

(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2016-85172

(P2016-85172A)

(43) 公開日 平成28年5月19日(2016.5.19)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	V
	GO 1 N 33/53	Y

審査請求 未請求 請求項の数 10 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号	特願2014-219545 (P2014-219545)	(71) 出願人	514274683
(22) 出願日	平成26年10月28日 (2014.10.28)		株式会社エスエムシー
			東京都港区東麻布1丁目9番15号
		(74) 代理人	100102118
			弁理士 春名 雅夫
		(74) 代理人	100102978
			弁理士 清水 初志
		(74) 代理人	100160923
			弁理士 山口 裕孝
		(74) 代理人	100119507
			弁理士 刑部 俊
		(74) 代理人	100142929
			弁理士 井上 隆一
		(74) 代理人	100148699
			弁理士 佐藤 利光

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 臓器における線維化を定量的に測定する方法

(57) 【要約】

【課題】糖尿病を背景疾患に持つ対象臓器の線維化を定量的に判定する方法を提供すること。

【解決手段】対象臓器より糖化コラーゲンを抽出し、ELISA法または病理組織学的な定量法により糖化コラーゲン量を測定することにより、臓器中の線維化について定量的な解析を行う。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

患者から得られた生物学的試料における糖化産物の量を指標とすることを特徴とする、慢性疾患を有する該患者における対象臓器の線維化を定量的に測定する方法。

【請求項 2】

前記慢性疾患が糖尿病を背景に持つ疾患である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記糖化産物が糖化コラーゲンである、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記糖化コラーゲンの量が、ELISAまたは免疫染色切片を用いた画像解析によって測定される、請求項 3 に記載の方法。

10

【請求項 5】

前記ELISAによる測定が、前記患者から得られた血清、血漿、尿または前記対象臓器の抽出液中の糖化コラーゲンを測定する方法である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記免疫染色切片を用いた画像解析が、前記対象臓器の切片を用いた病理組織学的解析である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】

前記対象臓器が、肺、心臓、血管、網膜、脳、大腸、脾臓、肝臓または腎臓である、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 8】

前記対象臓器が、肺、肝臓または腎臓である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記対象臓器が、肝臓または腎臓である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 10】

前記対象臓器が、肝臓である、請求項 7 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、慢性疾患を背景とした臓器線維化を定量的に測定する方法に関する。

30

【背景技術】**【0002】**

線維化疾患は、全身のあらゆる臓器におこる疾患である。線維化疾患としては、肝硬変や肺線維症、腎硬化症などがよく知られている。また、アルツハイマー病や黄斑変性症、加齢などにおいても線維化が生じることが知られている。このように、線維化は人体の機能や生命を脅かす重要な病変であるが、線維化疾患に対する決定的な治療薬は開発されていない。現在、線維化疾患の患者に対しては、臓器移植や人工臓器などにより治療が行われており、患者のQOLの低下が問題となっている。

【0003】

これまでも線維化疾患の治療薬は研究レベルでは多数提案されている。しかしながら、線維化の程度を評価するためのマーカーが確立されていないため、これらの治療薬について臨床試験および非臨床試験を行うことは困難である。現在、線維化の程度を評価するためのマーカーを確立することが求められている。

40

【0004】

従来、線維化の程度を評価するためには、肝臓中のコラーゲン量の定量または生検による病理学的検査を行うしかなかった。しかしながら、肝臓中のコラーゲン量の定量および生検による検査にも次のような問題がある。

【0005】

1) 肝臓中のコラーゲン量の測定には、肝臓中のハイドロキシプロリン量の測定やシリウスレッド溶液を用いたコラーゲン量の測定法が報告されているが、肝臓中のハイドロキ

50

シブロリン量の測定には、肝臓の脂質が反応へ影響することが知られている。またコラーゲン量の測定にはSircol collagen assay kitなどのkitが使用されているが、正常臓器に存在するコラーゲンも測定してしまうため、病的に増加したコラーゲンのみの測定は難しい。

【0006】

2) 生検による病理学的検査は、定量的評価ではなく、定性的評価である。たとえば、肝生検による病理学的検査では、線維化スコア (fibrosis score) 0 ~ 4 というように5段階で評価される。このように曖昧な評価では、医師により評価結果が異なってしまうおそれがある。また、このように曖昧な評価では、厳密な治療効果の判定を行うことはできない。特に腎生検では、統一された評価基準がない。また、組織を観察して定性的評価を行うことができる医師が少なくなっていることも問題である。

10

【0007】

3) 線維化は臓器内において不均一に生じるため、サンプリングエラーにより評価結果がばらつくおそれがある。汎用されているエコー下生検においても、線維化部位と正常部位との区別が困難であるため、サンプリングエラーが生じるおそれがある。また、一人の患者について継続的に評価する場合、毎回異なる部位からサンプリングするため、治療効果を定量的に評価することは困難である。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

20

【非特許文献1】Doron Arosen., " Cross-linking of glycated collagen in the pathogenesis of arterial and myocardial stiffening of aging and diabetes", Journal of Hypertension, Vol.21, No.1, pp.3-21.

【非特許文献2】Herrmann KL, et al., "Glycated collagen cross-linking alters cardiac mechanics in volume-overload hypertrophy ", Am J Physiol Heart Circ Physiol, Vol.284, pp.H1277-H1284.

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

以上のように、本発明は、対象とする臓器全体についての線維化の定量的な解析方法を提供することを目的とする。

30

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明は、かかる点に鑑みてなされたものであり、慢性疾患、例えば糖尿病を背景疾患に持つ患者から得られた生物学的試料における糖化産物 (例えば糖化コラーゲン) の量を測定することによって該患者の対象臓器の線維化を定量的に評価できることを見出した。

【0011】

本発明は、以下の方法に関する。

[1] 患者から得られた生物学的試料における糖化産物の量を指標とすることを特徴とする、慢性疾患を有する該患者における対象臓器の線維化を定量的に測定する方法。

40

[2] 前記慢性疾患が糖尿病を背景に持つ疾患である、[1]に記載の方法。

[3] 前記糖化産物が糖化コラーゲンである、[1]または[2]に記載の方法。

[4] 前記糖化コラーゲンの量が、ELISAまたは免疫染色切片を用いた画像解析によって測定される、[3]に記載の方法。

[5] 前記ELISAによる測定が、前記患者から得られた血清、血漿、尿または前記対象臓器の抽出液中の糖化コラーゲンを測定する方法である、[4]に記載の方法。

[6] 前記免疫染色切片を用いた画像解析が、前記対象臓器の切片を用いた病理組織学的解析である、[4]に記載の方法。

[7] 前記対象臓器が、肺、心臓、血管、網膜、脳、大腸、脾臓、肝臓または腎臓である、[1] ~ [6]のいずれか一項に記載の方法。

50

[8]前記対象臓器が、肺、肝臓または腎臓である、[7]に記載の方法。

[9]前記対象臓器が、肝臓または腎臓である、[7]に記載の方法。

[1 0]前記対象臓器が、肝臓である、[7]に記載の方法。

【 0 0 1 2 】

特に好ましい態様において、本発明は、対象臓器より抽出した糖化コラーゲンをELISA法または病理組織学的解析法により定量的に測定することにより、患者の線維化の程度を評価する方法に関する。糖化コラーゲンは、糖尿病を背景として病的に増加するコラーゲンであり、糖化コラーゲンを指標として線維化の程度を評価する本発明の方法は、正常臓器に存在するコラーゲンも測定してしまう従来の線維化評価方法よりも正確に線維化を評価することができる。当該方法において特に好ましい対象臓器は、肝臓または腎臓である。

10

【 発明の効果 】

【 0 0 1 3 】

本発明によれば、対象とする臓器についての線維化を、糖化コラーゲン量を指標として定量的に解析することができる。したがって、本発明によれば、対象とする臓器についての線維化の程度を定量的かつ客観的に評価することができる。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 1 4 】

以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。

【 0 0 1 5 】

本発明は、患者から得られた生物学的試料における糖化産物の量を指標とすることを特徴とする、慢性疾患を有する該患者における対象臓器の線維化を定量的に測定する方法（本発明の線維化定量測定法または本発明の方法とも称する）を提供する。

20

【 0 0 1 6 】

本発明の方法においては、患者由来の生物学的試料中の糖化産物の量を線維化の程度の指標とするため、従来の線維化スコアによる評価やエコー下生検による評価よりも厳密かつ客観的に線維化の程度を評価することができ、したがって、線維化治療薬候補の治療効果を従来法よりも客観的に評価することができる。

【 0 0 1 7 】

本発明の方法において糖化産物の量を測定する方法は特に限定されず、当業者であれば公知の測定方法から適宜選択することができるが、好ましくはELISA法または免疫染色切片を用いた画像解析（病理組織学的解析）である。

30

【 0 0 1 8 】

本発明の方法による評価対象となる慢性疾患は、糖化産物の産生を伴う疾患であれば特に限定されないが、好ましくは糖尿病を背景に持つ疾患であり、より好ましくは線維化を併発し得る糖尿病を背景に持つ疾患である。

【 0 0 1 9 】

本発明の方法により線維化の程度の指標とする糖化産物は、好ましくは糖化コラーゲンである。糖化コラーゲンは、糖尿病を背景として病的に増加するコラーゲンであるため、糖化コラーゲンを指標とすることにより、正常臓器に存在するコラーゲンも測定してしまう従来の線維化評価方法よりも正確に線維化を評価することができる。

40

【 0 0 2 0 】

本発明の方法において糖化産物の量を測定する患者由来の生物学的試料は、ELISAによる測定の場合は好ましくは血清、血漿、尿または対象臓器（例えば肝臓片）の抽出液であり、免疫染色切片を用いた画像解析の場合は好ましくは対象臓器の切片（例えば肝臓片）である。

【 0 0 2 1 】

本発明の方法により線維化の程度を測定する対象臓器は、線維化を伴う臓器であれば特に限定されないが、例えば肺、心臓、血管、網膜、脳、大腸、脾臓、肝臓または腎臓であり、好ましくは肺、肝臓または腎臓であり、より好ましくは肝臓または腎臓であり、特に

50

好ましくは肝臓である。

【 0 0 2 2 】

また、本発明は、患者から得られた生物学的試料における糖化産物の量を指標とする、慢性疾患を有する該患者における対象臓器の線維化を定量的に評価するための検査薬（線維化評価用試薬）またはキットも提供する。本発明のそのような検査薬は、好ましくは、本発明の線維化測定（評価）方法において使用するための試薬またはキットである。一態様において、本発明のそのような試薬またはキットは、患者から得られた生物学的試料における糖化産物の量を測定するための成分（試薬）を有効成分とする。そのような成分（試薬）は、試料中の糖化産物の量を定量的に測定できるものであれば特に限定されないが、好ましくはELISA法または免疫染色切片を用いた画像解析（病理組織学的解析）を実施するためのものである。

10

【 産業上の利用可能性 】

【 0 0 2 3 】

本発明の線維化定量測定法は、例えば線維化疾患の治療効果の判定に有用である。

フロントページの続き

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889

弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ▲高▼野 裕史

東京都港区東麻布1丁目9番15号 株式会社エスエムシー内

专利名称(译)	定量测量器官纤维化的方法		
公开(公告)号	JP2016085172A	公开(公告)日	2016-05-19
申请号	JP2014219545	申请日	2014-10-28
[标]申请(专利权)人(译)	SMC株式会社		
申请(专利权)人(译)	有限公司SM海		
[标]发明人	高野裕史		
发明人	▲高▼野 裕史		
IPC分类号	G01N33/53		
FI分类号	G01N33/53.V G01N33/53.Y		
代理人(译)	清水初衷 井上隆一 佐藤俊光 小林智彦 正人大关 五十嵐弘		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种定量测定糖尿病作为背景疾病的靶器官纤维化的方法。 解决方案：通过从靶器官中提取糖化胶原并通过ELISA方法或组织病理学定量方法测量糖化胶原的量，对器官中的纤维化进行定量分析。 【选择图】无

(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2016-85172 (P2016-85172A)
		(43) 公開日 平成28年5月19日 (2016.5.19)
(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 V GO 1 N 33/53 Y	
審査請求 未請求 請求項の数 10 O L (全 6 頁)		
(21) 出願番号 (22) 出願日	特願2014-219545 (P2014-219545) 平成26年10月28日 (2014.10.28)	(71) 出願人 514274683 株式会社エスエムシー 東京都港区東麻布1丁目9番15号 (74) 代理人 100102118 弁理士 香名 雅夫 (74) 代理人 100102978 弁理士 清水 初志 (74) 代理人 100160923 弁理士 山口 裕孝 (74) 代理人 100119507 弁理士 刑部 俊 (74) 代理人 100142829 弁理士 井上 隆一 (74) 代理人 100148699 弁理士 佐藤 利光
		最終頁に続く
(54) 【発明の名称】 臓器における線維化を定量的に測定する方法		