

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

WO2005/082940

発行日 平成20年7月31日 (2008.7.31)

(43) 国際公開日 平成17年9月9日 (2005.9.9)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C07K 16/18 (2006.01)</b>	C07K 16/18	2G045
<b>C12N 15/02 (2006.01)</b>	C12N 15/00	2G052
<b>GO1N 33/53 (2006.01)</b>	GO1N 33/53	4B024
<b>GO1N 33/48 (2006.01)</b>	GO1N 33/48	4B064
<b>GO1N 1/30 (2006.01)</b>	GO1N 33/53	4C085

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 20 頁) 最終頁に続く

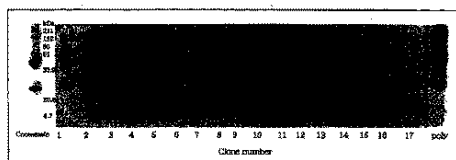
出願番号 特願2006-510409 (P2006-510409)  
 (21) 国際出願番号 PCT/JP2005/002669  
 (22) 国際出願日 平成17年2月15日 (2005.2.15)  
 (31) 優先権主張番号 特願2004-73468 (P2004-73468)  
 (32) 優先日 平成16年2月16日 (2004.2.16)  
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(71) 出願人 598100346  
 横山 司甫  
 東京都清瀬市中清戸5-72-11-4  
 (72) 発明者 横山 司甫  
 東京都清瀬市中清戸5-72-11-4  
 (72) 発明者 今澤 俊之  
 千葉県千葉市中央区仁戸名町673番地  
 国立病院機構千葉東病院内科内  
 Fターム(参考) 2G045 AA29 BB22 BB25 BB46 CB01  
 CB17 DA36 FB01 FB03  
 2G052 AA33 AA35 AB18 AD34 AD52  
 EB08 FA01 FA09 GA30 JA04  
 JA07 JA08  
 4B024 AA11 BA44 DA02 GA03 HA11  
 4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 DA01  
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗NC1モノクローナル抗体

(57) 【要約】

本発明は、抗NC1モノクローナル抗体を用いて、一次性、二次性を問わず腎炎の早期を検出しようとするものである。本発明は、免疫グロブリンが腎糸球体他に沈着の起かない早期の腎生検試料を免疫染色で、又尿や血清などの試料より抗原抗体反応でNC1を見出す事で腎機能の診断に有用な情報を与えるものである。更に治療に活用するものである。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ヒト及び／又は動物の腎糸球体中のタイプ I V コラーゲン NC 1 領域又はそのペプチド (以下 NC 1) と免疫反応をする抗 NC 1 モノクローナル抗体

## 【請求項 2】

ヒト及び／又は動物の腎炎の糸球体中の NC 1 と免疫反応をする抗 NC 1 モノクローナル抗体

## 【請求項 3】

ヒト及び／又は動物の腎炎の糸球体中の NC 1 と免疫反応をする標識物質で標識した抗 NC 1 モノクローナル抗体

10

## 【請求項 4】

請求項 1 の抗 NC 1 モノクローナル抗体を用いた生体試料中の NC 1 検出方法

## 【請求項 5】

抗 NC 1 抗体を取り除く器具

## 【請求項 6】

NC 1 を取り除く器具

## 【請求項 7】

腎臓由来のタイプ I V コラーゲンを抗原として作製した抗タイプ I V コラーゲン抗体によるタイプ I V コラーゲン測定キット

## 【請求項 8】

20

抗体作製時やワクチン投与で追加免疫する時、追加免疫の投与量を初回量より多くする投与方法

## 【請求項 9】

疾患モデル動物で腎炎の指標として生体試料中の抗 NC 1 抗体を用いる方法と試薬

## 【請求項 10】

動物の腎炎モデルやヒト腎炎の腎臓を染色し、健常腎臓を染色しない事を目的として抗 NC 1 モノクローナル抗体を用いる免疫組織染色方法

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

本発明は、抗 NC 1 モノクローナル抗体を用いる腎炎検出方法及び検出試薬に関する。 30  
更に、治療の用具、医薬品を含む。

## 【背景技術】

従来、腎炎検出の主な指標は、尿を試料として、蛋白、アルブミン、タイプ I V コラーゲン (三本鎖領域)、 $\beta 2 M$  などである。又、従来腎炎の確定診断法は、腎生検で得た腎切片を染色し、免疫グロブリンの沈着や半月体の形成などを観察することであった。例えば、I g A 腎症の診断基準は、確定診断として腎生検が唯一の方法で、具体的には、「びまん性にメサンギウム領域を主体とする I g A の顆粒沈着」を蛍光抗体又は酵素抗体染色で所見するとしている (1071 頁「臨床検査 2001~2002」文光堂刊)。

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

40

これらは次のような問題点があった。

前者は、それぞれ優れた指標であるが、各種腎炎の進行した状態で見られる糸球体への免疫グロブリンの沈着に対し抗原が何であるか回答するものでは無いので腎炎の本質に迫るものでは無い。

後者の確定診断は、経験豊富な病理専門医の高度な診断技術を求められた。

又、免疫グロブリンの沈着段階では腎炎は時には数十年を経過しており、ジン機能も著しく低下している。それ故、免疫グロブリンの沈着や半月体の形成などの特異的な病理像が見られない早い段階で、極めて簡単に正確に確定診断できることが望まれていた。

## 【課題を解決するための手段】

本願発明は、以上のような欠点を無くし、腎炎を早期の段階で検出できる方法と試薬、 50

更には血清浄化方法を提供するものである。

これまでに、本願発明者は、各種腎炎の共通な抗原はタイプIVコラーゲンのNC1領域であるとしている。実際、本願発明者は、抗糸球体基底膜（GBM）抗体腎炎に限らず各種の腎炎で、免疫反応により血清や尿中に抗NC1抗体を高頻度に見出している。一方、抗GBM抗体腎炎の抗原はNC1領域にあり、通常は内部にあり、疾患の時に表出し、そこに自己抗体が結合すると言われている。しかし、人為的に製した抗体で、自己抗体の様に疾病時にのみ結合する抗体は存在しない。又、各種腎炎での共通な抗原の存在は免疫組織染色で観察されていない。そこで、本願発明者は、ウシ腎糸球体より分離精製した抗原NC1をマウスに感作して抗NC1モノクローナル抗体を作製し、ウエスタンブロット法や免疫染色に適合し得る「抗NC1モノクローナル抗体」及び「標識抗NC1モノクローナル抗体」を、又、「抗NC1モノクローナル抗体」を組み入れた「サンドイッチ法によるNC1測定ELISAキット」を完成させた。

10

その手順は次の通りである。

1 [抗原の分離精製] ウシ腎糸球体を原料として、タイプIVコラーゲンNC1領域（以下NC1）を分離し、カラムクロマトグラフィーで分離精製する（J. Biol. Chem., 263, 10481-8）。

2 [抗NC1モノクローナル抗体の作製と選択] モノクローナル抗体は定法によりマウスを用いて作製する（単クローン抗体実験マニュアル、講談社刊、1987）。融合細胞のスクリーニングではELISA法で抗体価の高い陽性穴を多数選び、次にウエスタンブロット法でNC1モノマー及び/又はNC1ダイマーに反応する抗体を選ぶ。続いて免疫染色を行い、サル抗糸球体基底膜（GBM）抗体腎炎の糸球体と反応するものを選ぶ。更に、サル正常腎と反応しないものを選ぶ。このようにしてELISA法でも、ウエスタンブロット法でも、免疫染色でも可能な抗NC1モノクローナル抗体が得られる。

20

もちろん、抗NC1モノクローナル抗体としては、ELISA、ウエスタンブロット、免疫染色、その他の用途の一つだけしか機能を有しないものでも、複数機能するものでも良いが、全てに機能するものが望ましい。又免疫染色では、ウサギ他から作製したポリクローナル抗体の如く正常の腎臓にも反応するものでも良いが、腎炎との識別はできない。組織の存在確認には使える。ここで作製したカニクイサルの腎炎モデルは、従来報告されている足裏投与と異なり、背部に初回NC1を1mg、追加免疫3mgで作製している。背部への投与は足裏に打つのに比べ、サルの歩行に困難を与えず、二足歩行に伴う感染の可能性も低い。又、同じ量を背部に投与する場合、1回のみ4mg投与するよりも、初回量と追加免疫量を同じか追加を少量にするよりも、初回に対し追加免疫量を多くすることが良く、1.5倍以上が好ましい。特には3倍が好ましい。

30

この原理は2型コラーゲン関節炎他の感作動物モデル作製やワクチンの投与でも有用である。例えばB型肝炎ワクチンの従来投与で追加免疫しても抗体価が上昇しない例がある。この場合などは従来の1回投与量の1.5倍以上追加免疫するか、初回を従来の2分の1にし、追加免疫量をその3倍にする。

本願発明の「抗NC1モノクローナル抗体」は間接免疫染色法でサル抗GBM抗体腎炎やヒトIgA腎症の病理切片で腎糸球体基底膜を染色する。もちろんラットやマウスその他の動物種、IgA腎症以外の腎炎各種でも同様に染色する。又、本願発明の「NC1測定ELISAキット」は原発性及び、糖尿病性腎炎等の二次性腎炎の早期検出に役立つ。特に「抗GBM抗体腎炎」に対して抗NC1モノクローナル抗体は、GBMに豊富に存在するNC1の損傷時に特異的に反応するので格別に高感度と成り、血清中はもとより尿中のNC1も鋭敏に測定できる。

40

更に、「抗NC1モノクローナル抗体」を陽性標準として、IgA腎症モデルのHIGAマウスの血清及び尿の抗NC1抗体をELISA法で測定できる。他の腎炎、糖尿病、高血圧モデルなどでも糸球体腎炎を起こすものは、抗NC1抗体の測定が疾患進行の指標となる。又、感染症など他疾患モデルでも腎炎を起こす時には指標となる。

本発明者は、腎炎の初期検出の為に、「NC1測定ELISAキット」についても下記の具体的手段を確立した。本発明は、記載の測定方法及び試薬に限定されるものではない。

50

即ち、抗GBM抗体腎炎において生ずるNC1を患者等の尿中から検出する方法と測定試薬について血清の場合も並べて例示し、説明する。

1 NC1を血清及び又は尿中から検出する方法と測定試薬。

試薬として、1) 抗NC1抗体(ウサギ由来)をコートしたプレート、2) 酵素(HRP)標識抗NC1モノクローナル抗体、3) 発色基質(TMB)、4) 反応停止液(硫酸)を用いて測定する。

ここで、「2)」を無標識にし、「2)-2)」として「酵素(HRP)標識抗マウスIgG抗体」を加えても良い。又、「1)」と「2)」との抗体部分を入れ替えても、両方をモノクローナル抗体にしても良い。

この時、陽性標準は、ヒト患者より入手しても良いが、発明者が見出した様に実験モデルのサルから得たものがより良い。管理されて育成され、作製するサルの方が安定した標準となり得る。更に具体的には、ヒト患者試料を一次標準とし、実際にキットに付ける二次標準はサル由来とすれば良い。

免疫反応として、酵素免疫反応が代表的にあげられるが、それに限定されず、AB法、RIA法、免疫発光法、沈降反応、凝集反応他を含む。酵素免疫反応において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ない。又それを放射性物質(RIA法)、発光物質で標識した物(免疫発光法)、無標識物(沈降法、凝集法)でも良い。

反応形式は、サンドイッチ法に囚われず、競合法他でも良いが、特にサンドイッチ法が望ましい。測定試薬の構成として、抗NC1抗体をコートするプレートを、ガラスや磁性物質にしても良く、無しにして固相法を用いないことでも良い。

プレートに抗NC1抗体(以下抗体)をコートする時、間接コートにしコート物質をアビジン、ビオチン、又はこれらの結合した成分でも良い。

又、抗原は、生体抽出物やリコンビナントのみでなく、構成ペプチド(特定分画、合成品を含む)でも良く、抗体はこれらの抗原から作製しても良い。

測定試薬に用いる抗原の動物種としては、ヒトが望ましく、サル、ウシ、ブタ、ニワトリ、羊、ヤギ、ウサギ、ラット他の動物でも良くこれに限定されない。更に、抗原は、複数動物種を混合したものでも良い。

抗原の由来臓器は、腎臓が望ましいが、これに限定されない。

2 抗NC1抗体を取り除く器具及び又はNC1を取り除く器具。

抗NC1抗体で作製したアフィニティークラムを用いて、血液を通すと血清中のNC1のみが除かれる。続いて、その血液をNC1で作製したアフィニティークラムに通して、血清中の抗NC1抗体を除き、抗体も抗原もとり除かれた血液を再度体内に戻す。この原理を用いて、カニクイサルの腎炎モデル(「K35 NC1」(コラーゲン技術研修会製)で感作)で試すと、処置後の尿には、抗原も抗体も、処置前の半分以下となった。従来の方法での透析は患者血清で、透析前後にこのような差は見られない。もちろん、血液中のNC1や抗NC1抗体を除去できる器具であれば、前述器具に限定されない。又、NC1や抗NC1抗体を、 $\alpha$ 3鎖や $\alpha$ 4鎖及び又はその抗体に置き換えても、抗GBM抗体腎炎を誘導する $\alpha$ 3鎖や $\alpha$ 4鎖の抗原部位及び又はその抗体に置き換えても良い。

又、器具に用いる抗体は、ポリクローナルでもモノクローナルでも良いが、モノクローナルは半永久的に同一性能のものが得られるのでより望ましい。

本願発明の器具は、抗GBM抗体腎炎など緊急性を要する腎炎では特に有効である。

#### 【発明の効果】

本発明は、腎炎の早期検出、確定診断及び腎炎や癌患者の改善に有用である。

#### 【実施例1】

【抗原の分離精製】ウシ腎糸球体を原料として、タイプIVコラーゲンNC1領域(以下NC1)を分離し、カラムクロマトグラフィーで精製する(J. Biol. Chem., 263, 10481-8)。

【抗体の作製と選択】マウスを用いて作製する(単クローン抗体実験マニュアル、講談社刊、1987)。融合細胞のスクリーニングでは培養上清を用いてELISA法で抗体

価の高い陽性穴を多数選ぶ。次にマウス腹腔内にて細胞増殖させた後、腹水を集め、ウエスタンブロットでNC1モノマーとNC1ダイマーに反応するものを選ぶ(図1)。続いてカニクイサルの正常腎臓とサル腎炎モデル(抗GBM抗体腎炎)の腎臓を用いて免疫染色を行い、サル抗GBM抗体腎炎の糸球体と反応するもので、サル正常腎と反応しないものを選ぶ(表1、図2)。

(ここで作製したカニクイサルの腎炎モデルは既に報告されている投与部位と異なり、背部皮内に初回NC1を1mg、追加免疫3mgで作製している。足裏に打つのに比べ、サルの歩行に困難を与えず、感染の可能性も低い。

[カニクイサル(雌 3歳令)でのNC1投与実験] 各群2匹

1) 投与部位と方法; 背部皮内にNC1と共に同量のFCAを1回又は2回投与。 10

2) 尿(50倍希釈)中の抗NC1抗体価の測定(投与前と初回投与より4週後)

・1回投与(4mg) 2匹の平均(以下同) 0.018→0.087

・2回投与(初回3mg, 3週後追加1mg) 0.029→0.256

・2回投与(初回1mg, 3週後追加3mg) 0.006→1.037

3) 測定方法; ウシ由来NC1(5ug/ml)を塗布した96穴マイクロプレートに検体尿をを加え、室温で2時間反応させ洗浄後、HRP標識抗ヒトIgG抗体を加え、室温で1時間反応させて洗浄し、発色基質液を加えて10分後に反応停止液を加え、ただちに450nmの吸光度(A450nm)を測定した。) 20

更に、抗ヒトタイプIVコラーゲン(抗原は胎盤由来、ペプシン処理)ポリクローナル抗体(ウサギ由来)及び抗NC1ポリクローナル抗体(ウサギ由来)を作製し、サル正常腎臓と腎炎モデルの腎臓とを間接免疫染色法で比較した。その結果、正常腎臓も腎炎モデルの腎臓も染まる(図3-1、図3-2)。一方、本願発明の抗NC1モノクローナル抗体は、腎炎の方に良く染まる。

よって、本願発明の抗NC1モノクローナル抗体は腎炎の識別に有用な染色試薬である。事実、このようにして選ばれた抗NC1モノクローナル抗体は人の糸球体腎炎、例えばIgA腎症の腎凍結切片で糸球体基底膜や尿細管を染色する。

ヒトではIgA腎症に限らず各種の腎炎、例えば一次性の微小変化型ネフローゼ、二次性の糖尿病性腎症等の腎臓基底膜、例えば糸球体、尿細管、ボウマン嚢などを染色し、回復した微小変化型ネフローゼや健常な腎臓を染めない(図4)。更に、この抗体の特性確認の為、タイプIVコラーゲン(ヒト胎盤由来、ペプシン処理)とNC1(ウシ腎糸球体由来、コラーゲナーゼ処理)とを抗原としてウエスタンブロットでの免疫反応を見ると、NC1とは反応するがタイプIVコラーゲンとは反応しない(図5)。本願発明の抗NC1モノクローナル抗体はELISA法でも、ウエスタンブロット法でも、免疫染色でも使用可能な抗NC1モノクローナル抗体である。 30

#### 【実施例2】

[抗NC1抗体を取り除く器具及び又はNC1を取り除く器具]

抗NC1抗体で作製したアフィニティークラムを用いて、血液を通すと血清中のNC1のみが除かれる。続いて、その血液をNC1で作製したアフィニティークラムに通して、血清中の抗NC1抗体を除き、抗体も抗原もとり除かれた血液を再度体内に戻す。腎炎モデルのカニクイサル(雌、推定3歳)から血清相当4mlの血液を採取し、これを先述の2種のアフィニティークラムを通して、再度血管に戻す。この作業を3回繰り返す。その結果、作業前後の尿中の抗体価を測定したところ、半分以下に抗体価が下がった。 40

#### 【実施例3】

[腎臓由来のタイプIVコラーゲンを抗原として作製した抗タイプIVコラーゲン抗体によるタイプIVコラーゲン測定キット]

タイプIVコラーゲンは、 $\alpha 1$ 鎖より $\alpha 6$ 鎖まで存在が知られている。由来臓器により $\alpha$ 鎖の構成は異なる。胎盤由来のタイプIVコラーゲンは、 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ が主体で、腎臓由来のタイプIVコラーゲンは胎盤由来に比べ $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ に富んでいる。腎臓由来のタイプIVコラーゲンを得るには、ウシ腎より糸球体基底膜を取り出し定法のペプシン分解を行い抽出する。この時混入の恐れがあるNC1微細末を、別途用意した抗NC1抗体のアフィニティークラムで除去する。 50

ニターカラムで除去する。この操作を行う事で、純粹の腎臓由来のタイプ I V コラーゲンが得られる。又、これを抗原とする事で特異性の高い抗体が得られる。

抗体値の測定；

96穴プレートに抗原（1）ウシ腎系球体由来ペプシン可溶化タイプ I V コラーゲン、2）ヒト胎盤由来ペプシン可溶化タイプ I V コラーゲン）をコートし、検体 100 u l を加え、室温で2時間反応後、HRP標識抗体（検体がマウス由来の時は抗マウス、ウサギの時は抗ウサギ、ヤギの時は抗ヤギの各抗体）を加え、室温で1時間反応後、TMB液を加え、室温で10分反応後、1 N 硫酸で反応を停止し、直ちに 450 nm で測定する。

検体と測定結果；

・検体／抗ヒト胎盤由来タイプ I V コラーゲンモノクロ抗体（免疫動物／マウス、3種類 10  
； 1 A, 1 B, 1 E）；

1) いずれもマイナス（バックグラウンドを引いている、以下同じ）

2) 1 A / 1. 826, 1 B / 2. 188, 1 E / 2. 222

・検体／抗ヒト胎盤由来タイプ I V コラーゲンポリクロ抗体（免疫動物／ウサギ、Y O K  
O 2 0 3）； 1) 2. 391 2) 2. 231

・検体／市販抗ヒト胎盤由来タイプ I V コラーゲンモノクロ抗体（免疫動物／マウス、F  
5 9）； 1) 0. 047 2) 2. 135

・検体／市販抗ヒト胎盤由来タイプ I V コラーゲンポリクロ抗体（免疫動物／ヤギ、G O  
A T） 1) 0. 450 2) 2. 037

・抗体 Y O K O のみが、ウシ腎系球体由来ペプシン可溶化タイプ I V コラーゲンとヒト胎 20  
盤由来ペプシン可溶化タイプ I V コラーゲンの両者に反応したが、それ以外は、いずれか一方のタイプ I V コラーゲンにしか反応しなかった。

結論；腎臓由来のタイプ I V コラーゲンを測定するには、腎臓由来のタイプ I V コラーゲ  
ンを抗原とする抗体で作製した試薬（E L I S A キットなど）で測定する事が良い。

又、腎機能の評価に抗タイプ I V コラーゲン抗体を測定する時は、抗原には腎臓由来のタ  
イプ I V コラーゲンをを用いて測定する事が良い。

#### 【実施例 4】

[I g A 腎症モデルの H I G A マウスでの抗 N C 1 抗体の測定]

H I G A マウス 4 週令の雌 3 匹を購入し、飼育測定を行った。採血は 1 回分を、採尿は 1  
日数回分を合わせて同一検体とした。又、血清は 200 倍に希釈し、尿は 4 倍に希釈して 30  
測定した。測定方法は E L I S A 法による。

・6 週令以降の血清では全例で、I g A 抗体も I g G 抗体も測定される。

・尿中では 15 週令で I g A 抗体が、18 週令で I g G 抗体が検出された。

#### 【図面の簡単な説明】

図 1 ウエスタンブロットングに依る抗体の選出

レーン 17 はコントロール、p o l y は抗 N C 1 ポリクローナル抗体を示す

図 2 抗 N C 1 モノクローナル抗体に依るカニクイサル正常腎と腎炎モデルとの染色比較（間接免疫組織染色）

図 3 - 1 抗ヒトタイプ I V コラーゲン（胎盤由来、ペプシン処理）ポリクローナル抗体（ウサギ由来）に依るカニクイサル正常腎と腎炎モデルとの染色比較（間接免疫組 40  
織染色）

図 3 - 2 抗 N C 1 ポリクローナル抗体（ウサギ由来）に依るカニクイサル正常腎  
と腎炎モデルとの染色比較（間接免疫組織染色）

図 4 抗 N C 1 モノクローナル抗体に依るヒト各種腎炎の染色

（間接免疫組織染色）

図 5 タイプ I V コラーゲン（ヒト胎盤由来、ペプシン処理）と N C 1 （ウシ腎系  
球体由来、コラゲナーゼ処理）とを抗原としたウエスタンブロットング

a n t i N C 1 m o n o 1 2 D は抗 N C 1 モノクローナル抗体

a n t i N C 1 p o l y は抗 N C 1 ポリクローナル抗体

a n t i t y p e I V は抗ヒトタイプ I V コラーゲンポリクローナル抗 50

体

control は一次抗体無添加

表1 染色の手順

【表1】

表1

材料；カニクイサルの抗GBM抗体腎炎モデル及び健常の凍結腎臓組織  
(OCTコンパウンドに包埋、ドライアイス・アセトンあるいは  
液体窒素を用いて急速凍結、-80℃保存)

10

抗体；一次抗体 抗NC1モノクローナル抗体（マウス由来）  
二次抗体 FITC標識抗マウス抗体（ウサギ由来）  
(DAKO社、Code No. F0232, Lot. 045)

染色手順；

20

- 1) クリオスタットで凍結切片作製
- 2) 風乾後、アセトンで5分間固定
- 3) リン酸緩衝液 (PBS, pH 7.4) で洗浄
- 4) 一次抗体 (500倍希釈液) で室温2時間反応
- 5) PBSで洗浄
- 6) 二次抗体 (50倍希釈液) で室温1時間反応
- 7) PBSで洗浄
- 8) グリセリンで封入

30

【図 1】

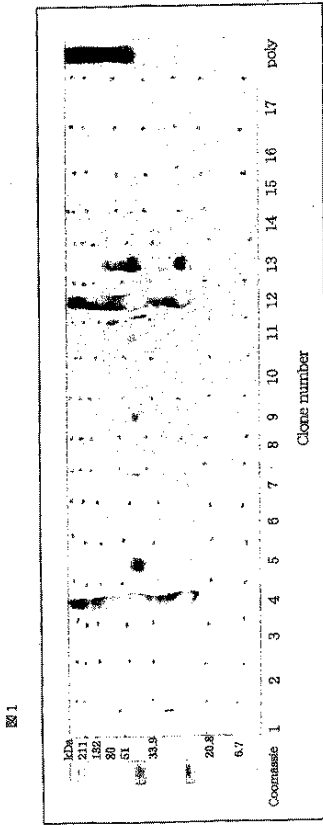


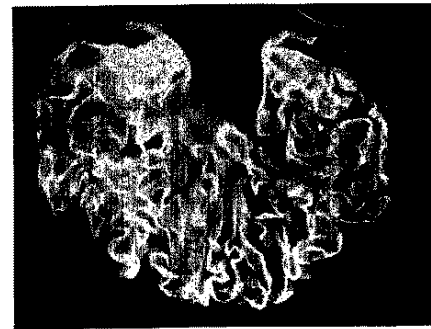
図 1

【図 2】

図 2



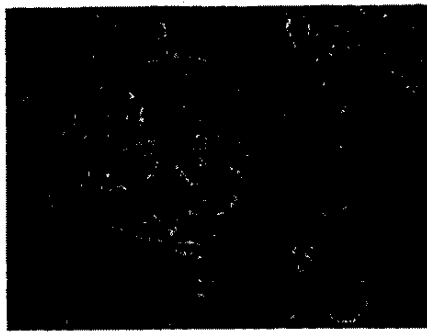
Control



Anti-GBM nephritis (No.2301)

【図 3 - 1】

図 3 - 1



Control



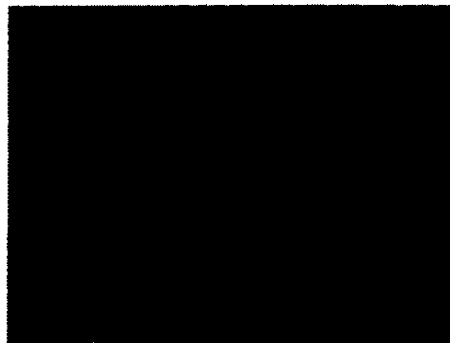
Anti-GBM nephritis (No.2301)

【図 3 - 2】

図 3 - 2

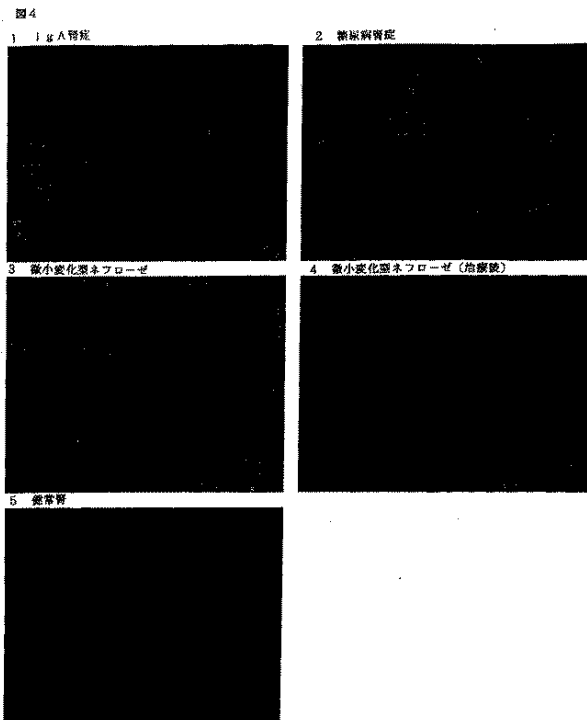


Control

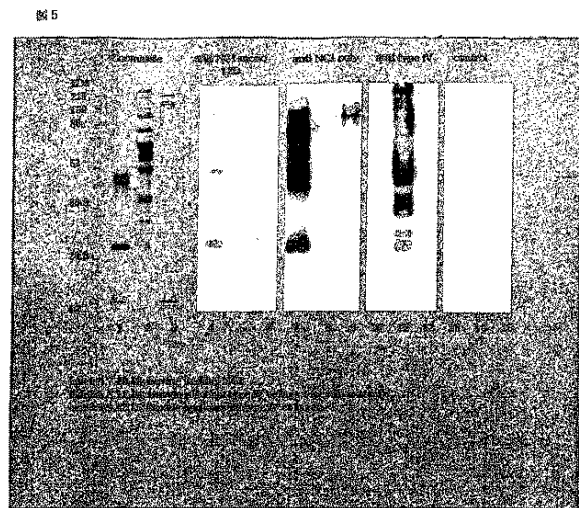


Anti-GBM nephritis (No.2301)

【図 4】



【図 5】



## 【手続補正書】

【提出日】平成17年8月5日(2005.8.5)

【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】

【書類名】特許請求の範囲

【請求項 1】動物の腎炎モデルやヒト腎炎の腎臓を染色し、健常腎臓を染色しないことを目的に抗NC1モノクローナル抗体を用いることによる免疫組織染色方法。

【請求項 2】免疫組織染色に用いる時、動物の腎炎モデルやヒト腎炎の腎臓を染色し、健常腎臓を染色しないことを特徴とする抗NC1モノクローナル抗体

【請求項 3】ヒト及び／又は動物の腎糸球体より抽出したタイプIVコラーゲンNC1領域又はそのペプチド（以下NC1という）と、ELISA法とウェスタンブロット法との両方法を用いて免疫反応をすることを特徴とする抗NC1モノクローナル抗体

【請求項 4】ヒト及び／又は動物の腎糸球体より抽出したNC1とELISA法とウェスタンブロット法との両方法を用いて免疫反応をし、かつ、免疫反応として免疫組織染色に用いる時、正常腎臓を染色せず腎炎の腎臓を染色することを特徴とする抗NC1モノクローナル

【請求項 5】腎炎を検出する為に、請求項 3 の抗NC1モノクローナル抗体を用いた生体試料中のNC1の免疫的検出方法

【請求項 6】抗NC1抗体を取り除く器具

【請求項 7】NC1を取り除く器具

【請求項 8】請求項 3 の抗NC1モノクローナル抗体を精製時に用いた腎臓由来のタイプIVコラーゲンを抗原として作製した抗タイプIVコラーゲン抗体によるタイプIVコラ

ーゲン測定キット

【請求項 9】抗体作成時やワクチン投与で追加免疫する時、追加免疫の投与量を初回量より多くする投与方法

【手続補正書】

【提出日】平成19年1月24日(2007.1.24)

【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】

動物の腎炎モデルやヒト腎炎の腎臓を染色し、健常腎臓を染色しないことを目的に抗NC1モノクローナル抗体を用いる免疫組織染色方法

【請求項 2】

免疫組織染色に用いる時、動物の腎炎モデルやヒト腎炎の腎臓を染色し、健常腎臓を染色しないことを特徴とする抗NC1モノクローナル抗体

【請求項 3】

ヒト及び／又は動物の腎糸球体より抽出したタイプIVコラーゲンNC1又はそのペプチド(以下NC1)とELISA法とウエスタンブロット法の両方法で、免疫反応をすることを特徴とする抗NC1モノクローナル抗体

【請求項 4】

ヒト及び／又は動物の腎糸球体より抽出したNC1と、ELISA法とウエスタンブロット法の両方法で免疫反応をし、かつ、免疫反応として免疫組織染色に用いる時、腎炎の腎臓を染色し健常腎臓を染色しないことを特徴とする抗NC1モノクローナル抗体

【請求項 5】

腎炎を検出する為に、請求項3の抗NC1モノクローナル抗体を用いた生体試料中のNC1の免疫的検出方法

【請求項 6】

NC1及び／又は抗NC1抗体を取り除く器具

【請求項 7】

抗体作製時やワクチン投与で追加免疫する時、追加免疫の投与量を初回量より多くする投与方法

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2005/002669
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl <sup>7</sup> C07K16/18, G01N33/53, 33/577, C12P21/08		
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) Int.Cl <sup>7</sup> C07K16/18, G01N33/53, 33/577, C12P21/08		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), WPI (DIALOG), JSTPlus (JOIS), PubMed		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	NINOMIYA, Y. et al., Defferential expression of two basement membrane collagen genes, COL4A6 and COL4A5, demonstrated by immunofluorescence staining using peptide-specific monoclonal antibodies., The Journal of Cell Biology., September 1995, Vol.130, No.5, pages 1219 to 1229	1, 2, 4 3
X Y	SUGIHARA, K. et al., Experimental anti-GBM glomerulonephritis induced in rats by immunization with synthetic peptides based on six alpha chains of human type IV collagen., JOURNAL OF PATHOLOGY. March 1996, Vol.178, No.3, pages 352 to 358	1, 2, 4 3
<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	"T"
"E"	earlier application or patent but published on or after the international filing date	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
"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)	"X"
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	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
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"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 25 May, 2005 (25.05.05)		Date of mailing of the international search report 14 June, 2005 (14.06.05)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/002669

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Kazutoshi YOKOYAMA et al., "Type IV Collagen no NC1 Ryoiki (K35) ni yori Yudo sareru Jin'en Model", The Cell, 20 April, 2002 (20.04.02), Vol.34, No.4, pages 36 to 39	1-4
Y	Kazutoshi YOKOYAMA et al., "Nyo to Kessei ni Okeru NC1 (Type IV collagen NC1 Ryoiki) to Ko NC1 Kotai no Sokutei", The Cell, 20 April, 2003 (20.04.03), Vol.35, No.4, pages 40 to 44	1-4

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/002669

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: 8  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claim 8 relates to an administration method in constructing an antibody or booster and thus pertains to methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy as well as diagnostic methods to be practiced on the human or animal body. Thus, it relates to (continued to extra sheet)
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Requirement of unity of invention in the international application is not fulfilled unless there is a technical relationship between the groups of inventions involving one or more of the same or corresponding special technical features (PCT Rule 13.1). The "special technical features" shall mean those technical features that define a contribution which each of the claimed inventions, considered as a whole, makes over the prior art (PCT Rule 13.2). (Continued to extra sheet)

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:  
Claims 1 to 4.

**Remark on Protest**  The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/002669

Continuation of Box No.II-1 of continuation of first sheet(2)

a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 14(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet(2)

Concerning claims, the statement in the description points out that the invention as set forth in claim 6 seems an invention with the use of an anti-NC1 antibody. Thus, the matter common to the inventions as set forth in claims 1 to 6, 9 and 10 resides in "an anti-NC1 antibody". Thus, the matter common to the inventions as set forth in claims 1 to 6, 9 and 10 and the invention as set forth in claim 7 resides in "an antibody against type IV collagen". However, antibodies against type IV collagen had been publicly known prior to the filing of the present international application (see, for example, document 1: NINOMIYA, Y., et al., Differential expression of two basement membrane collagen genes, COL4A6 and COL4A5, demonstrated by immunofluorescence staining using peptide-specific monoclonal antibodies, The Journal of Cell Biology, September 1995, Vol.130, No.5, pages 1219-1229). Thus, "an antibody against type IV collagen" cannot be considered as "a special technical feature".

The matter common to the inventions as set forth in claims 1 to 4 resides in "an anti-NC1 monoclonal antibody immunologically reacting with NC1 in glomerulus" which can be considered as "a special technical feature". Since the matter common to the inventions as set forth in claims 5, 6, 9 and 10 resides in "an anti-NC1 antibody", the matter common to the inventions as set forth in claims 1 to 4 and the inventions as set forth in 5, 6, 9 and 10 resides in "an anti-NC1 antibody" too. However, anti-NC1 antibodies had been publicly known prior to the filing of the present international application too (see, for example, document 1). Thus, it can be concluded that there is no "special technical feature" common to the inventions as set forth in claims 1 to 4 and the inventions as set forth in claims 5, 6, 9 and 10.

Such being the case, claims have the following six invention groups:

- (1) the inventions as set forth in claims 1 to 4;
- (2) the invention as set forth in claim 5;
- (3) the invention as set forth in claim 6;
- (4) the invention as set forth in claim 7;
- (5) the invention as set forth in claim 9; and
- (6) the invention as set forth in claim 10.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2005/002669	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. <sup>7</sup> C07K16/18, G01N33/53, 33/577, C12P21/08			
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. <sup>7</sup> C07K16/18, G01N33/53, 33/577, C12P21/08			
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			
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、調査に使用した用語) BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN)、WPI (DIALOG)、JSTPlus (JOIS)、PubMed			
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 請求の範囲の番号	
X Y	NINOMIYA, Y., et al., Differential expression of two basement membrane collagen genes, COL4A6 and COL4A5, demonstrated by immunofluorescence staining using peptide-specific monoclonal antibodies., The Journal of Cell Biology. September 1995, Vol.130, No.5, pages 1219-1229.	1, 2, 4 3	
<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 「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 「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 「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) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日の後に公表された文献 「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 「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 「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 「&」 同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 25.05.2005		国際調査報告の発送日 14.6.2005	
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) 上條 肇	4B 3535
		電話番号 03-3581-1101 内線 3448	

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2005/002669

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
X Y	SUGIHARA, K., et al., Experimental anti-GBM glomerulonephritis induced in rats by immunization with synthetic peptides based on six alpha chains of human type IV collagen., JOURNAL OF PATHOLOGY. March 1996, Vol.178, No.3, pages 352-358.	1, 2, 4 3
Y	横山司甫, 他3名, タイプIVコラーゲンのNC1領域 (K35) により誘導される腎炎モデル, 細胞, 2002. 04. 20, 第34巻, 第4号, p. 36-39	1-4
Y	横山司甫, 他1名, 尿と血清に於けるNC1 (タイプIVコラーゲンNC1領域) と抗NC1抗体の測定, 細胞, 2003. 04. 20, 第35巻, 第4号, p. 40-44	1-4

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2005/002669

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

- 1.  請求の範囲 8 は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。つまり、請求の範囲8は、抗体作製時や追加免疫時の投与方法であり、手術又は治療による人体又は動物の体の処置方法及び人体又は動物の体の診断方法に該当し、PCT第14条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。
- 2.  請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
- 3.  請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるときこの国際調査機関は認めた。

国際出願における発明の単一性の要件 (PCT規則13.1)は、請求の範囲に記載された一群の発明の間に一又は二以上の同一又は対応する特別な技術的特徴を含む技術的關係があるときに限り、満たされるものであって、この「特別な技術的特徴」とは、請求の範囲に記載された各発明が全体として先行技術に対して行う貢献を明示する技術的特徴のことである (PCT規則13.2)。

(特別ページに続く)

- 1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
- 2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
- 3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
- 4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

請求の範囲 1-4

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2005/002669

## 第Ⅲ欄の続き

そこで、請求の範囲をみると、請求の範囲6に記載された発明は、明細書中の記載を参酌して、抗NC1抗体を利用した発明と認められるので、請求の範囲1-6、9、10に記載された発明に共通する事項は「抗NC1抗体」である。そうすると、請求の範囲1-6、9、10に記載された発明と請求の範囲7に記載された発明とに共通する事項は「タイプIVコラーゲンに対する抗体」である。しかしながら、タイプIVコラーゲンに対する抗体は、本国際出願時には公知（例えば、文献1：NINOMIYA, Y., et al., Differential expression of two basement membrane collagen genes, COL4A6 and COL4A5, demonstrated by immunofluorescence staining using peptide-specific monoclonal antibodies., The Journal of Cell Biology. September 1995, Vol.130, No.5, pages 1219-1229.）であったから、「タイプIVコラーゲンに対する抗体」は、「特別な技術的特徴」であるとはいえない。

また、請求の範囲1-4に記載された発明に共通する事項は「腎糸球体中のNC1と免疫反応をする抗NC1モノクローナル抗体」であり、これは「特別な技術的特徴」であるといえる。そして、請求の範囲5、6、9、10に記載された発明に共通する事項は「抗NC1抗体」であるから、請求の範囲1-4に記載された発明と請求の範囲5、6、9、10に記載された発明とに共通する事項も「抗NC1抗体」である。しかし、抗NC1抗体についても、本願出願時には公知（例えば、文献1）であったから、請求の範囲1-4に記載された発明と、請求の範囲5、6、9、10に記載された発明との間には、「特別な技術的特徴」は存在しないといえる。

したがって、請求の範囲には、

- ① 請求の範囲1-4に記載された発明、
  - ② 請求の範囲5に記載された発明、
  - ③ 請求の範囲6に記載された発明、
  - ④ 請求の範囲7に記載された発明、
  - ⑤ 請求の範囲9に記載された発明、
  - ⑥ 請求の範囲10に記載された発明、
- の6発明が包含されている。

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2005/002669

## 第IV欄 要約 (第1ページの5の続き)

本発明は、抗NC1モノクローナル抗体を用いて、一次性、二次性を問わず腎炎の早期を検出しようとするものである。本発明は、免疫グロブリンが腎糸球体他に沈着の起さない早期の腎生検試料を免疫染色で、又尿や血清などの試料より抗原抗体反応でNC1を見出だす事で腎機能の診断に有用な情報を与えるものである。更に治療に活用するものである。

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I		テーマコード(参考)
G 0 1 N 1/28 (2006.01)	G 0 1 N 1/30		4 H 0 4 5
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	G 0 1 N 1/28	J	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	C 1 2 P 21/08		
	A 6 1 K 39/395	N	

(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,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,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,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

Fターム(参考) 4C085 AA14 BB11 CC21 EE01  
4H045 AA11 AA30 BA10 DA76 EA50 FA72 GA26

(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)	抗NC1单克隆抗体		
公开(公告)号	<a href="#">JPWO2005082940A1</a>	公开(公告)日	2008-07-31
申请号	JP2006510409	申请日	2005-02-15
[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 今澤俊之		
发明人	横山 司甫 今澤 俊之		
IPC分类号	C07K16/18 C12N15/02 G01N33/53 G01N33/48 G01N1/30 G01N1/28 C12P21/08 A61K39/395 G01N33/577		
CPC分类号	A61P13/12 C07K16/18		
FI分类号	C07K16/18 C12N15/00.C G01N33/53.D G01N33/48.P G01N33/53.Y G01N1/30 G01N1/28.J C12P21/08 A61K39/395.N		
F-TERM分类号	2G045/AA29 2G045/BB22 2G045/BB25 2G045/BB46 2G045/CB01 2G045/CB17 2G045/DA36 2G045/FB01 2G045/FB03 2G052/AA33 2G052/AA35 2G052/AB18 2G052/AD34 2G052/AD52 2G052/EB08 2G052/FA01 2G052/FA09 2G052/GA30 2G052/JA04 2G052/JA07 2G052/JA08 4B024/AA11 4B024/BA44 4B024/DA02 4B024/GA03 4B024/HA11 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/CC21 4C085/EE01 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/DA76 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/GA26		
优先权	2004073468 2004-02-16 JP		
其他公开文献	JP4392693B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明致力于使用抗NC1单克隆抗体检测原发性或继发性肾炎早期肾炎。本发明致力于提供用于诊断肾功能的有用信息，以通过免疫荧光染色法在免疫球蛋白在肾GBM等中尚未沉积或通过尿或血清标本中的抗原-抗体反应获得的肾活检切片中检测NC1。此外，本发明包括用于治疗用途。本发明包含对人和/或动物肾小球中的NC1免疫应答的抗NC1单克隆抗体。本发明涉及能够免疫染色患者肾脏通过将抗NC1单克隆抗体稀释到适当的缓冲液中进行活组织切片，还涉及通过抗原-抗体反应来检测血清或尿液样品中的NC1。此外，本发明包括通过使用抗NC1抗体去除血清中的rsf NC1和/或通过使用纯化的NC1去除血清中的抗NC1抗体来用于肾炎患者的血清清洁技术。此外，本发明致力于通过使用抗NC1抗体，通过纯化的肾IV型胶原作为抗原来制备特定的抗肾IV型胶原抗体加工。本发明的抗肾IV型胶原抗体可以通过抗原抗体反应检测尿中或血清中的IV型胶原蛋白。

