

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公 開 特 許 公 報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2013-19878**(P2013-19878A)**(43) 公開日 **平成25年1月31日(2013.1.31)**

(51) Int.Cl.

G O 1 N 33/53 (2006.01)

F I

G O 1 N 33/53

N

テーマコード (参考)

審査請求 未請求 請求項の数 3 書面 (全 4 頁)

(21) 出願番号 特願2011-168752 (P2011-168752)
 (22) 出願日 平成23年7月13日 (2011. 7. 13)

(71) 出願人 598100346
 横山 司甫
 東京都東久留米市氷川台2-13-19
 (72) 発明者 横山 司甫
 東京都東久留米市氷川台2-13-19
 (72) 発明者 持田 弘
 群馬県伊勢崎市曲沢町152-1

(54) 【発明の名称】 糖尿病及び腎炎の検出試薬

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 糖尿病及び腎炎検出の方法と試薬を示す。特に早期の腎炎の存在を明らかにする。

【解決手段】 免疫グロブリン量を指標とすることで、糖尿病及び腎炎を検出する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

尿中の免疫グロブリン量を測定することで、糖尿病から腎炎に移行するのを早期に検出する方法。

【請求項 2】

尿中の免疫グロブリン量を測定することで、元の疾患を問わず腎炎の早期を検出する方法。

【請求項 3】

請求項 1 及び又は請求項 2 の方法に用いる測定試薬。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】**【0001】**

糖尿病及び腎炎の早期での検出方法とその試薬に関する。

【背景技術】**【0002】**

従来、腎炎検出では、血清成分（クレアチニ、BUN、UA）、尿中のアルブミン、尿蛋白などが指標とされている。汎用されている尿試験紙はアルブミンに特異性が高いが、免疫グロブリンには偽陰性になる（鈴木佑介、富野康日己：CKD診断に於ける尿検査・AKIとCKDのすべて、「腎と透析」編集委員会編、pp41-44、東京医学社、東京、2010.）。糖尿病性腎炎の早期検出には、尿中アルブミンが測定されている。しかし、糖尿病のごく初期の腎炎を見出す方法は無い。

20

【発明の開示】**【0003】**

尿中には様々の蛋白が存在するので、糖尿病性腎炎及び一般の腎炎と関係する成分を特定しようとするものである。

【発明が解決しようとする課題】**【0004】**

尿中の蛋白成分で腎炎との関わりを指摘されているものは少ない。そのために、より多面的に腎炎が研究及び検出できるように、尿中蛋白からの新たな指標成分が求められる。

【発明が解決するための手段】

30

【0005】

尿蛋白と一口で言っても、微細なものから巨大なものまで存在するし、健常者の尿でも微量に検出される。

発明者は尿中の蛋白を長年分析してきて、本願に到った。従来、尿中の免疫グロブリンであるIgGは、腎炎の一種である微小変化型ネフローゼ症候群の指標である血中Tfとのインデックスで用いられている（日腎会誌 2010；52（7）：882-887）。その意味は、血中のIgGが尿中にどの程度漏れてきたかを示すもので血中Tfと組み合わせたインデックスで初めて使える。実際、免疫グロブリン（G、M、A、D、E）を総量（G、M、A、D、Eの其々の総量の意味も含む）で腎炎との関わりを観る方法は無かった。

40

しかし、発明者は現在、腎炎での尿中免疫グロブリンは主に腎臓組織での免疫反応の結果であると考えている。例えば、腎臓組織が障害された時に尿に出現する抗タイプIVコラーゲンNC1抗体（抗NC1抗体）である。しかし、抗NC1抗体の検出には、キットの作製に抗原NC1の抽出精製という多大な手間を要する。

発明者は腎臓組織のその他の成分にも様々な腎炎に特有の障害がある可能性を考えた。各種腎炎で個々の成分が障害されているか否か調べたり、その成分を抽出精製して、抗原となり得るか調べるのは多大な労力を要する。実際、発明者はそのようにして長らく分析を試みてきたが、抗NC1抗体ほどには実用化に耐えるマーカーを見出していない。

そこで個別的にで無く総合的に腎炎を観ることにした。

もっと簡便に、尿蛋白を計るように大雑把で、しかも、それよりも精度良く、早期の腎炎

50

を検出できる方法はないか試行錯誤して、免疫グロブリン量を測れば良いことにたどり着いた。

【発明の効果】

(実測例) 糖尿病患者と腎炎患者とは、尿中の免疫グロブリン量が健常者に比べて多であった。数値的には、糖尿病患者より腎炎患者がかなり高かった。又、測定した糖尿病患者は糖尿病性腎症とは診断されていない。自己インシュリンを打ち、血糖値はコントロールされていた。又、尿中の抗NC1抗体は健常者の域で、尿試験紙では蛋白マイナスであった。

通常、糖尿病性腎症の早期発見には、尿中の微量アルブミン測定が用いられているが、糖尿病性腎症の腎症前状態から観察できる免疫グロブリン量を併せて測定したら良い。

10

【発明を実施するための最良の形態】

測定対象とする免疫グロブリンは尿中IgA, IgG, IgM, IgD, IgEの全部をあわせた総量でも良いし、IgA, IgG, IgM, IgD, IgEそれぞれの総量を計るのでも良い。反応系は免疫反応により実施する。例えば酵素免疫測定法(EIA)である。96穴のマイクロプレートの検体尿を入れ、これに酵素標識抗ヒト免疫グロブリン抗体(ウサギ由来)を加えて、更にTMBを含む酵素基質液を加えた後、反応停止液(希釈硫酸液)で反応を止め、直ちに波長450nmでの吸光度を測定する。反応形式は抗体を二回以上使うサンドイッチ法でも良い。凝集法でもかまわない。又、免疫反応を使わずに、尿中の免疫グロブリンの波長にあわせて吸光度を測定するのでも良い。ラベル物質は用いるときは放射性物質でも良い。

20

【実施例】

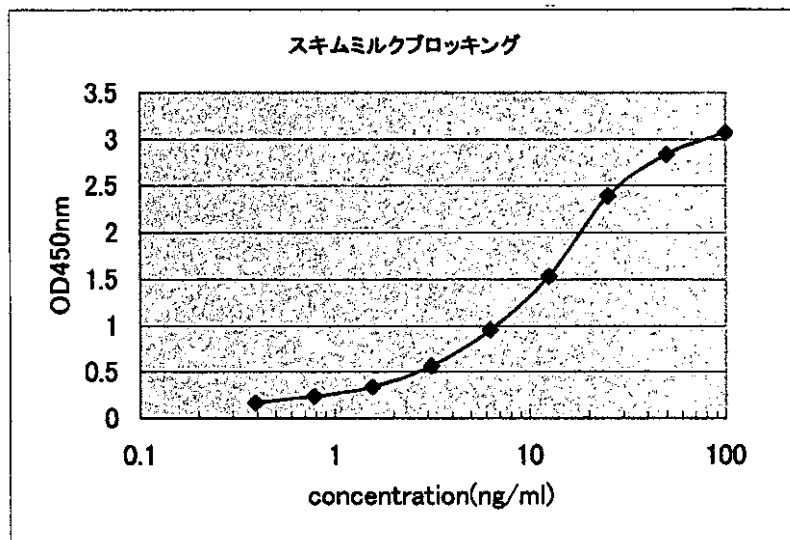
サンドイッチ法によるヒトIgGの総量での測定例；

作製したキット構成；1) 抗ヒトIgG抗体(ヒツジ由来) 0.5ug/wellを固相化した96穴マイクロプレート 2) ブロッキング(0.5%スキムミルク) 3) 標準(ヒトIgG) 4) 酵素標識抗ヒトIgG抗体(1万倍希釈ヒツジ、カペル社) 5) 酵素基質液(TMB 100；コラーゲン技術研修会) 6) 反応停止液(0.1N-硫酸) 7) 測定波長450nmでの吸光度(OD)を測定。

標準曲線例；(実験No. 100809)

0.00ng/ml - (OD.) 0.073,
0.39 - 0.172,
0.78 - 0.240,
1.56 - 0.338,
3.13 - 0.569,
6.25 - 0.956,
12.5 - 1.537,
25.0 - 2.091

30



10

検体；（5倍希釈尿）

y 5 0 8（健常者；♂ 5 8 - 9 歳）1 . 4 9 7 / 1 4 . 0 n g

y 5 0 9（健常者；♂ 5 8 - 9 歳）1 . 6 3 9 / 1 6 . 1 n g

y 5 0 1（慢性腎炎；降圧剤服用 ♀ 5 2 - 3 歳）3 . 0 3 8 / 4 3 . 2 n g

y 5 0 7（糖尿病；インシュリン自己注射 ♂ 5 6 - 7 歳）2 . 3 8 4 / 2 9 . 3 n g

E 6（糖尿病性腎症；♀ 7 0 歳、尿糖 + 3、尿潜血 + 2、尿蛋白 + 4、血清クレアチニン 1 . 1、BUN 1 6 . 8、血糖値 2 5 0）3 . 1 8 9 / 4 6 . 6 n g

20

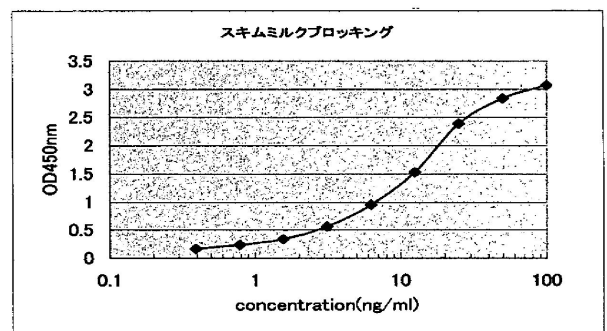
【産業上の利用可能性】

本願は、ヒト及び動物の糖尿病性のごく初期、腎炎の早期検出、薬剤の評価（腎障害をもたらすか、腎疾患治療薬、腎保護効果となるかなど）に利用できる。

专利名称(译)	用于治疗糖尿病和肾炎的检测试剂		
公开(公告)号	JP2013019878A	公开(公告)日	2013-01-31
申请号	JP2011168752	申请日	2011-07-13
[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 持田弘		
发明人	横山 司甫 持田 弘		
IPC分类号	G01N33/53		
FI分类号	G01N33/53.N		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种检测糖尿病和肾炎的方法和试剂。尤其显示出早期肾炎的存在。解决方案：使用免疫球蛋白的量作为指标来检测糖尿病和肾炎。[选择图]无



体；（5倍希釈尿）
508（健常者；♂58-9歳）1.497 / 14.0 r
509（健常者；♂58-9歳）1.639 / 16.1 r
501（慢性腎炎；降圧剤服用♀52-3歳）3.03 r
507（糖尿病；インシュリン自己注射♂56-7歳）；
6（糖尿病性腎症；♀70歳、尿糖+3、尿潜血+2、尿