

(19) 日本国特許庁(JP)

再 公 表 特 許(A1)

(11) 国際公開番号

W02014/034168

発行日 平成28年8月8日 (2016.8.8)

(43) 国際公開日 平成26年3月6日 (2014.3.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
G O 1 N 33/543 (2006.01)	G O 1 N 33/543	5 5 5 L 4 C O 8 4
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53	D
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 19 頁)		

出願番号	特願2014-532822 (P2014-532822)	(71) 出願人	390014960
(21) 国際出願番号	PCT/JP2013/060256		シスメックス株式会社
(22) 国際出願日	平成25年3月27日 (2013.3.27)		兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号
(31) 優先権主張番号	特願2012-204969 (P2012-204969)	(74) 代理人	100065248
(32) 優先日	平成24年8月30日 (2012.8.30)		弁理士 野河 信太郎
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(74) 代理人	100159385
			弁理士 甲斐 伸二
		(74) 代理人	100163407
			弁理士 金子 裕輔
		(74) 代理人	100166936
			弁理士 稲本 潔
		(72) 発明者	橋田 誠一
			徳島県徳島市南二軒屋町2丁目1-18
			シメトリ-301
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 早期腎障害の評価マーカーとその測定方法

(57) 【要約】

本発明は、腎機能疾患の初期症状の早期診断マーカーとその評価方法を提供することを課題とする。特に、糖尿病性腎症の初期症状の診断が的確にできる評価マーカーとその評価方法を提供することを課題とする。

本発明者は、上記の課題を解決するために、免疫複合体転移酵素免疫測定方法（ICT-EIA法）を使用して、尿中と血中のアディポネクチン濃度の比を評価マーカーとすることにより、よりの確に腎機能の評価が行なえることを見出した。その結果、腎臓の機能障害の進行状況や介入療法の効果も的確に把握できるようになった。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

免疫複合体転移測定方法（ICT-EIA法）で測定された尿中のアディポネクチン濃度の測定値を血中のアディポネクチン濃度で除した数値であることを特徴とする、腎機能の評価マーカー。

【請求項 2】

上記アディポネクチン濃度が、高分子量（HMW）アディポネクチン濃度である、請求項 1 に記載の腎機能の評価マーカー。

【請求項 3】

請求項 1 または 2 の数値に 10^{-4} を乗じた数値であることを特徴とする、請求項 1 または 2 の腎機能の評価マーカー。

10

【請求項 4】

請求項 1 ～ 3 に記載の評価マーカーを使用することを特徴とする、腎機能疾患の進行度評価方法。

【請求項 5】

腎機能疾患が糖尿病性腎症であることを特徴とする、請求項 4 に記載の腎機能疾患の進行度評価方法。

【請求項 6】

請求項 1 ～ 3 の評価マーカーを用いて、腎機能疾患患者及び / 又はその予備群に対して、介入療法を行うことを特徴とする、腎機能疾患の予防または治療方法。

20

【請求項 7】

腎機能疾患が糖尿病性腎症であることを特徴とする、請求項 6 に記載の腎機能疾患の予防または治療方法。

【請求項 8】

介入療法が、食事療法、運動療法または薬物療法である、請求項 6 または 7 に記載の糖尿病性疾患の予防または治療方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、糖尿病に起因する腎機能疾患（特に糖尿病性腎症）の初期症状を的確に評価するための評価マーカーとその測定方法に関するものである。

30

【背景技術】**【0002】**

糖尿病は、持続した高血糖による血管合併症を招き、細小血管症（網膜症、腎症、神経障害）と大血管症（脳心血管系疾患）を合併する。この中でも細小血管症に区分される糖尿病性腎症は、1998年に慢性糸球体腎炎を抜いて日本の透析療法導入疾患の第1位となり、2009年には、全透析療法導入者数のなかで44.5%（1万6549人）を占め、医学的・医療経済的に大きな問題となっている。さらに、透析療法導入後の5年生存率は約50%であり、今なお生命予後不良である。そのため、糖尿病性腎症の発症を早期に発見し、早期に治療する必要があるが、糖尿病性腎症は末期になるまで臨床症状に乏しく、積極的に検査を行わない場合見逃されやすい。したがって、糖尿病発症の早期から積極的に検査を行い、発症の診断や病期の評価を続けることが不可欠である。

40

糖尿病性腎症の診断には、腎生検による組織学的診断が必要である。しかし、すべての糖尿病患者に腎生検を施行することは困難であり、一般的には、臨床経過や網膜症などの合併症の有無に加え、尿検査・腎機能検査所見などを総合的に判断して診断することが多い。そのため現在では、糖尿病性腎症の早期診断は、微量アルブミン尿の出現により行われている。

日本では2005年の日本糖尿病学会と日本腎臓学会の糖尿病性腎症合同委員会において、「糖尿病腎症の早期診断基準」が改訂された。この基準によると、尿中アルブミン測定対象者は、通常の試験紙法で尿蛋白陰性か、1+程度の陽性を示す糖尿病患者である。

50

尿は、なるべく午前中の随時尿を測定し、免疫測定法で尿中アルブミン値を定量し（同時に尿中クレアチニン値（Cr）も測定する）、3回測定中2回以上の尿中アルブミン値が30～299mg/gCrであれば、微量アルブミン尿とし、糖尿病性早期腎症と診断する。微量アルブミン尿だけでは糖尿病性腎症以外の諸病態も否定できないため、尿中IV型コラーゲン値の上昇や、腎肥大などの糖尿病性腎病変の存在を示唆する所見が診断の参考になる。

一方、初期の慢性腎臓病（CKD：chronic kidney disease）は、一般に自覚症状に乏しく、尿異常から始まり、徐々に腎機能が低下して末期腎不全へ進行する。したがって、採尿による尿異常の発見は、CKD早期検出の唯一の手がかりといえる。中でも蛋白尿（微量アルブミン尿を含む）は、CKDの進展と密接に関わっており、最も重要な所見と言える。

最近、糖尿病患者において、“GFR decliner”（糸球体濾過量：GFR：Glomerular Filtration Rate）あるいは“early renal function decline”と呼ばれる進行性の早期腎機能低下が報告されている。これについての明確な定義はないが、持続的蛋白尿を合併しない糖尿病患者で、腎機能が正常範囲内（60mL/min/1.73m²以上）にもかかわらず進行性に腎機能が低下し、アルブミン尿の増減に関係なく腎不全期へ至る症例が確認されるようになった。アルブミン尿の増加を認めないGFR declinerの症例では治療の開始が遅れてしまい、腎不全期への進行を十分に阻止することができていない可能性が考えられる。そのため、定期的な腎機能の評価により、早期にGFR declinerを同定することができれば、アルブミン尿の程度に関係なく、腎機能がまだ正常な時期において腎保護のための治療を開始することが可能となり、その後の腎機能の低下を抑制あるいは改善させることができるのではないかと期待される。これらのことから、微量アルブミン尿のみで糖尿病性腎症の早期診断を行うには限界があり、GFR declinerの予測因子としてより鋭敏な糖尿病性腎症の早期臨床的指標の開発が求められている。

しかしながら、アルブミン尿の程度に関係なく、腎機能がまだ正常な時期において腎保護のための治療を開始することが可能となるマーカーや測定方法については、まだ十分な検討がなされていない状況である。なお、血中の特定のタンパク質に着目し、糖尿病性疾患の進行度を検査することが行なわれている。例えば、血中のアディポネクチンを測定することにより、早期に糖尿病の進展度を判定する方法が報告されている（非特許文献1）。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0003】

【非特許文献1】橋田誠一ら、「高感度アディポネクチン測定法の開発とその運動・栄養指導への応用」徳島文理大学研究紀要第78号7～20頁（2009年）

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明の目的は、腎障害を早期に検出し、適切な生活指導を行い、腎障害を寛解・退縮させるための、腎障害リスクのマーカーとその測定評価方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明者らは、非特許文献1の免疫複合体転移測定方法（ICT-EIA法）による高分子アディポネクチン測定方法を応用し、新たな腎変異の指標として尿中高分子アディポネクチンの可能性について検討して来た（PCT/JP2012/055736）。その中で、本発明者らは更に検討を進め、具体的な患者のデータを評価検討した。その結果、患者の糸球体濾過能に違いにより、血中と尿中のアディポネクチン濃度に相違が見られた。即ち、糸球体濾過能が悪くなれば、尿中アディポネクチン濃度が高くなることから、血中のアディポネクチン濃度に対して尿中に濾出されるアディポネクチン比を求めたところ

10

20

30

40

50

、糸球体濾過能が悪い患者では、健常人と比較して数十倍も高い値を示すことが明らかとなった。このことから、本発明者らは、尿中／血中アディポネクチン比が、アルブミン尿の傾向とは異なった、新たな腎障害の早期指標になり得ることを見出した。

更に、本発明者らは、健常者の尿中アディポネクチン値には、単分子アディポネクチンの占める割合が高いことから、単分子アディポネクチンを測定しないアディポネクチン測定方法により、尿中／血中アディポネクチン比の差が、より明白となることを見出した。即ち、H M Wアディポネクチンをより特異的に測定し、尿中／血中アディポネクチン比を測定評価することにより、この尿中／血中アディポネクチン比をマーカーとして、腎障害の早期指標として使用できることを見出した。本発明者は、以上の知見に基づき、本発明を完成した。

10

即ち、本発明の要旨は以下の通りである。

(1) 免疫複合体転移測定方法 (I C T - E I A 法) で測定された尿中のアディポネクチン濃度の測定値を血中のアディポネクチン濃度で除した数値であることを特徴とする、腎機能の評価マーカー。

(2) 上記アディポネクチン濃度が、高分子量 (H M W) アディポネクチン濃度である、上記 (1) に記載の腎機能の評価マーカー。

(3) 上記 (1) または (2) の数値に 10^{-4} を乗じた数値であることを特徴とする、上記 (1) または (2) の腎機能の評価マーカー。

(4) 上記 (1) ~ (3) に記載の評価マーカーを使用することを特徴とする、腎機能疾患の進行度評価方法。

20

(5) 腎機能疾患が糖尿病性腎症であることを特徴とする、上記 (4) に記載の腎機能疾患の進行度評価方法。

(6) 上記 (1) ~ (3) の評価マーカーを用いて、腎機能疾患患者及び / 又はその予備群に対して、介入療法を行うことを特徴とする、腎機能疾患の予防または治療方法。

(7) 腎機能疾患が糖尿病性腎症であることを特徴とする、上記 (6) に記載の腎機能疾患の予防または治療方法。

(8) 介入療法が、食事療法、運動療法または薬物療法である、上記 (6) または (7) に記載の糖尿病性疾患の予防または治療方法。

【発明の効果】

【 0 0 0 6 】

30

本発明の I C T - E I A 法で得られた尿中と血中のアディポネクチン濃度の比を取り、これを腎機能の評価マーカーとすることにより、アルブミン尿の程度に関係なく、腎機能がまだ正常な時期において腎保護のための治療を開始することが可能となった。その結果、本発明の腎機能の評価マーカーの評価方法を用いることにより、糖尿病性疾患の診断として、特に問題の多い糖尿病性腎症の早期発見や、糖尿病予備群の腎機能障害の判定や介入療法後の効果判定にも有用である。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 0 7 】

図 1 は、本発明で使用した免疫複合体転移酵素免疫測定法 (I C T - E I A 法) の概略を表した図である。

40

図 2 は、被験者 A ~ D の腎機能に関して、C K D ステージ分類を行なった図である。被験者 A と B は健常人であり、被験者 C と D では腎機能の低下が予想されている。

図 3 は、被験者 A ~ D の血清サンプルと尿サンプルを用いて、S u p e r d e x カラムにより分子量別に分画し、血中及び尿中アディポネクチン分子存在様式を検討した図である。● : 血中のアディポネクチン濃度 (左軸) 、○ : 透析尿中のアディポネクチン濃度 (右軸) を表わしている。フラクション N o . 4 6 前後のピークは、H M W アディポネクチンであり、フラクション N o . 5 1 前後のピークは、M M W アディポネクチンであり、フラクション N o . 5 8 前後のピークは、L M W アディポネクチンである。また、低分子領域のフラクション N o . 7 8 前後のピークは、単分子アディポネクチンに該当する。

図 4 は、被験者 5 0 名の尿中アディポネクチン濃度 (n g / m g C r) と腎機能指標の

50

e G F R (m L / m i n / 1 . 7 3 m ²) を測定して、その相関関係の有無を評価した図である。尿中のアディポネクチン濃度は、e G F R と負の相関関係を示すことが明らかとなった。

図 5 は、図 4 で得られた評価データを集約し、e G F R の各ステージ (G 1 、 G 2 、 G 3 a) に整理して、各ステージの中での尿中アディポネクチン濃度の平均とバラツキを表わした図である。尿中アディポネクチン濃度は、ステージ G 2 においてステージ G 1 よりも有意に高くなった。

図 6 は、図 5 と同様に図 4 で得られた評価データを集約し、e G F R の各ステージ (G 1 、 G 2 、 G 3 a) に整理して、各ステージの中での尿中アルブミン濃度の平均とバラツキを表わした図である。尿中アルブミン濃度は、ステージ G 3 a においてステージ G 2 よりも有意に高くなった。

図 7 は、上記の e G F R のステージ G 1 における、尿中アディポネクチン濃度と尿中アルブミン濃度の各平均を 1 として、ステージ G 2 と G 3 a の各被験者の尿中アディポネクチン濃度と尿中アルブミン濃度の相対値を算定した。その数値を e G F R の各ステージ毎に表わした図である。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 0 8 】

- 本発明の第一の態様 -

本発明の第一の態様は、免疫複合体転移測定方法 (I C T - E I A 法) で評価された血中と尿中のアディポネクチン濃度の数値を用いて、その比 (尿中のアディポネクチン濃度 / 血中のアディポネクチン濃度) を取ることを特徴とする、腎機能の評価マーカーに関する発明である。

本発明の「免疫複合体転移酵素免疫測定方法 (I C T - E I A 法) 」とは、非競合法 (サンドイッチ) エンザイムイムノアッセイ法 (E I A) の高感度化した改良方法に関するものである (非特許文献 1 参照) 。図 1 に示すように、I C T - E I A 法では、使用する抗体の非特異吸着 (バックグラウンド) を下げることができたので、多くの高分子生理活性物質の a m o l レベル以下 (z m o l) の測定が可能となっている (H a s h i d a S , e t a l . , B i o t e c h n o l o g y A n n u a l R e v i e w V o l . 1 , (1 9 9 5) p p 4 0 3 - 4 5 1 , E l s e v i e r S c i e n c e P u b l i s h e r s B . V . , A m s t e r d a m 参照) 。

本発明の「アディポネクチン」とは、脂肪細胞から分泌されるアディポサイトカインの 1 つで、244 個のアミノ酸からなる蛋白質であり、血中には 3 量体 (L M W : L o w m o l e c u l a r w e i g h t) を基本構造として、6 量体 (M M W : M i d d l e m o l e c u l a r w e i g h t) 、18 量体 (H M W : H i g h m o l e c u l a r w e i g h t) など数種の多量体が存在することが報告されている。その血中濃度は、5 ~ 10 μ g / m L という高濃度で存在しており、抗動脈硬化作用やインスリン抵抗性改善作用などの生理活性を有することが報告されている。さらに近年、これらの生理作用と多量体構造の役割が注目されており、高分子多量体レベルあるいは高分子多量体 / 総量比が、内臓脂肪型肥満や糖尿病、耐糖能、インスリン抵抗性、冠状動脈疾患、メタボリックシンドロームなどの様々な病態、さらに食事療法や手術による減量効果などにおいて、アディポネクチン総量よりもより相関が強いことも示され、アディポネクチンの分子別定量の重要性が示されている。さらに、肥満によるインスリン抵抗性においては、高分子量のアディポネクチンが特に関与することも見い出されている。また、アディポネクチンと腎障害について検討された報告によると、アディポネクチン欠損マウスでは、腎臓のポドサイトの足突起の融合が見られ、アルブミン尿が認められた。そこにアディポネクチンを補充すると、腎臓の病理組織の正常化及びアルブミン尿の改善が見られたという報告があることから、アディポネクチンには腎障害に対して保護的な作用を有する可能性があることが示唆されている (S h a r m a K e t a l : A d i p o n e c t i n r e g u l a t e s a l b u m i n u r i a a n d p o d o c y t e f u n c t i o n i n m i c e . J C l i n I n v e s t 1 1 8 (5) : 1 6 4 5 - 1 6 5 6

10

20

30

40

50

, 2008.)。

なお、ICT-EIA法では、主にHMWアディポネクチンを測定し、一部MMWアディポネクチンと単分子を測定していることが分かった。しかし、大変弱い反応であるが、LMWアディポネクチンも測定していることが分かった。

本発明の「腎機能」とは、腎臓の糸球体の濾過および再吸収機能のことを言う。

本発明の「評価マーカー」とは、尿中のアディポネクチン濃度を血中のアディポネクチン濃度で割った数値であり、例えば健常人の場合には、被験者AとBに見られるように、 0.3×10^{-4} 以下である。一方、早期の腎機能障害（微量アルブミン尿）が示唆される被験者Dでは、 4.0×10^{-4} となっている。このように、本発明の評価マーカーは、10倍以上の数値の相違となっており、区別し易い指標である。更に、この数値に、 10^4 を乗じて、整数として、評価を行い易くすることもできる。

- 本発明の第二の態様 -

本発明の第二の態様は、上記の評価マーカーを使用し、腎機能疾患の進行度評価方法を行なう方法であり、更には、腎機能障害を有する患者に対して、介入療法を行うことを特徴とする、腎機能疾患の予防または治療方法に関する発明である。

本発明の「進行度評価方法」とは、尿中のアディポネクチン濃度 / 血中のアディポネクチンの比の変動を測定することにより、被験者の腎機能疾患の進行状況を的確に評価する方法である。この評価方法により、被験者の腎機能疾患の進行を抑制し改善するための治療剤の投与や生活指導等の介入療法が的確に行なえるようになる。

本発明の「介入療法」とは、プロトコルに基づく生活習慣（食事・身体活動中心）の改善または公知の高脂血症治療剤、糖尿病疾患治療剤の服用を言う。即ち、食事療法や運動療法を生活習慣の中に取り入れ、必要カロリーと消費カロリーのコントロールを行なうものであり、精神的なストレスを軽減するよう指導して、糖尿病性腎疾患の発症にかかわる要因を削除軽減することを行なう。更には、初期症状の腎機能疾患患者に対しては、本発明の評価マーカーの数値を下げるための薬物療法を行なうことを介入療法として含むものである。上記の腎機能疾患の進行度評価方法を用いて、早期の介入療法を開始することにより、例えば糖尿病性腎症などの重症度の腎機能障害への移行を抑制、回避し、症状を改善し、健康な状態に戻すことを言う。

なお、本発明の第二の態様で使用される用語で、第一の態様と共通する用語は同じ意味を表わすものである。そのため、特に言及することをしていない。

【実施例】

【0009】

次に実施例を挙げて本発明を更に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

(実施例1) ICT-EIA法による血中と尿中のアディポネクチン濃度の測定

(1) 試薬

a) 抗原：

標準リコンビナント・ヒト・アディポネクチンはBioVendor Lab Med Inc社 (Palackecko, Czech Republic) より購入した。

b) 抗体：

モノクローナル抗ヒト・アディポネクチン抗体 (BAF1065及びMAB10651) はR&D Systems Inc. (MN, USA) より購入した。

c) 緩衝液：

緩衝液A：0.1M NaCl, 0.01% BSA, 1mM MgCl₂ 及び0.1% NaN₃を含む0.01Mリン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.0)、

緩衝液B：5mM EDTAを含む0.1Mリン酸ナトリウム緩衝液 (pH6.0)、

緩衝液C：0.1M NaCl, 0.1% BSA, 1mM MgCl₂ 及び0.1% NaN₃を含む0.01Mリン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.0)、

緩衝液D：0.4M NaCl, 0.1% BSA, 1mM MgCl₂ 及び0.1% NaN₃を含む0.05Mリン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.0)、

緩衝液 E : 0 . 1 M NaCl を含む 0 . 0 1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7 . 0)

d) 血液サンプル :

被験者の血清サンプルを、12 時間絶食後の早朝空腹時に採血し (N I P R O , 2 2 G ホルダー付 , 大阪)、室温 30 分静置後、遠心分離機 (日立微量高速遠心機 C F 1 6 R X I I , 日立工機 , 東京) で 3 0 0 0 r p m、10 分遠心し、血清を得た。血清は、マイナス 30 で凍結保存した。

e) 尿サンプル :

被験者の早朝第一尿 (10 mL) に 1 / 50 容量の 5 % B S A および 5 % N a N ₃ を加え、透析まで 4 で保存した。24 時間以内に採取した尿を透析した。

透析は、透析用セルロースチューブ (透析膜 U C 8 - 3 2 - 2 5、三光純薬、東京) を用い、緩衝液 (0 . 1 M NaCl を含む 0 . 0 1 M リン酸ナトリウム緩衝液 pH 7 . 0) に対して 1 . 5 mL の上記尿サンプルの透析を行なった。透析後、透析尿の重量を秤量し、希釈倍率による補正を行なった。透析尿は直ちにマイクロチューブ (S a f e - L o c k T u b e s 1 . 5 mL) に分注し、- 20 で凍結保存を行なった。尚、尿中クレアチニン濃度は市販キット (クレアチニン - テストワコー、和光純薬、大阪) により測定した。

(2) 方法

測定方法は、非特許文献 1 に記載の I C T - E I A 法を準用した。即ち、市販 E L I S A K i t に添付されている標準高分子ヒト・アディポネクチン標準液を緩衝液 D で希釈したものを 100 μ L、または尿および血清を緩衝液 D で 40 , 000 倍希釈したものの 100 μ L を用意し、これに酵素標識抗体及び捕捉用標識抗体を緩衝液 D に溶解した混合液 100 μ L を加え、4 16 時間インキュベーションし、酵素標識抗体・アディポネクチン・捕捉用標識抗体の 3 者からなる免疫複合体を形成させた。次いで、この反応液に抗 D N P - I g G 不溶化ポリスチレンビーズ 1 個を加え、0 . 5 時間反応させビーズ上に免疫複合体を捕捉した。このビーズを緩衝液 A (2 mL) で 2 回洗浄後、緩衝液 C に溶解した 2 mM D N P - L y s (150 μ L) と 0 . 5 時間反応させ、ビーズから免疫複合体を溶出させた。抗 D N P - I g G 不溶化ポリスチレンビーズを除去した後、溶出液にストレプトアビジン不溶化ポリスチレンビーズ 1 個を加え、さらに 0 . 5 時間反応させ、第 2 のビーズ上に免疫複合体を転移させた。ビーズとの反応はすべて 25 で 210 回 / 分の振盪下に行った。再びビーズを緩衝液 C (2 mL) で 3 回洗浄後、ビーズ上に転移された β - D - g a l a c t o p y r a n o s i d e (蛍光基質 ; 4 M U G) (400 μ L) を用いて 30 インキュベーションし、0 . 1 M グリシンナトリウム緩衝液 (pH 10 . 5) (2 mL) を加え反応を停止後、蛍光分光光度計 (F - 2500 , 日立) を用い測定した。なお、励起波長 360 nm 蛍光波長 450 nm を用い、蛍光強度は 10^{-8} M 4 M U を 100 として換算した (H a s h i d a S a n d I s h i k a w a E : D e t e c t i o n o f o n e m i l l i a t t o m o l e o f f e r r i t i n b y n o v e l a n d u l t r a s e n s i t i v e e n z y m e i m m u n o a s s a y . J B i o c h e m 108 : 960 - 964 . 1990 .) 。

(3) 測定結果

a) 被験者 :

腎機能指標としての尿中アディポネクチンを評価するために、異なる性、年齢、腎機能を有する対象者を選別し、血中及び尿中アディポネクチンの検討を行った。若い健常な腎機能を有する 20 代女性 A、健常な腎機能を有する 40 代女性 B、年齢と共に腎機能推定指標である e G F R (mL / min / 1 . 73 m²) が低下傾向を見せている 50 代男性 C、e G F R は、C と変わらないが、微量アルブミン尿傾向にあることから、腎系球体の濾過能の低下が示唆される 60 代肥満男性 D を対象者とした。

b) 評価結果 :

まず、一般生化学検査の結果、血中クレアチニン濃度及び年齢と性から e G F R を算出した。その結果を表 1 に示す。被験者 A は、97 . 4 mL / min / 1 . 73 m²、被験者

10

20

30

40

50

Bは、 $107.2 \text{ mL/min/1.73m}^2$ 、被験者Cは、 $48.2 \text{ mL/min/1.73m}^2$ 、被験者Dは、 $50.0 \text{ mL/min/1.73m}^2$ であった。

【表1】

被験者	A	B	C	D
性	female	female	male	male
年齢 (歳)	22	40	58	64
BMI (kg/m^2)	17.2	19.2	22.3	29.6
内臓脂肪断面積 (cm^2)	34.8	56.6	50.4	118.7
HbA1c (%)	4.7	5.2	5.4	6.0
尿中 Albumin ($\mu\text{g/mg Cr}$)	3.88	1.29	4.79	33.6
血清 Creatinine (mg/dL)	0.48	0.44	1.23	1.16
eGFR (mL/min/1.73m^2)	97.4	107.2	48.2	50.0
血清 Adiponectin ($\mu\text{g/mL}$)	21.3	20.7	2.58	14.8
尿中 Adiponectin (ng/mg Cr)	0.56	0.30	2.16	5.93
尿中/血中 Adiponectin 比	0.3×10^{-4}	0.1×10^{-4}	8.4×10^{-4}	4.0×10^{-4}

上記表1のeGFR値から、被験者CとDの腎機能は、図2に示されるように、CKDステージ分類によるとステージ3 ($\text{GFR } 30 \sim 50 \text{ mL/min/1.73m}^2$) のGFR中程度低下に該当する。また、ICT-EIA法による尿中アルブミン濃度では、被験者Aは、 $3.88 \mu\text{g/Cr}$ 、被験者Bは、 $1.29 \mu\text{g/Cr}$ 、被験者Cは、 $4.79 \mu\text{g/Cr}$ 、被験者Dは、 $33.6 \mu\text{g/Cr}$ であった。単回では診断できないが、被験者Dの値は微量アルブミン尿の範囲に該当する。

ICT-EIA法による血中アディポネクチン濃度は、被験者Aにおいて、 $21.3 \mu\text{g/mL}$ と高く、被験者BもAと同様に $20.7 \mu\text{g/mL}$ と高い。しかし被験者Cでは、 $2.58 \mu\text{g/mL}$ と $4 \mu\text{g/mL}$ を下回っていることから、低アディポネクチン血症を示した。被験者Dは、 $14.8 \mu\text{g/mL}$ と性別や年齢、基礎疾患があり、運動習慣が

ないにも関わらず高値を示していた。

血液と同様に測定した尿中アディポネクチン濃度は、被験者 A において、 0.56 ng / mg Cr であり、被験者 B は、 0.30 ng / mg Cr であった。また、被験者 C の尿中アディポネクチン濃度は、 2.16 ng / mg Cr と被験者 A や B よりも高く、被験者 D も同様に 5.93 ng / mg Cr と高値を示した。

次に血中のアディポネクチン濃度に対して尿中に濾出されるアディポネクチン濃度の比を求めたところ、被験者 A は、 0.3×10^{-4} 、B で 0.1×10^{-4} に対し、被験者 C と D は、 8.4×10^{-4} と 4.0×10^{-4} であり、数十倍高い値を示した。このように、図 2 で示される被験者の腎機能のステージが、本発明の評価マーカー（尿中 / 血中アディポネクチン比）で明確に区別でき、被験者 D のように微量アルブミン尿の範囲に該当する対象者であっても、この評価マーカーを使用することで早期診断ができ、早期介入療法を開始できることになった。

（実施例 2）被験者 A ~ D の血液及び尿におけるアディポネクチンの存在様式の検討

Superdex 200 を用いた分子ふるいカラムにより、希釈した被験者 A ~ D の血清及び尿を分子量別に分画し、その分画を I C T - E I A 法により測定を行った。その結果、血清中の各対象者のアディポネクチン存在様式は、これまでの血中様式と同様に H M W アディポネクチンと M M W アディポネクチンがほとんどであることが分かった。

a) 尿中のアディポネクチンの存在様式：

尿中のアディポネクチンは、以下の表 2 に示すように、腎機能が正常な被験者 A、B では、絶対量としてはかなり少ないが、これまでと同様に H M W、M M W、L M W 及び単分子アディポネクチンが検出された。

【表 2】

	HMW アディポネクチン / total (%)	MMW アディポネクチン / total (%)	LMW アディポネクチン / total (%)	Mono アディポネクチン / total (%)
A	22.8	9.2	33.1	34.9
B	18.0	8.2	23.4	50.4
C	0.0	13.7	73.0	13.3
D	9.8	16.6	58.4	15.2

上記表 2 に示すように、特に被験者 A、B においては、相対的に単分子アディポネクチンが多いことが分かった。一方、腎機能低下者である被験者 C、D では共通して L M W アディポネクチンのピークが大半を占めていることが分かった。また、被験者 C においては、H M W アディポネクチンは検出されなかった。

b) 血中のアディポネクチンの存在様式：

被験者 A ~ D の血清中のアディポネクチン存在様式は、図 3 (●) に示されるように、H M W アディポネクチンと M M W アディポネクチンがほとんどであることが分かった。尿中のアディポネクチンの存在様式が顕著に異なることが示されている。従って、この尿中と血中の H M W アディポネクチンの濃度を測定し、比（尿中アディポネクチン濃度 / 血中アディポネクチン濃度）を取れば、より顕著な指標として、腎機能障害の初期症状を評価できることになる。

（実施例 3）腎機能の指標 e G F R に対する尿中のアディポネクチン値とアルブミン値の相関性の評価

a) e G F R に対する相関性：

健康診断において被験者 70 名から採取した尿中のアディポネクチン濃度（ ng / mg Cr ）とアルブミン濃度（ $\mu\text{g / mg Cre}$ ）を実施例 1 に準じて測定した。また、同時

に被験者の血中クレアチニン濃度及び年齢と性から e G F R を算出した。

その結果、尿中のアルブミン濃度と e G F R の間に有意な相関関係は認められなかったが、尿中のアディポネクチン濃度と e G F R の間には、図 4 に示されるように、有意な負の相関関係が認められた。なお、血中のアディポネクチン濃度 ($\mu\text{g} / \text{mL}$) と e G F R の間には、有意な相関関係は見出せなかった。

b) e G F R の各ステージ (G 1、G 2、G 3 a) に対する相関性 :

前項の被験者 70 名の e G F R 値から、図 2 に示される各ステージに被験者を分類した。

ステージ G 1 (90 以上)、ステージ G 2 (60 ~ 89)、ステージ G 3 a (45 ~ 59) に分類される対象者の尿中アディポネクチン濃度 ($\text{ng} / \text{mg Cr}$) と尿中アルブミン濃度 ($\mu\text{g} / \text{mg Cre}$) をまとめた。

その結果を図 5 と 6 に示した。上記各ステージ間における尿中アディポネクチン濃度および尿中アルブミン濃度を比較すると、尿中アディポネクチン濃度は G 2 期において G 1 期より有意に高値を示した。一方、尿中アルブミン濃度は G 3 a 期において G 2 期より有意に高値を示した。

以上の結果は、尿中アディポネクチン濃度は尿中アルブミン濃度より腎障害予知マーカーとしての有用であることを示している。

c) e G F R の各ステージにおける尿中アディポネクチン濃度と尿中アルブミン濃度の相対値 :

e G F R のステージ G 1 の被験者の尿中アディポネクチン濃度と尿中アルブミン濃度の中央値をそれぞれ 1 とする。次に、ステージ G 2 とステージ G 3 a の被験者の尿中アディポネクチン濃度と尿中アルブミン濃度がそれぞれ何倍になっているかを算定した。

その結果を図 7 に示した。即ち、ステージ G 2 において、尿中アディポネクチン相対値が尿中アルブミン相対値に比べ、有意に高値を示した。

以上の結果は、腎障害予知マーカーとして、尿中アディポネクチン相対値の有用性を示している。

【産業上の利用可能性】

【0010】

本発明の腎機能障害の評価マーカーとその評価方法は、採取された尿中に存在するアディポネクチン濃度および同時に採取された血液の中に存在するアディポネクチン濃度との比を評価マーカーの数値とするものであり、得られた評価マーカーの数値から、腎臓の初期機能障害の状況を早期に把握することが可能になった。また、本発明の評価方法を用いて、健康診断への応用と介入療法と組み合わせての医療システムの構築が可能となる。

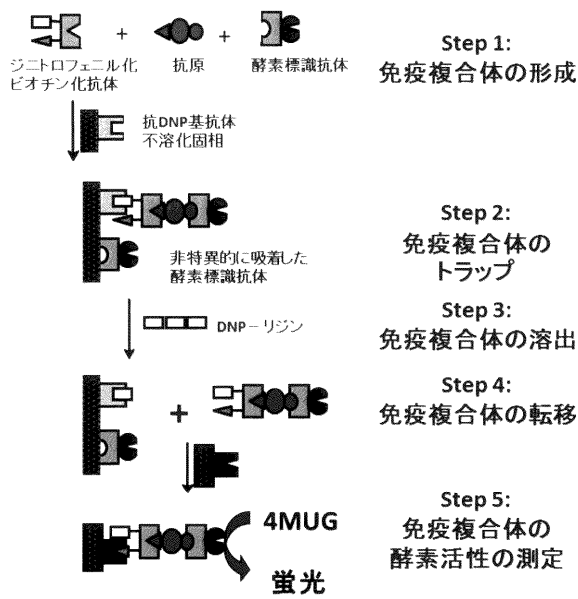
10

20

30

【図 1】

図 1



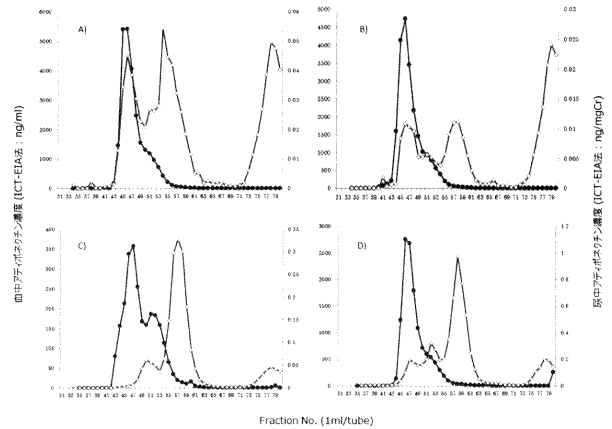
【図 2】

図 2

		アルブミン尿期(mg/g)				
		A1	A2	A3		
		optimal and high-normal	high	very high and nephrotic		
		<10	10~29	30~299	300~1999	≥2000
GFR	ステージ					
G1	high and optimal	>105				
		90~104				
G2	mild	75~89				
		60~74				
G3a	mild-moderate	45~59				
G3b	moderate-severe	30~44				
G4	severe	15~29				
G5	腎不全	<15				

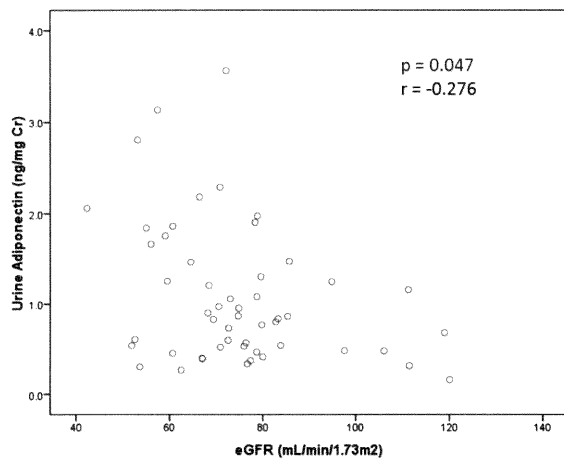
【図 3】

図 3



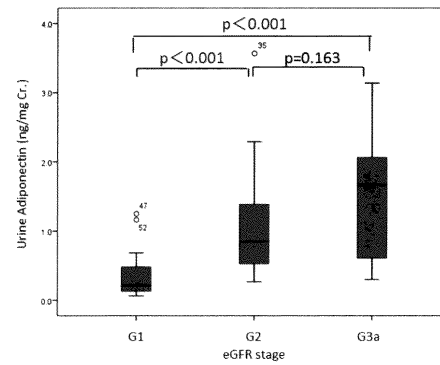
【図 4】

図 4



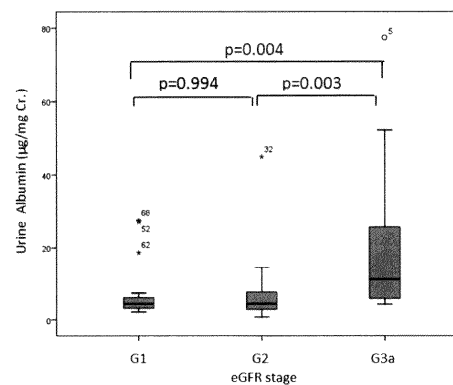
【図 5】

図 5



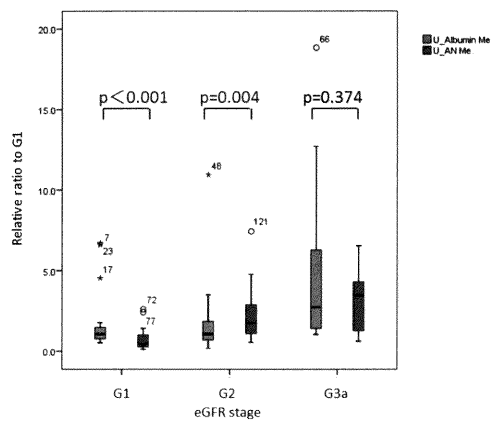
【図 6】

図 6



【 図 7 】

図 7



【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成28年3月9日 (2016.3.9)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】 特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】 全文

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

【 請求項 1 】

免疫複合体転移測定方法（ICT-EIA法）で測定された尿中のアディポネクチン濃度の測定値を血中のアディポネクチン濃度で除した数値であることを特徴とする、腎機能の評価マーカー。

【 請求項 2 】

上記アディポネクチン濃度が、高分子量（HMW）アディポネクチン濃度である、請求項 1 に記載の腎機能の評価マーカー。

【 請求項 3 】

請求項 1 または 2 の数値に 10^4 を乗じた数値であることを特徴とする、請求項 1 または 2 の腎機能の評価マーカー。

【 請求項 4 】

請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の評価マーカーを使用することを特徴とする、腎機能疾患の進行度の評価の補助方法。

【 請求項 5 】

腎機能疾患が糖尿病性腎症であることを特徴とする、請求項 4 に記載の腎機能疾患の進行度の評価の補助方法。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/060256

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/543(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61P3/10(2006.01)i, A61P13/12(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N33/543, A61K45/00, A61P3/10, A61P13/12, G01N33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2013
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Naoki KANEMATSU et al., "Development of a novel highly sensitive immunoassay for adiponectin using dried blood on filter paper disc and application to assess changes in adiponectin due to exercise / tea-catechin intake", Technical bulletin of Tokushima Bunri University, 2009, no.78, pages 7 to 23, fig. 1	1-3
A	Asako UMEHARA, Mayumi YAMAMOTO, Kanako HIRABE, Seiichi HASHIDA, "Nyochu Adiponectin Sokuteiho no Kaihatsu to Jinkino Hyoka eno Oyo", Eiyogaku Zasshi, 10 September 2010 (10.09.2010), vol.68, no.5, supplement page 223	1-3

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family 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 application or patent 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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
24 June, 2013 (24.06.13)Date of mailing of the international search report
09 July, 2013 (09.07.13)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/060256

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2009-234946 A (Daiichi Sankyo Co., Ltd.), 15 October 2009 (15.10.2009), entire text (Family: none)	1-3
A	Kazunari HANAOKA, "Shinkosei Jinshogai ni Kansuru Chosa Kenkyu Noho Jinkanja ni Okeru Kobunshi Adiponectin no Sokutei", Shinkosei Jinshogai ni Kansuru Chosa Kenkyu Heisei 17 Nendo Sokatsu Buntan Kenkyu Hokokusho, 2006, pages 161 to 163	1-3
A	Takuma NARITA et al., "Hito no Shikyutainaiatsu Josho o Kenshutsu suru Atarashii Hoho no Donyu ni yoru Tonyobyosei Jinsho Gokusoki Byohen no Byotai Kaiseki to sono Hassho Shinten Boshi ni Kansuru Rinsho Kenkyu", Akita Igaku, 2005, vol.32, no.2, pages 89 to 93, 3. Rinsho Oyo	1-3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/060256

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 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.: 4-8
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 4 to 8 pertain to diagnostic, prophylactic or therapeutic methods for a human being and thus relate to a subject matter on which this International Searching Authority is not required to carry out a search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
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 No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
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 and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 3 / 0 6 0 2 5 6	
A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） Int.Cl. G01N33/543(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61P3/10(2006.01)i, A61P13/12(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） Int.Cl. G01N33/543, A61K45/00, A61P3/10, A61P13/12, G01N33/53			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2013年 日本国実用新案登録公報 1996-2013年 日本国登録実用新案公報 1994-2013年			
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	
A	兼松直毅等, 高感度アディポネクチン測定法の開発とその運動・栄養指導への応用, 徳島文理大学研究紀要, 2009, No. 78, Page. 7-23, 図 1	1-3	
A	梅原麻子、山本真弓、平部香菜子、橋田誠一, 尿中アディポネクチン測定法の開発と腎機能評価への応用, 栄養学雑誌, 2010. 09. 10, Vol. 68, No. 5, Supplement Page. 223	1-3	
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 24.06.2013		国際調査報告の発送日 09.07.2013	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（ISA/J P） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官（権限のある職員） 草川 貴史 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	2 J 4 0 7 5

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 3 / 0 6 0 2 5 6
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2009-234946 A (第一三共株式会社) 2009.10.15, 全文等参照 (ファミリーなし)	1-3
A	花岡一成, 進行性腎障害に関する調査研究 嚢胞腎患者における高分子アディポネクチンの測定, 進行性腎障害に関する調査研究 平成17年度総括・分担研究報告書, 2006, Page. 161-163	1-3
A	成田琢磨等, 人の糸球体内圧上昇を検出する新しい方法の導入による糖尿病性腎症極早期病変の病態解析とその発症進展防止に関する臨床研究, 秋田医学, 2005, Vol. 32, No. 2, Page. 89-93, 3. 臨床応用	1-3

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 3 / 0 6 0 2 5 6

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求項 4-8 は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求項4-8は、ヒトの身体の診断、予防または治療方法に係るものであるから、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

様式PCT/ISA/210（第1ページの続葉（2））（2009年7月）

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(72)発明者 山本 真弓

徳島県徳島市山城町3丁目60番地1 フレンズヒル401

Fターム(参考) 4C084 AA17 NA14 ZA811 ZC351

(注) この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	早期肾功能衰竭的评估标志物及其测量方法		
公开(公告)号	JPWO2014034168A1	公开(公告)日	2016-08-08
申请号	JP2014532822	申请日	2013-03-27
[标]申请(专利权)人(译)	希森美康株式会社		
申请(专利权)人(译)	希森美康公司		
[标]发明人	橋田誠一 山本真弓		
发明人	橋田 誠一 山本 真弓		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/53 A61P13/12 A61P3/10 A61K45/00		
CPC分类号	G01N33/74 G01N2333/575 G01N2800/347 A61P13/12		
FI分类号	G01N33/543.555.L G01N33/53.D A61P13/12 A61P3/10 A61K45/00		
F-TERM分类号	4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZA811 4C084/ZC351		
代理人(译)	清稻本潤一		
优先权	2012204969 2012-08-30 JP		
其他公开文献	JP6062439B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明的目的是提供用于肾功能疾病的早期症状的早期诊断标志物和评估该标志物的方法。特别地，本发明的目的是提供一种能够准确地诊断糖尿病性肾病的初始症状的评估标志物及其评估方法。为了解决上述问题，本发明人通过将尿液和血液中脂连蛋白浓度的比率作为评价指标，使用了免疫复合物转移酶免疫测定法（ICT-EIA法）。，发现可以更准确地评估肾功能。结果，可以准确地掌握肾功能不全的进展和介入治疗的效果。

(19) 日本国特許庁 (JP)	再 公 表 特 許 (A1)	(11) 国際公開番号 WO2014/034168
発行日 平成28年8月8日 (2016. 8. 8)	(43) 国際公開日 平成26年3月6日 (2014. 3. 6)	
(51) Int. Cl. G 0 1 N 33/543 (2006.01) G 0 1 N 33/53 (2006.01) A 6 1 P 13/12 (2006.01) A 6 1 P 3/10 (2006.01) A 6 1 K 45/00 (2006.01)	F I G O 1 N 33/543 G O 1 N 33/53 A G 1 P 13/12 A G 1 P 3/10 A G 1 K 45/00	5 5 5 L D テーマコード (参考) 4 C 0 8 4
出願番号 特願2014-532822 (P2014-532822)	(71) 出願人 390014960	審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 19 頁)
(21) 国際出願番号 PCT/JP2013/060256	シスメックス株式会社	
(22) 国際出願日 平成25年3月27日 (2013. 3. 27)	兵庫県神戸市中央区臨海岸通1丁目5番1号	
(31) 優先権主張番号 特願2012-204969 (P2012-204969)	(74) 代理人 100065248	
(32) 優先日 平成24年8月30日 (2012. 8. 30)	弁理士 野河 信太郎	
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	100159385	
	弁理士 甲斐 伸二	
	100163407	
	弁理士 金子 裕晴	
	100166936	
	弁理士 榎本 潔	
	(72) 発明者 橋田 誠一	
	徳島県徳島市南二軒屋町2丁目1-18	
	シメトリ-301	
	最終頁に続く	
(54) 【発明の名称】 早期腎障害の評価マーカーとその測定方法		