

(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2014-228547
(P2014-228547A)

(43) 公開日 平成26年12月8日(2014.12.8)

| | | |
|-------------------------------|--------------|-------------|
| (51) Int.Cl. | F I | テーマコード (参考) |
| GO 1 N 33/68 (2006.01) | GO 1 N 33/68 | 2 GO 4 5 |
| GO 1 N 33/53 (2006.01) | GO 1 N 33/53 | D |

審査請求 有 請求項の数 8 O L 外国語出願 (全 10 頁)

| | |
|--|--|
| <p>(21) 出願番号 特願2014-105017 (P2014-105017)</p> <p>(22) 出願日 平成26年5月21日 (2014. 5. 21)</p> <p>(31) 優先権主張番号 102118255</p> <p>(32) 優先日 平成25年5月23日 (2013. 5. 23)</p> <p>(33) 優先権主張国 台湾 (TW)</p> | <p>(71) 出願人 504007741 国立中央大學 台湾桃園縣中▲りー▼市中大路300號</p> <p>(74) 代理人 100108453 弁理士 村山 靖彦</p> <p>(74) 代理人 100064908 弁理士 志賀 正武</p> <p>(74) 代理人 100089037 弁理士 渡邊 隆</p> <p>(74) 代理人 100110364 弁理士 実広 信哉</p> <p>(72) 発明者 ▲黄▼ ▲雪▼▲莉▼ 台湾台北市内湖區民▲權▼東路六段207 號10樓</p> |
|--|--|

最終頁に続く

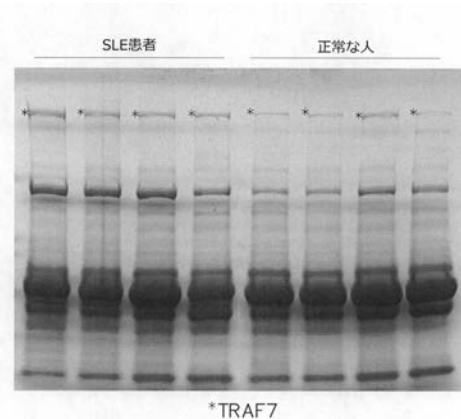
(54) 【発明の名称】腫瘍壊死因子受容体関連因子7を全身性エリテマトーデスのバイオマーカーとする用途、全身性エリテマトーデスを患う人を検出する方法およびキット

(57) 【要約】

【課題】腫瘍壊死因子受容体関連因子7 (T R A F 7) を全身性エリテマトーデス (S L E) のバイオマーカーとする用途、全身性エリテマトーデスを患う人を検出する方法およびキットを提供する。

【解決手段】 S L E を患う人を検出するキットは、 T R A F 7 およびその抗体を含む。 S L E を患う人を検出する方法は、以下のステップを含む。 S L E の疑いのある患者から血漿試料を採取する。患者の血漿試料中の総タンパク質に対する T R A F 7 の比率と正常な人の血漿試料中の比率を比較する。患者の血漿試料中の総タンパク質に対する T R A F 7 の比率が正常な人の血漿試料中の比率よりも高い場合、その患者は、 S L E を患っている可能性がある。 T R A F 7 は、腎障害を伴う活動期の S L E のバイオマーカーとして使用可能である。

【選択図】図2



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

腫瘍壊死因子受容体関連因子 7 (T R A F 7) を全身性エリテマトーデス (S L E) のバイオマーカーとする用途。

【請求項 2】

S L E の疑いのある患者から血漿試料を採取するステップと、
前記患者の前記血漿試料中の総タンパク質に対する T R A F 7 の比率と正常な人の血漿試料中の総タンパク質に対する T R A F 7 の比率を比較して、前記患者の前記血漿試料中の総タンパク質に対する T R A F 7 の前記比率が前記正常な人の前記比率よりも高い場合に、前記患者が S L E を患っている可能性があることを示すステップと

10

を含む S L E を患う人を検出する方法。

【請求項 3】

前記患者の前記血漿試料中の総タンパク質に対する T R A F 7 の前記比率が、前記正常な人の前記血漿試料中の 1 . 3 ~ 1 . 5 倍である請求項 2 に記載の S L E を患う人を検出する方法。

【請求項 4】

前記患者の前記 S L E 疾患が活動期であるかどうかを検出するために使用される請求項 3 に記載の S L E を患う人を検出する方法。

【請求項 5】

前記患者の前記 S L E 疾患が腎障害を伴っている可能性があるかどうかを検出するために使用される請求項 3 に記載の S L E を患う人を検出する方法。

20

【請求項 6】

タンパク質量法を用いて T R A F 7 の濃度を測定することをさらに含む請求項 2 に記載の S L E を患う人を検出する方法。

【請求項 7】

前記タンパク質量法が、酵素結合免疫吸着法 (E L I S A) を含む請求項 6 に記載の S L E を患う人を検出する方法。

【請求項 8】

T R A F 7 およびその抗体 (anti-TRAF7 antibody) を含む S L E を患う人を検出するキット。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、タンパク質バイオマーカー、検出方法および検出キットに関するものであり、特に、全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus, SLE) のバイオマーカー、全身性エリテマトーデスを患う人を検出する方法およびキットに関するものである。

【背景技術】

【0002】

全身性エリテマトーデス (S L E) は、非常に複雑な自己免疫疾患であり、リウマチ病学 (rheumatology) の医師にとってかなり治りにくい病気である。また、S L E は、狼瘡 (lupus) とも称し、女性に好発する全身性自己免疫疾患で、免疫応答を起こして遍在する自己抗原 (大部分は細胞核内の核酸およびその結合タンパク質である) に対して様々な自己抗体を生成する。d s D N A 抗体は、S L E に対し特異的である。S L E の臨床症状は、総括的で変わりやすく、臨床疾患経過 (disease course) は、良くなったり悪くなったりを繰り返す。例えば、発疹、光敏感症、口腔潰瘍、関節炎、肋膜炎、心膜炎、糸球体腎炎、神経症状 (痙攣)、溶血性貧血、白血球減少症、血小板減少症等が挙げられる。現在の S L E の診断は、主に、臨床症状と異常試験に基づいて行われる。

40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

50

【0003】

しかしながら、SLEの症状は多様であるため、初期段階の患者を診断するのは容易ではなく、その結果、病気を発見した時には腎臓等の臓器障害を伴っている可能性があり、重症の場合には、腎透析が必要となることもある。

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明は、患者がSLEを患っているかどうかを検出するために、腫瘍壊死因子受容体関連因子7 (TRAF7) を全身性エリテマトーデス (SLE) のバイオマーカーとする用途を提供する。

【0005】

本発明は、人がSLEを患っているかどうかを確定するために、SLEを患う人を検出する方法を提供する。

【0006】

本発明は、人がSLEを患っているかどうかを検出するために、SLEを患う人を検出するキットをさらに提供する。

【0007】

本発明の1つの実施形態において、本発明の腫瘍壊死因子受容体関連因子7 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 7, TRAF7) は、SLEのバイオマーカーとして使用される。

【0008】

本発明の1つの実施形態において、本発明のSLEを患う人を検出する方法は、以下のステップを含む。まず、SLEの疑いのある患者から血漿試料を採取する。そして、患者の血漿試料中の総タンパク質に対するTRAF7の比率と正常な人の血漿試料中の総タンパク質に対するTRAF7の比率を比較して、患者の血漿試料中の総タンパク質に対するTRAF7の比率が正常な人の血漿試料中の比率よりも高い場合、その患者は、SLEを患っている可能性がある。

【0009】

本発明の1つの実施形態において、患者の血漿試料中の総タンパク質に対するTRAF7の比率は、正常な人の1.3 ~ 1.5倍である。

【0010】

本発明の1つの実施形態において、上述した方法は、患者のSLE疾患が活動期であるかどうかを検出するために使用される。

【0011】

本発明の1つの実施形態において、上述した方法は、患者のSLE疾患が腎障害を伴っている可能性があるかどうかを検出するために使用される。

【0012】

本発明の1つの実施形態において、上述した方法は、さらに、タンパク質量法を用いてTRAF7の濃度を測定することを含む。

【0013】

本発明の1つの実施形態において、タンパク質量法は、酵素結合免疫吸着法 (an enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) を含む。

【0014】

本発明のSLEを患う人を検出するキットは、TRAF7およびその抗体 (anti-TRAF7 antibody) を含む。

【発明の効果】

【0015】

以上のように、本発明は、TRAF7をSLEのバイオマーカーとして使用し、そのバイオマーカーを応用して、SLEを患う人を検出する方法およびキットを提供する。その結果、SLEを患っている人の可能性を迅速かつ容易に測定し、SLEを患う患者の疾患経過や特定の臓器障害を伴っている可能性を理解することができ、それにより、病気をコ

10

20

30

40

50

ントロールして治療のタイミングが遅れるのを防ぐことができる。

【0016】

本発明の上記および他の目的、特徴、および利点をより分かり易くするため、図面と併せた幾つかの実施形態を以下に説明する。

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1】本発明の1つの実施形態に係るSLEを患う人を検出する方法を示す概略的フロー図である。

【図2】本発明の1つの実施形態におけるSLEを患う人を検出する方法に係る正常な人とSLE患者の血漿試料中の総タンパク質の電気泳動図である。

【図3】本発明の別の実施形態に係るSLEを患う人を検出する別の方法を示す概略的フロー図である。

【図4】本発明の別の実施形態におけるSLEを患う人を検出する方法に係る正常な人とSLE患者の血漿試料中のTRAF7の濃度を示すバーチャートである。

【発明を実施するための形態】

【0018】

これまでSLEを調べるためのバイオマーカーは、主に遺伝子レベルで検査されているが、発明者は、タンパク質の観点から研究を行い、TRAF7をSLEのバイオマーカーとして使用することを初めて発見した。

【0019】

特に、TRAF7は、腎障害を伴う活動期のSLEのバイオマーカーとして使用される。以下、TRAF7を応用したSLEを患う人を検出する方法について紹介する。

【0020】

図1は、本発明の1つの実施形態に係るSLEを患った人を検出する方法を示す概略的フロー図である。図2は、本発明の1つの実施形態におけるSLEを患う人を検出する方法に係る正常な人とSLE患者（臨床的に腎障害を伴うと診断された患者）の血漿試料中の総タンパク質の電気泳動図である。図1を参照すると、本実施形態において、SLEを患う人を検出する方法は、ステップS110～S140を含む。まず、ステップS110を実行し、SLEの疑いのある患者から血漿試料を採取する。本実施形態において、SLE患者の血漿試料は、例えば、0.1mlよりも少ない。

【0021】

次に、ステップS120を実行し、患者の血漿試料中の総タンパク質に対するTRAF7の比率を体外で測定する。本実施形態において、患者の血漿試料中の総タンパク質に対するTRAF7の比率および正常な人の血漿試料中の総タンパク質に対するTRAF7の比率を体外で測定する方法は、例えば、タンパク質の電気泳動により血漿試料中のタンパク質を分析および分離する方法である。得られた電気泳動ゲルは、図2に示した通りであり、TRAF7のタンパク質バンドは「*」で示してある。しかしながら、血漿中のTRAF7の存在を検出する方法は、タンパク質の同定または定量（quantification）に使用できるものであれば任意のタンパク質検出方法であってもよく、例えば、質量分析法（mass spectrometry）、ELISA法、他の周知のタンパク質分析技術がある。

【0022】

そして、ステップS130を実行し、患者の血漿試料中の総タンパク質に対するTRAF7の比率と正常な人の血漿試料中の総タンパク質に対するTRAF7の比率を比較する。詳しく説明すると、「総タンパク質に対するTRAF7の比率」は、総血漿タンパク質中のTRAF7の相対変化量を示す。図2からわかるように、本実施形態において、SLEの疑いのある患者と正常な人の総血漿タンパク質中、患者のTRAF7の量は、著しい増加がある。また、コンピュータイメージングソフトウェアをさらに使用して、TRAF7の濃度を分析する。本実施形態において、SLE患者の総タンパク質に対するTRAF7の平均比率は2.6%であり、正常な人の総タンパク質に対するTRAF7の平均比率は1.9%である。したがって、本実施形態において、患者の血漿試料中の総タンパク質

10

20

30

40

50

に対する T R A F 7 の比率は、正常な人の 1 . 4 倍である。1 つの実施形態において、患者の血漿試料中の総タンパク質に対する T R A F 7 の比率は、正常な人の 1 . 3 ~ 1 . 5 倍である。

【 0 0 2 3 】

そして、ステップ S 1 4 0 を実行し、患者の血漿試料中の総タンパク質に対する T R A F 7 の比率が正常な人の血漿試料中の比率よりも高い場合、その患者は S L E を患っている可能性がある。1 つの実施形態において、患者の血漿試料中の T R A F 7 の比率が正常な人の 1 . 3 ~ 1 . 5 倍である時、その患者が S L E を患っていることを示し、さらに、患者の S L E 疾患が活動期であることを示す。

【 0 0 2 4 】

図 3 は、本発明の別の実施形態に係る S L E を患う人を検出する別の方法を示す概略的フロー図である。図 4 は、本発明の別の実施形態における S L E を患う人を検出する別の方法に係る正常な人と S L E 患者の血漿試料中の T R A F 7 の濃度を示すバーチャートである。本実施形態で説明する手順と前の実施形態で説明した手順の主な違いは、血漿中の T R A F 7 の濃度を直接的に測定することである。詳しく説明すると、図 3 に示すように、まず、ステップ S 1 1 0 を実行し、S L E の疑いのある患者から血漿試料を採取する。次に、ステップ S 1 2 0 を実行し、T R A F 7 の標準試料から得られた濃度検量線 (concentration calibration curve) を用いて、患者の血漿試料中の T R A F 7 の濃度を計算する。本実施形態において、タンパク質量法 (例えば、E L I S A 法) を用いて標準試料の濃度検量線を取得し、患者の血漿試料中の T R A F 7 の濃度を計算する。そして、ステップ S 1 3 0 を実行し、患者と正常な人の血漿試料中の T R A F 7 の濃度を比較する。本実施形態において、図 4 に示すように、S L E の疑いのある 2 1 人の患者の血漿試料中の T R A F 7 の濃度の中位数 (median) は、例えば、1 2 5 . 2 p g / m l (中位数は、太い水平線で示してある) であり、2 4 人の正常な人の血漿試料中の T R A F 7 の濃度の中位数は、例えば、8 1 . 5 p g / m l (中位数は、太い水平線で示してある) である。したがって、本実施形態において、患者の血漿試料中の総タンパク質に対する T R A F 7 の比率は、正常な人の 1 . 5 倍である。そして、ステップ S 1 4 0 を実行し、患者の血漿試料中の T R A F 7 の濃度が正常な人の血漿試料中の T R A F 7 の濃度よりも高い場合、その患者は S L E を患っている可能性がある。

【 0 0 2 5 】

また、発明者は、T R A F 7 およびその抗体 (anti-TRAF7 antibody) を含む S L E を患う人を検出するキットを提供する。つまり、このキットは、T R A F 7 の抗体を使用することによって、T R A F 7 の存在および総タンパク質に対する T R A F 7 の比率または T R A F 7 の濃度を検出し、その人が S L E を患っているかどうかを判断する。S L E を患う人を検出するキットは、T R A F 7 の検出が可能で、T R A F 7 およびその抗体を含んでいけば任意のキットであってもよく、例えば、質量分析装置 (mass spectrometer) 、E L I S A キットおよびその他の周知のタンパク質分析キットがある。

【 0 0 2 6 】

上述した実施形態では、T R A F 7 を S L E のバイオマーカーとして使用し、このバイオマーカーを応用して、S L E を患う人を検出する方法およびキットを提供する。大部分が遺伝子レベルで検査する従来の S L E のバイオマーカーに比べ、上述した実施形態は、T R A F 7 タンパク質を S L E のバイオマーカーとして使用する。T R A F 7 は周知のタンパク質であり、質量分析装置や E L I S A 等のタンパク質検出技術が既に高度に発展しているため、S L E を患う人を検出する多くの方法およびキットを開発することが可能である。したがって、S L E を患う人を検出する方法およびキットは、操作しやすく、時間の節約ができるといった利点を有する。

【 0 0 2 7 】

一方、S L E の臨床症状は多様であり、初期段階の患者を診断するのは容易ではない。その結果、病気を発見した時には既に腎臓等の臓器障害を伴っている可能性があり、重症の場合には、腎透析が必要となることもある。しかしながら、上述した実施形態の S L E

10

20

30

40

50

を患う人を検出する方法は、患者の血漿試料を採取して、患者と正常な人の血漿試料中の T R A F 7 の比率を検出することにより、S L E を患っている人の可能性を迅速かつ容易に測定し、S L E の疾患経過や特定の臓器障害を伴っている可能性を理解することができる。例えば、1つの実施形態において、患者と正常な人の血漿試料中の T R A F 7 の比率の差により、腎障害を伴う活動期の S L E の患者を判別することができる。そのため、T R A F 7 は、腎障害を伴う活動期の S L E のバイオマーカーとして使用可能である。その結果、医師が S L E を患う患者を判別して S L E を患う患者の病状をコントロールする際に役に立ち、それによって、治療のタイミングが遅れるのを防ぐことができる。したがって、S L E のバイオマーカー、S L E を患う患者を検出する方法およびキットは、学術研究や臨床診断に幅広く応用することによって、S L E の研究進展および S L E 患者の病状のコントロールに大いに役立てることができる。

10

【 0 0 2 8 】

以上のように、本発明において、T R A F 7 を S L E のタンパク質バイオマーカーとして使用し、このバイオマーカーを応用して、S L E を患う人を検出する方法およびキットを提供する。大部分が遺伝子レベルで検査する従来の S L E のバイオマーカーに比べ、本発明は、T R A F 7 タンパク質を S L E のバイオマーカーとして使用する。T R A F 7 は周知のタンパク質であり、質量分析装置や E L I S A 等のタンパク質検出技術が既に高度に発展しているため、S L E を患う人を検出する多くの方法およびキットを開発することが可能である。本発明の1つの実施形態における S L E を患う人を検出する方法は、患者と正常な人の血漿試料中の T R A F 7 の比率を比較することにより、S L E を患っている

20

【 0 0 2 9 】

以上のごとく、この発明を実施形態により開示したが、もとより、この発明を限定するためのものではなく、当業者であれば容易に理解できるように、この発明の技術思想の範囲内において、適当な変更ならびに修正が当然なされうるものであるから、その特許権保護の範囲は、特許請求の範囲および、それと均等な領域を基準として定めなければならない。

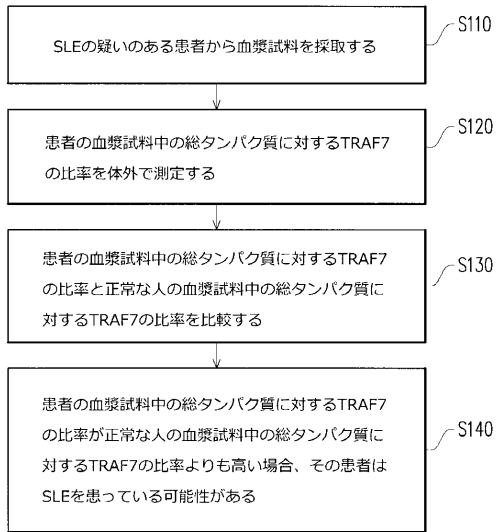
30

【 符号の説明 】

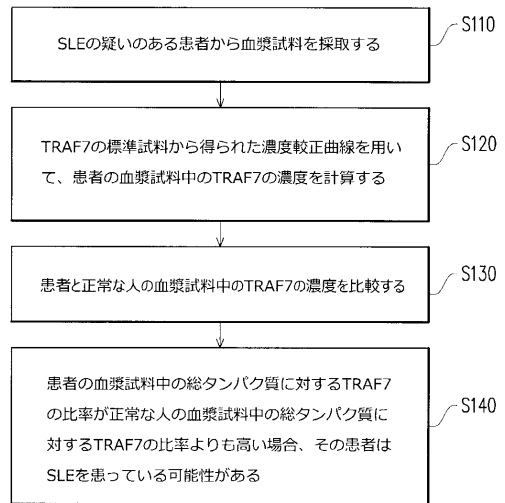
【 0 0 3 0 】

S 1 1 0 ~ S 1 4 0 ステップ

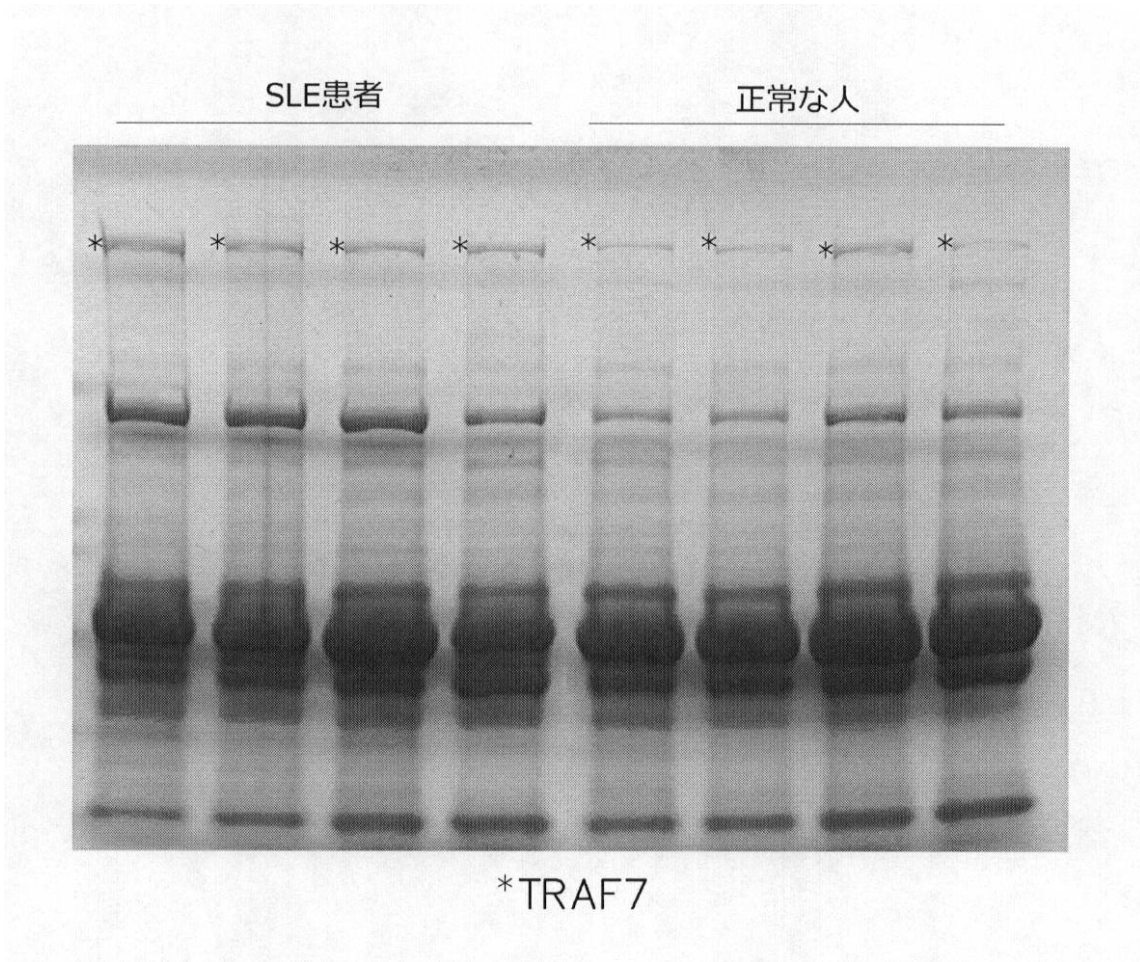
【 図 1 】



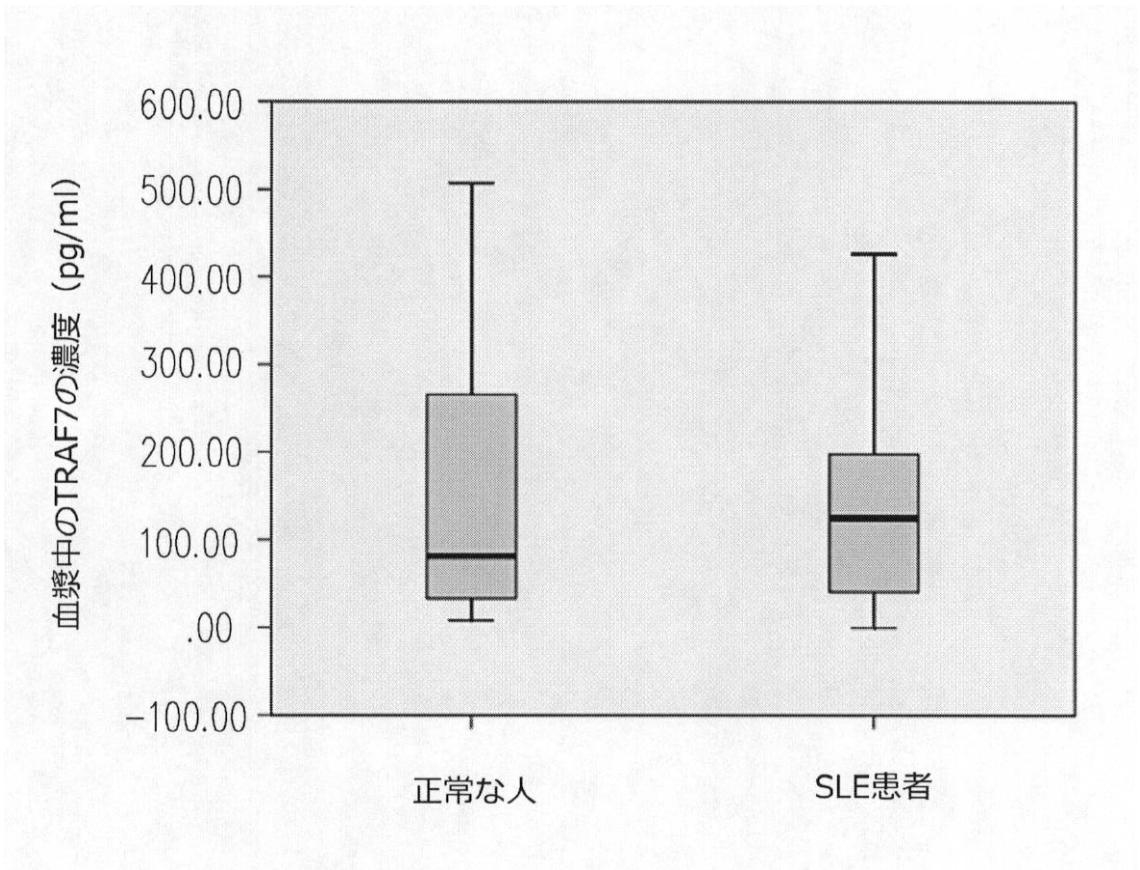
【 図 3 】



【図2】



【図4】



フロントページの続き

(72)発明者 林 世昌

台湾台北市中山區基湖路124號6樓

(72)発明者 孫 維 欣

台湾台北市文山區興隆路四段74巷21弄5號13樓

Fターム(参考) 2G045 AA25 CA26 DA36 FB03 FB05

【外国語明細書】

2014228547000001.pdf

| | | | |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 肿瘤坏死因子受体相关因子7作为系统性红斑狼疮的生物标志物的用途，检测系统性红斑狼疮患者的方法和试剂盒 | | |
| 公开(公告)号 | JP2014228547A5 | 公开(公告)日 | 2015-09-17 |
| 申请号 | JP2014105017 | 申请日 | 2014-05-21 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 国立中央大学 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 国立中央大学 | | |
| [标]发明人 | 黄雪莉 林世昌 孫維欣 | | |
| 发明人 | ▲黄▼ ▲雪▼ ▲莉▼ 林世昌 孫 ▲維▼欣 | | |
| IPC分类号 | G01N33/68 G01N33/53 | | |
| CPC分类号 | G01N33/564 G01N2333/7151 G01N2800/104 | | |
| FI分类号 | G01N33/68 G01N33/53.D | | |
| F-TERM分类号 | 2G045/AA25 2G045/CA26 2G045/DA36 2G045/FB03 2G045/FB05 | | |
| 代理人(译) | 村山彦 渡边 隆 | | |
| 优先权 | 102118255 2013-05-23 TW | | |
| 其他公开文献 | JP2014228547A JP6193806B2 | | |

摘要(译)

要解决的问题：提供肿瘤坏死因子受体相关因子7 (TRAF7) 作为系统性红斑狼疮的生物标志物的用途，检测系统性红斑狼疮患者的方法和试剂盒。用于检测患有SLE的人的试剂盒包含TRAF7及其抗体。检测患有SLE的人的方法包括以下步骤。血浆样本将从怀疑患有SLE的患者中获取。比较患者血浆样品和正常人血浆样品中TRAF7与总蛋白的比率。如果患者血浆样品中TRAF7与总蛋白的比率高于正常人血浆样品中的比率，则该患者可能患有SLE。TRAF7可用作活动性SLE并伴有肾功能不全的生物制造商。[选择图]图2