

(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2007-139731**(P2007-139731A)**

(43) 公開日 平成19年6月7日(2007.6.7)

(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 C	4 B 0 6 3
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 7 5	
C 1 2 Q 1/42 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 4 5 Z	
	C 1 2 Q 1/42	

審査請求 未請求 請求項の数 3 書面 (全 6 頁)

(21) 出願番号	特願2005-356897 (P2005-356897)	(71) 出願人	504209091
(22) 出願日	平成17年11月14日 (2005.11.14)		株式会社明日香特殊検査研究所
			神奈川県川崎市高津区宇奈根 7 3 1 番地
		(71) 出願人	505456621
			渡辺 伸一郎
			東京都新宿区大京町 3 番地
		(72) 発明者	渡辺 伸一郎
			東京都新宿区大京町 3 番地
		(72) 発明者	菊野 晃
			東京都八王子市別所 2 丁目 3 - 9 - 9 0 4
		(72) 発明者	松田 武英
			東京都江東区豊洲 5 丁目 5 番 3 6 - 7 0 1
		F ターム (参考)	4B063 QA01 QQ03 QQ33 QR13 QR72

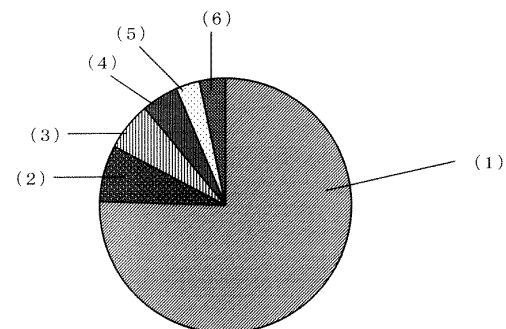
(54) 【発明の名称】 ジャーミノーマの判定法

(57) 【要約】

【課題】 小児期に多発するジャーミノーマは、脳腫瘍の中でも放射線療法、化学療法に感受性が高く、これらの併用療法によって10年生存率90%以上と高い完全緩解率が得られ、長期生存が可能である。このジャーミノーマを術前に特定できれば、内科的治療で治癒する可能性が高いため、ジャーミノーマの判定を簡便、かつ正確に行うための方法を提供した。

【解決手段】 従来難しいと言われていた、ヒトの脳脊髄液中の微量のPLAPとAFPおよび - HCGをそれぞれ測定して、ある一定の基準に入ることによってジャーミノーマと判定する。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒト脳脊髄液中の胎盤型アルカリ性フォスファターゼの 31 pg/mL 以上の出現とアルファフェトプロテインの 1 ng/mL 未満および HCG の 1 mIU/mL 未満の存在を測定することにより、ジャーミノーマを判定する方法

【請求項 2】

ジャーミノーマの判定のためヒト脳脊髄液中の胎盤型アルカリ性フォスファターゼの定量およびアルファフェトプロテインの定量および HCG の定量を免疫学的化学発光法または酵素免疫測定法で測定する請求項 1 のジャーミノーマを判定する方法

【請求項 3】

ヒト脳脊髄液中の胎盤型アルカリ性フォスファターゼの定量およびアルファフェトプロテインの定量および HCG の定量を、1 回のサンプリングで同時に測定する事を特長とする請求項 1 のジャーミノーマを判定する方法

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

中枢神経系疾患の診断や治療をするための検査法に関する技術分野

【背景技術】

【0002】

中枢神経系疾患のうち、脳腫瘍は原発性脳腫瘍と転移性脳腫瘍に大別される。原発性脳腫瘍には髄膜腫、下垂体腺腫、神経膠腫、頭蓋咽頭腫、神経鞘腫、胚細胞性腫瘍などがあるが、脳腫瘍は増大すると脳や神経を圧迫して、その機能を障害し、てんかんや神経脱落症状、さらには頭蓋内圧亢進、水頭症を起こし、やがては生命を脅かすことになる。また、下垂体腺腫のような種々のホルモンの分泌異常をおこし尿崩症や低身長など多彩な病態を呈する。

【0003】

胚細胞性腫瘍はジャーミノーマ（胚腫）、胎児性癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、奇形腫、混合性胚細胞性腫瘍の 6 種に分類されているが、その発生頻度は欧米に比べ日本では 3 ～ 5 倍多い。また、特に小児に多く、小児の脳腫瘍の 5 ～ 15 % を占めている。さらに、ジャーミノーマは胚細胞性腫瘍の中でも最も発生頻度が高く、約 70 % を占めている。

ジャーミノーマは放射線療法や化学療法に対して感受性が高く、化学療法と放射線療法の併用療法を行った場合の 5 年生存率 95 %、10 年生存率 92 % と高い完全緩解率を示し、長期生存が可能な予後良好な疾患である。一方、ジャーミノーマを除く他の胚細胞性腫瘍（非ジャーミノーマ）は 5 年生存率 27 % と予後不良である。したがって、ジャーミノーマは非ジャーミノーマと鑑別できる特異性の高い検査法が開発されれば、必ずしも外科的手術を必要とせず放射線療法、化学療法による内科的治療のみで治癒すると期待される。

【0004】

脳腫瘍の治療はその組織型によって全く異ってくるので、その質的診断は外科手術でも放射線療法や化学療法でもその治療方針を決定する上で極めて重要になってくる。近年 CT や MRI など画像診断の発達によって脳腫瘍の存在診断は正確に行われるようになったが、腫瘍の組織分類に基づいた質的診断は画像診断のみでは容易ではなく、病理組織学的診断が根拠になっている。

【0005】

胚細胞性腫瘍の診断を確定するためには、手術時の生検や摘出標本、あるいは髄液細胞診の病理組織学的検査によって質的診断が用いられているが、診断のために手術を行うことは患者に対する侵襲も非常に大きいと言わざるを得ない。

【0006】

血液中の腫瘍マーカーとしては、卵黄嚢腫瘍ではアルファフェトプロテイン（AFP）が高値を示し、絨毛癌では - ヒトゴナドトロピン（ - HCG ）が高値を示すことから

10

20

30

40

50

、これらの診断に用いられている。一方、ジャーミノーマは胎盤型アルカリフォスファターゼ（PLAP）を産生することが知られ、免疫組織学的にPLAPを免疫染色して診断に用いられているが、これは脳細胞穿刺が必要で治療上の検査としては使用し難い。

特許文献1、2には脳腫瘍の診断に特定の遺伝子を作るいくつかの蛋白質類の測定に関してなされているが何れも本願以外の特殊蛋白質である。

【参考文献】

【0007】

【特許文献1】特開2005-73621

【特許文献2】特表2000-512126

【非特許文献1】内科学25.11A脳腫瘍、朝倉書店、第7版、p1917～1928、2002.5 10

【非特許文献2】渡辺伸一郎他：検査と技術、医学書院、Vol.31、260-262、2003

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

脳腫瘍は非特許文献1にあるように、組織型別に115種類に分類されている。その中でも、胚細胞性腫瘍は欧米に比べ日本では3～5倍も発生頻度が高い。また、特に小児に多い脳腫瘍で、その5～15%を占めている。ジャーミノーマは胚細胞性腫瘍の約70%と最も多く、化学療法と放射線療法の併用療法によって10年生存率90%以上と高い完全緩解率を示すことは前述した。この小児期に多発するジャーミノーマは浸潤性の腫瘍で、進行すれば中枢神経組織を破壊性に浸潤し致命的な影響を生じうるため、早期に診断し、治療することが重要であり、内科的治療によって完治が期待できる腫瘍でもある。また、ジャーミノーマは非ジャーミノーマと比べ放射線感受性が高いので、放射線照射量を低く抑えることができ、知能低下などの重篤な放射線障害を回避することにも役立つ。しかし、ジャーミノーマを簡便、かつ正確に判定することのできる検査法はない。本願発明は、このジャーミノーマの診断を簡便、かつ正確に行うための方法を提供するためになされた。 20

【課題を解決するための手段】

【0009】

胎盤型アルカリ性フォスファターゼ（PLAP）は妊娠12～20週の妊婦の血清中に出現する酵素蛋白でアルカリフォスファターゼの一種であり、精巣や卵巣などの原生殖細胞由来の腫瘍においても出現する。

最近、非特許文献2に示すようにジャーミノーマの髄液中に特異的にPLAPが極微量出現するとの報告があった。

【0010】

本願発明は髄液中のPLAPだけでなく、AFP、 β -HCGを超高感度免疫学的測定法で測定し、それぞれの測定値からジャーミノーマをより正確に判定できる方法を見つけた。 30

【0011】

1984年から1996の日本の脳腫瘍統計によると原発性脳腫瘍52196例中、胚細胞性腫瘍は1375例あったと報告されている。この内訳を図1に示した。ジャーミノーマ76%（1）、奇形腫7%（2）、悪性奇形腫6%（3）、胎児性癌5%（4）、卵黄嚢腫3%（5）、絨毛癌3%（6）のなどである。ジャーミノーマの発生頻度が76%と高く、また化学療法と放射線療法の併用療法によって10年生存率90%以上と高い完全緩解率を示すことから、ジャーミノーマが確実に診断できれば、手術や放射線照射による副作用を最小限にして、完治する可能性が非常に高くなるので、この検査法の重要性が注目される。 40

【0012】

胚細胞性腫瘍を除く脳腫瘍および非腫瘍性中枢神経系疾患32例の髄液中のPLAP、 50

A F P、 α -H C G の測定値は、各々 5 p g / m L 以下、0 . 4 n g / m L 以下、0 . 1 I U / L 以下を示した。ジャーミノーマ 13 例では、P L A P が 30 p g / m L 以上、A F P が 0 . 4 n g / m L 以下、 α -H C G が 1 . 0 I U / L 以下を示した。また非ジャーミノーマ 4 例では、P L A P が 30 p g / m L 以下、A F P が 488 ~ 0 . 4 n g / m L、 α -H C G が 1 . 0 I U / L 以下を示した。

表 1 および表 2 にジャーミノーマの判定基準を設定した。ジャーミノーマ症例ではこの基準によりほぼ 100 % 正確に診断できた。

【表 1】

	P L A P	α -F E T	β -h C G
非腫瘍性			
中枢神経系疾患	—	—	—
ジャーミノーマ	+	—	—
非ジャーミノーマ	±~—	+~—	+~—

10

【表 2】

判定基準			
	P L A P (p g / m L)	α -F E T (n g / m L)	β -h C G (m I U / m L)
+	31 以上	5 以上	5 以上
±	5~30	5 未満	5 未満
—	5 未満	1 未満	1 未満

20

【発明の効果】

【0013】

小児期に多発するジャーミノーマは、前述したように脳腫瘍の中でも放射線療法、化学療法に感受性が高く、これらの併用療法によって高い治癒率がえられる。本願発明の結果を利用して手術前診断ができれば、未発達な小児に対して開頭手術や放射線照射による副作用を避けて、内科的治療でほぼ完治できるということが最大の効果である。

30

また、その診断は早期になされなければならない、本願の検査結果はその他の検査に比し測定が簡便、迅速、かつ正確である点が特筆すべきである。

患者の立場に立って言えば、部位が頭部であることと、若年者の罹患が多いという点において、より悲観的になり勝ちであるが、手術をすることなく内科的に治癒できる腫瘍となれば安心と希望を与えることができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

A F P と α -H C G の測定は既に血漿または血清または尿検体による微量濃度測定法が存在している。この測定法でヒトの脳脊髄液検体を用いて測定した。

40

しかし、P L A P の測定においては 0 . 005 n g / m L いわゆる 5 p g / m L 以下の超微量測定ができる測定法が必要であった。非特許文献 2 で本願発明者達が、酵素免疫測定法 (E I A) での測定を報告した。本願発明の 1 実施例において、超微量の P L A P の測定には E I A 法より高感度の免疫学的化学発光法を応用して測定を実施した。既に免疫学的化学発光法およびアルカリ性フォスファターゼを化学発光基質 (A M P P D) として用いる方法が参考文献特開 2001 - 249079 にある。本願が目的とする物質はヒトの胎盤型アルカリフォスファターゼ (P L A P) であるため、非特許文献 2 にある抗ヒト P L A P マウスモノクローナル抗体を用いて P L A P と反応させ前記 A M P P D を基質として化学発光免疫測定法で高感度かつ特異的に測定することができた。

50

これら 3 項目の測定結果から、表 1、表 2 に示すジャーミノーマの判定法を発明した。

【0015】

最近の免疫化学的な自動分析装置では、1 回のサンプリングで多項目 1 度に測定することが出来るようになってきている。例えば富士レピオ株式会社のルミパルス - フォルテやベックマンコールター社のアクセス 2 などの装置に、ヒトの脳脊髄液中の PLAP、AFP および β -hCG を同時測定する測定系を組み込むことは可能である。または、最近 POC T 型試験機器としてイムノクロマト法が普及しているが、PLAP、AFP および β -HCG の 3 項目を同時測定できるように試薬を組み込むことも可能である。

【実施例 1】

【0016】

ジャーミノーマの判定は、ヒトの脳脊髄液中の PLAP が 31 pg/mL 以上、AFP が 1 ng/mL 未満、 β -HCG が 1 mIU/mL 未満である場合とした。

【実施例 2】

【0017】

逆にヒトの脳脊髄液中の PLAP が 5 pg/mL 未満、AFP が 1 ng/mL 未満、 β -HCG が 1 mIU/mL 未満の場合はジャーミノーマを否定できるとした。

【実施例 3】

【0018】

非ジャーミノーマの場合は、ヒトの脳脊髄液中の PLAP、AFP および β -HCG がそれぞれ不特定な値を示すが、PLAP が 31 pg/mL 以上を示すことはないものとした。

【実施例 4】

【0019】

実施例 1 ~ 3 のカットオフ値については、PLAP が 20 pg/mL 以上、AFP が 0.5 ng/mL 未満、 β -HCG が 0.5 mIU/mL 未満と言うように判断を変化することも本願発明の延長線上である。

【図面の簡単な説明】

【0020】

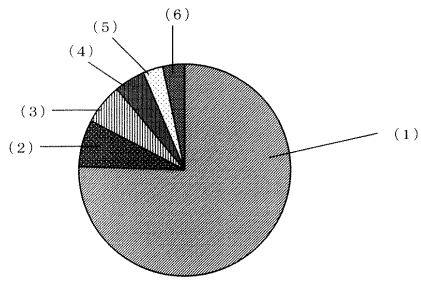
【図 1】 日本の脳腫瘍統計による胚細胞腫瘍の発生頻度

【符号の説明】

【0021】

- (1) ジャーミノーマ
- (2) 奇形腫
- (3) 悪性奇形腫
- (4) 胎児性癌
- (5) 卵黄嚢腫
- (6) 絨毛癌

【図 1】



专利名称(译)	种子的测定方法		
公开(公告)号	JP2007139731A	公开(公告)日	2007-06-07
申请号	JP2005356897	申请日	2005-11-14
[标]申请(专利权)人(译)	明日香专项检查研究所有限公司 渡边信一郎		
申请(专利权)人(译)	明日香专项检查研究所有限公司 渡边信一郎		
[标]发明人	渡边伸一郎 菊野晃 松田武英		
发明人	渡边 伸一郎 菊野 晃 松田 武英		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 C12Q1/42		
FI分类号	G01N33/53.C G01N33/543.575 G01N33/543.545.Z C12Q1/42		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QQ03 4B063/QQ33 4B063/QR13 4B063/QR72		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

需要解决的问题：为了克服上述问题，儿童时期经常发生的jaummina对脑肿瘤的放射治疗和化疗非常敏感，这些联合治疗可使10年生存率高达90%或更高，缓解率高，一。如果在手术前能够识别这种生殖细胞瘤，则很有可能通过药物治疗进行治愈，因此我们提供了一种简单准确判断生发的方法。 解决方案：人体脑脊液中痕量的PLAP，AFP和β-HCG分别在過去被认为是困难的，通过输入一定的标准来测量和判断为germina。 点域1

