(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2017 年 1 月 5 日(05.01.2017)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2017/002751 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 33/50 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2016/068982

(22) 国際出願日: 2016 年 6 月 27 日(27.06.2016)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2015-130037 2015 年 6 月 29 日(29.06.2015) JP

(71) 出願人: 富士レビオ株式会社(FUJIREBIO INC.) [JP/JP]; 〒1630410 東京都新宿区西新宿二丁目１番１号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: イバネズ　有希奈(IBANEZ, Yukina); 〒1630410 東京都新宿区西新宿二丁目１番１号 富士レビオ株式会社内 Tokyo (JP). ▲梅▼田　和之(UMEDA, Kazuyuki); 〒1630410 東京都新宿区西新宿二丁目１番１号　富士レビオ株式会社内 Tokyo (JP). 北村　由之(KITAMURA, Yoshiyuki); 〒1630410 東京都新宿区西新宿二丁目１番１号 富士レビオ株式会社内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人谷川国際特許事務所 (TANIGAWA AND PARTNERS, PATENT FIRM); 〒1020072 東京都千代田区飯田橋一丁目７番１０号山京別館８０１ Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

WO 2017/002751 A1

(54) **Title**: STANDARD THYROID GLAND HORMONE SOLUTION

(54) 発明の名称 : 甲状腺ホルモン類標準液

(57) **Abstract**: Disclosed are a standard thyroid gland hormone solution, the lot-to-lot uniformity of the function of which can be easily achieved, and a method for forming a calibration curve in an immunoassay using the standard thyroid gland hormone solution. The standard thyroid gland hormone solution contains thyroid gland hormones and cyclodextrin or a derivative thereof in a buffer solution. The method for forming a calibration curve comprises: preparing a plurality of standard thyroid gland hormone solutions each containing a known concentration of thyroid gland hormones and cyclodextrin or a derivative thereof in a buffer solution, the concentrations of thyroid gland hormones in said solutions differing from solution to solution; subjecting the individual standard thyroid gland hormone solutions to an immunoassay; and then forming a calibration curve on the basis of a relationship between the concentrations of thyroid gland hormones contained in the individual standard thyroid gland hormone solutions and immunoassay signals.

(57) 要約: ロット間の性能を揃えやすい甲状腺ホルモン類の標準液及びそれを用いた免疫測定における検量線の作成方法が開示されている。甲状腺ホルモン類標準液は、甲状腺ホルモン類と、シクロデキストリン又はその誘導体とを緩衝液中に含む。検量線の作成方法は、互いに異なる既知濃度の甲状腺ホルモン類と、シクロデキストリン又はその誘導体とを緩衝液中に含む、複数の甲状腺ホルモン類標準液を準備することと、各甲状腺ホルモン類標準液を免疫測定に供し、各甲状腺ホルモン類標準液に含まれる甲状腺ホルモン類の濃度と、免疫測定のシグナルとの関係に基づき検量線を作成することとを含む。

明　細　書

発明の名称 ： 甲状腺ホルモン類標準液

技術分野

[0001] 本発明は、甲状腺ホルモン類の免疫測定に用いられる標準液に関する。

背景技術

[0002] トリヨードサイロニン（T_3)やサイロキシン(T_4)のような甲状腺ホルモン類は、血液中では代謝サイクルに従って生産、分解が繰り返されている。血中のT_3やT_4濃度は、様々な疾患の指標となるので、臨床検査においてT_3やT_4の濃度が測定されている。また、血液中では、T_3やT_4は、大部分が結合タンパク質と結合した状態で存在し、少量が遊離状態で存在するが、細胞内に入ってその機能を発揮するのは遊離型であるので、遊離型のT_3(FT_3)や遊離型のT_4(FT_4)も測定されている。具体的には、血中FT_3濃度は、甲状腺機能亢進症（上昇）並びにLow T_3症候群及び甲状腺機能低下症（以上、減少）の指標として利用されている。血中T_3濃度は、バセドウ病、初期の亜急性甲状腺炎及びプランマー病等（以上、上昇）並びに重症消耗性疾患、下垂体腫瘍及びシーハン症候群など（以上、減少）の指標として利用されている。また、血中FT_4濃度は、甲状腺機能亢進症及びバセドウ病（以上、上昇）並びに甲状腺機能低下症（減少）の指標として利用されており、血中T_4濃度は、バセドウ病、プランマー病及びホルモン不応症等（以上、上昇）並びに慢性甲状腺炎、ヨード欠乏、シーハン症候群など（以上、減少）の指標として利用されている。

[0003] これらの甲状腺ホルモン類の血中濃度は、従来から、免疫測定により測定されている。免疫測定においては、検体とは別に、検量線作成用に、既知濃度の各甲状腺ホルモン類を含む標準液の測定が行われる。より正確な免疫測定を可能とするため、標準液には、保存安定性が要求されるが、甲状腺ホルモン類は水溶液中での安定性が低いことが問題となる。現在、甲状腺ホルモン類にとって本来の環境である血液と類似した媒体が標準液の媒体として用いられている。具体的には、活性炭処理により甲状腺ホルモン類、及びこれ

に類似した成分を除去した健常ヒト血清を媒体としている（特許文献１）。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開平６－９４７０９号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 従来から甲状腺ホルモン類の標準液の媒体として用いられている、活性炭処理した健常ヒト血清では、原料となるヒト血清のロットにより標準液の性能（安定性、再現性）にバラつきが生じやすく、安定的に同等の品質の標準液を提供するにあたり、原料確保が困難な状況にある。

[0006] 従って、本発明の目的は、ロット間の性能を揃えやすい甲状腺ホルモン類の標準液を提供することである。

課題を解決するための手段

[0007] 本願発明者らは、鋭意研究の結果、シクロデキストリン又はその誘導体を甲状腺ホルモン類と共存させることにより、ヒト血清を用いることなく、甲状腺ホルモン類を長期に亘って安定に保存することができることを見出し、本発明を完成した。

[0008] すなわち、本発明は、甲状腺ホルモン類と、シクロデキストリン又はその誘導体とを緩衝液中に含む甲状腺ホルモン類標準液を提供する。また、本発明は、上記本発明の標準液を含む、甲状腺ホルモン類測定試薬を提供する。

[0009] また、本発明は、甲状腺ホルモン類と、シクロデキストリン又はその誘導体とを緩衝液中に含む液の、甲状腺ホルモン類標準液としての使用を提供する。

[0010] さらに本発明は、互いに異なる既知濃度の甲状腺ホルモン類と、シクロデキストリン又はその誘導体とを緩衝液中に含む、複数の甲状腺ホルモン類標準液を準備することと、各甲状腺ホルモン類標準液を免疫測定に供し、各甲状腺ホルモン類標準液に含まれる甲状腺ホルモン類の濃度と、免疫測定のシ

グナルとの関係に基づき検量線を作成することとを含む、免疫測定における検量線の作成方法を提供する。

発明の効果

[0011] 本発明により、ロット間の性能を揃えやすい甲状腺ホルモン類の標準液が提供された。本発明の甲状腺ホルモン類標準液は、ヒト血清を用いていないので、従来法のように原料となる血清ロットごとに性能（安定性、再現性）の差異が生じやすいという問題が起きない。

発明を実施するための形態

[0012] 上記の通り、本発明の甲状腺ホルモン類の標準液は、緩衝液中に甲状腺ホルモン類と、シクロデキストリン又はその誘導体とを含むものである。

[0013] 甲状腺ホルモン類としては、T_3，T_4、FT_3及びFT_4を挙げることができ、FT_3及びFT_4が好ましい。標準液中の甲状腺ホルモン類の濃度は、標準液であるので、既知の設定濃度である。FT_3の場合は、通常、50pg/mL以下、特に30pg/mL以下の濃度で数段階設定される。FT_4の場合には、通常、20ng/dL以下、特に10ng/dL以下の濃度で数段階設定される。T_3の場合には、通常、15ng/mL以下、特に8ng/mL以下の濃度で数段階設定される。T_4の場合には、通常、50μg/dL以下、特に30μg/dL以下の濃度で数段階設定される。

[0014] シクロデキストリンは、特に限定されないが、β－シクロデキストリン及びγ－シクロデキストリンが好ましい。また、シクロデキストリン誘導体としては、アルキル若しくはヒドロキシアルキル置換体が好ましく、これらのアルキル基又はヒドロキシアルキル基中の炭素数は１～６が好ましい。これらの中でも、甲状腺ホルモン類の保存安定性の観点から、ヒドロキシプロピル基で置換された、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン(HPBC)が特に好ましい。これらのシクロデキストリン又はその誘導体（以下、単に「シクロデキストリン類」とも称する）は市販もされているので、市販品を好ましく用いることができる。シクロデキストリン類は、１種類でもよいし、複数種類を組み合わせて用いることもできる。

[0015] シクロデキストリン類の濃度（複数種類を用いる場合にはその合計濃度）

は、０．１重量％～１０重量％が好ましく、さらに好ましくは１．０重量％～５．０重量％である。シクロデキストリン類の濃度を０．１重量％以上とすることで、十分な安定性効果を示すことができる。一方、１０重量％以下とすることで、測定値に影響を与えることなく、FT_3、FT_4の免疫測定の確実な実施を可能とすることができる。

[0016] 本発明において用いられる緩衝液は、水を溶媒とする水系緩衝液であり、特に限定されないが、ｐＨ６．５～１０、特にｐＨ７．５～１０、さらにｐＨ８．５～９．５の緩衝液とすることが好ましい。このようなｐＨの範囲で緩衝能を有する緩衝液の例として、炭酸水素ナトリウム、CABS(4-(シクロヘキシルアミノ)-1-ブタンスルホン酸)、エタノールアミン、AMP（2-アミノ-2-メチル-1-プロパノール）、CAPSO（N-シクロヘキシル-2-ヒドロキシ-3-アミノプロパンスルホン酸）、メチルアミン及びCAPS （N-シクロヘキシル-3-アミノプロパンスルホン酸）等の緩衝液を挙げることができ、これらの緩衝液を使用することが好ましいが、これらに限定されるものではない。上記の緩衝液のようにｐＨ緩衝能が６．５～１０の範囲内にない緩衝液であっても、ｐＨ調節剤を用いてｐＨ６．５～１０の範囲内に調節することで使用することができる。例えば、MES（2-モルフォリノエタンスルホン酸一水塩）及びリン酸緩衝液のような免疫測定において常用されている他の種々の緩衝液も用いることができる。

[0017] 本発明の標準液は、必要に応じ、ｐＨ調節剤を含んでいてもよい。ｐＨ調節剤としては、水酸化ナトリウムのような無機塩基を挙げることができ、ｐＨが６．５～１０．０の範囲内になる適量を用いることができる。

[0018] 本発明の標準液は、さらに、塩化ナトリウムを含んでいてもよい。塩化ナトリウムの濃度は、血液中の塩化ナトリウム濃度と同程度、すなわち、0.85重量％～0.9重量％程度でよい。

[0019] 本発明の標準液は、さらに、ブロッキング剤を含んでいてもよい。ブロッキング剤は、非特異吸着を防止するために免疫測定において常用されているものであり、ウシ血清アルブミン(BSA)、スキムミルク、ゼラチン等を挙げる

ことができるがこれらに限定されるものではない。ブロッキング剤を含む場合、その濃度は特に限定されず、適宜設定されるが、通常１．０重量％～３．０重量％程度、特には１．５重量％～２．５重量％程度である。

[0020] 本発明の標準液は、腐敗防止のため、アジ化ナトリウムのような汎用される殺菌剤を適量含んでいてもよい。

[0021] 本発明の甲状腺ホルモン類標準液は、免疫測定において、従来の甲状腺ホルモン類標準液と全く同様に用いることができる。甲状腺ホルモン類の免疫測定自体は周知であり、そのための免疫測定キットも市販されている。本発明の標準液は、それらの市販の免疫測定キットの標準液としても利用可能である。

[0022] 甲状腺ホルモン類の免疫測定自体は周知であり、そのための免疫測定キットも市販されているので、ここで詳しく記載する必要はないが、好ましい免疫測定方法について簡単に述べると、例えば、FT_3の定量では、担体である粒子にT_2（ジヨードサイロニン）を結合したT_2結合粒子と、FT_3を含む検体と、標識抗T_3モノクローナル抗体とを反応させ、粒子を回収して、粒子に結合した標識抗T_3モノクローナル抗体を測定することにより、検体中のFT_3を定量することができる（下記実施例１参照）。担体粒子としては、B/F分離を容易にするために磁性粒子が好ましいが、磁性粒子に限定されるものではない。また、標識としては、アルカリフォスファターゼ等の免疫測定において標識酵素として常用されている酵素を用いることができる。標識酵素を定量するために用いる、標識酵素の基質としても、免疫測定において常用されている、化学発光基質や発色基質等を用いることができる。FT_4の定量のためには、T_3を結合した粒子と、FT_4を含む検体と、標識抗T_4モノクローナル抗体とを反応させ、粒子に結合した標識抗T_4モノクローナル抗体を測定することにより、検体中のFT_4を定量することができる（下記実施例２参照）。なお、これらの方法は、粒子に結合された甲状腺ホルモンと、検体中の甲状腺ホルモンとの競合に基づく競合法であるが、免疫測定方法は、競合法に限定されるものではなく、サンドイッチ法や凝集法等の他の免疫測定方法も用いることができる。

[0023] 本発明の甲状腺ホルモン類標準液を用いて検量線を作成する場合には、まず、互いに異なる既知濃度の甲状腺ホルモン類と、シクロデキストリン又はその誘導体とを緩衝液中に含む、複数の甲状腺ホルモン類標準液を準備する。準備する甲状腺ホルモン類標準液の数は、通常、２種類以上、好ましくは４種類以上である。上限は特にないが、通常、１０種類以下である。

[0024] 次に、各標準液を、上記のような免疫測定に供して、シグナルを測定する。例えば、上記した競合法では、標識酵素と、該酵素の基質とを反応させ、生じたシグナル（例えば、化学発光基質の場合には化学発光強度）を測定する。

[0025] 次に、各標準液中の甲状腺ホルモン類の濃度を横軸に、測定されたシグナルを縦軸にプロットして検量線を作成することができる。

[0026] 以下、本発明を実施例に基づき具体的に説明する。もっとも、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

実施例

[0027] 実施例１　　FT_3の測定

実施例１－１　　各種シクロデキストリン類含有標準液の安定性試験

以下の組成を有するFT_3標準液を調製した。

MES　　10.7g/L

NaCl 8.77g/L

NaN_3 1.00g/L

4N NaOH 9mL/L

シクロデキストリン類各種 0.1または1.0重量％

（ただし、甲状腺ホルモン無添加（１濃度目）の場合は含有せず）

BSA 20.0g/L

1N NaOH　　適量（ｐＨが6.8になるまでの微調整用）

FT_3 0pg/mL（無添加、１濃度目）、1.95 pg/mL±20%、２濃度目）又は30 pg/mL（６濃度目）（免疫測定に用いた市販のFT_3免疫測定キットであるルミパルスFT3-III（商品名、富士レビオ社製）に含まれるFT_3標準液の１濃

度目～６濃度目のうちの１濃度目、２濃度目及び６濃度目の濃度に調製）

[0028] 調製した各ＦＴ$_3$標準液を、－８０℃または３７℃で１週間または２週間保存し、保存後の標準液中のＦＴ$_3$を免疫測定した。測定は、市販のＦＴ$_3$測定キットであるルミパルスFT3-III（商品名、富士レビオ社製）を用い、測定機器として市販のルミパルスG1200（商品名、富士レビオ社製）を用いて行った。なお、ルミパルスFT3-III（商品名、富士レビオ社製）を用いた免疫測定は、この商品の添付文書に記載されたとおりに行った。

[0029] 具体的には、次のように行った。まず、キットに含まれるＴ$_2$結合フェライト粒子懸濁液２５０μＬと、調製した上記各ＦＴ$_3$標準液３０μＬと、キットに含まれるアルカリホスファターゼ(ALP)標識抗Ｔ$_3$モノクローナル抗体（ヒツジ）溶液５０μＬとを３７℃で２０分間反応させた。次に、フェライト粒子を磁石で集め、反応液を除去した後、粒子の洗浄を行った。次いで、基質液（AMPPD、（3-(2'-スピロアダマンタン)-4-メトキシ-4-(3''-ホスホリルオキシ）フェニル-1,2-ジオキセタン・2ナトリウム塩））200μＬを粒子に加え、３７℃で５分間反応させた。次に波長477nmに発光極大を持つ光の発光量を測定した。なお、当該測定は、単一モノクローナル抗体に対するＦＴ$_2$とＦＴ$_3$の競合反応を原理としており、発光量は抗体に反応するＦＴ$_2$量と正の相関を示し、反応系中に存在するＦＴ$_3$量と負の相関を示す。したがって、発光量が多いほどＦＴ$_3$濃度が低いことを示す。

[0030] １週間後の結果を下記表１－１に、２週間後の結果を表１－２に示す。なお、本明細書において、特に説明のない限り、表中の数値は、－８０℃で同期間保存した各濃度の標準液について得られた発光量を１００とした相対値で示すものとする。

[0031]

[表1-1]

＜１週間後＞

	α-CD		β-CD		γ-CD	
CD添加量	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%
1濃度目	99	99	98	99	99	100
2濃度目	102	104	102	104	104	102
6濃度目	112	109	109	109	102	104

	ﾒﾁﾙ-β-CD		2-ﾋﾄﾞﾛｷｼｴﾁﾙ-β-CD		HPBC	
CD添加量	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%
1濃度目	N.D.	100	102	101	101	98
2濃度目	103	100	103	102	104	100
6濃度目	104	106	107	107	108	104

ＣＤ：シクロデキストリン

[0032] [表1-2]

＜２週間後＞

	α-CD		β-CD		γ-CD	
CD添加量	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%
1濃度目	98	99	99	99	99	100
2濃度目	111	110	111	109	110	107
6濃度目	113	115	112	112	118	108

	ﾒﾁﾙ-β-CD		2-ﾋﾄﾞﾛｷｼｴﾁﾙ-β-CD		HPBC	
CD添加量	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%
1濃度目	N.D.	100	100	99	100	98
2濃度目	110	105	110	106	111	103
6濃度目	113	111	109	91	113	108

ＣＤ：シクロデキストリン

[0033] －８０℃保存の標準液を用いた場合との発光量の相違は、±２０％以内であることを要し、±１０％以内であることが好ましく、±５％以内であることがより好ましい。表１の結果より、ＦＴ$_3$標準液は、いずれのシクロデキストリン類を添加しても良好な安定性を示すことが判明した。また、特にＨＰＢＣで良好な安定性を示すことが判明した。

[0034] 実施例１－２　至適ｐＨの検討

シクロデキストリン類をヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン、

濃度を１．０重量%、ｐＨを６．８、８．０又は９．０とした以外は、実施例１－１と同様の方法でＦＴ３標準液を調製した。

[0035] 調製した各FT_3標準液を、－８０℃または３７℃で１週間保存し、保存後の標準液中のFT_3を免疫測定した。結果を下記表２に示す。

[0036] [表2]

	pH6.8		pH8.0		pH9.0	
CD添加量	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%
1濃度目	101	98	99	98	98	99
2濃度目	104	100	103	100	104	99
6濃度目	108	104	105	102	106	101

[0037] 表２の結果より、FT_3標準液において、ｐＨ８．０～ｐＨ９．０が至適ｐＨであることが判明した。

[0038] 実施例１－３ 至適濃度の検討

シクロデキストリン類をＨＰＢＣまたはβ－シクロデキストリン、濃度を０．０２重量%、０．１重量%、０．５重量%、１．０重量%、５．０重量%、または１０．０重量%、ｐＨを８．０とした以外は、実施例１－１と同様の方法でＦＴ３標準液を調製した。

[0039] 調製した各FT_3標準液を、－８０℃または３７℃で１週間保存し、保存後の標準液中のFT_3を免疫測定した。結果を下記表３に示す。

[0040] [表3]

	HPBC					
CD添加量	0.02%	0.1%	0.5%	1.0%	5.0%	10.0%
1濃度目	98	99	100	98	99	99
2濃度目	102	103	101	100	*99	*101
6濃度目	103	105	104	102	99	101

	β-CD					
CD添加量	0.02%	0.1%	0.5%	1.0%	5.0%	10.0%
1濃度目	100	99	100	98	N．D.	N．D.
2濃度目	104	103	102	105	N．D.	N．D.
6濃度目	105	102	103	107	N．D.	N．D.

ＣＤ：シクロデキストリン

Ｎ．Ｄ．：溶解不能により実施せず

＊：ＦＴ$_3$濃度　4.52 pg/mL ±20%

[0041] 表３に示すように、ＨＰＢＣを用いた場合においては５．０重量%付近が至適濃度であり、β－シクロデキストリンを用いた場合においては、０．１重量%付近が至適濃度であることが判明した。

[0042] 実施例１－４　長期保存安定性試験

以下の組成を有するＦＴ$_3$標準液（Ａ標準液）を調製した。Ａ標準液は、従来の活性炭処理健常ヒト血清をベースとして用いた標準液である。

＜Ａ標準液＞

活性炭処理健常ヒト血清に0.1%(w/v)のアジ化ナトリウムを加え、ＦＴ$_3$濃度が下記の濃度となるようにＴ$_3$を添加した。

ＦＴ$_3$ 0pg/mL（無添加、１濃度目）、1.95 pg/mL±20%、２濃度目）又は30 pg/mL（６濃度目）

[0043] 一方、以下の組成を有するＦＴ$_3$標準液（Ｂ１標準液）を調製した。Ｂ１標準液は、本発明に係る標準液である。

＜Ｂ１標準液＞

MES　10.7g/L

NaCl 8.77g/L

NaN_3 1.00g/L

4N NaOH 9mL/L （pH 8.0まで滴定）

HPBC 1.00重量%（ただし、甲状腺ホルモン無添加（１濃度目）の場合は含有しない）

BSA 20.0g/L

ＦＴ$_3$ 0pg/mL（無添加、１濃度目）、1.95 pg/mL±20%、２濃度目）又は30 pg/mL（６濃度目）

[0044] 調製した各ＦＴ$_3$標準液を、－８０℃、１０℃又は２５℃で１ヶ月、２ヶ月、３ヶ月、４ヶ月又は５ヶ月保存し、保存後の標準液中のＦＴ$_3$を免疫測定した。

結果を下記表４に示す。

[0045] [表4]

	1ヶ月後		2ヶ月後		3ヶ月後		4ヶ月後		5ヶ月後	
	A	B１	A	B１	A	B１	A	B１	A	B１
10℃保存										
1濃度目	100	99	100	99	101	101	100	100	100	100
2濃度目	101	101	101	101	100	102	100	102	100	102
6濃度目	97	102	99	102	102	102	99	102	97	102
25℃保存										
1濃度目	101	99	100	99	100	101	100	99	101	98
2濃度目	100	101	102	101	99	102	101	104	99	105
6濃度目	96	102	102	104	99	104	103	107	100	111

[0046] 表４に示されるように、本発明のＦＴ$_3$標準液は、従来の血清ベースの標準液と比しても、実用に耐える優れた長期保存安定性を示した。

[0047] 実施例１－５　緩衝液の検討

以下の組成を有するＦＴ$_3$標準液（Ａ標準液）を調製した。Ａ標準液は、従来の活性炭処理健常ヒト血清をベースとして用いた標準液である。

＜Ａ標準液＞

活性炭処理健常ヒト血清に0.1%(w/v)のアジ化ナトリウムを加え、ＦＴ$_3$濃度が下記の濃度となるようにＴ$_3$を添加した。

ＦＴ$_3$ 0pg/mL（無添加、１濃度目）、1.95 pg/mL±20%、２濃度目）又は30 pg/mL（６濃度目）

[0048] 一方、以下の組成を有するＦＴ$_3$標準液（Ｂ１～Ｂ３標準液）を調製した。Ｂ１～Ｂ３標準液は、本発明に係る標準液である。

＜Ｂ１標準液（ＭＥＳ：ｐＫａ＝６．１５）＞

MES　10.7g/L

NaCl 8.77g/L

NaN_3 1.00g/L

4N NaOH　(pH 8.0まで滴定)

HPBC 1.00重量%（ただし、甲状腺ホルモン無添加（１濃度目）の場合は含有しない）

BSA 20.0g/L

ＦＴ$_3$ 0pg/mL（無添加、１濃度目）、1.95 pg/mL±20%、２濃度目）又は30 pg/mL（６濃度目）

[0049] ＜Ｂ２標準液（ＮａＨＣＯ$_3$：ｐＫａ＝１０．３）＞

$NaHCO_3$ 8.40g/L

NaCl 8.77g/L

NaN_3 1.00g/L

4N NaOH（pH 9.0まで滴定）

HPBC 2.00重量%（ただし、甲状腺ホルモン無添加（１濃度目）の場合は含有しない）

BSA 20.0g/L

ＦＴ$_3$ 0pg/mL（無添加、１濃度目）、1.95 pg/mL±20%、２濃度目）又は30 pg/mL（６濃度目）

[0050] ＜Ｂ３標準液（ＣＡＰＳ：ｐＫａ＝１０．４）＞

CAPS 22.1g/L

NaCl 8.77g/L

NaN_3 1.00g/L

4N NaOH（pH 9.0まで滴定）

HPBC 2.00重量%（ただし、甲状腺ホルモン無添加（１濃度目）の場合は含有しない）

BSA 20.0g/L

ＦＴ$_3$ 0pg/mL（無添加、１濃度目）、1.95 pg/mL±20%、２濃度目）又は30 pg/mL（６濃度目）

[0051] 調製した各ＦＴ$_3$標準液を、－８０℃、１０℃又は２５℃で６ヶ月保存し、保存後の標準液中のＦＴ$_3$を免疫測定した。

結果を下記表５に示す。

[0052]

[表5]

	A	B１	B２	B３
10℃保存 1濃度目	99	99	99	100
2濃度目	100	100	100	99
6濃度目	99	104	101	100
25℃保存 1濃度目	99	98	98	100
2濃度目	100	103	98	100
6濃度目	100	109	105	108

[0053] 表５に示す通り、ｐＫａ値の高いＮａＨＣＯ$_3$バッファー、ＣＡＰＳバッファーを用いてｐＨ９．０付近で標準液を調製した場合に、ｐＫａ値の低いＭＥＳを用いてｐＨ８．０付近で標準液を調製した場合と比して、高い安定性を示すことが示唆された。

[0054] 実施例２　　ＦＴ$_4$の測定

実施例２－１　　各種シクロデキストリン類含有標準液の安定性試験

以下の組成を有するＦＴ$_4$標準液を調製した。

MES　　10.7g/L

NaCl 8.77g/L

NaN_3 1.00g/L

4N NaOH 9mL/L

シクロデキストリン類各種 0.1または1.0重量％

（ただし、甲状腺ホルモン無添加（１濃度目）の場合は含有せず）

BSA 20.0g/L

1N NaOH　　適量（ｐＨが6.8になるまでの微調整用）

ＦＴ$_4$ 0ng/dL（無添加、１濃度目）、0.24ng/dL±20%、２濃度目）又は10ng/dL（６濃度目）（免疫測定に用いた市販のＦＴ$_4$免疫測定キットであるルミパルスFT4-N（商品名、富士レビオ社製）に含まれるＦＴ$_4$標準液の１濃度目～６濃度目のうちの１濃度目、２濃度目及び６濃度目の濃度に調製）

[0055] 調製した各ＦＴ$_4$標準液を、－８０℃又は３７℃で１週間又は２週間保存し、保存後の標準液中のＦＴ$_4$を免疫測定した。測定は、市販のＦＴ$_4$測定キッ

トであるルミパルスFT4-N（商品名、富士レビオ社製）を用い、測定機器として市販のルミパルスG1200（商品名、富士レビオ社製）を用いて行った。なお、ルミパルスFT4-N（商品名、富士レビオ社製）を用いた免疫測定は、この商品の添付文書に記載されたとおりに行った。

[0056] 具体的には、次のように行った。まず、キットに含まれるＴ$_3$結合フェライト粒子２５０μＬと、調製した上記各ＦＴ$_4$標準液１０μＬと、キットに含まれるアルカリホスファターゼ(ALP)標識抗Ｔ$_4$モノクローナル抗体（マウス）５０μＬとを３７℃で２０分間反応させた。次に、フェライト粒子を磁石で集め、反応液を除去した後、粒子の洗浄を行った。次いで、基質液（AMPPD、（3-(2'-スピロアダマンタン)-4-メトキシ-4-(3''-ホスホリルオキシ）フェニル-1,2-ジオキセタン・2ナトリウム塩））200μＬを粒子に加え、３７℃で５分間反応させた。次に波長477nmに発光極大を持つ光の発光量を測定した。なお、当該測定は、単一モノクローナル抗体に対するＦＴ$_3$とＦＴ$_4$の競合反応を原理としており、発光量は抗体に反応するＦＴ$_3$量と正の相関を示し、反応系中に存在するＦＴ$_4$量と負の相関を示す。したがって、発光量が多いほどＦＴ$_4$濃度が低いことを示す。

[0057] １週間後の結果を下記表６－１に、２週間後の結果を表６－２に示す。なお、表中の数値は、－８０℃で同期間保存した各濃度の標準液について得られた発光量を１００とした相対値で示す。

[0058] [表6-1]

＜１週間後＞

	α-CD		β-CD		γ-CD	
CD添加量	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%
1濃度目	99	100	100	99	100	100
2濃度目	102	103	103	103	102	102
6濃度目	107	108	108	102	105	102

	ﾒﾁﾙ-β-CD		2-ﾋﾄﾞﾛｷｼｴﾁﾙ-β-CD		HPBC	
CD添加量	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%
1濃度目	100	100	99	100	99	100
2濃度目	103	104	104	105	103	105
6濃度目	106	107	109	112	106	105

ＣＤ：シクロデキストリン

[0059] [表6-2]

＜２週間後＞

	α－CD		β－CD		γ－CD	
CD添加量	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%
1濃度目	99	101	101	98	100	99
2濃度目	105	107	104	107	113	103
6濃度目	113	116	113	119	116	101

	ﾒﾁﾙ－β－CD		2-ﾋﾄﾞﾛｷｼｴﾁﾙ－β－CD		HPBC	
CD添加量	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%
1濃度目	101	100	100	139	100	98
2濃度目	107	108	150	110	107	107
6濃度目	121	118	119	84	113	115

ＣＤ：シクロデキストリン

[0060] －８０℃保存の標準液を用いた場合との発光量の相違は、±２０％以内であることを要し、±１０％以内であることが好ましく、±５％以内であることがより好ましい。表１の結果より、ＦＴ$_4$標準液は、いずれのシクロデキストリン類を添加しても濃度を調整することで良好な安定性を示すことが判明した。また、特にγ－シクロデキストリン、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリンで良好な安定性を示すことが判明した。

[0061] 実施例２－２　　至適ｐＨの検討

シクロデキストリン類をヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン、濃度を１．０重量％、ｐＨを６．８、８．０又は９．０とした以外は、実施例２－１と同様の方法でＦＴ$_4$標準液を調製した。

[0062] 調製した各ＦＴ$_4$標準液を、－８０℃または３７℃で１週間保存し、保存後の標準液中のＦＴ$_4$を免疫測定した。結果を下記表７に示す。

[0063] [表7]

	pH6.8		pH8.0		pH9.0	
CD添加量	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%	0.1%	1.0%
1濃度目	99	100	100	99	100	97
2濃度目	103	105	101	100	101	95
6濃度目	106	105	97	103	98	100

[0064] 表７の結果より、ＦＴ$_4$標準液において、ｐＨ８．０～ｐＨ９．０が至適ｐＨであることが判明した。

[0065] 実施例２－３　至適濃度の検討

シクロデキストリン類をＨＰＢＣまたはβ－シクロデキストリン、濃度を０．０２重量%、０．１重量%、０．５重量%、１．０重量%、５．０重量%、または１０．０重量%、ｐＨを８．０とした以外は、実施例２－１と同様の方法でＦＴ４標準液を調製した。

[0066] 調製した各ＦＴ$_4$標準液を、－８０℃または３７℃で１週間保存し、保存後の標準液中のＦＴ$_3$を免疫測定した。結果を下記表８に示す。

[0067] [表8]

	HPBC					
CD添加量	0.02%	0.1%	0.5%	1.0%	5.0%	10.0%
1濃度目	100	100	99	99	100	98
2濃度目	100	101	101	100	100	*104
6濃度目	104	97	97	103	100	97

	β-CD					
CD添加量	0.02%	0.1%	0.5%	1.0%	5.0%	10.0%
1濃度目	100	99	97	100	N．D．	N．D．
2濃度目	99	102	99	102	N．D．	N．D．
6濃度目	101	106	102	102	N．D．	N．D．

ＣＤ：シクロデキストリン

Ｎ．Ｄ．：溶解不能により実施せず

＊：ＦＴ$_4$濃度 0.57 ng/dL ± 20%

[0068] 表８に示すように、ＨＰＢＣを用いた場合においては５．０重量%付近が至適濃度であり、β－シクロデキストリンを用いた場合においては、０．５重量%付近が至適濃度であることが判明した。

[0069] 実施例２－４　長期保存安定性試験

以下の組成を有するＦＴ$_4$標準液（Ｃ標準液）を調製した。Ｃ標準液は、従来の活性炭処理健常ヒト血清をベースとして用いた標準液である。

＜Ｃ標準液＞

活性炭処理健常ヒト血清に0.1%(w/v)のアジ化ナトリウム(NaN_3)を加え、ＦＴ$_4$濃度が下記の濃度となるようにＴ$_4$を添加した。

ＦＴ$_4$ 0ng/dL（無添加、１濃度目）、0.24 ng/dL±20%、２濃度目）又は10 ng/dL（６濃度目）

[0070] 以下の組成を有するＦＴ$_4$標準液（Ｄ１標準液）を調製した。Ｄ１標準液は、本発明に係る標準液である。

＜Ｄ１標準液＞

MES 10.7g/L

NaCl 8.77g/L

NaN_3 1.00g/L

4N NaOH 9mL/L

HPBC 1.00重量%（ただし、甲状腺ホルモン無添加（１濃度目）の場合は含有しない）

BSA 20.0g/L

1N NaOH 適量（ｐＨが8.0になるまでの微調整用）

ＦＴ$_4$ 0ng/dL（無添加、１濃度目）、0.24ng/dL±20%、２濃度目）又は10ng/dL（６濃度目）（免疫測定に用いた市販のＦＴ$_4$免疫測定キットであるルミパルスFT4-N（商品名、富士レビオ社製）に含まれるＦＴ$_4$標準液の１濃度目～６濃度目のうちの１濃度目、２濃度目及び６濃度目の濃度に調製）

[0071] 調製した各ＦＴ$_4$標準液を、－８０℃、１０℃又は２５℃で１ヶ月、２ヶ月、３ヶ月、４ヶ月又は５ヶ月保存し、保存後の標準液中のＦＴ$_4$を免疫測定した。

[0072] 結果を下記表９に示す。

[0073]

[表9]

	1ヶ月後		2ヶ月後		3ヶ月後		4ヶ月後		5ヶ月後	
	C	D	C	D	C	D	C	D	C	D
10℃保存										
1濃度目	99	102	100	100	100	99	99	100	101	98
2濃度目	99	101	100	101	100	102	101	103	101	99
6濃度目	101	102	102	100	101	104	100	101	105	101
25℃保存										
1濃度目	100	100	101	101	99	99	99	101	99	99
2濃度目	100	99	99	101	98	103	99	103	98	100
6濃度目	100	102	98	100	99	101	100	102	96	99

[0074] 表９に示されるように、本発明のＦＴ$_4$標準液は、従来の血清ベースの標準液と比しても、実用に耐える優れた保存安定性を示した。

[0075] （実施例２－５） 緩衝液組成の検討

以下の組成を有するＦＴ$_4$標準液（Ｃ標準液）を調製した。Ｃ標準液は、従来の活性炭処理健常ヒト血清をベースとして用いた標準液である。

＜Ｃ標準液＞

活性炭処理健常ヒト血清に0.1%(w/v)のアジ化ナトリウム(NaN_3)を加え、ＦＴ$_4$濃度が下記の濃度となるようにＴ$_4$を添加した。

ＦＴ$_4$ 0ng/dL（無添加、１濃度目）、0.24 ng/dL±20%、２濃度目）又は10 ng/dL（６濃度目）

[0076] 一方、以下の組成を有するＦＴ$_4$標準液（Ｄ１～Ｄ３標準液）を調製した。Ｄ１～Ｄ３標準液は、本発明に係る標準液である。

＜Ｄ１標準液（ＭＥＳ：ｐＫａ＝６．１５）＞

MES 10.7g/L

NaCl 8.77g/L

NaN_3 1.00g/L

4N NaOH（pH8.0まで滴定）

HPBC 1.00重量%（ただし、甲状腺ホルモン無添加（１濃度目）の場合は含有しない）

BSA 20.0g/L

ＦＴ$_4$ 0ng/dL（無添加、１濃度目）、0.24ng/dL±20%、２濃度目）又は10ng/dL（６濃度目）

[0077] ＜Ｄ２標準液（ＮａＨＣＯ$_3$：ｐＫａ＝１０．３）＞

$NaHPO_4$ 8.40g/L

NaCl 8.77g/L

NaN_3 1.00g/L

4N NaOH（pH 9.0まで滴定）

HPBC 2.00重量%（ただし、甲状腺ホルモン無添加（１濃度目）の場合は含有しない）

BSA 20.0g/L

ＦＴ$_4$ 0ng/dL（無添加、１濃度目）、0.24ng/dL±20%、２濃度目）又は10ng/dL（６濃度目）

[0078] ＜Ｄ３標準液（ＣＡＰＳ）＞

CAPS 22.1g/L

NaCl 8.77g/L

NaN_3 1.00g/L

4N NaOH（pH 9.0まで滴定）

HPBC 2.00重量%（ただし、甲状腺ホルモン無添加（１濃度目）の場合は含有しない）

BSA 20.0g/L

ＦＴ$_4$ 0ng/dL（無添加、１濃度目）、0.24ng/dL±20%、２濃度目）又は10ng/dL（６濃度目）

[0079] 調製した各ＦＴ$_4$標準液を、－８０℃、１０℃又は２５℃で６ヶ月保存し、保存後の標準液中のＦＴ$_4$を免疫測定した。

結果を下記表１０に示す。

[0080]

[表10]

	C	D１	D２	D３
10℃保存 1濃度目	100	100	99	100
2濃度目	100	102	101	101
6濃度目	98	102	100	100
25℃保存 1濃度目	99	100	100	100
2濃度目	99	104	101	101
6濃度目	100	107	96	99

[0081] 表１０に示す通り、ｐＫａ値の高いＮａＨＣＯ$_3$バッファー、ＣＡＰＳバッファーを用いてｐＨ９．０付近で標準液を調製した場合に、ｐＫａ値の低いＭＥＳを用いてｐＨ８．０付近で標準液を調製した場合と比して、高い安定性を示すことが示唆された。

産業上の利用可能性

[0082] 本発明は、甲状腺ホルモンに関連する多様な疾患を診断する上で重要な、血液サンプル中の甲状腺ホルモン類の測定の信頼性を高めるのに有用な標準液を提供するものである。

請求の範囲

[請求項1] 甲状腺ホルモン類と、シクロデキストリン又はその誘導体とを緩衝液中に含む甲状腺ホルモン類標準液。

[請求項2] 前記甲状腺ホルモン類が、トリヨードサイロニン、遊離トリヨードサイロニン、サイロキシン又は遊離サイロキシンである請求項１記載の標準液。

[請求項3] 前記シクロデキストリン又はその誘導体が、β－シクロデキストリン、γ－シクロデキストリン又はこれらのアルキル若しくはヒドロキシアルキル置換体である請求項１又は２に記載の標準液。

[請求項4] 前記シクロデキストリン又はその誘導体が、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリンである請求項３記載の標準液。

[請求項5] 前記シクロデキストリン又はその誘導体の濃度が、0.1重量％～１０重量％である請求項１～４のいずれか１項に記載の標準液。

[請求項6] ｐＨが6.5～10である請求項１～５のいずれか１項に記載の標準液。

[請求項7] 請求項１～６のいずれか１項に記載の標準液を含む、甲状腺ホルモン類測定試薬。

[請求項8] 甲状腺ホルモン類と、シクロデキストリン又はその誘導体とを緩衝液中に含む液の、甲状腺ホルモン類標準液としての使用。

[請求項9] 互いに異なる既知濃度の甲状腺ホルモン類と、シクロデキストリン又はその誘導体とを緩衝液中に含む、複数の甲状腺ホルモン類標準液を準備することと、各甲状腺ホルモン類標準液を免疫測定に供し、各甲状腺ホルモン類標準液に含まれる甲状腺ホルモン類の濃度と、免疫測定のシグナルとの関係に基づき検量線を作成することとを含む、免疫測定における検量線の作成方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/068982

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N33/50(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)
G01N33/50

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 1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2016 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2016

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2014-010102 A (Tosoh Corp.), 20 January 2014 (20.01.2014), claims 1 to 5; paragraphs [0014], [0015] (Family: none)	1-9
Y	JP 06-213898 A (Boehringer Mannheim GmbH), 05 August 1994 (05.08.1994), paragraph [0013] & US 5342788 A column 4, lines 1 to 10 & EP 583717 A1 & DE 4226949 A1	1-9

☒ 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	Date of mailing of the international search report
18 August 2016 (18.08.16)	06 September 2016 (06.09.16)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3,Kasumigaseki,Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915,Japan	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/068982

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2000-516344 A (Dade Behring Inc.), 05 December 2000 (05.12.2000), page 7, lines 4 to 20 & US 5795789 A column 3, line 49 to column 4, line 7 & WO 1998/055874 A1 & EP 928421 A1 & DE 69812312 T2 & ES 2194317 T3	1-9
A	JP 11-510598 A (Abbot Laboratories), 14 September 1999 (14.09.1999), page 4, lines 4 to 6 & US 5679573 A column 1, lines 6 to 9 & WO 1997/005491 A1 & EP 842435 A1 & DE 69635275 T2 & CA 2227532 A1 & AT 306672 T & ES 2253755 T3	1-9
A	JP 2003-024098 A (Toyobo Co., Ltd.), 28 January 2003 (28.01.2003), paragraph [0030] (Family: none)	1-9

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１６／０６８９８２

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N33/50(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.　G01N33/50

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	１９７１－２０１６年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１６年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１６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）

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
Y	JP 2014-010102 A (東ソー株式会社) 2014.01.20, 請求項１～５、段落[0014]、[0015] (ファミリーなし)	1-9
Y	JP 06-213898 A (ベーリンガー　マンハイム　ゲーエムベーハー) 1994.08.05, 段落[0013] & US 5342788 A, 第４欄第1-10行 & EP 583717 A1 & DE 4226949 A1	1-9

☑　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の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	国際調査報告の発送日
１８．０８．２０１６	０６．０９．２０１６

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
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）　２Ｊ　３９０６
海野　佳子
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３２５２

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
Y	JP 2000-516344 A（デイド、　ベーリング、　インコーポレイテッド）2000.12.05, 第7頁第4-20行 & US 5795789 A,第3欄第49行-第4欄第7行 & WO 1998/055874 A1 & EP 928421 A1 & DE 69812312 T2 & ES 2194317 T3	1-9
A	JP 11-510598 A（アボット・ラボラトリーズ）1999.09.14, 第4頁第4-6行 & US 5679573 A,第1欄第6-9行 & WO 1997/005491 A1 & EP 842435 A1 & DE 69635275 T2 & CA 2227532 A1 & AT 306672 T & ES 2253755 T3	1-9
A	JP 2003-024098 A（東洋紡績株式会社）2003.01.28, 段落[0030]（ファミリーなし）	1-9