

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-524020

(P2018-524020A)

(43) 公表日 平成30年8月30日(2018.8.30)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/6809 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6809 Z N A Z	2 G O 4 5
C 1 2 Q 1/6837 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6837 Z	4 B O 6 3
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/09 2 0 0	
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 M	
G O 1 N 33/50 (2006.01)	G O 1 N 33/53 D	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 23 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-515748 (P2018-515748)
 (86) (22) 出願日 平成28年6月3日 (2016.6.3)
 (85) 翻訳文提出日 平成30年1月31日 (2018.1.31)
 (86) 国際出願番号 PCT/KR2016/005906
 (87) 国際公開番号 W02016/195415
 (87) 国際公開日 平成28年12月8日 (2016.12.8)
 (31) 優先権主張番号 10-2015-0079672
 (32) 優先日 平成27年6月5日 (2015.6.5)
 (33) 優先権主張国 韓国 (KR)

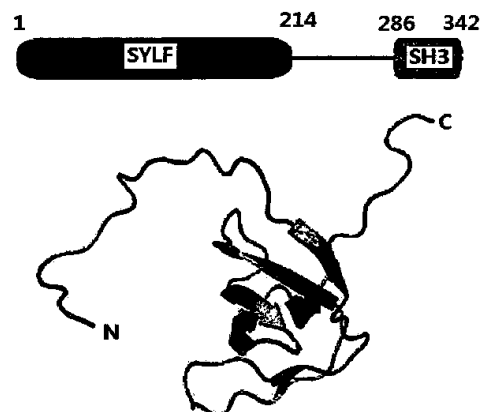
(71) 出願人 517423811
 アプタバイオ セラピューティクス イン
 コーポレイテッド
 APTABIO THERAPEUTIC
 S I N C .
 大韓民国, 1 6 9 5 4, キョンギード, ヨ
 ンインーシ, キフンーグ, フンドク 1ー
 ロ, 1 3, タワーードン エイ O 5 0 4
 ーホ
 (74) 代理人 100139594
 弁理士 山口 健次郎
 (74) 代理人 100185915
 弁理士 長山 弘典
 (74) 代理人 100090251
 弁理士 森田 憲一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 腎症診断用のマーカーとしてのSH3YL1の用途

(57) 【要約】

本発明はSH3YL1遺伝子の発現レベルまたはSH3YL1タンパク質のレベルを測定することができる物質を含有する腎症診断用の造成物、腎症診断用のマイクロアレイ及び腎症診断用のキットに関するもので、本発明によると、腎症を早期に迅速で正確に診断及び予測できる効果があり、患者の血液だけでも正確な診断が可能でさらに腎症治療剤の開発のための標的に活用することができる効果がある。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

S H 3 Y L 1 遺伝子の発現レベルまたは S H 3 Y L 1 タンパク質のレベルを測定することができる物質を含有する腎症診断用の組成物。

【請求項 2】

上記 S H 3 Y L 1 遺伝子の発現レベルは発現の可否、発現量及び発現パターンで構成された群から選択されることを特徴とする請求項 1 に記載の腎症診断用の組成物。

【請求項 3】

上記 S H 3 Y L 1 タンパク質のレベルは上記タンパク質の存在の可否、発現量及び発現パターンで構成された群から選択されることを特徴とする請求項 1 に記載の腎症診断用の組成物。

10

【請求項 4】

上記 S H 3 Y L 1 遺伝子の発現レベルを測定することができる物質は S H 3 Y L 1 遺伝子を増幅することができるプライマー対または上記 S H 3 Y L 1 遺伝子とハイブリダイズすることができるプローブであることを特徴とする請求項 1 に記載の腎症診断用の組成物。

【請求項 5】

上記 S H 3 Y L 1 タンパク質のレベルを測定することができる物質は S H 3 Y L 1 遺伝子がコードするタンパク質に特異的に結合する抗体またはアプタマーであることを特徴とする請求項 1 に記載の腎症診断用の組成物。

20

【請求項 6】

腎症診断に必要な情報を提供するために、請求項 1 に記載の腎症診断用の組成物を生物学的試料に処理して、試料中の S H 3 Y L 1 遺伝子の発現レベルまたは S H 3 Y L 1 タンパク質のレベルを検出する方法。

【請求項 7】

生物学的試料は、組織、細胞、血液、血清、血漿、唾液及び尿で構成された群から選択されることを特徴とする請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

S H 3 Y L 1 遺伝子またはその断片とハイブリダイズすることができるプローブが固定されている腎症診断用のマイクロアレイ。

30

【請求項 9】

S H 3 Y L 1 遺伝子またはその断片を増幅することができるプライマー対、上記 S H 3 Y L 1 遺伝子とハイブリダイズすることができるプローブまたは S H 3 Y L 1 遺伝子がコードするタンパク質に特異的な抗体またはアプタマーを含有する腎症診断用のキット。

【請求項 10】

次の段階を含む腎症の予防または治療用の物質をスクリーニングする方法：

- (a) S H 3 Y L 1 遺伝子を発現する細胞に候補物質を接触させる段階；
- (b) S H 3 Y L 1 遺伝子の発現レベル及び / または S H 3 Y L 1 タンパク質のレベルを測定する段階；及び
- (c) S H 3 Y L 1 遺伝子の発現レベル及び / または S H 3 Y L 1 タンパク質のレベルが減少する場合の候補物質を腎症の予防または治療用の物質として選別する段階。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は腎症診断用のマーカーとしての S H 3 Y L 1 の用途に関するもので、さらに詳しくは S H 3 Y L 1 遺伝子の発現レベルまたは S H 3 Y L 1 遺伝子がコードするタンパク質のレベルを測定することができる物質を含有する腎症診断用の組成物、腎症診断用のマイクロアレイ及び腎症診断用のキットに関するものである。

【背景技術】

【0002】

50

腎症疾患の中糖尿病性の血管合併症の中の一つである糖尿病性腎症は末期腎不全症 (end stage renal disease: ESRD) を誘発する第一原因の疾患で、韓国で糖尿病による ESRD 患者は 1996 年 30.8% から 2006 年 42.3%、2013 年 48.0% へ持続的に増加する傾向である。このような状況は現在まで知られている普遍的治療である食事、運動及び薬物療法が適切ではなかったという点と既存の糖尿病及び糖尿病性腎症の治療法の以外に病因に対する多様な接近が必要であることを示唆する。

【0003】

現在糖尿病による腎症を予防するためにレニン-アンジオテンシン系 (renin-angiotensin system: RAS) の抑制剤を主に使用している。RAS 抑制剤は血液動力学的の効能だけではなく慢性炎症反応あるいは繊維化を誘導する cytokine、chemokine、growth factor などの生成を阻害して腎臓機能を保護する優れた効果を示したが、患者個々の遺伝的性向が違って長期的治療による不作用及び治療剤に対する耐性問題があって治療効果がその期待に及ばない。

10

【0004】

また、去る数年間、腎症に対する原因究明、診断方法及び治療方法に対する集中的な研究が行われたにもかかわらず今まで腎症を効果的に治療することができる確実な治療剤が開発されていない。従って糖尿病性腎症を初期段階で発見して治療することが最も効果的な方法と言える。

20

【0005】

微細蛋白尿 (24 時間尿アルブミン 30 - 300 mg / d またはアルブミン排泄比率 20 - 200 μ g / min) は糖尿病性腎症の進行を初期に予測して、腎症外の血管合併症を予測するバイオマーカーで最も多く使用されている。既存の観察研究によると、微細蛋白尿は糸球体濾過率が減少を予測する危険因子でありながら、慢性腎不全へ進行する独立した危険因子でもある。このような理由で、現在糖尿病の診断及び治療指針にも微細蛋白尿の測定を勧告している。

【0006】

しかしながら、最近の研究は微細蛋白尿のみで腎症を早期診断して、進行する指標で判断するには制限があると報告している。

30

【0007】

一つ目の理由で糖尿患者で微細蛋白尿の自然所失頻度が高いということである。微細蛋白尿を示した第 1 型または 2 型の糖尿患者で約 21 - 64% の頻度で経過中微細蛋白尿の自然消失を示して、第 1 型の糖尿患者の 10 年の追跡をした大規模の研究結果も、顕性蛋白尿へ進行した患者の頻度は 28%、微細蛋白尿の自然消失を示した患者の頻度は 40% で高かった。1 年間 2 - 3 回の測定期間中、持続的に微細蛋白尿を示した第 1 型の糖尿患者を 5 年間追跡した研究でも 64% の頻度で微細蛋白尿の消失を報告した (Tabaie BP et al., Diabetes Care, 24; 1560 - 1566, 2001; Perkins BA et al., N Eng J Med, 348: 2285 - 2293, 2003; Hovind P et al., BMJ, 328: 1105, 2004; Steinke JM et al., Diabetes, 54: 2164 - 2171, 2005; De Boer IH et al., Arch Intern Med, 171: 412 - 420, 2011; Gaede P et al., Nephrol Dial Transplant, 19: 1784 - 1788, 2004; Araki S et al., Diabetes, 54: 2983 - 2987, 2005; Yamada T et al., Diabetes Care, 28: 2733 - 2738, 2005; RJ MacIsaac et al., Kidney International, 86: 50 - 57, 2014)。

40

【0008】

二つ目の理由で微細蛋白尿がなく腎機能が低下された (糸球体濾過率 < 60 ml / min / 1.73 m²) 糖尿患者の頻度が高いということである。1990 年代初の研究によ

50

ると微細蛋白尿のなく腎機能が低下されている第1型の糖尿患者で組織検査結果、典型的な糖尿病性腎症を示した患者群があって、第1型及び2型の糖尿患者で約30%で腎機能の低下が進行された。また、第2型の糖尿患者を追跡した研究では微細蛋白尿の発生前に先行して腎機能の低下が発生する結果を示した(Tsalamandris *et al.*, 43:649-655, 1994; Yokoyama *et al.*, *Nephrol Dial Transplant*, 24:1212-1219, 2009; Molith *et al.*, *Diabetes Care*, 33:1536-1543, 2010; Kramer *et al.*, *JAMA*, 289:3273-3277, 2003)。

【0009】

よって、本発明者らは腎症を早期に診断することができる新しい方法を開発しようと鋭意努力した結果、腎症患者の血液でSH3YL1遺伝子の発現レベルまたはSH3YL1タンパク質のレベルが非-腎症患者の血液での数値に比べ有意的に増加することを確認して本発明を完成するようになった。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明の目的はSH3YL1遺伝子の発現レベル及び/またはSH3YL1タンパク質のレベルを測定して腎症を早期に診断することができる腎症診断用の組成物を提供することである。

【0011】

本発明の他の目的は腎症診断に必要な情報を提供するために、SH3YL1遺伝子の発現レベル及び/またはSH3YL1タンパク質のレベルを測定及び検出する方法を提供することである。

【0012】

本発明のまた他の目的はSH3YL1遺伝子の発現レベル及び/またはSH3YL1タンパク質のレベルを検出することができるマイクロアレイを提供することである。

【0013】

本発明のまた他の目的はSH3YL1遺伝子の発現レベル及び/またはSH3YL1タンパク質のレベルを測定して腎症を早期に診断することに活用されることができキットを提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0014】

上記目的を達成するために本発明はSH3YL1遺伝子の発現レベルまたはSH3YL1タンパク質のレベルを測定することができる物質を含有する腎症診断用の組成物を提供する。

【0015】

本発明はまた、腎症診断に必要な情報を提供するために、上記腎症診断用の組成物を患者から採取した生物学的試料に処理して、試料中のSH3YL1遺伝子の発現レベルまたはSH3YL1タンパク質のレベルを検出する方法を提供する。

【0016】

本発明はまた、SH3YL1遺伝子またはその断片とハイブリダイズすることができるプローブが固定されている腎症診断用のマイクロアレイを提供する。

【0017】

本発明はまた、SH3YL1遺伝子またはその断片を増幅することができるプライマー対、上記SH3YL1遺伝子とハイブリダイズすることができるプローブまたはSH3YL1遺伝子がコードするタンパク質に特異的な抗体またはアプタマーを含有する腎症診断用のキットを提供する。

【0018】

本発明はまた、(a) SH3YL1遺伝子を発現する細胞に候補物質を接触させる段階

10

20

30

40

50

; (b) SH3YL1 遺伝子の発現レベル及び/またはSH3YL1 タンパク質のレベルを測定する段階; (c) SH3YL1 遺伝子の発現レベル及び/またはSH3YL1 タンパク質のレベルが減少される場合の候補物質を腎症の予防または治療用の物質で選別する段階を含む腎症の予防または治療用の物質をスクリーニングする方法を提供する。

【0019】

本発明はまた、SH3YL1 遺伝子またはSH3YL1 タンパク質の腎症診断用のマーカーとしての用途を提供する。

【0020】

本発明はまた、生物学的試料中のSH3YL1 遺伝子の発現レベルまたはSH3YL1 タンパク質のレベルを測定することを特徴とする腎症の診断方法を提供する。

10

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】図1はSH3YL1の線形構造を示したものである。

【図2】図2はLPSによる細胞内のSH3YL1の発現増加を確認した結果を示したものである。

【図3】図3はHPMEC細胞でLPS刺激によるSH3YL1の細胞外分泌を確認した結果を示したものである。

【図4】図4は各患者群からSH3YL1の濃度変化を示したものである。

【発明を実施するための形態】

【0022】

20

他の式で定義されない限り、本明細書で使用された全ての技術的及び科学的用語は本発明が属する技術分野で熟練された専門家によって通常的に理解されるものと同一な意味を有する。一般的に本明細書で使用された命名法は本技術分野でよく知られて通常的に使用されるものである。

【0023】

既存に腎症診断のためにはAlbuminuria、eGFR、UACR、血中クレアチンなどがマーカーとして使用されているが、上記マーカーによる診断は腎臓が70%以上壊れた後になってこそ可能であるという問題点があった。

【0024】

本発明では新しい腎症診断用のマーカーを発掘するために腎臓組織及び非腎臓組織で発現の違いを示す遺伝子の発現レベルまたはタンパク質のレベルを調査した結果、SH3YL1 遺伝子及び/またはSH3YL1 タンパク質が非腎臓組織に比べ腎臓組織で過発現されることを確認して、特にSH3YL1 遺伝子及び/またはSH3YL1 タンパク質が腎臓組織で過発現されたという結果を基にして上記SH3YL1 遺伝子及び/またはSH3YL1 タンパク質が腎症の発病を診断及び予測することができるバイオマーカーに活用されることができただけではなく、SH3YL1 遺伝子の発現及び/またはSH3YL1 タンパク質のレベルを抑制することができる物質が腎症の予防及び治療の用途に活用されることができるとを発見した。

30

【0025】

本発明において、「SH3YL1 タンパク質」は配列番号1のアミノ酸配列を有するタンパク質、またはこれと90%以上、好ましくは95%以上、さらに好ましくは99%以上の配列相同性を有するアミノ酸配列のタンパク質を意味する。

40

【0026】

また、「SH3YL1 遺伝子」または「sh3yl1」は「SH3YL1 タンパク質」のアミノ酸配列をコードする遺伝子として、配列番号2の核酸配列、またはこれと90%以上、好ましくは95%以上、最も好ましくは99%以上の配列相同性を有する核酸配列の遺伝子を意味する。

【0027】

本発明における「SH3YL1 タンパク質レベル」はSH3YL1 タンパク質の体内での濃度または活性を意味し、「SH3YL1 遺伝子発現レベル」は「SH3YL1 遺伝子

50

」の体内での発現量を意味する。

【0028】

本発明で、「診断」という用語は病理状態を確認することを意味することとして、本発明の目的上、上記診断は腎症診断マーカーの発現の有無を確認して腎症の進行程度を確認することを意味し、また、本発明での「診断」は腎症診断マーカーの発現の有無及び発現の程度を確認して腎症の発展及び軽減などを判断することも含む。

【0029】

したがって、本発明は一観点から、SH3YL1遺伝子の発現レベルまたはSH3YL1遺伝子がコードするタンパク質のレベルを測定することができる物質を含有する腎症診断用の造成物に関するものである。

【0030】

本発明の様態では炎症誘発因子であるLPSを処理したHAEC(human aortic endothelial cell)、HPMEC(human pulmonary microvascular endothelial cell)でSH3YL1遺伝子の発現が増加して、細胞外SH3YL1タンパク質の分泌が増加することを確認した。

【0031】

本発明の他の様態では腎症患者群のalbuminuriaの等級によって血液でSH3YL1遺伝子の発現量及びタンパク質の量を正常群と比較した結果、正常群に比べて腎症患者の場合SH3YL1遺伝子の発現量がさらに増加したことを確認することができた。

【0032】

本発明において、上記SH3YL1遺伝子の発現レベルは発現の可否、発現量及び発現パターンで構成された群から選択されることを特徴とすることができて、上記SH3YL1遺伝子がコードするタンパク質のレベルは上記タンパク質の存在の可否、量及び発現パターンで構成された群から選択されることを特徴とすることができ。

【0033】

本発明で上記SH3YL1遺伝子の発現レベルを測定することができる物質はSH3YL1遺伝子を増幅することができるプライマー対または上記SH3YL1遺伝子とハイブリダイズすることができるプローブであることを特徴とすることができ。

【0034】

本発明において、上記SH3YL1遺伝子の発現量またはタンパク質の量を測定する方法は逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(reverse transcriptase-polymerase chain reaction)、リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応(real time-polymerase chain reaction)、ウエスタンブロット、ノーザンブロット、ELISA(enzyme linked immunosorbent assay)、放射線免疫測定法(RIA:radioimmunoassay)、放射免疫拡散法(radioimmunodiffusion)及び免疫沈降分析法(immunoprecipitation assay)でなっている群の中から選択されるものであることができる。

【0035】

本発明で上記SH3YL1遺伝子のレベルは、好ましくSH3YL1遺伝子が発現されたmRNAのレベル、すなわち、mRNAの量を意味し、上記レベルを測定することができる物質ではSH3YL1遺伝子に特異的なプライマーまたはプローブを含むことができる。本発明で上記SH3YL1遺伝子に特異的なプライマーまたはプローブは配列番号2で示すSH3YL1遺伝子全体または遺伝子の特定領域を特異的に増幅することができるプライマーまたはプローブであることができ、上記プライマーまたはプローブは当業界に知られた方法を通じてデザインすることができる。

【0036】

本発明で上記「プライマー」という用語は適切な温度及び緩衝液内で適した条件(即ち

10

20

30

40

50

、4種の異なるヌクレオチド三リン酸及び重合反応酵素)の下で鋳型-指示DNA合成の開始点として作用することができる単一鎖のオリゴヌクレオチドを意味する。プライマーの適合した長さは多様な要素、例えば、温度とプライマーの用途によって変化のあることができる。また、プライマーの配列は鋳型の一部の配列と完全に相補的な配列を有する必要はなく、鋳型とハイブリダイズされてプライマー固有の作用ができる範囲内の十分な相補性を有していれば十分である。したがって、本発明でのプライマーは鋳型であるSH3YL1遺伝子のヌクレオチド配列に完璧に相補的な配列を有する必要はなく、この遺伝子配列にハイブリダイズされてプライマーの作用ができる範囲内で十分な相補性を有すると十分である。また、本発明によるプライマーは遺伝子増幅反応に利用されることができるものである。

10

【0037】

上記「増幅反応」は核酸分子を増幅する反応をいい、このような遺伝子の増幅反応に対してはダ当業界によく知られていて、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)、リガーゼ連鎖反応(LCR)、転写介在増幅(TMA)、核酸塩基配列ベース増幅(NASBA)などが含まれることができる。

【0038】

本発明において、上記「プローブ」という用語は自然のまたは変形されたモノマーまたは連鎖(linkages)の線形オリゴマーを意味し、デオキシリボヌクレオチド及びリボヌクレオチドを含み、ターゲットヌクレオチド配列に特異的にハイブリダイズすることができる、自然的に存在するかまたは人為的に合成されたものをいう。本発明によるプローブは単一鎖であることができ、好ましくはオリゴデオキシリボヌクレオチドであることができる。本発明のプローブは自然dNMP(即ち、dAMP、dGMP、dCMP及びdTMP)、ヌクレオチド類似体または誘導体を含むことができる。また、本発明のプローブはリボヌクレオチドも含むことができる。例えば、本発明のプローブは、骨格の変形されたヌクレオチド、例えば、ペプチド核酸(PNA)(M. Egholm et al., Nature, 365: 566-568 (1993))、ホスホロチオエートDNA、ホスホロジチオエートDNA、ホスホロアミデートDNA、アミド結合DNA、MMI結合DNA、2'-O-メチルRNA、アルファ-DNA及びメチルホスホン酸DNA、糖修飾されたヌクレオチド、例えば、2'-O-メチルRNA、2'-フルオロRNA、2'-アミノRNA、2'-O-アルキルDNA、2'-O-アリルDNA、2'-O-アルキニルDNA、ヘキソースDNA、ピラノシルRNA及びアンヒドロヘキシトールDNA及び塩基修飾を有するヌクレオチド、例えば、C-5置換されたピリミジン(置換基は、フルオロ-、プロモ-、クロロ-、ヨード-、メチル-、エチル-、ビニル-、ホルミル-、エチニル-、プロピニル-、アルキニル-、チアゾリル-、イミダゾリル-、ピリジル-を含む)、C-7置換基を有する7-デアザプリン(置換基は、フルオロ-、プロモ-、クロロ-、ヨード-、メチル-、エチル-、ビニル-、ホルミル-、アルキニル-、アルケニル-、チアゾリル-、イミダゾリル-、ピリジル-を含む)、イノシン及びジアミノプリンを含むことができる。

20

30

【0039】

本発明において、上記SH3YL1タンパク質のレベルを測定することができる物質はSH3YL1タンパク質に特異的な物質であることを特徴としており、好ましくは抗体(antibody)またはアプタマー(aptamer)であることができるが、これに限られることなく、SH3YL1タンパク質に特異的に結合できる物質ならば、どれでも制限なしに使用可能である。

40

【0040】

本発明で、上記の抗体はポリクローン抗体、単一クローン抗体及び組換え抗体などを含む概念で、完全な抗体(whole antibody)だけではなく、抗体の断片(antibody fragment)も含む。本発明での抗体は免疫グロブリン分子のすべての類型(例: IgG、IgE、IgM、IgD、及びIgA)及びその下位部類(例: IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2)であることができ

50

て、どのような種から由来されたものでも使用可能で、本発明での「抗体の断片」は少なくとも抗原に対する結合機能を保有している断片を意味し、単鎖抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、Fab断片、F(ab')₂断片、Fd、scFv、ドメイン抗体、ミニボディ、スキャブ(single chain antibody, scAb)、抗体不変領域の誘導體、タンパク質スキャフォールド(protein scaffolds)に基づいた人工抗体などを含む。

【0041】

本発明において、上記記述したことのよう腎症を診断することができるマーカータンパク質としてSH3YL1タンパク質が究明されたので、上記のタンパク質を利用して抗体を生成する方法は、当該技術分野の一般的技術者が公知された技術を利用して容易に製造することができる。例えば、ポリクローン抗体の場合にはSH3YL1抗原を動物に注射して動物から採血して抗体を含む血清を収得する当業界に広く公知された方法によって生産することができ、このようなポリクローン抗体はヤギ、兎、羊、猿、馬、豚、牛、犬などの任意の動物種の宿主から製造可能である。単クローン抗体の場合には当業界に広く公知されたハイブリドーマ(hybridoma)方法(Koller et al., European Journal of Immunology, 6, 511-519, 1976)を利用して製造することができるか、またはファージ抗体ライブラリー(Clackson et al., Nature, 352, 624-628, 1991; Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597, 1991)技術を利用して製造することができる。また、本発明による抗体は二つの全長の軽鎖及び二つの全長の重鎖を有する完全な形態だけではなく、抗体分子の機能的な断片を含むことができる。抗体分子の機能的な断片というものは少なくとも抗原結合機能を保有している断片を意味し、Fab、F(ab')、F(ab')₂及びFvなどがある。

10

20

【0042】

SH3YL1(SH3 domain containing Ysc84-like 1)はカルボキシル末端領域にSrc homology domain 3(SH3)を有していると、アミノ末端領域にはSYLF(SH3YL1、Ysc84p/Lsb4p、Lsb3p、and plant FYVE proteins that contain it)を有しているタンパク質である(図1)。SH3YL1遺伝子の塩基配列を配列番号2に示しており、SH3YL1タンパク質のアミノ酸配列を配列番号1に示した。

30

【0043】

SH3YL1のSH3領域はプロリン豊富部位(proline-rich region)を認識し、SYLF領域は膜にあるホスファチジルイノシトール3、4、5-トリホスフェイト{phosphatidylinositol 3, 4, 5-triphosphate(PI(3, 4, 5)P3)}を認識する。このような機能のために成長因子であるPDGFの刺激によりSH3YL1のSYLF領域がPI(3, 4, 5)P3を認識して、細胞の移動を調節することで知られている(Hasegawa et al., JCB, 193; 901-916, 2011)。

【0044】

他の観点から、本発明は腎症診断に必要な情報を提供するため、上記腎症診断用の造成物を生物学的試料に処理して、試料中のSH3YL1遺伝子の発現レベルまたはSH3YL1タンパク質のレベルを検出する方法に関するものである。

40

【0045】

また他の観点から、本発明はSH3YL1遺伝子またはSH3YL1タンパク質の腎症診断用のマーカーとしての用途に関するものである。

【0046】

また他の観点から、本発明は生物学的試料中のSH3YL1遺伝子の発現レベルまたはSH3YL1タンパク質のレベルを測定することを特徴とする腎症の診断方法に関するものである。

【0047】

50

本発明で上記「生物学的試料」ということは腎症の発生、または進行程度による上記SH3YL1遺伝子の発現レベルまたはタンパク質のレベルが正常対照群とは異なる生体から採取された試料をいい、上記試料では例えば、これに制限されることではないが、組織、細胞、血液、血清、血漿、唾液や尿などが含まれることができる。

【0048】

上記SH3YL1遺伝子の発現レベルの測定は好ましくはmRNAのレベルを測定することであり、mRNAのレベルを測定する方法としては、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)、リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、RNase保護分析法、ノーザンブロット及びDNAチップなどがあるが、これに制限されることではない。

【0049】

上記SH3YL1タンパク質レベルの測定はSH3YL1タンパク質に特異的に結合する物質、好ましくはSH3YL1タンパク質の特異的抗体、またはアプタマーを利用することができるが、このような場合、生物学的試料内のSH3YL1マーカータンパク質とこれに特異的な抗体は結合物、すなわち、抗原-抗体複合体を形成し、抗原-抗体複合体の形成量は検出ラベル(detection label)のシグナルの大きさを通じて定量的に測定することができる。このような検出ラベルは酵素、蛍光物、リガンド、発光物、微小粒子(microparticle)、酸化還元分子及び放射線同位元素からなっているグループの中から選択することができ、これに制限されることではない。タンパク質レベルを測定するための分析方法としては、これに制限されないが、ウエスタンブロット、ELISA、放射線免疫分析、放射線免疫拡散法、オークタロニー免疫拡散法、ロケット免疫電気泳動、組織免疫染色、免疫沈降分析法、補体結合反応分析法、FACS、タンパク質チップなどがある。

【0050】

したがって、本発明は上記のような検出方法を通じて、対照群のSH3YL1のmRNA発現量またはタンパク質の量と腎症患者または腎症疑心患者でのSH3YL1のmRNA発現量またはタンパク質の量を確認することができ、上記発現量の程度を対照群と比較することによって腎症発病の可否、進行段階または予後などを予測及び診断することができる。

【0051】

本発明の実施例によると、腎症患者を含む腎臓疾患患者の血液を収得して上記血液から血清を分離した後、SH3YL1特異的抗体を利用したELISA方法を遂行し、各患者の試料からSH3YL1タンパク質の量を測定した後、上記測定値を対照群と比較分析する過程を通じて遂行した。

【0052】

また他の観点で本発明はSH3YL1遺伝子またはその断片とハイブリダイズすることができるプローブが固定されている腎症診断用のマイクロアレイに関するものである。

【0053】

本発明のマイクロアレイにおいて、SH3YL1タンパク質またはこれを暗号化する遺伝子の発現レベルを測定することができるプライマー、プローブまたは抗体はハイブリダイズ可能なアレイ要素(hybridizable array element)として利用され、基質(substrate)上に固定化される。好ましい基質は適合した堅固性または半-堅固性支持体として、例えば、膜、フィルター、チップ、スライド、ウェハー、ファイバ、磁気性ビーズまたは非磁気性ビーズ、ゲル、チュービング、プレート、高分子、微小粒子及び毛細管を含むことができる。上記ハイブリダイズ可能なアレイ要素は、上記基質上に配列されて固定化され、このような固定化は化学的結合方法またはUVのような共有結合的方法により遂行されることができる。たとえば、上記ハイブリダイズ可能なアレイ要素はエポキシ化合物またはアルデヒド基を含むように変形されたガラスの表面に結合されることができて、またポリリジンコーティング表面でUVにとり結合されることができる。また、上記ハイブリダイズ可能なアレイ要素はリンカー(例：エチレングリコールオリゴマー及びジアミン)を通じて基質に結合されることができる。

10

20

30

40

50

【0054】

一方、本発明のマイクロアレイに適用される試料が核酸である場合には標識 (l a b e l i n g) されることができて、マイクロアレイ上のアレイ要素とハイブリダイズされることができる。ハイブリダイズの条件は多様であることができて、ハイブリダイズ程度の検出及び分析は標識物質によって多様に実施されることができる。

【0055】

また、他の観点で、本発明は S H 3 Y L 1 遺伝子またはその断片を増幅することができるプライマー対、上記 S H 3 Y L 1 遺伝子とハイブリダイズできるプローブまたは S H 3 Y L 1 遺伝子がコードするタンパク質に特異的な抗体またはアプタマーを含有する腎症診断用のキットを提供する。

10

【0056】

本発明の腎症診断用のキットに含まれる腎症診断用の造成物は S H 3 Y L 1 タンパク質またはこれを暗号化する遺伝子の発現レベルを測定することができるプライマー、プローブまたは抗体を含むことができて、これらの定義は先に記述されたことのものである。

【0057】

本発明の腎症診断用のキットがもし P C R 増幅の過程に適用される場合、本発明のキットは選択的に P C R 増幅に必要な試薬、例えば、緩衝液、DNAポリメラーゼ (例えば、*Thermus aquaticus* (Taq)、*Thermus thermophilus* (Tth)、*Thermus filiformis*、*Thermis flavus*、*Thermococcus literalis* また *Pyrococcus furiosus* (Pfu) から取得した熱安定性の DNA ポリメラーゼ)、DNAポリメラーゼ助因子及び d N T P s を含むことができて、本発明の腎症診断用のキットが免疫分析に適用される場合、本発明のキットは選択的に、二次抗体及び標識の基質を含むことができる。ひいては、本発明によるキットは上記した試薬の成分を含む多数の別途のパッケージングまたはコンパートメントで製作されることができる。

20

【0058】

また、他の観点から、(a) S H 3 Y L 1 遺伝子を発現する細胞に候補物質を接触させる段階；(b) S H 3 Y L 1 遺伝子の発現レベル及び / または S H 3 Y L 1 タンパク質レベルを測定する段階；及び (c) S H 3 Y L 1 遺伝子の発現レベル及び / または S H 3 Y L 1 タンパク質レベルが減少される場合の候補物質を腎症の予防または治療用の物質で選別する段階を含む腎症の予防または治療用の物質をスクリーニングする方法に関するものである。

30

【0059】

本発明の方法によると、先ず S H 3 Y L 1 遺伝子または S H 3 Y L 1 タンパク質を含む細胞に分析しようとする試料を接触させることができる。ここで上記「試料」または「候補物質」は S H 3 Y L 1 遺伝子の発現量、S H 3 Y L 1 タンパク質の量または S H 3 Y L 1 タンパク質の活性に影響を及ぼすかの可否を検査するため、スクリーニングで利用される未知の物質を意味する。上記「試料」または「候補物質」は化学物質、ヌクレオチド、アンチセンス - R N A、s i R N A (s m a l l i n t e r f e r e n c e R N A) 及び天然物の抽出物を含むことができるが、これに制限されない。以後、試料が処理された細胞で S H 3 Y L 1 遺伝子の発現量、S H 3 Y L 1 タンパク質レベルを測定することができ、測定結果、S H 3 Y L 1 遺伝子の発現量、S H 3 Y L 1 タンパク質のレベルが減少されることが測定されると、上記試料は腎症を治療または予防することができる物質に判定されることができる。

40

【0060】

上記で S H 3 Y L 1 遺伝子の発現量、S H 3 Y L 1 レベルを測定する方法は当業界に公知された多様な方法を通じて遂行されることができ、例を挙げると、これに制限されることではないが、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (r e v e r s e t r a n s c r i p t a s e - p o l y m e r a s e c h a i n r e a c t i o n)、リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応 (r e a l t i m e p o l y m e r a s e r e a c t i o n)、

50

ウエスタンブロット、ノーザンブロット、ELISA (enzyme linked immunosorbent assay)、放射線免疫測定法 (RIA: radioimmunoassay)、放射免疫拡散法 (radioimmunodiffusion) 及び免疫沈降分析法 (immunoprecipitation assay) などを利用して遂行することができる。

【0061】

本発明はまた、上記SH3YL1遺伝子発現レベルまたはSH3YL1タンパク質レベルを減少させることができる物質である腎症治療剤及びこれを含む腎症治療用の造成物に関するものである。

【0062】

本発明で上記SH3YL1遺伝子発現レベルを減少させることができる物質には好ましくは化学物質、ヌクレオチド、SH3YL1遺伝子に特異的なsiRNA、SH3YL1遺伝子に特異的なアンチセンス、miRNAなどを含むことができる。

【0063】

本発明で上記SH3YL1タンパク質レベルを減少させることができる物質にはSH3YL1タンパク質に特異的な抗体、アプタマーまたは化学物質 (small molecule) などを含むことができる。

【0064】

また、本発明で上記本発明の治療用の造成物は薬学的に許容される担体を追加で含むことができる。上記で「薬学的に許容される」ということは生理学的に許可されてヒトに投与されるとき、通常的に胃腸障害、めまいなどのようなアレルギー反応またはそれに類似した反応を引き起こさない造成物をいう。薬学的に許容される担体には、例えば、ラクトース、澱粉、セルロース誘導体、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸などのような経口投与用担体及び水、適合したオイル、食塩水、水性グルコース及びグリコールなどのような非経口投与用担体などがあり、安定化剤及び保存剤を追加で含むことができる。適合した安定化剤では亜硫酸水素ナトリウム、亜硫酸ナトリウムまたはアスコルビン酸のような抗酸化剤がある。適合した保存剤ではベンザルコニウムクロリド、メチル-またはプロピルパラベン及びクロロブタノールがある。その他の薬学的に許容される担体としては次の文献に記載されているものを参考にすることができる (Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton PA, 1995)。

【0065】

本発明による治療用の造成物は、前述したことのような薬学的に許容される担体とともに当業界に公知された方法によって適した形態で剤形化されることができる。すなわち、本発明の薬学的造成物は公知の方法によって多様な非経口または経口投与用の形態で製造されることができ、非経口投与用の剤形の代表的なものとしては注射用剤形で等張性の水溶液または懸濁液が好ましい。注射用剤型は適合した分散剤または湿潤剤及び懸濁化剤を使用して当業界に公知された技術によって製造することができる。例えば、各成分を食塩水または緩衝液に溶解させて注射用に剤形化されることができる。また、経口投与用の剤形には、これに限定されることではないが、粉末、顆粒、錠剤、丸薬及びカプセルなどがある。上記のような方法で剤形化された薬学的造成物は有効量で経口、経皮、皮下、静脈または筋肉を含めたさまざまな経路を通じて投与されることができるが、上記「投与」とはどのような適切な方法で患者に所定の物質を導入することを意味し、物質の投与経路は目的の組織に到達することができる限りどのような一般的な経路を通じて投与されることができる。

【0066】

また、上記で「有効量」とは患者に投与した時、予防または治療効果を示す量をいう。本発明による薬学的造成物の投与量は患者の疾患の種類及び重症度、年齢、性別、体重、薬物に対する敏感度、現在治療法の種類、投与方法、敵細胞など多様な要因によって異なることができ、当該分野の専門家によって、容易に決定されることができる。また、本発

10

20

30

40

50

明の薬学的造成物は従来の治療剤と併用して投与されることができ、従来の治療剤とは順次的または同時に投与されることができ、単一または多重投与されることができ、好ましくは上記要素をすべて考慮して不作用なしに最小限の量で最大効果の得られる量を投与することができ、さらに好ましくは1~10000 μ g/体重kg/day、もっと好ましくは10~1000mg/体重kg/dayの有効容量で1日に数回繰り返して投与されることができ。

【実施例】

【0067】

以下、実施例を通じて本発明をさらに詳細に説明しようとする。これらの実施例は単に本発明を例示するためのものとして、本発明の範囲がこれらの実施例により制限されるものと解釈されないことは当業界で通常の知識を有した者において明らかである。

10

【0068】

実施例1. LPS処理による細胞内のSH3YL1レベル分析

SH3YL1は細胞質タンパク質で存在し、細胞の移動に関係するが、細胞の炎症誘発刺激であるLPS(100ng/ml)処理後、HAEC(human aortic endothelial cell, Lonza, cc-2535)、HPMEC(human pulmonary microvascular endothelial cell, Promo Cell, c-12281)でSH3YL1の発現レベルを確認した。

20

【0069】

HAECはLonzaのEndothelial Cell Growth Medium 2 Kit(cc-6162)を、HPMECはPromo CellのEndothelial Cell Growth Medium MV kit(c-22120)を使用して37 $^{\circ}$ C、5%CO₂条件の培養基で培養した。細胞にLPS(100ng/ml)を24時間処理後cell lysateでSH3YL1 levelを確認した。

【0070】

その結果、図2に示したことのようにSH3YL1はLPSによる炎症刺激により細胞内でその発現が増加されることを知ることができた。

30

【0071】

実施例2. 発現が増加されたSH3YL1の細胞外部への分泌可否の確認

炎症刺激因子であるLPSによって発現が増加したSH3YL1が細胞外部へ分泌されるのかを確認した。

【0072】

HPMEC細胞にLPS(100ng/ml)を時間帯別に処理して培養した後、取得した培養液を遠心分離して、培養上層液と細胞分画でSH3YL1のタンパク質の量を測定した。BCA protein assay(Pierce)を通じて濃度を測定し、同量のsampleにLaemmli's SDS-PAGE sample bufferを添加して95 $^{\circ}$ Cで10分間、沸騰させてloading sampleを作る。sampleはSDS-PAGEを遂行し、以後にnitrocellulose membraneにelectrotransferして5% skim milkで30分間、非特異的なbandを除去する。その後1次antibodyを5% skim milkに希釈して4 $^{\circ}$ Cで一晩反応させる。TBS-T bufferを利用して10分ずつ3回洗浄してHorseradish peroxidase-conjugated goat anti-mouseまたはRabbit IgG(santa cruz biotechnology)をRTで1時間の間つけて再びTBS-T bufferに10分ずつ3回洗浄した後、LAS-3000(Fujifilm)機械を利用してchemiluminescent imageを得て分析した。

40

【0073】

その結果、図3に示したことのように培養上層液(supernatant)の分画で

50

S H 3 Y L 1 タンパク質が確認されて、L P S 刺激により S H 3 Y L 1 タンパク質の細胞外部へ分泌されることを確認した。

【0074】

実施例3．糖尿病性腎症患者で血漿内の S H 3 Y L 1 タンパク質の濃度増加確認

糖尿病性腎症患者の血漿で実質的に S H 3 Y L 1 タンパク質の濃度が増加するかを確認した。

【0075】

総236名の患者を対象にして、総65名の正常対照群及び171名の第2型糖尿病患者を含めた断面調査研究(Cross-sectional)で単一の研究機関で行われた。

10

【0076】

総223名の患者で血漿 S H 3 Y L 1 タンパク質の濃度を Myobiosource 社の酵素免疫測定法(ELISA)キット(MBS936559)を使用して定量した。この試薬はサンドイッチ型の酵素免疫測定法の原理を活用し、血清または血漿 S H 3 Y L 1 の濃度を測定する。

【0077】

S H 3 Y L 1 の特異抗体が付着された 96-well microplate に五つの濃度の標準物質、blank、陽性及び陰性対照物質とともに血清の検体を添加し、2時間の間反応させて洗浄後、biotin が付着された2次抗体を添加後、再び1時間反応させた。洗浄後、streptavidin とともに horse-radish peroxidase が付着された conjugate 溶液を添加して1時間反応させて洗浄した後、光を避けて発色試薬を添加して30分後450nmで吸光度を測定した。

20

【0078】

五つの濃度の標準物質及びblank物質で測定した吸光度を利用して標準曲線を導出した後、各検体で測定した吸光度を S H 3 Y L 1 (pg/ml) の濃度に換算した。測定可能な濃度は 31.25 ~ 2000 pg/ml であって、検査内精密度(intra-assay precision)の変動係数(Coefficient of variation, CV%)は < 8% であり、検査間の精密度(inter-assay precision)の CV% は < 10% であった。

【0079】

糖尿病患者群は糖尿病性腎症の段階によって各々正常蛋白尿群(アルブミン-クレアチニン比 30 μg/mg Cr 未満)、微細アルブミン尿群(アルブミン-クレアチニン比 30 - 300 mg Cr の間)及び顕性蛋白尿群(300 mg/mg Cr または 300 mg/日以上)に分類した。患者の義務記録及び診察を通じて基底疾患、性別、年齢、身長、体重、体質量指数及び血圧などの資料を確認した。

30

【0080】

患者の血液サンプルを収集して血色素、白血球、血小板、C-反応性タンパク質、血中尿素(bun)、クレアチニン、脂質の数値を測定した。糖尿病性腎症の他のバイオマーカーとされるレチノール結合タンパク質4(Retinol binding protein 4, RBP4)の濃度も Phoenix 社のキットを使用して定量した。

40

【0081】

蛋白尿の測定のために尿のサンプルを収集して尿の微細アルブミン対クレアチニン比(microalbumin to creatinine ratio)及び尿タンパク対クレアチニン比(protein to creatinine ratio)を計算した。糸球体濾過率の計算のために計算式 CKD-EPI の公式(糸球体濾過率 = $141 \times \min(\text{Scr}/, 1) \times \max(\text{Scr}/, 1) - 1.209 \times 0.993$ 年齢 $\times 1.018$ (女性) $\times 1.159$ (黒人)、 = 0.7 (女性)、 = 0.9 (男性)、 = 0.329 (女性)、 = -0.411 (男性) を使用して、インスリン抵抗数値を HOMA-IR (homostatic model assessment of insulin resistance = (空腹血中インスリン(mU/I) \times 空腹

50

血糖 (nmol/l) / 22.5) の公式を使用して計算した。

【0082】

資料分析のために I B B M S P S S S t a t i s t i c 2 0 プログラムを利用しており、p 値が 0.05 の有意水準で、両側の検証で分析した。非正規分布を示す変数値を正規分布化するために log 型値に変換して分析した。連続型試料の場合、正規性の仮定満足可否によって、t-test または Wilcoxon rank sum test、ANOVA test with post hoc analysis を施行し、二分型資料の場合、期待度数の分布によって Chi-square test または Fisher's exact test を実施して、関連性を確認するために Pearson's correlation coefficient、linear 及び multiple regression analysis を使用した。

10

【0083】

その結果、各群間の年齢、男女比間の差はなかったが、対照群と比較して糖尿病性腎症全体群の腎臓の機能が有意に低く、収縮期血圧及びインスリン抵抗数値が有意に高かった(表1)。その他、C反応性タンパク質及び脂質数値の差は観察されなかった。

【0084】

S H 3 Y L 1 濃度は正常対照群に比べて糖尿病患者で有意に高く、これは正常蛋白尿群及び微細蛋白尿、顕性蛋白尿群で全て有意に高かった。顕性蛋白尿を示す患者で顕著に増加されていることを確認した(図4)。

【0085】

S H 3 Y L 1 が基底腎機能に影響を受けることができ、その独立した関連性を確認しようとした。単純の相関関係を分析した結果、S H 3 Y L 1 は蛋白尿及び微細蛋白尿、R B P 4 の濃度、体質量指数、収縮期血圧及びインスリン抵抗数値と陽の相関関係を示しており、糸球体濾過率と関連性を示さなかった(表2及び表3)。年齢、性別及び糸球体濾過率を補正した後にも S H 3 Y L 1 濃度と微細蛋白尿は独立した陽の相関関係を示しており、その他にも R B P 4 の濃度と陽の相関関係、体質量指数と陰の相関関係を示していた(表4)。

20

【0086】

上記の結果を通じて、糖尿病性腎症の進行の診断及び治療の目標になる微細蛋白尿と S H 3 Y L 1 の関連性を確認することができて、糖尿病性腎症進行の予測マーカーとして S H 3 Y L 1 タンパク質を使用できるということを確認することができた。

30

【0087】

【表 1】

	Normal control group n=65	Diabetic normal proteinuria group n=66	Diabetic microalbuminuria group n=52	Diabetic prominent proteinuria n=53	P value ANOVA
Age (years)	54.8±12.3	55.4±10.9	56.5±13.5	55.6±12.0	0.909
sex: male (%)	29(45)	32(48)	22(42)	25(47)	
Glomerular filtration rate	96.2±22.9 ^A	88.8±28.1 ^B	83.6±34.2 ^B	82.3±28.6 ^C	0.035
Proteinuria excretion rate	335.1±427.5 ^A	337.1±340.4 ^A	822.0±1584.4 ^A	5588874.9±143787 ^B	<0.001
Microalbuminuria excretion rate	10.87±7.116	9.87±5.234	70.23±57.077	1893.05±1729.600	<0.001
Body mass index	23.9±3.67	23.9±3.00	24.6±2.94	22.9±4.57	0.125
Systolic blood pressure	116.6±14.03 ^A	124.7±13.69 ^B	133.5±18.88 ^C	139.8±18.34 ^C	<0.001
Diastolic blood pressure	73.4±11.91	72.8±10.19	78.8±11.46	78.8±12.76	0.010
Insulin resistance HOMA-IR	1.62±1.218 ^A	7.04±5.170 ^B	5.12±3.778 ^B	6.11±7.886 ^B	<0.001
C-reactive protein	0.26±0.339	0.37±0.321	0.58±1.175	0.46±0.981	0.214
Fasting blood glucose	98.5±11.13 ^A	141.7±92.25 ^B	122.1±45.01 ^C	122.1±46.39 ^C	0.001
2 hours postprandial blood glucose	111.5±29.78 ^A	178.2±104.62 ^B	154.5±75.89 ^B	168.1±105.28 ^B	<0.001
Total cholesterol	189.2±38.87	195.9±45.65	186.6±31.13	186.3±36.63	0.507
LDL cholesterol	116.7±38.46	117.6±36.79	113.5±32.08	111.5±37.9	0.812
HDL cholesterol	48.2±14.85	44.3±12.62	44.1±10.25	47.7±19.68	0.329
Triglyceride	127.2±78.23	152.5±106.93	147.6±99.21	153.4±123.34	0.460

1) 同じ英文の大文字間の事後分析を通じた統計学的差はなかった。

【 0 0 8 8 】

【表 2】

	Pearson correlation	Significance probability (two-sided)
Body mass index	-0.168	0.016
2 hours postprandial blood glucose	0.151	0.034
Systolic blood pressure	0.214	0.003
Insulin resistance	0.259	<0.001
Microalbuminuria excretion rate (log)	0.306	<0.001
Proteinuria excretion rate (log)	0.334	<0.001
RBP4	0.358	<0.001

1) 従属変数：SH3YL1

【 0 0 8 9 】

【表 3】

	Non-standardized coefficient (standard error)	Standardized coefficient	Significance probability
Body mass index	-0.018(0.007)	-0.168	0.017
Systolic blood pressure	0.003(0.002)	0.159	0.030
Insulin resistance	0.011(0.005)	0.164	0.020
Microalbuminuria excretion rate (log)	0.126(0.026)	0.315	<0.001
Proteinuria excretion rate (log)	0.088(0.022)	0.263	<0.001
RBP4	$9.724E^{-0.5}(2.1596E^{-0.6})$	0.292	<0.001
Glomerular filtration rate	-0.001(0.001)	-0.055	0.417

10

1) 従属変数 : SH3YL1 (log)

【0090】

【表 4】

	Non-standardized coefficient (standard error)	Standardized coefficient	Significance probability
Microalbuminuria excretion rate (log)	0.123(0.030)	0.334	<0.001
RBP4	$7.029E^{-0.5}(0.001)$	0.228	0.008
Body mass index	-0.019(0.009)	-0.180	0.027

20

1) 従属変数 : SH3YL1 (log)

2) 補正因子 : 蛋白尿の排泄比率 (log)、糸球体濾過率、C反応性タンパク質。

食後2時間の血糖、収縮期血圧、年齢、性別

【0091】

【表 5】

SH3YL1		
Amino acid sequence	MNNPIPSNLK SEAKKAAKIL REFTEITSRN GPDKIIPAHV IAKAKGLAIL SVIKAGFLVT ARGGSGIVVA RLPDGKWSAP SAIGIAGLGG GFEIGIEVSD LVIILNYDRA VEAFKGGNL TLGGNLTAVV GPLGRNLEGN VALRSSAAVF TYCKSRGLFA GVSLEGSCLI ERKETNRKFY CQDIRAYDIL FGDTPRPAQA EDLYEILDSF TEKYENEGQR INARKAAREQ RKSSAKELPP KPLSRPQQSS APVQLNSGSQ SNRNEYKLYP GLSSYHERVG NLNQPIEVTA LYSFEGQQPG DLNFQAGDRI TVISKTDSEH DWWEGKLRGQ TGIFPANYVT MN	配列番号: 1
Nucleotide sequence	atgaataacc ctatacttc caattgaaa tcagaagcaa aaaaggctgc caaaatatta agagaattca cagaaataac ttccagaaat ggacctgata agatcattcc tgctcacgta attggaagg ctaaaggcct tgcaattctg tctgtgatca aagccgggft cctggtgact gccagaggag gcagcgggat ttagtgggcg cgcctccag atggaaaatg gtctgcaccc tcagccattg ggatagctgg ccttggtgga ggattgaaa taggaattga ggtatcagac ttggtgataa ttctgaatta tgaccgtgct gtagaagctt ttgcaaaagg cggaaatctg acctcggag ggaactgac tggggcggft gggcccttgg gaaggaactt ggaaggaaac gtggccctga gaagctccgc tgccgtcttc acgtactgca agtcaagggg actctttgca ggcgtgtctt tagaaggag ctgtttgatt gaaaggaaag aactaatag aaaatttat tgtcaagata tccgagctta tgacattta ttggagata caccgcggcc tgctcaagcc gaagatctt atgaaattct tgattcctt actgaaaagt atgaaaatga aggacaacga atcaatgcaa gaaaagcagc aaggagcag aggaagtctt ctgctaaaga attacctca aagccattgt caagaccaca gcagtcattc gcaccagtcc agctgaactc tggtctcaa agtaacagaa atgaatataa gctctatct ggacttcca gctatcatga gagagttggc aatttgaatc aacctataga agtgacagcg ctgtattcat ttgaaggaca gcagcctggg gatttgaatt tcaagctgg agacagaatc acagttatat caaaaacaga ttacatttt gattggtggg aaggaaaact tcaggtcaa actggcattt ttccagccaa ctacgtaacc atgaattaa	配列番号: 2

【産業上の利用可能性】

【0092】

本発明によると、腎症を早期に迅速で正確に診断及び予測することができる効果があり、患者の血液だけでも正確な診断が可能で、さらに腎症治療剤の開発のための標的に活用することができる効果がある。

【0093】

以上で本発明内容の特定な部分を詳細に記述したところ、当業界の通常の知識を有した者において、このような具体的技術は単に好ましい実施態様に過ぎず、これにより本発明の範囲が制限されないことは明らかである。したがって、本発明の実質的な範囲は添付された請求項とそれらの等価物によって定義されるといえる。

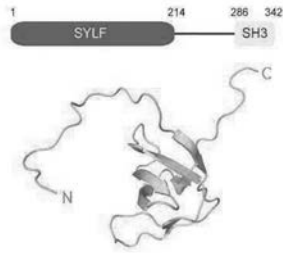
10

20

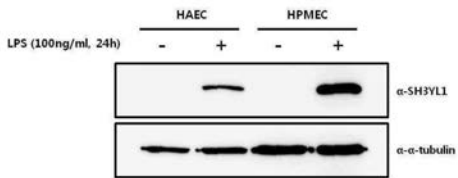
30

40

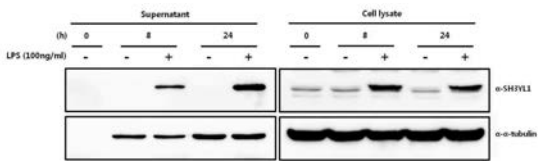
【 図 1 】



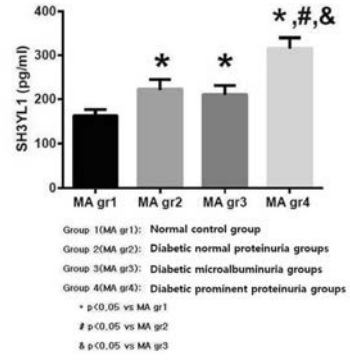
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



【 配列表 】


2018524020000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/005906

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>C12Q 1/68(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i, G01N 33/50(2006.01)i</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) C12Q 1/68; C40B 30/00; C40B 40/06; G01N 33/68; A61K 31/5377; G01N 33/50 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: SH3YL1, nephrosis, diagnosis, micro array, kit		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-1240208 B1 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) 06 March 2013 See claim 1.	1-10
A	US 2012-0004119 A1 (LENBURG et al.) 05 January 2012 See claims 1 and 8.	1-10
A	CN 102154478 B (SHANGHAI MENTAL HEALTH CENTER) 20 March 2013 See claim 1.	1-10
A	US 2014-0155397 A1 (HEYMACH et al.) 05 June 2014 See claims 8-9.	1-10
A	KOBAYASHI et al., "Dock4 forms a Complex with SH3YL1 and regulates Cancer Cell Migration", Cellular Signalling, [Electronic Publication] 05 February 2014, vol. 26, no. 5, pages 1082-1088 See abstract.	1-10
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" 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 05 SEPTEMBER 2016 (05.09.2016)		Date of mailing of the international search report 06 SEPTEMBER 2016 (06.09.2016)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korea Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2016/005906

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-1240208 B1	06/03/2013	KR 10-2011-0134649 A	15/12/2011
US 2012-0004119 A1	05/01/2012	NONE	
CN 102154478 B	20/03/2013	CN 102154478 A	17/08/2011
US 2014-0155397 A1	05/06/2014	WO 2012-135841 A2 WO 2012-135841 A3	04/10/2012 27/06/2013

국제조사보고서

국제출원번호
PCT/KR2016/005906

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C12Q 1/68(2006.01)I, G01N 33/68(2006.01)I, G01N 33/50(2006.01)I		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C12Q 1/68; C40B 30/00; C40B 40/06; G01N 33/68; A61K 31/5377; G01N 33/50 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC		
국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: SH3YL1, 신중, 진단, 마이크로어레이, 키트		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-1240208 B1 (고려대학교 산학협력단) 2013.03.06 청구항 1 참조.	1-10
A	US 2012-0004119 A1 (LENBURG 등) 2012.01.05 청구항 1 및 8 참조.	1-10
A	CN 102154478 B (SHANGHAI MENTAL HEALTH CENTER) 2013.03.20 청구항 1 참조.	1-10
A	US 2014-0155397 A1 (HEYMACH 등) 2014.06.05 청구항 8-9 참조.	1-10
A	KOBAYASHI 등, 'Dock4 forms a complex with SH3YL1 and regulates cancer cell migration', Cellular Signalling, [전자공개] 2014.02.05, 26권, 5호, 페이지1082-1088 초록 참조.	1-10
<input type="checkbox"/> 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. <input checked="" type="checkbox"/> 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2016년 09월 05일 (05.09.2016)	국제조사보고서 발송일 2016년 09월 06일 (06.09.2016)	
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578	심사관 김승범 전화번호 +82-42-481-3371	

서식 PCT/ISA/210 (두 번째 용지) (2015년 1월)

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2016/005906

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-1240208 B1	2013/03/06	KR 10-2011-0134649 A	2011/12/15
US 2012-0004119 A1	2012/01/05	없음	
CN 102154478 B	2013/03/20	CN 102154478 A	2011/08/17
US 2014-0155397 A1	2014/06/05	WO 2012-135841 A2 WO 2012-135841 A3	2012/10/04 2013/06/27

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 33/15	(2006.01)	G 0 1 N	33/50	Z
G 0 1 N 37/00	(2006.01)	G 0 1 N	33/15	Z
		G 0 1 N	37/00	1 0 2

(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, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ

- (72) 発明者 チャ デリヨン
大韓民国, 0 6 9 4 3, ソウル, トンジャク - ク, ヨウイデバン - 口, 2 5 0, 1 0 4 - 7 0 4
- (72) 発明者 カン ヨンソン
大韓民国, 0 4 4 2 1, ソウル, ヨンサン - グ, イチョン - 口, 1 8 1, 1 0 8 - 2 0 2
- (72) 発明者 チャ ジンジユ
大韓民国, 0 6 6 4 9, ソウル, ソチョ - グ, パンポ - デロ 2 0 - ギル, 4 2, 1 0 2 - ホ
- (72) 発明者 ペ ユンス
大韓民国, 1 0 4 0 2, キョンギ - ド, コヤン - シ, イルサンドン - グ, ホス - 口, 6 0 6, A - 1 0 0 9
- (72) 発明者 ユ ジョンヨン
大韓民国, 0 7 2 2 5, ソウル, ヨンドウンポ - グ, ボドゥナル - 口, 1 3 0, 3 0 8 - 5 0 1
- (72) 発明者 ムン ソンファン
大韓民国, 1 6 2 2 2, キョンギ - ド, スウォン - シ, ヨントン - グ, ウェルビーイング タウン - 口, 7 0, 8 7 0 6 - 6 0 3
- (72) 発明者 イ スジン
大韓民国, 1 6 7 0 9, キョンギ - ド, スウォン - シ, ヨントン - グ, チョンミョン - 口, 1 0 0, 4 2 4 - 1 7 0 2

F ターム(参考) 2G045 AA25

4B063 QA01 QA13 QA18 QA19 QQ02 QQ03 QQ52 QR32 QR51 QR55
QR62 QR82 QS10 QS14 QS25 QS34 QS39 QX01

专利名称(译)	使用SH3YL1作为肾病诊断的标志物		
公开(公告)号	JP2018524020A	公开(公告)日	2018-08-30
申请号	JP2018515748	申请日	2016-06-03
[标]申请(专利权)人(译)	APTABIO THERAPEUTICS		
[标]发明人	チャデリオン カンヨンソン チャジンジュ ペユンス ユジョンヨン ムンソンファン イスジン		
发明人	チャ デリオン カン ヨンソン チャ ジンジュ ペ ユンス ユ ジョンヨン ムン ソンファン イ スジン		
IPC分类号	C12Q1/6809 C12Q1/6837 C12N15/09 G01N33/53 G01N33/50 G01N33/15 G01N37/00		
CPC分类号	C12Q1/6883 C12Q2600/112 C12Q2600/118 C12Q2600/158 C12Q1/68 G01N33/50 G01N33/68		
FI分类号	C12Q1/6809.ZNA.Z C12Q1/6837.Z C12N15/09.200 G01N33/53.M G01N33/53.D G01N33/50.Z G01N33/15.Z G01N37/00.102		
F-TERM分类号	2G045/AA25 4B063/QA01 4B063/QA13 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ03 4B063/QQ52 4B063/QR32 4B063/QR51 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR82 4B063/QS10 4B063/QS14 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS39 4B063/QX01		
代理人(译)	山口健次郎 森田健一		
优先权	1020150079672 2015-06-05 KR		
其他公开文献	JP6698154B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及用于诊断肾病的组合物，用于诊断肾病的微阵列以及用于诊断肾病的试剂盒，其包含能够测量SH3YL1基因的表达水平或SH3YL1蛋白的水平水平的物质。根据该报告，具有可以在早期快速准确地诊断和预测肾病的效果，可以仅使用患者的血液进行准确的诊断，并且可以将其用作开发肾病治疗剂的靶标。有。

