 4 の炭化水素基であることが、GM 3 総量の定量等の GM 3 全体の測定に比べ、よりの確に特定疾患の検出ができ、よりの確に該特定疾患の発症リスクを検出できる点から好ましい。

30

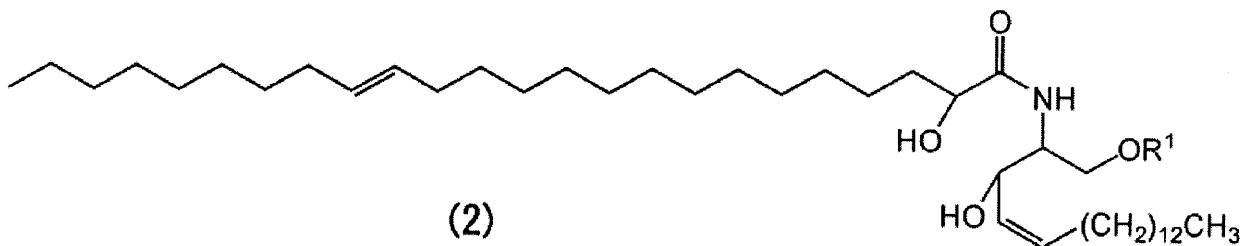
【 0 0 4 6 】

また、R² が、置換基として OH 基を有する、二重結合を有する炭素数 2 3 の炭化水素基であることが、上記点からより好ましい。

【 0 0 4 7 】

更に、上記式 (1) で表される構造が下記式 (2) で表される構造であることが、上記点から特に好ましい。

【 化 6 】



40

[式 (2) 中、R¹ は、ガングリオシド GM 3 を構成する糖鎖を示す。]

【 0 0 4 8 】

50

以下、「上記(2)で表される構造を有するGM3」を、「[hC24:1]GM3」と略記する場合がある。「[hC24:1]GM3」は、GM3の脂肪酸が、置換基としてOH基を有する、炭素数24の脂肪酸(脂肪酸のカルボキシル基の酸素が二重結合で結合した炭素も1つと数える。)であり、該炭化水素基中に1つの二重結合を有することを意味する。

【0049】

本発明における「被験者」は、ヒト、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、サル等の哺乳動物を示すが、ヒトが好ましい。

【0050】

本発明において用いられる「被験者由来の血液試料」は、全血液、血清、血漿等が挙げられる。「被験者由来の血清又は血漿」を用いることが、高精度な測定が可能となる点で好ましい。

10

【0051】

例えば、被験者から採取した全血液を抗凝固剤が添加された採血管に採取し、転倒混和後、遠心分離することによって、血漿を回収することができる。また、被験者から採取した全血液を凝固させた後、遠心分離することによって、血清を回収することができる。

【0052】

血液試料中の「式(1)で表される特定の構造を有するGM3」の抽出方法は、公知の方法を用いることができる。より具体的には、後述する実施例に記載の方法等によって、血液試料中からGM3を抽出することができる。

20

【0053】

また、本発明の検出方法は、

(b)上記(a)工程で測定した上記式(2)で表される構造であるガングリオシドGM3の量と、健常人由来の血液試料中の上記式(2)で表される構造であるガングリオシドGM3の量を比較する工程と、

(c)上記(b)工程で有意な差があった場合に、上記被験者の、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患に関するマーカーの値が、上記健常人と比較して異常であると判定する工程を更に含む検出方法であることが好ましい。

30

【0054】

<工程(b)>

工程(b)においては、上記(a)工程で測定した上記式(2)で表される構造であるガングリオシドGM3の量と、健常人由来の血液試料中の上記式(2)で表される構造であるガングリオシドGM3の量を比較する。

【0055】

<工程(c)>

工程(c)においては、上記(b)工程で有意な差があった場合に、上記被験者の、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患に関するマーカーの値が、上記健常人と比較して異常であると判定する。

40

「有意な差」とは、被験者由来の血液試料中の上記式(2)で表される構造であるガングリオシドGM3の量と、健常人由来の血液試料中の上記式(2)で表される構造であるガングリオシドGM3の量を、例えば、マン・ホイットニーのU検定、2標本t検定等を用いて統計解析を行った結果、P値が0.05以下であることを言う。

【0056】

被験者由来の血液試料中の上記式(2)で表される構造であるガングリオシドGM3の量を、健常人由来の血液試料中の上記式(2)で表される構造であるガングリオシドGM3の量で割った値(倍)の下限が、1.2倍以上~2.5倍以上の範囲のときに特定疾患のマーカー値が異常であると判断することが好ましく、1.4倍以上~2.3倍以上の範

50

囲のときに異常であると判断することがより好ましく、1.6倍以上～2倍以上の範囲のときに異常であると判断することが特に好ましい。該割った値の下限の下限が低過ぎると、健常人を異常と判定してしまう場合があり、一方、該割った値の下限の上限が高過ぎると、異常な場合でも異常と判定しないことになってしまう場合がある。

【0057】

「2つ以上が合併された疾患に関するマーカー」とは、「内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも2つ以上の疾患に関するマーカー」ということである。

【0058】

上記工程(c)は、上記式(1)で表される構造であるGM3が、特に上記式(2)で表される構造であるガングリオシドGM3([hC24:1]GM3)であるときに、特定疾患に関するマーカー(バイオマーカー)と相関関係があったことを見出したことに基づいている。

すなわち、例えば、[hC24:1]GM3という1つの分子を測定等することにより、[hC24:1]GM3と相関性がある「特定疾患のマーカーの値」についても予測することができ、該マーカーの値が健常人と比較して異常か否かを推測・判定することができ、そのような判定を基に、特定疾患を検出したり、特定疾患の発症リスクを検出したりする方法が特に好ましい。

【0059】

上記内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、及び、高血圧症に関するマーカーとは、オートタキシン、HOMA-IR(Homeostasis model assessment-Insulin Resistance)、HbA1c(Hemoglobin A1c)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニン-アミノトランスフェラーゼ(ALT)、低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-c)、空腹時血糖、及び、血圧よりなる群から選択される少なくとも1つのマーカーであることが好ましい。

【0060】

上記アテローム性動脈硬化症に関するマーカーは、スフィンゴミエリン、リゾホスファチジルコリン、C反応性タンパク質(C-reactive protein)、及び、平均内臓中膜肥厚(IMT)よりなる群から選択される少なくとも1つのマーカーであることが好ましい。

【0061】

上記特定のガングリオシドGM3の測定方法は、特に限定はないが、上記GM3に対して抗体を作用させる方法、高速液体クロマトグラフィー法、質量分析法、又は、液体クロマトグラフィー/質量分析法を用いることが好ましい。これらの方法を組み合わせて使用してもよい。

【0062】

上記GM3に対して抗体を作用させる方法としては、特に限定されないが、例えば、ELISA法等が挙げられる。

【0063】

上記高速液体クロマトグラフィー法(以下、「HPLC」と略記する場合がある)としては、特に限定されないが、例えば、順相クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー等を使用することができる。

【0064】

質量分析法としては、特に限定されないが、例えば、イオン化法として、MALDI法、ESI法、及びAPCI法等を使用することができる。また、分離部として、飛行時間型(TOF型)、二重収束型、四重極収束型、イオントラップ型等を使用することができる。特定の構造を有するGM3の測定(検出、定量)においては、イオン化法として、ESI法又はAPCI法、分離部として四重極収束型を使用することが好ましい。

【0065】

10

20

30

40

50

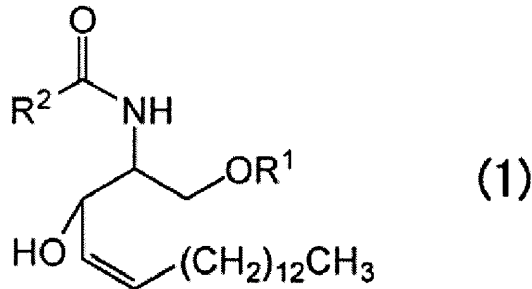
「液体クロマトグラフィー/質量分析法(LC/MS)」とは、上記の高速液体クロマトグラフィー法及び上記質量分析法を組み合わせた分析法である。

【0066】

<検出キット>

本発明は、更に、標準物質としてガングリオシドGM3を含有する、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患を検出する、又は、該疾患の発症リスクを検出するキットであり、該ガングリオシドGM3は、下記式(1)で表される特定の構造であることを特徴とする検出キットを提供することができる。

【化7】



10

20

[式(1)中、R¹は、ガングリオシドGM3を構成する糖鎖を示し、R²-C(=O)-は、置換基としてOH基を有する、二重結合を有していてもよい炭素数16以上24以下の脂肪酸残基を示す。]

【0067】

本発明の上記検出キットを用いれば、前記した効果をより好適に発揮することができる。すなわち、本発明の検出キットを用いれば、上記本発明の検出方法を用いて、容易に高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも1つの疾患若しくは2つ以上が合併された疾患を検出する、又は、該疾患の発症リスクを検出することが可能である。

また、本発明の検出キットを用いれば、被験者が生活習慣病等の特定疾患に罹患しているか、又は、生活習慣病等の特定疾患を発症するリスクを有しているか検出することが可能であり、被験者の状態をより正確に把握することができる。

30

【実施例】

【0068】

以下に、実施例及び比較例を挙げて本発明を更に具体的に説明するが、本発明は、その要旨を超えない限りこれらの実施例に限定されるものではない。

【0069】

<被験者>

合計125人の日本人を被験者とした。その125人のうち、26人は健常人であり、39人は内臓脂肪型肥満症(VFA)のみを有し、15人はVFA及び高血糖症を併発し、28人はVFA及び脂質異常症を併発していた。そして、残りの17人は、VFA、高血糖症及び脂質異常症を併発、すなわち、メタボリックシンドロームを発症していた。

40

なお、被験者全員にインフォームドコンセントを行い同意が得られた。

【0070】

<脂質の抽出>

50 μ Lの血清に、100ngの¹³Cで標識したGM3(以下、「d18:1-[¹³C]16:0」と略記する)を内部標準として加え、凍結乾燥後、クロロホルム及びメタノールを1:1で混合した溶液5mLに溶解した。得られた混合物を超音波処理し、40 $^{\circ}$ Cで1時間保温後、4 $^{\circ}$ Cで30分間遠心分離した(15,000 \times g)。遠心分離後、上清を回収し、ペレットは上記と同じ抽出工程に供した。得られた上清を混合後、蒸発さ

50

せて、血清から脂質を抽出した。

【0071】

<質量分析>

各GM3種の測定は、LC-MS/MS（イオン化法：エレクトロスプレー法、陰イオンモード、多重反応モニタリング）を用いた。LCはAccela 1250 Pump（サーモフィッシャーサイエンティフィック）、質量分析装置はVantage AM（四重極型、サーモフィッシャーサイエンティフィック）を使用した。牛乳から抽出したGM3種の混合物を用いて、質量分析装置のキャリブレーションを行った。

【0072】

上記50 μ Lの血清から抽出した脂質を50 μ Lのメタノールに溶解後、6 μ LをLC-MS/MSに供した。該6 μ L中、内部標準であるd18:1-[¹³C]16:0は12ng含まれていた。

10

【0073】

LCの設定条件を以下に示す。

(1) カラム：Develosil C30-UG-1（長さ50mm、野村化学）

(2) 流速：50 μ L/min

(3) 移動相：(i) 0.1%酢酸及び0.1%アンモニアを含む、H₂O（20%）/2-プロパノール（50%）/メタノール（30%）混合溶液（以下、「溶媒A」とする）。(ii) 0.1%酢酸及び0.1%アンモニアを含む、H₂O（2%）/2-プロパノール（50%）/メタノール（48%）混合溶液（以下、「溶媒B」とする）。

20

(4) 溶出条件：溶媒Aの濃度を0分（分析開始時）から5分間100%で送液し、その後30分間で0%（溶媒Bの濃度を100%）まで直線的に低下させた。その後4分間0%（溶媒Bの濃度を100%）で送液し、1分後に100%まで上昇させ、その後10分間溶媒Aの濃度を100%で送液した。

【0074】

質量分析装置の設定条件を以下に示す。

(1) ニードル電圧：-2500V

(2) キャピラリー温度：204

(3) ペーパーライザー温度：373

(4) シースガス圧（窒素ガス）：50（任意単位）

30

(5) イオンスイープガス圧：0（任意単位）

(6) 補助ガス圧（窒素ガス）：15（任意単位）

(7) SレンズRF振幅：276

(8) イオン源解離（CID）衝突エネルギー：0

(9) 衝突圧力：1.0mTorr

(10) 衝突エネルギー：53eV

(11) スキャン時間：0.01秒

【0075】

各GM3種の量は、内部標準（d18:1-[¹³C]16:0）を基に定量した。総GM3量は、検出された23種のGM3の合計量から計算した。

40

【0076】

<統計解析>

定量解析の結果は、平均標準偏差（mean \pm SD）で表した。すべての統計解析において、P<0.05の場合、統計的に有意差があると判断した。統計解析には、マン・ホイットニーのU検定又は2標本t検定を用い、スピアマンの順位相関係数を求めた。

また、実施例5において、全てのGM3種について、多変量解析を行った。説明変数として、肥満度指数（BMI；Body Mass Index）、腹囲、踵骨骨密度、弛緩期血圧、収縮期血圧、ブリンクマン指数、駆出率、HOMA-IR、ヘモグロビン（HbA1c）、血小板、AST（グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ（GOT））、ALT（グルタミン酸ピルビン酸トランスフェラーゼ（GPT））、 γ -グルタミル

50

トランスペプチターゼ (- G T P)、トリグリセライド、クレアチニン、尿酸、高密度リポタンパク質コレステロール (H D L - c)、C 反応性タンパク質、L D L - c、遊離脂肪酸、総アディポネクチン、オートタキシン、スフィンゴミエリン、ホスファチジルコリン、リゾホスファチジルコリン、及び、I M T を調べた。多変量解析では X L S T A T (v e r s i o n 2 0 1 4 . 4 . 0 2、A d d i n s o f t 社) を用い、それ以外の統計解析には G r a p h P a d P r i s m 6 . 0 4 (G r a p h P a d S o f t w a r e I n c .) を用いた。

【 0 0 7 7 】

実施例 1

< マーカー及び各疾患との相関性 >

(1) 健常人 (2 6 人)、(2) V F A のみ発症している患者 (3 9 人)、(3) V F A 及び高血糖症を併発している患者 (1 5 人)、(4) V F A 及び脂質異常症を併発している患者 (2 8 人)、及び (5) V F A、高血糖症及び脂質異常症を併発している患者 (すなわち、メタボリックシンドロームを発症している患者) (1 7 人) における、メタボリックシンドローム等の特定疾患と関連があるマーカー (指標) を測定した。結果を、表 1 に示す。表 1 中の (1) ~ (5) は、(1) 健常人、(2) 内臓脂肪型肥満症のみ発症している患者、(3) 内臓脂肪型肥満症及び高血糖症を併発している患者、(4) 内臓脂肪型肥満症及び脂質異常症を併発している患者、及び (5) 内臓脂肪型肥満症、高血糖症及び脂質異常症を併発している患者である。

【 0 0 7 8 】

また、表中、「 n s 」は、 $P > 0 . 0 5$ 、「 * 」は、 $P < 0 . 0 5$ 、「 * * 」は、 $P < 0 . 0 1$ 、「 * * * 」は、 $P < 0 . 0 0 1$ 、「 * * * * 」は、 $P < 0 . 0 0 0 1$ であることを示す。表中の数字は、何れも平均 ± 標準偏差である。

【 0 0 7 9 】

10

20

【表 1】

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
被験者数	26	39	15	28	17
性別(男/女)	8/18	29/10	13/2	25/3	16/1
年齢					
BMI (kg/m ²)	51.8 ± 1.8	52.1 ± 1.5 ns	59.9 ± 2.1 **	50.1 ± 1.6 ns	54.4 ± 2.4 ns
身長 (cm)	24.3 ± 0.2	27.5 ± 0.4 ****	27.3 ± 0.8 ****	28.1 ± 0.6 ****	28.8 ± 0.8 ****
体重 (kg)	159.6 ± 1.5	168.2 ± 1.5 ***	167.4 ± 1.6 **	169.0 ± 1.5 ****	168.8 ± 1.8 ****
ウエスト (cm)	62.1 ± 1.1	78.0 ± 1.7 ****	76.5 ± 2.7 ****	80.3 ± 2.2 ****	82.3 ± 2.8 ****
収縮期血圧 (mmHg)	83.3 ± 0.7	95.1 ± 1.0 ****	96.0 ± 2.2 ****	95.5 ± 1.5 ****	97.3 ± 1.7 ****
弛緩期血圧 (mmHg)	110.1 ± 1.9	113.7 ± 2.0 ns	121.0 ± 4.7 *	114.4 ± 2.5 ns	128.4 ± 3.1 ****
トリグリセライド	71.4 ± 1.1	72.2 ± 1.3 ns	74.8 ± 2.9 ns	75.4 ± 1.7 ns	82.6 ± 2.1 ****
中性脂肪酸 (mg/dL)	85.1 ± 5.4	101.6 ± 3.8 *	96.9 ± 7.0 ns	266.5 ± 33.5 ****	275.7 ± 35.0 ****
HDL-c (mg/dL)	66.4 ± 2.5	54.2 ± 1.8 ***	57.0 ± 2.9 *	46.0 ± 1.8 ****	43.0 ± 2.3 ****
LDL-c (mg/dL)	121.4 ± 5.0	122.4 ± 4.5 ns	130.3 ± 5.8 ns	128.3 ± 7.5 ns	132.8 ± 8.9 ns
血糖値 (mg/dL)	92.2 ± 1.4	94.6 ± 1.2 ns	143.6 ± 8.4 ****	96.3 ± 1.2 *	127.2 ± 4.3 ****
総コレステロール (mg/dL)	201.6 ± 5.3	192.6 ± 4.7 ns	204.5 ± 7.1 ns	208.6 ± 7.6 ns	210.7 ± 7.9 ns
遊離脂肪酸 (μEq/L)	540.6 ± 53.8	470.3 ± 38.1 ns	444.5 ± 49.5 ns	527.7 ± 32.8 ns	410.8 ± 43.2 ns
インスリン (μU/mL)	5.0 ± 0.5	7.2 ± 0.7 *	9.5 ± 2.0 **	10.7 ± 1.7 **	12.8 ± 1.2 ****
HOMA IR (mU/L)	1.1 ± 0.1	1.7 ± 0.2 *	3.4 ± 0.7 ***	2.5 ± 0.4 **	4.0 ± 0.4 ****
HOMA β (%)	64.5 ± 6.8	93.0 ± 16.0 ns	46.4 ± 9.7 ns	121.3 ± 21.6 *	77.2 ± 8.2 ns

表 1

【0080】

実施例 2

< 各疾患における総GM3量の比較 >

(1) 健常人(26人)、(2) VFAのみ発症している患者(39人)、(3) VF

A及び高血糖症を併発している患者(15人)、(4)VFA及び脂質異常症を併発している患者(28人)、及び(5)VFA、高血糖症及び脂質異常症を併発している患者(すなわち、メタボリックシンドロームを発症している患者)(17人)における、総GM3量を測定した。結果を、図1に示す。図1中の縦軸は、血清サンプル中に含まれる内部標準(「d18:1-[¹³C]16:0」)の量を100%としたときの、総GM3量(%)である。また、図中の「*」は、 $P = 0.05$ を表す。

【0081】

図1の結果より、総GM3量は、(2)VFAのみを発症している場合、健常人と比べて有意な差があったが、(3)VFA及び高血糖症を併発している場合、(4)VFA及び脂質異常症を併発している場合、及び(5)VFA、高血糖症及び脂質異常症を併発している場合は、健常人と比べて有意な差はなかった。

10

【0082】

実施例3

<総GM3及び各疾患のマーカーとの相関性>

総GM3及び各疾患のマーカー(総コレステロール、LDL-c、オートタキシン、平均IMT、空腹時血糖、インスリン、HOMA-IR、HbA1c)との相関関係を、スピアマンの順位相関を用いて解析した。結果を、図2に示す。

【0083】

図2の結果、総GM3量は、総コレステロール、LDL-c、平均IMT、空腹時血糖、及びHbA1cとは相関性があったが、オートタキシン、インスリン、及びHOMA-IRとは相関性がなかった。

20

【0084】

<実施例2及び3の結果>

実施例2及び3の結果より、総GM3量を測定・比較により、患者がメタボリックシンドローム等の特定疾患である又はメタボリックシンドローム等の特定疾患になる可能性があるか否かを正確には判断できないことが示唆された。

【0085】

実施例4

<各GM3種及び生活習慣病との関連性>

GM3には、GM3中のセラミド部分の炭化水素基の炭素数、二重結合の数、置換基の有無や種類等により、多くの分子種が存在している。実施例2及び3の結果を受け、総GM3量を測定するのではなく、特定のGM3分子種を測定することにより、生活習慣病や特定疾患に関する、より正確な被験者の情報を取得することができるのでないかと考え、各GM3種及び各疾患との相関性を調べた。

30

実施例1と同様に、(1)健常人(26人)、(2)VFAのみ発症している患者(39人)、(3)VFA及び高血糖症を併発している患者(15人)、(4)VFA及び脂質異常症を併発している患者(28人)、及び(5)VFA、高血糖症及び脂質異常症を併発している患者(すなわち、メタボリックシンドロームを発症している患者)(17人)における、各GM3種の量を測定した。結果を、図3A及びBに示す。

【0086】

図3Aの横軸は、血清中のGM3に最も多く含まれているGM3種である、「d18:1-24:0」から、含有量が多い順に並べた。図3Bの横軸は、血清中のGM3に13番目に多く含まれているGM3種である、「d18:1-16:1」から、含有量が多い順に並べた。

40

各GM3種の構造について、例えば「d18:1-24:0」の場合、「d18:1」は、GM3のスフィンゴミエリン部分が、炭素数18の炭化水素基であり、該炭化水素基中に1つの二重結合を有することを意味する。「24:0」は、GM3の脂肪酸が、炭素数24の炭化水素基であり、該炭化水素基中に二重結合が存在しないことを意味する。例えば、「d18:1-24:0」が、脂肪酸に置換基としてOH基を有する場合は、「d18:1-h24:0」と表記する。

50

【0087】

図3中の縦軸は、血清サンプル中に含まれる内部標準（「d18:1-[¹³C]16:0」）の量を100%としたときの、各GM3種の量（%）である。また、図中の「*」は、P 0.05、「**」は、P 0.01、「***」は、P 0.001、「****」は、P 0.0001であることを示す。表中の数字は、何れも平均±標準偏差である。マン・ホイットニーのU検定を用いた。

【0088】

図3の結果、GM3の脂肪酸に置換基としてOH基を有する、多くのGM3種（「d18:1-h24:0」、「d18:1-h24:1」、「d18:1-h22:0」、「d18:1-h20:0」、「d18:1-h21:0」、「d18:1-h18:1」）において、(5) VFA、高血糖症及び脂質異常症を併発している場合に、健常人と比べて有意な差があった。また、「d18:1-20:0」及び「d18:1-21:1」においても、(5) VFA、高血糖症及び脂質異常症を併発している場合に、健常人と比べて有意な差があった。

10

特に「d18:1-h24:0」、「d18:1-h24:1」、「d18:1-h22:0」において、(5) VFA、高血糖症及び脂質異常症を併発している場合に、健常人と比べて、有意に1.7倍以上増加していた。

以上の結果から、GM3の脂肪酸に置換基としてOH基を有するGM3（ヒドロキシル化GM3）が、メタボリックシンドローム等の特定疾患や生活習慣病の検出に有効であることが示唆された。

20

【0089】

実施例5

<各GM3種及び疾患のマーカ－との相関性>

血清中のGM3に多く含まれていたGM3種（図3Aの横軸に記載された12種）及び疾患のマーカ－との相関関係を、多変量解析を用いて解析した。結果を表2に示す。

上記疾患マーカ－は以下の通りである。

(1) 肥満のマーカ－：BMI

(2) メタボリックシンドロームのマーカ－：LDL-c、オートタキシン（表2中、「ATX」と略記する）、HOMA-IR、AST、ALT、HbA1c

(3) アテローム性動脈硬化症のマーカ－：リゾホスファチジルコリン（表2中、「LPC」と略記する）、スフィンゴミエリン（表2中、「SM」と略記する）、駆出率（表2中、「EF」と略記する）、C反応性タンパク質（表2中、「CRP」と略記する）、血小板、トリグリセライド

30

(4) 高血圧症のマーカ－：血圧

(5) 腎症のマーカ－：クレアチニン

(6) その他のマーカ－：年齢

【0090】

【表 2】

	肥満症				メタボリックシンドローム				アテローム性動脈硬化症				高血圧症				腎症	
	C24:0	C16:0	C24:1	C22:0	C23:0	C20:0	C22:1	C18:0	hC24:0	hC24:1	hC22:0	C18:1	C18:1	hC24:1	hC22:0	C18:1	C18:1	
男女	LPC	SM	SM LPC		EF SM LPC	SM LPC	血小板	血圧	LPC	LPC	LPC	血圧	SM	年齢	ATX	SM	ATX	SM
男性		SM	LPC		LPC	SM LPC	LPC	血圧	SM LPC	LDL-C		血圧	SM LPC	HOMA-IR	SM	LPC		血圧
女性				尿酸値	血圧 年齢	CRP	LDL-C	血小板	AST ALT クレアチニン	年齢	BMI	AST ALT						

表 2

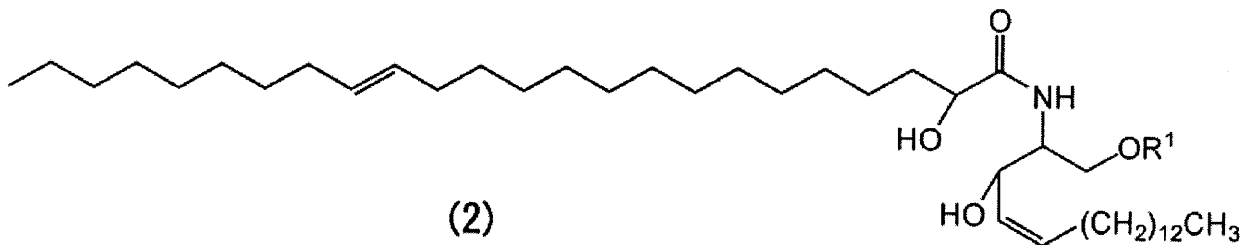
表 2 中の「C 2 4 : 0」は、図 3 A の「d 1 8 : 1 - 2 4 : 0」に該当する。図 3 A と同様に、血清中の GM 3 に含まれる量が多い順に並べた。

【 0 0 9 2 】

表 2 より、ヒドロキシル化 GM 3 (h C 2 4 : 0、h C 2 4 : 1、h C 2 2 : 0) が、ヒドロキシル化されていない GM 3 と比べて、より多くの特定疾患に関連があるマーカーと相関性があることがわかった。特に、下記式 (2) の構造を有する「h C 2 4 : 1」([h C 2 4 : 1] GM 3) は、年齢、オートタキシン、スフィンゴミエリン、血圧、H O M A - I R、リゾホスファチジルコリン、H b A 1 c、A S T、A L T、C 反応性タンパク質という多くのマーカーと相関性があり、特定疾患の検出・診断に用いることが有効であると示唆された。

また、表 2 の結果より、すべての GM 3 種が特定疾患に關与する分子と相関性があるわけではないこともわかった。特定疾患とあまり関連性がない分子種の増加に伴い、総 GM 3 量は増加する場合も考えられるので、総 GM 3 量を、特定疾患の検出・診断のマーカーとして用いることは、偽陽性又は誤った検出・診断を導くおそれがあることが示唆される。

【 化 8 】



[式 (2) 中、R¹ は、ガングリオシド GM 3 を構成する糖鎖を示す。]

【 0 0 9 3 】

実施例 6

< [h C 2 4 : 1] GM 3 及び各疾患のマーカーとの相関性 >

実施例 5 の結果より、メタボリックシンドローム等の特定疾患のマーカーとして、また生活習慣病や特定疾患のマーカーとして、[h C 2 4 : 1] GM 3 を用いることが有効であることが示唆された。次に、[h C 2 4 : 1] GM 3 及び各疾患のマーカー (総コレステロール、L D L - c、オートタキシン、I M T、空腹時血糖、インスリン、H O M A - I R、H b A 1 c) との相関関係を、スピアマンの順位相関を用いて解析した。結果を図 4 に示す。

【 0 0 9 4 】

図 4 の結果、[h C 2 4 : 1] GM 3 量は、総コレステロール、L D L - c、オートタキシン、I M T、空腹時血糖、インスリン、H O M A - I R、H b A 1 c と相関性があった。

【 0 0 9 5 】

実施例 7

< [h C 2 4 : 1] の含有量の測定 >

血清中の GM 3 全体、スフィンゴミエリン全体、セラミド全体に含まれる、[C 2 4 : 1] に対する [h C 2 4 : 1] 量を測定した。結果を図 5 に示す。

図 5 の縦軸は、「脂肪酸の炭素数が 2 4 であり、該脂肪酸中に二重結合が 1 つ存在するもの」([C 2 4 : 1] と略記する) の量に対する、「脂肪酸の炭素数が 2 4 であり、水酸基を有し、該脂肪酸中に二重結合が 1 つ存在するもの」([h C 2 4 : 1] と略記する) の割合を示している。

【 0 0 9 6 】

図 5 の結果、GM 3 に含まれる [C 2 4 : 1] の 2 8 . 3 1 % が、[h C 2 4 : 1] で

あった。

一方、スフィンゴミエリンに含まれる [C 2 4 : 1] の 0 . 6 7 % が、 [h C 2 4 : 1] であり、セラミドに含まれる [C 2 4 : 1] の 0 . 4 5 % が [h C 2 4 : 1] であった。

【 0 0 9 7 】

これより、GM3 が特定疾患の患者で多いことを前提にすると、「置換基としてOH基を有し、かつ二重結合を1つ有している炭素数24の脂肪酸」が、特にGM3の中に集中して結合していた（存在していた）ことから、[h C 2 4 : 1] GM3 が、特に特定疾患に関するマーカーとして好適であることの立証が得られた。

図5の結果より、[h C 2 4 : 1] GM3 等の式(1)で表されるGM3 が、特定疾患の検出方法、特定疾患の発症リスクの検出方法として好適である理由・機序が明らかになった。

【 0 0 9 8 】

実施例8

< 各疾患におけるヒドロキシル化GM3量の比較 >

(1) 健常人(26人)、(2) VFAのみ発症している患者(39人)、(3) VFA及び高血糖症を併発している患者(15人)、(4) VFA及び脂質異常症を併発している患者(28人)、及び(5) VFA、高血糖症及び脂質異常症を併発している患者(すなわち、メタボリックシンドロームを発症している患者)(17人)における、ヒドロキシル化GM3(「d18:1-h24:0」、「d18:1-h24:1」、「d18:1-h22:0」)と非ヒドロキシル化GM3(「d18:1-24:0」、「d18:1-24:1」、「d18:1-22:0」)の量をそれぞれ測定した。結果を、図6に示す。図中の「*」は、P 0.01を表す。

図6Aの縦軸は、3つのヒドロキシル化GM3(「d18:1-h24:0」、「d18:1-h24:1」、「d18:1-h22:0」)の合計量(ng/μL)、図6Bの縦軸は、3つの非ヒドロキシル化GM3(「d18:1-24:0」、「d18:1-24:1」、「d18:1-22:0」)の合計量(ng/μL)を示す。

【 0 0 9 9 】

図6Aの結果より、ヒドロキシル化GM3(「d18:1-h24:0」、「d18:1-h24:1」、「d18:1-h22:0」)の合計量は、(5) VFA、高血糖症及び脂質異常症を併発している場合、健常人と比べて有意な差があった。

一方、図6Bの結果より、非ヒドロキシル化GM3(「d18:1-24:0」、「d18:1-24:1」、「d18:1-22:0」)の合計量は、上記(2)~(5)何れの場合でも、健常人と比べて有意な差はなかった。

【 0 1 0 0 】

実施例9

< ヒドロキシル化GM3及び各疾患のマーカーとの相関性 >

ヒドロキシル化GM3又は非ヒドロキシル化GM3、及び各疾患のマーカー(総コレステロール、LDL-c、オートタキシン、IMT、空腹時血糖、インスリン、HOMA-IR、HbA1c)との相関関係を、スピアマンの順位相関を用いて解析した。結果を図7及び8に示す。

図7は3つのヒドロキシル化GM3(「d18:1-h24:0」、「d18:1-h24:1」、「d18:1-h22:0」)の合計量(ng/μL)と各疾患のマーカーとの相関関係を示し、図8は3つの非ヒドロキシル化GM3(「d18:1-24:0」、「d18:1-24:1」、「d18:1-22:0」)の合計量(ng/μL)と各疾患のマーカーとの相関関係を示す。

【 0 1 0 1 】

図7の結果、ヒドロキシル化GM3(「d18:1-h24:0」、「d18:1-h24:1」、「d18:1-h22:0」)の合計量は、総コレステロール、LDL-c、オートタキシン、IMT、空腹時血糖、インスリン、HOMA-IR、HbA1cと相

10

20

30

40

50

関性があった。

一方、図 8 の結果、非ヒドロキシル化 GM 3 (「d 1 8 : 1 - 2 4 : 0」、「d 1 8 : 1 - 2 4 : 1」、「d 1 8 : 1 - 2 2 : 0」) の合計量は、総コレステロール、LDL - c、空腹時血糖とは相関性があったが、オートタキシン、IMT、インスリン、HOMA - IR、HbA1c とは相関性がなかった。

【 0 1 0 2 】

< 実施例 8 及び 9 の結果 >

実施例 8 及び 9 の結果から、GM 3 の脂肪酸に置換基として OH 基を有する GM 3 (ヒドロキシル化 GM 3) が、メタボリックシンドローム等の特定疾患や生活習慣病の検出に有効であることが分かった。

【 産業上の利用可能性 】

【 0 1 0 3 】

本発明の検出方法は、内臓脂肪型肥満症、高血糖症、脂質異常症、高血圧症、及び、アテローム性動脈硬化症よりなる群から選択される少なくとも一つの疾患若しくは二つ以上が合併された疾患を検出、又は、該疾患の発症リスクを検出することができ、被験者の状態をより正確に把握することができる。従って、本発明は、診断薬、研究用試薬、及び臨床検査の分野等で利用が可能である。

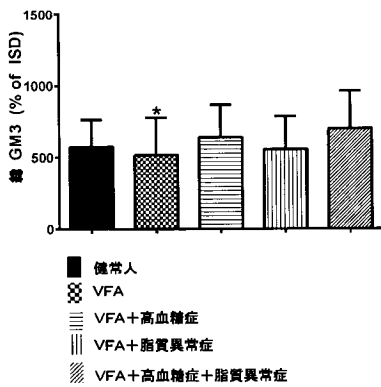
【 0 1 0 4 】

本願は、2011年11月5日に出願した日本の特許出願である特願2014-224811に基づくものであり、それらの出願の全ての内容はここに引用し、本願発明の明細書の開示として取り込まれるものである。

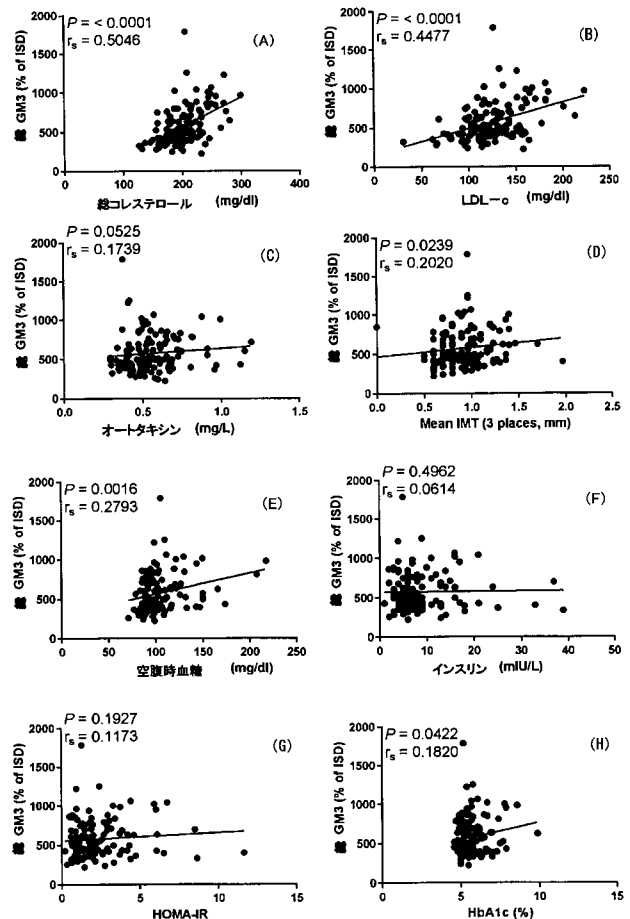
10

20

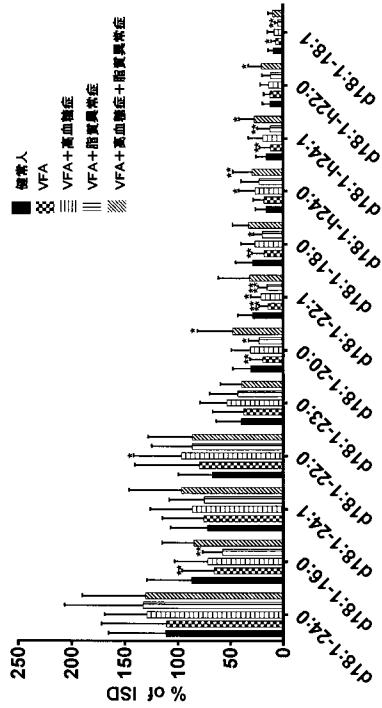
【 図 1 】



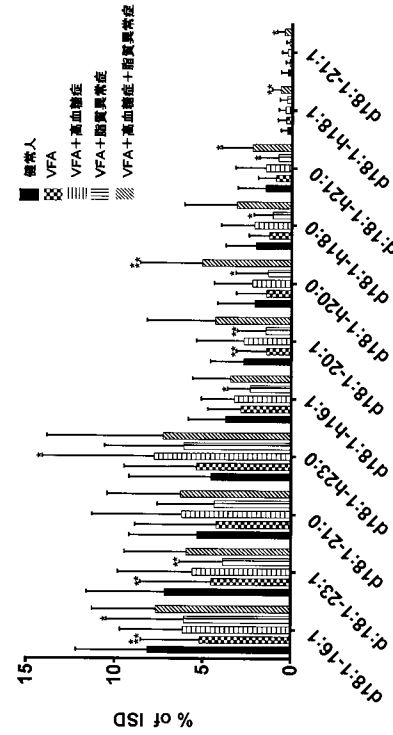
【 図 2 】



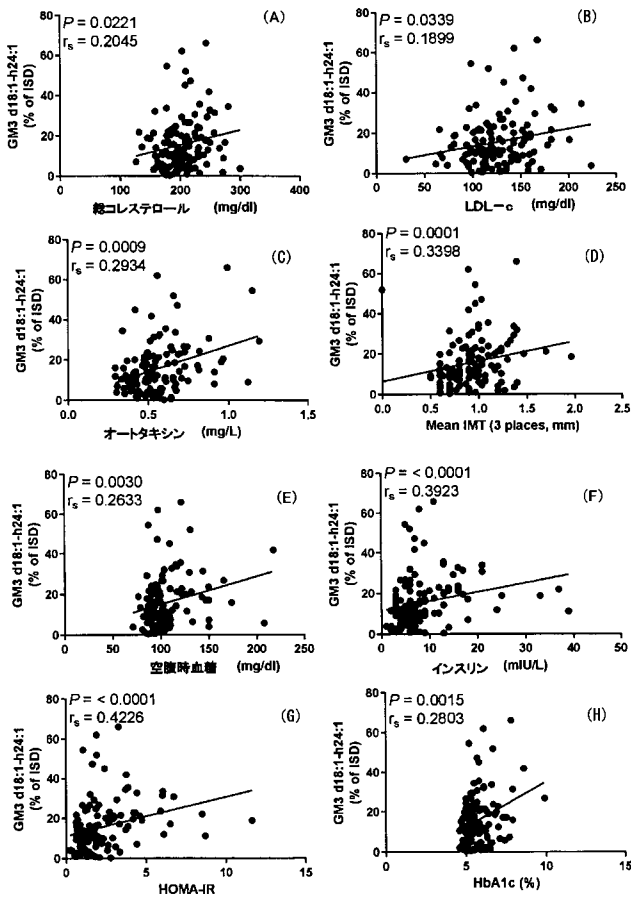
【 図 3 A 】



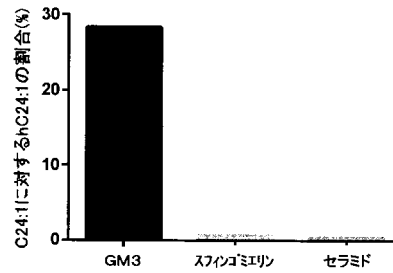
【 図 3 B 】



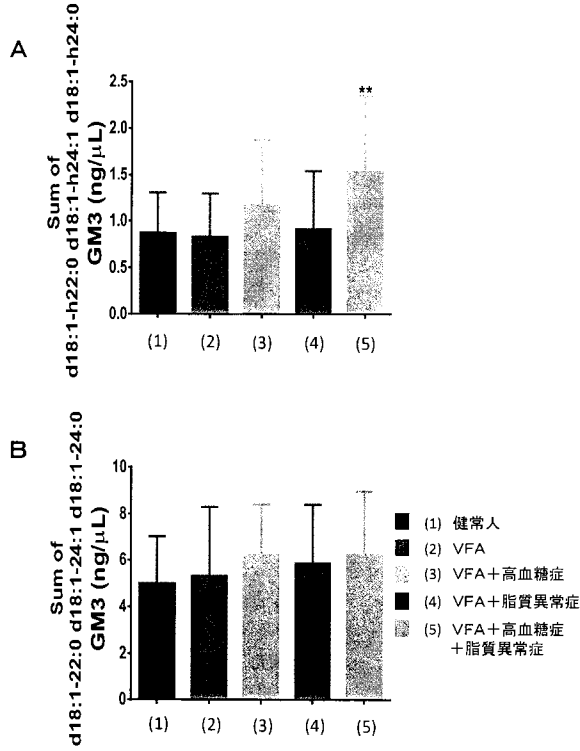
【 図 4 】



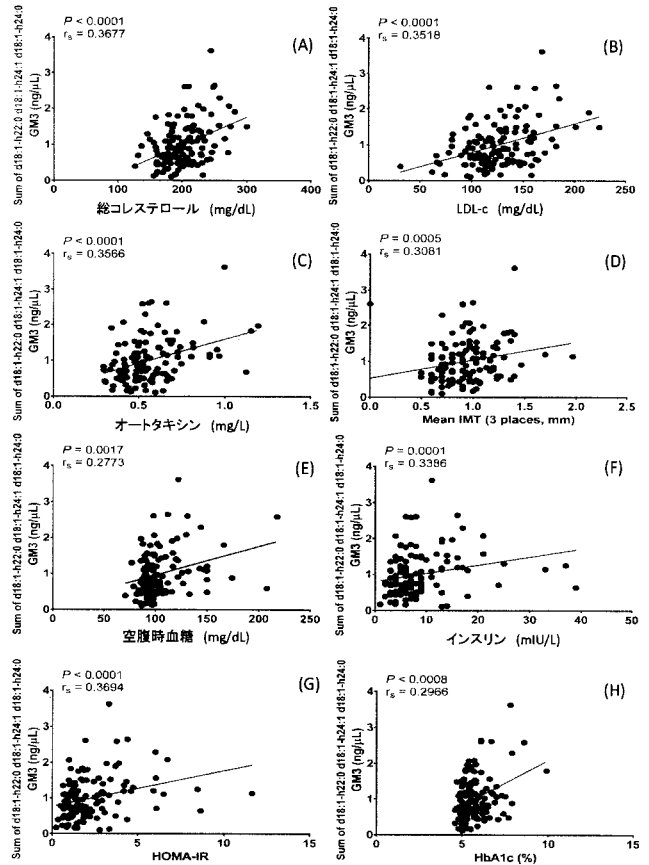
【 図 5 】



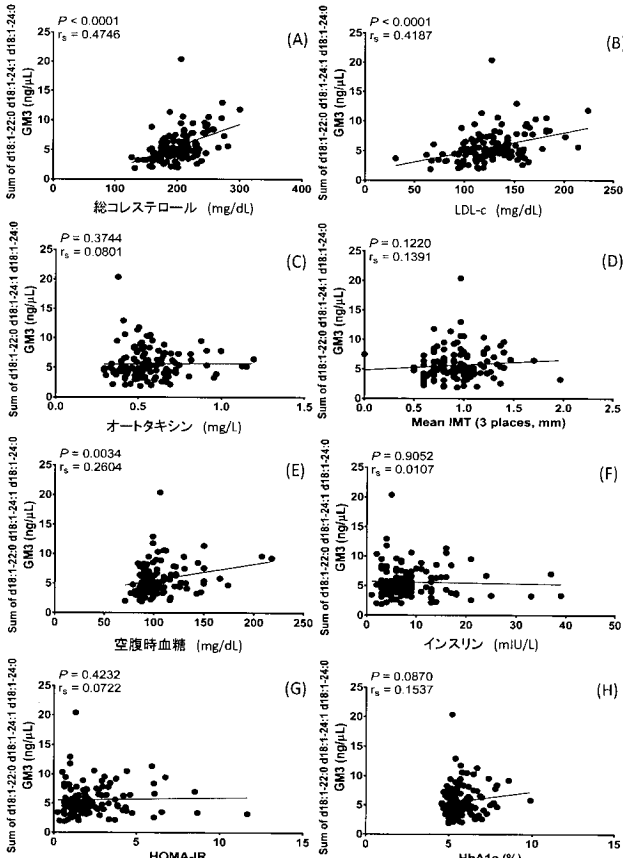
【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2015/080801
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N33/50(2006.01)i, G01N27/62(2006.01)i, G01N33/92(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) G01N33/50, G01N27/62, G01N33/92 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/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2007/139224 A1 (Japan Science and Technology Agency), 06 December 2007 (06.12.2007), entire text; all drawings & JP 5020239 B2 & US 2010/0273192 A1 entire text; all drawings & EP 2026067 A1	1-10
A	WO 2011/065389 A1 (Japan Science and Technology Agency), 03 June 2011 (03.06.2011), entire text; all drawings & JP 5077901 B2 & US 9090932 B2 entire text; all drawings & EP 2505660 A1	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 27 November 2015 (27.11.15)		Date of mailing of the international search report 08 December 2015 (08.12.15)
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/JP2015/080801

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2005/067971 A1 (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 28 July 2005 (28.07.2005), entire text & JP 4767019 B2 & US 2007/0161586 A1 entire text; all drawings & EP 1726313 A1	1-10
A	WO 2012/122602 A1 (BAKER IDI HEART AND DIABETES INSTITUTE HOLDINGS LTD.), 20 September 2012 (20.09.2012), entire text; all drawings (Family: none)	1-10
A	Inokuchi J, GM3 and diabetes, Glycoconj J, 2014.04, 31(3), 193-197	1-10
A	Hsu FF et al., Electrospray ionization tandem mass spectrometric analysis of sulfatide. Determination of fragmentation patterns and characterization of molecular species expressed in brain and in pancreatic islets, Biochim Biophys Acta, 1998.06.15, 1392(2-3), 202-216	1-10

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2015/080801									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/50(2006.01)i, G01N27/62(2006.01)i, G01N33/92(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. G01N33/50, G01N27/62, G01N33/92											
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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2015年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2015年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2015年</td> </tr> </table>				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
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										
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用了用語) CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)											
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	WO 2007/139224 A1 (独立行政法人科学技術振興機構) 2007.12.06, 全文、全図 & JP 5020239 B2 & US 2010/0273192 A1(全文、全図) & EP 2026067 A1	1-10									
A	WO 2011/065389 A1 (独立行政法人科学技術振興機構) 2011.06.03, 全文、全図 & JP 5077901 B2 & US 9090932 B2(全文、全図) & EP 2505660 A1	1-10									
<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		の日の後に公表された文献									
「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		「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									
「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		「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									
「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)		「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									
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献									
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願											
国際調査を完了した日 27.11.2015		国際調査報告の発送日 08.12.2015									
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) 赤坂 祐樹	2 J 3316								
		電話番号 03-3581-1101 内線 3252									

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 5 / 0 8 0 8 0 1
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	WO 2005/067971 A1 (武田薬品工業株式会社) 2005.07.28, 全文 & JP 4767019 B2 & US 2007/0161586 A1(全文、全図) & EP 1726313 A1	1-10
A	WO 2012/122602 A1 (BAKER IDI HEART AND DIABETES INSTITUTE HOLDINGS LIMITED) 2012.09.20, 全文、全図 (ファミリーなし)	1-10
A	Inokuchi J, GM3 and diabetes, Glycoconj J, 2014.04, 31(3), 193-197	1-10
A	Hsu FF et al., Electrospray ionization tandem mass spectrometric analysis of sulfatide. Determination of fragmentation patterns and characterization of molecular species expressed in brain and in pancreatic islets, Biochim Biophys Acta, 1998.06.15, 1392(2-3), 202-216	1-10

フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)
G 0 1 N 27/62 V

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

Fターム(参考) 2G045 AA25 CA25 CA26 DA02 DA30 DA60 FA03 FA06

【要約の続き】

以上 2 4 以下の脂肪酸残基を示す。]

(注) この公表は、国際事務局 (W I P O) により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願 (日本語実用新案登録出願) の国際公開の効果は、特許法第 1 8 4 条の 1 0 第 1 項 (実用新案法第 4 8 条の 1 3 第 2 項) により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	检测疾病的方法		
公开(公告)号	JPWO2016072364A1	公开(公告)日	2017-08-17
申请号	JP2016557746	申请日	2015-10-30
申请(专利权)人(译)	公益财団法人野口研究所		
[标]发明人	井ノ口仁一 ベイロンルーカス		
发明人	井ノ口 仁一 ベイロン ルーカス		
IPC分类号	G01N33/92 G01N33/53 G01N30/88 G01N30/72 G01N27/62		
CPC分类号	C07H15/10 G01N33/92 G01N2405/10 G01N2800/042 G01N27/62 G01N33/50 G01N27/622 G01N2030/027 G01N2030/8822 G01N2800/323		
FI分类号	G01N33/92.Z G01N33/53.S G01N30/88.E G01N30/72.C G01N27/62.X G01N27/62.V		
F-TERM分类号	2G041/CA01 2G041/EA04 2G041/FA10 2G041/HA01 2G045/AA25 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/DA02 2G045/DA30 2G045/DA60 2G045/FA03 2G045/FA06		
代理人(译)	高桥 徳明		
优先权	2014224811 2014-11-05 JP		
其他公开文献	JP6634379B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明包括 (a) 测量源自受试者的血液样品中神经节苷脂GM3的步骤。检测选自内脏脂肪肥胖症，高血糖症，血脂异常，高血压和动脉粥样硬化的至少一种疾病，或将其两种以上组合的疾病。或一种检测出患病风险的方法，神经节苷脂GM3具有下式 (1) 表示的结构，并且涉及检测方法。[化学1][式 (1) 中，R1表示构成神经节苷脂GM3的糖链，R2-C (= O) -具有OH基作为取代基并具有双键。显示了具有16个以上且24个以下的碳原子的脂肪酸残基。]

