

(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2015-72196
(P2015-72196A)

(43) 公開日 平成27年4月16日(2015.4.16)

(51) Int.Cl.

GO1N 33/53 (2006.01)
GO1N 33/573 (2006.01)
C12N 9/16 (2006.01)

F 1

GO1N 33/53
GO1N 33/573
C12N 9/16

テーマコード(参考)

4B050

審査請求 未請求 請求項の数 12 O L (全 11 頁)

(21) 出願番号

特願2013-208050 (P2013-208050)

(22) 出願日

平成25年10月3日 (2013.10.3)

(71) 出願人 000003300

東ソー株式会社

山口県周南市開成町4560番地

(71) 出願人 504157024

国立大学法人東北大学

宮城県仙台市青葉区片平二丁目1番1号

(72) 発明者 青木 淳賢

宮城県仙台市青葉区片平二丁目1番1号

国立大学法人東北大学内

(72) 発明者 島本 恵史

神奈川県綾瀬市早川2743番地1 東紹
一株式会社 東京研究センター内

(72) 発明者 五十嵐 浩二

神奈川県綾瀬市早川2743番地1 東紹
一株式会社 東京研究センター内

F ターム(参考) 4B050 DD11 LL03

(54) 【発明の名称】オートタキシンアイソフォーム δ 及び ϵ の測定による疾患等の検出方法

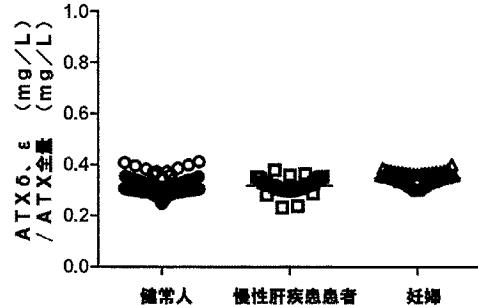
(57) 【要約】

【課題】オートタキシンアイソフォーム δ 及び ϵ を測定することにより、慢性肝疾患、妊娠をはじめとするオートタキシンアイソフォーム δ 、 ϵ 、 α 、 β 及び γ の測定により検出しうる疾患等の、検出方法および検出薬を提供すること。

【解決手段】

血清等の検体中のオートタキシンアイソフォーム δ 及び ϵ を、抗体を用いた免疫化学的方法により測定することにより、オートタキシンアイソフォーム δ 、 ϵ 、 α 、 β 及び γ の測定により検出しうる疾患、例えば慢性肝疾患や妊娠等を検出する。また、オートタキシンアイソフォーム δ 及び ϵ の濃度を測定し、その値を換算することにより、オートタキシンアイソフォーム δ 、 ϵ 、 α 、 β 及び γ の濃度を推定する。

【選択図】 図8



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

オートタキシンアイソフォーム 及び を測定することを特徴とする、オートタキシンアイソフォーム 、 、 、 及び 測定により検出しうる疾患等の検出方法。

【請求項 2】

前記疾患等が慢性肝疾患である請求項 1 に記載の検出方法。

【請求項 3】

前記疾患等が悪性リンパ腫である請求項 1 に記載の検出方法。

【請求項 4】

前記疾患等が腎疾患である請求項 1 に記載の検出方法。

10

【請求項 5】

前記疾患等がステロイド服用効果モニターである請求項 1 に記載の検出方法。

【請求項 6】

前記疾患等が妊娠又は妊娠高血圧症候群である請求項 1 に記載の検出方法。

【請求項 7】

前記オートタキシンアイソフォーム 及び が完全長のオートタキシンアイソフォーム 及び 、部分的に切断を受けたオートタキシンアイソフォーム 及び 、又は一部の遺伝子の変異を受けたオートタキシンアイソフォーム 及び である、請求項 1 から 6 いずれかに記載の検出方法。

【請求項 8】

検体が、血液成分又は細胞若しくは組織の抽出液である、請求項 1 から 7 いずれかに記載の検出方法。

20

【請求項 9】

前記方法が、抗体を用いた免疫化学的方法である、請求項 1 から 8 いずれかに記載の検出方法。

【請求項 10】

請求項 1 から 9 のいずれかに記載の検出方法を利用することを特徴とする、オートタキシンアイソフォーム 、 、 、 及び 測定により検出しうる疾患等の検出薬。

【請求項 11】

オートタキシンアイソフォーム 及び 濃度を測定し、その値を換算することを特徴とする、オートタキシンアイソフォーム 、 、 、 及び 濃度の推定方法。

30

【請求項 12】

オートタキシンアイソフォーム 、 、 、 及び 濃度を測定し、その値を換算することを特徴とする、オートタキシンアイソフォーム 及び 濃度の推定方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、オートタキシンアイソフォーム 及び の測定による、慢性肝疾患、妊娠をはじめとするオートタキシン全量濃度の測定により検出しうる疾患等の、検出方法、検出薬及び推定方法に関する。

40

【背景技術】

【0002】

オートタキシンにはいくつかのアイソフォーム (isoform、構造は異なるが同じ機能をもつタンパク質) があることが知られている。一例として、スプライシングバリアント 、 、 、 、 が遺伝子として同定されているオートタキシンアイソフォーム 、 、 、 、 (以下それぞれを ATX 、 、 、 、 と略す) がある (非特許文献 1、2)。

【0003】

前記アイソフォームのアミノ酸配列の相同性を確認した結果、ATX 、 及び (以下、ATX 、 、 と定義する) は、L2リンカー領域で Val - Glu - Pro - L

50

ys (配列番号1)を有し、ATX 及び (以下ATX 、 と定義する)はL2リinker領域で配列番号1のアミノ酸配列を欠損していることが明らかとなっている (非特許文献2)。ATX はATX に次いで主要なアイソフォームであり、ATX に類似した生化学的性質をもつ (非特許文献1)。

【0004】

オートタキシンの測定に関しては、特許文献1にて、ヒト血清等ヒト検体中のATX 、 、 、 及び (以下ATX全量と定義する)濃度を簡便、短時間、かつ信頼性高く定量可能な方法が開示されており、悪性リンパ腫、肝臓の線維化、膵疾患、ステロイド服用効果モニター、妊娠および妊娠高血圧症候群の検出が可能となっている (特許文献1、2、3、4、5)が、各種疾患におけるATX 、 の濃度はこれまで不明であった。 10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】国際公開第2008/016186号パンフレット

【特許文献2】国際公開第2011/081214号パンフレット

【特許文献3】特開2012-52875号公報

【特許文献4】特開2012-2588号公報

【特許文献5】特開2009-162616号公報

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】J. Biol. Chem.、283、7776、2008

【非特許文献2】J. Biochem.、151、89-97、2012

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

そこで本発明は、ATX 、 の測定により、慢性肝疾患、妊娠をはじめとするATX 全量測定により検出しうる疾患等の、検出方法、検出薬及び推定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】

【0008】

上記課題に鑑みてなされた本発明は、以下の態様を包含する:

(1) ATX 、 を測定することを特徴とする、ATX全量測定により検出しうる疾患等の検出方法。

(2) 前記疾患等が慢性肝疾患である(1)に記載の検出方法。

(3) 前記疾患等が悪性リンパ腫である(1)に記載の検出方法。

(4) 前記疾患等が膵疾患である(1)に記載の検出方法。

(5) 前記疾患等がステロイド服用効果モニターである(1)に記載の検出方法。

(6) 前記疾患等が妊娠又は妊娠高血圧症候群である(1)に記載の検出方法。

(7) 前記ATX 、 が完全長のATX 、 、 部分的に切断を受けたATX 、 、 又は一部の遺伝子の変異を受けたATX 、 である、(1)から(6)いずれかに記載の検出方法。 40

(8) 検体が、血液成分又は細胞若しくは組織の抽出液である、(1)から(7)いずれかに記載の検出方法。

(9) 前記方法が、抗体を用いた免疫化学的方法である、(1)から(8)いずれかに記載の検出方法。

(10) (1)から(9)のいずれかに記載の検出方法を利用することを特徴とする、ATX全量測定により検出しうる疾患等の検出薬。

(11) ATX 、 濃度を測定し、その値を換算することを特徴とする、ATX全量濃度の推定方法。

(12) ATX全量濃度を測定し、その値を換算することを特徴とする、ATX 、 濃 50

度の推定方法。

【0009】

以下、本発明を詳細に説明する。

【0010】

本発明者らは A TX のアイソフォームに着目し、ヒト血中の A TX 、 を検出することを試みた。その結果、慢性肝疾患患者では、その値が健常人からなる正常値に対し有意差をもって高値を示した。妊婦では、その値が非妊娠健常人測定値からなる正常値に対し有意差をもって高値を示した。悪性リンパ腫では、その値が健常人からなる正常値に対し有意差をもって高値を示す。非癌腫疾患患者では、その値が健常人からなる正常値に対し低値を示し、非癌腫疾患患者では、その値が膵臓癌患者に対し低値を示す。ステロイド服用により、その値が低値を示す。妊娠高血圧症候群では、その値が正常妊娠群の測定値に対して有意差をもって低値を示す。

10

【0011】

測定される A TX 、 は、完全長の A TX 、 だけでなく、部分的に切断を受けた A TX 、 、又は一部の遺伝子の変異を受けた A TX 、 も含まれる。検体は、血液成分又は細胞若しくは組織の抽出液があげられる。

【0012】

本発明において A TX 、 の測定方法は、 A TX 、 を検出可能な方法であれば検出方法を選ばない。好ましくは、特異性、感度、汎用性などの点から、免疫化学的方法である。

20

【0013】

このとき用いられる抗 A TX 、 抗体は、例えば A TX のアミノ酸配列のうち、ヒト A TX 、 上に存在するアミノ酸配列 Cys - Asp - Asp - Lys - Asn - Lys - Leu - Asp - Glu - Leu - Asn - Lys - Arg - Leu (配列番号 2) からなるアミノ酸配列を含むオートタキシンを特異的に認識し、ヒト A TX 、 、 上に存在するアミノ酸配列 Cys - Asp - Asp - Lys - Val - Glu - Pro - Lys - Asn - Lys - Leu - Asp - Glu - Leu - Asn - Lys - Arg - Leu (配列番号 3) からなるアミノ酸配列を含むオートタキシンを認識しないものである。

30

【0014】

ここで、配列番号 2 のアミノ酸配列は、ヒト A TX (GenBank : AAB00855 . 1 、配列番号 4) の 569 番目～ 586 番目までのアミノ酸からなるオリゴペプチド (配列番号 3) から、 5 番目のバリン～ 8 番目のリジンまでのアミノ酸 (すなわち、配列番号 1 からなるアミノ酸配列) を欠損させたオリゴペプチドに相当する。

【0015】

抗 A TX 、 抗体は、配列番号 2 のアミノ酸配列を含むペプチドをマウス、ラット、ウサギ等の動物に免疫することにより取得することができる。

【0016】

抗 A TX 、 抗体と、 A TX のアミノ酸配列のうち配列番号 2 からなるアミノ酸配列以外の領域を認識する抗体とを含むオートタキシン測定試薬を用いることで、配列番号 2 からなるアミノ酸配列を含むオートタキシン、即ち A TX 、 をサンドイッチイムノアッセイにより特異的に検出することができる。

40

【0017】

本発明の検出方法を利用して、 A TX 全量測定により検出しうる疾患等の検出薬とすることもできる。特に前述のような A TX 、 のサンドイッチイムノアッセイ法は、検体中に含まれる内在性の測定妨害因子や競合酵素の影響を受けることなく、かつ短時間で A TX 、 を定量可能であり、小規模医療施設においても簡便、低コストで診断可能な本発明の検出薬を提供することが可能である。

【0018】

また、 A TX 、 濃度は A TX 全量濃度と、疾患によらず有意な正の相関があり、 A

50

TX、はATX全量に対し約32%の比率で存在した。したがって、ATX、濃度を0.32で除すことにより、ATX全量濃度を推定することができ、ATX全量濃度に0.32を乗ずることにより、ATX、濃度を推定することができる。

【発明の効果】

【0019】

前記の方法を用いれば、検体中に含まれる内在性の測定妨害因子や競合酵素の影響を受けることなく、かつ短時間でATX、を定量可能であり、小規模医療施設においても簡便、低コストで診断可能な本発明の検出薬を提供することが可能である。ATX、の測定により、ATX全量測定と同様に、慢性肝疾患、妊娠を診断することが可能である。また、ATX、濃度はATX全量濃度と良好な正の相関性を示すこと、ATX全量濃度に占めるATX、濃度の比率は約32%と疾患によらずほぼ一定であることから、ATX、の測定によりATX全量を推定することができ、またその逆も可能である。したがって、ATX、の測定は、ATX全量の血中濃度の上昇又は下降を伴う疾患等、例えば、悪性リンパ腫、腎疾患、ステロイド服用効果モニター、および妊娠高血圧症候群）の診断にも使用することが期待できる。

10

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】健常人（丸）と慢性肝疾患患者（四角）のATX、Indexを示す図である。

20

【図2】健常人（丸）と慢性肝疾患患者（四角）のATX全量Indexを示す図である。

20

【図3】健常人女性（丸）と妊婦（四角）のATX、濃度を示す図である。

【図4】健常人女性（丸）と妊婦（四角）のATX全量濃度を示す図である。

【図5】健常人のATX全量濃度とATX、濃度の相関性を示す図である。

【図6】慢性肝疾患患者のATX全量濃度とATX、濃度の相関性を示す図である。

【図7】妊婦のATX全量濃度とATX、濃度の相関性を示す図である。

【図8】健常人、慢性肝疾患患者および妊婦のATX全量濃度に占めるATX、濃度の比率を示す図である。

【実施例】

【0021】

30

以下に実施例を示すが、本発明は実施例に記載された例に限られるものではない。なお、以下の実験例で使用したヒト検体は、インフォームドコンセントのもと採血された検体を用い実施した。また、ATX全量濃度の測定は特許文献1の方法、ATX、濃度の測定は以下の方法に基づき、自動免疫測定装置AIAシリーズ（東ソー（株）製）を用い実施した。

【0022】

参考例：

免疫抗原は、合成したペプチド（配列番号2）をImject Keyhole Limpet Hemocyanin（PIERC E社；品番77153）を用い、プロトコールに従って、コンジュゲーションすることで作製した。この免疫抗原をラットを用いて、フロイント完全アジュvant（DIFCO）と共に、エーテル麻酔下で後足に免疫した。1カ月後、ラットより鼠頸リンパ節および腸骨リンパ節を採取し、B細胞を回収し、ミエローマ細胞と融合することにより、ハイブリドーマ細胞を作製した。

40

【0023】

クローンの選択は、スクリーニング用ペプチド-B SAコンジュゲート抗原を用い、配列番号2のオリゴペプチド-B SAと反応性を示し、かつ配列番号3のオリゴペプチド-B SAと反応性を示さないクローンを選択した。スクリーニング用ペプチド-B SAコンジュゲート抗原は、Imject Bovine serum albumin（PIERC E社；品番77171）を用い、プロトコールに従って、コンジュゲーションすることでペプチド-B SA（Bovine serum albumin）を作製した。スクリ

50

リーニング陽性ウェル中の細胞を限界希釈法によりモノクローナル化を行いハイブリドーマとして樹立した。

【0024】

本発明で使用した抗 A T X 、 モノクローナル抗体はクローニ名 A T X R 4 - 1 2 7 、 抗 A T X モノクローナル抗体 (A T X のアミノ酸配列のうち配列番号 2 からなるアミノ酸配列以外の領域を認識するもの) は、 特許文献 1 に記載の方法で得られたクローニ名 A T X R 1 0 . 2 3 である。

【0025】

また A T X 、 測定試薬は、 特許文献 1 の方法に従い調製した。調製した試薬は、 自動免疫測定装置 A I A シリーズ (東ソー (株) 製) で使用可能である。具体的には以下に示す方法で実施した。

【0026】

水不溶性担体 (内部にフェライトを練り込んだ粒子径約 1 . 5 m m のエチレンビニルアルコール製担体) に抗 A T X 、 モノクローナル抗体 (A T X R 4 - 1 2 7) を 1 0 0 n g / 担体になるように 3 0 にて一昼夜物理的に吸着させ、 その後 1 % B S A を含む 1 0 0 m M トリス緩衝液 (p H 8 . 0) にて 4 0 、 4 時間プロッキングを行なうことで抗体固定化担体を調製した。抗 A T X モノクローナル抗体 (A T X R 1 0 . 2 3) をアルカリフオスファターゼ標識用キット - N H 2 (同仁化学研究所、 品番 : L K 1 2) を用いてアルカリ性フオスファターゼと結合させることで標識抗体を調製した。

【0027】

磁力透過性の容器 (容量 1 . 2 m L) に 1 2 個の抗体固定化担体を入れた後、 0 . 7 μ g / m L の標識抗体を含む緩衝液 (3 % B S A を含むトリス緩衝液、 p H 8 . 0) 5 0 μ L を容器に添加し凍結乾燥を施し A T X 、 測定試薬とした。 A T X 測定試薬は窒素充填下密閉封印シールを施し測定まで 4 にて保管した。

【0028】

既知濃度 A T X 標準品を特許文献 1 記載の方法に従い調製した。具体的には、 下記に示す方法で実施した。 A T X モノクローナル抗体 (A T X R 1 0 . 2 3) 結合カラムを用い、 牛血清中のオートタキシンを吸着させることで、 A T X 非含有血清を調整した。バキュロウイルスを用いて調製した組み換え A T X を用い、 A T X 非含有血清に適当な濃度添加することで、 濃度の異なる 5 濃度 (A T X 非含有血清を加えると 6 濃度) の標準品を作製した。標準品の濃度は特許文献 1 に記載の A T X 全量定量試薬にて決定した。

【0029】

なお組み換え A T X は、 特許文献 1 の方法に従い、 バキュロウイルスを用いて調製した。具体的な方法を以下に示す。 A u t o t a x i n - t (G e n b a n k a c c e s s i o n n u m b e r L 4 6 7 2 0) のうち、 塩基番号 6 0 番目から 2 6 4 8 番目までのヌクレオチドからなる c D N A (配列番号 5) をバキュロウイルス用トランスファーベクター - p F A S T B a c - H T (インビトロジェン) に導入し、 プロトコールに従い、 ポリヒスチジンを附加した、 配列番号 1 からなるアミノ酸配列を含むオートタキシン (A T X) 発現用バキュロウイルスプラスミドを調製した。ポリヒスチジンを附加した、 配列番号 1 からなるアミノ酸を含まないオートタキシン (A T X) 発現用プラスミドとして、 A T X 発現用バキュロウイルスプラスミドを鑄型として、 K O D - P l u s - M u t a g e n e s i s K i t (東洋紡績) を用いて、 配列番号 5 からなるポリヌクレオチドのうち 1 7 1 7 番目から 1 7 2 8 番目のヌクレオチド (G e n B a n k N o . L 4 6 7 2 9 の 1 7 7 6 番目から 1 7 8 7 番目までのヌクレオチドに相当) を欠損したポリヌクレオチド (配列番号 6) を含むプラスミドを調製した。作製したプラスミドを用い、 B a c - t o - B a c システム (インビトロジェン) にて組換えバキュロウイルスを調製した。調製したバキュロウイルスを用いて、 常法に従い、 s f 9 昆虫細胞に感染させることにより、 A T X を含む培養上清を調製した。発現タンパク質の精製を特開 2 0 1 1 - 0 3 7 8 0 2 号公報に従い実施した。具体的には以下に示す方法で実施した。

【0030】

10

20

30

40

50

抗オートタキシンモノクローナル抗体 R 10 . 7 (特許文献 1) を H i T r a p N H S - a c t i v a t e d H P カラム (G E ヘルスケアバイオサイエンス) に結合させ、 A T X 発現培養上清を前記カラムにロードした。 T B S (1 0 m M T r i s - H C l 、 1 5 0 m M N a C l 、 p H 7 . 4) で十分洗浄を行った。 1 0 0 m M クエン酸緩衝液 (p H 5 . 0) により結合した A T X を溶出した。

【 0 0 3 1 】

実施例 1 : 健常人検体の A T X 、 濃度の定量

患者検体測定に先立ち、コントロール群として健常人血清の A T X 、 濃度を測定した。男性 81 名 (1 9 ~ 6 1 歳) 、女性 52 名 (1 9 ~ 5 0 歳) の健常人血清中の A T X 、 濃度を全自動免疫測定装置にて実施した。

10

【 0 0 3 2 】

結果を表 1 に示す。女性血清中の A T X 、 濃度は男性に比べ明らかに高濃度であり、 M a n n - W h i t n e y U t e s t では $P < 0 . 0 0 1$ の有意差を示した。患者検体測定時には男女の性差を考慮する必要があるため、患者検体測定値を男女それぞれの 95 パーセンタイル上限値である 0 . 3 6 9 m g / L 、 0 . 4 8 9 m g / L で除した値「オートタキシン 、 指数」 (A T X 、 index = A T X 、 測定値 / 95 パーセンタイル上限値) にて男女性差を補正した値を用い以下の評価を実施した。

【 0 0 3 3 】

【 表 1 】

20

	ATX δ 、 ε 濃度 (m g / L, mean \pm SD)	中央値 (m g / L)	95 パーセンタイル参考基準範囲 (m g / L)	n数	有意差検定結果
健常人男性	0.226 \pm 0.050	0.218	0.134 ~ 0.369	81	
健常人女性	0.304 \pm 0.073	0.301	0.182 ~ 0.489	52	S vs 男性 $p < 0.001$
全健常人	0.257 \pm 0.071	0.246	0.138 ~ 0.471	133	

実施例 2 : 健常者検体の A T X 全量濃度の定量

実施例 1 と同じ健常者検体中の A T X 全量濃度を全自動免疫測定装置にて実施した。

30

【 0 0 3 4 】

結果を表 2 に示す。女性検体中の A T X 全量濃度は男性に比べ明らかに高濃度であり、 M a n n - W h i t n e y U t e s t では $P < 0 . 0 0 1$ の有意差を示した。患者検体測定時には男女の性差を考慮する必要があるため、患者検体測定値を男女それぞれの 95 パーセンタイル上限値である 1 . 0 1 3 m g / L 、 1 . 3 5 4 m g / L で除した値「オートタキシン全量指数」 (A T X 全量 index = A T X 全量測定値 / 95 パーセンタイル上限値) にて男女性差を補正した値を用い以下の評価を実施した。

【 0 0 3 5 】

【 表 2 】

40

	ATX全量濃度 (m g / L, mean \pm SD)	中央値 (m g / L)	95 パーセンタイル参考基準範囲 (m g / L)	n数	有意差検定結果
健常人男性	0.704 \pm 0.126	0.678	0.489 ~ 1.013	81	
健常人女性	0.971 \pm 0.190	0.964	0.635 ~ 1.354	52	S vs 男性 $p < 0.001$
全健常人	0.808 \pm 0.202	0.757	0.499 ~ 1.348	133	

実施例 3 : 慢性肝疾患患者検体の A T X 、 濃度と A T X 全量濃度の定量

慢性肝疾患患者血清の A T X 、 濃度を健常人と比較した。比較のために、 A T X 全量濃度の測定を行なった。結果を表 3 (男性及び女性の A T X 、 濃度) 、表 4 (性差を考慮した A T X 、 I n d e x) 、表 5 (男性及び女性の A T X 全量濃度) 、表 6 (性差を考慮した A T X 全量 I n d e x) 、図 1 (性差を考慮した A T X 、 I n

50

d e x) および図 2 (性差を考慮した A T X 全量 Index) に示す。

【 0 0 3 6 】

A T X 、 濃度および A T X 、 Index は、 A T X 全量濃度および A T X 全量 Index と同様に慢性肝疾患患者において有意に高いことが確認された。

【 0 0 3 7 】

【 表 3 】

	ATX δ 、 ε 濃度 (mg/L, mean \pm SD)	n数	有意差検定結果
健常人男性	0.226 \pm 0.050	81	
慢性肝疾患患者男性	0.606 \pm 0.408	14	S vs 健常人男性 $p < 0.001$
健常人女性	0.304 \pm 0.073	52	
慢性肝疾患患者女性	0.528 \pm 0.323	16	S vs 健常人女性 $p < 0.01$

10

【 0 0 3 8 】

【 表 4 】

	ATX δ 、 ε Index (-, mean \pm SD)	n数	有意差検定結果
全健常人	0.617 \pm 0.141	133	
全慢性肝疾患患者	1.343 \pm 0.925	30	S vs 健常人 $p < 0.001$

20

【 0 0 3 9 】

【 表 5 】

	ATX全量濃度 (mg/L, mean \pm SD)	n数	有意差検定結果
健常人男性	0.704 \pm 0.126	81	
慢性肝疾患患者男性	1.860 \pm 1.157	14	S vs 健常人男性 $p < 0.001$
健常人女性	0.971 \pm 0.190	52	
慢性肝疾患患者女性	1.595 \pm 0.927	16	S vs 健常人女性 $p < 0.01$

30

【 0 0 4 0 】

【 表 6 】

	ATX全量 Index (-, mean \pm SD)	n数	有意差検定結果
全健常人	0.703 \pm 0.131	133	
全慢性肝疾患患者	1.485 \pm 0.969	30	S vs 健常人 $p < 0.001$

40

実施例 4 : 妊婦検体における A T X 全量濃度と A T X 、 濃度

妊婦血清の A T X 、 濃度を、 健常人女性と比較した。また、 比較のために、 A T X 全量濃度の測定を行なった。結果を表 7 (A T X 、 濃度) 、 表 8 (A T X 全量濃度) 、 図 3 (A T X 、 濃度) および図 4 (A T X 全量濃度) に示す。

【 0 0 4 1 】

50

ATX、濃度は、ATX全量濃度と同様に妊婦において有意に高いことが確認された。

【0042】

【表7】

	ATX δ 、 ε 濃度 (mg/L, mean \pm SD)	n数	有意差検定結果
健常人女性	0.304 \pm 0.073	52	
妊婦	1.690 \pm 0.944	65	S vs 健常人女性 $p < 0.001$

10

【0043】

【表8】

	ATX全量濃度 (mg/L, mean \pm SD)	n数	有意差検定結果
健常人女性	0.971 \pm 0.190	52	
妊婦	4.773 \pm 2.579	65	S vs 健常人女性 $p < 0.001$

20

実施例5：ATX、濃度とATX全量濃度の相関

健常人検体、慢性肝疾患患者検体、妊婦検体におけるATX全量濃度を横軸に、ATX、濃度を縦軸にしてプロットし、相関関係を確認した。結果を図5（健常人）、図6（慢性肝疾患患者）、図7（妊婦）に示す。

【0044】

図5、6、7に示されるとおり、健常人、慢性肝疾患患者、妊婦でATX、濃度とATX全量濃度は良好な正の相関性を示した。

【0045】

また、健常人、慢性肝疾患患者、妊婦における、ATX全量濃度に占めるATX、濃度の比率(ATX、濃度(mg/L)/ATX全量濃度(mg/L))の結果を表9、図8に示す。ATX全量濃度に占めるATX、濃度の比率の平均は、健常人検体では0.317、慢性肝疾患患者検体では0.318、妊婦では0.349であった。これらのことからATX全量濃度に占めるATX、濃度の比率は疾患によらずほぼ一定の0.32であることから、ATX、濃度を0.32で除すことにより、ATX全量濃度を推定することができ、ATX全量濃度に0.32を乗することにより、ATX、濃度を推定することができる。

30

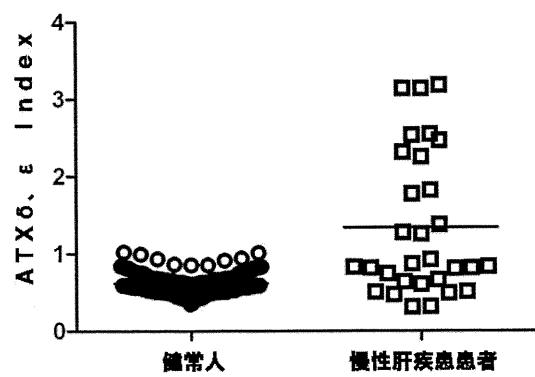
【0046】

【表9】

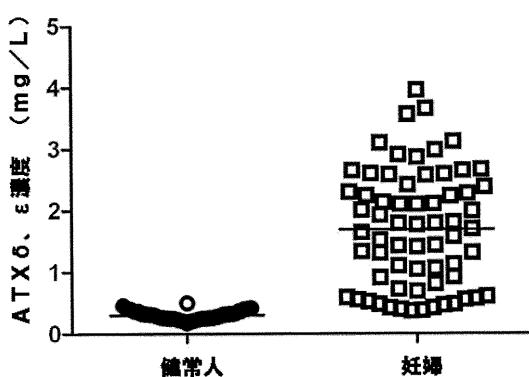
	ATX δ 、 ε 濃度/ATX全量濃度 (-, mean \pm SD)	n数
健常人	0.317 \pm 0.030	133
慢性肝疾患患者	0.318 \pm 0.033	30
妊婦	0.349 \pm 0.022	65

40

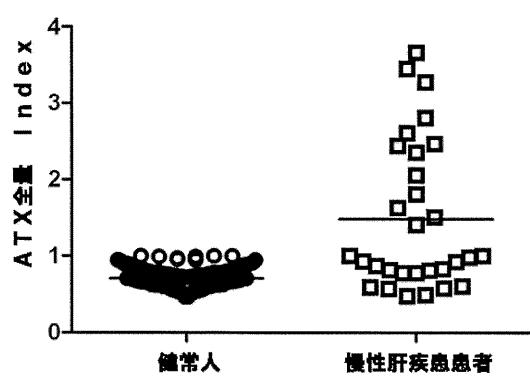
【図1】



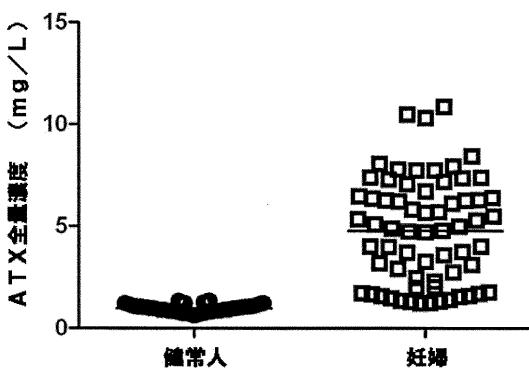
【図3】



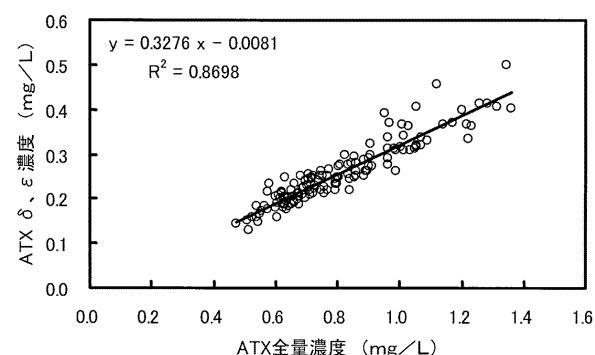
【図2】



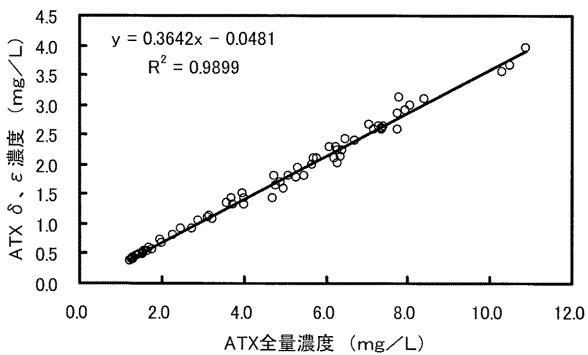
【図4】



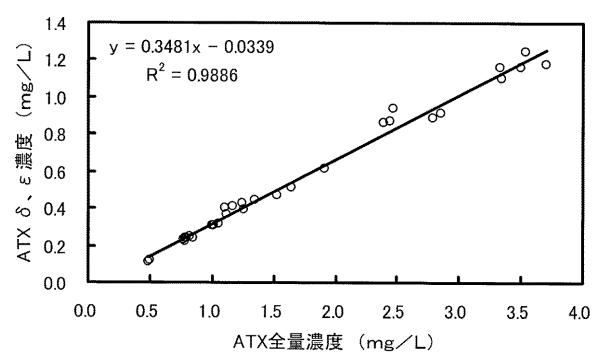
【図5】



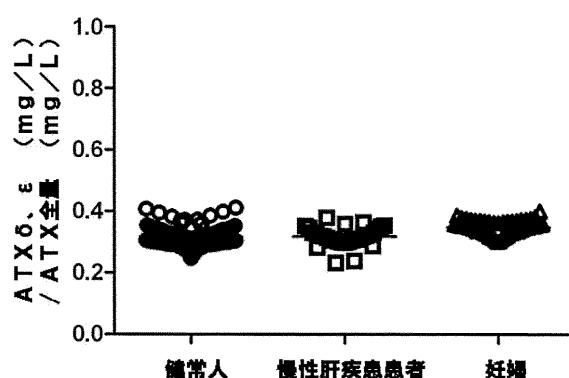
【図7】



【図6】



【図8】



【配列表】

2015072196000001.app

专利名称(译)	通过测量自分泌运动因子同种型 δ 和 ε 来检测疾病等的方法		
公开(公告)号	JP2015072196A	公开(公告)日	2015-04-16
申请号	JP2013208050	申请日	2013-10-03
[标]申请(专利权)人(译)	东曹株式会社		
申请(专利权)人(译)	Tosoh公司 国立大学法人东北大学		
[标]发明人	青木淳賢 島本怜史 五十嵐浩二		
发明人	青木 淳賢 島本 怜史 五十嵐 浩二		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/573 C12N9/16		
FI分类号	G01N33/53.V G01N33/573.A C12N9/16.ZNA.D C12N9/16.DZN.A		
F-TERM分类号	4B050/DD11 4B050/LL03		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：要通过测量自身生物素同种型 δ 和 ε 来检测诸如慢性肝病的方法，可以通过测量自身生物素同种型 α ， β ， γ ， δ 和 ε 来检测包括怀孕在内的疾病，以及 提供检测代理。[解决方案] 通过使用抗体通过免疫化学方法进行测量，可以测定血清等样品中的自身紫杉醇同种型 δ 和 ε ，例如，通过自身紫杉醇同种型 α ， β ， γ ， δ 和 ε 的测定可以检测出疾病。检测慢性肝病和妊娠。此外，测量自分泌生物素同工型 δ 和 ε 的浓度，并将其值转换以估计自分泌生物素同工型 α ， β ， γ ， δ 和 ε 的浓度。[选择图]图8

