

(19) 日本国特許庁(JP)

**再公表特許(A1)**

(11) 国際公開番号

**WO2006/062127**

発行日 平成20年6月12日 (2008.6.12)

(43) 国際公開日 **平成18年6月15日(2006.6.15)**

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/53 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 Z N A P	4 B O 2 4
<b>GO 1 N 33/543 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/543 5 9 5	4 B O 6 3
<b>C 1 2 Q 1/02 (2006.01)</b>	C 1 2 Q 1/02	
<b>C 1 2 Q 1/68 (2006.01)</b>	C 1 2 Q 1/68 A	
<b>C 1 2 N 15/09 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/00 A	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 39 頁)

出願番号 特願2006-546732 (P2006-546732)	(71) 出願人 390014960
(21) 国際出願番号 PCT/JP2005/022453	シスメックス株式会社
(22) 国際出願日 平成17年12月7日 (2005.12.7)	兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号
(31) 優先権主張番号 特願2004-357503 (P2004-357503)	(74) 代理人 100109793
(32) 優先日 平成16年12月10日 (2004.12.10)	弁理士 神谷 恵理子
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	(72) 発明者 北島 勲
	富山県富山市五福末広町2556-4 医薬大五福宿舍3-102
	(72) 発明者 山根 弘
	兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号シスメックス株式会社内
	(72) 発明者 吉田 智一
	兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号シスメックス株式会社内
	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置及び診断支援情報出力プログラム

(57) 【要約】

【課題】 S I R S等の急激に症状が変化し得る免疫システム異常疾患を適切に治療すべく、診断のための試料採取から、治療方法の決定、処置に至るまでの時間差を加味した上で、適切な治療方法を示唆できる免疫システム異常疾患の診断支援方法及び診断支援情報出力装置を提供する。生物学的試料における炎症性サイトカイン又は抗炎症性サイトカインに特異的な活性型転写制御因子を測定することにより、将来の炎症の進行状態に関する診断支援情報を出力する。

【選択図】 図8

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を測定する工程；及び

測定された活性型転写制御因子の存在量に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力する工程

を備えた免疫システム異常疾患の診断支援方法。

## 【請求項 2】

前記炎症の進行状態に関する情報が、炎症性反応が亢進するか否かの情報、および抗炎症性反応が亢進するか否かの情報からなる群から選択される情報を含む請求項 1 に記載の診断支援方法。 10

## 【請求項 3】

前記炎症の進行状態に関する情報が、炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報、および抗炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報、からなる群から選択されるサイトカイン発現情報を含む請求項 1 に記載の診断支援方法。

## 【請求項 4】

前記診断支援情報は、治療方法の情報を含む請求項 1 に記載の診断支援方法。

## 【請求項 5】

前記治療方法は、抗炎症剤の投与、血漿交換、および顆粒球コロニー刺激因子の投与からなる群より選択される請求項 4 に記載の診断支援方法。 20

## 【請求項 6】

前記試料は、患者から採取した細胞の核抽出物である請求項 1 に記載の診断支援方法。

## 【請求項 7】

前記測定工程は、測定開始から測定結果が得られるまでの時間が 30 分以下である測定方法により実施される請求項 1 に記載の診断支援方法。

## 【請求項 8】

前記測定方法は、表面プラズモン共鳴法、水晶振動子マイクロバランス法、及び 1 分子蛍光相関法からなる群より選択される 1 種である請求項 7 に記載の診断支援方法。

## 【請求項 9】

前記測定工程は、2 種以上の活性型転写制御因子を測定する請求項 1 に記載の診断支援方法。 30

## 【請求項 10】

前記免疫システム異常疾患は、全身性炎症反応症候群（SIRS）である請求項 1 に記載の診断支援方法。

## 【請求項 11】

患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を測定して得られた転写制御因子情報を取得する情報取得手段；及び

取得した転写制御因子情報に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力する診断支援情報出力手段 40

を備えた免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置。

## 【請求項 12】

前記炎症の進行状態に関する情報が、炎症性反応が亢進するか否かの情報、および抗炎症性反応が亢進するか否かの情報からなる群から選択される情報を含む請求項 11 に記載の診断支援情報出力装置。

## 【請求項 13】

前記炎症の進行状態に関する情報が、炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報、および抗炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報からなる群から選択されるサイトカイン発現情報を含む請求項 11 に記載の診断支援情報出力装置。 50

## 【請求項 1 4】

前記診断支援情報は、治療方法の情報を含む請求項 1 1 に記載の診断支援情報出力装置。

## 【請求項 1 5】

前記治療方法は、抗炎症剤の投与、血漿交換、および顆粒球コロニー刺激因子の投与からなる群より選択される請求項 1 4 に記載の診断支援情報出力装置。

## 【請求項 1 6】

診断支援情報出力手段が、炎症性サイトカインに特異的な転写制御因子の情報を記憶する記憶手段；及び情報取得手段により取得された転写制御因子情報と前記記憶手段に記憶された情報とに基づいて炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かを予測する予測手段を備え、

10

予測手段の予測結果に基づいて診断支援情報を出力する請求項 1 1 に記載の診断支援情報出力装置。

## 【請求項 1 7】

前記記憶手段は、さらに抗炎症性サイトカインに特異的な転写制御因子の情報を記憶する手段である請求項 1 6 に記載の診断支援情報出力装置。

## 【請求項 1 8】

診断支援情報出力手段が、炎症性反応が亢進するか否かの情報を記憶する記憶手段；及び情報取得手段により取得された転写制御因子情報と前記記憶手段に記憶された情報に基づいて炎症性反応が亢進するか否かを予測する予測手段を備え、

予測手段の予測結果に基づいて診断支援情報を出力する請求項 1 1 に記載の診断支援情報出力装置。

20

## 【請求項 1 9】

前記記憶手段は、さらに、抗炎症性反応が亢進するか否かの情報を記憶する手段である請求項 1 8 に記載の診断支援情報出力装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0 0 0 1】

本発明は、敗血症などの全身性炎症反応症候群 (Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS))、抗炎症反応症候群 (Compensatory Anti-inflammatory response syndrome (CARS)) 等の免疫システム異常疾患の診断支援方法及び診断支援情報出力装置に関し、原因となるサイトカインの発現を転写段階で予測することにより数時間後に現れるであろう症状に関する診断支援情報を出力する診断支援方法及び診断支援情報出力装置に関する。

30

## 【背景技術】

## 【0 0 0 2】

主に感染症が進展して全身所見を呈した状態をいう敗血症は、初期には高熱、過呼吸がみられ、皮膚は温かく、血圧はやや低下し、頻脈を呈する高心拍出量状態で、心拍出量は増加し、末梢血管抵抗は低下している。この時期に適切な治療が行なわれないと、呼吸障害や腎、肝、血液などの障害が進行してくる。治療は、感染源の除去、抗生物質の投与、肺腎、肝の管理、DICのコントロールなど多岐にわたるが、適切な治療が行なわれないと、種々の臓器障害 (多臓器不全) が進展し、死亡することになる。集中治療管理が進歩したにもかかわらず、このような重症敗血症患者の死亡率は30～50%と高い。

40

## 【0 0 0 3】

敗血症を含む全身性炎症反応症候群 (SIRS) では、病態重篤性の診断や病態変化に応じた適切な検査、治療が確立されていないことから、救命率の低さや集中治療室占拠率の高さ (70%) の原因となっていることが報告されている。

## 【0 0 0 4】

SIRSは、1992年にBernardらによって提唱され、病態を反映する4項目

50

、体温、心拍数、呼吸数、末梢血白血球数のうち、2項目以上に異常のある状態とされる。SIRSは、侵襲の種類（手術、重傷外傷、熱傷、感染等）にかかわらず、種々の内因性メディエータにより惹起される非特異的全身炎症性反応であり、敗血症（sepsis）の他、非感染性、非特異的全身性炎症反応という病態も有する。

【0005】

このようなSIRSの治療は、現在のところ、症状から判断して経験に基づく治療、処置が行なわれている。具体的にはステロイドの大量投与、抗炎症剤の大量投与といった治療がなされる。しかしながら、高熱、過呼吸といったSIRSの症状は、炎症性サイトカインによる炎症性反応が亢進されている状態（免疫過剰亢進状態）だけからではなく、抗炎症性サイトカインによる抗炎症性反応亢進状態（免疫抑制状態）でも似た症状を示すことから、症状把握を間違えると、全く逆の治療をしてしまうことになる。例えば、ステロイドの長期使用や免疫抑制剤使用により免疫能が低下した状態では、臓器障害が進展し、死亡に至ることもある。

10

【0006】

1996年にBoneらによって行なわれた敗血症患者に対する炎症性サイトカイン抑制療法の臨床試験がすべて失敗に終わった理由は、生体内では、炎症反応－抗炎症反応の両者がバランスをとったため、免疫抑制の長期処方が危険ではないかと提唱している。

【0007】

免疫システム異常による疾患の多くは、血液中の好中球、リンパ球、マクロファージといった担当細胞から分泌される生理活性物質、サイトカインによって、その病態が複雑に変化し、また病態が急激に変化することが知られている。このため、適切な薬物選択や投薬タイミング等の治療スケジュールが非常に複雑かつ困難である。急激な病態変化に対応するため、集中治療室で監視したりしているが、これが集中治療室の占拠率の高い原因となっているばかりか、それでも治療が手遅れになることがある。

20

【0008】

このようなことから、特許文献1では、全身性炎症状態の危険にある患者の同定及び監視方法として、患者から選択された生理的パラメータを測定し、患者の全身性仲介因子－関連反応試験プロフィールを得て、対照プロフィールと比較する方法を提案している。ここで生理的パラメータとしては、物理的検査、生命に関する徴候、血液動力学的測定値、臨床検査室試験、急性炎症反応仲介因子濃度、血小板と顆粒球との凝集測定及び内毒素レベルが挙げられている。具体的には、ロイコトリエン、プロスタグランジン、サイトカイン、血小板活性化因子、好中球エラストラーゼをELISAで測定したり、補体成分C3 $\alpha$ をラジオイムノアッセイで測定したり、血漿内毒素レベルを測定したり、顆粒球凝集の測定などが挙げられている。

30

【0009】

しかしながら、いずれの生理的パラメータも、患者から採取した血液などの試料に含まれる蛋白質や増殖因子を測定したものであり、測定対象となる蛋白質は細胞からの分泌物で、採取時点の細胞の状態を表していたとしても、その後、採取時点における状態が維持されているとは限らない。つまり、免疫システム疾患の治療方法の確立が困難な原因として、病態の急激な変化、すなわち症状の原因となるサイトカインが時々刻々と変化していくことがある。このため、例えば、採取した試料中のサイトカインの発現を測定し、サイトカインの有意な発現が認められた場合であっても、試料を採取してから測定結果が得られるまでの間にサイトカインの発現の状態が変化することから、測定されたサイトカインを抑制する治療が必ずしも適切とは限らない。

40

【0010】

【特許文献1】特表平10-500210

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

本発明は、以上のような事情に鑑みてなされたものであり、その目的は、急激に症状が

50

変化し得る免疫システム異常疾患の治療に際して、適切な診断支援情報を示唆することができる免疫システム異常疾患の診断支援方法を提供することにある。また、本発明の他の目的は、適切な診断支援情報を出力することができる診断支援情報出力装置を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0012】

本発明の免疫システム異常疾患の診断支援方法は、患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を測定する工程；及び

測定された活性型転写制御因子の存在量に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力する工程を備えている。 10

【0013】

前記炎症の進行状態に関する情報が、炎症性反応が亢進するか否かの情報、および抗炎症性反応が亢進するか否かの情報からなる群から選択される情報を含むものであってもよいし、あるいは炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報、および抗炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報からなる群から選択されるサイトカイン発現情報を含むものであってもよい。

【0014】

前記診断支援情報は、さらに、治療方法の情報を含んでもよい。前記治療方法は、抗炎症剤の投与、血漿交換および顆粒球コロニー刺激因子の投与からなる群より選択されることが好ましい。 20

【0015】

前記生物学的試料は、患者から採取した細胞の核抽出物であることが好ましい。

【0016】

前記測定工程は、測定開始から測定結果が得られるまでの時間が1時間以内、好ましくは30分以下である測定方法により実施されることが好ましく、表面プラズモン共鳴法、水晶振動子マイクロバランス法、及び1分子蛍光相関法からなる群より選択される1種により実施されることが好ましい。

【0017】

前記測定工程は、2種以上の活性型転写制御因子を測定してもよい。 30

【0018】

前記免疫システム異常疾患としては、全身性炎症反応症候群（SIRS）が好適である。

【0019】

本発明の免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置は、患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を測定して得られた転写制御因子情報を取得する情報取得手段；及び

取得した転写制御因子情報に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力する診断支援情報出力手段を備えている。 40

【0020】

前記炎症の進行状態に関する情報が、炎症性反応が亢進するか否かの情報および抗炎症性反応が亢進するか否かの情報からなる群から選択される情報を含むものであってもよいし、あるいは炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報および抗炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報からなる群から選択されるサイトカイン発現情報を含むものであってもよい。

【0021】

前記診断支援情報は、治療方法の情報を含むことが好ましく、前記治療方法は、抗炎症剤の投与、血漿交換および顆粒球コロニー刺激因子の投与からなる群より選択されることが好ましい。 50

## 【0022】

診断支援情報出力手段が、炎症性サイトカインに特異的な転写制御因子の情報を記憶する記憶手段と、情報取得手段により取得された転写制御因子情報と前記記憶手段に記憶された情報に基づいて、炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かを予測する予測手段とを備え、予測手段の予測結果に基づいて診断支援情報を出力することが好ましい。前記記憶手段は、さらに抗炎症性サイトカインに特異的な転写制御因子の情報を記憶する手段であってもよい。

## 【0023】

あるいは診断支援情報出力手段が、炎症性反応が亢進するか否かの情報を記憶する記憶手段と、情報取得手段により取得された転写制御因子情報と前記記憶手段に記憶された情報に基づいて、炎症性反応が亢進するか否かを予測する予測手段とを備え、予測手段の予測結果に基づいて診断支援情報を出力するものであってもよく、前記記憶手段は、さらに、抗炎症性反応が亢進するか否かの情報を記憶する手段であってもよい。

## 【0024】

本明細書にいう「活性型転写制御因子」とは、細胞質内に複合体として存在している状態の転写制御因子とは区別して用いられ用語で、サイトカインの発現にあたり関係する遺伝子を転写するために複合体から離脱して核内に移行した転写制御因子をいう。

## 【発明の効果】

## 【0025】

本発明の免疫システム異常疾患の診断支援方法によれば、症状が現れる原因となるサイトカインが発現する前の転写段階を制御している活性型転写制御因子に基づいて、サイトカインが分泌されるまでに起こりえる将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力することが可能である。

本発明の診断支援情報出力装置は、症状が経時的に変化していくような免疫システムの異常疾患の患者から採取した試料に基づいて、数時間後におこる炎症の状態に関する診断支援情報を出力するので、好適な治療を施すことができ、また重篤な症状が現れる前に予防措置を採ることができる。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0026】

【図1】 転写制御因子の結合部位を示すDNA配列の例である。

【図2】 サイトカインに関与する転写制御因子の関係を示す模式図である。

【図3】 表面プラズモン共鳴法（SPR）の測定原理を説明するための図である。

【図4】 水晶振動子マイクロバランス法（QCM）の測定原理を説明するための図である。

。

【図5】 1分子蛍光相関法（FCS）の測定原理を説明するための図である。

【図6】 SIR S状態からCAR S状態への変化例を説明するための図である。

【図7】 本発明の診断支援情報出力装置の実施形態に係る免疫システム異常疾患の診断支援システムのハードウェアの構成を示すブロック図である。

【図8】 診断支援情報出力処理の一実施形態のフローチャートを示す図である。

【図9】 HeLa細胞にリポポリサッカライドを与えなかったときの免疫染色結果を示す顕微鏡写真（400倍）である。

【図10】 HeLa細胞にリポポリサッカライドを与えたときの免疫染色結果を示す顕微鏡写真（400倍）である。

【図11】 ゲルシフトアッセイの結果を示す写真である。

【図12】 実施例で使用したヌクレオチドプローブの配列である。

【図13】 HeLa細胞のプローブへの結合の有無の測定結果を示すグラフである。

【図14】 健常人リンパ球で調べたプローブへの結合の有無を調べたゲルシフトアッセイの結果を示す写真である。

【図15】 NF $\kappa$ Bの濃度とNF $\kappa$ B-プローブ複合体量の関係を示すSPR測定結果のグラフである。

【図16】NF $\kappa$ Bの濃度とNF $\kappa$ B-プローブ複合体量の関係を示すFC S測定結果のグラフである。

【図17】NF $\kappa$ Bの濃度とNF $\kappa$ B-プローブ複合体量の関係を示すQCM測定結果のグラフである。

【図18】SP-1の濃度とSP-1プローブ複合体量の関係を示すSPR測定結果のグラフである。

【図19】AP-1の濃度とAP-1プローブ複合体量の関係を示すSPR測定結果のグラフである。

【図20】IL6及びG-CSFのmRNAの発現解析結果（電気泳動）の写真である。

【図21】NF $\kappa$ Bのゲルシフトアッセイの結果を示す写真である。

10

【発明を実施するための最良の形態】

【0027】

〔免疫システム異常疾患の診断支援方法〕

本発明の免疫システム異常疾患の診断支援方法は、患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を測定する工程；及び測定された活性型転写制御因子の存在量に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力する工程を備えている。

【0028】

本発明の診断支援方法が対象とする免疫システム異常疾患としては、敗血症などの全身性炎症反応症候群（Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)）、抗炎症反応症候群（Compensatory Anti-inflammatory response syndrome (CARS)）等が挙げられ、本発明の診断支援方法は、特にSIRSの診断支援に適している。

20

【0029】

前記生物学的試料は、患者から採取された細胞を含む試料で、患者の血液、尿、細気管支肺胞洗浄、唾液、痰、脳髄液、関節液、浸潤液などが挙げられる。測定に供される試料としては、これらから採取した細胞の核抽出物であることが好ましい。測定対象である活性型転写制御因子は、これから発現しようとするサイトカインの転写に参与する転写制御因子で、核内に存在しているからである。尚、転写制御因子は、通常、細胞質内で複合体として存在するため、抗体等を用いた生体分子間相互作用に基づく測定方法で、転写制御因子の存在量を測定することは困難であるが、活性型転写制御因子は、所定の刺激によって複合体から離脱しているため、活性型でない転写制御因子と区別して、抗体等を用いた生体分子間相互作用に基づく測定方法でその存在量を測定することが可能である。

30

【0030】

患者から採取した試料から核内抽出物を含む試料の調製方法は特に限定しないが、例えば、細胞を低張液で処理して膨張させ、ホモジナイザー又はシリンジを用いて、細胞膜を破壊し、遠心により核ペレットを単離し、これを高張液又は界面活性剤で処理することにより、核蛋白質を抽出し、遠心した後、上清を回収するといった方法が挙げられる。この上清には、核から抽出されたタンパク質が含有されている。

40

【0031】

測定される活性型転写制御因子は、ターゲットとする炎症性サイトカイン又は抗炎症性サイトカインをコードする遺伝子の発現を上昇させる働きをもつエンハンサー配列に特異的に結合して転写活性を調節する因子で、ターゲットとする炎症性サイトカイン又は抗炎症性サイトカインの種類に応じて、適宜選択される。転写制御因子は、DNA結合部位（DBD）と転写活性化部位（TAD）を有し、特有の配列を認識して結合する。エンハンサーに結合した転写制御因子がメディアータを介してプロモータ上の転写開始複合体を促進、あるいはその安定化を行なっている。

【0032】

炎症性サイトカインとしては、例えばTumor Necrosis因子（TNF $\alpha$ ）

50

)、インターロイキン1、インターロイキン2、インターロイキン6、インターロイキン12、インターロイキン18、Platelet Activating因子(PAF)、G-CSF、GM-CSF、インターフェロン $\gamma$ が挙げられる。

#### 【0033】

抗炎症性サイトカインとしては、例えば、インターロイキン4、インターロイキン10、インターロイキン13、インターロイキン1レセプター、可溶性TNFレセプター、TGF $\beta$ が挙げられる。

#### 【0034】

これらのサイトカインの発現は、転写段階において、それぞれDNA特定位置(DNA特定配列)で制御されている。サイトカインの発現を調節する転写調節領域、特にエンハンサーに活性型転写制御因子が結合し、プロモータにRNAポリメラーゼが結合して、転写が活性化されて、転写が開始する。そして、生成されたmRNAが翻訳されて、コードされていたサイトカインを発現する。

#### 【0035】

サイトカイン発現に関与する転写制御因子は20種類程度であり、それぞれの転写制御因子は、結合するDNA配列が決まっている。例えば、図1に示すような配列に特異的に結合する。図中、四角で囲んだ部分が結合領域である。

#### 【0036】

サイトカインの転写を調節する転写制御因子は、発現するサイトカインの種類により異なる。また転写制御因子は、通常、2種類以上の転写制御因子と共同して1種類のサイトカイン発現を調節している。例えば、図2に示すように、インターロイキン8(IL8)では、AP-1、C/EBP、NF $\kappa$ Bといった転写制御因子が関与している。インターロイキン6(IL6)では、AP-1、CREB、C/EBP、NF $\kappa$ Bが関与している。インターロイキン2(IL2)では、NFAT、AP-1が関与し、TNF $\alpha$ では、NF $\kappa$ B、ERG1、CRE、AP-1、SP1、AP-2が関与している。尚、TNF $\alpha$ では、転写調節領域中にNF $\kappa$ Bの結合部位が複数あり、結合部位が1つの場合のサイトカイン(例えばIL8、IL6)よりもNF $\kappa$ Bの核内移行量が多くなると考えられる。また、インターロイキン4では、AP-1、C/EBPが関与している。インターロイキン10では、CRE1、CRE3、CRE4、TATA、C/EBP1、C/EBP3、C/EBP5が関与している。

#### 【0037】

測定する活性型転写制御因子は、炎症性サイトカイン又は抗炎症性サイトカインの発現量を予測することができるものであればよく、炎症性サイトカインに共通な転写制御因子で抗炎症性サイトカインの発現に関与していない転写制御因子を1種類だけ測定してもよいし(炎症性サイトカインの発現を予測する場合)、抗炎症性サイトカインに共通な活性型転写制御因子で炎症性サイトカインの発現に関与していない転写制御因子を1種類だけ測定してもよいし(抗炎症性サイトカインの発現を予測する場合)、複数種類の活性型転写制御因子の量を測定してその存在比率から、個々のサイトカインの発現を予測できるように選択してもよい。例えば、SIRSに特に関係するサイトカインはIL8、IL6およびTNF $\alpha$ であり、これらに共通する転写制御因子はNF $\kappa$ Bであることから、活性型NF $\kappa$ Bの存在量を測定することによって、炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かを予測することが可能である。

#### 【0038】

活性型転写制御因子の測定は、測定開始から測定結果が得られるまでの測定時間が1時間以内の方法で行なうことが好ましく、より好ましくは30分以内の方法で行なう。測定結果が得られるまでにかかる時間が数時間以上必要とする測定方法では、転写開始から数時間後に発現されるサイトカインが、患者においてすでに発現され、ひどい場合には新たに別のサイトカインが発現していて、治療が手遅れ、あるいは誤るおそれがあるからである。

#### 【0039】

10

20

30

40

50

測定時間が30分以内である測定方法としては、転写制御因子が結合する特定配列を有するヌクレオチドプローブを用いてヌクレオチドハイブリダイゼーションを検出する方法、生体分子間相互作用測定方法が好ましい。具体的には、表面プラズモン共鳴法（SPR）、水晶振動子マイクロバランス法（QCM）、1分子蛍光相関法（FCS）、Dual polarization interferometer-SPR（二面偏波式干渉-SPR）が挙げられる。

#### 【0040】

SPR（表面プラズモン共鳴法）とは、図3に示すように、プリズム表面に敷設された金属膜（金又は銀の薄層）に特定角度で入射される光が金属表面の電子を刺激して出てくる反射光により生じる表面プラズモン共鳴現象を利用した方法である。表面プラズモン共鳴と共鳴角度が反射インデックスに依存するので、金属膜表面のヌクレオチドハイブリッドの有無、すなわちDNAプローブに結合した転写制御因子量を測定することができる。

10

#### 【0041】

QCM（水晶振動子マイクロバランス法）は、図4に示すように、ヌクレオチドプローブが植設された金薄膜で被覆された水晶振動子を用いて、試料に含まれる転写制御因子がヌクレオチドプローブに結合することによる金薄膜の質量変化を振動数変化で検出する方法である。

#### 【0042】

FCS（1分子蛍光相関法）は、図5に示すように、測定試料と蛍光標識したヌクレオチドプローブの混合物を共焦点領域を通過させ、転写制御因子-プローブ複合体とプローブ単体とは分子サイズの違いから共焦点領域通過時間が異なることを利用して、1分子が光るパルス数で、転写制御因子-プローブ複合体と未反応蛍光分子（プローブ単体）を分離して検出する方法である。

20

#### 【0043】

上記各方法において使用するヌクレオチドプローブは、検出しようとする転写制御因子が特異的に結合する塩基配列を有するオリゴヌクレオチドプローブであればよく、その全配列は天然に存在するワイルドタイプであってもよいし、人工的に合成したものであってもよい。また、使用するヌクレオチドプローブは1種類だけであってもよいし、予測しようとするサイトカインに関与する複数の転写制御因子に対応する数のヌクレオチドプローブが設けられていても良い。好ましくは、あらゆる転写制御因子に相当するヌクレオチドプローブが設けられているものである。複数の転写制御因子を一度に検出、定量することで、発現するサイトカインを予測できるからである。

30

#### 【0044】

生体分子間相互作用測定方法は、検出感度が10nMであり、1試料を10分程度で定量することができる。従って、患者から細胞を採取して測定試料を調製し、測定開始から測定結果が得られるまで、1時間以内に行えることから、生物学的試料を患者から採取した時点から数時間後に発現してくるサイトカインを知ることができる。このことは、数時間後に起る症状が抗炎症性であるのか、炎症性であるのか、さらには、いかなるサイトカインが発現して、どのような症状が現れるのかを予測するのに便利である。この点、ELISAやゲルシフトアッセイでは、3～6時間かかかるため、予測結果が出る頃には、予測されたサイトカインと発現してくるサイトカインが異なっている可能性が高く、適切な治療ができないという問題があったが、このような迅速性ある測定方法を採用することにより、予測による適切な治療、処方を選択が可能となる。

40

#### 【0045】

測定された活性型転写制御因子の存在量に基づいて、診断支援情報を出力する。ここで、診断支援情報とは、将来の炎症の進行状態に関する情報で、炎症性反応が亢進するか否かの情報および抗炎症性反応が亢進するか否かの情報からなる群から選択される情報を含むものであってもよいし、炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報および抗炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報からなる群から選択されるサイトカイン発現情報を含むものであってもよい。

50

## 【0046】

目的とするサイトカイン（炎症性サイトカイン又は抗炎症性サイトカイン）に關与する活性型転写制御因子の存在量を知ること、これから発現しようとする炎症性サイトカイン又は抗炎症性サイトカインが増加するか否かを予測することができ、ひいては炎症反応が亢進するか否か、抗炎症反応が亢進するか否かといった将来の炎症の進行状態を予測することができ、これらを診断支援情報として出力することができる。

## 【0047】

特に測定開始から測定結果が得られるまでの時間が30分以下である測定方法を採用することにより、患者から試料を採取した時点から数時間後に発現してくるサイトカインを知ることができるので、数時間後に起る症状が抗炎症性反応の亢進であるのか、炎症性反

10

## 【0048】

上記診断支援情報には、さらに、選択すべき治療方法の情報、治療方法の適否を示す情報（抗炎症剤の投与の適否を示す情報、血漿交換の適否を示す情報および顆粒球コロニー刺激因子の投与の適否を示す情報）が含まれていてもよい。迅速性ある測定方法を採用することにより、数時間後に起る症状が抗炎症性であるのか、炎症性であるのか、さらには、いかなるサイトカインが発現して、どのような症状が現れるのかを予測することができるので、予測による適切な治療、処方を選択を、診断支援情報として出力することが可能となる

## 【0049】

例えば、図6に示すように、SIRS症状が後期に入ると、炎症性サイトカインの発現量が減少し、CAR S状態の抗炎症性サイトカイン発現量が増大しているような場合、サイトカインの測定検出による診断に基づく治療では、抗炎症剤を投与することになってしまう。一方、活性型転写制御因子の存在量に基づいて、SIRS前期の炎症性サイトカインの発現が増大している時期か、SIRS後期の炎症性サイトカインの発現が減少していく時期か、さらにはCAR Sの抗炎症性サイトカイン発現が亢進している時期かを区別した情報を得ることができる。従って、本発明の方法により出力される診断支援情報に基づけば、SIRSの炎症性サイトカインの発現が増大している時期には抗炎症剤の投与、CAR Sの抗炎症性サイトカイン発現が亢進している時期には、血漿交換や顆粒球コロニー刺激因子の投与といった治療方法を選択することができる。

20

30

## 【0050】

## 【免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置】

本発明の免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置は、患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を測定して得られた転写制御因子情報を取得する情報取得手段；及び取得した転写制御因子情報に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力する診断支援情報出力手段を備えている。

## 【0051】

前記転写制御因子情報とは、測定される活性型転写制御因子の存在量であってもよいし、当該存在量を測定する測定装置で取得されるデジタル信号、例えば存在量に換算される前の蛍光強度や反射率等の光学的強度、放射線強度、又は振動数などに相当するデジタル信号であってもよい。

40

## 【0052】

前記炎症の進行状態に関する情報は、炎症性反応が亢進するか否かの情報および抗炎症性反応が亢進するか否かの情報からなる群から選択される情報であってもよいし、炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報および抗炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報からなる群から選択されるサイトカイン発現情報を含むものであってもよい。

## 【0053】

前記診断支援情報は、将来の炎症の進行状態に関する情報の他、さらに治療方法の情報

50

を含むことが好ましく、当該治療方法としては、抗炎症剤の投与、血漿交換および顆粒球コロニー刺激因子の投与からなる群より選択されることが好ましい。

【0054】

診断支援情報出力手段は、炎症性サイトカインに特異的な転写制御因子の情報を記憶する記憶手段；及び情報取得手段により取得された転写制御因子情報と前記記憶手段に記憶された情報とに基づいて炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かを予測する予測手段を備え、予測手段の予測結果に基づいて診断支援情報を出力するものであることが好ましい。前記記憶手段は、さらに抗炎症性サイトカインに特異的な転写制御因子の情報を記憶する手段であることが好ましい。

【0055】

10

あるいは診断支援情報出力手段は、炎症性反応が亢進するか否かの情報を記憶する記憶手段；及び情報取得手段により取得された転写制御因子情報と前記記憶手段に記憶された情報とに基づいて炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かを予測する予測手段を備え、予測手段の予測結果に基づいて診断支援情報を出力するものであってもよい。また、前記記憶手段は、さらに抗炎症性反応が亢進するか否かの情報を記憶する記憶手段であってもよい。

【0056】

本発明の診断支援情報出力装置の一実施形態について、図7のハードウェア構成例に基づいて説明する。

【0057】

20

本実施の形態に係る診断支援出力装置を備えたシステム100は、本体110と、ディスプレイ120と、入力デバイス130とから主として構成されたコンピュータ100aによって構成されている。本体110は、CPU110aと、ROM110bと、RAM110cと、ハードディスク110dと、読出装置110eと、入出力インタフェース110fと、通信インタフェース110gと、画像出力インタフェース110hとから主として構成されており、CPU110a、ROM110b、RAM110c、ハードディスク110d、読出装置110e、入出力インタフェース110f、および画像出力インタフェース110hは、バス110iによってデータ通信可能に接続されている。

【0058】

図7に示す診断支援情報出力システムの構成において、入出力インターフェース110fが情報取得手段に該当し、本体110が診断支援情報出力手段に該当する。また、記憶手段は、ROM110b、RAM110c、ハードディスク110dが具体的に該当し、予測手段はCPU110aが該当する。

30

【0059】

入出力インタフェース110fは、例えばUSB、IEEE1394、RS-232C等のシリアルインタフェース、SCSI、IDE、IEEE1284等のパラレルインタフェース、およびD/A変換器、A/D変換器等からなるアナログインタフェース等から構成されている。入出力インタフェース110fには、キーボードおよびマウスからなる入力デバイス130が接続されており、ユーザが当該入力デバイス130を使用することにより、コンピュータ100aにデータを入力することが可能である。

40

【0060】

入力デバイス130を介して測定データを含む転写制御因子情報をユーザが入力してもよいし、活性型転写制御因子の存在量を測定する測定装置の出力部と入出力インターフェース130とを接続して、測定により得られたデジタル信号を、転写制御因子情報として直接入力されるようにしてもよい。

【0061】

予測手段であるCPU110aは、記憶手段としてのROM110bに記憶されているコンピュータプログラムおよびRAM110cにロードされたコンピュータプログラムを実行することが可能である。そして、後述するようなアプリケーションプログラム140aを当該CPU110aが実行することにより、コンピュータ100aが診断支援システ

50

ム100として機能する。具体的には、情報取得手段から入力された活性型転写制御因子の情報に基づいて発現するサイトカインが炎症性サイトカインおよび抗炎症性サイトカインの何れであるかを予測し、この予測結果に基づいて診断支援情報を出力する。あるいは記憶手段に記憶されている情報が炎症反応又は抗炎症反応の亢進の原因となる転写制御因子の情報である場合には、炎症反応が亢進するか否か、抗炎症反応が亢進するか否かを予測し、この予測結果に基づいて診断支援情報を出力する。

#### 【0062】

記憶手段には、情報取得手段が取得した転写制御因子情報に基づいて診断支援情報を出力するのに必要な情報、具体的には、炎症性サイトカイン若しくは抗炎症性サイトカインと転写制御因子との関係に関する情報、あるいは炎症反応又は抗炎症反応の亢進の原因となるサイトカインと転写制御因子の関係に関する情報が記憶される。さらに治療方法に関する情報を記憶させてもよく、これらの情報は、少なくともROM110b、RAM110c、ハードディスク110dのいずれか1つに記憶される。なお、サイトカインと転写制御因子の関係に関する情報には、例えば、転写制御因子に対応して発現するサイトカインの種類の情報、転写制御因子の存在量に対応するサイトカインの発現量の情報、転写制御因子の発現からサイトカインの発現に至る時間等が含まれる。

10

#### 【0063】

ROM110bは、マスクROM、PROM、EPROM、EEPROM等によって構成されており、上記転写制御因子とサイトカインとの関係に関する情報や治療方法に関する情報の他、CPU110aに実行されるコンピュータプログラムおよびこれに用いるデータ等が記録されている。

20

#### 【0064】

RAM110cは、SRAMまたはDRAM等によって構成されている。RAM110cは、ROM110bおよびハードディスク110dに記録されているコンピュータプログラムの読み出しに用いられる。また、これらのコンピュータプログラムを実行するときに、CPU110aの作業領域として利用される。入出力インターフェース110fから入力された転写制御因子情報を一時的に記憶してもよい。

#### 【0065】

ハードディスク110dには、サイトカインと転写制御因子との関係に関する情報の他、オペレーティングシステム（例えば米マイクロソフト社が製造販売するWindows（登録商標）等のグラフィカルユーザインタフェース環境を提供するオペレーティングシステム）およびアプリケーションプログラム等、CPU110aに実行させるための種々のコンピュータプログラムがインストールされている。後述するアプリケーションプログラム140aも、このハードディスク110dにインストールされている。

30

#### 【0066】

読出装置110eは、フレキシブルディスクドライブ、CD-ROMドライブ、またはDVD-ROMドライブ等によって構成されており、可搬型記録媒体140に記録されたコンピュータプログラムまたはデータを読み出すことができる。また、可搬型記録媒体140には、コンピュータを本発明に係る診断支援システムとして機能させるためのアプリケーションプログラム140aが格納されており、コンピュータ100aが当該可搬型記録媒体140から本発明に係るアプリケーションプログラム140aを読み出し、当該アプリケーションプログラム140aをハードディスク110dにインストールすることが可能である。

40

#### 【0067】

なお、前記アプリケーションプログラム140aは、可搬型記録媒体140によって提供されるのみならず、電気通信回線（有線、無線を問わない）によってコンピュータ100aと通信可能に接続された外部の機器から前記電気通信回線を通じて提供することも可能である。例えば、前記アプリケーションプログラム140aがインターネット上のサーバコンピュータのハードディスク内に格納されており、このサーバコンピュータにコンピュータ100aがアクセスして、当該コンピュータプログラムをダウンロードし、これを

50

ハードディスク 110d にインストールすることも可能である。

【0068】

画像出力インタフェース 110h は、LCD または CRT 等で構成されたディスプレイ 120 に接続されており、CPU 110a から与えられた画像データに応じた映像信号をディスプレイ 120 に出力するようになっている。ディスプレイ 120 は、入力された映像信号にしたがって、画像（画面）を表示する。

【0069】

次に、情報出力手段が行なう診断支援情報出力処理の一実施形態を、SIRS の診断支援情報出力処理のフローチャートを示した図 8 に基づいて説明する。

【0070】

まず、コンピュータ 100a は、患者血液を測定して得られた活性型転写制御因子の測定データを取得する (S1)。この測定データの取得は、測定装置で測定された活性型転写制御因子の測定データを入力デバイス 130 により入力することにより行われる。また、試料の採取時刻、転写制御因子の測定に要した時間等も入力デバイス 130 により入力される。なお、コンピュータ 100a と測定装置を LAN 等のネットワークで接続することによりコンピュータ 100a の入出力インタフェース 110f を介して LAN に接続された測定装置から活性型転写制御因子の測定データを取得することも可能である。

【0071】

次に、CPU 110a は取得した測定データに基づいて発現するサイトカインの予測を行う (S2)。発現するサイトカインの予測は、測定された活性型 NF $\kappa$ B の発現量に基づいて行われる。NF $\kappa$ B は SIRS に関係する炎症性サイトカイン (IL8、IL6、TNF $\alpha$ ) に特異的な転写制御因子である。従って、NF $\kappa$ B が所定以上発現している場合には、IL8、IL6 および TNF $\alpha$  の何れかの炎症性サイトカインが数時間後に発現する旨の予測が可能である。

【0072】

発現するサイトカインの予測に対応する診断支援情報を選択しディスプレイ 120 に表示する (S3)。この診断支援情報には、炎症性サイトカインの発現量が試料の採取時点より増加するか否かの予測結果、治療方法 (抗炎症剤の投与) の適否の情報等が含まれる。

【0073】

なお、この実施形態では、NF $\kappa$ B の測定データに基づいて発現するサイトカインの予測を行ったが、測定する転写制御因子の種類を増加させ、発現するサイトカインの種類を予測するようにしてもよい。IL8 の発現予測を行う場合、転写因子の種類および量比 (測定値、定量値等) は AP1:C/EBP:Nf $\kappa$ B = 1 : 1 : 1 である。IL6 の発現予測を行う場合は、AP1:C/EBP:Nf $\kappa$ B:CREB = 1 : 1 : 1 : 1 である。IL2 の発現予測を行う場合は、AP1:NFAT:Sp1 = 1 : 1 : 1 である。TNF $\alpha$  の発現予測を行う場合は、AP1:Nf $\kappa$ B:Sp1:EGR1:AP2:CRE1 = 1 : 3 : 1 : 1 : 1 : 1 である。IL4 の発現予測を行う場合は、AP1:C/EBP = 1 : 2 である。IL10 の発現予測を行う場合には、CRE1:CRE3:CRE4:TATA:C/EBP1:C/EBP3:C/EBP5 = 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 である。

【0074】

なお、これらの量比は、個人、サンプル前処理工程による誤差を含むため、それぞれの転写因子量の誤差は  $\pm 0.5$  程度である。例えば、AP1:C/EBP:Nf $\kappa$ B:CREB = 1.2 : 0.6 : 0.9 : 1.3 の場合には IL6 と判定することができる。

【実施例】

【0075】

〔核抽出物試料の調製方法〕

(1) HeLa 細胞の核抽出物試料の調製

Nucleic Acids Res. 1983 年、3 月 11 日発行、11 (5)、1475 ~ 1489 頁に記載の方法に準じて行なった。

【0076】

10

20

30

40

50

具体的には、HeLa細胞の培養液を4℃、2000rpmで10分間遠心し、回収したHeLa細胞を5~10mlの氷冷したリン酸緩衝塩類溶液(PBS)で洗浄した(4℃、2000rpmで10分間遠心)後、バッファーA(最終濃度:10mM HEPES(pH7.9)、1.5mM MgCl<sub>2</sub>、10mM KCl、0.5mM DDT)を5~10ml加えて懸濁し、10分間静置した。このとき、実体顕微鏡で観察することにより、細胞の膨張を確認できた。その後、4℃、2000rpmで10分間遠心して、細胞を回収し、再び、1~5mlのバッファーAで懸濁した。

#### 【0077】

Dounce ホモゲナイザーで20~40ストローク、又は24G針を用いたシリンジングで20~40ストロークすることにより、細胞を破壊した。実体顕微鏡で観察して細胞膜が崩壊し、裸核となっていることを確認した。 10

#### 【0078】

4℃、15000×gで20分間遠心することにより、細胞粉碎物を回収した。これにバッファーC(最終濃度:20mM HEPES(pH7.9)、25v/v%グリセロール、0.42M NaCl、1.5mM MgCl<sub>2</sub>、0.2mM EDTA、0.5mM PMSF、DDT 0.5mM)1mlを加えて懸濁し、Dounce ホモゲナイザーで20~40ストローク、又は24G針を用いたシリンジングで20~40ストロークすることにより、核を破壊した。4℃、15000×gで30分間遠心し、上清を回収した。回収した上清は、液体窒素で凍結し、-80℃で保存する。

#### 【0079】

尚、脱塩が必要な場合には、50倍量のバッファーD(最終濃度:20mM HEPES(pH7.9)、25v/v%グリセロール、0.1M KCl、0.2mM EDTA、0.5mM PMSF、0.5mM DDT)で5時間透析する。 20

#### 【0080】

[転写制御因子が核内へ移行することの検証]

##### (1) 免疫染色による顕微鏡観察

HeLa培養細胞を、蛍光標識した抗NFκB抗体と反応させた後120分間静置して、蛍光顕微鏡で観察した。顕微鏡写真(倍率400倍)を図9に示す。細胞核周辺が蛍光で染まっており、刺激を受けていないときには、NFκBが細胞質内に存在していることがわかる。 30

#### 【0081】

一方、HeLa培養細胞に、リポポリサッカライド2.5mg/mlを投与するとともに、HeLa培養細胞を蛍光標識した抗NFκB抗体と反応させた後120分間静置して、蛍光顕微鏡で観察した。顕微鏡写真(倍率400倍)を図10に示す。核内が蛍光で染まっており、リポポリサッカライド投与により、NFκBが核内に移行したことがわかる。

#### 【0082】

##### (2) ゲルシフトアッセイ

上記方法により調製したHeLa細胞の核抽出液(コントロール)、リポポリサッカライド2.5mg/ml投与直後のHeLa細胞の核抽出液、リポポリサッカライド投与60分後、120分後の核抽出液を、NFκB結合配列を有する合成オリゴヌクレオチドをプローブとして、ゲルシフトアッセイを行なった。結果を図11に示す。 40

#### 【0083】

コントロール(-)、投与直後(0)では、NFκBのバンドは認められなかったが、60分後、120分後となるにつれて、NFκBに該当する部分に濃いバンドが認められた。従って、リポポリサッカライドの投与により、NFκBが核内へ移行することがわかる。

以上の結果から、活性型転写制御因子の量は、核抽出物に存在する転写制御因子の量を測定すればよいことがわかる。

#### 【0084】

[ヌクレオチドプローブの特異性の検証]

(1) HeLa細胞での確認

図12(a)に示すような配列を有するワイルドタイプ(WT)のオリゴヌクレオチド(四角で囲んだ部分が転写制御因子結合部位である)、図12(b)に示すような配列を有する変異プローブ(変異部分をアンダーラインで示す)を用いた。

【0085】

HeLa培養細胞に、リポポリサッカライド2.5mg/mlを投与した120分後に、上記核抽出物試料の調製方法に従って核抽出液を調製した。

【0086】

WTプローブを植設した金属膜及び変異プローブを植設した金属膜をそれぞれ用いたSPR装置に、核抽出液(0.2nmol、1.0nmol)を供して、測定した。コントロールとして、プローブを植設していない金属膜を用いたSPR装置に核抽出液を供して測定した。結果を図13に示す。

【0087】

図中、縦軸は、転写因子とプローブの複合体に係るResonance Unit(RU)を示している。0.2nmol、1.0nmolいずれについても、変異プローブの場合はコントロールと同程度のRUを示し、WTプローブの場合は、コントロールのRUよりも随分小さいRUを示した。このことから、核抽出液に含まれるNF $\kappa$ Bは、WTプローブと結合しても、変異プローブとは結合しないことが確認できた。

【0088】

(2) 健常人リンパ球での確認

健常人のヒトリンパ球にリポポリサッカライドを投与し、上記核抽出物試料の調製方法により核抽出液を調製した。

【0089】

図12に示すNF $\kappa$ B結合配列を有する合成オリゴヌクレオチドプローブ又は変異プローブを用いて、ゲルシフトアッセイを行なった。結果を図14に示す。

【0090】

図14中、1はNF $\kappa$ B結合配列を有する合成オリゴヌクレオチドプローブを用いて核抽出液を供しなかった場合、2は変異プローブを用いて核抽出液を供した場合、3はWTプローブを用いて核抽出液を供した場合を示している。プローブとNF $\kappa$ Bとの複合体は、3の場合に強く表れた。従って、HeLa細胞だけでなく、健常人においてもWTプローブは、NF $\kappa$ Bの検出プローブとして有用であることがわかる。

【0091】

[転写制御因子の検出測定：NF $\kappa$ B]

10mMのHEPES(pH7.4)、150mMのNaCl、3mMのEDTA及び0.005%のTween20を含む水溶液20 $\mu$ l中、NF $\kappa$ Bを40ng、80ng、120ng、160ng、200ng含む測定用試料液を調製した。

【0092】

この試料液を、WTプローブを設けたSPR装置(ピアコア社製BIACORE-J)で測定した。結果を図15に示す。測定にかかった時間は15分であった。信号強度は、NF $\kappa$ Bの含有濃度に比例して大きくなった。

【0093】

上記試料液について、WTプローブを設けたFCS装置(浜松フォトニクス社製)、QCM装置(イニシウム社製Affinix-Q4)で、同様に測定した。それぞれの結果を図16及び図17に示す。いずれの方法もNF $\kappa$ Bの含有濃度に比例して信号強度に該当する拡散時間又は振動数変化が大きくなった。また、測定にかかった時間は、10分であった。

いずれの方法もNF $\kappa$ Bの測定開始から測定結果が得られるまでの時間は15分以内であり、数時間後に発現するサイトカインが実際に細胞から分泌されるときまでに知ることが可能である。

## 【0094】

[転写制御因子の検出測定：SP-1]

10 mMのHEPES (pH 7.4)、150 mMのNaCl、3 mMのEDTA及び0.005%のTween 20を含む水溶液110  $\mu$  l中に、SP-1を215 ng、430 ng、645 ng、1075 ng含む測定用試料液を調製した。

## 【0095】

この試料液を、WTプローブ (5' -TGTATCCCCACCCCCTTAAGAA)、変異プローブ (5' -TGTATCCCCAAACCCCTTAAGAA) をそれぞれ植設した金属膜を用いたSPR装置 (ピアコア社製BIACORE-J) で、NF  $\kappa$  Bの場合と同様にして測定した。結果を図18に示す。

10

## 【0096】

試料液中のSP-1は、WTプローブと結合しても、変異プローブとは結合しないことが確認できた。測定にかかった時間は15分であった。また、図18に示すように、信号強度 (Resonance unit) は、SP-1の含有濃度に比例して大きくなった。

## 【0097】

[転写制御因子の検出測定：AP-1]

10 mMのHEPES (pH 7.4)、150 mMのNaCl、3 mMのEDTA及び0.005%のTween 20を含む水溶液110  $\mu$  l中に、AP-1を60 ng、150 ng、300 ng、600 ng含む測定用試料液を調製した。

20

## 【0098】

この試料液を、WTプローブ (5' -TCGACGTGACTCAGCGCGCATCGTGACTCAGCGCGC)、変異プローブ (5' -TCGACGTGACTTGGCGCGCATCGTGACTTGGCGCGC) をそれぞれ植設した金属膜を用いたSPR装置 (ピアコア社製BIACORE-J) で、NF  $\kappa$  Bの場合と同様にして測定した。結果を図19に示す。

## 【0099】

試料液中のAP-1は、WTプローブと結合しても、変異プローブとは結合しないことが確認できた。測定にかかった時間は15分であった。また、図19に示すように、信号強度 (Resonance unit) は、AP-1の含有濃度に比例して大きくなった。

30

## 【0100】

[リウマチ患者関節液由来の線維芽細胞を用いたサイトカインの発現解析]

(1) リウマチ患者関節液由来の線維芽細胞

リウマチ (RA) 患者よりインフォームドコンセントを得た後、関節液を10~15 ml回収し、PBSで3回洗浄し、10%ウシ胎仔血清 (FCS) を含むダルベッコ改変MEM (DMEM) 中で、37℃、5%CO<sub>2</sub> で培養を行ない5~8回継代培養したものを、以下の実験に用いた。

(2) トロンビン刺激によるサイトカイン分泌

(1) のRA患者由来線維芽細胞 (2  $\times$  10<sup>5</sup> cell/well) を刺激前48時間、低血清 (0.5% FCS) 条件下で培養した。この培養細胞液に、トロンビン (10 unit/ml) を添加し、トロンビン添加直後 (0 time)、添加4時間後、8時間後、12時間後、24時間後に培養上清を回収して、トロンビン刺激によって分泌されたサイトカイン (G-CSF、IL2、IL6) 量を測定した。培養液中のサイトカイン (G-CSF、IL2、IL6) は、それぞれのELISAキット (Biosource、Camarillo、カリフォルニア州) を用いて測定した。測定結果を表1に示す。

40

## 【0101】

【表 1】

Cytokine (pg/ml)	Time (hr)				
	0	4	8	12	24
<b>IL-6</b>	<b>14 ± 5.4</b>	<b>16 ± 6.2</b>	<b>108 ± 28.5*</b>	<b>178 ± 34.7*</b>	<b>288 ± 48.5*</b>
<b>G-CSF</b>	<b>10 ± 4.3</b>	<b>14 ± 5.5</b>	<b>20 ± 7.5</b>	<b>39 ± 5.5*</b>	<b>58 ± 8.8*</b>
<b>IL-2</b>	<b>32 ± 8.7</b>	<b>26 ± 6.7</b>	<b>40 ± 8.3</b>	<b>37 ± 7.5</b>	<b>42 ± 9.5</b>

**\*p<0.05**

10

20

30

40

表 1 からわかるように、RA 患者関節液から培養した線維芽細胞からトロンビン刺激に 50

よって分泌されたサイトカインのうち、IL6は刺激後8時間で優位に分泌が亢進し、G-CSFでは刺激12時間後に優位に分泌が亢進していた。一方、同じ炎症性サイトカイン群として知られているIL2では、トロンビン刺激による優位な分泌亢進は認められなかった。

#### 【0102】

(3) トロンビン刺激によるサイトカインmRNA発現解析

(1)のRA患者由来線維芽細胞( $2 \times 10^5$  cell/well)を刺激前48時間、低血清(0.5% FCS)条件下で培養した。この培養液に、トロンビン(10 unit/ml)を添加し、トロンビン添加直後、添加0.5時間後、1時間後、2時間後、4時間後、8時間後、12時間後、24時間後ごとに細胞を回収し、RNAを抽出した。得られたRNA試料に、逆転写酵素を加えてcDNAを合成し、下記サイトカイン測定用プライマーを用いてPCRで増幅させた後、PCR合成物をアガロースゲル電気泳動を行ない、目的とするmRNAを検出測定した。測定結果を図20に示す。図20において、 $\beta$ アクチンはコントロールである。

10

#### 【0103】

尚、RT-PCR法で用いたプライマーは、下記の通りである。

IL6-1: 5' -GCGCCTTCGGTCCAGTTGCCCTTGTC

IL6-2: 5' -CCTCTTTTGCTGCTTTTCACACATG

G-CSF-1: 5' -ACAGTGCACCTCTGGACAGT

G-CSF-2: 5' -TCCAGCTGCAGTGTGTCCA

20

#### 【0104】

図20からわかるように、IL6では刺激後4時間でIL6のmRNAの発現が確認され、G-CSFでは刺激後4~8時間でG-CSFのmRNAの発現が確認された。

(4) トロンビン刺激による活性型NF $\kappa$ Bの測定

(4-1) 核抽出液の調製

(1)のRA患者由来線維芽細胞( $2 \times 10^5$  cell/well)を刺激前48時間、低血清(0.5% FCS)条件下で培養した。この培養液に、トロンビン(10 unit/ml)を添加した直後、培養液から細胞を回収した。回収した細胞をPBSで洗浄し、遠心後、低張溶液(10mM HEPES/KOH (pH7.8)、10mM KCl、0.1mM EDTA、1mM DTT、0.1% NP-40及びタンパク質分解酵素阻害剤(Sigma社製))を加え、氷冷しながら30分間反応させ、細胞を可溶化した。細胞可溶化液を、4℃、 $2500 \times g$ で1分間遠心し、沈殿(核分画)を回収した。回収した核分画に核可溶化溶液(50mM HEPES/KOH (pH7.8)、0.1mM EDTA、5mM MgCl<sub>2</sub>、2%グリセロール、1mM DTT、0.42M KCl及びタンパク質分解酵素阻害剤(Sigma社製))を加え、核の可溶化を行なった。核可溶化液を、4℃、 $12000 \times g$ で15分間遠心し、上清を核抽出液として使用した。

30

#### 【0105】

(4-2) ゲルシフトアッセイ

10mMのTris/塩酸(pH7.1)、50mMのKCl、1mMのDTT、5%グリセロール、0.25%のNP-40、及び1mMのMgCl<sub>2</sub>を含有した混合液に、(4-1)で調製した核抽出液(任意濃度)、 $1 \mu g/ml$ のPoly-dI/dC、及び20fmolのFITC標識プローブ(5'-FITC-AGTTGAGGGACTTTCACAGGC(インビトロジェン社の特注品))を加えて、4℃で30分間反応させた。反応後、25%グリセロール及び青色色素(プロモフェノールブルー)を適量加え、予め通電(150V、90分間)した5%ポリアクリルアミドゲルで電気泳動(150V、4℃、2~4時間)を行なった。電気泳動終了後、ゲル内の蛍光色素をMolecular Imager FX(BIO Rad社)を用いて可視化し、解析を行なった。結果を図21に示す。

40

#### 【0106】

50

図21から、活性型NF $\kappa$ Bの量は、トロンビン刺激の30分後から増加して4時間後にピークに達したことがわかる。

【0107】

トロンビン刺激によるサイトカインの分泌(表1)、mRNAの発現(図20)、ゲルシフトアッセイ(図21)の結果から、IL6及びG-CSFは、DNA上で活性型NF $\kappa$ B量の増大による発現制御を受けていると考えられる。一方、DNA上にNF $\kappa$ B結合配列をもたないサイトカインであるIL2については、トロンビン刺激により活性型NF $\kappa$ Bの存在量が増加しても、mRNA発現量、分泌量の亢進は認められなかった。これらの結果から、RA患者関節液由来線維芽細胞(慢性的炎症患者)では、生理活性物質や炎症起因为物質による活性型NF $\kappa$ B量の増加に伴ってIL6、G-CSF発現が亢進され、NF $\kappa$ B配列を持たないIL2の発現調節は独自の転写制御因子配列(NFAT、AP-1)により行なわれていると考えられる。従って、RA患者について、IL6、G-CSFの発現による症状の発生の有無を前もって知りたい場合、これらに共通する転写制御因子であるNF $\kappa$ Bの核内の存在量(活性型NF $\kappa$ Bの存在量)を、生検試料について測定すれば、炎症性反応が亢進するか否かの情報を得ることができると考えられる。

10

【産業上の利用可能性】

【0108】

本発明の診断支援方法によれば、数時間後に発現されるサイトカインの予測結果に基づく情報が得られるので、症状や患者から採取した試料中に存在するサイトカインの測定といった従来の診断方法では適切な対処が困難であった、時事刻々と症状が変化する疾病、すなわち敗血症やSIRS等の免疫システム異常疾患について、数時間後に起る症状を予測して治療にあたる事が可能となる。

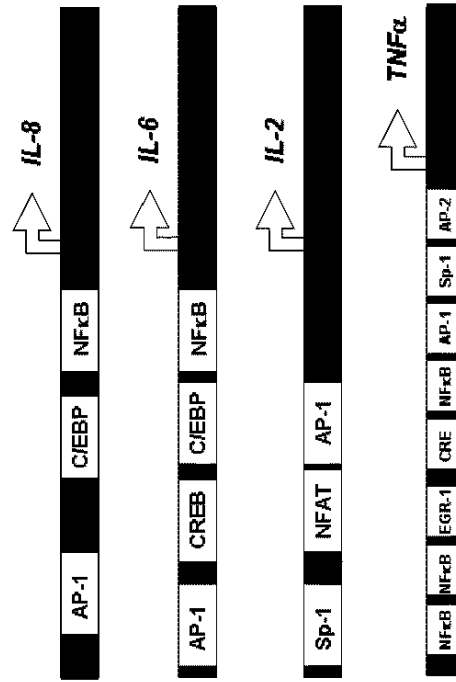
20

従って、本発明の診断支援情報出力装置を医療現場に設置しておくことにより、従来、正確な症状の原因把握が困難であった免疫システム異常疾患について、数時間後に起る症状に対する適切な治療方法の選択が可能となり、ひいては救命率の向上、ICU滞在時間を短縮化することが可能となる。

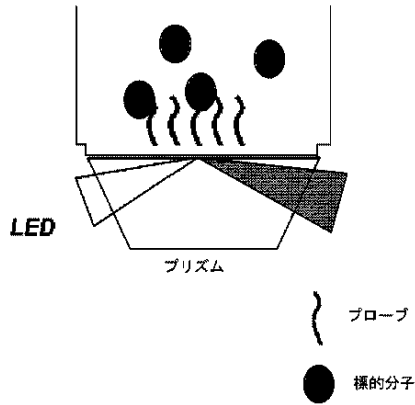
【図1】

- 1. NFκB  
5'-TTGTTACAAGGGACTTTCGGCTGGGGACTTTCAGGGAGGCCTGG  
5'-AGCTTCAGAGGGGACTTTCGGAGAGTACTG
- 2. C/EBP  
5'-AATTCTAAAGGACGTCACATTGCACAATCTTAATAAGGTTG
- 3. CREB  
5'-AGAGATTGCTGACGTCAGAGAGCTAG
- 4. SP-1  
5'-TGTATCCCCACCCCTTAAGAA
- 5. AP-1  
5'-TCGACGGTGACTCAGCGCATCGTGACTCAGCGCGC
- 6. NFAT  
5'-TAAGGAGGAAAAACTGTTGCATAC
- 7. EGR1  
5'-CTTCCAATTATTCGCCCCCCGCGATG

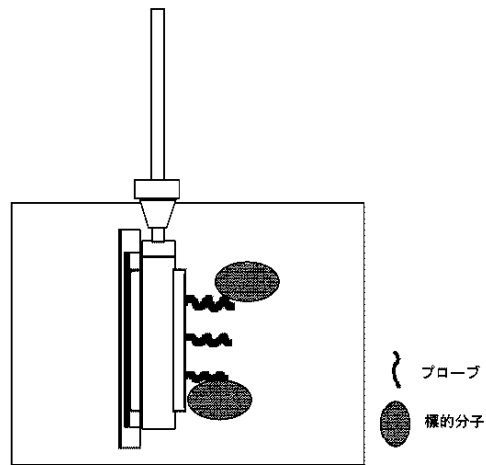
【図2】



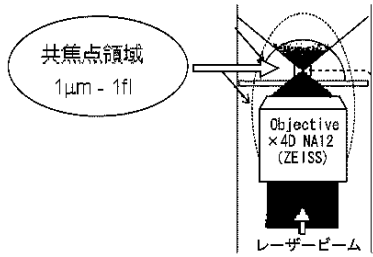
【図3】



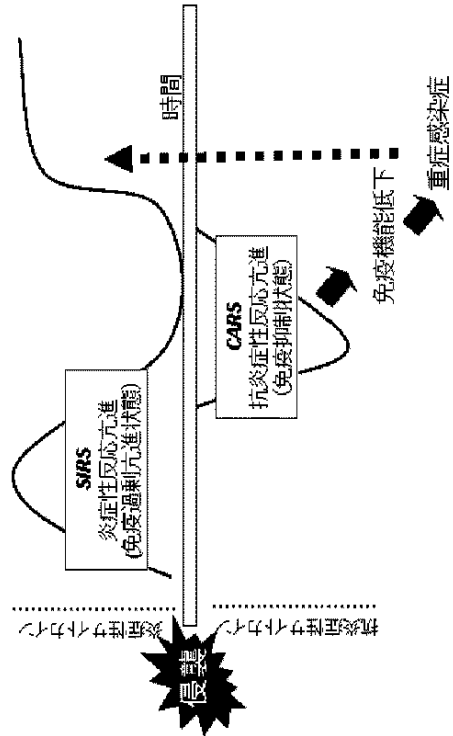
【図4】



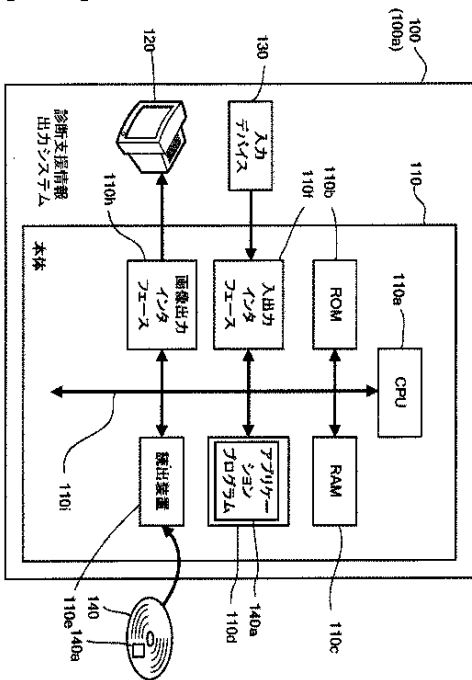
【図 5】



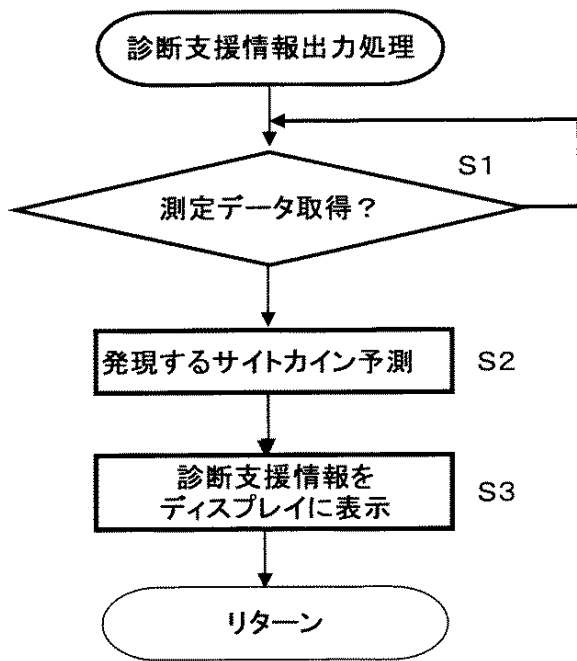
【図 6】



【図 7】



【図 8】

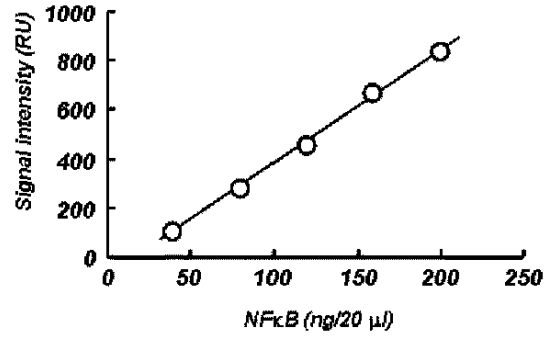


【図12】

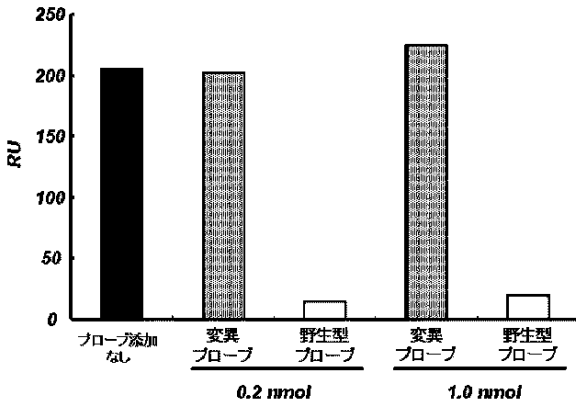
(a)  
 5'-AGCTTCAGAGGGGACTTTCCGAGAGTACTG  
 5'-TTGTTACAAGGGACTTTCCGCTGGGGACTTTCCAGGGAGGCCTGG

(b)  
 5'-AGCTTCAGAGATCGATCGGAGAGAGTACTG  
 5'-TTGTTACAACTCACTTTCCGCTGCTCACTTTCCAGGGAGGCCTGG

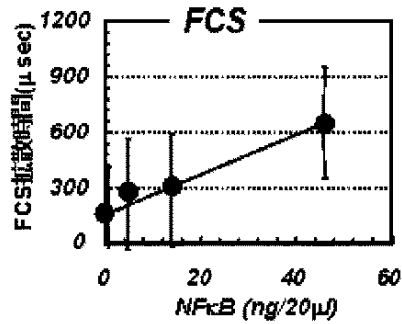
【図15】



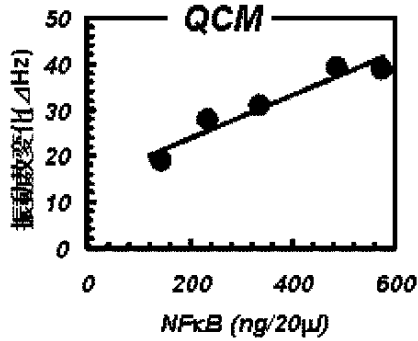
【図13】



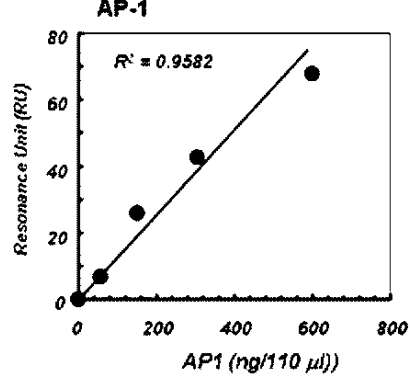
【図16】



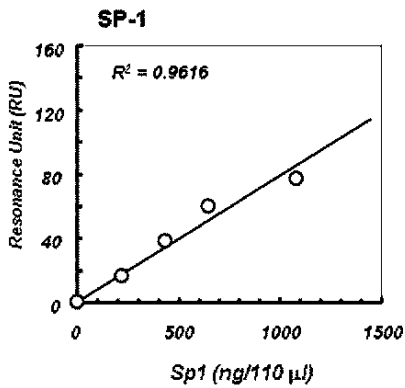
【図17】



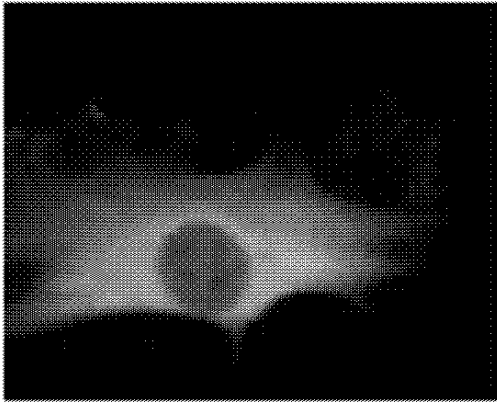
【図19】



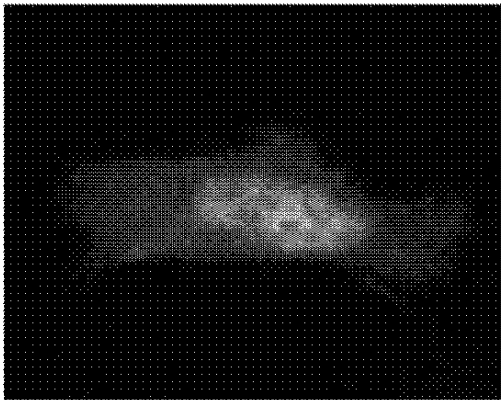
【図18】



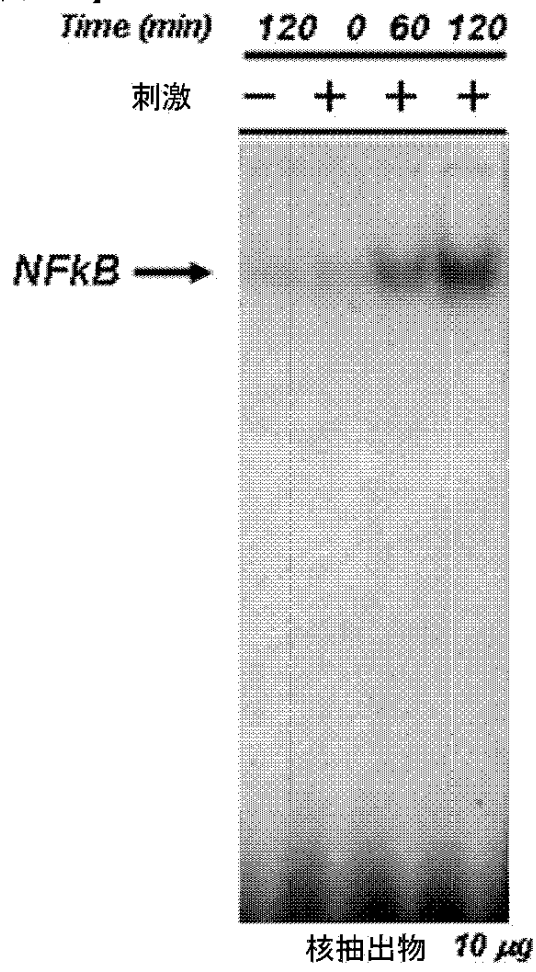
【図 9】



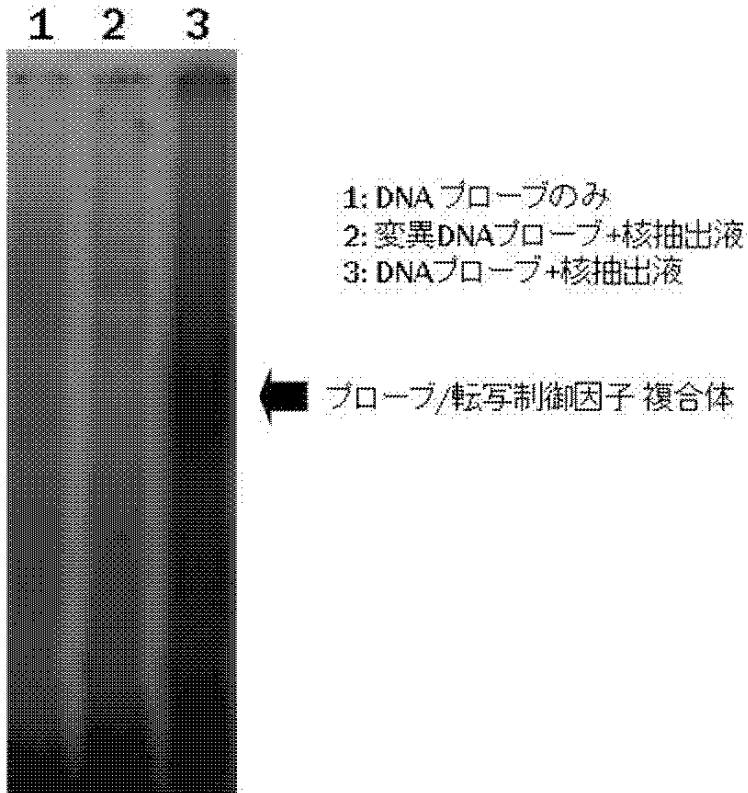
【図 10】



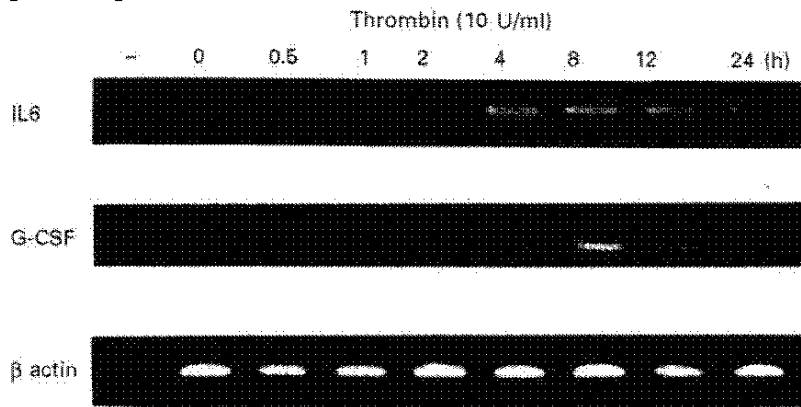
【図 11】



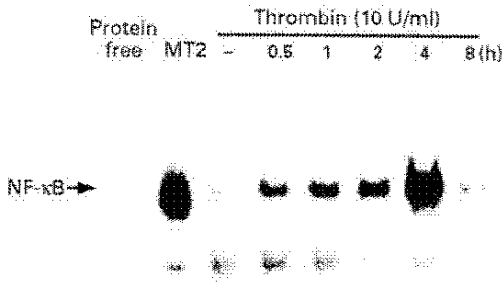
【図14】



【図20】



【図 2 1】



## 【配列表】

2006062127000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成19年6月8日(2007.6.8)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を、表面プラズモン共鳴法、水晶振動子マイクロバランス法、及び1分子蛍光相関法からなる群より選択される測定方法を用いて測定する工程；及び

測定された活性型転写制御因子の存在量に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力する工程

を備えた免疫システム異常疾患の診断支援方法。

【請求項 2】

前記炎症の進行状態に関する情報が、炎症性反応が亢進するか否かの情報、および抗炎症性反応が亢進するか否かの情報からなる群から選択される情報を含む請求項 1 に記載の診断支援方法。

【請求項 3】

前記炎症の進行状態に関する情報が、炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報、および抗炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報、からなる群から選択されるサイトカイン発現情報を含む請求項 1 に記載の診断支援方法。

【請求項 4】

前記診断支援情報は、治療方法の情報を含む請求項 1 に記載の診断支援方法。

【請求項 5】

前記治療方法は、抗炎症剤の投与、血漿交換、および顆粒球コロニー刺激因子の投与からなる群より選択される請求項 4 に記載の診断支援方法。

【請求項 6】

前記試料は、患者から採取した細胞の核抽出物である請求項 1 に記載の診断支援方法。

【請求項 7】

前記測定工程は、測定開始から測定結果が得られるまでの時間が30分以下である測定方法により実施される請求項1に記載の診断支援方法。

【請求項8】

前記測定方法が、1分子蛍光相関法である請求項1に記載の診断支援方法。

【請求項9】

前記測定工程は、2種以上の活性型転写制御因子を測定する請求項1に記載の診断支援方法。

【請求項10】

前記免疫システム異常疾患は、全身性炎症反応症候群（SIRS）である請求項1に記載の診断支援方法。

【請求項11】

患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を、表面プラズモン共鳴法、水晶振動子マイクロバランス法、及び1分子蛍光相関法からなる群より選択される測定方法を用いて測定して得られた活性型転写制御因子情報を取得する情報取得手段；及び

取得した活性型転写制御因子情報に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力する診断支援情報出力手段

を備えた免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置。

【請求項12】

前記炎症の進行状態に関する情報が、炎症性反応が亢進するか否かの情報、および抗炎症性反応が亢進するか否かの情報からなる群から選択される情報を含む請求項11に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項13】

前記炎症の進行状態に関する情報が、炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報、および抗炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報からなる群から選択されるサイトカイン発現情報を含む請求項11に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項14】

前記診断支援情報は、治療方法の情報を含む請求項11に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項15】

前記治療方法は、抗炎症剤の投与、血漿交換、および顆粒球コロニー刺激因子の投与からなる群より選択される請求項14に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項16】

診断支援情報出力手段が、炎症性サイトカインに特異的な転写制御因子の情報を記憶する記憶手段；及び情報取得手段により取得された活性型転写制御因子情報と前記記憶手段に記憶された情報とに基づいて炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かを予測する予測手段を備え、

予測手段の予測結果に基づいて診断支援情報を出力する請求項11に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項17】

前記記憶手段は、さらに抗炎症性サイトカインに特異的な転写制御因子の情報を記憶する手段である請求項16に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項18】

診断支援情報出力手段が、炎症性反応が亢進するか否かの情報を記憶する記憶手段；及び情報取得手段により取得された活性型転写制御因子情報と前記記憶手段に記憶された情報に基づいて炎症性反応が亢進するか否かを予測する予測手段を備え、

予測手段の予測結果に基づいて診断支援情報を出力する請求項11に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項19】

前記記憶手段は、さらに、抗炎症性反応が亢進するか否かの情報を記憶する手段である請

求項 18 に記載の診断支援情報出力装置。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0012

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0012】

本発明の免疫システム異常疾患の診断支援方法は、患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を、表面プラズモン共鳴法、水晶振動子マイクロバランス法、及び1分子蛍光相関法からなる群より選択される測定方法を用いて測定する工程；及び

測定された活性型転写制御因子の存在量に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力する工程を備えている。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0019】

本発明の免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置は、患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を、表面プラズモン共鳴法、水晶振動子マイクロバランス法、及び1分子蛍光相関法からなる群より選択される測定方法を用いて測定して得られた活性型転写制御因子情報を取得する情報取得手段；及び

取得した転写制御因子情報に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力する診断支援情報出力手段を備えている。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0022

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0022】

診断支援情報出力手段が、炎症性サイトカインに特異的な転写制御因子の情報を記憶する記憶手段と、情報取得手段により取得された活性型転写制御因子情報と前記記憶手段に記憶された情報に基づいて、炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かを予測する予測手段とを備え、予測手段の予測結果に基づいて診断支援情報を出力することが好ましい。前記記憶手段は、さらに抗炎症性サイトカインに特異的な転写制御因子の情報を記憶する手段であってもよい。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0023

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0023】

あるいは診断支援情報出力手段が、炎症性反応が亢進するか否かの情報を記憶する記憶手段と、情報取得手段により取得された活性型転写制御因子情報と前記記憶手段に記憶された情報に基づいて、炎症性反応が亢進するか否かを予測する予測手段とを備え、予測手段の予測結果に基づいて診断支援情報を出力するものであってもよく、前記記憶手段は、さらに、抗炎症性反応が亢進するか否かの情報を記憶する手段であってもよい。

## 【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0073

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0073】

なお、この実施形態では、NF $\kappa$ Bの測定データに基づいて発現するサイトカインの予測を行ったが、測定する転写制御因子の種類を増加させ、発現するサイトカインの種類を予測するようにしてもよい。IL8の発現予測を行う場合、転写制御因子の種類および量比（測定値、定量値等）はAP1:C/EBP:Nf $\kappa$ B = 1 : 1 : 1である。IL6の発現予測を行う場合は、AP1:C/EBP:Nf $\kappa$ B:CREB = 1 : 1 : 1 : 1である。IL2の発現予測を行う場合は、AP1:NFAT:Sp1 = 1 : 1 : 1である。TNF $\alpha$ の発現予測を行う場合は、AP1:Nf $\kappa$ B:Sp1:ER1:AP2:CRE1 = 1 : 3 : 1 : 1 : 1 : 1である。IL4の発現予測を行う場合は、AP1:C/EBP = 1 : 2である。IL10の発現予測を行う場合には、CRE1:CRE3:CRE4:TATA:C/EBP1:C/EBP3:C/EBP5 = 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1である。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0074

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0074】

なお、これらの量比は、個人、サンプル前処理工程による誤差を含むため、それぞれの転写制御因子量の誤差は±0.5程度である。例えば、AP1:C/EBP:Nf $\kappa$ B:CREB = 1.2 : 0.6 : 0.9 : 1.3 の場合には IL6 と判定することができる。

【手続補正書】

【提出日】平成19年10月29日(2007.10.29)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を、表面プラズモン共鳴法、水晶振動子マイクロバランス法、及び1分子蛍光相関法からなる群より選択される測定方法を用いて測定して得られた活性型転写制御因子情報を取得する情報取得手段；及び

取得した活性型転写制御因子情報に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報出力する診断支援情報出力手段

を備えた免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置。

【請求項2】

前記炎症の進行状態に関する情報が、炎症性反応が亢進するか否かの情報、および抗炎症性反応が亢進するか否かの情報からなる群から選択される情報を含む請求項1に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項3】

前記炎症の進行状態に関する情報が、炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報、および抗炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報からなる群から選択されるサイトカイン発現情報を含む請求項1に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項4】

前記診断支援情報は、治療方法の情報を含む請求項1に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項5】

前記治療方法は、抗炎症剤の投与、血漿交換、および顆粒球コロニー刺激因子の投与からなる群より選択される請求項4に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項6】

診断支援情報出力手段が、炎症性サイトカインに特異的な転写制御因子の情報を記憶する記憶手段；及び情報取得手段により取得された活性型転写制御因子情報と前記記憶手段に記憶された情報とに基づいて炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かを予測する予測手段を備え、

予測手段の予測結果に基づいて診断支援情報を出力する請求項1に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項7】

前記記憶手段は、さらに抗炎症性サイトカインに特異的な転写制御因子の情報を記憶する手段である請求項6に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項8】

診断支援情報出力手段が、炎症性反応が亢進するか否かの情報を記憶する記憶手段；及び情報取得手段により取得された活性型転写制御因子情報と前記記憶手段に記憶された情報に基づいて炎症性反応が亢進するか否かを予測する予測手段を備え、

予測手段の予測結果に基づいて診断支援情報を出力する請求項1に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項9】

前記記憶手段は、さらに、抗炎症性反応が亢進するか否かの情報を記憶する手段である請求項8に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項10】

患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を、表面プラズモン共鳴法、水晶振動子マイクロバランス法、及び1分子蛍光相関法からなる群より選択される測定方法を用いて測定して得られた活性型転写制御因子情報を取得する情報取得手段；及び

取得した活性型転写制御因子情報に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力する診断支援情報出力手段としてコンピュータを機能させる免疫システム異常疾患の診断支援情報出力プログラム。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0001

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0001】

本発明は、敗血症などの全身性炎症反応症候群（Systemic Inflammatory Response Syndrome（SIRS））、抗炎症反応症候群（Compensatory Anti-inflammatory response syndrome（CARS））等の免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置及び診断支援情報出力プログラムに関し、原因となるサイトカインの発現を転写段階で予測することにより数時間後に現れるであろう症状に関する診断支援情報を出力する診断支援情報出力装置及び診断支援情報出力プログラムに関する。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0011

【補正方法】変更

【補正の内容】

## 【0011】

本発明は、以上のような事情に鑑みてなされたものであり、その目的は、急激に症状が変化し得る免疫システム異常疾患の治療に際して、適切な診断支援情報を出力することができる免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置を提供することにある。また、本発明の他の目的は、コンピュータを免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置として機能させるための診断支援情報出力プログラムを提供することである。

## 【手続補正5】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0012

【補正方法】 削除

【補正の内容】

## 【手続補正6】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0013

【補正方法】 削除

【補正の内容】

## 【手続補正7】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0014

【補正方法】 削除

【補正の内容】

## 【手続補正8】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0015

【補正方法】 削除

【補正の内容】

## 【手続補正9】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0016

【補正方法】 削除

【補正の内容】

## 【手続補正10】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0017

【補正方法】 削除

【補正の内容】

## 【手続補正11】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0018

【補正方法】 削除

【補正の内容】

## 【手続補正12】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0024

【補正方法】 変更

【補正の内容】

## 【0024】

また、本発明の免疫システム異常疾患の診断支援情報出力プログラムは、患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を、表面プラズモン共

鳴法、水晶振動子マイクロバランス法、及び1分子蛍光相関法からなる群より選択される測定方法を用いて測定して得られた活性型転写制御因子情報を取得する情報取得手段；及び取得した活性型転写制御因子情報に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力する診断支援情報出力手段としてコンピュータを機能させるものである。

尚、本明細書にいう「活性型転写制御因子」とは、細胞質内に複合体として存在している状態の転写制御因子とは区別して用いられ用語で、サイトカインの発現にあたり関係する遺伝子を転写するために複合体から離脱して核内に移行した転写制御因子をいう。

【手続補正13】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0025

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0025】

本発明の診断支援情報出力装置は、症状が経時的に変化していくような免疫システムの異常疾患の患者から採取した試料に基づいて、数時間後におこる炎症の状態に関する診断支援情報を出力するので、好適な治療を施すことができ、また重篤な症状が現れる前に予防措置を採ることができる。

本発明の免疫システム異常疾患の診断支援情報出力プログラムは、患者から採取した試料に含まれる、症状が現れる原因となるサイトカインが発現する前の転写段階を制御している活性型転写制御因子量を測定して得られる活性型転写制御因子情報を取得し、さらに取得した情報に基づいて将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力できるように、コンピュータを機能させることができる。

【手続補正14】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0027

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0027】

【免疫システム異常疾患の診断支援方法】

免疫システム異常疾患の診断支援方法は、患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を測定する工程；及び測定された活性型転写制御因子の存在量に基づいて、将来の炎症の進行状態に関する情報を含む診断支援情報を出力する工程を備えている。

【手続補正15】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0028

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0028】

診断支援方法が対象とする免疫システム異常疾患としては、敗血症などの全身性炎症反応症候群（Systemic Inflammatory Response Syndrome（SIRS））、抗炎症反応症候群（Compensatory Anti-inflammatory response syndrome（CARs））等が挙げられ、特にSIRSが診断支援対象として適している。

【手続補正16】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0108

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0108】

本発明の免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置は、数時間後に発現されるサイトカインの予測結果に基づく情報を出力するので、症状や患者から採取した試料中に存在するサイトカインの測定といった従来の診断方法では適切な対処が困難であった、時事刻々と症状が変化する疾病、すなわち敗血症やSIRS等の免疫システム異常疾患について、数時間後に起る症状を予測して治療にあたる事が可能となる。

従って、本発明の診断支援情報出力装置を医療現場に設置しておくことにより、従来、正確な症状の原因把握が困難であった免疫システム異常疾患について、数時間後に起る症状に対する適切な治療方法の選択が可能となり、ひいては救命率の向上、ICU滞在時間を短縮化することが可能となる。

【手続補正書】

【提出日】平成20年2月26日(2008.2.26)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を、表面プラズモン共鳴法、水晶振動子マイクロバランス法、及び1分子蛍光相関法からなる群より選択される測定方法を用いて測定して得られた活性型転写制御因子情報を取得する情報取得手段；

ディスプレイ；及び

前記情報取得手段により取得した活性型転写制御因子情報に基づいて、将来の炎症性反応が亢進するか否かの情報および炎症性反応の治療方法の情報を含む診断支援情報を前記ディスプレイに表示する診断支援情報出力手段

を備えた免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置。

【請求項2】

前記診断支援情報が、炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報を含む請求項1に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項3】

前記治療方法の情報は、抗炎症剤の投与の情報を含む請求項1に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項4】

診断支援情報出力手段が、炎症性反応が亢進するか否かの情報を記憶する記憶手段；及び情報取得手段により取得された活性型転写制御因子情報と前記記憶手段に記憶された情報に基づいて炎症性反応が亢進するか否かを予測する予測手段を備え、

予測手段の予測結果に基づいて診断支援情報を出力する請求項1に記載の診断支援情報出力装置。

【請求項5】

請求項1～4のいずれか1項に記載の診断支援情報出力装置としてコンピュータを機能させる免疫システム異常疾患の診断支援情報出力プログラム。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0019】

本発明の免疫システム異常疾患の診断支援情報出力装置は、患者から採取した生物学的試料に含まれ、炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカインからなる群より選択されるサイトカインに特異的な活性型転写制御因子の存在量を、表面プラズモン共鳴法、水晶振動子マイクロバランス法、及び1分子蛍光相関法からなる群より選択される測定方法を用いて測定して得られた活性型転写制御因子情報を取得する情報取得手段；ディスプレイ；及び前記情報取得手段により取得した活性型転写制御因子情報に基づいて、将来の炎症性反応が亢進するか否かの情報および炎症性反応の治療方法の情報を含む診断支援情報を前記ディスプレイに表示する診断支援情報出力手段を備えている。

## 【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0020

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0020】

前記診断支援情報が、炎症性サイトカインの発現量が増加するか否かの情報を含むものであってもよい。

## 【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0021

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0021】

前記治療方法の情報は、抗炎症剤の投与の情報を含むことが好ましい。

## 【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0024

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0024】

また、本発明の免疫システム異常疾患の診断支援情報出力プログラムは、上記本発明の診断支援情報出力プログラムとして、コンピューターを機能させるものである。

尚、本明細書にいう「活性型転写制御因子」とは、細胞質内に複合体として存在している状態の転写制御因子とは区別して用いられ用語で、サイトカインの発現にあたり関係する遺伝子を転写するために複合体から離脱して核内に移行した転写制御因子をいう。

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2005/022453
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> GO1N33/53(2006.01), C12Q1/68(2006.01), GO1N5/02(2006.01), GO1N21/27(2006.01), GO1N21/64(2006.01), GO1N33/483(2006.01), GO1N33/543(2006.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) GO1N33/53(2006.01), C12Q1/68(2006.01), GO1N5/02(2006.01), GO1N21/27(2006.01), GO1N21/64(2006.01), GO1N33/483(2006.01), GO1N33/543(2006.01) 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 1996-2005 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2005 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2005 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPlus (STN), MEDLINE (STN)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/A	PENNER, "C/EBP DNA-binding activity is upregulated by a glucocorticoid-dependent mechanism in septic muscle", Am.J.Physiol. Regulatory Integrative Comp.Physiol., Vol.282, (2002), R439-R444, see Abstract	1-7,9-19/8
X/A	YANG, "Potential protective effect of NF-κB activity on the polymicrobial sepsis of rats preconditioning heat shock treatment", Clinica Chimica Acta, Vol.302, (2000), pages 11 to 22, See Abstract	1-7,9-19/8
A	JP 08-193854 A (Terumo Corp.), 30 July, 1996 (30.07.96) (Family: none)	8
<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 December, 2005 (27.12.05)		Date of mailing of the international search report 10 January, 2006 (10.01.06)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2005/022453

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2002-085089 A (Japan Science and Technology Corp.), 26 March, 2002 (26.03.02) & EP 1469309 A & US 2005-100904 A & WO 2003/060514 A	8
A	JP 2002-543414 A (Evotec OAI AG.), 17 December, 2002 (17.12.02) & DE 60001731 A & EP 1063502 A & EP 1254353 A & US 6376843 B & US 6927401 B & US 6965113 B & WO 2000/66985 A & WO 2001/59416 A	8

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 0 5 / 0 2 2 4 5 3										
<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl. G01N33/53 (2006.01), C12Q1/68 (2006.01), G01N5/02 (2006.01), G01N21/27 (2006.01), G01N21/64 (2006.01), G01N33/483 (2006.01), G01N33/543 (2006.01)</p>												
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl. G01N33/53 (2006.01), C12Q1/68 (2006.01), G01N5/02 (2006.01), G01N21/27 (2006.01), G01N21/64 (2006.01), G01N33/483 (2006.01), G01N33/543 (2006.01)</p>												
<p>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</p> <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>1971-2005年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2005年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2005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	1971-2005年	日本国実用新案登録公報	1996-2005年	日本国登録実用新案公報	1994-2005年		
日本国実用新案公報	1922-1996年											
日本国公開実用新案公報	1971-2005年											
日本国実用新案登録公報	1996-2005年											
日本国登録実用新案公報	1994-2005年											
<p>国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)</p> <p>CAplus (STN) MEDLINE (STN)</p>												
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>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</th> <th>関連する 請求の範囲の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X/ A</td> <td>PENNER, "C/EBP DNA-binding activity is upregulated by a glucocorticoid-dependent mechanism in septic muscle" Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol., Vol. 282 (2002) R439-R444, see Abstract.</td> <td>1-7, 9-19/ 8</td> </tr> <tr> <td>X/ A</td> <td>YANG, "Potential protective effect of NF-κB activity on the polymicrobial sepsis of rats preconditioning heat shock treatment" Clinica Chimica Acta, Vol. 302 (2000) p11-22, See Abstract</td> <td>1-7, 9-19/ 8</td> </tr> </tbody> </table>			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 請求の範囲の番号	X/ A	PENNER, "C/EBP DNA-binding activity is upregulated by a glucocorticoid-dependent mechanism in septic muscle" Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol., Vol. 282 (2002) R439-R444, see Abstract.	1-7, 9-19/ 8	X/ A	YANG, "Potential protective effect of NF-κB activity on the polymicrobial sepsis of rats preconditioning heat shock treatment" Clinica Chimica Acta, Vol. 302 (2000) p11-22, See Abstract	1-7, 9-19/ 8	
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 請求の範囲の番号										
X/ A	PENNER, "C/EBP DNA-binding activity is upregulated by a glucocorticoid-dependent mechanism in septic muscle" Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol., Vol. 282 (2002) R439-R444, see Abstract.	1-7, 9-19/ 8										
X/ A	YANG, "Potential protective effect of NF-κB activity on the polymicrobial sepsis of rats preconditioning heat shock treatment" Clinica Chimica Acta, Vol. 302 (2000) p11-22, See Abstract	1-7, 9-19/ 8										
<p><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。</p>												
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <table border="0"> <tr> <td>「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</td> <td>「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</td> </tr> <tr> <td>「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</td> <td>「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</td> </tr> <tr> <td>「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)</td> <td>「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</td> </tr> <tr> <td>「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td>「&amp;」同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</td> <td></td> </tr> </table>			「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	
「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												
<p>国際調査を完了した日</p> <p style="text-align: center;">27. 12. 2005</p>	<p>国際調査報告の発送日</p> <p style="text-align: center;">10. 01. 2006</p>											
<p>国際調査機関の名称及びあて先</p> <p>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</p>	<p>特許庁審査官 (権限のある職員)</p> <p style="text-align: center;">加々美 一恵</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3252</p>	<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">2 J</td> <td style="text-align: center;">9 4 0 8</td> </tr> </table>	2 J	9 4 0 8								
2 J	9 4 0 8											

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2005/022453
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 請求の範囲の番号
A	JP 08-193854 A (テルモ株式会社) 1996.07.30 (ファミリー無し)	8
A	JP 2002-085089 A (科学技術振興事業団) 2002.03.26 & EP 1469309 A & US 2005-100904 A & WO 2003/060514 A	8
A	JP 2002-543414 A (エポテック オーアーイー アクチェンゲゼル シャフト) 2002.12.17 & DE 60001731 A & EP 1063502 A & EP 1254353 A & US 6376843 B & US 6927401 B & US 6965113 B & WO 2000/66985 A & WO 2001/59416 A	8

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 蓮井 康嗣

兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号シスメックス株式会社内

(72)発明者 武田 和彦

兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号シスメックス株式会社内

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA11 AA20 BA21 CA12 HA11 HA13 HA14 HA20

4B063 QA01 QA19 QQ02 QQ08 QQ53 QQ79 QQ91 QR08 QR32 QR35

QR40 QR42 QR55 QR56 QR62 QS16 QS25 QS32 QS34 QS36

QS39 QX02

(注) この公表は、国際事務局(WIPO)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184条の10第1項(実用新案法第48条の13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)	用于免疫系统异常疾病的诊断支持信息输出装置和诊断支持信息输出程序		
公开(公告)号	<a href="#">JPWO2006062127A1</a>	公开(公告)日	2008-06-12
申请号	JP2006546732	申请日	2005-12-07
[标]申请(专利权)人(译)	希森美康株式会社		
申请(专利权)人(译)	希森美康公司		
[标]发明人	北島 勲 山根 弘 吉田 智一 蓮井 康嗣 武田 和彦		
发明人	北島 勲 山根 弘 吉田 智一 蓮井 康嗣 武田 和彦		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 C12Q1/02 C12Q1/68 C12N15/09		
CPC分类号	G01N33/6863 G01N21/553 G01N21/6428 G01N29/022 G01N2291/0255 G01N2291/0256 G01N2291/0426 G01N2800/24 G01N2800/26		
FI分类号	G01N33/53.ZNA.P G01N33/543.595 C12Q1/02 C12Q1/68.A C12N15/00.A		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/AA20 4B024/BA21 4B024/CA12 4B024/HA11 4B024/HA13 4B024/HA14 4B024/HA20 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ53 4B063/QQ79 4B063/QQ91 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR40 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QS16 4B063/QS25 4B063/QS32 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QS39 4B063/QX02		
优先权	2004357503 2004-12-10 JP		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

要解决的问题：考虑到从采样到诊断到确定治疗方法和治疗的时间间隔，要适当治疗免疫系统异常疾病，例如SIRS，其症状可能会迅速改变提供了用于异常免疫系统疾病的诊断支持方法和能够提出各种治疗方法的诊断支持信息输出设备。通过测量生物样品中炎症细胞因子或抗炎性细胞因子特异的活性转录调节因子，可输出有关炎症未来进展状态的诊断支持信息。[选择图]图8

【図 3】

