

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-509143

(P2005-509143A)

(43) 公表日 平成17年4月7日(2005.4.7)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53	GO 1 N 33/53	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 39/395	4 C 0 8 5
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395	4 H 0 4 5
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 31/04	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 29 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2003-508980 (P2003-508980)	(71) 出願人	501154389 ペー・エル・アー・ハー・エム・エス・アクティエンゲゼルシャフト ドイツ・D-16761・ヘーニッヒストルフ・ノイエンドルフシュトラッセ・25
(86) (22) 出願日	平成14年6月12日 (2002.6.12)	(74) 代理人	100064908 弁理士 志賀 正武
(85) 翻訳文提出日	平成15年12月25日 (2003.12.25)	(74) 代理人	100108578 弁理士 高橋 詔男
(86) 国際出願番号	PCT/EP2002/006473	(74) 代理人	100089037 弁理士 渡邊 隆
(87) 国際公開番号	W02003/002600	(74) 代理人	100101465 弁理士 青山 正和
(87) 国際公開日	平成15年1月9日 (2003.1.9)	(74) 代理人	100094400 弁理士 鈴木 三義
(31) 優先権主張番号	101 30 985.6		
(32) 優先日	平成13年6月27日 (2001.6.27)		
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)		
(81) 指定国	EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR) , JP, US		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 診断および治療における可溶性サイトケラチン1断片の使用

(57) 【要約】

本発明は、体液または組織由来の新規な可溶性サイトケラチン1断片を、炎症および感染の経過および予後の診断的検出、および経過調節のためのマーカーペプチドとして、かつ/または炎症および/または感染の経過に治療的な影響を及ぼすためのターゲットとして使用することに関する。

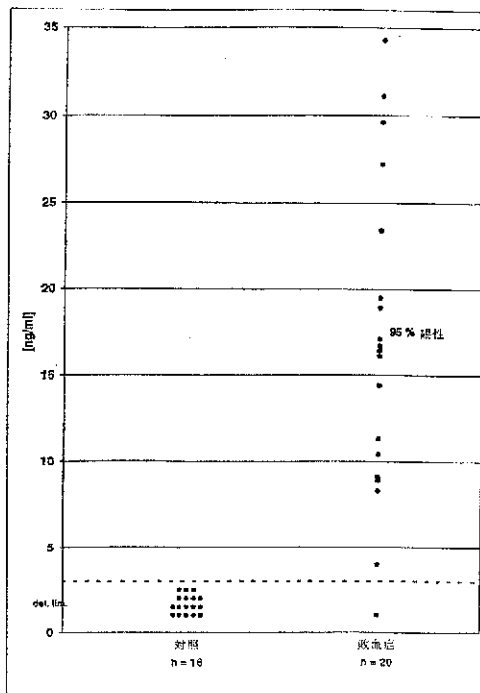


FIG. 4

**【特許請求の範囲】****【請求項1】**

炎症および感染の経過を診断、予後および監視するためのマーカーペプチドとして、かつ/または炎症および/または感染の経過に治療的な影響を及ぼすためのターゲットとしての、体液または体組織からの可溶性サイトケラチン1断片の使用。

**【請求項2】**

患者の生体液または組織試料中の選択された可溶性サイトケラチン1断片の定量による、敗血症および重症感染、特に、敗血症様全身性感染の鑑別早期診断および予後診断、重度評価および経過の治療付随評価における、請求項1に記載の可溶性サイトケラチン1断片の使用。

10

**【請求項3】**

定量される可溶性サイトケラチン1断片が、完全サイトケラチン1(SEQ ID NO:3)のアミノ酸配列中のアミノ酸151から510までの範囲からなる断片、または前記断片のアミノ酸配列と少なくとも75%、好ましくは少なくとも90%の相同性を有するペプチドであることを特徴とする、請求項1または2に記載の使用。

**【請求項4】**

可溶性サイトケラチン1断片が、サイトケラチン1(SEQ ID NO:3)の完全アミノ酸配列中のアミノ酸185~297(SEQ ID NO:5)およびサイトケラチン1の完全アミノ酸配列中の隣接アミノ酸20個までの配列を有し、その分子量が、ゲル電気泳動により測定して、 $15700 \pm 500$ ダルトンであるか、または、前記断片のアミノ酸配列と少なくとも75%、好ましくは少なくとも90%の相同性を有することを特徴とする、請求項1から3のいずれかに記載の使用。

20

**【請求項5】**

人間医学および獣医学における治療目的の薬物としての、請求項1から4のいずれか一項に記載の可溶性サイトケラチン1断片の使用。

**【請求項6】**

天然ヒトサイトケラチン1分離物または濃縮物の酵素的加水分解で調製された、可溶性サイトケラチン1断片の請求項5に記載の使用。

**【請求項7】**

酵素的加水分解を受けたサイトケラチン1分離物または濃縮物が、治療される患者の自己サイトケラチン1を含有することを特徴とする、請求項6に記載の使用。

30

**【請求項8】**

予防または治療により、炎症性疾患および感染の経過に影響を及ぼす薬剤としての、請求項5に記載の可溶性サイトケラチン1断片または前記断片に結合する特異抗体の使用。

**【請求項9】**

サイトケラチン1に富む天然ヒト材料から、純粋形態または富化形態のヒトサイトケラチン1を得ること、純粋または富化されている該ヒトサイトケラチン1を、適切なエンドプロテアーゼで酵素分解すること、生じた加水分解生成物から個々の断片または断片混合物を得ること、その後、該断片または断片混合物を任意に超精製および/または乾燥させることを特徴とする、可溶性サイトケラチン1断片の調製方法。

**【請求項10】**

請求項1から9のいずれか一項に従って使用されるような可溶性サイトケラチン1断片および薬剤として許容される担体を含むことを特徴とする、全身性炎症を含めた炎症を治療するための薬剤組成物。

40

**【請求項11】**

可溶性サイトケラチン1断片に結合する特異抗体および薬剤として許容される担体を含むことを特徴とする、全身性炎症を含めた炎症を治療するための薬剤組成物。

**【請求項12】**

敗血症および重症感染、特に、敗血症様全身性感染を鑑別早期診断および診断するための、予後するための、重度評価するための、ならびに経過を治療付随評価するための方法において、患者の生体液または組織試料中の可溶性サイトケラチン1断片の存在および/ま

50

たは量を決定し、決定した断片の存在および/または量から、敗血症または感染の存在、重度または予測される経過についての結論を導き出すことを特徴とする方法。

【請求項13】

定量される可溶性サイトケラチン1断片が、完全サイトケラチン1(SEQ ID NO:3)のアミノ酸配列中のアミノ酸151から510までの範囲からなる断片であることを特徴とする、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

定量される可溶性サイトケラチン1断片が、サイトケラチン1(SEQ ID NO:3)の完全アミノ酸配列中のアミノ酸配列185~297(SEQ ID NO:5)およびサイトケラチン1の完全アミノ酸配列中の隣接アミノ酸20個までの配列を有し、その分子量が、ゲル電気泳動により測定して、 $15700 \pm 500$ ダルトンであることを特徴とする、請求項12または13に記載の方法。

10

【請求項15】

免疫診断的定量法であることを特徴とする、請求項12から14のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、新規の可溶性サイトケラチン1断片を医学的診断および治療で使用することに関する。これは、病的過程、特に、霊長類で実験的に生じさせた敗血症または全身性炎症に関連して、可溶性サイトケラチン1断片の形の一定のペプチドが生理学的に生じることが初めて検出されたことに基づく。「ペプチド」との用語は本出願では、生じた鎖の長さに関わらず、アミノ酸の縮合物、即ち特に、その鎖長を考慮すると、オリゴペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質であってよい生成物を含むことを意図されている一般的な名称に関連して使用されている。

20

【背景技術】

【0002】

本発明の由来は、炎症および感染、特に感染性病原および敗血症の炎症の診断および治療をさらに改善することに関する本出願人による集中的な研究にある。

【0003】

炎症は、ごく一般的には、様々なタイプの外部作用、例えば、外傷、やけど、アレルギー、細菌および真菌およびウイルスなどの微生物による感染に対するか、拒絶反応をもたらす外来組織に対するか、例えば自己免疫疾患およびガンでの体の一定の炎症性内因条件に対する生体の一定の生理的反応と定義される。炎症は、体の無害な局所反応として生ずることもあるが、個々の組織、臓器、臓器部分および組織部分の数多くの深刻な慢性および急性疾患の典型的な形態でもある。

30

【0004】

局所性炎症は通常、有害な作用に対する体の健全な免疫反応の一部であり、体の救命防御機構の一部による。しかしながら、炎症が、例えば自己免疫疾患のように、一定の内因性過程に対する体の誤った反応の一部をなし、および/または慢性的なものである場合、あるいは、全身性炎症反応症候群(SIRS)の症例または感染で起こる重症敗血症の症例のように、炎症が全身性になる場合には、炎症反応に典型的な生理的過程が制御できなくなり、実際に往々にして生命を脅かす病的過程となる。

40

【0005】

現在のところ、炎症過程の原因および経過は、主にタンパク質またはペプチド特性を有し、多かれ少なかれ限られた時間で一定の生体分子の出現を伴う数多くの物質により制御されることが判明している。炎症反応に関与する内因性物質には特に、サイトカイン、伝達物質、血管作動性物質および急性期応答タンパク質および/またはホルモン性調節物質から挙げることができる物質が含まれる。炎症反応は、複雑な生理的反応であり、これには、炎症過程を活性化させる内因性物質(例えば、TNF-)および物質を失活化させる内因性物質(例えば、インターロイキン-10)の両方が関与している。

50

## 【0006】

敗血症または敗血症性ショックの場合のような全身性炎症では、炎症特異的反応カスケードは、制御されずに、体全体に広がり、過剰な免疫応答状態で、生命を脅かすものとなる。炎症特異的内因性物質の個々の群の出現および考えられるその役割に関する最近の知識に関しては、例えば、A. Beishuizen et al., "Endogenous Mediators in Sepsis and Septic Shock", *Advances in Clinical Chemistry*, Vol. 33, 1999年 55-131頁およびC. Gabay et al., "Acute Phase Proteins and Other Systemic Responses to Inflammation", *The New England Journal of Medicine*, Vol. 340, No. 6, 1999年、448-454頁を参照することができる。敗血症および関連する全身性炎症疾患の理解、したがってさらに認識されているその定義が、近年になって変化したので、K. Reinhart et al., "Sepsis und septischer Schock" [Sepsis and septic shock], *Intensivmedizin*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 2001年、56-760頁も参照することができ、ここに、敗血症の最新の定義が示されている。本出願では、使用される敗血症および炎症性疾患との用語は、前記の3つの参考文献に記載されている定義に基づく。

10

## 【0007】

少なくともヨーロッパでは、陽性血液培養により検出可能な全身性細菌感染が、「敗血症」という用語の特徴であると長い間見なされていたが、今では敗血症は主として感染で起きるが、病的過程としては、他の原因で引き起こされる全身性炎症と多大な類似性を有する全身性炎症であると解されている。敗血症の理解における前記の変化が、診断手法に変化をもたらした。したがって、細菌病原体の直接的な検出は、生理学的パラメータの複

20

## 【0008】

炎症過程に関与していることが判明している数多くの調節物質および急性期応答タンパク質のうち、診断目的に適しているものは特に、その出現が炎症性疾患または炎症性疾患の特定期間に非常に特異的で、その濃度が劇的かつ診断的に顕著に変化し、さらに、定期的な検出に必要な安定性を有し、高濃度に達するものである。診断目的では、病的過程(炎症、敗血症)と個々のバイオマーカーとの信頼できる相関作用が、第一に重要であり、この際、炎症過程に関与する内因性物質の複合的カスケードでのその役割を知る必要はない。

30

## 【0009】

敗血症バイオマーカーとして特に適しているこのような内因性物質は特に、プロカルシトニンである。プロカルシトニンは、感染性病原の全身性炎症(敗血症)の条件下では、その血清濃度が非常に高い値に達するが、健康なヒトでは実質的に検出不可能であるプロホルモンである。プロカルシトニンの高い値は、敗血症の比較的早い段階で達成されるので、プロカルシトニンの測定は、敗血症を早期に診断し、感染により生じた敗血症と、他に原因がある重度の炎症とを早期に区別するためにも適している。敗血症マーカーとしてのプロカルシトニンの検出は、刊行物M. Assicot et al., "High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection", *The Lancet*, Vol. 341, No. 8844, 1993年、515~518頁および特許のDE第4227454C2号およびEP第0656121B1号およびUS第5639617号の主題である。ここで、本出願を補足するために、前記の特許および前記の刊行物中に挙げられている先行する参考文献を参照することができる。近年では、プロカルシトニンを主題とする刊行物の数が、著しく増えている。このためにさらに、W. Karzai et al., "Procalcitonin - A New Indicator of the Systemic Response to Severe Infection", *Infection*, Vol. 25, 1997年、329-334頁およびM. Oczenski et al., "Procalcitonin: a new parameter for diagnosis of bacterial infection in the peri-operative period", *European Journal of Anaesthesiology* 1998年、15, 202-209頁およびさらに、H. Redl et al., "Procalcitonin release patterns in a baboon model of trauma and sepsis: Relationship to cytokines and neopterin", *Crit Care Med* 2000, Vol. 28,

40

50

No. 11, 3659-3663頁およびH. Redl et al., "Non-Human Primate Models of Sepsis", in: Sepsis 1998年、2:243-253頁および最近出版された概要などのようなこれらで挙げられている他の参考文献を参照することができる。

【0010】

敗血症マーカーとしてプロカルシトニンを利用できることが、敗血症研究にかなりの弾みをもたらし、現在では、プロカルシトニン検出を補足することができるか、かつ/または精密な診断または鑑別診断の目的に更なる情報をもたらさう他のバイオマーカーを発見するために集中的な努力がなされている。しかしながら、新規の強力な敗血症バイオマーカーに関する研究は、炎症または敗血症過程に関与する一定の内因性物質が出現することの正確な機能または正確な理由が往々にしてほとんど知られていないか、全く知られていないという事実により、複雑になっている。

10

【0011】

さらなる強力な敗血症マーカーを決定するための有益で、純粋に仮定的な手法を実験的に試験した結果を、DE第19847690A1号およびW000/22439号に見ることができる。ここでは、敗血症の場合には、プロホルモンプロカルシトニンの濃度が高まるだけでなく、ペプチドプロホルモンに含まれる他の物質でも、著しい濃度上昇が観察されることが示されている。前記の現象は十分に記録されているが、敗血症でプロホルモン濃度が上昇する理由については、十分には説明されていない。

【0012】

本出願では、更なる炎症特異的または敗血症特異的生体分子を探索する、もう1つの、純粋に実験的な手法の結果をこれから報告する。これらの実験的研究も、感染性病原の全身性炎症反応に関連したプロカルシトニンの測定で始めている。すると、非常に早い段階では、ホルモンカルシトニンの前駆体の場合と同様には、プロカルシトニンは敗血症では顕著には生じないことが観察された。そして、甲状腺を切除されている患者では、高いプロカルシトニンレベルが観察された。したがって、甲状腺は、敗血症の間にプロカルシトニンがその中で産生または分泌される臓器ではありえない。刊行物のH. Redl et al., "Procalcitonin release patterns in a baboon model of trauma and sepsis: Relationship to cytokines and neopterin", Crit Care Med 2000, Vol. 28, No. 11, 3659~3663頁およびH. Redl et al., "Non-Human Primate Models of Sepsis", Sepsis 1998; 2:243-253頁では、敗血症でのプロカルシトニンの生成の説明を意図していると記載されている

実験研究の結果が報告されている。前記の研究では、人工敗血症を、霊長類(ヒヒ)に内毒素を投与することにより生じさせ、血中で最も高いプロカルシトニン濃度を達成した実験により生じた状態を決定する。前記の研究に記載されている実験動物モデルの更なる展開は、本出願に関連して、その出現が、敗血症または敗血症の一定の形態に特徴的で、したがって、それにより、敗血症の特異的診断が可能である消化性またはタンパク質特性を有する新規の敗血症特異的内因性バイオマーカーを決定するために役立つ。霊長類とヒトとの非常に高い生理的類似性および多くの治療的および診断的ヒト試薬との高い交差感受性により、霊長類モデルを選択した。

20

30

【0013】

炎症の間に生じる内因性物質は、体の複雑な反応カスケードの一部であるので、このような物質は、診断的に重要であるだけでなく、現在、可能な限り早期に炎症が全身的に広がることを止めるために(この広がりには、例えば、敗血症の間に観察される)、このタイプの個々の物質の産生および/または濃度に影響を与えることにより、炎症過程に治療的に介入する試みが、かなりの努力で試みられている。このような状況では、炎症過程に関与することが判明している内因性物質は、強力な治療ターゲットとも見なすことができる。炎症過程の一定の調節物質に基づき、前記の過程に肯定的治療効果を有すると考えられている試みが例えば、E.A. Panacek, "Anti-TNF strategies", Journal fur Anasthesie und Intensivbehandlung; No. 2, 2001年、4~5頁、T. Calandra et al., "Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor", Nature Medicine, Vol. 6, No. 2, 2000年、164~170頁または K. Garber, "Protein C may

40

50

be sepsis solution", Nature Biotechnology, Vol. 18, 2000年、917~918頁に記載されている。これらの治療的手法は、炎症促進物質の濃度を低下させるか、前記の物質の産生を阻害し、特に、特異的抗体を用いて、そのようなことを行うか(TNF- またはMIFに対して; E.A. Panacek, "Anti-TNF strategies", Journal fuer Anaesthesie und Intensivbehandlung; No. 2, 2001年、4~5頁、T. Calandra et al., "Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor", Nature Medicine, Vol. 6, No. 2, 2000年164-170頁参照)、炎症カスケードにおいて阻害効果を有する内因性物質の濃度を高める(タンパク質 C; K. Garber, "Protein C may be sepsis solution", Nature Biotechnology, Vol. 18, 2000年、917~918頁)ことを目的としている。最後に挙げた刊行物は、選択された内因性ターゲット分子に影響を及ぼすことにより、炎症過程に治療的影響を及ぼすこのような試みの概観を記載しているが、残念ながらこの試みは、現在の所、僅かな成功しか収めていない。現在までのむしろ残念な治療的手法の観点では、可能な限り炎症特異的または敗血症特異的であり、治療ターゲットとして、炎症の撲滅の成功に新たな展望を開く更なる内因性生体分子を同定することに、多大な関心が寄せられている。

10

20

30

40

50

【非特許文献1】A. Beishuizen et al., "Endogenous Mediators in Sepsis and Septic Shock", Advances in Clinical Chemistry, Vol. 33, 1999年55~131頁

【非特許文献2】C. Gabay et al., "Acute Phase Proteins and Other Systemic Responses to Inflammation", The New England Journal of Medicine, Vol. 340, No. 6, 1999年、448~454頁

【非特許文献3】K. Reinhart et al., "Sepsis and septischer Schock" [Sepsis and septic shock], Intensivmedizin, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 2001年56~760頁

【非特許文献4】M. Assicot et al., "High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection", The Lancet, Vol. 341, No. 8844, 1993年、515~518頁

【特許文献1】DE第4227454C2号

【特許文献2】EP第0656121B1号

【特許文献3】US第5639617号

【非特許文献5】W. Karzai et al., "Procalcitonin - A New Indicator of the Systemic Response to Severe Infection", Infection, Vol. 25, 1997年、329-334頁

【非特許文献6】M. Oczenski et al., "Procalcitonin: a new parameter for diagnosis of bacterial infection in the peri-operative period", European Journal of Anaesthesiology 1998年、15、202-209頁

【非特許文献7】H. Redl et al., "Procalcitonin release patterns in a baboon model of trauma and sepsis: Relationship to cytokines and neopterin", Crit Care Med 2000, Vol. 28, No. 11, 3659-3663頁

【非特許文献8】H. Redl et al., "Non-Human Primate Models of Sepsis", in: Sepsis 1998年、2:243-253頁

【特許文献4】DE第19847690A1号

【特許文献5】W000/22439号

【非特許文献9】E.A. Panacek, "Anti-TNF strategies", Journal fuer Anesthesie und Intensivbehandlung; No. 2, 2001年、4~5頁

【非特許文献10】T. Calandra et al., "Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor", Nature Medicine, Vol. 6, No. 2, 2000年、164~170頁

【非特許文献11】K. Garber, "Protein C may be sepsis solution", Nature Biotechnology, Vol. 18, 2000年、917~918頁

【非特許文献12】L. Johnson et al., Structure of a gene for the human epidermal 67-kDa keratin Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.; 82:1896-1900頁(1985年)

- 【非特許文献 1 3】 database NiceProt View of SWISS-PROT: Accession number P04264
- 【非特許文献 1 4】 R.B. Presland et al., Crit Rev Oral Biol Med, 11(4):383~408頁 (2000年)
- 【非特許文献 1 5】 M. Bishr Omary et al., "Keratin Modifications and Solubility Properties in Epithelial Cells and in vitro"(Subcellular Biochemistry, Vol. 31: Intermediate Filaments, N.Y. 1998年、105~150頁)
- 【特許文献 6】 EP-A第0163304号
- 【特許文献 7】 EP-B1第0267355号
- 【特許文献 8】 EP-B1第0267356号
- 【特許文献 9】 EP-B1第0337057号 10
- 【非特許文献 1 6】 P. Stieber, CYFRA 21-1 (Cytokeratin19fragments)(L. Thomas, Labor and Diagnose, 987~992頁)
- 【非特許文献 1 7】 Torgny Stigbrand, The Versatility of Cytokeratins as Tumor Markers, Tumor Biol 2001年、22:1~3頁
- 【非特許文献 1 8】 Steven D. Lucas et al., Identification of a 35 kD Tumor-Associated Autoantigen in Papillary Thyroid Carcinoma(Anticancer Research 16:2493~2496頁(1996年))
- 【非特許文献 1 9】 Steven D. Lucas et al., Aberrantly Expressed Cytokeratin 1, A Tumor-Associated Autoantigen in Papillary Thyroid Carcinoma(Int. J. Cancer 73, 171~177頁(1997年)) 20
- 【非特許文献 2 0】 P.P. Ghillani et al., "Monoclonal antipeptide antibodies as tools to dissect closely related gene products", the Journal of Immunology, Vol. 141, No. 9, 1988年、3156~3163頁
- 【非特許文献 2 1】 P.P. Ghillani et al., "Identification and Measurement of Calcitonin Precursors in Serum of Patients with Malignant Diseases", Cancer Research, Vol. 49, No. 23, 1989年、6845~6851頁
- 【非特許文献 2 2】 Zia Shariat-Madar et al., Kininogen-Cytokeratin 1 Interactions in Endothelial Cell Biology, TCM Vol. 9, No. 8, 1999年、238~244頁
- 【非特許文献 2 3】 Zia Shariat-Madar et al., Mapping Binding Domains of Kininogens on Endothelial Cell Cytokeratin 1; J. Biol. Chem. 273, No. 11, 7137~7145頁、1999年 30
- 【非特許文献 2 4】 K. Joseph et al., Factor XII-dependent Contact Activation on Endothelial Cells and Binding Proteins gC1gR and Cytokeratin 1, Thromb. Haemost. 85:119~124頁、2001年
- 【非特許文献 2 5】 K. Joseph et al., Activation of the Kinin-Forming Cascade on the Surface of Endothelial Cells, Biol. Chem. Vol. 382:71~75頁 (2001年)
- 【非特許文献 2 6】 A. Kaplan et al., Activation of the Plasma Kinin Forming Cascade along Cell Surfaces, Int Arch Allergy Immunol 2001年; 124:339~342頁
- 【非特許文献 2 7】 J. Klose, "Fractionated Extraction of Total Tissue Proteins from Mouse and Human for 2-D Electrophoresis"(Methods in Molecular Biology, Vol. 112: 2-D Proteome Analysis Protocols, Humana Press Inc., Totowa, NJ) 40
- 【非特許文献 2 8】 J. Klose et al., "Two-dimensional electrophoresis of proteins: An updated protocol and implications for a functional analysis of the genome", Electrophoresis 1995年、16, 1034-1059頁
- 【非特許文献 2 9】 J. Heukeshoven et al., "Improved silver staining procedure for fast staining in PhastSystem Development Unit. I. Staining of sodium dodecyl gels", Electrophoresis 1988年、9, 28~32頁
- 【非特許文献 3 0】 V. Neuhoff et al., "Improved staining of proteins in polyacrylamide gels including isoelectric focusing gels with clear background at nanogram sensitivity using Coomassie Brilliant Blue G-250 and R-250", Electrophoresis 19 50

88年、9、255～262頁

【非特許文献31】A. Otto et al., "Identification of human myocardial proteins separated by two-dimensional electrophoresis using an effective sample preparation for mass spectrometry"(Electrophoresis 1996年、17、1643～1650頁)

【非特許文献32】G. Neubauer et al., "Mass spectrometry and EST-database searching allows characterization of the multi-protein spliceosome complex"(nature genetics vol. 20, 1998年、46～50頁)

【非特許文献33】J. Lingner et al., "Reverse Transcriptase Motifs in the Catalytic Subunit of Telomerase"(Science, Vol. 276, 1997年、561～567頁)

【非特許文献34】M. Mann et al., "Use of mass spectrometry-derived data to annotate nucleotide and protein sequence databases"(TRENDS in Biochemical Sciences, Vol. 26, 1, 2001年、54～61頁) 10

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0014】

本発明は、感染によって生じた炎症の間に、霊長類およびヒトで生じ、炎症診断および/または敗血症診断の両方に、新規の治療ターゲットとして適している新規の可溶性ペプチド断片を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0015】

本発明は、可溶性サイトケラチン1断片を開示し、これは、霊長類に内毒素を投与することにより引き起こされる人工的敗血症の後に特異的に生ずることにより、敗血症特異的または炎症特異的ヒトペプチドであることが証明された。

【発明を実施するための最良の形態】

【0016】

敗血症で、一定の可溶性サイトケラチン1断片を、その最初に検出された出現に基づく診断および治療で使用するのを、請求項1から8で請求している。診断方法の形では、特定のタイプの使用を、請求項12から15で請求しており、薬剤処方物の形では、そのような可溶性サイトケラチン1断片の可能な治療的使用を、請求項10および11で請求している。

【0017】

請求項9は、特に、治療用途のために、簡単な方法でかなりの量の可溶性サイトケラチン1をそれにより調製することができる特定のプロセスに関し、ここでは、自己(自生)生体出発原料を使用することができる。

【0018】

実験セクションでさらに詳述するように、本発明は、内毒素投与(サルモネラチフィウム; *Salmonella typhimurium*からのLPS)を投与することにより、ヒヒに人工的敗血症を実験的に惹起し、処置された動物の肝臓組織をゲル電気泳動により処理した後に、治療された動物でのみ、同定可能なペプチドまたはプロテインが発見されたという事実に基づく。この特異的生成物を、電気泳動ゲルから単離し、それ自体既知の方法での質量分析法により調べた。

【0019】

692.39の質量 $m/z$ を有する12個のアミノ酸からなる単離された、トリプシン消化されたタンパク質スポットの第1の部分配列(SEQ ID NO:1)および633.4の質量 $m/z$ を有する11個のアミノ酸からなる第2の部分配列(SEQ ID NO:2)を、明らかに同定することができ、これらの配列は、これらの部分ペプチドの配列と、既知のタンパク質配列を備えたヒトデータベースのデータを比較することにより、既知だが、基本的には完全に不溶性の細胞骨格タンパク質サイトケラチン1(SEQ ID NO:3; L. Johnson et al., Structure of a gene for the human epidermal 67-kDa keratin Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.; 82:1896-1900頁(1985年); database NiceProt View of SWISS-PROT: Accession number P04264参照)の断片として同定することができた。SEQ ID NO:1およびSEQ ID NO:2による2種の断片はそれぞ 40

れ、完全サイトケラチン1のアミノ酸185~196および277~287の配列に対応する。999.49の質量 $m/z$ ( $z=1$ )を有する質量スペクトルの更なる断片は、9個のアミノ酸からなる断片(SEQ ID NO:4;算出質量999.45)に対応し、これは、完全サイトケラチン1(SEQ ID NO:3)のアミノ酸289~297の部分配列に対応する。

【0020】

これらの結果から、サイトケラチン1断片の形で電気泳動ゲルから単離されたペプチドは、サイトケラチン1のアミノ酸185~297(SEQ ID NO:5)の配列を有すると、確実に結論することができる。しかしながら、この配列に対応する断片(SEQ ID NO:5)は、13615の分子量のみを有するのに対して、判明した断片でのゲル電気泳動により決定された分子量は、 $15700 \pm 500$ ダルトンであった。したがって、本発明による可溶性サイトケラチン1断片として見なすことができる断片は、特に、断片185~297(SEQ ID NO:5)がその末端の一方または両方で、全部で20個までのアミノ酸によって延長されているものである。

10

【0021】

肝臓中で敗血症の間に生じる一定の可溶性サイトケラチン1断片の同定は、科学的、診断的および治療的にかかなり重要である。

【0022】

サイトケラチン1は、構造タンパク質(硬タンパク質)からなる群からの1タンパク質であり、これは、サイトケラチンまたは「軟質」ケラチンと称され、細胞骨格の成分であり、いわゆる中間径細糸(IF)を形成する。これらは、細胞に形態の安定性を付与し、高い機械的および化学的安定性を特徴とする。通常の生理学的条件下では、全てのケラチンと同様に、これらは、プロテアーゼに対して安定であり、ケラチンを分解し、これらを栄養源として使用しうる酵素系を有する生物は、数少なく、例えば、イガおよび真菌の *Tritirachium album* である。

20

【0023】

サイトケラチンは、約310~315個のアミノ酸からなる  $\alpha$ -ヘリックス中心部およびそれに隣接する末端部を含有する構造を有する。サイトケラチンは、そこに生じているアミノ酸配列およびその電荷に基づき、2つのタイプに分けることができる。サイトケラチン9~20は、タイプIに属し、これは、酸性タンパク質を含み、他方で、サイトケラチン1~8は、タイプIIに属し、これは、塩基性または中性タンパク質を含む。タイプIおよびタイプIIのサイトケラチンは、一定の対合をなしたヘテロ二量体の形成により生じるが、この対合は、一定のタイプの上皮細胞、したがって組織にも特徴的なものである。これに関しては、例えば、R.B. Presland et al., *Crit Rev Oral Biol Med*, 11(4):383~408頁(2000年)またはM. Bishr Omary et al., "Keratin Modifications and Solubility Properties in Epithelial Cells and in vitro" (*Subcellular Biochemistry*, Vol. 31: Intermediate Filaments, N.Y. 1998年、105~150頁)による概要論文を参照することができる。

30

【0024】

サイトケラチンを含むIFタンパク質の測定は、今日では主に、腫瘍診断に伴って実施されている。転移または組織病巣中の一定のIFタンパク質を同定することにより、これらを、本来の組織または原発腫瘍に分けることができるためである。

【0025】

EP-A第0163304号では、このような決定を、適切な特異的抗体を使用して、組織診断法により実施している。

40

【0026】

前記のタイプを決定するための手順を簡略化するために、EP-B1第0267355号は、不溶性IFタンパク質を、その分解をもたらす処理に掛け、次いで、この方法で人工的に生じさせた可溶性断片を測定することを提案している。さらに、細胞病巣は、不溶性構造タンパク質のタンパク分解性分解を伴うことがあるので、一定の条件下では、 $\alpha$ -ヘリックス断片が、体液中でも発見されることが記載されている。

【0027】

EP-B1第0267356号は、類似しているが、IFタンパク質の可溶性断片を直接的に測定する

50

ことに関するのではなく、血清中でこのような断片に対して生じる抗体を測定することに関する。

【0028】

EP-B1第0337057号はさらに、EP-B1第0267355号からの方法を、提案されている測定で使用するための一定の標準である細胞試料または組織試料の由来を同定する方法として展開している。

【0029】

気管支ガンの治療で、鑑別診断、予後、治療効率監視および予後観察のために可溶性サイトケラチン19断片を測定することも、P. Stieber、CYFRA 21-1 (サイトケラチン19断片)(L. Thomas, Labor and Diagnose、987~992頁)に記載されている。腫瘍マーカーとしてのサイトケラチン、この場合にも特に、サイトケラチン8、18および19の融通性は、Torgny Stigbrand, The Versatility of Cytokeratins as Tumor Markers, Tumor Biol 2001年、22:1~3頁でも検討されている。

10

【0030】

前記のケースはいずれも主に、サイトケラチン8、18および19の断片の測定に関している。文献中で検討されている全ての可溶性サイトケラチン断片には、可溶性サイトケラチン1断片は存在せず、一定の病的状態で、このようなサイトケラチン1断片が出現しうることについての情報も、全く欠けている。

【0031】

サイトケラチン1は、サイトケラチン10と共に、実質的に、単一の、免疫により単離された細胞タイプ中のみ、即ち、超強塩基性(suprabasal)ウェル分化ケラチノサイトのみ存在すると、長く信じられていた。

20

【0032】

病原過程でのサイトケラチン1の異常出現および予期せぬ関与は、Steven D. Lucas et al.によりIdentification of a 35 kD Tumor-Associated Autoantigen in Papillary Thyroid Carcinoma(Anticancer Research 16:2493~2496頁(1996年))に、および乳頭状甲状腺ガン(PTC)に関連してSteven D. Lucas et al.によりAberrantly Expressed Cytokeratin 1, A Tumor-Associated Autoantigen in Papillary Thyroid Carcinoma(Int. J. Cancer 73, 171~177頁(1997年))に文書で記載されている。サイトケラチン1は、患者血清を用いる免疫沈降により、PTC細胞の可溶化質中で35kDの形で検出することができる。サイトケラチン1に対する(自己)抗体が、患者血清中で見出される。体液および/または体組織からの可溶性サイトケラチン1断片に対する言及はない。

30

【0033】

毒素投与により人工的に敗血症を惹起した霊長類の肝臓中では、可溶性サイトケラチン1断片が本発明により検出されるが、同時に、対照動物の完全に同一に処理された試料中にはこのような断片が全く存在しないということは、サイトケラチン1の出現、特性および役割についての現在の全ての知識から見ると、極めて意外である。その出現は、処置された動物でのみ、特に、毒素投与により敗血症が惹起されたすぐ後で観察されるので、この事実を、生物により産生されたこの断片を測定することにより、敗血症、感染および炎症を診断するための有望な方法を提供するために利用することができる。

40

【0034】

敗血症特異的または炎症特異的プロテアーゼ活性が高まること(および/または調節に通常関与するプロテアーゼ阻害剤によるこのようなプロテアーゼ活性の阻害が低減すること)により、検出された断片は、対応する遺伝子の変異発現によるのではなく、完全サイトケラチン1からタンパク質分解経路により生じると推測することができるので、タンパク質分解により分解された完全サイトケラチン1の「残りの」領域に、特にはそのヘリックス領域に対応する他の可溶性サイトケラチン1断片も、前記の断片と同様に見いだすことができ、これも検出に適していると予測することができる。このような更なる断片の測定も明らかに、本発明の1変法に含まれる。

【0035】

50

サイトケラチン1は、一般にサイトケラチン10と共に個々の細胞中に見出されるので、2種のサイトケラチン1および10を含む細胞の病巣を伴う生体で感染または炎症に関連してタンパク分解活性が高まった場合には、サイトケラチン10断片も、生じうるであろうし、これは、サイトケラチン1断片と同様に測定することができるであろう。サイトケラチン1断片は、可溶性付加体または凝集体として、例えば、サイトケラチン10断片との凝集体の形で存在することもある。

【0036】

さらに、配列SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2およびSEQ ID NO:5の範囲で、特に、前記の配列範囲内で、個々の患者に特異的な逸脱または多型性が観察される場合のように、前記の特異的なアミノ酸部分配列からの一定の逸脱を示すサイトケラチン1断片を測定すること

10

【0037】

望ましい適切な検出方法のいずれかにより、測定は行うことができるが、適切な選択的抗体を使用する免疫診断方法により、患者の体液中で測定することが、実際的な観点からは最も有利なようである。

【0038】

実質的に完全に不溶性のサイトケラチン1の一定の可溶性断片が、実験的に惹起された敗血症で初めて検出することができたという事実により、診断および/または治療目的のために、このようなサイトケラチン1断片を利用する可能性が提供される。この目的のために、サイトケラチン1断片を必要な場合には特に、先行技術の一部である方法により、合成、遺伝子工学または加水分解、特にタンパク質分解により、調製することもできる。

20

【0039】

さらに、患者の体液中でサイトケラチン1断片を診断的に測定するための補助物質として、かつ/またはさらに考えうる治療薬として適切な特異的なポリクローナルおよび特にモノクローナル抗体を製造するために、先行技術の既知の過程で、サイトケラチン1断片またはその適切な部分配列を使用することができる。既知のペプチド部分配列に対する適切なモノクローナル抗体の製造は、一般的な先行技術の一部であり、特に記載する必要はない。さらに、対応するDNAを用いる直接的な遺伝子免疫の技術を使用する抗体製造を、特に挙げるべきである。したがって、例えば、免疫のためにサイトケラチン1断片のcDN

30

【0040】

可溶性サイトケラチン1断片の免疫学的測定では、原則的に、例えば、選択的プロカルシトニン測定では、P.P. Ghillani et al., "Monoclonal antipeptide antibodies as tools to dissect closely related gene products", the Journal of Immunology, Vol. 141, No. 9, 1988年、3156~3163頁およびP.P. Ghillani et al., "Identification and Measurement of Calcitonin Precursors in Serum of Patients with Malignant Diseases", Cancer Research, Vol. 49, No. 23, 1989年、6845~6851頁に記載されているように

40

【0041】

前記で検出され、同定された断片に加えて、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4および/またはSEQ ID NO:5による部分配列またはその部分ペプチドを有するサイトケラチン1断片あるいはサイトケラチン1のヘリックス部分のタンパク質分解で生じたサイトケラチン1断片も、利用可能な結果を元に、炎症および感染(特に敗血症タイプの全身性感染

50

)の経過を診断、予後および監視するための特異的マーカーペプチド(バイオマーカー)として使用することができる。プロカルシトニンの測定の場合と同様に、見いだされた少なくとも特異的な可溶性サイトケラチン1断片の測定を、敗血症および感染の経過を早期鑑別診断または診断および予後、重度評価および治療付随評価のために実施することができる。このような方法では、一定のサイトケラチン1断片の含有率を、患者の生体液または組織の試料中で測定し、炎症、重症感染または敗血症の存在を、一定のペプチドの立証された存在および/または量から結論付け、得られた結果を、敗血症の重度と関連させて、可能な治療および/または治療の展望を確立する。

【0042】

しかしながら、サイトケラチン1断片(または前記の断片をコードするDNAセグメント)を

10

【0043】

サイトケラチン1が、ブラジキニンカスケードを惹起する際に、その結合が重要なステップであるいわゆる高分子量キニン(HK)のための表面受容体の1タイプとして重要な役割を果たしていることが最近判明したという事実が、本発明による新規の発明を治療的に現実化するために重要な役割を果たしている。これに関しては、次の文献に記載されている結果を参照することができる:(a) Zia Shariat-Madar et al., Kininogen-Cytokeratin 1 Interactions in Endothelial Cell Biology, TCM Vol. 9, No. 8, 1999年、238~244頁; (b) Zia Shariat-Madar et al., Mapping Binding Domains of Kininogens on Endothelial Cell Cytokeratin 1; J. Biol. Chem. 273, No. 11, 7137~7145頁、1999年; (c) K

20

【0044】

前記の刊行物(b)では、配列SEQ ID NO:5を伴う実験的に検出されたサイトケラチン1断片の直接エッジ領域に位置する配列範囲が、前記HKのサイトケラチン1への結合位置であると決定されている。

30

【0045】

いわゆるブラジキニンカスケードのキニンは、特に、血管拡張、降圧および血管透過性増大作用を有する。このような症状は、敗血症で観察され、患者の臨界的な生理学的過程であるので、前記の臨床的症状と、敗血症により惹起され、ブラジキニンカスケードに直接的な作用を伴う血中での可溶性サイトケラチン1断片の突然の出現との間に因果関係があることを、否定することはできない。活性化HK受容体の高い、もはや局所的でない供給という意味での増大作用および例えば、過剰に分泌されたキニンの結合および失活化による拮抗作用という意味での作用の両方が考えられ、これらのような作用は、濃度依存的に生じるということも考えられる。

【0046】

これによって、サイトケラチン1断片は、敗血症および同様の重症の炎症を治療するための強力で有望な治療ターゲットとなる。この場合に、前記の効果のいずれが、より重要な効果であるかに応じて、敗血症を患っているか、敗血症からのリスクに曝されている患者に、薬物の形の可溶性サイトケラチン1断片を投与するか、あるいは結合抗体を投与するか、血液の洗浄または親和性吸収による血漿交換療法(plasmapheresis)を介して、このような断片を体外除去することにより、このような断片の濃度を低下させることができる。キニンカスケードにこうして影響を及ぼすことができ、このことは、救命的であると判明している。

40

【0047】

可溶性サイトケラチン1断片をそのまま、薬物中で治療目的のために使用する場合、こ

50

れらを、適切なエンドプロテアーゼを使用するターゲットタンパク質分解により、特に、緩衝液中での様々なサイトケラチンの既知の可溶性特性を利用して、容易に入手可能な原料から調製することができるサイトケラチン1分離物または濃縮物を使用して、合成することもできる。患者の内因性物質(自己または自家物質)を出発原料として使用する場合には、最適な許容性および効果が保証される。

#### 【0048】

翻訳後に修飾された形、例えば、グリコシル化またはリン酸化された形、または薬剤用賦形剤、例えば、ポリエチレングリコール基により置換された形で、選択されたケラチン1断片を含有する分子も、治療的に使用することができるサイトケラチン1断片と見なすべきである。

10

#### 【0049】

特異的サイトケラチン1断片の発見および同定を下記で詳述するが、付記されている配列リストを参照することができる。

#### 【0050】

##### 1. 動物モデル(ヒヒ)に内毒素投与することによる、感染シミュレーション

内毒素注射によりプロカルシトニン分泌を刺激するためにヒヒで実施された実験をもとに(H. Redl et al., "Procalcitonin release patterns in a baboon model of trauma and sepsis: Relationship to cytokines and neopterin", Crit Care Med 2000, Vol. 28, No. 11, 3659-3663頁およびH. Redl et al., "Non-Human Primate Models of Sepsis", in: Sepsis 1998年、2:243-253年参照)、ヒヒ(オス、約2歳、体重27から29kg)に、それぞれ静脈内で、体重1kg当たりLPS(*Salmonella Typhimurium*からのリポ多糖類、供給元:Sigma)100 $\mu$ gを投与した。注射の5から5.5時間後に、ドレタール(doletal)10mlを静脈内投与することにより、動物を死亡させた。死亡の60分以内に、全ての臓器および組織を解剖し、液体窒素中で凍結させることにより、安定化した。

20

#### 【0051】

さらに処理する間に、窒素で冷却しながら、緩衝液A(トリス/HCl50mM、pH7.1、KCl100mM、グリセロール20%)1.5mlを、個々の凍結された組織の試料(1g)に加え、試料を、磁性モルタル中で粉砕して、粉末を得た(J. Klose, "Fractionated Extraction of Total Tissue Proteins from Mouse and Human for 2-D Electrophoresis"(Methods in Molecular Biology, Vol. 112: 2-D Proteome Analysis Protocols, Humana Press Inc., Totowa, NJ)参照)。続いて、100000gおよび+4 で1時間遠心分離した後に、得られた上澄みを回収し、更なる加工が必要となるまで、-80 で貯蔵する。

30

#### 【0052】

こうして得られた組織抽出物を使用して、最初に、調査された組織のうちのいずれで、既知の敗血症バイオマーカーであるプロカルシトニンが大量に、内毒素投与により生じるかを決定するために、調査を実施した。次いで、最も高いレベルのプロカルシトニン生成を示すと決定された組織中で、内毒素投与の後にのみ生じた、以前には同定されていなかったタンパク質生成物を、鑑別プロテオーム分析により探した。この目的のために、未処置ヒヒの組織試料を、対照組織試料として使用したが、この際、試料の犠牲および入手は、処理動物の場合の条件と同一の条件下に行った。

40

#### 【0053】

##### 2. 内毒素注射の後に最も高レベルのプロカルシトニン形成を示すヒヒ組織の決定

個々の組織の試料を、免疫発光試験(immunoluminometric)を用いて行ったが、これは(ヒトプロカルシトニンを測定するために開発された本出願人のLU-Mitest(登録商標)PCTと同様)、一方では、ポリスチレン管に固定化されたヒヒカルシトニンに対する抗体およびアクリジニウムエステルで標識され、ヒヒプロカルシトニンのN-末端を対象とするモノクローナル抗体を用いて行われる。このテストを用いて、個々の試料中のヒヒプロカルシトニンの含有率を、組換えヒトプロカルシトニンを使用する試験の校正の後に、測定した。

#### 【0054】

実験によって、肝臓組織が、最も大量のプロカルシトニンをもたらすことが示された。

50

したがって、前記の方法で得られたヒヒ肝臓からのタンパク質抽出物を、新規の敗血症特異的バイオマーカーを探すために使用した。

#### 【0055】

##### 3. ヒヒの細胞質肝臓細胞タンパク質を使用してのプロテオーム分析

一方では健康なヒヒ(対照)の、かつ他方ではLPSを注射されたヒヒの細胞質肝臓細胞タンパク質抽出物を、プロテオーム分析で使用した。当初分析2Dゲル電気泳動で、タンパク質100 $\mu$ gを含有する肝臓抽出物を、9Mの尿素、70mMのDTT、両性電解質(pH2~4)2%で安定化させ、次いで、J. Klose et al., "Two-dimensional electrophoresis of proteins: An updated protocol and implications for a functional analysis of the genome", *Electrophoresis* 1995年、16, 1034-1059頁に記載されているように、分析2Dゲル電気泳動により分離する。2D塩基英道ゲル中のタンパク質の可視化を、銀染色法により行った(J. Heukeshoven et al., "Improved silver staining procedure for fast staining in PhastSystem Development Unit. I. Staining of sodium dodecyl gels", *Electrophoresis* 1988年、9, 28~32頁参照)。

10

#### 【0056】

評価のために、未処置動物の試料のタンパク質スポットパターンを、処置動物の肝臓組織試料から得たタンパク質スポットパターンと比較した。対照動物試料では生じなかったが、処置動物の全てで生じた物質を、更なる分析的調査のために選択した。図1は、対照試料(A)での、および処置動物の試料(B)での2D電気泳動ゲルの比較を示しており、この際、(B)中の付加的なタンパク質スポットが、新規の可溶性サイトケラチン1に対応し、その位置は、矢印および円で選ばれている。

20

#### 【0057】

分析2Dゲル電気泳動のタンパク質スポットパターンで同定された新規の特異的タンパク質を次いで、タンパク質350 $\mu$ gを使用する調製用2Dゲル電気泳動により(この場合も(10)参照)、調製した。調製用2Dゲル電気泳動では、Coomassie Brilliant Blue G250を用いて、染色を行った(V. Neuhoff et al., "Improved staining of proteins in polyacrylamide gels including isoelectric focusing gels with clear background at nanogram sensitivity using Coomassie Brilliant Blue G-250 and R-250", *Electrophoresis* 1988年、9, 255~262頁参照)。

#### 【0058】

A. Otto et al., "Identification of human myocardial proteins separated by two-dimensional electrophoresis using an effective sample preparation for mass spectrometry"(*Electrophoresis* 1996年、17, 1643~1650頁)に記載されている方法を使用して、さらに分析するために予め選択されたタンパク質をゲルから切除し、トリプシン消化させ、次いで、特に、例えばG. Neubauer et al., "Mass spectrometry and EST-database searching allows characterization of the multi-protein spliceosome complex"(*nature genetics* vol. 20, 1998年、46~50頁)、J. Lingner et al., "Reverse Transcriptase Motifs in the Catalytic Subunit of Telomerase"(*Science*, Vol. 276, 1997年、561~567頁)、M. Mann et al., "Use of mass spectrometry-derived data to annotate nucleotide and protein sequence databases"(*TRENDS in Biochemical Sciences*, Vol. 26, 1, 2001年、54~61頁)に記載および検討されているような質量分析調査を用いて質量分析により分析する。ESI(エレクトロスプレーイオン化)の後に、トリプシン消化試料を、タンデム質量分析に掛けた。Micromass(イギリス)からのいわゆるナノフロー-Z-スプレーイオン源を有するQ-TOF質量分析計を使用した。手順は、装置製造業者の作業指示に従った。

30

40

#### 【0059】

##### 4. 可溶性サイトケラチン1断片の同定

図1(A)および1(B)に示されているように、LPS注射を投与されたヒヒの肝細胞抽出物は特に、既知の分子量を有するマーカー物質と比較して、約15700 $\pm$ 500ダルトンの分子量がゲル電気泳動データをもとに推定されていて、かつ約5.5から6.5の等電点が、第1の次元

50

からのタンパク質の相対位置から推測されている新規のタンパク質を含有した。

【0060】

このタンパク質を、前記のように、質量分析により分析したが、これにより、図3aおよび3bに示されているように2種のトリプシン断片、アミノ酸配列SEQ ID NO:1およびSEQ ID NO:2に分けることができ、これらは、サイトケラチン1の既知の配列(SEQ ID NO:3; L. Johnson et al., Structure of a gene for the human epidermal 67-kDa keratin; Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.; 82:1896~1900頁(1985年)参照; NiceProt View of SWISS-PROT データベース: 受入番号P04264)の部分配列であることが判明した。SEQ ID NO:1およびSEQ ID NO:2による2種の断片はそれぞれ、完全サイトケラチン1のアミノ酸配列185~196および277~287に対応する。999.49の質量 $m/z$ ( $z=1$ )を有する質量スペクトルの更なる断片は、9個のアミノ酸からなる断片(SEQ ID NO:4; 算出質量999.45)に対応し、これは、完全サイトケラチン1のアミノ酸289~297の部分配列(SEQ ID NO:3)に対応する。

10

【0061】

これらの結果により、電気泳動ゲルから単離されたサイトケラチン1断片の形のペプチドは、サイトケラチン1のアミノ酸185~297(SEQ ID NO:5)の配列を有すると、確実に結論付けることができる。しかしながら、この配列に対応する断片(SEQ ID NO:5)は、13615の分子量しか有さないが、ゲル電気泳動により見いだされ、測定された断片の分子量は、 $15700 \pm 500$ ダルトンであった。したがって、断片185~297(SEQ ID NO:5)がその末端の一方また両方で20個までのアミノ酸で延長されている断片も、本発明による可溶性サイトケラチン1断片と見なすことができる。

20

【0062】

5. 血清中での可溶性サイトケラチン1断片の測定

前記の可溶性サイトケラチン1断片の血清濃度を、敗血症マーカーであるプロカルシトニン(PCT)に関して高い値が見られた敗血症患者からの20の血清で測定した。敗血症血清の95%で、著しく高い濃度(3ng/ml以上)が見られた。

【0063】

敗血症血清中での探索測定のために、この目的のために特別に開発された競合的発光イムノアッセイを使用した。この場合に、SEQ ID NO:3のアミノ酸214から229を含むサイトケラチン1断片の部分配列からなるペプチドに対するイムノアッセイ用ヒツジ抗体を使用した。抗体を得るために、競合物質として使用した合成ペプチドは、ペプチドPLY17(Jerini BioTools GmbH)の名称で市販されている。

30

【0064】

測定を実施するために、次の手順を使用した:

ポリスチレン管(Greiner製)を、PBS300 $\mu$ l中のペプチド(PLY17; SEQ ID NO:1)100ngで被覆した。室温で20時間インキュベーションした後に、BSA1%を含有するPBS2 $\times$ 4mlで洗浄した。次いで、ペプチド被覆された管を、続く測定を実施するための固体相として使用し、この測定で、固定化ペプチドおよび試料からのサイトケラチン1断片を、前記の部分配列に対するヒツジ抗体と競合させたが、この際、この抗体を、抗血清の形で加えた。

【0065】

測定のために、次の手順を使用した:

40

1. 試料100 $\mu$ g(敗血症結成または対照血清または校正物質溶液)を前記の管にピペット注入し;
2. 抗血清200 $\mu$ l(PBSで1:5000に希釈)をピペット注入し;
3. 振盪しながら、室温で3時間インキュベーションし;
4. 管から、未結合の抗体を洗い流し(PBS1mlを4回充填し、デカンテーションする);
5. 固体相-結合抗体を調製するために、PBS300ml、BSA1%中のアクリジニウムエステル標識されたロバ抗ヒツジ抗体(B.R.A.H.M.S Diagnostica)を加え;
6. 室温で2時間インキュベーションした後に、未結合の標識抗体を除去し、4と同様に洗い流し;
7. ルミノメーター(luminometer、Berthold製)を用いて、既知の方法で、固体相に結合し

50

ているアクリジニウムエステルを測定する。

【0066】

校正曲線を調製するために、既知の量の前記の合成ペプチドを含有する溶液を使用し、可溶性サイトケラチン1断片の濃度を、敗血症血清で測定された値と校正曲線とを比較することにより、測定した。

【0067】

測定結果のグラフを図4に示す。前記した仮の、非常に簡単で、鈍い競合測定手順でも、血清の場合のサイトケラチン1断片の測定の非常に良好な感度は、明らかである。

【0068】

発見されたサイトケラチン1断片は、新規のタンパク質(またはペプチド)と称することができ、その、おそらくタンパク分解による生成は、投与された内毒素と霊長類生物が接触した後に初めて観察された。現在、この断片の考えられる本来の役割については、推測することしかできない。しかしながら、初めてそれが同定され、高い特異度で記録されたことにより、これは、有望な診断ターゲットに、さらに治療的介入のための新規の重要なターゲットになった。

10

【0069】

同定されたサイトケラチン1断片または関連断片、さらに場合によっては部分断片を薬学的活性物質として使用することも、本発明の範囲内にある。したがって本発明は、実際の活性物質として、本発明によるペプチドまたはこれらのペプチドに対して製造され、患者に投与するために調製された抗体のいずれかを、適切な薬学的担体と共に含有する薬剤組成物にも関する。

20

【図面の簡単な説明】

【0070】

【図1】健康なヒヒの肝細胞細胞質タンパク質のスポットパターン(A)とLPS投与により敗血症を惹起させた5時間後のヒヒの肝細胞タンパク質のスポットパターン(B)とをそれにより比較することができる2D電気泳動ゲルを示す図である。矢印は、本発明による敗血症特異的生成物(サイトケラチン1断片)の位置を示しているが、これは、図(B)では、円で区別されている。

【図2】2Dゲル電気泳動により同定された、トリプシン消化された単離生成物の質量スペクトルを示す図である。

30

【図3a】電荷/質量比692.39を有する、トリプシン消化からの選択ペプチド断片のタンデム電気泳動の結果を示す図である。

【図3b】電荷/質量比633.38を有する、トリプシン消化からの別の選択ペプチド断片のタンデム電気泳動の結果を示す図である。

【図4】16人の対照ヒト(血液ドナー)の群と比較しての、20人の敗血症患者の血清中の可溶性サイトケラチン1断片の測定結果を示すグラフである。

【 1 】

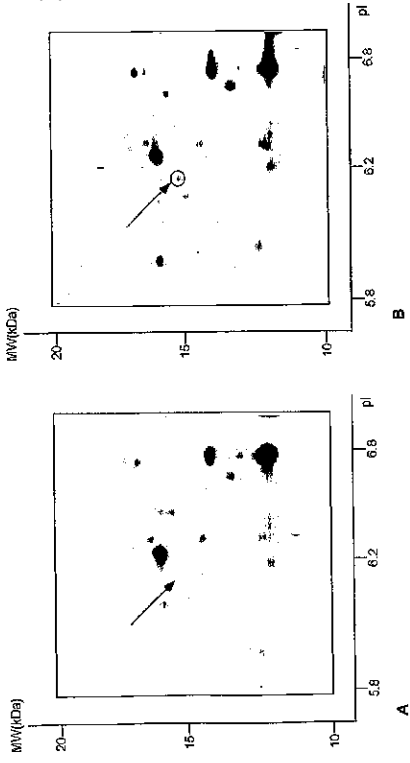


Fig. 1

【 2 】

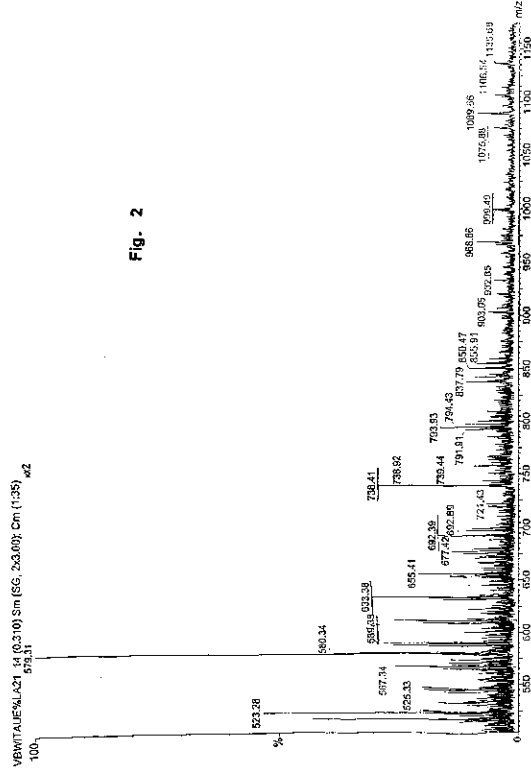


Fig. 2

【 3 a 】

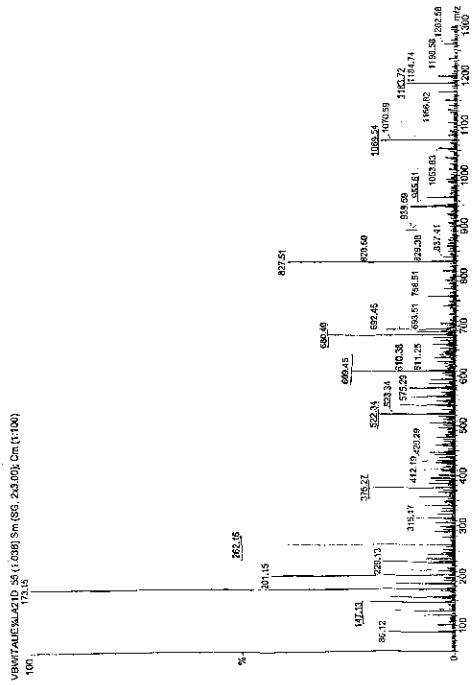


Fig. 3a

【 3 b 】

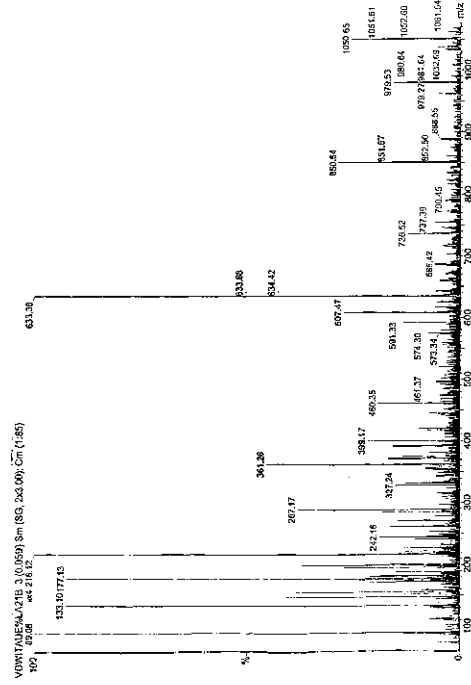


Fig. 3b

【 图 4 】

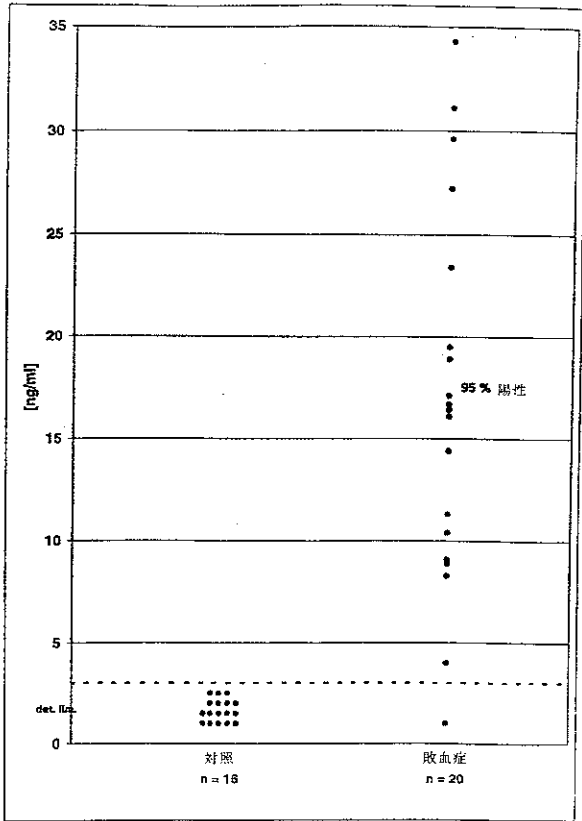


FIG. 4

【 配列表 】

[2005509143000001.app](#)

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		II National Application No PCT/EP 02/06473
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 C07K14/47 G01N33/569 G01N33/68		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07K G01N		
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 practical, search terms used) BIOSIS, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, MEDLINE, EMBL, GENSEQ, SCISEARCH, CHEM ABS Data, BIOTECHNOLOGY ABS, EMBASE		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 527 773 A (DIGIOVANNA JOHN J ET AL) 18 June 1996 (1996-06-18) examples 2,5,6	10
X	WO 01 12212 A (BRIGHAM & WOMENS HOSPITAL) 22 February 2001 (2001-02-22) page 31, line 12-14 page 37, line 26 -page 38, line 8	11
A	WIEDENMANN B ET AL: "CYTOKERATIN FRAGMENTS IN SERUM POSSIBLE NEW MARKERS FOR THE FOLLOW-UP OF PATIENTS WITH INFLAMMATORY LIVER DISEASE" GASTROENTEROLOGY, vol. 96, no. 5 PART 2, 1989, page A673 XPO08009392 ISSN: 0016-5085 abstract	1-15
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *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) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* 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 *X* 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 *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. *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the International search report
18 October 2002		06/11/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  ALCONADA RODRIG., A

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 02/06473

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>KANAZAWA HIROSHI ET AL: "CYFRA 21-1, a cytokeratin subunit 19 fragment, in bronchoalveolar lavage fluid from patients with interstitial lung disease." CLINICAL SCIENCE (LONDON), vol. 94, no. 5, May 1998 (1998-05), pages 531-535, XP002217297 ISSN: 0143-5221 figures 1,2</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-15
A	<p>WO 97 25622 A (BRAHMS DIAGNOSTICA GMBH ;BOHOUN CLAUDE (FR)) 17 July 1997 (1997-07-17) claims 1-11</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-15

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/EP 02/06473

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 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.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

See supplemental sheet PCT/ISA/210

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 II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

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.:

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

International application No.
-------------------------------

PCT/EP 02/06473
-----------------

Continuation of I.1

Although Claims 1-8 relate to a diagnostic method practiced on the human or animal body as well as a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out on the basis of the alleged properties of the compound.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/JP 02/06473
---

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5527773	A	18-06-1996	NONE	
WO 0112212	A	22-02-2001	AU 6637000 A EP 1204419 A1 WO 0112212 A1	13-03-2001 15-05-2002 22-02-2001
WO 9725622	A	17-07-1997	DE 19600875 C1 AT 220209 T DE 59609417 D1 WO 9725622 A1 EP 0880702 A2 JP 11506205 T JP 3095784 B2	26-06-1997 15-07-2002 08-08-2002 17-07-1997 02-12-1998 02-06-1999 10-10-2000

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

 II - nationales Aktenzeichen  
 PCT/EP 02/06473

<b>A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES</b> IPK 7 C07K14/47 G01N33/569 G01N33/68		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
<b>B. RECHERCHIERTE GEBIETE</b> Recherchierte(r) Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 C07K G01N		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) BIOSIS, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, MEDLINE, EMBL, GENSEQ, SCISEARCH, CHEM ABS Data, BIOTECHNOLOGY ABS, EMBASE		
<b>C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN</b>		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Bez. Anspruch Nr.
X	US 5 527 773 A (DIGIOVANNA JOHN J ET AL) 18. Juni 1996 (1996-06-18) Beispiele 2,5,6	10
X	WO 01 12212 A (BRIGHAM & WOMENS HOSPITAL) 22. Februar 2001 (2001-02-22) Seite 31, Zeile 12-14 Seite 37, Zeile 26 -Seite 38, Zeile 8	11
A	WIEDENMANN B ET AL: "CYTOKERATIN FRAGMENTS IN SERUM POSSIBLE NEW MARKERS FOR THE FOLLOW-UP OF PATIENTS WITH INFLAMMATORY LIVER DISEASE" GASTROENTEROLOGY, Bd. 96, Nr. 5 PART 2, 1989, Seite A673 XP008009392 ISSN: 0016-5085 Zusammenfassung	1-15
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/>	Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen	<input checked="" type="checkbox"/>
		Siehe Anhang Patentfamilie
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *V* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden *W* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
18. Oktober 2002		06/11/2002
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2260 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Beauftragter ALCONADA RODRIG., A

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP 02/06473

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	KANAZAWA HIROSHI ET AL: "CYFRA 21-1, a cytokeratin subunit 19 fragment, in bronchoalveolar lavage fluid from patients with interstitial lung disease." CLINICAL SCIENCE (LONDON), Bd. 94, Nr. 5, Mai 1998 (1998-05), Seiten 531-535, XP002217297 ISSN: 0143-5221 Abbildungen 1,2 ---	1-15
A	WO 97 25622 A (BRAHMS DIAGNOSTICA GMBH ;BOHOUN CLAUDE (FR)) 17. Juli 1997 (1997-07-17) Ansprüche 1-11 -----	1-15

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

 Internationales Aktenzeichen  
 PCT/EP 02/06473

<b>Feld I</b> Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)	
Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:	
1. <input checked="" type="checkbox"/>	Ansprüche Nr. weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
2. <input type="checkbox"/>	Ansprüche Nr. weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. <input type="checkbox"/>	Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.
<b>Feld II</b> Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)	
Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:	
1. <input type="checkbox"/>	Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. <input type="checkbox"/>	Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. <input type="checkbox"/>	Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. <input type="checkbox"/>	Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recher- chenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen er- faßt:
<b>Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs</b> <input type="checkbox"/> Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.	
<input type="checkbox"/> Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.	

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.1

Obwohl die Ansprüche 1-8 sich auf ein Diagnostizierverfahren, das am menschlichen/tierischen Körper vorgenommen wird, sowie auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung.

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

 Ir  
 iales Aktenzeichen  
 PCT/EP 02/06473

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5527773	A	18-06-1996	KEINE	
WO 0112212	A	22-02-2001	AU 6637000 A	13-03-2001
			EP 1204419 A1	15-05-2002
			WO 0112212 A1	22-02-2001
WO 9725622	A	17-07-1997	DE 19600875 C1	26-06-1997
			AT 220209 T	15-07-2002
			DE 59609417 D1	08-08-2002
			WO 9725622 A1	17-07-1997
			EP 0880702 A2	02-12-1998
			JP 11506205 T	02-06-1999
			JP 3095784 B2	10-10-2000

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
G 0 1 N 27/447	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 27/26	3 1 5 Z
// C 0 7 K 14/47	A 6 1 K 37/02	
	C 0 7 K 14/47	Z N A

(74)代理人 100107836

弁理士 西 和哉

(74)代理人 100108453

弁理士 村山 靖彦

(74)代理人 100110364

弁理士 実広 信哉

(72)発明者 アンドレアス・ベルクマン

ドイツ・1 2 3 5 1・ベルリン・パウムロイファーヴェーク・4 7

(72)発明者 ヨアヒム・シュトルック

ドイツ・1 2 1 6 1・ベルリン・ホルシュタイニツシェ・シュトラッセ・2 8

(72)発明者 モニカ・ユーライン

ドイツ・1 0 4 0 7・ベルリン・フーフェラントシュトラッセ・1 5

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA07 BA01 BA02 BA08 BA22 CA18 CA33 CA35 DC50

MA01 NA14 ZB112 ZB352

4C085 AA13 AA14 BB11 CC22 CC23 EE01

4H045 AA30 BA10 BA16 CA40 DA76 DA86 EA22 EA50 FA71 HA05

专利名称(译)	使用可溶性细胞角蛋白1片段进行诊断和治疗		
公开(公告)号	<a href="#">JP2005509143A</a>	公开(公告)日	2005-04-07
申请号	JP2003508980	申请日	2002-06-12
[标]申请(专利权)人(译)	布拉姆斯股份公司		
申请(专利权)人(译)	裴埃尔啊她IMS股份公司		
[标]发明人	アンドレアスベルクマン ヨアヒムシュトルック モニカユーライン		
发明人	アンドレアス・ベルクマン ヨアヒム・シュトルック モニカ・ユーライン		
IPC分类号	G01N33/53 A61K38/00 A61K39/395 A61P29/00 A61P31/04 C07K14/47 G01N27/447 G01N33/15 G01N33/68		
CPC分类号	A61P29/00 C07K14/4741 G01N33/6893 G01N2333/4742 G01N2800/26		
FI分类号	G01N33/53.D A61K39/395.D A61K39/395.N A61P29/00 A61P31/04 G01N33/15.Z G01N27/26.315.Z A61K37/02 C07K14/47.ZNA		
F-TERM分类号	4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA02 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/CA18 4C084 /CA33 4C084/CA35 4C084/DC50 4C084/MA01 4C084/NA14 4C084/ZB112 4C084/ZB352 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/EE01 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045 /BA16 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA22 4H045/EA50 4H045/FA71 4H045/HA05		
代理人(译)	渡边 隆 正和青山 村山彦		
优先权	10130985 2001-06-27 DE		
其他公开文献	JP4307249B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

来自体液或身体组织的新型可溶性细胞角蛋白1片段作为标记肽用于诊断，预后和监测炎症和感染过程和/或作为治疗影响炎症和/或感染过程的靶标的用途。

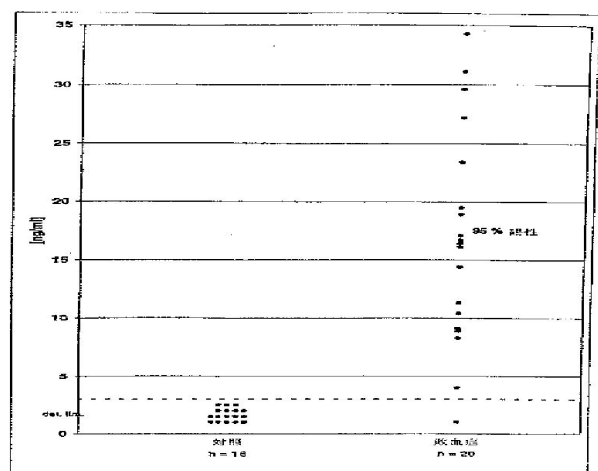


FIG. 1