

(19)日本国特許庁 ( J P )

# (12) 公開特許公報 ( A )

(11)特許出願公開番号

特開2001 - 340082

(P2001 - 340082A)

(43)公開日 平成13年12月11日(2001.12.11)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マ-コ-ド* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 45/00	2 G 0 4 5
A 6 1 K 45/00		A 6 1 P 1/04	4 B 0 2 4
A 6 1 P 1/04		37/00	4 B 0 6 3
37/00		43/00	4 C 0 8 4
43/00	105		111

審査請求 未請求 請求項の数 24 O L (全 14数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 162858(P2000 - 162858)

(22)出願日 平成12年5月31日(2000.5.31)

特許法第30条第1項適用申請有り 平成11年12月1日～3日 社団法人日本免疫学会主催の「第29回日本免疫学会総会・学術集会」において文書をもって発表

(71)出願人 000006725

ウェルファイド株式会社

大阪府大阪市中央区平野町2丁目6番9号

(72)発明者 徳永 勝士

東京都練馬区大泉町2 - 28 - 11

(72)発明者 土屋 尚之

東京都文京区本郷6 - 11 - 8 - 204

(74)代理人 100080791

弁理士 高島 一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 自己免疫疾患の診断用試薬

(57)【要約】

【解決手段】 I L - 2 制御型 P P 6 (または遺伝子) に対して特異的親和性を有する物質、 T N I K (または遺伝子) に対して特異的親和性を有する物質、 F L I P (または遺伝子) に対して特異的親和性を有する物質、 G R (または遺伝子) に対して特異的親和性を有する物質等からなる、病変部位に特異的に発現増強される蛋白質 (または遺伝子) に対して特異的親和性を有する物質群の少なくとも1種を含む、自己免疫疾患、特にクローン病の診断用診断薬。

【効果】 病変部位に特異的に発現増強される遺伝子に注目してその挙動を調べることにより、より簡便にまた、迅速に当該疾患の診断が可能となる。さらに疾患に係わる遺伝子に注目することで、自己免疫疾患、特にクローン病の予防治療薬のスクリーニングに利用できる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 (1)インターロイキン2制御型プロテインホスファターゼタイプ6遺伝子に対して特異的親和性を有する物質、(2)T r a f 2・N c k相互作用型キナーゼ遺伝子に対して特異的親和性を有する物質、(3)F L I C E阻害蛋白質遺伝子に対して特異的親和性を有する物質、および(4)グルココルチコイド受容体 遺伝子に対して特異的親和性を有する物質からなる群より選択される少なくとも1種を含んでなる、自己免疫疾患の診断用試薬。

【請求項2】 (1)インターロイキン2制御型プロテインホスファターゼタイプ6遺伝子に対して特異的親和性を有する物質、(2)T r a f 2・N c k相互作用型キナーゼ遺伝子に対して特異的親和性を有する物質、(3)F L I C E阻害蛋白質遺伝子に対して特異的親和性を有する物質、および(4)グルココルチコイド受容体 遺伝子に対して特異的親和性を有する物質を含んでなる請求項1記載の自己免疫疾患の診断用試薬。

【請求項3】 さらに、(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI 遺伝子に対して特異的親和性を有する物質、および(6)チトクロームb遺伝子に対して特異的親和性を有する物質からなる群より選択される少なくとも1種を含んでなる、請求項1または2記載の自己免疫疾患の診断用試薬。

【請求項4】 特異的親和性を有する物質が、オリゴまたはポリヌクレオチドプローブである、請求項1～3のいずれかに記載の自己免疫疾患の診断用試薬。

【請求項5】 特異的親和性を有する物質が、オリゴまたはポリヌクレオチドプライマー対である、請求項1～3のいずれかに記載の自己免疫疾患の診断用試薬。

【請求項6】 (1)インターロイキン2制御型プロテインホスファターゼタイプ6に対して特異的親和性を有する物質、(2)T r a f 2・N c k相互作用型キナーゼに対して特異的親和性を有する物質、(3)F L I C E阻害蛋白質に対して特異的親和性を有する物質、および(4)グルココルチコイド受容体 に対して特異的親和性を有する物質からなる群より選択される少なくとも1種を含んでなる、自己免疫疾患の診断用試薬。

【請求項7】 (1)インターロイキン2制御型プロテインホスファターゼタイプ6に対して特異的親和性を有する物質、(2)T r a f 2・N c k相互作用型キナーゼに対して特異的親和性を有する物質、(3)F L I C E阻害蛋白質に対して特異的親和性を有する物質、および(4)グルココルチコイド受容体 に対して特異的親和性を有する物質を含んでなる請求項6記載の自己免疫疾患の診断用試薬。

【請求項8】 さらに、(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI に対して特異的親和性を有する物質、および(6)チトクロームbに対して特異的親和性を有する物質からなる群より選択される少なくとも1種を含ん

でなる、請求項6または7記載の自己免疫疾患の診断用試薬。

【請求項9】 特異的親和性を有する物質が、抗体またはその断片である請求項6～8のいずれかに記載の自己免疫疾患の診断用試薬。

【請求項10】 自己免疫疾患がクローン病である請求項1～9のいずれかに記載の自己免疫疾患の診断用試薬。

【請求項11】 自己免疫疾患を発症しているか、そのおそれのある動物を同定するための分析方法であって、(1)インターロイキン2制御型プロテインホスファターゼタイプ6遺伝子、(2)T r a f 2・N c k相互作用型キナーゼ遺伝子、(3)F L I C E阻害蛋白質遺伝子、および(4)グルココルチコイド受容体 遺伝子からなる群より選択される少なくとも1種の、該動物から採取した生体試料における発現状況を解析することを含む分析方法。

【請求項12】 さらに、(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI 遺伝子、および(6)チトクロームb遺伝子からなる群より選択される少なくとも1種の発現状況を解析することを含む、請求項11記載の分析方法。

【請求項13】 自己免疫疾患を発症しているか、そのおそれのある動物を同定するための分析方法であって、(1)インターロイキン2制御型プロテインホスファターゼタイプ6、(2)T r a f 2・N c k相互作用型キナーゼ、(3)F L I C E阻害蛋白質、および(4)グルココルチコイド受容体 からなる群より選択される少なくとも1種の、該動物から採取した生体試料における発現状況を解析することを含む分析方法。

【請求項14】 さらに、(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI 、および(6)チトクロームbからなる群より選択される少なくとも1種の発現状況を解析することを含む、請求項13記載の分析方法。

【請求項15】 生体試料が、該動物由来の腸組織である請求項11～14のいずれかに記載の分析方法。

【請求項16】 自己免疫疾患がクローン病である請求項11～15のいずれかに記載の分析方法。

【請求項17】 動物由来組織をスクリーニングすべき薬剤で処理した後、当該組織中の、(1)インターロイキン2制御型プロテインホスファターゼタイプ6遺伝子、(2)T r a f 2・N c k相互作用型キナーゼ遺伝子、(3)F L I C E阻害蛋白質遺伝子、および(4)グルココルチコイド受容体 遺伝子からなる群より選択される少なくとも1種の遺伝子の発現の変化を解析することを含む、自己免疫疾患の予防治療薬のスクリーニング方法。

【請求項18】 さらに、(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI 遺伝子、および(6)チトクロームb遺伝子からなる群より選択される少なくとも1種の遺伝子の発現の変化を解析することを含む、請求項17記載の自己免疫疾患の予防治療薬のスクリーニング方法。

【請求項19】 動物由来組織をスクリーニングすべき薬剤で処理した後、当該組織中の、(1)インターロイキン2制御型プロテインホスファターゼタイプ6、(2)Traf2・Nck相互作用型キナーゼ、(3)FLICE阻害蛋白質、および(4)グルココルチコイド受容体からなる群より選択される少なくとも1種の蛋白質の発現の変化を解析することを含む、自己免疫疾患の予防治療薬のスクリーニング方法。

【請求項20】 さらに、(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI、および(6)チトクロームbからなる群より選択される少なくとも1種の蛋白質の発現の変化を解析することを含む、請求項19記載の自己免疫疾患の予防治療薬のスクリーニング方法。

【請求項21】 動物由来組織が腸組織である請求項17～20のいずれかに記載の自己免疫疾患の予防治療薬のスクリーニング方法。

【請求項22】 自己免疫疾患がクローン病である請求項17～21のいずれかに記載の自己免疫疾患の予防治療薬のスクリーニング方法。

【請求項23】 請求項17～21のいずれかに記載のスクリーニング方法によって得られ得る自己免疫疾患の予防治療薬。

【請求項24】 請求項22記載のスクリーニング方法によって得られ得るクローン病の予防治療薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、自己免疫疾患の診断用試薬ならびに自己免疫疾患を発症しているか、そのおそれのある動物を同定するための分析方法に関する。より詳細にはクローン病の診断用試薬ならびにその同定のための分析方法に関する。

【0002】

【従来の技術】自己免疫疾患とは、生体防御機構である免疫系が自己の細胞を攻撃してしまう現象である。自己抗原と反応する抗体やリンパ球が誘導され、その結果組織障害や病変が生じる。自己免疫疾患は、臓器特異性のない疾患と、特異性のある疾患の2つに大別される。自己免疫の関与が示唆されているものの原因が明らかでないものも多く、それらの発症機序を含め、診断方法等、解決すべき課題は多い。自己免疫疾患には、自己抗原に対する免疫反応およびアレルギーが関与していると考えられてはいるが、その原因が明らかにされていない疾患の一つとして、クローン病がある。この疾患は、炎症性腸疾患であり、消化管壁全層にわたって炎症性変化がみられ、非連続性に深い潰瘍が生じ、組織学的には非乾酪性肉芽腫を特徴とする。また、病変部位がスキップするという特徴を呈する。現在、クローン病の確定診断としては、その症状、X線、内視鏡、組織像を総合して行なわれているが、いずれも症状が進行してからの診断となり、より早期の診断が望まれている。さらに、他の炎症

性の腸疾患、例えば急性または慢性虫垂炎、腸結核、潰瘍性大腸炎、虚血性腸炎等との鑑別が必要である。

【0003】一方、サイトカインや接着性分子の発現に注目した分子生物学的なアプローチから、インターロイキン2(IL-2)受容体、トランスフェリン受容体、E-セレクトイン(ELAM-1(endothelial leukocyte adhesion molecule-1)とも称される)、VCAM-1(vascular cell adhesion molecule-1)、L-セレクトイン、CD11、OX40およびOX40リガンド等の膜蛋白質や、インターロイキン1(IL-1)、IL-2、インターロイキン6(IL-6)、インターロイキン15(IL-15)、腫瘍壊死因子(TNF)、インターロイキン18(IL-18)、インターロイキン8(IL-8)、MCP-1、ENA-78等のサイトカインやケモカインの遺伝子が、クローン病においてアップレギュレーションされているという報告がある。しかしながら、報告にあるこれらの遺伝子の殆どは、クローン病における炎症に伴う非特異的な免疫応答によりアップレギュレーションを受けるものであって、クローン病に特異的な現象ではない。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、自己免疫疾患、特にクローン病の診断に有用な方法ならびに診断用試薬を提供することにある。さらに本発明の別の目的は、自己免疫疾患、特にクローン病の治療に有用な薬剤のスクリーニング方法を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題に鑑み、早期診断、他の疾患との識別を可能とするべく、自己免疫疾患、特にクローン病における遺伝子レベルでの発現プロファイルを鋭意検討した。すなわち、病変部と非病変部とが肉眼的に明瞭に区別でき、同一個体において病変部と非病変部での発現される遺伝子を比較し得るクローン病に注目し、ディファレンシャルディスプレイ法(Liang, P., and Pardee, A.B.Science 257:967-971 (1992)、Liang, P., and Pardee, A.B. Curr. Opin. Immunol. 7:274-280 (1995))を用いて、病変部と非病変部における発現遺伝子プロファイルを比較した。結果、ある種の遺伝子が病変部で特異的にその発現が増強されていることを見出し、さらに該遺伝子を同定して本発明を完成するに至った。

【0006】すなわち本発明は以下の通りである。

(1)(1)インターロイキン2制御型プロテインホスファターゼタイプ6(type6 protein phosphatase regulated by IL-2;以下IL-2制御型PP6ともいう)遺伝子に対して特異的親和性を有する物質、(2)Traf2・Nck相互作用型キナーゼ(Traf2 and Nck interacting kinase;以下TNIKともいう)遺伝子に対して特異的親和性を有する物質、(3)FLICE阻害蛋白質(FLICE inhibitory protein;以下FLIPとも

いう) 遺伝子に対して特異的親和性を有する物質、および(4)グルココルチコイド受容体 (以下GR ともいう) 遺伝子に対して特異的親和性を有する物質からなる群より選択される少なくとも1種、あるいは全てを含んでなる、自己免疫疾患の診断用試薬。

(2) さらに、(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI 遺伝子に対して特異的親和性を有する物質、および(6)チトクロームb遺伝子に対して特異的親和性を有する物質からなる群より選択される少なくとも1種を含んでなる、上記(1)記載の自己免疫疾患の診断用試薬。

(3) 特異的親和性を有する物質が、オリゴまたはポリヌクレオチドプローブ、あるいはオリゴまたはポリヌクレオチドプライマー対である、上記(1)または(2)記載の自己免疫疾患の診断用試薬。

(4) (1)IL-2制御型PP6に対して特異的親和性を有する物質、(2)TNIKに対して特異的親和性を有する物質、(3)FLIPに対して特異的親和性を有する物質、および(4)GR に対して特異的親和性を有する物質からなる群より選択される少なくとも1種、あるいは全てを含んでなる、自己免疫疾患の診断用試薬。

(5) さらに、(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI に対して特異的親和性を有する物質、および(6)チトクロームbに対して特異的親和性を有する物質からなる群より選択される少なくとも1種を含んでなる、上記(4)記載の自己免疫疾患の診断用試薬。

【0007】(6) 特異的親和性を有する物質が、抗体またはその断片である上記(4)または(5)記載の自己免疫疾患の診断用試薬。

(7) 自己免疫疾患がクローン病である上記(1)~(6)のいずれかに記載の自己免疫疾患の診断用試薬。

(8) 自己免疫疾患を発症しているか、そのおそれのある動物を同定するための分析方法であって、(1)IL-2制御型PP6遺伝子、(2)TNIK遺伝子、(3)FLIP遺伝子、および(4)GR 遺伝子からなる群より選択される少なくとも1種の、該動物から採取した生体試料における発現状況を解析することを含む分析方法。

(9) さらに、(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI 遺伝子、および(6)チトクロームb遺伝子からなる群より選択される少なくとも1種の発現状況を解析することを含む、上記(8)記載の分析方法。

(10) 自己免疫疾患を発症しているか、そのおそれのある動物を同定するための分析方法であって、(1)IL-2制御型PP6、(2)TNIK、(3)FLIP、および(4)GR からなる群より選択される少なくとも1種の、該動物から採取した生体試料における発現状況を解析することを含む分析方法。

【0008】(11) さらに、(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI、および(6)チトクロームbからなる群より選択される少なくとも1種の発現状況を解析

することを含む、上記(10)記載の分析方法。

(12) 生体試料が、該動物由来の腸組織である、上記(8)~(11)のいずれかに記載の分析方法。

(13) 自己免疫疾患がクローン病である上記(8)~(12)のいずれかに記載の分析方法。

(14) 動物由来組織をスクリーニングすべき薬剤で処理した後、当該組織中の、(1)IL-2制御型PP6遺伝子、(2)TNIK遺伝子、(3)FLIP遺伝子、および(4)GR 遺伝子からなる群より選択される少なくとも1種の遺伝子の発現の変化を解析することを含む、自己免疫疾患の予防治療薬のスクリーニング方法。

(15) さらに、(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI 遺伝子、および(6)チトクロームb遺伝子からなる群より選択される少なくとも1種の遺伝子の発現の変化を解析することを含む、上記(14)記載の自己免疫疾患の予防治療薬のスクリーニング方法。

【0009】(16) 動物由来組織をスクリーニングすべき薬剤で処理した後、当該組織中の、(1)IL-2制御型PP6、(2)TNIK、(3)FLIP、および(4)GR からなる群より選択される少なくとも1種の蛋白質の発現の変化を解析することを含む、自己免疫疾患の予防治療薬のスクリーニング方法。

(17) さらに、(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI、および(6)チトクロームbからなる群より選択される少なくとも1種の蛋白質の発現の変化を解析することを含む、上記(16)記載の自己免疫疾患の予防治療薬のスクリーニング方法。

(18) 動物由来組織が腸組織である上記(14)~(17)のいずれかに記載の自己免疫疾患の予防治療薬のスクリーニング方法。

(19) 自己免疫疾患がクローン病である上記(14)~(18)のいずれかに記載の自己免疫疾患の予防治療薬のスクリーニング方法。

(20) 上記(14)~(18)のいずれかに記載のスクリーニング方法によって得られ得る自己免疫疾患の予防治療薬。

【0010】(21) 上記(19)記載のスクリーニング方法によって得られ得るクローン病の予防治療薬。

【0011】本発明において、自己免疫疾患とは、病変部位で特異的に(1)IL-2制御型PP6、(2)TNIK、(3)FLIP、(4)GR、(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI、および(6)チトクロームbからなる群より選択される少なくとも1種の発現増強(mRNAレベルあるいは蛋白質レベルで)が認められるものであれば特に限定されないが、特に(1)IL-2制御型PP6、(2)TNIK、(3)FLIP、および(4)GRの特異的な発現増強が観察されるクローン病が適当な診断対象となる。

【0012】本発明における遺伝子とは、特に断りのない限りいかなる態様のものであってもよい。例えば、m

RNAに加えて、mRNAから調製される相補DNA (cDNA)等が含まれる。

【0013】以下、本発明の診断用試薬に含め得る各構成要素について詳細に説明する。

(1)IL-2制御型PP6 (type 6 protein phosphatase regulated by IL-2; Filali, M., et al., J. Cell. Biochem. 73:153-163 (1999)に記載の36kDaの蛋白質)

IL-2制御型PP6とは、ヒトPP6とアミノ酸レベルで98%の相同性があるリン酸化蛋白質であり、末梢T細胞においてIL-2により発現が誘導される。正確な機能は未だ明らかにされていないが、細胞増殖に関与することも示唆されている (Filali, M., et al., (1999) 上述)。

【0014】本発明の自己免疫疾患の診断用試薬に含められるIL-2制御型PP6遺伝子に対して特異的親和性を有する物質としては、例えば当該遺伝子に特異的親和性を有するオリゴまたはポリヌクレオチドプローブ (以下、便宜上単にプローブともいう)、ならびにオリゴまたはポリヌクレオチドプライマー対 (以下、便宜上単にプライマー対ともいう) が挙げられ、その特異的親和性とは、目的の遺伝子にのみハイブリダイズする性質を意味し、従って当該遺伝子の全部もしくは一部に完全相補的なものか、もしくは上記性質を満たす範囲で1乃至数個のミスマッチを含んでいても良い。該プローブ、プライマー対は、当該遺伝子に特異的親和性を有するものであれば特に限定されないが、例えば当該遺伝子の塩基配列の全部もしくは一部、ならびにそれらの相補配列を含むオリゴまたはポリヌクレオチド等が挙げられ、検出すべき遺伝子の形態に応じて適宜選択する。後述するが、本発明の診断用試薬を用いてPCR等を行なう場合には、配列表配列番号1および配列表配列番号2に記載の両オリゴヌクレオチドをプライマー対として用いることができる。当該オリゴまたはポリヌクレオチドは当該遺伝子との特異的親和性を有している限りはその由来は特に限定されず、合成されたものであっても、当該遺伝子から必要な部分を切り出し、通常行なわれる方法によって精製されたものであってもよい。これらのオリゴまたはポリヌクレオチドは、蛍光物質、酵素やラジオアイソトープ等で標識されていてもよい。

【0015】本発明の自己免疫疾患の診断用試薬に含められるIL-2制御型PP6に対して特異的親和性を有する物質としては、例えば当該蛋白質に特異的親和性を有する抗体またはその断片が挙げられ、その特異的親和性とは抗原・抗体反応により該蛋白質を特異的に認識し、結合する能力のことである。該抗体またはその断片は、当該蛋白質と特異的に結合可能なものであれば特に限定されず、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体およびそれらの機能的断片のいずれであってもよい。これらの抗体あるいはその機能的断片は、通常当分野で行

なわれている方法によって製せられる。例えばポリクローナル抗体を用いる場合であれば、該蛋白質をマウスやウサギといった動物の背部皮下あるいは腹腔内あるいは静脈等に注射して免疫し、抗体価が上昇するのを待った後に抗血清を採取する方法が挙げられ、またモノクローナル抗体を用いる場合であれば、常法に従いハイブリドーマを作製して、その分泌液を採取する方法が挙げられる。抗体断片を製造する方法としてはクローニングした抗体遺伝子断片を微生物等に発現させる方法がよく用いられている。当該抗体、抗体断片等の純度は、当該蛋白質との特異的親和性を保持している限り、特に限定されない。これらの抗体またはその断片は、蛍光物質、酵素やラジオアイソトープ等で標識されていてもよい。さらに、これらは市販されているものを用いても良い。

【0016】(2)TNIK (Traf2 and Nck interacting kinase; Fu, C.A., et al., J. Biol. Chem. 274:30729-30737 (1999)に記載のGCKファミリーキナーゼ) TNIKとはTraf2とNckとに相互作用を示すキナーゼであり、JNKを活性化する分子として最近同定された。本発明の自己免疫疾患の診断用試薬に含められるTNIK遺伝子に対して特異的親和性を有する物質としては、例えば当該遺伝子に特異的親和性を有するプローブ、ならびにプライマー対が挙げられる。ここで遺伝子に特異的親和性を有するとは上述の通りであり、該プローブ、プライマー対は、上記IL-2制御型PP6の項で述べた様にして、当該遺伝子の塩基配列を元に適宜設定、修飾することができる。本発明の診断用試薬を用いてPCR等を行なう場合には、配列表配列番号3および配列表配列番号4に記載の両オリゴヌクレオチドをプライマー対として用いることができる。

【0017】本発明の自己免疫疾患の診断用試薬に含められるTNIKに対して特異的親和性を有する物質としては、例えば当該蛋白質に特異的親和性を有する抗体またはその断片が挙げられる。ここで蛋白質に特異的親和性を有するとは上述の通りであり、当該抗体ならびにその機能的断片は上記IL-2制御型PP6の項で述べた方法と同様な方法により調製される。

【0018】(3)FLIP (FLICE inhibitory protein; Irmeler, M., et al., Nature388:190-195 (1997)に記載、ヒトFLIP<sub>L</sub>: GenBank accession No. U97074、ヒトFLIP<sub>S</sub>: GenBank accession No. U97075) FLIPとは、FLICEの構造類似体で、FADDとFLICEとの会合を阻害することで、アポトーシスを抑制することが報告されている (Irmeler, M., et al., (1997) 上述、Hu, S., et al., J. Biol. Chem. 272:17255-17257 (1997))。ロングフォーム (FLIP<sub>L</sub>) とショートフォーム (FLIP<sub>S</sub>) が存在する。本発明の自己免疫疾患の診断用試薬に含められるFLIP遺伝子に対して特異的親和性を有する物質としては、例えば当該遺伝子に特異的親和性を有するプローブ、ならびにプ

ライマー対が挙げられる。ここで遺伝子に特異的親和性を有するとは上述の通りであり、該プローブ、プライマー対は、上記IL-2制御型PP6の項で述べた様にして、当該遺伝子の塩基配列を元に適宜設定、修飾することができる。本発明の診断用試薬を用いてPCR等を行なう場合には、配列表配列番号5および配列表配列番号6に記載の両オリゴヌクレオチドを(F L I P<sub>L</sub>に対して)、配列表配列番号7および配列表配列番号8に記載の両オリゴヌクレオチドを(F L I P<sub>S</sub>に対して)、それぞれプライマー対として用いることができる。

【0019】本発明の自己免疫疾患の診断用試薬に含まれるFLIPに対して特異的親和性を有する物質としては、例えば当該蛋白質に特異的親和性を有する抗体またはその断片が挙げられる。ここで蛋白質に特異的親和性を有するとは上述の通りであり、当該抗体ならびにその機能的断片は上記IL-2制御型PP6の項で述べた方法と同様な方法により調製される。

【0020】(4)GR (グルココルチコイド受容体; Hollenberg, S. M., et al., Nature 318:635-641 (1985) に記載される94kDaの蛋白質)

GRとは、グルココルチコイドをリガンドとする核内受容体スーパーファミリーに属する受容体であり、リガンド依存的に標的遺伝子の転写を促進する転写制御因子である。本発明の自己免疫疾患の診断用試薬に含まれるGR遺伝子に対して特異的親和性を有する物質としては、例えば当該遺伝子に特異的親和性を有するプローブ、ならびにプライマー対が挙げられる。ここで遺伝子に特異的親和性を有するとは上述の通りであり、該プローブ、プライマー対は、上記IL-2制御型PP6の項で述べた様にして、当該遺伝子の塩基配列を元に適宜設定、修飾することができる。本発明の診断用試薬を用いてPCR等を行なう場合には、配列表配列番号9および配列表配列番号10に記載の両オリゴヌクレオチドをプライマー対として用いることができる。

【0021】本発明の自己免疫疾患の診断用試薬に含まれるGRに対して特異的親和性を有する物質としては、例えば当該蛋白質に特異的親和性を有する抗体またはその断片が挙げられる。ここで蛋白質に特異的親和性を有するとは上述の通りであり、当該抗体ならびにその機能的断片は上記IL-2制御型PP6の項で述べた方法と同様な方法により調製される。

【0022】(5)チトクロームオキシダーゼサブユニットI (Sanger, F., et al., J. Mol. Biol. 143(2), 161-178 (1980)、Anderson, S., et al., Nature 290 (5806), 457-465 (1981) に記載される)

チトクロームオキシダーゼは、ミトコンドリア内膜に存在する電子伝達系の末端酸化酵素であり、7~13個のサブユニットからなり、ADPと無機リンからATPを合成するのに必須の酵素である。炎症部位で産生されるNOは、酸素分子と競合的にチトクロームオキシダーゼ

サブユニットIに結合することが知られている。本発明の自己免疫疾患の診断用試薬に含まれるチトクロームオキシダーゼサブユニットI遺伝子に対して特異的親和性を有する物質としては、例えば当該遺伝子に特異的親和性を有するプローブ、ならびにプライマー対が挙げられる。ここで遺伝子に特異的親和性を有するとは上述の通りであり、該プローブ、プライマー対は、上記IL-2制御型PP6の項で述べた様にして、当該遺伝子の塩基配列を元に適宜設定、修飾することができる。本発明の診断用試薬を用いてPCR等を行なう場合には、配列表配列番号11および配列表配列番号12に記載の両オリゴヌクレオチドをプライマー対として用いることができる。

【0023】本発明の自己免疫疾患の診断用試薬に含まれるチトクロームオキシダーゼサブユニットIに対して特異的親和性を有する物質としては、例えば当該蛋白質に特異的親和性を有する抗体またはその断片が挙げられる。ここで蛋白質に特異的親和性を有するとは上述の通りであり、当該抗体ならびにその機能的断片は上記IL-2制御型PP6の項で述べた方法と同様な方法により調製される。

【0024】(6)チトクロームb (Anderson, S., et al., Nature 290 (5806), 457-465 (1981) に記載される)

チトクロームとは電子伝達を行なう一群のヘム蛋白質をいい、チトクロームbはc<sub>1</sub>やa<sub>3</sub>等とともにミトコンドリア内膜に存在し、電子伝達系を構成する。本発明の自己免疫疾患の診断用試薬に含まれる、チトクロームb遺伝子に対して特異的親和性を有する物質としては、例えば当該遺伝子に特異的親和性を有するプローブ、ならびにプライマー対が挙げられる。ここで遺伝子に特異的親和性を有するとは上述の通りであり、該プローブ、プライマー対は、上記IL-2制御型PP6の項で述べた様にして、当該遺伝子の塩基配列を元に適宜設定、修飾することができる。本発明の診断用試薬を用いてPCR等を行なう場合には、配列表配列番号13および配列表配列番号14に記載の両オリゴヌクレオチドをプライマー対として用いることができる。

【0025】本発明の自己免疫疾患の診断用試薬に含まれるチトクロームbに対して特異的親和性を有する物質としては、例えば当該蛋白質に特異的親和性を有する抗体またはその断片が挙げられる。ここで蛋白質に特異的親和性を有するとは上述の通りであり、当該抗体ならびにその機能的断片は上記IL-2制御型PP6の項で述べた方法と同様な方法により調製される。

【0026】本発明の自己免疫疾患、特にクローン病の診断用試薬に含まれる各構成要素(上記(1)~(6))は1種類を単独で含めることもできるが、好ましくはよりクローン病に特異性の高い上記(1)~(4)、すなわちIL-2制御型PP6あるいは該遺伝子に対して特異的親和性

を有する物質、T N I Kあるいは該遺伝子に対して特異的親和性を有する物質、F L I Pあるいは該遺伝子に対して特異的親和性を有する物質、G R あるいは該遺伝子に対して特異的親和性を有する物質のいずれか1種あるいは全部を含むことが好ましい。所望により上記(5)~(6)、すなわちチトクロームオキシダーゼサブユニットIあるいは該遺伝子に対して特異的親和性を有する物質およびチトクロームbあるいは該遺伝子に対して特異的親和性を有する物質からなる群より選択される少なくとも1種を含んでいても良い。複数の物質を用いる場合には、それらを混合し、1つの試薬として用いても良く、また別々の試薬として用いても良い。複数の物質を混合して1つの試薬とした場合でも、目的蛋白質の分子量の違い、あるいは目的遺伝子の長さの違いに基づいて容易に個々の発現を識別することができる。特に診断の対象となる自己免疫疾患の遺伝子発現プロファイルに個体差がある場合や、迅速、且つ簡便に測定することが要求される場合には各物質を混合して1つの試薬として用いることが好ましい。また、詳細な今後の治療方針をも含めた診断が要求される場合には各構成要素を別個に含

む診断用試薬を用いることが好ましい。  
 【0027】本発明はまた、自己免疫疾患を発症しているかまたはそのおそれのある動物を同定するための分析方法を提供する。本明細書において「動物」とは、ヒトを含めた各種哺乳類ならびに鳥類を意味し、具体的には、ヒト、サル、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、マウス、ウサギ、ニワトリ等が例示される。本発明の分析方法は具体的には、上述の自己免疫疾患の診断用試薬を用いることで好適に実施することができる。具体的には、まず分析対象となる動物の生体試料を採取する。ここで、生体試料としては、上記一連の自己免疫疾患に特異的な遺伝子あるいは蛋白質に顕著な変化が観察されるものであれば特に限定されないが、具体的には、生体から採取される細胞、組織あるいは尿や血液等が用いられる。好適には当該生体試料は、上記一連の自己免疫疾患に特異的な遺伝子の顕著な発現増強が確認される、回腸部分ならびに結腸部分の組織であり、より好ましくは結腸部分の組織である。特にクローン病を発症しているかまたはそのおそれのある動物を同定する場合には、当該動物由来の腸組織、好ましくは回腸部分ならびに結腸部分、より好ましくは結腸部分の組織を用いる。次いで、該試料からmRNAあるいは蛋白質の抽出を行なう。mRNAを抽出した場合には、本発明のプローブを含む診断用試薬を用いてノザンプロット等、当分野で通常行なわれる手法を用いて、その発現状況を調べる。また、本発明のプライマー対を含む診断用試薬を用いてRT-PCR法等を実施することもできる。一方、蛋白質を抽出した場合には、本発明の抗体またはその断片を含む診断用試薬を用いてイムノプロット、ウェスタンプロット等、当分野で通常行なわれる手法を用いて、その発現状

況を調べる。

【0028】また、分析対象から採取した腸組織を用いて組織切片を作製し、本発明のプローブを含む診断用試薬や抗体を含む診断用試薬等を用いて組織染色を行なうことによっても、自己免疫疾患の病変部位の有無、あるいはその特定が可能である。

【0029】上述の如く調べた遺伝子あるいは蛋白質について、高い発現が観察された場合には、該動物は自己免疫疾患、とりわけクローン病を発症しているか、もしくはその可能性が極めて高いと判定する。より正確な判定を要する場合には、当該一連の自己免疫疾患に特徴的な遺伝子あるいは蛋白質の発現増強がみられないと予想される部位(例えば小腸)と対比することが望ましい。

【0030】本発明においては、上述の本発明の診断用試薬に加え、当該試薬を使用する各種分析方法に応じて必要な試薬等を併せて梱包し、キットとすることが好ましい。例えば、遺伝子レベルでの発現状況の分析が行なわれる場合には、界面活性剤、蛋白質分解酵素等の生体試料から遺伝子を単離する試薬、緩衝液等も併せてキットとすることができる。蛋白質レベルでの発現状況の分析が行なわれる場合には、例えば生体試料から蛋白質を抽出する試薬、緩衝液等、必要であれば二次抗体や発色試薬等も一緒にしてキット化できる。

【0031】本発明は、さらに、自己免疫疾患、特にクローン病に有用な薬剤のスクリーニング方法を提供する。当該スクリーニング方法の具体的な手法は上述の、自己免疫疾患を同定するための分析方法に準じて実施できる。当該スクリーニングには対象となる動物由来の組織が好適に使用される。本明細書において、「組織」とは、薬剤で処理することができ、且つその変化を観察することが可能な細胞の集団を意図し、ヒト以外の動物(マウス、ウサギ等)の個体レベルでの使用、あるいは各種初代培養あるいは樹立株等の細胞レベルでの使用も包含される。当該組織は、標的とする遺伝子が主として発現する部位に応じて適宜選択される。所定の動物由来の組織を採取あるいは準備し、スクリーニングを行なう所定の薬剤で処理後、当該組織におけるIL-2制御型PP6あるいは該遺伝子、T N I Kあるいは該遺伝子、F L I Pあるいは該遺伝子、G R あるいは該遺伝子、チトクロームオキシダーゼサブユニットIあるいは該遺伝子およびチトクロームbあるいは該遺伝子のいずれか少なくとも1種、あるいは全部の発現状況を調べる。蛋白質レベルでの発現状況、遺伝子レベルでの発現状況をパラレルに測定することも可能であり、それによって当該スクリーニングを実施した薬剤の作用機序を予測することもできる。当該スクリーニング方法に用いる為の、本発明の診断用試薬についても一連の操作に必要な試薬を併せて梱包しキットとすることができる。

【0032】本発明においては、上記スクリーニングにより、自己免疫疾患、特にクローン病の予防治療薬が得

られる。例えば、当該一連の遺伝子あるいは蛋白質の発現を抑制することが本発明のスクリーニング法によって確認された薬剤は、自己免疫疾患、特にクローン病の予防治療薬として有用である。

#### 【0033】

【実施例】以下、本発明を実施例にて具体的且つ詳細に説明するが、本発明はこれらに何ら限定されるものではない

実施例1：病変部位特異的に発現が増強される遺伝子の同定

##### 1. 実験材料・実験方法

クローン病下行結腸切除標本1例(社会保険中央総合病院(東京)における外科手術により切除されたもの)の病変部と非病変部をディファレンシャルディスプレイ法(Delta Differential Display Kit, Clontech, CA)により解析した。両部位での組織からの全RNAの抽出は、TRIZOL reagent (Life Technologies, MD)を用いて添付のマニュアルに従って行なった。1.5 μgのオリゴ(dT)<sub>15</sub>プライマー、1 mM dNTPミックスおよび300単位のMMLV逆転写酵素(Clontech, CA)を含む終容量15 μlの反応液中で42 1時間、続いて75 で10分間インキュベートして、3 μgの全RNAから第1 cDNA鎖を合成した。

【0034】ディファレンシャルディスプレイ法を実施するためにPCRを行なった。プライマーはアンカーオリゴ(dT)<sub>29</sub>-mer (Tプライマー)と、非特異的5'オリゴヌクレオチド25-mer (Pプライマー)(共にClontech)を用いた。10種のPプライマーと9種のTプライマーを適宜組み合わせ、異なる90通りの非特異なPCRプライマー対を用いてcDNAを増幅した。すなわち、0.01または0.0025 μgの全RNAから合成したcDNAを50 μM dNTPミックス(Clontech)、1 μMのPプライマー、1 μMのTプライマー、およびAdvantage KlenTaq Polymerase ミックス(50X)(Clontech)を含む終容量10 μlの反応液中、以下の反応条件でPCR増幅した(サーマルサイクラーMP, タカラ)。

【0035】(条件)最初の3サイクルは低ストリンジエンシー条件下で行なった;

94、5分 40、5分 68、5分(1サイクル)

94、30秒 40、30秒 68、5分(2サイクル)。

次いで得られた産物について、残りのサイクルを高ストリンジエンシー条件下で行なった;

94、20秒 60、30秒 68、1分(30サイクル)。

【0036】増幅したcDNAを6%変性スタンダードシーケンシングポリアクリルアミドゲル(Roche Molec

ular Biochemicals-Boehringer, Mannheim)を用いて断片サイズに応じて分離し、銀染色(Promega, WI)によって可視化した。

#### 【0037】2. 結果

銀染色により、非病変部位と病変部位とのパターンに明らかな違いが観察された。

【0038】3. 病変部位特異的に発現増強される遺伝子の同定

銀染色により観察された病変部位で強く検出されたバンドを切り出しDNAを抽出し、同じプライマーを用いて再び増幅した。切り出したバンドには同サイズの異なる複数の遺伝子断片が含まれているので、増幅した断片をSSCP法(Hatta, Y, et al., Immunogenetics 49:280-286 (1999))により選別した。再増幅したPCR産物をPCR-TOPOベクター(TOPO TA cloning kit, Invitrogen, Netherlands)にクローニングし、dye-terminator法(ABI PRISM™ dRhodamine Terminator Cycle Sequencing-Ready Reaction Kit)に準じ、マニュアルに従ってfluorescence-based automated cycle sequencing(ABI310, Applied Biosystems, Foster city, CA)に付し、シーケンシングを行なった。得られたデータをもとにEMBL/GenBankデータベース、NCBI BLASTプログラム(National Library of Medicine, Bethesda, MD)を用いてホモロジー検索を行なった。結果、クローン病腸組織において新たにIL-2制御型PP6 mRNA、TN1K mRNA、FLIP mRNA、GR mRNA、チトクロームオキシダーゼサブユニットI mRNA、およびチトクロームb mRNAの発現の増強が確認された。

#### 【0039】実施例2：半定量的RT-PCR

##### 1. 実験材料・実験方法

クローン病下行結腸切除標本6例(社会保険中央総合病院(東京)における外科手術により切除されたもの)の病変部と非病変部から、TRIZOL reagent (Life Technologies, MD)を用い、添付のマニュアルに従って全RNAを抽出した。1.5 μgのオリゴ(dT)<sub>15</sub>プライマー、1 mM dNTPミックスおよび300単位のMMLV逆転写酵素(Clontech, CA)を含む終容量15 μlの反応液中で42 1時間、続いて75 で10分間インキュベートを行なって、3 μgの全RNAから第1 cDNA鎖を合成した。得られた第1 cDNA鎖を鋳型にして半定量的RT-PCRを行なった。対照としてはGAPDH mRNAを用いた。表1に示す各プライマー対、GeneAmp reagents およびAmpliTaq Gold DNA polymerase (Perkin-Elmer, Norwalk, CT)を用いてPCR増幅を行なった(サーマルサイクラーMP, タカラ)。

#### 【0040】

##### 【表1】

	染色体位置	PCR 産物の サイズ	プライマー (センス)	プライマー (アンチセンス)	アニーリング温度
IL-2制御型 PP6	未同定	413	ACCCATTTTTCTGCCCTCTT (配列表配列番号1)	TCGTGCCCACTGAATAACAA (配列表配列番号2)	50°C
TNIK	未同定	184	TGGTTCACACACTGGTTTCC (配列表配列番号3)	CCGGCCATAGGTGTTTACAT (配列表配列番号4)	50°C
FLIPL	2q33-34	204	CTCCAAGCAGCAATCCAAA (配列表配列番号5)	GATTCCTAGGGGCTTGCTCT (配列表配列番号6)	50°C
FLIPs	2q33-34	203	TGCCTAAGAACATCCACAGAA (配列表配列番号7)	CACATGGAACAATTTCCAAGAA (配列表配列番号8)	50°C
GR $\alpha$	5q31	477	CCTAAGGACGGTCTCAAGAGC (配列表配列番号9)	GCCAAGTCTTGGCCCTCTAT (配列表配列番号10)	57°C
チトクロームb サブユニットI	ミトコンドリア	201	AGGCACTCTCCCCTGAACT (配列表配列番号11)	GGGGAATGCTGGAGATTGTA (配列表配列番号12)	50°C
チトクロームb	ミトコンドリア	195	CACATCAAGCCCGAATGATA (配列表配列番号13)	GTCTGCGGCTAGGAGTCAAT (配列表配列番号14)	50°C

## 【0041】PCR条件

94、10分間

94、30秒 アニーリング(30秒、温度は表1参照) 72、30分

(30サイクル)

72、10分間

【0042】得られたPCR産物をポリアクリルアミドゲル上で電気泳動を行ない分離し、SYBR Gold (Eugene OR)で染色した。走査型デンストメーター (Molecular imager FX, BIO-RAD, Hercules, CA)を用いてPCR産物を定量した。

【0043】クローン病下行結腸切除標本6例 (No. 1~No. 6)の病変部と非病変部における各遺伝子の発現状況を調べた。結果をmRNA比として表2に示す。

## 【0044】

## 【表2】

	標本1		標本2		標本3		標本4		標本5		標本6	
	炎症部 (C)	非炎症部 (C)	炎症部 (I)	非炎症部 (I)	炎症部 (C)	非炎症部 (C)	炎症部 (I)	非炎症部 (I)	炎症部 (T I)	非炎症部 (T I)	炎症部 (C)	非炎症部 (C)
GR $\alpha$	4/1	4/1	1.5/1	4/1	4/1	4/1	1/1	1/1	4/1	4/1	4/1	4/1
チトクロームb	2/1	2/1	1/1	8/1	8/1	8/1	1/1	1/1	2/1	2/1	6/1	6/1
チトクロームb遺伝子-セチン遺伝子	1.7/1	1.7/1	1/1	8/1	8/1	8/1	1/1.5	1/1.5	2/1	2/1	8/1	8/1
IL-2制御型PP6	3/1	3/1	2.7/1	8/1	8/1	8/1	2.7/1	2.7/1	1.7/1	1.7/1	3/1	3/1
FLIP <sub>s</sub>	12/1	12/1	1/1	8/1	8/1	8/1	1/1	1/1	3/1	3/1	2/1	2/1
FLIP <sub>L</sub>	10/1	10/1	2/1	8/1	8/1	8/1	1/1	1/1	3/1	3/1	16/1	16/1
TNIK	4/1	4/1	1/1	5/1	5/1	5/1	1/1	1/1	2/1	2/1	13/1	13/1

C: 結腸部、I: 回腸部、T I: 回腸末端部

【0045】病変部でのIL-2制御型PP6遺伝子、TNIK遺伝子、FLIP遺伝子、GR 遺伝子、チトクロームオキシダーゼサブユニットI 遺伝子、およびチトクロームb遺伝子の発現の増強が確認された。さらに結腸部で特にその差が顕著であった。

【0046】実施例3: 免疫組織染色  
1. 実験材料・方法

クローン病下行結腸切除標本1例(社会保険中央総合病院(東京)における外科手術により切除されたもの)の病変部と非病変部の組織を50%OC T(Tissue-Tek, Sakura Finetech, Torrance, CA)/PBS中につけ、液体窒素で瞬時に凍結させ、使用時まで-70 で保存した。該凍結試料から連続切片(厚さ: 5  $\mu$ m)を作製し、スライドガラス上で風乾し、アセトン中で20分間固定した。該切片を5%過酸化水素含有PBSでプレイ

10 【0047】2. 結果  
病変部位でFLIP<sub>L</sub>の発現が増強されていることが確認された。

【0048】  
【発明の効果】本発明の自己免疫疾患の診断用試薬は、特にクローン病の診断に有用であり、病変部位に特異的に発現増強される遺伝子に注目してその挙動を調べることにより、より簡便にまた、迅速に当該疾患の診断が可能となる。さらに疾患に係わる注目すべき遺伝子を見出したことにより自己免疫疾患、特にクローン病に有用な薬剤のスクリーニングにも利用できる。

【0049】  
【配列表フリーテキスト】配列番号1: IL-2制御型PP6 mRNAのRT-PCR用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。  
配列番号2: IL-2制御型PP6 mRNAのRT-PCR用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号3: TNIK mRNAのRT-PCR用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号4: TNIK mRNAのRT-PCR用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号5: FLIP<sub>L</sub> mRNAのRT-PCR用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号6: FLIP<sub>L</sub> mRNAのRT-PCR用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号7: FLIP<sub>s</sub> mRNAのRT-PCR用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号8: FLIP<sub>s</sub> mRNAのRT-PCR用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号9: GR mRNAのRT-PCR用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号10: GR mRNAのRT-PCR用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号11：チトクロームオキシダーゼサブユニット I mRNAのRT-PCR用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号12：チトクロームオキシダーゼサブユニット I mRNAのRT-PCR用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号13：チトクロームb mRNAのRT-PCR

R用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号14：チトクロームb mRNAのRT-PCR用プライマーとして作用すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

【0050】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Welfide Corporation  
 <120> Reagent for Diagnosis of Autoimmune Diseases  
 <130> A-4291  
 <140> JP  
 <141> 2000-05-31  
 <160> 14  
 <170> PatentIn Ver. 2.0  
 <210> 1  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Oligonucleotide designed to act as primer for RT-PCR of PP6 regulated by IL-2 mRNA.  
 <400> 1  
 acccattttt ctgccctctt 20  
 <210> 2  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Oligonucleotide designed to act as primer for RT-PCR of PP6 regulated by IL-2 mRNA.  
 <400> 2  
 tcgtgcccac tgaataacaa 20  
 <210> 3  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Oligonucleotide designed to act as primer for RT-PCR of TNF mRNA.  
 <400> 3  
 tggttcacac actggtttcc 20  
 <210> 4  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<210> 5  
 <211> 19  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Oligonucleotide designed  
 to act as primer for RT-PCR of FLIP<sub>L</sub> mRNA  
 NA  
 .  
 <400> 5  
 ctccaagcag caatccaaa 19  
 <210> 6  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Oligonucleotide designed  
 to act as primer for RT-PCR of FLIP<sub>L</sub> mRNA  
 NA  
 .  
 <400> 6  
 gattcctagg ggcttgctct 20  
 <210> 7  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Oligonucleotide designed to  
 act as primer for RT-PCR of FLIP<sub>S</sub> mRNA  
 A.  
 <400> 7  
 tgctaaaga acatccacag aa 22  
 <210> 8  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Oligonucleotide designed  
 to act as primer for RT-PCR of FLIP<sub>S</sub> mRNA  
 NA  
 .  
 <400> 8  
 cacatggaac aattccaag aa 22  
 <210> 9  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Oligonucleotide designed  
 to act as primer for RT-PCR of GR mRNA  
 .  
 <400> 9

<400> 10  
 gcccaagtctt ggccctctat 20  
 <210> 11  
 <211> 19  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Oligonucleotide designed  
 to act as primer for RT-PCR of cytochr  
 ome  
 oxidase subunit I mRNA.

<400> 11  
 acgcactctc ccctgaact 19

<210> 12  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Oligonucleotide designed  
 to act as primer for RT-PCR of cytochr  
 ome  
 oxidase subunit I mRNA.

<400> 12  
 ggggaatgct ggagattgta 20  
 <210> 13  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Oligonucleotide designed  
 to act as primer for RT-PCR of cytochr  
 ome  
 b mRNA.

<400> 13  
 cacatcaagc ccgaatgata 20

<210> 14  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 20  
 <220>  
 <223> Oligonucleotide designed  
 to act as primer for RT-PCR of cytochr

フロントページの続き

b mRNA.

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

<400> 14 識別記号

F I

テ-マコード (参考)

A 6 1 P	43/00gtctgcggct	aggagtcaat	20	C 1 2 Q	1/26
---------	-----------------	------------	----	---------	------

C 1 2 Q	1/26				1/42
---------	------	--	--	--	------

	1/42				1/48
--	------	--	--	--	------

Z

1/48  
 1/68  
 G 0 1 N 33/15  
 33/50  
 33/53  
 33/566

1/68  
 G 0 1 N 33/15  
 33/50  
 33/53  
 33/566  
 C 1 2 N 15/00  
 A  
 Z  
 Z  
 M  
 Z N A A

F ターム(参考) 2G045 AA35 BB20 BB46 BB51 DA13  
 FA11 FB02 FB03 GC12  
 4B024 AA01 AA11 CA01 CA04 CA09  
 CA11 CA20 EA04  
 4B063 QA01 QA19 QQ08 QQ21 QQ41  
 QQ43 QQ53 QQ61 QQ89 QR08  
 QR32 QR35 QR40 QR42 QR56  
 QR62 QR66 QR77 QS16 QS25  
 QS33 QS34 QX02  
 4C084 AA17 NA14 ZA682 ZB072  
 ZB132 ZB212 ZC202

专利名称(译)	自身免疫性疾病的诊断试剂		
公开(公告)号	<a href="#">JP2001340082A</a>	公开(公告)日	2001-12-11
申请号	JP2000162858	申请日	2000-05-31
[标]申请(专利权)人(译)	Welfide		
申请(专利权)人(译)	ウェルファイド株式会社		
[标]发明人	德永勝士 土屋尚之		
发明人	德永 勝士 土屋 尚之		
IPC分类号	G01N33/50 A61K45/00 A61P1/04 A61P37/00 A61P43/00 C12N15/09 C12Q1/26 C12Q1/37 C12Q1/42 C12Q1/48 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61P1/04 A61P37/00 A61P43/00 C12Q1/26 C12Q1/37 C12Q1/42 C12Q1/485 C12Q1/6883 C12Q2600/158		
FI分类号	A61K45/00 A61P1/04 A61P37/00 A61P43/00.105 A61P43/00.111 C12Q1/26 C12Q1/42 C12Q1/48.Z C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00.ZNA.A C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12Q1/6883.C C12Q1/6883.Z		
F-TERM分类号	2G045/AA35 2G045/BB20 2G045/BB46 2G045/BB51 2G045/DA13 2G045/FA11 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/GC12 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/CA01 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/CA20 4B024/EA04 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QQ21 4B063/QQ41 4B063/QQ43 4B063/QQ53 4B063/QQ61 4B063/QQ89 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR40 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QR66 4B063/QR77 4B063/QS16 4B063/QS25 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZA682 4C084/ZB072 4C084/ZB132 4C084/ZB212 4C084/ZC202		
代理人(译)	高岛肇		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

SOLUTION : 对IL-2调节的PP6 (或基因) 具有特定亲和力的物质, 对TNIK (或基因) 具有特定亲和力的物质, 对FLIP (或基因) 具有特异性的物质 对在病变部位表达特别增强的蛋白质 (或基因) 具有特定的亲和力, 该蛋白质 (或基因) 由具有特定亲和力的物质, 对GRα (或基因) 具有特定亲和力的物质等组成。 诊断自身免疫性疾病, 尤其是克罗恩氏病的诊断剂, 包含至少一种物质。 [效果]通过研究在病变部位表达特别增强的基因的行为并检查其行为, 可以更简单, 快速地诊断出该疾病。 此外, 通过关注与疾病有关的基因, 它可以用于筛选自身免疫性疾病, 特别是克罗恩氏病的预防和治疗剂。

	特1	特2	特3	特4	特5	特6
GRα	特1	特2	特3	特4	特5	特6
IL-2	特1	特2	特3	特4	特5	特6
PP6	特1	特2	特3	特4	特5	特6
FLIP	特1	特2	特3	特4	特5	特6
TNIK	特1	特2	特3	特4	特5	特6