

(19)日本国特許庁 (JP)

# 公開特許公報 (A) (11)特許出願公開番号

特開2003 - 315330

(P2003 - 315330A)

(43)公開日 平成15年11月6日(2003.11.6)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード <sup>8</sup> (参考)
G 0 1 N 33/493		G 0 1 N 33/493	A 4 B 0 6 3
C 1 2 Q 1/37		C 1 2 Q 1/37	
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/53	D

審査請求 未請求 請求項の数 4 書面 (全 3 数)

(21)出願番号 特願2002 - 154757(P2002 - 154757)

(71)出願人 598100346

横山 司甫

東京都清瀬市中清戸5 72 11 4

(22)出願日 平成14年4月19日(2002.4.19)

(72)発明者 横山 司甫

東京都清瀬市中清戸5 - 72 - 11 - 4

F ターム (参考) 4B063 QA01 QA18 QA19 QQ03 QQ79  
QR16 QR48 QR58 QS03 QS16  
QS36 QX02

(54)【発明の名称】測定試薬

(57)【要約】

で検出する。

【目的】本発明は、免疫異常・癌・炎症による婦人系・泌尿器系疾患を検出するための方法と試薬に関する。婦人系疾患・泌尿器系疾患では、患者は羞恥心により、触診や臨床観察を嫌い、発見が遅れがちである。又、小児では問診ができ難い。腎臓癌は、血尿により発見されることが多いが、乳幼児や小児期にみられるウイルムス腫瘍では、ジン機能にはあまり変化がなく、早期発見が困難である。その為、症状（腎部疼痛、腎部腫瘍、血尿）がかなり進んでから見つかることが多い。本発明は、生体液、特に尿中で婦人系疾患・泌尿器系疾患に伴い特異的に現れる酵素や抗体の初期検出を可能にする。同時に、患者さんの精神的負担も軽減する。

【構成】以下の通り、構成する。

イ、生体液、特に尿を試料として、分解酵素の基質を用いた方法（蛍光標識基質溶液、プレートにコート、ザイモグラフィー）で、酵素を検出する。

ロ、生体液、特に尿を試料として、分解酵素を免疫反応で検出する。

ハ、生体液、特に尿を試料として、特異抗体を免疫反応

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】免疫異常・癌・炎症等による婦人系・泌尿器系疾患を検出するために、生体液を試料として、分解酵素の基質を用いてその酵素を検出する方法と測定試薬。

【請求項2】基質が凍結乾燥状態である試薬を用いる請求項1。

【請求項3】免疫異常・癌・炎症による婦人系・泌尿器系疾患を検出するために、生体液、特に尿を試料として、分解酵素又はその一部分やペプタイドを抗原抗体反応で検出する方法と測定試薬。

【請求項4】免疫異常・癌・炎症等による婦人系・泌尿器系疾患を検出するために体液、特に尿を試料として、特異抗体を免疫反応で検出する方法と測定試薬。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、免疫異常・癌・炎症等による婦人系・泌尿器系疾患を検出する為に用いられる。

## 【0002】

【従来の技術】従来、免疫異常・癌・炎症等による婦人系・泌尿器系疾患を検出する為の指標として分解酵素や、尿中の特異抗体である抗タイプ4コラーゲン（含む；タイプ4コラーゲンの分画（NC1など）やペプタイド）抗体を検出する方法はなかった。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明者は、長い間、免疫異常・癌・炎症等による婦人系・泌尿器系疾患を検出する為に、分解酵素や、尿中の特異抗体である抗タイプ4コラーゲン抗体を検出する方法と測定試薬の開発に努めてきた。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】その結果、本発明者は、免疫異常・癌・炎症等による婦人系・泌尿器系疾患を検出する為に、分解酵素や、尿中の特異抗体である抗タイプ4コラーゲン抗体を検出する方法を、下記1、2として確立した。記載の酵素、抗体、測定方法及び試薬に限定されるものではない。

【0005】1免疫異常・癌・炎症等による婦人系・泌尿器系疾患を検出するために、分解酵素の基質を用いた方法（蛍光標識基質溶液、プレートに基質コート、ザイモグラフィー）で、酵素を検出する方法と測定試薬。

1) 分解酵素（例えばMMPs）の検出；生体液（組織液、培養液、唾液、血液尿、糞等）、特に尿を、蛍光標識した対応基質溶液（例えば熱変性した蛍光標識コラーゲン溶液/K21蛍光標識コラーゲン・コラーゲン技術研修会製、又は合成ペプタイド基質液）に加え、一定時間後、反応停止液（例えば、オルトフェナントリリン）で反応を止め、分解物を抽出液（例えばエタノール緩衝液）で抽出して、分解物の蛍光強度を測定する。

2) 分解酵素（例えばMMPs）の検出；生体液（組織液、培養液、唾液、血液尿、糞等）、特に尿を、蛍光標識した対応基質をコートしたマイクロプレート（例えば熱変性した蛍光標識コラーゲンをコート、又は合成ペプタイド基質をコート）に加え、一定時間後、酵素による分解物を含む上清液を採取して、分解物の蛍光強度を測定する。蛍光標識合成ペプタイド基質は、単なる蛍光標識合成ペプタイドでも良いが、基質に含ませて用いるのが望ましい。比較的分子量の大きい基質が分解された時、表出するからである。

3) 分解酵素（例えばMMPs）の検出；生体液（組織液、培養液、唾液、血液尿、糞等）、特に尿を検体として、分解酵素（例えばMMPs）をザイモグラフィーで検出する。基質含有ゲルには、蛍光標識基質（例えば熱変性した蛍光標識コラーゲン）や、蛍光標識合成ペプタイド基質を用いるのがより良い。検体尿を、熱変性した蛍光標識コラーゲンを含むポリアクリルアミドゲルに添加して電気泳動する。一定時間後ゲルを取り出し、紫外線トランスイルミネーター上で、基質の緑色蛍光を背景に、黒いバンドとして酵素が検出される。2免疫異常・癌・炎症等による婦人系・泌尿器系疾患を検出するためには、抗タイプ4コラーゲン抗体を検出する方法と測定試薬。

試薬として、1) タイプ4コラーゲンをコートしたプレート 2) 酵素標識抗ヒトIgG抗体 3) 発色基質（TM B、過酸化水素）4) 反応停止液（硫酸）を用いて測定する。

【0006】免疫反応として、酵素免疫反応に限定されず、AB法、RIA、免疫発光法、沈降反応、凝集反応他を含み、酵素標識の抗体としては、ポリクローナル又はモノクローナル抗体を問わず、又それを放射性物質、発光物質で標識した物、無標識物でも良い。反応形式は、サンドイッチ法に囚われず、競合他でも良い。プレートに替え、ガラス、磁性物質にても良く、無しにして固相法を用いないことでも良い。プレートにタイプ4コラーゲンをコートする時、コート物質をアビシン、ビオチン、又はこれらの結合した成分でも良い。又、タイプ4コラーゲンは、生体抽出物やリコンビナントのみでなく、構成ペプタイド（リコンビナント、NC1等の特定分画、合成品を含む）でも良い。用いるタイプ4コラーゲンの動物種としては、ヒトが望ましく、ウシ、ブタ、ニワトリ、羊他の動物でも良くこれに限定されない。更に、タイプ4コラーゲンは、複数種を混合したものでも良い。タイプ4コラーゲンの由来臓器は、腎臓が望ましいが、これに限定されない。更に第二抗体は、抗ヒトIgG抗体に限定されず、抗ヒトIgM抗体、抗ヒトIgA抗体、抗ヒトイムノグロブリン抗体でも良いが、抗ヒトIgG抗体の方が望ましい。測定対象がラットやマウスなどヒト以外の時は、前述のヒト用試薬成分を対象動物に合わせる。

(3)

3

特開2003-315330

4

【0007】

人系・泌尿器系疾患を検出するのに有用である。

【発明の効果】本発明は、免疫異常・癌・炎症による婦

专利名称(译)	测量试剂		
公开(公告)号	<a href="#">JP2003315330A</a>	公开(公告)日	2003-11-06
申请号	JP2002154757	申请日	2002-04-19
[标]申请(专利权)人(译)	横山 司甫		
申请(专利权)人(译)	横山 司甫		
[标]发明人	横山 司甫		
发明人	横山 司甫		
IPC分类号	G01N33/493 C12Q1/37 G01N33/53		
FI分类号	G01N33/493.A C12Q1/37 G01N33/53.D		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ79 4B063/QR16 4B063/QR48 4B063 /QR58 4B063/QS03 4B063/QS16 4B063/QS36 4B063/QX02 2G045/AA13 2G045/AA16 2G045/AA22 2G045/AA24 2G045/AA25 2G045/AA26 2G045/AA28 2G045/BB46 2G045/BB48 2G045/BB53 2G045 /CA25 2G045/CB01 2G045/CB03 2G045/CB04 2G045/CB07 2G045/DA20 2G045/DA36 2G045/DA77 2G045/DA78 2G045/FA27 2G045/FB01 2G045/FB03 2G045/FB05 2G045/FB07 2G045/FB08 2G045 /FB12 2G045/FB13 2G045/GC15 2G045/HA16		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

### 摘要(译)

要解决的问题：提供一种方法和试剂，用于检测由于免疫异常，癌症或炎症引起的妇科或泌尿系统疾病，解决了疾病的晚期检测问题，因为患有羞耻感的患者往往避免触诊或临床观察，或无法询问症状的儿童患者的问题，尽管大多数肾癌是由尿液中的血液检测到的，但通常不会检测到由于婴儿或儿童典型的病毒性肿瘤引起的故障，使得早期发现很难只有通过严重症状（肾脏疼痛，肾脏肿瘤，尿液中的血液）才能检测到癌症，通过基于生物液体，特别是尿液早期检测酶或特异性抗体，同时减轻患者的心理负担。解决方案：该方法包括通过使用来自生物流体，特别是尿液作为样品的分裂酶的底物的方法（荧光标记的底物溶液，平板涂布，酶谱法）检测酶的步骤；基于生物液体，特别是尿液作为样品的免疫反应检测裂解酶；从生物体液中检测特异性抗体，特别是尿液作为样品。」