

(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2018-28448

(P2018-28448A)

(43) 公開日 平成30年2月22日(2018.2.22)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 V	
GO 1 N 33/573 (2006.01)	GO 1 N 33/573 A	

審査請求 未請求 請求項の数 9 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願2016-159404 (P2016-159404)	(71) 出願人	000003300
(22) 出願日	平成28年8月16日 (2016.8.16)		東ソー株式会社
			山口県周南市開成町4560番地
(出願人による申告) 国等の委託研究の成果に係る特許出願 (平成27年度 国立研究開発法人日本医療研究開発機構の革新的先端研究開発支援事業、ユニットタイプ「疾患における代謝産物の解析および代謝制御に基づく革新的医療基盤技術の創出」、産業技術力強化法第19条の適用を受けるもの)		(71) 出願人	504137912
			国立大学法人 東京大学
			東京都文京区本郷七丁目3番1号
		(72) 発明者	矢富 裕
			東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内
		(72) 発明者	蔵野 信
			東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内
		(72) 発明者	野尻 卓宏
			東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内

最終頁に続く

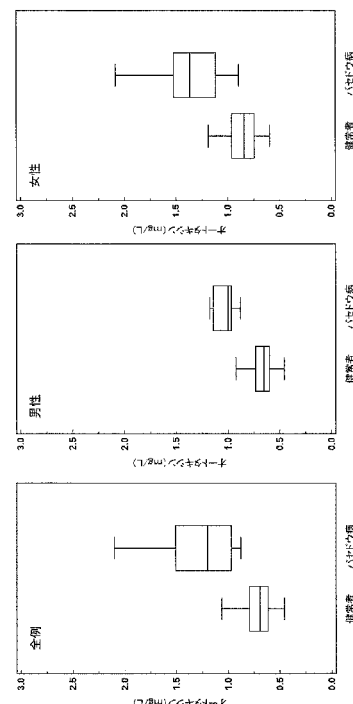
(54) 【発明の名称】 オートタキシン測定による甲状腺疾患の検出方法及び検出試薬

(57) 【要約】

【課題】 オートタキシン濃度を測定することにより、甲状腺疾患を検出する方法を提供する。

【解決手段】 ヒト検体中のオートタキシン (例えば、(i) オートタキシンアイソフォーム 、 、 、 および 、 (ii) オートタキシンアイソフォーム 、 および 、 又は (iii) オートタキシンアイソフォーム および) を測定することを特徴とする、甲状腺疾患 (好ましくは甲状腺機能亢進症、更に好ましくはバセドウ病) の検出方法。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

ヒト検体中のオートタキシンを測定することを特徴とする、甲状腺疾患の検出方法。

【請求項 2】

オートタキシンが、オートタキシンアイソフォーム、およびである、請求項 1 に記載の検出方法。

【請求項 3】

オートタキシンが、オートタキシンアイソフォーム、およびである、請求項 1 に記載の検出方法。

【請求項 4】

オートタキシンが、オートタキシンアイソフォーム および である、請求項 1 に記載の検出方法。

【請求項 5】

甲状腺疾患が甲状腺機能亢進症である、請求項 1 ～ 4 いずれかに記載の検出方法。

【請求項 6】

甲状腺機能亢進症がバセドウ病である、請求項 5 に記載の検出方法。

【請求項 7】

検体が血液成分である、請求項 1 ～ 6 いずれかに記載の検出方法。

【請求項 8】

オートタキシンを、オートタキシンを認識する抗体を用いた免疫化学的方法により測定する、請求項 1 ～ 7 いずれかに記載の検出方法。

【請求項 9】

オートタキシンを認識する抗体を含有することを特徴とする、甲状腺疾患検出試薬。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明はヒト検体中のオートタキシン濃度を測定することによる甲状腺疾患の検出方法および検出試薬に関する。

【背景技術】**【0002】**

甲状腺機能亢進症の診断、管理は、甲状腺ホルモン、甲状腺ホルモンによりネガティブフィードバックを受ける甲状腺刺激ホルモンが使われているが、甲状腺ホルモンは個々の患者により至適甲状腺ホルモン値が異なり、わずかに基準範囲を超えていたとしても問題がないことがあり、また逆に基準範囲内に収まっていたとしても甲状腺ホルモンが該当患者にとって至適であるかどうかについては判断しにくいこともある。そのため、甲状腺ホルモンによりネガティブフィードバックを受ける甲状腺刺激ホルモンも同時に測定することが多いが、甲状腺刺激ホルモンは、甲状腺ホルモンの作用から 2 週間ほどのタイムラグがあり、甲状腺機能をリアルタイムに反映しないという問題がある。そのため、甲状腺機能の補助的検査項目として、甲状腺ホルモンの状態を反映するアルカリホスファターゼや総コレステロールが利用されることがあるが、これらの検査項目は生活習慣など他の要因により大きく変動するため、甲状腺ホルモンの補助的検査項目としては限界がある。

【0003】

また、臨床現場では、甲状腺ホルモンは、脂質異常症、低脂血症、動悸、ふるえなどありふれた健診結果異常、患者からの訴えにより検査する項目であり、健常人でも基準範囲から逸脱する例は多い。従って、バセドウ病に代表される甲状腺機能亢進症と基準範囲を逸脱している健常者とを診断可能な検査法が切望されている。

【0004】

ヒトオートタキシンは、1992 年 M. L. Stracke らによって A2058 ヒト黒色腫細胞培養培地から細胞運動性を惹起する物質として単離された分子量約 125 KDa の糖蛋白質である（非特許文献 1）。オートタキシンはそのリゾホスホリパーゼ D 活性

10

20

30

40

50

によりリゾホスファチジルコリンを基質としリゾホスファチジン酸（LPA）を産生する酵素であることが知られている。

【0005】

血清中のオートタキシン濃度が変動する疾患の報告は複数あるが、代表的な報告として産生亢進による悪性リンパ腫（非特許文献2）、妊娠（非特許文献3）、代謝不良による慢性肝疾患（非特許文献4）が知られている。また、一部の膵臓癌患者での濃度上昇（特許文献1）、ステロイド経口服用による濃度低下（非特許文献5）も報告されている。

【0006】

オートタキシンは人において現在までに主要な5種類のアイソフォーム（ 、 、 、 、 ）が報告されている（非特許文献6、7）。また3種類のオートタキシン測定系が報告されている。具体的にはオートタキシン総量（オートタキシンアイソフォーム 、 、 、 及び ）を測定する試薬（特許文献1）、オートタキシンアイソフォーム 、 および を測定する試薬（特許文献2）、オートタキシンアイソフォーム および を測定する試薬（特許文献3）である。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【特許文献1】特許第5307543号公報

【特許文献2】特許第5864918号公報

【特許文献3】特開2014-125481号公報

20

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】J. Biol. Chem. 1992; 267: 2524 - 2529

【非特許文献2】Br. J. Haematol. 2008; 143: 60 - 70

【非特許文献3】Clin. Chim. Acta 2011; 412: 1944 - 1950

【非特許文献4】Clin. Chim. Acta 2011; 412: 1201 - 1206

【非特許文献5】Clin. Chim. Acta 2013; 415: 74 - 80

30

【非特許文献6】J. Biol. Chem.、283、7776、2008

【非特許文献7】J. Biochem.、151、89 - 97、2012

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

これまでにオートタキシンの血液中の濃度が様々な疾病により変動することが報告されているが、甲状腺疾患との関連性に関しては報告がなかった。本発明の目的はオートタキシン濃度を測定することにより、甲状腺疾患を検出する方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0010】

40

本発明者らは、様々な内分泌疾患患者の血液中のオートタキシン濃度を測定し、鋭意検討を重ねた結果、甲状腺疾患において血液中のオートタキシン濃度が変動することを見だし、本発明に到達した。即ち本発明は下記の発明を包含する：

（1）ヒト検体中のオートタキシンを測定することを特徴とする、甲状腺疾患の検出方法。

（2）オートタキシンがオートタキシンアイソフォーム 、 、 および である、（1）に記載の検出方法。

（3）オートタキシンがオートタキシンアイソフォーム 、 および である、（1）に記載の検出方法。

（4）オートタキシンがオートタキシンアイソフォーム および である、（1）に記載

50

の検出方法。

(5) 甲状腺疾患が甲状腺機能亢進症である、(1)～(4)いずれかに記載の検出方法。

(6) 甲状腺機能亢進症がバセドウ病である、(5)に記載の検出方法。

(7) 検体が血液成分である、(1)～(6)いずれかに記載の検出方法。

(8) オートタキシンを、オートタキシンを認識する抗体を用いた免疫化学的方法により測定する、(1)～(7)いずれかに記載の検出方法。

(9) オートタキシンを認識する抗体を含有することを特徴とする、甲状腺疾患検出試薬。

【発明の効果】

【0011】

本発明によれば、ヒト検体中のオートタキシンを測定することにより甲状腺疾患を検出することが可能である。特許文献1～3に記載の免疫学的定量試薬を用い測定を実施すれば、検体中に含まれる内在性の測定妨害因子や競合酵素の影響を受けることなく、かつ短時間でヒトオートタキシンを定量可能であり、小規模医療施設においても簡便、低コストで診断可能な甲状腺疾患検出試薬を提供することが可能である。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】図左から全例、男性、女性の健常者とバセドウ病でのオートタキシン(tATX)測定値の分布を示す。箱ひげ図の表示は典型的表記であり、具体的には中央の箱は25 - 75パーセンタイルと中央値を示しており、上限下限の各棒線は75および25パーセンタイル値の1.5倍以上のデータを除く最大値、最小値を示している。

【図2】図左から全例、男性、女性の健常者とバセドウ病でのオートタキシン(cATX)測定値の分布を箱ひげ図で示す。箱ひげ図の表示は図1と同様である。

【図3】図左から全例、男性、女性の健常者とバセドウ病でのオートタキシン(nATX)測定値の分布を箱ひげ図で示す。箱ひげ図の表示は図1と同様である。

【発明を実施するための形態】

【0013】

本発明において用いられる検体には特に限定はないが、血液成分等をあげることができ、その中でも全血、血球、血漿などが好ましく、血清、血漿が更に好ましい。

【0014】

測定対象のオートタキシンにも特に限定はないが、オートタキシン総量(オートタキシンアイソフォーム、およびの合計量)、オートタキシンアイソフォーム、およびの合計量、又はオートタキシンアイソフォームおよびの合計量などが例示される。

【0015】

検出される甲状腺疾患としては、例えば甲状腺機能亢進症があげられ、その中でもバセドウ病があげられる。

【0016】

本発明においてオートタキシンを測定する方法には特に限定はないが、例えばオートタキシンを認識する抗体を用いた免疫化学的方法があげられる。より具体的には、オートタキシンを認識する抗体を含有する甲状腺疾患検出試薬を用いて行うことができる。このとき、例えば測定対象のオートタキシンを認識する固相化抗体と、それとは異なる部位で測定対象のオートタキシンを認識する標識化抗体とを含む甲状腺疾患検出試薬を用いて、サンドイッチ法により行うことができる。例えば、オートタキシンアイソフォーム、およびの総量を測定するには特許文献1の実施例16に記載の試薬を、またオートタキシンアイソフォーム、およびの合計量を測定するには特許文献2実施例8に記載の試薬を、さらにオートタキシンアイソフォームおよびの合計量を測定するには特許文献3実施例8に記載の試薬を、それぞれあげることができる。

【実施例】

【 0 0 1 7 】

以下に実施例を示すが、本発明は実施例に記載された例に限られるものではない。以下の実験を行うに当たっては、各施設の研究倫理委員会での承認のもと実施した。オートタキシン濃度測定は、自動免疫測定装置 A I A シリーズ（東ソー社製）を用い実施した。

【 0 0 1 8 】

実施例 1：患者背景とオートタキシン濃度の測定

対象者の例数ならびに年齢を表 1 に示す。対象者の血清を用い、特許文献 1 実施例 1 6、特許文献 2 実施例 8、及び特許文献 3 実施例 8 に記載の試薬を用いてオートタキシン濃度を測定した。なおオートタキシン総量（アイソフォーム、
、及びの合計量）を t A T X（total Autotaxin）、オートタキシンアイソフォーム、
、及びの合計量を c A T X（classical Autotaxin）、オートタキシンアイソフォーム、及びの合計量を n A T X（novel Autotaxin）と略す。各群の t A T X、c A T X、n A T X の測定濃度一覧を表 2 に示す。

10

【 0 0 1 9 】

【表 1】

	性別	例数	年齢 (平均±標準偏差)
健常者	男性	168	46.5±8.5
	女性	69	38.8±12.3
	全例	237	44.3±10.3
バセドウ病	男性	7	40.1± 17.2
	女性	19	43.9± 16.9
	全例	26	42.9±16.7

20

【 0 0 2 0 】

【表 2】

	性別	tATX (平均±標準偏差)	cATX (平均±標準偏差)	nATX (平均±標準偏差)
健常者	男性	0.668±0.103	0.434±0.091	0.225±0.052
	女性	0.868±0.159	0.553±0.124	0.297±0.071
	全例	0.726± 0.152	0.469±0.115	0.246±0.067
バセドウ病	男性	1.164±0.424	0.750±0.299	0.369±0.132
	女性	1.345±0.326	0.878±0.228	0.406±0.131
	全例	1.301±0.353	0.847±0.248	0.397±0.130

30

実施例 2：健常者とバセドウ病のオートタキシン濃度比較

40

実施例 1 で測定した健常者 2 3 7 例（男性 1 6 8 名、女性 6 9 名）とバセドウ病患者 2 6 例（男性 7 例、女性 1 9 例）のオートタキシン測定値を比較した。t A T X、c A T X、n A T X それぞれの比較結果は図 1、図 2、図 3 に示す通りであり、健常者群とバセドウ病群の間において、表 3 に示す通り男性、女性、全例いずれにおいても有意差が確認された。

【 0 0 2 1 】

【表 3】

	性別	P*
tATX	男性	P < 0.0001
	女性	P < 0.0001
	全例	P < 0.0001
cATX	男性	P = 0.0010
	女性	P < 0.0001
	全例	P < 0.0001
nATX	男性	P = 0.0001
	女性	P = 0.0001
	全例	P < 0.0001

10

* : Mann-whitney test

実施例 3 : バセドウ病診断能の検証

実施例 1 の測定値を用いて R O C 解析を行った。R O C 解析から得られた診断効率を示す数値を表 4 に示す。特に t A T X においては曲線下面積が男性、女性、全例いずれにおいても 0 . 9 3 1 以上を示しかつ感度、特異度共に良好な結果を示した。

20

【 0 0 2 2 】

【表 4】

	性別	AUC (95%信頼区間)	感度 (95%信頼区間)	特異度 (95%信頼区間)
tATX	男性	0.991 (0.962 - 0.999)	100.0 (58.9 - 100.0)	98.2 (94.9 - 99.6)
	女性	0.931 (0.856 - 0.974)	73.7 (48.8 - 90.8)	97.1 (89.9 - 99.6)
	全例	0.968 (0.938 - 0.985)	100.0 (86.7 - 100.0)	88.2 (83.4 - 92.0)
cATX	男性	0.866 (0.807 - 0.913)	85.7 (42.2 - 97.6)	98.8 (95.8 - 99.8)
	女性	0.909 (0.828 - 0.960)	94.7 (73.9 - 99.1)	72.5 (60.4 - 82.5)
	全例	0.931 (0.894 - 0.959)	92.3 (74.8 - 98.8)	90.3 (85.8 - 93.7)
nATX	男性	0.933 (0.885 - 0.965)	100.0 (58.9 - 100.0)	85.7 (79.5 - 90.6)
	女性	0.799 (0.700 - 0.877)	73.7 (48.8 - 90.8)	81.2 (69.9 - 89.6)
	全例	0.896 (0.853 - 0.930)	100.0 (86.7 - 100.0)	62.9 (56.4 - 69.0)

30

40

実施例 4 : 各種パラメーターとの相関性の検証

実施例 1 のバセドウ病患者のオートタキシン測定値ならびに甲状腺疾患に関連する各種パラメーターとの相関性を検証した。表 5 に示す。一部、欠損値があるため使用した測定例数を表中に示している。その結果、F T 4 ならびに中性脂肪に対して弱い相関性が認められた。

50

【 0 0 2 3 】

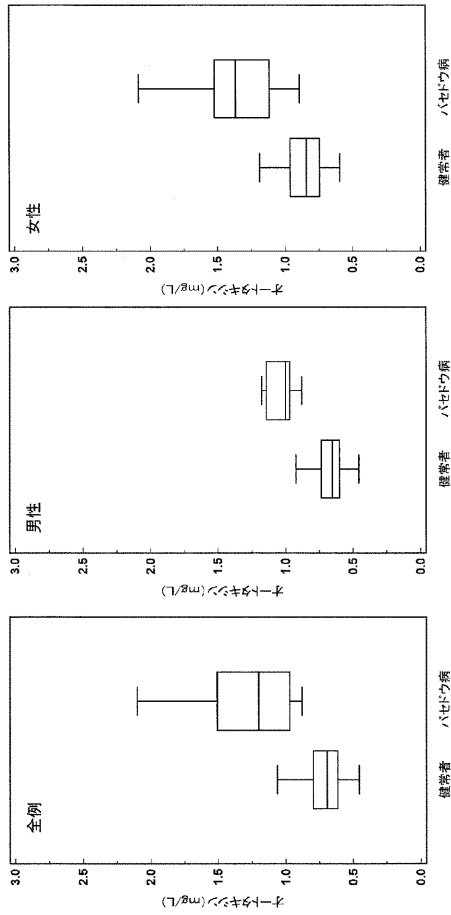
【 表 5 】

		例数	Spearman's rho	P
tATX	FT3	21	0.364	P=0.1038
	FT4	24	0.450	P=0.0244
	TRAb	24	0.0926	P=0.6569
	Triglyceride	26	-0.448	P=0.0249
	Total cholesterol	26	-0.139	P=0.4863
	LDL-cholesterol	26	-0.195	P=0.3295
	HDL-cholesterol	26	0.198	P=0.3231
cATX	FT3	21	0.291	P=0.1930
	FT4	26	0.401	P=0.0451
	TRAb	24	0.158	P=0.4476
	Triglyceride	26	-0.328	P=0.1005
	Total cholesterol	26	-0.0934	P=0.6404
	LDL-cholesterol	26	-0.216	P=0.2809
	HDL-cholesterol	26	0.143	P=0.4736
nATX	FT3	21	0.340	P=0.1284
	FT4	26	0.434	P=0.0300
	TRAb	24	0.126	P=0.5458
	Triglyceride	26	-0.482	P=0.0159
	Total cholesterol	26	-0.198	P=0.3218
	LDL-cholesterol	26	-0.222	P=0.2674
	HDL-cholesterol	26	0.152	P=0.4487

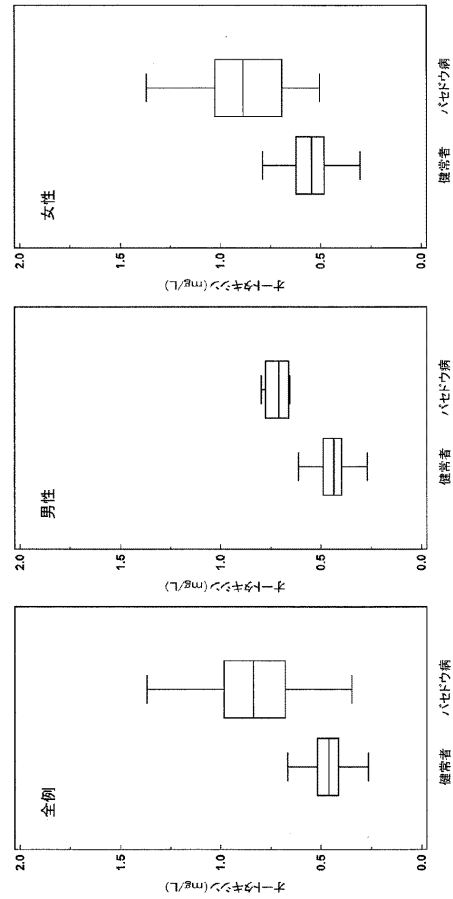
10

20

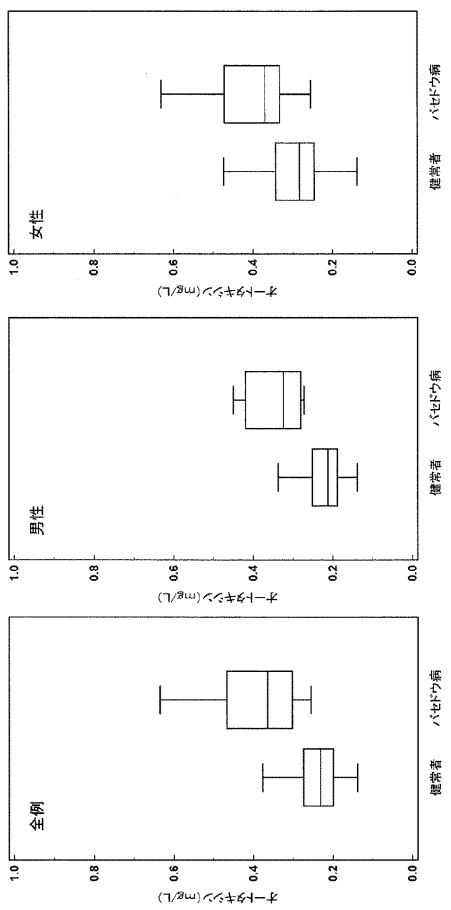
【図 1】



【図 2】



【図 3】



フロントページの続き

(72)発明者 五十嵐 浩二

神奈川県綾瀬市早川 2 7 4 3 番地 1 東ソー株式会社 東京研究センター内

(72)発明者 島本 怜史

神奈川県綾瀬市早川 2 7 4 3 番地 1 東ソー株式会社 東京研究センター内

专利名称(译)	通过检测自分泌运动因子和检测试剂检测甲状腺疾病的方法		
公开(公告)号	JP2018028448A	公开(公告)日	2018-02-22
申请号	JP2016159404	申请日	2016-08-16
[标]申请(专利权)人(译)	东曹株式会社 国立大学法人 东京大学		
申请(专利权)人(译)	Tosoh公司 东京大学		
[标]发明人	矢富裕 蔵野信 野尻卓宏 五十嵐浩二 島本怜史		
发明人	矢富 裕 蔵野 信 野尻 卓宏 五十嵐 浩二 島本 怜史		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/573		
FI分类号	G01N33/53.V G01N33/573.A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种通过测量自分泌运动因子浓度来检测甲状腺疾病的方法。 解决方案：人体标本中的自分泌运动因子（例如，（i）自分泌运动因子异构体 α ， β ， γ ， δ 和 ϵ ，（ii）自分泌运动因子同种型 α ， β 和 γ ，或（iii）自分泌运动因子异构体检测甲状腺疾病（优选甲亢，更优选格雷夫斯病）的方法，其特征在于测量 δ 和 ϵ ）。 点域1

