

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6220222号  
(P6220222)

(45) 発行日 平成29年10月25日(2017.10.25)

(24) 登録日 平成29年10月6日(2017.10.6)

(51) Int.Cl.	F I
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 P
GO 1 N 33/564 (2006.01)	GO 1 N 33/53 N
	GO 1 N 33/564 Z

請求項の数 4 (全 25 頁)

(21) 出願番号	特願2013-223592 (P2013-223592)	(73) 特許権者	390014960 シスメックス株式会社 兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号
(22) 出願日	平成25年10月28日(2013.10.28)	(73) 特許権者	513271715 社会医療法人神鋼記念会 兵庫県神戸市中央区脇浜町1丁目4番47号
(65) 公開番号	特開2015-87128 (P2015-87128A)	(74) 代理人	100065248 弁理士 野河 信太郎
(43) 公開日	平成27年5月7日(2015.5.7)	(74) 代理人	100159385 弁理士 甲斐 伸二
審査請求日	平成28年3月16日(2016.3.16)	(74) 代理人	100163407 弁理士 金子 裕輔

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 関節リウマチの診断を補助するための方法、システム及びコンピュータプログラム製品

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

自己免疫疾患が疑われる関節の異状を示す被験者に由来する血液試料におけるMIP-1及びMIP-3 から選択される少なくとも1つのケモカインの濃度値を取得する工程と、  
前記ケモカインの濃度値と所定の閾値とを比較して、前記ケモカインの濃度値が前記所定の閾値以上である場合に、前記被験者が関節リウマチである可能性が高いという情報を取得し、前記ケモカインの濃度値が前記所定の閾値未満である場合に、前記被験者が関節リウマチである可能性が低いという情報を取得する工程と  
を含む、関節リウマチの診断を補助するための方法。

【請求項2】

自己免疫疾患が疑われる関節の異状を示す被験者に由来する血液試料におけるMIP-1及びMIP-3 から選択される少なくとも1つのケモカインの濃度値を取得する工程と、  
前記血液試料における抗環状シトルリン化ペプチド抗体(抗CCP抗体)の力価を取得する工程と、  
前記ケモカインの濃度値と第1の閾値とを比較し、且つ前記抗CCP抗体の力価と第2の閾値とを比較して、前記ケモカインの濃度値が前記第1の閾値以上であり且つ前記抗CCP抗体の力価が前記第2の閾値以上であるか、前記ケモカインの濃度値が前記第1の閾値以上であり且つ前記抗CCP抗体の力価が前記第2の閾値未満であるか又は前記ケモカインの濃度値が前記第1の閾値未満であり且つ前記抗CCP抗体の力価が前記第2の閾値以上である場合に、前記被験者が関節リウマチである可能性が高いという情報を取得し、

10

20

前記ケモカインの濃度値が前記第1の閾値未満であり且つ前記抗CCP抗体の力価が前記第2の閾値未満である場合に、前記被験者が関節リウマチである可能性が低いという情報を取得する工程と

を含む、関節リウマチの診断を補助するための方法。

【請求項3】

プロセッサ及び前記プロセッサの制御下にあるメモリを含むコンピュータを備え、前記メモリには、下記のステップ：

自己免疫疾患が疑われる関節の異状を示す被験者に由来する血液試料におけるMIP-1及びMIP-3 から選択される少なくとも1つのケモカインの濃度値を取得するステップと

10

前記ケモカインの濃度値と所定の閾値とを比較して、前記ケモカインの濃度値が前記所定の閾値以上である場合に、前記被験者が関節リウマチである可能性が高いという情報を提供し、前記ケモカインの濃度値が前記所定の閾値未満である場合に、前記被験者が関節リウマチである可能性が低いという情報を提供するステップと

を前記コンピュータに実行させるためのコンピュータプログラムが記録されている、関節リウマチの診断を補助するための情報の提供に適するシステム。

【請求項4】

コンピュータに読み取り可能な媒体を備え、前記媒体には、下記のステップ：

自己免疫疾患が疑われる関節の異状を示す被験者に由来する血液試料におけるMIP-1及びMIP-3 から選択される少なくとも1つのケモカインの濃度値を取得するステップと

20

前記ケモカインの濃度値と所定の閾値とを比較して、前記ケモカインの濃度値が前記所定の閾値以上である場合に、前記被験者が関節リウマチである可能性が高いという情報を提供し、前記ケモカインの濃度値が前記所定の閾値未満である場合に、前記被験者が関節リウマチである可能性が低いという情報を提供するステップと

を前記コンピュータに実行させるためのコンピュータプログラムが記録されている、関節リウマチの診断を補助するための情報の提供をコンピュータに実行させるためのコンピュータプログラム製品。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

本発明は、関節リウマチの診断を補助するための方法に関する。また、本発明は、関節リウマチの診断を補助するための情報を提供するためのシステム、及び該情報の提供をコンピュータに実行させるためのコンピュータプログラム製品にも関する。

【背景技術】

【0002】

関節リウマチは、関節炎を主な臨床症状とする全身性の自己免疫疾患である。関節リウマチでは、関節痛のみならず、軟骨及び骨の破壊も引き起こされる。関節リウマチによる関節破壊は、発症後2年以内に急速に進行することが知られている。一方で、この時期は、抗リウマチ薬による治療感受性が高いので、寛解導入のために治療を最も必要とする時期(Window of opportunity：治療機会の窓)とされている。よって、関節リウマチの治療には、早期の正確な診断が重要である。

40

【0003】

現在、関節リウマチの診断は、関節痛などの自覚症状、関節の腫脹の程度などの医師の所見、血清学的因子の検査、X線検査などに基づいて行われている。特に、血清学的因子の検査は、簡便で客観的な検査であるので、診断の補助に極めて有用である。この検査では、血清中のリウマチ因子(RF)及び抗環状シトルリン化ペプチド抗体(抗CCP抗体：ACPA)などの自己抗体の量が測定され、その測定結果は、米国リウマチ学会(American College of Rheumatology：ACR)及び欧州リウマチ学会(European League Against Rheumatism：EULAR)により提唱されたACR/EULAR診断基準においても重要な項目とされている。

50

## 【 0 0 0 4 】

RFは、関節リウマチ患者の約80%で陽性を示すが、残りの約20%の患者では陰性を示すので、RFの検査だけでは関節リウマチを診断することはできない。また、RFは、健常人や全身性エリテマトーデスのような他の自己免疫疾患の患者でも陽性を示す場合がある。これに対して、抗CCP抗体は、関節リウマチ以外の自己免疫疾患ではあまり認められない。また、抗CCP抗体は、発症早期の関節リウマチ患者にも認められることから、RFよりも関節リウマチの判別性能に優れたマーカーといえる。

## 【 0 0 0 5 】

しかし、その抗CCP抗体の検査でも感度は70%程度である。それゆえ、抗CCP抗体陰性と判定された被験者は、関節リウマチであるのか又は関節の異状を伴う他の自己免疫疾患であるのかの区別ができず、確定診断がされないまま経過観察となる場合がある。しかし、この被験者が実は関節リウマチ患者であった場合、治療機会の窓と呼ばれる時期に治療する機会を逸することとなる。それゆえ、臨床現場では、抗CCP抗体陰性と判定された被験者が関節リウマチであるか否かを判別する方法が求められている。

10

## 【 0 0 0 6 】

近年、関節リウマチの診断を補助するための新たなマーカーとして、サイトカインが着目されている。例えば、特許文献1には、関節リウマチを含む種々の自己免疫疾患の患者についてサイトカインを網羅的に測定し、これらの患者において高値を示す所定のサイトカインの組み合わせが開示されている。また、特許文献2には、抗CCP抗体およびIL-6の測定値を、統計学的な判別アルゴリズムを用いて組み合わせることにより、関節リウマチの有無を評価する方法が開示されている。なお、特許文献1および2に記載の判別法では、健常者や変形性関節症の患者を、関節リウマチ患者に対する対照としている。

20

## 【 0 0 0 7 】

また、ケモカインと関節リウマチとの関連を示唆する報告がなされている。例えば、非特許文献1には、滑液中のMIP-1 (macrophage inflammatory protein-1)の濃度が、変形性関節症の患者に比べ、関節リウマチ患者において高値であることが示されている。また、非特許文献2には、滑液中のMIP-3 (macrophage inflammatory protein-3)の濃度が、変形性関節症の患者に比べ、関節リウマチ患者において高値であることが示されている。

## 【 先行技術文献 】

30

## 【 特許文献 】

## 【 0 0 0 8 】

【 特許文献 1 】 国際公開第 2 0 0 5 / 0 2 9 0 9 1 号パンフレット

【 特許文献 2 】 国際公開第 2 0 0 5 / 0 6 4 3 0 7 号パンフレット

## 【 非特許文献 】

## 【 0 0 0 9 】

【 非特許文献 1 】 Hatano Y. ら、Ann Rheum Dis 1999; 58: 297-302

【 非特許文献 2 】 Ruth J.H. ら、Lab Invest 2003; 83: 579-588

## 【 発明の概要 】

## 【 発明が解決しようとする課題 】

40

## 【 0 0 1 0 】

上記の文献では、種々のサイトカイン及びケモカインが、自己抗体に代わる新たなマーカーとして関節リウマチの判定に用いられることが示されているように見えるが、これらの文献に示されているマーカーはいずれも、関節リウマチ患者と、健常者又は変形性関節症の患者との判別に関するものである。しかし、健常者はそもそも関節の異状がないので、関節リウマチの診断の対象とはならない。また、変形性関節症では関節の異状は認められるものの、その発症原因は自己免疫の異常ではなく、加齢や肥満などによる関節の変形や損傷である。そして、変形性関節症は、X線検査などの現行の検査によっても容易に関節リウマチと鑑別可能な疾患である。

## 【 0 0 1 1 】

50

このように、現時点では、関節リウマチ、特に抗CCP抗体陰性の関節リウマチと、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患との区別を可能にするマーカーは未だ見出されていない状況である。そこで、本発明は、そのような区別を可能にする新規マーカーを見出して、そのようなマーカーによって関節リウマチの診断を補助するための方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0012】

本発明者らは、鋭意検討の結果、血液試料中のMIP-1 及びMIP-3 の測定結果に基づいて、関節リウマチ、特に抗CCP抗体陰性の関節リウマチと、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患とを区別できることを見出して、本発明を完成した。

10

【0013】

よって、本発明は、

自己免疫疾患が疑われる関節の異状を示す被験者に由来する血液試料におけるMIP-1 及びMIP-3 から選択される少なくとも1つのケモカインを測定する工程と、

上記のケモカインの測定結果に基づいて、関節リウマチと、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患とを区別するための情報を取得する工程と

を含む、関節リウマチの診断を補助するための方法を提供する。

【0014】

また、本発明は、

自己免疫疾患が疑われる関節の異状を示す被験者に由来する血液試料におけるMIP-1 及びMIP-3 から選択される少なくとも1つのケモカインを測定する工程と、

20

上記の血液試料における抗環状シトルリン化ペプチド抗体(抗CCP抗体)を測定する工程と、

上記のケモカイン及び抗CCP抗体の測定結果に基づいて、関節リウマチと、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患とを区別するための情報を取得する工程と

を含む、関節リウマチの診断を補助するための方法を提供する。

【0015】

さらに、本発明は、プロセッサ及び該プロセッサの制御下にあるメモリを含むコンピュータを備え、該メモリには、下記のステップ：

自己免疫疾患が疑われる関節の異状を示す被験者に由来する血液試料におけるMIP-1 及びMIP-3 から選択される少なくとも1つのケモカインの測定結果を取得するステップと、

30

得られた測定結果に基づいて、上記の被験者についての関節リウマチの診断を補助するための情報を提供するステップと

を上記のコンピュータに実行させるためのコンピュータプログラムが記録されている、関節リウマチの診断を補助するための情報の提供に適するシステムを提供する。

【0016】

また、本発明は、コンピュータに読み取り可能な媒体を備え、該媒体には、下記のステップ：

自己免疫疾患が疑われる関節の異状を示す被験者に由来する血液試料におけるMIP-1 及びMIP-3 から選択される少なくとも1つのケモカインの測定結果を取得するステップと、

40

得られた測定結果に基づいて、上記の被験者についての関節リウマチの診断を補助するための情報を提供するステップと

を上記のコンピュータに実行させるためのコンピュータプログラムが記録されている、関節リウマチの診断を補助するための情報の提供をコンピュータに実行させるためのコンピュータプログラム製品を提供する。

【発明の効果】

【0017】

本発明によれば、関節リウマチと、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患とを区別するた

50

めの情報を取得することができるので、関節リウマチの診断を補助することを可能にする。

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1A】抗CCP抗体陰性の関節リウマチ患者群(ACPA<sup>-</sup>RA群)及び自己免疫疾患に関連する関節症を示す患者群(ArAD群)の血清におけるMIP-1 濃度を示す散布図、及びROC曲線である。

【図1B】ACPA<sup>-</sup>RA群及びArAD群の血清におけるMIP-3 濃度を示す散布図、及びROC曲線である。

【図1C】ACPA<sup>-</sup>RA群及びArAD群の血清におけるBLC濃度を示す散布図、及びROC曲線である。

10

【図1D】ACPA<sup>-</sup>RA群及びArAD群の血清におけるEotaxin濃度を示す散布図、及びROC曲線である。

【図1E】ACPA<sup>-</sup>RA群及びArAD群の血清におけるMIG濃度を示す散布図、及びROC曲線である。

【図1F】ACPA<sup>-</sup>RA群及びArAD群の血清におけるCTACK濃度を示す散布図、及びROC曲線である。

【図1G】ACPA<sup>-</sup>RA群及びArAD群の血清におけるIP-10濃度を示す散布図、及びROC曲線である。

【図1H】ACPA<sup>-</sup>RA群及びArAD群の血清におけるTNF- 濃度を示す散布図、及びROC曲線である。

20

【図1I】ACPA<sup>-</sup>RA群及びArAD群の血清におけるIL-6濃度を示す散布図、及びROC曲線である。

【図1J】ACPA<sup>-</sup>RA群及びArAD群の血清におけるIL-17A濃度を示す散布図、及びROC曲線である。

【図2A】抗CCP抗体陽性の関節リウマチ患者群(ACPA<sup>+</sup>RA群)及びArAD群の血清におけるMIP-1 濃度を示す散布図、及びROC曲線である。

【図2B】ACPA<sup>+</sup>RA群及びArAD群の血清におけるMIP-3 濃度を示す散布図、及びROC曲線である。

【図3】関節リウマチの診断を補助するための情報を提供するための判定装置の一例を示した概略図である。

30

【図4】図3の判定装置の機能構成を示すブロック図である。

【図5】図3に示された判定装置のハードウェア構成を示すブロック図である。

【図6A】図3に示された判定装置を用いた、関節リウマチの診断を補助するための情報を提供するための判定のフローチャートである。

【図6B】図3に示された判定装置を用いた、関節リウマチの診断を補助するための情報を提供するための判定のフローチャートである。

【発明を実施するための形態】

【0019】

本発明の関節リウマチの診断を補助するための方法(以下、単に「方法」ともいう)では、まず、自己免疫疾患が疑われる関節の異状を示す被験者に由来する血液試料におけるMIP-1 及びMIP-3 から選択される少なくとも1つのケモカインを測定する。

40

【0020】

本発明において、自己免疫疾患が疑われる関節の異状を示す被験者は、関節の腫脹、疼痛、炎症、強直、変形及び破壊など、自己免疫疾患の場合に発症しうる関節の異状が認められる者であればよいが、変形性関節症の患者は、本発明における被験者には含まれない。これは、変形性関節症が、X線検査などの現行の検査によって容易に関節リウマチと鑑別されることによる。よって、本発明の方法は、関節リウマチであるか又は関節の異状を伴う他の自己免疫疾患であるかの鑑別が困難な被験者に特に好適である。しかし、本発明の方法は、被験者を、抗CCP抗体の検査結果が陰性である者に限定するものではない。こ

50

れは、本発明において関節リウマチのマーカーとして用いられるMIP-1 及びMIP-3 が、抗CCP抗体陽性の関節リウマチと、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患とを高い精度で区別可能なマーカーであることによる。なお、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患(すなわち、関節リウマチ以外の自己免疫疾患)としては、例えば、ベーチェット病、強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、リウマチ性多発筋痛症及び成人スティル病などが挙げられる。

#### 【0021】

本発明に用いられる血液試料としては、上記の被験者から得られる血液(全血)、血清及び血漿が挙げられる。それらの中でも血清が特に好ましい。また、被験者の血液、血清又は血漿を適切な水性媒体で希釈して得られる希釈液を、血液試料として用いてもよい。そのような水性媒体は、ケモカインの測定を妨げない限り特に限定されず、例えば、水、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)などが挙げられる。

10

#### 【0022】

本発明の方法において測定されるケモカインは、MIP-1 及びMIP-3 から選択される少なくとも1つである。MIP-1 は、CCL3(C-C Chemokine Ligand 3)とも呼ばれ、マクロファージ、単球および樹状細胞の走化性因子として知られている。また、MIP-3 は、CCL20(C-C Chemokine Ligand 20)とも呼ばれ、樹状細胞およびCD45RO<sup>+</sup>記憶T細胞の走化性因子として知られている。当該技術において、MIP-1 及びMIP-3 のアミノ酸配列自体は公知であり、例えば、米国国立医学図書館の国立生物情報センター(National Center for Biotechnology Information: NCBI)により提供されるデータベース(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)などの公知のデータベースから知ることができる。NCBIのデータベースにおいては、MIP-1 のアミノ酸配列はアクセッション番号NM\_002983にて登録されており、MIP-3 のアミノ酸配列はアクセッション番号NM\_004591及びNM\_001130046にて登録されている。なお、これらのアクセッション番号は、本願出願時点において最新の番号である。

20

#### 【0023】

上記のケモカインの測定方法は、血液試料に含まれるMIP-1 及びMIP-3 の量を反映する値又は指標を取得できる方法であれば特に限定されず、当該技術において公知の測定方法から適宜選択することができる。本発明においては、血液試料中のMIP-1 及びMIP-3 の濃度値を取得することができる測定方法が特に好ましい。そのような測定方法としては、抗原抗体反応を利用した測定方法が好適であり、例えば、ELISA法、免疫沈降法、ウェスタンブロット法、アフィニティークロマトグラフィ法などが挙げられる。それらの中でも、ELISA法が特に好ましい。ELISA法を用いる場合は、例えば、次のようにしてケモカインの濃度値を取得することができる。まず、測定対象のケモカインについて濃度既知の希釈系列を調製し、これらの測定結果から検量線を作成する。そして、被験者の検体を測定に付し、得られた測定値を検量線にあてはめて、濃度値を取得する。

30

#### 【0024】

上記のケモカインの測定に用いられる抗体は、MIP-1 及びMIP-3 のそれぞれに特異的に結合することができる抗体であれば特に限定されない。そのような抗体は、モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体のいずれであってもよい。また、それらの抗体のフラグメント(例えば、Fab、F(ab')<sub>2</sub>など)を用いてもよい。なお、これらの抗体及び抗体フラグメントの作製方法は当該技術において公知である。

40

#### 【0025】

上記のケモカインの測定には、市販の抗体やサイトカイン(又はケモカイン)測定キットを用いてもよい。測定キットの具体例としては、Duoset ELISA測定用キット(R&D systems社)などが挙げられる。また、上記の抗体の代わりに、MIP-1 及びMIP-3 のそれぞれに特異的に結合することができるアプタマーを用いてもよい。なお、そのようなアプタマーの製造方法は公知であり、例えば、ランダムな塩基配列を有する核酸ライブラリーをSELEX(Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment)法に供することより、標的タンパク質に特異的に結合することができるアプタマーを選択することができる。

#### 【0026】

上記のケモカインの測定に用いられる抗体およびアプタマーは、当該技術において公知

50

の標識物質により標識されていてもよい。そのような標識物質としては、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^3\text{H}$ および $^{125}\text{I}$ などの放射性同位体、フルオレセイン、Alexa Fluor(登録商標)などの蛍光物質、アルカリフォスファターゼ、セイヨウワサビペルオキシダーゼなどの酵素、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジンなどが挙げられる。

【0027】

次いで、本発明の方法では、上記のケモカインの測定結果に基づいて、関節リウマチと、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患とを区別するための情報を取得する。そのような情報としては、被験者が関節リウマチである可能性が高いという情報又は関節リウマチである可能性が低い(すなわち、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患である可能性が高い)という情報が挙げられる。

10

【0028】

本発明においては、関節リウマチと、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患とを区別するための情報は、上記のケモカインの濃度値と所定の閾値とを比較することにより取得することが好ましい。ここで、閾値は、MIP-1 及びMIP-3 のそれぞれについて設定される。なお、各ケモカインについての閾値は特に限定されず、種々の血液試料についてのデータの蓄積により経験的に設定することができる。あるいは、次のようにして所定の閾値を設定してもよい。まず、関節リウマチ患者(特に抗CCP抗体陰性の患者)の血液試料及び関節の異状を伴う他の自己免疫疾患の患者の血液試料を測定に付して、MIP-1 及びMIP-3 の濃度値を取得する。次いで、得られた濃度値を、受信者動作特性(ROC)解析などで統計学的に解析することにより、関節リウマチ患者と関節の異状を伴う他の自己免疫疾患の患者とを高精度に区別し得る値を求め、その値を閾値として設定する。

20

【0029】

ケモカインの濃度値と所定の閾値との比較の結果、ケモカインの濃度値が所定の閾値以上である場合、被験者が関節リウマチである可能性が高いという情報を取得することができる。反対に、ケモカインの濃度値が所定の閾値未満である場合に、被験者が関節リウマチである可能性が低いという情報を取得することができる。本発明の方法は、このような情報の取得を可能にするので、被験者についての関節リウマチの診断を補助することができる。

【0030】

上記の本発明の方法は、抗CCP抗体の検査と組み合わせてもよい。そこで、関節リウマチの診断を補助する方法において、被験者の血液試料中の抗CCP抗体を測定する工程をさらに含む実施形態について、以下に説明する。

30

【0031】

本実施形態においては、自己免疫疾患が疑われる関節の異状を示す被験者に由来する血液試料におけるMIP-1 およびMIP-3 から選択される少なくとも1つのケモカインの測定が行われる。なお、被験者、血液試料、及びケモカインの測定については、上述したことと同様である。

【0032】

本実施形態においては、さらに、上記の血液試料における抗CCP抗体の測定が行われる。なお、上記のケモカインと抗CCP抗体との測定の順序は特に限定されない。したがって、ケモカインと抗CCP抗体とはいずれの順序で測定してもよいし、それらを同時に測定してもよい。抗CCP抗体の測定方法は、血液試料に含まれる抗CCP抗体の量を反映する値又は指標を取得できる方法であれば特に限定されないが、抗CCP抗体の単位容量当たりの活性単位(以下、「力価」とも呼ぶ)を取得することができる測定方法が特に好ましい。なお、現行の抗CCP抗体検査においては、抗CCP抗体と特異的に結合できる分子として合成CCPを用いる酵素免疫測定法(特にELISA法)によって、血清又は血漿中の抗CCP抗体の力価(units/mL)を測定することが主流となっているので、本発明の方法においてはこれに準ずることが望ましい。

40

【0033】

抗CCP抗体の測定には、市販の抗CCP抗体測定用試薬又はキットを用いてもよい。そのよ

50

うな試薬及びキットとしては、臨床検査や体外診断に用いるものとして承認されている試薬及びキットが好ましく、例えば、エクルーシス試薬Anti-CCP(Roche Diagnostics社)などが挙げられる。

【0034】

次いで、本実施形態においては、上記のケモカインおよび抗CCP抗体の測定結果に基づいて、関節リウマチと、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患とを区別するための情報を取得する。そのような情報としては、被験者が関節リウマチである可能性が高いという情報又は関節リウマチである可能性が低い(すなわち、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患である可能性が高い)という情報が挙げられる。

【0035】

本実施形態においては、関節リウマチと、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患とを区別するための情報は、上記のケモカインの濃度値と第1の閾値とを比較し、且つ抗CCP抗体の力価と第2の閾値とを比較することにより取得することが好ましい。ここで、第1の閾値は、MIP-1及びMIP-3のそれぞれについて設定される。なお、第1の閾値については、上述した所定の閾値と同様にして設定することができる。また、第2の閾値としては、現行の抗CCP抗体の検査と同じ基準値(4.5 units/mL)を用いることが望ましい。

【0036】

上記の比較の結果、ケモカインの濃度値が第1の閾値以上であり且つ抗CCP抗体の力価が第2の閾値以上であるか、ケモカインの濃度値が第1の閾値以上であり且つ抗CCP抗体の力価が第2の閾値未満であるか又はケモカインの濃度値が第1の閾値未満であり且つ抗CCP抗体の力価が第2の閾値以上である場合、被験者が関節リウマチである可能性が高いという情報を取得することができる。反対に、ケモカインの濃度値が第1の閾値未満であり且つ抗CCP抗体の力価が第2の閾値未満である場合、被験者が関節リウマチである可能性が低い(すなわち、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患である可能性が高い)という情報を取得することができる。このように、本実施形態では、抗CCP抗体の測定結果と、MIP-1及びMIP-3の測定結果とに基づいて、被験者について関節リウマチと、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患とを区別するための情報を取得することができる。

【0037】

本発明には、関節リウマチの診断を補助するための情報の提供に適するシステムも含まれる。そのようなシステムとしては、例えば、次のとおりである。

【0038】

プロセッサ及び該プロセッサの制御下にあるメモリを含むコンピュータを備え、該メモリには、下記のステップ:

自己免疫疾患が疑われる関節の異状を示す被験者に由来する血液試料におけるMIP-1及びMIP-3から選択される少なくとも1つのケモカインの測定結果を取得するステップと、

得られた測定結果に基づいて、上記の被験者についての関節リウマチの診断を補助するための情報を提供するステップと

を上記のコンピュータに実行させるためのコンピュータプログラムが記録されている、関節リウマチの診断を補助するための情報の提供に適するシステム。

【0039】

また、本発明には、関節リウマチの診断を補助するための情報の提供をコンピュータに実行させるためのコンピュータプログラム製品も含まれる。そのようなコンピュータプログラム製品としては、例えば、次のとおりである。

【0040】

コンピュータに読み取り可能な媒体を備え、該媒体には、下記のステップ:

自己免疫疾患が疑われる関節の異状を示す被験者に由来する血液試料におけるMIP-1及びMIP-3から選択される少なくとも1つのケモカインの測定結果を取得するステップと、

得られた測定結果に基づいて、上記の被験者についての関節リウマチの診断を補助する

10

20

30

40

50

ための情報を提供するステップと

を上記のコンピュータに実行させるためのコンピュータプログラムが記録されている、関節リウマチの診断を補助するための情報の提供をコンピュータに実行させるためのコンピュータプログラム製品。

【0041】

以下に、本発明の方法を実施するのに好適な装置の一形態を、図面を参照して説明する。しかし、本発明はこの実施形態のみに限定されるものではない。図3は、関節リウマチの診断を補助するための情報を提供するための判定装置の一例を示した概略図である。図3に示された判定装置1は、測定装置2と、該測定装置2と接続されたコンピュータシステム3とを含んでいる。

10

【0042】

本実施形態において、測定装置2は、標識抗体を用いるELISA法により生じるシグナルを検出するプレートリーダーである。本実施形態において、シグナルは、化学発光シグナルや蛍光シグナルなどの光学的情報である。抗原抗体反応を行ったELISAプレートを測定装置2にセットすると、測定装置2は、MIP-1及びMIP-3のそれぞれと特異的に結合した標識抗体に基づく光学的情報を取得し、得られた光学的情報をコンピュータシステム3に送信する。なお、測定装置2に取得される光学的情報には、濃度値の算出のための濃度既知の検体の情報も含まれている。また、抗CCP抗体も測定する場合は、測定装置2は、抗CCP抗体と結合した標識CCPに基づく光学的情報を取得し、得られた光学的情報をコンピュータシステム3に送信する。

20

【0043】

プレートリーダーは、MIP-1及びMIP-3のそれぞれと特異的に結合する抗体、及びCCPに用いた標識物質に基づくシグナルの検出が可能であれば特に限定されない。シグナルは標識物質によって異なることから、プレートリーダーは、標識物質の種類に応じて適宜選択することができる。例えば、標識物質が放射性物質である場合、測定装置2として、該放射性物質から生じる放射線を検出可能なプレートリーダーが用いられる。

【0044】

コンピュータシステム3は、コンピュータ本体3aと、入力デバイス3bと、検体情報、判定結果などを表示する表示部3cとを含む。コンピュータシステム3は、測定装置2から光学的情報を受信する。そして、コンピュータシステム3のプロセッサは、光学的情報に基づいて、被験者が関節リウマチである可能性が高いか否かを判定するプログラムを実行する。

30

【0045】

図4は、図3に示された判定装置の機能構成を示すブロック図である。図4に示されるように、コンピュータシステム3は、取得部301と、記憶部302と、算出部303と、判定部304と、出力部305とを備える。取得部301は、測定装置2と、ネットワークを介して通信可能に接続されている。なお、算出部303と判定部304とは、制御部306を構成している。

【0046】

取得部301は、測定装置2から送信された情報を取得する。記憶部302は、判定に必要な閾値、ケモカインの濃度値算出のための式及び抗CCP抗体の力価を算出するための式を記憶する。算出部303は、取得部301で取得された情報を用い、記憶部302に記憶された濃度値算出のための式にしたがって、ケモカインの濃度値を算出する。判定部304は、算出部303によって算出された濃度値と、記憶部302に記憶された閾値とに基づいて、被験者が関節リウマチである可能性が高いか否かを判定する。出力部305は、判定部304による判定結果を出力する。

40

【0047】

図5は、図3に示された判定装置のハードウェア構成を示すブロック図である。図5に示されるように、コンピュータ本体3aは、CPU(Central Processing Unit)30と、ROM(Read Only Memory)121と、ROM32と、ハードディスク33と、入出力イン

50

ターフェイス34と、読出装置35と、通信インターフェイス36と、画像出力インターフェイス37とを備えている。CPU30、ROM31、RAM(Random Access Memory)32、ハードディスク33、入出力インターフェイス34、読出装置35、通信インターフェイス36および画像出力インターフェイス37は、バス38によってデータ通信可能に接続されている。

【0048】

CPU30は、ROM31に記憶されているコンピュータプログラムおよびROM32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。CPU30がアプリケーションプログラムを実行することにより、上述した各機能ブロックが実現される。これにより、コンピュータシステムが、被験者が関節リウマチである可能性が高いか否かを判定する判定装置としての端末として機能する。

10

【0049】

ROM31は、マスクROM、PROM、EPROM、EEPROMなどによって構成されている。ROM31には、CPU30によって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が記録されている。

【0050】

ROM32は、SRAM、DRAMなどによって構成されている。ROM32は、ROM31およびハードディスク33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。ROM32はまた、これらのコンピュータプログラムを実行するときに、CPU30の作業領域として利用される。

20

【0051】

ハードディスク33は、CPU30に実行させるためのオペレーティングシステム、アプリケーションプログラム(被験者が関節リウマチである可能性が高いか否かを判定するためのコンピュータプログラム)などのコンピュータプログラムおよび当該コンピュータプログラムの実行に用いるデータがインストールされている。

【0052】

読出装置35は、フレキシブルディスクドライブ、CD-ROMドライブ、DVD-ROMドライブなどによって構成されている。読出装置35は、可搬型記録媒体40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。

【0053】

入出力インターフェイス34は、例えば、USB、IEEE1394、RS-232Cなどのシリアルインターフェイスと、SCSI、IDE、IEEE1284などのパラレルインターフェイスと、D/A変換器、A/D変換器などからなるアナログインターフェイスとから構成されている。入出力インターフェイス34には、キーボード、マウスなどの入力デバイス3bが接続されている。操作者は、当該入力デバイス3bを使用することにより、コンピュータ本体3aにデータを入力することが可能である。

30

【0054】

通信インターフェイス36は、例えば、Ethernet(登録商標)インターフェイスなどである。コンピュータシステム3は、通信インターフェイス36により、プリンタへの印刷データの送信が可能である。

40

【0055】

画像出力インターフェイス37は、LCD、CRTなどで構成される表示部3cに接続されている。これにより、表示部3cは、CPU30から与えられた画像データに応じた映像信号を出力することができる。表示部3c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。

【0056】

次に、判定装置1による、被験者が関節リウマチである可能性が高いか否かの判定の処理手順を説明する。図6Aは、図3に示された判定装置を用いた被験者が関節リウマチである可能性が高いか否かの判定のフローチャートである。ここでは、MIP-1 及びMIP-3のそれぞれと特異的に結合した標識抗体に基づく光学的情報から、ケモカインの濃度値を

50

取得し、得られた濃度値を用いて判定を行なう場合を例として挙げて説明する。しかし、本発明は、この実施形態のみに限定されるものではない。

【0057】

まず、ステップS1-1において、判定装置1の取得部301は、測定装置2から光学的情報を取得する。次に、ステップS1-2において、算出部303は、取得部301が取得した光学的情報から、記憶部302に記憶された濃度値を算出するための式にしたがって、ケモカインの濃度値を算出する。

【0058】

その後、ステップS1-3において、判定部304は、算出部303で算出された濃度値と、記憶部302に記憶された閾値とを用いて、被験者が関節リウマチである可能性が高いか否かを判定する。ここで、ケモカインの濃度値が閾値よりも低いとき、処理は、ステップS1-4に進行し、判定部304は、被験者が関節リウマチである可能性が低いことを示す判定結果を出力部305に送信する。また、ケモカインの濃度値が閾値よりも低くないとき(すなわち、ケモカインの濃度値が閾値以上であるとき)、処理は、ステップS1-5に進行し、判定部304は、被験者が関節リウマチである可能性が高いことを示す判定結果を出力部305に送信する。

10

【0059】

そして、ステップS1-6において、出力部305は、判定結果を出力し、表示部3cに表示させたり、プリンタに印刷させたりする。これにより、被験者が関節リウマチであるか否かを診断することを補助する情報を医師などに提供することができる。

20

【0060】

図6Bは、抗CCP抗体をさらに測定する場合のフローチャートである。ここでは、MIP-1及びMIP-3のそれぞれと特異的に結合した標識抗体、及び標識CCPに基づく光学的情報から、ケモカインの濃度値及び抗CCP抗体の力価を取得し、得られた濃度値及び力価を用いて判定を行なう場合を例として挙げて説明する。しかし、本発明は、この実施形態のみに限定されるものではない。

【0061】

まず、ステップS2-1において、判定装置1の取得部301は、測定装置2から光学的情報を取得する。次に、ステップS2-2において、算出部303は、取得部301が取得したケモカインについての光学的情報から、記憶部302に記憶された濃度値を算出するための式にしたがって、ケモカインの濃度値を算出する。また、ステップS2-3において、抗CCP抗体についての光学的情報から、記憶部302に記憶された力価を算出するための式にしたがって、抗CCP抗体の力価を算出する。

30

【0062】

その後、ステップS2-4において、判定部304は、算出部303で算出された濃度値と、記憶部302に記憶された第1の閾値とを比較する。ここで、ケモカインの濃度値が第1の閾値よりも低いとき、処理は、ステップS2-5に進行し、判定部304は、算出部303で算出された抗CCP抗体の力価と、記憶部302に記憶された第2の閾値とを用いて、被験者が関節リウマチである可能性が高いか否かを判定する。ここで、抗CCP抗体の力価が第2の閾値よりも低いとき、処理は、ステップS2-6に進行し、判定部304は、被験者が関節リウマチである可能性が低いことを示す判定結果を出力部305に送信する。

40

【0063】

ステップS2-4においてケモカインの濃度値が第1の閾値よりも低くないとき(すなわち、ケモカインの濃度値が第1の閾値以上であるとき)、処理は、ステップS2-7に進行し、判定部304は、被験者が関節リウマチである可能性が高いことを示す判定結果を出力部305に送信する。また、ステップS2-5において、抗CCP抗体の力価が第2の閾値よりも低くないとき(すなわち、抗CCP抗体の力価が第2の閾値以上であるとき)、処理は、ステップS2-7に進行し、判定部304は、被験者が関節リウマチである可能性が高いことを示す判定結果を出力部305に送信する。なお、本実施形態においては、

50

ステップS 2 - 4とステップS 2 - 5との判定ステップは順番を入れ替えることができる。

【0064】

そして、ステップS 2 - 8において、出力部305は、判定結果を出力し、表示部3cに表示させたり、プリンタに印刷させたりする。これにより、被験者が関節リウマチであるか否かを診断することを補助する情報を医師などに提供することができる。

【0065】

以下に、本発明を実施例により詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

【実施例】

【0066】

実施例1： 関節リウマチ患者と健常者及び非関節リウマチ患者との間の血清中マーカー濃度の比較

本実施例では、MIP-1及びMIP-3が、関節リウマチ患者と健常者及び非関節リウマチ患者とを区別可能なマーカーであるか否かを調べるために、各種の血清におけるマーカー濃度を比較した。ここで、「非関節リウマチ患者」とは、関節リウマチではないが、関節の異状を伴う疾患の患者を指す。また、対照として、関節リウマチの既知マーカーであるTNF-、IL-6及びIL-17A、並びにケモカインであるBLC、Eotaxin、MIG、CTACK及びIP-10について同様の試験を行った。

【0067】

1. 血液試料

関節リウマチ患者由来の血液試料として、関節リウマチ患者(104名)の血清を用いた。なお、これらの関節リウマチ患者の血清は、日本国内の2つの医療施設から入手した(以下、これら2つの医療施設のうちの一方を「施設A」と呼び、他方を「施設B」と呼ぶ)。また、非関節リウマチ患者由来の血液試料として、ベーチェット病患者(6名)、強直性脊椎炎患者(2名)、乾癬性関節炎患者(3名)、リウマチ性多発筋痛症患者(9名)、成人スティル病患者(8名)及び変形性関節炎患者(5名)の血清を用いた。これらの非関節リウマチ患者の血清はいずれも施設Bから入手した。さらに、健常者由来の血液試料として、健常ボランティア(43名)から得た血清を用いた。

【0068】

上記の関節リウマチ患者を、StatFlex V6.0(株式会社アーテック)を用いた無作為抽出により、施設ごとに2群に分けた。すなわち、施設Aの関節リウマチ患者をRA(A1)群及びRA(A2)群に分け、施設Bの関節リウマチ患者をRA(B1)群及びRA(B2)群に分けた。そして、RA(A2)群及びRA(B2)群を合わせて、RA(C1)群とした。なお、便宜上、本実施例1では、上記の非関節リウマチ患者の群をNon-RA群と呼び、上記の健常者の群をHC群と呼ぶ。各群の被験者数を表1に示す。

【0069】

10

20

30

【表1】

疾患名	群	被験者数
健常者	HC	43
ベーチェット病	Non-RA	33
強直性脊椎炎		
乾癬性関節炎		
リウマチ性多発筋痛症		
成人スティル病		
変形性関節炎		
関節リウマチ	RA(A1)	29
	RA(B1)	22
	RA(C1)	53

10

## 【0070】

## 2. ELISA法によるマーカーの測定

上記の血清試料中の各マーカーを、後述のELISA法により測定した。

20

## (2-1)MIP-1 の測定

MIP-1 の測定には、ELISA測定用キットDuoset(DY270)(R&D systems社)を用いた。具体的には、次のようにして測定を行った。384ウェルELISAプレートの各ウェルに抗体希釈液(0.4 µg/mL固相抗体, 0.05% NaN<sub>3</sub>, PBS pH7.4)を50 µLずつ添加し、4 にて一晩で抗体を固相化した。プレートを洗浄バッファー(0.05% Tween20, 0.05% NaN<sub>3</sub>, PBS pH7.4)で3回洗浄し、ブロッキングバッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05% Tween20, 0.05% NaN<sub>3</sub>, PBS pH7.4)を各ウェルに100 µLずつ添加して、室温にて2時間以上ブロッキングした。プレートの各ウェルに、ELISA希釈バッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05% NaN<sub>3</sub>, PBS pH7.4)で4倍希釈した血清を50 µLずつ添加し、4 にて一晩反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルに標識抗体液(0.2 µg/mL標識抗体, 1% BSA, 0.5% Casein, 0.05% NaN<sub>3</sub>, PBS pH7.4)を50 µLずつ添加し、室温にて2時間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルにアルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジン液(1:1000希釈Streptavidin-Alkaline Phosphatase [R&D systems AR001], 1% BSA, 0.5% Casein, 0.05% NaN<sub>3</sub>, PBS PH7.4)を50 µLずつ添加し、20分間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、さらにALP活性化バッファー(20 mM Tris, 10 mM MgCl, pH9.8)で1回洗浄した。プレートの各ウェルに基質(CDP-Star(登録商標) Ready-to-use Sapphire II, Tropix社)を50 µLずつ添加し、発光シグナルを化学発光検出装置(FLUO star OPTIMA BMG, LabTech社製)で検出した。

30

## 【0071】

## (2-2)MIP-3 の測定

MIP-3 の測定には、ELISA測定用キットDuoset(DY210)(R&D systems社)を用いた。具体的には、次のようにして測定を行った。96ウェルELISAプレートの各ウェルに抗体希釈液(2 µg/mL固相抗体, PBS pH7.4)を100 µLずつ添加し、4 にて一晩で抗体を固相化した。プレートを洗浄バッファーで4回洗浄し、ブロッキングバッファー(1% BSA, 0.05% Tween 20, 0.05% NaN<sub>3</sub>, PBS pH7.4)を各ウェルに250 µLずつ添加して、室温にて2時間以上ブロッキングした。プレートの各ウェルに、ELISA希釈バッファー(1% BSA, 0.05% NaN<sub>3</sub>, PBS pH7.4)で4倍希釈した血清を100 µLずつ添加し、4 にて一晩反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルに標識抗体液(0.5 µg/mL標識抗体, 1% BSA, 0.05% NaN<sub>3</sub>, PBS pH7.4)を100 µLずつ添加し、室温にて2時間反応させた

40

50

。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルにアルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジン液(1:1000希釈Streptavidin-Alkaline Phosphatase, 1% BSA, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、20分間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、さらにALP活性化バッファーで1回洗浄した。プレートの各ウェルに基質(CDP-Star(登録商標) Ready-to-use Sapphire II)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、発光シグナルを化学発光検出装置(FLUO star OPTIMA BMG)で検出した。

#### 【0072】

##### (2-3)TNF- の測定

TNF- の測定には、ELISA測定用キットDuoset(DY360)(R&D systems社)を用いた。具体的には、次のようにして測定を行った。384ウェルELISAプレートの各ウェルに抗体希釈液(4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 固相抗体, PBS pH7.4)を50  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、4 にて一晩で抗体を固相化した。プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、ブロッキングバッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05% Tween20, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を各ウェルに100  $\mu\text{L}$ ずつ添加して、室温で2時間以上ブロッキングした。プレートの各ウェルに、ELISA希釈バッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)で100倍希釈した血清を50  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、4 で一晩反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルに標識抗体液(0.35  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標識抗体, 1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を50  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、室温にて2時間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルにアルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジン液(1:1000希釈Streptavidin-Alkaline Phosphatase, 1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を50  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、20分間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、さらにALP活性化バッファーで1回洗浄した。プレートの各ウェルに基質(CDP-Star(登録商標) Ready-to-use Sapphire II)を50  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、発光シグナルを化学発光検出装置(FLUO star OPTIMA BMG)で検出した。

#### 【0073】

##### (2-4)IL-6の測定

IL-6の測定には、ELISA測定用キットDuoset(DY206)(R&D systems社)を用いた。具体的には、次のようにして測定を行った。96ウェルELISAプレートの各ウェルに抗体希釈液(2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 固相抗体, PBS pH7.4)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、4 にて一晩で抗体を固相化した。プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、ブロッキングバッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05% Tween20, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を各ウェルに250  $\mu\text{L}$ ずつ添加して、室温で2時間以上ブロッキングした。プレートの各ウェルに、ELISA希釈バッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)で4倍希釈した血清を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、4 で一晩反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルに標識抗体液(0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標識抗体, 1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、室温にて2時間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルにアルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジン液(1:1000希釈Streptavidin-Alkaline Phosphatase, 1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、20分間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、さらにALP活性化バッファーで1回洗浄した。プレートの各ウェルに基質(CDP-Star(登録商標) Ready-to-use Sapphire II)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、発光シグナルを化学発光検出装置(FLUO star OPTIMA BMG)で検出した。

#### 【0074】

##### (2-5)IL-17Aの測定

IL-17Aの測定には、固相抗体として64CAP17eBio(eBioscience社)及び標識抗体として64DEC17eBio(eBioscience社)を用いた。具体的には、次のようにして測定を行った。384ウェルELISAプレートの各ウェルに抗体希釈液(1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 固相抗体, PBS pH7.4)を50  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、4 にて一晩で抗体を固相化した。プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、ブロッキングバッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05% Tween20, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を各ウェルに100  $\mu\text{L}$ ずつ添加して、室温で2時間以上ブロッキングした。プレートの各ウェ

ルに、ELISA希釈バッファー(1% BSA,0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)で100倍希釈した血清を50  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、4 で一晩反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルに標識抗体液(0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標識抗体, 1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を50  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、室温にて2時間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルにアルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジン液(1:1000希釈Streptavidin-Alkaline Phosphatase, 1% BSA,0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を50  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、20分間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、さらにALP活性化バッファーで1回洗浄した。プレートの各ウェルに基質(CDP-Star(登録商標) Ready-to-use Sapphire II)を50  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、発光シグナルを化学発光検出装置(FLUO star OPTIMA BMG)で検出した。

10

【0075】

## (2-6)BLCの測定

BLCの測定には、ELISA測定用キットDuoset(DY801)(R&D systems社)を用いた。具体的には、次のようにして測定を行った。96ウェルELISAプレートの各ウェルに抗体希釈液(2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 固相抗体, PBS pH7.4)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、4 にて一晩で抗体を固相化した。プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、ブロッキングバッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05% Tween20, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を各ウェルに250  $\mu\text{L}$ ずつ添加して、室温で2時間以上ブロッキングした。プレートの各ウェルに、ELISA希釈バッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)で4倍希釈した血清を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、4 で一晩反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルに標識抗体液(0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標識抗体, 1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、室温にて2時間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルにアルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジン液(1:1000希釈Streptavidin-Alkaline Phosphatase, 1% BSA,0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、20分間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、さらにALP活性化バッファーで1回洗浄した。プレートの各ウェルに基質(CDP-Star(登録商標) Ready-to-use Sapphire II)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、発光シグナルを化学発光検出装置(FLUO star OPTIMA BMG)で検出した。

20

【0076】

## (2-7)Eotaxinの測定

Eotaxinの測定には、ELISA測定用キットDuoset(DY420)(R&D systems社)を用いた。具体的には、次のようにして測定を行った。96ウェルELISAプレートの各ウェルに抗体希釈液(2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 固相抗体, PBS pH7.4)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、4 にて一晩で抗体を固相化した。プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、ブロッキングバッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05% Tween20, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を各ウェルに250  $\mu\text{L}$ ずつ添加して、室温で2時間以上ブロッキングした。プレートの各ウェルに、ELISA希釈バッファー(1% BSA,0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)で4倍希釈した血清を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、4 で一晩反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルに標識抗体液(0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標識抗体, 1% BSA,0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、室温にて2時間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルにアルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジン液(1:1000希釈Streptavidin-Alkaline Phosphatase, 1% BSA,0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、20分間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、さらにALP活性化バッファーで1回洗浄した。プレートの各ウェルに基質(CDP-Star(登録商標) Ready-to-use Sapphire II)を100  $\mu\text{L}$ ずつ添加し、発光シグナルを化学発光検出装置(FLUO star OPTIMA BMG)で検出した。

30

40

【0077】

## (2-8)MIGの測定

MIGの測定には、ELISA測定用キットDuoset(DY392)(R&D systems社)を用いた。具体的には、次のようにして測定を行った。96ウェルELISAプレートの各ウェルに抗体希釈液(1  $\mu\text{g}$

50

/mL固相抗体, PBS pH7.4)を100  $\mu$ Lずつ添加し、4 にて一晩で抗体を固相化した。プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、ブロッキングバッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05% Tween20, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を各ウェルに250  $\mu$ Lずつ添加して、室温で2時間以上ブロッキングした。プレートの各ウェルに、ELISA希釈バッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)で4倍希釈した血清を100  $\mu$ Lずつ添加し、4 で一晩反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルに標識抗体液(0.2  $\mu$ g/mL標識抗体, 1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を100  $\mu$ Lずつ添加し、室温にて2時間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルにアルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジン液(1:1000希釈 Streptavidin-Alkaline Phosphatase, 1% BSA, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を100  $\mu$ Lずつ添加し、20分間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、さらにALP活性化バッファーで1回洗浄した。プレートの各ウェルに基質(CDP-Star(登録商標) Ready-to-use Sapphire II)を100  $\mu$ Lずつ添加し、発光シグナルを化学発光検出装置(FLUO star OPTIMA BMG)で検出した。

10

【0078】

## (2-9)CTACKの測定

CTACKの測定には、ELISA測定用キットDuoset(DY376)(R&D systems社)を用いた。具体的には、次のようにして測定を行った。96ウェルELISAプレートの各ウェルに抗体希釈液(4  $\mu$ g/mL固相抗体, PBS pH7.4)を100  $\mu$ Lずつ添加し、4 にて一晩で抗体を固相化した。プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、ブロッキングバッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05% Tween20, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を各ウェルに250  $\mu$ Lずつ添加して、室温で2時間以上ブロッキングした。プレートの各ウェルに、ELISA希釈バッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)で4倍希釈した血清を100  $\mu$ Lずつ添加し、4 で一晩反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルに標識抗体液(0.075  $\mu$ g/mL標識抗体, 1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を100  $\mu$ Lずつ添加し、室温にて2時間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルにアルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジン液(1:1000希釈 Streptavidin-Alkaline Phosphatase, 1% BSA, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を100  $\mu$ Lずつ添加し、20分間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、さらにALP活性化バッファーで1回洗浄した。プレートの各ウェルに基質(CDP-Star(登録商標) Ready-to-use Sapphire II)を100  $\mu$ Lずつ添加し、発光シグナルを化学発光検出装置(FLUO star OPTIMA BMG)で検出した。

20

30

【0079】

## (2-10)IP-10の測定

IP-10の測定には、ELISA測定用キットDuoset(DY266)(R&D systems社)を用いた。具体的には、次のようにして測定を行った。384ウェルELISAプレートの各ウェルに抗体希釈液(2  $\mu$ g/mL固相抗体, PBS pH7.4)を50  $\mu$ Lずつ添加し、4 にて一晩で抗体を固相化した。プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、ブロッキングバッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05% Tween20, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を各ウェルに100  $\mu$ Lずつ添加して、室温で2時間以上ブロッキングした。プレートの各ウェルに、ELISA希釈バッファー(1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)で100倍希釈した血清を50  $\mu$ Lずつ添加し、4 で一晩反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルに標識抗体液(0.05  $\mu$ g/mL標識抗体, 1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を50  $\mu$ Lずつ添加し、室温にて2時間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄した。プレートの各ウェルにアルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジン液(1:1000希釈 Streptavidin-Alkaline Phosphatase, 1% BSA, 0.5% Casein, 0.05%  $\text{NaN}_3$ , PBS pH7.4)を50  $\mu$ Lずつ添加し、20分間反応させた。そして、プレートを洗浄バッファーで3回洗浄し、さらにALP活性化バッファーで1回洗浄した。プレートの各ウェルに基質(CDP-Star(登録商標) Ready-to-use Sapphire II)を50  $\mu$ Lずつ添加し、発光シグナルを化学発光検出装置(FLUO star OPTIMA BMG)で検出した。

40

50

## 【 0 0 8 0 】

## 3 . 血清中のマーカー濃度の取得

各マーカーについて、濃度既知のスタンダードの発光シグナル(RLU)から、4-Parameter fitにより検量線を作成した。上記の測定で得られた発光シグナル(RLU)を検量線にあてはめ、血清中のマーカー濃度を取得した。なお、検量線の作成及びマーカー濃度の取得には、解析ソフトMARS(BGM LABTECH社)を用いた。

## 【 0 0 8 1 】

## 4 . 統計解析

血清中の各マーカー濃度について、関節リウマチ患者の群と、健常者の群又は非関節リウマチ患者の群との間の比較を行った。具体的には、2群間の血清中マーカー濃度の差が有意であるか否かを、マンホイットニー検定を用いて評価した。なお、この有意差検定にはStatFlex V6.0(株式会社アーテック社)を用いた。比較した2群の組み合わせとそれらの検定結果(p値)を、表2に示す。

## 【 0 0 8 2 】

## 【表2】

	比較1	比較2	比較3	比較4	比較5	比較6
	HC/ RA(A1)	HC/ RA(B1)	HC/ RA(C1)	Non-RA/ RA(A1)	Non-RA/ RA(B1)	Non-RA/ RA(C1)
TNF- $\alpha$	< 0.001	<0.013	< 0.001	< 0.001	0.172	< 0.001
IL-6	0.469	< 0.001	< 0.001	0.003	< 0.001	0.546
IL-17A	0.027	< 0.001	< 0.001	0.532	0.029	0.168
MIP-1 $\alpha$	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.010	< 0.001
MIP-3 $\alpha$	< 0.001	0.048	0.005	< 0.001	< 0.001	< 0.001
BLC	< 0.001	< 0.001	0.007	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Eotaxin	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.036	< 0.001
MIG	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.004	0.010	0.016
CTACK	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.030	< 0.001	0.022
IP-10	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.014	0.002	0.007

## 【 0 0 8 3 】

表2より、関節リウマチの既知マーカーであるTNF-、IL-6及びIL-17Aは、比較1から比較6のうち、少なくとも1つ以上で統計学的有意差(p<0.05)が見られなかった。これに対して、MIP-1、MIP-3、BLC、Eotaxin、MIG、CTACK及びIP-10は、比較1から比較6の全てにおいて統計学的有意差(p<0.05)が見られた。

## 【 0 0 8 4 】

実施例2： 抗CCP抗体陰性の関節リウマチ患者と、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患の患者とを区別する性能の評価

本実施例では、MIP-1及びMIP-3について、抗CCP抗体陰性の関節リウマチ患者と、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患の患者とを区別する性能を、各種の血清におけるマーカー濃度に基づいて評価した。また、比較のために、TNF-、IL-6、IL-17A、BLC、Eotaxin、MIG、CTACK及びIP-10について同様の試験を行った。

## 【 0 0 8 5 】

## 1 . 血液試料

実施例1で用いた関節リウマチ患者の血清、並びに施設A及び施設Bから新たに入手した関節リウマチ患者(以下、「RA(C2)群」と呼ぶ)の血清のうち、抗CCP抗体の検査値が4.5

units/mLより低い血清を、抗CCP抗体陰性の関節リウマチ患者由来の血液試料として用いた。ここで、本実施例では、抗CCP抗体陰性の関節リウマチ患者の群を「ACPA<sup>-</sup>RA群」とも呼ぶ。なお、ACPA<sup>-</sup>RA群の内訳は、RA(A1)群から4名、RA(B1)群から4名、RA(C1)群から17名及びRA(C2)群から20名である。

【0086】

また、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患の患者由来の血液試料として、実施例1で用いたベーチェット病患者、強直性脊椎炎患者、乾癬性関節炎患者、リウマチ性多発筋痛症患者及び成人スティル病患者の血清を用いた。なお、これらの疾患は、自己免疫疾患に関連する関節症(arthritis related to autoimmune diseases)を示すので、以下、これらの疾患の患者群を「ArAD群」とも呼ぶ。各群の被験者数を表3に示す。

10

【0087】

【表3】

疾患名	群	被験者数
ベーチェット病	ArAD	28
強直性脊椎炎		
乾癬性関節炎		
リウマチ性多発筋痛症		
成人スティル病		
抗CCP抗体陰性の 関節リウマチ	ACPA <sup>-</sup> RA	45

20

【0088】

2. ELISA法によるマーカーの測定

実施例1と同様にして、RA(C2)群の血清における各マーカーをELISA法により測定した。なお、RA(C2)群以外の群については、実施例1で得られた測定データを利用した。

【0089】

3. 血清中のマーカー濃度の取得

RA(C2)群の血清における各マーカーについて、濃度既知のスタンダードの発光シグナル(RLU)から、4-Parameter fitにより検量線を作成した。上記の測定で得られた発光シグナル(RLU)を検量線にあてはめ、血清中のマーカー濃度を取得した。なお、検量線の作成及びマーカー濃度の取得には、解析ソフトMARS(BGM LABTECH社)を用いた。

30

【0090】

4. 統計解析

血清中の各マーカー濃度について、ArAD群とACPA<sup>-</sup>RA群との間の比較を行った。具体的には、2群間の血清中マーカー濃度の差が有意であるか否かを、マンホイットニー検定を用いて評価した。なお、この有意差検定にはStatFlex V6.0(株式会社アーテック社)を用いた。また、各マーカーについて、血清中濃度のデータからROC曲線を作成して、曲線下面積(AUC)を取得した。そして、各マーカーについて、ArAD群及びACPA<sup>-</sup>RA群のカットオフを設定し、感度、特異度、陽性的中率(PPV)及び陰性的中率(NPV)を取得した。なお、カットオフは、感度及び特異度が最大値を示す濃度として設定した。各マーカーの血清中濃度の分布、p値及びROC分析の結果を、図1及び表4に示す。

40

【0091】

【表4】

マーカー	p 値	AUC	カットオフ (pg/mL)	感度 (%)	特異度 (%)	PPV (%)	NPV (%)
MIP-1 $\alpha$	0.00051	0.743	25.2	68.9	64.3	75.6	56.3
MIP-3 $\alpha$	0.00108	0.718	0.8	68.9	71.4	79.5	58.8
BLC	0.03634	0.646	19.5	60.0	60.7	71.1	48.6
Eotaxin	0.01495	0.670	118.6	60.0	64.3	50.0	27.0
MIG	0.54013	0.543	126.4	57.8	50.0	65.0	42.2
CTACK	0.34638	0.566	636.7	53.3	60.7	68.6	44.7
IP-10	0.03949	0.644	100.6	57.8	60.7	52.8	29.7
TNF- $\alpha$	0.00866	0.662	3.7	48.6	78.6	78.6	48.9
IL-6	0.46748	0.549	1.3	67.9	53.4	36.7	60.5
IL-17A	0.11804	0.602	2.0	64.3	62.2	51.5	72.5

10

## 【0092】

20

図1及び表4より、MIP-1及びMIP-3は、ArAD群とACPA<sup>+</sup>RA群との間に統計学的有意差(p<0.05)が見られ、且つAUCの値が0.7以上であった。ここで、臨床検査技術の分野においては、一般に、AUCの値は0.7以上であることが望ましいとされている。一方、BLC、Eotaxin、MIG、CTACK、IP-10、TNF- $\alpha$ 、IL-6及びIL-17Aは、ArAD群とACPA<sup>+</sup>RA群との間に統計学的有意差(p<0.05)が見られないか、又はAUCの値が0.7よりも低かった。したがって、MIP-1及びMIP-3は、抗CCP抗体陰性の関節リウマチ患者と、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患の患者とを区別することが可能なマーカーであることがわかった。

## 【0093】

実施例3：抗CCP抗体陽性の関節リウマチ患者と、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患の患者とを区別する性能の評価

30

本実施例では、MIP-1及びMIP-3について、抗CCP抗体陽性の関節リウマチ患者と、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患の患者とを区別する性能を、各種の血清におけるマーカー濃度に基づいて評価した。

## 【0094】

## 1. 血液試料

上記のRA(A1)群、RA(B1)群、RA(C1)群及びRA(C2)群の関節リウマチ患者の血清のうち、抗CCP抗体の検査値が4.5 units/mL以上の血清を、抗CCP抗体陽性の関節リウマチ患者由来の血液試料として用いた。ここで、本実施例では、抗CCP抗体陽性の関節リウマチ患者の群を「ACPA<sup>+</sup>RA群」とも呼ぶ。なお、ACPA<sup>+</sup>RA群の内訳は、RA(A1)群から25名、RA(B1)群から16名、RA(C1)群から35名及びRA(C2)群から28名である。また、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患の患者由来の血液試料として、実施例2で用いたArAD群の血清を用いた。各群の被験者数を表5に示す。

40

## 【0095】

【表5】

疾患名	群	被験者数
ベーチェット病	ArAD	28
強直性脊椎炎		
乾癬性関節炎		
リウマチ性多発筋痛症		
成人スティル病		
抗CCP抗体陽性の 関節リウマチ	ACPA <sup>+</sup> RA	104

10

## 【0096】

## 2. ELISA法によるマーカーの測定

実施例1と同様にして、RA(C2)群の血清における各マーカーをELISA法により測定した。なお、RA(C2)群以外の群については、実施例1で得られた測定データを利用した。

## 【0097】

## 3. 血清中のマーカー濃度の取得

RA(C2)群の血清における各マーカーについて、濃度既知のスタンダードの発光シグナル(RLU)から、4-Parameter fitにより検量線を作成した。上記の測定で得られた発光シグナル(RLU)を検量線にあてはめ、血清中のマーカー濃度を取得した。なお、検量線の作成及びマーカー濃度の取得には、解析ソフトMARS(BGM LABTECH社)を用いた。

20

## 【0098】

## 4. 統計解析

血清中の各マーカー濃度について、ArAD群とACPA<sup>+</sup>RA群との間の比較を、実施例2と同様にして行った。また、各マーカーについて、血清中濃度のデータからROC曲線を作成して、AUCを取得した。そして、各マーカーについて、ArAD群及びACPA<sup>+</sup>RA群のカットオフを設定し、感度、特異度、PPV及びNPVを取得した。なお、カットオフは、感度及び特異度が最大値を示す濃度として設定した。各マーカーの血清中濃度の分布、p値及びROC分析の結果を、図2及び表6に示す。

30

## 【0099】

## 【表6】

マーカー	p 値	AUC	カットオフ (pg/mL)	感度 (%)	特異度 (%)	PPV (%)	NPV (%)
MIP-1 $\alpha$	<0.00001	0.821	25.2	83.7	64.3	89.7	51.4
MIP-3 $\alpha$	<0.00001	0.829	0.8	85.6	71.4	91.8	57.1

40

## 【0100】

図2及び表6より、MIP-1及びMIP-3は、ArAD群とACPA<sup>+</sup>RA群との間に統計学的有意差(p<0.05)が見られ、且つAUCの値が0.7以上であった。したがって、MIP-1及びMIP-3は、抗CCP抗体陽性の関節リウマチ患者と、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患の患者とを区別することが可能なマーカーであることがわかった。そして、実施例2の結果をふまえると、MIP-1及びMIP-3は、抗CCP抗体の検査結果にかかわらず、関節リウマチ患者と、関節の異状を伴う他の自己免疫疾患の患者とを区別することが可能であることが示された。

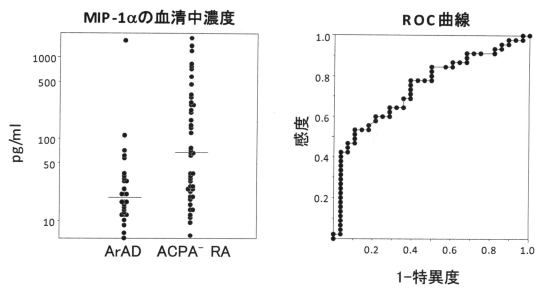
50

【符号の説明】

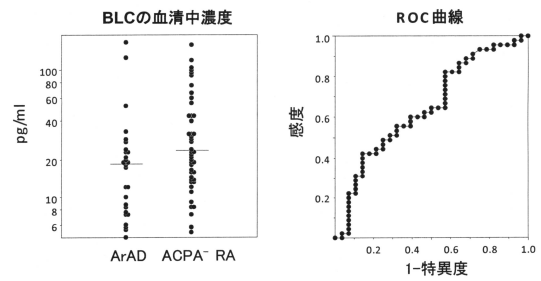
【 0 1 0 1 】

- 1 判定装置
- 2 測定装置
- 3 コンピュータシステム
  - 3 a コンピュータ本体
  - 3 b 入力デバイス
  - 3 c 表示部

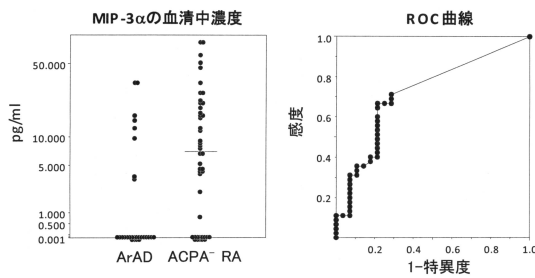
【図 1 A】



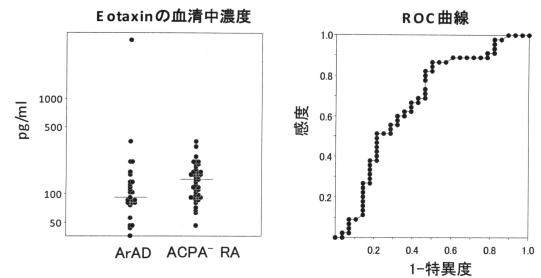
【図 1 C】



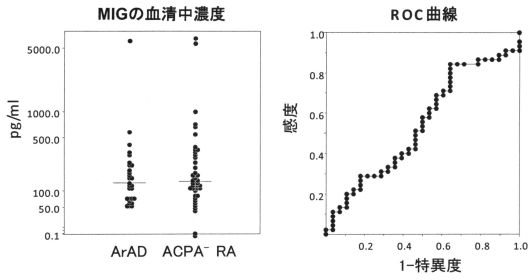
【図 1 B】



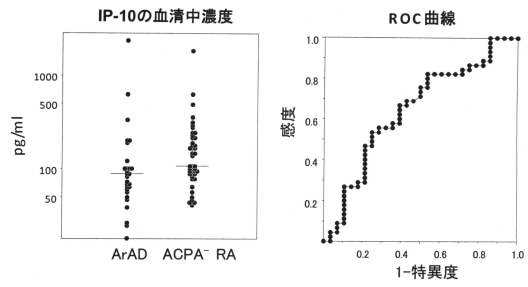
【図 1 D】



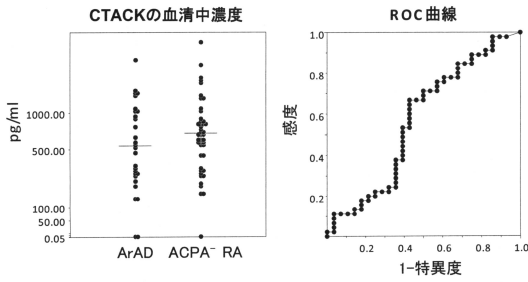
【図1E】



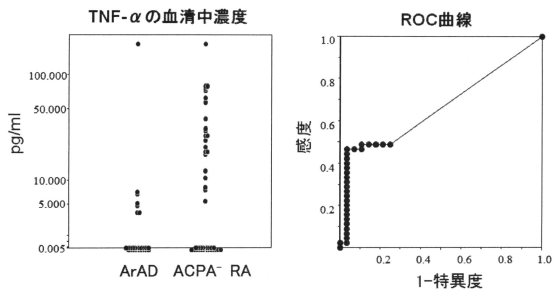
【図1G】



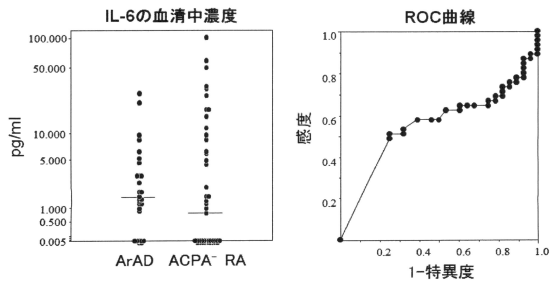
【図1F】



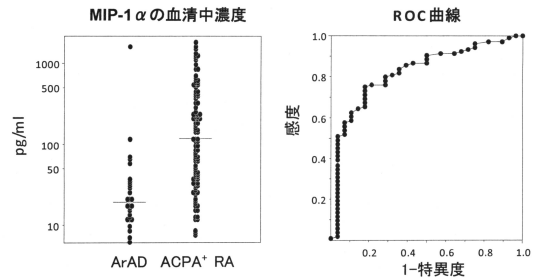
【図1H】



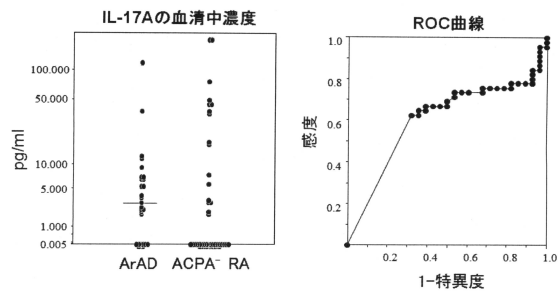
【図1I】



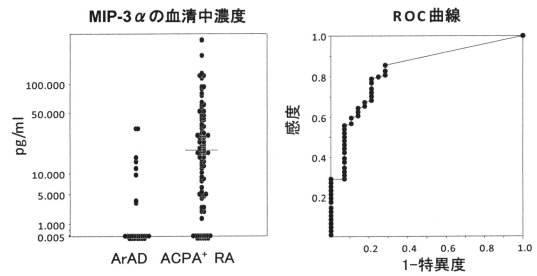
【図2A】



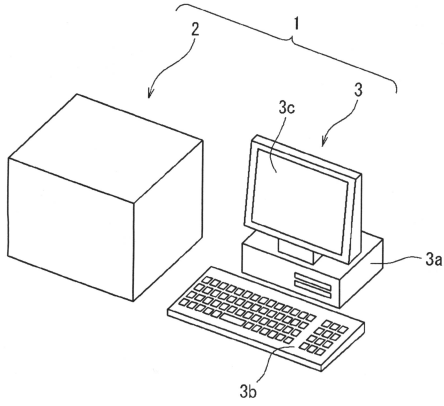
【図1J】



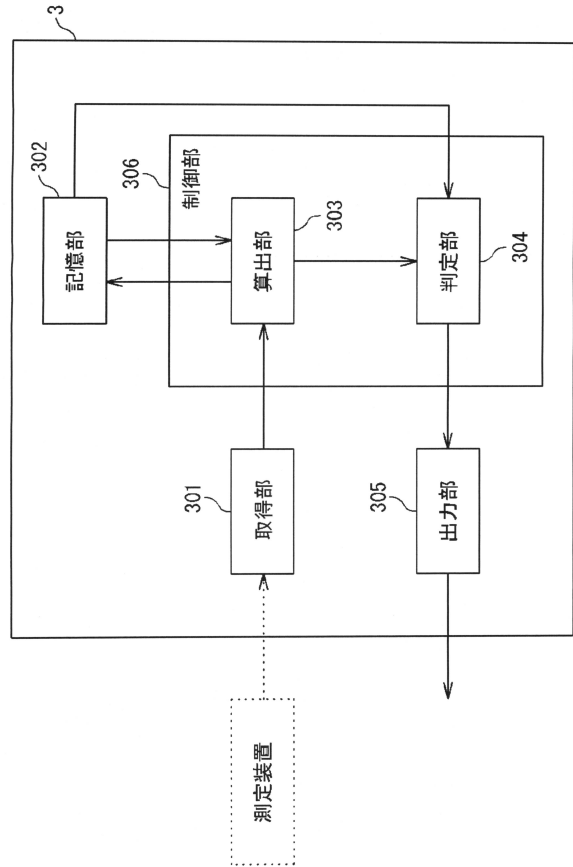
【図2B】



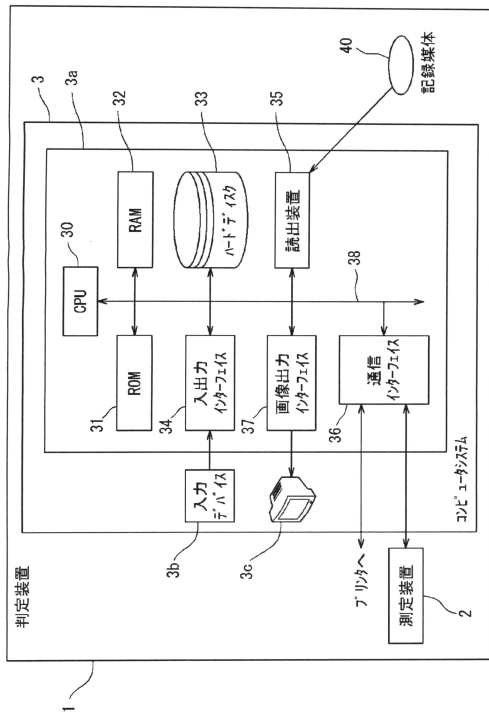
【図3】



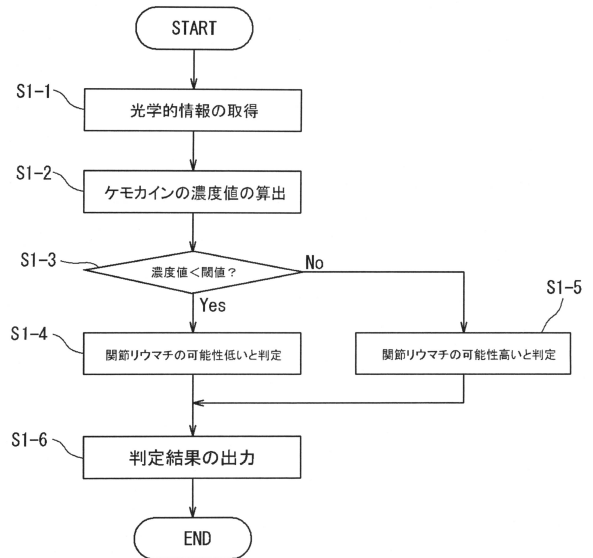
【図4】



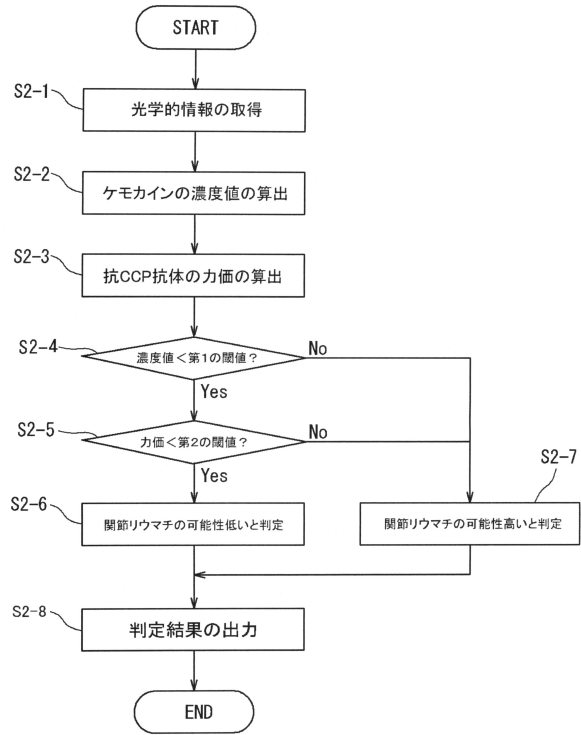
【図5】



【図6A】



【図6B】



---

フロントページの続き

(74)代理人 100166936

弁理士 稲本 潔

(72)発明者 宮本 佳昭

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 岡澤 貴裕

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 熊谷 俊一

尼崎市東園田町6丁目113番13号

審査官 大瀧 真理

(56)参考文献 特表2007-506100(JP,A)

特開2009-096716(JP,A)

国際公開第2007/123976(WO,A2)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/48 - 33/98

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

专利名称(译)	用于辅助类风湿性关节炎诊断的方法，系统和计算机程序产品		
公开(公告)号	<a href="#">JP6220222B2</a>	公开(公告)日	2017-10-25
申请号	JP2013223592	申请日	2013-10-28
[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 医药企业协会新光协会		
当前申请(专利权)人(译)	希森美康公司 社会医療法人神鋼記念会		
[标]发明人	宮本佳昭 岡澤貴裕 熊谷俊一		
发明人	宮本 佳昭 岡澤 貴裕 熊谷 俊一		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/564		
CPC分类号	A61B5/14546 C12Q1/6883 C12Q2600/158 G01N33/564 G01N33/6863 G01N2800/102		
FI分类号	G01N33/53.P G01N33/53.N G01N33/564.Z		
代理人(译)	清稻本潤一		
其他公开文献	JP2015087128A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种辅助诊断类风湿性关节炎的方法，使用一种标记物，可以区分类风湿性关节炎，特别是抗CCP抗体阴性类风湿性关节炎和其他伴有关节异常的自身免疫性疾病。结果。解决方案：基于MIP-1α和MIP-3α的测量结果，该样本来自一个受试者，该样本显示疑似自身免疫性疾病，类风湿性关节炎和其他伴有关节异常的自身免疫性关节异常并获取用于区分疾病和疾病的信息。【选择图】无

(19) 日本国特許庁(JP)	(12) 特許公報(B2)	(11) 特許番号 特許第6220222号 (P6220222)
(45) 発行日 平成29年10月25日(2017.10.25)	(24) 登録日 平成29年10月6日(2017.10.6)	
(51) Int. Cl.	F I	
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 P	
G O 1 N 33/564 (2006.01)	G O 1 N 33/53 N	
	G O 1 N 33/564 Z	
請求項の数 4 (全 25 頁)		
(21) 出願番号 特願2013-223592(P2013-223592)	(73) 特許権者 390014960	
(22) 出願日 平成25年10月28日(2013.10.28)	シスメックス株式会社	
(65) 公開番号 特願2015-87128(P2015-87128A)	兵庫県神戸市中央区臨海海岸通1丁目5番1号	
(43) 公開日 平成27年5月7日(2015.5.7)	(73) 特許権者 513271715	
審査請求日 平成28年3月16日(2016.3.16)	社会医療法人神鋼記念会	
	兵庫県神戸市中央区臨海町1丁目4番47号	
	(74) 代理人 100065248	
	弁理士 野河 信太郎	
	(74) 代理人 100159385	
	弁理士 甲斐 伸二	
	(74) 代理人 100163407	
	弁理士 金子 裕輔	
最終頁に続く		
(54) 【発明の名称】 関節リウマチの診断を補助するための方法、システム及びコンピュータプログラム製品		