

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780022028.3

[51] Int. Cl.

*C07K 14/78 (2006.01)*  
*A61K 39/00 (2006.01)*  
*A61K 39/395 (2006.01)*  
*A61P 13/12 (2006.01)*  
*A61P 37/02 (2006.01)*  
*C07K 16/18 (2006.01)*

[43] 公开日 2009年6月24日

[11] 公开号 CN 101466732A

[51] Int. Cl. (续)

*G01N 33/15 (2006.01)*

*G01N 33/50 (2006.01)*

*G01N 33/53 (2006.01)*

[22] 申请日 2007.6.12

[21] 申请号 200780022028.3

[30] 优先权

[32] 2006.6.12 [33] JP [31] 187186/2006

[32] 2007.5.24 [33] JP [31] 137856/2007

[86] 国际申请 PCT/JP2007/061779 2007.6.12

[87] 国际公布 WO2007/145192 日 2007.12.21

[85] 进入国家阶段日期 2008.12.12

[71] 申请人 横山司甫

地址 日本东京都

[72] 发明人 横山司甫

[74] 专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事务所

代理人 刘新宇 李茂家

权利要求书3页 说明书19页 附图6页

[54] 发明名称

IV型胶原样免疫反应性多肽

[57] 摘要

本发明提供一种对肾炎的检测有用的IV型胶原样免疫反应性多肽及其抗体、IV型胶原样免疫反应性多肽选出方法、免疫反应性抗体与免疫反应性多肽的筛选方法、肾炎模型、慢性肾炎的检测方法、以及疫苗与肾炎治疗药。一种IV型胶原样免疫反应性多肽，其与分离出的慢性肾炎来源的生物试样发生免疫反应。所述IV型胶原样免疫反应性多肽优选具有选自下组中的至少一个以上：作为结构 $\alpha$ 链的1链~6链中的任意1条链以上、作为结构区域的选自7S、主三螺旋区及NC1中的任意一种以上、以及作为结构多肽的氨基酸数为3个以上、35个以下。

1. 一种IV型胶原样免疫反应性多肽，其特征在于，与分离出的慢性肾炎来源的生物试样发生免疫反应。

2. 根据权利要求1所述的IV型胶原样免疫反应性多肽，具有选自下组中的至少一个以上：

作为结构 $\alpha$ 链的1链~6链中的任意1条链以上、

作为结构区域的选自7S、主三螺旋区及NC1中的任意一种以上、

以及作为结构多肽的氨基酸数为3个以上、35个以下。

3. 根据权利要求2所述的IV型胶原样免疫反应性多肽，其为 $\alpha$ 5链。

4. 根据权利要求3所述的IV型胶原样免疫反应性多肽，其与IV型胶原的 $\alpha$ 5链的氨基酸序列有同源性。

5. 根据权利要求1~4中任意一项所述的IV型胶原样免疫反应性多肽，其结构区域含有NC1来源的下述氨基酸序列中的任意一个以上，

1)GRGTC NYVAN SYSFW LATVD

2)SCLEE FRSAP FIECH GRGTC

3)GWDSL WIGYS FMMHT SAGAE

4)PFISR CAVCE APAVV IAVHS

5)STMPF MFCNI NNVCN FASRN

(式中，A表示丙氨酸，C表示半胱氨酸，D表示天冬氨酸，E表示谷氨酸，F表示苯丙氨酸，G表示甘氨酸，H表示组氨酸，I表示异亮氨酸，L表示亮氨酸，M表示甲硫氨酸，N表示天冬酰胺，P表示脯氨酸，R表示精氨酸，S表示丝氨酸，T表示苏氨酸，V表示缬氨酸，W表示色氨酸及Y表示酪氨酸，各多肽将连续的氨基酸序列从N端起以5个为单位来进行表示)。

6. 根据权利要求5所述的IV型胶原样免疫反应性多肽，其与所述氨基酸序列中的3个以上氨基酸序列有同源性。

7. 根据权利要求1~6中任意一项所述的IV型胶原样免疫反应性多肽，其中，所述分离出的慢性肾炎来源的生物试样为尿。

8. 根据权利要求7所述的IV型胶原样免疫反应性多肽，其中，所述尿在保存时冷冻保存，使用时解冻后均匀分散于磷酸缓冲生理盐水中，离心后除去沉淀，所得上清液用冻干机干燥，再溶解于磷酸缓冲生理盐水中。

9. 一种IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体，其特征在于，与权利要求1~8中任意一项所述的IV型胶原样免疫反应性多肽发生免疫反应。

10. 一种IV型胶原样免疫反应性多肽选出方法，其特征在于，以分离出的慢性肾炎来源的生物试样为配体，选出与所述慢性肾炎来源的生物试样发生免疫反应的、权利要求1~8中任意一项所述的IV型胶原样免疫反应性多肽。

11. 一种免疫反应性抗体的筛选方法，其特征在于，使用权利要求1~8中任意一项所述的IV型胶原样免疫反应性多肽。

12. 根据权利要求11所述的免疫反应性抗体的筛选方法，其中，所述IV型胶原样免疫反应性多肽的氨基酸数为3个以上、35个以下。

13. 一种免疫反应性多肽的筛选方法，其特征在于，使用权利要求9所述的IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体。

14. 根据权利要求13所述的免疫反应性多肽的筛选方法，其中，IV型胶原样免疫反应性多肽的氨基酸数为3个以上、35个以下。

15. 一种肾炎模型，其特征在于，以选自权利要求1~8中

任意一项所述的IV型胶原样免疫反应性多肽及权利要求9所述的IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体中的任意一种以上作为引发原。

16. 一种慢性肾炎的检测方法，其特征在于，使用选自权利要求1~8中任意一项所述的IV型胶原样免疫反应性多肽及权利要求9所述的IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体中的任意一种以上。

17. 一种疫苗，其特征在于，使用选自权利要求1~8中任意一项所述的IV型胶原样免疫反应性多肽及权利要求9所述的IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体所组成的组中的任意一种以上。

18. 一种肾炎治疗药，其特征在于，含有权利要求17所述的疫苗。

## IV型胶原样免疫反应性多肽

### 技术领域

本发明涉及IV型胶原样免疫反应性多肽及其抗体、IV型胶原样免疫反应性多肽选出方法、免疫反应性抗体或免疫反应性多肽的筛选方法、肾炎模型、慢性肾炎的检测方法、疫苗以及肾炎治疗药。

### 背景技术

IV型胶原尚未被完全阐明。IV型胶原的众多分子相互结合，多种类的成分关联其上，由此形成组织基底膜。另外，因IV型胶原为组织基底膜的主要成分，从而也被称为基底膜胶原。IV型胶原有 $\alpha 1$ 链~ $\alpha 6$ 链6种异构体，1分子IV型胶原由3种 $\alpha$ 链构成。3种 $\alpha$ 链的构成因组织而异，胎盘来源的基底膜中富含 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 链，在全身各组织的基底膜中都可看到。肾来源的基底膜特异性富含 $\alpha 3$ 链~ $\alpha 6$ 链。

1分子IV型胶原分为三个区域，从N末端起的具有三螺旋结构的7S和主三螺旋区（TH）、位于C末端区域的非螺旋结构的NC1。从生物体组织中提取时，根据不同处理方法所得的区域不同，一般方法为：用胃蛋白酶处理得到三螺旋区域，用细菌来源的胶原酶处理得到NC1（非专利文献1）。

另一方面，肾炎根据症状大致分为“急性肾炎”与“慢性肾炎”，各种各样的详细分类的肾疾病由专科医生命名。因通常称为肾炎的疾病指“慢性肾炎”，本发明中在无特别说明的情况下将“肾炎”与“慢性肾炎”作为同义使用。“慢性肾炎”包括所谓的慢性肾炎、IgA肾病、微小病变型肾病、膜性肾病、继发性肾病中的糖尿病性肾病、高血压性肾病等，但不限定于此。肾炎

每年新增透析案例3万人,无论是对于病人的生活质量(QOL)、还是对于国民医疗费(每1例透析费用为600万日元/年)都是极大的负担。透析的技术不断进步,但在发病的早期确定肾病变、直接治疗肾炎的药剂尚不存在。其原因很大程度上是由于肾炎的发病机制尚未被阐明。

另外,肾炎存在肾炎特有的抗原,世界上正在对各种抗原物质进行研究(非专利文献2)。若抗原得到确定,就可望以之为靶标物质进行诊断试剂与肾炎治疗剂的开发。已确定抗原的唯一例子有肺出血-肾炎综合症(Goodpasture's syndrome)(狭义的抗肾小球基底膜(GBM)抗体肾炎)。有报告指出:该抗原存在于 $\alpha 3$ 链NC1的C末端36位氨基酸残基与N末端起的氨基酸序列17-31、以及127-141(非专利文献3)等,任意一种抗原的该部位都位于 $\alpha 3$ 链上。另外, $\alpha 3$ 链上的17-31(氨基酸残基数15个)以及127-141(氨基酸残基数15个)为从嵌合型 $\alpha 1 / \alpha 3$ NC1检索到的。

作为罕见的肾炎的肺出血-肾炎综合症属于“急性肾炎”,因典型情况下2周左右即发展为重症状态,必须迅速进行确诊。确诊中,使用肾活检的免疫组化染色,根据抗GBM的自身抗体免疫球蛋白IgG有无沉淀来判断。

非专利文献1: Extracellular Matrix IRL PRESS / OXFORD UNIVERSITY PRESS Oxford New York

非专利文献2:腎と透析(肾与透析)2005 July Vo159 No.1  
东京医学社

非专利文献3: J.Biol Chem (1993) 268, 26033 - 26036

## 发明内容

发明要解决的问题

然而该检验存在如下问题：在样品采集时对患者造成痛苦并具危险性，免疫组化染色中需要病理学专家的高度诊断能力。

因此，作为简便方法，可使用对血中出现的自身抗体进行检测的ELISA（酶联免疫吸附试验）试剂盒（商品名：ネフロスカラー・GBM、进口商ニッショー股份有限公司、销售商ニプロ股份有限公司）。然而，根据上述ELISA试剂盒附带的说明书以及所引用的文献（臨床機器・試薬（临床设备・试剂）、Vol.20 No.3、367 - 374（1997）），只有肺出血-肾炎综合症的自身抗体被高浓度地检测到，其他肾炎时仅能检测到与健康者同样的低水平。根据该说明书，使用的抗原为牛GBM抗原，GBM由以IV型胶原为主要成分的多种成分组成，考虑大小的话，为GBM > IV型胶原 > NC1 >  $\alpha$ 3链的NC1 > 上述的各氨基酸残基（抗原）。使用牛GBM作为抗原时，该巨大区域中没有其他的肾炎的抗原，作为肾炎的检测是不充分的。另外，现在虽为日本唯一获得许可并在医保范围内的诊断试剂，但存在因价格昂贵且为进口商品而使用困难的问题。

因此本发明的目的在于提供对肾炎的检测有用的IV型胶原样免疫反应性多肽及其抗体、IV型胶原样免疫反应性多肽选出方法、免疫反应性抗体与免疫反应性多肽的筛选方法、肾炎模型、慢性肾炎的检测方法、以及疫苗与肾炎治疗药。

#### 用于解决问题的手段

本发明人为解决上述问题，在伴随肾病、其他疾病的继发性肾病的治疗药开发与早期检测方法上经长期努力专心研究，通过使用慢性肾炎来源的生物试样找出肾炎的抗原部位，确立了IV型胶原样免疫反应性多肽及其抗体、IV型胶原样免疫反应性多肽选出方法、免疫反应性抗体与免疫反应性多肽的筛选方法、肾炎模型、慢性肾炎的检测方法、以及疫苗与肾炎治疗药，

完成了本发明。

即，本发明的IV型胶原样免疫反应性多肽，其特征在于，与分离出的慢性肾炎来源的生物试样发生免疫反应。

另外，本发明的IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体，其特征在于，与上述IV型胶原样免疫反应性多肽发生免疫反应。

此外，本发明的IV型胶原样免疫反应性多肽选出方法，其特征在于，所述方法以分离出的慢性肾炎来源的生物试样为配体，选出与上述慢性肾炎来源的生物试样发生免疫反应的上述IV型胶原样免疫反应性多肽。

此外，本发明的免疫反应性抗体的筛选方法，其特征在于，使用上述IV型胶原样免疫反应性多肽。

此外，本发明的免疫反应性多肽的筛选方法，其特征在于，使用上述IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体。

此外，本发明的肾炎模型，其特征在于，以选自上述IV型胶原样免疫反应性多肽及上述IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体中的任意一种以上为引发原。

此外，本发明的慢性肾炎的检测方法，其特征在于，使用选自上述IV型胶原样免疫反应性多肽及上述IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体中的任意一种以上。

此外，本发明的疫苗，其特征在于，使用选自上述IV型胶原样免疫反应性多肽及上述IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体所组成的组中的任意一种以上。另外，肾炎治疗药，其特征在于，含有该疫苗。

#### 发明效果

通过本发明，可提供对肾炎的检测有用的IV型胶原样免疫反应性多肽及其抗体、IV型胶原样免疫反应性多肽选出方法、免疫反应性抗体与免疫反应性多肽的筛选方法、肾炎模型、慢

性肾炎的检测方法、以及疫苗与肾炎治疗药。

## 附图说明

图1为示意健康者与尿中白蛋白值高者的比较（抗NC1抗体）的图。

图2为示意不同疾病抗NC1抗体的一览的图。

图3为示意同一肾炎患者抗三链抗体与抗NC1抗体的关联的图。

图4为示意慢性肾炎TD38、糖尿病性肾炎TD42与健康者（TD31~37、TD39~41）的测定比较数据（抗NC1抗体）的图。

图5为示意人NC1的 $\alpha$ 3链、 $\alpha$ 4链、 $\alpha$ 5链、 $\alpha$ 6链的图。

图6为示意慢性肾炎No38、糖尿病性肾炎No42、IgA肾病与健康者No31、32、33的NC1样抗原性的比较的图。

## 具体实施方式

以下对本发明的IV型胶原样免疫反应性多肽进行说明。

本发明的IV型胶原样免疫反应性多肽特征在于与分离出的慢性肾炎来源的生物试样发生免疫反应。所述免疫反应为IV型胶原样免疫反应性多肽为抗原，分离出的慢性肾炎来源的生物试样为抗体的免疫反应。免疫反应不限定于酶免疫反应，另外还含AB法、RIA，免疫发光法、沉淀反应、凝集反应等，酶标记抗体可为多克隆抗体或单克隆抗体，另外也可为将其用放射性物质、发光物质标记后的标记物、无标记物。反应形式不限定于夹心法（sandwich method），也可为竞争法等。作为反应板的替代，可使用玻璃、磁性物质、乳胶，也可没有载体不使用固相法。

另外，本发明中“慢性肾炎”包括所谓的慢性肾炎、IgA肾病、

微小病变型肾病、膜性肾病、继发性肾病中的糖尿病性肾病、高血压性肾病等，但不限定于此。

此外，本发明的IV型胶原样免疫反应性多肽只要与慢性肾炎来源的生物试样发生免疫反应即可，此外不受特别限定，但优选具有选自下组中的至少一个以上：作为结构 $\alpha$ 链的1链~6链中的任意1条链以上、作为结构区域的选自7S、主三螺旋区及NC1中的任意一种以上、以及作为结构多肽的氨基酸数为3个以上、35个以下。更优选为 $\alpha$ 5链，更优选结构区域为NC1。另外，从费用与效率出发，优选该IV型胶原样免疫反应性多肽的多肽长度为3个以上、35个以下氨基酸，同时考虑抗体制备的容易性，最优选为10个~20个。

本发明的IV型胶原样免疫反应性多肽，与IV型胶原同样与分离出的慢性肾炎来源的生物试样发生免疫反应。另外，优选与该IV型胶原的 $\alpha$ 5链的氨基酸序列有同源性。

此外，本发明的IV型胶原样免疫反应性多肽的结构区域优选含有NC1来源的下述氨基酸序列中的任意一个以上，

1)GRGTC NYVAN SYSFW LATVD No. yp13

2)SCLEE FRSAP FIECH GRGTC No. yp12

3)GWDSL WIGYS FMMHT SAGAE No. yp10

4)PFISR CAVCE APAVV IAVHS No. yp08

5)STMPF MFCNI NNVCN FASRN No. yp05

(式中，A表示丙氨酸，C表示半胱氨酸，D表示天冬氨酸，E表示谷氨酸，F表示苯丙氨酸，G表示甘氨酸，H表示组氨酸，I表示异亮氨酸，L表示亮氨酸，M表示甲硫氨酸，N表示天冬酰胺，P表示脯氨酸，R表示精氨酸，S表示丝氨酸，T表示苏氨酸，V表示缬氨酸，W表示色氨酸及Y表示酪氨酸，各多肽将连续的氨基酸序列从N端起以5个为单位来进行表示)，优选与上述氨

基酸序列中的3个以上的氨基酸的序列有同源性。予以说明，对于氨基酸序列1)~5)分别给予了特定的编号(No. yp13等)。

此外，上述分离出的慢性肾炎来源的生物试样有抗IV型胶原抗体，并与具有选自下述所组成的组中的至少一个以上的IV型胶原发生免疫反应：结构 $\alpha$ 链为1链~6链中的任意的一条链以上，结构区域为选自7S、主三螺旋区及NC1中的任意一种以上，以及结构多肽的氨基酸数为3个以上、35个以下。另外，该分离出的慢性肾炎来源的生物试样只要为肾炎来源的生物试样即可，不仅可为人肾炎来源，也可为动物肾炎来源，包括尿、血清、肾脏、肾脏的提取物及培养物等、但优选为尿。动物来源的情况下，优选与人慢性肾炎的“分离出的肾炎来源的生物试样”对比来使用。

所述的尿在保存时优选冷冻保存，使用时解冻后均匀分散于磷酸缓冲生理盐水(以下称PBS)中，离心后除去沉淀，所得的上清液用冻干机干燥，再溶解于PBS(pH7.4)中。另外，也可使用生理盐水或注射用蒸馏水代替PBS，为了不使滴度降低，还要进行灭菌、除菌等其他操作，即特别留心处理生物来源的制剂时操作人员应注意之处，由此能制成注射剂或内服剂。另外，也可将结合有NC1抗原的亲色分离柱纯化后的抗体及用硫酸铵沉淀等所得的抗体再次稀释以满足浓度要求，也可从血清或肾脏纯化抗体的免疫球蛋白。

另外，本发明的IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体，其特征在于，与上述IV型胶原样免疫反应性多肽发生免疫反应，对于IV型胶原样免疫反应性多肽，显示出与分离出的慢性肾炎来源的生物试样相同的免疫反应。

另外，本发明的IV型胶原样免疫反应性多肽选出方法，其特征在于，以分离出的慢性肾炎来源的生物试样为配体，选出

与上述慢性肾炎来源的生物试样发生免疫反应的上述IV型胶原样免疫反应性多肽。通过使用分离出的慢性肾炎来源的生物试样为配体，能选出对肾炎检测有用的IV型胶原样免疫反应性多肽。

本发明的IV型胶原样免疫反应性多肽选出方法中的上述分离出的慢性肾炎来源的生物试样及IV型胶原可使用与前面记载相同的物质。另外，选出的IV型胶原样免疫反应性多肽也可使用与前面记载相同的物质。

本发明的免疫反应性抗体的筛选方法，其特征在于，使用上述IV型胶原样免疫反应性多肽，优选上述IV型胶原样免疫反应性多肽的氨基酸数为3个以上、35个以下，更优选为10个~20个。具体来说，使用抗 $\alpha 5$ 链NC1抗体或抗 $\alpha 5$ 链NC1来源的多肽抗体代替上述慢性肾炎来源的生物试样，能够筛选出免疫反应性抗体。通过此方法，可筛选对肾炎检测有用的免疫反应性抗体。

另外、本发明的免疫反应性多肽的筛选方法，其特征在于，使用上述IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体，优选IV型胶原样免疫反应性多肽的氨基酸数为3个以上、35个以下，更优选为10个~20个。具体来说，通过使用候补免疫反应性多肽代替 $\alpha 5$ 链NC1来源的合成多肽，能筛选出免疫反应性多肽。通过此方法，可筛选出对肾炎检测有用的免疫反应性多肽。

此外，本发明的肾炎模型，其特征在于，以选自上述IV型胶原样免疫反应性多肽及上述IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体中的任意一种以上作为引发原。以往一直使用肾小球基底膜（GBM）、肾小球来源的NC1作为肾炎引发抗原。然而其为急性肾炎的模型，对人的慢性肾炎的模型来说并不适合。另外，也有 $\alpha 3$ 链来源的多肽的例子，但也为急性肾炎模型。本发明的

肾炎模型通过使用IV型胶原样免疫反应性多肽，廉价地得到一定的抗原，适合于制作慢性肾炎的实验模型。

另外，以往使用抗抗原的抗体（抗血清）的肾炎引发例可举出抗GBM、NC1、 $\alpha$ 3链的抗体例，但均为急性肾炎模型。此外，尚未看到抗 $\alpha$ 5链的抗体，尤其是尚未看到使用抗人 $\alpha$ 5链的多肽的抗体的例子。与此相对，本发明的IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体作为人的慢性肾炎模型是有用的，且能够适用。

该肾炎引发抗原特别优选 $\alpha$ 5链的NC1。肾小球来源的NC1引发的肾炎模型为急性肾炎的一种，因此，其抗NC1抗体大部分与急性肾炎的肺出血-肾炎综合症的自身抗体接近，优选与人慢性肾炎的“分离出的肾炎来源的生物试样”对比来使用。也可使用动物的糖尿病模型、高血压模型来源的生物试样，但与上述同样优选与人慢性肾炎的“分离出的肾炎来源的生物试样”对比来使用。

此外，本发明的慢性肾炎的检测方法，其特征在于，使用选自上述IV型胶原样免疫反应性多肽及上述IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体中的任意一种以上。另外，优选为使用ELISA法的试剂盒，通过其可进行肾炎的早期诊断。

此外，本发明的疫苗，其特征在于，使用选自上述IV型胶原样免疫反应性多肽及上述IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体所组成的组中的任意一种以上，可作为肾脏疾病的预防药或治疗药使用。另外，肾炎治疗药的特征在于，含有该疫苗。本发明的疫苗或肾炎治疗药只要含上述IV型胶原样免疫反应性多肽或上述IV型胶原样免疫反应性多肽的抗体即可，不受特别限制，举个例子，例如将yp12等溶解于水，通过给予该溶解剂能抑制肾炎等。

此外，本发明涉及肾炎血液（也包括血清、血浆）的净化

器具，可作为医疗器具使用。原理为：使肾炎血液中的目标抗体或目标抗原与固定于载体上的有吸附作用的配体（对应的抗原或抗体）接触从而吸附除去。肾炎血液中的目标抗体为抗IV型胶原抗体、抗其结构区域抗体、抗其结构多肽（与结构多肽的长度无关）抗体时，对应的配体抗原使用与分离出的慢性肾炎来源的生物试样发生反应的IV型胶原样多肽。

肾炎血液中的目标抗原为IV型胶原、其结构区域、结构多肽（与结构多肽的长度无关）时，对应的配体抗体为抗IV型胶原样多肽抗体。

配体优选与目标抗原对应的抗体，与目标抗体对应的抗原，也可用蛋白质A及蛋白质G来代替与目标抗体对应的抗原，但也存在目标抗体以外的免疫球蛋白从血液中被除去的可能性。

肾炎血液的净化中，优选暂时将血液从肾炎患者的上臂静脉取出后，用血浆分离膜（或分离机）分离为血浆成分与血细胞成分。当然也可保持血液的状态而不分成血浆成分与血细胞成分，但靶标物质以外的白蛋白等正常成分在体外会与额外的物质接触。使分离出的血浆成分通过内部具有载体的柱子，且所述载体上固定了具有吸附作用的配体（与靶标物质对应的抗原或抗体），吸附除去靶标物质后，与血细胞成分合并，回输至体内。这一系列的血液净化操作无菌、机械化地进行，可作为医疗用具使用。予以说明，柱子可以分为与目标抗原对应的抗体柱、与目标抗体对应的抗原柱。

抗体柱优选抗 $\alpha 5$ 链抗体柱，更优选抗 $\alpha 5$ 链NC1抗体柱，更加优选对应于与分离出的慢性肾炎来源的生物试样发生免疫反应的、 $\alpha 5$ 链来源的多肽的抗体柱。

抗原柱优选 $\alpha 5$ 链柱，更优选 $\alpha 5$ 链NC1柱，更加优选与分离出的慢性肾炎来源的生物试样发生免疫反应的 $\alpha 5$ 链来源的多

肽的柱。

以下结合实施例详细说明本发明。

## 实施例

### 1.抗NC1抗体测定法

基于ELISA开发NC1（牛肾小球来源，收率0.0025%）作为抗原的抗NC1抗体测定法，测定了血清及尿。图1为示意健康者与尿中白蛋白值高者的比较（抗NC1抗体）的图。图1中，虚线示意临界值（0.072），设定为尿白蛋白正常血糖也正常的7例的平均OD（0.028）+2SD（0.044）。图1的左侧（Alb（mg/mL）<30）的12例中，除尿白蛋白正常血糖也正常的例子（7例）外，包括尿白蛋白正常但血糖值高的例子（5例）。结果不仅肺出血-肾炎综合症的血清，从尿中白蛋白值高者的血清及尿（图1）、透析患者的血清中都高频度地检测出抗NC1抗体。

因此，以已诊断为肾炎的尿为样品进行了测定。以健康者的测定平均值+2SD作为临界值，肾炎样品80%以上显示阳性。由该结果，得出NC1并非仅是肺出血-肾炎综合症的抗原，也有为肾炎共同的抗原的可能性。

接着，与上述同样地测定了各不同疾病抗NC1抗体的检测。图2为示意不同疾病抗NC1抗体的一览的图。慢性肾炎的发展通常缓慢地以年至十年以上为单位缓慢恶化，但与该慢性肾炎同样通常缓慢发展的继发性肾病中的糖尿病性肾病等也检测到了抗NC1抗体，诊断名与抗NC1抗体水平看不出有特别关系（图2）。由此，可认为肾炎有共同的抗原部位存在。

此外，将牛肾来源的具有IV型胶原三螺旋结构的三链区域（7S与主三螺旋区（TH），以下称三链）纯化，代替NC1作为抗原，测定了抗三链抗体。图3为示意同一肾炎患者的抗三链抗体与抗NC1抗体关联的图。抗NC1抗体与抗三链抗体显示90%

以上的关联。NC1与三链虽具有完全不同的结构和氨基酸序列，但对肾炎发生相同的免疫反应，表明对于同一 $\alpha$ 链，抗原可为形成三链的7S或主三螺旋区（TH）（图3）。

2.将分离出的慢性肾炎来源的生物试样（以下称生物试样）作为检测抗体，通过IV型胶原找出发生反应的抗原部位的方法。

直接使用尿作为检测抗体的生物试样，但也可用肾炎来源的试样中的血清、肾脏（也可使用肾脏的提取物、培养物等），此外也可用调整过的免疫球蛋白。另外，生物试样不仅可采用人肾炎来源，也可采用动物肾炎来源（別冊・医学のあゆみ、腎疾患（増刊・医学进展，肾疾病）state of arts 2003 - 2005医歯薬出版社）。对于发生反应的抗原的多肽制备，示出一级序列的合成多肽，但也可为嵌合型多肽、重组、其他的方法。氨基酸序列使用了 $\alpha$ 5链的NC1，但也可为其他 $\alpha$ 链的NC1，只要与生物试样发生反应即可。另外，氨基酸序列为三链（7S及/或主三螺旋区）时优选 $\alpha$ 5链，但只要与生物试样反应则也可为其他的 $\alpha$ 链来源。从费用与效率出发，优选抗原的多肽的长度为3个以上、35个以下氨基酸，同时考虑抗体制备的容易性，最优选为10个~20个。予以说明，本检索方法与结果不限定于 $\alpha$ 5链，适用于IV型胶原所有 $\alpha$ 链的检索及检索的结果。

用ELISA法测定了使用IV型胶原NC1的生物试样的选定。在用100ul/孔（10ug/mL）牛肾小球来源的NC1包被过的96孔微量反应板中，加入用PBS（pH7.4）稀释4倍的生物试样（本实施例中为尿），23℃下（以下温度相同）经2小时孵育后用PBS洗涤，加入酶（HRP）标记抗人IgG抗体液，孵育1小时后洗涤，加入底物液（TMB），5~30分钟的规定时间后（本实验中为10分钟）加入反应终止液（1N硫酸溶液），立即测定450nm处

的吸光度（OD）。

图4为示意慢性肾炎TD38、糖尿病性肾炎TD42与健康者（TD31~37、TD39~41）的测定比较数据（抗NC1抗体）的图，本实验测定尿中的抗NC1-IgG抗体，用酶标记抗人IgG抗体（人HRP326）4000倍反应60分钟。图中临界值为OD. 0.443（健康者 / n = 10；平均0.255 + 2SD. 0.188），慢性肾炎（以下记为A）为1.008，糖尿病性肾病（以下记为B）为2.696。由该结果，将抗NC1抗体水平高而被选择的尿直接作为“分离出的肾炎来源的生物试样（生物试样）”使用，一部分分成小份冷冻保存。

#### 分离出的肾炎来源的生物试样（生物试样）的制备

因酸性尿中抗体发生劣化，于18℃下摇一夜解冻以使冷冻保存的尿试样与沉淀物一起均匀分散。接着准确地用PBS稀释至4倍量，在18℃下摇24小时，制成均一分散液。将其在约3000G下离心5分钟，除去沉淀。测量上清液量，用冻干机干燥，加入前面测量的量的已灭菌的PBS（pH7.4），洗涤容器，回收PBS。通过重复该操作4次~5次，可得到pH置换为中性且稳定的“生物试样”。随后，再次测量抗NC1抗体水平，测定的OD值作为1mL的滴度。也可使用生理盐水或注射用蒸馏水代替PBS，但为了不使滴度降低，还要进行灭菌、除菌等其他操作，即特别留心处理生物来源的制剂时操作人员应注意之处，由此能制成注射剂或内服剂。另外，也可作为肾炎模型的引发原使用。此外，“生物试样”也可将结合有NC1抗原的亲色谱柱纯化所得的抗体及用硫酸铵沉淀等获得的抗体再次稀释以满足浓度要求，也可从血清或肾脏纯化抗体的免疫球蛋白。尤其是用从肾炎患者自身得到的生物试样再对自身给药，由于亲和性好，即使作为注射剂也不易引起异常免疫反应。另外，口服给药剂也因口服免疫耐受性而优选。

另外，也可使用动物来源的生物试样。引发原特别优选 $\alpha 5$ 链的NC1。由肾小球来源的NC1引发的肾炎模型为急性肾炎的一种，其抗NC1抗体大部分与急性肾炎的肺出血-肾炎综合症的自身抗体相近，因而优选与人慢性肾炎的“分离出的肾炎来源的生物试样”对比来进行。也可使用动物的糖尿病模型及高血压模型来源的生物试样，但与上述相同，优选与人慢性肾炎的“分离出的肾炎来源的生物试样”对比来进行。

使用分离出的肾炎来源的生物试样（生物试样）选出IV型胶原样NC1免疫反应性多肽的方法

公布的氨基酸序列有多种，但本发明人按照Ninomiya等的文献（pp235 - 260 In Extra cellular matrix - cellular interaction: Molecules to diseases.（胞外基质 - 细胞相互作用：从分子到疾病）ed by Ninomiya Y et al, Japan Sci Press, Tokyo / S Karger, Basel.1998.）中所记载示出的序列（图5）。1条 $\alpha$ 链中的NC1的氨基酸残基数约为230。 $\alpha$ 链有6条，NC1总计调查1380个氨基酸残基即可。

### 预实验

上述ELISA法中，用合成多肽代替包被抗原的NC1进行了预实验。测定条件为：抗原浓度 $10\mu\text{g} / \text{mL}$ （ $10\text{mM}$  PBS）， $100\mu\text{L} / \text{孔}$ ，封闭（blocking）液：Block Ace（大日本制药制）稀释至25%， $250\mu\text{L} / \text{孔}$ ，尿：人来源、20~100倍稀释，第二抗体（酶标记抗人IgG抗体）： $\times 800$ ，底物液：TMB（+）（DAKO公司制）。样品的稀释与以NC1为抗原时稀释4倍不同，需稀释20~100倍。结果样品A（慢性肾炎）、B（糖尿病性肾病）都显示抗原501（ $\alpha 5$ 链NC1上由N端开始连续的20个氨基酸残基）比抗原多肽301（ $\alpha 3$ 链NC1上由N端开始连续的20个氨基酸残基）的免疫反应要强。因此用 $\alpha 5$ 链的NC1进行本实验。予以说

明，301含电脑软件指出的肺出血-肾炎综合症（Goodpastures' syndrome）的 $\alpha 3$ 链上的N端5~18位的氨基酸序列。另外，与301同样地对 $\alpha 5$ 链以外的链进行了调查。此外，301与501的任意一个由于肾炎尿比健康者的尿抗体水平显著高、可充分识别，因而可作为肾炎检测试剂使用。

#### $\alpha 5$ 链NC1上的抗原部位的筛选

使用上述ELISA法，用合成多肽代替包被抗原的NC1，其他的测定条件完全相同地进行实验。图6为示意慢性肾炎No38、糖尿病性肾炎No42、IgA肾病与健康者No31、32、33的NC1样抗原性的比较的图。

$\alpha 5$ 链的多肽如下制备。将 $\alpha 5$ 链NC1从N端开始，以20氨基酸残基为单位，相互间有5氨基酸残基重叠，由此将 $\alpha 5$ 链NC1的全区域以20氨基酸残基为单位制成15种合成多肽（以下称yp01~yp15（图6中H4NA5-1~5-15），yp15包括超过20个的氨基酸）。其结果，样品A（慢性肾炎：No38）与yp05、08、13、10、12反应强，样品B（糖尿病性肾病：No42）与yp10、13、08、05、12反应强，IgA肾病与yp08、05、10、13、12反应强，因高水平的多肽群一致，该5种多肽为病因不同的样品A、样品B及IgA肾病的共同的抗原部位。如上所述对于肾炎尿，牛肾小球来源的NC1与三链的反应性大致相同，可认为其任何一种都是肾炎的共同的抗原， $\alpha 5$ 链三链（7S或/及主三螺旋区）以及其多肽都可作为候补免疫反应性多肽。予以说明， $\alpha 5$ 链整体也可以作为抗原使用但较为麻烦。

如上所述，“生物试样”是对筛选NC1样免疫反应性多肽有效的配体，找出的多肽及其抗体同样可作为相应抗体或抗原多肽检测的配体使用。尤其是通过免疫反应性多肽制备的抗体，不论是单克隆抗体还是多克隆抗体，均可代替“生物试样”在新

的免疫反应性多肽的检测中发挥作用。对于通过 $\alpha 5$ 链找出的多肽的任意一种，肾炎尿与健康者间的反应差别都很大（图6）、可在肾炎检测的试剂盒中使用。本发明的免疫反应性多肽为对“生物试样”具有IV型胶原样免疫反应性的多肽，并不限于 $\alpha 5$ 链来源。

### 3.新型的 $\alpha 5$ 链NC1样免疫反应性多肽的筛选方法

候补免疫反应性多肽的筛选中，使用候补免疫反应性多肽代替上述 $\alpha 5$ 链NC1来源的合成多肽。也可使用抗 $\alpha 5$ 链NC1抗体代替生物试样，也可用抗 $\alpha 5$ 链NC1来源的多肽抗体来代替。该情况下，使用对应于抗体来源动物的标记抗体。

用作候补免疫反应性多肽的多肽只需为与 $\alpha 5$ 链NC1来源的呈递多肽有同等以上的免疫反应性的多肽即可，可为任意的序列，不限于IV型胶原。另外，也可将呈递多肽缩短、增加、改变、置换、修饰、也可为合并后的氨基酸序列。例如为yp12与yp13的合并。改变呈递多肽的一部分时，也可简易地使用动物来源的序列。另外，只要是使用了 $\alpha 5$ 链NC1的一部分氨基酸序列的多肽、并与从生物体提取纯化的NC1相比有免疫反应性，即可使用任意氨基酸序列。

本发明适用于含三链（7S及/或主三螺旋区）的 $\alpha 5$ 链的全部氨基酸序列。优选为相对于 $\alpha 5$ 链全区域更小的区域，在类三链及NC1样免疫反应性优秀的多肽中，更优选为更短、显示更佳免疫反应性的多肽，从费用与效果出发，优选多肽的长度为3个以上、35个以下，其选定方法可通过已示意过的ELISA法进行，但不限于于此。

因以上对于其他 $\alpha$ 链也可同样适用，作为生物试样的替代，也可使用各种抗体，例如抗NC1、7S、主三螺旋区等的各区域、各 $\alpha$ 链、IV型胶原来源的各多肽等等的抗体。生物试样以外的

动物种属的情况下，将上述的人用试剂成分依动物种属进行调整。另外，应用于其他的 $\alpha$ 链时，优选预先确认与分离出的肾炎来源的生物试样的反应性。

免疫反应不限定于酶免疫反应，还包括AB法、RIA，免疫发光法、沉淀反应、凝集反应等，酶标记抗体可为多克隆抗体或单克隆抗体，另外也可为将其用放射性物质、发光物质标记后的标记物、无标记物。反应形式不限定于夹心法，也可为竞争法等。作为反应板的替代，可使用玻璃，磁性物质，乳胶，也可没有载体不使用固相法。

在反应板上包被多肽时，包被物质可通过亲和素、生物素、或其组合成分进行包被。包被反应板的多肽可将多种进行混合，也可将后面选出的混合多肽样品按结构多肽区分来选择。多肽不仅可为合成的，在其他领域中使用的任意方法本领域技术人员均可使用。此外，第二抗体不限定于抗样品IgG抗体，也可为抗样品IgM抗体、抗样品IgA抗体、抗样品免疫球蛋白抗体，但优选抗样品IgG抗体。

#### 4.以免疫反应性多肽为引发原的肾炎模型的制作

选出的多肽可单独及/或用多种一起作为肾炎的引发原。多肽示意了yp08、yp12，动物示意了兔与豚鼠，但多肽、动物及给药方法都不限于此。

对于兔（雌），将0.3mg/mL（仅初次时为0.15mg）多肽与等量的FCA一同，每2周1次共4次皮内给药。yp08的尿蛋白（#2；+2）与yp12的尿蛋白（#1；+2）都显示阳性。

另外，使用微量反应板被多肽yp12（10ug/mL）包被的ELISA法，在初次给药的7周后，血清的抗体水平在稀释32000倍条件下达到吸光度计的测定上限附近的3.00。

ELISA抗体滴度；

yp08 ( # 2×8000; A450nm / 3.00 )

yp12 ( # 1×32000; A450nm / 3.00 )

对于豚鼠（雌），将0.1mg / mL多肽与等量的FCA一同，每2周1次共4次皮内给药。yp12的尿蛋白（# 1; + 1、# 2; ±, # 3; ±）任一都显示弱阳性。由于人的肾炎缓慢发展，因此该结果表明其为合适的模型。

另外，使用微量反应板被多肽yp12（10ug / mL）包被的ELISA法，在初次给予的7周后，豚鼠血清的抗体水平在稀释8000倍条件下达到吸光度计的测定上限附近的3.00。此外，这些抗免疫反应性多肽抗体（抗血清）给予到大鼠与小鼠的腹腔内，与以往的抗NC1抗体（抗血清）的给药差异小，可成为与人相似的慢性的肾炎模型。

#### 5.利用免疫反应性多肽抑制肾炎

在2只豚鼠购入后1周的驯化期间内，给予总量5~10mg的溶解于水中的yp12。其后如上所述进行肾炎的引发。未见尿蛋白，（# 1: -，# 2: -），不呈现肾炎尿。

免疫反应性多肽的口服给药显示了肾炎的疫苗及治疗药。免疫反应性多肽及其抗体可在口服给药剂及脱敏疗法中使用，也可在注射剂中使用。类似的先例在日本特开2000-214163号公报中可见，但本发明多肽更加特异，效果也更好。

#### 6.使用抗免疫反应性多肽的抗体的ELISA试剂盒

ELISA法为检测抗原或抗体的通常方法，因测定步骤上无太大差异，在此示意先前的抗体的组合例。

夹心ELISA法的“抗原NC1”的测定中，作为“抗NC1单克隆抗体与抗NC1抗体（豚鼠）”的替代，使用上述示意的“抗yp12抗体（兔）与抗yp12抗体（豚鼠）”及“抗NC1单克隆抗体与抗yp12抗体或抗yp08抗体”的组合，任意一种都可进行NC1的测

定，可以尿为样品在肾炎早期的检测中使用。测定范围例如用“抗NC1单克隆抗体(PCT/JP2005/002669)与抗NC1抗体(豚鼠)”，微量反应板被抗NC1单克隆抗体(2ug/mL)包被，抗NC1抗体(豚鼠)(IgG AP-生物素0.95mg/mL)运用AB法(亲和素-HRP×4000)时，可能对NC1进行从50ng/mL至1ng/mL的微量测定，作为其用途，在肾炎尤其是糖尿病性肾炎的早期可通过尿检测。发展后的尿中抗原无法检测，因此其为疾病的早期诊断试剂。该情况下，将肾炎来源的试样作为样品，通过yp08或yp12的抗原固定化反应板检测对应的抗体(也包括抗NC1抗体)。另外，“抗yp12抗体(兔)与抗yp12抗体(豚鼠)”及“抗NC1单克隆抗体与抗yp12抗体或抗yp08抗体”的组合因可进行yp12或yp08的测定，可作为研究试剂使用。

通过与α5链NC1使用的方法相同的手法，选出三链(7S及/或主三螺旋区)来源的免疫反应性多肽，使用抗选出的免疫反应性多肽的抗体，也可进行三链(7S及或主三螺旋区)及/或其免疫反应性多肽的测定。

通过使用分离出的肾炎来源的生物试样，可选出IV型胶原样免疫反应性多肽。另外，选出的IV型胶原样免疫反应性多肽可作为IV型胶原的替代，在肾炎的诊断试剂、肾炎治疗药、肾炎治疗用具、从生物试样中去除抗体及抗体采集中发挥作用，另外，抗IV型胶原样免疫反应性多肽抗体在肾炎的诊断试剂、治疗药、肾炎治疗用具、从生物试样中去除抗原及抗原采集中发挥作用。

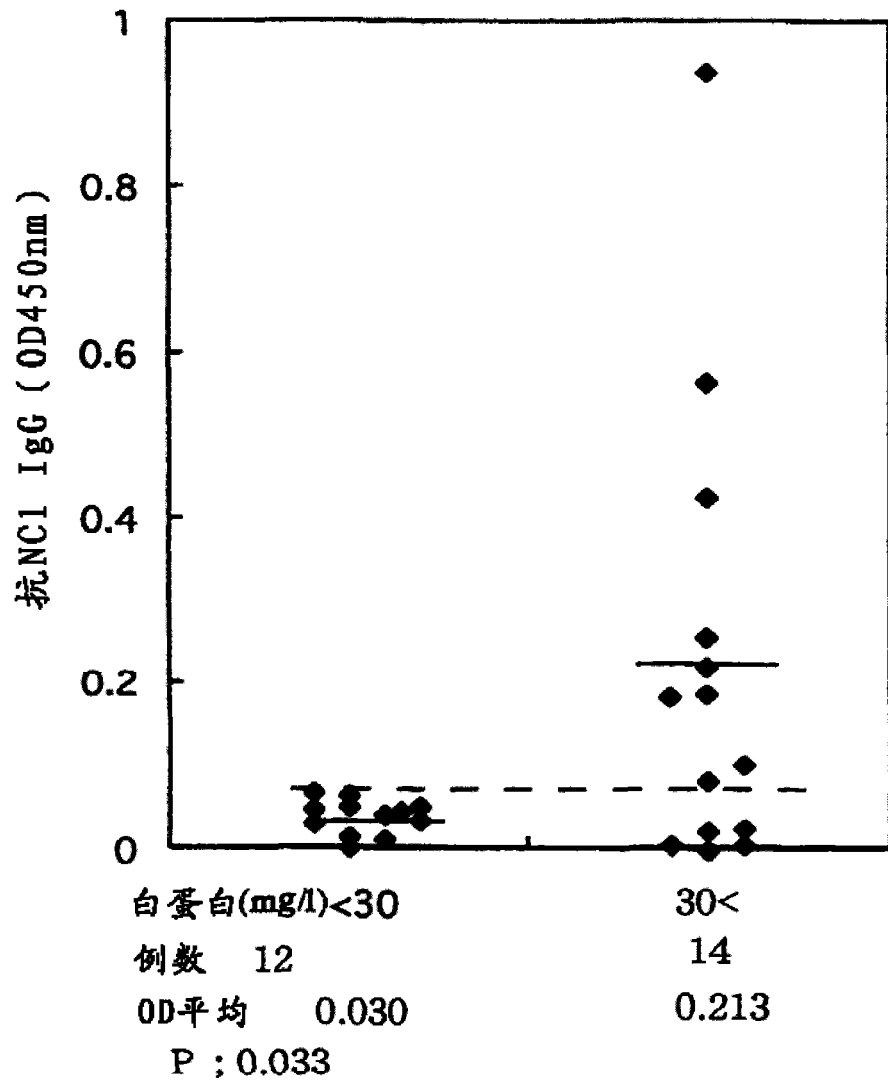


图 1

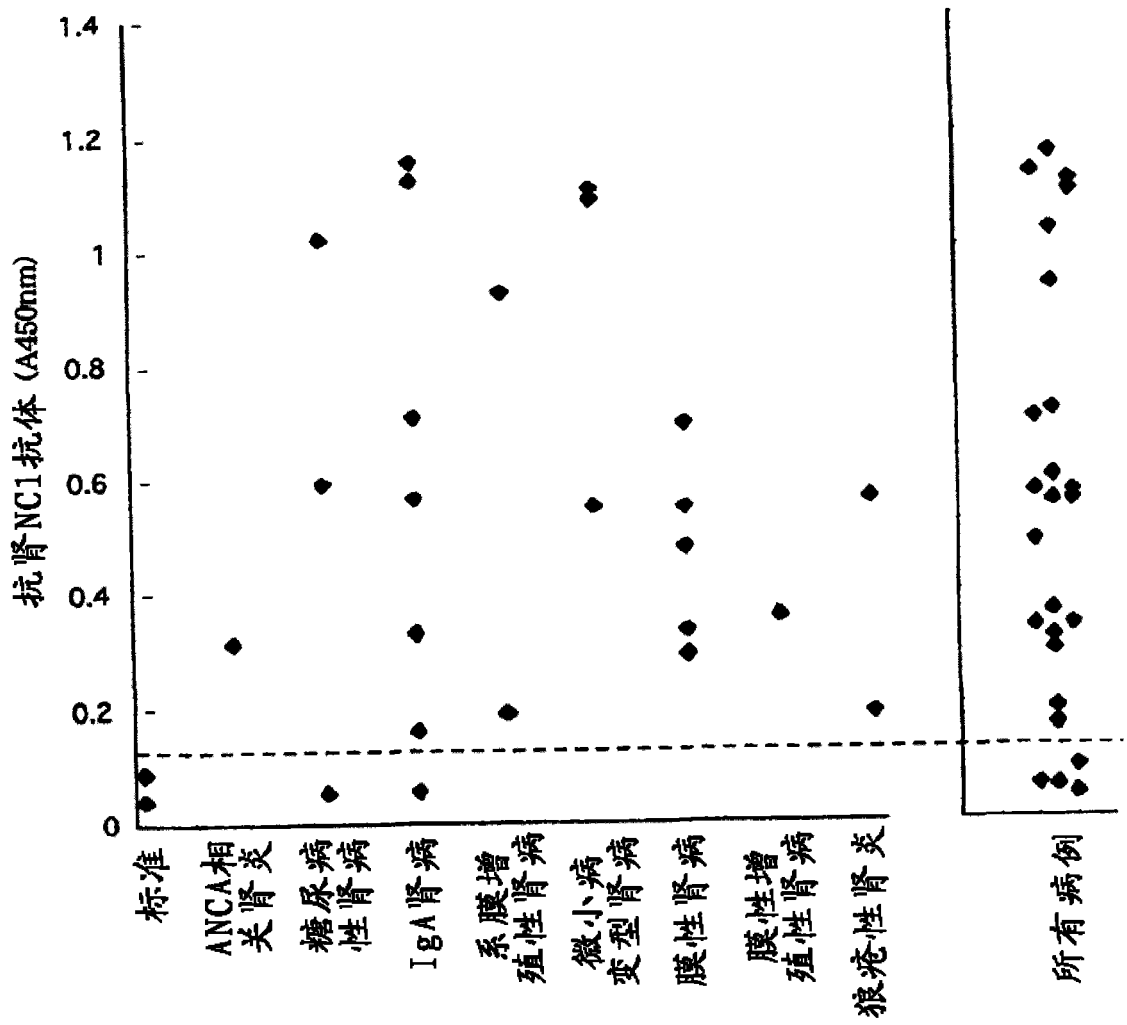


图 2

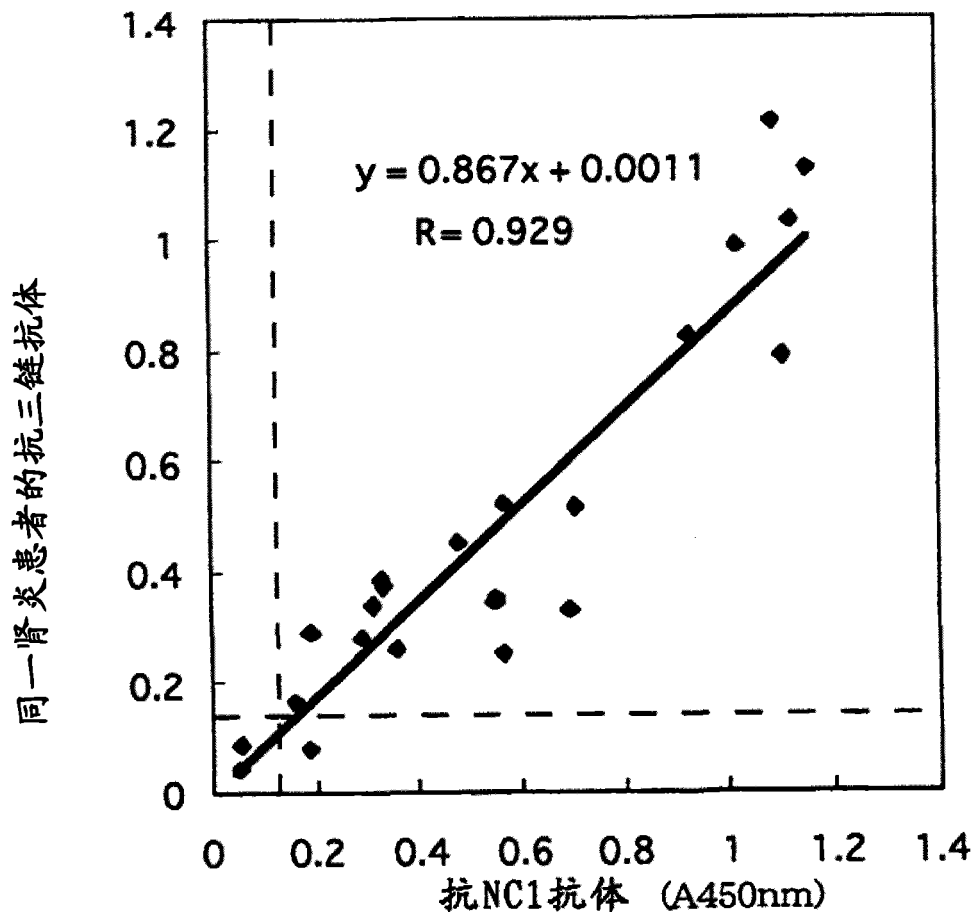


图 3

	实际 数值	实际 数值	横向 平均值	标准 偏差	CV
标准					
S0	0.078	0.072	0.075	0.004	5.657
S2	0.250	0.232	0.241	0.013	5.281
S3	0.381	0.383	0.382	0.001	0.370
S4	0.689	0.632	0.661	0.040	6.102
S5	1.142	1.093	1.118	0.035	3.101
S6	2.012	2.067	2.040	0.039	1.907
< 对照 >					
D2	0.539	0.561	0.550	0.016	2.828
Y	0.546	0.520	0.533	0.018	3.449
<GBM 标准 >					
C(*2)	2.745	2.656	2.701	0.063	2.330
D(*2)	0.853	0.785	0.819	0.048	5.871
E(-)(*2)	0.206	0.199	0.203	0.005	2.444
TD31	0.218	0.167	0.192	0.035	18.093
TD32	0.219	0.220	0.220	0.001	0.322
TD33	0.198	0.198	0.198	0.000	0.000
TD34	0.255	0.248	0.252	0.005	1.968
TD35	0.314	0.324	0.319	0.007	2.217
TD36	0.319	0.276	0.298	0.030	10.220
TD37	0.401	0.380	0.391	0.015	3.803
TD38	1.059	0.957	1.008	0.072	7.155
TD39	0.139	0.139	0.139	0.000	0.000
TD40	0.149	0.137	0.143	0.008	5.934
TD41	0.408	0.393	0.401	0.011	2.648
TD42	2.728	2.664	2.696	0.045	1.679

图 4

人 IV  $\alpha$ 3 NC1

PATWTRRGVVFTRHSQTTAIPSCPEGTVPLYSGFSFLFVQGNQRAHGQDLGTLGS  
 CLQRFTTMPFLFCNVNDVCNFA SRNDYSYWLSTPALMPMNMAPITGRALEPYISR  
 CTVCEGPAIAIAVHSQTTDIPPCPHGWISLWKGF SFIMFTSAGSEGTGQALASPGS  
 CLEEFRA SPFLECHGRGTCNYYSNSYSFWLASLNPERMFRKPIPSTVKAGELEKIIS  
 RCQVCMKKRH

人 IV  $\alpha$ 4 NC1

GPGYLGGFLLVLHSQTDQEPTCPLGMPRLWTGYSLLYLEGQEKAHNQDLGLAGS  
 CLPVFSTLPFAYCNIHQVCHYAQRNDRSYWLASAAPLPMMPLSEEAIRPYVSRCA  
 VCEAPAQAVAVHSQDQSIPPCPQTWRSLWIGYSFLMHTGAGDQGGGQALMSPG  
 SCLEDFRAAPFLECQGRQGTCHFFANKYSFWLTTVKADLQFSSAPAPDTLKESQ  
 AQRQKISRCQVCVKYS

人 IV  $\alpha$ 5 NC1

GTSSVAHGFLITRHSQTTDAPQCPQGT LQVYEGFSLLYVQGNKRAHGQDLGTAG  
 SCLRRFSTMPFMFCNINVCNFA SRNDYSYWLSTPEPMPMSMQPLKGGQSIQPFISR  
 CAVCEAPAVVIAVHSQTIQIPHCPQGWDSLWIGYSFMMHTSAGAEGSGQALASP  
 GSCLEEFRSAPFIECHGRGTCNYYANSYSFWLATVDVSDMFSKPQSETLKAGDLR  
 TRISRCQVCMKRT

人 IV  $\alpha$ 6 NC1

GQSMRVGYTLVKHSQSEQVPPCPIGMSQLWVGYSLLFVEGQEKAHNQDLGFAGS  
 CLPRFSTMPFIYCNI NEVCHYARRNDKSYWLSTTAPIPMMPVSQTQIPQYISRC SVC  
 EAPSQAIAVHSQDITIPQCPLGWRS LWIGYSFLMHTAAGAEGGGQSLVSPGSCLE  
 DFRATPFIECSGARGTCHYFANKYSFWLTTVEERQQFGELPVSETLKAGQLHTRV  
 SRCQVCMKSL

图 5

TD31 31				TD32 32			
		吸光度				吸光度	
		平均值				平均值	
H4NA5-1	0.080	0.051	0.068	H4NA5-1	0.082	0.079	0.081
H4NA5-2	0.083	0.061	0.067	H4NA5-2	0.086	0.088	0.082
H4NA5-3	0.053	0.088	0.076	H4NA5-3	0.076	0.071	0.074
H4NA5-4	0.098	0.080	0.084	H4NA5-4	0.074	0.087	0.081
H4NA5-5	0.112	0.080	0.101	H4NA5-5	0.142	0.130	0.138
H4NA5-6	0.065	0.100	0.083	H4NA5-6	0.082	0.122	0.102
H4NA5-7	0.141	0.077	0.108	H4NA5-7	0.114	0.086	0.090
H4NA5-8	0.164	0.117	0.141	H4NA5-8	0.140	0.154	0.147
H4NA5-9	0.215	0.083	0.148	H4NA5-9	0.073	0.085	0.078
H4NA5-10	0.059	0.488	0.274	H4NA5-10	0.111	0.086	0.098
H4NA5-11	0.328	0.078	0.204	H4NA5-11	0.123	0.081	0.102
H4NA5-12	0.287	0.053	0.170	H4NA5-12	0.078	0.100	0.088
H4NA5-13	0.077	0.064	0.071	H4NA5-13	0.123	0.092	0.108
H4NA5-14	0.150	0.067	0.109	H4NA5-14	0.100	0.072	0.086
H4NA5-15	0.080	0.054	0.057	H4NA5-15	0.085	0.103	0.099
H4NA3-1	0.141	0.063	0.102	H4NA3-1	0.191	0.157	0.174

TD34 38				TD42 42			
		吸光度				吸光度	
		平均值				平均值	
H4NA5-1	0.347	0.178	0.263	H4NA5-1	0.496	0.275	0.396
H4NA5-2	0.257	0.251	0.254	H4NA5-2	0.257	0.251	0.254
H4NA5-3	0.284	0.388	0.336	H4NA5-3	0.284	0.388	0.336
H4NA5-4	0.255	0.217	0.236	H4NA5-4	0.465	0.638	0.552
H4NA5-5	0.642	0.635	0.639	H4NA5-5	1.703	1.828	1.766
H4NA5-6	0.255	0.180	0.223	H4NA5-6	0.253	0.280	0.267
H4NA5-7	0.256	0.183	0.225	H4NA5-7	0.356	0.410	0.383
H4NA5-8	0.511	0.618	0.585	H4NA5-8	2.076	2.083	2.080
H4NA5-9	0.188	0.232	0.200	H4NA5-9	0.195	0.281	0.238
H4NA5-10	0.437	0.402	0.420	H4NA5-10	2.028	2.157	2.092
H4NA5-11	0.176	0.185	0.188	H4NA5-11	0.272	0.298	0.284
H4NA5-12	0.355	0.370	0.363	H4NA5-12	0.946	1.011	0.979
H4NA5-13	0.457	0.384	0.421	H4NA5-13	2.423	1.753	2.088
H4NA5-14	0.200	0.142	0.171	H4NA5-14	0.232	0.226	0.229
H4NA5-15	0.305	0.368	0.337	H4NA5-15	0.441	0.484	0.463
H4NA3-1	0.280	0.313	0.302	H4NA3-1	0.433	0.354	0.394

TD33 33				IGA			
		吸光度				吸光度	
		平均值				平均值	
H4NA5-1	0.073	0.066	0.070	H4NA5-1	0.467	0.342	0.405
H4NA5-2	0.083	0.058	0.061	H4NA5-2	0.350	0.387	0.368
H4NA5-3	0.062	0.074	0.068	H4NA5-3	0.393	0.400	0.397
H4NA5-4	0.078	0.069	0.074	H4NA5-4	0.619	0.608	0.613
H4NA5-5	0.126	0.079	0.103	H4NA5-5	2.347	2.384	2.356
H4NA5-6	0.102	0.166	0.134	H4NA5-6	0.308	0.244	0.276
H4NA5-7	0.340	0.186	0.263	H4NA5-7	0.670	0.503	0.587
H4NA5-8	0.108	0.102	0.105	H4NA5-8	2.794	2.738	2.765
H4NA5-9	0.084	0.189	0.122	H4NA5-9	0.363	0.475	0.418
H4NA5-10	0.121	0.113	0.117	H4NA5-10	2.250	2.272	2.261
H4NA5-11	0.084	0.062	0.063	H4NA5-11	0.451	0.388	0.420
H4NA5-12	0.074	0.071	0.073	H4NA5-12	1.828	1.887	1.858
H4NA5-13	0.081	0.074	0.078	H4NA5-13	2.105	2.114	2.110
H4NA5-14	0.092	0.068	0.080	H4NA5-14	0.278	0.228	0.254
H4NA5-15	0.488	0.494	0.481	H4NA5-15	0.468	0.494	0.481
H4NA3-1	0.192	0.167	0.180	H4NA3-1	0.734	0.600	0.667

图 6

专利名称(译)	IV型胶原样免疫反应性多肽		
公开(公告)号	<a href="#">CN101466732A</a>	公开(公告)日	2009-06-24
申请号	CN200780022028.3	申请日	2007-06-12
[标]申请(专利权)人(译)	横山 司甫		
申请(专利权)人(译)	横山司甫		
当前申请(专利权)人(译)	横山司甫		
[标]发明人	横山司甫		
发明人	横山司甫		
IPC分类号	C07K14/78 A61K39/00 A61K39/395 A61P13/12 A61P37/02 C07K16/18 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53		
CPC分类号	A61K39/0008 G01N33/6854 G01N33/6893 G01N2500/00 C07K16/18 G01N33/6887 G01N2800/347 G01N2333/78 A61P13/12 A61P37/02		
代理人(译)	刘新宇		
优先权	2006187186 2006-06-12 JP 2007137856 2007-05-24 JP		
其他公开文献	CN101466732B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供一种对肾炎的检测有用的IV型胶原样免疫反应性多肽及其抗体、IV型胶原样免疫反应性多肽选出方法、免疫反应性抗体与免疫反应性多肽的筛选方法、肾炎模型、慢性肾炎的检测方法、以及疫苗与肾炎治疗药。一种IV型胶原样免疫反应性多肽，其与分离出的慢性肾炎来源的生物试样发生免疫反应。所述IV型胶原样免疫反应性多肽优选具有选自下组中的至少一个以上：作为结构 $\alpha$ 链的1链~6链中的任意1条链以上、作为结构区域的选自7S、主三螺旋区及NC1中的任意一种以上、以及作为结构多肽的氨基酸数为3个以上、35个以下。

