

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02011/099435

発行日 平成25年6月13日 (2013.6.13)

(43) 国際公開日 平成23年8月18日 (2011.8.18)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/574 (2006.01)	GO 1 N 33/574 A	
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 N	
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 4 1 B	
	GO 1 N 33/543 5 4 5 A	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 14 頁)

出願番号 特願2011-553822 (P2011-553822)	(71) 出願人 000003975 日東紡績株式会社 福島県福島市郷野目字東1番地
(21) 国際出願番号 PCT/JP2011/052481	
(22) 国際出願日 平成23年2月7日 (2011.2.7)	
(31) 優先権主張番号 特願2010-28387 (P2010-28387)	(74) 代理人 110000855 特許業務法人浅村特許事務所
(32) 優先日 平成22年2月12日 (2010.2.12)	
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	(74) 代理人 100066692 弁理士 浅村 皓
	(74) 代理人 100072040 弁理士 浅村 肇
	(74) 代理人 100088926 弁理士 長沼 暉夫
	(74) 代理人 100102897 弁理士 池田 幸弘

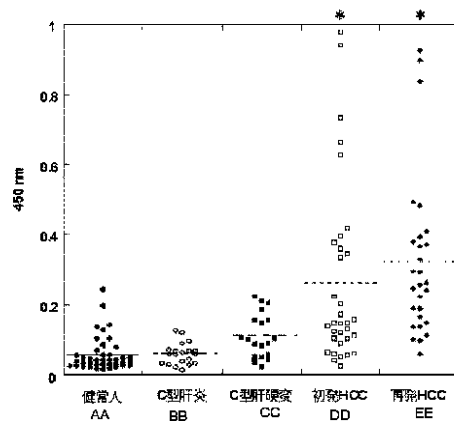
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 Ku86とその自己抗体との複合体の免疫測定方法、それに用いるキット及びそれを用いた癌判定方法

(57) 【要約】

検体中のKu86とその自己抗体との複合体に、Ku86に対する試薬抗体およびその自己抗体に対する結合可能物質を作用させ、得られる複合体と試薬抗体と結合可能物質との免疫複合物を測定することによりその複合体を測定することができ、それによって、原発性肝細胞癌、大腸癌、胃癌、膵臓癌、乳癌、肺癌および食道癌などのいずれかの癌であることを判定することができる。

【図1】



AA Healthy subject
 BB Hepatitis C
 CC Cirrhosis caused by hepatitis C
 DD Incipient HCC
 EE Recurrent HCC

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

検体中の K u 8 6 とその自己抗体との複合体を免疫測定することを特徴とする、検体中の K u 8 6 とその自己抗体との複合体の免疫測定方法。

【請求項 2】

検体中の K u 8 6 とその自己抗体との複合体に、K u 8 6 に対する試薬抗体およびその自己抗体に対する結合可能物質を作用させ、得られる複合体と試薬抗体と結合可能物質との免疫複合物を測定することによりその複合体を測定する、請求項 1 に記載の免疫測定方法。

【請求項 3】

試薬抗体および結合可能物質のいずれかが標識成分で標識されており、免疫複合物中の標識成分を測定して免疫複合物を測定することにより複合体を測定する、請求項 2 に記載の免疫測定方法。

【請求項 4】

検体中の K u 8 6 とその自己抗体との複合体に、水不溶性担体に結合している K u 8 6 に対する試薬抗体を作用させ、次いで、標識成分で標識されたその自己抗体に対する結合可能物質を作用させ、複合体と試薬抗体と結合可能物質との免疫複合物を生成させ、その免疫複合物に結合している標識成分を測定することによりその複合体を測定する、請求項 3 に記載の免疫測定方法。

【請求項 5】

その自己抗体に対する結合可能物質が、抗 I g G 抗体である、請求項 2 から 4 のいずれかに記載の免疫測定方法。

【請求項 6】

標識成分が酵素または放射性物質である、請求項 3 から 5 のいずれかに記載の免疫測定方法。

【請求項 7】

癌判定用である、請求項 1 から 6 のいずれかに記載の免疫測定方法。

【請求項 8】

癌が原発性肝細胞癌である、請求項 7 に記載の免疫測定方法。

【請求項 9】

検体が血液由来検体である、請求項 1 から 8 のいずれかに記載の免疫測定方法。

【請求項 10】

K u 8 6 に対する試薬抗体およびその自己抗体に対する結合可能物質を含む、K u 8 6 とその自己抗体との複合体の免疫測定用キット。

【請求項 11】

K u 8 6 とその自己抗体との複合体を測定することにより、癌であることを判定する、癌判定方法。

【請求項 12】

血液由来検体中の複合体を測定する、請求項 11 に記載の癌判定方法。

【請求項 13】

癌が原発性肝細胞癌、大腸癌、胃癌、膵臓癌、乳癌、肺癌および食道癌からなる群から選択される癌である、請求項 12 に記載の癌判定方法。

【請求項 14】

K u 8 6 とその自己抗体との複合体からなる、癌判定用マーカー。

【請求項 15】

血液由来検体を用いて判定するための、請求項 14 に記載の癌判定用マーカー。

【請求項 16】

癌が原発性肝細胞癌、大腸癌、胃癌、膵臓癌、乳癌、肺癌および食道癌からなる群から選択される癌である、請求項 14 に記載の癌判定用マーカー。

【発明の詳細な説明】

10

20

30

40

50

【技術分野】

【0001】

本発明は、Ku86とその自己抗体との複合体を測定するための免疫測定方法及び免疫測定用キットに関するものである。Ku86とその自己抗体との複合体は、特に担癌患者の血中に高値に出現するものであり、したがって、本発明は、Ku86とその自己抗体との複合体を単に測定する方法を提供するだけでなく、癌の判定にも利用することができる。

【背景技術】

【0002】

Ku86は、二重鎖DNA切断に関与する蛋白質であり、Ku70と共に、Kuと呼ばれるヘテロ二量体を形成し、そのKuヘテロ二量体は、DNA依存性プロテインキナーゼ等と共同で、二重鎖DNA切断を修復することができる（非特許文献1）

他方、アガロース2次元電気泳動に2D-DIGE法（two-dimensional fluorescence difference gel electrophoresis）を適用した改良アガロース2次元電気泳動法（非特許文献2）により、原発性肝細胞癌の癌部および周辺の非癌部組織の蛋白発現量の比較をプロテオーム解析により行ない、Ku86という蛋白質が癌部に多く発現されることが明らかになっている（非特許文献3）

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0003】

【非特許文献1】Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol.9, No.2, 832-837, 2002

【非特許文献2】Takeshi Tomonaga et al., Clin. Cancer Res. 2004;10:2007-2014

【非特許文献3】Masanori Seimiya et al., Hepatology 2008;48:519-30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明者らは、癌が疑われる患者または癌患者由来の組織検体中に存在する、Ku86の発現レベルを測定して、それらの組織の癌部と非癌部の判別することができることを見出した。

本発明者らは、さらに血液検体中のKu86の存在について研究を続けたところ、驚くべきことに、血液検体中にKu86とその自己抗体との複合体が存在する場合があります。癌患者の場合、その複合体の量が多いことを見出した。したがって、本発明の目的は、癌判定に応用することのできる、Ku86とその自己抗体との複合体の測定方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明者らは、検体中のKu86とその自己抗体との複合体を免疫測定することにより、該複合体を測定することができ、それによって癌判定が可能になることを見出し、本発明を完成させた。

従って、本発明は、検体中のKu86とその自己抗体との複合体を免疫測定することを特徴とする、検体中のKu86とその自己抗体との複合体の免疫測定方法に関する。

更に、本発明は、Ku86に対する試薬抗体およびその自己抗体に対する結合可能物質を含む、Ku86とその自己抗体との複合体の免疫測定用キットに関する。

更に、本発明は、Ku86とその自己抗体との複合体を測定することにより、癌であることを判定する、癌判定方法に関する。

更に、本発明は、Ku86とその自己抗体との複合体からなる、癌判定用マーカーに関する。

【発明の効果】

【0006】

10

20

30

40

50

本発明においては、検体中、特に、血液由来検体中に存在するKu86とその自己抗体との複合体を簡単に測定でき、原発性肝細胞癌、大腸癌、胃癌、膵臓癌、乳癌、肺癌および食道癌などの癌患者の判定に有効である。

【図面の簡単な説明】

【0007】

【図1】抗Ku86抗体を感作したELISAプレートを用いて健常人血清検体、C型肝炎患者血清検体、C型肝炎硬変患者血清検体、初発原発性肝細胞癌（以下、初発HCCということもある）患者血清検体および再発原発性肝細胞癌（以下、再発HCCということもある）患者血清検体においてKu86とその自己抗体との複合体を測定した結果である。なお、図中、横軸は疾患名を示し、縦軸は波長450nm光に対する吸光度を示している。また、アスタリスクは、健常人血清検体群、C型肝炎患者検体群またはC型肝炎硬変患者血清検体群との比較をした全ての場合に、Wilcoxonの2標本検定による有意差（ $p < 0.0001$ ）が存在する血清検体群を示している。

10

【図2】抗Ku86抗体を感作したELISAプレートを用いて健常人血清検体、初発HCC患者血清検体、大腸癌患者血清検体、胃癌患者血清検体、膵臓癌患者血清検体、乳癌患者血清検体、肺癌患者血清検体および食道癌患者血清検体においてKu86とその自己抗体との複合体を測定した結果である。なお、図中、横軸は疾患名を示し、縦軸は波長450nm光に対する吸光度を示している。また、アスタリスクは、健常人血清検体群との比較をした場合に、Wilcoxonの2標本検定による有意差（ $p < 0.0001$ ）が存在する血清検体群を示している。

20

【発明を実施するための形態】

【0008】

本発明のKu86とその自己抗体との複合体の免疫測定方法は、一般的な蛋白質とその抗体との免疫複合体の免疫測定方法で知られている公知の方法をそのまま、応用できる。

本発明の免疫測定方法においては、例えば、検体中のKu86とその自己抗体との複合体に、Ku86に対する試薬抗体およびその自己抗体に対する結合可能物質を作用させ、得られる複合体と試薬抗体と結合可能物質との免疫複合物を測定することによりその複合体を測定することができる。

【0009】

本発明において、検体とは、生体由来の試料が好適で、特に、血液由来検体が好適であり、血液検体としては、全血、血漿、血清を例示できる。

30

【0010】

本発明の免疫測定方法の測定対象は、Ku86とその自己抗体との複合体である。Ku86は、前記したとおり、二重鎖DNA切断に関与する蛋白質であり、その正式名は、ATP-dependent DNA helicase 2 subunit 2であり、別名としてXRCC5とも言われている。また、Ku86は、米国の国立生物工学情報センター（NCBI）の受け入れ番号（accession No）がgi-10863945である、732個のアミノ酸からなる82kDaの蛋白質である。

【0011】

本発明において、Ku86とその自己抗体との複合体とは、Ku86とKu86に対する自己抗体との免疫複合体を意味し、本明細書では単に複合体と記載することもある。

40

本発明において、自己抗体とは、自己の身体に存在する物質に対して自己の身体で産生される抗体であって、自己の身体に存在する物質がKu86であり、そのKu86に対する抗体をいう。

本発明において、Ku86に対する試薬抗体とは、試薬として用いるKu86と特異的に結合する抗体をいい、本明細書では単に試薬抗体と記載することもある。その試薬抗体は、その産生動物種としてヒト、マウス、ラット、ウサギ、ヤギ、ウマ等があり、それぞれに所定範囲の免疫グロブリンがある。その試薬抗体は、IgG、IgM、IgA、IgE、IgDのいずれでもよい。また、試薬抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、及びこれらの断片（抗原と結合能を有するもので例えば、H鎖、L鎖、Fab、F

50

(a b ')₂ 等) のいずれでもよい。このような試薬抗体は、K u 8 6 全長蛋白質またはその断片ペプチドを抗原として、上記した産生動物種に免疫して、その免疫動物から抗血清として得ることができ、また、免疫動物からの脾細胞とミエローマ細胞とを融合して、融合細胞から、K u 8 6 に対する抗体を産生する融合細胞をスクリーニングして、得られるハイブリドーマからモノクローナル抗体として得ることもできる。また、K u 8 6 に対する試薬抗体は、抗 K u 8 6 抗体として市販されており、それらの市販品を使用することもできる。

【 0 0 1 2 】

本発明において、その自己抗体に対する結合可能物質とは、K u 8 6 に対する自己抗体と結合可能な物質であれば特に限定しないが、本明細書では単に結合可能物質と記載することがある。この様な結合可能物質としては、抗 I g G 抗体、プロテイン A、プロテイン G、試薬としての K u 8 6 抗原を用いることができ、そのうち、抗 I g G 抗体が好ましい。

試薬としての K u 8 6 抗原を用いる場合、K u 8 6 に対する自己抗体と抗原抗体反応しうる抗原であれば特に限定しないが、K u 8 6 全長蛋白質、K u 8 6 全長蛋白質の変異体であって該蛋白質と同様の K u 8 6 に対する自己抗体と抗原抗体反応しうる機能を有し且つ該アミノ酸配列と 9 0 % 以上の相同性を有する蛋白質もしくは K u 8 6 全長蛋白質のアミノ酸配列において 1 個から数個のアミノ酸残基が欠失、置換もしくは付加したアミノ酸配列を有する蛋白質である変異体、K u 8 6 の断片ペプチドであって K u 8 6 の自己抗体と抗原抗体反応しうるペプチドを例示できる。K u 8 6 全長蛋白質は、A b n o v a 社より入手可能であるが、全アミノ酸配列が既知であるので、K u 8 6 全長蛋白質やその変異体は、遺伝子組換え技術によっても合成できる。本発明において K u 8 6 の断片ペプチドを用いるときは、K u 8 6 全長蛋白質を酵素分解等によって各種のペプチド断片に切断して作成してもよいし、市販の自動ペプチド合成装置を用いても容易に作成することができる。また、標的の K u 8 6 の断片ペプチドを遺伝子組み換え技術によっても作成することができる。

そのようにして得られた K u 8 6 全長蛋白質の変異体や断片ペプチドを、K u 8 6 に対する自己抗体と反応させ抗原抗体反応をするものを選択して試薬としての K u 8 6 抗原として用いることができる。本発明においては、上記した各ペプチド断片の全体のほか、その一部も使用できるし、それらの混合物も使用でき、これらも試薬としての K u 8 6 抗原に包含される。

【 0 0 1 3 】

本発明においては、検体中の K u 8 6 とその自己抗体との複合体に、K u 8 6 に対する試薬抗体およびその自己抗体に対する結合可能物質を作用させると、複合体と試薬抗体と結合可能物質との免疫複合物が生成する。その免疫複合物を測定するには、K u 8 6 に対する試薬抗体(試薬抗体)およびその自己抗体に対する結合可能物質(結合可能物質)のいずれかを標識成分で標識し、生成する免疫複合物中の標識成分を測定することによって、免疫複合物を測定するのが好ましい。

標識成分としては、酵素、放射性物質、蛍光物質、化学発光物質等常用される標識成分を使用することができるが、酵素や放射性物質が好ましい。

標識するための酵素としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ(H R P)、ウシ小腸アルカリフォスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、ウレアーゼ、グルコースオキシダーゼ等の酵素免疫分析法(E I A)に常用される酵素が適宜使用され、これらの酵素に適合し E I A で常用される発色基質が適宜使用される。発色基質としては、例えば H R P の場合は、3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン(T M B Z)、T M B Z · H C l、T M B Z · P S、A B T S、o-フェニレンジアミン、p-ヒドロキシフェニル酢酸等が使用され、アルカリフォスファターゼの場合は、p-ニトロフェニルフォスフェート、4-メチルウンベリフェリルフォスフェート等が使用され、 β -ガラクトシダーゼの場合は、o-ニトロフェニル- β -D-ガラクトピラノシド、4-メチルウンベリフェリル- β -D-ガラクトピラノシド等が使用される。

10

20

30

40

50

標識するための放射性物質としては放射性ヨウ素原子等を、蛍光物質としてはF I T C やローダミン等を、化学発光物質としてはルミノール等を例示することができる。

【0014】

本発明において標識成分を用いる場合、例えば、検体中のKu86とその自己抗体との複合体に、水不溶性担体に結合しているKu86に対する試薬抗体を作用させ、次いで、標識成分で標識されたその自己抗体に対する結合可能物質を作用させ、複合体と試薬抗体と結合可能物質との免疫複合物を生成させ、その免疫複合物に結合している標識成分を測定することによりその複合体を測定することが好ましい。また、検体中のKu86とその自己抗体との複合体に、その自己抗体に対する結合可能物質が結合した水不溶性担体を作用させ、次いで、標識成分で標識されたKu86に対する試薬抗体を作用させ、複合体と結合可能物質と試薬抗体との免疫複合物を生成させ、その免疫複合物に結合している標識成分を測定することによりその複合体を測定することもできる。

10

【0015】

水不溶性担体の調製は、蛋白質を固相面に結合する既知の方法を用いて容易に行うことができる。例えば、固相化担体としては、通常、ビーズ、マイクロプレート、チューブ等が用いられる。これらの固相面にKu86に対する試薬抗体を結合する方法としては、物理吸着、化学結合等既知の固定化技術が適宜利用できる。

このようにして固相化したKu86に対する試薬抗体に、Ku86とその自己抗体との複合体とを含む検体とを接触させると、複合体中のKu86部分と試薬抗体とが結合する。さらに、その結合物に対し、標識成分で標識されたその自己抗体に対する結合可能物質（例えば標識抗IgG抗体）を作用させると複合体と試薬抗体と結合可能物質との免疫複合物が生成する。その結果、生成する免疫複合物中の標識成分を測定することにより、検体中のKu86とその自己抗体との複合体を測定することができる。

20

上記と同様にして、固相化担体にKu86の自己抗体に対する結合可能物質を結合させて、固相化した結合可能物質に、Ku86とその自己抗体との複合体とを含む検体とを接触させて、複合体中の自己抗体部分と結合可能物質とを結合させ、さらに、その結合物に対し、標識成分で標識されたKu86に対する試薬抗体（例えば、抗Ku86抗体）を作用させて、複合体と結合可能物質と試薬抗体との免疫複合物を生成させて、同様にして、検体中のKu86とその自己抗体との複合体を測定することもできる。

【0016】

30

本発明の免疫測定方法の典型的な例を以下に示す。

プレートに抗Ku86抗体を加え、低温例えば4℃で静置して感作し、その後、PBS等の洗浄液で洗浄する。ついで、そのプレートをBSAでコーティングし、抗Ku86抗体ELISAプレートを作成する。希釈した検体を抗Ku86抗体ELISAプレートに加え、加温例えば37℃で静置し、次いでPBS等の洗浄液で洗浄をする。得られるプレートのウェルにHRP標識された抗ヒトIgG抗体を加え、加温例えば37℃で静置する。ついで、ウェルをPBS等の洗浄液で洗浄した後、TMBZを加え、例えば室温で静置した後、反応停止剤として1N硫酸を加える。吸光度はマイクロプレートリーダー（BioRad社製）を用いて、波長450nmにて吸光度を測定する。吸光度の値とあらかじめ作成しておいた検量線から、Ku86とその自己抗体との複合体の値を求める。

40

【0017】

本発明の測定方法は、Ku86に対する試薬抗体およびその自己抗体に対する結合可能物質を含む、Ku86とその自己抗体との複合体の免疫測定用キットにより実施することができる。そのためのKu86に対する試薬抗体、その自己抗体に対する結合可能物質は、本発明の測定方法で説明したとおりである。すなわち、例えば、Ku86に対する試薬抗体およびその自己抗体に対する結合可能物質のいずれかを水不溶性担体に結合させた形態で、他のいずれかを標識成分で標識した形態で、キットの試薬成分とすることができる。その他の試薬成分として、界面活性剤、緩衝剤等の免疫測定法で常用されるものを適宜、加えてもよい。

【0018】

50

本発明においては、Ku86とその自己抗体との複合体を測定することにより、癌判定をすることができる。

また、一般にKu86とその自己抗体との複合体の量が多いと、原発性肝細胞癌（原発性肝細胞癌、原発性胆管細胞癌など）、転移性肝癌等の肝癌、膀胱癌、乳癌、肺癌、卵巣癌、前立腺癌、甲状腺癌、皮膚癌などの癌が疑われ、本発明の測定方法によりKu86に対する自己抗体を測定することは、患者の癌疾患の判別に有効である。本発明の測定方法の利用は、原発性肝細胞癌、大腸癌、胃癌、膵臓癌、乳癌、肺癌および食道癌からなる群から選択される癌の判別に特に有効である。例えば、健常人と、初発原発性肝細胞癌患者、再発原発性肝細胞癌患者、大腸癌患者、胃癌患者、膵臓癌患者、乳癌患者、肺癌患者または食道癌患者との判別に有効である。また、本発明の測定方法を利用することにより、C型肝炎患者またはC型肝炎硬変等の肝臓疾患患者と、初発原発性肝細胞癌患者または再発原発性肝細胞癌患者等の原発性肝細胞癌患者との判別が可能である。

10

【0019】

以上の説明から明らかな通り、Ku86とその自己抗体との複合体は、癌判定用マーカーとなるものであり、例えば、原発性肝細胞癌（原発性肝細胞癌、原発性胆管細胞癌など）、転移性肝癌等の肝癌、膀胱癌、乳癌、肺癌、卵巣癌、前立腺癌、甲状腺癌、皮膚癌などの癌の判定用マーカーとして使用できるものである。また、Ku86とその自己抗体との複合体は、全血、血漿、血清などの血液由来検体を用いて癌を判定するマーカーとして好適なものである。

20

【実施例】

【0020】

以下、本発明を実施例により更に詳細に説明するが、本発明は、これら実施例に何ら制限されるものではない。

実施例 1

Ku86とその自己抗体との複合体の測定

健常人、C型肝炎患者、C型肝炎硬変患者、初発原発性肝細胞癌患者、再発原発性肝細胞癌患者、大腸癌患者、胃癌患者、膵臓癌患者、乳癌患者、肺癌患者および食道癌患者から採取した血清検体について、Ku86とその自己抗体との複合体の測定を、以下に具体的に説明するようにして行なった。

30

【0021】

1. 方法

(1) 抗Ku86抗体ELISAプレートの作成

ELISAプレート（Nunc社製，Maxisorp）に抗Ku86抗体として抗XRCC5抗体（Abnova社製，5 μ g/ml，100 μ L/well）を1晩4 \times 静置して感作し、その後、0.05% Tween 20を含むPBS（200 μ L/well）で3回洗浄を行った。ついで、1.5% BSA、10% サッカロースを含むPBS（200 μ L/well）で1晩コーティングし、抗Ku86抗体ELISAプレートを作成した。

【0022】

(2) Ku86とその自己抗体との複合体の測定

検出抗体としてHRP標識された抗ヒトIgG抗体（Zymed社製）を、0.05% Tween 20を含むPBSにて4000倍に希釈したものをを用いた。サンプル血清はPBSにて100倍に希釈した。その希釈したサンプルを抗Ku86抗体ELISAプレートに100 μ L/wellずつ加え、1時間37 $^{\circ}$ Cで静置し、その後、0.05% Tween 20を含むPBS（200 μ L/well）で3回洗浄を行った。得られるプレートのウェルに希釈したHRP標識された抗ヒトIgG抗体を100 μ L/wellずつ加え、30分間37 $^{\circ}$ Cで静置した。ついで、0.05% Tween 20を含むPBS（200 μ L/well）で3回洗浄した後、TMBZを100 μ L/wellずつ加え、10分間室温で静置の後、反応停止剤として100 μ L/wellの1N硫酸を加えた。吸光度はマイクロプレートリーダー（BioRad社製）を用いて、波長450nmにて測

40

50

定を行った。

なお、検体は健常人48例、C型肝炎患者19例、C型肝炎硬変患者18例、初発原発性肝細胞癌患者検体32症例、再発原発性肝細胞癌患者27例、大腸癌患者検体16例、胃癌患者16例、膵臓癌患者16例、乳癌患者16例、肺癌患者16例、食道癌患者16例を用いた。

【0023】

2. 結果

Ku86とその自己抗体との複合体を測定した結果を用いた結果を、図1および図2に示す。有意差検定はKaleidaGraph4.0を用い、Wilcoxonの2標本検定にて統計処理した。

10

図1に示すように、健常人群、C型肝炎群およびC型肝炎硬変群と比較し、初発原発性肝細胞癌患者検体群および再発原発性肝細胞癌患者検体群のKu86とその自己抗体との複合体量は、明らかな有意差を認められた。したがって、血中のKu86とその自己抗体との複合体の免疫測定は、肝臓疾患の中でも、原発性肝細胞癌の判別に特に有効であることが示された。

図2に示すように、健常人群と比較し、種々の癌患者検体群、すなわち、初発原発性肝細胞癌患者検体群、大腸癌患者検体群、胃癌患者検体群、膵臓癌患者検体群、乳癌患者検体群、肺癌患者検体群および食道癌患者検体群のKu86とその自己抗体との複合体量は、明らかな有意差を認められた。したがって、血中のKu86とその自己抗体との複合体の免疫測定は、種々の癌において、健常者と癌患者との判別に有効であることが示された。

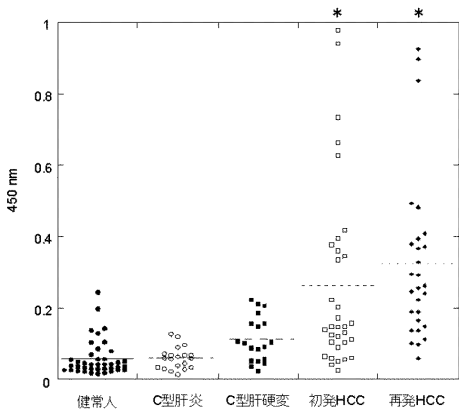
20

【産業上の利用可能性】

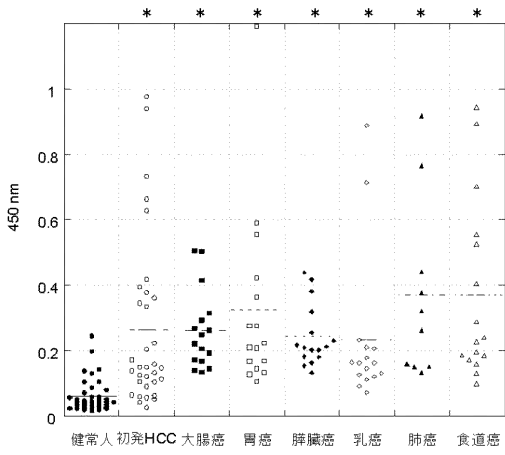
【0024】

以上に詳細に説明したように、血液由来検体などの検体中のKu86とその自己抗体との複合体に、Ku86に対する試薬抗体およびその自己抗体に対する結合可能物質を作用させ、得られる複合体と試薬抗体と結合可能物質との免疫複合物を測定することによりその複合体を測定することができ、それによって、原発性肝細胞癌、大腸癌、胃癌、膵臓癌、乳癌、肺癌および食道癌などの癌判定が可能である。

【 図 1 】



【 図 2 】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2011/052481
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N33/574(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N33/48-G01N33/98 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 1996-2011 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2011 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2011 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CA/BIOSIS/MEDLINE (STN), JSTPlus/JMEDPlus (JDreamII)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	YANEVA et al., Antibodies against Ku protein in sera from patients with autoimmune diseases, Clin.exp.Immunol. 1989, Vol.76, p.366-372	1-16
A	GULLO et al., The biology of Ku and its potential oncogenic role in cancer, Biochimica et Biophysica Acta, 2006, Vol.1765, p.223-234	1-16
A	Masanori SEIMIYA, "Genpatsusei Kansaibo Gan Soshiki no Proteome Kaiseki to Byori Soshiki Shindan eno Oyo", Rinsho Kagaku, 2009, vol.38, Supp.1, pages 5 to 6	1-16
<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 15 March, 2011 (15.03.11)		Date of mailing of the international search report 29 March, 2011 (29.03.11)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/052481

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SEIMIYA, Identification of Novel Immunohistochemical Tumor Markers for Primary Hepatocellular Carcinoma; Clathrin Heavy Chain and Formiminotransferase Cyclodeaminase, HEPATOLOGY, 2008, Vol.48, p.519-530	1-16

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2011/052481									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/574(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/48-G01N33/98											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2011年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2011年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2011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	1971-2011年	日本国実用新案登録公報	1996-2011年	日本国登録実用新案公報	1994-2011年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2011年										
日本国実用新案登録公報	1996-2011年										
日本国登録実用新案公報	1994-2011年										
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用了用語) CA/BIOSIS/MEDLINE (STN)、JSTPlus/JMEDPlus (JDreamII)											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号									
A	YANEVA et al., Antibodies against Ku protein in sera from patients with autoimmune diseases, Clin.exp.Immunol. 1989, Vol.76, p.366-372	1-16									
A	GULLO et al., The biology of Ku and its potential oncogenic role in cancer, Biochimica et Biophysica Acta, 2006, Vol.1765, p.223-234	1-16									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。											
* 引用文献のカテゴリー		の日の後に公表された文献									
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの		「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの									
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの		「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの									
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)		「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの									
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献									
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願											
国際調査を完了した日 15.03.2011		国際調査報告の発送日 29.03.2011									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 山村 祥子	2J 9217								
		電話番号 03-3581-1101 内線 3252									

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 1 / 0 5 2 4 8 1
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	清宮正徳, 原発性肝細胞癌組織のプロテオーム解析と病理組織診断への応用, 臨床化学, 2009, Vol. 38, Supp. 1, p. 5-6	1-16
A	SEIMIYA, Identification of Novel Immunohistochemical Tumor Markers for Primary Hepatocellular Carcinoma; Clathrin Heavy Chain and Formiminotransferase Cyclodeaminase, HEPATOLOGY, 2008, Vol. 48, p. 519-530	1-16

フロントページの続き

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, 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, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 小島 良

福島県郡山市富久山町福原塩島1 ニットーボーメディカル株式会社内

(72) 発明者 野田 健太

福島県郡山市富久山町福原塩島1 ニットーボーメディカル株式会社内

(72) 発明者 清宮 正徳

千葉県千葉市中央区亥鼻1丁目8番地1号 国立大学法人千葉大学 大学院医学研究院内

(72) 発明者 曾川 一幸

千葉県千葉市中央区亥鼻1丁目8番地1号 国立大学法人千葉大学 大学院医学研究院内

(72) 発明者 野村 文夫

千葉県千葉市中央区亥鼻1丁目8番地1号 国立大学法人千葉大学 大学院医学研究院内

(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)	Ku86及其自身抗体复合物的免疫测定方法，用于其的试剂盒和使用其的癌症测定方法		
公开(公告)号	JPWO2011099435A1	公开(公告)日	2013-06-13
申请号	JP2011553822	申请日	2011-02-07
[标]申请(专利权)人(译)	日东纺绩株式会社		
申请(专利权)人(译)	日东纺绩株式会社		
[标]发明人	小島良 野田健太 清宮正徳 曾川一幸 野村文夫		
发明人	小島良 野田健太 清宮正徳 曾川一幸 野村文夫		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/564 G01N33/57484 G01N2333/922 G01N33/536		
FI分类号	G01N33/574.A G01N33/53.N G01N33/543.541.B G01N33/543.545.A		
代理人(译)	池田幸		
优先权	2010028387 2010-02-12 JP		
其他公开文献	JP5765635B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

使针对Ku86的试剂抗体和能够与自身抗体结合的物质对样品中的Ku86及其自身抗体的复合物起作用，并且测量所得复合物，试剂抗体和能够结合的物质之间的免疫复合物。可以通过该方法测量复合物，并且可以确定癌症是任何癌症，例如原发性肝细胞癌，结肠癌，胃癌，胰腺癌，乳腺癌，肺癌和食道癌。

