

(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2007-332120

(P2007-332120A)

(43) 公開日 平成19年12月27日(2007.12.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 14/47 (2006.01)	C07K 14/47 Z N A	4 B O 6 3
C07K 16/18 (2006.01)	C07K 16/18	4 C O 8 4
C12Q 1/37 (2006.01)	C12Q 1/37	4 H O 4 5
GO1N 33/53 (2006.01)	GO1N 33/53 D	
A61K 45/00 (2006.01)	A61K 45/00	
審査請求 未請求 請求項の数 27 O L (全 32 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2006-169359 (P2006-169359)	(71) 出願人	504258527
(22) 出願日	平成18年6月19日 (2006.6.19)		国立大学法人 鹿児島大学
			鹿児島県鹿児島市郡元一丁目21番24号
		(71) 出願人	504150782
			株式会社プロトセラ
			東京都中央区八重洲二丁目11番6号 八重洲KNビル8階
		(74) 代理人	100080791
			弁理士 高島 一
		(72) 発明者	橋口 照人
			鹿児島県鹿児島市桜ヶ丘八丁目35番1号
			鹿児島大学大学院医歯学総合研究科内
		(72) 発明者	丸山 征郎
			鹿児島県鹿児島市桜ヶ丘八丁目35番1号
			鹿児島大学大学院医歯学総合研究科内
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規病態マーカー及びそれを用いた病態診断

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 生体崩壊症候群の診断マーカーの提供。

【解決手段】 生体崩壊症候群患者体液と健常人体液とで統計学的に有意な差をもって検出される、生体内に存在する蛋白質の分解産物である1以上のペプチドからなる、生体崩壊症候群のマーカーペプチドセット。該マーカーペプチドセットのいずれかのペプチドを認識する抗体。該マーカーペプチドの親蛋白質を補給するか、あるいは該マーカーであると同時に、該疾患に対して治療もしくは増悪方向に作用し得る生理活性ペプチドの、量もしくは活性を調節する物質を含有してなる、該症候群の治療剤。生体崩壊症候群に帰着し得る基礎疾患に罹患した患者由来の生体試料中の、上記マーカーペプチドセットを構成する1以上のペプチドを検出することを特徴とする、生体崩壊症候群におけるステージの判定方法、治療効果の評価方法並びに該患者における臓器・器官の機能廃絶および/または生命存続の危機の予測方法。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

生体崩壊症候群患者体液と健常人体液とで統計学的に有意な差をもって検出される、生体内に存在する蛋白質の分解産物である 1 以上のペプチドからなる、生体崩壊症候群のマーカーペプチドセット。

【請求項 2】

前記統計学的に有意な差が生体崩壊症候群のⅠ期～Ⅴ期の少なくとも 1 つのステージで認められる、請求項 1 記載のマーカーペプチドセット。

【請求項 3】

前記蛋白質が、生理活性物質のキャリア蛋白質、蛋白分解酵素インヒビターおよび栄養アセスメント蛋白質からなる群より選択される、請求項 1 または 2 記載のマーカーペプチドセット。

【請求項 4】

前記ペプチドの少なくとも 1 つが、健常人体液から実質的に検出されないものである、請求項 1～3 のいずれかに記載のマーカーペプチドセット。

【請求項 5】

前記ペプチドの少なくとも 1 つが、分子量約 50,000 以下である、請求項 1～4 のいずれかに記載のマーカーペプチドセット。

【請求項 6】

蛋白質が α 1-アンチトリプシン、トランスサイレチン、アポリポ蛋白 A-I およびアポリポ蛋白 B-100 からなる群より選択される、請求項 1～5 のいずれかに記載のマーカーペプチドセット。

【請求項 7】

以下の (1)～(6) からなる群より選択されるペプチドの少なくとも 1 つを含有する、請求項 6 記載のマーカーペプチドセット。

(1) 配列番号 1 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 1～24 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(2) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 81～103 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(3) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 62～83 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(4) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 189～214 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(5) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 196～214 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(6) 配列番号 4 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 3218～3249 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

【請求項 8】

請求項 7 記載のマーカーペプチドセットのいずれかのペプチドを認識する抗体。

【請求項 9】

請求項 1～7 のいずれかに記載のマーカーペプチドセットを構成するいずれかのペプチドであって、生体崩壊症候群に対して治療的に作用する生理活性を有するペプチド。

【請求項 10】

請求項 9 記載のペプチドの量もしくは活性を増大させる物質を含有してなる、生体崩壊症候群の治療剤。

【請求項 11】

前記物質が、請求項 9 記載のペプチド、該ペプチドのアゴニスト、生体内に存在する蛋白質から該ペプチドを遊離する分解酵素、該ペプチドの N 末側及び C 末側に該分解酵素により認識・切断されるアミノ酸配列をさらに含む、該分解酵素の基質もしくは基質アナログ分子、該分解酵素の産生を促進する分子、該分解酵素の活性を促進する分子、並びに該

10

20

30

40

50

分解酵素のインヒビターの産生を抑制する分子からなる群より選択される、請求項 10 記載の治療剤。

【請求項 12】

請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載のマーカープепチドセットを構成するいずれかのペプチドであって、生体崩壊症候群を増悪させる生理活性を有するペプチド。

【請求項 13】

請求項 12 記載のペプチドの量もしくは活性を低減させる物質を含有してなる、生体崩壊症候群の治療剤。

【請求項 14】

前記物質が、請求項 12 記載のペプチドのアンタゴニスト、生体内に存在する蛋白質から該ペプチドを遊離する分解酵素の産生を抑制する分子、該分解酵素のインヒビター、並びに該インヒビターの産生を促進する分子からなる群より選択される、請求項 13 記載の治療剤。

10

【請求項 15】

患者の体内における請求項 9 記載のペプチドの量もしくは活性を増大させる、および / または請求項 12 記載のペプチドの量もしくは活性を低減させることを含む、生体崩壊症候群の治療方法。

【請求項 16】

生体崩壊症候群におけるステージの判定方法であって、該症候群に帰着し得る基礎疾患に罹患した患者由来の生体試料中の、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載のマーカープепチドセットを構成する 1 以上のペプチド並びに / あるいは請求項 9 および / または 12 記載のペプチドを検出することを含む方法。

20

【請求項 17】

α 1-アンチトリプシンおよび / またはトランスサイレチンの分解産物であるペプチドが検出された場合に IV 期、およびアポリポ蛋白 A-I および / またはアポリポ蛋白 B-100 の分解産物であるペプチドが検出された場合に I 期であると判定することを含む、請求項 16 記載の方法。

【請求項 18】

α 1-アンチトリプシンの分解産物が下記(1)のペプチド、トランスサイレチンの分解産物が下記(2)のペプチド、アポリポ蛋白 A-I の分解産物が下記(3)~(5)から選ばれる 1 以上のペプチド、およびアポリポ蛋白 B-100 の分解産物が下記(6)のペプチドである、請求項 17 記載の方法。

30

(1) 配列番号 1 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 1 ~ 24 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(2) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 81 ~ 103 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(3) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 62 ~ 83 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(4) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 189 ~ 214 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

40

(5) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 196 ~ 214 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(6) 配列番号 4 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 3218 ~ 3249 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

【請求項 19】

生体試料が体液である、請求項 16 ~ 18 のいずれかに記載の方法。

【請求項 20】

体液が血液、血漿、血清、唾液、尿、髄液、骨髄液、胸水、腹水、関節液、涙液、眼房水、硝子体液およびリンパ液からなる群より選択される、請求項 19 記載の方法。

【請求項 21】

50

生体試料を質量分析にかけることを含む、請求項 16 ~ 20 のいずれかに記載の方法。

【請求項 22】

請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載のマーカーペプチドセットを構成する 1 以上のペプチド並びに / あるいは請求項 9 および / または 12 記載のペプチドをそれぞれ認識する抗体を用いることを特徴とする、請求項 16 ~ 20 のいずれかに記載の方法。

【請求項 23】

患者から時系列で生体試料を採取し、該試料における請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載のマーカーペプチドセットを構成する 1 以上のペプチド並びに / あるいは請求項 9 および / または 12 記載のペプチドの種類および量の経時変化を調べることを特徴とする、請求項 16 ~ 22 のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 24】

生体崩壊症候群の治療方法であって、請求項 16 ~ 23 のいずれかに記載の方法により、ある蛋白質の分解産物の有意な増加が認められた患者に、該蛋白質の有効量を投与することを含む方法。

【請求項 25】

生体崩壊症候群患者における治療効果の評価方法であって、治療が施される前後に該患者から生体試料を採取し、該試料における請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載のマーカーペプチドセットを構成する 1 以上のペプチド並びに / あるいは請求項 9 および / または 12 記載のペプチドの種類および量の変化を調べることを特徴とする方法。

20

【請求項 26】

生体崩壊症候群患者における臓器・器官の機能廃絶および / または生命存続の危機の予測方法であって、請求項 25 記載の方法により、I V 期の患者においてとり得るいかなる治療も効果がなかったと判定された場合に、該患者が臓器・器官の機能廃絶および / または生命存続の危機にあると予測することを含む方法。

【請求項 27】

請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載のマーカーペプチドセットを構成する 1 以上のペプチドにおいて、各ペプチドの N 末側および / または C 末側に、該ペプチドを生体内に存在する蛋白質から遊離する分解酵素により認識・切断されるアミノ酸配列をさらに含む、該分解酵素同定用ペプチドセット。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生体崩壊症候群の新規バイオマーカー、および該バイオマーカーを個別的もしくは網羅的に解析することによる生体崩壊症候群の診断方法に関する。本発明はまた、生体崩壊症候群のバイオマーカーであるペプチドの親蛋白質を補給するか、あるいは該バイオマーカーであると同時に、該疾患に対して治療もしくは増悪方向に作用し得る生理活性ペプチドの、生成もしくは活性を調節することによる、該疾患の治療手段を提供する。さらに、本発明は、該バイオマーカーを個別的もしくは網羅的に解析することによる、生体崩壊症候群の治療効果の評価方法に関する。

【背景技術】

40

【0002】

生体崩壊症候群は、その病態がバイオマーカー群によつて的確に把握できれば、その後の栄養サポート戦略・薬物治療戦略の方向性の決定に大きく寄与することが期待される。

【0003】

しかしながら、遺伝子や蛋白質を網羅的に解析するという手法は、近年、基礎医学研究を含めた生化学研究におけるスタンダードとして定着しつつあるものの、医療現場への応用にはまだかなりの距離があるというのが実状である。実際、生体崩壊症候群の病態が顕著に認められる播種性血管内凝固症候群 (DIC) や多臓器不全 (MOF) の診断には、現在でも末梢血血球分析、血液生化学検査、血液ガス分析、血圧、脈拍数、体温等といった、病状を的確に把握するには無理のある指標が依然として使われている (例えば、非特

50

許文献 1 を参照)。

【非特許文献 1】青木信雄，長谷川 淳：DIC 診断基準の『診断のための補足的検査成績，所見』の項の改訂について，厚生省特定疾患血液凝固異常症調査研究班，昭和 62 年度研究報告書，1988. p37～41

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

したがって、本発明の目的は、様々な疾患に由来する生体崩壊症候群の病態を迅速かつ的確に判断できる新規バイオマーカーを提供することであり、それによって、患者に対するよりの確な栄養サポート戦略や薬物治療戦略の提供を可能にすることである。

10

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明者らは、上記の目的を達成すべく鋭意研究を重ねた結果、予後不良の難病として知られるクロウ・フカセ症候群患者の診断から死の転帰に至る一連の過程（1 年 6 ヶ月）において、病態の進行とともに血中に出現する、比較的低分子量の種々のペプチドを同定することに成功した。さらに、本発明者らは、これらのペプチド群が、生体の正常な維持活動に必須の蛋白質の分解産物であることを見出した。

本発明者らは、これらの知見に基づいてさらに研究を重ねた結果、本発明を完成するに至った。

【0006】

20

即ち、本発明は、

[1] 生体崩壊症候群患者体液と健常人体液とで統計学的に有意な差をもって検出される、生体内に存在する蛋白質の分解産物である 1 以上のペプチドからなる、生体崩壊症候群のマーカーペプチドセット；

[2] 前記統計学的に有意な差が生体崩壊症候群のⅠ期～Ⅳ期の少なくとも 1 つのステージで認められる、上記 [1] 記載のマーカーペプチドセット；

[3] 前記蛋白質が、生理活性物質のキャリア蛋白質、蛋白分解酵素インヒビターおよび栄養アセスメント蛋白質からなる群より選択される、上記 [1] または [2] 記載のマーカーペプチドセット；

[4] 前記ペプチドの少なくとも 1 つが、健常人体液から実質的に検出されないものである、上記 [1] ～ [3] のいずれかに記載のマーカーペプチドセット；

30

[5] 前記ペプチドの少なくとも 1 つが、分子量約 50,000 以下である、上記 [1] ～ [4] のいずれかに記載のマーカーペプチドセット；

[6] 蛋白質が α 1-アンチトリプシン、トランスサイレチン、アポリポ蛋白 A-I およびアポリポ蛋白 B-100 からなる群より選択される、上記 [1] ～ [5] のいずれかに記載のマーカーペプチドセット；

[7] 以下の (1)～(6) からなる群より選択されるペプチドの少なくとも 1 つを含有する、上記 [6] 記載のマーカーペプチドセット；

(1) 配列番号 1 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 1～24 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

40

(2) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 81～103 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(3) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 62～83 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(4) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 189～214 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(5) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 196～214 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(6) 配列番号 4 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 3218～3249 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

50

- [8] 上記 [7] 記載のマーカーペプチドセットのいずれかのペプチドを認識する抗体；
- [9] 上記 [1] ~ [7] のいずれかに記載のマーカーペプチドセットを構成するいずれかのペプチドであって、生体崩壊症候群に対して治療的に作用する生理活性を有するペプチド；
- [10] 上記 [9] 記載のペプチドの量もしくは活性を増大させる物質を含有してなる、生体崩壊症候群の治療剤；
- [11] 前記物質が、上記 [9] 記載のペプチド、該ペプチドのアゴニスト、生体内に存在する蛋白質から該ペプチドを遊離する分解酵素、該ペプチドの N 末側及び C 末側に該分解酵素により認識・切断されるアミノ酸配列をさらに含む、該分解酵素の基質もしくは基質アナログ分子、該分解酵素の産生を促進する分子、該分解酵素の活性を促進する分子、並びに該分解酵素のインヒビターの産生を抑制する分子からなる群より選択される、上記 [10] 記載の治療剤；
- [12] 上記 [1] ~ [7] のいずれかに記載のマーカーペプチドセットを構成するいずれかのペプチドであって、生体崩壊症候群を増悪させる生理活性を有するペプチド；
- [13] 上記 [12] 記載のペプチドの量もしくは活性を低減させる物質を含有してなる、生体崩壊症候群の治療剤；
- [14] 前記物質が、上記 [12] 記載のペプチドのアンタゴニスト、生体内に存在する蛋白質から該ペプチドを遊離する分解酵素の産生を抑制する分子、該分解酵素のインヒビター、並びに該インヒビターの産生を促進する分子からなる群より選択される、上記 [13] 記載の治療剤；
- [15] 患者の体内における上記 [9] 記載のペプチドの量もしくは活性を増大させる、および/または上記 [12] 記載のペプチドの量もしくは活性を低減させることを含む、生体崩壊症候群の治療方法；
- [16] 生体崩壊症候群におけるステージの判定方法であって、該症候群に帰着し得る基礎疾患に罹患した患者由来の生体試料中の、上記 [1] ~ [7] のいずれかに記載のマーカーペプチドセットを構成する 1 以上のペプチド並びに/あるいは上記 [9] および/または [12] 記載のペプチドを検出することを含む方法；
- [17] α 1-アンチトリプシンおよび/またはトランスサイレチンの分解産物であるペプチドが検出された場合に I V 期、およびアポリポ蛋白 A-I および/またはアポリポ蛋白 B-100 の分解産物であるペプチドが検出された場合に I 期であると判定することを含む、上記 [16] 記載の方法；
- [18] α 1-アンチトリプシンの分解産物が下記 (1) のペプチド、トランスサイレチンの分解産物が下記 (2) のペプチド、アポリポ蛋白 A-I の分解産物が下記 (3) ~ (5) から選ばれる 1 以上のペプチド、およびアポリポ蛋白 B-100 の分解産物が下記 (6) のペプチドである、上記 [17] 記載の方法；
- (1) 配列番号 1 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 1 ~ 24 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド
- (2) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 81 ~ 103 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド
- (3) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 62 ~ 83 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド
- (4) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 189 ~ 214 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド
- (5) 配列番号 3 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 196 ~ 214 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド
- (6) 配列番号 4 に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号 3218 ~ 3249 で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド
- [19] 生体試料が体液である、上記 [16] ~ [18] のいずれかに記載の方法；
- [20] 体液が血液、血漿、血清、唾液、尿、髄液、骨髄液、胸水、腹水、関節液、涙液、眼房水、硝子体液およびリンパ液からなる群より選択される、上記 [19] 記載の方法

;

〔 2 1 〕 生体試料を質量分析にかけることを含む、上記〔 1 6 〕～〔 2 0 〕のいずれかに記載の方法；

〔 2 2 〕 上記〔 1 〕～〔 7 〕のいずれかに記載のマーカーペプチドセットを構成する 1 以上のペプチド並びに / あるいは上記〔 9 〕および / または〔 1 2 〕記載のペプチドをそれぞれ認識する抗体を用いることを特徴とする、上記〔 1 6 〕～〔 2 0 〕のいずれかに記載の方法；

〔 2 3 〕 患者から時系列で生体試料を採取し、該試料における上記〔 1 〕～〔 7 〕のいずれかに記載のマーカーペプチドセットを構成する 1 以上のペプチド並びに / あるいは上記〔 9 〕および / または〔 1 2 〕記載のペプチドの種類および量の経時変化を調べることを特徴とする、上記〔 1 6 〕～〔 2 2 〕のいずれかに記載の方法；

〔 2 4 〕 生体崩壊症候群の治療方法であって、上記〔 1 6 〕～〔 2 3 〕のいずれかに記載の方法により、ある蛋白質の分解産物の有意な増加が認められた患者に、該蛋白質の有効量を投与することを含む方法；

〔 2 5 〕 生体崩壊症候群患者における治療効果の評価方法であって、治療が施される前後に該患者から生体試料を採取し、該試料における上記〔 1 〕～〔 7 〕のいずれかに記載のマーカーペプチドセットを構成する 1 以上のペプチド並びに / あるいは上記〔 9 〕および / または〔 1 2 〕記載のペプチドの種類および量の変化を調べることを特徴とする方法；

〔 2 6 〕 生体崩壊症候群患者における臓器・器官の機能廃絶および / または生命存続の危機の予測方法であって、上記〔 2 5 〕記載の方法により、I V 期の患者においてとり得るいかなる治療も効果がなかったと判定された場合に、該患者が臓器・器官の機能廃絶および / または生命存続の危機にあると予測することを中心とする方法；

〔 2 7 〕 上記〔 1 〕～〔 7 〕のいずれかに記載のマーカーペプチドセットを構成する 1 以上のペプチドにおいて、各ペプチドの N 末側および / または C 末側に、該ペプチドを生体内に存在する蛋白質から遊離する分解酵素により認識・切断されるアミノ酸配列をさらに含む、該分解酵素同定用ペプチドセット；

等を提供する。

【発明の効果】

【 0 0 0 7 〕

本発明によれば、生体崩壊症候群における各ステージの判定がエビデンスに基づいて迅速・的確に判断できるので、該症状の早期発見、早期治療が可能となる。特に、過去に例のない、生体内に存在する蛋白質の分解産物からヒントを得た治療薬が開発されるので、生体崩壊症候群の有効な早期治療法の開発、ひいては臓器・器官の予後の改善効果とともに従来の診断技術では死に至るはずの多くの患者を救命し得ることが期待される。さらに、生体崩壊症候群における終末ステージの判定がエビデンスに基づいて迅速・的確に判断できるので、無駄な延命治療を避けることができ、患者本人の尊厳を守るとともに国家の医療経済学上の問題を解決することが可能となる。

【発明を実施するための最良の形態】

【 0 0 0 8 〕

本発明は、生体崩壊症候群の 1 以上の特異的マーカーペプチド（のセット）を提供する。該マーカーペプチドセットを構成するペプチドは、生体崩壊症候群患者体液と健常人体液とで統計学的に有意な差をもって検出される、生体内に存在する蛋白質の分解産物であることを特徴とする。統計学的に有意な差がある限り、生体崩壊症候群患者体液で増加していても減少していてもよい。

ここで「生体崩壊症候群」とは、生体内に存在する蛋白質が分解された結果、機能的、器質的障害が発現した病態と定義しうる。該病態は、症状に応じて I 期～I V 期のステージに細分される。即ち、I 期は、自覚症状を伴わない、あるいは軽度の自覚症状を伴う病態をいい、I I 期は、食欲低下、体重減少、全身倦怠感などにより日常生活に支障ときたす病態をいい、I I I 期は、一臓器・器官の著しい機能障害あるいは一般的に D I C として定義される病態をいい、I V 期は、一臓器・器官の機能廃絶に近似した病態あるいは一

10

20

30

40

50

一般的に M O F として定義される病態をいう。

生体崩壊症候群に至る基礎疾患としては、癌、炎症性免疫疾患（慢性関節リウマチ等）、拒食症、神経変性疾患（アルツハイマーなど）、網膜色素変性症などが代表例として挙げられるが、これらに限定されず、例えば、表 1 に示される多種多様な疾患が全て包含される。

【 0 0 0 9 】

【表 1 - 1】

1. 感染症及び寄生虫症のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

腸管感染症

結核

人畜共通細菌性疾患

その他の細菌性疾患

性的伝播様式をとる感染症

スピロヘータ疾患

クラミジアによるその他の疾患

リケッチア症

中枢神経系のウイルス感染症

節足動物媒介ウイルス熱及びウイルス性出血熱

皮膚及び粘膜病変を特徴とするウイルス感染症

ウイルス肝炎

ヒト免疫不全ウイルス[HIV]病

その他のウイルス疾患

真菌症

原虫疾患

ぜんく蠕虫症

シラミ症、ダニ症及びその他の動物寄生症

感染症及び寄生虫症の続発・後遺症

細菌、ウイルス及びその他の病原体

その他及び詳細不明の感染症

10

20

2. 悪性および良性新生物のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

口唇、口腔及び咽頭の悪性新生物

消化器の悪性新生物

呼吸器及び胸腔内臓器の悪性新生物

骨及び関節軟骨の悪性新生物

皮膚の黒色腫及びその他の皮膚の悪性新生物

中皮及び軟部組織の悪性新生物

乳房の悪性新生物

女性生殖器の悪性新生物

胎盤の悪性新生物

男性生殖器の悪性新生物

腎尿路の悪性新生物

眼、脳及びその他の中枢神経系の部位の悪性新生物

甲状腺及びその他の内分泌腺の悪性新生物

部位不明確、続発部位及び部位不明の悪性新生物

リンパ組織、造血組織及び関連組織の悪性新生物

独立した原発性多部位の悪性新生物

上皮内新生物

良性新生物

性状不詳又は不明の新生物

30

40

【表 1 - 2】

3. 血液及び造血器の疾患並びに免疫機構の障害のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

栄養性貧血
溶血性貧血
無形成性貧血及びその他の貧血
凝固障害、紫斑病及びその他の出血性病態
播種性血管内凝固症候群
血液及び造血器のその他の疾患
免疫機構の障害

10

4. 内分泌、栄養及び代謝疾患のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

甲状腺障害
糖尿病
その他のグルコース調節及び膵内分泌障害
その他の内分泌腺障害
栄養失調症
栄養欠乏症
肥満(症)及びその他の過栄養<過剰摂食>
代謝障害

20

5. 精神及び行動の障害のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

症状性を含む器質性精神障害
アルツハイマー病など
精神作用物質使用による精神及び行動の障害
統合失調症、統合失調症型障害及び妄想性障害
気分[感情]障害
神経症性障害、ストレス関連障害及び身体表現性障害
生理的障害及び身体的要因に関連した行動症候群
成人の人格及び行動の障害
知的障害<精神遅滞>
心理的発達の障害
小児<児童>期及び青年期に通常発症する行動及び情緒の障害
詳細不明の精神障害

30

40

6. 神経系の疾患のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

中枢神経系の炎症性疾患
主に中枢神経系を障害する系統萎縮症

【表 1 - 3】

錐体外路障害及び異常運動
 神経系のその他の変性疾患
 アルツハイマー病など
 中枢神経系の脱髄疾患
 挿間性及び発作性障害
 神経、神経根及び神経そう<叢>の障害
 多発性ニューロパチ<シ>ー及びその他の末梢神経系の障害
 神経筋接合部及び筋の疾患
 脳性麻痺及びその他の麻痺性症候群
 神経系のその他の障害

10

7. 眼及び付属器の疾患のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

眼瞼、涙器及び眼窩の障害
 結膜の障害
 強膜、角膜、虹彩及び毛様体の障害
 水晶体の障害
 脈絡膜及び網膜の障害
 糖尿病性網膜症など
 加齢性黄斑変性症など
 緑内障
 硝子体及び眼球の障害
 視神経及び視覚路の障害
 眼筋、眼球運動、調節及び屈折の障害
 視機能障害及び盲<失明>
 眼及び付属器のその他の障害

20

8. 耳及び乳様突起の疾患のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

外耳疾患
 中耳及び乳様突起の疾患
 内耳疾患
 耳のその他の障害
 難聴など

30

9. 循環器系の疾患のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

急性リウマチ熱
 慢性リウマチ性心疾患
 高血圧性疾患
 虚血性心疾患
 肺性心疾患及び肺循環疾患
 肺塞栓症など

40

【表 1 - 4】

その他の型の心疾患
 心膜炎など
 心筋炎など
 不整脈
 脳血管疾患
 くも膜下出血など
 脳内出血など
 脳梗塞など
 動脈、細動脈及び毛細血管の疾患
 大動脈瘤など
 静脈、リンパ管及びリンパ節の疾患、他に分類されないもの
 静脈炎など
 静脈瘤など
 循環器系のその他及び詳細不明の障害

10

10. 呼吸器系の疾患のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

20

急性上気道感染症
 インフルエンザ及び肺炎
 その他の急性下気道感染症
 上気道のその他の疾患
 慢性下気道疾患
 喘息など
 肺気腫など
 気管支拡張症など
 外的因子による肺疾患
 主として間質を障害するその他の呼吸器疾患
 成人呼吸窮乏症候群<ARDS>など
 肺線維症など
 下気道の化膿性及びえく壊死性病態
 胸膜のその他の疾患
 呼吸器系のその他の疾患

30

11. 消化器系の疾患のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

口腔、唾液腺及び顎の疾患
 食道、胃及び十二指腸の疾患
 虫垂の疾患
 ヘルニア
 非感染性腸炎及び非感染性大腸炎
 クロウン病など
 潰瘍性大腸炎など
 腸のその他の疾患
 過敏性腸症候群など
 腹膜の疾患
 腹膜炎など

40

【表 1 - 5】

肝疾患 急性肝炎など 慢性肝炎など 肝硬変など 胆のう<嚢>、胆管及び膵の障害 胆石症など 胆のう<嚢>炎など 胆管閉塞など 急性膵炎など 消化器系のその他の疾患	10
12. 皮膚及び皮下組織の疾患のすべて 例として以下の疾患群に入る全ての病態 皮膚及び皮下組織の感染症 ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群<SSSS>など 水疱症 天疱瘡など 皮膚炎及び湿疹 アトピー性皮膚炎など 丘疹落せつ<屑><りんせつ><鱗屑>>性障害 じんま<蕁麻>疹及び紅斑 皮膚及び皮下組織の放射線非電離及び電離に関連する障害 皮膚付属器の障害 皮膚及び皮下組織のその他の障害	20
13. 筋骨格系及び結合組織の疾患のすべて 例として以下の疾患群に入る全ての病態 関節障害 全身性結合組織障害 脊柱障害 軟部組織障害 骨障害及び軟骨障害 骨粗しょう<鬆>症<オステオポローシス>など 筋骨格系及び結合組織のその他の障害	30
14. 腎尿路生殖器系の疾患のすべて 例として以下の疾患群に入る全ての病態 糸球体疾患 ネフローゼ症候群など 腎尿細管間質性疾患 腎不全 尿路結石症 腎及び尿管のその他の障害	40

【表 1 - 6】

尿路系のその他の疾患 男性生殖器の疾患 乳房の障害 女性骨盤臓器の炎症性疾患 女性生殖器の非炎症性障害 腎尿路生殖器系のその他の障害	
15. 妊娠, 分娩及び産じょくに起こりうる病態のすべて	10
例として以下の疾患群に入る全ての病態 流産に終わった妊娠 子宮外妊娠など 自然流産など 妊娠, 分娩及び産じょく〈褥〉における浮腫, たんぱく〈蛋白〉尿及び高血圧性障害 子かん〈癩〉など 主として妊娠に関連するその他の母体障害 妊娠中の糖尿病など 胎児及び羊膜腔に関連する母体ケア並びに予想される分娩の諸問題 多胎妊娠など 子宮内胎児死亡など 分娩の合併症 正常分娩 主として産じょく〈褥〉に関連する合併症 産じょく〈褥〉性敗血症など 産科的塞栓症など その他の産科的病態, 他に分類されないもの 妊娠, 分娩及び産じょく〈褥〉の合併症の続発・後遺症 原因不明の産科的死亡	20
16. 周産期に発生しうる病態のすべて	30
例として以下の疾患群に入る全ての病態 母体側要因並びに妊娠及び分娩の合併症により影響を受けた胎児及び新生児 妊娠期間及び胎児発育に関連する障害など 出産外傷 周産期に特異的な呼吸障害及び心血管障害 周産期に特異的な感染症 新生児の細菌性敗血症など 胎児及び新生児の出血性障害及び血液障害 胎児及び新生児に特異的な一過性の内分泌障害及び代謝障害 胎児及び新生児の消化器系障害 胎児及び新生児の外皮及び体温調節に関連する病態 周産期に発生したその他の障害	40
17. 先天奇形, 変形及び染色体異常に起因する病態のすべて	
例として以下の疾患群に入る全ての病態	

【表 1 - 7】

神経系の先天奇形
 眼, 耳, 顔面及び頸部の先天奇形
 循環器系の先天奇形
 呼吸器系の先天奇形
 唇裂及び口蓋裂
 消化器系のその他の先天奇形
 生殖器の先天奇形
 腎尿路系の先天奇形
 筋骨格系の先天奇形及び変形
 その他の先天奇形
 染色体異常, 他に分類されないもの
 ダウン症候群など

10

18. 症状, 徴候及び異常臨床所見・異常検査所見を示す他に分類されない病態のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

20

循環器系及び呼吸器系に関する症状及び徴候
 消化器系及び腹部に関する症状及び徴候
 皮膚及び皮下組織に関する症状及び徴候
 神経系及び筋骨格系に関する症状及び徴候
 腎尿路系に関する症状及び徴候
 認識, 知覚, 情緒状態及び行動に関する症状及び徴候
 言語及び音声に関する症状及び徴候
 全身症状及び徴候
 不明熱など
 倦怠(感)及び疲労など
 ショックなど
 悪液質など

30

血液検査の異常所見, 診断名の記載がないもの
 尿検査の異常所見, 診断名の記載がないもの
 その他の体液, 検体<材料>及び組織の検査の異常所見, 診断名の記載がないもの
 画像診断及び機能検査における異常所見, 診断名の記載がないもの
 診断名不明確及び原因不明の死亡
 乳幼児突然死症候群など

19. 中毒及びその他の外因の影響による病態のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

40

頭部損傷
 頸部損傷
 胸部<郭>損傷
 腹部, 下背部, 腰椎及び骨盤部の損傷
 肩及び上腕の損傷
 肘及び前腕の損傷
 手首及び手の損傷

【表 1 - 8】

股関節部及び大腿の損傷
 膝及び下腿の損傷
 足首及び足の損傷
 多部位の損傷
 部位不明の体幹もしくは四肢の損傷又は部位不明の損傷
 自然開口部からの異物侵入の作用
 気道内異物など
 熱傷及び腐食
 凍傷
 薬物、薬剤及び生物学的製剤による中毒
 抗生物質による中毒など
 薬用を主としない物質の毒作用
 外因のその他及び詳細不明の作用
 外傷の早期合併症
 外科的及び内科的ケアの合併症、他に分類されないもの
 輸液、輸血及び治療用注射に続発する合併症など
 移植臓器及び組織の不全及び拒絶反応など
 損傷、中毒及びその他の外因による影響の続発・後遺症

10

20. 傷病及び死亡の外因のすべて

20

例として以下の疾患群に入る全ての病態

交通事故により受傷した歩行者
 交通事故により受傷した自転車乗員
 交通事故により受傷したオートバイ乗員
 交通事故により受傷したオート三輪車乗員
 交通事故により受傷した乗用車乗員
 交通事故により受傷した軽トラック乗員又はバン乗員
 交通事故により受傷した大型輸送車両乗員
 交通事故により受傷したバス乗員
 その他の陸上交通事故
 水上交通事故
 航空及び宇宙交通事故
 その他及び詳細不明の交通事故
 転倒・転落
 生物によらない機械的な力への曝露
 生物による機械的な力への曝露
 不慮の溺死及び溺水
 その他の不慮の窒息
 電流、放射線並びに極端な気温及び気圧への曝露
 煙、火及び火炎への曝露
 熱及び高温物質との接触
 有毒動植物との接触
 自然の力への曝露
 有害物質による不慮の中毒及び有害物質への曝露
 無理ながんばり、旅行及び欠乏状態
 その他及び詳細不明の要因への不慮の曝露
 故意の自傷及び自殺
 加害にもとづく傷害及び死亡
 不慮か故意か決定されない事件

30

40

【表 1 - 9】

法的介入及び戦争行為
 治療上の使用により有害作用を引き起こした薬物、薬剤及び生物学的製剤
 外科的及び内科的ケア時における患者に対する医療事故
 治療及び診断に用いて副反応を起こした医療用器具
 患者の異常反応又は後発合併症を生じた外科的及びその他の医学的処置で、処置時には事故の記載がないもの
 傷病及び死亡の外因の続発・後遺症
 他に分類される傷病及び死亡の原因に係る補助的因子

21. 原因不明の新たな疾患として暫定分類されている病態のすべて

例として以下の疾患群に入る全ての病態

重症急性呼吸器症候群[SARS]
 抗生物質に耐性の細菌性病原体
 ペニシリン及び関連抗生物質耐性病原体
 ペニシリン耐性病原体
 メチシリン耐性病原体
 その他のペニシリン系抗生物質耐性病原体
 バンコマイシン及び関連抗生物質耐性病原体
 バンコマイシン耐性病原体
 その他のバンコマイシン関連抗生物質耐性病原体
 抗生物質多剤耐性病原体
 その他の抗生物質及び詳細不明の抗生物質耐性病原体
 その他の明示された単一抗生物質耐性病原体
 詳細不明の抗生物質耐性病原体

10

20

【0018】

本発明のマーカーペプチドは、生体内に存在する蛋白質の分解産物である。具体的には、例えば、ホルモン、ビタミン、酵素などの生理活性物質のキャリア蛋白質、蛋白分解酵素の制御因子である分解酵素インヒビター、栄養状態の評価指標とされる栄養アセスメント蛋白質等であるが、それらに限定されない。従来、臨床化学では、生体を構成するタンパク質の崩壊の結果生じたペプチド断片を解析することによって病態情報を獲得するという概念は存在しなかった。ある病的状態に対する生体反応の結果生じるペプチド断片の解析により「どの分子が崩壊しているのか?」、それにより「何が起ころうとしているのか?」を予測する診断手法は独創的なものである。マーカーとなるペプチドはその由来となる親蛋白質の崩壊を意味しており、これらのペプチドの発明を集積していくことにより、生体崩壊症候群の病態を網羅的かつ迅速に診断することが可能となる。

30

また、本発明に至る過程で、生体内においては所謂「健康」状態においても、崩壊ペプチド断片は無数に存在することが分かった。蛋白質の合成と崩壊の巧妙なバランス調節により、生体は恒常性を維持しており、そのバランス崩壊の延長線上に「生体崩壊症候群」が存在することになる。

40

【0019】

本発明のマーカーペプチドのうち、生体崩壊症候群患者体液で検出される典型的なペプチド群のさらなる特徴は、通常そのような分解された形態が捉えられたことのない蛋白質の分解産物であることである。即ち、このようなペプチドは、健康者の生体試料からは実質的に検出されない。ここで「実質的に検出されない」とは、従来公知の検出手段（例えば、質量分析、HPLC、ゲル電気泳動、キャピラリー電気泳動、イムノアッセイなど）の検出限界以下であることを意味する。

【0020】

50

本発明のマーカペプチドは約10000種存在すると推定される。また分子領域でのマーカペプチドの存在比は、分子量5000以下に約54%が、分子量10000以下に約78%が、分子量20000以下に約84%が、分子量50000以下に100%が存在し、それらの大部分は分子量約5,000以下に集中するが、それに限定されるものではない。

本発明のマーカペプチドセットは、これらのマーカペプチドの1種以上からなるペプチドの集合である。本発明のマーカペプチドセットは、例えば、質量分析により、好ましくは、後述するように、本発明者らの一部が開発した質量分析用プレートを用いた質量分析により、網羅的に検出・定量することができる。

【0021】

本発明のマーカペプチドセットを構成する好ましいペプチドとしては、 α 1-アンチトリプシン、トランスサイレチン、アポリポ蛋白A-Iまたはアポリポ蛋白B-100の分解産物であるペプチドが挙げられる。これらのペプチドは、上記した本発明のマーカペプチドの条件を満たす限りいずれの分解産物であってもよく、例えば、配列番号1~4に示される各アミノ酸配列の、鎖長約5~約30アミノ酸残基の任意のフラグメントが挙げられる。より好ましくは、下記の(1)~(6)に示されるペプチドが例示される。

(1) 配列番号1に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号1~24で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(2) 配列番号2に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号81~103で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(3) 配列番号3に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号62~83で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(4) 配列番号3に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号189~214で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(5) 配列番号3に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号196~214で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

(6) 配列番号4に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号3218~3249で示されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド

【0022】

配列番号1に示されるアミノ酸配列からなる蛋白質は、種々のセリンプロテアーゼを阻害する、血中の最も主要なプロテアーゼインヒビターである α 1-アンチトリプシン(α 1-AT)の前駆体である。アミノ酸番号-24~-1で示される24アミノ酸からなる配列はシグナルペプチドであり、成熟 α 1-ATは分子量51,000、394個のアミノ酸からなる糖蛋白質である。 α 1-ATは主に肝細胞で生成され、種々の炎症時に血中に増加する急性相反応物質の1つであり、炎症性疾患、悪性腫瘍の指標となる。しかしながら、生体崩壊症候群との関連については知られていない。また、アミノ酸番号1~24で示されるアミノ酸配列からなる α 1-AT分解産物(以下、「A1AT(1-24)」と略記する場合がある)の存在はこれまで全く知られておらず、新規なペプチドである。

【0023】

配列番号2に示されるアミノ酸配列からなる蛋白質は、レチノール結合タンパク質と甲状腺ホルモン(T4)のキャリアータンパク質として血中で機能しているトランスサイレチン(TTR)の前駆体である。アミノ酸番号-20~-1で示される20アミノ酸からなる配列はシグナルペプチドであり、成熟TTRは分子量55,000の4量体蛋白質である。レチノール結合タンパク質とともに栄養状態の評価に用いられている。また、TTRはアミロイドーシスの原因タンパク質として詳細に研究されており、アルツハイマー病の原因とされる $A\beta$ の蓄積を防ぐとの報告もある。しかしながら、生体崩壊症候群との関連については知られていない。また、アミノ酸番号81~103で示されるアミノ酸配列からなるTTR分解産物(以下、「TTR(81-103)」と略記する場合がある)の存在はこれまで全く知られておらず、新規なペプチドである。

【0024】

配列番号3に示されるアミノ酸配列からなる蛋白質は、HDL-コレステロールの主要構成

10

20

30

40

50

(キャリア)蛋白質であるアポリポ蛋白質A-I (ApoA-I)の前駆体である。アミノ酸番号-24~-7で示される18アミノ酸からなる配列はシグナルペプチドであり、さらにアミノ酸番号-6~-1で示されるプロ配列が切断されて、成熟ApoA-Iとなる。ApoA-Iは動脈硬化症、LP欠損症で高値を示すことが知られている。しかしながら、生体崩壊症候群との関連については知られていない。また、アミノ酸番号62~83、189~214および196-214で示される各アミノ酸配列からなるApoA-I分解産物(以下、それぞれ「AI(62-83)」、「AI(189-214)」および「AI(196-214)」と略記する場合がある)の存在はこれまで全く知られておらず、新規なペプチドである。

【0025】

配列番号4に示されるアミノ酸配列からなる蛋白質は、LDL-コレステロールの主要構成(キャリア)蛋白質であるアポリポ蛋白質B-100 (ApoB-100)の前駆体である。アミノ酸番号-27~-1で示される27アミノ酸からなる配列はシグナルペプチドであり、成熟ApoB-100は分子量約500kDa、4536個のアミノ酸からなる蛋白質である。ApoB-100は動脈硬化症、LP欠損症で高値を示すことが知られている。しかしながら、生体崩壊症候群との関連については知られていない。また、アミノ酸番号3218~3249で示される各アミノ酸配列からなるApoB-100分解産物(以下、「B100(3218-3249)」と略記する場合がある)の存在はこれまで全く知られておらず、新規なペプチドである。

【0026】

各配列番号の上記各アミノ酸番号で示されるアミノ酸配列と「実質的に同一のアミノ酸配列」とは、

- (1) 各配列番号で示される蛋白質の、アミノ酸の置換および/もしくは欠失および/もしくは挿入を伴う変異体または多型であって、該置換および/もしくは欠失および/もしくは挿入が各配列番号に示されるアミノ酸配列の各アミノ酸番号で示されるアミノ酸配列内に存在する該変異体または多型における、対応する領域のアミノ酸配列、あるいは、
- (2) 各配列番号で示される蛋白質の、上記各アミノ酸番号で示される領域より、N末端側および/またはC末端側に1~10アミノ酸残基(好ましくは1~5アミノ酸残基)延長または短縮されたアミノ酸配列を意味する。

例えば、A1AT(1-24)の2番目(即ち、配列番号1のアミノ酸番号2)のアミノ酸残基がAspからAlaに置換された変異体; TTR(81-103)の4番目(即ち、配列番号2のアミノ酸番号84)のアミノ酸残基がIleからAsnまたはSerに置換された変異体、9番目(即ち、配列番号2のアミノ酸番号89)のアミノ酸残基がGluからLysまたはGlnに置換された変異体、10番目(即ち、配列番号2のアミノ酸番号90)のアミノ酸残基がHisからAsnに置換された変異体、11番目(即ち、配列番号2のアミノ酸番号91)のアミノ酸残基がAlaからSerに置換された変異体、17番目(即ち、配列番号2のアミノ酸番号97)のアミノ酸残基がAlaからGlyに置換された変異体、21番目(即ち、配列番号2のアミノ酸番号101)のアミノ酸残基がGlyからSerに置換された変異体、22番目(即ち、配列番号2のアミノ酸番号102)のアミノ酸残基がProからArgに置換された変異体; AI(62-83)の7番目(即ち、配列番号3のアミノ酸番号68)のアミノ酸残基がThyからIleに置換された変異体; AI(189-214)の10番目(AI(196-214)の3番目; 即ち、配列番号3のアミノ酸番号198)のアミノ酸残基がGluからLysに置換された変異体の存在などが知られている。

また、例えば、AI(196-214)は、AI(189-214)がN末端側に7アミノ酸残基延長されたペプチドに相当する。

【0027】

さらに上記マーカーペプチドセットを構成する1以上のペプチドは、診断以外に積極的な生体崩壊症候群の創薬ターゲットを提供することもできる。即ち、該マーカーペプチドそれ自体が該症候群の治療(寛解)方向に生理機能を持つ場合、該ペプチドの量もしくは活性を増大させる物質を患者に投与することにより、また、該マーカーペプチドそれ自体が該症候群の増悪方向に生理機能を持つ場合、該ペプチドの量もしくは活性を低減させる物質を投与することにより、それぞれ該症候群を治療することができる。従って、本発明

10

20

30

40

50

はまた、上記マーカーペプチドセットを構成するいずれかのペプチドであって、それ自体が(1)生体崩壊症候群の治療(寛解)方向に生理機能を有するもの(以下、「治療ペプチド」ともいう)、および(2)該症候群の増悪方向に生理機能を有するもの(以下、「増悪ペプチド」ともいう)を提供する。

【0028】

本発明はまた、治療ペプチドの量もしくは活性を増大させる、および/または増悪ペプチドの量もしくは活性を低減させることによる、生体崩壊症候群の治療方法を提供する。該治療方法は、具体的には、治療ペプチドの量もしくは活性を増大させる物質および/または増悪ペプチドの量もしくは活性を低減させる物質の有効量を、生体崩壊症候群患者に投与することを含む。従って、本発明はまた、治療ペプチドの量もしくは活性を増大させる物質および/または増悪ペプチドの量もしくは活性を低減させる物質を含有してなる、生体崩壊症候群の治療剤を提供する。

10

具体的には、治療ペプチドの活性を増大させる物質としては、該ペプチド自体あるいはそれと同様のアゴニスト作用を有する分子が挙げられる。あるいは、治療ペプチドの活性を増大させる物質として、該ペプチドの非中和抗体、好ましくはアゴニスト抗体なども挙げることができる。一方、増悪ペプチドの活性を低減させる物質としては、該ペプチドのアンタゴニスト作用を有する分子、あるいは該ペプチドに対する中和抗体などが挙げられる。

また、治療ペプチドの産生を増大させる物質としては、生体内に存在する蛋白質から該ペプチドを遊離する分解酵素、該ペプチドのN末側及びC末側に該分解酵素により認識・切断されるアミノ酸配列をさらに含む、該分解酵素の基質もしくは基質アナログ分子、該分解酵素の産生を促進する分子(類似化合物を含む)、該分解酵素の活性を促進する分子、該分解酵素のインヒビターの産生を抑制する分子などが挙げられる。該ペプチドのN末側及びC末側のアミノ酸配列から、該ペプチドを遊離させる分解酵素の存在が示唆され、該ペプチドのN末側および/またはC末側のアミノ酸配列をプローブにした分解酵素探索と同定が可能となる。こうして同定された分解酵素の基質もしくは基質アナログ分子、即ち、該ペプチドのN末側及びC末側に該分解酵素により認識・切断されるアミノ酸配列をさらに含むペプチド分子は、生体崩壊症候群患者の体内で該分解酵素により切断されて治療ペプチドもしくはそのアナログ分子を遊離するので、同様の治療効果を奏することができる。一方、同定された分解酵素の産生および/または活性を促進する物質も、間接的に治療ペプチドの産生を増大させることができる。これらの物質は、標的の分解酵素が同定されれば、自体公知の手法によりスクリーニングし、あるいは分子設計することができる。

20

30

一方、増悪ペプチドの産生を低減させる物質としては、生体内に存在する蛋白質から該ペプチドを遊離する分解酵素の産生を抑制する分子、該分解酵素のインヒビター、該インヒビターの産生を促進する分子などが挙げられる。増悪ペプチドを遊離する分解酵素は、上記治療ペプチドと同様の手法により探索・同定することができる。こうして同定された分解酵素を用いて、自体公知の手法により、該分解酵素の産生もしくは活性を直接または間接的に抑制(阻害)する物質をスクリーニングし、あるいは分子設計することができる。

【0029】

治療ペプチドの量もしくは活性を増大させる物質および増悪ペプチドの量もしくは活性を低減させる物質は、常套手段に従って製剤化することができる。

40

例えば、経口投与のための組成物としては、固体または液体の剤形、具体的には錠剤(糖衣錠、フィルムコーティング錠を含む)、丸剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤(ソフトカプセル剤を含む)、シロップ剤、乳剤、懸濁剤などがあげられる。かかる組成物は自体公知の方法によって製造され、製剤分野において通常用いられる担体、希釈剤もしくは賦形剤を含有するものである。例えば、錠剤用の担体、賦形剤としては、乳糖、でんぷん、蔗糖、ステアリン酸マグネシウムなどが用いられる。

非経口投与のための組成物としては、例えば、注射剤、坐剤などが用いられ、注射剤は静脈注射剤、皮下注射剤、皮内注射剤、筋肉注射剤、点滴注射剤、関節内注射剤などの剤

50

形を包含する。かかる注射剤は、自体公知の方法に従って、例えば、上記化合物またはその塩を通常注射剤に用いられる無菌の水性もしくは油性液に溶解、懸濁または乳化することによって調製する。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例、エタノール）、ポリアルコール（例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン界面活性剤〔例、ポリソルベート 80、HCO-50（polyoxyethylene（50mol）adduct of hydrogenated castor oil）〕などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤として安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどを併用してもよい。調製された注射液は、通常、適当なアンプルに充填される。直腸投与に用いられる坐剤は、上記化合物またはその塩を通常の坐薬用基剤に混合することによって調製される。 10

【0030】

上記の経口用または非経口用医薬組成物は、活性成分の投与量に適合するような投薬単位の剤形に調製されることが好都合である。かかる投薬単位の剤形としては、錠剤、丸剤、カプセル剤、注射剤（アンプル）、坐剤などが例示され、それぞれの投薬単位剤形当たり通常 5 ~ 500 mg、とりわけ注射剤では 5 ~ 100 mg、その他の剤形では 10 ~ 250 mg の上記化合物が含有されていることが好ましい。

なお前記した各組成物は、上記治療ペプチドの量もしくは活性を増大させる物質または増悪ペプチドの量もしくは活性を低減させる物質との配合により、好ましくない相互作用を生じない限り、他の活性成分を含有してもよい。 20

【0031】

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトに対して経口的にまたは非経口的に投与することができる。

治療ペプチドの量もしくは活性を増大させる物質および増悪ペプチドの量もしくは活性を低減させる物質の投与量は、その作用、投与ルート、患者の重篤度、年齢、体重、薬物受容性などにより差異はあるが、例えば、成人 1 日あたり活性成分量として約 0.0008 ~ 約 25 mg / kg、好ましくは約 0.008 ~ 約 2 mg / kg の範囲であり、これを 1 回もしくは数回に分けて投与することができる。

【0032】

本発明はまた、生体崩壊症候群に罹患していると疑われる患者由来の生体試料中の、1 以上の本発明のマーカーペプチドを検出することによる、該患者における生体崩壊症候群のステージ（Ⅰ期 ~ Ⅴ期）の判定方法を提供する。「生体崩壊症候群に罹患していると疑われる患者」としては、上記した、該症候群に帰着し得る基礎疾患に罹患した患者などが挙げられる。生体崩壊症候群では、その各ステージにおいて、それぞれ特徴的な蛋白質の分解産物の出現変動が認められる。従って、各ステージに特異的な 1 以上のマーカーペプチドを測定することにより、該患者における生体崩壊症候群のステージを判定することができる。例えば、上記 α1-アンチトリプシンの分解産物、好ましくは A1AT(1-24)等、あるいはトランスサイレチンの分解産物、好ましくは TTR(81-103)等は、第Ⅴ期に特異的に検出されるのに対し、例えば、上記アポリポ蛋白 A-I の分解産物、好ましくは AI(62-83)、AI(189-214)、AI(196-214)等、あるいはアポリポ蛋白 B-100、好ましくは B100(3218-3249)等は第Ⅰ期に特異的に検出される。生体崩壊症候群の治療においては、早期発見、早期治療が大原則とされることから、第Ⅰ期に特異的なマーカーペプチドが見出されたことは極めて有意義である。 30 40

【0033】

被験試料となる患者由来の生体試料は特に限定されないが、患者への侵襲が少ないものであることが好ましく、例えば、血液、血漿、血清、唾液、尿、涙液など生体から容易に採取できるものや、髄液、骨髄液、胸水、腹水、関節液、眼房水、硝子体液など比較的容易に採取されるものが挙げられる。

血清や血漿を用いる場合、常法に従って患者から採血し、液性成分を分離することにより調製することができる。検出対象である本発明のマーカーペプチド（セット）は必要に 50

応じて、スピンカラムなどを用いて、予め高分子量の蛋白質画分などを分離除去しておくこともできる。

【0034】

生体試料中の、本発明のマーカープепチド(セット)の検出は、該試料を必要に応じて前処理した後、特定のマーカープепチドを個別に、あるいはペプチド群を網羅的に測定することにより行われる。ここで「個別に」とは、1つ1つのマーカ―をそれぞれ別個にという意味ではなく、検出対象とするマーカ―が特定されていれば、それらの一部もしくは全部を一括に測定してもよい。

特定のマーカープепチドを個別に検出する場合、例えば、生体試料を各種の分子量測定法、例えば、ゲル電気泳動や、各種の分離精製法(例:イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィーなど)、イオン化法(例:電子衝撃イオン化法、フィールドディソープション法、二次イオン化法、高速原子衝突法、マトリックス支援レーザー脱離イオン化(MALDI)法、エレクトロスプレーイオン化法など)、質量分析計(例:二重収束質量分析計、四重極型分析計、飛行時間型質量分析計、フーリエ変換質量分析計、イオンサイクロトロン質量分析計など)を組み合わせる方法等に供し、所定のマーカープепチドの分子量と一致するバンドもしくはスポット、あるいはピークを検出することにより行うことができるが、これらに限定されない。マーカープепチドのアミノ酸配列が既知である場合、該アミノ酸配列を認識する抗体を作製して、ウェスタンブロッティングや各種イムノアッセイにより該マーカープепチドを検出する方法が、より好ましく用いられ得る。

一方、不特定多数の本発明のマーカープепチド群を網羅的に検出する場合は、生体試料を質量分析用プレート上にスポットし、あるいは、WO 2004/031759に記載されるように該試料をゲル電気泳動した後、質量分析用プレート上に転写し、上記のイオン化法と質量分析法とを組み合わせ得られる質量分析のチャートから、分子量50000以下に現れるピークを同定する。本発明のマーカープепチドは約10000種存在すると推定され、またその分子領域での存在比は、分子量5000以下に約54%が、分子量10000以下に約78%が、分子量20000以下に約84%が、分子量50000以下に100%が存在し、それらの大部分は分子量約5,000以下に集中するので分子量約5,000以下に現れるピークを同定することが望ましい。

【0035】

本発明の特に好ましいマーカープепチドであるA1AT(1-24)、TTR(81-103)、AI(62-83)、AI(189-214)、AI(196-214)、B100(3218-3249)は、それぞれ約2690.12、約2450.20、約2617.27、約2052.07、約2864.49および約3678.80の分子量を有する。ここで「分子量約・・・」とは、各測定方法の誤差の範囲を考慮したものであり、例えば、質量分析計を用いる方法による場合は、示された数値 $\pm 0.5\%$ (好ましくは $\pm 0.3\%$ 、より好ましくは $\pm 0.1\%$)の位置に出現するピーク強度を測定することが好ましい。

【0036】

本発明の判定方法における特に好ましい測定法の1つは、飛行時間型質量分析に使用するプレートの表面に被験試料を接触させ、該プレート表面に捕捉された成分の質量を飛行時間型質量分析計で測定する方法が挙げられる。

飛行時間型質量分析計に適合可能なプレートは、検出対象である本発明のマーカープепチドを効率よく吸着し得る表面構造を有している限り、いかなるものであってもよい。そのような表面構造としては、例えば、官能基付加ガラス、Si、Ge、GaAs、GaP、SiO₂、SiN₄、改質シリコン、広範囲のゲル又はポリマー(例えば、(ポリ)テトラフルオロエチレン、(ポリ)ビニリデンジフロリド、ポリスチレン、ポリカーボネート、又はこれらの組合せなど)によるコーティングが挙げられる。複数のモノマー又はポリマー配列を有する表面構造としては、例えば、核酸の直鎖状及び環状ポリマー、ポリサッカライド、脂質、 α -、 β -又は ω -アミノ酸を有するペプチド、クロマトグラフィーで使用するゲル表面の担体(陰イオン性/陽イオン性化合物、炭素鎖1~18からなる疎水性化合物、親水性化合物(例えば、シリカ、ニトロセルロース、セルロースアセテート

、アガロース等）と架橋した担体など）、人工ホモポリマー（例えば、ポリウレタン、ポリエステル、ポリカーボネート、ポリウレア、ポリアミド、ポリエチレンイミン、ポリアリーレンスルフィド、ポリシロキサン、ポリイミド、ポリアセテート等）、上記化合物のいずれかに既知の薬物又は天然化合物が結合（共有及び非共有結合）したヘテロポリマー等によるコーティングが挙げられる。

【0037】

好ましい実施態様においては、質量分析用プレートとして用いられる支持体は、ポリビニリデンジフロリド（P V D F）、ニトロセルロースまたはシリカゲル、特に好ましくはP V D Fで薄層コーティングされた基材〔通常、質量分析用プレートにおいて使用されているものであれば、特に限定されず、例えば、絶縁体（ガラス、セラミクス、プラスチック・樹脂等）、金属（アルミニウム、ステンレス・スチール等）、導電性ポリマー、それらの複合体などが挙げられるが、好ましくはアルミニウムプレートが用いられる〕である（W O 2004/031759を参照）。支持体の形状は、使用する質量分析装置の、特に試料導入口に適合するような形状に適宜考案され得るが、それらに限定されない。かかるP V D Fで薄層コーティングされた質量分析用プレートとして、好ましくはプロトセラ社のプロットチップ（登録商標）などが挙げられる。

10

【0038】

好ましくは、コーティングは、メンブレンのように予め成型された構造体を支持体上に重層するのではなく、コーティング分子が分散した状態で支持体上に堆積されて形成される薄層をいう。コーティング分子が堆積される態様は特に制限されないが、後述の質量分析用プレートの調製方法において例示される手段が好ましく用いられる。

20

薄層の厚さは、組織もしくは細胞に含まれる分子の転写効率および質量分析の測定感度等に好ましくない影響を与えない範囲で適宜選択することができるが、例えば、約0.001～約100 μm、好ましくは約0.01～約30 μmである。

【0039】

質量分析用プレート（支持体）は自体公知の方法により調製することができるが、例えば、上記の好ましい質量分析用プレートは、P V D F等のコーティング分子で支持体表面を薄層コーティングすることにより調製される。コーティングの手段としては、塗布、噴霧、蒸着、浸漬、印刷（プリント）、スパッタリングなどが好ましく例示される。

「塗布」する場合、コーティング分子を、適当な溶媒、例えば、ジメチルホルムアミド（dimethyl formamide; D M F）などの有機溶媒に適当な濃度（例えば、約1～約100 mg/mL程度）で溶解したもの（コーティング分子含有溶液）を、刷毛などの適当な道具を用いて基材に塗布することができる。

30

「噴霧」する場合、上記と同様にして調製したコーティング分子含有溶液を噴霧器に入れ、基材上に均一にP V D Fが堆積されるように噴霧すればよい。

「蒸着」する場合、通常の有機薄膜作製用真空蒸着装置を用い、基材を入れた真空槽中でコーティング分子（固体でも溶液でもよい）を加熱・気化させることにより、基材表面上に該分子の薄層を形成させることができる。

「浸漬」させる場合、上記と同様にして調製したコーティング分子含有溶液中に基材を浸漬させればよい。

40

「印刷（プリント）」する場合は、基材の材質に応じて通常使用され得る各種印刷技術を適宜選択して利用することができ、例えば、スクリーン印刷などが好ましく用いられる。

「スパッタリング」する場合は、例えば、真空中に不活性ガス（例、Arガス等）を導入しながら基材とコーティング分子間に直流高電圧を印加し、イオン化したガスを該分子に衝突させて、はじき飛ばされたコーティング分子を基材上に堆積させて薄層を形成させることができる。

コーティングは基材全面に施してもよいし、質量分析に供される一面のみに施してもよい。

【0040】

50

コーティング分子は、コーティング手段に応じて適宜好ましい形態で使用することができ、例えば、コーティング分子含有溶液、コーティング分子含有蒸気、固体コーティング分子などの形態で基材にアプライされ得るが、コーティング分子含有溶液の形態でアプライすることが好ましい。「アプライする」とは、接触後にコーティング分子が支持体上に残留・堆積されるように支持体に接触させることをいう。アプライ量は特に制限はないが、コーティング分子量として、例えば、約10～約100,000 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、好ましくは約50～約5,000 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 挙げられる。アプライ後に溶媒は自然乾燥、真空乾燥などにより除去する。

【0041】

質量分析用プレートにおける基材は、コーティング分子でコーティングする前に予め適当な物理的、化学的手法により、その表面を修飾（加工）しておいてもよい。具体的には、プレート表面を磨く、傷を付ける、酸処理、アルカリ処理、ガラス処理（テトラメトキシシランなど）等の手法が例示される。

【0042】

被験試料の質量分析用プレート（支持体）への移行は、被験試料となる患者由来の生体試料を未処理のままで、あるいは抗体カラムその他の方法で高分子タンパク質を除去、濃縮した後に、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動もしくは等電点電気泳動に付し、泳動後ゲルをプレートと接触させて転写（プロットイング）することにより行われる。転写装置としては公知のものを用いることができる。転写の方法自体は公知である。好ましくは電気転写が用いられる。泳動後ゲルに展開された試料は、種々の方法（拡散、電気力その他）によって質量分析用プレートに移行される。電気転写時に使用する緩衝液としては、pH7～9、低塩濃度のものを用いることが好ましい。具体的には、トリス緩衝液、リン酸緩衝液、ホウ酸緩衝液、酢酸緩衝液などが例示される。トリス緩衝液としては、トリス/グリシン/メタノール緩衝液、SDS-トリス-トリシン緩衝液など、リン酸緩衝液としては、ACN/NaCl/等張リン酸緩衝液、リン酸ナトリウム/ACNなど、ホウ酸緩衝液としては、ホウ酸ナトリウム-塩酸緩衝液、トリス-ホウ酸塩/EDTA、ホウ酸塩/ACNなど、酢酸緩衝液としては、トリス-酢酸塩/EDTAなどが挙げられる。好ましくは、トリス/グリシン/メタノール緩衝液、ホウ酸ナトリウム-塩酸緩衝液である。トリス/グリシン/メタノール緩衝液の組成としては、トリス10～15 mM、グリシン70～120 mM、メタノール7～13%程度が例示される。ホウ酸ナトリウム-塩酸緩衝液の組成としては、ホウ酸ナトリウム5～20 mM程度が例示される。

【0043】

これにより、標的分子を含めて、被験試料中に存在する分子は支持体表面上に効率よく捕捉される。プレートを乾燥させた後、後の質量分析（MALDI法による場合）に有利なように、レーザー光を吸収し、エネルギー移動を通じて分析対象物分子のイオン化を促進するためにマトリックスと呼ばれる試薬を添加することもできる。当該マトリックスとしては、質量分析において公知のものを用いることができる。例えば、シナピン酸（sinapinic acid; SPA (=3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamic acid)）、インドールアクリル酸（Indoleacrylic acid; IAA）、2,5-ジヒドロキシ安息香酸（2,5-dihydroxybenzoic acid; DHB）、 α -シアノ-4-ヒドロキシ桂皮酸（ α -cyano-4-hydroxycinnamic acid; CHCA）等が挙げられるが、これらに限定されない。好ましくは、DHBまたはCHCAである。

【0044】

上記の方法により支持体表面上に捕捉された被験試料中の分子を質量分析することにより、分子量に関する情報から、標的分子である本発明のマーカープепチド（セット）の存在および量を同定することができる。

質量分析装置は、ガス状の試料をイオン化した後、その分子や分子断片を電磁場に投入し、その移動状況から質量数/電荷数によって分離、物質のスペクトルを求めることにより、物質の分子量を測定・検出する装置である。試料とレーザー光を吸収するマトリックスを混合、乾燥させて結晶化し、マトリックスからのエネルギー移動によるイオン化とレーザー照射による瞬間加熱により、イオン化した分析対象物を真空中に導くマトリックス

10

20

30

40

50

支援レーザー脱イオン化 (MALDI) と、初期加速による試料分子イオンの飛行時間差で質量数を分析する飛行時間型質量分析 (TOFMS) とをあわせて用いる MALDI-TOFMS 法、1 分析対象物を 1 液滴にのせて液体から直接電氣的にイオン化する方法、試料溶液を電氣的に大氣中にスプレーして、個々の分析対象物多価イオンを unfold の状態で気相に導くナノエレクトロスプレー質量分析 (nano-ESMS) 法等の原理に基づく質量分析装置を使用することができる。

質量分析用プレート上の分子を質量分析する方法自体は公知である。例えば、WO 2004/031759 に記載の方法を、必要に応じて適宜改変して使用することができる。

【0045】

質量分析の結果から、標的分子の分子量情報に基づいて、被験試料中の標的分子の有無およびその量が同定され得る。この工程において、質量分析装置からの情報を、任意のプログラムを用いて、健常人由来の生体試料における質量分析データと比較して、示差的な (differential) 情報として出力させることも可能である。そのようなプログラムは周知であり、また、当業者は、公知の情報処理技術を用いて、容易にそのようなプログラムを構築もしくは改変することができることが理解されよう。

【0046】

特に好ましい態様においては、質量分析用プレートとしてプロトセラ社のプロットチップを用いて、上記の各工程を実施し、MALDI 型質量分析装置で本発明のマーカペプチドを定量比較 (ディファレンシャル解析) する。さらに、必要に応じて、同一チップに残存する該マーカペプチドを同定することもできる。あるいは、被験試料の定量比較 (ディファレンシャル解析) までをプロトセラ社のプロットチップシステムを用いて実施し、該マーカペプチドの同定を、高速液体クロマトグラフィーとイオンスプレイ型質量分析装置の組み合わせ装置 (LC-MS/MS) で実施することも可能である。

【0047】

本発明の判定方法における本発明のマーカペプチドの検出は、それに対する抗体を用いて行うこともできる。かかる方法は、最適化されたイムノアッセイ系を構築してこれをキット化すれば、上記質量分析装置のような特殊な装置を使用することなく、高感度かつ高精度にマーカペプチドを検出することができる点で、特に有用である。

【0048】

本発明のマーカペプチドに対する抗体は、例えば、本発明のマーカペプチドを、これを発現する患者由来の生体試料から単離・精製し、該ペプチドを抗原として動物を免疫することにより調製することができる。あるいは、得られるペプチド量が少量である場合等は、該ペプチドをペプチダーゼ等によって部分消化し、得られる断片のアミノ酸配列をエドマン法などにより決定し、その配列を基に該ペプチドをコードする核酸とハイブリダイズし得るオリゴヌクレオチドを合成、これをプローブとして該患者由来の cDNA ライブラリーを鋳型にハイブリダイゼーション法により該ペプチドを含む蛋白質をコードする cDNA を得るか、あるいは該オリゴヌクレオチドをプライマーとして該患者由来の RNA を鋳型にして RT-PCR を行うことにより、該ペプチドをコードする cDNA 断片を得て、該 cDNA 断片を適当な発現ベクターに組み込んで適当な宿主細胞に導入し、得られる形質転換体を培養して組換えペプチドを採取することによって、本発明のペプチドを大量に調製することができる。あるいは上記のようにして得られる cDNA を鋳型として、無細胞転写・翻訳系を用いて本発明のペプチドを取得することもできる。

【0049】

あるいはまた、上記した質量分析法において、タンデム質量分析 (MS/MS) 法を用いることにより、直接本発明のペプチドのアミノ酸配列を同定し、該配列情報に基づいて該ペプチドの全部もしくは一部を合成し、これを抗原 (ハプテン) として利用することもできる。MS/MS 法を用いたペプチド同定法としては、MS/MS スペクトルを解析してアミノ酸配列を決定する de novo sequencing 法と、MS/MS スペクトル中に含まれる部分的な配列情報 (質量タグ) を用いてデータベース検索を行い、ペプチドを同定する方法等が挙げられる。

【0050】

上述のように、本発明の好ましいペプチドは、 α 1-AT、TTR、ApoA-I、ApoB-100のフラグメントであり、より好ましくは、(1) 配列番号1に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号1~24で示されるアミノ酸配列(A1AT(1-24))と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド；(2) 配列番号2に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号81~103で示されるアミノ酸配列(TTR(81-103))と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド；(3) 配列番号3に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号62~83で示されるアミノ酸配列(AI(62-83))と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド；(4) 配列番号3に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号189~214で示されるアミノ酸配列(AI(189-214))と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド；(5) 配列番号3に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号196~214で示されるアミノ酸配列(AI(196-214))と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチド；および(6) 配列番号4に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号3218~3249で示されるアミノ酸配列(B100(3218-3249))と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列からなるペプチドである。

従って、本発明のマーカーペプチドに対する抗体は、例えば、A1AT(1-24)、TTR(81-103)、AI(62-83)、AI(189-214)、AI(196-214)またはB100(3218-3249)の配列の全部もしくは一部を、上記アミノ酸配列情報に基づき、公知のペプチド合成法を用いて合成するか、あるいは単離した α 1-AT、TTR、ApoA-IまたはApoB-100を適当なペプチダーゼ等で切断して、A1AT(1-24)、TTR(81-103)、AI(62-83)、AI(189-214)、AI(196-214)またはB100(3218-3249)の配列の全部もしくは一部を含むペプチド断片を取得し、これを免疫原として調製することが望ましい。

【0051】

本発明のマーカーペプチドに対する抗体(以下、「本発明の抗体」と称する場合がある)は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体のいずれであってもよく、周知の免疫学的手法により作製することができる。また、該抗体は完全抗体分子だけでなくそのフラグメントをも包含し、例えば、Fab、F(ab')₂、ScFv、minibody等が挙げられる。

【0052】

例えば、ポリクローナル抗体は、上記のいずれかの方法または他の方法によって調製された本発明のマーカーペプチドもしくはその部分ペプチド(必要に応じて、ウシ血清アルブミン、KLH(Keyhole Limpet Hemocyanin)等のキャリアタンパク質に架橋した複合体とすることもできる)を抗原として、市販のアジュバント(例えば、完全または不完全フロイントアジュバント)とともに、動物の皮下あるいは腹腔内に2~3週間おきに2~4回程度投与し(部分採血した血清の抗体価を公知の抗原抗体反応により測定し、その上昇を確認しておく)、最終免疫から約3~約10日後に全血を採取して抗血清を精製することにより取得できる。抗原を投与する動物としては、ラット、マウス、ウサギ、ヤギ、モルモット、ハムスターなどの哺乳動物が挙げられる。

【0053】

また、モノクローナル抗体は、細胞融合法(例えば、渡邊武、細胞融合法の原理とモノクローナル抗体の作成、谷内昭、高橋利忠編、「モノクローナル抗体とがん-基礎と臨床-」、第2-14頁、サイエンスフォーラム出版、1985年)により作成することができる。例えば、本発明のマーカーペプチドもしくはその部分ペプチドを市販のアジュバントと共にマウスに2~4回皮下あるいは腹腔内に投与し、最終投与の約3日後に脾臓あるいはリンパ節を採取し、白血球を採取する。この白血球と骨髄腫細胞(例えば、NS-1、P3X63Ag8など)を細胞融合して該ペプチドに対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを得る。細胞融合はPEG法[J. Immunol. Methods, 81(2): 223-228 (1985)]でも電圧パルス法[Hybridoma, 7(6): 627-633 (1988)]であってもよい。所望のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマは、周知のEIAまたはRIA法等を用いて抗原と特異的に結合する抗体を、培養上清中から検出することにより選択できる。モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの培養は、インビトロ、またはマウスもしくはラット、このましくはマウス腹水中等のインビボで行うことができ、抗体はそれぞれハイブリドーマの培養上清および

動物の腹水から取得することができる。

【0054】

本発明の抗体を用いる本発明の判定方法は、特に制限されるべきものではなく、被験試料中の抗原量に対応した抗体、抗原もしくは抗体-抗原複合体の量を化学的または物理的手段により検出し、これを既知量の抗原を含む標準液を用いて作製した標準曲線より算出する測定法であれば、いずれの測定法を用いてもよい。例えば、ネフロメトリー、競合法、イムノメトリック法およびサンドイッチ法等が好適に用いられる。

【0055】

標識物質を用いる測定法に用いられる標識剤としては、例えば、放射性同位元素、酵素、蛍光物質、発光物質などが用いられる。放射性同位元素としては、例えば、 $[^{125}\text{I}]$ 、 $[^{131}\text{I}]$ 、 $[^3\text{H}]$ 、 $[^{14}\text{C}]$ などが用いられる。上記酵素としては、安定で比活性の大きなものが好ましく、例えば、 β -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、パーオキシダーゼ、リンゴ酸脱水素酵素などが用いられる。蛍光物質としては、例えば、フルオレスカミン、フルオレッセンイソチオシアネートなどが用いられる。発光物質としては、例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、ルシゲニンなどが用いられる。さらに、抗体あるいは抗原と標識剤との結合にビオチン-アビジン系を用いることもできる。

10

【0056】

抗原あるいは抗体の不溶化に当っては、物理吸着を用いてもよく、また通常タンパク質あるいは酵素等を不溶化、固定化するのに用いられる化学結合を用いる方法でもよい。担体としては、アガロース、デキストラン、セルロースなどの不溶性多糖類、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、シリコン等の合成樹脂、あるいはガラス等が挙げられる。

20

【0057】

サンドイッチ法においては、不溶化した本発明の抗体に被験試料を反応させ（1次反応）、さらに標識化した別の本発明の抗体を反応させ（2次反応）た後、不溶化担体上の標識剤の量（活性）を測定することにより、被験試料中の本発明のペプチド量を定量することができる。1次反応と2次反応は逆の順序に行っても、また、同時に行なってもよいし時間をずらして行なってもよい。

【0058】

本発明のポリペプチドに対するモノクローナル抗体を、サンドイッチ法以外の測定システム、例えば、競合法、イムノメトリック法あるいはネフロメトリーなどに用いることもできる。

30

競合法では、被験試料中の抗原と標識抗原とを抗体に対して競合的に反応させた後、未反応の標識抗原(F)と、抗体と結合した標識抗原(B)とを分離し(B/F分離)、B、Fいずれかの標識量を測定し、被験試料中の抗原量を定量する。本反応法には、抗体として可溶性抗体を用い、B/F分離をポリエチレングリコール、前記抗体に対する第2抗体などを用いる液相法、および、第1抗体として固相化抗体を用いるか、あるいは、第1抗体は可溶性のものを用い第2抗体として固相化抗体を用いる固相化法とが用いられる。

イムノメトリック法では、被験試料の抗原と固相化抗原とを一定量の標識化抗体に対して競合反応させた後固相と液相を分離するか、あるいは、被験試料中の抗原と過剰量の標識化抗体とを反応させ、次に固相化抗原を加え未反応の標識化抗体を固相に結合させた後、固相と液相を分離する。次に、いずれかの相の標識量を測定し被験試料中の抗原量を定量する。

40

また、ネフロメトリーでは、ゲル内あるいは溶液中で抗原抗体反応の結果生じた不溶性の沈降物の量を測定する。被験試料中の抗原量が僅かであり、少量の沈降物しか得られない場合にもレーザーの散乱を利用するレーザーネフロメトリーなどが好適に用いられる。

【0059】

これら個々の免疫学的測定法を本発明の定量方法に適用するにあたっては、特別の条件、操作等の設定は必要とされない。それぞれの方法における通常の条件、操作法に当業者の通常の技術的配慮を加えて本発明のペプチドの測定系を構築すればよい。これらの一般

50

的な技術手段の詳細については、総説、成書などを参照することができる。

例えば、入江 寛編「ラジオイムノアッセイ」(講談社、昭和49年発行)、入江 寛編「続ラジオイムノアッセイ」(講談社、昭和54年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(医学書院、昭和53年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(第2版)(医学書院、昭和57年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(第3版)(医学書院、昭和62年発行)、「Methods in ENZYMOLOGY」Vol. 70 (Immunochemical Techniques (Part A))、同書 Vol. 73 (Immunochemical Techniques (Part B))、同書 Vol. 74 (Immunochemical Techniques (Part C))、同書 Vol. 84 (Immunochemical Techniques (Part D: Selected Immunoassays))、同書 Vol. 92 (Immunochemical Techniques (Part E: Monoclonal Antibodies and General Immunoassay Methods))、同書 Vol. 121 (Immunochemical Techniques (Part I: Hybridoma Technology and Monoclonal Antibodies)) (以上、アカデミックプレス社発行)などを参照することができる。

10

【0060】

あるいは、本発明の抗体を用いる別の本発明の判定方法として、該抗体を上記したような質量分析計に適合し得るプローブの表面上に固定化し、該プローブ上の該抗体に被検試料を接触させ、該抗体に捕捉された生体試料成分を質量分析にかけ、該抗体が認識するマーカープепチドの分子量に相当するピークを検出する方法が挙げられる。

【0061】

上記のいずれかの方法により、被験者である患者体液において、生体崩壊症候群のいずれかのステージにおける特異的なマーカープепチドが、健常人体液におけるレベルと統計学的に有意な差をもって検出された場合には、該患者は生体崩壊症候群の当該ステージの病態を示している可能性が高いと判定することができる。

20

【0062】

本発明の判定方法は、患者から時系列で生体試料を採取し、各試料における本発明のマーカープепチドの発現の経時変化を調べることにより行うことが好ましい。生体試料の採取間隔は特に限定されないが、患者のQOLを損なわない範囲でできるだけ頻繁にサンプリングすることが望ましく、例えば、血漿もしくは血清を試料として用いる場合、約1分～約12時間の間隔で採血を行うことが好ましい。各試料について上記のようにして本発明のマーカープепチドの発現を調べ、経時的に、生体崩壊症候群のより進行したステージに特異的なマーカープепチドが健常人体液におけるレベルと統計学的に有意な差をもって検出された場合、あるいは健常人体液におけるレベルとの差が増大した場合には、該患者において生体崩壊症候群の病態が進行している可能性が高いと判定することができる。一方、患者における該マーカープепチドのレベルと、健常人体液におけるレベルとの差が減少した場合には、該患者において生体崩壊症候群の病態が改善されている可能性が高いと判定することができる。

30

【0063】

上記した生体崩壊症候群のステージの判定方法を実施した結果、ある特定のマーカープепチドの増加が検出された場合、該マーカープепチドの親蛋白質(即ち、該マーカープепチドを生成せしめる分解酵素により切断される基質蛋白質)が分解されて患者体内で減少していることが示唆される。従って、当該親蛋白質を患者体内に補給することにより、効果的な栄養アセスメントを達成することができる。従って、本発明はまた、上記した生体崩壊症候群のステージの判定方法により、ある蛋白質の分解産物の有意な増加が認められた患者に、該蛋白質の有効量を投与することを含む方法を提供する。そのような蛋白質としては、アルブミン、レチノール結合蛋白、トランスサイレチン、トランスフェリンなどが挙げられるが、これらに限定されない。このような栄養アセスメント蛋白の投与については、例えば、点滴静注などの、自公知の手法を適宜用いることができる。

40

【0064】

また、上記した生体崩壊症候群のステージの判定方法を実施した結果、上記治療ペプチドのレベルの減少および/または上記増悪ペプチドのレベルの上昇が検出された場合、当該患者に、上記治療ペプチドの量もしくは活性を増大させる物質および/または上記増悪

50

ペプチドの量もしくは活性を低減させる物質の有効量を投与することができる。当該物質の剤形、投与ルート、投与量については、上記と同様である。

【0065】

さらに、上記時系列的なサンプリングによる生体崩壊症候群の判定方法は、前回サンプリングと今回サンプリングとの間に、被験者である患者に対して該症候群の治療措置が講じられた場合に、当該措置による治療効果を評価するのに用いることができる。即ち、治療の前後にサンプリングした試料について、治療後の状態が治療前の状態と比較して病態の改善が認められると判定された場合に、当該治療の効果があったと評価することができる。一方、治療後の状態が治療前の状態と比較して病態の改善が認められない、あるいはさらに悪化していると判定された場合には、当該治療の効果がなかったと評価することができる。 10

【0066】

そして、もしも最善の治療方法を持ってしても該生体崩壊症候群患者体液と健常人体液との間で統計学的に有意な差を解消できない事態に陥った場合には、該患者は臓器・器官の機能廃絶あるいは生命存続の危機にあると予測することができる。従って、本発明の判定方法はまた、上記のように治療効果を評価した結果、第Ⅴ期にある生体崩壊症候群患者において、とり得るいかなる治療も効果がなかったと判定された場合に、該患者が臓器・器官の機能廃絶および/または生命存続の危機にあると予測する方法としても利用することができる。当該予測方法の被験者となり得る患者は、生体崩壊症候群に帰着し得る基礎疾患に罹患した患者であれば特に制限はないが、好ましくは、上述の各種基礎疾患患者 20
の中でも、重篤な症状を呈している患者、例えば、癌、播種性血管内凝固症候群、多臓器不全症、拒食症、さらには原因不明の予後不良とされる難病などである。また、一臓器の機能廃絶をきたす疾患、例えば網膜色素変性症を有する患者なども被験者となり得る。なお、患者の年齢、性別、人種などは何ら限定されない。

【0067】

特に、本発明の好ましいマーカーペプチドであるAI(62-83)、AI(189-214)、AI(196-214)またはB100(3218-3249)が検出された場合には、当該患者は極めて予後不良であることがほぼ確定的に診断できる。現在、DICやMOFの治療としては、抗凝固因子(ヘパリン、アンチトロンビン等)や分解酵素インヒビターの投与、血液浄化療法などが施されているが、回復の可能性を判定する有効な手段が存在しないがために、既に回復する見込みの 30
ない患者に対しても同様に治療がなされており、患者の尊厳を損なうばかりか、医療経済を圧迫している。従って、本発明のマーカーペプチドをターゲットとした生体崩壊症候群の新規診断法は、このような課題に対する有効な解決策を提供するものである。

【0068】

以下に実施例を挙げて本発明をより具体的に説明するが、本発明がこれらに限定されないことは言うまでもない。尚、測定は、特にことわらない限り、ブルカー・ダルトニクス社のウルトラフレックスⅡとプロトセラ社のプロットチップを用いて行った。

【実施例】

【0069】

実施例1 BlotChipを用いたディファレンシャルプロファイリング解析 40

予後不良の難病として知られるクロウ・フカセ症候群患者血清および健常人血清を電気泳動サンプルバッファーで処理した後、4-12%グラジェントポリアクリルアミドゲル(In vitorigen)にアプライし電気泳動を行った。電気泳動終了後ゲルを切り出しホウ酸バッファー中でBlotChipに90mA,120分間転写した。BlotChipへの電気転写終了後、BlotChipを超純粋でリンスした後、チップ全体にマトリックス(α -Cyano-4-hydroxy cinamic acid)を塗布後、matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometer (Bruker Daltnics社製Ultra-FlexII)でMS測定を行った。測定パラメータは、Detector voltage 1685V, Supression1000, Laser Intensity は28~35のFuzz 40
yモードで、サンプルの存在するチップ表面を全部で205箇所測定し、得られた41スペクトルのIntensityの積算をおこない、1スペクトル(以下積算スペクトルと呼ぶ)に 50

変換した。得られた積算スペクトルを用いてClinProTools(Bruker Daltonik GmbH)によるディファレンシャルプロファイリング解析を行った。また、独自にヒト患者血清および健康人血清の積算スペクトルデータを重ね合わせ、ClinProToolsの結果を精査した。結果の一部を図1に示した。I期～IV期を通じて、健康人に対して2倍以上のレベルで検出されるペプチド(No. 6)、I期～IV期を通じて、健康人に対して1/2倍以下のレベルで検出されるペプチド(No. 7)、I、II、IIIおよびIV期のいずれかで、それぞれ特異的に健康人に対して2倍以上のレベルで検出されるペプチド(それぞれNo. 2, No. 3, No. 4およびNo. 5)が得られた。

【0070】

実施例2 BlotChip上でのde novo MS/MS解析によるペプチドの同定

10

同定にはmatrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometer (Bruker Daltonics社製Ultra-FlexII)を使用し、Bradykinin, AngiotensinII, AngiotensinI, SubstanceP, Bombesin, Renin Substrate, ACTH Clip{1-17}, ACTH Clip{18-39}, Somatostatinを用いて質量校正を行った。その後、リフレクトロン測定モードでプロファイリングをとり、選択したペプチドピークとそのフラグメントイオンからBiotools(Bruker Daltonik GmbH)に組み込まれているMASCOT検索エンジンを通して、NCBI及び、SwissProtデータベースと合わせ、MS/MS解析による同定を行った。

その結果、第I期に特異的な

ペプチドとして、配列番号3に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号62～83で示されるアミノ酸配列(AI(62-83))、配列番号3に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号189～214で示されるアミノ酸配列(AI(189-214))、配列番号3に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号196～214で示されるアミノ酸配列(AI(196-214))、および配列番号4に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号3218～3249で示されるアミノ酸配列(B100(3218-3249))からそれぞれなるペプチドが、第IV期に特異的なペプチドとして、配列番号1に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号1～24で示されるアミノ酸配列(A1AT(1-24))および配列番号2に示されるアミノ酸配列中アミノ酸番号81～103で示されるアミノ酸配列(TTR(81-103))からそれぞれなるペプチドが同定された。ホモロジー検索の結果、AI(62-83)、AI(189-214)およびAI(196-214)は、いずれもアポリポ蛋白A-Iの分解産物であり、B100(3218-3249)はアポリポ蛋白B-100の分解産物であり、A1AT(1-24)はα1-アンチトリプシンの分解産物であり、TTR(81-103)はトランスサイレチンの分解産物であることが明らかとなった。

20

30

【産業上の利用可能性】

【0071】

本発明の新規な生体崩壊症候群診断システムは、該症候群の病態を迅速且つ的確に判断できるので、該症状の早期発見、早期治療が可能となる点で有用である。また、生体内に存在する蛋白質の分解産物からヒントを得た治療薬の開発が可能となり、生体崩壊症候群の有効な治療法の開発、ひいては臓器・器官の予後の改善効果とともに従来の診断技術では死に至るはずの多くの患者を救命し得ることが期待される。さらに、生体崩壊症候群における終末ステージの判定がエビデンスに基づいて迅速・的確に判断できるので、回復の見込みのない患者に対する無意味な治療の継続を中止することができ、ひいては、先進国間で問題化している国民医療費の削減につながり、日本だけでなく世界各国の医療経済の改善にも大きく寄与するものと期待される。

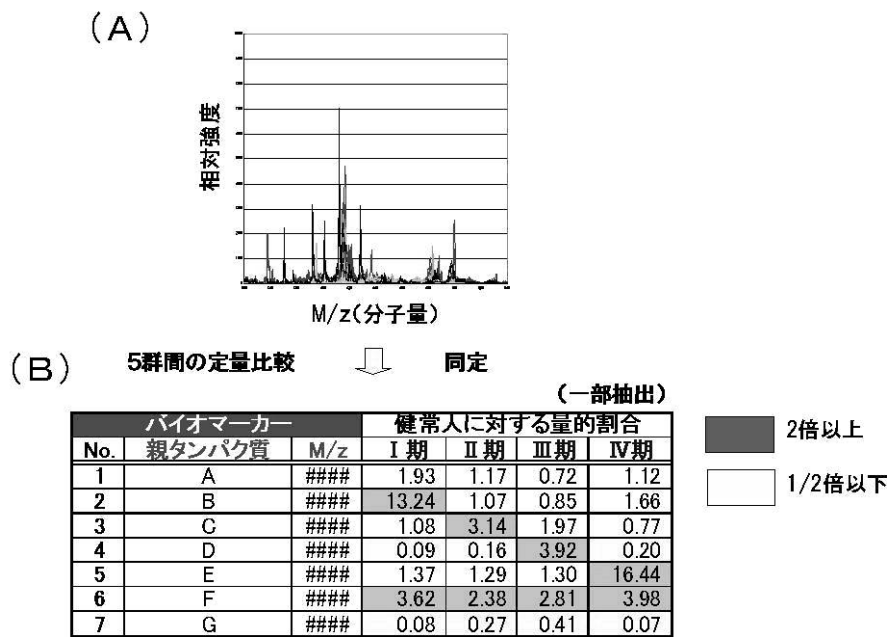
40

【図面の簡単な説明】

【0072】

【図1】生体崩壊症候群の各臨床ステージに特異的なマーカーの検出を示す図である。図1Aは生体崩壊症候群の各臨床ステージ(I～IV期)患者および健康人由来の血清試料の質量分析チャートの一部を示し、図1Bは得られたバイオマーカーの定量比較を示す。

【図 1】



【配列表】

2007332120000001.app

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 K 38/46 (2006.01)	A 6 1 K 37/54	
A 6 1 K 38/55 (2006.01)	A 6 1 K 37/64	
A 6 1 P 7/02 (2006.01)	A 6 1 P 7/02	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 1

(72)発明者 田中 憲次

東京都中央区八重洲2 - 1 1 - 6 八重洲KNビル8 F 株式会社プロトセラ内

(72)発明者 李 良子

東京都中央区日本橋本町二丁目2番6号 三菱ウェルファーマ株式会社東京本社内

Fターム(参考) 4B063 QA01 QQ36 QR48 QR57 QS28 QX04

4C084 AA02 AA17 BA01 BA08 BA18 BA19 BA22 CA18 CA53 DC22

DC34 DC50 NA14 ZA31 ZA54 ZC54

4H045 AA10 AA30 BA10 CA40 DA56 EA50 FA71

专利名称(译)	新型疾病标志物和使用其的疾病诊断		
公开(公告)号	JP2007332120A	公开(公告)日	2007-12-27
申请号	JP2006169359	申请日	2006-06-19
申请(专利权)人(译)	国立大学法人鹿児島大学 株式会社プロトセラ		
[标]发明人	橋口照人 丸山征郎 田中憲次 李良子		
发明人	橋口 照人 丸山 征郎 田中 憲次 李 良子		
IPC分类号	C07K14/47 C07K16/18 C12Q1/37 G01N33/53 A61K45/00 A61K38/00 A61K38/46 A61K38/55 A61P7/02 A61P43/00		
FI分类号	C07K14/47.ZNA C07K16/18 C12Q1/37 G01N33/53.D A61K45/00 A61K37/02 A61K37/54 A61K37/64 A61P7/02 A61P43/00.101 A61K38/00 A61K38/10 A61K38/16 A61K38/16.200 A61K38/46 A61K38/55 A61K38/57		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QQ36 4B063/QR48 4B063/QR57 4B063/QS28 4B063/QX04 4C084/AA02 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA18 4C084/BA19 4C084/BA22 4C084/CA18 4C084/CA53 4C084/DC22 4C084/DC34 4C084/DC50 4C084/NA14 4C084/ZA31 4C084/ZA54 4C084/ZC54 4H045/AA10 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA56 4H045/EA50 4H045/FA71		
代理人(译)	高岛肇		

摘要(译)

要解决的问题：为生物降解综合症提供诊断标志。 解决方案：生物降解综合症的一种标志物，被检测为在生物分解综合症患者的体液和健康的人体体液之间具有统计学上的显著差异，并且包含一种或多种肽，它们是体内蛋白质的降解产物。 肽组。 识别标记肽集的任何肽的抗体。 一种物质，可调节补充标记物肽母体蛋白的生理活性肽的量或活性，或者是标记物，同时可作为疾病的治疗剂或加剧剂， 综合征的治疗剂。 在患有可能导致生物降解综合症的潜在疾病的患者的生物学样品中，其特征在于检测构成标记物肽组的一种或多种肽，确定生物降解综合症的阶段的方法，治疗 评估效果的方法和预测器官功能的取消和/或患者体内生存风险的方法。 [选择图]无

				特許公開 (P2006.01)
				(43) 公開日 平成19年12月27日(2)
(51) Int. Cl.		F I		テーマコード
C07K 14/47	(2006.01)	C07K 14/47	ZNA	4B063
C07K 16/18	(2006.01)	C07K 16/18		4C084
C12Q 1/37	(2006.01)	C12Q 1/37		4H045
G01N 33/53	(2006.01)	G01N 33/53	D	
A61K 45/00	(2006.01)	A61K 45/00		
審査請求 未請求 請求項の数 27 O L (全 32 頁) 頁				
(21) 出願番号	特願2006-169359 (P2006-169359)	(71) 出願人	504258527	
(22) 出願日	平成18年6月19日 (2006.6.19)		国立大学法人 鹿児島大学 鹿児島県鹿児島市都元一丁目2	
		(71) 出願人	504150782	
			株式会社プロトセラ 東京都中央区八重洲二丁目114 重洲KNビル8階	
		(74) 代理人	100080791	
			弁理士 高島 一	
		(72) 発明者	橋口 照人	
			鹿児島県鹿児島市桜ヶ丘八丁目 鹿児島大学大学院医学総合	
		(72) 発明者	丸山 征郎	
			鹿児島県鹿児島市桜ヶ丘八丁目 鹿児島大学大学院医学総合	